



TERRA介导的端粒维持*

马 晴 莫日根**

(内蒙古大学生命科学学院, 省部共建草原家畜生殖调控与繁育国家重点实验室, 呼和浩特 010070)

摘要 真核细胞线状染色体末端特殊结构被称为端粒, 而端粒维持对于生命体来说具有十分重要的意义, 其维持机制也十分复杂. 端粒酶可以通过其具有的特殊逆转录酶特性, 利用自身的 RNA 模板 (TERC) 以及具有催化功能的蛋白质亚基 (TERT) 延长端粒, 维持其长度. 本文着重综述端粒 TERRA (telomeric repeat-containing RNA) 对端粒维持的影响及其作用机制. 首先介绍端粒维持与细胞存活老化之间的关系; 其次, 阐述 TERRA 的结构及其转录特性, TERRA 依赖的 DNA:RNA 杂合体和 R-loop 形成和结构特点, TERRA 结合蛋白及其作用; 进而讨论依赖于 TERRA 的端粒维护分子机制以及在生命过程中的意义.

关键词 TERRA, RNA:DNA 杂合体, R-loop, TERRA 结合蛋白, 端粒维持

中图分类号 Q52, Q71

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0313

真核细胞线状染色体末端有个特殊结构, 被称为端粒^[1]. 端粒主要由端粒 DNA 和一类由端粒表达且已知功能仅限于端粒的特殊蛋白质即端粒结合蛋白 (Shelterin) 组成^[2]. 端粒 DNA 序列是染色体末端保守的串联重复序列, 包括近端的双链和远端的单链区域, 端粒的 DNA 序列富含 G/C. 在脊椎动物中, 染色体末端的端粒 DNA 均有相同富含 G 的双链串联重复 DNA 序列 (TTAGGG), 而且均以 3' 末端突出的富含 G 单链 DNA 结束^[3]. 不同物种端粒的长度也不尽相同^[4-10], 其中最长的端粒在大鼠和一些品系的小鼠肌肉中延伸到 150 kb, 人类端粒通常在 10~15 kb 之间^[11-12]. 端粒 DNA 与端粒结合蛋白形成复合物, 为染色体末端提供保护, 以维持基因组的完整性^[8].

人的端粒结合蛋白 (Shelterin) 由 6 种核心蛋白质组成: 端粒重复序列结合因子 1 (telomeric-repeat binding factor 1, TRF1)、端粒重复序列结合因子 2 (telomeric-repeat binding factor 2, TRF2)、TRF1 相互作用核蛋白 2 (TRF1-interacting nuclear protein 2, TIN2)、阻遏活化蛋白 1 (repressor activator protein 1, Rap1)、POT1 和 TIN2 组织蛋白 (the POT1 and TIN2 organizing protein, TPP1) 以及端粒保护蛋白 1 (protection of telomeres 1,

POT1)^[13]. Shelterin 复合物中 TRF1、TRF2 直接识别单链和双链 DNA 中的 TTAGGG 端粒重复序列 (图 1). POT1 和 TPP1 作为异源二聚体共同与端粒突出的 3' 端单链发生相互作用, TIN2 可以将 POT1/TPP1 异源二聚体连接到 TRF1 和 TRF2 上, 稳定 TRF1 和 TRF2 与端粒的相互作用^[14]. Rap1 与 TRF2 相互作用, 可以增加 TRF2 与端粒 DNA 结合的特异性还可以调节在染色体末端的定位^[15-16]. TRF1、TRF2 与 TIN2、Rap1、TPP1、POT1 相互联系, 作为一个整体来保护端粒末端.

端粒 3' 末端突出的单链折叠进入端粒的双螺旋结构中形成 “T-环” 结构 (图 1), 从而形成帽子结构阻止染色体末端 DNA 损伤. Shelterin 复合物维持 “T-环” 结构的稳定性还可以调节染色体末端端粒酶的活性. 端粒的特殊结构决定了其特殊功能: 端粒保护真核细胞线状染色体末端免受 DNA 损伤反应、降解和由于异常重组而影响的异染色质结构^[6, 17-18], 端粒功能的缺失会影响细胞或生物体的

* 国家自然科学基金 (32060016) 和内蒙古大学本科一流课程建设项目 (21400-12105/014) 资助.

** 通讯联系人.

Tel: 0471-4992435, E-mail: morigenm@hotmail.com

收稿日期: 2020-08-28, 接受日期: 2020-10-30

生命进程^[19]. 染色体末端的不完全复制会导致端粒的缩短, 最终导致端粒功能障碍和不可逆转的细胞周期停滞, 也被称为复制性衰老^[20]. 所以, 端粒维持对于生命延续具有重要的意义, 研究端粒维持机制的重要性也就不言而喻了.

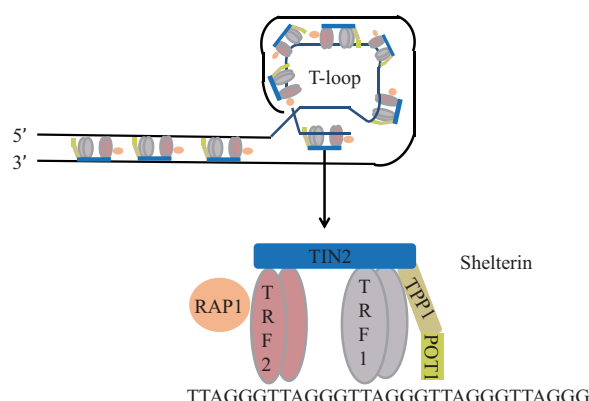


Fig. 1 Telomere and Shelterin complex
(summarized and adapted from [8-9])

图1 端粒与Shelterin复合体
(根据参考文献[8-9]总结修改)

1 端粒维持和细胞存活与老化

如前所述, 端粒通过与 Shelterin 蛋白形成端粒-蛋白质复合物而免受核酸酶的降解^[10], 还可以阻止染色体之间发生融合^[21]. 其中, Shelterin 成分 TRF2 特异性地阻止端粒激活 ATM 激酶信号级联而保护端粒免受非同源末端连接途径引起的末端融合^[22]. 正常细胞随着细胞分裂的进行端粒长度会逐渐变短, 当细胞经过多次分裂后, 端粒的长度缩短到临界值, 端粒的功能就会异常. 染色体末端由于丧失了端粒的保护会发生染色体之间的融合, 细胞进入断裂-融合-桥循环 (breakage-fusion-bridge), 导致细胞死亡. 端粒还可以保护真核细胞线性染色体的末端不受异常重组的影响^[23], 在染色体末端复制时端粒可以抵御基因丢失或染色体结构不稳定^[24], 端粒具有促进亚端粒异染色质形成的作用, 并与细胞寿命的控制有着密切的联系, 甚至可以起到决定细胞寿命的重要作用, 故而被称作“生命的时钟”. 所以, 端粒的维持对于生命过程有着重要的意义.

端粒的维持受许多因素的影响^[25], 包括调节端粒复制的机制^[26-27]、端粒酶的招募与激活^[28-29].

