

## Inhibiteurs de la télomérase : conséquences pour la thérapeutique anticancéreuse

*Les télomères assurent la stabilité des extrémités chromosomiques. Les répétitions télomériques sont synthétisées par la télomérase, une enzyme inactive dans la plupart des cellules somatiques, mais nécessaire à la survie des cellules tumorales. Le contrôle de l'activité de la télomérase est donc un enjeu thérapeutique majeur en cancérologie. Certaines*

*structures de l'ADN substrat, et en particulier une conformation en quadruplex, inhibent l'activité de la télomérase. Différentes familles de molécules reconnaissent sélectivement et stabilisent ces structures à quatre brins et, par conséquent, inhibent la télomérase. L'effet de ces composés sur les cellules tumorales est en cours d'étude.*

**A**ux extrémités de chaque chromosome eucaryote se trouve un édifice nucléoprotéique particulier, le télomère, qui le protège des phénomènes de fusion et de dégradation. Dans la plupart des organismes, les télomères sont constitués de séquences répétées par enchaînement d'un court motif (5' TTAGGG 3' chez l'homme). En l'absence d'un mécanisme spécifique de contrôle, la réplication d'un chromosome s'accompagne d'une érosion progressive des répétitions télomériques. Ce phénomène, véritable horloge de la division cellulaire ou « compteur mitotique », serait à la base de la sénescence répllicative caractéristique des cellules primaires cultivées *in vitro* : au bout d'un certain nombre de passages, les cellules ne se divisent plus, on parle alors de « limite de Hayflick ». Cette sénescence s'accompagne de changements morphologiques et de l'expression de certains marqueurs caractéristiques [1].

Une enzyme particulière, la télomérase, découverte en 1985 chez les ciliés et clonée chez l'homme beaucoup plus récemment est capable de compenser le raccourcissement des télomères par la synthèse de répétitions télomériques. La télomérase est une transcriptase inverse spécialisée, constituée d'une sous-unité catalytique de nature protéique (hTERT),

d'un ARN (hTR) servant de matrice pour la synthèse de l'ADN et de facteurs auxiliaires (*figure 1*). L'activité de la télomérase au niveau d'un télomère est contrôlée par l'environnement nucléoprotéique du télomère considéré. Chez l'homme, la télomérase est présente dans les cellules de la lignée germinale et dans certaines cellules souches, mais est absente dans la plupart des cellules somatiques adultes. On observe cependant une réactivation de la télomérase dans la grande majorité (> 85 %) des cancers. Récemment, il a été démontré que l'expression de la sous-unité catalytique de la télomérase permet de prolonger la durée de vie mitotique de cellules primaires en culture et de vaincre cette limite de Hayflick [2]. La télomérase constitue également une condition nécessaire mais non suffisante pour transformer des cellules normales en cellules tumorales. Par ailleurs, son inactivation limite la croissance de cellules tumorales [3]. L'ensemble de ces résultats permet de proposer une thérapie anti-tumorale fondée sur l'inhibition de cette enzyme. L'inactivation de la télomérase, en induisant un raccourcissement progressif des télomères des cellules tumorales, conduirait à un arrêt prolifératif (sénescence) ou à un passage en crise et une mort par apoptose ou « catastrophe génétique », selon le type des cellules visées.

Différentes stratégies sont actuellement développées pour inhiber la télomérase et limiter ainsi la croissance de tumeurs (*figure 1*). Les différents types de cibles sont : le composant ARN de la télomérase (hTR), la sous-unité catalytique de la télomérase (hTERT), les protéines associées à la télomérase (dyskérine, Hsp 90) et l'ADN télomérique substrat de l'enzyme. Nous allons résumer quelques résultats récents obtenus en particulier sur l'ARN de la télomérase (stratégie antisens) et l'ADN télomérique (ligands de *G-quadruplex*).

### Les oligonucléotides antisens

Les oligonucléotides antisens généralement employés pour inhiber sélectivement l'expression d'un gène agissent par blocage de la traduction en se fixant sur l'ARN messager. A ce jour, la plupart des oligonucléotides anti-télomérase décrits visent le composant ARN de la télomérase qui n'est pas traduit mais soumis à transcription inverse. L'inhibition prend dans ce cas une signification particulière : chez l'homme, l'ARN de la télomérase contient un peu plus de 450 nucléotides, et il a été démontré que la courte région de cet ARN servant de matrice pour l'addition de répétitions (GGGTTA) était particulièrement accessible à des oligonucléotides antisens, qui peuvent ainsi

