

분열효모에서 Thp1/PCID2의 이종상동체인 SPAC1B3.08이 mRNA 방출에 미치는 영향

박진희 · 윤진호* 

성신여자대학교 바이오생명공학과

Effects of SPAC1B3.08, ortholog of Thp1/PCID2, on mRNA export in fission yeast

Jin Hee Park and Jin Ho Yoon* 

Department of Biotechnology, Sungshin Women's University, Seoul 01133, Republic of Korea

(Received May 27, 2019; Revised June 4, 2019; Accepted June 5, 2019)

Thp1/PCID2 is a subunit of the evolutionally conserved TREX-2 complex, which is required for transcription-coupled mRNA export from the nucleus to the cytoplasm. In fission yeast, *Schizosaccharomyces pombe*, there are two orthologs of the Thp1/PCID2 protein. In addition to *pci2* (SPBC1105.07c) gene, SPAC1B3.08 gene encodes a PCI domain-containing protein that is predicted as a component of TREX-2 complex. Over-expression of SPAC1B3.08 cause slight defects of both growth and mRNA export. Yeast two-hybrid and co-immunoprecipitation analysis exhibits that the SPAC1B3.08 protein interacted with Sac3 and Dss1, which are another components of TREX-2 complex. These observations support the possibility that the *S. pombe* SPAC1B3.08 protein, as a component of TREX-2 complex, is involved in mRNA export.

Keywords: *S. pombe*, mRNA export, orthologs of Thp1/PCID2, TREX-2 complex

핵에서 전사되고 가공된 mRNA가 핵막에 존재하는 핵공복합체(nuclear pore complex, NPC)를 통해 세포질로 방출되는 과정은 진핵세포에서 단백질질을 암호화하고 있는 유전자의 발현에 매우 중요한 과정이다(Stewart, 2010; Katahira, 2015). 성

숙한 mRNA의 핵에서 세포질로의 방출은 mRNA의 전사와 가공(5' 말단의 캡핑, 스플라이싱, 3' 말단의 절단 및 폴리아데닐화 등) 과정들과 긴밀히 연결되고 상호 조절되는데, 진화적으로 보존된 많은 인자들과 복합체들이 관여한다(Kohler and Hurt, 2007; Rodriguez-Navarro and Hurt, 2011).

출아효모인 *Saccharomyces cerevisiae*에서 처음 알려진 TREX-2 복합체(Transcription-Export complex 2)는 핵공복합체의 nuclear basket 구조에 안정적으로 결합하고 있으며(Fischer *et al.*, 2002), mRNA 생성의 여러 단계들을 방출과 연결하는 것으로 알려졌다(Gallardo *et al.*, 2003; Kohler and Hurt, 2007; Garcia-Oliver *et al.*, 2012). 이외에도 출아효모의 TREX-2는 다양한 생물학적인 역할에 관여하는 것으로 알려졌다. TREX-2 돌연변이체에는 R-loop로 불리는 DNA:RNA 혼성체가 축적되고, 이로 인해 전사 신장에 문제가 생기면서 전사-의존적인 DNA 재조합이 증가한다(Tous and Aguilera, 2007; Bhatia *et al.*, 2014). 또한 TREX-2는 유전체의 안정성과 DNA 복제에도 연관되어 있으며(Gonzalez-Aguilera *et al.*, 2008; Bermejo *et al.*, 2011), 활발히 전사되는 유전자(*GAL1* 등)들의 위치를 핵막 근처로 이동시키는 gene-NPC targeting (gene gating으로도 불림)에도 관여하는 것으로 밝혀졌다(Jani *et al.*, 2014). *S. cerevisiae*의 TREX-2는 Sac3, Thp1, Sem1, Sus1, Cdc31 등 5종류의 단백질로 구성되어 있는데, Sac3 단백질이 중심 scaffold를 형성하고 나머지 단백질들이 Sac3에

