

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.03.002

PRMT1 通过精氨酸甲基化作用修饰剪接因子 SF2/ASF

贾 荟¹, 杜超豪², 鲍时来^{2*}, 郑胡镛^{1*} (1. 首都医科大学附属北京儿童医院 血液病中心, 北京 100045; 2. 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 北京 100101)

[摘要] 目的: 探讨蛋白质精氨酸甲基转移酶 1 (protein arginine methyltransferase 1, PRMT1) 对剪接因子 SF2/ASF (splicing factor 2/alternative splicing factor) 的甲基化修饰位点。方法: 构建 SF2/ASF 野生型和 Arg93/97/109 突变体质粒, 在体外表达和纯化 GST 标签的 PRMT1、SF2/ASF 及其 Arg 突变体融合蛋白, 以甲基化活性实验检测 PRMT1 对 SF2/ASF 的甲基化作用及其甲基化修饰位点, 以免疫荧光实验观察甲基化修饰对 SF2/ASF 亚细胞定位的影响。结果: PRMT1 对 SF2/ASF 有明显的甲基化修饰作用; 当 Arg93/97/109 突变为赖氨酸后, PRMT1 对 SF2/ASF 突变体的甲基化修饰程度明显降低, 其中 Arg97 突变后 SF2/ASF 甲基化程度减弱最明显。甲基化修饰不影响 SF2/ASF 的亚细胞定位。结论: 发现 SF2/ASF 是 PRMT1 新的底物蛋白, Arg93/97/109 均为 PRMT1 的甲基化修饰位点, 其中 Arg97 是主要修饰位点; PRMT1 对于 SF2/ASF 的甲基化修饰并不改变后者细胞内的定位。

[关键词] 蛋白质精氨酸甲基转移酶 1 (PRMT1); SF2/ASF; 甲基化作用; 精氨酸; 细胞内定位; 选择性剪接

[中图分类号] R730.3; Q7 [文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2009)03-0216-05

Protein arginine methyltransferase 1 methylates SF2/ASF at arginine

JIA Hui¹, DU Chao-hao², BAO Shi-lai^{2*}, ZHENG Hu-yong^{1*} (1. Hematology Center, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, Beijing 100045, China; 2. Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the arginine (Arg) sites in splicing factor 2/alternative splicing factor (SF2/ASF) methylated by protein arginine methyltransferase 1 (PRMT1). **Methods:** Wild-type and Arg93, Arg97, Arg109 mutant SF2/ASF plasmids were constructed, and GST-PRMT1, GST-SF2/ASF and arginine mutant GST-SF2/ASF fusion proteins were induced and purified. Methylation activity of PRMT1 on wild-type or mutant SF2/ASF protein and methylated sites of SF2/ASF were examined by methylation assay. The effect of SF2/ASF methylation on its subcellular localization was analyzed by immunofluorescence assay. **Results:** PRMT1 induced methylation of SF2/ASF at arginine, and PRMT1 did not methylate SF2/ASF when SF2/ASF was mutant at Arg93, Arg97 or Arg109, with Arg97 mutation showing the most profound inhibitory effect. Methylation of SF2/ASF did not affect its subcellular localization. **Conclusion:** SF2/ASF is a newly identified substrate of PRMT1; Arg93, Arg97 and Arg 109 are the three methylation sites in SF2/ASF, and Arg97 is the main methylation site. Methylation of SF2/ASF does not affect its subcellular localization.

[Key words] protein arginine methyltransferase 1 (PRMT1); SF2/ASF; methylation; arginine; subcellular localization; alternative splicing

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(3): 216-220]

蛋白质精氨酸甲基转移酶 (protein arginine methyltransferases, PRMTs) 能够催化甲基转移到底物蛋白质精氨酸残基上, 使蛋白质发生共价修饰, 不仅影响蛋白质结构而且调节蛋白质功能^[1-2]。实验证明, 蛋白质精氨酸甲基化参与了生命活动的各个过程, 包括信号转导、RNA 加工和运输、DNA 转录、蛋白之间的相互作用等^[3-6]。