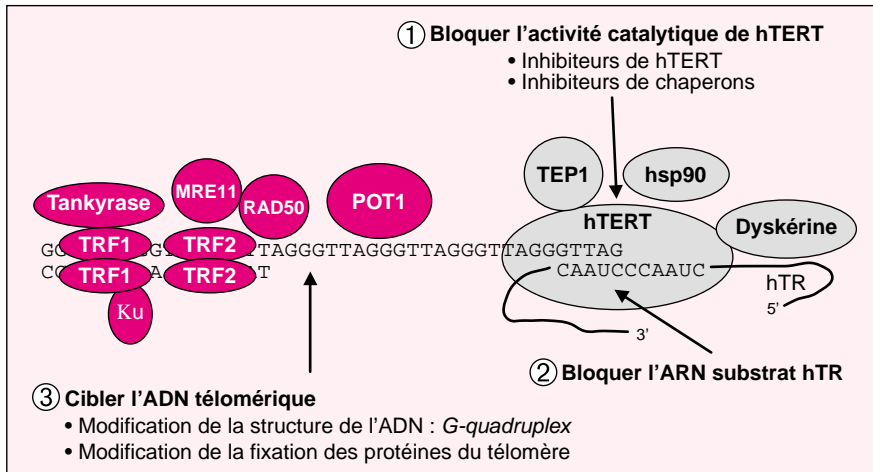


Figure 1. **Stratégies d'inhibition de la télomérase.** Le rôle biologique de la télomérase est de compenser l'érosion des télomères par la synthèse de l'ADN télomérique. La télomérase est constituée de deux sous-unités: la sous-unité catalytique (hTERT), et un ARN (hTR). Ce dernier contient une courte séquence nucléotidique complémentaire de celle des télomères qui sert de matrice lors de la synthèse de l'ADN télomérique. Plusieurs protéines (TEP1 – telomerase associated protein 1 – hsp90, et dyskérine) sont liées à hTERT, certaines faciliteraient le repliement de la sous unité catalytique ou son association avec hTR. Par ailleurs, de nombreuses protéines interagissent, directement ou indirectement, avec l'ADN télomérique. TRF1 et 2 se fixent directement sur l'ADN télomérique double-brin, tandis que Pot 1 reconnaît l'extrémité simple-brin. L'affinité de TRF1 pour l'ADN peut être modulée par la Tankyrase. D'autres protéines souvent impliquées dans la réparation ou la recombinaison, comme Ku, Rad50... sont également retrouvées au niveau des télomères. Différentes stratégies sont développées afin d'inhiber l'activité de la télomérase: ① l'inactivation de la sous-unité catalytique en inhibant directement hTERT ou les protéines chaperons; ② le blocage de l'ARN substrat, hTR, par des oligonucléotides antisens; ③ le ciblage du télomère, soit en modifiant la structure de l'ADN télomérique (*G-quadruplex*), soit en s'attaquant aux protéines associées au télomère.

dégrader ou bloquer la synthèse de l'ADN télomérique. La comparaison récente des structures de ces ARN chez les vertébrés pourrait permettre le ciblage d'autres régions de hTR, en induisant une dégradation ou en altérant la conformation de cet ARN. Plusieurs types d'oligomères (acides peptido-nucléiques – PNA; phosphorothioates) ont été testés (figure 2). Certains se sont montrés extrêmement efficaces dans des extraits cellulaires, avec des concentrations inhibitrices de 50% ( $IC_{50}$ ) inférieures au nanomolaire [4]. Ces agents sont également actifs dans des cellules vivantes, mais à des concentrations plus élevées et/ou en présence d'un lipide cationique permettant de les faire pénétrer dans les cellules [5]. Récemment, l'activité anti-télomérase d'un oligoribonucléotide modifié (2'-O-[2-méthoxyéthyl] ou 2'-MOE) a été décrite (figure 2D); l'inhibition induite par ce composé persiste pendant plusieurs jours dans la cellule [6].

#### Les ligands des *G-quadruplex*

L'ADN des chromosomes de tous les micro-organismes eucaryotes étudiés à ce jour et des cellules de mammifères se termine par le même type de structure: une extrémité 3' monocaténaire riche en G constituée des répétitions télomériques. Ce brin est

