

端粒延长替代机制与DNA修复途径

张永进 李海丽 李翠 邵驰浩 罗瑛*

(昆明理工大学医学院, 衰老与肿瘤分子遗传学实验室, 昆明 650500)

摘要 端粒长度和结构的稳定与肿瘤及衰老的发生密切相关, 端粒维持机制(telomere maintenance mechanism, TMM)的激活对稳定基因组和建立细胞永生性至关重要。85%~90%的肿瘤细胞是通过激活端粒酶来维持端粒长度的, 10%~15%的肿瘤细胞在端粒酶失活或不足的情况下, 利用同源重组或其他多种机制维持端粒长度, 这些端粒维持机制统称为端粒延长替代机制(alternative lengthening of telomere, ALT)。ALT端粒DNA通过染色体外游离的端粒重复DNA来合成。这提示, 在ALT端粒维持时进行的DNA修复机制可能有利于阐明衰老与肿瘤之间的辩证关系。该文从ALT端粒DNA维持的角度, 阐述和总结了ALT肿瘤中几种DNA修复途径及ALT活性相关蛋白如何维持端粒长度和功能的完整性。

关键词 端粒延长替代机制; 端粒; DNA修复; 同源重组

Alternative Lengthening of Telomere and DNA Repair

Zhang Yongjin, Li Haili, Li Cui, Shao Chihao, Luo Ying*

(Lab of Molecular Genetics of Aging and Tumor, Faculty of Medicine,
Kunming University of Science and Technology, Kunming 650224, China)

Abstract The maintenance of telomere length and structure is highly related to the progress of senescence and tumorigenesis. Activation of a telomere maintenance mechanism (TMM) is of crucial importance for genome stability and the establishment of cellular immortality. 85%-90% of the tumor cells reactivate telomerase to maintain telomere length, while 10%-15% of the tumor cells utilize homologous recombination or other mechanisms to maintain telomere length in the case of telomerase deficiency. These mechanisms are referred to as alternative lengthening of telomere (ALT). ALT telomere DNA is synthesized by extrachromosomal free telomeric repeat DNA. Which implicated that DNA repair pathways engaged in ALT telomere maintenance might facilitate the understanding of the crosstalk between senescence and tumorigenesis. From the perspective of ALT telomere DNA, we discuss how DNA repair pathways converge in ALT mechanism and the proteins involved in maintaining the length and functional integrity of telomere in ALT cancers.

Keywords alternative lengthening of telomere; telomere; DNA repair; homologous recombination

端粒是存在于真核细胞染色体末端与蛋白形成DNA-蛋白复合物, 其作用是保持染色体的完整性和调控细胞分裂周期, 端粒功能的缺失会影响细胞或生物体生命进程^[1]。正常人类端粒由5'-TTA GGG-3'

重复序列组成, 位于SS(a single-stranded)末端募集鸟嘌呤的帽子结构, 长度为3~12 Kb不等。端粒可自行循环形成二级结构, 这种循环称为t循环^[2]。细胞每分裂一次, 端粒就缩短一点, 端粒的长度能反映细胞

收稿日期: 2018-02-04 接收日期: 2018-05-11

昆明理工大学分析测试基金(批准号: 2017M20162136009)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0871-3801956, E-mail: luoyingabc@yahoo.com

Received: February 4, 2018 Accepted: May 11, 2018

This work was supported by the Research Center for Analysis and Measurement Kunming University of Science and Technology (Grant No.2017M20162136009)

*Corresponding author. Tel: +86-871-3801956, E-mail: luoyingabc@yahoo.com

网络出版时间: 2018-07-16 10:59:09 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180716.1059.004.html>

复制史及复制潜能。端粒在细胞复制过程中能防止遗传信息的丢失和染色体融合。通常, 正常细胞在端粒酶的作用下促使端粒延伸进而维持细胞进程的稳定性。端粒酶是一种包含反转录酶及相关RNA模板的复合体, 这种复合体可逆转录合成并延伸DNA, 其作用是防止线性染色体末端被识别为DNA双链断裂(DNA double-strand breaks, DSBs), DSBs的发生最终会致使细胞走向衰老或凋亡^[3]。

维持端粒正常长度对细胞行使正常功能至关重要。85%~90%的肿瘤细胞是利用端粒酶调控机制而获得永生能力, 10%~15%的肿瘤细胞是通过ALT来维持。在ALT端粒上, ALT介导的染色体外端粒DNA游离分子侵入到染色体上能诱导DSBs的发生^[4], 在端粒酶阳性细胞和ALT(alternative lengthening of telomere)中, 端粒结合因子TRF1(telomeric repeat binding factor 1)以FokI核酸酶催化结构域为靶点, 可扩增数百个碱基到染色质端粒末端蛋白复合体上致使DSBs的发生, H4K20me2(histone H4 dimethylated at Lys20)的顺式乙酰化作用可调节BRCA1(breast cancer 1)和53BP1 DSB染色质的相对表达量进而指导DNA修复^[5]。这说明, ALT的发生与端粒功能异常及DNA修复机制密切相关。随着最近几年的研究进展, ALT活性的DSBs及DNA修复产生的一些分子机制逐渐被揭示。理解ALT肿瘤形成机制和ALT与DSB修复之间的关系, 可能对ALT型肿瘤治疗提供一定思路。

