한 국 균 학 회 지 The Korean Journal of Mycology Review

진핵 미생물에서의 COP9 signalosome의 역할

천영미 · 이수진*

충남대학교 생명시스템과학대학 미생물 · 분자생명과학과

The COP9 Signalosome Network in Eukaryotic Microorganisms

Yeongmi Cheon and Soojin Lee*

Department of Microbiology and Molecular Biology, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

ABSTRACT : COP9 signalosome (CSN), which is originally identified as the regulator of the photomorphogenic development in plant, is highly conserved protein complex in diverse eukaryotic organisms. Most eukaryotic CSN complex is composed of 8 subunits, which is structurally and functionally similar to the lid subunit of 26S proteasome and eIF3 translation initiation complex. CSN play important functions in the regulation of cell cycle and checkpoint response by controlling Cullin-Ring E3 ubiquitin ligases (CRL) activities. CSN exhibits an isopeptidase activity which cleaves the neddylated moiety of cullin components. In fission yeast, S-phase cell cycle progression was delayed and the sensitivity to g-ray or UV was increased in CSN1 and CSN2 deletion mutants, indicating that yeast CSN is also involved in the checkpoint regulation. CSN in fungal system more closely resembles that of the higher organisms in the structure and assembly of their components. Functionally, CSN is associated with the regulation of conidiation rhythms in *Neurospora crassa* and the sexual development in *Aspsergillus nidulans*. Recent studies also revealed that CSN functions as an essential cell cycle regulator, playing key roles in the regulation of DNA replication and DNA damage response in *Aspergillus*. Overall, CSN of microorganisms, such as fission yeast and fungi, share functionally common aspects with higher organisms, implying that they can be useful tools to study the role of CSN in the CRL-mediated diverse cellular activities.

KEYWORDS : Cell cycle, COP9 signalosome, CSN5, Ubiquitin ligase

1. COP9 signalosome(CSN)의 발견 및 구조

COP9 signalosome(CSN)은 최초 식물 발달 과정에서의 빛에 의한 전사 조절 억제 유전자로 처음 발견되었다(Wei *et al.*, 1994). Cauliflower에서 처음 분리된 이후 포유동물을 비롯하여 초파리, 효모, 누룩곰팡이(*Aspergillus*) 등에서 속속 orthologue의 존재가 밝혀지면서 CSN은 모든 진핵생물 전반에서 매우 잘 보존되어 있음이 알려지게 되었다(von Arnim, 2003). 효모나 식물의 CSN 돌연변이가 초파리나 포유동물의 orthologue에 의해 회복된다는 사실로부터 이들이 기능적으로 잘 보존되어 있는 것으로 보이나, *Saccharomyces cerevisiae*의 경우는 CSN-like complex의 존재만 알려져 있으며 또한 이들이 다소 크기가 작고 다른 것들에 비해 보존이 덜 되어 있다고 보고되었다(Cope *et al.*, 2002). 효모의 경우를 제외하고는 일반적으로 CSN은 분자량의 크기순으로 큰 것부터 CSN1부터 CSN8까지 8개의 subunit으로 구성되어 있다(Wei *et al.*, 2008). 이 중 CSN5과 CSN6은 보존된 Mpr1-Pad1-N-terminal (MPN) domain을 지니며 나머지는 PCI domain(proteasome-Cop9 complex-eukaryotic translation initiation factor 3[eIF3] domain)을 가지는데 이 두 domain들은 26S proteasome의 lid subunit(Fig. 1)과 eIF3에서 또한 발견된다(Kim *et al.*, 2001).

Kor. J. Mycol. 2013 March **41**(1): 1-8
http://dx.doi.org/10.4489/KJM.2013.41.1.1
pISSN 0253-651X
©The Korean Journal of Mycobiology

***Corresponding author**
E-mail : leesoojin@cnu.ac.kr

Received February 4, 2013
Revised March 8, 2013
Accepted March 8, 2013

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

26S Proteasome lid subunit과의 유사성은 구성 면에서 PCI와 MPN이 6:2로 이루어진다는 점과 이들이 모두 metalloisopepridase 활성을 지닌다는 점에서 찾을 수 있다(Wei *et al.*, 2008). eIF3의 경우 CSN보다 subunit의 숫자가 더 많긴 하나, 분열효모(*Schizosaccharomyces pombe*)의 csn6와 csn7이 처음에는 CSN subunit로서 발견되었으나 후일 이들이 실질적으로는 eIF3의 구성체임이 알려지면서 이들 간의 기능적 유사성이 증명되었다(Zhou *et al.*, 2005). PCI domain 은 TPR-like/HEAT domain과 winged-helix-like domain 등 두 개의 subdomain으로 나눌 수 있으며 특히 winged-helix-like domain은 DNA 또는 RNA 결합 단백질에서 특이적으로 찾을 수 있는 domain이라는 점으로부터 연구자들은 CSN이 nucleic acid과 결합하는 단백질일 수도 있다는 가설을 제안하고 있다(Wei *et al.*, 2004). 또한 전체적 모습을 볼 때 CSN complex는 ring complex에서 보이는 확장된 구조라기보다는 비대칭적인 조밀한 구조를 보인다고 알려져 있다(Fu *et al.*, 2001).

생화학적 분획 결과로부터 몇몇 CSN subunit들이 CSN holoenzyme과는 별개로 개별적인 형태로도 존재함을 볼 수 있는데 이들의 안정성은 holoenzyme으로 존재할 때가 높다는 사실이 알려져 있다(Busch *et al.*, 2007). 크기가 작은 CSN complex들의 존재가 보고되었으나, 이들은 대부분 적은 양이고 불안정하여 이들이 실제로 활성이 있는지에 대한 견해는 분분하다. 하지만 CSN5를 포함하는 작은 complex의 경우, 세포 주기 또는 암화의 정도에 따라 양적

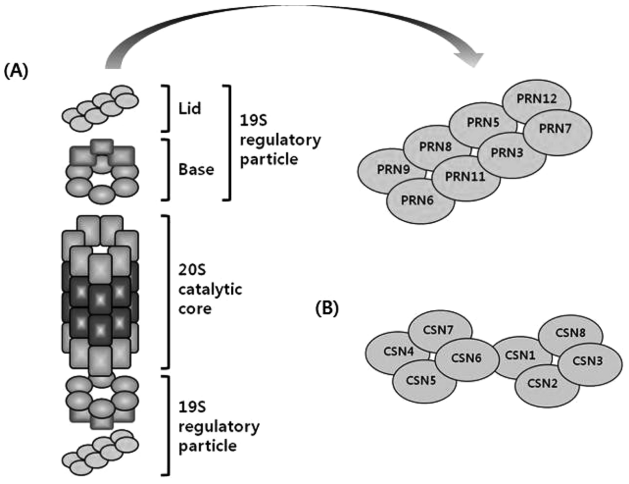

Fig. 1. The structure of 26S proteasome complex and COP9 signalosome. (A) The 26S proteasome complex. The 20S core protease complex consists of a hollow cylinder formed from four stacked rings of seven subunits containing the central catalytic domain. Bound to the 20S proteasome at the ends is the 19S regulatory particle that can be further divided into lid and base subcomplexes. The lid subcomplex contains eight non-ATPase subunits (RPN3, 5, 6, 7, 8, 9, 11, and 12). (B) The COP9 signalosome is composed of eight subunits (CSN1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, and 8) which is closely related to the lid complex of the 26S proteasome in structural composition.

