

专题介绍 Special Topics

植物 COP9 信号复合体的结构特征和功能

祖未希*, 靳飞*, 印莉萍**

首都师范大学生命科学学院植物营养功能基因组实验室, 北京 100037

The Structural Characteristics and Functions of COP9 Signalosome in Plant

ZU Wei-Xi*, JIN Fei*, YIN Li-Ping**

Laboratory of Plant Nutrition Functional Genomics, College of Life Science, Capital Normal University, Beijing 100037, China

摘要: 文章介绍植物 COP9 信号复合体(CSN)的结构特征及其与 19S “盖子”结构相互关系, 以及 CSN 参与的 NEDD 化/去 NEDD 化的过程研究进展。

关键词: COP9 信号复合体(CSN); 26S 蛋白酶体; 19S “盖子”结构; NEDD 化/去 NEDD 化; 泛素降解

耶鲁大学邓兴旺小组于1992年在研究拟南芥光形态建成机制的过程中, 筛选到一系列突变株, 这些突变株中的相应基因座位(locus)的缺失会导致暗中生长的植物呈现出一种类似于光下生长的状态(Wei 和 Deng 1992)。此现象称为“组成型的光形态建成”(constitutive photomorphogenesis, COP)。后来, 他们又进一步分析鉴定出与“组成型的光形态建成”密切相关的 COP9 信号复合体(COP9 signalosome, CSN) (Wei 等 1994)。这种复合体由 8 个亚基组成, 依次记作 CSN1~8。此种复合体可以通过泛素降解途径调节植物对光信号的应答, 从而使植物体能够完成从暗生长到光形态建成的转换。其中, 转录因子 HY5、HYH 等是植物体进入光生长的正调控因子(positive regulator), 当植物体处于光照条件下时, HY5 和 HYH 等受光信号激活后, 启动一系列基因的转录, 植物进入光生长; 相反, 在黑暗条件下, CSN 激活泛素降解途径, 促使这类转录因子降解, 植物体仍然是暗生长(Wei 等 1994)。Seeger 等(1998)在研究炎症反应的实验中, 最早在人类细胞中分离并鉴定了在功能上与 CSN 相似的蛋白复合物, 并借用其在拟南芥中的名称, 命名为 SGN 复合体(signalosome complex)。SGN 复合体也由 8 个亚基构成, 按照分子量从大到小的顺序分别称为 SGN1~8。下面就 CSN 的结构和功能研究进展作介绍。

1 CSN 的结构特征

CSN 具有 2 个功能结构域: PCI 和 MPN 结构

域。其中 PCI 结构域存在于 26S 蛋白酶体、CSN 和翻译起始因子 3 (elongation initiator factor 3, eIF3)中, 其名称由这 3 种复合体的英文缩写组成, 分别为 26S 蛋白酶体(26S proteasome)、CSN 和 eIF3 (Schwechheimer 和 Deng 2001)。同样, MPN 结构域的命名也与一系列结构域有关, 它们分别为 L-脯氨酸类似物抗性基因(sigma 1278b gene for L-proline-analogue resistance, Mpr1p, Shichiri 等 2001)、苯丙烯酸脱羧酶 N 端(phenylacrylic acid decarboxylase N-terminal, Pad1p, Larsson 等 2001)。MPN 结构域一般存在于 CSN5 和 CSN6 中, 而 PCI 结构域存在于其余的亚基, 即 CSN1~4、CSN7 和 CSN8 中。

PCI 和 MPN 结构域的生物学功能正在深入研究之中。由于这 2 个结构域只存在于多亚基的复合体中, 所以人们推测它们的功能可能是调控各个亚基之间相互关系, 从而调节整个复合体的稳定性, 保证复合体功能的正常发挥(Wei 和 Deng 1999; Kim 等 2001)。Tsuge 等(2001)在研究裂殖酵母 CSN 第 1 亚基(CSN1)的结构特征时, 发现了 PCI 结构域的生物学功能。在 CSN1 亚基中, PCI

