

Le rôle de la télomérase et des télomères dans l'immortalisation cellulaire

Il y a plus d'un an déjà, l'expression de la sous-unité catalytique de l'enzyme télomérase (hTERT) dans des cellules somatiques humaines a permis de valider la corrélation entre la sénescence répllicative, la perte progressive des extrémités chromosomiques (télomères) et l'absence d'activité télomérase [1-6]. Dans cette revue nous discuterons les données expérimentales récentes qui révèlent la grande complexité du rôle de la télomérase et des télomères dans les processus d'échappement à la sénescence répllicative, et d'immortalisation cellulaire. Certains éléments tendent actuellement à remettre en question le concept selon lequel la sénescence serait sous le contrôle exclusif des télomères [5, 6], et ce constat est conforté par l'obtention, chez les rongeurs, d'un processus de sénescence répllicative indépendant des télomères [7].

Télomères et télomérase

Les cellules eucaryotes, qui possèdent un génome linéaire, se heurtent à un problème lors de la réplication des extrémités de leurs chromosomes [3, 4]. En effet, les télomères, constitués chez les vertébrés par la séquence répétitive TTAGGG, ne peuvent être complètement répliqués par la machinerie conventionnelle utilisée lors de la réplication d'ADN [8]. L'amorce d'ARN qui est nécessaire à la synthèse du fragment d'Okazaki terminal (à l'extrémité d'un chromosome) par l'ADN polymérase cellulaire est finalement dégradée causant ainsi la perte de séquences télomériques à chaque division cellulaire. Cette perte progressive de séquences télomériques est source d'instabilité génomique, du fait des fusions interchromosomiques et des différents types de réarrangements d'ADN qu'elle

entraîne. Afin de pallier ce problème, la plupart des cellules eucaryotes possèdent une enzyme, la télomérase, qui permet l'élongation et la conservation de la taille des télomères.

La télomérase est un complexe ribonucléoprotéique dont l'activité a été initialement identifiée chez le protozoaire *Tetrahymena thermophila* [9]. Ce complexe comprend une transcriptase inverse spécialisée renfermant une sous-unité catalytique (TERT: *telomerase reverse transcriptase*) et une molécule d'ARN [9]. Cet ARN (hTR chez l'humain: *human telomerase RNA*) contient la séquence complémentaire de la répétition d'ADN télomérique TTAGGG et agit ainsi comme molécule matrice lors de la réplication des télomères. La composante catalytique et la matrice ARN de la télomérase ont été identifiées chez plusieurs organismes (*figure 1*). Chez l'humain et *Tetrahymena*, la sous-unité catalytique et l'ARN matrice suffisent à la reconstitution d'une activité télomérase *in vitro*, mais d'autres protéines semblent être associées à l'enzyme *in vivo* [9-12] (*figure 1*). Par exemple, chez *Tetrahymena* le complexe comprend, en plus de la sous-unité catalytique p133, deux protéines p95 et p80, qui interagissent respectivement avec l'ADN télomérique et l'ARN matrice [9, 12]. Une étude récente utilisant des lysats de réticulocytes suggère que l'assemblage de la télomérase humaine en une enzyme fonctionnelle requiert l'action des protéines-chaperons Hsp90 et p23 [13].

Sénescence répllicative et hypothèse télomérique de la sénescence

Le processus de la sénescence répllicative s'observe lorsque des cellules primaires sont cultivées *in vitro* (*m/s* 1999, n° 10, p. 1096-104). Il y a près

de 40 ans, Hayflick et Moorhead ont observé que des cellules en culture arrêtaient de se diviser après un certain nombre de dédoublements [4]. Par exemple, *in vitro*, des fibroblastes cultivés cessent de se diviser après 40 à 80 divisions cellulaires. Cette observation suggère l'existence d'un mécanisme moléculaire capable de compter le nombre de divisions cellulaires accomplies et, lorsque le nombre maximal de divisions est atteint, d'induire un arrêt de la croissance (sénescence) [4]. Cependant, en quoi consiste ce mécanisme moléculaire qui permet de compter le nombre de divisions cellulaires?

