

MAJA BOCZKOWSKA, JERZY PUCHALSKI

Polska Akademia Nauk

Ogród Botaniczny Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej w Powsinie

Prawdziwka 2, 02-973 Warszawa

E-mail: m.boczowska@ihar.edu.pl

TELOMERY I TELOMERAZA W KOMÓRKACH ROŚLINNYCH

WSTĘP

Historia badań nad telomerami i telomerazą sięga lat 30-tych ubiegłego wieku. Pierwsze doniesienia dotyczące funkcji końców chromosomów pochodzą z pracy Hermana Mullera nad mutantami *Drosophila melanogaster*. Na podstawie obserwacji aberracji chromosomowych sformułował on tezę, że końce chromosomu muszą pełnić w stosunku do niego funkcję ochronne. Jest on również autorem terminu telomer, który stworzył poprzez połączenie greckich słów: *telos* – koniec i *meros* – część (MULLER 1938). Barbara McClintock prowadząc badania nad cyklem pęknięcia-fuzja-mostek chromosomów *Zea mays* potwierdziła jednoznacznie funkcję telomerów (MCCLINTOCK 1941). Nie-

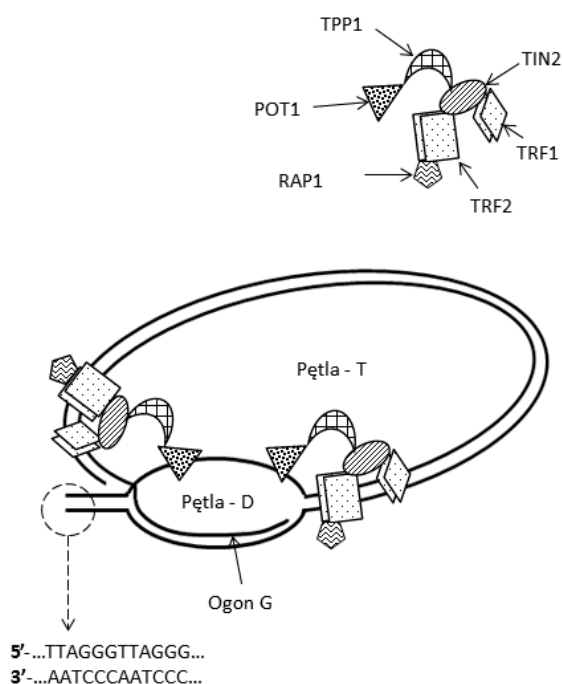
stety przez kolejne trzy dekady właściwie nie prowadzono badań nad telomerami. Dopiero w latach 70-tych ubiegłego wieku wzrosło zainteresowanie tym tematem. Po raz pierwszy sekwencję telomerów opisali BLACKBURN i GALL w 1978 r. u orzęska *Tetrahymena*. Na odkrycie enzymu związanego z telomerami, telomerazy, przyszło poczekać jeszcze 7 lat. W 1985 roku GREIDER i BLACKBURN odkryły specyficzną dla telomerów terminalną transferazę. Odkrycie to, wraz z wcześniejszym wyjaśnieniem roli sekwencji telomerowego DNA w ochronie chromosomów przed degradacją (SZOSTAK i BLACKBURN 1982), zostało wyróżnione nagrodą Nobla w 2009r.

TELOMERY

Obecnie telomery definiuje się jako wyspecjalizowane struktury o nukleoproteinywnym charakterze, zlokalizowane na końcach chromosomów organizmów eukariotycznych, w obrębie których nie występują sekwencje kodujące.

U większości eukariontów telomerowe DNA jest dwuniciową cząsteczką o prostej sekwencji tandemowej, definiowanej przez matrycę RNA telomerazy (FAJKUS i współaut. 2005). Na końcu 3' występuje tzw. „ogon G”, czyli jednoniciowy fragment o różnej długości, charakteryzujący się wysoką zawartością guaniny (ENDERSON i BLACKBURN 1989, ZHAO i współaut. 2009). „Ogon G” poprzez

zagięcie i wplecenie w dwuniciowy fragment telomerowego DNA tworzy trzeciorzędową strukturę nazywaną pętlą-T. Strukturę tę zaobserwowano u ssaków (GRIFFITH i współaut. 1999, PALM i DE LANGE 2008), a w świecie roślin u *Pisum sativum* (CESARE i współaut. 2003). W miejscu wplecenia „ogona G” dochodzi do odsunięcia jednej z nici dwuniciowego w tym miejscu telomerowego DNA i powstania struktury zwanej pętlą-D (GREIDER 1999). Uważa się, że utworzenie pętli chroni końcowy fragment telomeru przed rozpoznaniem go przez mechanizmy naprawcze komórki, jako miejsca pęknięcia dwuniciowej cząsteczki DNA oraz ogranicza dostęp telo-



Ryc. 1. Schemat budowy telomeru oraz lokalizacji sześciu podstawowych białek telomero-
wych.

merazy (GRIFFITH i współaut. 1999, PALM i DE LANGE 2008). Schematyczną budowę telomeru przedstawiono na Ryc. 1.

Monomer telomerowy jest stosunkowo silnie zakonserwowany ewolucyjnie o ogólnym wzorze budowy 5'-T_x(A)G_y-3'. Po raz pierwszy siedmionukleotydową sekwencję telomerową o wzorze TTTAGGG wykryto u *Arabidopsis thaliana* (RICHARDS i AUSBEL 1988). Późniejsze badania, bazujące głównie na technice FISH, potwierdziły występowanie tej sekwencji zarówno u jednokomórkowych glonów – *Chlorella vulgaris* i *Chlorella variabilis* (HIGASHIYAMA i współaut. 1995, BLANK i współaut. 2010), u mszaków – *Pellia epiphylla* (FUCHS i współaut. 1995), u nagonasiennych – *Pinus sylvestris* (FUCHS i współaut. 1995), jak i gatunków okrytonasiennych np. u *Lycopersicon esculentum* (GNAL i współaut. 1991) czy u *Secale cereale* (SCHWARZACHER i HESLOP-HARRISON 1991). Jak się okazało, w świecie roślin istnieje jednak wiele odstępstw od powyżej przedstawionej budowy monomeru telomerowego. Jednym z nich jest gatunek jednokomórkowej zielenicy *Chlamidomonas reinwardtii*, u którego sekwencja telomerowa bazuje na powtórzeniach TTTTAGGG (PETRACEK i współaut. 1990). Istnieje również liczna grupa gatunków roślin jednoli-

ściennych należących do rzędu Asparagales (około 6300 gatunków), u której występują charakterystyczne dla człowieka i innych kręgowców powtórzenia TTAGGG (ADAMS i współaut. 2001). Tajemnicą jednak pozostaje budowa telomerów u gatunków z rodzaju *Allium*; nie występuje tam żadna z dotychczas poznanych sekwencji telomerowych (FUCHS i współaut. 1995).

