

Chromatine, télomères et réparation de l'ADN : un ménage à trois qui promet

Le bon fonctionnement des mécanismes de réparation requiert des interactions étroites entre les constituants qui participent à l'architecture de la chromatine et les protéines mises en jeu après une lésion de l'ADN [1]. Une des idées émergentes est qu'il existe une communication entre les structures nucléoprotéiques localisées à l'extrémité des chromosomes, les télomères [2], et les sites où l'ADN est endommagé. Il est à présent établi que certains facteurs participent à la fois à la réparation des cassures double brin et à la conservation de l'intégrité et de la fonction des télomères [3]. Le point commun entre ces deux processus est le contact permanent ou transitoire entre ces protéines et une extrémité d'ADN libre. D'autres résultats très récents indiquent que certaines protéines de surveillance moléculaire, dont l'une des fonctions est de détecter des lésions de l'ADN, interagissent avec des protéines modulant la structure de l'hétérochromatine et participent directement ou indirectement à l'architecture des télomères [4, 5]. Ces protéines de surveillance moléculaire pourraient être au cœur de la communication entre les télomères et les sites de lésion de l'ADN.

SET, un domaine commun à différents types d'hétérochromatine

La transcription chez les eucaryotes est contrôlée par de nombreux facteurs de transcription modulant l'activité de l'ARN polymérase. L'accessibilité de l'ADN aux facteurs de transcription peut être modulée par l'état de compaction de la chromatine [6]. Ce phénomène est parti-

culièrement important au cours du développement puisque l'expression de gènes bien définis doit être maintenue au cours des générations successives. Deux groupes de gènes, le groupe trithorax (Trx-G) et le groupe Polycomb (Pc-G) sont essentiels à l'expression des gènes homéotiques [7]. Chez la drosophile, l'approche génétique a révélé des similitudes entre la répression exercée au niveau du complexe des gènes homéotiques et un phénomène appelé variégation. La variégation s'observe lorsqu'un réarrangement chromosomique déplace un gène de l'euchromatine dans une région voisine de l'hétérochromatine centromérique. L'expression du gène déplacé est alors inactivée de façon aléatoire et précoce, ce qui conduit à un phénotype de type mosaïque. L'analyse de la variégation a été utilisée chez la drosophile pour identifier des protéines, appelées régulateurs de chromatine, intervenant sur la structure de la chromatine [8]. Les phénomènes de variégation existent aussi chez la levure pour des gènes relocalisés à proximité des télomères. Ce rôle de répresseur, joué par différents types d'hétérochromatine, s'exerce par l'intermédiaire de nombreuses protéines qui partagent certaines caractéristiques. Ainsi, le domaine SET, commun à différents régulateurs de chromatine, est présent dans plus de trente protéines appartenant à des espèces aussi éloignées que les champignons, les plantes ou les mammifères [9]. Chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*, SET est présent au niveau de l'extrémité carboxy-terminale d'une protéine de 1081 résidus, Set1p, nécessaire au maintien de l'intégrité de la chroma-

tine télomérique. En effet, l'inactivation de Set1p abolit la répression de l'expression génétique exercée par la chromatine télomérique et provoque un léger raccourcissement des télomères [10].

Surveillance rapprochée au télomère

Les mécanismes de surveillance moléculaire contrôlent l'intégrité du matériel génétique qu'une cellule mère transmet à une cellule fille et sont activés quand des altérations de l'ADN surviennent. Dans ces conditions, il y a arrêt de la division cellulaire et induction de l'expression de gènes de réparation (*m/s* 1999, n°4, p. 566). Chez *S. cerevisiae*, les produits des gènes de surveillance *MEC3*, *DDC1*, *RAD9*, *RAD17* et *RAD24* détectent les lésions de l'ADN, et, par l'intermédiaire de Mec1p, un membre de la famille des phosphatidyl-inositol (PI)-kinases, et de la kinase Rad53p, transmettent l'information qui aboutit au blocage des transitions G1/S et G2/M du cycle cellulaire et au ralentissement de la phase S (*figure 1*) [11]. Une autre protéine, Pds1p, un inhibiteur de la transition métaphase/anaphase, intervient spécifiquement au point de contrôle G2/M [11]. L'analyse des cascades de phosphorylation véhiculant, vers les effecteurs de la réponse, le signal transmis en réponse à une lésion de l'ADN indique que Mec1p pourrait agir à une étape très précoce du processus de reconnaissance des lésions de l'ADN [12]. Mec1p est une protéine essentielle au fonctionnement des mécanismes de surveillance moléculaire. Mec1p est homologue à d'autres membres de la famille des PI-kinases, comme Tel1p ou les protéines de mammifères ATM et ATR. Chez les

