

# **El Ying y el Yang de los telómeros: cáncer y envejecimiento**

**María A. Blasco**

Directora del Programa de Oncología Molecular del CNIO.  
Vicedirectora de Investigación Básica del CNIO.  
Jefa de Grupo de Telómeros y Telomerasa.

## **1. PAPEL DE LA TELOMERASA EN LAS CÉLULAS MADRE ADULTAS**

### **1.1. Telómeros**

Los telómeros son unos complejos ribonucleoproteicos situados en los extremos de los cromosomas esenciales para la protección del cromosoma y la estabilidad genómica. Los telómeros consisten de repeticiones en tándem de DNA de una secuencia rica en bases G (TTAGGG en todos los vertebrados) a los que se une un complejo de seis proteínas conocido como «shelterina», que incluye al heterodímero Pot1-TPP1 y a las proteínas de unión al telómero TRF1 y TRF2», así como a sus factores de interacción Rap1 y Tin2 (1).

La cromatina telomérica está enriquecida en las marcas epigenéticas características de la heterocromatina constitutiva, como son la trimetilación de histonas y la hipermetilación del DNA, que actúan como reguladores negativos de la longitud telomérica (2). La cromatina telomérica protege de la degradación al extremo 3' protuberante de cadena sencilla (cadena G protuberante) de los telómeros y evita que estos extremos sean reconocidos y procesados como daño en el DNA (roturas en la doble hebra).

El acortamiento de los telómeros por debajo de un umbral de longitud y/o la funcionalidad alterada de las proteínas de unión a los telómeros resulta en una pérdida de la protección telomérica condu-

cente a fusiones cromosómicas de extremo con extremo y a otras reordenaciones cromosómicas, a la parada del ciclo celular y/o la apoptosis. Otras funciones de los telómeros son el silenciamiento transcripcional de genes situados cerca del telómero (silenciamiento telomérico) así como la segregación adecuada durante la mitosis.

## 1.2. Telomerasa

Durante la división celular los telómeros pierden progresivamente las repeticiones TTAGGG como consecuencia de la replicación incompleta de los cromosomas lineales por las DNA-polimerasas, el llamado «problema de la replicación de los extremos». Existe una actividad enzimática, denominada telomerasa, que es capaz de compensar la pérdida de repeticiones teloméricas, asociadas a división celular, mediante la adición de novo de repeticiones TTAGGG a los extremos de los cromosomas (3). La telomerasa es un complejo ribonucleoproteico compuesto por una subunidad catalítica con actividad de transcriptasa en reverso (Tert), un componente de RNA (Terc) que sirve como molde para la síntesis de DNA y la proteína diskarina (Dkc1) que se encarga del ensamblaje entre Tert y Terc. La telomerasa tiene actividad transcriptasa reversa y tiene la capacidad de compensar el acortamiento telomérico mediante la síntesis de repeticiones teloméricas (TTAGGG) en los extremos de los cromosomas, utilizando el componente Terc como molde.

La expresión de la telomerasa se encuentra restringida al desarrollo embrionario, así como a los compartimentos de las células madre adultas (4). Sin embargo, la actividad telomerasa en estos tejidos no es suficiente para prevenir el acortamiento telomérico con la edad.

Las mutaciones tanto en los diferentes componentes de la telomerasa (Tert, Terc y Dkc1), así como en alguno de los componentes de «shelterina» (TRF1 y Tin2) se han asociado genéticamente a ciertas enfermedades humanas raras como diskaratosi congénita, anemia aplásica y la fibrosis pulmonar (5-8). Estas enfermedades están asociadas a la disfunción telomérica y por tanto se caracterizan por presentar fallos en la capacidad regenerativa tisular (como de la médula ósea) e hiperpigmentación severa de la piel.

### 1.3. Modelo de ratón deficiente en telomerasa

La generación de un modelo de ratón deficiente en telomerasa (ratones *knock-out* para Terc) permitió demostrar por vez primera que la telomerasa mantiene los telómeros en los organismos y que tiene un impacto directo tanto en cáncer como en envejecimiento. Así, las células deficientes en telomerasa muestran un acortamiento acelerado de los telómeros que conduce a fusiones cromosómicas de extremo con extremo (9-12). Los ratones deficientes en telomerasa poseen una vida media más corta que se reduce a medida que transcurren las generaciones. Además, desarrollan prematuramente ciertas patologías asociadas a la edad y su comienzo se puede «anticipar» en las generaciones siguientes (al igual que las enfermedades humanas de disfunción telomérica). Por último, los ratones deficientes en telomerasa muestran resistencia al cáncer, validando a la telomerasa como una prometidora diana para terapias antitumorales (13).

