

# RYTHMES

Bulletin du Groupe d'Étude des Rythmes Biologiques

Tome 38 - Numéro 2

Juin 2007

## Éditorial

*Dans quelques mois, nous allons nous réunir à Paris à l'occasion de notre congrès annuel.*

**J**e suis certain que ce congrès, comme les précédents, sera une nouvelle occasion de réunir toutes celles et tous ceux qui sont « fascinés » par notre discipline. Je remercie ici Fabienne Aujard et ses collègues pour avoir su mettre sur pied un programme scientifique très attractif.

Le recrutement dans divers laboratoires de jeunes scientifiques spécialistes des rythmes doit être noté. Ces jeunes scientifiques qui rentrent de séjours post-doctoraux souvent très longs, renforcent les laboratoires et surtout apportent un dynamisme et un grand renouveau. Ces jeunes cadres intègrent non seulement des labos « rythmes » mais aussi développent de nouvelles équipes dans diverses structures scientifiques. De ce fait, ils participent directement à la diffusion des notions de « rythmes biologiques » dans tous les aspects de la biologie moderne. Le franc succès du symposium «From molecular clocks to human health» lors du dernier congrès de la Société des Neurosciences à Montpellier atteste de cette évolution. C'est une évolution lourde et si notre Société la SFC souhaite continuer à jouer son rôle, elle doit accompagner cette évolution. Nos rencontres annuelles doivent être le lieu de regroupement de toutes les forces vives de notre discipline, y compris celles qui évoluent dans un univers différent du nôtre. Nous devons continuer et amplifier la politique d'attractivité des jeunes et des nouveaux cadres, politique initiée les années passées.

Les Sociétés scientifiques sont devenues des éléments majeurs de stratégie scientifique. Que le congrès annuel de la Société des Neurosciences Américaines soit devenu le rendez-vous mondial de tous les neuroscientifiques n'est pas neutre. Le congrès de la SFC doit

(Suite page 26)

<http://www.sf-chronobiologie.org>

## Sommaire

**Éditorial** 25

### Article

Voies de régulations des acteurs moléculaires de l'Horloge circadienne des Mammifères  
B. Tournier 28

### Annonces de congrès

Manifestations Scientifiques 51, 54 et 55  
39<sup>ème</sup> Congrès de la SFC 52

### Rubriques

Mise à jour de l'annuaire électronique 26  
Notre site Web 27  
Chronobiologistes... 56



(Suite de la page 25)

devenir l'espace de rencontre privilégiée des chronobiologistes francophones. Je lance donc un appel pour que chacun d'entre nous se mobilise. Nous devons identifier les jeunes scientifiques qui abordent le questionnement de la rythmicité biologique dans les diverses disciplines et les convaincre de participer.

Je suis certain que le congrès 2007 de la SFC sera, comme les précédents, une nouvelle étape importante dans la vie de notre Société



Strasbourg, Juin 2007

**Paul Pévet,  
Président**



## *Vos coordonnées accessibles sur le site de la SFC*

M, Mme, Mlle, Prénom, Nom :

Tel:

Fax:

Titres, fonctions

Courriel :

Adresse :

Mots clefs :

**Pensez à actualiser vos données**

*Utilisez ce formulaire pour une première inscription ;*

*Modifiez vos données en ligne si nécessaire (voir page 27).*

**Etienne CHALLET**, Secrétaire Général de la SFC  
Laboratoire de Neurobiologie des Rythmes  
CNRS UMR7168/LC2, Université Louis Pasteur  
5 rue Blaise Pascal, 67084 STRASBOURG Cedex  
Tel: 03.88.45.66.93; Fax: 03.88.45.66.54  
e-mail: [challet@neurochem.u-strasbg.fr](mailto:challet@neurochem.u-strasbg.fr)

# Visitez régulièrement le site Web de la SFC

Le site de la Société Francophone de Chronobiologie est consultable à l'adresse

<http://www.sf-chronobiologie.org>

Tout comme l'ancien site, il comporte une présentation de la société et de ses activités ainsi qu'un annuaire de ses membres. Chaque membre recevra un courrier avec un nom de login et un mot de passe personnel qui lui donnera un accès personnel pour notamment modifier sa fiche. Le site constitue aussi une riche source d'informations sur la recherche et l'enseignement qui portent sur la chronobiologie, ainsi que sur l'actualité de cette discipline. Je vous laisse explorer le site de manière plus approfondie et compte sur vous tous pour l'alimenter régulièrement et le faire vivre longtemps !

Sophie LUMINEAU

**Société Francophone de Chronobiologie**  
L'étude des rythmes du monde vivant

Mercredi 21 Mars 2007

Accueil | La SFC | Actualités | Annonces | Bibliographie | Espace membre | Services | Liens

Recherche  
[Barre de recherche] [Rechercher]

> recherche avancée

- A propos de la SFC
- Les activités de la SFC
- Actualités
- Annonces
- Bibliographie
- Espace membres
- Forums
- L'annuaire des membres
- Description des services
- Liens

[Développer le menu]

**Bienvenue sur le site de la SFC.**

La Société Francophone de Chronobiologie est heureuse de vous accueillir sur son nouveau site. Prenez le temps de naviguer pour découvrir au fil des pages la SFC, son histoire et ses activités...  
...à votre rythme.

Membre? > **Vous identifier**

**Qui sommes-nous**

- ♦ Découvrez la Société Francophone de Chronobiologie, ses buts et activités sur les pages de présentation.

**Consulter**

- ♦ La revue 'Rythmes'. Découvrez la revue publiée par la SFC.
- ♦ Les événements à venir. Colloques, congrès ou émissions en rapport avec la chronobiologie...
- ♦ Les annonces en ligne. Offres d'emplois, de stages, sujets de thèses...

**A la une**

- ♦ **Second International Congress of Applied Chronobiology and Chronomedicine**  
Deuxième Congrès International de Chronobiologie Appliquée et Chronomédecine, Tunisie, du 23 au 28 Mars 2007.
- ♦ **Gordon Research Conference on Chronobiology**  
La prochaine "Gordon Conference" en chronobiologie se déroulera en Savoie
- ♦ **"From molecular clocks to human health": 3th Satellite Meeting of the IBRO World Congress of Neuroscience**  
Un congrès satellite de chronobiologie aura lieu en Juillet 2007 à Adélaïde (Australie), juste avant le congrès IBRO
- ♦ **5th International congress of the world federation of sleep research and sleep medicine societies**  
Le prochain congrès des fédérations de sociétés sur le sommeil se déroulera à Cairns (Australie) en septembre 2007
- ♦ **39e congrès de la Société Francophone de Chronobiologie**  
Le prochain congrès annuel de notre Société aura lieu à Paris en septembre 2007
- ♦ **72nd Cold Spring Harbor Laboratory Symposium: Clocks & Rhythms**  
Le 72e congrès du Cold Spring Harbor Laboratory portera sur les horloges et les rythmes
- ♦ **4ème Université d'Été Francophone en Santé Publique: Module "RYTHMES BIOLOGIQUES"**  
La 4ème Université d'Été Francophone en Santé Publique aura lieu à BESANCON du 01 au 6 juillet 2007
- ♦ **Prix 2007 "Jeune chercheur, Jeune chercheuse" de la SFC**  
Déposez votre dossier de candidature si vous avez moins de 35 ans !
- ♦ **Bourses de voyage pour participer au 39e congrès de la SFC**  
Postulez si vous êtes en post-doc à l'étranger !

Accueil | Infos Médiales | Compatibilité  
Copyright © Didier Dourand - 2004

## Comment actualiser ses coordonnées sur le site.

Si vous connaissez votre identifiant et votre mot de passe, aller dans [Espace membres](#) et entrer l'identifiant et votre mot de passe, puis suivre les instructions.

Si vous n'avez pas encore votre identifiant et votre mot de passe, vérifier d'abord que vous êtes bien enregistré dans l'annuaire [Annuaire des membres](#) et cliquer sur la lettre initiale du nom. Noter le mail sous lequel vous êtes enregistré.

Aller dans [Espace membres](#) et cliquer sur [Login/Mot de passe oublié?](#) ; on vous demande alors le mail sous lequel vous êtes enregistré, et vous recevrez alors votre identifiant et votre mot de passe.

# Voies de régulations des acteurs moléculaires de l'Horloge circadienne des Mammifères



Benjamin B. Tournier

Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives,  
Département de Neurobiologie des Rythmes, UMR/LC2 7168 CNRS,  
Université Louis Pasteur, Strasbourg,

bentournier@yahoo.fr

## Sommaire

- 1 Régulation transcriptionnelle
  - A de l'importance des histones
  - B e-box element
  - C cAMP response element
  - D rev-erba/ROR response element
  - E dbp-binding site & e4bp4-binding site
  - F conclusion
- 2 Régulation post-transcriptionnelle
  - A poly(a) ribonucléase
  - B nocturnin
- 3 Régulation traductionnelle
- 4 Régulation post-traductionnelle
  - A caséine kinases
  - B mitogen-activated protein kinase
  - C protéine kinase g de type ii
  - E glycogène synthase kinases 3
  - E sumoylation
  - F complexe du protéasome
  - G conclusion
- 5 Conclusions des régulations

Le modèle couramment accepté de boucles de régulation (voir l'article dans l'édition précédente) suggère que l'activation de l'expression des gènes intervienne à travers l'action du dimère CLOCK/BMAL1 au niveau de leur région promotrice. Cependant, ce modèle de régulation ne peut être effectif que dans les cas où les gènes cibles sont sous le contrôle exclusif de CLOCK/BMAL1 et, de ce fait, lorsque leur activité basale, en l'absence de ce dimère, est faible ou nulle. En réalité, la région promotrice des gènes cibles du dimère activateur contient de multiples autres sites pour d'autres facteurs de transcription qui pourraient également participer à la régulation de l'activité transcriptionnelle. Ainsi, en plus des contrôles et rétro-contrôles par les produits des gènes horloges, de nombreux autres acteurs interviennent. De nombreuses études de la régulation de l'expression des gènes horloges ont montré des **régulations géniques** comme la régulation de la forme de la chromatine par phosphorylation des histones, des **régulations transcriptionnelles**, avec par exemple des *enhancers* et des *silencers* régulant l'activité transcriptionnelle ou encore par **régulations post-traductionnelles** comme les phosphorylations des protéines horloges, leurs dégradations spécifiques et la formation de dimères (pour revues [Reppert &](#)

[Weaver, 2002](#) ; [Lowrey & Takahashi, 2004](#)). Ces différentes régulations permettent un contrôle précis de l'équilibre synthèse/dégradation des protéines/ARNm, formant "l'équilibre dynamique des constituants de la matière vivante" ([Schoenheimer, 1942](#)) et, dans notre cas précis, l'équilibre entre les voies activatrices/inhibitrices des boucles moléculaires permettant l'activation ou l'inhibition des "gènes contrôlés par l'horloge" (CCG, clock controlled genes). Nous nous intéresserons ici à présenter ces différents niveaux de régulation.

## Régulation Transcriptionnelle

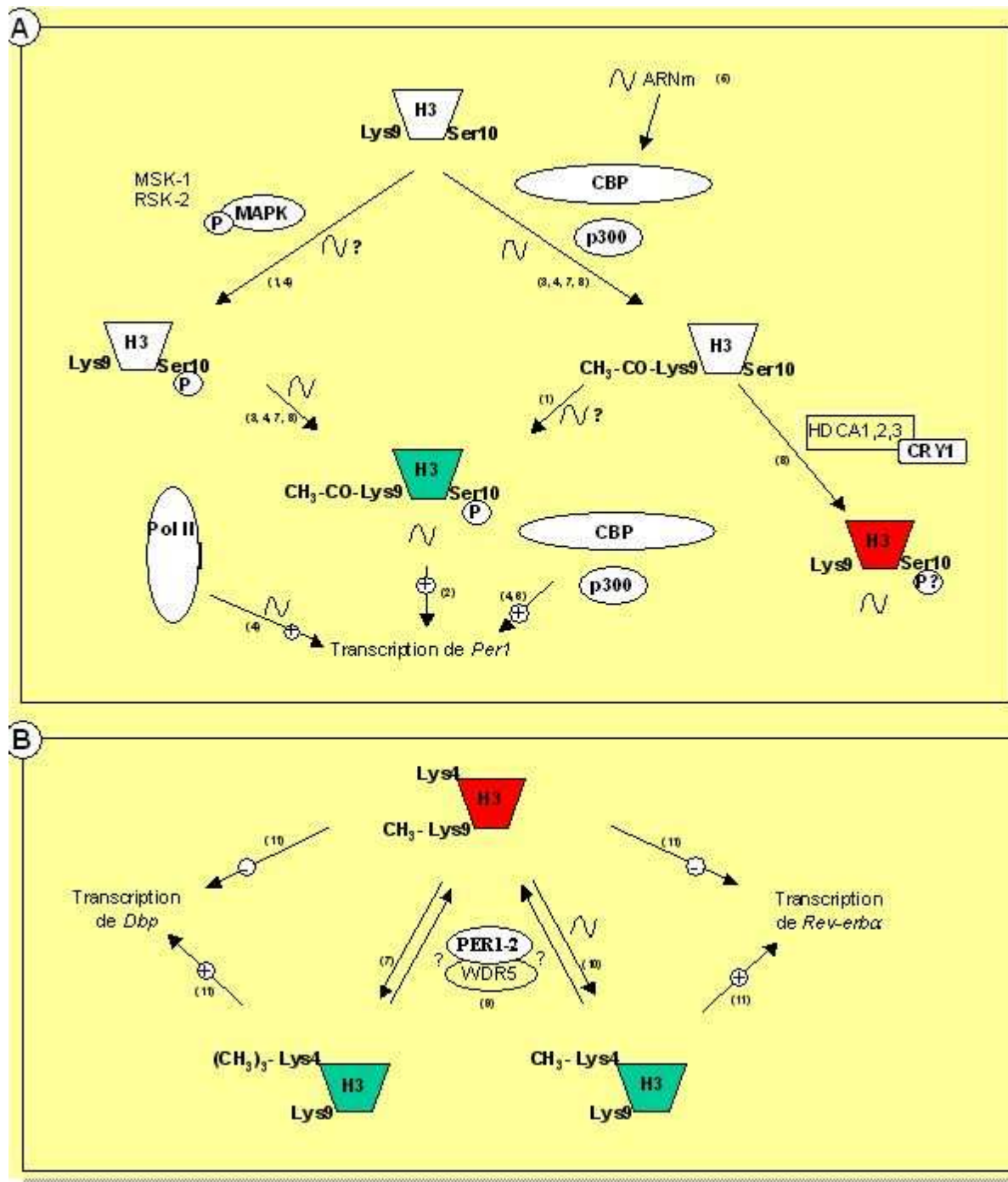
La régulation des quantités d'ARNm de *Per* par l'activité transcriptionnelle, supposée depuis 1990 ([Hardin et al., 1990](#)), a été mise en évidence chez la drosophile avant même que l'on identifie les principaux acteurs ([Hao et al., 1997](#)). La découverte de CLOCK et BMAL1 et de leur action par l'intermédiaire d'une E-box sur l'activation de la transcription de *Per1* ([Gekakis et al., 1998](#) ; [Hogenesch et al., 1998](#)) a permis d'établir le premier modèle de régulation de la transcription des gènes horloges. Depuis, d'autres facteurs activateurs ou inhibiteurs ont été mis en évidence.

### De l'importance des histones

Les histones font partie des protéines qui possèdent les domaines les plus conservés entre espèces ([van Holde et al., 1988](#)). Une unité nucléosomale est formée de différentes histones nommées H2<sub>A</sub>, H2<sub>B</sub>, H3 et H4 ([Kornberg, 1974](#)) et permet principalement par changement de conformation, de réguler l'accès à la chromatine et donc la transcription (pour revue, [Workman & Kingston, 1998](#)). Cependant, à l'heure actuelle, un rôle dans la régulation de la transcription de gènes horloges n'a été montré que pour les histones H3 et H4. Parmi les modifications possibles des histones ([Strahl & Allis, 2000](#)), H3 subit une phosphorylation et une méthylation et, comme H4, une acétylation, qui conduisent toutes à une augmentation de l'activité transcriptionnelle. Les mécanismes intervenant dans le contrôle de l'activité de H3 sont schématisés [figure 1](#).

La phosphorylation de H3 en Ser10, en réponse à un stimulus, s'effectue à une vitesse comparable à celle de l'induction des IEG ("Immediated early genes") et fait intervenir la voie des MAP kinases et

(Suite page 29)



**Figure 1 : Régulations de l'activité de l'histone H3 par phosphorylation, acétylation et méthylation.**

Synthèse des modes de régulation de l'activité de l'histone H3 par phosphorylation et acétylation (A) et par méthylation (B). CBP, CREB binding protein; HDAC, histones déacétylases; Lys, Lysine (K dans le texte); MSK-1, MAP and stress-activated kinase-1; NONO, Non-POU-domain-containing octamer-binding protein; RSK-2, Ribosomal protein S6 kinase-2; Ser, Sérine (S dans le texte); WDR5, WD40-repeat protein 5. Pour plus d'explications, se référer au texte. (1) Thomson *et al.*, 1999; Sassone-Corsi *et al.*, 1999; Crosio *et al.*, 2000; (2) Cheung *et al.*, 2000a; (3) Cheung *et al.*, 2000b; Lo *et al.*, 2000; Curtis *et al.*, 2004; (4) Etchegaray *et al.*, 2003; (5) Fiore & Gannon, 2003; (6) Takahata *et al.*, 2000; (7) Ripperger & Schibler, 2006; (8) Naruse *et al.*, 2004; (9) Wysocka *et al.*, 2003; Brown *et al.*, 2005; (10) Brown *et al.*, 2005; (11) Lachner & Jenuwein, 2002; Santos-Rosa *et al.*, 2002.

(Suite de la page 28)

plus particulièrement des kinases MSK-1 ("MAP- and stress-activated kinase-1") et RSK-2 ("Ribosomal protein S6 kinase-2", Thomson *et al.*,

1999 ; Sassone-Corsi *et al.*, 1999). La forme phosphorylée de l'histone H3 permet une augmentation de l'activité transcriptionnelle mais son mode d'ac-

(Suite page 30)

(Suite de la page 29)

tion reste inconnu. L'une des hypothèses est que la phosphorylation de H3 permet un apport supplémentaire en charges négatives en N-ter ce qui modifierait les interactions électrostatiques avec l'ADN (chargé négativement) permettant alors un éloignement de H3 et donc une facilité d'accès pour les facteurs de transcription (Cheung *et al.*, 2000a). Cependant, selon les auteurs, les avis divergent quant à l'existence (Etchegaray *et al.*, 2003) ou non (Crosio *et al.*, 2000) d'un rythme de phosphorylation de l'histone H3. De nouvelles expériences sont nécessaires pour comprendre plus précisément quel est le rôle de la phosphorylation de H3 sur l'expression des gènes horloges. Néanmoins, il apparaît que les histones acétyltransférases (HATs) ont une interaction préférentielle avec H3 phosphorylée (Cheung *et al.*, 2000b ; Lo *et al.*, 2000) et permettent son acétylation.