PRMT1 是哺乳动物细胞中 PRMTs 的主要类型^[7]。大部分的 PRMT1 底物包含了富含甘氨酸和

[基金项目] 国家 863 计划现代医学技术重大资助项目 (No. 2006AA02A405); 国家 863 计划现代医学技术专题项目 (No. 2006AA02Z4Z2)。Supported by the Modern Medical Technology Major Project of National 863 Program (No. 2006AA02A405); the Modern Medical Technology Key Project of National 863 Program (No. 2006AA02Z4Z2)

[作者简介] 贾 荟 (1983-), 女, 四川省南充市人, 硕士, 主要从事儿童白血病的研究, E-mail: OKJHL@163.com

* 通讯作者 (Corresponding author). (1) E-mail: zhenghuyong@vip.sina.com; (2) E-mail: slbao@genetics.ac.cn

精氨酸的 GAR(glycine-arginine rich)结构^[8-10],其中最熟知的是 RNA 结合蛋白,比如 hnRNPs、纤维素、以及多聚 A 结合蛋白 II,还包括转录延长调控子 SPT5 等^[11]。PRMT1 通过甲基化底物蛋白参与肿瘤发生机制。PRMT1 可以甲基化 Runx1(runt-related protein 1,也称作急性髓系白血病 1),阻止其与共抑制因子 SIN3A 的结合,加强了 Runx1 的转录活性^[12]。PRMT1 与其他蛋白组成具有甲基化酶功能的复合体,协助 MLL(mixed lineage leukemia,混合谱系白血病)基因引起白血病^[13]。

SF2/ASF(splicing factor 2/alternative splicing factor)是第一个被证明与肿瘤直接相关的剪接因子,在多种肿瘤(肺癌、乳腺癌等)中表达升高^[14-15]。SF2/ASF 的结构中包含 PRMT1 底物蛋白特征性的 GAR 序列^[16],推测 PRMT1 可能对 SF2/ASF 具有甲基化修饰作用。本课题研究 PRMT1 对 SF2/ASF 的甲基化修饰作用,分析其甲基化修饰位点,为深入探讨其在肿瘤发生机制中的作用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

人 SF2 全长 cDNA(GenBank 序列号:BC010264)购于 Open Biosystems。pGEX-4T-1 和 pEGFP-N2 载体购自 Amersham Biosciences(NJ,USA)。E. coli 宿主菌 BL21(DE3)购自 Novagen(UK)。引物由 Invitrogen 和北京三博生物科技有限公司合成。重组 DNA 酶购自 Takara Biotechnology Co. Ltd。DMEM 培养基和胎牛血清购于 Hyclone 公司。Lipofectamine 2000 购自 Invitrogen。³H-SAM (Adenosyl-L-[methyl-³H] methionine)和 Amplify 购自 Amersham Biosciences。蛋白酶抑制剂 cocktail 购自 Roche 公司。DNA 测序由华大基因科技(北京)和北京三博生物科技有限公司承担。GST-PRMT1 重组质粒和 U2OS 细胞由中国科学院遗传与发育生物学研究所鲍时来教授实验室提供。

1.2 表达质粒的构建

以 PCR 扩增 SF2 基因,引物包含 EcoR I 和 Xho I 酶切位点。PCR 产物用 EcoR I 和 Xho I 消化后插入 pGEX-4T-1 载体,生成质粒 pGEX-4T-1-SF2-WT。将 Arg93/97/109 均突变为赖氨酸,设计包含突变位点的双向引物,构建点突变体 pGEX-4T-1-SF2-R93K/ R97K/R93R97K。设计包含突变位点的单向引物,再利用 Sac I 和 Xho I 酶切位点,构建出 pGEX-4T-1-SF2-R109K。利用 EcoR I、Sac I 和 Xho I 酶切位点,构建出三突变体 pGEX-4T-1-SF2-R93R97R109K(表 1)。所有克隆均经过 DNA 测

序,并亚克隆至 EcoR I 和 Sal I 消化的 pEGFP-N2 载体,以生成质粒 pEGFP-N2-SF2-WT/ R93K/ R97K/R109K/R93R97K/R93R97R109K。

