

## Contrôle télomérique de la sénescence

**D**es résultats récents valident pour la première fois l'hypothèse émise il y a 25 ans selon laquelle la sénescence répliquative est conditionnée par la perte progressive des extrémités de chromosome (ou télomères) [1, 2]. La nature moléculaire des modifications télomériques qui sont responsables de cette sénescence devrait nous permettre de mieux comprendre le contrôle de la prolifération cellulaire et du vieillissement.

### Sénescence répliquative : quelques rappels

Toute cellule somatique diploïde de métazoaire a une capacité limitée de se diviser *in vitro* [3]. Par exemple, des fibroblastes humains mis en culture vont arrêter de se diviser après 30-70 doublements malgré la présence constante de stimulus mitogènes [4, 5]. Cette limite des capacités de prolifération dépend du nombre de divisions effectuées par la cellule et non du temps qu'elle a passé en culture ; ce processus a donc été appelé sénescence répliquative. Sa suppression est nécessaire pour immortaliser les cellules et est corrélée à la progression tumorale *in vivo* [6]. La sénescence répliquative peut donc être considérée comme un mécanisme « anticancer » [7].

Une cellule sénescence, même si elle ne se divise plus, ne meurt pas et conserve une activité métabolique. L'état « sénescence » est, en fait, accompagné de la reprogrammation de certaines fonctions cellulaires. Ainsi, l'existence d'un marqueur spécifique de la sénescence a été mis en évidence : une  $\beta$ -galactosidase lysosomale active à pH 6 [8]. *In vivo*, cette activité enzymatique n'est détectée que dans des tissus âgés, montrant l'accumulation de cellules sénes-

centes avec l'âge et suggérant fortement un rôle direct de la sénescence répliquative dans le vieillissement de l'organisme.

### La télomérase, une transcriptase inverse indispensable au maintien des extrémités des chromosomes

Dès 1971, Olovnikov proposait que les cellules perdaient une partie de leur ADN télomérique après chaque cycle de réplication jusqu'à atteindre une taille critique qui déclencherait un signal d'arrêt de la prolifération cellulaire [1, 9]. On sait maintenant que les télomères sont des structures particulières constituées, chez les vertébrés, par des répétitions non codantes de la séquence TTAGGG associées à un complexe de protéines spécifiques [10]. Ces répétitions sont synthétisées par la télomérase, une transcriptase inverse spécialisée. Cette enzyme est constituée d'une sous-unité catalytique et d'un ARN matrice qui contient la séquence complémentaire de la répétition d'ADN télomérique à synthétiser (*figure 1*) [11]. La prédiction d'Olovnikov, c'est-à-dire l'érosion progressive de l'ADN terminal, s'est révélée exacte dans la plupart des cellules somatiques humaines du fait de l'absence de télomérase [10]. La perte d'ADN télomérique est estimée à 40-200 nucléotides par division *in vitro* et 15-50 nucléotides par an *in vivo*. Contrairement aux cellules somatiques, la télomérase est présente dans les cellules germinales et compense la perte de l'ADN télomérique. L'étude de souris possédant une télomérase rendue non fonctionnelle par inactivation du constituant ARN montre que l'enzyme est nécessaire au renouvellement de l'ADN télomérique, génération après géné-

ration, mais qu'elle n'est pas indispensable à la survie des six premières générations de souris [12].

Il a fallu attendre 1997 pour identifier la sous-unité catalytique de la télomérase humaine, la protéine hTERT [13, 14]. *In vitro*, le mélange de la protéine hTERT et de l'ARN matrice (*hTER*) est suffisant pour reconstituer une activité télomérase [15] (*figure 1*). C'est la quantité d'hTERT qui est limitante pour l'activité télomérase dans les cellules somatiques, puisque l'expression « forcée » de cette protéine dans des cultures primaires de cellules humaines est suffisante pour reconstituer une télomérase active [2, 15, 16]. L'activité de l'enzyme est réglée par des constituants de la chromatine télomérique [17] et, chez les mammifères, TRF1 [18], une protéine affine de l'ADN télomérique [19-21] semble y être impliquée (*figure 1*).

### Télomères, sénescence et immortalisation

De nombreuses études ont permis d'établir d'incontestables corrélations entre le devenir des télomères, la sénescence répliquative et l'immortalisation [10, 11]. On a donc proposé que la taille des télomères conditionne les capacités répliquatives des cellules (*m/s n° 5, vol. 14, p. 668*) [22]. Citons trois exemples particulièrement frappants.

