

特集：タンパク質構造機能相関再考

Mad2/Mad2L2 (Rev7) の構造と機能

田中 耕三

タンパク質の構造変化が生理的な機能制御に関与したり、疾患の原因となったりする例は枚挙にいとまがない。しかし、紡錘体チェックポイント分子である Mad2 は、活性型の構造をとった Mad2 が不活性型の Mad2 と結合して活性型に変えるというユニークな特徴をもつ。これは微小管と結合していない動原体が一つでもあれば、それを感知して細胞分裂の進行を止めるという紡錘体チェックポイントの機構に中心的な役割を果たしている。一方 Mad2 と類似した分子である Mad2L2 (Rev7) は、細胞周期制御や DNA 損傷応答に関与しており、Mad2 同様の構造変化を起こすことが示唆されている。本稿では、Mad2 と Mad2L2 (Rev7) の構造について紹介し、その構造変化が他のタンパク質との結合を通じてどのように機能と相関しているかを解説する。

1. はじめに

近年タンパク質の立体構造情報は急激な増加を続けており、アミノ酸配列からある程度立体構造を予測できるようになっている。しかし一つのタンパク質がとる構造は必ずしも一つではなく、その構造変化はしばしばそのタンパク質の機能の制御に関連している。タンパク質の構造変化を起こす要因としては、他の分子との結合、リン酸化などの修飾、あるいは pH などの環境変化などがあげられる。一方タンパク質の構造変化は疾患の発生とも関連しており、プリオン病、パーキンソン病、アルツハイマー病などはタンパク質が本来とは異なる構造をとることに起因するため、「フォールディング病」と総称されている。このようにタンパク質の構造変化自体は珍しくないが、紡錘体チェックポイント分子である Mad2 (mitotic arrest-deficient 2) はその中で極めてユニークな特徴をもつ。まず Mad2 は生理的条件下で他のタンパク質が存在しない状態で 2 種類の構造をとる。それにもましてユニークなのは、不活性

型の構造をとる Mad2 が活性型の Mad2 と結合することにより活性型へと変化することである。この構造変化は Mad2 の紡錘体チェックポイント分子としてのはたらきと密接に関連している。本稿では Mad2 の構造変化と機能との相関について概説し、加えて Mad2 の類似分子である Mad2L2 (Rev7) の構造・機能について紹介する。

2. Mad2 の構造変化と紡錘体チェックポイント

1) 紡錘体チェックポイント

分裂期に染色体が均等に分配されるためには、染色体上の動原体が、紡錘体を形成する微小管と正しく結合しなければならない。すべての動原体が微小管と結合し、染色体が紡錘体中央に整列すると、複製された染色体をつないでいたコヒーシスが切断され、染色体が両極に分配される(図 1A)¹⁾。紡錘体チェックポイントは、すべての動原体が微小管と正しく結合するまで染色体分配を抑えることにより、染色体の均等な分配を保証する機構である。このためには、微小管と結合していない動原体が一つでもあればそれを感知して、すべての染色体でコヒーシスの切断を抑えるようなしくみが必要であり、それを担っているのが Mad2 である。MAD2 は、出芽酵母で微小管阻害剤による細胞分裂の停止に関与する遺伝子の一つとして 1991 年に同定された²⁾。Mad2 は Mad1, Bub1, BubR1, Bub3, Mps1 などのタンパク質と共に紡錘体チェックポイントを

東北大学加齢医学研究所分子腫瘍学研究分野 (〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町 4-1)

Structure and function of Mad2/Mad2L2 (Rev7)

Kozo Tanaka (Department of Molecular Oncology, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University, 4-1 Seiryomachi, Aoba-ku, Sendai 980-8575, Japan)

構成している³⁾。紡錘体チェックポイント遺伝子は細胞・個体の生存に必須である一方、その機能異常は染色体数の異常(異数性)を引き起こし、発がんに関連することが知られている⁴⁾。

コヒーシンを切断する酵素であるセパラゼは、これと結合するタンパク質であるセキュリンにより不活性化されているが、セキュリンがユビキチン化されて分解されることにより活性化される(図1B)³⁾。このセキュリンをユビキチン化するのがE3(ユビキチンリガーゼ)であるAPC/C(anaphase-promoting complex/cyclosome)である。APC/CはコファクターであるCdc20と結合することにより活性化され、セキュリンのほかサイクリンBなどをユビキチン化して分解へと導くことにより、染色体の分配および分裂期からの脱出を司っている。そこで紡錘体チェックポイ

ントは、このAPC/C-Cdc20の活性化を抑制することにより染色体の分配を抑えている(図1C)。この抑制にはたっているのが、Cdc20にMad2, BubR1, Bub3が結合したMCC(mitotic checkpoint complex)と呼ばれる複合体である³⁾。このMCCを紡錘体チェックポイントのエフェクターとすれば、センサーとなっているのが動原体上のMad1-Mad2複合体である。Mad1とMad2は細胞周期を通じて複合体を形成し、間期には核膜孔複合体と共に核膜に存在する⁵⁾。分裂期に核膜が崩壊すると、Mad1-Mad2複合体は動原体に移動し、動原体と微小管の結合が成立するまで動原体上にとどまる(図1C)。動原体上のMad1-Mad2複合体は、Mad2とCdc20の結合を促進し、このMad2-Cdc20複合体がMCCの形成を促進することにより紡錘体チェックポイントが維持される。Mad2-Cdc20複合体自身

