

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ТЕЛОМЕР У РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ОРГАНИЗМОВ

© А. А. Грач

*Хмельницкая областная больница, Хмельницкий, Украина;
электронный адрес: andry_gr@mail.ru*

В обзорной статье рассматривается структура теломер — концевых участков линейной хромосомной ДНК. Приводятся особенности нуклеотидной организации теломерной ДНК у разных видов. Особое внимание уделяется анализу функций отдельных теломерных белков млекопитающих и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, а также их роли в регулировании длины теломер и защите последних от деградации.

Ключевые слова: теломерная ДНК, теломерные последовательности, позвоночные, простейшие, дрожжи, телосома, т-петля.

Теломерами называют специализированные функциональные комплексы, которые находятся на концах эукариотических хромосом и защищают последние от слияния друг с другом, тем самым поддерживая целостность генома клетки (Blackburn, 2001). Помимо предупреждения слияния хромосом теломеры также ответственны за их прикрепление к ядерной оболочке (Podgornaya et al., 2000; Hediger et al., 2002; Rose et al., 2004), за митотическую и мейотическую сегрегацию хромосом (Conrad et al., 1997; Kirk et al., 1997; Dynek, Smith, 2004) и их мейотическое спаривание (Rockmill, Roeder, 1998), за стабилизацию концов разорванных хромосом (Jager, Philippsen, 1989; Pennaneach et al., 2006), а также влияют на экспрессию генов (Baur et al., 2001; Pedram et al., 2006) и отсчитывают количество делений клетки (Olovnikov, 1973; Altsopp et al., 1992; Kurenova, Mason, 1997). Но самой интересной и не менее важной функцией теломер является их своеобразная буферная функция, заключающаяся в предохранении более значимых областей ДНК от так называемого процесса концевой недорепликации (Ohki et al., 2001). Сами же они у большинства разновидностей организмов состоят из множества повторяющихся коротких нуклеотидных последовательностей, которые неодинаковы у всех видов. У человека и у всех остальных позвоночных теломеры, а вернее, их G-богатые цепи построены из T₂AG₃-последовательностей (Meune et al., 1989; Lejnine et al., 1995), у растений — из T₃AG₃ (McKnight et al., 1997; Zellinger, Riha, 2007), у тетрахимены — это T₂G₄-последовательности (Kirk, Blackburn, 1995), у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* — из TG₁₋₃-последовательностей (Kramer, Haber, 1993; Levy, Blackburn, 2004). Так как G-цепи теломер обогащены остатками гуаниловой кислоты, комплементарные им C-цепи соответственно богаты остатками цитидиловой кислоты. Теломерные последовательности, подобно другим областям ДНК, также могут образовывать более высокие уровни организации (Cohen, Blackburn, 1998). Достигается это за счет связывания со

специфическими белками, такими, например, как белок Rap1 у дрожжей *S. cerevisiae* (Krauskopf, Blackburn, 1998) и его аналог у млекопитающих — белок TRF1 (Van Steensel, de Lange, 1997). Несмотря на то что теломерные участки хромосом в своей длине могут достигать больших размеров (в эмбриональных клетках человека, например, длина теломерных повторов на одном конце ДНК составляет приблизительно 10—15 тыс. н. п.), никаких белков при этом они не кодируют. Впрочем, существуют сведения о том, что с теломер РНК все же транскрибируется. Эта РНК, как считают ученые, не транслируется на рибосомах, т. е. не кодирует белок. Предполагается, что она участвует в образовании теломерного гетерохроматина и играет важную роль в регулировании длины теломер (Azzalin et al., 2007). Последняя, следует заметить, может существенно уменьшаться вследствие процесса концевой недорепликации. Процесс концевой недорепликации заключается в невозможности полной репликации концов линейной ДНК в процессе деления клетки, что обусловлено функциональными особенностями ДНК-полимеразной системы (Ohki et al., 2001). Вследствие этого теломерные участки хромосом укорачиваются в среднем на 50 нуклеотидных пар в ходе каждого деления клетки. Вместе с тем существуют специальные механизмы, возобновляющие укороченные вследствие концевой недорепликации теломерные участки хромосом. Среди последних наибольший интерес представляет удлинение теломер с участием теломеразы — рибонуклеопротеинового фермента, основной функцией которого является наращивание G-цепи теломерной ДНК (Dokudovskaya et al., 1997). Помимо теломеразного механизма существуют еще и так называемые механизмы альтернативного удлинения теломер, или ALT (Alternative Lengthening of Telomeres) (Henson et al., 2002). В основе последних лежат процессы рекомбинации (Teng, Zakian, 1999) и ретротранспозиции (Melnikova, Georgiev, 2005).

В последнее время изучение теломер приобретает все большую популярность среди ученых разных отраслей

молекулярной биологии, да и не только. Повышенный интерес к их изучению в первую очередь вызван тем, что теломеры играют важнейшую роль в поддержании стабильности и функциональности клеточного генома, о чем можно судить исходя из их функций, без которых эукариотические клетки не могли бы не только воспроизводиться, но и существовать. Помимо этого, теломеры играют ключевую роль в процессах старения и ракового перерождения клеток (Оловников, 1971; Allsopp et al., 1992; Hahn, 2003), что делает их еще более важным предметом исследований. Исходя из такой важности теломерных участков хромосом их структуру и функции следует изучать у всех без исключения разновидностей организмов, даже несмотря на то что результаты многочисленных исследований показывают, что они имеют похожие нуклеотидные последовательности и выполняют одинаковые функции у всех исследованных видов.

Исследования теломер большого количества видов в той или иной степени уже проводились; накоплено много данных об их структуре. К сожалению, эти данные встречаются в литературе в довольно разбросанном виде, что представляет определенные неудобства для большого круга заинтересованных в них читателей. В связи с этим считаем необходимым ниже представить существующие на данный момент сведения о теломерных последовательностях и ассоциированных с ними белках у разных организмов в сопоставленном и более доступном виде.

Теломерная ДНК

Теломерная ДНК у большинства видов состоит из многократно повторяющихся коротких строго определенных нуклеотидных последовательностей (Meune et al., 1989; Kirk, Blackburn, 1995; McKnight et al., 1997). Различают одно- и двухцепочечную теломерные ДНК. При этом одноцепочечная теломерная ДНК может находиться только в ее концевых отделах. Вся же остальная теломерная ДНК, располагающаяся в направлении к центромере, имеет двухцепочечную организацию. Обусловлено дан-

ное обстоятельство процессом концевой недорепликации, вследствие которого собственно и образуются одноцепочечные концевые участки теломер, или оверхенги (нависающие концы). На одну двухцепочечную молекулу ДНК условно приходится две G-богатые и две C-богатые цепи теломерной ДНК, которые попарно располагаются на разных ее концах, а одноцепочечная теломерная ДНК представлена G-богатой цепью, что является следствием концевой недорепликации.

G-богатые цепи человеческих теломер построены из последовательностей TTAGGG (или сокращенно T_2AG_3) (Moyzis et al., 1988). При этом C-богатые цепи соответственно состоят из последовательностей CCCTAA (C_3TA_2). Из таких же последовательностей построены теломерные участки хромосом амфибий (Bassham et al., 1998), птиц (Nanda, Schmid, 1994; Delany et al., 2000) и всех остальных позвоночных (Meune et al., 1989). Теломерные последовательности большинства наземных растений отличаются от человеческих одним дополнительным нуклеотидом и представлены последовательностями TTTAGGG (T_3AG_3) (McKnight et al., 1997; Zellinger, Riha, 2007). Теломеры их далекого родственника — зеленой морской водоросли *Chlamydomonas reinhardtii* — представлены последовательностями TTTTAGGG (T_4AG_3), что отличает их от человеческих теломерных последовательностей всего двумя дополнительными остатками тимидиловой кислоты (Petracek et al., 1990). У одноклеточного простейшего — ресничной инфузории тетрахимены (*Tetrahymena*) — теломерная ДНК состоит из последовательностей TTGGGG (или T_2G_4), которые отличаются от человеческих не по количеству нуклеотидов, а по их составу (Kirk, Blackburn, 1995). В этом плане интересно, что, несмотря на огромную отдаленность млекопитающих и простейших в эволюционном развитии, теломерные последовательности человека и тетрахимены состоят из одинакового количества нуклеотидов и отличаются всего лишь одним нуклеотидом в повторе. В то же время теломеры других простейших не имеют TTGGGG-последовательностей и сильно отличаются от теломер млекопитающих (Klobutcher et al., 1981; Bottius et al., 1998).

