



## Telomer ve Telomeraz

Yeliz YILMAZ MİROĞLU

Emine DIRAMAN

Zafer EREN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü 55130 Kurupelit, SAMSUN

\*Sorumlu Yazar

e-posta: yelizmiroglu@gmail.com

Geliş Tarihi : 09 Mayıs 2011

Kabul Tarihi : 31 Temmuz 2011

### Özet

Telomerler, ökaryotik organizmalarda linear kromozomların uçlarında bulunur (şekil 1). Kodlanmayan özelleşmiş DNA tekrar dizilerinden oluşur. Telomerlerin varlığı ilk defa 1970'lerde Ciliat kromozomlarında fark edilmiş, bunu mayalar ve diğer organizmalar takip etmiştir. Normalde olması gereken esas telomer boyu, telomeraz enzimi ve telomere bağlı çeşitli proteinlerce düzenlenir. Telomeraz, ökaryotik kromozomların telomerlerine telomerik tekrarların eklenmesini katalizleyen ribonükleoprotein yapısında bir reverstranskriptazdır ve büyük bir enzim kompleksidir.

**Anahtar Kelimeler:** Telomer, telomeraz, kromozom, hücre döngüsü, yaşlanma

## Telomere and Telomerase

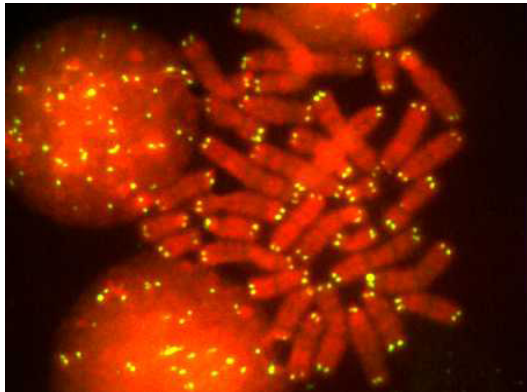
### Abstract

Telomeres are found at the ends of linear chromosomes in eukaryotes. They consist of noncoding repetitive DNA sequences that have become special. The existence of telomeres was first noticed in the chromosomes of Ciliate in the 1970s, and was followed by yeasts and other organisms. The size that the basic telomere must normally have is arranged by various proteins depending on telomere and the telomerase enzyme. Telomerase is a reverstranscriptase in the form of ribonucleoprotein, which catalyses the addition of telomeric repetitions to the telomeres of eukaryotic chromosomes, and is a huge complex of enzymes

**Key word:** Telomere, telomerase, chromosome, the cell cycle, aging

## GİRİŞ

Telomerler kodlanmayan özelleşmiş DNA tekrar dizilerinden oluşan heterokromatik bölgelerdir [1-2]. Telomerik DNA dizileri diğer DNA dizilerinden yapı ve işlev olarak farklıdır, ayrıca temel biyolojik bir işleve sahiptir [1]. Telomer yapısı incelenebilen organizmalarda, bu yapının temelde aynı olduğu fakat farklı tekrarlar içerdiği tespit edilmiştir [2]. Örneğin; omurgalılarda TTAGGG, tek hücreli, silli bir organizma olan *Tetrahymena*'da TTGGGG'dir [2]. Telomerlerin varlığı ilk defa 1970'lerde Ciliat kromozomlarında fark edilmiş, bunu mayalar ve diğer organizmalar takip etmiştir [12].



Şekil 1. Kromozomlarda telomer bölgelerinin yeri

### Telomerin Oluşumu

Belirli (sınırlı) özelliği denetleyen bakteri DNA'sı tek bir çember halinde tutulup replike edilebiliyordu. Çünkü büyüklüğü optimumdu. Fakat evrimleşmeye bağlı olarak özellik sayısı artınca, onu denetleyen DNA zincirinin boyuda arttı ve optimum büyüklüğü aştı.

Artık bu kadar uzun bir molekül bir defada sentezlenemezdi. Parçalara ayrılrsa, kromozomların uç kısımları yapışkan özellik gösterdiği için şu yada bu şekilde sonunda yine birbirine kaynaşıyordu. Ne zamanki DNA zincirinin içine TTGGGG (birçok ökaryotta) ve TTAGGG (insanda dahil bir çok memelide) bazlarından oluşmuş bir kısım girdi, o zaman bu bölgede DNA zinciri bir çeşit koparak ayrıldı ve bu baz dizilimi olan kısımlar bir çeşit yalıtılmış uç gibi davranarak birbirlerine yapışma özelliğini yitirdiler. Böylece bir zamanların iplik-halka şeklinde olan DNA zinciri çubuksu (lineer) yapılara dönüştü. Yine de çok uzun olan bu zincirler, bölünmeye hazırlanırken ve bölünme sırasında özel enzimlerle sentezlenen proteinlerin katılımı ile, makaraya sarılan bir bobin gibi kısalarak, tanıdığımız tipik kromozomları oluşturdu; aktif olan evrede (interfazda), yani vejetatif evrede ise okunabilmeleri için tüm uzunlukları boyunca çözüldüler. Her iki evrede de kromozomların ucunda yalıtımı sağlamak için, bugün telomer olarak adlandırdığımız TTAGGG baz dizilimi yer alır. Yani insanda 46 kromozom olduğuna göre ve her kromozomun her iki ucunda telomer taşıdığına göre; bir insanda toplam 92 telomer vardır [5].

### Telomerlerin Fonksiyonu

Replikasyon sırasında linear kromozomal DNA molekülünün son kısmının tamamlanmasında rol oynar. Kromozom son kısmını rekombinasyon, yıkım ve füzyon gibi anormal durumlara karşı korur. Kromozomların bütünlüğünü ve stabilitesini sağlar. Kromozomların nükleus zarına tutunarak belirli bir pozisyonu korumasını sağlar [9]. Fonksiyonel telomer yokluğunda, serbest kalan DNA ucu stabil olamaz ve DNA kırıklarının rastgele tamir edilmesi bozuk hücrel fonksiyonlar ortaya çıkarır. Kırılmış kromozomlar, nükleazlar tarafından kesilerek bu uçlar rastgele kaynaşır. Telomer konusundaki asıl soru; telomerlerin, stabiliteyi ve telomer ucunun kromozom kırığı olarak algılanmamasını nasıl sağladığıdır. Çalışmalar, bu görevlerin **Telomere Bağlanan Proteinler** tarafından sağlandığını açıklar [9].

### Telomerlerin Yapısı

Telomerler, telomer DNA'sı ve telomere bağlı proteinler olarak incelenebilir [9].

### Telomer DNA'sı

Telomer DNA'sı CA ve GT açısından zengin, basit tandem tekrarlardan oluşur. Telomerin yapısı değişik organizmalarda, temelde aynı olmakla birlikte, uzunluk ve tekrar dizilerinde farklılıklar görülür [9]. Telomerik DNA'nın bir zinciri G kümeleri içermesiyle karakterize edilir. 3' ucunda bulunur ve G-rich veya G3' overhang'ı denir [3].

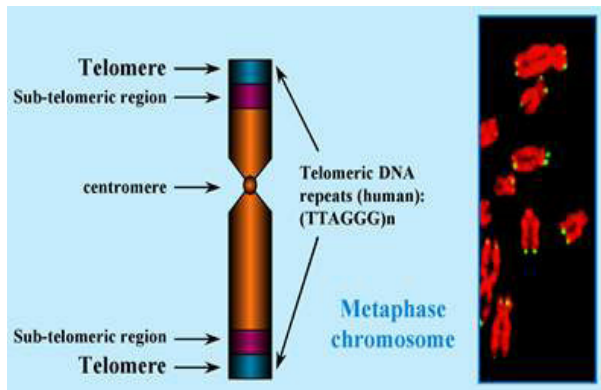
Bu bölge, subtelomerik ve telomerik bölgeler olarak ayrılır. Subtelomerik ve telomerik bölgeler tüm türlerde mevcut olup, farklı dizilerden oluşurlar ve kromozom ucunun doğal yapısını oluştururlar [16].

