

菜薹蛋白精氨酸甲基转移酶基因 *BrcuPRMT5* 的克隆及表达分析

肖旭峰¹, 张 祎¹, 吴智明², 杨寅桂^{1,*}

(¹江西农业大学农学院, 南昌 330045; ²仲恺农业工程学院, 广州 510225)

摘 要: 以‘油青 49’和‘油青甜菜薹 80’菜薹茎尖为材料, 采用 RT-PCR 和 RACE 技术克隆获得组蛋白甲基转移酶基因 *BrcuPRMT5* 的全长 cDNA 和 gDNA 序列。*BrcuPRMT5* cDNA 序列全长为 2 117 bp, 其中完整开放阅读框为 1 929 bp, 编码 642 个氨基酸, 相对分子量为 71.55 kD, 理论等电点 (pI) 为 5.87; 多序列比对结果表明, *BrcuPRMT5* 编码的氨基酸序列含有高等植物 *PRMT5* 基因 1 个高度保守的结构域; 系统发育分析结果显示与大白菜、油菜及甘蓝的亲缘关系最近; 亚细胞定位软件分析得知, *BrcuPRMT5* 蛋白无跨膜区域, 可能定位于线粒体中; 对应的 gDNA 全长为 4 151 bp, 含有 23 个外显子和 22 个内含子, 最长的外显子长度为 140 bp, 内含子的长度范围为 50 ~ 150 bp。利用半定量 RT-PCR 和实时荧光定量 PCR 技术分析基因的表达, *BrcuPRMT5* 在菜薹不同组织中均有表达, 其中在花中表达量最高, 叶次之, 根中最低; *BrcuPRMT5* 从苗期至完全抽薹开花期的表达量呈现上升趋势。*BrcuPRMT5* 在菜薹花发育过程中可能起一定的调控作用。

关键词: 菜薹; 蛋白甲基转移酶; 克隆; 序列分析; 时空表达

中图分类号: S 634.5

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2017) 06-1181-08

Cloning, Sequence Analysis and Expression Profile of Protein Arginine N-methyltransferase Gene *BrcuPRMT5* in Flowering Chinese Cabbage

XIAO Xufeng¹, ZHANG Yi¹, WU Zhiming², and YANG Yingui^{1,*}

(¹College of Agronomy, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; ²College of Horticulture and Landscape Architecture, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract: The full length cDNA and gDNA of *BrcuPRMT5* were obtained by using RT-PCR and RACE amplification from flowering Chinese cabbage (*Brassica rapa* syn. *campestris* ssp. *chinensis* var. *utilis*) ‘Youqing 49’ and ‘Youqing Tiancaitai 80’ stem apex. *BrcuPRMT5* was 2 117 bp in full length and encoded a predicted protein of 642 amino acids (ORF length 1 929 bp) with a molecular mass of 71.55 kD and an isoelectric point of 5.87. Amino acid sequence analysis showed that it contains one conserved domains of PRMT family of protein arginine N-methyltransferase in higher plants. Phylogenetic tree analysis showed that the flowering Chinese cabbage had the closest evolutionary relationship with Chinese cabbage, rape and broccoli. Subcellular localization analysis indicated that it might be targeted to the

收稿日期: 2017-03-15; **修回日期:** 2017-04-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31360484); 教育部高等学校博士学科点专项科研项目 (20133603120006); 江西省自然科学基金项目 (2013BAB204009); 江西农业大学博士启动基金项目 (3181)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: 18294858@qq.com)

mitochondrion without transmembrane region. The corresponding gDNA was 4 151 bp in length which harbored 23 exons and 22 introns. The longest exon was 140 bp in length and the length range of introns was 50 – 150 bp. *BrcuPRMT5* was expressed in the root, stem, leaf and flower by the tissue-specificity expression. The expressive content in different tissues was different: the highest was in flower, the next was in stem, and the lowest level was in root. The semi-quantitative RT-PCR and qPCR analysis revealed that no detectable levels were expressed during the first stage of sampling, then transcripts were detected during the two true-leaf, the four true-leaf, the five true-leaf and the flowering stages. This suggests *BrcuPRMT5* may play an important role in flowering Chinese cabbage flower development.

