

Structure and Biological Function of Plant CRL4, and Its Involvement in Plant Cellular Events

Jae-Hoon Lee*

Department of Biology Education, Pusan National University, Busan 46241, Korea

Received February 5, 2016 / Revised March 21, 2016 / Accepted March 22, 2016

Post-translational modification is an efficient process to rapidly transduce external stimulus into cellular response. Ubiquitination is a typical post-translational modification which is a highly conserved process in eukaryotes. UPS (Ubiquitin/Proteasome System) mediated by the ubiquitination is to target diverse cellular proteins for degradation. Among E3 ubiquitin ligases that function as the key determinant for substrate recognition, CRL (cullin - RING E3 ubiquitin ligase) is the largest family and forms the complex composed of cullin, RBX1, adaptor and substrate receptor. Although CRL1, also known as SCF complex, has been widely researched for its biological role, the functional studies of CRL4 have been relatively elusive. In *Arabidopsis*, there are 119 substrate receptors named DCAF (DDB1 CUL4 Associated Factor) proteins for CRL4 and a fraction of DCAF proteins have been identified for their potential functions so far. In this paper, current understanding on structure and biological roles of plant CRL4 complexes in a diverse of cellular events is reviewed, especially focusing on CRL4 substrate receptors. Moreover, the regulatory mechanism of CRL4's activity is also introduced. These studies will be helpful to further understand the signal transduction pathways in which such CRL4 complexes are involved and give a clue to establish the action network of entire CRL4 complexes in plants.

Key words : *Arabidopsis*, CRL4, DCAF, post-translational modification, ubiquitination

서 론

생명체는 전체 생활사동안 내·외부로부터 끊임없는 신호 자극을 받게 되며, 그 결과 이에 대한 적절한 반응을 보이게 된다. 이러한 반응은 세포분열, 분화, 발생 과정 및 생리 현상, 그리고 스트레스에 대한 적응 및 내성 획득에 이르기까지 매우 다양한 범위에 걸쳐 적용된다. 적절한 반응을 이끌어내기 위해 생명체는 이와 관련된 활성화 산물이 필요한데, 필요한 활성화 산물의 생성은 관련 유전자의 전사량 조절을 통해 이루어지는 전사수준의 조절(transcriptional regulation)과 이미 존재하는 산물의 활성화 및 안정성 조절을 통해 이루어지는 전사 후/번역 후 변형(post-transcriptional/post-translational modification)을 통해 실현될 수 있다. 이 중, 번역 후 변형 과정의 대표적인 예로는 단백질 활성의 직접적인 조절에 관여하는 인산화(phosphorylation), 메틸화(methylation), 아세틸화(acylation), 수모화(sumoylation) 등이 있으며, 단백질 분해를 통한 안정성 조절에 관여하는 유비퀴티네이션(ubiquitination)

과정이 존재한다. 전사수준의 조절과 달리 번역 후 변형 과정은 자극에 대한 빠른 반응을 이루어낼 수 있다는 면에서 그 효율성이 높다 할 수 있다. 인산화 과정으로 대표되는 활성화 조절과 비교할 때, 단백질 풀(pool) 조절에 관여되는 유비퀴티네이션 과정은 상대적으로 최근에 들어서야 그 연구가 활발해지고 있다.

유비퀴티네이션은 진핵생물에 특화되어 있으며, 세포 내 광범위한 과정에서 중요한 역할을 하는데, 이는 76개의 아미노산으로 이루어진 소단백질인 유비퀴틴(ubiquitin)의 기질로의 부착 과정을 통해 일어난다[58]. 유비퀴티네이션은 기질에 부착되는 유비퀴틴의 형태에 따라 크게 모노유비퀴티네이션(monoubiquitination)과 폴리유비퀴티네이션(polyubiquitination)으로 분류되는데, 모노유비퀴티네이션의 경우 막단백질의 세포 내 섭취작용(endocytosis), DNA 수선과정(DNA repair), 히스톤 활성(histone activity), 세포 내 위치화(intracellular localization) 등 다양한 이벤트에 관여되는 것으로 보고되고 있다[24, 29, 52, 58, 61]. 반면, 폴리유비퀴티네이션의 경우, 사슬이 연계되는 양상에 따라 그 기능이 분류된다. 유비퀴틴 사슬 형성의 대상이 되는 아미노산은 라이신(lysine)인데, 유비퀴틴은 총 7개의 라이신을 보유하고 있으며, 그 중 48번째(K48)와 63번째 라이신(K63)이 주 대상 아미노산으로 보고되어 왔다. 이 중 K48을 통한 폴리유비퀴티네이션은 해당 과정의 주요 역할로 알려진 단백질 분해와 연관되어 있는 반면, K63을 통한 폴리유비퀴티네이션은 잘못 접혀진 단백질의 자

*Corresponding author

Tel : +82-51-510-2700, Fax : +82-51-514-8576

E-mail : jhlee72@pusan.ac.kr

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.

가소화(autophagy), 엔도솜의 분획(endosomal sorting) 등에 보다 중요한 역할을 하는 것으로 보인다[54, 59].

폴리유비퀴티네이션을 통한 단백질의 분해는 26S 프로테아좀(proteasome)이라 불리는 통(barrel) 모양의 거대 복합체 내에서 일어나는데 이러한 복합체는 샤페론 및 ATP 가수분해 효소 활성을 띤 두개의 뚜껑(19S regulatory particle 혹은 19S RP라 불리는)과 단백질 분해 활성을 보유한 중심부위(20S core particle 혹은 20S CP라 불리는)로 이루어져 있다[67] (Fig. 1). 사슬화된 유비퀴틴화 단백질은 19S RP의 특정 소단위체들(subunits)에 의해 인지됨으로써 26S 프로테아좀 내부로 이동하게 되는데, 이 중 가장 광범위하게 연구된 관련 소단위체는 Rpn10이다. Rpn10은 유비퀴틴 사슬 및 유비퀴틴화된 단백질 모두를 인식할 수 있는 것으로 알려져 있으며 이러한 인식은 해당 단백질 내 유비퀴틴 결합 motifs(ubiquitin interacting motif, UIM)에 의해 일어난다[79]. Rpn13 소단위체 역시 유비퀴틴 인식에 관여하는 것으로 알려졌는데, 이러한 인식은 소단위체 내의 N-terminally-located Pru (pleckstrin-like receptor for ubiquitin) 도메인을 통해 이루어진다. 두 소단위체 단백질들이 결합된 효모 돌연변이체의 경우 프로테아좀이 유비퀴틴 사슬과 결합하지 못하는데, 이러한 결과를 통해 해당 소단위체들이 프로테아좀을 위한 유비퀴틴 수용체로서 주된 역할을 하고 있음을 알 수 있다[30]. 덧붙여 프로테아좀 소단위체 이외의 특정 유비퀴틴 결합 단백질이 어댑터(adaptor)로서의 역할을 통해 해당 복합체의 소단위체인 Rpn1과 유비퀴틴화된 단백질을 연계시켜주는 역할을 하기도 하는데, 이들의 대표적인 예로 UBL/UBA (Ub-like/Ub-associated) 단백질종 등이 잘 알려져 있다[17, 36].

유비퀴티네이션 과정은 3종류의 효소인 E1 (ubiquitin activating enzyme), E2 (ubiquitin conjugating enzyme), E3 (ubiquitin ligase)의 연계 과정을 통해 일어난다. E1의 경우 ATP 의존적 방식을 통해 유비퀴틴과 결합 후 이를 E2로 전달하는 역할을 하며, E2는 단량체 혹은 복합체로 존재하는 E3와 결합 후 E3를 경유하는 방식 혹은 직접 유비퀴틴을 기질에 전달하는 방식으로 그 역할을 수행한다. E3는 유비퀴티네이션의 대상 기질을 결정한다는 면에서 상기 과정의 주효소로서 그 역할을 수행한다[67]. 애기장대의 경우 2개, 약 37개의 E1, E2가 각각 보고되어 있는 반면 E3는 최소 1400개가 존재하는 것으로 보고되었는데, 이는 기질 특이성을 결정하는데 있어서 E3 효소가 중요 역할을 하고 있음을 암시한다[15, 73]. E3 효소 중 가장 큰 family는 cullin 단백질을 scaffold로 복합체를 이루어 기능하는 cullin - RING (really interesting new gene) E3 ubiquitin ligase (CRL)이다[62]. CRL은 cullin 타입에 따라 CRL1-7까지 보고되어 왔는데, 식물의 경우 CRL1, CRL3, CRL4가 주요 타입으로 알려져 있으며, 이 중 CRL4의 구조 및 생체 내 역할은 비교적 최근 들어서야 자세히 연구되기 시작하였다 [7, 41]. 이러한 연구는 CRL4를 구성하는 119개의 기질 수용체에 대한 연구를 통해 구체화되어지고 있는데, 즉 개별적인 CRL4 기질 수용체의 동정 및 다양한 세포 내 과정과의 연관성 탐색을 통해 CRL4의 생체 내 역할에 대한 기능적 맵을 구축하고자 하는 접근 방법이 증가하고 있다. 본 총설에서는 먼저 CRL의 종류, 구조 및 형태에 대해 알아보고, 이 중에서 CRL4에 초점을 맞추어 CRL4의 상세 구조, 활성조절 및 이들이 관여하는 식물 세포 내 다양한 반응 등을 알아보고자 한다. 이를 위해 현재까지 업데이트된 CRL4의 기질 수용체를 살펴보고,

