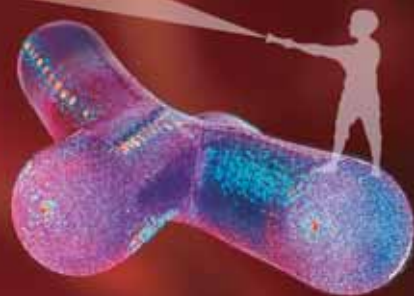


А. Г. КОРОЛЕВА

СТРУКТУРА И ДЛИНА ТЕЛОМЕР: загадкам нет конца

Хотя теломерной биологии по современным меркам уже немало лет и по этой теме имеется большой экспериментальный материал, вопросов со временем становится больше, чем ответов. Являются ли теломеры «молекулярными часами», отсчитывающими время жизни? Почему у слона они короткие, а у мыши длинные? Почему они могут быть разными у идентичных близнецов? Связан ли размер теломер с размером организма? А от чего зависит активность фермента теломеразы, способного восстанавливать теломеры? Все же кое-какие закономерности ученым удалось выявить, несмотря на то что эта область науки постоянно преподносит новые сюрпризы



Теломерная биология – это область науки, которая изучает *теломеры* – концевые районы хромосом, неспособные к соединению с другими хромосомами и в силу этого играющие роль «защитных колпачков». Широкий же интерес к этим структурным элементам хромосом был вызван появлением теории старения, согласно которой этот процесс – следствие укорачивания теломер с возрастом из-за их неполного копирования в процессе удвоения ДНК.

**Я вся такая...
внезапная, такая
противоречивая!**

История теломерной биологии началась в 1930-е гг., когда Г. Мюллер и Б. Мак-Клинтон описали теломеры как особые структуры хромосом, не позволяющие им слипаться друг с другом. Понятно, что во времена, когда еще не знали, как закодирована наследственная информация в клетке, установить природу теломер было невозможно. Период активного изучения теломер начался в 1980-х гг. и увенчался Нобелевской премией 2009 г. (Зверева и др., 2010).

Первым организмом, у которого определили последовательность

Ключевые слова: теломеры, структура теломерного повтора, длина теломерных районов.

Key words: telomeres, structure of telomere repeat, telomere length



КОРОЛЕВА Анастасия Геннадьевна – ведущий инженер лаборатории ихтиологии Лимнологического института СО РАН (Иркутск). Автор и соавтор 4 научных работ

нуклеотидов теломерной ДНК, была инфузория *тетрахимена* (Блекберн, 1978). Оказалось, что теломерная ДНК этого простейшего состоит из шести нуклеотидов TTGGGG, повторяющихся четыре-пять раз – такие структуры называют короткими повторами (*мини-* и *микросателлитами*). Затем структуру теломерных районов определили у других организмов из разных таксономических групп. Оказалось, что у большинства позвоночных это короткий повтор TTAGGG, у членистоногих (Arthropoda) – TTAGG, у круглых червей (Nematoda) – TTAGGC, у растений – TTTAGGG.

Со временем короткие повторы стали называть согласно таксономической группе, у которой они впервые были прочитаны. В результате TTAGGG стал «позвоночным» или «человеческим» типом теломер, TTAGG – «артроподным», TTAGGC – «нематодным», а TTTAGGG – «арабидопсисным» – по названию растения *Arabidopsis thaliana*. Позже выяснилось, что эти названия не соответствуют реальному положению вещей. «Позвоночный» тип теломер широко распространен среди беспозвоночных животных – кишечнополостных, плоских червей, моллюсков, встречается у некоторых простейших, членистоногих, растений и грибов, характерен для самого примитивного многоклеточного животного – *трихоплакса*. Во избежание путаницы было бы разумнее назвать этот теломерный повтор, например, базовым или первичным, но он остался «человеческим». Правда остальные типы повторов, за некоторым исключением, действительно характерны для тех организмов, в честь которых названы.

© А. Г. Королева, 2016



Первооткрывателями теломер стали известные американские генетики – Герман Мюллер, работавший с полюбившейся генетикам мушкой дрозофилой, и лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине – Барбара Мак-Клинток (вверху), объектом исследований которой была не менее любимая селекционерами и генными инженерами кукуруза. *Public Domain*

На путанице в названиях дело не закончилось. Достаточно обескураживающим открытием стало то, что не у всех организмов теломеры состоят из микросателлитов. Прежде считалось, что только короткие повторы ДНК консервативной структуры могут защищать концы хромосом, но у двукрылых насекомых и некоторых растений были выявлены теломерные структуры, значительно отличающиеся от типичных коротких повторов.

Так, у комаров рода *Chironomus* и *Anopheles* в роли теломер выступает *сателлитная ДНК*, представляющая собой повторы из нескольких сотен пар нуклеотидов. У дрозофилы теломеры состоят из перемещающихся по геному мобильных элементов – *ретротранспозонов* HeT-A, TART и TAHRE. Один из них, TART, был также обнаружен на концах хромосом мухи *Rhinosciara americana*. Возможно, нетипичные теломеры характерны для всех представителей многочисленного (более 150 тыс. видов) отряда двукрылых насекомых. Среди растений нетипичные теломеры найдены у некоторых видов подсемейств

