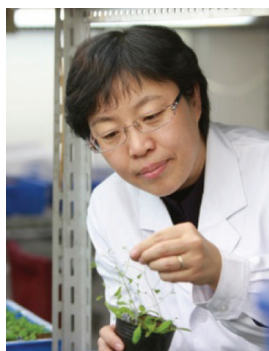


DOI: 10.13376/j.cblls/2015047

文章编号: 1004-0374(2015)03-0351-12



曹晓风, 植物表观遗传学家, 现任中国科学院遗传与发育生物学研究所研究员, 植物基因组学国家重点实验室副主任。入选中科院“百人计划”和中组部“万人计划”第一批百千万工程领军人才, 国家杰出青年基金获得者。先后担任中国科学院“创新团队国际合作伙伴计划”、国家自然科学基金委创新研究群体项目和科技部“973”重大科学研究计划项目首席科学家。担任《中国科学: 生命科学》副主编, *Curr Opin Plant Biol*、*Plant Cell*、*Biochem J* 和 *J Genet Genomics* 等英文期刊编委。先后获得美国杜邦青年科学家奖和中国青年女科学家奖。

课题组长期以模式植物拟南芥和水稻为材料, 从事植物表观遗传关键因子的鉴定及调控植物发育和维持基因组稳定性的分子机理研究。实验室采用生物化学、遗传学和基因组学等手段, 一方面研究高等植物中组蛋白甲基化和去甲基化的生化特性、在全基因组作用的靶位点及其影响植物发育和转座子稳定性的分子机制, 另一方面研究蛋白质精氨酸甲基化在转录后水平调控拟南芥开花的分子机制。此外, 课题组还研究水稻小分子 RNA 产生和作用的途径, 阐明了转录后调控在水稻杂种优势利用中温敏不育系产生的机制。

蛋白质精氨酸甲基化参与基因转录后调控的研究进展

侯毅枫^{1,2}, 邓 娴¹, 陆天聪¹, 张 勇¹, 曹晓风^{1*}

(1 中国科学院遗传与发育生物学研究所植物基因组学国家重点实验室, 北京 100101;

2 山东农业大学生命科学学院作物生物学国家重点实验室, 泰安 271018)

摘 要: 蛋白质精氨酸甲基化是真核生物中一种广泛存在并在进化上保守的蛋白质翻译后修饰, 由蛋白质精氨酸甲基转移酶 (PRMT) 催化完成。动物中的研究表明, PRMT 通过催化多种 RNA 结合蛋白的精氨酸甲基化而参与调控细胞多种重要的生命过程, 如 RNA 代谢、细胞增殖以及信号转导等。概述真核生物中精氨酸甲基化对不同的 RNA 结合蛋白的功能调控, 并重点阐述该翻译后修饰在转录后加工过程中的重要作用; 介绍高等植物拟南芥中蛋白质精氨酸甲基转移酶参与转录后调控的最新研究进展, 并对精氨酸甲基化修饰参与调控植物 RNA 结合蛋白的功能及今后可能的研究方向进行讨论。

关键词: 蛋白质精氨酸甲基转移酶; 转录后加工; RNA 结合蛋白

中图分类号: Q555; Q75 文献标志码: A

Research progress of protein arginine methylation in post-transcriptional regulation

HOU Yi-Feng^{1,2}, DENG Xian¹, LU Tian-Cong¹, ZHANG Yong¹, CAO Xiao-Feng^{1*}

(1 State Key Laboratory of Plant Genomics and National Center for Plant Gene Research, Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 2 State Key Laboratory of Crop Biology,

收稿日期: 2015-01-16

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (31330020); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31200900)

*通信作者: E-mail: xfcao@genetics.ac.cn; Tel: 010-64806631

College of Life Sciences, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: Protein arginine methylation, one of the most abundant and evolutionarily conserved post-translational modifications, is catalyzed by the protein arginine methyltransferases (PRMTs). In mammals, by methylating multiple RNA binding proteins (RBPs), PRMTs are involved in various key biological processes, such as RNA processing, cellular proliferation, and signal transduction. Here we overview the regulation by arginine methylation on different RNA binding proteins, and the essential role for arginine methylation in post-transcriptional regulation. In addition, we summarize recent studies on *Arabidopsis* protein arginine methyltransferases (AtPRMTs). Potential research directions of arginine methylation and RBPs in plants are also discussed.

Key words: protein arginine methyltransferases (PRMTs); post-transcriptional processing; RNA binding protein (RBP)

蛋白质精氨酸甲基化是真核生物中一种广泛存在且相对保守的蛋白质翻译后修饰 (post-translational modification, PTM)^[1]。在大鼠的肝细胞核中, 有近 2% 的蛋白质精氨酸残基具有双甲基化修饰^[2]。动物中的研究表明, 蛋白质精氨酸甲基化修饰参与多种重要的细胞生命过程, 包括转录调控、染色质重塑、RNA 代谢、蛋白质核质穿梭、信号转导、细胞凋亡等^[3]。

蛋白质精氨酸甲基化由一类被称为蛋白质精氨酸甲基转移酶 (protein arginine methyltransferase, PRMT) 的蛋白家族催化完成, 它们能够甲基化组蛋白和多种非组蛋白 (包括 RNA 结合蛋白, RNA-binding protein, RBP)^[3-4]。在哺乳动物细胞核中, 参与 mRNA 代谢过程的 hnRNP (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein) 占据了所有具有双甲基化修饰蛋白的近 65%^[5]。RNA 结合蛋白是一类非常重要的细胞功能调节者, 它们在转录及转录后水平上调控基因表达, 决定各种细胞的分化与增殖的命运, 调控机体的生长与发育, 而 RNA 结合蛋白功能异常与多种人类疾病和肿瘤发生相关^[6]。PRMT 的缺失突变不仅会导致动物严重的生长发育异常, 同时还参与了细胞的癌变与转移, 进一步证明该翻译后修饰在生物体生长发育过程中的重要性^[7]。植物中的研究发现, 蛋白质精氨酸甲基转移酶通过 RNA 转录后水平的调控, 参与多种发育过程和逆境调控, 证明精氨酸甲基化在不同物种中均具有重要功能。

1 精氨酸甲基化概述

1967 年, Paik 和 Kim^[8] 首先发现, 小牛胸腺细胞核蛋白组分的精氨酸含有甲基化官能团修饰。精氨酸为碱性氨基酸, 具有一个带正电荷的胍基, 胍基上含有 5 个潜在的氢键供体, 可以与带负电荷

的分子相结合。精氨酸残基发生甲基化修饰后电荷数不变, 侧链变大, 从而改变了分子构型。此外, 甲基基团的引入会使潜在的氢键供体数目减少, 导致甲基化的精氨酸疏水性增强, 进而影响分子内和分子间的相互作用, 如蛋白质与蛋白质之间、蛋白质与核酸之间的相互作用以及蛋白质的结构和稳定性等, 最终影响被修饰蛋白质的生物学功能^[3,9-10]。

目前对于精氨酸甲基化的催化机制研究比较清楚, 根据精氨酸 ω - 胍基氮原子上甲基基团的位置和数量, 将精氨酸甲基化分为 3 种类型: (1) 精氨酸单甲基化 (monomethylarginine, MMA), 即只有一个甲基基团位于 ω - 胍基氮原子上; (2) 精氨酸对称性双甲基化 (symmetric di-methylarginine, SDMA), 两个甲基基团分别位于两个不同的 ω - 胍基氮原子上; (3) 精氨酸非对称性双甲基化 (asymmetric di-methylarginine, ADMA), 两个甲基基团位于同一个 ω - 胍基氮原子上^[11-12]。

2 蛋白质精氨酸甲基转移酶及其底物概述

2.1 蛋白质精氨酸甲基转移酶及其分类

蛋白质精氨酸甲基化修饰由 PRMT 蛋白家族催化完成, PRMT 以 S-腺苷甲硫氨酸 (S-adenosyl-L-methionine, AdoMet/SAM) 为甲基供体, 将其上的甲基基团转移到精氨酸的胍基氮原子上。根据甲基基团转移到氮原子上的位置和数量, 可以将 PRMT 分为以下 4 种类型。I 型 PRMT 催化形成 ω - 精氨酸单甲基化 (MMA) 和非对称性精氨酸双甲基化 (ADMA), II 型 PRMT 催化形成 ω - 精氨酸单甲基化 (MMA) 和对称性精氨酸双甲基化 (SDMA)。最近的研究发现, ADMA 和 SDMA 之间可以相互转换^[13]。III 型 PRMT 只能催化形成 ω - 精氨酸单甲基化 (MMA); 而 IV 型 PRMT 只在酵母中有报道, 负

