

## La recherche sur la sénescence est encore jeune...

Quel que soit leur tissu d'origine, des cellules somatiques humaines en culture ne peuvent se diviser qu'un nombre fini de fois (pour revue, voir [1]). On appelle sénescence répllicative le processus qui limite le potentiel de division des cellules (*m/s* 1999, n° 11, p. 1286). Ce phénomène doit être nettement distingué de l'apoptose : des cellules sénescents, si elles sont incapables de répondre aux signaux mitogènes, restent métaboliquement actives et viables pendant de longues périodes. Les termes pouvant prêter à confusion, lorsque nous évoquerons les processus de sénescence ou de vieillissement, nous nous placerons seulement au niveau cellulaire, et non à celui de l'organisme.

La levure *Saccharomyces cerevisiae* connaît, elle aussi, un processus de sénescence. La division de cet organisme s'opère par bourgeonnement d'une cellule mère, qui donne naissance à une cellule fille de taille plus petite. Le nombre de mitoses que peut effectuer une cellule mère est limité, et caractéristique de la souche étudiée [1]. La levure se prête à l'analyse génétique et constitue donc un système de choix pour étudier le vieillissement cellulaire, processus fort mal compris.

Le laboratoire de Leonard Guarente a démontré qu'il existe, chez *Saccharomyces cerevisiae*, une relation de cause à effet entre instabilité génomique et sénescence. La levure contient environ 150 copies des gènes codant pour l'ARN ribosomique, arrangées en tandem sur le chromosome XII. Il arrive que des copies de ces gènes s'excisent du locus et persistent dans le noyau sous forme circulaire. Ces cercles d'ADN extrachromosomique possèdent une origine de répllication et, pour des raisons inconnues, ne sont pas transmis à la cellule fille lors des mitoses successives. Ils connaissent donc une amplification exponentielle dans la

cellule mère, provoquent la fragmentation du nucléole, et entraînent la sénescence cellulaire [2].

Deux articles abordent le « comment » et le « pourquoi » de la formation des cercles d'ADN ribosomique (ADNr). Park *et al.* [3] ont mis en évidence le rôle fondamental de la recombinaison homologue dans la genèse des cercles d'ADNr (*figure 1*). *RAD52* (impliqué dans la réparation de l'ADN) (*m/s* 1996, n° 6, p. 766) est absolument requis pour la formation des cercles. Des cellules dépourvues de *RAD52* sont exemptes de cercles mais ont cependant une durée de vie réduite. Cet apparent paradoxe s'explique sans doute par l'extrême sensibilité des mutants *rad52* aux dommages subis par l'ADN. *RAD50*, *RAD51* et *RAD57* sont partiellement requis pour l'apparition des cercles. De manière similaire, des cellules dépourvues de ces gènes, bien qu'ayant moins de cercles, ont une durée de vie réduite, sans doute en raison d'un défaut de réparation des lésions naturellement subies par l'ADN. En revanche, des mutations inactivant *RAD1*, *RAD7* ou *RAD26* augmentent la fréquence de mutations spontanées subies par la cellule, mais ne réduisent pas notablement sa longévité.

La formation de cercles d'ADNr est suffisante pour provoquer le vieillissement de la levure. Est-elle également nécessaire ? Si tel est le cas, on peut prédire qu'une mutation réduisant la formation des cercles pourrait accroître la longévité. Comme l'inhibition générale de la recombinaison homologue diminue certes progressivement la formation des cercles, mais réduit aussi la durée de vie, nous avons étudié des mutants pour lesquels le déficit de la recombinaison homologue ne touche que l'ADNr, mais pas le reste du génome [4]. Ces mutants ont été préalablement isolés et décrits sous le nom de *hrm* (pour

*hyporecombinant mutants*) [5]. Nous avons observé que le mutant *hrm1* accumule moins de cercles d'ADNr qu'une souche sauvage, et bénéficie d'un allongement de 70 % de sa durée de vie, cette extension de longévité étant la plus importante jamais décrite chez la levure. Le clonage du gène *HRM1* révèle qu'il est identique à *FOB1*, impliqué dans la fourche répllicative. En effet, la répllication de l'ADNr se fait de manière unidirectionnelle car la propagation de la fourche de répllication dans l'une des directions est stoppée à un site appelé RFB (*replication fork block*) [6]. La mutation de *FOB1* provoque la perte d'activité du site RFB et la répllication bidirectionnelle de l'ADNr [7]. A la lumière de résultats récents publiés par d'autres groupes (notamment [8]), on peut donc formuler l'hypothèse selon laquelle les fourches de répllication arrêtées *via FOB1* au site RFB pourraient engendrer des jonctions Holliday, structures d'ADN où deux doubles hélices échangent un brin. Celles-ci sont particulièrement susceptibles de produire des cassures double-brin de l'ADN, et la réparation de ces cassures par recombinaison homologue pourrait provoquer la formation de cercles d'ADNr et donc le vieillissement (*figure 1*).