Au cours des dernières années, plusieurs données expérimentales tendent à conférer au raccourcissement des télomères qui survient à chaque division cellulaire un rôle important dans l'établissement de la sénescence répllicative [5]. La *figure 2* illustre ce qui est connu sous le nom « d'hypothèse télomérique de la sénescence » [3, 4]. Dans les cellules germinales, la télomérase est active, la taille des télomères est maintenue constante et, par conséquent, ces cellules se divisent indéfiniment. En revanche, dans les cellules somatiques, l'absence de télomérase entraîne, à chaque mitose cellulaire, un raccourcissement des extrémités chromosomiques dû en partie à la réplication incomplète des extrémités de chromosome (*voir ci-dessus*). En fait, selon l'hypothèse télomérique de la sénescence, lorsque les télomères ont atteint une taille minimale « critique », des signaux, dont la nature est encore mal connue, induiraient un arrêt du cycle cellulaire responsable de la sénescence répllicative (*figure 2*) [5].

Cependant, l'infection de cellules somatiques avec des virus transformants (virus simien 40 ou virus du papillome humain) permet d'échapper à la sénescence répllicative

(figure 2, étape « a ») probablement en altérant le fonctionnement des protéines p53 et/ou Rb (rétinoblastome), qui interviennent négativement dans la régulation du cycle cellulaire [4]. Ces cellules, dont la capacité répliquative est prolongée (cellules dites pré-immortelles), continuent de se diviser et de perdre des séquences télomériques à chaque mitose jusqu'à un stade que l'on dénomme « crise ». Une seule parmi 10⁷ cellules survivra à cette « crise » et deviendra immortelle. On peut donc considérer que la sénescence répliquative et l'étape de « crise » représentent des mécanismes « suppresseurs de tumeurs » très efficaces (*m/s* 1999, n° 8/9, p. 1061). Qui plus est, la plupart des cellules immortelles qui ont échappé au stade de « crise » expriment maintenant une activité télomérase qui assure la stabilité de la longueur de leurs télomères (figure 2, étape « b »). Il en résulte une diminution de l'instabilité du caryotype de ces cellules, ce qui suggère un rôle important pour les télomères dans

l'intégrité du génome cellulaire. La perte massive de viabilité cellulaire qui caractérise le stade de « crise » est peut-être causée par une grande instabilité chromosomique, dont témoignent les nombreuses fusions entre chromosomes. Une activité télomérase est présente dans la grande majorité des lignées cellulaires, dans les cellules germinales ainsi que dans 90 % des cellules issues de biopsies tumorales, donc dans presque tous les types de cellules dans lesquels les divisions se succèdent de façon continue [3]. A ce jour, l'activité télomérase est le marqueur potentiel le plus prometteur pour l'identification d'un cancer avec 90 % d'incidence, tandis que des mutations dans la protéine p53 sont observées dans 50 % des cancers [14].

La télomérase... depuis l'identification de hTERT

L'identification de la sous-unité catalytique de la télomérase, hTERT, a permis de tester directement l'hypothèse télomérique de la sénescence [1, 2].

En transfectant, avec un vecteur permettant l'expression d'hTERT, des cellules primaires épithéliales (isolées de la zone pigmentaire de la rétine-RPE) ainsi que des fibroblastes humains de prépuce et de poumon, qui expriment hTR, mais sont négatives pour l'activité télomérase, l'activité télomérase a pu être reconstituée. En conséquence, la longueur des télomères a été augmentée, et ces cellules ont échappé à la sénescence répliquative (figure 2, étape « d ») [1, 2, 15-17]. Ces résultats suggèrent donc fortement que le raccourcissement progressif des télomères est impliqué dans l'induction de la sénescence répliquative. A ce jour, les cellules épithéliales (RPE) et les fibroblastes (BJ) transfectés avec le gène codant pour hTERT ont effectué plus de 135 et 280 divisions cellulaires, respectivement, alors que leur capacité habituelle de doublement dépasse rarement 55 divisions pour les cellules épithéliales de la rétine et entre 65 et 90 divisions pour les fibroblastes [1, 2, 15-17] (Tableau I). Des études récentes ont analysé si les

Tableau I
CAPACITÉ RÉPLICATIVE ET TAILLE DES TÉLOMÈRES
AVANT ET APRÈS L'INTRODUCTION DU GÈNE *hTERT*

Type cellulaire humain	Capacité répliquative (divisions cellulaires)	Taille moyenne des télomères à la sénescence (kb)	Gène introduit	Capacité répliquative (divisions cellulaires)	Taille moyenne des télomères (kb)	Immortalisation (>/= double des divisions cellulaires normales)	Références
RPE	55-60	4,5	hTERT	> 135	9	oui	[1, 17]
BJ	75-90	4,5-7	hTERT	> 280	8,5-12	oui	[1, 2, 16-18]
BJ	75-90	6	HTERT-HA	83-87	6	non	[18]
HFK	2-10	< 7	hTERT	2-10	< 7	non	[20]
HFK	2-10	< 7	hTERT et E7	> 70	10-11	oui	[20]
HFF	22-34	< 9	hTERT	> 100	>12	oui	[20]
HMEC	25	nd	hTERT	25	nd	non	[20, 26]
HMEC	25	nd	hTERT et E7	> 100	nd	oui	[20]
IMR90	55-60	7,5	hTERT	> 76	10	?	[18]
IMR90	29 (26) ou 60 (18)	6	hTERT-HA	31 (26) ou 58 (18)	6	non	[18, 26]
HEK préimmortelles	20*	4,5 ^a	hTERT	> 60*	9	oui	[23]
HEK préimmortelles	20*	4 ^a	hTERT-HA	20-30*	4	non	[23]
IMR90 préimmortelles	50	6-8 ^a	hTERT	> 100	5-6	oui	[24]
IMR90 préimmortelles	50	6-8 ^a	hTERT-HA	50	nd	non	[24]
PLR.HS.217	45	9-10 ^a	hTERT	>90	7	oui	[24]
PLR.HS.217	45	9-10 ^a	hTERT-HA	45	nd	non	[24]
TRM-6	2-3*	6-8 ^a	hTERT	45*	7-10	oui	[25]
βlox5	2-3*	5-7 ^a	hTERT	35*	15	oui	[25]

RPE: épithélium pigmentaire de la rétine; BJ: fibroblastes de prépuce; HFK: kératinocytes de prépuce; HFF: fibroblastes de prépuce; HMEC: épithélium mammaire; HEK: cellules humaines embryonnaires de rein; IMR90: fibroblastes de poumon; TRM-6: épithélium foetal pancréatique post-sénescence; βlox5: îlots de pancréas préimmortels; PLR.HS.217: fibroblastes de peau préimmortels; nd: non déterminé; *nombre de divisions cellulaires après infection rétrovirale; ^a au moment de la « crise ».

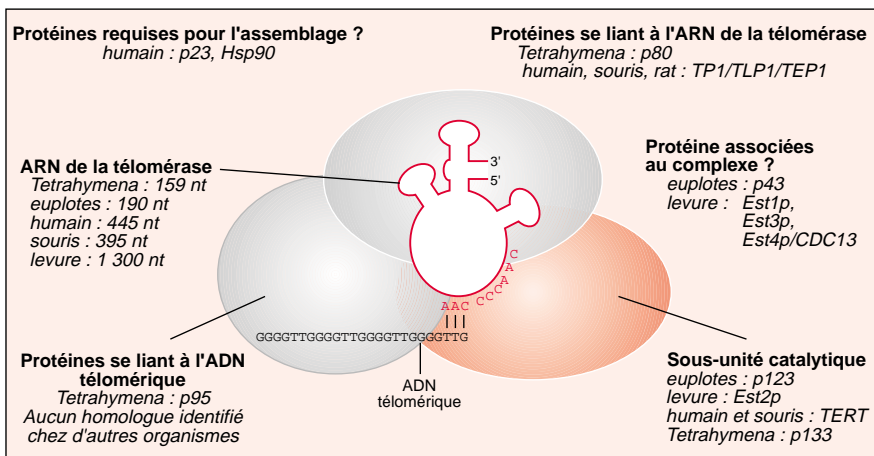


Figure 1. **Composantes associées au complexe de la télomérase dans différents organismes.** La télomérase consiste en une transcriptase inverse spécialisée qui est composée d'une sous-unité catalytique ainsi que d'une molécule d'ARN. Le schéma représente les composantes de la télomérase du protozoaire *Tetrahymena*. La télomérase de ce protozoaire est constituée de quatre composantes connues à ce jour : (1) p133, la sous-unité catalytique ; (2) p95, une protéine qui lie l'ADN télomérique ; (3) p80, une protéine qui se lie à l'ARN matrice de la télomérase ; (4) une molécule d'ARN de 159 nucléotides [9, 12]. La sous-unité catalytique ainsi que l'ARN matrice de la télomérase ont été identifiées dans différents organismes tels que *Euplotes*, la levure, la souris et l'humain [9, 34, 35]. Une protéine ayant une homologie avec la protéine p80 du protozoaire *Tetrahymena* a aussi été identifiée chez certains mammifères (TP1, TLP1, TEP1) [9]. Des données récentes ont suggéré l'implication des protéines-chaperons Hsp90 et p23 dans l'assemblage d'une télomérase humaine fonctionnelle *in vitro* dans des lysats de réticulocytes [13]. D'autres protéines sont potentiellement associées au complexe de la télomérase chez *Euplotes* ainsi que dans la levure [9].