端粒酶是一种逆转录酶, 对于端粒的维持以及防止端粒丢失具有重要作用^[30]. 端粒酶由 RNA 组分和端粒酶催化亚基等组成, 如果改变端粒酶的 RNA 序列则会导致端粒发生功能上的改变, 进而诱导细胞衰老和死亡^[31]. 端粒酶可以识别染色体的末端, 利用端粒 3' 端的单链作为引物, 以自身携带的 RNA 为模板合成端粒重复序列从而延伸端粒的长度. 例如, 在裂殖酵母中端粒酶保守的催化亚基是 Trt1、TER1 以及 Est1、LSM 蛋白等辅助因子^[32] 和类镧蛋白 LARP7/POF8^[33-35] 被用于添加简并的端粒重复序列. Ccq1 因子通过 Tpz1 和 POT1 将端粒酶招募并与端粒的 3' 端突出部分结合, 以支持端粒维持^[36-37]. 端粒酶活性有组织和细胞特异性, 如在哺乳动物体细胞中, 端粒酶催化亚单位 TERT 的转录沉默导致端粒酶不具有活性^[38]. 因此, 体细胞只能进行有限次数的细胞分裂, 在端粒长度极短的状态下导致细胞周期停滞、衰老以及凋亡. 大约 85% 癌细胞中, 通过重新激活 TERT 转录导致端粒酶活性增强^[39-40]. 然而, 15% 的癌细胞启动端粒延长替代 (alternative lengthening of telomere, ALT) 机制, ALT 机制是通过同源定向修复 (homology directed repair, HDR) 途径来进行端粒维持^[41]. 在缺乏端粒酶修复因子 Ccq1 的裂殖酵母中, 端粒随着传代次数地增加而逐渐缩短, 最终导致细胞生长危机. 然而, 依旧会有“幸存者”, 可利用端粒重组来维持自身端粒长度^[36]. 有趣的是, 在端粒完全丢失的状态下, 裂殖酵母还可以通过环化自身的三条染色体来存活^[42], 这些“环形”酵母染色体的形成可能是因为单链退火所致^[43]. 在端粒同源重组和异染色质建立等端粒长度维持中, 还有一种 RNA 分子, 即 TERRA 在发挥不可替代的作用.

2 TERRA 结构和其转录特性

TERRA (telomeric repeat-containing RNA) 是由亚端粒和端粒衍生序列所转录, 含有 (UUAGGG)_n 重复序列的长非编码 RNA^[44], TERRA 的长度从 100 nt 到 9 000 nt 不等^[22]. 近年来发现, 所有检测的真核生物细胞都有 TERRA^[22, 44-46], 它是人、小鼠胚胎干细胞、芽殖酵母、裂殖酵母以及植物等细胞^[46] 端粒重复转录的产物.

人和酿酒酵母的 TERRA 5' 端具有 7-甲基鸟苷 (7mG) 帽子结构^[47], 而人和裂殖酵母 TERRA 携带 PolyA 尾巴, 这一结构特点有助于 TERRA 的稳

定性^[48-49] (图2). 携带PolyA的TERRA刺激端粒酶阳性细胞中的端粒酶重新募集^[50], 而不携带Poly (A) 的TERRA参与端粒酶功能不足的细胞中端粒招募^[50]. 大约7%的人TERRA携带PolyA尾, 而几乎全部芽殖酵母的TERRA (yTERRA) 携带PolyA, 平均长度为380个核苷酸^[45]. 大约25%的人TERRA转录受富含CpG二核苷酸的特定转录起始位点 (TSS) 调控^[22]. 同样, 芽殖酵母细胞染色体臂1L的亚端粒区域有离散的TSS^[51]. 研

究发现, TERRA在不同的细胞系中相对表达水平并不是恒定的^[52], 而且端粒TSS定位不同导致所产生的TERRA分子长度也不同 (图2). 例如, 在裂殖酵母中大多数TERRA分子长度为500 nt, 而在哺乳动物细胞中TERRA的长度可达几千个核苷酸不等^[22, 44, 53-54]. TERRA的转录调控依赖于端粒长度^[55], 如芽殖酵母TERRA的转录水平与端粒长度呈负相关^[56], 端粒越短转录水平越高, TERRA分子越短.

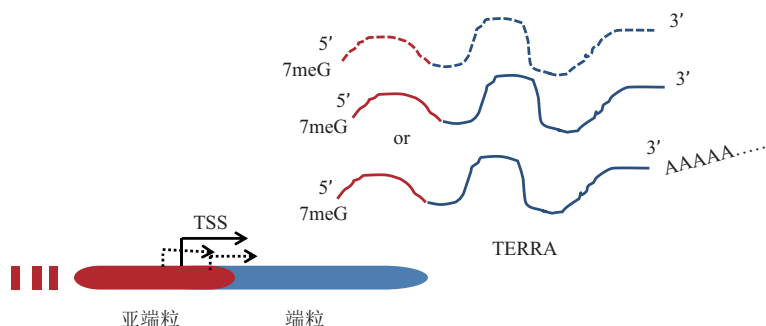


Fig. 2 Transcription and processing of TERRA (summarized and adapted from [47, 53])

图2 TERRA的转录和加工 (根据参考文献 [47, 53] 总结修改)

有趣的是, 在人和小鼠含有端粒酶活性的细胞中, TERRA 表达量随细胞周期而变化^[48]. TERRA 在 G2/M 过渡期开始积累, M/G1 过渡期进一步积累^[48, 57], 并在 G1 期达到峰值^[57], 而在 G1/S 过渡期开始降低, 在 S/G2 过渡期降低至最低^[58-59] (图3). Shelterin 复合体的 POT1 蛋白抑制复制蛋白 A (replication protein A, RPA) 与端粒 ssDNA 的结合^[60]. 然而, RPA 在复制过程中会取代端粒 ssDNA 上的 POT1^[55] 而保护单链 DNA. hnRNPA1 蛋白可以同时与端粒 ssDNA 和 TERRA 结合, 并且可以从端粒的 ssDNA 上去除 RPA, 但不能去除 POT1. 在细胞周期 G1/S 期, 丰富的 TERRA 可以将 hnRNPA1 蛋白占据使其不能取代端粒 ssDNA 上的 RPA 蛋白 (图3, G1/S). 值得一提的是, TERRA 在 S 期定位于端粒^[61]. 当细胞周期通过 S 期进入 G2 期时, TERRA 水平降低将 hnRNPA1 释放, hnRNPA1 取代端粒 ssDNA 上的 RPA (图3, S/G2). 当细胞周期从 G2 期进入有丝分裂 M 期时, TERRA 开始积累, 在 M/G1 期 TERRA 水平进一步提升, 到 G1 期达到峰值. 细胞周期的 G2 期到 M 期处于中间过渡状态, 在此过程中 TERRA 将会重新

开始积累 (图3, G2/M). 随后的细胞周期当中, TERRA 占据 hnRNPA1, 而 hnRNPA1 不断离开 ssDNA 从而使 POT1 逐渐积累到端粒 (图3, M/G1), 并在 G1 期取代端粒 ssDNA 上的 hnRNPA1^[55].

在人癌细胞中, RNA Pol II 识别并作用于端粒下游的 DNA 甲基化敏感启动子, 并以含有端粒链的 CCCTAA 重复序列为模板, 转录 TERRA^[22, 48, 62]. TERRA 的转录在很大程度上依赖于 RNA Pol II, RNA Pol II 也可以识别亚端粒区域并向端粒的 3' 端进行延伸^[46]. 在人、芽殖酵母和裂殖酵母细胞中, TERRA 分子主要定位在细胞核内, 其大约一半与端粒共定位^[44, 54] 而另一半游离在细胞核内^[63]. 有趣的是, 非 PolyA 尾的 TERRA 优先与端粒结合且不与端粒分离, 而大多有 PolyA 的 TERRA 主要游离在核质, 也会短暂地与端粒结合^[48, 55, 63]. TERRA 的一个亚组分定位于端粒蛋白^[48], TERRA 作为支架, 可以加强端粒上蛋白质招募和酶活性, 从而促进端粒酶^[47, 64-65] 对染色体末端的复制和端粒的维持.