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

결합하고 있는 형태로써 3개의 모듈 구조로 나눌 수 있다 (Fischer *et al.*, 2002). N-말단 영역은 Sac3의 1~100 아미노산 잔기 부위로 mRNA 방출인자인 Mex67-Mtr2와 결합할 수 있고, M-영역은 Sac3의 100-551잔기 부위와 Thp1, Sem1 단백질로 구성되어 있으며(Ellisdon *et al.*, 2012), CID-영역은 Sac3의 720-805잔기 부위와 Cdc31, Sus1 단백질로 구성되어 핵공복합체와 결합하는 것으로 알려져 있다(Jani *et al.*, 2009). TREX-2는 효모에서 사람까지 진화적으로 보존되어 있다. 사람의 TREX-2도 핵공복합체와 안정적으로 결합하며 mRNA 방출에 관여하고(Wickramasinghe *et al.*, 2010; Umlauf *et al.*, 2013), 전사 보조활성자인 SAGA 복합체와 함께 효과적인 DNA 수선과 상동재조합에도 관여하는 것으로 밝혀졌다(Evangelista *et al.*, 2018). 출아효모와 상응하는 포유동물의 TREX-2 단백질은 각각 GANP (효모 Sac3의 이종상동체), PCID2 (Thp1), DSS1 (Sem1), ENY2 (Sus1), centrin2/3 (Cdc31)이며, 일반적인 모듈 구조도 출아효모와 유사하다(Jani *et al.*, 2012).

Thp1/PCID2 단백질은 Sac3/GANP의 100-551잔기 부위와 함께 M-영역을 구성하고 있는데, 두 단백질 모두 α -나선을 형성하는 여러 개의 TPR (tetratricopeptide)-like 모티브들로 이루어진 도메인과 winged helix 도메인으로 이루어진 PCI 접힘 구조를 가지고 있다(Ellisdon *et al.*, 2012). 두 단백질의 PCI 접힘 구조는 나란히 위치하여, DNA와 RNA가 결합할 수 있는 플랫폼을 제공할 뿐만 아니라 전사 매개자 복합체(Mediator complex)와도 상호작용하여 전사 활성화 및 mRNA 방출에 관여한다(Schneider *et al.*, 2015; Schubert and Köhler, 2016; Gordon *et al.*, 2017). Sem1/Dss1 단백질은 Thp1/PCID2에 결합하여 M-영역의 구조를 안정화시키는 것으로 알려져 있다(Faza *et al.*, 2009).

흥미롭게도 분열효모인 *Schizosaccharomyces pombe*의 유전체 데이터베이스인 PomBase (Sanger Center)에는 TREX-2의 주요 단백질인 Thp1/PCID2의 이종상동체(ortholog)로 추정되는 단백질을 암호화하는 유전자가 2개 존재한다(SPBC1105.07c와 SPAC1B3.08). 즉, *S. cerevisiae*의 Thp1과는 다르게 *S. pombe*에는 2개의 동종상동체(paralog)가 존재한다. Systematic ID가 SPBC1105.07c인 *pci2* 유전자는 생장에 필수적이며, TREX-2 복합체의 구성요소인 Sac3와 Dss1 결합하여 mRNA 방출에 관여함이 밝혀졌다(Park and Yoon, 2018). 또 다른 유전자인 SPAC1B3.08은 *pci2*와는 다르게 생장에 필수적이지 않고, 423개 아미노산으로 구성된 예상 분자량 48.04 kDa, 등전점 pH 9.97인 단백질을 암호화하고 있다. NCBI (National Center for Biotechnology Information)에서 제공하는 Global Alignment 및 다중서열정렬(multiple sequence alignment) 도