cellules immortalisées (ayant doublé leur capacité répliquative) à la suite de l'introduction du gène *hTERT* expriment un phénotype de cellules transformées [15, 16]. Or, tel n'était pas le cas, puisque ces cellules n'avaient pas la capacité de proliférer en l'absence de sérum, ne formaient pas de colonies en agar mou, exprimaient la propriété d'inhibition de contact, et que leur caryotype était normal. De plus, les mécanismes de surveillance du contrôle du cycle cellulaire dépendant des protéines p53 et Rb étaient fonctionnels. En conclusion, ces deux études suggèrent fortement que l'expression de la télomérase dans certaines cellules somatiques a le pouvoir de rendre ces cellules immortelles, mais non de les rendre oncogéniques. Cependant, il serait fort intéressant de vérifier si l'inhibition de la télomérase, par exemple par des oligonucléotides antisens de l'ARN de la télomérase

(hTR), serait capable de restaurer dans ces cellules une sénescence répliquative. Cela permettrait d'exclure la possibilité que ces cellules aient acquis d'autres mutations directement responsables de l'acquisition de ce potentiel d'immortalité. En novembre 1998 un article publié dans la revue *Nature* par le groupe de Kiyono *et al.* venait cependant compliquer la compréhension du rôle de la télomérase dans l'échappement au processus de sénescence répliquative [18]. Ce groupe confirmait les résultats obtenus par les groupes de Bodnar *et al.* et de Vaziri et Benchimol puisque l'expression de la sous-unité catalytique de la télomérase dans des fibroblastes rendait bien ces cellules immortelles [1, 2]. En revanche, Kiyono *et al.* constataient que l'expression de cette même protéine dans des kératinocytes (HFK) ainsi que dans des cellules épithéliales mammaires (HMEC), ne leur permettait pas

d'échapper au processus de sénescence répliquative (Tableau I). L'activation de la télomérase était donc insuffisante, à elle seule, pour immortaliser des kératinocytes humains ou des cellules épithéliales mammaires. En revanche, l'introduction du gène *hTERT*, si elle était associée à l'inactivation de la voie Rb/p16^{INK4a} (grâce à la protéine E7 du virus du papillome humain qui inactive la protéine de rétinoblastome Rb), immortalisait les cellules efficacement (Tableau I). Selon de Lange et DePinho [19], la différence entre les fibroblastes (BJ), les kératinocytes (HFK) et les cellules épithéliales mammaires (HMEC) pourrait être le niveau de p16^{INK4a}, un inhibiteur naturel de la protéine Rb, peu exprimé dans les fibroblastes (*m/s* 1994, n°6/7, p. 744-6 et 1996, n°2, p. 222-6). Cette faible expression de l'inhibiteur faciliterait l'échappement à la sénescence répliquative des cellules surexprimant *hTERT* [19]. Une autre explication possible serait que l'adaptation des cellules à la culture, variable selon les cellules, influencerait de façon différente l'expression de p16^{INK4a} et de Rb [19].

Intégrité télomérique et immortalisation cellulaire

L'observation d'une stabilisation ou d'une augmentation de la taille des télomères dans les cellules ayant survécu à la « crise » suggère que ce paramètre joue un rôle important au cours du processus d'immortalisation (*m/s* 1998, n°10, p. 1142 et 1992, n°7, p. 738). En effet, certaines études ont clairement établi que dans certaines cellules immortalisées avec des virus transformants, la taille des télomères restait inchangée alors même qu'aucune activité télomérase n'était détectable [20]. Ce mécanisme de conservation de la taille des télomères sans intervention de la télomérase est connu sous le nom de *alternative lengthening of telomeres* (ALT) (figure 2, étape « c »). Cependant, il reste vrai que toutes les cellules immortelles examinées à ce jour possèdent soit l'activité télomérase, soit ce mécanisme alternatif d'élongation des télomères [4]. Il y a donc bien association entre l'établissement de l'immortalisation cellu-

