

细胞内RNA甲基化修饰的研究进展

周帆 庞志倡 汪肖云*

(华南师范大学生命科学学院, 广东省昆虫发育调控与应用研究重点实验室, 广州 510631)

摘要 细胞内RNA甲基化修饰是一类重要的转录后修饰形式, 这种修饰广泛分布于各类RNA中, 并参与调控细胞内RNA的可变剪接、定位、稳定性, 以及维持RNA正常结构、蛋白质翻译、RNA-蛋白质相互作用等一系列生物学过程。种类丰富的RNA动态修饰体现了表观遗传学调控的新机制, 为阐明RNA甲基化修饰对基因表达和生理代谢的调控规律提供了新视角。该文对细胞内RNA中主要的甲基化修饰的研究进展进行综述, 并着重阐述甲基转移酶、去甲基转移酶和甲基化结合蛋白在RNA甲基化修饰中的作用以及生物学功能。

关键词 RNA甲基化; 6-甲基腺嘌呤; 1-甲基腺嘌呤; 5-甲基胞嘧啶

Research Progresses of RNA Methylation Modification in Cells

ZHOU Fan, PANG Zhichang, WANG Xiaoyun*

(Guangdong Provincial Key Laboratory of Insect Developmental Biology and Applied Technology, School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract RNA methylation is an important form of post-transcriptional modification, which is widely distributed in various types of RNA and is involved in a series of processes such as alternative splicing, localization, stability, maintenance of normal RNA structure, protein translation and RNA-protein interaction. The various types of dynamic RNA modifications reveal novel mechanism of epigenetic regulation and provide new view for exploring the regulation of gene expression and physiological activities by RNA methylated modification. This paper reviews the main progresses of RNA methylation study, and focuses on the roles and biological functions of methyltransferases (Writers), demethyltransferases (Erasers) and binding proteins (Readers) in RNA methylation.

Keywords RNA methylation; N⁶-methyladenosine; N¹-methyladenosine; 5-methylcytosine

在原生生物界、植物界和动物界中, 遗传物质DNA和RNA上存在着广泛的核酸化学修饰。这一特性显著拓宽了基因组的多样性, 是调控核酸从转录到转录后表达的重要手段^[1]。然而, 与含有20种不同氨基酸残基的蛋白质相比, RNA通常只有4种碱基(A、U、G、C)。为了实现其结构和功能的多样性, RNA甲基化修饰作为转录后水平的主要调控方式, 在许多生物学过程中必不可少^[2]。早在1960年,

研究人员就在酵母细胞的RNA中发现了核苷酸修饰^[3]; 1974年, DESROSIERS等^[4]在哺乳动物细胞中发现了m⁶A甲基化修饰在信使RNA(messenger RNA, mRNA)中的独特分布, 并推测该修饰与特定mRNA的选择性加工有关。目前, 已在RNA中发现了170多种修饰^[5], 其中有许多是几十年前就已为人所知的, 但直到最近几年人们才开发出足够灵敏的检测工具和高分辨率的全基因组测序技术, 来识别和量化低

收稿日期: 2020-04-07 接受日期: 2020-05-13

国家自然科学基金(批准号: 81902093)和广东省高等学校珠江学者岗位计划资助项目(2019)资助的课题

*通讯作者。Tel: 020-85210024, E-mail: wangxy@scnu.edu.cn

Received: April 7, 2020 Accepted: May 13, 2020

This work was supported by National Natural Science Foundation of China (Grant No.81902093) and Guangdong Province Universities and Colleges Pearl River Scholar Funded Scheme (2019)

*Corresponding author. Tel: +86-20-85210024, E-mail: wangxy@scnu.edu.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5351>

丰度的RNA修饰^[6]。

研究表明, mRNA(messenger RNA)、tRNA(transfer RNA)、rRNA(ribosomal RNA)、长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)和非编码小RNA[包括miRNA(microRNA)、siRNA(small interfering RNA)、piRNA(piwi-interacting RNA)]等各类RNA上均存在着各种不同的化学修饰^[7]。这些转录后的修饰分别由甲基转移酶(Writers)和去甲基转移酶(Erasers)在特定位点上通过酶促反应来安装或移除, 而甲基化结合蛋白(Readers)可以读取修饰信息并为下游功能的执行传递信号^[1]。不同的化学修饰是通过对应的酶进行催化形成的, 这些酶具有脱氨基(deamination)、甲基化(methylation)、糖基化(glycosylation)、硫醇化(thiolation)、转糖基化(transglycosylation)和异构化(isomerization)等多种功能^[8]。化学修饰的多样性, 以及不同位点上的修饰可影响RNA可变剪接、运输、折叠、稳定性等不同层面的功能^[8]。RNA修饰可直接影响RNA的化学性质, 包括所带电荷、碱基配对、二级结构和蛋白质-RNA相互作用等, 这些变化又通过控制RNA加工、定位、翻译和最终的衰变来调控基因表达^[7]。近几年, RNA甲基化修饰研究是一个发展极为迅速的领域, 本文主要以细胞内m⁶A(N⁶-methyladenosine)、m¹A(N¹-methyladenosine)、m⁵C(5-methylcytosine)的RNA甲基化修饰为代表, 对这些RNA甲基化修饰的分布特点、动态调控机制、生物学功能等进行综述。