구인 COBALT 프로그램을 사용하여 두 단백질의 아미노산 서열을 분석하였다. 두 단백질은 42.4%의 비교적 낮은 유사성을 보이지만 유사 정도는 특정 영역에 국한되지 않고 단백질 전체에 퍼져 있고, Thp1/PCID2 단백질의 구조적 특징인 PCI 접힘 구조(Proteasome lid, CSN, eIF3 복합체 등에서 발견되는 단백질 scaffold 구조)는 두 단백질에 모두 잘 보존되어 있었다(Gordon *et al.*, 2017). COBALT 프로그램을 사용하여 분열효모의 두 단백질과 출아효모의 Thp1, 다른 진핵생물의 PCID2 단백질들의 계통수(neighbor-joining tree)를 작성하였다(Fig. 1). 분열효모의 두 단백질은 출아효모의 Thp1보다 고등생물의 PCID2 단백질들과 더 유사하였으며, 두 단백질 중 SPAC1B3.08가 Pci2보다 고등생물의 PCID2 단백질들과 더 가까웠다. 본 연구에서는 SPAC1B3.08도 유전체 데이터베이스의 예상처럼 TREX-2의 구성요소로 mRNA 방출에 역할을 하는지 알아보려고 하였다.

1번 염색체에 위치한 SPAC1B3.08 유전자는 결실(deletion) 시키더라도 생장과 mRNA 방출이 정상적이므로(Yoon, 2006), SPAC1B3.08을 과발현(over-expression)시켜 형질을 알아보려고 하였다. 이를 위해 pREP3X 벡터에 SPAC1B3.08의 ORF (Open reading frame)를 클로닝한 pREP3X-1B3.08 벡터를 제작하여 AY217균주(*h' leu1-32 ura4-d18*)에 형질전환하였다. pREP3X 벡터의 야생형 *nmt1* 프로모터는 티아민(비타민 B1)에 의해 억제되는 프로모터로 티아민이 없으면 전사가 아주 강력히 일어난다(Maundrell, 1993). SPAC1B3.08 과발현 균주(3X-1B3.08)는 티아민이 없는 배지에서는 자신의 프로모터에 의해 발현되는 염색체의 유전자 이외에 pREP3X-1B3.08 벡터에서 다량의 단백질이 발현된다. 티아민이 없는 조건(over-expression)에서는 빈 pREP3X 벡터가 형질전환된 대조군(control)

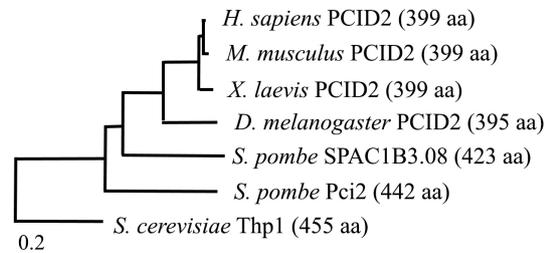


Fig. 1. Phylogenetic tree of PCID2/Thp1 proteins. Neighbor-joining phylogenetic tree is constructed by COBALT program on NCBI, based on amino acid sequences of PCID2/Thp1 from selected organisms, such as human (*Homo sapiens*, NP_001307585.1), mouse (*Mus musculus*, NP_848823.2), fruit fly (*Drosophila melanogaster*, NP_648486.1), amphibian (*Xenopus laevis*, NP_001089237.1), budding yeast (*Saccharomyces cerevisiae*, KZV07809.1), fission yeast (*Schizosaccharomyces pombe*) Pci2 (NP_596463.1), and SPAC1B3.08 (NP_594792).