收稿 2007-05-16 修定 2007-09-04

资助 国家自然科学基金(30770178)、北京市自然科学基金(5042004)、北京市教委科技发展基金重点项目(KZ200710028013)。

* 共同第一作者。

** 通讯作者(E-mail: yinlp@mail.cnu.edu.cn; Tel: 010-68901692)。

结构域位于氨基酸序列的C端一侧,CSN1亚基通过该结构域与复合体中的2~4号亚基相互作用,并最终整合成为一个完整的复合体行使正常功能。同时,CSN1亚基中靠近N端部分(CSN1-N)的结构可以独立行使一些功能,如在感受某些上游信号后,CSN1-N细胞定位发生改变,由细胞质进入细胞核中。同时,CSN1-N还可以抑制一些启动子的活性,如AP-1启动子等。由此可以推测,在CSN1中,PCI结构域的功能是维持CSN1与其他7个CSN亚基的有效整合,从而促使该复合物发挥相应的生物学功能。Scheel和Hofmann(2005)用生物信息学的方法研究PCI结构域的结果表明,PCI结构域并非是一个有单独意义的结构域,而是由2个亚结构域(subdomain)组成的复合组分。在其C端有一个称为“翼状螺旋”(winged helix)的结构域,主要负责2个PCI结构域之间的相互作用。而其N端存在一种四肽的重复单位(tetratricopeptide repeat, TPR)。在整个PCI结构域中,这种重复单位在结构域的内部就已存在,并一直延伸至N末端。MPN结构域功能的研究也取得了很大进展,此种结构域的作用主要是识别一系列的下流底物并与之结合,激活下游特定的生物学功能。如在巨噬细胞吞噬机制中,存在一种控制巨噬细胞运动的抑制因子MIF (macrophage migration inhibitory factor),它可以和CSN5在动物中的同源物JAB1相结合,对信号转导及细胞周期起调控作用。Burger-Kentischer等(2005)指出,MIF与JAB1结合的位置,可能就是JAB1上的MPN结构域。他们克隆到了一个核心MPN结构域(core MPN),此结构域位于JAB1上53~142氨基酸的位置上,虽然核心MPN结构域只是MPN结构域的一部分,但其包含了MPN结构域的核心结构。酵母双杂交和翻译产物在体外的共免疫沉淀的实验结果显示,仅有核心MPN结构域的氨基酸序列区域就能够结合MIF。同时,他们还观察到MIF也能够与人类细胞中的CSN6结合,这种结合方式也是通过CSN6上的MPN结构域完成的。Alves等(2006)在真核生物的MPN结构域的研究中发现MPN结构域在一定条件下能够结合锌离子,并且可以有效地遏制蛋白质降解;他们还MPN结构域进行了缺失实验,发现MPN结构域的8个N末

端氨基酸残基对MPN结构域的正确折叠以及稳定性的保持是必需的。Gusmaroli等(2007)发现,在拟南芥中,MPN结构域控制着CSN复合体的组装、复合体的稳定性及活性,并且还调控着一种泛素连接酶的稳定性。实验证明,去除CSN5的MPN结构域可导致CSN复合体的不稳定以及最终的亚基解聚。

2 CSN和蛋白酶体中的19S“盖子”结构

CSN和26S蛋白酶体中19S“盖子”结构在氨基酸序列和三维结构上都有明显的相似性(Glickman等1998),这种相似性在2种复合体中呈现一一对应的关系,即CSN中的每一个亚基都能在“盖子”结构中找到与之相对应的、具有相似性的亚基(Serino等2003)(图1)。

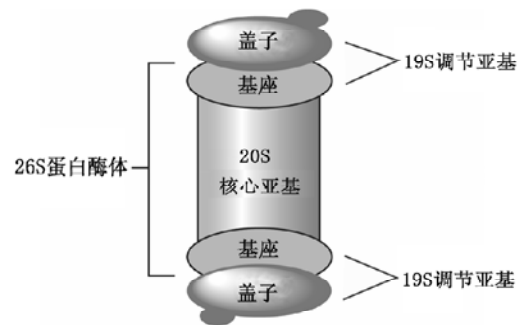


图1 26S蛋白酶体示意(Schwechheimer和Deng 2001)

26S蛋白酶体在结构上可以分为19S调节颗粒(19S regulatory particle)和20S核心亚基(core),后者是发生底物降解的区域。而19S又可分为2个亚组分:“盖子”结构(LID),用来识别底物;“基座”结构(base),用来将底物去折叠。其中的“盖子”结构与CSN在结构上有相似性。

Kapelari等(2000)用电子显微镜观察的结果表明,2种复合物在大体上都呈现出一种非对称的构型,并且都具有一个沟槽状的核心区域(图2)。这说明二者在核心结构上是相似的。由于CSN和19S“盖子”结构的相似性,Wei和Deng(1999)曾经推测,至少在某些情况下CSN会代替19S“盖子”结构,参与到26S蛋白酶体的降解功能中。Huang等(2005)的工作揭示,在体外CSN与“盖子”结构竞争性地与26S蛋白酶体发生直接相互作用,之后26S蛋白酶体具有了肽酶(peptidase)活

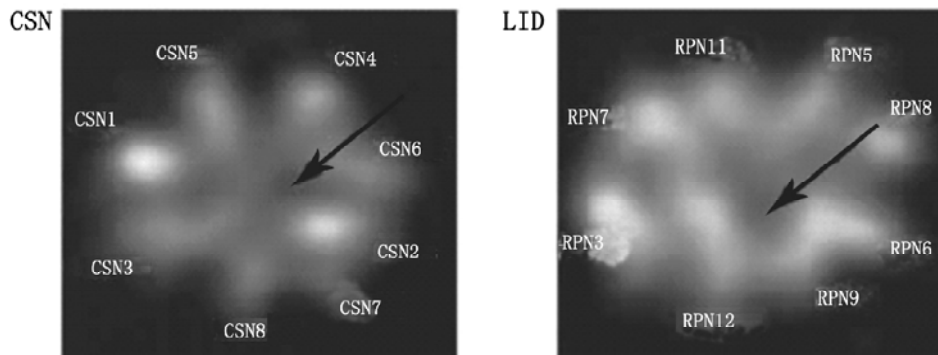


图2 电子显微镜观察到的CSN和蛋白酶体中19S“盖子”结构

黑色箭头指向复合体中的沟槽状的核心区域,这是二者的共同特征(Kapelari等2000)。RPN: regulatory particle non-ATPase。

