

## ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫЕ ИНГИБИТОРЫ ТЕЛОМЕРАЗЫ: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ И ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

### Обзор

© 2015 М.Э. Зверева<sup>1,2</sup>, Т.С. Зацепин<sup>1,3</sup>, Д.М. Ажибек<sup>3</sup>,  
О.С. Шубернецкая<sup>1,3</sup>, О.В. Шпанченко<sup>1\*</sup>, О.А. Донцова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова, химический факультет, 119991 Москва;  
электронная почта: [olgash@genebee.msu.ru](mailto:olgash@genebee.msu.ru)

<sup>2</sup> Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова, НИИ физико-химической биологии  
им. А.Н. Белозерского, 119991 Москва

<sup>3</sup> Сколковский институт науки и технологий,  
143025 Московская обл., Одинцовский р-н, Новоивановское  
городское поселение, дер. Сколково, ул. Новая, 100

Поступила в редакцию 23.10.14

После доработки 14.11.14

Работа теломеразы позволяет эукариотическим клеткам приобрести неограниченный потенциал к делению. В процессе функционирования теломеразы синтезирует короткие ДНК-повторы на 3'-конце ДНК в составе хромосом, что обеспечивает стабильность генома при делении клеток. Теломераза активна в большинстве типов раковых клеток и, за редким исключением, практически отсутствует в соматических клетках. Такое различие позволяет рассматривать ингибирование активности теломеразы в качестве возможного подхода для противоопухолевой терапии. Теломераза является нуклеопротеином и состоит из двух основных компонентов: каталитической субъединицы, являющейся обратной транскриптазой (hTERT), и теломеразной РНК (hTR), кодирующей матрицу для синтеза повторов. Биогенез и свойства теломеразы открывают широкие возможности для ее ингибирования за счет комплементарных взаимодействий. В данном обзоре проанализированы предполагаемые пути воздействия олигонуклеотидов на теломеразу, рассмотрены известные ингибиторы теломеразы олигонуклеотидной природы и показаны возможные механизмы их действия. Кроме того, обсуждается применение конъюгатов олигонуклеотидов для визуализации опухолевых клеток *in vivo*.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** теломераза человека, ингибиторы теломеразы, мишень антираковой терапии, олигонуклеотид, визуализация опухолевых клеток.

Теломераза – сложный РНК-белковый комплекс, который удлиняет 3'-выступающие концы хромосомной ДНК путем добавления теломерных повторов, что препятствует укорочению хромосом в процессе репликации и обеспечивает неограниченный потенциал деления клеток [1]. Известно, что теломераза активна в эмбриональных, стволовых и половых клетках, в ряде клеток

с высоким пролиферативным потенциалом [2] и, главное, в раковых клетках [3]. Раньше активность теломеразы рассматривалась как однозначный фактор, позволяющий отличить раковые клетки от нормальных, поскольку в большинстве типов клеток злокачественных опухолей активность теломеразы значительно выше, чем в нормальных тканях. На сегодня показано, что роль теломеразы в клетке не ограничивается только компенсацией репликативного укорочения теломер, связанного с клеточным старением, каталитическая субъединица теломеразы защищает митохондриальную ДНК от повреждений [4]. Таким образом, теломераза является перспективной мишенью для противораковой терапии.

Принятые сокращения: hTR – теломеразная РНК человека; hTERT – обратная транскриптаза теломеразы человека; 2'-МОЕ – 2'-метоксиэтилрибоолигонуклеотиды; ПНК – пептидо-нуклеиновые кислоты; МСК – мезенхимальные стволовые клетки.

\* Адресат для корреспонденции.

С другой стороны, кратковременная активация теломеразы может рассматриваться как возможность противостоять клеточному старению [5], поэтому поиск активаторов и регуляторов активности теломеразы – не менее перспективная задача, чем поиск ее ингибиторов. Однако работ, посвященных поиску активаторов теломеразы олигонуклеотидной природы, в литературе мы не нашли. К настоящему моменту описан лишь защищенный патентом низкомолекулярный теломеразный активатор растительной природы ТА-65 [6].

Использование ингибиторов теломеразы может сопровождаться побочными эффектами, затрагивающими, в первую очередь, стволовые клетки, в которых теломераза активна и необходима для поддержания регенеративного потенциала и жизнеспособности. Несмотря на это, различные подходы к ингибированию теломеразы разрабатываются уже более десяти лет [7]. Большинство ингибиторов теломеразы – это низкомолекулярные соединения, которые стабилизируют G-квадруплексы и препятствуют взаимодействию теломеразы с ДНК.

В состав теломеразного комплекса в качестве основных компонентов входят каталитическая субъединица, являющаяся обратной транскриптазой (*hTERT*), и теломеразная РНК *hTR*, которая содержит матричный участок для синтеза теломерных повторов. Кроме того, для функционирования теломеразы в клетке необходимы связывание дополнительных регуляторных белков и доступность субстрата – 3'-концевых участков теломер [1]. Таким образом, ингибировать активность или блокировать работу теломеразы можно, влияя на биосинтез, созревание, сборку или корректное взаимодействие между компонентами теломеразы или на взаимодействие теломеразного комплекса с субстратом. На схеме представлены основные этапы, на которых можно заблокировать функционирование теломеразы при помощи олигонуклеотидных ингибиторов, и мишени для их воздействия. Основными мишенями являются процессы, связанные с транскрипцией генов *hTERT* (схема, 1–3) и *hTR* (4, 5), а также нарушение сборки теломеразного комплекса (6), блокирование ферментативной активности собранного теломеразного комплекса (7), потеря концами теломер доступности для взаимодействия с теломеразой (8) и ингибирование активности теломеразного комплекса, взаимодействующего с теломерами (9).

Недавно ряд ингибиторов теломеразы перешел в стадию клинических испытаний, полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования ингибиторов теломе-

разы в качестве химиотерапевтических препаратов [8]. В данном обзоре нами будет рассмотрено ингибирование теломеразы олигонуклеотидами [9] на основе комплементарных взаимодействий как с теломеразной РНК, так и с мРНК теломеразных белков и, в первую очередь, каталитической субъединицей теломеразы. Комплексное использование различных подходов может увеличить эффективность ингибирования теломеразы.

## ОЛИГОНУКЛЕОТИДЫ ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ ТЕЛОМЕРАЗЫ

Олигонуклеотиды являются эффективными инструментами в молекулярной диагностике [10] и функциональной геномике [11], а главное, рассматриваются как перспективные терапевтические средства [12]. Технологии регулирования клеточных процессов на основе олигонуклеотидов продемонстрировали свою эффективность *in vitro* и *in vivo* [13, 14]. На сегодняшний день используются различные подходы: антисмысловая технология, РНК-интерференция, аптамеры, анти-микроРНК, CRISPR и др. Основные проблемы, возникающие при использовании олигонуклеотидов в качестве терапевтических агентов, сопряжены с их низкой стабильностью *in vivo* и сложностью их селективной доставки в ткани и клетки [15]. Химически модифицированные олигонуклеотиды существенно стабильнее и более эффективно проникают в клетки при сохранении биологической активности [16]. Присоединение различных лигандов позволяет добиться специфичности доставки конъюгатов в определенные клетки за счет рецептор-опосредованного эндоцитоза [17].

