

## 特集：リボソームの機能調節と疾患

### III. リボソーム機能の調節

#### III-2 自己免疫標的部位の解析からみえてきた リボソームの動的機能構造

内海利男, 馬場健太郎, 小野塚美穂

リボソームはSLE患者における自己免疫標的の一つである。その標的部位はGTPaseセンターと呼ばれる限定されたりボソーム機能部位で、中でもP0, P1, P2タンパク質成分の共通C末端配列に対する抗体出現頻度が特に高い。最近の生化学と結晶構造解析等の研究から、これらのタンパク質はP0(P1-P2)(P1-P2)の五量体を形成し、各タンパク質のC末端部位はリボソーム表面に露出し大規模に運動し、各種翻訳因子の捕獲に関わることが明らかにされた。P0/P1/P2の各C末端配列はそれぞれ単独でも翻訳因子の捕獲能を保有するものの効率的ペプチド鎖伸長反応には複数のC末端が必要であり、C末端間の協調機構の存在が示唆された。P0/P1/P2はタンパク質合成効率と自己抗体の産出機構の両面で重要な研究対象である。

#### 1. はじめに

全身性エリテマトーデス(SLE)は全身が侵される自己免疫性疾患で、さまざまな自己抗体が産出し多彩な症状と多臓器に及ぶ障害が生じる難病の一つである。これら自己抗体は通常、疾患の発症に先行して見いだされる。そのため、自己抗体の産出と特定の疾患との関連性が考えられ<sup>1)</sup>、各抗体の反応性の詳細や産生機序の解明は病態を理解する上できわめて重要である。古くよりSLE患者血清中に細胞質のリボソームに対する自己抗体が検出されている<sup>2)</sup>。リボソームは細胞のタンパク質合成反応を担う重要な構造体であり、真核細胞の場合、約80種類のタンパク質と4種類(28S, 18S, 5.8S, 5S)のrRNA成分から構成される巨大分子集合体であり、大サブユニットと小サブユニット

よりなる。著者らを含む数研究グループによる抗リボソーム自己抗体の標的分子が解析されてきた。その結果、抗体はリボソームを構成する多くの成分に対して非特異的に産出されるのではなく、その標的はリボソームの一部の機能部位(GTPase-associated Center)を構成するタンパク質成分<sup>2,3)</sup>と28S rRNAの一つのドメイン<sup>4,5)</sup>に集中していることが判明した。リボソームという巨大RNA-タンパク質複合体に対するこの自己免疫応答の特異性をもたらす分子基盤を探る研究は、自己免疫疾患における多様な自己抗体の産出機序の研究の適切なモデルケースとなるものである。本稿では、抗リボソーム自己抗体の中でも特に産出頻度が高く、中枢神経症やループス腎炎発症との関連性が示唆されている抗P抗体<sup>6,7)</sup>の標的部位について、著者らの構造と機能面に関する研究内容を含め紹介する。

#### 2. 抗リボソーム自己抗体の産出特異性

SLE患者血清に含まれるリボソームタンパク質に対する抗体は、通常、全リボソームタンパク質のSDS-PAGEまたは二次元電気泳動後の免疫ブロットまたは精製タンパク質を用いたドットブロット法により検出され、多くの患者血清に対しスクリーニングがなされてきた(図1A)。著

新潟大学理学部生物学科(〒950-2113 新潟市西区五十嵐2の町8050)

The dynamic functional structure of the ribosome discovered by the analysis of the autoimmune target

Toshio Uchiumi, Kentaro Baba and Miho Onozuka (Department of Biology, Faculty of Science, Niigata University, Ikarashi 2-8050, Nishi-ku, Niigata 950-2181, Japan)

