

## КОГЕЗИН-ЗАВИСИМАЯ ЭКСТРУЗИЯ: РОЛЬ В КЛЕТОЧНОЙ ФИЗИОЛОГИИ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ МЕХАНИКА

### Обзор

© 2024 А.К. Голов<sup>1,2\*</sup>, А.А. Гаврилов<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии гена РАН,  
119334 Москва, Россия; электронная почта: golovstein@gmail.com; aleksey.a.gavrilov@gmail.com

<sup>2</sup> Технион – Израильский технологический институт, 3525433 Хайфа, Израиль

Поступила в редакцию 21.10.2023

После доработки 29.12.2023

Принята к публикации 15.02.2024

Наиболее известные представители группы белковых комплексов, называемых SMC-комплексами, когезин и конденсин, знакомы многим как структурные компоненты митотических хромосом. Как выяснилось, эти комплексы, а также их бактериальные гомологи являются молекулярными машинами, АТР-зависимое движение которых по ДНК-нитям приводит к формированию ДНК-петель. В последние годы мы наблюдаем лавинообразное накопление данных о процессе SMC-зависимого выпетливания ДНК, называемого экструзией. Этот обзор кратко суммирует современные представления о месте и роли когезин-зависимой экструзии в физиологии клетки, в нем также представлены наиболее убедительные модели, предложенные для описания молекулярного механизма экструзии. Мы завершаем обзор обсуждением того, каким образом способность когезина к экструзии может быть механистически взаимосвязана с его участием в когезии сестринских хроматид.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** когезин, SMC-комплексы, экструзия, когезия, «ДНК-захват».

DOI: 10.31857/S0320972524040024 EDN: ZGQQPS

### ВВЕДЕНИЕ

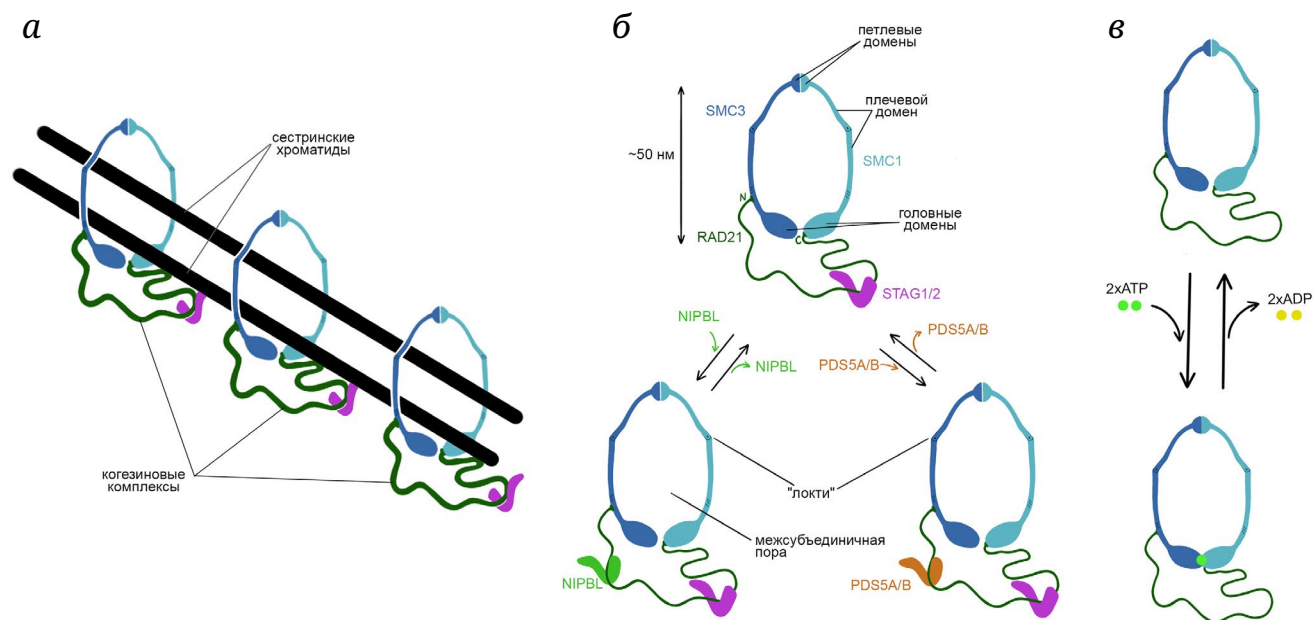
Когезин – это белковый комплекс, абсолютно необходимый для воспроизведения эукариотических клеток [1, 2]. Белки, входящие в состав когезина, были открыты более 25 лет назад как факторы, участвующие в сцеплении сестринских хроматид между собой в митозе [3–5]. Позже выяснилось, что этот феномен, получивший название «когезия», основан на том, что пары сестринских хромосом после репликации оказываются продетыми сквозь множественные когезиновые комплексы (каждый из которых имеет кольцевую структуру и содержит довольно пространную межсубъединичную пору), подобно двум ниткам,

продетым через серию бисеринок (рис. 1, а) [6–8]. Поддержание когезии на протяжении G2-фазы клеточного цикла и ее контролируемое своевременное разрешение в анафазе, происходящее за счет протеолиза RAD21-субъединицы когезина, обеспечивают правильное прикрепление микротрубочек веретена к кинетохорам и равномерное распределение генетического материала между двумя дочерними клетками [9].

Еще одной не менее важной активностью когезина, наряду с когезией, оказалась его способность к формированию ДНК-петель по механизму, названному «экструзия» [2, 10, 11]. Экструзия начинается с того, что когезин связывается с небольшим фрагментом ДНК, после чего реализуется АТР-зави-

Принятые сокращения: ТАД – топологически-ассоциированный домен; т.п.о. – тысячи пар оснований; Э-П – энхансер-промоторные (взаимодействия); CAR (Cohesin Associated Region) – геномная область, ассоциированная с когезином; FRET (Förster Resonance Energy Transfer) – анализ ферстеровского переноса энергии; HAWK (HEAT protein Associated With Kleisin) – HEAT-белок, ассоциированный с клейзином; SMC (Structural Maintenance of Chromosomes) – белок структурного поддержания хромосом.

\* Адресат для корреспонденции.



**Рис. 1.** Структура когезина и его участие в когезии сестринских хроматид. *а* – Топологическое надевание когезиновых колец на сестринские хроматиды при когезии. *б* – Схема корового тримера, формирующего когезиновое кольцо; привлечение дополнительных HAWK-субъединиц к коровому тримеру. *в* – Димеризация головных доменов SMC-субъединиц, необходимая для гидролиза АТФ

симое движение комплекса по ДНК, приводящее к процессивному затягиванию фланкирующих участков ДНК внутрь удерживаемой петли, финальная длина которой может достигать сотен тысяч пар оснований (т.п.о.). Теоретически затягивание может происходить со стороны одного из оснований петли, удерживаемой комплексом (в случае однонаправленной экстрюзии), или с обеих сторон (в случае двунаправленной экстрюзии). Экстрюзия характерна не только для когезина, но для целой группы белковых комплексов, так называемых SMC-комплексов (Structural Maintenance of Chromosomes, белок структурного поддержания хромосом), одним из представителей которых является когезин [12–14]. Совместная активность ДНК-топоизомераз типа II и SMC-зависимой экстрюзии необходима для пострепликативной индивидуализации сестринских геномов во всех клетках (прокариотических и эукариотических). Экстрюзия также может обеспечивать упорядоченную компактизацию ДНК; самым ярким примером такой компактизации является формирование митотических хроматид в профазе/метафазе в клетках позвоночных. Хроматиды представляют собой вытянутые структуры, состоящие из плотно упакованных хроматиновых петель, закоренных на белковом остова. Основным структурным компонентом остова хроматид является конденсин – белковый комплекс группы SMC, отвечающий за митотическую экстрюзию, результатом которой и является формирование хроматид. Когезин-зависимая экстрюзия участвует в индивидуализации

эукариотических хромосом и во многих ситуациях отвечает за компактизацию хроматина, но она также имеет ряд дополнительных функций.

Когезия, в отличие от экстрюзии, характерна исключительно для когезина и более ни для одного из представителей группы SMC-комплексов [1, 2]. Возникновение когезивной активности у предкового когезина, вероятно, произошло в ходе раннего эукариогенеза [15], это приобретение не привело тем не менее к потере экстрюзионной активности комплекса [16–18]. Эта общепризнанная точка зрения поднимает целый ряд интересных вопросов о механистических, функциональных и эволюционных взаимоотношениях между феноменом когезии и процессом экстрюзии.

В данном обзоре мы суммируем современные представления о когезин-зависимой экстрюзии, ее роли в клеточных процессах и ее молекулярных механизмах. Мы также кратко обсуждаем разрозненные данные, указывающие на возможную механистическую взаимосвязь между экстрюзией и когезией. Более подробное описание структуры когезинового комплекса и принципов его взаимодействия с хроматином можно найти в первом обзоре серии, опубликованном в этом же номере журнала [19].

## СТРУКТУРА КОГЕЗИНОВОГО КОМПЛЕКСА

Когезин представляет собой белковый комплекс с кольцевой структурой, основой которой

является тример коровых белков: SMC1 (Smc1)<sup>1</sup>, SMC3 (Smc3) и RAD21 (Scc1). Все три белка имеют вытянутую форму и взаимодействуют между собой своими концевыми глобулярными доменами (рис. 1, б). Такая организация приводит к тому, что комплекс имеет пространную межсубъединичную пору, способную пропускать глобулярные частицы диаметром около 10 нм [20, 21]. Наличие замкнутой межсубъединичной поры обеспечивает способность комплекса к топологическому надеванию на ДНК, в котором ДНК-нить оказывается продета через белковое кольцо [6–8].

SMC1- и SMC3-субъединицы являются паралогами, принадлежащими к семейству АТРаз, называемых SMC-белками [22]. SMC1 и SMC3 образуют стабильный V-образный гетеродимер за счет гомотипического взаимодействия между петлевыми доменами двух субъединиц [20, 23]. За АТРАЗную активность отвечают головные домены, расположенные на противоположном от петлевого домена конце каждой из палочковидных молекул. В присутствии АТР происходит периодическая димеризация головных доменов двух SMC-субъединиц между собой, такая димеризация необходима для гидролиза связанных молекул АТР (рис. 1, в). Петлевой и головной домены каждой из SMC-субъединиц соединены между собой длинным и относительно гибким суперспиральным (coiled-coil) плечевым доменом. Гибкость плечевого домена в значительной степени связана с наличием эволюционно консервативного дефекта в регулярной суперспиральной структуре, называемого локтевым участком (рис. 1, б). Сгибание «локтей» имеет довольно большую амплитуду, при одновременном сгибании локтевых участков обеих SMC-субъединиц может происходить сближение петлевых и головных доменов комплекса. Белок RAD21, называемый также клейзиновой субъединицей, образует постоянный мостик между двумя головными доменами SMC-субъединиц и таким образом замыкает кольцевую структуру.

С коровым тримером связываются вспомогательные субъединицы, относящиеся к семейству HAWK-белков (HEAT protein Associated With Kleisin; HEAT-белок, ассоциированный с клейзином): STAG1/2<sup>2</sup> (Scc3), NIPBL (Scc2), PDS5A/B (Pds5) [16, 20, 23]. Основным местом взаимодействия HAWK-субъединиц с коровым тримером является клейзиновая субъединица, причем только STAG1/2 образует стабильный контакт с RAD21 и, таким образом,

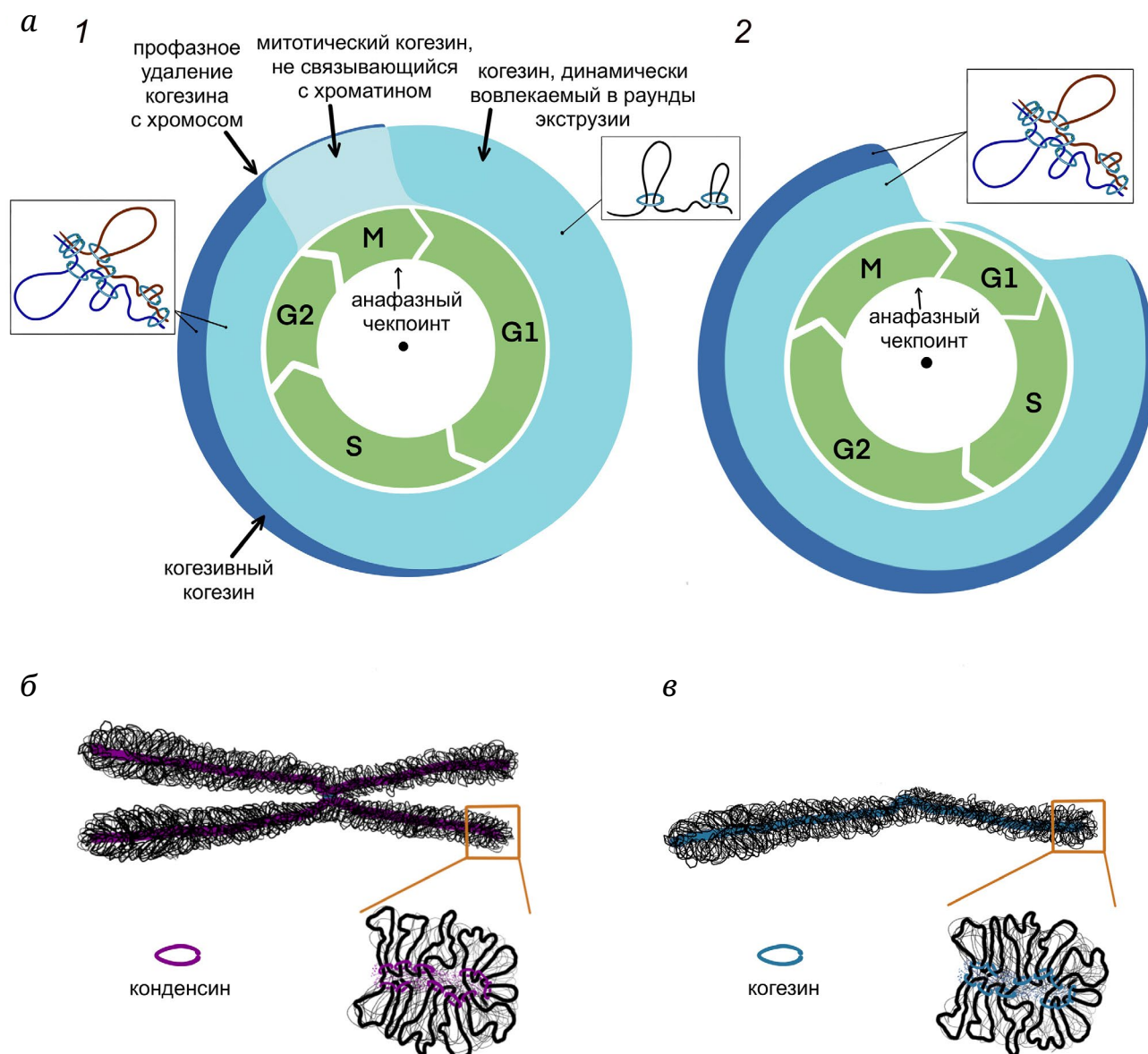
является конститутивным компонентом комплекса. NIPBL и PDS5A/B конкурируют за связывание с общим сайтом посадки на клейзиновой субъединице, и оба эти белка взаимодействуют со стабильным когезиновым тетрамером (SMC3–SMC1–RAD21–STAG1/2) транзитно [24–26]. Таким образом, в каждый момент времени комплекс может содержать одну (STAG1/2) или две (STAG1/2 + NIPBL или STAG1/2 + PDS5A/B) HAWK-субъединицы (рис. 1, б). Вхождение в состав когезина NIPBL (и присутствие ДНК) необходимо для эффективного гидролиза АТР, замещение NIPBL на PDS5A/B кардинально изменяет активность комплекса [26].

### КЛЕТОЧНЫЙ КОНТЕКСТ КОГЕЗИН-ЗАВИСИМОЙ ЭКСТРУЗИИ

**Когезин-зависимая экстррузия на протяжении клеточного цикла.** Когезин-зависимая экстррузия реализуется в эукариотических клетках на протяжении интерфазы и митоза (рис. 2, а). Разные оценки указывают на то, что в G1-клетках позвоночных имеется порядка 100 000 когезиновых колец, это число удваивается к G2-фазе [27, 28]. В нуклеоплазме G1-клеток сосуществуют две примерно одинаковые по размеру субпопуляции когезиновых комплексов, находящиеся в динамическом равновесии: (1) свободно-диффундирующие и (2) вовлеченные в экстррузию (с характерным временем связывания с хроматином порядка 10–30 мин – в клетках позвоночных и порядка 1 мин – в клетках дрожжей) [28–31]. При установлении когезии в S-фазе появляется третья субпопуляция: стабильно связанные когезивные кольца, выведенные из цикла инициации/терминации экстррузии [28, 29, 32]. В митозе происходит полная остановка когезин-зависимой экстррузии. У позвоночных фосфорилирование HAWK-субъединиц в профазе индуцирует терминацию когезии в плечах хромосом; по всей вероятности, это фосфорилирование также приводит к диссоциации с ДНК когезина, участвующего в экстррузии [29, 33]. Возобновление когезин-зависимой экстррузии происходит в конце телофазы [34, 35]. У почкующихся дрожжей когезин-зависимая экстррузия осуществляется в митотических клетках вплоть до наступления анафазы [36], когда сепаразо-зависимый протеолиз клейзиновых субъединиц приводит к деградации всех без исключения когезиновых колец в клетке, и возобновляется

<sup>1</sup> В основном тексте указаны названия белков человека; в скобках (при первом упоминании) – названия гомологичных белков *Saccharomyces cerevisiae*.

<sup>2</sup> Геномы позвоночных, как правило, кодируют по паре паралогичных HAWK-субъединиц типа Scc3 и Pds5, экспрессирующихся в соматических клетках: STAG1/STAG2 и PDS5A/PDS5B. Эти паралоги в большинстве случаев структурно и функционально эквивалентны, поэтому далее в тексте мы будем использовать обозначения STAG1/2 и PDS5A/B.



**Рис. 2.** Активность когезина на протяжении клеточного цикла и результат компактизации хроматина за счет SMC-зависимой экструзии. **а** – Количество интактных когезиновых комплексов и их активность в течение митотического цикла в клетках позвоночных (1) и *S. cerevisiae* (2). **б** – Метафазные хромосомы позвоночных, формируемые за счет экструзионной активности конденсина, накапливающегося в осевых структурах. Типичная X-образная структура поддерживает активность при помощи остаточной центромерной когезии двух метацентрических сестринских хромосом. **в** – Компактные хроматидоподобные структуры типа «вермишели», образующиеся в интерфазных клетках позвоночных за счет когезин-зависимой экструзии при подавлении активности WAPL. Когезин является основным структурным компонентом осевых структур таких хромосом

только к концу G1-фазы с восстановлением пула интактных когезиновых комплексов [4, 36].

#### Геномная локализация сайтов инициации.

Инициация экструзии, осуществляемой когезином, не приурочена строго к конкретным геномным сайтам, однако существуют места предпочтительной посадки экструзионных комплексов на ДНК. Центромеры и прицентромерные области являются примерами сайтов такой предпочтительной посадки [8, 26]. Инициация экструзии, однако, постоянно происходит и вне центромерных обла-

стей. До последнего времени предполагалось, что инициация когезин-зависимой экструзии в плечах хромосом связана в основном с открытым хроматином [37–39]. Однако эта модель подвергается критике. Недавно опубликованные экспериментальные данные о геномном распределении связывания субъединиц когезина, а также результаты компьютерного моделирования указывают на то, что на всех участках хромосом за пределами центромер инициация экструзии происходит с более-менее равной вероятностью [40].

**WAPL и PDS5A/B – негативные регуляторы процессивности, NIPBL – позитивный.** Длина формирующихся в результате экстракции петель определяется процессивностью когезиновых комплексов и геномным распределением сайтов остановки экстракции [36, 41–45], она варьирует от нескольких десятков т.п.о. у дрожжей [44, 46] до сотен т.п.о. – у позвоночных [41, 42].

Процессивность когезин-зависимой экстракции подавляется HAWK-субъединицей PDS5A/B, а также белком WAPL, привлекаемым этой субъединицей. Деpletion PDS5A/B и WAPL (вместе или по отдельности) существенно увеличивает продолжительность связывания когезина, участвующего в экстракции, с хроматином, а также длину формируемых ДНК-петель [36, 41, 42, 44, 45]. Интересно, что оба этих белка также участвуют в непротеолитической терминации когезии, в рамках так называемого профазного каскада: привлечение белка WAPL к когезиновым комплексам, содержащим PDS5A/B-субъединицу в своем составе, приводит к непротеолитическому раскрытию белковых колец на плечах хромосом позвоночных в профазе митоза и их снятию с ДНК [47, 48]. Эта двойная активность PDS5A/B и WAPL косвенно указывает на существование механистического сходства между процессом экстракции и феноменом когезии.

Другая HAWK-субъединица, NIPBL, напротив, является позитивным регулятором процессивности экстракции. NIPBL традиционно считается погрузчиком когезина, однако эта точка зрения, вероятно, требует переосмысления в свете получения новых данных, показывающих, что NIPBL может не участвовать в первичной посадке когезина на хроматин [49]. Твердо установлено, что привлечение NIPBL в состав комплекса необходимо для активной экстракции: функциональная деpletion NIPBL приводит к ослаблению когезин-зависимых петлевых взаимодействий у позвоночных и подавлению транслокации когезина от мест первичной посадки у дрожжей [26, 42, 50]. В течение одного раунда инициации/терминации экстракции NIPBL многократно входит и выходит из состава комплекса: время связывания NIPBL-субъединицы с хроматином в G1-клетках позвоночных составляет около 1 мин – на порядок меньше длительности каждого раунда экстракции [25, 31]. В один из периодов отсутствия NIPBL в комплексе его место может занять PDS5A/B-субъединица, привлекающая WAPL, что, вероятно, приводит к терминации экстракции по пока еще не установленному механизму [2].

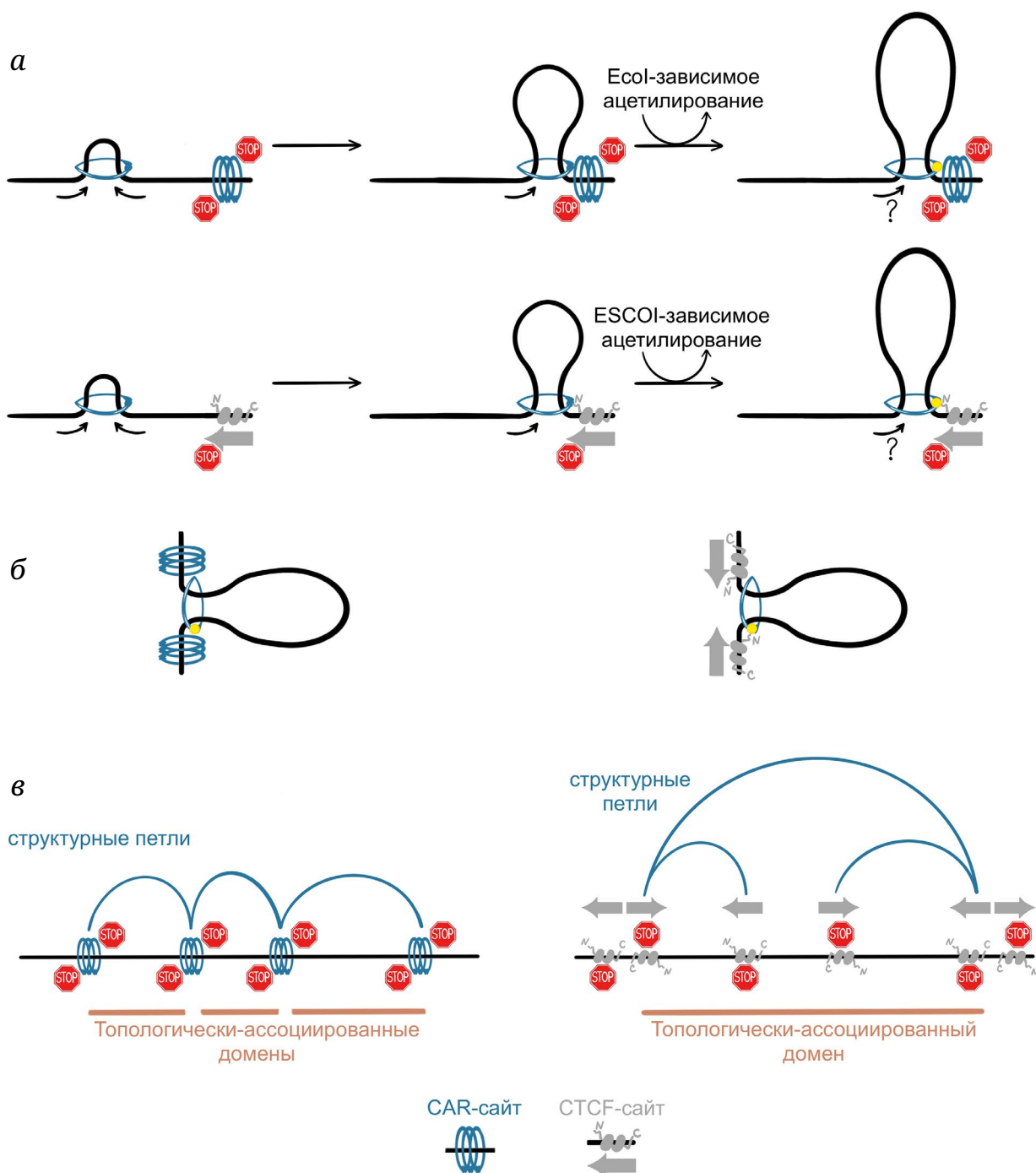
Экстракция, осуществляемая когезином в интерфазе, в отличие от митотической конденсационно-зависимой экстракции, как правило, не приводит к формированию конденсированных хроматидо-подобных структур с белковыми остовами и от-

ходящими от них ДНК-петлями. Это может быть связано с низкой процессивностью когезин-зависимой экстракции. Подавление активности PDS5A/B и WAPL приводит в клетках позвоночных к конденсации хроматина в интерфазе с формированием микроскопически видимых вытянутых структур с центральными остовами, содержащими когезин [41, 42, 51]. Такие компактные структуры с характерной формой, напоминающей метафазные хроматиды (рис. 2, б), получили название «вермишели» (рис. 2, в).

Интерфазные «вермишели» в структурном смысле аналогичны хроматидам, формируемым в профазе мейоза I [52]. Компактизация мейотических хромосом достигается за счет экстрадирующей активности когезина, накапливающегося в осевых структурах, которые впоследствии становятся важной составляющей синаптонемного комплекса. Формирование в профазе мейоза I при участии когезина конденсированных структур, подобных метафазным хроматидам, стало одним из ранних указаний на то, что экстракция ДНК-петель может являться универсальной для всех SMC-комплексов активностью [51, 53].

**Сайт-специфическая остановка.** Когезин-зависимая экстракция отличается от экстракции, осуществляемой другими SMC-комплексами, способностью к регулируемой остановке в специфических геномных локусах. Точно не известно, является ли такая остановка временной паузой или ведет к окончательной терминации экстракции. Как бы то ни было, сформированные ДНК-петли какое-то время удерживаются остановленными экстракционными комплексами до диссоциации комплекса от ДНК [31, 54]. Описано по крайней мере два механизма сайт-специфической остановки экстракционных когезиновых комплексов: CAR-зависимый (Cohesin Associated Region, геномная область, ассоциированная с когезином) и CTCF-зависимый. Первый, эволюционно более древний и типичный для клеток низших эукариот, связан с протяженными геномными областями накопления когезина, CAR-регионами [44, 46, 55]. CAR-Регионы предпочтительно иммунопреципитируются антителами против субъединиц когезина и, как правило, расположены в 3'-концах конвергентно транскрибируемых генов [56, 57]. Второй механизм остановки, связанный с активностью инсульторного белка CTCF, реализуется в клетках позвоночных [58, 59]. Остановка экстракционных комплексов в CTCF-сайтах приводит к тому, что подавляющее большинство сильных сайтов связывания субъединиц когезина с хроматином в клетках позвоночных колокализуется с сайтами связывания CTCF.

У CAR-зависимого и CTCF-зависимого механизмов остановки экстракции много общего как между собой, так и с процессами стабилизации



**Рис. 3.** Механизмы остановки когезин-зависимой экструзии и паттерны укладки хроматина, возникающие в результате блокировки движения и стабилизации экструзионных комплексов. *а* – CAR-зависимая и CTCF-зависимая остановка экструзии. Столкновение когезина с единичным сайтом, по всей вероятности, превращает двунаправленную когезин-зависимую экструзию в однонаправленную. ESCO1 (Eco1)-зависимое ацетилирование SMC3-субъединицы (ацетилирование SMC3 показано желтой точкой) играет важную роль в остановке экструзии и защите остановленного комплекса от WAPL. *б* – Структурные петли, содержащие CAR- или CTCF-сайты в основаниях, образуются за счет полной (двусторонней) остановки экструзии. Ацетилирование SMC3 показано желтой точкой. *в* – Положение CAR- и CTCF-сайтов в геноме предопределяет формирование характерных наднуклеосомных паттернов укладки хроматина: структурных петель и топологически-ассоциированных доменов

связывания когезивных колец с хроматином (рис. 3, *а*). Остановка в обоих случаях осуществляется за счет того, что сайты остановки благопри-

ятствуют замещению NIPBL на PDS5A/B [44, 58]. Такому замещению способствует ESCO1 (Eco1)-зависимое ацетилирование белка SMC3, происходящее

в сайтах остановки [43, 45]. Ацетилирование SMC3-субъединицы по консервативным остаткам лизина K105/K106 (K112 и K113 – у дрожжей) подавляет экстрозионную активность когезина, предположительно, за счет уменьшения сродства комплекса к NIPBL [60, 61]. Кроме того, ацетилирование препятствует активности белка WAPL [62], которая, как уже было сказано, удаляет с хроматина не только топологически-связанные когезиновые комплексы, но и комплексы, участвующие в экстрозии [41, 42, 51]. Интересно, что стабилизация когезивных колец на хроматине в G2-фазе происходит за счет ацетилирования SMC3 по тем же самым аминокислотным остаткам (у многих видов в стабилизации также участвует вспомогательный белок – сорорин). Ацетилирование, обеспечивающее стабилизацию когезии, устанавливается в S-фазе корепликативно за счет активности паралога ESCO1, ацетилтрансферазы ESCO2 (Eco1), и оно также подавляет активность WAPL в отношении ацетилированных комплексов.

Наличие геномных элементов, останавливающих экстрозию, приводит к накоплению когезиновых комплексов, взаимодействующих с CAR-элементами и CTCF-сайтами, а также к образованию характерных паттернов укладки интерфазного хроматина: структурных хроматиновых петель, заякоренных в указанных геномных элементах, и топологически-ассоциированных доменов (ТАД) (рис. 3, б и в) [44, 46, 58, 59, 63]. У позвоночных за остановку когезиновых комплексов, участвующих в экстрозии, а также за ингибирование активности WAPL-субъединицы отвечает N-концевой фрагмент CTCF [58, 59, 64]. Стерические особенности связывания CTCF со своими геномными сайтами приводят к тому, что взаимодействие N-концевого фрагмента с когезином эффективно реализуется только при приближении экстрозионного комплекса к CTCF-мотиву со стороны 3'-полюса последнего (N-концевые цинковые пальцы CTCF связываются с ДНК именно здесь); в такой ситуации происходит остановка экстрозии и стабилизации связывания когезина на данном CTCF-сайте (рис. 3, а). В то же время при приближении экстрозионного комплекса к CTCF-мотиву со стороны 5'-полюса последнего длительной остановки когезина не происходит. Эти особенности белок-белковых взаимодействий приводят к интересной закономерности в расположении CTCF-мотивов в основаниях структурных петель и в границах топологических доменов позвоночных: пары CTCF-мотивов, расположенные в основаниях петель, как правило, смотрят навстречу друг другу своими 3'-полюсами (конвергентное расположение); в то же время для границ ТАД характерно наличие нескольких CTCF-мотивов (по крайней мере пары), каждый из которых смотрит своим 3'-полюсом в направлении ближайшего

к нему топологического домена (дивергентное расположение) (рис. 3, б и в) [63, 65–67].

**Взаимодействие с транскрипционным аппаратом клетки.** Почему останавливающие экстрозию CAR-сайты в клетках дрожжей ассоциированы с 3'-концами конвергентно транскрибирующихся генов? Теоретически это может быть следствием того, что столкновение транскрибирующих полимераз с движущимися навстречу экстрозионными когезиновыми комплексами приводит к перемещению последних в концы транскрипционных единиц. Такая модель согласуется с тем, что выключение транскрипции приводит к удалению когезина с CAR-сайтов [56].

Механизмы, стоящие за транскрипционно-зависимым накоплением когезиновых колец на 3'-концах генов, работают не только в дрожжевых клетках, они носят универсальный характер. Так, несмотря на то что в клетках позвоночных нет классических CAR-сайтов, при одновременной деплеции белков CTCF и WAPL происходит релокализация связанных с хроматином когезиновых комплексов с CTCF-сайтов на 3'-концы активно транскрибируемых генов [38, 40]. Новые сайты качественно отличаются от классических CTCF-ассоциированных геномных пиков; они представляют собой протяженные области размером в несколько т.п.о., названные по этой причине «островками» связывания когезина (cohesin islands). Островки, как и CAR-сайты дрожжей, преимущественно располагаются на 3'-концах конвергентно-транскрибируемых генов, их формирование также блокируется при ингибировании транскрипции [38]. Появление когезиновых островков сопряжено с формированием когезин-зависимых хроматиновых петель между соседними островками, что делает их гомологию с CAR-сайтами еще более явной [40].

Ряд наблюдений противоречит упрощенным представлениям, согласно которым РНК-полимераза взаимодействует с экстрозионными комплексами напрямую. Одна из альтернативных гипотез предполагает, что РНК-полимераза перемещает в 3'-концы генов топологически-надетые когезиновые кольца, не участвующие в экстрозии, а те, в свою очередь, блокируют процесс экстрозии [44, 68]. В пользу такого механизма говорят: (1) предпочтительная локализация CAR-сайтов в 3'-концах конвергентно ориентированных генов (а не всех без исключения активных генов), (2) кинетика накопления когезивных комплексов в CAR-сайтах в ходе клеточного цикла и отстающая от нее кинетика формирования петель между CAR-сайтами [44] и (3) способность SMC-комплексов, участвующих в экстрозии, преодолевать массивные белковые преграды, в том числе транскрибирующую РНК-полимеразу, *in vitro* [69].

Вероятно, транскрибирующая РНК-полимераза сама по себе не представляет собой значимого барьера для когезиновых комплексов, принимающих участие в экстррузии, однако активные промоторы, на которых, помимо субъединиц РНК-полимеразы, присутствует большое количество белков, вовлеченных в инициацию, такими барьерами являются. О том, что промоторы препятствуют продвижению когезиновых комплексов, приближающихся с обеих сторон, свидетельствует феномен промотор-ассоциированной топологической инсуляции [40, 70, 71]. Промоторы – менее сильные экстррузионные барьеры, чем CAR-регионы и CTCF-сайты. Кроме того, остановленные в промоторах когезиновые комплексы не стабилизируются за счет ESCO1/2-зависимого ацетилирования, вероятно, поэтому промоторы, как правило, не становятся основаниями метастабильных, удерживаемых когезином, ДНК-петель.

### РОЛЬ КОГЕЗИН-ЗАВИСИМОЙ ЭКСТРУЗИИ В ФИЗИОЛОГИИ КЛЕТКИ

**Пострепликативная индивидуализация сестринских хромосом и компактизация митотических хромосом.** Эволюционно примитивной функцией SMC-комплексов является индивидуализация сестринских хромосом [1, 2]. Механика процесса репликации двуспиральной молекулы ДНК в клетках устроена таким образом, что две новосинтезированные сестринские ДНК-нити оказываются топологически сцепленными в момент окончания реакции репликации [72, 73]. Пострепликативная индивидуализация зависит от экстррузии, осуществляемой SMC-комплексом, которая направляет активность топоизомераз II типа в сторону декатенации топологически сцепленных сестринских молекул геномной ДНК после репликации и способствует пространственному разделению разведенных нитей [1, 2, 74]. В подавляющем большинстве случаев в бактериальных и архейных геномах закодирован единственный SMC-комплекс (относящийся к одному из двух классов: Smc-ScpAB или MukBEF), основной функцией которого является именно пострепликативная индивидуализация сестринских хромосом [1, 2, 75]. В клетках эукариот этот процесс осуществляется за счет взаимодополняющих активностей двух SMC-комплексов: когезина и конденсина. Помимо индивидуализации, эти комплексы также участвуют в компактизации (конденсации) митотических хромосом, которая механически облегчает перемещение хромосом к полюсам веретена деления в анафазе.

В интерфазе экстррузионная активность конденсина подавлена [76–79], в то же время на протяжении G2-фазы когезиновые комплексы не

только поддерживают когезию, но и принимают участие в экстррузии, за счет чего индивидуализация сестринских хромосом достигается (в значительной степени) еще до начала митоза [17, 80, 81]. К моменту снятия основной части когезиновых колец (в профазе – у позвоночных и многих других эукариот, в анафазе – у *S. cerevisiae*) сестринские хроматиды в значительной степени отделены друг от друга, а топологические зацепления, по всей видимости, сохраняются преимущественно в сайтах, ассоциированных с когезией: центромерах, рибосомных повторах, CAR-регионах и CTCF-сайтах [17, 80, 81]. Снятие остаточных зацеплений и окончательная индивидуализация достигаются за счет митотической экстррузионной активности конденсина [17, 82, 83].

Экстррузия, осуществляемая конденсином и когезином, также обеспечивает митотическую (и мейотическую) компактизацию хроматина (рис. 2, б и в), однако вклад каждого из комплексов различается в клетках разных организмов [1, 2]. Так, в клетках почкующихся дрожжей, в которых когезин-зависимая экстррузия продолжается вплоть до наступления анафазы, когезин вносит больший вклад в конденсацию [44, 84, 85], в то же время у позвоночных, в клетках которых внецентромерное связывание когезина с хроматином прекращается в профазе, формирование компактных митотических хромосом зависит главным образом от конденсина [76, 86]. Высокопроцессивная экстррузионная активность конденсина в митотических клетках позвоночных приводит к образованию хроматид – компактных телец вытянутой формы с петлями хроматина, отходящими от центрального белкового остова, основными компонентами которого являются конденсины (геномы позвоночных кодируют два типа конденсиновых комплексов) и топоизомеразы II [87].

Примечательно, что процессивная экстррузионная активность когезина может приводить к формированию хроматидоподобных структур вне митоза. Так, как было отмечено выше, в интерфазных клетках с подавленной активностью белка WAPL происходит когезин-зависимое формирование хроматидоподобных структур типа «вермишели», белковые остовы которых состоят из когезиновых колец [41, 42, 51] (рис. 2, в). Аналогичным образом мейотические хромосомы, в том числе транскрипционно активные хромосомы типа ламповых щеток, представляют собой вытянутые структуры с хроматиновыми петлями, отходящими от белковых осевых структур, в состав которых входят среди прочего мейотический вариант когезина и топоизомеразы II [52].

**Поддержание генома в декатенированном состоянии.** Интерфазная экстррузия, осуществляемая когезином, также обеспечивает особую

неравновесную укладку хромосомной ДНК. Во-первых, постоянно повторяющиеся раунды экструзии увеличивают частоту локальных *цис*-взаимодействий и до некоторой степени подавляют дальние *цис*- и *транс*-взаимодействия [41, 46, 88]. Подавление *транс*-взаимодействий, отчасти связанное с экструзионной активностью когезина, приводит к формированию более или менее выраженных хромосомных территорий в интерфазных эукариотических клетках [89]. Предпочтительное смещение в сторону локальных ДНК-контактов в интерфазном геноме, как мы обсудим в следующем разделе, благоприятствует правильному прохождению репаративных процессов.

Вторым глобальным следствием когезин-зависимой экструзии в интерфазе является поддержка геномной ДНК в декатенированном состоянии [90–92]. Как и при декатенации сестринских хромосом, когезин направляет активность топоизомеразы II в сторону разрешения, а не образования внутри- и межхромосомных зацеплений. Декатенированное состояние хроматина способствует прохождению ДНК-зависимых матричных реакций в интерфазе [93] и индивидуализации несестринских хромосом – в профазе митоза [85].

#### **Репарация двухцепочечных разрывов ДНК.**

Активность когезина способствует точной репарации ДНК-повреждений, прежде всего репарации двухцепочечных разрывов [94–96]. Наряду с когезией, которая облегчает поиск партнеров для гомологичной рекомбинации в G2-фазе клеточного цикла [94, 97], экструзия также является важной составляющей репаративной активности когезина.

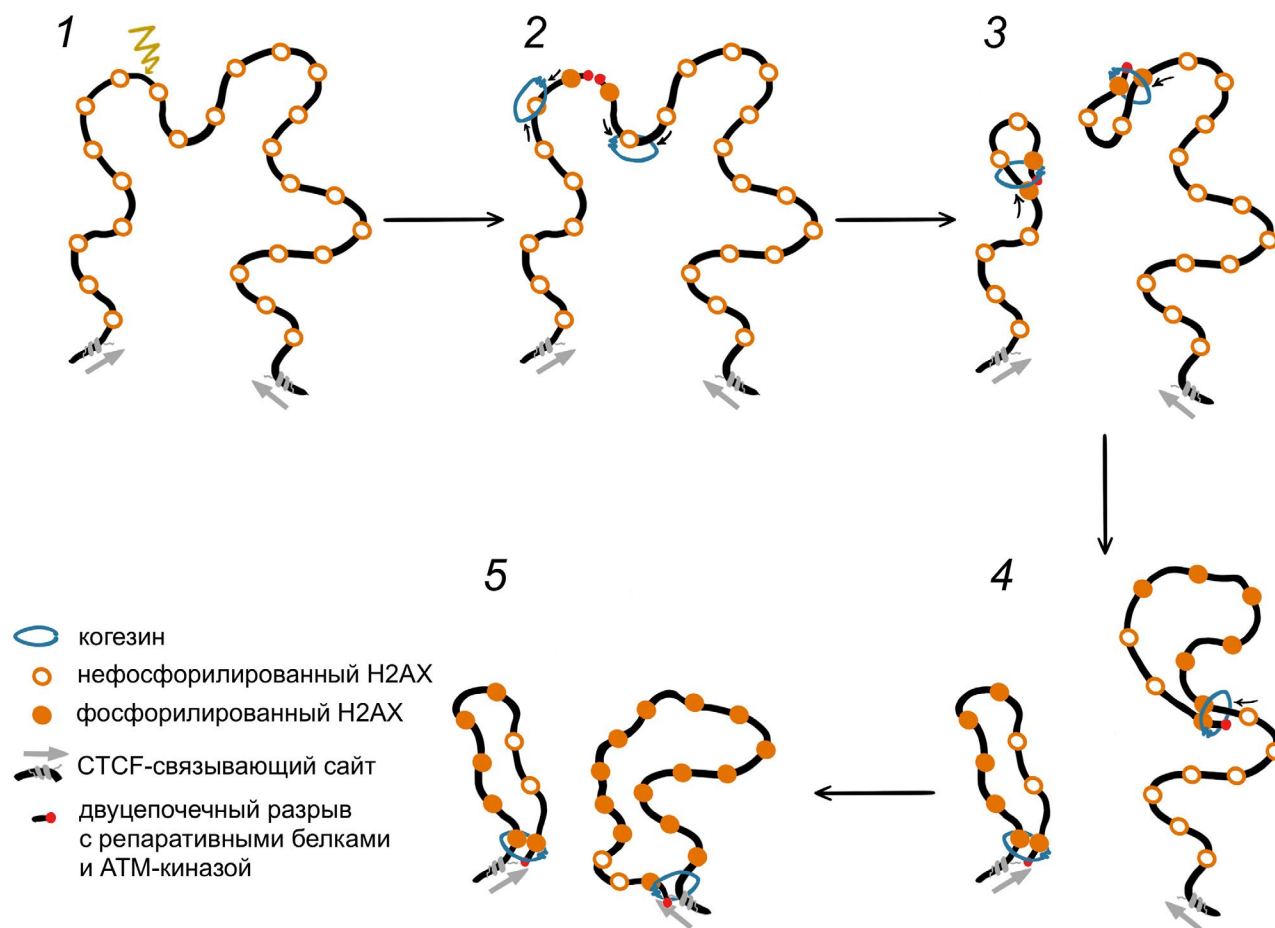
Во-первых, интерфазная когезин-зависимая экструзия создает и активно поддерживает специфическую неравновесную укладку эукариотического хроматина, характерной чертой которой является подавление *транс*-ДНК-контактов и взаимодействий между удаленными в линейной последовательности участками одной хромосомы [41, 46, 88]. Такое предпочтительное смещение в сторону локальных ДНК-взаимодействий способствует быстрой и безошибочной репарации двухцепочечных разрывов. Оно облегчает поиск партнера при репарации по механизму нехомологичного соединения концов (NHEJ) [96], а также уменьшает вероятность эктопической рекомбинации при рекомбинационной репарации [98, 99].

Кроме того, когезин специфически привлекается к двухцепочечным разрывам и принимает участие в их репарации, ограничивая диффузию концов разрыва и блокируя взаимодействия разрыва с другими хромосомами [96, 98, 100, 101]. В последнее время все больше данных указывает на связь между этой функцией когезина и его экс-

трузионной активностью [99]. Предположительно, двухцепочечный ДНК-разрыв блокирует продвижение когезин-содержащего комплекса экструзии, подобно тому, как это делают CAR-регионы и CTCF-сайты. Двухнаправленная экструзия становится однонаправленной при столкновении с сайтом двухцепочечного разрыва, в такой ситуации по обе стороны от разрыва образуются удерживаемые когезином петли с концами разрыва, расположенными в основании этих петель (рис. 4). Такая конфигурация объясняет то, как именно когезин ограничивает свободную диффузию концов разрыва и привлекает их во внутреннюю часть хромосомной территории [99]. Этот процесс можно сравнить с формированием осевых структур метафазных хромосом за счет конденсин-зависимой экструзии. Несмотря на то что в результате интерфазной экструзии в клетках дикого типа не формируются хроматидоподобные структуры, основания когезин-ассоциированных петель в среднем чаще находятся во внутренней части хромосомной территории, так же, как и основания конденсин-ассоциированных петель – в митотических хромосомах. Вероятно, сходный эффект экструзии оказывает на сайты двухцепочечных разрывов, которые становятся основаниями когезин-зависимых петель. Ограничение диффузии и *транс*-взаимодействий способствуют правильному восстановлению нити ДНК как при репарации по механизму NHEJ, так и при репаративной рекомбинации.

Наконец, экструзия важна для сигнальных каскадов, ассоциированных с двухцепочечными разрывами, в частности для распространения ключевой  $\gamma$ H2AX-метки (фосфорилированной вариантной формы гистона H2AX), участвующей в привлечении репаративных факторов, по геномному региону, окружающему место разрыва (рис. 4) [102–104]. Однонаправленная экструзия обеспечивает систематическое привлечение концов разрыва к окружающим его участкам генома в рамках одного топологического домена, что, в свою очередь, ведет к распространению  $\gamma$ H2AX-сигнала от места разрыва. Дело в том, что активность ферментов, участвующих в фосфорилировании гистона H2AX (в первую очередь киназы ATM), сосредоточена главным образом непосредственно в месте повреждения ДНК, и для распространения этой модификации на десятки т.п.о. в обе стороны необходимо физическое привлечение этих локусов к точке разрыва. Такое привлечение обеспечивается за счет когезин-зависимой экструзии.

**Регуляция транскрипции в клетках позвоночных.** Интерфазная когезин-зависимая экструзия также важна для точной настройки транскрипционной активности у позвоночных. Причинно-следственные отношения между наднуклеосомной укладкой ДНК и транскрипционной активностью



**Рис. 4.** Особенности когезин-зависимой экструзии в окрестностях двухцепочечного разрыва (согласно Arnould et al. [102]). Появление двухцепочечных разрывов (1, 2) приводит к возникновению новых сайтов остановки когезин-зависимой экструзии в месте разрыва (3), распространению  $\gamma$ H2AX-сигнала от места разрыва по топологическому домену за счет однонаправленной экструзии (3–5) и перемещению сайтов разрыва внутрь хромосомной территории (5)

устанавливаются у позвоночных в связи с наличием в их геномах активаторных удаленных регуляторных элементов – энхансеров<sup>3</sup> [105, 106]. Общепринятая модель активности энхансеров подразумевает, что энхансер-активируемая инициация транскрипции сопряжена с физическим взаимодействием между энхансером и промотором гена мишени. Наличие физических взаимодействий между энхансерами и промоторами их генов-мишеней, энхансер-промоторных (Э–П) петель, в клетках позвоночных было экспериментально подтверждено на полногеномном уровне в последние годы [107–109].

До недавнего времени доминировало представление, согласно которому когезин-зависимая экструзия играет ключевую роль в формировании Э–П-петель [110, 111]. Новые экспериментальные

данные не согласуются с этим представлением: удаление когезина и подавление экструзии в интерфазе не приводит к разрушению подавляющего большинства Э–П-петель; эти структуры, по всей видимости, образуются по независимому от экструзии механизму [108, 112, 113]. Не исключено, что когезин-зависимая экструзия тем не менее важна для активности некоторых специфических типов энхансеров – главным образом небольшой группы энхансеров, содержащих сайт связывания белка CTCF [112, 114, 115].

Несмотря на то что подавление когезин-зависимой экструзии в интерфазных клетках позвоночных в общем не отражается на ландшафте Э–П-петель, оно приводит к воспроизводимым изменениям транскрипционной активности. Хотя наблюдаемые эффекты носят по большей части

<sup>3</sup> Помимо энхансеров, активирующих транскрипцию генов-мишеней, в геномах позвоночных есть сайленсеры, подавляющие ее; мы будем говорить исключительно об энхансерах, так как информация о сайленсерах чрезвычайно скудна, однако все приведенные закономерности могут быть, по всей вероятности, перенесены и на сайленсеры.

сравнительно мягкий характер, сотни генов меняют свой уровень экспрессии [88, 108]. Обнаруживаемые изменения транскрипции только в очень редких случаях можно связать с CTCF-ассоциированными энхансерами; по крайней мере два альтернативных механизма могут объяснять наблюдаемые изменения: (1) инсуляторный эффект границ ТАД и (2) когезин-зависимое подавление неспецифических взаимодействий между активными участками генома.

Большая часть топологических доменов и их границ у позвоночных является эпифеноменом когезин-зависимой экстракции. Поэтому подавление экстракции может увеличивать частоту Э–П-взаимодействий между регуляторными элементами, в норме разделенными инсулирующими границами ТАД. Увеличение интенсивности таких эктопических Э–П-контактов приводит, по всей вероятности, к изменениям транскрипционной активности некоторых генов [88, 112]. Важность регуляторной инсуляции, обеспечиваемой границами ТАД, подтверждается генетическими наблюдениями: геномные перестройки, сопряженные с нарушениями топологической инсуляции, ассоциированы с нарушениями развития и онкогенезом. Для некоторых модельных систем было показано, что медиатором патологических процессов при изменениях структуры ТАД может являться именно эктопическая активация транскрипции [116–118].

Последний потенциальный путь влияния экстракции на транскрипцию связан с тем, что когезин-зависимая экстракция подавляет дальние взаимодействия между активными участками генома. Не до конца понятый с биохимической точки зрения механизм способствует кластеризации активного хроматина в пространстве ядра, такая кластеризация приводит к формированию на уровне клеточной популяции активного ядерного компартмента или А-компартамента [65, 119]. Внутри А-компартамента могут взаимодействовать участки хромосом, разделенные десятками миллионов п.о., а также активные участки разных хромосом. Выключение когезин-зависимой экстракции приводит к бесконтрольному усилению взаимодействий активных участков генома между собой [42, 50, 88]; предполагается, что результатом этого может являться подавление транскрипции одних генов и усиление транскрипции других, в частности за счет установления сверхдальних Э–П-контактов внутри А-компартамента [88].

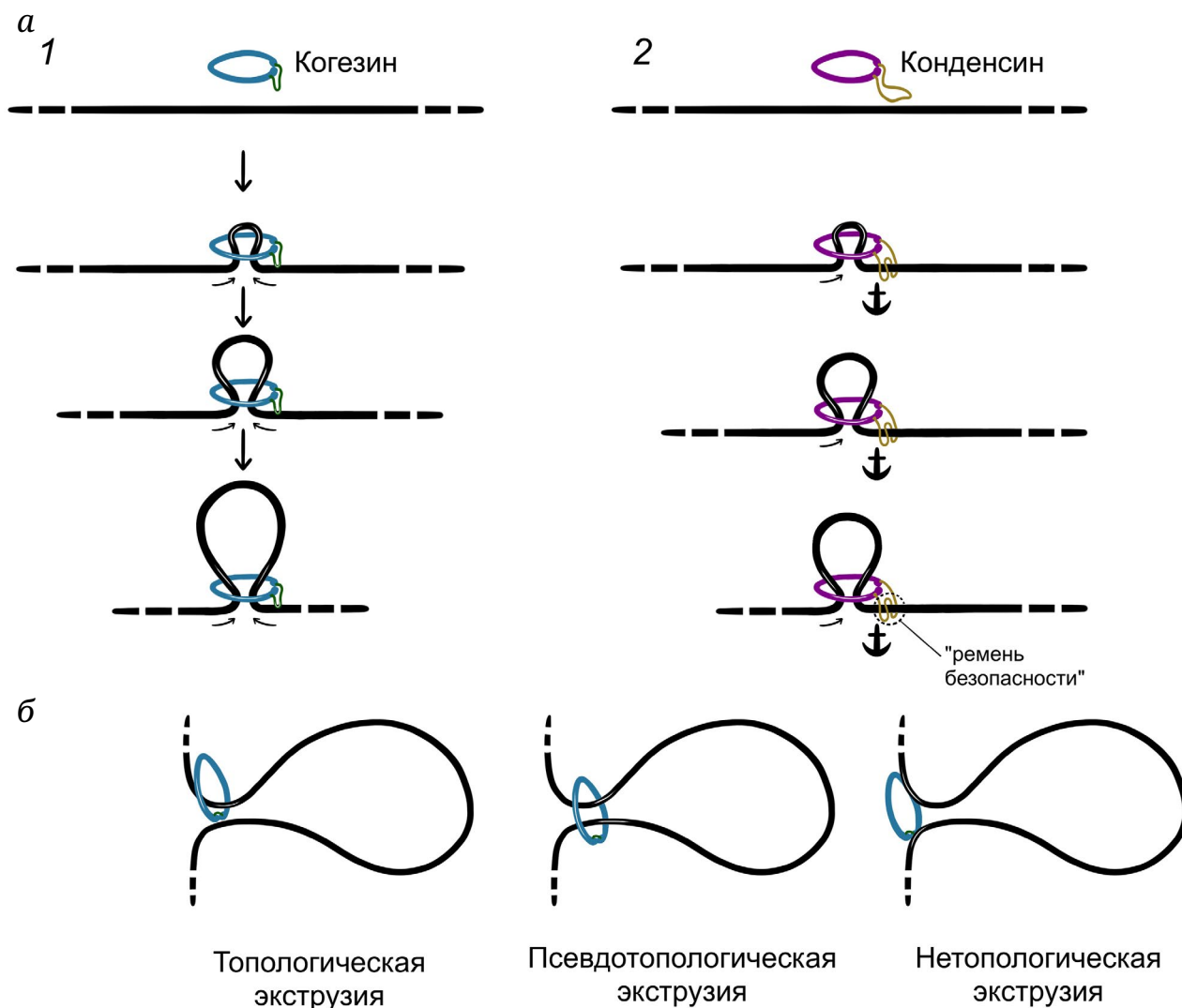
Таким образом, в клетках позвоночных экстракция вносит вклад в регуляцию транскрипции через участие в топологической инсуляции, в подавлении избыточной компарментализации генома и, в меньшей степени, через прямое участие в процессах формирования Э–П-петель.

## ЦИКЛ КОНФОРМАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КОГЕЗИНОВОГО КОМПЛЕКСА ПРИ ЭКСТРУЗИИ

Гипотеза, согласно которой компактизация и индивидуализация митотических хромосом связаны с экстракцией ДНК-петель, была предложена более трех десятилетий назад [120]. Чуть позднее Nasmyth [53] предположил, что SMC-комплексы могут являться ключевыми компонентами клеточной машинерии экстракции. За прошедшие годы умозрительная концепция SMC-зависимой экстракции получила поддержку в данных об упаковке интерфазного хроматина [65, 66, 88], а также в результатах моделирования митотических и интерфазных хромосом [111, 121]. Наконец, в последнее время способность когезина, конденсина и SMC5/6-комплекса осуществлять экстракцию ДНК-петель была продемонстрирована напрямую в реконструированных *in vitro* системах [12, 13, 122, 123].

Собранные данные позволили определить многие конкретные характеристики экстракции, осуществляемой SMC-комплексами, в частности, когезином. Так, оказалось, что экстракция может осуществляться исключительно когезиновым комплексом, содержащим NIPBL [122, 123]. Скорость когезин-зависимой экстракции *in vivo* и *in vitro* составляет ~1 т.п.о./с (оценки в разных публикациях варьируют от 0,4 до 3 т.п.о./с) [33, 88, 122–124]. В ходе когезин-зависимой экстракции за каждую секунду происходит всего один цикл связывания/гидролиза АТФ [123, 124]. Высокая скорость движения по ДНК-нити и размер шага в ~1 т.п.о. (что эквивалентно десяткам нанометров даже для ДНК, упакованной в нуклеосомы) отличает SMC-комплексы от других типов ДНК-транслоказ (полимераз, хеликаз и т.д.), скорость которых на порядки ниже, а размер шага, как правило, составляет 1 п.о. Несмотря на впечатляющую скорость когезин-зависимой экстракции, сравнительно небольшие силы (<1 пН), приложенные к ДНК-нити, могут замедлять или даже полностью останавливать процесс [122, 125].

Наблюдения экстракции *in vitro* показали также, что мономерное когезиновое кольцо осуществляет двунаправленную экстракцию (рис. 5, а (1)) [33, 123, 125], при том что ближайший гомолог когезина – конденсин – реализует однонаправленную экстракцию (рис. 5, а (2)) [12, 126]. Направленность является одним из интереснейших параметров процесса экстракции, она тесно связана с молекулярным механизмом процесса. Формируемая ДНК-петля может расти за счет затягивания ДНК-нити с одной из сторон от активного SMC-комплекса, тогда экстракция называется однонаправленной или асимметричной. В этом случае можно различить два полюса петли: закрепленное (стабильное)



**Рис. 5.** Молекулярные аспекты SMC-зависимой экструзии. *а* – Двухнаправленная экструзия, осуществляемая когезиновыми мономерами (1), и однонаправленная экструзия, осуществляемая конденсинными комплексами (2). «Ремень безопасности», по всей вероятности, принимает непосредственное участие в стабилизации одного из оснований формируемой петли в процессе конденсин-зависимой экструзии. *б* – Гипотетические варианты модальности связывания SMC-комплекса с ДНК растущей петли при экструзии

основание, или якорь, и подвижное основание. Другой возможный вариант экструзии – это двухнаправленная или симметричная экструзия, в которой петля растет за счет затягивания ДНК с обеих сторон от активного белкового комплекса. В случае когезин-зависимой экструзии реализуется именно двухнаправленный вариант процесса. С молекулярной точки зрения двухнаправленная экструзия может быть результатом асимметричной активности SMC-комплекса, сопряженной с частым переключением направления движения в отдельных циклах связывания/гидролиза АТФ [126–128]. При этом в каждом таком цикле переключающейся двухнаправленной экструзии у формируемой петли имеются закрепленное и подвижное основание, но между циклами основания могут меняться ролями.

Ковалентно сшитые SMC-кольца вовлекаются в экструзию *in vitro* и формируют петли с эффективностью, сопоставимой с комплексами дикого типа [69, 123]. Кроме того, мутантные варианты когезина, не способные обеспечивать когезию и, по всей видимости, не способные к топологическому надеванию на ДНК, вовлекаются в экструзию в клетках [8, 18]. Таким образом, по всей вероятности, открытие SMC-кольца не является необходимым этапом процесса экструзии: когезин (и другие SMC-комплексы) во время экструзии связывается с ДНК нетопологически (не удерживая ни одно из оснований ДНК-петли внутри белкового кольца) или псевдотопологически (удерживая оба основания ДНК-петли внутри белкового кольца, не формируя истинных топологических зацеплений с ДНК) (рис. 5, б).

Неожиданным наблюдением, сделанным при анализе когезин-зависимой экструзии *in vitro*, стала способность комплекса включать в состав растущей петли ДНК-связанные частицы, в разы превышающие линейные размеры самого комплекса [69]. Когезин при активной экструзии может преодолевать ассоциированные с ДНК частицы диаметром до 200 нм. Интересно, что такое преодоление препятствий происходит с минимальным замедлением движения комплекса по ДНК-нити. Преодоление массивных препятствий косвенно указывает на то, что процесс экструзии носит нетопологический характер [69, 129]. На нетопологическую природу экструзии также косвенно указывает следующее наблюдение: в пермеабилizированных ядрах связывание когезиновых колец с ДНК в основаниях хроматиновых петель, сформированных за счет экструзии, исключительно легко нарушается при повышении ионной силы буфера [130].

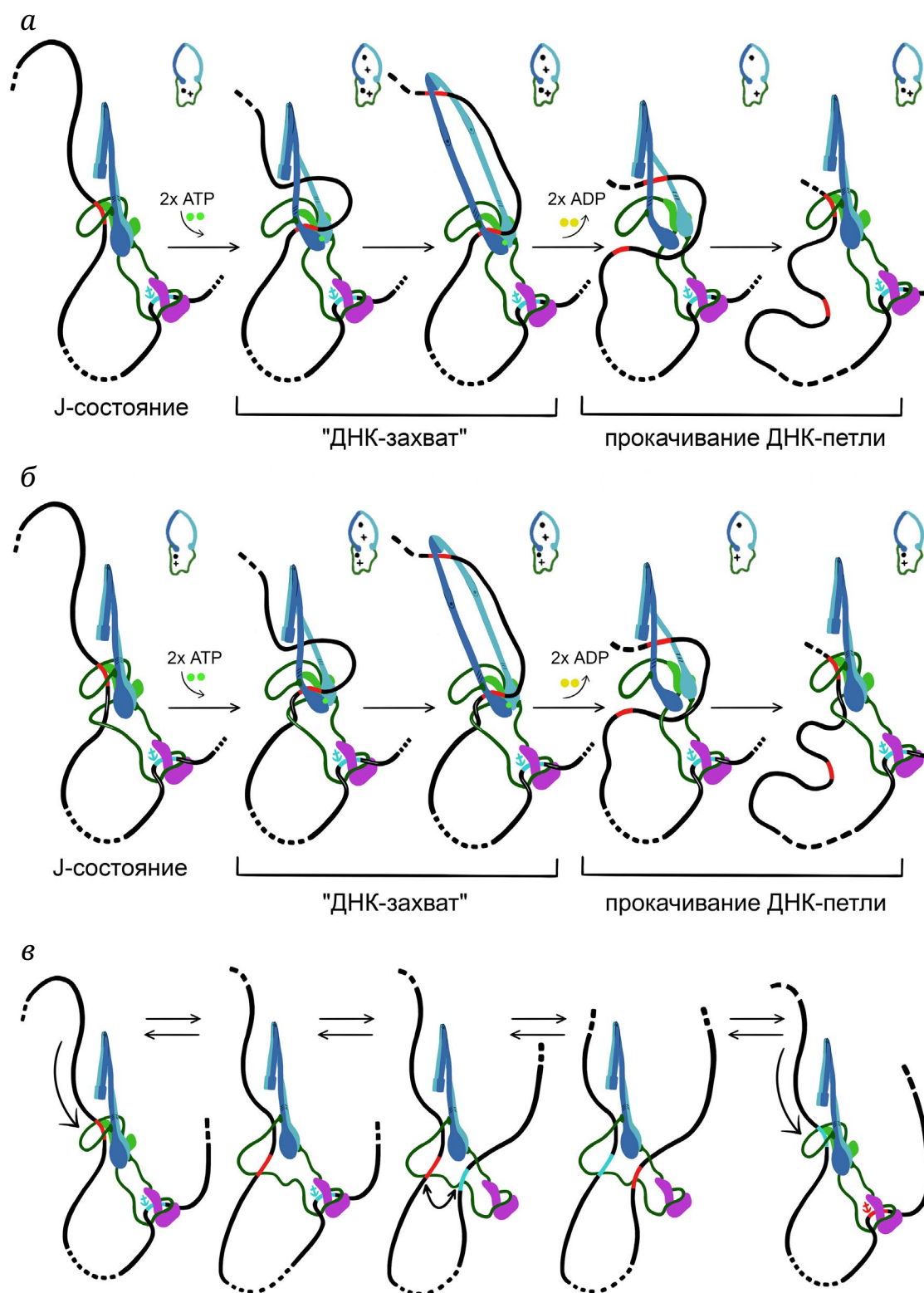
Несмотря на то что многие общие характеристики когезин-зависимой экструзии были установлены в последние годы (особенно большой прогресс был достигнут в связи с появлением возможности изучать процесс *in vitro*), молекулярный механизм экструзии все еще не до конца расшифрован. Мы не знаем наверняка, как именно цикл связывания/гидролиза АТФ в ходе экструзии сопряжен с конформационными изменениями комплекса и как эти изменения приводят к росту ДНК-петель. В связи с большим интересом к этой проблеме и за недостатком экспериментальных данных было предложено несколько конкурирующих моделей. Ниже мы кратко опишем три такие модели, находящиеся в наибольшем согласии с имеющимися структурными, генетическими и биохимическими данными: модель коалесценции/прокачивания (*pumping/hold-and-feed model*), модель броуновского храповика (*brownian ratchet model*) и модель «гребок-захват» (*swing-and-clamp model*). Следует подчеркнуть, что, несмотря на элегантность и впечатляющую объяснительную силу каждой из обсуждаемых моделей, ни одна из них не находится в полном согласии со всем массивом экспериментальных данных.

#### **«ДНК-захват» (*gripping state/DNA clamping*).**

Несмотря на то что описанные далее модели процесса экструзии отличаются по множеству существенных параметров, все они сходятся в том, что одним из центральных интермедиатов цикла экструзии является так называемое состояние «ДНК-захвата». «Захват» был описан в самые последние годы при изучении криоэлектронной структуры когезина и конденсина [61, 126, 131]. Оказалось, что в присутствии NIPBL, двухцепочечной ДНК и негидролизующих аналогов АТФ (или в том случае, если в составе когезина имеются SMC-субъедини-

цы с мутациями, блокирующими гидролиз АТФ) когезин формирует комплексы с ДНК характерной структуры, названной «ДНК-захватом». В «захвате» ДНК электростатически связывается с верхней поверхностью взаимодействующих в присутствии аналога АТФ головных доменов (рис. 6, а). NIPBL одновременно взаимодействует с плечевым участком SMC3-субъединицы и с димером головных доменов, таким образом, формируя белковый мостик, прижимающий ДНК-нить сверху. NIPBL в описанной структуре также образует серию электростатических контактов с ДНК. Данные FRET (*Förster Resonance Energy Transfer*, анализ ферстеровского переноса энергии) указывают на то, что в присутствии гидролизующего АТФ структуры «захвата» быстро формируются и разбираются [124]. По всей вероятности, цикл образования и разрушения строго связан с циклом гидролиза АТФ: гидролиз АТФ приводит к разбору той конфигурации димера головных доменов, в которой формируется протяженный ДНК-связывающий желоб на их поверхности. Это, по всей вероятности, также приводит к диссоциации NIPBL и высвобождению ДНК. Связывание головными доменами новой пары молекул АТФ вновь приводит к сборке «захвата». Описанное сопряжение цикла гидролиза АТФ и связывания ДНК с когезином в состоянии «захвата» явно указывает на то, что эта структура играет важную роль в движении когезина по ДНК во время экструзии. Однако статическая структура, описанная как «ДНК-захват», не говорит ничего о том, какие механические перестроения приводят к направленному движению когезина и связыванию в каждом следующем цикле гидролиза АТФ все новых фрагментов ДНК-нити в «захвате».

**Модель коалесценции/прокачивания.** Одна из существенных структурных характеристик «ДНК-захвата» – разобщение плечевых доменов SMC-субъединиц [61, 132]. Известно, что при гидролизе АТФ головные домены SMC-субъединиц могут переходить в так называемое наложенное или J (от англ. *juxtaposed*) состояние, что приводит к закрытию межсубъединичной поры и установлению взаимодействий между плечевыми доменами двух субъединиц по всей их длине [133, 134]. Есть указания на то, что закрытие межсубъединичной поры при переходе в J-состояние происходит процессивно сверху вниз, подобно застегиванию молнии [135, 136]. Модель коалесценции/прокачивания предполагает, что движение когезинового комплекса по ДНК осуществляется за счет повторяющихся циклов «застегивания» плечевых доменов, сопряженных с циклами гидролиза АТФ (рис. 6, а) [136, 137]. Наиболее проработанная версия этой модели, недавно представленная группой Hearing [126], базируется на криоэлектронных данных, а также на данных об удерживании



**Рис. 6.** Когазин-зависимая экструзия по механизму «коалесценции/прокачивания». *а* – Псевдотопологическая экструзия по механизму «коалесценции/прокачивания» (по данным группы Hearing [126]). *б* – Нетопологическая экструзия по механизму «коалесценции/прокачивания» (по данным Oldenkamp и Rowland [10]). *в* – Обмен двух оснований растущей петли при псевдотопологической экструзии может обеспечивать частое переключение направления движения и проявляться в виде кажущейся двунаправленности процесса. На всех панелях пиктограммы отражают путь ДНК-нити, с помощью символов • и + отражено направление прохождения ДНК-нити сквозь плоскость когазинового кольца. Участки ДНК, являющиеся или являвшиеся на предыдущих этапах динамическими основаниями петли, показаны красным, якорные участки – голубым. Пунктирные участки в середине ДНК-нити отражают принципиально неограниченный размер растущих петель

ДНК-нитей внутри различных субкомпарментов SMC-кольца, полученных с помощью тиол-специфического сшивания.

В рамках модели предполагается, что якорем растущей петли является фрагмент ДНК, взаимодействующий с STAG1/2 (рис. 6, а). ДНК динамического основания петли удерживается NIPBL поблизости от головных доменов SMC-белков. Движение комплекса вдоль ДНК происходит за счет того, что формирование «захвата» механически сопряжено с продеванием ДНК-микропетли через межсубъединичную пору. При гидролизе АТФ эта петля сливается (коалесцирует) с основной петлей, удерживаемой в районе головных доменов комплекса. При слиянии новым динамическим основанием петли становится участок захваченного в микропетле фрагмента ДНК, электростатически связанный с внутренней стороны поры димером петлевых доменов. Этот участок прокачивается к NIPBL-субъединице в ходе «застегивания» плечевых доменов. После «застегивания» комплекс возвращается в исходное J-состояние, в то время как удерживаемая петля оказывается длиннее изначальной за счет поглощения захваченной в ходе цикла микропетли.

Модель коалесценции/прокачивания существует в двух вариантах: псевдотопологическом, в рамках которого основания растущей петли дважды продеты через пору когезина, в то время как комплекс находится в J-состоянии (рис. 6, а), и нетопологическом, в котором растущая петля как целое удерживается комплексом нетопологически (рис. 6, б).

Псевдотопологический вариант модели согласуется со многими наблюдениями, сделанными в реконструированных *in vitro* системах экстракции. Во-первых, возможность захвата микропетли зависит от механического натяжения ДНК-нити. Это объясняет, как даже небольшие механические силы (~ 1 пН) способны блокировать формирование микропетли и таким образом останавливать экстракцию [122, 125]. Во-вторых, когезиновые комплексы в *in vitro* системах осуществляют двунаправленную экстракцию [123, 125]. В рамках модели коалесценции/прокачивания диссоциация NIPBL-субъединицы от комплекса (периодически происходящая во время экстракции) может приводить к формированию единого субкомпартамента, удерживающего оба основания растущей петли. Предполагается, что взаимодействие STAG1/2-субъединицы с якорем петли также может периодически нарушаться (рис. 6, в). Восстановление связывания оснований петли с HAWK-субъединицами может приводить к обмену двух нитей ДНК, что эквивалентно изменению направления экстракции. Таким образом, наблюдаемая симметричная когезин-зависимая экстракция объясняется как результат

периодически происходящей смены направления асимметричного процесса. Модель также объясняет, почему в конденсине дикого типа экстракция носит строго однонаправленный характер [12, 126]. Предполагается, что это связано с дополнительной прочностью связывания якоря петли с комплексом, которая обеспечивается «ремнем безопасности» – уникальной структурой в составе клейзиновой субъединицы конденсина (рис. 5, а). Мутации, дестабилизирующие «ремень безопасности», могут приводить к конверсии конденсина в комплекс, осуществляющий, подобно когезину, двунаправленную экстракцию [126].

Псевдотопологический вариант модели не согласуется, однако, с другим важным эмпирическим наблюдением, а именно со способностью, образуемой во время *in vitro* экстракции, петли включать внутрь себя массивные ДНК-связанные частицы [69]. Чтобы разрешить это противоречие был предложен нетопологический вариант модели [10]. Оказалось, что большинство эмпирических наблюдений, на которых базировалась изначальная псевдотопологическая модель, могут быть в равной степени объяснены, если предположить, что растущая при экстракции ДНК-петля не продевается через комплекс (рис. 6, б). При этом связывание подвижного основания петли в отдельности осуществляется за счет небольшой псевдотопологической петли, образованной за счет взаимодействия NIPBL-субъединицы с наложенными головными доменами SMC-белков. При гидролизе АТФ эта небольшая петля сливается с микропетлей, захватываемой внутри межсубъединичной поры, а затем затягивается до своего изначального состояния за счет «застегивания» плечевых доменов. Такой процесс, в отличие от экстракции, предполагаемой в рамках псевдотопологической модели, согласуется с наблюдаемым явлением прохождения когезинового комплекса через массивные преграды в ходе экстракции.

Парадоксальным образом, нетопологический вариант модели коалесценции/прокачивания, объясняющий способность когезина преодолевать препятствия, едва ли может объяснить двунаправленность когезин-зависимой экстракции: гипотетический обмен ДНК-нитей возможен только внутри общего псевдотопологического компартамента, удерживающего оба основания растущей петли. Большинство попыток описать молекулярные детали экстракции, осуществляемой когезином, сталкиваются с этой принципиальной проблемой: невозможностью в рамках одной модели согласовать двунаправленный характер экстракции и способность комплекса преодолевать массивные барьеры. При этом псевдотопологические модели, как правило, не могут быть удовлетворительно согласованы с преодолением массивных барьеров,

а нетопологические модели – с двунаправленным характером процесса. Некоторые авторы, однако, предполагают, что определенные варианты нетопологических моделей могут при определенных допущениях объяснять обмен ДНК-цепей, переключение направления экструзии и в конечном итоге двунаправленность процесса [128].

**Модель броуновского храповика.** Две другие модели, которые мы опишем далее, относятся к группе моделей экструзии за счет сгибания «локтей» (*scrunching models*). В них предполагается, что сгибание «локтей» и происходящее в этот момент сближение петлевых доменов с головными сопряжено с передачей подвижного основания петли от одной пары доменов другой [134, 138]. В отличие от модели коалесценции/прокачивания, в которой ключевым конформационным изменением, сопряженным с циклом связывания/гидролиза АТР, является «застегивание» межсубъединичной поры, в моделях экструзии за счет сгибания «локтей» центральным элементом рабочего хода комплекса является сгибание и разгибание «локтей».

В основе моделей этого типа лежит тот факт, что когезин и другие SMC-комплексы могут находиться в конформациях, в которых «локти» полностью согнуты, а головные и петлевые домены сближены между собой [134, 139]. Криоэлектронные данные, полученные при изучении комплексов в состоянии «захвата», показали, что такое сгибание потенциально может быть синхронизировано со связыванием АТР и формированием «ДНК-захвата» [60, 61, 131]. Дополнительные структурные данные, полученные с помощью атомно-силовой микроскопии, FRET, ковалентного сшивания комплексов и наблюдений за способностью мутантных комплексов формировать петли *in vitro* привели к созданию двух наиболее детальных моделей экструзии за счет сгибания «локтей»: модели броуновского храповика [127, 131] и модели «гребок-захват» [124].

Модель броуновского храповика представляет собой модель экструзии за счет сгибания «локтей» с протягиванием псевдотопологической ДНК-петли через когезиновое кольцо. Модель была предложена группой Uhlmann [127, 131] одновременно с публикацией одной из первых структур когезина в состоянии «захвата». Авторы обратили внимание на то, что в полученных криоструктурах STAG1/2 связывается с ДНК по соседству с сайтом «захвата» и что за счет сгибания «локтей» димер петлевых доменов находится в непосредственной близости от STAG1/2 (рис. 7, а). Дополнительные FRET-эксперименты (не получившие подтверждений в других работах) показали, что взаимодействие между петлевыми доменами и STAG1/2 в комплексе носят конститутивный характер. Таким образом, в рамках модели броуновского храповика когезин имеет

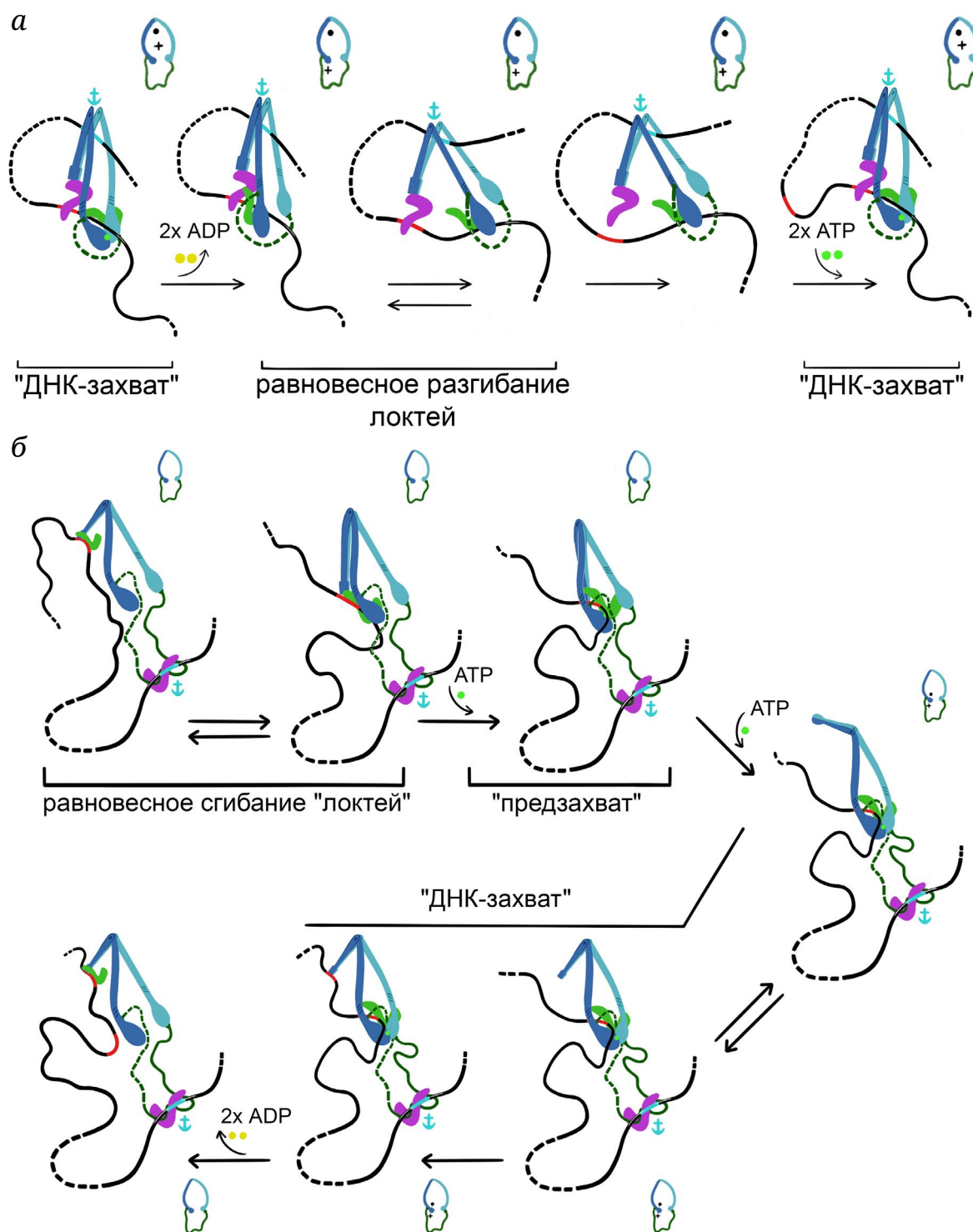
два ДНК-связывающих модуля: головной, ассоциированный с NIPBL, и петлевой, ассоциированный со STAG1/2. В отличие от модели коалесценции/прокачивания и модели «гребок-захват», в модели броуновского храповика обе HAWK-субъединицы связываются с подвижным основанием петли, а удерживание якоря петли происходит пассивно – за счет псевдотопологического характера взаимодействия комплекса с ДНК.

Предполагается, что разрушение «ДНК-захвата», сопряженное с гидролизом АТР, приводит к разгибанию «локтей» и дестабилизации взаимодействия STAG1/2-петлевого модуля с ДНК. Эта дестабилизация в конечном итоге ведет к потере взаимодействия, однако прежде чем связь между STAG1/2-петлевым модулем и ДНК окончательно разрушается, «локти» успевают в большей или меньшей степени разогнуться (рис. 7, а). Разгибание приводит к увеличению захваченной псевдотопологической ДНК-петли за счет движения комплекса вдоль одной из нитей ДНК – односторонней экструзии. Псевдотопологическое взаимодействие комплекса с ДНК позволяет комплексу удерживать образованную петлю даже после потери электростатических взаимодействий. Растущая ДНК-петля удерживается псевдотопологически внутри межсубъединичной поры до связывания АТР и формирования нового «ДНК-захвата».

Предполагается, что разгибание «локтей» – равновесный процесс, реализуемый обратимо за счет теплового движения; направленный характер экструзии приобретает за счет своеобразного храпового механизма: движение рабочего хода всегда начинается в состоянии «захвата» в полностью согнутом состоянии «локтей». Эти две особенности движения когезина, описываемого моделью броуновского храповика, отражены в ее названии.

Как и псевдотопологический вариант модели коалесценции/прокачивания, модель броуновского храповика объясняет двунаправленный характер когезин-зависимой экструзии обменом ДНК-нитей в растущей петле, который потенциально возможен на каждом из циклов связывания/гидролиза АТР на этапе пассивного удерживания псевдотопологической петли внутри когезинового кольца. Равновесный характер разгибания «локтей» объясняет то, почему слабые внешние силы полностью останавливают SMC-зависимую экструзию *in vitro*.

Существенными недостатками модели броуновского храповика являются: (1) невозможность согласования псевдотопологической экструзии с экспериментально наблюдаемой способностью когезина преодолевать массивные барьеры [69] и (2) отсутствие независимых подтверждений существования STAG1/2-петлевого ДНК-связывающего модуля.



**Рис. 7.** Когезин-зависимая экструзия за счет сгибания «локтей». *а* – Экструзия по механизму броуновского храповика (по данным Higashi et al. [127]). *б* – Экструзия по механизму «гребок-захват» (по данным Bauer et al. [124]). Пунктирные части RAD21-субъединицы соответствуют областям, в которых путь белковой цепи для ясности рисунка показан условно (в действительности HAWK-субъединицы остаются связанными с RAD21 на всех представленных стадиях). Остальные обозначения – как на рис. 6

**Модель «гребок-захват».** Другая модель экструзии за счет сгибания «локтей», предложенная группой Peters [123], предполагает, что связывание ДНК петлевыми доменами и сгибание «локтей»

(«гребок») предваряют формирование конфигурации «захвата», поэтому эта модель получила название «гребок-захват» [124]. Модель основана на двух ключевых наблюдениях, сделанных с помощью

техники FRET: 1) белок NIPBL, конститутивно взаимодействующий с RAD21, может образовывать АТР-зависимые временные контакты с другими субъединицами комплекса и 2) несмотря на относительно свободный характер сгибания/разгибания плечевых доменов, в состоянии «захвата» никогда не происходит непосредственного взаимодействия между петлевыми и головными доменами, а значит «локти» находятся в более или менее разогнутом состоянии. Эта модель предполагает нетопологический характер экстррузии со стабильным основанием петли, заякоренным на STAG1/2 (как и в модели коалесценции/прокачивания). Перемещение подвижного основания петли относительно SMC-комплекса происходит за счет передачи ДНК от петлевых доменов к головным при образовании «ДНК-захвата» и последующего разгибания «локтей» (рис. 7, б). Такая передача происходит в ходе формирования «ДНК-захвата» и сопряжена с изменением типа взаимодействий NIPBL с SMC-субъединицами комплекса. До формирования «захвата» NIPBL ассоциирован с петлевыми доменами, и вместе они удерживают ДНК подвижного основания петли. При формировании «захвата» происходит передача подвижного основания петли и удерживающей его NIPBL-субъединицы от петлевых доменов головным, при этом петлевые домены теряют связь с NIPBL; также за счет аллостерических эффектов формирования «ДНК-захвата» происходит разгибание локтевых участков плечевых доменов. Предполагается, что еще до гидролиза АТР и последующего разбора «захвата» петлевые домены могут связывать новый участок ДНК, становящийся новым подвижным основанием растущей петли. Разбор захвата приводит к диссоциации NIPBL от головных доменов, его обратному перескоку на петлевые домены и началу нового цикла конформационных изменений. Таким образом, в отличие от модели броуновского храповика, в модели «гребок-захват» подвижное основание петли на протяжении всего цикла электростатически связано с той или иной ДНК-связывающей поверхностью когезина. Такой постоянный контакт необходим для удерживания нетопологической ДНК-петли.

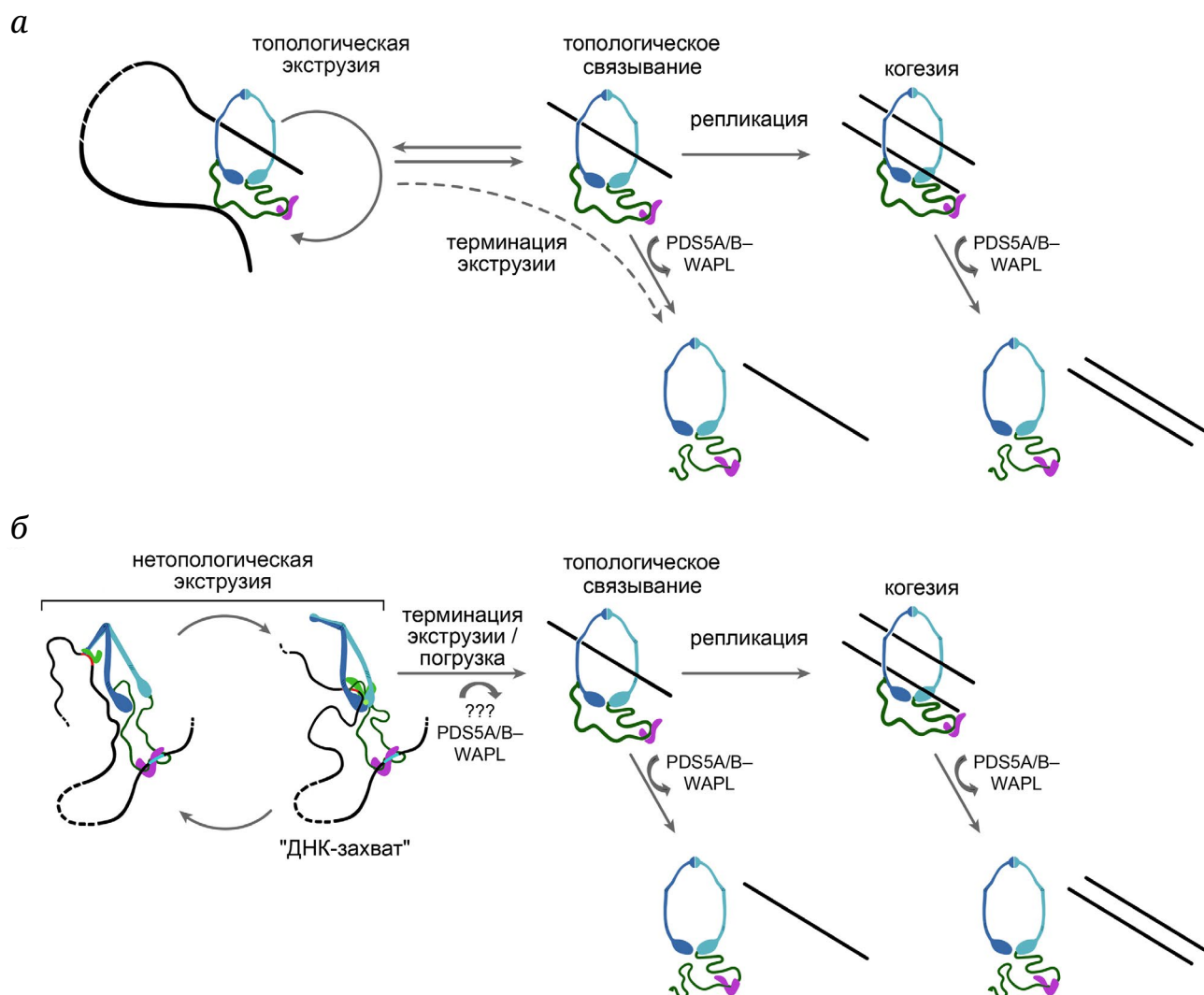
Помимо того, что модель «гребок-захват» согласуется со множеством структурных данных, она дает внятное объяснение того, как именно согласованы процессы сгибания/разгибания «локтей» с циклом связывания/гидролиза АТР и с передачей ДНК-нити от петлевых доменов головным. Сгибание плечевых доменов в рамках этой модели необходимо для формирования «ДНК-захвата» и гидролиза АТР, что, в свою очередь, приводит к передаче подвижного ДНК-якоря от одного участка связывания другому. По меньшей мере частичное разгибание «локтей», непременно предшествующее

связыванию нового подвижного основания растущей петли петлевыми доменами, обеспечивает направленный характер движения экструживного комплекса. Следует отметить, что в модели «гребок-захват» разгибание плечевых доменов, обеспечивающее движение когезинового комплекса относительно ДНК, так же как и в модели броуновского храповика, носит равновесный характер, что объясняет высокую чувствительность скорости экструживии к внешним силам [122, 125]. Нетопологическая природа экструживии в рамках этой модели согласуется со способностью экструживного комплекса преодолевать массивные ДНК-связанные частицы [69]. В то же время модель «гребок-захват» предсказывает однонаправленный характер экструживии, что противоречит наблюдениям, сделанным в реконструированных *in vitro* системах [123, 125].

