

단 보

분열효모에서 THO 복합체의 구성요소인 Tho2가 성장 및 mRNA export에 미치는 영향

고은진 · 윤진호*

성신여자대학교 생명과학·화학부 및 기초과학연구소

Effects of Tho2, a component of THO complex, on growth and mRNA export in fission yeast

Eun-Jin Koh and Jin Ho Yoon*

Basic Science Research Institute, School of Biological Science and Chemistry, Sungshin Women's University, Seoul 142-732, Republic of Korea

(Received May 26, 2015; Accepted June 23, 2015)

ABSTRACT: Tho2/THOC2 is a subunit of the THO complex that plays important roles in mRNP biogenesis connecting transcription with mRNA maturation and export. A fission yeast, *Schizosaccharomyces pombe*, ortholog of Tho2/THOC2 was identified from the genome database. Tetrad analysis showed that the *S. pombe* *tho2* is essential for growth. Repression or overexpression of the *tho2* gene caused growth defect with elongated cells, abnormal DNA distribution, and accumulation of poly(A)⁺ RNA in the nucleus. And the functional GFP-Tho2 protein is localized mainly in the nucleus. Yeast two-hybrid analysis showed that Tho2 interacted with Tex1, another subunit of THO complex. These results suggest that *S. pombe* Tho2 is also involved in mRNA export from the nucleus and is a component of THO complex.

Key words: *S. pombe*, mRNA export, THO complex, Tho2/Thoc2

진핵생물에서는 유전자 발현을 위해 핵 안에서 전사된 초기 mRNA가 가공(5' 캡핑, 스플라이싱, 3' 절단 및 폴리아데닐화)되어 성숙한 mRNP (messenger ribonucleoparticle)로 포장(packaging)된 후, 핵 막에 존재하는 핵공복합체(nuclear pore complex)를 통해 방출됨으로써 세포질에서 단백질로 해독된다. 이러한 진핵생물의 mRNA 합성, 가공, 포장 및 방출 과정들은 서로 밀접하게 연관되어 있는데, 전사과정 동안 유전자 부위로 모여들어 초기 mRNA로 옮겨가는 많은 단백질과 단백질 복합체들에 의해 매개되고 조절된다(Perales and Bentley, 2009; Stewart, 2010). 이러한 복합체 중 하나인 THO는 전사 신장을 mRNA 성숙 및 방출 과정과 연계하고 조직화함으로써 성숙한 mRNP 생성에 매우 중요한 역할을 담당하고 있다(Luna *et al.*, 2012).

출아효모인 *Saccharomyces cerevisiae*에서 전사 신장과정

에 중요한 역할을 하는 것으로 처음 알려진 THO 복합체는 5개의 소단위(Tho2, Hpr1, Mft1, Thp2, Tex1)로 구성되어 있으며(Chavez *et al.*, 2000; Pena *et al.*, 2012), RNA 중합효소 II의 가장 소단위인 Rbp1의 인산화된 C-말단 영역(CTD)과 직접 결합함으로써 전사가 활성화된 유전자 부위에 모여든다(Meinel *et al.*, 2013). 또한 THO는 mRNA 방출인자인 Yra1 (RNA-결합 단백질)와 Sub2 (DEAD box RNA helicase), 그리고 SR-유사인자인 Gbp2와 Hrb1와 함께 TREX (transcription and export)라 불리는 커다란 복합체를 형성한다(Strasser *et al.*, 2002; Hurt *et al.*, 2004). 전사되는 mRNA가 적절한 mRNP로 포장되는 동안, TREX는 mRNA로 이동하여 결합하는 것으로 여겨진다(Abruzzi *et al.*, 2004). mRNA에 결합한 TREX 구성요소인 Yra1과 Hpr1은 필수적인 mRNA 방출운반체(export receptor)인 Mex67를 mRNP로 불러들임으로써 성숙한 mRNA의 방출에 관여한다(Strasser *et al.*, 2002; Zenklusen *et al.*, 2002). 뿐만 아니라, TREX는 스플라이싱과 전사 신장에 관여하

*For correspondence. E-mail: jhoyoon@sungshin.ac.kr;
Tel.: +82-2-920-7675; Fax: +82-2-920-2047

는 Prp19 복합체와도 상호작용하는 것이 밝혀졌으며(Chanarat *et al.*, 2011), Pcf11과 상호작용을 통해 mRNA의 3' 말단 가공 과정에도 관여한다(Rougemaille *et al.*, 2008; Johnson *et al.*, 2011). 또한 전사된 mRNA가 적절한 mRNP로 포장되지 않으면 주형 DNA와 분리되지 않아서 RNA/DNA 혼성 루프(R-loop)를 형성하는데, TREX는 이것의 형성을 방지함으로써 유전체의 안정성을 높이고, 전사-연계 DNA 수선(transcription-coupled DNA repair) 기작에도 관여하는 것으로 알려졌다(Aguillera, 2002; Gaillard *et al.*, 2007).

이와 같이 mRNA 생성 및 방출과 유전체 안정성 등에 다양한 역할을 보이는 THO/TREX 복합체의 기능은 대부분 출아효모인 *S. cerevisiae*에서 연구되었지만, THO 복합체는 다양한 진핵 생명체에 진화적으로 잘 보존되어 있다. 하지만 THO 구성요소 중에서 주요 소단위인 Hpr1 (포유동물에서는 THOC1), Tho2 (THOC2)와 Tex1 (THOC3)는 연구된 대부분의 진핵생물에서 잘 보존되어 있지만 Mft1와 Thp2는 출아효모에만 특이적인 것으로 보인다. 반면 고등생물의 THO 복합체는 잘 보존된 THOC1, THOC2, THOC3 이외에 THOC5, THOC6, THOC7 등의 총 6개의 소단위로 구성되어 있다(Rehwinkel *et al.*, 2004; Masuda *et al.*, 2005). 또한, 전사-의존적으로 mRNA에 결합하는 출아효모와는 다르게, 사람의 THO/TREX 복합체는 exon junction complex (EJC) 그리고 캡-결합(cap-binding) 단백질인 CBP80과 상호작용함으로써 mRNA의 5' 말단 쪽에 스플라이싱 및 캡-의존적으로 결합한다(Masuda *et al.*, 2005; Cheng *et al.*, 2006). 이는 대부분의 출아효모 유전자는 인트론이 없고 고등생물의 유전자에는 대부분 인트론이 존재하는 차이점에 기인하는 것으로 여겨진다. 고등생물의 THO 복합체는 비록 구성과 mRNA에 결합하는 방식이 출아효모와 다르지만, 출아효모와 마찬가지로 UAP56 (Sub2의 상동체), ALY/REF (Yra1의 상동체)와 함께 TREX 복합체를 형성하여, mRNA 생성과 방출에 관여하는 것으로 보인다(Katahira *et al.*, 2009; Guria *et al.*, 2011).

Tho2/THOC2 단백질과 유사한 분열효모 *Schizosaccharomyces pombe*의 단백질을 암호화하는 open reading frame (ORF)인 SPAC1D4.14을 *S. pombe* 유전체 database인 Pombase (www.pombase.org)에서 찾았다. 이 ORF는 인트론이 1개 있으며, 1,628개 아미노산으로 이루어진 예상 분자량 188.8 kDa, 등전점이 pH 8.2인 단백질을 암호화하고 있다. 본 연구에서는 Tho2/THOC2의 분열효모 이종상동체(ortholog)가 성장 및 mRNA 방출에 관여하는지, 그리고 분열효모의 다른 THO 구성요소들과 상호결합하는지를 조사하였다. 본 실험에서는 이전에 기술된 분열효모의 유전학적 방법과 배양 방법을 사용하

였다(Moreno *et al.*, 1991; Alfa *et al.*, 1993). 선별유전자로 *Kan^r*를 사용하여 $\Delta tho2$ 결실돌연변이 균주를 만들기 위해서 double-joint PCR 방법으로 $\Delta tho2::Kan^r$ DNA 절편을 제작한 후, 이배체 야생형 균주인 SP286 ($h^+/h^+ leu1-32/leu1-32 ura4-d18/ura4-d18 ade6-210/ade6-216$)에 형질전환하는 one-step gene disruption 방법을 사용하였다. 항진균제인 G418이 첨가된 배지에서 자라는 형질전환체를 얻은 후, $\Delta tho2$ 결실돌연변이를 선별하기 위해 형질전환체의 DNA를 추출하여 PCR을 수행하였다. 대조균으로 사용한 야생형인 균주에서는 6.9 kb의 DNA만이 증폭되는 것에 비해 3.4 kb도 증폭되는 결실돌연변이를 선별하였으며, *kan^r*에 존재하는 프라이머와 *tho2⁺* 유전자의 5'쪽 또는 3'쪽 프라이머를 각각 사용하여 야생형에서는 아무것도 증폭되지 않지만 결실돌연변이에서는 각각 1.1 kb와 0.9 kb DNA가 증폭되는 것도 확인하였다(Fig. 1A). 이렇게 얻은 이배체 SP286 ($\Delta tho2$) 균주는 2개의 *tho2⁺* 유전자 중 하나만 *kan^r* 유전자로 치환되어 있으므로, *tho2⁺* 유전자가 결실된 반수체를 얻기 위해 감수분열에 의해 생성된 자낭포자의 4분체(tetrad) 분석을 수행하였다. 분석한 10개의 사분체는 모두 자낭에 있는 4개의 포자 중 2개만 콜로니로 성장하고 2개는 성장하지 못하는 2:2 분리양상을 보였다. 콜로니를 형성한 포자는 모두 *tho2⁺* 유전자가 야생형인 반수체로 G418이 들어간 배지에서 자라지 못하였다(자료 미제시). 이러한 결과는 분열효모의 *tho2⁺* 유전자는 또 다른 THO 복합체의 구성요소인 *hpr1⁺* 유전자와 마찬가지로 성장에 필수적임을 의미한다(Lee and Yoon, 2012). 이와 같은 결과는 온도민감성(temperature-sensitivity)은 보이지만 최적성장 온도에서는 필수적이지 않은 출아효모 *S. cerevisiae*의 THO와는 다르게, 분열효모의 THO 복합체는 성장에 필수적인 유전자들의 발현에 중요하다는 것을 암시한다.

tho2⁺ 유전자가 성장에 필수적이므로 mRNA 방출에는 영향을 주는지를 알아보기 위해 *tho2⁺* 유전자의 발현이 억제(repression)되거나 과발현(over-expression)되는 균주를 제작하였다. 먼저 티아민(비타민 B1)에 의해 발현이 억제되는 *nmt1* 프로모터와 전사종결 부위 사이에 *tho2⁺* 유전자의 ORF를 클로닝하여 81X-Tho2와 3X-Tho2 벡터를 제작하였다(Maundrell, 1993). 이 벡터를 이배체 SP286 ($\Delta tho2$) 균주에 형질전환시킨 후, 이 균주로부터 81X-Tho2 벡터를 가진 반수체 $\Delta tho2$ 결실돌연변이 균주를 선별하였다. 예상한 바와 같이, 이 균주는 티아민이 없는 배지(-B1)에서는 *tho2⁺* 유전자가 발현되어 대조균인 야생형 균주처럼 정상적인 성장을 보였지만, 티아민이 첨가된 배지(+B1)에서는 *tho2⁺* 유전자의 발현이 억제되어 성장이 멈추었다(Fig. 1B). 세포 내의 poly(A)⁺RNA

