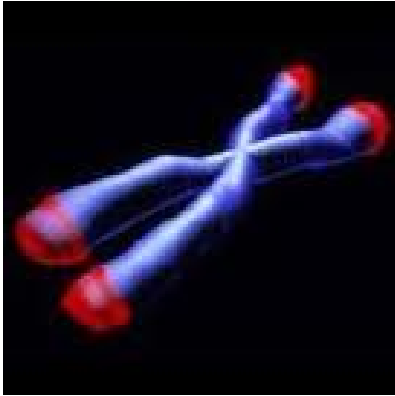




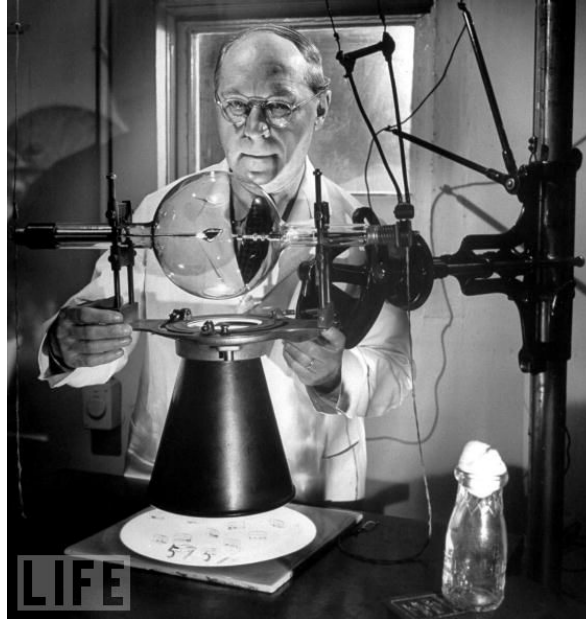
Публичная лекция
Юлии Мининой

**Теломеры:
The last, but not
The least**

Открытие теломер 1932



Теломера:
«телос» - конец и
«мерос» - часть
(с греческого)

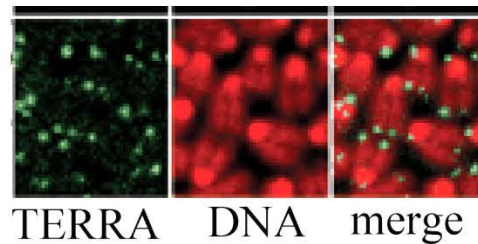
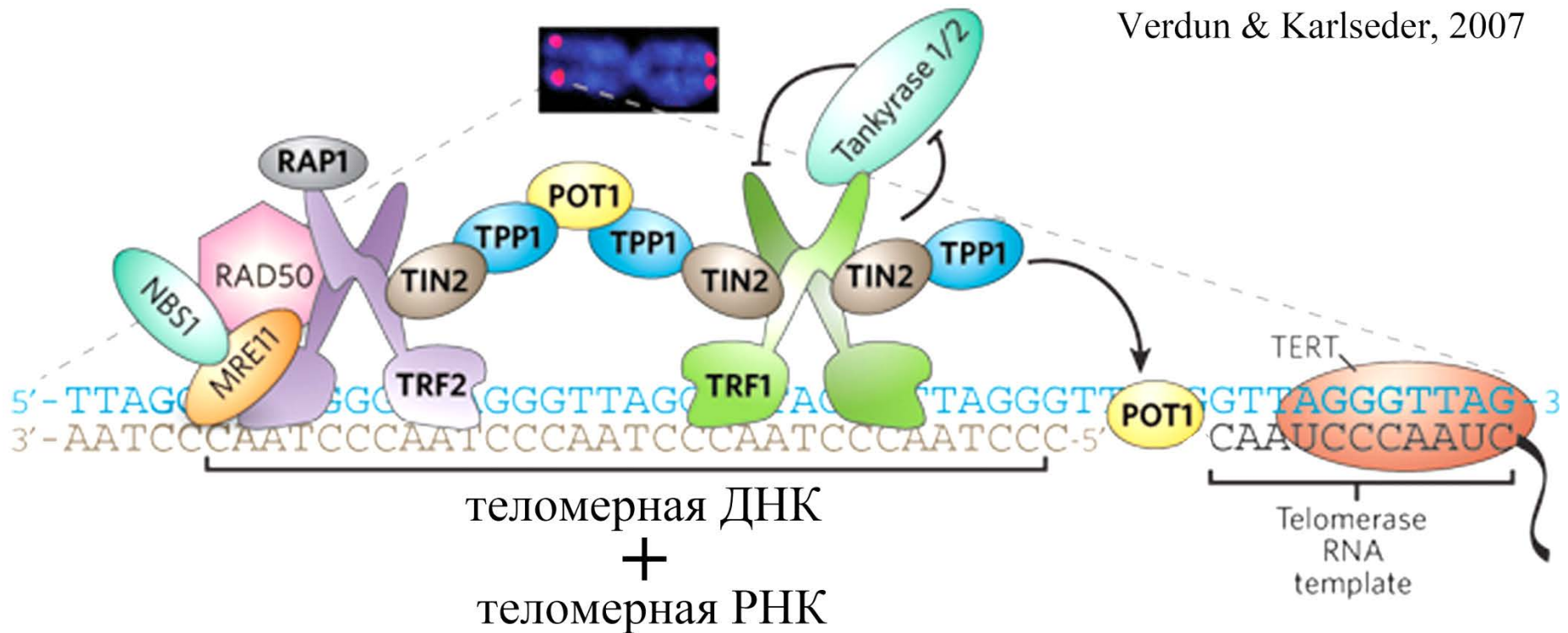


Herman Muller (1890-1967)
1946 Нобелевская премия по
физиологии и медицине за
исследование мутаций,
индуцированных
облучением

**Barbara McClintock (1902-
1992)**
1983 Нобелевская премия по
физиологии и медицине за
открытие мобильных
генетических элементов



Теломера= теломерная ДНК+белковые факторы+теломерная РНК



Теломерные последовательности

ГРУППА	ВИД	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ
Позвоночные:	<u>Рыбы</u> : Атлантический лосось <u>Амфибии</u> : Гладкая шпорцевая лягушка <u>Птицы</u> : Кура домашняя <u>Млекопитающие</u> : Человек, Домовая мышь	TTAGGG
Нематоды	Аскарида Нематода	TTAGGC
Насекомые	Тутовый шелкопряд Перелетная саранча Медоносная пчела Чернобрюхая дрозофила	TTAGG + ретротранспозоны TRAS и SART TTAGG TTAGG Ретротранспозоны Het-A, TART и TAHRE
Высшие растения	Арабидопсис Таля	TTTAGGG
Водоросли	Хламидомонада reinhardtii	TTTAGGG
Дрожжи почкующиеся	Пекарские дрожжи Кандида albicans	TG ₁₋₈ TTCTTGGTGT

Неканонические теломеры

Замена теломерных повторов на другие:

1. Сателлитная ДНК:

Лук-батун (*Allium fistulosum*)

2. Ретротранспозоны:

Дрозофила (*Drosophila melanogaster*)

Тутовый шелкопряд (*Bombyx mori*)

**3. Рибосомная ДНК и другие
тандемные повторы:**

Лук репчатый (*Allium cepa*)

Хирономусы

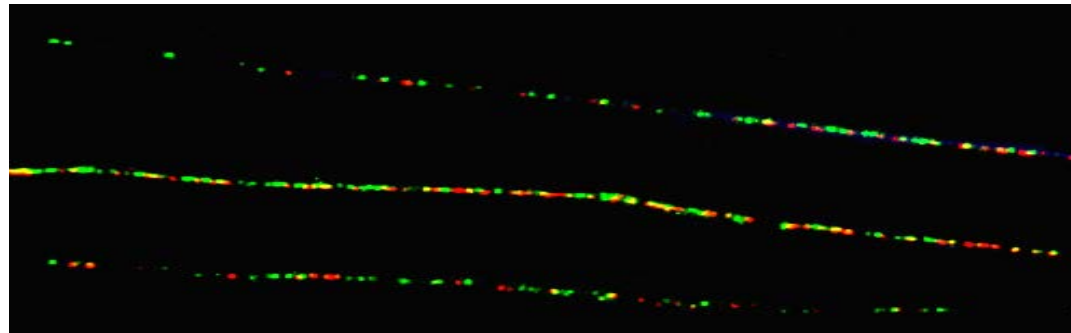
Москиты

Прерывистые теломеры:

1. Непрацентарные млекопитающие

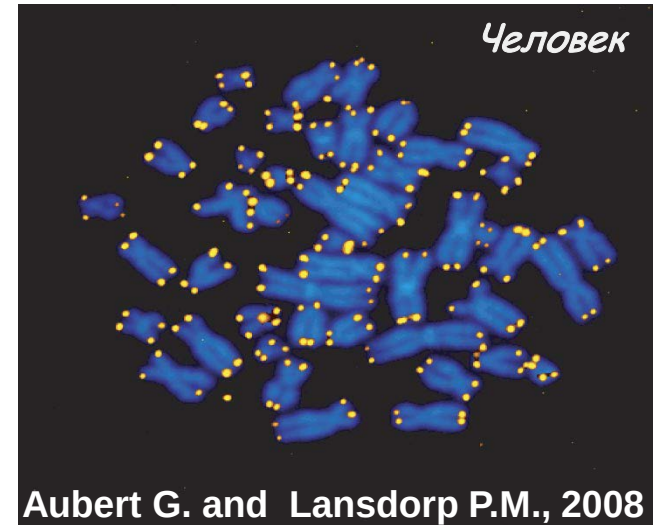
2. Бурозубка иберийская (*Sorex granarius*)

Флуоресцентная гибридизация in situ на
фибриллах *S. granarius* с **18S рибосомной** и
PNA теломерной пробами



Размеры теломер

Вид	Длина теломер, т.п.н.
Инфузория ресничная	0.35
Пекарские дрожжи	0.3
Резуховидка Таля	2-4
Нематода свободноживущая	2-9
Мышь домовая (лаб)	20-100
Мышь аборигенная	5-25
Человек	5-15
Бурозубка обыкновенная	6-15
Бурозубка иберийская	213-300 и 3-4
Дикая свинья	До 18
Овца домашняя	До 25
Кура домашняя	10 - 2000