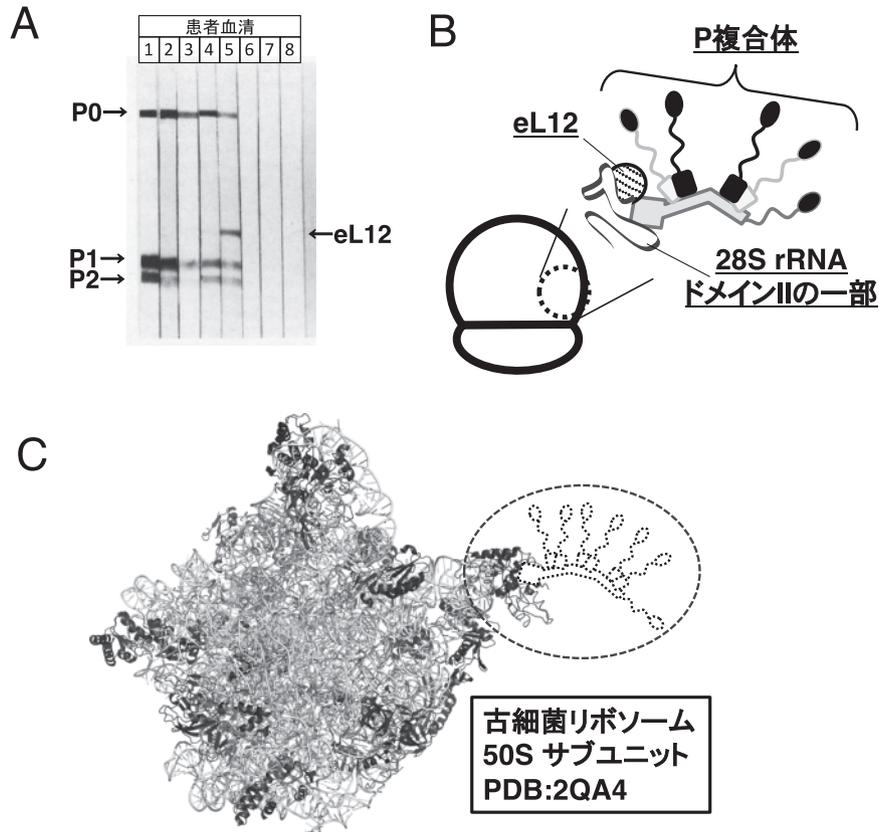


図1 リボソームの自己免疫標的的部位  
 (A) 免疫ブロット法による SLE 患者 (1~8) 血清中の抗リボソーム自己抗体の分析.  
 (B) リボソーム自己抗原成分の集合状態. (C) リボソーム結晶構造解析で解明できない自己免疫標的的部位 (破線で示す部分).

者らによる, 活動期 SLE 患者血清 89 サンプルを用いた分析では<sup>3)</sup>, 患者血清の42%に大サブユニットの P0 (34 kDa), P1 (12 kDa), P2 (12 kDa) の3種類のタンパク質が共有する C 末端保存配列 (図 4C 参照) と反応する抗 P 抗体が含まれていた. また, 2% に大サブユニットタンパク質 eL12 に対する抗 eL12 抗体が含まれていた. その他 17% から, 全長約 5 千ヌクレオチドで 6 ドメイン (I~VI) からなる 28S rRNA のドメイン II の一部の高次構造のみを認識する抗体 (抗 28S) が検出された<sup>4,5)</sup>. これら自己免疫の標的分子はリボソーム中で互いに近傍に存在している. すなわち, P1 と P2 はヘテロ二量体を形成し 2 個の P1-P2 二量体が P0 に結合した P0(P1-P2) (P1-P2) 五量体 (P 複合体) を形成する<sup>8)</sup>. そして P 複合体は, eL12 とともに, 28S rRNA のドメイン II 中の抗 28S 結合部位周辺に結合している<sup>9)</sup>. このように, リボソームの自己免疫標的が, 巨大粒子中の一部の rRNA・タンパク質複合体領域に限定されているのは注目すべき点である (図 1B).

このような自己免疫標的の特異性をリボソームの高次構造的視点から考察することは重要であろう. 近年の結晶構造解析により, リボソームの詳細な構造は一部を除き明らか

かにされている. 大, 小サブユニットとも, その構造は複雑に折りたたまれた rRNA 鎖のところどころにタンパク質成分が結合し非対称で安定な粒子を形成している<sup>10)</sup>. リボソームの自己免疫標的は大サブユニット中の一つの領域であるが, 粒子の結晶構造ではその大部分が消失している (図 1C). P 複合体の構造が柔軟で特定の構造を形成してない disorder 状態のためと考えられる.

### 3. リボソーム P 複合体抗原 (ストーク複合体) の特徴的高次構造

リボソームの主要自己抗原である P0, P1, P2 の集合状態やリボソーム機能への役割を探る研究は 1980 年代から行われてきた. 著者らは生化学的手法により, 1) P0 の C 末端領域の隣接する 2 か所に P1-P2 ヘテロ二量体がそれぞれ結合すること<sup>8)</sup>, 2) P1 と P2 両タンパク質の N 末端の 10 アミノ酸がヘテロ二量体形成および P0 との結合に関与し<sup>11)</sup>, C 末端側はリボソームの外側に突き出ていること (この推測される突起状の性質より, P1/P2 はストークタンパク質とも呼ばれる), さらに, 3) P0 の N 末端側が 28S rRNA に結合していることを明らかにした. これらの結果より,

