

# シアノバクテリア概日時計タンパク質 KaiA, KaiB, KaiCの解析

北山 陽子

名古屋大学大学院 理学研究科  
生命理学専攻 日本学術振興会特別研究員

シアノバクテリアは現在のところ、概日リズムを示す唯一の原核生物であることが知られており、概日時計の分子機構について多くの研究がなされてきた。その結果、シアノバクテリアにおける振動発振の原理は真核生物と共通しているが、細部については独自のシステムがあることがわかってきた。最近の研究によって明らかになりつつあるシアノバクテリアの概日時計機構について、特に生化学的解析および構造解析から推測される時計タンパク質 KaiA, KaiB, KaiC の機能について解説する。

## 1. はじめに

光合成細菌であるシアノバクテリアは、原核生物において初めて概日リズムが存在することが示された生物である。二十年以上前から光合成活性、窒素固定活性、アミノ酸の取り込み、細胞分裂などに概日リズムが観察されていたが、これらの概日リズムを示すシアノバクテリアでは遺伝子操作が困難であった<sup>1, 3-5, 36-37)</sup>。シアノバクテリアの概日時計機構の分子遺伝学的解析は遺伝子操作の容易な *Synechococcus elongatus* PCC 7942 という淡水性の単細胞シアノバクテリアに発光レポーターを導入し、遺伝子発現の概日リズムを生物発光として観察できるようになったことから始まった<sup>18)</sup>。発光レポーターを導入したシアノバクテリアを用いて概日リズム変異体のスクリーニングが行われ、時計遺伝子群 *kaiABC* がクローニングされた<sup>8, 19)</sup>。*kaiABC* 遺伝子群の遺伝学的解析から、*kaiA*, *kaiB*, *kaiC* の三つの遺伝子はどれもリズムを形成するために必須であり、KaiA が *kaiC* 遺伝子発現をポジティブに、KaiC が *kaiC* 遺伝子発現をネガティブに制御することによってリズムが形成されると考えられている<sup>8)</sup>。真核生物でも、時計遺伝子の転写翻訳のフィードバック制御によって概日リズムが形成されると考えられており<sup>6)</sup>、振動発振機構は原核生物と真核生物において共通であるといえる。しかし、シアノバクテリアと真核生物の概日時計には大きな違いが存在する。真核生物において時計タンパク質の多くは転写因子として直接に時計の

フィードバックループの遺伝子発現を制御するのに対して<sup>4)</sup>、KaiA, KaiB, KaiC は転写因子として直接遺伝子発現を制御しているとは考えられていない。KaiA, KaiB, KaiC はアミノ酸配列上から機能を推測できず、その生化学的機能は未だにはっきりしない。さらに、*Synechococcus elongatus* PCC 7942 ではすべての遺伝子発現に概日リズムがあることが知られている<sup>20)</sup>。これらの特徴をもつシアノバクテリア概日時計機構を理解するには、KaiA, KaiB, KaiC の生化学的性質、機能を知る必要があるだろう。そこで本総説では、近年の Kai タンパク質の遺伝学的、生化学的解析および立体構造上のデータから明らかになってきたシアノバクテリアの概日時計機構の概要をまとめた。

## 2. シアノバクテリアの概日時計機構

さきほど述べたように KaiA, KaiB, KaiC は機能未知であったが、遺伝学的解析から次のような役割が推測されていた。1) 破壊によって概日リズムが消失することから、概日リズム形成に必須である。2) アミノ酸置換変異によって周期が変化、もしくは無周期になることから、Kai タンパク質の構造や性質が概日リズムを維持するために重要である。3) *kaiA* を誘導性のプロモーターにつなぎ過剰に発現すると *kaiBC* 遺伝子発現が上昇するため、KaiA は *kaiBC* 発現を促進する働きがある (*kaiB*, *kaiC* はオペロンを形成して発現している)。4) それとは反対に *kaiC* を

