

组蛋白精氨酸甲基化与斑马鱼早期发育

赵新西 李逸平*

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 细胞生物学国家重点实验室,
上海市分子男科学重点实验室, 上海 200031)

摘要 发育是由基因的特定时空表达模式来调控的, 其表观遗传机制已越来越受到关注。组蛋白精氨酸甲基化是一种重要的翻译后修饰, 由蛋白质精氨酸甲基化酶催化产生, 对染色体的结构与功能具有重要调控作用。不同位点的精氨酸甲基化与其相邻位点的翻译后修饰具有复杂的对话机制, 并可招募或阻碍相关效应分子的结合, 进而导致转录激活或抑制。斑马鱼作为一种重要的发育生物学研究模式动物, 已为蛋白质精氨酸甲基化酶在早期发育过程中的生理功能的研究提供了大量资料。该文对组蛋白精氨酸甲基化的产生、对话调控机制及其对斑马鱼早期发育调控功能的研究进行综述。

关键词 表观遗传; 组蛋白精氨酸甲基化; 精氨酸甲基化酶; 斑马鱼; 发育

Histone Arginine Methylation and Early Development in Zebrafish

Zhao Xinxi, Li Yiping*

(Shanghai Key Laboratory for Molecular Andrology, State Key Laboratory of Cell Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract Development is determined by spatial and temporal gene expression patterns, the epigenetic mechanisms of which has been paid more and more attention. Histone arginine methylation is post-translational modification (PTM) generated by protein arginine methyltransferases, and regulates the structure and function of chromosome. There are complicated cross talks between PTMs at different R sites and its adjacent sites, which lead to expression activation and repression by recruiting or blocking the relative effectors. Zebrafish is an important model in development study, and has contributed to the physiological roles of protein arginine methyltransferases. This review will summarize the generation of histone arginine methylation, its cross talk with other PTMs, and its physiological roles in early development of zebrafish.

Key words epigenetic; histone arginine methylation; arginine methyltransferases; zebrafish; development

核小体是染色体的基本构成单元, 它包含的核心组蛋白(H3、H4、H2A和H2B)经146 bp核苷酸缠绕形成八聚体。这些核心组蛋白的N端形成裸露在八聚体外面的尾巴, 呈松散状态, 从而易于产生大量的翻译后修饰, 包括组蛋白乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、SUMO化等。不同的组蛋白修饰或不同修

饰间的组合会使作为转录模板的染色体的特性发生相应改变, 如组蛋白乙酰化中和了赖氨酸残基的正电荷, 改变了染色体的带电性质; 赖氨酸位点甲基化通过改变染色体组装而增加了转录相关元件的吸附能力, 致使DNA变得易于或不易于接近转录因子等转录元件, 从而导致转录激活或转录抑制。因此, 这

收稿日期: 2014-01-16 接受日期: 2014-02-19

上海市科技创新行动计划(批准号: 11140900100)资助的课题

*通讯作者。Tel: 021-54921413, E-mail: yipingli@sibcb.ac.cn

Received: January 16, 2014 Accepted: February 19, 2014

This work was supported by the Science and Technology Innovation Program of Shanghai (Grant No.11140900100)

*Corresponding author. Tel: +86-021-54921413, E-mail: yipingli@sibcb.ac.cn

网络出版时间: 2014-05-26 15:41

URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.06.0017.html>

些组蛋白的修饰被称为“组蛋白密码”,是表观遗传学的核心研究内容之一。

组蛋白精氨酸位点(arginine, R)可发生广泛的甲基化,包括单甲基(monomethylarginines, MMA)、对称二甲基(symmetrical dimethylarginines, SDMA)和不对称二甲基(asymmetrical dimethylarginines, ADMA)3种修饰形式^[1]。精氨酸甲基化是由蛋白质精氨酸甲基化酶(protein arginine methyltransferases, PRMTs)将S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl methionine, SAM)的甲基转移至精氨酸的胍基氮上而产生的。根据催化产生的甲基化形式,将PRMTs分为催化产生ADMA的I型(PRMT1,2,3,4,6,8)、产生SDMA的II型(PRMT5,7、PRMT9/FBXO11),以及只催化产生MMA的III型(PRMT7、cePRMT2、cePRMT3)^[2]。另外,在酵母中发现了催化产生σ胍基氮位置甲基化的IV型(PRMT2)^[3]。目前,组蛋白已发现的精氨酸甲基化位点包括H3R2、H3R8、H3R17/26、H4R3和H2AR3/29。

