

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Kristýna Vadovičová

Evoluce telomerického motivu členovců (Arthropoda)
Evolution of telomeric motif in Arthropods

Bakalářská práce

Vedoucí práce: Mgr. Martin Forman

Praha, 2024

Poděkování

Ráda bych poděkovala svému školiteli Mgr. Martinu Formanovi za vřelý přístup a cenné rady. Dále děkuji své rodině za neustálou podporu a trpělivost.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze,

Podpis

Abstrakt

Na rozdíl od ostatních eukaryot, jsou telomery členovců (Arthropoda), nejpočetnějšího kmene, složeny ze specifického motivu (TTAGG)_n. Tento motiv je v rámci kmene stabilní, přesto docházelo k jeho evoluci a vznikaly alternativní sekvence odvozené od ancestrálního motivu. Diverzita takových motivů byla zjištěna zejména u řádů brouci (Coleoptera), blanokřídlí (Hymenoptera) a polokřídlí (Hemiptera). U mnoha zástupců různých řádů navíc mezi telomerické sekvence transponují TRAS a SART retroelementy. U členovců jsou stále i početné skupiny, jejichž telomery neobsahují TTAGG motiv, avšak jejich stavba nebyla zatím objasněna. Jednou z nich je řád pavouci (Araneae), dále se jedná o některé řády hmyzu. Zajímavou výjimku představuje řád dvoukřídlí (Diptera), kde se vyvinul na telomeráze nezávislý mechanismus prodlužování telomer. Rody *Anopheles* a *Chironomus* mají telomery složené z dlouhých repetic (až 350 bp). *Drosophila melanogaster* spoléhá na mechanismus založený na transpozici retroelementů HeT-A, TART a TAHRE, které jsou specifické pro telomery. Diverzita těchto repetic může být značná i u blízce příbuzných druhů, což může být komplikací pro jejich identifikaci u dosud nestudovaných druhů.

Klíčová slova

Drosophila, hmyz, retroelementy, telomera, (TTAGG)_n

Abstract

In contrast to other eukaryotes, the telomeres of Arthropoda, the most diversified phylum, are composed of a specific motif (TTAGG)_n. The presence of this sequence is conserved within the phylum, yet alternative sequences derived from the ancestral have evolved. Diversity of short motifs has been found especially in the orders Coleoptera, Hymenoptera and Hemiptera. In addition, TRAS and SART retroelements transpose between telomeric sequences in many representatives of different orders. In arthropods, there are still numerous groups whose telomeres do not contain the (TTAGG)_n motif, but alternatives have not been proposed yet. One of them is the order Araneae (spiders), as well as some orders of insects. An interesting exception is the order Diptera, where a telomerase-independent telomere elongation mechanism has evolved. The genera *Anopheles* and *Chironomus* have telomeres composed of long repeats (up to 350 bp). *Drosophila melanogaster* relies on a mechanism based on transposition of the telomere-specific retroelements HeT-A, TART and TAHRE. The diversity of telomeric repeats in Diptera can be considerable even in closely related species, which may complicate the identification of novel telomeric sequences in unstudied species.

Key words

Drosophila, insects, retroelements, telomere, (TTAGG)_n

Obsah

1.	Úvod	1
1.1.	Cíle práce.....	1
2.	Telomeráza.....	1
3.	Stavba a význam shelterinového komplexu.....	2
4.	Evoluce telomerických mikrosatelitových motivů	3
4.1.	Evoluce motivu u členovců (Arthropoda).....	5
4.1.1.	Telomerické motivy u klepítkačů (Chelicerata).....	5
4.1.2.	Absence telomerického motivu u hmyzu.....	6
4.1.2.1.	Subtelomerické motivy u hmyzu	7
4.1.2.2.	Telomerické motivy polokřídělých (Hemiptera)	9
4.1.2.3.	Telomerické motivy blanokřídělých (Hymenoptera).....	9
4.1.2.4.	Telomerické motivy brouků (Coleoptera).....	12
5.	Alternativní prodlužování telomer u dvoukřídělého hmyzu.....	12
5.1.	Stavba telomer u vybraných Nematocera.....	13
5.1.1.	Komáři rodu <i>Anopheles</i> (Culicidae).....	13
5.1.2.	Pakomáři rodu <i>Chironomus</i> (Chironomidae).....	13
5.1.3.	Smutnice <i>Rhynchosciara americana</i> (Sciaridae).....	14
5.2.	<i>Drosophila melanogaster</i> (Drosophilidae).....	15
5.2.1.	Telomerické retroelementy <i>D. melanogaster</i> a jejich stavba	15
5.2.2.	Mechanismus transpozice	17
5.2.3.	<i>D. melanogaster</i> terminin komplex	18
5.2.4.	Telomery dalších druhů rodu <i>Drosophila</i>	20
6.	Závěr.....	21
7.	Seznam literatury	1

Seznam použitých zkratk

ALT	Alternative lengthening of telomeres	Alternativní prodlužování telomer
BLAST	Basic local alignment search tool	algoritmus pro vyhledávání primárních sekvenčních informací
bp	base pair	páry bází
HeT-A	Healing Transposon	
HipHop	HP1-HOAP interacting protein	protein interagující s HP1-HOAP
HOAP	HP1/ Orc associated protein	HP1/Orc asociovaný protein
HP1	Heterochromatin protein 1	Heterochromatinový protein 1
HTT elementy	souhrnné označení pro HeT-A, TART, TAHRE elementy	
kb	kilobase	kilobáze
Moi	Modigliani	
MTV komplex	komplex proteinů Moi, Tea, Ver	
NHEJ	Non-homologous end joining	reparace spočívající v nehomologickém spojení konců
non-LTR	Non-long terminal repeat	retrotranspozony bez dlouhých terminálních repetit
retrotranspony	retrotransposons	
ORC	Origin of recognition complex	
ORF	Open reading frame	Otevřený čtecí rámec
POT1	Protection of telomere 1	Protein ochrany telomer 1
Rap1	Repressor / Activator Protein 1	Represot/aktivátor protein 1
RaTART	TART element <i>Rhynchosciara americana</i>	
RT	Reverse transcriptase	reverzní transkriptáza
SAC	Spindle assembly checkpoint	Kontrolní bod sestavení vřeténka
SART	zkratka vznikla převrácením „TRAS“	
TAHRE	Telomere-Associated and HeT-A-Related Element	Element asociovaný s telomerami a příbuzný s HeT-A
TART	Telomere Associated Retrotransposon	Retrotranspozon asociovaný s telomerami
Tea	Telomere ends associated	Protein asociovaný s konci telomer
TERT	Telomerase reverse transcriptase	Reverzní transkriptáza telomerázy
TIN2	TRF1-and TRF2-Interacting Nuclear Protein 2	Jaderný protein 2 interagující s TRF1 a TRF2
TPP1	Telomere protection protein 1	Protein telomerové ochrany 1
TR, TERC, TER	Telomerase RNA component	RNA komponent telomerázy

TR2	Retrotransposon lineage TR2	Linie retrotranspozonů TR2
TRAP	Telomeric repeat amplification protocol	Protokol amplifikace telomerních repetitiv
TRAS	Telomeric repeat associated sequence	Sekvence související s telomerními repetitivami
TRF1 (ACD)	Telomere repeat binding factor 1 (adrenocortical dysplasia protein homologue)	Faktor vázající telomerní repetitivu 1 (homolog proteinu adrenokortikální dysplazie)
TRF2	Telomere repeat binding factor 2	Faktor vázající telomerní repetitivu 2
UTR	Untranslated region	Nepřekládaný region
U ^{vir}	Unknown element <i>Drosophila virilis</i>	Element neznámého původu u <i>D. virilis</i>
Ver	Verrochio	
Woc	Without children	

1. Úvod

Konce lineárního chromozomu – telomery – mají klíčový význam pro stabilitu genomu eukaryot. Díky telomerám dochází v meióze k upevnění chromozomů k vnitřní jaderné membráně, čímž vzniká bouquet konfigurace, která usnadňuje párování a rekombinaci mezi homologními chromozomy (Zickler a Kleckner, 1998; Harper et al., 2004). Telomery dále hrají roli v topologii jádra (Novo a Londoño-Vallejo, 2013) a regulaci genové exprese (Robin et al., 2014). Jsou klíčové zejména v ochraně chromozomů (tzv. capping funkce) a pro dosyntetizování konců lineárních chromozomů (Blackburn a Szostak, 1984). Při replikaci konců chromozomů není DNA polymeráza schopna plně dosyntetizovat opožďující se vlákno, protože po odstranění primerů již nemá k dispozici 3' hydroxylovou skupinu; po každé replikaci tedy nutně musí docházet ke zkrácení chromozomu. Zkrácením telomer na kritickou mez dochází k senescenci a stárnutí buňky, či jejího přechodu k apoptóze (Wright a Shay, 1992). U většiny živočichů je prodlužování telomer zajištěno aktivitou telomerázy v buňkách ranného embryonálního stádia. Aby nedošlo k degradaci kódující sekvence a ke ztrátě potenciálně důležitých genů, mají chromozomy telomery (Shay a Wight, 2019, citující Watson, 1971; Olovnikov, 1973). Volné zlomy chromozomů jsou pro buňku fatální, neboť vedou k rychlé degradaci DNA. Vyvinula se tedy soustava mechanismů pro jejich detekci a reparaci (Ciccía a Elledge, 2010). Odlišení telomer od volných zlomů, což je klíčovou úlohou telomery pro stabilitu genomu, je mj. zajištěno vazbou ochranných proteinů na telomerické sekvence (Shay a Wright, 2019).

Telomery jsou složeny z tandemově uspořádané krátké sekvence. U člověka mají telomery délku 5-15 kb (Pfeiffer a Lingner, 2013). Pro obratlovce a další skupiny živočichů (Obr. 2) je charakteristická hexanukleotidová sekvence (TTAGGG)_n, označována jako „obratlovčí“ motiv (Meyne et al., 1989). Tento motiv je mezi živočichy vysoce konzervován. Členovci Arthropoda jsou nejpočetnějším živočišným kmenem. Stavba jejich telomerického motivu je jiná než u ostatních eukaryot (Sahara et al., 1999; Vítková et al., 2005). U modelového druhu *D. melanogaster* byly navíc zjištěny zcela unikátní typy dlouhých repetice.

1.1. Cíle práce

Cílem této práce je shrnout poznatky o telomerických motivech členovců. V průběhu rešerše se ukázalo, že největší diverzita telomerických motivů je u hmyzu, zatímco ostatní skupiny jsou nedostatečně prostudované. V práci byl proto kladen důraz hlavně na třídu hmyz.

2. Telomeráza

DNA polymeráza není schopná dokončit replikaci na opožďujícím se vlákne, čímž dochází při každém buněčném cyklu ke zkrácování chromozomů. Tento problém řeší telomery, které enzym telomeráza prodlužuje přidáváním specifické sekvence. Telomeráza je ribonukleoproteinový enzym,

který funguje jako reverzní transkriptáza (Greider, 1996; Cong et al., 2002). Má RNA podjednotku (TR, TER nebo TERC), která slouží jako templát pro reverzní transkripci telomerické sekvence. Dále se skládá z katalytické podjednotky (TERT) a čtyř proteinů – dyskerin, GAR1, NHP2 a NOP10. TERT funguje jako reverzní transkriptáza, která fyzicky prodlužuje telomery na 3' konci. Ke své správné funkci nutně potřebuje TR, která obsahuje templátovou sekvenci. Telomeráza prodlužuje DNA do dostatečné velikosti pro dosyntetizování komplementárního vlákna DNA polymerázou (Cong et al., 2002). Činností telomerázy tak vzniká jednořetězcový 3' přesah, který pak vytváří t-loop (viz kapitola 3). Templátové sekvence TR podjednotky umožňují identifikovat telomerické sekvence v genomických datech (Tornesello et al., 2023).

Telomeráza je aktivní v zárodečných buňkách (Wright et al., 1996). V somatických buňkách, kde není aktivní telomeráza, postupně dojde ke zkrácení telomer na kritickou délku tzv. Hayflickův limit. Tím dojde ke zpuštění buněčných mechanismů podobných jako u poškození DNA, a následnému zastavení dělení buňky – senescenci (Wright a Shay, 1992; Wahl 2001). Telomeráza zůstává aktivní např. v rakovinných buňkách, kterým umožňuje neomezené dělení. Aktivní je cca u 90 % rakovinných buněk, ve zbylých případech se na prodlužování telomer podílejí ALT (alternative lengthening of telomeres) mechanismy založené zejména na rekombinaci (Dilley a Greenberg, 2015).

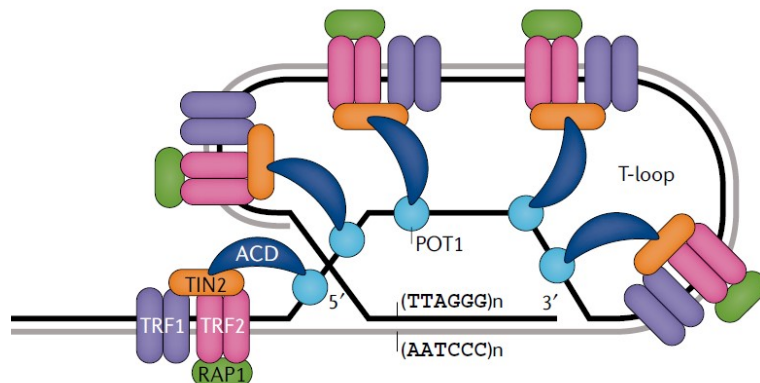
Roli délky telomer lze sledovat i z evoluční perspektivy. Např. netopýři rodu *Myotis* jsou, v poměru k velikosti těla, jedněmi z nejdéle žijících savců a bylo prokázáno, že jejich telomery se zkracují výrazně pomaleji (Foley et al., 2018). Přestože v jejich somatických buňkách není aktivní telomeráza, zdá se, že geny *SETX* a *ATM*, které mají význam v opravě a prevenci poškození DNA, mohou přispívat k udržování délky netopýřích telomer; svou roli by mohl mít i ALT (Foley et al., 2018; Power et al., 2022).

3. Stavba a význam shelterinového komplexu

Telomera také odlišuje konce chromozomů od dvouřetězcových zlomů (Frydrychová a Mason, 2013; Shay a Wright, 2019). S telomerickou sekvencí (TTAGGG)_n interaguje komplex proteinů, souhrnně označovaný jako shelterin. Tento komplex chrání telomery před degradací a umožňuje tvorbu t-loop. Lidský shelterin se skládá ze šesti proteinů – TRF1, TRF2, TIN2, Rap1, TPP1, POT1. Proteiny TRF1, TRF2 a POT1 přímo vážou TTAGGG sekvenci (de Lange, 2005; Zhong et al., 1992; Chong et al., 1995; Lei et al., 2004; Court et al., 2005).

Shelterin určuje strukturu zakončení telomer tím, že se podílí na tvorbě t-loop (Griffith et al., 1999). Telomera má na 3' konci dlouhý jednořetězcový přesah složený z (TTAGGG)_n repetice (Makarov et al., 1997). Tento přesah invaduje dvouřetězcovou část telomery, dochází k vytěsnění G-vlákna a tím vytvoření lariátové struktury – t-loop (Obr. 1). TRF1 a TRF2 mají významnou roli ve tvorbě t-loop (Griffith et al., 1999; Nikitina a Woodcock, 2004). G-bohaté úseky navíc formují

struktury nazývané G-kvadruplexy, kde čtyři guaniny vytvoří planární tvar (G-tetrády). Tři G-tetrády jsou navrstvené na sobě, a tak tvoří stabilní, kompaktní útvar (Bryan, 2020).



Obr. 1: Struktura t-loop přesahující 3' G bohaté vlákno invaduje do dsDNA a páruje s C bohatým vláknem. Telomera je kryta shelterinovými proteiny ACD, adrenocortical dysplasia protein homologue (TPP1); POT1, protection of telomeres 1; RAP1, repressor/activator protein 1; TIN2, TRF1-interacting nuclear factor 2; TRF, telomeric repeat-binding factor. (převzato z Shay a Wright, 2019).

Nechráněné telomery aktivují faktory opravy DNA (Fagagna et al., 2003). Bez shelterinu se mohou chromozomy spojovat svými konci, což by mohlo mít za následek chybnou segregaci chromozomů v anafázi. Fúze konců chromozomů vyžaduje stejné faktory jako NHEJ, shelterin chrání chromozomy před tímto mechanismem tvorbou t-loop (Van Steensel et al., 1998; Celli a de Lange, 2005). Telomery musí být chráněné i před homologní rekombinací. Při t-loop homologní rekombinaci může dojít k delecí velkého segmentu telomerické DNA a vzniku cirkulární DNA o velikosti t-loop (Wang et al., 2004).

