

УДК 576.316.24:599

БИОЛОГИЯ ТЕЛОМЕР МЛЕКОПИТАЮЩИХ

© 2012 г. Н. С. Жданова*, Ю. М. Минина, Н. Б. Рубцов

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск 630090

Поступила в редакцию 06.12.2011 г.

Принята к печати 23.12.2011 г.

Обзор посвящен рассмотрению широкого круга вопросов, связанных с функционированием в нормальных и бессмертных клетках млекопитающих теломер — важных элементов хромосомы, представляющих собой динамичные нуклеопротеиновые структуры, локализованные на концах хромосом и предохраняющие их от деградации и слияний “конец в конец”. Функциональное состояние теломер зависит от многих параметров: активности теломеразы, статуса защитного теломерного комплекса shelterin и ассоциированных с теломерами белков (факторов репликации, рекомбинации и репарации разрывов ДНК и т.д.). Особое внимание в обзоре уделяется рассмотрению механизмов, контролирующих длину теломер в нормальных и бессмертных клетках, а также в клетках, содержащих активную теломеразу, и в клетках без нее. Критически проанализированы характеристики альтернативного способа контроля длины теломер, главным образом, в связи с недавно открытым механизмом укорочения длины теломер путем вырезания t-петли. Рассмотрены возможности экспрессии в нормальных клетках млекопитающих как теломеразозависимого, так и рекомбинационного путей контроля длины теломер, а также роль компонентов защитного теломерного комплекса в выборе доминирующего способа поддержания длины теломер. Кроме того, в обзоре уделяется внимание роли теломер в пространственной организации ядра в клетках, делящихся путем митоза и мейоза, а также особенности биологии теломер в клетках разных видов млекопитающих, в том числе в клетках бурозубки иберийской, содержащих хромосомы необычной или редко встречающейся структуры.

Ключевые слова: теломера, млекопитающие, теломераза, репликация теломер, теломерная РНК, альтернативное удлинение теломер, защитный теломерный комплекс, репликативное старение, механизмы определения длины теломер.

MAMMALIAN TELOMERE BIOLOGY, by N. S. Zhdanova*, J. M. Minina, N. B. Rubtsov (Institute of Cytology and Genetics, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia; *e-mail: zhdanova@bionet.nsc.ru). Review is devoted to detailed consideration of the functioning in normal and immortal cells of one of the main chromosomal regions, telomeres, being dynamic nucleoprotein structures that cap the ends of eukaryotic chromosomes, protecting them from degradation and end-to-end fusion. The role of telomeres in maintenance of genome stability and cell division was also analyzed. Telomere function depends on many interrelated parameters such as telomerase activity, status of the telomere safety complex shelterin and telomere associated proteins (factors of replication, recombination, and reparation of DNA breaks, and so on). We have focused on mechanisms of telomere length control in normal and immortal cells as well as in cells containing active telomerase and cells wherein it is absent. We have analyzed the features attributed to alternative telomere lengthening, namely in view of recently discovered additional mechanism of telomere shortening by trimming of t-cycles. We have viewed a possibility of expression in normal mammalian cells of both telomerase de-

Принятые сокращения: ALT (alternative lengthening of telomeres) — альтернативное удлинение теломер; APBs (ALT-associated PML bodies) — обнаруженные в ALT-клетках PML-тельца; ITSs (interstitial telomeric sites) — интерстициальные теломерные сайты; PML-тельца (promyelocytic leukemia nuclear bodies) — ядерные тельца, содержащие промиелоцитарный лейкозный белок; POT1 (protection of telomeres protein 1) — входящий в состав защитного теломерного комплекса защитный теломерный белок 1; RAP1 (Ras-related protein 1) — входящий в состав защитного теломерного комплекса белок — член семейства белков Ras, первоначально обнаруженных в саркоме крысы (rat sarcoma); RNAPII — РНК-полимераза II; TERC (telomerase RNA component) — входящая в состав теломеразы РНК (теломеразная РНК); TERRA (telomeric repeat-containing RNA) — содержащая теломерные повторы РНК (теломерная РНК); TERT (telomerase reverse transcriptase) — входящая в состав теломеразы обратная транскриптаза; TIN2 (TRF1-interacting nuclear factor 2) — взаимодействующий с TRF1 ядерный фактор 2; TPP1 (tripeptidyl-peptidase 1) — трипептидил пептидаза 1; TRF (telomere repeat factor) — фактор, взаимодействующий с теломерными повторами; TRD (telomere rapid deletion) — быстрая делеция теломер.

* Эл. почта: zhdanova@bionet.nsc.ru

pendent and recombinational ways of telomere length control and the role of shelterin proteins in choice of the one of them as the dominant way. The role of telomeres in spatial organization of nucleus, in mitosis and meiosis has been also considered. Diversity of telomere organization in mammals including unusual telomeres in Iberian shrews has been discussed.

Keywords: telomere, mammalian, telomerase, telomere replication, TERRA, ALT, complex shelterin, replicative senescence, mechanisms of telomere maintenance.

Геномы эукариотических организмов представляют собой гигантские молекулы ДНК, которые сложным образом компактизованы в индивидуальные элементы — хромосомы. В большинстве случаев их число и морфология считаются видовым признаком. В ходе клеточной пролиферации сохранение исходного генома требует решения целого ряда проблем, в том числе и обеспечения полной репликации концов хромосом, которые к тому же не должны распознаваться как двунитевые разрывы ДНК. Если концы хромосом будут опознаны как двунитевые разрывы, то их “репарация” приведет к слиянию хромосом, формированию дицентриков и вступлению их в цикл перестроек, получивших название “мост-разрывное слияние-мост” [1]. Показано, что возникновение даже одного разрыва может приводить к серии перестроек, затрагивающих многие хромосомы [2, 3]. В случае “недорепликации” концов хромосом при каждом делении клетки может происходить потеря части хромосомной ДНК, что, в конце концов, приведет к потере жизненно важных генов. Впервые на неспособность ДНК-полимеразы полностью реплицировать 5'-конец отстающей в ходе репликации нити ДНК после деградации РНК-праймера обратил внимание Алексей Матвеевич Оловников в своей теории маргинотомии [4, 5]. Его предположение, что для репликации концов хромосом необходим специальный механизм, вскоре получило экспериментальное подтверждение. За изучение механизма репликации теломерных районов хромосом в 2009 г. Элизабет Блэкберн, Кэрол Грейдер и Джеку Шостаку была присуждена Нобелевская премия в области физиологии и медицины.

К решению проблемы стабильности хромосом и кариотипа в целом Генри Меллер подошел с другой стороны. Изучая влияние рентгеновского облучения на хромосомы *Drosophila melanogaster*, он обнаружил, что хромосомы, потерявшие терминальные районы, сливаются с образованием хромосомных перестроек. В связи с этим он предположил, что концевой участок хромосомы содержит “ген”, необходимый для “запечатывания конца хромосомы”, и назвал его теломерой от греческого “телос” (конец) и “мерос” (часть), (цит. по [6]). К аналогичному выводу пришла также Барбара Мак Клинтон (McClintock) [7], изучая стабилизацию разорванных концов хромосом кукурузы.

В этом обзоре мы рассмотрим, как устроена теломера хромосом млекопитающих и как она функционирует у разных видов, какую роль играют теломеры в делении нормальных клеток и при превращении нормальной клетки в бессмертную, какие механизмы лежат в основе функционирования теломер и изменения их длины, какова роль теломер в пространственной организации ядер.

СТРУКТУРА ТЕЛОМЕР

К настоящему времени установлено, что теломеры представляют собой нуклеопротеиновые структуры, ДНК-компонент которых у человека и других млекопитающих на отстающей в ходе репликации нити состоит из повторяющейся шестерки нуклеотидов (TTAGGG)_n [8, 9]. В состав теломер входит также теломерная РНК (TERRA, telomeric repeat-containing RNA). Теломеры человека содержат 5–15 т.п.н. теломерного повтора [10]. G-обогащенная нить ДНК теломеры заканчивается одонитевым 3'-концом. У человека он содержит от 30 до 600 н. [11, 12]. Существующее единообразие в ориентации теломерных повторов предотвращает слияние теломер, которое могло бы происходить при гомологичной рекомбинации ДНК. Если же такая рекомбинация все-таки случается, то это приводит к изменению размера теломер: их укорочению или удлинению. Эта особенность строения концов хромосом объясняет тот факт, что робертсоновские слияния акроцентрических или телоцентрических хромосом происходят достаточно редко — лишь при случайном нарушении ориентации теломерных повторов. Такой механизм слияния телоцентриков, как предполагается, реализуется при формировании хромосомных рас у домового мыши *Mus musculus* [13]. Другим способом формирования хромосомных рас, различающихся полиморфизмом по робертсоновским слияниям, может быть рекомбинация между прителомерными районами негомологичных акроцентрических хромосом, содержащих консервативные повторы в противоположной ориентации. [13, 14]. Показано, что хромосомная нестабильность обусловлена негомологичной рекомбинацией теломерных повторов [15, 16].

Кроме как в теломерах, теломерная ДНК обнаружена в интерстициальных хромосомных сайтах (ITSs, interstitial telomeric sites). Чаще всего они

локализованы в прицентромерных районах хромосом, в районах ядрышковых организаторов, районах локализации конститутивного гетерохроматина и эволюционных хромосомных перестроек. ITSs описаны для большинства изученных видов позвоночных, в том числе и млекопитающих [17, 18]. Подробно формирование ITSs и их дальнейшая судьба в геноме рассмотрены нами ранее [18]. Здесь же мы лишь укажем, что известно два типа ITSs: первый содержит прямые теломерные повторы, а второй — повторы, ориентированные “голова к голове”. Считается, что образование ITSs первого типа связано с участием теломеразы в репарации двунитевых разрывов ДНК, образующихся в ломких сайтах хромосом половых клеток. Для образования таких кластеров достаточно трех–четырёх нуклеотидов, гомологичных теломерной ДНК [19, 20]. Формирование же ITSs второго типа связано со слиянием теломер. Такого рода ITSs обнаружены, например, у человека в районах 2q13 и 1q41. Будучи маркерами районов хромосомной нестабильности, ITSs в свою очередь, как любые другие микросателлиты, могут способствовать увеличению частоты негомологичной рекомбинации и возникновению новых групп сцепления [21]. Кроме того, в случае разрывов по сайтам нестабильности, содержащим теломерные/теломероподобные последовательности, их наличие на разорванных концах может способствовать теломеризации таких участков и превращению их в полноценные концы хромосом. Непосредственно к теломерам прилегают субтеломерные районы, которые отделяют теломеру от основной части хромосом.

При изучении структурной организации теломеры обнаружено, что при правильной конфигурации однонитевой конец загибается назад и образует большую теломерную петлю (t-петлю). При этом он внедряется в двунитевой район теломеры и замещает одну из теломерных нитей. В результате образуется малая теломерная петля — D-петля (рис. 1). Образующаяся структура “кепирует” (“запечатывает”) конец хромосомы, так что он перестает распознаваться как двунитевой разрыв. Т- и D-петли наблюдали при электронномикроскопическом анализе теломерной ДНК [22, 23]. Как правило, в клетке кепированы не все хромосомы; при этом более длинные хромосомы кепированы чаще, чем короткие [24, 25].