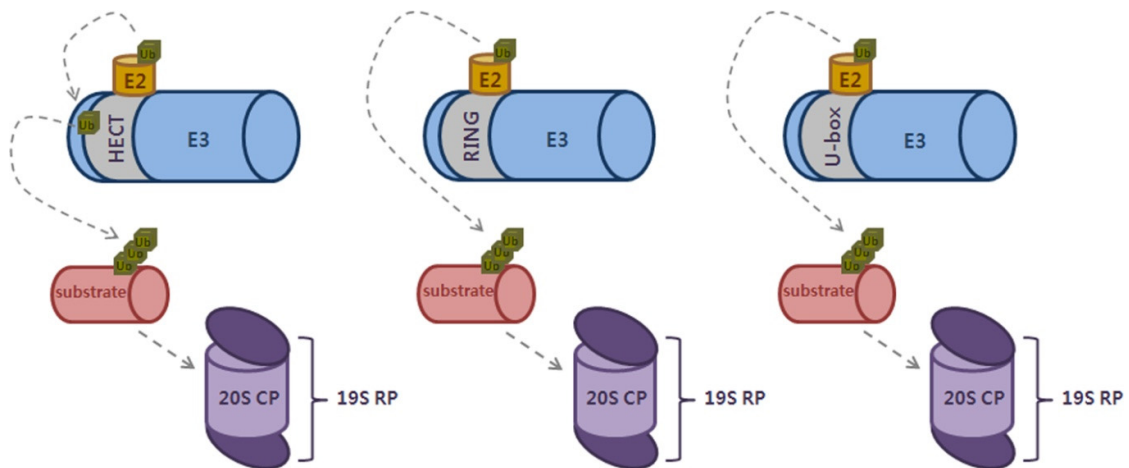


Fig. 1. Types of plant E3 ubiquitin ligases. They are largely divided into two groups: HECT family and RING finger family. In the case of HECT type E3 ligases, they accept ubiquitin from E2, generating the intermediate form as a ubiquitin donor to transfer ubiquitins into the substrates. In *Arabidopsis*, only 7 HECT type E3 ligases have been reported, indicating this group exists as a small family. On the other hand, RING finger type E3 ligases mediate the process of transferring ubiquitins from E2 to the substrates, without generating the intermediate form. Unlike HECT family, *Arabidopsis* possesses a large number (~470) of RING finger E3 ligases. U-box domain is a modified form of RING finger domain and *Arabidopsis* genome has 64 U-box genes.

각 기질 수용체의 식물 내 상세 역할에 대해 탐색하고자 한다.

본 론

E3 ligase의 종류

E3 효소는 결합형태 및 작용 기작에 따라 크게 HECT (homologous to E6-Associated carboxyl terminus) 도메인 (domain) 타입과 RING (really interesting new gene) 도메인 타입으로 나누어진다(Fig. 1). HECT 타입의 경우, 자체 내에 존재하는 시스테인(cysteine) 잔기를 통해 E2로부터의 유비퀴틴을 수용하여 공유결합된 티오에스테르 중간 형태(covalent thioester intermediate)를 형성한 후, 해당 유비퀴틴을 기질로 전달한다. 반면에 RING 타입은 E2-유비퀴틴과 기질을 공간적으로 가깝게 배치한 후 해당 유비퀴틴을 E3로의 경우 없이 바로 기질로 전달하는 방식을 취한다[68]. 일부 E3의 경우, RING 도메인과 HECT 도메인의 hybrid 형태로 존재하는 것이 보고되었는데, 이 경우 N 말단에 존재하는 RING 도메인이 E2-유비퀴틴을 끌어들이고 후 C 말단에 존재하는 HECT 도메인으로 유비퀴틴을 전달하는 방식을 취하며, 이를 RBR (RING-between RING-RING) ligase라고 부른다[10]. RING 도메인 타입은 다시 작용 방식에 따라 *cullin* 비의존적 형태와 *cullin* 의존적 형태로 나뉜다. 애기장대의 경우 약 469개의 RING 도메인 보유 단백질이 있는 것으로 예상되며, 이들의 대부분은 *cullin* 단백질과의 연관성 없이 단량체 형태로 그 기능을 수행하는 것으로 알려져 있다[70]. 반면 RING 도메인 보유 단백질 중 RBX1a, RBX1b의 경우는 *cullin* 단백질과의 직접적 상호작용을 통해 CRL 복합체의 일부로서 E2 효소의 recruit에 관여한다. RING 도메인과 구조적으로 유사한 U-box 도메인 보유 단백질 또한 널리 보고되어 왔다. 대부분의 RING 도메인 보유 단백질과 마찬가지로 이들은 *cullin* 비의존적 형태로 기능하는데, RING 도메인과의 구조적 유사성에도 불구하고 구조 안정성을 위해 아연(zinc)을 요구하지 않는다는 점에서 차별성을 갖는다[78]. 애기장대에는 약 64개의 U-box 도메인 보유 단백질이 있는 것으로 예상되는데, 이는 인간이 보유한 21개의 U-box 도메인 보유 단백질 개수와 큰 차이를 보인다. 이러한 식물 U-box 단백질의 다양성은, 식물의 다양한 세포 내 신호 전달 과정 하에서 대상 기질 결정시에, 이들이 보다 특화된 역할을 수행하고 있음을 암시한다[75].

복합체를 이루어 작용하는 E3 효소의 주 형태로 CRL 복합체가 널리 알려져 왔다. 식물의 주 CRL 복합체인 CRL1, CRL3, CRL4는 상기 기술한대로 *cullin* 단백질(각각 *cullin1*, *cullin3*, *cullin4*를 보유)에 따라 분류되는데, 실제로 각 복합체는 서로 상이한 구성 단백질로 이루어져 있다(Fig. 2A). CRL 복합체는 기본적으로 scaffold 역할을 하는 *cullin*, E2 효소 recruit에 관여하는 RING 단백질인 RBX1, 기질 특이성을 결정하는 기질 수용체(substrate receptor), *cullin*과 기질 수용체를 연계하는

어댑터(adaptor)로 구성되어 있다[42]. CRL 중 가장 다양하며 널리 연구된 형태는 CRL1으로서 이들은 SCF 복합체(Skp1-Cullin-F-box complex)라는 이름으로도 널리 알려져 있는데, CRL1의 경우 어댑터로서 SKP1 (식물의 경우 상동체인 ASK), 기질 수용체로서 F-box 단백질을 보유하고 있다. 앞서 기술한 바와 같이 기질 수용체는 기질 특이성을 결정짓는 단백질이므로, 생체 내 다양한 기질을 수용하기 위해 그 종류가 다양한데, 실제로 애기장대의 F-box 단백질은 692개 존재하는 것으로 추산되고 있다[76]. 이에 반해 CRL4는 어댑터로서 DDB1 (Damaged DNA Binding 1), 기질 수용체로서 119개의 DCAF 단백질을 보유하고 있는데[44, 82], 이들의 세부적인 구조 및 특성은 뒤에 다시 기술하기로 한다. 한편 CRL3는 CRL1, CRL4 과 다소 상이한 구조를 갖는데, 즉 CRL3의 경우 별도의 어댑터를 보유하고 있지 않으며 BTB/POZ 단백질이 CUL3 (*cullin3*)와 직접 결합한 상태로 기질 수용체의 기능을 수행한다. 애기장대의 BTB/POZ 단백질은 약 80개가 존재하는 것으로 보고되고 있다[20]. CRL 복합체와 유사한 형태를 띠는 복합체 형태의 식물 E3 효소로서 APC/C (Anaphase Promoting Complex/Cyclosome)가 알려져 있는데, *cullin* 및 RBX1과 구조적으로 연관된 APC2 및 APC11를 각각 보유하고 있으며, 별도의 어댑터 없이 CDC20을 기질 수용체로 갖는다. 또한 이러한 복합체의 형성에는 최소 11개의 부가적인 소단위체가 추가적으로 요구되는 것으로 보인다[50].

CRL4 구조 및 구성요소

상기 기술한 바와 같이, CRL4는 scaffold로 작용하는 CUL4 (*cullin4*)를 중심으로 구성되어 있으며, CUL4의 N 말단에 어댑터인 DDB1, C 말단에 RING 단백질인 RBX1이 결합되어 있다. CUL4 유전자는 mammal의 경우 두개의 paralog (CUL4A, CUL4B)를 보유하고 있는 반면, 애기장대를 포함한 대부분의 종에서는 단일 유전자로 존재한다. 애기장대 CUL4 유전자의 발현 억제를 통한 연구에 의거하여, CUL4는 광형태형성(photomorphogenesis), 측근 형성(lateral root formation), 기공(stomata) 및 유관속 조직 발달(vascular tissue development), 그리고 포도당(glucose), 사이토키닌(cytokinin), 앱시스산(abscisic acid, ABA)에 대한 감수성 등 다양한 생리 작용에 다면발현효과(pleiotropic effect)를 보임을 알 수 있는데, 이는 CUL4가 다양한 세포 내 과정을 매개하는 상이한 기질 수용체들과의 서로 다른 조합을 통해, 여러가지 형태의 복합체 형성을 이룰 수 있음에 기인하는 듯하다[3, 11, 44, 45].

