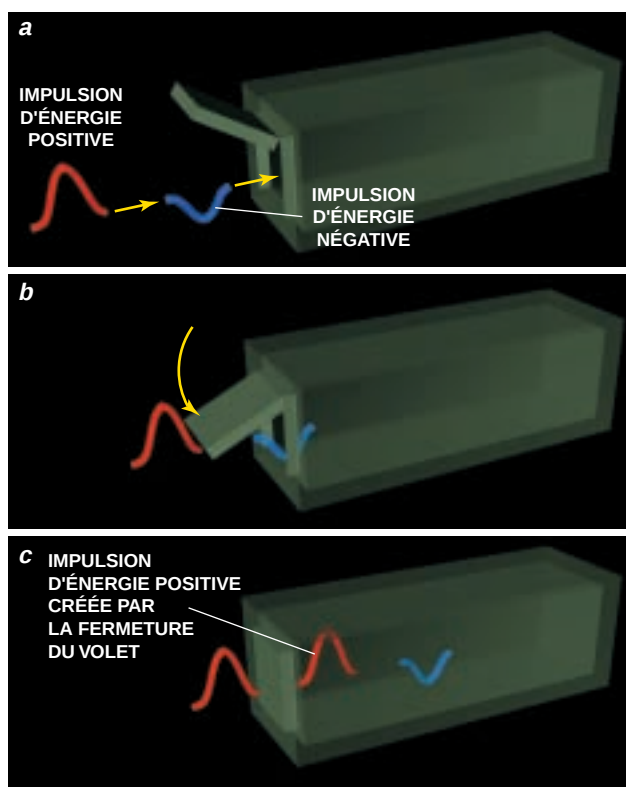


dir un objet chaud à l'aide d'une impulsion d'énergie négative, l'objet est presque immédiatement réchauffé par une impulsion supérieure d'énergie positive. La contrepartie positive d'une faible impulsion d'énergie négative pourrait être différée, mais les effets de l'énergie négative seraient alors indiscernables de ceux des fluctuations thermiques normales. Apparemment, on ne peut ni capter l'énergie négative ni la dissocier de l'énergie positive. On a cherché si l'énergie négative serait piégée par une boîte munie d'un volet, vers laquelle on dirigerait un faisceau d'énergie négative ; toutefois la fermeture du volet crée un flux d'énergie positive qui neutralise l'énergie négative (voir la figure 7).

Flash cosmique et intérêts quantiques

Nous avons montré l'existence de restrictions analogues pour la violation de la censure cosmique. L'injection d'une impulsion d'énergie négative dans un trou noir chargé détruirait momentanément l'horizon des événements, faisant exploser la singularité qu'il contient. Cependant cette impulsion étant nécessairement suivie d'une impulsion d'énergie positive, la singularité nue serait immédiatement retransformée en un trou noir ; nous nommons un tel phénomène un «flash cosmique». Pour observer ce flash cosmique, on doit augmenter l'écart temporel entre l'énergie négative et l'énergie positive, afin que la singularité reste nue le plus longtemps possible. Or, dans ce cas, l'amplitude de l'impulsion d'énergie négative serait nécessairement très faible, en raison des inégalités quantiques. Le changement de masse du trou noir, dû à l'énergie négative, serait alors noyé dans le bruit des fluctuations quantiques normales de la masse du trou noir, qui sont la conséquence naturelle du principe d'incertitude d'Heisenberg. Le spectacle de la singularité nue serait brouillé, si bien qu'un observateur lointain ne pourrait vérifier sans ambiguïté la violation de la censure cosmique. Avec Frans Pretorius, de l'Université



7. CET ESSAI DE CONTOURNEMENT des lois quantiques qui gouvernent l'énergie négative est voué à l'échec. L'expérimentateur tente de séparer une impulsion d'énergie négative de l'impulsion compensatoire d'énergie positive. Tandis que les impulsions s'approchent d'une boîte (a), l'expérimentateur cherche à isoler l'impulsion négative en fermant le couvercle dès qu'elle est entrée (b). Cependant la fermeture du couvercle crée une seconde impulsion d'énergie positive à l'intérieur de la boîte (c).

Michael Goodman

sions. Aussi les impulsions négatives et positives ne peuvent-elles jamais s'annuler exactement ; l'énergie positive dominera toujours. On nomme «intérêt quantique» cet effet de surcompensation. Autrement dit, si l'on considère l'énergie négative comme un prêt d'énergie, le prêt doit être remboursé avec les intérêts. Plus la période sur laquelle le prêt aura été accordé est longue, ou plus le montant du prêt est important, plus les intérêts sont élevés. En outre, plus le prêt est important, moins son remboursement peut être différé : Dame Nature est une banquière implacable qui n'épouge aucune dette.

