

·综述·

DOI:10.16605/j.cnki.1007-7847.2020.03.012

端粒和端粒酶调控植物生长发育的研究进展

刘立盘, 钟永达, 杨爱红, 陈彩慧, 李彦强, 余发新*

(江西省科学院生物资源研究所 江西省观赏植物遗传改良重点实验室, 中国江西 南昌 330096)

摘要: 端粒(telomere)是真核细胞染色体末端的核蛋白结构,由串联重复的DNA序列和蛋白质组成,具有保护线性染色体末端完整、抑制DNA损伤和调控细胞衰老的功能。端粒酶是能够延长端粒序列的一种特殊的逆转录酶,通过在端粒上添加TTTAGGG重复序列来维持细胞的端粒长度,由端粒酶RNA(telomerase RNA, TER)和端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)两个亚基组成。本文将对端粒、端粒酶及其相关基因在植物生长和衰老过程中的调控研究进展进行阐述,以期对端粒相关领域的研究及其应用提供参考。

关键词: 植物;端粒;端粒酶;基因;调控

中图分类号: Q946.2

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2020)03-0252-07

Research Progress on Regulation of Telomeres and Telomerase in Plant Growth and Development

LIU Li-pan, ZHONG Yong-da, YANG Ai-hong, CHEN Cai-hui, LI Yan-qiang, YU Fa-xin*

(The Key Laboratory of Horticultural Plant Genetic Improvement of Jiangxi Province, Institute of Biological Resources, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang 330096, Jiangxi, China)

Abstract: Telomeres are nucleoprotein structures at the ends of chromosomes in eukaryotic cells, which have the functions of protecting the integrity of linear chromosome ends, inhibiting DNA damage and regulating cell senescence. Telomeres consist of tandem DNA repeats and proteins. Telomerase is a special type of reverse transcriptase that can extend the telomeres by adding the TTTAGGG repeat sequence to maintain cell telomere length. It comprises two subunits, telomerase RNA (TER) and telomerase reverse transcriptase (TERT). Herein, the regulatory research progress of telomeres, telomerase and related genes in plant growth and aging process are reviewed, with the hope of providing theoretical basis for related research and application.

Key words: plant; telomere; telomerase; gene; regulation

(*Life Science Research*, 2020, 24(3): 252~258)

端粒是位于线性真核生物染色体末端的特殊染色质结构,是由重复DNA序列和蛋白质组成的复杂核蛋白结构^[1]。端粒相关蛋白质可以通过调控端粒酶的通路或调节DNA复制机制来控制端粒长度。端粒DNA分为双链DNA(double-stranded DNA, dsDNA)和单链DNA(single-stranded DNA, ssDNA),与蛋白质复合物结合形成端粒蛋白复合

体(shelterin),该复合体主要由TRF1/2(telomeric repeat binding factor 1/2)、POT1(protection of telomeres 1)、TIN2(TRF1-interacting nuclear protein 2)、RAP1(repressor activator protein 1)以及TPP1(telomere binding protein POT1-interacting protein 1)构成^[2]。TRF1、TRF2和特异性端粒dsDNA的连接通过Myb(v-myb avian myeloblastosis viral onco-

收稿日期: 2019-10-12; 修回日期: 2019-12-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31860079); 江西省重点研发计划项目(20192ACB80011); 江西省科学院重点项目(2018-YZD2-16)

作者简介: 刘立盘(1986—),男,江西抚州人,博士,助理研究员,主要从事林木遗传育种, E-mail: liulipan12@126.com; *通信作者: 余发新(1968—),男,江西九江人,博士,江西省科学院生物资源研究所研究员,主要从事林木育种, E-mail: fxyu2000@126.com。

gene homolog)结构域的 LKDKWRT 氨基酸基序介导^[3]。DNA-TRF1、TRF2 和 ssDNA 结合蛋白 POT1 之间的连接通过 TIN2 和 TPP1 蛋白的寡糖/寡核苷酸介导^[4]。RAP1 蛋白是端粒蛋白复合体的最后一个组成部分,它与 TRF2 相互作用,并控制端粒 DNA 长度^[5]。

二十多年前, Riha 等^[6]报道了一种基于 Southern blotting 技术测量端粒长度的末端限制性片段(terminal restriction fragment, TRF)方法。此后,其他测量端粒长度的方法相继被报道,包括定量聚合酶链反应(quantitative PCR, qPCR)、定量荧光原位杂交(quantitative fluorescence *in situ* hybridization, Q-FISH)、流式-荧光原位杂交(flow cytometry-fluorescence *in situ* hybridization, Flow-FISH)及单链端粒长度分析(single telomere length analysis, STELA)^[7-8]。其中, TRF 方法可提供端粒的绝对长度和异质性数据,仍然被认为是测量端粒长度的金标准^[9]。端粒酶活性的检测有直接和间接两种方法,直接检测方法包括:端粒重复序列扩增法(telomeric repeat amplification protocol, TRAP)、TRAP-银染法、TRAP-酶联免疫吸附法(enzymelinked immunosorbent assay, ELISA)和杂交链式信号放大反应结合磁分离技术法;间接检测方法包括:亚甲蓝(methylene blue, MB)作为 G-四联体结合探针法、石墨焐杂化比色法和依赖无标记分子信标的级联放大 DNA 机制法。其中, TRAP 法比较灵敏、迅速且重复性好,应用最广^[10]。本文将对端粒、端粒酶及其相关基因在植物中的调控研究进展进行阐述,为端粒的进一步研究提供参考。

