

— 総説 —

R2TP 複合体の発見 (2005 年 10 月)

佐伯万騎男

新潟大学医歯学総合研究科 歯科薬理学分野

Discovery of R2TP complex: October 2005

Makio Saeki

Division of Dental Pharmacology Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

平成 29 年 8 月 22 日受付 平成 29 年 8 月 22 日受理

キーワード: Monad, R2TP, アポトーシス

【はじめに】

巧妙に制御されたアポトーシスの分子機構についてはこれまで多くの研究がなされてきた。Monad は我々が Caspase 活性化因子精製の過程で、アポトーシス誘導因子としてクローニングした分子であり、WD40 リピードドメインを持つ蛋白質であることがわかり、HUGO Gene Nomenclature Committee により WD repeat domain 92 (WDR 92) と登録された。さらに Monad は TNF および cycloheximide により誘導されるアポトーシスを増強すること、またその作用は Caspase を介したものであることを報告してきた。しかし、Monad のアポトーシス増強メカニズムについては明らかになっていない。我々は Monad の結合分子を探索する過程で Monad が蛋白質複合体を形成することを見出した。現在その複合体は R2TP と呼ばれている。ここではアポトーシスにおける Monad およびその結合分子 R2TP の役割についてこれまでに明らかになった知見について概略を述べた。 (ここまでは以前大阪大学歯学雑誌に投稿した文章を引用した。)

【R2TP 複合体命名の経緯】

R2TP とは、図 1 に示すように酵母で R2TP 複合体を発見したトロントの Houry グループによる命名である。その経緯は引用文献 18 に詳しい。論文の第一著者の柿原嘉人博士は、酵母における R2TP 複合体の発見に大き

	yeast	human
R2TP	Rvb1	Pontin
	Rvb2	Reptin
	Tah1	RPAP3
	Pih1	PIH1D1
	unknown	Monad

図 1 R2TP 複合体 (引用文献 17 を改変)

Tah1, tetratricopeptide repeat containing protein associated with HSP90 1; Pih1, protein interacting with HSP90 1; RPAP3, RNA polymerase II-associated protein 3; PIH1D1, PIH1 domain containing protein1



図 2 ボルドーで開催された Reptin と Pontin に関する国際ワークショップ

く貢献した。2012年10月17日から19日までボルドーで開催されたReptinとPontinに関する国際ワークショップ(図2)では遺伝子名に関し研究者間で合意が得られ、それまでの遺伝子名の混乱がある程度收拾された。

【アポトーシスの分子機構】

アポトーシスの分子機構について、研究に貢献してくれた大学院生の学位論文を引用して記述する。アポトーシスは遺伝子によって制御された細胞死である。それは、個体発生における形態形成や神経系ネットワークの確立ばかりでなく、成熟個体における細胞交替や内分泌系による恒常性の維持、および免疫系の成立などに重要な役割を果たしている。

アポトーシスの機構は、様々なシグナルによる死という情報の受容から始まり、決定過程、実行過程を進行する。さらにこれらの各段階でアポトーシスは巧妙に制御されている。この機構により、生命体は不要になった細胞や有害となる細胞を除外することができる。

アポトーシスは、生命現象に重要な役割を果たしているばかりではなく、多くの疾患の発症にも深くかかわっている。例えば癌の発生には細胞増殖の亢進だけでなく、アポトーシスの抑制が重要な役割を果たしている。自己免疫疾患には、全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、インスリン依存性糖尿病、多発性硬化症などが知られているが、これらは自己に反応したT細胞がアポトーシスにより除去されずに末梢に放出されることが主な原因と考えられている。中枢神経系の変性疾患であるアルツハイマー病やパーキンソン病は、アミロイド蛋白質の沈着、小胞体ストレス、ミトコンドリアの機能異常などによって、アポトーシスが惹起されるといわれている。