### 1.4. Telomerasa en las células madres adultas

El modelo de ratón deficiente en telomerasa nos ha permitido también establecer el impacto que tiene la telomerasa en la funcionalidad de las células madre adultas: ésta está impedida en los ratones con telómeros críticamente cortos (como es el caso en la generación G3 del *knock-out* en telomerasa). La movilización de las células madre de la epidermis de estos ratones en respuesta a estímulos mitogénicos es notoriamente menor que la de los ratones silvestres (14). Esta movilización disminuida anticipa una mayor resistencia al cáncer y unos fenotipos de envejecimiento en los ratones deficientes en telomerasa. Un punto de control dependiente de p53 en la ruta de señalización del daño en el DNA es el responsable de que se encuentre impedida la contribución de las células madre a la regeneración epitelial en los ratones deficientes en telomerasa ya que la abrogación de p53 en estos ratones (ratones doblemente deficientes en telomerasa y p53) rescata las deficiencias observadas en las respuestas al tratamiento con estímulos mitogénicos: la longitud del folículo piloso y el grosor de la epidermis interfolicular son mayores en los ratones doblemente deficientes que en los ratones sólo deficientes en telomerasa (15).

### **1.5. Papel de los telómeros en cáncer y envejecimiento: un modelo**

Hemos propuesto un modelo basado en las células madre para explicar el papel que desempeñan los telómeros en los procesos de cáncer y de envejecimiento. Los compartimentos (nichos) donde se albergan las células madre están enriquecidos en células con los telómeros más largos. En los ratones jóvenes o adultos, se pueden reparar las lesiones tisulares mediante la activación de las células madre que se movilizan desde sus nichos hacia la lesión. Durante este proceso el acortamiento telomérico concomitante a la división celular en las células madre se contrarresta mediante la telomerasa. A medida que los ratones van envejeciendo los telómeros de las células madre también se van acortando progresivamente y cuando los ratones son viejos los telómeros de las células madre se reducen a una longitud crítica y son reconocidos como daño en el DNA. Por tanto, se activa una respuesta de señalización de daño en el DNA mediada por p53 que impide que las células madre se movilicen desde sus nichos incapacitando la regeneración y provocando el envejecimiento de los tejidos. La adquisición de mutaciones que reactivan la telomerasa en combinación con mutaciones en supresores tumorales y/o oncogénicas resultan en la aparición de tumores. Así, en estas condiciones, los telómeros de las células madre no se acortan y se instauraría un régimen de movilización constante provocando la aparición y crecimiento de tumores (16).

## **2. EXTENSIÓN DE LA LONGEVIDAD MEDIANTE LA TELOMERASA**

Tanto la vida media como la vida máxima se reducen en las generaciones sucesivas de los ratones deficientes en telomerasa. Esta disminución en la longevidad con el aumento de las generaciones de ratones deficientes en telomerasa se correlaciona con un acortamiento progresivo en la longitud telomérica. La telomerasa es, por tanto, un factor determinante en la longevidad de los ratones.

Nos preguntamos qué efecto causaría en la longevidad de los ratones la sobreexpresión de la telomerasa, resultaría en una exten-

sión de la longevidad y en qué medida. Para poder responder adecuadamente a la pregunta anterior es necesario tener en cuenta una serie de consideraciones previas al abordaje experimental. Por un lado, la ausencia de telomerasa resulta en un envejecimiento prematuro y también en una menor aparición de cáncer, y, por otro lado, en los ratones en los que se sobreexpresa la telomerasa en los epitelios se había observado una atenuación en los fenotipos de envejecimiento pero también una mayor incidencia de cáncer. Para contrarrestar el efecto pernicioso de promoción de la tumorigénesis generamos un ratón en el que la sobreexpresión constitutiva de la telomerasa se produce en un contexto genético de resistencia aumentada al cáncer mediante la sobreexpresión de los supresores tumorales p53, p16 y p19ARF, el ratón SUPER-M. En los ratones SUPER-M se disociarían los efectos de la telomerasa en cáncer y en envejecimiento y permitir evaluar el papel de la telomerasa en el envejecimiento y estado de forma de los ratones.