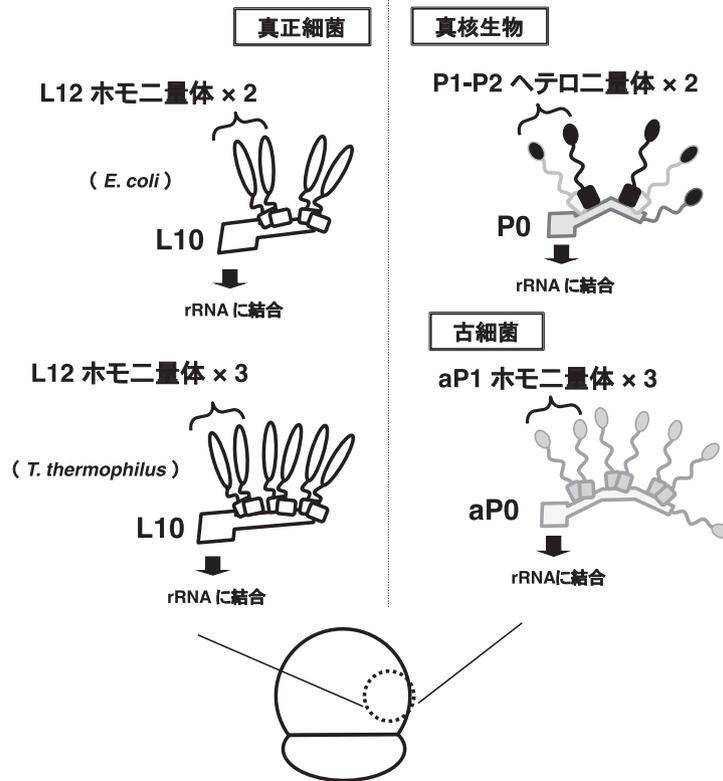


図2 リボソームP複合体（ストーク複合体）ファミリー

抗P抗体が認識するP0/P1/P2のC末端共通配列はリボソームの外側に露出していることが示唆された。P複合体（ストーク複合体）は真核生物ばかりでなく、これまで解析されたすべての生物種において、存在することが確認されている（図2）。古細菌では、真核生物P1/P2とアミノ酸配列に相同性のあるaP1がホモ二量体を形成し、3個のaP1-aP1二量体が真核生物P0の相同体であるaP0のC末端部位に結合してaP0(aP1-aP1)(aP1-aP1)(aP1-aP1)の七量体を形成している<sup>12)</sup>。古細菌のこの七量体は真核生物の翻訳因子をも受容することが知られており<sup>13)</sup>、古細菌の七量体は真核のP複合体の機能構造を保持することを示唆している。これに対し真正細菌の場合、ストークタンパク質として古くからL12のホモ二量体が知られている。真正細菌L12は真核P1/P2とのアミノ酸配列の類似性はみられないものの、L10と呼ばれるタンパク質のC末端側にL12-L12二量体が2個または3個結合した特徴的な五量体または七量体を形成する点で真核生物や古細菌のストーク複合体と類似している（図2）。

P複合体のさらなる詳細な構造面の理解には結晶構造解析が必要であるが、著者らはこれまで超好熱性古細菌（*Pyrococcus horikoshii*）を材料として、リボソームから遊離した状態のP複合体について結晶構造解析に成功している（北海道大学の田中勲/姚閔研究室との共同研究）（図3A）<sup>14)</sup>。得られた構造モデルでは、aP1のN末端側の $\alpha 1 \sim \alpha 4$

のヘリックスを含む領域が安定な高次構造を形成し、 $\alpha 1$  とうしと  $\alpha 2$  とうしで互いに結合しホモ二量体を形成している。しかし、C末端側の約半分の構造はいまだに解明されておらずその構造が柔軟であることを示唆している。このC末端側の柔軟性に関する知見は最近のヒトP1-P2を用いたNMR解析結果からも支持された<sup>15)</sup>。一方、aP0に関しては、N末端側は球状に折りたたまれrRNA結合部位を含んでいる。またaP0のC末端側には連続した3個の $\alpha$ ヘリックス(I~III)が存在し、各ヘリックスに1個のaP1二量体が結合している（図3A）。各ヘリックスにおけるaP0-aP1間結合には2回転対称性があり、疎水性アミノ酸とうしの疎水結合が関わっている。結合に関わるaP0上の疎水性アミノ酸は古細菌と真核生物間で広く保存されており、結合様式も保存されていると考えられる<sup>14)</sup>。

これまで報告されているリボソーム大サブユニットの構造モデルに著者らのP複合体構造モデルをフィッティングさせることで、これまで認知されていなかった、長い腕状の構造を持つリボソーム構造を理解することができる（図3B）。P1のC末端の約半分とP0のC末端部分の構造は上述したように特定の構造をとらず、柔軟にリボソーム周辺を広範囲に動き回っていると推察される。この動き回る“腕”状の構造を含めた全構造体が生体内で機能するリボソームの実態ということになる。そして自己抗体はこの運動性が高く、高度に保存されたP0/P1/P2のC末端部位

