Обзорные статьи

УДК 576.316.24+577.213.3+577.215

А.А. ГРАЧ
Хмельницкая областная больница
E-mail: andry_gr@mail.ru

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УДЛИНЕНИЯ ТЕЛОМЕР

Рассматриваются механизмы альтернативного удлинения теломер (ALT), которым отводится второе после теломеразы, но не менее важное место в регуляции длины теломер. Приводятся общие сведения об ALT. Характеризируется альтернативное удлинение теломер в нормальных и раковых клеточных линиях. Особое внимание уделяется особенностям функционирования рекомбинационного и ретротранспозиционного механизмов ALT.

© А.А. ГРАЧ, 2011

Введение

Теломерами принято называть концевые участки хромосом, которые у большинства видов состоят из множества постоянно повторяющихся коротких нуклеотидных последовательностей [1, 2] и специфических для них белков [3]. В течение долгого времени считалось, что с теломерных последовательностей не транскрибируются молекулы РНК, но результаты недавних исследований показывают обратное. Так, Azzalin et al. [4] выяснили, что теломерные участки хромосом служат матрицей для синтеза РНК, функции которой остаются пока неизвестными. Не ожидается, что она кодирует белок, но авторы исследования предполагают, что она играет важную роль в регулировании длины теломер и участвует в образовании теломерного гетерохроматина. Функции теломер заключаются в фиксации хромосом к ядерному матриксу, в стабилизации хромосом, предотвращая их транслокации, слияния и другие поломки в процессе митоза, а также в предохранении от процесса концевой недорепликации более значимых областей ДНК [5–7]. Процесс концевой недорепликации заключается в том, что ДНК-полимеразы, производящие репликацию ДНК, не в состоянии полностью реплицировать концы линейных молекул ДНК, вследствие чего в процессе деления клетки теломерные участки хромосом укорачиваются приблизительно на 50 нуклеотидных пар за генерацию [8]. При такой скорости укорочения теломер, а это примерно 0,00005 % общей длины ДНК за одно деление, через обозримое число клеточных удвоений хромосомы должны были бы вообще исчезнуть, но этого не происходит, так как существуют специальные механизмы, удлиняющие укороченные в ходе делений теломерные участки хромосом. Такие механизмы имеют высокую активность в раковых, половых и стволовых клетках, но низкую во всех остальных нормальных соматических клетках [9]. При этом существует прямая связь между длиной теломер и активностью механизмов, удлиняющих их, с количеством делений и продолжительностью жизни клеток [10–13]. Так как раковые, половые и стволовые клетки имеют высокую активность таких механизмов, то и существовать они могут необычайно долго.

Основным механизмом удлинения теломер у большинства типов клеток считается их уд-

линение с участием теломеразы. Теломераза – рибонуклеопротеиновый фермент, основной функцией которого является синтез G-цепи теломерной ДНК, который осуществляется в процессе обратной транскрипции входящей в состав теломеразы РНК к концам хромосом [14, 15]. Помимо теломеразы, в возобновлении длины укороченных теломер также участвуют и так называемые альтернативные механизмы удлинения теломер – ALT (Alternative Lengthening of Telomeres). Именно о последних и пойдет речь в настоящем обзоре. Их изучение, равно как и изучение теломеразного механизма, представляет большую ценность не только для теломерной биологии, но и для молекулярной биологии в целом, а также для ряда других наук. Среди последних наибольший интерес изучение ALT представляет, по-видимому, для онкологии, что обусловлено наличием резистентности определенных типов опухолей к биотерапии ингибиторами теломеразы и вынуждает вести поиск ингибиторов ALT. Кроме того, полученные результаты в будущем могут послужить основой для создания новых средств борьбы не только с раком, но и со старением, а также рядом других заболеваний, лечение которых требует увеличения скорости регенерации тканей, что невозможно без высокого пролиферативного потенциала клеток, обеспечивающегося наличием длинных теломер и соответственно механизмами их удлинения.

В литературе довольно часто встречаются систематизированные данные о теломеразном механизме удлинения теломер, чего нельзя сказать об ALT. В связи с тем, что ALT играет не менее важную роль в поддержании стабильности как теломер, так и всего генома, а соответственно в процессах старения и ракового перерождения клеток, считаем необходимым ниже привести существующие на сегодня данные об альтернативных механизмах удлинения теломер в обобщенном и систематизированном виде.

Общие сведения об ALT

Как известно, в клетках с высокой митотической активностью во избежание быстрого укорочения теломер, приводящего к аресту клеточного цикла и апоптозу, функционируют специальные механизмы, удлиняющие укороченные в ходе делений теломеры. Ведущая роль среди этих механизмов принадлежит теломеразе. Но далеко не во всех клетках с достаточно длинными теломерами удается обнаружить теломеразную активность. Кроме того, укороченные теломерные участки хромосом в таких линиях клеток постоянно удлиняются до прежней, а то и большей длины [16, 17]. Причиной этому являются альтернативные механизмы удлинения теломер [18]. ALT в клетках высших эукариот может осуществляться посредством двух механизмов. Первый заключается в рекомбинационно-опосредованном удлинении теломер, второй – в ретротранспозиции мобильных генетических элементов к концам укороченных теломер. При этом ретротранспозиционно-опосредованное удлинение теломер наблюдается у небольшого количества видов, среди которых плодовая мушка *Drosophila melanogaster*, все остальные исследованные – двукрылые и некоторые другие насекомые [19–21]. Поэтому рекомбинационно-опосредованное удлинение теломер можно считать преобладающим механизмом ALT. Так, по мнению исследователей, рекомбинационное удлинение теломер у человека является более вероятным кандидатом на роль ALT, чем ретротранспозиционное [22].

Считается, что механизмы ALT функционируют в иммортализованных раковых клеточных линиях и репрессированы в нормальных клетках человека. Так, предполагается, что рекомбинационно-опосредованное удлинение теломер в норме ингибировано белком, связывающим концевые одноцепочечные участки теломерной ДНК – Pot1 [23]. Так как большая часть теломерной ДНК человека имеет нуклеосомную организацию, гистоны также могут быть вовлечены в нормальную супрессию рекомбинации теломер [18]. Правда, следует отметить, что сложившееся мнение о репрессии ALT в нормальных клетках обусловлено в первую очередь меньшим интересом исследователей к изучению ALT в таких клетках по сравнению с раковыми и, как следствие, недостаточностью научных данных по этой проблеме. В то же время некоторые свидетельства в поддержку рекомбинационно-опосредованного механизма удлинения теломер в нормальных соматических клетках все же существуют. Так, в ходе исследования теломер в культуре нормальных

человеческих фибробластов выяснилось, что короткие теломеры были удлинены более чем на 1–2 кб, в то время как более длинные быстро укорачивались [24], что согласуется с механизмом нереципрокной рекомбинации между длинными и короткими теломерами. Имеются также свидетельства ALT в некоторых нормальных клетках мышей *in vivo* при определенных условиях. В клетках мышей с утраченной теломеразной активностью вследствие мутации гена теломеразной РНК (*mTERC–/–*) было установлено, что размер теломер постепенно сокращается, вследствие чего происходит гибель таких клеток. При этом не все клетки погибают. Некоторые из них продолжают свое существование и в отсутствие теломеразной активности. Помимо того, в таких клетках наблюдается тенденция к удлинению своих теломер. Из этого следует одно возможное объяснение – такие клетки для поддержания нормальной длины теломер используют механизмы ALT [25]. Таким образом, вопрос о механизмах ALT в нормальных клетках все еще остается открытым и требует дальнейших исследований, так как в литературе существуют довольно противоречивые сведения об этом.

