L'optogénétique gagne tous les organes

Modifier des cellules pour les rendre sensibles à la lumière : c'est le principe de l'optogénétique. Conçue pour étudier le cerveau, cette technique est désormais utilisée dans d'autres organes. Et servira peut-être demain à soigner.

PAR **Pascaline Minet,**
journaliste à *La Recherche*.

Rendre la vue à des souris aveugles : c'est aujourd'hui possible, pour une forme de cécité, liée à un mauvais fonctionnement des cellules de la rétine. En insérant dans ces dernières un gène issu d'une bactérie, des biologistes savent en effet leur redonner une sensibilité à la lumière. En 2011, ils ont démarré un essai de cette technique avec des singes. En attendant, si cela fonctionne, de passer à l'homme.

Cette approche thérapeutique novatrice est fondée sur une technique tout droit sortie des laboratoires de biologie : l'optogénétique. Celle-ci consiste à modifier génétiquement des cellules afin de les rendre réactives à la lumière. On peut alors les activer ou bloquer leur activité simplement en les éclairant.

L'optogénétique a d'abord été utilisée pour étudier le fonctionnement du cerveau, en modifiant des neurones. Mise au point il y a moins de 10 ans, elle a très vite remporté un franc succès, et des centaines de laboratoires de neurosciences l'emploient aujourd'hui. Mais les biologistes ne s'arrêtent pas là : ils commencent à étendre son usage à l'étude d'autres organes.

L'année 2011 a été particulièrement marquante de ce point de vue. Outre en ophtalmologie, des travaux ont notamment été présentés en cardiologie et en endocrinologie. Le développement est tel que certains scientifiques envisagent même d'utiliser l'optogénétique comme outil thérapeutique, comme en témoigne l'exemple de la cécité.

L'idée de contrôler l'activité des neurones pour étudier leur rôle est ancienne. Dans les années 1950 déjà, le physiologiste José Delgado implantait des électrodes dans le cerveau de différents animaux, et parvenait ainsi à modifier leur comportement. Dans une expérience célèbre, il était même parvenu à arrêter un taureau en train de charger !

Cependant, José Delgado implantait ses électrodes à l'aveugle, sans savoir précisément quels neurones il stimulait. Afin de mener des études plus fines sur le fonctionnement du cerveau, il fallait inventer une méthode qui permette d'activer spécifiquement certains neurones, sans toucher aux autres.

C'est un biologiste autrichien, Gero Miesenböck, qui trouve le moyen d'y parvenir. Au début des années 2000, ce spécialiste de la mouche drosophile travaille à l'université américaine Yale : *« J'utilisais des colorants codés génétiquement, comme la protéine fluorescente GFP, qui me permettaient de suivre en direct l'activité neuronale chez les mouches ; j'ai alors pensé qu'il serait intéressant d'effectuer la démarche inverse, c'est-à-dire de contrôler directement l'activité des neurones dans le cerveau »*, raconte-t-il.

Protéines photosensibles. Il s'intéresse alors à une protéine issue de la rétine de la mouche, la rhodopsine. Cette protéine a la particularité de réagir à la lumière en activant l'ouverture de canaux ioniques dans la membrane des cellules rétiniennes ; le flux d'ions qui en résulte modifie la charge électrique de ces cellules. Gero Miesenböck a l'idée de transférer le gène codant la rhodopsine dans des neurones de rat en culture. En fabriquant cette protéine, les neurones deviennent eux-mêmes sensibles à la lumière : quand le biologiste expose ses boîtes de cultures à des flashs lumineux, les neurones génétiquement modifiés produisent des signaux électriques [1].

Dans un premier temps, cette nouvelle méthode passe relativement inaperçue. Elle nécessite en effet d'insérer, en plus du gène de la rhodopsine, plusieurs gènes auxiliaires, codant d'autres protéines intervenant dans la vision de l'insecte, ce qui rend la tâche assez compliquée.

