

非组蛋白甲基化修饰的研究进展*

李伟哲^{1,2)} 王洪岩²⁾ 杜海宁^{1,2)**}

(¹⁾武汉大学深圳研究院, 深圳 518057; (²⁾武汉大学生命科学学院, 武汉 430072)

摘要 非组蛋白的赖氨酸和精氨酸残基上的甲基化修饰已经被证明是一种普遍的蛋白质翻译后修饰方式, 在生命活动中发挥重要作用. 甲基化修饰方式的多样性以及它们与其他修饰之间的交互作用(crosstalk)复杂但精细地调控了基因表达、蛋白质活性及稳定性、DNA 复制及基因组稳定性、RNA 加工等多种功能. 本文将对非组蛋白的甲基化修饰特征进行总结, 归纳近些年来已报道的甲基化修饰酶、修饰位点及这些位点的生物学功能, 并将特别阐述不同蛋白质修饰之间的交互作用, 概述鉴定非组蛋白甲基化修饰的方法.

关键词 非组蛋白, 赖氨酸甲基化修饰, 精氨酸甲基化修饰, 交互作用

学科分类号 Q71

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0219

组蛋白的翻译后修饰是重要的表观遗传调控方式之一. 组成核小体的 4 种组蛋白 H2A、H2B、H3 和 H4 上都可以发生多种修饰形式, 包括丝氨酸/苏氨酸/酪氨酸上的磷酸化; 赖氨酸上的泛素化、乙酰化; 赖氨酸/精氨酸上的甲基化等. 这些修饰方式或单独、或相互组合形成“组蛋白密码”(histone code), 调控与染色质相关的多种生命活动.

组蛋白甲基化修饰主要发生在赖氨酸或精氨酸的侧链氨基上. 甲基化修饰酶可以特异性地催化组蛋白不同位点上的甲基化反应. 相对于磷酸化、乙酰化等修饰而言, 甲基化修饰形式多样, 功能更为复杂. 利用 S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM) 作为供体, 赖氨酸可以发生 me1 (mono-methyl)、me2 (di-methyl)、me3 (tri-methyl) 3 种修饰形式; 而精氨酸能够发生一和二甲基化修饰, 其中二甲基化修饰又根据 2 个甲基基团添加在相同或者不同胍基氮原子上, 分别称为对称二甲基化(symmetric di-methyl arginine, SDMA)和不对称二甲基化修饰(asymmetric di-methyl arginine, ADMA). 这些不同的修饰依据修饰位点、修饰方式的不同影响染色质的性质、激活或抑制基因表达.

近十几年来, 越来越多的非组蛋白上也被发现可发生甲基化修饰, 表明甲基化修饰很可能作为一

种普遍的蛋白质翻译后修饰形式调控蛋白质的功能. 特别引起大家关注的是, 很多转录因子可发生甲基化修饰, 暗示着非组蛋白的甲基化修饰从广泛意义上参与了表观遗传调控.

本综述中, 我们将对已经发现的非组蛋白的甲基化修饰进行总结, 重点归纳近年来发现的甲基化修饰的位点、甲基化修饰酶以及这些位点的生物学功能. 我们还将阐述不同类型的蛋白质修饰之间的交互作用(crosstalk), 并对目前鉴定蛋白质甲基化修饰的方法进行概括.

1 非组蛋白赖氨酸残基上的甲基化修饰

赖氨酸残基上发生的甲基化修饰主要是由一类含有 SET 保守结构域的蛋白质完成的, 目前已经有 50 多种人源相关蛋白质归入这一家族^[1]. 另外还发现了无 SET 结构域的 DOT1L 酶, 其可以完成 H3K79 的甲基化修饰.

* 国家自然科学基金(31271369)和深圳市科技创新委员会(JCYJ20150422150029096)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 027-68752401, E-mail: hainingdu@whu.edu.cn

收稿日期: 2015-07-14, 接受日期: 2015-08-13

自从 1964 年首次发现组蛋白可以被甲基化修饰后, 大量的组蛋白甲基化修饰位点及其功能被报道, 形成了一个组蛋白修饰的调控网络. 这些甲基化酶如何通过修饰组蛋白上特定的赖氨酸位点而影响染色质结构以及调控基因表达的相关综述较多, 这里不再赘述^[2-3]. 值得注意的是, 直到近十年来才首次发现了非组蛋白上也可以发生赖氨酸上的甲基化修饰, 这其中研究最为透彻的是著名的肿瘤蛋白 p53. 不同的实验室发现其在不同的赖氨酸位点可发生动态修饰, 调控 p53 的相应功能. SETD7 催化 p53 上第 372 位赖氨酸上的一甲基化(简称 K372me1, 下同), 激活 p53 的转录活性, 并可阻止 SMYD2 催化的 p53K370me1 修饰^[4]. 同时, PR-SET7/SET8 介导 p53 上第 382 位赖氨酸上也可以发生 me1 和 me2 修饰——K382me1 将导致 p53 转录活性抑制^[5]; K382me2 则被 p53 结合蛋白 53BP1 的 Tudor 结构域识别, 其不参与 p53 转录活性的调控, 却可帮助增加 p53 的蛋白质稳定性^[6]. 另有研究表明, G9a 或 GLP 可以催化 p53K373me2 修饰, 降低两者的蛋白质水平都会增加细胞凋亡, 表明该修饰对 p53 的抑制作用^[7].

自从首次发现 p53 蛋白能够被甲基化修饰以来, 越来越多的非组蛋白底物及其对应的催化酶被挖掘出来. 通过 PhosphositePlus 数据库(简称 PSP, www.phosphosite.org)统计结果可以看到, 已经发现有超过 500 个人源蛋白质中的近 1 050 个赖氨酸甲基化位点. 对目前报道的甲基化酶与非组蛋白底物的数据进行归纳, 可以发现以下几个特征:

a. 一个底物上可以有多个位点被甲基化, 相应的甲基化酶呈现多元性, 不同的修饰位点功能不同. 最典型的例子仍为 p53 蛋白, 另外还包括 JAK-STAT 信号通路因子 STAT3、DNA 甲基化酶 DNMT1 和重要转录因子 NF- κ B 的 RelA 亚基. 以 NF- κ B 信号通路为例, 该转录因子通过结合不同的基因调控炎症、天然免疫、细胞增殖等生命活动. 研究表明, SETD7 可以甲基化 RelA 的 K37 位, 在肿瘤坏死因子 TNF α 的刺激下可增强 RelA 与相关基因启动子的结合能力^[8]; SETD7 还可以一甲基化 RelA 的 K314/K315 位, 促进与靶基因结合的 RelA 蛋白的降解, 抑制 NF- κ B 活性^[9]. 另外, NSD1 可以甲基化 RelA 的 K218/K221 位, 激活 NF- κ B 转录活性^[10]. RelA 还发现能够被 SETD6 在 K310 位一甲基化修饰, K310me1 可以被另一甲基化酶 GLP 上的 Ankyrin 重复序列所识别, 从而稳定 GLP