1 ALT肿瘤起源

在端粒酶失活或不足的情况下, 存在着一种或多种维持端粒长度的机制, 统称为ALT^[6]。1993年有研究者首次报道, 端粒酶阴性的酵母细胞可以依靠同源重组机制相关的基因存活下来。随着研究的深入, 发现在某些人体原发肿瘤细胞和永生细胞系细胞中缺少端粒酶活性^[7]。细胞在缺少端粒酶的情况下同样能够维持端粒的长度, 也就是说细胞内至少存在一种或多种端粒替代延长机制。通过ALT机制解决了端粒缩短问题的细胞具有很多不同寻常的特点, 比如端粒长短高度不一、细胞内含有大量染色体外端粒DNA片段等。

ALT途径的TMM(telomere maintenance mechanism)经常在间叶或神经上皮肿瘤中被激活^[3]。据报道, 来源于骨骼的ALT活性所占比例约为62%,

来源于软组织的ALT活性所占比例约为32%, 来源于神经内分泌系统的ALT活性所占比例约为40%, 来源于周围神经系统的ALT活性所占比例约为23%, 来源于中心神经系统的ALT活性所占比例约为15%。大约30%的胶质母细胞瘤是利用ALT来维持端粒长度^[8]。骨肉瘤细胞(osteosarcoma)、未分化多形肉瘤细胞(undifferentiated pleomorphic sarcoma)、平滑肌肉瘤细胞(leiomyosarcoma)、2、3级星形胶质瘤细胞(astrocytic tumors grades 2 and 3)以及胰腺神经内分泌瘤细胞(pancreatic neuroendocrine tumor)等大多数起源于间叶组织的肉瘤细胞都能够检测到ALT活性^[7]。ALT肿瘤在正常小鼠体细胞组织中也有发生^[9], 因此, 可以看出ALT活性来源广泛, 各表征与端粒之间存在着复杂的联系。

2 端粒完整性与DNA损伤应激反应之间的关系

端粒功能缺失会导致染色体首尾相连并融合, 造成DNA损伤信号增强, 致使细胞周期阻滞及凋亡^[10]。端粒是由6种蛋白亚基与DNA形成的复合体, 包括TRF1、TRF2、POT1(protection of telomeres 1)、TIN2(TRF1-interacting nuclear protein 2)、TPP1(tripeptidyl peptidase 1)和RAP1(repressor activator protein 1)^[11]。TRF1和TRF2捆绑在DS(double stranded)端粒DNA上, POT1与SS(single-stranded)端粒DNA捆绑在一起, 其他蛋白通过与TRF1和TRF2相互作用最终与端粒结合于一体。TRF2不仅对染色体末端有保护作用, 还防止NHEJ(nonhomologous end joining)以及通过形成T环(T-loop)和抑制ATM DSBs下游信号通路的激活来保护DNA损伤信号通路^[12,12]。也有研究报道, 端粒帽子结构的3'端通过TPP1/POT1抑制ATR DNA损伤信号被激活^[13]。因此, 正常的端粒长度和必需的端粒蛋白复合体对维持端粒正常功能至关重要, 二者缺一就可能会诱发DDR(DNA damage response)的发生。这也提示, 端粒和细胞DDR调控的异常与人类衰老和癌症有着密切联系。

有研究发现, BRCA1和BRCA2对维持端粒完整性都起着重要作用。在BRCA1缺失的小鼠体内, PML(promyelocytic leukemia)小体参与DNA损伤应激反应的发生, 同时检测小鼠细胞中ALT的PML小体, 发现PML小体表达发生上调^[14]。BRCA1是通过

非同源性末端融合和同源染色体重组参与DNA损伤修复。*BRCA1*的缺失可能导致端粒融合增加和端粒缩短。人类细胞*BRCA1*的突变会导致端粒重组率增高,在*BRCA1*缺失的小鼠细胞中,ALT活性也是增加的^[10]。以上结果说明,*BRCA1*的缺失可促进端粒融合及加速端粒缩短^[15]。也有研究表明,ALT细胞会出现染色体畸变和结构重排等现象^[16],且这些现象都可能会诱发DNA损伤应激反应的发生,ALT端粒DNA损伤水平的升高,主要来源于复制叉停滞或自发的端粒DNA损伤^[4]。