CRL4의 어댑터로 작용하는 DDB1은 벼의 경우 1종류로 존재하는 반면, 애기장대에는 2종류(DDB1a, DDB1b)로 존재한다. DDB1a와 DDB1b는 인간의 DDB1과 아미노산 기준으로 각각 52.7, 51.7%의 상동성을 보유하고 있으며, 서로에 대해 91%의 높은 상동성을 보유하고 있다. 두 단백질이 공통적으로 배발생(embryo development)에 중요한 역할을 함에도 불구하고

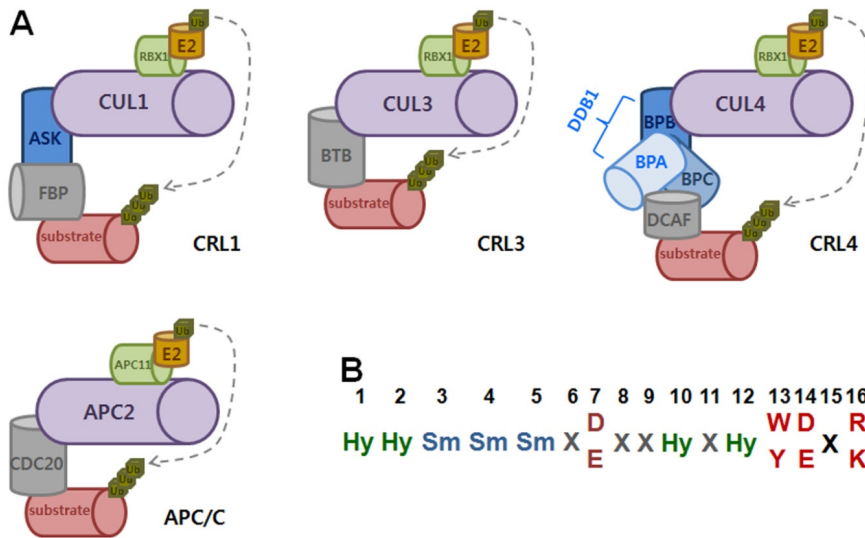


Fig. 2. Types of plant cullin - RING E3 ubiquitin ligases (CRLs) (A) and DWD domain region of CRL4 substrate receptor (B). (A) Structures of various CRL complexes in plants. All CRLs commonly possess cullins (or a cullin-like protein such as APC2) as a scaffolding subunit and the RING-finger protein RBX1 or APC11 to recruit an E2 enzyme. CRL1 and CRL4 have the similar architecture. They utilize ASK and DDB1 as adaptor proteins, respectively. And also, F-box protein and DCAF (also known as DWD or WDxR proteins) are used as substrate receptors for CRL1 and CRL4, respectively. Unlike CRL1 and CRL4, CRL3 and APC/C utilize BTB domain-containing protein and CDC20 as substrate receptors, respectively, without the adaptor protein. Additional (at least 11) subunits required for the formation of APC/C complex are not shown here. (B) Conserved amino acid sequences of DWD domain. Arginine or lysine residue at 16th position is crucial for binding with DDB1 adaptor. 'Hy' and 'Sm' represent hydrophobic amino acid and small amino acid, respectively.

하고, 이들은 동시에 각각의 특징적인 역할을 가지고 있는 것으로 보인다. 즉, DDB1a의 경우 개화시기 조절 및 단일조건하에서의 잎 발생과정에서 보다 주도적인 역할을 하는 것으로 보고되고 있다[4]. *ddb1a*과 부분적 기능소실 돌연변이인 *ddb1b-2*간의 이 중 돌연변이체 중 *ddb1a ddb1b-2/+*과 *ddb1b-2 ddb1a/+* 돌연변이체의 경우 UV (ultraviolet) 에 대한 저항성의 감소를 보이며, *ddb1a*과 *ddb1a ddb1b-2/+* 돌연변이체의 경우 salt 및 mannitol에 대해 증가된 감수성을 보이는데, 이는 두 유전자의 기능이 다양한 비생물학적(abiotic) 스트레스 신호 전달 과정에 연루되어 있음을 암시한다[19]. DDB1은 단백질-단백질간 상호작용에 중요한 역할을 하는 모티프(motif)로 알려진 WD40 repeats를 17 copy 소유하고 있으며, 해당 부위의 일부는 β -sheets 중간 구조를 통해 방사 모양(radical form)의 β -propeller 구조를 형성한다. 그 결과, 전체 3차원 구조는 7개의 날개로 구성된 3종류의 β -propeller와 C 말단의 나선도메인으로 구성되는데, 상기 3종의 β -propeller를 각각 BPA, BPB, BPC라 부른다[2]. 이 중 BPB의 경우 CUL4와의 직접적인 상호작용을 위해 요구되는 부위로 알려져 있는 반면, BPA와 BPC는 조개 모양의 포켓 구조(clam-shaped pocket)를 형성하며 기질 수용체와 결합하는 부위를 제공하는 것으로 보인다.

2006년 이후, DDB1의 3차원 구조 및 CUL4-DDB1간의 결합 구조 등이 발견되면서 DDB1과 결합하는 CRL4 기질 수용체에 대한 보고가 가속화되었다[2, 46]. DDB1을 이용한 면역친화

크로마토그래피(immunoaffinity chromatography) 등을 통해, 일련의 연구팀들은 DDB1에 특이적으로 결합하는 단백질들을 분리해 내었으며 이들의 대다수가 보존된 형태의 특정 모티프를 가지고 있음을 밝혀내었다[2, 25, 27, 35]. DDB1과 마찬가지로 해당 결합 단백질들은 WD40 repeats를 보유하고 있는데, 이러한 repeat 내의 약 16개 아미노산에 해당되는 특정 부위가 높은 수준의 보존성을 가지고 있음을 알 수 있다 (Fig. 2B). 상기 부위는 DWD (DDB1 Binding WD40) 모티프라 명명되었는데, 애기장대와 벼에 해당 모티프를 갖는 단백질들이 각각 85, 78종 존재하며, 실제로 이들이 DDB1과 직접적으로 결합할 수 있음이 보고되었다[44]. DWD 모티프 중 DDB1과의 결합에 특히 중요한 부위는 13-16번째에 해당되는 W(Y)D(E)XR(K) 지역인 것으로 알려져 있다. 한편, 전체 DWD 모티프 없이 상기 13-16번째 지역(WDXR 모티프라 명명)만 보유하고 있어도 CUL4-DDB1과 결합할 수 있는 특정 단백질들이 보고되었는데, 이러한 조건에 맞추어 다시 카테고리화 시킬 때 애기장대와 벼는 각각 119개와 110개의 잠재적인 CUL4-DDB1 결합 단백질을 가지고 있는 것으로 보인다. 상기 단백질들은 DCAF라는 이름으로 명명되어 있으며, 보다 큰 범위의 잠재적인 CRL4 기질 수용체들로 분류될 수 있다[83]. 일부의 연구를 통하여 DWD/WDXR 이외에 DDB1과의 결합에 관여하는 단백질 내 특정 도메인이 별도로 보고되었다. 13개의 α 나선으로 이루어진 H-box는 DDB1 내 BPA-BPC와의 상호 작

용이 가능한 것으로 알려져 있으며 일부의 DCAF 단백질 내에서 발견되기도 하는데, 그들의 3차원 구조에 의거할 때 DCAF 단백질과 DDB1간의 상호작용을 안정화시키는데 기여하는 것으로 보인다[7, 47]. 식물에서의 H-box에 대한 연구는 아직 미흡한 상태이다.

CRL4 활성 조절

CRL4의 활성 조절은 CRL1, CRL3 등과 마찬가지로, RUB (Related to Ubiquitin, 식물의 경우) 혹은 NEDD8 (Neural precursor cell-Expressed, 동물의 경우)과 cullin간의 결합/떨어짐에 의해 조절되는데, 이러한 과정을 rubylation/derubylation 혹은 neddylation/deneddylation이라 일컫는다. 해당 과정은 E1-like 효소(식물에서 RUB-activating 효소라고도 불림) 및 E2-like (식물에서 RUB-conjugating 효소라고도 불림) 효소를 통해 이루어진다는 면에서 유비퀴티네이션과 유사하다 할 수 있다. 이러한 rubylation/neddylation은 cullin과 어댑터-기질 수용체간의 assembly를 위해 필요하며, 이에 CRL의 정상적인 기능을 위해 요구된다[7, 28, 57]. 예를 들어 정상적인 CRL1에 의해 옥신의 신호 전달 반응에서 일어나는 AUX/IAA 분해 과정은 RUB-activating 효소의 구성성분인 AXR1의 돌연변이에 의해 억제되어, 그 결과 옥신매개 반응을 저해한다[13]. RUB/NEDD8을 cullin으로부터 떼어내는 derubylation/deneddylation 과정은 26S 프로테아좀의 19S RP 부위와 유사한 구조를 갖는 CSN (COP9 signalosome)에 의해 일어난다. 특히 해당 구성 요소 중 CSN5가 이러한 활성에 주요 역할을 하는 것으로 보고되고 있는데, 실제 애기장대의 CSN5 결여 돌연변이체의 경우 RUB가 결합된 다량의 CUL4가 축적되는 것을 볼 수 있으며, 이러한 돌연변이가 광형태형성 과정, 유묘의 초기 발달, 영양조직 및 생식조직 발달 등에 영향을 미침을 알 수 있다[14, 23]. CAND1 (Cullin Associated and Neddylation Dissociated 1)은 CRL의 disassembly 촉진을 통해 해당 복합체의 활성을 억제하는 단백질로 보고되었다. CAND1은 rubylation/neddylation되지 않은 cullin에 결합하는 것으로 보여지며 실제로 cullin의 N 말단에서 어댑터와 결합자리를 놓고 경쟁하는 듯하다[11, 82]. 애기장대 CAND1 돌연변이체 역시 늦은 개화(late flowering), 개화기관(floral organ) 결합, 정단 우성(apical dominance)의 결여, 호르몬 반응성 변화, 수정능력(fertilization) 감소, 신장 감소(dwarfism) 등 다양한 발생 생리 과정의 결함을 야기하였으며, 부분적 광형태형성 촉진 등의 형질을 야기하였는데, 이는 CSN5, CAND1을 통해 진행되는 일련의 CRL 활성 조절이 식물의 다양한 발달과정에 중요한 역할을 수행할 수 있음을 보여준다[18].