인 변화가 보여 이들은 세포 내에서 독특한 활성을 가질 것으로 보고 있다(Fukumoto *et al.*, 2005). CSN5가 단독으로 존재할 때는 특히 핵 내부보다는 세포질에서 많이 발견되며, CSN5가 핵에서 세포질로의 이동에 관련된 기능이 있음이 보고된 바 있다(Tomoda *et al.*, 2002). 한편으로 포유동물에서는 적어도 세 가지 종류의 서로 다른 protein kinase가 CSN과 더불어 정제되었는데 이러한 점이 "signalosome"이라는 이름이 붙여진 유래가 되었다(Uhle *et al.*, 2003).

2. CSN의 isopeptidase 활성 및 CSN5

CSN의 가장 잘 알려진 기능으로는 E3 ubiquitin ligases 및 26S proteasome로 매개되는 단백질 분해 활성 조절이다(von Arnim, 2003). 26S proteasome은 실린더 모양의 ATPase 활성을 띠는 catalytic core(20S)과 양쪽에 존재하는 ATPase 비활성의 regulatory particles(19S)로 구성되며, 이 regulatory particles(19S)은 다시 base 부분과 8개의 subunit을 가지는 lid로 나눌 수 있다(Fig. 1)(Sullivan *et al.*, 2003). 보통 polyubiquitin이 매달린 기질들은 lid subunit과 결합한 후 base쪽으로 전달되며 unfolding 후 proteasome core에서 분해된다(Vierstra, 2003). Ubiquitin은 ubiquitin-activating enzymes(E1)으로 일단 활성화되어 ubiquitin-conjugating enzymes(E2)로 전달된 뒤 단백질에 tagging된다. 이 후 E3 ubiquitin ligases가 기질의 ubiquitination을 유도하게 되는데 이들이 기질 특이성을 결정되게 되며 세포 내 수많은 E3 ubiquitin ligases의 존재가 보고되고 있다(von Arnim, 2003).

Cullin-ring E3 ubiquitin ligases(CRL)는 Cullin이라는 scaffold 단백질을 포함하는 E3 ligases를 총체적으로 이르며, 수많은 세포 내 기질의 ubiquitination을 관장함으로써 세포 활성에서 매우 중요한 위치를 차지한다(Jackson and Xiong, 2009). 그 중 SCF(SKP1-Cullin-F-box protein) complexes는 잘 알려진 E3 ubiquitin ligase 중 하나로서 ubiquitin transfer의 기능을 가지는 Ring-box protein1 (Rbx1), scaffold 역할을 하는 cullin-1[출아효모에서는 cdc53]과 adaptor protein인 Skp1을 포함한다(Welcker and Clurman, 2008). 기질 특이성을 결정하는 기능은 'F-box'라는 특정 서열을 공통적으로 가지고 있는 많은 종류의 F-box 단백질이 맡고 있으며 이들은 Skp1 adaptor와 직접적으로 결합한다(Fig. 2). 많은 진핵 세포에서 cullin은 작은 ubiquitin-like protein 인 Nedd8[출아효모에서는 Related to ubiquitin(Rub)]이 cullin의 특정 Lys 잔기에 공유 결합하는 posttranslational modification이 보고되고 있다. 이러한 neddylation 은 cullin과 E2 conjugating enzyme과의 결합을 촉진하거나 또는 SCF complex의 구성을 방해하는 저해제의 결합을 막아주는 방식 등으로 SCF complex의 E3 ligase 활성을 증가시킨다고 알려져 있다(Zheng *et al.*,

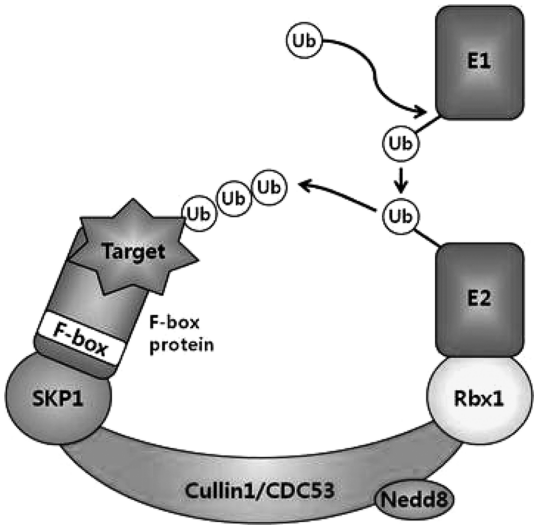

Fig. 2. Schematic of an SCF (Skp1, Cullin-1, and F-box protein) E3 ubiquitin ligase. The Skp1–Cullin1–Rbx1 core complex recruits substrates through interchangeable substrate-specific F-box proteins. Rbx1 binds to the E2 ubiquitin-conjugating enzyme (UBC) that was previously charged with ubiquitin (Ub) by an E1 ubiquitin-activating enzyme (UBA).

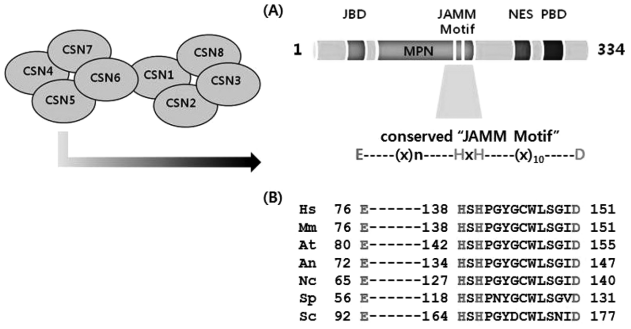

Fig. 3. JAMM motif of CSN5. (A) Domain analysis of the CSN5. CSN5 contains a N-terminus c-Jun binding domain (JBD), followed by a Jab1/CSN5/MPN domain metalloenzyme (JAMM)-containing Mpr1-Pad1-N-terminal (MPN) domain, responsible for isopeptidase activity. Also, a nuclear export signal (NES) domain is mapped close to the p27 biding domain (PBD) at the C-terminal end. The JAMM motif contains a conserved amino acid sequence, E(X)nHxH(X)10D. (B) The JAMM motif of CSN5 is found in many eukaryotes, *H. sapiens* (Hs), *M. musculus* (Mm), *A. nidulans* (An), *N. crassa* (Ns), *S. pombe* (Sp) and *S. cerevisiae* (Sc). The conserved residues are designated in red.

