

Note

분열효모에서 TREX-2 복합체의 구성요소인 Cdc31이 생장과 mRNA export에 미치는 영향

고은진 · 윤진호*

성신여자대학교 생명과학·화학부 및 기초과학연구소

Effects of Cdc31, a component of TREX-2 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 01133, Republic of Korea

(Received August 22, 2016; Revised September 9, 2016; Accepted September 12, 2016)

ABSTRACT: In fission yeast, *Schizosaccharomyces pombe*, the *cdc31* gene encodes a member of the conserved Ca^{2+} -binding centrin/CDC31 family, which is a component of spindle pole body. Here, we demonstrate that the *S. pombe* cdc31p is also a component of TREX-2 complex, which influences mRNA export from the nucleus to the cytoplasm. Repression of the *cdc31* gene expression caused growth defect with accumulation of poly(A)⁺ RNA in the nucleus. On the other hand, over-expression of *cdc31* exhibited no defects of both growth and bulk mRNA export, but showed somewhat longer cell morphology. Yeast two-hybrid analysis showed that Cdc31 interacted with Sac3 and Pci2, the subunits of TREX-2 complex. These results suggest that *S. pombe* Cdc31 is also involved in mRNA export as a component of TREX-2 complex.

Key words: *cdc31*, fission yeast *S. pombe*, mRNA export, TREX-2 complex

진핵생물에서 단백질을 암호화하고 있는 유전자들이 발현되기 위해서는 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 세포질로 방출되는 과정들이 필요하다(Köhler and Hurt, 2007). 이러한 과정들은 전사과정 동안 초기 mRNA에 결합하여 mRNP 복합체를 형성하는 많은 단백질에 의해 매개되고 조절되지만(Perales and Bentley, 2009; Stewart, 2010), TREX 복합체와 TREX-2 복합체는 mRNA 전사 및 가공 과정을 mRNA 방출 과정과 연계하고 조직화하는 중심적인 역할을 담당하고 있다(Rodríguez-Navarro and Hurt, 2011).

TREX-2 복합체(Transcription and Export complex-2)는

효모에서부터 인간까지 진화적으로 잘 보존되어 있으며, 핵공 복합체의 basket 구조에 결합하고 있다(Fischer *et al.*, 2002). TREX-2 복합체는 전사(transcription)와 mRNA의 핵에서 세포질로의 방출(mRNA export) 과정을 연결하는데 필수적인 역할을 담당하고 있을 뿐만 아니라(Gallardo *et al.*, 2003; Lei *et al.*, 2003; García-Oliver *et al.*, 2012), DNA 복제, 유전체의 안정성에도 관련되어 있으며(González-Aguilera *et al.*, 2008; Bermejo *et al.*, 2011), 출아효모에서는 *GAL1* 유전자와 같이 활발히 전사되는 유전자들을 핵공 근처로 이동하여 위치하도록 하는 gene-targeting을 매개하는 등(Cabal *et al.*, 2006), 염색질과 연관된 매우 다양한 과정에 관여하는 것으로 알려지고 있다(Ibarra and Hetzer, 2015). 출아효모 *S. cerevisiae*의 TREX-2 복합체는 Sac3, Thp1, Sem1, Cdc31, Sus1 단백질들로 구성되어 있는데, Sac3 단백질이 scaffold로 작용하고 여기에 다른 단백질이 결합하고 있는 구조로 되어있다(Ellisdon *et al.*, 2012). 이와 같이 mRNA 생성 및 방출과 유전체 안정성 등

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

의 다양한 역할을 보이는 TREX-2 복합체의 기능은 대부분 출아효모인 *S. cerevisiae*에서 연구되었지만, TREX-2 복합체는 다양한 진핵생물에 진화적으로 잘 보존되어 있다.

TREX-2 복합체의 구성요소인 Cdc31 단백질은 Ca^{2+} -결합 단백질로 진화적으로 잘 보존된 centrin/CDC31 계열에 속한다. CDC31은 원래 세포분열주기(cell division cycle) 돌연변이를 상보하는 유전자로 클로닝되었고, 미세소관 형성중심(microtubule organizing centers, MTOCs)인 효모의 중심극체(spindle pole body, SPB)의 복제에 필요할 것으로 여겨졌다(Baum *et al.*, 1986). 그 후 Cdc31 단백질은 중심극체의 half-bridge 구조에 위치하여 중심극체의 복제를 조절한다는 것이 밝혀졌다(Seybold *et al.*, 2015). 분열효모인 *Schizosaccharomyces pombe*의 Cdc31/Centrin3의 이종상동체(ortholog)도 역시 중심극체의 half-bridge 구성인자이며, 중심극체의 복제를 조절하는 것으로 알려져 있다(Paoletti *et al.*, 2003; Bouhrel *et al.*, 2015). 본 연구에서는 분열효모 Cdc31이 TREX-2 복합체의 구성요소로서 mRNA 방출에 관여하는지를 조사하였다.