İnsan kromozom ucunda kromozomlara bitişik bölgede (proksimal) subtelomerik, bunu takiben de esas telomerik bölge bulunur (Şekil 2) [16]. Subtelomerik bölgenin boyu değişikdir ve DNA tekrarları heterojendir [2]. Subtelomerik bölgeyi takiben gelen esas telomer bölgesi; çift ve sonra tek dal halinde devam eder [16]. Uzunluğu ve DNA tekrarları türlere özeldir, fakat her türün DNA tekrarı homojen yapıdadır. Bütün ökaryotlarda telomer yapısı muhafaza edilir [9].

GT'ce zengin birbiri ardına gelen bu tekrar dizileri çeşitli canlılarda tespit edilmiştir

Bunlar;

<i>Tetrahymena</i> 'da	: TTGGGG
Ciliat ve <i>Oxytricha</i> 'da	: TTTTGGGG
İnsan ve farede	: TTAGGG 'dir [9].



Şekil 2. Subtelomerik ve esas telomerik bölgeler

Normalde olması gereken esas telomer boyu, telomerez enzimi ve telomere bağlı çeşitli proteinlerce düzenlenir. Fakat bu proteinlerin görev, yapı ve çeşitleri henüz kesin olarak ortaya konmamıştır [4].

### Telomere Bağlı Proteinler

Bugüne kadar incelenen organizmalarda telomer çift ve tek dalına bağlanarak görev yapan değişik proteinler tespit edilmiştir. Bu proteinlerin bir kısmı telomer tek ve çift dal ucunu sararak ve t-loop oluşumuna yardım ederek telomeri yıkılmaktan korur. Bir kısmı da telomerez enziminin telomere bağlanıp bağlanmamasını sağlayarak telomer boy uzunluğunu kontrol ederler. Bütün bu proteinlerin yapı ve görevleri temelde aynı olmakla birlikte değişik türlerde farklıdır. Bu proteinler tek ve çift dal proteinleri olarak incelenebilir [13-14].

### Tek Dal Proteinleri

G3' tek dal proteinleri ilk defa Ciliatlardan *Oxytricha* ve *Euplotes*'de keşfedilmiştir. Tek dal proteinleri canlı türüne göre değişik tip proteinlerdir [4]. Bunlardan bugüne kadar tespit edilenler,

1.  $\alpha/\beta$  Heterodimer Proteini (*Oxytricha nova*)
2. rTP = Replikasyon Telomer Proteini (*Euplotes*)
3. Cdc 13p (*S.cerevisiae*)
4. Est1p (*S.cerevisiae*)
5. Ku Heterodimer Proteini (*S.cerevisiae*)
6. hnRNPA1 (heterogeneous nükleer RiboNükleoProtein-A1) (insan)

### Çift Dal Proteinleri

Çift dal proteinleri, double strand denen telomer çift dalına bağlanırlar. Bunlar mayalarda ve insanda tespit edilmiştir. Henüz bilinmeyen başka tip proteinler de vardır [15]. Bugüne kadar tespit edilen çift dal proteinleri:

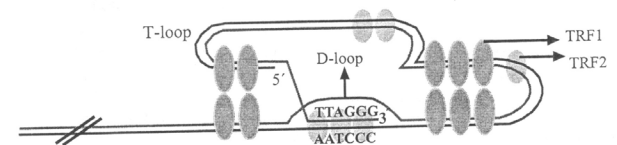
- 1-Rap1p (Represör Aktivatör Protein) (*Saccharomyces cerevisiae*)
- 2-Ku-Heterodimer Proteini (Double Strand Break Repair Proteins)(DSBs) (*S.cerevisiae*)
- 3-Taz1 proteini (*Saccharomyces pombe*)
- 4-TRF1 (Telomer Repeat Factor 1) [memelilerde(insan, fare)]
- 5-TRF2 (Telomer Repeat Factor 2) [memelilerde (insan, fare)]
- 6-Tankyraz [memelilerde (insan, fare)].

### Telomerlerde D-loop ve T-loop Yapısı

Telomerler büyük terminal loop'lar halinde sonlanır [9-11]. Nükleik asit yapıda, tek zincir halinde üç tip displant loop (bir noktadan çıkıp ilmek haline gelmiş kıvrım) bulundurulur.

Bunlar:

- DNA displants loops = D-loops
- RNA displants loops = R-loops
- Telomer loops = T-loops'lardır.



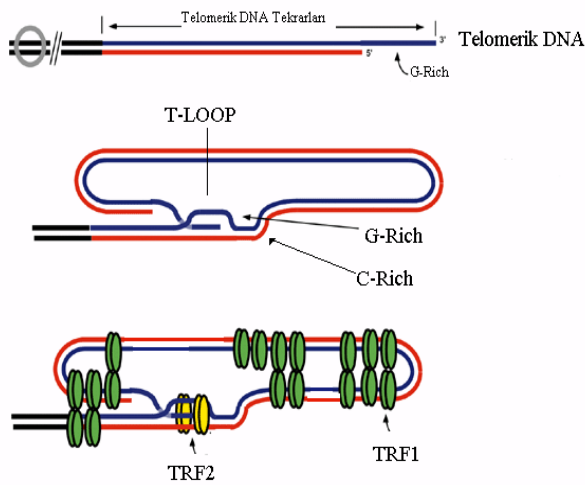
Şekil 3. T-loop ve D-loop yapısı.

Bu yeni yapılar elektron mikroskobu ile keşfedilmiştir. Griffith ve Lange elektron mikroskobuyla laboratuarda memeli telomer yapısını incelemişler. Telomerleri in vitro olarak elde edip ve TRF2 ile inkübe etmişler. Kleinschmitt yayma tekniği ile bunları elektron mikroskobunda incelediler. Bunun sonunda suni olarak elde edilen bu telomerin ucunda, tek dal olarak uzanan G3' dalının mevcudiyetine bağlı olarak, bu bölgedeki moleküllerin %42'sinin geniş loop halinde şekillendiğini görmüşler (Şekil 3). Bu serbest 3' uç kısım geriye doğru kıvrılarak DNA'nın çift dalının loop bitişme noktasında kalınlaşmıştır [4].

TRF2 proteininin, loopun kadesine bağlandığı düşünülür, G tek dalı, çift dallı DNA'yı istila eder gibidir, t-loopların şekillenmesi veya stabilizasyonunda TRF2 proteininin aracılık ettiği düşünülmektedir. İn vitro bağlanma reaksiyonlarından elde edilen sonuca göre; TRF2'nin görevini yapmaması sonucu, loplara sayısında %42'de %2-12'ye varan bir düşme görülür [4].

Fare karaciğer hücrelerinden elde edilen telomer DNA'sı da büyük oranda t-loop fraksiyonu içerir. Yalnızca bunlarda telomerik tekrarlar, loop dışı bölgelerde bulunur ve bu looplar çok geniştir, sıklıkla 10-20 kb'lık telomerik diziyi kaplar. Uzun kromozomlu hücrenin telomerleri büyük loop, kısa kromozomlu hücrelerin telomerleri küçük loop ihtiva eder [4].

