

КОГЕЗИНОВЫЙ КОМПЛЕКС: СТРУКТУРА И ПРИНЦИПЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ДНК

Обзор

© 2024 А.К. Голов^{1,2*}, А.А. Гаврилов^{1*}

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

² Технион – Израильский технологический институт, 3525433 Хайфа, Израиль

Поступила в редакцию 14.10.2023

После доработки 19.02.2024

Принята к публикации 23.02.2024

Точная репликация и разделение длинных линейных молекул геномной ДНК связаны с преодолением ряда чисто механических трудностей. SMC-Комплексы являются ключевыми компонентами клеточной машинерии, обеспечивающей декатенацию сестринских хромосом, а также компактизацию геномной ДНК во время деления. Один из базовых эукариотических SMC-комплексов, когезин, имеет типичную для этой группы кольцевую структуру с межсубъединичной порой, сквозь которую могут быть продеты нити ДНК. На способности когезина к такому топологическому надеванию на ДНК основано участие комплекса в пострепликативном сцеплении сестринских хроматид – когезии. Сравнительно недавно стало ясно, что когезин, так же как и другие SMC-комплексы, является моторным белком, своеобразное движение которого по молекуле ДНК ведет к выпетливанию ДНК (процесс, получивший название «экструзия»). Экструзия обеспечивает выполнение функций когезина за пределами когезии, однако молекулярный механизм процесса остается загадкой. В этом обзоре мы суммировали данные об архитектуре когезина, о влиянии связывания и гидролиза АТФ на эту архитектуру, а также о ряде альтернативных способов связывания комплекса с ДНК. Многие из представленных структурных закономерностей в ближайшем будущем, вероятно, станут частью целостной модели, описывающей молекулярный механизм процесса экструзии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: SMC-комплексы, когезин, SMC-субъединицы, клейзин, HAWK-субъединицы, когезия, топологическое надевание, экструзия ДНК-петель, «ДНК-захват».

DOI: 10.31857/S0320972524040015 EDN: ZGRUGG

ВВЕДЕНИЕ

Когезин – это панэукариотический белковый комплекс, относящийся к группе SMC-комплексов (Structural Maintenance of Chromosomes, белок структурного поддержания хромосом), участвующий в процессах индивидуализации сестринских хроматид, декатенации хромосом, митотической и мейотической когезии, создания и поддержания специфической укладки ДНК в клетках, репарации двухцепочечных разрывов и стабилизации остановленных репликативных вилок [1, 2]. Как и другие SMC-комплексы, когезин представляет со-

бой, с одной стороны, мультисубъединичную ABC-АТРАЗу, а с другой – ДНК-связывающий комплекс, не имеющий предпочтений к специфическим нуклеотидным последовательностям. Связывание и гидролиз АТФ сопряжены с конформационными изменениями когезина, а также с изменениями аффинности разных элементов комплекса к ДНК. Повторяющиеся циклы связывания/гидролиза АТФ приводят к направленному движению комплекса вдоль ДНК-нити, таким образом, когезин является моторным белком – ДНК-транслоказой.

В клетках эукариотических организмов когезин выполняет две различные функции: обеспечение

Принятые сокращения: 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.

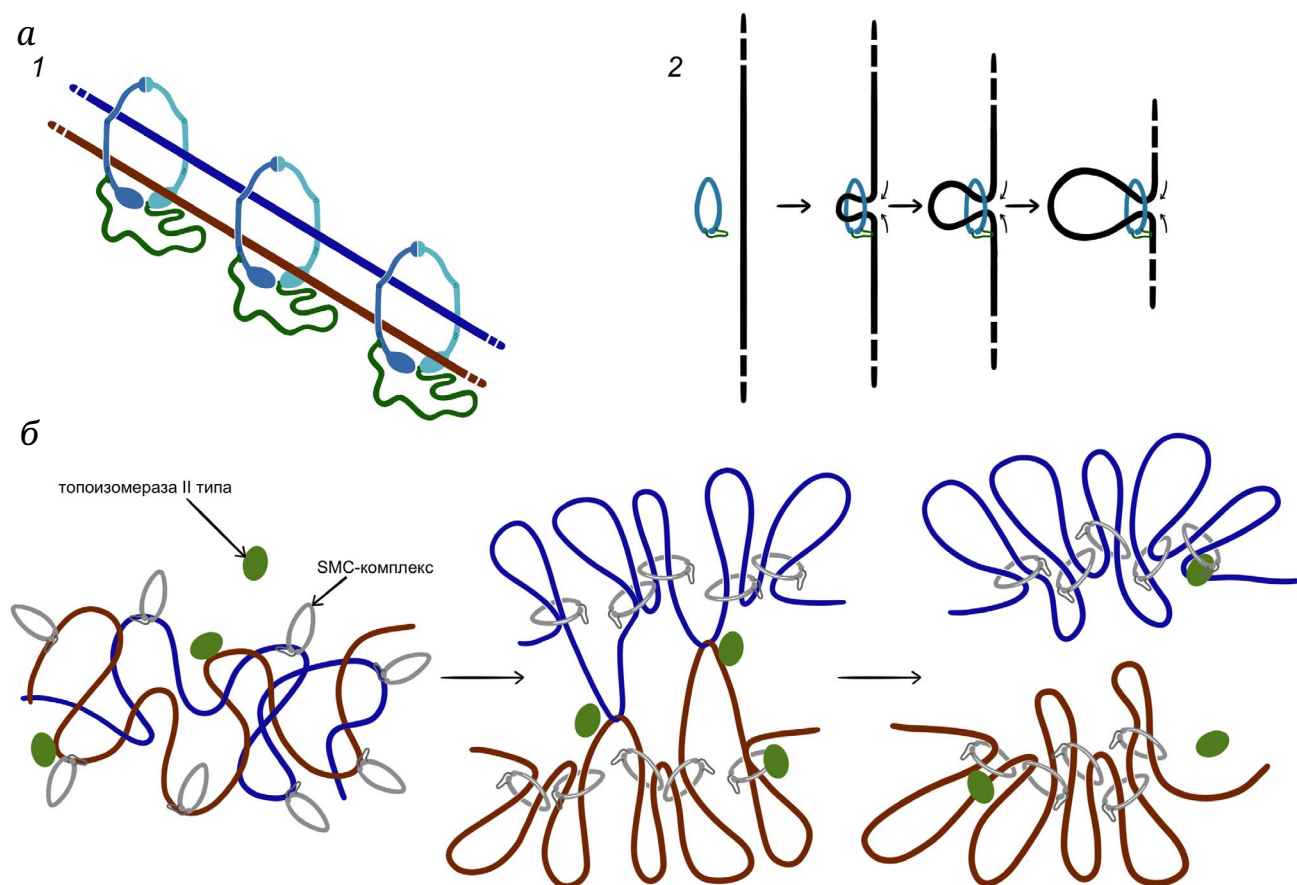


Рис. 1. Когезия сестринских хроматид и экструзия ДНК-петель, осуществляемые SMC-комплексами. *а* – Две базовые активности когезина: когезия (1) и экструзия (2). *б* – Экструзия, осуществляемая SMC-комплексами, и активность ДНК-топоизомераз типа II обеспечивают пострепликативную индивидуализацию сестринских геномов во всех клетках, прокариотических и эукариотических

когезии сестринских хроматид и так называемую экструзию хроматиновых петель (рис. 1, *а*). Процесс экструзии начинается с захвата небольшой ДНК-петли, после чего ее рост происходит за счет процессивного затягивания фланкирующих участков ДНК внутрь [3–6]. В основании растущих петель располагается активный SMC-комплекс, а их размер может достигать сотен тысяч пар оснований (рис. 1, *а* (2)). Экструзионная активность сопряжена с гидролизом АТФ и является универсальной биохимической активностью всех SMC-комплексов [1]. По всей видимости, экструзия возникла на заре клеточной эволюции как способ пострепликативного разделения массивных молекул геномной ДНК (рис. 1, *б*); в этом процессе SMC-комплексы кооперируют с топоизомеразы II типа. Обеспечиваемая когезиновыми кольцами когезия сестринских хроматид (рис. 1, *а* (1)), по всей вероятности, не связана с экструзионной активностью комплекса [7, 8], хотя для погрузки на ДНК когезиновых колец, участвующих в когезии, также необходим гидролиз АТФ [7, 9].

Информация о структуре белков важна для понимания их активности и вдвойне важна для

понимания активности моторных белков. В этом обзоре мы приведем данные о структуре когезина, а также суммируем современные представления о его взаимодействиях с ДНК, конформационных изменениях и о том, как взаимодействия с ДНК и цикл связывания/гидролиза АТФ контролируют эти конформационные изменения. Данные о биологической роли когезин-зависимой экструзии, а также молекулярный механизм этого процесса подробно рассматриваются во втором обзоре серии, опубликованном в этом же выпуске журнала [10].

КОЛЬЦЕВОЙ КОРОВЫЙ ТРИМЕР КОГЕЗИНОВОГО КОМПЛЕКСА

Все эукариотические геномы кодируют по крайней мере четыре SMC-комплекса из трех разных классов: две разновидности когезина (митотический и мейотический), конденсин I и SMC5/6-комплекс [3, 4] (таблица). Инвариантной основой SMC-комплексов является тример, состоящий из двух SMC-субъединиц и одной клейзиновой субъединицы [2, 3, 11]. SMC-Белки [12] и клейзины [13]

Субъединичный состав панэукариотических SMC-комплексов

Комплекс Субъединица	Мейотический когезин	Митотический когезин	Конденсин I	SMC5/6-комплекс
v-SMC	SMC3 (Smc3)	SMC3 (Smc3)	SMC2 (Smc2)	SMC6 (Smc6)
к-SMC	SMC1 (Smc1)	SMC1α (Smc1)	SMC4 (Smc4)	SMC5 (Smc5)
Клейзин	REC8 (Rec8)	RAD21 (Scc1)	CAP-H (Brn1)	NSE4A/B (Nse4)
HAWK _A	PDS5A/B (Pds5)	NIPBL (Scc2) и PDS5A/B (Pds5)	CAP-D2 (Ycs4)	–
HAWK _B	STAG3 (Scc3)	STAG1/2 (Scc3)	CAP-G (Ycg1)	–
KITE _A	–	–	–	NSE5 (Nse5)
KITE _B	–	–	–	NSE6 (Nse6)

Примечание. HAWK-Субъединицы присутствуют только в когезинах и конденсинах, в то время как прокариотические SMC-комплексы и SMC5/6-комплекс имеют в своем составе вспомогательные субъединицы, объединяемые в группу KITE-белков [15]. Указаны названия субъединиц человека и названия гомологичных субъединиц *Saccharomyces cerevisiae* (в скобках).

представляют собой два неродственных белковых семейства. Представители разных классов SMC-комплексов разделены сотнями миллионов лет эволюции и утратили гомологию в большей части аминокислотной последовательности, сохранив сходство в пределах коротких функционально важных мотивов и общую базовую структуру [14]. Тем не менее внутри шести основных подсемейств эукариотических SMC-белков (SMC1–6) и трех подсемейств эукариотических клейзинов (клеязины α–γ) наблюдается существенная степень консервативности на уровне аминокислотной последовательности. Особенно высокая консервативность наблюдается внутри SMC1- и SMC3-подсемейств. Так, например, SMC3 человека и мыши фактически идентичны.

В случае когезина (под когезином мы будем подразумевать более изученный митотический вариант комплекса) пара SMC-белков представлена гетеродимером SMC1 (Smc1)–SMC3 (Smc3)¹, а клейзиновая субъединица – белком RAD21 (Scc1). SMC-Белки – это палочковидные молекулы длиной порядка 50 нм с двумя глобулярными доменами на концах, соединенными относительно лабильной фибриллярной структурой (рис. 2, а) [16–18]. Полипептид, состоящий из 1200–1300 а.о., сложен вдвое внутри палочковидной структуры SMC-белка так, что один из терминальных глобулярных доменов образуется в результате взаимодействия N- и C-концов, а другой – образован непрерывным фрагментом полипептидной цепи, распо-

ложенным приблизительно посередине линейной последовательности [17, 19]. Первый из глобулярных доменов носит название головного домена, а второй – петлевого (hinge), внутри последнего происходит поворот полипептидной цепи SMC-белка на 180°. Фибриллярная структура, соединяющая два глобулярных домена, представляет собой внутримолекулярную антипараллельную суперспираль (coiled-coil), называемую плечевым домом (arm).

Стабильная димеризация SMC-белков достигается за счет гомотипического взаимодействия между петлевыми доменами [17, 18]. Суперспиральные плечевые домены направлены в одну сторону от взаимодействующих петлевых доменов; таким образом, димер SMC1–SMC3 при отсутствии АТФ представляет собой V-образную структуру с димеризованными петлевыми доменами на одном полюсе и парой разобщенных головных доменов – на другом [17, 20].

RAD21-Клейзиновая субъединица имеет длину порядка 500–700 а.о. с двумя структурированными доменами на N- и C-концах и протяженной, в значительной мере неупорядоченной, областью между ними [13]. N-Концевой домен клейзина взаимодействует с областью сочленения головного и плечевого доменов SMC3-субъединицы, а C-концевой – с головным доменом SMC1 (рис. 2, б) [21].

Молекулы трех коровых субъединиц когезина за счет устойчивых концевых взаимодействий образуют замкнутую кольцевую структуру [17, 22].

¹ В основном тексте указаны названия белков человека, в скобках (при первом упоминании) – названия гомологичных белков *Saccharomyces cerevisiae*.

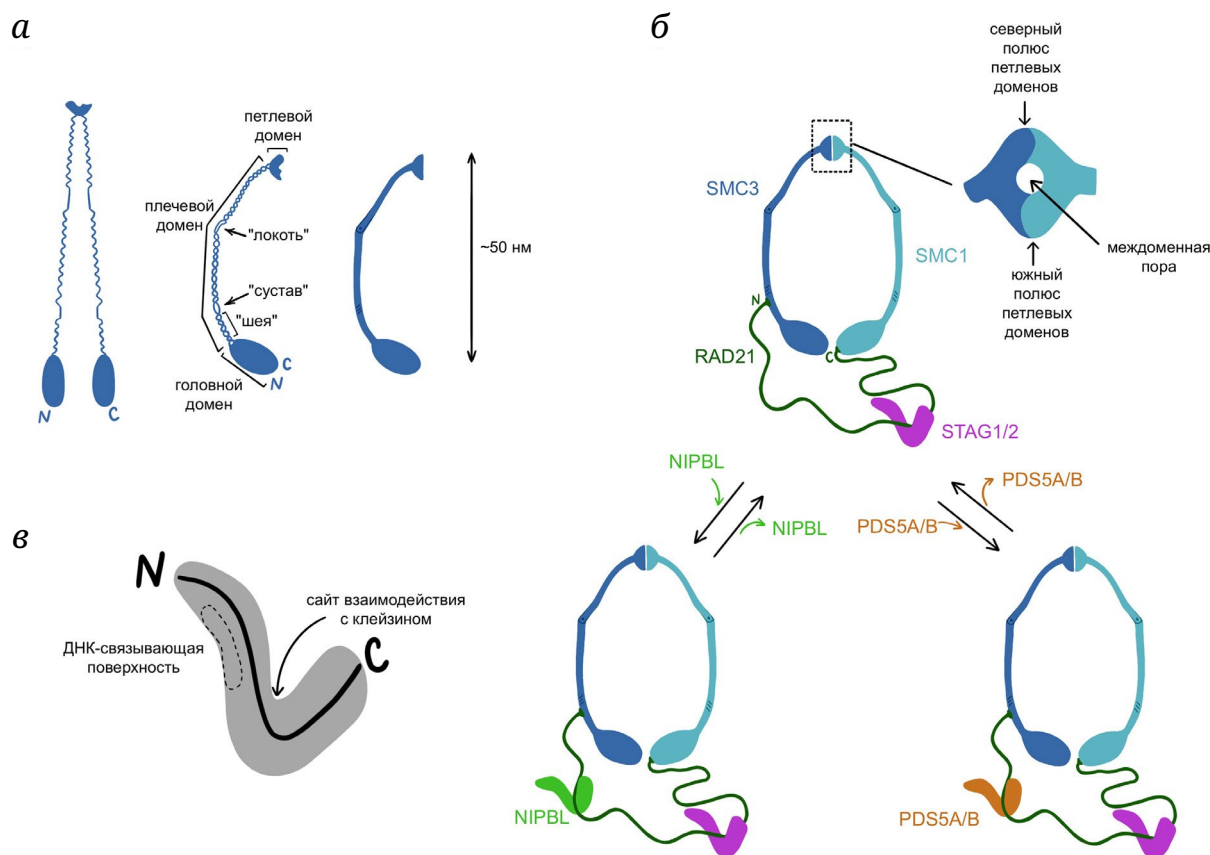


Рис. 2. Субъединичная структура когезинового комплекса. *а* – Фолдинг и основные структурные особенности SMC-белков. *б* – Общая структура трехчастного когезинового кольца и взаимодействие с ним HAWK-субъединиц. *в* – Общая структура крючкообразных HAWK-субъединиц SMC-комплексов

Вытянутая форма каждой из коровых субъединиц приводит к тому, что в некоторых конформациях когезин обладает пространно топологически замкнутым межсубъединичным компартментом, называемым S-K-кольцом (рис. 3, *а*). Просвет S-K-кольца, также называемый S-K-компаратментом, может поддерживать сквозное прохождение глобулярных частиц диаметром порядка 10 нм [23, 24]. Показано, что через S-K-компаратмент могут также проходить одна или две ДНК-нити, в этом случае кольцевой комплекс оказывается надет на ДНК как бисеринка на нить. В G2-фазе клеточного цикла за счет такого топологического взаимодействия молекул когезина с парами сестринских хроматид поддерживается когезия [7].

Петлевые домены SMC-белков представляют собой компактные структуры, состоящие из двух (N- и C-концевого) субдоменов α/β -класса, каждый из субдоменов имеет в своем составе небольшой β -лист [17, 18]. N-Концевой субдомен взаимодействует с C-концевым субдоменом своего димеризационного партнера с образованием единого составного β -листа. Таким образом, два петлевых домена в составе димера имеют пару взаимодействующих поверхностей. За счет того, что субдо-

мены в составе каждого из петлевых доменов разделены небольшим желобом, димеризованные петлевые домены выглядят как тороидальная структура с вращательной псевдосимметрией второго порядка (рис. 2, *б*). Небольшой канал внутри димера петлевых доменов содержит группу функционально важных положительно заряженных аминокислот, которые, как предполагается, могут участвовать в электростатических взаимодействиях комплекса с ДНК. Асимметрия в гетеродимере SMC-субъединиц когезина позволяет различать две поверхности взаимодействия петлевых доменов между собой. Одну из них, более удаленную от головных доменов, принято называть северной, другую – южной (рис. 2, *б*).