アポトーシスの実行過程はcaspaseによる特定の蛋白質の限定分解が中心的な役割を果たしている。このcaspase活性化はデスレセプターを介する経路と、ミトコンドリア経路が存在する。デスレセプター経路では、デスリガンドがレセプターに結合することにより起こる経路であり、caspase-8、-2を介してcaspase-3の活性化がみられる。強いアポトーシス誘導作用をもつデスリガンドはFasL/Fas系、TNF/TNFR系などが知られており、すべてTNFファミリーに属するサイトカインである。それらに対応するデスレセプターはすべてTNFレセプターファミリーに属し、細胞内領域にデスドメインと呼ばれる特徴的な領域をもつ。デスリガンドがデスレセプターに結合するとアダプターと呼ばれる分子群を介してcaspase-8がレセプターと複合体を形成する。その結果caspase-8が活性化されてアポトーシスが誘導される。デスレセプターは同時にNF- κ Bやc-Junなどの転

写因子の活性化を起こす場合も多く、細胞死刺激を受けても生き残った細胞に対しては、増殖を誘導したり、免疫・炎症関連遺伝子の発現を誘導する。

ミトコンドリア経路では、放出されたシトクロムc、Apoptotic protease activation factor-1 (Apaf-1)、dATP、procaspase-9が複合体を形成し、結果的にcaspase-9の活性化が起こる。また、ミトコンドリアには、caspase-9を始めとするアポトーシス実行蛋白質の活性化を制御するBcl-2ファミリー蛋白質が存在する。さらに、inhibitor of apoptosis protein (IAP)やsecond mitochondria-driven activator of caspase (Smac)/direct IAP binding protein with low pH (DIABLO)などcaspase-9、-3の活性化を制御する因子、apoptosis-inducing factor (AIF)など核のクロマチン凝縮の関与する因子なども存在する。

アポトーシスのミトコンドリア経路で重要な役割を果たしているApaf-1はC-末端側に13個のWD40リピートドメインをもつことが知られており、Apaf-1を非活性化の状態にするための自己調節部位として働いている。そしてシトクロムcがこの部位に結合することにより活性化されcaspaseを活性化する。WD40リピートドメインをもつ蛋白質はシグナル伝達、RNAのスプライシング、転写など様々な機能があるといわれているが、このようにWD40リピートドメインをもつ蛋白質の一部はアポトーシスに関与することが示唆されている。

【R2TPの発見】

歯科薬理学分野の紹介の文章として以下の文章を書いたことがある。

歯科薬理学分野の研究テーマのひとつに、Monad遺伝子の研究がある。Monadは佐伯が発見し、命名した遺伝子である。Monadの働きを明らかにする目的で、Monadを高発現する細胞より結合蛋白として精製したものが、上記R2TPである。2005年3月12日に実験ノートに購入した遺伝子クローンの名として、初めてHZGJの語が見つかるが、これがMonadの初期のコードネームである。2005年4月13日にHZGJを鋳型にPCRを行って遺伝子を増幅し、恒常発現株樹立用のベクターを作製。2005年10月22日の実験ノートでは、免疫沈降実験がうまくいっているのうかがわれる。その後、質量分析により、Monadの結合蛋白の同定を行った。2005年12月9日の当時の大学院生の実験ノートにはやくも結合蛋白PontinやReptinの語が見られる(上記Rvb1-Rvb2に相当)。当時は、第3の結合蛋白、第4の結合蛋白は機能未知の遺伝子で、Monad binding protein-1, Monad binding protein-2と仮称して研究を進めていたが(上記Tah1-Pih1に相当)、トロント大学のグループから酵母において4つの蛋白が複合体を形成していることが報告

され、R2TP と名付けられた。現助教の柿原は当時トロントグループのポストドクであった。これまでに Monad 関連の学術論文 9 報 (review1 報を含む) を発表することができた。