对 H3K9 的甲基化修饰, 维持在免疫细胞中非炎症下 NF- κ B 靶标基因的表达抑制^[11]; 炎症应激下 S311 被 PKC ζ 磷酸化, 可抑制 GLP 结合到 K310me1 上, 从而激活靶基因的表达^[12].

b. 可甲基化非组蛋白的修饰酶种类较少, 但同一个酶可以催化多种底物; 部分催化位点序列具有保守型, 但多数位点没有序列规律. 目前发现的能够修饰非组蛋白的酶为 17 种, 能够催化多种底物的酶主要集中在 SETD7/SET9 和 EHMT2/G9a 上. SETD7 除了修饰 H3K4me1, 还能够修饰 20 余种非组蛋白底物(表 1); 而 G9a 除了负责修饰 H3K9me2, 还被报道可以修饰 17 种其他蛋白质底物^[13]. 一个有趣的现象是, 对比 SETD7 催化不同底物的修饰位点, p53、ER α 、E2F1 上的位点与组蛋白 H3K4 附近的位点比较相似, 可归纳为 [R/K] [S/T]Kme(R: 精氨酸; K: 赖氨酸; S: 丝氨酸; T: 苏氨酸; me: 甲基化修饰), 但其他 SETD7 的催化位点序列不符合上述规律. 甲基化酶如何保证非组蛋白底物修饰位点的特异性是未来需要研究的问题.

c. 非组蛋白甲基化底物虽然数量较多, 但大多集中于基因转录调控因子和核蛋白质上. 一些报道还揭示胞质蛋白也可被甲基化修饰, 表明甲基化修饰功能的多样性.

d. 甲基化酶可以甲基化蛋白自身及其他表观遗传修饰酶, 调控蛋白质稳定性或酶活性. G9a 和 GLP, 可以发生自身甲基化; SETD7 可以甲基化乙酰化酶 PCAF、去乙酰化酶 SIRT1、DNA 甲基化酶 DNMT1、甲基化酶 SUV39H1; G9a 可以甲基化修饰 DNMT3A.

e. 甲基化修饰除了通过结合或招募不同的蛋白质来发挥功能外, 还可以通过“接收或发送”信号给其他修饰位点来协同调控生物功能. 这种不同修饰之间的相互调控称为交互作用(crosstalk). 详细内容将在下面章节阐述.

2 非组蛋白精氨酸残基上的甲基化修饰

精氨酸残基上发生的甲基化修饰主要是由含高度保守甲基转移酶(methyltransferase, MTase)结构域的蛋白质完成的, 被称为 PRMT 家族蛋白. 目前发现有 10 种人源蛋白质, 其共同结构特征表现为含有 1~2 个 MTase 结构域、1 个 β 桶型结构区和 1 个蛋白二聚区^[14]. 虽然精氨酸甲基化酶种类较少, 但它们除了催化组蛋白上的多个精氨酸位点

Table 1 Summary of lysine methylation on non-histone proteins in human

表 1 人源非组蛋白的赖氨酸甲基化修饰

酶	非组蛋白底物	修饰位点	功能
SETD7	p53	K372me1	入核, 转录激活, 增加其乙酰化, 稳定蛋白质
/SET9	RB1	K873me1	增加 RB1 与 HP1 相互作用, 转录抑制
	RB1	K810me1	减弱 RB1 与 Cdk 相互作用, 抑制 Rb 磷酸化
	ER	K302me1	稳定蛋白质, 转录激活
	DNMT1	K142me1	蛋白质稳定性
	STAT3	K140me2	转录抑制
	RelA	K314/K315me1	促进 RelA 蛋白降解, 抑制 NF- κ B 转录激活
	RelA	K37me1	转录激活
	FoxO3	K271me1	蛋白质稳定性, 转录激活
	E2F1	K185me1	蛋白质稳定性
	AR	K632me1	转录激活
	TAT	K51me1	转录激活
	MYPT	K442me1	稳定蛋白质, 减弱磷酸化, 抑制 E2F1 转录活性
	Yap	K494me1	影响 Yap 亚细胞定位, 调控 Hippo 信号通路
	ARTD1	K508me1	促进 ADP 核酸糖的合成, 招募到 DNA 损伤的位点
	SUV39H1	K105/K123me1	抑制酶活性
	Pdx1	K131me1	转录激活
	FXR	K206me1	转录激活
	SIRT1	N 端多个位点	抑制 SIRT1 与 p53 相互作用
	Sox2	K119me1	转录抑制, 蛋白质稳定性
	TAF7	K5me1	未知
	PCAF	6 个修饰位点	未知
	TAF10	K189me1	未知
	β -Catenin	K180me1	蛋白质稳定性
	HIF α	K32me1	转录抑制
	HIF2 α	K29me1	转录抑制
EZH2	STAT3	K180me1	转录激活
	GATA4	K299me1	蛋白质相互作用, 转录抑制
	JARID2	K116me2	改变 PRC2 构象, 增强其酶活性
	ROR α	K38me1	蛋白质稳定性
G9a	G9a	K239me1	蛋白质相互作用, 复合物形成
	CDYL1	K125me1	蛋白质相互作用
	p53	K373me2	转录抑制
	MyoD	K104me1	转录抑制
	MEF2D	K267me1	转录抑制
	Reptin	K67me1	转录抑制
	DNMT3a	K47me2	蛋白质相互作用, 复合物的形成
	C/EBP β	K39me1	转录抑制
SMYD2	Hsp90	K531/K574me1	二聚体和复合物的形成
	PTEN	K313me1	抑制其肿瘤抑制因子活性, 加速癌细胞增殖
	ER α	K266me1	转录抑制
	p53	K370me1	转录抑制
	RB1	K860me1	蛋白质相互作用
	RB1	K810me1	增强磷酸化, 促 E2F1 转录活性, 调控细胞周期
	PARP1	K528me1	增强核糖基化活性
NSD1	RelA	K218me1/K211me2	转录激活
SMYD3	VEGFR1	K831	增强其激酶活性
	MAP3K2	K260me1	蛋白质相互作用
SET8	p53	K382me1	转录抑制
	PCNA	K248me1	蛋白质相互作用
	NUMB	K158/K163me2	蛋白质相互作用
SETD6	RelA	K310me1	转录抑制
SETDB1	TAT	K50/K51me1	抑制 LTR 转录活性, 削弱 cdk 与 TAT RNA 结合
SETD1A	Hsp70	K561me2	调控亚细胞定位, 影响蛋白质相互作用
METT121A	Hsp70	K561me3	蛋白质相互作用
METT122	Kin17	K135me3	影响其与染色质的结合
GLP	p53	K373me2	转录抑制