性,即靶蛋白可能以更直接的方式被输送到26S蛋白酶体的“筒状”中心区域中,从而有利于蛋白质的快速降解。这种竞争性的结合方式对泛素降解途径起哪些调控作用,尚待研究。

CSN不仅与19S“盖子”结构有相互作用,还有研究表明,在离体条件下,CSN与26S蛋白酶体以及SCF(SKP1-Cullin-F-box)型泛素连接酶是可以相互结合的(Peng等2003)。在活体实验中,将Flag标签与CSN2基因构建成Flag-CSN2,并在小鼠B8成纤维细胞(fibroblasts)中进行表达,这种Flag-CSN2融合蛋白呈现持续性的表达。用Flag

进行捕获实验(flag pull-down experiments),可以得到与26S蛋白酶体相连的而完整的Flag-CSN复合物。除此之外,在蛋白质降解中起作用的Cullin蛋白也在捕获实验中与Flag-CSN复合物一起沉淀下来(Huang等2005)。以上说明一个包含有CSN、26S蛋白酶体和基于Cullin的泛素连接酶的大型复合物的存在。

Serino等(2003)将拟南芥、线虫、果蝇、人、芽殖酵母和裂殖酵母中的CSN和19S“盖子”结构中每一对有相似性的亚基的氨基酸序列进行分子进化树分析的结果(图3)表明,不同物种

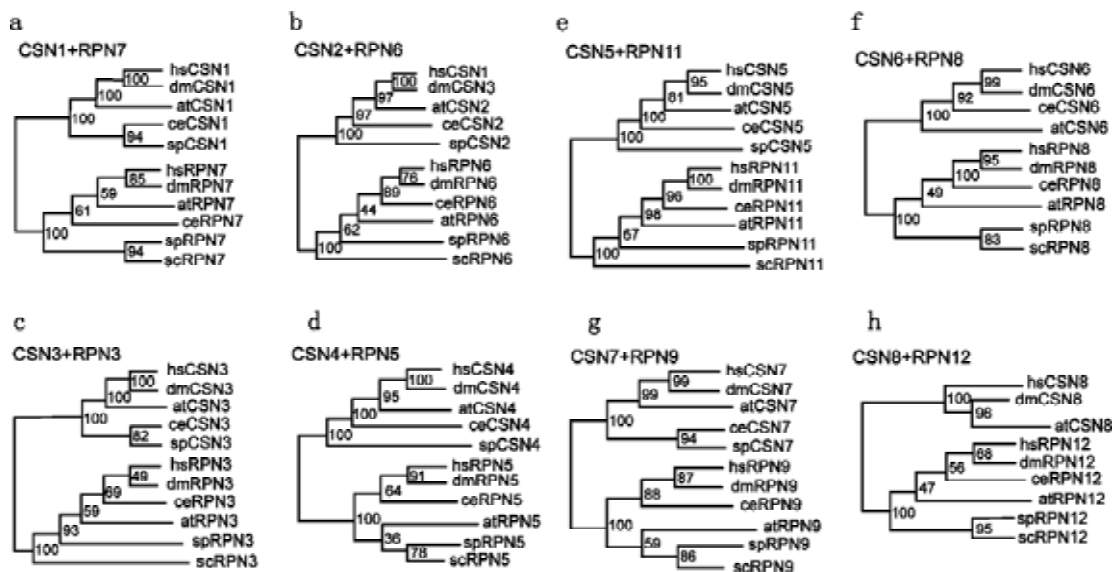


图3 CSN与19S“盖子”结构的相应亚基相似性的进化树(Serino等2003)

at: 拟南芥(*Arabidopsis thaliana*); ce: 线虫(*Caenorhabditis elegans*); dm: 果蝇(*Drosophila melanogaster*); hs: 人(*Homo sapiens*); sp: 芽殖酵母(*Saccharomyces cerevisiae*); sp: 裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)。

中的CSN和19S“盖子”结构在进化树上总是处在2个不同的分支(clade)上。也就是说,在进化树中首先表现出来的是2种复合物本身的差异,然后才是复合物所在物种的差异。根据这6种物种的进化地位,可以推测,在生命进化历程中,CSN和19S“盖子”结构的分化早于单细胞生物和多细胞生物的分化。