에 비해 SPAC1B3.08가 과발현되는 균주(3X-1B3.08)의 생장이 느려졌다(Fig. 2A). 그러나 티아민이 존재하여(repression) SPAC1B3.08의 과발현이 억제되면, SPAC1B3.08 균주의 생장은 대조군과 유사했다. 이러한 실험결과는 SPAC1B3.08의 과발현이 정상적인 생장에 부정적으로 작용함을 의미한다. 다음으로 SPAC1B3.08의 과발현이 mRNA의 방출에 영향을 미치는지 알아보기 위해, fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 방법을 사용하여(Yoon *et al.*, 2000) poly(A)⁺ RNA의 세포 내 분포를 살펴보았다. SPAC1B3.08의 과발현이 억제되는 조건에서는 대조군과 마찬가지로 poly(A)⁺ RNA가 세포 전체에 정상적으로 퍼져 있었지만, SPAC1B3.08이 과발현되는 조건에서는 일부의 세포에서 정상 세포에 비해 poly(A)⁺ RNA가 핵 안에 약간 축적되는 것이 보였다(Fig. 2B). 이러한 실험결과는 *pci2* 유전자의 과발현과 유사하게 SPAC1B3.08 유전자의 과발현도 생장과 mRNA 방출에 부정적인 영향을 미친다는 것을 의미한다. SPAC1B3.08 유전자를 결실시켜도 생장과 mRNA 방출이 정상인 것으로 감안하면, *Pci2* 단백질과는 다르게 SPAC1B3.08 단백질은 보조적인 역할을 담당하거나 정상적인 조건에서 생장에 영향을 미치지 않는 특정 mRNA의 방출에만 관여할 가능성도 배제할 수 없다. 하지만 SPAC1B3.08 단백질이 과발현되면 생장과 mRNA 방출에 부정적인 영향을 주는 이유는 과량의 단백질이 일반적인 TREX-2 복합체를 구성하는 *Pci2*와 경쟁하거나, 또는 독립적으로 존재하는 SPAC1B3.08 단백질이 TREX-2 복합체와 상호작용하는 다른 mRNA 방출

인자 등과 경쟁함으로써 mRNA 방출을 저해할 수 있을 것으로 추측된다.

SPAC1B3.08 유전자를 과발현시키면 생장과 mRNA 방출에 영향을 미치므로, SPAC1B3.08 단백질도 TREX-2 복합체의 구성인자로 작용할 수 있는지 알아보았다. *S. pombe*에도 *Sac3*, *Pci2*, *Sus1*, *Cdc31*, *Rpn15* (*Dss1*) 등 TREX-2 복합체 구성요소들이 모두 존재하고, 서로 상호작용함이 알려져 있다(Thakurta *et al.*, 2005; Kang and Yoon, 2006; Koh and Yoon, 2016; Bae and Yoon, 2017; Park and Yoon, 2018). SPAC1B3.08 단백질이 다른 TREX-2 복합체의 구성요소들과 결합을 하는지 알아보기 위해, Yeast two-hybrid (Y2H) system을 이용하였다. Y2H분석에는 *lexA* 작동자의 DNA 결합 영역(BD)을 가진 pTLexA4 벡터, 그리고 GAL4 활성화 영역(AD)을 가진 pGAD424 벡터를 이용하였고(Clontech Laboratories, Inc.), 상호작용을 확인하기 위한 리포터 유전자로 *His3*와 *LacZ* 유전자를 가진 L40 균주(*MATa his3 Δ200 trp1-901 leu2-3112 ade2 LYS::4lexAop-HIS3 URA3::8lexAop-LacZ GAL4*)를 사용하였다. 먼저 대조군으로 SPAC1B3.08가 GAL4 활성화 영역(AD)과 융합된 AD-1B3.08과 BD-X (빈 pTLexA4 벡터) 또는 *lexA* 작동자의 DNA 결합 영역(BD)과 융합된 BD-1B3.08과 AD-X (빈 pGAD424 벡터)의 조합은 리포터인 *His3*와 *LacZ* 유전자를 발현시키지 못하는 것을 확인하였다. TREX-2 복합체의 구성요소들과 SPAC1B3.08의 Y2H 결과는 Table 1에 정리하였다. 결론적으로 BD-1B3.08과 AD-Dss1 사이의 상호작용을 확인하였다. AD-1B3.08의 경우는 BD-Dss1 또는 BD-Sus1과 상호작용하였지만, 이들은 홀로 발현된 대조군(AD-X와 BD-Dss1 그리고 AD-X와 BD-Sus1)에서도 리포터 유전자를 발현시키므로 SPAC1B3.08과의 상호작용으로 해석할 수 없었다. Y2H 실험에서는 예상과는 다르게 *Sac3*와 SPAC1B3.08