O halde, loop boyunu düzenleyen mekanizmalar vardır. Elektron mikroskop deneylerinde molekülün yalnızca bir pozisyonunun, telomer olarak bulunması yanında, örnek hazırlanması esnasında karşılaşılan teknik güçlükten dolayı hücre siklusu boyunca tüm telomerlerin t-loop konformasyonunda olup olmadığı bilinmemektedir. Elektron mikroskop da DNA'nın loop halinde görünmesi, preparasyon sırasında DNA'nın kendi üzerine katlanması sonucu olabilir diye düşünülmüş. Fakat bazı araştırmalar bu ihtimalin karşısında olup bunun böyle olmadığını ispatlamışlar. Bunun için birinci olarak; elektron mikroskop preparatlarındaki rastgele katlanmış DNA'nın, t-looplardan çok daha küçük olduğu (yani t-loop daha büyük), Howard ve arkadaşları tarafından 1995'te gösterilmiştir. Bu araştırmacılar, elektron mikroskobu için yaptıkları preparasyonlarda rastgele katlanma sonucu oluşan DNA çemberlerinin ortalama büyüklüğünün 300-500 bp olduğunu tespit etmişlerdir [4].



Şekil 4. T-loop oluşumu

İkinci olarak, t-loopları göstermek için telomer DNA'sının rastgele kendi üstüne katlanma yeteneğini gösteren karışık bir deney yapılmıştır. Bu deneyde, uzun telomerli hücrelerden, uncross-linked DNA elde edilip deprotonize edilmiştir. Bu DNA, kısa telomerli hücrelerden alınan nükleus ile karıştırılmış. Bu karışım, psoralen kross-linked edildi ve sonra telomer DNA'sı izole edilmiştir. Bunun sonucunda; küçük çemberlerin, geniş çemberlerden 10 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Böylece, t-loopların preparasyon sırasındaki hatalardan kaynaklanmadığı ve gerçekten var oldukları gösterilmiştir [4].

Sonuç olarak, 100-200 bp'lık bir D-loop'ta, telomerin tek dalı D-loopa girdiği noktada, D-loopdaki DNA homoloğu ile baz eşleşmesi yapar, bu sayede t-loop oluşur. O halde t-loop oluşumu rastgele olmayıp, öncelikle D-loop bölgesi ve D-loop bölgesinde de homolog yapacağı bölge olduğu takdirde olur. Bunun için, telomer ucu çıkıntısındaki (G-dalı) TTAGGG dizisi, D-loop içinde yer alan CCCTAA dizisi ile baz eşleşmesi yapması gerekir. Bütün bunlar t-loopların spesifik bir yapı ile bir arada tutulduğunu, elektron mikroskop preparasyonlarında DNA'nın rastgele loop oluşturmadığını gösterir. Böylece oluşan t-loop, DNA'nın ucunu kırıklardan korur.

Buraya kadar yukarıda anlatılan modele göre, t-looplar telomerlerin zedelenebilir durumdaki G3' tek dalının telomer çift dal içine girip (birkaç yüz kilo bazlık bölüme) bağlanıp iplik haline geçmesiyle oluşur, bu ilmiğin oluşması sayesinde, G tek dalı ucu kırılmaktan korunur, yani bu tek dallı uç, çift dallı ilmik haline geçerek korunmuş olur (Şekil 4).

Yeni görüşlere göre, t-loop'ların keşfi sayesinde, telomerin korunmasının telomere bağlanan kuvvetli proteinler yerine, tek dallı G3' ucu çıkıntısının, çift zincirli DNA içinde muhafaza edilmesi ile sağlandığı bulunmuştur. İlginç olanı *Oxytricha*'da telomer tek dalı ucuna bağlanan proteine benzer bir protein *Xenopus*'ta da bulunmasına rağmen, diğer türlerde izole edilmemesidir. Kısa telomerleri olan *Oxytricha*'da ancak 20 baz çifti uzunluğunda olan telomer çift ipliğinin boyu (TTTTGGGG/CCCCTTTT) t-loop oluşumu için yeterli uzunlukta değildir. O nedenle *Oxytricha*'da telomer ucunu  $\alpha/\beta$  heterodimer yapıdaki proteinler korur. Uzun telomerli türlerde ise (insan, fare gibi) t-loop oluşumuna yeterli telomer çift DNA iplikliği bulunduğundan telomer ucunun korunması bu çift iplikten oluşan t-loop sayesinde olmaktadır.

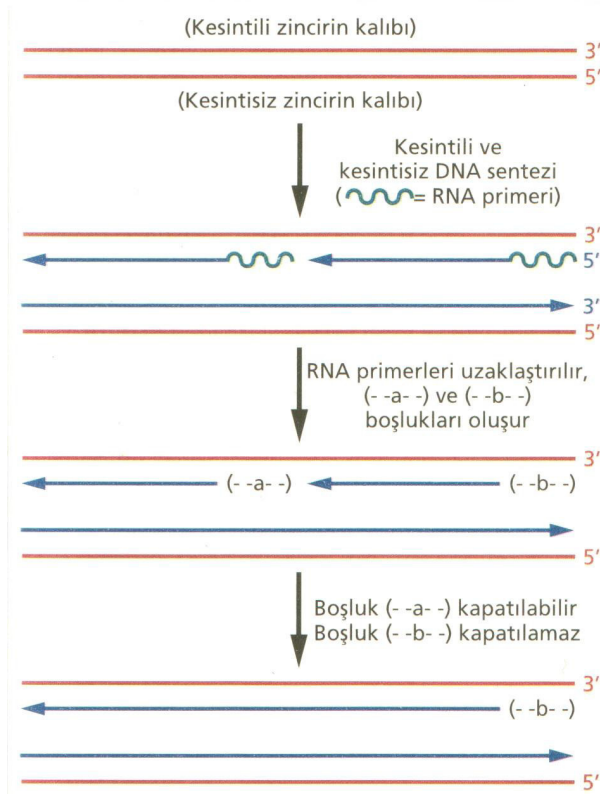
T-looplar, telomer fonksiyonları için çok temel yapılar olduklarından tüm türlerde evrimsel gelişim süreci içinde genetiksel yönden korunmuş oldukları düşünülür. Telomer uzunluğunun nasıl düzenlendiği en iyi şekilde maya t-loop'larında gösterilmiştir. Maya telomerlerindeki t-loop'ları saptamak için özel çalışmalar yapılmıştır. Mayadaki telomer uzunluğunun düzenlenişi, çok iyi bir şekilde tanımlanmıştır. Maya telomerlerinin sahip olduğu birkaç özellik sayesinde t-loop daha kolay meydana gelir. Yaklaşık 300-400 baz çiftlik tekrarlayan diziler ihtiva eden maya telomerleri, memeli telomerlerinden önemli derecede kısadır. Bununla birlikte bu uzunluk mayalarda yeterlidir, çok nadir olarak t-loop oluşturmadığı da görülmüştür.

Bu nedenle telomerlerin birinci görevi; t-loop'taki G ucunun D-loop'a bağlanmasını sağlamaktır. Böylece telomer t-loopunun, kromozomda oluşan diğer kırıklarla kaynaşması önlenir. T-looplar, aynı zamanda direkt ya da indirekt olarak kromozom telomerinin stabilliğini sağlamada yardımcı olurlar. Telomerin DNA'sında hasar olduğunda DNA hasar mekanizmaları, G3' tek dalını yıkarak kromozomların uc uca birleşmesine neden olur. Bu nedenle, bu kontrol noktası

tarafından tanınmayı bloke etmeye kromozom uçlarının stabilitesini sağlamak için yeterli olabilmektedir.