Il faut attendre 2005 pour qu'une nouvelle approche simplifiant considérablement l'usage de l'optogénétique

L'essentiel

> **L'OPTOGÉNÉTIQUE, la modification génétique de cellules pour les rendre sensibles à la lumière, a été mise au point il y a moins de dix ans dans le cadre des neurosciences.**

> **EN 2011, cette technique a été employée dans d'autres domaines de recherche, notamment en endocrinologie et en ophtalmologie.**

> **L'OPTOGÉNÉTIQUE pourrait aboutir à un traitement dans certaines formes de cécité.**

Une fibre optique implantée dans le crâne de cette souris apporte de la lumière dans son cerveau, afin de stimuler certains neurones, rendus photosensibles par modification génétique. Les neuroscientifiques peuvent ainsi étudier précisément le rôle de chaque cellule nerveuse.

© INBAL GOSHEN AND KARL DEISSEROTH

L'optogénétique en 5 dates

> 2002 : Gero Miesenböck, à l'université Yale aux États-Unis, rend sensibles à la lumière des neurones de rat en culture, en leur transférant plusieurs gènes issus de la mouche drosophile.

> 2005 : Karl Deisseroth et Edward Boyden, à l'université américaine Stanford, rendent des neurones photosensibles grâce à un unique gène, celui de la canal-rhodopsine 2.

> 2007 : Karl Deisseroth et son équipe utilisent l'optogénétique chez des souris vivantes. Grâce à cette technique, ils réussissent en 2010 à faire régresser les symptômes de Parkinson chez ces rongeurs.

> 2008 : Botond Roska, de l'institut Friedrich-Miescher à Bâle, en Suisse, rétablit une perception visuelle chez des souris aveugles atteintes de rétinopathie pigmentaire.

> 2011 : Martin Fusseneger, de l'École polytechnique fédérale de Zurich, en Suisse, utilise l'optogénétique pour commander la fabrication d'insuline chez des souris diabétiques.

soit mise au point. Cette année-là, Karl Deisseroth, de l'université américaine Stanford, Edward Boyden et Feng Zhang, aujourd'hui au MIT, réussissent grâce à un seul gène à rendre des neurones photosensibles. Ils utilisent pour cela la « canal-rhodopsine 2 » ou ChR2 [2].

Cette protéine, issue de l'algue unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii*, est un canal ionique, qui traverse de part en part la membrane de la cellule ; lorsqu'il reçoit de la lumière bleue, il y ouvre un passage pour l'entrée d'ions sodium. Les neurones génétiquement modifiés pour produire cette protéine changent de polarité* sous l'effet de la lumière, ce qui donne naissance à un message nerveux. Pendant ce temps, Gero Miesenböck poursuit son travail avec ses propres « interrupteurs » optogénétiques. En 2005, il est le premier à prouver l'efficacité de sa technique chez l'animal vivant. Il transfère des protéines photosensibles chez la mouche et parvient ainsi à déclencher un réflexe de fuite grâce à un simple flash lumineux. [3]

Un seul gène. Deux ans plus tard, Karl Deisseroth et son équipe utilisent la canal-rhodopsine 2 chez des souris vivantes. Ils sensibilisent à la lumière certains de leurs neurones, impliqués dans la régulation du sommeil, et implantent une fibre optique dans leur crâne, afin d'y conduire de la lumière. Ils parviennent ainsi à les éveiller grâce à un flash lumineux dans le cerveau. [4]

Neurones impliqués dans le sommeil, l'olfaction ou la mémoire... Avec l'optogénétique, toutes sortes de fonctions nerveuses sont explorées, et les circuits de neurones qui les sous-tendent peu à peu identifiés. C'est à ce jour dans les neurosciences que cette méthode a été la plus utilisée, et les travaux se poursuivent dans ce domaine.

L'optogénétique a toutefois un potentiel beaucoup plus important. Comme l'écrivait Karl Deisseroth dans la revue *Nature Methods* en décembre 2010 : *« Bien qu'elle provienne à l'origine des neurosciences, l'optogénétique répond à un besoin beaucoup plus large dans l'étude des systèmes biologiques : celui de contrôler des événements définis dans des types cellulaires et à des moments définis, dans un système intact. »* Des biologistes issus d'horizons variés ont ainsi récemment commencé à l'utiliser dans leurs propres travaux. >>>

* **LES NEURONES** au repos sont polarisés, c'est-à-dire qu'il existe une différence de charge électrique entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule.