Кроме так называемых регулярных теломерных последовательностей, рассмотренных выше, существуют и нерегулярные последовательности. Их нерегулярность заключается в том, что нуклеотиды в таких последовательностях располагаются не в строго определенном порядке, как в человеческих теломерах, например, а как бы распределены случайно (рис. 1). Из нерегулярных теломерных последовательностей построена теломерная ДНК дрожжей, слизевиков (не всех) и некоторых простейших. У почкующихся дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, например, она состоит из TG_{1-3} -последовательностей (рис. 1, б), где аббревиатура TG_{1-3} означает, что после каждого остатка тимидиловой кислоты может располагаться от одного до трех остатков гуаниловой кислоты (Kramer, Haber, 1993; Levy, Blackburn, 2004). Важно отметить, что аббревиатура TG_{1-3} — не единственная в своем роде, которая встречается в научной литературе и которая характеризует теломерные последовательности дрожжей *S. cerevisiae*. Так, описаны следующие теломерные последовательности: $(TG)_{1-4}G_{2-3}$ (Forstemann, Lingner, 2001), $G_{1-3}T/C_{1-3}A$ (Blackburn, 2001), $C_{1-3}A/TG_{1-3}$ (Teng, Zakian, 1999; Mangahas et al., 2001) и др. В двух последних случаях аббревиатуры характеризуют теломерные последовательности не только G-цепи, но также и C-цепи теломерной ДНК данных дрожжей. При этом следует отметить,



Рис. 1. Различия в структуре регулярных теломерных последовательностей теломерной ДНК человека (а) и нерегулярных теломерных последовательностей теломерной ДНК дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (б).

что исходя из множества обработанных нами данных такие аббревиатуры в литературе встречаются гораздо реже, чем TG_{1-3} .

Теломеры делящихся дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* представлены нерегулярными $GGTTACA(G)_{1-4}$ -последовательностями (Hiraoka et al., 1998). Что же касается других аббревиатур, характеризующих теломерные последовательности этих дрожжей, то в литературе они также встречаются, но вдаваться в их подробности мы уже не будем.

Ранее уже упоминалось, что помимо теломер дрожжей из нерегулярных теломерных последовательностей также построена теломерная ДНК некоторых слизевиков и простейших. Примером таких последовательностей у слизевиков являются AG_{1-8} -последовательности акразиомицета *Dictyostelium discoideum* — слизевика, имеющего клеточное строение (Emery, Weiner, 1981). Последнего следует отличать от миксомицетов (истинных слизевиков), которые не имеют клеточного строения и существуют в виде плазмодия, но имеют теломеры, построенные из регулярных $TTAGGG$ -последовательностей (Forney et al., 1987; Coren et al., 1991). Что же касается простейших, то теломерная ДНК одноклеточного простейшего ресничной инфузории парамеции (*Paramecium*) состоит из большого количества случайно распределенных повторов $TTGGGG$ и $TTTGGG$ (в аббревиатуре соответственно T_2G_4 и T_3G_3). При этом результаты исследований показывают, что теломеры только трех из четырех исследуемых разновидностей этой инфузории имеют в большом количестве оба варианта последовательностей. Теломерные участки хромосом четвертой разновидности парамеций (*Paramecium caudatum*) состоят практически полностью (> 95 %) из T_2G_4 -повторов (McCormick-Graham, Romero, 1996).

Каковы же механизмы образования нерегулярных теломерных последовательностей? Прежде чем ответить на этот вопрос, следует отметить, что такие механизмы несколько различаются у разных видов. Так, у дрожжей *S. cerevisiae* такие последовательности возникают вследствие избыточных соединений между матричным участком теломеразной РНК и 3'-концом цепи ДНК (концевым участком G-цепи теломерной ДНК), который является праймером для теломеразной реакции, а также вследствие неудавшихся обратных транскрипций в 3'- и 5'-частях матричного участка теломеразной РНК. Последние, собственно, и являются причиной избыточных соединений между теломеразной РНК и теломерной ДНК. При этом диссоциации теломеразной РНК и праймерного участка теломерной ДНК не происходит во время копирования каталитической субъединицы теломеразы центральной части матричного участка теломеразной РНК (Forstmann, Lingner, 2001). Варибельные теломерные повторы у парамеций могут возникать посредством двух механизмов. Первый заключается в замене остатка цитидиловой кислоты на остаток адениловой в одной из двух возможных для этого нуклеотидных позиций матричного участка теломеразной РНК. Такая замена соответственно приводит к замене остатка гуаниловой кислоты на остаток тимидиловой в теломерном повторе. Вследствие этого теломерные последовательности вместо обычной $TTGGGG$ -структуры приобретают $TTTGGG$ -структуру. При другом возможном механизме во время синтеза середины теломерного повтора происходит транслокация теломеразной РНК в противоположную от центромеры сторону на одну нуклеотидную позицию ее матричного уча-

стка, что опять же приводит к синтезу $TTTGGG$ -повторов (McCormick-Graham et al., 1997).

Помимо регулярных и нерегулярных теломерных последовательностей, которые синтезируются теломеразой, существуют и другие типы последовательностей, которые наблюдаются в клетках с отсутствием теломеразной активности. Другие типы теломерных последовательностей наблюдаются намного реже, чем синтезированные теломеразой повторы, и являются хотя и редкими, но важными исключениями из общего правила. Пожалуй, самым известным из таких исключений является теломерная ДНК плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, которая вместо коротких теломерных повторов, синтезируемых теломеразой, представлена множественными копиями двух ретротранспозиционных элементов — *HeT-A* и *TART*, принадлежащих к ретротранспозонам не-LTR (Long Terminal Repeat)-типа (Danilevskaya et al., 1999; Pardue, DeBaryshe, 1999; Casacuberta, Pardue, 2005; Melnikova, Georgiev, 2005; Pardue et al., 2005). Так как ретротранспозонам свойственно быстро изменять свои нуклеотидные последовательности, стабильных последовательностей не имеют и эти ретроэлементы. Кроме того, в ходе недавних исследований выяснилось, что хромосомы *D. melanogaster* с удаленными концами не становятся нестабильными, как в случае с удалением теломер, синтезированных теломеразой у других видов (Hackett et al., 2001), их хроматиды не сливаются, а клетки с такими хромосомами могут проходить митоз (Biessmann et al., 1990a; Levis et al., 1993; Ahmad, Golic, 1998). При этом функции теломер берут на себя другие, соседствующие с удаленными, гетерогенные последовательности, которые после удаления концевых участков, собственно, и образуют новые концы хромосом. Все это свидетельствует о том, что теломеры дрозофилы могут состоять из любых последовательностей, причем их функции не зависят от этих последовательностей, чего нельзя сказать о теломерах позвоночных, растений, дрожжей и др.

Исходя из вышеприведенных сведений будет уместно рассмотреть эти ретротранспозоны более детально. Так, ретроэлемент *TART* имеет две открытые рамки считывания *ORFs* (Open Reading Frames) — *ORF1* и *ORF2*, которые характерны для многих ретротранспозонов не-LTR-типа (Danilevskaya et al., 1999). *ORF1* и *ORF2* также называют генами *gag* и *pol*, так как их последовательности имеют большое сходство с последовательностями аналогичных по названию ретровирусных генов (Danilevskaya et al., 1999; Casacuberta, Pardue, 2005; Pardue et al., 2005). *ORF2*, или *pol*, содержит последовательности, кодирующие эндонуклеазу и обратную транскриптазу, которые необходимы для транспозиции элемента *TART* к теломерам (Levis et al., 1993; Sheen, Levis, 1994). В отличие от *TART* ретротранспозон *HeT-A* имеет только *ORF1*, или ген *gag*, и поэтому не может обеспечить свою собственную ферментативную активность, необходимую для его транспозиции (Danilevskaya et al., 1999; Casacuberta, Pardue, 2005). Несмотря на это, его транспозиция к концам хромосом все же осуществляется. Так, данные исследований показывают, что транспозиция элемента *HeT-A* к концам сломанных хромосом происходит даже более интенсивно, чем ретроэлемента *TART* (Biessmann et al., 1990b, 1992a, 1992b; Sheen, Levis, 1994; Danilevskaya et al., 1999). Впоследствии было предположено, что для транспозиции он использует обратную транскриптазу другого источника (Danilevskaya et al., 1999; Casacuberta, Pardue, 2005).