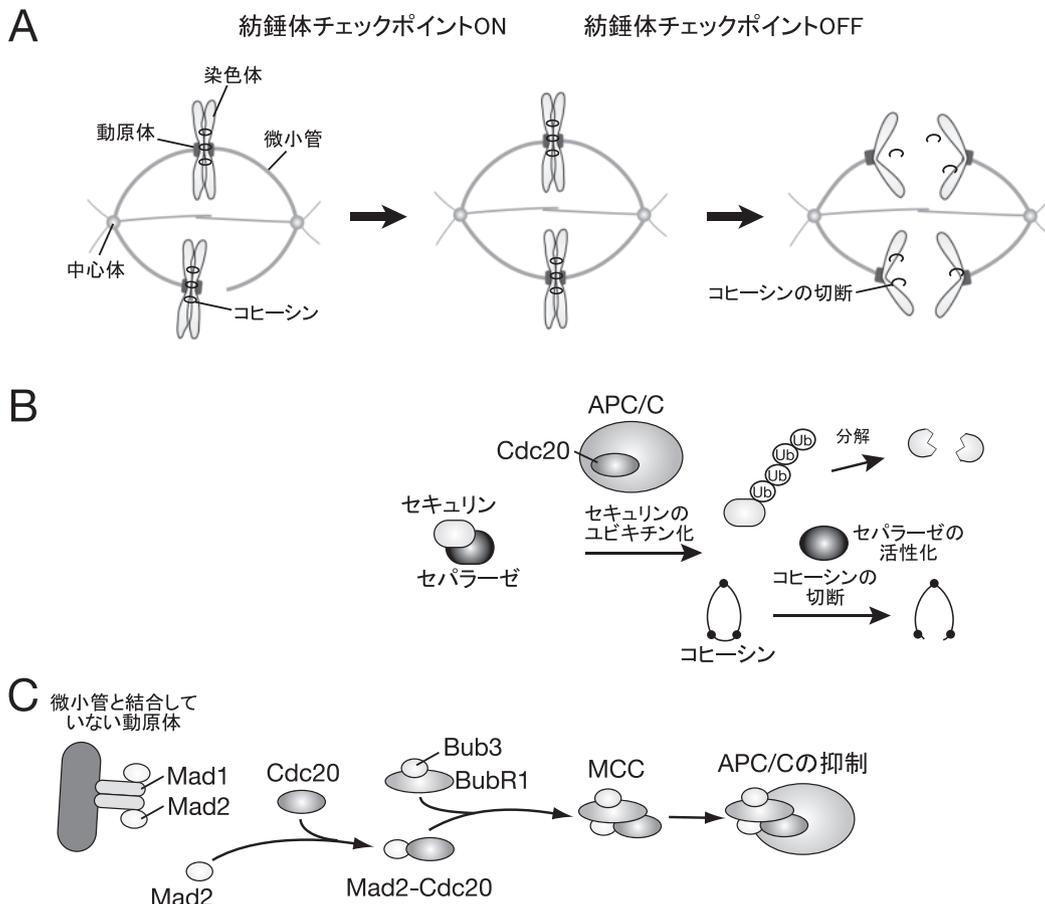


図1 紡錘体チェックポイントによる染色体分配の制御

(A) 複製された染色体(姉妹染色分体)の一对の動原体は、紡錘体上でそれぞれ異なる中心体からの微小管と結合する。姉妹染色分体をつなぎとめていたコヒーシスが切断されると、染色体は微小管によって中心体へと引き寄せられることにより分配される。紡錘体チェックポイントは、すべての動原体が正しく微小管と結合するまで染色体の分配を抑える機構である。(B) ユビキチンリガーゼであるAPC/C(anaphase promoting complex/cyclosome)は、Cdc20と結合することにより活性化され、セパラゼと結合しているセキュリンをユビキチン化して分解へと導く。その結果セパラゼが活性化されてコヒーシンを切断する。(C) Mad1-Mad2複合体は微小管と結合していない動原体上に局在し、フリーのMad2がCdc20と結合するのを促進する。このMad2-Cdc20複合体がMCC(mitotic checkpoint complex)の形成を促進し、MCCがAPC/Cを抑制する。

も APC/C-Cdc20 の活性化を抑えるはたらきをもつが、その効果は MCC より小さい。動原体が微小管と結合すると Mad1-Mad2 複合体は動原体を離れ、これがすべての動原体で起こると MCC の形成が抑制されて APC/C-Cdc20 が活性化される。Mad2 は Mad1 より 4~10 倍程度多く存在するため⁶⁾、大部分の Mad2 は Mad1 と結合していないが、このフリーの Mad2 は動原体上に Mad1-Mad2 複合体が存在する時のみ Cdc20 と結合して MCC の形成を導く。このしくみの本質を担っているのが、以下に述べる Mad2 の構造変化である。

2) Mad2 の構造とその変化

Mad2 は酵母からヒトまでよく保存されているタンパク質であり、ヒトでは 205 アミノ酸より成る。初期の研究で Mad2 は単量体と二量体として存在し、二量体の Mad2 だけが APC/C の活性を抑えられることが示された⁷⁾。そこで Mad2 が二つの構造をとり、二量体形成による構造変化が活性化に重要である可能性が考えられた。Mad2 の構造解析は構造を固定するような種々の変異体を用いて進められ、二量体形成ができない変異体の解析から、2 種類の構造が明らかになった⁸⁾。図 2A i) ii) に示すようにこの二つの構造は三つの α ヘリックス (αA , αB , αC) と三つの β シート ($\beta 4$, $\beta 5$, $\beta 6$) を共通して持つが、205 アミノ酸のうち N 末端と C 末端の計 60 アミノ酸で全く異なる二次・三次構造をとる。その結果 $\beta 6$ と隣接していた $\beta 7$, $\beta 8$ を含む C 末端側の配列が、大きく反対側に移動しヘアピン型の β シート ($\beta 8'$, $\beta 8''$) を形成する。これらの構造に先立って、Mad1 および Cdc20 の Mad2 結合配列と類似した MBP1 (Mad2-binding peptide 1) というペプチドを用いて、リガンドが結合した状態の Mad2 の構造が決定された⁹⁾。その結果、MBP1 はこのヘアピン型の β シートとそれに先立つループ構造で覆われることによりしっかりと固定されることがわかった (図 2A iii)⁹⁾。そのためこの C 末端側の構造は車のシートベルトになぞらえて「安全ベルト (safety belt)」と呼ばれる。また安全ベルトが固定された構造をクローズ型 (C-Mad2)、もう一方の構造をオープン型 (O-Mad2) と呼ぶ。Mad2 は Cdc20 と結合することにより紡錘体チェックポイントの活性化にはたらくため、C-Mad2 を活性型、O-Mad2 を不活性型と考えることができる。紡錘体チェックポイントが活性化されていない状態では、大部分の Mad2 がオープン型であり、オープン型からクローズ型への移行は起こりにくい ($t_{1/2} = 9$ h)⁸⁾。