## **2.1. Ratones SUPER-M**

La caracterización de los ratones SUPER-M mostró que en éstos la aparición de cáncer está sensiblemente retardada, mientras que en los ratones silvestres se detectaban cánceres a las 110 semanas de vida (y antes en los que sobreexpresan telomerasa) en los ratones SUPER-M los tumores aparecían a las 145 semanas (17).

La edad de aparición de lesiones degenerativas también está retardada en los ratones SUPER-M. En estos ratones los síntomas de envejecimiento también están atenuados, por ejemplo, los niveles de grasa subcutánea en los ratones jóvenes y los viejos son muy similares mientras que en los ratones silvestres el espesor de la capa de grasa subcutánea de los viejos es siete veces menor que la de los jóvenes. Asimismo, los ratones SUPER-M presentan un menor envejecimiento de la piel, tienen mejor piel y pelaje a edades avanzadas que los ratones silvestres.

El envejecimiento orgánico de los ratones SUPER-M es también menor, así el estado de forma neuromuscular está mejorado tanto en los ratones jóvenes como en los viejos. Todos los ratones SUPER-M superaron con éxito el ensayo de coordinación neuromuscular, mien-

tras que en los ratones silvestres no todos los jóvenes pasaron con éxito el ensayo anterior y más de la mitad de los viejos no superaron la prueba. La tolerancia a la glucosa también está mejorada en los ratones SUPER-M, es tres veces mejor en éstos que en los ratones silvestres. La longitud de los telómeros de los ratones SUPER-M es mayor que la de los silvestres y esta diferencia es muy acusada en los ratones viejos. Asimismo, los ratones SUPER-M viejos presentan niveles de daño en el DNA telomérico menores que los observados en los ratones silvestres viejos.

Por último, constatamos que la telomerasa extiende el periodo de vida en los ratones SUPER-M. Así, la vida media de los ratones SUPER-M es un 40 por 100 superior a la de los silvestres. Además, cuando se toman en cuenta únicamente aquellos ratones que no han desarrollado cáncer, la vida media se incrementa hasta un 50 por 100. Es de destacar que hasta la fecha los mejores resultados de aumento de la longevidad, conseguidos mediante restricción calórica, alcanzaban una extensión del 30 por 100. Por tanto, la sobreexpresión de la telomerasa en condiciones de resistencia al cáncer es el mejor efector anti-envejecimiento descrito hasta ahora.

### **3. REJUVENECIMIENTO DE LOS TELÓMEROS DURANTE LA GENERACIÓN DE CÉLULAS MADRE PLURIPOTENTES INDUCIDAS (CMPI o IPS)**

La obtención de células madre pluripotentes a partir de células diferenciadas constituye un objetivo primordial en el desarrollo de terapias celulares individualizadas. Estas células proporcionarían una fuente ilimitada de células capaces de generar todo tipo de tejidos con la ventaja de que al proceder del mismo individuo se evitaría el rechazo en las terapias de trasplante. La primera estrategia desarrollada para la reprogramación nuclear se basaba en el trasplante nuclear procedente de una célula somática en oocitos enucleados (18). Recientemente, se ha logrado generar células madre pluripotentes inducidas (CMPI) a partir de células diferenciadas mediante la introducción de cuatro factores de transcripción, Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc (19, 20). Este último, no obstante, se ha demostrado ser dispensable en la obtención de CMPI.

Como se ha mencionado anteriormente, los telómeros se acortan a medida que aumenta la edad, contribuyendo así al envejecimiento de los órganos mediante la limitación de la capacidad proliferativa de las células madres adultas. Aunque la actividad telomerasa está aumentada en las CMPi, tanto de humanos como de ratones, se desconocía si los telómeros se re-alargaban y si la cromatina telomérica adquiriría las mismas características que en las células madre embrionarias (CME).