Keywords: flowering Chinese cabbage; protein arginine N-methyltransferase; clone; sequence analysis; expression

近年来人们对精氨酸甲基转移酶 (Protein arginine methyltransferase, PRMT) 的功能有了多方面的认识。PRMT 家族有 11 个成员, 其中 I 型精氨酸甲基转移酶包括 PRMT1、PRMT2、PRMT3、PRMT4/CARM1、PRMT6、PRMT8 和 PRMT10; II 型包括 PRMT2、PRMT5/SKB1、PRMT7 和 PRMT9/FBXO11 (Wolf, 2009; Yang & Bedford, 2013)。PRMT 在动物发育和疾病发生过程中发挥重要作用, 如 PRMT1 和 PRMT6 是肿瘤细胞生长所必需的 (Yoshimatsu et al., 2011); 敲除 PRMT1、PRMT4 或 PRMT5 能导致小鼠死亡等 (Bedford & Clarke, 2009; Tee et al., 2010)。

在拟南芥中, 发现了 9 个 PRMT 的同源蛋白, 分别为 AtPRMT1a、AtPRMT1b、AtPRMT3、AtPRMT4a、AtPRMT4b、AtPRMT5、AtPRMT6、AtPRMT7 和 AtPRMT10 (Ahmad & Cao, 2012; Hang et al., 2014)。研究表明, 大多数 AtPRMT 可调节与 RNA 加工相关因子的甲基化状态, 参与植株抽薹开花过程, 如 AtPRMT4a 和 AtPRMT4b 通过抑制开花抑制子 *Flowering Locus C (FLC)* 的表达使开花提前 (Niu et al., 2008); AtPRMT10 功能缺失会导致拟南芥开花时间延迟, 并且这种延迟也是 *FLC* 依赖的 (Niu et al., 2007); AtPRMT5 能够催化组蛋白 H4R3 位点对称性双甲基化, 下调 *FLC* 的表达而促进开花 (Johanson et al., 2000; Searle et al., 2006)。多个研究已报道, AtPRMT5 是目前拟南芥中发现的最重要的 II 型蛋白质精氨酸甲基转移酶, 一旦缺失将导致植株生长发育出现多方面的缺陷, 如叶片颜色变深、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 (Wang et al., 2001; Deng et al., 2010; Hong et al., 2010; Fan et al., 2013; Fu et al., 2013), 但是该基因参与植物生长发育的分子机理仍不清楚。

本研究中以菜薹为试材, 根据网上 (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NM_119262.6) 提供的基因序列, 采用同源克隆法获得了该基因的全长 cDNA 和 gDNA, 命名为 *BrcuPRMT5*。初步阐述该基因的序列结构特征, 预测其功能; 分析菜薹不同生长发育阶段及不同组织器官中的表达模式, 为深入阐明 *BrcuPRMT5* 调控菜薹抽薹发育分子机制提供前期研究基础。

1 材料与方法

1.1 试材及取样

供试材料为菜薹 [*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis* (L.) Mokino var. *utilis* Tsen et Lee] 早熟品种 ‘油青 49’ 和晚熟品种 ‘油青甜菜薹 80 天’, 由广东省农业科学院蔬菜研究所提供。试验在华南农业大

学园艺生物技术所完成。2015 年 4 月下旬播种于营养钵，置于光照培养箱中，待抽薹开花后，在菜薹茎尖部位取样，用于总 RNA 提取。

DNA 的提取采用改良 CTAB 法（肖旭峰 等，2012）。总 RNA 提取按照 MAGEN 公司植物 RNA 小量提取试剂盒说明书，琼脂糖凝胶电泳和核酸蛋白仪检测 DNA 和 RNA 完整性及浓度。cDNA 第一链合成参照 TaKaRa 公司 PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit 说明书操作，-20℃保存备用。

1.2 *BrcuPRMT5* 保守区域的克隆和全长序列获得

以反转录得到的单链 cDNA 为模板，PCR 总体积 25 μL，包含 1 μL 模板，2.5 μL dNTPs 混合物，0.5 μL Prime STARGXL DNA 聚合酶，5 μL 5× Prime STAR GXL 缓冲液，上、下游引物各 1 μL（表 1），14.5 μL ddH₂O。反应程序为：94℃预变性 2 min；94℃ 30 s，退火温度 55℃或 57℃ 30 s，72℃延伸 2 min，30 个循环后再 72℃ 7 min 延伸。PCR 产物经 1.2%琼脂糖凝胶电泳检测后，用 DNA 凝胶回收试剂盒（TaKaRa）回收，将回收的目的片段与 PMD-19T 载体（TaKaRa）连接，转化大肠杆菌，挑取单克隆，送生工生物工程（上海）股份有限公司测序。