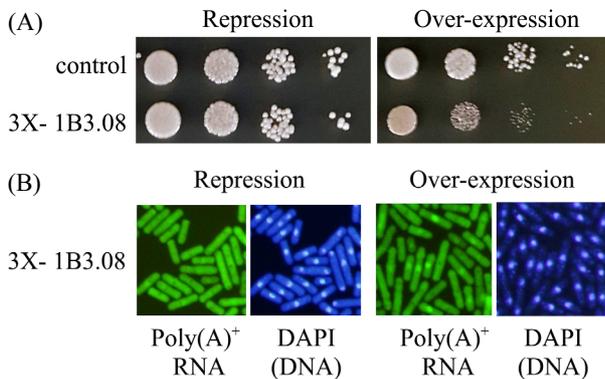


Fig. 2. Over-expression of SPAC1B3.08 cause slight growth retardation and the defects in mRNA export. (A) Growth of wild type strain (AY217) harboring pREP3X plasmid without an insert (control) or with SPAC1B3.08 gene (3X-1B3.08) whose expression is under the control of wild-type *mtl1* promoter. Strains were monitored by spot assay after incubation on EMM plates for 4 days with thiamine (repression) or without thiamine (over-expression). (B) Poly(A)⁺ RNA localization in cells expressing SPAC1B3.08 from 3X-1B3.08 on EMM medium without (over-expression) or with thiamine (repression) was assessed by *in situ* hybridization. Their coincident DAPI-stained nuclei are shown in the right panels.

Table 1. Yeast two-hybrid analysis

AD-	BD-	Inter-action	AD-	BD-	Inter-action
^a X	1B3.08	-	1B3.08	X	-
<i>Sac3</i>	1B3.08	-	1B3.08	<i>Sac3</i>	-
<i>Dss1</i>	1B3.08	+	1B3.08	<i>Dss1</i>	+
<i>Cdc31</i>	1B3.08	-	1B3.08	<i>Cdc31</i>	-
<i>Sus1</i>	1B3.08	-	1B3.08	<i>Sus1</i>	+
<i>Mex67</i>	1B3.08	-	1B3.08	<i>Mex67</i>	-
<i>Rae1</i>	1B3.08	-	1B3.08	<i>Rae1</i>	+
<i>Dss1</i>	X	+	X	<i>Rae1</i>	+
X	<i>Dss1</i>	+	X	<i>Sus1</i>	+

^aX indicates the empty vector.

과의 상호작용을 관찰할 수 없었다. *S. pombe*의 Sac3 단백질의 아미노산 서열을 분석하면, *S. cerevisiae* Sac3의 N-영역(1-100 아미노산 잔기)이 존재하지 않는다. 그러므로 Y2H 실험에서 Sac3의 M-영역과 바로 연결된 AD 또는 BD 영역이 SPAC1B3.08과의 상호작용을 방해했을 것으로 추측된다.

Y2H 분석에서는 SPAC1B3.08과 Sac3 사이의 상호작용을 확인하지 못했으므로, SPAC1B3.08과 TREX-2 복합체의 물리적 결합을 확인하기 위해, 공동침전(co-immunoprecipitation, Co-IP) 실험을 수행하였다. SPAC1B3.08의 N 말단에 HA tag를 붙이기 위해 SPAC1B3.08의 ORF를 pSLF273 벡터(Forsburg and Sherman, 1997)에 클로닝하여 HA-1B3.08 벡터를 제작하였고, Sac3의 C 말단에 TAP tag이 결합된 단백질이 발현되는 Sac3-TAP 균주에 제작된 벡터를 형질전환하였다(Bae and Yoon, 2017). 대조군으로는 TAP만 발현되는 균주를 사용하였다. IgG beads를 사용하여 Tap 단백질을 침전시켰을 때, 대조군에는 Sac3-Tap 단백질이 없기 때문에 HA-1B3.08 단백질이 예상대로 포획되지 않았다(Fig. 3, lanes 4~6). 그러나 Sac3-Tap 단백질을 침전시켰을 때는 HA-1B3.08 단백질도 함께 포획되었다(Fig. 3, lanes 1~3). 이 실험결과는 Y2H 결과와 함께 SPAC1B3.08 단백질도 Pci2 단백질과 마찬가지로 Sac3, Dss1 단백질들과 상호작용함을 의미한다. 위와 같은 연구결과들은 *S. pombe*의 Thp1/PCID2의 또다른 이중상동체인 SPAC1B3.08 단백질도 비록 성장과 mRNA 방출에 필수적이지 않지만, Pci2와 마찬가지로 TREX-2 복합체의 구성요소로서 mRNA 방출에 관여하거나 보조적인 역할을 담당할 가능성을 암시한다.