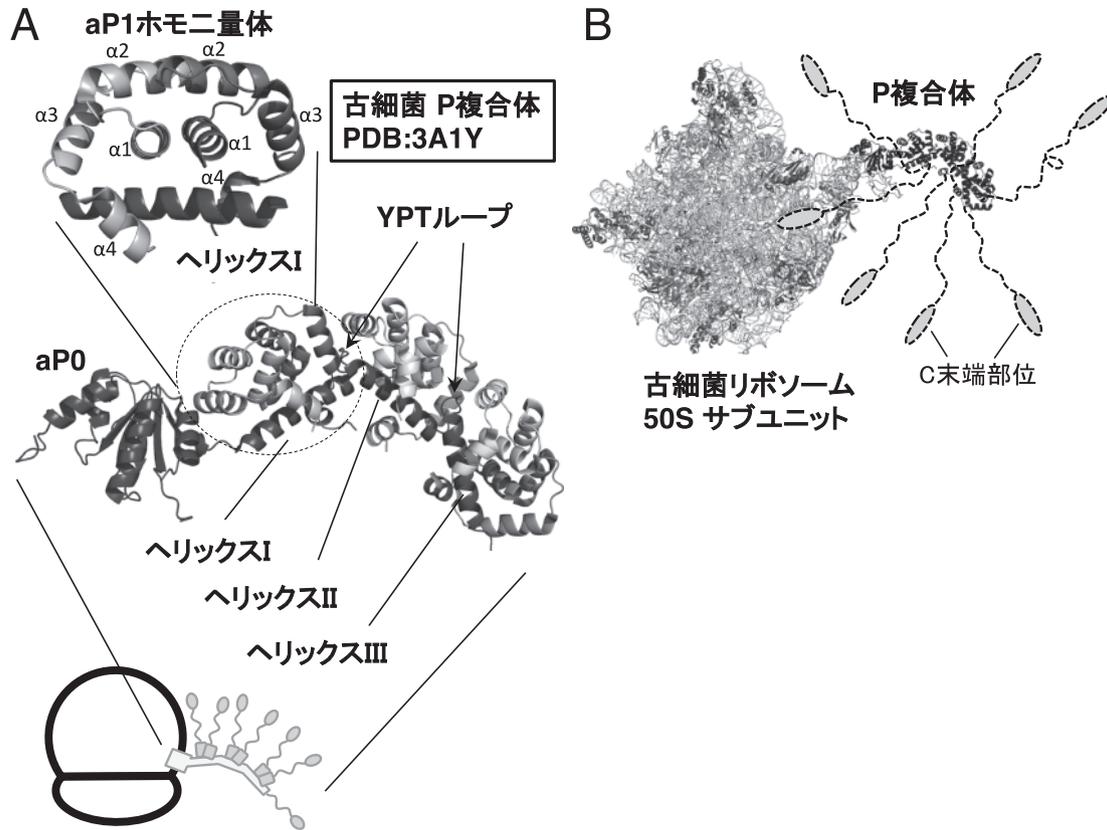


図3 古細菌 P 複合体の結晶構造モデル

(A) *P. horikoshii* の P 複合体の結晶構造. aP0 の C 末端部の三つのヘリックス部位 (ヘリックス I~III) にそれぞれ aP1-aP1 二量体が結合している. ヘリックス I 部分の拡大図も示されている. (B) P 複合体の構造 (PDB: 3A1Y) を既知のリボソーム大サブユニット構造モデル (PDB: 2QA4) に重ね合わせた粒子全体図. aP1 の C 末端半分および aP0 の C 末端部の推測される構造を破線で描く.

に対して産出される.

#### 4. 抗 P 自己抗体の作製と反応性

自己抗体はしばしば生体高分子の機能解析に有効なプローブとなってきた. たとえば, SLE の診断基準の一つとなっている抗 Sm 抗体は snRNA に結合するコアタンパク質と反応し, mRNA 前駆体のスプライシング反応を阻害する. そして, 抗 Sm 抗体はスプライシングの初期研究に大きく貢献してきた<sup>16)</sup>. 著者らはリボソーム P0/P1/P2 の共通 C 末端部位と反応する抗 P 抗体のリボソーム機能への効果を探るために抗 P モノクローナル抗体を作製した<sup>17)</sup>. 自己免疫疾患モデルとして知られる NZBWF1 や MRL マウスから抗 P 産出ハイブリドーマを得て抗体 (IgG) を調製した (一部, 新潟大学医学部の佐藤弘恵博士との共同研究). 得られた抗 P モノクローナル抗体は患者血清同様, 免疫プロットにおいて P0, P1, P2 のすべてと反応した. また, リボソームと翻訳伸長因子 (eEF-1 $\alpha$ /eEF-2) 間相互作用を抑制し, その結果ペプチド鎖伸長反応を阻害した<sup>17)</sup>. すなわち, 抗 P 抗体を用いることで, P0/P1/P2 の C 末端がリボソームと翻訳因子間相互作用に関与すること

が示された.

抗 P 抗体の結合部位を明確にする目的で抗原部位として想定される P0/P1/P2 の共通 C 末端配列を含む合成ペプチドと抗 P-Fab 間の直接的結合性 (図 4A), およびペプチド添加による抗 P-IgG のリボソーム活性阻害からの回避効果 (図 4B) を観察した. ヒト P2 の C 末端の 22 アミノ酸からなる合成ペプチド (P-ペプチド: 図 4C) は抗 P-Fab と結合した (図 4A, レーン 2). しかし, C 末端の 3 アミノ酸を削除した 19 アミノ酸からなる合成ペプチド ( $\Delta 3$ -ペプチド: 図 4C) との結合は検出されなかった (図 4A, レーン 3). 一方, 抗 P-IgG によるリボソーム/eEF-2 依存 GTPase 活性阻害反応系に P-ペプチドを添加すると活性阻害の回避がみられたが,  $\Delta 3$ -ペプチドの添加では回避がみられなかった (図 4B). この結果は, 著者らが作製した抗 P モノクローナル抗体のエピトープ認識には, P0/P1/P2 の共通 C 末端部位の最末端の 3 アミノ酸領域が特に重要であることを示している. この結果は, リコンビナント抗 P 抗体と各種合成ペプチドとの反応性を解析した Zampieri らの結果と一致している<sup>18)</sup>.