表 1 试验引物及序列
Table 1 Sequence of primers used in *BrcuPRMT5* clone

用途 Usage	引物 Primer	序列 (5' - 3') Sequence
保守序列扩增 Conserved sequence isolation	<i>BrcuPRMT5</i> -S	CTCTCCTTCAACATTTCAC
	<i>BrcuPRMT5</i> -A	AAGACACCGACCATTTCATAC
3' 端 cDNA 扩增 3'-cDNA end isolation	<i>BrcuPRMT5</i> -GSP1	ATCACTTGGACGCTGGATGGGAGA
5' 端 cDNA 扩增 5'-cDNA end isolation	<i>BrcuPRMT5</i> -GSP2	ATCACTTGGACGCTGGATGGGAGA
开放阅读框扩增 ORF isolation	<i>BrcuPRMT5</i> -U	AGTAGAGATGCCGCTCGGAGAAAG
	<i>BrcuPRMT5</i> -D	CTTCATCATCAGTCCATGCTCTTC
实时荧光定量 PCR Real-time quantitative PCR	<i>BrcuPRMT5</i> -q-U	CAACAAAAGCCAACAACCAACGC
	<i>BrcuPRMT5</i> -q-D	GACACCGACCATTTCATACCAAAC
内参基因扩增 β -actin	β -actin-F	GGTCTTGTTCCAGCCGTCGTTCC
	β -actin-R	TCCACACACTGTACTTCTCTCG

1.3 生物信息学分析

利用美国国家生物技术信息中心进行在线同源性检索 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) 和保守结构域分析 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)；采用 Expasy 服务器中 Protparam 和 ProtScale 工具预测基本理化性质；在线软件 (<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/bioinf/Cell-PLoc/>) 预测蛋白质的亚细胞定位；利用 SignalP 3.0 Serve 程序预测信号肽；PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 和 DNASTAR 软件分析内含子多态性；采用 DNAMAN 软件比对蛋白序列的同源相似性。

1.4 *BrcuPRMT5* 时空表达分析

依据菜薹花芽形态发育特征（肖旭峰 等，2008），分别提取菜薹早、晚熟品种完全抽薹开花时期的根、茎、花、叶 4 个部位和从苗期至完全抽薹开花期（第 1~5 片真叶期和抽薹开花期）6 个不同发育时期的茎尖总 RNA。采用半定量 PCR 和实时荧光定量 PCR 技术分别检测 *BrcuPRMT5* 时空表达特性。荧光定量 PCR 采用 SYBR Premix Ex Taq 试剂盒（TaKaRa），内参基因为菜薹的 β -actin。

2 结果与分析

2.1 *BrcuPRMT5* 的目的片段克隆与全长扩增

根据从‘油青 49’和‘油青甜菜薹 80’菜薹茎尖中获得的 *BrcuPRMT5* 的中间片段序列（长度为 1 779 bp）设计 RACE 引物，分别利用 3’和 5’RACE 技术获得了长度为 1 421 bp 和 257 bp 的 3’和 5’端序列，将这 2 条序列与中间片段序列进行拼接后设计基因全长引物，获得目的基因的 cDNA 和 DNA 全长序列，分别为 2 140 bp 和 4 151 bp（图 1），该基因命名为 *BrcuPRMT5*（GenBank 登录号为 KX073606）。在线软件分析发现，*BrcuPRMT5* 的 cDNA 序列全长 2 117 bp，开放阅读框 1 929 bp，编码 642 个氨基酸，5’端非编码区长 70 bp，3’末端非编码区为 118 bp。

生物信息学分析表明，*BrcuPRMT5* 编码的蛋白质相对分子量为 71.55 kD，理论等电点（pI）为 5.87，不稳定系数为 43.65，属于不稳定蛋白，脂肪族指数为 83.33，总平均亲水性（GRAVY）为 -0.260；利用 ProtScale 软件预测显示，目的基因的亲水性域比疏水性域所在比例大，推测该蛋白为亲水性蛋白。蛋白亚细胞定位预测与分析结果推测，该蛋白无信号肽，是非分泌型蛋白，可能定位于线粒体中发挥功能。