#### • Corrélations taille/âge/capacités répliquatives

Les cellules somatiques issues de donneurs jeunes possèdent des télomères plus longs que celles issues de donneurs âgés. Il est d'ailleurs possible d'évaluer à partir de la taille de ses télomères le nombre de divisions qu'effectuera une cellule primaire *in vitro* [23].

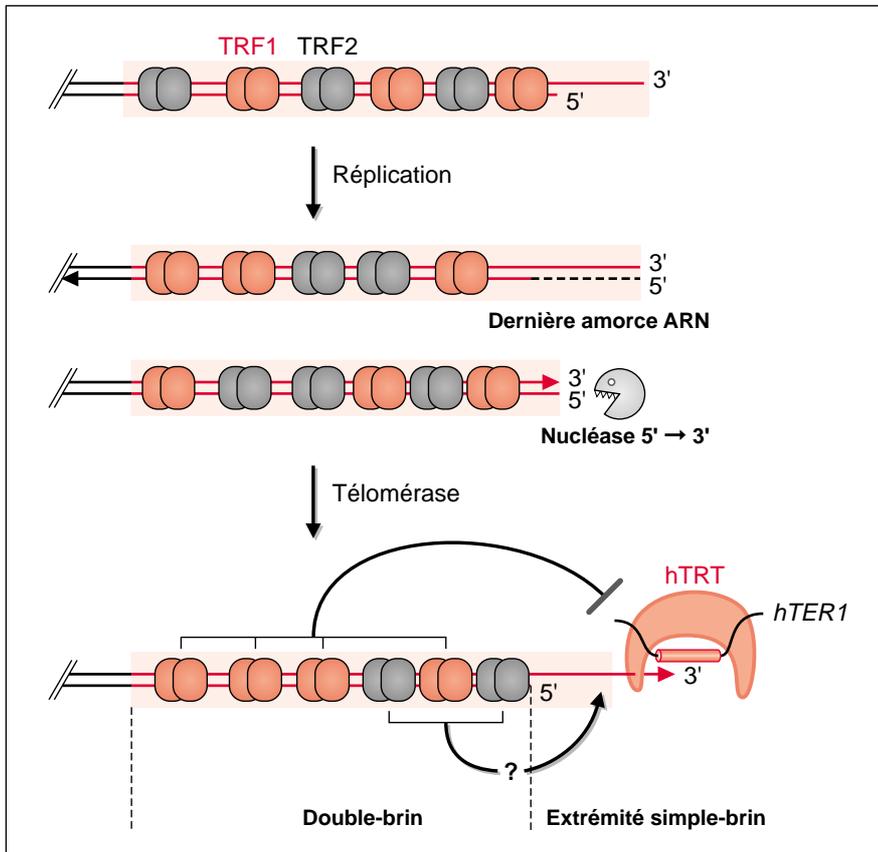


Figure 1. **Élongation des télomères humains par la télomérase.** La réplication conventionnelle d'une molécule d'ADN linéaire est incomplète: la synthèse du brin discontinu nécessite une amorce ARN, dont la dégradation laisse une extension 3' simple-brin sur l'une des deux molécules filles. La réplication du brin à synthèse continue laisse une extrémité franche qui est probablement convertie en extension simple brin 3' par l'action de nucléases 5' → 3'. Le cœur de la télomérase est constitué d'un ARN matrice hTRT et de la protéine hTRT qui est l'analogue des transcriptases inverses [13, 14]. Un contrôle de l'activité de la télomérase est assuré par les protéines de la chromatine télomérique. Il s'agit de TRF1 qui interagit avec la partie double brin de l'ADN télomérique [19, 20], et dont la perte de fonction augmente la taille des télomères de cellules humaines immortelles en culture [18]. TRF2, une autre protéine affine de l'ADN télomérique et apparentée à TRF1 [19, 37], pourrait jouer un rôle déterminant dans la stabilité de l'extrémité simple brin [38]. La boîte rose encadrant le télomère symbolise l'association d'autres facteurs nécessaires à l'intégrité fonctionnelle du télomère.