Теломерные последовательности некоторых разновидностей организмов

Группа	Организм	Последовательность	Литературный источник
Позвоночные: рыбы	<i>Onchorhynchus mykiss</i>	TTAGGG	Meyne et al., 1989; Lejnine et al., 1995; Abuin et al., 1996; Perez et al., 1999; Bassham et al., 1998; Nanda, Schmid, 1994; Moyzis et al., 1988; Blasco et al., 1995; Zijlmans et al., 1997; Shiels et al., 1999
	<i>Salmo salar</i>		
	<i>Xenopus laevis</i>		
	<i>Gallus domesticus</i>		
	<i>Homo sapiens</i>		
амфибии	<i>Mus musculus</i>		
птицы	<i>Ovis aries</i>		
млекопитающие			
Нематоды	<i>Ascaris lumbricoides</i>	TTAGGC	Muller et al., 1991; Wicky et al., 1996
	<i>Caenorhabditis elegans</i>		
Насекомые	<i>Bombyx mori</i>	TTAGG + ретротранспозоны <i>TRAS</i> и <i>SART</i>	Fujiwara et al., 2005
	<i>Locusta migratoria</i>		
	<i>Apis mellifera</i>	TTAGG	Sahara et al., 1999
	<i>Ephestia kuehniella</i>		
	<i>Drosophila melanogaster</i>		
		Ретротранспозоны <i>Het-A</i> , <i>TART</i> и <i>TAHRE</i>	Pardue et al., 2005; Shpiz et al., 2007
Высшие растения	<i>Arabidopsis thaliana</i>	TTTAGGG	Richards, Ausubel, 1988; Mizuno et al., 2008
	<i>Oryza sativa L.</i>		
Водоросли	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	TTTTAGGG	Petracek et al., 1990
Слизевики:			
	<i>Physarum polycephalum</i>	TTAGGG	Forney et al., 1987
<i>Didymium iridis</i>			
<i>акразиомицеты</i>	<i>Dictyostelium discoideum</i>	AG ₁₋₈	Emery, Weiner, 1981
Почкующиеся дрожжи	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	TG ₁₋₃	Kramer, Haber, 1993
	<i>Candida albicans</i>	TTCTTGGTGT	McEachem, Blackburn, 1994
	<i>Kluyveromyces lactis</i>	GGTATGTGGTGT	То же
Делящиеся дрожжи	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	GGTTACA(G) ₁₋₄	Hiraoka et al., 1998
Простейшие:			
	<i>Tetrahymena thermophila</i>	TTGGGG	Kirk, Blackburn, 1995
	<i>Paramecium</i>		
		TTGGGG и TTTGGG	McCormick-Graham, Romero, 1996
	<i>Oxytricha nova</i>	TTTTGGGG	Klobutcher et al., 1981
<i>Euplotes aediculatus</i>			
<i>споровики</i>	<i>Plasmodium falciparum</i>	GGGTTT/CA	Bottius et al., 1998

Транспозиция элементов *TART* и *Het-A* осуществляется только к концам хромосом, причем к концам любых хромосом *D. melanogaster* (Biessmann et al., 1992b; Levis et al., 1993). В другие, богатые генами области ДНК эти элементы никогда не встраиваются (Pardue, DeBaryshe, 1999). Транскрипты элементов *HeT-A* и *TART* могут использоваться как в качестве мРНК для трансляции на рибосомах, так и в качестве матрицы для элонгации теломер, осуществляемой в процессе обратной транскрипции этих транскриптов обратной транскриптазой (Pardue et al., 1997). Включенные в состав теломер копии этих двух мобильных элементов образуют более длинные и нерегулярные теломерные последовательности, чем повторы, синтезированные теломеразой (Pardue, DeBaryshe, 1999). Отличительной особенностью этих ретроэлементов от других не-LTR-элементов является то, что они на своих 3'-концах имеют необычайно длинные нетранслируемые области — *UTRs* (Untranslated Regions), которые могут играть важную роль в формировании определенных хро-

тиновых структур в теломерной области хромосомы (Danilevskaya et al., 1998, 1999).

Кроме элементов *Het-A* и *TART*, в удлинении теломер *D. melanogaster* также принимает участие и третий, недавно открытый ретротранспозон *TAHRE* (Telomere-Associated and *Het-A*-Related Element), который в отличие от двух предыдущих представлен в теломерах лишь несколькими копиями (Abad et al., 2004; Shpiz et al., 2007). Так как о его существовании ученые узнали относительно недавно, то и изучен он меньше двух других ретроэлементов. В то же время имеющиеся данные показывают большое сходство третьего элемента с двумя другими ретротранспозонами, в связи с чем он, собственно, и был назван *TAHRE*. В частности, было обнаружено, что он, так же как и *TART*, имеет две открытые рамки считывания, причем *ORF2* подобна таковой у *TART*, а 5'-*UTR*, *ORF1* и 3'-*UTR* очень близки к соответствующим областям ретроэлемента *Het-A*. Кроме того, исходя из полученных результатов исследования было предположено, что от элемента *TAHRE*,

собственно, и произошел элемент *Het-A*. Последний, как полагают авторы исследования, образовался в результате делеции области *ORF2* ретроэлемента *TAHRE* или же вследствие ретротранспозиции субгеномной РНК, кодирующей *ORF1* (Abad et al., 2004). Помимо этого, также было предположено, что именно *TAHRE* служит тем самым источником, обратную транскриптазу которого элемент *Het-A* использует для своей транспозиции к теломерным участкам хромосом (Abad et al., 2004; Shpiz et al., 2007).

Таким образом, несмотря на сложившиеся в процессе эволюции морфологические и физиологические различия между разными группами организмов, их теломерные последовательности остались практически одинаковыми (см. таблицу). Так, будь то синтезированные теломеразой или с помощью рекомбинационного механизма ALT, регулярные или нерегулярные, строго определенные в пределах одного и подобные между разными видами, короткие TG-богатые теломерные последовательности стали своего рода правилом организации теломерной ДНК. Но, как это часто бывает, из каждого правила есть свои исключения. Таким исключением, как уже отмечалось ранее, являются теломеры плодовой мушки *D. melanogaster*, а также всех других исследованных двукрылых и еще нескольких видов насекомых. У дрозофилы же они состоят из копий трех ретротранспозонов, которые не только не имеют постоянных последовательностей, но их присутствие даже не обязательно для функционирования теломер, так как их функции могут выполнять и другие, проксимально расположенные последовательности.

Теломерные белки

Концевые участки канонических теломер (удлиняющихся теломеразой) в отличие от других областей ДНК, для которых характерна нуклеосомная организация, имеют ненуклеосомную организацию (Blackburn, 2001). При этом у позвоночных (включая человека) ненуклеосомную организацию имеет лишь небольшое количество теломерных последовательностей, расположенных в терминальной части теломерной ДНК. Все же остальные теломерные последовательности, расположенные в направлении к центromере, имеют нуклеосомную организацию (Tomterup et al., 1994; Blackburn, 2001). У ресничной инфузории *Tetrahymena thermophila*, напротив, нуклеосомную организацию имеет лишь 3—10 % теломерной ДНК, а вся остальная ее часть (90—97 %) имеет ненуклеосомную организацию (Cohen, Blackburn, 1998). Так, на примере тетрахимены показано, что теломерные участки хромосом образуют два разных типа хроматина. Первый тип соответствует той части теломерной ДНК, которая не имеет нуклеосомной организации, второй — части теломерной ДНК, имеющей нуклеосомную организацию (Cohen, Blackburn, 1998). Совершенно иначе обстоит дело с теломерами почкующихся дрожжей *S. cerevisiae*. У них в отличие от позвоночных и тетрахимены теломерные последовательности вообще не имеют нуклеосомной организации (Wright et al., 1992). Хотя следует заметить, что до совсем еще недавнего времени считалось, что и теломерные повторы тетрахимены упаковываются только в ненуклеосомный ДНК-белковый комплекс, а впоследствии выяснилось, что это не совсем так (Cohen, Blackburn, 1998). Таким образом, различия в структуре теломерного хроматина между низшими и высшими эукариотами носят скорее количественный, чем качественный характер.

Область теломеры с ненуклеосомной организацией также называют телосомой. В состав телосомы млекопитающих помимо теломерной ДНК также входит шесть основных белков: TRF1, TRF2, Rap1, TIN2, Pot1 и TPP1 (прежде именовавшийся PTOP/PIP1/TINT1). У дрожжей *S. cerevisiae* в состав телосомы входят белки Rap1, Tel2, Rif1, Rif2, Ten1, Cdc13 и Stn1, комплекс Sir-белков и др. Что же касается белков, входящих в состав телосом других разновидностей организмов, то рассматривать их мы не будем, поскольку их функции подобны таковым у млекопитающих и дрожжей. Все же вышеперечисленные теломерные белки как млекопитающих, так и дрожжей *S. cerevisiae* можно условно разделить на три группы: 1) белки, связывающие двухцепочечные участки теломерной ДНК; 2) белки, связывающие одноцепочечные участки теломерной ДНК; 3) белки, необходимые для формирования нуклеопротеинового комплекса более высокого порядка.

