

La vie en bleu : des ADN photolyases aux photorécepteurs réglant les horloges biologiques

**Claude Petit
Aziz Sancar**

Depuis les cyanophycées jusqu'à l'homme, certaines fonctions vitales suivent des rythmes circadiens fonctionnant de manière autonome selon une période propre d'environ 24 heures. Pour être adaptée aux variations saisonnières de la durée du jour, la longueur de cette période est en permanence exactement ajustée à 24 heures par la lumière. Ce photo-entraînement implique le couplage entre l'horloge moléculaire et un (ou plusieurs) photorécepteur(s) qui transmet(tent) l'information lumineuse. La nature de ces photorécepteurs est longtemps demeurée inconnue. Cependant, l'absence de photo-entraînement chez des animaux sans yeux suggérait fortement leur présence dans la rétine. La rhodopsine, souvent citée comme molécule candidate, répondait toutefois mal aux critères définissant un photorécepteur circadien. En 1998, nous avons montré que les cryptochromes, photorécepteurs à lumière bleue communs aux plantes et aux animaux, représentaient de bien meilleurs candidats. Ces éléments constitutifs de l'horloge biologique eucaryote ont une séquence nucléotidique proche de celle d'enzymes de réparation de l'ADN, les photolyases.

ADRESSES

C. Petit : École nationale vétérinaire de Toulouse, 23, chemin des Capelles 31076 Toulouse Cedex, France. A. Sancar : Department of Biochemistry and Biophysics, University of North Carolina, School of Medicine, Chapel Hill NC 27599, Etats-Unis.

Les rayonnements ultraviolets C provoquent des lésions mutagènes de l'ADN, principalement la formation de dimères de pyrimidines (CPD, pour *cyclobutyl pyrimidine dimer*) et le photoproduit (6-4) pyrimidine-pyrimidone. La voie de réparation de l'ADN spécifique de ces lésions est appelée photoréactivation. Les enzymes spécialisées dans cette réparation sont les photolyases, qui exist-

tent chez de nombreuses espèces animales, à l'exception des mammifères placentaires. Une photolyase se lie au brin d'ADN lésé puis, activée par l'absorption de lumière bleue (350-480 nm), catalyse la restauration de deux pyrimidines intactes sans que le brin d'ADN soit excisé [1].

La photoréactivation est connue depuis longtemps : elle fut la première activité réparatrice de l'ADN observée (1935), la première caracté-

risée au niveau enzymatique (1958) et le gène codant pour la CPD (*cyclobutyl-pyrimidyl-dimer*) photolyase d'*Escherichia coli* fut le premier gène de réparation de l'ADN cloné (1978) [2]. Par la suite, le mécanisme d'action de cette enzyme fut étudié en détail et l'obtention en 1995 de sa structure cristalline apparut comme le point d'orgue et l'aboutissement logique de ces travaux [3].

L'intérêt pour les photolyases fut cependant quelque peu relancé en 1993 par la découverte, dans des extraits cellulaires de drosophile, d'une activité enzymatique responsable de la réparation du photoproduit (6-4) : cette nouvelle enzyme fut nommée (6-4) photolyase [4].

La photoréactivation, quoique répandue dans le monde vivant (procaryotes et eucaryotes, plantes et animaux), ne s'observe pas au-delà de l'ordre des marsupiaux. Notamment, chez les mammifères placentaires aucune activité CPD photolyase significative n'est détectable lorsque l'on utilise une méthode sensible et spécifique [5]. L'activité (6-4) photolyase n'est pas non plus présente chez l'homme [6]. Il semble donc qu'au cours de l'évolution, les photolyases aient été tardivement supplantées par une voie de réparation de l'ADN plus polyvalente, celle de l'excision de nucléotides [7]. Le séquençage en 1995 d'une portion de gène humain ressemblant à celui d'une photolyase [8] fut donc une surprise pour les spécialistes de la réparation de l'ADN, curieux de connaître le rôle de la protéine correspondante, si toutefois elle n'était pas une photolyase *bona fide*.

La réponse à cette énigme s'explique par la divergence précoce des photolyases en photorécepteurs à lumière bleue. Ce sont ces photorécepteurs (ou cryptochromes), et non les photolyases, qui sont retrouvés chez les placentaires et l'homme, en particulier dans la rétine. Or ces molécules n'étaient connues que depuis peu, uniquement dans le monde végétal.

Les photorécepteurs à lumière bleue des plantes sont des orthologues des photolyases

Sur le plan évolutif, les réponses biologiques à la lumière bleue sont

parmi les plus anciennes et les plus diversifiées. Pleasanton les mentionne dès 1876 chez les mammifères [9] et Darwin en 1881 chez les végétaux [10]. Bien que des photorécepteurs végétaux sensibles aux longueurs d'ondes rouges, ou phytochromes, aient été identifiés dès les années 1960, les photorécepteurs à lumière bleue sont demeurés indétectables jusqu'en 1993, d'où leur nom de cryptochromes, les (photo)pigments cachés. Tout au plus pouvait-on soupçonner, en observant la sensibilité physiologique des plantes aux longueurs d'ondes de 350-480 nm, qu'il s'agissait de flavoprotéines [11].