责催化形成 δ -精氨酸单甲基化 (δ -MMA)^[7]。

PRMT 在进化上相对保守, 从单细胞真核生物酵母到高等动、植物中都广泛存在^[1,11]。迄今为止, 人类中已经报道了 11 个 PRMT 家族成员 (PRMT1~11)^[7], 其中 PRMT1、PRMT2、PRMT3、PRMT4/CARM1、PRMT6 和 PRMT8 属于 I 型蛋白质精氨酸甲基转移酶; PRMT2、PRMT5、PRMT7 和 PRMT9 (FBXO11) 属于 II 型酶, 而 PRMT10 和 PRMT11 (FBXO10) 的甲基转移酶活性还未见报道^[14]。蛋白质序列比对结果表明, 这 11 个 PRMT 都具有保守的催化功能域, 包括基序 (motif) I、post-I、基序 II 和基序 III 以及 “double E” 和 THW loop^[15]。PRMT9 的 I、post-I、II 和 III 基序相似性与其他几个 PRMT 相比要低, 并且没有 THW loop^[16]。PRMT7 和 PRMT10 具有两个催化功能域^[17]。这些不同的 PRMT 成员具有额外的 N 端或者 C 端, 从而在功能上得以区分, 如 PRMT2、PRMT3 和 PRMT8 分别具有 SH3、锌指以及肉豆蔻酰基化 (myristoylation) 结构域; PRMT4 有一段独特的 C 端区域; 而 PRMT9 和 PRMT11 分别具有一个参与蛋白质相互作用的 F-box。尽管对这些 N 端和 C 端结构域的功能还不完全了解, 但若将这些结构域删除会导致 PRMT 稳定性及酶活性降低^[18-19]。

2.2 主要的 I 型酶 PRMT1 和 II 型酶 PRMT5

PRMT1 是哺乳动物中最主要的 I 型酶。在大鼠成纤维细胞和老鼠肝脏中, PRMT1 的酶活性占总蛋白质精氨酸甲基转移酶活性的 85% 左右^[20]。PRMT1 是通过酵母双杂交作为与 TIS21 和 BTG1 的相互作用蛋白被筛选出来^[21]。之后的研究发现, PRMT1 作为核受体辅助激活因子 (coactivator) 通过催化组蛋白 H4R3 的甲基化来激活相应靶位点的转录^[22-23]。PRMT1 在细胞质和细胞核中广泛存在^[24], 通过甲基化组蛋白和多种非组蛋白而参与了转录、DNA 损伤修复、蛋白质定位和信号转导等多个生命过程^[17]。

PRMT5 是目前发现的最主要的 II 型蛋白质精氨酸甲基转移酶, 催化对称性精氨酸双甲基化的形成。PRMT5 是通过酵母双杂交筛选作为与 Janus tyrosine kinase 2 (Jak2) 相互作用的蛋白质获得的^[25]。动物中的研究表明, PRMT5 在细胞质和细胞核中都有定位, 参与多种复合体的形成。在细胞质中, PRMT5 存在于甲基小体 (methylosome) 中, 通过甲基化拼接小体核心组分 Sm 蛋白 (SmB/B'、D1 和

D3), 从而影响小核核糖核蛋白颗粒 (small nuclear ribonucleoprotein, snRNP) 的装配^[26]; 在细胞核中, PRMT5 能够与多个转录抑制复合体相互作用, 通过甲基化组蛋白 (H2AR3、H3R8 和 H4R3) 和非组蛋白, 从而调节基因的转录^[27-29]。2014 年, Kim 等^[30]研究发现, PRMT5 在原始生殖细胞中通过甲基化 H2AR3 和 H4R3 抑制 LINE1 和 IAP 等转座子的表达, 暗示其在表观重编程过程中具有维持基因组完整性的重要功能。

2.3 PRMT 的底物

目前已发现的多种 PRMT 底物既包括组蛋白也包括大量的非组蛋白: PRMT1 能够甲基化组蛋白 H4, PRMT4/CARM1 能够甲基化组蛋白 H3, PRMT5 能够甲基化组蛋白 H2A、H3 和 H4 等。PRMT 是编写组蛋白密码 (histone code) 的重要成员, 在转录水平上调控基因表达^[31-32]。除了组蛋白之外, PRMT 还可以甲基化富含甘氨酸和精氨酸的 GAR 结构域 (glycine and arginine-rich, GAR) 以及富含脯氨酸、甘氨酸和甲硫氨酸的 PGM 结构域的蛋白质^[33], 如众多不同种类的 RNA 结合蛋白 (RNA binding protein, RBP) 等^[12]。PRMT 底物的多样性也暗示其参与了多种生物学过程的调控。

候选基因^[34-35]、体外筛选^[34]以及蛋白质组学^[36]等方法已成为鉴定、分析 PRMT 体内特异性底物的主要研究策略。根据已知底物催化功能域进行分类, 目前在人类 PRMT 中, PRMT1、PRMT3、PRMT5、PRMT6 和 PRMT8 可以普遍地识别 GAR 结构域。此外, 最新定义的 RG 和 RGG box 也成为以上几个 PRMT 家族成员进行甲基化催化的潜在功能域^[37]。PRMT4/CARM1 比较特殊, 它不识别含有 GAR 结构域的蛋白质, 而是甲基化含有 PGM 结构域 (富含脯氨酸、甘氨酸以及甲硫氨酸) 的底物^[38]; PRMT5 也具有甲基化 PGM 结构域的功能^[39]。2013~2014 年, Feng 等^[40-41]研究表明, PRMT7 主要催化识别底物中的 RxR 结构域。目前已报道的可以被 PRMT 甲基化的几类 RNA 结合蛋白有 hnRNP 蛋白家族、Sm 蛋白家族、PIWI 蛋白、PABP 蛋白家族等^[4,42]。这些 RNA 结合蛋白广泛地参与了 pre-mRNA 的加工、非编码 RNA 的形成及 mRNA 稳定性的调控等过程。PRMT 家族催化上述 RBP 特定位点的精氨酸发生甲基化并影响和调控其生物学功能, 从而参与了转录后水平上基因的表达调控。

2.4 PRMT的晶体结构解析

PRMT 家族成员的蛋白质晶体结构阐明了 PRMT 催化精氨酸甲基化的分子机制。目前, 各物种中已完成结构解析的 PRMT 包括酵母的 Hmt1^[18]、大鼠的 PRMT1^[43]、PRMT3^[19] 和 PRMT4/CARM1^[44]、线虫的 PRMT5^[45] 以及拟南芥的 PRMT10^[46]。PRMT 催化结构上呈现一定的保守性, 中心区域 N 端包含一个经典的 Rossman 折叠和两个 α 螺旋, 这是 AdoMet 的结合位点, 是 PRMT 蛋白家族中最保守的区域; 中心区域的 C 端有一些 β 片层折叠形成一个桶状结构, 这是 PRMT 家族的独特结构, 折叠后与 N 端相对, 由此形成的狭缝为蛋白底物提供了一个结合和催化区域。

PRMT 家族成员比较相似, 可以首尾相连形成稳定的二聚体结构, 并将活性位点包裹在两个单体之间的口袋中。PRMT1 和 PRMT3 口袋周围存在大量的谷氨酸和天冬氨酸, 因此带大量负电, 推测可能与它们识别底物中的 GAR 区域相关, 暗示其催化底物类型的相似性^[19,43]。PRMT4/CARM1 口袋周围电荷分布接近中性^[44]。PRMT5 整体上电荷分布比较均匀, 只是在 N 端 TIM barrel 的表面有部分正电荷, 口袋周围也有一定的正电荷分布, 推测它识别不仅限于 GAR 结构域的底物; 同时, 发现 PRMT5 催化活性中心区域保守的苯丙氨酸所形成的空间位阻对于其特异性地催化对称性双甲基化至关重要^[45]。拟南芥中 AtPRMT10 的晶体结构与动物中 PRMT1 存在一定的差异, 其酶活性位点定位于中心口袋周围, 这种构象可能会影响底物进入酶催化中心。同时, PRMT10 形成具有超长手臂的二聚体结构开放构象, 二聚体结构形成 13Å 的中心口袋, 大于目前已解析的 I 型 PRMT 的中心口袋^[46], 这可能与动植物进化上存在区别以及特异性底物的识别相关。PRMT 结构的解析有利于深入研究不同成员催化特异性底物的分子机制。