利用重要模式动物斑马鱼来研究表观修饰的生理功能具有诸多优点,其早期发育发生着广泛的特定基因的时空表达调控,已成为表观遗传学研究的重要模式,反之,表观遗传调控的研究也为其早期发育机制提供了新的阐释。越来越多的研究资料表明,组蛋白精氨酸甲基化在斑马鱼早期发育过程中发挥着重要作用。我们实验室关注斑马鱼早期发育(特别是中囊胚过渡)过程中关键调控因子的研究^[4-6]。本文拟综述组蛋白精氨酸甲基化的相关研究进展,并分析蛋白质精氨酸甲基化酶在斑马鱼早期发育过程中的生理意义及调控功能。

1 组蛋白精氨酸甲基化

1.1 H3R2

研究表明,H3R2位点发生不对称甲基化修饰(H3R2me2a),相应的甲基化酶为PRMT6^[7-8],而非早期研究认为的CARM1(PRMT4)。Guccione等^[9]用qCHIP方法分析了大量人源基因启动子区域H3R2me2a和H3K4me3的修饰水平,发现两者呈负相关,分别与转录抑制和转录激活相关。进一步研究发现,H3R2me2a阻止MLL1复合体或Set1的亚基Spp1结合到H3的N端,从而抑制H3K4位点发生甲基化,反之,H3K4me3阻止PRMT6的结合及H3R2me2a的形成。虽然也有研究表明,这两个位点可同时被

甲基化,但H3R2me2a能够阻止H3K4me3效应分子的结合^[10]。PHD是许多转录调控相关蛋白(如TAF3、AIRE、UHRF1)与组蛋白的结合域,其选择性的结合被H3R2me2a所阻止,结构生物学研究也为此提供了证据^[10]。所以,一致的观点是,H3K4me3是转录激活的标志,存在于活跃转录基因的转录起始位点,而H3R2me2a能阻止H3K4me3的形成及转录激活相关因子的招募,从而导致转录抑制,是转录抑制的标志。

CHIP-on-chip研究表明,H3R2me2a富集于整个异染色质区域和常染色质的转录抑制基因及转录激活基因的中部或3'端。CHIP分析已鉴定了多个PRMT6的靶基因,如*HoxA2*^[8]、*p21*、*p27*^[11]、*Oct4*、*Nanog*^[12],这些基因的启动子区可结合PRMT6而产生H3R2me2a,导致转录抑制。

最近研究发现,PRMT5和PRMT7能催化H3R2位点发生对称甲基化修饰(H3R2m2s),H3R2m2s排斥与转录抑制复合体核心组分RBBP7的结合,而与共激活复合体组分WDR5具有高亲和力^[13]。Yuan等^[14]研究表明,H3R2me2sK4me3在整个基因组的激活基因启动子区域普遍存在,转录因子对H3K4me3的识别结合依赖于H3R2me2s。Kirmizis等^[15]研究表明,酵母中存在的H3R2me1与转录激活相关。因此,H3R2在基因表达调控过程中的功能由其修饰状态决定。

1.2 H3R8

H3R8位点发生两种类型二甲基修饰(H3R8me2s和H3R8me2a),分别由PRMT5和PRMT2催化产生。 β -catenin招募PRMT2至Wnt靶基因的启动子区,产生H3R8me2a,与转录激活相关^[16]。PRMT5与Snail、Ski、ZNF224、BRD7^[17]等转录抑制相关因子联合,共同结合到靶基因的启动子区域,催化产生H3R8me2s及H4R3me2s,抑制基因转录^[18]。目前,已鉴定了多个PRMT5靶基因,如*ST7*、*NM23*^[18]。