1 端粒的结构及特点

端粒具有重要的生物学功能,它可以防止染色体的降解和融合,以及 DNA 复制过程中末端序列的丢失^[11-12]。几乎所有高等植物的端粒都是由七核苷酸拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)端粒重复序列(TTTAGGG)_n 组成^[13-14]。但是天门冬目(Asparagales)中的几个单子叶植物含有 6 个人类端粒重复序列(TTAGGG)_n^[14]。近期研究显示,植物中的端粒序列存在多样性。Tran 等^[15]报道,螺旋狸藻属(*Gelisea*)的一些物种存在两种混合变异序列(TTCAGG 和 TTCAGG),这种变异是由种内进化产生的。此外,人们在毛茛夜香树(*Cestrum elegans*)中发现了一个特异的端粒序列(TTTTTTAGGG)^[16]。Fajkus 等^[17]发现在葱属(*Allium* spp.)中也存在一个独特的端

粒序列(CTCGGTTATGGG)。在整个植物家族,除了陆地植物,还包括红藻(Rhodophyta)、绿藻(Chlorophyta)和灰藻(Glaucophytes)等藻类及其他低等生物,它们都存在着不同的端粒重复序列类型。

1988 年,端粒序列在拟南芥中首次成功克隆^[18]。受遗传和发育两方面的控制,端粒长度会在一定范围内变化。目前在植物中发现,端粒 DNA 在小立碗藓(*Physcomitrella patens*)中的最短长度可至 500 bp^[19],在烟草(*Nicotiana tabacum*)中的长度可为 160 kb^[20],而且在美花烟草(*Nicotiana sylvestris*)中的长度可达 200 kb^[21]。植物端粒长度在不同属或种之间存在显著差异,在物种发育或生态型水平上也存在差异,例如:拟南芥的端粒长度根据不同的生态型从 2 kb 到 9 kb 不等^[22];在灰叶剑麻(*Agave fourcroydes* Lem)和韦伯龙舌兰(*Agave tequilana* Weber)茎段组织培养过程中,端粒长度的变化范围分别为 22.8~50.8 kb 和 27.8~37.8 kb^[23]。另外,在长寿树种欧洲白桦(*Betula pendula* Roth)中,不同基因型的端粒长度最短变化范围为 5.9~9.6 kb,最长变化范围为 15.3~22.8 kb^[24]。

2 端粒酶的结构

端粒酶是一种特殊的逆转录酶,对端粒的延长和维持起着重要的催化作用^[25]。端粒酶能以自身的 RNA 亚基作为模版,在端粒酶逆转录酶(telomerase reverse transcriptase, TERT)的作用下在端粒的 3' 端添加串联的七核苷酸重复序列以保持染色体的稳定性^[26]。

端粒酶由线性染色体 3' 末端的核糖核蛋白(ribonucleoprotein, RNP)组成^[27],具有端粒酶 RNA(telomerase RNA, TER)和 TERT 两个核心亚基。TER 由 1 个单一的长链非编码 RNA 序列组成。TERT 亚基在进化中形成了保守的一级结构,在大多数生物体中可进一步分为 N-末端域(telomerase essential N-terminal, TEN)、TR 结合域(TR binding domain, TRBD)、中心逆转录酶域(reverse transcriptase, RT)和 C-末端延长域(C-terminal extension, CTE)^[28-29]。端粒酶在各个亚单位的协作下精确调控端粒的延长和缩短过程。从分子水平看,端粒长度的保持主要通过端粒酶修复机制来实现^[30]。端粒酶能够延长端粒序列和拉长染色体末端端粒长度,可以补偿端粒在染色体复制过程中所产生的持续性丢失,起着维护染色体稳定性的作用^[2,31]。