2002). 이제껏 CSN complex의 단 한 가지 효소활성이 바로 cullin으로부터 Nedd8을 제거하는 isopeptidase 활성이다(Lyapina *et al.*, 2001). CSN의 다섯 번째 subunit인 CSN5의 MPN domain 내의 c-Jun activation domain binding protein1(Jab1)/MPN domain metalloenzyme (JAMM) motif가 deneddylation 활성 부위로 알려져 있다 (Cope *et al.*, 2002)(Fig. 3). 비록 JAMM motif가 CSN5에 위치하지만 cullin deneddylation 활성은 CSN5보다 CSN complex의 활성이라고 보는게 타당한데, 그 이유는 CSN5 monomer의 경우에는 isopeptidase 활성이 없으며 CSN5 이외의 다른 subunit의 결손이 cullin neddylation을 증가시키는 결과들이 이를 뒷바침한다 (Gusmaroli *et al.*, 2007).

CSN subunit 중 CSN5는 매우 독특하고 흥미로운 기능을 가지고 있다. 원래 CSN5는 c-Jun의 전사 활성을 도와주는 인자로 처음 발견되어 Jab1으로 명명되었으나 (Seeger *et al.*, 1998), 최근에는 CSN5가 holoenzyme으로 또는 monomer로서 세포 증식, 세포 사멸, DNA 복구 등 필수적 세포 활성에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 보고되면서 새로이 주목을 받고 있다(Shackleford and Claret, 2010; Tian *et al.*, 2010). CSN5는 또한 다양한 암에서 과발현되며 CSN5의 기능 결손은 암세포의 성장을 저해한다는 보고가 있다(Fukumoto *et al.*, 2006). 흥미롭게도 CSN5의 수많은 단백질들과 결합하고 그들의 분해를 조절한다고 알려져 있는데, 이들은 Cyclin E, p53, β-catenin, Myc, Cdk2, and $p27^{kip1}$ 등 세포 증식, 암 등과 밀접하게 관련된 주요 조절인자임을 알 수 있다(Yoshida *et al.*, 2010). CSN5에 의한 타겟 단백질 분해는 종종 타겟 단백질을 핵에서 세포질로 방출하는 현상과 연계되어 있는데, 이러한 CSN5의 활성은 CSN holoenzyme의 isopeptidase 활성과는 무관하게 이루어진다고 연구자들은 보고 있다(Tanguy *et al.*, 2008). 이로써 CSN5는 단순히 Cullin-ring ubiquitin ligases(CRL)의 deneddylation 활성을 지니는 subunit으로서가 아닌 다양한 기능을 하는 세포 내 조절인자로서 여겨지는 추세이다.

3. 효모에서의 COP9 signalosome

모든 진핵 생물 전반에서 CSN이 보존되어 나타나긴 하지만 효모에서의 CSN은 구조적인 면에서 상위 개체의 그것과 다소 차이를 보인다. 분열효모의 경우 size-exclusion gel filtration 방법을 통해 CSN1(Caa1)이 500 kDa에 해당하는 사이즈로 분리가 되고 이것이 human의 CSN과 유사함을 통해 분열효모에서도 CSN이 multi-subunit complex로 보존되어 있음이 확인되었다(Mundt *et al.*, 1999). 그에 반해, 출아효모의 경우엔 MPN domain을 갖는 CSN5/Rri1만이 homology를 갖는 것으로 밝혀졌으며 다른 것들은 상위개체에 비해 크기가 작은 대안적인 CSN complex (CSN-like complex)를 이루고 있음이 알려졌다 (Wee *et al.*, 2002). 그 구성 요소로는 CSN5/Rri1 이외에 PCI domain을 갖는 CSN9/Rri2, CSN10, CSN12과 MPN, PCI, 두 domain 어느 것도 갖지 않는 Csi1이 알려졌으며, 추가적으로 eIF3의 subunit으로도 작용할 것으로 생각되는 CSN11/Pci8 등이 있을 것으로 여겨지고 있다(Maytal-Kivity *et al.*, 2002). 그리고 효모의 이들 구성 요소가 Cullin/Cdc53의 deneddylation을 조절할 수 있음과 CSN

결손으로 나타나는 Rub1 제거 결핍 현상이 human CSN으로 회복될 수 있음을 통해 출아효모의 CSN이 상위 개체의 CSN complex와 기능적으로 유사하다고 여겨지고 있다(Wee *et al.*, 2002).

CSN은 상위 개체에서 세포 주기 및 checkpoint 조절에 관여한다고 밝혀진바 있는데(Kato and Yoneda-Kato, 2009), 분열효모에서도 CSN1(Caa1)과 CSN2(Sgn2) subunit이 S-phase로의 진행에 있어서 중요하게 작용함이 알려졌다(Mundt *et al.*, 1999). CSN1은 처음 Chk1 arrest attenuator (Caa1)로서 알려졌으며 CSN1과 homology가 있음을 통해 현재는 CSN 구성 요소로서 인식되고 있다. 분열효모에서, CSN1 및 CSN2 결손 세포에서 S-phase로서의 진행이 지연됨이 관찰되었고(Mundt *et al.*, 1999), 추가적인 연구를 통해 이것이 DNA 생합성 과정에 중요하게 작용하는 효소인 Ribonucleotide reductase(RNR)의 조절이 제대로 이루어지지 않았기 때문임이 밝혀졌다(Liu *et al.*, 2003). 분열효모에서 RNR은 Suc22와 Cdc22 등으로 구성되는데, RNR 활성이 이루어지려면 Suc22이 핵 밖으로 유도되어야 하며 이러한 과정은 효모의 세포 주기 억제자인 Spd1(S-phase delayed)에 의해 저해된다. S-phase에 이르면 Spd1 단백질 레벨은 낮아져 Suc22의 세포질로의 이동이 이루지는 게 일반적인데, CSN1의 결손은 Spd1 단백질의 분해를 막아 세포 내 축적을 이끌고 Suc22를 핵 안에 머무르게 함으로써 결국 RNR 활성을 억제시켜 S-phase 진행을 막게 된다(Liu *et al.*, 2003; Wei and Deng, 2003). 또한 이런 현상은 효모가 형태상으로 길어지거나 느리게 성장하는 표현형으로 나타난다. 동물세포의 경우도, antisense CSN6를 처리하였을 때 G2/M phase 시기에 세포 주기가 멈추는 현상이 나타나는데, 이러한 결과들은 CSN의 기능이 세포 주기 조절과 밀접한 연관성이 있음을 보여준다. 이외에도 분열효모의 CSN1과 CSN2이 rad3, chk1, cds1, cdc2.3w 등과 같은 checkpoint 관련 인자들과 함께 돌연변이가 일어날 때 lethal하고 감마선 혹은 UV에 좀더 민감해지는 현상이나, DNA 손상 없이도 CSN1 결손이 checkpoint kinase, Cds1의 활성을 지속시킨다는 실험적 결과들은 CSN이 checkpoint 조절에도 관여한다는 것을 보여준다(Mundt *et al.*, 1999; Wei and Deng, 2003). 그에 반해, 출아효모에서는 CSN-like complex 구성원의 돌연변이를 유도하더라도 UV나 methyl-methane sulfate(MMS)과 같은 DNA에 손상을 주는 인자를 처리하였을 때 세포의 성장이 느려지거나 UV 등에 민감해지는 표현형은 관찰되지 않았다(Wee *et al.*, 2002). 이와 같은 현상은 CSN이 전형적으로 cullin의 deneddylation을 조절함으로써 cullin 매개의 ubiquitin ligase의 활성을 조절하는 과정 이외에도 세포 주기 조절과 DNA 손상에 대한 조절 기작에 관여하고 있지만 이런 현상이 모든 효모에 보존되어 있는 것은 아니라는 것을 말해준다.