본 실험에서는 이전에 기술된 분열효모의 유전학적 방법과 배양 방법을 사용하였다(Moreno *et al.*, 1991; Alfa *et al.*, 1993). *S. pombe*의 *cdc31*⁺은 생장에 필수적이므로(Paoletti *et al.*, 2003), *cdc31*⁺ 유전자의 발현이 억제(repression)되거나 과발현(over-expression)되는 균주를 제작하여 표현형을 관찰하고자 하였다(Fig. 1A). 먼저 *cdc31*⁺ 유전자의 단백질을 암호화하는 ORF만을 *nmt1* 프로모터에 붙여서, *cdc31*⁺의 전사가 티아민에 의해 조절되는 벡터들을 제작하였다. *nmt1* 프로모터는 배지에 티아민이 없으면(-B1) 전사가 유도되고, 티아민이 존재하면(+B1) 전사가 억제되는 프로모터이다(Maundrell, 1993). pREP3X 벡터에 있는 야생형 *nmt1* 프로모터는 강력한 프로모터로 티아민이 없는 배지에서 발현 정도가 매우 높다(Forsburg, 1993). 반면 pREP41X 벡터에는 돌연변이 *nmt1*^{*} 프로모터를 가지고 있는데, 돌연변이 프로모터는 티아민에 의해 여전히 억제되지만 야생형 *nmt1*에 비해 프로모터 세기가 약하다(weaker *nmt1*^{*}). 이렇게 제작한 3X-Cdc31, 41X-Cdc31 플라스미드를 야생형(WT) 반수체 균주인 AY217 (*h⁻ leu1-32 ura4-d18*)에 형질전환하였다. 다음으로, 이렇게 얻은 형질전환체(AY217/41X-Cdc31)의 염색체에 존재하는 *cdc31*⁺ 유전자를 결실시켰다. 선별유전자로 *Kan^r*를 이용하여 $\Delta cdc31$ 결실 돌연변이 균주를 만들기 위해서 double-joint PCR 방법으로 $\Delta cdc31::Kan^r$ DNA 절편을 제작한 후, one-step gene disruption 방법을 사용하였다. 항진균제인 G418이 첨가된 배지에서 자라는 형질전환체를 얻은 후, 형질전환체의 DNA를 추출하여 PCR을 통해 $\Delta cdc31$ 결실돌연변이를 확인하였다(자료 미제시).

위와 같이 41X-Cdc31 벡터를 가진 반수체 $\Delta cdc31$ 결실돌연변이 균주를 제작하였다(Fig. 1A). 예상한 바와 같이, 이 균주는 티아민이 없는 배지(-B1)에서는 *cdc31*⁺ 유전자가 발현되어 대조균인 야생형 균주처럼 정상적인 성장을 보였지만, 티아민이 첨가된 배지(+B1)에서는 *cdc31*⁺ 유전자의 발현이 억제되어 생장이 멈추었다(Fig. 1B). 이러한 실험 결과는 *cdc31*⁺ 유전자가 생장에 필수적임을 확인해 주었다. $\Delta cdc31$ (41X-Cdc31) 균주에서 *cdc31*⁺ 유전자의 발현이 억제되는 경우, mRNA 방출의 이상유무를 관찰하였다. 세포 내의