Ces résultats soulèvent de nombreuses questions : (1) la première porte sur le blocage des fourches de répllication dans l'ADNr. Ce phénomène est observé pour de nombreux eucaryotes supérieurs dont les plantes, la souris et l'homme (voir références dans [4]). Cependant, son rôle biologique et son mécanisme restent inconnus. Nous avons montré que la protéine Fob1p est localisée dans le nucléole des cellules, où se trouve de l'ADNr. Fob1p est donc, avec TTF-I [9], l'une des rares protéines connues qui pourrait avoir un effet direct sur le blocage des fourches de répllication, et il sera

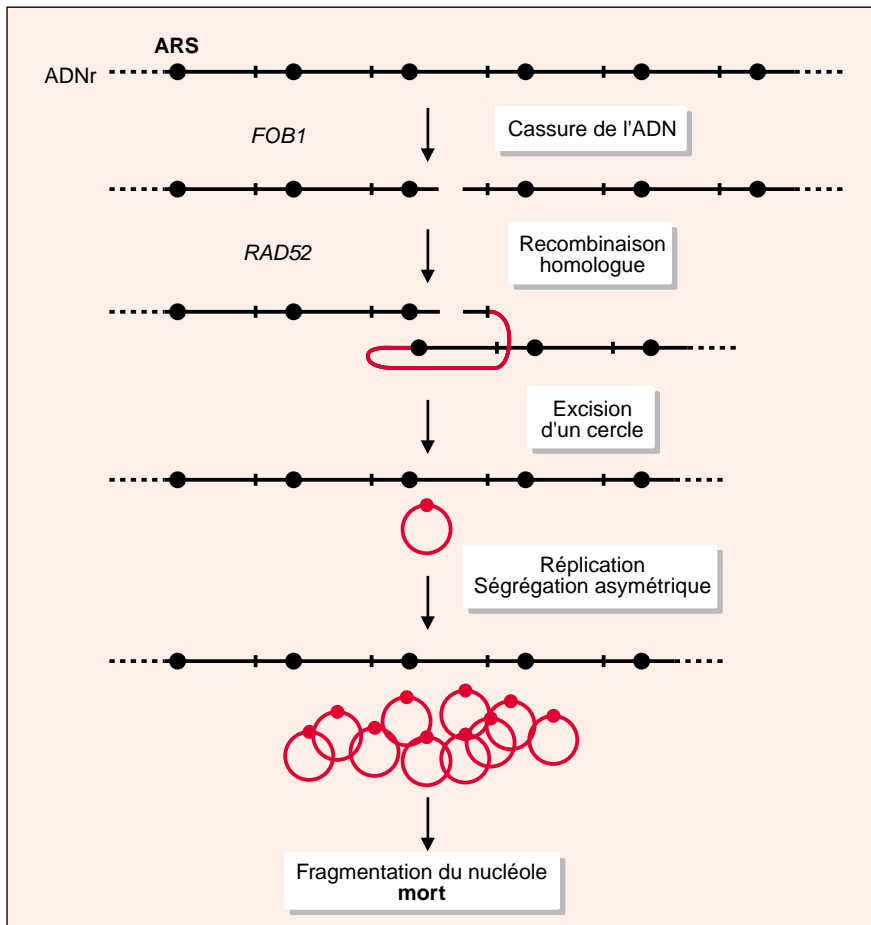


Figure 1. **La formation de cercles d'ADN ribosomique : une cause du vieillissement de la levure *Saccharomyces cerevisiae*.** L'ADN ribosomique (ADNr) de la levure contient de nombreuses répétitions directes des gènes codant pour les ARN ribosomiques. Chaque unité contient une origine de réplication (ARS). Le blocage des fourches de réplication par Fob1p pourrait engendrer des cassures double-brin de l'ADN. Leur réparation par recombinaison homologue peut produire des cercles d'ADNr. Ces cercles s'accumulent dans les cellules mères et provoquent leur sénescence (d'après [2-4]).

important d'élucider son mode d'action; (2) s'il est maintenant acquis que l'accumulation des cercles d'ADNr est une cause naturelle de la sénescence chez *S. cerevisiae*, la raison de la toxicité des cercles est encore

mystérieuse. Il est plausible qu'ils consomment des facteurs indispensables à la réplication de l'ADN et à la division cellulaire, mais cette hypothèse attend d'être confirmée expérimentalement; (3) enfin, il faudra

déterminer lesquels, parmi les phénomènes décrits chez *S. cerevisiae*, sont conservés chez les eucaryotes supérieurs. Il sera fascinant d'étudier si les mammifères possèdent un homologue fonctionnel de *FOB1*, si le blocage des fourches de réplication conduit à la formation des cercles d'ADNr et, bien sûr, si ces cercles provoquent le vieillissement cellulaire.

1. Johnson FB, Sinclair DA, Guarente L. Molecular biology of aging. *Cell* 1999; 96: 291-302.
2. Sinclair DA, Guarente L. Extrachromosomal rDNA circles : a cause of aging in yeast. *Cell* 1997; 91: 1033-42.
3. Park PU, Defossez PA, Guarente L. Effects of mutations in DNA repair genes on formation of ribosomal DNA circles and life span in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell Biol* 1999; 19: 3848-56.
4. Defossez PA, Prusty R, Kaerberlein M, et al. Elimination of the replication block protein Fob1 extends the lifespan of yeast mother cells. *Mol Cell* 1999; 3: 447-55.
5. Lin YH, Keil RL. Mutations affecting RNA polymerase I-stimulated exchange and rDNA recombination in yeast. *Genetics* 1991; 127: 31-8.
6. Brewer BJ, Fangman WL. A replication fork barrier at the 3' end of yeast ribosomal RNA genes. *Cell* 1988; 55: 637-43.
7. Kobayashi T, Horiuchi T. A yeast gene product, Fob1 protein, required for both replication fork blocking and recombinational hotspot activities. *Genes Cells* 1996; 1: 465-74.
8. Seigneur M, Bidnenko V, Ehrlich SD, Michel B. RuvAB acts at arrested replication forks. *Cell* 1998; 95: 419-30.
9. Gerber JK, Gogel E, Berger C, Wallisch M, Muller F, Grummt IF. Termination of mammalian DNA replication: polar arrest of replication fork movement by transcription termination factor TTF-I. *Cell* 1997; 90: 559-67.

#### Pierre-Antoine Defossez

Department of Biology, Massachusetts Institute of Technology, 77, Massachusetts avenue, Cambridge MA02139-4307, États-Unis.