

## Biogénèse de la télomérase : un long voyage jusqu'au bout des chromosomes

Franck Gallardo, Pascal Chartrand

Département de biochimie, Université de Montréal, CP 6128, Succursale Centre-ville, Montréal, Québec H3C 3J7 Canada.  
[p.chartrand@umontreal.ca](mailto:p.chartrand@umontreal.ca)

La télomérase est une enzyme essentielle qui maintient la stabilité des génomes en ajoutant des séquences répétées aux extrémités 3' des chromosomes : les télomères [1]. Si l'activité de la télomérase est constitutive chez les eucaryotes unicellulaires comme la levure, son expression chez l'humain se limite aux tissus en forte prolifération. La réactivation de cette enzyme dans des cellules somatiques participe directement aux mécanismes de transformation tumorale puisque plus de 85 % des tumeurs expriment la télomérase. D'un autre point de vue, l'inhibition de l'activité de la télomérase dans les cellules transformées induit un fort taux de rémission *in vitro*, ce qui en fait une cible potentielle pour les thérapies anticancéreuses [2].

La télomérase est un complexe ribonucléoprotéique (RNP) qui possède une activité rétrotranscriptase et qui porte sa propre matrice d'ARN, appelée *TLC1* chez la levure et hTR chez l'humain. Cet ARN sert aussi de squelette pour l'assemblage des composants protéiques du complexe. Chez la levure *S. cerevisiae*,

la protéine Est2p (hTERT chez l'humain) est responsable de l'activité catalytique. Elle contient la fonction de rétrotranscriptase et est accompagnée des sous-unités régulatrices, Est1p et Est3p, qui sont accessoires à l'activité catalytique *in vitro* mais essentielles *in vivo*. Est1p est responsable de l'activation de la télomérase aux extrémités terminales des télomères [3], tandis que la fonction d'Est3p est moins bien caractérisée. Un autre complexe, le complexe yKu70/80, lie l'ARN *TLC1* et est associé au processus de recrutement de la télomérase aux télomères [4].

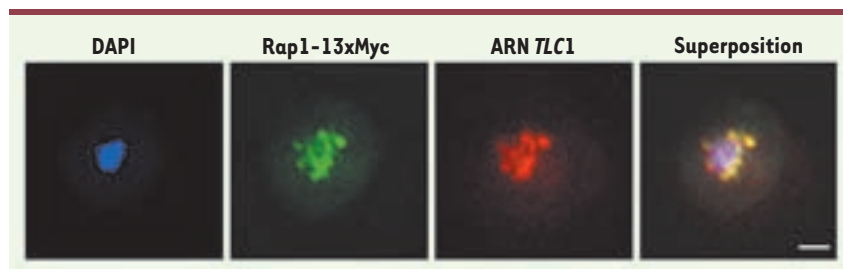
### Trafic intracellulaire et biogénèse de la télomérase chez la levure

Même si les facteurs associés à l'activité télomérasique et à sa régulation sont bien caractérisés, la biogénèse de cette enzyme reste mal connue. À cause du très faible nombre de copies de l'ARN *TLC1* (29 molécules par cellule haploïde [5]), les études cytologiques visant à détecter cet ARN *in situ* chez la levure n'ont été réalisées qu'en condition de

surexpression, mais elles ont apporté des informations suggérant un trafic intracellulaire de cet ARN [6, 7].

En utilisant des techniques d'hybridation *in situ* en fluorescence sur la forme endogène de l'ARN *TLC1* de la levure *S. cerevisiae*, notre équipe a pu étudier en détail son trafic et proposer un lien avec la biogénèse de la télomérase [8]. L'ARN *TLC1* se regroupe en 6 à 10 foci dans le nucléoplasme des cellules et on le retrouve avec les foci télomériques en phase G1/S du cycle cellulaire (Figure 1). Cet ARN est transcrit sous une forme précurseur contenant une coiffe mono-méthyle guanosine et une queue poly A ; sa forme mature possède une coiffe tri-méthyle guanosine et est sans queue poly A. En étudiant la localisation de l'ARN *TLC1* dans une souche contenant une délétion de l'hyperméthylase Tgs1p, nous avons observé que l'hyperméthylation de la coiffe de ce transcrite dépend de Tgs1p et a lieu dans le nucléole. Ce résultat suggère qu'une étape initiale de la maturation de l'ARN *TLC1* réside dans le nucléole.

La délétion des protéines Est1-3, ainsi que celle du complexe yKu70/80 induit, de façon surprenante, une accumulation de l'ARN *TLC1* dans le cytoplasme des cellules. Cependant, cette accumulation cytoplasmique pourrait être le reflet d'un export nucléaire lié à un défaut de recrutement de la télomérase aux télomères. Afin de vérifier que l'ARN *TLC1* est capable de faire la navette entre le noyau et le cytoplasme, des essais de trafic nucléocytoplasmique par hétérocaryon ont été utilisés. Les hétérocaryons sont issus de la fusion de cellules *TLC1* positives et



**Figure 1.** L'ARN *TLC1* colocalise avec les télomères en phase G1 du cycle cellulaire. Colocalisation entre l'ARN *TLC1* (rouge) et la protéine télomérique Rap1-13xMyc (vert) dans une cellule de levure sauvage en phase G1 du cycle cellulaire. Les signaux des deux images ont été déconvolués, superposés et la colocalisation a été mesurée en utilisant le programme Metamorph™ ; 92 % des foci de *TLC1* et Rap1p colocalisent. DAPI : ADN nucléaire. Barre de calibration : 1 µm. Image tirée de [8].



négatives. Les cellules *TLC1* positives contiennent un allèle mutant du gène *KARI* qui permet la fusion cellulaire mais prévient la fusion des deux noyaux. En utilisant cette technique, l'ARN *TLC1* fut détecté dans tous les noyaux des hétérocaryons, démontrant un trafic nucléocytoplasmique de la forme endogène de cet ARN. En utilisant des mutants conditionnels des différentes voies d'import/export nucléaire, nous avons montré que l'ARN *TLC1* mature est exporté du noyau par une voie dépendante de l'exportine Crmlp et ré-importé au noyau par une voie dépendante des importines Kap122p et Mtr10p.