ЗАЩИТНЫЙ ТЕЛОМЕРНЫЙ КОМПЛЕКС SHELTERIN

Важный компонент теломеры — специальный защитный комплекс shelterin, состоящий у человека из шести белковых субъединиц: TRF1 (telomere repeat factor 1), TRF2 (telomere repeat factor 2), TIN2 (TRF1-interacting nuclear factor 2), TPP1 (tripeptidyl-peptidase 1), POT1 (protection of telomeres protein 1) и RAP1 (Ras-related protein 1). Shelterin контролирует структуру теломер и предотвращает гомологичную и негомологичную рекомбинацию теломерной ДНК. [26]. Показано, что непосредственно с двунитевой теломерной ДНК связаны факторы TRF1 и TRF2. С ними связан фактор TIN2, который через TPP1 может сформировать мост с POT1. POT1 — это единственный белок shelterin-комплекса, который связывается непосредственно с однонитевым 3'-концом. Shelterin-комплекс мышей содержит два паролога POT1: POT1a и POT1b, — выполняющие такие же функции, как POT1 в shelterin-комплексе человека [27]. TRF2 также взаимодействует с RAP1, а TRF1 — с POT1 через TPP1. Шесть компонентов shelterin образуют как бы два теломерных компартмента. В одном компартменте прямо или через другие компоненты связаны только с двунитевой частью теломеры, а в другом — как с двунитевой частью, так и с однонитевым концом (рис. 1). Мутации генов, кодирующих белки shelterin, могут вызывать дисфункцию теломер, приводить к рекомбинации теломерной ДНК, остановке клеточного деления и апоптозу [26].

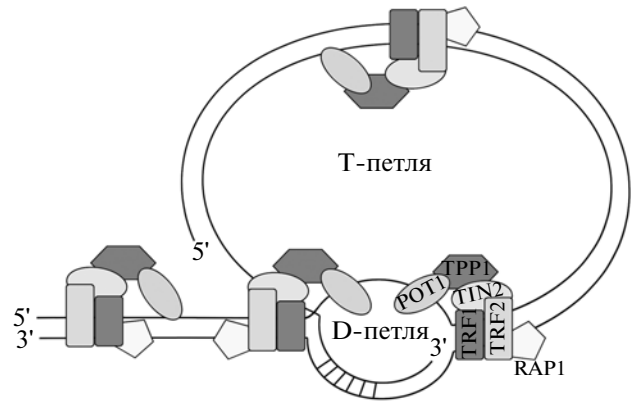


Рис. 1. Схематическое представление структуры конца теломеры и локализация компонентов защитного теломерного комплекса.

eres protein 1) и RAP1 (Ras-related protein 1). Shelterin контролирует структуру теломер и предотвращает гомологичную и негомологичную рекомбинацию теломерной ДНК. [26]. Показано, что непосредственно с двунитевой теломерной ДНК связаны факторы TRF1 и TRF2. С ними связан фактор TIN2, который через TPP1 может сформировать мост с POT1. POT1 — это единственный белок shelterin-комплекса, который связывается непосредственно с однонитевым 3'-концом. Shelterin-комплекс мышей содержит два паролога POT1: POT1a и POT1b, — выполняющие такие же функции, как POT1 в shelterin-комплексе человека [27]. TRF2 также взаимодействует с RAP1, а TRF1 — с POT1 через TPP1. Шесть компонентов shelterin образуют как бы два теломерных компартмента. В одном компартменте прямо или через другие компоненты связаны только с двунитевой частью теломеры, а в другом — как с двунитевой частью, так и с однонитевым концом (рис. 1). Мутации генов, кодирующих белки shelterin, могут вызывать дисфункцию теломер, приводить к рекомбинации теломерной ДНК, остановке клеточного деления и апоптозу [26].

Рассмотрим коротко основные функции компонентов shelterin. TRF1 осуществляет непосредственный контроль за длиной теломер, способствуя репликации теломерной ДНК [28]. TRF2 участвует в репрессии ATM-сигнального пути и негомологичной рекомбинации, предотвращает слияние концов хромосом. Белок RAP1 считается ключевым фактором в репрессии гомологичной рекомбинации и может предотвращать не зависящее от теломеразы удлинение теломер. В клетках человека RAP1 функционирует в тандеме с TRF2 [29], однако у мышей он действует независимо от TRF2 [30]. TPP1/POT1 также необходимы для репрессии гомологичной рекомбинации. Таким образом, целостность теломер и их функционирование напрямую связано с shelterin-комплексом,

концентрацией на теломерах отдельных компонентов комплекса и взаимодействием этих компонентов друг с другом. Хотя подробно shelterin изучен только у двух видов млекопитающих, но, по-видимому, общий план его строения и функционирования одинаков у всех млекопитающих. Тем не менее, у человека и мыши выявлены некоторые особенности состава и характера взаимодействия между отдельными субъединицами.

Удивительно, но ряд белковых факторов, играющих важную роль в репарации ДНК, распознавании разрывов и регуляции клеточного цикла, также ассоциирован с теломерами и играет определенную роль в поддержании их структуры, размеров и нормального функционирования, например: Ku-гетеродимер, комплексы Mre11-Rad50-Nbs1 (MRN) и ATM, а также некоторые другие белковые факторы и комплексы [31]. Показано, что Ku-гетеродимер, связывающийся с двунитевыми разрывами ДНК и необходимый для репарации ДНК путем негомологичной рекомбинации [32], соединяется с каталитической субъединицей теломеразы и таким образом может регулировать количество теломеразы на теломерах [33]. И наоборот, TRF2 и его гомолог у дрожжей, Taz1, напрямую вовлечены в репарацию ДНК [34, 35]. Таким образом, по мнению некоторых исследователей, граница между нормальным функционированием теломера и рекомбинацией/репарацией ДНК оказывается размытой [36].

ТЕЛОМЕРНАЯ РНК

Долгое время считалось, что теломерная ДНК не транскрибируется. Однако в 2007 г. Аззалин (Azzalin) и соавт. [37] показали, что не только в клетках дрожжей, но и в большинстве тканей млекопитающих с С-обогатенной теломерной нити в направлении от центромеры к теломере с помощью РНК-полимеразы II (RNAPII) считывается длинная некодирующая РНК размером до 9 т.п.н. TERRA содержит последовательности, гомологичные как теломерным, так и субтеломерным последовательностям. При этом большая ее часть ассоциирована с теломерами путем взаимодействия с белками TRF1 и TRF2 shelterin-комплекса. В интерфазном ядре TERRA локализована в тех ядерных компартаментах, где происходит репликация теломер, а также в тельцах Кахала — ядерных структурах, в которых происходит сборка РНП [38]. TERRA может быть визуализирована в интерфазных ядрах и на концах хромосом с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ*, FISH (fluorescent *in situ* hybridization) [37]. Взаимодействие TERRA с белком HP1 (heterochromatin protein 1) и триметилированным гистоном H3 (H3K9me3) делает TERRA составной частью теломерного гетерохроматина [39]. Ассоциацию TERRA с хроматином контролируют белки SMG,

известные как супрессоры морфогенетических дефектов в гениталиях (suppressors with morphogenetic defects in genitalia). Связывая TERRA, они защищают теломеры от потери ДНК [37]. Будучи естественным лигандом и ингибитором теломеразы, TERRA регулирует длину теломер [40]. Структура TERRA, ее биогенез и обмен, а также возможная роль в репликации теломерной ДНК, формировании гетерохроматина и регуляции активности теломеразы подробно рассмотрены в двух обзорах [41, 42].

РЕПЛИКАЦИЯ ТЕЛОМЕР

Двунитевой район теломеры реплицируется с помощью обычной репликативной машины. Репликация теломер начинается из точек начала репликации (replication origin), локализованных в субтеломерных районах, и продвигается в одном направлении — к концу хромосом. В ходе репликации С-обогатенная нить теломерной ДНК выступает в роли лидирующей, а G-обогатенная в роли отстающей и реплицируется с помощью фрагментов Оказаки. Из-за специфического нуклеотидного состава и структур, образующихся при кепировании, теломерный хроматин может формировать необычные структуры, которые затрудняют прохождение репликационной вилки. Эта проблема и ее последствия для теломер подробно рассмотрены Джилсоном и Жели (Gilson & Geli) [43]. Достраивание однонитевого конца теломеры осуществляется специальным ферментным комплексом — теломеразой, который восстанавливает длину теломеры и одновременно стабилизирует ее кепированный конец [44, 45]. Вообще, в таком сложном процессе, как репликация теломер, задействованы и взаимно урегулированы многие механизмы: обычной репликации и достраивания однонитевого конца с помощью теломеразы, системы защиты теломер и репарации разрывов в теломерной ДНК, а также пространственной организации хромосом [43].

Теломераза содержит несколько субъединиц. Субъединица, обладающая активностью обратной транскриптазы (TERT; telomerase reverse transcriptase) [46, 47], в качестве матрицы использует теломеразную РНК (TERC; telomerase RNA component) [48], также входящую в состав теломеразы. TERC содержит район, гомологичный однонитевому G-обогатенному 3'-концу. Такое устройство теломеразы позволяет достраивать однонитевой конец теломеры [49–51] (рис. 2). Третий компонент теломеразного комплекса — дискерин (DKC1), модулирующий активность теломеразы путем влияния на уровень TERC в клетке [52, 53]. Подробно структура теломеразы, ее роль в удлинении теломер и подходы к регуляции активности рассмотрены в обзоре Зверевой с соавт. [54].

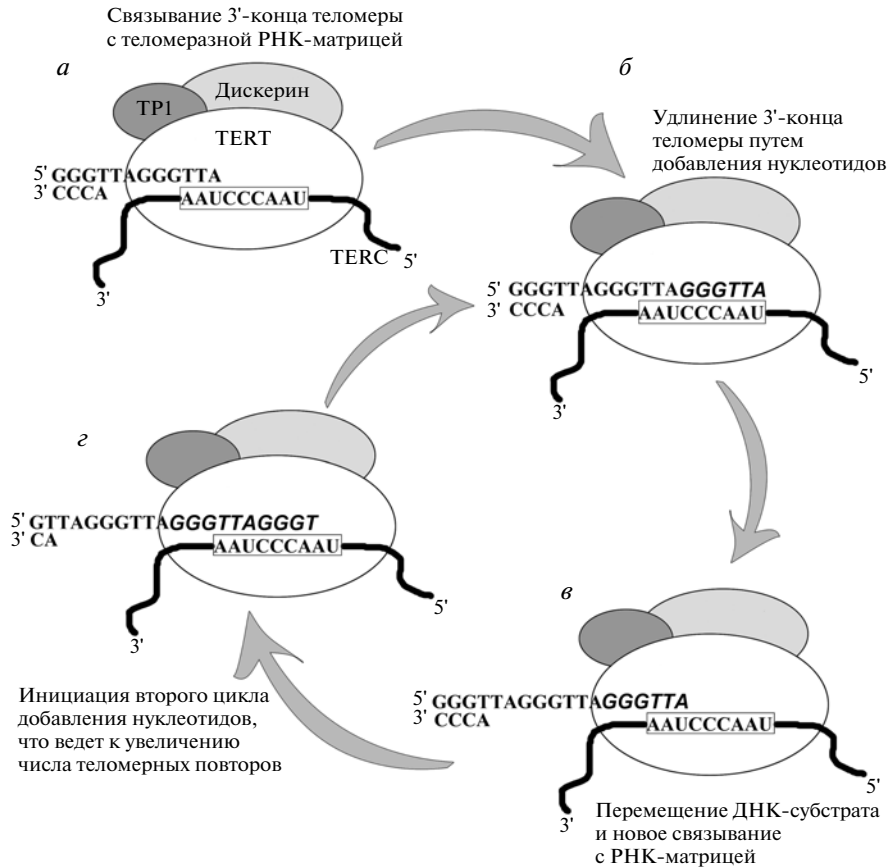


Рис. 2. Схема удлинения теломер с помощью теломеразы, основанная на изучении этого процесса в клетках *Tetrahymena*, человека и дрожжей. Условно в процессе можно выделить 4 фазы. *а* – Распознавание G-обогащенной нити теломерной ДНК (ДНК-субстрата) теломеразой, содержащей в своем составе каталитическую единицу TERT с сайтами закрепления ДНК-субстрата и РНК-матрицу для достраивания G-обогащенной нити. 3'-конец ДНК формирует гибрид с теломеразной РНК, в то время как проксимальный район ДНК взаимодействует с якорными сайтами теломеразы. *б* – Достраивание 3'-конца ДНК-субстрата до 5'-конца РНК-матрицы. *в* – Транслокация теломеразы, в результате чего ДНК-субстрат перемещается и вновь связывается с РНК-матрицей. *г* – Инициация нового цикла достраивания нуклеотидов. Повторяющиеся циклы транслокации и добавления нуклеотидов приводят к увеличению числа теломерных повторов на G-обогащенной нити теломерной ДНК. Удлинение одностороннего конца регулируется РНК-ДНК, TERT-ДНК, TERT-РНК и TERT-TERT взаимодействиями, а также, возможно, нуклеазной активностью и ассоциированными с теломеразой белками.