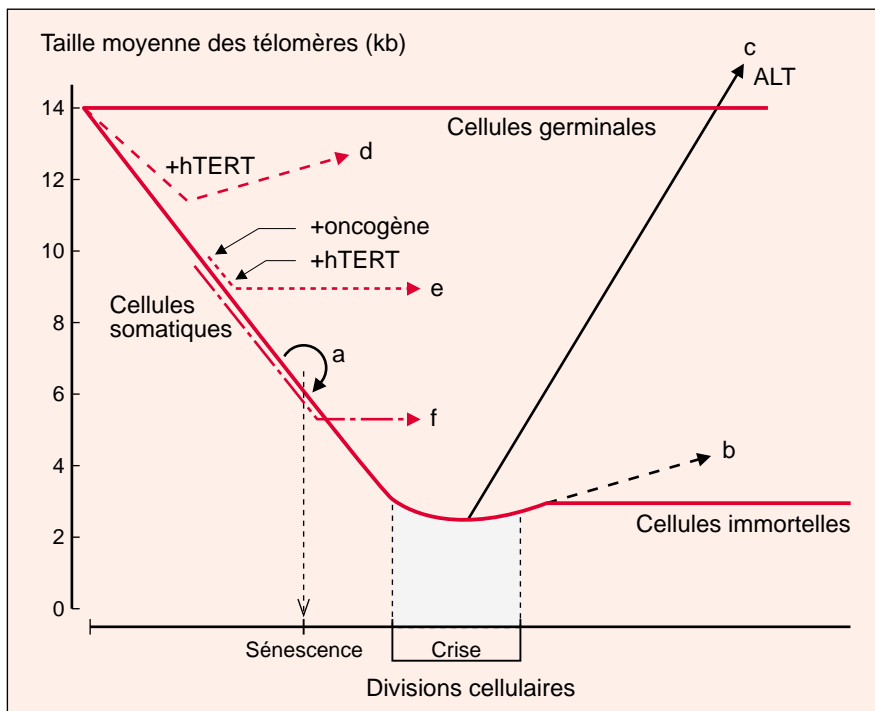


Figure 2. **Hypothèse télomérique de la sénescence.** Dans les cellules germinales et les cellules immortelles (étape « b »), la télomérase est active et la taille des télomères est généralement maintenue à un niveau stable. L'absence de télomérase dans les cellules somatiques occasionne un raccourcissement progressif des télomères à chaque mitose cellulaire. Lorsque les télomères ont atteint une certaine taille minimale (« critique »), il y a un arrêt du cycle cellulaire (sénescence répllicative). L'infection des cellules somatiques avec des virus transformants permet d'échapper à la sénescence répllicative (étape « a »). Ces cellules préimmortelles continuent à se diviser jusqu'à un stade que l'on dénomme « crise ». Dans 15% des cas, l'émergence de cellules immortelles s'associe au rallongement des télomères apparemment en l'absence d'activité télomérase (ALT) (étape « c ») [20]. En transfectant certaines cellules primaires humaines avec un vecteur permettant l'expression d'hTERT, l'activité télomérase est restaurée, les télomères sont allongés et ces cellules échappent à la sénescence répllicative (étape « d ») [1, 2, 15-17]. Dans certains types de cellules préimmortelles, la surexpression de hTERT permet le maintien ou l'augmentation de la taille des télomères (étape « e ») [21, 23]. La taille des télomères dans d'autres types de cellules préimmortelles et surexprimant hTERT, est plus courte que la taille des télomères des cellules ayant été transfectées avec le vecteur seulement, qui –elles– sont déjà en « crise » (étape « f ») [22].

laire et l'activation d'un mécanisme s'opposant à la perte des télomères.

Pour mieux comprendre le rôle que joue la télomérase au moment de la « crise » cellulaire, trois groupes de chercheurs ont introduit le gène *hTERT* dans des cellules somatiques exprimant des onco-protéines comme l'antigène T de SV40. Dans ces cellules, dites préimmortelles, l'expression de *hTERT* prévient la survenue de la « crise » cellulaire [21-23].