L'optogénétique gagne tous les organes

>>> Dès 2010, des études ont révélé le potentiel de l'optogénétique en cardiologie. Cette année-là, des chercheurs sont parvenus à stimuler l'activité cardiaque chez des poissons-zèbres et chez des souris vivantes. Pour cela, ils ont transféré des protéines photosensibles dans les cellules cardiaques de ces animaux.

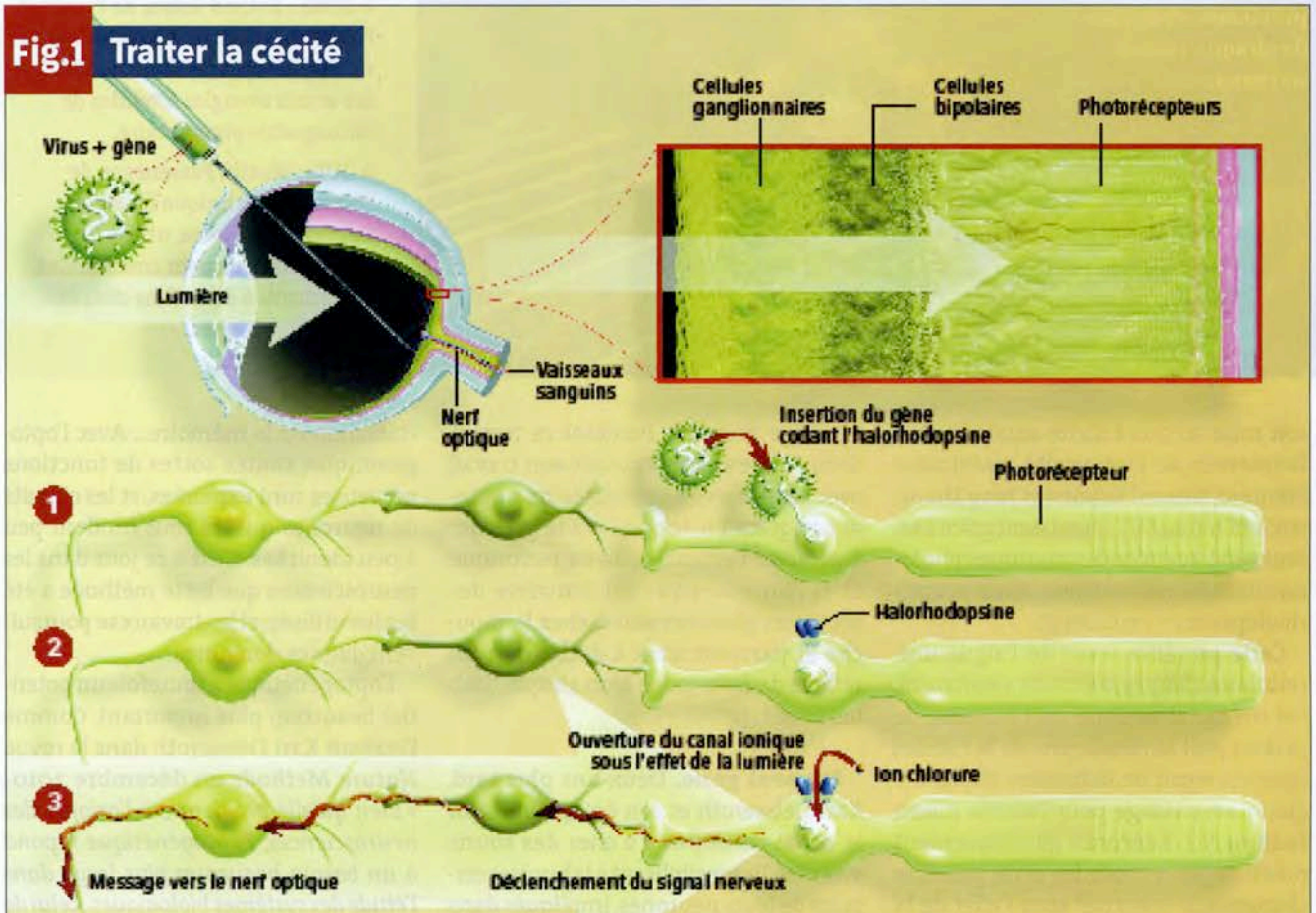
En 2011, la biologiste Emilia Entcheva, de l'université américaine Stony Brook, a eu l'idée de coupler des cellules réactives à la lumière avec des cellules musculaires cardiaques, ce qui lui a permis de contrôler la contraction d'un tissu cardiaque de rat *in vitro*. Elle suggère d'utiliser cette approche pour mettre au point un nouveau type de pacemaker, qui fonctionnerait à la lumière.