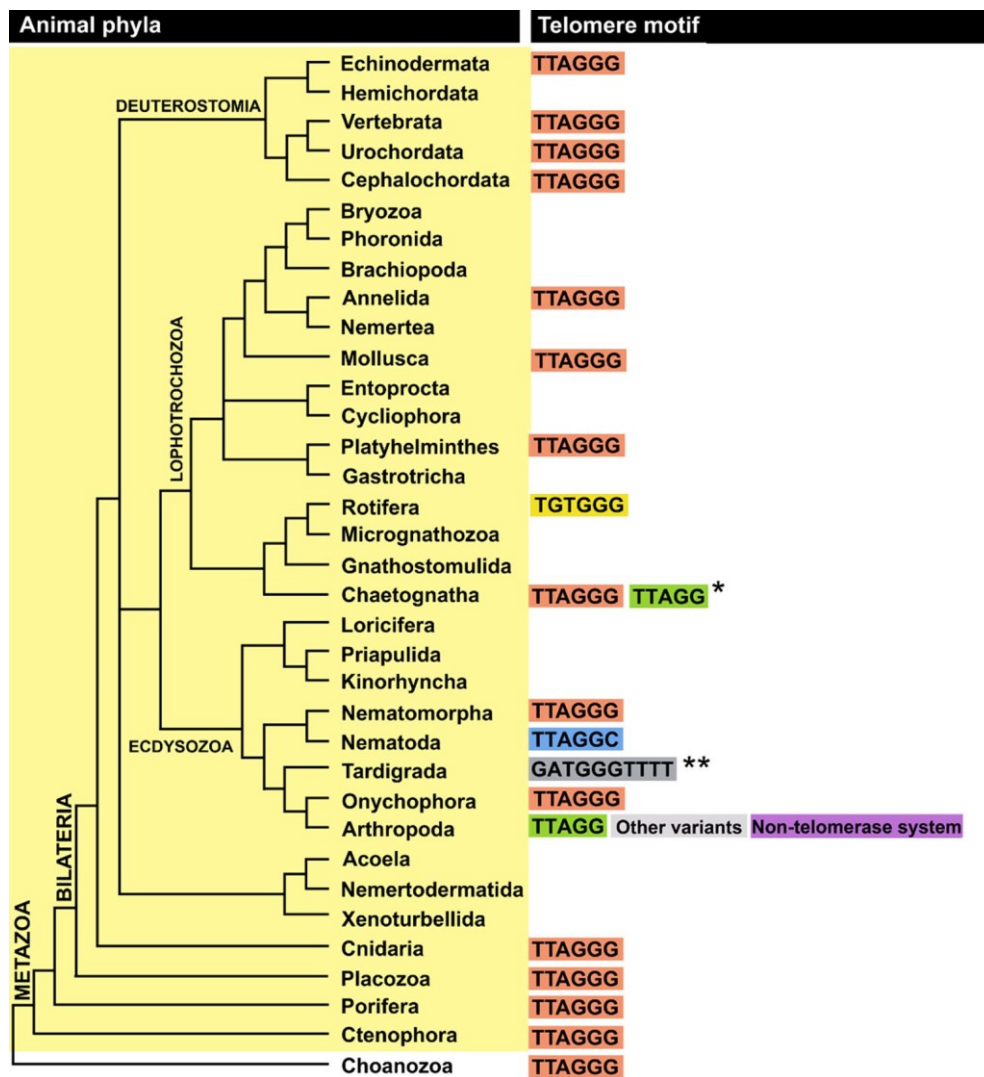
4. Evoluce telomerických mikrosatelitových motivů

U člověka je telomerická sekvence v podobě tandemově uspořádaného hexanukleotidu $(TTAGGG)_n$ (Moyzis et al., 1988). Tento motiv je vysoce konzervovaný u všech obratlovců, a často se vyskytuje i u dalších eukaryot (Obr.2) (např. Meyne et al., 1989; Červenák et al., 2020; Sýkorová et al., 2003; Vitturi et al., 2002; TeloBase, 2023). Spekuluje se, že právě tento „obratlovčí“ motiv je ancestrálním motivem telomer všech bilaterální živočichů (Vítková et al., 2005; Fulnečková et al., 2013).

I přes svou konzervativnost bývá obratlovčí motiv občas nahrazen alternativami. U vyšších rostlin je konzervován telomerický motiv $(TTTAGGG)_n$ (Richards a Ausubel, 1988; Fajkus a Zentgraf, 2002). Tento motiv se nachází i u zelených řas s určitou variabilitou – například i řasy *Chlamydomonas reinhardtii* se vyskytuje oktamer $TTTTAGGG$ (Petracek et al., 1990). Avšak u rodu *Allium* je tato konzervovaná sekvence nahrazena motivem $(TTATGGGCTCGG)_n$ (Fajkus et al., 2016). U hub byl

detekován (TTAGGG)_n motiv, ale skupiny Saccharomycotina a Taphrinomycotina jsou velmi heterogenní v telomerických sekvencích, které mohou být až 20 bp dlouhé (Červenák et al., 2020).

K nahrazení obratlovčího motivu došlo i u některých skupin živočichů. Hlístice (Nematoda) nesou motiv (TTAGGC)_n (Wicky et al., 1996). U druhů *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* a *M. arenaria* je ale tento motiv nahrazen repeticemi o délce 80-100 bp, které jsou G-bohaté. Předpokládá se, že mohou formovat G-kvadruplexy, stabilní útvary, kde čtyři guaniny vytvoří planární tvar (Bryan, 2020). Rovněž u těchto druhů chybí telomeráza, a tak se uvažuje o možnosti, že své telomery prodlužují pomocí ALT mechanismů (Mota et al., 2024). Ploutvenky (Chaetognatha) nesou jak (TTAGGG)_n motiv, tak (TTAGG)_n, tato data jsou ale založena na analýze kolekce tagů exprimovaných sekvencí (Barthélémy et al., 2008). U vířníků (Rotifera) byl identifikován motiv (TGTGGG)_n (Obr.2) (Gladyshev a Arkhipova, 2007). U kmene členovců je konzervován specifický tzv. „hmyzí“ motiv (TTAGG)_n.



Obr. 2: Distribuce telomerických sekvencí u živočichů. *, údaje jsou založeny na analýze kolekce tagů exprimovaných sekvencí. **, údaje vycházejí ze sekvenování genomu. (převzato Frydrychová et al., 2023).

4.1. Evoluce motivu u členovců (Arthropoda)

Členovci (Arthropoda) jsou nejdiverzifikovanějším kmenem živočichů. Ancestrálním motivem je u nich sekvence (TTAGG)_n (Vítková et al., 2005). Tato sekvence byla nalezena i u mnoha zástupců tradičních podkmenů členovců: korýši (Crustacea) a šestinozí (Hexapoda) (recentně řazeni do společného kládu Pancrustacea), i u klepítkačů (Chelicerata) a stonožkvců (Myriapoda) (Obr.2) (Sahara et al., 1999; Vítková et al., 2005; Frydrychová et al., 2004; Noah et al., 2020). Tento telomerický motiv pravděpodobně vznikl z obratlovčího motivu (TTAGGG)_n delecí jednoho nukleotidu (Vítková et al., 2005). Členovci spolu s drápkovci (Onychophora) a želvuškami (Tardigrada) tvoří klád Panarthropoda (Campbell et al., 2011). U drápkovců a želvušek nebyl (TTAGG)_n motiv detekován. Zatímco drápkovci mají „obratlovčí motiv“, u želvušek je předpokládána zcela unikátní sekvence (GATGGGTTTT)_n, která však nebyla prokázána experimentálně. Nicméně je vhodným kandidátem na testování (Vítková et al., 2005; Yoshida et al., 2017).

U parafyletické skupiny korýši byl převážně detekován „hmyzí“ motiv (TTAGG)_n (Salvadori et al., 2012; Cabral-de-Mello a Marec, 2021), u krevety *Penaeus vannamei* byl však zjištěn alternativní motiv (TAACC)_n (Alcivar-Warren et al., 2006). Vzhledem k tomu, kolik početných tříd tato skupina zahrnuje, je distribuce telomerické sekvence korýšů málo prostudovaná. Nízká míra pokrytí druhů je i u stonožkvců, kde byly zkoumány jen dva zástupci: *Julus scandinavus* (Diplopoda) a *Lithobius forficatus* (Chilopoda), kteří oba nesou hmyzí motiv (Vítková et al., 2005).

I přes široké rozšíření motivu u členovců nebyla (TTAGG)_n sekvence prokázána u pavouků a některých skupin hmyzu. U dvoukřídlých (Diptera) dokonce chybí i telomeráza, a tak se vyvinuly jiné mechanismy prodlužování telomer – pomocí homologní rekombinace anebo tandemově uspořádaných retroelementů (Frydrychová et al., 2004; Mason et al., 2011; Mason et al., 2016).

4.1.1. Telomerické motivy u klepítkačů (Chelicerata)

Do podkmene klepítkačů se řadí 12 terestrických řádů (dříve pavoukovci Arachnida) a dva mořské řády (Noah et al., 2020). Rozšíření hmyzího telomerického motivu bylo potvrzeno u jedenácti řádů klepítkačů, mimo pavouků (Araneae) (Vítková et al. 2005; Deschenes et al., 2014). Pavouci jsou významným řádem skupiny Tetrapulmonata, která dále zahrnuje ještě jim sesterskou linii tvořenou řády krabovci (Amblypygi), bičnatci (Uropygi) a krátkochvosti (Schizomida) (Sharma et al., 2014; Ballesteros et al., 2022). Pavouci se dále dělí na dva podřády – vývojově starší Mesothelae a Opisththelae. Do Opisththelae se řadí infrařády Mygalomorphae a Araneomorphae, kde Mygalomorphae jsou bazální skupinou (Kulkarni et al., 2023).

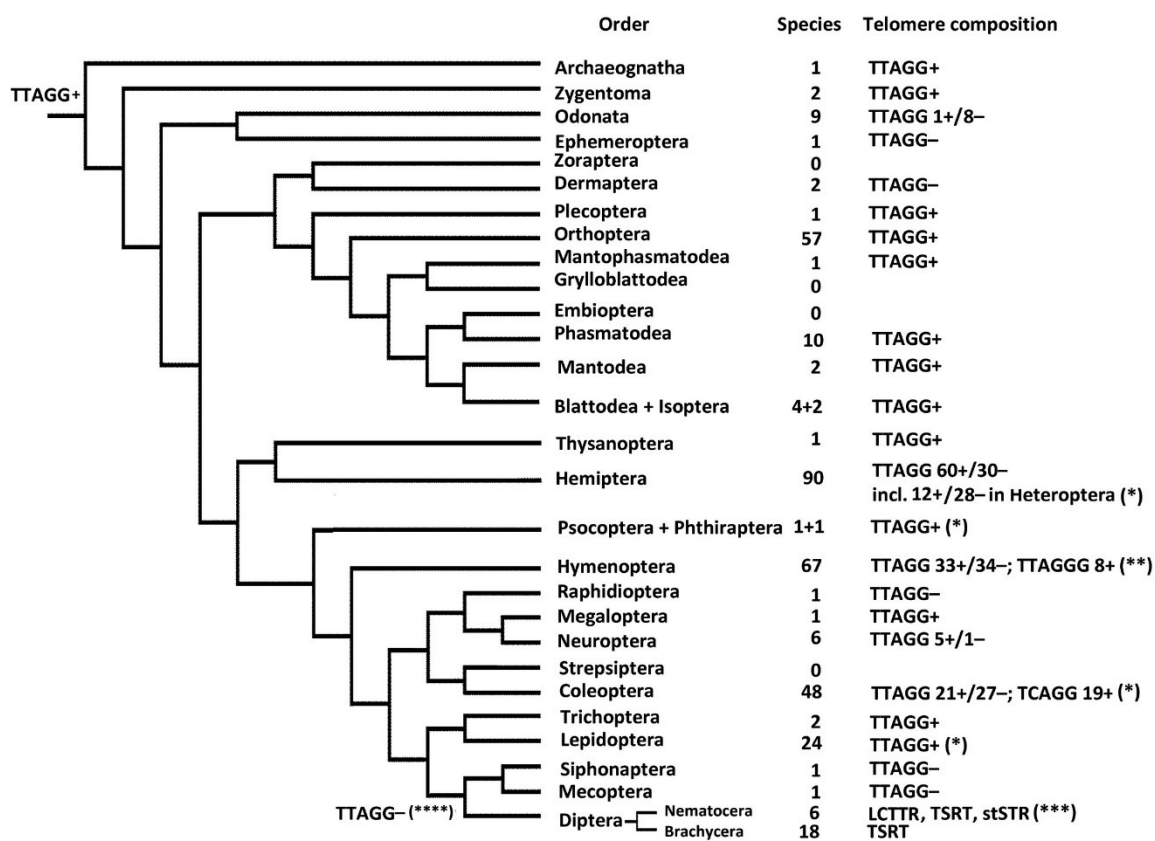
U zástupce řádu Amblypygi (*Damon medius*) byl detekován telomerický (TTAGG)_n motiv (Vítková et al., 2005). Přítomnost o (TTAGG)_n motivu byla potvrzena i u čeledi Charinidae (Reyes Lerma et al., 2021). (TTAGG)_n motiv je konzervovaný i v řádech bičnatci a krátkochvosti (Jiří Král,

osobní komunikace). Naopak chybí u pavouků, a to u zástupců infrařádů Mygalomorphae (sklípkana *Tliltocatl albopilosa*) i Araneomorphae (pokoutníka *Tegenaria ferruginea*) (Vítková et al 2005). Absence (TTAGG)_n sekvence byla prokázána i u zástupců bazálního podřádu Mesothelae (Prokopcová et al. 2018), je tedy společným znakem řádu pavouci. Vzhledem k tomu, že byl motiv detekován u všech sesterských skupin pavouků, je možné, že byl ztracen u předků dnešních pavouků. Negativní výsledky byly i při testování obratlovčího motivu; telomerické sekvence pavouků jsou tedy stále neznámé (Sahara et al., 1999; Vítková et al., 2005).

4.1.2. Absence (TTAGG)_n motivu u hmyzu

Sekvence (TTAGG)_n je konzervována u většiny řádů hmyzu. U bazálních skupin bezkřídlého hmyzu, řádů chvostnatky (Archaeognatha) a rybenky (Zygentoma), je (TTAGG)_n sekvence zachována. To potvrzuje, že TTAGG sekvence je ancestrální telomerický motiv u hmyzu (Frydrychová et al., 2004; Vítková et al., 2005). U pěti řádů nebyl kanonický hmyzí (TTAGG)_n motiv zjištěn: jepice (Ephemeroptera), škvoři (Dermaptera), dlouhošijky (Raphidioptera), srpice (Mecoptera), blechy (Siphonaptera) (Obr. 3) (Okazaki et al., 1993; Frydrychová et al., 2004; Kuznetsova et al., 2020), ale sekvence telomer u nich nebyla doposud navržena. U řádů snovatky (Embioptera), drobnělky (Zoraptera) a cvrčkovci (Grylloblattodea) nebyla přítomnost hmyzího motivu doposud testována. K ztrátě motivu došlo zejména u dvoukřídlých (Diptera). Dále došlo k jeho ztrátě nebo nahrazení u některých polokřídlých (Hemiptera), brouků (Coeloptera), blanokřídlých (Hymenoptera) a vážek (Odonata) (Frydrychová et al., 2004).

V případě Odonata nebyla u většiny zkoumaných zástupců (TTAGG)_n sekvence detekována (Obr. 3), u vážky obecné (*Sympetrum vulgatum*) však byla tato sekvence potvrzena (Kuznetsova et al., 2017). Dá se tedy spekulovat, zda vážky v evoluci TTAGG motiv ztratily a u *S. vulgatum* se jen nezávisle opět vyvinul, nebo jestli je kanonický hmyzí motiv jen v rámci tohoto řádu obtížně detekovatelný. Je i možnost, že motiv byl u *S. vulgatum* zachován a u jiných druhů nahrazen. U příbuzného řádu jepice byla rovněž potvrzena absence hmyzího motivu. Tyto dva řády tak představují zajímavé téma pro zkoumání evoluce telomerických motivů (Frydrychová et al., 2004; Kuznetsova et al., 2017). Recentní genomická data šidélka brvonohého (*Platycnemis pennipes*) poukazují na telomery složené z (TTGGG)_n repeticí, lze tedy předpokládat jistou diverzitu telomerických motivů v řádu (Lukhtanov a Pazhenkova, 2023).



