



## 端粒结合蛋白在端粒复制与损伤修复中的作用\*

宗欢欢<sup>1)</sup> 侯凯龙<sup>1)</sup> 郭鑫<sup>1)</sup> 罗瑛<sup>2)</sup> 贾舒婷<sup>1)\*\*</sup><sup>(1)</sup> 昆明理工大学医学院, 衰老与肿瘤分子遗传学实验室, 昆明 650224;<sup>(2)</sup> 贵州医科大学基础医学院, 贵州省常见慢性疾病发病机制及药物研究重点实验室, 贵阳 550025)

**摘要** 端粒位于真核细胞线性染色体末端, 正常的端粒长度与结构对于细胞基因组稳定的维持有重要作用. 端粒DNA序列的高度重复性使其容易形成一些特殊的二级结构, 相比染色体其他位置更难复制. 结合在端粒上的Shelterin蛋白复合体由六个端粒结合蛋白组成, 该复合体可以通过抑制端粒处异常DNA损伤修复途径的激活维持端粒的稳定. 此外, 近几年的研究显示, Shelterin蛋白复合体还具有调控功能异常端粒的DNA修复途径选择, 参与端粒的复制功能. 因此, 本文就最近发现的Shelterin蛋白复合体成员调控的端粒处DNA修复及参与的端粒复制过程进行综述.

**关键词** 端粒, Shelterin蛋白复合体, DNA损伤修复途径

**中图分类号** Q71, R394.3

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2020.0426

端粒被称作为一个复制缓冲区, 通过限制染色体末端结构来维持基因组的完整性<sup>[1]</sup>. 在细胞有丝分裂的过程中, DNA聚合酶无法催化从头合成子链, 因此在合成新的DNA链时需要RNA引物的参与, 在复制结束后, RNA引物会被切除, 从而产生3'悬出末端(3'-overhang). 这一复制机制使子链的5'端端粒区域随着复制次数的增加而逐渐缩短, 当端粒缩短到一定长度时, 衰老应激的分子通路将被激活, 导致细胞越过Hayflick界限<sup>[2]</sup>进入复制型衰老.

哺乳动物端粒由端粒DNA和端粒结合蛋白组成. 其中端粒DNA是由TTAGGG短重复序列构成, 并在3'端带有一个单链G悬出末端的片段<sup>[3]</sup>. 由于其组成序列的特殊性, 端粒上容易出现一些二级结构, 包括: a. 端粒悬出端回折形成的T环(T-loop), 其中单链悬出端侵入双链端粒形成D环(D-loop)<sup>[4]</sup>; b. 端粒上富含G的重复序列的化学性质允许单链DNA(ssDNA)折叠成G-四聚体结构(G4体), 该结构由3个四聚体组成, 4个鸟嘌呤通过Hoogsteen碱基配对相互作用<sup>[5]</sup>; c. 端粒转录产生的长链非编码RNA称为TERRA(telomeric repeat-containing RNA), TERRA在端粒上形成DNA-RNA杂交结构

(R-loops)<sup>[6]</sup>. DNA在复制过程中需要打开高级结构使其恢复线性状态, 而端粒上的这些二级结构为其复制带来了困难, 因此端粒区域很容易累积复制压力<sup>[7]</sup>. 在哺乳动物中, 端粒序列结合了由6个端粒蛋白组成的复合体, 称为Shelterin, 可以帮助解决端粒DNA复制压力. Shelterin包括TRF1(telomere repeat binding factor 1)、TRF2(telomere repeat binding factor 2)、POT1(protection of telomeres 1)、TIN2(TRF1-interacting nuclear protein 2)、TPP1(TIN2 interacting protein)以及RAP1(repressor activator protein 1). TRF1与TRF2结合在端粒双链DNA上, 同时TRF2又与RAP1形成异二聚体, 而POT1特异性结合端粒悬出端并与TPP1结合以调节端粒延长和末端封闭<sup>[8]</sup>, TIN2则将POT1-TPP1连接到TRF1与TRF2上形成一个大的复合体(图1).

\* 国家自然科学基金(81760262), 云南省应用基础研究计划(2019FB109)和云南省“万人计划”青年拔尖人才专项(YNWR-QNBJ-2019-240)资助项目.

\*\* 通讯联系人.