2.5 PRMT的突变小鼠表型分析

PRMT 家族成员 (PRMT1~6) 敲除的小鼠突变体都呈现出胚胎发育异常或致死的表型: PRMT1^[47] 和 PRMT5^[48] 基因敲除会导致小鼠胚胎致死, PRMT4/CARM1 基因敲除小鼠在出生后不久便死亡^[49], 暗示该蛋白家族在早期胚胎发育和正常生长发育过程中至关重要^[7]。同时, 癌症相关研究发现, PRMT 成员常常在癌组织中呈现异常表达的状态^[7]。建立 PRMT 功能缺失和过表达动物模型进行系统研究, 对于精氨酸去甲基化酶的发现、相关特异性抑制剂

的研究以及在全基因组水平上 PRMT 家族成员体内功能的解析具有重要的意义。

3 精氨酸甲基化参与转录后调控过程

蛋白质组学研究发现了大量参与 RNA 代谢各个环节的蛋白质或蛋白质复合体存在精氨酸甲基化修饰^[50-51], 暗示了精氨酸甲基化修饰在 RNA 转录后加工调控过程中的重要作用。

3.1 精氨酸甲基化对RBP与RNA结合能力的调控

真核生物中约含有 20 种 hnRNP 蛋白, 这些蛋白质与 RNA 结合, 参与 mRNA 前体的剪接、稳定 RNA 的结构、调控细胞核质间的运输、调节 RNA 的活性等^[52]。从结构特征而言, 一些 hnRNP 除含有 RRM (RNA recognition motif) 或 KH (K homology) 结构域外^[53], 通常还含有辅助结构域, 如 RGG 基序或 GAR 基序^[33,54]。早在 1977 年, 研究人员通过从哺乳动物细胞系中部分纯化 hnRNP 复合体的方法揭示了 hnRNP A 蛋白存在精氨酸双甲基化修饰的现象^[55]。随后, 人们通过体内、外酶活等手段证实了包括 hnRNP A1 在内的许多 hnRNP 都可以发生精氨酸甲基化^[56]。其中, PRMT1 介导了多数 hnRNP 精氨酸甲基化的发生^[57-59]。hnRNP A1 蛋白上位于富含多个 RGG 基序的氨基酸序列区域的 4 个精氨酸可以被甲基化, 这些修饰影响了精氨酸参与的氢键的形成, 导致 hnRNP A1 与单链核苷酸的结合能力降低^[60]。此外, Hubers 等^[61] 研究发现, 被 PRMT4/CARM1 甲基化的 HuD 蛋白与 *p21* mRNA 和 *GAP-43* mRNA 的结合能力减弱; Wei 等^[62] 研究表明, PRMT1 催化的 CNBP 甲基化降低了 CNBP 与 RNA 的结合能力, 推测 RNA 结合蛋白的精氨酸甲基化修饰可以调控其与靶 RNA 的亲合力; 但是, 也有报道表明精氨酸甲基化修饰并未影响酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 中 hnRNP 成员蛋白 Hrp1 (hnRNP-like protein) 与 RNA 的结合能力, Hrp1 结合 RNA 之后抑制了 Hrp1 蛋白精氨酸甲基化的发生^[63], 暗示精氨酸甲基化可能发生在蛋白质与 RNA 互作之前。上述结论均出自体外实验数据, 迄今为止还没有令人信服的体内证据证明 RBP 的精氨酸甲基化对于 RNA 结合能力的调控 (图 1)。

3.2 精氨酸甲基化对mRNA前体加工的调控

2002 年, Boisvert 等^[64] 发现, 在 HeLa 细胞核提取物中加入能够识别对称性双甲基化的抗体 SYM10 会抑制 mRNA 前体拼接, 用甲基化抑制剂处理后的细胞核提取物同样也会抑制 mRNA 前体

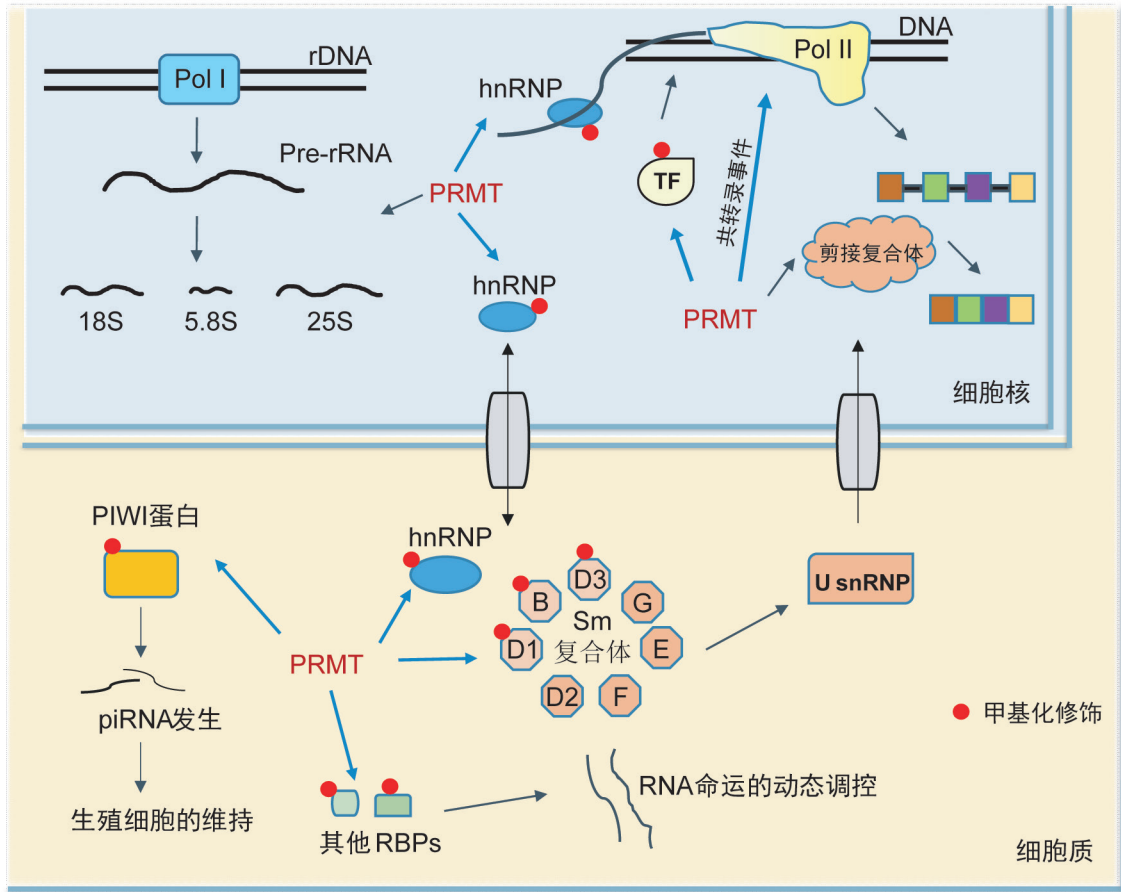


图1 PRMT参与基因转录后调控示意图

拼接, 说明精氨酸甲基化对于 mRNA 前体拼接至关重要。

真核细胞中拼接过程是由拼接小体 (spliceosome) 完成的, 拼接小体是由核内富含尿嘧啶 (U) 的 snRNA (U small nuclear RNA, U snRNA) 以及多种蛋白质组合形成的复合体, 包括 U1、U2、U5、U4/U6 snRNP。其中, Sm 蛋白是 snRNP 中的一组关键的蛋白家族, 由 SmB/B'、SmD1、SmD2、SmD3、SmE、SmF 和 SmG 等 7 个成员组成, 它们通过共同的结构域结合在 U snRNA 上, 在细胞质中组装成一个环状结构的七聚体, 从而完成 RNA 的拼接过程^[65]。大量研究表明, PRMT5 在细胞质内能够与 Sm、pICln 和 MEP50 (WD repeat protein) 形成一个 20S 的甲基化小体 (methylosome)^[66-67]。在这个复合体中, PRMT5 通过对称性双甲基化 U1、U2、U4、U5 snRNP 中的 Sm B/B'、D1 和 D3 以及 U6 snRNP 中特有的 LSm4 (Sm-like 4) 的富含 RG 的区域^[68-69], 促进下游的运动神经元存活蛋白 SMN (survival motor neuron, 一个突变后会导致脊髓性肌