Le concept d'énergie négative intervient dans de nombreux domaines de la physique : la gravitation, la théorie quantique, la thermodynamique. L'existence d'un lien entre ces domaines montre que les lois de la nature ont une structure logique contrainte. D'un côté, l'existence d'énergie négative semble être le seul moyen de relier les trous noirs

et la thermodynamique. D'un autre côté, la physique quantique interdit la production illimitée d'énergie négative, qui violerait le deuxième principe de la thermodynamique. Les physiciens cherchent aujourd'hui si ces restrictions font également partie intégrante d'une théorie sous-jacente plus puissante, telle une théorie unifiée de la gravitation. La nature, n'en doutons pas, nous réserve encore bien des surprises.

Lawrence FORD est professeur de physique à l'Université Tufts. Thomas ROMAN est professeur de physique à l'Université du Connecticut.

Jean-Pierre LUMINET, *Les trous noirs*, Éditions du Seuil, 1992.

Kip S. THORNE, *Black Holes and Time Warps : Einstein's Outrageous Legacy*, W.W. Norton, 1994.

Lawrence FORD et Thomas ROMAN, *Quantum Field Theory Constrains Traversable Wormhole Geometries*, in *Physical Review D*, vol. 53, n° 10, pp. 5496-5507, 15 mai 1996.

Matt VISSER, *Lorentzian Wormholes : From*

Einstein to Hawking, American Institute of Physics Press, 1996.

M.J. PFENNING et L.H. FORD, *The Unphysical Nature of Warp Drive*, in *Classical and Quantum Gravity*, vol. 14, n° 7, pp. 1743-1751, juillet 1997.

Paul DAVIES, *Paradox Lost*, in *New Scientist*, vol. 157, n° 2126, p. 26, 21 mars 1998.

Paul J. NAHIN, *Time Machines : Time Travel in Physics, Metaphysics, and Science Fiction*, seconde édition, AIP Press, Springer-Verlag, 1999.

Lawrence FORD et Thomas ROMAN, *The Quantum Interest Conjecture*, in *Physical Review D*, vol. 60, n° 10, article n° 104018 (8 pages), 15 novembre 1999.

L'horloge biologique

MICHAEL YOUNG

Des horloges internes commandent le métabolisme et les comportements des êtres vivants. On découvre qu'elles fonctionnent de manière analogue chez la mouche, chez la souris et dans l'espèce humaine.

Le 26 mars 2000, quand la France est passée à l'heure d'été, certains d'entre nous ont eu peine à s'adapter. Pourquoi? Et pourquoi les voyages en avion dérèglent-ils notre métabolisme? Parce que l'horloge biologique qui commande les cycles de l'organisme est alors perturbée; elle ne se règle qu'après plusieurs jours passés dans le nouvel environnement.

Les êtres humains ne sont pas les seuls à souffrir du décalage horaire, car la plupart des organismes vivants ont une horloge biologique. Que perturbent exactement les décalages horaires? Quels sont les mécanismes – physiologiques et moléculaires –

qui sous-tendent la périodicité du fonctionnement de l'organisme? Pour répondre à ces questions, nous exposons des drosophiles à des simulacres de décalages horaires. Ainsi, nous identifions et étudions les fonctions de plusieurs gènes qui constituent les ressorts et les engrenages de l'horloge biologique. Les gènes découverts, nous déterminons les protéines qu'ils codent: ces protéines seront des cibles potentielles de traitement contre les troubles du sommeil ou contre les dépressions saisonnières.