Mad1 と Cdc20 は C-Mad2 の同じ部位に結合するため、一見すると C-Mad2 との結合に関して拮抗的にはたらきそうである。しかし動原体上での蛍光ラベルした Mad2 の FRAP (fluorescence recovery after photobleaching) 解析の結果、細胞質との間でダイナミックに入れ替わっている

Mad2 は全体の半分で、残りの半分は動原体上にとどまっていることがわかった¹⁰⁾。このことは、Cdc20 と結合するのは Mad1 に結合している C-Mad2 ではなく、Mad1-C-Mad2 複合体に結合した O-Mad2 である可能性を示している。この C-Mad2 と O-Mad2 の非対称な二量体の構造は、MBP1 と結合した C-Mad2 とオープン型に固定された変異 Mad2 との二量体の解析により明らかにされた (図 2B)¹¹⁾。これによると O-Mad2 と C-Mad2 は、互いの αC ヘリックスと C-Mad2 の $\beta 8'$ - $\beta 8''$ ヘアピンで結合する。NMR の結果から、この時 O-Mad2 のコンホメーションは全体的に変化することが示唆された¹²⁾。このことは、Mad1 と複合体を形成している C-Mad2 との結合により、O-Mad2 が C-Mad2 との中間的な構造 [I (intermediate)-Mad2] をとり、これにより Cdc20 との結合が促進される可能性を示している。ただし構造解析にはオープン型に固定された変異 Mad2 を用いているため、実際の I-Mad2 の構造はわかっていない。

以上のようなしくみにより、動原体上の Mad1-C-Mad2 複合体が O-Mad2 と一過性に結合して I-Mad2 へと変化させ、これが Cdc20 と結合して C-Mad2-Cdc20 複合体を形成し、MCC の形成を促進すると考えられる (図 2C)。微小管と結合していない動原体が存在すると、細胞質中に大量にある O-Mad2 が動原体上で次々に C-Mad2 へと変換されて紡錘体チェックポイントが維持されるというこのようなしくみを「Mad2 鋳型 (template) モデル」と呼び¹³⁾、生化学モデルによるシミュレーションや構造特異的な抗体による検討などでその妥当性が支持されている^{14,15)}。しかし、なぜ Mad1-C-Mad2 複合体が動原体上に存在する時にだけ C-Mad2-Cdc20 複合体の形成が促進されるのかについては明らかではない。また、一旦 C-Mad2-Cdc20 複合体が形成されると、これが Mad1-C-Mad2 複合体と同様に O-Mad2 と結合することにより、さらに C-Mad2-Cdc20 複合体の形成を加速するという仮説も出されているが (図 2D)¹³⁾、C-Mad2-Cdc20 複合体が O-Mad2 複合体と結合して C-Mad2 への変化を促すという証明はなされていない。

Mad2 のように単独で異なる構造をとることができるタンパク質としては、PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1) や Ltn (lymphotactin) などがあげられる¹⁶⁾。しかし前者の構造変化は不可逆的である一方、後者の構造変化は Mad2 よりはるかに容易に起こるため、いずれも Mad2 のようなはたらきには適さない。一つの構造がもう一つの構造を自己触媒的 (autocatalytic) に自分と同じ構造に変化させるという意味では、Mad2 はプリオンとよく似ている。しかしプリオンの構造変化も不可逆的で Mad2 とは異なっており、Mad2 のこの他に類を見ないユニークな性質が細胞周期の重要なポイントである分裂期の制御を可能にしている。