Les HATs permettent une variation circadienne de l'acétylation des histones au niveau des promoteurs de *Per1* (H3 et H4) et de *Per2* (H3) avec un pic en phase avec les pics d'ARNm de ces gènes (Etchegaray *et al.*, 2003 ; Curtis *et al.*, 2004 ; Naruse *et al.*, 2004). Deux protéines possédant une activité HAT intrinsèque semblent intervenir dans le contrôle de la transcription de gènes horloges : CBP ("CREB binding protein") et p300. Elles présentent toutes deux des variations circadiennes d'expression mais avec une amplitude d'oscillation faible, 20%, entre le milieu de jour et le milieu de nuit (Fiore & Gannon, 2003) et semblent interagir avec BMAL1 par leur site de fixation de CREB pour augmenter l'activité transcriptionnelle (Takahata *et al.*, 2000). Par contre, seule p300 co-précipite avec CLOCK avec une diminution de la quantité de complexes p300-CLOCK de cinq fois entre CT6 (milieu de jour) et CT18 (milieu de nuit) ce qui pourrait être en partie à l'origine de la diminution d'acétylation de H3 et donc de la diminution de l'activité transcriptionnelle. De plus, *in vitro*, la transactivation médiée par CLOCK/BMAL1 est induite de façon dose dépendante par p300 mais est diminuée de 80% en présence de CRY1 ou de CRY2 (Etchegaray *et al.*, 2003). Lorsque la transcription de *Dbp* est active, l'histone H3 présente en lysine 9 (H3<sub>K9</sub>) une acétylation et une diméthylation lorsque CLOCK/BMAL1 n'est plus fixé au promoteur et que la transcription est de ce fait inactivée (Ripperger & Schibler, 2006). Les HDAC ("Histones déacétylases") provoquent l'effet inverse de celui des HATs et ne présentent pas d'activité cyclique mais trois d'entre-elles (HDAC1,2,3) forment un complexe avec CRY, avec un minimum de fixation sur le promoteur de *Per1*, en fin de nuit et début de jour (Naruse *et al.*, 2004). Enfin, la fixation de la polymérase II sur les promoteurs de *Per1* et *Per2* présente également des variations circadiennes, en phase avec le pic d'acétylation de H3 (Etchegaray *et al.*, 2003).

L'étude de la phosphorylation et de l'acétylation des histones (figure 1A) n'a porté jusqu'à présent que sur les promoteurs de *Per1*, *Per2* et *Dbp*. A l'inverse, l'étude de la méthylation de H3 (figure 1B) concerne essentiellement la régulation de *Dbp* et de *Rev-erba*. Par co-précipitation avec PER1 et PER2, deux facteurs ont été mis en évidence : NONO ("Non-POU-domain-containing, octamer-binding protein", faisant partie des "Rna and Dna Binding Protein") et WDR5 ("WD40-repeat protein 5", avec W pour le tryptophane et D pour l'aspartate) (Brown *et al.*, 2005). D'expression non rythmique, ils peuvent intervenir respectivement dans la répression de la transcription et dans la méthylation des histones (Shav-Tal & Zipori, 2002 ; Wysocka *et al.*, 2003). A partir de cultures cellulaires, Brown et coll. (2005) montrent que la méthylation de H3 sur sa lysine 4 (H3<sub>K4</sub>) au niveau du promoteur de *Rev-erba* est rythmique, en phase avec la transcription de *Rev-erba* et en opposition de phase avec la méthylation de H3 sur sa lysine 9 (H3<sub>K9</sub>). Il a été montré que H3<sub>K4</sub> et H3<sub>K9</sub> ont des effets respectivement activateurs et répresseurs de la transcription (Lachner & Jenuwein, 2002 ; Santos-Rosa *et al.*, 2002) et pourraient alors participer au contrôle de la transcription de *Rev-erba*. Quant à NONO, son inhibition par SiRNA ("Small interfering RNA") permet d'augmenter les niveaux d'ARNm de *Bmal1* et de diminuer ceux de *Rev-erba*. Des études complémentaires seront nécessaires pour préciser le rôle de WDR5 et de NONO en particulier dans leur possible compétition pour activer/inhiber *Rev-erba*. Des résultats récents confirment le rôle des méthylations en H3<sub>K4</sub> dans le cas du gène *Dbp*. En effet, H3 présente une triméthylation en K4 et une diméthylation en K9 lorsque sa transcription est active et inhibée, respectivement (Ripperger & Schibler, 2006), confirmant ainsi les travaux effectués sur le promoteur de *Rev-erba* (Brown *et al.*, 2005). De plus, les auteurs ont montré que la fixation du dimère CLOCK/BMAL1 sur le promoteur de *Dbp* s'effectue en parallèle de l'activation de H3. Ceci suggère donc un rôle par le dimère CLOCK/BMAL1 sur l'état d'activité des histones. Or, il a justement été montré que CLOCK possède une activité HAT intrinsèque et stimulée par BMAL1 (Doi *et al.*, 2006).

Ainsi, le contrôle de la balance entre les formes activées (K4<sub>(CH3)3</sub>; K9<sub>CO-CH3</sub>; S10<sub>P</sub>) et inactivées (K4<sub>(CH3)2</sub>; K9; S10) de l'histone H3, couplé avec la fixation de différents acteurs de l'horloge (CLOCK/BMAL1) semble être un mécanisme général au contrôle de l'expression des gènes horloges.

#### **E-box Element**

Nous avons expliqué dans l'article précédent (mars 2007) que la présence d'E-box permet au dimère CLOCK/BMAL1 de se fixer et d'activer la transcription. Ainsi, plusieurs groupes de recherche ont tenté

(Suite page 31)

(Suite de la page 30)

de déterminer quels gènes possèdent des E-box et surtout quelles en sont les conséquences. Les gènes de la boucle positive, *Clock* et *Bmal1*, en sont dépourvus, et n'agissent donc pas (directement) sur leur propre transcription. En revanche, dans les promoteurs des gènes des boucles négatives, plusieurs E-box ont été mises en évidence. Des divergences existent cependant entre les études. Pour certains auteurs, le promoteur murin de *Per1* possède au total 3 E-box (Gekakis *et al.*, 1998 ; Travnickova-Bendova *et al.*, 2002) alors que pour d'autres, 2 E-box supplémentaires ont été décrites, plus éloignées encore du site d'initiation de la transcription (Hida *et al.*, 2000 ; Yamaguchi *et al.*, 2000a). *In vitro*, par rapporteur luciférase, une activation de la transcription de *Per1* apparaît proportionnelle au nombre d'E-box présentes (Hida *et al.*, 2000). Mais, ***in vivo*, ces 5 E-box permettent la présence d'un épissage alternatif de *Per1*** au niveau de son premier exon : l'exon 1<sub>A</sub> serait précédé de 2 E-box et le 1<sub>B</sub> des 3 autres. Il en résulterait la formation de deux types d'ARNm de *Per1*, présentant tous deux un pic à CT4 (Yamaguchi *et al.*, 2000a). Le rôle de cet épissage alternatif n'est pas encore connu mais il est à noter que l'exon 1 avec une partie de l'exon 2 constitue l'UTR 5' ("Untranslated region 5'") (Hida *et al.*, 2000). Toujours chez la souris, dans le cas de *Per2*, la transactivation due au dimère CLOCK/BMAL1 ferait intervenir un nombre différent d'E-box et d'E-box like selon les études : 7 E-box like (Travnickova-Bendova *et al.*, 2002), 1 E-box et 5 E-box like (Yoo *et al.*, 2005) ou même une seule 1 E-box like (Akashi *et al.*, 2006) ont été décrites. Il est intéressant de noter que seule l'E-box like, en position -20, décrite par Yoo *et al.* (2005), intervient dans le contrôle de la transcription de *Per2*. Si l'équipe d'Akashi et coll. ne démontre la présence que d'une seule E-box like, il est intéressant de noter qu'elle se situe... entre -25 et -6. Pour le gène *mPer3*, soit 4 E-box ont été trouvées (Travnickova-Bendova *et al.*, 2002) soit aucune (Yamamoto *et al.*, 2004). D'autres études sont nécessaires afin de vérifier la présence des E-box et de préciser leur rôle. Cependant, la présence d'E-box dans le promoteur d'un gène ne semble pas être la seule condition nécessaire à l'apparition cyclique des ARNm des gènes horloges (Akashi *et al.*, 2006) et n'est pas toujours la condition suffisante pour obtenir des variations cycliques des taux d'ARNm (Munoz *et al.*, 2002). En effet, dans le cas de *Rev-erb $\alpha$*  où 5 E-box semblent être présentes chez la souris (Yamamoto *et al.*, 2004), et 3 E-box like en sus chez le rat (Triqueneaux *et al.*, 2004), seule une partie d'entre elles interviennent dans le contrôle de la transcription par CLOCK/BMAL1 alors que toutes fixent ce complexe (Triqueneaux *et al.*, 2004). Bien que la présence d'E-box a été démontrée pour de nombreux gènes horloges, leur nombre, leur activité et même leur identité semblent être très dé-

pendantes de leur localisation. Ainsi, aucun mécanisme général, si ce n'est celui de permettre l'activation de la transcription, ne peut être déduit et seules les études gène par gène permettront de comprendre le fonctionnement des E-box pour un gène donné.

### ***cAMP Response Element***

La présence de la séquence **cAMP Response Element (CRE)** 5'-TGACGTCA-3' (Gonzalez *et al.*, 1989) a été mise en évidence dans les promoteurs des gènes *Per1* et *Per2* mais pas dans celui de *Per3* (Hida *et al.*, 2000 ; Yamaguchi *et al.*, 2000a ; Travnickova-Bendova *et al.*, 2002) ni de *l'Avp* (Iwasaki *et al.*, 1997). *In vitro*, la présence de CREB ("CRE binding protein") permet une augmentation de la transcription par la séquence CRE du promoteur (Iwasaki *et al.*, 1997). Cette transactivation nécessiterait la formation d'un complexe entre CREB, CBP et p300 (Kwok *et al.*, 1994 ; Lee *et al.*, 1996 ; De Cesare & Sassone-Corsi, 2000). L'action de CREB sur CRE a été vérifiée *in vitro*, par l'application d'oligonucléotides dirigés contre la séquence CRE (Tischkau *et al.*, 2003) et en culture de cellules SCN2.2, par mutation de cette séquence (Travnickova-Bendova *et al.*, 2002). Dans les SCN, alors que la quantité de CREB et la fixation de CREB sur CRE semblent être indépendantes du temps, l'activation par phosphorylation de CREB présente des variations circadiennes avec un pic à CT6 (Obrietan *et al.*, 1999). Cette activation de la transcription de *Per1* et de *Per2* par la voie cAMP - CREB semble être indépendante de la voie CLOCK/BMAL1. Les deux voies interviendraient séparément et sans s'affecter l'une et l'autre.

Le rôle de cette voie semble être de permettre la synchronisation de l'horloge moléculaire avec le monde extérieur. En effet, lorsqu'un animal perçoit l'arrivée de la lumière, l'activité de CREB dans les SCN est augmentée provoquant ainsi une augmentation de la transcription des gènes *Per1* et *Per2*. De plus, si CREB est moins activable (suppression de l'un de ses sites de phosphorylation), l'augmentation des quantités d'ARNm de *Per1* est moindre (Gau *et al.*, 2002) montrant ainsi le rôle prépondérant de CREB dans la synchronisation de l'horloge par la lumière.

### ***REV-ERB $\alpha$ /ROR Response element***

Dans le promoteur d'un gène, à la fois de la boucle négative et de la boucle positive, respectivement *Cry1* et *Bmal1*, il a été montré la présence de séquences ROREs. Cette séquence, 5'-(A/T)A(A/T)NT (A/G)GGTCA-3', avec N pour l'une des bases (Harding & Lazar, 1993 ; Forman *et al.*, 1994), est présente en triple et en double exemplaires dans les promoteurs de *Cry1* et *Bmal1*, respectivement (Etchegaray *et al.*, 2003 ; Preitner *et al.*, 2002 ; Ueda *et al.*, 2002). Ces séquences ROREs sont recon-

(Suite page 32)

(Suite de la page 31)

nues par des protéines appartenant à la famille des récepteurs nucléaires orphelins, RORs ("Retinoic acid-related orphan receptor") et REV-ERBs (Mangelsdorf *et al.*, 1995). Il existe différents types de protéines pour chacune de ces familles mais seul le rôle des sous-types " $\alpha$ " est en partie élucidé. Les protéines ROR $\alpha$  et REV-ERB $\alpha$  peuvent se fixer au niveau du promoteur de *Bmal1* ce qui a pour conséquence d'activer ou d'inhiber sa transcription, respectivement (Ueda *et al.*, 2002 ; Sato *et al.*, 2004 ; Akashi & Takumi, 2005). Dans le cas des souris *stragger*, présentant une protéine ROR $\alpha$  tronquée et sans domaine de fixation à l'ADN, ce qui est dû à une mutation naturelle du gène *Rora*, l'expression de *Bmal1* et de *Cry1* dans les SCN ainsi que la période d'activité locomotrice des animaux sont réduites (Sato *et al.*, 2004 ; Akashi & Takumi, 2005). Les mutants *Rev-erba*, codant une protéine REV-ERB $\alpha$  sans domaine de fixation à l'ADN, présentent à l'inverse une augmentation des niveaux moyens d'ARNm de *Bmal1* et de *Cry1* mais cette mutation est quasiment sans conséquence sur l'activité locomotrice (Preitner *et al.*, 2002 ; Yin & Lazar, 2005). De plus, même si le promoteur de *Bmal1* possède deux ROREs, la mutation d'un seul élément inhibe très fortement l'action de ROR $\alpha$  comme celle de REV-ERB $\alpha$  (Ueda *et al.*, 2002 ; Yin & Lazar, 2005). Bien que la fixation de REV-ERB $\alpha$  (ou de ROR $\alpha$ ) s'effectue par monomère sur chacun des sites, il est donc possible que l'interaction entre eux soit nécessaire au contrôle de l'activité transcriptionnelle. Par immunoprécipitation de la chromatine *in vitro*, il a été montré qu'en présence de REV-ERB $\alpha$ , les histones H3 et H4 sont déacétylées et le complexe N-CoR/HDAC3 ("Nuclear-receptor corepressor/HDAC3") est également présent au niveau du promoteur de *Bmal1* (Yin & Lazar, 2005). Ainsi, REV-ERB $\alpha$  pourrait recruter la HDAC3 au niveau du promoteur, ce qui provoquerait une déacétylation des histones H3 et H4 et donc une inhibition de la transcription de *Bmal1*. Dans les SCN, le pic de présence des ARNm de *Rev-erba* s'effectue en début de jour (Preitner *et al.*, 2002) et celui de *Rora* en milieu de jour (Ueda *et al.*, 2002). La transcription de *Bmal1* serait donc activement inhibée pendant le jour (par REV-ERB $\alpha$ ) puis stimulée en début de nuit (par ROR $\alpha$ ).

#### **DBP-binding site & E4BP4-binding site**

L'étude du promoteur de *Per1* a permis de mettre en évidence, en plus des E-box, la présence de deux domaines de séquences très proches de la séquence DBP-binding site (Yamaguchi *et al.*, 2000a). La séquence optimale pour la fixation de DBP est 5'-(A/G)TTATGTA(T/C)-3' et dans le promoteur de *Per1*, seule la base soulignée est remplacée par une cytosine. Cette séquence est située en amont de l'exon 1<sub>A</sub> et de l'exon 1<sub>B</sub> (Yamaguchi *et*

*al.*, 2000a, b). Des constructions de parties du promoteur de *Per1* (comprises entre les exons 1<sub>A</sub> et 1<sub>B</sub>) couplées avec un rapporteur luciférase, ont permis de rendre compte de l'effet transcriptionnel du DBP sur *Per1*. **Le DBP permet une augmentation des taux de transcrits de *Per1* indépendamment de l'effet de CLOCK/BMAL1** (Yamaguchi *et al.*, 2000b). Le DBP se fixerait à l'ADN via son domaine PAR ("Proline and acidic amino acid rich") (Lamprecht & Mueller, 1999). La propre transcription de *Dbp* est circadienne (présence de 3E-box) dans plusieurs tissus et présente dans les SCN un pic d'ARNm à ZT4 avec un pic de protéine en phase (ZT5-6 ; Ripperger *et al.*, 2000 ; Ripperger & Schibler, 2006 ; Yan *et al.*, 2000 ; Yamaguchi *et al.*, 2000b ; Ueda *et al.*, 2002 mais voir également Lopez-Molina *et al.*, 1997). Le pic de DBP est en phase avec le pic d'ARNm de *Per1*, confirmant alors son implication possible dans le contrôle de l'activité du promoteur de *Per1*. Le DBP fait partie de la famille des facteurs de transcription dits "à fermeture à leucine", qui agissent soit en s'homodimérisant soit en s'hétérodimérisant. Ainsi, deux autres membres de cette famille, le HLF ("Hepatic leukemia factor") et le TEF ("Thyrotroph embryonic factor") connus pour participer *in vitro* au contrôle de la transcription de *Per1*, pourraient également jouer un rôle *in vivo* (Mitsui *et al.*, 2001).

La séquence "DBP-binding site" du promoteur de *Per1* est également proche de la séquence reconnue par un autre facteur de transcription à fermeture à leucine, mais dépourvu de domaine PAR, il s'agit de E4BP4 (désigné ainsi car cette protéine, synthétisée par le phage P4, a été premièrement isolée par liaison (binding) au promoteur E4 d'un adénovirus, Cowell *et al.*, 1992). **In vitro, E4BP4 s'homodimérise et inactive la transcription de *Per1* en entrant en compétition avec DBP.** L'étude du promoteur de *Per2* montre également la présence d'une séquence proche de la E4BP4-binding site (8 bases en commun sur 10) et la présence d'**E4BP4 permet une diminution de la transcription de *Per2* ainsi qu'un raccourcissement de la période des oscillations** (Akashi *et al.*, 2006). Dans les SCN, l'expression de *E4bp4* est circadienne et en quasi-opposition de phase avec *Dbp* (pic d'ARNm de *E4bp4* à ZT12-16, Mitsui *et al.*, 2001) et sa transcription semble être sous le contrôle de l'horloge via sa séquence RORE (Ueda *et al.*, 2002). Chez les souris mutantes *Cry1<sup>-/-</sup>2<sup>-/-</sup>*, *Dbp* est sur-exprimé, et à l'inverse, *E4bp4* est toujours inhibé, montrant ainsi que le contrôle de *E4bp4* se fait de manière opposée à *Dbp*.

Ainsi, CLOCK/BMAL1 permettrait l'activation directe de *Dbp* et indirectement l'inactivation d'*E4bp4* qui à leur tour, vont, respectivement, stimuler (pic d'activation en milieu de jour) ou inhiber (pic d'inhibition

(Suite page 33)



(Suite de la page 32)

en milieu de nuit) la transcription des gènes munis de DBP/E4BP4-binding site tels que *Per1* et *Per2*.