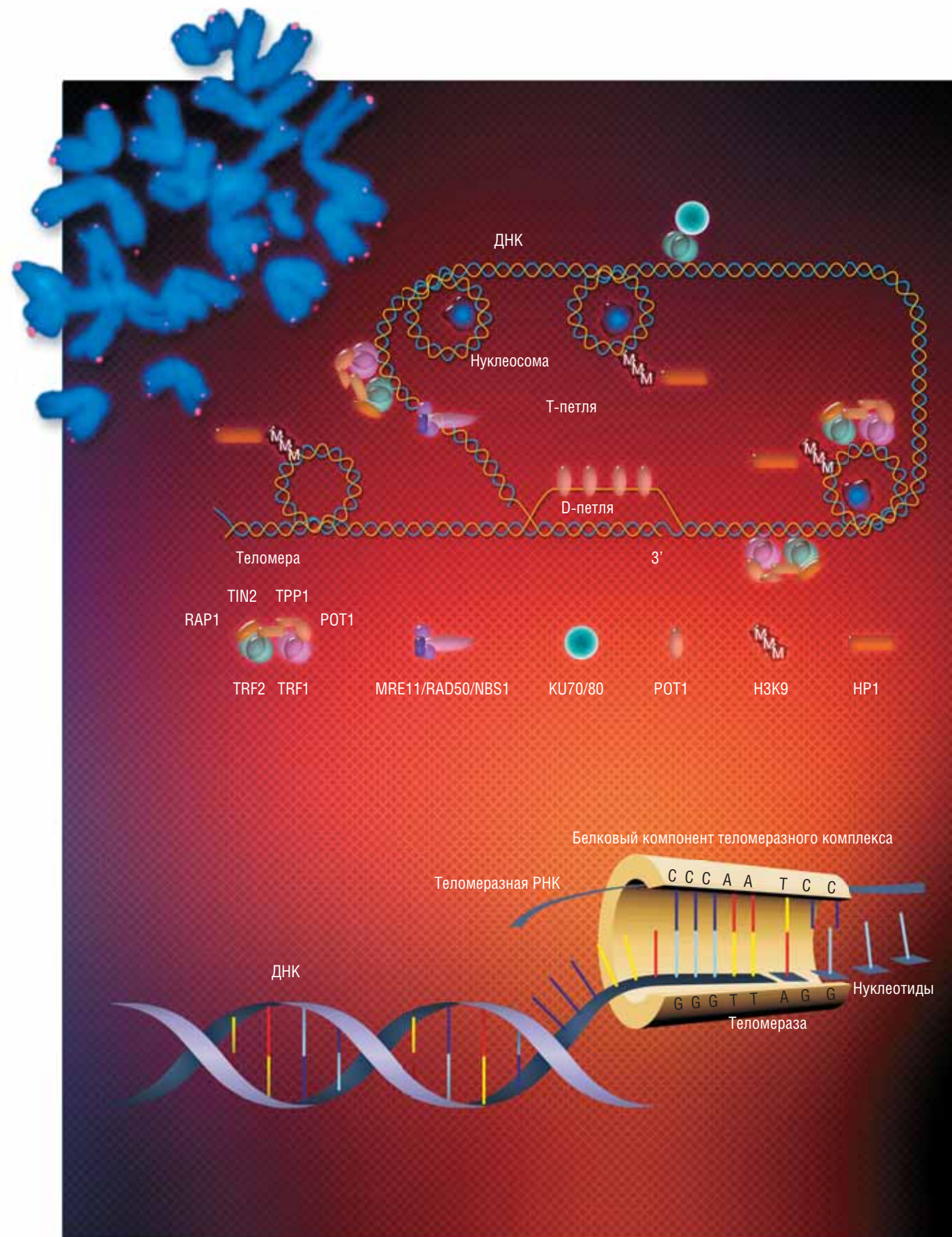
Хромосомы с окрашенными с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) теломерами (слева вверху) и схема строения отдельной теломеры (справа вверху). Теломеры обычно состоят из 5–7 нуклеотидных повторов ДНК и ассоциированных с ними особых белков (их комплекс называют шелтерином, от англ. *shelter* – прикрытие). Также как и остальная часть ДНК, теломерная ДНК организована в нуклеосомы, представляющие собой сердцевину из модифицированных белков-гистонов, на которую намотана ДНК. Теломерная ДНК образует две петли: большую из двухцепочечной ДНК (Т-петля) и маленькую из одноцепочечной ДНК (D-петля). Последняя петля появляется из-за того, что конец теломерной ДНК, состоящий из одной цепи (оверхенг, выступ), при образовании петли замещает одну из цепей двухцепочечной ДНК. По: (Bombarova et al., 2009 и Zellinger et al., 2007)