이외에 출아효모에서 CSN5, CSN9, CSN12 subunit이 각각 결손 되었을 때, 페로몬에 대한 반응이 높아지면서 mating 효율이 증가하는 현상이 보고되었으며 더불어 Csi1을 제외한 CSN subunit 결손 세포의 경우 shmoo의 형성이 촉진됨이 밝혀졌다. 이와 함께 CSN 각각의 subunit을 과발현 시켜주었을 때, Cullin/Cdc53의 modification에는 변화가 없음을 통해, 페로몬에 대한 반응 기작에 있어서 CSN의 역할은 cullin/Cdc53의 modification과는 별개의 일임을 알 수 있다(Maytal-Kivity *et al.*, 2002; Wei and Deng, 2003). 분열효모의 경우 Pcu1(Cullin1), Pcu3(Cullin3), Pcu4(Cullin4) 등이 cullin 단백질로서 알려져 있으며(Zhou *et al.*, 2001), 특히 Pcu4의 경우 human Cullin4 처럼 DNA 손상에 대한 조절 기전과 밀접하게 연관되어 있음이 알려졌다(Liu *et al.*, 2005). 이때 CSN은 Pcu4 및 DDB1 과 complex를 이루며 RNR의 억제자인 Spd1의 단백질 레벨을 조절함으로써 S-phase 및 DNA 손상에 대한 반응을 조절할 것으로 여겨지고 있다(위 단락 참고). 출아효모의 경우도 Cullin1/Cdc53, Cullin3, Rtt101과 같은 상위 개체와 homology를 보이는 cullin 단백질들이 찾아졌으며, 이 중 Rtt101이 human의 Cullin4 단백질과 homology를 보인다는 것이 밝혀졌다(Zaidi *et al.*, 2008). Rtt101은 human의 DDB1에 해당하는 Mms1 및 기질 특이성을 나타내는 adaptor 단백질인 Mms22 혹은 Crt10과 CRL4 complex를 이룸으로써 RNR을 조절하고 이로써 DNA 합성 및 손상 기작에 관여할 것으로 여겨지고 있다. 하지만 분열효모와 달리, 위에서도 언급하였듯이 출아효모의 경우 DNA 손상과 관련한 CSN의 기능은 아직까지 밝혀져 있지 않다(Zaidi *et al.*, 2008).

이렇듯 효모에서 CSN은 cullin 매개의 ubiquitin ligase의 활성을 조절하는 측면, 혹은 cullin 조절과는 별개의 측면에서 효모 생장에 필요한 여러 과정들을 조절할 것으로 생각된다.

4. 곰팡이에서의 COP9 signalosome

효모와 달리 곰팡이에서의 COP9 signalosome은 좀 더 상위 개체의 그것과 유사하다. *Neurospora crassa*의 경우 CSN8을 제외한 CSN1부터 CSN7까지 7개의 subunit을 가지며, 특히 *Aspergillus nidulans*의 경우엔 CSN1부터 CSN8 (CsnA부터 CsnH)까지 상위 개체가 갖는 전형적인 CSN complex의 모든 요소를 갖추고 있음이 밝혀졌다(Busch *et al.*, 2007).

*N. crassa*에서 CSN의 기능을 보면 SCF^{Fbw1}의 안정화와 활성을 유지시키고 이를 통해 Neurospora의 생체리듬을 조절한다는 것이 밝혀졌다(He *et al.*, 2005). CSN 돌연변이가 유도되었을 때 성장이 저해되고 기중균사와 분생 포자가 감소하는 현상이 관찰되었는데, 이러한 현상은 CSN이 deneddylaton을 통해 CRL을 안정화시킴으로써 *Neurospora*의 생체 시계 조절 단백질인 Frq(frequency)의 분해를 일

으키는 것과 관련되어 있음이 알려졌다(Braus *et al.*, 2010). 또한 최근 연구를 통해 CSN complex의 integrity가 이러한 생체 리듬 조절과 더불어 균사의 생장 및 포자의 발달 과정에 중요하게 작용한다는 것이 알려졌다(Zhou *et al.*, 2012).

*A. nidulans*에서는 CSN 결손이 빛과 연관한 곰팡이의 발달 과정을 약화시킬 수 있음이 보고 되었다(Rodriguez-Romero *et al.*, 2010). 어둠이 주어지면 *A. nidulans*는 유성포자인 ascospore 및 Hulle cell을 포함하는 자실체(cleistothecia)를 형성하는 반면, 빛이 주어지면 이러한 유성생식 과정이 억제되고 무성포자를 생산하는 condiophore가 형성된다는 것이 알려졌다. 또한 red light receptor와 blue light receptor를 이용하여 빛을 감지한다는 것이 알려져 있는데(Purschwitz *et al.*, 2008), CSN 돌연변이 균주의 경우 빛을 감지하지 못함으로써 빛의 유무와 상관없이 유성생식 주기가 시작되는 것이 관찰되었다. 이러한 현상은 세포가 갖는 CSN의 deneddylation 과정과 관계 깊으며 특히 CSN5(CsnE) 단백질 내 존재하는 JAMM domain에 돌연변이가 일어날 때 그러한 표현형이 보여진다는 것으로부터, CSN의 형성과 활성이 곰팡이 생활사에 중요인자일 것으로 인지되었다. 이와 더불어, *A. nidulans*에서 CSN subunit 유전자들을 각각 결손 시켰을 때 초기 발달 단계가 제대로 이루어지지 못하는 현상이 관찰됨에 따라 상위 개체의 경우와 마찬가지로 CSN이 초기 발달 단계에 중요하게 작용하는 인자임이 입증되었다. 게다가 CSN 결손 균주에서 붉은 색을 띄는 비정상의 균사가 관찰되었고 이러한 현상이 야생형의 CSN을 넣어주게 되면 회복된다는 것을 통해, CSN 각각의 기능보다도 온전한 CSN complex의 형성이 더 중요한 부분임이 밝혀졌다(Busch *et al.*, 2007). 이러한 곰팡이에서 보여지는 CSN 돌연변이의 모습은 식물의 경우와 매우 흡사함을 알 수 있다. 우선, *A. nidulans*에서 빛과 무관한 발달 과정은 페로몬처럼 작용하는 Psi (precocious sexual inducer)의 불균등한 생산을 유도하게 되고 이는 유성생식 및 무성생식 여부를 결정하게 된다. 식물의 CSN 돌연변이에서는 SCF^{SLY1}에 의한 식물의 발아 및 성장이 약화되는 것이 보고 되었다(Braus *et al.*, 2010). 이렇듯 곰팡이와 식물의 경우를 엿볼 때, CSN은 발달 과정 동안 적절한 호르몬의 생산을 조절함으로써 빛 반응 과정의 중요 인자로 작용할 것임이 명백하다.