研究表明,H3R8me2s与相邻修饰位点之间存在对话机制。H3K9和H3K27位点乙酰化阻碍H3R8位点的甲基化。H3R8是组蛋白赖氨酸甲基化酶Dim-5的底物特异性识别位点之一^[19],该位点甲基化修饰将阻碍H3K9位点的甲基化^[19]。H3K27me3与H3R8me2s是转录抑制修饰,可经由BRD7协同产生^[17]。

1.3 H3R17和H3R26

H3R17和H3R26均存在不对称二甲基修饰

(H3R17me2a和H3R26me2a), 由CARM1(PRMT4)催化产生^[20]。Chen等^[21]通过体外实验, 首次鉴定了H3甲基化酶CARM1, 它通过与p160家族的共激活因子结合, 而具有转录激活功能。Schurter等^[20]研究发现, CARM1特异性地识别H3上的KAXRK序列, 能够催化R17和R26两个位点发生甲基化, 而对H3上的R2位点只有较低的甲基化效率。CARM1与不同的转录因子(如p53、NF- κ B、PPAR γ 、c-Fos^[3]、Brg1 ATPase^[22])结合形成复合物, 共同结合到靶基因的启动子区域。目前, 鉴定的CARM1靶基因有*pS2*^[23-24]、*Scn3b*、*myogenic*^[22]。

Bauer等^[24]采用CHIP实验, 首次在体内证实了CARM1被招募到靶基因*pS2*的启动子区, E2和TPA处理后, H3R17位点甲基化水平迅速上调, *pS2*转录激活。胞外信号刺激后, CARM1被PKA磷酸化, 进而与ER α 的激素结合域(HBD)直接结合, 从而为ER α 被cAMP激活提供条件, 磷酸化后的复合体结合并激活*pS2*的表达^[23]。大量研究表明, 由CARM1产生的H3R17me2a参与调控细胞周期时相^[25]。

组蛋白相邻位点的位置效应决定了它们可能存在对话机制, 如H3R2/H3K4和H3R8/H3K9, 大量研究表明, H3R17/H3K18和H3R26/H3K27两对相邻残基也存在不同修饰之间的对话机制。CARM1与CBP/p300同时被招募到靶基因*pS2*^[25]的启动子区, 进一步分析表明, CBP/p300催化产生的H3K18ac有利于H3R17me2a的形成^[26], 可能原因是K18位点的乙酰化修饰中和赖氨酸残基的正电荷, 从而增加了CARM1对H3R17位点的催化效率。Min等^[27]解析了dPC与含K27me3修饰的H3肽段的作用复合体的结构, 发现R26参与形成的 β 折叠与dPC的N端通过氢键结合, 另外H3R26me2a与转录激活相关, 而H3K27me3与转录抑制相关, 因此R26位点的修饰可能会抑制H3K27的甲基化发生或阻碍EED与H3K27me3修饰的识别与结合, 这种对话机制及功能有待于研究证实。UTX是H3K27me3/2特异的去甲基化酶, 为分析其特异性识别的机制, Sengoku等^[28]解析了UTX与H3肽段作用的晶体结构, 发现R17和R26是UTX特异识别位点, 这两个位点的甲基化(R26me2a和R17me2a)分别严重和轻度降低UTX的去甲基化酶活性, 这表明H3R26/H3K27之间存在极强的对话机制。

1.4 H4R3

H4R3是迄今为止发现的H4中唯一的精氨酸

甲基化位点, 该位点可发生SDMA和ADMA两种形式的甲基化, 其中, SDMA可由PRMT5或PRMT7催化产生, 与转录抑制相关, 而ADMA可由PRMT1或PRMT6催化产生, 与转录激活相关。Sun等^[29]鉴定了PRMT5识别序列的特异性, 结果表明, 保守的苯基丙氨酸决定了PRMT5催化产生SDMA修饰, 如将之替换为蛋氨酸, 则PRMT5可催化产生SDMA或ADMA, 所以他们认为精氨酸甲基化酶催化产生SDMA或ADMA的内在机制是一样的, 底物的空间效应决定了二甲基产物的对称性。