私にとって、2005 年 10 月 27 日というのは大切な一日であり、その前後を記録にとどめておきたいという気持ちから上記の文章を書いたのであった。

【複合体の精製】

Monad は蛋白間の相互作用に関わることが知られている WD40 リピートドメイン以外に既知のドメインを持たないことから、機能の推測が困難である。Monad の生理的機能を解明するため、V5 タグを付加した Monad を高発現する HEK293 細胞を作製し、抗 V5 抗体の結合したビーズを用いたアフィニティー精製を行った。洗浄後、ビーズに結合してきた蛋白質を溶出させ、SDS-PAGE により分離した。コントロール細胞と比較することによりいくつかの結合蛋白質が確認された (図 3)。これらの蛋白質を質量分析して同定した 2 つの新規遺伝子と 2 つの既知遺伝子 (Pontin, Reptin) を Monad binding protein 1-4 (MoBP1-MoBP4) と名付けた。この蛋白質精製過程を (歯科薬理学分野の紹介の文章と重複しないように) 以下に詳細に記述したい。2005 年 4 月 13 日に PCR を行って Monad 遺伝子を増幅し、恒常発現株樹立用のベクターを作製したことが、実験ノート 6 に記述されている。安定発現細胞樹立には、Flp-In システムを用いた。このシステムでは、FRT サイトが組み込まれている Flp-In-293 細胞 (以下 293F と略記) を pcDNA5/FRT/V5-His-TOPO® vector 及び pOG44 (FRT リコンビナーゼ) でトランスフェクションすることにより、細胞のゲノム DNA の特定の部位に目的の遺伝子を挿入することができる。このシステムを用いればすべて同一の部位に目的の遺伝子が組み込まれ

るため、その後の安定発現細胞のスクリーニングの手間が大幅に省ける。293F はゼオシン耐性であるが、FRT サイトに正しく組換えが起こると zeocin 耐性遺伝子が破壊され、代わりに pcDNA5/FRT 由来の hygromycin 耐性が有効となる。ゆえにトランスフェクション細胞を hygromycin 耐性スクリーニングすることにより容易に目的の細胞を得ることが可能である。

2005 年 5 月 1 日に pOG44 とともにトランスフェクションを行ったことが、実験ノート 6 に記述されている。2005 年 9 月 9 日に行ったウエスタンブロッティング (実験ノート 9) の結果は論文に使用された。2005 年 10 月 22 日の実験ノートを見ると (実験ノート 10), およそ 40 枚ほどの 10cm dish を 25mL のライシスバッファーで溶解して、Monad 結合蛋白質の精製の準備を始めているのがわかる。この日は土曜日である。

【MoBP 1 について】

Monad binding protein-1 については MoBP1 という名称で大阪大学歯学雑誌に掲載したことがある。以下に引用する。

近年、ほぼ同様の構成成分を含む蛋白質複合体の存在が報告されている。2007 年、Jeronimo らは RNA polymerase II と結合する蛋白質として Monad, MoBP1 (RNA polymerase II-associated protein III, RPAP3 と命名), MoBP2, MoBP3-4 (Pontin, Reptin) をアフィニティー精製し、Molecular Cell に発表した。この研究では、RNA polymerase II が多様な蛋白質と相互作用するにあたってのインターフェースとして RPAP3 が同定され、重要視されている。また、2008 年には Sardiu らが Pontin と Reptin を含む 4 つの蛋白質複合体のアフィニティー精製を報告した。そのうちの 3 つはよく知られたクロマチンリモデリング複合体であり、4 番目として、既に Uri/Prefoldin という名前で Science に報告のあった複合体の構成成分として、新たに Monad, MoBP1, MoBP2 を同定した。Pontin と Reptin は比較的解析の進んでいる ATPase であり、クロマチンリモデリング複合体の重要な構成因子であることが知られているが、どちらの論文でも Monad, MoBP1 の機能についての十分な解析はなされていない。

これらの複合体構成因子のなかで、我々は MoBP1 に特に注目して研究を行った。MoBP1 は 631 個のアミノ酸からなり推定分子量は 71.9 kDa であり、tetratricopeptide リピート (TPR) ドメインを持つことがわかった。TPR ドメインは、34 残基のアミノ酸の繰り返しが高頻度で認められる TPR モチーフを 3 つもしくはそれ以上持つ。MoBP1 には、6 個の TPR モチーフからなる TPR ドメインが 2 個存在することがわかつ