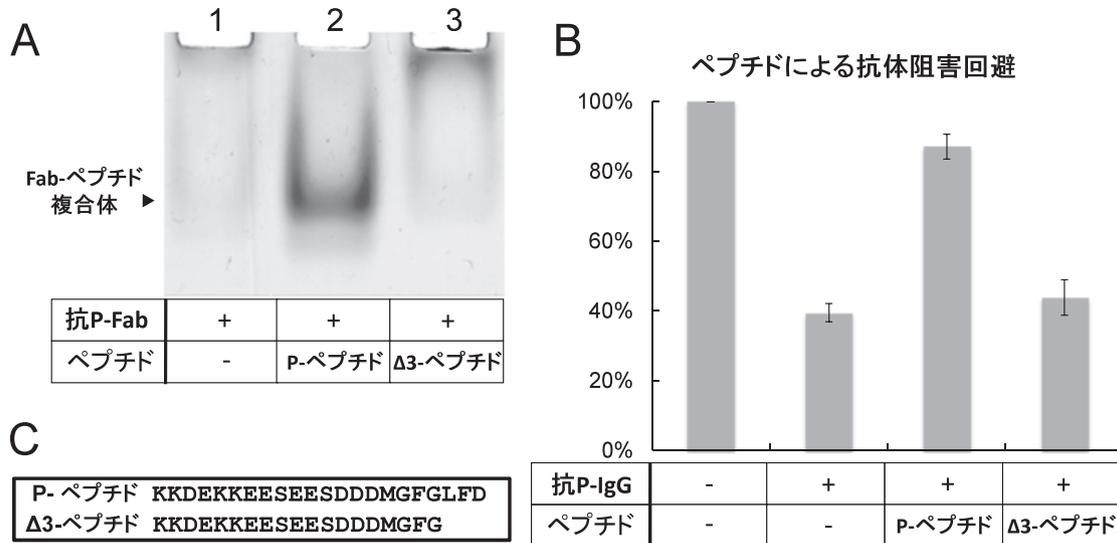


図4 抗Pモノクローナル抗体の結合部位解析

(A) 抗P-Fab単独(レーン1), FabとP-ペプチド(図4C参照:P2のC末端の22アミノ酸を含む)を混合(レーン2), FabとΔ3-ペプチド(P-ペプチドのC末端の3個のアミノ酸を削除したもの)を混合し, 未変性アクリルアミドゲル電気泳動により分析した(クマシー染色). (B) リボソームとeEF-2に依存するGTPase反応系に抗P-IgG添加, またはIgGに加えてP-ペプチドまたはΔ3-ペプチドを添加し活性への効果を解析した. (C) 合成ペプチドのアミノ酸配列.

## 5. タンパク質合成におけるP複合体の機能

### 1) 真核生物翻訳因子受容性を決定づけるP複合体

大腸菌リボソームを用いた過去の多くの研究により, 真正細菌リボソームのL10/L12ストーク複合体は翻訳伸長因子EF-TuとEF-Gの作用と密接に関わることが示されている. 近年の結晶構造解析ではEF-Gのリボソームへの結合の際, L12のC末端ドメインのヘリックスα4がEF-GのG'ドメインと結合することが示されているが<sup>19)</sup>, EF-TuのリクルートへのL12の役割についてはいまだに明確にされていない. 真核生物リボソームのP複合体が真核生物翻訳伸長因子の受容性に決定的役割を演じることを示す証拠は, 真核生物P複合体を大腸菌リボソーム中のL10/L12複合体と置換したハイブリッドリボソームを用いた実験より得られている<sup>20)</sup>. すなわち, 大腸菌のリボソームは真正細菌の翻訳伸長因子は受容するが, 真核生物の伸長因子は受容できない. しかしながら, 大サブユニット中のL10/L12ストーク複合体を*in vitro*で特異的に遊離させ, 真核生物のP複合体と置換した“ハイブリッドリボソーム”では真核生物の伸長因子eEF-1αとeEF-2を受容するようになり, 両因子によるポリペプチド鎖合成活性を示すが大腸菌の伸長因子は受容できなくなる(図5).

### 2) P0/P1/P2のC末端部位の機能

P複合体, 特にP0/P1/P2の共通C末端の翻訳伸長因子受容性への関与が示されているにも関わらず, これまでの著者らの研究では, 単離した真核生物P複合体または

P1-P2二量体と翻訳因子間の明確な結合性は検出されていない. 最近著者らは, 真核生物P1-P2の代わりにその古細菌(*P. horikoshii*)の相同体であるaP1-aP1ホモ二量体を用いたNative Gel電気泳動分析により, 古細菌伸長因子aEF-2との直接的な結合を実証することに成功した(図6A)<sup>21)</sup>. この結合はaP1のC末端部の18アミノ酸を含む合成ペプチドで抑制され, aP1が自身のC末端部を介して翻訳伸長因子と結合することを示している. この結合はGTP非水解アナログ存在下でもGDP存在下でも同等に生じた. aP1のC末端部位のアミノ酸置換実験により, aP1上の結合部位の詳細の解析により, C末端に存在するLeu-100, Leu-103, Leu-106, Phe-107の疎水性アミノ酸がaEF-2との結合に関わっていることが判明した(図6B, 6C)<sup>21)</sup>.

aEF-2以外の古細菌GTP結合性翻訳因子であるaEF-1αおよびaIF5BについてもaP1-aP1二量体のC末端部位との直接的結合性が検出されている<sup>20)</sup>. これら因子の結合機構の詳細は現在解析が進められているが, aP1のC末端部位がどのように構造の異なる複数の翻訳因子と結合するか, そしてそれらの相互作用はタンパク質合成プロセスでどのように機能しているか, 解決すべき興味深い課題が残されている.

### 3) 真核生物P複合体の5コピーのC末端配列は等価か

真核生物P1-P2二量体の場合, eEF-2との明確な結合性は検出されていないものの, P0, P1, P2のC末端共通配列において古細菌aP1のaEF-2結合に寄与するアミノ酸の一つとして同定されたC末端から2番目のPheをSerに置