К белкам, связывающим двухцепочечную теломерную ДНК, у млекопитающих относятся белки TRF1 и TRF2, а у почкующихся дрожжей *S. cerevisiae* — белки Rap1 и Tel2. Основной функцией теломерного ДНК-связывающего белка TRF1 (или TRBF1 — Telomere Repeat Binding Factor 1) является регуляция длины теломер. Как показывают данные исследований, увеличение продукции TRF1 приводит к постепенному и прогрессивному укорочению теломер в человеческих клетках, в то время как уменьшение продукции ведет к их удлинению (Van Steensel, de Lange, 1997). В результате был сделан вывод о том, что TRF1 является супрессором элонгации теломер и отрицательным регулятором их длины. Так как его влияния на уровень активности теломеразы не наблюдалось, исследователи предположили, что он ингибирует действие теломеразы на концах отдельных теломер (Van Steensel, de Lange, 1997). Но здесь возникает вопрос: как именно это происходит? Поэтому в поисках ответа на него было предложено несколько возможных механизмов такого ингибирования. Одним из них является участие TRF1 в образовании т-петли (рис. 2, а) — структуры, формирующейся при изгибании назад и дальнейшей вставке одноцепочечной теломерной ДНК в двухцепочечную (Griffith et al., 1999). При этом одноцепочечная G-цепь образует гетеродуплекс с гомологичным участком двухцепочечной теломерной ДНК, что сопровождается локальным расплетанием последней и приводит к формированию Д-петли (рис. 2, а). Т-петля, как считают многие ученые, защищает концы теломер от действия ряда ферментов, в частности ферментов репарационной системы и теломеразы. В случае с ферментами репарации ДНК предполагается, что т-петля отличает конец теломеры от двухцепочечного разрыва хромосомы, который узнается этими ферментами, и тем самым защищает его от действия последних. В случае же с теломеразой в результате образования Т-петли конец G-цепи теломерной ДНК попросту становится недоступным для присоединения теломеразы, вследствие чего его дальнейшее удлинение становится невозможным. Если этот механизм совместить с данными вышеупомянутых исследований, то получается, что при увеличении количества белка TRF1 Т-петля будет формироваться более интенсивно, чем при его пониженном количестве, что впоследствии и приведет к невозможности удлинения теломер теломеразой и к их дальнейшему укорочению. Сущность другого механизма заключается в регулировании белком TRF1 доступа теломеразы к теломерам путем взаимодействия с другими

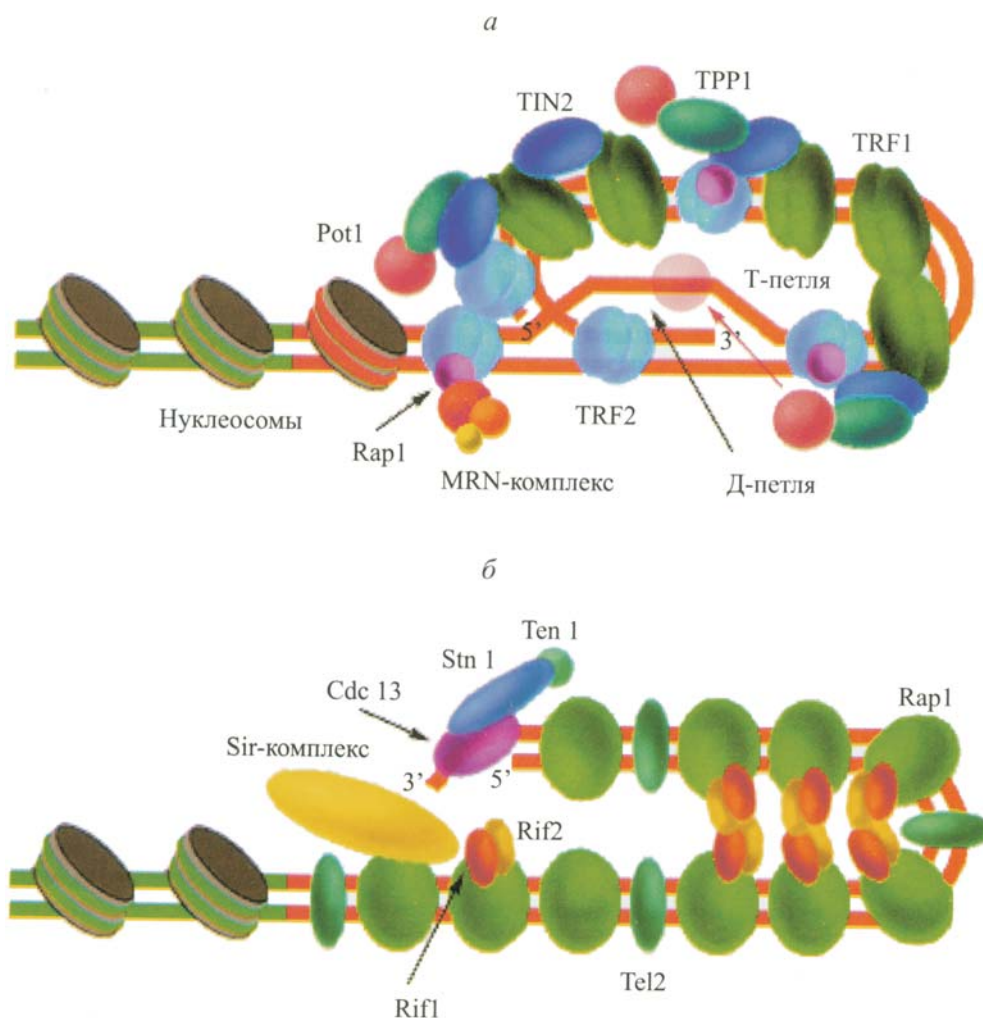


Рис. 2. Схематическое изображение структурной организации концевых участков хромосомы человека (а) и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (б).

теломерными белками, такими как TIN2, TPP1 и Pot1. В соответствии с третьим механизмом TRF1 может регулировать теломеразную активность посредством взаимодействия с белком PinX1, который способен связывать каталитическую субъединицу теломеразы и таким образом мощно ингибировать ее активность (Zhou, Lu, 2001).

Таким образом, на вопрос об ингибировании теломеразы на концах отдельных теломер существуют даже три ответа, которые не только не исключают друг друга, но и имеют право на совместное существование.

Белок TRF2 (или TRBF2 — Telomere Repeat Binding Factor 2), подобно белку TRF1, также регулирует длину теломер, но помимо этого ему принадлежит ключевая роль в защите концов теломер и в формировании т-петли. Так, результаты исследований показывают, что снижение продукции белка TRF2 в клетках с пониженной экспрессией гена, кодирующего этот белок, приводит к потере их теломерами одноцепочечных концевых участков и к возможному в дальнейшем слиянию теломер друг с другом (Van Steensel et al., 1998). Кроме того, недостаток TRF2 приводит к быстрому запуску программы апоптоза и

дальнейшей элиминации таких клеток (Karlseder et al., 1999). Что же касается роли белка TRF2 в формировании Т-петли, то она сводится к осуществлению самого внедрения одноцепочечной теломерной ДНК в двухцепочечную (Griffith et al., 1999). При этом белок TRF1 лишь облегчает этот процесс, т. е. способствует изгибанию, перекручиванию и соединению с двухцепочечной теломерной ДНК (Bianchi et al., 1997, 1999; Griffith et al., 1998, 1999). Исходя из этого напрашивается вывод о том, что именно благодаря участию TRF2 в осуществлении важнейшего этапа образования т-петли и определяется его ключевая роль в защите теломерных концов.

Как уже отмечалось, белок TRF2 также является и регулятором длины теломер. Об этом свидетельствуют экспериментальные факты, показывающие, что повышенная продукция TRF2, подобно повышенной продукции TRF1, также способствует прогрессивному укорочению длины теломер (Smogorzewska et al., 2000). Основной механизм такого укорочения, видимо, подобен тому, который рассматривался в отношении прогрессивного укорочения теломер на фоне повышенной продукции белка TRF1, т. е.

подразумевает более интенсивное формирование т-петли на фоне повышенной продукции белка TRF2 и дальнейшее блокирование доступа теломеразы. Таким образом, теломерный ДНК-связывающий белок TRF2 является вторым отрицательным регулятором длины теломер у млекопитающих (Smogorzewska et al., 2000).

Белок Rap1 является главным теломерным белком, регулирующим длину теломер у дрожжей *S. cerevisiae*. Механизм такой регуляции заключается в его участии опять же в образовании структуры, подобной т-петле у млекопитающих (рис. 2, б), и блокировании доступа теломеразы. Подобно белку TRF1, Rap1 также способствует изгибанию двухцепочечной теломерной ДНК, тем самым облегчая образование т-петли (Krauskopf, Blackburn, 1998; Evans, Lundblad, 2000), которое осуществляется также с помощью белков Rif1 и Rif2 (см. ниже). Кроме регуляции длины теломер белок Rap1 также функционирует как транскрипционный активатор и репрессор одновременно (Hardy et al., 1992).

