

DOI: 10.13376/j.cbls/2018055

文章编号: 1004-0374(2018)04-0455-07



谭敏佳, 中国科学院上海药物研究所研究员、课题组长、博士生导师。2003年毕业于复旦大学药学院, 2008年在中科院上海药物研究所获得博士学位。2008—2012年在美国芝加哥大学 Ben May 肿瘤研究所进行博士后研究。目前主要研究领域为运用基于最新超高分辨率质谱的前沿蛋白质组学技术, 结合生物化学、生物信息学和化学生物学等多学科交叉的研究手段, 探究蛋白质翻译后修饰通路的化学生物学功能、蛋白质修饰调控酶为靶标的分子机制、个性化药物标志物和精准药物治疗机理。研究工作建立了组蛋白表观遗传修饰研究的分析新方法, 揭示了组蛋白巴豆酰化为与精子发育密切相关的全新表观遗传共价修饰, 极大丰富了组蛋白表观遗传化学修饰内容; 发现了赖氨酸琥珀酰、丙二酰和戊二酰为受 Sirtuin 家族 SIRT5 调控的三种全新蛋白共价修饰通路, 并与能量代谢功能密切相关, 揭示了戊二酸尿症的分子新机制; 建立了赖氨酸单甲基修饰的新型化学蛋白质组学研究方法, 拓宽了对赖氨酸单甲基修饰非细胞核底物的认识。这些工作拓宽了对蛋白质修饰广泛性和复杂性的认识, 为赖氨酸修饰生物学功能研究奠定了重要基础, 产生了重要国际影响。以第一作者或通讯作者在 *Cell*、*Cell Metab*、*Nat Chem Biol*、*Mol Cell Proteomics* 等国际核心学术期刊发表论文, 单篇论文最高引用次数达 800 余次 (Google Scholar), 其中 3 篇论文被 Web of Science 选为“ESI 高被引论文”, 并且发表论文被 *Cell* 杂志选为 2011 年五篇年度研究亮点之一 (Research highlight of year 2011), 被 *Nat Chem Biol* 杂志选为创刊十年 (2015 年) 来代表性论文之一 (Greatest hits of 10th Anniversary)。2012 年入选中组部第三批“青年千人计划”, 2013 年入选“上海浦江人才计划”, 为第十一届上海市青联委员、第十二届全国青联委员。

组蛋白赖氨酸酰化新修饰研究进展

谭敏佳*, 朱明睿

(中国科学院上海药物研究所新药研究国家重点实验室, 上海 201203)

摘要: 蛋白质的翻译后修饰是细胞生命活动的基本形式之一, 对蛋白质生物功能的发挥具有极为重要的影响, 包括细胞的生长、分化、代谢等生命过程。赖氨酸酰化修饰是重要研究内容之一, 其广泛参与细胞分化、细胞代谢等重要生理活动, 成为生命科学领域研究热点。随着生物质谱的扫描速度、灵敏度、分辨率的不断提高, 近几年来许多新的赖氨酸酰化修饰被研究者鉴定。该文总结了琥珀酰化、巴豆酰化、丙二酰化、戊二酰化、2-羟基异丁酰化、 β -羟基丁酰化等新型赖氨酸酰化修饰的发现确证、修饰调控酶、底物鉴定和生理病理功能等方面的最新研究进展。

关键词: 琥珀酰化; 巴豆酰化; 丙二酰化; 戊二酰化; 2-羟基异丁酰化; β -羟基丁酰化

中图分类号: Q81; R34 **文献标志码:** A

收稿日期: 2017-11-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(31670066)

*通信作者: E-mail: mjtan@simm.ac.cn; Tel: 021-50800172

Progress in characterization of novel lysine acyl modifications

TAN Min-Jia*, ZHU Ming-Rui

(The State Key Laboratory of Drug Research, Shanghai Institute of Materia Medica,
Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

Abstract: Protein post-translational modifications (PTMs) play fundamental and diverse biological functions in cells, such as cell growth, differentiation and metabolism. Lysine acyl modifications are an important class of PTMs, which is widely involved in cell differentiation, energy metabolism and other important physiological activities. In recent years, due to the development of high sensitive and high resolution mass spectrometry-based proteomics technologies, many novel lysine acyl modifications with unique biological functions have been discovered. This review summarized the recent advances of the identification of novel lysine acyl modifications (including succinylation, crotonylation, malonylation, glutarylation, 2-hydroxyisobutyrylation, β -hydroxybutyrylation), their regulatory enzymes, substrates, and roles in physiology and pathology.