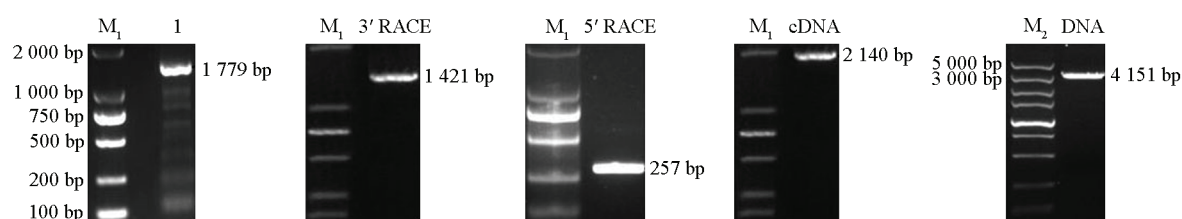


图 1 菜薹 *BrcuPRMT5* 的克隆电泳图

M₁: DL2000; M₂: DL5000; 1: 中间片段扩增。

Fig. 1 The full cDNA and DNA amplification of *BrcuPRMT5* in ‘Youqing 49’

M₁: DL2000; M₂: DL5000; 1: Middle segment.

2.2 *BrcuPRMT5* 外显子与内含子结构特征分析

对应目的基因的 DNA 全长序列为 4 151 bp。经 Blast 对比发现，该基因含有 23 个外显子和 22 个内含子。外显子最长的为 140 bp，最短的为 40 bp，长度均为 50 ~ 150 bp 之间。内含子最长的为第 5 内含子，为 227 bp，其他的均在 50 ~ 150 bp 之间。

PlantCARE 软件分析 *BrcuPRMT5* 基因的内含子元件，除了含有 11 个 CAAT-box、26 个 TATA-box 等基本转录元件外，还有光响应元件 Box I、Box 4、AE-box、CATT-motif，MYB 结合位点干旱诱导响应等顺式作用元件 MBS，赤霉素响应元件 GARE-motif，胁迫和应激响应元件 TC-rich repeats，生长素响应元件 TGA-element 以及胚乳响应元件 Skn-1_motif 等顺式作用元件。

2.3 *BrcuPRMT5* 编码氨基酸序列分析及同源关系比对

将克隆得到 *BrcuPRMT5* 所编码的氨基酸序列进行 Blastp 分析，发现 *BrcuPRMT5* 编码氨基酸序列与油菜（XM_009139744.1）、大白菜（XM_013894964.1）、甘蓝（XM_013737683.1）、芥蓝（XM_010449315.1）、山葵（XM_006412567.1）和拟南芥（NM_202918.2）的 *PRMT5* 编码的氨基酸序列的同源性分别达到了 97%、99%、96%、91%、92%和 91%。

为了进一步分析 *BrcuPRMT5* 序列的保守性,使用保守结构域在线软件将其蛋白的氨基酸序列与其他物种的序列进行比对,结果发现, *BrcuPRMT5* 蛋白编码氨基酸序列含有 *S*-腺苷甲硫氨酸甲基转移酶(AdoMet-MTases)超级家族高等保守功能结构域,包含了 PRMT、PTZ00357、COG4076 特异性结合位点(图 2),由此证明了 *BrcuPRMT5* 保守区基因编码的蛋白质属于编码 AdoMet-MTases 超级家族,在植物细胞有丝分裂过程中发挥重要作用。