Теломерный белок Tel2, подобно белку Rap1, также связывает двухцепочечную теломерную ДНК дрожжей *S. cerevisiae*. При этом белок Rap1 узнает двойные теломерные участки длиной 13 н. п., которые имеют структуру 5'-GGTGTGTGGGTGT-3'. Белок же Tel2 узнает и связывает лишь некоторую часть этих участков, а именно 5'-GTGTGTGG-3' (Kota, Runge, 1998). Подобно Rap1, он также играет важную роль в регулировании длины дрожжевых теломер. Так, клетки с мутированным геном, кодирующим белок Tel2, имеют короткие теломеры, длина которых не увеличивается (Kota, Runge, 1998).

Среди белков, связывающих одноцепочечную теломерную ДНК у млекопитающих, можно выделить белок Pot1, а у дрожжей *S. cerevisiae* — белок Cdc13. Так как белок Pot1 (Protection of telomeres) связывает G-богатые одноцепочечные концы теломерной ДНК, он играет важнейшую роль в регуляции длины теломер и в защите одноцепочечных нависающих концов, а соответственно и концов хромосом от деградации (Bunch et al., 2005). Взаимодействует он с другими теломерными белками посредством связывания с белком TPP1 (см. ниже). Функционирование Pot1, собственно, строго и зависит от соединения с TPP1. Так, белки Pot1 и TPP1 формируют комплекс с теломерной ДНК, который увеличивает активность человеческой теломеразы (Wang et al., 2007). Было предположено, что комплекс Pot1—TPP1 служит своего рода переключателем доступа теломеразы к теломерам и тем самым регулирует их длину (Wang et al., 2007). Дрожжевой белок Cdc13 также выполняет две функции. Первая заключается в защите теломер от деградации *in vivo* посредством связывания белков Stn1 и Ten1 (Grandin et al., 1997, 2001; Pennock et al., 2001). Второй функцией белка Cdc13 является регуляция длины теломер, которая осуществляется посредством прямого взаимодействия с теломерным белком дрожжей Est1 и регуляцией активности теломеразы (Evans, Lundblad, 1999; Pennock et al., 2001).

В состав третьей группы теломерных белков, т. е. белков, необходимых для формирования теломерного нуклеопротеинового комплекса более высокого порядка, у млекопитающих входят белки Rap1, TIN2 и TPP1, а у дрожжей *S. cerevisiae* — Stn1, Ten1, Rif1 и Rif2, комплекс Sir-белков и некоторые другие.

В отличие от дрожжевого белка Rap1 белок Rap1 у млекопитающих непосредственно не связывает теломерную ДНК, а взаимодействует с теломерами посредством связывания с белком TRF2 (Li et al., 2000). Известно, что

он является как структурным, так и функциональным аналогом белка Rap1 у *S. cerevisiae* и, подобно последнему, также участвует в регуляции длины теломер (Li, de Lange, 2003). Так, результаты исследований показывают, что ингибирование гена человека *Rap1* (*hRap1*) с помощью РНК-интерференции приводит к удлинению теломер, что позволяет отнести белок Rap1 к отрицательным регуляторам их длины (O'Connor et al., 2004). Кроме того, показано, что белок Rap1 взаимодействует со многими белками системы репарации ДНК, включая Rad50, Mre11, Ku 70/86 и PARP—1 (O'Connor et al., 2004). Комплексы MRN (Mre11/Rad50/Nbs1) и Ku 70/86 регулируют репарацию двухцепочечных разрывов ДНК и гомологичную рекомбинацию (Sung et al., 2000; Hopfner et al., 2002), а PARP1 модулирует структуру хроматина в ответ на стресс (Smith, 2001). Ранее уже отмечалось, что белку TRF2 принадлежит ключевая роль в защите концов теломер. Предполагается, что его защитная роль заключается не только в образовании Т-петли, но и во взаимодействии с белками системы репарации ДНК посредством связывания с белком hRap1. Таким образом, hRap1 вместе с TRF2 способны мобилизовать белки, отвечающие на повреждения ДНК, чтобы в конечном счете обеспечить поддержание нормальной структуры теломер (O'Connor et al., 2004).

Белкам TIN2 и TPP1 отводится главная роль в формировании теломерного нуклеопротеинового комплекса более высокого порядка у млекопитающих. TIN2 (или TIN2 — TRF1-interacting nuclear factor 2) связывает как белки TRF1 между собой (Kim et al., 1999), так и TRF1 с TRF2 (Ye et al., 2004). Такая связь стабилизирует TRF2 на теломерах, так как обработка клеток комплементарной гену *TIN2* малой интерферирующей РНК (миРНК, siRNA) приводит к уменьшению присутствия TRF2 и hRap1 на концах хромосом (Ye et al., 2004). Удаление с теломер TRF1 также приводит к уменьшению TRF2 на теломерах, что опять же свидетельствует в пользу связывающей роли TIN2 (Ye et al., 2004). Кроме того, так как TIN2 контролирует активность танкиразы (поли-(АДФ-рибозо)-полимеразы — ПАРП), которая путем АДФ-рибозилирования уменьшает способность TRF1 связывать теломерную ДНК (Smith et al., 1998), он также вносит вклад в регулирование длины теломер (Ye, de Lange, 2004).

TPP1 также необходим для соединения субкомплекс TRF1 и TRF2. Он помогает стабилизировать взаимодействие TRF1—TIN2—TRF2 и способствует формированию телосомы (O'Connor et al., 2006). В соответствии с этой моделью, повышенная экспрессия гена *TPP1* усиливает ассоциацию TIN2—TRF2, в то время как пониженная уменьшает способность эндогенного TRF1 связываться с TRF2 (O'Connor et al., 2006). Кроме того, как уже отмечалось выше, TPP1, связывая белок Pot1, формирует комплекс с теломерной ДНК, который играет важнейшую роль в регуляции активности теломеразы, длины теломер и их защите (Bunch et al., 2005; Hockemeyer et al., 2007; Wang et al., 2007).

У дрожжей *S. cerevisiae* белки Stn1 и Ten1 функционируют в комплексе с белком, связывающим одноцепочечную теломерную ДНК Cdc13, о чем уже упоминалось ранее. Белок Cdc13, собственно, и связывает белки Stn1 и Ten1 в единый функциональный комплекс, т. е. служит своего рода платформой для присоединения этих белков. В то время как Cdc13 регулирует длину теломер посредством регуляции активности теломеразы на отдельных теломерах (Evans, Lundblad, 1999; Pennock et al., 2001), ассоциированный с ним Stn1 является главным элементом

защиты концов хромосом дрожжей (Grandin et al., 1997; Pennock et al., 2001). Что же касается белка Ten1, то было предположено, что он как играет роль в регулировании длины теломер, так и предотвращает серьезные повреждения теломерной ДНК (Grandin et al., 2001). Выяснилось, что мутации гена *TEN1* приводят к аресту клеточного цикла в фазе G₂/M через активацию Rad9-зависимого чекпойнта (Grandin et al., 2001).

Белки Rif1 и Rif2 (Rap1p-interacting factors 1, 2) взаимодействуют с теломерами посредством связывания с карбокситерминальным доменом белка Rap1 и также играют важную роль в регулировании длины теломер (Levy, Blackburn, 2004). Так, показано, что удаление генов *RIF1* и *RIF2* приводит к увеличению длины теломер (Wotton, Shore, 1997), причем подобная ситуация наблюдается и при усечении карбоксильного конца белка Rap1 (Kyriou et al., 1992). Ранее уже отмечалось, что Rap1 регулирует длину теломер посредством регуляции доступа теломеразы на концах отдельных теломер через образование изогнутой структуры, подобной к той, что образуется с помощью белков TRF1 и TRF2 млекопитающих (Т-петли, рис. 2). При усечении карбоксильного конца белка Rap1 такая структура не будет образовываться, вследствие чего конец теломеры будет доступным для присоединения теломеразы и последующего удлинения ДНК, что и наблюдается в данном случае (Kyriou et al., 1992). Как известно, комплексу белков Rif принадлежит важнейшая роль в стабилизации такой структуры. Следовательно, любые действия (мутации, удаление генов *RIF* и т. п.), нарушающие нормальное функционирование белков Rif1 и Rif2, также приведут к нарушению образования такой структуры и последующему удлинению теломер, что и наблюдается в экспериментах (Wotton, Shore, 1997). Кроме того, к действиям, нарушающим функционирование белков Rif, можно отнести и усечение карбоксильного конца Rap1, так как вследствие этого белки не смогут взаимодействовать с теломерами и соответственно не будут участвовать в стабилизации этой структуры.