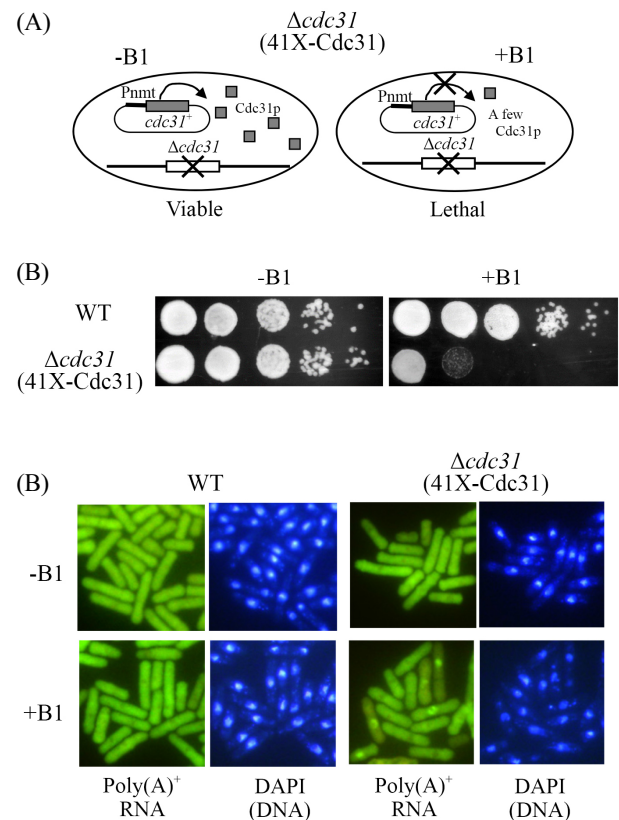


Fig. 1. Repression of *cdc31* expression caused the defects of both growth and mRNA export. (A) A schematic representing the repression of *cdc31* expression in *S. pombe*. Wild-type *cdc31* ORF is denoted by shaded boxes and expressed under the control of the weaker *nmt1* promoter (P_{nmt}) in pREP41X plasmid. The $\Delta cdc31$ null allele in chromosome is shown by open boxes with a cross. This strain is kept viable when *cdc31* is expressed from the pREP41X plasmid on the thiamine-free medium (-B1). In the presence of thiamine (+B1), the expression of *cdc31* is repressed, resulting in the inhibition of growth. (B) Growth of haploid wild-type *cdc31*⁺ (WT) cells and *cdc31* deletion mutant cells harboring 41X-Cdc31 plasmid were monitored by spot assay on appropriately supplemented EMM (Edinburgh minimal medium) in the presence (+B1) and the absence (-B1) of thiamine. Cells were incubated for 3 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.

poly(A)⁺ RNA의 분포는 이전 논문에 언급한 fluorescence *in situ* hybridization (FISH) 방법을 사용하여 관찰하였다(Yoon *et al.*, 2000). Figure 1C에서 보듯이 야생형(WT) 균주에서는 poly(A)⁺ RNA가 정상적으로 세포 전체에 거의 균일하게 분포하였다. 반면, 41X-Cdc31 벡터에서 *cdc31*⁺가 발현되는 Δ *cdc31*(41X-Cdc31) 균주는 티아민이 없는 배지(-B1)에서는 야생형과 비슷하게 정상적인 poly(A)⁺ RNA 분포를 보였지만, *cdc31*⁺의 발현이 억제되는 티아민이 첨가된 배지(+B1)에서는 핵 안에 poly(A)⁺ RNA가 축적되는 것이 관찰되었다. 이러한 결과들은 분열효모의 Cdc31도 mRNA 방출에 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다.

Cdc31 단백질이 결여되면 정상적인 생장과 mRNA 방출에 영향을 주기 때문에, 반대로 Cdc31 단백질이 과발현되는 균주를 제작하여 표현형을 관찰하기로 하였다. 앞에서 제작한 균주(WT/3X-Cdc31)는 티아민이 없는 배지에서 염색체의 *cdc31*⁺ 유전자 이외에 3X-Cdc31 벡터로부터 Cdc31이 훨씬 더 많이 발현된다. 하지만, 빈 pREP3X 벡터가 형질전환된 야생형 대조군과 비교하여 *cdc31*⁺ 유전자가 과발현되더라도 생장에 아무런 영향이 없었으며(Fig. 2A), FISH를 통한 poly(A)⁺ RNA의 분포 조사에서도 대조군과 큰 차이점을 발견할 수 없었다(Fig. 2B). 단지 Cdc31 단백질이 과발현되면 세포의 길이가 길어지는 표현형을 보였는데, 분열효모의 세포가 길어지는 것은 세포주기에서 핵의 유사분열(Mitotic phase)이 늦어지는 것을 암시한다. 유사분열 개시 시점에 중심극체의 분리가 일어나기

위해서는 Cdk1 (*cdc2*에 의해 암호화)가 Cdc31의 15번째 아미노산 잔기인 세린을 인산화시키는 것이 필요한데(Bouhrel *et al.*, 2015), Cdc31과발현이 이러한 세포주기 조절과정을 교란하는 것으로 추측된다.