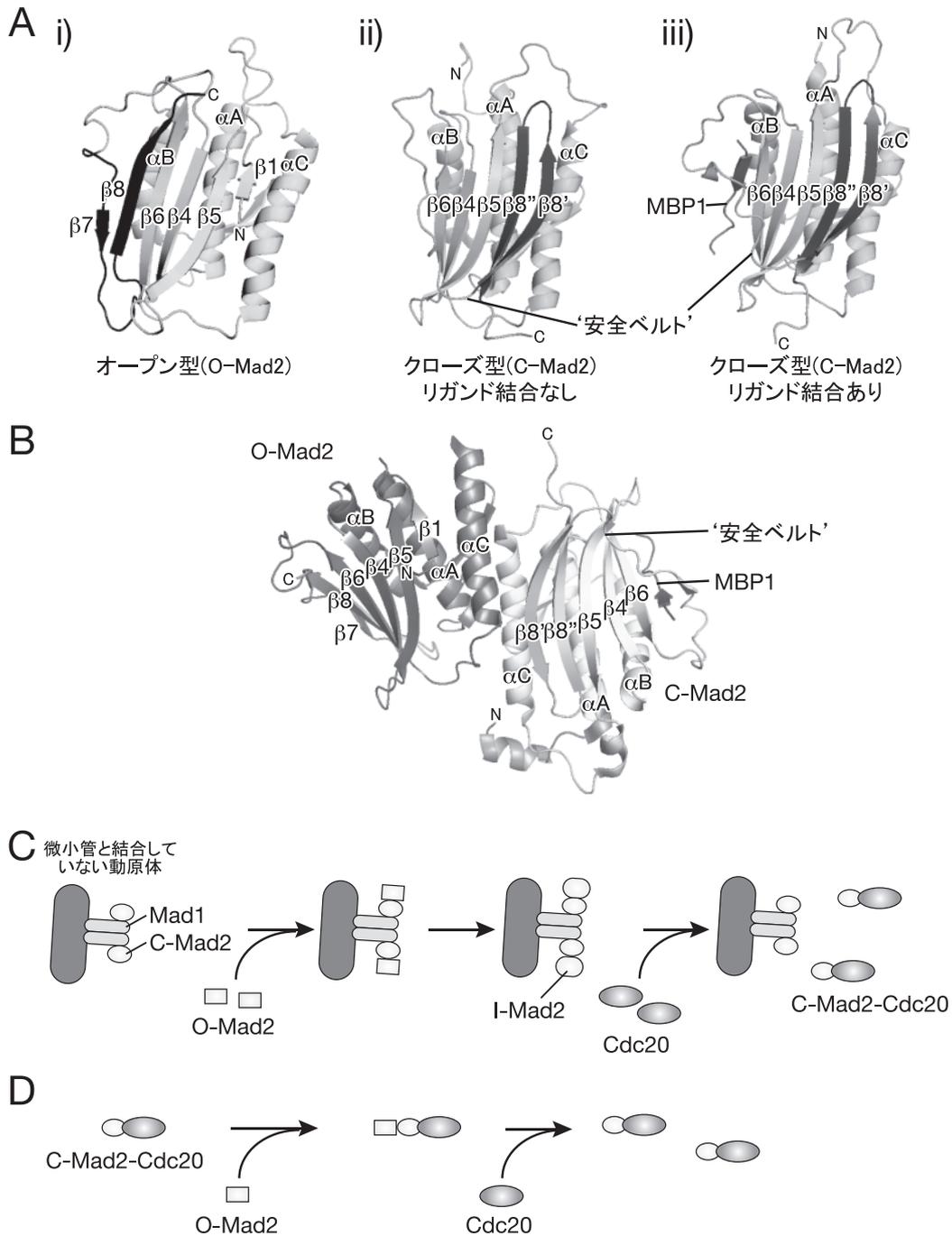


図2 Mad2の構造と自己触媒的構造変化

(A) Mad2の構造. (B) O-Mad2とC-Mad2の非対称二量体の構造. (C) Mad2鋳型(template)モデル. 動原体上でMad1と複合体を形成するC-Mad2が, フリーのO-Mad2と結合してその構造を変化させ(I-Mad2), C-Mad2-Cdc20複合体の形成を促進する. (D) C-Mad2-Cdc20複合体は, Mad1-C-Mad2複合体と同様に, フリーのO-Mad2をC-Mad2へと変化させて, Cdc20との複合体形成を促進しているのかもしれない.

3) p31^{comet}によるMad2の抑制

紡錘体チェックポイントは, たった一つの動原体が微小管と結合していない場合でもその活性を維持する必要がある一方, すべての動原体が微小管と正しく結合したら速やかに不活性化される必要がある. この不活性化はMad1-C-

Mad2複合体の動原体からの消失に起因し, これには動原体が微小管と結合することにより, Mad1-C-Mad2複合体がモーター分子であるダイニンによって微小管に沿って中心体へと輸送されるといった機構が知られている(図3A)³⁾. これ以外に興味深い機構として, p31^{comet}の関与があ

