

Shelterin Proteinleri: Telomerlerin Koruyucu Kalkanı

Mustafa Doğan Bedir¹

Deniz Bakır²

Özet

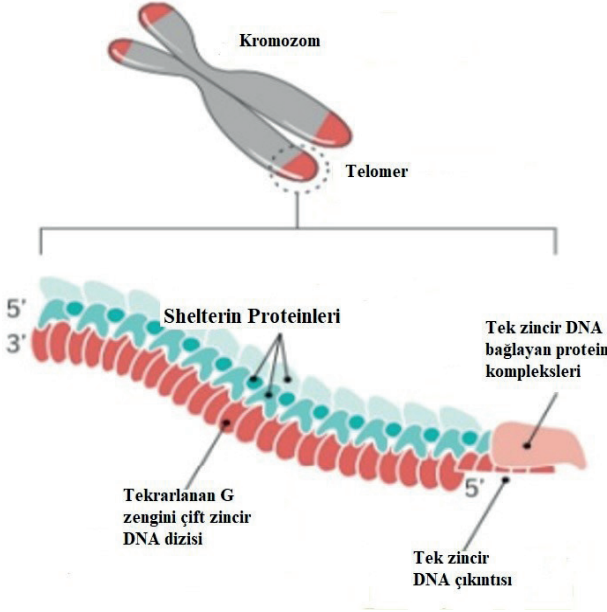
Ökaryotik kromozomların uçlarında bulunan telomerler, guanince zengin tandem TTAGGG amino asit dizilerinden oluşan DNA uzantıdır. TERF1/TRF1, TERF2/TRF2, POT1, TINF2/TIN2, TPP1, TERF2IP/RAP1'den oluşan telomere özgü altı protein shelterin kompleksi proteinleri olarak adlandırılır. Tüm shelterin alt birimleri bu diziyile birleşerek bir kompleks oluşturur ve telomer stabilitesine katkıda bulunur. Shelterin proteinlerden herhangi birinin yapı veya işlevindeki değişiklik, istenmeyen DNA hasarı yanıtlarının oluşmasına dolayısıyla hücre yaşlanmaya ve ölüme yol açabilir. Bu bölümde telomer yapısı, shelterin kompleksi proteinlerinin yapıları ve işlevleri ile hastalık ilişkileri yapılan çalışmalardan faydalanılarak incelenecektir.

TELOMERLER

Yunanca'da “telos” (son) ve “meros” (kısım) olarak adlandırılan telomer yapısı, 1930'lu yıllarda Hermann J. Muller ve Barbara Mc Clintock tarafından *Drosophila melanogaster*'in X ışını radyasyonuna maruz bırakılması sonucunda, kromozom uçlarını koruyucu bir yapı olarak keşfedilmiştir (Greider ve Blackburn, 1996). Telomerler, ardı ardına devam eden kısa DNA tekrarları ve ilgili koruyucu proteinler ile etkileşim halinde olan, kromozom uçlarında bulunan çok iyi düzenlenmiş dinamik bir komplekstir (Blackburn vd., 2015) (Şekil 1).

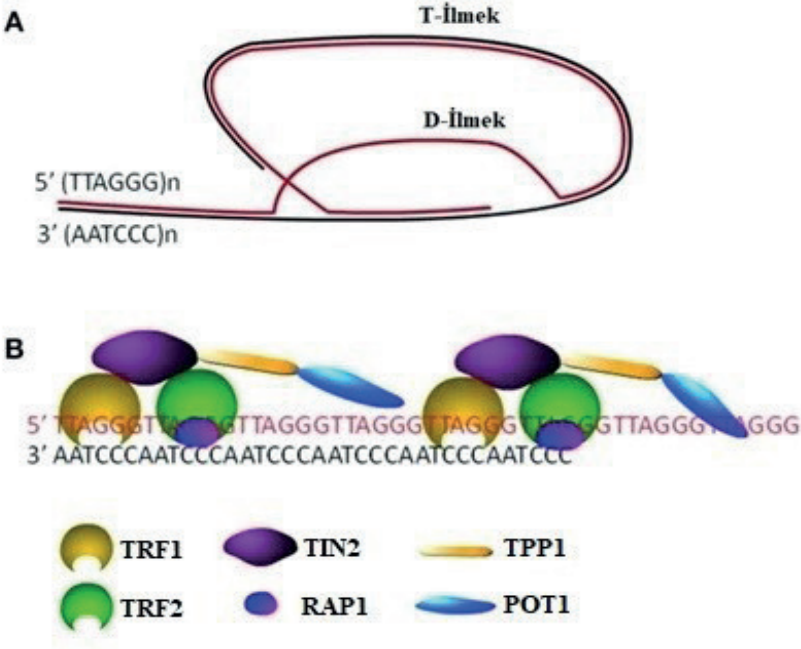
1 Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, mdoğanbedir@cumhuriyet.edu.tr, Orcid: 0000-0002-2628-0739

2 Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, denizbakir1314@hotmail.com, Orcid: 0000-0002-9255-3301,



Şekil 1. Telomer yapısı (Blackburn vd., 2015)