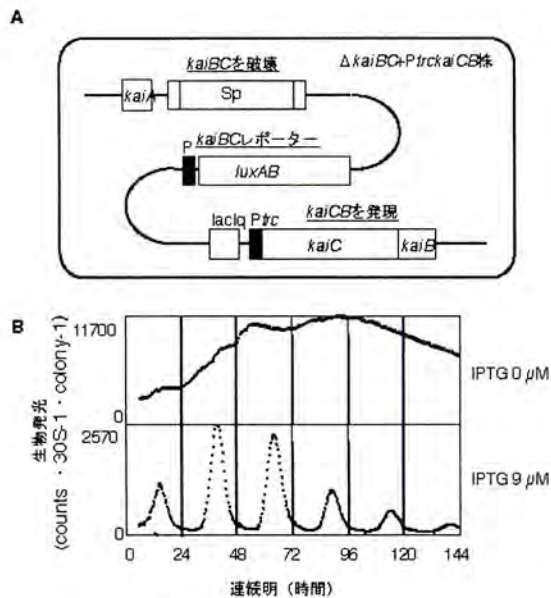


図1 IPTGの量に応じて、*kaiBC*破壊株での概日リズムは回復する  
 (A) ゲノム上の *kaiBC* を破壊したうえで、IPTG によって誘導ができる *Ptrc* に *kaiCB* をつないで *kaiCB* を発現するコンストラクトを導入したシアノバクテリアを用いた。誘導をかけたときの *kaiBC* 遺伝子発現を *PkaiBC* にルシフェラーゼ遺伝子をつないで測定した。  
 (B) *kaiBC* を破壊すると概日リズムは消失するが (上パネル: IPTG を加えない)、IPTG の量に依存してリズムが回復した (下パネル: IPTG 9  $\mu$ M)。

過剰に発現すると *kaiBC* 発現が減少するため、KaiC は自分自身の遺伝子発現の抑制因子である。5) *kaiC* を一過的に過剰発現すると過剰発現させた時刻に応じて振動の位相が変化するため、KaiC が時計の時刻を決めている。つまり、シアノバクテリアの概日時計は KaiA と KaiC の転写翻訳のフィードバック制御によってコントロールされ、特に KaiC は時計を動かし、時刻を決めている非常に重要な因子である<sup>8)</sup>。

先ほど述べたように *kaiC* は *kaiBC* 遺伝子発現を抑制するが、*Synechococcus elongatus* PCC 7942 において promoter trap 法を用いて調べた結果、*kaiC* の過剰発現は *kaiBC* だけでなくゲノム上の大部分の遺伝子発現を抑制していた<sup>29)</sup>。また、*kaiBC* を破壊しリズムを喪失させたシアノバクテリアにおいて、*kaiBC* 遺伝子を本来のプロモーターではなく誘導性プロモーターを用いて発現させると、リズムが完全に回復した (図1)<sup>29, 43)</sup>。これらの結果から KaiC は自分自身を含めてゲノム上の遺伝子すべての発現を制御していると考えられるようになった。

### 3. 時計の中心因子 KaiC

三つの Kai タンパク質のうち、KaiC にはアミノ酸配列に機能を推測するヒントが存在していた。KaiC には ATP/GTP 結合モチーフ存在することである<sup>8)</sup>。この KaiC 上の ATP 結合モチーフには実際に ATP が結合し、変異を導入すると概日リズムが損なわれる<sup>30)</sup>。そのため、KaiC に ATP が結合することが機能上重要であると考えられる。さらに KaiC が RecA/DnaB ファミリーに属することもわかった<sup>21)</sup>。RecA/DnaB ファミリーは 6 量体構造を持つことが知られているが、電子顕微鏡を用いた研究から KaiC は ATP との結合に依存して 6 量体を形成することが報告されている<sup>6, 27)</sup>。また、ゲルろ過実験によって調べた結果、細胞内での KaiC も 6 量体に相当するサイズで存在していた<sup>12)</sup>。RecA は ATP 依存的 DNA 組み換え酵素であり、DnaB は DNA ヘリケースであるため、KaiC も同様に DNA に結合し機能するのではないかと推測されるが、実際にゲルシフトアッセイによって KaiC は forked DNA に結合することが示されている<sup>27)</sup>。これらの結果に加えて *Synechococcus elongatus* PCC 7942 ではすべての遺伝子発現に概日リズムが観察されることから<sup>22)</sup>、KaiC は DNA に直接結合し、染色体の構造を変化させることで細胞全体の概日遺伝子発現を制御するのではないかと推測されている<sup>26, 43)</sup>。*Chlamydomonas* のクロロプラストにおいて、DNA の supercoiling の状態が概日リズムをもって振動していることがすでに報告されており<sup>34)</sup>、クロロプラストの染色体は原核生物の染色体に相似していると考えられるため、シアノバクテリアにおいても同様の現象がおこっている可能性があるだろう。しかし、KaiC がシアノバクテリア細胞内で DNA に結合しているかどうかはまだ示されておらず、また KaiC が特定の DNA 配列に結合するという結果も得られていない。

DNA との結合以外にも、KaiC にはもう一つ機能に結びつく特徴がある。KaiC は自己リン酸化し<sup>30)</sup>、細胞内では時間依存的にリン酸化している<sup>11)</sup>。KaiC のリン酸化は概日リズムにおいて重要だと考えられているが、リン酸化がどのような役割を持っているかは明らかではなかった。最近、我々の研究グループによって質量分析法を用いて KaiC のリン酸化サイトが決定された<sup>31)</sup>。その結果、KaiC は 431 番目の serine および 432 番目の threonine の二ヶ所がリン酸化されることがわかった。それぞれのリン酸化サイトに変異を導入したシアノバクテリアでは概日リズム

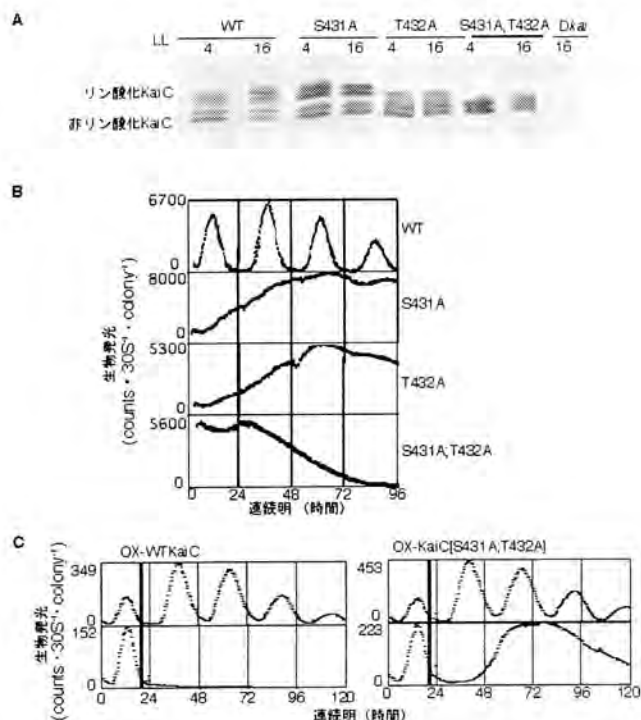


図2 KaiCのリン酸化が概日リズムに与える影響  
 (A) 野生型 (WT) およびリン酸化部位に変異を導入した変異体 (S431A, T432A)、ニカ所に変異を導入した株 (S431A;T432A)、*kai*遺伝子破壊株 (*Dkai*) を12時間暗処理後、連続明4時間後と16時間後にサンプリングし、ウエスタンブロットを行った。野生型の上4本のバンドがリン酸化KaiCであり、S431AおよびT432A株ではそれぞれ2本しか検出されなかった。二重変異株ではリン酸化KaiCは完全に検出されなかった。  
 (B) 野生型およびリン酸化変異株の *kaiBC* 遺伝子発現リズム  
 (C) リン酸化が KaiC の negative feedback 活性に与える影響  
 野生型の KaiC (左パネル) と KaiC[S431A;T432A] (右パネル) を過剰発現したときの、*kaiBC* プロモーター活性を測定した。太い線で示した時間に IPTG を与えた。

ムが完全に消失していた (図2B)。KaiA, KaiB, KaiCは相互作用しており<sup>9)</sup>、3つのKaiタンパク質は主観的夜に大きな複合体を形成しているが<sup>12)</sup>、リン酸化しないKaiCはKaiA, KaiBとの相互作用はおこらないことも分かった。さらに、リン酸化サイトに変異を導入しリン酸化しなくなったKaiCを過剰に発現すると、野生型のKaiCを過剰発現した時に観察される *kaiBC* 遺伝子発現の完全な抑制がおこらないことが分かった (図2C)。そのため、KaiCはリン酸化することで転写抑制活性が調節されていると考えられる。リン酸化の有無によってKaiAやKaiBとの相互作用が変化することからKaiCのリン酸化がKai複合体形成をコントロールし、時計タンパク質の複合体による転写調節を制御しているのかもしれない。