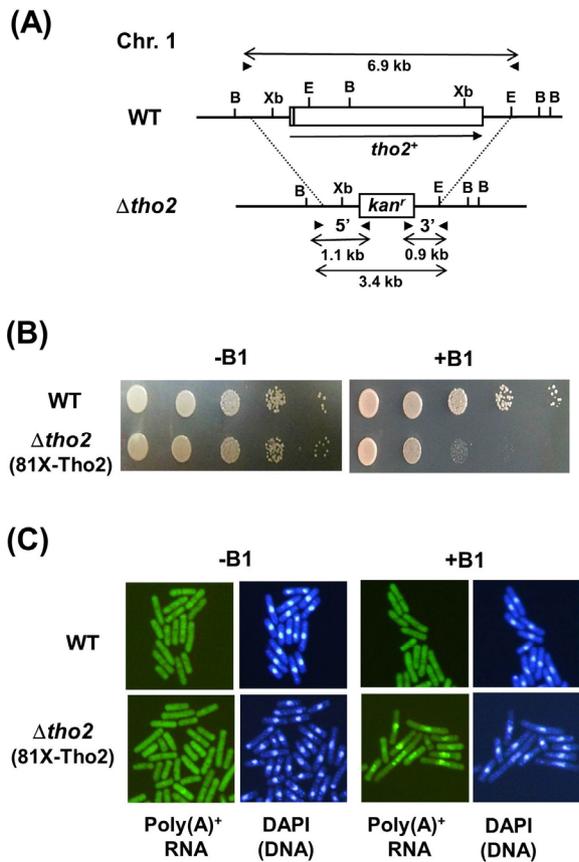


Fig. 1. *S. pombe* *tho2* is essential for growth and mRNA export. (A) A schematic representing the $\Delta tho2$ deletion allele in *S. pombe*. The entire *tho2* ORF region was replaced by *kan'*. The *tho2* (SPAC1D4.14) ORF is shown by an open box and one intron is denoted by vertical line in the open box. The direction of transcription is indicated by arrow under the ORF. The positions of PCR primers for confirmation of wild type and deletion allele are indicated by arrowheads. The size of PCR products is denoted under the arrows. B, *Bam*HI; E, *Eco*RI; Xb, *Xba*I. (B) Growth of haploid wild-type *tho2*⁺ (WT) cells and $\Delta tho2$ deletion mutant cells harboring 81X-Tho2 plasmid were monitored by spot assay on appropriately supplemented EMM medium in the presence (+B1) and the absence (-B1) of thiamine. Cells were incubated for 3 and 4 days at 30°C, respectively. (C) Poly(A)⁺ RNA localization. Cells were grown to the mid-log phase and then shifted to EMM medium without (-B1) or with (+B1) thiamine, and were grown for 18 h at 30°C. Coincident DAPI staining is shown in the right panels.

의 분포를 이전 논문에 언급한 fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 방법을 사용하여 관찰하였다(Yoon *et al.*, 2000). Fig. 1C에서 보듯이 야생형(WT) 균주에서는 poly(A)⁺ RNA가 정상적으로 세포 전체에 거의 균일하게 분포하였다. 반면, 81X-Tho2 벡터에서 *tho2*⁺가 발현되는 $\Delta tho2/81X$ -Tho2 균주는 티아민이 없는 배지(-B1)에서는 야생형과 비슷하게 정상적인 poly(A)⁺ RNA 분포를 보였지만, *tho2*⁺의 발현이 억제되는 티아민이 첨가된 배지(+B1)에서는 핵 안에 poly(A)⁺ RNA가 축적되는 것이 관찰되었다. 이러한 결과들은 분열효모의 Tho2/

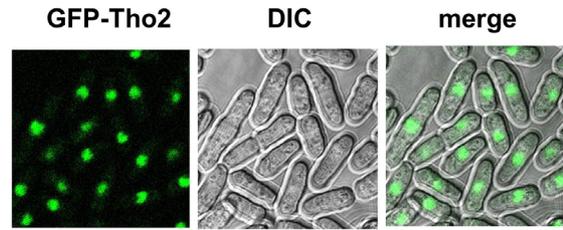


Fig. 2. Localization of Tho2 protein fused to GFP. Tho2 was tagged with GFP at its amino-terminal (GFP-Tho2). An integrated version of the *gfp-tho2* fusion was constructed at the *tho2* locus, and the localization of the fusion protein was determined. Green fluorescent image (GFP) and coincident differential interference contrast image (DIC) are shown. And the merged image of both is also presented in the right panel.

THOC2 상동체도 mRNA 방출에 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다. 또한 *tho2*의 발현이 억제되는 경우에는 세포의 길이가 길어지고, 4', 6'-diamidino-2'-phenylindole (DAPI)로 염색한 DNA 분포 양상도 비정상적으로 퍼져 보였다(Fig. 1C). 이것은 Tho2가 결핍되면 핵의 유사분열(mitosis)에 이상이 생겨 생활주기 중 G2기가 길어지는 것을 암시한다. 또한, Tho2 단백질이 정상보다 훨씬 많이 과발현(over-expression)되는 경우에도 정도는 좀 약하지만 Tho2가 결핍될 때와 유사한 표현형이 관찰되었다(자료 미제시).

다음으로 Tho2 단백질의 세포 내 위치를 알아보기 위하여 GFP 유전자를 *tho2*의 ORF의 5' 말단에 붙인 *gfp-tho2::kan'* DNA 절편을 제작하여 야생형 반수체 균주인 AY217 (*h' leu1-32 ura4-d18*)에 형질전환하여 *tho2* 유전자 위치에 삽입하였다. 이렇게 제작한 균주는 생장과 poly(A)⁺ RNA 분포가 야생형 균주와 거의 차이가 없는 것으로 보이므로 GFP-Tho2 융합 단백질이 정상적인 기능을 하는 것으로 여겨진다(자료 미제시). 이 균주에서 GFP-Tho2의 세포 내 위치를 형광현미경으로 관찰한 결과, 세포질에서도 약간 존재하였지만 대부분 핵 안에서 관찰되었다(Fig. 2). 핵 안에 존재하는 Tho2 단백질의 위치는 핵 안에서 기능을 하는 THO 복합체와 잘 부합한다.

출아효모 *S. cerevisiae*의 THO 복합체는 5종류의 단백질(Hpr1, Tho2, Mft1, Thp2, Tex1)로 이루어진 반면, 고등생물에서는 6종류의 단백질(Hpr1/THOC1, Tho2/THOC2, Tex1/THOC3, THOC5, THOC6, THOC7)로 구성되어 있다. 흥미롭게도 분열효모 *S. pombe*의 THO 복합체는 출아효모보다 고등생물과 더 비슷해 보인다. 유전체 정보에 의하면 *S. pombe*에는 잘 보존된 3종류의 단백질(Hpr1/THOC1, Tho2/THOC2, Tex1/THOC3) 이외에 고등생물의 THOC5와 THOC7의 상동체가 존재하는 반면, *S. cerevisiae*의 Thp2와 Mft1의 상동체는 없었다. 분열효모의 THOC7상동체는 Mft1와 유사도가 매우 낮았다(Koh and Yoon, 2014). 그러므로 실제로 출아효모의 Tho2/

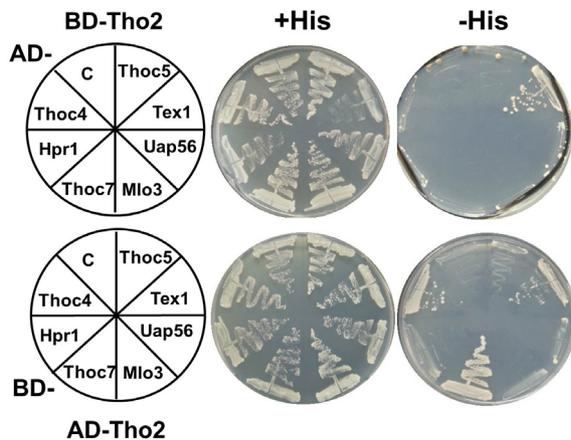


Fig. 3. Yeast two-hybrid interactions between Tho2 and Tex1. The plasmids transformed into L40 strain are indicated at the left of the pictures. In the upper panels, Tho2 is fused to DNA binding domain (BD-Tho2) and another components of THO/TREX complex are fused to activator domain of GAL4, respectively (AD-X). In the lower panels, Tho2 is fused to activator domain of GAL4 (AD-Tho2). C represents empty vectors. Transformants were streaked onto SC plates plus histidine (+His) or minus histidine (-His), followed by incubation for 3-5 days at 30°C.

THOC2의 상동체가 다른 THO 구성요소와 상호결합 하는지를 알아보기 위해 yeast two-hybrid 분석을 하였다. 이를 위해 *lexA* 작동자 DNA 결합 영역을 가진 pTlexA4 벡터와 GAL4 활성화 영역을 가진 pGAD424 벡터(Clontec Laboratories, Inc.)에 *S. pombe* THO/TREX의 Hpr1/THOC1, Tho2/THOC2, Tex1/THOC3, THOC5, THOC7, Uap56 (출아효모 Sub2의 상동체), Mlo3 (출아효모 Yra의 상동체)를 각각 클로닝하고, 이들의 염기서열을 DNA sequencing을 통해 확인하였다. 이렇게 제작한 벡터들과 대조군인 빈 벡터를 L40 균주(*MATa his3Δ200 trp1-901 leu2-3112 ade2 LYS::4lexAop-HIS3 URA3::8lexAop-LacZ GAL4*)에 형질전환하였다. 먼저 pTlexA4 벡터의 DNA 결합 영역과 융합된 Tho2 (BD-Tho2)가 홀로 존재할 때는 리포터인 *HIS3* 유전자를 발현시키지 못하는 것을 확인하기 위해, BD-Tho2와 활성화 영역을 가진 빈 pGAD424 벡터(AD-C)를 함께 형질전환하였다. 기대한 바와 같이 BD-Tho2와 AD-C를 함께 가진 형질전환체는 히스티딘이 없는 최소배지에서 성장하지 못했다(Fig. 3). BD-Tho2와 pGAD424 벡터에 클로닝된 THO/TREX 구성요소의 형질전환체 조합 중에서, BD-Tho2와 AD-*Tex1*을 함께 가진 형질전환체만이 히스티딘이 없는 최소배지에서 성장하였다. 빈 pTlexA4 벡터(BD-C)와 AD-*Tex1*를 함께 가진 형질전환체는 최소배지에서 성장하지 못하므로(자료 미제시), 이러한 two-hybrid 실험 결과는 Tho2와 *Tex1* 사이에 물리적인 상호작용이 있음을 의미한다. Tho2와 *Tex1*의 상호작용을 확인하기 위해, 앞의 실험과 반대로

pGAD424 벡터의 활성화 영역에 융합된 Tho2 (AD-Tho2)와 pTlexA4 벡터에 클로닝된 THO/TREX 구성요소의 조합으로 two-hybrid 분석을 하였다(Fig. 3). 음성 대조군 조합으로 AD-Tho2와 빈 벡터인 BD-C을 가진 형질전환체는 히스티딘이 없는 최소배지에서 성장하지 못했다. 이번에도 AD-Tho2와 BD-*Tex1*을 함께 가진 형질전환체는 최소배지에서 성장하였다. 더욱이 이번 실험에서는 AD-Tho2와 BD-*Thoc4*, AD-Tho2와 BD-*Thoc7*을 가진 형질전환체도 히스티딘이 없는 최소배지에서 성장하였다. 하지만 BD-*Thoc4* 또는 BD-*Thoc7*을 홀로 가진 형질전환체도 최소배지에서 성장하였다(자료 미제시). 그러므로 이러한 결과는 Thoc4 또는 Thoc7가 Tho2와 상호작용한 것이 아니고, Thoc4와 Thoc7이 각각 단독으로 리포터 유전자를 발현시킬 수 있는 활성을 갖고 있음을 의미한다. Thoc4와 Thoc7가 어떻게 전사를 활성화시킬 수 있는지에 대한 가능성은 좀 더 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

진핵생물 영역에서 잘 보존된 THO/TREX 복합체는 유전자 발현에 중요한 역할을 담당한다. 출아효모 THO 구성요소들은 모두 생장에 필수적이지 않고, 이들 유전자들의 돌연변이는 모두 비슷한 표현형을 보이므로 THO 복합체는 하나의 기능적 단위로 작용하는 것으로 보인다(Luna *et al.*, 2012). 하지만 *S. pombe*에서는 Hpr1/THOC1, Tho2/THOC2 상동체는 생장에 필수적이고 나머지 인자들은 생장에 필수적이지 않다. 이는 분열효모에서는 THO 복합체 구성요소들의 기능이 출아효모와는 달리 세분화되어 있음을 시사한다. 그러므로 *S. pombe*의 THO/TREX의 기능을 연구하는 것은 진핵세포의 일반적인 그리고 종 특이적인 THO 복합체의 역할을 이해하는데 도움이 될 것으로 사료된다.