### Conclusion

La régulation transcriptionnelle des gènes horloges des boucles négatives fait essentiellement intervenir la présence des E-box mais nous avons vu que d'autres domaines, présents dans certains promoteurs horloges et absents dans d'autres permettent

des E-box et des motifs décrits précédemment, une séquence AP-3 dont l'activité n'a pas encore été élucidée. Certains motifs du promoteur de *Per1*, comme les motifs AP-1 ("Activator protein 1") et SP1 ("Specificity protein 1") sont peu compris. Il est possible qu'ils interviennent dans la voie de signalisation déclenchée par le glutamate pour AP-1 (Whitmarsh & Davis, 1996) et par le glucose pour SP1 (Cook & Urrutia, 2000 ; Hida *et al.*, 2000). Un autre motif encore, (A/T)DR2, n'est pas présent dans le promoteur de *Per1* et son rôle est évoqué

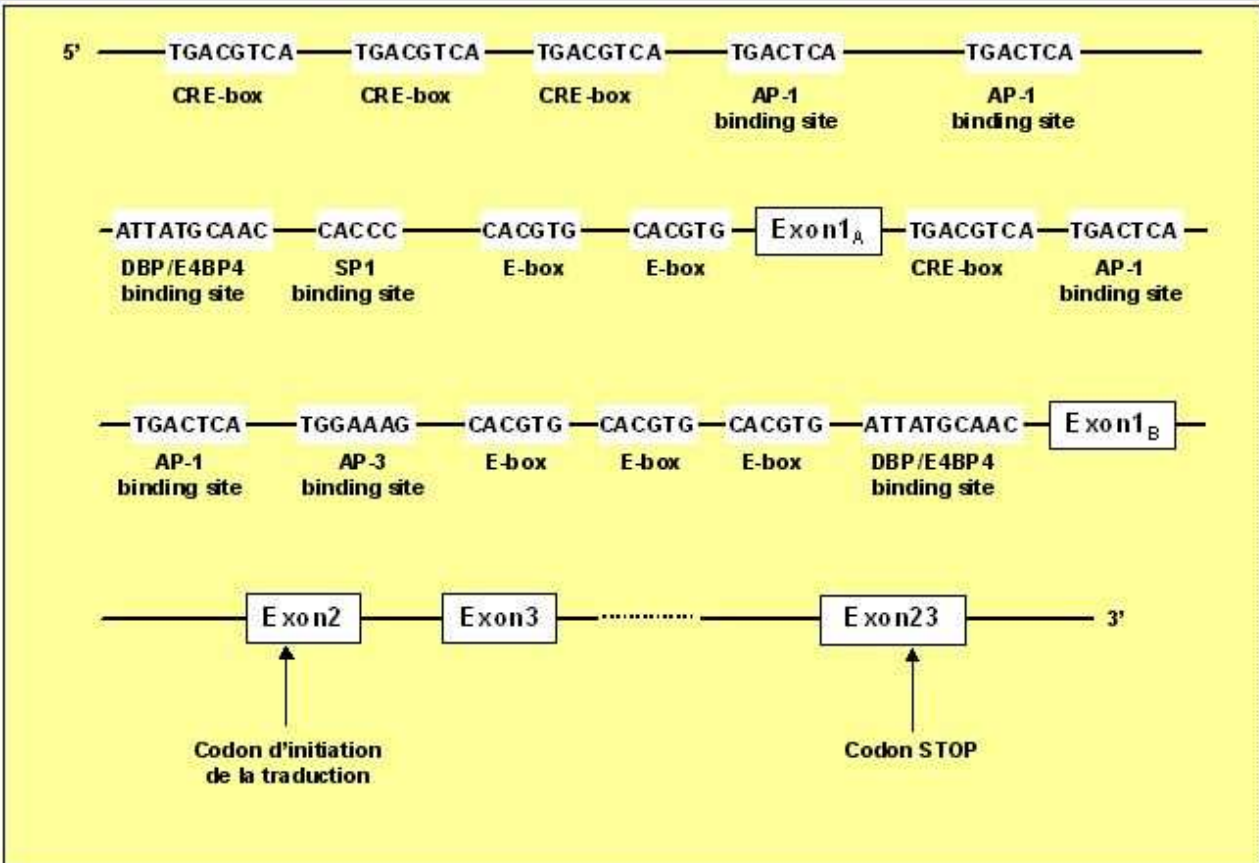


Figure 2 : Schématisation du promoteur murin de *Per1*.

Etendue 5' vers 3' du promoteur de *mPer1*. L'ordre des différents motifs respecte les données de la littérature mais les distances les séparant sont arbitraires. Les sites des codons d'initiation et d'arrêt de la traduction sont également localisés. La partie précédant le codon d'initiation de la traduction (ATG) forme l'UTR5' et celle succédant au codon STOP (TGA dans ce cas) forme l'UTR3'. Les domaines PAS, non représentés ici, sont codés par les exons 6 pour PAS-A et 9-10 pour PAS-B. Modifié d'après Weiher *et al.*, 1983 pour la séquence AP-3 et d'après Hida *et al.*, 2000 et Yamaguchi *et al.*, 2000a, pour les autres séquences. AP-1/3, Activator protein 1/3; CRE, cAMP Response element; DBP, Albumin gene D-site binding protein; SP1, Specificity protein 1.

également des réguler l'activité transcriptionnelle. Une schématisation du promoteur complet de *Per1* est donnée figure 2. Ce promoteur présente plusieurs E-box, CRE-box et DBP/E4BP4-binding site, mais est dépourvu de ROREs. De plus, des domaines autres que ceux décrits ci-dessus existent dans les promoteurs des différents gènes horloges et pourraient également avoir un rôle dans la génération de l'expression rythmique des gènes horloges. Par exemple, dans le cas de *Per1*, se situe, en plus

dans le cas précis de la régulation de la transcription de *Bmal1* et de *Rev-erba*.

### Régulation Post-transcriptionnelle

Les niveaux stables (détectables) d'ARNm dépendent de facteurs combinés et regroupés par le contrôle transcriptionnel (taux de synthèse, voir précédemment) et le contrôle post-transcriptionnel

(Suite page 34)

(Suite de la page 33)

(épissage, transport de l'ARNm du noyau vers le cytoplasme, localisation cellulaire, stabilité). Chez les Eucaryotes, la dégradation des ARNm est un déterminant essentiel de la régulation de l'expression génique et peut être modulée par des signaux métaboliques, environnementaux ou encore au cours du développement. Ce niveau de **régulation post-transcriptionnelle** est particulièrement important pour les protéines actives sur de courtes périodes, comme les facteurs de transcription, les facteurs de croissance et les protéines contrôlant la progression du cycle cellulaire (Beelman & Parker, 1995; Tourrière *et al.*, 2002; Audic & Hartley, 2004). Cette régulation mise en évidence dans de nombreux systèmes, a été peu étudiée dans le domaine de l'horloge circadienne. Nous ne rapporterons ici que les données obtenues dans l'étude de la régulation des ARNm des gènes horloges. La demi-vie des ARNm dépend de plusieurs facteurs : des séquences spécifiques de l'ARNm au niveau de la séquence codante et des UTR 5' et UTR 3'.

**Régulation par la coiffe** : seulement deux protéines à activité exonucléase 5' interviennent pour la dégradation de cette coiffe, DCP1P et DCP2P, la seconde permettant l'activation de la première qui est la forme active de la dégradation de la coiffe. Ces deux protéines doivent se fixer sur l'ARNm mais ceci ne peut se faire que lorsque la protéine PABP1 ("poly(A) binding protein 1") est décrochée de l'ARNm (Tharun & Parker, 2001). De plus, leur efficacité dépend de différents facteurs et notamment de la longueur de la queue poly(A).

**Régulation par la queue poly(A)** : la queue poly(A) est stabilisée et protégée dans le cytoplasme par fixation de la PABP1. Sa présence et sa taille contribuent à la dégradation des ARNm chez les Procarotes et au maintien de ceux-ci chez les Eucaryotes (Dreyfus & Régnier, 2002). De nombreuses protéines peuvent dégrader l'ARNm en reconnaissant des motifs spécifiques : c'est le cas des endonucléases. Cependant, l'activité exonucléase 3' ou **désadénylation** apparaît comme étant l'**étape limitante et initiale** de la dégradation de nombreux ARNm (Couttet *et al.*, 1997). La durée de vie d'un ARNm dépend donc d'un équilibre entre la longueur de la queue poly(A) et de la vitesse de désadénylation. Les désadénylases sont peu connues et encore très peu étudiées... La seule démonstration *in vivo* d'une régulation par la longueur de la queue poly(A) dans les SCN, concerne le gène *Avp*. La longueur de son ARNm varie entre une forme à 740 nucléotides de jour, à une forme désadénylée de 530 nucléotides de nuit (Robinson *et al.*, 1988) ce qui peut être mis en parallèle avec les variations circadiennes de l'AVP dans le fluide cérébrospinal sous le contrôle des SCN (Schwartz & Reppert, 1985; Gillette & Reppert, 1987).

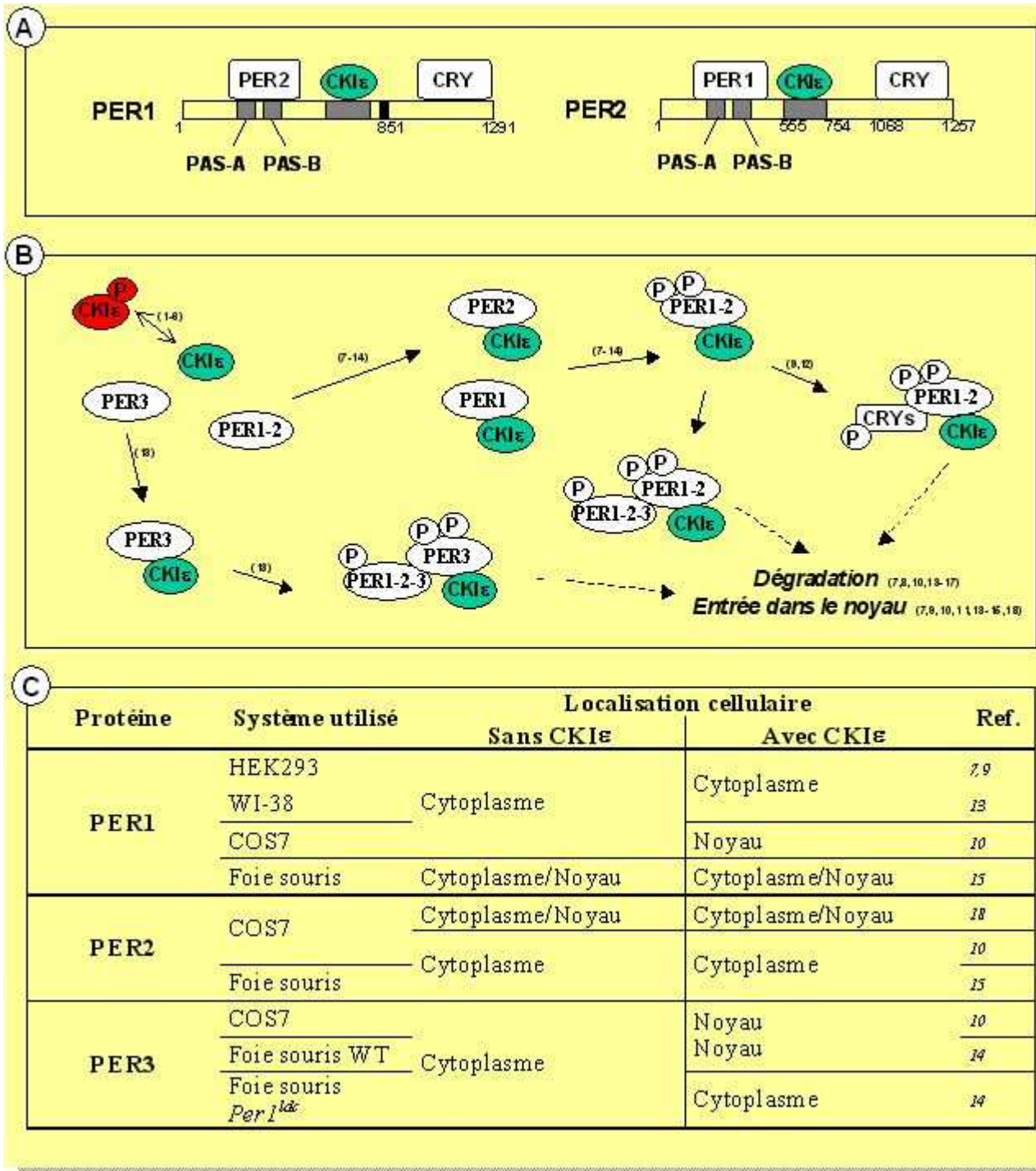
## **Poly(A) RiboNucléase**

En 1997, l'équipe de Korner & Wahle isola pour la première fois chez le veau, une protéine présentant une telle activité : la protéine Poly(A) RiboNucléase (PARN). Elle sera ensuite mise en évidence chez le xénope (Copeland & Wormington, 2001) puis chez *Arabidopsis thaliana* (Chiba *et al.*, 2004). La séquence codante de cette protéine est hautement conservée chez toutes les espèces étudiées, exceptée les levures où elle est absente. Elle présente un domaine de reconnaissance de l'ARNm, spécifique aux membres de la famille des Rnases de type D (Copeland & Wormington, 2001). De plus, les démonstrations de son **activité exonucléase 3'** existent *in vitro* (Copeland & Wormington, 2001; Chiba *et al.*, 2004) mais aussi *in vivo*, dans les œufs de xénope (Baggs & Green, 2003). L'étude d'une telle protéine montre qu'elle a une part importante dans la régulation de l'activité cellulaire. Cette protéine pourrait-elle jouer un rôle actif dans le maintien des oscillations des gènes horloges ? Apparemment non, dans la mesure où elle apparaît comme étant principalement nécessaire au cours du développement, même si elle est présente à l'état adulte. De plus, elle est exprimée de façon non rythmique dans le centre initiateur des rythmes circadiens chez le xénope (Baggs & Green, 2003) mais son activité pourrait être circadienne.

## **Nocturnin**

Une seconde protéine encore moins connue, la NOCTURNIN, a été découverte par l'équipe de CB. Green (Green & Besharse, 1996). La présence de ses ARNm montre des oscillations circadiennes dans la rétine de xénope mais elle est limitée aux cellules photoréceptrices (constituant l'horloge principale chez cette espèce) ce qui suppose un rôle dans les rythmes circadiens. La présence rythmique des ARNm de *Nocturnin* a été par la suite mise en évidence chez la souris, dans l'hypothalamus, le foie et d'autres organes périphériques (Wang *et al.*, 2001). L'étude de son promoteur chez le xénope fait apparaître une E-Box... mais celle-ci semble fonctionner comme une boîte CRE au niveau des cellules de la rétine (Liu & Green, 2001, 2002). A l'inverse, Oishi *et al.* (2003) rapportent que chez la souris, l'expression de *Nocturnin* dans le foie est rythmique chez les souches sauvages et chez les souris *Clock<sup>mut</sup>* mais avec une plus faible amplitude et enfin, stable et toujours élevée chez les souris *Cry1<sup>-/-</sup> Cry2<sup>-/-</sup>*. Ceci permet de penser que dans le foie de la souris, le gène *Nocturnin* est sous régulation partielle du dimère CLOCK/BMAL1. *In vitro*, son action dépendante du magnésium, consiste à dégrader spécifiquement les ARN messagers par la queue poly(A) sans distinction apparente pour les régions situées en amont de celle-ci (Baggs & Green, 2003). Par contre, il n'a jamais été montré si

(Suite page 35)



**Figure 3 : Contrôle post-traductionnel des PERs par la Caséine Kinase  $\epsilon$ CK1 $\epsilon$**

**A.** Représentation des séquences de mPER1 et 2 chez la souris avec sites de fixation. **B.** Mécanismes d'action et effets supposés de la CK1 $\epsilon$ . **C.** Régulation de la localisation cellulaire des protéines PER par la CK1 $\epsilon$ . (1) Lowrey *et al.*, 2000; (2) Graves and Roach, 1995; (3) Cegielska *et al.*, 1998; (4) Gietzen and Virshup, 1999; (5) Liu *et al.*, 2002; (6) Swiatek *et al.*, 2004; (7) Vielhaber *et al.*, 2000; (8) Camacho *et al.*, 2001; (9) Eide *et al.*, 2002; (10) Takano *et al.*, 2000; (11) Toh *et al.*, 2001; (12) Akashi *et al.*, 2002; (13) Miyasaki *et al.*, 2004; (14) Lee *et al.*, 2004; (15) Lee *et al.*, 2001; (16) Keesler *et al.*, 2000; (17) Eide *et al.*, 2005; (18) Yagita *et al.*, 2002.

(Suite de la page 34)

la NOCTURNIN peut dégrader les ARNm d'un gène horloge. Il se pourrait même qu'elle agisse sur sa propre production.

### Régulation Traductionnelle

Ce niveau de régulation n'a été que très peu élucidé (étudié) chez les Mammifères. Chez la drosophile, il

(Suite page 36)

(Suite de la page 35)

reste également le niveau le moins renseigné. Des protéines fixant l'ARN ou RBP ("RNA-binding protein"), contenant donc des motifs de reconnaissance de l'ARN, peuvent être impliquées dans la régulation de la traduction des ARN (Burd & Dreyfuss, 1994; Siomi & Dreyfuss, 1997). Or, de telles protéines présentent des variations circadiennes dans le cytoplasme des neurones chez la drosophile et chez la souris (Claridge-Chang *et al.*, 2001; Panda *et al.*, 2002a). Le gène *dLark* codant une de ces protéines, est contrôlé par l'horloge chez la drosophile (Zhang *et al.*, 2000). Bien que ses cibles n'aient pas encore été identifiées, il est possible qu'il intervienne dans le contrôle de la régulation des gènes horloges. Chez les mammifères, il a été montré que l'UTR 3' des ARNm de *Per1* permet de contrôler l'efficacité de leur traduction (Kojima *et al.*, 2003) mais l'action directe d'une RBP reste à démontrer. Des données récentes suggèrent que chez la souris, les équivalents du gène *dLark* de la drosophile interviennent dans la régulation de la traduction des ARNm de *Per1* (Kojima *et al.*, 2006).

### Régulation Post-traductionnelle

La présence d'une mutation naturelle, baptisée *tau*, affectant la période circadienne de l'activité locomotrice a été mise en évidence pour la première fois en 1988 chez le hamster syrien (Ralph & Menaker, 1988). La période du rythme d'activité locomotrice en conditions constantes d'éclairage est d'environ 24h chez les animaux sauvages, de 22h chez les mutants hétérozygotes et de 20h chez les homozygotes. A l'époque l'origine de ce phénotype n'était pas encore connue, et il aura fallu attendre plusieurs années pour coupler ce phénotype particulier à un dysfonctionnement du contrôle post-traductionnel des protéines horloges. Depuis, de nombreuses voies de contrôle faisant intervenir plusieurs protéines, notamment des protéines kinases, ont été évoquées dans le contrôle des protéines horloges. Comme les protéines horloges présentent des variations circadiennes de phosphorylation (Lee *et al.*, 2001), l'étude du rôle de ces phosphorylations est devenue très importante ces dernières années. En plus des phosphorylations par diverses protéines, nous verrons que les protéines horloges peuvent subir d'autres changements. Ces changements auront pour effets de contrôler la stabilité, l'activité et la localisation de protéines horloges avec un effet pouvant être spécifique de la protéine horloge concernée.

### Caséine kinases

La famille des Caséine kinases I présente 7 isoformes et appartient au groupe des protéines kinases à motif Sérine/Thréonine (Flotow *et al.*, 1991 ; Gross & Anderson, 1998). De ces isoformes, seules

les CKI<sub>ε</sub> et CKI<sub>δ</sub> ("Caséine kinase I<sub>ε/δ</sub>") semblent jouer un rôle dans le contrôle circadien des protéines horloges (Vielhaber *et al.*, 2000 ; Camacho *et al.*, 2001).