- **Maladies génétiques du vieillissement**  
Les enfants nés avec le syndrome de la progéria de Hutchinson-Gilford ont des télomères plus courts que ceux d'enfants sains du même âge. Dans d'autres maladies génétiques provoquant un vieillissement accéléré (syndrome de Werner, ataxie-télangiectasie et trisomie 21), les cellules perdent leurs télomères à un rythme plus élevé que les cellules témoins.

- **Corrélations stress répliatif/taille/cancer**  
Les télomères des cellules hématopoïétiques de patients ayant subi une transplantation de moelle osseuse sont plus courts que ceux des cellules des donneurs [24, 25]. Cette diminution résulte probablement de la prolifération accrue des cellules lors de la transplantation (*m/s n° 3, vol. 14, p. 358*). La fréquence anormalement élevée de leucémies secondaires chez les transplantés pourrait s'expliquer

par le raccourcissement des télomères puisque la perte anormale d'ADN télomérique entraîne une instabilité génétique et un risque élevé de mutations.

L'entrée « normale » en sénescence répliative est supprimée par l'expression de nombreuses oncoprotéines virales, probablement en inactivant les protéines Rb et p53 [7]. Cependant, ces cellules transformées ne sont pas immortelles pour autant: on les qualifie de préimmortelles. La taille moyenne de leurs télomères continue de diminuer au fur et à mesure de leurs divisions et leurs chromosomes accumulent des réarrangements, notamment la formation de nombreux dicentriques [26]. Les cellules préimmortelles vont alors subir une « crise » correspondant à une perte massive de leur viabilité. Certaines vont survivre et poursuivre leurs divisions en culture, elles sont « immortalisées » et possèdent des télomères de taille stable voire augmentée. La stabilisation des extrémités télomériques est directement liée à une diminution de l'instabilité de leur caryotype, renforçant l'idée que les télomères sont indispensables à l'intégrité du génome [26]. L'activité télomérase est détectée dans la majorité de ces lignées [27] et dans plus de 90 % des tissus cancéreux, toutes origines confondues [28]. De plus, le niveau d'expression de l'enzyme semble être corrélé à la sévérité de la maladie [29]. Cependant, il n'est pas encore été établi que la réactivation de la télomérase soit directement impliquée dans l'immortalisation cellulaire et la progression tumorale.

### La causalité révélée

La possibilité de forcer l'expression d'une télomérase active dans des cellules primaires a permis de tester directement la théorie d'Olovnikov [2] (*figure 2*). Des cellules primaires humaines ont donc été transfectées par un vecteur d'expression d'hTRT. Cela permet d'augmenter considérablement leur capacité répliative normale. Elles ne présentent pas de phénotype « sénescence » ou « transformé » et ne montrent pas d'anomalies majeures de leur caryotype. Logique-