Комплекс Sir-белков (Sir2, Sir3 и Sir4) непосредственно не связывает теломеры, а взаимодействует с ними посредством связывания с карбоксильным концом белка Rap1 (Moazed et al., 1997). Как известно, у дрожжей *S. cerevisiae* эти белки способствуют прикреплению теломер к ядерной периферии. В пользу этого свидетельствуют результаты исследований, которые показывают, что Sir4 взаимодействует с белком Ku, который в свою очередь взаимодействует с белком ядерной поры Mlp2 (Galy et al., 2000). Белки Sir2, Sir3 и Sir4 также необходимы для транскрипционной репрессии (сайленсинга) генов, находящихся возле теломер, которая, собственно, и зависит от прикрепления теломер посредством белков Sir3 и Sir4 к ядерной оболочке (Palladino et al., 1993). В пользу этого свидетельствует тот факт, что мутации в генах *SIR3* и *SIR4* приводят к потере теломерами перинуклеарной локализации, теломерассоциированной репрессии генов, а также к укорочению теломер (Palladino et al., 1993). Среди белков Sir-семейства Sir2 является уникальным белком, поскольку имеет АДФ-рибозилтрансферазную активность, которая очень существенна для сайленсинга генов (Tanny et al., 1999; Imai et al., 2000; Moazed, 2001). Помимо участия в прикреплении теломер к ядерной оболочке и транскрипционной репрессии генов Sir-белки также играют важную роль в репарации двухцепочечных разрывов ДНК, функционировании ядрышка, регуляции клеточного цикла и контроле чекпойнтов (Gartenberg, 2000). Исхо-

дя из вышеприведенных данных по белкам Rif1, Rif2 и семейству Sir-белков следует подчеркнуть важную роль белка Rap1, а именно его карбокситерминального домена, в функционировании этих белков, благодаря которым ему и приписывают множество функций, которые он выполняет.

Таким образом, теломерные белки высших и низших эукариот выполняют довольно консервативные функции, главным образом заключающиеся в регуляции длины теломер и их защите, что видно из анализа компонентов теломерного нуклеопротеинового комплекса млекопитающих и дрожжей *S. cerevisiae*. При этом главной особенностью, объединяющей все теломерные белки, является участие их всех в поддержании стабильности теломерных участков хромосом.

Заключение

Исходя из сведений, представленных в этом обзоре, может сложиться впечатление, что структурная организация теломерных участков хромосом уже довольно хорошо изучена. На самом же деле это не совсем так. Да, действительно, теломеры были исследованы у многих разновидностей организмов. В ходе их исследования было получено множество данных относительно нуклеотидной организации теломерной ДНК, белков, ассоциированных с ней, а также других факторов, вовлеченных в поддержание стабильности теломер. Так как эти данные были получены для большого количества видов, выяснилось, что теломеры разных организмов не очень сильно различаются как по нуклеотидным последовательностям, так и по составу и функциям связанных с ними белков. Несмотря на это, многое в структуре теломер все еще остается малоизученным и является предметом предстоящих исследований. В первую очередь речь идет о связанных с теломерной ДНК белках. При этом их исследования должны быть направлены не только на изучение уже известных, но и на поиск новых теломерных белков. Помимо этого, важным направлением исследований в теломерной биологии является изучение других факторов, не входящих в состав теломер, но вовлеченных в регулирование их длины, а также их защиту от деградации. Последние хотя и не являются частью структуры теломер, но способны влиять на их организацию, что имеет немаловажное значение для поддержания стабильности концов хромосом. И наконец, важно проводить исследования теломер не только у тех видов, у которых такие исследования уже проводятся на протяжении длительного времени, но и по мере возможности у видов, у которых теломерные участки хромосом ранее еще не изучались.

Список литературы

- Оловников А. М. 1971. Принцип маргинотомии в матричном синтезе полинуклеотидов. ДАН СССР. 201 : 1496—1499.
- Abad J. P., de Pablos B., Osoegawa K., de Jong P. J., Martin-Gallardo A., Villasante A. 2004. TAHRE, a novel telomeric retrotransposon from *Drosophila melanogaster*, reveals the origin of *Drosophila* telomeres. Mol. Biol. Evol. 21 : 1620—1624.
- Abuin M., Martinez P., Sanchez L. 1996. Localization of the repetitive telomeric sequence (TTAGGG)_n in four salmonid species. Genome. 39 : 1035—1038.
- Ahmad K., Golic K. G. 1998. The transmission of fragmented chromosomes in *Drosophila melanogaster*. Genetics. 148 : 775—792.

- Allsopp R. C., Vaziri H., Patterson C., Goldstein S., Younglai E. V., Fletcher A. B., Greider C. W., Harley C. B. 1992. Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 89 : 10 114—10 118.
- Azzalin C. M., Reichenbach P., Khoraiuli L., Giulotto E., Lingner J. 2007. Telomeric repeat containing RNA and RNA surveillance factors at mammalian chromosome ends. *Science*. 318 : 798—801.
- Bassham S., Beam A., Shampay J. 1998. Telomere variation in *Xenopus laevis*. *Mol. Cell. Biol.* 18 : 269—275.
- Baur J. A., Zou Y., Shay J. W., Wright W. E. 2001. Telomere position effect in human cells. *Science*. 292 : 2075—2077.
- Bianchi A., Smith S., Chong L., Elias P., de Lange T. 1997. TRF1 is a dimer and bends telomeric DNA. *EMBO J.* 16 : 1785—1794.
- Bianchi A., Stansel R. M., Fairall L., Griffith J. D., Rhodes D., de Lange T. 1999. TRF1 binds a bipartite telomeric site with extreme spatial flexibility. *EMBO J.* 18 : 5735—5744.
- Biessmann H., Carter S. B., Mason J. M. 1990a. Chromosome ends in *Drosophila* without telomeric DNA sequences. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 87 : 1758—1761.
- Biessmann H., Champion L. E., O'Hair M., Ikenaga K., Kasravi B., Mason J. M. 1992a. Frequent transpositions of *Drosophila melanogaster* HeT-A transposable elements to receding chromosome ends. *EMBO J.* 11 : 4459—4469.
- Biessmann H., Mason J. M., Ferry K., d'Hulst M., Valgeirsdottir K., Traverse K. L., Pardue M. L. 1990b. Addition of telomere-associated HeT DNA sequences «heals» broken chromosome ends in *Drosophila*. *Cell*. 61 : 663—673.
- Biessmann H., Valgeirsdottir K., Lofsky A., Chin C., Ginther B., Levis R. W., Pardue M. L. 1992b. HeT-A, a transposable element specifically involved in «healing» broken chromosome ends in *Drosophila melanogaster*. *Mol. Cell. Biol.* 12 : 3910—3918.
- Blackburn E. H. 2001. Switching and signaling at the telomere. *Cell*. 106 : 661—673.
- Blasco M. A., Funk W., Villeponteau B., Greider C. W. 1995. Functional characterization and developmental regulation of mouse telomerase RNA. *Science*. 269 : 1267—1270.
- Bottius E., Bakhsis N., Scherf A. 1998. *Plasmodium falciparum* telomerase: *de novo* telomere addition to telomeric and nontelomeric sequences and role in chromosome healing. *Mol. Cell. Biol.* 18 : 919—925.
- Bunch J. T., Bae N. S., Leonardi J., Baumann P. 2005. Distinct requirements for Pot1 in limiting telomere length and maintaining chromosome stability. *Mol. Cell. Biol.* 25 : 5567—5578.
- Casacuberta E., Pardue M. L. 2005. HeT-A and TART, two *Drosophila* retrotransposons with a bona fide role in chromosome structure for more than 60 million years. *Cytogenet. Genome Res.* 110 : 152—159.
- Cohen P., Blackburn E. H. 1998. Two types of telomeric chromatin in *Tetrahymena thermophila*. *J. Mol. Biol.* 280 : 327—344.
- Conrad M. N., Dominguez A. M., Dresser M. E. 1997. Ndj1p, a meiotic telomere protein required for normal chromosome synapsis and segregation in yeast. *Science*. 276 : 1252—1255.
- Coren J. S., Epstein E. M., Vogt V. M. 1991. Characterization of a telomere-binding protein from *Physarum polycephalum*. *Mol. Cell. Biol.* 11 : 2282—2290.
- Danilevskaya O. N., Lowenhaupt K., Pardue M. L. 1998. Conserved subfamilies of the *Drosophila* HeT-A telomere-specific retrotransposon. *Genetics*. 148 : 233—242.
- Danilevskaya O. N., Traverse K. L., Hogan N. C., DeBaryshe P. G., Pardue M. L. 1999. The two *Drosophila* telomeric transposable elements have very different patterns of transcription. *Mol. Cell. Biol.* 19 : 873—881.
- Delany M.E., Krupkin A. B., Miller M. M. 2000. Organization of telomere sequences in birds: evidence for arrays of extreme length and for *in vivo* shortening. *Cytogenet. Cell Genet.* 90 : 139—145.
- Dokudovskaya S. S., Petrov A. V., Dontsova O. A., Bogdanov A. A. 1997. Telomerase is an unusual RNA-containing enzyme. A review. *Biochemistry*. 62 : 1206—1215.
- Dyneke J. N., Smith S. 2004. Resolution of sister telomere association is required for progression through mitosis. *Science*. 304 : 97—100.
- Emery H. S., Weiner A. M. 1981. An irregular satellite sequence is found at the termini of the linear extrachromosomal rDNA in *Dictyostelium discoideum*. *Cell*. 26 : 411—419.
- Evans S. K., Lundblad V. 1999. Est1 and Cdc13 as comediators of telomerase access. *Science*. 286 : 117—120.
- Evans S. K., Lundblad V. 2000. Positive and negative regulation of telomerase access to the telomere. *J. Cell Sci.* 113 : 3357—3364.
- Forney J., Henderson E. R., Blackburn E. H. 1987. Identification of the telomeric sequence of the acellular slime molds *Didymium iridis* and *Physarum polycephalum*. *Nucl. Acids Res.* 15 : 9143—9152.
- Forstemann K., Lingner J. 2001. Molecular basis for telomere repeat divergence in budding yeast. *Mol. Cell. Biol.* 21 : 7277—7286.
- Fujiwara H., Osanai M., Matsumoto T., Kojima K. K. 2005. Telomere-specific non-LTR retrotransposons and telomere maintenance in the silkworm, *Bombyx mori*. *Chromosome Res.* 13 : 455—467.
- Galy V., Olivo-Marin J. C., Scherthan H., Doye V., Rascajou N., Nehrbass U. 2000. Nuclear pore complexes in the organization of silent telomeric chromatin. *Nature*. 403 : 108—112.
- Gartenberg M. R. 2000. The Sir proteins of *Saccharomyces cerevisiae*: mediators of transcriptional silencing and much more. *Curr. Opin. Microbiol.* 3 : 132—137.
- Grandin N., Damon C., Charbonneau M. 2001. Ten1 functions in telomere end protection and length regulation in association with Stn1 and Cdc13. *EMBO J.* 20 : 1173—1183.
- Grandin N., Reed S. I., Charbonneau M. 1997. Stn1, a new *Saccharomyces cerevisiae* protein, is implicated in telomere size regulation in association with Cdc13. *Genes Develop.* 11 : 512—527.
- Griffith J., Bianchi A., de Lange T. 1998. TRF1 promotes parallel pairing of telomeric tracts *in vitro*. *J. Mol. Biol.* 278 : 79—88.
- Griffith J. D., Comeau L., Rosenfield S., Stansel R. M., Bianchi A., Moss H., de Lange T. 1999. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell*. 97 : 503—514.
- Hackett J. A., Feldser D. M., Greider C. W. 2001. Telomere dysfunction increases mutation rate and genomic instability. *Cell*. 106 : 275—286.
- Hahn W. C. 2003. Role of telomeres and telomerase in the pathogenesis of human cancer. *J. Clin. Oncol.* 21 : 2034—2043.
- Hardy C. F., Sussel L., Shore D. 1992. A RAP1-interacting protein involved in transcriptional silencing and telomere length regulation. *Genes Develop.* 6 : 801—814.
- Hediger F., Neumann F. R., Van Houwe G., Dubrana K., Gasser S. M. 2002. Live imaging of telomeres: yKu and Sir proteins define redundant telomere-anchoring pathways in yeast. *Curr. Biol.* 12 : 2076—2089.
- Henson J. D., Neumann A. A., Yeager T. R., Reddel R. R. 2002. Alternative lengthening of telomeres in mammalian cells. *Oncogene*. 21 : 598—610.
- Hiraoka Y., Henderson E., Blackburn E. H. 1998. Not so peculiar: fission yeast telomere repeats. *Trends Biochem. Sci.* 23 : 126.
- Hockemeyer D., Palm W., Else T., Daniels J. P., Takai K. K., Ye J. Z. S., Keegan C. E., de Lange T., Hammer G. D. 2007. Telomere protection by mammalian Pot1 requires interaction with Tpp1. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 14 : 754—761.
- Hopfner K. P., Putnam C. D., Tainer J. A. 2002. DNA double-strand break repair from head to tail. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 12 : 115—122.
- Imai S., Armstrong C. M., Kaeberlein M., Guarente L. 2000. Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature*. 403 : 795—800.
- Jäger D., Philippsen P. 1989. Stabilization of dicentric chromosomes in *Saccharomyces cerevisiae* by telomere addition to broken ends or by centromere deletion. *EMBO J.* 8 : 247—254.
- 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.