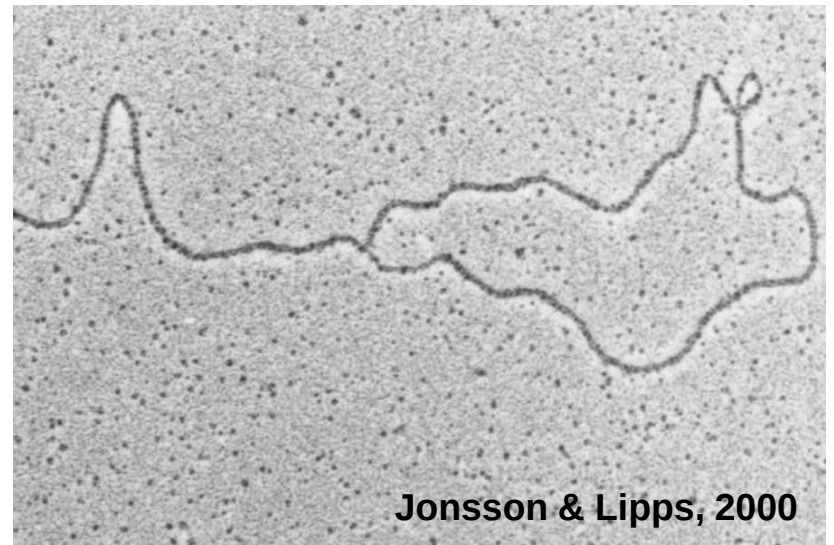
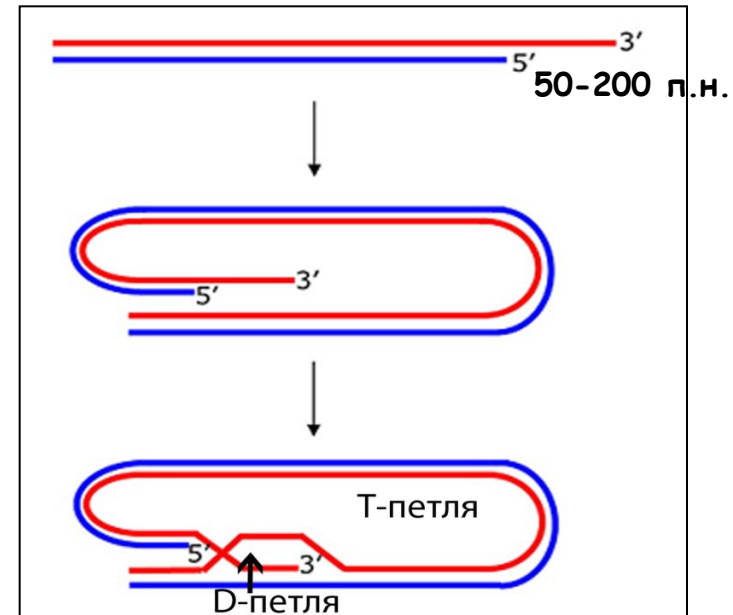


Структура теломер: теломерная петля



электронная
микрофотография

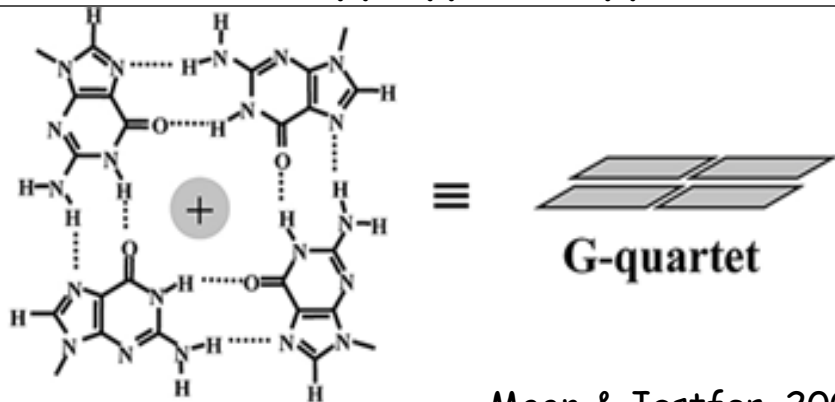
схема



Jonsson & Lipps, 2000

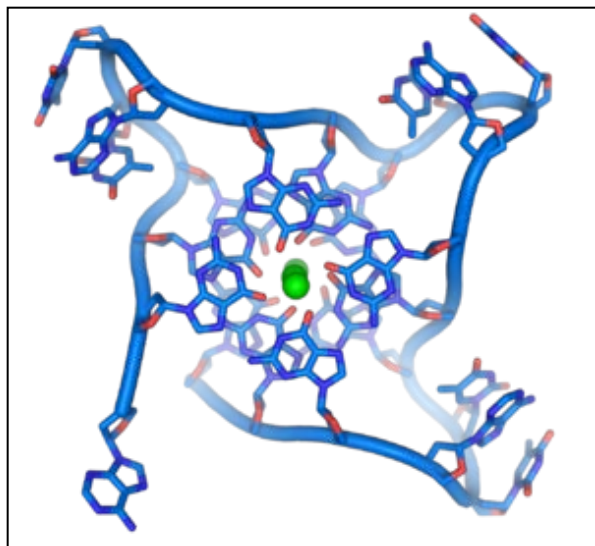
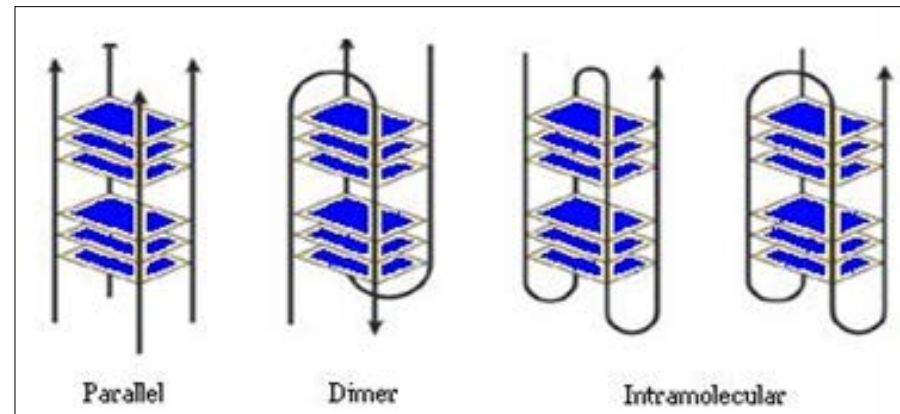
Структура теломер: G-квадруплексы

Химическая структура квадруплекса

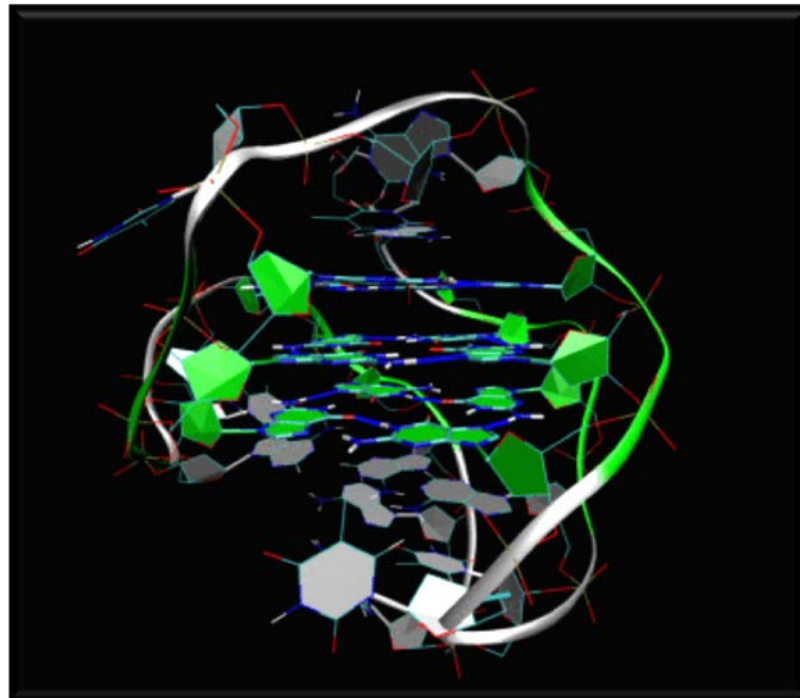


Moon & Jastfer, 2007

Образование «стопок» на концах хромосом



Вид сверху

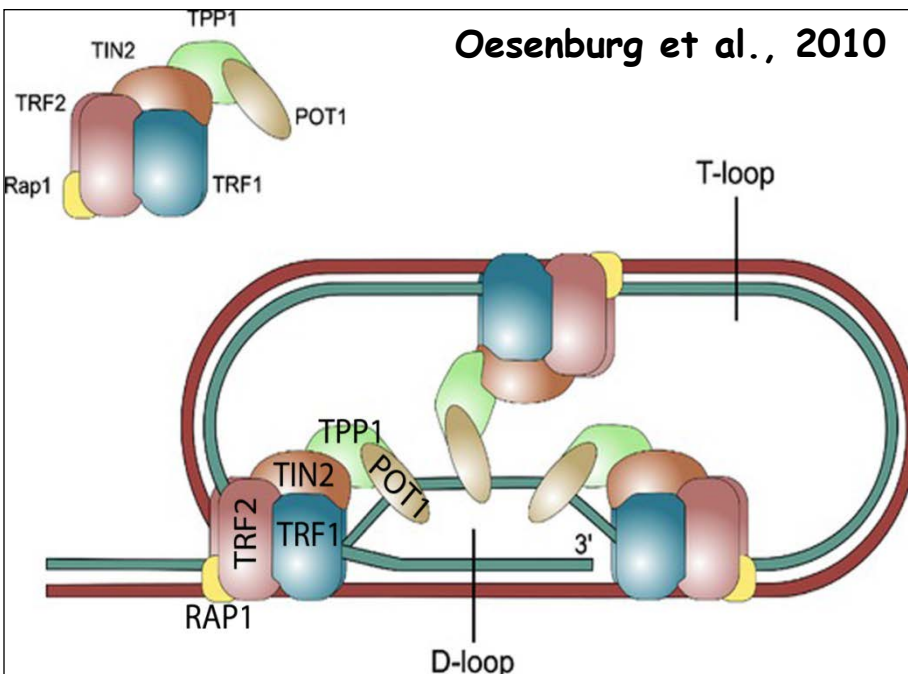


3D структура внутримолекулярного теломерного G-квадруплекса хромосомы человека в растворе калия. Центр структуры содержит 3 слоя G-квадратов. Синим представлены водородные связи слоев.