#### **КОГЕЗИЯ И КОГЕЗИН-ЗАВИСИМАЯ ЭКСТРУЗИЯ МОГУТ БЫТЬ МЕХАНИСТИЧЕСКИ СВЯЗАНЫ МЕЖДУ СОБОЙ**

Со времени своего открытия и до настоящего момента когезин более известен как комплекс, обеспечивающий когезию сестринских хроматид за счет своей способности к топологическому надеванию на ДНК. Тот факт, что когезин также является ДНК-транслоказой, способной к формированию ДНК-петель по механизму экструживии, зачастую воспринимается как второстепенная деталь, необязательное дополнение к его основной когезивной функции. Обнаружение вовлеченности когезин-зависимой экструживии во все большее число клеточных процессов все убедительнее указывает на ложность такого представления: экструживия является одной из базовых активностей когезина, наряду с когезией. Такая точка зрения хорошо согласуется с эволюционной примитивностью экструживии, реализуемой едва ли не всеми известными SMC-комплексами [12–14, 123]. Когезивное связывание сестринских хроматид в филогенетическом плане, вероятно, возникло как адаптация предшественника когезина к выполнению дополнительной, не характерной для других гомологичных комплексов, функции [15–17]. В этой связи еще большее внимание привлекает одна из нерешенных загадок биологии когезинового комплекса, а именно вопрос о том, являются ли когезия и экструживия частью единого молекулярного каскада?

Многие авторы склоняются к интуитивно более естественному положительному ответу на этот вопрос [61, 127]. Тем не менее даже самая общая схема этого каскада до сих пор является предметом споров. Эволюция представлений о природе этого каскада оказалась тесно переплетена с изучением



**Рис. 8.** Схема гипотетического молекулярного каскада, связывающего процесс когезин-зависимой экстракции и установление когезии. *а* – Первоначально предложенная схема каскада: сопряжение топологической погрузки когезина на ДНК с инициацией экстракции. *б* – Модифицированная схема каскада, учитывающая накопленные структурные данные о процессе экстракции: сопряжение топологической погрузки когезина с терминацией экстракции. Центральное место в переключении между экстракцией и топологическим надеванием занимает конфигурация «ДНК-захвата»

модальности связывания когезина с ДНК при экстракции. Самым общим указанием на наличие механистической связи между экстракцией и когезией является тот факт, что PDS5A/B-субъединица и белок WAPL участвуют одновременно и в снятии когезивных колец с ДНК [47, 48], и в терминации экстракции [41, 42, 44, 51]. Первоначально это наблюдение привело к формированию гипотетической схемы, связывающей две активности когезина, в которой экстракция осуществляется топологически-надетыми когезиновыми кольцами, и такие кольца могут быть конвертированы в когезивные комплексы в ходе репликации (рис. 8, *а*).

Однако накопление новых данных привело к вытеснению этой наивной модели. В первую очередь речь идет о структурных данных, указываю-

щих на то, что экстракция осуществляется когезиновыми комплексами, не надетыми топологически на ДНК-нить [69, 123, 130]. Эти структурные данные получили генетическое подтверждение: были обнаружены мутации в SMC-субъединицах, которые подавляют способность комплекса к топологическому надеванию и почти не влияют на его способность к экстракции [8, 18]. Теперь, когда можно с достаточной уверенностью утверждать, что экстракция осуществляется по нетопологическому или псевдотопологическому механизму, доминирующей стала концепция, согласно которой топологическое надевание когезина (и последующее установление когезии) является одним из возможных вариантов завершения экстракционного цикла гидролиза АТФ. Многие авторы обращают внимание

на возможную роль «ДНК-захвата» в качестве узлового звена, в котором может происходить выбор между продолжением цикла экстррузии и топологическим надеванием, приводящим к завершению экстррузии (рис. 8, б) [61, 127]. Роль тандема PDS5A/B–WAPL может заключаться в направлении реакции в сторону завершения цикла экстррузии и формирования топологического связывания [130]. Такой гипотетический сценарий предполагает, что PDS5A/B–WAPL за счет своей способности к раскрытию когезинового кольца катализирует сразу две реакции в клетке: реакцию топологической погрузки/терминации экстррузии для комплексов, участвующих в экстррузии, и реакцию снятия топологически надетых когезивных колец.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На протяжении многих лет экстррузия ДНК-петель была по большей части умозрительной концепцией; некоторые авторы в это время указывали на то, что экстррузия может объяснять ряд клеточных процессов, например декатенацию сестринских геномных молекул [53]. Последнее десятилетие стало временем накопления сначала косвенных, а затем и прямых экспериментальных подтверждений того, что этот процесс в клетке действительно реализуется, и главными действующими лицами в нем являются SMC-комплексы [12, 66, 111, 123]. Можно сказать, что мы стали свидетелями исключительно редкого явления: подтверждения теоретического предсказания в биологии.

Изучение архитектуры SMC-комплексов, анализ молекулярных факторов, влияющих на SMC-зависимую экстррузию и микроскопические наблюдения за экстррузией в *in vitro* системах существенным образом конкретизировали наши представления о природе экстррузии. Перечислим наиболее существенные наблюдения, касающиеся когезин-зависимой экстррузии, сделанные в последние годы: 1) двунаправленный характер процесса [122, 123]; 2) нетопологическая или псевдотопологическая природа связывания экстррузионного комплекса с ДНК [8, 18, 69, 123, 130]; 3) высокая скорость роста петли, достигающая нескольких т.п.о. за секунду [33, 88, 122–124]; 4) ключевая роль NIPBL-субъединицы в процессе активной экстррузии [42, 122, 123]; 5) периодическое АТР-зависимое формирование структуры «ДНК-захвата» при прохождении цикла конформационных изменений, ассо-

циированных с экстррузией [60, 61, 131]; 6) участие PDS5A/B и привлекаемого им белка WAPL в терминации [41, 42, 44, 51]; 7) блокировка движения экстррузионных комплексов в специальных геномных областях, CTCF-сайтах и CAR-регионах, приводящая к формированию метастабильных петель, заякоренных в этих областях [44, 58, 59]. Перечисленные результаты, несмотря на исключительную значимость, представляют набор более-менее разрозненных фактов, не складывающийся в единую стройную картину. Попытки обрисовать общий контур такой универсальной картины уже принимаются [140]. Важнейшим компонентом такой картины должно стать детальное описание молекулярных перестроений комплекса во время экстррузии. В данном обзоре мы среди прочего описали три наиболее убедительных на данный момент молекулярных модели экстррузии, каждая из них пока носит более или менее спекулятивный характер и может быть согласована только с частью имеющихся экспериментальных данных. Мы также затронули вопрос о механистических взаимоотношениях между экстррузией и когезией, от понимания которого мы также все еще очень далеки. Дополнительные данные в самом ближайшем будущем могут заполнить имеющиеся пробелы в наших представлениях о механике экстррузии и позволят создать единую стройную экспериментально обоснованную модель процесса, что, как кажется, является необходимым условием для решения этой интригующей загадки когезина, двуликого Януса биологии эукариотических хромосом.

**Вклад авторов.** Голов А.К. – обобщение данных, написание первоначального текста рукописи; Гаврилов А.А. – постановка проблемы, руководство и редактирование текста.

**Благодарности.** Авторы благодарят Разина С.В. за глубокое и плодотворное обсуждение многих тем, затронутых в этом обзоре. Также авторы выражают признательность Головой А.В. за помощь в подготовке иллюстраций.

**Финансирование.** Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-64-00001).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yatskevich, S., Rhodes, J., and Nasmyth, K. (2019) Organization of chromosomal DNA by SMC complexes, *Annu. Rev. Genet.*, **53**, 445-482, <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-112618-043633>.

2. Davidson, I. F., and Peters, J.-M. (2021) Genome folding through loop extrusion by SMC complexes, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **22**, 445-464, <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00349-7>.
3. Strunnikov, A. V., Larionov, V. L., and Koshland, D. (1993) SMC1: an essential yeast gene encoding a putative head-rod-tail protein is required for nuclear division and defines a new ubiquitous protein family, *J. Cell Biol.*, **123**, 1635-1648, <https://doi.org/10.1083/jcb.123.6.1635>.
4. Michaelis, C., Ciosk, R., and Nasmyth, K. (1997) Cohesins: chromosomal proteins that prevent premature separation of sister chromatids, *Cell*, **91**, 35-45, [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)80007-6](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)80007-6).
5. Guacci, V., Koshland, D., and Strunnikov, A. (1997) A direct link between sister chromatid cohesion and chromosome condensation revealed through the analysis of MCD1 in *S. cerevisiae*, *Cell*, **91**, 47-57, [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)80008-8](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)80008-8).
6. Gruber, S., Haering, C. H., and Nasmyth, K. (2003) Chromosomal cohesin forms a ring, *Cell*, **112**, 765-777, [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00162-4](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00162-4).
7. Gligoris, T. G., Scheinost, J. C., Bürmann, F., Petela, N., Chan, K.-L., Uluocak, P., Beckouët, F., Gruber, S., Nasmyth, K., and Löwe, J. (2014) Closing the cohesin ring: structure and function of its Smc3-kleisin interface, *Science*, **346**, 963-967, <https://doi.org/10.1126/science.1256917>.
8. Srinivasan, M., Scheinost, J. C., Petela, N. J., Gligoris, T. G., Wissler, M., Ogushi, S., Collier, J. E., Voulgaris, M., Kurze, A., Chan, K.-L., Hu, B., Costanzo, V., and Nasmyth, K. A. (2018) The cohesin ring uses its hinge to organize DNA using non-topological as well as topological mechanisms, *Cell*, **173**, 1508-1519.e18, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.04.015>.
9. Peters, J.-M., Tedeschi, A., and Schmitz, J. (2008) The cohesin complex and its roles in chromosome biology, *Genes Dev.*, **22**, 3089-3114, <https://doi.org/10.1101/gad.1724308>.
10. Oldenkamp, R., and Rowland, B. D. (2022) A walk through the SMC cycle: from catching DNAs to shaping the genome, *Mol. Cell*, **82**, 1616-1630, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.04.006>.
11. Kabirova, E., Nurislamov, A., Shadskiy, A., Smirnov, A., Popov, A., Salnikov, P., Battulin, N., and Fishman, V. (2023) Function and evolution of the loop extrusion machinery in animals, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 5017, <https://doi.org/10.3390/ijms24055017>.
12. Ganji, M., Shaltiel, I. A., Bisht, S., Kim, E., Kalichava, A., Haering, C. H., and Dekker, C. (2018) Real-time imaging of DNA loop extrusion by condensin, *Science*, **360**, 102-105, <https://doi.org/10.1126/science.aar7831>.
13. Pradhan, B., Kanno, T., Umeda Igarashi, M., Loke, M. S., Baaske, M. D., Wong, J. S. K., Jeppsson, K., Björkegren, C., and Kim, E. (2023) The Smc5/6 complex is a DNA loop-extruding motor, *Nature*, **616**, 843-848, <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05963-3>.
14. Wang, X., Hughes, A. C., Brandão, H. B., Walker, B., Lierz, C., Cochran, J. C., Oakley, M. G., Kruse, A. C., and Rudner, D. Z. (2018) *In vivo* evidence for ATPase-dependent DNA translocation by the *Bacillus subtilis* SMC condensin complex, *Mol. Cell*, **71**, 841-847.e5, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.07.006>.
15. Yoshinaga, M., and Inagaki, Y. (2021) Ubiquity and origins of structural maintenance of chromosomes (SMC) proteins in eukaryotes, *Genome Biol. Evol.*, **13**, evab256, <https://doi.org/10.1093/gbe/evab256>.
16. Wells, J. N., Gligoris, T. G., Nasmyth, K. A., and Marsh, J. A. (2017) Evolution of condensin and cohesin complexes driven by replacement of Kite by Hawk proteins, *Curr. Biol.*, **27**, R17-R18, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.11.050>.
17. Batty, P., Langer, C. C. H., Takács, Z., Tang, W., Blaukopf, C., Peters, J.-M., and Gerlich, D. W. (2023) Cohesin-mediated DNA loop extrusion resolves sister chromatids in G2 phase, *EMBO J.*, **42**, e113475, <https://doi.org/10.15252/emboj.2023113475>.
18. Nagasaka, K., Davidson, I. F., Stocsits, R. R., Tang, W., Wutz, G., Batty, P., Panarotto, M., Litos, G., Schleiffer, A., Gerlich, D. W., and Peters, J.-M. (2023) Cohesin mediates DNA loop extrusion and sister chromatid cohesion by distinct mechanisms, *Mol. Cell*, **83**, 3049-3063.e6, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.07.024>.
19. Golov, A. K., and Gavrilov, A. A. (2024) Cohesin complex: structure and principles of interaction with DNA, *Biochemistry (Moscow)*, **89**, 585-600, <https://doi.org/S0006297924040011>.
20. Gligoris, T., and Löwe, J. (2016) Structural insights into ring formation of cohesin and related Smc complexes, *Trends Cell Biol.*, **26**, 680-693, <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.04.002>.
21. Stigler, J., Çamdere, G. Ö., Koshland, D. E., and Greene, E. C. (2016) Single-molecule imaging reveals a collapsed conformational state for DNA-bound cohesin, *Cell Rep.*, **15**, 988-998, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.04.003>.
22. Krishnan, A., Burroughs, A. M., Iyer, L. M., and Aravind, L. (2020) Comprehensive classification of ABC ATPases and their functional radiation in nucleoprotein dynamics and biological conflict systems, *Nucleic Acids Res.*, **48**, 10045-10075, <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa726>.
23. Lee, H., Noh, H., and Ryu, J.-K. (2021) Structure-function relationships of SMC protein complexes for DNA loop extrusion, *Biodesign*, **9**, 1-13, <https://doi.org/10.34184/kssb.2021.9.1.1>.

24. Ladurner, R., Kreidl, E., Ivanov, M. P., Ekker, H., Idarraga-Amado, M. H., Busslinger, G. A., Wutz, G., Cisneros, D. A., and Peters, J.-M. (2016) Sororin actively maintains sister chromatid cohesion, *EMBO J.*, **35**, 635-653, <https://doi.org/10.15252/embj.201592532>.
25. Rhodes, J. D. P., Haarhuis, J. H. I., Grimm, J. B., Rowland, B. D., Lavis, L. D., and Nasmyth, K. A. (2017) Cohesin can remain associated with chromosomes during DNA replication, *Cell Rep.*, **20**, 2749-2755, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.08.092>.
26. Petela, N. J., Gligoris, T. G., Metson, J., Lee, B.-G., Voulgaris, M., Hu, B., Kikuchi, S., Chapard, C., Chen, W., Rajendra, E., Srinivisan, M., Yu, H., Löwe, J., and Nasmyth, K. A. (2018) Scc2 is a potent activator of cohesin's ATPase that promotes loading by binding Scc1 without Pds5, *Mol. Cell*, **70**, 1134-1148.e7, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.05.022>.
27. Cattoglio, C., Pustova, I., Walther, N., Ho, J. J., Hantsche-Grininger, M., Inouye, C. J., Hossain, M. J., Dailey, G. M., Ellenberg, J., Darzacq, X., Tjian, R., and Hansen, A. S. (2019) Determining cellular CTCF and cohesin abundances to constrain 3D genome models, *Elife*, **8**, e40164, <https://doi.org/10.7554/eLife.40164>.
28. Holzmann, J., Politi, A. Z., Nagasaka, K., Hantsche-Grininger, M., Walther, N., Koch, B., Fuchs, J., Dürnberger, G., Tang, W., Ladurner, R., Stocsits, R. R., Busslinger, G. A., Novák, B., Mechtler, K., Davidson, I. F., Ellenberg, J., and Peters, J.-M. (2019) Absolute quantification of cohesin, CTCF and their regulators in human cells, *Elife*, **8**, e46269, <https://doi.org/10.7554/eLife.46269>.
29. Gerlich, D., Koch, B., Dupeux, F., Peters, J.-M., and Ellenberg, J. (2006) Live-cell imaging reveals a stable cohesin-chromatin interaction after but not before DNA replication, *Curr. Biol.*, **16**, 1571-1578, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.06.068>.
30. McNairn, A. J., and Gerton, J. L. (2009) Intersection of ChIP and FLIP, genomic methods to study the dynamics of the cohesin proteins, *Chromosome Res.*, **17**, 155-163, <https://doi.org/10.1007/s10577-008-9007-9>.
31. Hansen, A. S., Pustova, I., Cattoglio, C., Tjian, R., and Darzacq, X. (2017) CTCF and cohesin regulate chromatin loop stability with distinct dynamics, *Elife*, **6**, e25776, <https://doi.org/10.7554/eLife.25776>.
32. Mishra, A., Hu, B., Kurze, A., Beckouët, F., Farcas, A.-M., Dixon, S. E., Katou, Y., Khalid, S., Shirahige, K., and Nasmyth, K. (2010) Both interaction surfaces within cohesin's hinge domain are essential for its stable chromosomal association, *Curr. Biol.*, **20**, 279-289, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.12.059>.
33. Golfier, S., Quail, T., Kimura, H., and Brugués, J. (2020) Cohesin and condensin extrude DNA loops in a cell cycle-dependent manner, *Elife*, **9**, e53885, <https://doi.org/10.7554/eLife.53885>.
34. Abramo, K., Valton, A.-L., Venev, S. V., Ozadam, H., Fox, A. N., and Dekker, J. (2019) A chromosome folding intermediate at the condensin-to-cohesin transition during telophase, *Nat. Cell Biol.*, **21**, 1393-1402, <https://doi.org/10.1038/s41556-019-0406-2>.
35. Zhang, H., Emerson, D. J., Gilgenast, T. G., Titus, K. R., Lan, Y., Huang, P., Zhang, D., Wang, H., Keller, C. A., Giardine, B., Hardison, R. C., Phillips-Cremins, J. E., and Blobel, G. A. (2019) Chromatin structure dynamics during the mitosis-to-G1 phase transition, *Nature*, **576**, 158-162, <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1778-y>.
36. Dauban, L., Montagne, R., Thierry, A., Lazar-Stefanita, L., Bastié, N., Gadal, O., Cournac, A., Koszul, R., and Beckouët, F. (2020) Regulation of cohesin-mediated chromosome folding by Eco1 and other partners, *Mol. Cell*, **77**, 1279-1293.e4, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.01.019>.
37. Zuin, J., Dixon, J. R., van der Reijden, M. I. J. A., Ye, Z., Kolovos, P., Brouwer, R. W. W., van de Corput, M. P. C., van de Werken, H. J. G., Knoch, T. A., van Ijcken, W. F. J., Grosveld, F. G., Ren, B., and Wendt, K. S. (2014) Cohesin and CTCF differentially affect chromatin architecture and gene expression in human cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 996-1001, <https://doi.org/10.1073/pnas.1317788111>.
38. Busslinger, G. A., Stocsits, R. R., van der Lelij, P., Axelsson, E., Tedeschi, A., Galjart, N., and Peters, J.-M. (2017) Cohesin is positioned in mammalian genomes by transcription, CTCF and Wapl, *Nature*, **544**, 503-507, <https://doi.org/10.1038/nature22063>.
39. Vian, L., Pękowska, A., Rao, S. S. P., Kieffer-Kwon, K.-R., Jung, S., Baranello, L., Huang, S.-C., El Khattabi, L., Dose, M., Pruett, N., Sanborn, A. L., Canela, A., Maman, Y., Oksanen, A., Resch, W., Li, X., Lee, B., Kovalchuk, A. L., Tang, Z., Nelson, S., Di Pierro, M., Cheng, R. R., Machol, I., St Hilaire, B. G., Durand, N. C., et al. (2018) The energetics and physiological impact of cohesin extrusion, *Cell*, **173**, 1165-1178.e20, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.072>.
40. Banigan, E. J., Tang, W., van den Berg, A. A., Stocsits, R. R., Wutz, G., Brandão, H. B., Busslinger, G. A., Peters, J.-M., and Mirny, L. A. (2023) Transcription shapes 3D chromatin organization by interacting with loop extrusion, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **120**, e2210480120, <https://doi.org/10.1073/pnas.2210480120>.
41. Wutz, G., Várnai, C., Nagasaka, K., Cisneros, D. A., Stocsits, R. R., Tang, W., Schoenfelder, S., Jessberger, G., Muhar, M., Hossain, M. J., Walther, N., Koch, B., Kueblbeck, M., Ellenberg, J., Zuber, J., Fraser, P., and Peters, J.-M. (2017) Topologically associating domains and chromatin loops depend on cohesin and are regulated by CTCF, WAPL, and PDS5 proteins, *EMBO J.*, **36**, 3573-3599, <https://doi.org/10.15252/embj.201798004>.

42. Haarhuis, J. H. I., van der Weide, R. H., Blomen, V. A., Omar Yáñez-Cuna, J., Amendola, M., van Ruiten, M. S., Krijger, P. H. L., Teunissen, H., Medema, R. H., van Steensel, B., Brummelkamp, T. R., de Wit, E., and Rowland, B. D. (2017) The cohesin release factor WAPL restricts chromatin loop extension, *Cell*, **169**, 693-707.e14, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.04.013>.
43. Wutz, G., Ladurner, R., St Hilaire, B. G., Stocsits, R. R., Nagasaka, K., Pignard, B., Sanborn, A., Tang, W., Várnai, C., Ivanov, M. P., Schoenfelder, S., van der Lelij, P., Huang, X., Dürnberger, G., Roitinger, E., Mechtler, K., Davidson, I. F., Fraser, P., Lieberman-Aiden, E., and Peters, J.-M. (2020) ESCO1 and CTCF enable formation of long chromatin loops by protecting cohesin-STAG1 from WAPL, *Elife*, **9**, e52091, <https://doi.org/10.7554/eLife.52091>.
44. Costantino, L., Hsieh, T.-H. S., Lamothe, R., Darzacq, X., and Koshland, D. (2020) Cohesin residency determines chromatin loop patterns, *Elife*, **9**, e59889, <https://doi.org/10.7554/eLife.59889>.
45. Bastié, N., Chapard, C., Dauban, L., Gadal, O., Beckouët, F., and Koszul, R. (2022) Smc3 acetylation, Pds5 and Scc2 control the translocase activity that establishes cohesin-dependent chromatin loops, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **29**, 575-585, <https://doi.org/10.1038/s41594-022-00780-0>.
46. Mizuguchi, T., Fudenberg, G., Mehta, S., Belton, J.-M., Taneja, N., Folco, H. D., FitzGerald, P., Dekker, J., Mirny, L., Barrowman, J., and Grewal, S. I. S. (2014) Cohesin-dependent globules and heterochromatin shape 3D genome architecture in *S. pombe*, *Nature*, **516**, 432-435, <https://doi.org/10.1038/nature13833>.
47. Gandhi, R., Gillespie, P. J., and Hirano, T. (2006) Human Wapl is a cohesin-binding protein that promotes sister-chromatid resolution in mitotic prophase, *Curr. Biol.*, **16**, 2406-2417, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.10.061>.
48. Huis in 't Veld, P. J., Herzog, F., Ladurner, R., Davidson, I. F., Piric, S., Kreidl, E., Bhaskara, V., Aebersold, R., and Peters, J.-M. (2014) Characterization of a DNA exit gate in the human cohesin ring, *Science*, **346**, 968-972, <https://doi.org/10.1126/science.1256904>.
49. Alonso-Gil, D., and Losada, A. (2023) NIPBL and cohesin: new take on a classic tale, *Trends Cell Biol.*, **33**, 860-871, <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2023.03.006>.
50. Schwarzer, W., Abdennur, N., Goloborodko, A., Pekowska, A., Fudenberg, G., Loe-Mie, Y., Fonseca, N. A., Huber, W., Haering, C. H., Mirny, L., and Spitz, F. (2017) Two independent modes of chromatin organization revealed by cohesin removal, *Nature*, **551**, 51-56, <https://doi.org/10.1038/nature24281>.
51. Tedeschi, A., Wutz, G., Huet, S., Jaritz, M., Wuensche, A., Schirghuber, E., Davidson, I. F., Tang, W., Cisneros, D. A., Bhaskara, V., Nishiyama, T., Vaziri, A., Wutz, A., Ellenberg, J., and Peters, J.-M. (2013) Wapl is an essential regulator of chromatin structure and chromosome segregation, *Nature*, **501**, 564-568, <https://doi.org/10.1038/nature12471>.
52. Ur, S. N., and Corbett, K. D. (2021) Architecture and dynamics of meiotic chromosomes, *Annu. Rev. Genet.*, **55**, 497-526, <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-071719-020235>.
53. Nasmyth, K. (2001) Disseminating the genome: joining, resolving, and separating sister chromatids during mitosis and meiosis, *Annu. Rev. Genet.*, **35**, 673-745, <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.35.102401.091334>.
54. Mach, P., Kos, P. I., Zhan, Y., Cramard, J., Gaudin, S., Tünnermann, J., Marchi, E., Eglinger, J., Zuin, J., Kryzhanovska, M., Smallwood, S., Gelman, L., Roth, G., Nora, E. P., Tian, G., and Giorgetti, L. (2022) Cohesin and CTCF control the dynamics of chromosome folding, *Nat. Genet.*, **54**, 1907-1918, <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01232-7>.
55. Schalbetter, S. A., Fudenberg, G., Baxter, J., Pollard, K. S., and Neale, M. J. (2019) Principles of meiotic chromosome assembly revealed in *S. cerevisiae*, *Nat. Commun.*, **10**, 4795, <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12629-0>.
56. Lengronne, A., Katou, Y., Mori, S., Yokobayashi, S., Kelly, G. P., Itoh, T., Watanabe, Y., Shirahige, K., and Uhlmann, F. (2004) Cohesin relocation from sites of chromosomal loading to places of convergent transcription, *Nature*, **430**, 573-578, <https://doi.org/10.1038/nature02742>.
57. Schmidt, C. K., Brookes, N., and Uhlmann, F. (2009) Conserved features of cohesin binding along fission yeast chromosomes, *Genome Biol.*, **10**, R52, <https://doi.org/10.1186/gb-2009-10-5-r52>.
58. Nora, E. P., Caccianini, L., Fudenberg, G., So, K., Kameswaran, V., Nagle, A., Uebersohn, A., Hajj, B., Saux, A. L., Coulon, A., Mirny, L. A., Pollard, K. S., Dahan, M., and Bruneau, B. G. (2020) Molecular basis of CTCF binding polarity in genome folding, *Nat. Commun.*, **11**, 5612, <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19283-x>.
59. Li, Y., Haarhuis, J. H. I., Sedeño Cacciatore, Á., Oldenkamp, R., van Ruiten, M. S., Willems, L., Teunissen, H., Muir, K. W., de Wit, E., Rowland, B. D., and Panne, D. (2020) The structural basis for cohesin-CTCF-anchored loops, *Nature*, **578**, 472-476, <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1910-z>.
60. Shi, Z., Gao, H., Bai, X.-C., and Yu, H. (2020) Cryo-EM structure of the human cohesin-NIPBL-DNA complex, *Science*, **368**, 1454-1459, <https://doi.org/10.1126/science.abb0981>.
61. Collier, J. E., Lee, B.-G., Roig, M. B., Yatskevich, S., Petela, N. J., Metson, J., Voulgaris, M., Gonzalez Llamazares, A., Löwe, J., and Nasmyth, K. A. (2020) Transport of DNA within cohesin involves clamping on top of engaged heads by Scc2 and entrapment within the ring by Scc3, *Elife*, **9**, e59560, <https://doi.org/10.7554/eLife.59560>.
62. Beckouët, F., Srinivasan, M., Roig, M. B., Chan, K.-L., Scheinost, J. C., Batty, P., Hu, B., Petela, N., Gligoris, T., Smith, A. C., Strmecki, L., Rowland, B. D., and Nasmyth, K. (2016) Releasing activity disengages cohesin's Smc3/Scc1 interface in a process blocked by acetylation, *Mol. Cell*, **61**, 563-574, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.01.026>.

63. Dixon, J. R., Selvaraj, S., Yue, F., Kim, A., Li, Y., Shen, Y., Hu, M., Liu, J. S., and Ren, B. (2012) Topological domains in mammalian genomes identified by analysis of chromatin interactions, *Nature*, **485**, 376-380, <https://doi.org/10.1038/nature11082>.
64. Pugacheva, E. M., Kubo, N., Loukinov, D., Tajmul, M., Kang, S., Kovalchuk, A. L., Strunnikov, A. V., Zentner, G. E., Ren, B., and Lobanenko, V. V. (2020) CTCF mediates chromatin looping via N-terminal domain-dependent cohesin retention, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **117**, 2020-2031, <https://doi.org/10.1073/pnas.1911708117>.
65. Rao, S. S. P., Huntley, M. H., Durand, N. C., Stamenova, E. K., Bochkov, I. D., Robinson, J. T., Sanborn, A. L., Machol, I., Omer, A. D., Lander, E. S., and Aiden, E. L. (2014) A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping, *Cell*, **159**, 1665-1680, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.11.021>.
66. Sanborn, A. L., Rao, S. S. P., Huang, S.-C., Durand, N. C., Huntley, M. H., Jewett, A. I., Bochkov, I. D., Chinnappan, D., Cutkosky, A., Li, J., Geeting, K. P., Gnirke, A., Melnikov, A., McKenna, D., Stamenova, E. K., Lander, E. S., and Aiden, E. L. (2015) Chromatin extrusion explains key features of loop and domain formation in wild-type and engineered genomes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, E6456-E6465, <https://doi.org/10.1073/pnas.1518552112>.
67. Gómez-Marín, C., Tena, J. J., Acemel, R. D., López-Mayorga, M., Naranjo, S., de la Calle-Mustienes, E., Maeso, I., Becari, L., Aneas, I., Viémas, E., Bovolenta, P., Nobrega, M. A., Carvajal, J., and Gómez-Skarmeta, J. L. (2015) Evolutionary comparison reveals that diverging CTCF sites are signatures of ancestral topological associating domains borders, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 7542-7547, <https://doi.org/10.1073/pnas.1505463112>.
68. Davidson, I. F., Goetz, D., Zaczek, M. P., Molodtsov, M. I., Huis In 't Veld, P. J., Weissmann, F., Litos, G., Cisneros, D. A., Ocampo-Hafalla, M., Ladurner, R., Uhlmann, F., Vaziri, A., and Peters, J.-M. (2016) Rapid movement and transcriptional re-localization of human cohesin on DNA, *EMBO J.*, **35**, 2671-2685, <https://doi.org/10.15252/embj.201695402>.
69. Pradhan, B., Barth, R., Kim, E., Davidson, I. F., Bauer, B., van Laar, T., Yang, W., Ryu, J.-K., van der Torre, J., Peters, J.-M., and Dekker, C. (2022) SMC complexes can traverse physical roadblocks bigger than their ring size, *Cell Rep.*, **41**, 111491, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111491>.
70. Hsieh, T.-H. S., Fudenberg, G., Goloborodko, A., and Rando, O. J. (2016) Micro-C XL: assaying chromosome conformation from the nucleosome to the entire genome, *Nat. Methods*, **13**, 1009-1011, <https://doi.org/10.1038/nmeth.4025>.
71. Valton, A.-L., Venev, S. V., Mair, B., Khokhar, E. S., Tong, A. H. Y., Usaj, M., Chan, K., Pai, A. A., Moffat, J., and Dekker, J. (2022) A cohesin traffic pattern genetically linked to gene regulation, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **29**, 1239-1251, <https://doi.org/10.1038/s41594-022-00890-9>.
72. Sundin, O., and Varshavsky, A. (1980) Terminal stages of SV40 DNA replication proceed via multiply intertwined catenated dimers, *Cell*, **21**, 103-114, [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(80\)90118-x](https://doi.org/10.1016/0092-8674(80)90118-x).
73. Wang, J. C. (2002) Cellular roles of DNA topoisomerases: a molecular perspective, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **3**, 430-440, <https://doi.org/10.1038/nrm831>.
74. Orlandini, E., Marenduzzo, D., and Michieletto, D. (2019) Synergy of topoisomerase and structural-maintenance-of-chromosomes proteins creates a universal pathway to simplify genome topology, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 8149-8154, <https://doi.org/10.1073/pnas.1815394116>.
75. Nolivos, S., and Sherratt, D. (2014) The bacterial chromosome: architecture and action of bacterial SMC and SMC-like complexes, *FEMS Microbiol. Rev.*, **38**, 380-392, <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12045>.
76. Ono, T., Losada, A., Hirano, M., Myers, M. P., Neuwald, A. F., and Hirano, T. (2003) Differential contributions of condensin I and condensin II to mitotic chromosome architecture in vertebrate cells, *Cell*, **115**, 109-121, [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00724-4](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00724-4).
77. Ono, T., Fang, Y., Spector, D. L., and Hirano, T. (2004) Spatial and temporal regulation of condensins I and II in mitotic chromosome assembly in human cells, *Mol. Biol. Cell*, **15**, 3296-3308, <https://doi.org/10.1091/mbc.e04-03-0242>.
78. Piazza, I., Haering, C. H., and Rutkowska, A. (2013) Condensin: crafting the chromosome landscape, *Chromosoma*, **122**, 175-190, <https://doi.org/10.1007/s00412-013-0405-1>.
79. Houlard, M., Cutts, E. E., Shamim, M. S., Godwin, J., Weisz, D., Presser Aiden, A., Lieberman Aiden, E., Schermelleh, L., Vannini, A., and Nasmyth, K. (2021) MCPH1 inhibits condensin II during interphase by regulating its SMC2-Kleisin interface, *Elife*, **10**, e73348, <https://doi.org/10.7554/eLife.73348>.
80. Oomen, M. E., Hedger, A. K., Watts, J. K., and Dekker, J. (2020) Detecting chromatin interactions between and along sister chromatids with SisterC, *Nat. Methods*, **17**, 1002-1009, <https://doi.org/10.1038/s41592-020-0930-9>.
81. Mitter, M., Gasser, C., Takacs, Z., Langer, C. C. H., Tang, W., Jessberger, G., Beales, C. T., Neuner, E., Ameres, S. L., Peters, J.-M., Goloborodko, A., Micura, R., and Gerlich, D. W. (2020) Conformation of sister chromatids in the replicated human genome, *Nature*, **586**, 139-144, <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2744-4>.
82. Freeman, L., Aragon-Alcaide, L., and Strunnikov, A. (2000) The condensin complex governs chromosome condensation and mitotic transmission of rDNA, *J. Cell Biol.*, **149**, 811-824, <https://doi.org/10.1083/jcb.149.4.811>.
83. Nagasaka, K., Hossain, M. J., Roberti, M. J., Ellenberg, J., and Hirota, T. (2016) Sister chromatid resolution is an intrinsic part of chromosome organization in prophase, *Nat. Cell Biol.*, **18**, 692-699, <https://doi.org/10.1038/ncb3353>.

