



*Séance solennelle de l'Académie des sciences / 11 octobre 2011  
Discours des nouveaux Membres sous la coupole de l'Institut de France*

## **Communication neuronale : de la contrainte structurale à la dynamique moléculaire**

Antoine Triller

Le nombre total de neurones dans le cerveau humain est estimé à 100 milliards, ce qui est du même ordre que le nombre d'étoiles dans notre galaxie, le tout dans un volume de 1.5 litre, avec un niveau de connectivité considérable, chaque neurone est à moins de 5 liens de n'importe quelle autre. Ceci est rendu possible par un très grand nombre de contacts qui peuvent aller jusqu'à 100 000 pour certains neurones.

Ramon-Y-Cajal, dans sa conférence Nobel en 1906, résume un certain nombre de principes qu'il considère comme fondamentaux pour le fonctionnement du système nerveux. Deux sont particulièrement importants. Le premier est celui de la spécificité de la connectivité neuronale : tout n'est pas connecté avec n'importe quoi. Le second au plus près de ce dont je vais vous parler aujourd'hui est celui de la discontinuité de la connectivité entre cellules nerveuses ou neurones. Les neurones avec de très longs prolongements leur permettant de se connecter spécifiquement, communiquent entre eux par des jonctions spécialisées à leurs zones de contacts que l'on appelle des synapses. Le principe général de fonctionnement de la synapse dont les bases modernes ont été établies dans les années 1960 par Bernard Katz et Ricardo Miledi, est encore l'objet d'études. Brièvement, le potentiel d'action, l'activité électrique, arrive au niveau de la terminaison de l'axone, celle-ci provoque la libération du neurotransmetteur au niveau de la « zone active » telle qu'elle a été découverte et nommée dans les années 70 par René Coureau. Le neurotransmetteur ainsi libéré va diffuser dans un espace étroit d'environ 30 nm (1nm = 1 milliardième mètre) pour aller se fixer sur des récepteurs qui à leur tour induisent ou modulent un signal électrique. Tout ce passe dans un laps de temps de l'ordre de la milliseconde.

L'intitulé de ma thèse d'état « Contrainte morphologique de la communication synaptique » soutenue en 1985, résume assez bien ce qui a motivé les recherches que je mène actuellement avec mon équipe.

L'idée de base, simple est que l'organisation structurale des réseaux et des connexions entre les cellules nerveuses impose des modalités de fonctionnement très spécifiques. Les travaux alors, sous la direction de, et avec Henri Korn, avaient conduit à montrer que chaque contact synaptique fonctionnait sur le mode « tout-ou-rien », et mes études en microscopie électronique, sous la « tutelle » de Constantino Sotelo, devaient me conduire à mettre en évidence que chacun de ces contacts ne contenait qu'une seule « zone active ». A la même époque, Jean-Pierre Changeux m'avait mis en relation avec un de ses anciens post-docs, Heinrich Betz, qui venait de purifier et de caractériser un des principaux récepteurs de l'inhibition dans le système nerveux. Avec les anticorps qu'il me donnait, je devais être le premier à mettre en évidence, avec une résolution nanométrique, en microscopie électronique, la localisation de ces récepteurs et leur accumulation en face des zones actives. L'ensemble de ces résultats a stimulé un grand nombre de recherches, en particulier, pour comprendre leur stabilisation dans le temps, leur régulation lors des processus d'apprentissage, et les conséquences de leur dérégulation dans les épilepsies ou les maladies neuro-dégénératives comme par exemple dans celle d'Alzheimer.

Ce cadre classique est maintenant bouleversé par la mise en œuvre de nouvelles techniques d'imagerie moléculaire.

En microscopie optique, la résolution spatiale, imposée par les lois de l'optique, est au mieux de 200 nm et plus souvent dans les tissus de l'ordre de 500 nm. La microscopie électronique permet elle d'avoir une résolution de l'ordre du nanomètre. Mais, alors qu'on peut voir du vivant en microscopie optique, c'est virtuellement impossible en microscopie électronique.

L'utilisation des lasers et de l'informatique ainsi que le développement des marqueurs ont fait progresser la microscopie optique de manière radicale. Ce mouvement a été amorcé il y a maintenant près de 30 ans avec l'avènement de la microscopie confocale, puis plus récemment de la microscopie multi-photonique. Ces approches permettaient de découper un spécimen biologique en tranches optiques virtuelles puis de le reconstituer en trois dimensions. Ces progrès ont été à l'origine d'avancées remarquables en biologie cellulaire et en physiologie. Mais la résolution spatiale était toujours de l'ordre de quelques centaines de nanomètre.

Il restait donc une véritable « terra incognita » entre ce qui était vu en microscope optique et ce qui était détecté en microscopie électronique.

Une importante avancée de ces dernières années, due à Stephan Hell, a été la microscopie par déplétion d'émission de fluorescence qui a permis de briser la barrière de la résolution spatiale imposée par les lois de l'optique. D'autres stratégies astucieuses ont également été mises au point permettant de visualiser les photons provenant d'une source unique, par exemple une protéine fluorescente. Il devient alors possible, grâce à des algorithmes simples de déterminer avec une très grande précision, de l'ordre de 10-20 nm, les coordonnées de la source. On obtient alors des images à très haute résolution. L'exploration de cette nouvelle dimension entre le micron et le nanomètre conduit à repenser radicalement la compréhension que l'on avait de nombreux phénomènes biologiques. Il est maintenant possible d'observer à l'échelle mésoscopique (entre 10 et 500 nm) les phénomènes moléculaires en temps réel dans les cellules vivantes dans le contexte de processus biologiques complexes. Il s'agit là d'une véritable « *Biologie Mésoscopique* » où sont révélées de nouvelles propriétés des systèmes vivants, propres à cette échelle.