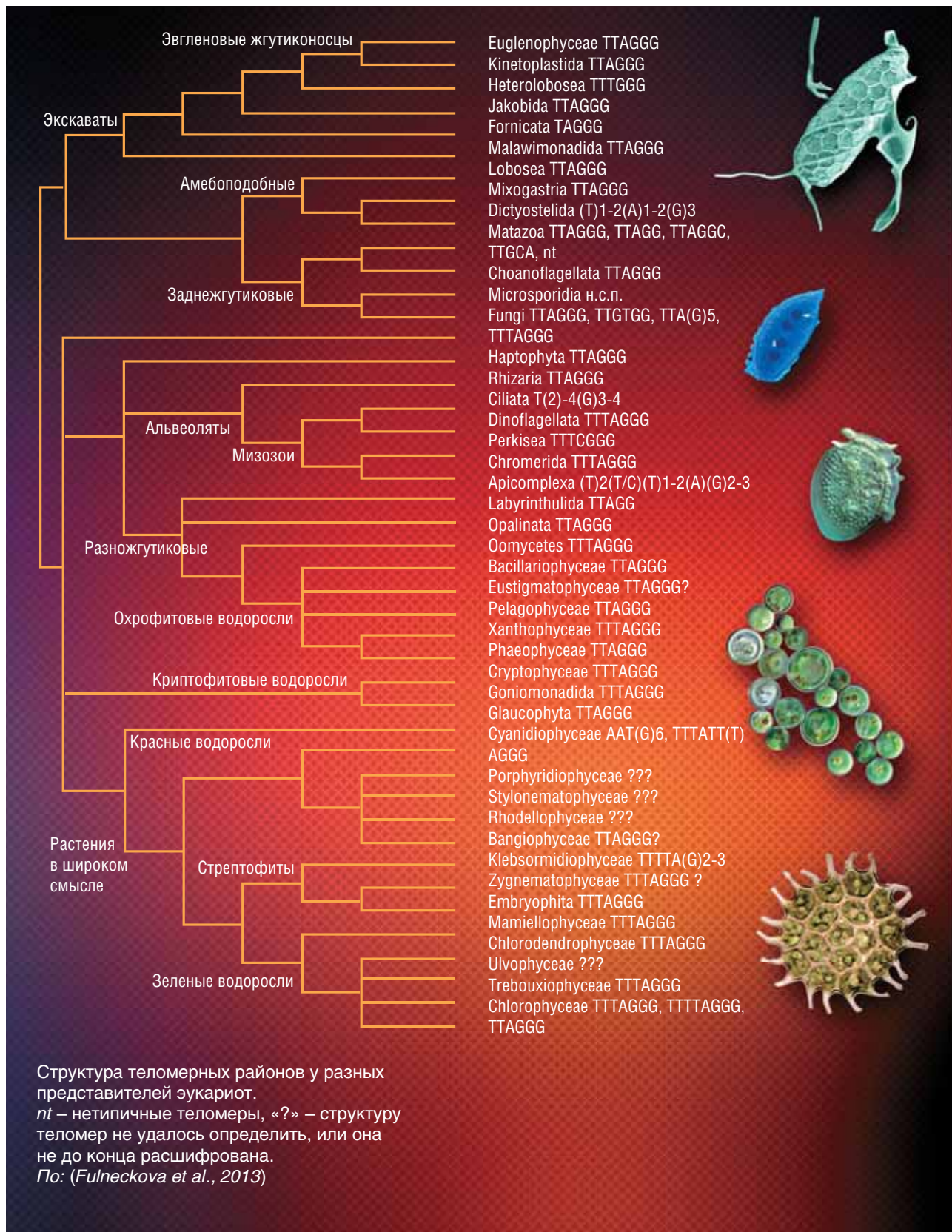
Alliaceae (луковые), Asphodelaceae (асфodelовые) и семейства Solonaceae (пасленовые): на концах их хромосом локализуются последовательности рибосомальной или сателлитной ДНК.

Более того, существуют промежуточные типы теломер: например, у тутового шелкопряда *Bombyx mori* теломерная ДНК состоит как из повторов TTAGG, так и из ретротранспозонов TRAS и SART – это говорит об эволюционной связи разных теломерных структур. У некоторых организмов определить структуру теломерных регионов пока не удалось: это тихоходки и поденки среди животных и, например, ульвовые и красные водоросли среди низших растений. Так что, возможно, существуют и другие варианты структуры теломерных районов.

Не только по структуре, но и по длине теломерные участки очень вариабельны. Размер теломер может отличаться на разных плечах одной хромосомы, у гомоло-

Схема строения теломеразы, фермента, который «пришивает» новые нуклеотиды к укорачивающимся при делении клетки теломерным участкам ДНК. Теломераза содержит короткую молекулу РНК, последовательность которой комплементарна теломерному повтору, и эта РНК используется как матрица для синтеза 3'-конца теломерной ДНК. Достроив один участок, теломераза сдвигается так, чтобы повторить цикл. Вторая цепь ДНК достраивается ДНК-полимеразой в ходе следующего деления клетки





гичных и негомологичных хромосом, в разных клетках, тканях, органах, у близнецов, у разных индивидов, принадлежащих одному виду, у разных видов. С чем такая изменчивость связана и каково ее функциональное значение, до сих пор не понятно. При этом в исследованиях варибельность обычно не учитывают, используя в анализе средние значения размера теломер, который определяют, расщепив ДНК изучаемой ткани ферментами рестриктазами, не трогающими теломерную ДНК. Оставшуюся ДНК метят, визуализируют и с помощью специального прибора определяют длину фрагмента самой многочисленной фракции – это и будет средний размер теломер.

Длина теломер всегда вызывала и продолжает вызывать много вопросов. Почему у слона она составляет всего 14 тыс. пар нуклеотидов, а у некоторых линий лабораторных мышей – в 10 раз больше? Есть ли какая-нибудь связь с размером тела? С продолжительностью жизни? С приспособленностью к меняющимся условиям окружающей среды? С болезнями? С наследственностью? Со скоростью старения? Это лишь небольшой перечень вопросов, возникающих в отношении размера теломер, правда на некоторые из них ученые уже нашли ответы.

Размер теломер, размер тела и продолжительность жизни – есть ли связь?