外, 还可以催化非常多的非组蛋白底物上的精氨酸位点(根据 PhosphoSitePlus 统计, 近 1 300 个人源蛋白中的 2 000 多个位点被鉴定出来). 与赖氨酸甲基化修饰相似, 精氨酸的甲基化修饰也具有几大特点:

a. 已发现的精氨酸甲基化酶催化底物大多具有一个富含甘氨酸 - 精氨酸的模体 (glycine-Arginine-rich motif, GAR), 该区域是精氨酸酶的主要催化位点. RNA 结合蛋白 hnRNPA1、hnRNPU、SmD1、snRPB 等都富含这一模体而可被 PRMT 酶进行甲基化修饰, 通过影响 RNA 与蛋白质相互作用, 在 RNA 加工过程中进行功能调控. 其他的如在 DNA 损伤修复中发挥作用的

MRE11 和 53BP1 蛋白都含有 1 个 GAR 模体, GAR 中精氨酸的甲基化修饰可帮助它们增强 DNA 损伤区域的蛋白募集及修复活性.

b. 一个底物可以被不止一种 PRMT 酶所催化. 例如 PRMT1 和 PRMT5 都可以甲基化 SPT5、ASH2L 和 E2F1 等蛋白, 甚至两种酶可修饰相同位点, 表明 PRMT 家族酶对底物识别的特异性略差于 SET 家族酶.

c. PRMT 酶数量较少, 但除了 PRMT10 外, PRMT1-PRMT9 都能够催化非组蛋白的精氨酸甲基化(表 2)^[4]. 特别是 PRMT1 和 PRMT5, 迄今分别已被发现了 25 个和 19 个非组蛋白底物, 其中以 RNA 相关蛋白质为主.

Table 2 Summary of arginine methylation on non-histone proteins in human

表 2 人源非组蛋白的精氨酸甲基化修饰

酶	非组蛋白底物	修饰位点	功能
PRMT1	Sam68	P3 motif 280~339aa	促进出核, 使 HIV RNA 向胞质输出
	MRE11	GAR 554~680aa	核酸外切酶活性
	53BP1	GAR 1319~1480aa	DNA 断裂修复中招募到染色体
	BCR	R198	抑制 PI3K 信号通路, 促进 B 细胞分化
	ER α	R260	调控 p85 和 Src 结合, 招募 FAK
	TAF15	RGG repeats	TAF15 亚细胞定位, 调控基因表达
	RUNX1	R206/R210	抑制与 SIN3A 的结合, 调控基因表达
	SPT5	R681/R696/R698	与 RNA 聚合酶 II 和启动子的结合
	DVL3	GAR motif	抑制 Wnt 信号通路
	FOXO1	R248/R250	抑制磷酸化, 增加蛋白质稳定性和转录活性
	PFKFB3	R131/R134	增加蛋白质稳定性
	E2F1	R109	抑制 PRMT5 对其修饰, 促细胞凋亡
	FOXO1	R248/R250	抑制磷酸化, 增加蛋白稳定性和转录活性
	G3BP2	R432/R438/R452/R468	调控其与 DVL3 的结合, 增加磷酸化
	TRF2	R17	调控端粒的长度和稳定
	EBNA1	325~376aa	蛋白质亚细胞定位
	SLM-1	GAR motif	抑制其与 RNA poly(U)结合能力
	BTG1/TIS2	未知	调控 PRMT1 酶活性
	Ash2L	R296	未知
	IFN α / β	IC domain	未知
	ILF3	C 端区域	未知
	SAF-A	778~793aa	未知
	CF Im59	C 端区域	未知
CF Im68	GAR motif	未知	
hnRNP A1	R194	未知	
SMAD6	R74/R81	调控 BMP 信号通路	
HnRNPUL1	RGG/RG motif	蛋白质相互作用, 调控 DNA 损伤修复	
Smurf2	R232/234/237/239	蛋白质稳定性, 调控 TNF- β 信号通路	
PRMT2	ER α	AF-1	未知

续表 2

酶	非组蛋白底物	修饰位点	功能
	GST	GAR motif	未知
PRMT3	RPS2	GAR motif	未知
PRMT4	CBP/p300	R2142	与 GRIP1 相互作用, 调控蛋白质活性, 基因表达
	Sox9	HMG domain	Cyclin D1 基因表达和细胞周期
	Hsp70	R469	招募 TF II H, 转录激活
	SMARCC1	R1064	调控基因表达, 调控肿瘤细胞迁移和代谢
	RUNX1	R223	与 DPF2 互作, 抑制 miR-223 的表达
	U1C	PGM motif	未知
	SmB	PGM motif	未知
	SAP49	PGM motif	未知
	PABP1	R455/R460	未知
	CA150	PGM motif	与 SMN 的结合, 调控 RNA 剪接
PRMT5	SPT5	R698	抑制 SPT5 与 RNA 聚合酶 II 的相互作用
	EBNA-2	R325~376	调控与 SMN 的结合, 调控基因表达
	RelA	R30me2	激活 NF- κ B 活性, 调控基因表达
	CBP-1	R234	下调 DNA 损伤引起的细胞凋亡
	p53	R333/R335/R337	增加靶向基因的特异性
	PDCD4	R110	肿瘤细胞增殖
	SHP	R57	调控蛋白质相互作用, 抑制基因表达
	SmB	GAR motif	介导成熟 snRNPs 的组装
	RAF	R563	减少 ERK1/RK2 磷酸化, 促细胞分化
	EGF receptor	R1175	增加 Y1173 磷酸化, 招募 SHP1, 降低 ERK 活性
	E2F1	R111/R113	蛋白质稳定性, 增加 DNA 结合活性, 调控基因表达
	EBNA-1	325~376aa	蛋白质亚细胞定位
	HoxA9	R140	表皮细胞炎症反应中白血球粘连分子 ELAM 表达
	SmD1	GAR motif	未知
	SmD3	GAR motif	未知
	CF Im68	GAR motif	未知
	Ash2L	R296	未知
	MBP	R170	未知
PRMT6	Pol β	R83/R152	增强 DNA 聚合酶活性, 促进碱基切除修复
	HIV Tat	49~63aa	抑制其反式激活作用
	AR	Akt 识别域	抑制磷酸化, 神经退行性变化
	HMG A1a	R57/R59	未知
	PRMT6	R35	未知
PRMT7	G3BP2	4 个位点	调控 G3BP2 与 DVL3 的结合, 增加 LRP6 磷酸化
	DVL3	GAR motif	抑制 DVL3 在 Wnt 信号通路中的作用
PRMT8	PRMT8	R58/R73	未知
	EWSR1	RGG repeats	未知
PRMT9	SAP145	R508	蛋白质相互作用, 调控可变剪接