L'expression de *hTERT* dans des cultures de cellules humaines embryonnaires de rein (HEK), ou de cellules pancréatiques provenant de fœtus ou d'adultes humains (TRM-6 et β lox5, respectivement), a permis le maintien ou l'augmentation de la taille des télomères [21, 23] (voir figure 2, étape « e »). En revanche, l'étude de Zhu *et al.* [22] démontre que si *hTERT* est surexprimée dans des fibroblastes de poumon et de peau préimmortels

(IMR90 et PLR.HS.217, respectivement), la taille des télomères est inférieure à celle des télomères de cellules transfectées avec le vecteur vide, et qui sont déjà en « crise » [22]. Ces auteurs suggèrent que la présence de la télomérase protège les extrémités chromosomiques telle une « coiffe », permettant ainsi à ces cellules d'échapper au stade de « crise », sans pour autant induire immédiatement un allongement ou une stabilisation des télomères [22] (voir figure 2, étape « f »). La taille des télomères résultant de l'introduction du gène *hTERT* dans ces cellules pourrait dépendre du type cellulaire. De plus, la taille des télomères au moment de la transfection du gène *hTERT* pourrait être un facteur déterminant de l'action ultérieure de la télomérase sur la dynamique de la taille des télomères. Enfin, la taille des télomères des cellules n'exprimant pas *hTERT* au moment de la « crise » varie entre 4,5 et 10 kb (voir Tableau I). Ceci pourrait expliquer, du moins pour les fibroblastes de peau préimmortels, comment des télomères initialement plus longs peuvent continuer de se raccourcir.

D'autres études ont clairement démontré que la présence d'une télomérase catalytiquement active n'est pas nécessairement suffisante pour assurer une taille constante des télomères, ce qui rappelle la situation *in vivo* dans les lymphocytes [3, 4]. En effet, si l'on introduit dans des cellules somatiques normales et préimmortelles, la composante catalytique de la télomérase, modifiée à son extrémité carboxy-terminale par l'addition d'un épitope HA (*hTERT*-HA), la télomérase qui s'exprime est catalytiquement active (du moins *in vitro*), mais est incapable cependant de préserver la taille des télomères ou d'augmenter le potentiel réplicatif cellulaire [17, 21, 22, 24] (voir Tableau I). Ces observations suggèrent plusieurs remarques : 1) l'activité télomérase peut n'être suffisante ni pour assurer une taille constante des télomères, ni pour immortaliser les cellules ; 2) l'activité catalytique de la télomérase et son rôle dans l'immortalisation cellulaire sont deux fonctions distinctes ; 3) un domaine autre que le domaine catalytique de

la télomérase pourrait intervenir dans ce processus de conservation des extrémités télomériques.

Rôles de hTERT et MYC dans l'immortalisation cellulaire

L'expression de l'oncogène MYC dans différentes cellules humaines, qui n'expriment pas l'activité enzymatique de la télomérase, entraîne l'activation de cette dernière [24]. MYC augmenterait l'expression de hTERT, la sous-unité catalytique de la télomérase, par un mécanisme transcriptionnel, faisant intervenir certaines séquences de liaison à l'ADN (Boîtes E) qui sont conservées pour MYC et présentes dans le promoteur de hTERT [25-29]. Par conséquent, il est possible que l'expression élevée de MYC dans de nombreuses tumeurs soit responsable de la réactivation de la télomérase [30]. Ce lien entre MYC et la télomérase est conforté par l'observation que l'inhibition de MYC dans des lignées cellulaires leucémiques humaines inhibe l'activité de la télomérase [31]. En revanche, le rôle de MYC dans l'immortalisation cellulaire n'est pas seulement une conséquence de l'activation de la télomérase. En effet, *in vitro*, des cellules primaires de rat ne sont efficacement transformées qu'en présence de plusieurs agents immortalisants comme MYC et RAS activé (H-RAS^{G12V}). La substitution de MYC par TERT dans cet essai de coopération ne permet pas l'immortalisation des cellules primaires de rat, suggérant que, pour cette fonction, TERT n'est pas équivalent à MYC [27].