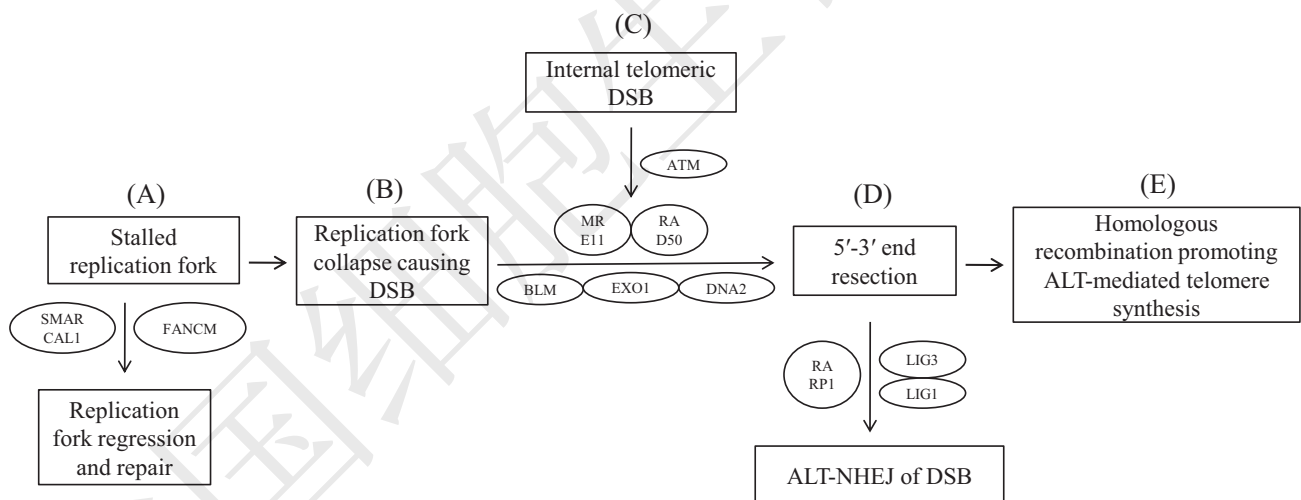
3 ALT端粒产生复制压和DNA DSB修复

ALT端粒染色质结构异常易于产生复制压,由于ALT端粒重复序列的存在使端粒更倾向于形成二级结构,包括T环、R环和G四链体(G-quadruplexes)等^[3]。这些二级结构都可阻止复制叉的前进致使DNA复制受阻,例如:G四链体在端粒募集鸟嘌呤的滞后链形成导致复制叉停滞,最终导致复制叉断裂^[17]。复制压来源及明确复制叉是如何在端粒中行

使正常功能的呢?复制叉和相关蛋白又如何共同调节DSB修复呢?解决这些问题也对进一步理解ALT机制的相关问题提供很好的思路。

最近的研究表明,ALT端粒上复制叉修复范可尼贫血互补群蛋白M(FANCM)对缓解复制压起着关键作用^[18]。范可尼贫血互补群蛋白M通过与范可尼贫血相关蛋白(fanconi anemia-associated proteins)结合来启动停滞的复制叉进行端粒复制,且复制叉与相关多种蛋白共同协调参与DSB修复促进ALT端粒的形成。范可尼贫血互补群蛋白M的缺失可导致ATR磷酸化位点Chk1和RPA的磷酸化,进而导致复制叉停滞及端粒末端切除^[3](图1)。

此外,研究还发现,当ALT的TERRA(telomeric repeat containing RNA)较多时,TERRA能直接与DNA结合形成DNA:RNA复合物或R环,最终导致端粒复制压升高及HR(homologous recombination)的发生^[19]。最近也有研究报道,若移除RNaseH1,细胞内另一种核酸酶可降解DNA:RNA复合物中的RNA,在ALT细胞中同样导致复制压的升高,同时还伴随



A: 复制压的产生导致复制叉的形成, SMARCAL1和FANCM通过DNA损伤修复作用来调节复制叉的复原和修复。B、C: 无法重新启动已停止的复制叉导致复制叉丧失功能, 致使DNA DSB的发生, DSB经过快速去除末端, 通过复合物BLM(bloom helicase)-EXO1(exonuclease1)-DNA2或MRN(MRE11-RAD50-NSB1)的调节, 内在端粒DSB激活ATM激酶导致5'→3'末端切除。D: PARP1[poly (ADP-ribose) polymerase 1]结合到切除的端粒上替代非同源末端连接(alternative nonhomologous end joining, alt-NHEJ)进而修复DSB。E: 切除的链也可以通过侵入到自身链内或与自身端粒结合进行HR促进ALT端粒的合成。

A: replication stress results in the formation of stalled replication forks at ALT telomeres. SMARCAL1 and FANCM-mediated replication fork regression allows the removal of lesions and/or DNA repair followed by replication fork restoration. B,C: failure to restart the stalled replication fork results in fork collapse, creating a DSB. The DSB then undergoes rapid end resection, mediated by BLM-EXO1-DNA2, WRN-DNA2, or the MRE11-RAD50-NSB1 complex. Internal telomeric DSBs activate ATM kinase signaling, which also results in 5'→3' end resection. D: PARP1 loading onto the resected telomere results in alternative nonhomologous end joining (alt-NHEJ) repair of the DSB. E: the resected end can also strand invade itself or another telomere through homologous recombination (HR), promoting ALT-mediated telomere synthesis.