La CKI<sub>ε</sub> tout comme ses messagers, est exprimée dans les SCN, de façon constitutive (Lowrey *et al.*, 2000 ; Takano *et al.*, 2000 ; Lee *et al.*, 2001 ; Ishida *et al.*, 2001). Elle présente néanmoins un rythme d'activité en fonction de son état de phosphorylation. Son auto-phosphorylation multiple (8 sites) provoque son inhibition et sa déphosphorylation par diverses phosphatases, dont la calcineurine ou PP2B ("protein phosphatase 2B"), l'active (Graves & Roach, 1995 ; Cegielska *et al.*, 1998 ; Gietzen & Virshup, 1999 ; Liu *et al.*, 2002 ; Swiatek *et al.*, 2004). Son interaction avec les protéines horloges a été démontrée dans différentes situations de cultures cellulaires et *in vivo*. Quel que soit le système étudié, il semble clair que la CKI<sub>ε</sub> peut se fixer directement sur PER1 et PER2 (cellules embryonnaires de foie humain HEK293 : Vielhaber *et al.*, 2000 ; Camacho *et al.*, 2001 ; Eide *et al.*, 2002 ; cellules 293T : Takano *et al.*, 2000 ; réticulocyte de lapin : Toh *et al.*, 2001 ; cellules COS7 : Akashi *et al.*, 2002 ; cellules de poumon humain WI-38 : Miyazaki *et al.*, 2004). Dans le cas de PER3, certains auteurs trouvent également cette fixation (Akashi *et al.*, 2002) mais d'autres ne rapportent qu'une interaction indirecte par l'intermédiaire de PER1 (Lee *et al.*, 2004). Le domaine d'interaction directe entre la CKI<sub>ε</sub> et PER1 ou PER2, se situe entre le domaine PAS-B et le domaine de fixation des CRYs (figure 3A). En revanche, il ne semble pas y avoir d'interaction directe entre la CKI<sub>ε</sub> et les protéines CRYs qui nécessiteraient la formation du dimère PER/CKI<sub>ε</sub>, pour former alors un trimère CRY/PER/CKI<sub>ε</sub>, pour être phosphorylées (Akashi *et al.*, 2002 ; Eide *et al.*, 2002). Dans tous les cas, il en résulte une ou plusieurs phosphorylations des protéines horloges (Hirayama & Sassone-Corsi, 2005). Les effets supposés de ces phosphorylations sont représentés figure 3B. **La première conséquence de la phosphorylation par la CKI<sub>ε</sub> des protéines horloges de la boucle négative est le contrôle de leur localisation cellulaire, mais cela reste très controversé.** Par exemple, pour PER1, la phosphorylation par la CKI<sub>ε</sub> soit n'aurait aucun effet sur la localisation cellulaire de PER1 (Lee *et al.*, 2001) soit empêcherait son entrée dans le noyau en masquant son "signal de localisation nucléaire" (Vielhaber *et al.*, 2000 ; Eide *et al.*, 2002 ; Miyazaki *et al.*, 2004) ou encore faciliterait son entrée (Takano *et al.*, 2000). Les résultats parfois divergents concernant la régulation de la localisation cellulaire des autres protéines sont présentés figure 3C. **La dégradation des protéines de la boucle négative est la seconde conséquence de la phosphorylation par la CKI<sub>ε</sub>.** Cette dégradation ferait intervenir le complexe du

(Suite page 37)

(Suite de la page 36)

protéasome et elle est retrouvée dans toutes les études (par exemple, surexpression ou inhibition de la CKI<sub>ε</sub>, Keesler *et al.*, 2000 et Miyazaki *et al.*, 2004, respectivement). Dans le cas de la boucle positive, la CKI<sub>ε</sub> aurait pour conséquence d'augmenter l'activation de BMAL1 (Eide *et al.*, 2002 mais voir aussi Sato *et al.*, 2006) et son action sur CLOCK reste encore incertaine (Lee *et al.*, 2001 vs Eide *et al.*, 2002).

Nous avons vu précédemment que la mutation *tau* chez le hamster syrien provoque une période d'activité endogène plus courte que celle des individus sauvages. Cette mutation concerne l'activité de la protéine CKI<sub>ε</sub>. L'expression du gène ne semble pas affectée mais l'efficacité de transfert de phosphate de la protéine est considérablement réduite (Lowrey *et al.*, 2000). Il en résulte une accumulation plus rapide des protéines de la boucle négative donc l'inhibition de leur propre transcription intervient également plus tôt. Les boucles "tournent" plus vite ce qui provoque cette diminution de période endogène. La CKI<sub>ε</sub> joue également un rôle important dans le cas des syndromes d'avance de phase ou de retard de phase du sommeil (Eide *et al.*, 2001 ; Toh *et al.*, 2001 ; Ebisawa *et al.*, 2001). En effet, le patron de phosphorylation de PER2 par la CKI est modifiée dans le cas de syndrome d'avance de phase du sommeil (Vanselow *et al.*, 2006 ; Xu *et al.*, 2007).

Tout comme son homologue, la CKI<sub>δ</sub> ne présente pas de rythme de présence de ses messagers mais un rythme d'activité rendu possible par son autoinhibition par phosphorylation et par son activation par déphosphorylation (Graves & Roach, 1995 ; Cegielska *et al.*, 1998 ; Ishida *et al.*, 2001). Sa présence a été démontrée *in vivo* au sein des SCN et en culture, elle peut fixer PER1 et PER2, les phosphoryler ce qui a comme conséquence d'induire leur dégradation (Camacho *et al.*, 2001). Les rôles respectifs de ces deux isoformes de la caséine kinase I ne sont pas encore entièrement élucidés et de futures expériences devront permettre de les caractériser.

### **Mitogen-activated protein kinase**

La régulation des boucles moléculaires par la voie des MAPK ("Mitogen-activated protein kinase") s'effectue à la fois au niveau transcriptionnel via l'activation de la phosphorylation de CREB (voir Rythmes, mars 2007, 38 :1, p5-15) mais aussi, au niveau des protéines horloges. En 1998, Yang et coll. mettaient en évidence une interaction entre BMAL1 et MAPK. Cette interaction permettrait à la fois la translocation vers le noyau mais aussi des modifications de la structure tridimensionnelle de BMAL1. La dimérisation préférentielle de BMAL1 avec P-MAPK (la forme active des MAPK) plutôt qu'avec MAPK,

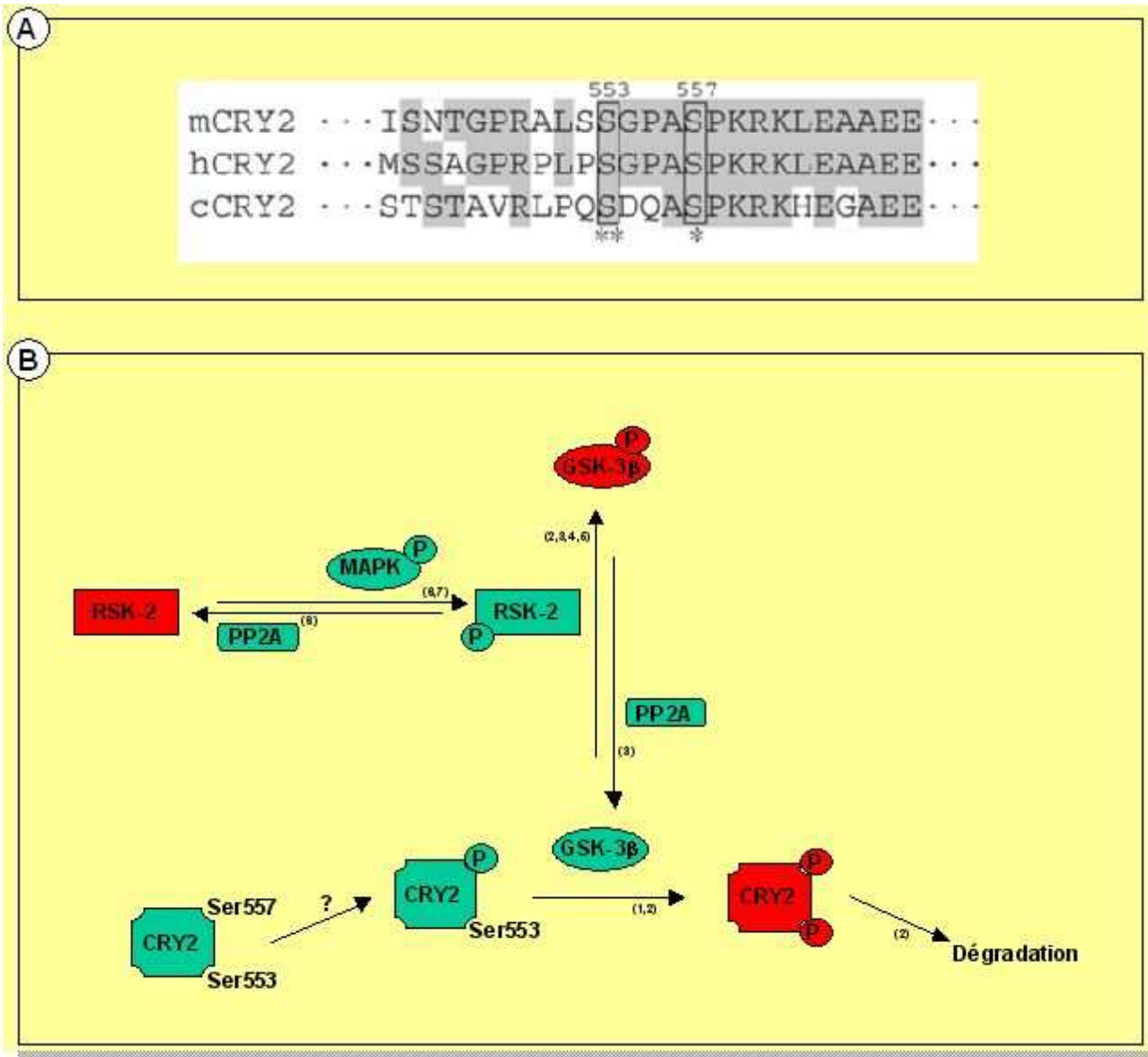
aurait pour conséquence une diminution de la transactivation de BMAL1 sur les E-box (Sanada *et al.*, 2002). Cependant, BMAL1 est phosphorylée *in vitro* en Ser527, Ser599 et Thr534 par la P-MAPK et seul ce dernier site permet une inhibition de la transactivation. Sanada et coll. (2002) rapportent également qu'aucune interaction n'est réalisée entre MAPK et CLOCK, le second acteur de la boucle positive. On sait que l'activation transcriptionnelle due au complexe CLOCK/BMAL1 est fortement diminuée en fin de jour et pendant la nuit et nous avons également vu précédemment que BMAL1 est exprimée soit de façon rythmique (pic de CT0 à CT8) soit de façon constitutive (voir article précédent, mars 2007, Maywood *et al.*, 2003 ; von Gall *et al.*, 2003). Si BMAL1 présente des niveaux stables, une inactivation de BMAL1 en fin de jour par les P-MAPK pourrait expliquer, au moins en partie, cette diminution de transactivation. Or, bien que les MAPK ne soient pas exprimées de façon rythmique, un pic d'activation avec des valeurs maximales comprises entre CT6 et CT10 et des valeurs minimales entre CT18 et CT24, est observé dans les SCN, à l'exclusion de leur région centrale (Obrietan *et al.*, 1998 ; Pizzio *et al.*, 2003). Il est donc possible que les P-MAPK contrôlent temporellement l'activité de BMAL1, au moins en fin de jour/début de nuit.

Des données plus récentes montrent que la voie des MAPK intervient non seulement dans la boucle positive mais aussi dans la boucle négative. En effet, la P-MAPK phosphoryle CRY1 en Ser247 et CRY2 en Ser265 à la fois *in vitro* et *in vivo*, et CRY2 en Ser557 mais *in vitro* seulement (Sanada *et al.*, 2004). La conséquence de cette phosphorylation est une diminution de la capacité des CRYs à inhiber CLOCK/BMAL1. Or, comme dans la région centrale des SCN, le pic de P-MAPK se situe entre CT14 et CT20 (Obrietan *et al.*, 1998 ; Lee *et al.*, 2003 ; Nakaya *et al.*, 2003) et celui de CRY1 et CRY2 entre CT12 et CT16 (Kume *et al.*, 1999), l'action des P-MAPK serait de permettre de lever l'inhibition due à CRY1 et CRY2 en milieu de nuit. Mais comme P-MAPK diminue en fin de nuit, il en résulte une ré-activation de la transcription due à CLOCK/BMAL1 en fin de nuit. Ainsi, on peut penser que les P-MAPK interviendraient dans la région centrale des SCN pour réguler l'activité transcriptionnelle de CLOCK/BMAL1 soit directement (via BMAL1) soit indirectement (via CRYs).

### **Protéine kinase G de type II**

L'activité de la PK<sub>G</sub> ("Protéine kinase dépendante du cGMP") est régulée par l'horloge et présente un maximum d'activité en fin de nuit subjective (Tischkau *et al.*, 2003b). Cette protéine existe sous plusieurs isoformes : PK<sub>G</sub>I-α, PK<sub>G</sub>I-β et PK<sub>G</sub>II. Seule cette dernière isoforme semble intervenir dans le contrôle des gènes horloges. En effet, seule l'appli-

(Suite page 38)



**Figure 4 : Contrôle post-traductionnel par la Glycogène Synthase Kinase 3β (GSK3β).**

**A.** Représentation d'une partie de la séquence de CRY2 chez la souris (m), l'homme (h) et le poulet (c) avec en encadré, le motif de reconnaissance de la GSK3β et en foncé, les homologies de séquences. **B.** Représentation schématique du mode d'action et du contrôle de la GSK3. La couleur rouge présente l'état d'inactivation et la couleur verte celui d'activation de protéines. (1) Fiol *et al.*, 1987; (2) Harada *et al.*, 2005; (3) Sutherland *et al.*, 1993; (4) Sutherland *et al.*, 1994; (5) Eldar-Finkelman *et al.*, 1995; (6) Sturgill *et al.*, 1988; (7) Butcher *et al.*, 2004.

(Suite de la page 37)

cation d' $\alpha$ ODN (" $\alpha$ Oligodéoxynucléotides") spécifique de la PK<sub>GII</sub> sur des tranches de SCN provoque une variation de l'activité électrique spontanée des neurones des SCN (Tischkau *et al.*, 2004). La PK<sub>GII</sub> peut interagir directement avec CLOCK permettant ainsi d'augmenter son degré de phosphorylation. Elle peut également agir sur le second acteur de la boucle moléculaire positive, *Bmal1*, en permettant indirectement une diminution de ses niveaux d'ARNm (Tischkau *et al.*, 2004). Bien que le rôle de cette phosphorylation de CLOCK par la PK<sub>GII</sub> ne soit pas encore élucidé, son intervention dans le contrôle de la transcription dirigée par le dimère CLOCK/BMAL1, est plausible.

### Glycogen synthase kinases 3

La présence de la GSK3 ("Glycogen synthase kinase-3") dans les SCN et sous deux isoformes, a été révélée dès 1990, par Woodgett. Cependant, il a fallu attendre une dizaine d'années pour que le rôle de la GSK dans le domaine des rythmes soit démontré. D'ailleurs, Cohen et coll. titrent en 2001: "The renaissance of GSK3". La GSK est une kinase à motif sérine/thréonine d'abord décrite comme étant impliquée dans le contrôle du métabolisme du glycogène, mais elle intervient dans de nombreux autres processus (Frame & Cohen, 2001). De plus,

(Suite page 39)

(Suite de la page 38)

les rôles circadiens joués par les deux isoformes, semblent être différents.

La présence de la GSK-3 $\alpha$  présente une oscillation circadienne avec un pic obtenu à CT5 chez la souris (Iwahana *et al.*, 2004). Elle est inactivée par phosphorylation en Ser21 par la RSK-1 et activée par l'action de la PP2A ("Protéine phosphatase 2A", Sutherland & Cohen, 1994). Son effet moléculaire au sein de l'horloge n'a pas encore été identifié mais il semble qu'elle soit impliquée dans le contrôle de la période circadienne. En effet, l'application de lithium sur des cultures de neurones individuels de SCN provoque une augmentation de leur période de décharges (Abe *et al.*, 2000). Du lithium ajouté à la nourriture des souris, provoque également une augmentation de la période circadienne de l'activité locomotrice. Mais au sein des SCN, bien que le mécanisme d'action soit inconnu, ce traitement provoque à la fois une diminution de la GSK-3 $\alpha$  et une augmentation de la P-GSK-3 $\alpha$ , résultant en une diminution de l'activité de cette protéine (Iwahana *et al.*, 2004). Cet effet étant spécifique aux SCN, on peut émettre l'hypothèse selon laquelle l'inactivation de la GSK-3 $\alpha$  traduit l'effet du lithium sur les SCN et donc sur l'organisme entier. Ainsi, la GSK-3 $\alpha$  aurait un rôle actif dans la régulation de la période des rythmes endogènes.

L'apparition de la GSK-3 $\beta$  dans le domaine de l'étude des rythmes circadiens, étant très récente, il n'y a que très peu de travaux portant sur le rôle joué par cette protéine kinase, mais, ils apportent des données nouvelles dans la régulation post-traductionnelle de CRY2.

Précédemment, nous avons vu que CRY2 pouvait être phosphorylée par les MAPK en Ser265 mais pas au niveau de Ser557 *in vivo* (Sanada *et al.*, 2002). La protéine GSK-3 $\beta$  présente la particularité de reconnaître une séquence formée d'un résidu Ser (l'accepteur de phosphate) et d'un second résidu Ser éloigné de 4 résidus (côté carboxy-terminal) lui-même déjà phosphorylé, soit -SxxxS(P), x étant un acide aminé quelconque (Fiol *et al.*, 1987). Harada *et coll.* (2005) montrent la présence d'un tel motif en comparant les séquences protéiques de CRY2 de la souris, de l'homme et du poulet (figure 4A). A l'aide d'études *in vitro* menées sur des cellules COS7, cette équipe a mis en évidence que la phosphorylation en Ser553 de CRY2 est bien effectuée par GSK-3 $\beta$  du moment que CRY2 présente déjà une phosphorylation en Ser557 formant donc le motif -Ser553(P)xxxSer557(P). Il en résulte la formation de CRY2-(P)<sub>2</sub> qui serait très instable et rapidement dégradée par le complexe du protéasome. De plus, la GSK-3 $\beta$  exprimée de façon constitutive, présente une régulation de son activité par des phosphorylations/déphosphorylations. En effet, elle est rendue inactive par phosphorylation en Ser9

(Sutherland *et al.*, 1993 et pour revue, Frame & Cohen, 2001). Cette phosphorylation est circadienne et présente un pic en fin de jour subjectif/début de nuit subjective, donc peu avant le pic de CRY2 (Harada *et al.*, 2005). Ce processus d'inactivation semble être catalysé par plusieurs kinases dont la RSK-2 (Sutherland *et al.*, 1993 ; Sutherland & Cohen, 1994 ; Eldar-Finkelman *et al.*, 1995). Or, comme l'activité des RSK, et par-là même de la RSK-2, est induite par phosphorylation par la voie des MAPK (Sturgill *et al.*, 1988 ; Butcher *et al.*, 2004), on peut supposer que l'activité de la GSK-3 $\beta$  est sous le contrôle de la voie des MAPK. En accord avec cette hypothèse, le rythme d'activation des MAPK est en phase avec le maximum d'inhibition de la GSK-3 $\beta$  (Harada *et al.*, 2005). L'ensemble de ces mécanismes supposés sont présentés figure 4B. Cependant, la kinase permettant la phosphorylation de Ser557 n'a pas encore été identifiée mais il existe un rythme de CRY2-(P)<sub>Ser557</sub> avec une accumulation située en fin de jour/début de nuit. Il faut noter qu'à chacun des niveaux de régulation que l'on vient de décrire, il existe un mécanisme inverse faisant intervenir la PP2A mais dont le mode de régulation dans le domaine des rythmes, n'est pas encore connu...