La reprogramación de la cromatina telomérica puede acontecer en varios contextos: que telomerasa no sea necesaria para el alargamiento de los telómeros, que haya una cooperación entre la telomerasa y los mecanismos basados en recombinación o que, por último, el alargamiento de los telómeros durante la reprogramación dependa completamente de la actividad telomerasa (21). Hemos mostrado que los telómeros de las CMPi se alargan dramáticamente con respecto a los de las células parentales diferenciadas. Dicho alargamiento se produce independientemente de la presencia o no de cMyc. Además, la obtención de CMPi fue igual de eficiente cuando las células de partida provenían tanto de individuos viejos como de los jóvenes. Demostramos pues que los telómeros rejuvenecen de forma eficiente durante la reprogramación nuclear. Este alargamiento de los telómeros continúa pos-reprogramación hasta alcanzar la longitud de los telómeros de las CME. El hecho de que los telómeros no se alargasen en la reprogramación de células deficientes en telomerasa claramente demuestra que el alargamiento telomérico es mediado exclusivamente por la actividad telomerasa.

Hemos mostrado también que los telómeros de las CMPi adquieren las marcas epigenéticas de los telómeros de las CME, entre ellas una densidad baja de histonas H3K9 y H4K20 trimetiladas y que en las CMPi se produce una pérdida de silenciamiento telomérico y un aumento en la abundancia de los TERRA (transcritos teloméricos) (21).

La eficiencia de reprogramación en células derivadas de generaciones crecientes de ratones deficientes en telomerasa muestran una disminución dramática en la eficiencia de generación de CMPi, defecto que se anula mediante la reintroducción de la telomerasa. Asimismo, hemos observado que para la generación de CMPi se necesita un mí-

nimo de longitud telomérica. De hecho, cuando se emplean células provenientes de la generación G3 de ratones deficientes en telomerasa la reprogramación se ve impedida, indicando la existencia de un umbral de longitud telomérica mínima para la obtención de CMPi.

#### **4. p53 ES UN FACTOR CLAVE QUE LIMITA LA REPROGRAMACIÓN**

El hecho de que las células con los telómeros cortos no son susceptibles de reprogramación, probablemente indica la existencia de unas «barreras de reprogramación» que abortan la reprogramación de células subóptimas con telómeros desprotegidos o disfuncionales. Una hipótesis plausible se basa en que la baja eficiencia de reprogramación se debía a la presencia de lesiones en el DNA de las células de partida. Hemos demostrado que p53 es un factor clave que limita la reprogramación de células subóptimas, aquéllas que portan diferentes tipos de daño en el DNA, como son los telómeros cortos, las deficiencias en los sistemas de reparación del DNA (células deficientes en ATM y 53BP1), o el daño en el DNA inflingido exógenamente (células irradiadas).

La reprogramación en presencia de daño preexistente, pero tolerado, en el DNA se aborta mediante la activación de la respuesta al daño en el DNA (DDR) y la apoptosis dependientes de p53. La abrogación de p53 permite una reprogramación eficiente en células que portan un daño persistente en el DNA y aberraciones cromosómicas. Hemos observado que durante la reprogramación las células aumentan su intolerancia a los diferentes tipos de daño en el DNA y que p53 es crítica para evitar la generación de CMPi a partir de células parentales subóptimas (22). Por último, dado que ciertos factores de reprogramación promueven la tumorigénesis *in vivo*, es tentador proponer que la DDR observada en los cultivos de células deficientes en p53 pudiera ser equivalente a la DDR inducida por oncogenes que acontece en el contexto de la transformación maligna. En ambas situaciones, reprogramación y transformación, p53 es crítica para controlar la diseminación de las células dañadas.

Nuestros resultados destacan la importancia de la biología de los telómeros en la generación y la funcionalidad de las CMPi, y tienen



implicaciones importantes en la translación clínica de la tecnología de las CMPi, particularmente en pacientes aquejados de telopatías.