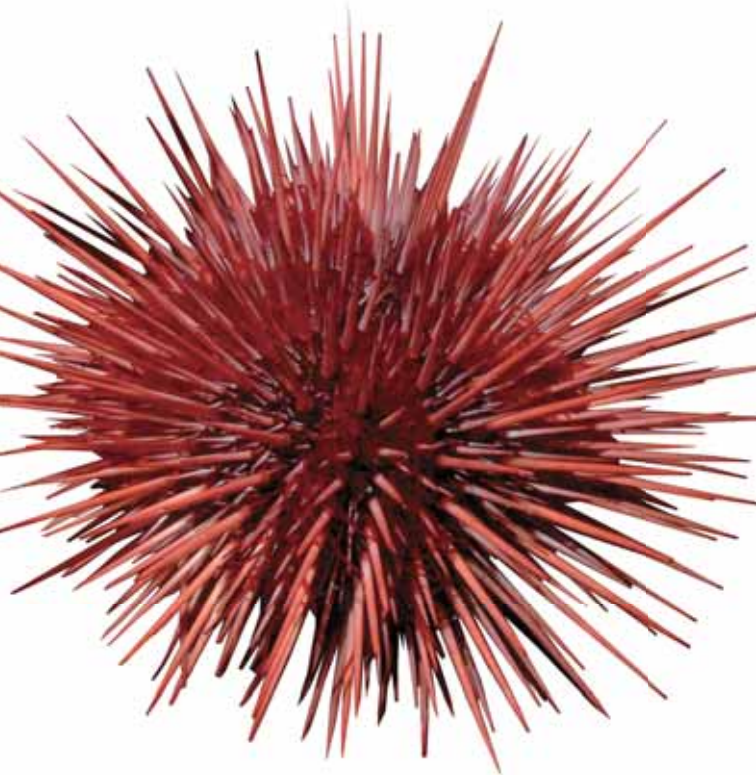
Как уже упоминалось выше, существует теория старения, согласно которой этот процесс происходит вследствие укорачивания теломер с возрастом из-за их неполного копирования в процессе удвоения ДНК. Теломеры называли (а некоторые до сих пор называют) митотическими часами клеток, хронометрами, счетчиками клеточных делений, потому что у человека в клетках тела они укорачиваются с возрастом. Родится человек с длиной теломер 15–20 тыс. пар нуклеотидов, а умирает с длиной 5–7 тыс. Сейчас известно, что зависимость размера теломер от возрастных изменений не универсальна, длина теломерной ДНК у разных организмов (а иногда и у одного и того же организма) может со временем не только уменьшаться, но и расти, а у многих организмов такой зависимости вообще нет. Но все же объяснить различия в длине теломер у разных организмов разной продолжительностью их жизни – красиво и логично. Может быть, долгожители имеют необычайно длинные теломеры? К сожалению, по пальцам одной руки можно пересчитать организмы-долгожители с длинными теломерами. Это некоторые виды долгоживущих (сто и больше лет) черепах с теломерами длиной 50–60 тыс. пар нуклеотидов, аллигаторы, живущие больше полувек



У комара рода *Chironomus* в роли теломер выступает сателлитная ДНК: повторы из нескольких сотен пар нуклеотидов образуют теломерные области в несколько сотен тысяч пар нуклеотидов.
 © Creative Commons

с теломерами размером около 30 тыс. пар нуклеотидов. Но у большинства других долгоживущих организмов теломеры довольно скромного размера. Например, у деревьев-долгожителей (более тысячи лет) сосны *Pinus longeva* и гинкго *Ginkgo biloba* длина теломер составляет, соответственно, около 13 и 5 тыс. пар нуклеотидов. То есть длина теломер и продолжительность жизни не имеют явной связи. Другой вопрос, что эти организмы имеют активный механизм поддержания

Какие теломеры считать длинными, а какие не очень? Все известные значения размеров теломер условно можно разделить на четыре группы. Очень короткие – десятки пар нуклеотидов, характерные для большинства простейших; короткие – меньше 20 тыс. пар нуклеотидов; длинные – больше 20 и меньше 100 тыс. пар нуклеотидов; экстрадлинные, или мегателомеры, – больше 100 тыс. пар нуклеотидов