- Kim S., Kaminker P., Campisi J. 1999. TIN2, a new regulator of telomere length in human cells. *Nat. Genet.* 23 : 405—412.
- Kirk K. E., Blackburn E. H. 1995. An unusual sequence arrangement in the telomeres of the germ-line micronucleus in *Tetrahymena thermophila*. *Genes Develop.* 9 : 59—71.
- Kirk K. E., Harmon B. P., Reichardt I. K., Sedat J. W., Blackburn E. H. 1997. Block in anaphase chromosome separation caused by a telomerase template mutation. *Science.* 275 : 1478—1481.
- Klobutcher L. A., Swanton M. T., Donini P., Prescott D. M. 1981. All gene-sized DNA molecules in four species of hypotrichs have the same terminal sequence and an unusual 3'-terminus. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 78 : 3015—3019.
- Kota R. S., Runge K. W. 1998. The yeast telomere length regulator TEL2 encodes a protein that binds to telomeric DNA. *Nucl. Acids Res.* 26 : 1528—1535.
- Kramer K. M., Haber J. E. 1993. New telomeres in yeast are initiated with a highly selected subset of TG₁₋₃ repeats. *Genes Develop.* 7 : 2345—2356.
- Krauskopf A., Blackburn E. H. 1998. Rap1 protein regulates telomere turnover in yeast. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 95 : 12 486—12 491.
- Kurenova E. V., Mason J. M. 1997. Telomere functions. A review. *Biochemistry.* 62 : 1242—1253.
- Kyrion G., Boakye K. A., Lustig A. J. 1992. C-terminal truncation of RAPI results in the deregulation of telomere size, stability, and function in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.* 12 : 5159—5173.
- Lejnine S., Makarov V. L., Langmore J. P. 1995. Conserved nucleoprotein structure at the ends of vertebrate and invertebrate chromosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 92 : 2393—2397.
- Levis R. W., Ganesan R., Houtchens K., Tolar L. A., Shen F. M. 1993. Transposons in place of telomeric repeats at a *Drosophila* telomere. *Cell.* 75 : 1083—1093.
- Levy D. L., Blackburn E. H. 2004. Counting of Rif1p and Rif2p on *Saccharomyces cerevisiae* telomeres regulates telomere length. *Mol. Cell. Biol.* 24 : 10 857—10 867.
- Li B., de Lange T. 2003. Rap1 affects the length and heterogeneity of human telomeres. *Mol. Biol. Cell.* 14 : 5060—5068.
- Li B., Oestreich S., de Lange T. 2000. Identification of human Rap1 : implications for telomere evolution. *Cell.* 101 : 471—483.
- Mangahas J. L., Alexander M. K., Sandell L. L., Zakian V. A. 2001. Repair of chromosome ends after telomere loss in *Saccharomyces*. *Mol. Biol. Cell.* 12 : 4078—4089.
- McCormick-Graham M., Haynes W. J., Romero D. P. 1997. Variable telomeric repeat synthesis in *Paramecium tetraurelia* is consistent with misincorporation by telomerase. *EMBO J.* 16 : 3233—3242.
- McCormick-Graham M., Romero D. P. 1996. A single telomerase RNA is sufficient for the synthesis of variable telomeric DNA repeats in ciliates of the genus *Paramecium*. *Mol. Cell. Biol.* 16 : 1871—1879.
- McEachern M. J., Blackburn E. H. 1994. A conserved sequence motif within the exceptionally diverse telomeric sequences of budding yeasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91 : 3453—3457.
- McKnight T. D., Fitzgerald M. S., Shippen D. E. 1997. Plant telomeres and telomerases. A review. *Biochemistry.* 62 : 1224—1231.
- Melnikova L., Georgiev P. 2005. *Drosophila* telomeres: the non-telomerase alternative. *Chromosome Res.* 13 : 431—441.
- Meyne J., Ratliff R. L., Moyzis R. K. 1989. Conservation of the human telomere sequence (TTAGGG)_n among vertebrates. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 86 : 7049—7053.
- Mizuno H., Wu J., Katayose Y., Kanamori H., Sasaki T., Matsumoto T. 2008. Chromosome-specific distribution of nucleotide substitutions in telomeric repeats of rice (*Oryza sativa* L.). *Mol. Biol. Evol.* 25 : 62—68.
- Moazed D. 2001. Enzymatic activities of Sir2 and chromatin silencing. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13 : 232—238.
- Moazed D., Kistler A., Axelrod A., Rine J., Johnson A. D. 1997. Silent information regulator protein complexes in *Saccharomyces cerevisiae*: a SIR2/SIR4 complex and evidence for a regulatory domain in SIR4 that inhibits its interaction with SIR3. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 94 : 2186—2191.
- Moyzis R. K., Buckingham J. M., Cram L. S., Dani M., Deaven L. L., Jones M. D., Meyne J., Ratliff R. L., Wu J. R. 1988. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 85 : 6622—6626.
- Muller F., Wicky C., Spicher A., Tobler H. 1991. New telomere formation after developmentally regulated chromosomal breakage during the process of chromatin diminution in *Ascaris lumbricoides*. *Cell.* 67 : 815—822.
- Nanda I., Schmid M. 1994. Localization of the telomeric (TTAGGG)_n sequence in chicken (*Gallus domesticus*) chromosomes. *Cytogenet. Cell Genet.* 65 : 190—193.
- O'Connor M. S., Safari A., Liu D., Qin J., Songyang Z. 2004. The human Rap1 protein complex and modulation of telomere length. *J. Biol. Chem.* 279 : 28 585—28 591.
- O'Connor M. S., Safari A., Xin H., Liu D., Songyang Z. 2006. A critical role for TPP1 and TIN2 interaction in high-order telomeric complex assembly. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 103 : 11 874—11 879.
- Ohki R., Tsurimoto T., Ishikawa F. 2001. *In vitro* reconstitution of the end replication problem. *Mol. Cell. Biol.* 21 : 5753—5766.
- Olovnikov A. M. 1973. A theory of marginotomy: the incomplete copying of template margin in enzymatic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J. Theor. Biol.* 41 : 181—190.
- Palladino F., Laroche T., Gilson E., Axelrod A., Pillus L., Gasser S. M. 1993. SIR3 and SIR4 proteins are required for the positioning and integrity of yeast telomeres. *Cell.* 75 : 543—555.
- Pardue M. L., Danilevskaia O. N., Traverse K. L., Lowenhaupt K. 1997. Evolutionary links between telomeres and transposable elements. *Genetica.* 100 : 73—84.
- Pardue M. L., DeBaryshe P. G. 1999. *Drosophila* telomeres: two transposable elements with important roles in chromosomes. *Genetica.* 107 : 189—196.
- Pardue M. L., Rashkova S., Casacuberta E., DeBaryshe P. G., George J. A., Traverse K. L. 2005. Two retrotransposons maintain telomeres in *Drosophila*. *Chromosome Res.* 13 : 443—453.
- Pedram M., Sprung C. N., Gao Q., Lo A. W. I., Reynolds G. E., Murnane J. P. 2006. Telomere position effect and silencing of transgenes near telomeres in the mouse. *Mol. Cell. Biol.* 26 : 1865—1878.
- Pennaneach V., Putnam C. D., Kolodner R. D. 2006. Chromosome healing by *de novo* telomere addition in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Microbiol.* 59 : 1357—1368.
- Pennock E., Buckley K., Lundblad V. 2001. Cdc13 delivers separate complexes to the telomere for end protection and replication. *Cell.* 104 : 387—396.
- Perez J., Moran P., Garcia-Vazquez E. 1999. Cloning and physical mapping of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) telomeric sequences. *Heredity.* 82 : 409—414.
- Petracek M. E., Lefebvre P. A., Silflow C. D., Berman J. 1990. *Chlamydomonas* telomere sequences are A+T-rich but contain three consecutive G-C base pairs. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 87 : 8222—8226.
- Podgornaya O. I., Bugaeva E. A., Voronin A. P., Gilson E., Mitchell A. R. 2000. Nuclear envelope associated protein that binds telomeric DNAs. *Mol. Reprod. Develop.* 57 : 16—25.
- Richards E. J., Ausubel F. M. 1988. Isolation of a higher eukaryotic telomere from *Arabidopsis thaliana*. *Cell.* 53 : 127—136.
- Rockmill B., Roeder G. S. 1998. Telomere-mediated chromosome pairing during meiosis in budding yeast. *Genes Develop.* 12 : 2574—2586.
- Rose A., Patel S., Meier I. 2004. The plant nuclear envelope. *Planta.* 218 : 327—336.
- Sahara K., Marec F., Traut W. 1999. TTAGG telomeric repeats in chromosomes of some insects and other arthropods. *Chromosome Res.* 7 : 449—460.
- Sheen F. M., Levis R. W. 1994. Transposition of the LINE-like retrotransposon TART to *Drosophila* chromosome termini. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 91 : 12 510—12 514.
- Shiels P. G., Kind A. J., Campbell K. H., Waddington D., Wilmut I., Colman A., Schnieke A. E. 1999. Analysis of telomere lengths in cloned sheep. *Nature.* 399 : 316—317.