En 1993, en utilisant la complémentation d'une souche de la crucifère *Arabidopsis thaliana* insensible à la lumière bleue, Ahmad et Cahmore isolèrent le gène *HY4*, codant pour une protéine possédant les caractéristiques d'un photorécepteur [12]. Reconnue comme le premier des cryptochromes, cette protéine fut rebaptisée CRY1. La même année, Batschauer décrit un gène similaire chez la moutarde blanche, et l'assimila à tort à celui d'une photolyase [13]. En fait, *CRY1* se révéla être un gène orthologue des ADN photolyases, et cette homologie permit de définir la famille génique des photolyases/photorécepteurs à lumière bleue (*figure 1*). La protéine CRY1 contient les deux chromophores, ou photoantennes, présents chez les photolyases : il s'agit de folates, le flavine-adénine dinucléotide et le méthényltétrahydrofolate [14]. Malgré cette homologie, aucune activité de réparation de l'ADN n'était détectable lorsque ces protéines étaient surexprimées sous forme recombinante chez *E. coli* [14].

Apparemment, le gène *CRY1* ne codait donc pas pour une photolyase, cependant sa surexpression chez le tabac rendait la plante hypersensible à la lumière bleue : notamment en exacerbant l'inhibition de croissance de l'hypocotyle (*figure 2*), phénomène identifié depuis longtemps comme dépendant des longueurs d'ondes bleues [15]. Ces deux résultats importants, démontrant l'absence de réparation de l'ADN par CRY1 et son rôle dans la réponse lumineuse de la plante, ont permis de conforter initialement l'hypothèse du rôle de photorécepteur de CRY1, largement confirmée par les travaux ulté-

rieurs. Chez les plantes, CRY1 intervient également dans l'ouverture des stomates, le phototropisme, la production d'anthocyanes et l'expression des gènes spécifiquement réglés par la lumière bleue [11].

L'homme et les mammifères expriment des homologues des cryptochromes végétaux

En 1996, le clonage et le séquençage du gène de la (6-4) photolyase de drosophile révéla de manière inattendue une double homologie structurale : l'une avec la CPD photolyase, dont le mécanisme d'action supposé différent ne laissait pas présager une telle similitude ; l'autre, plus étroite encore, avec à la fois le cryptochrome CRY1 des plantes et... le gène humain ressemblant à une photolyase découvert l'année précédente [16]. Plusieurs équipes travaillaient alors à élucider la fonction de la protéine codée par ce gène, initialement dénommé *H64PRH*. Une première hypothèse l'identifiait comme une (6-4) photolyase, une seconde comme un photorécepteur homologue de celui des végétaux. Enfin, il pouvait bien entendu s'agir d'une protéine dont la fonction restait à déterminer. L'absence apparente d'activité CPD photolyase chez les placentaires n'était pas en faveur de la première hypothèse. Ce sentiment fut renforcé lorsque, en 1996, notre équipe découvrit un deuxième gène humain orthologue de la (6-4) photolyase, mais ne réparant pas l'ADN, *hCRY2* [6]. Le nom de *hCRY1* fut alors proposé pour *H64PRH*, suggérant ainsi un rôle analogue à celui des cryptochromes végétaux pour ces deux protéines [6]). Comme *hCRY2*, *hCRY1* ne réparait ni les dimères de pyrimidine ni les photoproduits (6-4) [6, 17]. Restait donc l'hypothèse du photorécepteur, sur laquelle les avis étaient partagés : en fait la plupart des équipes jugeaient la thèse improbable [17]. Que venait donc faire un photorécepteur de plantes chez les humains ? Son expression dans les organes profonds comme le foie n'était-elle pas une aberration, puisqu'« il est bien établi » que la lumière n'y pénètre pas ?

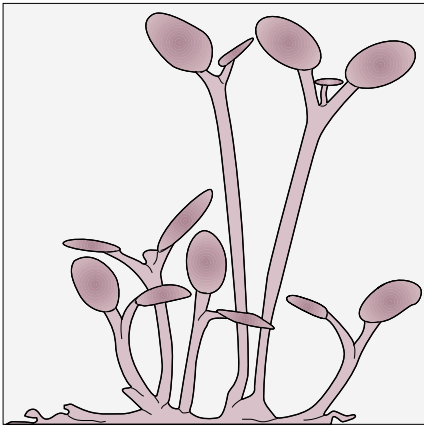


Figure 2. **Première évidence de la nature de photorécepteur de CRY1 chez les plantes: induction par la lumière bleue (sept jours de culture) d'un phénotype à court hypocotyle chez des plantules de tabac surexprimant le gène CRY1 d'Arabidopsis (plantules courtes).** Les plantules longues sont de phénotype sauvage. Une croissance sous lumière rouge ou dans l'obscurité n'entraîne aucune différence de taille (d'après Lin et al. [15]).

même manière, des humains totalement aveugles conservent des rythmes circadiens photorégulés lorsque l'intégrité du nerf optique est respectée [20]. Ces éléments nous ont très tôt conduits à postuler non seulement que les cryptochromes animaux étaient des photorécepteurs [6], mais encore qu'ils étaient impliqués dans le recalage des rythmes circadiens.

Deux articles récents excluent définitivement la possibilité de photoentraînement circadien par la rhodopsine: en effet, chez des souris génétiquement modifiées, constitutivement déficientes en bâtonnets et dont les cônes ont été éliminés par fusion du promoteur de l'opsine avec le gène de la toxine diphtérique, le photoentraînement circadien demeure normal [21, 22]. Dans ces travaux, les auteurs ont utilisé une longueur d'onde de 509 nm pour étudier la photoréponse, cependant, en 1995, leur équipe avait démontré une meilleure efficacité de la longueur d'onde de 357 nm [23] qui se situe dans la zone d'absorption des cryptochromes.