Белки, ассоциированные с теломерами - Shelterin

Защитный комплекс shelterin

Olesenburg et al., 2010



Задачи shelterin комплекса:

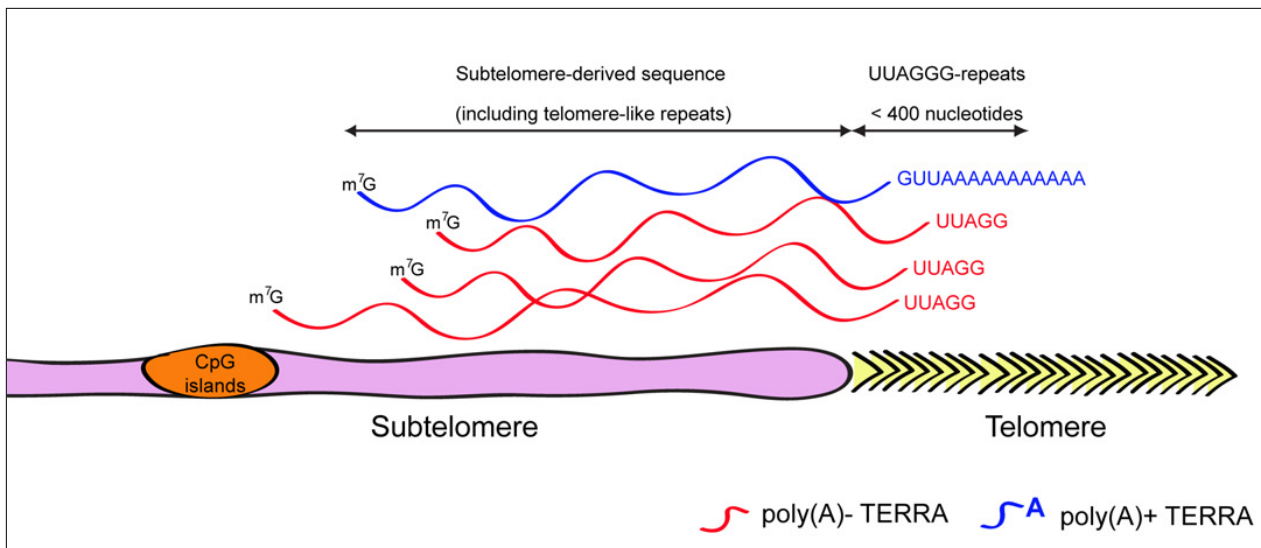
- контролировать длину и структуру теломер
- стабилизировать Т-петлю
- предотвращать гомологичную и нехомологичную рекомбинацию.

Белки shelterin	Функции
TRF1 (telomere repeat factor 1)	В теломераз-позитивных клетках негативный регулятор длины теломер
TRF2 (telomere repeat factor 2)	Формирование и стабилизации Т-петли, предотвращение концевых слияний хромосом
POT1 (protection of telomeres 1)	Играет роль в кэппинге теломер, стабилизирует Г-нить теломер, обеспечивает доступ теломеразы к теломерам
RAP1 (repressor-activator protein1)	Функционирует в тандеме с TRF2, участвует в репрессии гомологичной рекомбинации
TIN2 (TRF1-interacting nuclear protein 2)	Регулирует длину теломер через TRF1; взаимодействует с TRF1 и TRF2, связывая их с POT1 через TPP1
TPP1 (TIN2 and POT1 interacting protein)	Стабилизирует TRF1-TIN2-TRF2 взаимодействия и регулирует количество POT1 на однонитевых участках теломер

Белки, ассоциированные с теломерами – не Shelterin

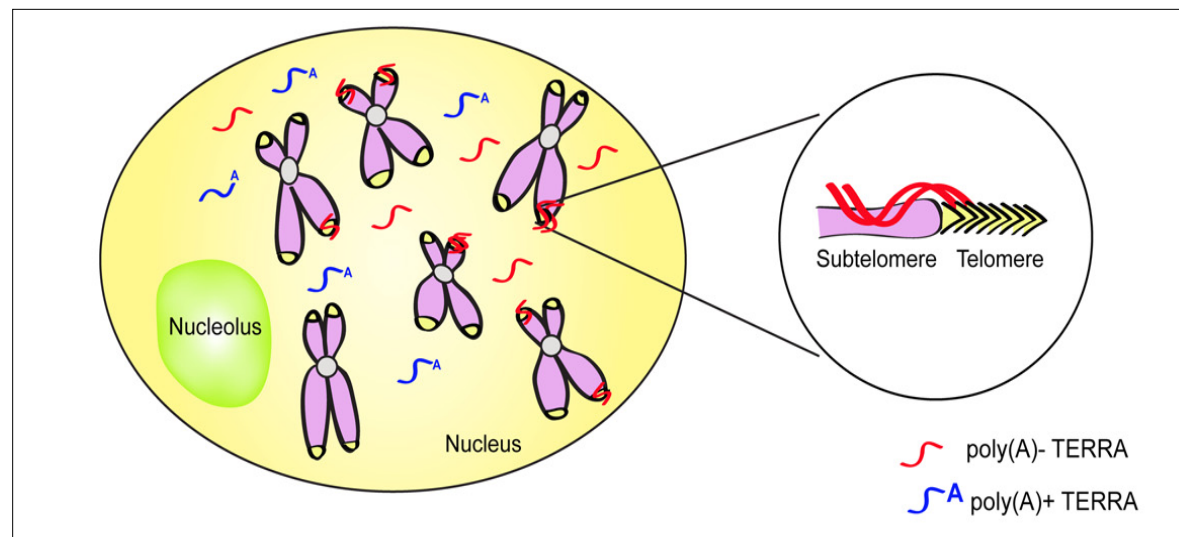
Белки, не входящие в Shelterin	Функции
Ku , связывается через TRF1	Связывается с двунитевыми разрывами ДНК и регулирует репарацию ДНК путем нехомологичной рекомбинации, регулирует количество теломеразы на теломерах.
комплекс MRN (Mre11-Rad50-Nbs1), связывается через TRF2	Белки репарации путем рекомбинации, на теломерах участвуют в формировании Т-петли
ATM , связывается через TRF2	Является сигнальным белком на двунитевые разрывы ДНК при критическом укорочении теломер
WRN helicases , связывается через TRF2	Участвует в процессах репарации и репликации ДНК. Раскручивает Т-петли и Г-квадруплексы на теломерах, подавляет сестринские обмены хроматид
BLM helicase	участвует в репарации поврежденных репликативных вилок, облегчает репликацию теломер за счет раскручивания двунитевой ДНК впереди репликативной вилки
Tankyrases , связывается через TRF1	Позитивно регулируют длину теломеры путем ингибирования TRF1
Rad51	Участвует в рекомбинационной репарации двунитевых разрывов ДНК и в защите теломер за счет стабилизации Т-петли

TERRA - Telomeric Repeat-containing RNA

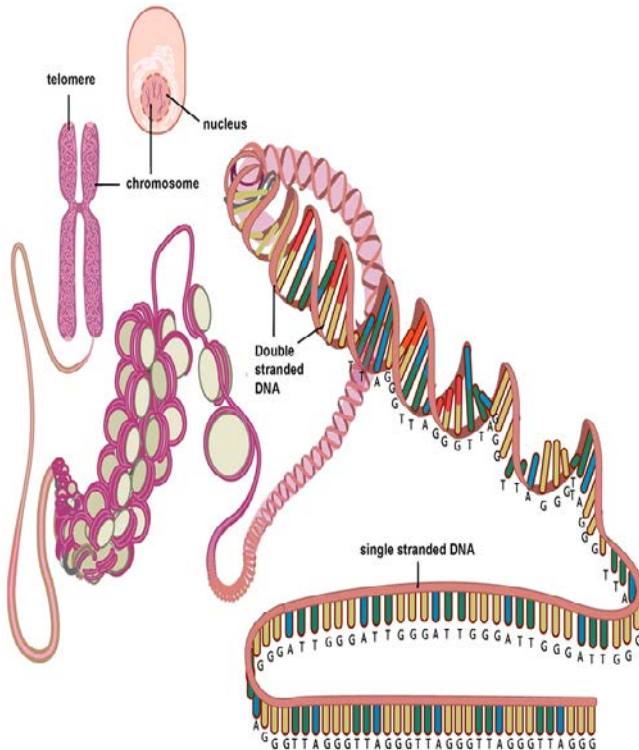


- транскрипция теломерной ДНК с С-обогащенной нити;
- Точки инициации транскрипции в субтеломерных районах;
- Гетерогенные TERRA от 0,1 до 9 т.п.н.

- TERRA с поли-А хвостом на 3'конце, как правило, находится в нуклеоплазме.
- С теломерами ассоциирована TERRA без поли-А хвоста.
- TERRA - регулятор транскрипции генов и гетерохроматинизации теломер
- TERRA – регулятор длины теломер