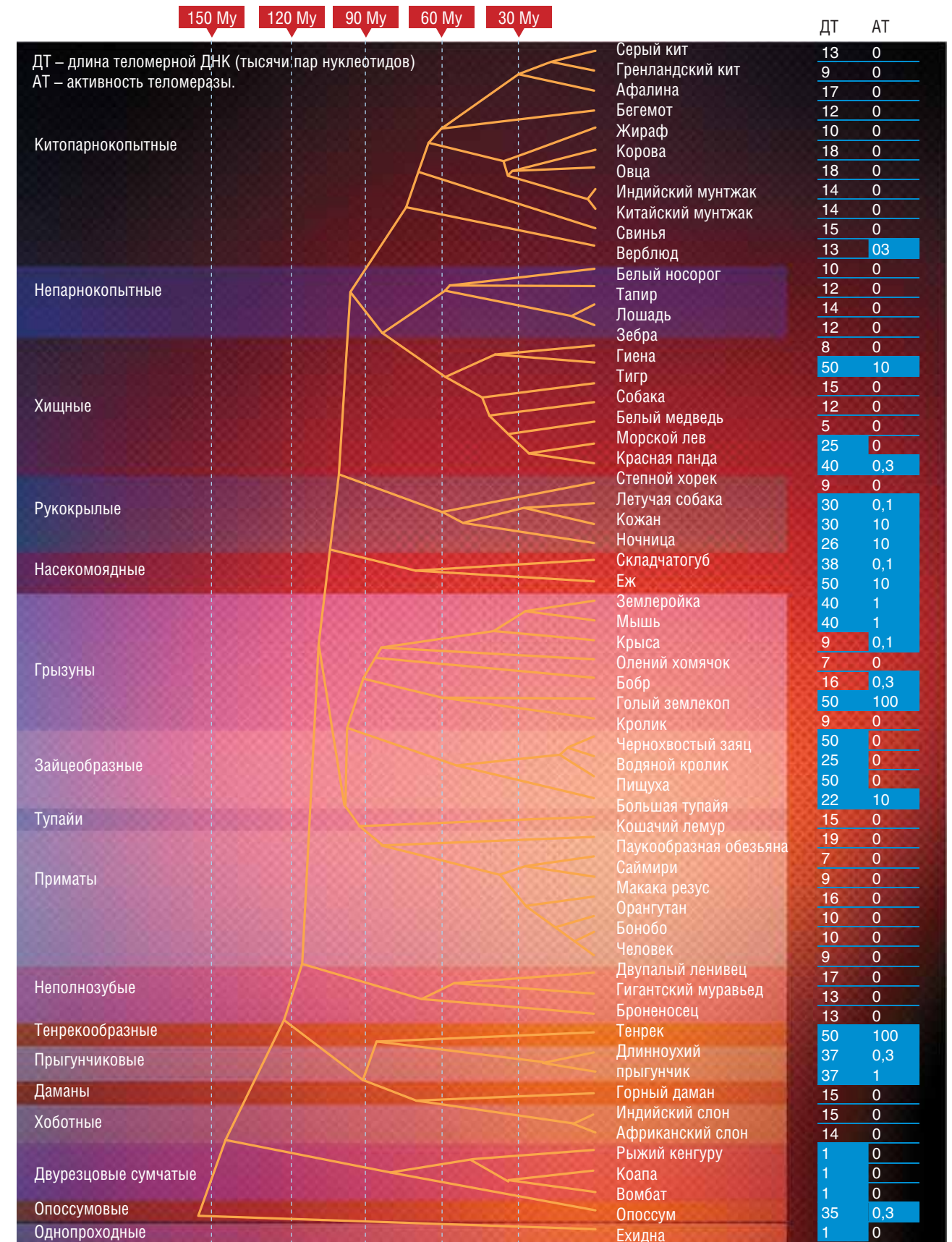


теломерных районов – фермент *теломеразу*, способную удлинять спонтанно укорачивающиеся при делении клетки теломерные участки ДНК, но это совсем другая история.

Больше повезло ученым, которые искали связь между размером теломер и размером организма. Сначала некоторая зависимость была обнаружена у грызунов:

У морского ежа *Strongylocentrotus franciscanus* (вверху), живущего более ста лет, размер теломерных районов составляет всего 5 тыс. пар нуклеотидов. А дерево-долгожитель сосна остистая межгорная (*Pinus longaeva*) при продолжительности жизни в несколько тысячелетий также имеет относительно короткие теломеры – 13 тыс. пар нуклеотидов (внизу).
© Creative Commons

У большинства исследованных видов млекопитающих длина теломер не превышает 20 тыс. пар нуклеотидов, и фермент теломераза не работает. Однако есть виды с длинными теломерами, а также с еще неизвестной структурой теломер. Синим цветом выделены значения длин теломер >20 тысяч пар нуклеотидов, а также наличие активной теломеразы.
По: (Gomes et al., 2011)