萎缩症 SMA 以及全基因组范围内拼接异常的蛋白^[70]的 Tudor 结构域对 Sm 蛋白的对称性双甲基化修饰进行识别^[71-72]。随后, PRMT5 复合体与 SMN 复合体协同作用, 将 Sm 蛋白运送至 U snRNA 上, 组装后形成 U snRNP; 之后, U snRNP 被运送至细胞核内完成 RNA 前体的剪接^[26,73-74]。因此, PRMT5 对 Sm 蛋白的甲基化能够促进 U snRNP 的组装。

大量体内研究证明了 PRMT5 在调控 mRNA 前体拼接过程中的重要作用。Bezzi 等^[75]发现, 在神经干细胞中选择性敲除 PRMT5 会导致小鼠在出生后不久死亡; 而在分子水平发现, PRMT5 的缺失会导致 Sm 蛋白甲基化水平下降以及组成型和选择性拼接异常, 其中 *Mdm4* 前体 mRNA 的拼接异常会激活 p53 信号通路, 从而引起细胞程序性死亡。Yanovsky 实验室发现果蝇 PRMT5 同源蛋白 DART5 的突变会导致果蝇活动的昼夜节律性减弱; 进一步的分子机制研究发现, *dart5-1* 昼夜节律紊乱与核心时钟基因 *period*、时钟输入基因 *norpA* 以及时钟输

出基因 *takeout (to)* 和 *slowpoke* 的拼接异常相关^[76]。因此, 以上结果暗示了 PRMT5 在调控 mRNA 前体拼接过程中的保守性和重要性 (图 1)。

此外, PRMT4/CARM1 也可以通过酶活方式参与到 mRNA 加工过程。Bedford 实验室研究表明, PRMT4 可以非对称性双甲基化 CA150、SAP49、SmB 和 UIC 等剪切因子 PGM 结构域, 其中 CA150 的甲基化修饰同样对于 SMN 的 Tudor 结构域识别十分重要, RNA 剪切实验证实这种甲基化的缺失将导致外显子跳跃的现象发生^[39]。

3.3 精氨酸甲基化对 piRNA 发生的调控

piRNA (PIWI-interacting RNA) 是一类小型 RNA 分子, 长度为 26~31 nt, 与 Argonaute 蛋白家族的一个分支蛋白 PIWI 相互作用形成 RNA-蛋白质复合物。Siomi 等^[77-78] 研究表明, 在生殖腺细胞 (尤其在精细胞) 中, PIWI 可以通过与 piRNA 形成 Ping-Pong 循环的方式沉默被激活的反转录转座子, 从而维持生殖细胞基因组的稳定性。Kirino 等^[79] 研究发现, PIWI 蛋白具有 N 端 RG/RA 富集特征, 且 PRMT5 能够催化其发生对称性双甲基化, PIWI 家族蛋白的对称性双甲基化水平在 *prmt5* 背景下明显下降, piRNA 产生量在 *prmt5* 突变体中呈现下调趋势, 从而导致反转录转座子 HeT-A 被大量激活。在此过程中, 缺失对称性双甲基化修饰使 PIWI 家族蛋白稳定性下降, 定位发生改变 (图 1)。

动物中的研究发现, PIWI N 端 RG/RA 蛋白结构域的对称性双甲基化能够被含有 Tudor 功能域的蛋白 (TDRD 家族, TDRD1~12) 识别^[79-80], 从而调控其下游功能。尽管这一识别过程与 SMN 的 Tudor 结构域识别精氨酸的对称性双甲基化极为相似, 但一直没有结构生物学的数据支持。直到 2010 年, 连续两项结构生物学的研究揭示了 Tudor 结构域识别精氨酸甲基化修饰的分子机制。果蝇 eTud11^[81] 和人类 TDRD11 (SND1)^[82] 蛋白与对称性双甲基化多肽结合的晶体衍射数据表明, Tudor 结构域主要通过 4 个保守的芳香族氨基酸形成苯环笼状结构以及保守的氢键结构, 从而实现对称性双精氨酸甲基化修饰的识别, 这从结构生物学角度揭示了 PIWI 蛋白的对称性双甲基化在生殖细胞中的重要功能^[80]。

4 精氨酸甲基化与其他修饰协同调控 RBP 功能

不同的表观修饰之间以精细的协同方式确保正确执行各自的生物学功能^[83]。例如, 在酿酒酵母中发现精氨酸甲基化可以与磷酸化修饰相互作用, 共

同调控 hnRNP 类蛋白 Npl3 与核转运受体 Mtr10p 的互作, 最终决定了 Npl3 的细胞核定位^[84-85]。hnRNP K 的相关研究则展示了精氨酸甲基化与其他翻译后修饰共同调控同一蛋白质功能的复杂性: hnRNP K 参与众多生物学过程, 包括 mRNA 前体加工、成熟 mRNA 的运输和染色质重塑等^[86], 并且该蛋白受到泛素化、磷酸化以及精氨酸甲基化等多种翻译后修饰^[87]。hnRNP K 中的 RGG 基序或 RG 重复序列可被 PRMT1 催化发生非对称性双甲基化修饰, 使得 hnRNP K 与转录因子 p53 的互作增强并增强 p53 与靶基因启动子区域的结合能力, 从而促进了下游基因的转录^[88]。此外, 在响应 DNA 损伤时, hnRNP K 会发生磷酸化修饰, 磷酸化后的 hnRNP K 可以抑制相应位点的泛素化, 阻止 hnRNP K 进入蛋白酶体降解途径, 从而增强 hnRNP K 的稳定性, 使其有效地行使其 p53 转录辅助因子的功能^[89]。这种泛素化或磷酸化修饰与精氨酸甲基化修饰之间的互作从而协调该蛋白功能的正常发挥说明, 精氨酸甲基化修饰与其他翻译后修饰协同调控 RNA 结合蛋白功能的复杂性和精细性, 同时也可能代表了真核生物中精氨酸甲基化调控 RNA 代谢的一个保守机制。

5 高等植物拟南芥中精氨酸甲基转移酶研究进展

根据蛋白质序列同源性比对, 人们发现在拟南芥中具有 9 个 PRMT 的同源蛋白, 包括 AtPRMT1a、AtPRMT1b、AtPRMT3、AtPRMT4a、AtPRMT4b、AtPRMT5、AtPRMT6、AtPRMT7 和 AtPRMT10, 目前已相继报道了其中的 7 个成员^[1,90] (图 2)。

5.1 AtPRMT1

AtPRMT1a 和 AtPRMT1b 是人类 PRMT1 的同源蛋白, 能够协同地非对称性双甲基化组蛋白 H4、H2A、髓磷脂碱性蛋白 MBP (myelin basic protein) 以及人类 RNA 甲基转移酶 Fibrillarlin 在拟南芥中的同源蛋白 AtFib2。AtPRMT1a 与 AtPRMT1b 基因的缺失突变对于拟南芥的生长发育并没有明显的影响, 提示在拟南芥中还存在其他与之在功能上冗余的 PRMT^[91]。

5.2 AtPRMT3

AtPRMT3 是一类保守的细胞质定位的精氨酸甲基转移酶。atprmt3 突变体表现出真叶叶片变尖、生长滞后、对翻译抑制剂响应异常、多聚核糖体分布谱式紊乱和 pre-rRNA 加工显著异常等多效缺陷