Il existe un homologue de hCRY2 chez les végétaux

La découverte du gène humain *hCRY2* fut accompagnée, quasiment simulta-

nément, de celle d'un analogue chez *Arabidopsis* [23]: la surexpression chez cette plante de *PHH1* (*CRY2*) induit, une sensibilité accrue de la plantule à la lumière bleue, comme cela est observé avec *CRY1*: inhibition de croissance de l'hypocotyle, stimulation de l'ouverture des cotylédons [24]. Le cryptochrome *CRY2* est également un régulateur de la floraison, en coordination avec le phytochrome B (*phyB*), un photorécepteur rouge/infrarouge sensible aux fortes intensités [25, 26]. Enfin, des doubles mutants d'insertion d'*Arabidopsis* *CRY1/CRY2* perdent le phototropisme, alors que des plantes qui les surexpriment ensemble possèdent un tropisme exacerbé vis-à-vis de la lumière bleue [27].

La topographie de mCRY 1 et mCRY 2 chez la souris évoque un rôle dans la régulation circadienne

Le clonage des ADNc des cryptochromes de souris (*mCRY1-2*) nous a permis de visualiser finement les zones d'expression préférentielle des photorécepteurs présumés grâce à des expériences d'hybridation *in situ* sur différents tissus.

La topographie de l'expression des deux cryptochromes dans le système nerveux central de souris suggérait à elle seule un rôle dans la régulation circadienne [20].

Les ARNm de mCRY1 et mCRY2 sont exprimés dans la rétine

Cette expression est spécifique des couches de cellules ganglionnaires et nucléaire interne, alors que la rhodopsine est exprimée dans les couches externes (*figure 3A, B*).

La rétine des mammifères apparaît donc constituée d'au moins deux classes différentes de photorécepteurs: ceux dont les ARNm sont exprimés dans la couche visuelle contenant les cellules à opsines et ceux exprimés dans les couches internes (cellules ganglionnaires) correspondant aux cryptochromes. Ce résultat ne préjuge cependant pas d'une éventuelle migration post-traductionnelle. Toutefois, les souris dépourvues de cônes et de bâtonnets possèdent une couche ganglionnaire interne intacte: c'est par conséquent à ce niveau que se

trouvent les photorécepteurs circadiens [21, 22].

Les ARNm de mCRY1 et mCRY2 sont exprimés dans les voies rétino-hypothalamiques du cerveau

Des études génétiques et physiologiques ont montré que la couche de cellules ganglionnaires de la rétine était à l'origine des voies rétino-hypothalamiques, qui transmettent les signaux lumineux à la zone régulatrice centrale de l'horloge circadienne, le noyau suprachiasmatique (SCN) de l'hypothalamus *via* le nerf optique. Ce faisceau de neurones est parfois dénommé *le chemin de la lumière* (cela sans connotation mystique).

Les études d'hybridation *in situ* (*figure 3C*) révèlent que *mCRY1* et *mCRY2* sont exprimés de manière particulièrement abondante dans les voies rétino-hypothalamiques. Par ailleurs, *CRY1*, mais non *CRY2*, est fortement exprimé dans le noyau suprachiasmatique, selon un rythme circadien et avec un maximum en milieu de période éclairée [20].

Cette topographie de *mCRY1* dans le système nerveux semble parfaitement superposable à celle de *mPer1*, un gène majeur de l'horloge biologique. Par ailleurs, l'expression de *mCRY1* et *mCRY2* dans les autres tissus est largement distribuée et identique à celle de cinq composants de l'horloge circadienne, dont les gènes ont été identifiés en 1997 et 1998: *Per 1-2-3*, *Clock* et *Tim* [28].

Les cryptochromes mCRY1 et mCRY2 de souris interviennent dans la régulation des rythmes circadiens

Nous avons été les premiers à obtenir une souche de souris rendue déficiente en *mCRY2* par ciblage de gène [29]. L'analyse phénotypique de ces animaux, sur le plan biochimique et comportemental a révélé trois éléments majeurs: (1) chez les souris mutantes, la lumière bleue induit plus faiblement (-50%) le gène *mPer1* de l'horloge centrale dans le noyau suprachiasmatique; (2) la période circadienne intrinsèque (c'est-à-dire indépendante de la régulation lumineuse) des souris mutantes est augmentée d'une heure par rapport à celle des souris sauvages; (3) Enfin, les