图1 ALT端粒上复制叉停滞和DNA DSB过程(根据参考文献[3]修改)

Fig.1 Stalled replication fork and double-strand break (DSB) processing at alternative lengthening of telomeres (ALT) telomeres (modified from reference [3])

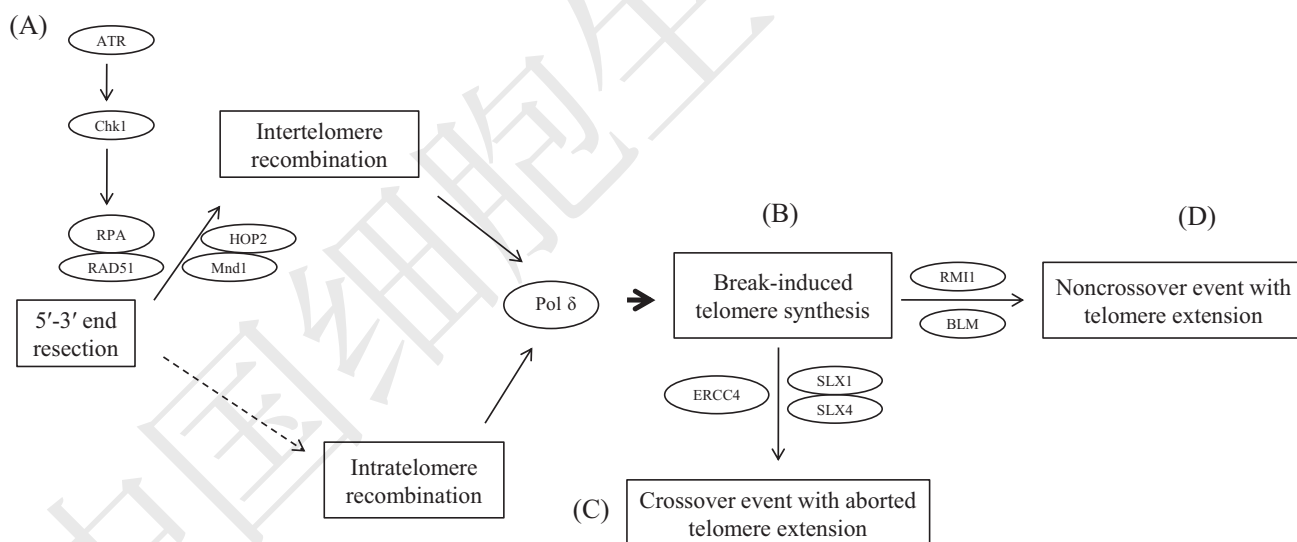
更多ALT活性表征出现(包括ALT相关PML小体表达上调和染色体外C环的形成等)^[20], 除此之外, 还会出现多种染色质结构, 这也说明, ALT端粒是通过端粒重复序列的多样性散布和再分配形成的^[21]。据研究报告, 端粒的紧凑排列和端粒序列的微妙变化及相关蛋白更新, 通过促进端粒-端粒重组产生复制压来维持ALT相关表型。ALT端粒上多基因修复通路聚集可缓解复制压、促使复制叉重启和DSB修复^[22]。以上结果说明, ALT端粒容易产生复制压, 复制叉和相关蛋白相互协调调节DNA的DSB修复对维持ALT机制及相关表型起着决定性作用。

4 ALT中调节端粒延长机制及ALT活性相关蛋白

ALT中DSB与ATR诱导的信号通路存在着复杂联系, 调节端粒延长涉及多种蛋白, 各蛋白与端粒间相互协调共同促进端粒延长^[22](图2)。

若端粒DNA在整个基因组中被添加到对应于转录因子NR2C/F(TR2、TR4、COUP-TF1)调控区

域的多个分散位点上, 则这些蛋白质将通过招募端粒染色质来促进自身端粒DNA延伸, 这种机制称为TTI(targeted telomere insertion)^[23]。TTI易导致破坏基因组的潜在通型易碎性位点的产生, ALT肿瘤中, NR2C/F蛋白有助于形成复杂的染色体组型。不寻常的端粒重复序列变异会扰乱端粒蛋白复合物的结合, 为NR2C/F类孤儿核受体蛋白提供结合位点, 这对正常端粒结构转变成ALT很关键^[23]。有研究表明, 孤儿核受体将锌指蛋白ZNF827结合到ALT端粒上, 再与重构核小体和NuRD(nucleosome remodeling and histone deacetylation)结合形成复合体^[24]。ALT端粒上复合体NuRD-ZNF827表达量增加可代替端粒蛋白复合物与端粒的结合, 从而诱导复制压的产生。在ALT细胞中, 由于NuRD去乙酰化的活性, NuRD-ZNF827复合体对一些端粒蛋白复合体功能产生复制压有一定的补偿作用。染色质重塑基因编码一种解旋酶蛋白, 染色质重塑蛋白的减少促使端粒非编码RNA TERRA对细胞周期的调节, 且在DNA复制后导致持续的端粒RPA(replication protein A)的连接,



A: DSB激活ATR信号通路导致ALT端粒末端切除, 被切除的端粒通过一种未知机制侵入到端粒内部通过RPA(replication protein A)/RAD51/HOP2-MND1诱导端粒重组。B: 切除的端粒链利用DNA聚合酶δ(polymerase δ, Pol δ)合成端粒。C: 在端粒链侵入后, 这种重组方式可被SLX4-SLX1-ERCC4(SLX-ERC complex)抑制, 若过早地去除重组中间产物会导致重组无法进行, 且中间产物缺失会导致端粒与端粒交叉。D: BTR复合体随着端粒DNA不完整交换的去除促进端粒分支链迁移和侵入链复制。

A: a resected ALT telomere created from a double-strand break (DSB) triggers ATR signaling, resulting in RPA/RAD51/HOP2-MND1-mediated homology searches and inter-telomere recombination. The resected end can also strand invade itself through intratelomere recombination by an as yet unidentified mechanism. B: strand invasion results in break-induced telomere synthesis utilizing a noncanonical replisome comprising DNA polymerase δ(Pol δ). C: break induced telomere synthesis can be inhibited by SLX4-SLX1-ERCC4, which prematurely resolves the recombination intermediate after telomere strand invasion, resulting in a telomere exchange event in the absence of telomere extension. D: the BTR complex promotes branch migration and template copying of the invading strand followed by dissolution with no overall exchange of telomeric DNA.