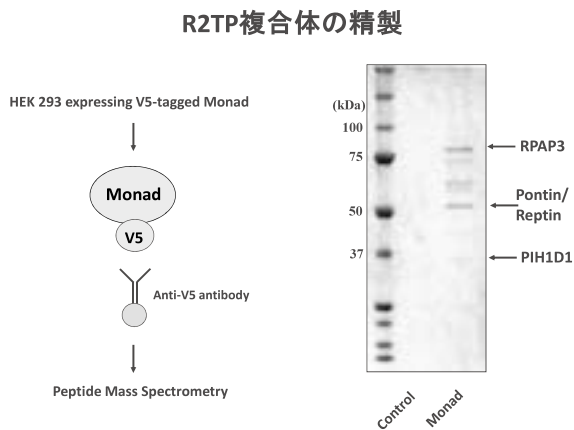


図 3 R2TP 複合体の精製

2005 年 10 月に行った実験

た。このドメインの詳しい機能は知られていないが、蛋白間の相互作用に関わるといわれている。

【MoBP1 の組織発現】

Real Time PCR を用い、ヒト組織中での MoBP1 の mRNA の発現を確認したところ、ヒト MoBP1 の発現はほとんどの組織で認められた。もっとも発現の多かったのは精巣であり、その他に卵巣、膵臓、脾臓などにも高い発現が認められた。我々が以前に報告した Monad のヒト組織中での発現を調べた実験では、同様に Monad も精巣での発現が非常に高かった。

【アポトーシスに対する MoBP1 の作用】

過剰発現した場合、MoBP1 は Monad と同様に Caspase 依存的にアポトーシス増強効果を示した。つぎに、HeLa 細胞を用いて MoBP1 の siRNA により MoBP1 をノックダウンし、TNF および CHX 処置またはスタウロスポリン処置を行うことによりアポトーシスがどのように変化するかを検討した。まず MoBP1-siRNA を HeLa 細胞に遺伝子導入し 48 時間培養した後、10 ng/ml TNF, CHX 処置、そしてスタウロスポリン処置を行い 24 時間後アポトーシスを検出した。その結果、TNF, CHX 処置そしてスタウロスポリン処置により誘導されたアポトーシスが有意 ($p < 0.01$) に抑制された。

【おわりに】

これまでに明らかになった Monad および MoBP1 の機能は Caspase を介するアポトーシスの増強作用であるが、その分子機構は依然不明である。近年明らかになりつつある蛋白質複合体としての機能（それがクロマチンリモデリングに関するかどうかとも明らかではないが）における Monad および MoBP1 の働きをひとつひとつ明らかにしていくことでアポトーシスの新たな制御機構を明らかにしていきたいと考えている。これまでに発表された R2TP 関連の論文は検索すると 48 報ある¹⁻⁴⁸⁾。

【文 献】

- 1) Ahmad M, Afrin F, Tuteja R Identification of R2TP complex of *Leishmania donovani* and *Plasmodium falciparum* using genome wide in-silico analysis. *Commun Integr Biol* 6 (6):e26005.
- 2) Back R, Dominguez C, Rothe B, Bobo C, Beauflis C, Morera S, Meyer P, Charpentier B, Branlant C, Allain FH, Manival X High-resolution structural analysis shows how Tahl tethers Hsp90 to the R2TP complex. *Structure* 21 (10):1834-47.
- 3) Benbahouche Nel H, Iliopoulos I, Torok I, Marhold J, Henri J, Kajava AV, Farkas R, Kempf T, Schnolzer M, Meyer P, Kiss I, Bertrand E, Mechler BM, Pradet-Balade B *Drosophila* Spag is the homolog of RNA polymerase II-associated protein 3 (RPAP3) and recruits the heat shock proteins 70 and 90 (Hsp70 and Hsp90) during the assembly of cellular machineries. *J Biol Chem* 289 (9):6236-47.
- 4) Bizarro J, Charron C, Boulon S, Westman B, Pradet-Balade B, Vandermoere F, Chagot ME, Hallais M, Ahmad Y, Leonhardt H, Lamond A, Manival X, Branlant C, Charpentier B, Verheggen C, Bertrand E Proteomic and 3D structure analyses highlight the C/D box snoRNP assembly mechanism and its control. *J Cell Biol* 207 (4):463-80.
- 5) Bizarro J, Dodre M, Huttin A, Charpentier B, Schlotter F, Branlant C, Verheggen C, Massenet S, Bertrand E NUFIP and the HSP90/R2TP chaperone bind the SMN complex and facilitate assembly of U4-specific proteins. *Nucleic Acids Res* 43 (18):8973-89.
- 6) Boulon S, Bertrand E, Pradet-Balade B HSP90 and the R2TP co-chaperone complex: building multi-protein machineries essential for cell growth and gene expression. *RNA Biol* 9 (2):148-54.
- 7) Boulon S, Pradet-Balade B, Verheggen C, Molle D, Boireau S, Georgieva M, Azzag K, Robert MC, Ahmad Y, Neel H, Lamond AI, Bertrand E HSP90 and its R2TP/Prefoldin-like cochaperone are involved in the cytoplasmic assembly of RNA polymerase II. *Mol Cell* 39 (6):912-924.
- 8) Cloutier P, Coulombe B New insights into the biogenesis of nuclear RNA polymerases? *Biochem Cell Biol* 88 (2):211-21.
- 9) Cloutier P, Poitras C, Durand M, Hekmat O, Fiola-Masson E, Bouchard A, Faubert D, Chabot B, Coulombe B R2TP/Prefoldin-like component RUVBL1/RUVBL2 directly interacts with ZNHIT2 to regulate assembly of U5 small nuclear ribonucleoprotein. *Nat Commun* 8 (15615).