식물 CRL4 receptor의 종류 및 역할

상기 기술한 바와 같이 식물의 CRL4 기질 수용체에 대한 연구는 애기장대와 벼를 중심으로 이루어져 왔다. 그 중에서

도 각 CRL4 기질 수용체의 생체 내 세부 기능에 대한 대부분의 규명은 애기장대를 통해 이루어졌으므로, 본 총설에서는 애기장대를 중심으로 각 CRL4 기질 수용체의 종류 및 역할에 대해 알아보려고 한다. Lee 등(2008)은 상동성에 의거한 DWD 도메인의 존재에 근거하여 총 85종의 잠재적인 DWD 단백질을 애기장대에서 선별한 후 이를 phylogenetic tree를 통해 5개의 소그룹으로 분류하였다. 각 소그룹의 대표 단백질 선별 후, 이들과 DDB1간에 직접적인 결합이 가능함을 밝힘으로써 식물의 DWD 단백질이 실제로 CRL4 기질 수용체로 작용할 수 있음을 확인하였다[44]. PRL1 (Pleiotropic Regulatory Locus 1) 단백질은 식물에서 CRL4 기질 수용체로 확인된 최초의 단백질이다. 원래 PRL1은 포도당과 다양한 호르몬에 의한 식물의 반응을 조절하는 단백질로 보고되어 왔다[53]. PRL1은 생체 내에서 DDB1 및 CUL4와 결합되어 있으며, PRL1과 CUL4의 기능소실 돌연변이체(loss of function mutant)는 다수의 유사한 형질을 보였는데, 즉 두 돌연변이체 모두 성체(adult)의 부진한 성장률(stunted form), 유묘(seedling)에서의 안토시아닌(anthocyanin) 축적, 당, 앱시스산, 사이토키닌에 대한 과다 감수성(hypersensitivity) 형질을 나타냈다. 이는 두 단백질들이 기능 수행에 있어 다수의 부분을 공유하고 있음을 암시하며, 두 단백질간의 생체 내 결합 등의 결과에 의거할 때, 두 단백질 모두 CRL4 복합체의 공통적인 구성 성분으로 작용하고 있음을 나타낸다. 또한 PRL1은 SnRK1 그룹의 단백질인 AKIN10 (Arabidopsis SNF1 Kinase Homolog 10), AKIN11과 직접적으로 결합하는데, PRL1과 CUL4의 기능소실 돌연변이체에서의 AKINs 단백질 분해 속도가 야생종에 비해 지연되는 것을 볼 때, PRL1을 기질 수용체로 사용하는 CRL4 복합체가 AKIN 단백질들을 직접 분해하고 있음을 알 수 있다[5, 44].

한편, CRL4 기질 수용체의 다수가 비생물학적 스트레스 신호 전달에 관여함이 보고되었다. 첫째로, CRL4 복합체는 두 개 이상의 다른 기질 수용체를 통해 공통의 기질을 분해함으로써, 앱시스산에 의해 매개되는 가뭄 저항성에 관여함이 밝혀졌다[45, 64]. DCAF 중, DWD 도메인을 보유하고 있는 DWA1 (DWD Hypersensitive to ABA 1)과 DWA2 단백질의 기능 소실 돌연변이체의 경우, 공통적으로 발아 지연, 가뭄 저항성 증가 등의 앱시스산 과다 감수성을 보이며 앱시스산 매개 발아과정의 주요 전사 인자인 ABI5의 직접적인 분해에 관여한다. 해당 앱시스산 반응을 위한 DWA1/2의 음성 조절자로서의 역할에는 동형이량체(homodimer) 및 이형이량체(heterodimer) 형성이 요구되는 것으로 생각되어진다[45]. ABI5와의 직접적 결합을 통해 이를 분해하는 것으로 알려진 또 다른 단백질은 ABD1 (ABA-Hypersensitive DCAF 1)이다. ABD1의 경우, DWA1/2와 달리 DWD 도메인 대신 WDXR 모티프만 소유하고 있다. 이들의 기능소실 돌연변이체는 *dwa1/2*와 매우 유사한 형질(발아 지연, 가뭄 저항성 증진 등)을 보이고 있으며, ABD1 역시 DWA1/2와 마찬가지로 ABI5

분해를 통해 앱시스산 신호를 음성적으로 조절한다[64]. CRL4 복합체가 동일 기질을 분해하기 위해 왜 상이한 기질 수용체를 보유하고 있는지는 아직 자세히 알려져 있지 않다. 앱시스산 신호의 또 다른 음성 조절자로서 ABI5를 분해하는 것으로 알려진 RING E3 ligase 형태의 KEG (Keep on Going)의 경우, 앱시스산 신호시 자가유비퀴티네이션(self-ubiquitination) 과정을 통해 세포질에서 분해됨으로써 ABI5의 핵으로의 이동 과정을 자유롭게 한다. 반면, DWA1/2는 핵에서 역할을 수행한 ABI5의 활성이 더 이상 요구되지 않을 때, 해당 단백질을 핵에서 분해하는 것으로 여겨진다[48, 49, 71]. 이러한 공통적인 ABI5 분해 단백질들의 세포 내 세부 기능 차이에 의거할 때, CRL4^{ABD1}과 CRL4^{DWA1/2} 등의 앱시스산 관련 역할도 조직, 발생 단계 혹은 추가적인 기질 수용 여부 등에 따라 달라질 수 있을 것이라 생각된다. 상세한 작용 기작이 밝혀지지는 않았으나, 돌연변이체 연구와 CUL4-DDB1과의 상호결합 등에 의거할 때, DWA3 역시 앱시스산 신호 전달 과정의 음성 조절자로서 기능한다. DWA1/2와 달리 DWA3는 ABI5 단백질 안정성에 직접적으로 연관되지 않는 듯하다[43].

CRL4 기질 수용체는 가뭄 스트레스 신호 반응 외의 다른 비생물학적 스트레스 신호 전달 과정에도 관여하는 것으로 알려졌다. 앱시스산 매개 세포 내 반응과 유사하게, UV-B 스트레스 신호 전달 과정 역시 다수의 CRL4 기질 수용체와 연계되어 있는 것으로 보인다. 두 종의 DCAF 단백질인 CSAat1A (Arabidopsis Cockayne Syndrome A-like Protein 1A)와 CSAat1B는 이형이량체 형태로 CRL4 복합체를 형성하며, UV-B에 의해 유발되는 전사-연계 DNA 복구과정(transcription-coupled DNA repair process)에서 그 역할을 한다. 이러한 UV-B 신호 전달 과정에는 또 다른 DCAF 단백질인 DDB2 (Damaged DNA Binding 2) 역시 관여하는 것으로 알려져 있다[6, 80]. RUP1 (Repressor of UV-B Photomorphogenesis 1)과 RUP2는 UV-B 신호 전달 과정에서 UV-B 수용체인 UVR8 (UV Resistance Locus 8)의 기능을 억제하는 DCAF 단백질로 보고되었다. 돌연변이 연구를 통해 RUP1/2는 UV-B에 의해 매개되는 광형태 형성 및 스트레스 적응 과정의 음성적 조절자로 작용함이 알려졌다. 특히 이러한 음성적 조절은 UV-B 신호 전달 과정을 위해 요구되는 UVR8과 COP1간의 결합을 방해하고 그 결과 불활성화 형태인 UVR8의 이량화 재형성(redimerization)을 유도함으로써 이루어진다[21, 26, 32]. 기존의 CRL4 기질 수용체가 단백질 분해에 관여하는 것으로 알려진 것과는 달리, RUP1/2는 단백질의 격리(sequestration)에 관여한다는 점에서 다소 독특하다. 최근 들어 UV-B 신호 전달 과정의 또다른 음성 조절자로 작용하는 DCAF 단백질인 DHU1 (DWD Hypersensitive to UV-B 1)이 보고되었다[37]. *dhu1*은 저농도의 UV-B 조사시 UV-B에 의한 대표적 반응인 광형태형성(photomorphogenesis)을 증가시키며, 애기장대 내 다수 UV-B 반응 유전자들의 과다 유도(hyper-induction)를 이끈다.

또한 해당 돌연변이는 고농도의 UV-B 조사(UV-B 스트레스)시 UV-B 스트레스에 대한 저항성을 증가시킨다. 이러한 결과를 통해 DHU1은 UV-B 매개 세포 내 반응의 음성 조절자로 작용하는 것으로 보인다. CRL4 복합체의 어댑터 역할을 하는 DDB1의 초기 동정이 UV-B에 의해 유도되는 DNA 손상에 대한 수선과정에서의 역할 탐색을 통해 얻어졌다는 점에서, UV-B 신호와 기능적으로 연계된 CRL4 복합체들이 다수 발견되는 것은 이해 가능한 결과이다[12, 51].

CRL4를 구성하는 기질 수용체들 중 적어도 한 종류는 고온 스트레스(heat stress) 신호 전달 과정에 관여되어 있다. DWD 도메인을 보유한 HTD1 (Heat Stress Tolerant DWD 1)의 경우, 유전자의 소실은 고온 스트레스에 대한 저항성 증가 및 고온 스트레스 유도 유전자의 전사량 증가를 야기하는데, 이는 HTD1 단백질이 고온 스트레스 저항성을 억제하는 기능을 보유하고 있음을 의미한다. HTD1이 고온 저항성에 중요 역할을 하는 샤페론(chaperone) 단백질 중 하나인 HSP90-1 (Heat Shock Protein 90-1)과 생체 내에서 직접적으로 결합을 함에도 불구하고, HSP90-1의 단백질 축적량은 HTD1의 존재 여부에 영향을 받지 않았다. 이러한 결과는 HTD1에 의한 HSP90-1의 잠재적 억제가 단백질 분해가 아닌 활성 억제 혹은 고온 스트레스 양성 조절자와 HSP90-1간의 결합 억제 등의 방식(RUP1/2의 경우에서 보듯이)을 통해 일어날 수 있음을 암시한다[38].