H4R3位点的甲基化酶与相关的转录调控因子相结合来发挥作用, PRMT1与相关转录激活因子相互作用, 如ER、YY1、p53、RUNX1^[3]、Nrf2^[30]; PRMT5与转录抑制因子相结合, 共同行使转录抑制功能, 如CRY1^[31]; PRMT7与hSWI/SNF的亚基BRG1相结合共定位于POLD1的启动子区, BRG1酶的失活导致PRMT7抑制功能丧失^[32]。CHIP实验鉴定了多个通过H4R3甲基化修饰调控的靶基因, PRMT1靶基因有 *β -globin*^[33]、*CITED2*、*CYP3A4*、*ferritin*^[30]; PRMT5的靶基因包括*HOXA*、*HOXB*^[34]、*Per1*^[31]。

Balint等^[35]用CHIP-seq方法研究了PRMT1催化产生的H4R3me2a的分布, 发现H4R3me2a富集于特定基因5'端内侧或上游5 Kb内的序列, 这些序列也是保守的转录因子(如POU2F1、MEF-2和FOX1)的结合位点。Xu等^[36]采用ML和MARS模型对20种组蛋白赖氨酸和精氨酸位点甲基化修饰及组蛋白变体的CHIP-seq数据进行分析, 在这两种模型的预测结果中, H4R3me2s分别是最重要和次重要的转录抑制修饰。

近年来, H4R3位点甲基化修饰的效应及与其他位点的对话机制的研究成为热点。Li等^[33]研究表明, PRMT1催化产生的H4R3me2a为PCAF的结合提供了便利, 从而直接增强了K9/K14位点的乙酰化修饰及增强子与启动子间的作用, 进而招募形成转录起始复合体, 激活 *β -globin*的转录。Schiza等^[37]研究发现, 乙酰转移酶Nat4的失活导致H4R3me2a修饰水平的降低和rDNA沉默。Milliman等^[38]研究表明, HMT1与去乙酰化酶Rpd3L和Sir2相互作用来建立和维持端粒染色体的沉默状态。这些研究表明, H4R3甲基化修饰与相邻位点乙酰化修饰之间的相互作用因基因位点而异。PRMT5催化产生转录抑制的H4R3me2s, 进而招募DNMT3A来催化产

生DNA甲基化^[39], 或招募Polycomb蛋白催化产生H3K27me3^[40], 这些具有转录抑制作用的修饰的相继产生会共同导致基因沉默。

H4R3位点的甲基化修饰除了招募相关效应分子外, 也能阻碍相关因子的结合。Li等^[41]采用蛋白质组学策略来鉴定与H4R3me2特异识别的核蛋白, 未发现能与含H4R3me2的H4肽段特异结合的蛋白, 却发现H4R3me2的存在阻碍了SRP68/72与H4的结合, 影响了SRP68/72对其靶基因的转录调控。Dhar等^[34]研究结果表明, PRMT7催化产生的H4R3me2s阻碍PHD(4-6)的结合, 抑制H3K4me3的形成, 这种PRMT7与MLL4间的反式效应为转录调控提供了一种新的机制。

1.5 H2AR3

H2AR3位点非常类似于H4R3, 能被与之相同的精氨酸甲基化酶催化产生SDMA和ADMA, 识别H4R3位点修饰的抗体也同样识别H2AR3位点的修饰, 所以这两个位点被称作“R3基序”^[2]。“R3基序”的甲基化可由同一个精氨酸甲基化酶结合相关因子催化产生, 如PRMT7与BRG1共同被招募到靶基因启动子区催化H2AR3和H4R3两个位点的甲基化, 这一甲基化过程受到BRG1活性的影响^[32]。

2 PRMTs与斑马鱼早期发育

目前, 已发现11种PRMTs, 这些甲基化酶可对组蛋白和非组蛋白的精氨酸位点进行甲基化修饰, 参与信号转导、RNA加工、转录调控等过程^[42]。Wang等^[1]分析了9种PRMTs在非哺乳动物中的同源性及其分布, 结果表明, PRMT1和PRMT5是分布最广泛的I和II PRMTs, PRMT1在各物种间的同源性最高, 最为保守。斑马鱼也存在9种PRMTs, 与人类的PRMTs具有较高的同源性。表1汇总了研究较多