图2 ALT调节端粒延长(根据参考文献[3]修改)

Fig.2 Alternative lengthening of telomeres (ALT)-mediated telomere extension (modified from reference [3])

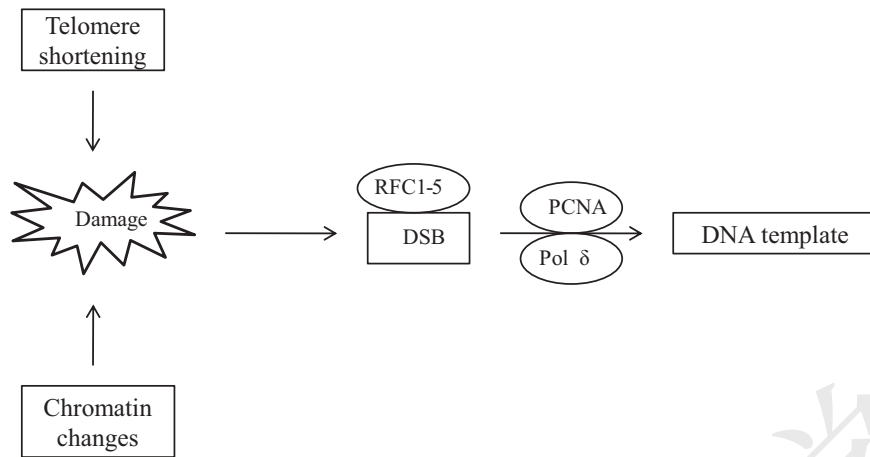


图3 一些癌细胞通过ALT来维持染色体末端端粒的长度(根据参考文献[33]修改)

Fig.3 Some cancer cells form telomeres through ALT (modified from reference [33])

进一步引起核蛋白重组^[25]。蛋白激酶ATR抑制物也能引起染色体断裂和细胞凋亡。依赖于ALT的癌细胞, ATR抑制因子高表达, 这种抑制因子可能对ALT阳性肿瘤有一定治疗作用^[26]。在ALT细胞中, 也发现, SMARCA1(SWI/SNF-related, matrix-associated, actin-dependent regulator of chromatin, subfamily A-like1)的表达上调, SMARCA1是一种关键调节因子, 对端粒复制压力和维持ALT端粒稳定性起着至关重要的作用^[27]。SMARCA1的缺失可引起复制叉折叠和ALT端粒不稳定, 说明SMARCA1在端粒维持机制中发挥重要作用, 同时这也是解决复制压相关问题的关键一步^[27]。有研究者报道, 正常端粒酶阴性成纤维细胞和端粒酶阳性永生细胞都有ALT活性阻遏蛋白表达^[28]。人类ALT肿瘤中染色质重塑蛋白复合物ATR-X-DAXX(a chromatin remodeling complex)的突变发生概率很高。有研究者把一种ALT细胞系分为4组, 分别与4种端粒酶阳性细胞系融合培养, 检测ATR-X和DAXX的表达, 发现杂交后代中端粒酶或ALT结合其他机制被抑制, 在所有母细胞系和杂交细胞系中DAXX的表达量正常, 每四种端粒酶阳性母系细胞和端粒酶阳性细胞系中ATR-X表达也正常^[29]。有研究报道, ALT细胞中ATR-X功能丧失是一种常见特征^[30], 在端粒上它并没有造成核染色质浓缩, 也没有增加端粒RNA的表达^[31], 说明ATR-X对ALT的影响并不大。ATR-X-DAXX复合物的突变如何导致ALT, 这个问题还值得深入研究。

在ALT细胞中, RNA核酸内切酶RNaseH1是端粒维持重要中介体, 它通过端粒DNA与长非编

码RNA TERRA来调节RNA-DNA复合体的表达。RNaseH1与端粒有直接相关性, RNaseH1的损耗会导致端粒复合物积累进而促使单链端粒DNA暴露, 一种称为端粒酶蛋白质A的酶会切除暴露的端粒DNA而引发端粒DNA损伤。当RNaseH1表达发生下调时, 也会引发ALT端粒重组和端粒缩短。在端粒酶阳性细胞中, 若改变ALT细胞RNaseH1的表达水平, 并不能扰乱端粒的稳定性^[32]。以上研究说明, RNaseH1对ALT表型起着重要作用。ALT细胞中TERRA甲基化水平在人类胎盘明显低于体细胞, 这也说明TERRA对维持端粒末端复合物低甲基化增加一种新机制的可能性^[30]。Dilley等^[33]发现, 蛋白Rad51在同源重组中具有关键作用, 他们在ALT细胞的DNA损伤位点处发现了一种由聚合酶Pol δ和蛋白质PCNA、RFC1-5组成的复合物, 而这种复合物正是端粒所必需的酶。他们由此推测, 这种非典型复合物是ALT细胞中端粒合成的主要途径(图3)。