비생물학적 스트레스 신호 전달 과정 뿐 아니라 식물의 발달과정에도 다수의 CRL4 기질 수용체들이 연관되어 있다. WDXR 모티프를 보유한 DCAF1 (DDB1-CUL4 Associated Factor 1)의 경우 생체 내 CRL4와 결합되어 있는데, 해당 유전자의 발현 억제는 배발달(embryonic development)시 구상단계(globular stage)에서의 발달 중지를 이끈다. 또한 상기 유전자의 발현량이 감소된 돌연변이체에서는 다수 발달과정의 결합 형질(유묘 성장 억제, 기형적인 형태의 잎-꽃 형성, 비정상적인 엽서 형성, 성체 성장 억제 등)이 관찰되는데, 이는 DCAF1이 식물 성장의 다양한 발생 과정에서 그 역할을 하고 있음을 보여준다[83]. MSI1 (Multicopy Suppressor of IRA1)은 생식 발달(reproductive development)에 필수적인 유전자로 보고되었다[22, 39]. MSI1은 또한 정상적인 씨 발생에 중요한 역할을 하는 PRC2 (Polycomb Repressive Complex 2) 복합체의 구성 단백질로 보고되었으며, 다른 DCAF 단백질과 마찬가지로 CUL4-DDB1과도 복합체를 이룬다. CRL4^{MSI1}의 씨 발생과정에서의 역할은 PRC2 복합체의 대상유전자인 MEA (MEDEA)의 부모 각인(parental imprinting) 과정에 관여함으로써 이루어지는 것으로 생각되어진다[16, 39]. MSI1은 가뭄 스트레스의 음성적 조절 및 개화시기 조절에도 연루되어 있는 것으로 보이는데, 이는 DCAF1의 경우와 마찬가지로 MSI1을 장착한 CRL4 복합체가 식물 발달을 포함한 다양한 이벤트에 참여할 수 있음을 나타낸다[1, 69]. 식물 형태 발생에 관여하는 또다른

DCAF는 WDR55 (WD Repeat Domain 55)이다. WDR55와 DDB1A간의 생체 내 결합 확인을 통해 해당 단백질의 CRL4 기질 수용체로서의 기능이 확인되었으며, 돌연변이체 연구를 통해 WDR55가 배우자형성과정(gametogenesis)과 씨 발달(특히 배 발생 단계에서의 정단 정형화)에 기능이 알려졌다[9]. 또한 WDR55는 영양생장(vegetative development) 단계에서의 정상적인 발달(마디간 성장, 정단우성 등)을 위해서도 기능을 하고 있음을 알 수 있다[8].

Lee 등[44]의 연구에 기반하여, 기존에 기능이 규명된 일련의 단백질들이 DDB1과의 생체 내 결합을 통해 DCAF로서 작용할 수 있는 가능성이 대두되었다. VIP3 (Vernalization Independence 3)는 개화과정 조절자로 기능하는 단백질인데, 유전자 기능 소실시 개화시기 외에도 다양한 발달과정 억제형질을 보인다. 이러한 발달 억제 형질은 *cul4cs* (CUL4 cosuppression line)에서 보이는 형질과 유사한 형태를 띠는데, 이는 CUL4와 VIP3간의 기능적 연관성을 암시한다[44, 81]. FY는 FCA (Flowering Time Control Protein A)와 함께 FLC (Flowering Locus C)를 억제함으로써 개화 시기를 조절하는 단백질로 알려져 왔으며, 최근 앱시스산 감수성에도 관여함이 보고되고 있다[34, 66]. TRIP-1 (TGF-beta Receptor-interacting Protein 1)은 브라시노스테로이드(brassinosteroid) 반응 유전자들의 발현을 조절하는 단백질로서, 해당 단백질 기능 소실시 광범위한 식물 발달과정의 결합(성장억제, 잎형태의 변이, 정단우성 감소, 생식능력 감소 등)을 초래하는 것으로 보고되었다[33]. 상기 3종류 단백질의 경우 DDB1과의 생체 내 물리적인 결합은 검증되었으나 CUL4-DDB1과의 기능적 연계성에 대한 세부 연구는 아직 미흡한 실정이다.

앞서 기술한 애기장대 DCAF의 존재 및 종류에 대한 보고는, 기존에 *cullin* 비의존적 형태(단일 단백질만으로 E3 ligase의 활성을 갖는)의 대표적인 E3 ligase로 널리 알려졌던 COP1 (Constitutive Photomorphogenic 1)의 작용 방식에 대한 개념을 변화시켰다. 해당 단백질이 자체적인 유비퀴티네이션 활성을 가지고 있으며, HY5 (Elongated Hypocotyl 5), LAF1 (Long after Far-red Light 1) 등의 전사조절인자들을 직접 유비퀴티네이션/분해시킴으로써 광형태형성의 음성조절자로 기능할 수 있음이 밝혀졌음에도 불구하고, 생체 내에서 COP1은 700 kDa 이상의 거대 복합체의 일원으로서 존재하고 있기 때문에, 이러한 복합체에 대한 규명은 큰 관심사로 주목받아왔다[55, 60, 63]. 이에 COP1과의 생체 내 결합을 통해 COP1의 기능을 강화시키는 SPA (Suppressor of PHYA) 단백질 그룹(SPA1-SPA4)이 동정되었다. SPA 단백질들은 대부분 기능적 중복성을 가지고 있으나 빛 혹은 기관 특이적인 경향을 보이기도 하는데, 생체 내에서 두개의 COP1과 두개의 SPA 단백질들이 서로 다른 조합을 통해 이질적인 사랑체를 형성하여 존재하는 것으로 보인다[84]. 이러한 COP1과 SPA 단백질들은 놀랍게도 모두 DWD 도메인을 보유한 DCAF 단

백질로 분류되었으며, DDB1과 직접적인 결합이 가능하였는데 이는 COP1-SPAs 복합체가 CRL4 복합체와 함께 거대복합체를 구성하여 생체 내에서 역할을 할 수 있음을 보여준다[44]. 실제로 CUL4-COP1-SPAs 복합체가 빛에 의해 유도되는 인산화 형태의 PIF1 (Phytochrome Interacting Factor 1)의 분해에 관여함을 보여주는 최근의 결과는 DCAF로서의 COP1-SPAs의 역할을 검증해주고 있다[85]. COP1이 왜 독립적 활성을 갖는 형태와 CRL4의 일부 형태로 분리되어 존재하고 기능하는지는 아직 명확하지 않다.

비정형화된 CUL4-DDB1 결합 단백질

상기 내용을 통해, CRL4 기질 수용체로 작용하는 DCAF 단백질들의 구조적 특성(정형화된 DWD/WDXR 모티프의 존재)에 대해 알아보았다. 그럼에도 불구하고, CUL4-DDB1과 결합하는 일부의 단백질군은 이러한 구조적 특성에서 벗어나 있는데, 대표적인 예로 COP10-DET1 (De-etiolated 1)-DDB1로 구성된 CDD 복합체가 이에 해당된다. COP10은 돌연변이시 암조건하에서도 광형태형성의 형질을 보이는 *cop* 계열의 돌연변이체들 중 하나로서 동정되었으며, 이러한 형질에 근거할 때 광형태형성의 억제자로서 역할을 하는 것으로 알려져 있다[74]. 구조적으로 COP10은 E2와 유사한 형태를 보이지만 E2 활성을 보유하고 있지는 않다[72]. DET1 또한 광형태형성의 억제자로서 빛에 의해 유도되는 다양한 유전자들의 발현을 음성적으로 조절하는 핵 단백질로서 보고되었다[56]. DDB1을 이용한 일련의 친화성 정제법(affinity purification)을 통해 COP10과 DET1이 DDB1과 함께 복합체를 구성하는 것이 보고되었으며, 이러한 CDD 복합체는 특정 E2의 활성을 증가시키는 과정을 통해 COP1의 HY5 분해에 관여함이 알려졌다[77]. COP10과 DET1이 DDB1과 결합함에도 불구하고, DET1과 COP10 내에 기존에 알려진 DDB1 결합 모티프가 발견되지 않기 때문에, 상기 결합을 위해 필요한 구조를 탐색하는 연구가 향후 요구되어지고 있는 상태이다. DDB1이 앞서 기술한 바와 같이 CRL4의 어댑터로 작용하기 때문에, 관련 연구는 DDB1을 중심으로 하는 CRL4와 CDD 복합체간의 연계성을 밝히는 방향으로 진행되어 왔다. 실제로 Chen (2006) 등은 유전학적, 생화학적 기법을 이용하여 CDD 복합체가 CRL4 복합체와 함께 거대복합체를 형성함으로써 광형태형성에 관여함을 밝혀내었으며, Shi (2015) 등은 CDD-CRL4 복합체가 HFR1 (Long Hypocotyl in Far-red 1) 분해를 통해 씨앗의 발아 조절에 관여함을 보고하였는데, 이러한 연구 결과들은 두 복합체가 생체 내 반응을 위해 기능적으로 연계되어 작용할 수 있음을 보여준다[11, 65]. 한편, DET1은 일주기성 시계(circadian clock) 작동에 관여하는 CCA1 (Circadian Clock Associated 1) 및 LHY (Late Elongated Hypocotyl)와 결합하여, 두 전사인자가 관여하는 유전자 발현의 억제에 역할을 하기도 하는데 이러한 전사 억제 활성에 CDD-CRL4 복합체가 관여하는지는

확실치 않다[40].

최근들어 CDD 복합체의 일부로서 존재하는 추가 단백질로 DDA1 (DET1-, DDB1-associated 1)이 보고되었다[31]. DDA1은 생체 내에서 CDD 단백질과 결합되어 있으며 이러한 결합은 DDB1 내 BPA 부위와의 직접적 결합을 통해 이루어진다. DDA1은 CRL4 복합체와도 생체 내에서 결합되어 있는데, DDA1 역시 COP10, DET1과 마찬가지로 정형화된 DCAF 단백질에서 보여지는 DWD/WDXR 모티프를 보유하고 있지는 않은 듯하다. 흥미롭게도, CRL4-CDD-DDA1 복합체는 앱시스산 수용체 중 하나인 PYL8과 직접적으로 결합하여 해당 단백질을 UPS 의존적인 방법으로 분해하였으며, 이와 맥락과 같이 하여 DDA1 과다발현체는 ABA 감수성 감소의 형질을 보였다. PYL8은 DDA1을 제외한 다른 CDD 단백질들과 직접적인 결합을 보이지 않았는데, 이는 PYL8 분해를 위한 CDD- CRL4의 기질 수용체로서 DDA1이 역할을 하고 있음을 보여준다[31]. CDD 복합체가 특정 CRL4 복합체와 연계되어 기능을 수행할 수 있음이 알려졌음에도 불구하고 이와 관련된 세부 작용 기작은 명확히 규명되지 않았는데, 상기 연구는 일부 CRL4 기질 수용체의 경우 CDD 복합체와의 결합과정을 매개하여 기질 결합/분해 과정을 수행함을 보여주고 있다.