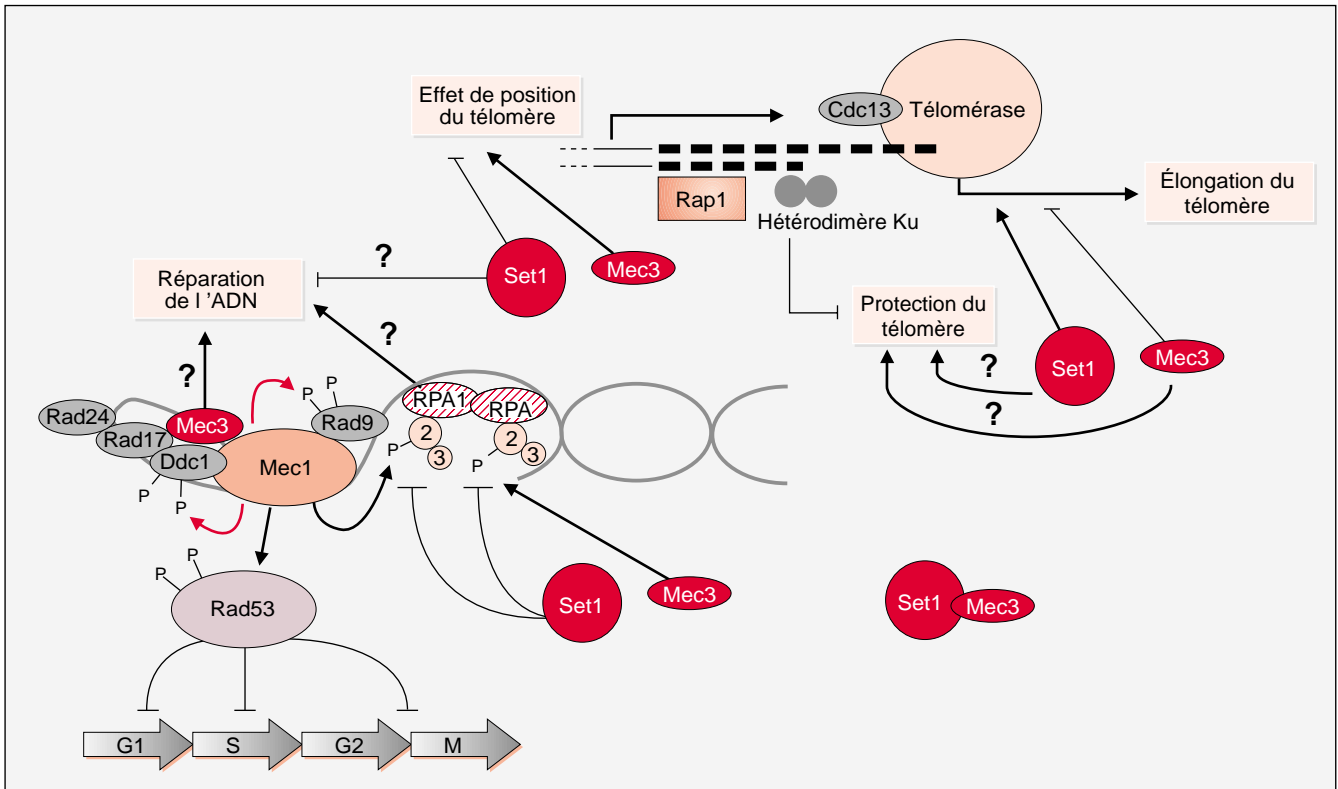


Figure 1. **Les protéines Set1 et Mec3 ont des effets antagonistes sur la réparation de l'ADN et sur les fonctions télomériques.** Les protéines de surveillance Rad9, Rad24, Rad17, Ddc1, Mec3 et Mec1 détectent les lésions de l'ADN. Mec1 est nécessaire à la phosphorylation de Ddc1 et de Rad9 qui survient après un dommage de l'ADN. Mec1 agit donc probablement en amont des autres protéines de surveillance [12]. Le signal produit par les senseurs des lésions d'ADN est transmis à la kinase Rad53 dont la phosphorylation dépend aussi de Mec1. Le signal véhiculé par Rad53 phosphorylée conduit au blocage des transitions G1/S et G2/M du cycle cellulaire et au ralentissement de la phase S. Il est probable que les protéines Rad9, Rad24, Rad17, Ddc1, Mec3 et Mec1 participent aussi à une étape précoce du processus de réparation de l'ADN [11]. Le régulateur de chromatine Set1, dont l'inactivation abolit l'effet de position au télomère, inhiberait cette étape précoce de réparation de l'ADN dont les détails moléculaires sont encore inconnus [5]. Set1 ne règle pas la progression du cycle cellulaire. Mec1, et à un moindre degré, Mec3, sont nécessaires à la phosphorylation de la sous-unité 2 de RPA [16]. À l'inverse, l'inactivation de Set1 provoque l'hyperphosphorylation de RPA2. Les conséquences de la phosphorylation de RPA2 sur la réparation de l'ADN restent inconnues. Set1 est requis pour l'intégrité de la chromatine télomérique dont la formation est débutée par la fixation de Rap1 sur les séquences d'ADN télomériques répétées. La propagation de l'hétérochromatine se fait par le biais d'interactions protéine/protéine multiples [2]. Mec3 inhibe la répression transcriptionnelle exercée par l'hétérochromatine télomérique et règle négativement la taille des télomères [5]. La taille des télomères dépend elle-même d'un équilibre dynamique entre l'élongation et la dégradation de l'ADN télomérique [2]. Enfin, il est possible que Set1 et Mec3 participent aux fonctions de protection des extrémités d'ADN qu'exercent notamment Cdc13 et l'hétérodimère Ku. L'hétérodimère Ku joue par ailleurs un rôle important dans la réparation des cassures double-brin.

mammifères, le gène *ATM* (*ataxia telangiectasia mutée*) prédispose à l'apparition de cancers (*m/s* 1997, n° 8/9, p. 1057). L'étude des gènes *ATM* et *TP53*, suppresseur de tumeurs, a permis d'identifier le lien entre les altérations des gènes de surveillance moléculaire et la survenue de tumeurs [13]. Chez la levure, Mec1p joue un rôle central dans les mécanismes de sur-