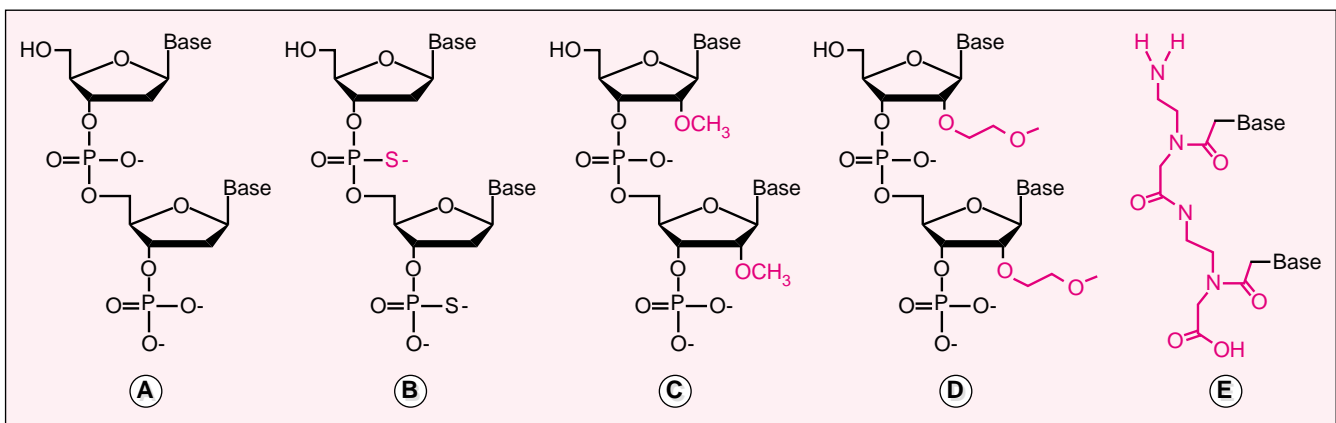


Figure 2. **Oligonucléotides antisens employés.** À ce jour, tous les oligonucléotides anti-télomérase décrits visent hTR. La courte région de cet ARN servant de matrice pour l'addition de répétitions (GGGTTA) est particulièrement accessible à des oligonucléotides antisens, qui peuvent ainsi dégrader ou bloquer la synthèse de l'ADN télomérique. **A.** Structure normale de l'ADN. **B.** Ajout d'un groupement phosphorothioate. **C.** 2-OMe RNA. **D.** 2'-MOE. **E.** PNA (peptide nucleic acid). Les modifications par rapport à un ADN classique sont figurées en rouge. **C** et **D** correspondent donc à des modifications du sucre.

capable d'adopter plusieurs conformations particulières, dont la boucle T (*T-loop*) mais également une autre structure secondaire appelée *G-quadruplex*. En effet, un ADN ou un ARN comprenant des blocs de plusieurs guanines consécutives peut se replier pour adopter une configuration à 4 brins, fondée sur la formation de tétrades de guanines co-planaires, appelées *G-quartets* (figures 3A, B). Les extrémités 3' riches en G ainsi que la région en double-hélice des répétitions télomériques sont le site de fixation de nombreuses protéines. En outre, la formation de *G-quadruplex* à partir de l'ADN substrat, riche en G, inhibe l'activité de la télomérase *in vitro*. En conséquence, une substance stabilisant ces structures pourrait empêcher la réplication des télomères (figure 3C). L'induction ou la stabilisation des *G-quadruplex* pourrait donc se révéler une stratégie thérapeutique pour de nouveaux agents anti-tumoraux [7]. La formation de ces structures dans le noyau vient d'être démontrée grâce à des anticorps spécifiques [8]. Les premiers composés agissant sur la télomérase par ce mécanisme ont été décrits en 1997-1998 par les équipes de S. Neidle et L. Hurlley [9, 10]. Néanmoins, ces produits, comme ceux qui suivirent, restaient d'une efficacité relativement modeste, avec des  $IC_{50}$  supérieures au  $\mu M$ . Une étape importante semble avoir été franchie récemment, puisque, lors de ces derniers mois, plusieurs équipes, dont la nôtre, ont identifié des molécules beaucoup plus actives dont l' $IC_{50}$  se situe entre 20 et 200 nM (Tableau 1 et figure 4) [11-14].

Pour découvrir de nouveaux inhibiteurs, nous avons entrepris un programme de criblage en collaboration avec plusieurs laboratoires de chimie du secteur public (Institut Curie, Collège de France, Paris, France) ou privé (Aventis-Pharma). L'analyse de plusieurs milliers de composés nous a permis de mettre en évidence des familles de ligands (éthidiums, dibenzophénanthrolines, triazines) qui stabilisent les *G-quadruplex* télomériques et sont capables d'inhiber efficacement l'action de la télomérase *in vitro*. Chaque famille possède un intérêt spécifique : si l'application