Telomerlerin ikinci önemli görevi; telomeraz enziminin telomere girişini sağlamak ve telomer tek dal uzunluğunu korumaktır. T-loopların keşfi ile telomerle uğraşan araştırmacılara çözmeleri için yeni bir soru ortaya çıkmıştır. Bu soru "telomeri uzatmak için telomeraz enziminin, kapalı olan 3' ucuna nasıl girebildiğidir?". Telomerlerin bir protein ile sıkıca bağlandığı (*Oxytricha*'da  $\alpha/\beta$  heterodimer proteini gibi) önceki modellerdeki problem, G ipliğini uzatmak için telomeraz enziminin girebilmesi ancak G3' tek dalına daha önce bağlı bulunan proteinin çıkmasıyla mümkün olduğu idi. Şimdiki yeni modelde ise telomerazın girişini sağlamak için T-loop ile baz çiftleşmesi yapmış olan D-loop bölgesinin ayrılması gerekir. Bu nedenle telomerazın girişini sağlamak için T-loop'un D-loop bölgesinden ayrılması bir helikaz tarafından yapılmaktadır. Bu olay, T-loop yapısının hareketli olup DNA sentezinden sonra düzenlenmek zorunda olduğunu göstermektedir. O halde T-loop'un özel yapısı, uzamak için uygun bir substrat olarak telomeraz tarafından kolayca tanınmayı sağlamaktadır. Yani genç hücrelerde telomer G3' tek dalı uzayacağı zaman helikaz enzimi yardımıyla T-loop çözülür ve tek dal haline geçer. G3' ucuna telomeraz enzimi yardımıyla yeni tekrarlar eklenir. Eklenme sona erince, telomeri korumak için tekrar G3' tek dal ucu ile D-loop birleşmesi meydana gelir. Böylece uzayan T-loop telomeri korur.

T-loop oluşturmak için minimal bir uzunluk gerekmektedir. Telomerler bir defa kritik bir kısalığa ulaştınca, artık uçlarını koruyamazlar. T-loop oluşumu için gerekli minimal uzunluk aynı zamanda hem çift iplikli telomer bölgeleri hem de G3' ipliğinin çıkıntı uzunluğu olduğu için türlere özeldir. Bu model, telomeraz enzimi azalan fare ve maya hücreleri



Şekil 5. Doğrusal kromozomların replikasyon sorunu

yanında, yaşlanan insan hücrelerine de bakılarak test edilebilir. Telomerler kısalırken ve fonksiyon kaybederken T-loopların oranı azalır mı?

Geçmişte T-loopların oluşumu ve regülasyonu hakkında bir çok şey öğrenilmiştir. Kırılan kromozomların sitolojik incelemelerini içeren telomer yapısı ve fonksiyonunun ilk tanımlanması 1930'ların sonunda Muller ve McClintock tarafından yapılmıştır. 1970'lerin sonlarında telomerik DNA dizisinin belirlenmesinden sonra telomer araştırmaları moleküler biyoloji sahasına kaymıştır. Geçen 20 yılda DNA'nın biyokimyasal etkileşimleri ve telomer proteinlerinin telomer uzunluğunu nasıl düzenlediği konusu ile birlikte telomer sentezi hakkında çok şey öğrenilmiştir [6-7-17].

### Doğrusal Kromozom Uçlarının Replikasyon Sorunu

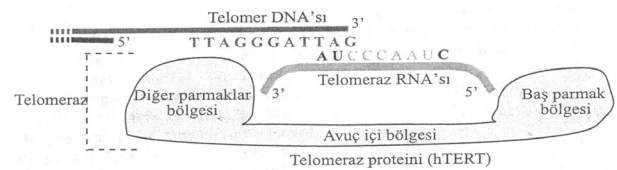
Bilindiği üzere prokaryot ve ökaryotik DNA sentezi arasında bir takım farklar vardır. Bunların bir tanesi de kromozomların yapısı ile ilgilidir. Bakteri ve fajların çoğunda bulunan kapalı halkasal kromozomların aksine ökaryotlardaki kromozomlar doğrusaldır. Replikasyon esnasında kromozomun telomerik bölgesinin bir parçası olan doğrusal kromozom uçlarında özel bir sorunla karşılaşılır. Kesintisiz zincirdeki sentez normal olarak kromozom ucuna kadar devam ederken, kesintili zincirde, RNA primeri uzaklaştırıldığında sorun ortaya çıkar. Normal olarak, kesintili sentez sırasında oluşan 3'-OH grubuna nükleotit ilavesi yapılarak yeni oluşan boşluklar doldurulmalıdır. Ancak burası kromozom ucu olduğu için, 3'-OH grubunu sağlayacak kalıp zincir yoktur.

Dolayısı ile her sentezin sonunda kromozom, teorik olarak, RNA primerinin boyu kadar kısalacaktır (Şekil 5). Bu önemli problemi çözmek için, en azından bazı hücrelerin evrim sürecinin erken döneminde moleküler bir çözüm geliştirdiklerini ve çoğu ökaryotlarında bu çözümün kullanılmakta olduğunu tahmin edebiliriz ve gerçekte durum aynen böyledir. Telomeraz olarak adlandırılan eşsiz bir enzimin bulunması, daha karmaşık yapıdaki organizmalarda bu problemi nasıl çözdüğünü anlamamızı sağlamıştır [10].

### Telomeraz

Telomeraz, ökaryotik kromozomların telomerlerine telomerik tekrarların eklenmesini katalizleyen ribonükleoprotein yapıda bir reverstranskriptazdır ve büyük bir enzim kompleksidir [1-10].

Telomer sentezindeki aktiviteyi bulan ilk kişi, özel mısır dokularında kromozom sonunun iyileştirebilme işlevini belirten Barbara McClintock'dur. Hemen hemen 40 yıl sonra Elizabeth Bluckburn ve Joe Gall *Tetrahymena thermophila*'da ilk telomer DNA'sını klonladı ve tekrarlanan zengin bir G bölgesinden, TTGGGG, oluştuğu bulunmuştur. Bluckburn laboratuvarında yeni telomer DNA'sı ekleyebilen enzimatik aktiviteyi araştırmaya başlamış ve nihayetinde 1985'de telomer terminal transferaz veya telomeraz, Greider ve Bluckburn tarafından keşfedilmiştir. Telomeraz, telomer DNA'sını sentezleyebilen



Şekil 6. Telomeraz bileşenleri



eşsiz bir enzimi temsil eder. Greider ve Bluckburn telomerazın G-rich'i uzattığını fark etmişlerdir.

Telomeraz uzama aktivitesi, ribonükleaz A ile muamele edildikten sonra Greider ve Bluckburn bir integral RNA bileşeninin telomer ilavesi için kalıp işlevi gördüğünü öne sürdüler. Bu durum *Tetrahymena* telomeraz RNA'sının bulunması ile desteklendi. İn vitro'da telomeraz ile uzama denemesi diğer ciliatlarında içeren birçok farklı organizmada, insanda, farede, mayada, kurbağada ve bitkilerde telomeraz aktivitesinin tanımlanması için temel bir taşıdır [10].

İnsanda telomeraz aktivitesine ilk kez servikal kanser hücre hattı olan HeLa'da rastlanmıştır. Bunun dışında fetal, yeni doğmuş ve yetişkin testis ve ovaryumlarında rastlanmıştır. Fakat yaşlıların spermatazo ve testislerinde bulunmamıştır. İnsanın fetal dokularında, yeni doğanların periferik kan hücrelerinde yüksek oranda telomeraz aktivitesi görülür. Yetişkinlerde, tek çekirdekli periferik kan hücrelerindeki telomeraz aktivitesi tümör hücrelerine göre, aynı zamanda yaşlı bireylerdeki de çocuklardakine göre daha düşüktür. Özellikle 19 yaşından daha yaşlı bireylerde telomeraz aktivitesi düşmektedir. Yeni doğanların lökositlerindeki telomeraz aktivitesine bağlı olarak bulunan telomerler, yetişkinlerinkine oranla daha uzundur. Telomeraz aktivitesi, birçok insan somatik dokusunda görülmez. Genellikle yüksek replikatif kapasitesi olan dokularda ve birçok insan kanser türünde görülür.