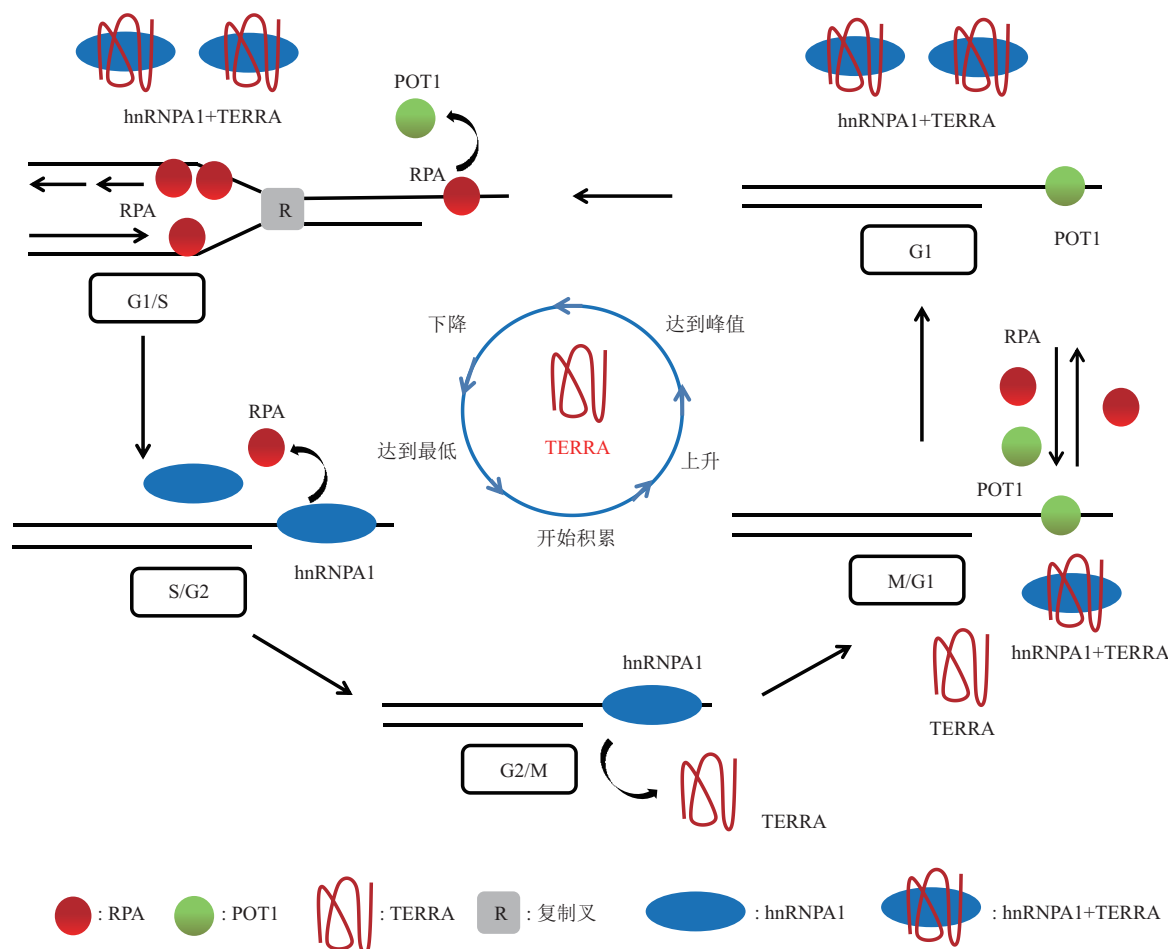


Fig. 3 Changes and regulation of TERRA content in the cell cycle (summarized and adapted from [48, 55, 66–67])

图3 细胞周期中TERRA的含量变化及调控(根据参考文献[48, 55, 66–67]总结修改)

3 依赖TERRA的RNA:DNA杂合体及R-loop

因为TERRA有富含G的独特(UUAGGG)_n序列,使得TERRA很容易与富含C的端粒ssDNA链形成RNA:DNA杂合体,这会使TTAGGG重复序列发生移位而形成一种三链结构,被称为R-loop^[68-72](图4,6)。具端粒酶活性且端粒长度正常的细胞并不采用TERRA介导的R-loop来促进端粒延长^[73],而缺少端粒酶活性的细胞会用TERRA介导的R-loop来引导并促进依赖HDR(homology directed repair)的端粒延长^[53]。端粒R-loop在使用HDR作为唯一手段的酵母细胞、人ALT癌细胞以及免疫缺陷、着丝粒不稳定和面部畸形综合征(immunodeficiency, centromeric instability and facial anomalies, ICF)细胞^[74]的端粒维持中起着

重要的作用^[75]。在缺少端粒酶活性的细胞中,端粒的缩短导致TERRA转录增加,由于TERRA介导的R-loop结构使正在运行的复制叉滞留,细胞内对染色体进行修复并重新启动停滞状态下的复制叉,从而完全激活HDR途径,以逃避端粒缩短引起的细胞周期阻滞和细胞死亡^[76]。ICF综合症是一种罕见的常染色体隐性遗传病,由DNA甲基转移酶DNMT3b(DNA methyltransferase 3b, DNMT3b)基因突变引起,可以导致机体内发生自发的基因组不稳定和免疫缺陷^[77]。ICF细胞端粒短,具有高水平的TERRA表达,其端粒不稳定性高^[78-80],因为TERRA介导的RNA:DNA杂合体及其R-loop结构的形成会阻碍端粒DNA复制和延长^[27]。另一方面,R-loop还会导致端粒序列丢失从而导致端粒缩短^[81],因为在端粒复制的中断不可修复,会使端粒变得非常短或功能失调而导致细胞停止分裂,进

入细胞衰老态, 即可存活但不分裂的细胞状态^[81].

在TERRA介导的RNA:DNA杂交体及其R-loop形成过程中还有一些蛋白质的参与^[82-83]. SUV39H、HP1和LSD1蛋白通过与TERRA的相互作用, 在端粒形成R-loop结构^[61]. RNaseH是端粒R-loop的拮抗剂, 可以特异性降解RNA:DNA杂交体的RNA链^[71]而拆解R-loop结构(图4). 裂殖酵母细胞耗尽RNaseH1会积累RNA:DNA杂合

体, 结果导致更多的端粒重组. 相反, 过表达RNaseH会使裂殖酵母细胞端粒重组减少, 并损害ALT细胞的端粒^[68, 71, 84]. 在ICF细胞中, 异位表达RNaseH1会降解RNA:DNA杂合体的RNA链, 结果显著减少染色体末端DNA损伤. 显然, 端粒R-loop的积累增强ICF细胞端粒不稳定性, 反之亦然.



Fig. 4 TERRA mediated R-loop formation and clearance (summarized and adapted from^[61, 85-86])

图4 TERRA介导的R-loop的形成和清除(根据参考文献[61, 85-86]总结修改)

TERRA相互作用蛋白的招募可能参与RNA:DNA杂合引导的R-loop的形成, 促进同源重组. RNA:DNA杂合体可以通过RNaseH介导的TERRA降解来分解.