Conclusions

Il sera important de connaître le devenir à long terme des cellules somatiques « immortalisées » par la surexpression de hTERT: resteront-elles « immortelles »? Deviendront-elles sénescentes en dépit de l'activité de la télomérase et de la conservation de la taille des télomères? Un événement génétique supplémentaire semblable à celui qu'engendre des virus transformants sera-t-il nécessaire pour assurer une prolifération indéfinie de ces cellules? L'identification de la

sous-unité catalytique de l'enzyme télomérase il y a deux ans, et les nombreuses recherches qu'elle a suscitées ont certes amélioré notre compréhension des mécanismes de la sénescence répliquative et de l'immortalisation. Cependant, une question essentielle n'est pas résolue: l'immortalisation cellulaire telle qu'elle est reproduite *in vitro* représente-t-elle un passage obligé lors de la transformation oncogénique et de la formation de tumeurs *in vivo*? (*m/s* 1999, n° 8/9, p. 1061). Quel est le rôle de la télomérase dans l'immortalisation *in vitro* versus la formation de tumeurs? D'après Greider, le fonctionnement des télomères et de la télomérase dans les tumeurs est différent de celui qui est observé lors de l'immortalisation d'une culture cellulaire *in vitro* [30]. Chez la souris, l'activation de la télomérase dans les tumeurs se produit après environ 30 à 40 divisions, bien avant un raccourcissement « critique » des télomères qui nécessite environ 300 divisions [32, 33]. En revanche, si l'on tient compte des résultats démontrant une coopération entre E7 et hTERT dans l'immortalisation des kératinocytes humains et des cellules épithéliales mammaires, on peut penser que l'activation de la télomérase pourrait être une des étapes qui contribue à la formation de tumeurs [30]. Le rôle de la télomérase dans la formation de tumeurs ne pourra cependant être affirmé que lorsqu'on démontrera que la surexpression de hTERT dans des souris transgéniques provoque l'émergence de tumeurs *in vivo*. Une compréhension totale du rôle de la télomérase et du maintien des télomères dans la formation de tumeurs chez l'humain ne sera possible que lorsque l'action d'inhibiteurs de la télomérase chez des individus atteints de cancer sera testée [19] ■

Remerciements

Nous remercions Andréa LeBlanc et Ibtissem Triki pour leurs commentaires sur ce manuscrit. Nos recherches sont soutenues par le Conseil de recherches médicales du Canada et le Fonds de recherche en santé du Québec.

RÉFÉRENCES

1. Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, *et al.* Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 1998; 279: 349-52.
2. Vaziri H, Benchimol S. Reconstitution of telomerase activity in normal human cells leads to elongation of telomeres and extended replicative life span. *Curr Biol* 1998; 8: 279-82.
3. Autexier C, Greider CW. Telomerase and cancer: revisiting the telomere hypothesis. *Trends Biochem Sci* 1996; 21: 387-91.
4. Reddel RR. A reassessment of the telomere hypothesis of senescence. *BioEssays* 1998; 20: 977-84.
5. Koering CE, Gilson E. Contrôle télomérique de la sénescence. *Med Sci* 1998; 14: 748-53.
6. Kipling D, Wynford-Thomas D, Jones CJ, *et al.* Telomere-dependent senescence. *Nat Biotechnol* 1999; 17: 313-4.
7. Russo I, Silver ARJ, Cuthbert AP, Griffin DK, Trott DA, Newbold RF. A telomere-independent senescence mechanism is the sole barrier to Syrian hamster cell immortalization. *Oncogene* 1998; 17: 3417-26.
8. Marcand S, Brun B, Ancelin K, Gilson E. Les télomères: du normal au pathologique. *Med Sci* 1997; 13: 1250-8.
9. Nugent CI, Lundblad V. The telomerase reverse transcriptase: components and regulation. *Genes Dev* 1998; 12: 1073-85.
10. Weinrich SL, Pruzan R, Ma L, *et al.* Reconstitution of human telomerase with the template RNA component hTR and the catalytic protein subunit hTERT. *Nat Genet* 1997; 17: 498-502.
11. Beattie TL, Zhou W, Robinson MO, Harrington L. Reconstitution of human telomerase activity *in vitro*. *Curr Biol* 1998; 8: 177-80.
12. Collins K, Gandhi L. The reverse transcriptase component of the *Tetrahymena* telomerase ribonucleoprotein complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8485-90.
13. Holt SE, Aisner DL, Baur J, *et al.* Functional requirement of p23 and Hsp90 in telomerase complexes. *Genes Dev* 1999; 13: 817-26.
14. Wiman KG. p53: emergency brake and target for cancer therapy. *Exp Cell Res* 1997; 237: 14-8.
15. Morales CP, Holt SE, Ouellette M, *et al.* Absence of cancer-associated changes in human fibroblasts immortalized with telomerase. *Nat Genet* 1999; 21: 115-8.
16. Jiang XR, Jimenez G, Chang E, *et al.* Telomerase expression in human somatic cells does not induce changes associated with a transformed phenotype. *Nat Genet* 1999; 21: 111-4.
17. Ouellette MM, Aisner DL, Savre-Train I, Wright WE, Shay JW. Telomerase activity does not always imply telomere maintenance. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 254: 795-803.
18. Kiyono T, Foster SA, Koop JI, McDougall JK, Galloway DA, Klingelutz AJ. Both Rb/p16^{INK4a} inactivation and telomerase activity are required to immortalize human epithelial cells. *Nature* 1998; 396: 84-8.

