

BIĄŁKA WARUNKUJĄCE PRAWIDŁOWĄ SEGREGACJĘ CHROMATYD

PROTEINS INVOLVED IN PROPER CHROMATID SEGREGATION

Stanisława Maria ROGALSKA, Magdalena ACHREM, Anna KALINKA

Katedra Biologii Komórki, Uniwersytet Szczeciński

Streszczenie: W pracy przedstawiono przegląd najnowszej literatury dotyczącej budowy i roli białek utrzymujących strukturę chromatyd oraz innych białek, których działanie wpływa na proces segregacji chromosomów w mitozie i mejozie. SMC (*Structural Maintenance of Chromosomes*) to białka o dużej masie cząsteczkowej, mające aktywność ATPazy. Białka te są wysoce konserwatywne wśród Eukaryota i Prokaryota. Białka SMC są wielkimi polipeptydami ze specyficzną organizacją domen: globularnych głów i alfa-helikalnych ramion. W domenie głowy występują konserwatywne motywy, w N-końcu Walker A, a w C-końcu Walker B oraz motyw C. ATP wiąże się z domenami Walker A i B jednej podjednostki oraz motywem C drugiej podjednostki. Dwie domeny głowy łączy białko kleizyna. SMC mogą być podzielone na podrodziny. Poszczególne białka należące do różnych podrodzin tworzą dimery, aby pełnić swoje specyficzne funkcje. Białka SMC są istotnymi składnikami kondensyn i kohezyn. Pojedyncza cząstka kondensyny i kohezyny składa się z heterodimeru SMC i odpowiednio 3 lub 2 białek innych niż SMC. Kohezyny odpowiadają za kohezję siostrzanych chromatyd i występują w komórkach eukariotycznych jako ewolucyjnie konserwatywny kompleks czterech białek: MCD1/RAD21/SCC1, SMC1, SMC3 i SCC3/SA1/SA2. Działanie kohezyn opisują modele pierścienia lub objęcia. Heterodimer SMC1-SMC3 jest połączony kleizyną Scc1, co powoduje uformowanie trójczłonowego pierścienia, który obejmuje dwa duplekisy DNA. Większość kohezyn oddysocjuje od ramion chromosomowych w profazie. Na granicy metafazy i anafazy następuje proteolityczne cięcie Scc1 przez separazę, która jest enzymem proteolitycznym, ulokowanym we wrzecionie mitotycznym i na jego biegunach. Otwiera to pierścień kohezynowy i uwalnia chromatydy na początku anafazy. Kondensyny odgrywają ważną rolę w kondensacji chromosomów. Każda kondensyna zbudowana jest z pięciu białek. Wyróżnia się I i II kompleks kondensyn. W różnych miejscach chromosomu występuje zróżnicowanie ilości poszczególnych kompleksów. Kondensyna II łączy się z chromatyną we wczesnej profazie i powoduje kondensację chromosomów. Kondensyna I zaczyna działać dopiero po rozpadzie otoczki jądrowej i jest niezbędna do uwolnienia kohezyn oraz do maksymalnej kondensacji chromosomów. Zaproponowano model działania kondensyn oparty na obserwacji cytologicznej stopniowego gromadzenia się kondensyn w osi chromatydowej. Oprócz kohezyn i kondensyn znaczny wpływ na segregację chromatyd ma białko podobne strukturalnie i funkcjonalnie do ubikwityny – SUMO (*Small Ubiquitin-like Modifier*) i białko centromerowe CENP-F. SUMO reguluje aktywność cyklosomu. Cyklosom – APC/C (*Anaphase Promoting Complex/Cyclosom*) powoduje degradację sekuryny, co uwalnia separazę, a także wpływa na konformację białka Pds5 uwalniającego kohezyny. Białko CENP-F jest fakultatywnym białkiem centromerowym, które przy współdziałaniu innych białek centromerowych i białek punktu kontroli wrzeciona podziałowego wpływa na segregację chromosomów.

Słowa kluczowe: SMC, kohezyny, kondensyny, SUMO, CENP-F.

Summary: The presented paper reviews the latest literature data on SMCs proteins (Structural Maintenance of Chromosomes) which contribute to regular chromatid segregation in mitosis and meiosis. SMC proteins are high molecular weight proteins with ATPase activity. These proteins are highly conserved in eukaryotes and prokaryotes. The structure of SMCs proteins is very specific, each SMC subunit contains two globular domains and a helical domain, called arm. Conservative motifs Walker A and Walker B are located at the N-terminal and C-terminal ends of the head domain. ATP binds to Walker A and Walker B of one subunit and the C-motif of the second subunit. C-motif is a part of C-terminal domain. SMCs can be classified into subfamilies, which associate with one another in particular pairs to perform their specific functions. SMCs are crucial components of condensins and cohesins. A single condensin or cohesin particle is composed of SMCs heterodimer and 3 or 2 non-SMC proteins, respectively. Cohesins are four-subunit complexes MCD1/RAD21/SCC1, SMC1, SMC3 i SCC3/SA1/SA2. The role of cohesins is holding sister chromatids together during mitosis and meiosis. They consists of SMC1-SMC3 heterodimer and Scc1 subunit which connects the head domains of SMC1 and SMC3, altogether forming a tripartite ring-like structure. Two models for the action of cohesin were proposed. One of them is referred as an embrace model. According to this cohesin complexes embrace two DNA duplexes to hold the sister chromatids together until metaphase. Proteolytic cleavage of Scc1 by separase at the start of anaphase opens the ring and release two sister chromatids. Condensins play key role in chromosomes condensation. They are five-subunit complexes containing SMC2-SMC4 heterodimer. This constitutes the core of two types of condensin complexes, condensin I and condensin II. The condensin II associates with chromatin in prophase. Condensin I is cytoplasmic and interact with chromosomes after nuclear envelope breakdown. Condensin II is required for chromosome condensation in early prophase, whereas condensin I is required for the complete dissociation of cohesin from chromosome arms, for chromosome compaction and for normal timing of progression through metaphase. Therefore both types are essential for proper chromosome segregation. Except for condensins and cohesins, there are other proteins which are important in chromosome segregation. Another protein required for proper chromosome segregation is SUMO. The SUMO is small ubiquitin related modifier is a member ubiquitin-like protein family. SUMO is engaged in cyclosome regulation. Cyclosome (APC/C – Anaphase Promoting Complex /Cyclosome), causes degradation of securine, which release separase and affect the conformation of Pds5 protein setting free cohesins. CENP-F is a facultative centromeric protein, which in cooperation with other centromeric proteins and mitotic spindle checkpoint proteins affects chromosome segregation.

Key words: SMC, cohesin, condensin, SUMO, CENP-F.

WSTĘP

Prawidłowa segregacja chromatyd podczas mitozy i mejozy wymaga obecności wielu białek, w tym specjalnych białek chromosomowych należących do klasy SMC (ang. *Structural Maintenance Chromosomes*).

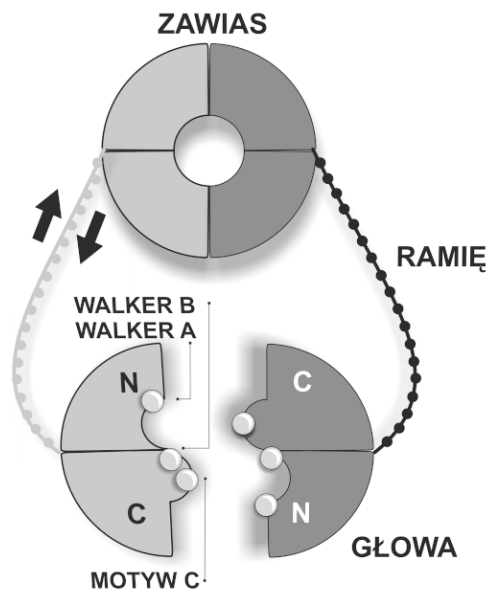
Białka SMC są podstawowymi białkami regulującymi strukturalną i funkcjonalną organizację chromosomów począwszy od chromosomu bakteryjnego, a skończywszy na chromosomach ludzkich. Wpływają one na kohezję chromatyd i na kondensację chromosomów. Odgrywają kluczową rolę w segregacji chromatyd w procesie mitozy i mejozy. Pierwotnie uważano je za białka motoryczne, ale wyniki licznych badań pokazały ich inną naturę. Pełnią one rolę dynamicznych łączników genomowych, zaliczanych do klasy chromosomowych ATPaz [27]. Charakteryzują się unikatową strukturą w odniesieniu do innych białek. Kluczowymi białkami dla kohezji chromatyd siostrzanych są kohezyny, a dla kondensacji chromosomów – kondensyny [52]. Fizjologicznym substratem dla działania tych kompleksów białkowych jest przede

wszystkim chromatyna, stąd też współdziałają z nimi niektóre białka budujące chromatynę. W szczególności fosfohiston H3 i histon H1 współdziałające z kondensynami [26, 37]. Kohezyny przyłączają się do chromatyny po replikacji DNA i przytrzymują chromatydy siostrzane razem aż do rozdzielenia się ich w anafazie. Prawdopodobne jest, że określone domeny łączenia się kohezyn z chromatyną mogą dyktować dystrybucję kondensyn w chromosomach [26, 27, 37]. Jednak wiele prac pokazuje, że nie we wszystkich Eukaryota wymienione białka są wymagane do kondensacji chromosomów, a ich rola w tym procesie jest nadal badana. W prezentowanej pracy przedstawiono najnowsze dane literaturowe na temat szczególnej roli białek SMC utrzymujących strukturę chromosomów – kohezyn i kondensyn w segregacji chromatyd. Ponadto podano informacje o innych białkach, związanych z segregacją chromatyd, takich jak: separaza, SUMO i CENP-F.

BUDOWA BIAŁEK SMC

Białka SMC są wielkimi polipeptydami, zbudowanymi z 1000–1300 aminokwasów, ze specyficzną organizacją domen. Każdy monomer składa się z domen globularnych i dwóch α -helis tworzących ramię. Monomer zawija się poprzez antyrównoległą interakcję superzwoju tworząc na jednym końcu domenę głowy (N- i C-koniec), a na drugim domenę zawiasu. Dwa monomery łączą się ze sobą w domenie zawiasu i tworzą heterodimer w kształcie litery V [49, 67]. W domenie głowy wykazano obecność konserwatywnych motywów strukturalnych, na N-końcu domeny motyw Walker A, natomiast na C-końcu – Walker B oraz motyw C. Występowanie tych trzech motywów jest charakterystyczne dla ATPaz typu ABC. Białka ABC tworzą rodzinę transporterów transbłonowych, których funkcjonalna podjednostka jest zbudowana z dwóch domen transbłonowych i pary kaset wiążących ATP. Do tej klasy białek należą też białka (Rad 50) naprawiające pęknięcia podwójnej nici DNA (DSB) [26, 27].

Dwie domeny głowy łączy białko kleizyna. Kleizyny są wszechobecną klasą białek konserwatywnych, działających bezpośrednio z dimerami SMC. Członkowie tej rodziny zawierają podjednostkę kohezyn Scc1, podjednostkę kondensyn CAP-H oraz podjednostkę bakteryjnego



RYCINA 1. Budowa dimeru SMC. Antyrównoległa struktura monomeru jest zaznaczona przeciwnymi strzałkami, kończy się na obu końcach globularnymi domenami: zawiasu i domeną głowy wiążącą ATP [wg 27]

FIGURE 1. Basic structure of SMC dimer. The antiparallel arrangement of monomer subunits is marked by arrows; at its one end there is globular hinge domain and at the second end there is another globular domain – ATP binding head [acc. 27]

kompleksu SMC - Scp A [27, 67]. Po połączeniu domen głowowych przez kleizynę tworzy się olbrzymi pierścień o średnicy około 35 nm [1] i o długości ramion około 50 nm, co odpowiada długości odcinka 150 pz w dwuniciowej cząsteczce DNA. Konformacja takich dimerów SMC jest bardzo elastyczna, dlatego też w mikroskopie elektronowym obserwowane są różne struktury: otwarty V, zamknięty V lub pierścienie [27].

Do kieszeni uformowanej przez motywy Walker A i Walker B w domenie głowowej jednej podjednostki SMC przyłącza się ATP i łączy się z motywem C drugiej podjednostki. Połączenie głowa-głowa jest istotna dla hydrolizy ATP. Mutacja w domenie N, w motywie Walker A nie pozwala na przyłączenie ATP. Natomiast mutacja w domenie C blokuje połączenie głowa-głowa i hydrolizę ATP. Mutacja typu substytucji aminokwasów (kwas glutaminowy/glicyna) w motywie Walker B stabilizuje połączenie głów i spowalnia hydrolizę ATP [28]. Działanie domeny zawiasowej nie zależy od ATP. Natomiast mutacje w tej domenie bardzo silnie modyfikują heterotypową interakcję zawias-zawias lub uniemożliwiają dimeryzację białek SMC [27].

HIPOTETYCZNE DZIAŁANIE BIAŁEK SMC

Budowa białek SMC wskazuje, że mechanizmy ich działania mogą dotyczyć różnego zestawu interakcji wewnątrz- i międzycząsteczkowych. Jeżeli dwie domeny głowy w dimerze łączą się ze sobą utworzy się pierścień lub zamknięty heterodimer w kształcie V. Natomiast połączenie głowa-głowa między różnymi dimerami prowadzi do powstania podwójnych pierścieni, filamentów i rozety [27]. Aktualne dane wskazują na to, że międzycząsteczkowe interakcje mogą wystąpić tylko w obecności DNA [42].

Kleizyny mają na N- i C-końcach wspólną domenę z motywem zwanym heliksem skrzydlatym. Tym motywem kleizyna łączy się bezpośrednio z C-końcem domeny głowy SMC. Modelowym systemem budowy i działania białek SMC jest system SMC u *Bacillus subtilis* (BsSMC) [27]. Model zakłada, że dimer BsSMC współdziała zarówno z jednociowym, jak i z dwuniciowym DNA, a także wykazuje aktywność ATPazową niezależną od DNA i stymulowaną przez DNA. Zakłócenie dimeryzacji domeny zawiasowej powoduje powstanie monomeru jednoramiennego, który nie wykazuje zdolności łączenia się z DNA. O słuszności twierdzenia dowodzi fakt, że domena zawiasowa ma istotną funkcję w cyklu mechano-chemicznym SMC [29]. Domena ta ma dwa dodatnio naładowane obszary – BP1 i BP2, które znajdują się w pobliżu obszaru dimeryzacji. Każda z tych reszt zawiera lizynę w pozycji kluczowej – 565 w BP1 oraz w trzech pozycjach kluczowych – 666, 667, 668 w BP2. Obszar BP2 jest istotny dla pierwszych etapów współdziałania z DNA. Wykazano, że do DNA wiążą się białka SMC połączone z ATP. Domeny głowowe dimeru SMC są wówczas ze sobą połączone. Połączenie to wyzwala hydrolizę ATP, co prowadzi do rozdzielenia domen głowowych. Następnie przyłączenie ATP promuje połączenie głowa-głowa albo w obrębie jednego dimeru, albo pomiędzy różnymi dimerami. Działanie domen wewnątrz dimeru prowadzi do uchwycenia DNA, a działanie domen pomiędzy różnymi dimerami gromadzi nici lub segmenty z różnych cząsteczek DNA [28, 29].

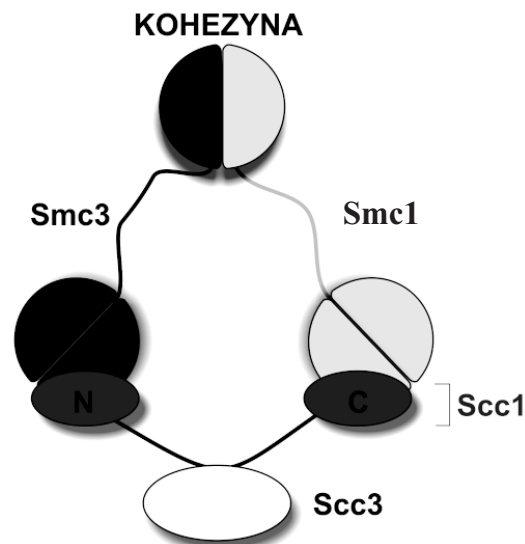
KOHEZYNY

Jedną z grup białek należących do SMC są kohezyny [52]. Ich główną rolą jest utrzymywanie chromatyd siostrzanych razem w czasie mitozy i mejozy w komórkach eukariotycznych [22]. Występują one jako ewolucyjnie konserwatywny kompleks czterech białek: MCD1/RAD21/SCC1, SMC1, SMC3 i SCC3/SA1/SA2.

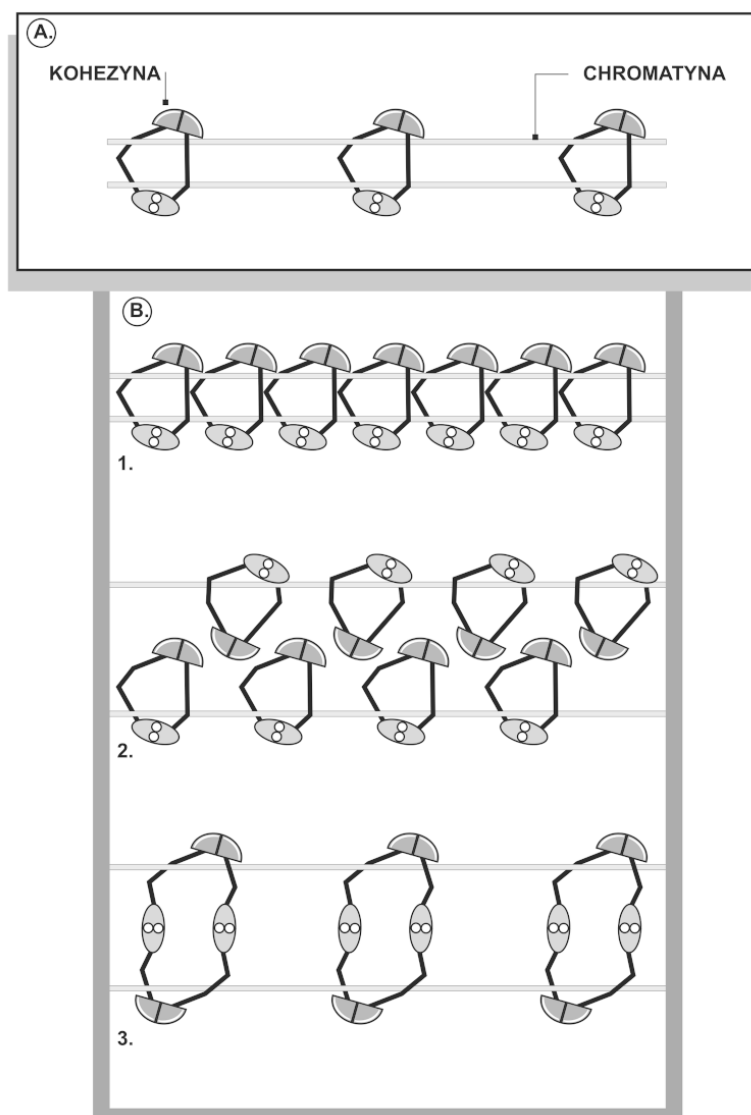
W chromosomach drożdżowych występują specyficzne miejsca przyłączania się kompleksu kohezyn zwane CARs (ang. *Cohesin Associated Regions* – obszary asocjacji kohezyn). W tych miejscach kohezyny są przyłączane w czasie przechodzenia lub po przejściu widełek replikacyjnych [47, 50].

Działanie kohezyn opisują modele „pierścienia” lub „obejmy” [22]. W tym miejscu zostanie to omówione na przykładzie heterodimeru SMC1-SMC3. Domeny główne SMC1 i SMC3 łączy kleizyna – Scc1, co powoduje powstanie trójczłonowego pierścienia. Według tego modelu poszczególne kompleksy kohezyn obejmują dwa duplekсы DNA wewnątrz swojej superzwiniętej przestrzeni, przytrzymując chromatyd siostrzane razem aż do metafazy. Na granicy przejścia metafaza/anafaza następuje proteolityczne cięcie podjednostki Scc1 przez enzym – separazę. Pozwala to na otwarcie pierścienia i uwalnia chromatyd na początku anafazy. Zgodnie z tym modelem cięcie kohezyn powoduje dysocjację ich z chromatyny i utratę kohezji chromatyd siostrzanych [21, 52].

Ostatnie badania biochemiczne minichromosomów kolistych u drożdży wykazały, że interakcja kohezyn z chromatyną ma charakter topologicznego połączenia z DNA [33]. Natomiast badania kohezyn *in vitro* wykazały, że oczyszczony kompleks tych białek ma umiarkowane powinowactwo do chromatyny czy DNA, dodatkowo także nie obserwowano aktywności ATPazowej [35, 58]. Wyżej opisany model działania kohezyn wydaje się uproszczony, gdyż kolejne badania wskazały także, iż jeden pierścień kohezynowy otacza jedną chromatydę i współdziała z białkami, innymi niż kohezyny, obecnymi w drugiej chromatydzie [5]. Liczne dane wskazują na to, że kohezja i dysocjacja kohezyn z różnych obszarów chromosomowych może być różnie warunkowana. Badania na drożdżach wykazały,



RYCINA 2. Budowa kohezyny. Heterodimer Smc1-Smc3 stanowi rdzeń kompleksu kohezyn, który zawiera dwa białka nienależące do SMC. Białko Scc1, które jest członkiem rodziny kleizyn (znane też jako Mcd1 lub Rad 21) i Scc3 [wg 27] FIGURE 2. Architecture of cohesin. An Smc1-Smc3 heterodimer functions as a core of the cohesin complex, which contains two non-SMC subunits, Scc1 which belongs to the kleistyne protein family (also known as Mcd1 or Rad 21) and Scc3 [acc. 27]



RYCINA 3. Sposób działania kohezyn: A – model pierścienia, w którym kompleksy kohezyn obejmują dwie siostrzane chromatydy swoimi ramionami; B – alternatywne modele działania kohezyn: 1 – każda kohezyna otacza jedną chromatydę, jak w modelu A, ale interakcje pomiędzy ramionami prowadzą do powstania struktury wyższego rzędu, która stabilizuje model kohezji; 2 – interakcje pomiędzy ramionami pomagają ustalić kohezję pomiędzy chromatydami; 3 – współdziałania głowa-głowa przy udziale ATP mogą mieć miejsce pomiędzy różnymi kompleksami kohezyn, co jest podstawą modelu działania kohezyn (nie pokazano na schemacie białek nienależących do SMC) [wg 27]

FIGURE 3. Potential action of cohesin: A – The ring model in which individual complexes of cohesin embrace within arms two sister chromatids; B – alternative models of cohesin action: 1 – each cohesin encircles only one chromatid like in model A, but arms-arms interactions between multiple cohesins assemble a higher-order structure that stabilizes cohesion model; 2 – arms interactions help establish cohesion between two chromatids; 3 – ATP-driven head to head interactions might occur between different cohesin complexes and produce a cohesin action model (the non SMC - subunits of cohesin are not shown to emphasize the central role of head-head engagement) [acc. 27]

że kohezja może być niezależna od kohezyn oraz że białka te mogą pełnić w chromatynie inne funkcje niż kohezja. Uczestniczą one również w wyciszaniu genów lub regulacji transkrypcji przez zablokowanie komunikacji pomiędzy enhancerami a promotorami odpowiednich genów [7, 9, 37, 62].

Kohezyny w centromerach drożdżowych

Kompleks centromerowo-kinetochorowy odgrywa istotną rolę we właściwej segregacji chromosomów i w kohezji chromatyd [52]. Podczas gdy centromery chromosomów mitotycznych i mejozycznych trwają w silnej kohezji aż do anafazy, to od ramion chromosomowych większość kohezyn oddysocjuje już w czasie profazy [46].

Mapowanie miejsc łączenia się kohezyn w chromosomach drożdżowych za pomocą metody ChiP ukazało ich bogactwo w obszarze pericentromerowym (o wielkości 50 kpz) otaczającym konserwatywny obszar centromerowego DNA o długości 120 pz. Funkcjonalny centromer wymaga obecności wielu kompleksów kohezynowych. Pericentryczna domena kohezynowa rozciąga się na odległość 20 kpz poza obszar, na który działają siły włókien wrzeciona podziałowego i która ulega rozdzieleniu w prometafazie [70]. To przejściowe rozdzielenie siostrzanych centromerów powodowane jest napięciem skierowanym na kinetochory przez siły wrzeciona, a nie jest spowodowane proteolizą podjednostki kohezyn. Po tym następuje ponowne połączenie siostrzanych centromerów. Nie poznano jeszcze przyczyn takiego działania [42].

Struktura centromerów u *Schizosaccharomyces pombe* przypomina strukturę centromerów u wyższych eukariotów. Mają one centralną domenę z CENP-A w nukleosomach oflankowaną przez powtarzalne sekwencje połączone z białkiem Swi6 (homolog białka heterochromatynowego HP1). Kilka lat temu znaleziono mutanty *S. pombe* swi6 mające defekty kohezji centromerowej, u których występowała zmniejszona ilość kohezyn w zewnętrznym obszarze powtórek centromerowych [51, 52]. Późniejsze badania wykazały, że transkrypty z tego obszaru są modyfikowane przez RNAi. W efekcie prowadzi to do powstania heterochromatyny, której cechą charakterystyczną jest dimetylacja lizyny 9 w histonie H3 i do której przyłącza się białko Swi6 [44, 54]. Wynika z tego, że mutacje w genach kodujących białka działające w szlaku RNAi mogą powodować defekty w segregacji chromatyd. Szlak RNAi obejmuje konserwatywne białka, takie jak: Dicer, Argonaut i polimerazę RNA zależną od RNA (RdRP). RNAi jest niezbędne do wydajnej metylacji lizyny 9 w histonie H3 [24]. Uważa się również, że gromadzenie kohezyn w centromerze jest wynikiem stanu specyficznej, potranslacyjnej modyfikacji histonów i jest to proces niezbędny dla właściwej segregacji chromatyd.

Kohezyny w telomerach chromosomów drożdżowych

Kohezyny zlokalizowano także w telomerach chromosomów drożdżowych [19, 38]. Analizując mutanty kohezynowe ustalono, że wszystkie telomery siostrzane są rozdzielane przedwcześnie [2], natomiast tylko połowa komórek wykazywała przedwczesną separację chromatyd. Wynika z tego, że telomery są przytrzymywane wyłącznie przez kohezyny, natomiast w przyleganiu chromatyd siostrzanych biorą udział

także inne mechanizmy. Badania komórek HeLa pokazują, że usunięcie tankyrazy I (ang. *TRF1-interacting, ANKYrin-related ADP-ribose polymerase*), regulującej przyłączenie do chromatyny telomerycznego białka TRF1, powoduje niezdolność do separacji telomerów w mitozie, mimo prawidłowego cięcia podjednostki Scc1 i widocznego rozdzielania się centromerów i ramion chromatyd siostrzanych [11]. Przyjęto, że kohezyny pośredniczą w kohezji telomerów, ale ich usuwanie odbywa się w inny sposób niż w chromatydach. Tankyraza I doprowadza do przejściowej dysocjacji kompleksu TRF1, co powoduje uwolnienie kohezyn [42]. Inne badania ukazały, że komórki pozbawione tankyrazy I były zatrzymane w metafazie i miały defekty wrzeciona podziałowego, ale kohezja ramion chromatyd była prawidłowa [6].

Kohezyny w NOR

W komórkach drożdży pączkujących segregacja wszystkich chromosomów jest warunkowana przecięciem kohezyn przez separazę z wyjątkiem chromosomu XII, który zawiera zbiór rDNA. Badania wykazały, że chromosom ten ma dodatkowy mechanizm przylegania chromatyd, a ich rozdzielanie w obszarze rDNA jest warunkowane przez fosfatazę Cdc14 i kondensynę [7, 43]. Analiza wyciszonego kompleksu rDNA (NOR) ujawniła obecność dwóch białek: Lsr4 i Csm1 należących do kompleksu monopolin, który zaburza monopolarną orientację siostrzanych kinetochorów w pierwszym podziale mejotycznym [32, 56]. Istnieją dane o interakcji białka Csm1 z kohezyną, które sugerują, iż kompleks Csm1-kohezyna zakotwicza pierścień kohezynowy w okolicy rDNA i zapobiega nierównej rekombinacji pomiędzy błędnie przylegającymi chromatydami. Model ten przypomina mechanizm przyłączania kohezyn przez TRF1 do telomerowego DNA [42].

Kohezyny a transkrypcja

Badania występowania kohezyn i transkrypcji genów u drożdży oraz muszki owocowej wskazują na to, że obecność tych białek może izolować enhancer od promotora lub zakłócić komunikację między tymi obszarami. Wykazano także, że białka Scc2/Nipped B (kompleks przyłączający kohezynę do chromosomów) i Pds5 (czynniki modulujące interakcję kohezyny z chromatyną) odgrywają rolę w regulacji dynamicznego łączenia się kohezyn do chromatyny [9, 41]. U muszki owocowej białko Nipped-B pełni wiele funkcji, a w ogóle jest białkiem wysoce konserwatywnym. Wykazano, że liczne mutacje genu kodującego zmutowane białko Nipped-B wpływały na ekspresję genu, zaburzały kohezję chromatyd siostrzanych i proces mejozy oraz lokalizację białka Nipped-B i kohezyn na chromosomach mitotycznych i mejotycznych [16]. W badaniach z użyciem immunoprecypitacji chromatyny stwierdzono, że Nipped-B i kohezyny przyłączają się do tych samych miejsc w genomie *Drosophila*, w których nie występują powtarzalne sekwencje nukleotydowe DNA. Preferencyjnie łączą się z obszarami transkrybowanymi i zachodzą na polimerazę II RNA. Natomiast u drożdży białka te łączą się wyłącznie w obszarach międzygenowych. W różnych liniach komórkowych *Drosophila* kohezyny i Nipped-B różnie się łączyły w zależności od różnic w ekspresji genu. Uważa się, że

transkrypcja ułatwia przyłączanie się kohezyn, przypuszczalnie dlatego, że wtedy chromatyna jest zrelaksowana. Natomiast Nipped-B reguluje ekspresję genów kontrolując dynamikę kohezyn [48].

USTALENIE KOHEZJI

U drożdży oraz w komórkach ludzkich zidentyfikowano heterodimery Scc2 i Scc4, których działanie jest konieczne dla stabilnego połączenia kohezyny z chromatyną przed replikacją DNA [65, 68]. Jednak przyłączenie się tych heterodimerów do chromatyny wymaga spełnienia kilku warunków. U *Xenopus* przyłączenie Scc2 do chromatyny wymaga obecności kompleksu pre-replikacyjnego i wyciszonej transkrypcyjnie chromatyny [17, 64]. Natomiast u drożdży kompleks Scc2-Scc4 łączy się z chromatyną wtedy, gdy jest ona aktywna transkrypcyjnie [38]. Niestety, nie udało się wytłumaczyć przyczyn działania tych mechanizmów.

Efekt wpływu czynników remodelujących chromatynę na kohezję jest kontrowersyjny. Jedne dane mówią, że np. u drożdży czynnik remodelujący zależny od ATP (RSC) prawdopodobnie przyłącza kohezyny do ramion chromosomów z wyjątkiem obszaru centromerowego [32]. Inne ukazują, że nie wpływa on na łączenie się kohezyn z chromatyną [4].

Kohezja jest procesem towarzyszącym przesuwaniu widełek replikacyjnych lub następuje tuż po ich przejściu. Wykazano występowanie wielu czynników ustalających kohezję, ale istnienie wszystkich tych czynników jest niezbyt zgodne z modelem działania kohezyn, gdyż widełki musiałyby prześlizgnąć się przez pierścień kohezynowy [59]. Model działania kohezyn nie wymaga przyłączania dodatkowych cząsteczek kohezyn ani hydrolizy ATP, co jest krytyczne dla inicjacji łączenia się kohezyn z DNA [39]. Uważa się, że czynniki ustalania kohezji mogą pomagać widełkom zaadaptować ich kształt do przejścia przez pierścień kohezynowy lub dostarczyć kohezynom stabilności połączenia ich z DNA w czasie przejścia widełek przez pierścień. Alternatywny model zakłada, że pierścień kohezynowy przejściowo oddysocjowuje od DNA i ponownie się z nim łączy po przejściu widełek razem z czynnikami ustalającymi kohezję [42].

USUWANIE KOHEZYN

Całkowite zniesienie przylegania chromatyd siostrzanych poprzez przecięcie podjednostki Scc1 przez separazę następuje wtedy, kiedy kinetochory każdej z chromatyd są w płycie metafazowej skierowane ku przeciwległym biegunom. U wyższych eukariotów większość kohezyn oddysocjowuje z chromatyny w czasie profazy. Wymaga to fosforylacji podjednostek kohezyn przez kinazy białkowe Polo i Aurora B [18, 25, 40]. Ostatnio odkryto białko Wap1, które w głównej mierze warunkuje uwolnienie kohezyn [13, 36]. Sugeruje się, że Wap1 może wpływać na

usuwanie wszystkich kohezyn, podczas gdy inne czynniki, takie jak Aurora B i Polo, mogą oddziaływać specyficznie na populacje kohezyn ustalające przyleganie.

TABELA 1 Geny ważne dla kohezji [wg 20]
TABLE 1. Genes important for cohesion

	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. pombe</i>	<i>Homo sapiens</i>
Geny strukturalne Structural genes	<i>MCD1 (SCC1)</i> <i>SMC1</i> <i>SMC3</i> <i>SCC3 (IRR1)</i>	<i>Rad21</i> <i>Psm1</i> <i>Psm 3</i> <i>Psc3</i>	<i>hRad21 (hSCC1)</i> <i>hSMC1</i> <i>hSMC3</i> <i>hSA1</i> <i>hSA2</i>
Geny regulatorowe Regulatory genes	<i>PDS5</i> <i>CTF7 (ECO1)</i> <i>PDS1</i> <i>ESP1</i> <i>CDC5</i> <i>SCC2</i> <i>SCC4</i>	<i>Pds5</i> <i>Eso1</i> <i>Cut2</i> <i>Cut1</i> <i>Plp1</i> <i>Mis4</i> <i>Ssl3</i>	<i>hPDS5A</i> <i>hPDS5B</i> <i>hESCO2</i> <i>hSecurin (PTTG)</i> <i>hSeparase</i> <i>hPLK1</i> <i>hScc2</i> <i>hScc4</i>

wiczony w DNA w taki sposób, jaki występuje np. w telomerach, rDNA, wyciszonych loci lub w pericentromerowej chromatynie. Wykazano, że warunkiem zakotwiczenia kohezyn w wyciszonych loci jest obecność chromatyd, co sugeruje, że proces ten zachodzi po replikacji.

Najnowsze badania w komórkach szczura ukazały, że około 1/3 kohezyn jądrowych jest stabilnie przyłączona do chromatyny po replikacji, a reszta kohezyn jest dynamicznie wymieniana w czasie interfazy. Pierwsza grupa kohezyn występuje aż do anafazy, a druga całkowicie oddysocjuje przed metafazą [14, 42]. Zaproponowano, że tylko stabilnie przyłączone kohezyny ustalają połączenie chromatyd siostrzanych. Najściślej połączone kohezyny mają pierścień zakot-

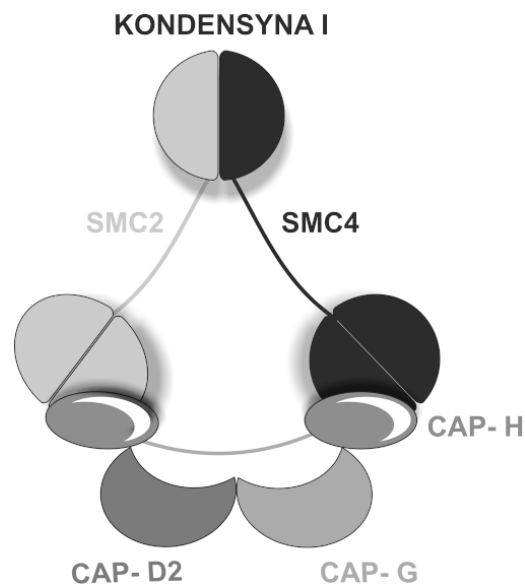
INNE CZYNNIKI ISTOTNE DLA USTALENIA KOHEZJI

Liczne czynniki białkowe ważne dla ustalenia kohezji odkryto w czasie przeglądu mutantów kohezynowych drożdży i komórek ludzkich. Wśród nich najważniejszym jest białko Pds5/Spo76/BimD [46]. Jest to białko konserwatywne ewolucyjnie, jego mutacje dają taki sam defektywny fenotyp w kohezji i segregacji chromosomów, jak mutacje kohezyn, pomimo, że Pds5 nie jest składnikiem kohezyn. Rozmieszczenie kohezyn na chromosomach nie zależy od białka Pds5. Stwierdzono natomiast, że stwarza ono odpowiednie warunki dla ustalenia kohezji. Poza tym, u drożdży pączkujących w ustaleniu kohezji w obszarze cichego locus kojarzeniowego MAT działają też tRNA i czynniki transkrypcyjne polimerazy III [10].

Innym białkiem wymaganym dla segregacji chromosomów jest enzym proteolityczny separaza, ulokowana we wrzecionie mitotycznym oraz na biegunach wrzeciona. Jest ona niezbędna dla integralności tej struktury. Uszkodzenie tego białka powoduje defekty w funkcjonowaniu wrzeciona podziałowego i w kohezji chromatyd. Możliwe, że separaza reguluje wydłużanie włókien wrzeciona i koordynuje to z oddysocjowaniem kohezyn w czasie rozpoczęcia anafazy [20]. Uważa się, że usuwanie kohezyn z CARs (specyficzne miejsca przyłączania się kohezyn w chromosomach drożdżowych) przez separazę jest jednym z ostatecznych mechanizmów, które działają wtedy, gdy inne mechanizmy nie mogą tego sprawdzić. Cięcie wykonywane przez separazy powoduje nieodwracalne uwolnienie kohezyn [66].

KONDENSYNY

Inną, ważną dla prawidłowej segregacji grupą białek są kondensyny. Jest to konserwatywny ewolucyjnie kompleks białkowy, który uczestniczy w kondensacji chromosomów w czasie podziałów komórki i przyczynia się do ich prawidłowej segregacji. Każda kondensyna zbudowana jest z pięciu białek. U kręgowców rdzeń kondensyny typu I i II tworzy heterodimer SMC2-SMC4 [55, 72]. Kompleks kondensyny I zawiera dodatkowo białka: SMC2, SMC4, CAP-D2/Eg7, CAP-G i kleizynę- γ /CAP-H [15, 23, 63]. Kompleks II zawiera białka spokrewnione z białkami pierwszego kompleksu kondensyn CAP-D3/hHCP-6, CAP-G2 i kleizynę- β /CAP-H2. Oba kompleksy I i II są reprezentowane w różnej ilości w różnych miejscach chromosomów wzdłuż osi chromosomowej, a ich usunięcie powoduje morfologiczne zmiany widoczne po potraktowaniu chromosomów roztworami hipotonicznymi [55]. U ssaków kondensyna II łączy się z chromatyną we wczesnej profazie i powoduje kondensację chromosomów. Natomiast kondensyna I może łączyć się z chromosomami dopiero po degradacji otoczki jądrowej. Kondensyna I jest niezbędna do kompletnego uwolnienia kohezyn z ramion chromosomowych, do maksymalnej kondensacji chromosomów i dla prawidłowego przebiegu prometafazy i metafazy. W tym okresie kondensyna II nie działa. Po obniżeniu zawartości kondensyn I i II początek kondensacji chromosomów zaczyna się przy końcu profazy i jest następnie gwałtownie inicjowany przed rozpadem otoczki jądrowej. To wskazuje, że kondensyny II i I łączą się z chromosomami sekwencyjnie i mają odrębne funkcje w skracaniu chromosomów mitotycznych. Według niektórych danych doświadczalnych inne białka też mogą być zaangażowane w proces kondensacji chromosomów [30]. Wskazują one między innymi na drugoplanową rolę histonu H1 i na wyraźny związek z kondensacją chromosomów fosfohistonu H3. Fosforylacja histonu H3 jest dokonywana przez enzym Aurora B w serynie 10 w ogonie N-końcowym cząsteczki już w początkowej fazie G1 cyklu. Natomiast we wczesnych stadiach mitozy ujawnia się fosforylacja seryny 28. Uważa się, że te modyfikacje



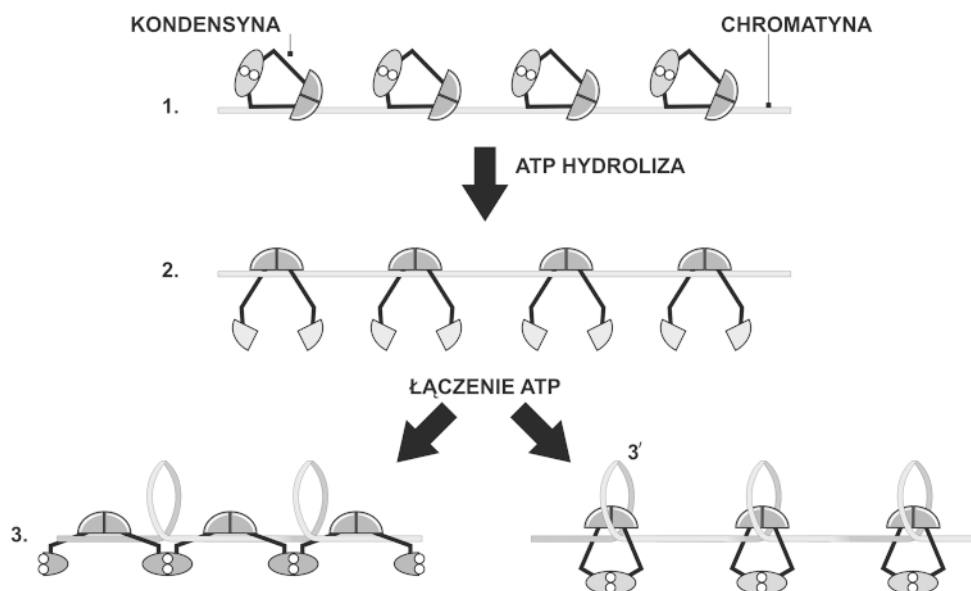
RYCINA 4. Heterodimer kondensyny I. SMC2-SMC4 funkcjonuje jako rdzeń kondensyny I (i II, nie pokazano); podjednostka CAP-H należy do rodziny kleizyn, a podjednostki CAP-D2 i CAP-G zawierają powtórki HEAT (motyw powtórek zbudowany z około 30 aminokwasów występujący w licznych białkach o różnych funkcjach) [wg 27]
FIGURE 4. An SMC2-SMC4 heterodimer functions as a core of condensin I (and condensin II; is not shown); the CAP-H subunit of condensin I belongs to the kleisin family, and the subunits CAP-D2 and CAP-G contain HEAT repeats (this is an approximately 30 amino acid-repeat motif that is found in a number of proteins with diverse functions) [acc. 27]

potranslacyjne histonu H3 są sygnałami molekularnymi dla inicjacji procesu kondensacji chromosomów [45, 61].

MODEL DZIAŁANIA KONDENSYN

Wyniki badania reakcji kondensyn z DNA *in vitro* sugerują, że pojedynczy kompleks kondensyn może być zdolny do wprowadzenia superzwojów DNA za pomocą mechanizmu owijania [45]. Badania enzymatyczne kondensyn ujawniły, że pojedynczy pięciopodjednostkowy kompleks kondensyn może powodować powstanie topologicznie skróconej cząsteczki DNA z wykorzystaniem ATP. Jest to proces odwracalny i dynamiczny, wymagający stosunkowo wysokiej koncentracji białek [30, 60].

Model działania kondensyn [27] opiera się na wielu fragmentarycznych danych ukazujących wysoce dynamiczną akcję tych białek. W tym modelu zamknięta



RYCINA 5. Roboczy model działania kondensyn: 1 – kondensyna może współdziałać z chromatyną w formie zamkniętej i to wywołuje hydrolizę ATP (ATP przyłączone do głowy oznaczono jako małe, białe kulki); 2 – hydroliza ATP powoduje otwarcie ramion i ustalenie obejmującego sposobu reagowania z chromatyną; 3 – następuje międzycząsteczkowe współdziałanie głowa-głowa może prowadzić do utworzenia filamentu nukleoproteinowego, w którym złapane są naprężenia pozytywnych superzwojów; 3' – alternatywnie niesymetryczny zwój może być wytworzony poprzez wewnątrzcząsteczkową interakcję głów; kolejne interakcje białko-białko tworzą formę rozety, a ułożenie rozet w stosy prowadzi do uformowania włókna chromatynowego prometafazowego (nie pokazano na schemacie) [wg 27]

FIGURE 5. A working model for the action of condensin: 1 – condensin may interact with chromatin for the first time in closed form; this interaction might trigger hydrolysis of ATP [ATP is marked as small white circles]; 2 – hydrolysis of ATP would open the condensin complex and establish structure of embracing chromatin; 3 – intermolecular head-head interactions could assemble a nucleoprotein filament in which positive superhelical tensions is trapped; 3' – alternatively a chiral loop might be created by intramolecular head-head interaction; subsequent protein-protein interactions would create a rosette-like structure and stacking of which leads to formation of prometaphase chromatin fiber (not shown) [acc. 27]

struktura kondensyn kontaktuje się z chromatyną w sposób siedzący. Do kondensyn przyłącza się ATP i ulega hydrolizie, co ułatwia otwarcie ramion obejmujących chromatynę i stabilizuje przyłączone białka. Wtedy kondensyny mogą działać na dwa różne sposoby, a mianowicie:

- 1 – następuje interakcja pomiędzy głowami różnych cząsteczek kondensyn w obecności ATP, która prowadzi do utworzenia struktury włókienkowo-podobnej, powodującej powstanie superhelikalnych naprężeń w DNA;
- 2 – drugi sposób polega na lokalnym otoczeniu DNA tą strukturą włókienkowo-podobną, i doprowadzeniu do powstania pętli; tworzą one struktury zorganizowane w rozety; współdziałanie ramion różnych cząsteczek kondensyn ułatwiają gromadzenie rozet w stosy i prowadzą do utworzenia skupionej chromatyny prometafazowej. Końcowe zwinięcie chromatyny prometafazowej skutkuje jej przekształceniem w chromatydę metafazową; ten model jest zgodny z obserwacjami cytologicznymi, wskazującymi że podjednostki kondensyn najpierw asocjują z peryferyjnym obszarem chromatyny profazowej i stopniowo nagromadzają się w centralnej osi chromatyd metafazowych [55].