Obr. 3: Distribuce TTAGG sekvence v rámci třídy hmyz. Species, počet studovaných druhů. TTAGG+, kanonický hmyzí motiv je v daném řádu prokázán. TTAGG-, kanonický hmyzí motiv nebyl detekován. TTAGG(číslo)+/-, u kolika druhů byl/nebyl motiv detekován. (*), inserce non-LTR retrotranspozonů. (**), delší repetice vmezeřené mezi (TTAGG)_n. (***), dlouhé komplexní repetice = LCTTR. TSRT, transpozony specifické pro telomery. stSTR, speciální krátké tandemové repetice *R. americana*. (****), předpokládaná ztráta krátkých telomerických repetit (převzato z Kuznetsova et al., 2020). (TTAGG)_n motiv predikován u Strepsiptera (Zhou et al. 2022).

4.1.2.1. Subtelomerické motivy u hmyzu

Hmyzí (TTAGG)_n motiv byl detekován u mnoha zástupců řádu motýli (Lepidoptera) (Rego a Marec, 2003; Yoshido et al., 2005). Bourec morušový (*Bombyx mori*) je významným modelovým druhem řádu motýli; vlákna z jeho kokonů se zpracovávají na hedvábné nitě. Právě u něj byly odhaleny i zajímavé subtelomerické motivy. *B. mori* má telomery složené z kanonické hmyzí repetice. Tyto repetice pokrývají 6-8 kb konce chromozomu (Okazaki et al., 1993). Telomerická repetice formuje židličkový typ (chair-type) G-kvadruplexu, který je tvořen dvěma vrstvami antiparalelních G-tetrád a třemi bočními smyčkami (Amrane et al., 2008). Stejně jako ostatní motýli má *B. mori* holokinetické chromozomy bez jasně lokalizované centromery. Telomerické regiony *B. mori* v meióze figurují jako lokalizované kinetochory (Rosin et al., 2021). Byl identifikován TERT gen pro katalytickou podjednotku telomerázy, který je ale transkribován jen velmi slabě. Někóduje N-terminální GQ motiv, což by mohlo být příčinou nízké aktivity telomerázy (Osanai et al., 2006).

B. mori však nese i dvě skupiny non-LTR retrotranspozonů TRAS (telomeric repeat associated sequence) a SART, které transponují výhradně do telomerických TTAGG repetice (Okazaki et al., 1995; Takahashi et al., 1997). Obě skupiny elementů se řadí do R1 kládu non-LTR retrotranspozonů. R1 klád není fylogeneticky blízký Jockey kládu, do kterého patří telomerické elementy *D. melanogaster* (viz kapitola 5.2.) (Okazaki et al., 1995; Takahashi et al., 1997; Fujiwara et al., 2005; Casacuberta a Pardue, 2003a).

TRAS element má délku 7,8 kb a lze identifikovat 7 různých rodin TRAS (Okazaki et al., 1995; Kubo et al., 2001). SART je dlouhý 6,7 kb a transponuje se v opačné orientaci k TRAS, (označení SART vzniklo převrácením zkratky „TRAS“) (Takahashi et al., 1997). Oba elementy kódují dva vzájemně se překrývající geny: ORF1, který se uplatňuje v importu RNA do jádra, a ORF2, kódující reverzní transkriptázu. Elementy nejsou na 5' konci zkrácené a na telomerách jsou distribuovány náhodně. U *B. mori* se TRAS a SART netransponují do úseku repetice 6-8 kb od konce chromozomu. Transpozony zabírají alespoň 10 Mb DNA na koncích chromozomů (Okazaki et al., 1995; Takahashi et al., 1997; Fujiwara et al., 2005).

Transpozice TRAS a SART začíná transkripcí elementu a následnou translací ORF1 a ORF2 v cytoplasmě (Kojima et al., 2005). ORF1 protein má vliv na import RNA elementu zpět do jádra a je zodpovědný i za nasměrování elementu k telomeře, kde ORF1 váže dvouřetězcový úsek DNA. Endonukleázová doména ORF2 generuje specifické přerušení a reverzní transkriptáza ORF2 následně využije 3' hydroxylovou skupinu jako primer pro reverzní transkripci elementu (Anzai et al., 2001; Fujiwara et al., 2005). SART a TRAS potřebují pro úspěšnou transpozici rozpoznat alespoň tři (TTAGG) repetice a mít dlouhý (20 bp) poly(A) konec (Nichuguti a Fujiwara, 2020). TRAS a SART jsou aktivně transkribovány jak v zárodečných, tak i v somatických buňkách (Takahashi a Fujiwara, 1999).

Osanai et al. (2006) navrhuje, že prodlužování telomer by mohly zajišťovat právě tyto transpozony, protože aktivita telomerázy u *B. mori* byla slabá. Avšak protože TRAS a SART potřebují pro transpozici (TTAGG)_n repetici, má telomeráza stále svůj význam a nemůže být zcela inaktivní.

I u dalších řádů se objevují na telomerách non-LTR retrotranspozony. Například telomery vši *Pediculus humanus* (Phthiraptera) nesou kanonický (TTAGG)_n motiv a SART příbuzné retroelementy (Kirkness et al., 2010). Podobný případ je u řádu chrostíci (Trichoptera), (TTAGG)_n sekvence s inzercemi TRAS elementu (Lukhtanov a Pazhenkova, 2023). Telomery *B. mori*, stejně jako v několika podobných případech, by mohly být analogií pro tranzici k telomerám Diptera (Kuznetsova et al., 2020). Duální mechanismus prodlužování telomer – pomocí telomerázy a non-LTR retrotranspozonů – má často za následek velkou variabilitu v telomerických motivech. Pokud převáží v udržování délky telomer role transpozonů, selekční tlak na zachování struktury telomerického

motivů klesne. Tím může docházet k nukleotidovým substitucím a insercím do RNA templátu telomerázy (Lukhtanov a Pazhenkova, 2023).

4.1.2.2. Telomerické motivy polokřídlých (Hemiptera)

Řád polokřídlí (Hemiptera) se dělí na čtyři podřády – mšicosaví (Sternorrhyncha), křísi (Auchenorrhyncha), Coleorrhyncha, a ploštice (Heteroptera) (Li et al., 2017). U křísů a Coleorrhyncha je (TTAGG)_n motiv zachován (Kuznetsova et al., 2015; Kuznetsova et al., 2020). Mšicosaví nesou kanonickou hmyzí sekvenci, ale u *Diuraphis noxia* sekvence nebyla prokázána (Bizzaro et al., 2000; Monti et al., 2011; Novotná et al., 2011). V případě mšice *Myzus persicae* a kyjatky *Acyrtosiphon pisum* byly prokázány TTAGG repetice. Ty jsou proloženy non-LTR retrotranspozony, které jsou příbuzné TRAS elementu *B. mori* (Monti et al., 2013). U ploštic v infrařádu Pentatomorpha nebyla (TTAGG)_n sekvence detekována (Obr. 3), byly zde ale nalezeny 10 bp dlouhé motivy s insercemi SART elementů (Grozeva et al., 2011; Golub et al., 2023; Lukhtanov a Pazhenkova, 2023).

4.1.2.3. Telomerické motivy blanokřídlých (Hymenoptera)

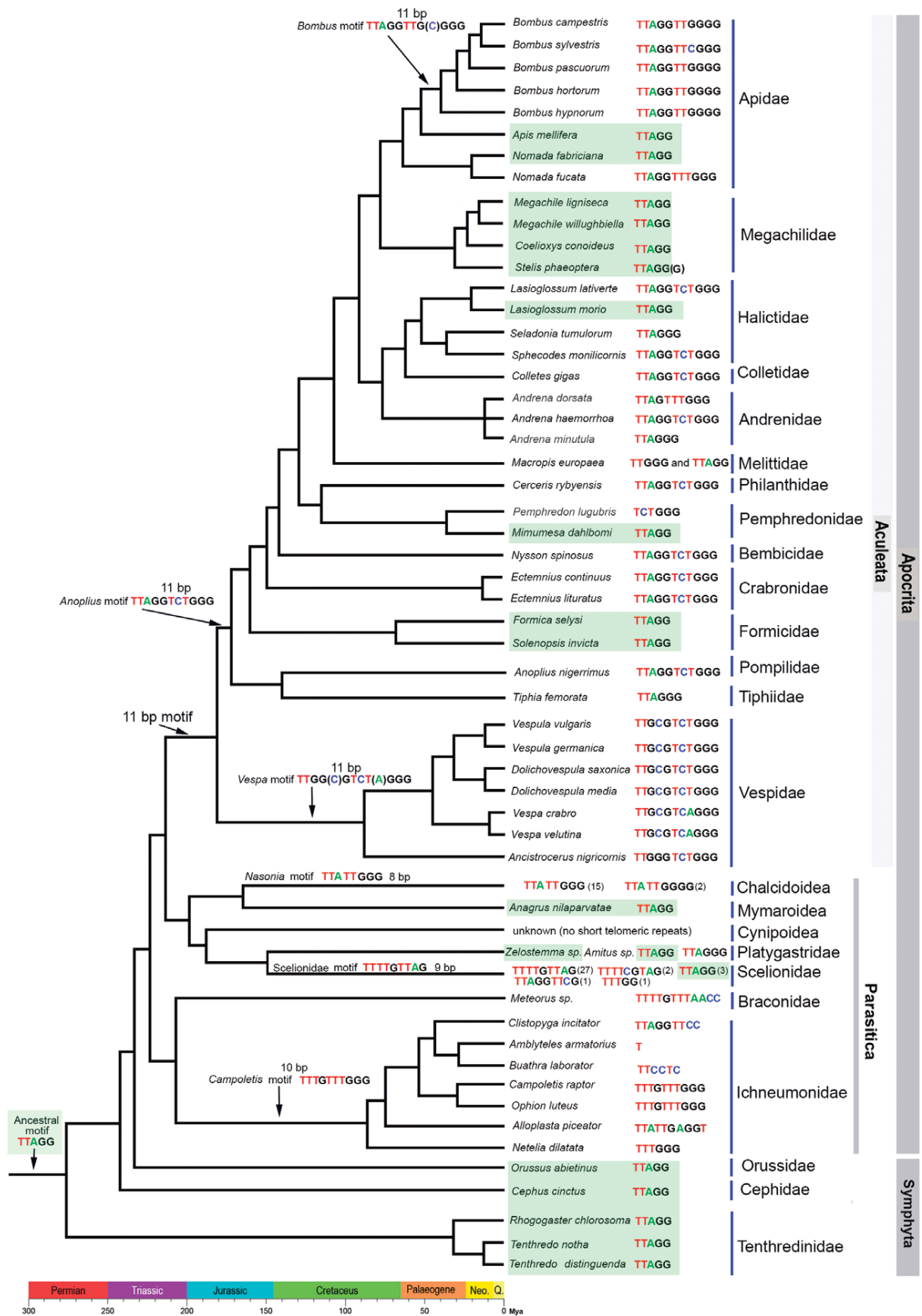
Řád blanokřídlí (Hymenoptera) je dalším z extrémně diverzifikovaných řádů hmyzu. U Hymenoptera došlo opakovaně ke ztrátě TTAGG motivu (Obr. 4) (Menezes et al., 2017). U čeledí pilatkovití (Tenthredinidae), dřevulovití (Orussidae) a bodruškovití (Cephalidae), které dohromady tvoří podřád širopasí (Symphyta), je stále zachován (TTAGG)_n motiv. Podřád širopasí je bazální taxon, proto lze říci, že kanonická hmyzí sekvence (TTAGG)_n byla ancestrálním motivem (Gokham a Kuznetsova, 2018; Zhou et al., 2022; Fajkus et al., 2023).

Podřád štíhlopasí (Apocrita) má rozmanité telomerické sekvence. U čeledí mravencovití (Formicidae) a čalounicovití (Megachilidae) je zachován hmyzí (TTAGG)_n motiv. Ten byl detekován například i u zástupců *Lasioglossum morio* (ploskočelkovití), nomáda červená (*Nomada fabriciana*) a včela medonosná (*Apis mellifera*) (Lukhtanov, 2022; Lukhtanov a Pazhenkova, 2023). Včela medonosná má mezi (TTAGG)_n vmezeřené repetice (až 18 bp). Tyto repetice vznikly amplifikací mutovaných repetit, které se nacházely v subtelomerické oblasti (Robertson a Gordon, 2006; Garavís et al., 2013). U Apocrita jsou časté i delší (8-11 bp) repetice, kde je často prvních 5 nukleotidů TTAGG (popřípadě podobná varianta), s převahou T a G ve zbytku motivu (Lukhtanov a Pazhenkova, 2023). Dominují zde 11 bp dlouhé motivy (Obr. 4). TTAGGTCTGGG sekvence byla detekována nejčastěji konkrétně u zástupců čeledí: pískorypkovití (Andrenidae), Bembicidae, kutilkovití (Crabronidae), ploskočelkovití (Halictidae), Philanthidae a hrabalkovití (Pompilidae). Od tohoto motivu byly odvozené sekvence čeledi sršňovití (Vespidae) (TTGGGTCTGGG, TTGCGTCTGGG a TTGCGTCAGGG) nebo čmeláků (*Bombus*) (TTAGGTTGGGG a TTAGGTTCTGGG) (Lukhtanov a Pazhenkova, 2023). Čmeláci nesou navíc SART elementy, s mezidruhovou homologií 69-80 % (Lukhtanov a Pazhenkova, 2023).

Parazitické vosy (Parasitica) vykazují velkou diverzitu telomerických motivů (Obr. 4). Hmyzí motiv (TTAGG)_n je zachován u čeledi brvuškovití (Mymaridae). U vejcomarovitých (Scelionidae) byl hmyzí motiv rovněž prokázán, ale u většiny zkoumaných zástupců byla detekována (TTTTGTAG)_n sekvence (Fajkus et al., 2023; Lukhantov a Pazhenkova, 2023). V čeledi lumkovití (Ichneumonidae) dominují motivy dlouhé 10 bp (Menezes et al., 2017; Zhou et al., 2022). Kuriozním případem je Lumek ozbrojený (*Amblyteles armatorius*), který má na 3' konci nejjednodušší možný, jednonukleotidový motiv T o délce 306-629 bp (Lukhtanov, 2022).

V rámci nadčeledi chalcidky (Chalcidoidea) převažuje 8 bp dlouhý motiv (TTATTGGG)_n. 9 bp dlouhý motiv (TACTTGGG)_n čeledi drobnělkovití (Trichogrammatidae) vznikl inzercí C do motivu chalcidek. U čeledi fíkovnicovití (Agaonidae) byl detekován stejný 8 bp motiv jako u chalcidek a 9 bp motiv (TTATTGGGG)_n, který vznikl z 8 bp motivu inzercí G. 8 bp motiv se tedy dá považovat za ancestrální u fíkovnicovitých (Zhou et al., 2022). TTAGGTCTGGG motiv je jen v rámci Aculeata (Obr. 4) a nevyskytuje se mimo tuto skupinu, proto pravděpodobně nebude ancestrální pro Apocrita. TTAGG motiv se však vyskytuje v různých fylogenetických liniích Apocrita, a proto se dá považovat za ancestrální motiv u blanokřídlých. 8-11 bp motivy se tedy vyvinuly nezávisle v různých liniích parazitických a bodavých vos a včel (Lukhantov a Pazhenkova, 2023).

Pomocí BLAST a známé sekvence TR z *Apis mellifera* byla detekována podobná sekvence u 35 druhů Hymenoptera, včetně druhů bez kanonického TTAGG motivu (Lukhtanov a Pazhenkova, 2023). U blanokřídlých je gen pro RNA podjednotku telomerázy přepisován RNA polymerázou III a je po kontrolou promotoru typu 3, což mezi živočichy unikátní situace (u Opisthokonta je k přepisu využívána RNAPII) (Fajkus et al., 2023). K přepisu genu TR pomocí RNAPIII dochází u rostlin a dalších Archaeplastida a kládu protist TSAR (Witkin a Collins, 2004; Logeswaran et al., 2021). Tato evoluční změna v biogenezi TR u blanokřídlých zpochybňuje monofyletický původ TR napříč živočichy (Fajkus et al., 2023)



Obr. 4: Diverzita telomerických motivů řádu blanokřídlí. Zeleně zvýrazněný hmyzí motiv $(TTAGG)_n$. (převzato z Lkhantov a Pazhenkova, 2023).