RÉFÉRENCES

19. de Lange T, DePinho RA. Unlimited mileage from telomerase? *Science* 1999; 283: 947-9.
20. Bryan TM, Reddel RR. Telomere dynamics and telomerase activity in *in vitro* immortalised human cells. *Eur J Cancer* 1997; 33: 767-73.
21. Counter CM, Hahn WC, Wei W, *et al.* Dissociation among *in vitro* telomerase activity, telomere maintenance, and cellular immortalization. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 14723-8.
22. Zhu J, Wang H, Bishop JM, Blackburn EH. Telomerase extends the lifespan of virus-transformed human cells without net telomere lengthening. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 3723-8.
23. Halvorsen TL, Leibowitz G, Levine F. Telomerase activity is sufficient to allow transformed cells to escape from crisis. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 1864-70.
24. Wang J, Xie LY, Allan S, Beach D, Hannon GJ. Myc activates telomerase. *Genes Dev* 1998; 12: 1769-74.
25. Cong YS, Wen J, Bacchetti S. The human telomerase catalytic subunit hTERT: organization of the gene and characterization of the promoter. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 137-42.
26. Wu KJ, Grandori C, Amacker M, *et al.* Direct activation of *TERT* transcription by c-MYC. *Nat Genet* 1999; 21: 220-4.
27. Greenberg RA, O'Hagan RC, Deng H, *et al.* Telomerase reverse transcriptase gene is a direct target of c-Myc but is not functionally equivalent in cellular transformation. *Oncogene* 1999; 18: 1219-26.
28. Takakura M, Kyo S, Kanaya T, *et al.* Cloning of human telomerase catalytic subunit (hTERT) gene promoter and identification of proximal core promoter sequences essential for transcriptional activation in immortalized and cancer cells. *Cancer Res* 1999; 59: 551-7.
29. Horikawa I, Cable PL, Afshari C, Barrett JC. Cloning and characterization of the promoter region of human telomerase reverse transcriptase gene. *Cancer Res* 1999; 59: 826-30.
30. Greider CW. Telomerase activation one step on the road to cancer. *Trends Genet* 1999; 15: 109-12.
31. Fujimoto K, Takahashi M. Telomerase activity in human leukemic cell lines is inhibited by antisense pentadecadeoxynucleotides targeted against c-myc mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 241: 775-81.
32. Blasco MA, Rizen M, Greider CW, Hanahan D. Differential regulation of telomerase activity and telomerase RNA during multi-stage tumorigenesis. *Nat Genet* 1996; 12: 200-4.
33. Blasco MA, Lee HW, Hande MP, *et al.* Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA. *Cell* 1997; 91: 25-34.
34. Greenberg RA, Allsopp RC, Chin L, Morin GB, DePinho RA. Expression of mouse telomerase reverse transcriptase during development, differentiation and proliferation. *Oncogene* 1998; 116: 1723-30.
35. Martin-Rivera L, Herrera E, Albar JP, Blasco MA. Expression of mouse telomerase catalytic subunit in embryos and adult tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 10471-6.

François Bachand Chantal Autexier

Centre Bloomfield de recherche sur le vieillissement, l'Institut Lady-Davis de recherches médicales, Hôpital général juif Sir-Mortimer-B.-Davis, 3755, Côte Sainte-Catherine, Montréal, Québec, Canada, H3T 1E2, et Département d'anatomie et de biologie cellulaire, Université McGill, 3640, rue Université, Montréal, Québec, H3A 2B2 Canada.

TIRÉS À PART

C. Autexier.



CENTRE NATIONAL
DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE