

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИНДИВИДУАЛЬНЫХ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ КОНДЕНСИНА В ГЕНОМЕ ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОДЕЛИ МИТОТИЧЕСКОЙ СЕГРЕГАЦИИ МИНИ-ХРОМОСОМ

© П. А. Бутылин,^{1,2,*} А. В. Струнников²

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия,
и ² Национальные институты здоровья (NIH/NICHD), Бетесда, США;
* электронный адрес: butylinp@gmail.com

Правильная упаковка хроматина в хромосомы в митозе (конденсация) является необходимым условием равномерного распределения хромосом при делении клетки и точной передаче генетической информации из поколения в поколение. За митотическую конденсацию хроматина отвечает белковый комплекс конденсин, попутно обеспечивающий индивидуализацию хромосом, разграничение хроматина между парами сестринских хроматид и натяжение митотического веретена. Митотическая функция конденсина зависит от правильного узнавания конденсином специфических участков связывания в хромосоме. Как механизмы связывания конденсина с индивидуальными хромосомными последовательностями в митозе, так и их молекулярная природа мало изучены. Еще менее известна роль индивидуальных сайтов связывания конденсина в обеспечении собственно расхождения хромосом в анафазе митоза. В настоящей работе с использованием тест-системы на основе мини-хромосом было проанализировано семь индивидуальных сайтов связывания конденсина, выявленных на основании нашей предыдущей работы по всегеномному анализу распределения конденсина в хромосомах дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Такой подход позволил оценить вклад данных последовательностей в функцию конденсина по обеспечению стабильности мини-хромосом в процессе расхождения в митозе.

Ключевые слова: конденсин, митоз, *Saccharomyces cerevisiae*, мини-хромосомы, хромосомная стабильность.

Сегрегация хромосом в процессе клеточного деления у эукариот требует слаженной работы обширного комплекса структурных белков и энзимов, ассоциированных с хроматином, которые обеспечивают равное распределение сестринских хроматид между дочерними клетками. Один из этих белковых факторов — конденсин — это молекулярная машина конденсации хромосом. У позвоночных найдены два конденсиновых комплекса (конденсин I и II) с различной динамикой экспрессии и профилем хромосомной локализации (Hirano, 2006). У дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* присутствует только один комплекс, состоящий из пяти жизненно необходимых субъединиц: две из них — это белки SMC (Structural Maintenance of Chromosomes; Smc2 и Smc4), а три — это специализированные субъединицы Bn1, Ycs4 и Ycs5. Все компоненты комплекса являются высококонсервативными белками, сходными у всех эукариот (Losada, Hirano, 2005). Мутации, ведущие к потере функциональности хотя бы одной из субъединиц конденсина, приводят к тому, что не происходит нормального разделения хроматид. Таким образом, необходимой функцией конденсина *in vivo* является не столько компактизация хроматина, сколько разделение хроматид в ходе митотической сегрегации (Freeman et al., 2000). Сходные фенотипы нерасхождения хроматид в митозе при инактивации конденсина описаны и у высших эукариот.

У позвоночных конденсин, диффузно распределенный в цитоплазме (конденсин I) или в ядре (конденсин II) в интерфазе, перераспределяется во внутренние домены конденсированных хромосом в митозе (Swedlow, Hirano, 2003; Maeshima et al., 2005). У дрожжей локализации конденсина не столь однородна, но также зависит от фазы клеточного цикла: конденсин дисперсно распределен по хроматину в интерфазе, но накапливается в ядрышке в митозе (Freeman et al., 2000). Гибридизация на микрочипе, содержащем геном *S. cerevisiae*, показала, что сайты ассоциации конденсина можно обнаружить на каждой хромосоме дрожжей — в среднем каждые 10 тыс. пар нуклеотидов (Wang et al., 2004). В дальнейшем была произведена проверка выборки из сайтов связывания конденсина с помощью более точного метода — количественной ПЦР (Wang et al., 2004). В этом исследовании, однако, не удалось выявить какие-либо особенности первичной структуры ДНК, однозначно коррелирующей со способностью данного района связывать конденсин.