4.1.2.4. Telomerické motivy brouků (Coleoptera)

Řád brouci (Coleoptera) je největším řádem hmyzu s 390 000 druhů (Bouchard et al., 2017). Jsou heterogenní ve výskytu telomerického hmyzího motivu (Obr. 3), který byl u nich opakovaně ztracen. Během evoluce se tak stalo alespoň 5-6krát (Okazaki et al., 1993; Sahara et al., 1999; Frydrychová a Marec, 2002). U řady druhů brouků, kterým chybí hmyzí motiv, není známa přesná telomerická sekvence. S rostoucím počtem druhů v rámci stejné skupiny se zvyšuje i diverzita telomerické sekvence; stáří kládu nemá na tento vztah vliv (Prušáková et al., 2021).

Například u nadčeledi Elateroidea je kanonická (TTAGG)_n sekvence zachována (Frydrychová a Marec, 2002; Prušáková et al., 2021). Alternativní motiv (TCAGG)_n byl prokázán u devíti čeledí nadčeledi Tenebrionoidea – Anthicidae, hubokazovití (Ciidae), majkovití (Meloidae), hrotnatcovití (Mordellidae), Mycetophagidae, stehenáčovití (Oedemeridae), červenáčkovití (Pyrochroidae), Salpingidae a potěmnikovití (Tenebrionidae). Motiv byl potvrzen i u nadčeledi Cleroidea, sesterské skupiny Tenebrionoidea (Mravinac et al., 2011; Prušáková et al., 2021; Lukhantov, 2022). U tří druhů čeledi vrubounovití (Scarabaeidae), chrobáka lesního (*Anoplotrupes stercorosus*) a zobonosky lískové (*Apoderus coryli*) byla detekována sekvence (TTGGG)_n (Prušáková et al., 2021; Lukhantov, 2022). U *Philonthus cognatus* je repetice (TTAGG)_n proložena motivem TTTAGG (Lukhantov, 2022).

Potěmník hnědý (*Tribolium castaneum*) nese (TCAGG)_n sekvenci. Byl u něj identifikován TERT gen kódující katalytickou podjednotku telomerázy. Byla však detekována jen slabá telomerázová aktivita. Do telomerických repetic transponují non-LTR retrotranspozony příbuzné SART rodině elementů *B. mori* (Osana et al., 2006; Richards et al., 2008; Mravinac et al., 2011; Fujiwara, 2013). Inzerce SART elementů byly recentně potvrzeny i u dalších druhů brouků (Lukhantov a Pazhenkova, 2023).

5. Alternativní prodlužování telomer u dvoukřídlého hmyzu

Prodlužování telomer většiny druhů hmyzu je zajištěno telomerázou. Korandová et al. (2014) detekovali telomerázovou aktivitu u brouků, blanokřídlých a termitů. Pomocí TRAP (telomeric repeat amplification protocol) byla detekována telomerázová aktivita u řádů rovnokřídlí, motýli a švábi, ale ne u řádu dvoukřídlí (Sasaki a Fujiwara, 2000). Bylo osekvenováno více než 40 genomů dípter a u žádného z nich nebyl prokázán gen pro telomerázovou reverzní transkriptázu (Fujiwara et al., 2005; Mason et al., 2016). V rámci celého řádu Diptera pravděpodobně došlo v evoluci ke ztrátě (TTAGG)_n motivu a vývoji na telomeráze nezávislého mechanismu prodlužování telomer (Okazaki et al., 1993; Sahara et al., 1999; Sasaki a Fujiwara, 2000).

Řád Diptera (dvoukřídlí) se dělí na dva podřády – Brachycera (krátkorozí) a evolučně nižší Nematocera (dlouhorozí) (Oosterbroek a Courtney, 1995). Největší pozornost se věnovala zejména nematocerním rodům: *Anopheles*, *Chironomus*, *Rhynchosciara* a brachycerním *Drosophila* (viz

kapitola 5.2). Absence (TTAGG)_n motivu byla dále prokázána i u dalších Brachycera: pestřenek *Eristalomya tenax* a *Megaselia scalaris*, roupce *Neoitamus angusticornis*, masašky *Sarcophaga peregrina* a ováda *Tabanus trigonus* (Okazaki et al., 1993; Sahara et al., 1999; Sasaki a Fujiwara, 2000). Lukhantov (2022) recentně potvrdil její absenci v rámci podřádu Brachycera u dalších pěti druhů z čeledí kuklicovití (Tachinidae), očnatkovití (Conopidae), pestřenkovití (Syrphidae) a vláhomilkovití (Sciomyzidae), kde detekoval 173-374 bp dlouhé repetice. Absence hmyzího motivu byla prokázána i u příbuzných řádů: blech (Siphonaptera) a srpic (Mecoptera). Stavba jejich telomer nebyla dosud navržena. To nasvědčuje tomu, že telomeráza i telomerický motiv byly ztraceny přibližně již před 270 miliony let (Frydrychová et al., 2004; Mason et al., 2016).

Absence telomerázové aktivity vedla u Diptera ke vzniku alternativních mechanismů prodlužování telomer. U Brachycera mohou být telomery složené z retroelementů, které zajišťují prodlužování svou transpozicí na konce chromozomů (Mason a Biessmann, 1995; Pardue et al., 1996; Abad et al., 2004). V případě Nematocera jsou to často dlouhé repetice, které mohou udržovat délku telomer pomocí homologní rekombinace (Nielsen a Edstöröm, 1993; Zhang et al., 1994; Roth et al., 1997). Oba tyto procesy nejsou sekvenčně specifické, proto je zde velká mezidruhová variabilita telomerických sekvencí.

5.1. Stavba telomer u vybraných Nematocera

5.1.1. Komáři rodu *Anopheles* (Culicidae)

Komáři rodu *Anopheles* hrají hlavní roli v přenosu malárie, jedné z nejvýznamnějších infekčních nemocí. *A. gambiae* prodlužuje své telomery pomocí rekombinace, tedy mechanismu zcela nezávislém na reverzní transkripci (Roth et al., 1997; Walter et al., 2001). Na telomerách nese komplexní satelitní repetice dlouhé 820 bp (Biessmann et al., 1998). Stavba telomer u jiných zástupců rodu však může být diametrálně odlišná. Compton et al. (2020) detekovali nové telomerické repetice u *A. albimanus*. 30-32 bp dlouhé, tandemově uspořádané repetice jednotlivých chromozomů se od sebe sekvenčně mírně lišily v rámci několika nukleotidů a nebyla nalezena jejich podobnost mezi ostatními dvoukřídlými zástupci. Jakým mechanismem *A. albimanus* prodlužuje své telomery zatím není objasněno.

Celá čeleď komárovití (Culicidae) je málo testovaná co se týče telomerických sekvencí. Stavba telomer komárovitých je tak stále neznámá. Vzhledem k významné roli komárů v přenosu různých infekčních onemocnění, je tato nevědomost překvapující.

5.1.2. Pakomáři rodu *Chironomus* (Chironomidae)

Bylo zkoumáno několik různých zástupců rodu *Chironomus*. Každý z těchto zástupců nese na telomerách dlouhé, komplexní, tandemově uspořádané repetice. Celková délka telomer je kolem

300 kb (Carmona et al., 1985; Saiga a Edström, 1985; Nielsen a Edström, 1993). Délka jedné repetice se pohybuje od 175 bp (*C. thummi*) po 350 bp (*C. tetans*). Telomera každého chromozomu u *C. pallidivittatus* nese různé podrodiny těchto repetic. Značné rozdíly v distribuci těchto podrodin v rámci stejných telomer jsou i mezi jedinci (Cohn a Edström, 1992a). Dá se rozlišit G-bohaté a C-bohaté vlákno, kde G-vlákno je orientované svým 3' koncem ke konci chromozomu, tedy stejně jako orientace G/C vláken u mikrosatelitních telomer (Nielsen a Edström, 1993). Na telomerách ovšem nebyl detekován 3' jednořetězcový přesah (Rosén a Edström, 2002). Tento typ telomerických repetic je na sedmi z osmi konců chromozomů. Chromozom č. 4 je telocentrický, díky absenci p raménka je zakončen kinetochorovými repeticemi, ale byly zde navíc detekovány i subtelomerické repetice (Saiga a Edström, 1985; Rovira et al., 1993; Rosén a Edström, 2000).

Repetice *C. pallidivittatus* je složená z dvou párů podjednotek Ia-Ib a IIa-IIb, které jsou rozdělené linkerovými regiony L1, L2, L3, L4. Repetice je tedy ve tvaru Ia-L1-IIa-L2-Ib-L3-IIb-L4 a je dlouhá 340 bp (Nielsen a Edström, 1993). *C. tetans* nese na telomerách 350 bp dlouhé repetice v podobném tvaru jako *C. pallidivittatus*. Nielsen a Edström (1993) spekulují, že dlouhá repetice u *C. tetans* vychází z úseku krátkých tandemových repetic, které se rozrůžňovaly pomocí série inverzí, vkládání retrotraspozonů a delecí.

Existuje teorie, že *Chironomus* prodlužuje své telomery pomocí rekombinace mezi komplexními, tandemově uspořádanými repeticemi (Cohn a Edström, 1992b; López et al., 1996), repetice telomer u *C. thummi* a *C. pallidivittatus* jsou však transkribovány (Carmona 1985; Saiga a Edström, 1985). Byly detekovány extrachromozomální RNA/DNA hybridy, které mohou představovat intermediáty retrotranspozice (Rosén et al., 2002; Díez et al., 2006). López et al. (1999) identifikovali protein příbuzný reverzní transkriptáze, který asociuje s telomery *C. tetans* a *C. thummi*. Tento protein byl detekován v jadérku (Díez et al., 2006), což bylo dáváno do souvislosti s lokalizací RT komponentu telomerázy v lidském jadérku (Yang et al., 2002). Spekuluje se, že tento protein má vliv na prodlužování telomer u *Chironomus* mechanismem podobným telomeráze (Díez et al., 2006).

5.1.3. Smutnice *Rhynchosciara americana* (Sciaridae)

U smutnice *Rhynchosciara americana* byly nalezeny regiony tandemově uspořádaných repetic, které se svou kratší velikostí lišily od ostatních Diptera. Na koncích chromozomů se nacházely tři repetice: M-22 repetice (22 bp dlouhá), M-16 repetice (16 bp) a T-14 (14 bp) (Rossato et al., 2007; Madalena et al., 2010a; Fernandes et al., 2012). Je možné, že repetice M-22 a M-16 mají stejný evoluční původ, neboť vykazují 56% sekvenční podobnost (Madalena et al., 2010a). T-14 repetice je bohatá na AT a má motiv (T₃AT₇ATG). Její konec TTATG se velmi podobá hmyzímu motivu TTAGG. Je možné, že by T-14 mohla v evoluci vzniknout z hmyzího motivu, tato hypotéza však potřebuje dále objasnit (Fernandes et al., 2012). T-14 se v telomerách vyskytuje méně než M-22 a M-

16 (Fernandes et al., 2012). M-22 repetice byla prokázána i u příbuzného druhu *R. hollaenderi* (Rossato et al., 2007; Madalena et al., 2010a).

R. americana nese i telomerický retroelement RaTART, obašující *pol* a *gag* geny. Na základě struktury *pol* proteinu byl RaTART element zařazen do jockey kládu retroelementů. Gag protein RaTART byl zařazen do skupiny k HeT-A a TART elementům *Drosophila virilis*. Telomery *R. americana* by mohly poskytnout vysvětlení evolučního původu prodlužování telomer pomocí retroelementů u *Drosophila* (viz kapitola 5.2.) (Rezende-Teixeria et al., 2008; Madalena et al., 2010b). Přesný mechanismus udržování délky telomer u *R. americana* nebyl objasněn, nicméně byla detekována potencionálně templátová RNA i přítomnost reverzní transkriptázy v telomerách (Gorab, 2003).

5.2. *Drosophila melanogaster* (Drosophilidae)

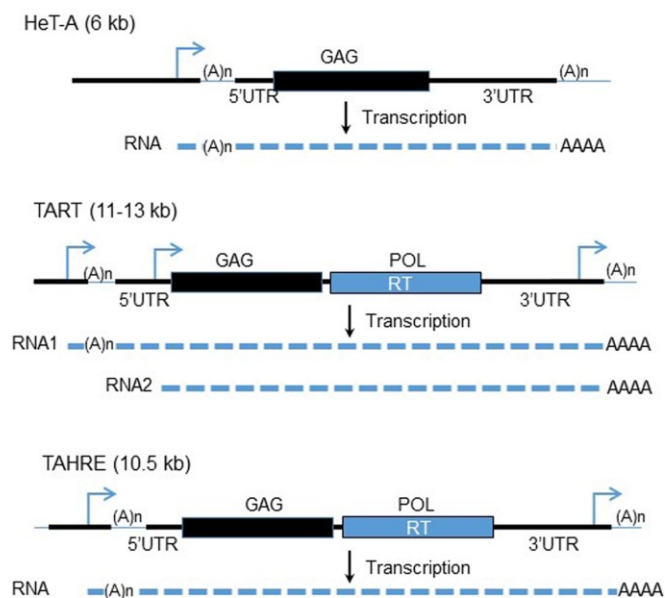
5.2.1. Telomerické retroelementy *D. melanogaster* a jejich stavba

Telomerická repetitivní sekvence (TTAGG)_n nebyla detekována ani u modelového druhu *Drosophila melanogaster* (Okazaki et al., 1993; Sahara et al., 1999). *D. melanogaster* má telomery složené z tandemově uspořádaných retroelementů – HeT-A, TART a TAHRE – souhrnně označované jako HTT (počáteční písmena telomerických elementů) elementy (Obr. 5) (Mason a Biessmann, 1995; Pardue et al., 1996; Abad et al., 2004). Tyto elementy se nachází výhradně v telomerickém heterochromatinu, kam je navádí Gag protein (ORF1), který kódují (George et al., 2006). Většina z nich obsahuje dále ještě *pol* (ORF2) gen, který kóduje reverzní transkriptázu. Všechny tři elementy mají dlouhou 3' nepřekládanou oblast (Mason et al., 2008). HeT-A i TART mají tendenci být na 5' konci zkrácené, jak kvůli neúplné reverzní transkripci, tak kvůli erozi terminální sekvence před přidáním dalšího elementu. Transpozicí elementů vznikají 3' poly(A) konce orientované vždy ke středu chromozomu (Pardue a DeBaryshe, 2003). Délka telomery u *D. melanogaster* se pohybuje kolem 50 kb, což odpovídá přibližně 12 inzercím telomerických elementů (McGurk et al., 2021).

HeT-A element (Healing Transposon) je nejhojněji se vyskytující ze všech telomerických elementů (George et al., 2006; McGurk et al., 2021). Jeho průměrná délka je 6 kb (George et al., 2006; Danilevskaya et al., 1994). Nese gen pro Gag protein (ORF1), *Pol* gen ovšem nemá. Pro svou transpozici musí tedy využít reverzní transkriptázu, která je kódována jinde v genomu (Mason a Biessmann, 1995). HeT-A transkripty mají podobnou distribuci jako TAHRE transkripty. Z toho se usuzuje, že právě TAHRE element poskytuje reverzní transkriptázu HeT-A elementu (Shpiz et al., 2007). HeT-A element má promotor lokalizovaný ve 3' UTR. Tento promotor řídí transkripci sousedícího elementu nacházejícího se downstream v sekvenci (Pardue a DeBaryshe, 2003). Bylo identifikováno pět podrodin – HeT-A, HeT-A1, HeT-A2, HeT-A3, HeT-A5 (Bao et al., 2015; McGurk et al., 2021).

TART element (Telomere Associated Retrotransposon) se vyskytuje vždy méně častěji než HeT-A element (George et al., 2006). Má gen pro gag (ORF1) protein i pol (ORF2) (Mason a Biessmann, 1995). Jeho délka se pohybuje v rozmezí 10-13 kb (Pardue a DeBaryshe, 2008; George et al., 2006). TART element má rovněž promotor ve 3' UTR, který řídí antisense transkripci (Pardue a DeBaryshe, 2003). Byly identifikovány tři podrodiny – TART-A, TART-B, TART-C (Sheen a Levis, 1994; Casacuberta a Pardue, 2005).

TAHRE element (Telomere-Associated and HeT-A-Related Element) se z telomerických elementů v genomu *D. melanogaster* vyskytuje nejméně (Fuller et al., 2010; McGurk et al., 2021). Těž nese geny *gag* a *pol* (Abad et al., 2004). Délka TAHRE elementu je kolem 10,5 kb (Pardue a DeBaryshe, 2008). ORF1, 3' UTR a 5' UTR jsou sekvenčně podobné HeT-A elementu (Abad et al., 2004; Fuller et al., 2010). HeT-A element mohl vzniknout z TAHRE elementu delecí nebo retrotranspozicí sestřižené subgenomové RNA kódující ORF1 (Abad et al., 2004).



Obr. 5: Telomerické non-LTR retrotranspozony *D. melanogaster*. Černé čáry zobrazují DNA vlákna. Modré šipky představují promotory elementů. Černé a modré obdélníky reprezentují gag a pol geny. Čárkované čáry jsou RNA intermediáty elementů. UTR, nepřekládaná oblast; RT, reverzní transkriptáza (převzato z Servant a Deininger, 2016).

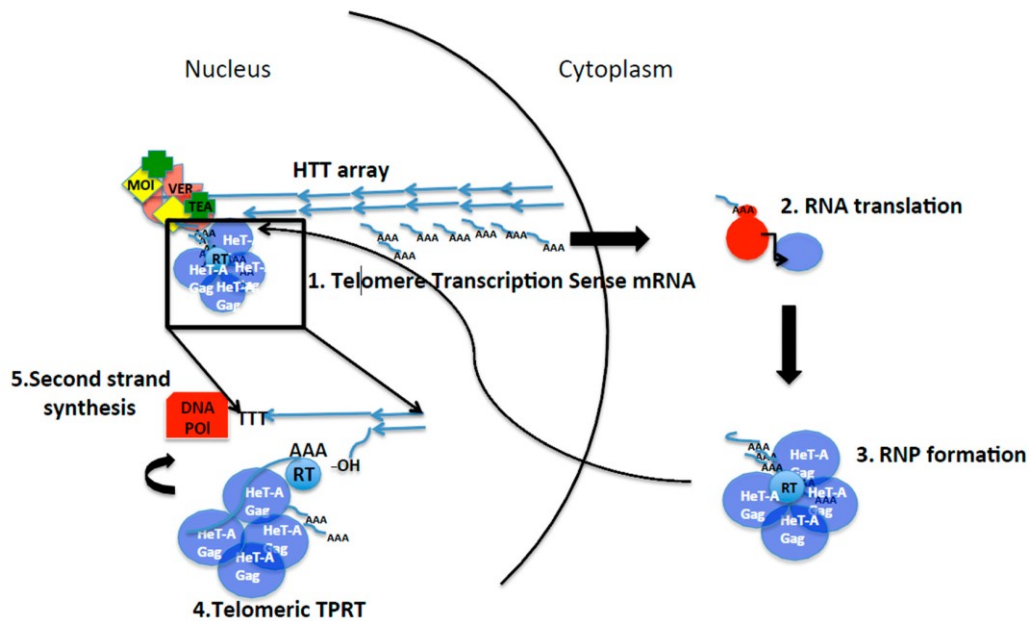
Na základě sekvence kódující reverzní transkriptázu (*pol*) se TART řadí do jockey kládu non-LTR retroelementů (Malik et al., 1999). Pro zařazení HeT-A elementu byla použita sekvence *gag*. Tak byla prokázána homologie HeT-A s TART a dalšími elementy z jockey kládu. Stejně tak i TAHRE element byl zařazen do tohoto kládu. HTT elementy pravděpodobně ještě tvoří podskupinu v rámci jockey kládu (Casacuberta a Pardue, 2003a; Abad et al., 2004). Většina retroelementů se transponuje na mnoho míst v genomu, ale nikdy ne do telomerické sekvence. HTT elementy jsou transponovány výhradně na konce chromozomů. Toto cílení patrně souvisí s Gag proteiny. Gag proteiny

telomerických elementů se dostávají do jádra na rozdíl od Gag proteinů ostatních elementů z jockey kládu, které převážně zůstávají v cytoplazmě (Rashkova et al., 2002; Abad et al., 2004). Dalším rozdílem je, že jak HTT elementy mají velmi dlouhý 3' UTR. Naopak běžné elementy jockey kládu obsahují málo nekódující sekvence (Pardue a DeBaryshe, 2008).

Dosavadní výzkum předpokládal, že HTT elementy jsou uspořádány svým 3' koncem vždy ke středu chromozomu, ale jinak zcela náhodně (Abad et al., 2004; Pardue a DeBaryshe, 2008). McGurk et al. (2021) však přišli s jinou teorií. Pracovali s pěti podrodinami HeT-A elementu (HeT-A, HeT-A1, HeT-A2, HeT-A3, HeT-A5) a třemi podrodinami TART elementu (TART-A, TART-B1, TART-C) a zjistili, že elementy ze stejné podrodiny se mohou vedle sebe vyskytovat častěji. HeT-A a TAHRE elementy jsou střídány náhodně, avšak TART elementy stejné podrodiny se shlukují u sebe a vytvářejí klastry. TART elementy se také vyskytují v sousedství HeT-A nebo TAHRE elementů méně často. To, že jsou HeT-A a TAHRE zpravidla blízko sebe a málokdy sousedí s TART, je následkem toho, že HeT-A element je pravděpodobně závislý na reverzní transkriptáze TAHRE elementu a oba elementy jsou podle všeho přidávány na konec telomery společně (Shpiz et al., 2007; McGurk et al., 2021).

5.2.2. Mechanismus transpozice

Transpozice telomerických retroelementů (Obr. 6) zajišťuje prodlužování telomer u *D. melanogaster*. Nejprve dochází k transkripci elementu, která je řízena 3' promotorem sousedícího elementu nacházejícího se upstream v sekvenci (Obr. 5) (Pardue a DeBaryshe, 2003). Následně RNA transkript opouští jádro a dochází k translaci a vzniku Gag a Pol proteinu. Gag se váže na RNA transkript a navádí jej zpět do jádra ke koncům chromozomů. Jako primer pro reverzní transkripci prvního vlákna podle RNA templátu je využita hydroxylová skupina na 3' konci chromozomu. Nakonec je nasyntetizováno druhé vlákno (Levis et al., 1993; Mason a Biessmann, 1995; Mason et al., 2008).



Obr. 6: Cyklus transpozice telomerických elementů u *D. melanogaster*. Černá zakřivená linie představuje hranici mezi jádrem a cytoplazmou. Černé šipky ukazují jednotlivé kroky cyklu transpozonu. Černý čtverec je zvětšení konce chromozomu. Malé modré linie reprezentují mRNA HeT-A elementu. AAA, poly A konec. Modré šipky zobrazují HeT-A elementy tvořící telomeru. Světle modré kruhy jsou Gag proteiny. Červené kruhy představují ribozom. Červený čtverec reprezentuje DNA polymerázu. OH, 3' hydroxylová skupina. RT, reverzní transkriptáza. Moi, Tea, Ver (MTV) jsou součástí capping komplexu. (převzato z Casacuberta, 2017).

HeT-A Gag protein vytváří sférickou strukturu kolem RNA transkriptu, na jejíž tvorbě se podílí Ver protein (Zhang et al., 2014). Ver protein je součástí MTV komplexu, který má význam v ochraně zakončení telomer. Tento komplex váže ssDNA. Zhang et al. (2016) předpokládají, že telomery *D. melanogaster* končí ss přesahem, protože při replikaci zpoždujícího se vlákna vzniká přesah po odstranění RNA primeru. A také proto, že dosud identifikované enzymy podílející se na zpracování ss přesahů mají své homology i u *D. melanogaster*.

5.2.3. *D. melanogaster* terminin komplex

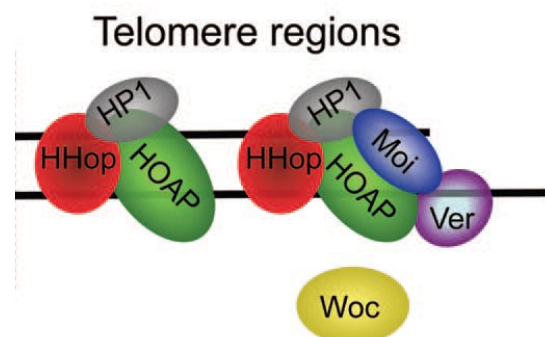
Odlíšná stavba telomerických sekvencí u *D. melanogaster* se odráží i v jiné stavbě telomer. Na rozdíl od člověka (Obr. 1) se u *D. melanogaster* nevytváří t-loop a na stabilizaci konců chromozomů se podílí specifický proteinový komplex terminin (Raffa et al., 2009; Raffa et al., 2010). Telomerické HTT elementy *D. melanogaster* jsou sekvenčně různorodé, proto se terminin váže nezávisle na sekvenci DNA (Zhang et al., 2016; Cenci et al., 2003; Gao et al., 2010).

HP1 (heterochromatin protein 1) má kromě svého významu v ochraně telomer hlavně funkci při formování heterochromatinu (Lomberk et al., 2006). Proto se neřadí mezi proteiny komplexu terminin, hraje však úlohu při jeho formaci. Jeho vazba je zajištěna interakcí s H3-meK9 histonovou modifikací (Perrini et al., 2004).

Terminin zahrnuje proteiny HOAP, HipHop a MTV komplex (Obr. 7). HOAP (HP1/ Orc associated protein) váže HP1 a DNA vazebný komplex ORC (origin of recognition complex) a kóduje jej gen *Carravaggio* (*cav*). Váže se nezávisle na sekvenci na ds DNA (Shareef et al., 2001; Cenci et al., 2003), ale také zabraňuje aktivaci kontrolního bodu SAC (spindle assembly checkpoint) a odpovídi na poškození DNA (Musaro et al., 2008). HOAP má taky svůj význam v udržování délky telomer a regulaci exprese HTT elementů. Právě tato regulační funkce je příčinou rychlého vývoje genu *cav* (Saint-Leandre et al., 2020).

HipHop (HP1-HOAP interacting protein) váže HP1 a HOAP (Gao et al., 2010). HipHop a HOAP sdílí určité charakteristiky s capping komplexem shelterin. Například se vážou na ds DNA, jsou stále přítomny na telomerech a jejich ztrátou dochází k fúzi chromozomů (Gao et al., 2010).

Proteiny Moi (Modigliani), Tea (telomere ends associated) a Ver (Verrochio) spolu vytváří MTV komplex, který je sekvenčně nezávislý a má afinitu k ss úsekům DNA (Zhang et al., 2016). Moi protein interaguje s HOAP a HP1. Moi-HOAP komplex vykazuje několik analogií se shelterinem – akumulují se jedině na telomerech, asociují s telomery celý buněčný cyklus (Raffa et al., 2009). Ver protein váže HOAP a Moi. Ver má OB fold doménu, která je strukturně podobná OB fold doménám Rpa2/Stn1 proteinů (Raffa et al., 2010). Rpa2/Stn1 proteiny jsou součástí CST komplexu, který se u člověka podílí na ochraně telomer (Sun et al., 2009).



Obr. 7: Termin. HP1, heterochromatin protein 1. HOAP, HP1/ Orc associated protein. HHOP (HipHop), HP1-HOAP interacting protein. Woc, without children. Moi (Modigliani) i Ver (Verrochio) proteiny jsou pro svou vazbu závislé na HOAP (Raffa et al., 2010). Tea (telomere ends associated) interaguje s Ver a Moi proteiny, tím s nimi vytváří MTV komplex. Vazba Tea usnadňuje navázání Moi-Ver sub-komplexu na HOAP (Zhang et al., 2016). (převzato z Raffa et al., 2011)

Na ochranu telomer mají vliv i proteiny a geny, které nejsou součástí termininu. Například mutace v genu *effete/UbcD1* vyústí ve fúzi chromozomů (Cenci et al., 1997). Woc (without children) je protein, který interaguje s HP1c a zároveň má význam v regulaci transkripce. Mutace ve Woc taktéž způsobuje fúzi chromozomů (Raffa et al., 2005; Font-Burgada et al., 2008).

5.2.4. Telomery dalších druhů rodu *Drosophila*

D. melanogaster nese tři telomerické retroelementy – HeT-A, TART a TAHRE – kódující gag protein. Druhy blízké příbuzné *D. melanogaster* – *D. sechellia*, *D. simulans* a *D. yakuba* – mají telomery taktéž složené z HeT-A, TART a TAHRE elementů (Obr. 8). HeT-A element *D. yakuba* (HeT-A^{yak}) je sekvenčně odlišný od HeT-A *D. melanogaster* (HeT-A^{mel}), ale zachovává si stejné vlastnosti. Totéž platí i pro TART^{yak}. Všechny tři HTT elementy se tak vyvíjely spolu ještě před rozdělením *D. yakuba* a *D. melanogaster* (Danilevskaya et al., 1998; Casacuberta a Pardue, 2002; Casacuberta a Pardue, 2003b; Villisante et al., 2007; Saint-Leandre et al., 2019).

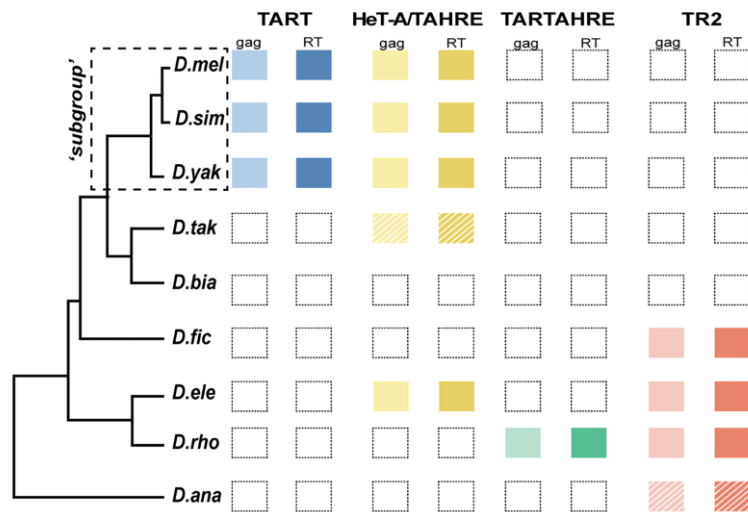
D. virilis nese rovněž HeT-A a TART. HeT-A^{vir} se sekvenčně liší od HeT-A^{mel}, přesto si zachovává charakteristiky pro HeT-A^{mel} typické. *D. virilis* nese navíc element U^{vir}, který má podobné charakteristiky jako HTT elementy. Má dlouhý 3' UTR a jeho 5' UTR je sekvenčně podobný HeT-A^{vir}. Gag gen tohoto elementu byl nahrazen kompletním *pol* genem. Stejně jako ostatní telomerické elementy vyskytující se u *Drosophila* se U^{vir} řadí do jockey kládu. V genomu *D. virilis* byla detekována jen jedna jeho kopie (Casacuberta a Pardue, 2003a).

V případě *D. willistoni* nebyly nalezeny kompletní telomerické HTT elementy z jockey kládu (Villasante et al., 2007). Podobný případ je u blízké příbuzných *D. takahashi*, kde byl detekován jen reziduální TAHRE element, a *D. biarmipes*, jejíž HTT elementy byly ztraceny (Obr. 8). U *D. biarmipes* se však našly DNA transpozony Helitrony a LTR elementy z gypsy rodiny. Mohlo tak dojít k funkčnímu nahrazení telomerických elementů jockey kládu jiným typem mobilních elementů. Žádný Helitron se však nepodařilo izolovat v jeho plné délce. Narozdíl od HTT *D. melanogaster* měly Helitrony i náhodnou 3' a 5' orientaci. Helitrony jsou navíc rozptýlené mezi satelitními sekvencemi SAR a SAR2 (Saint-Leandre et al., 2019; de Lima et al., 2020). Saint-Leandre et al. (2019) předpokládají, že *D. biarmipes* spoléhá u prodlužování telomer na genovou konverzi. Navíc se u *D. takahashii* povedlo izolovat jeden chimerický TAHRE-Helitron, což může představovat přechodný stav k *D. biarmipes* (Saint-Leandre et al., 2019).

D. ananasse kóduje pouze fylogeneticky odlišnou linii retrotranspozonů TR2. TR2 element kóduje *pol* i *gag* a byl potvrzen pouze na koncích chromozomů. TR2 element nesou i *D. rhopaloa*, *D. ficusphila* a *D. elegans*, u posledně jmenované byl zjištěn navíc ještě TAHRE element (Obr. 8). *D. rhopaloa* má vedle TR2 elementu ještě TARTAHRE element, který rovněž nese geny pro gag protein a reverzní transkriptázu. Tento element byl detekován i mimo telomerické oblasti. To může znamenat, že tento element buď ještě nebyl zcela domestikován jako plně telomerický element, anebo se z této domestikace vymanil, a tak transponuje i mimo telomery (Saint-Leandre et al., 2019).