- 10) Eickhoff P, Costa A Escorting Client Proteins to the Hsp90 Molecular Chaperone. *Structure* 25 (7):964-965.
- 11) Gomez-Navarro N, Peiro-Chova L, Rodriguez-Navarro S, Polaina J, Estruch F Rtp1p is a karyopherin-like protein required for RNA polymerase II biogenesis. *Mol Cell Biol* 33 (9): 1756-67.
- 12) Hintermair C, Voss K, Forne I, Heidemann M, Flatley A, Kremmer E, Imhof A, Eick D Specific threonine-4 phosphorylation and function of RNA polymerase II CTD during M phase progression. *Sci Rep* 6 (27401).
- 13) Horejsi Z, Stach L, Flower TG, Joshi D, Flynn H, Skehel JM, O'Reilly NJ, Ogradowicz RW, Smerdon SJ, Boulton SJ Phosphorylation-dependent PIH1D1 interactions define substrate specificity of the R2TP cochaperone complex. *Cell Rep* 7 (1):19-26.
- 14) Horejsi Z, Takai H, Adelman CA, Collis SJ, Flynn H, Maslen S, Skehel JM, de Lange T, Boulton SJ CK2 phospho-dependent binding of R2TP complex to TEL2 is essential for mTOR and SMG1 stability. *Mol Cell* 39 (6):839-50.
- 15) Huen J, Kakiyama Y, Ugwu F, Cheung KL, Ortega J, Houry WA Rvb1-Rvb2: essential ATP-dependent helicases for critical complexes. *Biochem Cell Biol* 88 (1):29-40.
- 16) Inoue H, Sugimoto S, Takeshita Y, Takeuchi M, Hatanaka M, Nagao K, Hayashi T, Kokubu A, Yanagida M, Kanoh J CK2 phospho-independent assembly of the Tel2-associated stress-signaling complexes in *Schizosaccharomyces pombe*. *Genes Cells* 22 (1):59-70.
- 17) Inoue M, Saeki M, Egusa H, Niwa H, Kamisaki Y PIH1D1, a subunit of R2TP complex, inhibits doxorubicin-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 403 (3-4):340-4.
- 18) Kakiyama Y, Houry WA The R2TP complex: discovery and functions. *Biochim Biophys Acta* 1823 (1):101-7.
- 19) Kakiyama Y, Makhnevych T, Zhao L, Tang W, Houry WA Nutritional status modulates box C/D snoRNP biogenesis by regulated subcellular relocalization of the R2TP complex. *Genome Biol* 15 (7):404.
- 20) Kakiyama Y, Saeki M The R2TP chaperone complex: its involvement in snoRNP assembly and tumorigenesis. *Biomol Concepts* 5 (6):513-20.
- 21) Kamano Y, Saeki M, Egusa H, Kakiyama Y, Houry WA, Yatani H, Kamisaki Y PIH1D1 interacts with mTOR complex 1 and enhances ribosome RNA transcription. *FEBS Lett* 587 (20):3303-8.
- 22) Lakshminarasimhan M, Boanca G, Banks CA, Hattem GL, Gabriel AE, Groppe BD, Smoyer C, Malanowski KE, Peak A, Florens L, Washburn MP Proteomic and Genomic Analyses of the Rvb1 and Rvb2 Interaction Network upon Deletion of R2TP Complex Components. *Mol Cell Proteomics* 15 (3):960-74.
- 23) Machado-Pinilla R, Liger D, Leulliot N, Meier UT Mechanism of the AAA+ ATPases pontin and reptin in the biogenesis of H/ACA RNPs. *Rna* 18 (10):1833-45.
- 24) Malinova A, Cvackova Z, Mateju D, Horejsi Z, Abeza C, Vandermoere F, Bertrand E, Stanek D, Verheggen C Assembly of the U5 snRNP component PRPF8 is controlled by the HSP90/R2TP chaperones. *J Cell Biol* 216 (6):1579-1596.
- 25) Massenet S, Bertrand E, Verheggen C Assembly and trafficking of box C/D and H/ACA snoRNPs. *RNA Biol* 14 (6):680-692.
- 26) Mir RA, Bele A, Mirza S, Srivastava S, Olou AA, Ammons SA, Kim JH, Gurumurthy CB, Qiu F, Band H, Band V A Novel Interaction of Ecdysoneless (ECD) Protein with R2TP Complex Component RUVBL1 Is Required for the Functional Role of ECD in Cell Cycle Progression. *Mol Cell Biol* 36 (6):886-99.
- 27) Mir RA, Lovelace J, Schafer NP, Simone PD, Kellezi A, Kolar C, Spagnol G, Sorgen PL, Band H, Band V, Borgstahl GEO Biophysical characterization and modeling of human Ecdysoneless (ECD) protein supports a scaffolding function. *AIMS Biophys* 3 (1):195-208.
- 28) Mita P, Savas JN, Ha S, Djouder N, Yates JR, 3rd, Logan SK Analysis of URI nuclear interaction with RPB5 and components of the R2TP/prefoldin-like complex. *PLoS One* 8 (5): e63879.
- 29) Morgan RM, Pal M, Roe SM, Pearl LH, Prodromou C Tah1 helix-swap dimerization prevents mixed Hsp90 co-chaperone complexes.

- Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 71 (Pt 5) : 1197-206.
- 30) Nano N, Houry WA Chaperone-like activity of the AAA+ proteins Rvb1 and Rvb2 in the assembly of various complexes. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 368 (1617) :20110399.
 - 31) Olcese C, Patel MP, Shoemark A, Kiviluoto S, Legendre M, Williams HJ, Vaughan CK, Hayward J, Goldenberg A, Emes RD, Munye MM, Dyer L, Cahill T, Bevilard J, Gehrig C, Guipponi M, Chantot S, Duquesnoy P, Thomas L, Jeanson L, Copin B, Tamalet A, Thauvin-Robinet C, Papon JF, Garin A, Pin I, Vera G, Aurora P, Fassad MR, Jenkins L, Boustred C, Cullup T, Dixon M, Onoufriadis A, Bush A, Chung EM, Antonarakis SE, Loebinger MR, Wilson R, Armengot M, Escudier E, Hogg C, Amselem S, Sun Z, Bartoloni L, Blouin JL, Mitchison HM X-linked primary ciliary dyskinesia due to mutations in the cytoplasmic axonemal dynein assembly factor PIH1D3. *Nat Commun* 8(14279).
 - 32) Paci A, Liu PX, Zhang L, Zhao R The Proteasome Subunit Rpn8 Interacts with the Small Nucleolar RNA Protein (snoRNP) Assembly Protein Pih1 and Mediates Its Ubiquitin-independent Degradation in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 291(22) : 11761-75.
 - 33) Paci A, Liu XH, Huang H, Lim A, Houry WA, Zhao R The stability of the small nucleolar ribonucleoprotein (snoRNP) assembly protein Pih1 in *Saccharomyces cerevisiae* is modulated by its C terminus. *J Biol Chem* 287 (52) :43205-14.
 - 34) Pal M, Morgan M, Phelps SE, Roe SM, Parry-Morris S, Downs JA, Polier S, Pearl LH, Prodromou C Structural basis for phosphorylation-dependent recruitment of Tel2 to Hsp90 by Pih1. *Structure* 22 (6) :805-18.
 - 35) Prieto MB, Georg RC, Gonzales-Zubiate FA, Luz JS, Oliveira CC Nop17 is a key R2TP factor for the assembly and maturation of box C/D snoRNP complex. *BMC Mol Biol* 16 (7).
 - 36) Quinternet M, Rothe B, Barbier M, Bobo C, Saliou JM, Jacquemin C, Back R, Chagot ME, Cianferani S, Meyer P, Branlant C, Charpentier B, Manival X Structure/Function Analysis of Protein-Protein Interactions Developed by the Yeast Pih1 Platform Protein and Its Partners in Box C/D snoRNP Assembly. *J Mol Biol* 427 (17) :2816-39.
 - 37) Rivera-Calzada A, Pal M, Munoz-Hernandez H, Luque-Ortega JR, Gil-Carton D, Degliesposti G, Skehel JM, Prodromou C, Pearl LH, Llorca O The Structure of the R2TP Complex Defines a Platform for Recruiting Diverse Client Proteins to the HSP90 Molecular Chaperone System. *Structure* 25 (7) :1145-1152 e4.