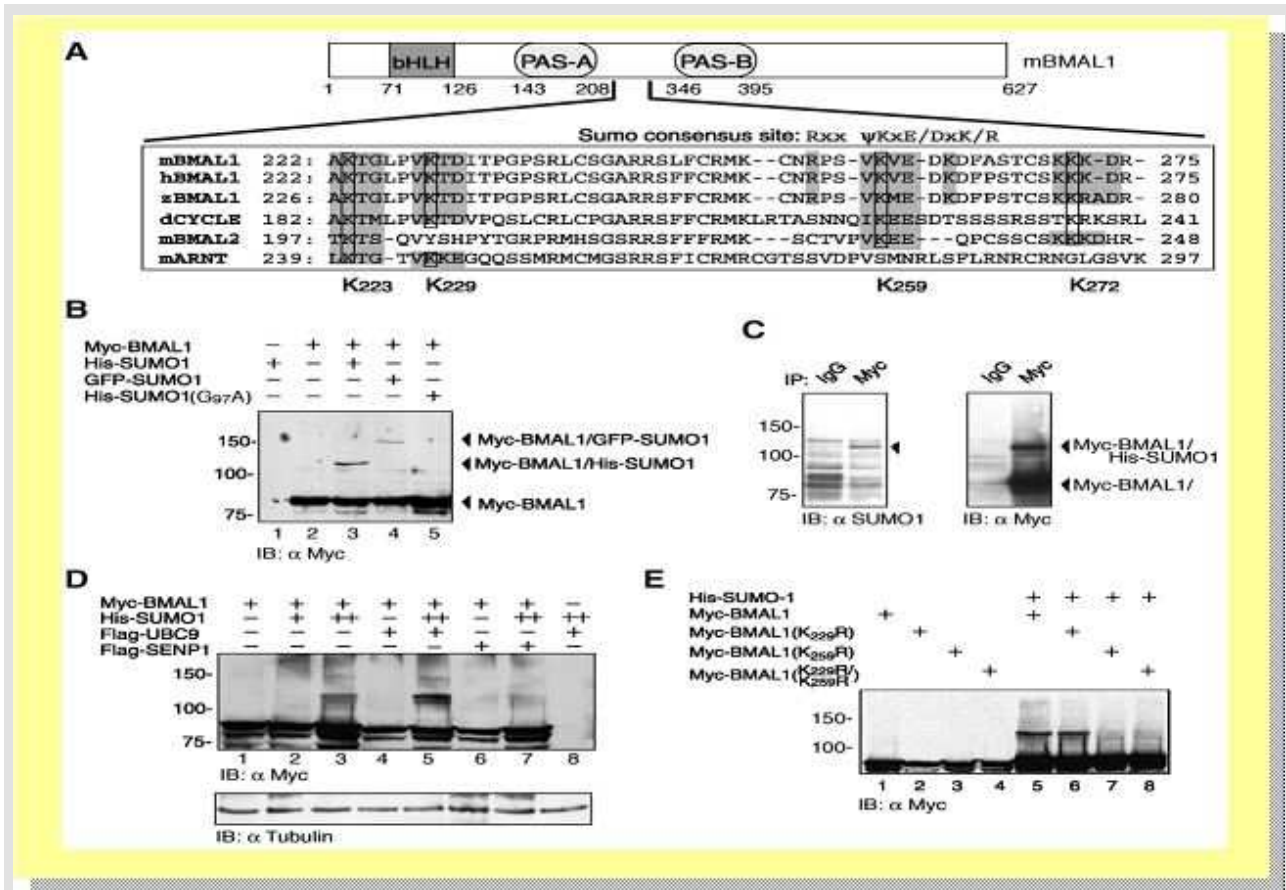
### SUMOylation

La SUMOylation ("Small ubiquitin-related modifier protein") sur des résidus lysine est une réaction enzymatique réversible (Gill, 2003, 2004) intervenant dans le contrôle de différents processus dont la régulation de la transcription, la structure de la chromatine et la localisation des protéines cibles (Desterro *et al.*, 1998 ; Matunis *et al.*, 1998 ; Gill, 2004). Le motif de sumoylation est constitué de la séquence  $\Psi$ KxE/D avec  $\Psi$  : un résidu hydrophobe, K : la lysine, x : un acide aminé quelconque, E : l'acide glutamique et D : l'acide aspartique (Gill, 2004). Or, BMAL1 présente de tels motifs entre ses domaines PAS-A et PAS-B (figure 5). Il a été montré que BMAL1 est sumoylée en Lys259 permettant ainsi ses variations rythmiques comme sa dégradation (Cardone *et al.*, 2005). Cette expérience effectuée dans le foie de souris, montre un pic de BMAL1-SUMO à ZT9. De plus, CLOCK permet d'augmenter les quantités de BMAL1-SUMO ce qui prouve l'importance de la sumoylation dans le contrôle de la rythmicité de la transcription de gènes sous contrôle CLOCK/BMAL1 comme *Dpb* (Cardone *et al.*, 2005). Un tel processus serait donc nécessaire au bon fonctionnement de la boucle positive.

### Complexe du protéasome

Sachant que la phosphorylation des protéines de la boucle négative provoque leur dégradation dans de nombreux cas, des études ont tenté de décrire les mécanismes sous-jacents. La dégradation de CRY2

(Suite page 40)



**Figure 5 : Représentation des motifs SUMO dans la séquence de BMAL1 chez différentes espèces (d'après Cardone et al., 2005).**

**En haut** est représentée mBMAL1 avec les domaines PAS-A, PAS-B et bHLH. **En bas**, la séquence des acides aminés de la zone comprise entre les deux domaines PAS. m, mouse ; h, human ; z, zebra fish ; d, drosophile.

(Suite de la page 39)

est régulée au moins en partie par le protéasome sous l'action de la GSK-3 $\beta$  car, *in vitro*, une augmentation de la concentration en ATP permet une dégradation plus rapide et inversement, l'ajout de MG132 (inhibiteur du protéasome 26S) empêche cette dégradation (Harada et al., 2005). Dans le cas de PER2, sa phosphorylation par la CKI $\epsilon$  permet sa dimérisation avec une ubiquitine ligase de classe E3, la  $\beta$ -TrCP (" $\beta$ -Transducin repeat containing protein"). Cette protéine a la particularité de ne fixer ses substrats que s'ils sont phosphorylés (Winston et al., 1999). PER2 présente un motif  $\beta$ -TrCP-like (<sup>477</sup>SSGYGS<sup>482</sup> avec S pour la sérine, G pour la glycine et Y pour la tyrosine) dont l'acide aminé essentiel semble être phospho-Ser478 (Eide et al., 2005). Il en résulterait ensuite une poly-ubiquitination de PER2 via le motif F-box de la  $\beta$ -TrCP (Margottin et al., 1998 ; Hart et al., 1999) conduisant à la dégradation de PER2 (Eide et al., 2005). En revanche, la stabilité de PER2 est augmentée par sa dimérisation avec CRY1 et réciproquement (Yagita et al., 2002), supposant donc un équilibre entre la formation du complexe CKI $\epsilon$ /PER2/CRY1 stabilisé et des complexes PER2/ $\beta$ -TrCP et CKI $\epsilon$ /PER2/ $\beta$ -TrCP ins-

tables. Mais, le mécanisme de stabilisation de PER2 par CRY1 (masquage du motif  $\beta$ -TrCP-like, changement de conformation de PER2...) n'est pas encore connu.

Parmi les acteurs de la voie de dégradation des protéines par le complexe du protéasome, une autre protéine pourrait intervenir, l'UCL1 ("Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1"). Les souris porteuses de la mutation *gad* ("Gracile axonal dystrophy"), affectant le gène *Uchl1* (Saigoh et al., 1999), présentent un dysfonctionnement de l'ubiquitination des protéines (Osaka et al., 2003). Il est donc possible que l'UCL1, dont l'expression est constitutive et élevée dans les SCN, intervienne dans cette dégradation (Zhang et al., 2004 ; Dong et al., 2005).

### Conclusion

Les régulations post-traductionnelles des protéines horloges ont donc des effets variés : contrôle de la stabilité, de la localisation et de l'activité. De ce fait, la mise en évidence d'une protéine horloge à un moment donné du cycle jour/nuit ne suffit plus pour évaluer l'effet de cette protéine horloge. De plus, les acteurs des régulations post-traductionnelles présentés ici sont encore pour la plupart mal connus. En effet, de nombreuses études seront nécessaires

(Suite page 41)



(Suite de la page 40)

afin de caractériser le rôle moléculaire de la GSK3 $\alpha$  et de la PKGII, de déterminer pourquoi les effets de la CKI $\epsilon$  (et de la CKI $\delta$  ?) sont si controversés, et surtout, de préciser l'ensemble des cibles des ces effecteurs. Cependant, la mise en évidence de régulations post-traductionnelles des protéines horloges, encore très peu connues il y a quelques années, a déjà permis d'apporter de nombreuses réponses quant aux mécanismes moléculaires de l'horloge.

### Conclusions des régulations

La description des mécanismes de régulation des boucles moléculaires doit cependant être interprétée avec quelques précautions. (1) Une partie des phénomènes décrits ici ne sont pas, à l'heure actuelle, mis en évidence dans les SCN, et les données à partir de cultures cellulaires (essentiellement de fibroblastes) ou *in vivo*, à partir de mesures effectuées dans les hépatocytes ne suffisent pas pour rendre ces mécanismes universels. Notons par exemple que l'effet de DBP sur l'expression de *Per1* n'est pas confirmée *in vivo*. (2) Les résultats proviennent de cultures réalisées à partir de différentes espèces, nous n'avons pas tenu compte de cette diversité pour la réalisation de cette revue. (3) Les boucles ne tiennent pas compte de tous les gènes ayant un rôle possible, comme NPAS2 qui pourrait se suppléer à CLOCK (Debruyne *et al.*, 2006, 2007). (4) Les boucles ne tiennent pas non plus compte de la localisation du neurone. Or, nous avons vu que les SCN ne sont pas un tissu homogène et, tant au niveau des tranches horaires que des mécanismes proposés, des différences entre populations de cellules des SCN doivent exister. (5) Certains mécanismes, encore mal connus, n'ont été décrits comme efficaces que sur l'une ou l'autre des protéines horloges. La [figure 6 \(A à D\)](#) présente de tels mécanismes, il ne faut donc pas interpréter une absence de flèche comme étant la démonstration qu'il n'y a pas d'effet. Ils peuvent exister mais ne sont pas démontrés. Enfin, (6), plusieurs mécanismes supposés sont décrits ici mais restent à être mis clairement en évidence.

Cependant, l'intérêt de cette revue est de pouvoir rapporter les différents phénomènes observés, quel que soit l'espèce ou le tissu utilisé. Cette synthèse a pour but de présenter un mécanisme d'action général, permettant d'avoir une base de travail pour formuler de nouvelles hypothèses.

L'étude des séquences promotrices ([figure 2](#)) a permis de montrer que CLOCK/BMAL1 n'est pas l'unique activateur de la transcription des gènes horloges mais que d'autres protéines (CREB, DBP, E4BP4) jouent également un rôle important. La présence des séquences RORE, E-box, DBP/E4BP4-

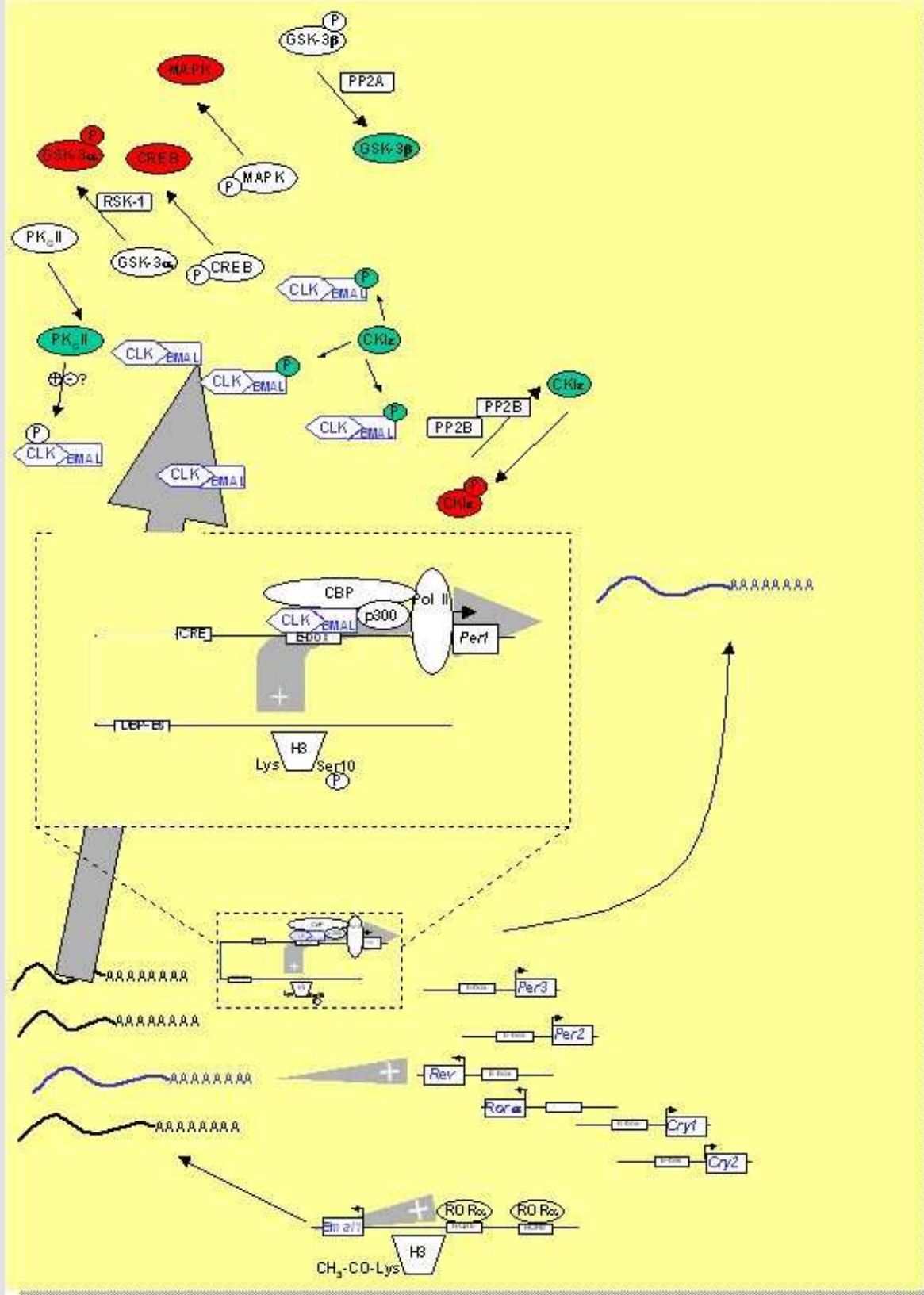
binding site et surtout les diverses combinaisons possibles entre elles, pourraient être à la base des activations différentielles des gènes horloges (Yamamoto *et al.*, 2004). Il est également fort possible que des protéines comme la NOCTURNIN ou des RBP aient un rôle régulateur pour la quantité d'ARNm produite mais aussi pour l'efficacité de la traduction. Puis, les interactions entre les PERs et CRYs interviennent dans la régulation de leur localisation nucléo-cytoplasmique comme dans leur dégradation par le complexe du protéasome (Miyazaki *et al.*, 2001 ; Yagita *et al.*, 2002). De même, la formation de dimères CLOCK/BMAL1 contrôle en partie leur localisation, leur phosphorylation et leur dégradation (Kondratov *et al.*, 2003). Ainsi, l'action et la demi-vie des protéines horloges sont sous contrôle partiel de nombreuses protéines. L'action d'autres protéines intervenant à différents niveaux, permet donc un **fonctionnement spatio-temporel des boucles de régulation afin d'obtenir une période proche de 24h**. Ces régulations spatio-temporelles schématisées [figure 6 \(A à D\)](#) ont un rôle clé dans la création des oscillations circadiennes. Par exemple, la mutation du gène codant la CKI $\epsilon$ , permettant une accumulation plus rapide des protéines PERs et CRYs, induit une réduction de la période circadienne chez le mutant *tau* (Lowrey *et al.*, 2000). C'est donc l'ensemble des régulations et les équilibres entre action et dégradation qui permettent des adaptations fines de l'horloge moléculaire des SCN. Ces adaptations permettent l'apparition des décalages de phase entre les pics d'ARNm des différents gènes horloges de la boucle négative qui sont pourtant tous, sous contrôle de CLOCK/BMAL1. La régulation des boucles met déjà en jeu de nombreux mécanismes et de futures études viendront certainement les compléter (compliquer ?) davantage.

Ainsi, l'ensemble de ces mécanismes permet de diriger le fonctionnement moléculaire de l'horloge et d'établir des messages rythmiques très précis en vue d'imposer une rythmicité finement régulée à l'organisme.