的8种PRMTs对组蛋白精氨酸位点的修饰及其功能。关于PRMTs在人类^[42]、哺乳动物^[3]、非哺乳动物^[1]方面的综述已有较多报道, 下面就在模式动物斑马鱼中的研究进行总结。

作为发育生物学研究的重要模式动物, 斑马鱼具有饲养容易、成熟周期短、繁殖能力强、胚胎透明、体外受精发育、突变种多、与人类基因组同源性达87%等优点。斑马鱼早期发育包含卵裂、ZGA及原肠运动等剧烈变化, 也伴随着表观遗传动态调控。近来报道表明, PRMTs也对斑马鱼早期发育具有重要功能。PRMT1是哺乳动物中含量最大的一种PRMTs, 人类和斑马鱼中的同源性为90%, 因此可能对早期胚胎发育至关重要。Tsai等^[43]研究了PRMT1在斑马鱼胚胎建成过程中的表达及其功能, 结果表明, PRMT1在早期发育时期及各种成鱼组织中均大量表达; 通过Morpholino(MO)技术敲低斑马鱼早期胚胎中的PRMT1, 导致外包延迟、体长变短、尾巴卷曲和心脏水肿等表型, 进一步分析表明, MO处理后的胚胎的PRMT1含量、甲基化酶活性和H4R3me2a水平均降低, 说明PRMT1的催化活性对斑马鱼胚胎早期发育具有重要作用。

脊椎动物骨骼肌的分化涉及MRFs、Myod、Myf5、Mrf4、Myogenin、Mef2及染色质修饰相关酶等多个因子之间的协作。Batut等^[44]通过MO技术研究了PRMT4和PRMT5对斑马鱼骨骼肌分化的作用, 发现这两种酶对慢肌纤维和快肌纤维的形成具有不同的作用, PRMT5通过调控Myod、Myf5和Myogenin的表达来促进慢肌纤维和快肌纤维的形成, 而PRMT4通过调控Myogenin的表达只影响快肌纤维的形成, 另外, PRMT4决定慢肌球蛋白重链的准确定位。所以, PRMT4和PRMT5之间的协同作用对于斑马鱼骨骼肌分化具有重要功能。

表1 蛋白质精氨酸甲基化酶的分类及作用

Table 1 The classification and function of protein arginine methyltransferases

酶	类型	组蛋白甲基化位点	调控作用
Enzyme	Type	Histone methylation sites	Function
PRMT1	I	H4R3, H2AR3	Transcription activation
PRMT2	I	H3R8	Transcription activation
PRMT3	I	—	— (localized in cytoplasm)
PRMT4	I	H3R17/26	Transcription activation
PRMT5	II	H3R8, H4R3, H2AR3	Transcription activation
PRMT6	I	H3R2, H4R3, H2AR3/29	Transcription activation or repression
PRMT7	II/III	H4R3, H2AR3	Transcription activation
PRMT8	I	—	— (mainly expressed in brain)

Blythe等^[16]利用非洲爪蟾的研究表明, PRMT2可被 β -catenin招募到Wnt靶基因的启动子区, 产生H3R8me2a, 对背腹发育模式的建成至关重要。非洲爪蟾和斑马鱼具有相似的早期发育过程, 如受精后早期发育受母型物质调控, 数小时后发生MBT, 合子基因转录激活, 进行胚层分化及胚胎模式建成等。因此, PRMT2也可能参与了斑马鱼背腹化形态建成, 这需要实验证实。此外, 其他能够催化产生组蛋白精氨酸甲基化的PRMT6和PRMT7对斑马鱼早期发育的功能还未见报道。

3 展望

组蛋白精氨酸位点的甲基化研究已积累了大量的资料, 关于其去甲基化的研究则报道较少, Chang等^[45]鉴定了首个精氨酸去甲基化酶JMJD6, 但后续研究对此存在争议。也有报道表明, PADIs将单甲基化的精氨酸转变为瓜氨酸, 对精氨酸位点的二甲甲基化修饰没有作用, 而且这并非去甲基化的过程^[46], 所以精氨酸甲基化是否可逆目前还没有定论。

