

cellule après son activation. Un nouveau type de microscope éclairait le cerveau du poisson zèbre en projetant un feuillet de lumière sur l'organe, pendant qu'un appareil photo effectuait des prises de vue toutes les secondes.

Suivre l'activité d'un cerveau entier

La technique utilisée, l'«imagerie calcique», qui avait été inaugurée par l'un de nous (R. Yuste) pour enregistrer l'activité électrique de circuits neuronaux, a permis de suivre l'activité de 80 pour cent des 100 000 neurones du poisson zèbre (voir la figure 2). L'expérience a montré que lorsque la larve du poisson zèbre est au repos, de nombreuses zones de son système nerveux s'activent et s'éteignent suivant des schémas mystérieux. Depuis que l'électroencéphalographie existe, les chercheurs savent que le système nerveux est, pour l'essentiel, toujours actif. L'expérience réalisée sur le poisson zèbre laisse espérer que grâce à des techniques plus poussées, on pourra relever un défi majeur en neurosciences : comprendre l'activation spontanée et incessante de grands groupes de neurones.

L'expérience du poisson zèbre n'est qu'un début, car les neurosciences ont besoin de techniques encore plus performantes pour que l'on comprenne comment l'activité cérébrale engendre des comportements. De nouveaux microscopes doivent être conçus pour visualiser en trois dimensions l'activité cérébrale. De plus, l'imagerie calcique est trop lente pour suivre l'activation rapide des neurones et elle est également incapable de mesurer les signaux inhibiteurs qui ralentissent l'activité électrique de la cellule.

Des neurophysiologistes, en collaboration avec des généticiens, des physiciens et des chimistes, essaient d'améliorer des techniques optiques qui enregistrent directement l'activité des neurones en détectant les variations de potentiel électrique dans leur membrane. Des colorants dont les propriétés optiques varient avec le voltage, et qui seraient soit fixés à la surface du neurone, soit intégrés à la membrane elle-même par

génie génétique, pourraient faire mieux que l'imagerie calcique. Cette technique alternative, l'«imagerie de voltage», permettrait à terme d'enregistrer l'activité électrique de chacun des neurones d'un circuit entier.

Cependant, l'imagerie de voltage n'est qu'à ses débuts. Les chimistes doivent augmenter la capacité des colorants à changer de couleur lorsqu'un neurone s'active. Il faut également concevoir les colorants de façon à ce qu'ils n'endommagent pas le neurone lui-même. Déjà, cependant, des biologistes moléculaires élaborent des sondes de voltage codées

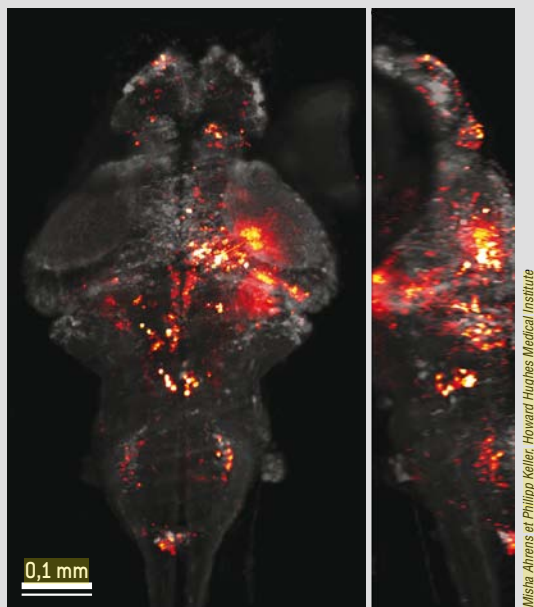
présentant des effets quantiques et dont on peut ajuster avec précision les propriétés optiques telles que la couleur ou l'intensité de la lumière émise. Les nanodiamants, autre nouveau matériau issu de l'optique quantique, sont très sensibles aux variations des champs électriques liés à l'activité neuronale. On pourrait aussi associer des nanoparticules à des colorants organiques, classiques ou obtenus par génie génétique, pour produire des molécules hybrides où une nanoparticule servirait d'antenne pour amplifier les faibles signaux produits par des colorants fluorescents, au moment où un neurone est activé.

Un autre défi technique que pose la visualisation de l'activité neuronale est la difficulté de transmettre de la lumière aux circuits neuronaux situés loin de la surface du cerveau et de collecter celle qu'ils émettent. Pour résoudre ce problème, les spécialistes de neurotechnologie commencent à collaborer avec des chercheurs d'autres domaines qui ont eux aussi besoin de voir à travers des objets solides de façon non invasive, qu'il s'agisse de la peau, du crâne ou de l'intérieur d'une puce d'ordinateur.

Les scientifiques savent depuis longtemps qu'une partie de la lumière qui atteint un objet est diffusée, et que les photons diffusés peuvent, en principe, révéler des détails de l'objet.