Saint-Leandre et al. (2019) svým výzkumem dokázali, že u druhů rodu *Drosophila* dochází k velmi rychlé diverzifikaci telomerických repetit. Absence celistvého elementu u *D. takahashii* napovídá, že aktivní transpozice nemusí být vždy primárním mechanismem prodlužování telomer

v rámci rodu. Objev druhů, které postrádají aktivní telomerické elementy, poukazuje na možnost prodlužování telomer alternativní třídou telomerických mobilních elementů nebo na mechanismus nezávislý na mobilních elementech.



Obr. 8: Přítomnost a absence telomerických elementů u vybraných druhů *Drosophila*. Pomocí gag konsensus sekvencí byly identifikovány čtyři odlišné linie elementů patřící do jockey kládu: HeT-A/TAHRE, TART, TR2 a TARTAHRE. HeT-A gag je fylogeneticky nerozlišitelný od TAHRE gag, proto ho Saint-Leandre et al. (2019) označují jako HeT-A/TAHRE. TARTAHRE má fylogenetickou pozici mezi TART a TAHRE elementy. Sloupce představují fylogeneticky odlišné linie elementů. Šrafované čáry vymezují prvky, u nichž byla získána pouze degradovaná verze. Gag a RT domény jsou reprezentovány světleji, resp. tmavěji stínovanými rámečky (převzato z Saint-Leandre et al., 2019).

6. Závěr

Na rozdíl od většiny živočichů, kde převažuje na telomerách hexanukleotidový motiv, se u většiny členovců vyskytuje specifická pentanukleotidová repetice (TTAGG)_n. Díky své rozšířenosti je tento motiv považován za ancestrální u členovců i přesto, že se nevyskytuje u blízké příbuzných řádů Tardigrada a Onychophora. Nejvíce studovanou třídou je hmyz. U ostatních tříd členovců jsou telomery poměrně málo prozkoumané, jako například stonožkovci nebo korýši. U vybraných zástupců byl sice telomerický motiv detekován, ale recentní genomické studie u hmyzu upozorňují na to, že samotná přítomnost u jednoho druhu nemusí nutně znamenat jeho přítomnost v rámci celého řádu. Jediný alternativní motiv u členovců (mimo hmyz) byl detekován u krevety *Penaeus vannamei*, a to pentanukleotidová sekvence (TAACC)_n (Alcivar-Warren et al., 2006).

Absence hmyzího motivu byla potvrzena u pavouků (Araneae). V současnosti evidujeme více než 50 tisíc popsaných druhů pavouků (World spider catalog, 2024). Tento řád tak zůstává jednou z posledních velmi početných skupin, kde nejsou žádné údaje o sekvencím složení telomer. Vzhledem k enormní diverzitě členovců je tedy možné, že pavouci nesou jiný telomerický motiv

odvozený od ancestrálního motivu členovců, nebo mají telomery složené podobně jako zástupci dvoukřídlého hmyzu. Telomery pavouků jsou zajímavým tématem pro další studium.

Telomerický motiv (TTAGG)_n je široce rozšířen u hmyzu. Zejména v posledních letech se však objevila nečekaná diverzita telomerických motivů mezi různými řády. Největší diverzita motivů v rámci třídy hmyz je u blanokřídlých, polokřídlých a brouků, jejichž zástupci mohou nést motivy dlouhé až 11 bp (Prušáková et al., 2021; Lukhantov a Pazhenkova, 2023). U mnoha řádů hmyzu jsou ale údaje o telomerách velmi nedostatečné. Potencionálně zajímavou a minimálně prostudovanou skupinou, s částečnou absencí motivu, by mohl být paleopterní hmyz (jepice a vážky). Zůstává několik řádů s neznámým telomerickým motivem; řády snovatky, drobnělky a cvrčkovci jsou dosud dokonce zcela netestované na přítomnost hmyzího motivu (Kuznetsova et al., 2020).

Zcela unikátní situace nastala u dvoukřídlého hmyzu (Diptera), kde se motivy skládají z delších satelitních motivů a na prodlužování telomer se podílejí ALT mechanismy nezávislé na telomeráze. Dostupné údaje poukazují na enormní diverzitu motivů i mezi blízce příbuznými druhy dvoukřídlého hmyzu a na vnitrodruhovou variabilitu motivů v rámci jednotlivých telomer. To může být velkou komplikací pro stanovení telomerických motivů u dosud nestudovaných Diptera. Evoluční původ tohoto typu telomer by jistě pomohlo objasnit i studium blízce příbuzných řádů blechy a srpice, kde byla prokázána pouze absence hmyzího motivu.

Třída hmyz je, co se týče telomerické sekvence, mnohem více rozmanitá, než se původně předpokládalo. Telomerické motivy členovců rozhodně nejsou vyčerpaným tématem pro výzkum a jejich další studium stojí za pozornost.

7. Seznam literatury

1. Abad, J. P., De Pablos, B., Osoegawa, K., De Jong, P. J., Martín-Gallardo, A., & Villasante, A. (2004). TAHRE, a novel telomeric retrotransposon from *Drosophila melanogaster*, reveals the origin of *Drosophila* telomeres. *Molecular biology and evolution*, 21(9), 1620-1624.
2. Alcivar-Warren, A., Meehan-Meola, D., Wang, Y., Guo, X., Zhou, L., Xiang, J., Moss, S., Arce, S., Warren, W., Xu, Z., & Bell, K. (2006). Isolation and mapping of telomeric pentanucleotide (TAACC) n repeats of the Pacific whiteleg shrimp, *Penaeus vannamei*, using fluorescence in situ hybridization. *Marine Biotechnology*, 8, 467-480.
3. Amrane, S., Ang, R. W. L., Tan, Z. M., Li, C., Lim, J. K. C., Lim, J. M. W., Lim, K. W., & Phan, A. T. (2009). A novel chair-type G-quadruplex formed by a *Bombyx mori* telomeric sequence. *Nucleic acids research*, 37(3), 931-938.
4. Anzai, T., Takahashi, H., & Fujiwara, H. (2001). Sequence-specific recognition and cleavage of telomeric repeat (TTAGG) n by endonuclease of non-long terminal repeat retrotransposon TRAS1. *Molecular and Cellular Biology*, 21(1), 100-108.
5. Ballesteros, J. A., Santibáñez-López, C. E., Baker, C. M., Benavides, L. R., Cunha, T. J., Gainett, G., Ontano, A. Z., Setton, E. V. W., Arango, C. P., Gavish-Regev, E., Harvey, M. S., Wheeler W. C., Hormiga, G., Giribet, G., & Sharma, P. P. (2022). Comprehensive species

- sampling and sophisticated algorithmic approaches refute the monophyly of Arachnida. *Molecular Biology and Evolution*, 39(2), msac021.
6. Bao, W., Kojima, K. K., & Kohany, O. (2015). Repbase Update, a database of repetitive elements in eukaryotic genomes. *Mobile Dna*, 6, 1-6.
 7. Barthélémy, R. M., Casanova, J. P., & Faure, E. (2008). Transcriptome analysis of ESTs from a chaetognath reveals a deep-branching clade of retrovirus-like retrotransposons. *The Open Virology Journal*, 2, 44.
 8. Biessmann, H., Kobeski, F., Walter, M. F., Kasravi, A., & Roth, C. W. (1998). DNA organization and length polymorphism at the 2L telomeric region of *Anopheles gambiae*. *Insect molecular biology*, 7(1), 83-93.
 9. Bizzaro, D., Mandrioli, M., Zanotti, M., Giusti, M., & Manicardi, G. C. (2000). Chromosome analysis and molecular characterization of highly repeated DNAs in the aphid *Acyrtosiphon pisum* (Aphididae, Hemiptera). *Genetica*, 108, 197-202.
 10. Blackburn, E. H., & Szostak, J. W. (1984). The molecular structure of centromeres and telomeres. *Annual review of biochemistry*, 53(1), 163-194.
 11. Bouchard, P., Smith, A. B., Douglas, H., Gimmel, M. L., Brunke, A. J., & Kanda, K. (2017). Biodiversity of coleoptera. *Insect biodiversity: science and society*, 337-417.
 12. Bryan, T. M. (2020). G-quadruplexes at telomeres: friend or foe?. *Molecules*, 25(16), 3686.
 13. Cabral-de-Mello, D. C., & Marec, F. (2021). Universal fluorescence in situ hybridization (FISH) protocol for mapping repetitive DNAs in insects and other arthropods. *Molecular Genetics and Genomics*, 296(3), 513-526.
 14. Campbell, L. I., Rota-Stabelli, O., Edgecombe, G. D., Marchioro, T., Longhorn, S. J., Telford, M. J., Philippee, H., Rebecchic, L., Peterson, K. J., & Pisani, D. (2011). MicroRNAs and phylogenomics resolve the relationships of Tardigrada and suggest that velvet worms are the sister group of Arthropoda. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(38), 15920-15924.
 15. Carmona, M. J., Morcillo, G., Galler, R., Martinez-Salas, E., De La Campa, A. G., Diez, J. L., & Edström, J. E. (1985). Cloning and molecular characterization of a telomeric sequence from a temperature-induced Balbiani ring. *Chromosoma*, 92(2), 108-115.
 16. Casacuberta, E. (2017). *Drosophila*: retrotransposons making up telomeres. *Viruses*, 9(7), 192.
 17. Casacuberta, E., & Pardue, M. L. (2002). Coevolution of the telomeric retrotransposons across *Drosophila* species. *Genetics*, 161(3), 1113-1124.
 18. Casacuberta, E., & Pardue, M. L. (2003a). HeT-A elements in *Drosophila virilis*: retrotransposon telomeres are conserved across the *Drosophila* genus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(24), 14091-14096.
 19. Casacuberta, E., & Pardue, M. L. (2003b). Transposon telomeres are widely distributed in the *Drosophila* genus: TART elements in the virilis group. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(6), 3363-3368.
 20. Casacuberta, E., & Pardue, M. L. (2005). HeT-A and TART, two *Drosophila* retrotransposons with a bona fide role in chromosome structure for more than 60 million years. *Cytogenetic and genome research*, 110(1-4), 152-159.
 21. Celli, G. B., & de Lange, T. (2005). DNA processing is not required for ATM-mediated telomere damage response after TRF2 deletion. *Nature cell biology*, 7(7), 712-718.
 22. Cenci, G., Rawson, R. B., Belloni, G., Castrillon, D. H., Tudor, M., Petrucci, R., Goldberg, M. L., Wasserman, S. A., & Gatti, M. (1997). UbcD1, a *Drosophila* ubiquitin-conjugating enzyme required for proper telomere behavior. *Genes & development*, 11(7), 863-875.
 23. Cenci, G., Siriaco, G., Raffa, G. D., Kellum, R., & Gatti, M. (2003). The *Drosophila* HOAP protein is required for telomere capping. *Nature cell biology*, 5(1), 82-84.

24. Chong, L., Van Steensel, B., Broccoli, D., Erdjument-Bromage, H., Hanish, J., Tempst, P., & De Lange, T. (1995). A human telomeric protein. *Science*, 270(5242), 1663-1667.
25. Ciccía, A., & Elledge, S. J. (2010). The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Molecular cell*, 40(2), 179-204.
26. Cohn, M., & Edström, J. E. (1992a). Chromosome ends in *Chironomus pallidivittatus* contain different subfamilies of telomere-associated repeats. *Chromosoma*, 101(10), 634-640.
27. Cohn, M., & Edström, J. E. (1992b). Telomere-associated repeats in *Chironomus* form discrete subfamilies generated by gene conversion. *Journal of molecular evolution*, 35, 114-122.
28. Compton, A., Liang, J., Chen, C., Lukyanchikova, V., Qi, Y., Potters, M., Settlage, R., Miller, D., Deschamps, S., Mao, C., Llaca, V., Sharakhov, I. V., & Tu, Z. (2020). The beginning of the end: a chromosomal assembly of the New World malaria mosquito ends with a novel telomere. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 10(10), 3811-3819.
29. Cong, Y. S., Wright, W. E., & Shay, J. W. (2002). Human telomerase and its regulation. *Microbiology and molecular biology reviews*, 66(3), 407-425.
30. Court, R., Chapman, L., Fairall, L., & Rhodes, D. (2005). How the human telomeric proteins TRF1 and TRF2 recognize telomeric DNA: a view from high-resolution crystal structures. *EMBO reports*, 6(1), 39-45.
31. Červenák, F., Sepšiová, R., Nosek, J., & Tomáška, L. (2021). Step-by-step evolution of telomeres: lessons from yeasts. *Genome biology and evolution*, 13(2), evaa268.
32. Danilevskaya, O., Slot, F., Pavlova, M., & Pardue, M. L. (1994). Structure of the *Drosophila* HeT-A transposon: a retrotransposon-like element forming telomeres. *Chromosoma*, 103, 215-224.
33. Danilevskaya, O. N., Tan, C., Wong, J., Alibhai, M., & Pardue, M. L. (1998). Unusual features of the *Drosophila melanogaster* telomere transposable element HeT-A are conserved in *Drosophila yakuba* telomere elements. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(7), 3770-3775.
34. De Lange, T. (2005). Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes & development*, 19(18), 2100-2110.
35. de Lima, L. G., Hanlon, S. L., & Gerton, J. L. (2020). Origins and evolutionary patterns of the 1.688 satellite DNA family in *Drosophila* phylogeny. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 10(11), 4129-4146.
36. Deschenes, S., Brideau, J., Dhillon, R., & Hess, K. (2014). Determination of Horseshoe Crab Telomere Sequence. Sacred Heart University
37. Díez, J. L., Vilariño, V. R., Medina, F. J., & Morcillo, G. (2006). Nucleolar localization of a reverse transcriptase related to telomere maintenance in *Chironomus* (Diptera). *Histochemistry and cell biology*, 126, 445-452.
38. Dilley, R. L., & Greenberg, R. A. (2015). ALTERNATIVE telomere maintenance and cancer. *Trends in cancer*, 1(2), 145-156.
39. Fagagna, F. D. A. D., Reaper, P. M., Clay-Farrace, L., Fiegler, H., Carr, P., Von Zglinicki, T., Saretzki, G., Carter, N. P., & Jackson, S. P. (2003). A DNA damage checkpoint response in telomere-initiated senescence. *Nature*, 426(6963), 194-198.
40. Fajkus, P., Adámik, M., Nelson, A. D., Kilar, A. M., Franek, M., Bubeník, M., Čapková Frydrychová, R., Votavová, A., Sykorová, E., Fajkus, J., & Peška, V. (2023). Telomerase RNA in Hymenoptera (Insecta) switched to plant/ciliate-like biogenesis. *Nucleic Acids Research*, 51(1), 420-433.
41. Fajkus, P., Peška, V., Sitová, Z., Fulnečková, J., Dvořáčková, M., Gogela, R., Sýkorová, E., Hapala, J., & Fajkus, J. (2016). Allium telomeres unmasked: the unusual telomeric