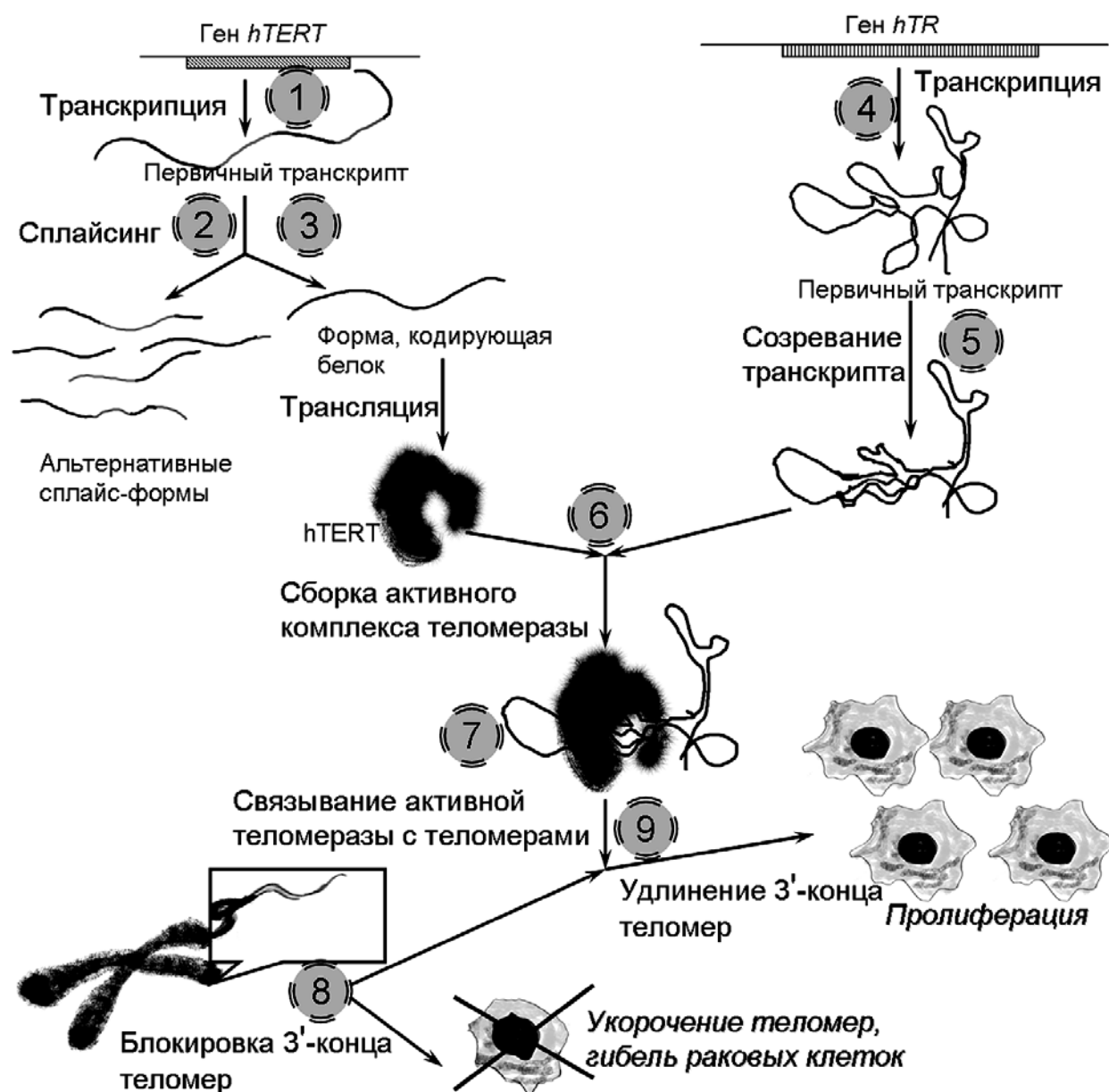
При создании олигонуклеотидных ингибиторов теломеразы были использованы различные модификации сахарофосфатного остова. На сегодняшний день в литературе описаны 2'-*O*-алкилрибонуклеотиды и олигонуклеотиды с тиофосфатной, фосфамидной и тиофосфамидной межнуклеотидными связями, а также пептидо-нуклеиновые кислоты (ПНК) [18].

2'-*O*-Метил- и 2'-*O*-метоксиэтил-модифицированные олигонуклеотиды [19] образуют более стабильные дуплексы с комплементарными мишенями и ингибируют теломеразу уже в наномолярных концентрациях [20]. 2'-МОЕ-модификации, кроме значительной стабилизации дуплекса, также способствуют улучшению фармакокинетики олигомера.

Тиофосфатные олигонуклеотиды – самый распространенный тип модифицированных олигонуклеотидов [21], также были использова-

ны для ингибирования теломеразы. Они имеют высокую нуклеазную стабильность. Однако попытка их использования для ингибирования теломеразы выявила низкую специфичность. Так, тиофосфатный олигонуклеотид S-ODNS ингибирует теломеразу за счет связывания с белком hTERT, а не с РНК [22]. Более того, было показано, что 20-звенный тиофосфатный олигонук-

леотид ингибирует теломеразу независимо от нуклеотидной последовательности [23]. Из-за неспецифического связывания с белками такие олигонуклеотиды являются иммуностимулирующими [24]. Таким образом, перспективным для ингибирования теломеразы представляется использование олигонуклеотидов с небольшим количеством тиофосфатных модификаций, что



Олигонуклеотидные ингибиторы теломеразы: 1 – ингибирование транскрипции гена *hTERT*; 2 – перенаправление сплайсинга мРНК *hTERT* в сторону альтернативных форм, не кодирующих белок или кодирующих неактивный белок; 3 – деградация первичного транскрипта и зрелой формы мРНК *hTERT*; 4 – ингибирование транскрипции гена *hTR*; 5 – деградация первичного транскрипта и нарушение созревания первичного транскрипта *hTR*; 6 – нарушение сборки теломеразного комплекса; 7 – блокирование ферментативной активности собранного теломеразного комплекса; 8 – уменьшение доступности концов теломер для теломеразы; 9 – ингибирование теломеразного комплекса, взаимодействующего с теломерами

позволит сохранить специфичность при увеличении нуклеазной стабильности.