1 RNA的m⁶A修饰

RNA转录本上的各种化学修饰中m⁶A含量最为丰富, m⁶A修饰的主要功能是影响RNA的翻译和稳定性^[2]。2011年, FTO蛋白(fat mass and obesity associated protein)被首次报道具有催化RNA去甲基化功能, 随着各种甲基化修饰相关催化酶的发现, 以及免疫共沉淀反应结合高通量测序技术(methylated RNA immunoprecipitation sequencing, MeRIP-Seq)的发展, RNA的m⁶A甲基化修饰研究被推向了一个新层面^[9-10]。更为重要的是, m⁶A甲基化修饰在各种高等真核细胞中普遍存在^[11]。目前国内外学者对m⁶A修饰开展了大量研究, 证实m⁶A修饰可以调控基因表达, 并且参与肿瘤发生、免疫调控、神经发育、干细胞分化等重要生命过程^[11-13]。

DOMINISSINI等^[10]利用m⁶A-seq技术发现, 在人

体细胞中25%以上的mRNA转录本中存在超过10 000个m⁶A修饰位点, 这些m⁶A位点具有保守修饰基序RRACH, 其中R代表腺嘌呤(A)或鸟嘌呤(G), A代表m⁶A位点, H代表腺嘌呤(A)、胞嘧啶(C)或尿嘧啶(U)。更多研究表明, 哺乳动物mRNA上的m⁶A修饰主要在终止密码子以及3'非翻译区(3' untranslated region, 3'UTR)处富集^[6,14]。与哺乳动物不同的是, 模式植物拟南芥中的mRNA m⁶A甲基化修饰位点不仅在终止密码子和3'非翻译区处富集, 而且还在起始密码子周围富集^[15]。不同生物细胞内mRNA m⁶A甲基化修饰的位点分布特征可能存在一定差异, 这与物种自身的基因表达调控机制有关。

m⁶A甲基化修饰主要由相关的催化酶催化形成, METTL3(methyltransferase-like 3)和METTL14(methyltransferase-like 14)结合形成的异二聚体METTL3/METTL14是典型的m⁶A甲基转移酶复合物, 负责大部分哺乳动物细胞内mRNA的m⁶A甲基化修饰。该复合物能与WTAP(Wilms' tumor 1-associated protein)形成相互作用, 在甲基供体S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)或者S-腺苷高半胱氨酸(S-adenosylhomocysteine)存在的条件下, 使腺嘌呤第6位N原子上的氢发生甲基化^[16-17]。METTL3和METTL14两者具有协同作用, 其中METTL14通过变构和识别RNA底物激活METTL3, 从而大大提高METTL3的催化活性^[17]。此外, WTAP本身没有甲基转移酶活性, 但其可作为一个亚基与METTL3-METTL14复合物结合并相互作用, 从而将甲基转移酶复合物定位于核小点处(nuclear speckles)^[18]。除了上述成员, 还有VIRMA(vir-like m⁶A methyltransferase associated)^[19]、RBM15(RNA binding motif protein 15)^[20]、ZC3H13(zinc finger CCCH domain-containing protein 13)^[21]以及METTL3同源物METTL16(methyltransferase-like 16)^[22]等甲基转移酶复合物亚基, 它们通过选择性地识别甲基化位点来实现精确的转录后调控。不同种类的RNA m⁶A甲基化修饰由不同的催化酶催化形成, 不同物种之间同类RNA m⁶A甲基化转移酶在序列上可能存在较高的保守性。

细胞内m⁶A甲基化修饰水平不是静态不变的, 其受到细胞内外因素调控时具有动态可逆性。目前的研究发现, 哺乳动物细胞内FTO和ALKBH5(α-ketoglutarate-dependent dioxygenase alkB homolog 5)均具有去甲基化酶活性, 它们都属于ALKB双加氧酶家族成员^[9,23]。用siRNA敲低FTO基因后mRNA中

m⁶A含量升高,而*FTO*过表达则导致某些特定mRNA的m⁶A含量明显降低,预示着*FTO*可能只作用于这些特定的mRNA;进一步实验表明,核内RNA上的m⁶A修饰位点作为*FTO*的催化底物,其去甲基化功能可能影响pre-mRNA以及其他核内RNA的加工^[9]。作为第2个被鉴定的m⁶A去甲基化酶,ALKBH5的催化活性与*FTO*相当。ALKBH5可对特定序列发挥作用,研究表明它在相似序列中表现出对单链RNA中m⁶A的偏好性^[23]。此外,干预细胞核内ALKBH5表达会导致细胞中polyA RNA含量的整体减少,表明ALKBH5在调节mRNA的核输出方面发挥作用^[23]。