大量研究发现, PRMTs在癌症等病变组织中异常表达, 已成为潜在的治疗靶点^[47], 针对PRMTs的小分子抑制物的筛选也进展迅速^[48], 因此, 随着组蛋白精氨酸甲基化修饰对斑马鱼早期发育功能研究的进一步深入, 相关研究对于利用斑马鱼来研究、筛选与PRMTs相关的药物将具有诱人的应用前景。

参考文献 (References)

- Wang YC, Li C. Evolutionarily conserved protein arginine methyltransferases in non-mammalian animal systems. *FEBS J* 2012; 279(6): 932-45.
- di Lorenzo A, Bedford MT. Histone arginine methylation. *FEBS Lett* 2011; 585(13): 2024-31.
- Bedford MT, Clarke SG. Protein arginine methylation in mammals: Who, what, and why. *Mol Cell* 2009; 33(1): 1-13.
- Hu SN, Yu H, Zhang YB, Wu ZL, Yan YC, Li YX, *et al.* Splice blocking of zygotic sox31 leads to developmental arrest shortly after Mid-Blastula transition and induces apoptosis in zebrafish. *FEBS Lett* 2012; 586(3): 222-8.
- Zheng H, Du Y, Hua Y, Wu Z, Yan Y, Li Y. Essential role of Fbx114 ubiquitin ligase in regulation of vertebrate axis formation through modulating Mkp3 level. *Cell Res* 2012; 22(5): 936-40.
- 胡胜男, 李逸平. 多能的SoxB1家族基因. *中国细胞生物学学报* (Hu Shengnan, Li Yiping. The pluripotent SoxB1 family genes. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2012; 34(6): 611-6.
- Guccione E, Bassi C, Casadio F, Martinato F, Cesaroni M, Schuchlantz H, *et al.* Methylation of histone H3R2 by PRMT6 and H3K4 by an MLL complex are mutually exclusive. *Nature* 2007; 449(7164): 933-7.
- Hyllus D, Stein C, Schnabel K, Schiltz E, Imhof A, Dou Y, *et al.* PRMT6-mediated methylation of R2 in histone H3 antagonizes H3 K4 trimethylation. *Genes Dev* 2007; 21(24): 3369-80.
- Guccione E, Martinato F, Finocchiaro G, Luzi L, Tizzoni L, Dall'Olio V, *et al.* Myc-binding-site recognition in the human genome is determined by chromatin context. *Nat Cell Biol* 2006; 8(7): 764-70.
- Vermeulen M, Mulder KW, Denissov S, Pijnappel WW, van Schaik FM, Varier RA, *et al.* Selective anchoring of TFIID to nucleosomes by trimethylation of histone H3 lysine 4. *Cell* 2007; 131(1): 58-69.
- Kleinschmidt MA, de Graaf P, van Teeffelen HA, Timmers HT. Cell cycle regulation by the PRMT6 arginine methyltransferase through repression of cyclin-dependent kinase inhibitors. *PLoS One* 2012; 7(8): e41446.
- Lee YH, Ma H, Tan TZ, Ng SS, Soong R, Mori S, *et al.* Protein arginine methyltransferase 6 regulates embryonic stem cell identity. *Stem Cells Dev* 2012; 21(14): 2613-22.
- Migliori V, Muller J, Phalke S, Low D, Bezzi M, Mok WC, *et al.* Symmetric dimethylation of H3R2 is a newly identified histone mark that supports euchromatin maintenance. *Nat Struct Mol Biol* 2012; 19(2): 136-44.
- Yuan CC, Matthews AG, Jin Y, Chen CF, Chapman BA, Ohsumi TK, *et al.* Histone H3R2 symmetric dimethylation and histone H3K4 trimethylation are tightly correlated in eukaryotic genomes. *Cell reports* 2012; 1(2): 83-90.
- Kirmizis A, Santos-Rosa H, Penkett CJ, Singer MA, Green RD, Kouzarides T. Distinct transcriptional outputs associated with mono- and dimethylated histone H3 arginine 2. *Nat Struct Mol Biol* 2009; 16(4): 449-51.
- Blythe SA, Cha SW, Tadjuidje E, Heasman J, Klein PS. beta-Catenin primes organizer gene expression by recruiting a histone H3 arginine 8 methyltransferase, Prmt2. *Dev Cell* 2010; 19(2): 220-31.
- Tae S, Karkhanis V, Velasco K, Yaneva M, Erdjument-Bromage H, Tempst P, *et al.* Bromodomain protein 7 interacts with PRMT5 and PRC2, and is involved in transcriptional repression of their target genes. *Nucleic Acids Res* 2011; 39(13): 5424-38.
- Pal S, Vishwanath SN, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Sif S. 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.
- Rather P, Zhang X, Freund C, Cheng X, Jeltsch A. Analysis of the substrate specificity of the Dim-5 histone lysine methyltransferase using peptide arrays. *Chem Biol* 2008; 15(1): 5-11.
- Schurter BT, Koh SS, Chen D, Bunick GJ, Harp JM, Hanson BL, *et al.* Methylation of histone H3 by coactivator-associated arginine methyltransferase 1. *Biochemistry* 2001; 40(19): 5747-56.
- Chen D, Ma H, Hong H, Koh SS, Huang SM, Schurter BT, *et al.* Regulation of transcription by a protein methyltransferase. *Science* 1999; 284(5423): 2174-7.
- Mallappa C, Hu YJ, Shamulailatpam P, Tae S, Sif S, Imbalzano AN. The expression of myogenic microRNAs indirectly requires protein arginine methyltransferase (Prmt) 5 but directly requires Prmt4. *Nucleic Acids Res* 2011; 39(4): 1243-55.