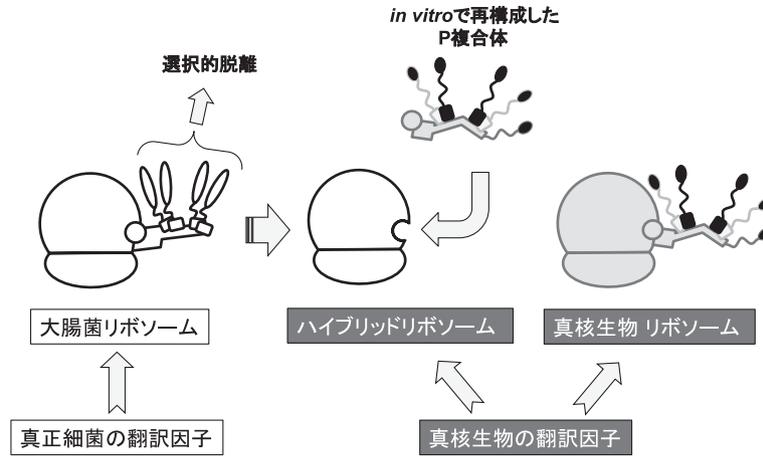


図5 ハイブリッドリボソーム系の概要

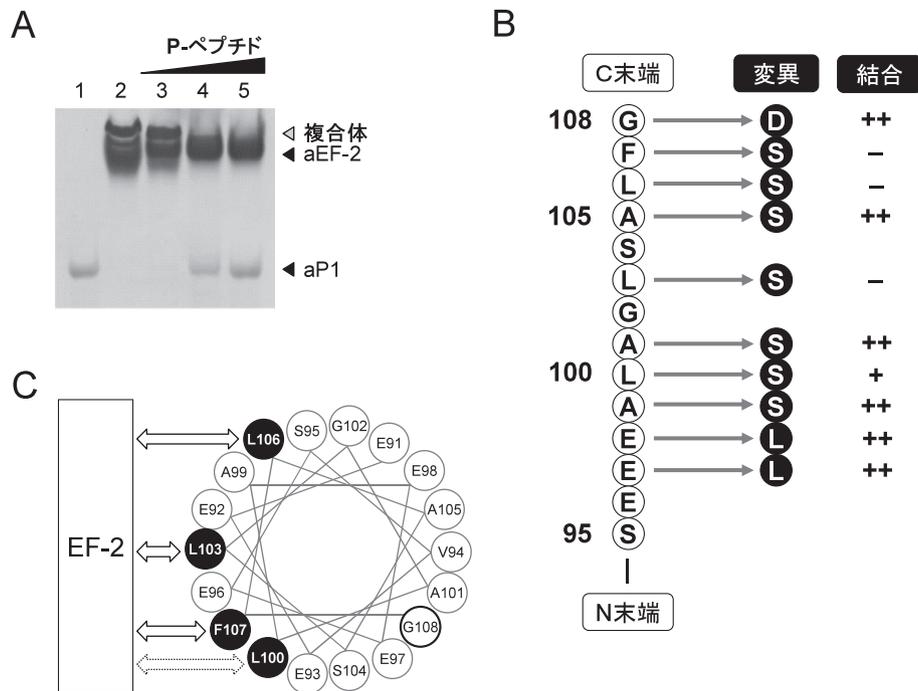


図6 古細菌 aP1 の C 末端と aEF-2 間の直接的結合

(A) 古細菌 aP1 単独 (レーン 1), aP1 と古細菌翻訳伸長因子 aEF-2 を混合したサンプル (レーン 2), さらに aP1 と aEF-2 に加え、P-ペプチドを増加させたサンプル (レーン 3~5) を、保温後、未変性アクリルアミドゲル電気泳動により分析した (クマシー染色). (B) aP1 の各 C 末端アミノ酸を置換した際の aP1 と aEF-2 間の結合性を示す. (C) aP1 の C 末端が  $\alpha$ ヘリックスを形成していると仮定し、 $\alpha$ ヘリックス wheel モデル上に aEF-2 結合に寄与するアミノ酸を示す.

換すると、eEF-2 依存の GTPase 活性が大きく低下することより、真核生物 P 複合体の C 末端も古細菌と同様に翻訳因子との相互作用能を有していると考えられる<sup>21)</sup>.

真核生物 P 複合体では P0 の C 末端側のヘリックス I と II に各々 1 個の P1-P2 ヘテロ二量体が結合しており、P0 の C 末端と合わせると 5 コピーの共通 C 末端配列が含まれている (図 2). P 複合体における各 C 末端の働きが等価なのか、異なるのか、という点を探るため、著者らは C

末端共通配列を削除した P0 のヘリックス I または II の P1-P2 結合部位に変異を導入し、一方の P1-P2 を遊離させた P0<sub>ΔC</sub>-P1-P2 三量体を作製した. そして、その P1/P2 の一方の C 末端配列を削除して 1 個の C 末端配列しか含まない変異体 (One-CTD P 複合体) を作製し、P 複合体中の各 C 末端部位のリボソーム上の eEF-2 依存 GTPase 活性への寄与を解析した (図 7A)<sup>22)</sup>. その結果、各 C 末端ともある程度の eEF-2 受容性を保有するが、ヘリックス I に結