细胞内m⁶A甲基化修饰主要通过RNA结合蛋白发挥生物学作用。已有研究显示,含YTH结构域的蛋白可以选择性地与单链RNA中的m⁶A位点结合,能够识别m⁶A修饰的YTH蛋白家族包括YTHDC1(YTH domain containing 1)、YTHDC2和YTHDF1(YTH N⁶-methyladenosine RNA binding protein 1)、YTHDF2、YTHDF3。在细胞核中,YTHDC1可选择性地与含有m⁶A的前体RNA结合。对YTHDC1结合位点进行的生化实验表明,YTHDC1能优先识别GG(m⁶A)C序列^[24]。紧接着在细胞质中,YTH家族其他成员YTHDF1~3和YTHDC2结合调控具有m⁶A修饰位点的出核RNA。YTHDF1在终止密码子附近与甲基化的mRNA结合,参与翻译起始过程的调控,从而提高目标RNA翻译效率,促进含有m⁶A修饰的转录本有效合成蛋白质^[25]。同时,含有m⁶A修饰的mRNA的稳定性受到YTHDF2调控,该蛋白识别m⁶A位点并影响目标转录本的稳定性和半衰期^[25]。YTHDF3可以分别与YTHDF1、YTHDF2相互作用,前者借助一组常见的核糖体蛋白来调控mRNA翻译,后者可直接介导mRNA活性的衰减,这3种YTHDF蛋白通过不同的整合协调方式在加快细胞质中mRNA的代谢方面起着关键作用^[26]。YTHDC2是YTH家族中最大的一类成员,可与m⁶A位点结合,在降低目标RNA丰度的同时可以提高翻译效率^[27]。

2 RNA的m¹A修饰

m¹A是由甲基转移酶催化的另外一种重要的RNA转录后修饰,它广泛存在于tRNA、mRNA、rRNA以及线粒体DNA编码的转录本中^[28-29]。与m⁶A不同,m¹A修饰的腺苷酸在N1位点发生甲基化,

该位点位于沃森-克里克双螺旋结构的碱基配对界面,从而阻断了腺嘌呤与胸腺嘧啶或尿苷的互补配对,并对局部RNA结构或蛋白质-RNA相互作用造成影响^[7,30]。1966年,在酵母tRNA中首次发现了m¹A甲基化修饰^[31],后来在细菌、古生菌和真核生物的tRNA序列中也发现了m¹A修饰位点,它们分别位于9、14和58号位;其中,58号位的m¹A修饰具有保守性,并且还是维持tRNA稳定性的关键^[32-33]。随着近年来高通量测序技术的发展,人们发现mRNA中也存在m¹A修饰,在5'UTR的起始密码子处高度富集,而且能在不同的生理条件下作出动态响应,与蛋白质的合成呈正相关^[34-35]。

2017年,在人胚胎肾细胞中发现m¹A修饰的甲基转移酶(Writers),细胞质中的TRMT6(tRNA methyltransferase 6)/TRMT61A(tRNA methyltransferase 61A)复合体主要负责催化m¹A甲基化修饰,线粒体中的m¹A甲基化修饰则由TRMT10C(tRNA methyltransferase 10C)负责催化,并且m¹A甲基化修饰水平具有高度的组织特异性^[29]。哺乳动物细胞中的ALKBH1具有催化tRNA m¹A去甲基化修饰的功能,并靶向抑制tRNA参与蛋白质合成从而影响翻译起始^[32]。ALKBH1催化tRNA去甲基化修饰这一过程是动态的,此外,在缺乏葡萄糖时,ALKBH1会影响蛋白质的翻译起始和延伸^[32]。有研究报道,ALKBH3对tRNA中的m¹A、m³C、m⁶A修饰均表现出去甲基转移酶活性,从而提高了翻译合成蛋白质的效率;而下调ALKBH3可导致tRNA中m¹A水平升高,使得癌细胞中蛋白质的合成受到抑制^[36]。此外,通过降低m¹A去甲基转移酶ALKBH3的含量来提高m¹A水平,会破坏已含有m¹A修饰的RNA稳定性。利用定量蛋白质组学的方法发现的甲基化结合蛋白除YTHDC2之外,还有YTHDF1、YTHDF2、YTHDF3和YTHDC1均可与RNA中的m¹A修饰位点结合,YTHDF2中的Trp⁴³²是YTH疏水囊结构域中的一个保守残基^[37]。YTHDF2可在不同序列中识别含有m¹A修饰的RNA并导致转录本稳定性降低,这可能是由YTHDF2介导的mRNA衰变所致^[38]。不同位置的m¹A修饰作用可能不同,细胞核内的前体mRNA 5'Cap和5'UTR处的m¹A修饰可能起到促进翻译的作用^[35];与之相反,在mt-mRNA(mitochondrial mRNA)的CDS(coding sequence)序列上m¹A修饰被证实可以抑制转录本的有效翻译^[29,35]。研究发现,在细菌中存在一种新型质粒