还有一个问题应该引起注意,以芽殖酵母和裂殖酵母为例,虽然二者在8组进化树中的相对位置较稳定,但在不同的进化树中仍然有细微的差别。如在RPN7、RPN8和RPN12中,二者处在同一个分支中,组成一个相对独立的基群(basal group);而在RPN3、RPN6和RPN11中,只有芽殖酵母单独地出现在进化树分支的最底层,在进化上与裂殖酵母相对分开;另外,在RPN5和RPN9中,拟南芥与芽殖酵母和裂殖酵母处在同一进化簇(cluster)中,表明在进化上这2个亚基在3种物种里有很高的同源性。综合这些资料可以推测:虽然在总体上复合物的进化地位与它所在物种的进化地位是一致的,但就每一个亚基而言,它与相应物种的进化地位并不完全一致。这种在进化上的不一致应该与每个亚基所具有的不同生物学功能有关。从总体上看,各个物种的CSN在进化中都比19S“盖子”结构更加保守,表明CSN在进化历程中出现得较晚,或其选择压(selective pressure)更大(Serino等2003)。

3 CSN的亚基

Dessau等(2006)在拟南芥中CSN第七亚基(AtCSN7)表达水平的研究中,将AtCSN7基因序列中的核心片段(core fragment)导入到大肠杆菌中,获得了表达产物,并对其作了纯化和结晶(Kapelari等2000)。除此之外,在复合体中某个亚基与特定生物学功能之间关系的研究中,复合体中的第五亚基(CSN5)受到最广泛的关注。Wei和Deng(2003)认为,CSN具有金属激酶活性,其活性中心主要位于CSN5亚基中。Gusmaroli等(2007)研究CSN中含有MPN结构域的CSN5和CSN6亚基时,发现拟南芥中CSN5与CSN6的基因可分别编码2个蛋白亚基——CSN5A、CSN5B和CSN6A、CSN6B。就二者比较而言,CSN5A和CSN5B在调控植物生长发育中的作用相对重要

些。此外,CSN5在其他一系列生物学功能中的作用也很重要,如肿瘤的发生与抑制(Dessau等2006)、抗病毒反应(Wang等2006)、Ca²⁺通道功能调控(Kameda等2006)等等。当然,其他亚基的生物学意义也有所阐释,如He等(2005)的研究结果表明,CSN2在脉孢菌(*Neurospora*)对生物钟节律的控制中有作用,这种作用最终是通过整个CSN来完成的;Tanaka等(2006)的工作揭示,CSN3和CSN4在肝炎和肝癌发病机制中起作用,CSN5也参与这种作用。

4 CSN的功能

目前一致认为,CSN的生物学功能主要体现在它与E3-泛素连接酶(E3 ubiquitin-ligase)的相互作用上;通过这种相互作用,CSN可以对整个泛素降解途径的开启与关闭进行调控,从而控制与靶蛋白相关的生物学功能。

4.1 泛素降解途径 泛素-蛋白酶体降解途径是真核细胞降解一些无用的或错误折叠的蛋白质及一些膜蛋白的主要机制,它几乎参与了植物体的各个生长发育阶段。近年来,针对与泛素降解系统有关的蛋白质进行了很多研究,试图弄清各种特定蛋白质的降解机制。

为了了解CSN与E3-泛素连接酶的相互作用机制,需要简要回顾一下泛素降解途径。首先,在ATP的参与下,游离的、非活化状态下的泛素分子(ubiquitin, ub)在E1-泛素活化酶(E1 ubiquitin-activating enzyme)的催化下被激活;活化状态下的泛素分子被转移到E2-泛素结合酶(E2 ubiquitin-conjugating enzyme)上;此后,由E2将泛素分子运送到E3-泛素连接酶上(E3 ubiquitin ligase);在E3的介导下,泛素分子通过靶蛋白上特异的赖氨酸残基与靶蛋白结合。以上过程重复进行,泛素分子不断地积累到靶蛋白上(即靶蛋白的泛素化),最终形成一种“泛素链”,这种特殊的标记能够被26S蛋白酶体识别,从而将相应的靶蛋白降解(董发才和宋纯鹏1999)。E3-泛素连接酶有很多种类,其中有一类含有Cullin蛋白,SCF型E3-泛素连接酶是其中的一种(董发才和宋纯鹏1999)(韩晔和种康2004)。目前已知CSN是通过SCF型E3-泛素连接酶的去NEDD化(de-neddylation)来调控泛素降解系统的。

4.2 CSN在NEDD化与去NEDD化中的作用 NEDD8 (neural precursor cell expressed and developmentally down regulated 8)是与泛素分子同源的一种小分子,它的作用是与 Cullin 结合,即 NEDD 化 (neddylation),因为 NEDD8 分子有助于提高 SCF-E3 的活性,所以它对整个 SCF-E3 复合物的行使起到一种促进作用。Wimuttisuk 和 Singer

(2007)认为, NEDD8 是通过给予 Cullin 一个可识别泛素结合酶的位点并激活 Cullin 复合体。而 CSN 的功能恰恰在于将 NEDD8 从 Cullin 上去除,即去 NEDD 化。近年来,已有越来越多的证据表明 CSN 的去 NEDD 化作用是调节 E3 连接酶活性必需的。图 4 说明 CSN 与 SCF 型 E3 发生相互作用的过程。