Намного лучше ALT исследовано в раковых клеточных линиях. Так, результаты исследований показывают, что теломеразная активность в среднем обнаруживается в 20 из 35 иммортализованных клеточных линий, в остальных же наблюдаются альтернативные механизмы удлинения теломер, причем отсутствие теломеразной активности в таких линиях клеток не коррелирует с методом иммортализации и каким-либо определенным типом клеток [17]. Такие клетки имеют очень длинные и гетерогенные по размеру и структуре теломеры, чего не наблюдается в клетках с теломеразной активностью, где теломеры гомогенные [17]. Мало того, в иммортализованных клетках с ALT не было обнаружено ингибиторов теломеразы [17]. Интересно, что 3 из 4 линий клеток, использующих ALT, были получены из сарком. Это согласуется с наблюдениями, что в иммортализованных клеточных линиях, полученных *in vitro* из фибробластов, альтернативное удлинение теломер наблюдается чаще, чем в линиях, полученных из эпителиальных клеток [26]. Следует также отметить, что в одних и тех же опухолях могут существовать как клетки с альтернативным удлинением теломер, так и клетки с теломеразной активностью. Кроме того, ALT и теломераза могут вместе сосуществовать в одних и тех же клетках [27].

Рекомбинационно-опосредованное удлинение теломер

Как уже отмечалось, преобладающим механизмом ALT является рекомбинационно-опосредованное удлинение теломер. Его в свою очередь можно разделить на нереципрокную рекомбинацию и рекомбинационно-опосредованную репликацию теломер.

Нереципрокная рекомбинация заключается в нереципрокном обмене теломерных последовательностей между длинными и короткими теломерами. Так как данный механизм в конце концов все равно приведет к укорочению всех теломер клетки, то вряд ли он используется для удлинения теломер в иммортализованных клетках. Свидетельства существования такого механизма рекомбинационного удлинения теломер уже были приведены выше [24].

Прежде чем приступить к рассмотрению рекомбинационно-опосредованной репликации теломер, следует упомянуть еще об одной особенности ALT-клеток, а именно о так называемых экстрахромосомных теломерных повторах (ЭХТП), которым отводится определенная роль в функционировании указанного варианта рекомбинационного механизма ALT. ЭХТП представляют собой фрагменты теломерной ДНК в линейной и кольцевой формах, а также в форме т-петли, которые, как известно, в избыточном количестве содержатся в ALT-клетках [28–31]. В этом плане интересно, что из общего числа экстрахромосомных теломерных повторов, обнаруженных у разных типов клеток, лишь их небольшая часть входит в состав столь важных для процесса рекомбинации структур под названием APBs, о которых речь пойдет чуть позже [30, 32]. Экстрахромосомные т-петли и т-кольца могут образовываться вследствие неудавшихся (прерванных) рекомбинаций между теломерами или несоответствующей репарации переходов Холлидэя (Holliday junctions). Последние формируются вследствие образования т-петель (теломерных петель) –

структур, формирующихся при изгибании и последующей вставке одноцепочечной теломерной ДНК в двухцепочечную, которые защищают концы теломер от разного рода ферментативного воздействия [33]. Следует отметить, что кольцевые ЭХТП могут образовываться и в клетках, не использующих ALT, когда происходит нарушение функции теломерного белка TRF2 [31], который, как известно, играет ключевую роль в образования т-петли [34]. Реализация ЭХТП в ALT-зависимой элонгации теломер может происходить двумя способами. Первый предусматривает выступление ЭХТП в роли матриц для рекомбинационно-опосредованной репликации теломер, второй – их непосредственное присоединение к концам отдельных теломер. При этом линейные ЭХТП вряд ли используются для быстрого удлинения теломер, которое наблюдается в клетках с ALT, поскольку они являются слишком короткими (их длина составляет всего несколько килобаз). Потому преобладающее значение в ALT принадлежит экстрахромосомным т-петлям и т-кольцам, которые могут быть весьма большими [29] и являются более важными кандидатами на роль матриц для рекомбинационно-опосредованной репликации теломер [35].

Рекомбинационно-опосредованная репликация теломер может осуществляться четырьмя путями: 1) рекомбинацией между двумя теломерами [36, 37]; 2) посредством образования т-петли [33]; 3) рекомбинацией между теломерой и кольцевым ЭХТП; 4) рекомбинацией между теломерой и линейным ЭХТП [18]. Все эти пути, в конечном счете, заканчиваются удлинением коротких теломер, которое осуществляется в процессе матричного синтеза теломерной ДНК обычной ДНК-полимеразой. На рис. 1 приведено схематическое изображение первого варианта рекомбинационно-опосредованной репликации теломер.

Как видно из схемы, прежде всего происходит взаимодействие двух молекул ДНК с образованием гибридных теломер, причем цепь от одной теломерной ДНК должна быть намного длиннее цепи другой теломерной ДНК. Далее ДНК-полимеразный комплекс, используя в качестве матрицы более длинную цепь, путем обычной ДНК-полимеразной реакции удлиняет более короткую цепь. По завершении процесса структура теломер может как восстанавливаться до прежнего, негибридного состояния (рис. 1), так и молекулы ДНК могут обмениваться теломерными фрагментами соответствующих цепей. Важно подчеркнуть, что использование в этом варианте матричного синтеза ДНК собственно и отличает его от нереципрокной рекомбинации, за которой короткие теломеры удлиняются за счет длинных. Поэтому именно рекомбинационно-опосредованная репликация теломер, по-видимому, и используется для удлинения теломер большинством иммортализованных клеток, что согласуется с данными об очень длинных теломерах в таких клетках [17].

Важным признаком рекомбинационного ALT механизма считается присутствие ALT-ассоциированных PML-телец – APBs (ALT-associated PML bodies), которые являются субъядерными структурами и состоят из белков PML и SP100, теломерной ДНК в виде кольцевых или линейных ЭХТП, теломерных белков и других белков, вовлеченных в репликацию, рекомбинацию и репарацию ДНК [28, 38]. Среди последних наибольший интерес представляют белки RAD51, RAD52, RPA, BLM, WRN, а также комплексы белков MRE11/RAD50/NBS1(MRN) и SMC5/6, которым принадлежит ключевая роль в процессе рекомбинации [28, 39–46]. Прежде чем перейти к рассмотрению исследований, касающихся роли этих белков в рекомбинационно-опосредованной репликации теломер, следует немного сказать об их функциях. Так, белок PML (promyelocytic leukemia protein), являющийся главным компонентом PML-телец, функционирует так же, как супрессор роста клеток, играет прямую роль в апоптозе и участвует в контроле презентации антигенов главным комплексом гистосовместимости класса 1. Нарушение функции этого белка наблюдается в случае промиелоцитной лейкемии, в связи с чем он и получил свое название. При этом заболевании в результате хромосомной транслокации происходит образование сплавленного белка, состоящего из белка PML и рецептора ретинойной кислоты альфа (RARα – retinoic acid receptor α), что приводит к нарушению образования PML-телец [28, 38]. Другой важный компонент PML-телец – белок SP100 – играет

роль транскрипционного модулятора, а также связывает белок NBS1, участвующий как в рекомбинации, так и репарации ДНК [47]. Последний вместе с белками MRE11 и RAD50 образовывает MRN-комплекс белков, который участвует в обнаружении повреждений ДНК, индукции чекпойнта в S-фазе клеточного цикла, а также в репарации разрывов ДНК путем гомологичной и негомологичной рекомбинации, что соответственно делает его одним из важнейших элементов в поддержании целостности генома [45, 48–50]. Не менее важными такими элементами являются белки RAD51 и RAD52. Первый, будучи структурным и функциональным гомологом бактериального белка RecA, играет одну из самых важных ролей в гомологичной рекомбинации, так как организовывает белковый комплекс, необходимый для спаривания хромосом и последующего обмена цепями ДНК [51–53]. Помимо этого, он также вовлечен в репарацию двухцепочечных разрывов ДНК, которая, собственно, и осуществляется путем гомологичной рекомбинации [52, 53]. Второй же белок усиливает специфичность связывания RAD51 с однонитевой ДНК в процессе рекомбинации. Это происходит путем стимуляции белком RAD52 связывания RAD51 с репликационным белком А (RPA – replication protein A), покрывающим одноцепочечные участки и облегчающим раскручивание ДНК. Такое взаимодействие в конечном счете приводит к образованию рекомбиногенного нуклеопротеинового филамента, состоящего из одноцепочечной ДНК и окружающего ее белка RAD51, который в дальнейшем участвует в RAD51-опосредованном обмене цепями [51, 54, 55]. Здесь становится важной еще одна функция белка RAD52, которая заключается в том, что он после процесса обмена цепями производит отжиг (воссоединение) комплементарных одноцепочечных участков, произошедших от двух разных молекул ДНК [56].

Белки BLM (Bloom syndrome protein) и WRN (Werner syndrome protein), функции которых нарушены при таких наследственных заболеваниях, как синдромы Блума и Вернера, относятся к RecQ-подобным ДНК-хеликазам и играют довольно-таки важную роль в репликации, рекомбинации и репарации ДНК.

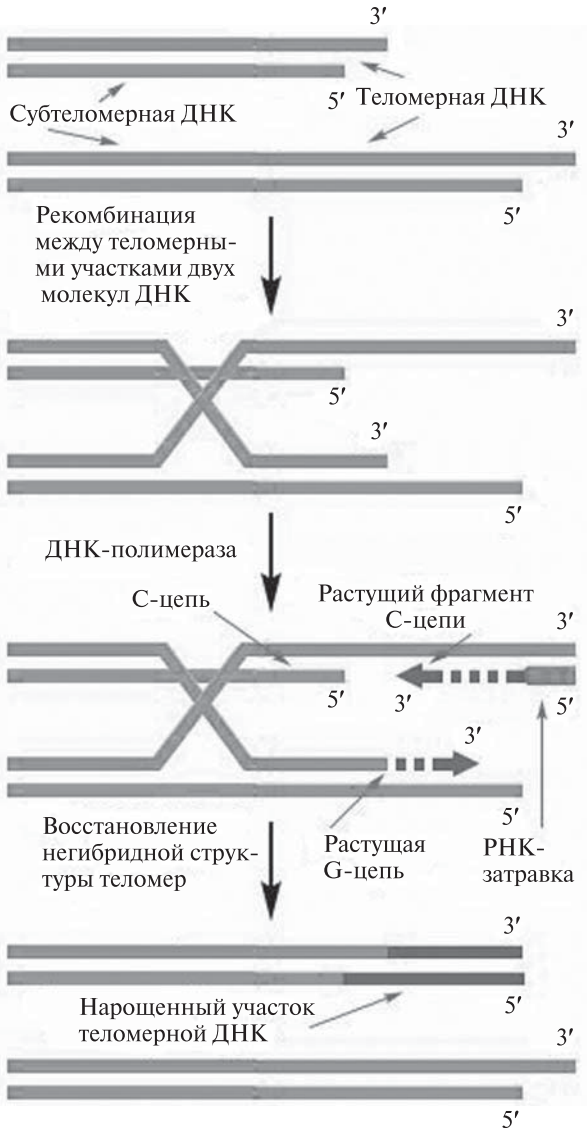

Рис. 1. Схематическое изображение рекомбинационно-опосредованной репликации теломер путем рекомбинации между двумя теломерами

Оба белка способны раскручивать дуплексную ДНК в 3'→5' направлении. При этом белок BLM владеет только 3'→5' хеликазной активностью, в то время как WRN, помимо хеликазной, также имеет и 3'→5' экзонуклеазную активность [57]. Следует отметить, что WRN является единственным белком семейства RecQ у человека, который имеет как хеликазную, так и экзонуклеазную активность [58]. Еще одной важной особенностью этих белков является то, что они способны раскручивать

различные формы сильно устойчивых G-квадруплексов – структур, которые могут образовываться на участках ДНК, богатых гуанином [57, 59]. Хорошим примером таких участков является теломерная ДНК. Помимо этого, BLM и WRN также содействуют миграции переходов Холлидэя [60, 61]. В общем случае переход Холлидэя формируется между четырьмя цепями ДНК в ходе гомологичной рекомбинации, но как уже упоминалось выше в отношении теломер, он может образовываться и вследствие формирования теломерной петли [33, 62].

Комплекс SMC5/6, состоящий из белков семейства SMC (structural maintenance of chromosome), вместе с двумя другими – кохезином и конденсином, вовлечен в метаболизм хромосом [46]. В то время как функции кохезина, который участвует в связывании сестринских хроматид вместе во время метафазы митоза, и конденсина, играющего роль в конденсации и сегрегации хромосом, хорошо изучены, роль SMC5/6 еще не до конца понятна [46, 63, 64]. Известно, что комплекс содержит SUMO-лигазу и убиквитин-лигазу, которые ковалентно модифицируют различные белки [46]. Видимо, данное свойство входящих в комплекс белков и определяет роль SMC5/6 в различных процессах. В частности предложено, что этот комплекс главным образом функционирует в гомологичной рекомбинации и завершении процесса репликации ДНК, причем активности, подобные аналогичным показателям у кохезина и конденсина, не отрицаются [46, 65]. Кроме того, данные литературы показывают, что SMC5/6 вовлечен в разнообразные пути репарации ДНК. Предполагается, что это обстоятельство обусловлено посттрансляционной модификацией белков, играющих ключевую роль в процессе репарации [46, 65].

Теперь, когда функции белков, ассоциированных с APBs, более или менее понятны, можно перейти к рассмотрению роли этих белков для рекомбинационно-опосредованного удлинения теломер. Это можно сделать, в первую очередь, на примере экспериментов по репрессированию отдельных генов MRN-комплекса. Так, нокаут *NBS1* не оказывал эффекта на уровень RAD50 или MRE11, нокаут *RAD50* приводил к истощению RAD50 и NBS1, а нокаут *MRE11* уменьшал уровень всех трех белков. Истощение NBS1 с истощением других белков комплекса или без него приводило к ингибированию ALT-опосредованного удлинения теломер, что доказано понижением уровня APBs и укорочением длины теломер [66]. Важно отметить, что подобный эффект оказывала и повышенная продукция белка SP100, который посредством изоляции MRN-комплекса от APBs супрессировал их формирование [47]. Кроме того, более ранние исследования показали, что NBS1 необходим для формирования кольцевых ЭХТП и является маркером ALT [67]. В связи с этим было предположено, что MRN-комплекс, а особенно NBS1, является неотъемлемым звеном ALT механизма [66]. Помимо комплекса MRN, в образовании APBs важную роль также играет комплекс SMC5/6, необходимый для привлечения теломерной ДНК к ALT-ассоциированным PML-тельцам. Осуществляется это с помощью MMS21 SUMO-лигазы SMC5/6 комплекса, которая путем сумоилирования ковалентно модифицирует белки, связывающие теломерную ДНК (включая TRF1 и TRF2). Ингибирование же сумоилирования белка TRF1 или TRF2 предотвращает формирование APBs, что так же, как и в случае с нарушениями MRN, проявляется ингибированием ALT и последующим укорочением теломер [68]. Что же касается других упомянутых белков, то к настоящему времени четких данных об их роли в образовании APBs пока нет. Несмотря на это, их важная роль в рекомбинационно-опосредованном механизме ALT не вызывает сомнений и продолжает изучаться. Так, в ходе исследования выяснилось, что клетки, которые имеют мутации генов *RAD51* и *RAD52* в отсутствие гена, кодирующего теломеразную РНК дрожжей – *TLC1*, погибали намного чаще, чем клетки контрольной группы, в которых отсутствовал ген *TLC1*, но не были мутированы гены *RAD51* и *RAD52*, что согласуется с неспособностью таких клеток к удлинению своих теломер путем ALT в первом случае [69]. Результаты другого исследования показали, что ингибирование с помощью РНК-интерференции синтеза белка RAD51D (один из паралогов белка RAD51) в теломеразо-негативных иммортализованных клетках человека приводит к укорочению теломер и слиянию

хромосом [70]. Похожие результаты наблюдаются при исследовании нарушения функции и других упомянутых белков. В частности мутации, приводящие к нарушению функции белка RPA, способствуют укорочению теломер и снижению жизнеспособности таких клеток [39]. Теломеразо-негативные клетки дрожжей с мутацией гена *SGS1*, кодирующего RecQ-подобную ДНК-хеликазу, которая является гомологом человеческих BLM- и WRN-хеликазы, испытывали высокую частоту потерь участков теломерной ДНК и старели более быстро по сравнению с клетками контрольной группы [59].

Таким образом, рекомбинационно-опосредованное удлинение теломер играет важнейшую роль в поддержании как стабильности хромосом, так и жизнеспособности клеток, потерявших теломеразную активность. Кроме того, необходимо подчеркнуть важную роль комплексов MRN и SMC5/6 в формировании APBs, а соответственно, и в функционировании рекомбинационного механизма ALT, что делает их принципиальными мишенями в биотерапии теломеразо-негативных опухолей. Не менее важными такими мишенями являются и другие упомянутые белки, роль которых в формировании APBs остается пока неясной. В то же время важное участие этих белков в рекомбинационно-опосредованном удлинении теломер доказано немалым количеством исследований.

Ретротранспозиционный механизм ALT

Помимо рекомбинационного механизма ALT, наблюдающегося в большинстве случаев, существует еще один, который основывается на процессе ретротранспозиции и среди высших эукариот наблюдается у некоторых видов насекомых. Ярким примером ретротранспозиционного удлинения теломер являются теломерные участки хромосом плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, у которой для их удлинения используются три ретротранспозиционных элемента типа не-LTR (Long Terminal Repeat) – *HeT-A*, *TART* и *TAHRE* [19, 71–73]. Как известно, *TART* имеет две открытые рамки считывания (Open Reading Frames) – ORF1 и ORF2, которые кодируют необходимые для процесса транспозиции белки. В частности ORF2 содержит последовательности, кодирующие два фермента, а именно эндонуклеазу и обратную транскриптазу, активность которых собственно и необходима для транспозиции этого элемента к концам хромосом [74, 75]. *HeT-A* в отличие от ретроэлемента *TART* имеет лишь ORF1 и поэтому не может обеспечить свою собственную транспозицию к теломерам [71, 76]. Вместе с тем известно, что транспозиция *HeT-A* к концам разорванных хромосом происходит даже более интенсивно, чем ретротранспозона *TART* [75–79]. Впоследствии было выяснено, что для своего перемещения ретроэлемент *HeT-A* использует обратную транскриптазу ретротранспозона *TAHRE* [73, 80]. Последний, в отличие от двух других, открыт относительно недавно и, как показывают результаты исследований, представлен в теломерах всего лишь несколькими копиями [73, 80]. В связи с тем, что о его существовании ученые узнали намного позже элементов *HeT-A* и *TART*, то и исследован он хуже, тем не менее некоторые принципиально важные данные о нем все же известны. Так, имеющиеся сведения показывают большое сходство ретроэлемента *TAHRE* с двумя другими. Он, подобно ретротранспозону *TART,* также имеет две открытые рамки считывания, причем ORF2 подобна таковой у *TART*, а 5' UTR, ORF1 и 3' UTR очень схожи с соответствующими участками ретроэлемента *HeT-A*. Так, исходя из анализа ORF1 и ORF2 ретроэлементов *TART* и *TAHRE*, исследователи пришли к выводу, что они имели общего предка. Кроме того, было установлено, что *HeT-A* мог произойти от *TAHRE* вследствие делеции ORF2 последнего или же в результате ретротранспозиции субгеномной РНК, кодирующей ORF1 [73]. В заключение к сказанному следует также упомянуть о том, что эти ретротранспозоны (в отличие от других не-LTR элементов) на своих 3'-концах имеют необычайно длинные нетранслируемые области – *UTRs* (Untranslated Regions) [76]. Последние представляют интерес, так как могут играть важную роль в формировании определенных хроматиновых структур в теломерной области хромосомы [81].

Транспозиция *HeT-A* и *TART* элементов осуществляется только к концам хромосом, что является важной отличительной особенностью этих элементов от других ретротранспозиционных элементов не-LTR типа, которые могут

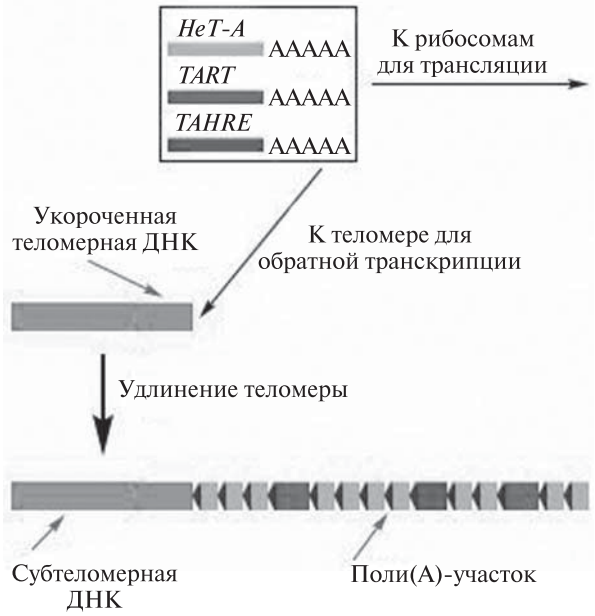

Рис. 2. Схематическое изображение ретротранспозиционного механизма ALT у плодовой мушки *Drosophila melanogaster*

встраиваться в большое количество других районов хромосом [74, 79]. На сегодня неизвестно, касается ли ретротранспозона *TAHRE* упомянутое обстоятельство, поскольку экспериментальных данных в поддержку этого пока нет. Несмотря на это, будет справедливо считать, что и он способен перемещаться только к концевым участкам хромосом и никогда не встраивается в другие сайты. Транскрипты ретроэлементов *HeT-A*, *TART* и *TAHRE* могут использоваться как в качестве мРНК для трансляции на рибосомах, так и в качестве матрицы для элонгации теломер, осуществляемой в процессе их обратной транскрипции [82]. При этом их трансляция также важна для процесса ретротранспозиции, как и обратная транскрипция, поскольку в результате транслирования синтезируются необходимые для обратной транскрипции и дальнейшего присоединения к теломерам белки. На рис. 2 нами отображено схематическое изображение участия этих ретротранспозонов в удлинении теломер.

Следует отметить, что удлинение теломер путем обратной транскрипции этих транскриптов сильно напоминает их удлинение с помощью теломеразы, т.е. и в первом, и во втором случае происходит обратная транскрипция молекул РНК к концам хромосом с последующим наращиванием их длины. Поэтому такое большое сходство между этими ретротранспозонами и теломеразой наталкивает на мысль об их общем происхождении. И действительно, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что каталитические субъединицы теломераз разных организмов (включая человека) имеют близкую связь с обратными транскриптазами ретротранспозонов. При этом родство каталитических субъединиц теломераз с обратными транскриптазами не-LTR ретротранспозонов является более близким, чем с обратными транскриптазами ретроэлементов LTR-типа и вирусов [83, 84].

Другим, не менее интересным в отношении ретротранспозиционного удлинения теломер организмом является тутовый шелкопряд *Bombyx mori*. Теломерные участки хромосом этого насекомого состоят из TTAGG-повторов, которые синтезируются теломеразой, и из многочисленных копий двух ретротранспозиционных элементов – *TRAS* и *SART* [21]. Оба элемента относятся к ретротранспозонам не-LTR типа, на своих 3'-концах имеют поли (А)-«хвосты» и содержат две открытые рамки считывания. Последние кодируют продукты, подобные тем, что кодируются ORF1 и ORF2 ретротранспозонов *D. melanogaster* [21, 85, 86]. Касательно механизмов ретротранспозиции этих ретроэлементов к теломерам, то они сходны с теми, что были рассмотрены у плодовой мушки. При этом важное отличие в ретротранспозиции элементов *TRAS* и *SART* состоит в том, что они перемещаются не к концам хромосом, как это было сказано для ретротранспозонов *HeT-A*, *TART* и *TAHRE*, а встраиваются в последовательности TTAGG [85, 86]. В пользу этого свидетельствует и тот факт, что очищенная эндонуклеаза элемента *TRAS* способна генерировать специфичные разрывы между основаниями Т и А этих последовательностей [87].

Среди исследованных низших эукариот ретротранспозиционный механизм ALT, как известно, используют три разновидности организмов, а именно одноклеточный простейший *Giardia lamblia*, одноклеточная зеленая водоросль *Chlorella vulgaris* и почкующиеся дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. *Giardia lamblia* для уд-

линения своих теломер, помимо теломеразы, использует также два ретротранспозона не-LTR – *GilT* и *GilM*. Оба элемента характеризируются наличием одного длинного ORF и, как было показано для других рассмотренных ретроэлементов, необычайно длинных 3'-UTRs [88]. В поддержании нормальной длины концов хромосом *Chlorella vulgaris* участвует ретротранспозон *Zepp*, который в большинстве случаев встраивается не в теломерные, а в субтеломерные области. Несмотря на это предполагается, что его копии, даже будучи встроенными в субтеломерные области, также играют важную роль в поддержании функции теломер [89]. У дрожжей *S. cerevisiae* в формировании теломер, помимо теломеразы, принимает участие и ретроэлемент *Ty5*. Как следует из результатов исследования, происходить это может как путем ретротранспозиции, так и в процессе рекомбинации [90, 91]. Последний вариант предусматривает рекомбинацию между элементом *Ty5* и участком теломеры и последующее удлинение теломерной ДНК на матрице ретротранспозона, что, надо заметить, сильно напоминает рекомбинационно-опосредованную репликацию теломер путем рекомбинации между теломерой и линейным ЭХТП.

Таким образом, из всех разновидностей организмов, в которых был найден ретротранспозиционный механизм ALT, лишь теломерные участки хромосом *D. melanogaster* полностью зависят от ретротранспозиционного удлинения. Теломеры у всех остальных рассмотренных видов могут удлиняться, помимо ретротранспозонов, и с помощью теломеразы. Поэтому *Drosophila melanogaster* представляет собой наиболее важную модель для изучения ретротранспозиционного механизма ALT.

Заключение

В настоящей работе проанализированы известные на сегодня альтернативные механизмы удлинения теломерных участков хромосом, которые являются неотъемлемым звеном в поддержании хромосомной стабильности и внутриклеточного гомеостаза в линиях клеток, не имеющих возможности использовать теломеразу для удлинения своих теломер. Несмотря на обширные данные, накопившиеся со времен открытия теломер в результате исследования проблемы их укорочения и механизмов, вовлеченных в возобновление их длины, мы считаем, что наши знания в понимании как механизмов удлинения теломер, так и теломерной биологии в целом все еще малы. Накопилось немалое количество информации относительно теломеразного удлинения теломер, однако знания в понимании механизмов ALT остаются очень скудными. Так, наличие ретротранспозиционного удлинения теломер как среди высших, так и среди низших эукариот показано лишь для некоторых их представителей. Но кажется маловероятным, что из огромного разнообразия видов указанный механизм ALT используется лишь некоторыми из них. Поэтому вопрос поиска ретротранспозиционного механизма ALT у других видов остается открытым и требует дальнейших исследований. Гораздо лучше исследован механизм рекомбинационного удлинения теломер, что обусловлено его широкой распространенностью как среди видов, так и среди отдельно взятых линий клеток одного организма. В то же время все еще многие аспекты этого механизма остаются непонятными и требуют продолжения исследований. До сих пор нет единой точки зрения относительно использования механизмов ALT для удлинения теломер нормальными клетками, что также нуждается в продолжении исследований. Важным звеном в понимании ALT является изучение генов, вовлеченных в рекомбинационно-опосредованное и ретротранспозиционно-опосредованное удлинение теломер.

Таким образом, проблема альтернативного удлинения теломерных участков хромосом остается перспективным направлением теломерной биологии и нуждается в дальнейшем изучении.

A.A. Grach

ALTERNATIVE MECHANISMS
FOR TELOMERE LENGTHENING

The review considers mechanisms of an alternative lengthening of telomeres (ALT) which posses the second after telomerase but not less important place in telomere length regulation. The general data about ALT are shown. An alternative lengthening of telomeres in normal and cancer cell lines are characterized. Special attention is given to the features of recombinational and retrotranspositional mechanisms of ALT.

А.О. Грач

АЛЬТЕРНАТИВНІ МЕХАНІЗМИ ПОДОВЖЕННЯ ТЕЛОМЕР

Розглядаються механізми альтернативного подовження теломер (ALT), яким відводиться друге після теломерази, але не менш важливе місце в регуляції довжини теломер. Наводяться загальні відомості про ALT. Характеризується альтернативне подовження теломер в нормальних та ракових клітинних лініях. Особлива увага приділяється особливостям функціонування рекомбінаційного та ретротранспозиційного механізмів ALT.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Verdun R.E., Karlseder J.* Replication and protection of telomeres // Nature. – 2007. – **447**, № 7147. – P. 924–931.
2. *McEachern M.J., Krauskopf A., Blackburn E.H.* Telomeres and their control // Ann. Rev. Gen. – 2000. – **34**, № 1. – P. 331–358.
3. *De Lange T.* Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. A review // Genes Dev. – 2005. – **19**, № 18. – P. 2100–2110.
4. *Azzalin C.M., Reichenbach P., Khoriauli L., Giulotto E., Lingner J.* Telomeric repeat containing RNA and RNA surveillance factors at mammalian chromosome ends // Science. – 2007. – **318**, № 5851. – P. 798–801.
5. *Louis E.J., Vershinin A.V.* Chromosome ends: different sequences may provide conserved functions // Bioessays. – 2005. – **27**, № 7. – P. 685–697.
6. *Blackburn E.H.* Switching and signaling at the telomere // Cell. – 2001. – **106**, № 6. – P. 661–673.
7. *Feldser D.M., Hackett J.A., Greider C.W.* Telomere dysfunction and the initiation of genome instability // Nat. Rev. Cancer. – 2003. – **3**, № 8. – P. 623–627.
8. *Ohki R., Tsurimoto T., Ishikawa F. In vitro* reconstitution of the end replication problem // Mol. Cell. Biol. – 2001. – **21**, № 17. – P. 5753–5766.
9. *Cukusic A., Skrobot Vidacek N., Sopta M., Rubelj I.* Telomerase regulation at the crossroads of cell fate // Cytogenet. Genome Res. – 2008. – **122**, № 3/4. – P. 263–272.
10. *Hemann M.T., Strong M.A., Hao L.Y., Greider C.W.* The shortest telomere, not average telomere length, is critical for cell viability and chromosome stability // Cell. – 2001. – **107**, № 1. – P. 67–77.
11. *Hug N., Lingner J.* Telomere length homeostasis // Chromosoma. – 2006. – **115**, № 6. – P. 413–425.
12. *Kang M.K., Park N.H.* Extension of cell life span using exogenous telomerase // Meth. Mol. Biol. – 2007. – **371**. – P. 151–165.
13. *Djojosubroto M.W., Choi Y.S., Lee H.W., Rudolph K.L.* Telomeres and telomerase in aging, regeneration and cancer // Mol. Cells. – 2003. – **15**, № 2. – P. 164–175.
14. *Osterhage J.L., Friedman K.L.* Chromosome end maintenance by telomerase // J. Biol. Chem. – 2009. – **284**, № 24. – P. 16061–16065.
15. *Gallardo F., Chartrand P.* Telomerase biogenesis: the long road before getting to the end // RNA Biol. – 2008. – **5**, № 4. – P. 212–215.
16. *Reddel R.R., Bryan T.M., Colgin L.M., Perrem K.T., Yeager T.R.* Alternative lengthening of telomeres in human cells // Radiat. Res. – 2001. – **155**, № 1. – P. 194–200.
17. *Bryan T.M., Englezou A., Gupta J., Bacchetti S., Reddel R.R.* Telomere elongation in immortal human cells without detectable telomerase activity // EMBO J. – 1995. – **14**, № 17. – P. 4240–4248.
18. *Henson J.D., Neumann A.A., Yeager T.R., Reddel R.R.* Alternative lengthening of telomeres in mammalian cells // Oncogene. – 2002. – **21**, № 4. – P. 598–610.
19. *Melnikova L., Georgiev P. Drosophila* telomeres: the non-telomerase alternative // Chromosome Res. – 2005. – **13**, № 5. – P. 431–441.
20. *Martinez-Guitarte J.L., Diez J.L., Morcillo G.* Complex repetitive sequences in *Chironomus* telomeres: its role in telomeric function and in the cellular stress response // Recent Devel. Nucl. Acids Res. – 2004. – **1**. – P. 151–165.
21. *Fujiwara H., Osanai M., Matsumoto T., Kojima K.K.* Telomere-specific non-LTR retrotransposons and telomere maintenance in the silkworm, *Bombyx mori* // Chromosome Res. – 2005. – **13**, № 5. – P. 455–467.
22. *Reddel R.R., Bryan T.M., Murnane J.P.* Immortalized cells with no detectable telomerase activity. A review // Biochemistry. – 1997. – **62**, № 11. – P. 1254–1262.
23. *Baumann P., Cech T.R.* Pot1, the putative telomere end-binding protein in fission yeast and humans // Science. – 2001. – **292**, № 5519. – P. 1171–1175.
24. *Martens U.M., Chavez E.A., Poon S.S.S., Schmoor C., Lansdorp P.M.* Accumulation of short telomeres in human fibroblasts prior to replicative senescence // Exp. Cell Res. – 2000. – **256**, № 1. – P. 291–299.
25. *Herrera E., Martínez C., Blasco M. A.* Impaired germinal center reaction in mice with short telomeres // EMBO J. – 2000. – **19**, № 3. – P. 472–481.
26. *Bryan T.M., Reddel R.R.* Telomere dynamics and telomerase activity in *in vitro* immortalized human cells // Eur. J. Cancer. – 1997. – **33**, № 5. – P. 767–773.
27. *Cerone M.A., Londono-Vallejo J.A., Bacchetti S.* Telomere maintenance by telomerase and by recombination can coexist in human cells // Hum. Mol. Gen. – 2001. – **10**, № 18. – P. 1945–1952.
28. *Yeager T.R., Neumann A.A., Englezou A., Huschtscha L.I., Noble J.R., Reddel R.R.* Telomerase-negative immortalized human cells contain a novel type of promyelo-

cytic leukemia (PML) body // Cancer Res. – 1999. – **59**, № 17. – P. 4175–4179.
29. *Cesare A.J., Griffith J.D.* Telomeric DNA in ALT cells is characterized by free telomeric circles and heterogeneous T-loops // Mol. Cell. Biol. – 2004. – **24**, № 22. – P. 9948–9957.
30. *Tokutake Y., Matsumoto T., Watanabe T., Maeda S., Tahara H., Sakamoto S., Niida H., Sugimoto M., Ide T., Furuichi Y.* Extra-chromosomal telomere repeat DNA in telomerase-negative immortalized cell lines // Biochem. Biophys. Res. Communs. – 1998. – **247**, № 3. – P. 765–772.
31. *Wang R.C., Smogorzewska A., De Lange T.* Homologous recombination generates T-loop-sized deletions at human telomeres // Cell. – 2004. – **119**, № 3. – P. 355–368.
32. *Ogino H., Nakabayashi K., Suzuki M., Takahashi E., Fujii M., Suzuki T., Ayusawa D.* Release of telomeric DNA from chromosomes in immortal human cells lacking telomerase activity // Biochem. Biophys. Res. Communs. – 1998. – **248**, № 2. – P. 223–227.
33. *Griffith J.D., Comeau L., Rosenfield S., Stansel R.M., Bianchi A., Moss H., De Lange T.* Mammalian telomeres end in a large duplex loop // Cell. – 1999. – **97**, № 4. – P. 503–514.
34. *Stansel R.M., De Lange T., Griffith J.D.* T-loop assembly *in vitro* involves binding of TRF2 near the 3' telomeric overhang // EMBO J. – 2001. – **20**, № 19. – P. 5532–5540.
35. *Natarajan S., McEachern M. J.* Recombinational telomere elongation promoted by DNA circles // Mol. Cell. Biol. – 2002. – **22**, № 13. – P. 4512–4521.
36. *Dunham M.A., Neumann A.A., Fasching C.L., Reddel R.R.* Telomere maintenance by recombination in human cells // Nat. Genet. – 2000. – **26**, № 4. – P. 447–450.
37. *Royle N., Méndez-Bermúdez A., Gravani A., Novo C., Foxon J., Williams J., Cotton V., Hidalgo A.* The role of recombination in telomere length maintenance // Biochem. Soc. Trans. – 2009. – **37**, № 3. – P. 589–595.
38. *Grobelny J.V., Godwin A.K., Broccoli D.* ALT-associated PML bodies are present in viable cells and are enriched in cells in the G_2/M phase of the cell cycle // J. Cell Sci. – 2000. – **113**, № 24. – P. 4577–4585.
39. *Smith J., Zou H., Rothstein R.* Characterization of genetic interactions with RFA1 : the role of RPA in DNA replication and telomere maintenance // Biochimie. – 2000. – **82**, № 1. – P. 71–78.
40. *Yankiwski V., Marciniak R.A., Guarente L., Neff N.F.* Nuclear structure in normal and Bloom syndrome cells // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2000. – **97**, № 10. – P. 5214–5219.
41. *Stavropoulos D.J., Bradshaw P.S., Li X., Pasic I., Truong K., Ikura M., Ungrin M., Meyn M.S.* The Bloom syndrome helicase BLM interacts with TRF2 in ALT cells and promotes telomeric DNA synthesis // Hum. Mol. Genet. – 2002. – **11**, № 25. – P. 3135–3144.
42. *Lillard-Wetherell K., Machwe A., Langland G.T., Combs K.A., Behbehani G.K., Schonberg S.A., German J., Turchi J.J., Orren D.K., Groden J.* Association and regulation of the BLM helicase by the telomere proteins TRF1 and TRF2 // Hum. Mol. Genet. – 2004. – **13**, № 17. – P. 1919–1932.
43. *Johnson F.B., Marciniak R.A., McVey M., Stewart S.A., Hahn W.C., Guarente L.* The *Saccharomyces cerevisiae* WRN homolog Sgs1p participates in telomere maintenance in cells lacking telomerase // EMBO J. – 2001. – **20**, № 4. – P. 905–913.
44. *Wu G., Lee W.H., Chen P.L.* NBS1 and TRF1 colocalize at promyelocytic leukemia bodies during late S/G_2 phases in immortalized telomerase-negative cells: implication of NBS1 in alternative lengthening of telomeres // J. Biol. Chem. – 2000. – **275**, № 39. – P. 30618–30622.
45. *Zhu X.D., Kuster B., Mann M., Petrini J.H., de Lange T.* Cell-cycle-regulated association of RAD50/MRE11/NBS1 with TRF2 and human telomeres // Nat. Genet. – 2000. – **25**, № 3. – P. 347–352.
46. *De Piccoli G., Torres-Rosell J., Aragón L.* The unnamed complex: what do we know about Smc5-Smc6? // Chromosome Res. – 2009. – **17**, № 2. – P. 251–263.
47. *Jiang W.Q., Zhong Z.H., Henson J.D., Neumann A.A., Chang A.C., Reddel R.R.* Suppression of alternative lengthening of telomeres by Sp100-mediated sequestration of the MRE11/RAD50/NBS1 complex // Mol. Cell. Biol. – 2005. – **25**, № 7. – P. 2708–2721.
48. *Mirzoeva O.K., Petrini J.H.* DNA damage-dependent nuclear dynamics of the Mre11 complex // Mol. Cell. Biol. – 2001. – **21**, № 1. – P. 281–288.
49. *Olson E., Nievera C.J., Liu E., Lee A.Y.L., Chen L., Wu X.* The Mre11 complex mediates the S-phase checkpoint through an interaction with replication protein A // Mol. Cell. Biol. – 2007. – **27**, № 17. – P. 6053–6067.
50. *Shrivastav M., De Haro L.P., Nickoloff J.A.* Regulation of DNA double-strand break repair pathway choice // Cell Res. – 2008. – **18**, № 1. – P. 134–147.
51. *Бабынин Э.В.* Молекулярный механизм гомологичной рекомбинации в мейозе: происхождение и биологическое значение // Цитология. – 2007. – **49**, № 3. – С. 182–193.
52. *Li J., Harper L.C., Golubovskaya I., Wang C.R., Weber D., Meeley R.B., McElver J., Bowen B., Cande W.Z., Schnable P.S.* Functional analysis of maize RAD51 in meiosis and double-strand break repair // Genetics. – 2007. – **176**, № 3. – P. 1469–1482.
53. *Li X., Heyer W.D.* Homologous recombination in DNA repair and DNA damage tolerance // Cell Res. – 2008. – **18**, № 1. – P. 99–113.
54. *Sugiyama T., Kowalczykowski S.C.* Rad52 protein associates with replication protein A (RPA)-single-stranded DNA to accelerate Rad51-mediated displacement

of RPA and presynaptic complex formation // J. Biol. Chem. – 2002. – **277**, № 35. – P. 31663–31672.
55. *Ellen F., Vitaly K., Nager A.R.* A dynamic model for replication protein A (RPA) function in DNA processing pathways // Nucl. Acids Res. – 2006. – **34**, № 15. – P. 4126–4137.
56. *Sugiyama T., Kantake N., Wu Y., Kowalczykowski S.C.* Rad52-mediated DNA annealing after Rad51-mediated DNA strand exchange promotes second ssDNA capture // EMBO J. – 2006. – **25**, № 23. – P. 5539–5548.
57. *Mohaghegh P., Karow J.K., Brosh Jr R.M., Bohr V.A., Hickson I.D.* The Bloom's and Werner's syndrome proteins are DNA structure-specific helicases // Nucl. Acids Res. – 2001. – **29**, № 13. – P. 2843–2849.
58. *Kusumoto R., Dawut L., Marchetti C., Lee J.W., Vindigni A., Ramsden D., Bohr V.A.* Werner protein cooperates with the XRCC4-DNA ligase IV complex in end-processing // Biochemistry. – 2008. – **47**, № 28. – P. 7548–7556.
59. *Cohen H., Sinclair D.A.* Recombination-mediated lengthening of terminal telomeric repeats requires the Sgs1 DNA helicase // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2001. – **98**, № 6. – P. 3174–3179.
60. *Karow J.K., Constantinou A., Li J.L., West S.C., Hickson I.D.* The Bloom's syndrome gene product promotes branch migration of Holliday junctions // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2000. – **97**, № 12. – P. 6504–6508.
61. *Constantinou A., Tarsounas M., Karow J.K., Brosh R.M., Bohr V.A., Hickson I.D., West S.C.* Werner's syndrome protein (WRN) migrates Holliday junctions and co-localizes with RPA upon replication arrest // EMBO Rep. – 2000. – **1**, № 1. – P. 80–84.
62. *Hays F.A., Watson J., Ho P.S.* Caution! DNA crossing : crystal structures of Holliday junctions // J. Biol. Chem. – 2003. – **278**, № 50. – P. 49663–49666.
63. *Haering C.H., Farcas A.M., Arumugam P., Metson J., Nasmyth K.* The cohesin ring concatenates sister DNA molecules // Nature. – 2008. – **454**, № 7202. – P. 297–301.
64. *Legagneux V., Cubizolles F., Watrin E.* Multiple roles of condensins : a complex story // Biol. Cell. – 2004. – **96**, № 3. – P. 201–213.
65. *Murray J. M., Carr A. M.* Smc5/6: a link between DNA repair and unidirectional replication? // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2008. – **9**, № 2. – P. 177–182.
66. *Zhong Z.H., Jiang W.Q., Cesare A.J., Neumann A.A., Wadhwa R., Reddel R.R.* Disruption of telomere maintenance by depletion of the MRE11/RAD50/NBS1 complex in cells that use alternative lengthening of telomeres // J. Biol. Chem. – 2007. – **282**, № 40. – P. 29314–29322.
67. *Compton S.A., Choi J.H., Cesare A.J., Ozgur S., Griffith J.D.* Xrcc3 and Nbs1 are required for the production of extrachromosomal telomeric circles in human alternative lengthening of telomere cells // Cancer Res. – 2007. – **67**, № 4. – P. 1513–1519.
68. *Potts P.R., Yu H.* The SMC5/6 complex maintains telomere length in ALT cancer cells through SUMOylation of telomere-binding proteins // Nat. Struct. Mol. Biol. – 2007. – **14**, № 7. – P. 581–590.
69. *Le S., Moore J.K., Haber J.E., Greider C.W. RAD50* and *RAD51* define two pathways that collaborate to maintain telomeres in the absence of telomerase // Genetics. – 1999. – **152**, № 1. – P. 143–152.
70. *Tarsounas M., Muñoz P., Claas A., Smiraldo P.G., Pittman D.L., Blasco M.A., West S.C.* Telomere maintenance requires the RAD51D recombination/repair protein // Cell. – 2004. – **117**, № 3. – P. 337–347.
71. *Casacuberta E., Pardue M.L. HeT-A* and *TART*, two *Drosophila* retrotransposons with a bona fide role in chromosome structure for more than 60 million years // Cytogenet. Genome Res. – 2005. – **110**, № 1–4. – P. 152–159.
72. *Pardue M.L., Rashkova S., Casacuberta E., DeBaryshe P.G., George J.A., Traverse K.L.* Two retrotransposons maintain telomeres in *Drosophila* // Chromosome Res. – 2005. – **13**, № 5. – P. 443–453.
73. *Abad J.P., de Pablos B., Osoegawa K., de Jong P.J., Martín-Gallardo A., Villasante A. TAHRE*, a novel telomeric retrotransposon from *Drosophila melanogaster*, reveals the origin of *Drosophila* telomeres // Mol. Biol. Evol. – 2004. – **21**, № 9. – P. 1620–1624.
74. *Levis R.W., Ganesan R., Houtchens K., Tolar L.A., Sheen F.M.* Transposons in place of telomeric repeats at a *Drosophila* telomere // Cell. – 1993. – **75**, № 6. – P. 1083–1093.
75. *Sheen F.M., Levis R.W.* Transposition of the LINE-like retrotransposon *TART* to *Drosophila* chromosome termini // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1994. – **91**, № 26. – P. 12510–12514.
76. *Danilevskaya O.N., Traverse K.L., Hogan N.C., DeBaryshe P.G., Pardue M.L.* The two *Drosophila* telomeric transposable elements have very different patterns of transcription // Mol. Cell. Biol. – 1999. – **19**, № 1. – P. 873–881.
77. *Biessmann H., Mason J.M., Ferry K., d'Hulst M., Valgeirsdottir K., Traverse K.L., Pardue M.L.* Addition of telomere-associated HeT DNA sequences «heals» broken chromosome ends in *Drosophila* // Cell. – 1990. – **61**, № 4. – P. 663–673.
78. *Biessmann H., Champion L. E., O'Hair M., Ikenaga K., Kasravi B., Mason J.M.* Frequent transpositions of *Drosophila melanogaster HeT-A* transposable elements to receding chromosome ends // EMBO J. – 1992. – **11**, № 12. – P. 4459–4469.
79. *Biessmann H., Valgeirsdottir K., Lofsky A., Chin C., Ginther B., Levis R.W., Pardue M.L. HeT-A*, a transposable element specifically involved in «healing» broken chromosome ends in *Drosophila melanogaster* // Mol. Cell. Biol. – 1992. – **12**, № 9. – P. 3910–3918.
80. *Shpiz S., Kwon D., Uneva A., Kim M., Klenov M.,*

Rozovsky Y., Georgiev P., Savitsky M., Kalmykova A. Characterization of *Drosophila* telomeric retroelement *TAHRE*: transcription, transpositions, and RNAi-based regulation of expression // Mol. Biol. Evol. – 2007. – **24**, № 11. – P. 2535–2545.

81. *Danilevskaya O.N., Lowenhaupt K., Pardue M.L.* Conserved subfamilies of the *Drosophila HeT-A* telomere-specific retrotransposon // Genetics. – 1998. – **148**, № 1. – P. 233–242.
82. *Pardue M.L., Danilevskaya O.N., Traverse K.L., Lowenhaupt K.* Evolutionary links between telomeres and transposable elements // Genetica. – 1997. – **100**, № 1. – P. 73–84.
83. *Eickbush T.H.* Telomerase and retrotransposons: which came first? // Science. – 1997. – **277**, № 5328. – P. 911–912.
84. *Nakamura T.M., Morin G.B., Chapman K.B., Weinrich S.L., Andrews W.H., Lingner J., Harley C.B., Cech T.R.* Telomerase catalytic subunit homologs from fission yeast and human // Science. – 1997**.** – **277**, № 5328. – P. 955–959.
85. *Okazaki S., Ishikawa H., Fujiwara H.* Structural analysis of *TRAS1*, a novel family of telomeric repeat-associated retrotransposons in the silkworm, *Bombyx mori* // Mol. Cell. Biol. – 1995. – **15**, № 8. – P. 4545–4552.
86. *Takahashi H., Okazaki S., Fujiwara H.* A new family of site-specific retrotransposons, *SART1*, is inserted into telomeric repeats of the silkworm, *Bombyx mori* // Nucl. Acids Res. – 1997. – **25**, № 8. – P. 1578–1584.
87. *Anzai T., Takahashi H., Fujiwara H.* Sequence-specific recognition and cleavage of telomeric repeat $(TTAGG)_n$ by endonuclease of non-long terminal repeat retrotransposon *TRAS1* // Mol. Cell. Biol. – 2001. – **21**, № 1. – P. 100–108.
88. *Arkhipova I.R., Morrison H.G.* Three retrotransposon families in the genome of *Giardia lamblia*: two telomeric, one dead // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2001. – **98**, № 25. – P. 14497–14502.
89. *Higashiyama T., Noutoshi Y., Fujie M., Yamada T. Zepp*, a LINE-like retrotransposon accumulated in the *Chlorella* telomeric region // EMBO J. – 1997. – **16**, № 12. – P. 3715–3723.
90. *Zou S., Kim J.M., Voytas D.F.* The *Saccharomyces* retrotransposon *Ty5* influences the organization of chromosome ends // Nucl. Acids Res. – 1996. – **24**, № 23. – P. 4825–4831.
91. *Brady T.L., Schmidt C.L., Voytas D.F.* Targeting integration of the *Saccharomyces Ty5* retrotransposon // Meth. Mol. Biol. – 2008. – **435**. – P. 153–163.

Поступила 23.10.08