Key words: succinylation; crotonylation; malonylation; glutarylation; 2-hydroxyisobutyrylation; β -hydroxybutyrylation

蛋白质的翻译后修饰是细胞生命活动的基本形式之一, 并对蛋白质生物功能的发挥具有极为重要的影响, 包括细胞的生长、分化、代谢等生命过程^[1]。目前已报道的蛋白质翻译后修饰超过 400 余种^[2-5], 几乎参与了细胞内所有的生命活动过程, 并且发挥着十分重要的调控作用, 是目前国际研究工作中一个极其重要的领域。翻译后修饰是细胞精细调控诸多生理过程的关键生物学通路之一, 与很多疾病的发生发展息息相关。细胞内具有蛋白修饰功能的调控酶更成为当今国际新药研究领域的前沿和热点靶标, 并且越来越受到广泛关注。在哺乳动物表达的所有蛋白质中, 超过 50% 的蛋白质可以在特定时间和亚细胞空间发生各种各样的翻译后修饰, 并且调控着许多重要的生物学功能^[6-9]。目前已陆续发现大部分重要的翻译后修饰都是以可逆形式发生在氨基酸残基上, 而赖氨酸是最被频繁修饰的残基之一^[10-13], 其修饰包括甲基化、泛素化、磷酸化、乙酰化、糖基化和丙酰化等^[4, 14-22]。组蛋白翻译后修饰是表观遗传学研究的重要内容之一, 其中组蛋白赖氨酸修饰在调控酶的作用下发生动态变化, 一方面, 改变了组蛋白与 DNA 的作用关系; 另一方面, 招募结合蛋白, 进而调控基因转录。这些组蛋白赖氨酸修饰相关蛋白蕴含着重要的生物学信息, 它们的鉴定是理解其功能和解析表观遗传机制的关键。随着近年来生物质谱的扫描速度、灵敏度、分辨率的不断提高, 越来越多新的组蛋白赖氨酸酰化修饰被鉴定, 如赖氨酸琥珀酰化、巴豆酰化、丙二酰化、戊二酰化、2-羟基异丁酰化、 β -羟基丁酰化等(图 1,

表 1), 深入揭示了这些新型赖氨酸酰化修饰对细胞的生长、分化、代谢等生命过程的特异性作用, 如 SIRT5 通过调控琥珀酰化修饰水平参与线粒体代谢、三羧酸循环、脂肪酸代谢等机制。本文就赖氨酸琥珀酰化、巴豆酰化、丙二酰化、戊二酰化、2-羟基异丁酰化、 β -羟基丁酰化等新型赖氨酸酰化修饰发现确证、修饰调控酶、底物鉴定和生理病理功能等方面的研究进展进行总结。

1 琥珀酰化

琥珀酰化修饰的赖氨酸肽段 (FTEGAFK_{succ}-DWGYQLA) 最初是于 2011 年借助质谱技术在大肠杆菌的异柠檬酸脱氢酶中发现并确证的^[39]。此项研究通过对 3 个代谢酶 (异柠檬酸脱氢酶、丝氨酸羟甲基转移酶、磷酸甘油醛脱氢酶 A) 中 4 个琥珀酰化位点进行全面的分析, 通过蛋白质印迹分析、体内琥珀酸同位素标记、质谱、高效液相色谱 4 种方法, 证明了质量偏移不是甲基丙二酰化 (琥珀酰化的同分异构体), 而是由于琥珀酰化引起的。随后,