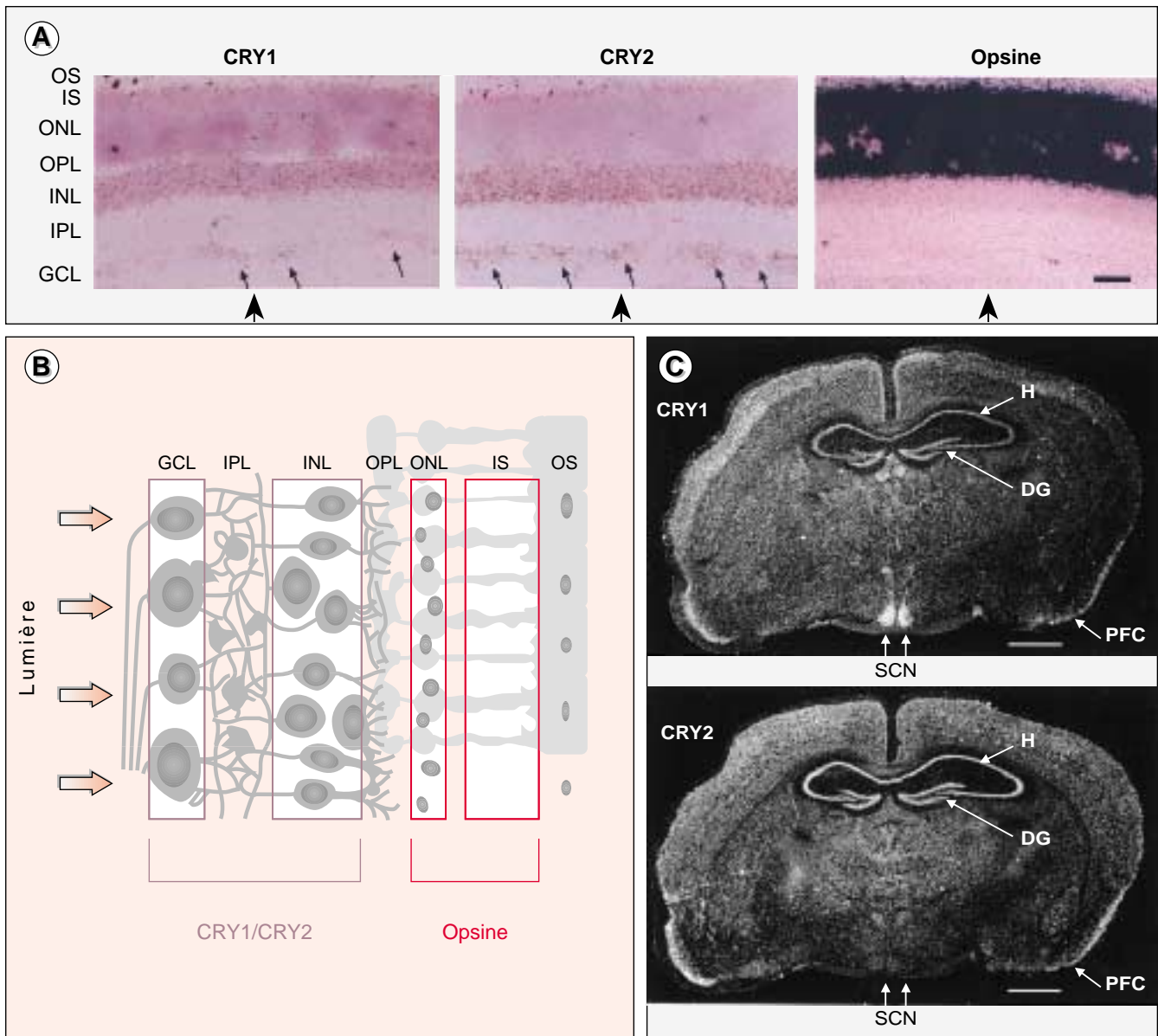


Figure 3. **Expression des cryptochromes mCRY1 et mCRY2 dans la rétine et le cerveau de souris, visualisée par hybridation in situ.** **A** et **B**: Expression de mCRY1, mCRY2 et opsine (témoin) dans la rétine. GCL: couche des cellules ganglionnaires; IPL: couche plexiforme interne; INL: couche nucléaire interne; OPL: couche plexiforme externe; ONL: couche nucléaire externe. IS: segment interne; OS: segment externe. **C**: Expression de mCRY1 et mCRY2 dans le cerveau de souris. H: hippocampe; DG: gyrus denté; PFC: couche de cellules pyramidales du cortex pyriforme. SCN: noyau suprachiasmatique.

souris mutantes présentent en fin de nuit un décalage de phase exacerbé en réponse à une stimulation lumineuse. Les deux derniers résultats indiquent une dérégulation de l'horloge et suggèrent donc que mCRY2 en est un composant intrinsèque.

Des résultats plus récents ont confirmé et développé nos premières observa-

tions concernant le rôle central des cryptochromes dans la régulation circadienne. Ainsi, il a pu être montré que des souris rendues génétiquement déficientes en mCRY1 possédaient elles aussi un comportement circadien anormal et que des souris doubles mutantes mCRY1mCRY2 étaient à la fois aveugles au photoentrainement et

arythmiques dans des conditions de lumière ou d'obscurité constantes [31, 32]. Cela indique, ainsi qu'il avait été initialement suggéré [30], que les cryptochromes ne sont pas seulement des photorécepteurs mais aussi des composants centraux de l'horloge moléculaire. Ce nouveau modèle est présenté dans la figure 4.