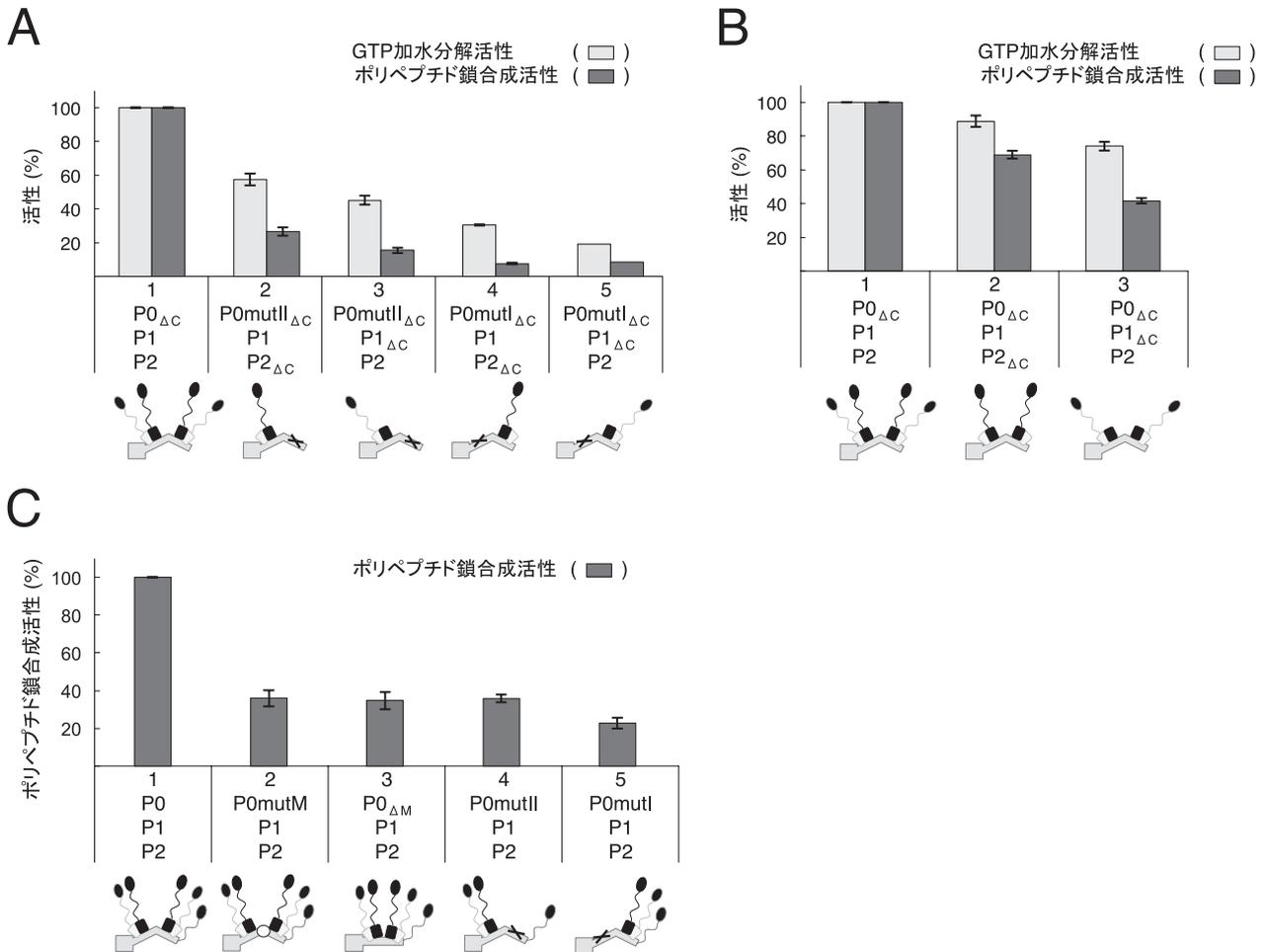


図7 P複合体中の各C末端コピーの翻訳伸長因子受容性への寄与

(A, B) C末端の共通配列を削除したカイコP0変異体P0<sub>ΔC</sub>を用い、ヘリックスIまたはIIに変異を導入して(それぞれ、P0mutI<sub>ΔC</sub>およびP0mutII<sub>ΔC</sub>;挿入図の×印)それぞれのヘリックス上へのP1-P2二量体結合能を消失させたP0変異体を調製した。その他、P1またはP2のいずれかのC末端半分を削除した“One-CTD二量体”を調製した(P1-P2<sub>ΔC</sub>またはP1<sub>ΔC</sub>-P2)。これらをさまざまな組み合わせで混合し、各種変異型P複合体(挿入図参照)を再構成し、ハイブリッドリボソーム系にてEF-2依存GTPaseおよびEF-1α/EF-2依存ポリフェニルアラニン合成活性を測定した。(C) P0のヘリックスIとII間に存在するYPTループに変異を導入(P0mutM;挿入図の○印)、または削除(P0<sub>ΔM</sub>;挿入図ではヘリックスI-II間連結)したP0変異体とP1-P2により複合体を再構成し、ハイブリッドリボソーム系にてEF-1α/EF-2依存ポリフェニルアラニン合成活性を測定した。

合するP1-P2二量体の各C末端部位の方がヘリックスIIに結合する二量体よりeEF-2リクルート効率が高く、さらにP1のCTDの方がP2より若干高い活性を示すことが判明した。

#### 4) P複合体中のP1-P2二量体間の協調性

各One-CTD P複合体におけるeEF-1α/eEF-2依存のポリフェニルアラニン合成活性を観察すると、eEF-2依存GTPase活性と比較し、単一のCTDでは寄与率がかなり低いことが示された(図7A)<sup>22)</sup>。ペプチド伸長反応には二種類の翻訳伸長因子を必要とするため、単一のCTDしか含まないP複合体では効率的な機能を果たせないことが示唆された。一方、ヘリックスIとヘリックスIIに1個ずつ存在するCTDでもかなりのペプチド合成活性を示すこと

より(図7B)、両ヘリックスに結合するP1-P2のCTD間の共同作業でペプチド伸長反応が進行することが示唆された。

ヘリックスIとIIの間には生物種間で保存されたTyr-Pro-Thr配列を含むループ構造(YPTループ)が存在する(図3A)。著者らはこの配列を削除するかほかのアミノ酸に置換することによる効果を解析した。この結果、このループ構造の改変によりペプチド鎖伸長活性が大きく低下し、その活性はヘリックスIIに結合するP1-P2二量体を削除した複合体の活性と同等であった(図7C)<sup>22)</sup>。すなわちこの結果は、ヘリックスIとIIの間のループ構造を崩壊させることでヘリックスIIに結合するP1-P2の正規の機能が果たせなくなることを示唆している。おそらくへ