Telomerler, ökaryotik doğrusal kromozom uçlarında bulunan, ardı ardına dizilmiş $(TTAGGG)_n$ heksonükleotid DNA sekanslarından oluşan bir ribonükleoprotein komplekstir (Shay ve Wright, 2019). Kromozomları istenmeyen uç füzyonlarına ve aşınmalara karşı koruyarak, çift zincir kırılma hasarına karşı genomik bütünlüğün korunmasına yardımcı olurlar. Kromozomların uçlarındaki bu fiziksel korumanın yanı sıra, kromatin organizasyonu ve hücre çoğalması kontrolünde etkin rol oynarlar (Louzon vd., 2019). Bu kompleksler, türden türe uzunluk bakımından farklılık gösteren korunaklı ardışık tekrarlardır. En uzun telomerler 150 kilobaz'a kadar uzanan *mus musculus* türü sıçanlarda bulunurken, bitkilerde TTTAGGG tekrar dizileri genellikle 2-100 kilobaz arasında değişmektedir. İnsanlarda ise telomer uzunluğu 10-15 kilobazdır (Srinivas vd., 2020). Kromozom yapısına bakıldığında, çift zincirli ve tekrarlı DNA sekanslarından oluşan telomerik bölgede, D-ilmek ve T-ilmekten oluşan büyük ilmek yapıları bulunmaktadır. D-ilmek yapısının guanince zengin olan tek zincirli 3' ucu (G-kuyruğu) çift iplikli telomerin içine girerek ikinci bir ilmek yapısı oluşturur. Telomerlerin kromozomal korunmasından sorumlu T-ilmek yapısının ise DNA çift zincirinin, telomer bağlayıcı proteinler olarak ifade edilen shelterin kompleksi ile birlikte kendi üzerine dairesel katlanmasıyla oluştuğu bilinmektedir (Fernandes vd., 2020; Tian vd., 2019) (Şekil 2).



Şekil 2. A: Telomerlerin T-İlme ve D-İlme yapısı B: Telomerik DNA'ya bağlanarak ilme yapılarının stabilitesini sağlayan TRF1, TRF2, TIN2, RAP1, TPP1 ve POT1'den oluşan shelterin kompleksi proteinleri (Tian vd., 2019)

SHELTERİN PROTEİNLERİ

Ökaryotik doğrusal kromozomların uç kısımlarında bulunan telomerler, kromozomal replikasyonda, gen ekspresyonunda, kromozom stabilitesinde, tümör oluşumunda ve yaşlanmada önemli roller üstlenmektedir. Telomerlerin genomik bütünlüğüne tehdit oluşturan, DNA çift zincir kırılma hasarına ve uç füzyonlarına karşı onları koruyan telomer bağlayıcı proteinler olarak bilinen shelterin kompleksi altı adet proteinden oluşmaktadır. Bunlar; TERF1/TRF1: Telomerik Tekrar Bağlama Faktörü 1, TERF2/TRF2: Telomerik Tekrar Bağlama Faktörü 2, POT1: Telomerlerin Korunması 1, TIN2/TIN2: TRF1 Etkileşimli Nükleer Faktör 2, TPP1: Tripeptidil Peptidaz 1, TERF2IP/RAP1: Baskılayıcı Aktivatör Proteini 1'dir. TRF1, TRF2 ve POT1 shelterin proteinlerinin çekirdek bileşenlerini oluşturmaktadır. TRF1 ve TRF2 telomerik çift zincirli DNA'ya özgül bir şekilde bağlanır. TRF1 telomer uzunluğunu düzenler ve DNA replikasyonunda önemli rol oynar. TRF2 ise telomer uçlarını etkili bir şekilde koruyan T-İlme oluşu-

mundan sorumludur. TRF2 ayrıca telomer bütünlüğü, kromozom koruması ve hücre canlılığı için gereklidir. POT1 proteini, telomerik bölgede ataksi telanjektazi ve rad3 ile ilişkili (ATR) kinaz yolağı aracılı DNA hasar yanıtını inhibe eden tek zincirli DNA'ya yüksek özgüllük ve afinite ile bağlanmaktadır. RAP1, TRF2 ilişkili kromozomal bütünlüğü koruyan bir protein olarak bilinir. TIN2, TPP1-POT1 kompleksine, TRF1'e ve TRF2'ye bağlanan bir stabilize edici bir köprü proteinidir. TPP1 ise, POT1 ilişkili telomer güçlendirici ve uzunluk düzenleyici bir diğer shelterin köprü protein olarak bilinmektedir (Sethi vd., 2016; Wang vd., 2018).

Aşağıdaki başlıklarda, telomerlerin koruyucu kalkanı shelterin/telozom kompleksinin her bir alt biriminin yapısı ve işlevi ile hastalık ilişkileri hakkında ayrıntılı bilgiler verilecektir.

TERF1/TRF1

Telomerik Tekrar Bağlama Faktörü 1 (TERF1/TRF1) proteini 439 amino asit kalıntısından (Uniprot ID-P54274) oluşan shelterin kompleksinin altı proteininden birisidir (Patel vd., 2015). Bu protein telomerlerdeki TTAGGG tekrarlarının dubleks dizisine bağlanmasında rol oynar. TRF1 yaklaşık 120° bükülme açısıyla bağlanarak telomerlerdeki dubleks DNA ile homodimer oluşturmaktadır. Oluşan homodimer, iki myb-alanı ile birlikte TRF1-TRF1 homodimerik yapısının şekillenmesine yardımcı olan korunmuş alanlara sahiptir. Bu alanlar sayesinde telomer mimarisi düzenlenir. Yapılan araştırmalar, TRF1-telomerik çift sarmallı DNA bağlantısı öncesinde homodimer bir yapı oluşturduğunu gösterir. Stabilite ve telomer bağlanma afinitesi, TRF1'in nükleostemin (NS) ile etkileşiminden negatif, guanin nükleotid bağlayıcı protein benzeri-3 (GNL3L)'den ise pozitif olarak etkilenmektedir.

TRF1, TIN2 aracılığıyla TRF2 ile bağlanarak shelterin kompleksinin birleşmesinde önemli bir rol oynar. Nükleotid/protein dizilerindeki değişiklikler nedeniyle TRF1 yapısı ve dimerizasyonundaki herhangi bir bozulma, TRF1'in shelterin kompleksinin diğer proteinleri ile ilişkisini doğrudan etkiler. Dimerizasyonunun bozulmasıyla DNA bağlanması değişerek TTAGGG tekrarları korunmaz hale gelmektedir. Tüm bunlar shelterin proteinlerinin hatalı bir şekilde bir araya gelmesi ile sonuçlanabilir. Shelterin proteinleri tarafından korunmayan telomer uçları, DNA onarım mekanizmalarına ve muhtemel telomeraz etkisine açık ve savunmasız hale gelir. Bu durum, telomer yıpranması, spesifik olmayan onarımlar ve hücre yaşlanma nedeniyle çok sayıda yapısal/moleküler değişiklik ile sonuçlanır.