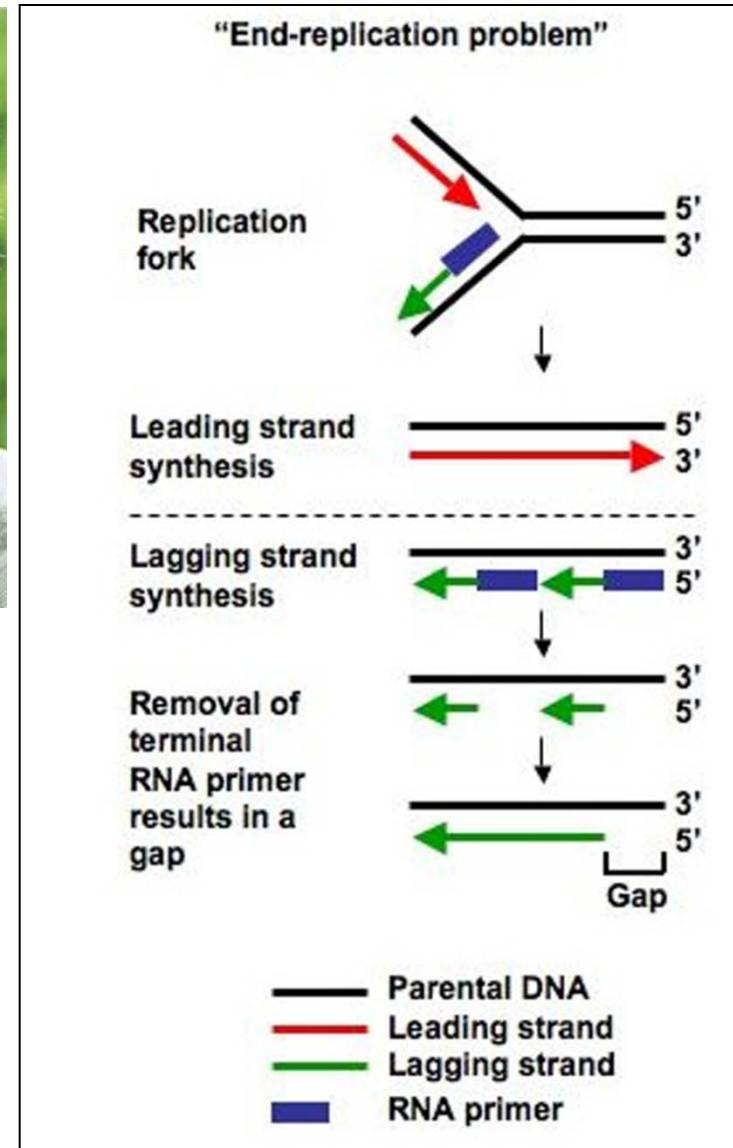
Проблема концевой недорепликации



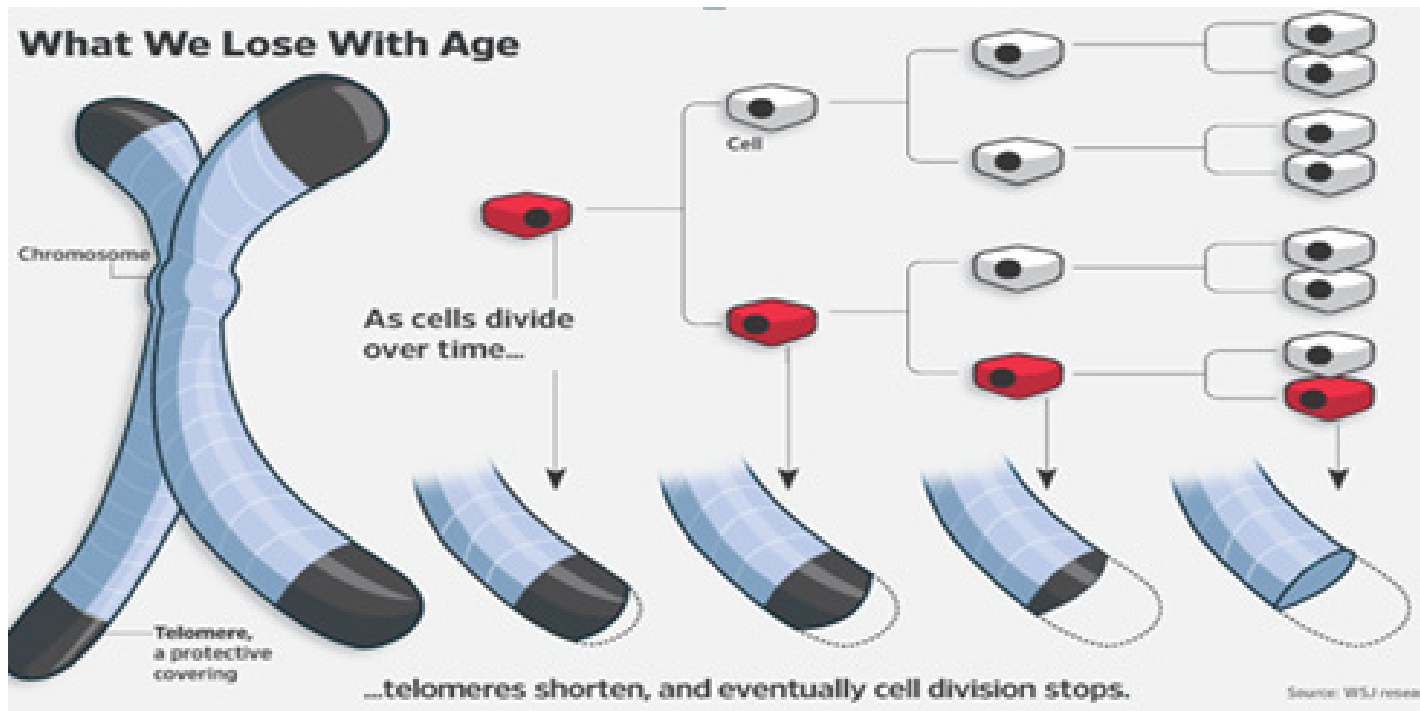
**Алексей Матвеевич
Оловников (1936)**

к.б.н., в.н.с.

Института
биохимической
физики РАН



Теломеры: счетчик делений клетки



укорочение теломер можно рассматривать как молекулярные часы, которые определяют репликативный потенциал "смертной" клетки



Правило Хейфлика

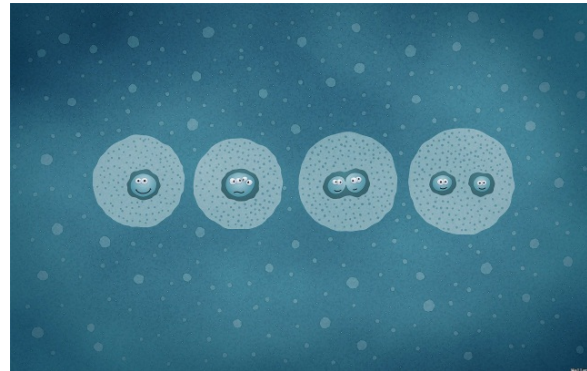
«Лимит Хейфлика»:
максимальное число делений
соматической клетки



60-80 делений



20-30 делений



число делений соматических
клеток человека, растущих *in vitro*
зависит от возраста того,
кому принадлежали клетки,
взятые в культуру.

Клетки, не подчиняющиеся Правилу Хейфлика:

- Клетки зародышевого пути,
- Стволовые
- Опухолевые клетки



способы сохранения длины теломер

С помощью теломеразы



С помощью Альтернативного
удлинения теломер



Открытие теломеразы 1984



Элизабет Блэкберн



Кэрол Грейдер



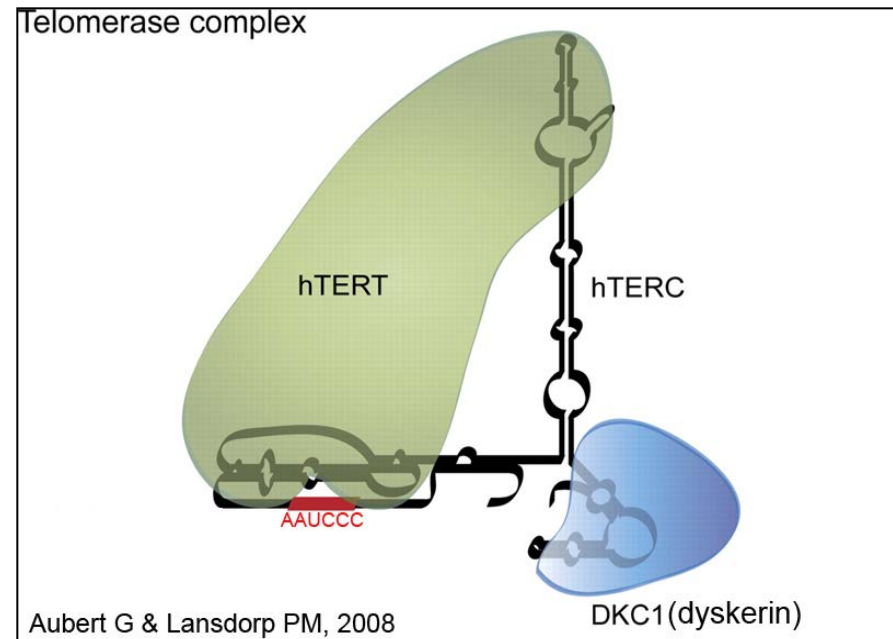
Джек Шостак

Нобелевская премия
2009 г.

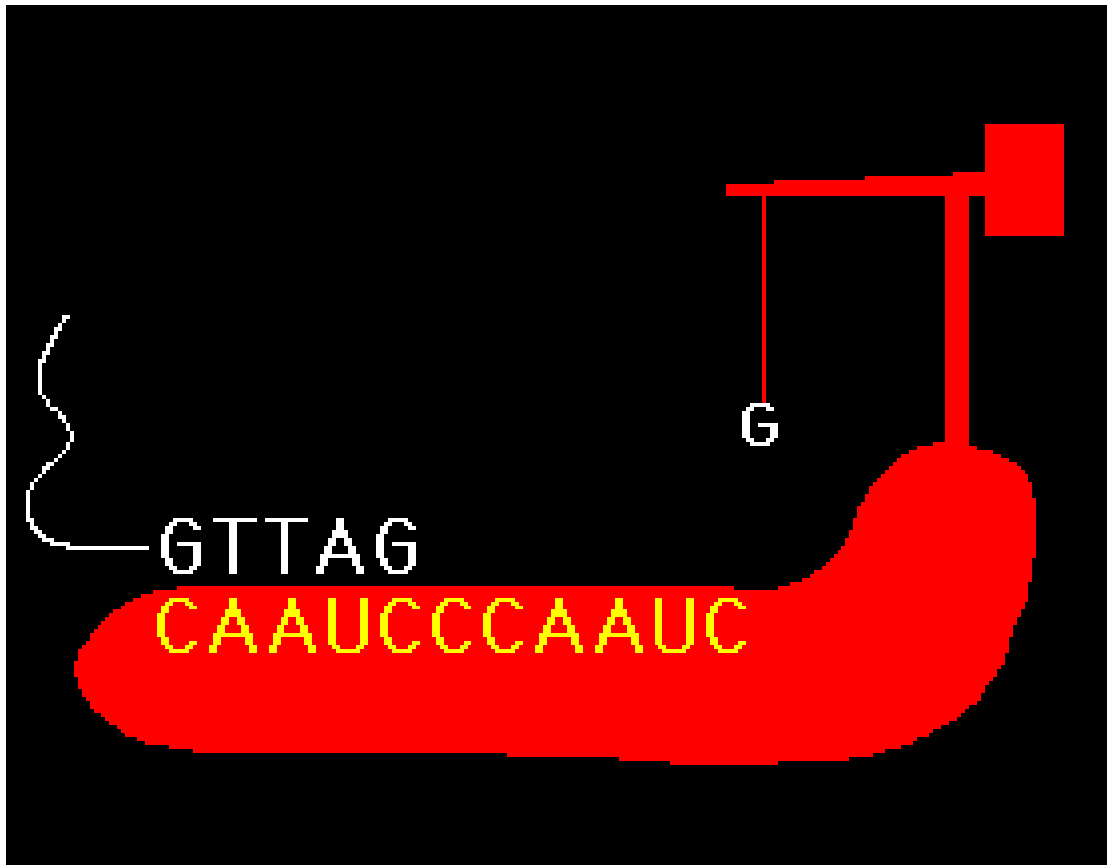
в области физиологии
и медицины за
открытие теломеразы
и изучение механизма
репликации теломер.

Теломераза - рибонуклеопротеидный комплекс, который включает в себя:

1. Обратную транскриптазу - **TERT** (TElomerase Reverse Transcriptase)
2. Теломеразную РНК - **TERC** (Telomerase Rna Component)
3. Дискерин - **DKC1**
4. Другие вспомогательные компоненты



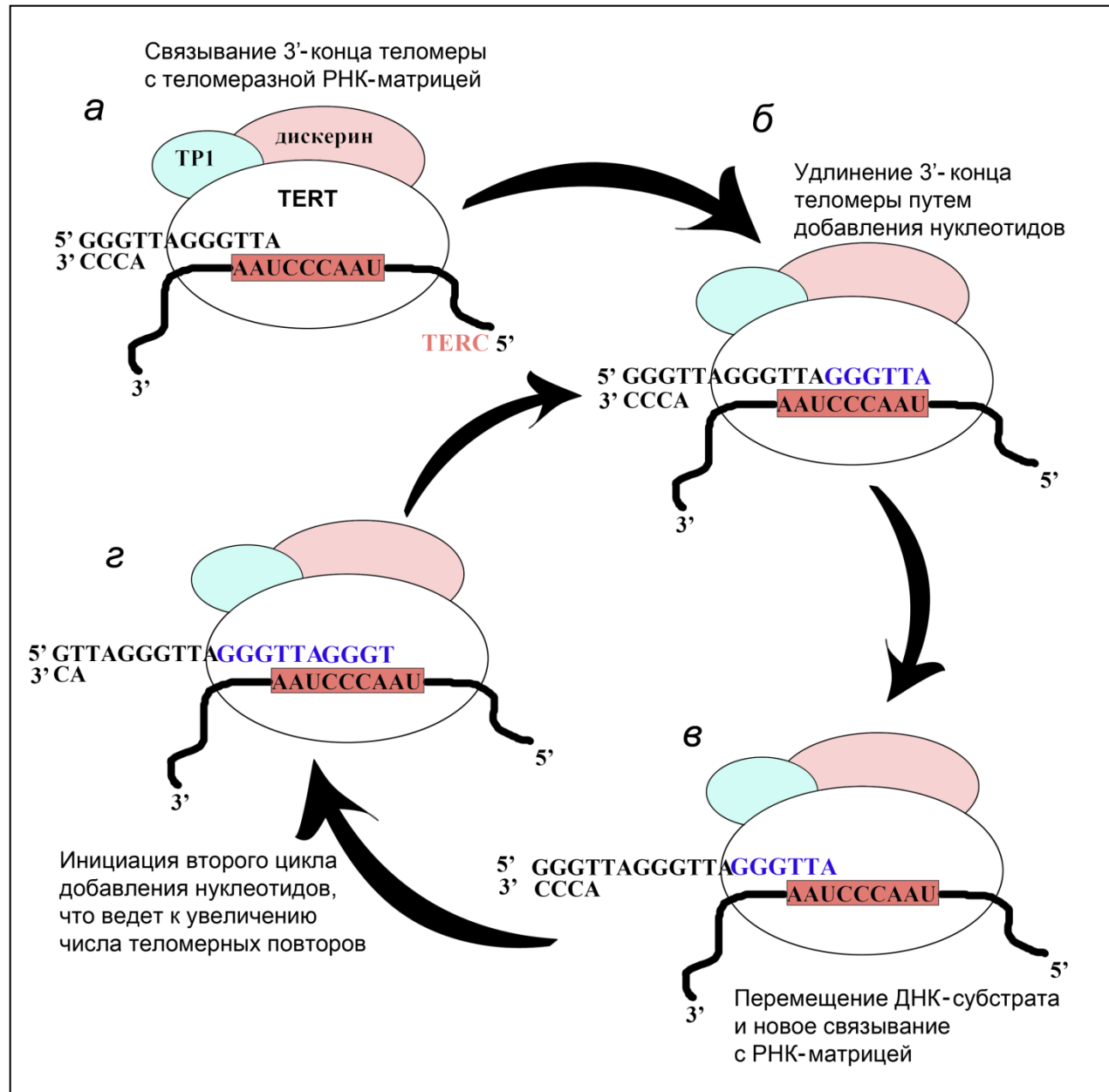
Принцип действия теломеразы



Анимацию смотри на
<http://www.people.vcu.edu/~bwindle/Telomerase/telomerase.html>

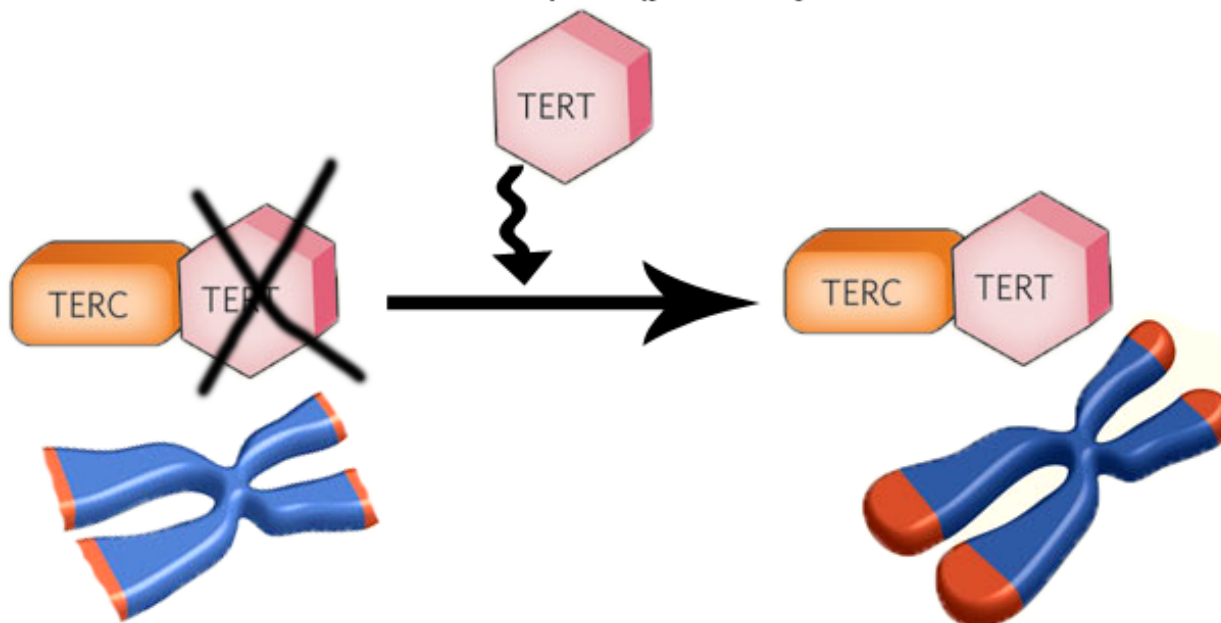


Схема удлинения теломер с помощью теломеразы



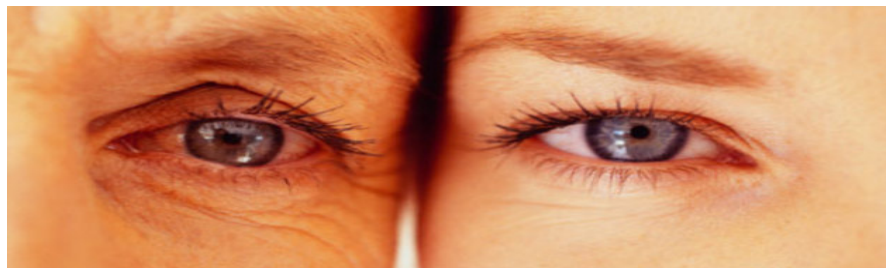
Восстановление теломеразной активности

внедрение субъединицы теломеразы TERT
в стареющую клетку

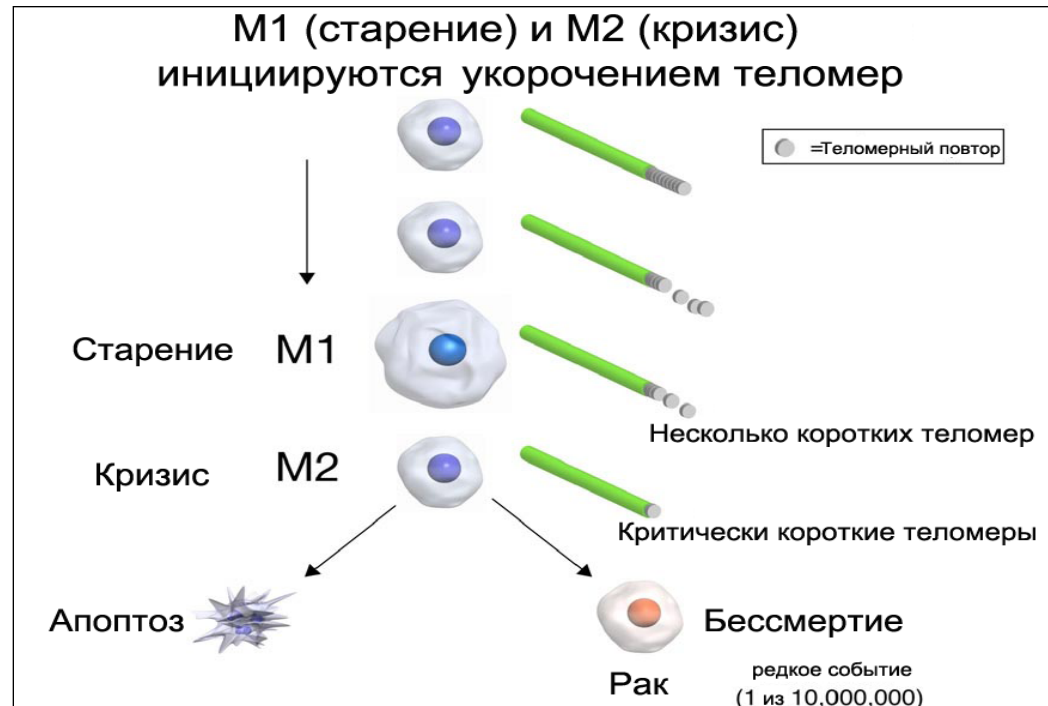
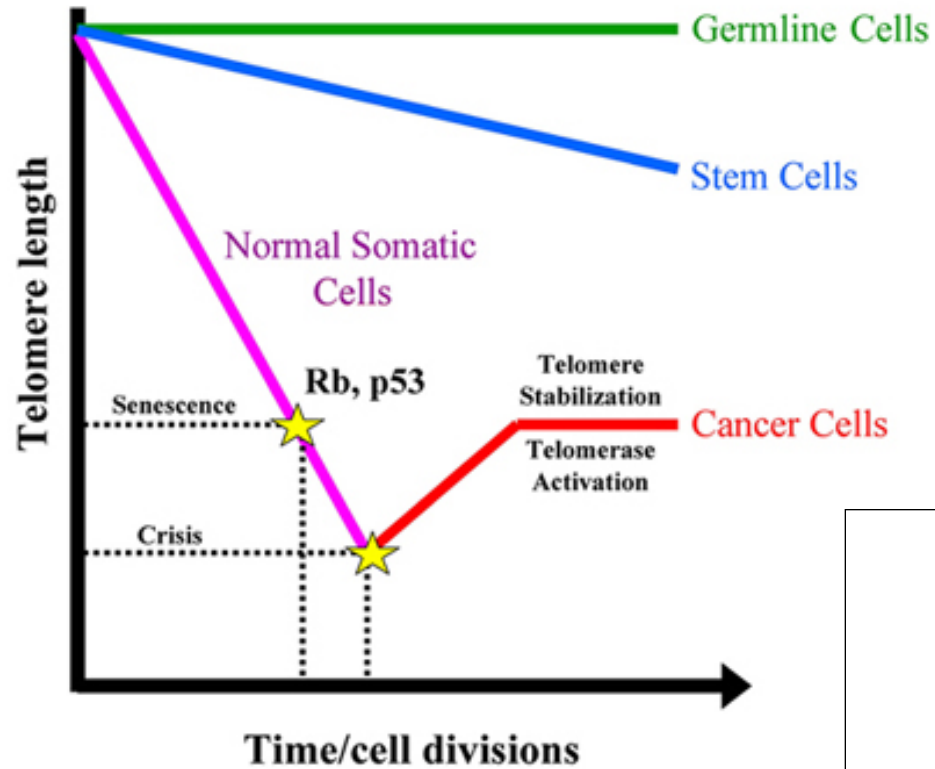


Соматическая стареющая
клетка, теломераза не активна,
TERT супрессирована

Активность теломеразы
восстановлена,
теломеры удлинены.



Динамика активности теломеразы и репликативное старение



Репликативное старение – барьер для образования опухолей?

Уменьшение теломеразной активности в соматических клетках с возрастом не у всех видов



TERC⁻/TERC⁻

5 поколений



Фенотип без отклонений



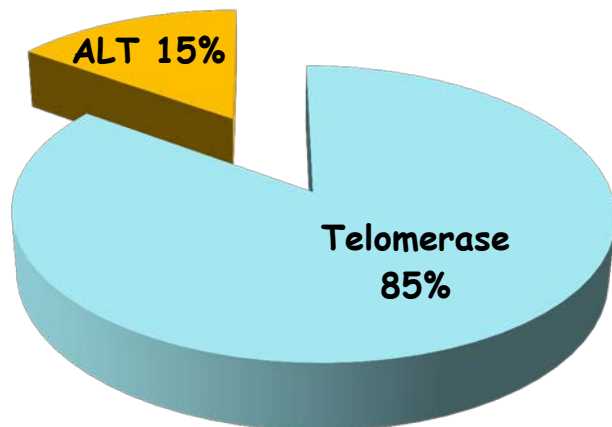
Последующие поколения



- Хромосомная нестабильность
- Дефекты роста
- Ускоренное старение тканей
- Снижение репродуктивности

ALT (Alternative Lengthening of Telomeres)

Частота встречаемости механизмов
удлинения теломер в опухолевых
клетках человека



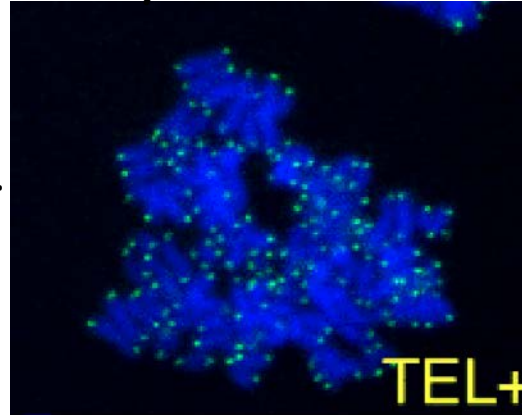
Основные признаки ALT клеток:

1. Отсутствие в клетках активной теломеразы, но наличие достаточно длинных теломер
2. Гетерогенность размера теломер в одной и той же клетке
3. Наличие в ALT клетках специальных структур APBs
4. Наличие внехромосомной теломерной ДНК
5. Наличие высокого уровня пострепликативных теломерных сестринских хроматидных обменов (T-SCE)

Основные признаки ALT клеток: 2.гетерогенность размера теломер

Выявление теломерных повторов (зеленая метка) с помощью гибридизации *in situ* в опухолевых клетках

При активной
теломеразе



При альтернативном
удлинении теломер

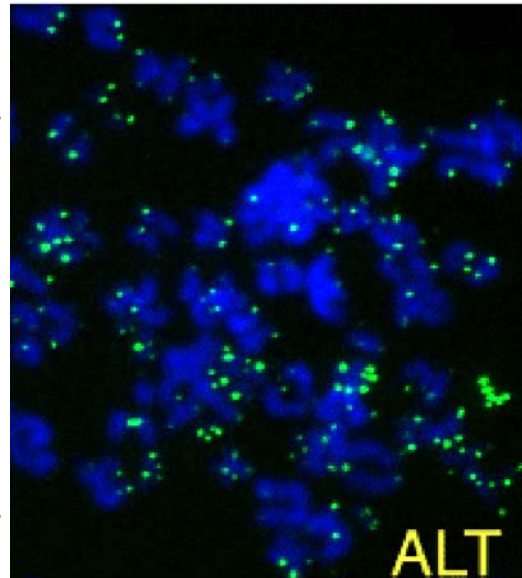
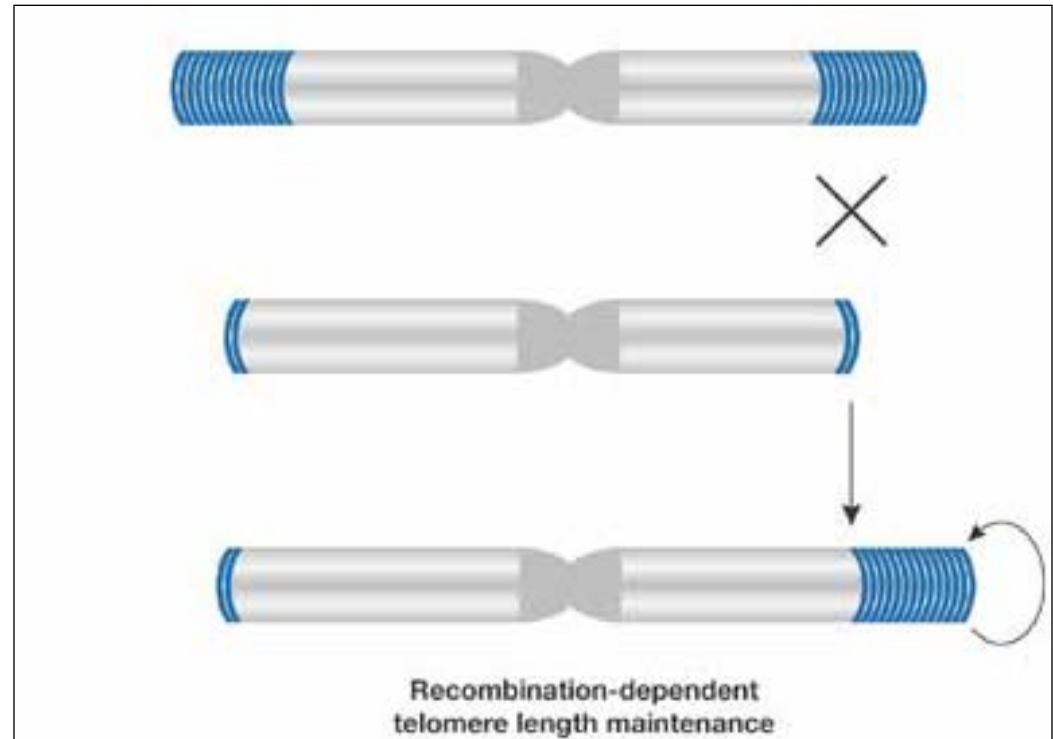
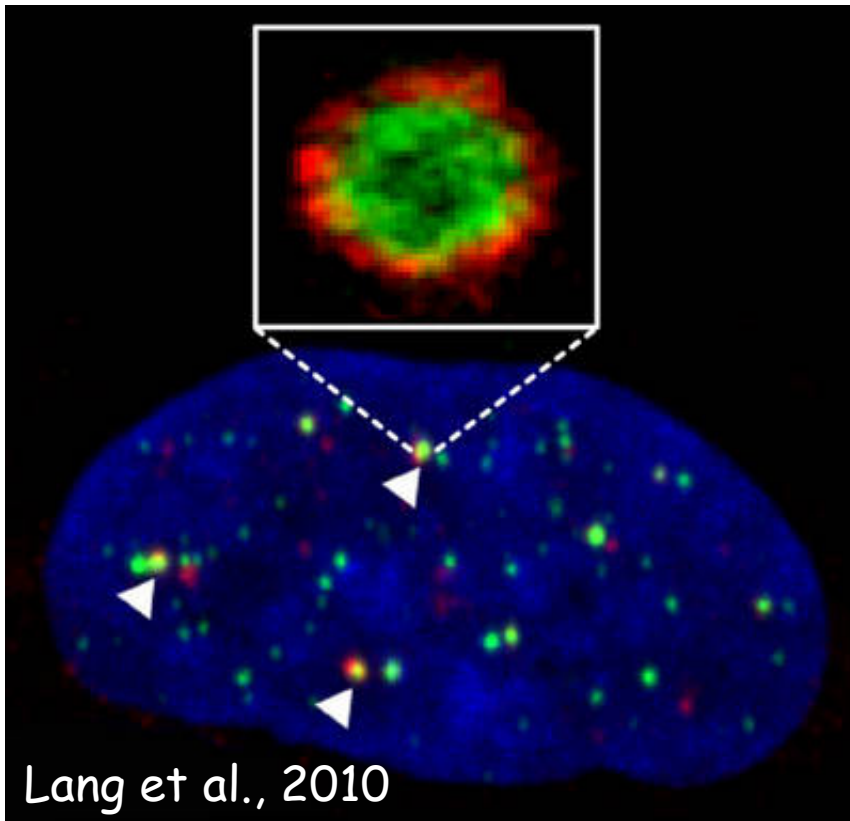


Схема изменения длины одной теломеры при одном делении



Karlseder & Cooper, 2007

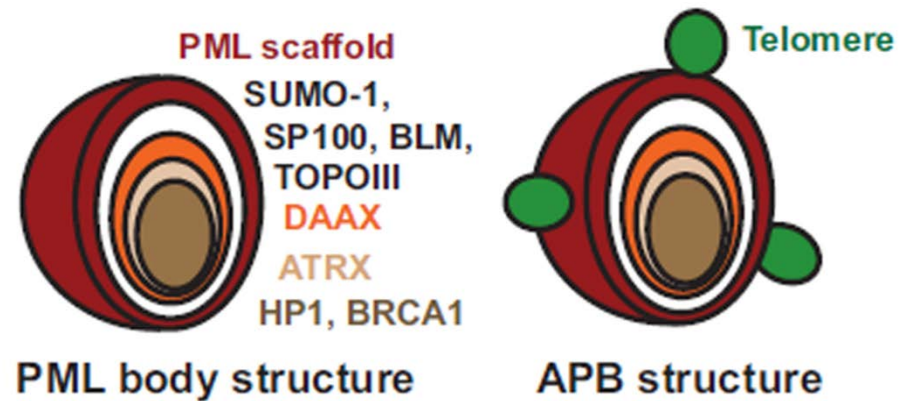
Основные признаки ALT клеток: 3. наличие APBs



Флуоресцентная микрофотография опухолевой клетки с теломерами, окрашенными зеленым, и PML белком, окрашенным красным. APB комплексы обозначены стрелками

PML ядерное тельце - Promyelocytic Leukemia nuclear body

Draskovic et al., 2009

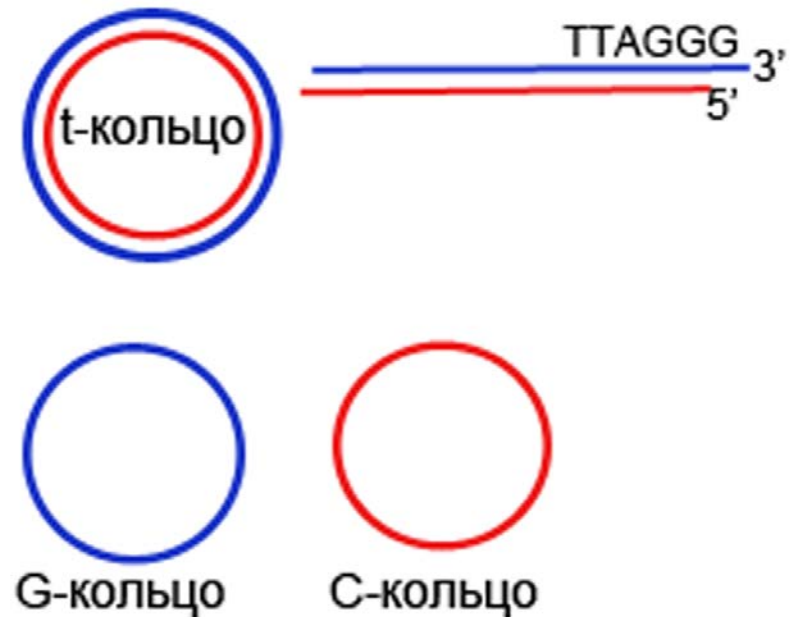


APB - ALT-associated PML Body = PML тельце + теломерная ДНК + факторы shelterin + факторы репарации и рекомбинации ДНК

Основные признаки ALT клеток:

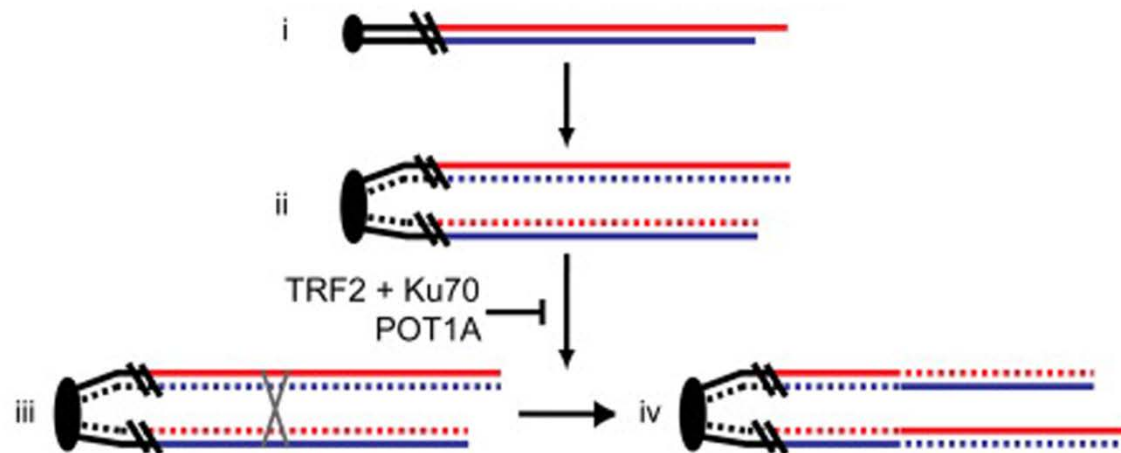
4. наличие внехромосомной теломерной ДНК

- Двунитевые кольцевые теломерные ДНК - t-кольца
- Двунитевые линейные теломерные ДНК
- Однонитевые C-обогащенные кольцевые ДНК - C-кольца
- Однонитевые G-обогащенные кольцевые ДНК - G-кольца

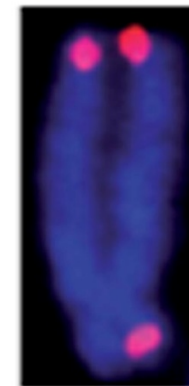


Основные признаки ALT клеток: 5. наличие T-SCE

T-SCE - telomere-sister chromatid exchange



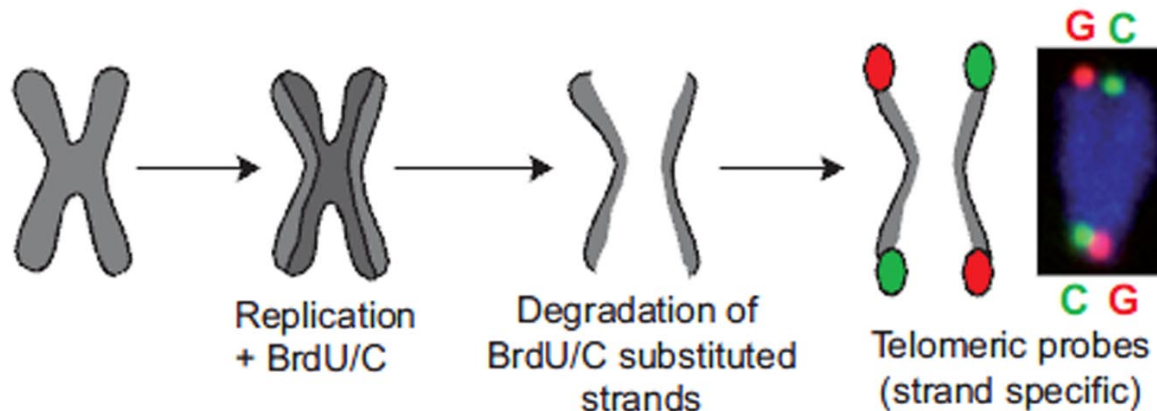
T-SCE



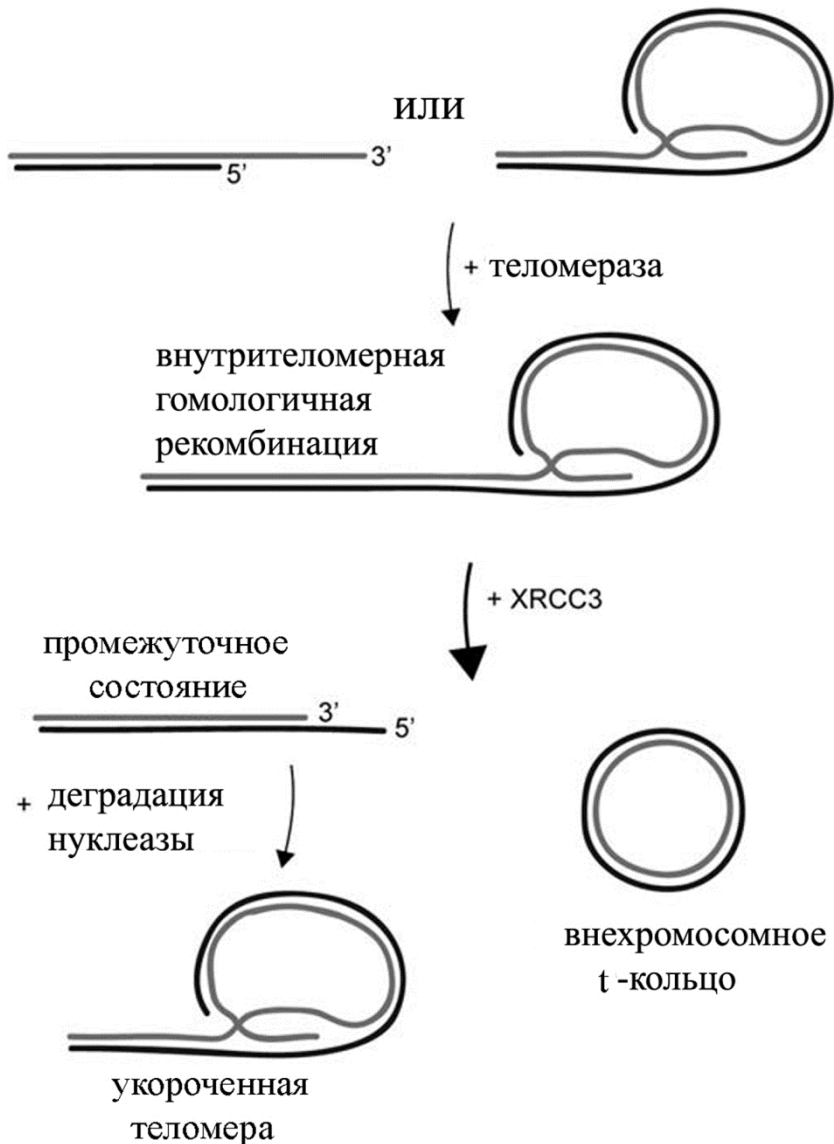
Выявление
T-SCE
цитологически

No
T-SCE

Схема выявления T-SCEs



Telomere trimming - быстрое укорочение теломер



Telomere trimming возникает в клетках, где очень высокая активность теломеразы, а теломеры сверхдлинные

Сходные признаки с ALT клетками:

1. Двунитевые Т-кольца
2. Гетерогенные теломеры
3. APBs

ALT (Alternative Lengthening of Telomeres)

Основные признаки ALT клеток:

