

## **Telomeerit kantasoluissa ja syövässä**

LuK-tutkielma

Turun yliopisto

Bioteknologian laitos

Biokemia

02/2024

Ilona Nieminen

TURUN YLIOPISTO

Bioteknologian laitos

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

NIEMINEN, ILONA: Telomeerit kantasoluissa ja syövässä

LuK-tutkielma, 28 s.

Biokemia

02/2024

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

---

Telomeerit suojaavat kromosomien päitä solunjakautumisen yhteydessä. Telomeerit ovat kromosomien päissä olevia alueita, jotka rakentuvat toistuvista kaksijuosteisista guaniinipitoisista TTAGGG sekvensseistä. Telomeerisiä sekvenssejä sitoo yhteen kuuden proteiinin muodostama shelterin kompleksi. DNA-polymeraasi ei pysty rakentamaan uutta juostetta aivan rakennettavan juosteen loppuun saakka, joten kromosomien päät lyhenevät jokaisen solunjakautumisen yhteydessä.

Kantasolujen ja syöpäsolujen toiminnalle on välttämätöntä lähes loputon jakautumiskyky, minkä vuoksi solunjakautumisen aikana tapahtuva telomeerien lyheneminen heikentää niiden kykyä jakautua. Telomeraasi on entsyymi, joka pystyy pidentämään telomeerejä lisäämällä niihin toistuvia telomeerisiä sekvenssejä. Telomeraasi koostuu kahdesta alayksiköstä, joihin voi liittyä muita proteiineja, jotka ovat yleensä välttämättömiä telomeraasin aktiiviselle toiminnalle solussa. Telomeraasiaktiivisuutta havaitaan vain joissakin solutyypeissä, kuten useimmissa kantasoluissa ja syöpäsoluissa. Normaaleissa somaattisissa soluissa telomeraasi ei yleensä ole aktiivinen. Syöpä- ja kasvainsoluissa, joissa ei ole telomeraasiaktiivisuutta telomeerit voivat pidentyä myös vaihtoehtoisen pitenemisen mekanismilla.

Telomeraasin aktiivisuus vain tietyissä soluissa on osoittautunut hyvin lupaavaksi havainnoksi syöpähoidollisesta näkökulmasta, sillä tällöin hoidon vaikutus voitaisiin kohdentaa hyvin spesifisesti syöpäsoluissa aktiiviseen telomeraasiin ja syöpäsolujen telomeereihin. Monet kehitysvaiheesta, jotka vaikuttavat telomeraasin toimintaan ovat vielä kehitysvaiheessa, mutta niitä saatetaan nähdä tulevaisuudessa nykyisin käytössä olevien syöpähoitojen rinnalla. Myös telomeerien vaihtoehtoisen pitenemisen mekanismiin perustuvia syöpähoitoja on kehitetty, mutta niiden tutkimus on vielä puutteellista.

Tässä opinnäytetyössä kerrotaan telomeerien rakenteesta ja tehtävästä somaattisissa soluissa, kantasoluissa ja syöpäsoluissa. Tutkielma käsittelee myös telomeraasientsyymien toimintaa ja aktiivisuuksia eri solutyypeissä sekä tuo esille telomeraasien roolia yhdessä telomeerien kanssa syövän synnyssä ja sen etenemisessä. Lopuksi tutkielmassa otetaan katsaus tulevaisuudessa potentiaalsiin syöpähoitoihin, jotka kohdistuvat erityisesti telomeraasin toiminnan estämiseen telomeereissä ja telomeerisiin sekvensseihin.

Avainsanat: telomeeri, telomeraasi, shelterin kompleksi, replikaatiojännitys, syöpä, syöpähoidot

## **Sisällysluettelo**

- 1. Johdanto**
- 2. Telomeerien rakenne ja toiminta**
  - 2.1. Telomeerinen TTAGGG sekvenssi ja kromatiini**
  - 2.2. Telomeerisiä sekvenssejä yhteen liittävä shelterin kompleksi**
  - 2.3. Telomeerit syöpäkantasoluissa ja normaaleissa kantasoluissa**
- 3. Telomeraasit**
  - 3.1. Telomeraasin rakenne ja toiminta telomeeristen sekvenssien uusiutumisessa**
  - 3.2. Telomeerien vaihtoehtoisen pitenemisen mekanismit**
- 4. Telomeerien merkitys kantasoluissa ja syövässä**
  - 4.1. Kantasolujen telomeerit ja karsinogeneesi**
  - 4.2. Kromosomin epävakaas ja kasvainten muodostuminen**
- 5. Tulevaisuuden telomeraasihoidot syövässä**
  - 5.1. Telomeraasin RNA-komponentin toimintaa häiritsevät oligonukleotidit**
  - 5.2. Nukleotidien liittymisen telomeeriseen sekvenssiin estävät nukleosidianalogit**
  - 5.3. Immunoterapia telomeraasin hTERT alayksikölle terapeuttisilla rokotteilla**
  - 5.4. Telomeraasin sitoutumiseen vaikuttavat guaniini-nelilehtirakenteiden ligandit**
- 6. Lopuksi**

## 1. Johdanto

Telomeerit ovat DNA-proteiini rakenteita, joiden tehtävä solussa on suojata kromosomien päitä lyhenemiseltä solunjakautumisen aikana ja erilaisilta DNA:n vauriovasteisiin liittyviltä korjaustoimilta, kuten telomeerien yksijuosteisen guaniinipitoisen säikeen tunnistamista DNA:n kaksoisjuostemurtumaksi. Telomeerit huolehtivat siis solun kromosomivakauden ylläpidosta ja ovat välttämättömiä solun normaalille toiminnalle (Gomez ja muut 2012b; Martínez ja Blasco 2011). Telomeerit sijaitsevat kromosomien päissä toistuvina kuuden nukleotidin TTAGGG sekvensseinä. Telomeerien perusrakenteen uskotaan olevan hyvin samanlainen eri solutyypin, kuten kantasolujen ja syöpäsolujen kesken, mutta telomeerisen sekvenssin pituus voi vaihdella huomattavasti jopa saman organismin eri solujen kesken.

Telomeerit lyhenevät jokaisen solunjakautumisen yhteydessä. Telomeerien lyheneminen johtuu deoksiribonukleiinihappoa (engl. *deoxyribonucleic acid*, DNA) kopioivan DNA-polymeraasi entsyymin ominaisesta toiminnasta, minkä vuoksi uutta DNA-juostetta ei pystytä rakentamaan täydellisesti aivan kromosomien päissä (Zvereva ja muut 2010). Telomeerien lyheneminen ja sitä kautta tapahtuvan vanhenemisen uskotaan olevan erityisen tärkeää pitkäikäisille lajeille, kuten ihmiselle, sillä sen tarkoitus on vähitellen lopettaa ikääntyneen solun jakautuminen, mikä mahdollisesti sisältää toimintavaurioita, ja siten välttää syövän kehittyminen (Shay ja Wright 2010). Telomeerien lyheneminen voi olla seurausta myös oksidatiivisista vaurioista eksonukleolyttisistä käsittelytapahtumista ja myös muista tekijöistä, jotka voivat olla riippuvaisia esimerkiksi elintavoista, kuten runsaasta alkoholin käytöstä (Shay ja Wright 2019).

Ihmisen somaattisissa soluissa eli kaikissa muissa soluissa kuin ituradan solulinjassa telomeerien pituus säätelee solun jakautumiskertojen lukumäärää ja siten solun elinikää, sillä telomeerit eivät pysty pidentymään, koska soluissa ei ole telomeraasiaktiivisuutta. Hyvin lyhyet telomeerit solujen kromosomien päissä aiheuttavat solun vanhentumista, erilaisia toiminnan häiriöitä ja lopulta solukuoleman (Zvereva ja muut 2010). Sukusoluissa, kantasoluissa ja useimmissa kasvainsoluissa telomeerit pystyvät pidentymään solunjakaantumista huolimatta, sillä niissä on telomeraasientsyymi on aktiivinen. Erityisesti kasvainsolut pystyvät jakautumaan lähes loputtomasti telomeraasiaktiivisuuden ansiosta. Telomeraasit ovat entsyymejä, jotka ylläpitävät ja säätelevät solujen telomeerien pituutta lisäämällä toistuvia guaniinipitoisia TTAGGG sekvenssejä kromosomien päihin. (Gomez ja muut 2012b.)

Syöpäsoluissa ja useimmissa kantasoluissa telomeraasientsyymi on aktiivinen, minkä vuoksi ne pystyvät kompensoimaan lähes kokonaan telomeerien lyhenemisen solunjakautumisten yhteydessä, ja siten ovat pitkään jakautumiskykyisiä. Kantasolut ovat erilaistumattomia ja uusiutumiskykyisiä soluja, jotka pystyvät erilaistumaan miksi tahansa aikuisen yksilön solutyypiksi. Telomeraasiaktiivisuus vaihtelee solutyypin mukaan, ja esimerkiksi syöpäsoluissa telomeraasiaktiivisuus on usein suurempaa kuin kantasoluissa. Erityisesti kantasoluissa telomeraasiaktiivisuus voi vaihdella myös saman organismin solutyypin solujen kesken. Telomeraasin suurempi aktiivisuus ei kuitenkaan suoraan tarkoita tehokkaampaa telomeerien uusiutumista, vaan uusiutumisen tehokkuuteen voivat vaikuttaa myös monet muut tekijät.