결론

외부 환경 혹은 내재적인 신호에 대한 식물의 반응은 경우

에 따라 신속하고 적절하게 이루어져야 하는데, 이를 위해서 이미 존재하는 반응 단백질의 활성 혹은 축적량을 변화시키는 것이 전사량을 조절하는 것보다 더 유리하다. 특히 원활한 신호 전달을 위하여 해당 과정의 음성조절자로 작용하는 특정 단백질을 빠른 시간 내에 제거해버리는 것이 유용할 수 있다. 이러한 개념하에서, 단백질의 안정성을 조절하는 유비퀴티네이션의 작용 기작을 탐구하는 것은 식물의 스트레스 내성 기작, 호르몬 신호 전달 기작, 발생·생장 조절 기작을 이해하고, 이를 응용하는데 있어 필수적이라 할 수 있다. 유비퀴티네이션 과정 이해에 관한 다수의 연구가 진행되어 왔음에도 불구하고, CRL 복합체의 구성 및 상세 기작, 특히 각 복합체와 연계되는 기질수용체들에 대한 연구는 그 수의 방대함으로 인해 아직도 크게 미흡한 실정이다. 더욱이, F-box 단백질을 기질 수용체로 사용하는 CRL1 복합체와 달리, CRL4 및 해당 기질 수용체는 비교적 최근에 발견되었으며 이에 관련 연구가 부족한 상태이다. 그럼에도 불구하고 Lee 등[44]이 애기장대에서 처음으로 85종의 잠재적인 DCAF 단백질들을 보고한 이후, 각 CRL4 기질 수용체의 생체 내 세부 역할에 대한 연구가 지속적으로 이루어져 오고 있다(Fig. 3). 상기 총설에서 본 바와 같이 각각의 애기장대 DCAF들은 비생물학적 스트레스에 대한 식물의 적응 과정, 식물의 생장, 발생 및 분화 과정, 대사 과정, 호르몬 신호 전달 과정 등의 다양한 이벤트에 연루되어 있음을 볼 수 있다. 각 CRL4 복합체 초기 연구는 대부분의 경우, 각 기질 수용체의 돌연변이체가 유발하는 특정 형질의

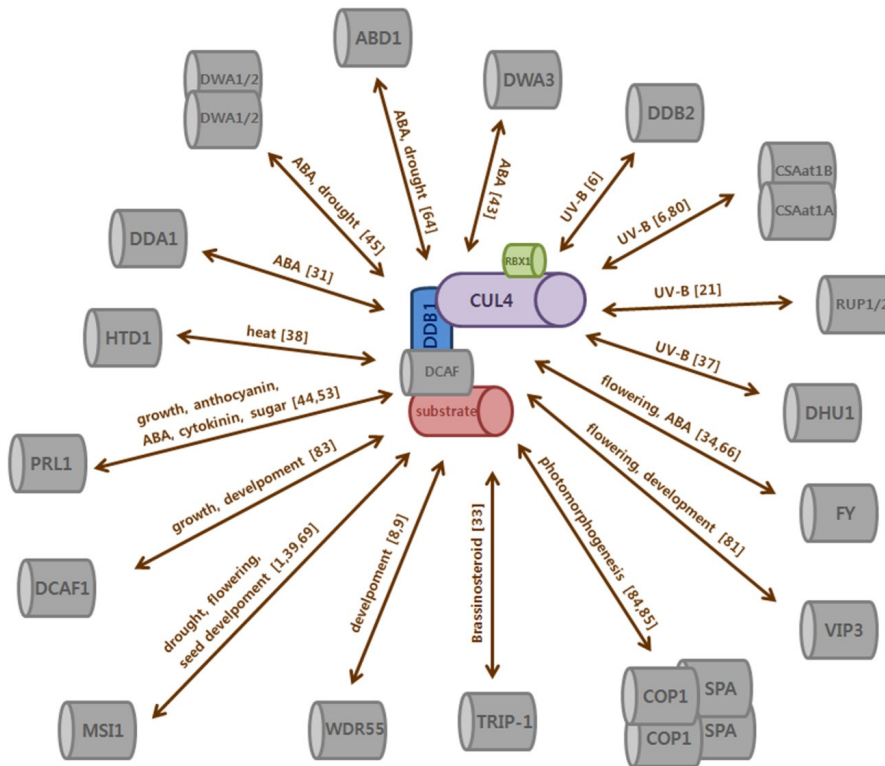


Fig. 3. Currently studied DCAF proteins and their involvement in various physiological events during plant life cycle.

변화를 추적함으로써 이루어지고 있다. 이러한 초기 접근은 각 기질 수용체가 식물의 다양한 이벤트 중 어떠한 부분과 관여되어 그 역할을 수행하는지를 밝히는 데는 유용하지만, 해당 단백질의 세포 내 세부 작용 기작을 명확히 규명하는 데는 한계점을 노출한다. 이에 다음 단계의 연구로서 해당 단백질과 상호작용을 보이는 기질을 찾기 위한 yeast two hybrid 스크리닝, 면역친화 크로마토그래피 등의 수행이 요구된다. 해당 실험 기법이 단백질 결합 파트너를 찾는 데 매우 유용함에도 불구하고, 분석 과정을 위해 많은 시간과 비용이 소요되므로 이를 극복하기 위해서는 Arabidopsis Interactions Viewer 등을 통한 결합 단백질 후보군 선별, CressExpress 등을 통한 coexpression data 분석을 통해 잠재적인 기질 후보군을 압축하는 작업이 병행될 필요가 있다.

본 총설을 통해 정형화·비정형화된 CRL4의 구조 및 현재까지 보고된 CRL4 복합체의 기질 수용체들과 이들의 세포 내 세부 역할과의 기능적 연계성을 살펴보았다. 각 기질 수용체의 세부적 역할 탐색을 통한 전체 CRL4 복합체 네트워크의 작용 기작 규명 및 이들간의 cross-talk에 대한 추적은 유비퀴틴에이션 과정의 가장 큰 부분을 담당하는 CRL 복합체의 기능을 보다 상세히 이해하는데 공헌할 것이라 사료된다.

감사의 글

이 논문은 부산대학교 기본연구지원사업(2년)에 의하여 연구되었음.

References

- Alexandre, C., Möller-Steinbach, Y., Schönrock, N., Gruissem, W. and Hennig, L. 2009. Arabidopsis MSI1 is required for negative regulation of the response to drought stress. *Mol. Plant* **2**, 675-687.
- Angers, S., Li, T., Yi, X., MacCoss, M. J., Moon, R. T. and Zheng, N. 2006. Molecular architecture and assembly of the DDB1-CUL4A ubiquitin ligase machinery. *Nature* **443**, 590-593.
- Bernhardt, A., Lechner, E., Hano, P., Schade, V., Dieterle, M., Anders, M., Dubin, M. J., Benvenuto, G., Bowler, C., Genschik, P. and Hellmann, H. 2006. CUL4 associates with DDB1 and DET1 and its downregulation affects diverse aspects of development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* **47**, 591-603.
- Bernhardt, A., Mooney, S. and Hellmann, H. 2010. Arabidopsis DDB1a and DDB1b are critical for embryo development. *Planta* **232**, 555-566.
- Bhalerao, R. P., Salchert, K., Bakó, L., Okrészl, L., Szabados, L., Muranaka, T., Machida, Y., Schell, J. and Koncz, C. 1999. Regulatory interaction of PRL1 WD protein with Arabidopsis SNF1-like protein kinases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 5322-5327.
- Biedermann, S. and Hellmann, H. 2010. The DDB1a interacting proteins ATCSA-1 and DDB2 are critical factors for UV-B tolerance and genomic integrity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* **62**, 404-415.
- Biedermann, S. and Hellmann, H. 2011. WD40 and CUL4-based E3 ligases: lubricating all aspects of life. *Trends Plant Sci.* **16**, 38-46.
- Bjerkan, K. N. and Grini, P. E. 2013. The Arabidopsis DDB1 interacting protein WDR55 is required for vegetative development. *Plant Signal. Behav.* **8**, e25347.
- Bjerkan, K. N., Jung-Roméo, S., Jürgens, G., Genschik, P., Grini, P. E. 2012. Arabidopsis WD repeat domain55 Interacts with DNA damaged binding protein1 and is required for apical patterning in the embryo. *Plant Cell* **24**, 1013-1033.
- Bulatov, E. and Ciulli, A. 2015. Targeting Cullin-ring E3 ubiquitin ligases for drug discovery: structure, assembly and small-molecule modulation. *Biochem. J.* **467**, 365-386.
- Chen, H., Shen, Y., Tang, X., Yu, L., Wang, J., Guo, L., Zhang, Y., Zhang, H., Feng, S., Strickland, E., Zheng, N. and Deng, X. W. 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.
- Chu, G. and Chang, E. 1988. Xeroderma pigmentosum group E cells lack a nuclear factor that binds to damaged DNA. *Science* **242**, 564-567.
- Dharmasiri, S., Dharmasiri, N., Hellmann, H. and Estelle, M. 2003. The RUB/Nedd8 conjugation pathway is required for early development in *Arabidopsis*. *EMBO J.* **22**, 1762-1770.
- Dohmann, E. M., Kuhnle, C. and 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. and Callis, J. 2007. Ubiquitin, hormones and biotic stress in plants. *Ann. Bot.* **99**, 787-822.
- Dumbliuskas, E., Lechner, E., Jaciubek, M., Berr, A., Pazhouhandeh, M., Alioua, M., Cognat, V., Brukhin, V., Koncz, C., Grossniklaus, U., Molinier, J. and Genschik, P. 2011. The Arabidopsis CUL4-DDB1 complex interacts with MSI1 and is required to maintain MEDEA parental imprinting. *EMBO J.* **30**, 731-743.
- Elsasser, S., Gali, R. R., Schwickart, M., Larsen, C. N., Leggett, D. S., Muller, B., Feng, M. T., Tubing, F., Dittmar, G. A. and Finley, D. 2002. Proteasome subunit Rpn1 binds ubiquitin-like protein domains. *Nat. Cell Biol.* **4**, 725-730.
- Feng, S., Shen, Y., Sullivan, J. A., Rubio, V., Xiong, Y., Sun, T. P. and Deng, X. W. 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.
- Ganpudi, A. L. and Schroeder, D. F. 2013. Genetic interactions of Arabidopsis thaliana damaged DNA binding protein 1B (DDB1B) with DDB1A, DET1, and COP1. *Genes Genom. Genet.* **3**, 493-503.
- Gingerich, D. J., Gagne, J. M., Salter, D. W., Hellmann, H., Estelle, M., Ma, L. and Vierstra, R. D. 2005. Cullins 3a and 3b assemble with members of the broad complex/tram-