真核生物の時計因子ではリン酸化が分解のシグナ

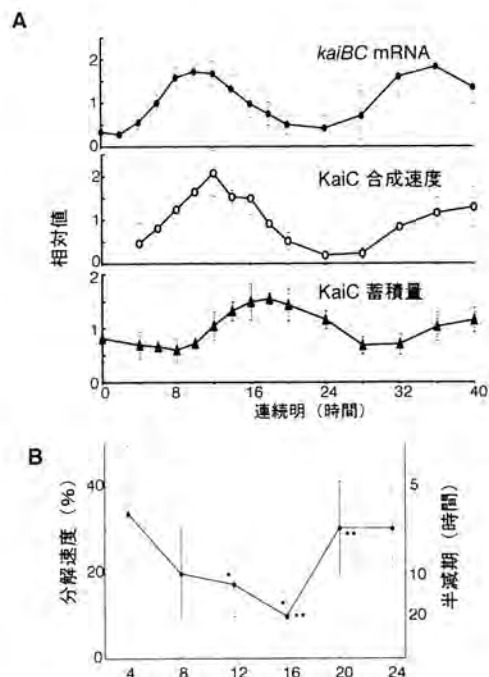


図3 KaiCの合成速度と分解速度  
 (A) ノサンプロットによって定量した *kaiBC* mRNA の蓄積 (上パネル)、35Sメチオニンによるパルスチェイスによって求めたKaiCの合成速度 (中パネル)、ウエスタンブロットによって定量したKaiCの蓄積 (下パネル) の時間変動。mRNAは連続明10時間目、合成は12時間目、タンパク質は18時間目に振動のピークがきている。  
 (B) タンパク質合成阻害剤クロラムフェニコールを用いて、35SメチオニンでラベルしたKaiCの分解を4時間おきに調べた。分解速度は主観的夜に最も遅くなっていた

ルになり、その結果として転写を制御する例が良く知られている<sup>(5, 17, 23, 25, 33, 45)</sup>。KaiCの一過的な過剰発現は位相変位を引き起こすことや<sup>8)</sup>、KaiCの蓄積量は主観的夜にピークとなるリズムがあること<sup>12)</sup>、時間によってリン酸化レベルが変化することから<sup>11)</sup>、KaiCの量や状態が時計の時刻を決めていると推測されている。KaiCの蓄積量を調整するには合成および分解のバランスが重要であるため、合成速度および分解速度の解析がおこなわれた<sup>7)</sup>。パルスチェイス実験からKaiCの合成速度はきれいな概日リズムをもつことがわかった (図3A)。KaiCの安定性も概日時間によって変化しており、蓄積レベルがもっとも高くなる時には分解しにくいことがわかった (図3B)。この合成と分解のリズムが *kaiC* mRNA と KaiC タンパク質の蓄積リズムのタイムラグ形成や

蓄積リズム形成に重要であることが確かめられた。KaiCの安定性とリン酸化の関係についてはまだはっきりとはわからない。細胞全体のタンパク質合成をとめて分解速度を測定した結果ではリン酸化KaiCのレベルが高くなる主観的夜にはKaiCの分解はおこりにくいことがわかった(図3B)。しかし、KaiCを一時的に過剰発現しそのKaiCの分解速度を測定した結果では、リン酸化KaiCは非リン酸化KaiCよりも不安定であるという報告がある<sup>43)</sup>。リン酸化の有無が単純にKaiCの安定性を制御しているのではないようだ。