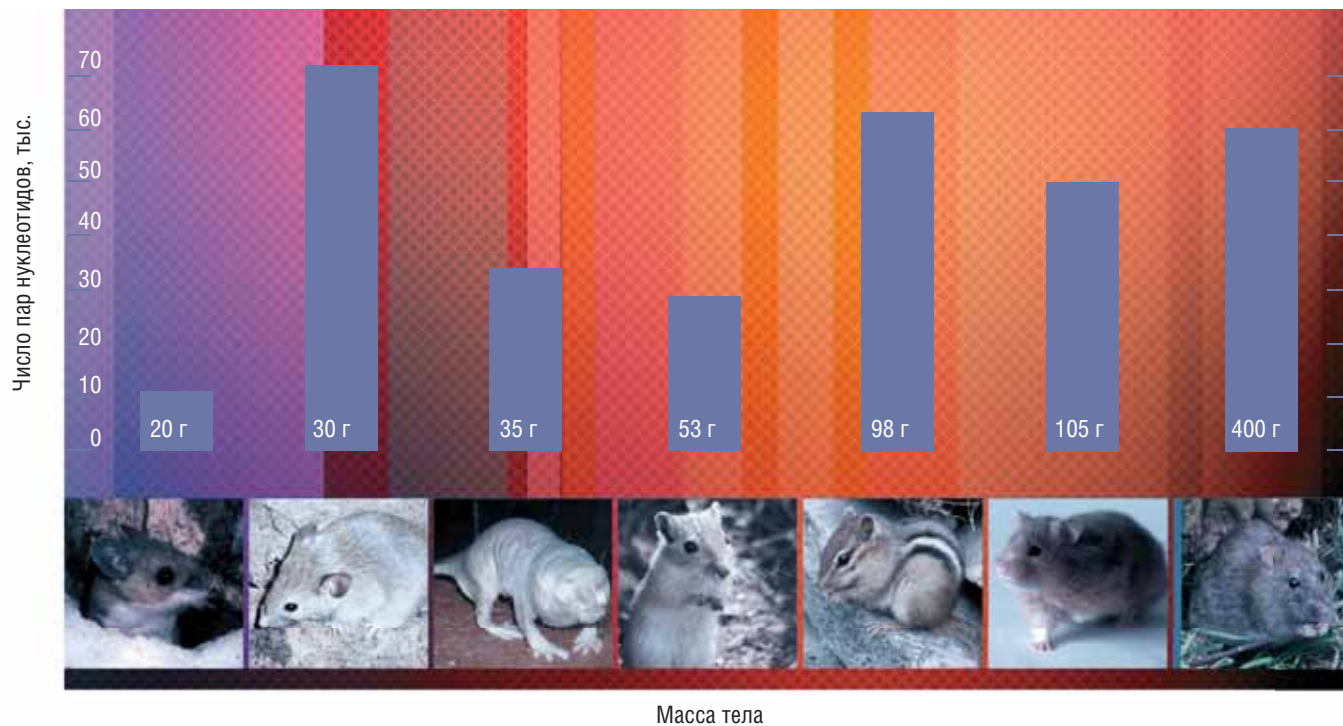


оказалось, что большинство крупных видов имеет короткие теломерные районы (10–18 тыс. пар нуклеотидов), а теломеры небольших грызунов могут достигать 72 тыс. пар (Seluanov *et al.*, 2007). Возникла гипотеза, что эти данные отражают имеющийся у крупных организмов механизм защиты от рака в виде репликативного старения, когда клетки теряют способность делиться. Ведь чем больше в организме клеток, тем больше риск, что какая-то из них переродится в раковую. Тогда все логично: теломерная ДНК должна иметь достаточно небольшую длину, чтобы при постепенном укорочении вовремя запустилось репликативное старение, при этом теломера, которая может поддерживать длину теломер (как в нормальных клетках, так и в раковых) должна быть неактивна.

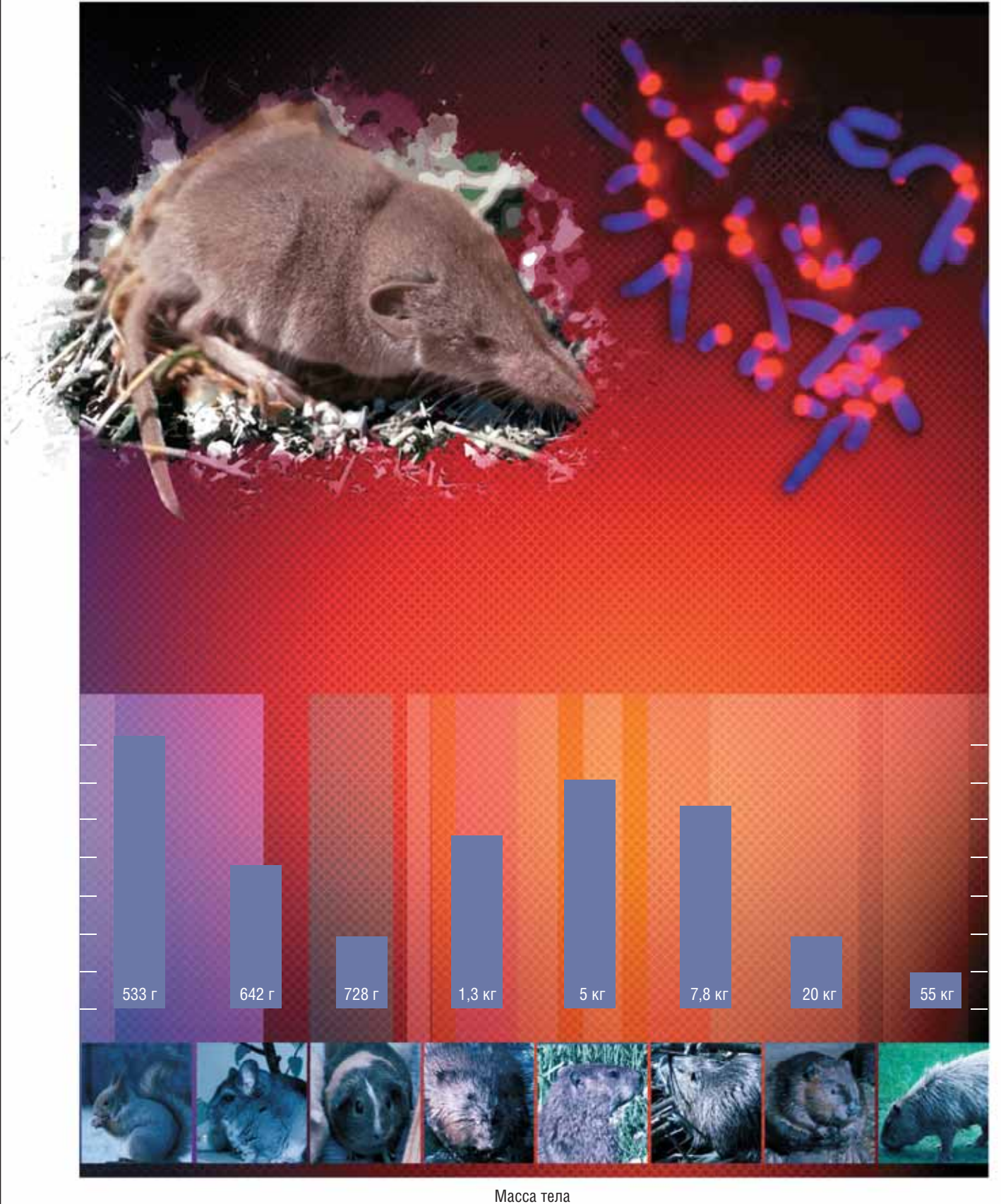
Исследования на других видах млекопитающих частично подтвердили данные, полученные на грызунах: длина теломерной ДНК действительно имеет отрицательную корреляцию с продолжительностью жизни и массой тела, и массивные животные с короткими теломерами не имеют активной теломеразы. Возможно, репрессия теломеразы и наличие более коротких теломер у крупных животных могут быть адаптацией к теплокровности, так как с увеличением температуры тела увеличивается частота мутаций и, следовательно, вероятность возникновения рака (Gomes *et al.*, 2011). У небольших млекопитающих репликативного старения, видимо, нет, а физиологические процессы регулируются иным образом.