TRF1'in ana işlevi, telomeraz aktivitesini baskılayarak telomer uzunluğunu negatif olarak düzenlemektir. Ayrıca interfaz ve mitoz sırasında telomer

ile etkileşime girdiği bilinmektedir. TRF1'in yokluğu veya işlevsel olmayan bir mutant TRF1 varlığı, telomer uzunluğunun düzenlenmesine engel olur. TRF1 aktivitesi, DNA hasarı sırasında önemli bir yol olan ataksi-telanjektazi mutasyonlu (ATM) yolağı ile de önemli ölçüde ilişkilidir. DNA hasarı yanıtına bağlı olarak ATM'nin aktivasyonu, TRF1'in ATM tarafından fosforilasyonuna neden olur. Bu durum, TRF1'in negatif regülasyonu ile sonuçlanır. TRF1'in kaldırılması ATM-TRF1 etkileşimini bloke eder. P53 ve CHK2'nin geri çağrılmamasına yol açarak replikasyon çatalının durmasına izin vermez. DNA hasarında replikasyon çatalının durdurulamaması, kontrolsüz hücre döngüsüne ve mutasyonlara yol açar. Bunun sonucu olarak da anormal hücre bölünmesi ve genomik kararsızlık ortaya çıkmaktadır (Bianchi vd., 1997; Garton ve Laughton, 2013; Patel vd., 2015; Xin vd., 2008).

TERF2/TRF2

Telomerik Tekrar Bağlanma Faktörü 2 (TERF2/TRF2), 542 amino asit kalıntısından (Uniprot ID-Q15554) oluşan shelterin kompleksinin altı proteininden birisidir. Telomerlerdeki TTAGGG tekrarlarının dubleks diziyeye bağlanmasında rol oynar. TERF2 tarafından kodlanan TRF2, çift/tek sarmallı DNA kavşağına bağlanan bir başka telomerik DNA bağlayıcı proteindir (Patel vd., 2015).

TRF2, TRF1 ile paylaştığı SANT/Myc motifine dayanarak tanımlanmıştır. SANT/Myc alanına ek olarak, TRF1 ile merkezi bir TRF homoloji (TRFH) alanını da paylaşır. Bu alanlar, iki protein arasında yapısal olarak korunmayan esnek bir menteşe alanı ile birbirine bağlanır (Bilaud vd., 1997; Broccoli vd., 1997). TRF2, TRF1 ile mimari bir benzerlik göstermesine rağmen, N-terminal alanlarında önemli ölçüde farklılık göstermektedir. TRF1 asidik bir N-terminal alanına sahipken, TRF2 GAR alanı olarak da adlandırılan Gly/Arg bakımından zengin bazik bir N-terminal alanına sahiptir. Ayrıca, daha korunaklı olması sebebiyle TRF1'den farklılık göstermektedir (Bianchi vd., 1997; Broccoli vd., 1997; Garton ve Laughton, 2013; Patel vd., 2015; Xin vd., 2008).

TRFH alanı hem TRF1 hem de TRF2'nin dimerizasyonuna/oligomerizasyonuna aracılık etmektedir. Her iki protein de telomerik tekrarlara dimer olarak bağlanır ancak TRFH alanlarındaki farklılıklar nedeniyle birbirleriyle etkileşime giremezler. Yapılan çalışmalarda, TRF2'nin T-ilmek oluşumu gibi daha yüksek dereceli oligomerizasyona katılma eğilimi olduğu gösterilmiştir (Stansel vd., 2001). TRF2 in vitro olarak T-ilmek oluşumuna aracılık edebilmesine rağmen, in vivo olarak aynı kabiliyete sahip olup olmadığı açık değildir. Yapılan bir çalışmada, T-döngülerinin oluşumu ve sürdürülmesi

için TRF2'nin gerekliliğine dair kanıtlar gösterilmiştir (Griffith vd., 1999; Stansel vd., 2001). TRF2 ile ilgili ilk araştırmalar, öncelikle telomerlerin korunması ve DNA hasarı onarımındaki rollerine odaklanmıştır. Yakın tarihli çalışmalarda ise, TRF2'nin bazı insan hücrelerinde hücre döngüsüne bağlı bir şekilde nükleolde de lokalize olabileceğini göstermiştir (Doksani vd., 2013; Yuan vd., 2018).

POT1

Telomerlerin Korunması 1 (POT1), 634 amino asitlik dizi uzunluğundan (Uniprot ID-Q9NUX5) oluşan shelterin kompleksinin altı proteininden birisidir (Patel vd., 2015). POT1 ilk olarak *Schizosaccharomyces pombe*'de telomer ucu bağlayıcı protein α/β (TEBP α/β)'nin α alt birimine olan sekans benzerliği ile keşfedilmiştir. Kompleksteki tek sarmallı 3' G-zengin uzantısına bağlanan tek proteindir. POT1, TPP1 ile bir heterodimer oluşturarak TIN2 üzerinden TRF1 ve TRF2 ile bağlantısını sağlamaktadır. POT1 homologları bitki, *Caenorhabditis elegans*, tavuk, fare ve insan olmak üzere çok çeşitli ökaryotlarda tanımlanmıştır (Chen vd., 2017; He vd., 2009).