Участие теломеразы в репликации теломер происходит только при контакте теломеразы с теломерами. Процесс привлечения теломеразы к теломерам изучен недостаточно. Установлено, что в клетках человека ключевую роль в этом процессе играют тельца Кахала и один из компонентов shelterin-комплекса, TPP1, связанный с теломерой через TIN2 [55, 56]. Как мы уже указывали, тельца Кахала играют также важную роль в биогенезе TERRA, которая представляет собой один из ингибиторов теломеразы [38, 40]. Таким образом, компоненты shelterin-комплекса напрямую определяют взаимодействие теломеразы с теломерой.

Показано, что в отдельные периоды S-фазы теломераза ассоциирована только с несколькими теломерами [57]. Это может свидетельствовать о том, что теломеры в клетках млекопитающих реплицируются асинхронно. Действительно, показана,

но, что в отличие от теломер дрожжей, реплицирующихся синхронно в конце S-периода, теломеры в хромосомах клеток индийского карликового оленя (*Indian pygmy deer*) и человека реплицируются асинхронно в течение всего S-периода [58, 59].

Долгое время считалось, что достраивание S-обогащенной теломерной нити после достраивания одностороннего конца теломеразой происходит по принципу комплементарности с помощью обычного механизма репликации и координировано с удлинением G-обогащенной нити. Однако недавно показано, что, по крайней мере, в опухолевых клетках достраивание S-обогащенной нити происходит в поздней S-фазе/начале G2-периода (не зависимо от того, когда в S-фазе реплицировалась G-обогащенная нить) и представляет собой теломеразо-зависимый процесс [60]. Авторы исследования предложили модель, согласно кото-

рой репликация теломер связана с циклическими превращениями теломер, расплетанием ДНК и кепированием теломеры.

ТЕЛОМЕРАЗА И ТЕЛОМЕРЫ В РЕПЛИКАТИВНОМ СТАРЕНИИ И ОНКОТРАНСФОРМАЦИИ

Высокая активность теломеразы характерна для плюрипотентных стволовых клеток человека и клеток на ранних стадиях эмбрионального развития. У человека размер теломер в них составляет 5–15 т.п.н. В ооцитах активная теломераза присутствует на всех стадиях эмбрионального развития, однако по мере созревания активность теломеразы в них заметно уменьшается [61]. Почти во всех нормальных клетках человека с возрастом активность теломеразы постепенно уменьшается и одновременно, в результате концевой недорепликации, нарастает дисфункция теломер: укорочение их до критического размера и увеличение числа некепированных [62]. В большинстве делящихся путем митоза соматических клеток взрослых индивидов активная теломераза практически не выявляется. Такие клетки перестают делиться и вступают в так называемое репликативное старение [63, 64]. В клетках лиц преклонного возраста теломеры могут содержать в среднем от 0.9 т.п.н. в фибробластах кожи до 11 т.п.н. теломерного повтора в клетках крови [65]. При исследовании с помощью Q-FISH-технологии теломер в стареющих культивируемых фибробластах человека показано, что их размер составляет 0.4–1.8 т.п.н., а при каждом делении теломеры теряют 25–51 п.н. Замечено, что наступлению момента репликативного старения предшествует этап укорочения теломер до критического размера [66]. Как следствие дисфункции теломер, при репликативном старении происходит активация сигнального пути репарации разрывов ДНК и следующая за этим негомологичная рекомбинация, приводящая к слиянию хромосом по теломерным районам [62]. В региональных стволовых клетках человека процесс репликативного старения выражен существенно слабее, чем в соматических [67–69]. Таким образом, у человека сохранность структуры и размера теломер не только предохраняет концы хромосом от эрозии, но и напрямую отражает митотический возраст клетки и ее способность к делению, что предполагает наличие связи между активностью теломеразы, размером теломер, возрастом индивида и делением клеток. Репрессия теломеразы в стареющих клетках связана с репрессией каталитической субъединицы. Внедрение в геном стареющих клеток активного гена TERT, как правило, приводит к восстановлению теломеразной активности и увеличению длины теломер [70, 71]. Однако до сих пор не ясно, какие

процессы способствуют репрессии гена TERT при репликативном старении клеток.

Важная роль теломер и теломеразы в клеточном делении продемонстрирована также при изучении свойств iPS клеток (induced pluripotent stem cells) [72]. Показано, что в линиях iPS клеток теломеры существенно длиннее, чем в донорских [73], а активность теломеразы выше [74]. При этом частота получения iPS клеток резко падала при использовании в качестве донорских клеток теломеразо-дефицитных мышей (TERT⁻/TERT⁻) третьего поколения с укороченными теломерами [75], т.е. для перепрограммирования соматических клеток в плюрипотентные необходима, по видимому, определенная длина теломер. Любопытный факт: длина теломер как в iPS клетках, так и в ES клетках (embryonic stem cells) мышей увеличивалась по мере их культивирования [75]. Скорее всего, наличие в них сверхдлинных теломер отражает изменение свойств гетерохроматинного теломерного домена при культивировании плюрипотентных клеток *in vitro*, в частности, изменение концентрации одного из белков shelterin-комплекса – TRF1 [76].

Идентификация shelterin-комплекса теломер и выяснение роли отдельных компонентов комплекса в сохранении целостности хромосом привело к предположению, что не только укорочение теломер как таковое может приводить к репликативному старению, но и изменение статуса shelterin-комплекса и активация в связи с этим сигнальных путей репарации ДНК. Показано, что в стареющих фибробластах человека репликативное старение не наблюдается, если концентрация TRF2 достаточна, чтобы предотвратить концевые слияния хромосом, содержащих теломеры, укороченные до критического размера [77].

Несколько по-иному, чем у человека, проходит репликативное старение в клетках лабораторных мышей. Мыши без активной теломеразы (TERC⁻/TERC⁻) могли размножаться в течение шести поколений, а фибробласты, изолированные из таких животных, могли быть введены в культуру. Однако в ряду поколений мышей без активной теломеразы наблюдалось постепенное укорочение теломер – вплоть до исчезновения [78]. Данные свидетельствуют о том, что у мышей активная теломераза необходима для поддержания длины теломер, но деление клеток у этих животных в течение длительного периода может проходить без участия теломеразы. Возможно, что этот феномен связан с наличием у лабораторных мышей сверхдлинных теломер [79, 80].

Большинство исследователей рассматривает заложенную в клетках человека способность к репликативному старению как барьер для злокачественного перерождения клеток [81]. Эти представления вполне согласуются с правилом Хей-

флика, где говорится о том, что в культуре фибробласты человека могут делиться ограниченное число раз, не более 60, причем число возможных делений зависит от возраста донора [82, 83]. Преодоление репликативного старения в бессмертных клеточных линиях человека, в том числе опухолевых, в основном, сопряжено с активацией теломеразы и увеличением длины теломер. Связь между длиной теломер, активностью теломеразы и перерождением клетки в злокачественную рассматривали неоднократно. Здесь мы коротко приведем наиболее распространенный взгляд на этот процесс с точки зрения биологии теломер [84–86]. Предполагается, что, прежде чем стать злокачественной, нормальная клетка человека проходит, как минимум, два критических периода. Первый, или клеточное/репликативное старение (M1), характеризуется резким понижением активности теломеразы и укорочением до критического размера нескольких теломер, которые и участвуют в слиянии хромосом концами. При этом клетки остаются живыми, в них продолжают обменные процессы. Большинство соматических клеток человека находится в этом периоде достаточно долго. В редких случаях, частота которых оценивается как 10^{-7} , в стареющих клетках дополнительно теряется контроль над клеточным делением (например, в отсутствие активации p53 и/или pRb), и клетки начинают делиться. Часть из них может вступить во вторую стадию кризиса клеточного роста (M2), когда все или почти все теломеры укорачиваются до критического размера, а активная теломераза не выявляется. В это время клетки балансируют на грани гибели. Из такого состояния есть 2 выхода: или апоптоз, или сопряженное с реактивацией теломеразы бессмертие, т.е. превращение клетки в злокачественную. При этом клетки с низкой активностью теломеразы не способны долго делиться и, по-видимому, не образуют опухолей. Если же активность теломеразы достаточно высока, то теломеры быстро увеличиваются до размера, большего, чем это необходимо для предотвращения слияния хромосом концами при активации системы репарации двунитевых разрывов ДНК. Такие клетки могут дать начало злокачественным опухолям. Однако на практике таких первичных опухолей менее 10%, и они не имеют селективного преимущества. Большинство злокачественных опухолей имеют стабильные, не слишком длинные теломеры и теломеразу, активность которой близка к таковой в нормальных диплоидных клетках или несколько ниже. Преодоление M2-кризиса – важный этап в опухолевой прогрессии.

Для объяснения роли теломеразы в становлении длины теломер в бессмертных клетках человека предложена концентрационная модель, которая объясняет, как в условиях кризиса клетка выбирает свою судьбу. Согласно этой модели, су-

ществует механизм “cis-положения”, учитывающий какое количество каждого из shelterin-факторов должно быть связано с индивидуальной хромосомой. Предполагается, что если длина хромосомы превышает норму, то с ней связывается больше факторов, чем с теломерой нормальной длины [87, 88]. В результате изменяется доступность теломеры для теломеразы – и она укорачивается. Таким образом, длина теломер в случае преодоления барьеров M1 и M2 в значительной степени определяется как результат обратной зависимости активности теломеразы от концентрации белков shelterin на теломерах. Следует также иметь в виду, что некоторые субъединицы shelterin (TIN2, TRF1 и TPP1) могут влиять на длину теломер независимо от теломеразы [77, 89].

Наряду с хорошо известным механизмом укорочения теломер, связанным с концевой “недо-репликацией”, недавно описан механизм быстрого укорочения теломер – вырезание теломерных повторов на конце сверхдлинных теломер (telomere trimming) в опухолевых клетках [90]. Это явление известно как быстрая делеция теломер (TRD; telomere rapid deletion) у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* [91] и механизм, регулирующий длину теломер у *Arabidopsis thaliana* [92]. В опухолевых клетках человека, содержащих сверхдлинные теломеры, наблюдали t-кольцевую нехромосомную теломерную ДНК. Согласно предложенной авторами модели, чрезмерное удлинение теломер приводит к удалению t-петли в результате внутрихромосомной гомологичной рекомбинации при сползании структуры типа перекреста Холлидея в район формирования петли. У человека этот механизм опосредуется продуктом гена *xrcc3* (Rad51-подобным белком репарации ДНК) и генерирует t-кольцевую ДНК, а в качестве промежуточной – хромосомную укороченную теломерную ДНК с C-обогащенным одноцепочечным 5'-концом. Обычно такого рода процесс не инициирует ответ на разрывы в ДНК, DDR (DNA damage response), и не приводит к слиянию хромосом. Недавно показано, что быстрая потеря теломерной ДНК происходит также в нормальных клетках человека (клетки зародышевого пути у мужчин и лейкоциты, стимулированные к делению обработкой митогеном фитогемагглютинином) и в клетках тканей мышей [93]. Таким образом, длина теломер в опухолевых и нормальных клетках определяется балансом между удлинением и укорочением теломер [94]. При этом важную роль в контроле над длиной теломер играет не только активность теломеразы и статус shelterin-комплекса, но и наличие внутрихромосомной гомологичной рекомбинации по типу TRD.