Model powyższy jest tylko zarysem współdziałania wielu cząsteczek kondensyn i jest propozycją działania tych białek w procesie kondensacji chromosomów. Ze względu na to, że fizjologicznym substratem działania tych białek jest chromatyna, która jest gigantycznym kompleksem nukleoproteinowym, należałoby wziąć pod uwagę wszystkie współzależności białkowe i DNA, aby poznać kompletny, molekularny obraz procesu kondensacji chromosomów. Poza tym bardzo trudno jest stwierdzić, czy kondensyny działające *in vitro* tak samo działają w środowisku chromatyny. W dalszym ciągu brak danych na ten temat. Stąd zaprezentowany model stanowi domniemanie, chociaż jest poparty pewnymi, wspomnianymi wcześniej obserwacjami cytologicznymi.

U drożdży pączkujących w procesie mejozy kondensyny mają dwie aktywności, które przyczyniają się do kondensacji chromosomów meiotycznych. Pierwsza, podobnie jak w mitozie, pomaga w osiowej kondensacji chromosomów, druga promuje indywidualizację chromosomów z pomocą białek Red1 i Hop1, które są komponentami kompleksu synaptemalnego. Wykazano, że kondensyny są wymagane do homologicznego parowania chromosomów i do właściwej naprawy pęknięć podwójnej nici DNA. Kondensyny przyczyniają się też do tworzenia kompleksu synaptemalnego i odgrywają rolę w rozłączaniu chromosomów homologicznych połączonych chiazmami [74].

Wykazano, że mutacje białek kohezji chromatyd siostrzanych powodują bardzo silne defekty w kondensacji chromosomów, które są nieodróżnialne od defektów obserwowanych u mutantów kondensynowych [20, 27]. Liczne badania związku kohezyn z kondensynami wykazały, że mają one odrębne mechanizmy łączenia się z chromatyną, ale oddziaływanie ich na chromosomy może funkcjonalnie zachodzić na siebie. Ostatnie badania ukazały, że kondensyny odgrywają rolę w punkcie kontroli naprężenia mikrotubul wrzeciona na kinetochor. Mutanty kondensynowe miały nieaktywny ten punkt i wykazywały nondysjunkcję oraz częściową utratę centromerowego histonu Cse4p. Z tego wynika, że kondensyny pomagają w utrzymaniu struktury centromerowej u drożdży pączkujących [73].

ROLA SUMO I MITOZYNY W SEGREGACJI CHROMOSOMÓW

SUMO (ang. *Small Ubiquitin-like Modifier*) to małe białko modyfikujące, które przyłącza się do innego białka i wpływa na jego konformację, tak jak ubikwityna. Pod względem strukturalnym SUMO też jest podobne do ubikwityny, stąd też jego nazwa. Analiza mutantów drożdżowych *S. cerevisiae* i *S. pombe*, z defektem w białku SUMO i białkach współpracujących z nim, wykazała zakłócenia w segregacji chromosomów [69]. SUMO jest wytwarzane jako białko prekursorowe, które dojrzewa poprzez cięcie przez proteazy zwane Ulp2 u drożdży i SENP u wyższych eukariotów. Następnie jest aktywowane przez utworzenie mostka tioestrowego z jednostką aktywatora SUMO. Wówczas jest ono przesuwane do koniugatora SUMO, z którym łączy się mostkiem tioestrowym. Następnie koniugator SUMO przyłącza je do grupy aminowej lizyny w białku docelowym, niekiedy to połączenie wymaga aktywności ligazy SUMO. SUMO jest usuwane z danego białka za pomocą izopeptydazy, np. Ulp2 [69]. Delecja wielu genów związanych z sumolizacją jest letalna, przykładem są geny *SMT3* (kodujące SUMO), *AOS1*, *UBA2* (kodujące aktywator SUMO), *ULP1* i *Ubc9* (proteazy) u drożdży pączkujących lub subletalna dla genów *pmt3* i *hus5* u drożdży rozszczepkowych. U takich mutantów obserwowano wrażliwość na inhibitory mikrotubul, utratę minichromosomów, zwiększoną ilość komórek ze skondensowanymi chromosomami lub komórek z zaburzoną segregacją chromosomów [31].

W czasie uwalniania kohezji chromatyd siostrzanych musi dojść do degradacji sekury (Pds1), która uwalnia separazę. Proces degradacji jest wywołany aktywnością cyklosomu (APC/C) (ang. *Anaphase Promoting Complex/Cyclosom*), w którego regulacji ważną rolę odgrywa białko SUMO. Komórki pozbawione SUMO lub Ubc9 (koniugator SUMO) mają zahamowane podziały jądra i mają wysoki poziom Pds1 i innych białek zależnych od APC/C, takich jak cykliny Clb2 [8]. Niestety nie poznano jeszcze mechanizmu tej regulacji, ani sposobu sumolizacji 13 podjednostek APC/C oraz ich współdziałania [69]. Innym białkiem ważnym w utrzymaniu kohezji jest białko Pds5, które jest sumolizowane przed fazą S, a osiąga najwyższy poziom w anafazie [60]. Proces przyłączania SUMO do Pds5 zmienia konformację tego białka w taki sposób, że kompleks kohezyn staje się dostępny dla czynników niezbędnych do uwolnienia kohezyn [69]. Sumolizacji podlega także topoizomeraza II; proces ten jest potrzebny do regulacji kohezji i segregacji chromosomów, poprzez wytworzenie lub utrzymanie właściwej struktury lub topologii chromatyny [3].

Szereg badań pokazuje, że sumolizacja jest potrzebna w kondensacji chromosomów. Lokowanie się kondensyn w obszarze rDNA wymaga sumolizacji odpowiednich proteaz i Cdc14 [7]. Sumolizacja białka specyficznego dla anafazy – Ycs4, niebędącego członkiem rodziny SMC, prowadzi do prawidłowej i wydajnej segregacji obszarów zawierających wysoce powtarzalne sekwencje DNA, takich jak rDNA (NOR).

U wyższych eukariotów przyłączanie się chromosomów do mikrotubul wrzeciona podziałowego wymaga obecności kompleksu RanGAP1-RanBP2 [34]. RanGAP1 podlega sumolizacji w pojedynczej lizynie, co jest konieczne do współdziałania z RanBP2 oraz z kinetochorami i wrzecionem podziałowym. Modyfikacja ta stanowi bardziej złożony mechanizm wiązania włókien wrzeciona do chromosomów w związku z rozpadem

otoczki jądrowej. Wnioski takie wysunięto, ponieważ u drożdży, u których nie zanika otoczka jądrowa, nie stwierdzono sumolizacji RanGAP1 [69].

Innym białkiem, które współdziała z białkiem SUMO i bierze udział w segregacji chromosomów, jest białko centromerowe CENP-C. Badanie aktywności tego białka u drożdży sugeruje konserwatywną rolę SUMO, jednakże nie poznano mechanizmów tej modyfikacji.

Można powiedzieć, że przypisanie tylko jednej roli czy funkcji SUMO jest niemożliwe ze względu na liczne funkcje biologiczne pełnione przez to białko. Jednakże wiele badań dowodzi, że SUMO odgrywa znaczną rolę w segregacji chromosomów mitotycznych i mejotycznych [57].