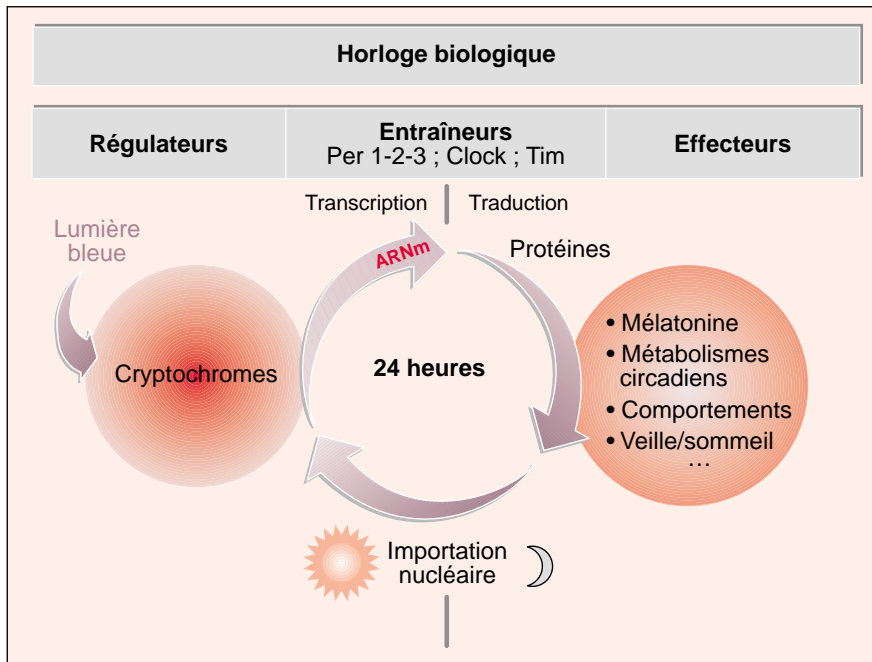


Figure 4. **Modèle de régulation de l'horloge biologique centrale intégrant les cryptochromes.** L'horloge comprend trois types d'éléments. (1) Les régulateurs, dont les cryptochromes, qui transmettent les signaux lumineux et participent à la régulation de l'horloge elle-même. (2) Les protéines de l'horloge stricto sensu: le système est autorégulé par une transcription en boucle limitée par rétroaction inverse: les ARNm du gène *Per* s'accumulent (chez la drosophile) durant la fin de journée et atteignent leur pic approximativement au moment de la tombée de la nuit. Les protéines sont traduites, avec un pic en milieu de nuit, puis importées activement dans le noyau où elles inhibent leur propre transcription. Une exposition même brève à la lumière les dégrade et relance la transcription, recalant ainsi le système. La protéine *Clock* agit comme un facteur de transcription positif. (3) Les signaux de sortie, couplant l'horloge aux effecteurs fonctionnant selon un rythme circadien. Les protéines de l'horloge forment avec d'autres éléments des hétérodimères qui acquièrent des propriétés de facteurs de transcription spécifiques.

Il est intéressant de noter qu'une mutation dans le gène du cryptochrome *dCRY*, récemment découvert chez la drosophile, semble avoir des effets sur le rythme circadien de l'insecte comparables à ceux observés chez la souris [33-35].

Les cryptochromes humains *hCRY1* et *hCRY2* sont localisés dans le noyau cellulaire et interagissent avec la phosphatase *PP5*

Lorsque l'un ou l'autre des cryptochromes humains, fusionné avec la GFP (*green fluorescent protein*), est surexprimé dans des fibroblastes humains en culture, on constate que leur localisation est strictement nucléaire. Malgré un article récent décrivant la loca-

lisation de *mCRY1* dans la mitochondrie [36], nos résultats concernant *hCRY1* indiquent que sa localisation est similaire à celle de *hCRY2* (figure 5). Il paraît d'ailleurs logique que des photorécepteurs fonctionnant de manière couplée aux protéines de l'entraînement circadien, elles-mêmes localisées dans le noyau [37], aient la même topographie.

La cascade des événements impliqués dans la transduction du signal demeure une question du plus grand intérêt. Chez la plante, la lumière bleue induit notamment des phosphorylations [38]. Chez l'homme, une étude utilisant la méthode du double hybride a montré de manière très reproductible une interaction entre les protéines *hCRY2* et *hCRY1*, mais non de la (6-4) photolyase, avec la séquence répétée tétratricopeptide de

la sérine/thréonine phosphatase 5 (*PP5*) [39]. La protéine *hCRY2* inhibe spécifiquement l'activité de *PP5* *in vitro*. Or, l'inhibition de l'expression de *PP5* sur des cellules en culture entraîne un effet antiprolifératif marqué, caractérisé par l'induction de la protéine *p21* (*WAF1/Cip1*) et l'arrêt du cycle cellulaire en phase *G1* en présence de *p53* [40]. L'activité pro-proliférative de *PP5* est également suggérée par son interaction spécifique avec deux sous-unités du complexe promoteur de l'anaphase, *CDC16* et *CDC27* [41]. Ces données sont à rapprocher de l'effet antiprolifératif de la lumière bleue sur l'hypocotyle de la plantule. En outre, une action antimitotique de la lumière bleue sur des cellules rénales de porc a été récemment suggérée [42].

Les cryptochromes régulent aussi les rythmes circadiens végétaux

La publication des résultats concernant la topographie des cryptochromes dans le cerveau et la rétine a immédiatement stimulé d'autres groupes pour étudier leur implication possible dans la régulation circadienne de la plante: celle-ci vient d'être démontrée chez *Arabidopsis* [43]. Un des faits remarquables est que les phytochromes (et donc la lumière rouge) participent à cette régulation, agissant en antagonistes des cryptochromes.

Il semble ainsi que les mécanismes de régulation des horloges biologiques soient très conservés chez les eucaryotes, puisqu'il en est de même pour les gènes de l'horloge centrale [29].

Conclusions

Les photorécepteurs à lumière bleue *hCRY1* et *hCRY2* sont manifestement impliqués dans le recalage de nos rythmes biologiques, comme le sont leurs homologues chez les végétaux. L'existence d'autres cryptochromes a d'ailleurs été récemment suggérée, puisque les gènes d'au moins trois cryptochromes [44] viennent d'être isolés chez une fougère, évoquant la possibilité d'un *CRY3*, voire d'un *CRY4* chez les animaux.