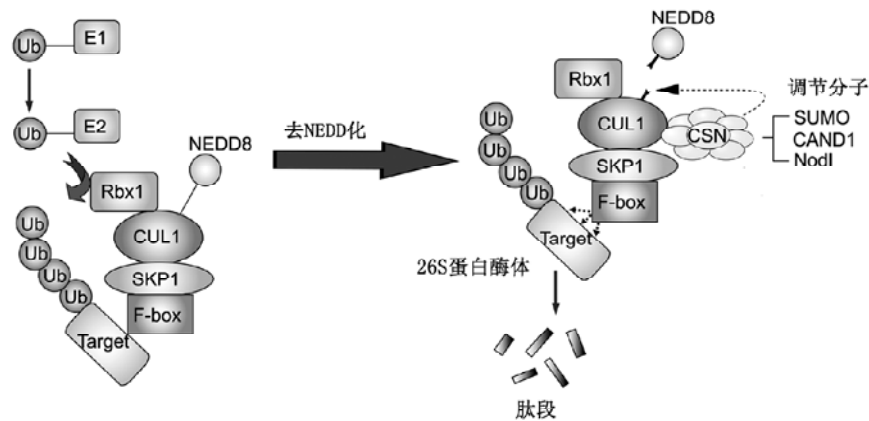


图4 CSN的去NEDD化作用(Liu等2002; Gill 2004; Robinson和Ardley 2004; da Silva Correia等2007)

首先,被激活的 NEDD8 分子结合到 SCF 的 Cullin 上;将要被降解的靶蛋白与 SCF 中的 F-box 发生特异性的结合,同时被多聚泛素化;接下来在 CSN 的参与下, NEDD8 从 Cullin 上去除,靶蛋白从活性减低的 SCF 上脱落并被送到 26S 蛋白酶体中予以降解。现在有研究结果显示, CSN 不仅可与 SCF 中的 Cullin (CUL1) 相互作用,它还可与 CUL3、CUL4 相互作用(Gusmaroli 等 2007)。2005 年, Figueroa 等首先发现拟南芥的 E3-连接酶中含有 2 个冗余的 CUL3 蛋白,并且这种新类型的 E3-连接酶 BCR (BTB-CUL3-RBX1) 是胚芽发育所必需的(Figueroa 等 2005)。Wimuttisuk 和 Singer (2007) 在研究 BCR-E3-连接酶与 NEDD8 的关系时发现, NEDD8 激活 BCR 是通过介导 CUL3 二聚体的形成实现的,并且 NEDD8 参加到 CUL3 二聚体当中行使功能。他们还提出,由 NEDD8 介导的二聚体形式可能是所有基于 Cullin 的泛素连接酶活性的调节机制。Chen 等(2006)也证实了在对光形态建成的抑制反应中 CSN 对含有 CUL4 的 E3-连接酶 (CDD-CUL4-RBX1) 的活性有影响。泛素降解系统可以通过 NEDD 化与去 NEDD 化作用来调节植物

体的生长发育,而激素在生长发育过程中起到的是信号分子作用。有研究结果显示,泛素降解系统对激素的合成、激素的级联反应以及植物的抗病机制有调控作用。Dreher 和 Callis (2007) 发现,在生长素、赤霉素、脱落酸、乙烯、茉莉酸这些激素的信号转导途径中,对上游信号蛋白质的降解可以在转录水平对下游信号分子进行调控。他们同时还证明,泛素降解系统可以通过调节激素的合成、转运及感应对上游反应进行调控。以上说明, CSN 在植物生长发育过程中起到了分子开关的作用,它对泛素降解系统适时的开启或关闭的调控,是保证植物正常发育必不可少的手段。

5 CSN 的上游调控因子

泛素降解过程是一个很复杂的过程, CSN 只是泛素降解途径中重要的调节因子之一,它还受另外一些调节因子的调控。比如 NodI,它是一种存在于细胞质中与先天免疫反应有关的受体。NodI 激活胱天蛋白酶(caspase)凋亡途径, NodI 通过它的 CARD 结构域与 CSN6 相互作用,使 CSN6 亚基降解从而影响 CSN 的活性,最终影响 caspase