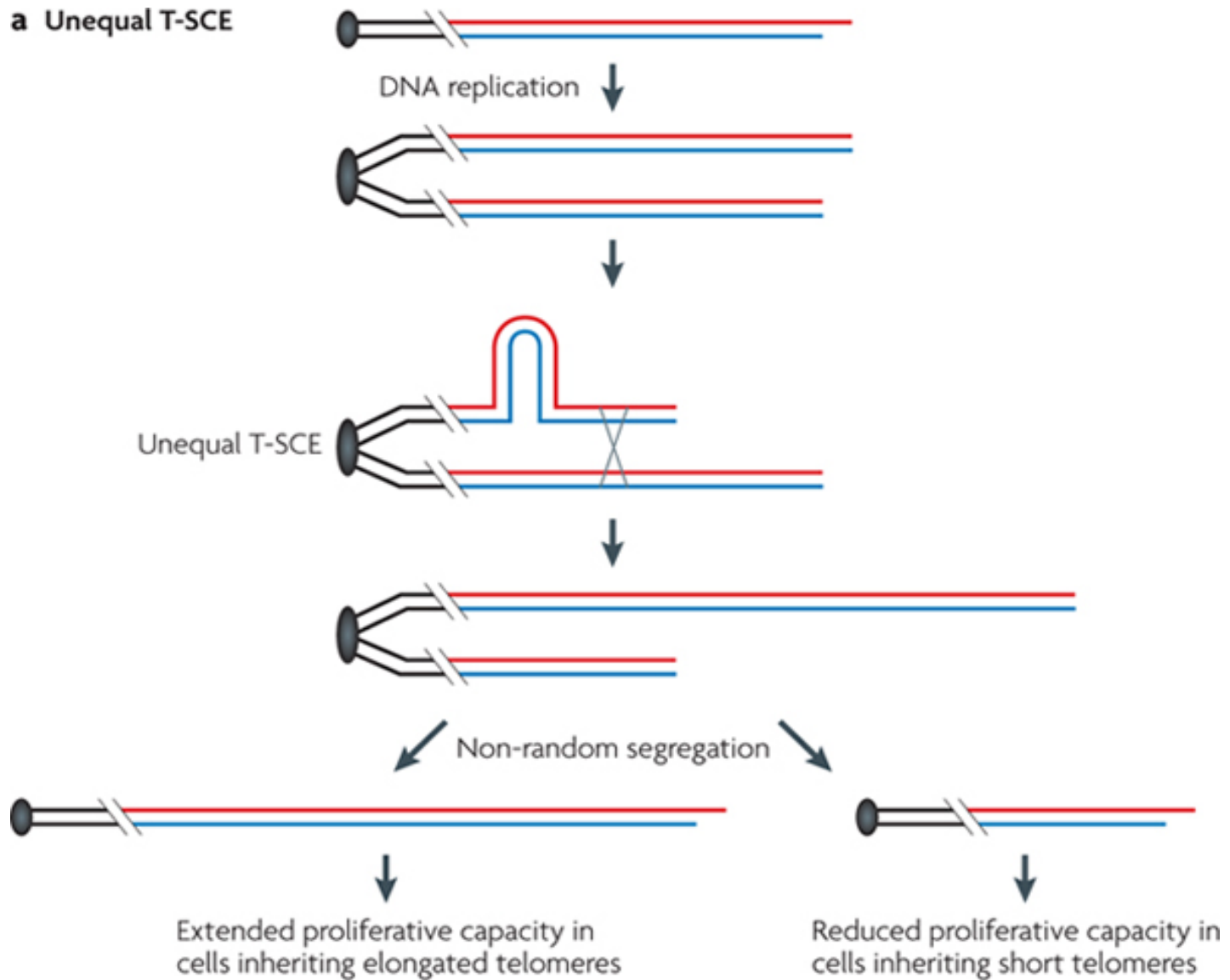
1. Отсутствие в клетках активной теломеразы, но наличие достаточно длинных теломер
2. Гетерогенность размера теломер в одной и той же клетке
3. Наличие в ALT клетках специальных структур APBs
4. Наличие внехромосомной теломерной ДНК (C, G, t-кольца, линейная теломерная двунитчатая ДНК)
5. Наличие высокого уровня пострепликативных теломерных сестринских хроматидных обменов (T-SCE)

Самые надежные признаки ALT:

1. Отсутствие в клетках активной теломеразы, но наличие достаточно длинных теломер
2. Наличие большого количества внехромосомных теломерных одонитевых C-колец.

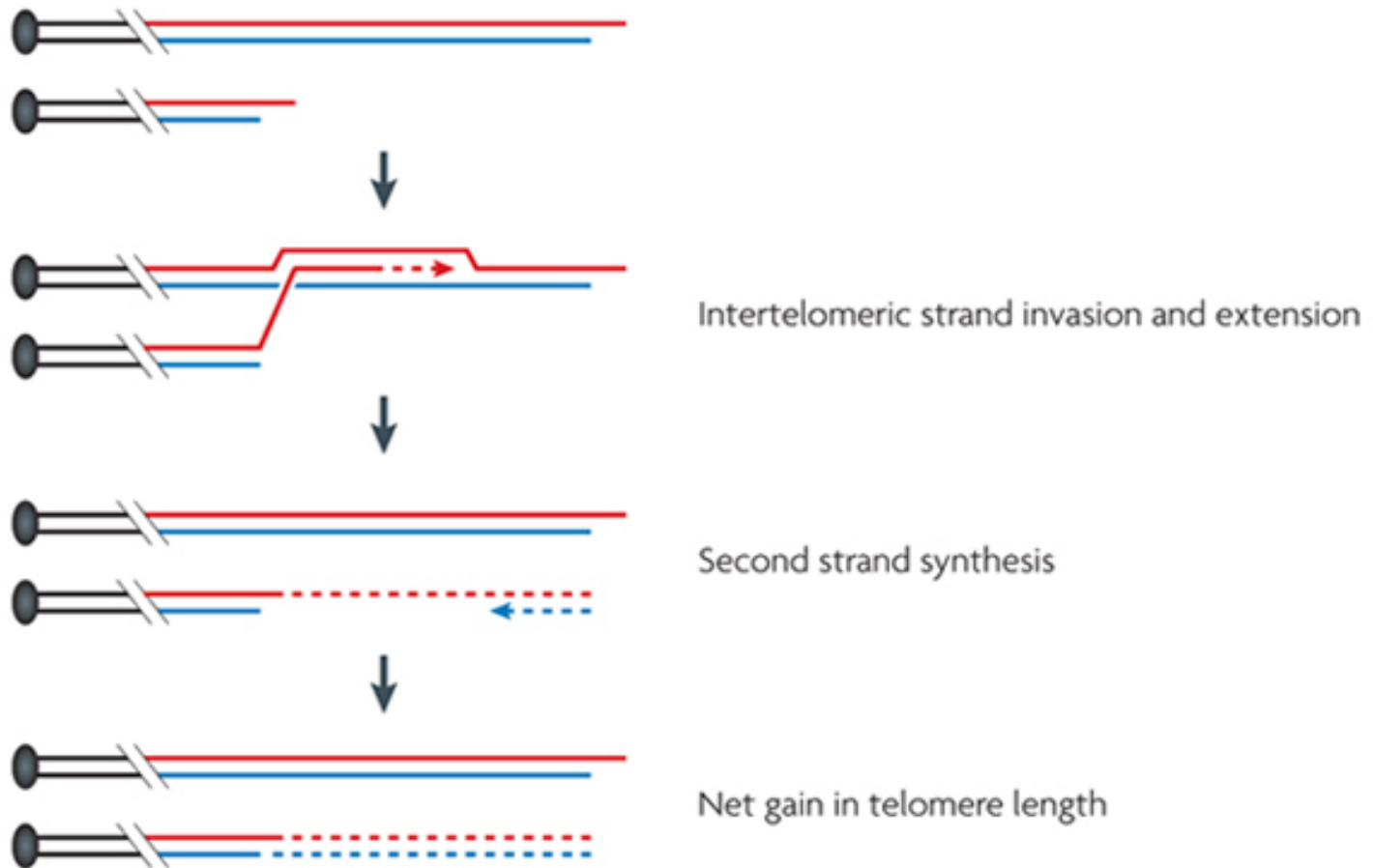
ALT механизм: 1. неравные T-SCEs

a Unequal T-SCE



ALT механизм: 2. ДНК репликация, опосредованная гомологичной рекомбинацией

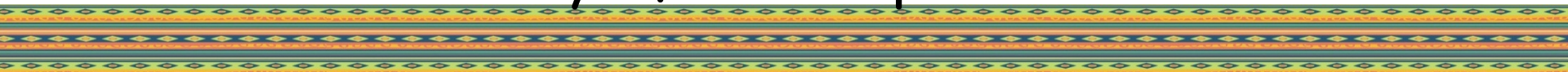
b Homologous recombination-dependent DNA replication



Что мы знаем о биологии теломер



Функции теломер



1. Сохранение целостности генома
2. Облегчение гомологичной рекомбинации при мейозе
3. Участие в архитектонике клеточного ядра
4. Регуляция экспрессии генов (эффект положения гена)
5. Определение репликативного потенциала клетки

Причины и следствия дисфункции теломер

Причины дисфункции теломер	Какие гены задействованы	Следствия дисфункции теломер
мутации генов белков shelterin	TRF1, TRF2, RAP1, POT1, TPP1, TIN2	укорочение или нарушение «кэппинга» теломер, хромосомная нестабильность
мутации генов субъединиц теломеразного комплекса	TERT, TERC, DKC1	Врожденный дискератоз: гиперпигментация кожи, ороговение эпителия, дистрофия ногтей, прогрессивная апластическая анемия, повышенная склонность к развитию злокачественных опухолей.
мутации генов белков, ассоциированных с теломерами	WRN, BLM, ATM	Синдромы преждевременного старения: Синдром Вернера, Синдром Блума, Атаксия- телангиэктазия. Характеризуются повышенной склонностью к онкозаболеваниям, иммунодефициту, а также атеросклерозу, нейральной дегенерации и другим проявлениям преждевременной старости

Короткие теломеры – вторичный эффект заболеваний:

- Синдром приобретённого иммунного дефицита
- Заболевания сердечно-сосудистой системы
- Ревматоидный артрит
- Атопический дерматит
- Бронхиальная астма

Как продлить молодость?

Компания «Geron» (<http://www.geron.com>) разработала препарат **ТА-65L** - теломеразный активатор, выделенный из китайского растения *Astragalus*.

Доказанные эффекты воздействия ТА-65 на организм человека:

- Активация функции иммунной системы (количества Т-клеток)
- Повышение тонуса организма и увеличение жизненных сил
- Улучшение функций памяти и трудоспособности
- Улучшение зрения
- Улучшение состояния кожи, волос, ногтей
- Улучшение половой функции



Astragalus.



Ginkgo Biloba -
активатор
теломеразы

Медитация
стимулирует
активность
теломеразы в
иммунных
клетках



[J Cardiovasc Pharmacol.](#) 2007 Feb;49(2):111-5.
**Ginkgo biloba extract reduces endothelial
progenitor-cell senescence through augmentation of
telomerase activity.**
[Dong XX](#), [Hui ZJ](#), [Xiang WX](#), [Rong ZF](#), [Jian S](#), [Zhu CJ](#).

[Ann N Y Acad Sci.](#) 2009; 1172: 34-53.
**Can meditation slow rate of cellular aging?
Cognitive stress, mindfulness, and telomeres.**
[Epel E](#), [Daubenmier J](#), [Moskowitz JT](#), [Folkman S](#),
and [Blackburn E](#).

Факторы, усиливающие укорочение теломер

Хронический
психологический стресс

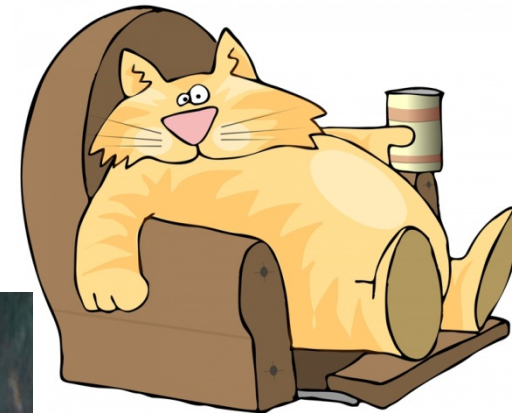


Окислительные
повреждения



Укорочение теломер

Гиподинамия –
малоподвижный
образ жизни



Генетические
факторы



Неблагоприятные
техногенные
воздействия



Хронические инфекции



Спасибо за внимание!