Tüm POT1 proteinleri, tek sarmallı telomerik DNA ile yüksek afinite ile etkileşime giren oligonükleotid/oligosakkarit bağlanma kıvrımları (OB katları) içerir. Biyokimyasal analizler, POT1'in telomerlerin terminal G uzantısına bağlanmasının telomeraz erişimini sınırlayarak in vitro telomeraz aktivitesini negatif olarak düzenlediğini ortaya koymuştur. POT1-TPP1 bağlantısı, telomeraz aktivitesini ve telomer uzamasını kolaylaştırmak için 3' uzantı üzerinde daha iç bir konuma lokalize olabilmektedir. Bu sonuçlar, POT1'in 3' uzantıya erişim noktasında telomeraz ile nasıl yarıştığına bağlı olarak telomer uzunluğunun hem negatif hem de pozitif düzenleyicisi olarak işlev görebileceğini göstermektedir. POT1 telomer homeostazının önemli bir oyuncusudur. Telomerleri, ATR'ye bağlı DNA hasarı yanıtlarını baskılayarak koruduğu bilinmektedir. Ayrıca, POT1 telomer uçlarının nükleolitik işlenmesini düzenlemektedir (Ghilain vd., 2021; He vd., 2009; Lei vd., 2005; Loayza ve De Lange, 2003).

TINF2/TIN2

TRF1-Etkileşimli Nükleer Protein 2 (TINF2/TIN2) 451 amino asitten (Uniprot ID- Q9BSI4) oluşan shelterin kompleksinin altı proteininden birisidir (Patel vd., 2015). TIN2'nin N-terminalinde bulunan 196 amino asit kalıntısı, sitoplazmada ve çekirdekte TPP1 bağlantısı kurarak mitokondriyal lokalizasyondan sorumlu protein olarak görev yapmaktadır. Telomerlere bağlanan ve onların korunmasına katkıda bulunan nükleer telozom/shelterin

kompleksinin bir bileşeni olan TIN2'nin mitokondriyal lokalizasyonu, ATP üretimini ve O₂ tüketimini azaltırken transkripsiyon faktörü HIF-1'i aktive etmek için reaktif oksijen türleri (ROT) üretimini artırır. TIN2'nin mitokondriye translokasyonu, başka bir telozom/shelterin proteini olan TPP1'in bağlanmasıyla inhibe olmaktadır. Buna göre, TIN2 proteininin mitokondriyal morfolojiyi ve işlevi düzenlediği düşünülmektedir (Patel vd., 2015; Sullivan vd., 2012).

TIN2, shelterin proteinleri arasında köprü görevi gören önemli bir bileşendir. Telomerlerde DNA ile etkileşime giren üç temel proteinin (TRF1, TRF2 ve POT1) lokalizasyonuna aracılık eder. Yapısal çalışmalar, TIN2'nin TRF1 ve TRF2 proteinlerinin TRFH alanları ve TRF2'nin 392-408 amino asit kalıntıları arasındaki kısa bağlanma motifi ile etkileşime girerek onları telomerlerde stabilize ettiğini ortaya koymuştur. TRF2 ve TIN2 (2:1) stokiometriye sahip bir kompleks oluşturmaktadır. TIN2'nin silinmesi embriyonik olarak ölümcüldür ve fare embriyo fibroblastlarında TIN2'nin koşullu nakavtı büyümenin durmasına yol açar. TIN2'nin tükenmesi, telomerlerden TRF2 kaybıyla bağlantılı bir fenotip olan orta düzeyde kromozom tipi füzyonlar ortaya çıkarır. TIN2 kaybı ayrıca TPP1/POT1 delesyonunun fenotiplerini de taklit eder. TIN2 tükenmesi, POT1 veya TPP1 eksikliği ile bağlantılı olan aşırı 3' uzantılara ve duplike kromatitlerin füzyonuna yol açar. Sonuç olarak, TIN2 delesyonu hem ataksi telenjektazi hem de Rad3 ile ilişkili ATR ve ATM kinazları içeren bir DNA hasarı tepkisi ortaya çıkarır (Kaur vd., 2021; Storchova vd., 2023).

TPP1

Tripeptidilpeptidaz 1 (TPP1), 544 amino asitten (Uniprot ID-Q96AP0) oluşan shelterin kompleksinin altı proteininden birisidir. TPP1, (PTOP, TINT1 veya PIP1) olarak da bilinmektedir. POT1-TIN2 arasında bir köprü proteini ve kromozom uçlarının düzenlenmesinde yer alan bir telozom kompleksi alt birimidir. TPP1'deki herhangi bir mutasyon, shelterin kompleksinin konik birleşimi ile sonuçlanır. Bu durum, DNA hasar yanıtının aktivasyonuna ve hücrel yaşlanmaya neden olur (O'Connor vd., 2006; Patel vd., 2015; Ye vd., 2004).

TPP1, POT1 gibi shelterin kompleksi içinde iki oligonükleotit veya oligosakkarit bağlayıcı (OB) katı içeren proteinlerden birisidir. TPP1 ve POT1 telomer uçlarını kapatma ve telomeraz alımı için, telomerik tek sarmallı DNA'ya bağlanan heterodimerler oluşturabilirler. TPP1-OB katı önemli derecede ssDNA bağlanma aktivitesi göstermese de, TPP1 ve POT1'in heterodimer oluşturması POT1'in ssDNA'ya bağlanmasını arttırmaktadır.

Özellikle, TPP1-OB katı, telomerazın aktivasyonu için kritik bir rol oynar. POT1-TPP1 etkileşiminin negatif inhibisyon, RNA interferansı veya gen hedeflemesi ile bozulması, telomer uzunluğunun düzensizliğine ve telomerlerdeki DNA hasar tepkilerine yol açabilmektedir (Wan vd., 2009).

TPP1'in ATM yolağı etkileşim halinde bulunduğu bilinmektedir. TPP1'deki herhangi bir mutasyon, P53'e bağlı büyümenin durmasına, ATM ve ATR yolakları aracılığıyla DNA hasarına yanıt verilmesine sonuç olarak, kromozomal kararsızlığa ve tümörjenez'e neden olmaktadır. TPP1'in nakavtı veya mutasyonu, TPP1-POT1 kompleksinin bozulmasına dolayısıyla homolog olmayan uç birleştirme (NHEJ) yolağının aktivasyonuna ve telomerde işlev bozukluğuna yol açmaktadır (Patel vd., 2015; Rai vd., 2010).