### Références

- Abe M, Herzog ED & Block GD. (2000). Lithium lengthens the circadian period of individual suprachiasmatic nucleus neurons. *Neuroreport* 11, 3261-4.
- Akashi M & Takumi T. (2005). The orphan nuclear receptor RORalpha regulates circadian transcription of the mammalian core-clock *Bmal1*. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 12, 441-8.
- Akashi M, Tsuchiya Y, Yoshino T & Nishida E. (2002). Control of intracellular dynamics of mammalian period proteins by casein kinase I epsilon (CKIepsilon) and CKIdelta in cultured cells. *Mol. Cell. Biol.* 22, 1693-703.
- Akashi M, Ichise T, Mamme T & Takumi T. (2006). Molecular mechanism of cell-autonomous circadian gene

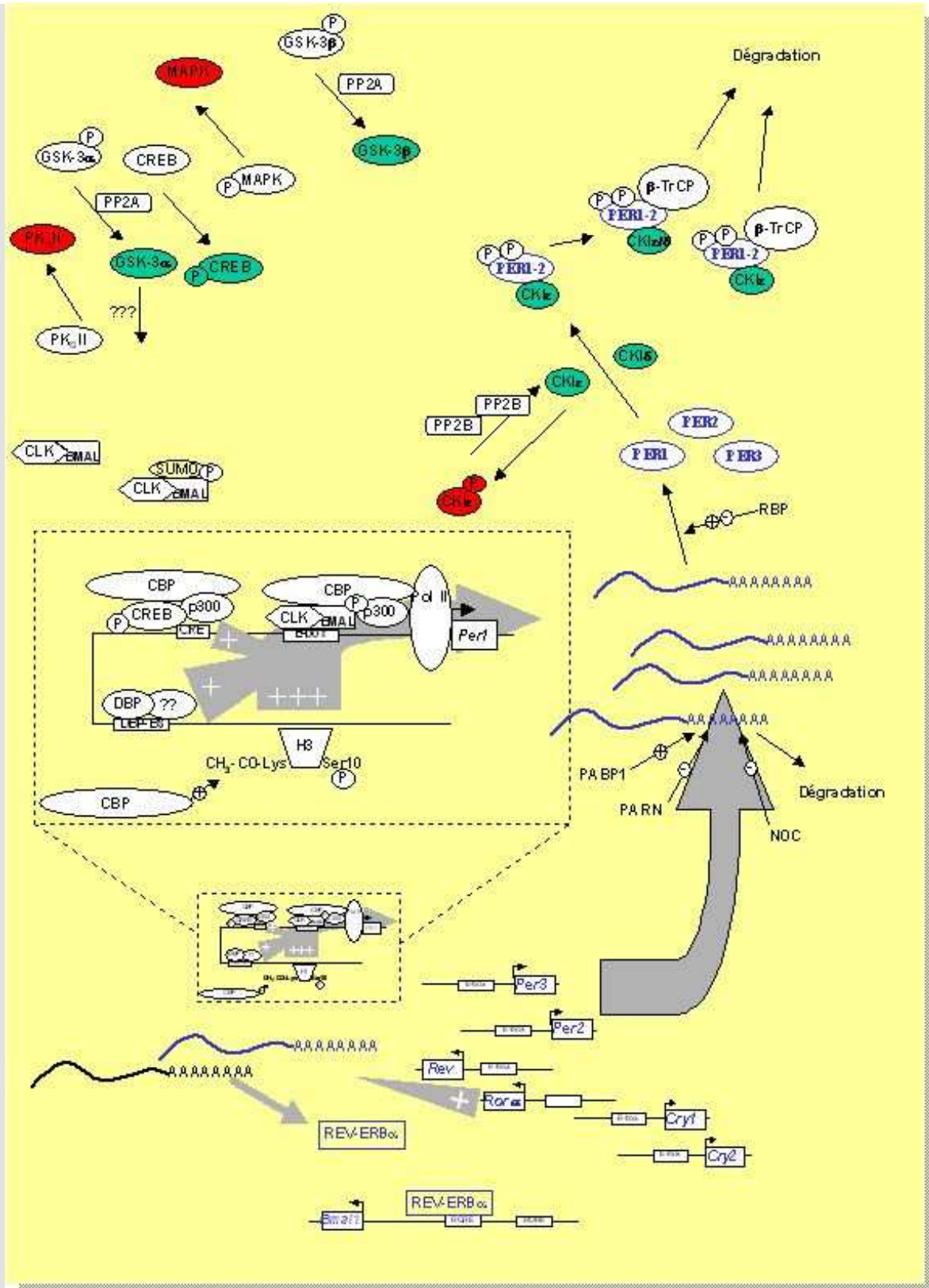
(Suite page 46)



**Figure 6 : Régulations spatio-temporelles des produits des gènes horloges à la base de la rythmicité.**

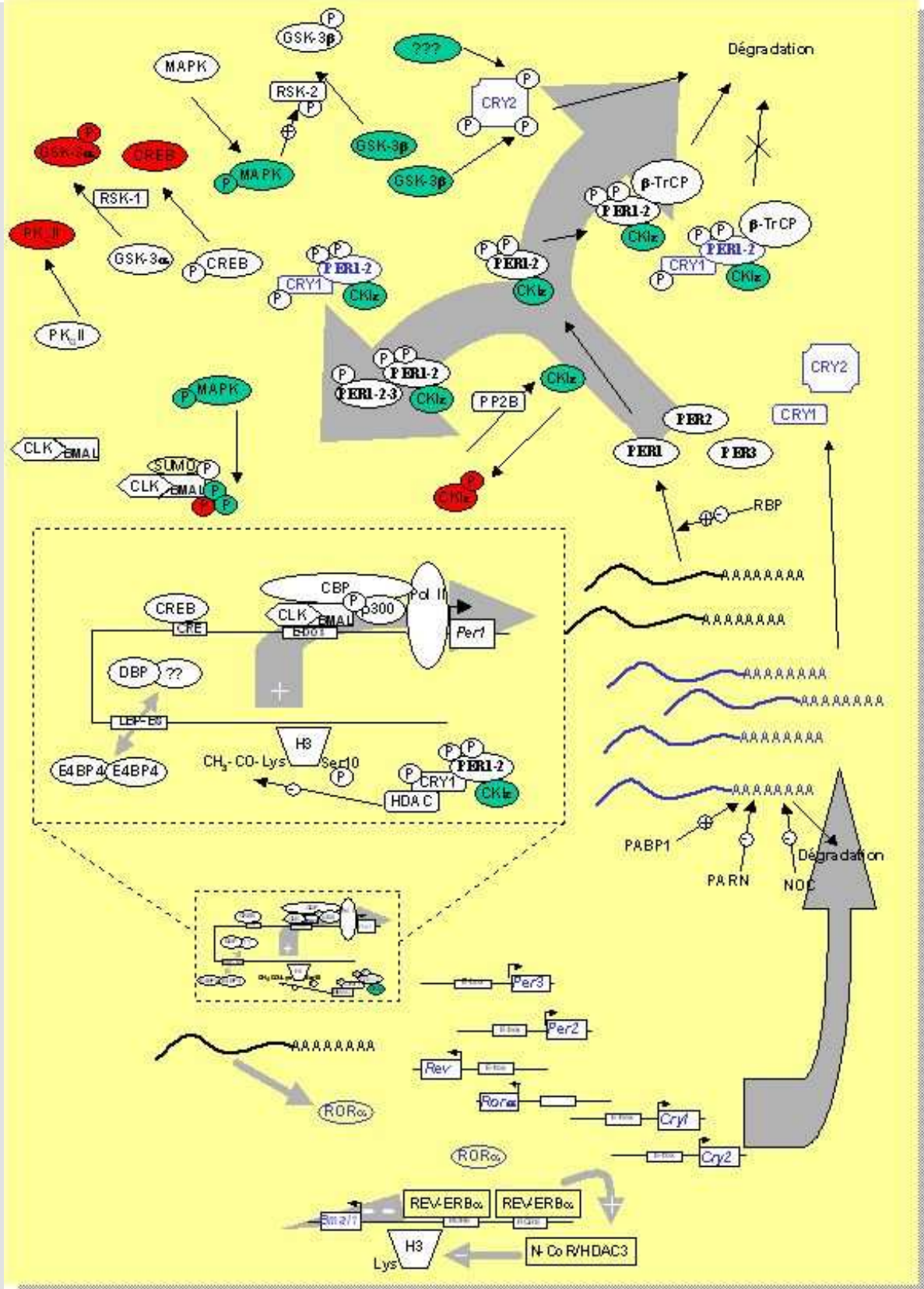
**A - Accumulation de dimères CLOCK/BMAL1.**

Dans le cas des ARNm et des protéines des gènes horloges, la couleur bleue indique une synthèse *de novo*. Les couleurs verte et rouge indiquent les états d'activation et d'inactivation, respectivement. De ZT21 à ZT3 environ, les protéines BMAL1 s'accumulent, permettant la formation de dimères CLOCK/BMAL1. La CKIε permet la phosphorylation de BMAL1 augmentant ainsi son activation. La PKCII phosphoryle CLOCK mais la conséquence est incertaine. Puis, ce dimère pénètre dans le noyau et permet le début de la transactivation. De ce fait, les ARNm de *Rev-erba* et de *Per1* commencent à s'accumuler.



**Figure 6 : Régulations spatio-temporelles des produits des gènes horloges à la base de la rythmicité.**  
**B - Accumulation des produits des gènes Per.**

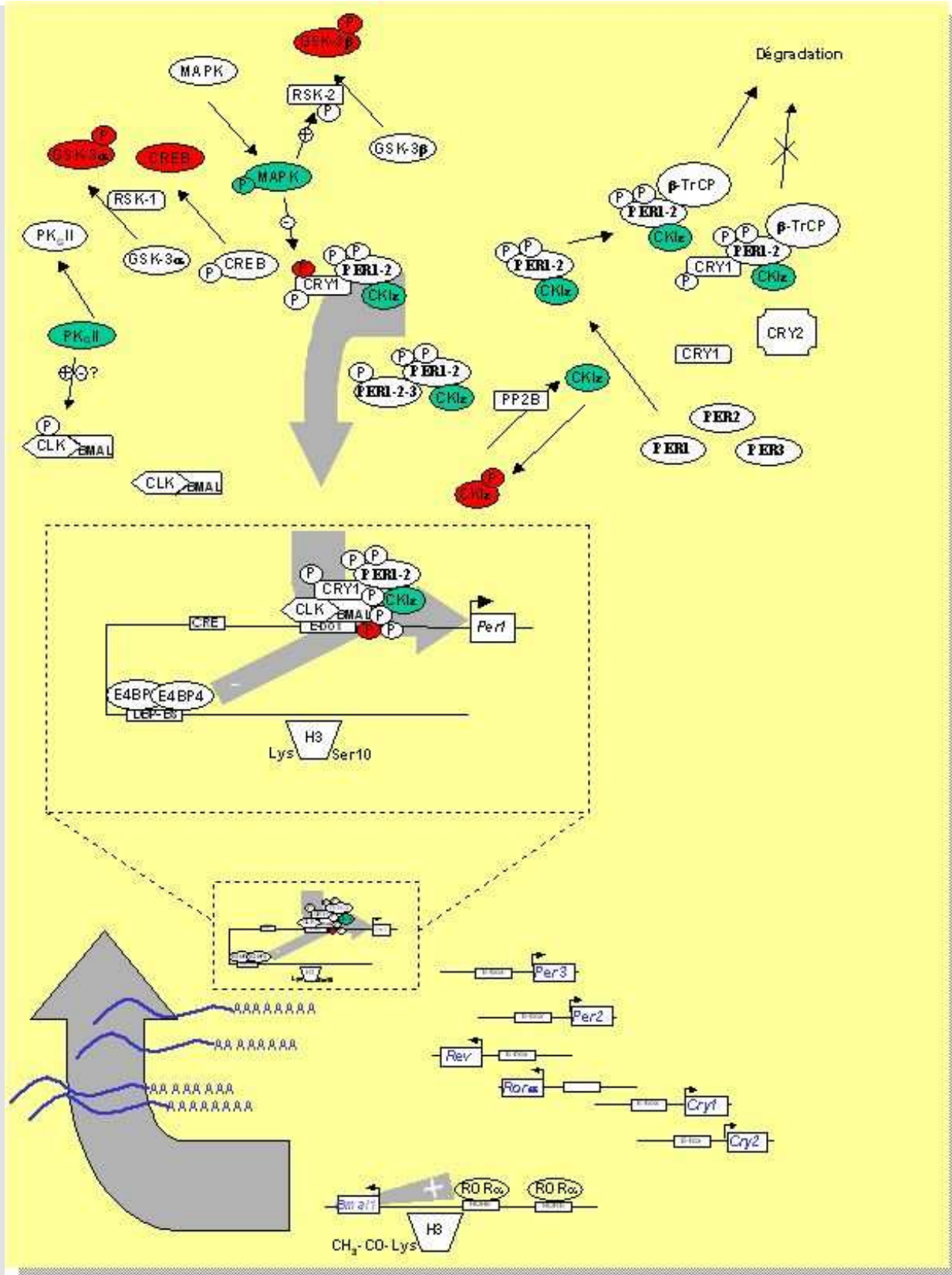
De ZT3 à ZT9, on note au niveau des promoteurs (montré pour *Per1*) une accumulation des effets activateurs de la transcription : (1) maximum de fixation de Pol II ; (2) fixation des complexes p300/CLOCK/BMAL1/CBP ; (3) fixation de p300/P-CREB/CBP ; (4) fixation de DBP et (5) l'H3 est phosphorylée en Ser10 et acétylée en Lys4/9 par des MAPK et CBP, respectivement, ce qui favorise la trans-activation. Ainsi, l'accumulation des ARNm de *Per1* puis de *Per3* et *Per2*, en fonction des activités (présumentes) de PABP1, PARN et NOC, permet la formation des protéines PER1 à 3, en fonction de l'activité de la RPB. Celles-ci se dimérisent, sont phosphorylées et peuvent être dégradées. Parallèlement, les protéines REV-ERB $\alpha$  s'accumulent tout comme les ARNm de *Rora*.



**Figure 6 : Régulations spatio-temporelles des produits des gènes horloges à la base de la rythmicité.**

**C - Accumulation des dimères PER/CRY.**

De ZT9 à ZT15, on assiste aux pics de présence des ARNm de *Cry1* et *Cry2*. Les protéines CRY et PER s'accumulent et sont phosphorylées. Petit à petit, l'équilibre entre l'accumulation de protéines et leurs dégradations s'inverse. La transactivation diminue, CREB n'est plus phosphorylée et DBP est en compétition avec E4BP4. Concernant les protéines BMAL1, elles sont SUMOylées et phosphorylées par les MAP-K (alors à son maximum d'activité) permettant respectivement la dégradation et l'inactivation de BMAL1. REV-ERBα inhibe fortement la transcription de *Bmal1* mais les protéines RORα s'accumulent.



**Figure 6 : Régulations spatio-temporelles des produits des gènes horloges à la base de la rythmicité.**  
**D - Inhibition de la transactivation et retour au début du cycle.**

De ZT15 à 21, les complexes PER/CRY sont fortement accumulés dans le noyau où ils inhibent leur propre transcription ce qui est favorisé par les homodimères d'E4BP4. De plus, la GSK-3β présente son état d'inactivation le plus fort (grâce au pic d'activité des P-MAPK) n'inhibant donc plus CRY2. A l'inverse, les P-MAPK permettent d'inactiver les CRYs. Les protéines ROR $\alpha$  étant fortement représentées, elles permettent l'activation de la transcription de *Bmal1* dont les ARNm s'accumulent. Enfin, les protéines PER, CRY vont être dégradées, c'est le début d'un nouveau cycle.

(Suite de la page 41)

- expression of period2, a crucial regulator of the mammalian circadian clock. *Mol. Biol. Cell.* 17, 555-65.
- Audic Y & Hartley RS. (2004). Post-transcriptional regulation in cancer. *Biol. Cell.* 96, 479-98.
- Baggs JE & Green CB. (2003). Nocturnin, a deadenylase in *Xenopus laevis* retina: a mechanism for posttranscriptional control of circadian-related mRNA. *Curr. Biol.* 13, 189-98.
- Beelman CA & Parker R. (1995). Degradation of mRNA in eukaryotes. *Cell* 81, 179-83.
- Brown SA, Ripperger J, Kadener S, Fleury-Olela F, Vilbois F, Rosbash M & Schibler U. (2005). PERIOD1-associated proteins modulate the negative limb of the mammalian circadian oscillator. *Science* 308, 693-6.
- Burd CG & Dreyfuss G. (1994). Conserved structures and diversity of functions of RNA-binding proteins. *Science* 265, 615-21.
- Butcher GQ, Lee B, Hsieh F & Obrietan K. (2004). Light- and clock-dependent regulation of ribosomal S6 kinase activity in the suprachiasmatic nucleus. *Eur. J. Neurosci.* 19, 907-15.
- Camacho F, Cilio M, Guo Y, Virshup DM, Patel K, Khorkova O, Styren S, Morse B, Yao Z & Keesler GA. (2001). Human casein kinase I delta phosphorylation of human circadian clock proteins period 1 and 2. *FEBS Lett.* 489, 159-65.
- Cardone L, Hirayama J, Giordano F, Tamaru T, Palvimo JJ & Sassone-Corsi P. (2005). Circadian clock control by SUMOylation of BMAL1. *Science* 309, 1390-4.
- Cegielska A, Gietzen KF, Rivers A & Virshup DM. (1998). Autoinhibition of casein kinase I epsilon (CKI epsilon) is relieved by protein phosphatases and limited proteolysis. *J. Biol. Chem.* 273, 1357-64.
- Cheung P, Allis CD & Sassone-Corsi P. (2000a). Signaling to chromatin through histone modifications. *Cell* 103, 263-71.
- Cheung P, Tanner KG, Cheung WL, Sassone-Corsi P, Denu JM & Allis CD. (2000b). Synergistic coupling of histone H3 phosphorylation and acetylation in response to epidermal growth factor stimulation. *Mol. Cell.* 5, 905-15.
- Chiba Y, Johnson MA, Lidder P, Vogel JT, van Erp H & Green PJ. (2004). AtPARN is an essential poly(A) ribonuclease in *Arabidopsis*. *Gene* 328, 95-102
- Claridge-Chang A, Wijnen H, Naef F, Boothroyd C, Rajewsky N & Young MW. (2001). Circadian regulation of gene expression systems in the *Drosophila* head. *Neuron* 32, 657-71.
- Cohen P & Frame S. (2001). The renaissance of GSK3. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2, 769-76.
- Cook T & Urrutia R. (2000). TIEG proteins join the Smads as TGF-beta-regulated transcription factors that control pancreatic cell growth. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 278, 513-21.
- Copeland PR & Wormington M. (2001). The mechanism and regulation of deadenylation: identification and characterization of *Xenopus* PARN. *RNA* 7, 875-86.
- Couttet P, Fromont-Racine M, Steel D, Pictet R & Grange T. (1997). Messenger RNA deadenylation precedes decapping in mammalian cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94, 5628-33.
- Cowell IG, Skinner A & Hurst HC. (1992). Transcriptional repression by a novel member of the bZIP family of transcription factors. *Mol. Cell. Biol.* 12, 3070-7.
- Crosio C, Cermakian N, Allis CD & Sassone-Corsi P. (2000). Light induces chromatin modification in cells of the mammalian circadian clock. *Nat. Neurosci.* 3, 1241-7.
- Curtis AM, Seo SB, Westgate EJ, Rudic RD, Smyth EM, Chakravarti D, FitzGerald GA & McNamara P. (2004). Histone acetyltransferase-dependent chromatin remodeling and the vascular clock. *J. Biol. Chem.* 279, 7091-7.
- Debruyne JP, Noton E, Lambert CM, Maywood ES, Weaver DR & Reppert SM. (2006). A clock shock: mouse CLOCK is not required for circadian oscillator function. *Neuron* 50, 465-77.
- Debruyne JP, Weaver DR & Reppert SM. (2007). CLOCK and NPAS2 have overlapping roles in the suprachiasmatic circadian clock. *Nat. Neurosci.* 10, 543-5.
- De Cesare D & Sassone-Corsi P. (2000). Transcriptional regulation by cyclic AMP-responsive factors. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.* 64, 343-69.
- Desterro JM, Rodriguez MS & Hay RT. (1998). SUMO-1 modification of I kappa Balpha inhibits NF-kappaB activation. *Mol. Cell.* 2, 233-9.
- Doi M, Hirayama J & Sassone-Corsi P. (2006). Circadian regulator CLOCK is a histone acetyltransferase. *Cell.* 125, 497-508.
- Dong X, Yagita K, Zhang J & Okamura H. (2005). Expression of ubiquitin-related enzymes in the suprachiasmatic nucleus with special reference to ubiquitin carboxy-terminal hydrolase UchL1. *Biomed. Res.* 26, 43-9.
- Dreyfus M & Regnier P. (2002). The poly(A) tail of mRNAs: bodyguard in eukaryotes, scavenger in bacteria. *Cell* 111, 611-3.
- Ebisawa T, Uchiyama M, Kajimura N, Mishima K, Kamei Y, Katoh M, Watanabe T, Sekimoto M, Shibui K, Kim K, Kudo Y, Ozeki Y, Sugishita M, Toyoshima R, Inoue Y, Yamada N, Nagase T, Ozaki N, Ohara O, Ishida N, Okawa M, Takahashi K & Yamauchi T. (2001). Association of structural polymorphisms in the human period3 gene with delayed sleep phase syndrome. *EMBO Rep.* 2, 342-6.
- Eide EJ & Virshup DM. (2001). Casein kinase I: another cog in the circadian clockworks. *Chronobiol. Int.* 18, 389-98.
- Eide EJ, Vielhaber EL, Hinz WA & Virshup DM. (2002). The circadian regulatory proteins BMAL1 and cryptochromes are substrates of casein kinase I epsilon. *J. Biol. Chem.* 277, 17248-54.
- Eide EJ, Woolf MF, Kang H, Woolf P, Hurst W, Camacho F, Vielhaber EL, Giovanni A & Virshup DM. (2005). Control of mammalian circadian rhythm by CKIepsilon-regulated proteasome-mediated PER2 degradation. *Mol. Cell. Biol.* 25, 2795-807.

