مقـاله مروری

تلومرها، انتهای کروموزوم و آنزیم تلومراز به عنوان نشانگرهای زیستی سرطان

علیرضا زبرجدی[۱و۲*]، هادی هاشم زاده[۱]، الهام طراوت[۱]

۱- پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی، گروه مهندسی زراعت و اصلاح نباتات
۲- گروه پژوهشی بیوتکنولوژی مقاومت به خشکی، دانشگاه رازی کرمانشاه

چکیده/ تلومرها یا ترکیبات نوکلئوپروتئینی، کمپلکس‌هایی هستند که در انتهای کروموزوم‌های خطی یوکاریوتی قرار گرفته و دارای وظایف حیاتی بسیاری ازجمله حفاظت از انتهای کروموزوم‌ها، تکمیل همانندسازی انتهای کروموزوم‌ها، معیاری برای مدت زمان زنده ماندن سلول، سازمان‌دهی صحیح کروموزوم‌ها در هسته، تنظیم بیان برخی ژن‌ها و غیره می باشند. در طی هرتقسیم سلولی بدلیل وجود مشکل انتهایی همانندسازی، طول تلومرها پیوسته کاهش می‌یابد که سبب توقف چرخه سلولی می‌گردد. از اینرو تلومرها به عنوان ساعت کنترل کننده درونی، تعداد تقسیمات سلولی را تعیین می‌کنند. تلومراز آنزیمی ریبونکلئوپروتئینی دارای فعالیت رونویسی معکوس می‌باشد که با اضافه کردن توالی تکراری DNA به انتهای '۳ رشته DNA سبب حل این مشکل می-شود. در حدود ۹۰٪ از سلولهای سرطانی دارای فعالیت بالای تلومرازی می‌باشند که سبب می‌شود این سلولها دارای رشد نامیرا باشند. برخلاف این سلولها، سلولهای سوماتیکی دارای فعالیت بالایی نمی‌باشند. بنابراین تجزیه فعالیت تلومراز سلولهای سرطانی می‌تواند بعنوان ابزار تشخیص باشد.

واژگان کلیدی: تلومر؛تلومراز؛ پروتئین‌های متصل به تلومر.

مقدمه

تلومر[۱] یا ناحیه انتهایی کروموزوم خطی (۱) درسال۱۹۳۰ بعنوان جزء ضروری در پایداری دو انتهای کروموزوم کشف (۲) وبرای اولین‌بار در سال ۱۹۳۸توسط Muller نامگذاری شدکه ازدوریشه یونانی meros (بخش) و telos (انتها) گرفته شده است (۳)، وی در حین مطالعه مگس سرکه با پراش اشعه ایکس متوجه شد که نمی‌تواند نقاط انتهایی را حذف کند (۲) خانم McClintock با مطالعه ژنوم ذرت مشاهده کرد که شکست در نقاط انتهایی کروموزوم موجب تشکیل کروموزوم‌های دو سانترومری[۲] می‌شود (۴,۵)، DNA تلومری شامل توالی تکراری پشت سرهم با طول زیاد است (۲) که پس ازاین توالی‌ها، تک رشته غنی از باز گوانین[۳] قرار گرفته که برای حفاظت از تلومرها و ساخت تلومرهای جدید ضروری است (۶). توالی تکراری به وسیله پروتئین‌های شلترین [۴] و همراه در برگرفته می‌شوند (۷).

* علیرضا زبرجدی، PhD
عضو هیات علمی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی،
گروه مهندسی زراعت و اصلاح نباتات
پست الکترونیک: Zebarjadiali@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۲۷ • تاریخ پـذیرش: ۹۱/۱۲/۲۴

1- Telomere
2 - Dicenteric
3 - G-rich
4 - Shelterin

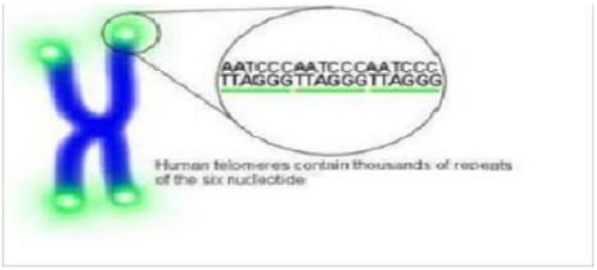
Archive of SID
www.SID.ir

کروموزوم‌های خطی به‌منظور همانندسازی[5] کامل باید مشکل انتهایی همانندسازی‌خود را رفع کنند، DNAپلی‌مرازها قادر به رفع این مشکل نبوده و نیاز به آنزیم ریبونوکلئوپروتئینی به نام تلومراز است (۱)، تلومراز دلیل عمده نامیرایی[6] سلول، و ترکیب کلیدی سلول های سرطانی است (۸). درحدود بیش از۹۰ درصداز سلول‌های نامیرا و در اغلب سلول‌های سرطانی این آنزیم دارای فعالیت زیادی است (۲). وجود بسیار زیاد این آنزیم درسلول‌های سرطانی به عنوان نشانگر زیستی[7] (۸) و نیز عدم حضور آن درسلول‌های نرمال بعنوان یک هدف مناسب برای داروهای ضدسرطان تلقی می شود (۳). درمان سرطان از دیرباز مورد توجه اغلب محققان بوده به طوری که با مهارکردن آنزیم تلومراز این سلول ها می‌توان آن‌ها را به طرف کاهش قدرت سلولی یا القاء مرگ سلولی[8] سوق داد (۷,۹). از آنجا که برای انجام هرچه بهتر هر کاری باید شناخت و اشراف کافی نسبت به موضوع داشت، مسلماً در درمان سرطان نیز شناخت تلومر، تلومراز، اجزاء تشکیل دهنده آن‌ها و طرز مهار آنزیم تلومراز جالب توجه است.

بیولوژی تلومر، محتوی DNA تلومری و پروتئین‌های متصل شونده به تلومر[9]:

همان گونه که ذکر شد تلومرها ساختار نوکلئوپروتئینی در انتهای کروموزوم‌های خطی هستند (۱۰). کوتاه شدن تلومر با طول عمر سلول رابطه‌ی مستقیمی داشته و همانند یک ساعت درونی[10] کنترل کننده تعداد تقسیمات سلولی است. DNA در این مناطق بوسیله پروتئین های شلترین تشکیل T-loop و[11] D-loop (حلقه‌های تلومری و جایگزین حلقه‌هایی می باشند که در تلومر ایجاد می‌شوند، توضیحات تکمیلی در ادامه متن آورده شده است) را می‌دهند (۶). نوکلئوزوم‌ها در این نواحی با بقیه نوکلئوزوم‌های کروموزوم متفاوت و دارای ۴۰ جفت باز کمتر هستند (۱۱,۱۲,۱۳)، در ادامه به شرح مختصری از موارد ذکر شده پرداخته می‌شود.

توالی DNA در تلومرها شامل تکرارهای پشت سرهم[12]غنی ازبازهای[13]GT می‌باشد، درتتراهیمنا[14] (TTGGGG)n، در نوعی مژک دار (TTTTGGGG)nو در انسان و موش به شکل (TTGGG)nمشاهده می‌شود. این توالی‌ها مربوط به رشته پیشرو بوده اما در رشته پیرو به شکلC-rich بوده که با هم DNA دو رشته‌ای تلومر را تشکیل می‌دهند، درانتهای رشته پیشرو یک تک رشته G-rich وجود دارد این تک رشته که به overhang-'3 (برآمدگی در انتهای رشته[3]) معروف است درگونه‌های مختلف متفاوت بوده به طوری که در نوعی پروتوزوا[15] طول آن به ۱۶ نوکلئوتید ولی در موش و انسان بین ۱۰۰-۵۰ نوکلئوتید متغیر است (شکل ۱). این توالی‌ها با پروتئین‌های تلومر اثرمتقابل دارند (۵,۷,۱۰).



شکل ۱: توالی تکراری DNA تلومری انسان وموش

درنواحی تلومری پروتئین‌های شلترین و دیگر پروتئین‌های همراه قرار دارند که سبب حفاظت از این نواحی شده به طوری که تنظیم طول تلومر به کمک این پروتئین‌ها صورت می‌گیرد. پروتئین‌های اصلی موجود در این نواحی به دو گروه تقسیم می‌شوند: گروه اول که به تک رشته[16] قرار گرفته در انتهای کروموزوم متصل شده و گروه دوم که به دو رشته قرار گرفته در طول DNA تلومری متصل می شوند (۲). این دو گروه به نوبه خود ممکن است در تشکیل حلقه‌ها نقش داشته باشند (جدول ۱).

حلقه تلومری و حلقه جایگزین[17]:

در تلومر تک رشته انتهایی غنی از گوانین (G) آماج حملات آنزیم‌های تجزیه کننده اسید نوکلئیک قرار می‌گیرد، به همین دلیل این تک رشته با یک تاخوردگی[18] و برگشت به درون DNAی تلومری توسط پروتئین‌های

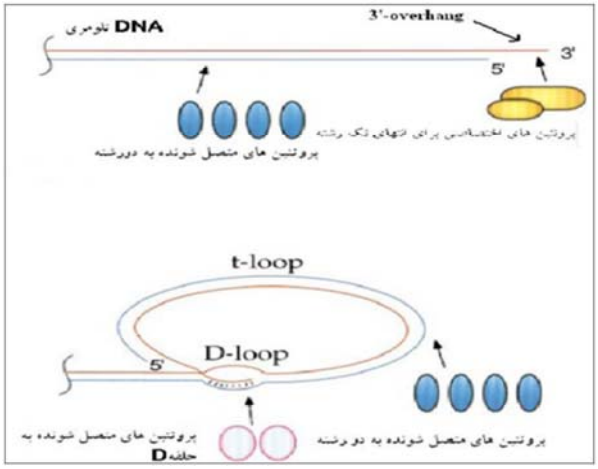
5. End-replication problem
6. Immortality
7. Biomarker
8. Apoptosis
9. Telomere Binding Protein or TBPs
10. Internal Clock
11. Telomeric loops & Displacement loops
12. Tandem Repeat
13. GT-rich
14. *Tetrahymena thermophila*
15. *Oxytricha trifallax*
16. 3'-overhang or G-rich
17. Telomeric loop(T-loop) & Displacement loop(D-loop)
18. Folding

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱: پروتئین های همراه تلومر درپستانداران (۱۰)

نام پروتئین	خصوصیات	منبع
TRF1	اتصال به DNAدو رشته‌ای تلومر؛ تنظیم منفی طول تلومر	Chong et al; ۱۹۹۵
TRF2	اتصال به DNA دو رشته‌ای تلومر؛ تنظیم منفی طول تلومر؛ جلوگیری از الحاق انتهایی کروموزوم‌ها؛ مورد نیاز بودن برای تشکیل فرمT-loop	Broccoli et al; ۱۹۹۷
(TANK۲;Tankyrase(TANK۱	اثر متقابل باTRF۱؛ دارای فعالیت پلی‌مرازیpoly-ADP(Ribose) ؛ تنظیم مثبت طول تلومر به وسیله ADP-پلی ریبوزیلاسیون وغیر فعال‌سازی TRF۱	Smith et al;۱۹۹۸ – Kaminker et al; ۲۰۰۱
TIN2	اثرمتقابل با TRF۱؛تنظیم مثبت طول تلومر به وسیله کنترل عمل TRF۱	Kim et al; ۱۹۹۹
HRP1	اثرمتقابل با TRF۲؛ تنظیم مثبت طول تلومر	Li et al; ۲۰۰۰
Ku	اثرمتقابل با TRF۱ وTRF۲؛ اتصال به DNAی انتهایی وجزئی از پروتئین‌کیناز وابسته به DNA برای ترمیم شکست‌های دورشته‌ی انتهای کروموزوم	Hsu et al; ۲۰۰۰ – Song et al; ۲۰۰۰
RD50/MRE11/NBS1	کمپلکس ترمیم DNA؛ بخش کمکی تلومر؛ NBS۱ اثرمتقابل با تلومر در زمان S-phaseدارد.	Zhu et al;۲۰۰۰

شلترین مانند TRF۱[19] و TRF2 امکان حفاظت از خود را مهیا می‌سازد. بنابراین G-rich که به شکل تک رشته بود وارد DNA ی دورشته‌ای می‌شود با چنین عملی دو حلقه تشکیل می‌شود: حلقه تلومری که حاصل DNA تکراری در طول تلومر، با پروتئین‌های همراه و دیگری حلقه جایگزین یا D-loop که حاصل تک رشته‌انتهایی در ناحیه3'-overhang با پروتئین‌های همراه است (۶) (شکل۲). با قرار گرفتن تک رشته به داخل DNAی تکراری دو رشته در طول تلومر، سه رشته بوجود می‌آید که یکی از رشته‌های دو رشته بدلیل اینکه نمی‌تواند پیوندی داشته باشد تشکیل حلقه جایگزین را می‌دهد.



شکل ۲: T-loopوD-loop دراثرتاخوردگی ۳´ انتهایی به داخل دو رشته

درواقع تشکیل D-loop و T-loop بدلیل تاخوردگی تک رشته انتهایی 3'-overhang به عقب می‌باشد (۳). بوجود آمدن حلقه‌های تلومری علاوه بر حفاظت از 3'-overhangسبب می‌شوند که آنزیم تلومراز نتواند این تک رشته را بعنوان سوبسترا قرار دهد (۱۰)، تا مکانیسمی برای تنظیم طول تلومر نیز باشد. تشکیل حلقه‌ها یکی از وظایف تلومرها به منظور حفاظت از DNAی خود است.

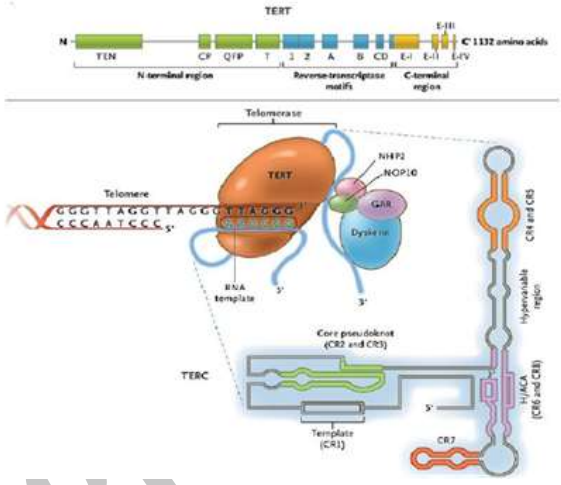
تلومراز[20]:

آنزیم تلومراز، کمپلکسی ریبونوکلئوپروتئینی است که دارای فعالیت رونویسی معکوس می‌باشد. این آنزیم که در افزایش طول تلومر دخیل بوده (۲۰)، از دو زیرواحد پروتئینی[21] و اسید نوکلئیکی[22] تشکیل شده است، زیر واحد پروتئینی این آنزیم در تتراهیمنا دارای دو پلی پپتید p۸۰ و p۹۰ (دو نوع پلی‌پپتید که دارای وزن مولکولی ۸۰ و ۹۰ کیلو دالتون می‌باشند) است (۲,۲۱). p۸۰ به RNA تلومراز و p۹۰ به آغازگر نواحی تلومریک اتصال می‌یابد (۱۴). این دو جزء برای عمل تصحیح کنندگی[23]

19. telomere-repeat binding factor-1 and 2.
20. Telomerase
21. TERT or TElomerase Reverse Transcriptase
22. TR / TERC or Telomerase RN
23. Proofreading

Archive of SID
www.SID.ir

ضروری هستند. پیشنهاد شده که درساکارومیس‌سرویزیه[24] ژن *EST1*[25] رمز کردن این پروتئین‌ها را برعهده دارد (۱۰). زیرواحد پروتئینی دارای ۱۱۳۲ اسیدآمینه و۱۲۷ کیلودالتون وزن است (V,۲۰). زیر واحد RNA آن از نظر طول در موجودات تفاوت داشته، در تتراهیمنا دارای ۱۵۹ نوکلئوتید وحاوی ۹ تکرار از الگوی 5'-CCCCC-3' است (۱۰)(شکل ۳).



شکل ۳: زیرواحدهای آنزیم تلومراز (۱۹)

ترکیب پروتئینی آنزیم، فعالیت کاتالیتیکی ترانسکریپتاز معکوس را بوسیله الگو قراردادن RNA آنزیم انجام می‌دهد و توالی‌های تکراری را به انتهای آزاد تلومر اضافه می‌کند طوری که ابتدا تلومراز با شناسایی تلومر به این نواحی اتصال یافته و با الگو قرار دادن RNA، نوکلئوتیدهای محیط را به انتهای ۳' آزاد متصل کرده و سبب افزایش طول تلومر می‌شود(۲۳). اگرفرض شود RNA الگو در تلومراز دارای توالی5'-CUCCCUC-3' باشد تلومراز توالی تکراری پشت سرهم به شکل5'-TTGGG-3' را جهت طویل‌سازی DNA تلومری اضافه می‌کند (۱۸). لازم به ذکر است که در هربار تلومراز یک قطعه هگزامری (۶ نوکلئوتیدی) را بوسیله انتهای ۵' RNA خود به انتهای۳' آزاد تلومر اضافه می‌کند و برای تکرار این عمل یعنی اضافه کردن تکرارهای بعدی، RNA الگو باید با جابجا شدن و تغییر موقعیت تکرارهای بعدی را اضافه کند و DNA انتهای ۳' آزاد را سنتز کند (۲۳)، به همین دلیل تلومراز را آنزیم ریورس ترانسکریپتاز می‌نامند زیرا با الگو قرار دادن RNA خود، سبب رونویسی معکوس DNA تلومری می‌شود. البته این نوع ریورس ترانسکریپتاز با بقیه‌ی آنزیم‌های ریورس ترانسکریپتاز کمی متفاوت بوده و این آنزیم برخلاف بقیه از الگوی درون خود برای این منظور استفاده می‌کند.

بدلیل وجود مشکل انتهایی همانندسازی، تلومرازها از کاهش طول تلومر درطی هر دور همانندسازی جلوگیری می‌کنند اما با فعالیت پیوسته تلومراز، دائم به طول تلومر اضافه می‌شود. بنابراین روند طویل‌سازی تلومر تا کجا ادامه می‌یابد یا چه عواملی سبب کنترل اندازه طول تلومر می‌شوند. سه مدل غالب برای این منظور ارائه شده (۱۵) و در همه نظریه‌ها اثرمتقابل TBPها با نقاط تلومری به چشم می‌خورد:

۱- مدل عامل محدود کننده: در این مدل پروتئین‌های TBP ها به تکرارهای اضافه شده متصل و مانع پیشروی بیشتر می‌شوند.دراینجا تلومراز مهار نمی‌شود.

۲-مدل تنظیم فعالیت تلومراز: TBPها با اتصال به تلومراز تعداد تکرارهای اضافه شده را کنترل می‌کنند.

۳-مدل پردازش تلومر: TBPها سبب شکستن تکرارهای جدیداضافه شده به انتها می‌شوند در این مدل طول رشتهC-rich نیز به وسیله بیان بیش ازحد ژن[26] Rap۱که سبب ختم سنتز رشتهC شده، تنظیم می‌شود.

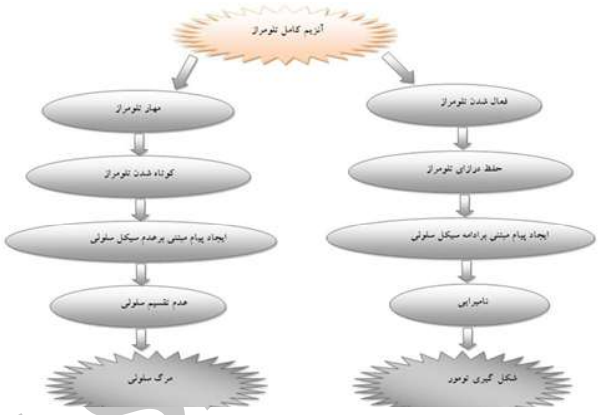
سه مدل ارائه شده ممکن است برای همه یوکاریوت‌ها صادق نباشد، Blackbu RNA، McEache RNA (۱۹۹۶) درمورد جهش یافته *Kluyveromyces lactis* پیشنهاد کردند که اثر متقابل پروتئین-پروتئین سبب تاخوردگی و به عقب برگشتن تک رشته آزاد انتهایی و دو رشته و در نهایت ایجاد حلقه‌ها[27] شده و عوامل ختم سبب می‌شوند که دیگر به طول تلومر اضافه نشود.

آنزیم تلومراز در کوتاه یا طویل شدن تلومر نقش دارد و می‌تواند مسیر دوگانه‌ای را طی کند، به‌طوری که از یک طرف در سلول‌های طبیعی، کوتاه شدن تلومر مانند یک مکانیسم از شکل گیری تومور جلوگیری کرده، رفته رفته در اثر تقسیمات متوالی، از طول تلومر کاسته شده و نهایتاً موجب خروج سلول از چرخه سلولی و ورود به مرحله پیری سلول[28] می‌شود، جایی که دیگر سلول تقسیم نمی‌شود و نهایتاً می‌میرد (۲۴,۲۵,۲۶)، مردن یک سلول به وسیله انتقال پیامی که از طرف تلومر صادر شده صورت می‌گیرد.

24. *Saccharomyces cerevisiae*
25. Ever shorter telomeres 1
26. Repressor/activator site-binding protein
27. Loops
28. Senescense

Archive of SID
www.SID.ir

اما از طرف دیگر با فعال شدن این آنزیم،طول تلومر حفظ و بدلیل عدم انتقال پیام از ناحیه تلومر، نامیرایی رخ می‌دهد و سلول نامیرا به سلول سرطانی[29] تبدیل می‌شود و نهایتاً با افزایش فعالیت آن سبب تومورزایی[30] می‌شود. (شکل۴).



شکل ۴: مسیردوگانه آنزیم تلومراز، تومورزایی یامرگ سلولی (۲۰)

وظایف تلومر:

گرچه هدف اصلی تلومرها حفظ یکپارچگی[31]کروموزوم‌ها، حفاظت‌از تجزیه شدن در برابر آنزیم‌هایی همچون نوکلئازها و جلوگیری از نوآرایی[32] یا الحاق انتهایی[33] می‌باشد (۱۴) اما وظایف دیگری را نیز برعهده دارند.

الف) حفاظت از انتهای کروموزوم ها: سؤال اصلی که در این مورد پیش می‌آید این است که تلومرها چگونه سبب پایداری انتهایی می‌شوند؟ و چگونه از ایجاد شکست در انتهای DNA جلوگیری می‌کنند؟ شواهدی وجود دارد که پروتئین‌های متصل شونده به تلومر (TBPs)[34] این کار را انجام می‌دهند (۶).

ب) تکمیل همانندسازی انتهایی کروموزوم: بدلیل نیاز DNA پلی‌مرازبه انتهای ۳ و پرایمر جهت همانندسازی، این آنزیم قادر به انجام کامل همانندسازی نیست، تلومراز با شناسایی نواحی تلومری این مشکل رارفع می‌کند (۱).

ج) معیاری برای مدت زمان زنده ماندن سلول: در سلول‌های سوماتیکی در واقع تلومرها تنظیم کننده تعداد دفعات تکرار شدن چرخه یک سلول می‌باشند.

بر اساس اثر مکانی تلومر[35] برخی ژنها که تا قبل از کوتاه شدن تلومرها خاموش بوده‌اند حال با ازبین رفتن تلومرها، آنها روشن می‌شوند (۱۴).

د)درسلول‌های‌پستانداران‌بدلیل‌کوتاه شدن تلومر و نتیجتاً ازبین رفتن پروتئین Ku (نوعی پروتئین شلترین در حفاظت از تلومر، توضیحات در جدول ۱) منجر به الحاق انتهایی تلومر- تلومر شده است.

ه) عقیده بر این است که تلومر به منظور استقرار و سازمان یافتن مناسب کروموزوم در هسته نقش دارند.

و) نقش درتنظیم بیان برخی ژن ها.

فعالیت هلیکازی تلومر:

هلیکازها[36]آنزیم‌هایی هستند که به وسیله هیدرولیز TP و تبدیل انرژی شیمیایی درون آن به انرژی مکانیکی سبب شکسته شدن پیوند هیدروژنی بین جفت بازها در اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (۱۵,۱۶) مثال ساده آن ذوب[37] دورشته DNA و تبدیل آن به تک رشته می‌باشد. در ناحیه تلومری به دلایل زیر این خصوصیت مهم وجود دارد وهلیکازها در نگهداری تلومرها نقش دارند (۱۷).

الف) به‌منظور همانندسازی کامل انتهایی می‌بایست T-loop و D-loop ها باز شوند وپروتئین‌های موجود در این ناحیه کنار گذاشته شوند تا بتوان همانندسازی کامل را انجام دهند.

ب) پردازش انتهایی و کلاهک گذاری تلومر[38]

ج) بازسازی کروماتین‌های تلومری

ه) متصل شدن به تلومراز و تنظیم آن: تلومراز برای اینکه بتواند تکرارهای نوکلئوتیدی را به انتهایoverhang-'۳ اضافه کند می‌بایست بعد از اضافه کردن تکرار اول، RNA الگوی خوددر طول تلومر را جابجا کند که این کار را هلیکازها برای تلومراز تسهیل می‌کنند.

مشکل انتهایی همانندسازی:

زمانی که DNAپلی‌مراز از دورشته اصلی یا رشته‌های مادری کپی‌برداری می‌کند در انتهای '۵ رشته دختری در رشته پیرو[39] یک شکاف[40] بوجود می‌آید (۳)

و رشته دختری از رشته والدی قدری کوتاه‌تر می‌شود زیرا نسخه

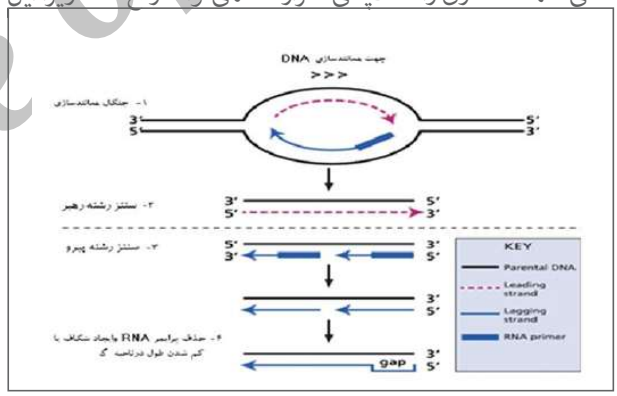
29. Cancerious cell
30. Tumorogenesis
31. Integrity
32. Rearrangment
33. End-to-End Fusion
34. Telomere Binding Proteins
35. Telomere position effect
36. Helicase
37. Melting
38. Caping & Processing
39. Lagging strand
40. Gap.
41. Leading strand

www.SID.ir

کامـل از رشـته رهـبر[41] سـاخته می‌شـود امـا در رشـته پیـرو نقـص بوجـود می‌آیـد (شـکل ۵). نقـص یـا کوتاه شـدن رشـته‌ی دختری به دو دلیـل اتفـاق می‌افتـد (۱۸): دلیـل اول این اسـت کـه آغازگرهای مربـوط بـه قطعه‌هـای اوکازاکـی،۲۰۰ جفـت بـاز دورتـر از خـود قطعـه‌ی اوکازاکـی در رشـته‌ی پیرو سـنتز می‌شـوند واگر یک قطعه اوکازاکی در فاصله‌ای ۲۰۰ جفت بازی دورتر از انتهای ۳ رشته پیرو شروع گـردد دیگـر هیـچ جایی برای اینکه آغازگر بعدی سـنتز شـود باقـی نمی‌مانـد و قطعـه باقـی مانـده ازرشـته‌ی پیرو همانندسـازی نمی‌شـود بنابراین رشـته دختری تازه سـنتز شـده از قطعه مادری‌اش کوتاه‌تر اسـت.

دلیل دوم این اسـت که، قطعه اوکازاکی آخر می‌تواند در انتهای ۳ رشـته پیـرو قرارگیرد اما آغازگـر که از جنس RNA می‌باشـد نمی‌تواند بـه DNA تبدیـل شـود زیـرا برای ایـن تبدیل نیاز اسـت که یکقطعه اوکازاکی تشـکیل شـود و می‌بایسـت در مجاورت انتهای رشـته پیرو قـرار گیرد، واین دلیل کوتاه شـدن رشـته دختری اسـت.

هـمان گونـه کـه ذکر شـد کوتاه‌شـدن طول یک رشـته‌ی دختری در طـی همانندسـازی را DNAپلـی مـراز III نمی‌تواند رفع کنـد زیرا این



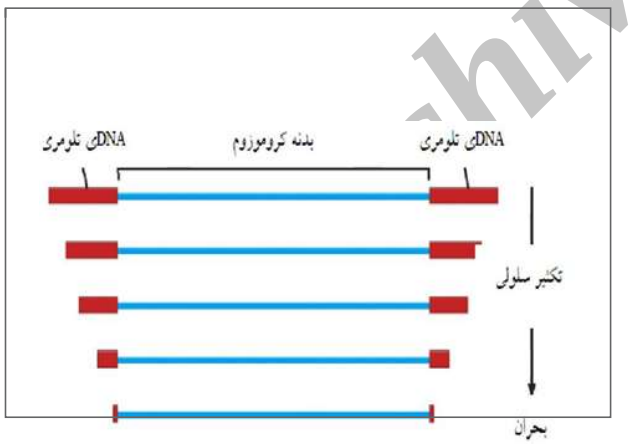
شـکل ۵: مشـکل انتهایی همانندسـازی(۱۴)، وقتی که چنگال همانندسازی تشکیل می‌شـود دو رشته DNA از هـم بـاز می‌گردنـد و DNA پلی‌مـراز سـنتز رشـته جدیـد را در جهـت ´۵ بـه ´۳ آغاز می‌کند. رشـته پیـشرو بـه طـور مسـت قیـم از DNA مـادری بـه شـکل پیوسـته سـاخته می‌شـود امـا رشـته پیـرو فقـط می‌توانـد بـه شـکل ناپیوسـته سـنتز شـود بـه همیـن دلیـل بـه قطعـات پرایمـر بـرای ایـن منظـور نیـاز دارد، بـا حـذف آخریـن پرایمـر از انتهـای DNA در ایـن ناحیـه شـکاف بوجـود می‌آیـد کـه ایـن شـکاف سـبب می‌شـود یـک رشـته کوتاه‌تـر از رشـته‌ی دیگـر باشـد.

آنزیـم بـرای شروع همانندسـازی در رشـته پیـرو نیـاز بـه انتهـای ۳ هیدروکسـیل[42] و یـک آغازگـر- البته در رشـته پیـرو- دارد (۱۹) حال اگـر ایـن مشـکل رفع نشـود رفتـه رفتـه از طـول تلومـر در طی هر تقسـیم سـلولی کاسـته می‌شـود و عواقب زیـادی به دنبـال خواهد داشـت. آنزیـم تلومـراز قادر اسـت از طریق اضافه کـردن تکرارهای پشـت سرهم به انتهای ۳ هیدروکسـیل در رشـته مادری طول تلومر را جـبران کند.

اهمیت تلومراز در پیری وسرطان:

در سـال ۱۹۷۲ بعـد از کشـف واقعـه مشـکل همانندسـازی انتهایی توسـطJames Watson (۴۰) و مرحلـه عـدم فعالیت سـلولی توسـط Hayflick در سـال ۱۹۶۱ در محیـطIn vitro (وی درسـلول هـای کشـت شـده درin vitro مشـاهده کرد که سـلول‌های طبیعی بعد از حـدود ۵۰ بـار تقسـیم، وارد مرحله عدم فعالیت سلولی‌می‌شـوند)، Olovinkovدر سـال ۱۹۷۳ توانسـت بیـن ایـن دو پدیـده رابطـه‌ای را برقـرار کنـد و نشـان داد کـه، مشـکل همانندسـازی انتهایی موجب کوتاه شـدن تلومرها در تقسـیمات سـلولی متوالی شـده و تلومرها بعنـوان سـاعت کنـترل کننـده درونـی تعـداد تقسـیمات سـلولی را تعیین می‌کنند طوری که یک سـلول تا چه تعداد می‌تواند تقسـیم سـلولی انجـام دهـد و در رونـد پیـری نیـز نقـش دارد (۲۷,۲۸,۲۹) (شکل ۶).

فرآینـد پیـری سـلول شـامل از بین رفـتن مـواد ژنتیکی، تجمـع مواد متابولیکـی تجزیـه کننـده، فعال شـدن ژن-هـای پیـری و غیر فعال

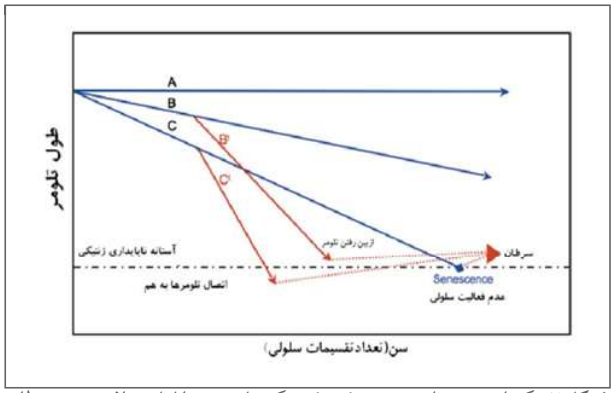


شـکل ۶: بـا تقسیمـات سـلولی متوالـی و کوتـاه شـدن تلـومر بحران سلـولی رخمـی دهـد (۳۷).

42. 3´-OH.
43. Longevity

Archive of SID
www.SID.ir

شدن ژن‌های طول عمر[43] می‌باشد.
این فرایند در تمام سلول‌های سوماتیکی رخ می‌دهد (۲۰) و دلیل این امر این است که در این سلول‌ها تلومرها دچار سائیدگی[44] یا فرسایش می‌شوند. کاهش طول تلومر تا مرحله بحرانی ادامه می‌یابد و بعد از این سلول دچار عدم تکثیر سلولی یا مرگ سلولی می‌شود البته قبل از مرحله آخر سلول می‌تواند مسیر دیگری را نیز در پیش گیرد و مانند سلول‌های سرطانی شود. در سلول‌های سرطانی، طول تلومرها به‌طور عمومی از سلول‌های نرمال کوتاه‌ترند اما بدلیل سطح بالای تلومراز در نتیجه فعالیت بیشتر آن در این قبیل سلولها، تلومراز طول تلومرهای کوتاه شده را حفظ می‌کند و اجازه نمی‌دهد سلول وارد مرحله مرگ سلولی شود (۲۳). تلومراز در سلول‌های زایا و سلول‌های بنیادی جنینی بیان می‌شود اما در اکثر سلول‌های سوماتیکی بالغ به ندرت یافت می‌شود.
به همین دلیل در این سلول‌ها کوتاه شدن تلومر نمی‌تواند جبران شود اما در سلول‌های سرطانی بدلیل بیان زیاد این آنزیم، طول تلومر حفظ و نامیرایی سلول را سبب می‌شود (شکل۷). به نظر می‌رسد نامیرا بودن سلول‌های سرطانی با رشد تومور در جاندار سالم مشابه باشد و درانواع مختلف سرطان، نبودن پیری با فعال شدن تلومراز همراه است (۱۸).
سلول‌های سرطانی به سلول‌هایی گفته می‌شود که بر اثر موتاسیون یا حمله ویروس به سلول‌های سوماتیکی طبیعی ایجاد شوند.



شکل ۷: کوتاه‌شدن تلومردر in vivo ممکن است با ادامه یافتن، به سرطان منجر گردد (۳۱)

در نهایت با افزایش فعالیت تلومراز در این رده سلولی به شکل‌گیری تومور می‌نجامد.

پس بدین جهت این آنزیم می‌تواند بعنوان نشانگر زیستی[45] سرطان برای درمان این بیماری مدنظر باشد وراه‌های مهار آن بررسی شود.

دستاوردهای نوین در جهت درمان سرطان:

درمان سرطان از طریق مهار تلومراز مورد توجه اکثر محققان ودانشمندان واقع شده است. سلول‌های سرطانی، رویانی، رده زایا و بنیادی دارای سطح تلومرازی بالایی هستند اما ازآنجا که هدف مهار تلومراز سلول های سرطانی است، این سوال پیش می‌آید که آیا اعمال تیمار در تلومراز اثری بر دیگر سلولها ندارد؟ اگرچه اثر جانبی بر اکثر سلول‌ها دارد اما تنها درسلول‌های سرطانی تلومر کوتاه است و در دیگر سلول‌ها طول تلومر بلندتر بوده و مهار تلومراز اثر چندانی روی این سلول‌ها بدلیل طویل بودن طول تلومر ندارد. مواد ضدسرطان مختلفی وجود دارند که روی هر کدام از زیرواحدهای تلومراز اعمال می‌شوند. مهار زیرواحد[46] TERT: شامل استفاده از RNAAهای کوچک مداخله کننده (si RNA[47]) به‌منظور قطعه قطعه کردن m RNAA زیرواحد پروتئینی، استفاده از[48] ds RNAA یا RNAA دورشته‌ای در سلول‌های جنینی ابتدایی مانند سلول‌های جنینی کبد انسان برای تجزیه کردن TERT، استفاده از ملکول‌های کوچک نظیر آزیدوتیمیدین[49] که یک آنالوگ نوکلئوزیدی است و در جایگاه فعال[50] وارد شده و مؤثر واقع می‌شود، به کاربردن ترکیب مصنوعی کوچک و فاقد نوکلئوزید مثل BIBR۱۵۳۲ جهت مهار، کاهش اثر وفعالیت زیرواحدهای پروتئینی TERT درمحیط آزمایشگاهی[51] و نهایتاً به کارگیری روشهای ایمنی درمانی که شامل به کارگیری مستقیم پپتیدهای TERT می باشد.

مهار کردن TR :

استفاده از۲' و۵'- الیگو آدنیلات (A-۵-۲) بعنوان یک سیستم آنتی‌سنس برای مهار زیر واحد RNAA، بدین نحو که بعنوان اینترفرون عمل کرده و با تداخل یک الگوی تک رشته، به طور

44. Attrition
45. Biomarker
46. telomerase reverse transcriptase)
47. Small interfering RNA
48. Double strand RNA
49. Azidothymidin
50. Active site
51. In vitro.

Archive of SID
www.SID.ir

اختصاصـی شکسـته می‌شـود.

بـه کاربـردن بـردن این ضد سرطان نـه تنها در محیط آزمایشـگاهی بلکـه در محیـط طبیعـی[52] نیـز میـسر اسـت. عـلاوه بـر ایـن الگوی آنتی‌سـنس، به‌کارگیـری ریبوزیـم سرچکشـی[53] (ریبوزیم سرچکشـی نوعـی RNAA دارای فعالیـت آنزیمـی اسـت) و RNAASi[54]نیـز می‌توانـد بـه طور مسـتقیم این زیرواحد را مورد هـدف قرار دهد و تجزیـه کنـد. مهار دیگـر درمـورد پروتئین‌های همـراه درون تلومراز یـا تلومـر از جمله Tankyrase (به جدول ۱ مراجعه شـود) وPRP (این ژن یـک آنزیـم مرتبـط با کروماتین را کد می‌کند) اسـت که می‌توان سـلول‌های سرطانـی را درمـان کنـد. مثـلاً بـا تجزیـه یا مختـل کردن هرکـدام از زیرواحدهـای تلومراز مانع تشـکیل آنزیم کامل شـد و از فعالیـت آن جلوگیـری کـرد، بـا مهـار کـردن فعالیـت آن سـبب عدم حفـظ طـول تلومـر و نهایتاً مرگ سـلولی را موجب می‌شـود.

منـابع/ References

1. Collins K. Structure and function of telomerase. Cell biology 1996. 8 : 374-380
2. Collins K, Kobayashi R, Greider CW. Purification of Tetrahymena telomerase and cloning of genes encoding the two protein components of the enzyme. Cell 1995;81: 677-686
3. Greider CW, Blackburn EH. Telomeres, telomerase and cancer. Scientific American 1996; 244: 80-85
4. McClintock B. The fusion of broken ends of sister half-chromatids following chromatid breakage atmeiotic anaphases. Missouri Agriculture Experiment Station Research Bulletin 1938; 290:1-48
5. McClintock B. The fusion of broken ends of chromosomes following nuclear fusion. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America 1942; 28:458-63
6. Greider CW. Telomeres Do D-loop-T-loop. Cell 1999; 97: 419-422
7. Hodes R. Molecular targeting of cancer: telomeres as targets. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America2001; 98: 7649–7651
8. Andrews LG, Tollefsbol TO. Methods of Telomerase Inhibition. Methods Mol. Biol 2008; 405: 1–8
9. Ahmed A, Tollefsbol TO. Telomeres, telomerase, and telomerase inhibition: clinical implications for cancer. Journal of the American Geriatrics Society 2003; 51:116–122
10. Butt HZ, Atturu G, London NJ, Sayers RD, Bown MJ., Telomere Length Dynamics in Vascular Disease: A Review. European Journal of Vascular and Endovascular Surgery 2010; 40: 17-26
11. Makarov VL, Hirose Y, Langmore JP. Long G-tails at both-ends of human chromosomes suggest a C-strand degradation mechanism for telomere shortening. Cell 1997; 88: 657–666
12. Lejnine S, Markov VL, Langmore JP. Conserved nucleoprotein structure at the ends of vertebrate and invertebrate chromosomes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1995; 92: 2393–2397
13. Tommerup H, Dousmanis A, De Lange T. Unusual chromatin human telomeres. Molecular and Cellular Biology 1994; 14 (9): 5777–5785
14. Greider CW. Telomere length regulation. Annual Review Biochemistry1996; 63(3): 37-65
15. Pyle AM. Translocation and unwinding mechanisms of RNA and DNA helicases.Annual Review Biophysics2008; 37:317–336
16. Singleton MR, Dillingham MS, Wigley DB. Structure and mechanism of helicases and nucleic acidtranslocases. Annual Review Biochemistry 2007; 76: 23–50
17. Bolzán AD, Bianchi MS. Telomeres, interstitial telomeric repeat sequences, and chromosomal aberrations. Mutation Research 2006; 612 (3): 189–214

52. In Vivo
53. Hammerhead ribozyme
54. RNA interference

Archive of SID

www.SID.ir

18. Sepehrizade Z, Zarini Gh. Genome 3. (edited by Brown) 3nd ed. Biology home publishers 2007
19. Rodrigo T, Calado MD, Neal S, Young MD. Telomere Diseases. The New England journal of medicine 2009; 361(23): 53-65
20. He Li, Jun-Ping Liu. Signaling on telomerase: a master switch in cell aging and immortalization. Biogerontology 2002; 3: 107–116
21. Harrington LA. purification and characterization of Tetrahymena telomerase. Ph.D thesis. State univ. NY at Stony Brook1993
22. Lubna N. Telomeres and telomerase: Biological and clinical importance in dogs. The Veterinary Journal 2008; 175: 155–163
23. Kleideiter E, Piotrowska K, Klotz U. Screening of telomerase inhibitors. Methods in Molecular Biology 2007; 405: 167-80
24. Liu JP. Studies of the molecular mechanisms in the regulation of telomerase activity. The FASEB Journal 1999; 13(15):2091-104
25. Shahabi M, Noori Daloii MR, Langan JE, et al. An investigation of the tylosis withoesophageal cancer (TOC) locus in Iranian patients withoesophageal squamous cell carcinoma. International Journal Oncology 2004; 25(2):389-95
26. Harley CB. Telomerase and cancer therapeutics. Nature Review Cancer 2008; 8(3):167-79
27. Lilian C. Telomere and Telomerase brief review of a history initiated by Hermann Muller and Barbara McClintock. Columbia Medical 2006; 37(4):336-9
28. Zimmermann S, Martens U M. Telomeres and telomerase as targets for cancer therapy. Cell Molecular Life Scientific 2007; 64(7-8):906-21
29. Noori-Daloii MR, Hesami SS. Telomerase and it's inhibition in cancer. Tehran University Medical Journal; Vol. 67, No. 9, Dec 2009; 599-607. (In Persian).
30. Chavez A, Tsou AM, Johnson FB. Telomeres do the (un) twist: Helicase actions at chromosome termini. Biochimica et Biophysica Acta 2009; 1792 (4) : 329–340
31. Londoño-Vallejo JA. Telomere instability and cancer. Biochimie 2008; 90 (1) :73-82
32. Campisi J, Kim SH, Lim, CS, et al., Cellular senescence, cancer and aging: the telomere connection. Experimental Gerontology2001; 36:1619-1637
33. Elizabeth HB. Switching and Signaling at the Telomere. Cell 2001; 106:661–673
34. Marı´a A. Blasco. Telomeres in cancer and aging: lessons from the mouse. Cancer Letters 2003; 194: 183–188
35. Hemann MT, Strong MA, Hao LY, Greider CW. The Shortest Telomere, Not Average Telomere Length, Is Critical for Cell Viability and Chromosome Stability, Cell 2001; 107: 67–77
36. Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, et al., A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)n, present at the telomeres of human chromosomes. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1988 ;85:66226
37. Weinberg RA. Chapter 10. Eternal life: cell immortalization and tumorigenesis. In: The Biology of Cancer. New York: Garland Science 2007; 357-98p
38. William CH, Robert AW. Rules for making human tumor cells. The New England Journal of Medicine 2002; 347(20): 1593-1603
39. Ju Z, Rudolph KL. Telomeres and telomerase in cancer stem cells. European Journal of Cancer 2006; 42 (9):1197-1203
40. Watson JD. Origin of concatemeric T7 DNA. Nat New Biol 1972; 239(94):197-201
41. Olovnikov AM. A theory of marginotomy. J Theor Bio. 1973;41:181–90
42. McEachern MJ, Blackburn EH. Cap-prevented recombination between terminal telomeric repeat arrays (telomere CPR) maintains telomeres in Kluyveromyces lactis lacking telomerase. Genes Dev1996; 10(14): 1822-34.

Archive of SID

www.SID.ir