В настоящее время активность теломеразы и размер теломер в опухолевых клетках рассматривают как прогностический параметр для оценки опухолевой прогрессии [84, 95], а подавление ак-

тивности теломеразы — как одно из возможных направлений в комплексном лечении теломерозо-зависимых опухолей. Некоторые успехи в этом направлении сейчас намечаются [96]. Однако оказалось, что преодоление кризиса клеточного деления бессмертными и опухолевыми клетками не всегда сопряжено с активацией теломеразы.

АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ МЕХАНИЗМ КОНТРОЛЯ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕР

Впервые клетки человека, в которых нет активной теломеразы, описаны Брайан (Bryan) с соотр. [97]. В отличие от нормальных клеток человека в изученных им пятнадцати бессмертных клеточных линиях и первичных опухолях теломеры на хромосомах были гетерогенного размера и содержали до 50 т.п.н. теломерного повтора. В дальнейшем оказалось, что опухоли, не содержащие активной теломеразы, — не редкое явление. В 25–60% случаев астроцитом и сарком и в 5–15% карцином, а также в ряде других опухолей увеличение длины теломер происходит не в результате активации теломеразы, а иным путем, получившим название альтернативного удлинения теломер (ALT; alternative lengthening of telomeres). Чаще всего, ALT наблюдается в опухолях человека мезенхимального происхождения; причина такой избирательности не ясна [98]. Уметь отличать опухоли, в которых наблюдается ALT, от теломерозо-зависимых опухолей чрезвычайно важно, поскольку способ поддержания длины теломер непосредственно влияет на прогноз опухолевой прогрессии [99], а в будущем, возможно, и на подходы к лечению онкологических заболеваний.

Характеристики клеток человека, в которых экспрессирован ALT-путь, суммированы в обзоре Хенсон и Реддель (Henson & Reddel) [98]. Ниже мы попробуем провести критический анализ главных из них.

- 1) Наличие в клетках теломер при отсутствии в них в течение длительного периода времени активной теломеразы.
- 2) Гетерогенность размера теломер в одной и той же клетке и флуктуации размера теломер в ходе культивирования клеток: от очень длинных, содержащих более 100 т.п.н. теломерного повтора, до очень коротких, не выявляющихся методом FISH с PNA (protein nucleic acid) теломерной пробой [100]. Часто в ALT-клетках наблюдается также “функциональное” укорочение теломер, связанное с наличием частично деградированных теломерных последовательностей [101]. Следует заметить, что гетерогенность размеров теломер характерна также для клеток, в которых длина теломер контролируется механизмом быстрого укорочения теломер (telomere trimming) [90, 93].
- 3) Наличие в ALT-клетках промиелоцитарных лейкозных ядерных телец (PML-телец; promyelocytic leukemia nuclear bodies), получивших название APBs (ALT-associated PML bodies). APBs представляют собой характерную для ALT-клеток разновидность PML-телец. APBs отличаются от PML-телец тем, что они содержат компоненты shelterin-комплекса, кольцевую и линейную теломерную ДНК, а также факторы репарации и рекомбинации ДНК. Недавно показано, что с одним APB контактирует сразу несколько теломер, соединенных между собой тонкими мостиками теломерной ДНК. По-видимому, этот факт играет важную роль в рекомбинации между теломерами гомологичных и гетерологичных хромосом. Следствием такой рекомбинации может быть межхромосомный обмен участками теломерной ДНК разного размера, что вносит определенный вклад в гетерогенность длины теломер в ALT-клетках [102]. Возможно, из-за небольшого размера APBs выявляются не во всех ALT-клеточных линиях. С другой стороны, они найдены и в некоторых теломерозо-зависимых линиях, содержащих сверхдлинные теломеры и реализующих механизм быстрого укорочения длины теломер [90, 93].
- 4) Наличие высокого уровня пострепликативных теломерных сестринских хроматидных обменов (T-SCE; telomere sister chromatid exchange), не связанных с повышением частоты сестринских хроматидных обменов в других районах хромосом [103]. Первоначально высокий уровень T-SCE рассматривали как несомненный признак наличия в клетках ALT-активности [104]. Однако параллельно стали развиваться представления, согласно которым наряду с геномными сестринскими обменами в нормальных диплоидных клетках млекопитающих могут происходить и T-SCE. Причем в некоторых нормальных клетках, например, в эмбриональных фибробластах мышей и первичных фибробластах иберийской бурозубки, их частота может быть сравнимой с частотой в ALT-клетках человека [105, 106]. Возможно, наличие T-SCE в нормальных клетках отражает высокую частоту обменов в теломерных районах хромосом, повышенную по сравнению с остальными хромосомными районами в 160 раз [107].
- 5) Для ALT-клеток характерен повышенный уровень t-кольцевой ДНК и теломерной ДНК с однонитевым C-обогаченным 5'-концом, что свидетельствует о наличии в ALT-клетках гомологичной рекомбинации теломерной ДНК. Однако внутрихромосомная гомологичная рекомбинация и перичисленные выше признаки ее наличия выявлены также в нормальных клетках, когда контроль над длиной теломер осуществляется с помощью механизма быстрого укорочения теломер [93].

Таким образом, проанализировав признаки ALT в клетках, можно сделать вывод, что практи-

чески единственный, характерный только для ALT-клеток, признак — это отсутствие в них активной теломеразы.

Механизм ALT до конца не ясен. Большинство исследователей склоняется к тому, что в бессмертных клетках человека в ALT вовлечены гомологичная рекомбинация и репликация экстрахромосомной теломерной ДНК по механизму катящегося кольца с последующей интеграцией нехромосомной ДНК в теломеры [108–111]. Однако не ясно, как клетка выбирает, какой механизм ей использовать для преодоления клеточного старения: реактивировать теломеразу или механизм гомологичной рекомбинации. Возможно, что причина активации именно рекомбинационных процессов связана с возникающей в ALT-клетках диспропорцией между количеством теломерной ДНК и белками shelterin-комплекса [110]. Как мы упоминали выше, важную роль в репрессии гомологичной рекомбинации играют RAP1 и TRP1/POT1. Нарушение их взаимодействия с теломерной ДНК может приводить к активации гомологичной рекомбинации и, как следствие, к ALT. Как мы видели выше, схожие процессы могут происходить и в клетках с активной теломеразой.

Первоначально доказательство того факта, что в случае отсутствия активной теломеразы в восстановлении теломер задействована рекомбинация ДНК, получено на дрожжах *S. cerevisiae*. Колонии, выживавшие в отсутствие активной теломеразы, были двух типов: медленно и быстро растущие. Для их появления был необходим RAD52 [112]. Восстановление длины теломер в медленно растущих колониях проходило по типу I, характеризующемуся, главным образом, амплификацией Y'-субтеломерных элементов, представляющих собой несколько субтеломерных повторов размером 6.7 т.п.н. При этом Y'-элементы были разделены короткими вставками теломерных повторов размером от 50 до 150 п.н, а сами теломеры были небольшого размера. Для выживания таких колоний, кроме RAD52, требовались факторы Rad51, Rad54, Rad55 и Rad57 [113]. Удлинение теломер в быстро растущих колониях (тип II) происходило с помощью амплификации только теломерных повторов. В этом случае для выживания колоний требовалось также наличие активного комплекса MRX (Mre11-Rad50-Nbs1) [113–115]. Действительно, показано, что Rad50 и Nbs1 играют важную роль в выживании ALT-клеток человека [116]. Эти и другие факты [108, 117–120] свидетельствуют о том, что механизм восстановления длины теломер в ALT-клетках человека похож на механизм восстановления теломер в колониях типа II *S. cerevisiae* и достаточно хорошо описывается гомологичной рекомбинацией, тогда как выживание колоний типа I *S. cerevisiae* зависит от негомологичной рекомбинации.

До последнего времени возможность того, что ALT-клетки млекопитающих могут использовать нескольких различных путей для восстановления теломер, не рассматривалась. Однако некоторые различия, обнаруженные Морриш и Грейдер (Morrish & Greider) [121] между ALT-клетками человека и мыши, трактуется ими как свидетельство того, что в некоторых случаях в ALT-клетках может быть активирован механизм негомологичной рекомбинации теломерной ДНК. По их мнению, один тип удлинения теломер, похожий на тип II в дрожжах и основанный преимущественно на гомологичной рекомбинации, доминирует в ALT-клетках человека, а другой, похожий на тип I в дрожжах и основанный на негомологичной рекомбинации, — в опухолях мышей и в нормальных клетках человека. В последнем случае авторы наблюдали не увеличение размера теломер, а некоторое их укорочение, сопровождающееся флуктуацией размеров. Они пришли к выводу, что в ALT-клетках процессы негомологичной рекомбинации запускает не отсутствие теломеразы как таковой, а именно укорочение теломер и, возможно, нарушение их кепирования [121]. Однако не исключено, что всем этим особенностям: укорочению, флуктуациям длины и нарушению кепирования — теломеры обязаны не негомологичной рекомбинации, а механизму быстрого укорочения теломер.

Поскольку в соматических гибридах человека, полученных из теломеразозависимых и ALT-клеток, наблюдалась репрессия ALT, то предполагалось, что теломеразозависимый путь восстановления длины теломер доминирует над ALT, и в клетках существуют факторы подавления ALT [122]. Однако таковые до сих пор не найдены. Тем не менее, известны бессмертные клеточные линии человека, в которых при сохранении теломеразной активности наблюдались также признаки ALT [123–125]. Более того, оказалось, что в клетках некоторых ALT-линий не наблюдалось репрессии ALT после восстановления активности теломеразы путем трансдукции дополнительного гена TERT [125]. Характерно также, что в раннем эмбриональном развитии мыши есть периоды, когда ALT соседствует и даже преобладает над теломеразозависимым удлинением теломер [126]. Приведенные данные позволяют считать, что в клетках млекопитающих, очевидно, могут одновременно функционировать теломеразозависимый и рекомбинационный пути контроля над длиной теломер, которые и определяют их размер. При этом в разных по физиологии клетках, а возможно, и у разных видов животных удельный вес рекомбинационного пути может быть различным. В нормальных клетках человека он, по-видимому, невелик и ограничен механизмом быстрого укорочения длины теломер. Возможно, что в отсутствие теломеразы контроль над длиной теломер во многом осуществляется shelterin-ком-

плексом, выполняющим важнейшую функцию регуляции гомологичной и негомологичной рекомбинации теломерной ДНК. Вопрос о том, что же такое ALT и существуют ли принципиальные различия между ALT и одним из способов контроля длины теломер в нормальных клетках, на сегодняшний день представляется открытым.