#### 4. KaiAとKaiBの役割

KaiAとKaiBの配列にはKaiCのように機能を示すヒントはなかった。そこで我々は、Kaiタンパク質が細胞でどのくらい、どのような状態で存在するかを解析することが機能を解明する手がかりになると考え、Kaiタンパク質の細胞内の存在量、局在、タンパク質間相互作用、KaiCのリン酸化などの一日を通しての動態を調べた<sup>44)</sup>。まず、細胞質画分と膜画分にわけてKaiタンパク質の存在を調べたところ、KaiAとKaiCは大部分が細胞質に存在するがKaiBは約50%程度が膜画分に存在していることがわかったため、細胞質におけるKaiタンパク質の相互作用を調べた。すると、KaiAとKaiBのKaiCへの結合はKaiCのリン酸化の時間変動に相関するように変化していた。また、細胞内でのKaiタンパク質の絶対量を測定した結果からKaiAがKaiBとKaiCに対して非常に量が少ないことがわかった。そこで、細胞内での存在比に合わせてKaiAとKaiBをKaiCの自己リン酸化反応に加えて影響を調べたところ、KaiAを加えると自己リン酸化は促進されることがわかった(図4A)。それに対してKaiBを単独に加えても全く影響はなかったが、KaiAとKaiBを加えるとKaiAを加えたときと比較してKaiCの自己リン酸化が少なかった。さらに反応時間を延ばすにつれて自己リン酸化KaiCが減少していることから、KaiBはKaiCの脱リン酸化を促進させていることが推測された(図4A)。細胞内でも同様に*kaiA*破壊株においてはリン酸化KaiCがほとんど検出されず、逆に*kaiB*破壊株ではリン酸化KaiCが多く蓄積していた(図4B)。これらの結果から、KaiAはKaiCのリン酸化を促進し、KaiBはKaiAの促進するKaiCのリン酸化を減少させるという逆の機能があると思われる。また、KaiA、KaiB、KaiCはそれぞれが単独でというよりむしろ時間特異的に状態の異なる時計複合体を形成すること

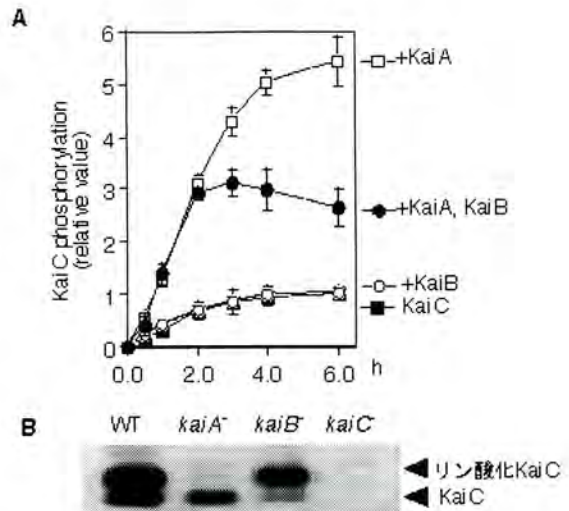


図4 KaiAとKaiBのKaiCリン酸化に及ぼす影響 (A) KaiC単独(■)、KaiCにKaiBを加えた条件(○)、KaiCにKaiAを加えた条件(□)、KaiCにKaiAとKaiBを加えた条件(●)で $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ 存在下で反応させ、*In vitro*自己リン酸化アッセイを行った。反応液をSDS-PAGEし、PVDF膜に転写しオートラジオグラフィーを行った。結果は4回実験の平均値±標準偏差であらわしてある。(B) 野生型(WT)、*kaiA*不活性株(*kaiA*<sup>-</sup>)、*kaiB*不活性株(*kaiB*<sup>-</sup>)、*kaiC*破壊株(*kaiC*<sup>-</sup>)について12時間暗処理後、連続明条件で16時間培養後、集菌しウエスタンブロットを行いKaiCを検出した。

で機能すると考えられる<sup>11, 16, 41, 43)</sup>。

KaiAについては、この2~3年いくつかの他の研究グループからNMRやX線結晶構造解析の結果が数多く報告されているが<sup>2, 38-41, 44)</sup>、その構造データがKaiAの機能について新たな情報を与えてくれた。*kaiC*はシアノバクテリアに広く存在するが<sup>24)</sup>、*kaiA*配列は保存性があまり高くない。特に*Synechococcus elongatus* PCC7942のN末端はいくつかの糸状性シアノバクテリアでは存在していない<sup>38, 41)</sup>。KaiAをN末端側とC末端側にわけた解析からKaiCのリン酸化を促進する効果はN末端側KaiAではなく、C末端側KaiAによっておこることがわかった。このN末端側KaiAのNMR解析を行ったところ、その構造がpseudo response regulatorのreceiver domainに似ていることがわかった<sup>41)</sup>。response regulatorは二成分情報伝達系のタンパク質であり、パートナーであるhistidine kinaseから信号を受けとり下流に情報を伝える。そのため、KaiAはinputシグナルを受け取りKaiCに伝える役目があるのではないかと考えられるようになった。KaiAのC末端側の構造解析も進んでおり、N末端側KaiAがなくてもC末端側KaiA