- 23 Carascossa S, Dudek P, Cenni B, Briand PA, Picard D. CARM1 mediates the ligand-independent and tamoxifen-resistant activation of the estrogen receptor alpha by cAMP. *Genes Dev* 2010; 24(7): 708-19.
- 24 Bauer UM, Daujat S, Nielsen SJ, Nightingale K, Kouzarides T. Methylation at arginine 17 of histone H3 is linked to gene activation. *EMBO Rep* 2002; 3(1): 39-44.
- 25 Metivier R, Penot G, Hubner MR, Reid G, Brand H, Kos M, *et al.* Estrogen receptor-alpha directs ordered, cyclical, and combinatorial recruitment of cofactors on a natural target promoter. *Cell* 2003; 115(6): 751-63.
- 26 Daujat S, Bauer UM, Shah V, Turner B, Berger S, Kouzarides T. Crosstalk between CARM1 methylation and CBP acetylation on histone H3. *Curr Biol* 2002; 12(24): 2090-7.
- 27 Min J, Zhang Y, Xu RM. Structural basis for specific binding of Polycomb chromodomain to histone H3 methylated at Lys 27. *Genes Dev* 2003; 17(15): 1823-8.
- 28 Sengoku T, Yokoyama S. Structural basis for histone H3 Lys 27 demethylation by UTX/KDM6A. *Genes Dev* 2011; 25(21): 2266-77.
- 29 Sun L, Wang M, Lv Z, Yang N, Liu Y, Bao S, *et al.* Structural insights into protein arginine symmetric dimethylation by PRMT5. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(51): 20538-43.
- 30 Huang BW, Ray PD, Iwasaki K, Tsuji Y. Transcriptional regulation of the human ferritin gene by coordinated regulation of Nrf2 and protein arginine methyltransferases PRMT1 and PRMT4. *FASEB J* 2013; 27(9): 3763-74.
- 31 Na J, Lee K, Kim HG, Shin JY, Na W, Jeong H, *et al.* Role of type II protein arginine methyltransferase 5 in the regulation of Circadian Per1 gene. *PLoS One* 2012; 7(10): e48152.
- 32 Karkhanis V, Wang L, Tae S, Hu YJ, Imbalzano AN, Sif S. Protein arginine methyltransferase 7 regulates cellular response to DNA damage by methylating promoter histones H2A and H4 of the polymerase delta catalytic subunit gene, POLD1. *J Biol Chem* 2012; 287(35): 29801-14.
- 33 Li X, Hu X, Patel B, Zhou Z, Liang S, Ybarra R, *et al.* H4R3 methylation facilitates beta-globin transcription by regulating histone acetyltransferase binding and H3 acetylation. *Blood* 2010; 11(10): 2028-37.
- 34 Dhar SS, Lee SH, Kan PY, Voigt P, Ma L, Shi X, *et al.* Trans-tail regulation of MLL4-catalyzed H3K4 methylation by H4R3 symmetric dimethylation is mediated by a tandem PHD of MLL4. *Genes Dev* 2012; 26(24): 2749-62.
- 35 Balint BL, Gabor P, Nagy L. Genome-wide localization of histone 4 arginine 3 methylation in a differentiation primed myeloid leukemia cell line. *Immunobiol* 2005; 210(2/3/4): 141-52.
