

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'analogie 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.