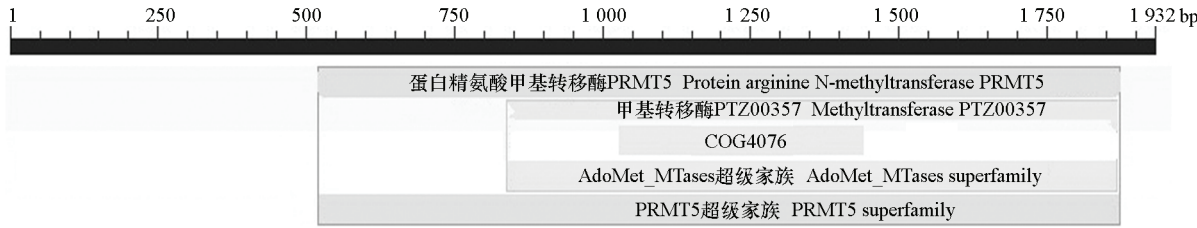


图 2 *BrcuPRMT5* 编码氨基酸序列的保守结构域
Fig.2 Conserved domains of *BrcuPRMT5*

通过序列进化树显示,菜薹与大白菜、甘蓝、油菜及山嵛菜的精氨酸甲基转移酶 PRMT5 的同源关系较近,而与黄瓜、莲、蓖麻及大豆等亲缘关系相对较远(图 3)。

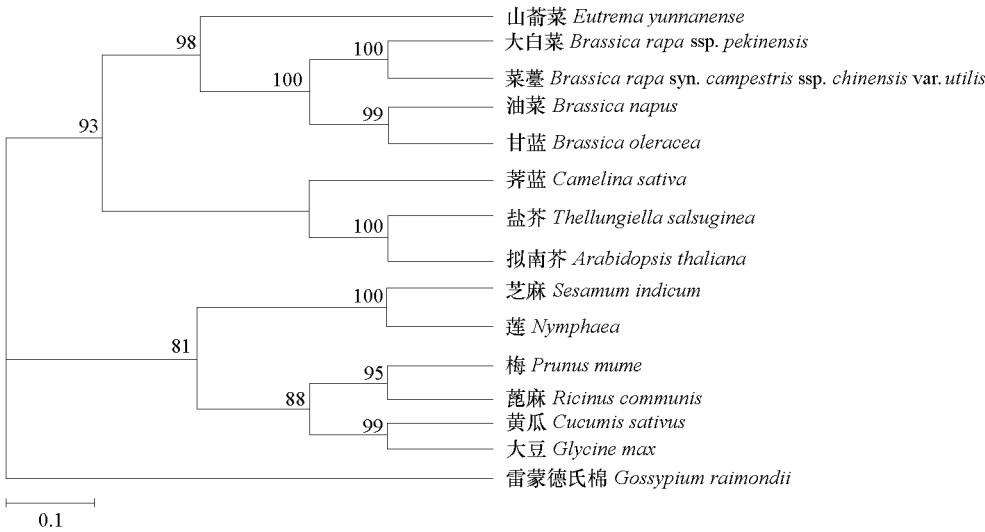


图 3 *BrcuPRMT5* 与其他 PRMT5 蛋白系统进化树分析
用 1 000 个重复进行 bootstrap 检测,置信度超过 50%的在接点部位标出。
Fig. 3 Phylogenetic relationship of *BrcuPRMT5* and other PRMT5
The numbers next to the nodes indicate bootstrap values of 50% or more support from 1 000 replicates.

2.4 *BrcuPRMT5* 在不同组织中的表达

利用半定量 PCR 和荧光定量 PCR 检测了目的基因在菜薹不同组织中的特异性表达(图 4)。结果表明,两个不同熟性的菜薹品种中均呈现为花器官中特异性表达量最高。同品种,与根相比,茎、叶中的表达量达到差异显著水平,花中则达到了极显著差异水平。与花蕾中的表达量相比,茎、叶中表达量相对较低,根中几乎无表达,即早、晚熟菜薹在各组织表达的丰度为花 > 叶 > 茎 > 根。

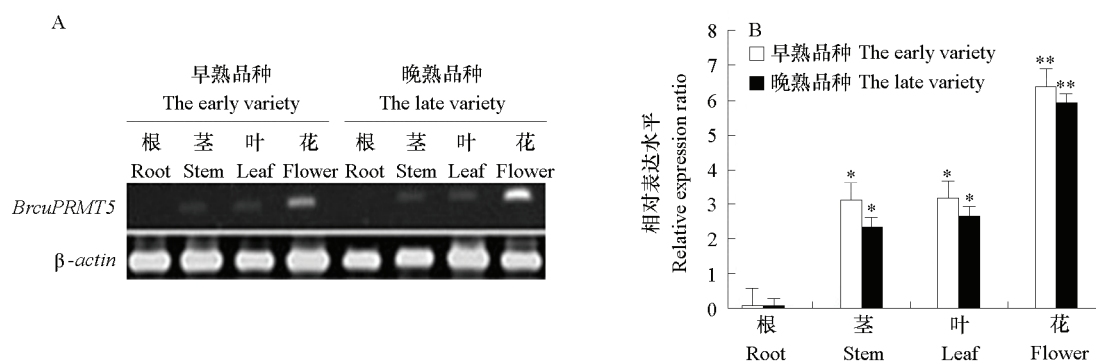


图4 菜薹 *BrcuPRMT5* 基因不同组织表达半定量 PCR (A) 和荧光定量 PCR (B) 检测

同品种不同组织间比较, *表示在 0.05 水平上差异显著, **表示在 0.01 水平上差异极显著。

Fig. 4 Semi-quantitative RT-PCR (A) and quantitative RT-PCR (B) analysis of *BrcuPRMT5* in different tissues of two varieties