可介导甲基转移酶NpmA[16S rRNA (adenine¹⁴⁰⁸-N¹)-methyltransferase NpmA]催化16S rRNA中特定位点发生m¹A甲基化修饰, 这种突变的发生使细菌获得高水平的氨基糖苷类抗性, 这是此类细菌产生抗生素耐药性的结构基础, 但m¹A修饰位点潜在的功能及作用机制还有待进一步研究^[39]。

3 RNA的m⁵C修饰

RNA的m⁵C修饰是指RNA胞嘧啶的第5位C原子发生甲基化, 该修饰也是动态可逆的, 主要以SAM作为甲基供体, 在甲基转移酶催化下形成。m⁵C修饰广泛分布在rRNA、mRNA、tRNA、snRNA(small nuclear RNA)、miRNA、lncRNA和增强子相关的RNA(enhancer RNA, eRNA)中^[40-42]。目前研究发现, mRNA中m⁵C修饰主要分布在非翻译区(3'UTR和5'UTR)、GC富集区以及AGO(Argonaute)蛋白结合位点处^[43-44]; tRNA中m⁵C则主要分布于可变臂和反密码环中; 在rRNA中, m⁵C则常出现在tRNA发挥翻译活性的区域^[45]。

现已明确的RNA m⁵C特异性甲基转移酶包括NSUN家族蛋白和DNMT2(DNA methyltransferase 2), 其结构特点是含有保守的半胱氨酸残基, 能够以SAM为甲基供体, 催化甲基转移到相应的RNA胞嘧啶残基上^[46]。NSUN家族包括催化蛋白NSUN1、NSUN2、NSUN3、NSUN4、NSUN5、NSUN6和NSUN7。其中NSUN2(NOP2/Sun RNA methyltransferase 2)是一种核仁RNA甲基转移酶, 可催化tRNA、mRNA和ncRNA(non-coding RNA)等多种RNA发生m⁵C修饰。研究发现, 甲基转移酶NSUN2可与蛋白ALYREF(Aly/REF export factor)进行协同调控, 促进mRNA的输出, 因此, m⁵C及其相关蛋白参与了细胞中选择性mRNA的动态输出^[40]。NSUN1和NSUN3~7也已被证实能与RNA结合, 并各自催化不同的RNA发生甲基化。DNMT2作为RNA m⁵C修饰的甲基转移酶, 最开始被认为是一种DNA甲基转移酶, 但进一步研究表明, DNMT2不能催化DNA甲基化, 而具有催化miRNA和tRNA发生甲基化的功能^[47]。TET蛋白家族在Fe²⁺和2-酮戊二酸的作用下可催化DNA m⁵C位点去甲基化, 但TET-RNA复合物的结构尚未明确, 因此, TET3蛋白的RNA m⁵C去甲基化作用机制仍需进一步研究。有学者发现, YPS(Ypsilon schachtel)蛋白通过优先与含有m⁵C位

点的RNA结合, 可促进果蝇卵巢生殖系干细胞的维持、增殖和分化, 该研究表明了RNA的m⁵C甲基化修饰在成体干细胞发育中起着重要作用^[48]。YANG等^[49]利用RNA-BisSeq对斑马鱼早期胚胎的RNA m⁵C修饰进行全基因组分析, 发现在斑马鱼的MZT(maternal-to-zygotic transition)过程中, 含m⁵C修饰的母系mRNA比非m⁵C修饰的mRNA具有更高的稳定性, 表明了m⁵C甲基化修饰在早期发育中具有关键作用。

4 讨论与展望

细胞内RNA转录后修饰体现了表观遗传学调控的新机制, RNA甲基化修饰是RNA转录后一种重要的修饰形式, 在基因表达调控方面发挥重要作用。本文主要以细胞内3种重要的RNA甲基化修饰(m⁶A、m¹A、m⁵C)为代表, 对这几种甲基化修饰在细胞内RNA上的分布特点、动态调控机制、生物学作用等进行了综述。除了文中主要描述的几种甲基化修饰外, 种类丰富的其他化学修饰也广泛存在于mRNA上。当然, RNA修饰不仅存在于mRNA, 也可以存在于非编码RNA中^[1]。非编码RNA根据其长度可以分为tRNA、rRNA、lncRNA、miRNA、circRNA(circular RNA)、snRNA、piRNA等。RNA修饰对编码RNA和非编码RNA会产生不同的影响, mRNA修饰可直接影响基因表达水平, 非编码RNA修饰则可以通过间接方式(如RNA结合蛋白)调控基因表达来发挥不可忽视的作用。例如, tRNA作为一种非常重要和细胞内高丰度的非编码RNA, 其功能的发挥离不开tRNA上各种独特的化学修饰。“三叶草结构”的tRNA通常是由76个核苷酸构成的, 在核内转录后进入细胞质会经历大量化学修饰(包括m¹A、Ψ、m¹G、m²G、m⁷G、m⁵C等), 这些修饰对tRNA结构的稳定性和空间折叠以及翻译的准确性、高效性具有关键作用, 例如tRNA反密码子环上的修饰通过促进密码子-反密码子相互作用和防止移码来提高翻译效率^[8]。在非编码RNA中最早发现的、含量最为丰富的核苷修饰是假尿苷Ψ修饰, 其五碳糖和碱基之间通过独特的C-C键链接, 使得含有该修饰的RNA结构具有更好的稳定性^[50]。在tRNA中, 假尿苷Ψ修饰不仅可以维持反密码子环结构以促进密码子和反密码子的相互作用, 而且对于核糖体正确识别tRNA并与之结合至关重要^[51]。此外, 现有研