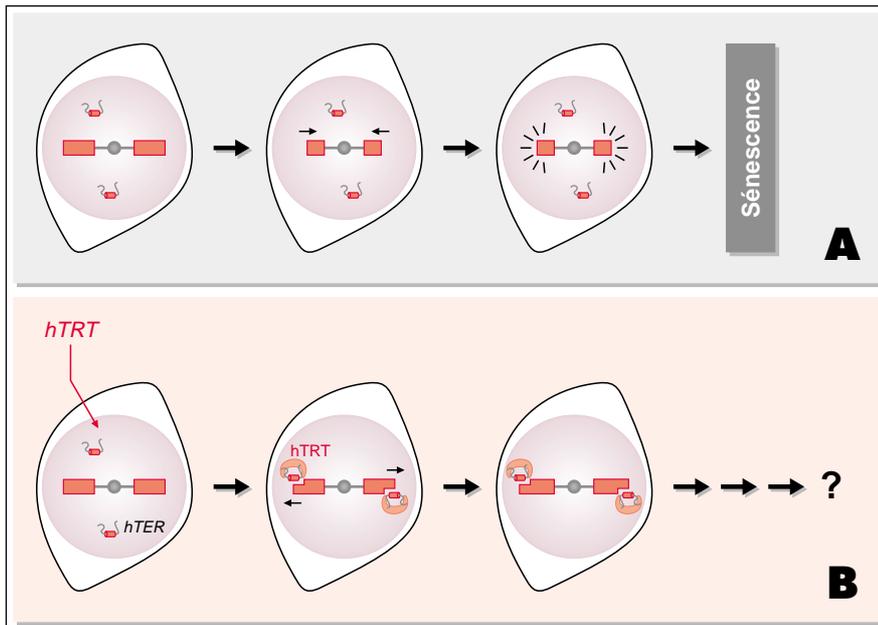


Figure 2. **Contrôle de la sénescence par la télomérase.** **A.** Une cellule primaire humaine (noyau en bistre) effectue un nombre limité de divisions avant d'entrer en sénescence. En l'absence d'hTERT, la taille de ses télomères diminue (boîte rouge). **B.** Si le gène déterminant la synthèse d'hTERT est introduit dans des cultures primaires de cellules somatiques humaines, une activité télomérase est reconstituée, la taille des télomères est maintenue et les cellules échappent au contrôle normal de la sénescence répllicative [2]. Le nombre de divisions que peuvent effectuer ces cellules n'est pas encore déterminé.

ment, alors que la taille moyenne des télomères des cellules témoins diminue, celle des cellules pour la télomérase positives augmente. Il reste cependant à déterminer si cette suppression de la sénescence « normale » par l'expression d'hTERT est directement liée à l'expression de la télomérase ou si, en d'autres termes, l'entrée en sénescence reste possible après l'inactivation d'hTERT. Pour le moment, on ne sait pas encore s'il est possible d'établir des lignées à partir de ces cellules primaires synthétisant la télomérase. Si tel était le cas, il serait alors montré que l'expression de la télomérase contrôle non seulement la sénescence répllicative mais aussi l'immortalisation.

#### À la recherche des signaux télomériques de sénescence

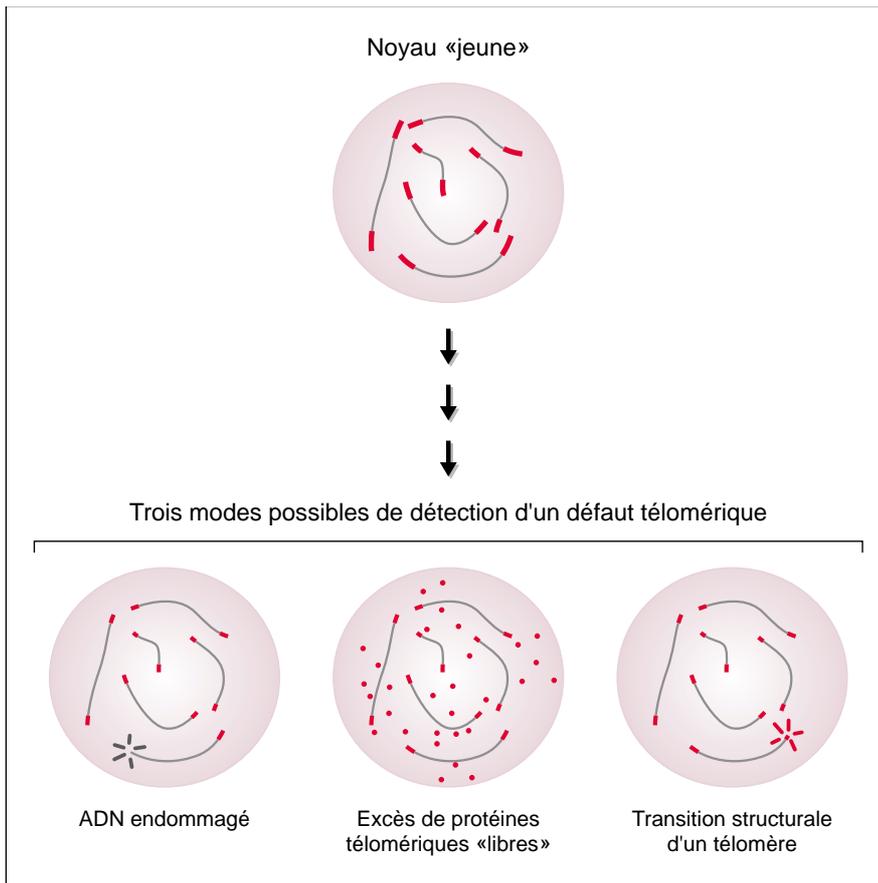
Il est maintenant établi que l'absence de télomérase provoque une accumulation d'événements au cours des divisions cellulaires qui conduit à un

signal d'entrée en sénescence répllicative. Comme l'absence de télomérase s'accompagne d'une diminution progressive de la taille des télomères, il est vraisemblable que le nombre de mitoses à effectuer par une cellule donnée est limité par la quantité d'ADN télomérique résiduelle. Cependant, les signaux télomériques qui déclenchent la sénescence sont encore bien mystérieux (figure 3).