Par exemple, la lumière d'une lampe électrique placée d'un côté de la main traverse cette dernière et ressort sous la forme d'une lueur diffuse, sans donner d'indication sur la localisation des os ou des vaisseaux sanguins. Mais les informations sur le chemin qu'emprunte

la lumière à travers la main ne sont pas totalement perdues. Les ondes lumineuses désordonnées diffusent, puis interfèrent les unes avec les autres. De nouvelles méthodes de calcul permettent, à partir de la lumière diffusée, de reconstruire une image de ce qui se trouve à l'intérieur. Par exemple, Rafael Piestun et ses collègues, à l'Université du Colorado, ont utilisé cette technique pour voir à travers un matériau opaque. Ces méthodes pourraient également être combinées avec d'autres techniques optiques, notamment celles utilisées par les astronomes pour corriger



2. UNE VUE DORSALE ET LATÉRALE de l'activité cérébrale de la larve (transparente) du poisson zèbre, dont le cerveau compte 100 000 neurones environ. Les neurones ont été génétiquement modifiés de façon qu'ils deviennent fluorescents lorsque les ions calcium pénètrent dans la cellule neuronale à la suite de son activation. Cette technique de visualisation de l'activité des neurones est nommée imagerie calcique.

génétiquement ; il s'agit de cellules qui synthétisent une protéine fluorescente pouvant s'intégrer à la membrane externe des cellules. Une fois en place, ces protéines réagissent aux modifications du voltage du neurone par un changement d'intensité de leur fluorescence.

Comme pour les électrodes, des systèmes nanotechnologiques peuvent être utiles. À la place de colorants organiques ou d'indicateurs génétiques, il est possible de réaliser un nouveau type de détecteur de voltage constitué de «boîtes quantiques», de petites particules semi-conductrices

les distorsions de la lumière des étoiles introduites par l'atmosphère. L'optique dite computationnelle aiderait ainsi à visualiser la lueur fluorescente émanant de colorants qui s'éclairent quand les neurones situés en profondeur s'activent.

Certaines de ces nouvelles techniques optiques ont déjà été utilisées avec succès pour visualiser, à plus d'un millimètre de profondeur, l'intérieur du cerveau chez l'animal ou chez l'homme, après retrait d'un morceau de la boîte crânienne. Un peu plus perfectionnées, ces techniques offriraient un moyen de voir à travers l'épaisseur du crâne.

Toutefois, l'imagerie optique trans-crânienne ne permettra pas de pénétrer suffisamment pour détecter des structures situées en profondeur. Une autre invention récente permet d'aborder ce problème : la micro-endoscopie. Cette technique consiste à insérer un tube étroit mais flexible dans l'artère fémorale, puis à le guider vers une autre partie du corps, par exemple le cerveau, qui sera exploré à l'aide des

guides lumineux microscopiques insérés dans le tube. En 2010, une équipe de l'Institut Karolinska à Stockholm a fait la démonstration d'un « extroducteur », un dispositif permettant de perforer en toute sécurité l'artère ou la veine dans laquelle se faufile l'endoscope, ce qui rend accessible à l'inspection n'importe quelle partie du cerveau, et pas seulement son système vasculaire.

De l'ADN pour révéler l'activité d'un neurone ?

Les électrons et les photons sont les candidats les plus évidents pour enregistrer l'activité électrique cérébrale, mais ce ne sont pas les seuls. Dans un futur encore éloigné, l'ADN pourrait aussi jouer un rôle essentiel dans l'analyse de l'activité neuronale, comme le suggère une étude du laboratoire de l'un de nous (G. Church), publiée en 2012.

L'idée est de modifier génétiquement des animaux de laboratoire pour que leurs neurones synthétisent une « bande d'enre-

gistrement moléculaire », une molécule qui change de façon particulière et détectable quand le neurone s'active. Selon l'un des scénarios envisagés, la bande d'enregistrement serait synthétisée par une enzyme nommée ADN polymérase. Cette enzyme commencerait par fabriquer en continu un long brin d'ADN qui se lie à un autre brin composé d'une séquence préétablie de nucléotides (les « lettres » qui forment les éléments constitutifs de l'ADN). Un afflux d'ions calcium, dû à l'activation d'un neurone, entraînerait alors la production par la polymérase d'une séquence différente de lettres, autrement dit des « erreurs » dans le placement prévu des nucléotides.

Le séquençage du double brin de nucléotides qui en résulterait fournirait, par une technique innovante, le « séquençage fluorescent *in situ* », l'enregistrement des différents changements, c'est-à-dire des erreurs par rapport à la bande d'enregistrement d'origine, qui correspondent soit à l'intensité, soit au moment de l'activation de chacun des neurones d'un tissu cérébral.

INSTALLER UN INTERRUPTEUR NEURONAL À FONCTIONNEMENT OPTIQUE

Au-delà de l'observation des signaux électriques qui passent dans les circuits, les neurobiologistes cherchent de plus en plus à activer et éteindre à volonté des circuits individuels, afin d'apprendre à contrôler des formes particulières d'activité cérébrale. Ces techniques, dont deux reposent sur des signaux optiques (*ci-dessous*), sont encore balbutiantes, mais pourraient un jour aider à supprimer les crises d'épilepsie ou les tremblements de la maladie de Parkinson.

Le principe de l'optogénétique

Comme son nom l'indique, cette technique consiste à combiner un signal optique et du génie génétique pour activer un circuit cérébral chez un animal vivant. Tout d'abord, un gène codant une protéine photosensible, une opsine, est inséré dans un virus inactivé. Injecté à un animal, le virus introduit le gène dans des neurones. Le promoteur situé sur l'ADN inséré assure que seuls certains

neurones synthétisent l'opsine, qui forme un canal ionique, et l'insèrent dans leur membrane. Un signal lumineux acheminé par une fibre optique introduite dans le crâne d'une souris ouvre le canal membranaire formé par l'opsine. Des ions, porteurs d'une charge électrique, pénètrent alors dans le neurone et déclenchent un signal électrique dans la cellule.