Poza omówionymi powyżej różnymi typami budowy sekwencji telomerowej, powszechnie obserwuje się występowanie różnych odmian powtórzeń tandemowych w obrębie chromosomu (GNAL i współaut. 1991, RICHARDS i współaut. 1993). Zjawisko to powstaje na skutek nie całkowitej dokładności telomerazy w trakcie wydłużania telomerowego DNA, w efekcie czego powstają powtórzenia o zróżnicowanej liczbie nukleotydów T i G (TSUJIMOTO i współaut. 1997, 1999).

Długość telomerów podlega precyzyjnej kontroli genetycznej i rozwojowej (GREIDER 1996) i waha się od 0,5 kb u *Chlorella vulgaris*, przez 30–60 kb u *Solanum esculentum*, do 150 kb u *Nicotiana tabacum* (GNAL i współaut. 1991, HIGASHIYAMA i współaut. 1995, FAJKUS i współaut. 1995). Za skracanie telomerów w głównej mierze odpowiada proces niepełnej replikacji końców, który prowadzi do utraty końcowego fragmentu cząsteczki DNA podczas każdego podziału komórkowego. Jednak w przypadku roślin, aktywność telomerazy jest obserwowana głównie w tkankach merystematycznych, w których zachodzi większość podziałów komórkowych. Skracanie się telomerów w tym przypadku nie jest tak znaczące (OGUCHI i współaut. 1999). Nie zaobserwowano istotnych zmian w długości sekwencji telomerowej podczas ontogenezy *Silene latifolia* i *Arabidopsis thaliana* (RIHA i współaut. 1998, FIZGERALD i współaut. 1999). Natomiast w przypadku *Hordeum vulgare* dochodzi do utraty sekwencji telomerowej o długości 50 kb podczas rozwoju zarodka (KILIAN i współaut. 1995), co wskazuje na występowanie u tego gatunku mechanizmu szybkiego usuwania telomerów. Podobny mechanizm opisano u *Sacharomyces cerevisiae* (LI i LUSTIG 1996). Do wydłużania telomerów dochodzi zaś w komórkach kallusa w kulturach *in vitro*. Zmiany tego typu zaobserwowano na przykład u *Hordeum vulgare* i *Silene latifolia* (KILIAN i współaut. 1995, RIHA i współaut. 1998).

BIAŁKA TELOMEROWE

Budowa i poprawne funkcjonowanie telomerów pozostaje w ścisłym związku z obecnością szeregu białek wchodzących w skład kompleksu telomerowego. Mimo iż sama sekwencja telomerowa jest stosunkowo silnie zakonserwowana ewolucyjnie, to grupa wiążących się z nią białek charakteryzuje się dużym zróżnicowaniem wśród dotychczas przebadanych organizmów. U człowieka i pozostałych ssaków telosom zbudowany jest z sześciu białek, a jedynie trzy z nich łączą się w bezpośredni sposób z sekwencją telomerową. TRF1 i TRF2 (ang. telomeric repeat binding factor 1 i 2) i wiążą się z dwuniciowym fragmentem telomeru (CHONG i współaut. 1995, BILAUD i współaut. 1997, LIU i współaut. 2004), natomiast POT1 (ang. protection of telomeres 1) z fragmentem jednociowym (BAUMANN i CECCH 2001). Pozostałe trzy białka są do nich rekrutowane: TIN2 (ang. TRF1-interacting protein 2), TPP1 (ang. POT1/TIN2 organizing protein) i RAP1 (ang. Ras-related protein 1) (LIU i współaut. 2004, DE LANGE 2005). Jak wykazały ostatnie badania, białko RAP1 wiąże się również z sekwencją TTAGG występującą poza regionem telomerowym, w efekcie czego może przeciwdziałać niestabilności i rekombinacji w tych miejscach genomu (MARTINEZ i współaut. 2010). Świadczy to o potencjale białek telomerowych do pełnienia również innych, niezwiązanych z telomerami funkcji. U drożdży *Saccharomyces cerevisiae* jak dotąd wykryto tylko jedno białko telosomu wykazujące homologię do ludzkiego RAP1. Jednak w odmienny sposób wchodzi ono w interakcję z sekwencją telomerową – wiąże się z nią bezpośrednio (BIANCHI i SHORE 2008).

Obecny stan wiedzy z zakresu budowy i funkcji białek wchodzących w skład roślinnego kompleksu telomerowego jest nieporównywalnie mniejszy niż w przypadku drożdży czy człowieka. Dotychczas nie udało się zidentyfikować roślinnych białek, których funkcja byłaby w pełni homologiczna z trzema podstawowymi elementami ludzkiego telosomu. Zidentyfikowano na razie dwa białka wiążące się z jednociowymi powtórzeniami telomerowymi: GTBP1 (ang. G-strand specific single-stranded telomere-binding protein 1) u *Nicotiana tabacum* oraz STEP1 (single-stranded telomere-binding protein 1) u *Arabidopsis thaliana* (HIRATA i współaut. 2004, KWON i CHUNG 2004, LEE i KIM 2011). Wykryto również homologi białka POT1. Tworzy

ono heterodimer z TPP1, który kontroluje aktywność telomerazy zarówno w pozytywny, jak i negatywny sposób (XIN i współaut. 2007, WANG i współaut. 2007). U *Arabidopsis thaliana* zidentyfikowano trzy homologi POT1: A, B i C, o zróżnicowanej funkcjonalności. POT1A łączy się z telomerazą i jest niezbędne do syntezy powtórzeń telomerowych, podczas gdy POT1B i C są zaangażowane w ochronę końców chromosomów (SHAKIROV i współaut. 2005, TANI i MURATA 2005, SUROVTSEVA i współaut. 2007). Natomiast u mchu *Physcomitrella patens* zidentyfikowano tylko jedno białko POT1, którego funkcja wykazuje większe podobieństwo do tej pełnionej w komórkach kręgowców niż *Arabidopsis thaliana* (SHAKIROV i współaut. 2010). W 1999 r. wyizolowano również z *Arabidopsis thaliana* białko asocjujące do dwuniciowego fragmentu telomerowego DNA AtPura (TREMOSAYGUE i współaut. 1999). Udało się także rozpoznać złożoną grupę białek zawierającą silnie zakonserwowaną domenę Myb. Jest ona charakterystyczna dla TRF1-2 i odpowiada za przyłączanie się tych białek do sekwencji telomerowej (BILAUD i współaut. 1996). W obrębie tej grupy udało się zidentyfikować rodzinę małych białek SMH (ang. single myb histone) zawierającą domenę Myb na końcu N (MARIAN i współaut. 2003). U kukurydzy wyizolowano pięć białek typu SMH (MARIAN i współaut. 2003), a u *Arabidopsis* trzy (HWANG i współaut. 2001; SCHRUMPFLOVA i współaut. 2004, 2008). Odkryto również białka TRFL (TRF-like proteins), gdzie domena Myb jest zlokalizowana na końcu karboksylowym. Białka tego typu znaleziono u *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa* i *Nicotiana tabacum* (YU i współaut. 2000, YANG i współaut. 2003, KARAMYSHEVA i współaut. 2004). W przypadku wszystkich opisanych powyżej białek nie udało się jednak dowieść bezsprzecznie ich funkcjonalnego powiązania z kompleksem telomerowym *in vivo*. Uzasadnione więc wydają się być stwierdzenie, że nie poznano jeszcze najważniejszych białek asocjujących do dwuniciowej cząsteczki telomerowego DNA roślin.

Telomerowe DNA, pomimo dużej ilości związanych z nim białek telomerowych, jest nawinięte na nukleosomy. Organizacja chromatyny w obrębie telomerów jest kolejną cechą, która nie wykazuje silnego zakonserwowania ewolucyjnego. U *Arabidopsis thaliana* region subtelomerowy jest silnie upakowaną

heterochromatyną, natomiast sekwencja telomerowa wykazuje cechy euchromatyny (VARQUERO-SEDAS i współaut. 2010). U ssaków zaś obydwa te rejony tworzą skondensowaną heterochromatynę (BLASCO 2007). Telomero-

we DNA nie zawiera jednak informacji pozycjonującej nukleosom, w związku z czym obserwuje się zaburzenia w regularności rozłożenia nukleosomów (MECHELLI i współaut. 2004; PISANO i współaut. 2006, 2007).

ROLA TELOMERÓW

Wyróżnia się pięć podstawowych funkcji telomerów. Główną rolą jest ochrona końców chromosomów przed rozpoznaniem jako pęknięć podwójnej nici DNA, w skutek czego dochodziłoby do niehomologicznego łączenia końców i powstawania chromosomów dicentrycznych oraz aktywacji enzymów nukleolitycznych (BLACKBURN 2005). Poza tym telomery pełnią jeszcze dodatkowo szereg innych funkcji w komórce, między innymi biorą udział w prawidłowym rozmieszczeniu chromosomów w interfazo-

wym jądrze oraz odpowiadają za prawidłowy ich rozdział w czasie podziału komórkowego (MADDAR i współaut. 2001). Działają one jak zegar komórkowy, który mierzy historię replikacji i określa potencjał proliferacyjny komórki (BLACKBURN 2001, DUBRANA i współaut. 2001). Telomery tłumią również ekspresję genów położonych w ich sąsiedztwie (APARICIO i współaut. 1991), chociaż ich rola w wyciszaniu transkrypcyjnym nie jest do końca wyjaśniona.

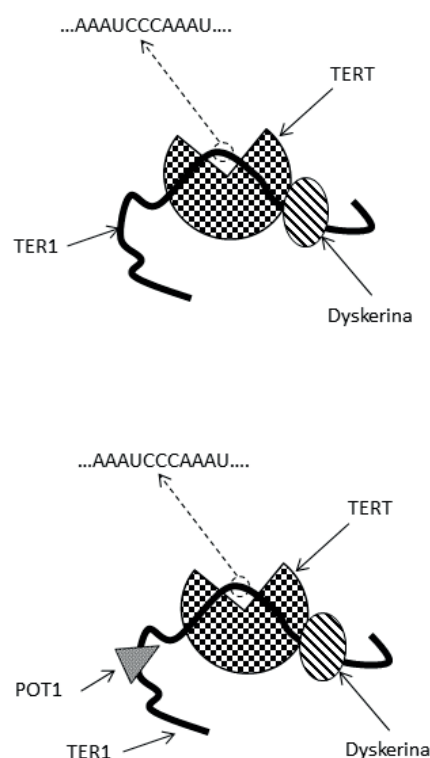
TELOMERAZA

Pełna struktura holoenzymu telomerazy nie została jeszcze całkowicie opisana. Stan obecnej wiedzy wskazuje, że jest to kompleks rybonukleoproteinowy, w skład którego wchodzi szereg białek i cząsteczka RNA, wykazujący aktywność odwrotnej transkryptazy (LUNDBLAD 1998).

Na centrum aktywności ludzkiej telomerazy składa się: telomerazowe RNA (TER lub TR), telomerazowa odwrotna transkryptaza (TERT) oraz dyskerina (DKC) (COHEN i współaut., 2007) (Ryc. 2).

Telomerazowe RNA, TER, zawiera krótką sekwencję komplementarną do powtórzeń telomerowych, która wykorzystywana jest jako matryca dla odwrotnej transkrypcji (GREINER i BLACKBURN 1987, 1989; YU i współaut. 1990). Podjednostka ta różni się pomiędzy organizmami i sekwencją i rozmiarem (od 150 nt u *Tetrahymena* do ponad 1200 nt u *Schizosaccharomyces pombe*), jednak jej struktura drugorzędowa pozostaje silnie zakonserwowana (GRAEIDER i BLACKBURN 1989, LINGNER i współaut. 1994, CHEN i współaut. 2000, LEONARDI i współaut. 2008, WEBB i ZAKIAN 2008).

Jak dotąd udało się zidentyfikować telomerazowe RNA tylko u *Arabidopsis thaliana* (CIFUENTES-ROJAS i współaut. 2011). U tego gatunku występują dwie cząsteczki TER 1 i 2, kodowane w odrębnych loci i różniące się w znaczny sposób sekwencją nukleotydową.



Ryc. 2. Schemat budowy holoenzymu telomerazy u człowieka (na górze) i u *A. thaliana* (na dole).

Jednak tylko TER1 jest w istotny sposób zaangażowane w utrzymanie telomerów, oraz stanowi miejsce przyłączenia białka POT1 (CIFUENTES-ROJAS i współaut. 2011).

Drugą podjednostkę stanowi telomeraza odwrotna transkryptaza TERT, która katalizuje odwrotną transkrypcję telomerowych powtórzeń na matrycy telomerazowego RNA (LINGNER i współaut. 1997). Dotychczas udało się zidentyfikować geny kodujące tą podjednostkę u wielu różnych organizmów (SYKOROVA i FAJKUS 2009). Charakteryzuje się ona jednolitą budową u ewolucyjnie odległych organizmów. W budowie TERT wyróżnia się cztery domeny: na końcu aminowym i karboksylowym, odwrotnej transkryptazy oraz wiążącą RNA (KELLEHER i współaut. 2002). Wyizolowana z *Arabidopsis* podjednostka AtTERT ma wielkość 131 kDA i zawiera wszystkie motywy aminokwasowe typowe dla odwrotnych transkryptaz oraz dodatkowo dwa motywy specyficzne tylko dla telomeraz (LINGNER i współaut. 1997, FITZGERALD i współaut. 1999, OGUCHI i współaut. 1999). Na podstawie analizy filogenetycznej określono również, że AtTERT wykazuje większe podobieństwo do podjednostki TERT człowieka niż drożdży i orzęsków (OGUCHI i współaut. 1999). AtTERT jest kodowana przez gen występujący w pojedynczej kopii, tak samo jak u człowieka (KILIAN i współaut. 1997, MEYERSON i współaut. 1997, FITZGERALD i współaut. 1999, OGUCHI i współaut. 1999).

U roślin ekspresja telomerazy jest tkankowo i rozwojowo specyficzna. Zachodzi w tkankach generatywnych, embrionalnych i merystematycznych oraz w komórkach kallusa. Natomiast aktywności telomerazy jest bardzo niska lub niewykrywalna w tkankach wegetatywnych (FIZGERALD i współaut. 1996, HELLER i współaut. 1996, KILIAN i współaut. 1998, RIHA i współaut. 1998, WATSON i RIHA 2010). Wzór ekspresji telomerazy wykazuje podobieństwo do opisanego dla zwierząt. Aktywność telomerazy jest związana z semikonserwatywną replikacją w fazie S cyklu komórkowego (CHAKHPARONIAN i WELLINGER 2003). Na matrycy RNA zawartego w podjednostce TER, telomeraza syntetyzuje powtórzenia telomerowego DNA wykorzystując aktywność odwrotnej transkryptazy podjednostki TERT. W pierwszym etapie następuje rozpoznanie jednoniciowego fragmentu telomeru, ogona G, który jest wykorzystywany jako starter. Następnie zachodzi synteza telomerowych powtórzeń, przesunięcie na koniec nowo zsyntetyzowanego fragmentu i wznowienie cyklu syntezy. Etapy te są powtarzane aż do czasu oddysocjowania enzymu (GREIDER 1995). Aktywność telomerazy jest ściśle powiązana z trzeciorzędową strukturą telomerów. Proces syntezy może być rozpoczęty jedynie wtedy, gdy pętla-T zostanie rozwinięta i pojawi się wolny „ogon G”. Struktura pętli jest stabilizowana przez kompleks białek wchodzących w skład telosomu (CHAKHPARONIAN i WELLINGER 2003).

ROLA TELOMERAZY

Podstawowa rola telomerazy opiera się o opisany powyżej mechanizm. Kompensacja utraty sekwencji telomerów zabezpiecza je przed erozją, do której dochodzi w przypadku braku aktywności telomerazy (KILIAN i współaut. 1995, COLGIN i REDDEL 1999). Erozja telomerów skutkuje niestabilnością genomu i wprowadza komórkę na drogę apoptozy (BLACKBURN 2001). Aktywność telomerazy ma również związek z naprawianiem złamanych chromosomów. Sekwencja telomerowa jest wówczas syntetyzowana od nowa, dzięki czemu do komórki potomnej przekazywany jest nieuszkodzony chromosom. Zjawisko to opisano m.in. w komórkach pszenicy (TSUJIMOTO i współaut. 1999). U ssaków zaobserwowano także, że w komórkach, w których przywrócona została aktywność telomera-

zy, dochodzi do podniesienia potencjału replikacyjnego, procesu nowotworzenia oraz wzrostu przeżywalności. Jednakże tym procesom nie towarzyszy wydłużanie sekwencji telomerowej (DE LANGE i współaut. 1990, FU i współaut. 2000, ZHU i współaut. 2000, BLASCO 2002). Liczne badania wskazują na niezależne od telomerów funkcje telomerazy. Podjednostka TERT wykazuje funkcje regulatora rozwoju związane z kontrolą odpowiedzi transkrypcyjnych (CHOI i współaut. 2008). Wraz z RMRP (ang. RNA component of mitochondrial RNA processing endoribonuclease) może działać jako zależna od RNA polimeraza RNA (MAIDA i współaut. 2009). Potwierdzono również rolę telomerazy w regulacji apoptozy w sposób niezależny od telomerów (HAENDELER i współaut. 2004).

KOMPLEKS TELOMEROWY A PROCESY STARZENIA U ROŚLIN

Wiele przesłanek wskazuje na związek kompleksu telomerowego ze starzeniem się roślin. Liczne podobieństwa w budowie, funkcji i sposobie utrzymania telomerów w świecie roślin i zwierząt nasuwają przypuszczenie, że skracanie telomerów w czasie ontogenezy może w obydwu przypadkach działać jak mechanizm sygnalizujący starzenie. U części roślin (*Hordeum vulgare*, *Nicotiana tabacum*) telomery skracają się w rozwoju ontogenetycznym tak samo jak u człowieka (COUNTER i współaut. 1992, KILIAN i współaut. 1998), natomiast u innych (*Melandrium album*, *Arabidopsis thaliana*, *Avena sativa*) pozostają stabilne (RIHA i współaut. 1998, FITZGERALD i współaut. 1999, ZENTGRAF i współaut. 2000). W pracach przeglądowych dotyczących kompleksu telomerowego występuje tendencja do generalizowania wyników otrzymanych dla *Arabidopsis thaliana*, negującego udział skracania się telomerów w sygnalizowaniu starzenia u wszystkich roślin. Bez przeprowadzenia dokładniejszych badań obejmujących więcej gatunków i z uwzględnieniem innych zmian w obrębie kompleksu telomerowego, wysunięcie takiego wniosku wydaje się być przedwczesne. Prace badawcze z ostatniej dekady wskazują bowiem na udział kompleksu telomerowego w procesach starzenia się roślin. Wykazano występowanie pozytywnej korelacji między długością telomerów i aktywnością telomerazy a spodziewaną długością życia u pięciu gatunków z rodzaju *Pinus* (FLANARY i KLETETSCHKA 2005). Zarówno u *Arabidopsis thaliana*, jak i *Melandrium album* zaobserwowano skracanie się „ogona G” w raz z rozwojem od siewki do dojrzałego liścia. W komórkach ludzkich elementem sygnalizującym

przejście do fazy starzenia jest właśnie stan „ogona G” (RIHA i współaut. 2000, STEWARD i współaut. 2003). W liściach *Arabidopsis thaliana* obserwuje się ekspresję specyficznego białka (ATB2) pośrednio wiążącego się z telomerami w czasie przejścia liścia z fazy poprzedzającej starzenie do fazy starzenia (ZENTGRAF i współaut. 2000). Wraz z rozwojem korzeni i hypokotyli u *Vigna radiata* wykryto zmienność kompleksów białkowych wiążących się z telomerami (LEE i współaut. 2000). U zwierząt charakterystyczna budowa pętli-T stanowi jeden z elementów sygnalizujących komórce przejście w kierunku starzenia, analogiczna struktura została opisana u *Pisum sativum* (CHAN i BLACKBURN 2002, CESARE i współaut. 2003). Zaobserwowano również zmiany w kompleksie telomerowym na skutek starzenia się ziarniaków pszenicy i żyta (BUCHOLC i BUCHOWICZ 1992, 1995; BOURBIAK i współaut. 2007). W obydwu przypadkach autorzy obserwowali, iż na skutek utraty żywotności zarodków dochodzi do zaniku sekwencji telomerowych w wysokocząsteczkowym DNA, przy jednoczesnym pojawieniu się ich we frakcji niskocząsteczkowej. Powstawanie pozachromosomalnych elementów telomerowych było skorelowane z ogólną fragmentacją genomu, do której dochodzi w czasie przechowywania nasion w stanie wysuszonym. Obserwowano również, że telomery znikają z frakcji niskocząsteczkowej, gdy nasiona przechowywane poddawano 3–6 godzinnej imbibicji. Według autorów istnieją również oznaki całkowitej utraty telomerów w skutek długotrwałego przechowywania (BUCHOLC i BUCHOWICZ 1992, 1995; BOURBIAK i współaut. 2007).

Tabela 1. Budowa i długość telomerów u różnych organizmów.

Gatunek	Sekwencja powtórzenia	Długość telomeru
<i>Tetrahymena thermophila</i>	TTGGGG	20–70 powtórzeń
<i>Homo sapiens</i>	TTAGGG	10–15kb
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	T(G) ₁₋₃	250–350bp
<i>Arabidopsis thaliana</i>	TTTAGGG	2–9 kb
<i>Chlorella vulgaris</i>	TTTAGGG	0,5kb
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	TTTAGGGG	0,5–1 kb
<i>Allium cepa</i>	nieznana	nieznana

PODSUMOWANIE

Kompleks telomerowo-telomerazowy jest od dłuższego czasu obiektem licznych badań z zakresu jego budowy i funkcji w komórkach zwierzęcych. Spowodowane jest to związkiem aktywności telomerazy z niektórymi procesami nowotworzenia oraz dążeniem człowieka do zdobycia wiedzy jak stać się nieśmiertelnym. Obecny stan wiedzy o budowie i funkcji telomerów, telomerazy i białek im towarzyszących w komórkach roślin-

nych jest nieporównywalnie skromniejszy. Jednakże wypracowane metody badawcze coraz częściej są stosowane w analizie obiektów należących do królestwa roślin. Musimy również pamiętać, że dotychczas otrzymane wyniki wskazują na wysoki poziom analogii kompleksu telomer-telomeraza u tych dwóch grup organizmów, uzasadnione jest, więc oczekiwanie kolejnych odkryć związanych ze światem roślin.

TELOMERY I TELOMERAZA W KOMÓRKACH ROŚLINNYCH

Streszczenie

W budowie i funkcji kompleksu telomerowego występującego w komórkach roślin i zwierząt, obserwuje się szereg podobieństw. W jego skład wchodzi telomerowe DNA, białka telomerowe oraz enzym telomeraza. Telomery to struktury zbudowane z kompleksu białek i tandemowo powtórzonych sekwencji DNA, zlokalizowane na końcach chromosomów eukariotycznych. Pełnią szereg istotnych funkcji w komórkach organizmów żywych. Najważniejszą ich rolą jest ochrona genomu przed potencjalną niestabilnością. O ile sekwencja telomerowego DNA jest stosunkowo silnie zakonserwowana nawet u organizmów odległych ewolucyjnie, o tyle kompleks

białek telomerowych charakteryzuje się dużym zróżnicowaniem. Z telomerami współdziała telomeraza - enzym o aktywności odwrotnej transkryptazy, który na matrycy własnego RNA dobudowuje na końcach chromosomów sekwencje telomerowe. Istnieje wiele przesłanek wskazujących na udział kompleksu telomerowego w starzeniu się komórek roślinnych. Jednak dotychczas nie udało się w pełni zweryfikować tej hipotezy. Wiedza z zakresu budowy i funkcji telomerów i telomerazy w komórkach roślinnych ciągle pozostaje daleko w tyle za tą uzyskaną dla komórek ssaków.

TELOMERES AND TELOMERASE IN PLANT CELLS

Summary

Both in plants and animals cells several similarities in structure and function of telomere complex are observed. Telomere complex consists of DNA, proteins and telomerase. Telomeres are the special structures composed of proteins and tandem repeated DNA sequences, localized at the physical end of eukariotic chromosomes. They carry out many important functions in the cells. The most important of their role is to protect the genome from potential instability. While the telomeric DNA sequence is relatively highly conserved even among evolutionarily

distant organisms, telomeric protein complex has a great diversity. Telomerase interacts with telomeres. This enzyme has a reverse transcriptase activity and based on its own RNA template adds telomeric sequences at the ends of chromosomes. There are lots of indications that telomere complex participates in the plant cells aging process. But so far this hypothesis has not been fully verified. Knowledge in the field of structure and function of telomeres and telomerase in plant cells still remains far behind that achieved in mammalian cells.

LITERATURA

- ADAMS S. P., HARTMAN T. P., LIM K. Y., CHASE M. W., BENNETT M. D., LEITCH I. J., LEITCH A. R., 2001. *Loss and recovery of Arabidopsis-type telomere repeat sequences 5'-(TTTAGGG)(n)-3' in the evolution of a major radiation of flowering plants.* Proc. Biol. Sci. 268, 1541-1546.
- APARICIO O. M., BILLINGTON B. L., GOTTSCHLING D. E., 1991. *Modifiers of position effect are shared between telomeric and sileni mitering type loci in S cerevisiae.* Cell 66, 1279-1287.
- BAUMANN P., CECHE T. R., 2001. *Pot1, the putative telomere end-binding protein in fission yeast and humans.* Science 292, 1171-1175.
- BIANCHI A., SHORE D., 2008. *How telomerase reaches its end: mechanism of telomerase regulation by the telomeric complex.* Mol. Cell 31, 153-165.
- BILAUD T., KOERING C. E., BINET-BRASSELET E., ANCELIN K., POLLICE A., GASSER S. M., GILSON E., 1996. *The telobox, a Myb-related telomeric DNA binding motif found in proteins from yeast, plants and human.* Nucl. Acids Res. 24, 1294-1303.

- BILAUD T., BRUN C., ANCELIN K., KOERING C. E., LA-ROCHE T., GILSON E., 1997. *Telomeric localization of TRF2, a novel human telobox protein*. *Nat. Genet.* 17, 236-239.
- BLACKBURN E. H., GALL J. G., 1978. *A tandemly repeated sequence at the termini of the extrachromosomal ribosomal RNA genes in Tetrahymena*. *J. Mol. Biol.* 120, 33-53.
- BLACKBURN E. H., 2001. *Switching and signaling at the telomere*. *Cell* 106, 661-673.
- BLACKBURN E. H., 2005. *Telomeres and telomerase: their mechanisms of action and their effects of altering their functions*. *FEBS Lett.* 579, 859-862.
- BLANC G., DUNCAN G., AGARKOVA I., BORODOVSKY M., GURNON J., KUO A., LINDQUIST E., LUCAS S., PANGILINAN J., POLLE J., SALAMOV A., TERRY A., YAMADA T., DUNIGAN D. D., GRIGORIEV I. V., CLAVERIE J. M., VAN ETEN J. L., 2010. *The Chlorella variabilis NC64A genome reveals adaptation to photosymbiosis, coevolution with viruses, and cryptic sex*. *Plant Cell* 22, 2943-2955.
- BLASCO M. A., 2002. *Telomerase beyond telomeres*. *Nat. Rev. Cancer* 2, 627-632.
- BLASCO M., 2007. *The epigenetic regulation of mammalian telomeres*. *Nat. Rev. Genet.* 8, 299-309.
- BOUBRIAK I., POLISCHUK V., GRODZINSKY A., OSBORNE D. J., 2007. *Telomeres and seed banks*. *Cytol. Genet.* 41, 18-24.
- BUCHOLC M., BUCHOWICZ J., 1992. *Synthesis of extra chromosomal DNA and telomere-related sequences in germinating wheat embryos*. *Seed Sci. Res.* 2, 141-146.
- BUCHOLC M., BUCHOWICZ J., 1995. *An extrachromosomal fragment of telomeric DNA in wheat*. *Plant Mol. Biol.* 27, 435-439.
- CESARE A. J., QUINNEY N., WILLCOX S., SUBRAMANIAN D., GRIFFITH J. D., 2003. *Telomere looping in P. sativum (common garden pea)*. *Plant J.* 36, 271-279.
- CHAKHPARONIAN M., WELLINGER R. J., 2003. *Telomere maintenance and DNA replication: how closely are these two connected?* *Trends Genet.* 19, 439-446.
- CHAN S. W. L., BLACKBURN E. H., 2002. *New ways not to make ends meet: telomerase, DNA damage proteins and heterochromatin*. *Oncogene* 21, 553-563.
- CHEN J. L., BLASCO M. A., GREIDER C. W., 2000. *Secondary structure of vertebrate telomerase RNA*. *Cell* 100, 503-514.
- CHOI J., SOUTHWORTH L. K., SARIN K. Y., VENTEICHER A. S., MA W., CHANG W., CHEUNG P., JUN S., ARTANDI M. K., SHAH N., KIM S. K., ARTANDI S. E., 2008. *TERT promotes epithelial proliferation through transcriptional control of a Myc- and Wnt related developmental program*. *PLoS Genet.* 4, e10.
- CHONG L., VAN STEENSEL B., BROCCOLI D., ERDJUMENT-BROMAGE H., HANISH J., TEMPST P., DE LANGE T., 1995. *A human telomeric protein*. *Science* 270, 1663-1667.
- COHEN S. B., GRAHAM M. E., LOVERECZ G. O., BACHE N., ROBINSON P. J., REDDEL R. R., 2007. *Protein composition of catalytically active human telomerase from immortal cells*. *Science* 315, 1850-1853.
- CIFUENTES-ROJAS C., KANNAN K., TSENG L., SHIOOEN D. E., 2011. *Two RNA subunits and POT1a are components of Arabidopsis telomerase*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 108, 73-78.
- COLGIN L. M., REDDEL R. R., 1999. *Telomere maintenance mechanisms and cellular immortalization*. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 9, 97-103.
- COUNTER C. M., AVILION A. A., LEFEUVREL C. E., STEWART N. G., GREIDER C. W., HARLEY C. B., BACCHETTI S., 1992. *Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity*. *EMBO J.* 11, 1921-1929.
- DE LANGE T., SHIUE L., MYERS R. M., COX D. R., NAYLOR S. L., KILLERY A. M., VARMUS H. E., 1990. *Structure and variability of human chromosome ends*. *Mol. Cell. Biol.* 10, 518-527.
- DE LANGE T., 2005. *Shelterin: The protein complex that shapes and safeguards human telomeres*. *Genes Develop.* 19, 2100-2110.
- DUBRANA K., PERROD S., GASSER S. M., 2001. *Turning telomeres off and on*. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13, 281-289.
- FAJKUS J., KOVARÍK A., KRÁLOVICS R., BEZDĚK M., 1995. *Organization of telomeric and subtelomeric chromatin in the higher plant Nicotiana tabacum*. *Mol. Gen. Genet.* 247, 633-638.
- FAJKUS J., SÝKROVÁ E., LEITCH A. R., 2005. *Telomeres in evolution and evolution of telomeres*. *Chromosome Res.* 13, 469-479.
- FIZGERALD M. S., MCKNIGHT T. D., SHIPPEN D. E., 1996. *Characterization and developmental patterns of telomerase expression in plants*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 14422-14427.
- FIZGERALD M. S., RIHA K., GAO F., REN S., MCKNIGHT T. D., SHIPPEN D. E., 1999. *Disruption of the telomerase catalytic subunit gene from Arabidopsis inactivates telomerase and leads to a slow loss of telomeric DNA*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 14813-14818.
- FLANARY B. E., KLETETSCHKA G., 2005. *Analysis of telomere length and telomerase activity in tree species of various life-spans, and with age in the bristlecone pine Pinus longaeva*. *Biogerontology* 6, 101-111.
- FU W., KILLEN M. W., CULMSEE C., DHAR S., PANDITA T., MATTSO M. P., 2000. *The catalytic subunit of telomerase is expressed in developing brain neurons and serves a cell survival-promoting function*. *J. Mol. Neurosci.* 14, 3-15.
- FUCHS I., BRANDES A., SCHUBERT I., 1995. *Telomere sequence localization and karyotype evolution in higher plants*. *Plant Systemat. Evol.* 196, 227-241.
- GNAL M. W., LAPITAN N. L. V., TANKSLEY S. D., 1991. *Macrostructure of the tomato telomeres*. *Plant Cell* 3, 87-94.
- GREIDER C. W., 1995. *Telomerase Biochemistry and Regulation [W:] Telomeres*. BLACKBURN E. H., GREIDER C. W. (red.). Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, 35-68.
- GREIDER C. W., 1996. *Telomere length regulation*. *Ann. Rev. Biochem.* 65, 337-365.
- GREIDER C. W., 1999. *Telomeres Do D-Loop-T-Loop*. *Cell* 97, 419-422.
- GREIDER C. W., BLACKBURN E. H., 1985. *Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts*. *Cell* 43, 405-413.
- GREIDER C. W., BLACKBURN E. H., 1987. *The telomere terminal transferase of Tetrahymena is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity*. *Cell* 51, 887-898.
- GREIDER C. W., BLACKBURN E. H., 1989. *A telomeric sequence in the RNA of Tetrahymena telomerase required for telomere repeat synthesis*. *Nature* 337, 331-337.
- GRIFFITH J. D., COMEAU L., ROSENFELD S., STANSEL R. M., BIANCHI A., MOSS H., DE LANGE T., 1999. *Mammalian telomeres end in a large duplex loop*. *Cell* 97, 503-514.
- HAENDELER J., HOFFMANN J., DIEHL J. F., VASA M., SPYRIDOPOULOS I., ZEHER A. M., DIMMELERS., 2004. *Antioxidants inhibit nuclear export of telomerase reverse transcriptase and delay replicative senescence of endothelial cells*. *Circulation Res.* 94, 768-775.