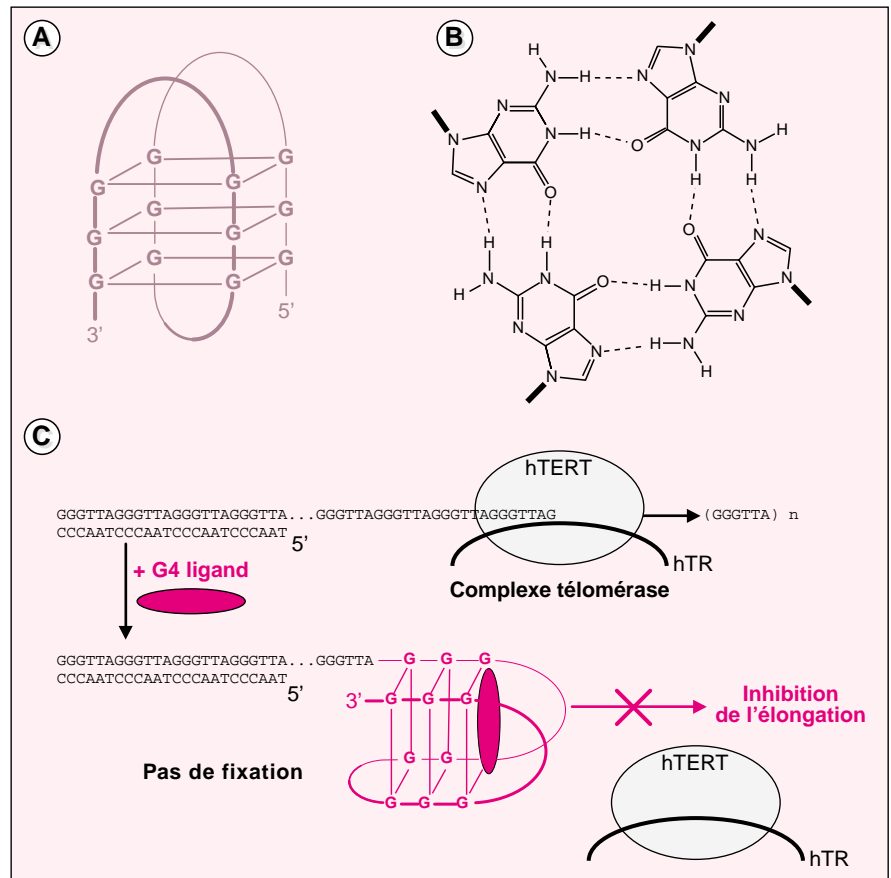


Figure 3. **Structure d'un G-quadruplex.** A. Un fragment d'ADN comprenant des blocs de plusieurs guanines consécutives peut se replier pour former une structure intramoléculaire à quatre brins, appelée G-quadruplex. Celle-ci est formée d'une superposition de plusieurs structures planes, les G-quartet (trois sont représentées sur la figure). B. Chaque G-quartet comprend quatre guanines reliées par des liaisons Hydrogène. C. Les ligands des G-quadruplex facilitent la formation de ces structures, dont la conformation empêche l'action de la télomérase.

pharmacologique de dérivés du bromure d'éthidium paraît peu probable en raison de leur toxicité, ces produits pourront servir de sondes, dans la mesure où leur fluorescence est fortement exaltée lorsqu'ils se lient aux *G-quadruplex* [13]. En revanche, les dérivés de dibenzophénanthroline, naturellement très fluorescents, voient leur émission diminuer lorsqu'ils interagissent avec ces structures [12]. Les propriétés de fluorescence de ces composés nous ont permis de déterminer des constantes d'affinité pour les *G-quadruplex* comprises entre  $10^7$  et  $10^8 M^{-1}$ . La plupart des ligands de *G-quadruplex* sont des molécules positivement chargées, possédant un « squelette » polyaromatique : jusqu'à 5

cycles aromatiques co-planaires peuvent être dénombrés [12]. Même si nous manquons encore de données structurales concernant le mode de fixation de ces composés sur le *G-quadruplex*, la géométrie de ces ligands suggère qu'ils interagissent par empilement sur un quartet de guanine terminal. La surface offerte par un quartet de G est d'ailleurs plus grande que celle d'une paire de bases et permet d'expliquer en partie la sélectivité de ces produits pour un ADN ayant adopté une structure en *G-quadruplex*, en augmentant les interactions entre les cycles aromatiques. Enfin, nous avons récemment mis en évidence des dérivés de triazines qui interagissent spécifiquement avec le *G-quadruplex* [14].

**Tableau I.** Nouveaux inhibiteurs de télomérase.

Famille*	IC <sub>50</sub> ** (nM)	Cible***	Référence
1. Dibenzophénanthrolines	29	G4	[12]
2. Acridines	60	G4	[11]
3. Ethidiums	28	G4	[13]
4. Triazines	41	G4	[14]
5. BIBR 1532	93	hTERT	[16]
6. β-Rubromycines	3000	hTR ou hTERT	[26]
7. Isothiazolones (TMPI)	1000	hTERT?	[27]
8. Rhodacyanines (FJ5002)	2000	hTERT?	[28]
9. Bisindoles	2500	?	[29]
10. Télomestatine	5	hTERT?	[15]
11. 2'MOE (oligonucléotide)	5	hTR	[6]

\* Seul un composé de chaque grande famille chimique est présenté (le plus efficace). La formule d'un représentant de chaque famille est présentée dans la figure 4 (1-10) et pour l'oligonucléotide 2'MOE dans la figure 2.