Telomerlerin korunması için telomeraz aktivitesine gereksinim vardır. Çünkü DNA polimerazlar, düz DNA uçlarını tam olarak replike edemezler. Yüksek oranda yeniden çoğalma potansiyeline sahip kendi kendini yenileyebilen bazı dokular hariç normal somatik hücrelerde telomeraz aktivitesi genellikle baskılanmıştır. Bu yüzden telomer uzunluğunun sabit kalması ile kanser hücrelerinin ilerlemesi veya büyümesinin devam etmesi için telomeraz aktivitesi çok önemlidir [18].

#### Telomeraz Bileşenleri

Telomeraz iki kısımdan oluşur (Şekil 6):

- 1- Telomeraz RNA'sı
- 2- Telomeraz proteinleri [8].

#### Telomeraz RNA'sı

Telomerazın aktivitesi, yapısında yer alan RNA alt birimine bağlıdır. Bu RNA'ya ait gen farelerde, insanlarda, *Kluyveromyces lactis*'de *Saccharomyces cerevisiae*'de ve silli

protozoaların 20'den fazla türünde klonlanmıştır. Bu RNA'ların hepsi protein kısmının avuç içi kısmında uzanan ve yaklaşık olarak 1,5 telomer tekrarına komplementer olan bir diziyi içermektedir. Bu dizi insanda 5'UAACCUAA3' şeklindedir [8].

#### Telomeraz Proteinleri

Telomeraz yapısına katılan ve bugüne kadar belirlenebilen proteinleri iki başlık altında toplayabiliriz: [8].

#### Telomeraz Revers Transkriptaz

Telomeraz enziminin protein alt birimi olan telomeraz revers transkriptaz, uzun süre yapılan araştırmalar sonucunda belirlenmiştir. Bu protein (TERT) çeşitli canlı gruplarında tüm revers transkriptaz enzimlerinde bulunan yaygın motifleri içermekle birlikte farklı canlılarda farklı isimler almaktadır. Örneğin; *Tetrahymena thermophila*'da Tt-TERT, *Oxytricha trifallax*'da Ot-TERT, *Euplotes aediculatus*'da EA-p123, *Saccharomyces cerevisiae*'de Sc-Est2p, *Homo sapiens*'de hTERT ve *Mus musculus*'da MERT adını almaktadır [8].

Telomeraz enziminin protein kısmını oluşturan TERT'in yapısı ile ilgili olarak ileri sürülen modelde; TERT, yarı açık sağ ele benzetilmektedir. Dolayısıyla protein, başparmak-avuç içi-diğer parmaklar kısımlarından oluşur (Şekil 7). Enzim kompleksinin taşıdığı RNA'nın avuç içi kısmında yer alan 1,5 telomerik tekrara tamamlayıcı olan kısmı DNA'nın G3' ucunun uzamasında görev alırken RNA'nın geri kalan kısımlarının görevi tam olarak bilinmemektedir [8].

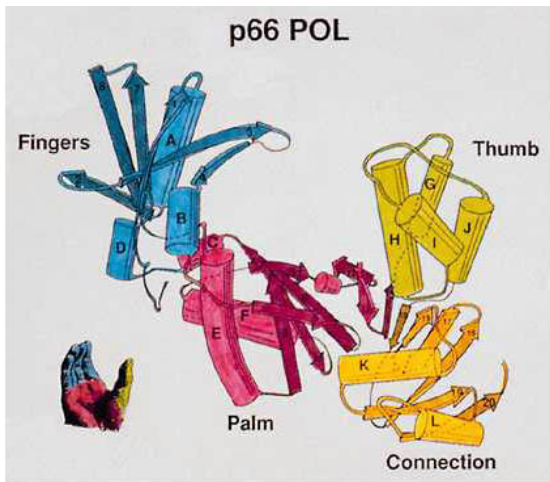
Yapılan in vitro çalışmalarda telomeraz aktivitesi bulunmayan insan hücrelerinde, hTERT proteininin sentezlenmesi, telomerazın tekrar aktif olmasını sağlamıştır [8].

#### Telomerazla İlişkili Diğer Proteinler

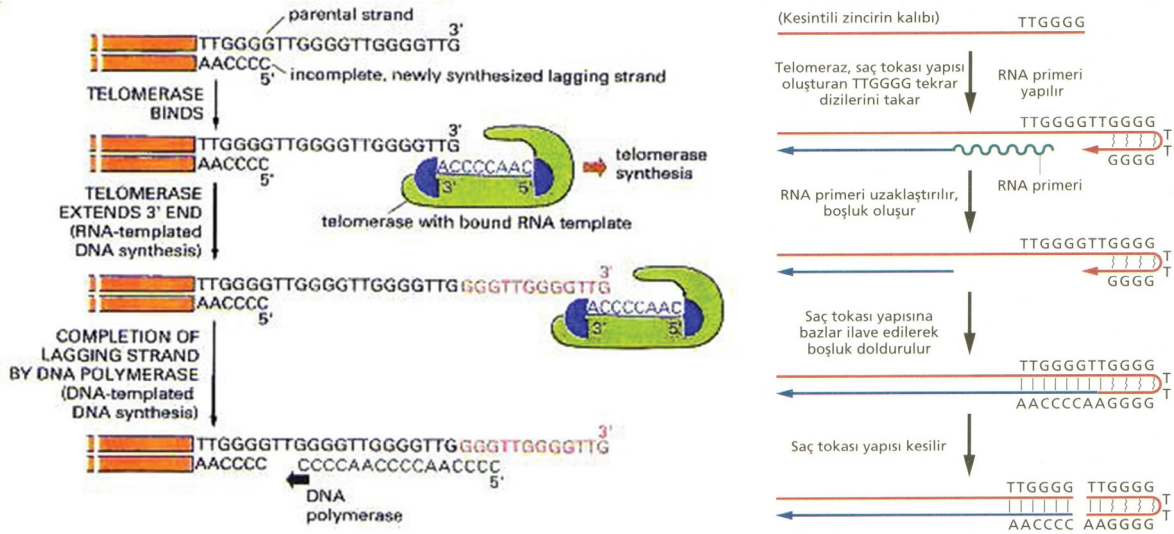
Son zamanlarda yapılan araştırmalar, in vivo koşullarda, telomeraz enziminin görevini yapabilmesi için TERT alt ünitesi ve telomeraz RNA'sından başka yardımcı proteinlerin de gerekli olduğunu göstermiştir. Kesin olmamakla birlikte bu proteinler, enzim komplekslerinin bir araya gelmesinde etkilidirler. Bazı canlılarda belirlenen bu proteinlere örnek olarak; *Euplotes aediculatus*'da p43, *Tetrahymena thermophila*'da p80 ve p95 (p80, telomeraz RNA'sına bağlanırken, p95 telomerik DNA tek dalı ile ilişki kurar), *Saccharomyces cerevisiae*'de Est1p ve Est3p proteinleri ile memelilerde (insan ve kemirgenler) bulunan TEPI ve şaperon proteinleri (p23 ve hsp 90)'ni verebiliriz. İnsanda bulunanlardan; TEPI (Telomerase associated protein1), *T. thermophila*'daki p80'e homolog olup telomeraz RNA'sına bağlandığı düşünülmektedir. P23 ve hsp90 (chaperone proteinleri), proteinlerin kompozisyonunu ve doğru olarak kıvrılmalarını sağlayan proteinlerdir. İnsanlarda bunlara ek olarak dyskerin, L22, La autoantigen, hStau, hnRNPs (heterogeneous nuclear ribonucleoproteins) de bulunur [8].