*A. nidulans*에서 CSN 돌연변이는 발달 과정에서의 문제뿐만이 아니라 이차대사과정이나 DNA 손상에 의한 조절 측면에서도 문제를 야기한다. 위에서 언급한 CSN 결손이 야기하는 비정상의 붉은색 균사의 형성은 이차대사과정의 문제와도 결부 된다(Busch *et al.*, 2004). 곰팡이의 발달과 이차대사 과정은 CSN과 이것의 antagonist인 velvet complex (VelB/VeA/LaeA)에 의해 조절된다는 것이 알려져 있는데, 이는 CSN complex와 SCF 작용에 의해 빛 반응에 반응하는 velvet의 중요 요소인 VeA 단백질이 분해되는 관계임을 통해 풀이될 수 있다. 여기서 velvet은 오직 곰팡이에서만 발견되는 요소로 빛이 주어질 때 자극이 되지만, CSN은 그와는 반대로 빛이 없을 때 자극되는 요소로서 인지되고 있다. VeA 단백질은 인산화되는 단백질로서 밝혀져 있는데, CSN 작용에 의한 이 단백질의 분해는 이러한 인산화 과정에 의해 매개될 것으로 추측되고 있다(Braus *et al.*, 2010).

CSN은 동물이나 식물, 초파리뿐만이 아니라, 분열효모에서 DNA 손상과 관련한 세포 주기를 조절할 것으로 여겨지고 있는데, *A. nidulans*에서 또한 그러한 기능이 있는 것으로 보고 있다(Lima *et al.*, 2005). 다른 진핵 생물에서 보존되어 있는 DNA 생합성 과정에 중요한 RNR 유전자의 존재가 *A. nidulans*에서도 밝혀졌으며 RnrA와 RnsA가 RNR를 구성함으로써 기능할 것임이 보고되었다. CsnD (CSN4) 및 CsnE(CSN5)가 결손된 균주에서 RnrA, RnsA 유전자 발현이 감소되는 현상이나 DNA 손상이 일어났을 때 좀 더 민감해지는 표현형을 나타낸 결과들은 CSN이 DNA 합성 및 손상 조절 기작에 밀접하게 연관되어 있음으로써 S-phase로의 진행 및 세포 주기를 조절한다는 것을 시사한다. 또한 CSN4, CSN5 유전자가 cdc2-related kinase인 NpkA 및 ATM/ATR checkpoint kinase와 homology가 있는 $UsvB^{ATR}$과 유전적으로 상호 작용한다는 결과를 얻음으로써, CSN이 checkpoint 조절에도 관여한다는 것을 알 수 있다(Fagundes *et al.*, 2004; Lima *et al.*, 2005). 반면, 또 다른 곰팡이인 *N. crassa*에서는 DNA 손상 조절 기작과 연관하여 CSN의 기능은 밝혀져 있지 않다.

위와 같은 사실들을 통해 CSN은 곰팡이 발달 과정 및 생식주기, 빛 반응, 이차대사산물의 조절과 같은, 곰팡이 생활사에 필수적인 여러 과정들을 조절하는 필수인자임을 알 수 있다

5. 상위 개체에서의 Cop9 signalosome

CSN signalosome은 식물 묘목에서 constitutive photomorphogenic 돌연변이로부터 처음 발견된 이후(Zhou *et al.*, 2001), CSN signalosome은 식물 성장 및 발달과 매우 밀접하게 관여하고 있음이 속속 보고되었다. CSN5 siRNA를 처리하면 auxin 신호 전달의 저해를 보이며 또한 CSN3, CSN6 발현 억제 시 식물의 발화 과정에 문제가 일어남을 보인 바 있다(Wang *et al.*, 2002). 한편 *Arabidopsis*의 CSN 돌연변이들은 묘목 단계에서 성장을 멈추고 마는데 이러한 현상이 DNA damage response 활성화로 인한 G2 phase로의 진행이 정지되었기 때문이라고 보고되면서 CSN과 세포 주기와의 밀접한 관계를 보여 주었다(Dohmann *et al.*, 2008).

포유 동물에서도 CSN5 siRNA 을 투입하면 DNA repair 과정에 문제를 야기한다는 사실이 보고되었고(Groisman, *et al.*, 2003), 또한 CSN5 결손된 mouse epithelial fibroblast

cell에서는 CSN deneddylation 활성이 세포 성장에 필수적이라는 점과 CSN 결손으로 인해 여러 시점에서 세포 주기가 멈추는 현상이 관찰되었다(Yoshida *et al.*, 2010). 이 같은 결과는 CSN complex가 세포 내 주기 조절 및 DNA 복귀 과정에 중요한 기능을 하고 있다는 사실을 보여주고 있다. UV에 의한 손상이나 복제 단계의 스트레스로 인해 유도되는 DNA damage 반응은 sensor kinase인 ATR 및 checkpoint kinase 1(Chk1)의 활성화를 일으키는데 Chk1의 인산화는 Rad9-Rad1-Hus1(9-1-1) complex가 DNA에 결합하는지에 의존한다고 알려져 있다(Hannss and Dubiel, 2011). CSN5는 PCNA (proliferating cell nuclear antigen)과 유사하며 유전자 손상 시 DNA와 직접 결합하는 9-1-1 complex의 분해를 촉진한다고 보고되었다(Huang *et al.*, 2007). 이러한 사실은 CSN이 checkpoint 활성화에 직접적으로 관여하는 9-1-1 complex를 조절하고 p53, Cdc25 및 궁극적으로 Cyclin-dependent kinase(Cdk) 등의 활성화에 영향을 줌으로써 세포 주기 조절과 매우 밀접하게 연관되어 있음을 시사하고 있다.