4 TERRA介导的端粒重组

在无端粒酶活性的人和酵母细胞中, 端粒R-loop结构可以引发HDR^[25], 即对双链断裂DNA损伤的同源重组修复(图5). TERRA介导的RNA:DNA杂合体在端粒形成R-loop, R-loop阻碍复制叉前行, 导致复制压力而引起双链断裂^[87], 进而, 端粒R-loop介导姐妹染色单体或同源端粒之间发生同源重组, 完成HDR. 的确, TERRA通过端粒R-loop的形成来维持ALT细胞的端粒^[68, 75], TERRA表达量的下调使端粒R-loop水平下降, 同时端粒重组水平也发生了降低, 而TERRA的上调促进了端粒重组^[68, 75]. 端粒R-loop积累和其引导的HDR发生在短端粒上, 而长端粒不容易发生端粒R-loop积累和HDR^[68]. 例如, 在酵母细胞衰老前^[73]其端粒会变得非常短, 在端粒变短或不受保护的状态下^[88], 细胞TERRA的水平会特异性上调, 结果导致HDR发生而延长端粒^[89]. 除此之外, TERRA介导的R-loop, 通过促进端粒HDR来减缓无端粒酶活性细胞的衰老过程^[55]. 总结起来, 缺乏端粒酶活性使端粒变短, 端粒变短后会诱导TERRA的表达, TERRA高表达导致R-loop形成, 而R-loop会介导HDR发生, 最终维护端粒的长度(图5). 这个过程受RNaseH的调节作用, RNaseH

过表达降低端粒TERRA水平并分解R-loop结构而阻止HDR的发生(图5). 例如: 在人ALT细胞和酵母细胞中, 过表达RNaseH阻止HDR途径的发生而保护端粒. 当RNaseH被抑制时, 端粒R-loop积累, 提升端粒HDR发生, 也起到保护端粒的作用^[88]. 研究还发现, 酵母Rad52蛋白可以指导端粒HDR来延长端粒, 从而避免细胞衰老^[90].

5 SFPQ和NONO蛋白抑制RNA:DNA杂合体和R-loop的形成

NONO (non-POU domain-containing octamer-binding protein) 和SFPQ (splicing factor proline and glutamine rich) 属于DBHS (drosophila behavior/human splicing) 家族蛋白, 由高度保守的串联N端RNA识别基序(RNA recognition motifs, RRM)s)、nonA/paraspeckle结构域(nonA/paraspeckle domain, NOPS)和C端螺旋线圈组成. NONO和SFPQ功能依赖于两种蛋白质的同源或异源二聚体的形成^[91].

最新研究发现, NONO和SFPQ蛋白质与TERRA相互作用而抑制癌细胞RNA:DNA杂合体的形成和其后续HDR^[92], 从而协同确保端粒完整性^[58, 93]. 值得注意的是, NONO和SFPQ拮抗端粒RNA:DNA杂合体及其下游效应, NONO抑制端

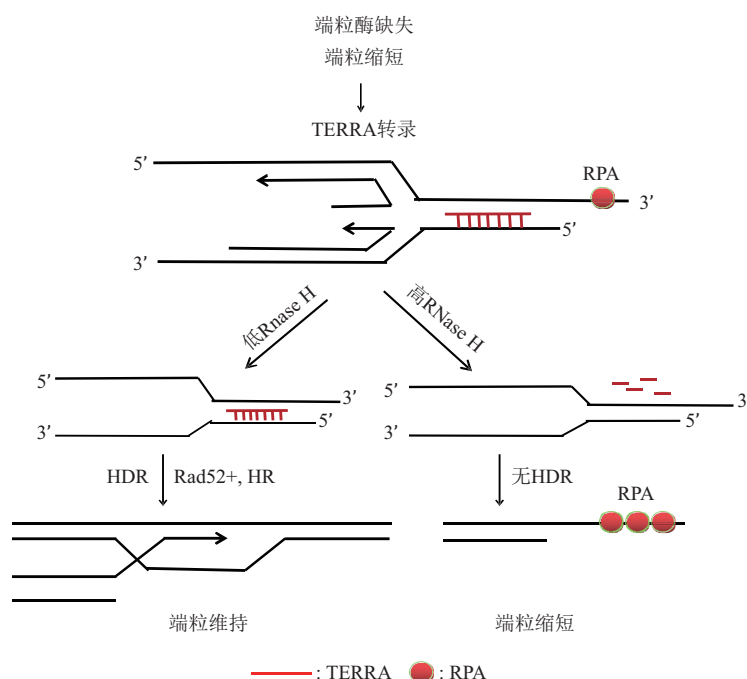


Fig. 5 TERRA dependent HDR pathway (summarized and adapted from [75, 84, 88, 90])

图5 依赖于TERRA的HDR途径 (根据参考文献 [75, 84, 88, 90] 总结修改)

粒脆性而 SFPQ 强力阻碍端粒同源重组. 同时失活 NONO 和 SFPQ 显著提升端粒重组的发生继而加速端粒变短^[91-92, 94]. 总之, 作为 TERRA 结合蛋白, NONO 和 SFPQ 在端粒维持中起着重要作用. NONO 和 SFPQ 通过与 TERRA 的相互作用阻止 RNA : DNA 杂合体和其引发的端粒 R-loop 结构的

形成, 清除 DNA 复制障碍, 抑制端粒重组, 确保端粒的稳定性和端粒长度^[71, 91, 94-95]. 当 NONO 和 SFPQ 失活或缺失会允许自由的 TERRA 与端粒 DNA 形成 RNA : DNA 杂合体以及 R-loop, 后者导致复制压力和端粒重组, 破坏端粒稳态和长度^[92] (图6).

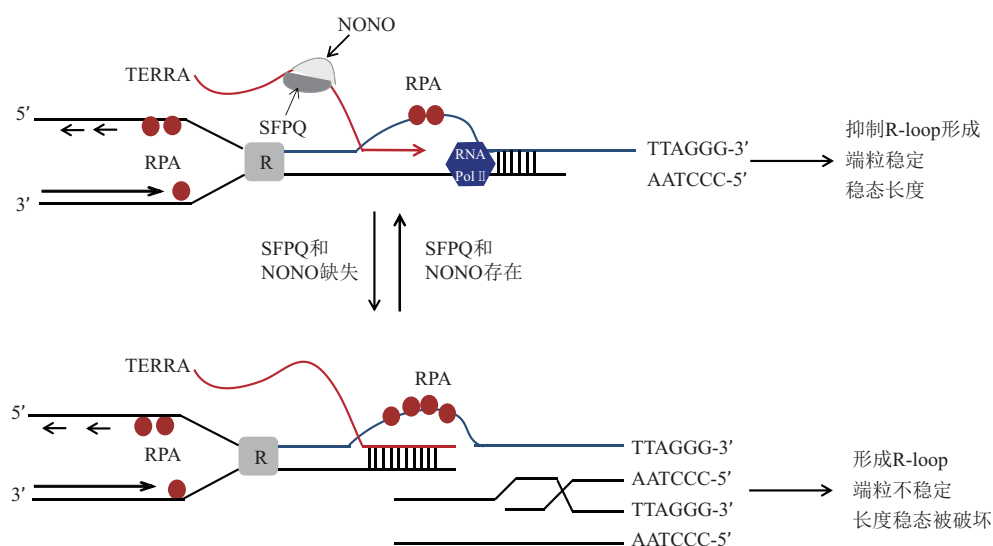


Fig. 6 Models of NONO and SFPQ controlling telomere homeostasis (summarized and adapted from [91-92, 94])

图6 NONO和SFPQ控制端粒稳态的作用模型 (根据参考文献 [91-92, 94] 总结修改)

6 SUV39H、HP1和LSD1调节TERRA水平

SUV39H (suppressor of variegation 3(9) homologue)、HP1 (heterochromatin protein 1) 和 LSD1 (lysine specific demethylase1) 蛋白也是 TERRA 的相互作用蛋白^[61], 这些相互作用使 TERRA 能够调节端粒上异染色质的形成, 侵入端粒 dsDNA 并形成端粒 RNA : DNA 杂合体^[96]. SUV39H 的两个异构体 SUV39H1 和 SUV39H2、HP1 蛋白和 H3K9me3 组成一个蛋白质网络^[97-98]. TERRA 与 SUV39H1 和 HP1 的相互作用使 TERRA 与 H3K9me3 修饰的核小体相互作用^[86]. 在人细胞中, H3K9me3 的密度与端粒 TERRA 的表达水平呈负相关, 即 H3K9me3 的密度高则 TERRA 表达低, 反之亦然. TERRA 通过 SUV39H1 蛋白在端粒的作用使 H3K9me3 修饰增加, 从而关闭自己的表达. TERRA 还可以诱导 H3K9me3 依赖的染色质沉默^[57]而影响一系列基因的表达.