*S. cerevisiae*의 TREX-2 복합체는 Sac3의 N-말단을 통해 성장에 필수적인 mRNA 방출인자인 Mex67과 결합한다(Ellisdon

et al., 2012). 그러나 *S. pombe*의 TREX-2 복합체는 Co-IP 실험에서 Mex67과 결합하지 않았고(자료 미제시), 또다른 mRNA 방출인자인 Rae1과 결합하였다(Fig. 3). 이러한 결과는 두 효모의 Sac3 단백질의 아미노산을 비교하였을 때, M-영역과 CID-영역은 보존되어 있지만 Mex67과 결합하는 Sac3의 1-100 아미노산 잔기 부위가 *S. pombe*의 Sac3 단백질에는 보존되어 있지 않은 것과 관련이 있어 보인다. mRNA 방출 기작은 두 효모에서 기본적으로 유사하지만 차이점도 존재한다. 예를 들어 *S. cerevisiae*에서 mRNA 방출인자인 Mex67은 세포의 성장과 mRNA 방출에 필수적이지만 *S. pombe*의 Mex67는 필수적이지 않다. 반면 *S. cerevisiae*에서 필수적이지 않은 또다른 mRNA 방출인자인 Rae1 (*S. cerevisiae*의 Gle2 이중상동체) 단백질이 *S. pombe*에서는 필수적이다(Yoon *et al.*, 2000). 두 효모는 형태, 성장 방법 등이 서로 다르고, 전체유전자의 30%가 서로 완전히 다를 뿐만 아니라 유전체의 구조(복제 기점, 인트론-포함 유전자의 수 등)도 차이가 있기 때문에, 이에 맞추어 진화한 mRNA 방출 기작도 두 효모에서 부분적으로 차이가 있을 것으로 추측된다. 그러므로 진핵생물의 전체적인 mRNA 방출 기작을 이해하기 위해, 두 효모에서의 연구는 상호보완적으로 작용할 것이다.

적 요

Thp1/PCID2 단백질은 전사와 연계되어 mRNA를 핵에서 세포질로 방출하는데 필요한, 진화적으로 보존된 TREX-2 복합체의 구성요소이다. 분열효모인 *Schizosaccharomyces pombe*에는 Thp1/PCID2 단백질의 이중상동체가 2개 존재한다. *pci2* (SPBC1105.07c) 유전자 이외에, SPAC1B3.08 유전자는 PCI 영역을 갖고 있으며 TREX-2 복합체의 구성요소로 추정되는 단백질을 암호화하고 있다. SPAC1B3.08을 과발현하면, 생장이 약간 느려지고 mRNA 방출에 결함을 보였다. Yeast two-hybrid와 공동침전 분석 실험에서 SPAC1B3.08 단백질은 TREX-2 복합체의 다른 구성요소인 Sac3, Dss1 단백질들과 상호작용하였다. 이와 같은 관찰들은 *S. pombe*의 SPAC1B3.08 단백질도 TREX-2 복합체의 구성요소로서 mRNA 방출에 관여할 가능성을 지지한다.

감사의 말

이 논문은 2017년도 성신여자대학교 학술연구조성비 지원에 의하여 연구되었음.