UV 등으로 인한 pyrimidine dimer 등의 생성은 세포 내 nucelotide excision repair(NER) system에 의해 복구된다(Hannss and Dubiel, 2011). CSN이 세포 내 NER과 연관되어 있다는 보고는 최근 꾸준히 발표되고 있는데 특히 Cullin4를 포함하고 있는 CRL4을 중심으로 많이 전개되었으며, 그 이유는 CRL4 가 DNA 복구 및 chromatin remodeling 등에 크게 관여하고 있음에 있다(Jia *et al.*, 2005). CSN이 NER의 활성화에 기여하는 기전을 알아보면, DNA 손상이 일어났을 때 그 부위를 빠르게 인지하는 센서 단백질이 DDB2로 잘 알려져 있는데 DDB2는 또한 CRL4의 구성요소이다. 자극이 주어지지 않은 보통 세포에서는 CSN이 $CRL4^{DDB2}$와 결합, deneddylation 시키지만, 일단 UV 자극이 주어지면 DDB2가 빠르게 DNA 손상부위에 결합함으로써 CSN과 떨어지게 되고 $CRL4^{DDB2}$는 ubiquitin ligase로서 기능하게 된다(Groisman *et al.*, 2003). CRL4는 DNA replication licensing factor인 CDT1 분해인자로도 유명한데, mitosis가 끝난 후 CDT1은 replication origin에 붙게 되고 DNA 복제기인 S기에 이르면 $CRL4^{CDT2}$ 형태로 PCNA 의존적으로 크로마틴에 결합하여 이후 CDT1의 분해를 촉진한다고 알려져 있다(Higa *et al.*, 2003). 또한 $CRL4^{CDT2}$는 Histone4의 20번째 lys 잔기의 methylation에 관여하는 set8 methylase 및 p21의 분해에도 관여하는데, 흥미롭게도 이러한 분해 작용에 PCNA을 모두 필요로 한다고 알려져 있다. Checkpoint 이후 회복과정에서 Cdc25A, Wee1 등의 기능이 매우 중요한 요인으로 작용하는데 이들은 모두 $SCF^{b\text{-}TRCP1}$ ubiquitin ligase에 의해 분해되며 $SCF^{b\text{-}TRCP1}$ 또한 CSN에 의한 조절을 받는다(Bartek and Lukas, 2007). 이로써 DNA damage response 및 checkpoint 조절에 CSN이 다양한 방법으로 매우 깊숙이 관여하고 있음이 확실해졌다.

6. 전 망

CSN signalosome은 식물 묘목에서 빛에 의한 식물 발달 조절 인자로 처음 발견된 이후 다양한 진핵 생물에 잘 보존되어 있음이 확인되었다. CSN complex는 형태적으로 26S proteasome의 lid 부분과 가장 유사하며 수많은 주요 세포 활성 인자들의 분해와 밀접한 관련이 있는 반면, 또한편으로 단백질 합성과정에 기여하는 eIF3 complex와도 형태적, 기능적 관련성이 많아 흥미롭다. eIF3 complex 중 특히 eIF3e, eIF3c, eIF3h가 가장 지속적으로 CSN과의 결합이 보고되고 있으며(Bech-Otschir *et al.*, 2002), 또한 출아효모의 eIF3e homologue인 Pci8의 경우에는 Cullin deneddylation 과정에 관여한다고 알려졌다(Maytal-Kivity *et al.*, 2002). 이러한 결과는 단백질 합성 및 분해를 담당하는 단백질 복합체들 사이에 서로 밀접한 유사성 및 호환성이 있다는 점에서 매우 흥미로운 현상이라고 볼 수 있으며, 향후 이 두 과정의 생리학적 연관성 및 조절 기전을 밝힐 수 있는 좋은 재료로서 의미를 부여할 수 있을 것으로 생각된다.

CSN complex는 DNA damage, checkpoint response에 관여하는 많은 주요 인자들과 결합하며 이들의 활성을 조절한다는 사실이 밝혀지면서 단순히 식물 발달 조절 인자가 아닌 주요 세포 주기 조절자로서의 위상이 날로 높아지고 있다. 인간에 있어서 세포 주기 조절에 대한 연구는 암 발생과 매우 관련이 깊은 분야로서 인식이 되고 있는데, 다양한 인간 암세포에서 CSN 및 그들의 조절 인자들의 발현 양이 정상세포와 다르다는 사실이 보고된 것과 이들의 과발현 및 결손으로 인해 암 세포의 활성에 변화가 보인다는 점, 그리고 세포 주기 조절과 관련한 여러 현상들은 암 발생과 관련한 연구 분야에 CSN을 대입시키는 것이 당연한 결과임을 보여준다고 할 수 있다. 향후 CSN complex에 의한 세포 주기 조절 연구는 그 결합 인자의 다양성에 비추어 볼 때 진핵 세포 활성에 있어 매우 폭넓게 전개되리라 전망되는데, 효모와 곰팡이 등에서 보여주는 기능적 유사성으로 미루어 보아 향후 연구에 이들 진핵 미생물의 활용 가능성은 매우 높다고 여겨진다.

적 요

Cop9 signalosome(CSN)은 최초 식물 발달 과정에서의 빛에 의한 전사 조절 과정에서의 억제 유전자로 처음 분리된 이후 이들이 다양한 진핵 생물 에서 매우 잘 보존되어 있음이 알려지게 되었다. 이들은 대부분 8개의 subunit으로 구성되며 26S proteasome lid와 eIF3와 구조적으로는 물론 기능적으로도 유사성을 보인다고 알려져 있다. 이들은 특히 Cullin-Ring ubiquitin ligases(CRL)의 구성 요소인 Cullin의 deneddylation을 매개하여 ubiquitin ligase의 활성을 조절한다고 알려져 있으며, 또한 세포 주기 및

checkpoint 조절에 관여한다고 보고되었다. 분열효모의 경우 CSN1 및 CSN2 결손 세포에서 S-phase로서의 진행이 지연됨이 관찰되었고 감마선 혹은 UV에 좀더 민감해지는 현상이 관찰되어 CSN이 checkpoint 조절에 관여한다는 것을 보여주었다. 곰팡이의 CSN 경우 구조적으로 더욱 상위 개체들의 그것과 더욱 유사한데, CSN이 생체 시계 리듬, 빛과 연관한 호르몬 생산, 곰팡이의 발달 과정 및 생식 주기를 조절함이 보고되었다. 또한 *Aspergillus nidulans*의 경우 상위개체에서 보여준 DNA 합성 및 손상, 세포 주기 조절에서의 기능이 알려지면서 CSN은 곰팡이 생활사에 필수적인 여러 과정들을 조절하는 중요한 인자임을 알 수 있다. 이로써 식물이나 포유동물 등에서 보고되었던 CSN의 주요 기능을 미생물에서도 대부분 공유하고 있음을 알 수 있고 이들이 CRL을 통한 주요 세포 활성 조절 연구에 좋은 툴로서 활용할 수 있음을 시사하고 있다.