3 植物生长发育过程中端粒长度和端粒酶活性的变化

在林木中,端粒及端粒酶对银杏(*Ginkgo biloba* L.)发育和衰老的调控研究报道较多。Liu 等^[32]指出银杏叶片随着树龄的增加,其端粒长度增加趋势明显,而且不同银杏组织端粒长度的顺序为:小树枝>叶片>胚愈伤组织>小孢子。该研究还建立了端粒长度与树龄相关性的理论模型,结果表明长寿银杏的端粒长度可以在营养生长期有效地保持数千年。另有研究报道,从胚到幼苗的不同发育阶段,银杏的端粒长度呈现周期性变化^[33]。相关研究显示,银杏 4 个树龄(10、20、70±10 和 700±100)的端粒长度从 4 月到 8 月没有明显变化($P>0.05$),但从 9 月到 10 月显著下降($P<0.05$)^[34],说明银杏端粒长度的变化与季节相关。进一步对银杏的端粒酶展开研究发现,随着树龄(10~700 年)的增加,叶片端粒酶活性呈下降的趋势^[35-36];银杏不同组织(胚性愈伤组织、小孢子和叶片)的端粒酶活性存在差异,其中胚性愈伤组织的端粒酶活性最高;在全年生长周期中,端粒酶活性在 4 月最高,表明银杏的端粒酶活性也具有季节性变化^[36]。此外,研究人员在刺果松(*Pinus longaeva*)中也发现了端粒长度与树龄的相关性。研究显示,2 000~5 000 年树龄的刺果松根系的端粒长度比 400~500 年和 100~200 年的都要长,表明端粒长度和端粒酶活性与刺果松树龄有着直接或间接的关系^[26]。近年来,其他树种的端粒长度和端粒酶活性与季节变化的关系也有报道。例如:油松(*Pinus tabulaeformis* Carr.)端粒长度的变化与月平均温度的变化趋势相似(正相关),而端粒酶活性的变化与月平均温度的变化趋势相反(负相关),因此,油松的端粒长度和端粒酶活性随季节性变化而变化^[37];青柗(*Fraxinus pennsylvanica* Mars. var. *subintegerrima* [Vahl.] Fern.)和旱柳(*Salix matsudana* Koidz.)的端粒长度、端粒酶活性也与季节的变化相关,但端粒长度和端粒酶活性的变化没有相关性^[38]。

在植物生长发育过程中,端粒的伸长和缩短与细胞复制、分化及再生有关。研究人员对 0~200 年树龄的欧洲赤松(*Pinus sylvestris* L.)的不同组织(未成熟的胚胎、形成层、芽和成熟树木的针叶)进行了分析,发现端粒长度随着组织分化程度的增加而缩短,其中未成熟胚胎的端粒长度最长;同时,该研究发现端粒长度与组织的位置相关,在

老树(50~200 岁)中,茎形成层的端粒长度随高度的增加而缩短^[39]。另外,不同树龄、同一植物不同组织以及不同分化程度的相同组织的端粒长度都可能存在差异^[40]。相关研究指出 2~8 年人参(*Panax ginseng* C. A. Meyer)主根的端粒长度与年龄呈正相关关系^[41]。一项早期研究表明,大麦(*Hordeum vulgare* L.)的端粒长度在整个植株发育过程中逐渐变短,成年叶片的端粒长度由幼胚中的 80 kb 缩减到 30 kb,但在愈伤组织培养过程中变长^[42]。与此类似,Rescalvo-Morales 等^[23]研究发现灰叶剑麻和韦伯龙舌兰两个品种的茎段组织在体外诱导生长(0~8 个星期)时,其端粒长度呈逐渐伸长的趋势。

近年来,拟南芥及农作物的端粒长度和端粒酶活性研究相继被报道。拟南芥不同组织在不同发育阶段的端粒长度无明显变化,说明端粒长度不参与拟南芥衰老过程中的细胞分化和复制,也不参与有丝分裂^[43]。在番茄(*Solanum lycopersicum*)植株 4 周至 6 个月的衰老过程中,研究者未观察到叶片端粒长度的变化^[44]。女娄菜(*Melandrium album*)不同组织和发育阶段的端粒长度保持稳定,端粒酶活性在萌发的幼苗和根尖中最高,而在叶片中下降了 99%;在休眠的种子中没有检测到端粒酶活性,而在成熟的花粉粒中检测到了端粒酶活性^[6]。烟草叶片愈伤组织在脱分化和再分化过程中其端粒长度没有显著变化,但明显高于叶片外植体^[45]。在大麦中,胚、花药和心皮组织的端粒酶活性较高,但是端粒酶的活性在胚胎发育过程中逐渐下降^[46-47]。另外,在大豆(*Glycine max*)、菜花(*Brassica oleracea*)和胡萝卜(*Daucus carota*)的悬浮培养组织中端粒酶活性较高,但在成熟的分化组织中端粒酶活性较低^[48],表明端粒酶活性在分化能力强的细胞和组织中较高。

4 端粒长度及端粒酶相关基因的研究

端粒酶具有维持端粒稳定性的功能,对端粒长度的调控具有重要的作用。在基因调控中,*TERT*参与了端粒 DNA 合成、维持端粒长度及赋予细胞无限增殖能力等途径。烟草 *TERT* 基因的变异序列 *TERT_Ct* 和 *TERT-Cs* 在幼苗、根、花芽及叶片中均高水平表达,而 *TERT_D* 的表达水平则较低^[49]。拟南芥端粒酶逆转录酶基因(*AtTERT*)编码的蛋白质含有保守的逆转录酶和端粒酶特异性基序,研究报道,该基因在拟南芥愈伤组织中高表达,在缺乏 *AtTERT* 基因的情况下,每一代端粒长度会