d. 精氨酸甲基化修饰与其他修饰之间也存在交互作用. 这种修饰形式主要对 RNA 加工、转录

延伸、DNA 损伤修复等细胞活动产生影响. 具体的内容将综合赖氨酸甲基化修饰的章节一起讨论.

3 不同修饰方式之间的交互作用

真核生物中, 蛋白质在行使功能的不同阶段会发生形形色色的翻译后修饰, 这些修饰彼此联系, 相互影响, 产生不同的生物学效应. 下面我们分别举例说明甲基化修饰与不同修饰之间的交互作用.

3.1 甲基化-甲基化交互作用

与磷酸化、乙酰化等修饰方式不同, 甲基化修饰不改变蛋白质的电荷性质, 而往往是作为一个标记, 通过招募不同的蛋白质识别该位点, 达到产生不同生物学效应的目的. 甲基化修饰的交互作用主要发生在相同位点的不同修饰形式之间, 或者相互临近的位点之间. 仍以 p53 蛋白为例, 其上的 370、372、373、382 位均可发生一甲基或二甲基修饰^[4-7, 15-16]. SMYD2 催化的 K370me1 抑制靶基因的转录, 但 K370me2 则可以招募 53BP1 蛋白促进 p53 靶基因转录, 并且这两种修饰都可以被临近的 K372me2 所抑制.

除了 53BP1 结合 p53K370me2 以外, L3MBTL1 和 PHF20 蛋白也可以通过 MBT (methyl-binding domain) 结构域分别识别 K382me1 和 K382me2. L3MBTL1 结合 p53K382me1 会导致基因表达抑制^[15]; PHF20 结合 p53K382me2 则会稳定 p53 并促进基因转录^[16]. 更有趣的是, PHF20 蛋白上还含有一个 Tudor 结构域, 该结构域可识别 K370me2, 从而导致识别该位点的 PHF20 分子与识别 K382me2 的 PHF20 分子形成同源二聚体, 协调促进 p53 的转录激活活性^[16]. p53 蛋白甲基化之间的 crosstalk 机制建立了一个精细调控的网络, 为 p53 功能的多样化提供了可能.

3.2 甲基化-磷酸化交互作用

非组蛋白底物上甲基化与磷酸化修饰之间的交互作用是目前为止报道得最多的一种通讯方式. 这两种修饰的联系多发生于相近的丝氨酸/苏氨酸与赖氨酸/精氨酸之间, 且磷酸化与甲基化功能相互排斥. 比如转录因子 FOXO1 可以被激酶 AKT 在 S253 位磷酸化, 促进其由细胞核向细胞质转移, 进而泛素化后被蛋白酶体降解. 在氧压力作用下, PRMT1 可以甲基化修饰 FOXO1 的 R248/R250 位点, 抑制了 S253 的磷酸化发生, 从而增强 FOXO1 的蛋白稳定性和转录活性, 导致细胞凋亡^[17]. 而 SETD7 可以催化 JAK 信号通路因子 STAT3 的 K140me2, 影响 Y705 的磷酸化, 负调控 STAT3 活性^[18].

类似的作用机制发生在脊延髓肌萎缩症 (SBMA) 中. AKT 对雄激素受体 AR 中 S792 的磷酸化, 与 PRMT6 对 R787/R789 的甲基化相互抑制^[19]. 视网膜母细胞瘤蛋白 RB1 是一个重要的肿瘤抑制因子, 其通过 Cdk 激酶磷酸化来影响细胞周期. 在 DNA 损伤发生时, SETD7 可以甲基化 K810 位, 阻碍 Cdk 对 S807/S811 的磷酸化, 导致细胞周期阻滞^[20].

甲基化与磷酸化之间的“交叉对话”除了影响蛋白质的功能, 还调控蛋白质的稳定性. 对 DNMT1 的调控就是实例之一. SETD7 甲基化 K142 位, 促进其降解, 而 AKT 对 S143 的磷酸化使其蛋白质水平稳定^[21]. 无独有偶, Wong 实验室发现了胚胎干细胞关键转录因子 Sox2 有类似的调控方式. 在胚胎干细胞分化早期, SETD7 甲基化 Sox2K119, 使 Sox2 泛素化水平增加进而促进降解, 而在胚胎干细胞维持自身干性时, AKT 对 Sox2T118 的磷酸化修饰占主导, 使 Sox2 蛋白水平更稳定, 从而更好地维持其干性^[22].

当然, 甲基化与磷酸化之间的交互作用不一定相互拮抗. 也有一些报道发现两者之间的“通讯”可以远程发生, 并协调作用. 如最新的一篇报道显示, 肿瘤抑制蛋白 PTEN 可以被 SMYD2 在 K313 位甲基化修饰, 该修饰促进了 AKT 对 PTEN 蛋白 S380 的磷酸化修饰, 两种修饰协同作用, 促进癌细胞增殖, 从而减弱其在 PI3K-AKT 信号通路中的肿瘤抑制功能^[23]. 血管内皮生长因子 VEGFR-2 的激酶结构域中 K1041 位可以发生甲基化修饰, 这一修饰对于 Y1052 位上的自磷酸化以及激活的酶活性是必需的^[24]. 目前, 蛋白质甲基化修饰是如何影响远距离的磷酸化修饰其作用机制仍不清楚, 有可能是通过招募其他蛋白质或改变局部构象来调控的.