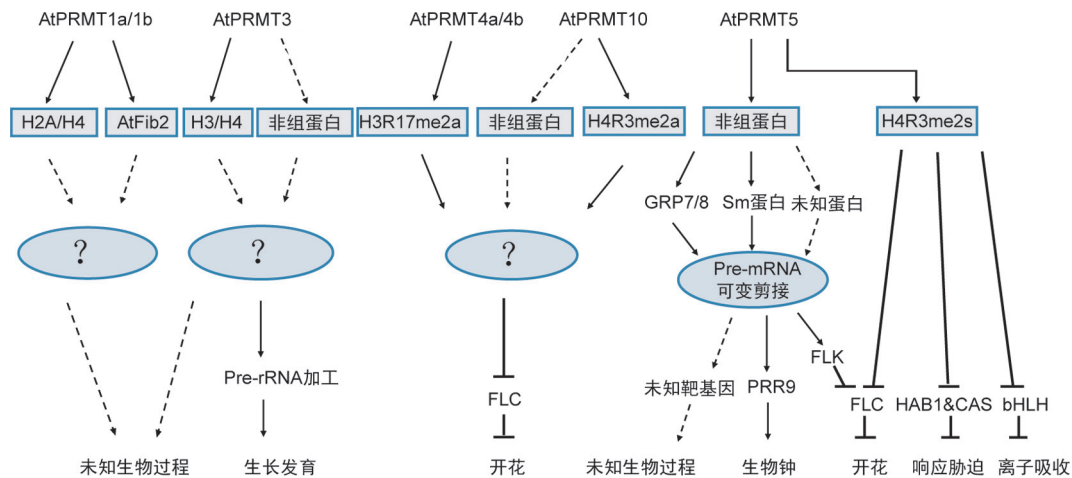


图2 AtPRMT功能概述

表型。进一步研究发现, 拟南芥中共存着两条可变 pre-rRNA 加工通路, 其中 32S rRNA 可变加工通路 (次要通路) 在 *atprmt3* 突变体中显著上调, 而已知的 pre-rRNA 的主要加工通路却在 *atprmt3* 突变体中下调, 表明 AtPRMT3 对于维持这两条 pre-rRNA 加工通路的平衡是必需的, 它的缺失会导致体内 pre-rRNA 加工通路的失衡和异常, 进而干扰了整个核糖体生物合成过程和蛋白质翻译的功能, 揭示了 PRMT 参与 rRNA 转录后加工调控的新功能^[90]。

5.3 参与拟南芥开花调控的AtPRMTs

植物由营养生长到生殖生长的转变即开花是其生命周期中的一个重要的转折点, 它决定了开花植物能否成功地繁衍后代, 同时也是决定农作物产量和质量的重要农艺性状之一。植物开花时间受到极为复杂而精密的调控, 主要由内在因子和环境因素共同调节而决定, 包含一系列信号传递与基因调控网络的协同作用, 确保植物在最适宜的条件下完成这一转变。经过生理及遗传分析发现, 拟南芥开花时间调控主要包括 4 个经典信号通路: 光周期通路、春化通路、赤霉素通路和自主通路^[92]。这些通路与其他调节因子共同组成了调控开花的网络, 暗示着植物开花调控过程的多元化与复杂性。随着研究的深入, 人们发现大量参与 RNA 转录后加工的 RNA 加工因子和 RNA 结合蛋白也参与拟南芥的开花调控过程^[93], 而这些 RNA 加工因子和 RNA 结合蛋白中存在大量潜在的能够被 PRMT 甲基化的位点, 也就暗示着拟南芥中的蛋白质精氨酸甲基转移酶通过调节与 RNA 加工相关的因子的甲基化状态而参与开花调控过程。

AtPRMT4a 和 AtPRMT4b 是人类 PRMT4/CARM1 在拟南芥中的一对同源蛋白, 两者以异源二聚体的形式非对称性双甲基化组蛋白 H3R17; 在 *atprmt4a* 和 *atprmt4b* 双突变体中, 开花抑制因子基因 *FLC* (*Flowering Locus C*) 的表达量上升, 植株表现为晚花表型, 但具体的分子机制仍有待进一步的研究^[94]。

AtPRMT5 是动物中 PRMT5 的同源蛋白, 也是目前拟南芥中唯一报道的 II 型精氨酸甲基转移酶, 能够对称性双甲基化组蛋白 H4R3、髓磷脂碱性蛋白 MBP 以及拼接小体核心组分 Sm 蛋白等^[76,95-96]。AtPRMT5 基因缺失导致拟南芥生长发育的多方面缺陷, 包括叶片颜色变深、卷叶、生长迟滞、在 FRIGIDA (FRI) 背景下对春化不敏感、开花时间推迟、生物周期节律紊乱、对盐胁迫高度敏感以及对金属离子吸收异常等表型^[97-102]。*atprmt5* 突变体的开花推迟表型是依赖于开花抑制因子 *FLC* 的, 因此, AtPRMT5 也属于自主通路。此外, AtPRMT5 能够直接结合 *FLC* 启动子的染色质区域, 催化 H4R3 对称性双甲基化, 从而抑制 *FLC* 的表达^[98-99]。

本实验室结合蛋白质组学、转录组学和遗传学等研究手段, 鉴定了 AtPRMT5 的体内非组蛋白底物, 其中包括一些与 RNA 代谢相关的蛋白质以及拼接小体核心组分 Sm 蛋白; 研究发现 AtPRMT5 的缺失会导致大量 mRNA 前体拼接异常, 其中含有 KH 结构域的 RNA 结合蛋白、开花调节基因 *FLK* (*FLOWERING LOCUS KH DOMAIN*) 的异常拼接会导致其正常功能转录本的减少和蛋白水平的下降, 从而造成 *FLC* 的上调以及晚花的表型。因此, AtPRMT5 通过调控植物生命周期各个阶段中

mRNA 前体的正确加工,保证了植物正常的生长发育过程^[95]。Sanchez 等^[76]发现, AtPRMT5 的功能缺失会导致拟南芥生物周期节律的紊乱,使得正常的周期节律被延长。在 *atprmt5* 突变体中, *CCA1*、*LHY* 和 *TOC1* 的基因表达周期延长,而导致这一现象的原因至少部分是由于中心时钟基因 *PSEUDO RESPONSE REGULATOR 9 (PRR9)* 的可变剪接异常所致; *AtPRMT5* 的基因表达水平也随昼夜交替而变化,从而使一系列基因的表达和可变剪接受到周期节律的调控。因此, AtPRMT5 能够帮助植物更好地适应昼夜的交替。Zhang 等^[96]发现 AtPRMT5 的功能缺失会导致拟南芥对盐胁迫高度敏感,使其丧失协调盐胁迫耐受和生长发育的能力。在正常生长条件下, AtPRMT5 结合在染色质上催化 H4R3 对称性双甲基化,从而抑制 *FLC* 和一系列胁迫响应基因的表达;当植物受到盐胁迫时, AtPRMT5 从染色质上解离,导致 H4R3 对称性双甲基化水平降低以及 *FLC* 和胁迫响应基因的表达升高,同时 AtPRMT5 对 mRNA 剪接复合体中心蛋白 U6 snRNP Sm-like4 (LSm4) 的对称性双甲基化水平升高,增强了非生物胁迫响应基因及开花等生长发育相关基因的剪接,从而促进植物在盐胁迫环境下正常的生长发育。因此, AtPRMT5 能够在转录以及转录后水平共同调节基因的表达,进而促进了植物正常的生长发育过程。

为了进一步研究 AtPRMT5 参与 mRNA 前体拼接的分子机制,分析造成 *atprmt5* 突变体生长发育异常表型的原因,本实验室正在利用遗传学手段筛选能够回复 *atprmt5* 突变体生长发育异常表型以及 mRNA 前体拼接异常的抑制子,发现该突变体是拼接复合体的核心组分,为进一步揭示蛋白质精氨酸甲基化修饰参与植物生长发育过程的分子调控机制提供了基础。研究还发现, AtPRMT5 能够对称性双甲基化拟南芥富含甘氨酸的 RNA 结合蛋白 (glycine-rich RNA-binding protein, GRP) AtGRP7 和 AtGRP8^[95],而 AtGRP7 与 AtGRP8 参与了 pre-mRNA 和 pri-miRNA 前体的加工^[103-104];同时, AtGRP7 也是自主通路成员,参与拟南芥开花调控过程^[105]。因此,深入解析 AtPRMT5 对 AtGRP7 和 AtGRP8 的功能调控将有助于阐明精氨酸甲基化在转录后加工和开花调控过程中的重要作用。