(Suite page 47)

(Suite de la page 46)

- Eldar-Finkelman H, Seger R, Vandenheede JR & Krebs EG. (1995). Inactivation of glycogen synthase kinase-3 by epidermal growth factor is mediated by mitogen-activated protein kinase/p90 ribosomal protein S6 kinase signaling pathway in NIH/3T3 cells. *J. Biol. Chem.* 270, 987-90.
- Etchegaray JP, Lee C, Wade PA & Reppert SM. (2003). Rhythmic histone acetylation underlies transcription in the mammalian circadian clock. *Nature* 421, 177-82.
- Fiol CJ, Mahrenholz AM, Wang Y, Roeske RW & Roach PJ. (1987). Formation of protein kinase recognition sites by covalent modification of the substrate. Molecular mechanism for the synergistic action of casein kinase II and glycogen synthase kinase 3. *J. Biol. Chem.* 262, 14042-8.
- Fiore P & Gannon RL. (2003). Expression of the transcriptional coactivators CBP and p300 in the hamster suprachiasmatic nucleus: possible molecular components of the mammalian circadian clock. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 111, 1-7.
- Flotow H & Roach PJ. (1991). Role of acidic residues as substrate determinants for casein kinase I. *J. Biol. Chem.* 266, 3724-7.
- Forman BM, Chen J, Blumberg B, Kliewer SA, Henshaw R, Ong ES & Evans RM. (1994). Cross-talk among ROR alpha 1 and the Rev-erb family of orphan nuclear receptors. *Mol. Endocrinol.* 8, 1253-61.
- Frame S & Cohen P. (2001). GSK3 takes centre stage more than 20 years after its discovery. *Biochem. J.* 359, 1-16.
- Gau D, Lemberger T, von Gall C, Kretz O, Le Minh N, Gass P, Schmid W, Schibler U, Korf HW & Schutz G. (2002). Phosphorylation of CREB Ser142 regulates light-induced phase shifts of the circadian clock. *Neuron* 34, 245-53.
- Gekakis N, Staknis D, Nguyen HB, Davis FC, Wilsbacher LD, King DP, Takahashi JS & Weitz CJ. (1998). Role of the CLOCK protein in the mammalian circadian mechanism. *Science* 280, 1564-9.
- Gill G. (2003). Post-translational modification by the small ubiquitin-related modifier SUMO has big effects on transcription factor activity. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 13, 108-13.
- Gill G. (2004). SUMO and ubiquitin in the nucleus: different functions, similar mechanisms? *Genes Dev.* 18, 2046-59.
- Gillette MU & Reppert SM. (1987). The hypothalamic suprachiasmatic nuclei: circadian patterns of vasopressin secretion and neuronal activity in vitro. *Brain Res. Bull.* 19, 135-9.
- Gietzen KF & Virshup DM. (1999). Identification of inhibitory autophosphorylation sites in casein kinase I epsilon. *J. Biol. Chem.* 274, 32063-70.
- Gonzalez GA & Montminy MR. (1989). Cyclic AMP stimulates somatostatin gene transcription by phosphorylation of CREB at serine 133. *Cell* 59, 675-80.
- Graves PR & Roach PJ. (1995). Role of COOH-terminal phosphorylation in the regulation of casein kinase I delta. *J. Biol. Chem.* 270, 21689-94.
- Green CB & Besharse JC. (1996). Identification of a novel vertebrate circadian clock-regulated gene encoding the protein nocturnin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 93, 14884-8.
- Gross SD & Anderson RA. (1998). Casein kinase I: spatial organization and positioning of a multifunctional protein kinase family. *Cell Signal* 10, 699-711.
- Hao H, Allen DL & Hardin PE. (1997). A circadian enhancer mediates PER-dependent mRNA cycling in *Drosophila melanogaster*. *Mol. Cell. Biol.* 17, 3687-93.
- Harada Y, Sakai M, Kurabayashi N, Hirota T & Fukada Y. (2005). Ser-557-phosphorylated mCRY2 is degraded upon synergistic phosphorylation by glycogen synthase kinase-3 beta. *J. Biol. Chem.* 280, 31714-21.
- Hardin PE, Hall JC & Rosbash M. (1990). Feedback of the *Drosophila* period gene product on circadian cycling of its messenger RNA levels. *Nature.* 343, 536-40.
- Harding HP & Lazar MA. (1995). The monomer-binding orphan receptor Rev-Erb represses transcription as a dimer on a novel direct repeat. *Mol. Cell. Biol.* 15, 4791-802.
- Hart M, Concordet JP, Lassot I, Albert I, del los Santos R, Durand H, Perret C, Rubinfeld B, Margottin F, Benarous R & Polakis P. (1999). The F-box protein beta-TrCP associates with phosphorylated beta-catenin and regulates its activity in the cell. *Curr. Biol.* 9, 207-10.
- Hida A, Koike N, Hirose M, Hattori M, Sakaki Y & Tei H. (2000). The human and mouse Period1 genes: five well-conserved E-boxes additively contribute to the enhancement of mPer1 transcription. *Genomics* 65, 224-33.
- Hirayama J & Sassone-Corsi P. (2005). Structural and functional features of transcription factors controlling the circadian clock. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 15, 548-56.
- Hogenesch JB, Gu YZ, Jain S & Bradfield CA. (1998). The basic-helix-loop-helix-PAS orphan MOP3 forms transcriptionally active complexes with circadian and hypoxia factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 5474-9.
- Ishida Y, Yagita K, Fukuyama T, Nishimura M, Nagano M, Shigeyoshi Y, Yamaguchi S, Komori T & Okamura H. (2001). Constitutive expression and delayed light response of casein kinase I epsilon and I delta mRNAs in the mouse suprachiasmatic nucleus. *J. Neurosci. Res.* 64, 612-6.
- Iwahana E, Akiyama M, Miyakawa K, Uchida A, Kasahara J, Fukunaga K, Hamada T & Shibata S. (2004). Effect of lithium on the circadian rhythms of locomotor activity and glycogen synthase kinase-3 protein expression in the mouse suprachiasmatic nuclei. *Eur. J. Neurosci.* 19, 2281-7.
- Iwasaki Y, Oiso Y, Saito H & Majzoub JA. (1997). Positive and negative regulation of the rat vasopressin gene promoter. *Endocrinology* 138, 5266-74.
- Kojima S, Hirose M, Tokunaga K, Sakaki Y & Tei H. (2003). Structural and functional analysis of 3' untranslated region of mouse Period1 mRNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 301, 1-7.

(Suite page 48)

(Suite de la page 47)

- Kojima S, matsumoto K, Shimada M, Nagano M, Shigeyoshi Y, Hoshino S, Green CB, Sakaki Y & Tei H. (2006). Lark activates post-transcriptional expression of a mammalian clock protein, period1. Society for Research on Biological Rhythms Congress, Sandestin, Floride, USA. May 21-25.
- Kondratov RV, Chernov MV, Kondratova AA, Gorbacheva VY, Gudkov AV & Antoch MP. (2003). BMAL1-dependent circadian oscillation of nuclear CLOCK: posttranslational events induced by dimerization of transcriptional activators of the mammalian clock system. *Genes Dev.* 17, 1921-32.
- Kornberg RD. (1974). Chromatin structure: a repeating unit of histones and DNA. *Science* 184, 868-71.
- Kume K, Zylka MJ, Sriram S, Shearman LP, Weaver DR, Jin X, Maywood ES, Hastings MH & Reppert SM. (1999). mCRY1 and mCRY2 are essential components of the negative limb of the circadian clock feedback loop. *Cell* 98, 193-205.
- Kwok RP, Lundblad JR, Chrivia JC, Richards JP, Bachinger HP, Brennan RG, Roberts SG, Green MR & Goodman RH. (1994). Nuclear protein CBP is a coactivator for the transcription factor CREB. *Nature* 370, 223-6.
- Lachner M & Jenuwein T. (2002). The many faces of histone lysine methylation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 14, 286-98.
- Lamprecht C & Mueller CR. (1999). D-site binding protein transactivation requires the proline- and acid-rich domain and involves the coactivator p300. *J. Biol. Chem.* 274, 17643-8.
- Lee C, Etchegaray JP, Cagampang FR, Loudon AS & Reppert SM. (2001). Posttranslational mechanisms regulate the mammalian circadian clock. *Cell* 107, 855-867.
- Lee C, Weaver DR & Reppert SM. (2004). Direct association between mouse PERIOD and CK1epsilon is critical for a functioning circadian clock. *Mol. Cell. Biol.* 24, 584-94.
- Lee JS, Zhang X & Shi Y. (1996). Differential interactions of the CREB/ATF family of transcription factors with p300 and adenovirus E1A. *J. Biol. Chem.* 271, 17666-74.
- Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Radmark O, Kim S & Kim VN. (2003). The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 425, 415-9.
- Liu F, Virshup DM, Nairn AC & Greengard P. (2002). Mechanism of regulation of casein kinase I activity by group I metabotropic glutamate receptors. *J. Biol. Chem.* 277, 45393-9.
- Liu X & Green CB. (2001). A novel promoter element, photoreceptor conserved element II, directs photoreceptor-specific expression of nocturnin in *Xenopus laevis*. *J. Biol. Chem.* 276, 15146-54.
- Liu X & Green CB. (2002). Circadian regulation of nocturnin transcription by phosphorylated CREB in *Xenopus* retinal photoreceptor cells. *Mol. Cell. Biol.* 22, 7501-11.
- Lo WS, Trievel RC, Rojas JR, Duggan L, Hsu JY, Allis CD, Marmorstein R & Berger SL. (2000). Phosphorylation of serine 10 in histone H3 is functionally linked in vitro and in vivo to Gcn5-mediated acetylation at lysine 14. *Mol. Cell.* 5, 917-26.
- Lopez-Molina L, Conquet F, Dubois-Dauphin M & Schibler U. (1997). The DBP gene is expressed according to a circadian rhythm in the suprachiasmatic nucleus and influences circadian behavior. *EMBO J.* 16, 6762-71
- Lowrey PL, Shimomura K, Antoch MP, Yamazaki S, Zemenides PD, Ralph MR, Menaker M & Takahashi JS. (2000). Positional syntenic cloning and functional characterization of the mammalian circadian mutation tau. *Science* 288, 483-492.
- Lowrey PL & Takahashi JS. (2004). Mammalian circadian biology: elucidating genome-wide levels of temporal organization. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 5, 407-41.
- Mangelsdorf DJ, Thummel C, Beato M, Herrlich P, Schutz G, Umesono K, Blumberg B, Kastner P, Mark M, Chambon P & Evans RM. (1995). The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell* 83, 835-9.
- Margottin F, Bour SP, Durand H, Selig L, Benichou S, Richard V, Thomas D, Strebel K & Benarous R. (1998). A novel human WD protein, h-beta TrCp, that interacts with HIV-1 Vpu connects CD4 to the ER degradation pathway through an F-box motif. *Mol. Cell* 1, 565-74.
- Matunis MJ, Wu J & Blobel G. (1998). SUMO-1 modification and its role in targeting the Ran GTPase-activating protein, RanGAP1, to the nuclear pore complex. *J. Cell. Biol.* 140, 499-509.
- Maywood ES, O'Brien JA & Hastings MH. (2003). Expression of mCLOCK and other circadian clock-relevant proteins in the mouse suprachiasmatic nuclei. *J. Neuroendocrinol.* 15, 329-34.
- Mitsui S, Yamaguchi S, Matsuo T, Ishida Y & Okamura H. (2001). Antagonistic role of E4BP4 and PAR proteins in the circadian oscillatory mechanism. *Genes Dev.* 15, 995-1006.
- Miyazaki K, Mesaki M & Ishida N. (2001). Nuclear entry mechanism of rat PER2 (rPER2): role of rPER2 in nuclear localization of CRY protein. *Mol. Cell. Biol.* 21, 6651-9.
- Miyazaki K, Nagase T, Mesaki M, Narukawa J, Ohara O & Ishida N. (2004). Phosphorylation of clock protein PER1 regulates its circadian degradation in normal human fibroblasts. *Biochem. J.* 380, 95-103.
- Munoz E, Brewer M & Baler R. (2002). Circadian Transcription. Thinking outside the E-Box. *J. Biol. Chem.* 277, 36009-17.
- Nakaya M, Sanada K & Fukada Y. (2003). Spatial and temporal regulation of mitogen-activated protein kinase phosphorylation in the mouse suprachiasmatic nucleus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 305, 494-501.
- Naruse Y, Oh-hashii K, Iijima N, Naruse M, Yoshioka H & Tanaka M. (2004). Circadian and light-induced transcription of clock gene Per1 depends on histone acetylation and deacetylation. *Mol. Cell. Biol.* 24, 6278-87.
- Obrietan K, Impey S & Storm DR. (1998). Light and circadian rhythmicity regulate MAP kinase activation in the suprachiasmatic nuclei. *Nat. Neurosci.* 1, 693-700.

(Suite page 49)



(Suite de la page 48)

- Obrietan K, Impey S, Smith D, Athos J & Storm DR. (1999). Circadian regulation of cAMP response element-mediated gene expression in the suprachiasmatic nuclei. *J. Biol. Chem.* 274, 17748-56.
- Oishi K, Miyazaki K, Kadota K, Kikuno R, Nagase T, Atsumi G, Ohkura N, Azama T, Mesaki M, Yukimasa S, Kobayashi H, Iitaka C, Umehara T, Horikoshi M, Kudo T, Shimizu Y, Yano M, Monden M, Machida K, Matsuda J, Horie S, Todo T & Ishida N. (2003). Genome-wide expression analysis of mouse liver reveals CLOCK-regulated circadian output genes. *J. Biol. Chem.* 278, 41519-27.
- Osaka H, Wang YL, Takada K, Takizawa S, Setsuie R, Li H, Sato Y, Nishikawa K, Sun YJ, Sakurai M, Harada T, Hara Y, Kimura I, Chiba S, Namikawa K, Kiyama H, Noda M, Aoki S & Wada K. (2003). Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 binds to and stabilizes monoubiquitin in neuron. *Hum. Mol. Genet.* 12, 1945-58.
- Panda S, Antoch MP, Miller BH, Su AI, Schook AB, Straume M, Schultz PG, Kay SA, Takahashi JS & Hogenesch JB. (2002). Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell* 109, 307-20.
- Pizzio GA, Hainich EC, Ferreyra GA, Coso OA & Golombek DA. (2003). Circadian and photic regulation of ERK, JNK and p38 in the hamster SCN. *Neuroreport* 14, 1417-9.
- Preitner N, Damiola F, Lopez-Molina L, Zakany J, Duboule D, Albrecht U & Schibler U. (2002). The orphan nuclear receptor REV-ERB $\alpha$  controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator. *Cell* 110, 251-60.
- Ralph MR & Menaker M. (1988). A mutation of the circadian system in golden hamsters. *Science*. 241, 1225-7.
- Reppert SM & Weaver DR. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* 418, 935-41.
- Ripperger JA & Schibler U. (2006). Rhythmic CLOCK-BMAL1 binding to multiple E-box motifs drives circadian Dbp transcription and chromatin transitions. *Nat. Genet.* 38, 369-74.
- Ripperger JA, Shearman LP, Reppert SM & Schibler U. (2000). CLOCK, an essential pacemaker component, controls expression of the circadian transcription factor DBP. *Genes Dev.* 14, 679-89.
- Robinson BG, Frim DM, Schwartz WJ & Majzoub JA. (1988). Vasopressin mRNA in the suprachiasmatic nuclei: daily regulation of polyadenylate tail length. *Science* 241, 342-4.
- Saigoh K, Wang YL, Suh JG, Yamanishi T, Sakai Y, Kiyosawa H, Harada T, Ichihara N, Wakana S, Kikuchi T & Wada K. (1999). Intragenic deletion in the gene encoding ubiquitin carboxy-terminal hydrolase in gad mice. *Nat. Genet.* 23, 47-51.
- Sanada K, Okano T & Fukada Y. (2002). Mitogen-activated protein kinase phosphorylates and negatively regulates basic helix-loop-helix-PAS transcription factor BMAL1. *J. Biol. Chem.* 277, 267-71.
- Sanada K, Harada Y, Sakai M, Todo T & Fukada Y. (2004). Serine phosphorylation of mCRY1 and mCRY2 by mitogen-activated protein kinase. *Genes Cells* 9, 697-708.
- Santos-Rosa H, Schneider R, Bannister AJ, Sherriff J, Bernstein BE, Emre NC, Schreiber SL, Mellor J & Kouzarides T. (2002). Active genes are tri-methylated at K4 of histone H3. *Nature* 419, 407-11.
- Sassone-Corsi P, Mizzen CA, Cheung P, Crosio C, Monaco L, Jacquot S, Hanauer A & Allis CD. (1999). Requirement of Rsk-2 for epidermal growth factor-activated phosphorylation of histone H3. *Science* 285, 886-91.
- Sato TK, Panda S, Miraglia LJ, Reyes TM, Rudic RD, McNamara P, Naik KA, FitzGerald GA, Kay SA & Hogenesch JB. (2004). A functional genomics strategy reveals Rora as a component of the mammalian circadian clock. *Neuron* 43, 527-37.
- Sato TK, Yamada RG, Ukai H, Baggs JE, Miraglia LJ, Kobayashi TJ, Welsh DK, Kay SA, Ueda HR & Hogenesch JB. (2006). Feedback repression is required for mammalian circadian clock function. *Nat. Genet.* 38, 312-9.
- Schoenheimer R. (1942). The dynamic state of body constituents. Cambridge: Harvard University Press.
- Schwartz WJ & Reppert SM. (1985). Neural regulation of the circadian vasopressin rhythm in cerebrospinal fluid: a pre-eminent role for the suprachiasmatic nuclei. *J. Neurosci.* 5, 2771-8.
- Shav-Tal Y & Zipori D. (2002). PSF and p54(nrb)/NonO-multi-functional nuclear proteins. *FEBS Lett.* 531, 109-14.
- Siomi H & Dreyfuss G. (1997). RNA-binding proteins as regulators of gene expression. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 7, 345-53.
- Strahl BD & Allis CD. (2000). The language of covalent histone modifications. *Nature* 403, 41-5.
- Sturgill TW, Ray LB, Erikson E & Maller JL. (1988). Insulin-stimulated MAP-2 kinase phosphorylates and activates ribosomal protein S6 kinase II. *Nature* 334, 715-8.
- Sutherland C & Cohen P. (1994). The alpha-isoform of glycogen synthase kinase-3 from rabbit skeletal muscle is inactivated by p70 S6 kinase or MAP kinase-activated protein kinase-1 in vitro. *FEBS Lett.* 338, 37-42.
- Sutherland C, Leighton IA & Cohen P. (1993). Inactivation of glycogen synthase kinase-3 beta by phosphorylation: new kinase connections in insulin and growth-factor signalling. *Biochem. J.* 296, 15-9.
- Swiatek W, Tsai IC, Klimowski L, Pepler A, Barnette J, Yost HJ & Virshup DM. (2004). Regulation of casein kinase I epsilon activity by Wnt signaling. *J. Biol. Chem.* 279, 13011-7.
- Takahata S, Ozaki T, Mimura J, Kikuchi Y, Sogawa K & Fujii-Kuriyama Y. (2000). Transactivation mechanisms of mouse clock transcription factors, mClock and mArnt3. *Genes Cells* 5, 739-47.
- Takano A, Shimizu K, Kani S, Buijs RM, Okada M & Nagai K. (2000). Cloning and characterization of rat casein kinase 1epsilon. *FEBS Lett.* 477, 106-12.
- Tharun S & Parker R. (2001). Targeting an mRNA for decapping: displacement of translation factors and association of the Lsm1p-7p complex on deadenylated yeast mRNAs. *Mol. Cell.* 8, 1075-83.