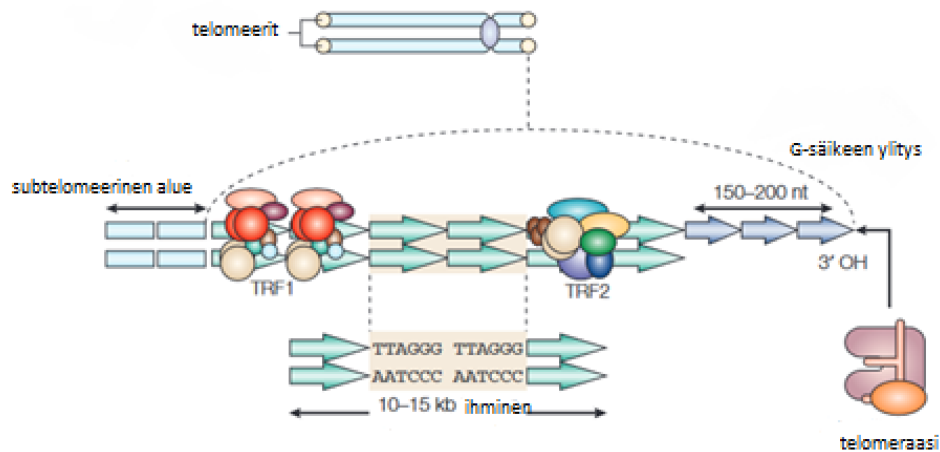
Syövässä solujen jakaantumisen säätely on häiriintynyt, minkä vuoksi syöpäsolut pystyvät jakaantumaan ja kasvamaan lähes hallitsemattomasti. Seurauksena voi olla kasvaimen muodostuminen ja syövän leviäminen muualla elimistöön. Telomeraasiaktiivisuus on löydetty lähes jokaisesta ihmisessä esiintyneestä kasvaimesta, mutta telomeraasi ei ole välttämätön telomeerien pitenemiselle. Myös kaksi vaihtoehtoista mekanismia telomeerin pitenemiselle tunnetaan. Telomeraasiaktiivisuuden uskotaan olevan välttämätöntä pitkäaikaiselle solunjakaantumiselle kasvaimessa, joissa ei esiinny muita mekanismeja telomeerien pituuden ylläpitoon (Shay ja muut 2001).

Opinnäytetyössä kerrotaan telomeerien rakenteesta ja toiminnasta somaattisissa soluissa, kantasoluissa ja syöpäsoluissa. Tutkielma tarkastelee myös telomeraasientsyymien toimintaa ja aktiivisuuksia eri solutyypeissä sekä esittelee telomeraasien roolia yhdessä telomeerien kanssa syövän synnyssä ja sen etenemisessä. Tutkielma keskittyy erityisesti siihen, miten kantasoluista voi kehittyä syöpäsoluja, ja mitkä mekanismit ovat kehityksen taustalla. Lopuksi tutkielmassa esitellään tulevaisuudessa potentiaalisia syöpähoitoja, jotka kohdistuvat erityisesti syöpäsolujen telomeraasiin ja telomeerisiin sekvensseihin.

## **2. Telomeerien rakenne ja toiminta**

### **2.1 Telomeerinen TTAGGG sekvenssi ja kromatiini**

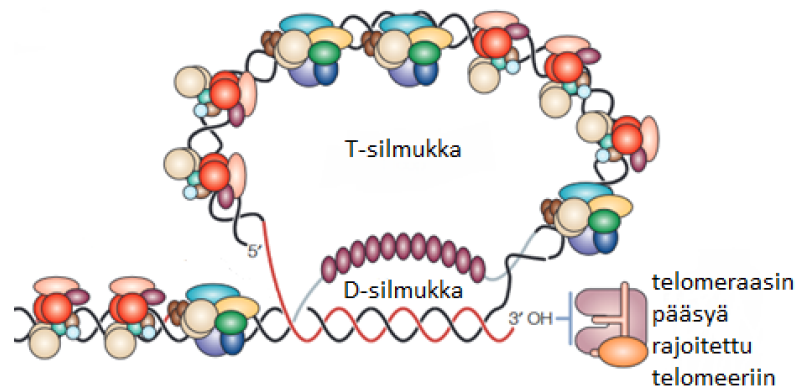
Telomeerit ovat suuria geenittömiä nukleoproteiinikomplekseja, jotka muodostuvat erityisestä heterokromatiinirakenteesta aivan solujen kromosomien päissä. Nisäkkäillä telomeerit rakentuvat lyhyistä ja säännöllisesti toistuvista kaksijuosteisista guaniinipitoisista TTAGGG sekvensseistä, joita sitoo yhteen kuuden proteiinin muodostama monimutkainen rakenne, jota kutsutaan telomeeriä sitovaksi proteiini kompleksiksi. Kuvassa 1 on esitetty telomeerien rakenne ja telomeraasin kiinnittyminen toistuviin telomeerisiin sekvensseihin. (Gomez ja muut 2012b; Martínez ja Blasco 2011.)



Kuva 1. **Telomeerien rakenne ja telomeraasin toiminta.** Telomeraasi lisää guaniinipitoisia TTAGGG sekvenssejä telomeerien päihin. Telomeerit rakentuvat kaksijuosteisesta DNA:sta, jossa toistuu TTAGGG sekvenssi (vihreä nuoli). Toistuvia telomeerisiä TTAGGG sekvenssejä sitoo yhteen telomeeriä sitova kuuden proteiinin, kuten TRF 1 ja TRF 2, muodostama monimutkainen kompleksi. Kromosomin telomeerien lopussa on 150-200 nukleotidia pitkä yksijuosteinen guaniinipitoinen säie (sininen nuoli), jonka lopussa olevaan 3'-OH-ryhmään telomeraasi voi kiinnittyä. Muokattu kuvasta (Blasco 2005).

Suurin osa telomeerisestä DNA:sta on järjestäytynyt erityisten proteiinien ympärille muodostaen nukleosomirakenteita. Nukleosomirakenteessa esiintyvät proteiinit ovat erityisiä histoniproteiineja, joissa on toistuvalla heterokromatiinirakenteelle ominaisia muutoksia (Blasco 2005). Vain pieni osa telomeerisestä DNA:sta ei ole muodostanut nukleosomirakenteita (Gomez ja muut 2012b; Martínez ja Blasco 2011). Eri lajeilla telomeerisen sekvenssin emäsjärjestys vaihtelee. Myös telomeeristen TTAGGG sekvenssien lukumäärä kromosomin päässä vaihtelee paljon eri lajien välillä ja jopa saman organismin eri solujen kromosomien telomeerien välillä. Kaikilla selkärangkaisilla toistuva sekvenssi on TTAGGG, mutta toistuvan telomeerisen sekvenssin määrä voi vaihdella jopa muutamasta tuhannesta emäsparista sataan tuhanteen emäkseen (Gomez ja muut 2012b). Nisäkkäillä telomeerisen DNA:n toistuvan kaksijuosteisen TTAGGG sekvenssin pituus on tyypillisesti noin 10 000-15 000 emäsparia (Blasco 2005).

Telomeerit päättyvät usein yksijuosteiseen guaniinipitoiseen säikeeseen, jonka pituus ihmisellä on noin 150-200 nukleotidia. Yksijuosteisen guaniinipitoisen säikeen rakenne on esitetty kuvassa 1. Yksijuosteisen guaniinipitoisen säikeen tarkoituksena on toimia telomeraasin kiinnittymiskohtana, jossa telomeraasi kiinnittyy sekvenssin lopussa olevaan 3'-OH-ryhmään. Guaniinipitoinen juoste voi myös taittua taaksepäin ja vuorovaikuttaa kaksijuosteisella alueella TTAGGG sekvenssin toistuvien osien kanssa. Vuorovaikutuksessa syntyy suuri telomeerinen silmukka, jota kutsutaan T-silmukaksi. T-silmukan muodostuminen on esitetty kuvassa 2. T-silmukan muodostuminen saattaa ehkäistä ja säädellä telomeraasin kiinnittymistä 3'-OH-ryhmään telomeerin lopussa (Lange 2005). (Blasco 2005.)

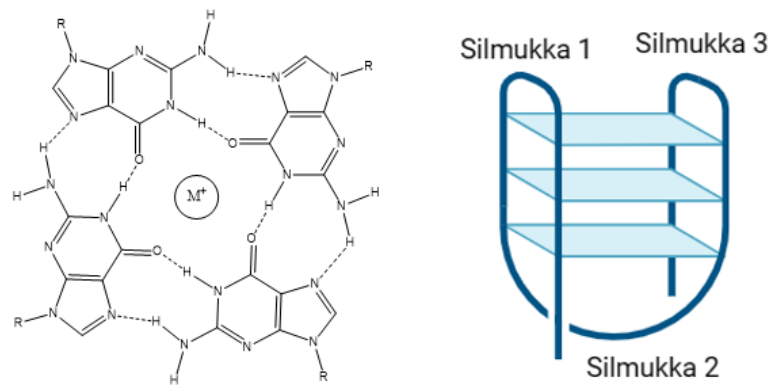


Kuva 2. **Telomeerinen T-silmukka ja sen muodostuminen.** T-silmukka muodostuu, kun guaniinipitoinen säie taittuu taaksepäin ja vuorovaikuttaa kaksijuosteisen telomeerisen TTAGGG sekvenssin toistuvien osien kanssa. T-silmukan muodostuminen telomeerin päähän saattaa ehkäistä ja säädellä telomeraasin kiinnittymistä 3'-OH-ryhmään telomeerin lopussa. Muokattu kuvasta (Blasco 2005).

Telomeerisen DNA:n TTAGGG sekvenssi voi laskostua tiiviiksi guaniini-nelilehtirakenteeksi (engl. *G-guadruplex*, G4), joiden on osoitettu estävän telomeraasin toimintaa telomeerien päissä (Fletcher ja muut 1998). Guaniini-nelilehtirakenne sisältää neljä guaniiniemästä neliönmuotoisessa tasossa symmetrisesti, mitkä sitoutuvat tasossa keskenään erityisillä vetysidoksilla. Neliönmuotoiset tasot voivat asettua useaan eri kerrokseen rakenteessa, koska runsaasti guaniinia sisältävät sekvenssit voivat muodostaa nelijuosteisia silmukkamaisia rakenteita, kuten kuvassa 3 on esitetty (Huppert ja Balasubramanian 2005). Guaniiniemäkset ympäröivät keskuskationeita,  $K^+$  ja  $Na^+$ , jotka vakauttavat rakennetta. Guaniini-nelilehtirakenne on esitetty kuvassa 3. Guaniini-nelilehtirakenteet voidaan jakaa rinnakkaiseen, vastakkaisuuntaiseen ja hybridi tyyppeihin, ja ne säätelevät myös useita biologisia tapahtumia, kuten replikaatiota, transkriptiota ja translaatiota. (Moye ja muut 2015.)

Guaniini-nelilehtirakenteet eivät kuitenkaan ole ainutlaatuisia telomeerien rakenteessa vaan niitä voi esiintyä myös muualla ihmisen genomissa ja mahdollisia sekvenssin alueita tunnetaan tuhansia (Moye ja muut 2015). Telomeereissä sijaitsevat guaniini-nelilehtirakenteiden epätasapaino on yhdistetty useisiin sairauksiin, kuten syöpiin (Seimiya ja muut 2021). Guaniini-nelilehtirakenteiden vakauttamiseen liittyen on kehitetty mahdollisia syöpähoitoja, joita tulevaisuudessa voidaan nähdä nykyisin käytössä olevien menetelmien rinnalla, mutta tutkimus aiheesta on vielä keskeneräistä.