Production d'insuline. L'équipe de Martin Fusseneger, du département de science et d'ingénierie des systèmes biologiques de l'École polytechnique fédérale de Zurich, a, elle, utilisé l'optogénétique pour stimuler la fabrication d'insuline chez des souris diabétiques [5].

Dans un premier temps, ils ont conçu des cellules capables de produire, sous l'effet de la lumière, une protéine appelée GPL-1, qui stimule la fabrication d'insuline par le pancréas. Pour cela, ils ont inséré dans des cellules rénales humaines en culture deux gènes : celui de la mélanopsine, protéine photosensible issue de la rétine, et un autre gène, codant, GPL-1. Sous l'effet de la lumière bleue, la mélanopsine, qui est insérée dans la membrane cellulaire, déclenche une cascade de réactions, qui aboutit à l'activation d'une protéine présente dans le cytoplasme, NFAT. Celle-ci entre alors dans le noyau de la cellule où elle déclenche l'expression du gène GPL-1.

Dans un second temps, Martin

Fig.1 Traiter la cécité



DANS CERTAINES FORMES DE CÉCITÉ, les cellules de la rétine chargées de capter les rayons lumineux, les photorécepteurs, sont devenus inactives. Afin de leur rendre une sensibilité à la lumière, un gène codant l'halorhodopsine, protéine photosensible d'origine bactérienne, est transféré dans ces cellules, à l'aide d'un vecteur viral (1). Les photorécepteurs modifiés fabriquent alors l'halorhodopsine, une pompe à ions chlorures, qui se place dans leur membrane (2). Quand elle est exposée à la lumière, cette pompe s'active et fait passer les ions à l'intérieur de la cellule (3). La charge électrique y est donc modifiée, ce qui déclenche un signal nerveux dans le photorécepteur. Celui-ci se propage, au travers du nerf optique, vers le cerveau. © INFOGRAPHIE SYLVIE DESSERT

Fusseneger et ses collaborateurs ont placé ces cellules productrices de GPL-1 dans des capsules transparentes, qu'ils ont implantées sous la peau de souris atteintes de diabète de type 2, c'est-à-dire dont les cellules du pancréas ne produisent pas suffisamment d'insuline. Ces souris ont été rasées et exposées à des flashs lumineux : elles se sont alors mises à produire de l'insuline, sous l'influence du GPL-1 libéré par les capsules. Des souris diabétiques auxquelles on avait fait absorber du glucose sont ainsi devenues capables de réguler leur glycémie.

« *Nous sommes actuellement en négociation avec des partenaires industriels pour développer des lignées cellulaires, qu'on pourrait tester dans des essais cliniques* », précise Martin Fusseneger. Il est en effet nécessaire d'évaluer la possibilité d'un transfert de cette méthode vers des organismes plus gros, ainsi que ses éventuels effets secondaires.

C'est dans un autre domaine, celui de l'ophtalmologie, que l'optogénétique pourrait le plus vite aboutir à un traitement. Comme on l'a vu, cette technique a déjà permis de rétablir une perception visuelle chez des souris aveugles. Celles-ci souffraient d'une forme murine d'une maladie héréditaire, la rétinopathie pigmentaire, qui entraîne une dégénérescence de cellules de la rétine, et aboutit à une perte irréversible de la vision. En 2011, un groupe de recherche franco-suisse a démarré de nouveaux essais chez des singes, afin de vérifier que cette approche n'induit pas de réaction immunitaire majeure.