В фосфамидных олигонуклеотидах атом кислорода в 3'-положении углеводного остатка заменен на атом азота [25]. Такие олигонуклеотиды образуют более стабильный дуплекс с комплементарной мишенью по сравнению с природными ДНК и при этом сохраняют специфичность. Следует отметить, что дуплексы таких олигонуклеотидов с РНК не являются субстратами РНКазы Н. Тиофосфамидные олигонуклеотиды более стабильны к действию нуклеаз, чем фосфамидные олигонуклеотиды, что приводит к заметному увеличению ингибирования теломеразы [26]. Наиболее известный ингибитор этого класса – конъюгат тиофосфамидного олигонуклеотида с пальмитиновой кислотой (GRN163L или Imetelstat) [27]. За счет липидной модификации Imetelstat эффективно проникает через клеточную мембрану, а наличие 3'-аминогруппы увеличивает стабильность в присутствии нуклеаз. Все нуклеотиды содержат 3'-аминогруппы, а немостиковые атомы кислорода в фосфате замещены атомами серы. Таким образом, все межнуклеотидные связи являются N3'→P5'-тиофосфамидными, что составляет основную особенность GRN163. Было показано, что конъюгация пальмитиновой кислоты с олигонуклеотидом GRN163 уменьшает его ингибирующую способность в клеточном экстракте в 5 раз, но из-за увеличения эффективности проникновения в клетку ингибирующая способность GRN163L в клеточной культуре увеличилась в 1,5–40 раз (в зависимости от клеточной линии) [27]. Такие олигонуклеотиды были использованы для ингибирования активного центра теломеразы в качестве антагонистов матричного участка теломеразной РНК (схема, 7).

Пептидо-нуклеиновые кислоты (ПНК) построены на основе N-(2-аминоэтил)-глицинового остова и не имеют отрицательного заряда. Пептидные олигонуклеотиды связываются с комплементарными нуклеиновыми кислотами с высокой аффинностью и специфичностью [28, 29]. Как правило, для увеличения растворимости в водных растворах ПНК синтезируют в виде конъюгатов с пептидами. Еще один подход для доставки *in vitro* основан на использовании дуплекса ПНК с комплементарным олигонуклеотидом, что позволяет использовать традиционные катионные липиды [30]. Далее в эндосомах олигонуклеотид в составе дуплекса расщепляется нуклеазами, а освобожденная ПНК может взаимодействовать с мишенью. Несмотря на отличные результаты *in vitro*, результаты *in vivo* не столь значительны, что связано с высокой токсичностью таких олигомеров. Тем не менее ис-

пользование гетеродуплекса ПНК с конъюгатом олигонуклеотида с асиалофетуином позволило эффективно доставлять ПНК в гепатоциты мыши при внутривенном введении с помощью асиалогликопротеино-рецептор-опосредованного эндоцитоза [31].

Рассмотрим подробнее олигонуклеотидные ингибиторы теломеразы, классифицировав их на основе механизма действия.

### ПРИМЕНЕНИЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИХ С мРНК КАТАЛИТИЧЕСКОЙ СУБЪЕДИНИЦЫ ТЕЛОМЕРАЗЫ hTERT

В большинстве случаев именно экспрессия каталитической субъединицы hTERT коррелирует с активностью теломеразы [32], а мРНК hTERT используется в качестве маркера опухолевого процесса. Применение антисмысловых олигонуклеотидов, комплементарных мРНК hTERT, инактивирует теломеразу, что препятствует пролиферации раковых клеток, а при достижении критической длины теломер в них индуцируется апоптоз. Было показано, что олигонуклеотид (Cantide), комплементарный 3'-нетранслируемой области человеческой мРНК hTERT, специфично снижал уровень активной теломеразы в культуре клеток HerG2 в 5 раз по сравнению с необработанными клетками, что способствовало индукции апоптоза и приводило к гибели более чем половины клеток [33]. Далее была продемонстрирована противоопухолевая активность этого олигонуклеотида на ксенотрансплантатах опухолей в иммунодефицитных мышах [34]. На моделях ксенотрансплантата гепатоцеллюлярной карциномы у мышей и первичной лимфомы печени иммунодефицитных мышей было показано, что рост и вес опухоли снижается при увеличении концентрации олигонуклеотида Cantide, что приводит к увеличению выживаемости мышей [35]. Рассмотренные олигонуклеотиды ингибируют теломеразу по пути, отмеченному на схеме цифрами 1 и 3.

Второй путь уменьшения теломеразной активности с помощью антисмысловых олигонуклеотидов к мРНК hTERT – изменение направления сплайсинга этой РНК (схема, 2). мРНК hTERT имеет несколько сплайс-форм, при этом только две из них трансляционно активны, и только один из полученных белков функционально активен [36]. Второй белок не содержит в активном центре фермента важных для синтеза теломерного повтора аминокислот (доминантно-негативная мутантная форма hTERT). При экспрессии только доминантно-негативной мутант-

ной формы hTERT клетки погибают из-за укорочения теломер [36]. В процессе неопластической трансформации при раке шейки матки соотношение сплайс-форм мРНК hTERT остается постоянным [37]. Искусственное перенаправление альтернативного сплайсинга в сторону увеличения нефункциональных сплайс-форм мРНК hTERT — один из возможных путей снижения теломеразной активности в опухолевых клетках [38]. Недостаток этого метода заключается в том, что раковые клетки погибают лишь при достижении критической длины теломер, что занимает много времени, иногда — месяцы. В течение всего этого периода необходимо постоянно применять терапию, что может привести к приобретению резистентности. В то же время при полной потере hTERT клетки подвергаются апоптозу сразу, минуя этап укорочения теломер. Это связано с тем, что hTERT вовлечена во многие клеточные процессы — активацию Wnt, NF- $\kappa$ B-путей, ингибирование апоптоза и др. [5].

### ВОЗДЕЙСТВИЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ИНГИБИТОРОВ ТЕЛОМЕРАЗЫ НА hTR

Олигонуклеотиды, комплементарные теломеразной РНК (hTR), ингибируют теломеразу несколькими способами, например, уменьшая время жизни hTR в клетке [39], блокируя сборку теломеразы [40] или ингибируя полимеразную активность теломеразы *in vitro* [41].

Уменьшение времени жизни hTR в клетке может быть достигнуто за счет ее деградации РНКазой L. Метод основан на использовании олигодезоксинуклеотидов, комплементарных hTR и конъюгированных с 5'-фосфорилированным 2'-5'-олигоденилатом (2-5A), который активирует в клетке РНКазу L, расщепляющую одноцепочечную РНК [42]. Такие олигонуклеотиды эффективно стимулируют гидролиз комплементарной РНК с высокой специфичностью, тем самым увеличивая эффективность ингибирования теломеразной активности в 20 раз [39].

### ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫЕ ИНГИБИТОРЫ, НАРУШАЮЩИЕ СБОРКУ ТЕЛОМЕРАЗЫ

Ингибирование сборки теломеразы основано на блокировании взаимодействия теломеразной РНК и каталитической субъединицы. Олигонуклеотиды, комплементарные участкам hTR, необходимым для взаимодействия с компонентами теломеразного комплекса, нарушают сборку теломеразы. В этом случае подавление теломеразной активности в клетках достигается за

счет уменьшения количества корректно собранной активной теломеразы [40]. Нарушение сборки теломеразы может приводить не только к потере теломеразной активности, но и к увеличению деградации теломеразной РНК в клетке из-за большей ее доступности нуклеазам. Кроме прямого стерического блокирования участков hTR от взаимодействия с другими необходимыми для функционирования теломеразы компонентами комплекса возможно нарушение сборки элемента пространственной структуры РНК, важного для работы теломеразы, например, псевдоузла [43].

Преимуществом подхода ингибирования теломеразного комплекса за счет сборки является сохранение экспрессии теломеразных компонентов в клетке, что важно для выполнения отличных от поддержания длины теломер функций теломеразных компонентов [44]. Это позволяет предположить меньшее число побочных эффектов при использовании такого подхода к ингибированию теломеразы.

Недавно был предложен новый подход для нарушения функционирования теломеразы человека на этапе сборки активного комплекса. Он основан на применении химерных бифункциональных олигонуклеотидов, содержащих две олигонуклеотидные части, комплементарные функциональным областям теломеразной РНК и соединенные с нуклеотидным линкером в различных ориентациях (5'-3', 5'-5' или 3'-3'). Такие химеры ингибируют теломеразу *in vitro* в наномолярном диапазоне концентраций, но в клетке были эффективны в концентрациях, на порядок более низких [45].

### ИНГИБИТОРЫ, БЛОКИРУЮЩИЕ ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ТЕЛОМЕРАЗЫ

Для функционирования теломеразы необходимо, чтобы hTR образовывала дуплекс с теломерной ДНК. Известно, что в активной теломеразе матричный участок hTR доступен для гибридизации, что позволяет проводить конкурентное ингибирование теломеразы комплементарными олигонуклеотидами. Такие олигонуклеотиды являются эффективными ингибиторами уже в наномолярных концентрациях [46]. Данные по этому типу ингибирования, полученные до 2009 г., суммированы в обзоре Грязнова с соавт. [47]. В дальнейшем было показано на мышах, что в присутствии предполагаемого конкурентного ингибитора теломеразы GRN163L наблюдалось повышение чувствительности раковых клеток к другим цитотоксическим препа-

ратам, что связано с укорочением теломер, при этом менялась способность раковых клеток к миграции и метастазированию [48]. Одной из возможных причин наблюдаемых эффектов может быть изменение экспрессии различных микроРНК [49].

Важным вопросом для последующего использования ингибиторов теломеразы как противоопухолевых агентов является изучение влияния ингибиторов такого типа на стволовые клетки и возможных последствий длительного воздействия. Было проверено влияние GRN163L на рост мезенхимальных стволовых клеток (МСК), т.к. они также содержат активную теломеразу, необходимую для пролиферации. МСК – мультипотентные клетки, которые важны для поддержания гомеостаза организма. При обработке GRN163L МСК крыс фенотип клеток изменялся, они из веретенообразных становились закругленными и отделялись от поверхности подобно раковым. Оказалось, что GRN163L останавливает МСК в фазе G1 клеточного цикла с резким уменьшением уровня мРНК и белка циклина D1, CDK4 и CDK6. Через неделю после добавления GRN163L концентрации мРНК этих белков и самих белков, а также фенотип МСК вернулись к норме. Таким образом, GRN163L не вмешивается необратимо в самообновление и дифференцировку МСК при культивировании клеток *in vitro*. Это позволяет предположить, что при ингибировании теломеразы не произойдет истощения пула стволовых клеток организма при временном приеме препарата [50].

Сходное изменение морфологии наблюдали и при обработке GRN163L линии раковых клеток молочной железы MCF7 [51]. GRN163L вызывает морфологические изменения клеток, а именно округление, независимо от исходной экспрессии hTR или длины теломер в этих клетках за счет потери клеточной адгезии, однако механизм, лежащий в основе этого эффекта, еще не полностью понят. Так, GRN163L приводит к потере адгезии в клетках рака легких A549 за счет снижения экспрессии E-кадгерина, что приводит к нарушению цитоскелета через изменения актина, тубулина и организации промежуточных филаментов. Клетки, потерявшие таким образом большую часть контактов, перестают делиться и задерживаются в фазе G1 клеточного цикла, что сопровождается снижением экспрессии матриксной металлопротеиназы-2. Эти эффекты GRN163L не зависят от степени снижения каталитической активности теломеразы, что, как предполагается, может повысить терапевтическую эффективность GRN163L за счет уменьшения адгезии и пролиферации рако-

вых клеток в естественных условиях [52]. Однако можно предположить, что уменьшение адгезии раковых клеток в организме может быть сопряжено с увеличением риска метастазирования, особенно после прекращения действия препарата, когда пролиферативный потенциал клеток восстанавливается, если нарушение контактов и уменьшение адгезии приведет к случайной миграции раковых клеток и их произвольному задерживанию, например, в лимфоузлах.

При испытаниях GRN163L неожиданно оказалось, что ингибирование теломеразы этим препаратом приводит к увеличению чувствительности раковых клеток к ионизирующему излучению [53]. Также было показано, что препарат на основе GRN163L, получивший название Imetelstat, влияет на чувствительность клеток к другим химиотерапевтическим агентам. Например, в случае хронического лимфоцитарного лейкоза (CLL) он увеличивает чувствительность первичных лимфоцитов к флударабину *in vitro* [54]. Этот эффект наблюдался в лимфоцитах, полученных у пациентов в клинически резистентных случаях и с цитогенетическими аномалиями. Imetelstat-опосредованная сенсбилизация лимфоцитов к цитостатическому препарату флударабину не была связана с активностью теломеразы, а зависела от базальной экспрессии Ku80. Это связано с тем, что Imetelstat препятствует взаимодействию гетеродимера Ku70/Ku80 с hTR. Влияние олигонуклеотида, комплементарного сайту связывания Ku70/80 с hTR, на выживаемость CLL лимфоцитов под действием флударабина оказалось сходным с действием препарата Imetelstat, что говорит о функциональном взаимодействии белков семейства Ku и hTR в человеческих раковых клетках [54]. Было изучено влияние Imetelstat на стволовые раковые клетки, представляющие собой устойчивые ко многим лекарственным препаратам субпопуляции клеток, предположительно несущие ответственность за рецидивы рака и метастазирование [55]. Оказалось, что Imetelstat снижал долю стволовых раковых клеток *in vitro*, при этом различия между уровнем активности теломеразы или длиной теломер не коррелировали с повышенной чувствительностью стволовых раковых клеток к препарату. Это позволяет предположить, что существует альтернативный механизм действия Imetelstat на субпопуляцию стволовых раковых клеток, который не зависит от укорочения теломер [55], однако механизм такого действия остается неизвестным.