缩短 500 bp^[50]。另外,拟南芥 *AtTERT* 基因的 T-DNA 突变体会导致每代端粒 DNA 逐渐缩短 250~500 bp, 在第 5 代以后, 植物发生器官和分生组织开始畸形, 最终停止生长^[51]。这意味着端粒酶基因对植物的发育是必不可少的。从沙冬青(*Ammopiptanthus mongolicus*)克隆到的端粒酶逆转录酶基因(*AmTERT*)在根和叶中表达较高, 同时盐、干旱、热及低温胁迫均能导致沙冬青幼苗根和叶中 *AmTERT* 的表达量升高, 说明 *AmTERT* 基因具有应激保护功能^[52]。

端粒结合蛋白(telomere binding protein, TBP)可以通过结合到端粒上阻碍端粒酶发挥调控端粒长度的功能。拟南芥端粒结合蛋白基因(*AtTBP1*)可以与植物端粒重复序列 TTTAGGG 特异性结合, 研究显示其在基因组中以单拷贝形式存在, 并在各个组织中均有表达, 推测可能在端粒功能调控中发挥重要作用^[53]。相关研究报道, 水稻端粒结合蛋白基因(*RTBP1*)负调控端粒长度, 敲除 *RTBP1* 后, 水稻突变体的端粒长度明显长于野生型, 但 4 代以后植株的生长发育受到严重干扰, 细胞分裂后期染色体融合频率增加^[54]。

Ku80 基因在最近的研究报道中都涉及到端粒长度的调控。在拟南芥和大麦中, *Ku80* 基因具有调控端粒长度的功能, *AtKu80* 和 *HvKu80* 突变体的端粒长度相对于野生型植株都显著伸长^[55-56]。在水稻中, RNAi 介导的基因敲除植株(*Ubi:RNAi-OsKu80*)与野生型水稻相比, 在萌发后期表现为生长迟缓及端粒长度明显增加, 说明 *Osku80* 在水稻植株的生长发育和端粒长度调控中发挥重要作用^[57]。DNA 甲基化(DNA methylation)在调控端粒基因表达中也发挥着重要的作用。研究人员发现拟南芥缺乏 *DDM1* (*deficient in DNA methylation 1*)后在 G1~G5 代可以实现自我繁殖, 同时端粒长度保持稳定, 但在第 6 代(G6)开始出现不育, 端粒长度急剧缩短^[58]。

端粒及端粒酶在众多基因调控下共同参与和控制植物生长发育进程。把水稻中的 *OsTRFL1* (*Oryza sativa TRF like 1*)基因敲除后, 突变体的端粒长度相对于野生型的 5~12 kb 伸长到 6~25 kb, 说明 *OsTRFL1* 负调控端粒长度; 同时, 该研究发现 *OsTRFL1* 基因表达水平的降低会导致水稻营养和生殖器官发育严重不足^[59]。苔藓植物小立碗藓原丝体在培养过程中的端粒长度比较稳定, 而相对端粒酶活性则在培养 1~3 d 时呈急剧下降的

趋势。另外, 与野生型相比, *mre11*、*rad50*、*nbs1*、*ku70* 和 *lig4* 突变体的端粒长度都有改变, 说明这 5 个基因都参与了端粒长度的调控^[19]。

5 端粒在植物衰老过程中的作用

衰老是植物生长发育中出现的不可逆的生长和停滞现象, 是生物体 DNA、蛋白质和其他大分子随机损伤不断累积的过程^[60]。衰老最终导致细胞死亡, 其特征是细胞增殖不可逆, 基因表达模式改变, 细胞凋亡抗性增加, 特异性细胞功能改变, 并伴随端粒缩短^[26]。

端粒的变短导致 DNA 损伤信号启动, 从而引起细胞衰老^[61]。染色体由于末端复制导致端粒在每一轮细胞复制中会相应缩短, 而端粒长度缩短会触发细胞衰老^[62], 进而会引起氧化性损伤、基因的过度表达、染色质改变和 DNA 损伤等应激反应^[25]。端粒可以作为一个“生物时钟”反映细胞的分裂次数, 决定细胞衰老和死亡发生的时间^[25]。因此, 端粒被认为是衰老的生物标记之一。

染色体 DNA 在复制过程中往往伴随着端粒磨损, 异常的端粒结构将进一步提高端粒磨损发生的速率, 进而导致端粒的稳定性降低。细胞内的端粒融合和双着丝粒染色体结构会诱导异常表型的形成, 并触发细胞衰老甚至凋亡的发生^[63]。当然, 衰老不仅仅是端粒磨损, 它的发生也是受基因控制的。真核生物染色体 DNA 的完整性是复制准确的前提条件, 其损伤和修复涉及到上百种基因和蛋白质参与的调控^[64]。因此, 衰老是一个复杂的生理生化进程。

在植物中, 衰老是一个高度调控的生理过程, 导致器官和组织细胞死亡, 最显著的表现是叶片衰老^[65]。在一年生植物中, 叶片衰老与整个植株的死亡密切相关。在多年生植物中, 叶片的衰老在整个生命周期中会发生很多次, 而且在一些寿命较长的树木中, 分生组织在植物的整个生命周期中不断增殖, 可能长达数千年。因此, 多年生植物的分生组织细胞具有强大的端粒 DNA 修复和基因组维持机制^[60]。