- HELLER K., KILIAN A., PIATYSZEK M. A., KLEINHOF A., 1996. *Telomerase activity in plant extracts*. Mol. Gen. Genet. 252, 342–345.
- HENDERSON E. R., BLACKBURN E. H., 1989. *An overhanging 3' terminus is a conserved feature of telomeres*. Mol. Cell. Biol. 9, 345–348.
- HIGASHIYAMA T., MAKI S., YAMADA T., 1995. *Molecular organisation of Chlorella vulgaris chromosome I: presence of telomeric repeats that are conserved in higher plants*. Mol. Gen. Genet. 246, 29–36.
- HIRATA Y., SUZUKI C., SAKAI S., 2004. *Characterization and gene cloning of telomere-binding protein from tobacco BY-2 cells*. Plant Physiol. Biochem. 42, 7–14.
- HWANG M. G., CHUNG I. K., KANG B. G., CHO M. H., 2001. *Sequence-specific binding property of Arabidopsis thaliana telomeric DNA-binding protein 1 (AtTBP1)*. FEBS Lett. 503, 35–40.
- KARAMYSHEVA Z. N., SUROVTSEVA Y. V., VESPA L., SHAKIROV E. V., SHIPPEN D. E., 2004. *A C-terminal Myb extension domain defines a novel family of double-strand telomeric DNA-binding proteins in Arabidopsis*. J. Biol. Chem. 279, 47799–47807.
- KELLEHER C., TEIXEIRA M. T., FORSTEMANN K., LINGNER J., 2002. *Telomerase: biochemical considerations for enzyme and substrate*. Trends Biochem. Sci. 27, 572–579.
- KILIAN A., STIFF C., KLEINHOF A., 1995. *Barley telomeres shorten during differentiation but grow in callus culture*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 9555–9559.
- KILIAN A., BOWTELL D. D., ABUD H. E., HIME G. R., VENTER D. J., KESE P. K., DUNCAN E. L., REDDEL R. R., JEFFERSON R. A., 1997. *Isolation of a candidate human telomerase catalytic subunit gene which reveals complex splicing patterns in different cell types*. Human Mol. Genet. 6, 2011–2019.
- KILIAN A., HELLER K., KLEINHOF A., 1998. *Developmental patterns of telomerase activity in barley and maize*. Plant Mol. Biol. 37, 621–628.
- KWON C., CHUNG I. K., 2004. *Interaction of an Arabidopsis RNA-binding Protein with Plant Single-stranded Telomeric DNA Modulates Telomerase Activity*. J. Biol. Chem. 279, 12812–12818.
- LEE J. H., KIM J. H., KIM W. T., KANG B. G., CHUNG I. K., 2000. *Characterization and developmental expression of single-stranded telomeric DNA-binding proteins from mung bean (Vigna radiata)*. Plant Mol. Biol. 42, 547–557.
- LEE Y. W., KIM W. T., 2011. *Roles of NtGTBP1 in telomere stability*. Plant Signal. Behav. 6, 523–525.
- LEONARDI J., BOX J. A., BUNCH J. T., BAUMANN P., 2008. *TER1, the RNA subunit of fission yeast telomerase*. Nature Struct. Mol. Biol. 15, 26–33.
- LI B. B., LUSTIG A. J., 1996. *A novel mechanism for telomere size control in Saccharomyces cerevisiae*. Genes Develop. 10, 1310–1326.
- LINGNER J., HENDRICK L. L., CEC T. R., 1994. *Telomerase RNAs of different ciliates have a common secondary structure and permuted template*. Genes Develop. 8, 1984–1998.
- LINGNER J., HUGHES T. R., SHEVCHENKO A., MANN M., LUNDBLAD V., CEC T. R., 1997. *Reverse transcriptase motifs in the catalytic subunit of telomerase*. Science 276, 561–567.
- LIU D., O'CONNOR M. S., QIN J., SONGYANG Z., 2004. *Telosome a mammalian telomere-associated complex formed by multiple telomeric proteins*. J. Biol. Chem. 279, 51338–51342.
- LUNDBLAD V., 1998. *Telomerase catalysis: a phylogenetically conserved reverse transcriptase*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95, 8415–8416.
- MADDAR H., RATZKOVSKY N., KRAUSKOPF A., 2001. *Role for Telomere Cap Structure in Meiosis*. Mol. Biol. Cell 12, 3191–3203.
- MAIDA Y., YASUKAWA M., FURUUCHI M., LASSMANN T., POSSEMATO R., OKAMOTO N., KASIM V., HAYASHIZAKI Y., HAHN W. C., MASUTOMI K., 2009. *An RNA-dependent RNA polymerase formed by TERT and the RMRP RNA*. Nature 461, 230–235.
- MARIAN C. O., BORDOLI S. J., GOLTZ M., SANTARELLA R. A., JACKSON L. P., DANILEVSKAYA O., BECKSTETTE M., MEELEY R., BASS H. W., 2003. *The maize Single myb histone 1 gene, Smh1, belongs to a novel gene family and encodes a protein that binds telomere DNA repeats in vitro*. Plant Physiol. 133, 1336–1350.
- MARTINEZ P., THANASOULA M., CARLOSA R., GÓMEZ-LÓPEZ G., TEJERA A. M., SCHOEFNER S., DOMINGUEZ O., PISANO D. G., TARSOUNAS M., BLASCO M. A., 2010. *Mammalian Rap1 controls telomere function and gene expression through binding to telomeric and extratelomeric sites*. Nature Cell Biol. 12, 768–780.
- MCCLINTOCK B., 1941. *The stability of broken ends of chromosomes in Zea mays*. Genetics 26, 234–282.
- MECHELLI R., ANSELM C., CACCHIONE S., DE SANTIS P., SAVIANO M., 2004. *Organisation of telomeric nucleosomes: atomic force microscopy imaging and theoretical modelling*. FEBS Lett. 566, 131–135.
- MEYERSON M., COUNTER C. M., EATON E. N., ELLISEN L. W., STEINER P., CADDLE S. D., ZIAUGRA L., BEJERSBERGEN R. L., DAVIDOFF M. J., LIU Q., BACCHETTI S., HABER D. A., WEINBERG R. A., 1997. *hEST2, the putative human telomerase catalytic subunit gene, is up-regulated in tumor cells and during immortalization*. Cell 90, 785–795.
- MULLER H. J., 1938. *The remaking of chromosome*. Collecting Net 8, 182–198.
- OGUCHI K., LIU H., TAMURA K., TAKAHASHI H., 1999. *Molecular cloning and characterization of AtTERT, a telomerase reverse transcriptase homolog in Arabidopsis thaliana*. FEBS Lett. 457, 465–469.
- PALM W., DE LANGE T., 2008. *How shelterin protects Mammalian telomeres*. Ann. Rev. Genet. 42, 301–334.
- PETRAČEK M. E., LEFEBVRE P. A., SILFLOW C. D., BERMAN J., 1990. *Chlamydomonas telomere sequences are A+T-rich but contain three consecutive G-Chase pairs*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 8222–8226.
- PISANO S., PASCUCCI E. C., CACCHIONE S., DE SANTIS P., SAVIANO M., 2006. *AFM imaging and theoretical modelling studies of sequence-dependent nucleosome positioning*. Biophys. Chem. 124, 81–89.
- PISANO S., MARCHIONI E., GALATI A., MECHELLI R., SAVIANO M., CACCHIONE S., 2007. *Telomeric nucleosomes are intrinsically mobile*. J. Mol. Biol. 369, 1153–1162.
- RIHA K., FAJKUS J., SIROKY J., VYSKOT B., 1998. *Developmental control of telomere lengths and telomerase activity in plants*. Plant Cell 10, 1691–1698.
- RIHA K., MCKNIGHT T. D., FAJKUS J., VYSKOT B., SHIPPEND. E., 2000. *Analysis of the G-overhang structures on plant telomeres: evidence for two distinct telomere architectures*. Plant J. 23, 633–641.
- RICHARDS E. J., AUSBEL F. M., 1988. *Isolation of a higher eucaryotic telomere from Arabidopsis thaliana*. Cell 53, 345–348.
- RICHARDS E. J., VONGS A., WALSH M., YANG J., CHAO S., 1993. *Substructure of telomere repeat arrays*. [W:] The chromosome. HESLOP-HARRISON J. S., FLAVELL R. B. (red.). Bios Scientific Publisher, Oxford, 103–114.
- SCHRUMPF OVA P., KUCHAR M., MIKOVA G., SKRISOVSKA L., KUBICAROVA T., FAJKUS J., 2004. *Characterization of two Arabidopsis thaliana myb-like*

- proteins showing affinity to telomeric DNA sequence. *Genome* 47, 316–324.
- SCHRUMPFOWA P., KUCHAR M., PALECEK J., FAJKUS J., 2008. Mapping of interaction domains of putative telomere-binding proteins *AtTRB1* and *AtPOT1b* from *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* 582, 1400–1406.
- SCHWARZACHER T., HESLOP-HARRISON J. S., 1991. *In situ* hybridization to plant telomeres using synthetic oligomers. *Genome* 34, 317–323.
- SHAKIROV E. V., SUROVTSEVA Y. V., OSBUN N., SHIPPEN D. E., 2005. The *Arabidopsis* *Pot1* and *Pot2* proteins function in telomere length homeostasis and chromosome end protection. *Mol. Cell. Biol.* 25, 7725–7733.
- SHAKIROV E. V., PERROUD P. F., NELSON A. D., CANNELL M. E., QUATRANO R. S., SHIPPEN D. E., 2010. Protection of Telomeres 1 is required for telomere integrity in the moss *Physcomitrella patens*. *Plant Cell* 22, 1838–1848.
- STEWART S. A., BEN-PORATH I., CAREY V. J., O'CONNOR B. F., HAHN W. C., WEINBERG R. A., 2003. Erosion of the telomeric single-strand overhang at replicative senescence. *Nat. Genet.* 33, 492–496.
- SUROVTSEVA Y. V., SHAKIROV E. V., VESPA L., OSBUN N., SONG X., SHIPPEN D. E., 2007. *Arabidopsis* *POT1* associates with the telomerase RNP and is required for telomere maintenance. *EMBO J.* 26, 3653–3661.
- SYRKOWA E., FAJKUS J., 2009. Structure-function relationships in telomerase genes. *Biol. Cell* 101, 375–392.
- SZOSTAK J. W., BLACKBURN E. H., 1982. Cloning yeast telomeres on linear plasmids. *Cell* 29, 245–255.
- TANI A., MURATA M., 2005. Alternative splicing of *Pot1* (Protection of telomere)-like genes in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Genet. Syst.* 80, 41–48.
- TREMOUSAYGUE D., MANEVSKI A., BARDET C., LESCURE N., LESCURE B., 1999. Plant interstitial telomere motifs participate in the control of gene expression in root meristems. *Plant J.* 20, 552–561.
- TSUJIMOTO H., YAMADA T., SASAKUMA T., 1997. Molecular structure of a wheat chromosome end healed after gametocidal gene-induced breakage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 3140–3144.
- TSUJIMOTO H., USAMI N., HASEGAWA K., YAMADA T., SASAKUMA T., 1999. De novo synthesis of telomere sequences at the healed breakpoints of wheat deletion chromosomes. *Mol. Gen. Genet.* 262, 851–856.
- VAQUERO-SEDAS M., GAMEZ-ARJONA F. M., VEGA-PALAS M. A., 2010. *Arabidopsis thaliana* telomeres exhibit euchromatic features. *Nucl. Acids Res.* 39, 2007–2017.
- WANG F., PODELL E. R., ZAUG A. J., YANG Y., BACIU P., CECHE T. R., LEI M., 2007. *POT1-TPP1* telomere complex is a telomerase processivity factor. *Nature* 445, 506–510.
- WATSON J. M., RIHA K., 2010. Comparative biology of telomeres: where plants stand. *FEBS Lett.* 584, 3752–3759.
- WEBB C. J., ZAKIAN V. A., 2008. Identification and characterisation of the *Schizosaccharomyces pombe* *TER1* telomerase RNA. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 15, 34–42.
- XIN H., LIU D., WAN M., SAFARI A., KIM H., SUN W., O'CONNOR M. S., SONGYANG Z., 2007. *TPP1* is a homologue of ciliate *TEBP-beta* and interacts with *POT1* to recruit telomerase. *Nature* 455, 559–562.
- YANG S. W., KIM D. H., LEE J. J., CHUN Y. J., LEE J. H., KIM Y. J., CHUNG I. K., KIM W. T., 2003. Expression of the telomeric repeat binding factor gene *NgTRF1* is closely coordinated with the cell division program in tobacco BY-2 suspension culture cells. *J. Biol. Chem.* 278, 21395–21407.
- YU E. Y., KIM S. E., KIM J. H., KO J. H., CHO M. H., CHUNG I. K., 2000. Sequence-specific DNA recognition by the Myb-like domain of plant telomeric protein *RTBP1*. *J. Biol. Chem.* 275, 24208–24214.
- YU G. L., BRADLEY J. D., ATTARDI L. D., BLACKBURN E. H., 1990. In vivo alteration of telomere sequences and senescence caused by mutated *Tetrahymena* telomerase RNAs. *Nature* 344, 126–132.
- ZENTGRAF U., HINDERHOFER K., KOLB D., 2000. Specific association of a small protein with the telomeric DNA-protein complex during the onset of leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Mol. Biol.* 42, 429–438.
- ZHAO Y., SFEIR A. J., ZOU Y., BUSEMAN C.M., CHOW T.T., SHAY J.W., WRIGHT W.E., 2009. Telomere extension occurs at most chromosome ends and is uncoupled from fill-in in human cancer cells. *Cell* 138, 463–475.
- ZHU H., FU W., MATTSON M. P., 2000. The catalytic subunit of telomerase protects neurons against amyloid beta-peptide-induced apoptosis. *J. Neurochem.* 75, 117–124.