TERF2IP/RAP 1

Baskılayıcı Aktivatör Proteini 1 (TERF2IP/RAP1) proteini, 399 amino asit kalıntısından (Uniprot ID-Q9NYB0) oluşan shelterin kompleksinin altı proteininden birisidir. RAP1 proteini TERF2IP geni tarafından kodlanmaktadır ve üç farklı alana sahiptir. N-terminal BRCT (BRCA1 C-terminali) alanı, fosforile peptidin tanınmasından sorumludur. C-terminal TRF2 alanı, TRF2 proteini ile etkileşime giren kısmı oluşturur. Bu kısım telomer korunmasında önemli olan homolojiye yönelik onarım için heterodimer oluşumundan sorumludur. Heterodimerin yokluğu telomer kısalmasına ve kromozom uç kısımlarının füzyonuna sebep olmaktadır. Myb alanı ise protein-protein etkileşimini sağlamaktadır. Bu alan tomurcuklanan mayalarda, DNA omurgasına yakın pozitif yüklü geniş bir yüzey sergiler. Bahsedilen elektrostatik özellik, tomurcuklanan mayalara telomerik DNA bağlama aktivitesi kazandırmaktadır. Memeli RAP1 proteininin Myb alanı ise yapısal olarak tomurcuklanan mayaların Myb alanlarına benzerlik göstermesine rağmen belirgin pozitif yüzey özelliği gösteremediğinden DNA bağlama aktivitesi yoktur. RAP1 proteini kromozom uçlarının korunması için gerekli olan TRF2 proteini ile telomerik DNA'ya bağlanabilmektedir. RAP1-TRF2 heterodimerinin telomerlerden silinmesi ATM'ye bağlı DNA hasar sinyali ve NHEJ yolağı aracılı uçtan uca füzyonlara yol açmaktadır. RAP1 protein inaktivasyonu, telomer kısalmasına, hiperpigmentasyona ve DNA hasar yanıtının artmasına sebep olmaktadır. Yakın zamanda yapılan çalışmalar, RAP1 genindeki mutasyonların kronik lenfositik lösemi ve ailesel melanoma ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Amir vd., 2020; Bhari vd., 2021; Patel vd., 2015).

RAP1 proteininin, hem çekirdekte hem sitoplazmada kromozomların telomerik ve subtelomerik bölgeleri ile telomer-proksimal genlerin transkripsiy-

yonel baskılanması, gen ifadesinin düzenlenmesi gibi işlevlere sahip olduğu bilinmektedir. Tüm bunların yanı sıra, RAPI'in NF-κB sinyal yolundaki düzenleyici rolüde bulunmaktadır. Senesens hücrelerinde RAPI ekspresyonunun artması NF-κB yolunu indüklemektedir. Bu durum, telomerleri kısaltarak yaşlanmayı başlatmaktadır (Mir vd., 2020).

SHELTERİN PROTEİNLERİ VE HASTALIKLAR

Memeli kromozomları özel bir protein kompleksi olan shelterini içerirler. Bu kompleks DNA hasarına karşı telomer uçlarını korumaktadır. Son yıllarda gerek kronik gerekse kronik olmayan birçok hastalıkta telomerlerin koruyucu kalkması shelterin proteinleri üzerine çalışmalar yapılmıştır.

Kanserle ilgili bir araştırmada yüksek TRF2 seviyelerinin onkogeneze katkıda bulunduğu ifade edilmiştir. TRF2 kanser hücrelerini yok eden doğal öldürücü hücreleri (NK), hücre dışı bir yolla inhibe eder. Azalmış TRF2 seviyeleri çeşitli insan kanserlerinde gözlenir. Düşük TRF2 dozu ile tümör hücrelerinin NK hücreler tarafından ortadan kaldırılması kolaylaşır. Bu sonuçlarla tutarlı olarak insan kolon kanserinin erken safhalarında azalan NK hücre düzeyi ile artmış TRF2 seviyeleri bulunmuştur. Bu bilgiler, tümör hücrelerinde dışsal ve NK hücrelerle düzenlenen TRF2 bağımlı bir yolu ortaya koyar (Biroccio vd., 2013). Farklı bir çalışmada, ailesel gliomalarda shelterin kompleks genlerinin germline mutasyonları incelenmiştir. Gliomalar, çeşitli tipleri olan genel beyin tümörleridir. Çalışmada, 55 aileden 90 kişinin tüm ekzon dizilimi kullanılmıştır. İki ailede shelterin kompleks proteinlerinden POT1'in mutasyonu tanımlanmıştır. POT1 mutasyonundan tüm aile üyeleri etkilenmiştir. Bu bulgular, gliomanın kökenini anlamak için önemlidir. Ayrıca glioma tanı ve tedavisine yardımcı olur (Bainbridge vd., 2015). Yapılan bir diğer çalışmada, küçük hücreli olmayan akciğer kanserinde (NSCLC) TRF1'in nükleer lokalizasyon sinyallerinin analizi yapılmıştır. Çalışmada, TRF1 ekspresyon düzeylerinin NSCLC'de aşağı yönlü düzenlendiği gösterilmiştir. TRF1 lokalizasyonunun düzenlenmesi, fonksiyonu ve ekspresyonu için önemlidir. NSCLC'li 30 hasta çalışılmıştır. TRF1'in azalmış ekspresyonu NSCLC'li hastalarda nükleer lokalizasyon ve ekspresyon seviyelerinde farklılık yaratmamıştır (Jian vd., 2009). Bir diğer araştırmada, hepatoselüler karsinomada (HCC), telomer uzunluğu ve shelterin kompleks proteinleri çalışılmıştır. HCC'de stemness bağımlı belirteçlerin ekspresyonu uzun telomerler ve artan kopyalarla karakterize olduğu ifade edilmiştir. Artan TRF2, POT1, RAPI, TPP1 ve hTERT'in ekspresyonu HCC'lerde telomer uzunluğunun korunmasındaki rollerini açıklar. Uzun telomerler ve TRF2 ekspresyonu, HCC'lerde kötü prognoz ile etkilidir. Bu nedenle araş-

tırma önemli klinik çıkarımlara sahiptir (Kim vd., 2013). Literatür incelendiğinde sheltherin proteinleri ve kanser arasındaki ilişkiyi araştıran pek çok çalışma bulunmaktadır. Sheltherin proteinlerinin herhangi birinin işlevlerindeki değişiklik istenmeyen DNA hasarına ve dolayısı ile yaşlanma ve ölüme yol açabilir. Sheltherin kompleksinin koruyucu özelliği kaybolursa telomerik bölgeler DNA hasarına maruz kalır. Genom bütünlüğü tehdit edilir. Bu çalışma, sheltherin kompleksine ait proteinlerde oluşan mutasyonların nasıl bir hastalığa yol açabileceğine ışık tutabilir. Sonuçta çeşitli mutasyonlar tümörrijenez ve kanser ilerlemesinde rol oynayabilir (Patel vd., 2015).