Vision plus nette. Comme l'explique Serge Picaud, de l'Institut de la vision à Paris, coorganisateur de ces essais : « *Dans la rétinopathie pigmentaire, les cellules de l'œil chargées de capter la lumière, les photorécepteurs, perdent peu à peu leur sensibilité. Cependant, elles restent connectées aux autres cellules de la rétine, celles qui traitent l'information et l'amènent au cerveau. Si on parvient à réactiver les photorécepteurs, il devient donc possible de rétablir le fonctionnement normal de la rétine.* »

Son collaborateur, le biologiste Botond Roska, de l'institut Friedrich-Miescher de Bâle, a réussi en 2010 à réactiver des photorécepteurs inactifs chez la souris, en y introduisant un gène codant une protéine photosensible d'origine bactérienne, l'halorhodopsine [6]. Cette protéine, une pompe à ions chlorure, s'ouvre lorsqu'elle est exposée à la lumière et déclenche un afflux d'ions dans le photorécepteur. C'est ce même gène qui est actuellement inoculé dans la rétine des singes, à l'aide d'un virus désactivé [fig. 1]. Cette approche représenterait un grand progrès pour les personnes qui souffrent de pathologies dégénératives de la rétine, car elle devrait leur offrir une vision plus nette que les implants électroniques actuels. Reste à s'assurer de son innocuité : l'introduction d'un gène étranger dans l'œil n'a rien d'anodin. « *Cet organe a cependant l'avantage d'être relativement isolé de la circulation sanguine, ce qui devrait limiter les risques de propagation du transgène ou du vecteur viral dans le reste du corps* », précise Serge Picaud. Le fait de modifier génétiquement les cellules pour pouvoir les commander par la lumière constitue l'un des principaux obstacles au développement de thérapies optogénétiques chez l'être humain. Quoi qu'il en soit, cette méthode a déjà prouvé qu'elle était un formidable outil de compréhension des mécanismes physiologiques. ■

[1] B.V. Zemelman *et al.*, *Neuron, 33*, 15, 2002.
[2] E.S. Boyden *et al.*, *Nat. Neurosci., 8*, 1263, 2005.
[3] S. Lima *et al.*, *Cell, 121*, 141, 2005.
[4] A. Adamantis *et al.*, *Nature, 450*, 420, 2007.
[5] Ye Haifeng *et al.*, *Science, 332*, 1565, 2011.
[6] V. Busskamp *et al.*, *Science, 329*, 413, 2010.

Soigner des maladies neurologiques ?

© DR

Christian Lüscher est chercheur au département des neurosciences fondamentales de l'université de Genève.

Dans votre laboratoire, vous menez des recherches sur l'addiction. De quelle manière utilisez-vous l'optogénétique ?

C.L. Cette technique nous sert à stimuler spécifiquement certains réseaux de neurones, afin d'identifier ceux impliqués dans l'addiction. En 2010, nous avons reproduit l'effet de la cocaïne sur le cerveau des souris, en insérant le gène de la canal-rhodopsine 2 dans des neurones de l'aire tegmentale ventrale, une zone du cerveau impliquée dans le système de récompense [1]. Cela confirme le rôle de ces neurones dans le mécanisme d'addiction.

Dans une publication récente, vous suggérez une piste de traitement de l'addiction. De quoi s'agit-il ?

C.L. Nous sommes parvenus à calmer l'hyperactivité chez des souris dépendantes à la cocaïne, en modulant par optogénétique la communication entre deux structures cérébrales, le noyau accumbens et le cortex préfrontal [2]. Dans le futur, on pourrait envisager de réguler l'activité de cette connexion nerveuse chez les toxicomanes, grâce à une autre technique déjà employée pour soigner la maladie de Parkinson, la stimulation cérébrale profonde. Elle consiste à implanter des électrodes dans le cerveau des patients afin d'activer certains groupes de neurones.

Quel est le potentiel thérapeutique de l'optogénétique dans le domaine des neurosciences ?

C.L. Des études prometteuses ont été publiées, pour le traitement de la maladie de Parkinson et de la dépression chez le rongeur. Il n'est pas exclu qu'on utilise un jour ce type de traitements chez l'homme. Cela nécessiterait cependant qu'on injecte un gène étranger dans la boîte crânienne, et qu'on y fasse un accès pour apporter la lumière. De nombreuses études restent donc à mener pour s'assurer de la sûreté de cette méthode.

[1] M. T. C. Brown *et al.*, *Plos One, 5(12)*, e15870, 2010.
[2] V. Pascoli *et al.*, *doi : 10.1038/nature10709*, 2011.

Pour en savoir plus

> « Modifier le comportement des neurones par de la lumière », novembre 2010, p. 58.

> « Des organes passent sous contrôle lumineux », septembre 2011, p.8.