6 结语与展望

染色体的末端由端粒 DNA 重复序列及其蛋白质组成, 端粒与染色体末端融合和基因缺失存在着密切关系, 是保持基因组稳定性的关键因素, 是生物体生长发育和分化的必需因子^[66]。端粒酶

广泛存在于真核生物中,维持着生长发育过程中端粒长度的变化,目前在原生动物、酵母、两栖动物和哺乳动物中都能检测到其活性。

近年来,针对端粒、端粒酶及其结构的功能研究相继被报道,它们在生长发育和细胞分裂上的调控作用逐渐被揭示。端粒的变化和调控受多种因素影响,包括表观遗传、植物激素和 DNA 甲基化等,其中甲基化是真核生物基因表达调控的重要方式,对染色体端粒的完整性起着重要的调控作用^[67-68]。拟南芥中的相关研究表明,胞嘧啶甲基化对端粒长度的维持是至关重要的,甲基化突变体后代的端粒长度显著缩短^[69]。尽管在植物中端粒长度、端粒酶活性的变化及相关基因的功能研究陆续被报道,但是影响植物端粒复制、端粒长度和端粒酶活性的因素还有待进一步研究,另外端粒及端粒酶的功能还涉及大量蛋白质的参与,对其功能和调控的研究将是今后重点方向之一。

参考文献(References):

- [1] MCKNIGHT T D, RIHA K, SHIPPEN D E. Telomeres, telomerase, and stability of the plant genome[J]. *Plant Molecular Biology*, 2002, 48(4): 331-337.
- [2] PROCHÁZKOVÁ SCHRUMPFVÁ P, SCHOŘOVÁ Š, FAJKUS J. Telomere- and telomerase-associated proteins and their functions in the plant cell[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 851.
- [3] COURT R, CHAPMAN L, FAIRALL L, *et al.* How the human telomeric proteins TRF1 and TRF2 recognize telomeric DNA: a view from high-resolution crystal structures[J]. *EMBO Reports*, 2005, 6(1): 39-45.
- [4] LAZZERINI-DENCHI E, SFEIR A. Stop pulling my strings-what telomeres taught us about the DNA damage response[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2016, 17(6): 364-378.
- [5] JANOUŠKOVÁ E, NEČASOVÁ I, PAVLOUŠKOVÁ J, *et al.* Human Rap1 modulates TRF2 attraction to telomeric DNA[J]. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43(5): 2691-2700.
- [6] RIHA K, FAJKUS J, SIROKY J, *et al.* Developmental control of telomere lengths and telomerase activity in plants[J]. *The Plant Cell*, 1998, 10(10): 1691-1698.
- [7] AUBERT G, HILLS M, LANSDORP P M. Telomere length measurement-caveats and a critical assessment of the available technologies and tools[J]. *Mutation Research*, 2012, 730(1-2): 59-67.
- [8] MONTPETIT A J, ALHAREERI A A, MONTPETIT M, *et al.* Telomere length: a review of methods for measurement[J]. *Nursing Research*, 2014, 63(4): 289-299.
- [9] GÖHRING J, FULCHER N, JACAK J, *et al.* TeloTool: a new tool for telomere length measurement from terminal restriction fragment analysis with improved probe intensity correction[J]. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42(3): e21.
- [10] 张晓娜, 杨镒峰, 许保增. 端粒及端粒酶活性检测方法研究进展[J]. 特产研究(ZHANG Xiao-na, YANG Yi-feng, XU Bao-zeng. The method and progress of telomerase activity detection[J]. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*), 2017, 4(10): 40-46.
- [11] NAJDEKROVA L, SIROKY J. NBS1 plays a synergistic role with telomerase in the maintenance of telomeres in *Arabidopsis thaliana*[J]. *BioMed Central Plant Biology*, 2012, 12: 167.
- [12] SHAKIROV E V, SALZBERG S L, ALAM M, *et al.* Analysis of *Carica papaya* telomeres and telomere-associated proteins: insights into the evolution of telomere maintenance in Brassicales[J]. *Tropical Plant Biology*, 2008, 1(3-4): 202-215.
- [13] GANAL M W, LAPITAN N L, TANKSLEY S D. Macrostructure of the tomato telomeres[J]. *The Plant Cell*, 1991, 3(1): 87-94.
- [14] FAJKUS J, SÝKOROVÁ E, LEITCH A R. Telomeres in evolution and evolution of telomeres[J]. *Chromosome Research*, 2005, 13(5): 469-479.
- [15] TRAN T D, CAO H X, JOVTCHEV G, *et al.* Centromere and telomere sequence alterations reflect the rapid genome evolution within the carnivorous plant genus *Genlisea*[J]. *The Plant Journal*, 2015, 84(6): 1087-1099.
- [16] PEŠKA V, FAJKUS P, FOJTOVÁ M, *et al.* Characterisation of an unusual telomere motif (TTTTTTAGGG)_n in the plant *Cestrum elegans* (Solanaceae), a species with a large genome[J]. *The Plant Journal*, 2015, 82(4): 644-654.
- [17] FAJKUS P, PEŠKA V, SITO VÁ Z, *et al.* Allium telomeres unmasked: the unusual telomeric sequence (CTCGGTATGGG)_n is synthesized by telomerase[J]. *The Plant Journal*, 2016, 85(3): 337-347.
- [18] RICHARDS E J, AUSUBEL F M. Isolation of a higher eukaryotic telomere from *Arabidopsis thaliana*[J]. *Cell*, 1988, 53(1): 127-136.
- [19] FOJTOVÁ M, SYKOROVÁ E, NAJDEKROVÁ L, *et al.* Telomere dynamics in the lower plant *Physcomitrella patens*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2015, 87(6): 591-601.
- [20] FAJKUS J, KOVAŘÍK A, KRÁLOVICS R, *et al.* Organization of telomeric and subtelomeric chromatin in the higher plant *Nicotiana tabacum*[J]. *Molecular and General Genetics*, 1995, 247(5): 633-638.
- [21] KOVAŘÍK A, FAJKUS J, KOUKALOVA B, *et al.* Species-specific evolution of telomeric and rDNA repeats in the tobacco composite genome[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1996, 92(8): 1108-1111.
- [22] SHAKIROV E V, SHIPPEN D E. Length regulation and dynamics of individual telomere tracts in wild-type *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2004, 16(8): 1959-1967.
- [23] RESCALVO-MORALES A, MONJA-MIO K M, HERRERA-HERRERA G, *et al.* Analysis of telomere length during the organogenesis induction of *Agave fourcroydes* Lem and *Agave tequilana* Weber[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2016, 127: 135-143.
- [24] ARONEN T, RYYNÄNEN L. Silver birch telomeres shorten in tissue culture[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2014, 10(1): 67-74.
- [25] SHAY J W, WRIGHT W E. Hallmarks of telomeres in ageing research[J]. *The Journal of Pathology*, 2007, 211(2): 114-123.
- [26] FLANARY B E, KLETETSCHKA G. Analysis of telomere length and telomerase activity in tree species of various life-spans, and with age in the bristlecone pine *Pinus longaeva*[J]. *Biogerontology*, 2005, 6(2): 101-111.