Tel: 13577116928, E-mail: shutingjia@kust.edu.cn

收稿日期: 2021-04-29, 接受日期: 2021-06-03

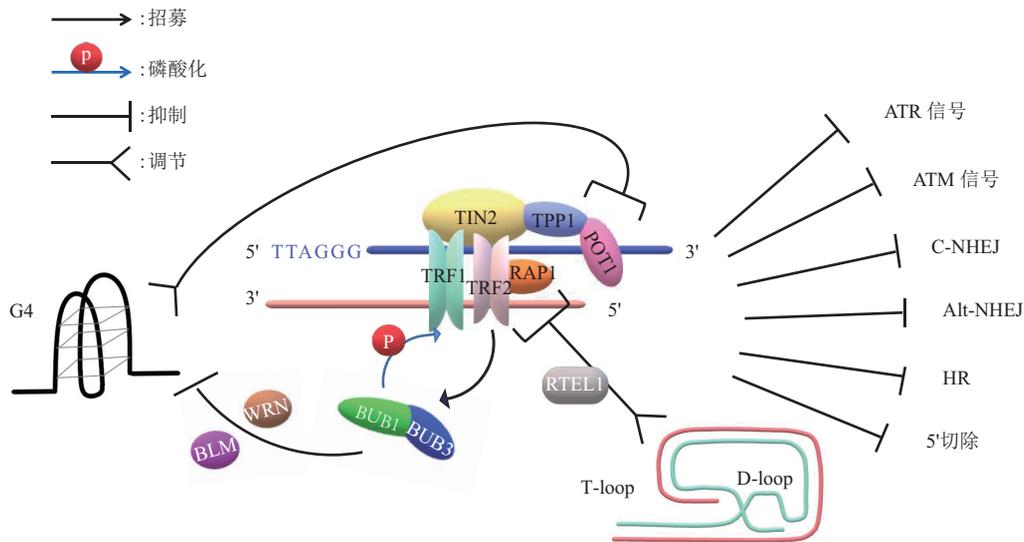


Fig. 1 Shelterin involved in telomere replication

图1 Shelterin参与端粒的复制

TRF1与TRF2结合于端粒双链DNA, RAP1结合TRF2形成异二聚体, POT1特异性结合端粒单链悬出端并与TPP1结合, 调节端粒的延长和末端封闭, TIN2则将POT1-TPP1、TRF1与TRF2-RAP1连接形成一个大的复合体; TPP1-POT1调控端粒G4结构的折叠与展开; TRF2可以将BUB1-BUB3复合物靶向端粒, BUB1直接磷酸化TRF1并促进TRF1招募BLM、WRN等解旋酶到端粒, 从而解开G4结构, 促进端粒的复制; RAP1提高TRF2对端粒重复序列的特异性, 促进T环的形成, 同时TRF2在S期招募RTEL1解旋酶打开T环, 保障端粒的复制; Shelterin蛋白复合体抑制端粒上的异常损伤信号与DNA损伤应答, 维持端粒结构的稳定。

端粒结构与功能具有一定的特殊性, 因而其复制也具有相应的特点. 本文将综述端粒对复制压力的应激以及对DNA修复途径的选择, 同时分析Shelterin蛋白复合体在该过程中的具体作用, 从而进一步探究端粒复制和损伤修复过程对于衰老与肿瘤的意义。

## 1 Shelterin在端粒复制与维持中的作用

除了保护端粒末端的功能之外, Shelterin复合体中的各蛋白质组分还能参与到一些端粒二级结构的稳定或去除的过程中, 对端粒结构的稳定以及端粒复制的正常进行有着重要的意义(图1)。

### 1.1 维持适当长度的端粒DNA 3'悬出末端

端粒DNA复制完成后需要产生正确长度的3'悬出末端, 对后面T环的形成以及置换G链形成D环至关重要. 端粒上3'悬出末端的形成涉及一系列复杂的机制, 主要由TRF2与POT1调控<sup>[9]</sup>. 首先, 端粒DNA复制后, 前导链被TRF2结合的Apollo核酸酶进行短程切除(short excision), 产生一个短的3'悬出末端; 与此同时, POT1抑制Apollo的长程切除(long excision). 接着, 再由核酸外切酶Exo1(nucleic acid exonuclease 1)对端粒的前导链

和滞后链进行广泛切除, 在S/G2期产生生长的3'悬出末端. 然后, POT1直接与CST(CTC1-STN1-TEN1)复合物相互作用, 促进DNA聚合酶 $\alpha$ (DNA polymerase  $\alpha$ , Pol $\alpha$ )和引物填充悬出, 最终形成长度合适的3'悬出末端。

### 1.2 端粒T环的形成与解开

为了避免被识别为损伤, 端粒3'悬出末端会回折插入双链中而将末端隐藏, 在电镜下可见为一个大的环形, 称为T环. 体外实验证明, TRF2具有改变端粒DNA结构的能力, 可以将端粒底物重塑为类似于T环的结构<sup>[10]</sup>. TRF2的TRFH结构域具有很多暴露的赖氨酸残基, 可低亲和力地与非特异性dsDNA结合. TRF2将大约90 bp的DNA包裹在其TRFH结构域周围, 从而促进T环的形成. 在此过程中, RAP1被认为可以提高TRF2对TTAGGG重复序列的特异性结合, 促进了T环形成的效率<sup>[11]</sup>. 在S期时, TRF2则会招募RTEL1至端粒上拆解T环以保障端粒末端的顺利复制。

### 1.3 端粒上G4体的解开与折叠

G4结构在复制时需要打开成线性DNA, 在复制完成后再重新折叠. 研究表明, G4体附近有POT1的结合位点, POT1-TPP1异二聚体通过在端

粒悬出上的来回滑动,使G4结构在复制过程中被连续展开或重新折叠<sup>[12]</sup>,保证了端粒的顺利复制.此外,TRF2与TRF1也参与了G4结构的打开. TRF2可以将BUB1 (mitotic checkpoint serine/threonine kinase)-BUB3 (mitotic checkpoint protein)复合物靶向端粒, BUB1直接磷酸化TRF1并促进TRF1招募BLM (bloom helicase)到端粒上. BLM为RecQ解旋酶基因家族成员之一,与其家族中的另一个成员Werner综合征ATP依赖解旋酶 (Werner syndrome ATP-dependent helicase, WRN)共同解开端粒G4结构<sup>[13]</sup>.有研究证明,一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶结合蛋白AKTIP (AKT interacting protein)与TRF1的相互作用有助于TRF1在复制过程中与端粒DNA保持紧密的联系<sup>[14]</sup>.因此,可以推测AKTIP/FT1缺失会减弱TRF1及其相关解旋酶与端粒G4结构的相互作用,从而阻碍端粒复制过程.

## 2 Shelterin对端粒DNA损伤修复的调控

### 2.1 Shelterin抑制端粒上的DNA损伤应答以维持端粒稳定

由DNA损伤应答 (DNA damage response, DDR)所带来的DNA损伤修复系统的激活是端粒稳定的一大威胁,如果共济失调-毛细血管扩张-突变激酶 (ataxia-telangiectasia-mutated kinase, ATM)在端粒上被激活,将会诱导细胞周期停滞,并可能导致细胞的衰老或凋亡.当MRN (MRE11-RAD50-NBS1)复合物识别DNA双链断裂 (double strand break, DSB)末端时会激活ATM.而TRF2通过维持T环的结构,防止端粒末端被识别为DNA双链断裂位点,可以防止端粒上MRN依赖的ATM激活.除此之外,在TRF2中有一个基序,称为DDR通路抑制剂 (inhibitor of the DDR pathway),抑制E3泛素连接酶RNF168的活性,从而阻止ATM的关键效应物p53结合蛋白 (p53 binding protein1, 53BP1)的积累,抑制ATM的激活<sup>[15]</sup>.

共济失调-毛细血管扩张和Rad3相关蛋白 (ataxia telangiectasia and Rad3-related protein, ATR)的激活主要发生在S期,此时RPA (replica protein A)结合在因切割所产生的ssDNA上.在端粒上,复制过程中产生的ssDNA需要RPA来结合确保复制的顺利进行,但持续的结合也会激活ATR信号,导致复制的停滞.有研究证明, POT1

可以与RPA竞争ssDNA结合位点,抑制ATR信号的激活<sup>[15]</sup>.细胞中POT1与RPA的丰度有较大差距,但两者与ssDNA结合的亲和力相当,可能是由于端粒中的G4结构附近存在POT1结合位点,同时G4体又可以阻止RPA与ssDNA的结合.

端粒上异常的非同源末端连接 (non-homologous end joining, NHEJ)的激活会导致端粒末端融合,引起基因组的重排,从而威胁到基因组的完整性. TRF2-RAP1可以促进T环的形成来阻止Ku70/80 (ATP-dependent DNA helicase II, 70/80 ku subunit)复合物结合到端粒上,从而抑制端粒激活MRN-ATM-Chk2 (checkpoint kinase 2)依赖的C-NHEJ (classical NHEJ)修复途径<sup>[16]</sup>.此外, TRF2激活去泛素化酶BRCC3 (BRCA1/BRCA2 containing complex subunit 3)以阻断RNF168 (ring finger protein 168)介导的泛素化来抑制53BP1的积累<sup>[17]</sup>,同样阻断了C-NHEJ修复途径.去除TRF2则可激活DNA连接酶IV (DNA ligase IV, Lig4)和53BP1依赖的C-NHEJ介导的融合.然而,从53BP1<sup>-/-</sup>或Lig4<sup>-/-</sup>MEFs中去除TPP1与POT1会导致染色体末端的融合.这些染色体融合被Ku70抑制,并依赖于CTIP,表明它们是由选择性非同源末端连接 (alternative nonhomologous end joining, Alt-NHEJ)途径介导的,提示TPP1与POT1可抑制端粒上的Alt-NHEJ.

端粒之间的同源重组 (homologous recombination, HR)会导致端粒姐妹染色单体交换 (telomere sister chromatid exchanges, T-SCE).如果交换是不平等的,1个子细胞可以继承1个严重缩短的端粒,这将使这个细胞的复制寿命更短<sup>[18]</sup>.在Ku70/80缺乏的小鼠细胞中,HR的抑制需要RAP1和POT1<sup>[15, 19]</sup>.在没有POT1的情况下,或者当RAP1被敲除时,大约10%的染色体末端在中期表现为T-SCE,这意味着在前面的S/G2中发生了高频的HR事件.

### 2.2 Shelterin参与端粒DNA损伤修复途径的选择

DNA损伤修复途径的激活在细胞周期中是有偏好性的, DNA末端加工是DNA修复途径选择的基础. C-NHEJ直接在断裂的DNA末端起作用,而由核酸酶介导的末端切除产生的ssDNA使DSB可以通过Alt-NHEJ或HR进行修复<sup>[20]</sup>.目前,已有研究显示53BP1和BRCA1 (breast cancer type 1 susceptibility protein)参与调控DSB修复途径在不同细胞周期中的选择<sup>[21]</sup>.在G1期, DNA损伤信号

蛋白 53BP1 被 ATM 激活并与 RIF1 (replication timing regulatory factor 1) 和 PAXIP1 (PAX interacting protein 1) 作用, 共同抑制 5'端的切除, 进而抑制 HR 并促进 C-NHEJ. 在 S/G2 期, MRE11、CtIP (retinoblastoma-binding protein 8)、Exo1 以及其他相关外切酶启动了广泛的 5'至 3'端切除过程, 其产生的 3'端长链会阻碍 ATM-CHK2 检查点通路的激活, 从而导致 C-NHEJ 的抑制. 同时, ssDNA 被 RPA 和 RAD17 (RAD17 checkpoint clamp loader component) 结合<sup>[22]</sup>, 随后招募 ATR 和 ATRIP (ATR 相互作用蛋白) 到损伤位点, 启动 HR 修复途径, 而 BRCA1 被证明会促进这一过程. 但在端粒上, DNA 修复途径的选择似乎更为复杂.

由于鸟嘌呤核苷酸特别容易受到氧化攻击, 端粒 DNA 中富含 G 的链对紫外线和其他氧化 DNA 损伤剂的损伤特别敏感<sup>[23-24]</sup>. 并且, 端粒上复杂的二级结构也为端粒的复制带来阻力, 容易引起复制应激. 细胞如何平衡保护 DNA 末端的需要和修复端粒中 DNA 损伤的需要是未知的. 一些研究表明, DNA 损伤在端粒中的修复效率可能低于基因组的其余部分, 这可能是由于端粒的异染色质性质或 TRF2 抑制了 NHEJ<sup>[25-26]</sup>. 目前, TRF2 已被证明与 Nijmegen 损伤综合征蛋白 1 (Nijmegen breakage syndrome protein 1, NBS1) 以细胞周期依赖的方式相互作用参与端粒损伤修复途径的选择<sup>[27]</sup>. PP1 $\alpha$  (protein phosphatase 1 $\alpha$ ) 通过对 NBS1 的第 432 位点丝氨酸的去磷酸化促进 NBS1 与 TRF2 的相互作用, 从而招募 Exo1, 促进 5'端的切除和 Alt-NHEJ 介导的功能异常端粒的修复. PNUTS (phosphatase 1 nuclear targeting subunit) 则被证明通过催化抑制 PP1 $\alpha$  来影响这种相互作用. 相反, CDK2 (cyclin dependent kinase 2) 磷酸化 NBS1<sup>S432</sup> 则会阻碍 NBS1-TRF2 的结合, 导致 C-NHEJ 介导的染色体融合. 因此, NBS1<sup>S432</sup> 的磷酸化起到了分子开关的作用, 决定了功能异常的端粒在 C-NHEJ 与 Alt-NHEJ 中修复途径选择. 当 TRF2 缺失导致端粒功能发生异常时, 一种 53BP1 效应复合物 shieldin 与 CYREN (Ku70/80 binding proteins) 均参与了端粒损伤修复途径的选择, 并分别促进和抑制 C-NHEJ 途径<sup>[28]</sup>. Shieldin 包括了 SHLD1 (shieldin complex subunit 1)、SHLD2 (shieldin complex subunit 2) 和 SHLD3 (shieldin complex subunit 3). S/G2 期, CYREN 通过与 Ku70/80 的相互作用优先保护断裂位点的单链突出, 从而创造有

利于 HR 的局部环境<sup>[29]</sup>, 发挥抑制 C-NHEJ 的作用. 相关研究证明, Shieldin 蛋白复合体在 S/G2 期时会定位到 DSB 位点, 其敲除会导致 C-NHEJ 途径受损<sup>[15]</sup>.

除了 NHEJ 修复途径, 在增殖的细胞中也发现了 HR 参与端粒损伤修复. 有研究发现, CLSPIN (Claspin)、增殖细胞核抗原 PCNA (proliferating cell nuclear antigen) 和 Son 的下游蛋白 Donson (downstream neighbor of Son) 参与到端粒的 HR 修复中<sup>[30]</sup>. Claspin 和 TRF2 的 TRFH 结构域相互作用, PCNA-Donson 再与 Claspin 形成 CPD 复合物定位到端粒上. Donson 通过招募 Exo1 和 CtIP 到端粒上以促进 5'端切除, 以产生 3'端突出, 从而允许 POT1-TPP1 与之结合来促进端粒末端保护<sup>[31]</sup> (图 2). 当 POT1 被敲除时, Claspin 的表达明显上调以促进端粒的修复<sup>[32]</sup>. 在缺乏 MRN 复合物的情况下, RPA 很难定位于受损的 ssDNA, 从而阻止 ATR 和 CHK1 磷酸化的激活<sup>[22]</sup>. 但在缺乏 NBS1 的情况下, Claspin 却被证明以 DNA 依赖的蛋白激酶 (DNA-PKcs) 依赖的方式介导 CHK1 的磷酸化, 以响应端粒功能障碍<sup>[33]</sup>. 综上所述, TRF2 在端粒修复机制的调控中扮演了重要的角色 (图 2).

### 2.3 其他蛋白质对端粒复制与损伤修复的调控

除了上述的端粒结合蛋白与复制体相关蛋白, BLM 蛋白也被发现在端粒 HR 过程中既具有促重组活性又具有抗重组活性, 而这两种活性被认为可能有助于维持端粒的完整性<sup>[34]</sup>. 其促重组作用表现在与 DNA2 (DNA replication helicase/nuclease 2) 一起推进 DSB 的切除和通过打开 Holiday 连接体来解开异源双链中间体, 并且, BLM 还被证明对抑制端粒 D 环产生也有一定的作用. 但是, 在 BRCA2 (breast cancer type 2 susceptibility protein) 和 XRCC2 (X-Ray repair cross complementing 2) 缺陷细胞中, 有人发现沉默 BLM 可以恢复 RAD51 (BRCA1/BRCA2-containing complex, subunit 5) 焦点 (foci) 的形成和 HR<sup>[34]</sup>.

除此之外, 还有研究发现 NCAPH2 (non-SMC condensin ii complex subunit H2) 与 TRF1 相互作用, 共同定位在端粒上. NCAPH2 缺失会导致 ATR 依赖的 53BP1 的积累和端粒上  $\gamma$ -H<sub>2</sub>AX 的招募, 进一步导致端粒脆性增加和明显的姐妹端粒融合, 表明 NCAPH2 可防止由于 DNA 复制受损而导致的端粒功能障碍并促进端粒稳定<sup>[35]</sup>.

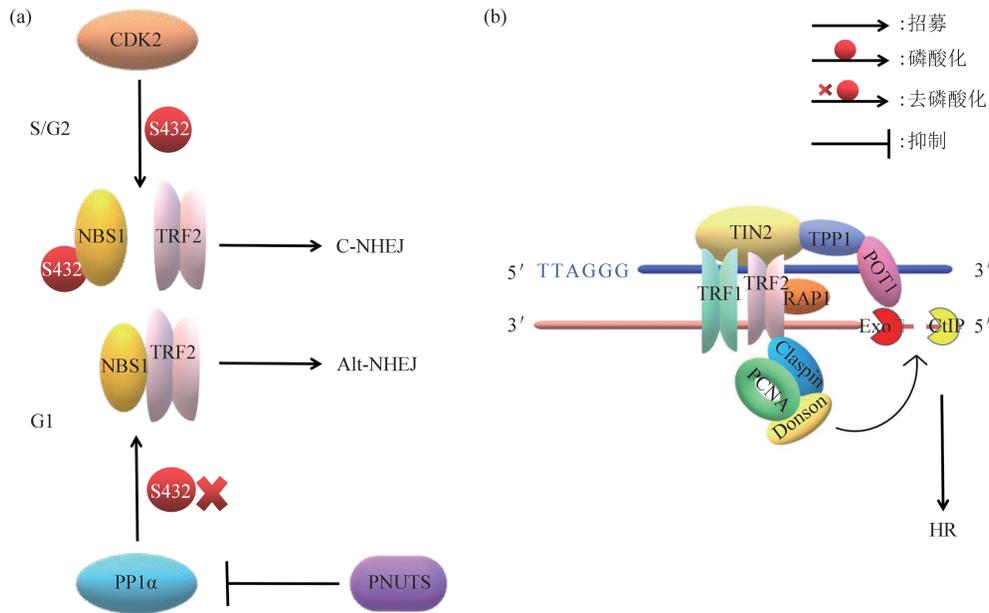


Fig. 2 TRF2 involvement in telomere damage repair pathways [32]

图2 TRF2参与的端粒损伤修复途径 [32]

(a) TRF2与NBS1以细胞周期依赖的方式相互作用参与端粒损伤修复途径的选择.在G1期, PP1 $\alpha$ 通过对NBS1的第432位点丝氨酸的去磷酸化促进NBS1与TRF2的相互作用,从而招募Exo1,促进5'端的切除和Alt-NHEJ介导的功能异常端粒的修复. PNUTS通过催化抑制PP1 $\alpha$ 来影响这种相互作用.在S/G2期, CDK2磷酸化NBS1<sup>S432</sup>则会阻碍NBS1与TRF2的结合,导致C-NHEJ介导的染色体融合. (b) PCNA-Donson与Claspin形成CPA复合物,通过Claspin与TRF2的TRFH结构域定位到端粒上. Donson则招募Exo1和CtIP促进端粒5'末端切除,促进HR介导的端粒损伤修复.

### 3 问题与展望

大量证据表明,细胞通过诱导衰老、凋亡等途径而对功能异常的端粒作出反应 [36].在微生物和衰老细胞中,衰老最重要的标志物之一是短端粒 [37].随着细胞的分裂,由于DNA聚合酶不能复制到染色体末端,大多数体细胞端粒在复制过程中逐渐缩短.当端粒严重缩短时,染色体末端会被识别为损伤而激活DDR,引发不可逆的生长停滞和细胞功能改变.在哺乳动物细胞中,衰老应激被认为是一种有效防止肿瘤转化风险的机制 [38].p53和pRb (phosphory retinoblastoma-associated protein)是导致细胞周期阻滞或细胞凋亡的关键调节因子,通过阻断p53或pRb通路关键因子的表达可以阻止人类和小鼠细胞在包括细胞分裂、DNA损伤和原癌基因RAS等多种刺激下衰老 [39].然而,在没有p53的情况下,基因组不稳定的细胞可能通过将其端粒融合到另一个端粒或断裂的DNA末端来修复受损端粒,细胞可能存活下来并发展成为肿瘤.所以,端粒功能障碍导致的基因组不稳定可能使细

胞发生肿瘤转化.

在少数需要不断增殖的人类细胞中,一般依赖端粒酶来维持其端粒长度.端粒酶是一种核糖核蛋白,包含反转录酶及相关RNA模板,可结合到端粒的3'端上.RNA模板的5'端识别DNA的3'端碱基并相互配对,以RNA链为模板使DNA链延伸,合成一个重复单位后酶再向前移动一个单位.研究发现,85%~90%的肿瘤细胞是通过激活端粒酶来维持端粒长度的 [40].同时,10%~15%的肿瘤细胞在端粒酶失活或不足的情况下,利用一种或多种机制维持端粒长度,这些端粒维持机制称为端粒延长替代机制 (alternative lengthening of telomere, ALT).1995年ALT被首次发现,端粒酶阴性的酵母细胞可以依靠同源重组机制相关的基因存活下来 [41].在之后的研究中,同样观察到在部分人体原发肿瘤细胞和永生化细胞系细胞中缺少端粒酶活性 [42].ALT并不普遍存在,而是只在一些特殊的细胞中被发现,例如部分人肿瘤细胞、永生化细胞和端粒酶阴性的小鼠肿瘤细胞,这表明功能异常的细胞端粒调控机制是促进ALT发生的可能原因.因此,通过

ALT 机制解决端粒缩短问题的细胞中存在很多独特的现象, 最常见的就是长短不等的端粒和大量染色体外端粒 DNA 片段.

目前, ALT 被认为是通过两种不同的机制发生的<sup>[43]</sup>. 其中一种机制需要一种参与断裂诱导 DNA 复制 (break-induced DNA replication, BIR) 的蛋白质 RAD52 (recombination protein RAD52). BIR 过程中的关键步骤是将 ssDNA 末端入侵到双链 DNA 模板中, 导致 D 环形成, 所以, 在 ALT 阳性细胞中, RAD52 可以直接促进端粒 D 环的形成, 这是维持端粒稳定所必需的. 然而, 作为 ALT 的特征产物, C 环的形成却与 RAD52 没有较大的关系. 在 RAD52 缺乏的 ALT 细胞中, C 环依赖于 BLM 和断裂诱导 DNA 复制蛋白 POLD3 (DNA polymerase delta 3) 和 POLD4 (DNA polymerase delta 4) 大量合成<sup>[43]</sup>, 所以另外一条 ALT 途径可能并不依赖 RAD52. 除此之外, 也有研究发现, 破坏 HR 辅助因子 RAD51AP1 (RAD51 associated protein 1) 可以阻碍 ALT 端粒伸长, 导致端粒损伤和断裂<sup>[44]</sup>, 提示肿瘤细胞增殖而产生的端粒损伤信号的积累, 可以通过损伤修复系统的激活而得到缓解, 从而维持肿瘤细胞高度增殖的状态.

综上所述, 端粒的复制异常会导致染色体不稳定, 细胞分裂异常, 细胞走向衰老或肿瘤. Shelterin 蛋白复合物协同作用于端粒, 解决复制压力, 并抑制异常 DDR 信号与 DNA 损伤途径的激活, 与其他多种蛋白质共同维持端粒的正常复制. 但端粒的保护、维持、复制以及端粒酶活性的调节活动之间的协调途径仍然还有很大的探索空间. 同时, 对端粒功能维持机制的进一步探索可以为端粒相关的衰老、癌症等疾病提供一定的思路与治疗方案.

### 参 考 文 献

- [1] Aksenova A, Mirkin S. At the beginning of the end and in the middle of the beginning: structure and maintenance of telomeric DNA repeats and interstitial telomeric sequences. *Genes (Basel)*, 2019, **10**(2):118
- [2] Gill Z, Nieuwoudt M, Ndifon W. The Hayflick limit and age-related adaptive immune deficiency. *Gerontology*, 2018, **64**(2): 135-139
- [3] Sabharwal N, Chen J, Lee J, *et al.* Interactions between spermine-derivatized tentacle porphyrins and the human telomeric DNA G-quadruplex. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(11):3686
- [4] Griffith J D, Comeau L, Rosenfield S, *et al.* Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell*, 1999, **97**(4):503-514
- [5] Vannier JB, Pavicic-Kaltenbrunner V, Petalcorin M I, *et al.* RTEL1 dismantles T loops and counteracts telomeric G4-DNA to maintain telomere integrity. *Cell*, 2012, **149**(4):795-806
- [6] Bettin N, Pegorar C O, Cusanelli E. The emerging roles of TERRA in telomere maintenance and genome stability. *Cells*, 2019, **8**(3):246
- [7] Özer Ö, Hickson I J O B. Pathways for maintenance of telomeres and common fragile sites during DNA replication stress. *Open Biol*, 2018, **8**(4):2046-2441
- [8] Aramburu T, Plucinsky S, Skordalakes E, *et al.* POT1-TPP1 telomere length regulation and disease. *Comput Struct Biotechnol J*, 2020, **18**:1939-1946
- [9] Wu P, Takai H, De Lange T. Telomeric 3' overhangs derive from resection by Exo1 and Apollo and fill-in by POT1b-associated CST. *Cell*, 2012, **150**(1):39-52
- [10] Timashev L, De Lange T. Characterization of t-loop formation by TRF2. *Nucleus*, 2020, **11**(1):164-177
- [11] Janoušková E, Nečasová I, Pavloušková J, *et al.* Human Rap1 modulates TRF2 attraction to telomeric DNA. *Nucleic Acid Res*, 2015, **43**(5):2691-2700
- [12] Hwang H, Buncher N, Opresko P L, *et al.* POT1-TPP1 regulates telomeric overhang structural dynamics. *Structure*, 2012, **20**(11): 1872-1880
- [13] Wu W, Rokutanda N, Takeuchi J, *et al.* HERC2 facilitates BLM and WRN helicase complex interaction with RPA to suppress G-quadruplex DNA. *Cancer Res*, 2018, **78**(22):6371-6385
- [14] Burla R, Carcuro M, Raffa G, *et al.* AKTIP/Ftl, a new shelterin-interacting factor required for telomere maintenance. *PLoS Genet*, 2015, **11**(6):e1005167
- [15] De Lange T. Shelterin-mediated telomere protection. *Annu Rev Genet*, 2018, **52**:223-247
- [16] Deng Y, Guo X, Ferguson D O, *et al.* Multiple roles for MRE11 at uncapped telomeres. *Nature*, 2009, **460**(7257):914-918
- [17] Lazzerini-Denchi E, Sfeir A. Stop pulling my strings - what telomeres taught us about the DNA damage response. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, **17**(6):364-378
- [18] Bailey S, Cornforth M, Kurimasa A, *et al.* Strand-specific postreplicative processing of mammalian telomeres. *Science*, 2001, **293**(5539):2462-2465
- [19] Palm W, Hockemeyer D, Kibe T, *et al.* Functional dissection of human and mouse POT1 proteins. *Mol Cell Biol*, 2009, **29**(2): 471-482
- [20] Cicconi A, Chang S. Shelterin and the replisome: at the intersection of telomere repair and replication. *Curr Opin Genet Dev*, 2020, **60**:77-84
- [21] Xu Y, Ning S, Wei Z, *et al.* 53BP1 and BRCA1 control pathway choice for stalled replication restart. *Elife*, 2017, **6**(1):e30523
- [22] Jazayeri A, Falck J, Lukas C, *et al.* ATM- and cell cycle-dependent regulation of ATR in response to DNA double-strand breaks. *Nat Cell Biol*, 2006, **8**(1):37-45
- [23] Petersen S, Saretzki G, Von Zglinicki T. Preferential accumulation of single-stranded regions in telomeres of human fibroblasts. *Exp*