감사의 글

이 연구는 충남대학교 학술연구비에 의해 지원되었음.

참고문헌

Bartek, J. and Lukas, J. 2007. DNA damage checkpoints: from initiation to recovery or adaptation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 19: 238-245.

Bech-Otschir, D., Seeger, M. and Dubiel, W. 2002. The COP9 signalosome: at the interface between signal transduction and ubiquitin-dependent proteolysis. *J. Cell Sci.* 115:467-473.

Braus, G. H., Irniger, S. and Bayram, O. 2010. Fungal development and the COP9 signalosome. *Curr. Opin. Microbiol.* 13:672-676.

Busch, S., Eckert, S. E., Krappmann, S. and Braus, G. H. 2004. The COP9 signalosome is an essential regulator of development in the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. *Mol. Microbiol.* 49:717-730.

Busch, S., Schwier, E. U., Nahlik, K., Bayram, O., Helmstaedt, K., Draht, O. W., Krappmann, S., Valerius, O., Lipscomb, W. N. and Braus, G. H. 2007. An eight-subunit COP9 signalosome with an intact JAMM motif is required for fungal fruit body formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104:8089-8094.

Cope, G. A., Suh, G. S., Aravind, L., Schwarz, S. E., Zipursky, S. L., Koonin, E. V. and Deshaies, R. J. 2002. Role of predicted metalloprotease motif of Jab1/Csn5 in cleavage of Nedd8 from Cul1. *Science* 298:608-611.

Dohmann, E. M., Levesque, M. P., De Veylder, L., Reichardt, I., Jurgens, G., Schmid, M. and Schwechheimer, C. 2008. The Arabidopsis COP9 signalosome is essential for G2 phase progression and genomic stability. *Development* 135:2013-2022.

Fagundes, M. R., Lima, J. F., Savoldi, M., Malavazi, I., Larson, R. E., Goldman, M. H. and Goldman, G. H. 2004. The *Aspergillus nidulans* npkA gene encodes a Cdc2-related kinase that genetically interacts with the UvsBATR kinase. *Genetics* 167: 1629-1641.

Fu, H., Reis, N., Lee, Y., Glickman, M. H. and Vierstra, R. D. 2001. Subunit interaction maps for the regulatory particle of the 26S proteasome and the COP9 signalosome. *EMBO J.* 20: 7096-7107.

Fukumoto, A., Tomoda, K., Kubota, M., Kato, J. Y. and Yoneda-Kato, N. 2005. Small Jab1-containing subcomplex is regulated in an anchorage- and cell cycle-dependent manner, which is abrogated by ras transformation. *FEBS Lett.* 579:1047-1054.

Fukumoto, A., Tomoda, K., Yoneda-Kato, N., Nakajima, Y. and Kato, J. Y. 2006. Depletion of Jab1 inhibits proliferation of pancreatic cancer cell lines. *FEBS Lett.* 580:5836-5844.

Groisman, R., Polanowska, J., Kuraoka, I., Sawada, J., Saijo, M., Drapkin, R., Kisselev, A. F., Tanaka, K. and Nakatani, Y. 2003. The ubiquitin ligase activity in the DDB2 and CSA complexes is differentially regulated by the COP9 signalosome in response to DNA damage. *Cell* 113:357-367.

Gusmaroli, G., Figueroa, P., Serino, G. and Deng, X. W. 2007. Role of the MPN subunits in COP9 signalosome assembly and activity and their regulatory interaction with Arabidopsis Cullin3-based E3 ligases. *Plant Cell* 19:564-581.

Hannss, R. and Dubiel, W. 2011. COP9 signalosome function in the DDR. *FEBS Lett.* 585: 2845-2852.

He, Q., Cheng, P. and Liu, Y. 2005. The COP9 signalosome regulates the *Neurospora circadian* clock by controlling the stability of the SCFFWD-1 complex. *Genes Dev.* 19:1518-1531.

Higa, L. A., Mihaylov, I. S., Banks, D. P., Zheng, J. and Zhang, H. 2003. Radiation-mediated proteolysis of CDT1 by CUL4-ROC1 and CSN complexes constitutes a new checkpoint. *Nat Cell Biol.* 5:1008-1015.

Huang, J., Yuan, H., Lu, C., Liu, X., Cao, X. and Wan, M. 2007. Jab1 mediates protein degradation of the Rad9-Rad1-Hus1 checkpoint complex. *J. Mol. Biol.* 371:514-527.

Jackson, S. and Xiong, Y. 2009. CRL4s: the CUL4-RING E3 ubiquitin ligases. *Trends Biochem. Sci.* 34:562-570.

Jia, S., Kobayashi, R. and Grewal, S. I. 2005. Ubiquitin ligase component Cul4 associates with Clr4 histone methyltransferase to assemble heterochromatin. *Nat. Cell Biol.* 7:1007-1013.

Kato, J. Y. and Yoneda-Kato, N. 2009. Mammalian COP9 signalosome. *Genes Cells* 14:1209-1225.

Kim, T., Hofmann, K., von Arnim, A. G. and Chamovitz, D. A. 2001. PCI complexes: pretty complex interactions in diverse signaling pathways. *Trends Plant Sci.* 6:379-386.

Lima, J. F., Malavazi, I., von Zeska Kress Fagundes, M. R., Savoldi, M., Goldman, M. H., Schwier, E., Braus, G. H. and Goldman, G. H. 2005. The csnD/csnE signalosome genes are involved in the *Aspergillus nidulans* DNA damage response. *Genetics* 171:1003-1015.

Liu, C., Powell, K. A., Mundt, K., Wu, L., Carr, A. M. and Caspari, T. 2003. Cop9/signalosome subunits and Pcu4 regulate ribonucleotide reductase by both checkpoint-dependent and-independent mechanisms. Genes Dev. 17:1130-1140.

Liu, C., Poitelea, M., Watson, A., Yoshida, S.-h., Shimoda, C., Holmberg, C., Nielsen, O. and Carr, A. M. 2005. Transactivation of *S. pombe* cdt2+ stimulates a Pcu4-Ddb1-CSN ub ligase. pdf. *EMBO J.* 24:3940-3951.

Lyapina, S., Cope, G., Shevchenko, A., Serino, G., Tsuge, T., Zhou, C., Wolf, D. A., Wei, N. and Deshaies, R. J. 2001. Promotion of NEDD-CUL1 conjugate cleavage by COP9 signalosome. *Science* 292:1382-1385.