Il est tout d'abord possible que la perte d'intégrité télomérique soit reconnue directement comme une lésion, probablement de type « cassure double-brin », activant le point de contrôle de l'ADN endommagé (figure 3). Effectivement, l'entrée en sénescence dépend de p53 [30] et un état proche de la sénescence est induit après irradiation de fibroblastes humains par des rayons  $\gamma$  [31]. Cependant, chez la levure, la perte d'un seul télomère déclenche un signal antiprolifératif transitoire qui ne ressemble pas à la sénescence induite par inactivation de la télomé-

rase [32]. La présence simultanée de nombreuses extrémités endommagées pourrait donc être nécessaire pour provoquer une activation « permanente » des points de contrôle. Comme une diminution des fonctions télomériques peut entraîner la formation de chromosomes dicentriques suivie de véritables cassures lors de l'anaphase, des activations « secondaires » d'un point de contrôle de l'ADN endommagé pourraient amplifier l'effet dû à la perte d'un seul télomère.

On peut également envisager l'existence d'un point de contrôle spécifique de l'intégrité télomérique. En fait, l'entrée en sénescence répllicative des fibroblastes humains s'effectue alors que la taille moyenne des ADN télomériques est encore de 2 000 à 3 000 nucléotides. La présence d'une quantité significative d'ADN télomérique résiduel est également observée dans les cellules de *Saccharomyces cerevisiae* qui rentrent en sénescence à la suite de l'inactivation de la télomérase [33]. Ces observations suggèrent que les extrémités présentant une quantité réduite d'ADN télomérique sont reconnues comme des structures télomériques modifiées et non comme d'authentiques cassures de la double-hélice. Un télomère anormalement court pourrait donc provoquer un arrêt du cycle avant que tout le stock d'ADN télomérique ne soit perdu. Des résultats suggérant l'existence de tels points de contrôle télomériques du cycle cellulaire ont été récemment publiés. (1) Des modifications de la séquence incorporée dans l'ADN télomérique par la télomérase chez le cilié *Tetrahymena* [34] ainsi que la mutation *UbcD1<sup>trc1</sup>* chez la drosophile [35] entraînent des défauts de séparation des chromatides sœurs au niveau des télomères, suggérant un contrôle télomérique de l'anaphase. (2) Dans des cellules humaines immortalisées, la surexpression d'une forme particulière de TRF1 (Pin2) entraîne une accumulation des cellules en G2 + M [36]; il est intéressant de constater que Pin2 interagit avec la kinase NIMA qui est essentielle à la mitose chez *Aspergillus nidulans*. (3) La surexpression dans des cellules humaines immortelles



**Figure 3. Trois hypothèses de détection d'un défaut télomérique.** Cette figure présente le devenir d'un noyau imaginaire (cercle bistre), composé de six chromosomes dont les répétitions d'ADN télomériques sont indiquées en rouge. Après prolifération, les télomères résiduels peuvent être détectés de différentes façons. En l'absence totale ou quasi totale d'ADN télomérique, l'extrémité de chromosome est reconnue comme une cassure « accidentelle » de l'ADN et active le point de contrôle de l'ADN endommagé (étoile noire). En conséquence du raccourcissement, les protéines détachées du télomère pourraient agir sur l'expression de gènes réglant la sénescence (points rouges). Au-dessous d'une taille critique, un télomère adopterait une structure modifiée qui serait reconnue comme signal d'entrée en sénescence par la cellule (étoile rouge). La contribution et les interconnexions de ces différentes voies possibles dans le déclenchement de la sénescence ne sont pas encore connues.

d'une forme de la protéine TRF2 [37] écourtée du domaine amino-terminal provoque un arrêt irréversible de la croissance des cellules dans un état proche de la sénescence [38]. Il faut noter que cet arrêt ne s'accompagne ni de réduction notable de la taille des télomères, ni de réarrangements chromosomiques détectables. Il semble donc que des variations quantitatives et/ou qualitatives des protéines télomériques jouent un rôle majeur dans le contrôle télomé-

rique de la sénescence réplivative. Deux types de signal peuvent alors être envisagés.