- [27] WANG Y, FEIGON J. Structural biology of telomerase and its interaction at telomeres[J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2017, 47: 77–87.
- [28] SYKOROVÁ E, FAJKUS J. Structure–function relationships in telomerase genes[J]. *Biology of the Cell*, 2009, 101(7): 375–406.
- [29] DOKLÁDAL L, HONYS D, RANA R, *et al.* cDNA library screening identifies protein interactors potentially involved in non-telomeric roles of *Arabidopsis* telomerase[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 985.
- [30] RIHA K, SHIPPEN D E. Telomere structure, function and maintenance in *Arabidopsis*[J]. *Chromosome Research*, 2003, 11(3): 263–275.
- [31] OSTERHAGE J L, FRIEDMAN K L. Chromosome end maintenance by telomerase[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284(24): 16061–16065.
- [32] LIU D, QIAO N, SONG H, *et al.* Comparative analysis of telomeric restriction fragment lengths in different tissues of *Ginkgo biloba* trees of different age[J]. *Journal of Plant Research*, 2007, 120(4): 523–528.
- [33] LIU D, ZHANG X, HUA X, *et al.* Dynamic changes of telomeric restriction fragment (TRF) lengths in cells during the developmental process from embryos to seedlings and a comparison with the embryonal calli in *Ginkgo biloba* L.[J]. *Forestry Studies in China*, 2007, 9(2): 127–131.
- [34] SONG H, LIU D, CHEN X, *et al.* Change of season–specific telomere lengths in *Ginkgo biloba* L.[J]. *Molecular Biology Reports*, 2010, 37(2): 819–824.
- [35] 张徐俞, 王瑾瑜, 郑广顺, 等. 四种树木端粒酶活性与树龄及叶位的相关性[J]. *华北农学报*(ZHANG Xu-yu, WANG Jin-yu, ZHENG Guang-shun, *et al.* Analysis of age– and leaf position–associated telomerase activity in four tree species[J]. *Acta Agriculturae Boreali–Sinica*), 2014, 29(Suppl. 1): 197–201.
- [36] SONG H, LIU D, LI F, *et al.* Season– and age–associated telomerase activity in *Ginkgo biloba* L.[J]. *Molecular Biology Reports*, 2011, 38(3): 1799–1805.
- [37] MU Y, REN L, HU X, *et al.* Season–specific changes in telomere length and telomerase activity in Chinese pine (*Pinus tabulaeformis* Carr.)[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2015, 62(4): 487–493.
- [38] MU Y, REN L F, XUN Z L, *et al.* Sex– and season–dependent differences in telomere length and telomerase activity in the leaves of ash and willow[J]. *SpringerPlus*, 2014, 3: 163.
- [39] ARONEN T, RYNNÄNEN L. Variation in telomeric repeats of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.)[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2012, 8(2): 267–275.
- [40] 王钦美, 张志宏, 崔建国. 无性繁殖植株的生理年龄——由端粒长度引发的思考[J]. *林业科学研究*(WANG Qin-mei, ZHANG Zhi-hong, CUI Jian-guo. The physiological age of asexual plants—thinking arise from telomere length[J]. *Forest Research*), 2017, 30(5): 866–870.
- [41] LIANG J, JIANG C, PENG H, *et al.* Analysis of the age of *Panax ginseng* based on telomere length and telomerase activity[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 7985.
- [42] KILIAN A, STIFF C, KLEINHOF S A. Barley telomeres shorten during differentiation but grow in callus culture[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1995, 92(21): 9555–9559.
- [43] ZENTGRAF U, HINDERHOFER K, KOLB D. Specific association of a small protein with the telomeric DNA–protein complex during the onset of leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2000, 42(3): 429–438.
- [44] BROUN P, GANAL M W, TANKSLEY S D. Telomeric arrays display high levels of heritable polymorphism among closely related plant varieties[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1992, 89(4): 1354–1357.
- [45] FAJKUS J, FULNEČKOVÁ J, HULÁNOVÁ M, *et al.* Plant cells express telomerase activity upon transfer to callus culture, without extensively changing telomere lengths[J]. *Molecular and General Genetics*, 1998, 260(5): 470–474.
- [46] HELLER K, KILIAN A, KLEINHOF S A, *et al.* Telomerase activity in plant extracts[J]. *Molecular and General Genetics*, 1996, 252(3): 342–345.
- [47] KILIAN A, HELLER K, KLEINHOF S A. Development patterns of telomerase activity in barley and maize[J]. *Plant Molecular Biology*, 1998, 37(4): 621–628.
- [48] FITZGERALD M S, MCKNIGHT T D, SHIPPEN D E. Characterization and developmental patterns of telomerase expression in plants[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1996, 93(25): 14422–14427.
- [49] JUREČKOVÁ J F, SYKOROVÁ E, HAFIDH S, *et al.* Tissue–specific expression of telomerase reverse transcriptase gene variants in *Nicotiana tabacum*[J]. *Planta*, 2017, 245(3): 549–561.
- [50] FITZGERALD M S, RIHA K, GAO F, *et al.* Disruption of the telomerase catalytic subunit gene from *Arabidopsis* inactivates telomerase and leads to a slow loss of telomeric DNA[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 1999, 96(26): 14813–14818.
- [51] RIHA K, MCKNIGHT T D, GRIFFING L R, *et al.* Living with genome instability: plant responses to telomere dysfunction[J]. *Science*, 2001, 291(5509): 1797–1800.
- [52] 孙丽春, 杨颖, 于婷乔, 等. 沙冬青端粒酶逆转录酶基因(*AmTERT*)克隆及表达分析[J]. *中国细胞生物学学报*(SUN Li-chun, YANG Ying, YU Ting-qiao, *et al.* Cloning and expression analysis of telomerase reverse transcriptase (*AmTERT*) gene from *Ammopiptanthus mongolicus*[J]. *Chinese Journal of Cell Biology*), 2018, 40(7): 1088–1100.
- [53] HWANG M G, CHUNG I K, KANG B G, *et al.* Sequence–specific binding property of *Arabidopsis thaliana* telomeric DNA binding protein 1 (AtTBP1)[J]. *FEBS Letters*, 2001, 503(1): 35–40.
- [54] HONG J P, BYUN M Y, KOO D H, *et al.* Suppression of rice telomere binding protein 1 results in severe and gradual developmental defects accompanied by genome instability in rice[J]. *The Plant Cell*, 2007, 19(6): 1770–1781.
- [55] GALLEGOS M E, JALUT N, WHITE C I. Telomerase dependence of telomere lengthening in *ku80* mutant *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2003, 15(3): 782–789.
- [56] STOLAREK M, GRUSZKA D, BRASZEWSKA–ZALEWSKA A, *et al.* Functional analysis of the new barley gene *HvKu80* indicates that it plays a key role in double–strand DNA break repair and telomere length regulation[J]. *Mutagenesis*, 2015, 30(6): 785–797.

