



© 3D Rainbow neurons

LE CERVEAU EN COULEURS

ENTRETIEN AVEC **EMMANUEL BEAUREPAIRE** (LABORATOIRE D'OPTIQUE ET BIOSCIENCES, ÉCOLE POLYTECHNIQUE / CNRS / INSERM / IP PARIS) ET **JEAN LIVET** (INSTITUT DE LA VISION, SORBONNE UNIVERSITÉ / INSERM / CNRS)
PROPOS RECUEILLIS PAR **ROBERT RANQUET** (72)

Déjà distingué en 2019 par le Prix Raimond Castaing de la Société française des microscopies, Emmanuel Beaufrepaire vient de se voir décerner le Prix de la Société européenne de microscopie (European Microscopy Society) dans la catégorie « Sciences du vivant ». La *J&R* l'a rencontré, avec son collaborateur Jean Livet.

Emmanuel Beaufrepaire, formé à l'INPG et à l'ESPCI, est physicien. Il a rejoint en 2001 le LOB (laboratoire d'optique et biosciences) alors nouvellement fondé à l'École polytechnique pour développer de nouvelles techniques d'imagerie des tissus biologiques. Son équipe a notamment introduit une nouvelle technique pour étudier le développement cérébral, publiée en 2019 dans la revue *Nature Communications*. Son partenaire sur ce travail, Jean Livet, formé à l'ENS Cachan, est biologiste et travaille à l'Institut de la vision (Sorbonne Université, Inserm, CNRS) à Paris.



L'approche Brainbow

Emmanuel Beaurepaire et Jean Livet expliquent : « Tout cela part d'une technologie de marquage colorée, l'approche Brainbow mise au point il y a quelques années par J. Livet dans l'équipe de Jeff W. Lichtman à Harvard, qui consiste à marquer individuellement des cellules neuronales avec des combinaisons de protéines fluorescentes de différentes couleurs. Nous disposons de 3 ou 4 protéines primaires, dont la combinaison permet d'obtenir environ 200 teintes différentes pour marquer les cellules. Ce marquage permet deux choses : d'une part, il permet de mieux visualiser l'anatomie du réseau neuronal en contrastant les neurones individuels et de voir ainsi, par exemple, comment l'agencement des neurones entre eux peut être relié à telle ou telle fonctionnalité du cerveau. Il permet d'autre part de voir quelle est la contribution d'une cellule souche neurale du système nerveux embryonnaire à la genèse des neurones composant le réseau neuronal : ces recherches se font sur des cerveaux de souris ou de poulet en développement.

La microscopie multiphotonique couleur par mélange d'ondes

Cependant, pour pouvoir effectuer de telles études, le problème consistait à imaginer à haute résolution plusieurs millimètres cubes de cerveau ainsi marqués. La nouveauté de notre travail a donc été de mettre en place une méthode d'imagerie permettant de visualiser ces cellules marquées en 3D dans le tissu cérébral, avec une résolution

↑ Neurones du cortex de souris marqués par la technique Brainbow et imagés en 3D par microscopie ChroMS (Abdeladim et al, *Nat Commun* 2019).

“Imager un cerveau de souris entier avec une résolution de l'ordre du micron cube.”

permettant de distinguer leurs prolongements tels qu'axones et dendrites. Nous avons utilisé pour cela une technologie inventée au LOB, la microscopie multiphotonique couleur par mélange d'ondes, en l'occurrence des faisceaux lasers femtoseconde, ainsi qu'un système automatisé d'enregistrement de grands volumes. Cet instrument a été développé dans le cadre du projet Equipex (équipement d'excellence) Morphoscope financé par le programme des Investissements d'avenir. Cette technique nous permet d'imager un volume allant de plusieurs millimètres cubes à un cerveau de souris entier, avec une résolution de l'ordre du micron cube. Évidemment, cela conduit à produire des volumes très importants de données d'imagerie, et donc nous avons également à résoudre des problèmes de gestion et traitement de big data ! Pour nos premiers travaux, les analyses ont été faites à la main. Mais, avec des images de quelques dizaines de milliards de pixels, il faut impérativement automatiser l'analyse, ce que nous sommes en train de faire.

Notre technique va apporter beaucoup à l'étude du développement du cerveau, avec de nouvelles descriptions de la façon dont les cellules souches neurales construisent les différentes régions du cerveau. Par exemple, nous avons déjà obtenu une description nouvelle de la mise en place chez l'embryon de souris du réseau des astrocytes, ces cellules supports des neurones. Notre approche permet également d'étudier la connectivité à grande distance des cellules entre elles. Elle intéresse d'ores et déjà d'autres équipes de neurosciences françaises et américaines. X