Imetelstat показал хорошие результаты в клинических испытаниях на пациентах, больных тромбоцитемией. Среди побочных эффектов, выявленных при клинических испытаниях Imetelstat,

можно отметить токсическое воздействие на печень, которое проявлялось у 90% пациентов. К возможным препятствиям широкого применения Imetelstat в качестве терапевтического препарата можно отнести высокую стоимость препарата [56].

Совместное использование антисмысловых олигонуклеотидов, которые одновременно действуют на hTR и hTERT, приводит к увеличению эффективности ингибирования активности теломеразы, подавлению роста клеток и их гибели, вероятно, в основном через апоптоз и торможение клеточного цикла, что было показано на клеточной линии рака толстой кишки человека SW480 [57].

### ИНГИБИТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ДОСТУПНОСТЬ ТЕЛОМЕР ДЛЯ ТЕЛОМЕРАЗЫ

Субстратом для работы теломеразы служат выступающие 3'-концевые участки теломер. Известно, что теломерные последовательности способны образовывать специфическую G-квадруплексную структуру, в составе которой концевой фрагмент не будет эффективным субстратом теломеразы. Ароматические лиганды, связывающиеся с G-квадруплексами, стабилизируют эту структуру и снижают эффективность работы теломеразы, что показано для многих низкомолекулярных соединений [58]. Олигонуклеотиды, содержащие интеркаляторы, также способны стабилизировать квадруплексы ДНК и ингибировать теломеразу, препятствуя узнаванию субстрата [59]. Такой путь ингибирования теломеразы представлен единственной работой. Этот подход не представляется перспективным из-за большого числа теломерных повторов по всему геному, которые также будут взаимодействовать с такими олигонуклеотидами и изменять свою структуру, что, возможно, изменит экспрессию близлежащих генов.

### ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫЕ ИНГИБИТОРЫ ТЕЛОМЕРАЗЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАКА

В литературе описано альтернативное использование антисмысловых олигонуклеотидов, ингибирующих теломеразу, в качестве инструмента для визуализации раковых клеток [60]. Впервые антисмысловые олигонуклеотиды при неинвазивных технологиях исследования были использованы в 1994 г. на модели карциномы молочной железы мыши. Это был 15-звен-

ный фосфоротиоатный олигодезоксирибонуклеотид, содержащий In-111 для документации конститутивной экспрессии гена с-Мус [61]. С тех пор область применения антисмысловых олигонуклеотидов для визуализации раковых клеток активно развивается [62]. В 2010 г. молекулярная визуализация с помощью антисмысловых олигонуклеотидов была названа новой междисциплинарной областью, обеспечивающей потенциал для раннего выявления онкологических заболеваний и выяснения механизмов их возникновения на молекулярном уровне, а также оценки проведенной терапии [63]. Для визуализации предлагалось использовать специфические для опухолевых клеток мРНК, к которым относится и мРНК hTERT. Так, конъюгат антисмыслового тиофосфатного олигонуклеотида с хелатным комплексом гадолиния, комплексный участку мРНК hTERT, селективно накапливался в клетках, трансформированных hTERT [64]. Это позволило использовать такой олигонуклеотид в качестве молекулярного зонда для эффективной визуализации опухолей с помощью магнитно-резонансной томографии. В дальнейшем такой конъюгат позволил достоверно визуализировать раковые ксенотрансплантаты на модели иммунодефицитных мышей [65]. Авторы этого исследования сделали вывод о перспективности применения модифицированного технецием-99 антисмыслового олигонуклеотида к мРНК hTERT в качестве молекулярно-специфического диагностического маркера опухолевого поражения в виде молекулярного зонда для визуализации опухолей с помощью магнитно-резонансной томографии [65]. Несомненно, что дальнейшим развитием использования конъюгатов антисмысловых олигонуклеотидов к мРНК hTERT будет визуализация теломеразы человека *in vivo* как новый подход для диагностики онкологических заболеваний.

Для модификации олигонуклеотидных ингибиторов теломеразы использован только ограниченный набор методов, известных на сегодня [16]. При этом наблюдалось значительное увеличение стабильности ингибиторов либо улучшение их функциональности *in vivo*. Использование последних достижений химии нуклеиновых кислот несомненно должно улучшить известные олигонуклеотидные ингибиторы теломеразы и способствовать созданию новых.

Следует также отметить недостатки олигонуклеотидных ингибиторов теломеразы в качестве противоопухолевых препаратов. Во-первых, хотя в большинстве случаев перерождения клеток пролиферативный потенциал и поддержание постоянства длины теломер обеспечива-

ется активностью теломеразы, существует и альтернативный механизм удлинения теломер (ALT-механизм), основанный на рекомбинации. Так, ингибирование теломеразы может привести к включению ALT-механизма [66], что эквивалентно появлению резистентности к ингибиторам теломеразы. Во-вторых, недостатком таких препаратов является то, что при изначально очень большой длине теломер у переродившейся клетки бессмысленно использовать ингибиторы теломеразы, поскольку для проявления их эффекта потребуется слишком большое число клеточных делений [67]. Однако известно, что при использовании некоторых путей воздействия на теломеразу (схема) возможен быстрый клеточный ответ, что исключит описанный выше недостаток. В-третьих, проблема при использовании олигонуклеотидных ингибиторов теломеразы в качестве противоопухолевых препаратов заключается в высокой стоимости и сложности синтеза модифицированных олигонуклеотидов. Однако факт увеличения эффективности ингибирования активности теломеразы с помощью

антисмысловых олигонуклеотидов, одновременно действующих на hTR и hTERT, и влияния на стволовые опухолевые клетки позволяют говорить о перспективности дальнейшей разработки методов использования олигонуклеотидных ингибиторов теломеразы в комбинированной противоопухолевой терапии, но не в качестве универсального препарата.

Еще одним возможным направлением исследований является поиск и разработка олигонуклеотидов, активирующих фермент за счет изменения эффективности сплайсинга или влияния на процессивность теломеразы, как потенциальных средств для борьбы со старением.