3.3 甲基化-乙酰化交互作用

组蛋白上甲基化与乙酰化之间的交互作用有较多的报道, 由于两种修饰可以位于同一位点或不同位点上, 因此影响方式多种多样. 非组蛋白上甲基化-乙酰化的交互作用鲜有报道, 这里仅举个例阐述. SETD7 催化的 p53K372 甲基化可以增加其临近的 K373 和 K382 上的乙酰化修饰^[25]. 乙酰化水平的增加有可能是通过增加 p53 与乙酰化酶 p300/CBP 或 Tip60 的相互作用引起的, 也可能是通过影响去乙酰化 SIRT1 与 p53 的结合造成的. 另一个例子是雌激素受体 ER α 可以被 SMYD2 在

K266 位甲基化, 抑制其与染色质的结合及对基因的转录. 但在雌激素的刺激下, K266 位的甲基化被去甲基化酶 LSD1 去除, 从而增强 p300/CBP 对 ER α 的乙酰化, 促进其转录活性^[26].

3.4 反式交互作用 (*trans-crosstalk*)

上述三种交互作用都是发生在同一种蛋白质上的, 其实不同蛋白质上不同修饰之间的交互作用也早有报道. 最有名的例子是 H2B 上的泛素化修饰可以影响 H3K4 和 H3K79 的二、三甲基化修饰. 对于非组蛋白的 *trans-crosstalk*, 例如 Wnt 信号通路的信号传导. Wnt 蛋白通过结合受体蛋白 Frizzled 或 LRP5/LRP6, 起始 β -catenin 信号通路, 促进基因转录, 调控胚胎和组织发育. 此过程中, PRMT1/PRMT7 催化该信号通路上 G3BP2 蛋白上的多位点甲基化, 从而促进 GSK3 介导的 LRP6 S1490 磷酸化, 稳定 β -catenin 蛋白, 正调控 Wnt 信号通路^[27].

4 甲基化修饰的重要生物学功能

非组蛋白的甲基化修饰在多种细胞生命活动中发挥重要作用. 鉴于已经发现的底物主要集中在转录因子、DNA 复制/损伤修复、RNA 加工、细胞周期及染色质修饰蛋白质等, 我们将围绕以下几个方面重点介绍.

4.1 细胞内的核质转移

蛋白质的出核或入核序列上往往含有几个带有正电荷的赖氨酸或者精氨酸残基, 因此可以预见该序列位点上的甲基化修饰可以改变相应蛋白质的核质定位. 实验结果显示, 非甲基化修饰的 Hsp70 和 p53 蛋白在细胞核和细胞质中都有分布, 而甲基化修饰后的蛋白质则主要在细胞核中发挥功能. 癌细胞中 SETD1A 催化 Hsp70 蛋白 K561me₂, 促其入核后与 Aurora B 激酶结合并增强其激酶活性, 促进了肿瘤细胞的增殖^[28]. PRMT1 修饰转录因子 SMAD6 上精氨酸的甲基化, 促其入核后激活与骨形成相关的基因表达^[29]. 在 Hippo 信号通路中, SETD7 甲基化转录因子 YAP K494 位, 促使该蛋白在胞质中停留, 平衡其磷酸化后的核转入信号^[30].

4.2 蛋白质稳定性

赖氨酸的泛素化是蛋白质降解的重要信号, 而赖氨酸上的甲基化修饰则增强了蛋白质的稳定性.

上文中我们已经列举了几个相关例子: p53、FOXO1 和 DNMT1, 另外还有 SETD7 介导的 FOXO3 甲基化等. 而实际上也有报道显示赖氨酸

甲基化可造成蛋白质的降解. 视黄酸相关的孤儿核受体蛋白 ROR α 可被 EZH2 在第 38 位的赖氨酸上一甲基化修饰, 该修饰为 Cul4-DDB1 泛素连接酶提供了结合位点, 从而促进了 ROR α 蛋白的泛素化降解^[31].

4.3 转录调控

组蛋白的翻译后修饰主要调控基因表达, 而迄今为止超过 50% 非组蛋白的甲基化修饰作用于转录因子上. 除了我们熟知的 p53、NF- κ B、RB、ER α 外, 还有很多重要的转录因子受到了甲基化修饰的调控. 例如转录因子 E2F1, 在细胞周期、细胞凋亡和 DNA 损伤应激中发挥作用, 其表达异常与多种癌症的发生紧密相关. 研究表明, 在 p53 缺失的癌细胞中, SETD7 催化的 E2F1K185me₁ 甲基化诱导了 E2F1 的降解, 阻止了 DNA 损伤时 E2F1 蛋白水平的增加以及对凋亡靶基因 TP73 的激活^[32]. 而非甲基化形式的 E2F1 则更易于被乙酰化和磷酸化, 在 DNA 损伤应激时促进细胞凋亡. 另一个在细胞凋亡中发挥作用的肿瘤抑制因子 NUMB 也可以被 SETD8 在 K158/K163 位二甲基化修饰. 甲基化的 NUMB 削弱了与 p53 的相互作用, 促使 p53 被泛素化降解, 抑制了 NUMB-p53 在细胞凋亡的作用^[33]. GATA 是一类重要的转录因子, 在决定细胞分化、组织发育中调控多种基因表达, 而家族成员 GATA4 特异性地调控心肌形态形成. Pu 等的研究表明, EZH2 可以甲基化 GATA4 K299 位, 通过抑制 GATA4 与乙酰化酶 p300 的互作, 抑制其转录活性而负调控心肌形成过程^[34]. 另有报道显示, PRMT4 可以甲基化 Sox9, 可能通过调控 β -catenin 信号通路影响软骨内骨化过程^[35].

4.4 DNA 复制与 DNA 损伤修复

PCNA 是一个高度保守的蛋白质, 在 DNA 复制、染色质重塑、DNA 损伤等过程中都发挥作用. Takawa 等^[36]发现 SETD8 可以催化其 K248 位的甲基化修饰. 甲基化修饰的 PCNA 增加了与内切酶 FEN1 的互作, 可促进冈崎片段加工中 RNA 引物的去除; 抑制 PCNA 的甲基化修饰将阻碍冈崎片段的成熟, 减缓 DNA 复制进程, 引起 DNA 损伤发生. 这一实例证明了甲基化修饰在 DNA 复制中的重要作用.