MITOZYNA – CENP-F

Wśród wielu białek budujących centromer znajduje się białko CENP-F, inaczej zwane mitozyną [53]. Białko to ma wielkość 367-kDa, pierwotnie zostało wykryte w komórkach ludzkich podczas badań nad supresorem guza retinoblastomy [12]. CENP-F wykazuje dynamiczny wzór lokalizacji w komórce, bowiem podlega przemieszczeniu z macierzy jądrowej do peryferiów jądra komórkowego, a stamtąd do kinetochorów w fazie G2 cyklu komórkowego. Z kinetochorem jest połączone aż do rozpoczęcia anafazy, a następnie przemieszcza się do płaszczyzny równikowej wrzeciona podziałowego. Na podstawie badań immunologicznych i badań z użyciem mikroskopii elektronowej stwierdzono, że CENP-F zajmuje miejsce w peryferyjnej warstwie kinetochoru i może wystawać do obszaru korony. Domena kinetochorowa tego białka jest ulokowana w pobliżu końca C i jest wrażliwa na inhibitory farnezyl-transferazy. Nazwa CENP-F związana jest z modyfikacją potranslacyjną zwaną farnezylacją, dokonywaną przez transferazę farnezylową [12, 71]. Enzym ten kowalencyjnie przyłącza 15-węglowy łańcuch (farnyloowo-prenyloowy) z difosforanu farnezylu do cysteiny w C-końcu białka docelowego. Mutacja w tej domenie powoduje zablokowanie łączenia się CENP-F z kinetochorem. Poza tym przyłączenie się CENP-F do kinetochoru zależy od kinazy Bub1, białka CENP-1, Nup358/RanBP2 i Sgt1. Ostatnie badania wykazały, że CENP-F jest regulowany przez czynnik transkrypcyjny FoxM. Ludzkie komórki z usuniętym czynnikiem FoxM częściowo utraciły CENP-F, a objawiało się to zakłóceniem segregacji chromosomów i całego procesu mitozy. Bezpośrednie usunięcie CENP-F z komórki prowadziło do defektów w segregacji chromosomów i w punkcie kontroli mitotycznej. Analiza ilościowa przeprowadzona na komórkach z kinetochorami pozbawionymi CENP-F wykazała umiarkowaną redukcję poziomu białek Mad2, Bub1, BubR1 i hMPS1 związanych z punktem kontroli wrzeciona podziałowego (mitotycznym). CENP-F ma dwie domeny przyłączające mikrotubule na przeciwnych końcach cząsteczki. Stymulują one polimeryzację mikrotubul *in vitro* i to tłumaczy, jak CENP-F przyczynia się do przyłączania się kinetochorów do wrzeciona *in vivo* [12].

LITERATURA

- [1] ANDERSON DE, LOSADA A, ERICKSON HP, HIRANO T. Condensin and cohesin display different arm conformation with characteristic hinge angles. *J Cell Biol* 2002; **156**: 419–424.
- [2] ANTONIACCI LM, SKIBBENS RV. Sister-chromatid telomere cohesion is nonredundant and resists both spindle forces and telomere motility. *Curr Biol* 2006; **16**: 902–906.
- [3] AZUMA Y, ARNAOUTOV A, ANAN T, DASSO M. PIASy mediates SUMO-2 conjugation of Topoisomerase II on mitotic chromosomes. *EMBO J* 2005; **24**: 2172–2182.
- [4] BAETZ KK, KROGAN NJ, EMILI A, GREENBLATT J, HIETER P. The ctf13-30/CTF13 genomic haploinsufficiency modifier screen identifies the yeast chromatin remodeling complex RSC, which is required for the establishment of sister chromatid cohesion. *Mol Cell Biol* 2004; **24**: 232–244.
- [5] CHANG CR, WU CS, HOM Y, GARTENBERG MR. Targeting of cohesin by transcriptionally silent chromatin. *Genes Dev* 2005; **19**: 3031–3042.
- [6] CHANG P, COUGHLIN M, MITCHISON TJ. Tankyrase-1 polymerization of poly (ADP-ribose) is required for spindle structure and function. *Nat Cell Biol* 2005; **7**: 1133–1139.
- [7] D'AMOURS D, STEGMEIER F, AMON A. Cdc14 and condensin control the dissolution of cohesin-independent chromosome linkages at repeated DNA. *Cell* 2004; **117**: 455–469.
- [8] DIECKHOFF P, BOLTE M, SANACK Y, BRAUS GH, IRNIGER S. Smt3/SUMO and Ubc9 are required for efficient APC/C-mediated proteolysis in budding yeast. *Mol Microbiol* 2004; **51**: 1375–1387.
- [9] DORSETT D. Roles of the sister chromatid cohesion apparatus in gene expression, development and human syndromes. *Chromosoma* 2007; **116**: 1–13.
- [10] DUBEY RN, GARTENBERG MR. A tDNA establishes cohesion of a neighboring silent chromatin domain. *Genes Dev* 2007; **21**: 617–625.
- [11] DYNEK JN, SMITH S. Resolution of sister telomere association is required for progression through mitosis. *Science* 2004; **304**: 97–100.
- [12] FENG J, HUANG H, YEN T. CENP-F is a novel microtubule-binding protein that is essential for kinetochore attachments and affects the duration of the mitotic checkpoint delay. *Chromosoma* 2006; **115**: 320–329.
- [13] GANDHI R, GILLESPIE PJ, HIRANO T. Human Wapl is a cohesin-binding protein that promotes sister-chromatid resolution in mitotic prophase. *Curr Biol* 2006; **16**: 2406–2417.
- [14] GERLICH D, KOCH B, DUPEUX F, PETERS JM, ELLENBERG J. Live-cell imaging reveals a stable cohesin-chromatin interaction after but not before DNA replication. *Curr Biol* 2006; **16**: 1571–1578.
- [15] GASSMANN R, VAGNARELLI P, HUDSON D, EARNSHAW WC. Mitotic chromosome formation and the condensin paradox. *Exp Cell Res* 2004; **296**: 35–42.
- [16] GAUSE M, WEBBER HA, MISULOVIN Z, HALLER G, ROLLINS RA, EISSENBERG JC, BICKEL SE, DORSETT D. Functional links between *Drosophila* Nipped-B and cohesin in somatic and meiotic cells. *Chromosoma* 2008; **117**: 51–66.
- [17] GILLESPIE PJ, HIRANO T. Scc2 couples replication licensing to sister chromatid cohesion in *Xenopus* eggs extracts. *Curr Biol* 2004; **14**: 1598–1603.
- [18] GIMENEZ-ABIAN JF, SUMARA I, HIROTA T, HAUF S, GERLICH D, DELA TORRE C, ELLENBERG J, PETERS JM. Regulation of sister chromatid cohesion between chromosome arms. *Curr Biol* 2004; **14**: 1187–1193.
- [19] GLYNNE F, MEGEE PC, YU H, MISTROT C, UNAL E, KOSHLAND DE, DERISIJ L, GERTON JL. Genome-wide mapping of the cohesin complex in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS Biol* 2004; **2**: E259.
- [20] GUACCI V. Sister chromatid cohesion: the cohesin cleavage model does not ring true. *Genes Cells* 2007; **12**: 693–708.
- [21] GRUBER S, HAERING CH, NASMYTH K. Chromosomal cohesin forms a ring. *Cell* 2003; **112**: 765–777.
- [22] HAERING CH, NASMYTH K. Building and breaking bridges between sister chromatids. *Bioessays* 2003; **25**: 1178–1191.
- [23] HAGSTROM KA, MEYER BJ. Condensin and cohesin: more than chromosome compactor and glue. *Nat Rev Genet* 2003; **4**: 520–534.
- [24] HALL IM, NOMA K, GREWAL SI. RNA interference machinery regulates chromosome dynamics during mitosis and meiosis in fission yeast. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**: 193–198.
- [25] HAUF S, ROITINGER E, KOCH B, DITTRICH CM, MECHTLER K, PETERS JM. Dissociation of cohesin from chromosome arms and loss of arm cohesion during early mitosis depends on phosphorylation of SA2. *PLoS Biol* 2005; **3**: e69.
- [26] HIRANO T. The ABCs of SMC proteins: two-armed ATPases for chromosome condensation, cohesion and repair. *Genes Dev* 2002; **16**: 399–414.