분열효모의 Cdc31이 세포주기 조절 이외에 mRNA 방출에 관여하므로, 이 단백질이 TREX-2의 구성인자로 작용하는지를 알아보기 위해 yeast two-hybrid 분석을 하였다. 이를 위해 Cdc31 이외에 TREX-2 구성인자들의 *S. pombe* 이중상동체들을 유전체 database인 Pombase (www.pombase.org)에서 찾았다. 즉, Sac3 (SPCC576.05), Pci2 (SPBC1105.07c, 출아효모 Thp1의 상동체), Dss1 (SPAC3G6.02, 출아효모 Sem1의 상동체), Sus1 (SPBC6B1.12c)를 각각 *lexA* 작동자의 DNA 결합 영역(BD)을 가진 pTLexA4 벡터와 GAL4 활성화 영역(AD)을 가진 pGAD424 벡터(Clontec Laboratories, Inc.)에 클로닝하고, 이들의 염기서열을 DNA sequencing을 통해 확인하였다. 이렇게 제작한 벡터들과 대조군인 빈 벡터를 L40 균주(*MATa his3 Δ 200 trp1-901 leu2-3112 ade2 LYS::4lexAop-HIS3 URA3::8lexAop-LacZ GAL4*)에 형질전환하였다. 먼저 pGAD424 벡터의 GAL4 활성화 영역과 융합된 Cdc31 (AD-Cdc31)이 홀로 존재할 때는 리포터인 *LacZ* 유전자를 발현시키지 못하는 것을 확인하기 위해, AD-Cdc31과 DNA 결합 영역을 가진 빈 pTLexA4 벡터(BD-X)를 함께 형질전환하였다. 기대한 바와 같이 AD-Cdc31과 BD-X를 함께 가진 형질전환체에서는 *LacZ* 유전자가 발현되지 않았다(Table 1). Table 1에 정리한 바와 같이, AD-Cdc31과 pTLexA4 벡터에 클로닝된 TREX-2 구성요소의 조합은 모두 *LacZ* 유전자를 발현시켰다. 하지만 pTLexA4 벡터에 클로닝된 BD-Sus1과 BD-Dss1은 홀로 *LacZ* 유전자를 발현시킬 수 있으므로, AD-Cdc31과 BD-Sus1 조합, 그리고 AD-Cdc31과 BD-Dss1 조합에서의 *LacZ* 유전자 발현은 Cdc31 단백질과 이 단백질들의 상호작용에 의해 나타난 결과로 해석하기 어려웠다. 그러나 대조군 실험에서 BD-Sac3과 BD-Pci2는 홀로 *LacZ* 유전자를 발현시킬 수 없으므로, two-hybrid 실험 결과는 Cdc31과 Sac3, Pci2 단백질 사이에 각각 물리적인 상호작용

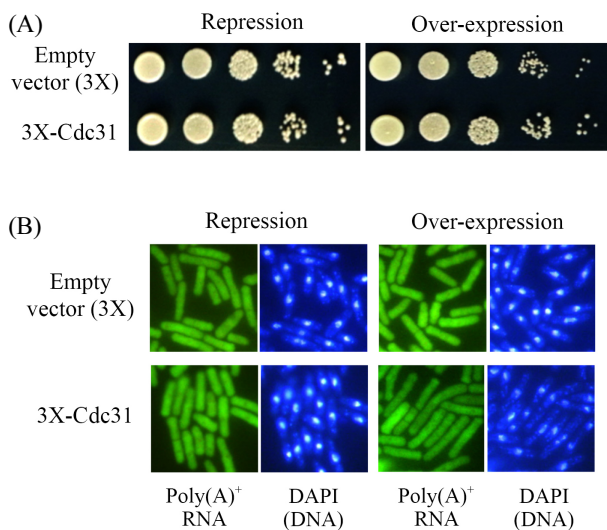


Fig. 2. Over-expression of *cdc31* caused the increase in cell length. (A) Haploid wild-type (AY217) cells carrying the pREP3X plasmid (empty vector) or pREP3X-Cdc31 (3X-Cdc31) were monitored by spot assay for 3 days at 30°C in repressed or over-expressed conditions. (B) Poly(A)⁺ RNA localization showed no apparent mRNA export defect.