表 1 用于 SF2 野生型和突变体构建的引物

Tab.1 Primers of wild-type and mutant SF2

Gene	Primer sequence
SF2-WT	5'Primer: CGGAATTCATGTCGGGAGGTG GTGTGATT 3'Primer: CCCTCGAGTTATGTACGAGAG CGAGATCTGC
SF2-R93K	5'Primer: CCTCGAAGCGGCAAAGGAA CAGGCCGAG 3'Primer: CTCGGCCTGTTCTTTGCCGC TTCGAGG
SF2-R97K	5'Primer: CGTGAACAGGCAAAGGCC GCGGCCGGG 3'Primer: CCCGCCGCCCTTTGCCTGT TCCACG
SF2-R109K	5'Primer: GCGGAGCTCCCAAAGTCCG TATGGCC
SF2-R93R97K	5'Primer: CGAAGCGGCAAAGGAACA GGCAAAGGCCGGCGCGG 3'Primer: CCGCCGCCCTTTGCCTGTTC CTTTGCCGCTTCG

1.3 GST 标签融合蛋白在大肠杆菌中的表达和纯化

pGEX-4T-1-SF2-WT/R93K/R97K/R109K/R93R97K/R93R97R109K 和 GST-PRMT1, 以及对对照质粒 pGEX-4T-1 转化进 BL21(DE3)。转化子在含有 100 mg/L 氨苄霉素 LB 培养基中生长 12 h,按 1:100 加入 500 ml 含 100 mg/L 氨苄霉素 LB 培养基中。当 D_{600} 达 0.5 时,加入 IPTG(终浓度 0.5 mmol/L),16 °C 孵育 20 h,诱导融合蛋白或 GST 的表达。4 °C,2 000 × g 离心 15 min 收集细胞。20 ml 冰浴裂解缓冲液(1 × PBS,300 mmol/L NaCl,pH 7.4)重悬细胞,超声裂解。4 °C,10 000 × g 离心 30 min 收集上清(可溶部分),加入蛋白酶抑制剂 cocktail。

纯化 GST 标签融合蛋白可溶部分,将 20 ml 上清加入 1 ml GST Beads,4 °C 结合 2 h。混合物加入 GST 柱子中,裂解缓冲液冲洗至 G250 不变色。然后用分别含有 2、10、30、50 mmol/L 还原型谷胱甘肽的裂解缓冲液洗脱蛋白。SDS-PAGE 分析其组分。

1.4 活性实验检测 PRMT1 对 SF2/ASF 的甲基化修饰

按文献方法^[17]将各种 GST 标签融合蛋白进行甲基化实验,Histone 作为阳性对照,GST 作为阴性对照。纯化的 GST-PRMT1 与 pGEX-4T-1-SF2-WT/

R93K/R97K/R109K/R93R97K/R93R97R109K 融合蛋白,或 2 μg Histone/ GST、2 μl ³H-SAM,30 °C 共孵育 1 h。SDS-PAGE 分离后,考马斯亮蓝染色,脱色至条带清晰,加入 Amplify 处理 1 h,干胶,曝光。

1.5 重组质粒转染 U2OS 细胞

转染前 24 h 将 U2OS 细胞传代,500 μl/孔接种于 24 孔板中,细胞融合达 50% ~ 60% 时进行转染,参照 Lipofectamine 2000 说明书,将 0.3 μg 质粒转染,重复 2 次。培养 24 h 后收获细胞。

1.6 免疫荧光实验观察 SF2/ASF 的亚细胞定位

转染 24 h 后 4% PFA 室温固定细胞 10 min。PBS 洗 3 次,每次 10 min。含 0.5% TritonX-100 的 PBS 室温渗透 10 min,扣到滴有 DAPI 的载玻片上,吸干多余液体,封片,荧光显微镜观察。

2 结果

2.1 SF2/ASF 和 PRMT1 在大肠杆菌中的表达并纯化

为了在大肠杆菌中表达人 SF2/ASF,优化各种可能影响融合蛋白表达的因素,包括细胞密度(D_{600} 0.2 ~ 0.5)、IPTG 浓度(0.3 ~ 0.5 mmol/L)、孵育时间(3 ~ 20 h)、温度(20 ~ 37 °C)。最后获最优表达条件:细胞密度 D_{600} = 0.5,0.5 mmol/L IPTG, 37 °C 孵育 3 h;然后 16 °C 孵育 20 h, IPTG 诱导后, SF2/ASF 以 N 端带有 GST 标签的融合蛋白的形式表达(图 1A)。提示细胞裂解液可溶部分中,有一定量蛋白被检测到。使用同样条件,表达并纯化 pGEX-4T-1-SF2-R93K/R97K/R109K/R93R97K/R93R97R109K(图 1B)和 GST-PRMT1(图 1C)。