- *Un excès de protéines télomériques «libres», c'est-à-dire détachées de l'ADN télomérique*

Chez la levure, des sites de nucléation d'hétérochromatine (*silencers*) nécessitent la proximité d'un télomère pour être fonctionnels [39, 40]. Il existe donc un compartiment télomérique qui serait caractérisé par une forte concentration de facteurs hétérochroma-

tiques attirés spécifiquement par des protéines télomériques [41]. La capacité réplivative limitée (vieillesse) d'une cellule mère de levure s'accompagne de la libération des télomères de certains facteurs hétérochromatiques [42]. De plus, une mutation d'un de ces facteurs [43] ou des mutations entraînant des modifications de la longueur des télomères [44] modifient le vieillissement de ces cellules, suggérant que des changements fonctionnels du compartiment télomérique jouent un rôle dans le contrôle de la prolifération des cellules. Chez l'homme, il serait donc possible que des modifications de la structure des télomères (par exemple un raccourcissement qui entraînerait la libération de facteurs séquestrés) puissent contrôler la sénescence et/ou l'immortalisation. Par exemple, la diminution de taille des télomères pourrait entraîner une modification de la programmation transcriptionnelle de certaines régions du génome, comme celle observée avec les *silencers* de levure localisés à l'intérieur des chromosomes lorsque les facteurs hétérochromatiques sont libérés des télomères. En conséquence, la délocalisation quantitative de certaines protéines télomériques pourrait régler des gènes contrôlant le cycle cellulaire et constituer un signal d'entrée en sénescence.

- *Un défaut de protéines télomériques «liées», c'est-à-dire présentes aux télomères*

La structure de la chromatine des télomères est probablement très sensible au dosage des protéines qui la composent. Il doit donc exister une quantité « critique » d'ADN télomérique et/ou de protéines associées au-dessous de laquelle l'organisation du télomère est profondément modifiée. Cette transition structurale au niveau d'un ou de plusieurs télomères pourrait être détectée par la cellule comme un signal d'entrée en sénescence (figure 3). Dans ce contexte, il est intéressant de noter que la surexpression d'une portion interne de TRF2 induit la formation de nombreux chromosomes dicentriques avec perte de l'extrémité télomérique simple brin et conservation de sa partie double brin [38]. Le nombre de protéines TRF2 à une

extrémité de chromosome pourrait donc contrôler la structure de l'extrémité simple brin (figure 1). La perte de cette extrémité constituerait alors le signal d'entrée en sénescence. Il est donc très important d'évaluer le rôle des protéines associées à cette extrémité et des conformations particulières que peut adopter son ADN (*G-quartet*).

## Conclusions

L'absence somatique de la télomérase, et probablement le raccourcissement des télomères, semblent donc bien imposer une limite aux capacités répliquatives des cellules humaines. La réactivation de la télomérase dans les cellules tumorales pourrait jouer un rôle prépondérant dans l'apparition et/ou le développement des cancers. Le signal de sénescence induit par le raccourcissement des télomères n'est pas connu mais pourrait résulter de l'activation du point de contrôle de l'ADN endommagé et/ou de signaux spécifiques de télomères anormalement courts. Notamment, un signal antiprolifératif immédiat, sans perte massive du stock d'ADN télomérique, a pu être induit par la modification de l'activité de certaines protéines télomériques humaines. Provoquer « à façon » des signaux télomériques de sénescence pourrait donc constituer une nouvelle approche de thérapie antiproliférative qui pourrait être couplée aux stratégies « antitélomérases ». La connaissance moléculaire de ces signaux, ainsi que la maîtrise de leur activité, apparaissent donc être des enjeux de première importance pour les recherches futures ■

## Remerciements

Nous remercions vivement A. Sergeant pour ses commentaires sur ce manuscrit. Nos recherches sont soutenues par l'Association pour la Recherche contre le Cancer, l'Association Française de Lutte contre la Mucoviscidose, la Ligue Contre le Cancer et la Région Rhône-Alpes.

## RÉFÉRENCES

1. Olovnikov AM. A theory of marginotomy: the incomplete copying of template margin

in enzymatic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J Theor Biol* 1973; 41: 181-90.

2. Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chlu CP, Morin GB, Harley CB, Shay JW, Lichtsteiner S, Wright WE. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 1998; 279: 349-52.

3. Hayflick L, Moorehead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1961; 25: 585-621.

4. Wright WE, Pereira-Smith O, Shay JW. Reversible cellular senescence: implications for immortalization of normal human diploid fibroblasts. *Mol Cell Biol* 1989; 9: 3088-92.

5. Campisi J. Replicative senescence: an old lives tale? *Cell* 1996; 84: 497-500.

6. Yeager TR, DeVries S, Jarrard DF, Kao C, Nakada SY, Moon TD, et al. Overcoming cellular senescence in human cancer pathogenesis. *Genes Dev* 1998; 12: 163-74.

7. Wright WE, Shay JW. Time, telomeres and tumours: is cellular senescence more than an anticancer mechanism? *Trends Cell Biol* 1995; 5: 293-7.

8. Dimri G, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, et al. A biomarker that identifies human senescent cells in culture and in aging skin *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 9363-7.

9. Olovnikov AM. Principles of marginotomy in template synthesis of polynucleotides. *Dokl Akad Nauk (SSSR)* 1971; 201: 1496-9.

10. Marcand S, Brun C, Ancelin K, Gilson E. Les télomères: du normal au pathologique. *Med Sci* 1997; 13: 1250-8.

11. Greider CW. Telomere length regulation. *Annu Rev Biochem* 1996; 65: 337-63.

12. Blasco MA, Lee HW, Hande MP, Samper E, Lansdorp PM, DePinho RA, Greider CW. Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA. *Cell* 1997; 91: 25-34.

13. Nakamura TM, Morin GB, Chapman KB, Weinrich SL, Andrews WH, Lingner J, et al. Telomerase catalytic subunit homologs from fission yeast and human. *Science* 1997; 277: 955-9.

14. Meyerson M, Counter CM, Eaton EN, Elliser LW, Steiner, Dickerson Caddle S, et al. *hEST2*, the putative human telomerase catalytic subunit gene is up-regulated in tumor cells and during immortalization. *Cell* 1997; 90: 785-95.

15. Weinrich SL, Pruzan R, Ma L, Ouellette M, Tesmer VM, Holt SE, et al. Reconstitution of human telomerase with the template RNA component hTR and the catalytic protein subunit hTRT. *Nat Genet* 1997; 17: 498-502.

16. Nakayama JI, Tahara H, Tahara E, Saito M, Ito K, Nakamura H, Nakanishi T, Tahara ETI,

Ishikawa F. Telomerase activation by hTRT in human normal fibroblasts and hepatocellular carcinomas. *Nat Genet* 1998; 18: 65-8.

17. Marcand S, Gilson E, Shore D. A protein-counting mechanism for telomere length regulation in yeast. *Science* 1997; 275: 986-90.

18. van Steensel B, de Lange T. Control of telomere length by the human telomeric protein TRF1. *Nature* 1997; 385: 740-3.

19. Bilaud T, Koering CE, Binet-Brasselet E, Ancelin K, Pollice A, Gasser SM, Gilson E. The telobox, a Myb-related telomeric DNA binding motif found in proteins from yeast, plants and human. *Nucleic Acids Res* 1996; 24: 1294-303.

20. Chong L, van Steensel B, Broccoli D, Erdjument-Bromage H, Hanish J, Tempst P, de Lange T. A human telomeric protein. *Science* 1995; 270: 1663-7.

21. Brun C, Marcand S, Gilson E. Proteins that bind to double-stranded regions of telomeric DNA. *Trends Cell Biol* 1997; 7: 317-24.

22. Harley CB. Telomere loss: mitotic clock or genetic time bomb? *Mutat Res* 1991; 256: 271-82.

23. Allsopp RC, Vaziri H, Patterson C, Goldstein S, Younglai EV, Futcher AB, Greider CW, Harley CB. Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 10114-8.

24. Notaro R, Cimmino A, Tabarini D, Rotoli B, Luzzatto L. *In vivo* telomere dynamics of human hematopoietic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 13782-5.

25. Wynn RF, Cross MA, Hatton C, Will AM, Lashford LS, Dexter TM, Testa NG. Accelerated telomere shortening in young recipients of allogeneic bone-marrow transplants. *Lancet* 1998; 351: 178-81.

