

La non-adhésivité des télomères chez les mammifères : une histoire de Ku

Le rôle des télomères, déterminants essentiels dans la sénescence et les cancers, a souvent été évoqué dans *médecine/sciences*. Il est actuellement de mieux en mieux défini [1-3]. Il restait cependant une inconnue de taille : alors que toute cassure d'ADN double brin a tendance à fusionner avec un autre segment d'ADN, entraînant ainsi réparation ou remaniements divers, comment était-il possible que les télomères aient la capacité de protéger leurs terminaisons d'ADN, c'est-à-dire les extrémités des chromosomes, contre les fusions ? Par quelle organisation structurale pouvaient-ils empêcher l'intrusion des systèmes intervenant dans la surveillance des cassures et dans les réparations de la double hélice ? Jusqu'à présent, les protéines capables de réaliser cette protection rapprochée n'avaient pas toutes été identifiées. On savait que, chez l'homme, deux protéines, TRF1 et TRF2 (pour TTAGGG repeat factor 1 et 2), possédaient des domaines de fixation à l'ADN définissant un motif protéique appelé *telobox*. Ce motif est retrouvé dans différentes protéines interagissant avec des séquences d'ADN de type télomérique chez de nombreux organismes, à commencer par la levure *Schizosaccharomyces pombe* [4, 5]. On savait aussi que l'hétérodimère Ku (composé de deux sous-unités de 70 et 80 kDa) jouait non seulement un rôle capital dans la réparation des cassures double brin non homologues [6], et se liait à des séquences d'ADN particulières [7], mais qu'il était aussi présent sur (ou dans) le télomère. [8]. Comment pouvait-il se lier spécifiquement à l'ADN télomérique alors que celui-ci est encapuchonné dans des protéines spécifiques ?

Une équipe américaine vient, grâce à la combinaison de plusieurs techniques – immunoprécipitation, analyse de liaison à des microcercles d'ADN télomérique, EMSA (*electrophoresis mobility shift assay*), et FISH (hybridation *in situ* en fluorescence) – d'apporter des précisions importantes sur les interactions entre protéines télomériques [9]. Les chercheurs constatèrent tout d'abord que l'affinité de TRF1 pour Ku est forte et que le complexe Ku/TRF1 une fois formé est très stable *in vitro* et *in vivo* (à partir de cellules de fibrosarcome HT180 exprimant un TRF1

marqué à l'hémagglutinine). Pour voir si Ku se fixe spécifiquement sur des séquences d'ADN télomérique, des micro-anneaux d'ADN, contenant 3 ou 6 séquences répétées TTAGGG, ont été testés. Seul, Ku ne se fixe pas sur les micro-anneaux. En revanche, en présence de TRF1, on observe une fixation simultanée de Ku et TRF1. C'est par l'intermédiaire de TRF1 que Ku se fixe sur l'ADN télomérique (*figure 1*). Pour prouver que Ku, fixé sur les télomères par TRF1, empêche qu'ils soient adhésifs, des métaphases de fibroblastes embryonnaires de souris déficientes