적 요

Tho2/THOC2는 전사 과정을 mRNA 성숙 및 방출과 연결함으로써 mRNP의 생성에 중요한 역할을 담당하는 THO 복합체의 구성인자이다. 분열효모 *Schizosaccharomyces pombe*의 유전체 데이터에서 Tho2/THOC2의 이종상동체를 찾아 기능을 분석하였다. 4분체 분석 결과가 이 유전자는 생장에 필수적이었다. *S. pombe tho2* 유전자의 발현을 억제하거나 과발현시키면 생장이 저해되는데, 세포의 길이가 길어지고 비정상적인 DNA 분포와 poly(A)⁺ RNA가 핵 안에 축적되는 표현형을 보였다. 또한 정상적인 기능을 가진 GFP-Tho2 단백질은 주로 핵 안에 존재하였다. Yeast two-hybrid 분석에서 Tho2는 THO 복합체의 또 다른 구성인자인 *Tex1*과 상호작용을 하였다. 이와 같은

결과들은 *S. pombe*의 Tho2 상동체도 THO 복합체의 구성인자로 mRNA 방출에 관여하고 있음을 시사한다.

감사의 말

이 논문은 2013년도 성신여자대학교 학술연구조성비 지원에 의하여 연구되었음.

References

- Abruzzi, K.C., Lacadie, S., and Rosbash, M.** 2004. Biochemical analysis of TREX complex recruitment to intronless and intron-containing yeast genes. *EMBO J.* **23**, 2620–2631.
- Aguilera, A.** 2002. The connection between transcription and genomic instability. *EMBO J.* **21**, 195–201.
- Alfa, C., Fantes, P., Hyams, J., Mcleod, M., and Warbrick, E.** 1993. Experiments with Fission Yeast. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, USA.
- Chanarat, S., Seizl, M., and Strässer, K.** 2011. The Prp19 complex is a novel transcription elongation factor required for TREX occupancy at transcribed genes. *Genes Dev.* **25**, 1147–1158.
- Chavez, S., Beilharz, T., Rondon, A.G., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P., Svejstrup, J.Q., Lithgow, T., and Aguilera, A.** 2000. A protein complex containing Tho2, Hpr1, Mft1 and a novel protein, Thp2, connects transcription elongation with mitotic recombination in *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J.* **19**, 5824–5834.
- Cheng, H., Dufu, K., Lee, C.S., Hsu, J.L., Dias, A., and Reed, R.** 2006. Human mRNA export machinery recruited to the 5' end of mRNA. *Cell.* **127**, 1389–1400.
- Gaillard, H., Wellinger, R.E., and Aguilera, A.** 2007. A new connection of mRNP biogenesis and export with transcription-coupled repair. *Nucleic Acids Res.* **35**, 3893–3906.
- Guria A., Tran, D.D., Ramachandran, S., Koch, A., El Bounkari, O., Dutta, P., Hauser, H., and Tamura, T.** 2011. Identification of mRNAs that are spliced but not exported to the cytoplasm in the absence of THOC5 in mouse embryo fibroblasts. *RNA* **17**, 1048–1056
- Hurt, E., Luo, M.J., Röther, S., Reed, R., and Strässer, K.** 2004. Cotranscriptional recruitment of the serine-arginine-rich (SR)-like proteins Gbp2 and Hrb1 to nascent mRNA via the TREX complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 1858–1862.
- Johnson, S.A., Kim, H., Erickson, B., and Bentley, D.L.** 2011. The export factor Yra1 modulates mRNA 3' end processing. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **18**, 1164–1171.
- Katahira, J., Inoue, H., Hurt, E., and Yoneda, Y.** 2009. Adaptor Aly and co-adaptor Thoc5 function in the Tap-p15-mediated nuclear export of HSP70 mRNA. *EMBO J.* **28**, 556–567.
- Koh, E. and Yoon, J.H.** 2014. Effects of spThoc7 deletion on growth and mRNA export in fission yeast. *Korean J. Microbiol.* **50**, 249–253.