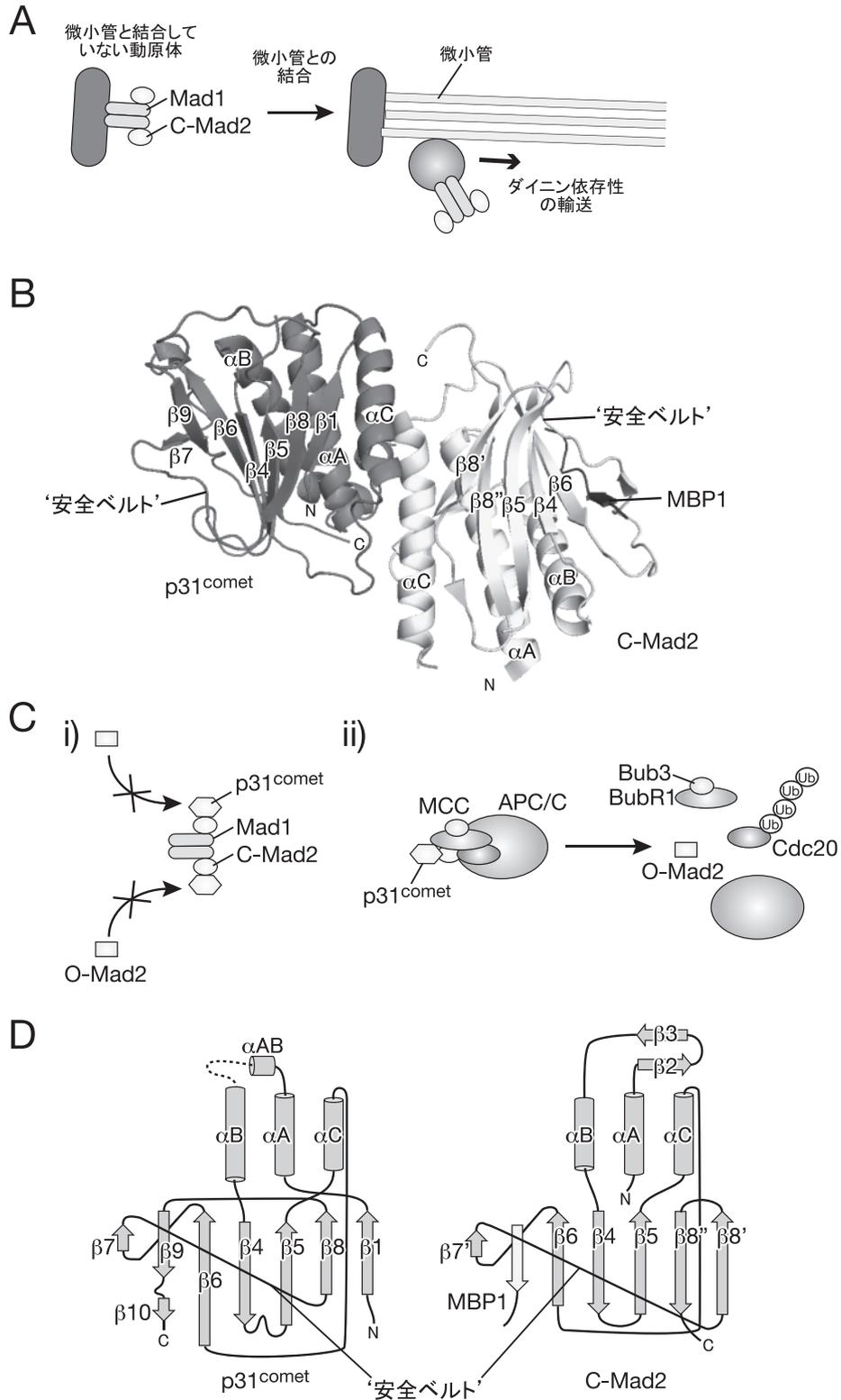


図3 紡錘体チェックポイントの不活性化と p31^{comet}
 (A) 動原体が微小管と結合すると、Mad1-C-Mad2 複合体はダイニン依存性に微小管に沿って動原体を離れる。(B) p31^{comet}-C-Mad2 複合体の構造。(C) i) p31^{comet} は Mad1 と複合体を形成する C-Mad2 と結合して、O-Mad2 が C-Mad2 へ変換されるのを抑える。ii) p31^{comet} は MCC に含まれる C-Mad2 とも結合し、Cdc20 のユビキチン化や MCC の解体を促進する。(D) p31^{comet} と C-Mad2 の構造の比較。C-Mad2 では MBP1 が結合する安全ベルトに、p31^{comet} では自らの C 末端が挟み込まれている。

げられる。p31^{comet}は、Mad2結合分子として同定されたが¹⁷、C-Mad2とのみ結合し、O-Mad2とは結合しない¹⁸。構造解析の結果p31^{comet}は、O-Mad2と同じような形でC-Mad2と結合することがわかった(図3B)¹⁹。このC-Mad2への結合は、Mad1-C-Mad2複合体上では新たなC-Mad2-Cdc20複合体の形成を抑制する一方、MCCに含まれるCdc20のユビキチン化やMCCの解体を促すことで、紡錘体チェックポイントを速やかに不活性化させるものと考えられる(図3C)^{20,21}。p31^{comet}は後生動物(metazoan)にしか存在せず、アミノ酸配列ではMad2との相同性は明らかではない。しかし立体構造上はC-Mad2と非常によく類似しており(図3D)、これはp31^{comet}が機能的にはむしろO-Mad2と競合することを考えると興味深い。p31^{comet}の安全ベルトに相当する部位にはp31^{comet}自身のC末端が挟み込まれており、これによりMad1-C-Mad2複合体と結合して構造が変化するのを防いでいるのかもしれない。Mad2と類似した立体構造をとるp31^{comet}は、Mad2の構造変化に裏打ちされたユニークな紡錘体チェックポイントの機構に、さらに驚くべきしくみを付け加えている。

3. Mad2L2 (Rev7) の構造と機能

1) Mad2L2 (Rev7) の機能

Mad2L2 (Mad2Bとも呼ばれる)はMad2と類似したタンパク質であるが、DNAの損傷乗り越え修復(translesion synthesis: TLS)に関与する分子としてRev7 (reversionless 7)とも呼ばれる。REV7は、出芽酵母で紫外線による突然変異に関与する遺伝子として1985年に同定された²²。

損傷乗り越え修復とは、DNA修復機構の一つである²³。塩基損傷部位がヌクレオチド除去修復などで修復される前に複製が進行すると、通常のDNAポリメラーゼは損傷部位で止まってしまう(図4A i)。損傷乗り越え修復に関与するポリメラーゼ(TLSポリメラーゼ)は、このような部位に対して一時的に通常のDNAポリメラーゼの代わりに複製を行うことにより、複製を続行させる。TLSポリメラーゼにはいくつかの種類が知られており、このうちポリメラーゼζ(ゼータ)はRev3, Mad2L2 (Rev7)の二量体から成る。酵母のポリメラーゼζは、他のTLSポリメラーゼであるRev1と結合して損傷部位にリクルートされ、数塩基の合成を行う(図4A ii, iii)。この合成はしばしば不正確であり、突然変異の主要な原因となる。ヒトのRev3は巨大で精製が困難なため、*in vitro*での損傷乗り越え活性は確認できていないが、培養細胞でMad2L2 (Rev7)をノックダウンあるいはノックアウトすると放射線やDNA傷害性の薬剤に対する感受性が上昇することが報告されている^{24,25}。

一方Mad2L2 (Rev7)はMad2との類似から、細胞周期制御への関与が示唆されてきた。Mad2がCdc20と結合し

てAPC/Cの活性化を抑えるのに対し、Mad2L2 (Rev7)はAPC/Cのもう一つのコファクターであるCdh1と結合し、APC/Cの活性化を抑えるとされる^{26,27}。APC/C-Cdc20が分裂期後半にはたらくのに対し、APC/C-Cdh1は分裂期の終わりからG1期にはたらく²⁸。これと関連して、赤痢菌が産生するIpaBというタンパク質がCdh1と拮抗的にMad2L2 (Rev7)に結合し、その結果分裂期への進入が妨げられるという報告もある²⁹。