### Un mécanisme de contrôle de qualité ?

Nous avons disséqué pour la première fois le trafic nucléocytoplasmique d'un ARN nucléaire résidant qui est nécessaire à la fonction télomérasique chez la levure. Il apparaît que l'accumulation nucléaire de la télomérase est dépendante de son propre assemblage, puisque la délétion d'un seul de ses composants protéiques induit une accumulation cytoplasmique de l'ARN *TLC1*. Il est possible que l'assemblage de la télomérase soit vérifié dans le cytoplasme et qu'un mécanisme de contrôle de qualité inhibe l'import nucléaire de formes mal assemblées. Ces défauts d'assemblage

pourraient, par exemple, être liés à un problème de repliement de l'ARN *TLC1*, ce qui aurait des conséquences graves sur la fonction télomérasique en créant des mutants à activité constitutive ou à activité dominante négative.

### Trafic de la télomérase et homéostasie des télomères chez l'humain

Le contrôle de la localisation intracellulaire de hTR est également un élément de la régulation de l'élongation des télomères humains. Dans les cellules de cancer, hTR s'accumule dans les corps de Cajal, un corps nucléaire où s'effectuent l'assemblage et la modification des snRNP (*small nuclear ribonucleoproteins*) et snoRNP (*small nucleolar ribonucleoproteins*) [9, 10]. Un mutant de hTR ne pouvant plus être localisé aux corps de Cajal peut toujours s'associer à hTERT, mais l'élongation des télomères est alors diminuée, accréditant l'idée que les corps de Cajal interviennent dans le recrutement de la télomérase aux télomères [11]. Est-ce que la localisation de hTR dans les corps de Cajal fait partie d'un mécanisme d'assemblage et de contrôle de qualité de la télomérase chez l'humain ? La question reste à explorer. Notre étude suggère cependant que la biogenèse et le recrutement de la télomérase aux télomères dépend d'un

long trafic de son ARN, et que ce trafic constitue un niveau de contrôle potentiel de l'activité de la télomérase. ♦

### Telomerase biogenesis: a journey to the end of chromosomes

#### RÉFÉRENCES

- Vega LR, Mateyak MK, Zakian VA. Getting to the end: telomerase access in yeast and humans. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003 ; 4 : 948-59.
- Harley CB. Telomerase and cancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2008 ; 8 : 167-79.
- Taggart AK, Teng SC, Zakian VA. Est1p as a cell cycle-regulated activator of telomerase-bound telomerase. *Science* 2002 ; 297 : 1023-6.
- Stellwagen AE, Haimberger ZW, Veatch JR, Gottschling DE. Ku interacts with telomerase RNA to promote telomere addition at native and broken chromosome ends. *Genes Dev* 2003 ; 17 : 2384-95.
- Mozdy AD, Cech TR. Low abundance of telomerase in yeast: implications for telomerase haploinsufficiency. *RNA* 2006 ; 12 : 1721-37.
- Ferrezeulo F, Steiner B, Aldea M, Fletcher B. Biogenesis of yeast telomerase depends on the importin mtr10. *Mol Cell Biol* 2002 ; 22 : 6046-55.
- Teixeira MT, Forstemann K, Gasser SM, Lingner J. Intracellular trafficking of yeast telomerase components. *EMBO Rep* 2002 ; 3 : 652-9.
- Gallardo F, Olivier C, Dandjinou AT, et al. TLC1 RNA nucleocytoplasmic trafficking links telomerase biogenesis to its recruitment to telomeres. *EMBO J* 2008 ; 27 : 748-57.
- Jady BE, Bertrand E, Kiss T. Human telomerase RNA and box H/ACA scaRNAs share a common Cajal body-specific localization signal. *J Cell Biol* 2004 ; 164 : 647-52.
- Zhu Y, Tomlinson RL, Lukowiak AA, et al. Telomerase RNA Accumulates in Cajal Bodies in Human Cancer Cells. *Mol Biol Cell* 2004 ; 15 : 81-90.
- Cristofari G, Adolf E, Reichenbach P, et al. Human Telomerase RNA Accumulation in Cajal Bodies Facilitates Telomerase Recruitment to Telomeres and Telomere Elongation. *Mol Cell* 2007 ; 27 : 882-9.



ISBN : 2-84254-105-7 248 pages

## Bon de commande

À retourner à EDK, 2, rue Troyon - 92316 Sèvres Cedex  
Tél. : 01 55 64 13 93 - Fax : 01 55 64 13 94 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : ..... Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal : ..... Ville : .....

Pays : .....

Fonction : .....

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Trisomie 21** : 15 € + 3 € de port = **18 € TTC**

en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

Par chèque, à l'ordre de EDK

Par carte bancaire :  Visa  Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature : .....

Date d'expiration : | | | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | |