



染色体黏合蛋白功能的多样性

卢亚娟, 周长银, 熊波*

南京农业大学动物科技学院, 南京 210095

* 联系人, E-mail: xiongbo@njau.edu.cn

收稿日期: 2021-03-26; 接受日期: 2021-04-26; 网络版发表日期: 2021-12-23

国家自然科学基金优秀青年科学基金(批准号: 31822053)资助

摘要 染色体黏合是细胞分裂过程中由一环状蛋白复合物黏合素(cohesin)将染色体单体聚合在一起的细胞生物学过程, 确保了染色体在后期的精确分离. 除了黏合素, 还有许多辅助因子共同参与组成染色体黏合蛋白家族, 在染色体黏合的建立、维持及解离过程中发挥重要功能. 此外, 该家族蛋白还参与调控DNA损伤修复、基因表达以及染色质高级结构形成等事件. 虽然染色体黏合蛋白的功能和调控机制在有丝分裂中得到了比较深入的研究, 但其在减数分裂, 特别是第一次减数分裂中的作用及机制还不完全明确. 本文对染色体黏合蛋白在各种生物学事件中的功能进行了概述, 尤其阐释了它们在生殖细胞减数分裂中的非经典作用, 并探讨了该领域未来的发展方向.

关键词 染色体黏合, 黏合素, 染色体黏合蛋白, 有丝分裂, 减数分裂

细胞周期调控的染色体黏合是指姐妹染色单体从DNA复制到中后期转换期间被聚合在一起的生物学现象, 它允许姐妹染色单体正确定向并连接到纺锤体微管上, 从而确保染色体的精确分离^[1]. 这一过程是由一个围绕DNA形成环状结构的黏合素(cohesin)蛋白复合物介导完成的. 还有一些调节因子辅助黏合素装载到DNA上, 在S期建立黏合, 在G2期维持黏合, 以及在中后期转换解除黏合(图1). 黏合素也会装载到DNA双链断裂位点参与修复过程. 染色体黏合蛋白家族成员的突变在细胞水平表现为染色体分离失败、DNA损伤修复缺陷和染色质结构异常, 在个体水平则会导致发育疾病和癌症, 很有可能与基因表达缺陷相关. 在过去的10多年中, 染色体黏合蛋白研究取得了突飞猛进的进展, 各个黏合素复合物及其辅助调控因子在体

细胞和生殖细胞中的作用逐渐被阐明. 本文总结了染色体黏合蛋白家族在有丝分裂和减数分裂中的研究现状, 并对该领域的进一步发展提出了展望.

1 染色体黏合蛋白的动态

1.1 黏合素的组成

当染色体在S期进行复制时, 姐妹染色单体通过一种被称为染色体黏合的机制聚合在一起, 使得有丝分裂和减数分裂中染色体的精确分离成为可能. 在哺乳动物体细胞中, 姐妹染色单体的黏合是由一种在进化上保守的多蛋白复合物黏合素介导. 黏合素包含四个核心亚基: 两个染色体结构维持蛋白(structural maintenance of chromosomes, SMC)家族成员SMC1 α 和

引用格式: 卢亚娟, 周长银, 熊波. 染色体黏合蛋白功能的多样性. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 1844–1857

Lu Y J, Zhou C Y, Xiong B. Functional diversity of chromosome cohesion proteins (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 1844–1857, doi: 10.1360/SSV-2021-0068

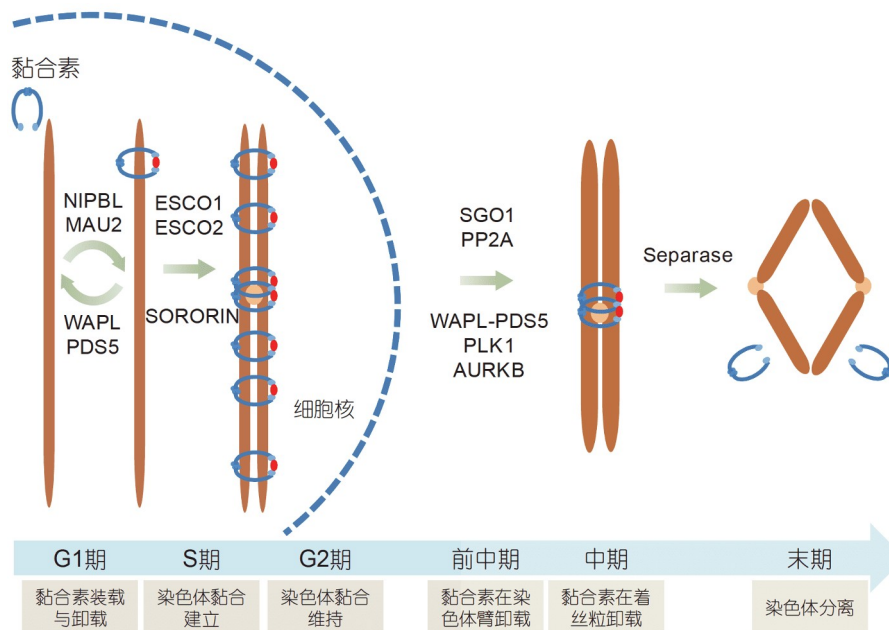


图 1 细胞周期调控的染色体黏合过程

Figure 1 Chromosome cohesion regulated by the cell-cycle

SMC3, 一个kleisin家族蛋白RAD21/SCC1, 以及一个stromalin家族蛋白SA1/STAG1或SA2/STAG2^[2,3]. SMC蛋白一端是铰链结构域(hinge domain), 另一端是具有ATP酶活性的头部结构域(head domain), 中间由一段长的反向卷曲螺旋结构(coiled-coil)连接而成. 不同SMC蛋白可以通过铰链结构域相互结合形成二聚体. SMC蛋白N端和C端组成的球形ATP酶头部结构域在开合黏合素的环状结构中起到关键作用. 阻止ATP结合和水解的突变体不能介导黏合素结合到染色体上^[4,5]. Kleisin是一类从原核生物到人类都保守的SMC伴侣蛋白超家族^[6], 该词语来源于古希腊词语, 含义为“关闭”. RAD21通过其N端和C端分别结合SMC3和SMC1的头部结构域, 有效连接SMC蛋白^[7], 也可能参与调节SMC1-SMC3二聚体的ATP酶活性^[8]. RAD21还与黏合素的第四个亚基SA1或SA2结合, 形成完整的环状复合物结构(图2).

此外, 黏合素还存在一些减数分裂特有的亚基. REC8和RAD21L是脊椎动物中减数分裂特有的kleisin家族蛋白, SMC1 β 和SA3/STAG3是减数分裂额外的亚基^[9](图2). 鉴于这些额外亚基的多样性, 脊椎动物减数分裂染色体可能存在许多不同的黏合素复合体. 尽管目前对每个复合体的具体功能还未完全了解, 但肯定

的是, 它们会影响减数分裂染色体的结构和重组^[9].

1.2 黏合素的装载

正如所有通过拓扑方式包裹DNA或染色体的环状蛋白复合物一样, 黏合素的装载比简单的亲和结合更复杂, 这一过程需要一种从酵母到人类都保守的装载因子SCC2-SCC4复合物(人类中分别为NIPBL和MAU2)的参与^[10-12]. 在脊椎动物细胞周期的末期或在酵母细胞周期的G1期, 即DNA复制之前, SCC2-SCC4复合物将黏合素装载到DNA上. 虽然DNA被黏合素捕获事件的确切顺序目前还存在争论, 然而, 生理上, SCC2-SCC4复合物的预组装以及与染色质和黏合素之间的相互作用似乎是黏合素装载到染色体上的必要条件. 在体外, 单独的SCC2与双链DNA有很高的亲和力, 但与单链DNA的结合能力很差. 体外装载反应可以由SCC2或其C端片段单独完成, 但在体内需要SCC4参与完成^[13]. 依据这一现象产生了一种假说, 即SCC4可能通过与其他蛋白相互作用将装载复合物引导到特定的染色体位点^[14,15]. 此外, 黏合素的装载需要SCC2-SCC4复合物与黏合素亚基之间的大量接触, 这些相互作用的中断会阻止或极大干扰装载过程^[13].

SMC1和SMC3的Walker A基序突变也会导致黏合

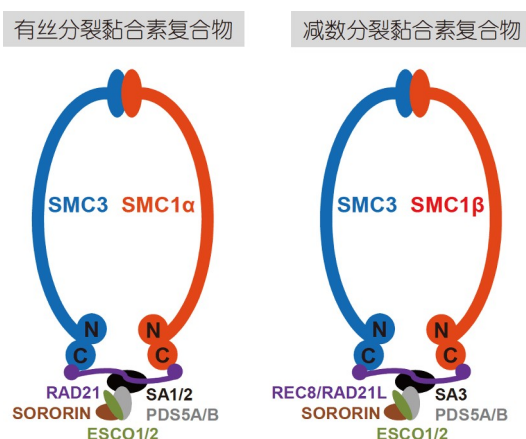


图2 哺乳动物有丝分裂和减数分裂中黏合素复合物的组成

Figure 2 Mammalian mitotic and meiotic cohesin complexes

素装载失败,表明黏合素与DNA的拓扑结合需要头部结构域进行ATP水解^[5,13]。同时,环状黏合素在捕获DNA分子时必须暂时打开。研究显示,强制锁定SMC1与SMC3铰链结构域的结合无法装载黏合素,暗示铰链结构域的暂时分离为DNA创造了一个入口^[16]。目前有两种模型解释黏合素的装载过程。由于SMC蛋白铰链结构域位于远离头部ATP酶的位置,考虑到黏合素装载因子和黏合素的高度灵活性,以及铰链结构域能与头部结构域相互作用的事实,一种模型认为,SCC2-SCC4复合物的主要作用是通过弯曲黏合素环的方式使得头部和铰链结构域可以相互作用^[17,18],头部发生的ATP水解打开铰链结构域从而允许DNA进入^[16]。另一种模型认为,DNA的入口位于SMC3-RAD21的连接处。在这一模型中,SCC2-SCC4复合物促进头部和铰链结构域靠近,使DNA与SMC3头部上保守的赖氨酸残基发生作用,诱导ATP水解,通过SMC3-RAD21的连接处进入黏合素复合物^[17]。

1.3 染色体黏合的建立

黏合素在染色体上的装载是确立染色体黏合的先决条件,但不足以形成染色体之间的聚合力^[19]。染色体黏合的建立依赖于SMC3头部结构域上K105和K106赖氨酸的乙酰化,在芽殖酵母中由乙酰化转移酶Eco1/Ctf7介导完成^[20]。在高等真核生物中,该乙酰化转移酶进化为两个,ESCO1和ESCO2(也被称为EFO1和EFO2)。这两种乙酰化转移酶具有不同的N端序列,

但C端乙酰转移酶结构域高度保守^[21]。ESCO2的表达水平在G1期较低,S期升高,之后被降解,而ESCO1在整个细胞周期中均表达^[22],并在人类细胞中与黏合素共定位^[23]。一些研究表明,ESCO1和ESCO2在黏合建立过程中具有相似的作用^[23,24],但也有证据支持ESCO2在黏合建立中发挥更重要的作用,而ESCO1则参与转录调控、DNA损伤修复和染色体环形成等非黏合的生物学事件^[25]。然而,人类中ESCO2的功能可以部分被ESCO1补偿,因为ESCO2缺陷会导致一种被称为罗伯茨综合征(Roberts syndrome, RBS)的罕见疾病,该疾病的个体是可以存活的^[26]。相反,ESCO2敲除小鼠会出现早期胚胎死亡^[27],其小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts, MEFs)以及ESCO2缺失的人类患者细胞都存在着丝粒处的黏合缺陷,而染色体臂的黏合则在不同程度上得以维持。因此,ESCO2对于建立着丝粒周围的黏合尤为重要,而在没有ESCO2的情况下,ESCO1可以提供乙酰化以建立染色体臂的黏合^[27]。

染色体黏合的建立发生在S期,可能与DNA复制有关。研究显示,芽殖酵母的Eco1和人的ESCO2能直接结合复制因子PCNA,破坏这种相互作用从而导致染色体黏合缺陷^[28]。此外,复制解旋酶MCM招募ESCO2建立着丝点区域的染色体黏合^[29]。ESCO1则与复制机制无关,但其通过黏合素及其调节因子PDS5与染色质相互作用^[30],并在基因组黏合素结合位点富集^[23]。

1.4 染色体臂黏合的解离

从S期建立染色体黏合后,复制的DNA(姐妹染色单体)通过黏合素一直维持黏合状态,以确保有丝分裂后期染色体的精确分离。在高等真核生物中,黏合素分步从染色体上游离使得黏合的维持过程分两步解除。染色体臂的黏合在前期和前中期被去除,而着丝粒区域的黏合直到中/后期转换时才被解除。

大多数黏合素在前期和前中期从染色体臂上游离的过程被称为前期通路^[31,32]。前期通路依赖于黏合素释放因子WAPL^[33,34]以及蛋白激酶PLK1和AURKB的调节^[35-37]。在S期染色体黏合建立过程中,黏合素稳定因子SORORIN取代WAPL,与PDS5结合以稳定黏合素^[38]。随后,AURKB与CDK1磷酸化SORORIN使之与PDS5解离,形成PDS5-WAPL复合物^[39],同时,PLK1磷酸化SA2亚基,促使黏合素从染色体臂卸载^[40]。

在着丝粒处, Shugoshin 1(SGO1)及其结合蛋白 protein phosphatase 2A(PP2A)拮抗了SORORIN的磷酸化,从而保护黏合素不被卸载^[41]. SGO1在着丝粒上的定位由依赖于BUB1的组蛋白H2A的磷酸化决定,而BUB1的招募又取决于MPS1磷酸化动粒外层蛋白KNL1^[42]. 此外,SGO1-PP2A的另一个关键功能是保护SA2不被磷酸化,从而也使着丝粒处的黏合素免于前期通路的卸载^[43].

1.5 染色体着丝粒区域黏合的解离

有丝分裂中期,当所有染色体被纺锤体微管正确连接进而整齐排列到赤道板后,纺锤体组装检验点(spindle assembly checkpoint, SAC)失活,诱导后期促进复合物(anaphase promoting complex/cyclosome, APC/C)与其激活因子CDC20结合^[44],泛素化降解底物Securin与Cyclin B. Securin被降解后激活分离酶(separase)切割着丝粒区域的黏合素亚基RAD21,致使姐妹染色体单体分离和细胞进程向后期转换^[45].

虽然分离酶通常只切割免受前期通路卸载的黏合素,但在WAPL缺失导致前期通路失活的情况下,它能在中/后期转换中切除更多的黏合素^[34]. 由于受到两种不同APC/C底物(Securin和Cyclin B)的抑制,分离酶只有在纺锤体组装检验点失活后才能完全被激活. 另一种调节分离酶活性的途径是磷酸化作用. 抑制Cyclin B依赖的CDK1的磷酸化活性后,可以激活分离酶的活性^[46],因此,分离酶与Securin结合或被磷酸化时都是处于失活状态. 除了上述两种严格调控分离酶活性的关键机制外,细胞还采取了另一种机制来阻止分离酶活性的突然升高. 在人类和果蝇细胞中,分离酶具有自水解作用或自动切割活性^[47],但目前关于这种自水解作用的生物学意义仍不明确,有待深入研究. 另外,分离酶的自动切割活性并不影响其蛋白水解活性,自动切割活性和分离酶活性是否具有相同结构域,也需进一步研究.

2 染色体黏合蛋白在有丝分裂中的非黏合功能

2.1 染色体黏合蛋白调控DNA损伤修复

DNA双链断裂(DNA double strand breaks, DSBs)是最危险的DNA损伤类型,它们破坏了染色体的物理

完整性,严重威胁基因组稳定性^[48]. 这种类型的DNA损伤可以由内源诱导产生,如活性氧、单链DNA缺口复制或酵母择偶转换、哺乳动物V(D)J重组等生理过程,也可由外源诱发,如暴露于具有基因毒性的化学物质或辐射中^[49]. 真核生物中,DNA双链断裂修复主要有两种途径:同源重组(homologous recombination, HR)和非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ). 在酵母中,同源重组是DNA双链断裂修复的主要机制,而非同源末端连接起次要作用. 然而,在哺乳动物中,非同源末端连接修复大部分的双链断裂DNA,而同源重组主要修复复制叉相关的断裂^[50]. 此外,真核细胞在应对DNA双链断裂时,通过激活DNA损伤检验点的生存机制,调节细胞周期进程、基因转录、DNA修复和凋亡诱导^[51]. 这些过程中的任何缺陷都会产生许多疾病,包括癌症、发育障碍和免疫缺陷.

染色体黏合蛋白在DNA双链断裂修复应答中的确切功能还未知. 芽殖酵母中,黏合素及其装载因子的缺失导致红外暴露后染色体修复异常^[52],表明染色体黏合蛋白是有效修复DNA双链断裂所必需的. 然而,它们是通过什么途径影响DNA双链断裂修复的仍不明确. 在人类中,缺失黏合素的情况下,RAD51位点在响应DNA双链断裂时仍能形成,暗示黏合素对于RAD51在DNA上的聚集不是必需的^[53]. 另外,近期有研究显示SA1在体外可以结合类似复制叉的DNA结构,而PDS5B对D-环结构有高亲和力^[54,55]. 同时,PDS5B促进D-环形成和互补DNA单链的退火,PDS5B还能结合同源重组的核心因子BRCA2, PALB2和RAD51^[56],说明PDS5B参与了同源重组的过程.

黏合素在DNA损伤检验点激活中也发挥重要功能. 在应答红外辐射过程中,ATM(ataxia telangiectasia mutated)磷酸化SMC1的Ser957和966位点,以及SMC3的Ser1083位点,招募MRE11-RAD50-NBS1复合物中的NBS1亚基. 此外,SMC1的磷酸化对于BRCA1的招募也是必要的. SMC1或SMC3磷酸化失败导致DNA损伤诱导的S期检验点缺陷^[57]. 随后的研究显示,黏合素对于红外诱导的G2/M期DNA损伤检验点激活也至关重要,然而具体如何参与发挥这一功能尚未完全明确. SMC1磷酸化位点突变体不影响黏合素在损伤位点的聚集,SMC1磷酸化位点突变不影响黏合素在损伤位点的定位,但损害了53BP1接头蛋白对CHK2的激活过程^[58].

2.2 染色体黏合蛋白调控基因表达

已有研究表明, 黏合素在许多基因位点都能介导染色质环形成, 对于发育过程中的基因组印记和差异基因表达非常重要^[59]. 这些染色质的相互作用涉及CCCTC-结合因子(CCCTC-binding factor, CTCF)依赖的隔离子(insulator)作用, 能够抑制增强子活性, 阻止异染色质区域扩散以及远程增强子与启动子的互作. 根据抗体、细胞类型、实验条件和分析手段的不同, 研究人员通过染色质免疫共沉淀结合高通量测序(chromatin immunoprecipitation followed by high-throughput sequencing, ChIP-seq)分析发现, 在哺乳动物细胞中共有大约25000~120000个黏合素结合位点^[60]. 基因组中大概50%~70%的黏合素位点与CTCF结合位点重合. 黏合素在许多CTCF位点介导染色质结构组装和隔离子功能, 但也有很大一部分黏合素位点没有CTCF, 而是与细胞特异性的转录因子位点重合, 它们不存在DNA序列的偏好性, 与增强子和那些组织细胞特异表达的基因共定位, 帮助转录因子结合^[60]. 然而, 在果蝇中黏合素是通过不依赖于隔离子的功能调控基因表达^[61].

在小鼠和人的红细胞系 β -球蛋白(β -globin)位点, 依赖CTCF的隔离子相互作用和不依赖CTCF的增强子-启动子相互作用共存^[62]. 位点控制区(locus control region, LCR)的远端增强子结合发育时期特异的球蛋白基因, 调节它们表达的特异性^[63]. 细胞分化过程中, NIPBL与黏合素在染色质环锚定位点快速结合, 两者任一缺失都会导致隔离子相互作用和增强子-启动子相互作用共同减弱, 但CTCF缺失只影响隔离子的作用^[62]. 因此, 缺失黏合素而非CTCF会降低 β -球蛋白的基因表达. 虽然这些研究证据都支持黏合素介导的染色质相互作用在基因表达调控中起关键作用, 但黏合素是否参与这些相互作用的起始和维持仍不清楚.

此外, 黏合素可以通过阻断增强子抑制基因的表达, 例如, 果蝇中的*cut*基因和哺乳动物细胞中的IGF2-H19位点都受此调控^[64]. 黏合素还涉及异染色质介导的基因沉默. 果蝇中, 黏合素和Nipped-B(NIPBL的同源物)结合到*split*和*invected-engrailed*基因增强子上, 与组蛋白H3K27三甲基化(H3K27me3)共定位, 抑制polycomb沉默通路^[65]. 黏合素缺失导致这些基因表达上调^[66]. 裂殖酵母中, 黏合素与Swi6(染色质结合蛋白

1同源物, heterochromatin binding protein 1, HP1)被共同招募, 识别H3K9me并结合亚端粒异染色质区域(subtelomeric heterochromatin regions), 调节基因沉默^[67]. 人细胞中也观察到类似的现象, 黏合素与HP1 γ 被共招募到亚端粒异染色质重复区域, 其缺失与肌肉萎缩症相关^[68].

2.3 染色体黏合蛋白调控染色质高级结构

Hi-C(high-through chromosome conformation capture)技术作为一种新兴的染色体构象捕获测序方法, 可以检测高级的全基因组染色质相互作用^[69,70], 同时也揭示了染色体黏合蛋白在调控染色质高级结构中的重要作用. 一项高分辨率Hi-C研究(分辨率为几千kb)发现, 在人类基因组中约有10000个大小从40 kb到3 Mb(中位数大小为185 kb)不等的小环. 在这些环中, 大约90%的环峰(loop peaks)与CTCF基序趋同, 并与黏合素亚基RAD21和SMC3相关^[71]. 另有研究表明, 黏合素参与形成染色体轴或复制位点, 暗示黏合素可作为染色质环形成的基础^[40,72]. 此外, 生长素降解子(auxin-inducible degron)驱动的RAD21降解消除了数百kb大小的环, 并在生长素消失后再次形成环结构^[73]. 类似地, 在NIPBL缺失的细胞中, 小鼠基因组上的TADs(topologically associated domains)和相关峰值总体上减少, 并且黏合素未加载到染色质上^[74]. 相反, 在WAPL缺失的细胞中, 黏合素在染色质上高度稳定, CTCF结合位点的异常导致延伸环数量增加^[75-77]. 因此, 可以推测WAPL通过调节黏合素动态以限制染色质环的大小, 从而维持适当的CTCF结合位点和染色质环的结构. 不同类型的黏合素亚基(比如包含不同SA亚基变体的黏合素复合体: SA1或SA2)似乎调节不同的染色质结构. SA1优先与CTCF一起参与调节TADs的边界, 而SA2不依赖于CTCF促进细胞类型特异性的增强-启动子结合^[77]. 黏合素的缺失不仅消除了局部环状结构域的形成, 而且还影响高级基因组的区室化(compartments). 区室被认为与开放(A型)和封闭(B型)染色质构象的形成密切相关^[71,78]. 在缺失黏合素的情况下, 基因组的区域化可能变得更弱^[73,74]. 有研究报道, NIPBL的缺失改变了区室结构, 产生了新的区室, 并呈现出转录活性, 与活性标记H3K27乙酰化、H3K4三甲基化、DNase超敏反应和转录因子结合密切相关, 表明染色质高级构象在缺乏黏合素的情况下仅依赖于表观遗传

标记^[74]。相反, WAPL缺失破坏了细胞的区室化^[76,77,79]。这些发现表明, 染色体黏合蛋白可能通过促进环结构域的形成在基因组区室化中起抑制作用。

虽然这些Hi-C研究证实了黏合素位于环结构域上, 并且是整个基因组结构域形成必需的, 但其潜在机制尚不清楚。环挤压是一种可能的机制, 但至今没有直接的证据表明环挤压由染色体黏合蛋白调节。最近, 一项使用超深度测序的Hi-C研究证实, 黏合素依赖的环结构域的形成需要ATP, 但不需要转录或复制过程, 这暗示了黏合素的ATPase活性促进了环结构域的形成^[80]。另外, 通过对单细胞进行超分辨率染色质追踪发现, 黏合素降解后仍能保留TAD样结构域, 而它们在黏合素-CTCF位点的优先边界位置呈现均匀分布的趋势。在这种情况下, 类TAD结构在总体平均接触图谱(population-averaged contact map)中显著消失^[81]。未来借助单分子成像技术将能更详尽地记录黏合素在DNA上的动态, 揭示染色体黏合蛋白调节染色质高级结构的真实景象。