#### Telomerin Uzaması

Telomeraz enzimi bütün bu yapıları kullanarak telomerin uzamasını sağlar. Bir çeşit revers transkriptaz olan telomeraz enzimi yapısında bulunan RNA'sını kalıp olarak kullanarak telomerleri uzatır. Telomerazın bu uzatma mekanizması ilk olarak Carol Greider ve Elizabeth Bluckburn tarafından *Tetrahymena*'da araştırılmıştır. *Tetrahymena* telomerazı kendi telomerik tekrarlarının tamamlayıcısı olan ve 3' AACCCCAAC 5' şeklinde uzanan tekrarlardan oluşmuş 159 nükleotid uzunluğunda bir RNA'ya sahiptir. Telomeraz bu RNA'nın avuç içi kısmında yer alan, 1,5 telomer tekrarına (9 baz uzunlukta)



Şekil 7. Başparmak-avuç içi-diğer parmaklar yapısı

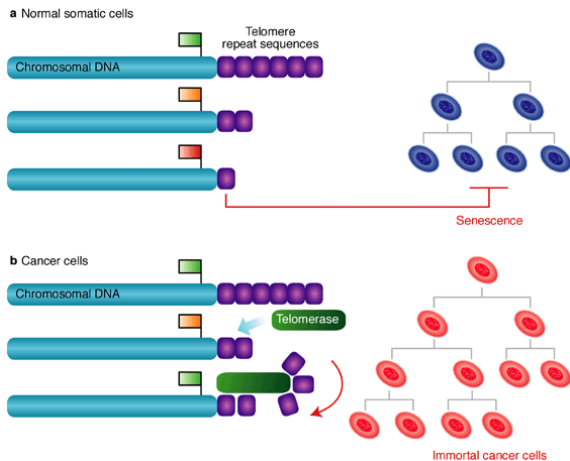


Şekil 8. *Tetrahymena*'da telomerin uzama mekanizması

karşılık gelen kısmını, kalıp olarak kullanarak DNA'nın 3' çıkıntısını uzatır. Bunun için önce, telomeraz DNA'daki 3' çıkıntıda kendisine uygun yere bağlanır, bu noktadan itibaren 3' ucu kendi RNA'sına uyumlu olarak uzatır ve oradan ayrılır. İlave edilen diziler saç tokası gibi kıvrılır ve karşı karşıya gelen guanozinler arasında alışılmadık bir şekilde hidrojen bağları kurularak yapının dayanıklılığı sağlanır. Artık burada, RNA primeri uzaklaştırıldığında, DNA polimeraz I'in boşluğu doldurması için substrat olarak iş göreceği olan serbest 3' OH ucu oluşturulmuş bulunmaktadır. Normal DNA replikasyonunda olduğu gibi önce bir primazın bu kısma bir primer eklemesi daha sonra da DNA polimerazın primer ile 5' uç arasında kalan boşluğu doldurmasıyla kapatılır. Bundan sonra saç tokası yapısı kırılır ve atılır. Son olarak 5' uçtaki primer bu kısımdan bir 5'→3' ekzonükleaz ile uzaklaştırılarak tekrar yeni bir G3' çıkıntı oluşturulur ve replikasyon döngüsü sonucu DNA kaybı engellenmiş olur (Şekil 8) [8-10].

### Telomer - Yaşlanma - Kanser İlişkisi

Replikatif yaşlanma ve bunun hücrel yaşlanma ile ilişkisini, kültüre alınmış insan fibroblastları ile çalışan Hayflick ve Moor-head tanımlamıştır. Normal memeli somatik hücreleri, in vitro koşullarda belli sayıda bölünebilir. Bu



Şekil 9. Telomerlerdeki kısalma ve hücrel yaşlanma

maksimum bölünme sayısına "Hayflick Limiti" denir (Şekil 10). Proliferasyon limiti, mitotik saat olarak da adlandırılabilir. Replikatif yaşlanma, toplam hücre bölünme sayısına bağlı iken kronolojik ya da metabolik zamana bağlı değildir.

Olovnikov, DNA replikasyonu sonucunda bütün kromozomların fiziksel olarak sonlarında bir eksilme olduğunu, belli sayıda bölünme yapabildiğini kritik bir eksilme noktasından sonra hücrenin ölümüne neden olduğunu göstermiştir (Şekil 9).

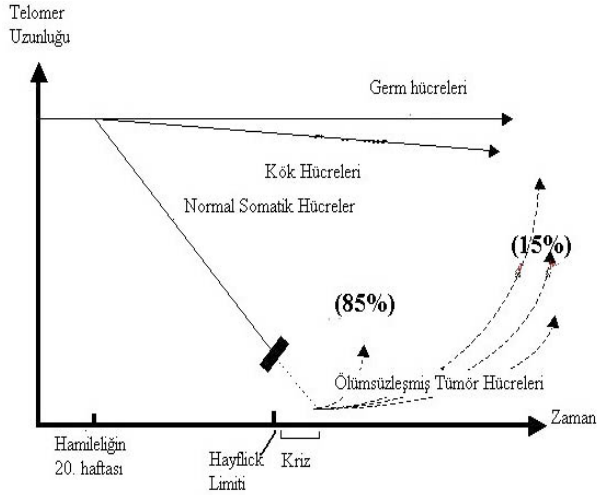
Germ-line hücrelerinde telomeraz aktivitesi sürekli olarak vardır. Bu yüzden germ-line hücreleri mutasyona uğrayabilir fakat yaşlanmazlar [2].

Genel olarak incelendiğinde insan hücrelerinde yaşlanma ve ölüm iki evrede gerçekleşir:

**M1 evresi:** Telomer tek dalının önemli miktarda kısalması sonucu ortaya çıkar. Bu kısalık kritik bir noktaya ulaşıncaya hücre bölünmesi durur ve yaşlanma başlar. Bu noktadaki telomer boyu korunabilirse hücre yaşlı olarak hayatını sürdürür. Cyclin Dependent Kinase (CDK) oluşumu engellenir ve hücrenin G<sub>0</sub> ya da G<sub>1</sub>'den S fazına geçişi durdurulur. Böylece hücre bölünemez ve yaşlanır.

Yaşlanma programını uyarıcı etmenler vardır. Telomer kısalması, yaşlanma programı için en iyi tanımlanmış fizyolojik uyarıcıdır. Bu olayın yaşlanma açısından merkezi rolü tanımlanmıştır. Değişmiş DNA metabolizması, erken yaşlanma gibi birçok hastalığı belirler. Bu hastalıklar tarafından etkilenen enzimler, DNA metabolizmasının ya da tamirin çeşitli aşamalarında işe karışır. Bu hastalıklar gelecekte erken yaşlanmayı beraberinde getirir. Aktive edilmiş onkogenlerin ekspresyonu da yaşlanmayı başlatır. Yaşlanma, bir tür tümör baskılayıcı sistem olarak çalışır. Ataxia telangiectasia, Werner sendromu, Hutchinson-Gilford progeria, Down sendromu ve Nijmegen-breakage sendromu DNA'nın değişmiş metabolizması ile meydana gelen hastalıklardır. DNA hasarlarının, yaşlanmanın moleküler mekanizmasını nasıl uyardığı tam olarak bilinmemekle birlikte bu hastalıkların telomer uzunluğunu ve fonksiyonunu etkilediği söylenebilir [1].