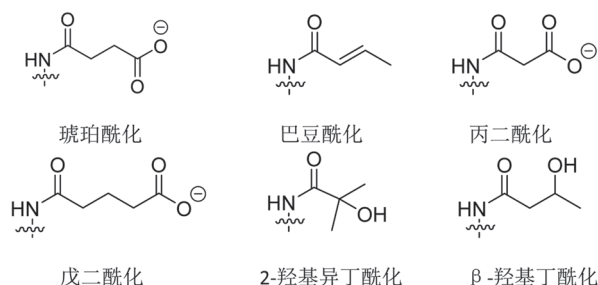


图1 六种新型赖氨酸酰化修饰结构图

表1 六种新型赖氨酸酰化修饰已报道的相关通路及疾病

报道年份	调控酶	作用通路	相关疾病
琥珀酰化	2011 SIRT5、 KAT2A、 SIRT7	线粒体代谢、三羧酸循环、脂肪酸代谢、DNA损伤与修复 ^[23]	糖尿病 ^[24]
巴豆酰化	2011 /	炎症应答、干细胞自我更新 ^[25-29]	与精子的生成与发育相关 ^[30]
丙二酰化	2011 SIRT5	糖酵解、线粒体功能、脂肪酸氧化 ^[31-32]	糖尿病、丙二酸尿症 ^[33-34]
戊二酰化	2014 SIRT5	氧化通路、尿素循环 ^[35]	戊二酸尿症 ^[35]
2-羟基异丁酰化	2014 /	减数分裂后的细胞活性基因转录、葡萄糖代谢、细胞寿命调控网络 ^[36]	/
β -羟基丁酰化	2016 /	氨基酸代谢、脂肪酸代谢、氧化还原的稳态、生物钟的调控 ^[37]	抑郁症 ^[38]

研究人员用 western blotting、体内同位素标记等方法证明鉴定出的琥珀酰-赖氨酸肽段是来自于体内蛋白。这种修饰能够对不同生理环境做出应答, 在进化上是保守的。该团队发现, 相比于甲基化和乙酰化, 赖氨酸琥珀酰化修饰 (Ksucc) 能够引发更多蛋白质特性的改变。这是由于发生琥珀酰化的赖氨酸基团被赋予 2 个负电荷, 价态从 +1 变成 -1, 高于乙酰化 (+1 到 0) 和单甲基化 (无变化) 造成的电荷改变; 同时, 琥珀酰化带来了一个结构更大的基团, 对于蛋白质结构和功能改变更大。琥珀酰辅酶 A (succinyl-CoA) 是酶调控的琥珀酰化反应的辅助因子。琥珀酰辅酶 A 作为一种重要的代谢反应中间产物, 出现在 TCA 循环、卟啉合成、一些支链氨基酸的分解等反应过程中, 其稳定状态对维持正常的细胞生理活动至关重要。发生在琥珀酰辅酶 A 代谢中的基因突变很有可能导致疾病的发生; 同时, 研究工作使用一种抗琥珀酰化抗体进行亲和纯化, 在 14 个大肠杆菌蛋白质中鉴定到了 69 个琥珀酰化位点, 在体内证实了蛋白质琥珀酰化修饰是一个天然发生的赖氨酸修饰。有研究者在哺乳动物细胞中鉴定到了 2 580 个赖氨酸琥珀酰化修饰位点, 并发现 SIRT5 具有烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖的去琥珀酰化修饰作用^[23]。在哺乳细胞中, Zhang 等^[39] 在 779 个蛋白中鉴定到了 2 565 个琥珀酰化修饰位点, 且这些位点大部分并未同时鉴定到乙酰化位点, 提示了琥珀酰化修饰与乙酰化调节功能有较大区别。Baca 等^[40] 报道了 SIRT5 通过调控琥珀酰化修饰水平参与线粒体代谢、三羧酸循环、脂肪酸代谢等机制。研究者利用质谱手段、高效液相色谱共洗脱、稳定同位素标记等在组蛋白中鉴定到了 10 余个琥珀酰化修饰位点, 还有研究报道赖氨酸琥珀酰化修饰对 DNA 修复与基因表达等功能具有重要影响^[18,41]。

在真核细胞与原核细胞模型中均鉴定到了大量琥珀酰化修饰位点, 且受琥珀酰辅酶 A 以及辅酶 B 的调控^[42-43]。研究者在紫外处理的细胞模型中鉴定到了 567 个琥珀酰化修饰位点, 其中大部分是未被报道过的修饰位点, 提示了琥珀酰化修饰水平可能与紫外线诱导的 DNA 损伤相关联^[41]。SIRT7 被报道具有去组蛋白 H3K122 琥珀酰化修饰活性, 从而可以促进 DNA 双链断裂的染色质浓缩和修复^[44]。研究者在糖尿病小鼠模型中鉴定到了 9 个琥珀酰化、2 个巴豆酰化与 7 个丙二酰化组蛋白修饰位点^[24]。组蛋白 H2BK34 位琥珀酰化被报道与核小体稳定性密切相关^[45]。Wang 等^[46] 发现细胞核中的 α -KGDH 复合体会与 KAT2A 蛋白在基因的启动子区域结合, KAT2A 蛋白则能够对组蛋白 H3 进行琥珀酰化。如果阻止 α -KGDH 复合体进入细胞核, 或是表达关键位点突变的 KAT2A (Tyr645Ala), 就能抑制基因表达。KAT2A 可通过影响组蛋白琥珀酰化影响肿瘤细胞增殖与肿瘤的发生发展。