的级联放大途径(da Silva Correia 等 2007)。又如 SUMO (small ubiquitin-related modifier)小分子,它在结构上与泛素具有很高的相似性,在一些情况下, SUMO 可以与泛素竞争底物(Gill 2004),也可以像泛素一样结合底物并对其功能进行调节。还有 CAND1 (Cullin-associated and neddylation-dissociated 1) (图 4) (Yogosawa 等 1996; Feng 等 2004), 即 TIP120A, 一种针对于 TATA 框结合蛋白的相互作用因子(TATA binding protein interacting protein), 专门与未被修饰的 Cullin 结合。二者结合后, 将抑制 SKP1 与 Cullin 的结合。而与此相反, 当 SKP1 或 NEDD8 与 Cullin 结合后, CAND1 将从 Cullin 上脱落(Liu 等 2002)。和 CSN 一样, CAND1 的缺失将导致底物的积累, 不能被正常降解。这些结果都暗示 CAND1 可能与 CSN 在促进泛素化降解方面具有相似的功能, 特别是体现在对 Cullin 类型 E3-泛素连接酶功能的优化上 (Zheng 等 2002)。Shen 等(2005)也发现了一种 NEDD 特异的蛋白酶(NEDD8-specific protease NEDP1), 它特异性地识别 NEDD8, 并将其由前体形式(preNEDD8)转变为成熟形式(mature form)。除此之外, NEDP1 还能介导 NEDD 与相关结合蛋白的分离, 如 p53、Cullin。以上这些事实都说明在泛素化降解途径中有很多起调节作用的因子, 而 CSN 只是其中重要的一种; 其他调节因子又可以通过 CSN 对泛素化降解施加影响, 并最终决定泛素化降解途径的开启与关闭。

6 结语

自从 1994 年 CSN 在植物中得到确认后, 这一复合体的结构特性与功能就一直备受关注。我们认为今后这一复合体结构的研究可以集中在以下 3 个方面。

(1) CSN 亚基结构域与功能研究。这是其分子结构与功能研究中的一个重要方面。如蛋白酶体的“盖子”结构(proteasome lid)、CSN 以及翻译起始因子 eIF3 这 3 种复合物的共性之一是其亚基都包含有 MPN 和 PCI 结构域, 可见 3 种复合物之间有密切联系。人们在较早的时候就注意到, 该复合体中各个亚基的重要性是有所不同的, 其中包含有 MPN 结构域的 CSN5 和 CSN6 显得尤为重要。CSN5 对于整个复合体而言具有相对独立

性, CSN5 单个亚基的突变就能引起 CSN 突变体所有表型的出现(Dohmann 等 2005)。而 CSN5 和 CSN6 中 MPN 结构域的缺失将使 CSN 失去最重要的去 NEDD 化功能(Gusmaroli 等 2007)。至于 MPN 是如何协助 CSN 发挥作用, MPN 和 PCI 结构域之间有何种关系, E3 是否都与 CSN 的功能有联系, 这些问题都有待解决。

(2) CSN 亚基定位与动态组装研究。在酵母细胞中, 细胞质中的 20S 核心亚基和 19S 调节颗粒(包括“基座”和“盖子”两部分)可相互独立地进入细胞核, 然后组装成 26S 蛋白酶体(Isono 等 2007)。虽然有关 CSN 的定位还没有报道, 但根据上文提到的 CSN 与 19S “盖子”竞争性地与 26S 蛋白酶体直接相互作用, 并激活 26S 蛋白酶体, 所以 CSN 在大型复合物中的组装、定位以及功能发挥中所起的作用等问题也值得深入研究。

(3) CSN 新功能的发现。植物在大自然中生存环境各不相同, 如何维持其内稳态, 既能保证吸收足够的营养元素, 又不致吸收过多而造成毒害, 是植物必须解决的问题。越来越多的研究结果表明, 泛素降解系统在其中发挥了重要的作用。例如, Arnaud 等(2006)对调节植物体内铁稳态的铁蛋白进行了研究, 发现当环境中铁离子过量时, 铁蛋白的抑制子被泛素化, 通过 26S 蛋白酶体途径降解, 使得铁蛋白整合过量的铁离子。相反, 在缺铁条件下, 印莉萍等(2004)运用 cDNA 芯片的方法, 对水稻在应对缺铁胁迫环境时的特异性转录本进行了研究。结果显示在缺铁处理后, 有 2 类上调表达的基因具有重要的意义, 它们分别是与泛素降解途径相关的基因——Cullin 和 CSN, 以及与胞吞作用相关的基因。考虑到在植物中胞吞作用是植物营养吸收的重要机制之一, 越来越多的研究成果也显示了胞吞作用与泛素降解途径之间的密切联系(印莉萍等 2004; Roth 等 1998)。除此之外, Scoccianti 等(2006)对三价铬对植物的毒害作用进行了初步的研究, 并且认为泛素化与铬胁迫之间可能存在某种关联。实验表明, 环境中三价铬过量, 会对种子的生长发育以及植株形态产生毒害。泛素化途径就是用来降解金属离子胁迫下所产生的被损坏的以及异常的蛋白

