

# Telomerer og telomerase

Laila Bendix<sup>1</sup> & Steen Kølvråa<sup>2</sup>

I 2009 gik Nobelprisen i Medicin til forskerne *EH Blackburn*, *CW Greider* og *JW Szostak* for deres opdagelse af »hvordan kromosomer er beskyttet af telomere og enzymet telomerase« [1]. Telomerer er specialiserede DNA-strukturer, der er lokaliseret for enden af lineære kromosomer. Telomer-DNA er i forhold til resten af arvemassen speciel, idet det er en dynamisk del af vores arvemasse, der varierer i længde både celler og individer imellem, og som desuden ændrer længde livet igennem. Telomerer er foreslået at være involveret i ældningsprocessen og herudover i både cancerinitiering og -progression. Vi vil med denne artikel give læseren en kort oversigt over telomerernes struktur, funktion og dynamik.

## TELOMERER I ET HISTORISK PERSPEKTIV

Navnet, telomer (*telo* (ende) *meros* (del)) blev introduceret af *Müller* [2], som på studier af bananfluer beskrev, hvordan ender af bestrålede kromosomer sjældent husede deletioner eller inversioner og foreslog, at det skyldes en »beskyttelseshætte« ved kromosomenderne. Næsten samtidigt viste *McClintock* [3] på majs, hvordan kromosomer, der var knækkede, f.eks. som følge af bestråling, var »klistrende« og kunne fusionere *end-to-end* og dermed initiere de såkaldte *breakage-fusion-bridge*-cykli. Hun grundlagde derved ideen om, at lineære kromosomers ender, som hos mennesket, måtte være beskyttede mod at fusionere, idet de ellers ville opføre sig som knækkede kromosomender.

## Cellens ur

År senere viste nye eksperimenter, hvordan telomerer kunne være en forklaring på, hvorfor celler ikke kan dele sig uendeligt i kulturer. Det havde længe været et dogme, at celler givet de rette omstændigheder kunne dyrkes uendeligt. Dette blev modbevist af *Hayflick & Moorhead*, som viste, at celler kun deler sig et givent antal gange, der tilsyneladende er styret af et »replikometer« [4]. At dette »replikometer« skulle være telomerer, blev foreslået næsten samtidigt af *Olovnikov* og *Watson* [5, 6]. De havde begge observeret, at den måde, DNA fordobles (replikeres) på inden celledeling, ville gøre det umuligt at syntetisere hele det lineære kromosom, hvorfor det måtte forudsiges, at lineære kromosomer forkortes for hver celledeling. Dette fænomen kendes som *the end replication*

*problem*. *Olovnikov* indså, at telomererne ud over at beskytte kromosomenderne, som beskrevet af *Müller*, også kunne tjene som en buffer mod *the end replication problem*. Han mente, at disse repetitive sekvenser, som ikke koder for gener, i vid udstrækning kunne undværes, men når telomererne var ved at være »brugt op«, ville cellen blive gammel og dø. Derfor kaldes telomererne ofte cellens biologiske ur.

## Telomerasekvensen

I årene, der fulgte, blev telomererne yderligere karakteriseret af bl.a. *Blackburn* [7]. Det blev vist, at telomerer består af repeterede sekvenser, hos mennesket er sekvensen TTAGGG f.eks. repeteret op til tusindvis af gange, og at telomererne ender i et 3'-enkelstretget udhæng (**Figur 1**). I 1990 kom det første arbejde, der viste, hvordan telomererne blev kortere, når humane celler blev dyrket in vitro [8]. Man fandt endvidere, at telomererne generelt var kortere hos ældre individer end hos yngre.

## Telomerase

Som modvægt til telomerforkortningen findes et enzym – telomerase – der kan forlænge telomererne. Telomerase blev identificeret og karakteriseret af *Greider & Blackburn* i 1980'erne [9, 10]. De viste gennem deres arbejde på tetrahymena, hvordan dette enzym består af to hovedkomponenter: telomerase-revers-transkriptase (TERT) og telomerase-RNA-komponent (TR). Siden er det vist, at også andre proteiner er vigtige for den fulde funktion af telomerasekomplekset (se **Figur 2**) [11].

## TELOMERERNES FUNKTION

Telomererne antages at have flere funktioner, hvoraf



### FAKTABOKS

Telomerer er specialiserede DNA-strukturer, der er lokaliseret for enden af lineære kromosomer.

Telomererne har flere funktioner: 1) at tjene som beskyttelseshætte så lineære kromosomers ender ikke bliver genkendt som dobbeltstrengsbrud, 2) at være buffer for *the end replication problem*, som medfører, at telomerer bliver kortere for hver celledeling, og 3) et værn mod cancer.

Forkortelsen af telomerer medfører, at cellen til sidst går i senescens, og bidrager hermed til organismens aldring. Telomerer er derfor kendt som cellens biologiske ur.

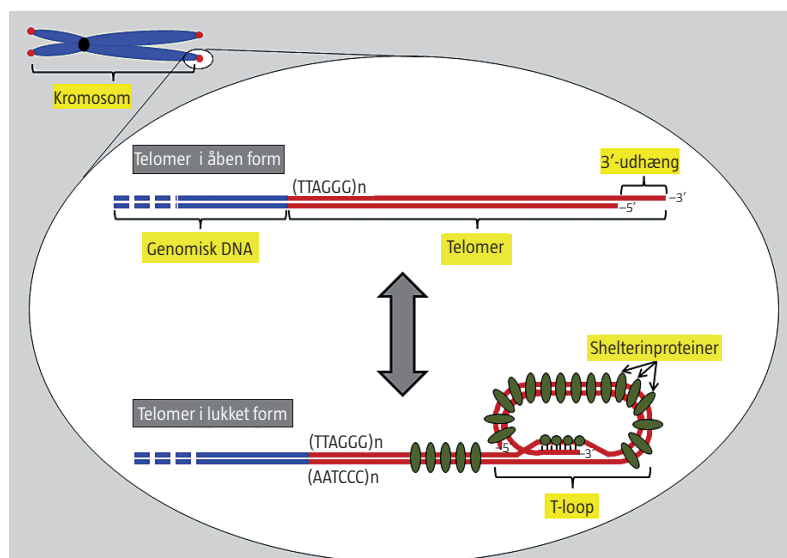
Telomerase er et enzymkompleks, der kan forlænge telomererne. Telomerase er kun aktiveret i få humane celler, men i næsten alle cancerceller.

## STATUSARTIKEL

1) Dansk Center for Aldringsforskning (DARC) og 2) Vejle Sygehus, Klinisk Genetisk Afdeling

FIGUR 1

Telomerernes opbygning. Telomererne er specialiserede DNA-strukturer, der er lokaliseret for enden af kromosomerne. De er opbygget af sekvensen TTAGGG, gentaget tusindvis af gange. Telomererne ender i et enkeltstrengt 3'-udhæng, som er ubeskyttet i den åbne tilstand. I den lukkede tilstand bliver det såkaldte t-loop (telomerloop) dannet ved, at det enkeltstrengede udhæng invaderer den dobbeltstrengede telomerstruktur. Dette t-loop holdes på plads af et proteinkompleks, der er kendt som shelterin. Shelterin består af flere proteiner (TRF1, TRF2, POT1, Rap1, TPP1 og TIN2) med hver deres specialiserede funktion. Telomererne skifter mellem den åbne og lukkede tilstand igennem celleyklus. Man formoder, at telomererne skal have en vis længde for at kunne danne t-loopet. Det antages, at det er i den åbne tilstand, at telomererne fejlagtigt kan blive genkendt som dobbeltstrengs-DNA-brud.



det at tjene som beskyttelseshætte og buffer for the *end replication problem* er de mest underbyggede.

#### Telomer-loop

Telomererne ender som nævnt i et enkeltstrengt udhæng. Dette udhæng kan folde sig tilbage og invadere den dobbeltstrengede telomerasekvens og dermed danne en lassoformet struktur, kaldet et t-loop (Figur 1) [12]. T-loopet holdes på plads af et proteinkompleks, der er kendt som shelterin [13]. T-loopet skjuler herved den frie kromosomende og antages at være den »beskyttelseshætte«, der gør, at kromosomenderne ikke bliver genkendt som dobbeltstrengs-DNA-brud og ikke »klistrer« til hinanden. Man formoder, at når telomererne er afkortede til en vis længde, kan t-loopet ikke længere dannes, og dermed »åbnes« strukturen.

#### Senescens

Det antages, at denne afkortede og åbne tilstand opfattes af cellen som en DNA-skade, der initierer et respons, som sender cellen enten i senescens eller apoptose. Senescens er en tilstand, hvor cellen stadig er metabolisk aktiv, dog med tilpasset funktion, men hvor den ikke længere kan dele sig og dermed ikke længere kan bidrage til fornyelse af vævet [14]. Apoptose er programmeret celledød [15], som er en udvej, cellen »vælger«, hvis den er ude af stand til at reparere alvorlige skader. Udbredt apoptose bidrager til tab af celler og dermed til depletering af stamcellepoolen. Igennem disse to tilstande antages telomerforkortningen at bidrage til aldring af organismen.

#### Værn mod cancer

Man kan spørge sig selv, hvorfor pattedyr har lineære og ikke cirkulære kromosomer som bakterier, idet lineære kromosomer påfører cellen de oven for beskrevne problemer. Det er foreslået, at tilstedeværelse af lineære kromosomer og dermed telomere rent faktisk er et værn mod cancer. Ifølge denne hypotese havde mennesket med en levetid på 35-50 år i tidligere tider behov for en mekanisme, der sikrede overlevelse igennem den reproduktive alder. Især havde mennesket brug for en mekanisme, der beskytter mod malign transformering af cellen. Jo ældre en celle er, desto større er sandsynligheden for, at den indeholder mutationer, der kan gøre den malign. En effektiv måde at forhindre en sådan malign udvikling er ved at limitere cellens delingspotentiale, netop som det sker gennem telomerinduceret senescens. I denne sammenhæng skal det påpeges, at små dyr som mus har lange telomere og aktiv telomerase, men en kort levetid og samtidig en højere malignitetshyppighed end mennesket. Dette kan ses som udtryk for et manglende behov for en tumorsuppressormekanisme, siden disse små dyr forventes at blive spist af rovdyr, inden en tumor vil udvikle sig.

Dette værn mod cancer er dog formentlig et tværgættet sværd. Det har vist sig, at meget korte telomere faktisk kan initiere *end-to-end*-fusioner af kromosomerne, som i de efterfølgende celledelinger river kromosomerne op (såkaldte *breakage-fusion-bridge*-cykli). Dette resulterer i den kromosominstabilitet, som er karakteristisk for cancere.

## TELOMERERNES DYNAMIK

Telomerer er som nævnt en dynamisk struktur, der både kan forkortes og forlænges, og hvor såvel korte som lange telomerer teoretisk set kan volde problemer.

### Replikationsafhængig forkortning af telomerer

Afkortning af telomerer under in vitro-aldring af celler blev vist i flere studier i 1990'erne, og det stod hurtigt klart, at telomererne afkortedes mere, end hvad *the end replication*-problemet alene kunne forudsige. Man ved nu, at den generelle nedslidning af telomerer, der er udløst af celledelinger, er en højt reguleret proces, hvor der sker en afkortning både pga. polymerasernes manglende evne til at replikere begge DNA-strengene og ved en processering af begge DNA-strengene ved hjælp af exonukleaser [8, 16].

Ud over sammenhængen med cellulær aldring er det også vist, at der er en sammenhæng mellem individets alder og telomerlængden i blodceller, dog med en betydelig variation mellem individer af samme kronologiske alder [17]. Hvorvidt telomererne spiller en rolle i udviklingen af aldersbetingede sygdomme er dog mindre klart. Rent teoretisk burde den replikationsafhængige telomerforkortning ikke have større betydning for individets aldring, idet der i humane celler synes at være rigeligt med telomerer og derfor ingen umiddelbar begrænsning i cellens delingspotentialer inden for normal livslængde, såfremt telomererne kun nedslides pga. replikation.

### Abrupt afkortning af telomerer

I de seneste år er man imidlertid blevet klar over, at der ud over den replikative forkortelse også finder en mere springvis (abrupt) forkortelse sted af enkelte telomerer. Det betyder, at der i celler med generelt lange telomerer pludselig kan opstå enkelte korte telomerer, der i sig selv kan signalere til cellen, at den skal gå i senescens [18]. Denne pludselige forkortelse

formodes at skyldes cellulære stressfaktorer, der forårsager strengbrud generelt i DNA'et, men som formentlig med øget sandsynlighed rammer telomererne, der herefter »brækkes af« [19, 20]. Dette cellulære stress kan f.eks. være oxidative skader eller stråleskader. En sådan afkortningsmekanisme vil indebære, at en skadelig DNA-påvirkning på et tidligt tidspunkt i livet kan bevares i form af en eller flere uvanligt korte telomerer i en celle. Dette vil ikke altid give anledning til umiddelbar dysfunktion af cellen, men kan i stedet manifestere sig mange år senere, når den replikationsafhængige telomerforkortelse har bragt længden af den beskadigede telomer ned til et kritisk niveau.

### Telomerelongering

Det er ikke i alle dyrearter, at man i samme grad som i mennesket ser denne nedslidning af telomerer med alderen, hvilket skyldes, at mange dyrearter har mere udbredt telomeraseaktivitet. Hos mennesket slukkes der derimod for telomerasen i de fleste celler under fostertilværelsen, og aktivitet bevares kun i visse celletyper, bl.a. hurtigtprolifererende celler såsom lymfocytter og colonocytter samt formentlig i nogen grad i alle stamceller. Telomerase er herudover reaktiveret i > 85% af cancerceller.

Den endelige længde af telomererne i en celle er således bestemt af en balance mellem nedslidningen på den ene side og telomeraseaktiviteten på den anden side.

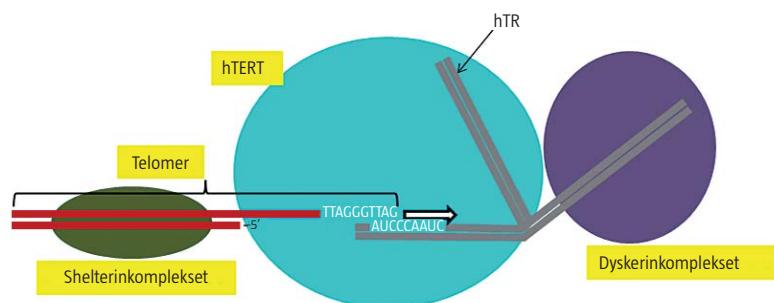
## TELOMERER I KLINIKKEN

I disse år begynder vores viden om telomerer og telomerase så småt at blive udnyttet i det kliniske arbejde. Det gælder især inden for onkologien. Det er en absolut forudsætning for malign transformation, at cellen kan tænde for en telomerelongerende mekanisme, da cellen ellers hurtigt vil gå i senescens. Man ser derfor terapeutiske muligheder i dette fænomen,



FIGUR 2

Telomerasekomplekset. Telomerase er et enzymkompleks, der kan elongere (forlænge) telomererne. Telomerase består af to hovedkomponenter, TERT (telomerase-revers transkriptase) og TR (telomerase-RNA-komponent). hTERT (human telomerase-revers transkriptase) er enzymdelen af komplekset, der katalyserer tilføjelsen af telomerekvenser. hTR (human telomerase-RNA-komponent) fungerer som skabelon for TERT-enzymet, dvs. at TR præsenterer TERT-enzymet for et kort RNA-stykke, der er komplementært til telomerekvensen, som enzymet så kan arbejde ud fra. Elongeringen foregår fra det enkeltstrengede udhæng (pilen indikerer elongeringsretningen). Dyskerinkomplekset består af flere proteiner (dyskerin, Nop10, NHP2 og Gar1), der alle er nødvendige for den fulde in vivo-funktion af telomerase [11].



og der arbejdes på højtryk i disse år for at finde relevante antitelomerase-medikamenter.

Hvad angår aldersrelaterede sygdomme og livslængde er telomerernes betydning fortsat uafklaret, men vi formoder, at telomererne har en større betydning i væv med høj proliferation. Da erhvervede telomerskader som ovenfor nævnt kan persistere uden at manifestere sig i mange år og først herefter »dukke op« til overfladen som et problem, er det blevet foreslået, at telomerer er en biomarkør for den type liv, vi har levet, og afspejler hvor meget skade vores celler har været udsat for. Set i dette lys kan enkelte korte telomerer tænkes at spille en rolle i en lang række sent debuterende sygdomme.

**KORRESPONDANCE:** Laila Bendix, Hans Appels Vej 14, 5260 Odense S.  
E-mail: laila.bendix@slb.regionssyddanmark.dk

**ANTAGET:** 9. januar 2010

**FØRST PÅ NETTET:** 19. april 2010

**INTERESSEKONFLIKTER:** Forfatterne har overdraget deres patent på en ny metode til måling af telomerer til Tinna Holding A/S. Efterfølgende har firmaet givet økonomisk driftsstøtte til validering af metoden.

#### LITTERATUR

- Blackburn EH, Greider CW, Szostak JW. Telomeres and telomerase: the path from maize, Tetrahymena and yeast to human cancer and aging. *Nat Med* 2006;12:1133-8.
- Muller HJ. The remaking of chromosomes. *The Collecting Net* 1938; 8: 182-195.
- McClintock B. The stability of broken ends of chromosomes in zea mays. *Genetics*. 1941;26:234-82.
- Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1961;25:585-621.
- Olovnikov AM. A theory of marginotomy. *J Theor Biol* 1973;41:181-90.
- Watson JD. Origin of concatemeric T7 DNA. *Nat New Biol* 1972;239:197-201.
- Blackburn EH. The molecular structure of centromeres and telomeres. *Annu Rev Biochem* 1984;53:163-94.
- Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. *Nature* 1990;345:458-60.
- Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in Tetrahymena extracts. *Cell* 1985;43:405-13.
- Greider CW, Blackburn EH. The telomere terminal transferase of Tetrahymena is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity. *Cell* 1987;51:887-98.
- Podlevsky JD, Bley CJ, Omana RV et al. The telomerase database. *Nucleic Acids Res* 2008;36:D339-D343.
- Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S et al. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell* 1999;97:503-14.
- De Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* 2005;19:2100-10.
- Cristofalo VJ, Lorenzini A, Allen RG et al. Replicative senescence: a critical review. *Mech Ageing Dev* 2004;125:827-48.
- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-57.
- Sfeir AJ, Chai W, Shay JW et al. Telomere-end processing the terminal nucleotides of human chromosomes. *Mol Cell* 2005;18:131-8.
- Rufer N, Brummendorf TH, Kolvraa S et al. Telomere fluorescence measurements in granulocytes and T lymphocyte subsets point to a high turnover of hematopoietic stem cells and memory T cells in early childhood. *J Exp Med* 1999;190:157-67.
- Baird DM, Rowson J, Wynford-Thomas D et al. Extensive allelic variation and ultrashort telomeres in senescent human cells. *Nat Genet* 2003;33:203-7.
- Rubelj I, Vondracek Z. Stochastic mechanism of cellular aging – abrupt telomere shortening as a model for stochastic nature of cellular aging. *J Theor Biol* 1999;197:425-38.
- Von Zglinicki T, Saretzki G, Docke W et al. Mild hyperoxia shortens telomeres and inhibits proliferation of fibroblasts: a model for senescence? *Exp Cell Res* 1995;220:186-93.

## Telomerers rolle i cancer

Laila Bendix<sup>1</sup> & Steen Kølvråa<sup>2</sup>

### STATUSARTIKEL

1) Dansk Center for Aldringsforskning (DARC) og 2) Vejle Sygehus, Klinisk Genetisk Afdeling

Eukaryote celler, heriblandt humane celler, har lineære kromosomer, der ender i de såkaldte telomerer. Telomerernes funktion er at forhindre, at kromosomerne bliver genkendt som dobbeltstrengsbrud af DNA'et. Dette opnås ved at telomer-DNA'et danner en lassiformet struktur, der er kendt som t-loop. Telomererne fungerer også som buffer for det, der kendes som *the end-replication-problem*, nemlig at kromosomerne ikke bliver fuldstændigt duplikeret i enderne inden celledeling. I stedet bliver de en anelse kortere for hver celledeling, hvilket begrænser antallet af celledelinger. En hypotese er, at telomererne herved fungerer som et værn mod cancer. Telomerer er dog formentlig et tvæægget sværd, når det kommer til cancer [1]. For selv om telomerer kan begrænse antallet af celledelinger, kan korte telomerer også initiere den kromosominstabilitet, der er karakteristisk for cancerceller.

Vi vil i denne statusartikel introducere læserne til, hvorledes telomerer menes at være involveret i initiering og progression af cancer. Denne viden danner baggrund for at forstå, hvorfor telomerer ventes at vinde indpas i klinikken både som en prognostisk markør ved cancer og som en del af cancerbehandling.

### TELOMERERNES DOBBELTE ROLLE VED INITIERING AF CANCER

Kromosomender med meget korte telomerer kan fusionere *end-to-end* med andre kromosomender med korte telomerer. Dette sker sandsynligvis, når telomererne er blevet for korte til at danne beskyttelseshætten – t-loop – idet cellen nu opfatter den åbne telomer som et DNA-brud, der skal repareres. Denne fusionering af to kromosomender kan i den efterfølgende celledeling medføre, at kromosomerne rives