AtPRMT10 是拟南芥中特有的 I 型精氨酸甲基转移酶,能够非对称性双甲基化组蛋白 H4R3 以及髓磷脂碱性蛋白 MBP,其缺失突变会导致拟南芥

开花时间的延迟,并且这种延迟也是 *FLC* 依赖的,因此, AtPRMT10 对于开花时间的调控也属于自主通路范畴^[106]。通过解析获得了 2.6 Å 分辨率的 AtPRMT10 与其催化产物 SAH (S-adenosylhomocysteine) 复合体的晶体结构,发现 AtPRMT10 的二聚化对其生物学功能是必需的^[46];在体内将 AtPRMT10 保守的酶活性位点进行突变不能回复 *atprmt10* 突变体的晚花表型,推测 AtPRMT10 甲基转移酶活性是其调控开花的必要条件^[107]。为了深入解析 AtPRMT10 的生物学功能,我们筛选鉴定了一个底物蛋白,该蛋白为人类中 hnRNP A1 的同源蛋白,初步发现该蛋白参与了 pre-mRNA 的 3' 末端加工,并且受到了 AtPRMT10 的酶活调控,相关工作正在进行中。

6 展望

基因转录后加工过程的复杂性以及重要性决定了其调控机制的多样性,而 PRMT 对 RNA 结合蛋白 (RBP) 功能的调控生动地例证了精氨酸甲基化修饰在转录后加工过程中的重要调节作用。尽管人们在 PRMT 调控 RBP 功能的研究领域取得了许多重要的进展,但在高等植物领域尚有许多问题待深入研究,如单个位点的精氨酸甲基化如何与特定蛋白的功能相匹配;不同的 PRMT 家族蛋白成员之间如何协同调控特定底物甲基化的发生;精氨酸甲基化修饰如何被识别和去除等。此外,植物 RBP 直接作用的靶 RNA 序列特征是什么,精氨酸甲基化如何在全基因组水平上调控 RBP 与其靶 RNA 相互作用等也是亟待解决的关键问题。最近发展的 HITS-CLIP (high-throughput sequencing of RNAs from *in vivo* crosslinking and immunoprecipitation) 技术为人们从全基因组水平上精细而特异地定位 RBP-RNA 的互作图谱提供了有力的帮助^[108],利用该技术能够进一步分析精氨酸甲基化对 RBP-RNA 结合序列特征或互作结合能力的调控。只有从全基因组水平上解析 RBP-RNA 的相互作用才能更好地理解精氨酸甲基化调控 RBP 的分子机制,解析精氨酸甲基化在植物开花调控过程中的分子机理,探索植物中的 RBP 参与对外界胁迫环境响应的作用机制。

[参 考 文 献]

- [1] Ahmad A, Cao X. Plant PRMTs broaden the scope of arginine methylation. *J Genet Genomics*, 2012, 39(5): 195-208
- [2] Boffa LC, Karn J, Vidali G, et al. Distribution of NG,

- NG,-dimethylarginine in nuclear protein fractions. *Biochem Biophys Res Commun*, 1977, 74(3): 969-76
- [3] Bedford MT, Clarke SG. Protein arginine methylation in mammals: who, what, and why. *Mol Cell*, 2009, 33(1): 1-13
- [4] Blackwell E, Ceman S. Arginine methylation of RNA-binding proteins regulates cell function and differentiation. *Mol Reprod Dev*, 2012, 79(3): 163-75
- [5] Liu Q, Dreyfuss G. *In vivo* and *in vitro* arginine methylation of RNA-binding proteins. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(5): 2800-8
- [6] Castello A, Fischer B, Hentze MW, et al. RNA-binding proteins in Mendelian disease. *Trends Genet*, 2013, 29(5): 318-27
- [7] Yang Y, Bedford MT. Protein arginine methyltransferases and cancer. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(1): 37-50
- [8] Paik WK, Kim S. Enzymatic methylation of protein fractions from calf thymus nuclei. *Biochem Biophys Res Commun*, 1967, 29(1): 14-20
- [9] Hughes RM, Waters ML. Arginine methylation in a β -hairpin peptide: implications for Arg- π interactions, ΔC_p° , and the cold denatured state. *J Am Chem Soc*, 2006, 128(39): 12735-42
- [10] Stetler A, Winograd C, Sayegh J, et al. Identification and characterization of the methyl arginines in the fragile X mental retardation protein Fmrp. *Human Mol Genet*, 2006, 15(1): 87-96
- [11] Liu C, Lu F, Cui X, et al. Histone methylation in higher plants. *Ann Rev Plant Biol*, 2010, 61: 395-420
- [12] Bedford MT. Arginine methylation at a glance. *J Cell Sci*, 2007, 120(Pt 24): 4243-6
- [13] Dhar S, Vemulapalli V, Patananan AN, et al. Loss of the major Type I arginine methyltransferase PRMT1 causes substrate scavenging by other PRMTs. *Sci Rep*, 2013, 3: 1311
- [14] Wolf SS. The protein arginine methyltransferase family: an update about function, new perspectives and the physiological role in humans. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(13): 2109-21
- [15] Cheng X, Collins RE, Zhang X. Structural and sequence motifs of protein (histone) methylation enzymes. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*, 2005, 34: 267-94
- [16] Cook JR, Lee JH, Yang ZH, et al. FBXO11/PRMT9, a new protein arginine methyltransferase, symmetrically dimethylates arginine residues. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 342(2): 472-81
- [17] Pal S, Sif S. Interplay between chromatin remodelers and protein arginine methyltransferases. *J Cell Physiol*, 2007, 213(2): 306-15
- [18] Weiss VH, McBride AE, Soriano MA, et al. The structure and oligomerization of the yeast arginine methyltransferase, Hmt1. *Nat Struct Biol*, 2000, 7(12): 1165-71
- [19] Zhang X, Zhou L, Cheng X. Crystal structure of the conserved core of protein arginine methyltransferase PRMT3. *EMBO J*, 2000, 19(14): 3509-19
- [20] Tang J, Frankel A, Cook RJ, et al. PRMT1 is the predominant type I protein arginine methyltransferase in mammalian cells. *J Biol Chem*, 2000, 275(11): 7723-30
- [21] Lin WJ, Gary JD, Yang MC, et al. The mammalian immediate-early TIS21 protein and the leukemia-associated BTG1 protein interact with a protein-arginine *N*-methyltransferase. *J Biol Chem*, 1996, 271(25): 15034-44
- [22] Wang H, Huang ZQ, Xia L, et al. Methylation of histone H4 at arginine 3 facilitating transcriptional activation by nuclear hormone receptor. *Science*, 2001, 293(5531): 853-7
- [23] An W, Kim J, Roeder RG. Ordered cooperative functions of PRMT1, p300, and CARM1 in transcriptional activation by p53. *Cell*, 2004, 117(6): 735-48
- [24] Herrmann F, Lee J, Bedford MT, et al. Dynamics of human protein arginine methyltransferase 1 (PRMT1) *in vivo*. *J Biol Chem*, 2005, 280(45): 38005-10
- [25] Pollack BP, Kotenko SV, He W, et al. The human homologue of the yeast proteins Skb1 and Hsl7p interacts with Jak kinases and contains protein methyltransferase activity. *J Biol Chem*, 1999, 274(44): 31531-42
- [26] Neuenkirchen N, Chari A, Fischer U. Deciphering the assembly pathway of Sm-class U snRNPs. *FEBS Lett*, 2008, 582(14): 1997-2003
- [27] Fabbriozio E, El Messaoudi S, Polanowska J, et al. Negative regulation of transcription by the type II arginine methyltransferase PRMT5. *EMBO Rep*, 2002, 3(7): 641-5
- [28] Pal S, Vishwanath SN, Erdjument-Bromage H, et al. Human SWI/SNF-associated PRMT5 methylates histone H3 arginine 8 and negatively regulates expression of ST7 and NM23 tumor suppressor genes. *Mol Cell Biol*, 2004, 24(21): 9630-45
- [29] Zhao Q, Rank G, Tan YT, et al. PRMT5-mediated methylation of histone H4R3 recruits DNMT3A, coupling histone and DNA methylation in gene silencing. *Nat Struct Mol Biol*, 2009, 16(3): 304-11
- [30] Kim S, Gunesdogan U, Zyllicz JJ, et al. PRMT5 protects genomic integrity during global DNA demethylation in primordial germ cells and preimplantation embryos. *Mol Cell*, 2014, 56(4): 564-79
- [31] Bedford MT, Richard S. Arginine methylation: an emerging regulator of protein function. *Mol Cell*, 2005, 18(3): 263-72
- [32] Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. *Science*, 2001, 293(5532): 1074-80
- [33] Najbauer J, Johnson BA, Young AL, et al. Peptides with sequences similar to glycine, arginine-rich motifs in proteins interacting with RNA are efficiently recognized by methyltransferase(s) modifying arginine in numerous proteins. *J Biol Chem*, 1993, 268(14): 10501-9
- [34] Lee J, Bedford MT. PABP1 identified as an arginine methyltransferase substrate using high-density protein arrays. *EMBO Rep*, 2002, 3(3): 268-73
- [35] Chen D, Ma H, Hong H, et al. Regulation of transcription by a protein methyltransferase. *Science*, 1999, 284(5423): 2174-7
- [36] Boisvert FM, Côté J, Boulanger MC, et al. A proteomic analysis of arginine-methylated protein complexes. *Mol Cell Proteomics*, 2003, 2(12): 1319-30