ATRX (α -thalassemia mental retardation X-linked protein) 通过在着丝粒周围和端粒重复处, 沉积组蛋白 H3 变体 H3.3 来建立转录沉默异染色质^[99]. 有研究表明, ATRX 是 TERRA 转录的抑制因子, 对 TERRA 起着负面调节作用^[52]. ATRX 介导的 H3.3 沉积可以促进 H3K9me3 在端粒的进一步积累^[85, 100-101]. HP1 与 ATRX 蛋白质的 LXVXL 基序^[102]发生相互作用, HP1 的 Chromo 结构域和 ATRX 的 ADD 结构域都与含有 H3K9me3 修饰的核小体特异性结合. TERRA 诱导的 H3K9me3 和 HP1 的初始积累使 ATRX 在端粒发挥作用, 从而阻止 TERRA 与端粒结合.

组蛋白去甲基化酶 LSD1 在体内和体外^[85]都直接与 TERRA 发生相互作用. ATRX 对 H3K9me3 的识别受到 H3K4me3 的抑制, 混合谱系白血病 (mixed lineage leukemia, MLL) 甲基转移酶催化 H3K4me3 修饰, 进而促进 TERRA 的转录, 并抑制 ATRX 对 H3K9me3 的识别^[103]. LSD1 与 TERRA 结合之后可以阻止 H3K4me3 修饰的发生, 从而促进 ATRX 与 H3K9me3 修饰的核小体结合.

在复制过程中, 部分丧失这种沉默机制的细胞会在 S 期引发 TERRA 的重新转录和 R-loop 的形成, 从而导致组蛋白修饰可以潜在地抵消 H3K9me3 依赖的沉默, 包括组蛋白 H3 的 Ser10、Thr11 和 Ser31 以及 H3.3 变体^[98, 103]的磷酸化. 特别地, Ser10 磷酸化的 H3 阻碍 HP1 结合的活性染色质状态, 其

积累与 R 环的存在相一致. 因此, 可能有利于促进 RNA : DNA 杂合体^[104]形成的染色质环境.

7 依赖于TERRA的端粒维持

TERRA 对于端粒的作用机制依赖于端粒长度. 当端粒具有正常长度时: a. TERRA 与端粒的相互作用启动 H3K9me3-SUV39H-HP1 转录沉默网络, 结果 TERRA 抑制自我表达^[86]而避免 R-loop 引起的 dsDNA 断裂; b. NONO 和 SFPQ 蛋白与 TERRA 的相互作用可防止 RNA : DNA 杂合体和 R-loop 的形成, 而阻止端粒 HDR, 确保端粒稳态; c. RNaseH 通过降解 RNA : DNA 杂合分子中 RNA 链来防止 RNA : DNA 杂合体和 R-loop 的形成, 也保护端粒的稳态; d. 具有较长 3'端单链的端粒, 通过长 3'端单链折叠并将其自身组成不同的拓扑结构来保护端粒. 这种折叠与其他染色体结构域进行相互作用的能力称为长距离端粒位置效应 (telomere position effect over long distances, TPEOLD)^[105], 可以最大限度地降低 TERRA 表达和 R-loop 的形成, 从而起到防止复制压力的作用. TERRA 是否通过建立抑制性折叠结构来负向调节自身作用^[106-107], 还有待深入研究.

当端粒缩短时, TERRA 表达水平^[62]提升, 可能是由于短端粒不能发生正常的折叠并发挥端粒位置效应 (telomere position effect, TPE) 所致. 此外, DNA 损伤和 TRF2 的丢失也诱导 TERRA 的上调, 显然 TERRA 表达提升是维持端粒所需要. 的确, 无端粒酶活性细胞中, R-loop 介导的复制应激反应会激活端粒 HDR 途径而维持端粒长度. 相反, 在具端粒酶活性细胞中, TERRA 水平低, 说明 TERRA 介导的端粒 HDR 是个备用维持端粒的细胞过程. 例如, 在无端粒酶活性的 ALT 细胞和酵母细胞中, TERRA 介导的 RNA : DNA 杂合体形成的 R-loop 结构可以促进 HDR 的发生进而维持端粒、减缓细胞衰老. 此外, ALT 细胞内 TERRA 水平可能受端粒与 APB 小体 (ALT-associated PML bodies, APBs) 中的早幼粒白血病 (promyelocytic leukemia, PML) 蛋白复合物的影响. APBs 中 TRF2 密度的降低有助于提高 TERRA 水平, 因为它将缓解之前描述的依赖 TRF2 的 TERRA 沉默.

8 展 望

自发现 TERRA 以来, 短短十多年已经对 TERRA 的结构、功能、表达调控以及作用机制等

方面有了较深入的了解. 然而, 端粒维持是非常重要的生物学过程, 仍有许多问题尚未解决. 如: 为什么 TERRA 的表达和细胞周期协调进行? 其调控机制是什么? 如何感知细胞周期进程? 在原核细胞研究中发现, 复制起始蛋白 DnaA 通过其具活性的 DnaA-ATP 式/无活性的 DnaA-ADP 式的转换^[108-109]来调控 DNA 复制起始, 而且 DnaA 作为转录因子调节核苷酸代谢和氨基酸代谢^[110], 进而调控细胞周期进程; 我们还发现 DnaA 也调节 SOS 基因表达而协同 DNA 修复与细胞周期^[111]; 有趣的是, 我们意外发现 DnaA 与多种 RNA 分子相互作用(作者未发表结果), 其功能和作用机制尚不清楚, 我们正在探讨. 真核细胞中, hnRNPA1 蛋白与 TERRA RNA 相互作用, 而且其相互作用是动态变化的, 随细胞周期进程而改变(图3). 同样, NONO 和 SFPQ 蛋白通过与 TERRA 相互作用, 防止 R-loop 的形成, 进而实现端粒维持, 反之, 形成 R-loop 而促进端粒 HDR 并维护端粒. 显然, NONO 和 SFPQ 与 TERRA 相互作用在端粒 DNA 修复与细胞周期的协调中发挥作用是因为 NONO 和 SFPQ 的缺失会引起 TERRA 介导的 R-loop 的形成, 后者阻止端粒复制和细胞周期进程. 无论原核还是真核细胞皆有 RNaseH 蛋白, 其基本功能是降解 DNA: RNA 杂合分子中的 RNA 链, 由此清理复制过程中的 RNA 引物, 防止 R-loop 的形成. RNaseH 的这些功能在进化上是保守的. 那么, RNaseH 如何与 NONO 和 SFPQ 协调抑制 RNA: DNA 杂合体的形成? 可以认为 NONO 和 SFPQ 能够防止 DNA: RNA 杂合体的形成, 而 RNaseH 拆解已经形成的 DNA: RNA 杂合体, 二者对端粒维持来说是双保险. 近日在线发表的一篇论文发现, 重组酶 RAD51 体外与 TERRA 相互作用并促进 R-loop 的形成, 说明 RAD51 直接参与 TERRA 通过链的侵入来与端粒的相互结合, 而且 RAD51 与其相互作用蛋白 BRCA2 会提升 TERRA 与端粒的相互作用和 R-loop 的形成, 从而导致端粒的不稳定, 有趣的是, RNaseH1 和 TRF1 拮抗这个过程^[112]. 该发现说明 TERRA 在端粒维持中的作用是精细调控的, 可能还有更多未知因子参与这个过程, 但可以肯定的是 RNaseH 在此发挥重要作用.