Table 1. Yeast two-hybrid analysis

AD-	BD-	LacZ expression	AD-	BD-	LacZ expression
Cdc31	X ^a	-	X	Cdc31	+
Cdc31	Sac3	+	X	Sac3	-
Cdc31	Pci2	+	X	Pci2	-
Cdc31	Sus1	+	X	Sus1	+
Cdc31	Dss1	+	X	Dss1	+

^a X indicates the empty vector

용이 있음을 의미한다. 앞의 실험과 반대로 pTlexA4 벡터의 DNA 결합 영역에 융합된 Cdc31 (BD-Cdc31)과 pGAD424 벡터에 클로닝된 TREX-2 구성요소의 조합으로 two-hybrid 분석을 하고자 하였으나, 음성 대조군 조합인 BD-Cdc31과 빈 벡터인 AD-X을 가진 형질전환체도 *LacZ* 유전자를 발현시켰기 때문에 BD-Cdc31이 다른 단백질들과 상호작용하는지 확인할 수 없었다. 구조 연구를 통해, 출아효모 TREX-2는 Sac3 단백질이 scaffold로 작용하고 여기에 다른 단백질이 결합하고 있다는 것이 밝혀졌다. Sac3 중간 부위는 Thp1, Sem1과 함께 M-subcomplex를 형성하여 DNA, RNA와 결합할 뿐만 아니라(Ellisdon *et al.*, 2012), 매개자(Mediator) 복합체와 직접 결합하여 전사를 활성화시키는 것이 밝혀졌다(Schneider *et al.*, 2015). 또한 Sac3 C-말단 부위는 하나의 Cdc31과 두 분자의 Sus1 단백질과 함께 CID-subcomplex를 형성하여, 핵공복합체의 핵 안쪽 구조물인 basket에 결합하는 것으로 알려졌다(Jani *et al.*, 2009). 그러므로 분열효모에서 Two-hybrid 실험으로 보인 Cdc31과 Sac3의 상호작용 결과는 출아효모의 구조 결과와 일치한다. 한편, Cdc31과 Pci2 (Thp1의 상동체)의 상호작용은 직접적인지 아니면 간접적인지는 알 수 없다. 또한, Cdc31, Sus1, Dss1이 two-hybrid 분석에서 DNA 결합 영역과 융합되면 각각 단독으로 리포터 유전자를 발현시킬 수 있었는데, 어떻게 이들이 전사를 활성화시킬 수 있는지는 좀 더 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

진핵생물 영역에서 잘 보존된 TREX-2 복합체는 유전자 발현 등 염색질과 연관된 매우 다양한 과정에 관여한다. 하지만 다양한 역할을 담당하는 출아효모 TREX2의 결실돌연변이들은 일반적인 생장조건(온도, 배지 등)에서는 약간의 결함을 보이지만 죽지 않는 반면, *S. pombe*의 TREX2는 생장에 필수적이다. 이는 잘 보존된 TREX-2의 기능은 기본적으로 유사하지만, 분열효모와 출아효모에서 차이점을 나타낼 수 있도록 세분화되어 있음을 시사한다. 또한, TREX-2의 구성요소 중 Sus1, Dss1, Cdc31 등은 TREX-2 이외에 각각 다른 복합체(SAGA, 26S proteome, SPB 등)의 구성요소이기도 하다. 그러므로 *S. pombe*의 TREX-2의 기능과 구성요소들을 연구하는 것은 진핵세포의 일반적인 그리고 종 특이적인 TREX-2 복합체의 역할을 이해하는데 도움이 될 것으로 사료된다.

적 요

분열효모 *Schizosaccharomyces pombe*의 *cdc31* 유전자는 진화적으로 잘 보존된 Ca^{2+} -결합 centrin/CDC31 계열에 속하

며 방추극체(spindle pole body)의 한 성분인 단백질을 암호화하고 있다. 이 논문에서는 *S. pombe*의 Cdc31 단백질이 방추극체뿐만 아니라 TREX-2 복합체의 구성인자로서 mRNA의 핵에서 세포질로의 방출에 영향을 미치는지 알아보았다. *cdc31* 유전자의 발현을 억제하면 생장 결함을 보였고, poly(A)⁺ RNA도 핵 안에 축적되는 현상을 보였다. 한편 *cdc31* 유전자를 과발현시키면, 생장과 mRNA 방출에 결함을 보이진 않았지만 세포의 길이가 길어지는 형태를 보였다. Yeast two-hybrid 분석에서 Cdc31 단백질은 TREX-2 복합체의 또 다른 구성인자인 Sac3 그리고 Pci2와 상호작용을 하였다. 이와 같은 결과들은 *S. pombe*의 Cdc31 단백질도 역시 TREX-2 복합체의 구성인자로 mRNA 방출에 관여하고 있음을 시사한다.