**M2 evresi:** Bu evre, M1 evresini aşan hücrelere aittir. Bir hücrenin M1 evresini aşarak M2 evresine geçebilmesi için, M1 evresinde bekleyen hücrenin p53 ve Rb benzeri proteinleri



Şekil 10. Çeşitli hücrelerdeki telomer uzunluğunun zamana bağlı grafiği

viral onkoproteinlerce (viral onkogenler kullanılarak) bozular. Böylece bu proteinler,  $G_1$  evresinde görev yapamayacağından hücre döngüsü,  $G_2$ 'den S fazına atlar ve hücre bölünmesi devam eder. Fakat böyle bir durumdaki soma hücrelerinde, telomeraz enzim aktivitesi yok denecek kadar azaldığından, telomer boyu giderek kısalır. Telomer boyu aşırı kısalan hücreler M2 noktasında ölür. Eğer M2 noktasında hücrenin telomer boyu stabil bir halde kalırsa, hücre M2 noktasını aşarak ölümsüzleşir ve bölünmeye devam eder (Şekil 10). Bu olay, telomeraz enziminin regülasyonu yada yeniden aktifleşmesi sonucu ortaya çıkar. Kanser hücreleri, M2 evresini aşabilen bu tip hücrelerdir.

Telomer kısalması primer insan hücrelerinde replikatif yaşlanmaya öncülük eder. Kontrol noktalarında p53 ve Rb proteinlerine bağlıdır. p53/Rb inhibisyonu, hücreye bölünmesi için izin verir fakat daha sonra hücre "telomer krizine" girer. Bu peryotta kromozomların yapısı bozular ve hücre ölüme gerçekleşir. p53 kaybı nedeni ile hücre büyüklüğü kontrol edilemez. Telomer fonksiyonu aksar ve hücre mikro düzeyde bir kaosa sürüklenir. Bu aşamada hücrede meydana gelebilecek ikinci bir genetik değişiklik, hücreyi ya ölüme götürür yada hücrenel bir değişime yol açar. Genetik kaos, insanda bir çok kanser çeşidinin gelişimindeki en önemli adımdır. Telomer krizi, replikatif yaşlanmayı başlatır. Telomeraz ekspresyonu ile replikatif yaşlanma yada telomer krizi atlatılır ve ölümsüzlük gerçekleşir [2].

Özet olarak;

- Telomeraz, gametogenezde bazı aşamalarda aktiftir ve telomer uzunluğu, kök hücrelerinde kuşaktan kuşağa aktarılır.
- Farklılaşmanın devam ettiği kuşaklar boyunca –bütün somatik dokularda değil- telomeraz baskılanır. Özellikle kültürü yapılmış insan fibroblastlarında bu gösterilmiştir.
- Somatik hücrenin bölünmesi sürdükçe telomerik DNA ucunda kayıplar meydana gelir.
- Hücre siklusundaki "checkpoint" denen kontrol noktası, hücre döngüsünü yönetir. Telomer uzunluğundaki azalma kritik noktaya geldiğinde, hücre döngüsü "Hayflick Limitini" başlatır ve hücre bölünmesi durur.
- Hayflick Limiti, mutasyonlarla ya da viral onkogenlerin ekspresyonu ile atlatılabilir.
- Bir hücre ilk andan itibaren ölümsüz olabilir, birkaç bölünme sonra, kriz sırasında ya da krizin başlamasına yakın bir aşamada telomerazın aktizasyonu ile ölümsüzlüğe ulaşır [2].

### Telomer Artışı Yapay Olarak Sağlanırsa Ne Olur?

Araştırmacılar, kültürdeki normal insan hücrelerine klonlanmış telomeraz genini soktuklarında telomer boyları binlerce baz çifti kadar uzamış ve hücreler yaşlılık noktasını aşır çoğalmaya devam etmiştir. Bu gözlemler, telomer boyunun hücrenel saat olarak davrandığını doğrulamıştır. Ayrıca yaşlanmayla oluşan bazı doku bozukluklarının telomeraz genlerinin aktivasyonu ile geri döndürülebileceği ileri sürülmüştür.

İnsan primer hücrelerinin kullanıldığı deneylerde, belli sayıdaki hücre bölünmesinden sonra yaşlanmanın görüldüğu fakat telomeraz pozitif olan hücrelerde, yaşlanma özelliğinin ortadan kalktığı ve bölünmeye devam ettiği görülmüştür. Bazı hücre hatları, normal yaşlanma noktalarından sonra 20 populasyon boyunca incelenmiş ve sadece büyümlerine devam etmekle kalmadıkları aynı zamanda normal bir karyotip ve genç bir morfolojide gösterdikleri görülmüştür. Retinal epitelial hücreler gibi üç farklı hücre tipinde yapılan denemeler de benzer sonuçlar vermiş ve telomer kısalmasının insan hücrelerinin ömür uzunluğunun kısalmasında üniversal bir rol oynadığını doğrulamıştır.

Ancak bunlar her ne kadar olumlu sonuçlar olarak görülsede hücrenel ölümsüzlüğün –kanserin- olası sonuçlarını gözden geçirmemiz gerekir.

Normal hücreler, özgül sayıdaki hücre bölünmesinden sonra yaşlanırken, kanser hücrelerinde durum böyle değildir. Kanser hücrede birkaç genetik mutasyonun birikimi sonucu ortaya çıktığı düşünölmektedir. Bu mutasyonlar normal hücre büyümesini ve bölünmesini kontrol eden ve dengeleyen işlemleri bozar. Ayrıca kanser hücrelerinin normal yaşlanma saatinin durdurulacağını düşünmekte mantıksız olmaz. Her hücre bölünmesinin ardından kanser hücrelerinde telomerler kısalırsa, tümör hücreleri yaşlılığa yenik düşecek ve bölünmeleri duracaktır. Ancak, bu hücreler telomeraz enzimini sentezlerse, yaşlanma saatinin çalışması duracak ve ölümsüzlük kazanacaklardır. Bu düşünceye uygun biçimde, tümör hücrelerinin %90'ında telomeraz aktivitesi vardır ve telomerleri dayanıklıdır.

Tümör hücrelerinin kontrolsüz üremesi ile telomeraz aktivitesi arasında oldukça doğrusal, iyi bir orantı vardır ve bu nedenle, kanserin tanı belirleyicisi olarak telomeraz aktivitesi ile ilgili yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır. Ancak, telomeraz aktivitesindeki artışın hücre transformasyonunun (kansereleşmenin) öncüsü mü yoksa sonucu mu olduğu tartışmalıdır. Yine de, kanser hücrelerinin gelişimi için telomeraz aktivitesinin kazanılması önemli bir basamak olabilir. Bu hipotezi destekleyen son araştırmalara göre; telomeraz aktivitesinin uyarılması, tümör-baskılayıcı genin (p16<sup>INK4a</sup>) etkisiz hale getirilmesi ile birleşince, hücre ölümsüzlük kazanmaktadır-bu durum tümör gelişiminde gerekli bir basamaktır. Dolayısıyla normal hücrelerde telomeraz aktivitesini yükseltmek için yapılan her girişim, tümör gelişimi riskini artırır.

Telomerazın, kansere karşı kullanılan ilaçlar için ideal bir hedef olabilmesi cazip görölmektedir. Telomeraz aktivitesini engelleyen ilaçlar, telomer boylarını kısaltarak, kanser hücrelerini yaşlandırarak öldürebilir. İnsan normal vücut hücrelerinin çoğunda telomeraz aktivitesi bulunmadığı için, böyle bir tedavi kanser hücrelerine özgü olacaktır ve şu anda kullanılan kanser ilaçlarına göre daha az toksiktir. Bu yöntem, kültürdeki tümör hücrelerinde çalışıyor görönmektedir ancak, hayvan deneylerindeki geçerliliğini henüz bilmemekteyiz. Antitelomeraz ajanlarla muamele edilen tümör hücreleri, telomerik dizileri kaybeder ve yaklaşık 25 hücre bölünmesinin ardından ölür [10].