 - 38) Rothe B, Back R, Quinternet M, Bizarro J, Robert MC, Bland M, Romier C, Manival X, Charpentier B, Bertrand E, Branlant C Characterization of the interaction between protein Snul3p/15.5K and the Rsalp/NUFIP factor and demonstration of its functional importance for snoRNP assembly. *Nucleic Acids Res* 42 (3) :2015-36.
 - 39) Rothe B, Saliou JM, Quinternet M, Back R, Tiotiu D, Jacquemin C, Loegler C, Schlotter F, Pena V, Eckert K, Morera S, Dorselaer AV, Branlant C, Massenet S, Sanglier-Cianferani S, Manival X, Charpentier B Protein Hit1, a novel box C/D snoRNP assembly factor, controls cellular concentration of the scaffolding protein Rsal by direct interaction. *Nucleic Acids Res* 42 (16) :10731-47.
 - 40) Saeki M, Egusa H, Kamano Y, Kakihara Y, Houry WA, Yatani H, Noguchi S, Kamisaki Y Exosome-bound WD repeat protein Monad inhibits breast cancer cell invasion by degrading amphiregulin mRNA. *PLoS One* 8 (7) :e67326.
 - 41) Suvorova ES, Radke JB, Ting LM, Vinayak S, Alvarez CA, Kratzer S, Kim K, Striepen B, White MW A nucleolar AAA-NTPase is required for parasite division. *Mol Microbiol* 90 (2) :338-55.
 - 42) Vaughan CK Hsp90 picks PIKKs via R2TP and Tel2. *Structure* 22 (6) :799-800.
 - 43) Verheggen C, Pradet-Balade B, Bertrand E SnoRNPs, ZNHIT proteins and the R2TP pathway. *Oncotarget* 6 (39) :41399-400.
 - 44) Villanyi Z, Ribaud V, Kassem S, Panasenko OO, Pahi Z, Gupta I, Steinmetz L, Boros I, Collart MA The Not5 subunit of the ccr4-not complex connects transcription and translation. *PLoS Genet* 10 (10) :e1004569.
 - 45) von Morgen P, Burdova K, Flower TG, O'Reilly

- NJ, Boulton SJ, Smerdon SJ, Macurek L, Horejsi Z MRE11 stability is regulated by CK2-dependent interaction with R2TP complex. *Oncogene*.
- 46) von Morgen P, Horejsi Z, Macurek L Substrate recognition and function of the R2TP complex in response to cellular stress. *Front Genet* 6 (69).
- 47) Yoshida M, Saeki M, Egusa H, Irie Y, Kamano Y, Uraguchi S, Sotozono M, Niwa H, Kamisaki Y RPAP3 splicing variant isoform 1 interacts with PIH1D1 to compose R2TP complex for cell survival. *Biochem Biophys Res Commun* 430(1): 320-4.
- 48) Zhao R, Kakihara Y, Gribun A, Huen J, Yang G, Khanna M, Costanzo M, Brost RL, Boone C, Hughes TR, Yip CM, Houry WA (2008). Molecular chaperone Hsp90 stabilizes Pih1/Nop17 to maintain R2TP complex activity that regulates snoRNA accumulation. *J Cell Biol* 180 (3):563-78.