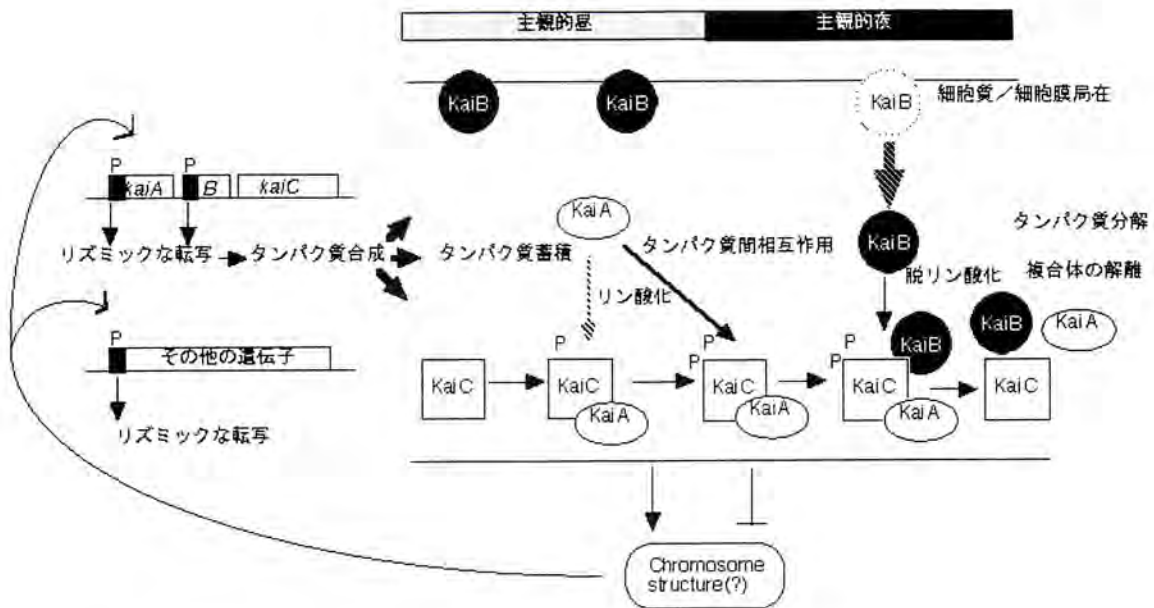


図5 シアノバクテリア概日時計システムのモデル図

細胞内における Kai タンパク質の蓄積量や複合体の構成の変化、KaiA のリン酸化促進効果、逆に KaiB のリン酸化を減少させる効果等によって、Kai 複合体の状態は一日をとおして大きく変動している。Kai 複合体の状態変化、特に KaiC のリン酸化の有無によって KaiC を中心とした時計複合体の活性は変動し、chromosome に結合することでその構造を変え、細胞全体の概日リズムを生み出している。

は、それだけでリズムを形成し<sup>38)</sup>、KaiC のリン酸化を促進<sup>38, 40)</sup>、KaiA のダイマー形成部位<sup>2, 38-40, 41)</sup>、KaiA と KaiC との相互作用部位をもつ<sup>2, 38-40, 41)</sup>、時計機能にとって必須なドメインであることがわかった。

KaiA だけでなく KaiB と KaiC の結晶構造解析結果とそれに基づく機能解析も報告されている。Anabaena sp PCC7120 の KaiA と KaiB の結晶構造解析の結果からは KaiA と KaiB の KaiC 結合部位が構造上の相似していることがわかり、KaiA と KaiB は KaiC への結合を競合しているというモデルが提唱されている<sup>2)</sup>。Synechococcus elongatus PCC 7942 の KaiC の X 線構造解析結果も報告された<sup>39)</sup>。このような Kai タンパク質の構造解析によってさらに機能の解明が進むことが期待できるだろう。