2) Mad2L2 (Rev7) の構造

ヒトのMad2L2 (Rev7)は211アミノ酸から成り、Mad2と26%の相同性を有する^{30,31}。Mad2とMad2L2 (Rev7)は、減数分裂期におけるシナプトネマ複合体の形成に関与するHop1(ヒトではHORMAD1)とも相同性を有し、これらの相同領域はHORMA (Hop1, Rev7, Mad2)ドメインと名付けられている³²。最近Rev3, Rev1の断片と結合した状態でのMad2L2 (Rev7)の結晶構造が報告された(図4B)³³⁻³⁵。興味深いことにMad2L2 (Rev7)は、C-Mad2と類似した構造を取り、Rev3のMad2L2 (Rev7)結合部位は、C-Mad2の安全ベルトに相当するMad2L2 (Rev7)のC末端部位に挟み込まれる形で存在していた。さらにMad2L2 (Rev7)単独ではRev1に結合できず、Rev3と複合体を形成してはじめてRev1に結合できること、Rev3との結合によりMad2L2 (Rev7)の構造が大きく変化することも示された。このことはMad2L2 (Rev7)が単独ではO-Mad2に相当する構造を取り、Rev3と結合してクローズ型に変化することによってRev1と結合できるようになることを示唆している。Mad2L2 (Rev7)とMad2は、アミノ酸配列だけでなく構造変化についても類似していることが明らかになったわけだが、Mad2L2 (Rev7)の二量体形成は知られておらず、Mad2L2 (Rev7)の構造変化がMad2のような自己触媒的制御を受けるかどうかは不明である。

3) Mad2L2 (Rev7) と結合するタンパク質

Mad2L2 (Rev7)は、これまでに述べたRev3, Rev1, Cdh1, IpaB以外にもADAM9³⁶, PRCC³⁷, ELK-1³⁸, CLTA³⁹, Sim2⁴⁰等種々のタンパク質と結合することが報告されている。このうちADAM9, ELK-1についてはRev3と類似した配列でMad2L2 (Rev7)に結合することが示されているが⁴¹、他のタンパク質の結合様式についての詳細は不明である。筆者らはMad2L2 (Rev7)と結合する分子を探索した結果、新規分子C13orf8 (ZNF828)を同定し、その機能からCAMP (chromosome-alignment maintaining phosphoprotein)と名付けた⁴²。CAMPは筆者らがWK領域と名付けた特徴的な繰り返し配列を含む領域でMad2L2 (Rev7)と結合するが(図5A)、どのような構造のMad2L2 (Rev7)のどの部位に結合するかは明らかでは

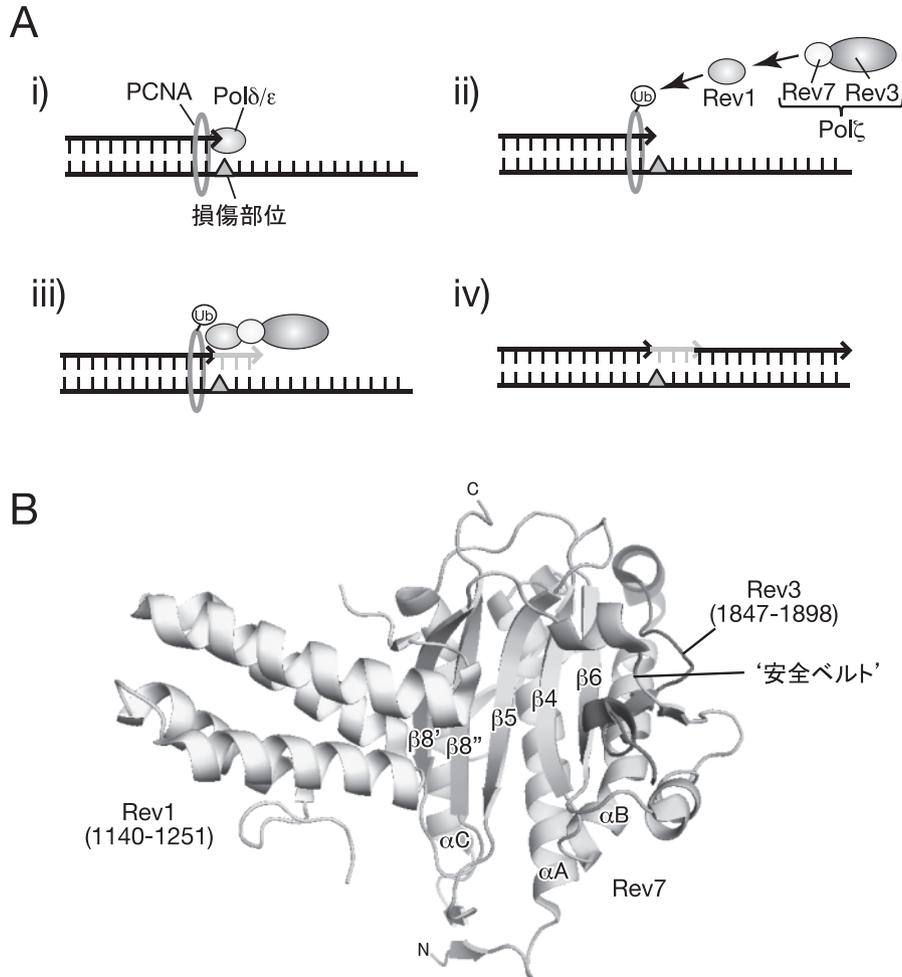


図4 Mad2L2 (Rev7) の損傷乗り越え修復における機能と構造

(A) ポリメラーゼによる損傷乗り越え修復のモデル. i) DNA複製を行うポリメラーゼ (Pol) δ/ϵ は、DNA損傷部位を乗り越えることができない. ii) 停止した複製フォークのPCNAがユビキチン化され、これにRev1が結合する. Rev3, Rev7より成るポリメラーゼは、Rev1と結合することによりDNA損傷部位にリクルートされる. iii) ポリメラーゼは、損傷部位を乗り越えて数塩基の複製を行う. iv) 再びポリメラーゼ δ/ϵ が複製を続行する. (B) Rev1-Rev7-Rev3複合体の構造.