- sequence (CTCGGTTATGGG)_n is synthesized by telomerase. *The Plant Journal*, 85(3), 337-347.
42. Fajkus, J., & Zentgraf, U. (2002). Structure and maintenance of chromosome ends in plants. *Telomeres and Telomerases: Cancer and Biology. Landes Bioscience*, pp314-331.
 43. Fernandes, T., Madalena, C. R. G., & Gorab, E. (2012). Cloning and characterisation of a novel chromosome end repeat enriched with homopolymeric (dA)/(dT) DNA in *Rhynchosciara americana* (Diptera: Sciaridae). *Chromosome research*, 20, 435-445.
 44. Foley, N. M., Hughes, G. M., Huang, Z., Clarke, M., Jebb, D., Whelan, C. V., Petit, E. J., Touzalin, F., Farcy, O., Jones, G., Ransome, R. D., Kacprzyk, J., O'Connell, M. J., Kerth, G., Rebelo, H., Rodrigues, L., Puechmaile, S. J., & Teeling, E. C. (2018). Growing old, yet staying young: the role of telomeres in bats' exceptional longevity. *Science Advances*, 4(2), eaao0926.
 45. Font-Burgada, J., Rossell, D., Auer, H., & Azorín, F. (2008). Drosophila HP1c isoform interacts with the zinc-finger proteins WOC and Relative-of-WOC to regulate gene expression. *Genes & development*, 22(21), 3007-3023.
 46. Frydrychová, R., Grossmann, P., Trubac, P., Vítková, M., & Marec, F. E. (2004). Phylogenetic distribution of TTAGG telomeric repeats in insects. *Genome*, 47(1), 163-178.
 47. Frydrychová, R. Č., Konopová, B., Peska, V., Brejcha, M., & Sáblová, M. (2023). Telomeres and telomerase: Active but complex players in life-history decisions. *Biogerontology*, 1-22.
 48. Frydrychová, R., & Marec, F. (2002). Repeated losses of TTAGG telomere repeats in evolution of beetles (Coleoptera). *Genetica*, 115, 179-187.
 49. Frydrychova, R. C., & Mason, J. M. (2013). Telomeres: their structure and maintenance. *The Mechanisms of DNA Replication; Stuart, D., Ed.; InTech, Open Access Publisher: Rijeka, Croatia*, 423-443.
 50. Fujiwara, H. (2013). Accumulation of telomeric-repeat-specific retrotransposons in subtelomeres of *Bombyx mori* and *Tribolium castaneum*. In *Subtelomeres* (pp. 227-241). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
 51. Fujiwara, H., Osanai, M., Matsumoto, T., & Kojima, K. K. (2005). Telomere-specific non-LTR retrotransposons and telomere maintenance in the silkworm, *Bombyx mori*. *Chromosome Research*, 13, 455-467.
 52. Fuller, A. M., Cook, E. G., Kelley, K. J., & Pardue, M. L. (2010). Gag proteins of *Drosophila* telomeric retrotransposons: collaborative targeting to chromosome ends. *Genetics*, 184(3), 629-636.
 53. Fulnečková, J., Ševčíková, T., Fajkus, J., Lukešová, A., Lukeš, M., Vlček, Č., Lang, B. F., Kim, E., Eliáš, M., & Sýkorová, E. (2013). A broad phylogenetic survey unveils the diversity and evolution of telomeres in eukaryotes. *Genome biology and evolution*, 5(3), 468-483.
 54. Gao, G., Walser, J. C., Beaucher, M. L., Morciano, P., Wesolowska, N., Chen, J., & Rong, Y. S. (2010). HipHop interacts with HOAP and HP1 to protect *Drosophila* telomeres in a sequence-independent manner. *The EMBO journal*, 29(4), 819-829.
 55. Garavis, M., Gonzalez, C., & Villasante, A. (2013). On the origin of the eukaryotic chromosome: the role of noncanonical DNA structures in telomere evolution. *Genome biology and evolution*, 5(6), 1142-1150.
 56. George, J. A., DeBaryshe, P. G., Traverse, K. L., Celniker, S. E., & Pardue, M. L. (2006). Genomic organization of the *Drosophila* telomere retrotransposable elements. *Genome Research*, 16(10), 1231-1240.
 57. Gladyshev, E. A., & Arkhipova, I. R. (2007). Telomere-associated endonuclease-deficient Penelope-like retroelements in diverse eukaryotes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(22), 9352-9357.

58. Greider, C. W. (1996). Telomere length regulation. *Annual review of biochemistry*, 65(1), 337-365.
59. Griffith, J. D., Comeau, L., Rosenfield, S., Stansel, R. M., Bianchi, A., Moss, H., & De Lange, T. (1999). Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell*, 97(4), 503-514.
60. Gokhman, V. E., & Kuznetsova, V. G. (2018). Presence of the canonical TTAGG insect telomeric repeat in the Tenthredinidae (Symphyta) suggests its ancestral nature in the order Hymenoptera. *Genetica*, 146(3), 341-344.
61. Golub, N. V., Maryańska-Nadachowska, A., Anokhin, B. A., & Kuznetsova, V. G. (2023). Expanding the chromosomal evolution understanding of lygaeoid true bugs (Lygaeoidea, Pentatomomorpha, Heteroptera) by classical and molecular cytogenetic analysis. *Genes*, 14(3), 725.
62. Gorab, E. (2003). Reverse transcriptase-related proteins in telomeres and in certain chromosomal loci of Rhynchosciara (Diptera: Sciaridae). *Chromosoma*, 111(7), 445-454.
63. Grozeva, S., Kuznetsova, V. G., & Anokhin, B. A. (2011). Karyotypes, male meiosis and comparative FISH mapping of 18S ribosomal DNA and telomeric (TTAGG) n repeat in eight species of true bugs (Hemiptera, Heteroptera). *Comparative Cytogenetics*, 5(4), 355.
64. Harper, L., Golubovskaya, I., & Cande, W. Z. (2004). A bouquet of chromosomes. *Journal of cell science*, 117(18), 4025-4032.
65. Kirkness, E. F., Haas, B. J., Sun, W., Braig, H. R., Perotti, M. A., Clark, J. M., Leef, S. H., Robertson H. M., Kennedy, R. C., Elhaik, E., Gerlach, D., Kriventseva, E. V., Elsik, C. G., Graur, D., Hill, C. A., Veenstra, J. A., Walenz, B., Tubío, J. M. C., Ribeiro, J. M. C., Rozas, J., Johnston, J. S., Reese, J. T., Popadic, A., Tojo, M., Raoult, D., Reed, D. L., Tomoyasu, Y., Kraus, E., Mittapalli, O., Margam, V. M., Li, H. M., Meyer, J. M., Johnson, R. M., Romero-Severson, J., VanZee, J. P., Alvarez-Ponce, D., Vieira, F. G., Aguadé, M., Guirao-Rico, S., Anzola, J. M., Yoon, K. S., Strycharz, J. P., Unger, M. F., Christley, S., Lobo, N. F., Seufferheld, M. J., Wang, N. K., Dasch, G. A., Struchiner, C. J., Madey, G., Hannick, L. I., Bidwell, S., Joardar, V., Caler, E., Shao, R., Barker, S. C., Cameron, S., Bruggner, R. V., Regier, A., Johnson, J., Viswanathan, L., Utterback, T. R., Sutton, G. G., Lawson, D., Waterhouse, R. M., Venter, J. C., Strausberg, R. L., Berenbaum, M. R., Collins, F. H., Zdobnov, E. M., & Pittendrigh, B. R. (2010). Genome sequences of the human body louse and its primary endosymbiont provide insights into the permanent parasitic lifestyle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(27), 12168-12173.
66. Kojima, K. K., Matsumoto, T., & Fujiwara, H. (2005). Eukaryotic translational coupling in UAAUG stop-start codons for the bicistronic RNA translation of the non-long terminal repeat retrotransposon SART1. *Molecular and Cellular Biology*, 25(17), 7675-7686.
67. Korandová, M., Krůček, T., Vrbová, K., & Frydrychová, R. Č. (2014). Distribution of TTAGG-specific telomerase activity in insects. *Chromosome Research*, 22, 495-503.
68. Kubo, Y., Okazaki, S., Anzai, T., & Fujiwara, H. (2001). Structural and phylogenetic analysis of TRAS, telomeric repeat-specific non-LTR retrotransposon families in Lepidopteran insects. *Molecular biology and evolution*, 18(5), 848-857. Lukhtanov, V. A. (2022). Diversity and evolution of telomere and subtelomere DNA sequences in insects. *BioRxiv*, 2022-04.
69. Kulkarni, S., Wood, H. M., & Hormiga, G. (2023). Advances in the reconstruction of the Spider Tree of Life: a roadmap for spider systematics and comparative studies. *Cladistics*, 39(6), 479-532.
70. Kuznetsova, V., Grozeva, S., & Gokhman, V. (2020). Telomere structure in insects: A review. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 58(1), 127-158.

71. Kuznetsova, V. G., Grozeva, S. M., Hartung, V., & Anokhin, B. A. (2015). First evidence for (TTAGG)_n telomeric sequence and sex chromosome post-reduction in Coleorrhyncha (Insecta, Hemiptera). *Comparative Cytogenetics*, 9(4), 523.
72. Kuznetsova, V. G., Maryńska-Nadachowska, A., Shapoval, N. A., Anokhin, B. A., & Shapoval, A. P. (2017). Cytogenetic characterization of eight Odonata species originating from the Curonian Spit (the Baltic Sea, Russia) using C-Banding and FISH with 18S rDNA and telomeric (TTAGG)_n Probes. *Cytogenetic and genome research*, 153(3), 147–157.
73. Lei, M., Podell, E. R., & Cech, T. R. (2004). Structure of human POT1 bound to telomeric single-stranded DNA provides a model for chromosome end-protection. *Nature structural & molecular biology*, 11(12), 1223-1229.
74. Levis, R. W., Ganesan, R., Houtchens, K., Tolar, L. A., & Sheen, F. M. (1993). Transposons in place of telomeric repeats at a Drosophila telomere. *Cell*, 75(6), 1083-1093.
75. Li, H., Leavengood Jr, J. M., Chapman, E. G., Burkhardt, D., Song, F., Jiang, P., Liu, J., Zhou, X., & Cai, W. (2017). Mitochondrial phylogenomics of Hemiptera reveals adaptive innovations driving the diversification of true bugs. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1862), 20171223.
76. Logeswaran, D., Li, Y., Podlevsky, J. D., & Chen, J. J. L. (2021). Monophyletic origin and divergent evolution of animal telomerase RNA. *Molecular biology and evolution*, 38(1), 215-228.
77. Lomberk, G., Wallrath, L., & Urrutia, R. (2006). The heterochromatin protein 1 family. *Genome biology*, 7, 1-8.
78. López, C. C., Nielsen, L., & Edström, J. E. (1996). Terminal long tandem repeats in chromosomes from *Chironomus pallidivittatus*. *Molecular and cellular biology*, 16(7), 3285-3290.
79. López, C. C., Rodriguez, E., Díez, J. L., Edström, J. E., & Morcillo, G. (1999). Histochemical localization of reverse transcriptase in polytene chromosomes of chironomids. *Chromosoma*, 108, 302-307.
80. Lukhtanov, V. A. (2022). Diversity and evolution of telomere and subtelomere DNA sequences in insects. *BioRxiv*, 2022-04.
81. Lukhtanov, V. A., & Pazhenkova, E. A. (2023). Diversity and evolution of telomeric motifs and telomere DNA organization in insects. *Biological Journal of the Linnean Society*, 140(4), 536-555.
82. Madalena, C. R. G., Amabis, J. M., & Gorab, E. (2010a). Unusually short tandem repeats appear to reach chromosome ends of *Rhynchosciara americana* (Diptera: Sciaridae). *Chromosoma*, 119, 613-623.
83. Madalena, C. R. G., Fernandes, T., Villasante, A., & Gorab, E. (2010b). Curiously composite structures of a retrotransposon and a complex repeat associated with chromosome ends of *Rhynchosciara americana* (Diptera: Sciaridae). *Chromosome research*, 18, 587-598.
84. Makarov, V. L., Hirose, Y., & Langmore, J. P. (1997). Long G tails at both ends of human chromosomes suggest a C strand degradation mechanism for telomere shortening. *Cell*, 88(5), 657-666
85. Malik, H. S., Burke, W. D., & Eickbush, T. H. (1999). The age and evolution of non-LTR retrotransposable elements. *Molecular biology and evolution*, 16(6), 793-805.
86. Mason, J. M., & Biessmann, H. (1995). The unusual telomeres of *Drosophila*. *Trends in Genetics*, 11(2), 58-62.
87. Mason, J. M., Frydrychova, R. C., & Biessmann, H. (2008). *Drosophila* telomeres: an exception providing new insights. *Bioessays*, 30(1), 25-37.

88. Mason, J. M., Randall, T. A., & Capkova Frydrychova, R. (2016). Telomerase lost?. *Chromosoma*, *125*, 65-73.
89. Mason, J. M., Reddy, H. M., Frydrychova, R. C., & Seligmann, H. (2011). Telomere maintenance in organisms without telomerase. *DNA replication-current advances*, 323-346.
90. McGurk, M. P., Dion-Côté, A. M., & Barbash, D. A. (2021). Rapid evolution at the *Drosophila* telomere: transposable element dynamics at an intrinsically unstable locus. *Genetics*, *217*(2), iyaa027.
91. Menezes, R. S., Bardella, V. B., Cabral-de-Mello, D. C., Lucena, D. A., & Almeida, E. A. (2017). Are the TTAGG and TTAGGG telomeric repeats phylogenetically conserved in aculeate Hymenoptera?. *The Science of Nature*, *104*, 1-7.
92. Meyne, J., Ratliff, R. L., & MoYzIs, R. K. (1989). Conservation of the human telomere sequence (TTAGGG) n among vertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *86*(18), 7049-7053.
93. Monti, V., Manicardi, G. C., & Mandrioli, M. (2011). Cytogenetic and molecular analysis of the holocentric chromosomes of the potato aphid *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas, 1878). *Comparative Cytogenetics*, *5*(3), 163.
94. Monti, V., Serafini, C., Manicardi, G. C., & Mandrioli, M. (2013). Characterization of non-LTR retrotransposable TRAS elements in the aphids *Acyrtosiphon pisum* and *Myzus persicae* (Aphididae, Hemiptera). *Journal of Heredity*, *104*(4), 547-553.
95. Mota, A. P. Z., Koutsovoulos, G. D., Perfus-Barbeoch, L., Despot-Slade, E., Labadie, K., Aury, J. M., Robbe-Sermesant, K., Bailly-Bechet, M., Belser, C., Péré, A., Rancurel, C., Kozłowski, D. K., Hassanaly-Goulamhousen, R., Da Rocha, M., Noel, B., Meštrović, N., Wincker, P., & Danchin, E. G. (2024). Unzipped genome assemblies of polyploid root-knot nematodes reveal unusual and clade-specific telomeric repeats. *Nature Communications*, *15*(1), 773.
96. Mravinac, B., Meštrović, N., Čavrak, V. V., & Plohl, M. (2011). TCAGG, an alternative telomeric sequence in insects. *Chromosoma*, *120*, 367-376.
97. Musaro, M., Ciapponi, L., Fasulo, B., Gatti, M., & Cenci, G. (2008). Unprotected *Drosophila melanogaster* telomeres activate the spindle assembly checkpoint. *Nature genetics*, *40*(3), 362-366.
98. Moyzis, R. K., Buckingham, J. M., Cram, L. S., Dani, M., Deaven, L. L., Jones, M. D., Meyne, J., Ratliff, R. L., & Wu, J. R. (1988). A highly conserved repetitive DNA sequence,(TTAGGG) n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *85*(18), 6622-6626.
99. Nichuguti, N., & Fujiwara, H. (2020). Essential factors involved in the precise targeting and insertion of telomere-specific non-LTR retrotransposon, SART1Bm. *Scientific Reports*, *10*(1), 8963.
100. Nielsen, L., & Edström, J. E. (1993). Complex telomere-associated repeat units in members of the genus *Chironomus* evolve from sequences similar to simple telomeric repeats. *Molecular and cellular biology*, *13*(3), 1583-1589.
101. Nikitina, T., & Woodcock, C. L. (2004). Closed chromatin loops at the ends of chromosomes. *The Journal of cell biology*, *166*(2), 161-165.
102. Noah, K. E., Hao, J., Li, L., Sun, X., Foley, B., Yang, Q., & Xia, X. (2020). Major revisions in arthropod phylogeny through improved supermatrix, with support for two possible waves of land invasion by chelicerates. *Evolutionary Bioinformatics*, *16*, 1176934320903735.
103. Novo, C. L., & Londoño-Vallejo, J. A. (2013). Telomeres and the nucleus. In *Seminars in cancer biology*, *23* (2), 116-124