2 巴豆酰化

赖氨酸巴豆酰化于 2011 年利用生物质谱技术在 HeLa 细胞和小鼠精子细胞中被首次发现并确证^[47]。该文章报道了 67 个新组蛋白修饰标记, 其通过进一步的结构及基因组定位分析, 证实了赖氨酸巴豆酰化 (Kcr) 修饰是一种进化高度保守, 且在生物学功能上不同于组蛋白赖氨酸乙酰化 (Kac) 的蛋白质修饰方式。在人类体细胞和小鼠精子细胞基因组中, 组蛋白赖氨酸巴豆酰化分布于基因转录启动区域或增强子上^[47]。在减数分裂后的精子细胞中, 赖氨酸巴豆酰化高丰度集中在性染色体上标记睾丸特异性基因。有研究报道巴豆酰辅酶 A (crotonyl-CoA) 通过共激活因子 p300 催化组蛋白巴豆酰化,

此外组蛋白巴豆酰化还受到细胞内巴豆酰辅酶 A 浓度的影响。由此可以通过遗传和环境两方面共同调控巴豆酰化修饰。在转录激活的巨噬细胞中脂多糖 (LPS) 介导的炎症应答反应表明, 增加或减少细胞内巴豆酰辅酶 A 的浓度会分别增强或减弱相关活化基因表达水平, 这与活化基因相应的调节因子周边的组蛋白巴豆酰化水平变化相一致。这项研究阐明了细胞内外的代谢状态可以直接影响到染色质的状态, 这主要是由组蛋白巴豆酰化和乙酰化所需的代谢物 / 辅因子浓度的变化导致^[48-49]。表观调控因子 MOZ 与 DPF2 联合结构被报道具有识别组蛋白巴豆酰化的功能^[37]。有研究报道了 YEATS 结构域可以作为一种巴豆酰化修饰的阅读器 (reader), 并证明了 AF9 这种转录调控因子上的 YEATS 结构域直接将蛋白巴豆酰化与转录调控联系在了一起。AF9 对组蛋白 H3 的 9、18 和 27 位赖氨酸巴豆酰化 (H3K9cr、H3K18cr 和 H3K27cr) 的识别能力比相应的位点的乙酰化高 2~3 倍; 而组蛋白乙酰化修饰阅读器家族成员的 Bromo 结构域却并不具备组蛋白巴豆酰化识别偏好性。表观调控因子 AF9 YEATS 结构域拥有特异性针对巴豆酰基的苯环夹笼结构, 刚好适合赖氨酸巴豆酰化进入, 并由巴豆酰基和苯环之间芳环作用和疏水相互作用强化。这在 YEATS 中被保留, 但在 Bromo 结构域中却并未出现。利用内毒素刺激下的巨噬细胞基因表达体系, 研究人员进一步证实 AF9 YEATS 依赖的组蛋白巴豆酰化识别可以激发内毒素诱导的炎症应答基因表达^[25-29]。I 类组蛋白去乙酰化酶被报道具有去巴豆酰化修饰功能, 巴豆酰化修饰水平可能与小鼠胚胎干细胞自我更新相关^[50]。研究者报道染色质蛋白 CDYL 可通过调节组蛋白巴豆酰化水平从而影响精子的生成与发育^[30]。

3 丙二酰化

2011 年, Zhao 实验室运用细胞培养条件下稳定同位素标记技术 (SILAC) 及高通量质谱分析方法鉴定到赖氨酸丙二酰化, 其开发了特异性抗丙二酰化抗体进行后期的生化验证, 实验证实了细胞内蛋白质的赖氨酸丙二酰化修饰 (Kmal)^[51]。SIRT5 既被报道作为去琥珀酰化修饰的底物酶, 同时也被报道可作为去丙二酰化修饰的底物酶。在该项研究中, 研究人员采用非标定量 (label free quantification) 蛋白质修饰组分析技术对 SIRT5 敲除的小鼠模型进行分析, 在 430 个蛋白中鉴定到 1 137 个丙二酰化位点, 其中 120 个蛋白上的 183 个赖氨酸丙二酰化位点在