究表明,假尿苷 Ψ 修饰也广泛分布于rRNA中,在大亚基的重要功能域处显著富集,这可能有助于核糖体的合成以及形成蛋白质-RNA相互作用所需的二、三级结构^[52-53]。rRNA是细胞内含量最高的非编码RNA,人类的rRNA上有超过200多个碱基修饰位点,除了包括假尿苷 Ψ 修饰之外,还包括 m^6A 甲基化修饰,这些修饰都可以影响rRNA的结构和功能。

RNA化学修饰在不同物种的多种生命活动过程中均发挥着重要作用,这已经是生物学领域普遍认可的观点。但同种RNA上往往存在不止一种修饰,不同种类和数量的修饰位点之间是否存在相互的影响,其调节功能是否存在协同或拮抗还要进一步深入研究,这需要我们在了解特定转录本的具体碱基修饰功能的基础上开展功能验证实验。近年来,受益于分析化学和高通量测序检测技术的改进, RNA甲基化研究得到了快速推动,但我们对RNA甲基化修饰在协调各种生命过程中的机制仍然不够了解,所以在机制层面上仍然需要开展深入的功能研究和表型验证。此外,虽然目前在不同物种中都有报道RNA甲基化修饰的鉴定和分布特征,但RNA甲基化修饰研究目前存在的一个重要的技术障碍就是难以鉴定具体的RNA甲基化修饰位点,即甲基化修饰位点检测分辨率的问题。在现阶段的技术层面,提高转录组水平甲基化修饰的核苷酸分辨率,是进一步研究RNA甲基化修饰功能必须克服的难题。根据RNA甲基化修饰检测原理,目前核酸修饰的检测方法大致可分为3种:抗体富集法、化学反应法以及酶识别反应,通过多种方法的联合使用可能使检测结

果更为可靠并能提高检测分辨率^[54]。近期有研究报道,利用细胞的自身代谢^[55]或去甲基化酶FTO^[56]对修饰位点进行化学标记并结合高通量测序的方法,从而实现RNA m^6A 单碱基分辨率的修饰位点测定。值得注意的是,利用蛋白酶的化学标记法还可以在 m^6A 上标记生物素进行片段富集,未来甚至可以利用其进行荧光素标记实现 m^6A 的成像。目前,以纳米孔技术为代表的第三代测序技术可以直接检测发生甲基化修饰的核苷酸,该方法为单分子测序且具有超长读长的优势,尽管目前其测序的精确度有待优化,但可以肯定的是该技术在核酸修饰检测方面的应用将具有巨大的潜力^[57]。

在确定RNA甲基化修饰现象和修饰位点后,鉴定RNA甲基化修饰的甲基转移酶(Writers)、去甲基转移酶(Erasers)及甲基化结合蛋白(Readers)的功能和特性,以及这些蛋白质在不同细胞类型的发育过程中是如何被调控的,将成为揭示RNA化学修饰调控基因表达和功能规律的关键(图1)。研究已经发现,肿瘤、肥胖、胚胎发育异常、糖尿病等多种疾病均与RNA的 m^6A 修饰有关,由于编码RNA甲基化修饰相关的催化酶(甲基转移酶、去甲基转移酶和甲基化结合蛋白)基因在遗传学水平上发生突变,导致蛋白表达异常,从而影响细胞内RNA甲基化修饰水平^[58-59]。例如,LIU等^[60]发现在子宫内膜肿瘤中编码mRNA m^6A 修饰的甲基转移酶基因METTL14上发生R298P突变可改变其催化活性,从而影响肿瘤细胞的增殖和致癌性。近期研究表明, m^6A 相关基因在癌症中常常表现为失调,但具有癌症特异性,其中METTL3被认为是无复发生