- 36 Xu X, Hoang S, Mayo MW, Bekiranov S. Application of machine learning methods to histone methylation ChIP-Seq data reveals H4R3me2 globally represses gene expression. *BMC Bioinformatics* 2010; 11: 396.
- 37 Schiza V, Molina-Serrano D, Kyriakou D, Hadjiantoniou A, Kirmizis A. N-alpha-terminal acetylation of histone H4 regulates arginine methylation and ribosomal DNA silencing. *PLoS Genet* 2013; 9(9): e1003805.
- 38 Milliman EJ, Yadav N, Chen YC, Muddukrishna B, Karunanithi S, Yu MC. Recruitment of Rpd3 to the telomere depends on the protein arginine methyltransferase Hmt1. *PLoS One* 2012; 7(8): e44656.
- 39 Tsutsui T, Fukasawa R, Shinmyouzu K, Nakagawa R, Tobe K, Tanaka A, *et al.* Mediator complex recruits epigenetic regulators via its two cyclin-dependent kinase subunits to repress transcription of immune response genes. *J Biol Chem* 2013; 288(29): 20955-65.
- 40 Patel SR, Bhumbra SS, Paknikar RS, Dressler GR. Epigenetic mechanisms of Groucho/Grg/TLE mediated transcriptional repression. *Mol Cell* 2012; 45(2): 185-95.
- 41 Li J, Zhou F, Zhan D, Gao Q, Cui N, Iakhiaeva E, *et al.* A novel histone H4 arginine 3 methylation-sensitive histone H4 binding activity and transcriptional regulatory function for signal recognition particle subunits SRP68 and SRP72. *J Biol Chem* 2012; 287(48): 40641-51.
- 42 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.
- 43 Tsai YJ, Pan H, Hung CM, Hou PT, Li YC, Lee YJ, *et al.* The predominant protein arginine methyltransferase PRMT1 is critical for zebrafish convergence and extension during gastrulation. *FEBS J* 2011; 278(6): 905-17.
- 44 Batut J, Duboe C, Vandel L. The methyltransferases PRMT4/CARM1 and PRMT5 control differentially myogenesis in zebrafish. *PLoS One* 2011; 6(10): e25427.
- 45 Chang B, Chen Y, Zhao Y, Bruick RK. JMJD6 is a histone arginine demethylase. *Science* 2007; 318(5849): 444-7.
- 46 Zhang X, Bolt M, Guertin MJ, Chen W, Zhang S, Cherrington BD, *et al.* Peptidylarginine deiminase 2-catalyzed histone H3 arginine 26 citrullination facilitates estrogen receptor alpha target gene activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(33): 13331-6.
- 47 Limm K, Ott C, Wallner S, Mueller DW, Oefner P, Hellerbrand C, *et al.* Deregulation of protein methylation in melanoma. *Eur J Cancer* 2013; 49(6): 1305-13.
- 48 Vhuiyan M, Thomas D, Hossen F, Frankel A. Targeting protein arginine N-methyltransferases with peptide-based inhibitors: opportunities and challenges. *Future Med Chem* 2013; 5(18): 2199-206.