SIRT5 敲除的小鼠肝脏中发生了显著改变, 其中 16% 的赖氨酸丙二酰化位点和 28% 的丙二酰化蛋白质都是由 SIRT5 调节的。此外, 在 SIRT5 敲除的小鼠中, 科研人员观察到糖酵解途径受到了明显抑制, 并且发现由 SIRT5 调控。研究人员还发现 SIRT5 调节的肝脏组织线粒体中丙二酰化和琥珀酰化位点存在着重叠。56% 的丙二酰化位点和琥珀酰化位点是重合的, 剩余 44% 的丙二酰化位点是不同于琥珀酰化和乙酰化位点的。此外, SIRT5 还被证明能够抑制糖酵解途径的负反馈作用, 这一负反馈作用是由丙二酰辅酶 A (malonyl-CoA) 来调节的, 而丙二酰辅酶 A 又是赖氨酸丙二酰化修饰的丙二酰基供体^[31-32]。有研究者报道, 赖氨酸丙二酰化在丙二酰辅酶 A 脱羧酶缺乏的细胞中可以调节线粒体功能和脂肪酸的氧化^[52]。大量赖氨酸丙二酰化底物在人成纤维细胞细胞质和细胞核中被鉴定到, 说明存在着一种或多种酶催化丙二酰基团从丙二酰辅酶 A 转移到赖氨酸残基上。这个过程已经被证明在高 pH 值的环境中不依赖于酶催化而发生, 又由于细胞质和细胞核中的 pH 值小于线粒体, 提示成纤维细胞中酶催化的赖氨酸丙二酰化发生于线粒体之外^[53]。2 型糖尿病模型中丙二酰化修饰都有不同层面的上调, 而此种上调仅仅发生在肝脏组织中。生物信息学分析显示, 丙二酰化修饰的蛋白质在葡萄糖及脂肪酸的代谢过程中起着关键的作用^[33-34]。研究者报道, 丙二酸单酰辅酶合成酶 ACSF3 可通过影响线粒体蛋白丙二酰化修饰水平从而影响代谢通路^[54]。

4 戊二酰化

戊二酰化最初于 2014 年首次被报道^[55], 通过运用化学和生物化学等多种方法, 此项研究首次证实了此修饰存在于生物体内, 且从原核生物到高等哺乳动物中普遍存在, 在生命进化过程中呈现保守性, 并发现戊二酰辅酶 A (glutaryl-CoA) 为此修饰的供体。进一步运用多种体外和体内实验, 证明了 SIRT5 为去赖氨酸戊二酰 (Kglu) 的调控酶, 在对 SIRT5 敲除小鼠肝脏蛋白组学分析中, 鉴定出 191 蛋白上的 683 个戊二酰位点。对其中一个高度戊二酰化的底物——氨甲酰磷酸合酶 I (CPS1) 的研究表明, CPS1 戊二酰化能够抑制该酶活性, 并能通过 SIRT5 去除其戊二酰化来调控此酶活性^[55]。SIRT5 被报道可以通过催化 6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (G6PD) 去戊二酰化与异柠檬酸脱氢酶 2 (IDH2) 琥珀酰化促进细胞抗氧化防御^[35]。有研究者在结核分枝杆菌中

鉴定到了 41 个戊二酰化修饰位点与 24 个戊二酰化修饰蛋白^[56]。

5 2-羟基异丁酰化

2014 年, 研究者在小鼠组蛋白鉴定到 2-羟基异丁酰化修饰^[36]。研究者鉴定到了 63 个小鼠赖氨酸 2-羟基异丁酰化 (Khib) 修饰位点, 其中有 27 个为二羟基异丁酰化特异修饰位点 (未鉴定到该位点上发生乙酰化或巴豆酰化修饰)。研究者发现, 在雄性生殖细胞, H4K8hib 与减数分裂和减数分裂后的细胞活性基因转录相关。H4K8hib 标记基因是保守的, 分布广泛, 具有很高的丰度和引起大的结构变化等特点, 提示了它在染色质功能调节中的关键作用^[57]。组蛋白赖氨酸去乙酰化酶 Rpd3p 和 Hos3p 被报道有去 2-羟基异丁酰化活性。蛋白质组学分析表明, 大量参与糖酵解途径的蛋白质被鉴定到发生赖氨酸 2-羟基异丁酰化修饰, 提示了 2-羟基异丁酰化可能与葡萄糖代谢和细胞寿命的调控网络相关^[36]。