质,以保证植物体正常的生长发育。在这些过程中,CSN和泛素降解途径的关系以及CSN的新功能有待研究。

参考文献

- 董发才, 宋纯鹏(1999). 植物细胞中的泛素及其生理功能. 植物生理学通讯, 35 (1): 54~59
- 韩晔, 种康(2004). 泛素降解途径与生长素的调节. 植物生理学通讯, 40 (6): 653~658
- 印莉萍, 孙彤, 李伟, 黄勤妮, 刘祥林(2004). 缺铁胁迫诱导的水稻根转录本组和蛋白质组分析与膜泡运输. 自然科学进展, 14 (5): 522~527
- Alves BS, Oyama S, Gozzo FC, Sanches M, Guimaraes BG, Zanchin NI (2006). Characterization of the human ortholog of Mov34 reveals eight N-terminal residues important for MPN domain stability. *Biochem Biophys Res Commun*, 347 (3): 608~615
- Arnaud N, Murgia I, Boucherez J, Briat JF, Cellier F, Gaymard F (2006). An iron-induced nitric oxide burst precedes ubiquitin-dependent protein degradation for *Arabidopsis AtFer1* ferritin gene expression. *J Biol Chem*, 281 (33): 23579~23588
- Burger-Kentischer A, Finkelmeier D, Thiele M, Schmucker J, Geiger G, Tovar GE, Bernhagen J (2005). Binding of JAB1/CSN5 to MIF is mediated by the MPN domain but is independent of the JAMM motif. *FEBS Lett*, 579: 1693~1701
- Chen H, Shen Y, Tang X, Yu L, Wang J, Guo L, Zhang Y, Zhang H, Feng S, Strickland E et al (2006). *Arabidopsis CULLIN4* forms an E3 ubiquitin ligase with RBX1 and the CDD complex in mediating light control of development. *Plant Cell*, 18: 1991~2004
- da Silva Correia J, Miranda Y, Leonard N, Ulevitch RJ (2007). The subunit CSN6 of the COP9 signalosome is cleaved during apoptosis. *J Biol Chem*, 282: 12557~12565
- Dessau M, Chamovitz DA, Hirsch JA (2006). Expression, purification and crystallization of a PCI domain from the COP9 signalosome subunit 7 (CSN7). *Acta Crystallograph Sect F Struct Biol Cryst Commun*, 62 (11): 1138~1140
- Dohmann EMN, Kuhnle C, Schwechheimer C (2005). Loss of the CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC9 signalosome subunit 5 is sufficient to cause the *cop/det/fus* mutant phenotype in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 17: 1967~1978
- Dreher K, Callis J (2007). Ubiquitin, hormones and biotic stress in plants. *Ann Bot*, 99: 787~822
- Feng S, Shen Y, Sullivan JA, Rubio V, Xiong Y, Sun TP, Deng XW (2004). *Arabidopsis CAND1*, an unmodified CUL1-interacting protein, is involved in multiple developmental pathways controlled by ubiquitin/proteasome-mediated protein degradation. *Plant Cell*, 16: 1870~1882
- Figueroa P, Gusmaroli G, Serino G, Habashi J, Ma L, Shen YP, Feng SH, Bostick M, Callis J, Hellmann H et al (2005). *Arabidopsis* has two redundant Cullin3 proteins that are essential for embryo development and that interact with RBX1 and BTB proteins to form multisubunit E3 ubiquitin ligase complexes *in vivo*. *Plant Cell*, 17: 1180~1195
- Gill G (2004). SUMO and ubiquitin in the nucleus: different functions, similar mechanisms? *Genes Dev*, 18: 2046~2059
- Glickman MH, Rubin DM, Coux O, Wefes I, Pfeifer G, Cjeka Z, Baumeister W, Fried VA, Finley D (1998). A subcomplex of the proteasome regulatory particle required for ubiquitin-conjugate degradation and related to the COP9-signalosome and eIF3. *Cell*, 94: 615~623
- Gusmaroli G, Figueroa P, Serino G, Deng XW (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 (2): 564~568
- He Q, Cheng P, He QY, Liu Y (2005). The COP9 signalosome regulates the *Neurospora* circadian clock by controlling the stability of the SCF^{FWD-1} complex. *Genes Dev*, 19: 1518~1531
- Huang X, Hetfeld BK, Seifert U, Kahne T, Kloetzel PM, Naumann M, Bech-Otschir D, Dubiel W (2005). Consequences of COP9 signalosome and 26S proteasome interaction. *FEBS J*, 272 (15): 3909~3917
- Isono E, Nishihara K, Saeki Y, Yashiroda H, Kamata N, Ge L, Ueda T, Kikuchi Y, Tanaka K, Nakano A et al (2007). The assembly pathway of the 19S regulatory particle of the yeast 26S proteasome. *Mol Biol Cell*, 18: 569~580
- Kameda K, Fukao M, Kobayashi T, Tsutsuura M, Nagashima M, Yamada Y, Yamashita T, Tohse N (2006). CSN5/Jab1 inhibits cardiac L-type Ca²⁺ channel activity through protein-protein interactions. *J Mol Cell Cardiol*, 40 (4): 562~569
- Kapelari B, Bech-Otschir D, Hegerl R, Schade R, Dumdey R, Dubiel W (2000). Electron microscopy and subunit-subunit interaction studies reveal a first architecture of COP9 signalosome. *J Mol Biol*, 300: 1169~1178
- Kim T, Hofmann K, von Arnim AG, Chamovitz DA (2001). PCI complexes: pretty complex interactions in diverse signaling pathways. *Trends Plant Sci*, 6 (8): 379~386
- Larsson S, Nilvebrant NO, Jönsson LJ (2001). Effect of overexpression of *Saccharomyces cerevisiae* Pad1p on the resistance to phenylacrylic acids and lignocellulose hydrolysates under aerobic and oxygen-limited conditions. *Appl Microbiol Biotechnol*, 57 (1~2): 167~174
- Liu J, Furukawa M, Matsumoto T, Xiong Y (2002). NEDD8 modification of CUL1 dissociates p120 (CAND1), an inhibitor of CUL1-SKP1 binding and SCF ligases. *Mol Cell*, 10: 1511~1518
- Peng Z, Shen Y, Feng S, Wang X, Chitteti BN, Vierstra RD, Deng XW (2003). Evidence for a physical association of the COP9