26. Counter CM, Avilion AA, Le Feuvre CE, Stewart NG, Greider CW, Harley CB, Bacchetti S. Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *EMBO J* 1992; 11: 1921-9.

27. Harley CB. Telomeres and aging. In: Blackburn EH, Greider CW, eds. *Telomeres*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1995.

28. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, Harley CB, West MD, Ho PLC, Coviello G, Wright WE, Weinrich SL, Shay JW. Specific associations of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994; 266: 2011-4.

29. Hiyama E, Hiyama K, Yokoyama T, Matsuura Y, Piatyszek M, Shay JW. Correlating telomerase activity levels with human neuroblastoma outcomes. *Nat Med* 1996; 1: 249-55.

30. Bond JA, Wyllie FS, Wynford-Thomas D. Escape from senescence in human diploid fibroblasts induced directly by mutant p53. *Oncogene* 1994; 9: 1885-9.

## RÉFÉRENCES

31. Di Leonardo A, Linke SP, Clarkin K, Wahl GM. DNA damage triggers a prolonged p53-dependent G1 arrest and long-term induction of Cip1 in normal human fibroblasts. *Genes Dev* 1994; 8: 2540-51.
32. Sandell LL, Zakian VA. Loss of a yeast telomere: arrest, recovery, and chromosome loss. *Cell* 1993; 75: 729-39.
33. Singer MS, Gottschling DE. *TLCl*: template RNA component of *Saccharomyces cerevisiae* telomerase. *Science* 1994; 266: 404-9.
34. Kirk KE, Harmon BP, Reichardt IK, Sedat JW, Blackburn EH. Block in anaphase chromosome separation caused by a telomerase template mutation. *Science* 1997; 275: 1478-81.
35. Cenci G, Rawson RB, Belloni G, Castillon DH, Tudor M, Petrucci R, Goldberg ML, Wasserman SA, Gatti M. UbcD1, a *Drosophila* ubiquitin-conjugative enzyme required for proper telomere behavior. *Genes Dev* 1997; 11: 863-75.
36. Shen M, Haggblom C, Vogt M, Hunter T, Lu KP. Characterization and cell cycle regulation of the related human telomeric proteins Pin2 and TRF1 suggest a role in mitosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 13618-23.
37. Billaud T, Brun C, Ancelin K, Koering CE, Laroche T, Gilson E. Telomeric localization of TRF2, a novel human telobox protein. *Nat Genet* 1997; 17: 236-9.
38. van Steensel B, Smogorzewska A, de Lange T. TRF2 protects human telomeres from end-to-end fusions. *Cell* 1998; 92: 401-13.
39. Maillet L, Boscheron C, Gotta M, Marcand S, Gilson E, Gasser SM. Evidence for silencing compartments within the yeast nucleus: a role for telomere proximity and Sir-protein concentration in silencer-mediated repression. *Genes Dev* 1996; 10: 1796-811.
40. Marcand S, Buck SW, Moretti P, Gilson E, Shore D. Silencing of genes at nontelomeric sites in yeast is controlled by sequestration of silencing factors at telomeres by Rap1 protein. *Genes Dev* 1996; 10: 1297-309.
41. Marcand S, Gasser MS, Gilson E. A sticky silence. *Curr Biol* 1996; 6: 1222-5.
42. Kennedy BK, Gotta M, Sinclair DA, Mills K, McNabb DS, Murthy M, Pak SM, Laroche T, Gasser SM, Guarente L. Redistribution of silencing protein from telomeres to the nucleolus is associated with extension in life span in *S. cerevisiae*. *Cell* 1997; 89: 381-91.
43. Kennedy BK, Austriaco J, Zhang J, Guarente L. Mutations in the silencing gene *SIR4* can delay aging in *S. cerevisiae*. *Cell* 1995; 80: 485-96.
44. Austriaco NR, Guarente L. Changes of telomere length cause reciprocal changes in the lifespan of mother cell in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 9768-72.

### Catherine Elaine Koering

*Ingénieur de recherche au Cnrs.*

### Éric Gilson

*Directeur de recherche au Cnrs. Équipe « biochimie et génétique des télomères », Laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire, UMR49, Centre national de la recherche scientifique, École normale supérieure de Lyon, 46, allée d'Italie, 69364 Lyon Cedex 07, France.*

### TIRÉS À PART

E. Gilson.