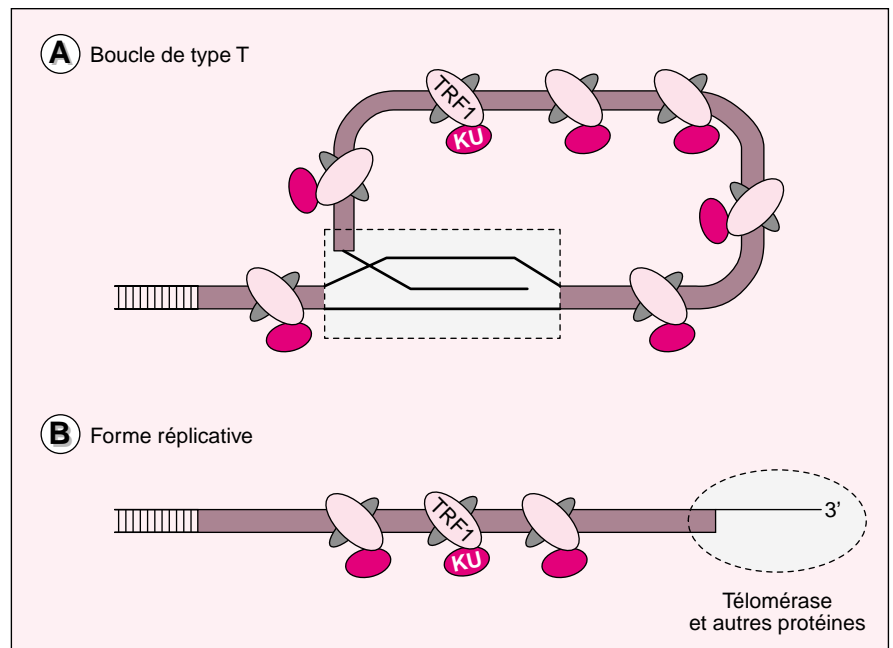


Figure 1. **Télomères et télosome.** A. L'extrémité 3' de l'ADN télomérique est cachée dans un complexe multiprotéique appelé télosome qui contient une boucle de type T, et plusieurs protéines associées aux télomères. Ku est localisé, par l'intermédiaire de TRF1, sur la boucle de type T. Le rectangle gris représente les protéines (comme TRF2) enveloppant les extrémités de l'ADN télomérique. B. Phase répliquative de l'ADN ; l'ovale gris représente la télomérase et les autres protéines associées.

en KU80 ont été analysées : les fusions télomériques y sont très nombreuses (31 dans 50 cellules, contre une seule dans 50 cellules témoins). En hybridation *in situ*, Ku se fixe sur les télomères en formant un complexe Ku/TRF1. La conformation de la structure des télomères change selon le stade de la cellule dans le cycle cellulaire. Pendant l'interphase, l'extrémité 3' d'ADN simple brin est enfouie dans la boucle de type T enveloppée dans un complexe macromoléculaire de protéines télomériques (appelé télosome) qui rendent inaccessibles les extrémités d'ADN (figure 1A). Pendant la réplication de l'ADN télomérique, l'extrémité 3' doit en revanche être accessible pour permettre l'accès de la télomérase qui vient compenser l'érosion des télomères par la synthèse d'une ou plusieurs répétitions d'ADN télomérique additionnel [3] (figure 1B). Il n'est pas impossible que Ku intervienne à ce stade par une liaison non spécifique. Mais plutôt que de s'ancrer directement, les résultats de cette

étude montrent que l'encapuchonnement du télomère se fait par l'intermédiaire de TRF1, lié à Ku dans un complexe à forte affinité. Récemment, en plus de Ku, plusieurs protéines de réparation de l'ADN avaient été trouvées sur les télomères et il semblait curieux qu'elles respectent les extrémités télomériques, alors même que leur fonction est de joindre des extrémités d'ADN [9]. Dans ce complexe Ku/TRF1, il est possible que le domaine de réparation de l'ADN de Ku soit bloqué, le rendant incapable d'agir sur les extrémités d'ADN. Il reste encore à trouver et à comprendre les relations entre Ku et les nombreuses autres protéines qui se pressent aux télomères pendant les différentes phases du cycle cellulaire.

1. Bodnar AG, Ouellette M, Frolf M, Holt SE, Chiu CP, *et al.* Extension of life span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science* 1998 ; 279 : 349-52.
2. Artandi SE, DePinho RA. A critical role of telomerase in suppressing and facilitating carcinogenesis. *Curr Opin Genet Dev* 2000 ; 10 : 39-40.