Telomer - kanser ve telomer - yaşlanma ilişkisinin tam olarak açıklığa kavuşabilmesi için çok sayıda yeni araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Hatırı sayılır bir ilerlemeye karşın, alınacak yol epeyce uzundur. Herşeye rağmen elimizde yanıtlanması gereken iki büyük soru bulunmaktadır: i) Transplantasyon yapılmış dokularda, telomerazın dışardan ekspresyonu ile yaşlanmayı önleyebilir miyiz? ve ii) Telomeraz ekspresyonu, transplantasyon yapılmış dokularda hassas onkogenik değişikliklerin oluşma olasılığını artırabilir mi? Şu ana kadar bilinen bulgulara dayanarak telomer kısalması, mitotik saat olarak normal somatik hücrelerin replikatif öyküsünü anlatabilecek durumdadır. Hücrel yaşlanma sırasına kromozomal anormalliklerin oluşmasına ve hücrelerin transformasyonuna katkıda bulunduğu için telomer kaybı adeta bir genetik saatli bombaya da benzetilebilir. Hücrel kaos bu kayıplardan sonra ortaya çıkacaktır.

## SONUÇ

Elizabeth Blackburn ve Jack Szostak, kromozomları yıkımdan koruyan telomerlerde, benzeri olmayan DNA dizisini keşfettiler. Carol Greider ve Elizabeth Blackburn, telomer DNA'sını meydana getiren telomeraz enzimini belirledi. Bu keşifler kromozom uçlarının telomerlerle nasıl korunduğunu ve telomerazlarla nasıl yapıldıklarını açıkladı. Amerikalı bu üç bilim adamı işbirliğinin verimli sonuçlarını alarak "Kromozomların Telomerler ve Telomeraz Enzimi İle Nasıl Korundukları" konulu çalışmalarıyla 2009 yılı fizyoloji/tıp alanında Nobel ödülüne layık görüldüler. Buluşları hücre biyolojisinin anlaşılmasına, kanser ve diğer hastalıkların gelişimine ve tedavilerin planlanmasına ışık tutacak çok büyük öneme sahiptir.

## KAYNAKLAR

- [1] Achi, M.V., Ravindranath, N. and Dym, M., 2000. Telomere length in male germ cells is inversely correlated with telomerase activity, Department of Cell Biology, Georgetown University Medical Center, Washington, Distinct of Colombia, Biol. Reprod., 63:591-598.
- [2] Atlı, K., Bozcuk, N., 2002. Telomer ve Hücrel Yaşlanma, Turkish Journal of Geriatrics ,Geriatrici, 5 (3): 111-114.
- [3] Blackburn, E.H., 1992. Telomerases, Annual Review Biochem., 61: 113-129.
- [4] Bryan, T.M., Cech, T.R., 1999. Telomerase and Maintenance of Chromosome Ends, Current Opinion in Genetics & Development, 11: 318-324.
- [5] Colgin, L.M., Reddel, R.R., 1999. Telomere Maintenance Mechanisms and Cellular Immortalization, Current Opinion in Genetics & Development, 9: 97-103.
- [6] Demirsoy, A., 1998. Yaşlanmanın ve Ölümün Evrimsel Öyküsü, Turkish Journal of Geriatrics, Geriatrici, 1 (1): 1-12.
- [7] Greider, C.W., 1999. Telomeres Do D-Loop-T-Loop, Cell, 97: 419-422.
- [8] Griffith, D.J., Corneau, L., Rosenfield, S., Stansel, R.M., Bianchi, A., Mossus, H., De Lange, T., 1999. Mammalian Telomeres an in A Large Duplex Loop, Cell, 97:503-514.
- [9] Güneş, H.V., 2003. Moleküler Hücre Biyolojisi, Osmangazi Üni. Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı ESKİŞEHİR 1. Baskı, 75-82.

- [10] Hastie, N.D., Allshire, R.C., 1989. Human Telomeres: Fusion and Interstitial Sites, TIG, 5(10):326-330.
- [11] Holt, S.E., Wright, W.E. Shay, J.W., 1997. Multiple Pathways for the Regulation of Telomerase Activity, European Journal of Cancer, 33(5): 761-766.
- [12] Shay, J.W., Werbin, H., Wright, W.E., 1996. Telomeres and telomerase in human leukemias, Leukemia, 10 (8): 1255-61.
- [13] Klup, W.S., Cummings, M.R., 2002. Genetik Kavramlar ,6. Baskı, Çeviri Editörü Prof Dr. Cihan Öner, 337-341.
- [14] Kyo, S., Kanaya, T., Ishikawa, H., Uneo, H., Inoue, M., 1996. Telomerase Activity in Pynecological Tumors, Clin. Cancer Res. ; Vol: 12, 2023-2028.
- [15] Lewis, R., 1998. Human Genetics 3. Baskı, Sayfa 295.
- [16] Linger, J., Cech, T.R., 1998. Telomerase and Chromosome End Maintenance, Current Opinion in Genetics & Development, 8: 226-232.
- [17] Makarov, V.L., Hirose, Y., Langmore, J. P., 1997. Long G Tail at Both Ends of human Chromosomes Suggest a C Strand Degradation Mechanism for Telomere Shortening, Cell, 88: 657-666.
- [18] Prescott, J.C., Blackburn, E.H., 1999. Telomerase: Dr. Jekyll or Mr. Hyde, Current Opinion in Genetics & Development, 9: 373-388.
- [19] Price, M.C., Cech, T.R., 1989. Properties of the Telomeric DNA-Binding Protein from *Oxytricha nova* , Biochemistry, 28: 769-774.
- [20] Price, M.C., 1999. Telomeres and Telomerase Broad Effects on Cell Growth, Current Opinion in Genetics & Development, 9: 218-224.
- [21] Pryde, E.F., Gorhan, H.C., Louis, E.J., 1997. Chromosome Ends: All the Same Under Their Caps, Current Opinion in Genetics & Development, 7: 822-828.
- [22] Smith, S., De Lange, T., 1997. TRF1, A Mammalian Telomeric Protein, TIG, Vol.13, No.1, 21-26.
- [23] Özdemir, F., Aydın, F., Ovalı, E., Uçar, F., 1999. Telomeraz ve Kanser, Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi, 9(4): 242-248.
- [24] Wellinger, R.J., Ethier, K., Labrecque, P., Zakian, V. A., 1996. Evidence for a New Step in Telomere Maintenance, Cell, 85: 423-433.
- [25] Wu, A., Ichihashi, M., Ueda, M., 1999. Correlation of the Expression of Human Telomerase Subunits with Telomerase Activity in Normal Skin and Skin Tumors, CANCER, 86(10): 2038-2044.

## Web Kaynakları

- [http://www.beatson.gla.ac.uk/images/wnk\\_f1.jpg](http://www.beatson.gla.ac.uk/images/wnk_f1.jpg)  
[http://cyberdocuments.rero.ch/theses/unil/2002/Guilleret\\_I/these\\_body.html](http://cyberdocuments.rero.ch/theses/unil/2002/Guilleret_I/these_body.html)  
<http://chemcases.com/cisplat/images/20fig1.gif>  
<http://www-ermm.cbcu.cam.ac.uk/fig001nkg.gif>  
<http://homepage2.nifty.com/kanetin/images/chromosomes/telomere.jpg>  
[http://spice.chem.emory.edu/students/kathy\\_burgoine/t-loop.gif](http://spice.chem.emory.edu/students/kathy_burgoine/t-loop.gif)  
[http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/Biology\\_pages/T/Telomeres.html](http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/Biology_pages/T/Telomeres.html)