另一个例子是 ADP 核糖聚合酶 PARP1, 其可被 SMYD2 所催化, 催化位点位于 PARP1 的催化结构域中. 甲基化后的 PARP1 表现出增强的 ADP 核糖基化活性, 可抵制 DNA 损伤后对细胞的伤

害. PRMT6 甲基化 DNA 聚合酶 Pol β , 可增强其 DNA 结合力和促进其酶活性, 可能在碱基切割修复机制中发挥功能^[7]. 表 2 中我们还提到了 PRMT1 可以甲基化 MRE11 和 53BP1, PRMT5 甲基化 p53 等, 这些例子都证明了在 DNA 相关过程中非组蛋白甲基化修饰的重要性.

4.5 RNA 加工

RNA 的加工非常重要, 很多 RNA 相关蛋白质参与了这一进程. 发现精氨酸甲基化酶可以有效地催化很多 RNA 结合蛋白的甲基化修饰, 通过把精氨酸残基变得更疏水以及空间位阻效应来阻碍 RNA 与蛋白质的结合. 报道显示 PRMT5 可以甲基化修饰多种这类蛋白质, 包括 LSM4、SmD1/SmD3 和 snRNPs 蛋白. 抑制甲基化的发生将阻止蛋白质入核以及蛋白质复合体的组装. 另外, PRMT1 和 PRMT5 都可以甲基化转录延伸因子 SPT5, 削弱 SPT5 与 RNA 聚合酶 II 的结合, 调控转录延伸^[38].

5 鉴定新的非组蛋白甲基化底物与甲基化酶的方法

近十几年来, 寻找非组蛋白甲基化修饰的研究绝大多数都是通过个例分析方法 (candidate approach), 这种研究手段具有不确定性, 且不易确定酶与底物之间的联系. 因此最近几年, 有些实验室运用甲基化蛋白质组学技术来鉴定更多的非组蛋白甲基化底物.

首先是通过甲基化位点同源序列比对方法来寻找新的底物. G9a 甲基化 H3K9 位点, 该位点包含一个 ARK 保守序列. 基于该保守序列, Rathert 等^[39]发现了 G9a 的其他甲基化底物, 包括 CDYL1、WIZ、ACINUS 等. 但由于甲基化修饰序列不具有高度保守性, 因此很多底物无法通过上述方法进行鉴定.

随后, 借鉴泛磷酸化抗体富集磷酸化肽段的经验, 开发出泛甲基化抗体. 首先是针对赖氨酸修饰的泛甲基化抗体, 其次是针对精氨酸修饰的泛甲基化抗体. 特别是后者, 利用抗体富集修饰蛋白肽段结合 LC-MS/MS 质谱技术, 鉴定出上千个精氨酸甲基化修饰位点. 虽然上述方法可行, 但是直接从细胞粗抽提物中鉴定修饰位点仍然具有背景干扰高、特异性差、检测灵敏度低等弱点. 为此, 多种改良方法被运用于高通量的甲基化蛋白质组学鉴定中. a. 分别针对一、二、三甲甲基化修饰的高度特

异性泛赖氨酸抗体的制备, 以及分别针对单甲基化 (MMA)、对称二甲基 (SDMA) 和非对称二甲基 (ADMA) 的泛精氨酸抗体的制备. b. 细胞培养过程中加入 ^3H 同位素标记的甲硫氨酸, 使得氨基酸发生甲基化时被转移酶所利用, 修饰后的肽段分子质量从 14 u 变为 18 u. 这种方法避免了由于其他化学反应造成的甲基化修饰假象, 可鉴定出特异性的甲基化酶催化的修饰位点. c. 甲基化抗体免疫富集后的蛋白质肽段用强阳离子交换树脂进行分离, 把肽段分成多个组分后分别进行电子转移解离模式 (electron transfer dissociation, ETD) 的质谱鉴定. 这样既可以提高质谱的检测灵敏度, 又可提高修饰肽段的数量. d. 在进行样品处理时, 不仅使用常用的 Trypsin 蛋白酶水解蛋白质, 还可同时利用 Glu-C、Arg-C、糜蛋白酶、弹性蛋白酶分别进行水解. 由于不同蛋白酶的酶切位置不同, 这样可以提高酶切后多肽片段的覆盖率, 增加质谱检测的修饰肽段的数量.

最近, Gozani 等发展了一种通过甲基化识别结构域来鉴定新的甲基化修饰蛋白质的方法. 他们发现 L3MBTL1 蛋白上含有 3 个串联的 MBT 结构域, 它可以识别几乎所有一、二甲基化修饰的蛋白质. 利用这一原理, 他们分别体外表达纯化了野生型和突变型的 3xMBT 蛋白片段, 其中突变型破坏了该结构域对甲基化修饰底物的识别. 结合细胞稳定同位素标记氨基酸技术 (SILAC), 他们从 293T 细胞中鉴定出 21 种新的甲基化修饰蛋白质^[40]. 该方法简单、特异性高, 缺点是只能鉴定到蛋白质水平, 不能精确确定修饰位点. 其他实验室使用类似的方法, 利用 HP1 β 蛋白上的 Chromo 结构域同样鉴定到 29 种新的甲基化底物, 表明这种方法可推广到其他结合结构域的应用中^[41].

为了直接找到修饰酶与甲基化底物之间的联系, 其他技术也被应用于系统性地鉴定中. 蛋白质芯片可用于某种甲基化酶对上千种潜在底物的大规模筛选中. 修饰的蛋白质底物可以被同位素、荧光标记或者甲基化抗体所检测. 目前 Life Technologies 公司开发的带有 GST 标记的 9 500 种蛋白质的芯片为这一技术提供了广阔前景. 但该方法的缺点是无法保证蛋白质芯片上的每一种蛋白质正确折叠并具有生物活性, 因此需要在大规模筛选后用其他方法进行确认. 另一种方法被称为“化学遗传学”法. 该方法借鉴了鉴定激酶磷酸化底物的策略, 通过突变甲基化酶识别 SAM 的位点, 从而

保证该酶只选择性地识别 SAM 的类似物. 该类似物上带有可与其反应的基团(如叠氮键), 从而可以在化学反应后被 FLAG 抗体或者荧光基团所检测.