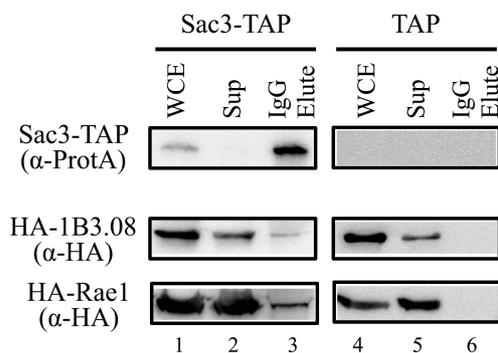


Fig. 3. Physical interaction of SPAC1B3.08 with Sac3 in *S. pombe* extracts. The cells expressing Sac3-TAP (lanes 1~3) and TAP as a control (lanes 4~6) were transformed with HA-1B3.08 or HA-Rae1 plasmids. Western hybridizations were performed using antibodies against HA or protein A (TAP). Input whole cell extracts (WCE), supernatants (Sup), and eluents from IgG bead (IgG Elute) are shown as indicated.

References

- Bae SJ and Yoon JH. 2017. Effects of Sus1, a component of TREX-2 complex, on growth and mRNA export in fission yeast. *Korean J. Microbiol.* **53**, 49–54.
- Bermejo R, Capra T, Jossen R, Colosio A, Frattini C, Carotenuto W, Cocito A, Doksani Y, Klein H, Gomez-Gonzalez B, et al. 2011. The replication checkpoint protects fork stability by releasing transcribed genes from nuclear pores. *Cell* **146**, 233–246.
- Bhatia V, Barroso SI, Garcia-Rubio ML, Tumini E, Herrera-Moyano E, and Aguilera A. 2014. BRCA2 prevents R-loop accumulation and associates with TREX-2 mRNA export factor PCID2. *Nature* **511**, 362–365.
- Ellisdon AM, Dimitrova L, Hurt E, and Stewart M. 2012. Structural basis for the assembly and nucleic acid binding of the TREX-2 transcription-export complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **19**, 328–336.
- Evangelista FM, Maglott-Roth A, Stierle M, Brino L, Soutoglou E, and Tora L. 2018. Transcription and mRNA export machineries SAGA and TREX-2 maintain monoubiquitinated H2B balance required for DNA repair. *J. Cell Biol.* **217**, 3382–3397.
- Faza MB, Kemmler S, Jimeno S, Gonzalez-Aguilera C, Aguilera A, Hurt E, and Panse VG. 2009. Sem1 is a functional component of the nuclear pore complex-associated messenger RNA export machinery. *J. Cell Biol.* **184**, 833–846.
- Fischer T, Str a er K, R acz A, Rodriguez-Navarro S, Oppizzi M, Ihrig P, Lechner J, and Hurt E. 2002. The mRNA export machinery requires the novel Sac3p-Thp1p complex to dock at the nucleoplasmic entrance of the nuclear pores. *EMBO J.* **21**, 5843–5852.
- Forsburg SL and Sherman DA. 1997. General purpose tagging vectors for fission yeast. *Gene* **191**, 191–195.
- Gallardo M, Luna R, Erdjument-Bromage H, Tempst P, and Aguilera A. 2003. Nab2p and the Thp1p-Sac3p complex functionally interact at the interface between transcription and mRNA metabolism. *J. Biol. Chem.* **278**, 24225–24232.
- Garcia-Oliver E, Garcia-Moliner V, and Rodriguez-Navarro S. 2012. mRNA export and gene expression: the SAGA-TREX-2 connection. *Biochim. Biophys. Acta* **1819**, 555–565.
- Gonzalez-Aguilera C, Tous C, Gomez-Gonzalez B, Huertas P, Luna R, and Aguilera A. 2008. The THP1-SAC3-SUS1-CDC31 complex works in transcription elongation-mRNA export preventing RNA-mediated genome instability. *Mol. Biol. Cell* **19**, 4310–4318.
- Gordon JMB, Aibara S, and Stewart M. 2017. Structure of the Sac3 RNA-binding M-region in the *Saccharomyces cerevisiae* TREX-2 complex. *Nucleic Acids Res.* **45**, 5577–5585.