Yapılan bir çalışmada, lökosit telomer uzunluğu (RTL) ve tip 2 diyabet (T2DM) riski araştırılmıştır. T2DM'li kişilerde RTL ölçülmüştür. Düşük RTL ile T2DM olma riski arasında bağımsız bir ilişkili bulunmuştur. Kısa telomerlerin T2DM gelişmesindeki nedensel rolü belirlenmeye çalışılmıştır (Willeit vd., 2014). Diğer bir çalışmada ise ateroskleroz ve telomer uzunluğu incelenmiştir. Lokal telomer yıpranmasının, aterosklerotik lezyonlara mekanik bir destek sağladığı teorisi ortaya konulmuştur. Bu ikili arasında zayıf bir ilişki vardır. Bu teorinin desteklenebilmesi için ek genetik ve hayvan deneylerine ihtiyaç duyulmaktadır (De Meyer vd., 2018). Şizofreni hastalarında sheltherin protein düzeyleri araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre hastalık ve sheltherin alt üniteleri arasında bir ilişki bulunmuştur. Hastalık süresi arttıkça, TRF2 seviyelerinin azaldığı tespit edilmiştir. Bu durumun beyin hücrelerinde telomer kısalmasına bağlı olarak hücre yaşlanması ve hücre ölümü gibi süreçlerin tetiklenmesi ile olabileceği ileri sürülmüştür (Erşan vd., 2020).

Sheltherin kompleksinin yaşlanma ile ilişkisi bulunmaktadır. Hücre yaşlanırken morfolojik olarak değişikliklere uğramaktadır. Ayrıca metabolik olaylarda da bozulmalar olabilmektedir. Ancak bu hücreler metabolik olarak canlıdır. Telomerler, hücresel replikasyonda anahtar rol oynarlar. Telomerlerin kısalması hücrenin replikasyon yeteneğinin kaybolmasına yol açar. Hücre bölünmesinin azalması, hücrenin yaşlanması ve ölümünü getirir (Geyikli vd., 2007). Yapılan bir çalışmada, sheltherin kompleksinin kanser ve yaşlanma ile ilişkisi incelenmiştir. TRF1'in telomer uzunluğunun negatif düzenleyicisi olduğu ve POT1'inde telomeraz aktive edici faktör olduğu ileri sürülmüştür. Yaşlanma boyunca sheltherin proteinlerinin düzenlenmesi halen tam anlaşılammıştır. Yaş ile telomer uzunluğunun kısaldığı iyi bilinmektedir. Eğer telomer bağlı sheltherin kompleks seviyesi telomer uzunluğu ile orantılı ise sheltherin seviyesinin yaşlanma boyunca azalması beklenir. Azalan sheltherin miktarları hücre siklusu inhibisyonundan sorumlu olabilir. TRF1, TRF2, TIN2 gibi sheltherin kompleks alt birimlerinin mutasyonları insan sendromlarında

erken yaşlanma vakalarıyla bağlantılı olmuştur. Bütün bu bulgulardan, telomerik diziye bağlı shelterin proteinlerinin telomer uzunluğu için önemli olduğu vurgulanmaktadır (Martínez ve Blasco, 2010). Telomer biyolojisi, biyolojik yaşlanma ve hastalık süreçlerine katılmaktadır. Progenitör hücreler ve yaşlanan hücrelerin birikmesi organ fonksiyonundaki azalmayı açıklayabilir. Yaşlanma ve kısa telomer uzunluğu kanser, diyabet, ateroskleroz ve kalp yetmezliği gibi yaşla ilişkili olan hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Telomer biyolojisi yaşla ilgili hastalıklarda, yeni terapötik ve koruyucu stratejilerin geliştirilmesine yol açmaktadır. Örneğin telomeraz veya telomer uzunluğu organ disfonksiyonunda kök hücre terapileri için hedef olabilir (Oeseburg vd., 2010). TRF1, TRF2 ve TIN2 gibi shelterin proteinlerinin ifadesinin insan kanserlerinde değişmiş olarak bulunması, bu bileşenlerin terapötik hedefler olarak kullanılma olasılığını artırmaktadır (Martínez ve Blasco, 2010). Bu nedenle telomeraz, telomer uzunluğu ve shelterin kompleks bileşenleri bazı hastalıklarda araştırılması gereken parametrelerdir. Elde edilen bulgular hastalıktan korunma, erken teşhis ve tedavi için önemli olabilir.

SONUÇ

Telomerlerin koruyucu kalkanı shelterin kompleksi proteinleri altı alt birimden oluşan işlevsel bir komplekstir. Bileşenlerin telomer uzunluğu, telomerik DNA topolojisinin kontrolü ve telomeraz enzimi üzerine etkileri bulunmaktadır. Gelişen teknoloji ile tıp alanındaki ilerlemeler bu proteinlerle ilgili çalışmalara hız kazandırmıştır. Bilindiği üzere, canlılarda telomer uzunluğu ve yaşlanma çeşitli patolojilerle değişmektedir. Shelterin kompleksinin özel yapısı nedeniyle alt birimler hücre siklusu boyunca telomer uçlarında görev yapar. Telomeraz bir veya daha çok shelterin proteini ile etkileşim gösterdiğinde, enzim kromozom uçlarında artarak kısalan telomerleri uzatır. Bu işlem yaşlanma ve bazı diğer hastalıkların önlenmesini sağlamaktadır.