一般认为胚胎干细胞和肿瘤细胞具有无限分裂的能力因为具有高活性的端粒酶, 能够确保端粒的长度和稳态. 然而, 我们连续传代培养肿瘤细胞发现, 肿瘤细胞传代培养近 100 次后出现细胞凋亡现

象, 我们认为端粒稳态出现了问题. 那么, TERRA 在此过程中发挥什么样的作用呢? 随着分子生物学技术手段的革新, 如单细胞测序技术和结构生物学的常规化、单分子生物学的发展, 有望揭示 TERRA 在端粒维持中更详尽的作用和其分子机制.

参 考 文 献

- [1] Blackburn E H. Structure and function of telomeres. *Nature*, 1991, **350**(6319): 569-573
- [2] Rajavel M, Mullins M R, Taylor D J. Multiple facets of TPP1 in telomere maintenance. *Biochim Biophys Acta*, 2014, **1844**(9): 1550-1559
- [3] Maizels N, Gray L T. The G4 genome. *Plos Genet*, 2013, **9**(4): e1003468
- [4] Blackburn E H, Epel E S, Lin J. Human telomere biology: a contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science*, 2015, **350**(6265): 1193-1198
- [5] Gomes N M, Ryder O A, Houck M L, *et al.* Comparative biology of mammalian telomeres: hypotheses on ancestral states and the roles of telomeres in longevity determination. *Aging Cell*, 2011, **10**(5): 761-768
- [6] O'sullivan R J, Karlseder J. Telomeres: protecting chromosomes against genome instability. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, **11**(3): 171-181
- [7] Shay J W, Wright W E. Telomeres and telomerase: three decades of progress. *Nat Rev Genet*, 2019, **20**(5): 299-309
- [8] Srinivas N, Rachakonda S, Kumar R. Telomeres and telomere length: a general overview. *Cancers (Basel)*, 2020, **12**(3): 558
- [9] Toupan S, Villemonais D, Germain D, *et al.* The individual's signature of telomere length distribution. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 685
- [10] Rhyu M S. Telomeres, telomerase, and immortality. *J Natl Cancer Inst*, 1995, **87**(12): 884-894
- [11] Heidenreich B, Kumar R. TERT promoter mutations in telomere biology. *Mutat Res*, 2017, **771**: 15-31
- [12] Webb C J, Wu Y, Zakian V A. DNA repair at telomeres: keeping the ends intact. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, **5**(6): a012666
- [13] De Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev*, 2005, **19**(18): 2100-2110
- [14] Ye J Z, Donigian J R, Van Overbeek M, *et al.* TIN2 binds TRF1 and TRF2 simultaneously and stabilizes the TRF2 complex on telomeres. *J Biol Chem*, 2004, **279**(45): 47264-47271
- [15] Janoušková E, Nečasová I, Pavloušková J, *et al.* Human Rap1 modulates TRF2 attraction to telomeric DNA. *Nucleic Acids Res*, 2015, **43**(5): 2691-2700
- [16] Arat N, Griffith J D. Human Rap1 interacts directly with telomeric DNA and regulates TRF2 localization at the telomere. *J Biol Chem*, 2012, **287**(50): 41583-41594
- [17] Chan S R, Blackburn E H. Telomeres and telomerase. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2004, **359**(1441): 109-121
- [18] Palm W, De Lange T. How shelterin protects mammalian telomeres. *Annu Rev Genet*, 2008, **42**: 301-334

- [19] Coluzzi E, Buonsante R, Leone S, *et al.* Transient ALT activation protects human primary cells from chromosome instability induced by low chronic oxidative stress. *Sci Rep*, 2017, **7**: 43309
- [20] D'adda Di Fagagna F, Reaper P M, Clay-Farrace L, *et al.* A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. *Nature*, 2003, **426**(6963): 194-198
- [21] Blackburn E H. Telomere states and cell fates. *Nature*, 2000, **408**(6808): 53-56
- [22] Azzalin C M, Reichenbach P, Khoriauli L, *et al.* Telomeric repeat containing RNA and RNA surveillance factors at mammalian chromosome ends. *Science*, 2007, **318**(5851): 798-801
- [23] Dehé P M, Cooper J P. Fission yeast telomeres forecast the end of the crisis. *FEBS Lett*, 2010, **584**(17): 3725-3733
- [24] Harley C B, Futcher A B, Greider C W. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature*, 1990, **345**(6274): 458-460
- [25] Hu Y, Bennett H W, Liu N, *et al.* RNA-DNA hybrids support recombination-based telomere maintenance in fission yeast. *Genetics*, 2019, **213**(2): 431-447
- [26] Maestroni L, Audry J, Matmati S, *et al.* Eroded telomeres are rearranged in quiescent fission yeast cells through duplications of subtelomeric sequences. *Nat Commun*, 2017, **8**(1): 1684
- [27] Martínez P, Blasco M A. Replicating through telomeres: a means to an end. *Trends Biochem Sci*, 2015, **40**(9): 504-515
- [28] Armstrong C A, Tomita K. Fundamental mechanisms of telomerase action in yeasts and mammals: understanding telomeres and telomerase in cancer cells. *Open Biol*, 2017, **7**(3): 160338
- [29] Nandakumar J, Cech T R. Finding the end: recruitment of telomerase to telomeres. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2013, **14**(2): 69-82
- [30] Nakamura T M, Morin G B, Chapman K B, *et al.* Telomerase catalytic subunit homologs from fission yeast and human. *Science*, 1997, **277**(5328): 955-959
- [31] Marusic L, Anton M, Tidy A, *et al.* Reprogramming of telomerase by expression of mutant telomerase RNA template in human cells leads to altered telomeres that correlate with reduced cell viability. *Mol Cell Biol*, 1997, **17**(11): 6394-6401
- [32] Dehé P M, Rog O, Ferreira M G, *et al.* Taz1 enforces cell-cycle regulation of telomere synthesis. *Mol Cell*, 2012, **46**(6): 797-808
- [33] Collopy L C, Ware T L, Goncalves T, *et al.* LARP7 family proteins have conserved function in telomerase assembly. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 557
- [34] Mennie A K, Moser B A, Nakamura T M. LARP7-like protein Pof8 regulates telomerase assembly and poly(A)⁺TERRA expression in fission yeast. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 586
- [35] Páez-Moscoso D J, Pan L, Sigauke R F, *et al.* Pof8 is a La-related protein and a constitutive component of telomerase in fission yeast. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 587
- [36] Miyoshi T, Kanoh J, Saito M, *et al.* Fission yeast Pot1-Tpp1 protects telomeres and regulates telomere length. *Science*, 2008, **320**(5881): 1341-1344
- [37] Tomita K, Cooper J P. Fission yeast Ccq1 is telomerase recruiter and local checkpoint controller. *Genes Dev*, 2008, **22**(24): 3461-3474
- [38] Meyerson M, Counter C M, Eaton E N, *et al.* hEST2, the putative human telomerase catalytic subunit gene, is up-regulated in tumor cells and during immortalization. *Cell*, 1997, **90**(4): 785-795
- [39] Kim N W, Piatyszek M A, Prowse K R, *et al.* Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science*, 1994, **266**(5193): 2011-2015
- [40] Shay J W, Reddel R R, Wright W E. Cancer. Cancer and telomeres--an ALternative to telomerase. *Science*, 2012, **336**(6087): 1388-1390
- [41] Apte M S, Cooper J P. Life and cancer without telomerase: ALT and other strategies for making sure ends (don't) meet. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 2017, **52**(1): 57-73
- [42] Nakamura T M, Cooper J P, Cech T R. Two modes of survival of fission yeast without telomerase. *Science*, 1998, **282**(5388): 493-496
- [43] Wang X, Baumann P. Chromosome fusions following telomere loss are mediated by single-strand annealing. *Mol Cell*, 2008, **31**(4): 463-473
- [44] Schoeffner S, Blasco M A. Developmentally regulated transcription of mammalian telomeres by DNA-dependent RNA polymerase II. *Nat Cell Biol*, 2008, **10**(2): 228-236
- [45] Luke B, Panza A, Redon S, *et al.* The RAT1p 5' to 3' exonuclease degrades telomeric repeat-containing RNA and promotes telomere elongation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Cell*, 2008, **32**(4): 465-477
- [46] Bah A, Wischniewski H, Shchepachev V, *et al.* The telomeric transcriptome of *Schizosaccharomyces pombe*. *Nucleic Acids Res*, 2012, **40**(7): 2995-3005
- [47] Azzalin C M, Lingner J. Telomere functions grounding on TERRA firma. *Trends Cell Biol*, 2015, **25**(1): 29-36
- [48] Porro A, Feuerhahn S, Reichenbach P, *et al.* Molecular dissection of telomeric repeat-containing RNA biogenesis unveils the presence of distinct and multiple regulatory pathways. *Mol Cell Biol*, 2010, **30**(20): 4808-4817
- [49] Azzalin C M, Lingner J. Telomeres: the silence is broken. *Cell Cycle*, 2008, **7**(9): 1161-1165
- [50] Moravec M, Wischniewski H, Bah A, *et al.* TERRA promotes telomerase-mediated telomere elongation in *Schizosaccharomyces pombe*. *EMBO Rep*, 2016, **17**(7): 999-1012
- [51] Pfeiffer V, Lingner J. TERRA promotes telomere shortening through exonuclease 1-mediated resection of chromosome ends. *Plos Genet*, 2012, **8**(6): e1002747
- [52] Feretzaki M, Renck Nunes P, Lingner J. Expression and differential regulation of human TERRA at several chromosome ends. *RNA*, 2019, **25**(11): 1470-1480
- [53] Feuerhahn S, Iglesias N, Panza A, *et al.* TERRA biogenesis, turnover and implications for function. *FEBS Lett*, 2010, **584**(17): 3812-3818
- [54] Bah A, Azzalin C M. The telomeric transcriptome: from fission yeast to mammals. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, **44**(7): 1055-

