

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

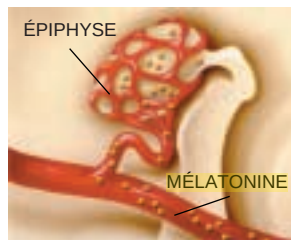
mutagène. Ils élevaient des drosophiles dans deux incubateurs de la taille d'un réfrigérateur. À l'intérieur, la lumière suit un rythme périodique, avec un « lever de soleil » à six heures du matin et un « coucher du soleil » à six heures du soir. Les deux incubateurs sont décalés de trois heures ; la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

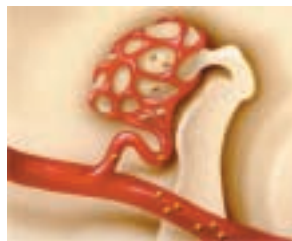
Grâce à ces appareillages, R. Konopka et S. Benzer ont découvert que la plupart des animaux gardaient un

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 ?

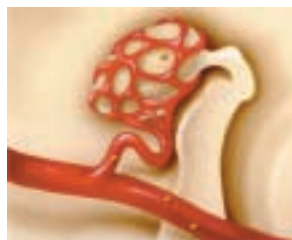
En 1984, trois équipes – dont la nôtre – ont identifié le gène muté chez les trois mouches anormales. Deux ans plus tard, nous avons montré que les trois mouches portaient trois altérations différentes de ce même gène, nommé *per*. Nous en avons déduit que la périodicité circadienne des mouches et la 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*.



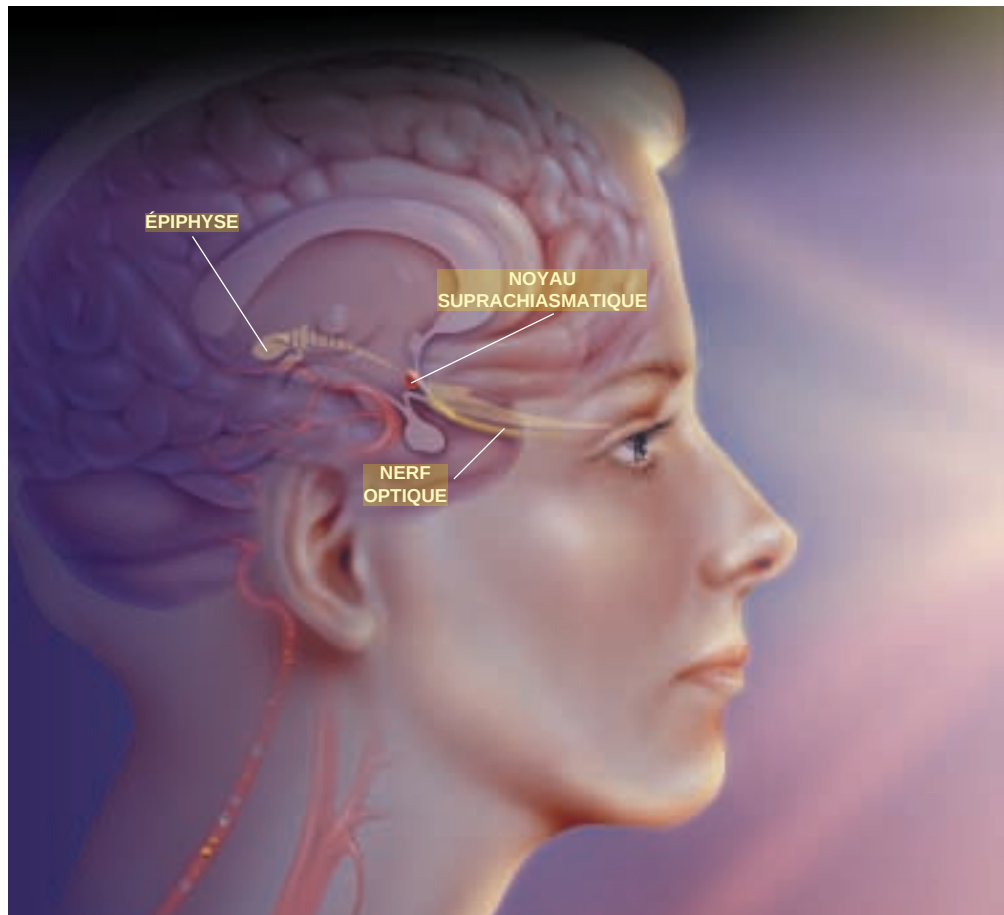
LE MATIN AVANT L'OUVERTURE DES YEUX



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.