Au début des années 2000, en collaboration avec Maxime Dahan, physicien à l'Ecole Normale Supérieure, nous avons développé l'utilisation des boîtes quantiques qui sont des semi-conducteurs très brillants dont la taille est d'environ 10nm et avec lesquels nous pouvions marquer et suivre les récepteurs individuellement dans des neurones vivants.

Un exemple frappant d'application de ces méthodes nouvelles a été la démonstration de la diffusion des récepteurs dans la membrane des neurones. Ce phénomène, que nous avons mis en évidence initialement avec Daniel Choquet en utilisant des billes de latex a été finalement démontré avec Maxime Dahan en attachant des nano-cristaux fluorescents aux récepteurs. Il a alors été établi que pratiquement tous les récepteurs aux neurotransmetteurs (glycine, GABA, glutamate ...) entrent et sortent des synapses en diffusant dans la membrane plasmique avec des caractéristiques qui leur sont propres. Ces mouvements reflètent la dynamique des assemblages multimoléculaires qu'ils forment avec les protéines d'échafaudage qui les stabilisent transitoirement. Nous devons alors repenser la synapse en tenant compte des temps de résidence des molécules, de leur nombre de partenaires, de leurs taux de diffusion, et encore de leurs cinétiques d'interaction. La démonstration que ces paramètres peuvent être régulés physiologiquement par l'activité du neurone, son environnement ou encore des agents pharmacologiques, a renforcé la notion selon laquelle la caractérisation des mouvements des molécules permet de faire le lien entre la « morphologie » et la « physiologie » qui n'était jusque là que corrélatifs. Cette corrélation morpho fonctionnelle était en fait, l'objet de ma thèse d'état.

Ainsi, la synapse stable dans le temps, voit ses éléments constitutifs renouvelés continuellement, ce qui induit un bruit moléculaire. La synapse doit donc maintenant être

considérée comme un assemblage multimoléculaire à l'équilibre qui peut être modifiée dans les processus d'apprentissage et d'oubli. Le bruit moléculaire devient un paramètre réglable permettant de passer d'un état stable avant apprentissage, à un autre état stable après apprentissage.

Cette approche a conduit également à mettre en évidence de nouveaux mécanismes physiopathologiques. Nous inspirant de ce que l'on savait de la biologie des prions, quelle n'a pas été notre surprise quand nous avons constaté que des protéines anormalement conformées interagissaient avec la membrane du neurone et modifiaient la diffusion et la stabilisation des récepteurs, induisant un véritable désordre synaptique responsable de leur dysfonctionnement. Tel était le cas de la protéine beta-amyloïde qui est un des éléments clef de la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer. Des recherches sont actuellement en cours dans mon laboratoire concernant des protéines mal conformées impliquées dans les maladies de Huntington et de Parkinson.

Cette approche mésoscopique axée sur la dynamique des molécules constitutives du vivant rend nécessaire le développement de nouveaux outils théoriques pour intégrer les effets coopératifs dans les assemblages moléculaires et pour faire le saut d'échelle entre le comportement des molécules individuelles et celui d'assemblée de dizaines, de centaines voire de milliers de molécules. C'est ainsi qu'avec des physiciens statisticiens, Ken Sekimoto et Rava da Silveira, nous avons proposé des modèles de potentiels chimiques et de réaction-diffusion de type Turing, rendant compte de la régulation des densités locales de ces molécules dans des états de quasi équilibre. Bien entendu, les cinétiques moléculaires doivent être réconciliées avec les phénomènes biologiques. Ceci est rendu maintenant possible parce qu'on peut suivre les molécules une à une, ce qui donne accès aux phénomènes normalement cachés dans les statistiques convoluées du comportement de système à grand nombre de molécules.

Il s'agit là d'une redécouverte de la molécule dans son environnement, au cœur des contraintes physiques du vivant. C'est une véritable révolution qu'il faut opérer, fondée sur la fédération d'outils et de concepts novateurs issus d'une approche multidisciplinaire. Il ne s'agit pas d'une simple combinaison d'approches expérimentales empruntées à un domaine ou un autre, mais d'une démarche abordant simultanément par plusieurs voies (comme en alpinisme) un problème de biologie centré autour des fluctuations et des interactions moléculaires à des échelles microscopiques. Ce nouveau champ de la biologie peut être étendu du point de vue conceptuel et instrumental à des niveaux plus élevés d'organisation du vivant comme la cellule et les interactions cellulaires.

La microscopie moléculaire en est à ses débuts, mais on perçoit déjà que celle-ci, en

révélant des aspects quantitatifs inédits, va permettre l'étude des assemblages multimoléculaires et de leurs régulations dans les systèmes vivants. Nous réalisons alors la puissance de cette approche qui permet un réductionnisme expérimental dans des systèmes intégrés vivants.