Dilley等^[34]揭示了名为断裂诱导端粒合成的过程, 该过程是ALT的主要通路: (1)几种情况下, 包括细胞分裂过程中的端粒缩短, 或端粒DNA包装出错, 端粒中都会出现DSB; (2)在ALT细胞中, 蛋白复合物RFC1-5快速结合于端粒中的双链断裂处; (3)RFC1-5募集蛋白质PCNA和DNA聚合酶Pol δ到断裂处。这种蛋白质复合物使用DNA的互补链作为模板形成端粒。

在人类永生细胞的S和G₂期, BLM、BRCA1和RAD50连接在一起与端粒形成复合体对维持端粒长度发挥一定作用。在ALT细胞周期的G₂期, BLM

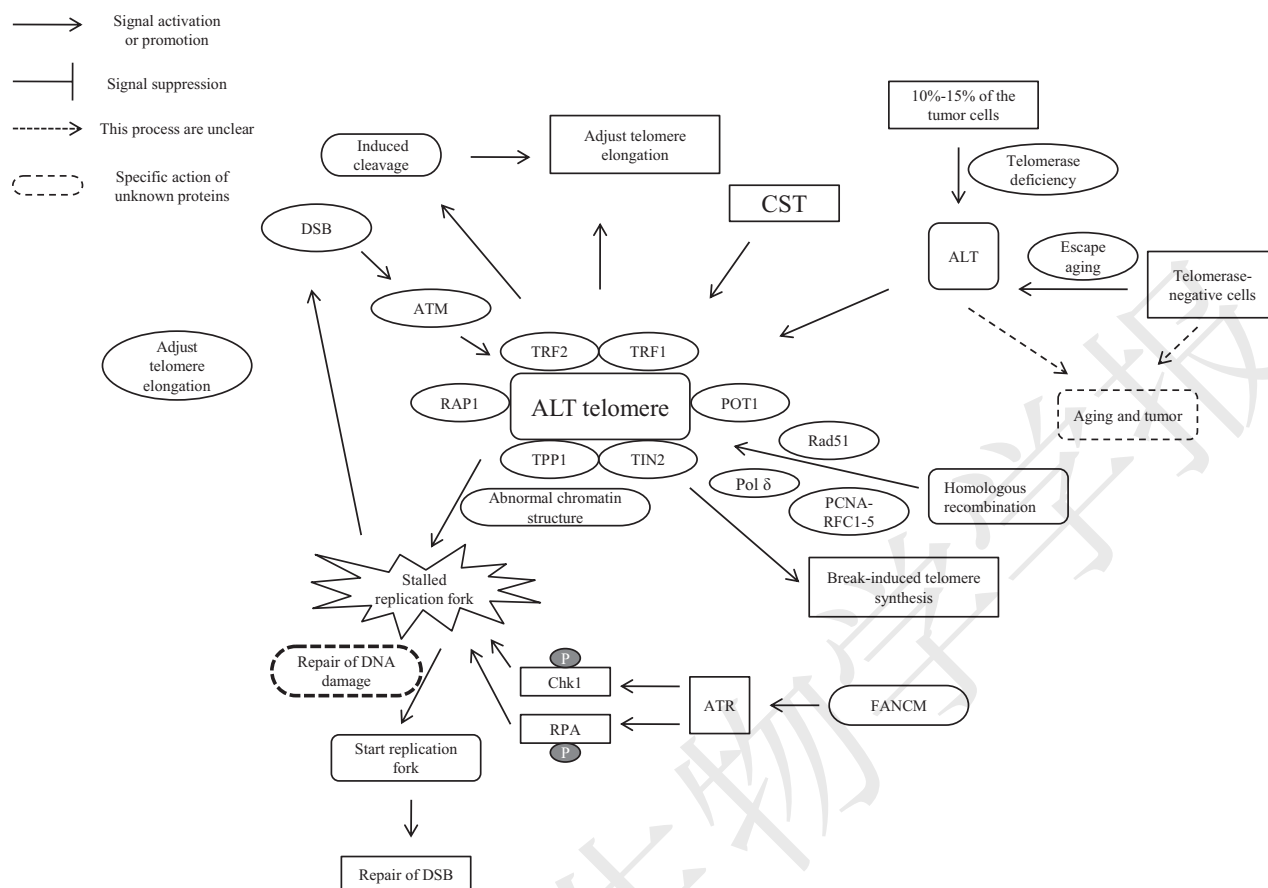


图4 ALT的基本机制

Fig.4 Basic mechanism of ALT

和BRCA1的表达量均发生了上调,且BLM的解旋率大约有三倍折叠,说明BLM、BRCA1和RAD50三者相互作用参与维持端粒长度。也有研究报道,BRCA1是通过与BLM和RAD50相互作用参与到ALT肿瘤中起作用的^[35]。ALT细胞中,CST(CTC1/STN1/TEN1)复合物对调节端粒维持通路也扮演重要角色^[36]。这说明,参与ALT肿瘤的端粒维持机制相关蛋白多样,这些蛋白表达量发生变化时,对肿瘤抑制、调节细胞周期、衰老、凋亡和维持细胞增殖能力等相关性表征可能起到独特作用。