## **5. IMPORTANCIA EN CÁNCER Y ENVEJECIMIENTO DE LA CANCELACIÓN DE LA RESPUESTA AL DAÑO EN EL DNA (DDR) EN LOS EXTREMOS DE LOS CROMOSOMAS**

### **5.1. El complejo de «shelterina»**

Las repeticiones TTAGGG de los extremos de los cromosomas de los mamíferos se asocian con un complejo multiproteico formado por seis proteínas denominado «shelterina». La «shelterina» capacita a las células para diferenciar los extremos naturales de sus cromosomas de las roturas en el DNA, reprime las reacciones de reparación del DNA, y regula el mantenimiento telomérico basado en telomerasa. Los seis componentes de la «shelterina» localizan específicamente en los telómeros, abundan en el telómero a lo largo de todo el ciclo celular y no funcionan en ningún otro lugar del núcleo celular. Adicionalmente, los telómeros también contienen un elevado número de proteínas que no forman parte de la «shelterina» y que, al contrario que las proteínas de «shelterina», también desempeñan funciones no teloméricas.

La especificidad de la «shelterina» por el DNA telomérico se debe al reconocimiento de las repeticiones TTAGGG por parte de tres de sus componentes: TRF1 y TRF2 se unen a la región bicatenaria del DNA telomérico, mientras que Pot1 se une a las repeticiones TTAGGG de la cadena G protuberante. TRF1 y TRF2 reclutan a los otros cuatro componentes de la «shelterina»: Tin2 (un factor que interacciona con TRF1 y TRF2), Rap1, TPP1 y Pot1. Estas dos últimas forman un heterodímero. La «shelterina» forma un complejo estable en ausencia de DNA telomérico.

En las enfermedades raras diskeratosis congénita y anemia aplásica, se han descrito mutaciones en Tin2 y variantes genéticas de TRF1. Estas patologías tienen como rasgo distintivo el cursar con anomalías epiteliales como la hiperpigmentación cutánea, la distrofia de las uñas o la leucoplaquia oral.

## 6. MODELOS DE RATÓN DE DELECCIÓN CONDICIONAL DE LAS PROTEÍNAS DE «SHELTERINA»

### 6.1. Ratones TRF1<sup>ΔΔ</sup>

La delección convencional de TRF1 en ratones produce una letalidad embrionaria muy temprana en el estadio de blastocisto y por este motivo la caracterización del papel de TRF1 en las células diferenciadas había permanecido inabordable.

Para poder estudiar el papel de TRF1 en la biología de los telómeros y en las enfermedades en el contexto de un organismo mamífero hemos generado células y ratones en los que TRF1 ha sido delecionada de forma condicional y específica de epitelio estratificado (ratones TRF1<sup>ΔΔ</sup>K5-Cre) (23). La delección de TRF1 en fibroblastos embrionarios de ratón no produce cambios en la longitud telomérica. Por el contrario, resulta en una rápida inducción de senescencia celular dependiente de p53/RB que es concomitante con la acumulación de abundantes focos de daño en el DNA telomérico. Este daño activa la fosforilación de ATM/ATR y sus efectores aguas abajo las quinasas CHK1 y CHK2, resultando en una parada en el ciclo celular. Las células deficientes en TRF1 muestran también abundantes fusiones teloméricas de extremo con extremo que involucran tanto cromosomas como cromátidas hermanas. Asimismo, se observan abundantes señales multiteloméricas que indican un alto grado de fragilidad cromosómica consecuencia de problemas replicativos en el DNA telomérico (23, 24). Estos resultados demuestran que TRF1 tiene una función protectora frente a las actividades de la respuesta al daño en el DNA (DDR) y facilita la replicación del DNA telomérico.

#### 6.1.1. *Consecuencias de la delección de TRF1 en las células madre adultas*

En consonancia con una disfuncionalidad telomérica severa, los ratones TRF1<sup>ΔΔ</sup>K5-Cre mueren perinatalmente y muestran una aparición temprana de ciertas patologías, entre las que se encuentran hiperqueratosis, incapacidad proliferativa de las células de la capa basilar (grosor y estratificación de piel reducidos) e hiperpigmenta-

ción cutánea. Cabe resaltar también la aparición de lesiones displásicas en epitelios del paladar, del esófago, del estómago no glandular, de la lengua y de la piel. Estas patologías están asociadas al daño en el DNA instigado por la disfuncionalidad telomérica, que induce la activación de las rutas de p53/p21 y p16, que resulta en una parada del ciclo celular *in vivo*. Esta parada en el ciclo celular se manifiesta en una dramática alteración en las propiedades de troncalidad de las células madre epiteliales. Así, el desarrollo morfológico de los folículos pilosos y de las glándulas sebáceas se encuentra totalmente impedido (23).