Кроме того, успешное применение олигонуклеотидных ингибиторов теломеразы для диагностики онкологических заболеваний позволяет предположить дальнейшее развитие исследований в области разработки олигонуклеотидов, влияющих на активность теломеразы.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-24-00061).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Zvereva, M.I., Shcherbakova, D.M., and Dontsova, O.A. (2010) Telomerase: structure, functions, and activity regulation, *Biochemistry (Moscow)*, **75**, 1563–1583.
- Blagoev, K.B. (2009) Cell proliferation in the presence of telomerase, *PLoS One*, **4**, e4622.
- Hamad, N.M., Banik, S.S., and Counter, C.M. (2002) Mutational analysis defines a minimum level of telomerase activity required for tumourigenic growth of human cells, *Oncogene*, **21**, 7121–7125.
- Ale-Agha, N., Dyballa-Rukes, N., Jakob, S., Altschmied, J., and Haendeler, J. (2014) Cellular functions of the dual-targeted catalytic subunit of telomerase, telomerase reverse transcriptase – potential role in senescence and aging, *Exp. Gerontol.*, **56**, 189–193.
- Bernardes de Jesus, B., and Blasco, M.A. (2013) Telomerase at the intersection of cancer and aging, *Trends Genet.*, **29**, 513–520.
- Bernardes de Jesus, B., Schneeberger, K., Vera, E., Tejera, A., Harley, C.B., and Blasco, M.A. (2011) The telomerase activator TA-65 elongates short telomeres and increases health span of adult/old mice without increasing cancer incidence, *Aging Cell*, **10**, 604–621.
- Hodes, R. (2001) Molecular targeting of cancer: telomeres as targets, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 7649–7651.
- Ruden, M., and Puri, N. (2013) Novel anticancer therapeutics targeting telomerase, *Cancer Treat. Rev.*, **39**, 444–456.
- Chen, H., Li, Y., and Tollefsbol, T.O. (2009) Strategies targeting telomerase inhibition, *Mol. Biotechnol.*, **41**, 194–199.
- Sedlak, R.H., and Jerome, K.R. (2013) Viral diagnostics in the era of digital polymerase chain reaction, *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **75**, 1–4.
- Zhou, Y., Zhu, S., Cai, C., Yuan, P., Li, C., Huang, Y., and Wei, W. (2014) High-throughput screening of a CRISPR/Cas9 library for functional genomics in human cells, *Nature*, **509**, 487–491.
- Martinez, T., Wright, N., Lopez-Fraga, M., Jimenez, A.I., and Paneda, C. (2013) Silencing human genetic diseases with oligonucleotide-based therapies, *Hum. Genet.*, **132**, 481–493.
- Dassie, J.P., and Giangrande, P.H. (2013) Current progress on aptamer-targeted oligonucleotide therapeutics, *Ther. Deliv.*, **4**, 1527–1546.
- Burnett, J.C., and Rossi, J.J. (2012) RNA-based therapeutics: current progress and future prospects, *Chem. Biol.*, **19**, 60–71.
- Malik, R., and Roy, I. (2011) Making sense of therapeutics using antisense technology, *Expert Opin. Drug Discov.*, **6**, 507–526.
- Dirin, M., and Winkler, J. (2013) Influence of diverse chemical modifications on the ADME characteristics and toxicology of antisense oligonucleotides, *Expert Opin. Biol. Ther.*, **13**, 875–888.
- Juliano, R.L., Carver, K., Cao, C., and Ming, X. (2013) Receptors, endocytosis, and trafficking: the biological basis of targeted delivery of antisense and siRNA oligonucleotides, *J. Drug. Target*, **21**, 27–43.
- Corey, D.R. (2002) Telomerase inhibition, oligonucleotides, and clinical trials, *Oncogene*, **21**, 631–637.
- Prakash, T.P., and Bhat, B. (2007) 2'-Modified oligonucleotides for antisense therapeutics, *Curr. Top. Med. Chem.*, **7**, 641–649.
- Elayadi, A.N., Demieville, A., Wancewicz, E.V., Monia, B.P., and Corey, D.R. (2001) Inhibition of telomerase by 2'-O-(2-methoxyethyl) RNA oligomers: effect of length, phosphorothioate substitution and time inside cells, *Nucleic Acids Res.*, **29**, 1683–1689.
- Eckstein, F. (2000) Phosphorothioate oligodeoxynucleotides: what is their origin and what is unique about them, *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.*, **10**, 117–121.