リックス間の Tyr-Pro-Thr 配列は両ヘリックス間に適切な角度や方向性を与え、結合する2個の P1-P2 に協調的作用機構を可能とし、リボソームの二種類の伸長因子との交互の作用を介した効率的なペプチド伸長反応に寄与していると考えられる。

## 6. おわりに

リボソームに対する主要自己抗体である抗 P 抗体の標的部位の構造と機能面の解析から、大サブユニットに存在する動的な P 複合体 (ストーク複合体) の実態が明らかになった。真核生物の場合、五量体として存在する P 複合体の各分子の柔軟な C 末端部位に共通の抗 P 抗体のエピトープが存在し、まさにその部位が翻訳因子と相互作用する機能部位であることが判明した。この特徴的な構造はリボソームが効率よく翻訳因子を捕獲しリボソームにリクルートするために適合していると考えられるが、同時にこの特徴は自己抗体を産出する効果的な抗原性を生み出していると推察される。したがって P 複合体の研究は、タンパク質合成効率の分子基盤研究にとってきわめて重要な対象であるばかりでなく、自己抗体産出機構を探るため有効なモデルとなるであろう。

## 文 献

- 1) Tan, E.M. (1989) *Adv. Immunol.*, 44, 93-151.
- 2) Elkon, K.B., Bonfa, E., Weissbach, H., & Brot, N. (1994) *Adv. Exp. Med. Biol.*, 347, 81-92.
- 3) Sato, T., Uchiumi, T., Ozawa, T., Kikuchi, M., Nakano, M., Kominami, R., & Arakawa, M. (1991) *J. Rheumatol.*, 18, 1681-1684.
- 4) Uchiumi, T., Traut, R.R., Elkon, K., & Kominami, R. (1991) *J. Biol. Chem.*, 266, 2054-2062.
- 5) Sato, T., Uchiumi, T., Arakawa, M., & Kominami, R. (1994) *Clin. Exp. Immunol.*, 98, 35-39.
- 6) Bonfa, E., Golombek, S.J., Kaufman, L.D., Skelly, S., Weissbach, H., Brot, N., & Elkon, K.B. (1987) *N. Engl. J. Med.*, 317, 265-271.
- 7) Hirohata, S. (2011) *Clin. Exp. Nephrol.*, 15, 471-477.
- 8) Hagiya, A., Naganuma, T., Maki, Y., Ohta, J., Tohkairin, Y., Shimizu, T., Nomura, T., Hachimori, A., & Uchiumi, T. (2005) *J. Biol. Chem.*, 280, 39193-39199.
- 9) Uchiumi, T. & Kominami, R. (1997) *J. Biol. Chem.*, 272, 3302-3308.
- 10) Moore, P.B. & Steitz, T.A. (2003) *Annu. Rev. Biochem.*, 72, 813-850.
- 11) Naganuma, T., Shiogama, K., & Uchiumi, T. (2007) *Genes Cells*, 12, 501-510.
- 12) Maki, Y., Hashimoto, T., Zhou, M., Naganuma, T., Ohta, J., Nomura, T., Robinson, C.V., & Uchiumi, T. (2007) *J. Biol. Chem.*, 282, 32827-32833.
- 13) Nomura, T., Nakano, K., Maki, Y., Naganuma, T., Nakashima, T., Tanaka, I., Kimura, M., Hachimori, A., & Uchiumi, T. (2006) *Biochem. J.*, 396, 565-571.
- 14) Naganuma, T., Nomura, N., Yao, M., Mochizuki, M., Uchiumi, T., & Tanaka, I. (2010) *J. Biol. Chem.*, 285, 4747-4756.
- 15) Lee, K.M., Yusa, K., Chu, L.O., Yu, C.W., Oono, M., Miyoshi, T., Ito, K., Shaw, P.C., Wong, K.B., & Uchiumi, T. (2013) *Nucleic Acids Res.*, in press.
- 16) Padgett, R.A., Mount, S.M., Steitz, J.A., & Sharp, P.A. (1983) *Cell*, 35, 101-107.
- 17) Uchiumi, T., Traut, R.R., & Kominami, R. (1990) *J. Biol. Chem.*, 265, 89-95.
- 18) Zampieri, S., Mahler, M., Blüthner, M., Qiu, Z., Malmegrim, K., Ghirardello, A., Doria, A., van Venrooij, W.J., & Raats, J. M. (2003) *Cell. Mol. Life Sci.*, 60, 588-598.
- 19) Gao, Y.G., Selmer, M., Dunham, C.M., Weixlbaumer, A., Kelley, A.C., & Ramakrishnan, V. (2009) *Science*, 326, 694-699.
- 20) Uchiumi, T., Honma, S., Endo, Y., & Hachimori, A. (2002) *J. Biol. Chem.*, 277, 41401-41409.
- 21) Nomura, N., Honda, T., Baba, K., Naganuma, T., Tanzawa, T., Arisaka, F., Noda, M., Uchiyama, S., Tanaka, I., Yao, M., & Uchiumi, T. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 3748-3753.
- 22) Baba, K., Tumuraya, K., Tanaka, I., Yao, M., & Uchiumi, T. (2013) *Nucleic Acids Res.*, 41, 3635-3643.