- [57] BYUN M Y, CUI L H, KIM W T. Suppression of *OsKu80* results in defects in developmental growth and increased telomere length in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2015, 468(4): 857–862.
- [58] XIE X, SHIPPEN D E. DDM1 guards against telomere truncation in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell Reports*, 2018, 37(3): 501–513.
- [59] BYUN M Y, CUI L H, LEE H, *et al.* Telomere association of *Oryza sativa* telomere repeat-binding factor like 1 and its roles in telomere maintenance and development in rice, *Oryza sativa* L.[J]. *BMB Reports*, 2018, 51(11): 578–583.
- [60] WATSON J M, RIHA K. Telomeres, aging, and plants: from weeds to Methuselah – a mini-review[J]. *Gerontology*, 2011, 57(2): 129–136.
- [61] ZOU Y, SFEIR A, GRYAZNOV S M, *et al.* Does a sentinel or a subset of short telomeres determine replicative senescence?[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2004, 15(8): 3709–3718.
- [62] WU X, AMOS C I, ZHU Y, *et al.* Telomere dysfunction: a potential cancer predisposition factor[J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 2003, 95(16): 1211–1218.
- [63] SALDANHA S N, ANDREWS L G, TOLLEFSBOL T O. Assessment of telomere length and factors that contribute to its stability[J]. *European Journal of Biochemistry*, 2003, 270(3): 389–403.
- [64] D'ADDA DI FAGAGNA F. Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2008, 8(7): 512–522.
- [65] LIM P O, KIM H J, NAM H G. Leaf senescence[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2007, 58: 115–136.
- [66] KIM M K, KIM W T. Telomere structure, function, and maintenance in plants[J]. *Journal of Plant Biology*, 2018, 61(3): 131–136.
- [67] CHAN S W L, HENDERSON I R, JACOBSEN S E. Gardening the genome: DNA methylation in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2005, 6(5): 351–360.
- [68] XIAO W, CUSTARD K D, BROWN R C, *et al.* DNA methylation is critical for *Arabidopsis* embryogenesis and seed viability[J]. *The Plant Cell*, 2006, 18(4): 805–814.
- [69] OGROCKÁ A, POLANSKÁ P, MAJEROVÁ E, *et al.* Compromised telomere maintenance in hypomethylated *Arabidopsis thaliana* plants[J]. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42(5): 2919–2931.