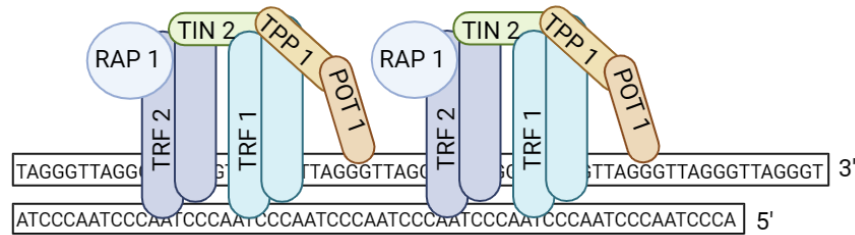


Kuva 3. **Guaniini-nelilehtirakenne ja sen muodostuminen.** Vasemmanpuoleisessa kuvassa on esitetty vetysidoksien muodostuminen guaniiniemästen välille. Keskuskationina ( $M^+$ ) voi olla esimerkiksi kalium tai natrium. Oikeanpuoleisessa kuvassa on esitetty yksiulotteinen kuva guaniini-nelilehtirakenteesta ja sen muodostumisen aikana syntyvistä silmukoista (silmukat 1-3).

## 2.2 Telomeerisiä sekvenssejä yhteen liittävä shelterin kompleksi

Nisäkkäillä telomeerit muodostuvat lyhyistä ja toistuvista TTAGGG sekvensseistä. TTAGGG sekvenssejä sitoo yhteen kuuden proteiinin muodostama shelterin kompleksi (Lange 2005), joka tunnetaan myös nimellä telosomi (Lim ja Cech 2021). Shelterin kompleksi huolehtii myös kromosomien päiden suojaamisesta sekä säätelee telomeraasientsyymien aktiivisuutta kromosomin päässä ja sen kiinnittymistä telomeeriin (Martínez ja Blasco 2011). Lisäksi shelterin kompleksilla, erityisesti siihen kuuluvilla proteiineilla, on vaikutusta joihinkin sairauksiin, kuten erilaisiin syöpiin. Shelterin kompleksin toimintaa ja siihen vaikuttavia tekijöitä on tutkittu mahdollisina syöpähoidollisina kohteita.

Shelterin kompleksin muodostuu telomeeriä sitovista proteiineista 1 ja 2 (engl. *telomeric repeat binding factor*, TRF 1 ja TRF 2), repressori-aktivaattoriproteiinista RAP 1 (engl. *repressor-activator protein*, RAP), telomeerien suojausproteiinista POT 1, nuklearisesta proteiinista TIN 2 ja tripeptidyli-peptidaasi TPP 1 proteiinista (engl. *tripeptidyl-peptidase*, TPP). (Lange 2005; Martínez ja Blasco 2011.) Kuvassa 4 on esitetty shelterin kompleksin rakenne.



Kuva 4. Kaavakuva telomeeriä sitovasta kuuden proteiinin muodostamasta kompleksista, joka tunnetaan nimellä shelterin kompleksi. Shelterin kompleksi koostuu kuudesta telomeeriä sitovasta proteiinista, jotka ovat TRF 1, TRF 2, RAP 1, POT 1, TPP 1 ja TIN 2. TRF 1 ja TRF 2 (engl. *telomeric repeat binding factor*, TRF) ovat telomeeriä sitovia tekijöitä, RAP 1 (engl. *repressor-activator protein*, RAP) on repressori-aktivaattori proteiini, POT 1 on telomeerien suojaus proteiini, TIN 2 on nukleaarinen proteiini ja TPP 1 (engl. *tripeptidyl-peptidase*, TPP) eli tripeptidyylipeptidaasi 1 on telomeerinen järjestelijä proteiini. Mukailtu kuvasta (Martínez ja Blasco 2011).

TRF 1 ja TRF 2 eli telomeeriä sitovat proteiinit sekä POT 1 eli telomeerinen suojausproteiini sitoutuvat suoraan telomeerisiin toistuviin TTAGGG sekvensseihin. TRF 1 ja TRF 2 sitoutuvat kaksijuosteiseen telomeeriseen DNA:han, kun taas POT 1 pystyy sitoutumaan vain 3'-päähän yksijuosteiseen guaniinipitoiseen säikeeseen (Lei ja muut 2004). Vaikka TRF 1 ja TRF 2 toimivat samanaikaisesti ja lähellä toisiaan, ne eivät vuorovaikuta keskenään ja sitovat telomeeristä DNA:ta itsenäisesti. POT 1 proteiini puolestaan vuorovaikuttaa TRF 1 kompleksin kanssa proteiini-proteiini vuorovaikutusten välityksellä. TIN 2 eli nukleaarinen proteiini voi sitoa sekä TRF 1 että TRF 2 proteiinit itsenäisesti toimivien domeenien välityksellä ja osallistuu TPP 1-POT 1 kompleksin muodostumiseen, joka mahdollistaa eri proteiinien vuorovaikutuksen shelterin kompleksissa. (Blasco 2005; Martínez ja Blasco 2011; Lange 2005.)

TPP 1 sitoo sekä TIN 2 että POT 1 proteiinit karboksiterminaalisen domeenin ja keskusdomeenin välityksellä. Lisäksi TPP 1 proteiinin aminoterminaalinen pää sisältää domeenin, joka vuorovaikuttaa telomeraasin kanssa. Domeenin uskotaan vaikuttavan telomeraasientsyymien kiinnittymisessä kromosomin telomeerin päähän. RAP 1 eli repressori-aktivaattori proteiini muodostaa kompleksin TRF 2 proteiinin kanssa, joka on välttämätön vuorovaikutus RAP 1 proteiinin sitoutumisessa telomeerisiin TTAGGG sekvensseihin. RAP 1 proteiini on välttämätön telomeeristen sekvenssien liittämässä yhteen, mutta se myös ehkäisee telomeerien rekombinaatiota ja suojaa rakennetta murtumiselta (Martinez ja muut 2010). (Martínez ja Blasco 2011.)

Shelterin kompleksin muodostavat proteiinit omaavat lukuisia tehtäviä telomeereissä, mutta toimivat myös muissa solun tehtävissä. Shelterin kompleksin proteiinien tehtäviä telomeereissä ovat esimerkiksi kromosomien päiden suojeleminen rekombinaatiolta (TRF 2, TRF 1, TIN 2, TPP 1 ja RAP 1), guaniinipitoisen juosteen suojeleminen sekä T-silmukan rakenteen tasapainottaminen (POT 1), telomeerin pituuden sääteleminen (TRF 2, TRF 1, TIN 2, TPP 1 ja RAP 1), DNA:n vauriovasteiden ilmentymisen estäminen (TRF 2, TRF 1, POT 1 ja RAP 1), telomeerin replikaatio (TRF 1) ja telomeraasin sitoutuminen telomeerin päässä olevalle yksijuosteiselle alueelle (TPP 1). Muita shelterin kompleksin proteiinien tehtäviä solussa ovat esimerkiksi subtelomeerinen geenien vaimentaminen (RAP 1) ja transkription säätely (RAP 1). (Bandaria ja muut 2016; Lange 2005; Martínez ja Blasco 2011.)

Telomeeriä sitovilla proteiineilla, kuten TRF 1, TRF 2, POT 1 ja TIN 2, on vaikutusta muun muassa kasvainten muodostumiseen ja syövän syntymiseen, mutta myös muihinkin sairauksiin ihmisellä. TRF 1 proteiini osallistuu esimerkiksi telomeerin säätelytehtäviin solussa ja TRF 2 proteiini osallistuu solun säätelytehtävien lisäksi DNA:n vaurioiden korjaamiseen. Lisäksi TRF 2 proteiinia tuotetaan ylimäärin monissa kasvaimissa ja siten sillä uskotaan olevan vaikutusta syövän syntymiseen ja sen etenemiseen (Blasco 2005; Martínez ja Blasco 2011). Monet muut telomeeristen proteiinien vaikutukset syövässä, kuten muissakin sairauksissa ovat vielä toistaiseksi puutteellisesti tutkittuja, mutta tieto niiden vaikutuksista lisääntyy jatkuvasti.

Kuudesta nukleoproteiinista koostuva shelterin kompleksi estää solun suojaus- ja korjausmekanismeja tunnistamasta kromosomien päitä vaurioituneiksi DNA-kaksoisjuostekatkoksiksi. Esimerkki estetystä suojaus- ja korjausmekanismista on DNA:n vauriovasteiden aktivoituminen solussa. Solunjakautumisten yhteydessä tapahtuva telomeerien lyheneminen häiritsee shelterin kompleksin sitoutumista telomeeriin ja vaarantaa T-silmukan muodostumisen. Seurauksena voi olla telomeerien heikentynyt suojavaikutus, joka johtaa telomeerien toiminnallisiin häiriöihin, solujen vanhenemiseen ja apoptoosiin eli ohjelmoituun solukuolemaan. (Gao ja Pickett 2022.)

### 2.3 Telomeerit syöpäkantasoluissa ja normaaleissa kantasoluissa

Sekä syöpäkantasolujen että normaalien kantasolujen telomeerit lyhenevät jokaisen solunjakautumisen yhteydessä. Syöpäkantasoluilla ja normaaleilla kantasoluilla, kuten myös normaaleilla somaattisilla soluilla telomeerien rakenne näyttäisi olevan hyvin samankaltainen, mutta telomeerien pituudessa voidaan havaita eroja jopa saman solutyypin solujen kesken. Telomeraasin aktiivisuudessa havaitaan puolestaan merkittäviä eroja syöpäkantasolujen ja normaalien kantasolujen välillä. Syöpäkantasoluissa telomeraasiaktiivisuus on yleensä suurempaa kuin normaaleissa kantasoluissa, mutta telomeraasiaktiivisuus voi vaihdella merkittävästi myös saman solutyypin solujen kesken, kuten esimerkiksi kantasoluilla. (Shay ja Wright 2010.)

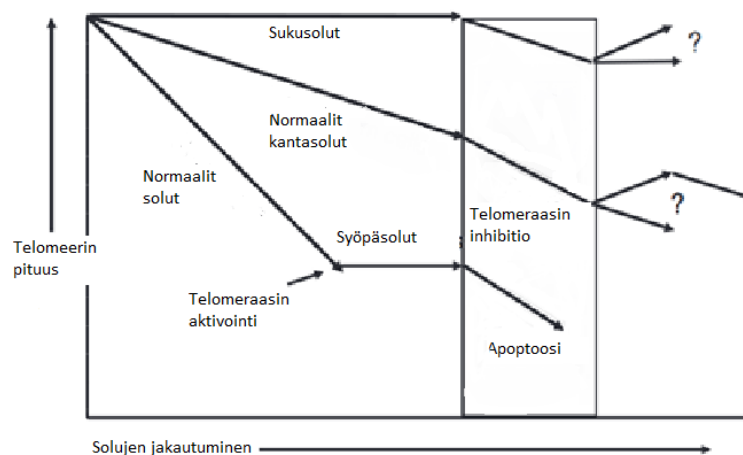
Syöpäkantasolut ovat ihmisen kasvaimissa esiintyviä soluja, joilla on paljon samoja ominaisuuksia kuin normaaleilla kantasoluilla, ja ne pystyvät muodostamaan nopeasti kaikki tietyille syöväille ominaiset solut kasvaimen tai vereen hematologisissa syövässä. Syöpäkantasolut pystyvät tyypillisesti jakautumaan ja tuottamaan uusia syöpäsoluja nopeammin kuin tavalliset syöpäsolut. (Shay ja Wright 2010.)

Normaalit kantasolut ovat kromosomaalisesti tasapainoisempia kuin syöpäkantasolut. Normaaleilla kantasoluilla on diploidinen genomi eli jokaiselle kromosomille löytyy toinen vastinkromosomi. Syöpäkantasolut puolestaan ovat lähes aina aneuploidisia eli niillä on normaalista poikkeava määrä kromosomeja tumassa, joten syöpäkantasoluilla esiintyy paljon kromosomirakenteen muutoksia. (Shay ja Wright 2010.)

Normaalit kantasolut kasvavat ja jakaantuvat hyvin hitaasti ja niiden telomeerit ovat usein lyhyemmät kuin esimerkiksi normaaleilla somaattisilla soluilla. Syöpäkantasolut kasvavat ja jakaantuvat nopeammin kuin normaalit kantasolut ja niissä esiintyy lähes aina telomeraasiaktiivisuutta. Tutkimukset ovat myös osoittaneet, että syöpäkantasolujen telomeerit olisivat alusta lähtien hyvin lyhyet (Marian ja muut 2010). Havainto tukee ajatusta siitä, että kantasoluista tai somaattisista soluista voisi kehittyä syöpäsoluja niiden lyhentyneistä telomeereistä huolimatta. (Shay ja Wright 2010.)

Telomeerien lyheneminen solunjakautumisten seurauksena vaihtelee eri kantasolujen kesken kuin myös normaalien solujen välillä. Kuvassa 5 on esitetty yhteenveto telomeerin pituuden muutoksia siirtien varhaismuodon soluissa, normaaleissa kantasoluissa ja kasvaimen kehittymistä edeltävissä soluissa. Kuvasta 5 havaitaan, että telomeerit lyhenevät jokaisessa solutyypissä niiden elinaikana, mutta lyhenemisen nopeus riippuu solutyypistä. Lisäksi telomeraasi aktivoituu solun ikääntyessä, mutta aktivoitumisen ajankohta riippuu solutyypistä.

Sukusoluilla telomeerien lyheneminen alkaa vasta, kun solu on jakautunut suurimman osan elinajastaan. Kantasoluilla telomeerit lyhenevät nopeammin kuin sukusoluilla, mutta tasaisesti niiden eliniän aikana eikä telomeraasiaktiivisuuden heikkeneminen merkittävästi nopeuta telomeerien lyhenemistä. Normaaleilla soluilla telomeerien lyhenevät nopeiten. Jos normaaleista soluista kehittyy syöpäsoluja, telomeerien piteneminen pysähtyy hetkellisesti, koska telomeraasi aktivoituu solussa, jonka jälkeen telomeerit alkavat taas lyhentyä telomeraasin tehon heikentyessä ja lopulta solu ajautuu apoptoosiin. Kuvan 5 laatikko kuvastaa muutoksia telomeraasin aktiivisuudessa solussa, kuten telomeraasin toiminnan heikkenemistä ja estämistä.



Kuva 5. **Telomeerien lyheneminen siittiön varhaismuodon soluissa eli itusoluissa soluissa, normaaleissa kantasoluissa ja kasvaimen kehittymistä edeltävissä soluissa.** Jokaisessa solussa telomeerit lyhenevät ainakin jossakin kohtaa elinkaaren aikana. Toisilla soluilla lyheneminen tapahtuu nopeammin kuin toisilla eikä telomeraasiaktiivisuus yleensä pysty pitämään telomeerien pituutta vakiona. Kuvan laatikko kuvaa muutoksia telomeraasientsyymin aktiivisuudessa. Muokattu kuvasta (Shay ja Wright 2010).

### 3. Telomeraasit

#### 3.1 Telomeraasin rakenne ja toiminta telomeeristen sekvenssien uusiutumisessa

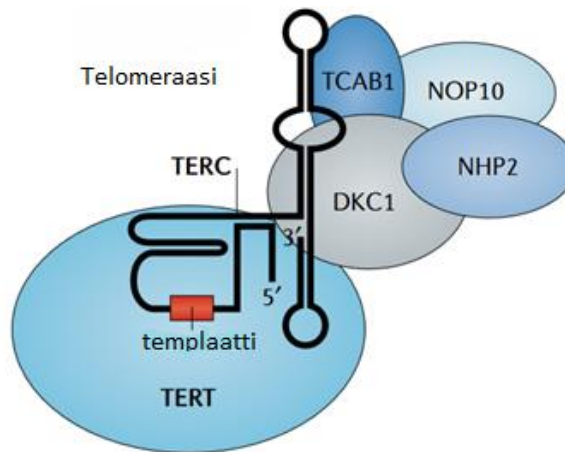
Telomeraasiaktiivisuutta havaitaan vain hyvin harvoin ihmisen normaaleissa somaattisissa soluissa, jolloin niillä ei ole mahdollisuutta estää telomeerien lyhenemistä solunjakautumisen yhteydessä ja siten solujen vanhenemista. Kasvaimen kehittyminen edellyttää solujen tehokasta jakautumista ja uusiutumista, jolloin telomeerien lyhenemisen ja solujen vanhenemisen hidastaminen on tärkeää. Telomeraasin lisääntyntä aktiivisuutta havaitaan jopa 85–90 % kaikista ihmisen syövästä, joten telomeraasientsyymin katalysoima telomeerien piteneminen on yleisin mekanismi syöpäkasvaimissa (Cesare ja Reddel 2010). Myös kantasoluissa havaitaan telomeraasiaktiivisuutta, koska kantasolujen tulee pystyä jakautumaan tehokkaasti pitkiäkin aikoja.

Telomeraasit ovat ribonukleoproteiineja, jotka pidentävät kromosomien päiden telomeerejä lisäämällä niihin telomeerisia toistuvia TTAGGG sekvenssejä, jotka lyhenevät muun muassa DNA:n kahdentumisen seurauksena eukaryoottisoluissa jokaisen solunjakautumisen yhteydessä noin 50–200 emäsparia (Shcherbakova ja muut 2006). Telomeerien lyheneminen johtuu DNA-polymeraasille luonnollisesta ominaisuudesta, sillä se ei pysty rakentamaan kaksijuosteista DNA:ta aivan kromosomin päähän saakka.

Ihmisen telomeraasin katalyyttinen ydin koostuu RNA komponentista, jota kutsutaan ihmisen telomeraasin RNA komponentiksi (engl. *telomerase RNA component*, TERC), josta käytetään myös lyhennettä hTR (engl. *human telomerase RNA*). RNA komponentin lisäksi telomeraasin rakenteeseen kuuluvat katalyyttinen käänteinen transkriptaasi alayksikkö, jota kutsutaan telomeraasin käänteiseksi transkriptaasiksi (engl. *Telomerase Reverse Transcriptase*, TERT) ja muita pieniä proteiineja, jotka kiinnittyvät TERT-alayksikköön ja ovat välttämättömiä entsyymien aktiivisuudelle. (Mu ja Wei 2002; Shcherbakova ja muut 2006.) Kuvassa 6 on esitetty telomeraasin rakenne.

Telomeraasin RNA komponentti toimii mallina telomeeriselle sekvenssille telomeerin pidentyessä (Mu ja Wei 2002). Ihmisen telomeraasin RNA komponentti sisältää sekvenssin 5'-CUAACCCUAAC-3', joka on komplementaarinen telomeeriselle toistuvalla TTAGGG sekvenssille sekä myös osalle viereisistä telomeerisistä toistoista, jolloin RNA komponentin sisältämä sekvenssi muodostaa mallin koko kopioitavalle molekyylille. Telomeraasin RNA komponentti koostuu kolmesta rakenteellisesti konservoituneesta domeenista, jotka ovat usein hyvin samankaltaisia eri lajeilla, vaikka telomeraasin RNA komponentin pituus ja sekvenssi vaihtelevat. Telomeraasin RNA komponentin domeenit ovat malli/pseudoknot domeeni, CR4/5 domeeni ja H/ACA laatikko domeeni (Smith ja muut 2020). (Mu ja Wei 2002.)

Proteiinalayksikkö hTERT katalysoi telomeerin muodostumisreaktion. Ihmisen telomeraasin TERT alayksikkö koostuu neljästä konservoituneesta domeenista, jotka ovat telomeraasin toiminnalle välttämätön N-terminaalinen domeeni, RNA:ta sitova domeeni, käänteinen transkriptaasi domeeni ja rakenne päättyy C-terminaaliseen peukalodomeeniin (engl. *thumb domain*). Telomeraasin TERT alayksikkö muodostaa telomeraasin RNA komponentin kanssa kompleksin. Telomeerisen RNA komponentin lisäksi telomeraasin TERT alayksikkö muodostaa muita komplekseja muiden proteiinien, kuten dyskeriini pseudouridiinisyyntaasi 1 (DKC1), telomeraasin Cajal-vartalo proteiini 1 (TCAB1), NHP2 ribonukleoproteiini, NOP10 ribonukleoproteiini ja GAR1 ribonukleoproteiini, kanssa. (Shay ja Wright 2019.)



Kuva 6. **Telomeraasin rakenne.** Telomeraasin RNA komponentti TERC toimii mallina telomeeriselle sekvenssille telomeerin pidentyessä. Telomeraasin katalyyttinen käänteinen transkriptaasi TERT katalysoi telomeerin muodostumisreaktion, jossa telomeerisiä sekvenssejä kiinnitetään telomeerin päähän. Telomeraasin TERT alayksikkö muodostaa kompleksin telomeraasin RNA komponentin kanssa. DKC1, TCAB1, NOP10, NHP2 ovat muita proteiineja, jotka ovat välttämättömiä muun muassa telomeraasin aktiivisuudelle, joiden kanssa TERT muodostaa kompleksin toimivassa telomeraasientsyymissä. Mukailtu kuvasta (Shay ja Wright 2019).

Telomeraasi on siis RNA riippuvainen DNA-polymeraasi, joka käyttää omaa RNA komponenttia mallina kromosomin 3'-pään yksijuosteisen DNA:n rakentamiseen lisäämällä telomeerisiä toistoja synteesissä (Mu ja Wei 2002). Telomeraasi käyttää solussa tapahtuvassa synteesissä substraattina deksinukleotidi-5'-trifosfaattia ja telomeerin 3'-päättä. (Zvereva ja muut 2010.)

Telomeraasin katalysoimassa synteesissä telomeerinen DNA pitenee suunnassa, jossa RNA molekyylin 3'-pään mallisekvenssi kiinnittyy telomeerisen DNA:n 3'-pään yksijuosteiselle ulokkeelle. Kiinnittyminen saa aikaan emäspareista muodostuvan alukkeen, joka on välttämätöntä käänteistranskriptaasin aktiivisuudelle. Lopuksi rakennetaan uusi telomeerinen toistuva sekvenssi 5'-3' suunnassa, jonka jälkeen RNA komponentin malli voidaan siirtää seuraavaan yksijuosteiseen telomeerisen sekvenssin 3'-pään ulokkeelle, jolloin voidaan rakentaa uusi telomeerinen toistuva sekvenssi ilman telomeraasin irtoamista kohteesta. (Mu ja Wei 2002) Telomeraasin aktiivisuus ei kuitenkaan aina ole välttämätöntä telomeerien pitenemiselle solussa. Joissakin solutyypeissä telomeerit voivat pidentyä myös vaihtoehdoisen pitenemisen mekanismeilla, mutta se on selkeästi harvinaisempi tapa ylläpitää telomeerien pituutta. (Cesare ja Reddel 2010.)

### 3.2 Telomeerien vaihtoehtoisen pitenemisen mekanismit

Telomeerien piteneminen voi tapahtua myös ilman telomeraasia solussa vaihtoehtoisen pitenemisen mekanismeilla. Kaikista ihmisen kasvaimista noin 10–15 %:lla on löydetty telomeerien vaihtoehtoista pidentymistä (Cesare ja Reddel 2010; Shay ja Wright 2019). Telomeerien vaihtoehtoista pidentymistä esiintyy tavallisissa syövässä, kuten rintasyövässä, mutta sitä esiintyy eniten kasvaimissa, jotka ovat mesenkyymaalista alkuperää eli peräisin alkeissidekudoksesta. Vielä ei ole aivan selvää miksi juuri mesenkyymaalista alkuperää olevissa syövässä esiintyy eniten vaihtoehtoista telomeerien pitenemistä, mutta ihmisen mesenkyymin kantasoluilla näyttäisi olevan erityinen taipumus aktivoida telomeerien vaihtoehtoisen pitenemisen mekanismi. (Cesare ja Reddel 2010) Telomeerien vaihtoehtoisen pidentymisen mekanismit eivät ole yhtä hyvin tutkittuja kuin telomeraasin avulla tapahtuva telomeerien piteneminen, mutta tutkimus aiheesta lisääntyy jatkuvasti.

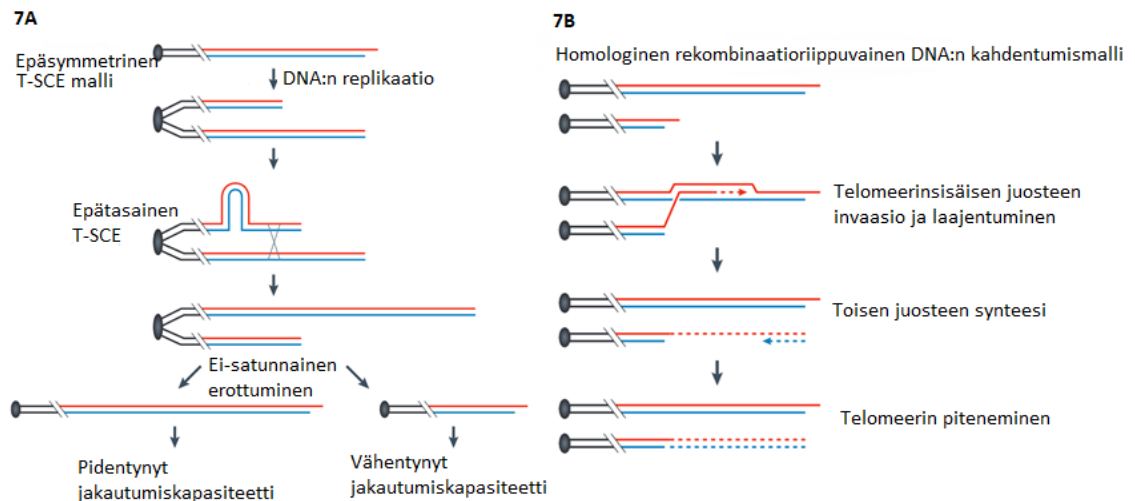
Vaihtoehtoinen telomeerien piteneminen soluissa vaatii DNA:n kahdentumisen DNA-polymeraasin avustamana, mutta epäselvää on miten telomeerisen sekvenssin piteneminen tapahtuu DNA:n kahdentumisen jälkeen. Telomeerien pitenemiseen vaihtoehtoisessa pidentymisessä on kehitetty kaksi mahdollista teoriaa, joita kutsutaan nimillä epäsymmetrinen T-SCE malli ja homologinen rekombinaatioriippuvainen DNA:n kahdentumismalli.

Ensimmäistä selitysmallia kutsutaan epäsymmetriseksi T-SCE malliksi, joka perustuu havaintoon, että T-SCE (engl. *telomere sister chromatid exchanges*) eli telomeerin sisarkromatidin vaihto tapahtuu paljon useammin vaihtoehtoista pitenemistä hyödyntävissä soluissa kuin telomeraasiaktiivisuuden omaavissa soluissa tai normaaleissa somaattisissa soluissa (Cesare ja Reddel 2010). Mallin mukaan epäsymmetrinen telomeerin sisarkromatidin vaihdon seurauksena voi syntyä tytär solu, jolla on pidentynyt telomeeri. Pidentynyt telomeeri johtaa pidentyneeseen jakautumiskykyyn. Samalla syntyy myös toinen tytär solu, jonka telomeeri on lyhentynyt. Lyhentynyt telomeeri voi johtaa pienentyneeseen jakautumiskykyyn (Cesare ja Reddel 2010; Londoño-Vallejo ja muut 2004). Molekyylitason selitys T-SCE:lle näyttäisi olevan toistaiseksi tuntematon. Kuvassa 7A on esitetty mekanismi epäsymmetriselle T-SCE mallille.

Mielenkiintoista epäsymmetrisessä T-SCE mallissa on, että se voisi johtaa solupopulaation lähes rajattomaan kasvuun ja jakautumiseen. Edellä kuvattu vaatisi kuitenkin toimiakseen mekanismia, jonka avulla pidentyneet telomeerit voitaisiin erottaa yhdeksi tytär soluksi ja lyhentyneet telomeerit puolestaan toiseksi tytär soluksi. (Cesare ja Reddel 2010) Tutkimus aiheesta on kuitenkin puutteellista eikä tällä hetkellä tiedetä, onko vastaavanlaista telomeerien erottelumekanismia edes olemassa.



Toista selitysmallia kutsutaan homologiseksi rekombinaatioriippuvaiseksi DNA:n kahdentumismalliksi. Malli pohjautuu ajatukseen, että telomeerien vaihtoehtoista pitenemistä havaitaan uuden telomeerisen DNA-sekvenssin rekombinaatiovälitteisessä synteesissä käytettäessä olemassa olevaa toista telomeeristä sekvenssiä mallina uuden telomeerisen sekvenssin rakentamiseen (Cesare ja Reddel 2010). Kuvassa 7B esitetty homologisen rekombinaatioriippuvaisen DNA:n kahdentumismallin mekanismi.



Kuva 7. A) **Epäsymmetrinen T-SCE mallin mekanismi vaihtoehtoiselle telomeerin pitenemiselle solussa ilman telomeraasientsyymiä.** Malli ehdottaa, että epätasaisen telomeerin sisarkromatidin vaihdon (engl. *telomere sister chromatid exchanges, T-SCE*) seurauksena voi syntyä tytär solu, jolla on pidentynyt telomeeri sekä toinen tytär solu, jolla on lyhentynyt telomeeri. Tytär solulla, jonka telomeeri on pidentynyt, on pidentynyt jakautumiskyky. B) **Homologisen rekombinaatioriippuvaisen DNA:n kahdentumismallin mekanismi telomeerin vaihtoehtoiselle pitenemiselle solussa.** Malli pohjautuu ajatukseen, että telomeerin piteneminen johtuu uuden telomeerisen DNA-sekvenssin rekombinaatiovälitteisestä rakentamisesta. Mallissa käytetään olemassa olevaa telomeeristä sekvenssiä viereisen kromosomin telomeeristä kopioitavana mallina. Mukailtu kuvasta (Cesare ja Reddel 2010).

#### 4. Telomeerien merkitys kantasoluissa ja syövässä

##### 4.1 Kantasolujen telomeerit ja karsinogeneesi

Sekä somaattisissa kantasoluissa että esisoluisissa esiintyy pieniä pitoisuuksia telomeraasia koko solun elinkaaren ajan. Telomeraasin läsnäolo näissä soluissa mahdollistaa niiden pidemmän jakautumiskyvyn kuin tavallisilla erilaistuneilla somaattisilla soluilla. Lukuisissa tutkimuksissa on havaittu, että kantasolut ja esisolut toimivat usein ensimmäisinä solutyyppeinä syövän muodostumisessa. Lisäksi on havaittu, että ihmisen kantasoluissa mutaatioiden lukumäärä kasvaa solun ikääntyessä ja lopulta mutaatiot voivat johtaa kasvaimen muodostumiseen (Welch ja muut 2012). (Günes ja Rudolph 2013.)

Kantasoluille ominaista ovat myös tiukemmat mekanismit geneettisen materiaalin eheyden ylläpitämiseksi kuin erilaistuneilla somaattisilla soluilla (Günes ja Rudolph 2013). Vuonna 2002 Cervantes ja muut tutkivat alkion kantasolujen mutaatioiden yleisyyttä sekä mitoottisen rekombinaation yleisyyttä. Tutkimus osoitti, että sekä mutaatioiden että mitoottisen rekombinaation yleisyys alkion kantasoluissa oli noin sata kertaa pienempi kuin aikuisen somaattisissa soluissa (Cervantes ja muut 2002; Günes ja Rudolph 2013).

Solujen ikääntyessä telomeerien toimintahäiriöt yleistyvät. Toimintahäiriöt saattavat aiheuttaa kromosomiston epävakausta ja lisätä karsinogeneesiä edeltäviä geenimutaatioita. Karsinogeneesillä tarkoitetaan syöpäkasvaimen muodostumista. Kromosomiston epävakausta somaattisiin kantasoluihin aiheuttaa erityisesti telomeeristen sekvenssien lyheneminen kromosomien päissä. Telomeraasin ilmentyminen solussa saattaa suojata ikääntyviä somaattisia kantasoluja telomeerien toimintahäiriöiltä ja pidentää telomeerejä, mutta telomeraasin aktiivisuustaso ei kuitenkaan riitä estämään täysin telomeerien lyhenemistä somaattisissa kantasoluissa niiden jakautuessa, jonka vuoksi vanhenevissa kantasoluissa voidaan havaita tilapäisiä telomeerien toimintahäiriöitä. (Günes ja Rudolph 2013.)

Vaikka kantasolulla olisi lukuisia telomeerisia toimintahäiriöitä, se pystyy edistämään solun jakautumista lähes loputtomasti johtaen onkogeenisten mutaatioiden kertymiseen. Myös kantasolujen erilaistuminen somaattisiksi soluiksi on mahdollista genomien epävakaasta tilasta huolimatta. Kantasolujen kyky sietää telomeerisia toimintahäiriöitä on johtanut tehokkaampien tarkistuspisteiden kehittymiseen, kuten p53-tarkastuspisteet. Tehokkaiden tarkastuspisteiden ansiosta vialliset kantasolut voidaan poistaa tehokkaasti ja siten estää mahdollisten syöpäkasvaimien syntyminen. (Günes ja Rudolph 2013.)

#### **4.2 Kromosomin epävakaas ja kasvainten muodostuminen**

Telomeerit voivat vaikuttaa ikääntymiseen ja karsinogeneesiin mekanismeilla, jotka eivät ole riippuvaisia telomeerien lyhenemisestä solunjakautumisen yhteydessä. Nämä mekanismit aiheuttavat kromosomien epävakausta ja haurautta. Telomeerisen DNA-sekvenssin emäsjärjestys mahdollistaa guaniini-nelilehtirakenteiden muodostumisen, jotka ovat hyvin pysyviä. Niiden ohittaminen DNA:n kahdentumisen aikana ei kuitenkaan yleensä onnistu, sillä rakenne aiheuttaa replikaatiohaarukan pysähtymisen, joka voi johtaa kromosomiston epävakauteen. Nämä hauraat kohdat kromosomissa ovat erityisen herkkiä kromosomivauroita ja siten lisäävät replikaatiojännitystä genomissa (Günes ja Rudolph 2013) Joissain tapauksissa guaniini-nelilehtirakenteen ylittäminen replikaatiossa on mahdollista TRF 1 proteiinin eli telomeeriä sitovan proteiinin avulla (Miller ja muut 2006).

Replikaatiojännityksellä tarkoitetaan solun tilaa, jossa sen genomiin kohdistuu useita erilaisia stressitekijöitä samanaikaisesti, ja nämä stressitekijät voivat vaarantaa solun normaalin toiminnan. Replikaatiojännitys voi olla seurausta esimerkiksi kromosomiston epävakaudesta, jonka lisääntyminen on haitallista solulle. Replikaatiojännitys lisää alttiutta erilaisille kromosomivaurioille ja kromosomin uudelleenjärjestäytymiselle. Replikaatiojännityksen seurauksena solu voi tuottaa vääriä jakautumisviestejä, jotka saattavat altistaa onkogeeneiden eli syöpää aiheuttavien geenien aktivoitumiseen. Telomeerien replikaatiojännityksen uskotaan myös lisäävän genomien epävakautta ja edistävän syövän alkamista viallisten tarkastuspisteiden, kuten p53-tarkastuspisteiden, seurauksena. Replikaatiojännityksen uskotaan toimivan myös eräänlaisena säätelijänä, joka rajoittaa virheellisesti jakautuvien solujen elinikää ja siten säätelee onkogeeneiden jännitustekijöitä. (Günes ja Rudolph 2013; Welch ja muut 2012.)

Ihmisen syövän esiasteiden tutkimus on osoittanut, että ne sisältävät vauriota, joissa on piirteitä replikaatiojännityksestä, telomeerisistä DNA:n korjausmekanismeista ja vanhenemisesta. Replikaatiojännitys voi myös joissain tapauksissa edistää kasvaimen tarkastuspisteiden hiljentämistä, joka on seurausta onkogeeneiden aktivoitumisesta karsinogeneesin alkuvaiheessa. (Günes ja Rudolph 2013.) Tarkastuspisteiden hiljeneminen onkogeeneiden aktivoitumisen seurauksena karsinogeneesin alkuvaiheessa on kuitenkin toistaiseksi puutteellisesti tutkittu ja aiheesta tarvitaan lisää tietoa. Tutkimus aiheesta lisääntyy jatkuvasti.

Myös shelterin kompleksin komponenttien häviäminen rakenteesta voi johtaa telomeerien replikaatiojännitykseen, josta voi seurata syövän puhkeaminen (Günes ja Rudolph 2013). Myös shelterin kompleksin yksittäisillä komponenteilla voi olla merkitystä syövän kehittymiseen. Tutkimus aiheesta on kuitenkin puutteellista ja viimeaikaiset tutkimukset aiheesta ovat herättäneet lisää uusia kysymyksiä. Tutkimustieto shelterin kompleksista ja sen komponenttien merkityksestä syövässä lisääntyy jatkuvasti. Myös monet muut tekijät voivat aiheuttaa replikaatiojännitystä ja lopulta syövän syntymisen.

## **5. Tulevaisuuden telomeraasihoidot syövässä**

Syöpäsoluille on tyypillistä nopea kasvu ja jakautuminen, minkä vuoksi telomeerit lyhenevät solunjakautumisten yhteydessä nopeasti. Syöpäsoluille solunjakautumisessa tapahtuva telomeerien lyheneminen on epäedullista, koska se rajoittaa solujen jakautumiskertojen lukumäärää ja siten niiden elinikää. Syöpäsolut kuitenkin pystyvät jakautumaan lähes loputtomasti, sillä niissä telomeerien ylläpitomekanismit pidentävät telomeerejä lähes loputtomasti. Telomeerien ylläpitomekanismi perustuu joko telomeraasientsyymien toimintaan tai vaihtoehtoiseen telomeerien pidentymiseen. (Gao ja Pickett 2022.)

Suurimmalla osalla syöpäsoluista telomeerien ylläpitomekanismit ovat aktiivisia, kun taas useimmilla normaaleilla ihmisen erilaistuneilla somaattisilla soluilla ei ole aktiivisia telomeerien ylläpitomekanismeja. Tämän vuoksi normaalien erilaistuneiden somaattisten solujen telomeerit lyhenevät jokaisen solunjakautumisen yhteydessä. Ero telomeerien ylläpitomekanismien aktiivisuudessa syöpäsolujen ja erilaistuneiden somaattisten solujen välillä tarjoaa tehokkaan terapeutin tavan syöpien hoidossa manipuloimalla telomeerien ylläpitomekanismeja, kuten telomeerisiä sekvenssejä ja sen rakenteita sekä telomeraasia.

### **5.1 Telomeraasin RNA-komponentin toimintaa häiritsevät oligonukleotidit**

Telomeerin synteesi voidaan estää käyttämällä oligonukleotideja, jotka estävät ihmisen telomeraasin RNA-komponentin toiminnan. Yleisimpiä ja tutkituimpia telomeraasin RNA-komponentin toiminnan estäjiä ovat N3'→P5' tio-fosforamidaatit, jotka muodostavat vakaita kaksoisjuosteita telomeeriseen sekvenssin kanssa. Kaksoisjuosteiden muodostuminen estää tehokkaasti telomeeristen sekvenssien pidentymisen ja siten aiheuttaa telomeerien lyhenemistä mallialueella. (Gryaznov ja muut 2001; Gao ja Pickett 2022.)

Imetelstaatin natriumsuola GRN163L (13-mer N3'→P5' tio-fosforamidaatti deoksiribooligonukleotidi) on yksi lupaavimmista syöpähoidollisista lääkeaineista, joka kohdistuu erityisesti telomeraasiin ja siten vaikuttaa sen normaaliin toimintaan solussa estäen telomeraasin toiminnan sen mallialueella. Imetelstaatilla on myös mahdollisuuksia antineoplastisiin aktiivisuuksiin. GRN163L sitoutuu komplementaarisesti telomeraasin RNA-komponenttiin, joka sijaitsee lähellä telomeraasin aktiivista keskusta. Rakenteeseen kuuluu myös 5-tiofosfaattiryhmään sitoutunut palmitoyylihapo, joka tehostaa lääkeaineen imeytymistä ja sen säilymistä biologisten kalvojen sisällä solussa. Palmitoyylihapo rakenteessa tehostaa telomeraasin toiminnan estämistä eikä tällöin tarvita välttämättä transfektiota. (Schrank ja muut 2018; Gao ja Pickett 2022.)

Imetelstaatin käyttöön liittyy kuitenkin lukuisia vakavia sivuvaikutuksia, jonka vuoksi hoitoa ei voida antaa jatkuvasti, joten hoitoon täytyy sisällyttää taukoja, joiden aikana syöpäsolujen telomeerit voivat palautua alkuperäiseen pituuteen (Gao ja Pickett 2022). Imetelstaatin lisäksi on kehitetty lukuisia muita telomeraasin RNA-komponentin toimintaa häiritseviä oligonukleotideja, joita tutkitaan jatkuvasti potentiaalisina syövän hoitomuotoina. Monia näistä oligonukleotideista on testattu jo useaan otteeseen ihmisillä, mutta myös sivuvaikutuksia on ilmentynyt, joten toistaiseksi oligonukleotidien suhteen ei ole tehty suuria läpimurtoja. Tutkimustieto aiheesta lisääntyy koko ajan.

## 5.2 Nukleosidianalogit liittymisen telomeeriseen sekvenssiin estävät nukleosidianalogit

Nukleosidianalogit estävät nukleotidien liittymisen telomeerien päihin, minkä vuoksi telomeerisen sekvenssin piteneminen telomeraasin toimesta ei ole mahdollista, koska nukleosidianalogeilla ei ole telomeerin 3'-päässä vapaata hydroksyyliiryhmää, johon uusi nukleotidi voisi sitoutua. Nukleosidianalogit ovat siis nukleosidien rakenteellisia analogeja, jotka telomeraasi kiinnittää kovalenttisesti telomeerien päihin, jos nukleosidianalogeja on solussa läsnä. Nukleosidianalogeja on tutkittu erityisesti syövässä, joissa telomeerien pidentymisen taustalla on telomeraasientsyymin aikaansaama telomeerien piteneminen solussa. Nukleosidianalogeja ovat esimerkiksi tymidiinin rakenteellinen analogi atsidotymidiini (3'-atsido-2',3'-dideoksytymidiini, AZT), telomeraasin kilpaileva inhibiittori 6-tio-2'-deoksiguanosiini (6-tio-dG) ja telomeeriseen DNA:han sitoutuva 5-MeCITP (5-metyylikarboksyli-indolyli-2'-deoksiribosidi 5'-trifosfaatti). (Gomez ja muut 2012a; Gao ja Pickett 2022.)

Tymidiinikinaasi fosforyloi atsidotymidiinin solussa AZT-trifosfaatiksi, joka kiinnittyy telomeeriseen DNA:han estäen telomeerisen TTAGGG sekvenssin pitenemisen transkription aikana (Gomez, Armando, ja Alonso 2012; Gao ja Pickett 2022). Kliinisissä kokeissa AZT:tä on tutkittu erityisesti potilailla, joilla on tiettyä alkuperää oleva leukemia. Tutkimuksissa atsidotymidiinillä havaittiin toivottuja vaikutuksia, ja se pienensi telomeraasin aktiivisuutta soluissa, mistä seurasi syövän taantuminen (Datta ja muut 2006). (Gao ja Pickett 2022.)

6-tio-2'-deoksiguanosiini on telomeraasin kilpailevana inhibiittorina. 6-tio-dG estää telomeerisen T-silmukan muodostumisen telomeerin päähän ja siten aiheuttaa telomeerien avautumista. Telomeerien avautuminen aktivoi DNA:n vauriovasteita, jotka lopulta johtavat solusyklin pysähtymiseen ja solun ajautumiseen apoptoosiin eli ohjelmoituun solukuolemaan. Tämän vuoksi 6-tio-dG:llä voidaan saada aikaan nopeampia sytotoksisuusvasteita kuin muissa telomeraasin toiminaan vaikuttavissa hoidoissa, sillä se ei vaikuta pelkästään telomeerien lyhenemisen vaan ajaa solun myös apoptoosiin. (Gao ja Pickett 2022.)

Nukleosidianalogit voivat myös inhiboida telomeraasin toimintaa ilman sitoutumista telomeeriseen DNA:han. 5-MeCITP on indoli-nukleotidianalogi, jonka metoksyryhmä kiinnittyy telomeraasin katalyyttiseen kohtaan, jossa se estää telomeraasin kykyä lisätä telomeerin päihin TTAGGG sekvenssejä synteesissä. (Hernandez-Sanchez ja muut 2019; Gao ja Pickett 2022.)

### 5.3 Immunoterapia telomeraasin hTERT alayksikölle terapeuttisilla rokotteilla

Ihmisen telomeraasin käänteinen transkriptaasi hTERT on toinen telomeraasin rakenteen alayksikkö, johon voi liittyä myös muita pieniä proteiineja, jotka ovat välttämättömiä entsyymien aktiiviselle toiminnalle. hTERT katalysoi telomeerin muodostumisreaktion. (Mu ja Wei 2002; Shcherbakova ja muut 2006.) hTERT immunoterapiassa telomeraasin alayksikköön voidaan kohdistaa terapeuttisesti rokotteita, jotka edesauttavat immuunivasteen muodostumista hTERT alayksikön pinnalla olevia hTERT-peptidejä kohti. Syöpäsolut voivat tuottaa sisäsyntyisiä hTERT alayksikköä ja esitellä hTERT-peptidejä solun pinnalla suurien histokompatibiliteettikompleksien 1 ja 2 avulla. (Gao ja Pickett 2022.)

hTERT-rokotteet koostuvat yleensä entsyymien peptideistä, jotka injektoidaan ihon verinahkaan. Verinahka on yksi ihon kerroksista, joka sijaitsee orvaskeden ja ihonalaisen kudoksen välissä. Verinahassa dendriittisolut esittelevät antigeenejä CD4-positiivisille T-auttajasoluille imusolmukkeissa. T-auttajasolut siirtyvät kasvaimiin, jossa ne voivat edistää CD8-positiivisten T-solujen aktiivisuutta hTERT-peptidejä ilmentäviä syöpäsoluja vastaan tai tappamalla syöpäsolut suoraan esimerkiksi vapauttamalla sytokiineja. (Gao ja Pickett 2022.)

Ensimmäisiä telomeraasin hTERT alayksikölle valmistettuja rokotteita on GV1001, joka perustuu kuudentoista aminohapon muodostamaan peptidiin (Gao ja Pickett 2022). Rokotteen on todettu pidentävän merkittävästi haimasyöpään sairastuneiden potilaiden eloonjäämislukuja, joilla oli aktivoitunut CD8-positiivinen T-auttajasoluvaste (Bernhardt ja muut 2006). Toisaalta osa tutkimuksista on samaan aikaan osoittanut, että suuri osa potilaista ei ole kehittänyt immuunivastetta GV1001 rokotetta vastaan. Lisäksi on tutkittu miten GV1001 rokotteen yhdistäminen kemoterapiaan vaikuttaa potilaiden eloonjäämislukuihin. Toistaiseksi GV1001 rokotteen ja kemoterapian yhdistäminen syövän hoidossa on tuottanut vain vähän menestystä. (Gao ja Pickett 2022.) Tutkimus aiheesta on kuitenkin puutteellista, mutta tuitun tiedon määrä lisääntyy jatkuvasti.

#### 5.4 Telomeraasin sitoutumiseen vaikuttavat guaniini-nelilehtirakenteiden ligandit

Guaniini-nelilehtirakenteiden on uskottu alun perin olevan telomeraasiaktiivisuuden negatiivisia säätelijöitä, jotka inhiboivat telomeraasin kiinnittymistä toistuviin telomeerisiin DNA-sekvensseihin (Zahler ja muut 1991). Täten guaniini-nelilehtirakenteiden purkaminen telomeeristä on välttämätöntä, jotta telomeraasi pystyy toimimaan normaalisti kromosomien päissä eikä esimerkiksi kerry soluun. Guaniini-nelilehtirakenteita vakauttavia ligandeja on kehitetty lukuisia, joista tunnetuimmat ovat telomestatiini, TMPyP4, RHPS4 ja pyridostatiini. Nämä ligandit voivat olla joko luonnossa esiintyviä tai täysin laboratoriossa valmistettuja. Ligandien kyky estää telomeraasin sitoutumista telomeeriseen DNA:han vaihtelee. Lisäksi vaihtelevuutta löytyy myös kyvyssä estää telomeraasin normaalia toimintaa telomeereissä. (Gao ja Pickett 2022.)

Telomestatiini on luonnossa esiintyvä makrosyklinen yhdiste, jonka rakenteessa on useita samankaltaisuuksia kuin telomeereissä luonnostaan muodostuvassa guaniini-nelilehtirakenteessa, jotka replikaation aikana saattavat pysäyttää replikaatiohaarukan etenemisen. Telomestatiini estää telomeraasin toiminnan telomeereissä tehokkaasti muodostamalla ja vakauttamalla molekyyliinsäisiä vastakkaissuuntaisia guaniini-nelilehtirakenteita. (Kim ja muut 2002.) Telomestatiinihoidon on osoitettu heikentävän kromosomien telomeerien uusiutumista ja indusoivan sytotoksisia vaikutuksia useissa syöpäsolulinjoissa (Gao ja Pickett 2022).

TMPyP4 eli 5,10,15,20-tetrakis-(N-metyyli-4-pyridyyli)porfiini auttaa molekyylien välisten guaniini-nelilehtirakenteiden muodostumista. Lisäksi TMPyP4:lla on voimakas telomeraasientsyymien toimintaa estävä vaikutus, joka voi estää kasvaimen kasvua. (Gao ja Pickett 2022) TMPyP4:n vaikutukset eivät aina ulotu vain onkogeenisille promoottorialueille vaan myös muualle koko genomiin, sillä guaniinipitoista DNA-sekvenssiä esiintyy koko genomissa ja siten guaniini-nelilehtirakenteiden muodostuminen muualle kuin telomeereihin on mahdollista. (Huppert ja Balasubramanian 2005.) Täten TMPyP4 saattaa vaikuttaa muuallakin kuin syöpäsoluissa ja -kasvaimissa, joten se ei näyttäisi olevan kovin spesifinen menetelmä syöpähoidoissa. Tutkimus aiheesta on kuitenkin puutteellista ja lisätutkimusta tarvitaan.

## 6. Lopuksi

Telomeerit kromosomien päissä suojaavat kromosomien päitä solunjakautumisen yhteydessä. Telomeerien ainutlaatuinen rakenne, jossa esiintyy peräkkäin toistuvia guaniinipitoisia TTAGGG sekvenssejä altistavat solut kuitenkin monille rakenteiden korjaamiseen ja DNA:n kahdentumiseen liittyville heikkouksille, sillä kuuden nukleoproteiinin muodostama shelterin kompleksi pystyy vaimentamaan tehokkaasti virheellisistä DNA:n uudelleenjärjestäytymisiä syntyviä viestejä ja estämään telomeeristen DNA-vaurioiden korjaamista väärillä mekanismeilla (Gao ja Pickett 2022). Telomeerit voivat myös rajoittaa solujen jakautumista ja elinikää. Vaurioituneet telomeerit voivat lähettää virheellisiä replikaatiosignaaleja, jotka saattavat johtaa esimerkiksi onkogeneenin eli syöpää aiheuttavien geenien aktivoitumiseen.