Семь подтвержденных отчетливых участков ассоциации конденсина из упомянутого исследования было отобрано для дальнейшего функционального анализа в настоящей работе. Для анализа функциональной активности потенциальных сайтов связывания конденсина в геноме в данном исследовании был применен тест на потерю мини-хромосом. Мини-хромосомы представляют

собой элементарную самовоспроизводящуюся генетическую конструкцию, имеющую в своем составе центромержную последовательность, репликатор ДНК и ген-маркер. Как было показано ранее, наследование такого рода конструкций сходно с тем, как происходит наследование полноценных хромосом (Hartwell et al., 1985). Закономерности, по которым происходит определение конкретного участка связывания конденсина, до сих пор остаются загадкой. Теоретически, используя мини-хромосомы как вектор, можно изучать функциональную активность единственного сайта посадки конденсина в составе такой мини-хромосомы.

То, насколько такие индивидуальные сайты участвуют в функции конденсина по обеспечению расхождения хромосом, является главным вопросом данного исследования. С использованием уникальной дрожжевой модели планируется выяснить, как присутствие сайтов связывания конденсина в мини-хромосоме дрожжей будет сказываться на ее наследовании в процессе митотического расхождения.

Материал и методика

Плазмиды и мини-хромосомы. Последовательность сайтов связывания конденсина, обнаруженные методом геномного скрининга, были амплифицированы с использованием ПЦР, с включением фланкирующих геномных последовательностей, при использовании специфических праймеров (хромосомные координаты амплифицированных участков приводятся в табл. 1). Матрицей для ПЦР служила геномная ДНК, выделенная фенол-хлороформным методом (Ambert et al., 2006). Полученные фрагменты ДНК вырезали из геля и экстрагировали, используя колонки Quiagen (США), после чего клонировали в вектор pCR4-ТОРО фирмы Invitrogen (США). Полученные векторы выделяли из экстрактов штамма *E. coli* TOP10 с помощью мини-препаративных колонок Quiagen (США), а затем секвенировали. После этого соответствующие последовательности вырезали из плазмид, используя рестриктазу Eco RI, и встраивали в вектор PRS412 (Sikorski, Hieter, 1989) по соответствующему сайту. Полученные таким образом кольцевые центромержные плазмиды (мини-хромосомы), содержащие вставку, снова секвенировали, для того чтобы определить ориентацию вставки. Мини-хромосомы, использованные в дальнейшем исследовании, содержали вставку только в одной ориентации.

Таблица 1

Хромосомные координаты последовательностей, использованных в исследовании

Локус	Номер хромосомы	Хромосомные координаты
Ykr049c	XI	525968—527363
Ygr210c	VII	914004—915330
Yol085c	XV	525332—526818
Rad5	XII	294397—205704
ARP9	XIII	337163—338525
Yap5	IX	384134—385433
PTR2	XI	616548—617969

Штаммы. Для получения изогенной пары штаммов дикого типа и с мутацией по конденсину штамм 733-W303 (*smc2-8*) был получен из штамма W303 путем замещения геномной копии гена *SMC2* на мутантную форму *smc2-8* после трансформации фрагментом плазмиды pLF733, содержащим *smc2-8* и маркер *LEU2*. Оба штамма были трансформированы соответствующими мини-хромосомами.

Тест на потерю мини-хромосом. Тест на потерю мини-хромосом был проведен так же, как описано ранее (Strunnikov et al., 1993), с незначительными изменениями. Штаммы, трансформированные соответствующей плазмидой, выращивали в синтетической селективной (без аденина) жидкой среде, содержащей в качестве источника углеводов 2 % D-Глюкозы, при 23 °С, до оптической плотности D_{600} , равной примерно 0.5. Затем клетки инкубировали при 37 °С в течение 3 ч. Непосредственно после этого культуру клеток разбавляли стерильной водой и наносили на чашки с полной агаризованной средой (YPD), обогащенной аденином (плотность не более 200 клеток на чашку). Колонии дорастивали до диаметра около 1 мм при 23 °С. После этого делали реплику на чашки с селективной средой. Стабильность плазмиды P(ст) определяли по формуле

$$P(\text{ст}) = [1 - (Y/X)] \cdot 100 \%,$$

где Y — количество колоний на селективной среде, X — количество колоний на полной среде.

Для каждой из исследованных точек эксперимент был повторен не менее 5 раз. Статистическую обработку проводили с использованием статистических средств программы Microsoft Excel. *t*-критерий Стьюдента вычисляли для однопараметрического распределения с коэффициентом значимости 95 %.

Результаты

Клонирование последовательностей участков связывания конденсина из генома дрожжей. Для изучения роли индивидуальных сайтов связывания конденсина в поддержании стабильности хромосом мы выбрали семь сайтов, основываясь на данных ранее опубликованного хромосомного скрининга (подробнее см.: Wang et al., 2004). В данной работе последовательности ДНК, полученные в результате преципитации участков хроматина, связанных с конденсином *in situ*, были гибридованы на матрицы микрочипов, содержащие одноцепочечные ДНК-пробы, покрывающие практически весь геном *S. cerevisiae*. Этот подход, упоминаемый в литературе как ChIP-on-chip, позволил выявить и охарактеризовать сайты устойчивого связывания конденсина в митозе в геноме дрожжей. Семь сайтов для настоящей работы были выбраны случайным образом, но с учетом прилежащих районов генома, так чтобы пик связывания был ярко выражен на участке в 10—11 тыс. п. о. (рис. 1).

Обогащение конденсином для каждого из сайтов было независимо подтверждено с помощью иммунопреципитации хроматина с последующей количественной ПЦР, как в работе Ванг и соавторов (Wang et al., 2004). После подтверждения того, что выбранные последовательности являются участками связывания конденсина в живой клетке, соответствующие сайты были клонирова-

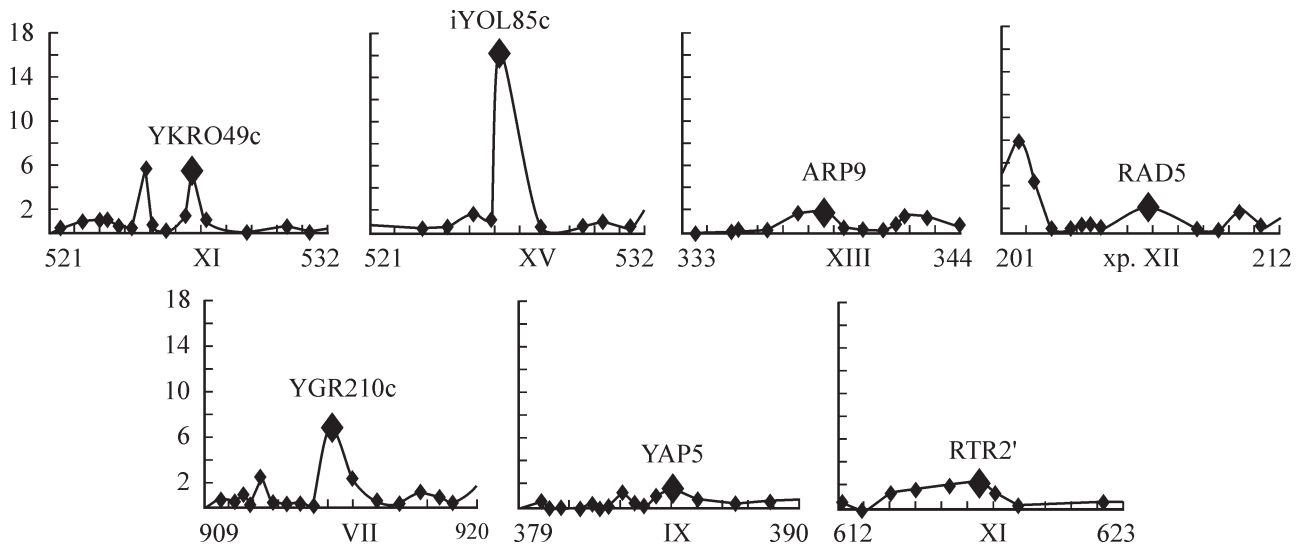


Рис. 1. Семь локусов связывания конденсина различной интенсивности, выявленных при анализе данных ChIP-chip.

По горизонтали — номер хромосомы и координаты соответствующего локуса в системе SGD (Saccharomyces genomic database); по вертикали — интенсивность связывания конденсина в ед. кратности медиане по всему геному, что позволяет совместить данные по открытым рамкам и межгенным участкам, несмотря на то что они получены с разных матриц микрочипа; данные по связыванию конденсина (Wang et al., 2005) были обработаны с целью выявления участков не менее 10 тыс. п. о., содержащих обособленный пик обогащения по конденсину; индивидуальные точки графиков соответствуют центрам элементов матрицы микрочипа.

ны с использованием специфических праймеров, фланкирующих пик связывания конденсина в геноме. Длина каждого клонированного участка была выбрана произвольно, но с включением фланкирующих участков ДНК длиной не менее 500 п. о. Полученные продукты ПЦР разделяли в 1%-ном агарозном геле и экстрагировали с помощью стандартных методов. Далее фрагменты ДНК клонировали в вектор pCR4-Торо, содержащий липкие Т-концы и связанную Топоизомеразу I, для облегчения дальнейшего клонирования в дрожжевой вектор фрагментов, полученных с помощью Taq-полимеразы. После получения достаточного количества каждой из семи плазмид (более 1 мг) соответствие встроенной ДНК искомой было проверено с помощью секвенирования методом «терминаторов» (Сэнгера) с использованием меченых (флуоресцентных) дидезоксинуклеотидов. Далее вставки были вырезаны из соответствующих плазмид с помощью рестриктазы EcoRI (использовали сайты, присутствующие в векторе) и клонированы в челночный вектор pRS412, содержащий репликатор и центромерные последовательности из генома почкующихся дрожжей. Наличие центромерной последовательности упорядочивает сегрегацию таких плазмид в клетках дрожжей, что позволяет классифицировать эти экстрахромосомные элементы как мини-хромосомы. После повторного подтверждения правильности клонирования с помощью секвенирования полученные семь мини-хромосом и контрольную мини-хромосому, не содержащую вставки, трансформировали в соответствующие штаммы дрожжей (табл. 2).

Определение стабильности мини-хромосом, содержащих последовательности связывания конденсина *in situ*. В связи с дубликацией геномного участка, соответствующего сайту связывания конденсина (в хромосоме и на плазмиде), прямое определение ассоциации этого комплекса с ДНК (иммунопреципитацией) в пределах сайта малоинформативно. Исходя из этого ограничения мы выбрали функциональ-

ный метод анализа сайтов связывания конденсина — по стабильности соответствующих мини-хромосом в митозе. Этот метод основан на допущении, что плазмиды, содержащие в своем составе центромер и сайт начала репликации, наследуются сходно с тем, как наследуются нормальные хромосомы дрожжей. Этот подход широко применялся для исследования вклад центромерных и теломерных последовательностей, а также ассоциированных с ними белков в стабильное поддержание хромосомного набора в дрожжах (Shero et al., 1991). Используемая нами модификация данного метода позволяет оценить вклад термочувствительных условно-летальных аллелей в этот процесс и зарекомендовал себя как надежный метод оценки хромосомной стабильности (Hartwell, Smith, 1985; Strunnikov et al., 1993), в том числе и в случае использования мутантов субъединиц конденсина (Wang et al., 2005).

Наш подход основан на гипотезе, согласно которой при переносе участка ДНК достаточной длины из генома в мини-хромосому его способность связывания с конденсином сохраняется. Это подразумевает, что последовательность ДНК и соответствующая структура хроматина не изменяются на этом участке в составе мини-хромосомы и поэтому сохраняют высокую аффинность к конденсину даже вне контекста нативной хромосомы. Существенным допущением в нашем подходе является также и то, что конденсин не имеет дополнительных сайтов связывания в мини-хромосоме. Это допущение осно-

Таблица 2

Используемые штаммы дрожжей	
Штамм	Генотип
W303	<i>MATa leu2-3, 112 trp1-1 can1-100 ura3-1 ade2-1 his3-11, 15 [phi⁺]</i>
733-W303	<i>MATa 112 trp1-1 can1-100 ura3-1 ade2-1 his3-11, 15 [phi⁺] smc2-8::LEU2*</i>

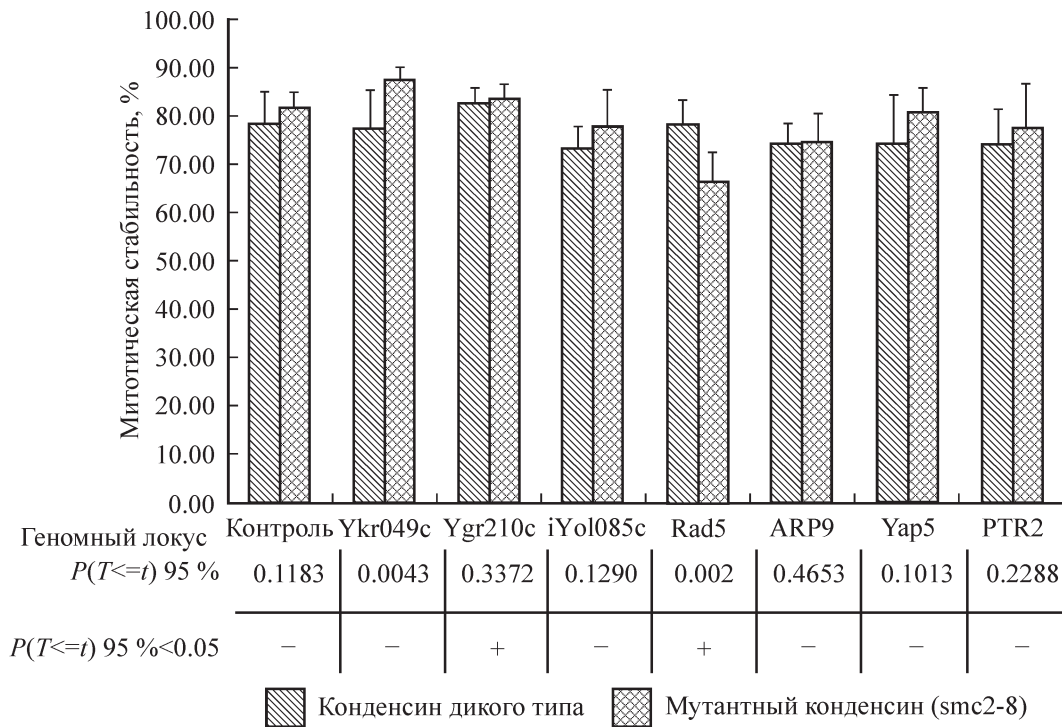


Рис. 2. Уровень стабильности мини-хромосом, содержащих различные локусы — участки связывания конденсина в геноме. По вертикали — среднее значение стабильности соответствующей плазмиды, полученное в результате серии экспериментов, %. По горизонтали: верхняя строка — название геномного локуса, представленного на мини-хромосоме; средняя строка — значение достоверности P , рассчитанное из значения t -критерия Стьюдента при коэффициенте значимости 0.05; нижняя строка — соответствие полученного значения P представленному уровню значимости; штамм дикого типа и мутантный, несущий аллель *smc2-8*, трансформировали соответствующими мини-хромосомами, значение стабильности определяли после 3-часовой инкубации при 37 °С; потерю плазмиды определяли по отсутствию трофического маркера; значения среднего квадратичного отклонения вычисляли на основе существующей выборки; контролем в данном эксперименте является мини-хромосома, не несущая вставки.

вано на том, что плаزمида pRS412 не несет участков связывания конденсина из генома и, как показали предварительные опыты, сама по себе не дестабилизирована в клетках с мутациями в генах конденсина. Таким образом, при включении в состав вектора участка связывания конденсина мы, с одной стороны, должны были ожидать повышения эффективности сегрегации, а с другой — появления зависимости эффективности сегрегации от конденсина.

Полученные мини-хромосомы были трансформированы в изогенные штаммы дрожжей: штамм дикого типа (*Smc2+*) и штамм, несущий термочувствительную мутацию в гене *SMC2* (*smc2-8*) (Freeman et al., 2000). Стабильность мини-хромосом определяли после 3-часовой инкубации трансформированных клеток в рестриктивных условиях (37 °С). За этот промежуток времени клетки проходят один цикл деления и соответственно должны проявлять зависимость от конденсина в случае мутации *smc2-8*. Первый результат анализа стабильности мини-хромосом заключался в том, что стабильность плазмид в клетках дикого типа не повышалась при введении сайта связывания конденсина по сравнению с контрольным вектором (без вставки) (рис. 2). Это может свидетельствовать о том, что данные сайты или не связаны с конденсином в составе мини-хромосом, или о том, что не все индивидуальные сайты связывания конденсина являются существенными элементами в стабильной сегрегации хромосом. Как в первом, так и во втором случае следует ожидать, что сегрегация таких мини-хромосом не будет зависеть от функциональности конденсина. И действительно, для большин-

ства мини-хромосом не наблюдалось статистически значимого изменения эффективности сегрегации при инактивации конденсина с помощью мутации *smc2-8* (рис. 2).

Исключение составляли два клонированных участка — *Ykr049c* и *RAD5*. В случае *RAD5* наблюдалось ожидаемое снижение стабильности мини-хромосом после временной инактивации конденсина (рис. 2). Это свидетельствует о том, что клонированный участок, скорее всего, содержит «проблемную» последовательность ДНК, сегрегация которой нуждается в присутствии функционально активного конденсина. Вероятно, такого рода последовательности и соответствуют сайтам связывания конденсина, которые обеспечивают высокую степень эффективности сегрегации нативных хромосом дрожжей в митозе.

Более сложная зависимость наблюдалась в случае *Ykr049c*. Как и в случае большинства других сайтов, это вставка не приводила к стабилизации мини-хромосом в штамме *Smc2+*, но выражалась в дополнительной стабилизации мини-хромосомы при инактивации конденсина (рис. 2). Этот феномен сложно объяснить однозначно, поэтому возможные трактовки мы переносим в раздел «Обсуждение».

Таким образом, в результате проведенного анализа мы выявили один сайт связывания конденсина (*RAD5*), который в составе мини-хромосом сохранял зависимость от полноты функционирования конденсина. Этот сайт, скорее всего, является примером участка связывания конденсина, определяющего надежность сегрегации нативных дрожжевых хромосом. Его обнаружение под-

тверждает нашу гипотезу об индивидуальной и локальной природе вклада сайтов, ассоциированных с конденсином, в митотическую стабильность хромосом.

Обсуждение

В результате проведенного анализа можно с высокой степенью уверенности утверждать, что далеко не все геномные сайты, обогащенные по конденсину, в нативных хромосомах дрожжей имеют внутренние детерминанты (например, последовательность ДНК или структуру хроматина), однозначно определяющие функциональную зависимость сегрегации этих участков от конденсина. Причиной этого может быть несколько факторов. Во-первых, возможно, что вырванные из хромосомного контекста такие сайты не связывают конденсин в той же степени, что и в нормальной хромосоме, а следовательно, возможно, и не нуждаются в его присутствии для успешной сегрегации. Другими словами, маловероятно, что данные сайты в составе мини-хромосомы играют ту же роль, что и в составе полноценной дрожжевой хромосомы. Это косвенно подтверждает гипотезу о том, что позиционирование сайтов конденсина определяется не конкретной последовательностью ДНК или локальной структурой хроматина, а является эпигенетическим следствием структурной организации всей митотической хромосомы, которая определяется многими факторами. Одним из наиболее вероятных факторов, определяющих положение сайтов связывания конденсина, является расположение участков терминации репликации ДНК (Wang et al., 2005).

Предшествующий анализ динамики связывания конденсина с геномными сайтами (Wang et al., 2005) показал, что большинство этих сайтов не обогащено конденсином в митозе по сравнению с интерфазой. Это не прямое, но убедительное указание на то, что большинство таких сайтов не являются функциональными элементами сегрегации хромосом. Возможно, многие сайты связывания участвуют в малоизученной функции конденсина в интерфазе (Xing et al., 2005; Tsang et al., 2007). Вместе с тем успешная сегрегация хромосом несомненно зависит от конденсина (Freeman et al., 2000; Ouspenski et al., 2000; Wang et al., 2006), а следовательно, среди множества хромосомных сайтов должны существовать подмножества, напрямую влияющие на сегрегацию хромосом. Показательным в этом случае является сайт *RAD5*, охарактеризованный в настоящей работе. Тот факт, что эта последовательность ДНК не стабилизирует мини-хромосомы в штамме дикого типа, указывает на то, что это, скорее всего, участок, «трудный» для сегрегации и, следовательно, требующий активности конденсина.

Случай с *Ykr049c* поддается объяснению труднее. Обратная зависимость стабильности этой мини-хромосомы от присутствия конденсина может быть наиболее достоверно объяснена с привлечением наших данных о вкладе конденсина в обеспечение остановки клеточного цикла (mitotic checkpoint) (Yong-Gonzales et al., 2007), а именно: данные говорят о том, что мутантный конденсин индуцирует митотический чекпоинт (задержку цикла в митозе) (Yong-Gonzales et al., 2007). Такая задержка, по-видимому, повышает вероятность сегрегации участков, обычно расходящихся позднее в анафазе, но не зависящих от функции конденсина напрямую. Эта гипотеза

за требует независимого изучения, для того чтобы получить ответ на вопрос о принципах стабилизации мини-хромосомы с *YKR049c* в штамме с мутацией конденсина *smc2-8*.

Итак, в настоящей работе мы показали, что большинство индивидуальных сайтов связывания конденсина или не вносят существенного вклада в сегрегацию хромосом, или связывание конденсина утрачивается при клонировании этих участков в мини-хромосомы. В соответствии с нашими недавними данными о перераспределении конденсина при перестройке кластеров генов рибосомальных РНК (рДНК) (Wang, Strunnikov, 2007) этот результат свидетельствует о том, что сайты связывания конденсина не являются строго детерминированными. Скорее всего, конденсин располагается на хромосоме в соответствии со сложившейся структурой всей хромосомы (эпигенетически). Вместе с тем обнаружение «сильных» конденсинзависимых сайтов (*RAD5*) открывает возможность изучения их функциональных элементов и характеристик в сравнительно простой экспериментальной модели мини-хромосом.