- track/bric-a-brac (BTB) protein family to form essential ubiquitin-protein ligases (E3s) in *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* **280**, 18810-18821.
21. Gruber, H., Heijde, M., Heller, W., Albert, A., Seidlitz, H. K. and Ulm, R. 2010. Negative feedback regulation of UV-B-induced photomorphogenesis and stress acclimation in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 20132-20137.
 22. Guitton, A. E., Page, D. R., Chambrier, P., Lionnet, C., Faure, J. E., Grossniklaus, U. and Berger, F. 2004. Identification of new members of Fertilisation Independent Seed Polycomb group pathway involved in the control of seed development in *Arabidopsis thaliana*. *Development* **131**, 2971-2981.
 23. Gusmaroli, G., Feng, S. and Deng, X. W. 2004. The *Arabidopsis* CSN5A and CSN5B subunits are present in distinct COP9 signalosome complexes, and mutations in their JAMM domains exhibit differential dominant negative effects on development. *Plant Cell* **16**, 2984-3001.
 24. Haglund, K., Di Fiore, P. P. and Dikic, I. 2003. Distinct monoubiquitin signals in receptor endocytosis. *Trends Biochem. Sci.* **28**, 598-603.
 25. He, Y. J., McCall, C. M., Hu, J., Zeng, Y. and Xiong, Y. 2006. DDB1 functions as a linker to recruit receptor WD40 proteins to CUL4-ROC1 ubiquitin ligases. *Genes Dev.* **20**, 2949-2954.
 26. Heijde, M. and Ulm, R. 2013. Reversion of the *Arabidopsis* UV-B photoreceptor UVR8 to the homodimeric ground state. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **110**, 1113-1118.
 27. Higa, L. A., Wu, M., Ye, T., Kobayashi, R., Sun, H. and Zhang, H. 2006. CUL4-DDB1 ubiquitin ligase interacts with multiple WD40-repeat proteins and regulates histone methylation. *Nat Cell Biol.* **8**, 1277-1283.
 28. Hotton, S. K. and Callis, J. 2008. Regulation of cullin Ring ligases. *Annu. Rev. Plant Biol.* **59**, 467-489.
 29. Huang, T. T. and D'Andrea, A. D. 2006. Regulation of DNA repair by ubiquitylation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 323-334.
 30. Husnjak, K., Elsasser, S., Zhang, N., Chen, X., Randles, L., Shi, Y., Hofmann, K., Walters, K. J., Finley, D. and Dikic, I. 2008. Proteasome subunit Rpn13 is a novel ubiquitin receptor. *Nature* **453**, 481-488.
 31. Irigoyen, M. L., Iniesto, E., Rodriguez, L., Puga, M. I., Yanagawa, Y., Pick, E., Strickland, E., Paz-Ares, J., Wei, N., De Jaeger, G., Rodriguez, P. L., Deng, X. W. and Rubio, V. 2014. Targeted degradation of abscisic acid receptors is mediated by the ubiquitin ligase substrate adaptor DDA1 in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **26**, 712-728.
 32. Jenkins, G. I. 2014. The UV-B photoreceptor UVR8: from structure to physiology. *Plant Cell* **26**, 21-37.
 33. Jiang, J. and Clouse, S. D. 2001. Expression of a plant gene with sequence similarity to animal TGF- β receptor interacting protein is regulated by brassinosteroids and required for normal plant development. *Plant J.* **26**, 35-45.
 34. Jiang, S., Kumar, S., Eu, Y. J., Jami, S. K., Stasolla, C. and Hill, R. D. 2012. The *Arabidopsis* mutant, *fy-1*, has an ABA-insensitive germination phenotype. *J. Exp. Bot.* **63**, 2693-2703.
 35. Jin, J., Arias, E. E., Chen, J., Harper, J. W. and Walter, J. C. 2006. A family of diverse Cul4-Ddb1-interacting proteins includes Cdt2, which is required for S phase destruction of the replication factor Cdt1. *Mol. Cell* **23**, 709-721.
 36. Kim, I., Mi, K. and Rao, H. 2004. Multiple interactions of rad23 suggest a mechanism for ubiquitylated substrate delivery important in proteolysis. *Mol. Biol. Cell* **15**, 3357-3365.
 37. Kim, S. H., Kim, H., Seo, K. I., Kim, S. H., Chung, S., Huang, X., Yang, P., Deng, X. W. and Lee, J. H. 2014. DWD hypersensitive to UV-B 1 is negatively involved in UV-B mediated cellular responses in *Arabidopsis*. *Plant Mol. Biol.* **86**, 571-583.
 38. Kim, S. H., Lee, J. H., Seo, K. I., Ryu, B., Sung, Y., Chung, T., Deng, X. W. and Lee, J. H. 2014. Characterization of a Novel DWD protein that participates in heat stress response in *Arabidopsis*. *Mol. Cells* **7**, 833-840.
 39. Köhler, C., Hennig, L., Bouveret, R., Gheyselinck, J., Grossniklaus, U. and Grissem, W. 2003. *Arabidopsis* MSI1 is a component of the MEA/FIE Polycomb group complex and required for seed development. *EMBO J.* **22**, 4804-4814.
 40. Lau, O. S., Huang, X., Charron, J. B., Lee, J. H., Li, G. and Deng, X. W. 2011. Interaction of *Arabidopsis* DET1 with CCA1 and LHY in mediating transcriptional repression in the plant circadian clock. *Mol. Cell* **43**, 703-712.
 41. Lee, J. and Zhou, P. 2007. DCAFs, the missing link of the CUL4-DDB1 ubiquitin ligase. *Mol. Cell* **26**, 775-780.
 42. Lee, J. H. and Kim, W. T. 2011. Regulation of abiotic stress signal transduction by E3 ubiquitin ligases in *Arabidopsis*. *Mol. Cells* **31**, 201-208.
 43. Lee, J. H., Terzaghi, W. and Deng, X. W. 2011. DWA3, an *Arabidopsis* DWD protein, acts as a negative regulator in ABA signal transduction. *Plant Sci.* **180**, 352-357.
 44. Lee, J. H., Terzaghi, W., Gusmaroli, G., Charron, J. B., Yoon, H. J., Chen, H., He, Y. J., Xiong, Y. and Deng, X. W. 2008. Characterization of *Arabidopsis* and rice DWD proteins and their roles as substrate receptors for CUL4-ring E3 ubiquitin ligases. *Plant Cell* **20**, 152-167.
 45. Lee, J. H., Yoon, H. J., Terzaghi, W., Martinez, C., Dai, M., Li, J., Byun, M. O. and Deng, X. W. 2010. DWA1 and DWA2, two *Arabidopsis* DWD protein components of CUL4-based E3 ligases, act together as negative regulators in ABA signal transduction. *Plant Cell* **22**, 1716-1732.
 46. Li, T., Chen, X., Garbutt, K. C., Zhou, P. and Zheng, N. 2006. Structure of DDB1 in complex with a paramyxovirus V protein: viral hijack of a propeller cluster in ubiquitin ligase. *Cell* **124**, 105-117.
 47. Li, T., Robert, E. L., van Breugel, P. C., Strubin, M. and Zheng, N. 2010. A promiscuous alpha-helical motif anchors viral hijackers and substrate receptors to the CUL4-DDB1 ubiquitin ligase machinery. *Nat. Struct. Mol. Biol.* **17**, 105-111.
 48. Liu, H. and Stone, S. L. 2010. Abscisic acid increases *Arabidopsis* ABI5 transcription factor levels by promoting KEG E3 ligase self-ubiquitination and proteasomal degradation. *Plant Cell* **22**, 2630-2641.
 49. Liu, H. and Stone, S. L. 2013. Cytoplasmic degradation of the *Arabidopsis* transcription factor abscisic acid insensitive 5 is mediated by the ring-type E3 ligase Keep on going. *J. Biol. Chem.* **288**, 20267-20279.