- [27] HIRANO T. At the heart of the chromosome: SMC proteins in action. *Mol Cell Biol* 2006; **7**: 311–322.
- [28] HIRANO M, HIRANO T. Positive and negative regulation of SMC-DNA interactions by ATP and accessory proteins. *EMBO J* 2004; **23**: 2664–2673.
- [29] HIRANO M, HIRANO T. Opening closed arms: long-distance activation of SMC ATPase by hinge-DNA interactions. *Mol Cell* 2006; **21**: 175–186.
- [30] HIROTA T, GERLICH D, KOCH B, ELLENBERG J, PETERS JM. Distinct functions of condensin I and II in mitotic chromosome assembly. *J Cell Sci* 2004; **117**: 6435–6445.
- [31] HO JC, WATTS FZ. Characterization of SUMO-conjugating enzyme mutants in *Schizosaccharomyces pombe* identifies a dominant - negative allele that severely reduces SUMO conjugation. *Biochem J* 2003; **372**: 97–104.
- [32] HUANG J, HSU JM, LAURENT BC. The RSC nucleosome-remodeling complex is required for cohesin's association with chromosome arms. *Mol Cell* 2004; **13**: 739–750.
- [33] IVANOV D, NASMYTH K. A topological interaction between cohesin rings and circular minichromosome. *Cell* 2005; **122**: 849–860.
- [34] JOSEPH J, LIU ST, JABLONSKI SA, YEN TJ, DASSO M. The RanGAP1-RanBP2 complex is essential for microtubule-kinetochor interactions *in vivo*. *Curr Biol* 2004; **14**: 611–617.
- [35] KAGANSKY A, FREEMAN L, LUKYANOV D, STRUNNIKOV A. Histone tail-independent chromatin binding activity of recombinant cohesin holocomplex. *J Biol Chem* 2003; **279**: 3382–3388.
- [36] KUENG S, HEGEMANN B, PETERS BH, LIPP JS, SCHLEIFFER A, MECHTLER K, PETERS JM. Wapl controls the dynamic association of cohesin with chromatin. *Cell* 2006; **27**: 955–967.
- [37] LAM WW, PETERSON EA, YEUNG M, LAVOIE BD. Condensin is required for chromosome arm cohesion during mitosis. *Genes Dev* 2006; **20**: 2973–2984.
- [38] LENGRONNE A, KATOU Y, MORI S, YOKOBAYASHI S, KELLY GP, ITOH T, WATANABE Y, SHIRASHIGE K, UHLMANN F. Cohesin relocation from sites of chromosomal loading to places of convergent transcription. *Nature* 2004; **430**: 573–578.
- [39] LENGRONNE A, MACINTYRE J, KANOY Y, HOPFNER KP, AHIRAHIGE K, UHLMANN F. Establishment of sister chromatid cohesion at the *S. cerevisiae* replication fork. *Mol Cell* 2006; **23**: 787–799.
- [40] LOSADA A, HIRANO M, HIRANO T. Cohesin release is required for sister chromatid resolution, but not for condensin-mediated compaction, at the onset of mitosis. *Genes Dev* 2002; **16**: 3004–3016.
- [41] LOSADA A, HIRANO T. Dynamic molecular linkers of the genome: the first decade of SMC proteins. *Genes Dev* 2005; **19**: 1269–1287.
- [42] LOSADA A. Cohesin regulation: fashionable ways to wear a ring. *Chromosoma* 2007; **116**: 321–329.
- [43] MACHIN F, TORES-ROSELL J, JARMUZ A, ARAGON L. Spindle-independent condensation-mediated segregation of yeast ribosomal DNA in late anaphase. *J Cell Biol* 2005; **168**: 209–219.
- [44] MARTIENSSEN RA, ZARATIEGUI M, GOTO DB. RNA interference and heterochromatin in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Trends Genet* 2005; **21**: 450–456.
- [45] MASZEWSKI J, RYBACZEK D. Mechanizmy kondensacji chromosomów. *Post Biol Kom* 2004; **31**, Supl. 22: 145–156.
- [46] MELUH PB, STRUNNIKOV AV. Beyond the ABCs of CKC and SCC. Do centromeres orchestrate sister chromatid cohesion or vice versa? *FEBS Lett* 2002; **269**: 2300–2314.
- [47] MILUTINOVICH M, KOSHLAND DE. Molecular biology SMC complexes-wrapped up in controversy. *Science* 2003; **30**: 1101–1102.
- [48] MISULOVIN Z, SCHWARTZ YB, LI X, KAHN TG, GAUSE M, MACARTHUR S, FAY JC, EISEN MB, PIRROTTA V, BIGGIN MD, DORSETT D. Association of cohesin and Nipped-B with transcriptionally active regions of the *Drosophila melanogaster* genome. *Chromosoma* 2008; **117**: 89–102.
- [49] NASMYTH K, HAERING CH. The structure and function of SMC and kleisin complexes. *Annu Rev Biochem* 2005; **74**: 595–648.
- [50] NOBLE D, KENNA MA, DIX M, SKIBBENS RV, UNAL E, GUACCI V. Intersection between the regulators of sister chromatid cohesion establishment and maintenance in budding yeast indicates a multi-step mechanism. *Cell Cycle* 2006; **5**: 2528–2536.
- [51] NONAKA N, KITAJIMA T, YOKOBAJASHI S, XIAO G, YAMAMOTO M, GREWAL SI, WATANABE Y. Recruitment of cohesin to heterochromatic regions by Swi6/HP1 in fission yeast. *Nat Cell Biol* 2002; **4**: 89–93.
- [52] OLSZEWSKA MJ. Struktury i mechanizmy uczestniczące w prawidłowej segregacji siostrzanych chromatyd. *Rozprawy i Monografie Instytutu Genetyki Roślin PAN* 2004; **11**: 25–37.
- [53] OLSZEWSKA MJ. Struktura i ewolucja kompleksu centromer/kinetochor. *Post Biol Kom* 2004; **31**, Supl. 22: 5–19.
- [54] OLSZEWSKA MJ. Heterochromatyna i „heterochromatynizacja”. *Post Biol Kom* 2007; **34**: 391–407.
- [55] ONO T, LOSADA A, HIRANO M, MYERS MP, NEUWALD AF, HIRANO T. Differential contributions of condensin I and condensin II to mitotic chromosome architecture in vertebrate cells. *Cell* 2003; **115**: 109–121.

- [56] RABITSCH KP, PETRONCZKI M, JAVERZAT JP, GENIER S, CHWALLA B, SCHLEIFFER A, TANAKA TU, NASMYTH K. Kinetochore recruitment of two nucleolar proteins is required for homolog segregation in meiosis I. *Dev Cell* 2003; **4**: 535–548.
- [57] SAKAGUCHI K, KOSHIYAMA A, IWABATA K. Meiosis and small ubiquitin-related modifier (SUMO)-conjugating enzyme, Ubc9. *FEBS Lett* 2007; **274**: 3519–3531.
- [58] SAKAI A, HIZUME T, SUTANI K, TAKEYASU K, YNAGIDA M. Condensin but not cohesin SMC heterodimer induces DNA reannealing through protein-protein assembly. *EMBO J* 2003; **22**: 2764–2775.
- [59] SKIBBENS RV. Unzipped and loaded: the role of DNA helicases and RFC clamp-loading complexes in sister chromatid cohesion. *J Cell Biol* 2005; **169**: 841–846.
- [60] STEAD K, AGUILAR C, HARTMAN T, DREXEL M, MELUH P, GUACCI V. Pds5p regulates the maintenance of sister chromatid cohesion and is sumoylated to promote the dissolution of cohesion. *J Cell Biol* 2003; **163**: 729–741.
- [61] STRUNNIKOV AV. Condensin and biological role of chromosome condensation. W: Meijer L, Jezequel A, Roberge M [red.] *Prog Cell Cycle Res* 2003; **5**: 361–367.
- [62] SULLIVAN M, HIGUCHI T, KATIS VL, UHLMANN F. Cdc14 phosphatase induces rDNA condensation and resolves cohesin-independent cohesion during budding yeast anaphase. *Cell* 2004; **117**: 471–482.
- [63] SWEDLOW JR, HIRANO T. The making of the mitotic chromosome: modern insights into classical questions. *Mol Cell* 2003; **11**: 557–569.
- [64] TAKAHASHI TS, YIU P, CHOU MF, GYGI S, WALTER JC. Recruitment of *Xenopus* Scc2 and cohesin to chromatin requires the pre-replication complex. *Nat Cell Biol* 2004; **6**: 991–996.
- [65] TONKIN ET, WANG TJ, LISGO S, BAMSHAD MJ, STRACHAN T. NIPBL, encoding a homolog of fungal Scc2-type sister chromatid cohesion proteins and fly Nipped-B, is mutated in Cornelia de Lange syndrome. *Nat Genet* 2004; **36**: 636–641.
- [66] UHLMANN F. Chromosome cohesion and separation; from men and molecules. *Curr Biol* 2003; **13**: R104–R114.
- [67] UHLMANN F, HOPFNER KP. Chromosome biology: The Crux of the Ring. *Curr Biol* 2006; **16**: 102–105.
- [68] WATRIN E, SCHLEIFFER A, TANAKA K, EISENHABER F, NASMUTH K, PETERS JM. Human Scc4 is required for cohesin binding to chromatin, sister-chromatid cohesion, and mitotic progression. *Curr Biol* 2006; **16**: 863–874.
- [69] WATTS FZ. The role of SUMO in chromosome segregation. *Chromosoma* 2007; **116**: 15–20.
- [70] WEBER SA, GERTON JL, POLANCIC JE, DERISI JL, KOSHLAND D, MEGEE PC. The kinetochore is an enhancer of pericentric cohesin binding. *PLoS Biol* 2004; **2**: E260.
- [71] VARIS A, SLAMEL A A, KALLIO M. Cenp-F (mitosin) is more than mitotic marker. *Chromosoma* 2006; **115**: 288–295.
- [72] YEONG FM, HOMBAUER H, WENDT KS, HIROTA T, MUDRAK I, MECHTLER K, LOREGGER T, MARCHLER-BAUER A, TANAKA K, PETERS JM. Identification of a subunit of a novel kleisin-beta/SMC complex as a potential substrate of protein phosphatase 2 A. *Curr Biol* 2003; **13**: 2058–2064.
- [73] YOUNG-GONZALES V, WANG BI-DAR, BUTYLIN P, OSUSPENSKI I, STRUNNIKOV A. Condensin function at centromere chromatin facilitates proper kinetochore tension and ensures correct mitotic segregation of sister chromatid. *Genes Cells* 2007; **12**: 1075–1090.
- [74] YU HG, KOSHLAND DE. Meiotic condensin is required for proper chromosome compaction, SC assembly, and resolution of recombination-dependent chromosome linkages. *J Cell Biol* 2003; **163**: 937–947.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 13.03. 2008 r.

Przyjęto: 15.06. 2008 r.

Katedra Biologii Komórki, Uniwersytet Szczeciński

ul. Zielona 21/1, 71-033 Szczecin

e-mail: strog@univ.szczecin.pl