6 β -羟基丁酰化

2016 年, 研究者在小鼠组织中鉴定到 β -羟基丁酰化修饰。在饥饿的情况下, 糖类作为能源物质的比重逐渐下降, 脂肪动员产生的酮体水平逐渐升高。与此同时, 小鼠肝脏细胞中的组蛋白赖氨酸 β -羟基丁酰化修饰水平显著升高, 而主要来源于糖类代谢的乙酰化修饰水平并没有显著变化。经过进一步的染色质沉淀实验和基因表达测序, 研究者发现伴随着组蛋白 β 羟基丁酰化修饰的升高, 一些跟饥饿生理反应相关的基因的表达被上调, 如氨基酸代谢、脂肪酸代谢、氧化还原的稳态、生物钟的调控等^[37]。Chen 等^[38]报道, β 羟基丁酸盐可以通过降低组蛋白 H3K9 三羟基丁酰化修饰水平缓解小鼠抑郁行为。

7 展望

综上所述, 本文针对最近发现的赖氨酸新修饰, 包括赖氨酸琥珀酰化、巴豆酰化、丙二酰化、戊二酰化、2-羟基异丁酰化、 β -羟基丁酰化, 总结了其研究进展, 包括报道年份、发现方式、已报道的修饰酶、已报道的修饰底物及功能等。目前这几种全新的组蛋白酰化修饰的研究尚属起步阶段, 已知的数据只是冰山一角。随着蛋白质组学研究技术的发展, 对赖氨酸酰化位点的研究方法不断更新,

对这些酰化修饰调控酶的鉴定、这些修饰在组蛋白上的新型阅读器的发现, 以及不同生理和病理状态下的动态底物的鉴定和解析, 将大大促进对这些新型修饰的分子调控机制和生物学功能的理解, 从而为相关疾病的治疗和干预提供新思路。

[参 考 文 献]

- [1] Olsen JV, Mann M. Status of large-scale analysis of post-translational modifications by mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics*, 2013, 12: 3444-52
- [2] Jensen ON. Interpreting the protein language using proteomics. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2006, 7: 391-403
- [3] Samanta L, Swain N, Ayaz A, et al. Post-translational modifications in sperm proteome: The chemistry of proteome diversifications in the pathophysiology of male factor infertility. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860: 1450-65
- [4] Howe CG, Gamble MV. Influence of arsenic on global levels of histone posttranslational modifications: a review of the literature and challenges in the field. *Curr Environ Health Rep*, 2016, 3: 225-37
- [5] Tran JC, Zamdborg L, Ahlf DR, et al. Mapping intact protein isoforms in discovery mode using top-down proteomics. *Nature*, 2011, 480: 254-8
- [6] Scott JD, Pawson T. Cell signaling in space and time: where proteins come together and when they're apart. *Science*, 2009, 326: 1220-4
- [7] Mann M, Kulak NA, Nagaraj N, et al. The coming age of complete, accurate, and ubiquitous proteomes. *Mol Cell*, 2013, 49: 583-90
- [8] Zanivan S, Meves A, Behrendt K, et al. *In vivo* SILAC-based proteomics reveals phosphoproteome changes during mouse skin carcinogenesis. *Cell Rep*, 2013, 3: 552-66
- [9] Kim W, Bennett EJ, Huttlin EL, et al. Systematic and quantitative assessment of the ubiquitin-modified proteome. *Mol Cell*, 2011, 44: 325-40
- [10] Berdasco M, Esteller M. Aberrant epigenetic landscape in cancer: how cellular identity goes awry. *Dev Cell*, 2010, 19: 698-711
- [11] Boussouar F, Rousseaux S, Khochbin S. A new insight into male genome reprogramming by histone variants and histone code. *Cell Cycle*, 2008, 7: 3499-502
- [12] Chen Y, Chen W, Cobb MH, et al. PTMap--a sequence alignment software for unrestricted, accurate, and full-spectrum identification of post-translational modification sites. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 761-6
- [13] Su X, Ren C, Freitas MA. Mass spectrometry-based strategies for characterization of histones and their post-translational modifications. *Expert Rev Proteomics*, 2007, 4: 211-25
- [14] Garcia BA, Shabanowitz J, Hunt DF. Characterization of histones and their post-translational modifications by mass spectrometry. *Curr Opin Chem Biol*, 2007, 11: 66-73
- [15] Chrun ES, Modolo F, Daniel FI. Histone modifications: A