- [37] Thandapani P, O'Connor TR, Bailey TL, et al. Defining the RGG/RG motif. *Molecular cell*, 2013, 50(5): 613-23
- [38] Bedford MT, Reed R, Leder P. WW domain-mediated interactions reveal a spliceosome-associated protein that binds a third class of proline-rich motif: the proline glycine and methionine-rich motif. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(18): 10602-7
- [39] Cheng D, Côté J, Shaaban S, et al. The arginine methyltransferase CARM1 regulates the coupling of transcription and mRNA processing. *Mol Cell*, 2007, 25(1): 71-83
- [40] Feng Y, Maity R, Whitelegge JP, et al. Mammalian protein arginine methyltransferase 7 (PRMT7) specifically targets RXR sites in lysine- and arginine-rich regions. *J Biol Chem*, 2013, 288(52): 37010-25
- [41] Feng Y, Hadjikyriacou A, Clarke SG. Substrate specificity of human protein arginine methyltransferase 7 (PRMT7): the importance of acidic residues in the double E loop. *J Biol Chem*, 2014, 289(47): 32604-16
- [42] Yu MC. The role of protein arginine methylation in mRNA dynamics. *Mol Biol Int*, 2011, 2011: 1-10
- [43] Zhang X, Cheng X. Structure of the predominant protein arginine methyltransferase PRMT1 and analysis of its binding to substrate peptides. *Structure*, 2003, 11(5): 509-20
- [44] Troffer-Charlier N, Cura V, Hassenboehler P, et al. Functional insights from structures of coactivator-associated arginine methyltransferase 1 domains. *EMBO J*, 2007, 26(20): 4391-401
- [45] Sun L, Wang M, Lv Z, et al. Structural insights into protein arginine symmetric dimethylation by PRMT5. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(51): 20538-43
- [46] Cheng Y, Frazier M, Lu F, et al. Crystal structure of the plant epigenetic protein arginine methyltransferase 10. *J Mol Biol*, 2011, 414(1): 106-22
- [47] Pawlak MR, Scherer CA, Chen J, et al. Arginine N-methyltransferase 1 is required for early postimplantation mouse development, but cells deficient in the enzyme are viable. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(13): 4859-69
- [48] Tee WW, Pardo M, Theunissen TW, et al. Prmt5 is essential for early mouse development and acts in the cytoplasm to maintain ES cell pluripotency. *Genes Dev*, 2010, 24(24): 2772-7
- [49] Yadav N, Lee J, Kim J, et al. Specific protein methylation defects and gene expression perturbations in coactivator-associated arginine methyltransferase 1-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(11): 6464-8
- [50] Boisvert FM, Cote J, Boulanger MC, et al. A proteomic analysis of arginine-methylated protein complexes. *Mol Cell Proteomics*, 2003, 2(12): 1319-30
- [51] Guo A, Gu H, Zhou J, et al. Immunoaffinity enrichment and mass spectrometry analysis of protein methylation. *Mol Cell Proteomics*, 2014, 13(1): 372-87
- [52] Han SP, Tang YH, Smith R. Functional diversity of the hnRNPs: past, present and perspectives. *Biochem J*, 2010, 430(3): 379-92
- [53] Lunde BM, Moore C, Varani G. RNA-binding proteins: modular design for efficient function. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(6): 479-90
- [54] Gary JD, Clarke S. RNA and protein interactions modulated by protein arginine methylation. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 1998, 61: 65-131
- [55] Beyer AL, Christensen ME, Walker BW, et al. Identification and characterization of the packaging proteins of core 40S hnRNP particles. *Cell*, 1977, 11(1): 127-38
- [56] Dreyfuss G, Matunis MJ, Pinol-Roma S, et al. hnRNP proteins and the biogenesis of mRNA. *Annual Rev Biochem*, 1993, 62: 289-321
- [57] Nichols RC, Wang XW, Tang J, et al. The RGG domain in hnRNP A2 affects subcellular localization. *Exp Cell Res*, 2000, 256(2): 522-32
- [58] Passos DO, Quaresma AJ, Kobarg J. The methylation of the C-terminal region of hnRNPQ (NSAP1) is important for its nuclear localization. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 346(2): 517-25
- [59] Wada K, Inoue K, Hagiwara M. Identification of methylated proteins by protein arginine N-methyltransferase 1, PRMT1, with a new expression cloning strategy. *Biochim Biophys Acta*, 2002, 1591(1-3): 1-10
- [60] Rajpurohit R, Paik WK, Kim S. Effect of enzymic methylation of heterogeneous ribonucleoprotein particle A1 on its nucleic-acid binding and controlled proteolysis. *Biochem J*, 1994, 304 (Pt 3): 903-9
- [61] Hubers L, Valderrama-Carvajal H, Laframboise J, et al. HuD interacts with survival motor neuron protein and can rescue spinal muscular atrophy-like neuronal defects. *Human Mol Genet*, 2011, 20(3): 553-79
- [62] Wei HM, Hu HH, Chang GY, et al. Arginine methylation of the cellular nucleic acid binding protein does not affect its subcellular localization but impedes RNA binding. *FEBS Lett*, 2014, 588(9): 1542-8
- [63] Valentini SR, Weiss VH, Silver PA. Arginine methylation and binding of Hrp1p to the efficiency element for mRNA 3'-end formation. *RNA*, 1999, 5(2): 272-80
- [64] Boisvert FM, Côté J, Boulanger MC, et al. Symmetrical dimethylarginine methylation is required for the localization of SMN in Cajal bodies and pre-mRNA splicing. *J Cell Biol*, 2002, 159(6): 957-69
- [65] Will CL, Luhrmann R. Spliceosomal UsnRNP biogenesis, structure and function. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, 13(3): 290-301
- [66] Friesen WJ, Paushkin S, Wyce A, et al. The methylosome, a 20S complex containing JBP1 and piCln, produces dimethylarginine-modified Sm proteins. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(24): 8289-300
- [67] Meister G, Eggert C, Bühler D, et al. Methylation of Sm proteins by a complex containing PRMT5 and the putative U snRNP assembly factor piCln. *Curr Biol*, 2001, 11(24): 1990-4
- [68] Brahms H, Raymackers J, Union A, et al. The C-terminal RG dipeptide repeats of the spliceosomal Sm proteins D1 and D3 contain symmetrical dimethylarginines, which form a major B-cell epitope for anti-Sm autoantibodies. *J*