目前, Luo 实验室已经进一步将可把甲硫氨酸转变为 SAM 的腺苷转移酶进行了基因改造, 使得甲硫氨酸的类似物可被改造酶所利用, 从而可以在细胞体内产生大量有效的 SAM 类似物, 避免了细胞培养基中加入不稳定的 SAM 类似物带来的缺陷^[42].

由于这种方法将生理条件下的修饰酶与甲基化底物偶联起来进行分析鉴定, 相信其具有令人欣喜的应用前景, 为将来找到更多新的甲基化位点打下良好基础.

6 前景展望

非组蛋白上的赖氨酸和精氨酸甲基化修饰已经被证明是一种普遍的修饰方式, 在细胞生命活动中发挥了多种多样的作用. 目前我们所知道的极可能只是“冰山一角”. 在酵母中, 发现大约 1.5% 的蛋白质可以发生赖氨酸甲基化修饰, 哺乳动物细胞中近 1% 的精氨酸残基上会发生甲基化修饰, 但目前我们所鉴定到的所有甲基化位点不超过 4 000 个. 尤其值得注意的是, 一些甲基化酶主要定位于细胞质中(包括 6 个 PRMT 酶可定位于胞质), 一些甲基化底物是胞质蛋白质. PRMT8 定位于质膜上, 是否有质膜上定位的蛋白质也可以被甲基化修饰? 可以预见, 将有更多的新的甲基化位点和新的甲基化修饰的非核蛋白被鉴定出来, 丰富我们对甲基化蛋白质组学的认识, 为全面了解其功能提供帮助.

虽然科学家们发展和改进了很多方法来寻找新的甲基化修饰位点和修饰蛋白质, 目前的方法仍然不足以帮助我们系统性地掌握所有的甲基化蛋白质组学信息. 因此研发新的方法和试剂是当务之急. 比如进一步加强甲基化识别抗体的特异性, 丰富和改进甲基化修饰蛋白质 / 多肽富集的手段, 提高质谱鉴定甲基化基团的灵敏度和分辨率, 整合甲基化修饰的蛋白质 / 肽段数据库等.

在鉴定到新的更多的甲基化修饰位点的基础上, 如何全面理解甲基化修饰的功能也十分重要. 酶活性的调节往往具有时空性, 其催化底物的方式也具有时空性. 不同修饰之间的交互作用如何精细调控细胞功能? 处于内在和外在刺激之下, 甲基化修饰的位点和修饰丰度如何变化? 这些变化如何影响蛋白质功能? 另外, 许多甲基化酶或者蛋白质甲基化修饰的异常与人类疾病紧密相关. 如何通过理

解其功能找到相应的治疗策略? 这些问题的解开将为我们深入认识蛋白质的甲基化修饰打开大门.

参 考 文 献

- [1] Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell*, 2007, **128** (4): 693-705
- [2] Greer E L, Shi Y. Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nat Rev Genet*, 2012, **13** (5): 343-357
- [3] Paik W K, Paik D C, Kim S. Historical review: the field of protein methylation. *Trends Biochem Sci*, 2007, **32** (3): 146-152
- [4] Huang J, Perez-Burgos L, Placek B J, *et al.* Repression of p53 activity by Smyd2-mediated methylation. *Nature*, 2006, **444** (7119): 629-632
- [5] Shi X, Kachirskaia I, Yamaguchi H, *et al.* Modulation of p53 function by SET8-mediated methylation at lysine 382. *Mol Cell*, 2007, **27** (4): 636-646
- [6] Kachirskaia I, Shi X, Yamaguchi H, *et al.* Role for 53BP1 Tudor domain recognition of p53 dimethylated at lysine 382 in DNA damage signaling. *J Biol Chem*, 2008, **283** (50): 34660-34666
- [7] Huang J, Dorsey J, Chuikov S, *et al.* G9a and Glp methylate lysine 373 in the tumor suppressor p53. *J Biol Chem*, 2010, **285** (13): 9636-9641
- [8] Ea CK, Baltimore D. Regulation of NF-kappaB activity through lysine monomethylation of p65. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, **106** (45): 18972-18977
- [9] Yang X D, Huang B, Li M, *et al.* Negative regulation of NF-kappaB action by Set9-mediated lysine methylation of the RelA subunit. *EMBO J*, 2009, **28** (8): 1055-1066
- [10] Lu T, Jackson M W, Wang B, *et al.* Regulation of NF-kappaB by NSD1/FBXL11-dependent reversible lysine methylation of p65. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107** (1): 46-51
- [11] Levy D, Kuo A J, Chang Y, *et al.* Lysine methylation of the NF-kappaB subunit RelA by SETD6 couples activity of the histone methyltransferase GLP at chromatin to tonic repression of NF-kappaB signaling. *Nat Immunol*, 2011, **12** (1): 29-36
- [12] Duran A, Diaz-Meco M T, Moscat J. Essential role of RelA Ser311 phosphorylation by zetaPKC in NF-kappaB transcriptional activation. *EMBO J*, 2003, **22** (15): 3910-3918
- [13] Biggar K K, Li S S. Non-histone protein methylation as a regulator of cellular signalling and function. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2015, **16** (1): 5-17
- [14] Wei H, Mundade R, Lange K C, *et al.* Protein arginine methylation of non-histone proteins and its role in diseases. *Cell Cycle*, 2014, **13** (1): 32-41
- [15] West L E, Roy S, Lachmi-Weiner K, *et al.* The MBT repeats of L3MBTL1 link SET8-mediated p53 methylation at lysine 382 to target gene repression. *J Biol Chem*, 2010, **285** (48): 37725-37732
- [16] Cui G, Park S, Badeaux A I, *et al.* PHF20 is an effector protein of p53 double lysine methylation that stabilizes and activates p53. *Nat Struct Mol Biol*, 2012, **19** (9): 916-924
- [17] Yamagata K, Daitoku H, Takahashi Y, *et al.* Arginine methylation of FOXO transcription factors inhibits their phosphorylation by