- Jani D, Lutz S, Hurt E, Laskey RA, Stewart M, and Wickramasinghe VO. 2012. Functional and structural characterization of the mammalian TREX-2 complex that links transcription with nuclear messenger RNA export. *Nucleic Acids Res.* **40**, 4562–4573.
- Jani D, Lutz S, Marshall NJ, Fischer T, Kohler A, Ellisdon AM, Hurt E, and Stewart M. 2009. Sus1, Cdc31, and the Sac3 CID region form a conserved interaction platform that promotes nuclear pore association and mRNA export. *Mol. Cell* **33**, 727–737.
- Jani D, Valkov E, and Stewart M. 2014. Structural basis for binding the TREX2 complex to nuclear pores, GAL1 localisation and mRNA export. *Nucleic Acids Res.* **42**, 6686–6697.
- Kang S and Yoon JH. 2006. Construction of spSac3 null mutants defective in mRNA export. *Korean J. Microbiol.* **42**, 153–155.
- Katahira J. 2015. Nuclear export of messenger RNA. *Gene* **6**, 163–184.
- Koh E and Yoon JH. 2016. Effects of Cdc31, a component of TREX-2 complex, on growth and mRNA export in fission yeast. *Korean J. Microbiol.* **52**, 383–387.
- Kohler A and Hurt E. 2007. Exporting RNA from the nucleus to the cytoplasm. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **8**, 761–773.
- Maudrell K. 1993. Thiamine-repressible expression vectors pREP and pRIP for fission yeast. *Gene* **123**, 127–130.
- Park JH and Yoon JH. 2018. Fission yeast Pci2 has function in mRNA export as a component of TREX-2. *Korean J. Microbiol.* **54**, 325–329.
- Rodriguez-Navarro S and Hurt E. 2011. Linking gene regulation to mRNA production and export. *Curr. Opin. Cell Biol.* **23**, 302–309.
- Schneider M, Hellerschmied D, Schubert T, Amlacher S, Vinayachandran V, Reja R, Pugh BF, Clausen T, and Kohler A. 2015. The nuclear pore-associated TREX-2 complex employs mediator to regulate gene expression. *Cell* **162**, 1016–1028.
- Schubert T and K ohler A. 2016. Mediator and TREX-2: Emerging links between transcription initiation and mRNA export. *Nucleus* **7**, 126–131.
- Stewart M. 2010. Nuclear export of mRNA. *Trends Biochem. Sci.* **35**, 609–617.
- Thakurta AG, Gopal G, Yoon JH, Kozak L, and Dhar R. 2005. Homolog of BRCA2-interacting Dss1p and Uap56p link Mlo3p and Rae1p for mRNA export in fission yeast. *EMBO J.* **24**, 2512–2523.
- Tous C and Aguilera A. 2007. Impairment of transcription elongation by R-loops *in vitro*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **360**, 428–432.
- Umlauf D, Bonnet J, Waharte F, Fournier M, Stierle M, Fischer B, Brino L, Devys D, and Tora L. 2013. The human TREX-2 complex is stably associated with the nuclear pore basket. *J. Cell Sci.* **126**, 2656–2667.
- Wickramasinghe VO, McMurtrie PI, Mills AD, Takei Y, Penrhyn-Lowe S, Amagase Y, Main S, Marr J, Stewart M, and Laskey RA. 2010. mRNA export from mammalian cell nuclei is dependent on GANP. *Curr. Biol.* **20**, 25–31.
- Yoon JH. 2006. Construction of *Schizosaccharomyces pombe* spThp1 null mutants and its characterization. *Korean J. Microbiol.* **42**, 149–154.
- Yoon JH, Love D, Guhathakurta A, Hanover JA, and Dhar R. 2000. Mex67p of *Schizosaccharomyces pombe* interacts with Rae1p in mediating mRNA export. *Mol. Cell. Biol.* **20**, 8767–8782.