3. Ouellette MM, Savre-Train I. Les télomères, et le vieillissement des cellules. *Med Sci* 2000 ; 16 : 473-80.
4. Promisel Cooper J, Nimmo E, Allshire R, Cech T. Regulation of telomere length and function by a Myb-domain protein in fission yeast. *Nature* 1997 ; 385 : 744-7.
5. Marcand S, Brun B, Ancelin C, Gilson E. Les télomères : du normal au pathologique. *Med Sci* 1997 ; 13 : 1250-8.
6. Kanaar R, Hoeijmakers JH, van Gent DC. Molecular mechanism of DAN double strand repair. *Trends Cell Biol* 1998 ; 8 : 483-9.
7. Galande S, Kohwi-Shigematsu T. Poly(ADP-ribose) polymerase1 and Ku antigen form a complex and synergistically bind to the matrix attachment sequences. *J Biol Chem* 1999 ; 274 : 20521-8.
8. Gasser SM. A sense of the end. *Science* 2000 ; 288 : 1377-9.
9. Hsu HL, Gilley D, Galande SA, Hande MP, Allen B, *et al.* Ku acts in a unique way at the mammalian telomere to prevent end joining. *Genes Dev* 2001 ; 15 : 2807-12.

Simone Gilgenkrantz

9, rue Basse, 54330 Clérey-sur-Brénon, France.

■■■■ BRÈVES ■■■■

■■■■ **Une nouvelle façon de mourir... para-apoptose.** Dans un article récent de *Proceedings of the National Academy of Science of USA*, une équipe californienne nous révèle une nouvelle façon de mourir, qui n'est ni la nécrose, ni l'apoptose [1]. Le déclenchement de cette voie se fait de façon inhabituelle. En effet, c'est la surexpression de la chaîne β du récepteur de l'IGF-1 (*insulin-like growth factor-1*, IGFR) dans les cellules 293T qui, en l'absence de toute fixation de ligand, déclenche la mort cellulaire. D'autres récepteurs dits *dependence receptors* comme DCC (*deleted in colorectal cancer*) [2] et *m/s 2001, n° 2, p. 238*) seraient aussi capables d'induire la mort cellulaire en l'absence de fixation de leur ligand. Dans les cellules 293 surexprimant IGFR, l'absence de condensation de la chromatine, de fragmentation de l'ADN, d'activation de la voie des caspases, exclut l'interven-

tion de la voie apoptotique classique, ce que confirment l'inefficacité des inhibiteurs classiques de l'apoptose, et l'utilisation de fibroblastes provenant de souris invalidées pour *Apaf-1*, requis pour l'activation de la pro-caspase-9. La voie classique est pourtant intacte dans les cellules 293T, puisque la transfection de *Bax* ou la surexpression de la caspase 9 induisent une apoptose typique en l'absence d'IGFR. Parallèlement à l'absence de stigmates nucléaires, l'intense vacuolisation des cellules exprimant IGFR, témoin de la perte de contrôle du volume cellulaire, évoque une nécrose. Et pourtant la caspase-9 (mais pas les autres caspases) est indispensable à cette voie alternative, puisqu'une forme dominante négative de la pro-caspase-9 annule l'effet de IGFR. Il est probable que l'enzyme se fixe directement au domaine intracytoplasmique de l'IGFR. Ces résultats

suggèrent donc que la caspase 9 peut conduire à la mort cellulaire par une voie qui ne fait pas intervenir la cascade classique. Il est possible, comme le souligne P. Golstein qui signe le commentaire dans *Proc Natl Acad Sci USA* [2], que la réponse nous vienne en partie de l'analyse des plantes ou d'organismes plus archaïques que les mammifères, chez lesquels la voie des caspases est absente, mais qui ont l'équivalent d'un AIF (*apoptosis inducing factor*, *m/s 1999, n° 3, p. 436* et *2001, n° 4, p. 533*). La décision de mort cellulaire se fait peut-être très en amont de ces événements, et la voie choisie pour l'exécution de cette sentence de mort pourrait être fonction des possibilités de l'organisme en cause.

- [1] Speriandio S, *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA* 2000 ; 97 : 14376-81.
- [2] Wyllie AH, Golstein P. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 ; 98 : 11-3.