Quoi qu'il en soit, il paraît probable, que le rôle des cryptochromes ne soit

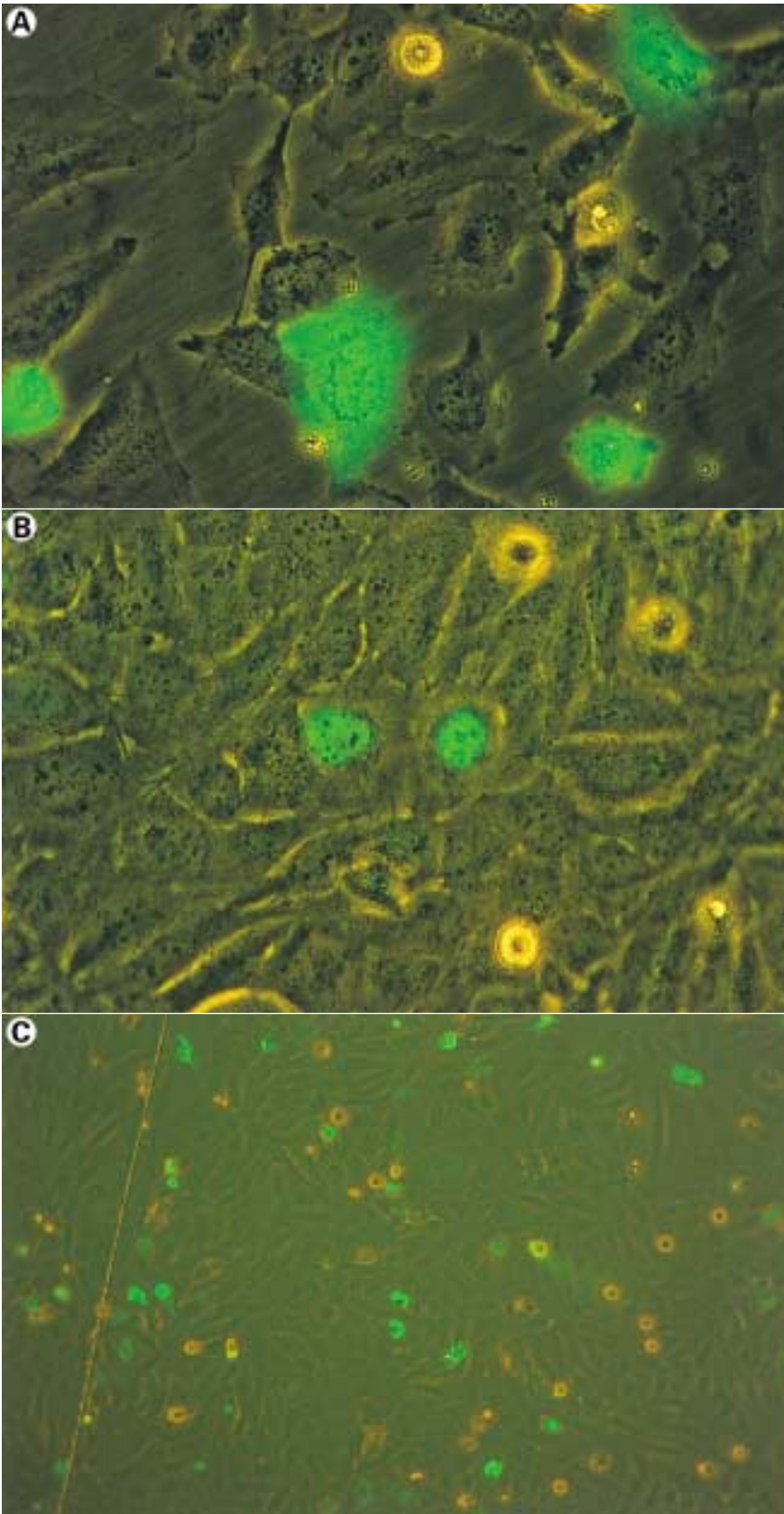


Figure 5. **Localisation nucléaire des cryptochromes humains.** Les gènes *hCRY1* et *hCRY2* portant une fusion carboxy-terminale avec la GFP (green fluorescent protein) ont été transfectés dans des fibroblastes humains en culture. **A.** Témoin (protéine GFP seule). **B.** Fusion *hCRY2::GFP*. **C.** Fusion *hCRY1::GFP*.

pas limité à la régulation centrale des rythmes circadiens. L'expression de *CRY1* et *CRY2* dans tous les organes (mais non dans toutes les cellules), en conjonction avec celle des gènes de l'horloge circadienne, suggère en effet une régulation tissulaire directe. La sensibilité directe à la lumière de ces horloges a été récemment démontrée chez l'insecte : l'équipe de Steve Kay a obtenu des fragments de drosophile isolés en culture (abdomen, antennes) dans lesquels le promoteur du gène *per* contrôlait l'expression d'un gène rapporteur fluorescent (luciférase ou GFP). Ces fragments exprimaient une fluorescence de manière cyclique, dont le rythme était recalable à volonté par la lumière [45]. De manière analogue, des rythmes circadiens autonomes photoentraînaux ont été observés dans des tissus d'insectes isolés, comme les tubules de Malpighi et les testicules [46].