veillance alors que son homologue Tel1p intervient dans l'élongation des télomères. Le lien entre les protéines de surveillance et les télomères a d'abord été suggéré chez un mutant de levure *Schizosaccharomyces pombe* dépourvu de ces deux kinases. Un tel mutant raccourcit de manière dramatique ses télomères et n'échappe à la mort qu'en circularisant ses chromo-

somes [14]. Presque au même moment, nous avons démontré chez *S. cerevisiae* que le domaine SET du régulateur de chromatine Set1p, interagissait physiquement avec la protéine de surveillance Mec3p [5]. Ces deux protéines modulent, mais de façon antagoniste, la sensibilité des cellules aux agents qui endommagent l'ADN, les effets de position aux

télomères et la taille des télomères (*figure 1*). Cependant, alors que Mec3p est nécessaire au blocage des transitions G1/S et G2/M et au ralentissement de la phase S après une lésion de l'ADN, Set1p ne règle pas la progression du cycle cellulaire [5]. Ces résultats établissent les bases moléculaires d'un nouveau type de communication entre les constituants télomériques et les protéines mises en jeu après une lésion de l'ADN [5].

Le phosphate sur le devant de la scène ?

Une hypothèse séduisante unissant contrôle des télomères et réparation de l'ADN fait intervenir un processus de phosphorylation. En effet, dans les cellules humaines, les protéines à domaine SET participeraient à la régulation de la phosphorylation d'effecteurs essentiels des fonctions cellulaires de prolifération et de différenciation [15]. Par analogie, il se pourrait que Set1p et Mec3p agissent sur l'état de phosphorylation de substrats directement impliqués dans la réparation de l'ADN et la régulation des fonctions télomériques. Cette hypothèse est étayée par le fait que Mec1p et Mec3p sont nécessaires à la phosphorylation de la sous-unité 2 de la protéine de réplication A (RPA2) (*figure 1*) [16]. RPA est une protéine hétérotrimérique, très conservée d'une espèce à l'autre, qui se fixe à l'ADN simple brin. Elle est nécessaire à la réplication, la réparation et à la recombinaison de l'ADN. RPA2 est phosphorylée au cours de la phase S du cycle cellulaire et aussi après une lésion de l'ADN [17]. Nos résultats préliminaires indiquent que Set1p influence aussi la phosphorylation de RPA2. L'enjeu est maintenant de déterminer quelles sont les conséquences de la phosphorylation de RPA2, en particulier sur la réparation de l'ADN et les fonctions télomériques.