104. Novotná, J., Havelka, J., Starý, P., Koutecký, P., & Vítková, M. (2011). Karyotype analysis of the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Kurdjumov)(Hemiptera: Aphididae) reveals a large X chromosome with rRNA and histone gene families. *Genetica*, *139*, 281-289.
105. Okazaki, S., Ishikawa, H., & Fujiwara, H. (1995). Structural analysis of TRAS1, a novel family of telomeric repeat-associated retrotransposons in the silkworm, *Bombyx mori*. *Molecular and cellular biology*.
106. Okazaki, S., Tsuchida, K., Maekawa, H., Ishikawa, H., & Fujiwara, H. (1993). Identification of a pentanucleotide telomeric sequence,(TTAGG) n, in the silkworm *Bombyx mori* and in other insects. *Molecular and Cellular Biology*, *13*(3), 1424-1432.
107. Olovnikov, A. M. (1973). A theory of marginotomy: the incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *Journal of theoretical biology*, *41*(1), 181-190.
108. Oosterbroek, P., & Courtney, G. (1995). Phylogeny of the nematoceros families of Diptera (Insecta). *Zoological Journal of the Linnean Society*, *115*(3), 267-311.
109. Osanai, M., Kojima, K. K., Futahashi, R., Yaguchi, S., & Fujiwara, H. (2006). Identification and characterization of the telomerase reverse transcriptase of *Bombyx mori* (silkworm) and *Tribolium castaneum* (flour beetle). *Gene*, *376*(2), 281-289.
110. Pardue, M. L., Danilevskaya, O. N., Lowenhaupt, K. Y., Slot, F., & Traverse, K. L. (1996). *Drosophila* telomeres: new views on chromosome evolution. *Trends in Genetics*, *12*(2), 48-52.
111. Pardue, M. L., & DeBaryshe, P. G. (2003). Retrotransposons provide an evolutionarily robust non-telomerase mechanism to maintain telomeres. *Annual review of genetics*, *37*(1), 485-511.
112. Pardue, M. L., & DeBaryshe, P. G. (2008). *Drosophila* telomeres: A variation on the telomerase theme. *Fly*, *2*(3), 101-110.
113. Perrini, B., Piacentini, L., Fanti, L., Altieri, F., Chichiarelli, S., Berloco, M., Turano, C., Ferraro, A., & Pimpinelli, S. (2004). HP1 controls telomere capping, telomere elongation, and telomere silencing by two different mechanisms in *Drosophila*. *Molecular cell*, *15*(3), 467-476.
114. Petracek, M. E., Lefebvre, P. A., Silflow, C. D., & Berman, J. (1990). *Chlamydomonas* telomere sequences are A+ T-rich but contain three consecutive GC base pairs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *87*(21), 8222-8226.
115. Pfeiffer, V., & Lingner, J. (2013). Replication of telomeres and the regulation of telomerase. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, *5*(5), a010405.
116. Power, M. L., Foley, N. M., Jones, G., & Teeling, E. C. (2022). Taking flight: an ecological, evolutionary and genomic perspective on bat telomeres. *Molecular Ecology*, *31*(23), 6053-6068.
117. Prokopcová, L., Kořínková, T., Divišová, K., Forman, M., Nguyen, P., Král, J., Schwendinger, P. (2018): Karyotype evolution of *Mesothele* spiders. In: Hozak P. (Ed.) 22nd International Chromosome Conference, September 2–5, 2018, Prague, Czech Republic.
118. Prušáková, D., Peska, V., Pekár, S., Bubeník, M., Čížek, L., Bezděk, A., & Čapková Frydrychová, R. (2021). Telomeric DNA sequences in beetle taxa vary with species richness. *Scientific Reports*, *11*(1), 13319.
119. Raffa, G. D., Cenci, G., Siriaco, G., Goldberg, M. L., & Gatti, M. (2005). The putative *Drosophila* transcription factor *woc* is required to prevent telomeric fusions. *Molecular cell*, *20*(6), 821-831.
120. Raffa, G. D., Ciapponi, L., Cenci, G., & Gatti, M. (2011). Terminin: a protein complex that mediates epigenetic maintenance of *Drosophila* telomeres. *Nucleus*, *2*(5), 383-391.

121. Raffa, G. D., Raimondo, D., Sorino, C., Cugusi, S., Cenci, G., Cacchione, S., Gatti, M., & Ciapponi, L. (2010). Verrocchio, a Drosophila OB fold-containing protein, is a component of the terminin telomere-capping complex. *Genes & development*, *24*(15), 1596-1601.
122. Raffa, G. D., Siriaco, G., Cugusi, S., Ciapponi, L., Cenci, G., Wojcik, E., & Gatti, M. (2009). The *Drosophila modigliani* (moi) gene encodes a HOAP-interacting protein required for telomere protection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(7), 2271-2276.
123. Rashkova, S., Karam, S. E., & Pardue, M. L. (2002). Element-specific localization of *Drosophila* retrotransposon Gag proteins occurs in both nucleus and cytoplasm.[Erratum: June 11, 2002, v. 99 (12), p. 8457.].
124. Rego, A., & Marec, F. (2003). Telomeric and interstitial telomeric sequences in holokinetic chromosomes of Lepidoptera: Telomeric DNA mediates association between postpachytene bivalents in achiasmatic meiosis of females. *Chromosome Research*, *11*, 681-694.
125. Reyes Lerma, A. C., Štáhlavský, F., Seiter, M., Carabajal Paladino, L. Z., Divišová, K., Forman, M., Sember, A., & Král, J. (2021). Insights into the karyotype evolution of Charinidae, the early-diverging clade of whip spiders (Arachnida: Amblypygi). *Animals*, *11*(11), 3233.
126. Rezende-Teixeira, P., Siviero, F., Brandão, A. S., Santelli, R. V., & Machado-Santelli, G. M. (2008). Molecular characterization of a retrotransposon in the *Rhynchosciara americana* genome and its association with telomere. *Chromosome research*, *16*, 729-742.
127. Richards, E. J., & Ausubel, F. M. (1988). Isolation of a higher eukaryotic telomere from *Arabidopsis thaliana*. *Cell*, *53*(1), 127-136.
128. Richards, S., Gibbs, R. A., Weinstock, G. M., Brown, S. J., Denell, R., Beeman, R. W., ... & Sattelle, D. B. (2008). The genome of the model beetle and pest *Tribolium castaneum*. *Nature*, *452*(7190), 949-955.
129. Robertson, H. M., & Gordon, K. H. (2006). Canonical TTAGG-repeat telomeres and telomerase in the honey bee, *Apis mellifera*. *Genome Research*, *16*(11), 1345-1351.
130. Robin, J. D., Ludlow, A. T., Batten, K., Magdinier, F., Stadler, G., Wagner, K. R., Shay, J. W., & Wright, W. E. (2014). Telomere position effect: regulation of gene expression with progressive telomere shortening over long distances. *Genes & development*, *28*(22), 2464-2476.
131. Rosén, M., & Edström, J. E. (2000). DNA structures common for chironomid telomeres terminating with complex repeats. *Insect Molecular Biology*, *9*(3), 341-347.
132. Rosén, M., & Edström, J. E. (2002). Chromosome ends in *Chironomus tentans* do not have long single-stranded overhangs characterizing canonical telomeres. *Chromosome Research*, *10*, 21-31.
133. Rosén, M., Kamnert, I., & Edström, J. E. (2002). Extrachromosomal RNA–DNA complex containing long telomeric repeats in chironomids. *Insect Molecular Biology*, *11*(2), 167-174.
134. Rosin, L. F., Gil Jr, J., Drinnenberg, I. A., & Lei, E. P. (2021). Oligopaint DNA FISH reveals telomere-based meiotic pairing dynamics in the silkworm, *Bombyx mori*. *PLoS genetics*, *17*(7), e1009700.
135. Rossato, R. M., Madalena, C. R., & Gorab, E. (2007). Unusually short tandem repeats in the chromosome end structure of *Rhynchosciara* (Diptera: Sciaridae). *Genetica*, *131*, 109-116.
136. Roth, C. W., Kobeski, F., Walter, M. F., & Biessmann, H. (1997). Chromosome end elongation by recombination in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Molecular and cellular biology*, *17*(9), 5176-5183.
137. Rovira, C., Beermann, W., & Edström, J. E. (1993). A repetitive DNA sequence associated with the centromeres of *Chironomus pallidivittatus*. *Nucleic acids research*, *21*(8), 1775-1781.

138. Sahara, K., Marec, F., & Traut, W. (1999). TTAGG telomeric repeats in chromosomes of some insects and other arthropods. *Chromosome research*, 7, 449-460.
139. Saiga, H., & Edström, J. E. (1985). Long tandem arrays of complex repeat units in *Chironomus* telomeres. *The EMBO Journal*, 4(3), 799-804.
140. Saint-Leandre, B., Christopher, C., & Levine, M. T. (2020). Adaptive evolution of an essential telomere protein restricts telomeric retrotransposons. *Elife*, 9, e60987.
141. Saint-Leandre, B., Nguyen, S. C., & Levine, M. T. (2019). Diversification and collapse of a telomere elongation mechanism. *Genome research*, 29(6), 920-931.
142. Salvadori, S., Coluccia, E., Deidda, F., Cau, A., Cannas, R., & Deiana, A. M. (2012). Comparative cytogenetics in four species of Palinuridae: B chromosomes, ribosomal genes and telomeric sequences. *Genetica*, 140, 429-437.
143. Sasaki, T., & Fujiwara, H. (2000). Detection and distribution patterns of telomerase activity in insects. *European journal of biochemistry*, 267(10), 3025-3031.
144. Servant, G., & Deininger, P. L. (2016). Insertion of retrotransposons at chromosome ends: adaptive response to chromosome maintenance. *Frontiers in genetics*, 6, 172490.
145. Shareef, M. M., King, C., Damaj, M., Badagu, R., Huang, D. W., & Kellum, R. (2001). *Drosophila* heterochromatin protein 1 (HP1)/origin recognition complex (ORC) protein is associated with HP1 and ORC and functions in heterochromatin-induced silencing. *Molecular biology of the cell*, 12(6), 1671-1685.
146. Sharma, P. P., Kaluziak, S. T., Pérez-Porro, A. R., González, V. L., Hormiga, G., Wheeler, W. C., & Giribet, G. (2014). Phylogenomic interrogation of Arachnida reveals systemic conflicts in phylogenetic signal. *Molecular biology and evolution*, 31(11), 2963-2984.
147. Shay, J. W., & Wright, W. E. (2019). Telomeres and telomerase: three decades of progress. *Nature Reviews Genetics*, 20(5), 299-309.
148. Sheen, F. M., & Levis, R. W. (1994). Transposition of the LINE-like retrotransposon TART to *Drosophila* chromosome termini. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(26), 12510-12514.
149. Shpiz, S., Kwon, D., Uneva, A., Kim, M., Klenov, M., Rozovsky, Y., Georgiev, P., Savitsky, M., & Kalmykova, A. (2007). Characterization of *Drosophila* telomeric retroelement TAHRE: transcription, transpositions, and RNAi-based regulation of expression. *Molecular biology and evolution*, 24(11), 2535-2545.
150. Sun, J., Yu, E. Y., Yang, Y., Confer, L. A., Sun, S. H., Wan, K., Lue, N. F., & Lei, M. (2009). Stn1–Ten1 is an Rpa2–Rpa3-like complex at telomeres. *Genes & development*, 23(24), 2900-2914.
151. Sýkorová, E., Lim, K. Y., Kunická, Z., Chase, M. W., Bennett, M. D., Fajkus, J., & Leitch, A. R. (2003). Telomere variability in the monocotyledonous plant order Asparagales. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1527), 1893-1904.
152. Takahashi, H., & Fujiwara, H. (1999). Transcription analysis of the telomeric repeat-specific retrotransposons TRAS1 and SART1 of the silkworm *Bombyx mori*. *Nucleic acids research*, 27(9), 2015-2021.
153. Takahashi, H., Okazaki, S., & Fujiwara, H. (1997). A new family of site-specific retrotransposons, SART1, is inserted into telomeric repeats of the silkworm, *Bombyx mori*. *Nucleic acids research*, 25(8), 1578-1584.
154. Telobase, (2023), <http://cfb.ceitec.muni.cz/telobase/>
155. Tornesello, M. L., Cerasuolo, A., Starita, N., Amiranda, S., Bonelli, P., Tuccillo, F. M., Buonaguro, F. M., Buonaguro, L., & Tornesello, A. L. (2023). Reactivation of telomerase reverse transcriptase expression in cancer: the role of TERT promoter mutations. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11, 1286683.

156. Van Steensel, B., Smogorzewska, A., & De Lange, T. (1998). TRF2 protects human telomeres from end-to-end fusions. *Cell*, *92*(3), 401-413.
157. Villasante, A., Abad, J. P., Planelló, R., Méndez-Lago, M., Celniker, S. E., & de Pablos, B. (2007). Drosophila telomeric retrotransposons derived from an ancestral element that was recruited to replace telomerase. *Genome Research*, *17*(12), 1909-1918.
158. Vítková, M., Král, J., Traut, W., Zrzavý, J., & Marec, F. (2005). The evolutionary origin of insect telomeric repeats,(TTAGG) n. *Chromosome research*, *13*, 145-156.
159. Vitturi, R., Libertini, A., Armetta, F., Sparacino, L., & Colomba, M. S. (2002). Chromosome analysis and FISH mapping of ribosomal DNA (rDNA), telomeric (TTAGGG) n and (GATA) n repeats in the leech *Haemopis sanguisuga* (L.) (Annelida: Hirudinea). *Genetica*, *115*, 189-194.
160. Wahl, G. M., & Carr, A. M. (2001). The evolution of diverse biological responses to DNA damage: insights from yeast and p53. *Nature cell biology*, *3*(12), E277-E286.
161. Walter, M. F., Bozorgnia, L., Maheshwari, A., & Biessmann, H. (2001). The rate of terminal nucleotide loss from a telomere of the mosquito *Anopheles gambiae*. *Insect molecular biology*, *10*(1), 105-110.
162. Wang, R. C., Smogorzewska, A., & De Lange, T. (2004). Homologous recombination generates T-loop-sized deletions at human telomeres. *Cell*, *119*(3), 355-368.
163. *Watson, J. D. (1972). Origin of concatemeric T7DNA. *Nature New Biology*, *239*(94), 197-201.
164. Wicky, C., Villeneuve, A. M., Lauper, N., Codourey, L., Tobler, H., & Müller, F. (1996). Telomeric repeats (TTAGGC) n are sufficient for chromosome capping function in *Caenorhabditis elegans*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *93*(17), 8983-8988.
165. Witkin, K. L., & Collins, K. (2004). Holoenzyme proteins required for the physiological assembly and activity of telomerase. *Genes & development*, *18*(10), 1107-1118.
166. World Spider Catalog (2024). World Spider Catalog. Version 25.0. Natural History Museum Bern, online at <http://wsc.nmbe.ch>, accessed on {date of access}. doi: 10.24436/2
167. Wright, W. E., Piatyszek, M. A., Rainey, W. E., Byrd, W., & Shay, J. W. (1996). Telomerase activity in human germline and embryonic tissues and cells. *Developmental genetics*, *18*(2), 173-179.
168. Wright, W. E., & Shay, J. W. (1992). The two-stage mechanism controlling cellular senescence and immortalization. *Experimental gerontology*, *27*(4), 383-389.
169. Yang, Y., Chen, Y., Zhang, C., Huang, H., & Weissman, S. M. (2002). Nucleolar localization of hTERT protein is associated with telomerase function. *Experimental cell research*, *277*(2), 201-209.
170. Yoshida, Y., Koutsovoulos, G., Laetsch, D. R., Stevens, L., Kumar, S., Horikawa, D. D., Ishino, K., Komine, S., Kunieda, T., Tomita, M., Blaxter, M., & Arakawa, K. (2017). Comparative genomics of the tardigrades *Hypsibius dujardini* and *Ramazzottius varieornatus*. *PLoS biology*, *15*(7), e2002266.
171. Yoshido, A., Marec, F., & Sahara, K. (2005). Resolution of sex chromosome constitution by genomic in situ hybridization and fluorescence in situ hybridization with (TTAGG) n telomeric probe in some species of Lepidoptera. *Chromosoma*, *114*, 193-202.
172. Zhang, L., Beaucher, M., Cheng, Y., & Rong, Y. S. (2014). Coordination of transposon expression with DNA replication in the targeting of telomeric retrotransposons in *Drosophila*. *The EMBO Journal*, *33*(10), 1148-1158.
173. Zhang, Y. J., Kamnert, I., López, C. C., Cohn, M., & Edström, J. E. (1994). A family of complex tandem DNA repeats in the telomeres of *Chironomus pallidivittatus*. *Molecular and cellular biology*.

174. Zhang, Y., Zhang, L., Tang, X., Bhardwaj, S. R., Ji, J., & Rong, Y. S. (2016). MTV, an ssDNA protecting complex essential for transposon-based telomere maintenance in *Drosophila*. *PLoS Genetics*, *12*(11), e1006435.
175. Zhong, Z., Shiue, L., Kaplan, S., & de Lange, T. (1992). A mammalian factor that binds telomeric TTAGGG repeats in vitro. *Molecular and cellular biology*, *12*(11), 4834-4843.
176. Zhou, Y., Wang, Y., Xiong, X., Appel, A. G., Zhang, C., & Wang, X. (2022). Profiles of telomeric repeats in Insecta reveal diverse forms of telomeric motifs in Hymenopterans. *Life Science Alliance*, *5*(7).
177. Zickler, D., & Kleckner, N. (1998). The leptotene-zygotene transition of meiosis. *Annual review of genetics*, *32*(1), 619-697.