50. Marrocco, K., Thomann, A., Parmentier, Y., Genschik, P. and Criqui, M. C. 2009. The APC/C E3 ligase remains active in most post-mitotic *Arabidopsis* cells and is required for proper vasculature development and organization. *Development* **136**, 1475-1485.
51. Moser, J., Volker, M., Kool, H., Alekseev, S., Vrieling, H., Yasui, A., van Zeeland, A. A. and Mullenders, L. H. 2005. The UV-damaged DNA binding protein mediates efficient targeting of the nucleotide excision repair complex to UV-induced photo lesions. *DNA Repair* **4**, 571-582.
52. Mukhopadhyay, D. and Riezman, H. 2007. Proteasome-independent functions of ubiquitin in endocytosis and signaling. *Science* **315**, 201-205.
53. Németh, K., Salchert, K., Putnoky, P., Bhalerao, R., Koncz-Kálmán, Z., Stankovic-Stangeland, B., Bakó, L., Mathur, J., Okrész, L., Stabel, S., Geigenberger, P., Stitt, M., Rédei, G. P., Schell, J. and Koncz, C. 1998. Pleiotropic control of glucose and hormone responses by PRL1, a nuclear WD protein, in *Arabidopsis*. *Genes Dev.* **12**, 3059-3073.
54. Olzman, J. A. and Chin, L. S. 2008. Parkin-mediated K63-linked polyubiquitination: a signal for targeting misfolded proteins to the aggresome-autophagy pathway. *Autophagy* **4**, 85-87.
55. Osterlund, M. T., Hardtke, C. S., Wei, N. and Deng, X. W. 2000. Targeted destabilization of HY5 during light-regulated development of *Arabidopsis*. *Nature* **405**, 462-466.
56. Pepper, A., Delaney, T., Washburn, T., Poole, D. and Chory, J. 1994. DET1, a negative regulator of light-mediated development and gene expression in *Arabidopsis*, encodes a novel nuclear-localized protein. *Cell* **78**, 109-116.
57. Petroski, M. D. and Deshaies, R. J. 2005. Function and regulation of cullin-ring ubiquitin ligases. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **6**, 9-20.
58. Pickart, C. M. 2001. Mechanisms underlying ubiquitination. *Annu. Rev. Biochem.* **70**, 503-533.
59. Piper, R. C. and Lehner, P. 2011. Endosomal transportation via ubiquitination. *Trends Cell Biol.* **21**, 647-655.
60. Saijo, Y., Sullivan, J. A., Wang, H., Yang, J., Shen, Y., Rubio, V., Ma, L., Hoecker, U. and Deng, X. W. 2003. The COP1-SPA1 interaction defines a critical step in phytochrome A-mediated regulation of HY5 activity. *Genes Dev.* **17**, 2642-2647.
61. Salmena, L. and Pandolfi, P. P. 2007. Changing venues for tumour suppression: balancing destruction and localization by monoubiquitylation. *Nat. Rev. Cancer* **7**, 409-413.
62. Sarikas, A., Hartmann, T. and Pan, Z. Q. 2011. The cullin protein family. *Genome Biol.* **12**, 220.
63. Seo, H. S., Yang, J. Y., Ishikawa, M., Bolle, C., Ballesteros, M. L. and Chua, N. H. 2003. LAF1 ubiquitination by COP1 controls photomorphogenesis and is stimulated by SPA1. *Nature* **423**, 995-999.
64. Seo, K. I., Lee, J. H., Nezames, C. D., Zhong, S., Song, E., Byun, M. O. and Deng, X. W. 2014. ABD1 is an *Arabidopsis* DCAF substrate receptor for CUL4-DDB1-based E3 ligases that acts as a negative regulator of abscisic acid signaling. *Plant Cell* **26**, 695-711.
65. Shi, H., Wang, X., Mo, X., Tang, C., Zhong, S. and Deng, X. W. 2015. *Arabidopsis* DET1 degrades HFR1 but stabilizes PIF1 to precisely regulate seed germination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **112**, 3817-3822.
66. Simpson, G. G., Dijkwel, P. P., Quesada, V., Henderson, I. and Dean, C. 2003. FY is an RNA 3' end-processing factor that interacts with FCA to control the *Arabidopsis* floral transition. *Cell* **113**, 777-787.
67. Smalle, J. and Vierstra, R.D. 2004. The ubiquitin 26S proteasome proteolytic pathway. *Annu. Rev. Plant Biol.* **55**, 555-590.
68. Spratt, D. E., Walden, H. and Shaw, G. S. 2014. RBR E3 ubiquitin ligases: new structures, new insights, new questions. *Biochem. J.* **458**, 421-437.
69. Steinbach, Y. and Hennig, L. 2014. *Arabidopsis* MSI1 functions in photoperiodic flowering time control. *Front. Plant Sci.* **5**, 77.
70. Stone, S. L., Hauksdóttir, H., Troy, A., Herschleb, J., Kraft, E. and Callis, J. 2005. Functional analysis of the RING-type ubiquitin ligase family of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **137**, 13-30.
71. Stone, S. L., Williams, L. A., Farmer, L. M., Vierstra, R. D. and Callis, J. 2006. Keep on going, a ring E3 ligase essential for *Arabidopsis* growth and development, is involved in abscisic acid signaling. *Plant Cell* **18**, 3415-3428.
72. Suzuki, G., Yanagawa, Y., Kwok, S. F., Matsui, M. and Deng, X. W. 2002. *Arabidopsis* COP10 is a ubiquitin-conjugating enzyme variant that acts together with COP1 and the COP9 signalosome in repressing photomorphogenesis. *Genes Dev.* **16**, 554-559.
73. Vierstra, R. D. 2009. The ubiquitin-26S proteasome system at the nexus of plant biology. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **10**, 385-397.
74. Wei, N., Kwok, S. F., von Arnim, A. G., Lee, A., McNellis, T. W., Piekos, B. and Deng, X. W. 1994. *Arabidopsis* COP8, COP10, and COP11 genes are involved in repression of photomorphogenic development in darkness. *Plant Cell* **6**, 629-643.
75. Wiborg, J., O'Shea, C. and Skriver, K. 2008. Biochemical function of typical and variant *Arabidopsis thaliana* U-box E3 ubiquitinprotein ligases. *Biochem. J.* **413**, 447-457.
76. Xu, G., Ma, H., Nei, M. and Kong, H. 2009. Evolution of F-box genes in plants: different modes of sequence divergence and their relationships with functional diversification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 835-840.
77. Yanagawa, Y., Sullivan, J. A., Komatsu, S., Gusmaroli, G., Suzuki, G., Yin, J., Ishibashi, T., Saijo, Y., Rubio, V., Kimura, S. and Wang, J. and Deng, X. W. 2004. *Arabidopsis* COP10 forms a complex with DDB1 and DET1 *in vivo* and enhances the activity of ubiquitin conjugating enzymes. *Genes Dev.* **18**, 2172-2181.
78. Yee, D. and Goring, D. R. 2009. The diversity of plant U-box E3 ubiquitin ligases: from upstream activators to downstream target substrates. *J. Exp. Bot.* **60**, 1109-1121.
79. Young, P., Deveraux, Q., Beal, R. E., Pickart, C. M. and Rechsteiner, M. 1998. Characterization of two polyubiquitin binding sites in the 26 S protease subunit 5a. *J. Biol. Chem.*

- 273, 5461-5467.
80. Zhang, C., Guo, H., Zhang, J., Guo, G., Schumaker, K. S. and Guo, Y. 2010. *Arabidopsis* cockayne syndrome A-like proteins 1A and 1B form a complex with CULLIN4 and damage DNA binding protein 1A and regulate the response to UV irradiation. *Plant Cell* **22**, 2353-2369.
81. Zhang, H., Ransom, C., Ludwig, P. and van Nocker, S. 2003. Genetic analysis of early flowering mutants in *Arabidopsis* defines a class of pleiotropic developmental regulator required for expression of the flowering-time switch flowering locus C. *Genetics* **164**, 347-358.
82. Zhang, W., Ito, H., Quint, M., Huang, H., Noël, L. D. and Gray, W. M. 2008. Genetic analysis of CAND1-CUL1 interactions in *Arabidopsis* supports a role for CAND1-mediated cycling of the SCFTIR1 complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **105**, 8470-8475.
83. Zhang, Y., Feng, S., Chen, F., Chen, H., Wang, J., McCall, C., Xiong, Y. and Deng, X. W. 2008. *Arabidopsis* DDB1-CUL4 Associated factor1 forms a nuclear E3 ubiquitin ligase with DDB1 and CUL4 that is involved in multiple plant developmental processes. *Plant Cell* **20**, 1437-1455.
84. Zhu, D., Maier, A., Lee, J. H., Laubinger, S., Saijo, Y., Wang, H., Qu, L. J., Hoecker, U. and Deng, X. W. 2008. Biochemical characterization of *Arabidopsis* complexes containing constitutively photomorphogenic1 and suppressor of phy proteins in light control of plant development. *Plant Cell* **20**, 2307-2323.
85. Zhu, L., Bu, Q., Xu, X., Paik, I., Huang, X., Hoecker, U., Deng, X. W. and Huq, E. 2015. CUL4 forms an E3 ligase with COP1 and SPA to promote light-induced degradation of PIF1. *Nat. Commun.* **6**, 7245.

초록 : 식물 CRL4 복합체의 구조, 기능 및 식물 세포 내 다양한 이벤트와의 연계성

이재훈*

(부산대학교 사범대학 생물교육과)

번역 후 변형 과정은 외부 자극으로부터 세포의 신속한 반응을 야기하는데 있어서 매우 효율적인 기작이다. 이 중, 유비퀴티네이션은 진핵생물 내 대표적인 번역 후 변형 과정으로서, 이러한 유비퀴티네이션에 의해 매개되는 UPS (유비퀴틴/프로테아좀 시스템)는 세포 내 다양한 단백질들의 분해과정을 통해 그들의 안정성을 조절한다. 유비퀴티네이션 과정에 참여하는 3종류의 효소 중에서, E3 효소는 분해할 대상 기질을 결정한다는 면에서 그 중요성을 가지고 있다. CRL (cullin - RING E3 ubiquitin ligase)은 E3 효소 중 가장 거대한 그룹을 형성하고 있는데, 이들은 생체 내에서 cullin, RBX1, 어댑터, 기질 수용체로 이루어진 복합체의 형태로서 그 기능을 발휘한다. 이 중, SCF 복합체로도 알려진 CRL1 복합체의 기능은 다양한 연구를 통해 광범위하게 알려져 온 반면, CRL4 복합체에 대한 연구 및 고찰은 상대적으로 미흡한 실정이다. 또한, 예기장대는 DCAF로 명명된 잠재적 기질 수용체를 총 119개 보유하고 있는데, 현재까지 이들 중 일부 기질 수용체들의 기능만이 밝혀진 상태로서, 나머지 기질 수용체들의 기능 규명은 향후 활발히 탐색되어야 할 연구분야라 할 수 있다. 본 총설에서는 식물의 CRL4 복합체의 구조 및 활성 조절을 알아보고, 각 CRL4 복합체가 관여하는 다양한 식물 내 이벤트에 관하여 최근까지 보고된 CRL4 기질 수용체들을 중심으로 그 연구 진행 사항을 업데이트하고자 한다. 이러한 접근은 각 CRL4 복합체가 기능하는 식물의 다양한 신호 전달 기작들을 보다 명확히 이해하고, 향후 전체 CRL4 복합체의 작용 네트워크를 구축하는데 있어 도움이 될 것으로 사료된다.