84. Renshaw, M. J., Ward, J. J., Kanemaki, M., Natsume, K., Nédélec, F. J., and Tanaka, T. U. (2010) Condensins promote chromosome recoiling during early anaphase to complete sister chromatid separation, *Dev. Cell*, **19**, 232-244, <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2010.07.013>.
85. Schalbetter, S. A., Goloborodko, A., Fudenberg, G., Belton, J.-M., Miles, C., Yu, M., Dekker, J., Mirny, L., and Baxter, J. (2017) SMC complexes differentially compact mitotic chromosomes according to genomic context, *Nat. Cell Biol.*, **19**, 1071-1080, <https://doi.org/10.1038/ncb3594>.
86. Gibcus, J. H., Samejima, K., Goloborodko, A., Samejima, I., Naumova, N., Nuebler, J., Kanemaki, M. T., Xie, L., Paulson, J. R., Earnshaw, W. C., Mirny, L. A., and Dekker, J. (2018) A pathway for mitotic chromosome formation, *Science*, <https://doi.org/10.1126/science.aao6135>.
87. Hirano, T. (2012) Condensins: universal organizers of chromosomes with diverse functions, *Genes Dev.*, **26**, 1659-1678, <https://doi.org/10.1101/gad.194746.112>.
88. Rao, S. S. P., Huang, S.-C., Glenn St Hilaire, B., Engreitz, J. M., Perez, E. M., Kieffer-Kwon, K.-R., Sanborn, A. L., Johnstone, S. E., Bascom, G. D., Bochkov, I. D., Huang, X., Shamim, M. S., Shin, J., Turner, D., Ye, Z., Omer, A. D., Robinson, J. T., Schlick, T., Bernstein, B. E., Casellas, R., Lander, E. S., and Aiden, E. L. (2017) Cohesin loss eliminates all loop domains, *Cell*, **171**, 305-320.e24, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.026>.
89. Hoencamp, C., Dudchenko, O., Elbatsh, A. M. O., Brahmachari, S., Raaijmakers, J. A., van Schaik, T., Sedeño Cacciato-re, Á., Contessoto, V. G., van Heesbeen, R. G. H. P., van den Broek, B., Mhaskar, A. N., Teunissen, H., St Hilaire, B. G., Weisz, D., Omer, A. D., Pham, M., Colaric, Z., Yang, Z., Rao, S. S. P., Mitra, N., Lui, C., Yao, W., Khan, R., Moroz, L. L., Kohn, A., et al. (2021) 3D genomics across the tree of life reveals condensin II as a determinant of architecture type, *Science*, **372**, 984-989, <https://doi.org/10.1126/science.abe2218>.
90. Tavares-Cadete, F., Norouzi, D., Dekker, B., Liu, Y., and Dekker, J. (2020) Multi-contact 3C reveals that the human genome during interphase is largely not entangled, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **27**, 1105-1114, <https://doi.org/10.1038/s41594-020-0506-5>.
91. Goundaroulis, D., Lieberman Aiden, E., and Stasiak, A. (2020) Chromatin is frequently unknotted at the megabase scale, *Biophys. J.*, **118**, 2268-2279, <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2019.11.002>.
92. Hildebrand, E. M., Polovnikov, K., Dekker, B., Liu, Y., Lafontaine, D. L., Nicole Fox, A., Li, Y., Venev, S. V., Mirny, L., and Dekker, J. (2022) Chromosome decompaction and cohesin direct Topoisomerase II activity to establish and maintain an unentangled interphase genome, *bioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2022.10.15.511838>.
93. Portugal, J., and Rodríguez-Campos, A. (1996) T7 RNA polymerase cannot transcribe through a highly knotted DNA template, *Nucleic Acids Res.*, **24**, 4890-4894, <https://doi.org/10.1093/nar/24.24.4890>.
94. Sjögren, C., and Nasmyth, K. (2001) Sister chromatid cohesion is required for postreplicative double-strand break repair in *Saccharomyces cerevisiae*, *Curr. Biol.*, **11**, 991-995, [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(01\)00271-8](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(01)00271-8).
95. Watrin, E., and Peters, J.-M. (2006) Cohesin and DNA damage repair, *Exp. Cell Res.*, **312**, 2687-2693, <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2006.06.024>.
96. Gelot, C., Guirouilh-Barbat, J., Le Guen, T., Dardillac, E., Chailleux, C., Canitrot, Y., and Lopez, B. S. (2016) The cohesin complex prevents the end joining of distant DNA double-strand ends, *Mol. Cell*, **61**, 15-26, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.11.002>.
97. Covo, S., Westmoreland, J. W., Gordenin, D. A., and Resnick, M. A. (2010) Cohesin is limiting for the suppression of DNA damage-induced recombination between homologous chromosomes, *PLoS Genet.*, **6**, e1001006, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001006>.
98. Dion, V., Kalck, V., Seeber, A., Schleker, T., and Gasser, S. M. (2013) Cohesin and the nucleolus constrain the mobility of spontaneous repair foci, *EMBO Rep.*, **14**, 984-991, <https://doi.org/10.1038/embor.2013.142>.
99. Piazza, A., Bordelet, H., Dumont, A., Thierry, A., Savocco, J., Girard, F., and Koszul, R. (2021) Cohesin regulates homology search during recombinational DNA repair, *Nat. Cell Biol.*, **23**, 1176-1186, <https://doi.org/10.1038/s41556-021-00783-x>.
100. Ström, L., Lindroos, H. B., Shirahige, K., and Sjögren, C. (2004) Postreplicative recruitment of cohesin to double-strand breaks is required for DNA repair, *Mol. Cell*, **16**, 1003-1015, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2004.11.026>.
101. Unal, E., Arbel-Eden, A., Sattler, U., Shroff, R., Lichten, M., Haber, J. E., and Koshland, D. (2004) DNA damage response pathway uses histone modification to assemble a double-strand break-specific cohesin domain, *Mol. Cell*, **16**, 991-1002, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2004.11.027>.
102. Arnould, C., Rocher, V., Finoux, A.-L., Clouaire, T., Li, K., Zhou, F., Caron, P., Mangeot, P. E., Ricci, E. P., Mourad, R., Haber, J. E., Noordermeer, D., and Legube, G. (2021) Loop extrusion as a mechanism for formation of DNA damage repair foci, *Nature*, **590**, 660-665, <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03193-z>.
103. Collins, P. L., Purman, C., Porter, S. I., Nganga, V., Saini, A., Hayer, K. E., Gurewitz, G. L., Sleckman, B. P., Bednarski, J. J., Bassing, C. H., and Oltz, E. M. (2020) DNA double-strand breaks induce H2Ax phosphorylation domains in a contact-dependent manner, *Nat. Commun.*, **11**, 3158, <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16926-x>.

104. Arnould, C., Rocher, V., Saur, F., Bader, A. S., Muzzopappa, F., Collins, S., Lesage, E., Le Bozec, B., Puget, N., Clouaire, T., Mangeat, T., Mourad, R., Ahituv, N., Noordermeer, D., Erdel, F., Bushell, M., Marnef, A., and Legube, G. (2023) Chromatin compartmentalization regulates the response to DNA damage, *Nature*, **623**, 183-192, <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06635-y>.
105. Gasperini, M., Tome, J. M., and Shendure, J. (2020) Towards a comprehensive catalogue of validated and target-linked human enhancers, *Nat. Rev. Genet.*, **21**, 292-310, <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0209-0>.
106. Karr, J. P., Ferrie, J. J., Tjian, R., and Darzacq, X. (2022) The transcription factor activity gradient (TAG) model: contemplating a contact-independent mechanism for enhancer-promoter communication, *Genes Dev.*, **36**, 7-16, <https://doi.org/10.1101/gad.349160.121>.
107. Hsieh, T.-H. S., Cattoglio, C., Slobodyanyuk, E., Hansen, A. S., Rando, O. J., Tjian, R., and Darzacq, X. (2020) Resolving the 3D landscape of transcription-linked mammalian chromatin folding, *Mol. Cell*, **78**, 539-553.e8, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.03.002>.
108. Hsieh, T.-H. S., Cattoglio, C., Slobodyanyuk, E., Hansen, A. S., Darzacq, X., and Tjian, R. (2022) Enhancer-promoter interactions and transcription are largely maintained upon acute loss of CTCF, cohesin, WAPL or YY1, *Nat. Genet.*, **54**, 1919-1932, <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01223-8>.
109. Golov, A. K., Gavrilov, A. A., Kaplan, N., and Razin, S. V. (2023) A genome-wide nucleosome-resolution map of promoter-centered interactions in human cells corroborates the enhancer-promoter looping model, *bioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2023.02.12.528105>.
110. Kagey, M. H., Newman, J. J., Bilodeau, S., Zhan, Y., Orlando, D. A., van Berkum, N. L., Ebmeier, C. C., Goossens, J., Rahl, P. B., Levine, S. S., Taatjes, D. J., Dekker, J., and Young, R. A. (2010) Mediator and cohesin connect gene expression and chromatin architecture, *Nature*, **467**, 430-435, <https://doi.org/10.1038/nature09380>.
111. Fudenberg, G., Imakaev, M., Lu, C., Goloborodko, A., Abdennur, N., and Mirny, L. A. (2016) Formation of chromosomal domains by loop extrusion, *Cell Rep.*, **15**, 2038-2049, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.04.085>.
112. Thiecke, M. J., Wutz, G., Muhar, M., Tang, W., Bevan, S., Malysheva, V., Stocsits, R., Neumann, T., Zuber, J., Fraser, P., Schoenfelder, S., Peters, J.-M., and Spivakov, M. (2020) Cohesin-dependent and -independent mechanisms mediate chromosomal contacts between promoters and enhancers, *Cell Rep.*, **32**, 107929, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107929>.
113. Aljahani, A., Hua, P., Karpinska, M. A., Quililan, K., Davies, J. O. J., and Oudelaar, A. M. (2022) Analysis of sub-kilobase chromatin topology reveals nano-scale regulatory interactions with variable dependence on cohesin and CTCF, *Nat. Commun.*, **13**, 2139, <https://doi.org/10.1038/s41467-022-29696-5>.
114. Song, W., Sharan, R., and Ovcharenko, I. (2019) The first enhancer in an enhancer chain safeguards subsequent enhancer-promoter contacts from a distance, *Genome Biol.*, **20**, 197, <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1808-y>.
115. Chakraborty, S., Kopitchinski, N., Zuo, Z., Eraso, A., Awasthi, P., Chari, R., Mitra, A., Tobias, I. C., Moorthy, S. D., Dale, R. K., Mitchell, J. A., Petros, T. J., and Rocha, P. P. (2023) Enhancer-promoter interactions can bypass CTCF-mediated boundaries and contribute to phenotypic robustness, *Nat. Genet.*, **55**, 280-290, <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01295-6>.
116. Northcott, P. A., Lee, C., Zichner, T., Stütz, A. M., Erkek, S., Kawauchi, D., Shih, D. J. H., Hovestadt, V., Zapatka, M., Sturm, D., Jones, D. T. W., Kool, M., Remke, M., Cavalli, F. M. G., Zuyderduyn, S., Bader, G. D., VandenBerg, S., Esparza, L. A., Ryzhova, M., Wang, W., Wittmann, A., Stark, S., Sieber, L., Seker-Cin, H., Linke, L., et al. (2014) Enhancer hijacking activates GFI1 family oncogenes in medulloblastoma, *Nature*, **511**, 428-434, <https://doi.org/10.1038/nature13379>.
117. Lupiáñez, D. G., Kraft, K., Heinrich, V., Krawitz, P., Brancati, F., Klopocki, E., Horn, D., Kayserili, H., Opitz, J. M., Laxova, R., Santos-Simarro, F., Gilbert-Dussardier, B., Wittler, L., Borschiwer, M., Haas, S. A., Osterwalder, M., Franke, M., Timmermann, B., Hecht, J., Spielmann, M., Visel, A., and Mundlos, S. (2015) Disruptions of topological chromatin domains cause pathogenic rewiring of gene-enhancer interactions, *Cell*, **161**, 1012-1025, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.04.004>.
118. Franke, M., Ibrahim, D. M., Andrey, G., Schwarzer, W., Heinrich, V., Schöpflin, R., Kraft, K., Kempfer, R., Jerković, I., Chan, W.-L., Spielmann, M., Timmermann, B., Wittler, L., Kurth, I., Cambiaso, P., Zuffardi, O., Houge, G., Lambie, L., Brancati, F., Pombo, A., Vingron, M., Spitz, F., and Mundlos, S. (2016) Formation of new chromatin domains determines pathogenicity of genomic duplications, *Nature*, **538**, 265-269, <https://doi.org/10.1038/nature19800>.
119. Lieberman-Aiden, E., van Berkum, N. L., Williams, L., Imakaev, M., Ragoczy, T., Telling, A., Amit, I., Lajoie, B. R., Sabo, P. J., Dorschner, M. O., Sandstrom, R., Bernstein, B., Bender, M. A., Groudine, M., Gnirke, A., Stamatoyannopoulos, J., Mirny, L. A., Lander, E. S., and Dekker, J. (2009) Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome, *Science*, **326**, 289-293, <https://doi.org/10.1126/science.1181369>.
120. Riggs, A. D. (1990) DNA methylation and late replication probably aid cell memory, and type I DNA reeling could aid chromosome folding and enhancer function, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **326**, 285-297, <https://doi.org/10.1098/rstb.1990.0012>.

121. Alipour, E., and Marko, J. F. (2012) Self-organization of domain structures by DNA-loop-extruding enzymes, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 11202-11212, <https://doi.org/10.1093/nar/gks925>.
122. Kim, Y., Shi, Z., Zhang, H., Finkelstein, I. J., and Yu, H. (2019) Human cohesin compacts DNA by loop extrusion, *Science*, **366**, 1345-1349, <https://doi.org/10.1126/science.aaz4475>.
123. Davidson, I. F., Bauer, B., Goetz, D., Tang, W., Wutz, G., and Peters, J.-M. (2019) DNA loop extrusion by human cohesin, *Science*, **366**, 1338-1345, <https://doi.org/10.1126/science.aaz3418>.
124. Bauer, B. W., Davidson, I. F., Canena, D., Wutz, G., Tang, W., Litos, G., Horn, S., Hinterdorfer, P., and Peters, J.-M. (2021) Cohesin mediates DNA loop extrusion by a “swing and clamp” mechanism, *Cell*, **184**, 5448-5464.e22, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.09.016>.
125. Davidson, I. F., Barth, R., Zaczek, M., van der Torre, J., Tang, W., Nagasaka, K., Janissen, R., Kerssemakers, J., Wutz, G., Dekker, C., and Peters, J.-M. (2023) CTCF is a DNA-tension-dependent barrier to cohesin-mediated loop extrusion, *Nature*, **616**, 822-827, <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05961-5>.
126. Shaltiel, I. A., Datta, S., Lecomte, L., Hassler, M., Kschonsak, M., Bravo, S., Stober, C., Ormanns, J., Eustermann, S., and Haering, C. H. (2022) A hold-and-feed mechanism drives directional DNA loop extrusion by condensin, *Science*, **376**, 1087-1094, <https://doi.org/10.1126/science.abm4012>.
127. Higashi, T. L., Pobegalov, G., Tang, M., Molodtsov, M. I., and Uhlmann, F. (2021) A Brownian ratchet model for DNA loop extrusion by the cohesin complex, *Elife*, **10**, e67530, <https://doi.org/10.7554/eLife.67530>.
128. Barth, R., Davidson, I., van der Torre, J., Taschner, M., Gruber, S., Peters, J.-M., and Dekker, C. (2023) SMC motor proteins extrude DNA asymmetrically and contain a direction switch, *bioRxiv*, <https://doi.org/10.1101/2023.12.21.572892>.
129. Barth, R., Pradhan, B., Kim, E., Davidson, I. F., van der Torre, J., Peters, J.-M., and Dekker, C. (2023) Testing pseudotopological and nontopological models for SMC-driven DNA loop extrusion against roadblock-traversal experiments, *Sci. Rep.*, **13**, 8100, <https://doi.org/10.1038/s41598-023-35359-2>.
130. Golov, A. K., Golova, A. V., Gavrillov, A. A., and Razin, S. V. (2021) Sensitivity of cohesin-chromatin association to high-salt treatment corroborates non-topological mode of loop extrusion, *Epigenetics Chromatin*, **14**, 36, <https://doi.org/10.1186/s13072-021-00411-w>.
131. Higashi, T. L., Eickhoff, P., Sousa, J. S., Locke, J., Nans, A., Flynn, H. R., Snijders, A. P., Papageorgiou, G., O'Reilly, N., Chen, Z. A., O'Reilly, F. J., Rappsilber, J., Costa, A., and Uhlmann, F. (2020) A structure-based mechanism for DNA entry into the cohesin ring, *Mol. Cell*, **79**, 917-933.e9, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.07.013>.
132. Muir, K. W., Li, Y., Weis, F., and Panne, D. (2020) The structure of the cohesin ATPase elucidates the mechanism of SMC-kleisin ring opening, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **27**, 233-239, <https://doi.org/10.1038/s41594-020-0379-7>.
133. Chapard, C., Jones, R., van Oepen, T., Scheinost, J. C., and Nasmyth, K. (2019) Sister DNA entrapment between juxtaposed SMC heads and Kleisin of the cohesin complex, *Mol. Cell*, **75**, 224-237.e5, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.05.023>.
134. Bürmann, F., Lee, B.-G., Than, T., Sinn, L., O'Reilly, F. J., Yatskevich, S., Rappsilber, J., Hu, B., Nasmyth, K., and Löwe, J. (2019) A folded conformation of MukBEF and cohesin, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **26**, 227-236, <https://doi.org/10.1038/s41594-019-0196-z>.
135. Bürmann, F., Basfeld, A., Vazquez Nunez, R., Diebold-Durand, M.-L., Wilhelm, L., and Gruber, S. (2017) Tuned SMC arms drive chromosomal loading of prokaryotic condensin, *Mol. Cell*, **65**, 861-872.e9, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.01.026>.
136. Diebold-Durand, M.-L., Lee, H., Ruiz Avila, L. B., Noh, H., Shin, H.-C., Im, H., Bock, F. P., Bürmann, F., Durand, A., Basfeld, A., Ham, S., Basquin, J., Oh, B.-H., and Gruber, S. (2017) Structure of full-length SMC and rearrangements required for chromosome organization, *Mol. Cell*, **67**, 334-347.e5, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.06.010>.
137. Marko, J. F., De Los Rios, P., Barducci, A., and Gruber, S. (2019) DNA-segment-capture model for loop extrusion by structural maintenance of chromosome (SMC) protein complexes, *Nucleic Acids Res.*, **47**, 6956-6972, <https://doi.org/10.1093/nar/gkz497>.
138. Terakawa, T., Bisht, S., Eeftens, J. M., Dekker, C., Haering, C. H., and Greene, E. C. (2017) The condensin complex is a mechanochemical motor that translocates along DNA, *Science*, **358**, 672-676, <https://doi.org/10.1126/science.aan6516>.
139. Ryu, J.-K., Katan, A. J., van der Sluis, E. O., Wisse, T., de Groot, R., Haering, C. H., and Dekker, C. (2020) The condensin holocomplex cycles dynamically between open and collapsed states, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **27**, 1134-1141, <https://doi.org/10.1038/s41594-020-0508-3>.
140. Dekker, C., Haering, C. H., Peters, J.-M., and Rowland, B. D. (2023) How do molecular motors fold the genome, *Science*, **382**, 646-648, <https://doi.org/10.1126/science.adi8308>.

## COHESIN-DEPENDENT LOOP EXTRUSION: MOLECULAR MECHANICS AND ROLE IN CELL PHYSIOLOGY

### Review

A. K. Golov<sup>1,2\*</sup> and A. A. Gavrillov<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences,  
119334 Moscow, Russia; e-mail: golovstein@gmail.com; aleksey.a.gavrillov@gmail.com*

<sup>2</sup> *Technion – Israel Institute of Technology, 3525433 Haifa, Israel*

The most prominent representatives of multisubunit SMC-complexes, cohesin and condensin, are best known as structural components of mitotic chromosomes. It turned out that these complexes, as well as their bacterial homologues, are molecular motors, the ATP-dependent movement of these complexes along DNA threads leads to the formation of DNA loops. In recent years, we have witnessed an avalanche-like accumulation of data on the process of SMC-dependent DNA looping, also known as loop extrusion. This review briefly summarizes the current understanding of the place and role of cohesin-dependent extrusion in cell physiology and presents a number of models describing the potential molecular mechanism of extrusion in a most compelling way. We conclude the review with a discussion of how the capacity of cohesin to extrude DNA loops may be mechanistically linked to its involvement in sister chromatid cohesion.

**Keywords:** cohesin, SMC complexes, loop extrusion, cohesion, DNA gripping state