(上接第 233 页)

- [5] 朱传红, 史绍杏, 王海生, 等. Y-STR 家系排查法的应用原则及注意事项[J]. *中国法医学杂志*(ZHU Chuan-hong, SHI Shao-xing, WANG Hai-sheng, *et al.* Application principles and precautions of Y-STR family investigation method[J]. *Chinese Journal of Forensic Medicine*), 2007, 22(6): 431–432.
- [6] LEE H, CHEN L. Inference of kinship using spatial distributions of SNPs for genome-wide association studies[J]. *BioMed Central Genomics*, 2016, 17: 372.
- [7] CHEUNG E Y Y, PHILLIPS C, EDUARDOFF M, *et al.* Performance of ancestry-informative SNP and microhaplotype markers[J]. *Forensic Science International: Genetics*, 2019, 43: 102141.
- [8] 赵书民, 张素华, 阙庭志, 等. 两个个体间常用亲缘关系指数的统一算法[J]. *法医学杂志*(ZHAO Shu-min, ZHANG Su-hua, QUE Ting-zhi, *et al.* Establishment of universal algorithms for commonly used kinship indices between two individuals[J]. *Journal of Forensic Medicine*), 2011, 5: 330–333.
- [9] 李瑞, 张引娣, 刘奋进. 全基因组关联分析与 PLINK 软件的应用[J]. *中国数字医学*(LI Rui, ZHANG Yin-di, LIU Fen-jin. The application of genome-wide association analysis and PLINK software[J]. *China Digital Medicine*), 2017, 12(3): 44–45, 78.
- [10] MANICHAIKUL A, MYCHALECKYJ J C, RICH S S, *et al.* Robust relationship inference in genome-wide association studies[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(22): 2867–2873.
- [11] KERNIGHAN B W, PIKE R. 程序设计实践[M]. 裘宗燕译. 北京: 机械工业出版社(KERNIGHAN B W, PIKE R. *The Practice of Programming*[M]. Translated by QIU Zong-yan. Beijing: China Machine Press), 2007: 55–62.
- [12] BETTINGER B T. *The Family Tree Guide to DNA Testing and Genetic Genealogy*[M]. New York: Oxford University Press, 2016: 10.6.43–10.6.48.
- [13] 刘京, 季安全, 李彩霞, 等. 法医系谱分析研究进展[J]. *刑事技术*(LIU Jing, JI An-quan, LI Cai-xia, *et al.* Research progress of forensic genealogy analysis[J]. *Forensic Science and Technology*), 2019, 44(3): 189–194.
- [14] 李一风. 基于 Celery 和 Django 的分布式自动化测试系统设计[J]. *信息技术*(LI Yi-feng. Distributed automated testing system based on Celery and Django[J]. *Information Technology*), 2019, 5: 97–100.
- [15] 黄健宏. *Redis 设计与实现*[M]. 北京: 机械工业出版社(HUANG Jian-hong. *The Design and Implementation of Redis*[M]. Beijing: China Machine Press), 2014: 55–62.
- [16] HEYDT M. *Learning Pandas*[M]. 3rd ed. Boston: Prentice Hall, 2017: 11.21.263–11.21.271.
- [17] RENTERIA M E, CORTES A, MEDLAND S E. Using PLINK for genome-wide association studies (GWAS) and data analysis[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2013, 1019: 193–213.
- [18] MOUAT A. *Docker 开发指南*[M]. 黄彦邦译. 北京: 人民邮电出版社(MOUAT A. *Using Docker*[M]. Translated by HUANG Yan-bang. Beijing: Posts & Telecom Press), 2017: 155–185.