- Shpiz S., Kwon D., Uneva A., Kim M., Klenov M., Rozovsky Y., Georgiev P., Savitsky M., Kalmykova A. 2007. Characterization of *Drosophila* telomeric retroelement *TAHRE*: transcription, transpositions, and RNAi-based regulation of expression. *Mol. Biol. Evol.* 24 : 2535—2545.
- Smith S. 2001. The world according to PARP. *Trends Biochem. Sci.* 26 : 174—179.
- Smith S., Giriat L., Schmitt A., de Lange T. 1998. Tankyrase, a poly(ADP-ribose) polymerase at human telomeres. *Science*. 282 : 1484—1487.
- 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.
- Sung P., Trujillo K. M., Van Komen S. 2000. Recombination factors of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat. Res.* 451 : 257—275.
- Tanny J. C., Dowd G. J., Huang J., Hilz H., Moazed D. 1999. An enzymatic activity in the yeast Sir2 protein that is essential for gene silencing. *Cell*. 99 : 735—745.
- 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.
- Tommerup H., Dousmanis A., de Lange T. 1994. Unusual chromatin in human telomeres. *Mol. Cell. Biol.* 14 : 5777—5785.
- Van Steensel B., de Lange T. 1997. Control of telomere length by the human telomeric protein TRF1. *Nature*. 385 : 740—743.
- Van Steensel B., Smogorzewska A., de Lange T. 1998. TRF2 protects human telomeres from end-to-end fusions. *Cell*. 92 : 401—413.
- Wang F., Podell E. R., Zaug A. J., Yang Y., Baciou P., Cech T. R., Lei M. 2007. The POT1-TPP1 telomere complex is a telomerase processivity factor. *Nature*. 445 : 506—510.
- Wicky C., Villeneuve A. M., Lauper N., Codourey L., Tobler H., Muller F. 1996. Telomeric repeats (TTAGGC)_n are sufficient for chromosome capping function in *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 93 : 8983—8988.
- Wotton D., Shore D. 1997. A novel Rap1p-interacting factor, Rif2p, cooperates with Rif1p to regulate telomere length in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes Develop.* 11 : 748—760.
- Wright J. H., Gottschling D. E., Zakian V. A. 1992. *Saccharomyces cerevisiae* telomeres assume a non-nucleosomal chromatin structure. *Genes Develop.* 6 : 197—210.
- Ye J. Z., de Lange T. 2004. TIN2 is a tankyrase 1 PARP modulator in the TRF1 telomere length control complex. *Nat. Genet.* 36 : 618—623.
- Ye J. Z., Donigian J. R., van Overbeek M., Loayza D., Luo Y., Krutchinsky A. N., Chait B. T., de Lange T. 2004. TIN2 binds TRF1 and TRF2 simultaneously and stabilizes the TRF2 complex on telomeres. *J. Biol. Chem.* 279 : 47 264—47 271.
- Zellinger B., Riha K. 2007. Composition of plant telomeres. *Biochim. Biophys. Acta.* 1769 : 399—409.
- Zhou X. Z., Lu K. P. 2001. The Pin2/TRF1-interacting protein PinX1 is a potent telomerase inhibitor. *Cell*. 107 : 347—359.
- Zijlmans J. M., Martens U. M., Poon S. S. S., Raap A. K., Tanke H. J., Ward R. K., Lansdorp P. M. 1997. Telomeres in the mouse have large inter-chromosomal variations in the number of T₂AG₃ repeats. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 94 : 7423—7428.

Поступила 27 I 2009

FEATURES OF STRUCTURAL ORGANIZATION OF TELOMERES
IN VARIOUS KINDS OF ORGANISMS

A. A. Grach

Khmelnysky District Hospital, Khmelnytskyy, Ukraine; e-mail: andry_gr@mail.ru

The review considers the structure of telomeres, terminal regions of linear of linear chromosomal DNA. Features of nucleotide organization of telomeric DNA in different species are shown. Special attention is given to analysis of functions of separate mammal and *Saccharomyces cerevisiae* telomere proteins, and their role in telomere length regulation and protection against degradation.

Key words: telomeric DNA, telomere sequences, vertebrates, protests, yeasts, telosome, t-loop.