(Suite page 50)

(Suite de la page 49)

- Thomson S, Clayton AL, Hazzalin CA, Rose S, Barratt MJ & Mahadevan LC. (1999). The nucleosomal response associated with immediate-early gene induction is mediated via alternative MAP kinase cascades: MSK1 as a potential histone H3/HMG-14 kinase. *EMBO J.* 18, 4779-93.
- Tischkau SA, Mitchell JW, Tyan SH, Buchanan GF & Gillette MU. (2003a). Ca<sup>2+</sup>/cAMP response element-binding protein (CREB)-dependent activation of Per1 is required for light-induced signaling in the suprachiasmatic nucleus circadian clock. *J. Biol. Chem.* 278, 718-23.
- Tischkau SA, Weber ET, Abbott SM, Mitchell JW & Gillette MU. (2003b). Circadian clock-controlled regulation of cGMP-protein kinase G in the nocturnal domain. *J. Neurosci.* 23, 7543-50.
- Tischkau SA, Mitchell JW, Pace LA, Barnes JW, Barnes JA & Gillette MU. (2004). Protein kinase G type II is required for night-to-day progression of the mammalian circadian clock. *Neuron* 43, 539-49.
- Toh KL, Jones CR, He Y, Eide EJ, Hinze WA, Virshup DM, Ptacek LJ & Fu YH. (2001). An hPer2 phosphorylation site mutation in familial advanced sleep phase syndrome. *Science* 291, 1040-3.
- Tourriere H, Chebli K & Tazi J. (2002). mRNA degradation machines in eukaryotic cells. *Biochimie* 84, 821-37.
- Travnickova-Bendova Z, Cermakian N, Reppert SM & Sassone-Corsi P. (2002). Bimodal regulation of mPeriod promoters by CREB-dependent signaling and CLOCK/BMAL1 activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 7728-33.
- Triqueneaux G, Thenot S, Kakizawa T, Antoch MP, Safi R, Takahashi JS, Delaunay F & Laudet V. (2004). The orphan receptor Rev-erba gene is a target of the circadian clock pacemaker. *J. Mol. Endocrinol.* 33, 585-608.
- Ueda HR, Chen W, Adachi A, Wakamatsu H, Hayashi S, Takasugi T, Nagano M, Nakahama K, Suzuki Y, Sugano S, Iino M, Shigeyoshi Y & Hashimoto S. (2002). A transcription factor response element for gene expression during circadian night. *Nature* 418, 534-9.
- van Holde KE. (1988). Histone modifications. In *Chromatin*, Springer series in molecular biology, A. Rich, ed. (New York: Springer) 111-48.
- Vanselow K, Vanselow JT, Westermarck PO, Reischl S, Maier B, Korte T, Herrmann A, Herzog H, Schlosser A & Kramer A. (2006). Differential effects of PER2 phosphorylation: molecular basis for the human familial advanced sleep phase syndrome (FASPS). *Genes Dev.* 20, 2660-72.
- Vielhaber E, Eide E, Rivers A, Gao ZH & Virshup DM. (2000). Nuclear entry of the circadian regulator mPER1 is controlled by mammalian casein kinase I epsilon. *Mol. Cell. Biol.* 20, 4888-99.
- von Gall C, Noton E, Lee C, Weaver DR. (2003). Light does not degrade the constitutively expressed BMAL1 protein in the mouse suprachiasmatic nucleus. *Eur. J. Neurosci.* 18, 125-33.
- Wang Y, Osterbur DL, Megaw PL, Tosini G, Fukuhara C, Green CB & Besharse JC. (2001). Rhythmic expression of Nocturnin mRNA in multiple tissues of the mouse. *BMC Dev. Biol.* 1-9.
- Whitmarsh AJ & Davis RJ. (1996). Transcription factor AP-1 regulation by mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways. *J. Mol. Med.* 74, 589-607.
- Winston JT, Strack P, Beer-Romero P, Chu CY, Elledge SJ & Harper JW. (1999). The SCFbeta-TRCP-ubiquitin ligase complex associates specifically with phosphorylated destruction motifs in IκappaBα and beta-catenin and stimulates IκappaBα ubiquitination in vitro. *Genes Dev.* 13, 270-83.
- Workman JL & Kingston RE. (1998). Alteration of nucleosome structure as a mechanism of transcriptional regulation. *Annu. Rev. Biochem.* 67, 545-79.
- Wysocka J, Myers MP, Laherty CD, Eisenman RN & Herr W. (2003). Human Sin3 deacetylase and trithorax-related Set1/Ash2 histone H3-K4 methyltransferase are tethered together selectively by the cell-proliferation factor HCF-1. *Genes Dev.* 17, 896-911.
- Xu Y, Toh KL, Jones CR, Shin JY, Fu YH & Ptacek LJ. (2007). Modeling of a human circadian mutation yields insights into clock regulation by PER2. *Cell.* 128, 59-70.
- Yagita K, Tamanini F, Yasuda M, Hoeijmakers JH, van der Horst GT & Okamura H. (2002). Nucleocytoplasmic shuttling and mCRY-dependent inhibition of ubiquitylation of the mPER2 clock protein. *EMBO J.* 21, 1301-14.
- Yamaguchi S, Mitsui S, Miyake S, Yan L, Onishi H, Yagita K, Suzuki M, Shibata S, Kobayashi M & Okamura H. (2000a). The 5' upstream region of mPer1 gene contains two promoters and is responsible for circadian oscillation. *Curr. Biol.* 10, 873-6.
- Yamaguchi S, Mitsui S, Yan L, Yagita K, Miyake S & Okamura H. (2000b). Role of DBP in the circadian oscillatory mechanism. *Mol. Cell. Biol.* 20, 4773-81.
- Yamamoto T, Nakahata Y, Soma H, Akashi M, Mammi T & Takumi T. (2004). Transcriptional oscillation of canonical clock genes in mouse peripheral tissues. *BMC Mol. Biol.* 5-18.
- Yan L, Miyake S & Okamura H. (2000). Distribution and circadian expression of dbp in SCN and extra-SCN areas in the mouse brain. *J. Neurosci. Res.* 59, 291-5.
- Yang SH, Yates PR, Whitmarsh AJ, Davis RJ & Sharrocks AD. (1998). The Elk-1 ETS-domain transcription factor contains a mitogen-activated protein kinase targeting motif. *Mol. Cell. Biol.* 18, 710-20.
- Yin L & Lazar MA. (2005). The orphan nuclear receptor Rev-erbalphα recruits the N-CoR/histone deacetylase 3 corepressor to regulate the circadian Bmal1 gene. *Mol. Endocrinol.* 19, 1452-9.
- Yoo SH, Ko CH, Lowrey PL, Buhr ED, Song EJ, Chang S, Yoo OJ, Yamazaki S, Lee C & Takahashi JS. (2005). A noncanonical E-box enhancer drives mouse Period2 circadian oscillations in vivo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 2608-13.
- Zhang J, Dong X, Fujimoto Y & Okamura H. (2004). Molecular signals of Mammalian circadian clock. *Kobe J. Med. Sci.* 50, 101-9.
- Zhang X, McNeil GP, Hilderbrand-Chae MJ, Franklin TM, Schroeder AJ & Jackson FR. (2000). Circadian regulation of the lark RNA-binding protein within identifiable neurosecretory cells. *J. Neurobiol.* 45, 14-29.

## SLTBR 19th Annual Meeting Copenhagen, Denmark — June 28-30, 2007



The 2007 Annual Meeting of the Society for Light Treatment and Biological Rhythms will be held June 28th to June 30th, 2007, at the elegant Admiral Hotel in Copenhagen. Featured Plenary Sessions:

### **Light treatment, light at night and risk of cancer:**

#### ***Risk of cancer in night shift workers. The melatonin hypothesis***

Eva S. Schernhammer, MD, DrPH, Assistant Professor of Medicine, Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School, Boston, USA

#### ***Experimental Evidence for Light at Night: Induced Circadian/Melatonin***

#### ***Disruption as a Risk Factor for Human Cancer Growth***

David E. Blask, Ph.D., M.D., Head, Laboratory of Chrono-Neuroendocrine Oncology, Bassett Research Institute, Cooperstown, NY, and Department of Medicine, Columbia University, NY, USA

#### ***Effect of frequent phase-shifts on cancer growth***

Elizabeth Filipski, PhD, Université Paris XI, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

#### ***Non-day time work and breast cancer risk in different groups - experience from Denmark***

Johnni Hansen, PhD, Head of Research unit, Institute of Cancer Epidemiology, Danish Cancer Society, Copenhagen, Denmark.

### **Light therapy for non-seasonal depression:**

#### ***The impact of light on human physiology***

Professor Anna Wirz-Justice PhD, Centre for Chronobiology, Psychiatric University Clinics, Basel, Switzerland

#### ***Light treatment for chronic depression***

Namni Goel PhD, University of Pennsylvania School of Medicine, USA

#### ***Augmentation of antidepressants by light treatment***

Klaus Martiny M.D., PhD, Psychiatric Research Unit, Frederiksborg General Hospital, Denmark

#### ***What is the evidence for an antidepressant effect of light treatment in non-seasonal depression?***

Arja Tuunainen M.D., PhD, University of Helsinki, Finland

**Full Information and Registration at:**

<http://www.sltbr.org/>  
or e-mail: [Sltrinfo@aol.com](mailto:Sltrinfo@aol.com)



# 39<sup>ème</sup> Congrès de la Société Francophone de Chronobiologie

**PARIS**  
**19 – 21 septembre 2007**



**Contact:**

**Fabienne AUJARD**

Mécanismes Adaptatifs et Evolution  
UMR CNRS / MNHN 7179 – Brunoy  
[fabienne.aujard@wanadoo.fr](mailto:fabienne.aujard@wanadoo.fr)

**Site internet:**

[www.sfc2007-paris.vjf.cnrs.fr](http://www.sfc2007-paris.vjf.cnrs.fr)

**Comité Scientifique:**

*Fabienne Aujard*

*Ouria Benyahya*

*Francis Lévi*

*Martine Perret*

*Paul Pévet*

*François Rouyer*

*Valérie Simonneaux*

*Yvan Touitou*

**Lieu du congrès:**

Grande Galerie de l'Evolution  
Muséum National d'Histoire Naturelle

Jardin des Plantes  
36 rue Geoffroy Saint Hilaire  
75005 Paris

⇒ *Les détails concernant l'organisation du congrès et les informations pratiques sont disponibles sur le site Internet du congrès [www.sfc2007-paris.vjf.cnrs.fr](http://www.sfc2007-paris.vjf.cnrs.fr).*

*En espérant vous accueillir très nombreux à Paris !*

**PROGRAMME SCIENTIFIQUE PREVISIONNEL**

*(le congrès débute le mercredi à 13h et se termine le vendredi à 16h)*

**Invitée d'honneur, Conférence plénière**

Anna Wirz-Justice, Bâle, Suisse

**Les mécanismes moléculaires des horloges : fonctionnement et régulations**

Hugues Dardente, Aberdeen, UK; Martha Merrow, Groningen, Pays-Bas

**Les horloges biologiques: rythmes endogènes, photoréception et synchronisation**

Elizabeth Maywood, Cambridge, UK; François Rouyer, Gif sur Yvette, France

**Rythmes en médecine clinique et expérimentale**

Frédéric Gachon, Montpellier, France; Albert Goldbeter, Bruxelles, Belgique  
Francis Lévi, Villejuif, France

**Photopériodisme et mélatonine**

David Hazlerigg, Aberdeen, UK; Patrick Vuillez, Strasbourg, France

**Valeur adaptative des rythmes et écologie**

Pierre-Yves Henry, Brunoy, France; Sophie Lumineau, Rennes, France

**Rythmes, sommeil et vie sociale**

Diane Boivin, Montréal, Canada; Yvan Touitou, Paris, France

**Rythmes, vieillissement et pathologies**

Thomas Bourgeron, Paris, France; Florence Cayetanot, Marseille, France

**Rythmes et valorisations industrielles**

Béatrice Guardiola-Lemaître, Neuilly, France; Sébastien Moussay, Caen, France



**worldsleep07**  
5th World Sleep Congress  
of the WFSRSMS  
**Cairns Australia**  
2-6 September 2007




<http://www.worldsleep07.com/>



**IBRO WORLD CONGRESS OF NEUROSCIENCE**  
**MELBOURNE AUSTRALIA JULY 12-17 2007**



<http://www.ibro2007.org/>

**21 September 2006:** Online abstract submission is now available <http://www.ibro2007.org/abstracts.html>

**23 July 2006:** Online registration is now available . <http://www.ibro2007.org/registration.html>

**Satellite Meeting Adelaide 7-10 July:**



From molecular clocks to human health

Paul Pevet, University of Strasbourg; David Kennaway, University of Adelaide

<http://www.molecularclocks-adelaide.org/>

[pevet@neurochem.u-strasbg.fr](mailto:pevet@neurochem.u-strasbg.fr)  
[david.kennaway@adelaide.edu.au](mailto:david.kennaway@adelaide.edu.au)



**Société de Neuroendocrinologie**  
**34<sup>ème</sup> Colloque**  
**25-27 septembre 2007**  
**Tours**  
Salle des Fêtes de l'Hôtel de Ville




**Formulaire d'inscription** en format word, à télécharger sur le site, à compléter et à renvoyer accompagné du règlement par courrier postal, fax ou e-mail à :

**Marie-Françoise Pinault,**  
**UMR Physiologie de la Reproduction et**  
**des Comportements**  
**INRA/CNRS**  
**Université Tours/Haras Nationaux**  
**37380 Nouzilly, France**  
**Fax : (33) 2 47 42 77 43**  
**E-mail : [SNE2007@tours.inra.fr](mailto:SNE2007@tours.inra.fr)**

<http://wcentre.tours.inra.fr/societeneuroendocrin/colloques/Tours/Tours2007>



**November 4 - 6, 2007**

The 2nd World Congress of Chronobiology (WCC 2007)

Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan

**Abstract Submission Deadline: July 31 2007**

**Notification of acceptance of abstracts: August 2007**

**End of Earlybird Registration Fee: July 31 2007**

**Accommodation booking deadline: September 2007**

(after August 1, 2007 registration must be made on site)

**November 7 - 9, 2007**

The 32nd Annual Meeting of Japanese Society for Sleep Research (32JSSR)

Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan and

The 14th Annual Meeting of Japanese Society for Chronobiology (14JSC)

Keio Plaza Hotel, Tokyo, Japan



<http://www.ec-japan.jp/wcc2007/index.html>

**IX Latin American Symposium of Chronobiology  
November 28-30 2007**

*Cronobiología 2007*  
*Noviembre 28-30*  
*La Habana*

CHRONOBIOPHARMACOLOGY  
SECTION OF THE CUBAN  
SOCIETY OF PHARMACOLOGY

**IX LATIN AMERICAN  
SYMPOSIUM OF  
CHRONOBIOLOGY**


November 28-30, 2007  
LATIN AMERICAN SCHOOL OF  
MEDICINE  
Havana, Cuba



<http://www.scf.sld.c/>

## Chronobiologistes...

encore un effort pour vos contributions à Rythmes.

Vous devez participer à la vie de la Société Francophone de Chronobiologie en envoyant vos contributions à Fabienne Aujard, rédactrice en chef de 

Seules sont acceptées les contributions sous forme informatique, textes et figures, noir et blanc et couleurs. Cela assure la qualité de ce qui est produit, d'autant plus appréciable si vous optez pour la lecture électronique, qui, elle, est en couleurs !

Vous devez envoyer vos contributions en document attaché. Les fichiers seront préférentiellement sauvegardés au format \*.doc, \*.rtf, ou \*.txt après avoir été produits par un traitement de texte standard. Pour tout autre format que ces formats répandus, nous consulter.

Il est impératif de nous faire parvenir un fichier texte sans retours à la ligne multiples, tout en conservant l'accentuation. De même, ne mettez pas de lignes blanches pour marquer les paragraphes ni mises en page complexes, que nous devons de toutes façons changer pour rester dans le style du journal.

Les images pourront être en tiff, bmp, gif, jpeg, jpg ou png. Rythmes est mis en page sur un PC, donc les formats PC sont préférés, car cela évite des manipulations.

Enfin, vous enverrez vos contributions par courrier électronique à [fabienne.aujard@wanadoo.fr](mailto:fabienne.aujard@wanadoo.fr) avec copie à [jean-francois.vibert@upmc.fr](mailto:jean-francois.vibert@upmc.fr) et [beau@vjf.inserm.fr](mailto:beau@vjf.inserm.fr).

**Fabienne Aujard**  
**Jacques Beau**  
**Jean-François Vibert**

### Société Francophone de Chronobiologie

<b>Président</b>	Paul Pévet <a href="mailto:pevet@neurochem.u-strasbg.fr">pevet@neurochem.u-strasbg.fr</a>
<b>Vice président</b>	Bruno Claustrat <a href="mailto:bruno.claustrat@chu-lyon.fr">bruno.claustrat@chu-lyon.fr</a>
<b>Secrétaire général</b>	Etienne Challet <a href="mailto:challet@neurochem.u-strasbg.fr">challet@neurochem.u-strasbg.fr</a>
<b>Secrétaire adjointe</b>	Sophie Lumineau <a href="mailto:Sophie.Lumineau@univ-rennes1.fr">Sophie.Lumineau@univ-rennes1.fr</a>
<b>Trésorière</b>	Fabienne Aujard <a href="mailto:fabienne.aujard@wanadoo.fr">fabienne.aujard@wanadoo.fr</a>
<b>Trésorière adjointe</b>	Berthe Vivien-Roels <a href="mailto:Berthe.vivien@free.fr">Berthe.vivien@free.fr</a>

#### Ont contribué à ce numéro

**Fabienne Aujard**

**Jacques Beau**

**Etienne Challet**

**Sophie Lumineau**

**Paul Pévet**

**Benjamin Tournier**

**Jean-François Vibert**

Les articles publiés dans ce bulletin reflètent l'opinion de leurs auteurs, et en aucun cas celle de la Société Francophone de Chronobiologie.

Rythmes est édité par la Société Francophone de Chronobiologie, Siège Social : Faculté des Sciences et Techniques. Laboratoire de Biologie Animale et Appliquée, 23 rue du Dr Paul Michelon, 42023 Saint-Étienne Cedex 2. Directeur de la publication : Paul Pévet. Rédactrice en chef : Fabienne Aujard. Comité de rédaction : Fabienne Aujard, Jacques Beau, Jean-François Vibert. Réalisation : Jacques Beau et Jean-François Vibert. Impression : Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.

Site Web : <http://www.sf-chronobiologie.org> Numéro ISSN 0154-0238.