Comparison among different tissues of the same variety, * indicate significant difference at 0.05 level,

** indicate highly significant difference at 0.01 level.

2.5 *BrcuPRMT5* 在不同发育时期的表达

半定量 PCR 和荧光定量 PCR 检测结果表明, *BrcuPRMT5* 在 2 种材料的 6 个发育期中茎尖部位均有不同程度的表达 (图 5), 且表达趋势表现一致。第 1 片真叶期时表达量较低, 第 2、3、4、5 片真叶期逐渐升高, 同品种不同发育期间差异显著, 直至完全抽薹开花表达量最高, 达到极显著差异; 在不同叶期两个中早、晚熟品种基本一致, 抽薹开花期早、晚熟品种分别是第 1 片真叶期的 58.13 倍和 93.82 倍。

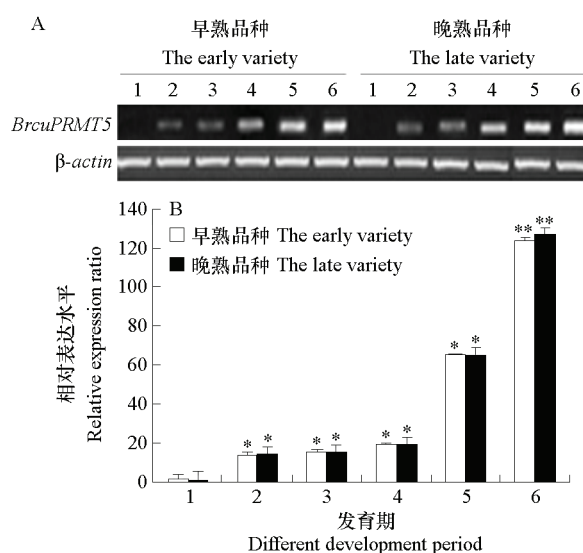


图5 菜薹 *BrcuPRMT5* 基因不同发育期表达半定量 PCR (A) 和荧光定量 PCR (B) 检测

1、2、3、4、5、6 分别表示第 1、2、3、4、5 片真叶期和开花期; *表示同品种不同发育时期在 0.05 水平上差异显著,

**表示在 0.01 水平上差异极显著。

Fig. 5 Semi-quantitative RT-PCR (A) and quantitative RT-PCR (B) analysis of *BrcuPRMT5* in different periods of two varieties

1, 2, 3, 4, 5 and 6: The periods of the one, two, three, four, five true-leaf stage and completed flowering stage, respectively; * indicate significant difference at 0.05 level among different periods of the same variety,

** indicate highly significant difference at 0.01 level.

3 讨论

植物开花时间受到极为复杂且精密的调控, 主要由 4 个经典信号通路 (光周期、春化、自主和赤霉素) 与其他调节因子共同组成调控开花的调控网络, 其中 *FLC* 是该网络中最关键的开花决定因子。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 结合蛋白也参与植物的开花调控过程, 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, 暗示了植物中 PRMT 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 (侯毅枫 等, 2015)。

AtPRMT5 是目前拟南芥中唯一报道的 II 型精氨酸甲基转移酶。研究表明, AtPRMT5 能够催化组蛋白和非组蛋白的对称性双甲基化, 通过对称性双甲基化目标基因 *FLC* 染色质的启动子区域, 抑制 *FLC* 的表达, 从而促进植物开花 (Hong et al., 2010; Fan et al., 2013)。本研究中分离鉴定的菜薹 *BrcuPRMT5* 与拟南芥、油菜、大白菜、甘蓝、芥蓝和山葵等高等植物的 PRMT 编码氨基酸序列同源性高达 91% 以上。*BrcuPRMT5* 和 14 种其他作物中均含有 5 个保守的甲基化反应必需元件 (I, post I, II, III 和 THW loop 区), 且具有 1 个 S-腺苷甲硫氨酸甲基转移酶 (AdoMet-MTases) 高度保守域, 说明 *BrcuPRMT5* 属于 PRMT 基因家族。系统发育分析表明, 目标基因序列与油菜、大白菜、甘蓝、山葵的亲缘关系较近, 特别是与大白菜 *BruPRMT5* 序列同源性最高 (98%), 亲缘关系最近, 这说明该基因可能在众多植物的生命活动中发挥着相似的功能, 能促进植物开花。通过亚细胞定位分析得知, *BrcuPRMT5* 蛋白无跨膜区域, 可能定位于线粒体中发挥功能。这些研究结果证实菜薹 *BrcuPRMT5* 基因是 PRMT5/SKB1 直系同源基因。