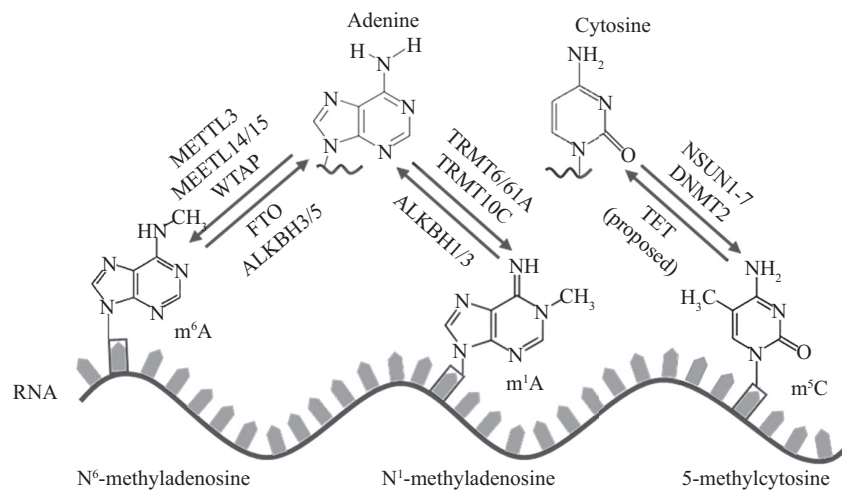


图1 RNA甲基化修饰的催化机制

Fig.1 Catalytic mechanism of RNA methylation

存率的独立预后因素, 因此, mRNA m⁶A修饰催化酶在未来也可能作为重要的肿瘤标志物被用于肿瘤预后诊断^[61]。YANG等^[62]开展了大规模的GWAS(genome-wide association studies)研究, 发现在食管癌患者中mRNA m⁶A修饰结合蛋白YTHDC2的单核苷酸多态性(rs2416282)与食管癌人群易感性存在显著相关性, 细胞实验中敲除YTHDC2基因会影响肿瘤相关基因表达从而促进食管癌细胞增殖, 因此, 作者提出m⁶A修饰结合蛋白YTHDC2可以作为未来食管癌等肿瘤的干预靶标。随着研究的不断深入和研究技术的不断开发, RNA修饰调控基因表达的生物学过程与机制以及在各领域的应用正在吸引更多的研究人员去探索其在不同模型和生物中的功能, 例如与特定疾病有关的RNA修饰可以作为疾病治疗的靶点^[63], 以及基于RNA修饰的分子机制进行药物的设计和开发等^[13]。近5年来, 生命科学领域正在掀起一股研究RNA表观遗传学修饰的热潮, 我们相信RNA表观遗传学研究将不仅有助于我们对生物调控新层面的理解, 而且还可能在人类疾病的精准诊断与精准治疗等转化医学应用方面产生深远的影响。

参考文献 (References)

- [1] ONTIVEROS J R, STOUTE J, LIU K F. The chemical diversity of RNA modifications [J]. *Biochem J*, 2019, 476(8): 1227-45.
- [2] LEWIS C J T, PAN T, KALSOTRA A. RNA modifications and structures cooperate to guide RNA-protein interactions [J]. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 2017, 18(3): 202-10.
- [3] COHN W E. Pseudouridine, a carbon-carbon linked ribonucleoside in ribonucleic acids: isolation, structure, and chemical characteristics [J]. *J Biol Chem*, 1960, 235: 1488-98.
- [4] DESROSIERS R, FRIDERICI K, ROTTMAN F. Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikoff hepatoma cells [J]. *P Natl Acad Sci USA*, 1974, 71(10): 3971-5.
- [5] FRYE M, HARADA B T, BEHM M, et al. RNA modifications modulate gene expression during development [J]. *Science*, 2018, 361(6409): 1346-9.
- [6] MEYER K D, SALETORRE Y, ZUMBO P, et al. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons [J]. *Cell*, 2012, 149(7): 1635-46.
- [7] ROUNDTREE L A, EVANS M E, PAN T, et al. Dynamic RNA modifications in gene expression regulation [J]. *Cell*, 2017, 169(7): 1187-200.
- [8] JACKMAN J E, ALFONZO J D. Transfer RNA modifications: nature's combinatorial chemistry playground [J]. *Wires RNA*, 2013, 4(1): 35-48.
- [9] JIA G, FU Y, ZHAO X, et al. N⁶-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(12): 885-7.
- [10] DOMINISSINI D, MOSHITCH-MOSHKOVITZ S, SCHWARTZ S, et al. Topology of the human and mouse m⁶A RNA methylomes revealed by m⁶A-seq [J]. *Nature*, 2012, 485(7397): 201-6.
- [11] WANG X, LU Z K, GOMEZ A, et al. N⁶-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability [J]. *Nature*, 2014, 505(7481): 117-20.
- [12] HAN D L, LIU C, CHEN C Y, et al. Anti-tumour immunity controlled through mRNA m⁶A methylation and YTHDF1 in dendritic cells [J]. *Nature*, 2019, 566(7743): 270-4.
- [13] HARUEHANROENGRAP P, ZHENG Y, ZHOU Y, et al. RNA modifications and cancer [J]. *RNA Biol*, 2020, doi: 10.1080/15476286.2020.1722449.