- Cell Res, 1998, **239**(1):152-160
- [24] Oikawa S, Tada-Oikawa S, Kawanishi S. Site-specific DNA damage at the GGG sequence by UVA involves acceleration of telomere shortening. *Biochemistry*, 2001, **40**(15):4763-4768
- [25] Van Steensel B, Smogorzewska A, De Lange T. TRF2 protects human telomeres from end-to-end fusions. *Cell*, 1998, **92**(3):401-413
- [26] Sfeir A, De Lange T. Removal of shelterin reveals the telomere end-protection problem. *Science*, 2012, **336**(6081):593-597
- [27] Rai R, Hu C, Broton C, *et al.* NBS1 phosphorylation status dictates repair choice of dysfunctional telomeres. *Mol Cell*, 2017, **65**(5):801-817
- [28] Ghezraoui H, Oliveira C, Becker J R, *et al.* 53BP1 cooperation with the REV7-shieldin complex underpins DNA structure-specific NHEJ. *Nature*, 2018, **560**(7716):122-127
- [29] Arnoult N, Correia A, Ma J, *et al.* Regulation of DNA repair pathway choice in S and G2 phases by the NHEJ inhibitor CYREN. *Nature*, 2017, **549**(7673):548-552
- [30] Dungrawala H, Rose K L, Bhat K P, *et al.* The replication checkpoint prevents two types of fork collapse without regulating replisome stability. *Mol Cell*, 2015, **59**(6):998-1010
- [31] Lee J, Kumagai A, Dunphy W G. Claspin, a Chk1-regulatory protein, monitors DNA replication on chromatin independently of RPA, ATR, and Rad17. *Mol Cell*, 2003, **11**(2):329-340
- [32] Gu P, Wang Y, Bisht K K, *et al.* Pot1 OB-fold mutations unleash telomere instability to initiate tumorigenesis. *Oncogene*, 2017, **36**(14):1939-1951
- [33] Rodríguez-Bravo V, Guaita-Esteruelas S, Florensa R, *et al.* Chk1- and claspin-dependent but ATR/ATM- and Rad17-independent DNA replication checkpoint response in HeLa cells. *Cancer Res*, 2006, **66**(17):8672-8679
- [34] Patel D S, Misenko S M, Her J, *et al.* BLM helicase regulates DNA repair by counteracting RAD51 loading at DNA double-strand break sites. *J Cell Biol*, 2017, **216**(11):3521-3534
- [35] Wallace H, Rana V, Nguyen H, *et al.* Condensin II subunit NCAPH2 associates with shelterin protein TRF1 and is required for telomere stability. *J Cell Physiol*, 2019, **234**(11):20755-20768
- [36] Gilley D, Tanaka H, Herbert B S, *et al.* Telomere dysfunction in aging and cancer. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, **37**(5):1000-1013
- [37] Mir S, Tehrani S S, Goodarzi G, *et al.* Shelterin complex at telomeres: implications in ageing. *Clin Interv Aging*, 2020, **15**(1):827-839
- [38] Celtikci B, Erkmen G, Dikmen Z, *et al.* Regulation and effect of telomerase and telomeric length in stem cells. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2020, **15**(1):2212-3946
- [39] Campisi J, Kim S H, Lim C S, *et al.* Cellular senescence, cancer and aging: the telomere connection. *Exp Gerontol*, 2001, **36**(10):1619-1637
- [40] Armendáriz-Castillo I, López-Cortés A, García-Cárdenas J, *et al.* TCGA Pan-cancer genomic analysis of alternative lengthening of telomeres (ALT) related genes. *Genes*, 2020, **11**(7):834
- [41] Bryan T M, Englezou A, Gupta J, *et al.* Telomere elongation in immortal human cells without detectable telomerase activity. *EMBO J*, 1995, **14**(17):4240-4248
- [42] Jafri M A, Ansari S A, Alqahtani M H, *et al.* Roles of telomeres and telomerase in cancer, and advances in telomerase-targeted therapies. *Genome Med*, 2016, **8**(1):69
- [43] Zhang J M, Yadav T, Ouyang J, *et al.* Alternative lengthening of telomeres through two distinct break-induced replication pathways. *Cell Rep*, 2019, **26**(4):955-968
- [44] Barroso-González J, García-Expósito L, Hoang S M, *et al.* RAD51AP1 is an essential mediator of alternative lengthening of telomeres. *Mol Cell*, 2019, **76**(1):217

## Role of Telomere Binding Proteins in Telomere Replication and Damage Repair\*

ZONG Huan-Huan<sup>1)</sup>, HOU Kai-Long<sup>1)</sup>, GUO Xin<sup>1)</sup>, LUO Ying<sup>2)</sup>, JIA Shu-Ting<sup>1)\*\*</sup>

<sup>1)</sup>Laboratory of Molecular Genetics of Aging and Tumor, Medical School, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650224, China;

<sup>2)</sup>Guizhou Provincial Key Laboratory of Pathogenesis & Drug Development on Common Chronic Diseases, School of Basic Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

**Abstract** Telomeres localize at the ends of all linear chromosomes of eukaryotic cells to preserve genome integrity and cell survival. The highly repetitive telomeric sequences can easily fold into specific secondary structures that are difficult to replicate, resulting in increased replication stress. Telomeric repeats are bound by Shelterin complex, which consist of six telomere-specific proteins, and function to protect telomeres by preventing aberrant DNA damage response activation. Recently, it was shown that Shelterin components can also regulate the choice of DNA repair pathways in dysfunctional telomeres, and participate in telomere replication. In this review, we summarize how the secondary structures in telomere are stabilized/removed by Shelterin to ensure replication proceeding. Moreover, we also discussed the inhibition of DNA repair at telomeres by Shelterin and how Shelterin mediates the repair pathway choice of dysfunctional telomeres. There is still much room to explore on the coordination between telomere protection, replication and regulation of telomeric DNA repair. Hopefully, the further exploration of telomere maintenance mechanism can provide new ideas and therapeutic strategies for telomere-related diseases such as aging and cancer.

**Key words** telomere, Shelterin protein complex, DNA damage repair pathway

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2020.0426

---

\* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (81760262), Yunnan Fundamental Research Project (2019FB109) and Yunnan "Ten Thousand Talents Plan" Youth Top Talent Project (YNWR-QNBJ-2019-240).

\*\* Corresponding author.

Tel: 86-13577116928, E-mail: shutingjia@kust.edu.cn

Received: April 29, 2021 Accepted: June 3, 2021