ТЕЛОМЕРЫ И АРХИТЕКТОНИКА ИНТЕРФАЗНЫХ ЯДЕР

Одна из интереснейших проблем, имеющих отношение к биологии теломер, – влияние теломер на архитектуру интерфазных ядер. Уже в первых работах по изучению пространственной локализации теломер было показано, что в ядрах лимфоцитов мышей значительное число теломерных кластеров локализовано на периферии клеточного ядра, тогда как в лимфоцитах человека большинство теломерных кластеров находится во внутреннем пространстве ядер [127, 128]. Поскольку центромеры, как правило, локализованы на периферии ядер, то периферийная локализация части теломер у мышей может отражать тот факт, что хромосомы мыши телоцентрические [14]. Ранее показано, что в интерфазных ядрах млекопитающих комплекс теломерная ДНК–TRF представляет собой отдельные конденсированные структуры, связанные с ядерным матриксом [129]; причем белки shelterin-комплекса TRF входят в состав ядерного матрикса. Поскольку весьма вероятно, что с ядерным матриксом связан также репликативный комплекс [130], то возможна связь между характером репликации теломер и их положением в ядре. Эти представления получили развитие в работе Арно (Arnoult) с соотр. [59]. Они выявили зависимость между временем репликации теломер в хромосомах человека и их позицией в ядре. Поздно реплицирующиеся теломеры предпочтительно локализируются на периферии ядер, в то время как рано реплицирующиеся – в других компартментах ядра. Авторы считают, что именно субтеломерные последовательности, в которых расположены точки начала репликации теломерной ДНК, могут влиять как на характер репликации теломер, так и на их положение в ядре. О том, что часть теломер человека может быть локализована на периферии ядер, свидетельствуют также данные Раз (Raz) с соотр. [131], которые обнаружили связь между ядерной ламиной и теломерами. Данные о факторах, влияющих на локализацию теломер млекопитающих, весьма ограничены. Однако периферийная локализация теломер в клетках *S. cerevisiae* позволяет использовать их как модель для изучения механизмов, контролирующих расположение теломер. Оказалось, что на G1-стадии клеточного цикла теломеры заякорены на ядерной оболочке с помощью комплекса Ku80-Sir4p (silent information regulato-

ry) путем взаимодействия Sir4 с Rap1, а во время репликации наблюдается перемещение теломер с периферии во внутреннее пространство ядра. Изменение позиции теломер происходит в результате репрессии во время репликации фактора Ku80 [132]. Таким образом, локализация теломер в ядрах, как дрожжей, так и млекопитающих, по-видимому, напрямую связана с их репликацией.

Считается, что в нормальных диплоидных клетках млекопитающих, в том числе человека, теломеры, как правило, не формируют агрегатов. Образование теломерных агрегатов, приводящее к неслучайному положению теломер/хромосом в ядре, описано для клеток, вступающих в репликативное старение, и для ALT-клеток [102, 131]. Образованию теломерных агрегатов в последних, по-видимому, способствует наличие в них APBs, с каждым из которых контактирует сразу несколько концов хромосом [102]. Недавно APBs неожиданно выявили и в теломеразозависимых опухолевых клетках [90]. Не исключено, что в них обнаружат и ассоциацию теломер, которая, по-видимому, может происходить и в нормальных клетках. Так, теломерные агрегаты обнаружены при изучении пространственной организации ядер первичных фибробластов иберийской бурозубки [133].

Давно известен факт формирования хромосомного букета в профазе I мейоза животных и растений – когда хромосомы теломерами прикрепляются к ядерной оболочке. Считается, что образование теломерного кластера облегчает гомологичное спаривание хромосом и рекомбинацию между ними. У дрожжей образования “букета” не происходит, когда отсутствует компонент shelterin-комплекса Rap1. Однако у млекопитающих формирование хромосомного букета не зависит от наличия/отсутствия ортолога Rap1 [134]. Возможно, что у млекопитающих другие компоненты shelterin взяли на себя эту функцию.

Таким образом, в клетках, делящихся как путем мейоза, так и митоза, теломеры играют важную роль в организации архитектуры клеточного ядра.

БИОЛОГИЯ ТЕЛОМЕР У РАЗНЫХ ВИДОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Размер теломер у плацентарных млекопитающих в основном колеблется от 10 до 50 т.п.н. Исключение составляют лабораторные линии мышей, чьи длинные гипервариабельные теломеры могут содержать от 30 до 150 т.п.н. теломерного повтора [79, 80], в то время как теломеры диких мышей короче, чем у лабораторных собратьев. Длина теломер у *Mus spretus* варьирует от 5 до 25 т.п.н. [135, 136]. Длинные теломеры описаны также для одного из видов бурозубок, бурозубки

иберийской (*Sorex granarius*). Их теломеры на проксимальных концах 32 акроцентриков содержат до 300 т.п.н. теломерного повтора (в среднем 213 т.п.н.), при этом на длинных плечах акроцентриков и на концах двуплечих хромосом локализованы короткие теломеры, средний размер которых составляет 3.8 т.п.н. [137, 138]. У вида-близнеца, бурозубки обыкновенной (*Sorex araneus*), теломеры по размеру схожи с теломерами человека [139].

Полагают, что определенную роль в формировании теломер играют генетические факторы. Резкое увеличение длины теломер у мышей лабораторных линий связывают с инбридингом. Наиболее длинные теломеры описаны в линиях, подвергавшихся наиболее длительному инбридингу [140]. Предполагают, что различия в длине теломер *M. musculus* и *M. spretus* обусловлены действием хеликазы Rtel1, чей ген локализован на хромосоме 2 [141]. Показано, что Rtel1 играет важную роль в стабильности генома мыши: участвует в репарации двунитевых разрывов ДНК и выступает регулятором митотической и мейотической рекомбинации. В Rtel1-дефицитных клетках наблюдается неконтролируемая гомологичная рекомбинация. Как регулятор гомологичной рекомбинации Rtel1 может быть одним из факторов, определяющих выбор ALT-пути в клетках мыши. Однако неизвестно, задействована ли эта хеликаза в регуляции длины теломер у человека [142].

Установлено, что средняя длина теломер человека варьирует, и этот параметр считается количественным мультигенным признаком. По разным оценкам, наследственная составляющая этого показателя колеблется в диапазоне от 35% до 80% [143, 144]. Локусы, влияющие на длину теломер у человека, картированы на хромосоме 12 (предположительно, это ген *ddx11* ДНК-хеликазы [145]), хромосоме 14 и, возможно, хромосомах 10 и 3 [146]. Выявлено также отрицательное влияние на длину теломер SNP в интроне 1 гена *bicd1* (*bicaudal-D homolog 1*) [147]. Кроме того, выявлена связь между длиной теломер и локусом *obfc1* (*oligonucleotide/oligosaccharide-binding fold containing protein 1*) [148].

За исключением *obfc1*, остальные факторы, очевидно, не имеют прямого отношения к регуляции длины теломер. Продукт экспрессии гена *obfc1* может связываться с одонитевой теломерной ДНК и, таким образом, участвовать в регуляции функционирования теломер. Мутация, в результате которой повышается уровень экспрессии *obfc1*, приводит к увеличению длины теломер [148, 149].

Непосредственное влияние на длину теломер в клетках человека оказывает уровень активности теломеразы. В связи с этим предпринимался ряд попыток, призванных выявить связь между мута-

циями в генах *TERT* и *TERC*, с одной стороны, и длиной теломер у человека, с другой стороны. Известно, что ряд мутаций в генах *TERT* и *TERC* связан с некоторыми наследственными и онкологическими заболеваниями. У таких пациентов теломеры укорочены и, по-видимому, происходит преждевременная потеря стволовых гематопоэтических клеток [150]. Данные о генетическом контроле активности теломеразы и длине теломер у здоровых лиц достаточно противоречивы. Недавно показано, что хромосомы здоровых долгожителей у евреев ашкенази и их потомков характеризуются более длинными, по сравнению с контрольной группой лиц, теломерами и повышенной экспрессией как *TERT*, так и *TERC*. Также выявлен такой гаплотип *TERT*, который непосредственно связан с наличием длинных теломер у долгожителей [151]. Авторы предполагают, что положительно влияющие на длину теломер мутации гена теломеразы также могут оказывать влияние на здоровье человека и продолжительность его жизни в целом. Однако широкомасштабные геномные исследования, в которых пытались выявить связь между SNP в локусе *TERC* и длиной теломер у человека, не дали таких однозначных результатов. Результаты исследований Леви (Levy) с соотр. [149] подтвердили связь между *TERC* и длиной теломер, тогда как в другой работе, Прескотт (Prescott) с соотр. [36], достоверной связи между ними не выявлено. Таким образом, не подлежит сомнению, что генетические факторы влияют на длину теломер человека, однако до сих пор не ясно, какие именно гены играют в этом главную роль.

В настоящее время установлено, что репрессия теломеразы в соматических тканях млекопитающих — далеко не универсальное явление. Так, в большинстве соматических тканей мышей, а также в культивируемых *in vitro* при физиологических концентрациях углекислого газа фибробластах мышей не наблюдается ни репликативного старения, ни подавления активности теломеразы [152]. В обзоре Горбуновой и Селуянова (Gorbunova & Seluanov) [153] представлены данные об активности теломеразы в соматических клетках видов из нескольких отрядов млекопитающих. За некоторым исключением, активность теломеразы изменялась параллельно весу тела животных, но корреляции между активностью теломеразы и продолжительностью жизни животных не выявлено. Наиболее обширное исследование по биологии теломер млекопитающих проведено Гомес (Gomes) с соотр. [154]. Для 60 видов млекопитающих из разных отрядов сравнили четыре параметра: длину теломер, активность теломеразы, продолжительность жизни и вес животных. Также как в исследовании Горбуновой и Селуянова [153], положительная корреляция выявлена между активностью теломеразы и весом животных.

Однако между длиной теломер и продолжительностью жизни животных была обнаружена обратная зависимость. Сделанные выводы подтвердили и результаты, полученные при анализе изучаемых параметров в пределах каждого отдельного отряда. Помимо этого, авторы провели реконструкцию предполагаемого предкового варианта теломер плацентарных млекопитающих. Оказалось, что теломеры гипотетического предка млекопитающих имели длину менее 20 т.п.н., как у человека, а его клетки были способны к репликативному старению. Авторы полагают, что репликативное старение возникло в результате адаптации к теплокровному образу жизни как компенсация увеличивающегося при этом пула мутаций. Эволюционный подход к биологии теломер позволил сделать вывод о том, что вклад репликативного старения в опухолевую супрессию несомненен, однако это только один из многих факторов, определяющих продолжительность жизни разных видов млекопитающих. Хотя необходимы дальнейшие исследования биологии теломер у разных видов млекопитающих, уже имеющиеся данные позволяют рассматривать роль биологии теломер млекопитающих в контексте старения организма и возникновения у человека злокачественных новообразований.

Любопытен факт обнаружения у неплацентарных млекопитающих прерывистых теломер — когда фрагменты теломерной ДНК в несколько т.п.н. длиной перемежаются фрагментами ДНК, содержащими сайты рестрикции нетеломерной ДНК [154]. Схожие по строению теломеры описаны для одного из видов бурозубок, бурозубки иберийской. Локализованные на проксимальных концах акроцентриков вставки в прерывистые длинные теломеры бурозубки иберийской содержат рибосомную ДНК. Как говорилось выше, бурозубки иберийская и обыкновенная представляют собой виды—близнецы. Их кариотипы составлены практически из одинаковых хромосомных плеч [137, 138]. Но если у бурозубки иберийской ядрышковые организаторы локализованы на проксимальных концах всех акроцентрических хромосом, то у бурозубки обыкновенной они располагаются в терминальных районах четырех плеч и прилегают к теломерам [138]. Считается, что предшественником бурозубки иберийской была хромосомная раса *Cordon* бурозубки обыкновенной, от которой она отличается распадом нескольких двуплечих хромосом. Можно предположить, что прерывистые теломеры бурозубки иберийской образовались из теломер, схожих по длине с теломерами бурозубки обыкновенной/человека, в результате глобальной реорганизации терминальных районов хромосом, спровоцированной необходимостью формирования новых теломер [138, 139]. Возможно, что на стадии хромосомного букета в мейозе между концами хро-

мосом произошла межхромосомная рекомбинация, затронувшая теломерные и прилегающие к ним рибосомные последовательности, следствием чего стало копирование их в гомологичные и гетерологичные концы хромосом. Похожий механизм может лежать в основе образования прерывистых теломер и у неплацентарных млекопитающих.