Maytal-Kivity, V., Piran, R., Pick, E., Hofmann1, K. and Glickman, M. H. 2002. COP9 signalosome components play

a role in the mating pheromone response of S. cerevisiae. *EMBO Rep.* 3:1215-1221.

Maytal-Kivity, V., Piran, R., Pick, E., Hofmann, K. and Glickman, M. H. 2002. COP9 signalosome components play a role in the mating pheromone response of S. cerevisiae. *EMBO Rep.* 3:1215-1221.

Mundt, K. E., Porte, J., Murray, J. M., Brikos, C., Christensen, P. U., Caspari, T., Hagan, I. M., Millar, J. B. A., Simanis, V. and Hofmann, K. 1999. The COPp sig complex is conserved in fission yeast and has a role in S phase. Curr. Biol. 9:1427-1430.

Purschwitz, J., ller, S. M., Kastner, C., Schöser, M., Haas, H., Espeso, E. A., Atoui, A., Calvo, A. M. and Fischer, R. 2008. Functional and physical interaction of blue- and red-light sensors in *Aspergillus nidulans*. *Curr. Biol.* 18:255-259.

Rodriguez-Romero, J., Hedtke, M., Kastner, C., Muller, S. and Fischer, R. 2010. Fungi, hidden in soil or up in the air: light makes a difference. Annu Rev. Microbiol. 64:585-610.

Seeger, M., Kraft, R., Ferrell, K., Bech-Otschir, D., Dumdey, R., Schade, R., Gordon, C., Naumann, M. and Dubiel, W. 1998. A novel protein complex involved in signal transduction possessing similarities to 26S proteasome subunits. *FASEB J.* 12:469-478.

Shackleford, T. J. and Claret, F. X. 2010. JAB1/CSN5: a new player in cell cycle control and cancer. *Cell Div.* 5:26.

Sullivan, J. A., Shirasu, K. and Deng, X. W. 2003. The diverse roles of ubiquitin and the 26S proteasome in the life of plants. *Nat. Rev. Genet.* 4948-958.

Tanguy, G., Drevillon, L., Arous, N., Hasnain, A., Hinzpeter, A., Fritsch, J., Goossens, M. and Fanen, P. 2008. CSN5 binds to misfolded CFTR and promotes its degradation. *Biochim. Biophys. Acta* 1783:1189-1199.

Tian, L., Peng, G., Parant, J. M., Leventaki, V., Drakos, E., Zhang, Q., Parker-Thornburg, J., Shackleford, T. J., Dai, H. and Lin, S. Y. 2010. Essential roles of Jab1 in cell survival, spontaneous DNA damage and DNA repair. *Oncogene* 29:6125-6137.

Tomoda, K., Kubota, Y., Arata, Y., Mori, S., Maeda, M., Tanaka, T., Yoshida, M., Yoneda-Kato, N. and Kato, J. Y. 2002. The cytoplasmic shuttling and subsequent degradation of p27Kip1 mediated by Jab1/CSN5 and the COP9 signalosome complex. *J. Biol. Chem.* 277:2302-2310.

Uhle, S., Medalia, O., Waldron, R., Dumdey, R., Henklein, P., Bech-Otschir, D., Huang, X., Berse, M., Sperling, J. and Schade, R. 2003. Protein kinase CK2 and protein kinase D are associated with the COP9 signalosome. *EMBO J.* 22:1302-1312.

Vierstra, R. D. 2003. The ubiquitin/26S proteasome pathway, the complex last chapter in the life of many plant proteins. *Trends Plant Sci.* 8:135-142.

von Arnim, A. G. 2003. On again-off again: COP9 signalosome turns the key on protein degradation. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6:520-529.

Wang, X., Kang, D., Feng, S., Serino, G., Schwechheimer, C. and Wei, N. 2002. CSN1 N-terminal-dependent activity is required for Arabidopsis development but not for Rub1/Nedd8 deconjugation of cullins: a structure-function study of CSN1 subunit of COP9 signalosome. *Mol. Biol. Cell* 13:646-655.

Wee, S., Hetfeld, B., Dubiel, W. and Wolf, D. A. 2002. Conservation of the COP9 signalosome in budding yeast. *BMC Genetics.* 3:15.

Wei, N. and Deng, X. W. (2003). The COP9 signalosome. Annu Rev. Cell Dev. Biol. 19:261-286.

Wei, N., Chamovitz, D. A. and Deng, X. W. 1994. Arabidopsis COP9 is a component of a novel signaling complex mediating light control of development. *Cell* 78:117-124.

Wei, N., Serino, G. and Deng, X. W. 2008. The COP9 signalosome: more than a protease. *Trends Biochem. Sci.* 33:592-600.

Wei, Z., Zhang, P., Zhou, Z., Cheng, Z., Wan, M. and Gong, W. 2004. Crystal structure of human eIF3k, the first structure of eIF3 subunits. *J. Biol. Chem.* 279:34983-34990.

Welcker, M. and Clurman, B. E. 2008. FBW7 ubiquitin ligase: a tumour suppressor at the crossroads of cell division, growth and differentiation. *Nat. Rev. Cancer* 8:83-93.

Yoshida, A., Yoneda-Kato, N., Panattoni, M., Pardi, R. and Kato, J. Y. 2010. CSN5/Jab1 controls multiple events in the mammalian cell cycle. *FEBS Lett.* 584:4545-4552.

Zaidi, I. W., Rabut, G., Poveda, A., Scheel, H., Malmstrom, J., Ulrich, H., Hofmann, K., Pasero, P., Peter, M. and Luke, B. 2008. Rtt101 and Mms1 in budding yeast form a CUL4 (DDB1)-like ubiquitin ligase that promotes replication through damaged DNA. *EMBO Rep.* 9:1034-1040.

Zheng, J., Yang, X., Harrell, J. M., Ryzhikov, S., Shim, E. H., Lykke-Andersen, K., Wei, N., Sun, H., Kobayashi, R. and Zhang, H. 2002. CAND1 binds to unneddylated CUL1 and regulates the formation of SCF ubiquitin E3 ligase complex. *Mol. Cell* 10:1519-1526.

Zhou, C., Seibert, V., Geyer, R., Rhee, E., Lyapina, S., Cope, G., Deshaies, R. J. and Wolf, D. A. 2001. The fission yeast COP9 signalosome is involved in cullin modofication by ub-related Ned8p. *BMC Biochem.* 2: 7.

Zhou, C., Arslan, F., Wee, S., Krishnan, S., Ivanov, A. R., Oliva, A., Leatherwood, J. and Wolf, D. A. 2005. PCI proteins eIF3e and eIF3m define distinct translation initiation factor 3 complexes. *BMC Biol.* 3:14.

Zhou, Z., Wang, Y., Cai, G. and He, Q. 2012. Neurospora COP9 signalosome integrity plays major roles for hyphal growth, conidial development, and circadian function. *PLoS Genet.* 8: e1002712.