#### 6.1.2. *Efecto de la abrogación de p53 en los ratones deficientes en TRF1*

Hemos generado ratones que además de ser deficientes en TRF1 carecen de p53, los ratones p53<sup>-/-</sup>/TRF1<sup>ΔΔ</sup>K5-Cre. En éstos, la abrogación de p53 rescata la supervivencia perinatal (los p53<sup>-/-</sup>/TRF1<sup>ΔΔ</sup>K5-Cre alcanzan los cuatro meses de edad), y la funcionalidad de las células madre de la epidermis, pues en los ratones p53<sup>-/-</sup>/TRF1<sup>ΔΔ</sup>K5-Cre crece el pelo y se pierde la hiperpigmentación cutánea (23).

La deficiencia en p53, sin embargo, produce anormalidades epiteliales como la distrofia de uñas y la leucoplaquia oral, que son similares a ciertas patologías características de enfermedades humanas asociadas con mutaciones en componentes de la «shelterina» y/o la telomerasa.

La carencia de p53 también conduce en los ratones p53<sup>-/-</sup>/TRF1<sup>ΔΔ</sup>K5-Cre al desarrollo de carcinomas de células escamosas espontáneos, lo que demuestra que TRF1 actúa como un supresor de tumores mediante la prevención de la inestabilidad genómica.

Nuestros resultados demuestran que la disfuncionalidad de una única proteína telomérica es suficiente para producir un daño telomérico severo y una pérdida de la protección telomérica en ausencia de acortamiento telomérico resultante en un envejecimiento tisular prematuro, la adquisición de aberraciones cromosómicas y el desarrollo de lesiones neoplásicas.

## 6.2. Relevancia de los modelos de ratón deficientes en los componentes de «shelterina»

El modelo anterior es de relevancia porque constituye el primer modelo murino para el envejecimiento inducido por disfunción telomérica en ausencia de un acortamiento telomérico crítico. Este modelo muestra que la desprotección del telómero y una fragilidad telomérica incrementada tienen un impacto en cáncer y envejecimiento en ausencia de acortamiento telomérico. Sugiere también una nueva clase de «telopatías» inducidas por la disfuncionalidad telomérica en presencia de telómeros largos.

En el futuro será de especial interés y relevancia el estudio de la reprogramación en CMPi a partir de células diferenciadas que carecen de alguno de los componentes del complejo de «shelterina». La generación de quimeras a partir de estas CMPi permitirá profundizar en la elucidación de los mecanismos moleculares subyacentes al proceso de reprogramación nuclear.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. de Lange, T. (2005) Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev.* 19: 2100-2110.
2. Blasco, M. A. (2007) The Epigenetic Regulation of Mammalian Telomeres. *Nature Reviews Genetics.* 8: 299-309.
3. Greider, C. W. & Blackburn, E. H. (1985) Identification of a Specific Telomere Terminal Transferase Activity in Tetrahymena Extracts. *Cell.* 43: 405-413.
4. Blasco, M. A. (2005) Telomeres and human disease: aging, cancer and beyond. *Nature Reviews Genetics.* 6: 611-622.
5. Armanios, M. Y.; Chen, J. J.; Cogan, J. D.; Alder, J. K.; Ingersoll, R. G.; Markin, C.; Lawson, W. E.; Xie, M.; Vulto, I.; Phillips, J. A. 3rd, Lansdorf, P. M.; Greider, C. W. & Loyd, J. E. (2007) Telomerase mutations in families with idiopathic pulmonary fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 356: 1317-1326.
6. Mitchell, J. R.; Wood, E. & Collins, K. (1999) A telomerase component is defective in the human disease dyskeratosis congenita. *Nature.* 402: 551-555.
7. Tsakiri, K. D.; Cronkhite, J. T.; Kuan, P. J.; Xing, C.; Raghu, G.; Weissler, J. C.; Rosenblatt, R. L.; Shay, J. W. & Garcia, C. K. (2007) Adult-onset pulmonary fibrosis caused by mutations in telomerase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104: 7552-7557.
8. Vulliamy, T.; Marrone, A.; Goldman, F.; Dearlove, A.; Bessler, M.; Mason, P. J. & Dokal, I. (2001) The RNA component of telomerase is mutated in autosomal dominant dyskeratosis congenita. *Nature.* 413: 432-435.