Теломеры — это хромосомные структуры, необходимые для нормального функционирования хромосом. С небольшими вариациями нуклеопротеиновый теломерный комплекс млекопитающих универсален. Важные показатели функционального статуса теломер — их длина и наличие/отсутствие кепирования конца теломеры. Теломеры представляют собой динамичные структуры, длина которых определяется взаимодействием многих факторов: активностью теломеразы, статусом защитного теломерного комплекса и ассоциированных с теломерами факторов репликации, рекомбинации и репарации разрывов ДНК и т.д. Слаженная работа этой сложной многокомпонентной системы обеспечивает стабильность генома, предупреждает апоптоз и онкотрансформацию клеток, участвует в пространственной организации клеточного ядра. К важным достижениям последних лет можно отнести открытие механизма быстрого укорочения длины теломер в нормальных диплоидных клетках, который так же, как и механизм ALT, основан на гомологичной рекомбинации теломерной ДНК. Этот факт подводит общий знаменатель под два кажущихся разными пути определения длины теломер: теломеразо-зависимый и альтернативный. Тем не менее, изучение теломер показало, что биология теломер, в частности их размер и способ поддержания длины и структуры, может отличаться даже у представителей одного отряда млекопитающих. Подробное изучение биологии теломер у видов, не традиционных для этой области исследований, позволит лучше понять принципы организации теломер и их функционирования.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 10-04-00133-а) и Программы фундаментальных исследований Президиума РАН “Биологическое разнообразие” 26.24.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fouladi B., Sabatier L., Miller D., Pottier G., Murnane J.P. 2000. The relationship between spontaneous telomere loss and chromosome instability in a human tumor cell line. *Neoplasia*. **2**, 540–554.
2. Bailey S.M., Murnane J.P. 2006. Telomeres, chromosome instability and cancer. *Nucl. Acids Res.* **34**, 2408–2417.
3. Sabatier L., Ricoul M., Pottier G., Murnane J.P. 2005. The loss of a single telomere can result in instability of

- multiple chromosomes in a human tumor cell line. *Mol. Cancer Res.* **3**, 139–150.
4. Оловников А.М. 1971. Принцип маргинотомии в матричном синтезе полинуклеотидов. *Докл. АН СССР.* **201**, 1496–1499.
 5. Olovnikov A.M. 1973. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J. Theor. Biol.* **41**, 181–190.
 6. Chan S.W., Blackburn E.H. 2003. Telomerase and ATM/Tel1p protect telomeres from nonhomologous end joining. *Mol. Cell.* **11**, 1379–1387.
 7. McClintock B. 1941. The stability of broken ends of chromosomes in *Zea mays*. *Genetics.* **26**, 234–282.
 8. Егоров Е.Е. 2001. Теломеры, теломерная ДНК, хромосомы. *Биол. мембраны.* **18**, 249–256.
 9. Gilson E., Geli V. 2007. How telomeres are replicated. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **8**, 825–838.
 10. Riethman H. 2008. Human Telomere Structure and Biology. *Annu. Rev. Gen. Hum. Genet.* **9**, 1–19.
 11. Makarov V.L., Hirose Y., Langmore J.P. 1997. Long G tails at both ends of human chromosomes suggest a C strand degradation mechanism for telomere shortening. *Cell.* **88**, 657–666.
 12. Chai W., Shay J.W., Wright W.E. 2005. Human telomeres maintain their overhang length at senescence. *Mol. Cell. Biol.* **25**, 2158–2168.
 13. Kalitsis P., Griffiths B., Choo K.H.A. 2006. Mouse telocentric sequences reveal a high rate of homogenization and possible role in Robertsonian translocation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **103**, 8786–8791.
 14. Lundblad V. 2002. Telomere maintenance without telomerase. *Oncogene.* **21**, 522–531.
 15. van Steensel B., Smogorzewska A., de Lange T. 1998. TRF2 protects human telomeres from end-to-end fusions. *Cell.* **92**, 401–413.
 16. Karlseder J., Broccoli D., Dai Y., Hardy S., de Lange T. 1999. p53- and ATM-dependent apoptosis induced by telomeres lacking TRF2. *Science.* **283**, 1321–1325.
 17. Meyne J., Baker R.J., Hobart H.H., Hsu T.C., Ryder O.A., Ward O.G., Wiley J.E., Wurster-Hill D.H., Yates T.L., Moyzis R.K. 1990. Distribution of non-telomeric sites of the (TTAGGG)_n telomeric sequences in vertebrate chromosomes. *Chromosoma.* **99**, 3–10.
 18. Жданова Н.С., Рубцов Н.Б., Минина Ю.М. 2007. Терминальные районы хромосом млекопитающих: пластичность и роль в эволюции. *Генетика.* **43**, 873–886.
 19. Azzalin C.M., Nergadze S.G., Giolotto E. 2001. Human intrachromosomal telomeric-like repeats: sequence organization and mechanisms of origin. *Chromosoma.* **110**, 75–82.
 20. Nergadze C.G., Rocchi M., Azzalin C.M., Mondello C., Giolotto E. 2004. Insertion of telomeric repeats at intrachromosomal sites during primate evolution. *Genome Res.* **14**, 1704–1710.
 21. Ashley T., Ward T.A. 1993. “Hot spot” of recombination coincides with an interstitial telomeric sequence in the Armenian hamster. *Cytogenet. Cell. Genet.* **62**, 169–171.
 22. Greider C.W. 1999. Telomeres Do D-Loop–T-Loop. *Cell.* **97**, 419–422.
 23. Stansel R.M., Subramanian D., Griffith J.D. 2002. p53 binds telomeric single strand overhangs and t-top junctions in vitro. *J. Biol. Chem.* **277**, 11625–11628.
 24. Hemann M.T., Strong M.A., Hao L.Y., Greider C.W. 2001. The shortest telomere, not average telomere length, is critical for cell viability and chromosome stability. *Cell.* **107**, 67–77.
 25. Samper E., Flores J.M., Blasco M.A. 2001. Restoration of telomerase activity rescues chromosomal instability and premature aging in *Terc*^{-/-} mice with short telomeres. *EMBO Rep.* **2**, 800–807.
 26. de Lange T. 2005. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev.* **19**, 2100–2110.
 27. Hockemeyer D., Daniels J.-P., Takai H., de Lange T. 2006. Recent expansion of the telomeric complex in rodents: two distinct POT1 proteins protect mouse telomeres. *Cell.* **126**, 63–77.
 28. Wu Y., Xiao Sh., Zhu X.-D. 2007. MRE11–RAD50–NBS1 and ATM function as co-mediators of TRF1 in telomere length control. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **14**, 832–840.
 29. Sarthy J., Bae N.S., Scraftford J., Baumann P. 2009. Human RAP1 inhibits non-692 homologous end joining at telomeres. *EMBO J.* **28**, 3390–3399.
 30. Martinez P., Thanasoula M., Carlos A.R., Gomez-Lopez G., Tejera A.M., Schoeftner S., Dominguez O., Pisano D., Tarsounas M., Blasco M.A. 2010. Mammalian Rap1 controls telomere function and gene expression through binding to telomeric and extratelomeric sites. *Nat. Cell. Biol.* **12**, 768–780.
 31. d’Adda di Fagagna F., Teo S.H., Jackson S.P. 2004. Functional links between telomeres and proteins of the DNA-damage response. *Genes Dev.* **18**, 1781–1799.
 32. Boulton S.J., Jackson S.P. 1998. Components of the Ku-dependent non-homologous end-joining pathway are involved in telomeric length maintenance and telomeric silencing. *EMBO J.* **17**, 1819–1828.
 33. Chai W., Ford L.P., Lenertz L., Wright W.E., Shay J.W. 2002. Human Ku70/80 associates physically with telomerase through interaction with hTERT. *J. Biol. Chem.* **277**, 47242–47247.
 34. Miller K.M., Cooper J.P. 2003. The telomere protein Taz1 is required to prevent and repair genomic DNA breaks. *Mol. Cell.* **11**, 303–313.
 35. Bradshaw P.S., Stavropoulos D.J., Meyn M.S. 2005. Human telomeric protein TRF2 associates with genomic double-strand breaks as an early response to DNA damage. *Nat. Genet.* **37**, 193–197.
 36. Prescott J., Kraft P., Chasman D.I., Savage S.A., Mirabello L., Berndt S.I., Weissfeld J.L., Han J., Hayes R.B., Chanock S.J., Hunter D.J., De Vivo I. 2011. Genome-wide association study of relative telomere length. *PLoS ONE.* **6**, e19635.
 37. Azzalin C.M., Reichenbach P., Khoriauli L., Giolotto E., and Lingner J. 2007. Telomeric repeat-containing RNA and RNA surveillance factors at mammalian chromosome ends. *Science.* **318**, 798–801.
 38. Lukowiak A.A., Narayanan A., Li Z.-H., Terns R.M., Terns M.P. 2001. The snoRNA domain of vertebrate