- [14] CSEpany T, LIN A, BALDICK C J, et al. Sequence specificity of mRNA N⁶-adenosine methyltransferase [J]. *J Biol Chem*, 1990, 265(33): 20117-22.
- [15] LUO G Z, QUEEN A M, ZHENG G Q, et al. Unique features of the m⁶A methylome in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5630.
- [16] WANG X, FENG J, XUE Y, et al. Structural basis of N(6)-adenosine methylation by the METTL3-METTL14 complex [J]. *Nature*, 2016, 534(7608): 575-8.
- [17] WANG P, DOXTADER K A, NAM Y. Structural basis for cooperative function of Mett13 and Mett14 methyltransferases [J]. *Mol Cell*, 2016, 63(2): 306-17.
- [18] PING X L, SUN B F, WANG L, et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N⁶-methyladenosine methyltransferase [J]. *Cell Res*, 2014, 24(2): 177-89.
- [19] SCHWARTZ S, MUMBACH M R, JOVANOVIĆ M, et al. Perturbation of m⁶A writers reveals two distinct classes of mRNA methylation at internal and 5' sites [J]. *Cell Rep*, 2014, 8(1): 284-96.
- [20] PATIL D P, CHEN C K, PICKERING B F, et al. m(6)A RNA methylation promotes XIST-mediated transcriptional repression [J]. *Nature*, 2016, 537(7620): 369-73.
- [21] KNUCKLES P, LENCE T, HAUSSMANN I U, et al. Zc3h13/Flacc is required for adenosine methylation by bridging the mRNA-binding factor Rbm15/Spenito to the m⁶A machinery component Wtap/FI(2)d [J]. *Gene Dev*, 2018, 32(5/6): 415-29.
- [22] PENDLETON K E, CHEN B, LIU K, et al. The U6 snRNA m(6)A methyltransferase METTL16 regulates SAM synthetase intron retention [J]. *Cell*, 2017, 169(5): 824-35.
- [23] ZHENG G Q, DAHL J A, NIU Y M, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility [J]. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 18-29.
- [24] XU C, WANG X, LIU K, et al. Structural basis for selective binding of m⁶A RNA by the YTHDC1 YTH domain [J]. *Nat Chem Biol*, 2014, 10(11): 927-9.
- [25] WANG X, ZHAO B S, ROUNDTREE L A, et al. N(6)-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency [J]. *Cell*, 2015, 161(6): 1388-99.
- [26] SHI H L, WANG X, LU Z K, et al. YTHDF3 facilitates translation and decay of N-methyladenosine-modified RNA [J]. *Cell Res*, 2017, 27(3): 315-28.
- [27] PHILLIP J H, ZHU Y F, MA H H, et al. Ythdc2 is an N(6)-methyladenosine binding protein that regulates mammalian spermatogenesis [J]. *Cell Res*, 2017, 27(9): 1115-27.
- [28] CLARK W C, EVANS M E, DOMINISSINI D, et al. tRNA base methylation identification and quantification via high-throughput sequencing [J]. *RNA*, 2016, 22(11): 1771-84.