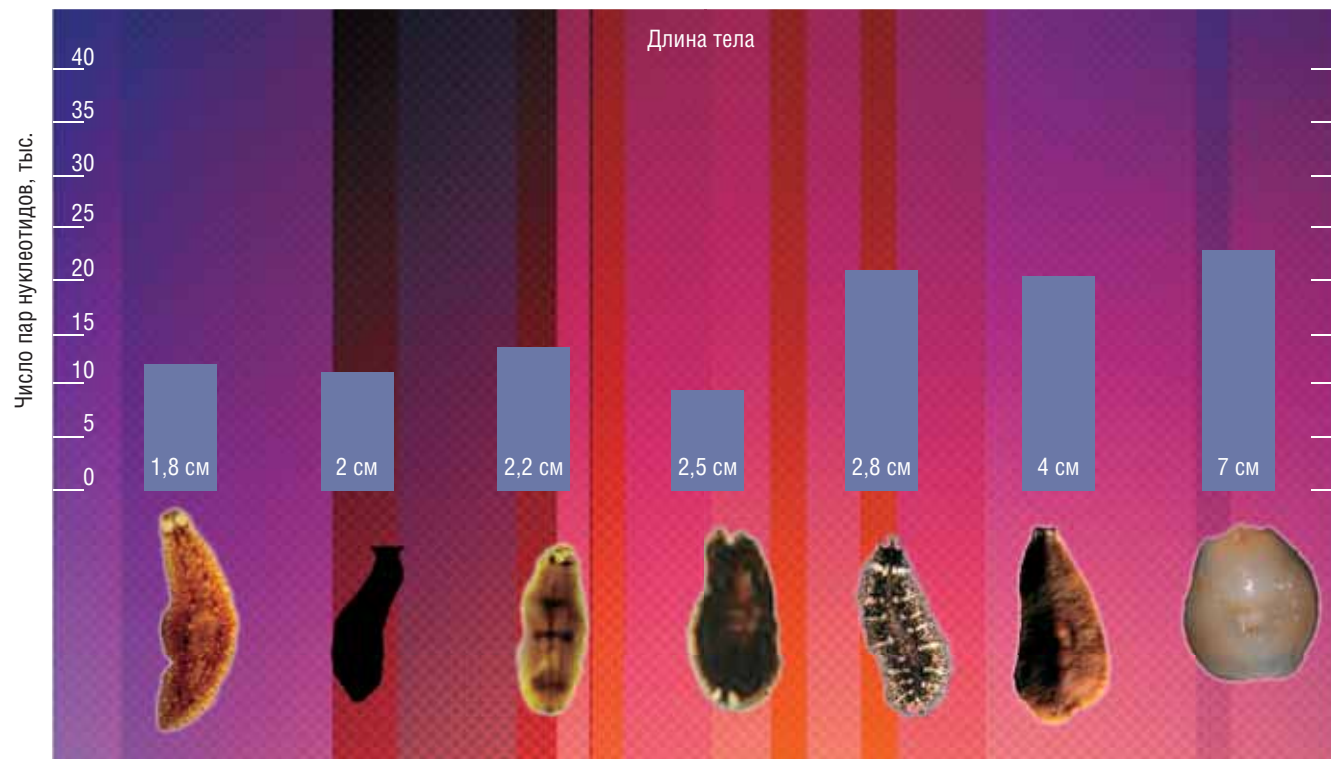
Конечно, предложенные объяснения имеют гипотетический характер, они не могут быть универсальными. Подтверждением этому служит, например, исследование длины теломер у байкальских планарий и моллюсков, при котором была обнаружена противоположная картина: более крупные животные имели более длинные теломеры, хотя не без исключений из правила.

Зависимость между длиной теломер и массой тела была обнаружена у группы грызунов: большинство крупных видов имеет короткие теломерные районы, и наоборот.
По: (Seluanov *et al.*, 2007)