22. Saeki, T., Takashima, S., Tachibana, M., Koga, M., Hiyama, E., Salomon, D.S., Holland, J.F., and Ohnuma, T. (1999) Inhibitory effect of telomere-mimic phosphorothioate oligodeoxy nucleotides (S-ODNS) on human tumor cell lines, *Oncology*, **57** (Suppl. 2), 27–36.
23. Pongracz, K., Li, S., Herbert, B.S., Pruzan, R., Wunder, E., Chin, A., Piatyszek, M., Shay, J., and Gryaznov, S.M. (2003) Novel short oligonucleotide conjugates as inhibitors of human telomerase, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1627–1629.
24. Henry, S.P., Novotny, W., Leeds, J., Auletta, C., and Kornbrust, D.J. (1997) Inhibition of coagulation by a phosphorothioate oligonucleotide, *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.*, **7**, 503–510.
25. Gryaznov, S.M. (2010) Oligonucleotide 3'→5' phosphoramidates and thio-phosphoramidates as potential therapeutic agents, *Chem. Biodivers.*, **7**, 477–493.
26. Gryaznov, S., Asai, A., Oshima, Y., Yamamoto, Y., Pongracz, K., Pruzan, R., Wunder, E., Piatyszek, M., Li, S., Chin, A., Harley, C., Akinaga, S., and Yamashita, Y. (2003) Oligonucleotide N3'→P5' thio-phosphoramidate telomerase template antagonists as potential anticancer agents, *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 577–581.
27. Herbert, B.S., Gellert, G.C., Hochreiter, A., Pongracz, K., Wright, W.E., Zielinska, D., Chin, A.C., Harley, C.B., Shay, J.W., and Gryaznov, S.M. (2005) Lipid modification of GRN163, an N3'→P5' thio-phosphoramidate oligonucleotide, enhances the potency of telomerase inhibition, *Oncogene*, **24**, 5262–5268.
28. Анцыпович С.И. (2002) Пептидно-нуклеиновые кислоты: структура, свойства, применение, стратегии и практика химического синтеза, *Успехи химии*, **71**, 81–96.
29. Tarkanyi, I., and Aradi, J. (2008) Pharmacological intervention strategies for affecting telomerase activity: future prospects to treat cancer and degenerative disease, *Biochimie*, **90**, 156–172.
30. Hamilton, S.E., Simmons, C.G., Kathiriya, I.S., and Corey, D.R. (1999) Cellular delivery of peptide nucleic acids and inhibition of human telomerase, *Chem. Biol.*, **6**, 343–351.
31. Ishihara, T., Kano, A., Obara, K., Saito, M., Chen, X., Park, T.G., Akaike, T., and Maruyama, A. (2011) Nuclear localization and antisense effect of PNA internalized by ASGP-R-mediated endocytosis with protein/DNA conjugates, *J. Control Release*, **155**, 34–39.
32. Tominaga, T., Kashimura, H., Suzuki, K., Nakahara, A., Tanaka, N., Noguchi, M., Itabashi, M., and Ohkawa, J. (2002) Telomerase activity and expression of human telomerase catalytic subunit gene in esophageal tissues, *J. Gastroenterol.*, **37**, 418–427.
33. Du, Q.Y., Wang, X.B., Chen, X.J., Zheng, W., and Wang, S.Q. (2003) Antitumor mechanism of antisense cante targeting human telomerase reverse transcriptase, *World J. Gastroenterol.*, **9**, 2030–2035.
34. Yang, Y., Lv, Q.J., Du, Q.Y., Yang, B.H., Lin, R.X., and Wang, S.Q. (2005) Combined effects of Cante and chemotherapeutic drugs on inhibition of tumor cells' growth *in vitro* and *in vivo*, *World J. Gastroenterol.*, **11**, 2491–2496.
35. Lin, R.X., Tuo, C.W., Lu, Q.J., Zhang, W., and Wang, S.Q. (2005) Inhibition of tumor growth and metastasis with antisense oligonucleotides (Cante) targeting hTERT in an *in situ* human hepatocellular carcinoma model, *Acta Pharmacol. Sin.*, **26**, 762–768.
36. Skvortsov, D.A., Rubzova, M.P., Zvereva, M.E., Kiselev, F.L., and Donzova, O.A. (2009) The regulation of telomerase in oncogenesis, *Acta Naturae*, **1**, 51–67.
37. Petrenko, A.A., Korolenkova, L.I., Skvortsov, D.A., Fedorova, M.D., Skoblov, M.U., Baranova, A.V., Zvereva, M.E., Rubtsova, M.P., and Kissejov, F.L. (2010) Cervical intraepithelial neoplasia: Telomerase activity and splice pattern of hTERT mRNA, *Biochimie*, **92**, 1827–1831.
38. Wong, M.S., Chen, L., Foster, C., Kainthla, R., Shay, J.W., and Wright, W.E. (2013) Regulation of telomerase alternative splicing: a target for chemotherapy, *Cell Rep.*, **3**, 1028–1035.
39. Mukai, S., Kondo, Y., Koga, S., Komata, T., Barna, B.P., and Kondo, S. (2000) 2–5A antisense telomerase RNA therapy for intracranial malignant gliomas, *Cancer Res.*, **60**, 4461–4467.
40. Keppler, B.R., and Jarstfer, M.B. (2004) Inhibition of telomerase activity by preventing proper assemblage, *Biochemistry*, **43**, 334–343.
41. Vasilkova, D.V., Azhibek, D.M., Zatsepin, T.S., Naraikina, Y.V., Prassolov, V.S., Prokofjeva, M.M., Zvereva, M.I., and Rubtsova, M.P. (2013) Dynamics of human telomerase RNA structure revealed by antisense oligonucleotide technique, *Biochimie*, **95**, 2423–2428.
42. Kondo, Y., and Kondo, S. (2007) Telomerase RNA inhibition using antisense oligonucleotide against human telomerase RNA linked to a 2',5'-oligoadenylate, *Methods Mol. Biol.*, **405**, 97–112.
43. Gude, L., Berkovitch, S.S., Santos, W.L., Kutchukian, P.S., Pawloski, A.R., Kuimelis, R., McGall, G., and Verdine, G.L. (2012) Mapping targetable sites on human telomerase RNA pseudoknot/template domain using 2'-OMe RNA-interacting polynucleotide (RIptide) microarrays, *J. Biol. Chem.*, **287**, 18843–18853.
44. Rubtsova, M.P., Vasilkova, D.P., Malyavko, A.N., Naraikina, Y.V., Zvereva, M.I., and Dontsova, O.A. (2012) Telomere lengthening and other functions of telomerase, *Acta Naturae*, **4**, 44–61.
45. Azhibek, D., Zvereva, M., Zatsepin, T., Rubtsova, M., and Dontsova, O. (2014) Chimeric bifunctional oligonucleotides as a novel tool to invade telomerase assembly, *Nucleic Acids Res.*, **42**, 9531–9542.
46. Asai, A., Oshima, Y., Yamamoto, Y., Uochi, T.A., Kusaka, H., Akinaga, S., Yamashita, Y., Pongracz, K., Pruzan, R., Wunder, E., Piatyszek, M., Li, S., Chin, A.C., Harley, C.B., and Gryaznov, S. (2003) A novel telomerase template antagonist (GRN163) as a potential anticancer agent, *Cancer Res.*, **63**, 3931–3939.
47. Dikmen, Z.G., Ozgurtas, T., Gryaznov, S.M., and Herbert, B.S. (2009) Targeting critical steps of cancer metastasis and recurrence using telomerase template antagonists, *Biochim. Biophys. Acta*, **1792**, 240–247.
48. Marian, C.O., Cho, S.K., McEllin, B.M., Maher, E.A., Hatanpaa, K.J., Madden, C.J., Mickey, B.E., Wright, W.E., Shay, J.W., and Bachoo, R.M. (2010) The telomerase antagonist, imetelstat, efficiently targets glioblastoma tumor-initiating cells leading to decreased proliferation and tumor growth, *Clin. Cancer Res.*, **16**, 154–163.
49. Uziel, O., Beery, E., Dronichev, V., Samocha, K., Gryaznov, S., Weiss, L., Slavin, S., Kushnir, M., Nordenberg, Y., Rabinowitz, C., Rinkevich, B., Zehavi, T., and Lahav, M. (2010) Telomere shortening sensitizes cancer cells to selected cytotoxic agents: *in vitro* and *in vivo* studies and putative mechanisms, *PLoS One*, **5**, e9132.
50. Tokcaer-Keskin, Z., Dikmen, Z.G., Ayaloglu-Butun, F., Gultekin, S., Gryaznov, S.M., and Akcali, K.C. (2010) The effect of telomerase template antagonist GRN163L on bone-marrow-derived rat mesenchymal stem cells is reversible and associated with altered expression of cyclin d1, cdk4 and cdk6, *Stem Cell Rev.*, **6**, 224–233.
51. Goldblatt, E.M., Gentry, E.R., Fox, M.J., Gryaznov, S.M., Shen, C., and Herbert, B.S. (2009) The telomerase tem-