在成熟的植株中, 菜薹 *BrcuPRMT5* 在营养器官根、茎及叶中无表达或少表达, 而在花中的表达量较高, 这与拟南芥中在成熟植株老叶中表达量较低, 而花中表达量高的结果 (张娅, 2007; 牛丽芳, 2009) 基本一致。据肖旭峰等 (2008) 报道的研究结果, *BrcuFLC* 的组织表达模式为茎、叶中的表达量高, 花和根中表达量少或无表达, 由此说明 *BrcuPRMT5* 可能负调控靶基因 *BrcuFLC* 表达, 从而促进植物抽薹开花。

为了预测 *BrcuPRMT5* 生物学功能, 利用半定量 RT-PCR 和 qRT-PCR 分析 *BrcuPRMT5* 在菜薹早、晚熟品种第 1、2、3、4、5 片真叶期及抽薹开花期的表达模式。结果表明, 在菜薹的第 1 片真叶期, 两个品种基本未检测到目的基因表达。随真叶数量增加, 目的基因的表达量逐渐升高, 直至完全抽薹开花时表达量达最高。第 2 片真叶期是标志着菜薹由营养生长转向生殖生长的关键过渡期 (肖旭峰 等, 2008), 目的基因在菜薹整个花形态建成时期均有表达, 且表达量不断增加, 说明 *BrcuPRMT5* 基因与菜薹的花发育密切相关。此外, 该基因在菜薹整个生长发育时期的表达模式与已报道的自主开花通路基因 (*BrcuFCA*、*BrcuFLD*、*BrcuFVE*) 相似 (Xiao et al., 2015), 而与 *BrcuFLC* 相反 (肖旭峰 等, 2008), 也证实了 *BrcuPRMT5* 属于自主开花途径成员, 位于靶基因 *BrcuFLC* 的上游。至于 *BrcuFLC* 染色质是组蛋白精氨酸甲基转移酶修饰的直接靶位点, 还是通过正调控 *BrcuFLC* 基因上游自主通路的负调控因子来间接抑制 *BrcuFLC* 表达从而促进植物抽薹开花的, 还需要进一步研究。

References

- Ahmad A., Cao X. 2012. Plant PRMTs broaden the scope of arginine methylation. *J Genet Genomics*, 39 (5): 195 - 208.
- Bedford M T., Clarke S G. 2009. Protein arginine methylation in mammals: Who, what, and why. *Mol Cell*, 33: 1 - 13.
- Deng X., Gu L., Liu C. 2010. Arginine methylation mediated by the *Arabidopsis* homolog of PRMT5 is essential for proper pre-mRNA splicing. *Proc*