Плечевой домен каждого из SMC-белков представляет собой пару антипараллельных суперспирализованных α -спиралей (coiled coil), каждая из которых состоит из 300–400 а.о. Суперспираль плечевого домена имеет дефекты, в которых одна или обе антипараллельных цепи теряют регулярную α -спиральную структуру [19]. Два таких разрыва в суперспирали плечевого домена обладают высокой эволюционной консервативностью и, по всей вероятности, играют важную роль в активности

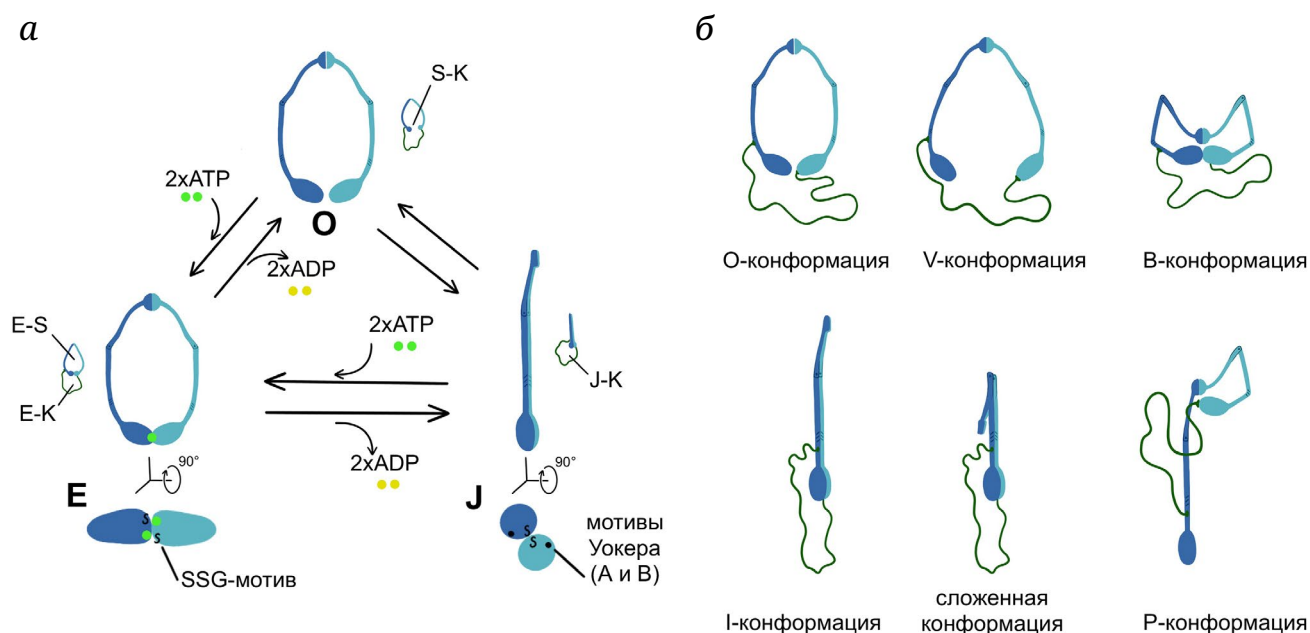


Рис. 3. Разнообразие конформационных состояний когезина. *a* – O-, E- и J-конфигурации головных доменов когезина и переходы между ними, RAD21-субъединица не показана для ясности рисунка. На пиктограммах обозначены S-K-кольцо и субкомпарменты (E-S, E-K и J-K), образуемые при взаимодействии головных доменов между собой. *б* – Основные конформационные состояния когезина, обнаруженные с помощью микроскопических методов

SMC-комплексов. Первый, расположенный около середины плечевого домена, чуть ближе к димеру петлевых доменов, получил название «локоть» (elbow) (рис. 2, *a*). Эта область обеспечивает механическую гибкость плечевых доменов: одновременное сгибание локтевых регионов обеих SMC-субъединиц комплекса может приводить к сближению петлевых доменов с головными доменами (рис. 3, *б*). Второй консервативный разрыв суперспирали находится вблизи головного домена, на расстоянии примерно 50 а.о., его принято называть «суставом» (joint) (рис. 2, *a*). «Суставы» SMC-субъединиц являются важными хабами взаимодействия с дополнительными субъединицами комплекса [25], также они принимают участие в движениях головных доменов друг относительно друга [26].

Головные домены SMC-белков представляют собой АТРАЗЫ ABC-типа [16, 27]. Как и другие ABC-белки, когезин способен гидролизовать АТФ исключительно при физическом взаимодействии двух АТРАЗных доменов в составе димера (рис. 3, *a*) [28, 29]. Головной домен одной из субъединиц димера связывает АТФ, а головной домен другой необходим для гидролиза связанной молекулы. Каждый цикл когезин-зависимого гидролиза АТФ включает связывание АТФ каждым из головных доменов, в результате чего в каждом цикле гидролиза расходуется две молекулы АТФ. Взаимодействие головных доменов SMC-субъединиц прекращается при гидролизе нуклеозидтрифосфата

и вновь устанавливается при связывании новой пары молекул АТФ. Таким образом, в отличие от взаимодействия петлевых доменов между собой, димеризация головных доменов зависит от субстрата и носит динамический характер (рис. 3, *a*).

С точки зрения структуры ABC-АТРаза головного домена – это глобула, ядром которой является незамкнутый β -цилиндр с β -цепями, принадлежащими как *N*-, так и *C*-концевой части SMC-белка [9, 16, 28]. На одном из полюсов β -цилиндра располагаются две консервативные каталитически значимые последовательности: мотив Уокера А (также называемый Р-петлей или фосфат-связывающей петлей) и мотив Уокера В. Оба этих мотива характерны не только для всех представителей суперсемейства ABC-АТРАЗ, но и для более обширной монофилетической группы белков, называемых «НТРАзами с Р-петлей» (P-loop NTPases) [27]. Мотив Уокера А, расположенный в *N*-концевой части, отвечает за связывание β - и γ -фосфатных групп молекулы АТФ. Мотив Уокера В расположен в *C*-концевой части и отвечает за координацию Mg^{2+} в активном центре. В отличие от других «НТРАЗ с Р-петлей», для эффективного гидролиза фосфатной связи ABC-АТРАзами требуется сближение нуклеозидтрифосфата, связанного мотивами Уокера А и В, с остатком серина в составе так называемого SGG-мотива. SGG-Мотив также расположен в головном домене, но на сравнительно большом расстоянии от АТФ-связывающего β -цилиндра, поэтому такое сближение невозможно

в рамках головного домена SMC-мономера, оно может реализовываться только между АТР-связывающим участком одного головного домена и SGG-мотивом другого при их димеризации (рис. 3, а). По этой причине АТР-разная активность когезина реализуется только при физическом взаимодействии головных доменов двух SMC-субъединиц в составе комплекса.

Структурированные *N*- и *C*-концевые домены RAD21 взаимодействуют с головными доменами двух SMC-белков асимметрично (рис. 2, б) [30]. *N*-Концевой домен RAD21 связывается с участком плечевой суперспирали, непосредственно выходящей из головного домена SMC3. Участок плечевого домена, с которым связывается *N*-концевой домен клейзина, расположенный между головным доменом и «суставом», называют «шеей» (neck). Фрагмент шейного участка суперспирали SMC3 взаимодействует с двумя *N*-концевыми α -спиралями RAD21 с образованием четырехспирального α -пучка [30, 31]. *C*-Концевой глобулярный домен RAD21 имеет укладку типа «крылатая спираль» (winged-helix fold) и взаимодействует с вершиной головного домена SMC1 [32].

ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ НАWK-БЕЛКОВ С КЛЕЙЗИНОВОЙ СУБЪЕДИНИЦЕЙ

Коровый тример когезина взаимодействует с тремя дополнительными субъединицами: STAG1/2² (Scc3), PDS5A/B (Pds5) и NIPBL (Scc2). Дополнительные субъединицы участвуют в связывании комплекса с ДНК и регуляции его активности [1–3]. В значительной степени неупорядоченная центральная часть RAD21 является основным местом взаимодействия корового тримера с дополнительными субъединицами [33–35].

Все три дополнительные субъединицы когезина относятся к семейству НАWK-белков (HEAT proteins Associated With Kleisin, HEAT-белок, ассоциированный с клейзином) [15]. Это полностью α -спиральные структуры в форме крюков (рис. 2, в) [33, 36], состоящие из порядка 20 HEAT-повторов [37]. Каждый повтор состоит из 30–40 а.о., организованных в пару взаимодействующих антипараллельных амфипатических α -спиралей. α -Спирали каждого из HEAT-повторов уложены перпендикулярно оси крюка НАWK-субъединицы. Внутренняя часть изгиба крюка участвует во взаимодействии с клейзином.

STAG1/2 стабильно связывается с клейзином и, таким образом, является конститутивным компонентом комплекса [38]. NIPBL и PDS5A/B взаимодействуют с клейзином транзитивно; кроме того, две эти субъединицы конкурируют между собой за один сайт связывания [35]. Таким образом, в каждый момент времени комплекс может содержать одну (STAG1/2) или две (STAG1/2 + NIPBL или STAG1/2 + PDS5A/B) НАWK-субъединицы (рис. 2, б). Вхождение в состав когезина NIPBL или PDS5A/B кардинально изменяет активность комплекса [35]. NIPBL существенно повышает АТР-разную активность комплекса [39, 40]. Эта субъединица абсолютно необходима для экструзионной активности когезина [40, 41]. PDS5A/B-Субъединица подавляет АТР-разную активность, в ее присутствии к когезиновому кольцу может привлекаться белок WAPL, катализирующий отделение *N*-концевого участка RAD21 от SMC3-субъединицы [42, 43]. Ацетилирование SMC3-субъединицы, а также взаимодействия комплекса с другими компонентами хроматина, такими как инсуляторный белок CTCF, регулируют связывание NIPBL и PDS5A/B с когезиновым кольцом [25, 44–46].

КОНФОРМАЦИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ КОГЕЗИНОВОГО КОМПЛЕКСА

Функционирование всех белков так или иначе связано с лиганд-зависимыми изменениями конформации. SMC-Комплексы демонстрируют способность к радикальным конформационным перестроениям, которые и обеспечивают их моторную активность.

Разнообразные микроскопические техники, рентгеноструктурный анализ, а также непрямые методы определения конформации, такие как анализ ферстеровского переноса энергии (Förster Resonance Energy Transfer, FRET), химическое сшивание и анализ устойчивости ДНК-белковых комплексов к физико-химическим воздействиям, позволили задокументировать широкий спектр различных конформационных состояний когезина (рис. 3, б) [3, 4].

Все многообразие известных конформаций можно в значительной мере описать тремя параметрами: (1) наличием или отсутствием контакта между головными доменами двух SMC-субъединиц, (2) расстоянием между петлевыми и головными доменами, изменяющимся при сгибании «локтей», (3) расстоянием между плечевыми

² Геномы позвоночных, как правило, кодируют по паре паралогичных НАWK-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.

суперспиралями двух SMC-субъединиц. Так, в I-конформации и в сложенной конформации головные домены контактируют между собой, а плечевые суперспирали взаимодействуют по всей длине; отличие заключается в том, что в первой из конформаций плечевые домены находятся в выпрямленном состоянии, тогда как во второй – в полностью согнутом. О- и В-конформации отличаются от предыдущей пары отсутствием взаимодействий между плечевыми доменами (рис. 3, б).

Часть конформационных перестроений когезина строго сопряжена со связыванием или гидролизом АТР, другие – происходят спонтанно. Вероятно, направление некоторых спонтанных перестроений может контролироваться прохождением цикла связывания/гидролиза АТР.