- [29] SAFRA M, SAS-CHEN A, NIR R, et al. The m¹A landscape on cytosolic and mitochondrial mRNA at single-base resolution [J]. *Nature*, 2017, 551(7679): 251-5.
- [30] XIONG X S, LI X Y, YI C Q. N¹-methyladenosine methylome in messenger RNA and non-coding RNA [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2018, 45: 179-86.
- [31] RAJBHANDARY U L, STUART A, FAULKNER R D, et al. Nucleotide sequence studies on yeast phenylalanine sRNA [J]. *Cold Spring Harb Sym*, 1966, 31: 425-34.
- [32] LIU F G, CLARK W, LUO G Z, et al. ALKBH1-mediated tRNA demethylation regulates translation [J]. *Cell*, 2016, 167(3): 816-28.
- [33] ZHANG C, JIA G F. Reversible RNA Modification N(1)-methyladenosine (m¹A) in mRNA and tRNA [J]. *Genom Proteom Bioinf*, 2018, 16(3): 155-61.
- [34] DOMINISSINI D, NACHTERGAELE S, MOSHITCH-MOSHKOVITZ S, et al. The dynamic N(1)-methyladenosine methylome in eukaryotic messenger RNA [J]. *Nature*, 2016, 530(7591): 441-6.
- [35] LI X Y, XIONG X S, ZHANG M L, et al. Base-resolution mapping reveals distinct m¹A methylome in nuclear- and mitochondrial-encoded transcripts [J]. *Mol Cell*, 2017, 68(5): 993-1005.
- [36] UEDA Y, OOSHIO I, FUSAMAE Y, et al. AlkB homolog 3-mediated tRNA demethylation promotes protein synthesis in cancer cells [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 42271.
- [37] DAI X X, WANG T L, GONZALEZ G, et al. Identification of YTH domain-containing proteins as the readers for N¹-Methyladenosine in RNA [J]. *Anal Chem*, 2018, 90(11): 6380-84.
- [38] SEO K W, KLEINER R E. YTHDF2 Recognition of N¹-methyladenosine (m¹A)-modified RNA is associated with transcript destabilization [J]. *ACS Chem Biol*, 2020, 15(1): 132-39.
- [39] KANAZAWA H, BABA F, KOGANEI M, et al. A structural basis for the antibiotic resistance conferred by an N¹-methylation of A1408 in 16S rRNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(21): 12529-35.
- [40] YANG X, YANG Y, SUN B F, et al. 5-methylcytosine promotes mRNA export-NSUN2 as the methyltransferase and ALYREF as an m(5)C reader [J]. *Cell Res*, 2017, 27(5): 606-25.
- [41] HUANG W, LAN M D, QI C B, et al. Formation and determination of the oxidation products of 5-methylcytosine in RNA [J]. *Chem Sci*, 2016, 7(8): 5495-502.
- [42] DAVID R, BURGESS A, PARKER B, et al. Transcriptome-wide mapping of RNA 5-methylcytosine in Arabidopsis mRNAs and noncoding RNAs [J]. *Plant Cell*, 2017, 29(3): 445-60.
- [43] SQUIRES J E, PATEL H R, NOUSCH M, et al. Widespread occurrence of 5-methylcytosine in human coding and non-coding RNA [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(11): 5023-33.
- [44] AMORT T, RIEDER D, WILLE A, et al. Distinct 5-methylcytosine profiles in poly(A) RNA from mouse embryonic stem cells and brain [J]. *Genome Biol*, 2017, 18(1): 1-16.
- [45] CHOW C S, LAMICHHANE T N, MAHTO S K. Expanding the nucleotide repertoire of the ribosome with post-transcriptional modifications [J]. *ACS Chem Biol*, 2007, 2(9): 610-9.
- [46] BUJNICKI J M, FEDER M, AYRES C L, et al. Sequence-structure-function studies of tRNA:m⁵C methyltransferase Trm4p and its relationship to DNA:m⁵C and RNA:m⁵U methyltransferases [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32(8): 2453-63.
- [47] GOLL M G, KIRPEKAR F, MAGGERT K A, et al. Methylation of tRNA^{Asp} by the DNA methyltransferase homolog Dnmt2 [J]. *Science*, 2006, 311(5759): 395-8.
- [48] ZOU F, TU R, DUAN B, et al. Drosophila YBX1 homolog YPS promotes ovarian germ line stem cell development by preferentially recognizing 5-methylcytosine RNAs [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(7): 3603-9.
- [49] YANG Y, WANG L, HAN X, et al. RNA 5-methylcytosine facilitates the Maternal-to-Zygotic transition by preventing maternal mRNA decay [J]. *Mol Cell*, 2019, 75(6): 1188-202.
- [50] CHARETTE M, GRAY M W. Pseudouridine in RNA: what, where, how, and why [J]. *IUBMB Life*, 2000, 49(5): 341-51.
- [51] DAVIS D R, VELTRI C A, NIELSEN L. An RNA model system for investigation of pseudouridine stabilization of the codon-anticodon interaction in tRNA^{Lys}, tRNA^{His} and tRNA^{Tyr} [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 1998, 15(6): 1121-32.
- [52] LIANG X H, LIU Q, FOURNIER M J. Loss of rRNA modifications in the decoding center of the ribosome impairs translation and strongly delays pre-rRNA processing [J]. *RNA*, 2009, 15(9): 1716-28.
- [53] SLOAN K E, WARDA A S, SHARMA S, et al. Tuning the ribosome: the influence of rRNA modification on eukaryotic ribosome biogenesis and function [J]. *RNA Biol*, 2017, 14(9): 1138-52.
- [54] CHEN L Q, ZHAO W S, LUO G Z. Mapping and editing of nucleic acid modifications [J]. *Comput Struct Biotech*, 2020, 18: 661-7.
- [55] SHU X, CAO J, CHENG M, et al. A metabolic labeling method detects m⁶A transcriptome-wide at single base resolution [J]. *Nat Chem Biol*, 2020, 16(8): 887-95.
- [56] WANG Y, XIAO Y, DONG S, et al. Antibody-free enzyme-assisted chemical approach for detection of N⁶-methyladenosine [J]. *Nat Chem Biol*, 2020, 16(8): 896-903.
- [57] ARDUI S, AMEUR A, VERMEESCH J R, et al. Single molecule real-time (SMRT) sequencing comes of age: applications and utilities for medical diagnostics [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(5): 2159-68.
- [58] WEI W, JI X, GUO X, et al. Regulatory role of N⁶-methyladenosine (m⁶A) methylation in RNA processing and human diseases [J]. *J Cell Biochem*, 2017, 118(9): 2534-43.
- [59] ZHANG S. Mechanism of N⁶-methyladenosine modification and its emerging role in cancer [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 189: 173-83.
- [60] LIU J, ECKERT M A, HARADA B T, et al. m(6)A mRNA methylation regulates AKT activity to promote the proliferation and tumorigenicity of endometrial cancer [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(9): 1074-83.
- [61] LIU G M, ZENG H D, ZHANG C Y, et al. Identification of METTL3 as an adverse prognostic biomarker in hepatocellular carcinoma [J]. *Dig Dis Sci*, 2020, doi: 10.1007/s10620-020-06260-z.
- [62] YANG N, YING P, TIAN J, et al. Genetic variants in m⁶A modification genes are associated with esophageal squamous-cell carcinoma in the Chinese population [J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(6): 761-8.
- [63] BARBIERI I, KOUZARIDES T. Role of RNA modifications in cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(6): 303-22.