\*\* Les IC<sub>50</sub> n'ayant pas été obtenues dans des conditions tout à fait identiques, leur comparaison devra être effectuée avec prudence. Quand plusieurs composés de la même famille ont été analysés, seule l'IC<sub>50</sub> du composé le plus actif est donnée.

\*\*\* Lorsque le mécanisme d'inhibition est connu, il est indiqué de la manière suivante:

G4: produits agissant par stabilisation de G-quadruplex sur l'ADN substrat.

hTR: le composant ARN de l'enzyme est visé.

hTERT: la sous-unité catalytique de la télomérase est visée.

## Autres inhibiteurs

Récemment, un inhibiteur de la télomérase appelé « telomestatin » a été isolé de *Streptomyces anulatus* [15]. L'IC<sub>50</sub> (5 nM) mesurée par test TRAP (*telomere repeat amplification protocol*) de ce composé macrocyclique de type pentaoxazole en fait l'inhibiteur de télomérase le plus puissant connu à ce jour – à l'exception des oligonucléotides. Son mécanisme d'action reste indéterminé. Par ailleurs, des chercheurs de la société Boehringer Ingelheim ont récemment breveté des inhibiteurs de la télomérase dérivés d'amides carboxyliques dont le chef de file, BIBR1532, inhibe la télomérase avec une IC<sub>50</sub> de 93 nM. Ce dérivé induit un raccourcissement progressif des télomères aboutissant à la sénescence répliquative des cellules tumorales traitées [16]. Enfin, certains inhibiteurs de transcriptase inverse, en particulier des analogues de nucléotides, se sont révélés efficaces sur la télomérase *in vitro*.

## Obstacles prévisibles

Bien sûr, même si ces progrès récents incitent à l'optimisme, la route reste encore longue avant de pouvoir utiliser en clinique un agent antitélomérase. Le principe de la stratégie antitélomérase donne lieu à différentes objections.

- D'autres mécanismes de préservation des télomères ont été décrits. Même si la grande majorité des tumeurs réactivent la télomérase, une fraction significative (5-10 %) utilise d'autres mécanismes indépendants de cette enzyme pour éviter l'érosion des télomères. Les inhibiteurs de télomérase ne seraient donc pas *a priori* efficaces sur ces cellules. Par ailleurs, même dans une cellule dont la télomérase est initialement active, l'apparition de mécanismes de résistance à ces inhibiteurs ne peut être exclue. Ainsi, l'utilisation d'un dominant négatif pour la télomérase conduit à l'apparition de clones résistants dans la lignée tumorale humaine 293T [17]. Cependant, cette résistance est due à une réactivation de la télomérase et non à la mise en place d'un mécanisme alternatif. Par ailleurs, l'apparition de clones résistants n'a jamais été observée dans le cas où la télomérase est inhibée par des oligonucléotides antisens [5]. La résistance aux ligands des *G-quadruplex* n'a pas encore été étudiée.

- L'inhibition de la télomérase ne devrait conduire à une inhibition de la prolifération tumorale qu'après raccourcissement significatif de la taille des télomères de la tumeur. L'obtention d'une taille critique pourrait prendre plusieurs semaines, voire plusieurs mois, et dépendra en

particulier de la longueur initiale de ces télomères. L'effet anti-prolifératif d'oligonucléotides antisens n'est obtenu qu'après 60 jours de culture [5]. On utilisera donc en priorité ces produits dans des tumeurs à télomères courts, pour éviter que l'inhibition de la prolifération ne survienne trop tard. En se servant d'un modèle de lignée tumorale à télomères très courts (A431), l'effet d'un dominant négatif de hTERT est observé après quelques jours de délai seulement [17]. De plus, la présence de télomères très courts sensibilise la cellule aux agents provoquant des coupures double-brins (doxorubicine) [18], ce qui illustre l'intérêt d'associer un inhibiteur de la télomérase à une chimiothérapie classique. On pourra en particulier utiliser ces inhibiteurs à la suite d'un traitement plus conventionnel dans le but de prévenir la propagation de cellules cancéreuses qui auraient échappé à ces traitements.