- review about the presence of this epigenetic phenomenon in carcinogenesis. *Pathol Res Pract*, 2017, 213: 1329-39
- [16] Jensen SS, Larsen MR. Evaluation of the impact of some experimental procedures on different phosphopeptide enrichment techniques. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2007, 21: 3635-45
- [17] Beausoleil SA, Jedrychowski M, Schwartz D, et al. Large-scale characterization of HeLa cell nuclear phosphoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 12130-5
- [18] Xie Z, Dai J, Dai L, et al. Lysine succinylation and lysine malonylation in histones. *Mol Cell Proteomics*, 2012, 11: 100-7
- [19] Ficarro SB, McClelland ML, Stukenberg PT, et al. Phosphoproteome analysis by mass spectrometry and its application to *Saccharomyces cerevisiae*. *Nat Biotechnol*, 2002, 20: 301-5
- [20] Wagner SA, Beli P, Weinert BT, et al. A proteome-wide, quantitative survey of *in vivo* ubiquitylation sites reveals widespread regulatory roles. *Mol Cell Proteomics*, 2011, 10: M111. 013284
- [21] Olsen JV, Blagoev B, Gnäd F, et al. Global, *in vivo*, and site-specific phosphorylation dynamics in signaling networks. *Cell*, 2006, 127: 635-48
- [22] Tsuchida S, Satoh M, Takiwaki M, et al. Ubiquitination in periodontal disease: a review. *Int J Mol Sci*, 2017, 18: pii: E1476
- [23] Park J, Chen Y, Tishkoff DX, et al. SIRT5-mediated lysine desuccinylation impacts diverse metabolic pathways. *Mol Cell Proteomics*, 2013, 50: 919-30
- [24] Nie L, Shuai L, Zhu M, et al. The landscape of histone modifications in a high-fat-diet-induced obese (DIO) mouse model. *Mol Cell Proteomics*, 2017, 16: 1324-34
- [25] Li Y, Sabari BR, Panchenko T, et al. Molecular coupling of histone crotonylation and active transcription by AF9 YEATS domain. *Mol Cell*, 2016, 62: 181-93
- [26] Li Y, Zhao D, Chen Z, et al. YEATS domain: linking histone crotonylation to gene regulation. *Transcription*, 2017, 8: 9-14
- [27] Montellier E, Rousseaux S, Zhao Y, et al. Histone crotonylation specifically marks the haploid male germ cell gene expression program: post-meiotic male-specific gene expression. *Bioessays*, 2012, 34: 187-93
- [28] Zhao D, Guan H, Zhao S, et al. YEATS2 is a selective histone crotonylation reader. *Cell Res*, 2016, 26: 629-32
- [29] Andrews FH, Shinsky SA, Shanle EK, et al. The Taf14 YEATS domain is a reader of histone crotonylation. *Nat Chem Biol*, 2016, 12: 396-8
- [30] Liu S, Yu H, Liu Y, et al. Chromodomain protein CDYL acts as a crotonyl-CoA hydratase to regulate histone crotonylation and spermatogenesis. *Mol Cell*, 2017, 67: 853-66.e5
- [31] Nishida Y, Rardin MJ, Carrico C, et al. SIRT5 regulates both cytosolic and mitochondrial protein malonylation with glycolysis as a major target. *Mol Cell*, 2015, 59: 321-32
- [32] Bowman CE, Rodriguez S, Selen Alpergin ES, et al. The mammalian malonyl-CoA synthetase ACSF3 is required for mitochondrial protein malonylation and metabolic efficiency. *Cell Chem Biol*, 2017, 24: 673-84.e4
- [33] Du Y, Cai T, Li T, et al. Lysine malonylation is elevated in type 2 diabetic mouse models and enriched in metabolic associated proteins. *Mol Cell Proteomics*, 2015, 14: 227-36
- [34] Bringman-Rodenbarger LR, Guo AH, Lyssiotis CA, et al. Emerging roles for SIRT5 in metabolism and cancer. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 28: 677-90
- [35] Zhou L, Wang F, Sun R, et al. SIRT5 promotes IDH2 desuccinylation and G6PD deglutarylation to enhance cellular antioxidant defense. *EMBO Rep*, 2016, 17: 811-22
- [36] Huang J, Luo Z, Ying W, et al. 2-Hydroxyisobutyrylation on histone H4K8 is regulated by glucose homeostasis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 8782-7
- [37] Xiong X, Panchenko T, Yang S, et al. Selective recognition of histone crotonylation by double PHD fingers of MOZ and DPF2. *Nat Chem Biol*, 2016, 12: 1111-8
- [38] Chen L, Miao Z, Xu X. β -hydroxybutyrate alleviates depressive behaviors in mice possibly by increasing the histone3-lysine9- β hydroxybutyrylation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 490: 117-22
- [39] Zhang Z, Tan M, Xie Z, et al. Identification of lysine succinylation as a new post-translational modification. *Nat Chem Biol*, 2011, 7: 58-63
- [40] Baca SC, Prandi D, Lawrence MS, et al. Punctuated evolution of prostate cancer genomes. *Cell*, 2013, 153: 666-77
- [41] Xu H, Chen X, Xu X, et al. Lysine acetylation and succinylation in HeLa cells and their essential roles in response to UV-induced stress. *Sci Rep*, 2016, 6: 30212
- [42] Weinert BT, Scholz C, Wagner SA, et al. Lysine succinylation is a frequently occurring modification in prokaryotes and eukaryotes and extensively overlaps with acetylation. *Cell Rep*, 2013, 4: 842-51
- [43] Pan J, Chen R, Li C, et al. Global analysis of protein lysine succinylation profiles and their overlap with lysine acetylation in the marine bacterium *Vibrio parahaemolyticus*. *J Proteome Res*, 2015, 14: 4309-18
- [44] Li L, Shi L, Yang S, et al. SIRT7 is a histone desuccinylase that functionally links to chromatin compaction and genome stability. *Nat Commun*, 2016, 7: 12235
- [45] Jing Y, Liu Z, Tian G, et al. Site-specific installation of succinyl lysine analog into histones reveals the effect of H2BK34 succinylation on nucleosome dynamics. *Cell Chem Biol*, 2018, 25: 166-74
- [46] Wang Y, Guo YR, Liu K, et al. KAT2A coupled with the α -KGDH complex acts as a histone H3 succinyltransferase. *Nature*, 2017, 552: 273-7
- [47] Tan M, Luo H, Lee S, et al. Identification of 67 histone marks and histone lysine crotonylation as a new type of histone modification. *Cell*, 2011, 146: 1016-28
- [48] Sabari BR, Tang Z, Huang H, et al. Intracellular crotonyl-CoA stimulates transcription through p300-catalyzed histone crotonylation. *Mol Cell*, 2015, 58: 203-15