3 染色体黏合蛋白在雄性生殖细胞减数分裂中的功能

与有丝分裂相比, 减数分裂是一种特殊的细胞分裂方式, 进行一次DNA复制和两次连续的染色体分离(第一次减数分裂和第二次减数分裂)。在第一次减数分裂中, 同源染色体分离但姐妹染色单体仍然在一起, 到第二次减数分裂后期, 姐妹染色单体才最终分离, 使形成的配子中染色体数目减半。通过改变减数分裂特异性亚基的组合可以产生不同类型的黏合素复合物。减数分裂特异性亚基赋予黏合素复合物特殊的功能, 作用于许多减数分裂相关的染色体事件, 如染色体轴的形成、同源联会、减数分裂重组和动粒聚合等^[9]。在哺乳动物生殖细胞中, 除了通用的kleisin亚基RAD21外, 还有两个减数分裂特异的kleisin亚基REC8和RAD21L^[82,83]。此外, 黏合素通用亚基SMC1 α 和SA1/SA2也会被减数分裂特异的SMC1 β 和SA3/STAG3所取代^[84]。由于破坏任何一个减数分裂特异的黏合素亚基都会导致染色体结构的异常而引起不育, 因此每一个染色体黏合蛋白在减数分裂染色体动力学中都起着至关重要的作用^[85,86]。虽然在精母细胞减数分裂中也检测到一小部分黏合素通用亚基SMC1 α 和SA2, 但它

们的确切作用尚未被完全阐明^[87]。SMC1 α 在轴成分形成(axis element formation)和同源染色体联会中可以替代SMC1 β , SMC1 β 则在维持减数分裂染色体的端粒完整性中具有重要作用^[88]。SMC1 β 敲除小鼠呈现雄性不育, 当染色体形态为粗线期时, 精母细胞减数分裂发生阻滞, 表现为黏合功能丧失、联会缺陷、端粒不足以及联会复合体(synaptonemal complexes, SCs)和轴成分(axial elements, AEs)长度缩短等表型^[89]。在缺失REC8的小鼠中, 两性都是不育的, 根据它们的染色体形态, 精母细胞发育停滞在合线期末期。染色体联会蛋白SYCP1在姐妹染色单体之间而不是在同源染色体之间沉积^[90]。RAD21L缺陷的精母细胞不能正常形成染色体轴成分, 同源染色体间的联会消失, 导致精子在合线期发生阻滞以及雄性小鼠不育^[91]。REC8和RAD21L双敲除的精母细胞缺乏轴成分和联会复合体, 在细线期就停止发育^[92]。在STAG3敲除雄鼠中也发现了类似的表型, 精母细胞产生非常短的轴成分、联会失败、失去着丝粒和端粒、姐妹染色单体黏合缺陷, 从而引起不育^[85,93]。最近还报道了REC8与STAG3双敲除小鼠的研究, 该突变小鼠的精母细胞显示出着丝粒黏合缺陷增加和轴成分显著缩短, 表型与REC8和RAD21L双敲除精母细胞非常相似^[94]。此外, ESCO2对雄性配子的形成也是必不可少的。在第一次减数分裂前期, 精母细胞中ESCO2的缺失延迟了染色体联会, 进一步削弱了性染色体的黏合, 导致轴成分分离为染色单体。常染色体的非联会区与性染色质结合, 并表现为分裂的轴成分^[95]。在不同的染色体黏合蛋白突变体中, 虽然表现出部分重叠功能, 但表型的种类和严重程度存在差异, 表明黏合素复合物及其调节因子在精子形成过程中参与了不同的生物学过程。减数分裂细胞中染色体黏合蛋白功能的复杂性还需进一步充分了解。

4 染色体黏合蛋白在雌性生殖细胞减数分裂中的功能

4.1 染色体黏合蛋白与老龄化卵子质量

哺乳动物卵母细胞在胎儿时期进行DNA复制, 同时该时期表达的黏合素参与促进减数分裂染色体的黏合。鉴于某些物种(例如人)的卵母细胞在减数分裂双线期停滞长达数十年之久, 推测在此期间黏合素可能会逐渐减少。事实上, 之前的报道也证实了这一观

点^[96,97]。相比3周龄年轻小鼠的卵母细胞, REC8在13个月的老鼠卵母细胞二价染色体上很难被检测到^[98]。而另一种染色体相关的SMC蛋白复合物凝集素(condensin)在年轻和老龄小鼠卵母细胞中都能观察到^[99]。也有报道称, 在3~9个月龄的小鼠卵母细胞中, REC8蛋白质总量没有变化, 但染色体上的REC8呈逐渐减少的趋势。40岁女性的卵母细胞中, REC8和SMC1 β 的水平相比20岁有明显减弱, 但SMC3, RAD21和SMC1 α 的水平没有变化^[100]。由于该研究利用生发泡(germinal vesicle, GV)期卵母细胞进行检测, 信号强度可能会受到细胞核内未结合染色质的黏合素的影响, 而在小鼠卵母细胞的研究中检测的是第一次减数分裂中期染色体上的黏合素, 这可能导致人和小鼠的实验结果产生一定差异。另一项研究显示, 18~34岁的女性卵母细胞中, 黏合素的强度和分布没有明显差异^[101]。因此, 在小鼠中的研究表明, 卵母细胞中与染色体结合的黏合素随年龄增长明显减少, 但在人类中尚未定论。

卵母细胞减数分裂S期表达的黏合素才能建立和维持染色体黏合, 而在第一次减数分裂双线期停滞的过程中几乎没有黏合素的迭代^[102,103], 那么哪些黏合素复合物的减少导致了年龄相关的卵子非整倍体增加成为领域内热点的科学问题。卵母细胞减数分裂中, 除了SMC3, 每个黏合素亚基都有多个变体。三个kleisin亚基中, RAD21L主要在第一次减数分裂早期表达, 于减数分裂前S期替代RAD21, 粗线期后消失^[83]。因此, RAD21L在双线期停滞过程中不可能参与维持减数分裂染色体黏合。RAD21也没有涉及该过程, 研究显示, 利用tobacco etch virus(TEV)蛋白酶对含有TEV酶切位点的RAD21进行切割触发了胚胎有丝分裂期姐妹染色单体的分离, 但并没有影响减数分裂过程中同源染色体分离^[104]。相比而言, REC8在第二次减数分裂中期之前都定位于染色单体之间的连接处, 利用TEV蛋白酶对含有TEV酶切位点的REC8进行处理可以诱导同源染色体和姐妹染色单体过早分离^[105]。结合REC8在人和小鼠老龄卵母细胞染色体上减少的事实, 说明REC8是kleisin的三个亚基中唯一一个会导致老龄卵母细胞染色体分离错误的亚基。在三个SA亚基中, 只有STAG3在第一次减数分裂中期还持续定位于染色单体的连接处。另外, 在体细胞同时表达REC8和STAG3促使REC8进入细胞核替换其对应的有丝分裂亚基

RAD21, 并能挽救敲低SGO1或过表达分离酶导致的姐妹染色单体提前分离, 表明包含REC8-STAG3亚基的黏合素复合物可以调节姐妹染色单体黏合^[106]。在两个SMC1亚基中, SMC1 α 可以替代SMC1 β 的许多功能, 如果SMC1 β 水平在卵母细胞双线期停滞时降低, SMC1 α 可能在双线期后代偿其功能^[88]。总之, REC8-STAG3-SMC3-SMC1 β (SMC1 α , 双线期后)黏合素复合物可能负责维持卵母细胞双线期姐妹染色单体的黏合, 它的减少会引发老龄卵母细胞中染色体的错误分离。

4.2 染色体黏合蛋白在卵子减数分裂成熟中的独特功能

哺乳动物卵母细胞向单倍体配子的发育成熟依赖于两次连续的减数分裂, 但只发生一次DNA复制。在生长期, 卵泡内的卵母细胞停滞在第一次减数分裂前期, 并积累合成各种细胞器、RNA和蛋白质等成分。如图3所示, 卵子减数分裂成熟是指生发泡期卵母细胞经历生发泡破裂(germinal vesicle breakdown, GVBD)、第一次减数分裂中期(metaphase I, MI)、后期(anaphase I, AI)、末期(telophase I, TI)到达第二次减数分裂中期(metaphase II, MII), 排出第一极体(first polar body, PB1)的过程(图3)。随后, 成熟的卵子与精子相遇, 排出第二极体(second polar body, PB2)形成受精卵, 进一步发育成胚胎^[107]。卵母细胞的减数分裂成熟表现在两个方面: 核成熟(nuclear maturation)与胞质成熟(cytoplasmic maturation)^[108]。染色体黏合蛋白在卵母细胞核成熟过程中发挥至关重要的作用。当卵母细胞发育完全时, 由于大规模染色质凝集, 它们的核形态发生显著变化, 与活性染色质相关的组蛋白标记被抑制性染色质的组蛋白修饰所取代, 使卵母细胞变得无转录活性^[86]。卵母细胞核成熟主要包括生发泡破裂、纺锤体组装、纺锤体组装检验点活性控制和染色体分离等关键事件。在前期研究中, 本团队发现, 染色体黏合蛋白ESCO1, ESCO2和WAPL在卵母细胞减数分裂成熟中具有与体细胞有丝分裂不同的独特新功能。

(1) ESCO1乙酰化 α -微管蛋白参与小鼠卵母细胞纺锤体组装。哺乳动物细胞中染色体黏合主要依赖乙酰化转移酶ESCO2建立, ESCO1则参与非黏合的生物学活动, 如基因表达调控、DNA双链断裂修复和染色体环形成等, 但其在卵母细胞发育成熟中的作用尚未



图 3 染色体黏合蛋白ESCO1, ESCO2和WAPL在卵子成熟中的独特功能

Figure 3 Unique functions of the chromosome cohesion proteins ESCO1, ESCO2, and WAPL during oocyte meiotic maturation

揭示. 本团队前期的研究意外发现, ESCO1在小鼠卵母细胞减数分裂成熟过程中持续表达并特异定位于纺锤体上, 提示其功能可能与纺锤体事件相关. 通过显微注射基因靶向siRNA显示, ESCO1缺失造成卵母细胞成熟障碍, 不能排出第一极体, 同时导致严重的纺锤体组装异常、染色体排列紊乱和动粒-微管连接错误, 并激活纺锤体组装检验点, 使细胞停滞在第一次减数分裂中期. 此外, ESCO1缺失造成微管对解聚药物诺考达唑抵抗能力减弱以及 α -微管蛋白的乙酰化水平降低, 表明微管稳定性遭到破坏. 表达外源野生型ESCO1可以恢复ESCO1缺失卵母细胞中 α -微管蛋白的乙酰化程度, 但表达酶活性突变体ESCO1-G768D不能恢复. 相反, 过表达ESCO1导致 α -微管蛋白高度乙酰化和纺锤体缺陷. 另外, ESCO1在体内外都可以与 α -微管蛋白结合, 并且重组野生型ESCO1蛋白而非ESCO1-G768D突变蛋白能够在体外乙酰化 α -微管蛋白. 这些发现揭示了ESCO1在小鼠卵母细胞减数分裂成熟过程中参与调控微管稳定性和纺锤体组装的全新生物学功能^[109].

(2) ESCO2维持H4K16乙酰化调控小鼠卵母细胞动粒功能和纺锤体组装检验点活性. 作为染色体黏合建立过程中的一个主要调控因子, ESCO2的突变会导致罗伯茨综合征, 一种以严重的产前发育迟缓以及肢体和面部畸形为特征的人类发育性疾病. 体细胞中, ESCO2在S期后被降解, 不发挥功能. 然而本团队^[110]研究发现, ESCO2在小鼠卵母细胞减数分裂恢复后仍有表达, 定位于染色体中轴和外周染色体臂及着丝粒区域. 显微注射morpholino介导的ESCO2缺失导致卵母细胞减数分裂进程加速和第一极体提前排出, 同时

造成诺考达唑处理引起的第一次减数分裂中期阻滞失效以及纺锤体组装检验点蛋白BubR1在动粒上的消失, 这些都提示在ESCO2缺失的卵母细胞中, 纺锤体组装检验点呈失活状态. 此外, ESCO2缺失会导致纺锤体组装异常和染色体排列紊乱, 并伴随动粒-微管之间的错误连接率显著升高, 从而产生非整倍体的卵子. 体内外机制研究证明, ESCO2通过与组蛋白H4结合并乙酰化H4K16来调控动粒和纺锤体组装检验点的功能. 因此, 这一研究发现了ESCO2作为一种乙酰化转移酶, 除了黏合素亚基SMC3外, 在小鼠卵母细胞减数分裂成熟中还存在其他的作用底物, 阐明了它参与卵子染色体整倍性维持的作用机制^[110].

(3) WAPL结合BUB3调控小鼠卵母细胞第一次减数分裂纺锤体组装检验点活性. 有丝分裂中, 大量黏合素复合物借助释放因子WAPL在前期从染色体臂上游离下来, 着丝粒区域的少量黏合素到中期再被分离酶切割, 从而启动染色体的分离. 然而, 哺乳动物卵母细胞第一次减数分裂与有丝分裂存在很大差异, 发生的是同源染色体分离, 染色体臂上的黏合素被分离酶切割而解离, 释放因子WAPL并不参与该解离过程. 因此, WAPL在哺乳动物卵母细胞第一次减数分裂过程中发挥何种功能及其调控机制仍不明确. 本团队^[111]最近的研究阐明了WAPL在卵子成熟过程中调节纺锤体组装检验点活性的作用机制. 研究显示, WAPL缺失加速了卵母细胞减数分裂进程, 伴随纺锤体组装检验点失活, 并导致纺锤体/染色体结构异常以及动粒-微管连接错误等减数分裂缺陷, 最终损害卵子的整倍性. 进一步利用免疫沉淀结合质谱分析以及体外生化实验等方法, 证实了WAPL与一个经典的纺锤体组装检验

点蛋白BUB3存在相互作用, 并通过调节其在动粒上的稳定性影响纺锤体组装检验点活性. 表达外源BUB3可以挽救WAPL缺失导致的减数分裂缺陷^[111]. 该研究揭示了染色体黏合蛋白成员WAPL在卵母细胞减数分裂中作为纺锤体组装检验点调控分子的独特功能, 拓展了人们对染色体黏合蛋白参与的生物学过程的认知, 为两大细胞周期调控网络(染色体黏合蛋白和纺锤体组装检验点)的联系提供了直接证据.

5 总结与展望

自发现SMC蛋白以来, 酵母遗传学、小鼠遗传学、生物化学和细胞生物学的大量研究拓展了人们对染色体黏合作用的认知. 染色体黏合蛋白的突变是引起人类各种先天性疾病和癌症的主要原因之一, 然而关于黏合力形成的具体机制和根本原因等问题尚未解决. 自10多年前在人类癌症中首次发现黏合素突变以来, 染色体黏合蛋白家族成员的基因突变已成为各类癌症中最常见的突变类型, 包括膀胱癌、小儿肉瘤、白血病、脑瘤等^[112]. 这10年间染色体黏合蛋白在细胞生物学中的研究也发生了巨大的转变. 起初认

为, 染色体黏合素的功能只是作为聚合姐妹染色单体的环状复合物, 因此早期的研究大多将染色体分离错误和非整倍体作为染色体黏合蛋白突变引起癌症的原因. 然而, 近5年染色体黏合蛋白研究领域主要聚焦于它们在形成、维持和调节DNA环、3D基因组和染色质高级结构中的作用, 这可能是染色体黏合蛋白突变引发各种发育疾病和癌症的主要原因. 得益于高分辨率Hi-C方法的快速发展, 今后的研究将更精细地解析染色体黏合蛋白如何塑造染色质高级结构和调控基因表达^[113].

哺乳动物生殖细胞中, 减数分裂特异的黏合素复合物在染色体轴形成、同源染色体联会、减数分裂重组和着丝粒黏合中起着关键作用, 这些特殊功能是由黏合素的减数分裂特异性亚基所赋予的, 不能被有丝分裂黏合素亚基所替代. 特别是kleisin亚基REC8和RAD21L, 在减数分裂中提供了独特的功能和黏合素复合物的特异性^[9]. 另外, 目前研究已发现, 染色体黏合蛋白家族成员ESCO1, ESCO2和WAPL在卵母细胞第一次减数分裂成熟中存在与有丝分裂完全不同的新功能和作用途径, 未来的研究将揭示更多其他蛋白家族成员在该过程的作用机制和分子调控网络.

参考文献

- 1 Xiong B, Gerton J L. Regulators of the cohesin network. *Annu Rev Biochem*, 2010, 79: 131–153
- 2 Losada A, Hirano T. Dynamic molecular linkers of the genome: the first decade of SMC proteins. *Genes Dev*, 2005, 19: 1269–1287
- 3 Nasmyth K, Haering C H. Cohesin: its roles and mechanisms. *Annu Rev Genet*, 2009, 43: 525–558
- 4 Weitzer S, Lehane C, Uhlmann F. A model for ATP hydrolysis-dependent binding of cohesin to DNA. *Curr Biol*, 2003, 13: 1930–1940
- 5 Arumugam P, Gruber S, Tanaka K, et al. ATP hydrolysis is required for cohesin's association with chromosomes. *Curr Biol*, 2003, 13: 1941–1953
- 6 Schleiffer A, Kaitna S, Maurer-Stroh S, et al. Kleisins: a superfamily of bacterial and eukaryotic SMC protein partners. *Mol Cell*, 2003, 11: 571–575
- 7 Haering C H, Löwe J, Hochwagen A, et al. Molecular architecture of SMC proteins and the yeast cohesin complex. *Mol Cell*, 2002, 9: 773–788
- 8 Arumugam P, Nishino T, Haering C H, et al. Cohesin's ATPase activity is stimulated by the C-terminal winged-helix domain of its kleisin subunit. *Curr Biol*, 2006, 16: 1998–2008
- 9 Ishiguro K I. The cohesin complex in mammalian meiosis. *Genes Cells*, 2019, 24: 6–30
- 10 Ciosk R, Shirayama M, Shevchenko A, et al. Cohesin's binding to chromosomes depends on a separate complex consisting of Scc2 and Scc4 proteins. *Mol Cell*, 2000, 5: 243–254
- 11 Watrin E, Schleiffer A, Tanaka K, et al. Human Scc4 is required for cohesin binding to chromatin, sister-chromatid cohesion, and mitotic progression. *Curr Biol*, 2006, 16: 863–874
- 12 Takahashi T S, Yiu P, Chou M F, et al. Recruitment of Xenopus Scc2 and cohesin to chromatin requires the pre-replication complex. *Nat Cell Biol*, 2004, 6: 991–996
- 13 Murayama Y, Uhlmann F. Biochemical reconstitution of topological DNA binding by the cohesin ring. *Nature*, 2014, 505: 367–371

- 14 Chao W C H, Murayama Y, Muñoz S, et al. Structural studies reveal the functional modularity of the Scc2-Scc4 cohesin loader. *Cell Rep*, 2015, 12: 719–725
- 15 Hinshaw S M, Makrantonis V, Kerr A, et al. Structural evidence for Scc4-dependent localization of cohesin loading. *eLife*, 2015, 4: e06057
- 16 Gruber S, Arumugam P, Katou Y, et al. Evidence that loading of cohesin onto chromosomes involves opening of its SMC hinge. *Cell*, 2006, 127: 523–537
- 17 Murayama Y, Uhlmann F. DNA entry into and exit out of the cohesin ring by an interlocking gate mechanism. *Cell*, 2015, 163: 1628–1640
- 18 Chao W C H, Murayama Y, Muñoz S, et al. Structure of the cohesin loader Scc2. *Nat Commun*, 2017, 8: 13952
- 19 Tóth A, Ciosk R, Uhlmann F, et al. Yeast cohesin complex requires a conserved protein, Eco1p(Ctf7), to establish cohesion between sister chromatids during DNA replication. *Genes Dev*, 1999, 13: 320–333
- 20 Ünal E, Heidinger-Pauli J M, Kim W, et al. A molecular determinant for the establishment of sister chromatid cohesion. *Science*, 2008, 321: 566–569
- 21 Hou F, Zou H. Two human orthologues of Eco1/Ctf7 acetyltransferases are both required for proper sister-chromatid cohesion. *Mol Biol Cell*, 2005, 16: 3908–3918
- 22 Lafont A L, Song J, Rankin S. Sororin cooperates with the acetyltransferase Eco2 to ensure DNA replication-dependent sister chromatid cohesion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 20364–20369
- 23 Rahman S, Jones M J K, Jallepalli P V. Cohesin recruits the Escol1 acetyltransferase genome wide to repress transcription and promote cohesion in somatic cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 11270–11275
- 24 Ladurner R, Kreidl E, Ivanov M P, et al. Sororin actively maintains sister chromatid cohesion. *EMBO J*, 2016, 35: 635–653
- 25 Alomer R M, da Silva E M L, Chen J, et al. Escol1 and Escol2 regulate distinct cohesin functions during cell cycle progression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 9906–9911
- 26 Vega H, Waisfisz Q, Gordillo M, et al. Roberts syndrome is caused by mutations in *ESCO2*, a human homolog of yeast *ECO1* that is essential for the establishment of sister chromatid cohesion. *Nat Genet*, 2005, 37: 468–470
- 27 Whelan G, Kreidl E, Wutz G, et al. Cohesin acetyltransferase Escol2 is a cell viability factor and is required for cohesion in pericentric heterochromatin. *EMBO J*, 2012, 31: 71–82
- 28 Moldovan G L, Pfander B, Jentsch S. PCNA controls establishment of sister chromatid cohesion during S phase. *Mol Cell*, 2006, 23: 723–732
- 29 Ivanov M P, Ladurner R, Poser I, et al. The replicative helicase MCM recruits cohesin acetyltransferase *ESCO2* to mediate centromeric sister chromatid cohesion. *EMBO J*, 2018, 37
- 30 Whelan G, Kreidl E, Peters J M, et al. The non-redundant function of cohesin acetyltransferase Escol2. *Nucleus*, 2012, 3: 330–334
- 31 Waizenegger I C, Hauf S, Meinke A, et al. Two distinct pathways remove mammalian cohesin from chromosome arms in prophase and from centromeres in anaphase. *Cell*, 2000, 103: 399–410
- 32 Losada A, Hirano M, Hirano T. Identification of *Xenopus* SMC protein complexes required for sister chromatid cohesion. *Genes Dev*, 1998, 12: 1986–1997
- 33 Gandhi R, Gillespie P J, Hirano T. Human Wapl is a cohesin-binding protein that promotes sister-chromatid resolution in mitotic prophase. *Curr Biol*, 2006, 16: 2406–2417
- 34 Kueng S, Hegemann B, Peters B H, et al. Wapl controls the dynamic association of cohesin with chromatin. *Cell*, 2006, 127: 955–967
- 35 Lénárt P, Petronczki M, Steegmaier M, et al. The small-molecule inhibitor BI 2536 reveals novel insights into mitotic roles of polo-like kinase 1. *Curr Biol*, 2007, 17: 304–315
- 36 Giménez-Abián J F, Sumara I, Hirota T, et al. Regulation of sister chromatid cohesion between chromosome arms. *Curr Biol*, 2004, 14: 1187–1193
- 37 Losada A, Hirano M, Hirano T. Cohesin release is required for sister chromatid resolution, but not for condensin-mediated compaction, at the onset of mitosis. *Genes Dev*, 2002, 16: 3004–3016
- 38 Nishiyama T, Ladurner R, Schmitz J, et al. Sororin mediates sister chromatid cohesion by antagonizing Wapl. *Cell*, 2010, 143: 737–749
- 39 Nishiyama T, Sykora M M, Huis in 't Veld P J, et al. Aurora B and Cdk1 mediate Wapl activation and release of acetylated cohesin from chromosomes by phosphorylating Sororin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 13404–13409
- 40 Tedeschi A, Wutz G, Huet S, et al. Wapl is an essential regulator of chromatin structure and chromosome segregation. *Nature*, 2013, 501: 564–568

- 41 Liu H, Rankin S, Yu H. Phosphorylation-enabled binding of SGO1-PP2A to cohesin protects sororin and centromeric cohesion during mitosis. [Nat Cell Biol](#), 2013, 15: 40–49
- 42 Williams S J, Abrieu A, Losada A. Bub1 targeting to centromeres is sufficient for Sgo1 recruitment in the absence of kinetochores. [Chromosoma](#), 2017, 126: 279–286
- 43 McGuinness B E, Hirota T, Kudo N R, et al. Shugoshin prevents dissociation of cohesin from centromeres during mitosis in vertebrate cells. [PLoS Biol](#), 2005, 3: e86
- 44 Musacchio A, Salmon E D. The spindle-assembly checkpoint in space and time. [Nat Rev Mol Cell Biol](#), 2007, 8: 379–393
- 45 Hauf S, Waizenegger I C, Peters J M. Cohesin cleavage by separase required for anaphase and cytokinesis in human cells. [Science](#), 2001, 293: 1320–1323
- 46 Leismann O, Herzig A, Heidmann S, et al. Degradation of *Drosophila* PIM regulates sister chromatid separation during mitosis. [Genes Dev](#), 2000, 14: 2192–2205
- 47 Chestukhin A, Pfeffer C, Milligan S, et al. Processing, localization, and requirement of human separase for normal anaphase progression. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2003, 100: 4574–4579
- 48 Zhao H Y, Xu D Y. Pathway choice for DNA double strand break repair (in Chinese). [Sci Sin Vitae](#), 2021, 51: 56–69 [赵华煜, 徐冬一. DNA双链断裂修复途径的选择与调控. [中国科学: 生命科学](#), 2021, 51: 56–69]
- 49 Paques F, Haber J E. Multiple pathways of recombination induced by double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae*. [Microbiol Mol Biol Rev](#), 1999, 63: 349–404
- 50 Beucher A, Birraux J, Tchouandong L, et al. ATM and Artemis promote homologous recombination of radiation-induced DNA double-strand breaks in G2. [EMBO J](#), 2009, 28: 3413–3427
- 51 Ciccio A, Elledge S J. The DNA damage response: making it safe to play with knives. [Mol Cell](#), 2010, 40: 179–204
- 52 Ström L, Karlsson C, Lindroos H B, et al. Postreplicative formation of cohesion is required for repair and induced by a single DNA break. [Science](#), 2007, 317: 242–245
- 53 Kong X, Ball A R, Pham H X, et al. Distinct functions of human cohesin-SA1 and cohesin-SA2 in double-strand break repair. [Mol Cell Biol](#), 2014, 34: 685–698
- 54 Countryman P, Fan Y, Gorthi A, et al. Cohesin SA2 is a sequence-independent DNA-binding protein that recognizes DNA replication and repair intermediates. [J Biol Chem](#), 2018, 293: 1054–1069
- 55 Couturier A M, Fleury H, Patenaude A M, et al. Roles for APRIN (PDS5B) in homologous recombination and in ovarian cancer prediction. [Nucleic Acids Res](#), 2016, 44: 10879–10897
- 56 Brough R, Bajrami I, Vatcheva R, et al. APRIN is a cell cycle specific BRCA2-interacting protein required for genome integrity and a predictor of outcome after chemotherapy in breast cancer. [EMBO J](#), 2012, 31: 1160–1176
- 57 Luo H, Li Y, Mu J J, et al. Regulation of intra-S phase checkpoint by ionizing radiation (IR)-dependent and IR-independent phosphorylation of SMC3. [J Biol Chem](#), 2008, 283: 19176–19183
- 58 Watrin E, Peters J M. The cohesin complex is required for the DNA damage-induced G2/M checkpoint in mammalian cells. [EMBO J](#), 2009, 28: 2625–2635
- 59 Guo Y, Monahan K, Wu H, et al. CTCF/cohesin-mediated DNA looping is required for protocadherin α promoter choice. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2012, 109: 21081–21086
- 60 Faure A J, Schmidt D, Watt S, et al. Cohesin regulates tissue-specific expression by stabilizing highly occupied *cis*-regulatory modules. [Genome Res](#), 2012, 22: 2163–2175
- 61 Matthews N E, White R. Chromatin architecture in the fly: living without CTCF/cohesin loop extrusion? Alternating chromatin states provide a basis for domain architecture in *Drosophila*. [Bioessays](#), 2019, 41: 1900048
- 62 Chien R, Zeng W, Kawauchi S, et al. Cohesin mediates chromatin interactions that regulate mammalian β -globin expression. [J Biol Chem](#), 2011, 286: 17870–17878
- 63 Palstra R J, Tolhuis B, Splinter E, et al. The β -globin nuclear compartment in development and erythroid differentiation. [Nat Genet](#), 2003, 35: 190–194
- 64 Stedman W, Kang H, Lin S, et al. Cohesins localize with CTCF at the KSHV latency control region and at cellular c-myc and H19/Igf2 insulators. [EMBO J](#), 2008, 27: 654–666

- 65 Cao R, Wang L, Wang H, et al. Role of histone H3 lysine 27 methylation in Polycomb-group silencing. *Science*, 2002, 298: 1039–1043
- 66 Schaaf C A, Misulovin Z, Sahota G, et al. Regulation of the *Drosophila Enhancer of split* and *invected-engrailed* gene complexes by sister chromatid cohesion proteins. *PLoS ONE*, 2009, 4: e6202
- 67 Dheur S, Saupe S J, Genier S, et al. Role for cohesin in the formation of a heterochromatic domain at fission yeast subtelomeres. *Mol Cell Biol*, 2011, 31: 1088–1097
- 68 Zeng W, de Greef J C, Chen Y Y, et al. Specific loss of histone H3 lysine 9 trimethylation and HP1 γ /cohesin binding at D4Z4 repeats is associated with facioscapulohumeral dystrophy (FSHD). *PLoS Genet*, 2009, 5: e1000559
- 69 de Wit E, de Laat W. A decade of 3C technologies: insights into nuclear organization. *Genes Dev*, 2012, 26: 11–24
- 70 Dixon J R, Gorkin D U, Ren B. Chromatin domains: the unit of chromosome organization. *Mol Cell*, 2016, 62: 668–680
- 71 Rao S S P, Huntley M H, Durand N C, et al. A 3D map of the human genome at kilobase resolution reveals principles of chromatin looping. *Cell*, 2014, 159: 1665–1680
- 72 Guillou E, Ibarra A, Coulon V, et al. Cohesin organizes chromatin loops at DNA replication factories. *Genes Dev*, 2010, 24: 2812–2822
- 73 Rao S S P, Huang S C, Glenn St Hilaire B, et al. Cohesin loss eliminates all loop domains. *Cell*, 2017, 171: 305–320.e24
- 74 Schwarzer W, Abdennur N, Goloborodko A, et al. Two independent modes of chromatin organization revealed by cohesin removal. *Nature*, 2017, 551: 51–56
- 75 Haarhuis J H I, van der Weide R H, Blomen V A, et al. The cohesin release factor WAPL restricts chromatin loop extension. *Cell*, 2017, 169: 693–707.e14
- 76 Wutz G, Várnai C, Nagasaka K, et al. Topologically associating domains and chromatin loops depend on cohesin and are regulated by CTCF, WAPL, and PDS5 proteins. *EMBO J*, 2017, 36: 3573–3599
- 77 Gassler J, Brandão H B, Imakaev M, et al. A mechanism of cohesion-dependent loop extrusion organizes zygotomic genome architecture. *EMBO J*, 2017, 36: 3600–3618
- 78 Lieberman-Aiden E, van Berkum N L, Williams L, et al. Comprehensive mapping of long-range interactions reveals folding principles of the human genome. *Science*, 2009, 326: 289–293
- 79 Kojic A, Cuadrado A, De Koninck M, et al. Distinct roles of cohesin-SA1 and cohesin-SA2 in 3D chromosome organization. *Nat Struct Mol Biol*, 2018, 25: 496–504
- 80 Vian L, Pękowska A, Rao S S P, et al. The energetics and physiological impact of cohesin extrusion. *Cell*, 2018, 175: 292–294
- 81 Bintu B, Mateo L J, Su J H, et al. Super-resolution chromatin tracing reveals domains and cooperative interactions in single cells. *Science*, 2018, 362: eaau1783
- 82 Gutiérrez-Caballero C, Herrán Y, Sánchez-Martín M, et al. Identification and molecular characterization of the mammalian α -kleisin RAD21L. *Cell Cycle*, 2011, 10: 1477–1487
- 83 Ishiguro K, Kim J, Fujiyama-Nakamura S, et al. A new meiosis-specific cohesin complex implicated in the cohesin code for homologous pairing. *EMBO Rep*, 2011, 12: 267–275
- 84 Bayés M, Prieto I, Noguchi J, et al. Evaluation of the *Stag3* gene and the synaptonemal complex in a rat model (*as/as*) for male infertility. *Mol Reprod Dev*, 2001, 60: 414–417
- 85 Fukuda T, Fukuda N, Agostinho A, et al. STAG3-mediated stabilization of REC8 cohesin complexes promotes chromosome synapsis during meiosis. *EMBO J*, 2014, 33: 1243–1255
- 86 Ishiguro K I, Kim J, Shibuya H, et al. Meiosis-specific cohesin mediates homolog recognition in mouse spermatocytes. *Genes Dev*, 2014, 28: 594–607
- 87 Revenkova E, Eijpe M, Heyting C, et al. Cohesin SMC1 β is required for meiotic chromosome dynamics, sister chromatid cohesion and DNA recombination. *Nat Cell Biol*, 2004, 6: 555–562
- 88 Biswas U, Stevense M, Jessberger R. SMC1 α substitutes for many meiotic functions of SMC1 β but cannot protect telomeres from damage. *Curr Biol*, 2018, 28: 249–261.e4
- 89 Adelfalk C, Janschek J, Revenkova E, et al. Cohesin SMC1 β protects telomeres in meiocytes. *J Cell Biol*, 2009, 187: 185–199
- 90 Xu H, Beasley M D, Warren W D, et al. Absence of mouse REC8 cohesin promotes synapsis of sister chromatids in meiosis. *Dev Cell*, 2005, 8: 949–961
- 91 Herrán Y, Gutiérrez-Caballero C, Sánchez-Martín M, et al. The cohesin subunit RAD21L functions in meiotic synapsis and exhibits sexual

- dimorphism in fertility. *EMBO J*, 2011, 30: 3091–3105
- 92 Llano E, Herrán Y, García-Tuñón I, et al. Meiotic cohesin complexes are essential for the formation of the axial element in mice. *J Cell Biol*, 2012, 197: 877–885
- 93 Hopkins J, Hwang G, Jacob J, et al. Meiosis-specific cohesin component, *Stag3* is essential for maintaining centromere chromatid cohesion, and required for DNA repair and synapsis between homologous chromosomes. *PLoS Genet*, 2014, 10: e1004413
- 94 Ward A, Hopkins J, McKay M, et al. Genetic interactions between the meiosis-specific cohesin components, STAG3, REC8, and RAD21L. *G3*, 2016, 6: 1713–1724
- 95 McNicoll F, Kühnel A, Biswas U, et al. Meiotic sex chromosome cohesion and autosomal synapsis are supported by *Esco2*. *Life Sci Alliance*, 2020, 3: e201900564
- 96 Chiang T, Duncan F E, Schindler K, et al. Evidence that weakened centromere cohesion is a leading cause of age-related aneuploidy in oocytes. *Curr Biol*, 2010, 20: 1522–1528
- 97 Lister L M, Kouznetsova A, Hyslop L A, et al. Age-related meiotic segregation errors in mammalian oocytes are preceded by depletion of cohesin and Sgo2. *Curr Biol*, 2010, 20: 1511–1521
- 98 Lee J. Is age-related increase of chromosome segregation errors in mammalian oocytes caused by cohesin deterioration? *Reprod Med Biol*, 2020, 19: 32–41
- 99 Hirano T. Condensin-based chromosome organization from bacteria to vertebrates. *Cell*, 2016, 164: 847–857
- 100 Tsutsumi M, Fujiwara R, Nishizawa H, et al. Age-related decrease of meiotic cohesins in human oocytes. *PLoS ONE*, 2014, 9: e96710
- 101 Garcia-Cruz R, Briño M A, Roig I, et al. Dynamics of cohesin proteins REC8, STAG3, SMC1 β and SMC3 are consistent with a role in sister chromatid cohesion during meiosis in human oocytes. *Hum Reprod*, 2010, 25: 2316–2327
- 102 Burkhardt S, Borsos M, Szydlowska A, et al. Chromosome cohesion established by Rec8-cohesin in fetal oocytes is maintained without detectable turnover in oocytes arrested for months in mice. *Curr Biol*, 2016, 26: 678–685
- 103 Revenkova E, Herrmann K, Adelfalk C, et al. Oocyte cohesin expression restricted to predictate stages provides full fertility and prevents aneuploidy. *Curr Biol*, 2010, 20: 1529–1533
- 104 Tachibana-Konwalski K, Godwin J, van der Weyden L, et al. Rec8-containing cohesin maintains bivalents without turnover during the growing phase of mouse oocytes. *Genes Dev*, 2010, 24: 2505–2516
- 105 Lee J, Okada K, Ogushi S, et al. Loss of Rec8 from chromosome arm and centromere region is required for homologous chromosome separation and sister chromatid separation, respectively, in mammalian meiosis. *Cell Cycle*, 2006, 5: 1448–1455
- 106 Wolf P G, Cuba Ramos A, Kenzel J, et al. Studying meiotic cohesin in somatic cells reveals that Rec8-cohesin requires Stag3 and is regulated by Wapl and Sororin. *J Cell Sci*, 2018, 131
- 107 Ivanova I, Much C, Di Giacomo M, et al. The RNA m⁶A reader YTHDF2 is essential for the post-transcriptional regulation of the maternal transcriptome and oocyte competence. *Mol Cell*, 2017, 67: 1059–1067.e4
- 108 Kalous J, Tetkova A, Kubelka M, et al. Importance of ERK1/2 in regulation of protein translation during oocyte meiosis. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 698
- 109 Lu Y, Li S, Cui Z, et al. The cohesion establishment factor Esco1 acetylates α -tubulin to ensure proper spindle assembly in oocyte meiosis. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: 2335–2346
- 110 Lu Y, Dai X, Zhang M, et al. Cohesin acetyltransferase Esco2 regulates SAC and kinetochore functions via maintaining H4K16 acetylation during mouse oocyte meiosis. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45: 9388–9397
- 111 Zhou C, Miao Y, Cui Z, et al. The cohesin release factor Wapl interacts with Bub3 to govern SAC activity in female meiosis I. *Sci Adv*, 2020, 6: eaax3969
- 112 Waldman T. Emerging themes in cohesin cancer biology. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20: 504–515
- 113 Fan Y X, Hang X Y, He X M. The impact factors of 3D genome organization (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2020, 50: 465–483 [樊逸仙, 杭晓奔, 何西森. 影响染色体三维结构的主要因素及其研究进展. 中国科学: 生命科学. 2020, 50: 465–483]

Functional diversity of chromosome cohesion proteins

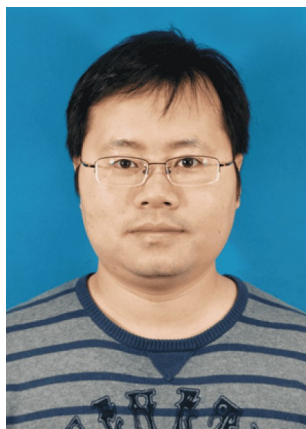
LU YaJuan, ZHOU ChangYin & XIONG Bo

College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Chromosome cohesion is a cellular process in which sister chromatids are held together by a ring-shaped complex cohesin during cell division. Cohesin and its accessory factors consist of chromosome cohesion family proteins that play pivotal roles in cohesion establishment, maintenance, and dissolution. Also, cohesion proteins are involved in DNA damage repair, gene expression, and high-order chromatin organization. To date, the mitotic functions and regulatory mechanisms of chromosome proteins have been extensively studied; however, during meiosis, they are not yet fully understood, especially during the meiosis I stage. In this review, we summarize the diverse functions of chromosome cohesion proteins in various biological events. In particular, during germ cell meiosis, we elucidate their non-canonical roles and discuss the future avenues for research in this field.

chromosome cohesion, cohesin, chromosome cohesion protein, mitosis, meiosis

doi: [10.1360/SSV-2021-0068](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0068)



熊波, 南京农业大学动物科技学院教授, 博士生导师. 2008年毕业于中国科学院动物研究所, 获博士学位. 2008~2015年在美国Stowers医学研究所和美国国立卫生研究院从事博士后研究. 2014年作为高层次人才被引进南京农业大学成立课题组. 长期致力于动物卵子质量控制的分子机制研究, 揭示了染色体黏合蛋白调控卵子成熟的分子网络和信号通路, 拓展了对卵子成熟障碍和非整倍体卵子产生机制的认知, 证明了染色体黏合蛋白可作为评估卵子质量的分子指标. 共发表SCI论文70余篇, 总被引超2000次. 获“大北农青年学者奖”、中国畜牧兽医学会“井冈新秀”称号. 主持国家自然科学基金优秀青年基金项目, 担任*Journal of Animal Science and Biotechnology*杂志编委, 多次受邀在国内外重要学术会议作大会报告.