- 1059
- [55] Maicher A, Lockhart A, Luke B. Breaking new ground: digging into TERRA function. *Biochim Biophys Acta*, 2014, **1839**(5): 387-394
- [56] Kyrion G, Liu K, Liu C, *et al.* RAP1 and telomere structure regulate telomere position effects in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes Dev*, 1993, **7**(7a): 1146-1159
- [57] Arnoult N, Van Beneden A, Decottignies A. Telomere length regulates TERRA levels through increased trimethylation of telomeric H3K9 and HP1 α . *Nat Struct Mol Biol*, 2012, **19**(9): 948-956
- [58] Flynn R L, Cox K E, Jeitany M, *et al.* Alternative lengthening of telomeres renders cancer cells hypersensitive to ATR inhibitors. *Science*, 2015, **347**(6219): 273-277
- [59] López De Silanes I, Graña O, De Bonis M L, *et al.* Identification of TERRA locus unveils a telomere protection role through association to nearly all chromosomes. *Nat Commun*, 2014, **5**: 4723
- [60] Barrientos K S, Kendellen M F, Freibaum B D, *et al.* Distinct functions of POT1 at telomeres. *Mol Cell Biol*, 2008, **28**(17): 5251-5264
- [61] Rippe K, Luke B. TERRA and the state of the telomere. *Nat Struct Mol Biol*, 2015, **22**(11): 853-858
- [62] Porro A, Feuerhahn S, Delafontaine J, *et al.* Functional characterization of the TERRA transcriptome at damaged telomeres. *Nat Commun*, 2014, **5**: 5379
- [63] Le P N, Maranon D G, Altina N H, *et al.* TERRA, hnRNP A1, and DNA-PKcs interactions at human telomeres. *Front Oncol*, 2013, **3**: 91
- [64] Cusanelli E, Chartrand P. Telomeric repeat-containing RNA TERRA: a noncoding RNA connecting telomere biology to genome integrity. *Front Genet*, 2015, **6**: 143
- [65] Scheibe M, Arnoult N, Kappei D, *et al.* Quantitative interaction screen of telomeric repeat-containing RNA reveals novel TERRA regulators. *Genome Res*, 2013, **23**(12): 2149-2157
- [66] Flynn R L, Centore R C, O'sullivan R J, *et al.* TERRA and hnRNP A1 orchestrate an RPA-to-POT1 switch on telomeric single-stranded DNA. *Nature*, 2011, **471**(7339): 532-536
- [67] Flynn R L, Chang S, Zou L. RPA and POT1: friends or foes at telomeres?. *Cell Cycle*, 2012, **11**(4): 652-657
- [68] Balk B, Maicher A, Dees M, *et al.* Telomeric RNA-DNA hybrids affect telomere-length dynamics and senescence. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, **20**(10): 1199-1205
- [69] Huertas P, Aguilera A. Cotranscriptionally formed DNA: RNA hybrids mediate transcription elongation impairment and transcription-associated recombination. *Mol Cell*, 2003, **12**(3): 711-721
- [70] Pfeiffer V, Crittin J, Grolimund L, *et al.* The THO complex component Thp2 counteracts telomeric R-loops and telomere shortening. *EMBO J*, 2013, **32**(21): 2861-2871
- [71] Arora R, Lee Y, Wischnewski H, *et al.* RNaseH1 regulates TERRA-telomeric DNA hybrids and telomere maintenance in ALT tumour cells. *Nat Commun*, 2014, **5**: 5220
- [72] Thomas M, White R L, Davis R W. Hybridization of RNA to double-stranded DNA: formation of R-loops. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1976, **73**(7): 2294-2298
- [73] Fallet E, Jolivet P, Soudet J, *et al.* Length-dependent processing of telomeres in the absence of telomerase. *Nucleic Acids Res*, 2014, **42**(6): 3648-3665
- [74] Sagie S, Toubiana S, Hartono S R, *et al.* Telomeres in ICF syndrome cells are vulnerable to DNA damage due to elevated DNA:RNA hybrids. *Nat Commun*, 2017, **8**: 14015
- [75] Yu T Y, Kao Y W, Lin J J. Telomeric transcripts stimulate telomere recombination to suppress senescence in cells lacking telomerase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, **111**(9): 3377-3382
- [76] Pan X, Chen Y, Biju B, *et al.* FANCM suppresses DNA replication stress at ALT telomeres by disrupting TERRA R-loops. *Sci Rep*, 2019, **9**(1): 19110
- [77] Xu G L, Bestor T H, Boure'his D, *et al.* Chromosome instability and immunodeficiency syndrome caused by mutations in a DNA methyltransferase gene. *Nature*, 1999, **402**(6758): 187-191
- [78] Yehezkel S, Shaked R, Sagie S, *et al.* Characterization and rescue of telomeric abnormalities in ICF syndrome type I fibroblasts. *Front Oncol*, 2013, **3**: 35
- [79] Yehezkel S, Segev Y, Viegas-Péquignot E, *et al.* Hypomethylation of subtelomeric regions in ICF syndrome is associated with abnormally short telomeres and enhanced transcription from telomeric regions. *Hum Mol Genet*, 2008, **17**(18): 2776-2789
- [80] Deng Z, Campbell A E, Lieberman P M. TERRA, CpG methylation and telomere heterochromatin: lessons from ICF syndrome cells. *Cell Cycle*, 2010, **9**(1): 69-74
- [81] Maicher A, Kastner L, Dees M, *et al.* Deregulated telomere transcription causes replication-dependent telomere shortening and promotes cellular senescence. *Nucleic Acids Res*, 2012, **40**(14): 6649-6659
- [82] Lambert S, Carr A M. Impediments to replication fork movement: stabilisation, reactivation and genome instability. *Chromosoma*, 2013, **122**(1-2): 33-45
- [83] Gaillard H, García-Muse T, Aguilera A. Replication stress and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2015, **15**(5): 276-289
- [84] Balk B, Dees M, Bender K, *et al.* The differential processing of telomeres in response to increased telomeric transcription and RNA-DNA hybrid accumulation. *RNA Biol*, 2014, **11**(2): 95-100
- [85] Voon H P, Hughes J R, Rode C, *et al.* ATRX plays a key role in maintaining silencing at interstitial heterochromatic loci and imprinted genes. *Cell Rep*, 2015, **11**(3): 405-418
- [86] Episkopou H, Draskovic I, Van Beneden A, *et al.* Alternative Lengthening of Telomeres is characterized by reduced compaction of telomeric chromatin. *Nucleic Acids Res*, 2014, **42**(7): 4391-4405
- [87] Aguilera A, García-Muse T. R loops: from transcription byproducts to threats to genome stability. *Mol Cell*, 2012, **46**(2): 115-124
- [88] Cusanelli E, Romero C A, Chartrand P. Telomeric noncoding RNA