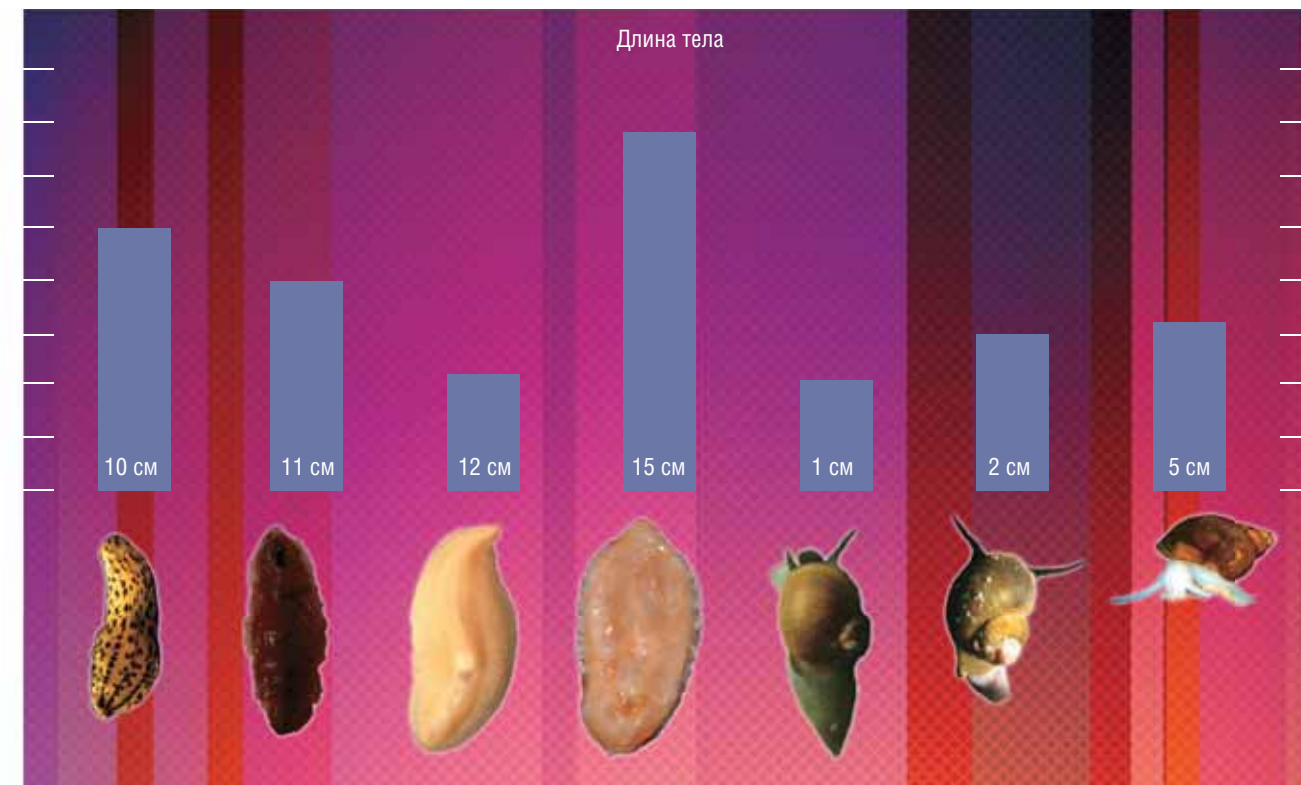
Бурозубка иберийская (*Sorex granarius*) и ее хромосомы с теломерами, окрашенными в красный цвет (флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH)). Видно, что теломеры значительно отличаются на разных концах хромосомы.
По: (Zhdanova *et al.*, 2007)





Наша работа в ЛИН СО РАН посвящена исследованию изменения длины теломерной ДНК и активности теломеразы у двух групп байкальских гидробионтов – планарий (плоских червей) и моллюсков. Эти организмы обитают в одинаковых условиях и подвергаются влиянию сходных факторов среды, демонстрируя такие свойственные байкальской фауне явления, как гигантизм и карликовость. Они имеют разную продолжительность жизни, которую у моллюсков, в отличие от планарий, можно точно определить, и различные стратегии выживания. Анализ динамики теломерной ДНК с учетом особенностей этих животных поможет оценить влияние на нее внешних и внутренних факторов. По предварительным данным, во-первых, более крупные виды имеют более длинную теломерную ДНК. Во-вторых, длина теломерной ДНК с возрастом у разных видов животных меняется по-разному: у одних она увеличивается, а у других – уменьшается.

Такая видовая специфичность размера и динамики теломерной ДНК может иметь как адаптивный характер, так и наследственный, определяемый филогенетическим родством. А исследование активности теломеразы, которое тоже планируется осуществить, может пролить свет на внутреннюю причину различий в возрастной динамике теломерной ДНК у разных видов



Соотношение длины теломер и размера тела обитателей Байкала – планарий и моллюсков

Нет сомнений, что теломеры вовлечены во многие процессы в клетке, поэтому так трудно найти закономерность в распределении их размеров, и тем более предложить теорию, которая бы обладала предсказательными свойствами. Пока остается лишь перечислять те взаимосвязи, которые все же удалось обнаружить в разных исследованиях.

Одно из таких открытий относится к экстрадлинным (до 1 млн пар нуклеотидов) теломерным районам, которые были обнаружены у некоторых видов птиц. В кариотипах у них присутствуют микрохромосомы, и, возможно, такие anomalно длинные теломеры нужны для их стабилизации.

Выше мы затронули лишь некоторые возможные варианты объяснений изменчивости размеров теломер и роли их длины в жизни организма, не коснувшись внутривидовых отличий, связанных с полом, репродуктивным успехом, условиями обитания, образом жизни и т. п. Но даже то, что уже сказано, дает представление о всей сложности и многогранности этой актуальной области биологии.

Литература

- Зверева М., Рубцова М. Нобелевская премия по физиологии и медицине 2009 года. Счетчик клеточного времени // Наука и жизнь. 2010. № 1. С. 2–5.
- Bombarova M., Vitkova M., Spakulova M. et al. Telomere analysis of platyhelminths and acanthocephalans by FISH and Southern hybridization // Genomes. 2009. V. 52. P. 897–903.
- Fulneckova J., Sevcikova, Fajkus J. et al. A broad phylogenetic survey unveils the diversity and evolution of telomeres in eukaryotes // Genome Biol. Evol. 2013. V. 5, N. 3. P. 468–483.
- Gomes N., Ryder O., Houck M. et al. Comparative biology of mammalian telomeres: hypotheses on ancestral states and the roles of telomeres in longevity determination // Aging Cell. 2011. V. 10. P. 761–768.
- Seluanov A., Chen Z., Hine C. et al. Telomerase activity coevolves with body mass, not lifespan // Aging Cell. 2007. V. 6(1). P. 45–52.
- Zellinger B., Riha K. Composition of plant telomeres // Biochim. et Biophys. Acta. 2007. N 1769 (5–6). P. 399–409.
- Zhdanova N., Minina J., Karamisheva T. et al. The very long telomeres in *Sorex granarius* (Soricidae, Eulipotyphla) contain ribosomal DNA // Chromosome Res. 2007. V. 15. P. 881–890.