ない. 興味深いことにCAMPをノックダウンすると、分裂期での染色体の紡錘体中央への整列に異常が見られ (図5B), その原因として動原体と微小管の結合に問題があることが示唆された. CAMPのこの機能は、FPE領域と名付けた領域に依存し、またCDK1によるリン酸化によって制御されていることがわかった (図5A). しかしこれまでのところ、Mad2L2 (Rev7) がCAMPのこのような機能にどのように関与しているかは明らかになっていない. 一方Mad2L2 (Rev7) とCAMPは、ヒストンH3の9番目のリシンのトリメチル化を認識するタンパク質として知られているHP1 (heterochromatin protein 1) と結合する複合体としても同定されており⁴³⁾、クロマチン上で別の機能を果たしている可能性もある.

4. おわりに

核酸ではなくタンパク質として形質を伝播させるプリオンの発見は、セントラルドグマを揺るがすものとして、スタンリー・プルシナーのノーベル賞受賞へとつながった. 類似したしくみを生理的・可逆的に用いているMad2は、そういう意味で生命現象のさらなる深淵を垣間見せていると言える. 今後Mad2以外に同様の制御を受けるタンパク質が発見されるかどうか注目される. 興味深いことに、タンパク質の自己触媒的なアミロイド様変化が、個々のタンパク質の寿命を超えた長期記憶の形成に関与する可能性が報告され、タンパク質の構造変化と細胞・個体の記憶との相関が示唆されている⁴⁴⁾. Mad2L2 (Rev7) については、Mad2同様の構造変化は示唆されているものの、非対称二

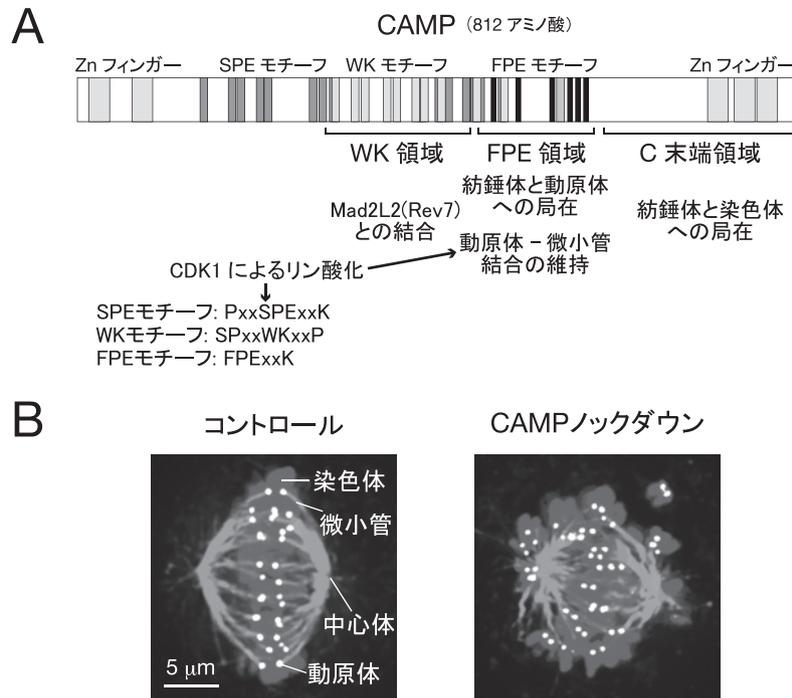


図5 CAMPの構造と機能

(A) CAMPの一次構造。三つの特徴的な繰り返しモチーフの位置とその配列および、機能的に重要な三つの領域の位置を示す。(B) CAMPをノックダウンした細胞では、動原体と微小管の結合に異常があり、コントロールの細胞のような紡錘体中央への染色体の整列が見られない。

量体形成による構造変化の誘導を示す報告はない。しかしMad2L2 (Rev7) に結合する多種多様なタンパク質が、どのようにMad2L2 (Rev7) の構造変化に関与し、また影響を受けるかということは、本特集のテーマであるタンパク質の構造機能相関を理解する上での重要な足がかりになるものと考えられる。

文 献

- 1) Tanaka, K. (2013) *Cell. Mol. Life Sci.*, **70**, 559–579.
- 2) Li, R. & Murray, A.W. (1991) *Cell*, **66**, 519–531.
- 3) Musacchio, A. & Salmon, E.D. (2007) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **8**, 379–393.
- 4) Tanaka, K. & Hirota, T. (2009) *Cancer Sci.*, **100**, 1158–1165.
- 5) Campbell, M.S., Chan, G.K., & Yen, T.J. (2001) *J. Cell Sci.*, **114**, 953–963.
- 6) Vink, M., Simonetta, M., Transidico, P., Ferrari, K., Mapelli, M., De Antoni, A., Massimiliano, L., Ciliberto, A., Faretta, M., Salmon, E.D., & Musacchio, A. (2006) *Curr. Biol.*, **16**, 755–766.
- 7) Fang, G., Yu, H., & Kirschner, M.W. (1998) *Genes Dev.*, **12**, 1871–1883.
- 8) Luo, X., Tang, Z., Xia, G., Wassmann, K., Matsumoto, T., Rizo, J., & Yu, H. (2004) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **11**, 338–345.
- 9) Luo, X., Tang, Z., Rizo, J., & Yu, H. (2002) *Mol. Cell*, **9**, 59–71.
- 10) Shah, J.V., Botvinick, E., Bonday, Z., Furnari, F., Berns, M., & Cleveland, D.W. (2004) *Curr. Biol.*, **14**, 942–952.
- 11) Mapelli, M., Massimiliano, L., Santaguida, S., & Musacchio, A. (2007) *Cell*, **131**, 730–743.
- 12) Mapelli, M., Filipp, F.V., Rancati, G., Massimiliano, L., Nezi, L., Stier, G., Hagan, R.S., Confalonieri, S., Piatti, S., Sattler, M., & Musacchio, A. (2006) *EMBO J.*, **25**, 1273–1284.
- 13) De Antoni, A., Pearson, C.G., Cimini, D., Canman, J.C., Sala, V., Nezi, L., Mapelli, M., Sironi, L., Faretta, M., Salmon, E.D., & Musacchio, A. (2005) *Curr. Biol.*, **15**, 214–225.
- 14) Simonetta, M., Manzoni, R., Mosca, R., Mapelli, M., Massimiliano, L., Vink, M., Novak, B., Musacchio, A., & Ciliberto, A. (2009) *PLoS Biol.*, **7**, e10.
- 15) Fava, L.L., Kaulich, M., Nigg, E.A., & Santamaria, A. (2011) *EMBO J.*, **30**, 3322–3336.
- 16) Luo, X. & Yu, H. (2008) *Structure*, **16**, 1616–1625.
- 17) Habu, T., Kim, S.H., Weinstein, J., & Matsumoto, T. (2002) *EMBO J.*, **21**, 6419–6428.
- 18) Xia, G., Luo, X., Habu, T., Rizo, J., Matsumoto, T., & Yu, H. (2004) *EMBO J.*, **23**, 3133–3143.
- 19) Yang, M., Li, B., Tomchick, D.R., Machius, M., Rizo, J., Yu, H., & Luo, X. (2007) *Cell*, **131**, 744–755.
- 20) Jia, L., Li, B., Warrington, R.T., Hao, X., Wang, S., & Yu, H. (2011) *Mol. Biol. Cell*, **22**, 4227–4235.
- 21) Westhorpe, F.G., Tighe, A., Lara-Gonzalez, P., & Taylor, S.S. (2011) *J. Cell Sci.*, **124**, 3905–3916.
- 22) Lawrence, C.W., Das, G., & Christensen, R.B. (1985) *Mol. Gen. Genet.*, **200**, 80–85.
- 23) Gan, G.N., Wittschieben, J.P., Wittschieben, B.O., & Wood, R.D. (2008) *Cell Res.*, **18**, 174–183.