- Lee, H. and Yoon, J.H.** 2012. Effects of the repression of sphpr1 expression on growth and mRNA export in fission yeast. *Korean J. Microbiol.* **48**, 171–174.
- Luna, R., Rondón, A.G., and Aguilera, A.** 2012. New clues to understand the role of THO and other functionally related factors in mRNP biogenesis. *Biochim. Biophys. Acta.* **1819**, 514–520.
- Masuda, S., Das, R., Cheng, H., Hurt, E., Dorman, N., and Reed, R.** 2005. Recruitment of the human TREX complex to mRNA during splicing. *Genes Dev.* **19**, 1512–1517.
- Maudrell, K.** 1993. Thiamine-repressible expression vectors pREP and pRIP for fission yeast. *Gene* **123**, 127–130.
- Meinel, D.M., Burkert-Kautzsch, C., Kieser, A., O'Duibhir, E., Siebert, M., Mayer, A., Cramer, P., Söding, J., Holstege, F.C., and Sträßer, K.** 2013. Recruitment of TREX to the transcription machinery by its direct binding to the phospho-CTD of RNA polymerase II. *PLoS Genet.* **9**, e1003914.
- Moreno, S., Klar, A., and Nurse, P.** 1991. Molecular genetic analysis of fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Methods Enzymol.* **194**, 795–823.
- Peña, A., Gewartowski, K., Mroczek, S., Cuéllar, J., Szykowska, A., Prokop, A., Czamocki-Cieciura, M., Piwowarski, J., Tous, C., Aguilera, A., et al.** 2012. Architecture and nucleic acids recognition mechanism of the THO complex, an mRNP assembly factor. *EMBO J.* **31**, 1605–1616.
- Perales, R. and Bentley, D.** 2009. “Cotranscriptionality”: the transcription elongation complex as a nexus for nuclear transactions. *Mol. Cell* **36**, 178–191.
- Rehwinkel, J., Herold, A., Gari, K., Köcher, T., Rode, M., Ciccarelli, F.L., Wilm, M., and Izauralde, E.** 2004. Genome-wide analysis of mRNAs regulated by the THO complex in *Drosophila melanogaster*. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **11**, 558–566.
- Rougemaille, M., Dieppois, G., Kisseleva-Romanova, E., Gudipati, R.K., Lemoine, S., Blugeon, C., Boulay, J., Jensen, T.H., Stutz, F., Devaux, F., et al.** 2008. THO/Sub2p functions to coordinate 3'-end processing with gene-nuclear pore association. *Cell* **135**, 308–321.
- Stewart, M.** 2010. Nuclear export of mRNA. *Trends Biochem. Sci.* **35**, 609–617.
- Strasser, K., Masuda, S., Mason, P., Pfannstiel, J., Oppizzi, M., Rodríguez-Navarro, S., Rondon, A.G., Aguilera, A., Struhl, K., Reed, R., et al.** 2002. TREX is a conserved complex coupling transcription with messenger RNA export. *Nature* **417**, 304–308.
- Yoon, J.H., Love, D., Guhathakurta, A., Hanover, J.A., and Dhar, R.** 2000. Mex67p of *Schizosaccharomyces pombe* interacts with Rae1p in mediating mRNA export. *Mol. Cell. Biol.* **20**, 8767–8782.
- Zenkhusen, D., Vinciguerra, P., Wyss, J.C., and Stutz, F.** 2002. Stable mRNP formation and export require cotranscriptional recruitment of the mRNA export factors Yra1p and Sub2p by Hpr1p. *Mol. Cell. Biol.* **22**, 8241–8253.