- Biol Chem, 2000, 275(22): 17122-9
- [69] Brahm H, Meheus L, de Brabandere V, et al. Symmetrical dimethylation of arginine residues in spliceosomal Sm protein B/B' and the Sm-like protein LSM4, and their interaction with the SMN protein. RNA, 2001, 7(11): 1531-42
- [70] Zhang Z, Lotti F, Dittmar K, et al. SMN deficiency causes tissue-specific perturbations in the repertoire of snRNAs and widespread defects in splicing. Cell, 2008, 133(4): 585-600
- [71] Friesen WJ, Massenet S, Paushkin S, et al. SMN, the product of the spinal muscular atrophy gene, binds preferentially to dimethylarginine-containing protein targets. Mol Cell, 2001, 7(5): 1111-7
- [72] Côté J, Richard S. Tudor domains bind symmetrical dimethylated arginines. J Biol Chem, 2005, 280(31): 28476-83
- [73] Gonsalvez GB, Tian L, Ospina JK, et al. Two distinct arginine methyltransferases are required for biogenesis of Sm-class ribonucleoproteins. J Cell Biol, 2007, 178(5): 733-40
- [74] Meister G, Fischer U. Assisted RNP assembly: SMN and PRMT5 complexes cooperate in the formation of spliceosomal UsnRNPs. EMBO J, 2002, 21(21): 5853-63
- [75] Bezzi M, Teo SX, Muller J, et al. Regulation of constitutive and alternative splicing by PRMT5 reveals a role for *Mdm4* pre-mRNA in sensing defects in the spliceosomal machinery. Genes Dev, 2013, 27(17): 1903-16
- [76] Sanchez SE, Petrillo E, Beckwith EJ, et al. A methyltransferase links the circadian clock to the regulation of alternative splicing. Nature, 2010, 468(7320): 112-6
- [77] Siomi MC, Mannen T, Siomi H. How does the Royal Family of Tudor rule the PIWI-interacting RNA pathway? Genes Dev, 2010, 24(7): 636-46
- [78] Siomi MC, Sato K, Pezic D, et al. PIWI-interacting small RNAs: the vanguard of genome defence. Nat Rev Mol Cell Biol, 2011, 12(4): 246-58
- [79] Kirino Y, Kim N, de Planell-Saguer M, et al. Arginine methylation of Piwi proteins catalysed by dPRMT5 is required for Ago3 and Aub stability. Nat Cell Biol, 2009, 11(5): 652-8
- [80] Chen C, Nott TJ, Jin J, et al. Deciphering arginine methylation: Tudor tells the tale. Nat Mol Cell Biol, 2011, 12(10): 629-42
- [81] Liu H, Wang JY, Huang Y, et al. Structural basis for methylarginine-dependent recognition of Aubergine by Tudor. Genes Dev, 2010, 24(17): 1876-81
- [82] Liu K, Chen C, Guo Y, et al. Structural basis for recognition of arginine methylated Piwi proteins by the extended Tudor domain. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(43): 18398-403
- [83] Murr R. Interplay between different epigenetic modifications and mechanisms. Adv Genet, 2010, 70: 101-41
- [84] Gilbert W, Siebel CW, Guthrie C. Phosphorylation by Sky1p promotes Npl3p shuttling and mRNA dissociation. RNA, 2001, 7(2): 302-13
- [85] Yun CY, Fu XD. Conserved SR protein kinase functions in nuclear import and its action is counteracted by arginine methylation in *Saccharomyces cerevisiae*. J Cell Biol, 2000, 150(4): 707-18
- [86] Bomsztyk K, Denisenko O, Ostrowski J. hnRNP K: one protein multiple processes. BioEssays, 2004, 26(6): 629-38
- [87] Blasius M, Bartek J. ATM targets hnRNPK to control p53. Cell Cycle, 2013, 12(8): 1162-3
- [88] Chen Y, Zhou X, Liu N, et al. Arginine methylation of hnRNP K enhances p53 transcriptional activity. FEBS Lett, 2008, 582(12): 1761-5
- [89] Moumen A, Magill C, Dry KL, et al. ATM-dependent phosphorylation of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K promotes p53 transcriptional activation in response to DNA damage. Cell Cycle, 2013, 12(4): 698-704
- [90] Hang R, Liu C, Ahmad A, et al. *Arabidopsis* protein arginine methyltransferase 3 is required for ribosome biogenesis by affecting precursor ribosomal RNA processing. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(45): 16190-5
- [91] Yan D, Zhang Y, Niu L, et al. Identification and characterization of two closely related histone H4 arginine 3 methyltransferases in *Arabidopsis thaliana*. Biochem J, 2007, 408(1): 113-21
- [92] Quesada V, Dean C, Simpson GG. Regulated RNA processing in the control of *Arabidopsis* flowering. Int J Dev Biol, 2005, 49(5-6): 773-80
- [93] Terzi LC, Simpson GG. Regulation of flowering time by RNA processing. Curr Top Microbiol Immunol, 2008, 326: 201-18
- [94] Niu L, Zhang Y, Pei Y, et al. Redundant requirement for a pair of PROTEIN ARGININE METHYLTRANSFERASE4 homologs for the proper regulation of *Arabidopsis* flowering time. Plant Physiol, 2008, 148(1): 490-503
- [95] Deng X, Gu L, Liu C, et al. Arginine methylation mediated by the *Arabidopsis* homolog of PRMT5 is essential for proper pre-mRNA splicing. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(44): 19114-9
- [96] Zhang Z, Zhang S, Zhang Y, et al. *Arabidopsis* floral initiator SKB1 confers high salt tolerance by regulating transcription and pre-mRNA splicing through altering histone H4R3 and small nuclear ribonucleoprotein LSM4 methylation. Plant Cell, 2011, 23(1): 396-411
- [97] Hong S, Song HR, Lutz K, et al. Type II protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) is required for circadian period determination in *Arabidopsis thaliana*. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(49): 21211-6
- [98] Schmitz RJ, Sung S, Amasino RM. Histone arginine methylation is required for vernalization-induced epigenetic silencing of FLC in winter-annual *Arabidopsis thaliana*. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(2): 411-6
- [99] Wang X, Zhang Y, Ma Q, et al. SKB1-mediated symmetric dimethylation of histone H4R3 controls flowering time in *Arabidopsis*. EMBO J, 2007, 26(7): 1934-41
- [100] Pei Y, Niu L, Lu F, et al. Mutations in the Type II protein

- arginine methyltransferase AtPRMT5 result in pleiotropic developmental defects in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2007, 144(4): 1913-23
- [101] Fan H, Zhang Z, Wang N, et al. SKB1/PRMT5-mediated histone H4R3 dimethylation of Ib subgroup bHLH genes negatively regulates iron homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2014, 77(2): 209-21
- [102] Fu YL, Zhang GB, Lv XF, et al. *Arabidopsis* histone methylase CAU1/PRMT5/SKB1 acts as an epigenetic suppressor of the calcium signaling gene CAS to mediate stomatal closure in response to extracellular calcium. *Plant Cell*, 2013, 25(8): 2878-91
- [103] Koster T, Meyer K, Weinholdt C, et al. Regulation of pri-miRNA processing by the hnRNP-like protein AtGRP7 in *Arabidopsis*. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(15): 9925-36
- [104] Streitner C, Koster T, Simpson CG, et al. An hnRNP-like RNA-binding protein affects alternative splicing by *in vivo* interaction with transcripts in *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(22): 11240-55
- [105] Streitner C, Danisman S, Wehrle F, et al. The small glycine-rich RNA binding protein AtGRP7 promotes floral transition in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2008, 56(2): 239-50
- [106] Niu L, Lu F, Pei Y, et al. Regulation of flowering time by the protein arginine methyltransferase AtPRMT10. *EMBO Rep*, 2007, 8(12): 1190-5
- [107] Niu L, Lu F, Zhao T, et al. The enzymatic activity of *Arabidopsis* protein arginine methyltransferase 10 is essential for flowering time regulation. *Protein Cell*, 2012, 3(6): 450-9
- [108] König J, Zarnack K, Luscombe NM, et al. Protein-RNA interactions: new genomic technologies and perspectives. *Nature Rev Genet*, 2011, 13(2): 77-83