## 5. おわりに

KaiC が抑制因子であり、KaiA が促進因子であるということしかわかっていなかった頃から、ずいぶん解析が進んできた。しかし、これらの結果を合わせてもシアノバクテリアの概日時計機構における Kai タンパク質の役割を明記することはまだ難しい。Kai タンパク質がどのようにリズムな遺伝子発現（特定の遺伝子ではなく、ゲノム全体）をコントロールするのだろうか？現在のところ言えることは、

Kai タンパク質は細胞内における量、修飾状態、複合体の構成などが時間によって変化する。KaiC を中心とした時計複合体の状態（特にリン酸化状態）が時間によって変化的なことがシアノバクテリア細胞全体にリズムをもたらしているのだろう。Synechococcus elongatus PCC 7942 では KaiA は N 末端側で input シグナルを受けとり Kai 複合体に伝達する役割をもつと推測されている。また、KaiA と KaiB は KaiC のリン酸化を調節、複合体を形成することで KaiC を含む時計複合体の時間による変化をうむ役割を持っている。では、KaiC を含む複合体がどのように遺伝子発現を調節するのだが、現在のところ解明されていない。一つのモデルとして、chromosome に結合することでその構造を変え細胞全体の概日リズムを生み出しているという考えが提唱されている。図5に、これらの結果をふまえたシアノバクテリアの概日時計機構の概観を示した。

最後に、本総説では KaiA, KaiB, KaiC についてだけまとめたが、kaiABC 遺伝子の同定以降にも時計因子を探すアプローチが行われており、いくつかの時計関連遺伝子が見つかっている<sup>10, 13-14, 20, 28, 35)</sup>。これらは Kai タンパク質のように振動形成に必須ではなく、環境からのインプットやアウトプット経路で働くと考えられている。これらの時計関連因子と Kai タン

パク質の間のつながりを調べることや、時計機構で働く因子をさらに見つけていくことも非常に重要であろう。

## 6. 謝辞

本研究を行うにあたって、名古屋大学理学研究科生命理学専攻 近藤孝男教授にご指導頂いた。また、これらの結果は名古屋大学理学研究科時間生物学研究グループの多くのメンバーによってなされたものである。