- Akt. Mol Cell, 2008, **32** (2): 221–231
- [18] Yang J, Huang J, Dasgupta M, *et al.* Reversible methylation of promoter-bound STAT3 by histone-modifying enzymes. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, **107** (50): 21499–21504
- [19] Scaramuzzino C, Casci I, Parodi S, *et al.* Protein arginine methyltransferase 6 enhances polyglutamine-expanded androgen receptor function and toxicity in spinal and bulbar muscular atrophy. Neuron, 2015, **85** (1): 88–100
- [20] Carr S M, Munro S, Kessler B, *et al.* Interplay between lysine methylation and Cdk phosphorylation in growth control by the retinoblastoma protein. EMBO J, 2011, **30** (2): 317–327
- [21] Esteve P O, Chang Y, Samaranyake M, *et al.* A methylation and phosphorylation switch between an adjacent lysine and serine determines human DNMT1 stability. Nat Struct Mol Biol, 2011, **18** (1): 42–48
- [22] Fang L, Zhang L, Wei W, *et al.* A methylation-phosphorylation switch determines Sox2 stability and function in ESC maintenance or differentiation. Mol Cell, 2014, **55** (4): 537–551
- [23] Nakakido M, Deng Z, Suzuki T, *et al.* Dysregulation of AKT pathway by SMYD2-mediated lysine methylation on PTEN. Neoplasia, 2015, **17** (4): 367–373
- [24] Hartsough E J, Meyer R D, Chitalia V, *et al.* Lysine methylation promotes VEGFR-2 activation and angiogenesis. Sci Signal, 2014, **6** (304): ra104
- [25] Ivanov G S, Ivanova T, Kurash J, *et al.* Methylation-acetylation interplay activates p53 in response to DNA damage. Mol Cell Biol, 2007, **27** (19): 6756–6769
- [26] Jiang Y, Trescott L, Holcomb J, *et al.* Structural insights into estrogen receptor alpha methylation by histone methyltransferase SMYD2, a cellular event implicated in estrogen signaling regulation. J Mol Biol, 2014, **426** (20): 3413–3425
- [27] Bikkavilli R K, Malbon C C. Wnt3a-stimulated LRP6 phosphorylation is dependent upon arginine methylation of G3BP2. J Cell Sci, 2012, **125** (10): 2446–2456
- [28] Cho H S, Shimazu T, Toyokawa G, *et al.* Enhanced HSP70 lysine methylation promotes proliferation of cancer cells through activation of Aurora kinase B. Nat Commun, 2012, **3**: 1072 (DOI: 10.1038/ncomms2074)
- [29] Xu J, Derynck R. Does Smad6 methylation control BMP signaling in cancer? Cell Cycle, 2013, **13** (8): 1209–1210
- [30] Oudhoff M J, Freeman S A, Couzens A L, *et al.* Control of the hippo pathway by Set7-dependent methylation of Yap. Dev Cell, 2013, **26** (2): 188–194
- [31] Lee JM, Lee JS, Kim H, *et al.* EZH2 generates a methyl degron that is recognized by the DCAF1/DDB1/CUL4 E3 ubiquitin ligase complex. Mol Cell, 2012, **48** (4): 572–586
- [32] Xie Q, Bai Y, Wu J, *et al.* Methylation-mediated regulation of E2F1 in DNA damage-induced cell death. J Recept Signal Transduct Res, 2011, **31** (2): 139–146
- [33] Dhama GK, Liu H, Galka M, *et al.* Dynamic methylation of Numb by Set8 regulates its binding to p53 and apoptosis. Mol Cell, 2013, **50** (4): 565–576
- [34] He A, Shen X, Ma Q, *et al.* PRC2 directly methylates GATA4 and represses its transcriptional activity. Genes Dev, 2012, **26** (1): 37–42
- [35] Ito T, Yadav N, Lee J, *et al.* Arginine methyltransferase CARM1/PRMT4 regulates endochondral ossification. BMC Dev Biol, 2009, **9**: 47 (DOI: 10.1186/1471-213X-9-47)
- [36] Takawa M, Cho H S, Hayami S, *et al.* Histone lysine methyltransferase SETD8 promotes carcinogenesis by deregulating PCNA expression. Cancer Res, 2012, **72** (13): 3217–3227
- [37] El-Andaloussi N, Valovka T, Toueille M, *et al.* Arginine methylation regulates DNA polymerase beta. Mol Cell, 2006, **22** (1): 51–62
- [38] Kwak Y T, Guo J, Prajapati S, *et al.* Methylation of SPT5 regulates its interaction with RNA polymerase II and transcriptional elongation properties. Mol Cell, 2003, **11** (4): 1055–1066
- [39] Rathert P, Dhayalan A, Murakami M, *et al.* Protein lysine methyltransferase G9a acts on non-histone targets. Nat Chem Biol, 2008, **4** (6): 344–346
- [40] Moore K E, Carlson S M, Camp N D, *et al.* A general molecular affinity strategy for global detection and proteomic analysis of lysine methylation. Mol Cell, 2013, **50** (3): 444–456
- [41] Liu H, Galka M, Mori E, *et al.* A method for systematic mapping of protein lysine methylation identifies functions for HP1beta in DNA damage response. Mol Cell, 2013, **50** (5): 723–735
- [42] Islam K, Zheng W, Yu H, *et al.* Expanding cofactor repertoire of protein lysine methyltransferase for substrate labeling. ACS Chem Biol, 2011, **6** (7): 679–684

Research Progress on Non-histone Protein Methylation*

LI Wei-Zhe^{1,2)}, WANG Hong-Yan²⁾, DU Hai-Ning^{1,2)**}

¹⁾Shenzhen Graduate School of Wuhan University, Shenzhen 518057, China;

²⁾College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract Non-histone methylations on lysine or arginine residues have been proved to be a common fashion of post-translational modification on proteins. The diversity of methylation on different proteins or different modifying modes, such as adding one, two, or three methyl groups, dynamically affects extensive biological outcomes, including gene expression, protein activities, protein stabilities, DNA replication, genome stability, RNA processing and so on. In the manuscript, we summarized the features of protein methylation and recent progress in non-histone methylation modifiers, identified methylation sites, as well as their corresponding biological functions. Particularly, crosstalk between methylation and other types of post-translational modifications and advances in defining non-histone methylation approaches will be highlighted.

Key words non-histone, lysine methylation, arginine methylation, crosstalk

DOI: 10.16476/j.pibb.2015.0219

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (31271369) and The Shenzhen Science and Technology Innovation Commission(JCYJ20150422150029096).

**Corresponding author.

Tel: 86-27-68752401, E-mail: hainingdu@whu.edu.cn

Received: July 14, 2015 Accepted: August 13, 2015