Remerciements

Nous remercions très vivement nos collaborateurs, Éric Gilson et Maria Pia Longhese, pour leurs nombreux conseils ainsi qu'Alain Rigal pour son aide dans l'élaboration de la figure. Le travail du groupe de V.G. est soutenu par l'Association pour la Recherche contre le Cancer.

Vera Schramke
Yves Corda
Vincent Géli

Laboratoire d'ingénierie des systèmes macromoléculaires, Cnrs, 31, chemin Joseph-Aiguier, 13402 Marseille Cedex 20, France.

1. Alaoui-Jamali M, Sankar Mitra S. Les mécanismes de réparation de l'ADN: des cibles potentielles en pharmacologie du cancer. *Med Sci* 1996; 12: 766-73.
2. Marcand S, Brun B, Ancelin K, Gilson, E. Les télomères : du normal au pathologique. *Med Sci* 1997; 13: 1250-8.
3. Bertuch A, Lundblad V. Telomeres and double-strand breaks: trying to make ends meet. *Trends Cell Biol* 1998; 8: 339-42.
4. Weinert T, Lundblad V. Forever hopeful relations: chromatin, telomeres and checkpoints. *Nat Genet* 1999; 21: 151-2.
5. Corda Y, Schramke V, Longhese MP, Smokvina T, Paciotti V, Brevet V, Gilson E, Geli V. Interaction between Set1p and checkpoint protein Mec3p in DNA repair and telomere functions. *Nat Genet* 1999; 21: 204-8.
6. Fauvarque MO. L'effet de position: influence de la conformation chromatiniennne sur l'expression des gènes eucaryotes. *Med Sci* 1996; 12: I-XIII.
7. Paro R, Harte PJ. The role of Polycomb group and trithorax group complexes in the maintenance of determined states. In: Russo VEA, Martienssen RA, Riggs AR, eds. *Epigenetic mechanisms of gene regulation*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1996: 507-28.
8. Reuter G, Spierer P. Position effect variegation and chromatin proteins. *Bioessays* 1992; 14: 605-12.
9. Jenuwein T, Laible G, Dorm R, Reuter G. SET domain proteins modulate chromatin domains in eu- and heterochromatin. *Cell Mol Life Sci* 1998; 54: 80-93.
10. Nislow C, Ray E, Pillus L. SET1, a yeast member of the trithorax family, functions in transcriptional silencing and diverse cellular processes. *Mol Biol Cell* 1997; 8: 2421-36.
11. Longhese MP, Foiani M, Muzi-Falconi M, Lucchini G, Plevani P. DNA damage checkpoint in budding yeast. *EMBO J* 1998; 17: 5525-8.
12. Paciotti V, Lucchini G, Plevani P, Longhese MP. Mec1p is essential for phosphorylation of the yeast DNA damage checkpoint protein Ddc1p, which physically interacts with Mec3p. *EMBO J* 1998; 17: 4199-209.
13. Weinert T. Yeast checkpoint controls and relevance to cancer. *Cancer Surv* 1997; 29: 109-32.
14. Naito T, Matsuura A, Ishikawa F. Circular chromosome formation in a fission yeast mutant defective in two ATM homologues. *Nat Genet* 1998; 20: 203-6.

15. Cui X, De Vivo I, Slany R, Miyamoto A, Firestein R, Cleary ML. Association of SET domain and myotubularin-related proteins modulates growth control. *Nat Genet* 1998; 18: 331-7.
16. Brush GS, Morrow DM, Hieter P, Kelly TJ. The ATM homologue MEC1 is required for phosphorylation of replication protein A in yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 15075-80.
17. Wold MS. Replication protein A: a heterotrimeric, single-stranded DNA-binding protein required for eukaryotic DNA metabolism. *Annu Rev Biochem* 1997; 66: 61-92.