- Il faut également rappeler que certaines cellules de l'organisme ont une télomérase active, en particulier les cellules de la lignée germinale et certaines cellules souches. Un inhibiteur de la télomérase pourrait donc avoir une toxicité élevée sur ces cellules, surtout s'il est utilisé de manière prolongée. Néanmoins, ces cellules saines ont souvent des télomères initialement plus longs que les

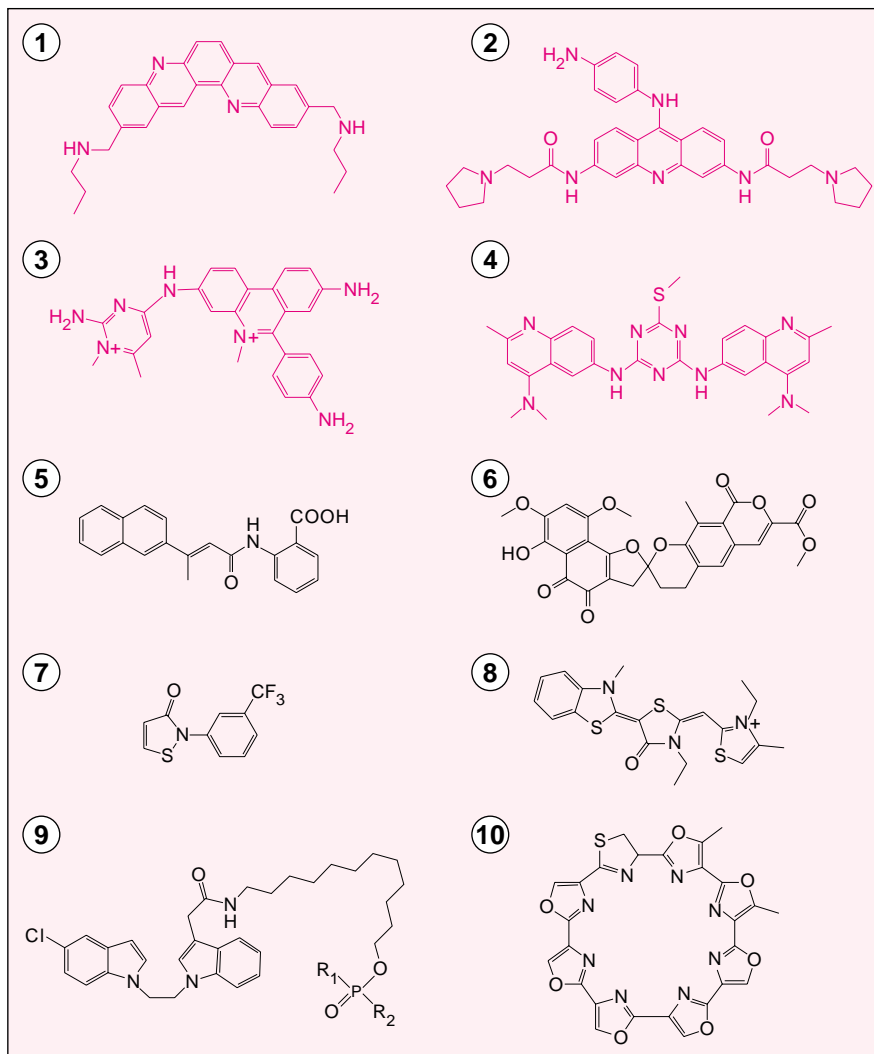


Figure 4. Formules chimiques de quelques inhibiteurs. ① Dibenzophenanthrolines; ② Acridines; ③ Ethidiums; ④ Triazines; ⑤ BIBR 1532; ⑥  $\beta$ -Rubromycines; ⑦ Isothiazolones (TMPI); ⑧ Rhodacyanines (FJ5002); ⑨ Bisindoles; ⑩ Télomestatine. Les propriétés de ces composés sont détaillées dans le Tableau I. Les composés interagissant avec les G-quadruplex sont présentés en rouge.

cellules tumorales, ce qui pourrait atténuer les effets indésirables de ces inhibiteurs. Par ailleurs, leur rythme de division est souvent moins soutenu que celui des cellules cancéreuses, ce qui devrait ralentir le raccourcissement de leurs télomères; en d'autres termes, l'horloge mitotique ne fonctionne pas nécessairement à la même vitesse pour les cellules somatiques et pour les cellules tumorales.

• Les résultats obtenus chez la souris ont tempéré l'optimisme de nom-

breux chercheurs. D'abord, une souris invalidée pour la télomérase développe au moins autant de tumeurs que la souris sauvage, encore que cela dépende du contexte génétique (revue dans [19]). Ce résultat démontre que chez ce rongeur, la présence d'une activité télomérase n'est nécessaire à la tumorigénèse que dans un contexte génétique particulier. Mais la souris possède des télomères extrêmement longs, et les mécanismes d'immortalisation des cellules murines sont tout à fait dis-

tincts de ceux des cellules humaines. Les résultats chez la souris ne peuvent donc pas être extrapolés directement chez l'homme.