- telomerase RNA functions to localize the RNA within the nucleus. *RNA*. **7**, 1833–1844.
39. Deng Zh., Norseen J., Wiedmer A., Riethman H., Lieberman P.M. 2009. TERRA RNA binding to TRF2 facilitates heterochromatin formation and ORC recruitment at telomeres. *Mol. Cell*. **35**, 403–413.
 40. Redon S., Reichenbach P., Lingner J. 2010. The non-coding RNA TERRA is a natural ligand and direct inhibitor of human telomerase. *Nucl. Acids Res.* **38**, 5797–5806.
 41. Luke B., Lingner J. 2009. TERRA: telomeric repeat-containing RNA. *EMBO J.* **28**, 2503–2510
 42. Feuerhahn S., Iglesias N., Panza A., Porro A., Lingner J. 2010. TERRA biogenesis, turnover and implications for function. *FEBS Letters*. **584**, 3812–3818.
 43. Gilson E., Géli V. 2007. How telomeres are replicated. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **8**, 825–838.
 44. Blackburn E.H. 2000. Telomere states and cell fates. *Nature*. **408**, 53–56.
 45. Smogorzewska A., De Lange T. 2004. Regulation of telomerase by telomeric proteins. *Annu. Rev. Biochem.* **73**, 177–208.
 46. Meyerson M., Counter C.M., Eaton E.N., Ellisen L.W., Steiner P., Caddle S.D., Ziaugra L., Beijersbergen R.L., Davidoff M.J., Liu Q., Bacchetti S., Haber D.A., Weinberg R.A. 1997. *hEST2*, the putative human telomerase catalytic subunit gene, is up-regulated in tumor cells and during immortalization. *Cell*. **90**, 785–795.
 47. Nakamura T.M., Morin G.B., Chapman K.B., Weinrich S.L., Andrews W.H., Lingner J., Harley C.B., Cech T.R. 1997. Telomerase catalytic subunit homologs from fission yeast and human. *Science*. **277**, 955–959.
 48. Feng J., Funk W.D., Wang S.S., Weinrich S.L., Avilion A.A., Chiu C.P., Adams R.R., Chang E., Allsopp R.C., Yu J., Le S., West M.D., Harley C.B., Andrews W.H., Greider C.W., Villeponteau B. 1995. The RNA component of human telomerase. *Science*. **269**, 1236–1241.
 49. Greider C.W., Blackburn E.H. 1989. A telomeric sequence in the RNA of Tetrahymena telomerase required for telomere repeat synthesis. *Nature*. **337**, 331–337.
 50. Blackburn E.H. 1992. Telomerases. *Annu. Rev. Biochem.* **61**, 113–129.
 51. Егоров Е.Е. 1999. Вокруг теломеразы. *Молекуляр. биология*. **33**, 385–392.
 52. Cohen S.B., Graham M.E., Lovrecz G.O., Bache N., Robinson P.J., Reddel R.R. 2007. Protein composition of catalytically active human telomerase from immortal cells. *Science*. **315**, 1850–1853.
 53. Montanaro L., Calienni M., Ceccarelli C., Santini D., Taffurelli M., Pileri S., Trere D., Derenzini M. 2008. Relationship between dyskerin expression and telomerase activity in human breast cancer. *Cell. Oncol.* **30**, 483–490.
 54. Зверева М.Э., Щербакова Д.М., Донцова О.А. 2010. Теломераза: структура, функции и пути регуляции активности. *Успехи Биол. Химии*. **50**, 155–202.
 55. Venteicher A.S., Abreu E.B., Meng Z., McCann K.E., Terns R.M., Veenstra T.D., Terns M.P., Artandi S.E. 2009. A human telomerase holoenzyme protein required for Cajal body localization and telomere synthesis. *Science*. **323**, 644–648.
 56. Abreu E., Aritonovska E., Reichenbach P., Cristofari G., Culp B., Terns R.M., Lingner J., Terns M.P. 2010. TIN2-tethered TPP1 recruits human telomerase to telomeres *in vivo*. *Mol. Cell. Biol.* **30**, 2971–2982.
 57. Tomlinson R.L., Ziegler T.D., Supakorndej T., Terns R.M., Terns M.P. 2006. Cell cycle-regulated trafficking of human telomerase to telomeres. *Mol. Biol. Cell*. **17**, 955–965.
 58. Zou Y., Gryaznov S.M., Shay J.W., Wright W.E., Cornforth M.N. 2004. Asynchronous replication timing of telomeres at opposite arms of mammalian chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **101**, 12928–12933.
 59. Arnoult N., Schluth-Bolard C., Letessier A., Drascovic I., Bouarich-Bourimi R., Campisi J., Kim S.H., Boussouar A., Ottaviani A., Magdinier F., Gilson E., Londono-Vallejo A. 2010. Replication timing of human telomeres is chromosome arm-specific, influenced by subtelomeric structures and connected to nuclear localization. *PLoS Genet.* **6**, e1000920.
 60. Zhao Y., Sfeir A.J., Zou Y., Buseman C.M., Chow T.T., Shay J.M., Wright W.E. 2009. Telomere extension occurs at most chromosome ends and is uncoupled from fill-in in human cancer cells. *Cell*. **138**, 463–475.
 61. Liu J.-P., Li H. 2010. Telomerase in the ovary. *Reproduction*. **140**, 215–222.
 62. Gilley D., Tanaka H., Herbert B.-S. 2005. Telomere dysfunction in aging and cancer. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **V**, 1000–1013.
 63. Harley C.B., Futcher A.B., Greider C.W. 1990. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*. **345**, 458–460.
 64. Henderson S., Allsopp R., Spector D., Wang S.S., Harley C. 1996. In situ analysis of change in telomere size during replicative aging and cell transformation. *J. Cell. Biol.* **134**, 1–12.
 65. Butler M.G., Tilburt J., DeVries A., Muralidhar B., Aue G., Hedges L., Atkinson J., Schwartz H. 1998. Comparison of chromosome telomere integrity in multiple tissues from subjects at different ages. *Cancer. Genet. Cytogenet.* **105**, 138–144.
 66. Ning Y., Xu J.F., Li Y., Chavez L., Riethman H.C., Lansdorp P.M., Weng N.-P. 2003. Telomere length and the expression of natural telomeric genes in human fibroblasts. *Hum. Mol. Genet.* **12**, 1329–1336.
 67. Wright W.E., Piatyszek M.A., Rainey W.E., Byrd W., Shay J.W. 1995. Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells. *Dev. Genet.* **18**, 173–179.
 68. Blackburn E.H. 2001. Switching and signaling at the telomere. *Cell*. **106**, 661–673.
 69. Blasco M.A. 2005. Telomeres and human disease: aging, cancer and beyond. *Nat. Rev. Genet.* **6**, 611–622.
 70. Weinrich S.L., Pruzan R., Ma L., Ouellette M., Tesmer V.M., Holt S.E., Bodnar A.G., Lichtsteiner S., Kim N.W., Trager J.B., Taylor R.D., Carlos R., Andrews W.H., Wright W.E., Shay J.W., Harley C.B.,

- Morin G.B. 1997. Reconstitution of human telomerase with the template RNA component hTR and the catalytic protein subunit hTRT. *Nat. Genet.* **17**, 498–502.
71. Bodnar A.G., Ouellette M., Frolkis M., Holt S.E., Chiu C.P., Morin G.B., Harley C.B., Shay J.W., Lichtsteiner S., Wright W.E. 1998. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science*. **279**, 349–353.
72. Donate L.E., Blasco M.A. 2011. Telomere in cancer and aging. *Phil. Trans R. Soc. B*. **266**, 76–84.
73. Yéhezkel S., Rebibo-Sabbah A., Segev Y., Tzukerman M., Shaked R., Huber I., Gepstein L., Skorecki K., Selig S. 2011. Reprogramming of telomeric regions during the generation of human induced pluripotent stem cells and subsequent differentiation into fibroblast-like derivatives. *Epigenetics*. **6**, 63–75.
74. Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., Narita M., Ichisaka T., Tomoda K., Yamanaka S. 2007. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. **131**, 1–12.
75. Marion R.M., Strati K., Li H., Tejera A., Schoefner S., Ortega S., Serrano M., Blasco M.A. 2009. Telomeres acquire embryonic stem cell characteristics in induced pluripotent stem cells. *Stem Cell*. **4**, 141–154.
76. Varela E., Schneider R.P., Ortega S., Blasco M.A. 2011. Different telomere-length dynamics at the inner cell mass versus established embryonic stem (ES) cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **108**, 15207–15212.
77. Karlseder J., Smogorzewska A., de Lange T. 2002. Senescence induced by altered telomere state, not telomere loss. *Science*. **295**, 2446–2449.
78. Blasco M.A., Lee H.W., Hande M.P., Samper E., Lansdorp P.M., DePinho R.A., Greider C.W. 1997. Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA. *Cell*. **91**, 25–34.
79. Kipling D., Cooke H.J. 1990. Hypervariable ultra-long telomeres in mice. *Nature*. **347**, 400–402.
80. Starling J.A., Maule J., Hastie N.D., Allshire R.C. 1990. Extensive telomere repeat arrays in mouse are hypervariable. *Nucl. Acids Res.* **18**, 6881–6888.
81. Shay J.W., Wright W.E. 2005. Senescence and immortalization: role of telomeres and telomerase. *Carcinogenesis*. **26**, 867–874.
82. Hayflick L., Moorhead P.S. 1961. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell. Res.* **25**, 595–621.
83. Shay J.W., Wright W.E. 2000. Hayflick, his limit, and cellular ageing. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **1**, 72–76.
84. Shay J.W., Wright W.E. 2002. Telomerase: a target for cancer therapeutics. *Cancer Cell*. **2**, 257–265.
85. Shay J.W., Wright W.E. 2010. Telomeres and telomerase in normal and cancer stem cells. *FEBS Letters*. **584**, 3819–3825.
86. Blasco M.A. 2007. Telomere length, stem cells and aging. *Nat. Chem. Biol.* **3**, 640–649.
87. Smogorzewska A., van Steensel B., Bianchi A., Oelmann S., Schaefer M.R., Schnapp G., de Lange T. 2000. Control of human telomere length by TRF1 and TRF2. *Mol. Cell. Biol.* **20**, 1659–1668.
88. Loayza D., De Lange T. 2003. POT1 as a terminal transducer of TRF1 telomere length control. *Nature*. **423**, 1013–1018.
89. Houghtaling B.R., Cuttonaro L., Chang W., Smith S.A. 2004. Dynamic molecular link between the telomere length regulator TRF1 and the chromosome end protector TRF2. *Curr. Biol.* **14**, 1621–1631.
90. Pickett H.A., Cesare A.J., Johnstone R.L., Neumann A.A., Reddel R.R. 2009. Control of telomere length by a trimming mechanism that involves generation of t-circles. *EMBO J.* **28**, 799–809.
91. Lustig A.J. 2003. Clues to catastrophic telomere loss in mammals from yeast telomere rapid deletion. *Nat. Rev. Genet.* **4**, 916–923.
92. Watson J.M., Shippen D.E. 2007. Telomere rapid deletion regulates telomere length in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Cell. Biol.* **27**, 1706–1715.
93. Pickett H.A., Henson J.D., Au A.Y., Neumann A.A., Reddel R.R. 2011. Normal mammalian cells negatively regulate telomere length by telomere trimming. *Hum. Mol. Genet.* **20**, 4684–4892.
94. Baird D.M. 2008. Telomere dynamics in human cells. *Biochimie*. **90**, 116–121.
95. Reddel R.R. 2003. Alternative lengthening of telomeres, telomerase, and cancer. *Cancer Lett.* **194**, 155–162.
96. Marian C.O., Wright W.E., Shay J.W. 2010. The effects of telomerase inhibition on prostate tumor-initiating cells. *Int. J. Cancer*. **127**, 321–331.
97. Bryan T.M., Englezou A., Gupta J., Bacchetti S., Reddel R.R. 1995. Telomere elongation in immortal human cells without detectable telomerase activity. *EMBO J.* **14**, 4240–4248.
98. Henson J.D., Reddel R.R. 2010. Assaying and investigating alternative lengthening of telomeres. *FEBS Lett.* **584**, 3800–3811.
99. Ulaner G.A., Huang H.Y., Otero J., Zhao Z., Ben-Porat L., Satagopan J.M., Gorlick R., Meyers P., Healey J.H., Huvos A.G., Hoffman A.R., Ladanyi M. 2003. Absence of a telomere maintenance mechanism as a favorable prognostic factor in patients with osteosarcoma. *Cancer Res.* **63**, 1759–1763.
100. Jegou T., Chung I., Heuvelman G., Wachsmuth M., Gorisch S.M., Greulich-Bode K.M., Boukamp P., Lichter P., Rippe K. 2009. Dynamics of telomeres and PML nuclear bodies in a telomerase negative human cell line. *Mol. Biol. Cell*. **20**, 2070–2082.
101. Varley H., Pickett H.A., Foxon J.L., Reddel R.R., Royle N.J. 2002. Molecular characterization of inter-telomere and intra-telomere mutations in human ALT cells. *Nat. Genet.* **30**, 301–305.
102. Draskovic I., Arnoult N., Steiner V., Bacchetti S., Lomonte P., Londono-Vallejo A. 2009. Probing PML body function in ALT cells reveals spatiotemporal requirements for telomere recombination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **106**, 15726–15731.
103. Bechter O.E., Zou Y., Shay J.W., Wright W.E. 2003. Homologous recombination in human telomerase-positive and ALT cells occurs with the same frequency. *EMBO Rep.* **4**, 1138–1143.
104. Londono-Vallejo J.A., Der-Sarkissian H., Cazes L., et al. 2004. Alternative lengthening of telomeres is