- signalosome, the proteasome, and specific SCF E3 ligases *in vivo*. *Curr Biol*, 13: 504~505
- Robinson PA, Ardley HC (2004). Ubiquitin-protein ligases. *J Cell Sci*, 117: 5191~5194
- Roth AF, Sullivan DM, Davis NG (1998). A large PEST-like sequence directs the ubiquitination, endocytosis, and vacuolar degradation of the yeast a-factor receptor. *J Biol Chem*, 142: 949~961
- Scheel H, Hofmann K (2005). Prediction of a common structural scaffold for proteasome lid, COP9-signalosome and eIF3 complexes. *BMC Bioinformatics*, 6: 71
- Schwechheimer C, Deng XW (2001). COP9 signalosome revisited: a novel mediator of protein degradation. *Trends Cell Biol*, 11: 420~426
- Scoccianti V, Crinelli R, Tirillini B, Mancinelli V, Speranza A (2006). Uptake and toxicity of Cr (III) in celery seedlings. *Chemosphere*, 64: 1695~1703
- Seeger M, Kraft R, Ferrell K, Bech OD, Dumdey R, Schade R, Gordon C, Naumann M, Dubiel W (1998). A novel protein complex involved in signal transduction possessing similarities to 26S proteasome subunits. *FASEB*, 12: 469~478
- Serino G, Su H, Peng Z, Tsuge T, Wei N, Gu H, Deng XW (2003). Characterization of the last subunit of the *Arabidopsis* COP9 signalosome: implications for the overall structure and origin of the complex. *Plant Cell*, 15: 719~731
- Shen LN, Liu H, Dong C, Xirodimas D, Naismith JH, Hay RT (2005). Structural basis of NEDD8 ubiquitin discrimination by the deNEDDylating enzyme NEDP1. *EMBO J*, 24: 1341~1351
- Shichiri M, Hoshikawa C, Nakamori S, Takagi H (2001). A novel acetyltransferase found in *Saccharomyces cerevisiae* sigma 1278b that detoxifies a proline analogue, azetidino-2-carboxylic acid. *J Biol Chem*, 276 (45): 41998~42002
- Tanaka Y, Kanai F, Ichimura T, Tateishi K, Asaoka Y, Guleng B, Jazag A, Ohta M, Imamura J, Ikenoue T et al (2006). The hepatitis B virus X protein enhances AP-1 activation through interaction with Jab1. *Oncogene*, 25 (4): 633~642
- Tsuge T, Matsui M, Wei N (2001). The subunit 1 of the COP9 signalosome suppresses gene expression through its N-terminal domain and incorporates into the complex through the PCI domain. *J Mol Biol*, 305: 1~9
- Wang H, Sun X, Luo Y, Lin Z, Wu J (2006). Adapter protein NRBP associates with Jab1 and negatively regulates AP-1 activity. *FEBS Lett*, 580 (25): 6015~6021
- Wei N, Chamovitz DA, Deng XW (1994). *Arabidopsis* COP9 is a component of a novel signaling complex mediating light control of development. *Cell*, 78: 117~124
- Wei N, Deng XW (1992). COP9: a new genetic locus involved in light-regulated development and gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 4: 1507~1518
- Wei N, Deng XW (1999). Making sense of the COP9 signalosome. A regulatory protein complex conserved from *Arabidopsis* to human. *Trends Genet*, 15: 98~103
- Wei N, Deng XW (2003). The COP9 signalosome. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 19: 261~286
- Wimuttisuk W, Singer JD (2007). The Cullin3 ubiquitin ligase functions as a Nedd8-bound heterodimer. *Mol Biol Cell*, 18: 899~909
- Wu JT, Lin HC, Hu YC, Chien CT (2005). Neddylation and deneddylation regulate Cull1 and Cul3 protein accumulation. *Nat Cell Biol*, 7 (10): 1014~1020
- Yogosawa S, Makino Y, Yoshida T, Kishimoto T, Muramatsu M, Tamura T (1996). Molecular cloning of a novel 120-kDa TBP-interacting protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 229: 612~617
- Zheng J, Yang X, Harrell JM, Ryzhikov S, Shim EH, Lykke-Andersen K, Wei N, Sun H, Kobayashi R, Zhang H (2002). CAND1 binds to unneddylated CUL1 and regulates the formation of SCF ubiquitin E3 ligase complex. *Mol Cell*, 10: 1519~1526