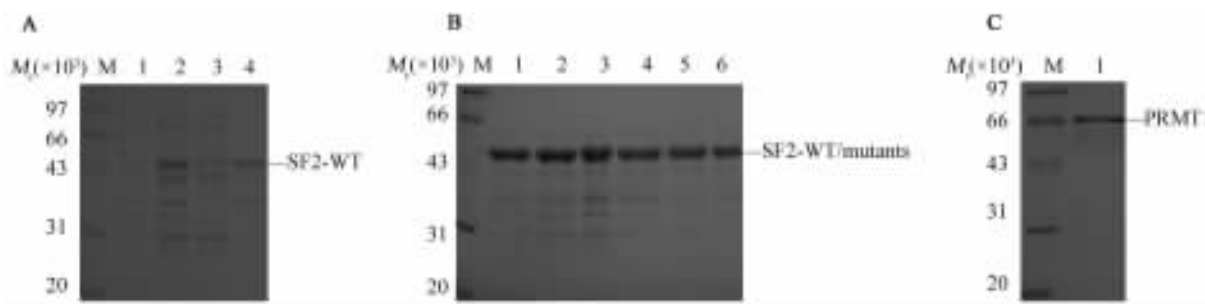


图 1 大肠杆菌表达的 GST 标签融合蛋白的纯化

Fig.1 Purification of GST fusion protein from *E. coli*

A: pGEX-4T-1-SF2-WT. M: Marker; 1: Without IPTG induction; 2: IPTG induction; 3: Soluble fraction after IPTG induction; 4: Insoluble fraction after IPTG induction. B: Wild-type and mutant SF2/ASF protein. M: Marker; 1: pGEX-4T-1-SF2-WT; 2: pGEX-4T-1-SF2-R93K; 3: pGEX-4T-1-SF2-R97K; 4: pGEX-4T-1-SF2-R109K; 5: pGEX-4T-1-SF2-R93R97K; 6: pGEX-4T-1-SF2-R93R97R109K. C: Purified GST-PRMT1 protein. M: Marker; 1: GST-PRMT1

2.2 PRMT1 甲基化 SF2/ASF

为证实 SF2/ASF 是否为 PRMT1 的底物蛋白,本研究将从大肠杆菌中纯化出来的 SF2/ASF 作为甲基化反应的底物,与 PRMT1 以及 ³H-SAM 共同孵育。结果(图 2)显示,PRMT1 对 SF2/ASF 表现出明显的酶活性。此外,本研究也试图了解另一 PRMTs 家族成员 PRMT5 是否参与了 SF2/ASF 的甲基化修饰,实验结果显示,PRMT5 对 SF2/ASF 无明显的酶活性。这些结果表明,SF2/ASF 是一个新的 PRMT1 的底物蛋白。

2.3 SF2/ASF 的 Arg97 是 PRMT1 的主要甲基化修饰位点

为了进一步确定 SF2/ASF 被 PRMT1 修饰的氨基酸位点,将 SF2/ASF 的 Arg93、97、109 突变体蛋白再次进行活性实验。结果(图 3)显示,PRMT1 对 Histone 和野生型 SF2/ASF 均表现出明显的甲基化

作用。而当 Arg97 突变后,SF2/ASF 的甲基化程度明显减弱;与此对应的是,Arg93、109 分别突变后, SF2/ASF 甲基化减弱程度较 Arg97 突变的小。当这 3 个位点均突变后,SF2/ASF 的甲基化修饰基本消失。因此认为, SF2/ASF 的 Arg93、97、109 均为 PRMT1 甲基化修饰位点,其中,Arg97 是其最重要的修饰位点。

2.4 甲基化不影响 SF2/ASF 在细胞内定位

研究发现,SF2/ASF 的蛋白质翻译后修饰可影响其细胞内定位^[18-19]。为了探讨 PRMT1 甲基化修饰对 SF2/ASF 细胞内定位的影响,免疫荧光实验观察 SF2/ASF 的亚细胞定位。结果(图 4)显示,SF2/ASF 野生型大多以点状结构定位于胞核中,少量位于胞质;甲基化位点突变后,SF2/ASF 细胞内定位未发生明显变化。结果提示,PRMT1 的甲基化修饰并不影响 SF2/ASF 的细胞内定位。