- plate antagonist GRN163L alters MDA-MB-231 breast cancer cell morphology, inhibits growth, and augments the effects of paclitaxel, *Mol. Cancer Ther.*, **8**, 2027–2035.
52. Mender, I., Senturk, S., Ozgunes, N., Akcali, K.C., Kletsas, D., Gryaznov, S., Can, A., Shay, J.W., and Dikmen, Z.G. (2013) Imetelstat (a telomerase antagonist) exerts offtarget effects on the cytoskeleton, *Int. J. Oncol.*, **42**, 1709–1715.
  53. Wu, X., Smavadati, S., Nordfjall, K., Karlsson, K., Qvarnstrom, F., Simonsson, M., Bergqvist, M., Gryaznov, S., Ekman, S., and Paulsson-Karlsson, Y. (2012) Telomerase antagonist imetelstat inhibits esophageal cancer cell growth and increases radiation-induced DNA breaks, *Biochim. Biophys. Acta*, **1823**, 2130–2135.
  54. Shawi, M., Chu, T.W., Martinez-Marignac, V., Yu, Y., Gryaznov, S.M., Johnston, J.B., Lees-Miller, S.P., Assouline, S.E., Autexier, C., and Aloyz, R. (2013) Telomerase contributes to fludarabine resistance in primary human leukemic lymphocytes, *PLoS One*, **8**, e70428.
  55. Joseph, I., Tressler, R., Bassett, E., Harley, C., Buseman, C.M., Pattamatta, P., Wright, W.E., Shay, J.W., and Go, N.F. (2010) The telomerase inhibitor imetelstat depletes cancer stem cells in breast and pancreatic cancer cell lines, *Cancer Res.*, **70**, 9494–9504.
  56. Horie, M., Morita, K., Kawakami, J., Tsutsumi, S., Ando, O., and Koizumi, M. (2005) Synthesis and properties of ENA oligonucleotides targeted to human telomerase RNA subunit, *Nucleic Acids Symp. Ser. (Oxford)*, 171–172.
  57. Fu, X.H., Zhang, J.S., Zhang, N., and Zhang, Y.D. (2005) Combination of telomerase antisense oligonucleotides simultaneously targeting hTR and hTERT produces synergism of inhibition of telomerase activity and growth in human colon cancer cell line, *World J. Gastroenterol.*, **11**, 785–790.
  58. De Cian, A., Cristofari, G., Reichenbach, P., De Lemos, E., Monchaud, D., Teulade-Fichou, M.P., Shin-Ya, K., Lacroix, L., Lingner, J., and Mergny, J.L. (2007) Reevaluation of telomerase inhibition by quadruplex ligands and their mechanisms of action, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 17347–17352.
  59. Agarwal, T., Pradhan, D., Geci, I., El-Madani, A.M., Petersen, M., Pedersen, E.B., and Maiti, S. (2012) Improved inhibition of telomerase by short twisted intercalating nucleic acids under molecular crowding conditions, *Nucleic Acid Ther.*, **22**, 399–404.
  60. Liu, M., Wang, R.F., Zhang, C.L., Yan, P., Yu, M.M., Di, L.J., Liu, H.J., and Guo, F.Q. (2007) Noninvasive imaging of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) messenger RNA with 99mTc-radiolabeled antisense probes in malignant tumors, *J. Nucl. Med.*, **48**, 2028–2036.
  61. Dewanjee, M.K., Ghafouripour, A.K., Kapadvanjwala, M., Dewanjee, S., Serafini, A.N., Lopez, D.M., and Sfakianakis, G.N. (1994) Noninvasive imaging of c-myc oncogene messenger RNA with indium-111-antisense probes in a mammary tumor-bearing mouse model, *J. Nucl. Med.*, **35**, 1054–1063.
  62. Iyer, A.K., and He, J. (2011) Radiolabeled oligonucleotides for antisense imaging, *Curr. Org. Synth.*, **8**, 604–614.
  63. Mukherjee, A., Wickstrom, E., and Thakur, M.L. (2009) Imaging oncogene expression, *Eur. J. Radiol.*, **70**, 265–273.
  64. Ren, B.X., Yang, F., Zhu, G.H., Huang, Z.X., Ai, H., Xia, R., Liu, X.J., Lu, M., and Song, B. (2012) Magnetic resonance tumor targeting imaging using gadolinium labeled human telomerase reverse transcriptase antisense probes, *Cancer Sci.*, **103**, 1434–1439.
  65. Liu, M., Wang, R.F., Yan, P., Zhang, C.L., and Cui, Y.G. (2014) Molecular imaging and pharmacokinetics of (99m)Tc-hTERT antisense oligonucleotide as a potential tumor imaging probe, *J. Labelled Comp. Radiopharm.*, **57**, 97–101.
  66. Hu, J., Hwang, S.S., Liesa, M., Gan, B., Sahin, E., Jaskelioff, M., Ding, Z., Ying, H., Boutin, A.T., Zhang, H., Johnson, S., Ivanova, E., Kost-Alimova, M., Protopopov, A., Wang, Y.A., Shirihai, O.S., Chin, L., and DePinho, R.A. (2012) Antitelomerase therapy provokes ALT and mitochondrial adaptive mechanisms in cancer, *Cell*, **148**, 651–663.
  67. Remes, K., Norrback, K.F., Rosenquist, R., Mehle, C., Lindh, J., and Roos, G. (2000) Telomere length and telomerase activity in malignant lymphomas at diagnosis and relapse, *Br. J. Cancer*, **82**, 601–607.

## OLIGONUCLEOTIDE INHIBITORS OF TELOMERASE: PROSPECTS FOR ANTICANCER THERAPY AND DIAGNOSTICS

**M. I. Zvereva<sup>1,2</sup>, T. S. Zatsepin<sup>1,3</sup>, D. M. Azhibek<sup>3</sup>,  
O. S. Shubernetskaya<sup>1,3</sup>, O. V. Shpanchenko<sup>1\*</sup>, O. A. Dontsova<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> *M. V. Lomonosov Moscow State University, Chemistry Department,  
Moscow 119991, Russia; E-mail: olgash@genebee.msu.ru*

<sup>2</sup> *M. V. Lomonosov Moscow State University, A. N. Belozersky  
Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow 119991, Russia*

<sup>3</sup> *Skolkovo Institute of Science and Technology, ul. Novaya 100,  
Skolkovo, Odintsovsky District, Moscow Region 143025, Russia*

Received October 23, 2014

Revision received November 14, 2014

Telomerase is the key element of the unlimited division of eukaryotic cells. Telomerase synthesizes short DNA repeats at the 3' chromosomal ends of the DNA that ensure stability of the genome during cell division. Telomerase is active in most types of cancer cells and is absent in somatic cells with rare exceptions. This fact suggests that the inhibition of telomerase activity as a possible approach to tumor therapy. Telomerase is a nucleoprotein composed of two main components: a catalytic subunit, the reverse transcriptase (hTERT), and telomerase RNA (hTR), the coding matrix for the synthesis of repeats. This opens opportunities for the inhibition of telomerase by complementary interactions with nucleic acids. In this review, we analyze possible ways and mechanisms of telomerase inhibition by native and modified oligonucleotide inhibitors. We also discuss the application of telomerase-directed oligonucleotide conjugates for tumor cell imaging *in vivo*.

*Key words:* human telomerase, telomerase inhibitors, anticancer therapy, oligonucleotide, tumor cell imaging