5 总结与展望

综上所述,在ALT端粒上,多种基因修复机制相互协调可缓解复制压,进而导致复制叉重新启动和DSB修复。ALT端粒会通过切除的侵入链与内在端粒进行重组合成端粒,说明ALT是一种受调控的制衡体系,通过多重保守基因组修复途径调节端粒延长机制。APBs一直也在ALT中扮演重要角色,形

成APBs所需要的相关蛋白TRF1、TRF2、RAP1、TIN2及PML等都是激活和维持ALT机制的必备条件。但ALT和DNA修复机制还存在许多问题需要解决,ALT中端粒DNA是如何诱导一段DNA复制体复合物组装并启动复制的? ALT肿瘤中加速端粒功能异常能否用相关复合物作为靶点? 能否用传统的化学疗法阻止ALT继发性恶性肿瘤发生? 此外,ALT细胞对ATR抑制剂并不普遍易感,也说明对DNA损伤修复的更多靶点还有待证明。这些问题的解决对找到ALT肿瘤的根源可能起着一定指导作用。CST(CTC1/STN1/TEN1)复合物如何激活端粒维持机制? Dilley等^[34]发现的断裂诱导端粒合成对我们进一步了解ALT在人类癌细胞中如何启动和维持起着导向作用。对这些过程的深入理解在未来可能对ALT型癌症的靶向治疗提供见解(图4)。

部分衰老的端粒酶阴性细胞,通过基因突变逃避衰老形成ALT肿瘤。突变p53促进ALT肿瘤的形成,这对端粒酶阴性细胞是选择衰老还是激活ALT机制

成为肿瘤起着关键作用。ALT肿瘤的发生突破了衰老抑制肿瘤的最后一道防线,在端粒酶阴性的情况下可以通过基因突变或其他方式逃脱衰老,并启动ALT机制形成肿瘤。ALT肿瘤的发生机制对端粒酶阳性/肿瘤治疗具有重要的指导意义。因此,了解这些途径和重要组成蛋白及相关聚合酶,对研究利用ALT引发的肿瘤机制和靶向治疗奠定重要基础,也为我们研究衰老与肿瘤的辨证关系提供了一个非常重要的最佳模型。

参考文献 (References)