- TERRA is induced by telomere shortening to nucleate telomerase molecules at short telomeres. *Mol Cell*, 2013, **51**(6): 780-791
- [89] Lovejoy C A, Li W, Reisenweber S, *et al.* Loss of ATRX, genome instability, and an altered DNA damage response are hallmarks of the alternative lengthening of telomeres pathway. *Plos Genet*, 2012, **8**(7): e1002772
- [90] Toubiana S, Selig S. DNA:RNA hybrids at telomeres - when it is better to be out of the (R) loop. *FEBS J*, 2018, **285**(14): 2552-2566
- [91] Knott G J, Bond C S, Fox A H. The DBHS proteins SFPQ, NONO and PSPC1: a multipurpose molecular scaffold. *Nucleic Acids Res*, 2016, **44**(9): 3989-4004
- [92] Petti E, Buemi V, Zappone A, *et al.* SFPQ and NONO suppress RNA: DNA-hybrid-related telomere instability. *Nat Commun*, 2019, **10**(1): 1001
- [93] Benetti R, Gonzalo S, Jaco I, *et al.* A mammalian microRNA cluster controls DNA methylation and telomere recombination via Rbl2-dependent regulation of DNA methyltransferases. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, **15**(3): 268-279
- [94] Takahama K, Takada A, Tada S, *et al.* Regulation of telomere length by G-quadruplex telomere DNA- and TERRA-binding protein TLS/FUS. *Chem Biol*, 2013, **20**(3): 341-350
- [95] Teasley D C, Parajuli S, Nguyen M, *et al.* Flap endonuclease 1 limits telomere fragility on the leading strand. *J Biol Chem*, 2015, **290**(24): 15133-15145
- [96] Lalonde M, Chartrand P. TERRA, a multifaceted regulator of telomerase activity at telomeres. *J Mol Biol*, 2020, **432**(15): 4232-4243
- [97] Müller-Ott K, Erdel F, Matveeva A, *et al.* Specificity, propagation, and memory of pericentric heterochromatin. *Mol Syst Biol*, 2014, **10**(8): 746
- [98] Mallm J P, Rippe K. Aurora kinase B regulates telomerase activity via a centromeric RNA in stem cells. *Cell Rep*, 2015, **11**(10): 1667-1678
- [99] De La Fuente R, Baumann C, Viveiros M M. ATRX contributes to epigenetic asymmetry and silencing of major satellite transcripts in the maternal genome of the mouse embryo. *Development*, 2015, **142**(10): 1806-1817
- [100] Elsässer S J, Noh K M, Diaz N, *et al.* Histone H3.3 is required for endogenous retroviral element silencing in embryonic stem cells. *Nature*, 2015, **522**(7555): 240-244
- [101] Sadic D, Schmidt K, Groh S, *et al.* ATRX promotes heterochromatin formation at retrotransposons. *EMBO Rep*, 2015, **16**(7): 836-850
- [102] Eustermann S, Yang J C, Law M J, *et al.* Combinatorial readout of histone H3 modifications specifies localization of ATRX to heterochromatin. *Nat Struct Mol Biol*, 2011, **18**(7): 777-782
- [103] Caslini C, Connelly J A, Serna A, *et al.* MLL associates with telomeres and regulates telomeric repeat-containing RNA transcription. *Mol Cell Biol*, 2009, **29**(16): 4519-4526
- [104] Castellano-Pozo M, Santos-Pereira J M, Rondón A G, *et al.* R loops are linked to histone H3 S10 phosphorylation and chromatin condensation. *Mol Cell*, 2013, **52**(4): 583-590
- [105] Robin J D, Ludlow A T, Batten K, *et al.* Telomere position effect: regulation of gene expression with progressive telomere shortening over long distances. *Genes Dev*, 2014, **28**(22): 2464-2476
- [106] Nadal-Ribelles M, Solé C, Xu Z, *et al.* Control of Cdc28 CDK1 by a stress-induced lncRNA. *Mol Cell*, 2014, **53**(4): 549-561
- [107] Lai F, Orom U A, Cesaroni M, *et al.* Activating RNAs associate with mediator to enhance chromatin architecture and transcription. *Nature*, 2013, **494**(7438): 497-501
- [108] Fujimitsu K, Senriuchi T, Katayama T. Specific genomic sequences of *E. coli* promote replicational initiation by directly reactivating ADP-DnaA. *Genes Dev*, 2009, **23**(10): 1221-1233
- [109] Kurokawa K, Nishida S, Emoto A, *et al.* Replication cycle-coordinated change of the adenine nucleotide-bound forms of DnaA protein in *Escherichia coli*. *EMBO J*, 1999, **18**(23): 6642-6652
- [110] Liu F, Qimuge, Hao J, *et al.* AspC-mediated aspartate metabolism coordinates the *Escherichia coli* cell cycle. *Plos One*, 2014, **9**(3): e92229
- [111] Wurihan, Gezi, Brambilla E, *et al.* DnaA and LexA proteins regulate transcription of the *uvrB* gene in *Escherichia coli*: the role of DnaA in the control of the SOS regulon. *Front Microbiol*, 2018, **9**: 1212
- [112] Feretzaki M, Pospisilova M, Valador Fernandes R, *et al.* RAD51-dependent recruitment of TERRA lncRNA to telomeres through R-loops. *Nature*, 2020, **587**(7833): 303-308

TERRA-mediated Telomere Maintenance*

MA Qing, Morigen **

(State Key Laboratory of Reproductive Regulation & Breeding of Grassland Livestock, School of Life Sciences,
Inner Mongolia University, Hohhot 010070, China)

Abstract Telomeres are the special structures at the ends of linear chromosomes in eukaryotic cells. Telomere length maintenance is very important for living organisms and its maintenance mechanism is a complex. Telomerase can maintain telomere length by using its own RNA template (TERC) and catalytic protein subunits (TERT) through special reverse transcriptase properties. This paper reviewed the effect of TERRA (telomeric repeat-containing RNA) on telomeric length maintenance and mechanism. First, the associations of telomere length maintenance with cell survival and aging were introduced. Second, the structure and transcription control of TERRA, TERRA-mediated RNA:DNA hybrids and formation of R-loop, the TERRA binding proteins and their functions were described. Further, the molecular mechanisms and roles of TERRA-dependent telomere maintenance in life processes were discussed.

Key words TERRA, DNA:RNA hybrids, R-loop, TERRA-binding proteins, telomere maintenance

DOI: 10.16476/j.pibb.2020.0313

* This work is supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (32060016) and the Undergraduate First-class Course Construction Project of Inner Mongolia University (21400-12105/014).

** Corresponding author.

Tel: 86-471-4992435, E-mail: morigenm@hotmail.com

Received: August 28, 2020 Accepted: October 30, 2020