9. Blasco, M. A.; Funk, W.; Villaponteau, B. & Greider, C. W. (1995) Functional characterization and developmental regulation of mouse telomerase RNA component. *Science*. 269: 1267-1270.
10. Blasco, M. A.; Lee, H.-W.; Hande, P.; Samper, E.; Lansdorp, P.; DePinho, R. A. & Greider, C. W. (1997) Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA. *Cell*. 91: 25-34.
11. Lee, H.-W.; Blasco, M. A.; Gottlieb, G. J.; Greider, C. W. & DePinho, R. A. (1998) Essential role of mouse telomerase in highly proliferative organs. *Nature*. 392: 569-574.
12. Herrera, E.; Samper, E. & Blasco, M. A. (1999) Telomere shortening in mTR<sup>-/-</sup> embryos is associated with a failure to close the neural tube. *EMBO J*. 18: 1172-1181.
13. González-Suárez, E.; Samper, E.; Flores, J. M. & Blasco, M. A. (2000) Telomerase-deficient mice with short telomeres are resistant to skin tumorigenesis. *Nature Genetics*. 26: 114-117.
14. Flores, I.; Cayuela, M. L. & Blasco, M. A. (2005) Effects of Telomerase and Telomere Length on Epidermal Stem Cell Behavior. *Science*. 309: 1253-1256.
15. Flores, I. & Blasco, M. A. (2009) A p53-dependent response limits epidermal stem cell functionality and organismal size in mice with short telomeres. *PLoS One*. 4(3): e4934.
16. Serrano, M. & Blasco, M. A. (2007). Cancer and ageing: convergent and divergent mechanisms. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 8: 715-722.
17. Tomás-Loba, A.; Flores, I.; Fernández-Marcos, P.; Cayuela, M. L.; Maraver, A.; Tejera, A.; Borrás, C.; Matheu, A.; Klatt, P.; Flores, J. M.; Viña, J.; Serrano, M. & Blasco, M. A. (2008) Telomerase reverse transcriptase delays aging in cancer resistant mice. *Cell*. 35: 609-622.
18. Campbell, K. H.; McWhir, J.; Ritchie, W. A. & Wilmut, I. (1996) Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature*. 380: 64-66.
19. Takahashi, K. & Yamanaka, S. (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 126: 663-676.
20. Takahashi, K.; Tanabe, K.; Ohnuki, M.; Narita, M.; Ichisaka, T.; Tomoda, K. & Yamanaka, S. (2007) Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*. 131: 861-872.
21. Marión, R. M.; Strati, K.; Li, H.; Tejera, A.; Schoeftner, S.; Ortega, S.; Serrano, M. & Blasco, M. A. (2009) Telomeres acquire embryonic stem cell characteristics in induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*. 4: 141-154.
22. Marión, R. M.; Strati, K.; Li, H.; Murga, M.; Blanco, R.; Ortega, S.; Fernández-Capetillo, O.; Serrano, M. & Blasco, M. A. (2009) A p53-mediated DNA damage response limits reprogramming to ensure iPS cell genomic integrity. *Nature*. 460: 1149-1153.
23. Martínez, P.; Thanasoula, M.; Muñoz, P.; Liao, C.; Tejera, A.; McNeese, C.; Flores, J. M.; Fernández-Capetillo, O.; Tarsounas, M. & Blasco, M. A. (2009) Increased telomere fragility and fusions resulting from TRF1 deficiency lead to degenerative pathologies and increased cancer in mice. *Genes Dev*. 23: 2060-2075.

24. Sfeir, A.; Kosiyatrakul, S. T.; Hockemeyer, D.; MacRae, S. L.; Karlseder, J.; Schildkraut, C. L. & de Lange, T. (2009) Mammalian telomeres resemble fragile sites and require TRF1 for efficient replication. *Cell*. 138: 90-103.

\* **Información de contacto:**

Dra. María A. Blasco.

Jefa de Grupo de Telómeros y Telomerasa.

Directora del Programa de Oncología Molecular.

Vicedirectora de Investigación Básica.

Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas.

C/ Melchor Fernández Almagro, 3. 28029 Madrid.

e-mail: [mblasco@cniio.es](mailto:mblasco@cniio.es)