- Natl Acad Sci, 107: 19114 – 19119.
- Fan H J, Zhang Z L, Wang N, Cui Yan, Sun H, Liu Y, Zheng S S, Bao S L, Ling H Q. 2013. SKB1/PRMT5-mediated histone H4R3 dimethylation of Ib subgroup bHLH genes negatively regulates iron homeostasis in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 77 (2): 209 – 221.
- Fu Y L, Zhang G B, Lv X F, Guan Y, Yi H Y, Gong J M. 2013. *Arabidopsis* histonemethylase 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*, 25 (8): 2878 – 2891.
- Hang R L, Liu C Y, Ahmad A, Zhang Y, Lu F L, Cao X F. 2014. *Arabidopsis* protein arginine methyltransferase 3 is required for ribosome biogenesis by affecting precursor ribosomal RNA processing. *Proc Natl Acad Sci USA*, 111 (45): 16190 – 16195.
- Hong S, Song H R, Lutz K., Kerstetter R A, Michael T P, McClung C R. 2010. Type II protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5) is required for circadian period determination in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci*, 107: 21211 – 21216.
- Hou Yi-feng, Deng Xian, Lu Tian-cong, Zhang Yong, Cao Xiao-feng. 2015. Research progress of protein arginine methylation in post-transcriptional regulation. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 27 (3): 351 – 361. (in Chinese)
- 侯毅枫, 邓 娴, 陆天聪, 张 勇, 曹晓风. 2015. 蛋白质精氨酸甲基化参与基因转录后调控的研究进展. *生命科学*, 27 (3): 351 – 361.
- Niu L, Lu F, Pei Y, Cao X. 2007. Regulation of flowering time by the protein arginine methyltransferase AtPRMT10. *EMBO Rep*, 8 (12): 1190 – 1195.
- Niu L, Zhang Y, Pei Y, Cui L, Cao X. 2008. Redundant requirement for a pair of PROTEIN ARGININE METHYLTRANSFERASE4 homologs for the proper regulation of *Arabidopsis* flowering time. *Plant Physiol*, 148 (1): 490 – 503.
- Niu Li-fang. 2009. Studies of AtPRMT5 on the molecular mechanism of controlling flowering time in *Arabidopsis* [Ph. D. Dissertation]. Beijing: Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences. (in Chinese)
- 牛丽芳. 2009. 蛋白精氨酸甲基转移酶 AtPRMT 调控拟南芥开花时间的分子机理研究 [博士论文]. 北京: 中国科学院遗传与发育生物学研究所.
- Johanson U, West J, Lister C. 2000. Molecular analysis of FRIGIDA, a major determinant of natural variation in *Arabidopsis* flowering time. *Science*, 290: 344 – 347.
- Searle I, He Y, Turck F. 2006. The transcription factor FLC confers a flowering response to vernalization by repressing meristem competence and systemic signaling in *Arabidopsis*. *Genes Dev*, 20: 898 – 912.
- Tee W W, Pardo M, Theunissen T W, Yu L, Choudhary J S, Hajkova P, Surani M A. 2010. Prmt5 is essential for early mouse development and acts in the cytoplasm to maintain ES cell pluripotency. *Genes Dev*, 24: 2772 – 2777.
- Wang H, Huang Z Q, Xia L, Feng Q, Erdjument-Bromage H, Strahl B D, Allis C D, Wong J, Tempst P, Zhang Y. 2001. Methylation of histone H4 at arginine 3 facilitating transcriptional activation by nuclear hormone receptor. *Science*, 293 (5531): 853 – 857.
- Wolf S S. 2009. The protein arginine methyltransferase family: an update about function, new perspectives and the physiological role in humans. *Cell Mol Life Sci*, 66 (13): 2109 – 2121.
- Xiao Xu-feng, Cao Bi-hao, Wang Yong, Chen Guo-ju, Lei Jian-jun. 2008. Study on flower bud differentiation and cloning and expression of *BrcuFLC* in *Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* (L.) Makino var. *utilis*. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (6): 827 – 832. (in Chinese)
- 肖旭峰, 曹必好, 王 勇, 陈国菊, 雷建军. 2008. 菜薹花芽分化及 *BrcuFLC* 基因的克隆与表达. *园艺学报*, 35 (6): 827 – 832.
- Xiao X F, Wu C J, Xu Z Y, Yang Y G, Fan S Y, Wang H. 2015. Molecular cloning, characterization and expression analysis of bolting-associated genes in flowering Chinese cabbage. *Genes & Genomics*, 37: 357 – 363.
- Xiao Xu-feng, Wang Heng, Wang Yi-lin, Cao Bi-hao, Lei Jian-jun. 2012. Cloning and expression analysis of *BrcuDFR*-like/*BrcuAXS* gene in flowering Chinese cabbage. *Acta horticulturae sinica*, 39 (8): 1575 – 1582. (in Chinese)
- 肖旭峰, 王 恒, 王义林, 曹必好, 雷建军. 2012. 菜薹抽薹相关基因 *BrcuDFR*-like/*BrcuAXS* 的克隆与表达特性分析. *园艺学报*, 39 (8): 1575 – 1582.
- Yang Y, Bedford M T. 2013. Protein arginine methyltransferases and cancer. *Nat Rev Cancer*, 13 (1): 37 – 50.
- Yoshimatsu M, Toyokawa G, Hayami S. 2011. Dysregulation of PRMT1 and PRMT6, type I arginine methyltransferases, is involved in various types of human cancers. *Int J Cancer*, 128 (3): 562 – 573.
- Zhang Ya. 2007. The molecular mechanism of arginine methyltransferase SKB1 controlling flowering time in *Arabidopsis* [Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University. (in Chinese)
- 张 娅. 2007. 拟南芥精氨酸甲基转移酶 SKB1 调控植物开花时间的分子机制研究 [博士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.