- [49] Kaczmarska Z, Ortega E, Goudarzi A, et al. Structure of p300 in complex with acyl-CoA variants. *Nat Chem Biol*, 2017, 13: 21-9
- [50] Wei W, Liu X, Chen J, et al. Class I histone deacetylases are major histone decrotonylases: evidence for critical and broad function of histone crotonylation in transcription. *Cell Res*, 2017, 27: 898-915
- [51] Peng C, Lu Z, Xie Z, et al. The first identification of lysine malonylation substrates and its regulatory enzyme. *Mol Cell Proteomics*, 2011, 10: M111.012658
- [52] Hirschey MD, Zhao Y. Metabolic regulation by lysine malonylation, succinylation, and glutarylation. *Mol Cell Proteomics*, 2015, 14: 2308-15
- [53] Colak G, Pougovkina O, Dai L, et al. Proteomic and biochemical studies of lysine malonylation suggest its malonic aciduria-associated regulatory role in mitochondrial function and fatty acid oxidation. *Mol Cell Proteomics*, 2015, 14: 3056-71
- [54] Bowman CE, Rodriguez S, Selen Alpergin ES, et al. The mammalian malonyl-CoA synthetase ACSF3 is required for mitochondrial protein malonylation and metabolic efficiency. *Cell Chem Biol*, 2017, 24: 673-84.e4
- [55] Lee JV, Carrer A, Shah S, et al. Akt-dependent metabolic reprogramming regulates tumor cell histone acetylation. *Cell Metab*, 2014, 20: 306-19
- [56] Xie L, Wang G, Yu Z, et al. Proteome-wide lysine glutarylation profiling of the mycobacterium tuberculosis H37Rv. *J Proteome Res*, 2016, 15: 1379-85
- [57] Dai L, Peng C, Montellier E, et al. Lysine 2-hydroxyisobutyrylation is a widely distributed active histone mark. *Nat Chem Biol*, 2014, 10: 365-70