Klinisyenler ve bilim insanları shelterin kompleksi ve telomer biyolojisi ile ilgili çalışmaları birlikte yürütmeleri ve bunların sayılarını artırmaları gerekmektedir. Böylelikle insan sağlığını ilgilendiren yeni buluşlara adım atılabilir. Bu multidisipliner yaklaşım, hastalıklardan korunma ve tedavinin geliştirilmesinde etkili olacaktır. Telomer biyolojisi ve insan hastalıkları arasındaki ilişki daha iyi anlaşılacaktır. Sonuç olarak hücre ölümü, yaşlanması ve kanser gibi pek çok patolojinin daha iyi aydınlatılarak, çözüme gidilebilmesine katkı için shelterin proteinleri etkilerinin daha iyi anlaşılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Amir, M., Khan, P., Queen, A., Dohare, R., Alajmi, M. F., Hussain, A., ... Hassan, M. I. 2020. "Structural features of nucleoprotein CST/shelterin complex involved in the telomere maintenance and its association with disease mutations". *Cells*, 9(2), 359.
- Bainbridge, M. N., Armstrong, G. N., Gramatges, M. M., Bertuch, A. A., Jhangiani, S. N., Doddapaneni, H., ... Liu, Y. 2015. "Germline mutations in shelterin complex genes are associated with familial glioma". *Journal of the National Cancer Institute*, 107(1), dju384.
- Bhari, V. K., Kumar, D., Kumar, S., Mishra, R. 2021. "Shelterin complex gene: prognosis and therapeutic vulnerability in cancer". *Biochemistry and biophysics reports*, 26, 100937.
- Bianchi, A., Smith, S., Chong, L., Elias, P., De Lange, T. 1997. "TRF1 is a dimer and bends telomeric DNA". *The EMBO journal*, 16(7), 1785-1794.
- Bilaud, T., Brun, C., Ancelin, K., Koering, C. E., Laroche, T., Gilson, E. 1997. "Telomeric localization of TRF2, a novel human telobox protein". *Nature genetics*, 17(2), 236-239.
- Biroccio, A., Cherfils-Vicini, J., Augereau, A., Pinte, S., Bauwens, S., Ye, J., ... Cervera, L. 2013. "TRF2 inhibits a cell-extrinsic pathway through which natural killer cells eliminate cancer cells". *Nature cell biology*, 15(7), 818-828.
- Blackburn, E. H., Epel, E. S., Lin, J. 2015. "Human telomere biology: a contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection". *Science*, 350(6265), 1193-1198.
- Broccoli, D., Smogorzewska, A., Chong, L., de Lange, T. 1997. "Human telomeres contain two distinct Myb-related proteins, TRF1 and TRF2". *Nature genetics*, 17(2), 231-235.
- Chen, C., Gu, P., Wu, J., Chen, X., Niu, S., Sun, H., ... Shi, S. 2017. "Structural insights into POT1-TPP1 interaction and POT1 C-terminal mutations in human cancer". *Nature communications*, 8(1), 14929.
- De Meyer, T., Nawrot, T., Bekaert, S., De Buyzere, M. L., Rietzschel, E. R., Andrés, V. 2018. "Telomere length as cardiovascular aging biomarker: JACC review topic of the week". *Journal of the American College of Cardiology*, 72(7), 805-813.
- Doksani, Y., Wu, J. Y., de Lange, T., Zhuang, X. 2013. "Super-resolution fluorescence imaging of telomeres reveals TRF2-dependent T-loop formation". *Cell*, 155(2), 345-356.
- Erşan, S., Kurt, A., Ömer, N., Üniversitesi, H., Fakültesi, T., Biyokimya, T., ... Karşılaştırılması, B. 2020. "Şizofreni Hastalarında Shelterin Kompleksi

- Düzeylerinin Sağlıklı Bireylerle Karşılaştırılması”. *International Journal of Academic Medicine and Pharmacy*, 2, 254-260.
- Fernandes, S. G., Dsouza, R., Pandya, G., Kirtonia, A., Tergaonkar, V., Lee, S. Y., ... Khattar, E. 2020. “Role of telomeres and telomeric proteins in human malignancies and their therapeutic potential”. *Cancers*, 12(7), 1901.
- Garton, M., Laughton, C. 2013. “A comprehensive model for the recognition of human telomeres by TRF1”. *Journal of molecular biology*, 425(16), 2910-2921.
- Geyikli, İ., Bayıl, S., Çiçek, H., Yüksek, G. Ü. S. H. M., Okulu, G. 2007. “Yaşlanma ve telomeraz”. *Türk Klin Biyok Der*, 5(3), 111-115.
- Ghilain, C., Gilson, E., Giraud-Panis, M.-J. 2021. “Multifunctionality of the telomere-capping shelterin complex explained by variations in its protein composition”. *Cells*, 10(7), 1753.
- Greider, C. W., Blackburn, E. H. 1996. “Telomeres, telomerase and cancer”. *Scientific American*, 274(2), 92-97.
- Griffith, J. D., Comeau, L., Rosenfield, S., Stansel, R. M., Bianchi, A., Moss, H., De Lange, T. 1999. “Mammalian telomeres end in a large duplex loop”. *Cell*, 97(4), 503-514.
- He, H., Wang, Y., Guo, X., Ramchandani, S., Ma, J., Shen, M.-F., ... You, M. J. 2009. “Pot1b deletion and telomerase haploinsufficiency in mice initiate an ATR-dependent DNA damage response and elicit phenotypes resembling dyskeratosis congenita”. *Molecular and cellular biology*, 29(1), 229-240.
- Jian, H., Li, S., Lu-Ming, W., Su-Jun, J. 2009. “Analysis of the nuclear localization signal of TRF1 in non-small cell lung cancer”. *Biological Research*, 42(2), 217-222.
- Kaur, P., Barnes, R., Pan, H., Detwiler, A. C., Liu, M., Mahn, C., ... Piehler, J. 2021. “TIN2 is an architectural protein that facilitates TRF2-mediated trans-and cis-interactions on telomeric DNA”. *Nucleic Acids Research*, 49(22), 13000-13018.
- Kim, H., Yoo, J. E., Cho, J. Y., Oh, B.-K., Yoon, Y.-S., Han, H.-S., ... Kim, J. W. 2013. “Telomere length, TERT and shelterin complex proteins in hepatocellular carcinomas expressing “stemness”-related markers”. *Journal of hepatology*, 59(4), 746-752.
- Lei, M., Zaugg, A. J., Podell, E. R., Cech, T. R. 2005. “Switching human telomerase on and off with hPOT1 protein in vitro”. *Journal of Biological Chemistry*, 280(21), 20449-20456.
- Loayza, D., De Lange, T. 2003. “POT1 as a terminal transducer of TRF1 telomere length control”. *Nature*, 423(6943), 1013-1018.

- Louzon, M., Coeurdassier, M., Gimbert, F., Pauget, B., de Vaufleury, A. 2019. "Telomere dynamic in humans and animals: Review and perspectives in environmental toxicology". *Environment International*, *131*, 105025.
- Martínez, P., Blasco, M. A. 2010. "Role of shelterin in cancer and aging". *Aging cell*, *9*(5), 653-666.
- Mir, S. M., Samavarchi Tehrani, S., Goodarzi, G., Jamalpoor, Z., Asadi, J., Khelghati, N., ... Maniati, M. 2020. "Shelterin complex at telomeres: implications in ageing". *Clinical interventions in aging*, 827-839.
- O'Connor, M. S., Safari, A., Xin, H., Liu, D., Songyang, Z. 2006. "A critical role for TPP1 and TIN2 interaction in high-order telomeric complex assembly". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(32), 11874-11879.
- Oeseburg, H., de Boer, R. A., van Gilst, W. H., van der Harst, P. 2010. "Telomere biology in healthy aging and disease". *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, *459*, 259-268.
- Patel, T. N. V., Vasani, R., Gupta, D., Patel, J., Trivedi, M. 2015. "Shelterin proteins and cancer". *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, *16*(8), 3085-3090.
- Rai, R., Zheng, H., He, H., Luo, Y., Multani, A., Carpenter, P. B., Chang, S. 2010. "The function of classical and alternative non-homologous end-joining pathways in the fusion of dysfunctional telomeres". *The EMBO journal*, *29*(15), 2598-2610.
- Sethi, I., Bhat, G. R., Singh, V., Kumar, R., Bhanwer, A. J. S., Bamezai, R. N. K., ... Rai, E. 2016. "Role of telomeres and associated maintenance genes in Type 2 Diabetes Mellitus: A review". *Diabetes research and clinical practice*, *122*, 92-100.
- Shay, J. W., Wright, W. E. 2019. "Telomeres and telomerase: three decades of progress". *Nature Reviews Genetics*, *20*(5), 299-309.
- Srinivas, N., Rachakonda, S., Kumar, R. 2020. "Telomeres and telomere length: a general overview". *Cancers*, *12*(3), 558.
- Stansel, R. M., De Lange, T., Griffith, J. D. 2001. "T-loop assembly in vitro involves binding of TRF2 near the 3' telomeric overhang". *The EMBO journal*, *20*(19), 5532-5540.
- Storchova, R., Palek, M., Palkova, N., Veverka, P., Brom, T., Hofr, C., Macurek, L. 2023. "Phosphorylation of TRF2 promotes its interaction with TIN2 and regulates DNA damage response at telomeres". *Nucleic Acids Research*.
- Sullivan, L. B., Santos, J. H., Chandel, N. S. 2012. "Mitochondria and telomeres: the promiscuous roles of TIN2". *Molecular cell*, *47*(6), 823-824.

- Tian, Y., Wang, S., Jiao, F., Kong, Q., Liu, C., Wu, Y. 2019. "Telomere length: a potential biomarker for the risk and prognosis of stroke". *Frontiers in neurology*, *10*, 624.
- Wan, M., Qin, J., Songyang, Z., Liu, D. 2009. "OB fold-containing protein 1 (OBFC1), a human homolog of yeast Stn1, associates with TPP1 and is implicated in telomere length regulation". *Journal of Biological Chemistry*, *284*(39), 26725-26731.
- Wang, H., Ni, J., Guo, X., Zhou, T., Ma, X., Xue, J., Wang, X. 2018. "Shelterin differentially respond to oxidative stress induced by TiO₂-NPs and regulate telomere length in human hepatocytes and hepatocarcinoma cells in vitro". *Biochemical and biophysical research communications*, *503*(2), 697-702.
- Willeit, P., Raschenberger, J., Heydon, E. E., Tsimikas, S., Haun, M., Mayr, A., ... Willeit, J. 2014. "Leucocyte telomere length and risk of type 2 diabetes mellitus: new prospective cohort study and literature-based meta-analysis". *PloS one*, *9*(11), e112483.
- Xin, H., Liu, D., Songyang, Z. 2008. "The telosome/shelterin complex and its functions". *Genome biology*, *9*(9), 1-7.
- Ye, J. Z.-S., Hockemeyer, D., Krutchinsky, A. N., Loayza, D., Hooper, S. M., Chait, B. T., de Lange, T. 2004. "POT1-interacting protein PIP1: a telomere length regulator that recruits POT1 to the TIN2/TRF1 complex". *Genes & development*, *18*(14), 1649-1654.
- Yuan, F., Xu, C., Li, G., Tong, T. 2018. "Nucleolar TRF2 attenuated nucleolus stress-induced HCC cell-cycle arrest by altering rRNA synthesis". *Cell Death & Disease*, *9*(5), 518.