• Enfin, en ce qui concerne les ligands des *G-quadruplex*, d'autres régions du génome sont compatibles avec la formation de ces structures à quatre brins, et pourraient basculer dans cette conformation en présence de ces agents [20]. Cela risquerait d'interférer alors avec la transcription ou la réplication de l'ADN ribosomique qui contient plusieurs motifs favorables à la formation de *G-quadruplex*. Ces molécules pourraient avoir des effets cellulaires totalement indépendants de la télomérase et des télomères. Il ne semble pas que les ligands de *G-quadruplex* disponibles à ce jour aient une affinité plus grande pour ceux qui sont situés dans la région télomérique que pour d'autres *G-quadruplex* formés par d'autres séquences riches en guanines. Il faut également noter qu'un nombre important de protéines interagissent spécifiquement avec ces structures. En particulier, la topo-isomérase I provoque la formation du *G-quadruplex* [21] tandis que certaines hélicases de la famille RecQ déroulent très efficacement ces structures [22], et il semblerait que certains ligands du *G-quadruplex* inhibent l'action de ces enzymes [23, 24]. De plus, l'interaction d'une protéine spécifique, Pot1, avec l'extrémité télomérique riche en guanine a très récemment été démontrée: il sera important de déterminer si les ligands de *G-quadruplex* peuvent altérer la fixation de ce facteur sur le télomère, car la présence de Pot1 paraît indispensable à la stabilité des chromosomes [25].

## Conclusions

Ces derniers mois ont vu l'émergence de différents composés inhibant efficacement et sélectivement la télomérase. Les biologistes disposent donc enfin d'outils appropriés pour vérifier le bien-fondé de l'hypothèse qui a déclenché ce champ de recherche: les inhibiteurs de la télomérase pourraient avoir une action anticancéreuse. Les résultats sur l'animal sont donc attendus avec impatience ! ■



## Remerciements

Ce projet a reçu le soutien financier de l'ARC (Projet n°4321) et d'un programme CNRS/PCV (coordinateur: V. Géli). Nous remercions en particulier F. Hamy (Aventis-Pharma, France), A. Laoui (Aventis-Pharma, États-Unis), L. Lacroix (Palaiseau) et l'ensemble des chimistes impliqués dans la synthèse de nouveaux dérivés: C. Rivalle, Chi-Hung N'Guyen et D. Grierson (Institut Curie, Orsay), M. Alasia, G. Doerflinger, H. Bouchard, A. Hittinger et L. Gauzy (Aventis, Vitry). Nous sommes également reconnaissants envers nos partenaires du projet PCV (V. Géli, E. Gilson, B. Canard et L. Mulard) et l'ensemble du personnel du Laboratoire de biophysique du muséum à Paris dirigé par le Pr Hélène et Garestier.