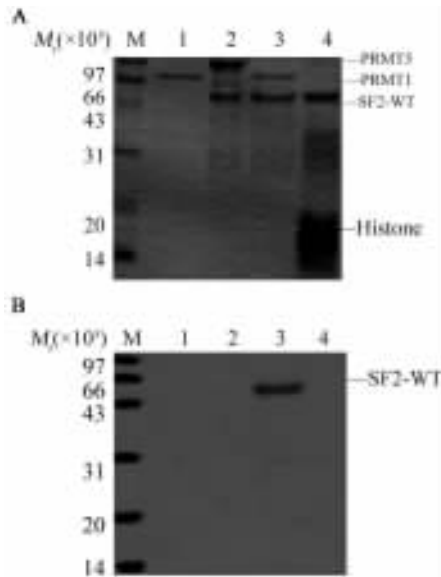


图2 PRMT1 在体外甲基化修饰 SF2/ASF

Fig.2 PRMT1 induced methylation of SF2/ASF *in vitro*

A: Purified proteins used in activity assay. M: Marker;
1: GST-PRMT1; 2: GST-PRMT5 + GST-SF2/ASF;
3: GST-PRMT1 + GST-SF2/ASF; 4: GST-SF2/ASF +
Histone. B: PRMT1 induced methylation of SF2/ASF

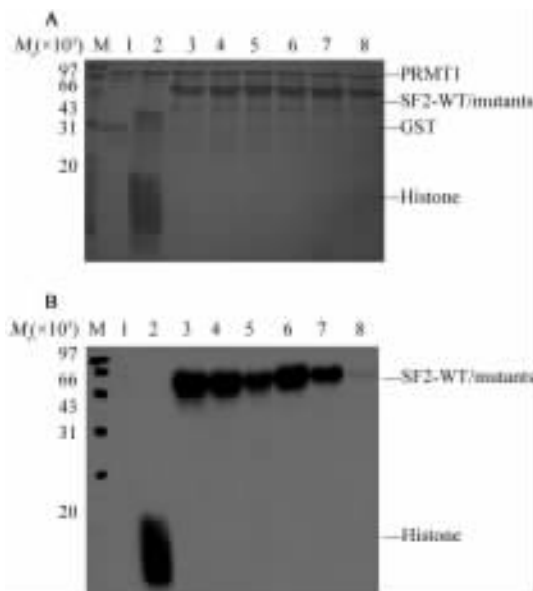
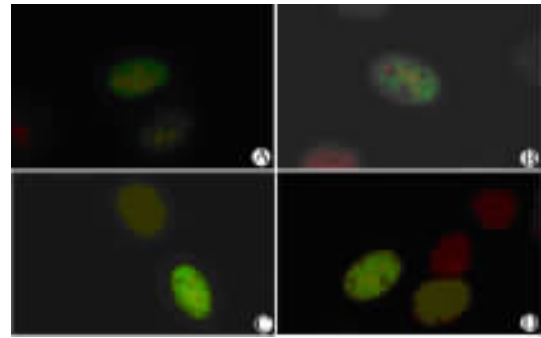


图3 PRMT1 作用于 SF2/ASF 的主要甲基化位点

Fig.3 Methylated arginine sites in SF2/ASF by PRMT1

A: Purified PRMT1, wild-type and mutant SF2/ASF protein used
in activity assay. M: Marker; 1: GST-PRMT1 + GST; 2: GST-
PRMT1 + Histone; 3: GST-PRMT1 + GST-SF2-WT; 4: GST-
PRMT1 + GST-SF2-R93K; 5: GST-PRMT1 + GST-SF2-R97K;
6: GST-PRMT1 + GST-SF2-R109K; 7: GST-PRMT1 + GST-SF2-
R93R97K; 8: GST-PRMT1 + GST-SF2-R93R97R109K.
B: Methylated arginine sites in SF2/ASF by PRMT1

图4 PRMT1 对 SF2/ASF 的精氨酸甲基化修饰
不影响其亚细胞定位(×400)Fig.4 Methylation of arginine in SF2/ASF by PRMT1
did not affect its subcellular localization(×400)

A: GFP-SF2-WT; B: GFP-SF2-R97K;