Telomeraasit pystyvät pidentämään telomeerejä soluissa, joissa telomeraasi on aktiivinen, mutta telomeerien piteneminen onnistuu myös muilla mekanismeilla, joita kutsutaan vaihtoehdoisen pidentymisen mekanismeiksi, jos telomeraasi ei ole aktiivinen solussa. Erityisesti kantasoluissa esiintyy pieniä määriä telomeraasia, joka pystyy pidentämään solunjakautumisessa lyheneviä telomeerejä. Telomeerien piteneminen on kantasolujen toiminnalle välttämätöntä, koska niiden täytyy pystyä jakautumaan tehokkaasti pitkiäkin aikoja. Vaikka kantasoluihin mutaatioita näyttäisi kertyvän vähemmän kuin normaaleihin erilaistuneisiin somaattisiin soluihin, rakenteesta johtuvien erilaisten toimintahäiriöiden, kuten kromosomivaurioiden, määrä kantasolujen telomeereissä lisääntyy solun ikääntyessä.

Toimintahäiriöt telomeereissä eivät kuitenkaan yleensä estä kantasolujen jakautumista ja tämän vuoksi kantasolujen onkin osoitettu olevan usein ensimmäinen solutyyppeistä syövän takana. Lisäksi telomeeristen toimintahäiriöiden yhteydessä syntyvä replikaatiojännitys saattaa aiheuttaa virheellisiä viestejä solussa, jotka voivat aktivoida onkogeneenejä ja siten edistää edelleen virheellisesti toimivien solujen jakautumista. Lopputuloksena voi olla kasvaimen muodostuminen ja syövän syntyminen.

Syövän hoitomuotoja, jotka keskittyvät telomeraaseihin on pidetty jo pitkän aikaa houkuttelevina vaihtoehtoina. Telomeraasin ainutlaatuinen rakenne ja sen esiintyvyys vain tietyissä solutyypeissä tarjoaa mahdollisuuden kohdentaa vaikutukset vain syöpäsolun telomeraasiin ja telomeereihin, jolloin syöpäsolujen tuhoaminen hyvin spesifisesti olisi mahdollista. Tutkimus on keskittynyt erityisesti muun muassa telomeraasin RNA-komponenttiin ja sen toimintaa häiritseviin oligonuklotideihin, telomeerin päiden nukleosidianalogeihin, immunoterapiaan telomeraasin hTERT alayksikölle ja guaniini-nelilehtirakenteita stabiloiviin ligandeihin. Mahdollisia syöpähoitoja on kehitetty myös telomeerien vaihtoehdoisen pitenemisen mekanismin estämiseen, mutta tutkimus on vielä keskeneräistä.



Tulevaisuudessa on mielenkiintoista nähdä millaisia telomeraasihoitoja tai vaihtoehtoiseen telomeerien pidentymiseen perustuvia syöpähoitoja otetaan käyttöön nykyisin käytössä olevien menetelmien rinnalle. Tutkimus lisääntyy aiheesta jatkuvasti ja tulevaisuudessa saatetaan ottaa käyttöön uusia menetelmiä, joista ei tällä hetkellä osata edes ajatella.

## Lähdeluettelo:

- Bandaria, J. N., Qin, P., Berk, V., Chu, S. & Yildiz, A. (2016) Shelterin Protects Chromosome Ends by Compacting Telomeric Chromatin. *Cell* **164**:735–746.
- Bernhardt, S. L., Gjertsen, M. K., Trachsel, S., Møller, M., Eriksen, J. A., Meo, M., ... Gaudernack, G. (2006) Telomerase peptide vaccination of patients with non-resectable pancreatic cancer: A dose escalating phase I/II study. *Br J Cancer* **95**:1474–1482.
- Blasco, M. A. (2005) Telomeres and human disease: Ageing, cancer and beyond. *Nat Rev Genet* **6**:611–622.
- Cervantes, R. B., Stringer, J. R., Shao, C., Tischfield, J. A. & Stambrook, P. J. (2002) Embryonic stem cells and somatic cells differ in mutation frequency and type. *Proc Natl Acad Sci U S A* **99**:3586–3590.
- Cesare, A. J. & Reddel, R. R. (2010) Alternative lengthening of telomeres: Models, mechanisms, and implications. *Nat Rev Genet* **11**:319–330.
- Datta, A., Bellon, M., Sinha-Datta, U., Bazarbachi, A., Lepelletier, Y., Canioni, D., Nicot, C. (2006) Persistent inhibition of telomerase reprograms adult T-cell leukemia to p53-dependent senescence. *Blood* **108**:1021–1029.
- Fletcher, T. M., Sun, D., Salazar, M. & Hurley, L. H. (1998) Effect of DNA secondary structure on human telomerase activity. *Biochemistry* **37**:5536–5541.
- Gao, J. & Pickett, H. A. (2022) Targeting telomeres: Advances in telomere maintenance mechanism-specific cancer therapies. *Nat Rev Cancer* **22**:515–532.
- Gomez, D. E., Armando, R. G. & Alonso, D. F. (2012a) AZT as a telomerase inhibitor. *Front Oncol* **2**:113.
- Gomez, D. E., Armando, R. G., Farina, H. G., Menna, P. L., Cerrudo, C. S., Ghiringhelli, P. D. & Alonso, D. F. (2012b) Telomere structure and telomerase in health and disease. *Int J Oncol* **41**:1561–1569.
- Gryaznov, S., Pongracz, K., Matray, T., Schultz, R., Pruzan, R., Aimi, J., Yamashita, Y. (2001) Telomerase Inhibitors – Oligonucleotide Phosphoramidates as Potential Therapeutic Agents. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* **20**:401–410.

- Günes, C. & Rudolph, K. L. (2013) The Role of Telomeres in Stem Cells and Cancer. *Cell* **152**:390–393.
- Hernandez-Sanchez, W., Huang, W., Plucinsky, B., Garcia-Vazquez, N., Robinson, N. J., Schiemann, W. P., Taylor, D. J. (2019) A non-natural nucleotide uses a specific pocket to selectively inhibit telomerase activity. *PLoS Biol* **17**:e3000204.
- Huppert, J. L. & Balasubramanian, S. (2005) Prevalence of quadruplexes in the human genome. *Nucleic Acids Res* **33**:2908–2916.
- Kim, M.-Y., Vankayalapati, H., Shin-ya, K., Wierzba, K. & Hurley, L. H. (2002) Telomestatin, a Potent Telomerase Inhibitor That Interacts Quite Specifically with the Human Telomeric Intramolecular G-Quadruplex. *J Am Chem Soc* **124**:2098–2099.
- Lange, T. de (2005) Shelterin: The protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* **19**:2100–2110.
- Lei, M., Podell, E. R. & Cech, T. R. (2004) Structure of human POT1 bound to telomeric single-stranded DNA provides a model for chromosome end-protection. *Nat Struct Mol Biol* **11**:1223–1229.
- Lim, C. J. & Cech, T. R. (2021) Shaping human telomeres: From shelterin and CST complexes to telomeric chromatin organization. *Nat Rev Mol Cell Biol* **22**:283–298.
- Londoño-Vallejo, J. A., Der-Sarkissian, H., Cazes, L., Bacchetti, S. & Reddel, R. R. (2004) Alternative lengthening of telomeres is characterized by high rates of telomeric exchange. *Cancer Res* **64**:2324–2327.
- Marian, C. O., Wright, W. E. & Shay, J. W. (2010) The effects of telomerase inhibition on prostate tumor-initiating cells. *Int J Cancer* **127**:321–331.
- Martínez, P. & Blasco, M. A. (2011) Telomeric and extra-telomeric roles for telomerase and the telomere-binding proteins. *Nat Rev Cancer* **11**:161–176.
- Martinez, P., Thanasoula, M., Carlos, A. R., Gómez, G., Tejera, A. M., Schoeftner, S., Blasco, M. A. (2010) Mammalian RAP1 controls telomere function and gene expression through binding to telomeric and extra-telomeric sites. *Nat Cell Biol* **12**:768–780.

- Miller, K. M., Rog, O. & Cooper, J. P. (2006) Semi-conservative DNA replication through telomeres requires Taz1. *Nature* **440**:824–828.
- Moye, A. L., Porter, K. C., Cohen, S. B., Phan, T., Zyner, K. G., Sasaki, N., Bryan, T. M. (2015) Telomeric G-quadruplexes are a substrate and site of localization for human telomerase. *Nat Commun* **6**:7643.
- Mu, J. & Wei, L. X. (2002) Telomere and telomerase in oncology. *Cell Res* **12**:1–7.
- Schrank, Z., Khan, N., Osude, C., Singh, S., Miller, R. J., Merrick, C., Puri, N. (2018) Oligonucleotides Targeting Telomeres and Telomerase in Cancer. *Molecules* **23**:2267.
- Seimiya, H., Nagasawa, K. & Shin-ya, K. (2021) Chemical targeting of G-quadruplexes in telomeres and beyond for molecular cancer therapeutics. *J Antibiot (Tokyo)* **74**:617–628.
- Shay, J. W. & Wright, W. E. (2010) Telomeres and telomerase in normal and cancer stem cells. *FEBS Lett* **584**:3819–3825.
- Shay, J. W. & Wright, W. E. (2019) Telomeres and telomerase: Three decades of progress. *Nat Rev Genet* **20**:299–309.
- Shay, J. W., Zou, Y., Hiyama, E. & Wright, W. E. (2001) Telomerase and cancer. *Hum Mol Genet* **10**:677–685.
- Shcherbakova, D. M., Zvereva, M. E., Shpanchenko, O. V. & Dontsova, O. A. (2006) Telomerase: Structure and properties of the enzyme, and peculiarities of yeast telomerase. *Mol Biol* **40**:514–527.
- Smith, E. M., Pendlebury, D. F. & Nandakumar, J. (2020) Structural biology of telomeres and telomerase. *Cell Mol Life Sci* **77**:61–79.
- Welch, J. S., Ley, T. J., Link, D. C., Miller, C. A., Larson, D. E., Koboldt, D. C., Wilson, R. K. (2012) The origin and evolution of mutations in acute myeloid leukemia. *Cell* **150**:264–278.
- Zahler, A. M., Williamson, J. R., Cech, T. R. & Prescott, D. M. (1991) Inhibition of telomerase by G-quartet DMA structures. *Nature* **350**:718–720.
- Zvereva, M. I., Shcherbakova, D. M. & Dontsova, O. A. (2010) Telomerase: Structure, functions, and activity regulation. *Biochem Biokhimiia* **75**:1563–1583.