Список литературы

- Amberg D. C., Burke D. J., Strathern J. N. 2006. Isolation of yeast genomic DNA for Southern blot analysis. Cold Spring Harbor Protocols 2006. Cold Spring Harbor; New York: Cold Spring Harbor Lab. Press. 385 p.
- Freeman L., Aragon-Alcaide L., Strunnikov A. 2000. The condensin complex governs chromosome condensation and mitotic transmission of rDNA. J. Cell Biol. 149 : 811—824.
- Hartwel L. H., Smith D. 1985. Altered fidelity of mitotic chromosome transmission in cell cycle mutants of *S. cerevisiae*. Genetics. 110 : 381—395.
- Hirano T. 2006. At the heart of the chromosome: SMC proteins in action. Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 7 : 311—322.
- Losada A., Hirano T. 2005. Dynamic molecular linkers of the genome: the first decade of SMC proteins. Genes Develop. 19 : 1269—1287.
- Maeshima K., Eltsov M., Laemmli U. K. 2005. Chromosome structure: improved immunolabeling for electron microscopy. Chromosoma. 114 : 365—375.
- Ouspenski I. I., Cabello O. A., Brinkley B. R. 2000. Chromosome condensation factor Brn1p is required for chromatid separation in mitosis. Mol. Biol. Cell. 11 : 1305—1313.
- Shero J. H., Koval M., Spencer F., Palmer R. E., Hieter P., Koshland D. 1991. Analysis of chromosome segregation in *Saccharomyces cerevisiae*. 194 : 749—773.
- Sikorski R. S., Hieter P. 1989. A system of shuttle vectors and yeast host strains designed for efficient manipulation of DNA in *Saccharomyces cerevisiae*. Genetics. 122 : 19—27.
- Strunnikov A. V., Larionov V. L., Koshland D. 1993. SMC1: an essential yeast gene encoding a putative head-rod-tail protein is required for nuclear division and defines a new ubiquitous protein family. J. Cell Biol. 123 : 1635—1648.
- Surosky R. T., Newton C. S., Tye B. K. 1986. The mitotic stability of deletion derivatives of chromosome III in yeast. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 83 : 414—418.
- Swedlow J. R., Hirano T. 2003. The making of the mitotic chromosome: modern insights into classical questions. Mol. Cell. 11 : 557—569.
- Tsang C. K., Li H., Zheng X. S. 2007. Nutrient starvation promotes condensin loading to maintain rDNA stability. EMBO J. 26 : 448—458.
- Wang B. D., Butylin P., Strunnikov A. 2006. Condensin function in mitotic nucleolar segregation is regulated by rDNA transcription. Cell Cycle. 5 : 2260—2267.
- Wang B. D., Eyre D., Basrai M., Lichten M., Strunnikov A. 2005. Condensin binding at distinct and specific chromosomal sites

in the *Saccharomyces cerevisiae* genome. *Mol. Cell. Biol.* 25 : 7216—7225.

Wang B. D., Strunnikov A. 2007. Transcriptional homogenization of rDNA repeats in the episome-based nucleolus induces genome-wide changes in the chromosomal distribution of condensin. *Plasmid.* 59 : 45—53.

Wang B. D., Yong-Gonzalez V., Strunnikov A. V. 2004. Cdc14p/FEAR pathway controls segregation of nucleolus in *S. cerevisiae* by facilitating condensin targeting to rDNA chromatin in anaphase. *Cell Cycle.* 3 : 960—967.

Xing H., Wilkerson D. C., Mayhew C. N., Lubert E. J., Skaggs H. S., Goodson M. L., Hong Y., Park-Sarge O. K., Sarge K. D. 2005. Mechanism of hsp70i gene bookmarking. *Science.* 307 : 421—423.

Yong-Gonzalez V., Wang B. D., Butylin P., Ouspenski I., Strunnikov A. 2007. Condensin function at centromere chromatin facilitated proper kinetochore tension and ensures correct mitotic segregation of sister chromatids. *Genes Cells.* 12 : 1075—1090.

Поступила 22 II 2008

FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF THE INDIVIDUAL GENOMIC CONDENSIN BINDING SITES OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* USING MINICHROMOSOME MITOTIC SEGREGATION STABILITY MODEL

P. A. Butylin,^{1,2,*} A. V. Strunnikov²

¹ Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, Russia, and ² National Institutes of Health (NIH/NICHD), Bethesda, USA;
* e-mail: butylinp@gmail.com

Proper chromatin compaction in mitosis (condensation) is required for equal chromosome distribution and precise genetic information inheritance. Protein complex named condensin is responsible for the mitotic condensation, it also individualizes chromosomes, and ensures chromatin separation between sister chromatids in mitosis as well as proper mitotic spindle tension. Mitotic condensin function depends on recognition of the specific binding sites on the chromosome. Mechanism of condensin binding on the individual sites of the mitotic chromosomes, as well as molecular anatomy of these sites remains to be unclear. Even less known is how condensin binding on the individual sites helps separating chromosomes in anaphase. In current paper using minichromosome test, we analyze seven individual condensin binding sites in *Saccharomyces cerevisiae* found in previous all-genome CHIP on CHIP screening in our lab. This approach allowed us to find out what was the individual contribution of condensin binding sites in securing mitotic stability of the minichromosomes.

Key words: condensin, mitosis, *Saccharomyces cerevisiae*, minichromosomes, mitotic chromosome stability.