L'ensemble de ces résultats indique que la lumière bleue et ses photorécepteurs pourraient être impliqués dans de nombreux processus physiopathologiques, liés ou non aux rythmes circadiens, notamment hormonaux : les cryptochromes sont en effet exprimés dans l'ovaire et le testicule de mammifères. Dans le foie, leur expression suggère un rôle éventuel en chronopharmacologie. L'étude de leur action régulatrice du cycle cellulaire et/ou de la mitose mériterait d'être approfondie. Il serait également intéressant d'explorer le rôle des cryptochromes dans certains désordres neuropsychiatriques : dépressions saisonnières, troubles du sommeil, voire schizophrénie pourraient dépendre, au moins partiellement, de déficiences dans la régulation des horloges biologiques. Enfin, en médecine vétérinaire, la connaissance mécanistique de la régulation circadienne des productions animales et la mise au point

de modulateurs pharmacologiques spécifiques seront d'un grand intérêt. La découverte des cryptochromes animaux et humains, associée aux derniers résultats concernant la génétique des horloges biologiques, semble donc ouvrir une voie de recherche particulièrement prometteuse en biologie et en médecine ■

Remerciements

Merci à Jean-Philippe Jaeg pour la relecture du manuscrit et à Yasuhide Miyamoto pour les tirages photographiques des hybridations.