Димеризация головных доменов и гидролиз АТР. Связывание АТР индуцирует тесное взаимодействие между двумя головными доменами когезина, называемое Е-состоянием (*engaged state*) [9, 28, 47]. Это короткоживущая структура, распадается при гидролизе АТР (рис. 3, а). За гидролизом АТР следует высвобождение продуктов гидролиза и изменение положения головных доменов друг относительно друга. Ранее считалось, что гидролиз АТР обязательно приводит к полному разобщению головных доменов, обозначаемому как О-состояние (*open state*). Однако оказалось, что даже при отсутствии АТР головные домены могут взаимодействовать в так называемом наложенном, J-состоянии (*juxtaposed state*), в котором SGG-мотивы двух SMC-белков оказываются сближены между собой [26, 48] (рис. 3, а). Так как это взаимодействие осуществляется за счет поверхностей, находящихся довольно далеко друг от друга в Е-состоянии, переход из Е-состояния в J-состояние и обратно сопряжен со значительным вращением головных доменов друг относительно друга.

Дополнительные конформационные изменения, сопряженные со связыванием и гидролизом АТР. Связывание АТР и взаимодействие головных доменов в Е-состоянии сопряжено с несколькими важными конформационными перестроениями: локальным разобщением плечевых доменов, временной диссоциацией клейзина от SMC3 и формированием между двумя головными доменами дополнительного мостика, образованного NIPBL [25, 44, 49].

В J- и Е-состоянии суперспирали плечевого домена, непосредственно отходящие от головных доменов, строго позиционированы друг относительно друга. Несмотря на относительную гибкость плечевых доменов, сравнительно протяженные участки суперспирали, прилегающие к головным доменам, оказываются конститутивно разобщенными в Е-состоянии [25, 44, 49]. В то же время в J-состоянии положение головных доме-

нов обеспечивает сближение суперспиральных участков SMC1 и SMC3 [26, 48]. Структурные данные указывают на то, что в J-состоянии плечевые домены контактируют друг с другом на всем протяжении (рис. 3, а). Таким образом, если при отсутствии АТР (в так называемой апо-форме) плечевые домены могут быть как разобщены, так и в разной степени взаимодействовать друг с другом, связывание АТР приводит к разобщению суперспиралей, по крайней мере в регионе, непосредственно прилегающем к головным доменам.

При взаимодействии головных доменов друг с другом в Е- и J-состоянии единый S-K-компармент разделяется на пару компарментов: S и K, ограниченных соответственно SMC-димером и клейзиновой субъединицей (рис. 3, а). В зависимости от того, какова природа взаимодействия головных доменов, различают следующие субкомпарменты: Е-К, Е-С, J-К и J-С, причем последний в силу плотного контакта между суперспиралями плечевых доменов фактически лишен просвета.

Еще одно изменение конформации когезина, ассоциированное со связыванием АТР в активном центре, – кратковременное открытие так называемых N-клейзиновых ворот комплекса. В момент образования Е-состояния N-концевой домен RAD21 диссоциирует от своего сайта связывания на SMC3-субъединице [47, 49], что приводит к временному нарушению целостности компармента Е-К.

Связывание АТР приводит также к изменениям паттерна взаимодействия NIPBL с другими субъединицами. Помимо своего основного сайта связывания в центральной части клейзина, NIPBL имеет дополнительные АТР-регулируемые сайты взаимодействия с SMC-субъединицами. При отсутствии АТР NIPBL взаимодействует с димером петлевых доменов, связывание АТР приводит к диссоциации NIPBL от петлевых доменов и привлечению к головному домену SMC3 [50]. Этот перескок NIPBL, по-видимому, стимулирует образование Е-состояния, в котором NIPBL также образует дополнительные контакты с головным доменом SMC1 [25, 44, 49]. Во взаимодействии NIPBL с головным доменом SMC3 важную роль играет пара консервативных остатков лизина SMC3: K105/K106 (K112/K113 – в *Smc3 S. cerevisiae*), ацетилирование которых ацетилтрансферазой ESCO2 (Eco1) является ключевым фактором стабилизации когезивного связывания. После гидролиза АТР NIPBL теряет связь с головными доменами и восстанавливает свое взаимодействие с петлевыми участками [50].

Спонтанные изменения конформации когезинового комплекса. Микроскопические наблюдения, а также данные FRET указывают на то, что плечевые домены когезина и других SMC-комплексов являются довольно лабильными структурами

главным образом за счет возможности сгибания в локтевых участках [17, 19, 49–51]. Амплитуда этого сгибания достигает 180° , с максимальным сближением головных и петлевых доменов в полностью согнутом состоянии (рис. 3, б).

Обнаружение J-состояния и осознание того факта, что переходы между E- и J-состояниями должны сопровождаться значительными изменениями во взаимном расположении плечевых доменов, привели к возникновению гипотезы, согласно которой сгибание и разгибание локтевых доменов может строго контролироваться циклом гидролиза АТР [19]. Однако полученные позже экспериментальные данные указывают на то, что сгибание и разгибание плечевых доменов происходит спонтанно [50].

Важнейшим следствием сгибания локтевых доменов является взаимодействие петлевых доменов с головными в полностью согнутом состоянии. Возможность временного взаимодействия между головными и петлевыми доменами лежит в основе многих механистических моделей, описывающих процесс SMC-зависимой экстррузии [19, 50, 52, 53]. Несмотря на то что сгибание плечевых доменов само по себе спонтанно, есть указания на то, что может существовать храповой механизм, сопрягающий сгибание и гидролиз АТР. Так, предполагается, что полное сгибание локтевых доменов может быть необходимо для формирования E-состояния [25, 44, 49, 50].

Еще одним спонтанным изменением архитектуры когезина является взаимодействие суперспиральных участков плечевых доменов, прилежащих к петлевым доменам. Такое взаимодействие распространяется от петлевых доменов в сторону локтей и, возможно, ассоциировано с закручиванием двух плечевых суперспиралей друг относительно друга [50]. Это закручивание может быть необходимо для сгибания локтевых участков.

РАЗНООБРАЗИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ КОГЕЗИНА С ДНК

Связывание с ДНК – ключевой аспект активности SMC-комплексов. У взаимодействия SMC-комплексов с ДНК есть две характерные черты: (1) изменение аффинности к ДНК разных участков комплекса при изменении конформации и (2) способность комплексов топологически надеваться на ДНК.

В отличие от классического электростатического взаимодействия, характерного для большинства ДНК-связывающих белков, топологическое связывание представляет собой качественно отличную модальность нековалентного взаимодействия, в рамках которой нет необходимости в прямом физическом контакте между ДНК-нитью и белком [1, 44]. При топологическом связывании ДНК оказывается продетой через замкнутое S-K-кольцо комплекса как нить, продетая через бисеринку (рис. 4, а). Таким образом, даже при отсутствии дополнительных электростатических взаимодействий комплекс оказывается стабильно связан с ДНК.

Когезин может взаимодействовать с ДНК и более классическим электростатическим способом: несколько положительно заряженных участков на поверхности комплекса обеспечивают этот тип связывания (рис. 5) [3, 50]. Важным принципом электростатических взаимодействий когезина с ДНК является кооперативность: отдельные небольшие сайты, разбросанные по разным субъединицам, как правило, не способны образовывать стабильные контакты с ДНК, достаточной аффинностью обладают составные поверхности, образованные сближением нескольких ДНК-связывающих участков разных субъединиц. Такие составные поверхности собираются в одних конформациях когезина и разбираются – в других. Динамически образуемые и разрушаемые ДНК-связывающие сайты являются важным компонентом сопряжения процессов гидролиза АТР, изменений конформации комплекса и его движения вдоль нити ДНК при экстррузии.

Топологическое надевание когезина на ДНК. Когезин, как и едва ли не все другие SMC-комплексы, способен связывать ДНК топологически³. Три наблюдения легли в основу кольцевой гипотезы, согласно которой когезин может связывать ДНК топологически внутри трехчастного S-K-кольца [22, 54]: (1) структура комплекса, предполагающая наличие пространственного топологически замкнутого компартмента [17, 55]; (2) способность к исключительно стабильным взаимодействиям с хроматином в G2-фазе [56, 57] и (3) моментальная дестабилизация этих взаимодействий при протеолитической деградации субъединицы в анафазе [21, 58]. После более чем десятилетнего накопления косвенных свидетельств эта гипотеза была подтверждена напрямую, в экспериментах по ковалентному зашиванию когезиновых колец *in vivo* [7, 30, 48].

³ В определенных конформациях когезин в дополнение к S-K-кольцу способен образовывать топологически замкнутые субкомпартменты, в которых может находиться нить ДНК. К таким структурам относятся NIPBL-SMC3-субкомпартмент, E-S-, E-K- и J-K-субкомпартменты. Целостность таких субкомпартментов, в отличие от целостности S-K-кольца, обычно быстро нарушается. В тексте под топологическим связыванием мы всегда подразумеваем связывание внутри стабильного S-K-кольца.

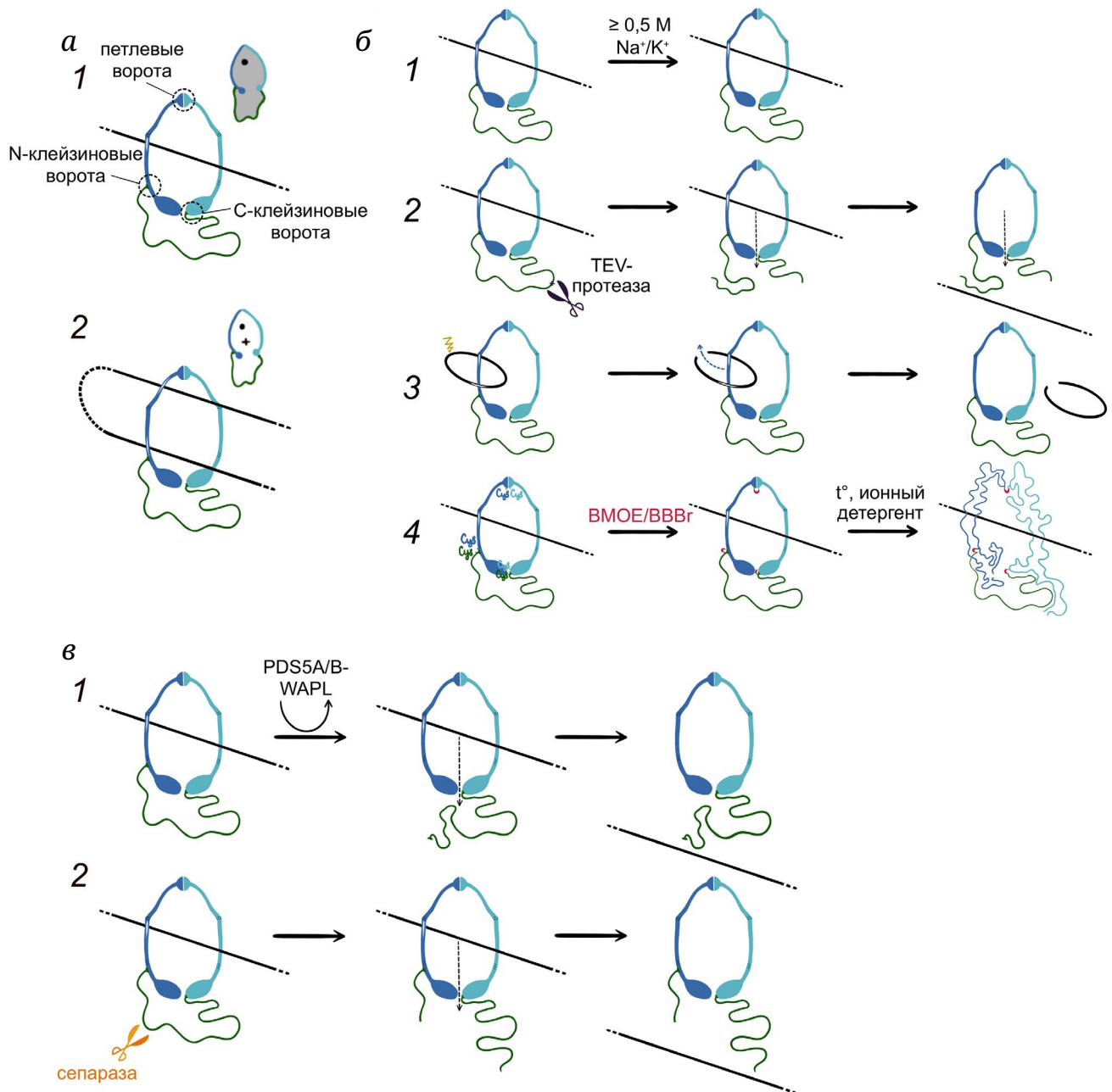


Рис. 4. Топологическое взаимодействие когезинового кольца с ДНК. а – Топологическое (1) и псевдотопологическое (2) взаимодействие когезина с ДНК. На пиктограммах с помощью символов • и + отражено направление прохождения ДНК-нити через плоскость рисунка, серой заливкой обозначено топологическое связывание. б – Методы выявления топологической природы взаимодействия между белковым комплексом и ДНК: анализ устойчивости связывания в буферах с высокой ионной силой (1); анализ чувствительности взаимодействия к протеолитическому расщеплению одной из субъединиц (2); анализ чувствительности к разрыву в молекуле ДНК (3); анализ устойчивости взаимодействия в денатурирующих условиях после ковалентной сшивки белкового кольца при помощи цистеин-специфических сшивающих агентов (BMOE, bBBBr) (4). в – Два пути снятия когезинового кольца с ДНК, реализуемые в эукариотических клетках: WAPL-зависимый (1) и протеолитический (2)

Ряд экспериментальных подходов был разработан для подтверждения топологического характера связывания белков и белковых комплексов с ДНК. На топологический характер взаимодействия могут указывать: (1) устойчивость связывания в буферах с высокой ионной силой [39, 56] (рис. 4, б (1)); (2) чувствительность взаимодействия к протео-

литическому расщеплению одной из субъединиц комплекса [22, 39] (рис. 4, б (2)); (3) чувствительность к двухцепочечному разрыву в молекуле ДНК (в тех случаях, когда во взаимодействии участвует кольцевая молекула ДНК) [39, 59] (рис. 4, б (3)); (4) устойчивость взаимодействия в денатурирующих условиях после ковалентной сшивки

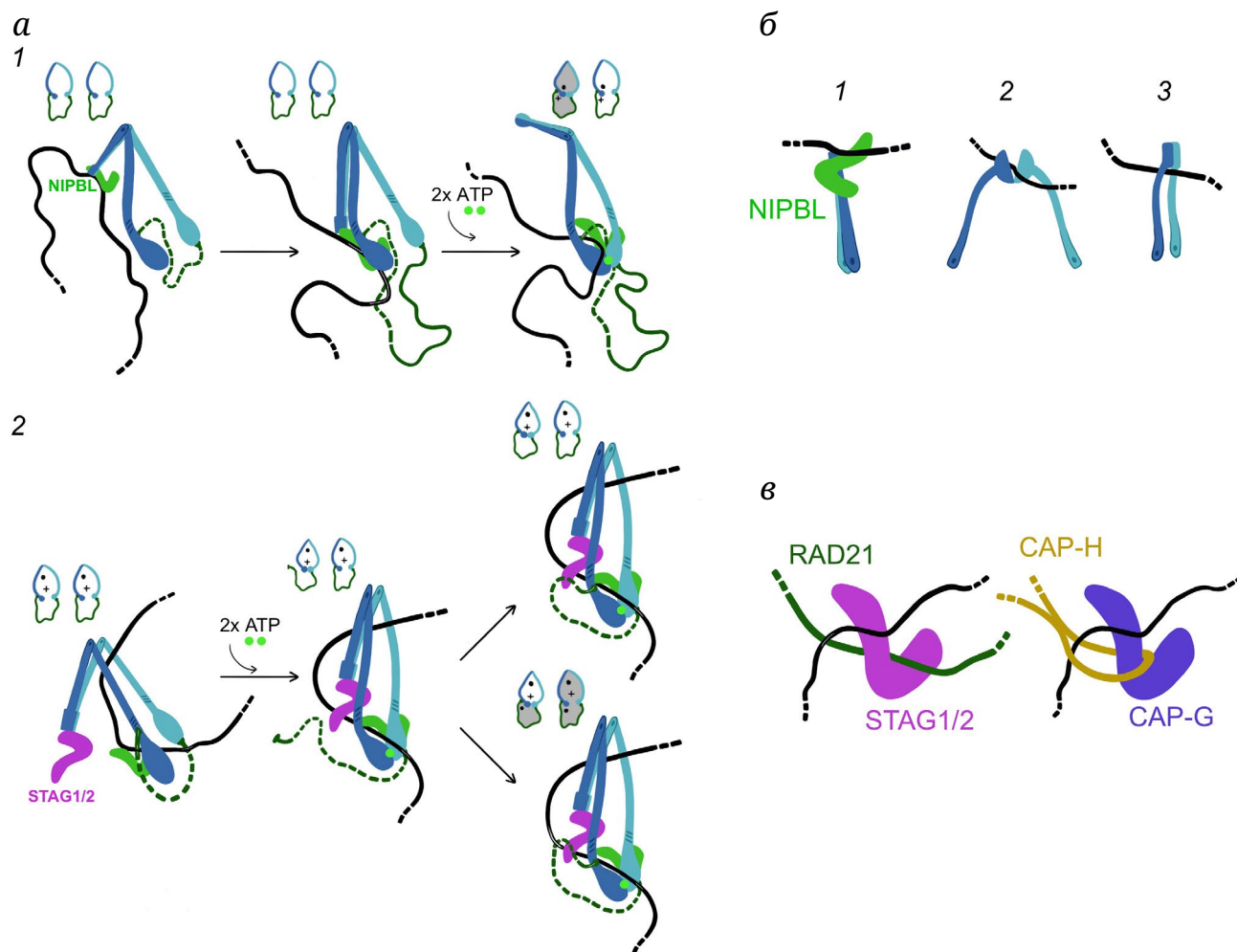


Рис. 5. Электростатические взаимодействия когезина с ДНК. *а* – Два гипотетических пути формирования «ДНК-захвата», предложенных для описания активности когезина *S. cerevisiae* (1) и *Schizosaccharomyces pombe* (2). На пиктограммах с помощью символов • и + отражено направление прохождения ДНК-нити через плоскость рисунка, серой заливкой обозначено топологическое связывание. В парах пиктограмм, на левой отражено образование E-S- и E-K-субкомпарментов и положение ДНК-нитей относительно S-K-кольца. 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). *б* – Электростатические взаимодействия петлевых доменов когезина с ДНК. Показано три (не взаимоисключающих) сценария: опосредованное NIPBL-субъединицей взаимодействие (1), прямой контакт ДНК с внутренней поверхностью поры петлевых доменов (2) и прямой контакт ДНК с южным полюсом димера петлевых доменов (3). *в* – Взаимодействие HAWK-B субъединиц когезина (STAG1/2) и конденсина (CAP-G) с ДНК. Пептидная петля, называемая «ремнем безопасности», формируемая клейзиновой субъединицей конденсина (CAP-H), дополнительно стабилизирует связывание HAWK-B субъединицы (CAP-G) с ДНК

белкового кольца [30, 60] (рис. 4, б (4)). Выводы, сделанные на основании результатов, полученных в рамках первых трех из упомянутых экспериментальных подходов, носят в значительной степени предварительный характер, в то время как эксперименты по ковалентной сшивке белковых колец позволяют уверенно делать выводы о модальности связывания комплекса с ДНК.

Наиболее строгие доказательства того, что SMC-комплексы способны топологически взаимодействовать с ДНК, были получены при изучении ковалентно сшитых S-K-колец [7, 60, 61]. Разреше-

ние атомарной структуры трех участков взаимодействия между парами субъединиц S-K-кольца (димера петлевых доменов SMC1 и SMC3, N-концевого домена RAD21, взаимодействующего с шейным участком SMC3, и C-концевого домена RAD21, взаимодействующего с головным доменом SMC1) позволило методами геной инженерии модифицировать когезиновые комплексы так, чтобы S-K-компарменты могли быть ковалентно сшиты бифункциональными тиолспецифическими агентами типа бис-малеимидоэтана (БМОЕ) или дибромобимана (bBBr). Сшиваемость достигается

за счет размещения трех пар цистеиновых остатков в перечисленных местах взаимодействия трех коровых субъединиц между собой таким образом, чтобы два цистеина в каждой паре были расположены на разных субъединицах комплекса на расстоянии не более 1 нм (рис. 4, б (4)). Длинные линейные молекулы геномной ДНК и кольцевые плазмиды, топологически взаимодействующие с модифицированными когезиновыми комплексами, после обработки сшивающими агентами не могут быть отделены от белкового тримера даже в жестких денатурирующих условиях, это позволяет легко детектировать такие молекулы ДНК по уменьшению электрофоретической подвижности. Существование топологически взаимодействующих с ДНК когезиновых комплексов не только в искусственных *in vitro* системах, но и в живых клетках было окончательно подтверждено с помощью подобного подхода [7, 30, 48]. Помимо обнаружения самого факта топологического взаимодействия SMC-комплексов с ДНК, использование тиолспецифического сшивания дополнительных цистеиновых пар позволяет установить, в каких именно субкомпартментах S-K-кольца (E-S, E-K, J-S или J-K) удерживается ДНК (рис. 3, а) [44, 48, 62].

Для понимания физиологической активности когезина чрезвычайно важным является изучение механизмов формирования и терминации топологических взаимодействий S-K-кольца с ДНК. Теоретически такое взаимодействие может устанавливаться и разрушаться при временном разобщении одного из трех нековалентных взаимодействий, формирующих S-K-кольцо: контакта петлевых доменов SMC3 и SMC1 (петлевых ворот), контакта между клейзином и SMC3-субъединицей (N-клеязиновых ворот) или контакта между клейзином и SMC1 (C-клеязиновых ворот) (рис. 4, а (1)). Кроме того, топологическое взаимодействие когезина с ДНК может разрушаться при протеолизе одной из коровых субъединиц комплекса.

Механизмы терминации топологического связывания когезина поняты сравнительно хорошо. Установлено, что непротеолитическое снятие комплекса с ДНК (рис. 4, в (1)) осуществляется консервативным ядерным белком WAPL (Wpl1) (winged-apart like) и сопряжено с открытием N-клеязиновых ворот [42, 63, 64]. C-Концевой структурированный домен WAPL состоит из восьми HEAT-повторов и может взаимодействовать с головными доменами SMC1 и SMC3, сближенными в E-состоянии. Неструктурированный N-концевой домен содержит консервативные YSR- и FGF-мотивы, участвующие во взаимодействии с HAWK-субъединицами PDS5A/B и STAG1/2 [43]. WAPL не является постоянным компонентом когезинового комплекса, но может транзитивно взаимодействовать с PDS5A/B-содержащими кольцами [42, 65]. Считается, что

связывание WAPL и высвобождение ДНК происходит во время нахождения комплекса в E-состоянии. Формирование E-состояния всегда приводит к кратковременному открытию N-клеязиновых ворот, однако WAPL стабилизирует комплекс в таком открытом состоянии, что увеличивает вероятность выхода ДНК из кольца [43, 66]. Для выхода из S-K-кольца по этому механизму ДНК-нить должна быть предварительно перемещена в E-K-субкомпартмент. После высвобождения ДНК из комплекса происходит диссоциация WAPL и закрытие выходных ворот.

Топологическое взаимодействие когезина с ДНК разрушается также при протеолизе клеязиновой субъединицы в анафазе [21, 58, 67]. После прохождения анафазного чекпойнта сериновая протеаза сепараза разрезает центральную неструктурированную часть RAD21-субъединицы и таким образом высвобождает нити сестринских хроматид из топологического связывания с когезиновыми комплексами (рис. 4, в (2)).

Значительно меньше известно о том, как устанавливается топологическое связывание когезина с ДНК. В клетках и в *in vitro* системах способность когезина к гидролизу ATP, а также присутствие NIPBL и STAG1/2 необходимы для топологической погрузки комплекса [7, 44]. В то же время другие данные указывают на то, что по крайней мере *in vitro* комплекс PDS5A/B-WAPL может катализировать реакцию погрузки когезина на ДНК при отсутствии NIPBL-субъединицы [39, 68].

Неизвестными остаются не только детали механизма погрузки, но даже и то, какие именно ворота SMC-комплекса пропускают ДНК внутрь кольца. С одной стороны, считается, что образование E-состояния сопровождается временным открытием N-клеязиновых ворот, через которые нить ДНК может проходить внутрь S-K-компартмента [49]. С другой стороны, показано, что комплексы с ковалентно закрытыми N- или C-клеязиновыми воротами могут, несмотря ни на что, эффективно топологически надеваться на ДНК [7]. Кроме того, показано, что положительно заряженные аминокислотные остатки, расположенные внутри поры между петлевыми доменами SMC-белков, необходимы для установления топологического взаимодействия между когезином и ДНК, что указывает на возможную роль петлевых ворот в этом процессе [7, 8].

В рамках гипотезы топологического взаимодействия когезина с ДНК с самого начала предполагалось, что S-K-кольцо может заключать в себе одновременно две нити ДНК, обеспечивая таким образом когезию сестринских хроматид в G2-фазе клеточного цикла [22, 54]. Впоследствии такой механизм когезии был подтвержден экспериментально [7, 48]. Некоторые из обсуждаемых

в настоящее время модели когезин-зависимой экстррузии предполагают, что основания растущей петли также представляют собой две нити ДНК, удерживаемые внутри одного S-K-кольца [26, 53, 62]. Такая петля, в ходе формирования которой S-K-компармент остается постоянно замкнутым, не содержит истинного топологического зацепления между SMC-комплексом и ДНК-нитью и является примером так называемых псевдотопологических взаимодействий (рис. 4, а (2)). В отличие от топологического надевания когезина на ДНК, псевдотопологическое взаимодействие пока что является в большей степени умозрительной моделью, нежели наблюдаемым феноменом.

Топологически надетые когезиновые комплексы способны к пассивной одномерной диффузии по ДНК-нити [23, 24]. *In vitro* исследования показали, что размер поры когезина позволяет таким комплексам преодолевать небольшие ДНК-связанные белки при диффузии, однако нуклеосомные частицы диаметром 10 нм уже являются существенным препятствием, а частицы диаметром 20 нм становятся непреодолимыми барьерами для такого движения [23]. Предполагается, что псевдотопологически надетые когезиновые кольца также способны к диффузии по ДНК-нитям, удерживаемым внутри поры комплекса [40, 53].

«ДНК-захват»: транзистентное АТР-зависимое связывание головных доменов и NIPBL-субъединицы с ДНК. Важнейшим открытием в структурной биологии когезина стало обнаружение связи между образованием E-состояния в присутствии АТР и связыванием ДНК. Было замечено, что когезиновые комплексы с EQ-мутациями в мотиве Уокера В (подавляющими АТР-зависимую активность) в присутствии АТР, а также когезиновые комплексы дикого типа в присутствии негидролизуемых аналогов АТР образуют с ДНК стабильный комплекс, названный конфигурацией «ДНК-захвата» (gripping state/DNA clamping) [25, 44, 49]. Для образования такого комплекса также необходимо присутствие NIPBL, не являющегося постоянным компонентом когезина. Во время «захвата» двойная спираль взаимодействует с димеризованными головными доменами (рис. 5, а), кроме того, ДНК оказывается прижата к головному домену SMC3 при помощи NIPBL, который в присутствии АТР связывается с суставным участком плечевого домена SMC3 и головными доменами обеих SMC-субъединиц.

В конфигурации «захвата» сахарофосфатный остов ДНК образует серию электростатических взаимодействий с разными участками когезина: верхней поверхностью димера головных доменов SMC-субъединиц, ДНК-связывающей поверхностью NIPBL и N-концевым доменом RAD21. Все ДНК-связывающие сайты, участвующие в «ДНК-захвате»,

сближаются друг с другом и образуют небольшой канал, комплементарный связываемой двойной спирали ДНК, только на краткое время нахождения комплекса в конфигурации «захвата». После гидролиза АТР E-состояние распадается, а вместе с ним разбирается составная ДНК-связывающая поверхность. Таким образом, в комплексах дикого типа «захват» является короткоживущим состоянием, образование и разрушение которого сопряжено со связыванием и гидролизом АТР.

В присутствии АТР, ДНК, NIPBL и когезина дикого типа происходит периодическое сближение головных доменов SMC и NIPBL-субъединицы между собой; при замене АТР на негидролизуемый аналог или при внесении EQ-мутаций это сближение становится конститутивным [49, 50]. Примечательно также, что при связывании АТР ДНК сначала взаимодействует с головным доменом SMC3 и NIPBL-субъединицей в так называемом «предзахвате» (pre-engaged clamp), и только после этого происходит сближение головных доменов между собой с образованием полноценной конфигурации «захвата» (рис. 5, а (1)) [50].

При отсутствии ДНК головные домены SMC-белков способны динамически взаимодействовать между собой с быстрым образованием и разрушением E-состояния [49, 50]; добавление ДНК в систему не приводит к увеличению частоты таких взаимодействий [49, 50], однако значительно стимулирует АТР-зависимую активность когезина [39, 40]. По всей видимости, ДНК увеличивает продуктивность взаимодействий между головными доменами за счет аллостерического влияния на активный центр и делает гидролиз АТР необходимым условием для разобщения головных доменов [50]. По этой причине каталитически неактивные (содержащие EQ-мутации) SMC-комплексы в присутствии ДНК и АТР оказываются замороженными в конфигурации «захвата» [44, 49].

Предложено два альтернативных сценария формирования «захвата». Данные, полученные с помощью тиолспецифического ковалентного перешивания когезина *S. cerevisiae*, показывают, что при формировании «захвата» ДНК-нить оказывается заключенной одновременно и в E-K-, и в E-S-субкомпарментах. В то же время ДНК-нить не обнаруживается внутри S-K-компармента, таким образом, предполагается, что в этом случае S-K-кольцо псевдотопологически захватывает небольшую петлю ДНК (рис. 5, а (1)) [44]. Предполагается, что образование такого комплекса происходит за счет того, что ДНК подходит к когезину со стороны разомкнутых головных доменов и, проходя через них перед образованием E-состояния, оказывается одновременно заключенной в E-K- и в E-S-субкомпарментах (рис. 5, а (1)). В результате при формировании «захвата» S-K-кольцо не оказывается

топологически надето на ДНК. На такой механизм указывают данные по кинетике входа ДНК в Е-К- и Е-С-субкомпарменты: для прохождения двух этих процессов достаточно очень короткой инкубации ДНК с когезином, и оба процесса при этом происходят с идентичной скоростью.

Результаты, полученные при изучении формирования «ДНК-захвата» когезином *Schizosaccharomyces pombe*, противоречат описанному выше сценарию [49]. Эти данные указывают на то, что небольшая ДНК-петля продевается внутрь S-K-кольца, после чего ближняя к головным доменам часть петли участвует в формировании «захваченного» состояния (рис. 5, а (2)). В момент образования головными доменами Е-состояния N-клейтиновые ворота временно открываются и могут в редких случаях пропускать ДНК внутрь S-K-кольца. Таким образом, в рамках этой модели «ДНК-захват» может быть одним из интермедиатов реакции топологической погрузки. Однако в рамках этой модели нить ДНК, как правило, не проходит через N-клейтиновые ворота при формировании «захвата», и большинство циклов гидролиза АТР не приводят к топологической погрузке комплекса.

Расшифровка механизма формирования «ДНК-захвата» имеет центральное значение для понимания механизмов когезин-зависимой экструзии и связи экструзии с топологическим надеванием S-K-колец на ДНК [4, 5, 53].

Электростатические взаимодействия петлевых доменов с ДНК. Димеризованные петлевые домены SMC-субъединиц когезина взаимодействуют с двухцепочечной ДНК электростатически [50, 69, 70]. При отсутствии АТР (в апо-форме комплекса) петлевые домены взаимодействуют с NIPBL [50], за счет чего, вероятно, образуется еще более сильный сайт, совмещающий ДНК-связывающие поверхности петлевых доменов и HAWK-субъединицы (рис. 5, б (1)). Связывание АТР головными доменами приводит к разрушению этого составного сайта и к уменьшению аффинности петлевых доменов к ДНК.

Достоверно не установлено, какие именно аминокислоты петлевых доменов участвуют в связывании ДНК (рис. 5, б (2 и 3)). Несмотря на то что консервативные положительно заряженные аминокислоты, выступающие небольшую пору димера петлевых доменов, необходимы для прохода ДНК внутрь S-K-компармента [7, 8], их физическое взаимодействие с ДНК до сих пор не было продемонстрировано. Пора слишком мала для того, чтобы удерживать внутри себя двухцепочечную ДНК; тем не менее некоторые авторы предполагают, что потеря контактов между петлевыми доменами на одном из полюсов димера может экспонировать внутреннюю поверхность поры для

связывания ДНК [7, 71] (рис. 5, б (2)). Интересно, что одна из опубликованных структур когезинового комплекса в конфигурации «захвата» содержит петлевые домены с разобщенной северной димеризационной поверхностью [25].

По другим данным, за связывание с ДНК отвечают участки петлевых доменов на южном полюсе димера, смотрящие внутрь S-K-кольца, а также прилегающие к ним участки плечевых суперспиралей [50, 70] (рис. 5, б (3)).

Участие STAG1/2 во взаимодействии комплекса с ДНК. В отличие от NIPBL, который, по всей видимости, контактирует с ДНК исключительно в рамках составных сайтов, кооперируясь с головными или петлевыми доменами, STAG1/2 является более-менее автономным ДНК-связывающим модулем (что, однако, не исключает участия в кооперативном связывании); так, есть указания на то, что STAG1/2 взаимодействует с ДНК в захваченном состоянии в непосредственной близости от места взаимодействия с ДНК NIPBL-субъединицы [25]. Аминокислотные остатки, отвечающие за взаимодействия STAG1/2 с ДНК, локализованы в областях, гомологичных соответствующим ДНК-связывающим патчам на поверхности NIPBL (рис. 5, в). Основной такой областью является положительно заряженный желоб на боковой поверхности длинного N-концевого субдомена крючкообразной молекулы [50, 72]. Интересно, что электростатическое взаимодействие CAP-G/CAP-G2-субъединицы конденсина – гомолога STAG1/2 – с ДНК дополнительно стабилизировано за счет того, что клейтиновая субъединица CAP-H/CAP-H2 образует вокруг ДНК-нити, удерживаемой CAP-G/CAP-G2, нековалентно замкнутую пептидную петлю [62, 73, 74] (рис. 5, в). Эта петля, длиной порядка 100 а.о., называемая «ремнем безопасности», образована за счет контактов между двумя короткими гидрофобными фрагментами в срединной неглобулярной части клейтина. У клейтиновой субъединицы когезина, RAD21, по всей вероятности, отсутствует структура, подобная «ремню безопасности».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Некоторые характерные структурные особенности SMC-комплексов, такие как кольцевая архитектура и способность к топологическому надеванию на ДНК-нити, были описаны задолго до открытия процесса экструзии. Изучение способности когезина к топологическому надеванию на ДНК было сопряжено с выяснением молекулярных механизмов установления, поддержания и терминирования когезии. Когезия, не связанная напрямую с экструзионной активностью, по всей видимости,

является, скорее, исключением, чем правилом: подавляющее большинство физиологических активностей когезина и других SMC-комплексов зависит от их способности к активному формированию ДНК-петель. Тот факт, что эти белковые комплексы, как оказалось, являются в первую очередь моторными белками, привлек дополнительный интерес к изучению их структуры.

Именно стремление расшифровать молекулярный механизм экстррузии мотивирует интерес к структуре когезина в последние годы. Успехи в этой области во многом связаны с развитием экспериментальных техник, позволяющих изучать динамически изменчивую и в известной степени полиморфную структуру массивных мультисубъединичных SMC-комплексов. К таким техникам, внесшим в последнее время наиболее существенный вклад в развитие представлений о структуре когезина, относятся криоэлектронная микроскопия [25, 44, 49], атомно-силовая микроскопия [50], FRET [49, 50] и методы реконструкции процесса экстррузии *in vitro* и микроскопического наблюдения за ним в реальном времени [8, 40]. Эти методы позволили установить множество отдельных молекулярных деталей процесса экстррузии. Важнейшими из такого рода открытий являются обнаружение того, что в ходе экстррузии происходит периодическое АТФ-зависимое образование структуры, названной «ДНК-захватом», а также установление роли NIPBL-субъединицы в формировании этой структуры.

К сожалению, отдельные наблюдения, структурные, биохимические и генетические, все еще не складываются в целостную модель, описывающую процесс экстррузии хроматиновых петель когезином (механистические модели этого процесса, базирующиеся на имеющихся данных о структуре и активности SMC-комплексов, представлены во втором обзоре серии [10]). Есть все основания предполагать, что накопление эмпирических данных, в первую очередь структурных, в ближайшие годы приведет к окончательному установлению молекулярного механизма SMC-зависимой экстррузии.

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. 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>.
3. 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>.
4. 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>.
5. 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>.
6. 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>.
7. 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>.
8. 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>.
9. Arumugam, P., Nishino, T., Haering, C. H., Gruber, S., and Nasmyth, K. (2006) Cohesin's ATPase activity is stimulated by the C-terminal winged-helix domain of Its kleisin subunit, *Curr. Biol.*, **16**, 1998-2008, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.09.002>.

10. Golov, A. K., and Gavrilov, A. A. (2024) Cohesin-dependent loop extrusion: molecular mechanics and role in cell physiology, *Biochemistry (Moscow)*, **89**, 601-625, <https://doi.org/S0006297924040023>.
11. Nasmyth, K., and Haering, C. H. (2005) The structure and function of SMC and kleisin complexes, *Annu. Rev. Biochem.*, **74**, 595-648, <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.74.082803.133219>.
12. Cobbe, N., and Heck, M. M. S. (2004) The evolution of SMC proteins: phylogenetic analysis and structural implications, *Mol. Biol. Evol.*, **21**, 332-347, <https://doi.org/10.1093/molbev/msh023>.
13. Schleiffer, A., Kaitna, S., Maurer-Stroh, S., Glotzer, M., Nasmyth, K., and Eisenhaber, F. (2003) Kleisins: a superfamily of bacterial and eukaryotic SMC protein partners, *Mol. Cell*, **11**, 571-575, [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(03\)00108-4](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(03)00108-4).
14. Harvey, S. H., Krien, M. J. E., and O'Connell, M. J. (2002) Structural maintenance of chromosomes (SMC) proteins, a family of conserved ATPases, *Genome Biol.*, **3**, REVIEWS3003, <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-2-reviews3003>.
15. 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>.
16. Löwe, J., Cordell, S. C., and van den Ent, F. (2001) Crystal structure of the SMC head domain: an ABC ATPase with 900 residues antiparallel coiled-coil inserted, *J. Mol. Biol.*, **306**, 25-35, <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.4379>.
17. Haering, C. H., Löwe, J., Hochwagen, A., and Nasmyth, K. (2002) Molecular architecture of SMC proteins and the yeast cohesin complex, *Mol. Cell*, **9**, 773-788, [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(02\)00515-4](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00515-4).
18. Kurze, A., Michie, K. A., Dixon, S. E., Mishra, A., Itoh, T., Khalid, S., Strmecki, L., Shirahige, K., Haering, C. H., Löwe, J., and Nasmyth, K. (2011) A positively charged channel within the Smc1/Smc3 hinge required for sister chromatid cohesion, *EMBO J.*, **30**, 364-378, <https://doi.org/10.1038/emboj.2010.315>.
19. 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>.
20. Melby, T. E., Ciampaglio, C. N., Briscoe, G., and Erickson, H. P. (1998) The symmetrical structure of structural maintenance of chromosomes (SMC) and MukB proteins: long, antiparallel coiled coils, folded at a flexible hinge, *J. Cell Biol.*, **142**, 1595-1604, <https://doi.org/10.1083/jcb.142.6.1595>.
21. Uhlmann, F., Wernic, D., Poupert, M. A., Koonin, E. V., and Nasmyth, K. (2000) Cleavage of cohesin by the CD clan protease separin triggers anaphase in yeast, *Cell*, **103**, 375-386, [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)00130-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)00130-6).
22. 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).
23. 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>.
24. 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>.
25. 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>.
26. 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>.
27. 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>.
28. Lammens, A., Schele, A., and Hopfner, K.-P. (2004) Structural biochemistry of ATP-driven dimerization and DNA-stimulated activation of SMC ATPases, *Curr. Biol.*, **14**, 1778-1782, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.09.044>.
29. Arumugam, P., Gruber, S., Tanaka, K., Haering, C. H., Mechtler, K., and Nasmyth, K. (2003) ATP hydrolysis is required for cohesin's association with chromosomes, *Curr. Biol.*, **13**, 1941-1953, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2003.10.036>.
30. 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>.
31. Bürmann, F., Shin, H.-C., Basquin, J., Soh, Y.-M., Giménez-Oya, V., Kim, Y.-G., Oh, B.-H., and Gruber, S. (2013) An asymmetric SMC-kleisin bridge in prokaryotic condensin, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **20**, 371-379, <https://doi.org/10.1038/nsmb.2488>.
32. Haering, C. H., Schoffnegger, D., Nishino, T., Helmhart, W., Nasmyth, K., and Löwe, J. (2004) Structure and stability of cohesin's Smc1-kleisin interaction, *Mol. Cell*, **15**, 951-964, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2004.08.030>.

33. Roig, M. B., Löwe, J., Chan, K.-L., Beckouët, F., Metson, J., and Nasmyth, K. (2014) Structure and function of cohesin's Scc3/SA regulatory subunit, *FEBS Lett.*, **588**, 3692-3702, <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.08.015>.
34. Lee, B.-G., Roig, M. B., Jansma, M., Petela, N., Metson, J., Nasmyth, K., and Löwe, J. (2016) Crystal structure of the cohesin gatekeeper Pds5 and in complex with kleisin Scc1, *Cell Rep.*, **14**, 2108-2115, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.02.020>.
35. 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>.
36. Ouyang, Z., Zheng, G., Tomchick, D. R., Luo, X., and Yu, H. (2016) Structural basis and IP6 requirement for Pds5-dependent cohesin dynamics, *Mol. Cell*, **62**, 248-259, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.02.033>.
37. Neuwald, A. F., and Hirano, T. (2000) HEAT repeats associated with condensins, cohesins, and other complexes involved in chromosome-related functions, *Genome Res.*, **10**, 1445-1452, <https://doi.org/10.1101/gr.147400>.
38. Losada, A., Yokochi, T., Kobayashi, R., and Hirano, T. (2000) Identification and characterization of SA/Scc3p subunits in the *Xenopus* and human cohesin complexes, *J. Cell Biol.*, **150**, 405-416, <https://doi.org/10.1083/jcb.150.3.405>.
39. Murayama, Y., and Uhlmann, F. (2014) Biochemical reconstitution of topological DNA binding by the cohesin ring, *Nature*, **505**, 367-371, <https://doi.org/10.1038/nature12867>.
40. 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>.
41. 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>.
42. Kueng, S., Hegemann, B., Peters, B. H., Lipp, J. J., Schleiffer, A., Mechtler, K., and Peters, J.-M. (2006) Wapl controls the dynamic association of cohesin with chromatin, *Cell*, **127**, 955-967, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.09.040>.
43. Ouyang, Z., Zheng, G., Song, J., Borek, D. M., Otwinowski, Z., Brautigam, C. A., Tomchick, D. R., Rankin, S., and Yu, H. (2013) Structure of the human cohesin inhibitor Wapl, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 11355-11360, <https://doi.org/10.1073/pnas.1304594110>.
44. 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>.
45. 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>.
46. 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>.
47. 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>.
48. 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>.
49. 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>.
50. 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>.
51. Hons, M. T., Huis In 't Veld, P. J., Kaesler, J., Rombaut, P., Schleiffer, A., Herzog, F., Stark, H., and Peters, J.-M. (2016) Topology and structure of an engineered human cohesin complex bound to Pds5B, *Nat. Commun.*, **7**, 12523, <https://doi.org/10.1038/ncomms12523>.
52. 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>.
53. 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>.
54. Huang, C. E., Milutinovich, M., and Koshland, D. (2005) Rings, bracelet or snaps: fashionable alternatives for SMC complexes, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, **360**, 537-542, <https://doi.org/10.1098/rstb.2004.1609>.

55. Anderson, D. E., Losada, A., Erickson, H. P., and Hirano, T. (2002) Condensin and cohesin display different arm conformations with characteristic hinge angles, *J. Cell Biol.*, **156**, 419-424, <https://doi.org/10.1083/jcb.200111002>.
56. Ciosk, R., Shirayama, M., Shevchenko, A., Tanaka, T., Toth, A., Shevchenko, A., and Nasmyth, K. (2000) Cohesin's binding to chromosomes depends on a separate complex consisting of Scc2 and Scc4 proteins, *Mol. Cell*, **5**, 243-254, [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(00\)80420-7](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(00)80420-7).
57. 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>.
58. Uhlmann, F., Lottspeich, F., and Nasmyth, K. (1999) Sister-chromatid separation at anaphase onset is promoted by cleavage of the cohesin subunit Scc1, *Nature*, **400**, 37-42, <https://doi.org/10.1038/21831>.
59. Minamino, M., Higashi, T. L., Bouchoux, C., and Uhlmann, F. (2018) Topological *in vitro* loading of the budding yeast cohesin ring onto DNA, *Life Sci. Alliance*, **1**, e201800143, <https://doi.org/10.26508/lsa.201800143>.
60. Haering, C. H., Farcas, A.-M., Arumugam, P., Metson, J., and Nasmyth, K. (2008) The cohesin ring concatenates sister DNA molecules, *Nature*, **454**, 297-301, <https://doi.org/10.1038/nature07098>.
61. Wilhelm, L., Bürmann, F., Minnen, A., Shin, H.-C., Toseland, C. P., Oh, B.-H., and Gruber, S. (2015) SMC condensin entraps chromosomal DNA by an ATP hydrolysis dependent loading mechanism in *Bacillus subtilis*, *Elife*, **4**, e06659, <https://doi.org/10.7554/eLife.06659>.
62. 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>.
63. Chan, K.-L., Roig, M. B., Hu, B., Beckouët, F., Metson, J., and Nasmyth, K. (2012) Cohesin's DNA exit gate is distinct from its entrance gate and is regulated by acetylation, *Cell*, **150**, 961-974, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.07.028>.
64. 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>.
65. 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>.
66. Ouyang, Z., and Yu, H. (2017) Releasing the cohesin ring: a rigid scaffold model for opening the DNA exit gate by Pds5 and Wapl, *Bioessays*, **39**, 1600207, <https://doi.org/10.1002/bies.201600207>.
67. Hauf, S., Waizenegger, I. C., and Peters, J. M. (2001) Cohesin cleavage by separase required for anaphase and cytokinesis in human cells, *Science*, **293**, 1320-1323, <https://doi.org/10.1126/science.1061376>.
68. Murayama, Y., Samora, C. P., Kurokawa, Y., Iwasaki, H., and Uhlmann, F. (2018) Establishment of DNA-DNA interactions by the cohesin ring, *Cell*, **172**, 465-477.e15, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.12.021>.
69. Chiu, A., Revenkova, E., and Jessberger, R. (2004) DNA interaction and dimerization of eukaryotic SMC hinge domains, *J. Biol. Chem.*, **279**, 26233-26242, <https://doi.org/10.1074/jbc.M402439200>.
70. Soh, Y.-M., Bürmann, F., Shin, H.-C., Oda, T., Jin, K. S., Toseland, C. P., Kim, C., Lee, H., Kim, S. J., Kong, M.-S., Durand-Diebold, M.-L., Kim, Y.-G., Kim, H. M., Lee, N. K., Sato, M., Oh, B.-H., and Gruber, S. (2015) Molecular basis for SMC rod formation and its dissolution upon DNA binding, *Mol. Cell*, **57**, 290-303, <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.11.023>.
71. Griese, J. J., Witte, G., and Hopfner, K.-P. (2010) Structure and DNA binding activity of the mouse condensin hinge domain highlight common and diverse features of SMC proteins, *Nucleic Acids Res.*, **38**, 3454-3465, <https://doi.org/10.1093/nar/gkq038>.
72. Li, Y., Muir, K. W., Bowler, M. W., Metz, J., Haering, C. H., and Panne, D. (2018) Structural basis for Scc3-dependent cohesin recruitment to chromatin, *Elife*, **7**, e38356, <https://doi.org/10.7554/eLife.38356>.
73. Kschonsak, M., Merkel, F., Bisht, S., Metz, J., Rybin, V., Hassler, M., and Haering, C. H. (2017) Structural basis for a safety-belt mechanism that anchors condensin to chromosomes, *Cell*, **171**, 588-600.e24, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.008>.
74. Lee, B.-G., Rhodes, J., and Löwe, J. (2022) Clamping of DNA shuts the condensin neck gate, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **119**, e2120006119, <https://doi.org/10.1073/pnas.2120006119>.

THE COHESIN COMPLEX: STRUCTURE AND PRINCIPLES OF INTERACTION WITH DNA

Review

A. K. Golov^{1,2*} and A. A. Gavrillov^{1*}

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

² *Technion – Israel Institute of Technology, 3525433 Haifa, Israel*

Accurate duplication and separation of long linear genomic DNA molecules is associated with a number of purely mechanical problems. SMC complexes are key components of the cellular machinery that ensures decatenation of sister chromosomes and compaction of genomic DNA during division. Cohesin, one of the essential eukaryotic SMC complexes, has a typical ring structure with intersubunit pore through which DNA molecules can be threaded. The capacity of cohesin for such topological entrapment of DNA is crucial for the phenomenon of post-replicative association of sister chromatids better known as cohesion. Recently, it became apparent that cohesin and other SMC complexes are in fact motor proteins with a very peculiar movement pattern leading to the formation of DNA loops. This specific process was called loop extrusion. Extrusion underlies multiple cohesin's functions beyond cohesion, but the molecular mechanism of the process remains a mystery. In this review, we have summarized data on the molecular architecture of cohesin, the influence of ATP hydrolysis cycle on this architecture, and the known modes of cohesin–DNA interactions. Many of the seemingly disparate facts presented here will probably be incorporated in a unified mechanistic model of loop extrusion in a not so far future.

Keywords: SMC complexes, cohesin, SMC subunits, kleisin, HAWK subunits, cohesion, topological entrapment, loop extrusion, DNA gripping state