

石桂英, 黄艺滢, 雷雪裴, 等. 不同物种端粒结合蛋白和端粒酶的研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(3): 136–142.
Shi GY, Huang YY, Lei XP, et al. Research progress of telomere-binding protein and telomerase in different species [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(3): 136–142.
doi: 10. 3969/j.issn.1671–7856. 2022. 03. 020

不同物种端粒结合蛋白和端粒酶的研究进展

石桂英, 黄艺滢, 雷雪裴, 李欣悦, 白琳*

(中国医学科学院医学实验动物研究所, 北京协和医学院比较医学中心, 国家卫生健康委员会人类疾病比较医学重点实验室, 国家中医药管理局人类疾病动物模型三级实验室, 北京 100021)

【摘要】 端粒位于真核生物染色体末端, 在复制过程中保护染色体的完整性。端粒随着细胞的有丝分裂而缩短, 端粒酶在胚胎干细胞等细胞中起到了延长端粒的作用。端粒结合蛋白包括 shelterin 复合体和 CST 复合体, 端粒酶以自身 RNA 组分为模板逆转录合成端粒, 端粒结合蛋白和端粒酶在保持端粒长度和稳定中都有重要作用。尽管不同物种中端粒序列类似, 但是端粒及端粒酶在生理和/或病理状态下的功能却不尽相关。本文对不同物种的端粒结合蛋白和端粒酶的组成、功能等进行综述, 以深入了解端粒生物学功能, 为端粒功能障碍相关疾病的治疗提供科学基础。

【关键词】 端粒; shelterin; CST; 端粒酶

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671–7856 (2022) 03–0136–07

Research progress of telomere-binding protein and telomerase in different species

SHI Guiying, HUANG Yiyang, LEI Xuepei, LI Xinyue, BAI Lin*

(Institute of Laboratory Key Laboratory of Human Disease Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS); Comparative Medicine Center, Peking Union Medical College (PUMC), Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine, National Health Commission of the People's Republic of China; Key Laboratory of Human Disease Key Laboratory of Human Disease Models, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100021, China)

【Abstract】 Telomeres are at the ends of eukaryotes chromosomes, protect chromosomes integrity in replication. Telomeres shorten with mitosis, telomerase prolong telomeres in cells, such as embryonic stem cell. There are two protein complexes binding on telomeres: shelterin complex and CST complex. Telomerase synthesize telomeres use its RNA components. Both the telomere binding proteins and the telomerase play great role in maintaining telomere length and stability. Although telomere sequences are similar in different species, telomere and telomerase functions are not related in physiological and/or pathological conditions. Here we review the composition and function of telomere binding protein and telomerase, to understand the biological function of telomere and provide scientific basis for the treatment of telomere dysfunction.

【Keywords】 telomere; shelterin; CST; telomerase

端粒是位于真核生物染色体末端的蛋白质-DNA 复合体, 在复制过程中保护染色体末端的完整性, 防止染色体融合、重组、降解等^[1-3]。端粒 DNA 由 TTAGGG 重复序列组成, 不同物种的端粒长度不

【基金项目】 中央高校基本科研业务费专项资金 (3332020051); 国家重点研发计划 (2017YFA0105200); 北京自然科学基金面上项目 (5202024)。

【作者简介】 石桂英 (1977—), 女, 副主任技师, 研究方向: 干细胞临床转化。E-mail: guying_shi77@163.com

【通信作者】 白琳 (1984—), 女, 副研究员, 研究方向: 干细胞临床转化。E-mail: bailin49@163.com

同,人出生时端粒长度约为 8~20 kb,猕猴的端粒长度约为 15~18 kb,而实验动物小鼠的端粒长度约为 25~500 kb(表 1)^[4]。端粒 DNA 的 3' 末端有一段>12 核苷酸的单链序列,此单链序列插入端粒双链序列形成 T 环结构^[5]。端粒长度会随细胞复制而缩短,端粒长度的维持通过两个复合体来完成即 shelterin 和 CST。哺乳动物 shelterin 复合体由 6 个蛋白组成,即端粒重复结合因子 1 和 2(trf1、trf2)、端粒保护蛋白 1 (protection of telomeres 1,POT1)、TRF1 和 TRF2 相互作用核蛋白 2(the TRF2- and TRF1-interacting nuclear protein 2,TIN2)、抑制/激活蛋白 1(repressor/ activator protein 1,RAP1)、POT1-TIN2 组织蛋白(the POT1-TIN2 organizing protein,TPP1,又称为 ACD、TINT1、PTOP、PIP1)。CST 包括 3 个蛋白即 CTC1(conserved telomere maintenance component 1)、STN1(suppressor of CDC thirteen homolog)和 TEN1(telomere length regulation protein TEN1 homolog)。shelterin 保护端粒避免 DNA 损伤应答,通过端粒酶调节端粒长度;而 CST 控制端粒酶对端粒的延伸和 C 链插入序列的合成^[6](表 1、图 1)。

1 shelterin

端粒 DNA 重复序列与 shelterin 结合,可以区分染色体正常末端和损伤断裂部位,抑制 DNA 修复反应,调控端粒酶维持端粒长度。裂殖酵母中 shelterin 由 6 种蛋白组成,即 TAZ1、RAP1、POZ1、TPZ1、CCQ1 和 POT1。TAZ1 结合端粒双链 DNA,Pot1 结合端粒单链 DNA^[7]。哺乳动物 shelterin 由 TRF1、TRF2、POT1、TIN2、RAP1 和 TPP1 组成。其中哺乳动物端粒蛋白 TRF1 和 TRF2,与酵母 TAZ1 同源^[8],结合双链

端粒 DNA,RAP1 单独与 TRF2 相互作用,提高 TRF2 对端粒重复序列的特异性^[9]。POT1 结合单链端粒 DNA,POT1-TPP1 复合体对单链端粒 DNA 有高度特异性^[10]。TIN2 是复合体的关键蛋白,位于 shelterin 的中心位置,同时与 TRF1、TRF2 和 TPP1 相互作用,保证复合体的稳定^[10-11](表 2)。

表 1 不同物种端粒生物学特点
Table 1 Telomere biology of different species

物种 Species	端粒长度(kb) Telomere length	端粒酶活性 Telomerase activity	年龄相关的 端粒损耗 Age related telomere attrition
人 Human	8~20	无 No	有 Yes
猕猴 Macaque monkeys	15~18	无 No	有 Yes
小鼠 Mouse	25~500	有 Yes	/
兔 Rabbit	20~50	无 No	有 Yes
犬 Domestic dog	10~23	无 No	有 Yes
猫 Domestic cat	5~26	无 No	有 Yes
绵羊 Sheep	9~23	无 No	有 Yes
猪 Pig	10~30	不明 Unclear	有 Yes
驴 Donkey	7~21	无 No	有 Yes
鸡 Chicken	0.5~4000	无 No	有 Yes
斑马鱼 Zebra fish	2~10	有 Yes	/

注:端粒酶活性。有:大多数成体组织中可检测到端粒酶活性;无:多个成体组织中未检测到端粒酶活性。
Note. Telomerase activity. Yes, Telomerase activity is detected in the majority of somatic tissues. No, Telomerase activity is undetectable in multiple somatic tissues.

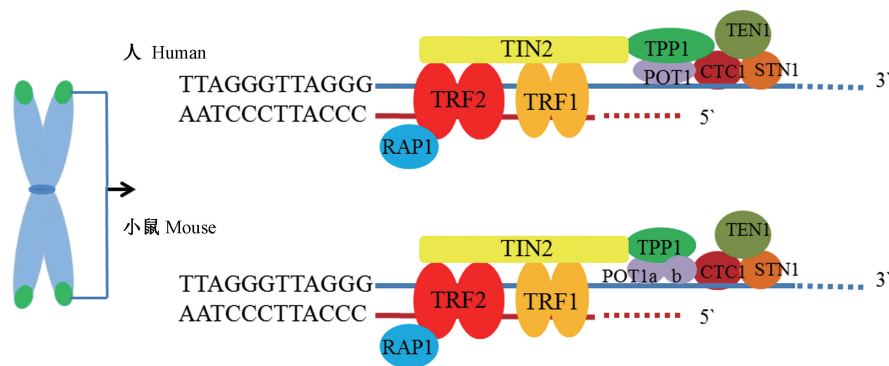


图 1 人和小鼠 shelterin 复合体和 CST 复合体示意图
Figure 1 Schematic of human and mouse shelterin complex and CST complex

表 2 不同物种 shelterin 复合体的组成
Table 2 Shelterin complex of different species

物种 Species	Shelterin 复合体 Shelterin complex
人 Human	TRF1、TRF2、POT1、TIN2、RAP1、TPP1
小鼠 ^[12] Mouse	TRF1、TRF2、POT1a、POT1b、TIN2、RAP1、TPP1
裂殖酵母 <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	TAZ1、RAP1、POZ1、TPZ1、CCQ1、POT1
酿酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	RIF1、RIF2、RAP1、STN1/TEN1、CDC13
纤毛虫 Ciliates	TEBP α 、TEBP β

1.1 TRF1 和 TRF2

二者有 TRF 同源结构域 (TRF homology domain, TRFH) 和 C 末端 SANT/Myb DNA 结合域。TRF1 可以使端粒 DNA 成环状配对伸展, TRF2 可以使端粒 DNA 形成 T 环结构。TRF 同源结构域可以结合其它蛋白。TRF1 和 TRF2 蛋白表达丰富, 可以覆盖每个端粒。二者都可以被磷酸化、磺酰化、对羟基化、泛素化等^[13-14]。

已有研究发现, 二者可通过多种方式维持端粒稳定。在人和小鼠中随年龄增长, TRF1 水平降低。提高 TRF1 的表达, 可延缓衰老相关生理变化的发生。在小鼠不同组织中 TRF1 缺失可影响干细胞功能, 从而导致组织稳态失衡^[15]。当小鼠端粒缺失 TRF1 时, DNA 损伤修复和染色质重塑相关的蛋白会发生重组。小鼠 TRF1 可抑制早幼粒细胞白血病蛋白 (promyelocytic leukemia, PML)、breast cancer 1 (BRCA1)、染色质结构维持 (structural maintenance of chromosomes, SMC) 5/6 复合体的累积, 这些蛋白可促进同源重组和端粒模板 RNA 的翻译^[16]。

在细胞周期中, 周期依赖性激酶 2 (cyclin-dependent kinases 2, CDK2) 调控 TRF2 的磷酸化, 控制 T 环的形成, 从而保护端粒, 并避免不必要的 DNA 损伤应答^[17]。TRF2 的 TRFH 可以抑制 ATM (ataxia-telangiectasia mutated) 的活性, 同时也参与调节 T 环的形成^[18]。TRF2 通过主动招募起始点识别复合物 2 (origin recognition complex, ORC2) 到端粒, 介导端粒的复制启动, 以防止端粒功能障碍, 而蔗糖非发酵蛋白 2 同源物 (sucrose non-fermenting protein 2 homologous, SNF2H) 敲除会减少 ORC2 的募集和端粒的复制启动^[19]。TRF2 还招募核仁蛋白 TCOF1 协调端粒的转录复制^[20]。

但是, 在小鼠胚胎干细胞 (embryonic stem cell,

ESCs, 简称 ES) 和上皮干细胞的研究中发现, TRF2 在端粒保护中可有可无。ES 细胞中 T 环的形成不依赖于 TRF2^[21]。TRF2 敲除 ES 并未出现端粒融合现象, 仍可以无限扩增^[22]。

1.2 RAP1

RAP1 是酵母和哺乳动物中唯一保守的 shelterin 蛋白。在甲基营养型耐热多形汉逊酵母 DL-1 中, RAP1 有 2 个基因即 HpRAP1 A 和 HpRAP1 B。HpRAP1 B 可识别保护端粒 DNA, HpRAP1 A 与亚端粒区域相关。在核糖体蛋白基因的启动子中, 有 HpRAP1 A 和 HpRAP1 B 的特有结合位点^[23]。裂殖酵母中酪蛋白激酶 2 可以使 RAP1 多个位点磷酸化, 从而促进 RAP1 与 BQT4 和 POZ1 的相互作用, 进而维持端粒与核被膜的距离, 促使染色质沉默结构的形成^[7]。酿酒酵母 RAP1 在代谢、炎症、氧化应激等反应中都有重要作用^[24]。

哺乳动物中 RAP1 是 TRF2 结合伴侣, 与 TRF2 形成复合体, 其在端粒中的位置和稳定性依赖于 TRF2, 敲除 TRF2 时, RAP1 也会消失。在端粒酶缺失的情况下, RAP1 对端粒的维持和保护具有重要作用。与端粒酶缺失小鼠相比, 同时缺失 RAP1 和端粒酶的小鼠, 其生存能力随传代进行性降低^[25]。在仍有增殖能力的人老化细胞中, 下调 RAP1 会导致端粒丢失融合; 在端粒酶阳性细胞系中, 当端粒酶被抑制时, 敲除 RAP1 会增加端粒的融合^[26]。在人老化细胞中, RAP1 与组蛋白异四聚体结合, 参与核小体位移, 从而调节基因表达, 但不影响细胞衰老进程^[27]。

在人间充质干细胞和神经干细胞中, RAP1 负调节端粒长度, 同时作为转录调节因子, 调节基因启动子的甲基化状态。RAP1 缺失可以促进人间充质干细胞的自我更新, 延缓其衰老; 在人神经干细胞中未见类似作用^[28]。成纤维细胞自然老化过程中 TRF2 和 RAP1 水平降低, 相较于 TRF2, RAP1 更稳定。在老化细胞中, 细胞核和细胞质中的 RAP1 含量相似, 过氧化氢处理的细胞, 其细胞核中的 RAP1 减少, 而细胞质中的没有改变^[29]。

1.3 TIN2

TIN2 位于 shelterin 的中心位置, 可以结合 TRF1、TRF2 和 TPP1, 还介导端粒酶与端粒的结合^[30], TIN2 与 TPP1/POT1 协作可以刺激端粒酶活性^[11]。TIN2 有 3 种异构体, 即 TIN2L、TIN2M、TIN2S, 三者都位于端粒中, TIN2 异构体在生化特性

和功能上完全不同, TIN2 编码基因突变的病人其 shelterin 功能发生改变^[31]。在先天性角化不良症中 TIN2 发生突变,在端粒酶阴性成体细胞中会出现端粒功能失调表型,在端粒酶阳性干细胞中则加重端粒的维持问题^[32]。人抗原 R (human antigen R, HuR) 结合 TIN2 mRNA 3' 非翻译区。HuR 耗竭时,可以促进 TIN2 表达,导致线粒体 TIN2 增加,使 ROS 增加,从而诱导生长停滞,但不影响细胞核 TIN2^[33]。Siah2 (seven-in-absentia homolog 2) 蛋白具有 E3 泛素连接酶的活性,可调节一些蛋白的泛素化和降解, TIN2 是其中之一。在体内, TIN2 与 Siah2 结合后被泛素化, Siah2 过表达可以导致 TIN2 蛋白降解,从而使端粒中的 TIN2 缺失;而敲除 Siah2 后, TIN2 稳定性增加^[34]。

1.4 POT1

POT1 是存在于多种生物的一种单链 DNA 结合蛋白,与富含鸟嘌呤的单链 DNA 3' 悬浮端结合^[35]。人 POT1 是一个管家基因,有 22 个外显子,在人的各种组织细胞中广泛表达。POT1 启动子活性与 POT1 表达和端粒长度正相关,与人端粒酶表达呈负相关^[36]。POT1 与 TPP1 结合形成复合体,此复合体对单链端粒 DNA 有高度特异性^[12]。POT1-TPP1 复合体可以解开端粒二级结构,提高端粒酶活性^[37]。在真核细胞多种活动中, microRNAs (miRNAs) 可以调节基因表达, miR-185 可直接作用于 POT1 3' 非翻译区。在人肿瘤细胞和原代成体细胞中, miR-185 过表达都可导致端粒功能失调。在原代细胞中, miR-185 过表达可加速衰老进程^[38]。

啮齿类动物有 2 个 POT1 蛋白,即 POT1a 和 POT1b,二者密切相关, POT1a 抑制 ATR (ataxia telangiectasia and Rad3-related kinase) 介导的 DNA 损伤修复机制,避免端粒末端被识别为 DNA 断端, POT1b 调控端粒 3' 悬浮端长度。人 POT1 同时具有这两种功能。在人细胞中, CST 复合体结合 POT1 和 TPP1,在小鼠中只结合 POT1b。POT1 与单链 DNA 结合,伸展 G4 DNA 结构,抑制同源重组介导的修复反应,从而稳定和保护端粒单链 DNA;抑制 ATR 介导的 DNA 反应。在黑色素瘤、慢性淋巴细胞白血病等多种肿瘤中,发现 POT1 突变^[39]。

1.5 TPP1

TPP1 的 N 末端有 7 个寡核苷酸/寡糖结合结构域 (oligonucleotide/oligosaccharide binding, OB),与端粒酶密切相关;人 TPP1 N 末端 OB 结构域突变

可降低其对端粒酶的刺激作用,影响端粒酶与端粒的结合,导致端粒缩短^[40]。TPP1 C 末端结构域介导其与 TIN2 的相互作用^[41]。敲降小鼠 TPP1 会诱导 p53 依赖性生长停滞和 ATM 依赖性 DNA 损伤应答。在小鼠胚胎成纤维细胞中, TPP1 基因缺失增加姐妹染色体端粒融合,减少端粒酶与端粒的结合^[42]。

在哺乳动物细胞中 TPP1 与细胞周期调控因子激酶 NEK6 相互作用,在 G2/M 期 NEK6 介导 TPP1 Ser255 的磷酸化,从而调节端粒酶活性及其与 TPP1 的相互作用。而 POT1 负调控 TPP1 Ser255 的磷酸化^[43]。在人肺癌细胞中, TPP1 OB 结构域蛋白抑制端粒酶募集到端粒上,从而抑制细胞增殖,诱导细胞凋亡^[44]。人多能干细胞端粒长度设定点的调控主要依赖于 TPP1, TPP1L104A 突变可改变人干细胞端粒长度设定点^[45]。

2 CST

CST 复合体由 3 个亚单位组成,即 CTC1、STN1 和 TEN1。酵母 CDC13 是哺乳动物 CTC1 的同源物。CST 复合体位于单链端粒 DNA,限制端粒酶作用,以防悬浮端过度延伸。TEN1 有助于稳定 CTC1-STN1 与端粒 DNA 的相互作用。CTC1 可以刺激 DNA 聚合酶 α (Pol α),在端粒复制中起关键作用。STN1-TEN1 的作用类似复制蛋白 A,在复制压力下使细胞正常复制。

小鼠 CTC1 基因缺失导致 C 链端粒 DNA 的迅速丢失,从而导致端粒的灾难性丢失和过早死亡。CTC1 在 CST 复合体中起关键作用,其突变对细胞环境具有致死性。已知 CTC1 的多个自发性突变与 Coats plus disease (CP) 和先天性角化不良 (dyskeratosis congenita, DC) 相关。STN1 有 2 个结构域, N 末端 OB 区和 C 末端 STN1 结构域, TEN1 只有 1 个 OB 结构域。人 TEN1 不与单链端粒 DNA 相互作用。而人 STN1 与单链端粒 DNA 亲和力高,但缺乏特异性。STN1-TEN1 复合物的形成对于正常发挥 CST 复合物的功能至关重要。STN1 突变与 CP 相关^[6]。

尽管在纤毛虫、酵母、植物和哺乳动物中都存在 CST 复合体,序列同源性较低,物种间差异显著。酵母和人的 CST 复合体中, STN1 和 TEN1 在结构上高度保守,而 CST 复合体的重要组分 CDC13 和 CTC1,没有序列同源性,在长度和功能上差异显著。

酵母 CDC13 与端粒酶全酶中的 EST1 相互作用,从而募集端粒酶到端粒上。人 CTC1 则抑制端粒酶到端粒的募集。近期研究发现嗜热四膜虫的 p75-p45-p19 与 CST 序列没有同源性,但其功能类似纤毛虫 CST 复合物,协调 G 链和 C 链的合成^[46]。

3 端粒酶

端粒酶是一种核蛋白,人端粒酶核蛋白由端粒酶 RNA (telomerase RNA component, TERC)、端粒酶反转录酶 (telomerase reverse transcriptase, TERT),以及附属蛋白 dyskerin、端粒酶卡哈尔体蛋白 (telomerase Cajal Body protein 1 homolog, TCAB1)、核糖核蛋白 NOP10、NHP2、GAR1 组成^[47]。不同物种间,TERC 的大小和序列差异显著,hTERC 有 451 个核苷酸 (nucleotides, nt),纤毛虫 ~150 nt,酿酒酵母 ~1150 nt,粉色面包霉菌 >2000 nt。TERC 的大小和序列并非高度保守,所有 TERC 有 4 个功能特性:反转录模板、假结结构域、与 TERT 相互作用的干环 (stem-loop)、RNA 稳定所需的 3' 元素。hTERC 由 RNA 聚合酶 II 从其自身启动子转录而来。多数生物中,TERT 蛋白含有 4 个功能结构域:端粒酶 N 末端结构域 (telomerase essential N-terminal domain, TEN)、TERC 结合结构域 (telomerase RNA binding domain, TRBD)、反转录酶结构域、C 端扩展区 (C-terminal extension, CTE)。hTERT 中 TEN 在端粒酶募集至端粒的过程中起关键作用,参与催化端粒重复序列的合成^[9,13,48]。

各组织中端粒酶活性,恒河猴、日本猕猴、食蟹猴与人相似:在多数成体组织中端粒酶活性受到抑制,在脾、胸腺、消化道中有弱活性,睾丸中活性较高。在牛、羊、马、鹿的成纤维细胞和各种绵羊或马的成体组织中均未检测到端粒酶活性。猪的多个成体组织,如淋巴结、肺、肾和小肠等具有显著水平的端粒酶活性^[49]。提高端粒酶活性可以促进大鼠和人颗粒细胞、小鼠卵巢中类固醇激素基因的表达和激素生成^[50]。

端粒酶附属蛋白同样具有重要作用。dyskerin 的编码基因是 DKC1,位于 X 染色体。dyskerin 可以稳定 hTR,增强 hTERT 活性。dyskerin 过多或过少都会导致癌症,乳腺癌和前列腺癌中 dyskerin 水平较高,dyskerin 水平降低与脑垂体癌变有关,DC 中 dyskerin 水平较低。DKC1 基因突变小鼠可发生多种恶性肿瘤^[51]。NHP2 敲除可以抑制 TERT 表达,

破坏端粒酶复合体的稳定,从而抑制细胞增殖,促进细胞凋亡^[52];NHP2 的致病性突变减少小核仁 RNA (small nucleolar RNAs, snoRNAs) 的累积,影响核糖体 RNA (ribosome RNA, rRNA) 的加工处理,NHP2 缺失可减少 rRNA 生成,导致肺纤维化和 Høyerall-Hreidarsson 综合征^[53]。NOP10 可预测肺癌的预后,其相关 snoRNAs 可以促进肺癌细胞的生长、增殖、迁移和侵袭^[54]。在乳腺癌中 NOP10 高表达也预示预后不良^[55]。DKC1 和 NOP10 突变导致肾病综合征,包括白内障、听力障碍、小肠结肠炎等^[56]。在癌细胞中,抑制 TCAB1 表达,可减少 p21 蛋白降解,从而诱导细胞衰老^[57]。

4 总结与展望

端粒结合蛋白、端粒酶,以及端粒酶附属蛋白,在维持端粒长度和稳定中起重要作用,这些蛋白基因突变或表达量改变,可导致多种疾病,如以短端粒为特点的端粒病,包括先天性角化不良、肺纤维化、再生障碍性贫血等^[58];在多种肿瘤中也发现端粒结合蛋白的突变,如在乳腺、胃、甲状旁腺等肿瘤中都有 POT1 突变^[12]。与端粒功能障碍相关的疾病,在治疗时,可以将端粒结合蛋白、端粒酶、端粒酶附属蛋白等作为治疗靶点。

已有研究表明,哺乳动物端粒的长度与寿命呈负相关,端粒酶活性与体重呈负相关。小鼠的寿命较短,体重较小,其端粒较长,各组织有不同程度端粒酶活性;而人的寿命较长,体重较大,端粒较短,多数组织无端粒酶活性,因此人有复制性衰老现象^[59]。端粒酶敲除的啮齿类动物模型是研究端粒和端粒酶基本生物特性的良好模型,但很难用于深入研究人类衰老和疾病中端粒和端粒酶的作用。要深入研究端粒和端粒酶在人类疾病中的作用,还需寻找合适的模型。

参考文献:

- [1] Schmid M, Steinlein C. Chromosome banding in amphibia. XXXIV. intrachromosomal telomeric DNA sequences in anura [J]. Cytogenet Genome Res, 2016, 148(2-3): 211-226.
- [2] Korandova M, Krucek T, Szakosova K, et al. Chronic low-dose pro-oxidant treatment stimulates transcriptional activity of telomeric retroelements and increases telomere length in Drosophila [J]. J Insect Physiol, 2018, 104: 1-8.
- [3] Ji G, Liu K, Chen C, et al. Conservation and characterization of unique porcine interstitial telomeric sequences [J]. Sci Chin Life Sci, 2012, 55(12): 1029-1037.

- [4] Bateson M. Cumulative stress in research animals: Telomere attrition as a biomarker in a welfare context [J]. *Bioessays*, 2016, 38(2): 201–212.
- [5] Zhao Y, Hoshiyama H, Shay JW, et al. Quantitative telomeric overhang determination using a double-strand specific nuclease [J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(3): e14.
- [6] Amir M, Khan P, Queen A, et al. Structural features of nucleoprotein CST/shelterin complex involved in the telomere maintenance and its association with disease mutations [J]. *Cells*, 2020, 9(2): 359.
- [7] Inoue H, Horiguchi M, Ono K, et al. Casein kinase 2 regulates telomere protein complex formation through Rap1 phosphorylation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(13): 6871–6884.
- [8] Bonetti D, Rinaldi C, Vertemara J, et al. DNA binding modes influence Rap1 activity in the regulation of telomere length and MRX functions at DNA ends [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(5): 2424–2441.
- [9] Veverka P, Janovic T, Hofr C. Quantitative biology of human shelterin and telomerase; searching for the weakest point [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 2020(13): 3186.
- [10] Hu C, Rai R, Huang C, et al. Structural and functional analyses of the mammalian TIN2-TPP1-TRF2 telomeric complex [J]. *Cell Res*, 2017, 27(12): 1485–1502.
- [11] Pike AM, Strong MA, Ouyang JPT, et al. TIN2 functions with TPP1/POT1 to stimulate telomerase processivity [J]. *Mol Cell Biol*, 2019, 39(21): e00593–e00618.
- [12] Aramburu T, Plucinsky S, Skordalakes E. POT1-TPP1 telomere length regulation and disease [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2020, 18: 1939–1946.
- [13] Smith EM, Pendlebury DF, Nandakumar J. Structural biology of telomeres and telomerase [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(1): 61–79.
- [14] Palm W, de Lange T. How shelterin protects mammalian telomeres [J]. *Annu Rev Genet*, 2008, 42: 301–334.
- [15] Derevyanko A, Whittemore K, Schneider RP, et al. Gene therapy with the TRF1 telomere gene rescues decreased TRF1 levels with aging and prolongs mouse health span [J]. *Aging Cell*, 2017, 16(6): 1353–1368.
- [16] Porreca RM, Herrera-Moyano E, Skourti E, et al. TRF1 averts chromatin remodelling, recombination and replication dependent-break induced replication at mouse telomeres [J]. *Elife*, 2020, 9: e49817.
- [17] Sarek G, Kotsantis P, Ruis P, et al. CDK phosphorylation of TRF2 controls t-loop dynamics during the cell cycle [J]. *Nature*, 2019, 575(7783): 523–527.
- [18] Van Ly D, Low RRRJ, Frolich S, et al. Telomere loop dynamics in chromosome end protection [J]. *Mol Cell*, 2018, 71(4): 510–525, e516.
- [19] Drosopoulos WC, Deng Z, Twayana S, et al. TRF2 mediates replication initiation within human telomeres to prevent telomere dysfunction [J]. *Cell Rep*, 2020, 33(6): 108379.
- [20] Nie X, Xiao D, Ge Y, et al. TRF2 recruits nucleolar protein TCOF1 to coordinate telomere transcription and replication [J]. *Cell Death Differ*, 2021, 28(3): 1062–1075.
- [21] Ruis P, Van Ly D, Borel V, et al. TRF2-independent chromosome end protection during pluripotency [J]. *Nature*, 2021, 589(7840): 103–109.
- [22] Markiewicz-Potoczny M, Lobanova A, Loeb AM, et al. TRF2-mediated telomere protection is dispensable in pluripotent stem cells [J]. *Nature*, 2021, 589(7840): 110–115.
- [23] Malyavko AN, Petrova OA, Zvereva MI, et al. Functional duplication of Rap1 in methylotrophic yeasts [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 7196.
- [24] Cai Y, Kandula V, Kosuru R, et al. Decoding telomere protein Rap1: Its telomeric and nontelomeric functions and potential implications in diabetic cardiomyopathy [J]. *Cell Cycle*, 2017, 16(19): 1765–1773.
- [25] Martinez P, Gomez-Lopez G, Pisano DG, et al. A genetic interaction between RAP1 and telomerase reveals an unanticipated role for RAP1 in telomere maintenance [J]. *Aging Cell*, 2016, 15(6): 1113–1125.
- [26] Lototska L, Yue JX, Li J, et al. Human RAP1 specifically protects telomeres of senescent cells from DNA damage [J]. *EMBO Rep*, 2020, 21(4): e49076.
- [27] Song S, Perez JV, Svitko W, et al. Rap1-mediated nucleosome displacement can regulate gene expression in senescent cells without impacting the pace of senescence [J]. *Aging Cell*, 2020, 19(1): e13061.
- [28] Zhang X, Liu Z, Liu X, et al. Telomere-dependent and telomere-independent roles of RAP1 in regulating human stem cell homeostasis [J]. *Protein Cell*, 2019, 10(9): 649–667.
- [29] Swanson MJ, Baribault ME, Israel JN, et al. Telomere protein RAP1 levels are affected by cellular aging and oxidative stress [J]. *Biomed Rep*, 2016, 5(2): 181–187.
- [30] Frank AK, Tran DC, Qu RW, et al. The shelterin TIN2 subunit mediates recruitment of telomerase to telomeres [J]. *PLoS Genet*, 2015, 11(7): e1005410.
- [31] Nelson ND, Dodson LM, Escudero L, et al. The C-terminal extension unique to the long isoform of the shelterin component TIN2 enhances its interaction with TRF2 in a phosphorylation- and dyskeratosis congenita cluster-dependent fashion [J]. *Mol Cell Biol*, 2018, 38(12): e00025–e00043.
- [32] Frescas D, de Lange T. A TIN2 dyskeratosis congenita mutation causes telomerase-independent telomere shortening in mice [J]. *Genes Dev*, 2014, 28(2): 153–166.
- [33] Li J, Chang J, Tian J, et al. A rare variant P507L in TPP1 interrupts TPP1-TIN2 interaction, Influences telomere length, and confers colorectal cancer risk in chinese population [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2018, 27(9): 1029–1035.
- [34] Bhanot M, Smith S. TIN2 stability is regulated by the E3 ligase Siah2 [J]. *Mol Cell Biol*, 2012, 32(2): 376–384.
- [35] Chaires JB, Gray RD, Dean WL, et al. Human POT1 unfolds G-quadruplexes by conformational selection [J]. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48(9): 4976–4991.

- [36] Zeng L, Wang YL, Wang F, et al. Construction of the POT1 promoter report gene vector, and the effect and underlying mechanism of the POT1 promoter in regulating telomerase and telomere length [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(6): 7232–7240.
- [37] Mullins MR, Rajavel M, Hernandez-Sanchez W, et al. POT1-TPP1 binding and unfolding of telomere DNA discriminates against structural polymorphism [J]. *J Mol Biol*, 2016, 428(13): 2695–2708.
- [38] Li T, Luo Z, Lin S, et al. MiR-185 targets POT1 to induce telomere dysfunction and cellular senescence [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(14): 14791–14807.
- [39] Wu Y, Poulos RC, Reddel RR. Role of POT1 in human cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(10): 2739.
- [40] Grill S, Tesmer VM, Nandakumar J. The N terminus of the OB domain of telomere protein TPP1 is critical for telomerase action [J]. *Cell Rep*, 2018, 22(5): 1132–1140.
- [41] Sandhu R, Wei D, Sharma M, et al. An N-terminal flag-tag impairs TPP1 regulation of telomerase function [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 512(2): 230–235.
- [42] Rajavel M, Mullins MR, Taylor DJ. Multiple facets of TPP1 in telomere maintenance [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1844(9): 1550–1559.
- [43] Hirai Y, Tamura M, Otani J, et al. NEK6-mediated phosphorylation of human TPP1 regulates telomere length through telomerase recruitment [J]. *Genes Cells*, 2016, 21(8): 874–889.
- [44] Zhu J, Liu W, Chen C, et al. TPP1 OB-fold domain protein suppresses cell proliferation and induces cell apoptosis by inhibiting telomerase recruitment to telomeres in human lung cancer cells [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2019, 145(6): 1509–1519.
- [45] Boyle JM, Hennick KM, Regalado SG, et al. Telomere length set point regulation in human pluripotent stem cells critically depends on the shelterin protein TPP1 [J]. *Mol Biol Cell*, 2020, 31(23): 2583–2596.
- [46] Rice C, Skordalakes E. Structure and function of the telomeric CST complex [J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2016, 14: 161–167.
- [47] Romaniuk A, Paszel-Jaworska A, Toton E, et al. The non-canonical functions of telomerase: to turn off or not to turn off [J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(1): 1401–1411.
- [48] Schmidt JC, Cech TR. Human telomerase: biogenesis, trafficking, recruitment, and activation [J]. *Genes Dev*, 2015, 29(11): 1095–1105.
- [49] Gorbunova V, Seluanov A. Coevolution of telomerase activity and body mass in mammals: from mice to beavers [J]. *Mech Ageing Dev*, 2009, 130(1–2): 3–9.
- [50] Mordechai A, Wasserman M, Abramov M, et al. Increasing telomerase enhanced steroidogenic genes expression and steroid hormones production in rat and human granulosa cells and in mouse ovary [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2020, 197: 105551.
- [51] Alnafakh R, Saretzki G, Midgley A, et al. Aberrant dyskerin expression is related to proliferation and poor survival in endometrial cancer [J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(2): 273.
- [52] Tang S, Wu W, Wan H, et al. Knockdown of NHP2 inhibits hepatitis B virus X protein-induced hepatocarcinogenesis via repressing TERT expression and disrupting the stability of telomerase complex [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(19): 19365–19374.
- [53] Benyelles M, O'Donohue MF, Kermasson L, et al. NHP2 deficiency impairs rRNA biogenesis and causes pulmonary fibrosis and Hoyeraal-Hreidarsson syndrome [J]. *Hum Mol Genet*, 2020, 29(6): 907–922.
- [54] Cui C, Liu Y, Gerloff D, et al. NOP10 predicts lung cancer prognosis and its associated small nucleolar RNAs drive proliferation and migration [J]. *Oncogene*, 2021, 40(5): 909–921.
- [55] Elsharawy KA, Althobiti M, Mohammed OJ, et al. Nucleolar protein 10 (NOP10) predicts poor prognosis in invasive breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2021, 185(3): 615–627.
- [56] Balogh E, Chandler JC, Varga M, et al. Pseudouridylation defect due to DKC1 and NOP10 mutations causes nephrotic syndrome with cataracts, hearing impairment, and enterocolitis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(26): 15137–15147.
- [57] Niu J, Gao RQ, Cui MT, et al. Suppression of TCAB1 expression induced cellular senescence by lessening proteasomal degradation of p21 in cancer cells [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1): 26.
- [58] Grill S, Nandakumar J. Molecular mechanisms of telomere biology disorders [J]. *J Biol Chem*, 2020, 296: 100064.
- [59] Calado RT, Dumitriu B. Telomere dynamics in mice and humans [J]. *Semin Hematol*, 2013, 50(2): 165–174.

[收稿日期]2021-05-12