- characterized by high rates of telomeric exchange. *Cancer Res.* **64**, 2324–2327.
105. Bailey S.M., Brennenman M.A., Goodwin E.H. 2004. Frequent recombination in telomeric DNA may extend the proliferative life of telomerase-negative cells. *Nucl. Acids Res.* **32**, 3743–3751.
 106. Жданова Н.С., Минина Ю.М., Карамышева Т.В., Рубцов Н.Б., Лондоно-Валледжо Ж.-А. 2010. Структура длинных теломер в хромосомах бурозубки иберийской. *Генетика.* **46**, 1222–1225.
 107. Rudd M.K., Friedman C., Parghi S.S., Linardopoulou E.V., Hsu L., Trask B.J. 2007. Elevated rates of sister chromatid exchange at chromosome ends. *PLoS Genet.* **3**, e32.
 108. Royle N.J., Foxon J., Jeyapalan J.N., Mendez-Bermudez A., Novo C.L., Williams J., Cotton V.E. 2008. Telomere length maintenance—an ALternative mechanism. *Cytogenet. Genome Res.* **122**, 281–291.
 109. Nabetani A., Ishikawa F. 2009. Unusual telomeric DNAs in human telomerase-negative immortalized cells. *Mol. Cell. Biol.* **29**, 703–713.
 110. Cesare A.J., Reddel R.R. 2010. Alternative lengthening of telomeres: models, mechanisms and implications. *Nat. Rev. Genet.* **11**, 319–330.
 111. Nabetani A., Ishikawa F. 2011. Alternative lengthening of telomeres pathway: Recombination-mediated telomere maintenance mechanism in human cells. *J. Biochem.* **149**, 5–14.
 112. Teng S.C., Zakian V.A. 1999. Telomere–telomere recombination is an efficient bypass pathway for telomere maintenance in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* **19**, 8083–8093.
 113. Le S., Moore J.K., Haber J.E., Greider C.W. 1999. RAD51 and RAD50 define two pathways that collaborate to maintain telomeres in the absence of telomerase. *Genetics.* **152**, 143–152.
 114. Takata H., Tanaka Y., Matsuura A. 2005. Late S phase-specific recruitment of Mre11 complex triggers hierarchical assembly of telomere replication proteins in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell.* **18**, 573–583.
 115. McEachern M.J., Haber J.E. 2006. Break-induced replication and recombinational telomere elongation in yeast. *Annu. Rev. Biochem.* **75**, 111–135.
 116. Jiang W.Q., Zhong Z.H., Henson J.D., Neumann A.A., Chang A.C.-M., Reddel R.R. 2005. Suppression of alternative lengthening of telomeres by Sp100-mediated sequestration of the MRE11/RAD50/NBS1 complex. *Mol. Cell. Biol.* **25**, 2708–2721.
 117. Tsai Y.L., Tseng S.F., Chang S.H., Lin C.-C., Teng S.-C. 2002. Involvement of replicative polymerases, Tel1p, Mec1p, Cdc13p, and the Ku complex in telomere-telomere recombination. *Mol. Cell. Biol.* **22**, 5679–5687.
 118. Potts P.R., Yu H. 2007. The SMC5/6 complex maintains telomere length in ALT cancer cells through SUMOylation of telomere-binding proteins. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **14**, 581–590.
 119. Nabetani A., Yokoyama O., Ishikawa F. 2004. Localization of hRad9, hHus1, hRad1, and hRad17 and caffeine-sensitive DNA replication at the alternative lengthening of telomeres-associated promyelocytic leukemia body. *J. Biol. Chem.* **279**, 25849–25857.
 120. Henson J.D., Cao Y., Huschtscha L.I., Chang A.C., Au A.Y.M., Pickett H.A., Reddel R.R. 2009. DNA C-circles are specific and quantifiable markers of alternative-lengthening-of-telomeres activity. *Nat. Biotechnol.* **27**, 1181–1185.
 121. Morrish T.A., Greider C.W. 2009. Short telomeres initiate telomere recombination in primary and tumor cells. *PLoS Genet.* **5**, e1000357.
 122. Perrem K., Bryan T.M., Englezou A., Hackl T., Moy E.L., Reddel R.R. 1999. Repression of an alternative mechanism for lengthening of telomeres in somatic cell hybrids. *Oncogene.* **18**, 3383–3390.
 123. Perrem K., Colgin L.M., Neumann A.A., Yeager T.R., Reddel R.R. 2001. Coexistence of alternative lengthening of telomeres and telomerase in hTERT-transfected GM847 cells. *Mol. Cell. Biol.* **21**, 3862–3875.
 124. Ford L.P., Zou Y., Pongracz K., Gryaznov S.M., Shay J.W., Wright W.E. 2001. Telomerase can inhibit the recombination-based pathway of telomere maintenance in human cells. *J. Biol. Chem.* **276**, 32198–32203.
 125. Grobelny J.V., Kulp-McEliece M., Broccoli D. 2001. Effects of reconstitution of telomerase activity on telomere maintenance by the alternative lengthening of telomeres (ALT) pathway. *Hum. Mol. Genet.* **10**, 1953–1961.
 126. Liu L., Bailey S.M., Okuka M., Munoz P., Li C., Zhou L., Wu C., Czerwiec E., Sandler L., Seyfang A., Blasco M.A., Keefe D.L. 2007. Telomere lengthening early in development. *Nat. Cell. Biol.* **9**, 1436–1441.
 127. Amrichova J., Lukasova E., Kozubek S., Kozubek M. 2003. Nuclear and territorial topography of chromosome telomeres in human lymphocytes. *Exp. Cell. Res.* **289**, 11–26.
 128. Weierich C., Brero A., Stein S., von Hase J., Cremer C., Cremer T., Solovei I. 2003. Three-dimensional arrangements of centromeres and telomeres in nuclei of human and murine lymphocytes. *Chromosome Res.* **11**, 485–502.
 129. Luderus M.E., van Steensel B., Chong L., Sibon O.C., Cremers F.F., de Lange T. 1996. Structure, subnuclear distribution, and nuclear matrix association of the mammalian telomeric complex. *J. Cell. Biol.* **135**, 867–881.
 130. Rivera-Mulia J.C., Hernandez-Munoz R., Martinez F., Aranda-Anzaldo A. 2011. DNA moves sequentially towards the nuclear matrix during DNA replication in vivo. *BMC Cell. Biology.* **12**, 3.
 131. Raz V., Vermolen B.J., Garini Y., Onderwater J.J., Mommaas-Kienhuis M.A., Koster A.J., Young I.T., Tanke H., Dirks R.W. 2008. The nuclear lamina promotes telomere aggregation and centromere peripheral localization during senescence of human mesenchymal stem cells. *J. Cell Sci.* **121**(Pt 24), 4018–4028.
 132. Ebrahimi H., Donaldson A.D. 2008. Release of yeast telomeres from the nuclear periphery is triggered by replication and maintained by suppression of Ku-mediated anchoring. *Genes Dev.* **22**, 3363–3374.
 133. Рубцов Н.Б., Карамышева Т.В., Минина Ю.М., Жданова Н.С. 2008. Трёхмерная организация интерфазных ядер фибробластов у двух близкородственных видов бурозубок, различающихся струк-

- турой терминальных районов хромосом. *Цитология*. **50**, 430–438.
134. Scherthan H., Sfeir A., de Lange T. 2011. Rap1-independent telomere attachment and bouquet formation in mammalian meiosis. *Chromosoma*. **120**, 151–157.
135. Zhu L., Hathcock K.S., Hande P., Lansdorp P.M., Seldin M.F., Hodes R.J. 1998. Telomere length regulation in mice is linked to a novel chromosome locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **21**, 8648–8653.
136. Hemann M.T., Greider C.W. 2000. Wild-derived inbred mouse strains have short telomeres. *Nucl. Acids Res.* **28**, 4474–4478.
137. Zhdanova N.S., Karamisheva T.V., Minina J., Astakhova N.M., Lansdorp P., Kammori M., Rubtsov N.B., Searle J.B. 2005. Unusual distribution pattern of telomeric repeats in the shrews *Sorex araneus* and *Sorex granarius*. *Chromosome Res.* **13**, 617–625.
138. Zhdanova N.S., Minina J.M., Karamisheva T.V., Draskovic I., Rubtsov N.B., Londono-Vallejo J.-A. 2007. The very long telomeres in *Sorex granarius* (Soricidae, Eulipotyphla) contain ribosomal DNA. *Chromosome Res.* **15**, 881–890.
139. Жданова Н.С., Рогозина Ю.И., Минина Ю.М., Бородин П.М., Рубцов Н.Б. 2009. Распределение теломерной ДНК в хромосомах обыкновенной бурозубки *Sorex araneus*, *Eulipotyphla*. *Цитология*. **51**, 577–584.
140. Manning E.L., Crosland J., Dewey M.J., van Zant G. 2002. Influence of inbreeding and genetics on telomere length in mice. *Mamm. Genom.* **13**, 234–238.
141. Ding H., Schertzer M., Wu X., Gertsenstein M., Selig S., Kammori M., Pourvali R., Poon S., Vulto I., Chavez E., Tam P.P.L., Nagy A., Lansdorp P.M. 2004. Regulation of murine telomere length by Rtel: An essential gene encoding a helicase-like protein. *Cell*. **117**, 873–886.
142. Uringa E.-J., Youds J.L., Lisaingo K., Lansdorp P.M., Boulton S.J. 2011. RTEL1: an essential helicase for telomere maintenance and the regulation of homologous recombination. *Nucl. Acids Res.* **39**, 1647–1655.
143. Slagboom P.E., Droog S., Boomsma D.I. 1994. Genetic determination of telomere size in humans: a twin study of three age groups. *Am. J. Hum. Genet.* **55**, 876–882.
144. Graakjaer J., Londono-Vallejo J.A., Christensen K., Kolvraa S. 2006. The pattern of chromosome-specific variations in telomere length in humans shows signs of heritability and is maintained through life. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1067**, 311–316.
145. Vasa-Nicotera M., Brouillette S., Mangino M., Thompson J.R., Braund P., Clementson J.-R., Mason A., Bodycote C.L., Raleigh S.M., Louis E., Samani N.J. 2005. Mapping of a major locus that determines telomere length in humans. *Am. J. Hum. Genet.* **76**, 147–151.
146. Andrew T., Aviv A., Falchi M., Surdulescu G.L., Gardner J.P., Lu X., Kimura M., Kato B.S., Valdes A.M., Spector T.D. 2006. Mapping genetic loci that determine leukocyte telomere length in a large sample of unselected female sibling pairs. *Am. J. Hum. Genet.* **78**, 480–486.
147. Mangino M., Brouillette S., Braund P., Braund P., Tirmizi N., Vasa-Nicotera M., Thompson J.R., Samani N. 2008. A regulatory SNP of the BICD1 gene contributes to telomere length variation in humans. *Hum. Mol. Genet.* **17**, 2518–2523.
148. Wan M., Qin J., Songyang Z., Liu D.J. 2009. OB fold-containing protein 1 (OBFC1), a human homolog of yeast Stn1, associates with TPP1 and is implicated in telomere length regulation. *Biol. Chem.* **284**, 26725–26731.
149. Levy D., Neuhausen S.L., Hunt S.C., Kimura M., Hwang S.-J., Chen W., Bis J.C., Fitzpatrick A.L., Smith E., Johnson A.D., Gardner J.P., Srinivasan S.R., Schork N., Rotter J.I., Herbig U., Psaty B.M., Sastresinh M., Murray S.S., Vasani R.S., Province M.A., Glazer N.L., Lu X., Cao X., Kronmal R., Mangino M., Soranzo N., Spector T.D., Berenson G.S., Aviv A. 2010. Genome-wide association identifies OBFC1 as a locus involved in human leukocyte telomere biology. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **107**, 9293–9298.
150. Hills M., Lansdorp P.M. 2009. Short telomeres resulting from heritable mutations in the telomerase reverse transcriptase gene predispose for a variety of malignancies. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1176**, 178–190.
151. Atzmon G., Cho M., Cawthon R.M., Budagov T., Katz M., Yang X., Siegel G., Bergman A., Huffman D.M., Schechter C.B., Wright W.E., Shay J.W., Barzilai N., Govindaraju D.R., Suh Y. 2010. Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Genetic variation in human telomerase is associated with telomere length in Ashkenazi centenarians. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **107**, 1710–1717.
152. Prowse K.R., Greider C.W. 1995. Developmental and tissue-specific regulation of mouse telomerase and telomere length. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **92**, 4818–4822.
153. Gorbunova V., Seluanov A. 2009. Coevolution of telomerase activity and body mass in mammals: From mice to beavers. *Mech. Ageing Dev.* **130**, 3–9.
154. Gomes N.M., Ryder O.A., Houck M.L., Charter S.J., Walker W., Forsyth N.R., Austad S.N., Venditti C., Pagan M., Shay J.W., Wright W. 2011. Comparative biology of mammalian telomeres: hypotheses on ancestral states and the roles of telomeres in longevity determination. *Ageing Cell.* **10**, 761–768.