RÉFÉRENCES

- Sancar A. Structure and function of DNA photolyase. *Biochemistry* 1994; 33: 2-9.
- Sancar A, Rupert CS. Cloning the *phr* gene and amplification of photolyase in *Escherichia coli*. *Gene* 1978; 4: 295-308.
- Park HW, Kim ST, Sancar A, Deisenhofer J. Crystal structure of DNA photolyase from *Escherichia coli*. *Science* 1995; 268: 1866-72.
- Todo T, Takemori H, Ryo H, et al. A new photoreactive enzyme that specifically repairs ultraviolet light-induced (6-4) photoproducts. *Nature* 1993; 361: 371-4.
- Li Y, Kim ST, Sancar A. Evidence for lack of DNA photoreacting enzyme in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 4389-93.
- Hsu D, Zhao X, Zhao S, et al. Putative human blue-light photoreceptors hCRY1 and hCRY2 are flavoproteins. *Biochemistry* 1996; 35: 13871-7.
- Petit C, Sancar A. Nucleotide excision repair: from *E. coli* to man. *Biochimie* 1999; 81: 15-25.
- Adams MD, Kerlavage AR, Fleischmann RD, et al. Initial assessment of human gene diversity and expression patterns based upon 83 million nucleotides cDNA sequence. *Nature* 1995; 377 (suppl 6547): 3-174.
- Pleasanton AJ. Influence of the blue rays of the sun and of the blue color of the sky on animal and vegetal life development, in illnesses prevention and health recovery in chronic human and domestic animals diseases. Philadelphia: Claxton, Remsen, Haffelfinger, 1876.
- Darwin C. *The power of movement in plants*. New York: Appleton, 1881: 462.
- Ahmad M, Cashmore A. Seeing blue: the discovery of cryptochrome. *Plant Mol Biol* 1996; 30: 851-61.
- Ahmad M, Cashmore A. *HY4* gene of *A. Thaliana* encodes a protein with characteristics of a blue-light photoreceptor. *Nature* 1993; 366: 162-6.
- Batschauer A. A plant gene for photolyase: an enzyme catalyzing the repair of UV-light-induced DNA damage. *Plant J* 1993; 4: 705-9.
- Malhotra K, Kim ST, Batschauer A, Dawut L, Sancar A. Putative blue-light photoreceptors from *Arabidopsis thaliana* and *Sinapis alba* with a high degree of sequence homology to DNA photolyase contain the two photolyase cofactors but lack DNA repair activity. *Biochemistry* 1995; 34: 6892-9.
- Lin C, Ahmad M, Gordon D, Cashmore A. Expression of an *Arabidopsis* cryptochrome gene in transgenic tobacco results in hypersensitivity to blue, UV-A, and green light. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 8423-7.
- Todo T, Ryo H, Yamamoto K, et al. Similarity among the *Drosophila* (6-4) photolyase, a human photolyase homolog, and the DNA-photolyase-blue-light photoreceptor family. *Science* 1996; 272: 109-12.
- Todo T, Tsuji H, Otoshi E, Hitomi K, Kim ST, Ikenaga M. Characterization of a human homolog of (6-4) photolyase. *Mutat Res* 1997; 384: 195-204.
- Sancar A. No «end of history» for photolyases. *Science* 1996; 272: 48-9.
- Yoshimura T, Ebihara S. Spectral activity of photoreceptors mediating phase-shifts of circadian rhythms in retinally degenerate CBA/J (rd/rd) and normal CBA/N (+/+) mice. *J Comp Physiol* 1996; 178: 797-802.
- Miyamoto Y, Sancar A. Vitamin B2-based blue-light photoreceptors in the retinohypothalamic tract as the photoactive pigments for setting the circadian clock in mammals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 6097-102.
- Freedman MS, Lucas RJ, Soni B, et al. Regulation of mammalian circadian behavior by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors. *Science* 1999; 284: 502-4.
- Lucas RJ, Freedman M, Munoz M, Garcia-Fernandez JM, Foster RG. Regulation of the mammalian pineal by non-rod, non-cone, ocular photoreceptors. *Science* 1999; 284: 505-7.
- Provencio I, Foster RG. Circadian rhythms in mice can be regulated by photoreceptors with cone-like characteristics. *Brain Res* 1995; 694: 183-90.
- Hoffman PD, Batschauer A, Hays JB. PHH1, a novel gene from *Arabidopsis thaliana* that encodes a protein similar to plant blue-light photoreceptors and microbial photolyases. *Mol Gen Genet* 1996; 253: 259-65.
- Lin C, Yang H, Guo H, Mockler T, Chen J, Cashmore AR. Enhancement of blue-light sensitivity of *Arabidopsis* seedlings by a blue light receptor cryptochrome 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 2886-90.
- Guo H, Yang H, Mockler TC, Lin C. Regulation of flowering time by *Arabidopsis* photoreceptors. *Science* 1998; 279: 1360-3.
- Ahmad M, Cashmore AR. The blue-light photoreceptor cryptochrome 1 shows functional dependence on phytochrome A or phytochrome B in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 1997; 11: 421-7.
- Ahmad M, Jarillo JA, Smirnova O, Cashmore AR. Cryptochrome blue-light photoreceptors of *Arabidopsis* implicated in phototropism. *Nature* 1998; 392: 720-3.
- Wilsbacher LD, Takahashi JS. Circadian rhythms: molecular basis of the clock. *Curr Opin Genet Dev* 1998; 8: 595-602.
- Thresher RJ, Vitaterna MH, Miyamoto Y, et al. Role of mouse cryptochrome blue-light photoreceptor in circadian photoreponses. *Science* 1998; 282: 1490-4.
- Van der Horst GTJ, Muijtens M, Kobayashi K, et al. Mammalian Cry1 and Cry2 are essential for maintenance of circadian rhythms. *Nature* 1999; 398: 627-30.
- Vitaterna MH, Selby CP, Todo T, et al. Differential regulation of mammalian period genes and circadian rhythmicity by cryptochromes 1 and 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 12114-9.
- Emery P, So WV, Kaneko M, Hall JC, Rosbach M. CRY, a *Drosophila* clock and light-regulated cryptochrome, is a major contributor to circadian rhythm resetting and photosensitivity. *Cell* 1998; 95: 669-79.
- Stanewsky R, Kaneko M, Emery P, et al. The *cryb* mutation identifies cryptochrome as a circadian photoreceptor in *Drosophila*. *Cell* 1998; 95: 681-92.
- Selby CP, Sancar A. A third member of the photolyase/blue-light photoreceptor family in *Drosophila*: a putative circadian photoreceptor. *Photochem Photobiol* 1999; 69: 105-7.
- Kobayashi K, Kanno S, Smit R, Vanderhorst GTJ, Takao M, Yasui A. Characterization of photolyase/blue light receptor homologs in mouse and human cells. *Nucleic Acids Res* 1998; 26: 5086-92.
- Hogenesch JB, Gu YZ, Jain S, Bradfield CA. The basic-helix-loop-helix-PAS orphan MOP3 forms transcriptionally active complexes with circadian and hypoxia factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 5474-9.
- Short TW. The transduction of blue light signals in higher plants. *Annu Rev Physiol Plant Mol Biol* 1994; 45: 143-71.
- Zhao S, Sancar A. Human blue-light photoreceptor hCRY2 specifically interacts with protein serine/threonine phosphatase 5 and modulates its activity. *Photochem Photobiol* 1997; 66: 727-31.
- Zuo Z, Dean NM, Honkanen RE. Serine/threonine phosphatase type 5 acts upstream of P53 to regulate the induction of P21 (WAF1/CIP1) and mediate growth arrest. *J Biol Chem* 1998; 273: 12250-8.
- Ollendorff V, Donoghue DJ. The serine/threonine phosphatase PP5 interacts with CDC16 and CDC27, two tetratricopeptide repeat-containing subunits of the anaphase-promoting complex. *J Biol Chem* 1997; 272: 32011-8.
- Gorgidze LA, Oshemkova SA, Vorobjev IA. Blue light inhibits mitosis in tissue culture cells. *Biosci Rep* 1998; 18: 215-24.
- Somers DE, Devlin PF, Kay SA. Phytochromes and cryptochromes in the entrainment of the *Arabidopsis* circadian clock. *Science* 1998; 282: 1488-90.
- Kanegae T, Wada M. Isolation and characterization of homologues of plant blue-light photoreceptor (cryptochrome) genes from the fern *Adiantum capillus-veneris*. *Mol Gen Genet* 1998; 259: 345-53.
- Plautz JD, Kaneko M, Hall JC, Kay S. Independent photoreceptive circadian clocks throughout *Drosophila*. *Nature* 1997; 278: 1632-5.
- Giebultowicz JM, Hege DM. Circadian clock in malpighian tubules. *Nature* 1997; 386: 664.

Summary

From DNA photolyases to photoreceptors regulating biological clocks

UV-C produce specific DNA damage such as pyrimidine dimers. These photolesions are repaired by, among others, the DNA photolyases which are blue-light activated enzymes found from cyanophyceae to lower mammals. However, photolyases are not present in man and placental mammals. The discovery in 1995 of a photolyase-like gene in man led to the discovery of mammalian cryptochromes, homologs of recently discovered plant blue-light photoreceptors and orthologs of photolyases. Cryptochromes do not repair DNA: in plants, they are involved among others in growth, flowering and resetting the biological clocks along with the red-light photoreceptors phytochromes. But it has first been shown in mammals that they act in resetting circadian rhythms and that they are also true components of the biological clock. Beyond that, the expression of both the cryptochromes and the clock genes throughout the body is large. Their role may thus be multiple, leading to major medical applications.

TIRÉS À PART

C. Petit.