- Coluzzi E, Buonsante R, Leone S, Asmar AJ, Miller KL, Cimini D, *et al.* Transient ALT activation protects human primary cells from chromosome instability induced by low chronic oxidative stress. *Sci Rep* 2017; 7(43): 309.
- Doksani Y, Wu John y, De lange T, Zhuang X. Super-resolution fluorescence imaging of telomeres reveals TRF2-dependent T-loop formation. *Cell* 2017; 155(2): 345-56.
- Sobinoff AP, Pickett HA. Alternative lengthening of telomeres: DNA repair pathways converge. *Trends Genet* 2017; 33(12): 921-32.
- Cho NW, Dilley RL, Lampson MA, Greenberg RA. Interchromosomal homology searches drive directional ALT telomere movement and synapsis. *Cell* 2014; 159(1): 108-21.
- Tang J, Cho NW, Cui G, Manion EM, Shanbhag NM, Botuyan MV, *et al.* Acetylation limits 53BP1 association with damaged chromatin to promote homologous recombination. *Nat Struct Mol Biol* 2013; 20(3): 317-25.
- 吴晓明, 唐文如, 罗瑛. ALT——端粒延长替代机制. 遗传[Wu Xiaoming, Tang Wenru, Luo Ying. ALT-alternative lengthening of telomere. *Hereditas (Beijing)* 2009; 31(12): 1185-91.
- Shay JW, Reddel RR, Wright WE. Cancer and telomeres—an ALTerative to telomerase. *Science* 2012; 336(6087): 1388-90.
- Jeitany M, Pineda JR, Liu Q, Porreca RM, Hoffschir F, Desmaza C, *et al.* A preclinical mouse model of glioma with an alternative mechanism of telomere maintenance (ALT). *Int J Cancer* 2015; 136(7): 1546-58.
- Neumann AA, Watson CM, Noble JR, Pickett HA, Tam PP, Reddel RR. Alternative lengthening of telomeres in normal mammalian somatic cells. *Genes Dev* 2013; 27(1): 18-23.
- Kargaran PK, Yasaei H, Anjomani-Virmouni S, Mangiapane G, Slijepcevic P. Analysis of alternative lengthening of telomere markers in BRCA1 defective cells. *Genes Chromosomes Cancer* 2016; 55(11): 864-76.
- Doerks T, Copley RR, Schultz J, Ponting CP, Bork P. Systematic identification of novel protein domain families associated with nuclear functions. *Genome Res* 2002; 12(1): 47-56.
- Okamoto K, Bartocci C, Ouzounov I, Diedrich J K, Yates J R, 3rd, *et al.* A two-step mechanism for TRF2-mediated chromosome-end protection. *Nature* 2013; 494(7438): 502-05.
- Zimmermann M, Kibe T, Kabir S, De Lange T. TRF1 negotiates TTAGGG repeat-associated replication problems by recruiting the BLM helicase and the TPP1/POT1 repressor of ATR signaling. *Genes Dev* 2014; 28(22): 2477-91.
- Dilley RL, Verma P, Cho NW, Winters HD, Wondisford AR, Greenberg RA. Break-induced telomere synthesis underlies alternative telomere maintenance. *Nature* 2016; 539(7627): 54-8.
- Root H, Larsen A, Komosa M, Al-Azri F, Li R, Bazett-Jones DP, *et al.* FANCD2 limits BLM-dependent telomere instability in the alternative lengthening of telomeres pathway. *Hum Mol Genet* 2016; 25(15): 3255-68.
- Sakellariou D, Chiourea M, Raftopoulou C, Gagos S. Alternative lengthening of telomeres: recurrent cytogenetic aberrations and chromosome stability under extreme telomere dysfunction. *Neoplasia* 2013; 15(11): 1301-13.
- Vannier JB, Pavicic-Kaltenbrunner V, Petalcorin MI, Ding H, Boulton SJ. RTEL1 dismantles T loops and counteracts telomeric G4-DNA to maintain telomere integrity. *Cell* 2012; 149(4): 795-806.
- Pan X, Drosopoulos WC, Sethi L, Madireddy A, Schildkraut CL, Zhang D. FANCM, BRCA1, and BLM cooperatively resolve the replication stress at the ALT telomeres. *Proc Natl Acad Sci USA* 2017; 114(29): E5940-49.
- Roake CM, Artandi SE. Approaching TERRA firma: genomic functions of telomeric noncoding RNA. *Cell* 2017; 170(1): 8-9.
- Min J, Wright WE, Shay JW. Alternative lengthening of telomeres mediated by mitotic DNA synthesis engages break-induced replication processes. *Mol Cell Biol* 2017; 37(20): e00226-17.
- Lee M, Hills M, Conomos D, Stutz MD, Dagg R A, Lau L M, *et al.* Telomere extension by telomerase and ALT generates variant repeats by mechanistically distinct processes. *Nucleic Acids Res* 2014; 42(3): 1733-46.
- Sobinoff AP, Pickett HA. Alternative lengthening of telomeres: DNA repair pathways converge. *Trends Genet* 2017; 33(12): 921-32.
- Marzec P, Armenise C, Perot G, Roumelioti FM, Basyuk E, Gagos S, *et al.* Nuclear-receptor-mediated telomere insertion leads to genome instability in ALT cancers. *Cell* 2015; 160(5): 913-27.
- Conomos D, Reddel RR, Pickett HA. NuRD-ZNF827 recruitment to telomeres creates a molecular scaffold for homologous recombination. *Nat Struct Mol Biol* 2014; 21(9): 760-70.
- Cox KE, Marechal A, Flynn RL. SMARCA1 resolves replication stress at ALT telomeres. *Cell Rep* 2016; 14(5): 1032-40.
- Aeby E, Lingner J. ALT telomeres get together with nuclear receptors. *Cell* 2015; 160(5): 811-13.
- Cox KE, Marechal A, Flynn RL. SMARCA1 resolves replication stress at ALT telomeres. *Cell Rep* 2016; 14(5): 1032-40.
- Bower K, Napier CE, Cole SL, Dagg RA, Lau LM, Duncan EL, *et al.* Loss of wild-type ATRX expression in somatic cell hybrids segregates with activation of alternative lengthening of telomeres. *PLoS One* 2012; 7(11): e50062.
- Bodvarsdottir SK, Steinarsdottir M, Bjarnason H, Eyfjord JE. Dysfunctional telomeres in human BRCA2 mutated breast tumors and cell lines. *Mutat Res* 2012; 729(1/2): 90-9.
- Clynes D, Jelinska C, Xella B, Ayyub H, Scott C, Mitson M, *et al.* Suppression of the alternative lengthening of telomere pathway by the chromatin remodelling factor ATRX. *Nat Commun* 2015; 6: 7538.
- Episkopou H, Draskovic I, Van Beneden A, Tilman G, Mattiussi

- M, Gobin M, *et al.* Alternative Lengthening of Telomeres is characterized by reduced compaction of telomeric chromatin. *Nucleic Acids Res* 2014; 42(7): 4391-405.
- 32 Arora R, Lee Y, Wischnewski H, Brun C M, Schwarz T, Azzalin C M. RNase H1 regulates TERRA-telomeric DNA hybrids and telomere maintenance in ALT tumour cells. *Nat Commun* 2014; 5: 5220.
- 33 Roake CM, Artandi SE. DNA repair: telomere-lengthening mechanism revealed. *Nature* 2016; 539(7627): 35-6.
- 34 Dilley RL, Verma P, Cho NW, Winters HD, Wondisford AR, Greenberg RA. Break-induced telomere synthesis underlies alternative telomere maintenance. *Nature* 2016; 539(7627): 54-58.
- 35 Acharya S, Kaul Z, Gocha AS, Martinez AR, Harris J, Parvin JD, *et al.* Association of BLM and BRCA1 during telomere maintenance in ALT cells. *PLoS One* 2014; 9(8): e103819.
- 36 Huang C, Jia P, Chastain M, Shiva O, Chai W. The human CTC1/STN1/TEN1 complex regulates telomere maintenance in ALT cancer cells. *Exp Cell Res* 2017; 355(2): 95-104.