- 24) Okada, T., Sonoda, E., Yoshimura, M., Kawano, Y., Saya, H., Kohzaki, M., & Takeda, S. (2005) *Mol. Cell. Biol.*, **25**, 6103–6111.
- 25) Cheung, H.W., Chun, A.C., Wang, Q., Deng, W., Hu, L., Guan, X.Y., Nicholls, J.M., Ling, M.T., Chuan Wong, Y., Tsao, S.W., Jin, D.Y., & Wang, X. (2006) *Cancer Res.*, **66**, 4357–4367.
- 26) Chen, J. & Fang, G. (2001) *Genes Dev.*, **15**, 1765–1770.
- 27) Pflieger, C.M., Salic, A., Lee, E., & Kirschner, M.W. (2001) *Genes Dev.*, **15**, 1759–1764.
- 28) Baker, D.J., Dawlaty, M.M., Galardy, P., & van Deursen, J.M. (2007) *Cell. Mol. Life Sci.*, **64**, 589–600.
- 29) Iwai, H., Kim, M., Yoshikawa, Y., Ashida, H., Ogawa, M., Fujita, Y., Muller, D., Kirikae, T., Jackson, P.K., Kotani, S., & Sasakawa, C. (2007) *Cell*, **130**, 611–623.
- 30) Cahill, D.P., da Costa, L.T., Carson-Walter, E.B., Kinzler, K. W., Vogelstein, B., & Lengauer, C. (1999) *Genomics*, **58**, 181–187.
- 31) Murakumo, Y., Roth, T., Ishii, H., Rasio, D., Numata, S., Croce, C.M., & Fishel, R. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 4391–4397.
- 32) Aravind, L. & Koonin, E.V. (1998) *Trends Biochem. Sci.*, **23**, 284–286.
- 33) Hara, K., Hashimoto, H., Murakumo, Y., Kobayashi, S., Kogame, T., Unzai, S., Akashi, S., Takeda, S., Shimizu, T., & Sato, M. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 12299–12307.
- 34) Kikuchi, S., Hara, K., Shimizu, T., Sato, M., & Hashimoto, H. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 33847–33852.
- 35) Xie, W., Yang, X., Xu, M., & Jiang, T. (2012) *Protein Cell*, **3**, 864–874.
- 36) Nelson, K.K., Schlondorff, J., & Blobel, C.P. (1999) *Biochem. J.*, **343** Pt. 3, 673–680.
- 37) Weterman, M.A., van Groningen, J.J., Tertoolen, L., & van Kessel, A.G. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 13808–13813.
- 38) Zhang, L., Yang, S.H., & Sharrocks, A.D. (2007) *Mol. Cell. Biol.*, **27**, 2861–2869.
- 39) Medendorp, K., van Groningen, J.J., Vreede, L., Hetterschijt, L., van den Hurk, W.H., de Bruijn, D.R., Brugmans, L., & van Kessel, A.G. (2009) *PLoS One*, **4**, e7020.
- 40) Meng, X., Tian, X., Wang, X., Gao, P., & Zhang, C. (2012) *Neurogenetics*, **13**, 251–260.
- 41) Hanafusa, T., Habu, T., Tomida, J., Ohashi, E., Murakumo, Y., & Ohmori, H. (2010) *Genes Cells*, **15**, 281–296.
- 42) Itoh, G., Kanno, S., Uchida, K.S., Chiba, S., Sugino, S., Watanabe, K., Mizuno, K., Yasui, A., Hirota, T., & Tanaka, K. (2011) *EMBO J.*, **30**, 130–144.
- 43) Vermeulen, M., Eberl, H.C., Matarese, F., Marks, H., Denissov, S., Butter, F., Lee, K.K., Olsen, J.V., Hyman, A.A., Stunnenberg, H.G., & Mann, M. (2010) *Cell*, **142**, 967–980.
- 44) Majumdar, A., Cesario, W.C., White-Grindley, E., Jiang, H., Ren, F., Khan, M.R., Li, L., Choi, E.M., Kannan, K., Guo, F., Unruh, J., Slaughter, B., & Si, K. (2012) *Cell*, **148**, 515–529.
-