감사의 말

이 논문은 2014년도 성신여자대학교 학술연구조성비 지원에 의하여 연구되었음.

References

- 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.
- Baum, P., Furlong, C., and Byers, B. 1986. Yeast gene required for spindle pole body duplication: homology of its product with Ca^{2+} -binding proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**, 5512–5516.
- 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.
- Bouhrel, I.B., Ohta, M., Mayeux, A., Bordes, N., Dingli, F., Boulanger, J., Velve Casquillas, G., Loew, D., Tran, P.T., Sato, M., *et al.* 2015. Cell cycle control of spindle pole body duplication and splitting by Sfi1 and Cdc31 in fission yeast. *J. Cell Sci.* **128**, 1481–1493.
- Cabal, G.G., Genovesio, A., Rodriguez-Navarro, S., Zimmer, C., Gadal, O., Lesne, A., Buc, H., Feuerbach-Fournier, F., Olivo-Marin, J.C., Hurt, E.C., *et al.* 2006. SAGA interacting factors confine sub-diffusion of transcribed genes to the nuclear envelope. *Nature* **441**, 770–773.
- Ellisdon, A.M., 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.
- Fischer, T., Strasser, K., Racz, 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, S.L. 1993. Comparison of *Schizosaccharomyces pombe* expression systems. *Nucleic Acids Res.* **21**, 2955–2956.
- 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.
- García-Oliver, E., García-Molinero, V., and Rodríguez-Navarro, S. 2012. mRNA export and gene expression: the SAGA-TREX-2 connection. *Biochim. Biophys. Acta* **1819**, 555–565.
- González-Aguilera, C., Tous, C., Gómez-González, 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.
- Ibarra, A. and Hetzer, M.W. 2015. Nuclear pore proteins and the control of genome functions. *Gen. Dev.* **29**, 337–349.
- Jani, D., Lutz, S., Marshall, N.J., Fischer, T., Köhler, A., Ellisdon, A.M., 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.
- Köhler, A. and Hurt, E. 2007. Exporting RNA from the nucleus to the cytoplasm. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* **8**, 761–773.
- Lei, E.P., Stem, C.A., Fahrenkrog, B., Krebber, H., Moy, T.I., Aebi, U., and Silver, P.A. 2003. Sac3 is an mRNA export factor that localizes to cytoplasmic fibrils of nuclear pore complex. *Mol. Biol. Cell* **14**, 836–847.
- Maundrell, K. 1993. Thiamine-repressible expression vectors pREP and pRIP for fission yeast. *Gene* **123**, 127–130.
- Moreno, S., Klar, A., and Nurse, P. 1991. Molecular genetic analysis of fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Methods Enzymol.* **194**, 795–823.
- Paoletti, A., Bordes, N., Haddad, R., Schwartz, C.L., Chang, F., and Bornens, M. 2003. Fission yeast cdc31p is a component of the half-bridge and controls SPB duplication. *Mol. Biol. Cell.* **14**, 2793–2808.
- Perales, R. and Bentley, D. 2009. “Cotranscriptionality”: the transcription elongation complex as a nexus for nuclear transactions. *Mol. Cell* **36**, 178–191.
- Rodríguez-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, B.F., Clausen, T., and Köhler, A. 2015. The nuclear pore-associated TREX-2 complex employs mediator to regulate gene expression. *Cell* **162**, 1016–1028.
- Seybold, C., Elserafy, M., Rüttnick, D., Ozboyaci, M., Neuner, A., Flottmann, B., Heilemann, M., Wade, R.C., and Schiebel, E. 2015. Kar1 binding to Sfi1 C-terminal regions anchors the SPB bridge to the nuclear envelope. *J. Cell Biol.* **209**, 843–861.
- Stewart, M. 2010. Nuclear export of mRNA. *Trends Biochem. Sci.* **35**, 609–617.
- 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.