## RÉFÉRENCES

- Ouellette MM, Savre-Train I. Les télomères et le vieillissement des cellules. *Med Sci* 2000; 16: 473-80.
- 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.
- Hahn WC, Stewart SA, Brooks MW, *et al.* Inhibition of telomerase limits the growth of human cancer cells. *Nat Med* 1999; 5: 1164-70.
- Norton JC, Piatyszek MA, Wright WE, Shay JW, Corey DR. Inhibition of human telomerase activity by peptide nucleic acids. *Nat Biotechnol* 1996; 14: 615-9.
- Herbert BS, Pitts AE, Baker SI, *et al.* Inhibition of human telomerase in immortal human cells leads to progressive telomere shortening and cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 14276-81.
- Elayadi AN, Demieville A, Wanciewicz EV, Monia BP, Corey DR. Inhibition of telomerase by 2'-O-(2-methoxyethyl) RNA oligomers: effect of length, phosphorothioate substitution and time inside cells. *Nucleic Acids Res* 2001; 29: 1683-9.
- Mergny JL, Hélène C. G-quadruplex DNA: a target for drug design. *Nat Med* 1998; 4: 1366-7.
- Schaffitzel C, Berger I, Postberg J, Hanes J, Llpps HJ, Plückthun A. *In vitro* generated antibodies specific for telomeric guanine quadruplex DNA react with *Stylochyia lemnae* macronuclei. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 8572-7.
- Sun D, Thompson B, Cathers BE, *et al.* Inhibition of human telomerase by a G-quadruplex-interactive compound. *J Med Chem* 1997; 40: 2113-6.
- Wheelhouse RT, Sun D, Han H, Han FX, Hurley LH. Cationic porphyrins as telomerase inhibitors: the interaction of tetra (N-methyl-4-pyridyl) porphyrin with quadruplex DNA. *J Am Chem Soc* 1998; 120: 3261-2.
- Read M, Harrison RJ, Romagnoli B, *et al.* Structure-based design of selective and potent G quadruplex-mediated telomerase inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 4844-9.
- Mergny JL, Lacroix L, Teulade-Fichou MP, *et al.* Telomerase inhibitors based on quadruplex ligands selected by a fluorescent assay. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 3062-7.
- Koeppl F, Riou JF, Laoui A, *et al.* Ethidium derivatives bind to G-quartets, inhibit telomerase and act as fluorescent probes for quadruplexes. *Nucleic Acids Res* 2001; 29: 1087-96.
- Mailliet P, Riou JF, Mergny JL, Laoui A, Lavelle F, Petitgenet O. Arylamine derivatives and their use as antitelomerase agent. (WO 0140218) Aventis-Pharma SA, 2001.
- Shin-ya K, Wierzbka K, Matsuo K, *et al.* Telomestatin, a novel telomerase inhibitor from *Streptomyces anulatus*. *J Am Chem Soc* 2001; 123: 1262-3.
- Hauel N, Pripke H, Damm K, Schnapp A. Carboxylic acid amides, medicaments containing these compounds and the use and production thereof (WO 010720) Boehringer Ingelheim Pharma AG, 2000.
- Zhang XL, Mar V, Zhou W, Harrington L, Robinson MO. Telomere shortening and apoptosis in telomerase-inhibited human tumor cells. *Genes Dev* 1999; 13: 2388-99.
- Lee KH, Rudolph KL, Ju YJ, *et al.* Telomere dysfunction alters the chemotherapeutic profile of transformed cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 3381-6.
- Ancelin K, Castellazzi M, Gilson E. Télomères et cancer: les barrières tombent. *Med Sci* 2000; 16: 481-6.
- Rangan A, Fedoroff OY, Hurley LH. Induction of duplex to G-quadruplex transition in the c-myc promoter region by a small molecule. *J Biol Chem* 2001; 276: 4640-6.
- Arimondo P, Riou JF, Mergny JL, *et al.* Interaction of human DNA topoisomerase I with intermolecular G-quartet structures. *Nucleic Acids Res* 2000; 28: 4832-8.
- Sun H, Karow JK, Hickson ID, Maizels N. The Bloom's syndrome helicase unwinds G4 DNA. *J Biol Chem* 1998; 273: 27587-92.
- Han HY, Bennett RJ, Hurley LH. Inhibition of unwinding of G-quadruplex structures by Sgs1 helicase in the presence of N,N-bis[2-(1-piperidino)ethyl]-3,4,9,10-perylenetetra-carboxylic diimide, a G-quadruplex-interactive ligand. *Biochemistry* 2000; 39: 9311-6.
- Wu X, Maizels N. Substrate-specific inhibition of RecQ helicase. *Nucleic Acids Res* 2001; 29: 1765-71.
- Baumann P, Cech TR. Pot1, the putative telomere end-binding protein in fission yeast and humans. *Science* 2001; 292: 1171-5.
- Ueno T, Takahashi H, Oda M, *et al.* Inhibition of human telomerase by rubromycins: implication of spiroketal system of the compounds as an active moiety. *Biochemistry* 2000; 39: 5995-6002.
- Hayakawa N, Nozawa K, Ogawa A, *et al.* Isothiazolone derivatives selectively inhibit telomerase from human and rat cancer cells *in vitro*. *Biochemistry* 1999; 38: 11501-7.
- Naasani I, Seimiya H, Yamori T, Tsuruo T. FJ5002: a potent telomerase inhibitor identified by exploiting the disease-oriented screening program with COMPARE analysis. *Cancer Res* 1999; 59: 4004-11.
- Sasaki S, Ehara T, Sakata I, *et al.* Development of novel telomerase inhibitors based on a bisindole unit. *Bioorg Medicinal Chem Letter* 2001; 11: 583-5.

**Lionel Guittat**

**Patrizia Alberti**

**Jean-Louis Mergny**

Laboratoire de biophysique, Muséum national d'histoire naturelle, Inserm U. 201, Cnrs UMR 8646, 43, rue Cuvier, 75005 Paris, France.

**Jean-François Riou**

Unité MéDIAN, Cnrs FRE 2141, UFR de pharmacie, Université de Reims Champagne-Ardennes, 51, rue Cognacq-Jay, 51096 Reims Cedex, France.

**Marie Paule Teulade-Fichou**

Laboratoire de chimie des interactions moléculaires, Collège de France, Cnrs UPR 285, 11, place Marcelin-Berthelot, 75005 Paris, France.

**Patrick Mailliet**

Aventis-Pharma SA, Centre de recherche de Paris Sud, quai Jules-Guesde, 94400 Vitry-sur-Seine, France.

TIRÉS À PART

J.-L. Mergny.