L'horloge humaine

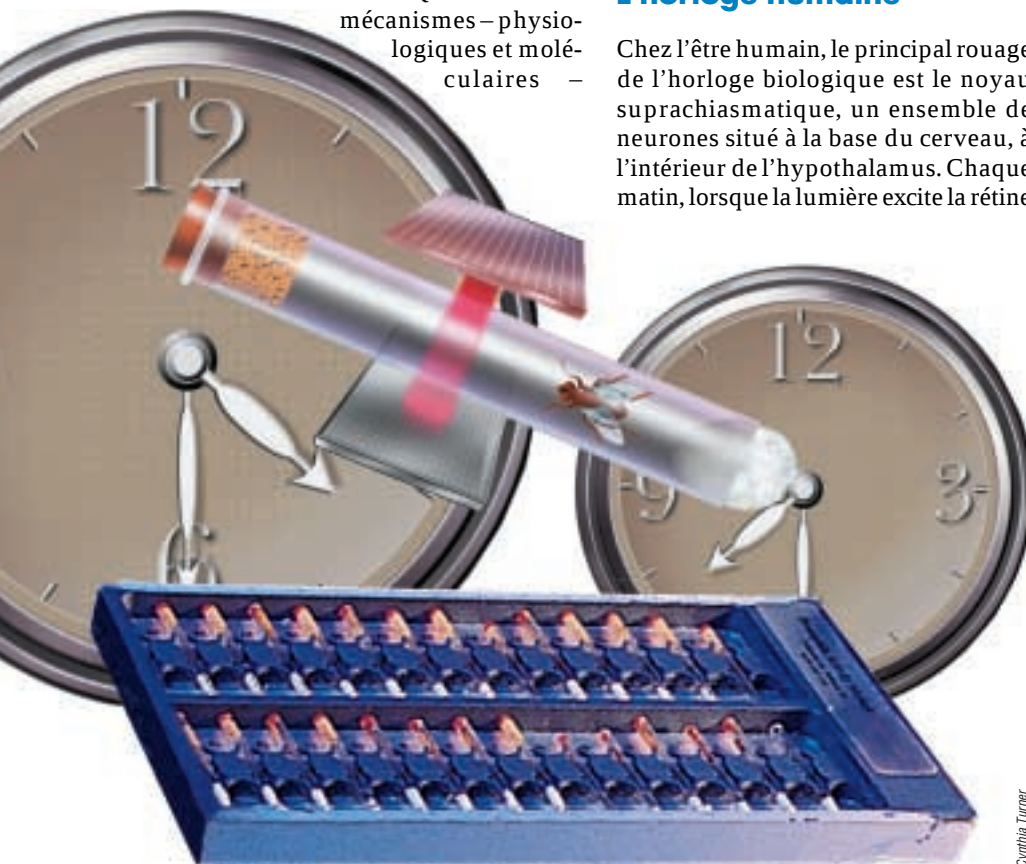
Chez l'être humain, le principal rouage de l'horloge biologique est le noyau suprachiasmatique, un ensemble de neurones situé à la base du cerveau, à l'intérieur de l'hypothalamus. Chaque matin, lorsque la lumière excite la rétine

de l'œil, des nerfs particuliers stimulent le noyau suprachiasmatique, qui commande alors la production de nombreuses substances biologiquement actives. Par exemple, il stimule une zone cérébrale voisine, l'épiphyse, qui synthétise de façon cadencée de la mélatonine, l'«hormone du sommeil». Plus la journée avance, plus l'épiphyse fabrique de mélatonine: la température corporelle diminue alors progressivement et l'organisme réclame le sommeil.

Bien que la lumière recale l'horloge biologique chaque jour, le rythme jour/nuit, ou rythme circadien, persiste chez des individus privés de lumière: l'activité du noyau suprachiasmatique est donc innée. Au début des années 1960, Jürgen Aschoff et ses collègues de l'Institut Max Planck, à Seewiesen, en Allemagne, avaient observé que des volontaires privés de repères temporels conservaient un cycle veille/sommeil de 25 heures environ.

Plus récemment, Charles Czeisler, Richard Kronauer et leurs collègues de l'Université Harvard ont montré que le cycle circadien de notre espèce est plutôt de 24 heures et 18 minutes: ils ont étudié 24 hommes et femmes, âgés de 20 à 60 ans, qui ont vécu plus de trois semaines dans un environnement sans autre repère de temps qu'un cycle lumière/pénombre peu contrasté de 28 heures et qu'un signal qui indiquait l'heure de se coucher.

En mesurant la température du corps et les concentrations sanguines en mélatonine et en cortisol (une hormone de stress dont la synthèse diminue le soir), les biologistes ont observé que, malgré la prolongation anormale de la durée diurne, les sujets continuaient de vivre selon leur propre horloge circadienne interne. Contrairement à ce que des études précédentes



Cynthia Turner

1. LES DROSOPHILES sont enfermées dans des tubes pourvus de nourriture et bouchés par du coton perméable à l'air. Disposés sur un plateau, les tubes sont traversés par un faisceau de lumière infrarouge qui détecte l'activité des insectes.

semblaient montrer, l'horloge biologique ne vieillit pas : chez les individus les plus âgés du groupe testé, les rythmes étaient aussi réguliers que chez les plus jeunes.

Toutefois, les études menées sur des individus isolés ne révèlent pas les mécanismes moléculaires de l'horloge biologique. Les biologistes préfèrent étudier les drosophiles (ou mouches du vinaigre), car elles ont une durée de vie brève et sont de petite taille : ainsi, en laboratoire, les biologistes en élèvent et en croisent des milliers jusqu'à l'apparition de mutations intéressantes, qu'ils favorisent grâce à des composés nommés mutagènes.

Le cycle des mouches

Les premières mouches mutantes dont les rythmes circadiens étaient altérés ont été identifiées au début des années 1970 à l'Institut de technologie de Californie : Ron Konopka et Seymour Benzer ont observé le comportement de 2 000 mouches parmi la descendance de quelques individus exposés à un

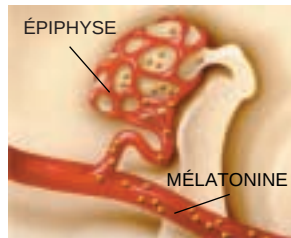
mutagène. Ils élevaient des drosophiles dans deux incubateurs de la taille d'un réfrigérateur. À l'intérieur, la lumière suit un rythme périodique, avec un « lever de soleil » à six heures du matin et un « coucher du soleil » à six heures du soir. Les deux incubateurs sont décalés de trois heures ; la température y est fixée à 25 degrés.

D'un incubateur à l'autre, les mouches effectuent des voyages simulés à l'intérieur de petits tubes de verre disposés sur des plateaux spéciaux qui suivent leurs mouvements grâce à un faisceau de lumière infrarouge. Les tubes contiennent de la nourriture, et un bouchon en coton laisse passer l'air (voir la figure 1). Chaque fois qu'une mouche se déplace dans le faisceau, elle projette une ombre sur un récepteur du plateau relié à un ordinateur qui enregistre l'activité. Un vol en avion de cinq heures est ainsi remplacé par un simple déplacement de quelques mètres.

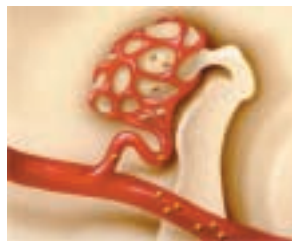
Grâce à ces appareillages, R. Konopka et S. Benzer ont découvert que la plupart des animaux gardaient un

rythme circadien normal de 24 heures, avec 12 heures d'activité et 12 heures de repos. Toutefois, trois mouches avaient un comportement anormal, dû à des mutations : l'une avait un cycle de 19 heures, une autre un cycle de 28 heures, et la troisième n'avait aucun rythme circadien (elle se reposait ou s'activait de façon aléatoire). Quels gènes avaient-ils été endommagés ?

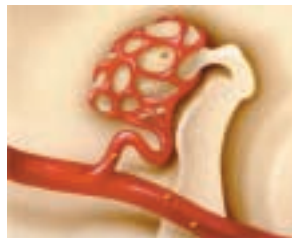
En 1984, trois équipes – dont la nôtre – ont identifié le gène muté chez les trois mouches anormales. Deux ans plus tard, nous avons montré que les trois mouches portaient trois altérations différentes de ce même gène, nommé *per*. Nous en avons déduit que la périodicité circadienne des mouches et la valeur exacte de la période dépendent de ce gène *per*. Agit-il seul ? En observant plus de 7 000 mouches, mes collègues Amita Sehgal et Jeffrey Price ont isolé une mouche dépourvue de rythme circadien, mais dont la mutation se trouvait sur le chromosome 2, alors que le gène *per* est sur le chromosome X. Le nouveau gène a été nommé *tim*.



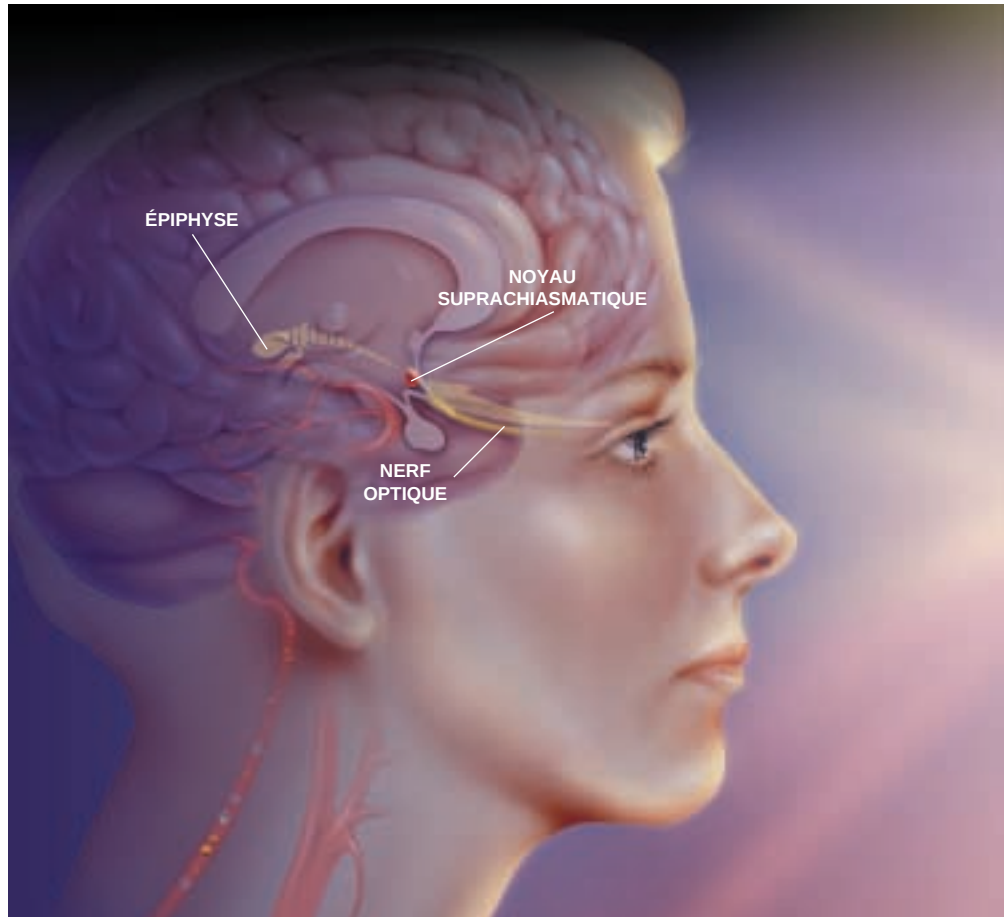
LE MATIN AVANT L'OUVERTURE DES YEUX



PEU APRÈS UNE EXPOSITION À LA LUMIÈRE



PLUS TARD DANS LA JOURNÉE



2. L'ŒIL, ÉCLAIRÉ PAR LA LUMIÈRE DU MATIN, envoie un signal, par le nerf optique, à une structure nommée noyau suprachiasmatique. Celui-ci transmet ensuite l'information à l'épiphyse, située

dans le cerveau (à gauche). Celle-ci réduit alors sa synthèse de mélatonine, une hormone qui joue un rôle dans l'induction du sommeil.

Les gènes sont des segments d'ADN qui contiennent, sous forme codée, les instructions avec lesquelles les cellules fabriquent les protéines. L'ADN ne quitte jamais le noyau de la cellule : les gènes sont «transcrits», c'est-à-dire copiés sous forme d'ARN

messenger, qui passe du noyau au cytoplasme, où les protéines sont ensuite fabriquées. À partir des gènes *per* et *tim*, nous avons synthétisé les protéines PER et TIM qu'ils codent. Réunies dans une même solution, ces deux protéines se liaient : nous avons

supposé qu'elles interagissaient à l'intérieur des cellules.

Les expériences suivantes l'ont confirmé : la production des protéines PER et TIM est réglée par une boucle de rétroaction. Plus précisément, l'activité des gènes *per* et *tim* persiste jusqu'à ce que les concentrations en protéines PER et TIM soient suffisamment élevées ; les deux protéines s'associent alors, formant des complexes qui pénètrent dans le noyau et y inhibent les gènes *per* et *tim*. Après quelques heures, des enzymes dégradent ces complexes, les gènes s'expriment de nouveau, et le cycle recommence.

Des horloges omniprésentes

Le cerveau n'est pas le seul organe responsable des rythmes circadiens. À l'Université d'Oregon, Jadwiga Giebultowicz a identifié des protéines PER et TIM dans les tubules malpighiens – l'analogue des reins – des drosophiles. La synthèse cyclique de ces protéines persiste chez des mouches décapitées : les cellules malpighiennes ne sont donc pas commandées par le cerveau.

De surcroît, en transférant à des mouches vivantes des gènes qui codent des protéines PER fluorescentes, Steve Kay et ses collègues de l'Institut de recherche Scripps ont montré que des horloges biologiques existent dans les ailes, les pattes, la région buccale et les antennes des drosophiles. Ces horloges fonctionnent même lorsque chaque tissu est dissocié de l'insecte.

Par ailleurs, en 1998, Ueli Schibler, à l'Université de Genève, a montré en 1998 que les gènes *per* des cellules de tissu conjonctif de rat suivent un cycle circadien.

La diversité des différents types de cellules soumis à une activité d'horloge circadienne indique que la correction du temps est suffisamment importante pour en garder la trace localement.



La tête d'une drosophile a plusieurs horloges biologiques : des cellules prélevées sur la région buccale et les antennes (*structures entre les yeux à facettes*) montrent la même réaction aux cycles de lumière et d'obscurité que celles du cerveau.

Remettre les pendules à l'heure

Comment cette horloge est-elle recalée par les signaux lumineux ? Chaque fois qu'une mouche est transportée d'un incubateur sombre à un incubateur éclairé, les protéines TIM présentes dans le cerveau disparaissent en quelques minutes. De plus, le type de décalage qu'elle subit détermine les quantités de leurs protéines TIM : chez les mouches transférées d'un incubateur où il est 20 heures, heure locale – il fait donc nuit – vers l'autre incubateur où le jour dure encore une heure, les protéines TIM disparaissent rapidement, puis s'accumulent de nouveau quand les lumières s'éteignent à 18 heures. Après avoir été stoppées, les horloges moléculaires des mouches s'adaptent à l'heure de la nouvelle zone.

À l'inverse, les mouches transportées d'un incubateur où il est quatre heures du matin vers le second incubateur, où il est sept heures, subissent un lever de soleil prématuré : la quantité de protéines TIM diminue également, mais sans augmenter ensuite, car l'horloge moléculaire est avancée par la lumière.

Nous avons exploré les mécanismes moléculaires de ces réactions en dosant les ARN messagers des protéines TIM en fonction du moment de la journée : leur synthèse est maximale vers 20 heures et minimale entre six et huit heures du matin. La transcription d'ARN messenger d'une mouche déplacée d'un incubateur à 20 heures vers un incubateur à 17 heures est maximale : ainsi, les protéines qui ne sont pas synthétisées après l'exposition à la lumière dans le second incubateur sont remplacées après le coucher du soleil.

24 heures de la vie d'un organisme

À une heure...

- Le travail de l'accouchement commence souvent.
- La quantité de globules blancs nommés lymphocytes *T* auxiliaires est maximale.

À deux heures...

- La quantité d'hormone de croissance est très élevée.

À quatre heures...

- Les crises d'asthme sont les plus fréquentes.

À six heures...

- Les règles commencent souvent.
- La quantité d'insuline dans le sang est minimale.
- La pression sanguine et le rythme cardiaque augmentent.
- La quantité de cortisol (l'hormone du stress) augmente.
- La quantité de mélatonine diminue.

À sept heures...

- Les symptômes du rhume des foins sont les plus marqués.

À huit heures...

- Le risque d'infarctus et d'attaque cardiaque est maximal.
- La sensibilité aux douleurs de l'arthrite rhumatoïde est accrue.
- La quantité de lymphocytes *T* auxiliaires est minimale.

À midi...

- La quantité d'hémoglobine dans le sang est maximale.

À 15 heures...

- La cadence respiratoire est maximale.

À 16 heures...

- La température corporelle, le rythme cardiaque et la pression sanguine sont au maximum.

À 18 heures...

- Le débit urinaire est maximal.

À 21 heures...

- Le seuil de la douleur est minimal.

À 23 heures...

- Les manifestations allergiques sont probables.

En revanche, une mouche qui passe instantanément de quatre heures à sept heures du matin n'a que peu d'ARN messagers *tim* : le lever de soleil précoce élimine la protéine TIM ; le cycle circadien suivant est anticipé.

Des mouches, des souris et des hommes

L'ensemble de ce travail portait sur des mouches, mais des mécanismes analogues avaient-ils lieu chez les mammifères et, notamment, chez

les êtres humains ? En 1997, les équipes de Hajime Tei, à l'Université de Tokyo, de Hitoshi Okamura, à l'Université de Kobe, et, indépendamment, celle de Cheng Chi Lee, au Collège de médecine Baylor, ont isolé les analogues du gène *per* chez la souris et chez l'espèce humaine. Puis, en 1998, on trouvait des analogues des gènes *tim*. Présents dans toutes les cellules de l'organisme, ces gènes s'exprimaient dans le noyau suprachiasmatique. Comment ces gènes sont-ils activés ?

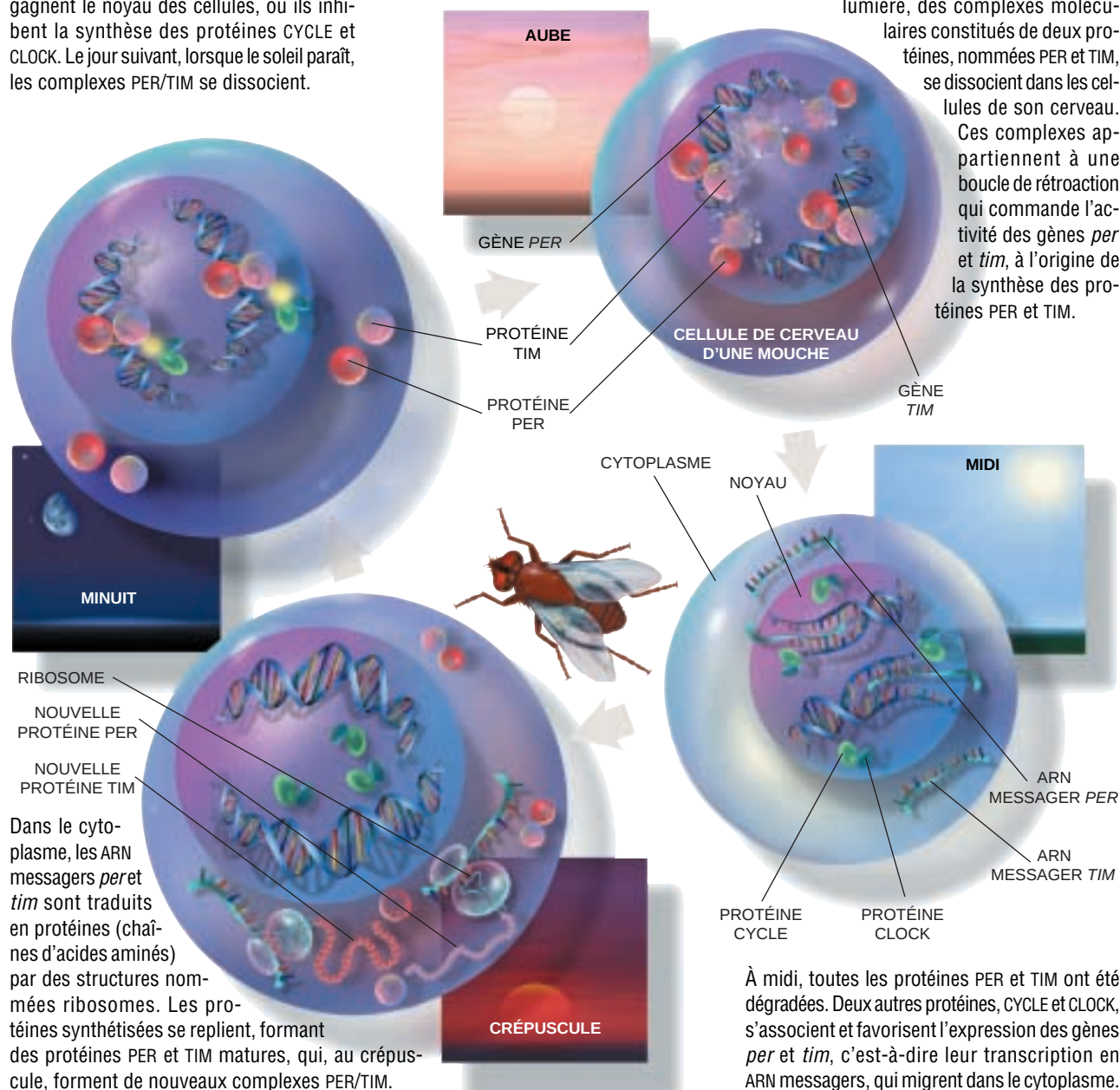
En 1997, Joseph Takahashi et ses collègues de l'Institut médical Howard Hughes ont isolé du génome de souris un gène, nommé *clock* (« horloge » en anglais) qui, lorsqu'il est muté, supprime le rythme circadien des souris. Ce gène code un facteur de transcription, c'est-à-dire une protéine qui se lie à l'ADN et lui permet d'être transcrit en ARN messager.

Peu après, une version du gène *clock* a été isolée chez la drosophile. En introduisant des combinaisons des gènes *per*, *tim* et *clock* dans des cellules

L'horloge biologique d'une drosophile

Pendant la nuit, les complexes PER/TIM gagnent le noyau des cellules, où ils inhibent la synthèse des protéines CYCLE et CLOCK. Le jour suivant, lorsque le soleil paraît, les complexes PER/TIM se dissocient.

Quand une mouche est exposée à la lumière, des complexes moléculaires constitués de deux protéines, nommées PER et TIM, se dissocient dans les cellules de son cerveau. Ces complexes appartiennent à une boucle de rétroaction qui commande l'activité des gènes *per* et *tim*, à l'origine de la synthèse des protéines PER et TIM.



Cynthia Turner

Des horloges de plus en plus complexes

Plusieurs découvertes ont récemment précisé les mécanismes génétiques de l'horloge biologique. D'une part, le gène est subdivisé en gène *per1*, *per2*, *per3*. D'autre part, l'équipe de Norio Ishida, de l'Institut Tsukuba, a montré que le gène *per2* est exprimé dans les tissus périphériques tel le foie, les poumons, les reins... avec un rythme différent selon les tissus. Cependant, les expressions des trois gènes sont commandées par le noyau supra-chiasmatique : la lésion de ce noyau entraîne la disparition de tous les rythmes, y compris ceux des tissus périphériques. Ces auteurs supposent qu'un facteur encore inconnu, transporté par le sang, assure cette dépendance.

Par ailleurs, Gijsbertus Van der Horst, de l'Université de Rotterdam, a montré que deux protéines, nommées *cry1* et *cry2*, de la famille des cryptochromes, des pigments bleus, sont synthétisées dans certaines cel-

lules de la rétine, et jouent un rôle important dans la régulation de l'horloge biologique (voir *Pour la Science*, juillet 1999).

De surcroît, selon Manuel Field, de l'Université de Cambridge, à l'inverse de ce que l'on a cru lors de la découverte des gènes *per*, les mécanismes de régulation de l'horloge biologique de la drosophile sont différents de ceux des mammifères.

Enfin, la mélatonine est synthétisée uniquement la nuit, aussi bien chez les espèces diurnes que nocturnes : elle n'est donc pas une hormone du sommeil. Pour certains neurobiologistes, elle serait plutôt un signal d'information sur le moment du jour ou de la nuit. Toutefois, de nombreuses lignées de souris n'ont pas de mélatonine et suivent pourtant des rythmes jour / nuit très prononcés. Les rôles de la mélatonine restent donc encore à définir.

Jean-Louis VALATX,
Unité INSERM U480, Lyon.

de mammifères et de mouches, les généticiens ont montré que la protéine CLOCK se fixe sur le gène *per* de souris et sur les gènes *per* et *tim* des mouches.

Ainsi, chez les mouches, dont les horloges sont les mieux comprises, la protéine CLOCK s'associe à une protéine codée par un gène nommé *cycle*, et elle active les gènes *per* et *tim* quand les protéines PER et TIM sont absentes du noyau. Ces quatre gènes et leurs protéines constituent le cœur de l'horloge biologique des mouches ; avec quelques modifications, ce système gouverne également les rythmes circadiens de la plupart des animaux.

Depuis peu, Steve Reppert et ses collègues de l'Université Harvard explorent les signaux spécifiques qui relient les horloges biologiques de la souris et de divers comportements

modulés par ces horloges. Certains gènes semblent être activés par la protéine CLOCK, alors que les protéines PER et TIM inhibent cette fixation pendant la boucle de rétroaction : ils instaurent ainsi un cycle d'activité génétique.

Nous espérons découvrir d'autres gènes commandés par cette horloge dans des organismes telles les drosophiles et les souris. Nous découvrirons alors sans doute des protéines, dont les gènes n'ont pas encore été identifiés, qui agissent sur le comportement. L'une d'elles, ou bien un composant de l'horloge moléculaire elle-même, deviendra peut-être une cible pour des médicaments destinés à soulager le décalage horaire, les effets secondaires du travail en horaires décalés ou, encore, des troubles du sommeil et des dépressions qui y sont associées.

Michael YOUNG est professeur de génétique et directeur de laboratoire à l'Université Rockefeller.

Michael W. YOUNG, *The Molecular Control of Circadian Behavioral Rhythms and Their Entrainment in Drosophila*, in *Annual Review of Biochemistry*, vol. 67,

pp. 135-152, 1998.

Jay C. DUNLAP, *Molecular Bases for Circadian Clocks*, in *Cell*, vol. 96, n° 2, pp. 271-290, 22 janvier 1999.

J. WEINER, *Time, Love, Memory : A Great Biologist and His Quest for the Origins of Behavior*, Alfred Knopf, 1999.