## 参考文献

- 1) Chen TH, Chen TL, Hung LM, Huang TC: *Plant Physiol*, 97: 55-59. (1991)
- 2) Garces R, Wu N, Gillon W, Pai EF: *EMBO J*. 23:1688-1699 (2004)
- 3) Golden SS, Ishiura M, Johnson CH, Kondo T: *Annu Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* 48:327-354 (1997)
- 4) Grobbelaar N, Huang TC, Lin HY, Chow TJ: *FEMS Microbiol. Lett.* 37: 173-177 (1986)
- 5) Huang TC, Jenn T, Chow TJ, Chen TH: *Plant Physiol*. 92: 531-533 (1990)
- 6) Hayashi F, Suzuki H, Iwase R, Uzumaki T, Miyake A, Shen JR, Imada K, Furukawa Y, Yonekura K, Namba K et al.: *Genes Cells* 8:287-296 (2003)
- 7) Imai K, Nishiwaki T, Kondo T, Iwasaki H: *J Biol Chem.* 279: 36534-36539 (2004)
- 8) Ishiura M, Kutsuna S, Aoki S, Iwasaki H, Andersson CR, Tanabe A, Golden SS, Johnson CH, Kondo T: *Science* 281:1519-1523 (1998)
- 9) Iwasaki H, Taniguchi Y, Ishiura M, Kondo T: *EMBO J*. 18:1137-1145 (1999)
- 10) Iwasaki H, Williams SB, Kitayama Y, Ishiura M, Golden SS, Kondo T: *Cell* 101: 223-233 (2000)
- 11) Iwasaki H, Nishiwaki T, Kitayama Y, Nakajima M, Kondo T: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:15788-15793 (2002)
- 12) Kageyama H, Kondo T, Iwasaki H: *J Biol Chem.* 278: 2388-2395 (2003)
- 13) Katayama M, Tsinoremas NF, Kondo T, Golden SS: *J Bacteriol.* 181: 3516-3524 (1999)
- 14) Katayama M, Kondo T, Xiong J, Golden SS: *J Bacteriol.* 185: 1415-1422 (2003)
- 15) Keesler GA, Camacho F, Guo Y, Virshup D, Mondadori C, Yao Z: *NeuroReport* 11:951-955 (2000)
- 16) Kitayama Y, Iwasaki H, Nishiwaki T, Kondo T: *EMBO J*. 22:2127-2134 (2003)
- 17) Kloss B, Price JL, Saez L, Blau J, Rothenfluh A, Wesley CS, Young MW: *Cell* 94:97-107 (1998)
- 18) Kondo T, Strayer CA, Kulkarni RD, Taylor W, Ishiura M, Golden SS, Johnson CH: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5672-5676 (1993)
- 19) Kondo T, Tsinoremas NF, Golden SS, Johnson CH, Kutsuna S, Ishiura M: *Science* 266:1233-1236 (1994)
- 20) Kutsuna S, Kondo T, Aoki S, Ishiura M: *J Bacteriol.* 180: 2167-2174 (1998)
- 21) Leipe DD, Aravind L, Grishin NV, Koonin EV: *Genome Res.* 10:26-30 (2000)
- 22) Liu Y, Tsinoremas NF, Johnson CH, Lebedeva NV, Golden SS, Ishiura M, Kondo T: *Genes. Dev.* 9:1469-1478 (1995)
- 23) Liu Y, Loros J, Dunlap JC: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:234-239 (2000)
- 24) Lorne J, Scheffer J, Lee A, Painter M, Miao VP: *FEMS Microbiol. Lett.* 189: 129-133 (2000)
- 25) Lowrey PL, Shimomura K, Antoch MP, Yamazaki S, Zemenides PD, Ralph MR, Menaker M, Takahashi JS: *Science* 288:483-491 (2000)
- 26) Mori T, Johnson CH: *Semin. Cell Dev. Biol.* 2:271-278 (2001)
- 27) Mori T, Saveliev SV, Xu Y, Stafford WF, Cox MM, Inman RB, Johnson CH: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:17203-17208 (2002)
- 28) Nair U, Ditty JL, Min H, Golden SS: *J Bacteriol.* 184: 3530-3538 (2002)
- 29) Nakahira Y, Katayama M, Miyashita H, Kutsuna S, Iwasaki H, Oyama T, Kondo T: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:881-885 (2004)
- 30) Nishiwaki T, Iwasaki H, Ishiura M, Kondo T: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:495-499 (2000)
- 31) Nishiwaki T, Satomi Y, Nakajima M, Lee C, Kiyohara R, Kageyama H, Kitayama Y, Temamoto M, Yamaguchi A, Hijikata A, Go M, Iwasaki H, Takao T, Kondo T: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* in press
- 32) Pattanayek R, Wang J, Mori T, Xu Y, Johnson

- CH, Eglil M: *Mol. Cell* 15: 375-388 (2004)
- 33) Price JL, Blau J, Rothenfluh A, Abodeely M, Kloss B, Young MW: *Cell* 94: 83-95 (1998)
- 34) Salvador ML, Klein U, Bogorad L: *Mol. Cell. Biol.* 18:7235-7242 (1998)
- 35) Schmitz O, Katayama M, Williams SB, Kondo T, Golden SS: *Science* 289: 765-768 (2000)
- 36) Schneegurt MA, Sherman DM, Nayar S, Sherman LA: *J. Bacteriol.* 176: 1586-1597 (1994)
- 37) Sweeney BM, Borgese MB: *J. Phycol.* 25: 183-186 (1989)
- 38) Uzumaki T, Fujita M, Nakatsu T, Hayashi F, Shibata H, Itoh N, Kato H, Ishiura M: *Nat. Struct. Mol. Biol.* 11:623-631 (2004)
- 39) Vakonakis I, Sun J, Wu T, Holzenburg A, Golden SS, LiWang AC: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:1479-1484 (2004)
- 40) Vakonakis I, LiWang AC: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101: 10925-10930 (2004)
- 41) Williams SB, Vakonakis I, Golden SS, LiWang AC: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:15357-15362 (2002)
- 42) Xu Y, Mori T, Johnson CH: *EMBO J.* 19:3349-3357 (2000)
- 43) Xu Y, Mori T, Johnson CH: *EMBO J.* 22:2117-2126 (2003)
- 44) Ye S, Vakonakis I, Ioerger TR, Liwang AC, Sacchettini JC: *J Biol Chem.*279: 20511-20518 (2004)
- 45) Young MW, Kay SA: *Nat. Rev. Genet.* 2: 702-715 (2001)