C: GFP-SF2-R93R97K; D: GFP-SF2-R93R97R109K

3 讨论

蛋白质精氨酸甲基化修饰既影响蛋白质结构又调节蛋白质功能^[1-2]。Gary 等^[20]根据保守的 GAR 基序检索蛋白质数据库,发现大量的精氨酸甲基化修饰的底物,其中主要是 RNA 结合蛋白;Boisvert^[21]则发现 200 多种涉及前体 mRNA 剪接、细胞骨架蛋白、DNA 修复等的底物。

本研究以体外活性实验发现,PRMT1 对 SF2/ASF 有明显的甲基化修饰,剪接因子 SF2/ASF 是一个新的 PRMT1 底物蛋白。实验还观察了 PRMT5 对 SF2/ASF 的甲基化作用,结果为阴性。由于 PRMT5 在与 GST 标签融合并从大肠杆菌纯化后,特异酶活性只是哺乳动物细胞中纯化的 PRMT5 的几分之一^[22],因此,SF2/ASF 是否是 PRMT5 的底物蛋白仍有待探讨。

本研究通过分析 SF2/ASF 的蛋白序列,确定了 3 个潜在的甲基化位点:Arg93/97/109。当这 3 个精氨酸位点分别突变为赖氨酸后,PRMT1 对突变 SF2/ASF 的甲基化作用有不同程度的减弱。其中 Arg97 突变后 SF2/ASF 甲基化减弱程度最明显。当这 3 个位点共同突变后,SF2/ASF 的甲基化几乎消失。提示 Arg93/97/109 均为 PRMT1 的甲基化修饰位点,其中,Arg97 是 PRMT1 的主要修饰位点。同时,SF2/ASF 还存在着其他 PRMT1 甲基化位点,但修饰作用较弱。并且,Arg93/97/109 均位于 SF2/ASF 的 GAR 基序中,研究结果与之前的报道相符^[16]。

PRMT1 底物蛋白 SF2/ASF 是剪接因子 SR 蛋白家族成员,研究表明磷酸化修饰与 SR 蛋白细胞内定位,以及核质穿梭有关^[18-19]。精氨酸甲基化与

磷酸化同属蛋白质翻译后修饰的一种。免疫荧光实验观察 SF2/ASF 的亚细胞定位, 结果显示, SF2/ASF 野生型和甲基化位点的突变体定位并未有明显差异, 这提示 PRMT1 对于 SF2/ASF 的甲基化修饰并不改变后者细胞内的定位。

SF2/ASF 是第一个被证明与肿瘤直接相关的剪接因子, 在多种肿瘤组织中表达升高^[14-15]。研究^[23]发现, 通过 SR 蛋白的翻译后修饰, 可影响抗凋亡 Bcl-2 亚家族的 Bcl-X 蛋白的选择性剪接方式, 进而影响造血系统肿瘤细胞的存活和凋亡。PRMT1 通过甲基化修饰 SF2/ASF, 可能会进一步影响其选择性剪接功能, 改变某个或某些与肿瘤发生密切相关基因的剪接方式, 从而在肿瘤发生中发挥作用。研究 SR 蛋白翻译后修饰和功能调控, 对于探讨肿瘤发生机制有重要意义。

综上, 本研究首次发现 SF2/ASF 是 PRMT1 的底物蛋白, 并且确认 PRMT1 的甲基化修饰主要位于 SF2/ASF 的 Arg97, PRMT1 对 SF2/ASF 的甲基化修饰并未影响其细胞内定位, 甲基化修饰的潜在功能仍有待探讨。

[参 考 文 献]

- [1] McBride AE, Silver PA. State of the Arg: protein methylation at arginine comes of age[J]. Cell, 2001, 106(1): 5-8.
- [2] Bedford MT, Clarke SG. Protein arginine methylation in mammals: who, what, and why[J]. Mol Cell, 2009, 33(1): 1-13.
- [3] McBride AE, Zurita-Lopez C, Regis A, et al. Protein arginine methylation in *Candida albicans*: role in nuclear transport[J]. Eukaryot Cell, 2007, 6(7): 1119-1129.
- [4] Krause CD, Yang ZH, Kim YS, et al. Protein arginine methyltransferases: evolution and assessment of their pharmacological and therapeutic potential[J]. Pharmacol Ther, 2007, 113(1): 50-87.
- [5] Friesen WJ, Massenet S, Paushkin S, et al. SMN, the product of the spinal muscular atrophy gene, binds preferentially to dimethyl-arginine-containing protein targets[J]. Mol Cell, 2001, 7(5): 1111-1117.
- [6] Torres-Padilla ME, Parfitt DE, Kouzarides T, et al. Histone arginine methylation regulates pluripotency in the early mouse embryo[J]. Nature, 2007, 445(7124): 214-218.
- [7] Tang J, Kao PN, Herschman HR. Protein-arginine methyltransferase I, the predominant protein-arginine methyltransferase in cells, interacts with and is regulated by interleukin enhancer-binding factor 3[J]. J Biol Chem, 2000, 275(26): 19866-19876.
- [8] Klein S, Carroll JA, Chen Y, et al. Biochemical analysis of the arginine methylation of high molecular weight fibroblast growth factor-2[J]. J Biol Chem, 2000, 275(5): 3150-3157.
- [9] Smith JJ, Rucknagel KP, Schierhorn A, et al. Unusual sites of arginine methylation in Poly(A)- binding protein II and *in vitro* methylation by protein arginine methyltransferases PRMT1 and PRMT3[J]. J Biol Chem, 1999, 274(19): 13229-13234.
- [10] Déry U, Coulombe Y, Rodrigue A, et al. A glycine-arginine domain in control of the human MRE11 DNA repair protein[J]. Mol Cell Biol, 2008, 28(9): 3058-3069.
- [11] Kwak YT, Guo J, Prajapati S, et al. Methylation of SPT5 regulates its interaction with RNA polymerase II and transcriptional elongation properties[J]. Mol Cell, 2003, 11(4): 1055-1066.
- [12] Zhao XY, Vladimir J, Alexander G. Methylation of RUNX1 by PRMT1 abrogates SIN3A binding and potentiates its transcriptional activity[J]. Genes Dev, 2008, 22(5): 640-653.
- [13] Cheung N, Chan LC, Thompson A, et al. Protein arginine-methyltransferase-dependent oncogenesis[J]. Nat Cell Biol, 2007, 9(10): 1208-1215.
- [14] Rotem K, Elisa DS, Scott WL, et al. The gene encoding the splicing factor SF2/ASF is a proto-oncogene[J]. Nat Struct Mol Bio, 2007, 14(3): 185-193.
- [15] Yea S, Narla G, Zhao X, et al. Ras promotes growth by alternative splicing-mediated inactivation of the KLF6 tumor suppressor in hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2008, 134(5): 1521-1531.
- [16] Freund M, Asang C, Kammler S, et al. A novel approach to describe a U1 mRNA binding site[J]. Nucleic Acids Res, 2003, 31(23): 6963-6975.
- [17] Bao S, Qyang Y, Yang P, et al. The highly conserved protein methyltransferase, Skbl, is a mediator of hyperosmotic stress response in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*[J]. J Biol Chem, 2001, 276(18): 14549-14552.
- [18] Hall LL, Smith KP, Byron M, et al. Molecular anatomy of a speckle[J]. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol, 2006, 288(7): 664-675.
- [19] Sanford JR, Ellis JD, Cazalla D, et al. Reversible phosphorylation differentially affects nuclear and cytoplasmic functions of splicing factor 2/alternative splicing factor[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(42): 15042-15047.
- [20] Gary JD, Clarke S. RNA and protein interactions modulated by protein arginine methylation[J]. Prog Nucleic Acid Res Mol Biol, 1998, 61: 65-131.
- [21] Boisvert FM, Jocelyn C, Boulanger MC, et al. A proteomic analysis of arginine-methylated protein complexes[J]. Mol Cell Proteomics, 2003, 2(12): 1319-1330.
- [22] Friesen WJ, Wyce A, Paushkin S, et al. A novel WD repeat protein component of the methylosome binds Sm proteins[J]. J Biol Chem, 2002, 277(10): 8243-8247.
- [23] Chalfant CE, Rathman K, Pinkerman RL, et al. De novo ceramide regulates the alternative splicing of caspase 9 and Bcl-x in A549 lung adenocarcinoma cells. Dependence on protein phosphatase-1[J]. J Biol Chem, 2002, 277(15): 12587-12595.

[收稿日期] 2009-04-02

[修回日期] 2009-05-07

[本文编辑] 韩丹