

lncRNA在多能干细胞中的研究进展

刘芳 相金柱 李雪玲*

(内蒙古大学, 省部共建草原家畜生殖调控与繁育国家重点实验室, 呼和浩特 010071)

摘要 多能干细胞(pluripotent stem cells, PSCs)可以无限增殖、自我更新并进行分化, 最常见的胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs), 受到广泛关注。研究表明, PSCs多能性的维持受到多种因子, 如转录因子及非编码RNA等的共同调控, 长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)作为一种新兴的调控分子已成为新研究热点。lncRNA是一类长度超过200 nt的RNA分子, 存在于细胞核或细胞质内, 不能编码蛋白质, 以RNA的形式在胚胎发育和多能干细胞维持和分化等多种生物学过程中发挥调控作用。该综述结合国内外最新报道, 主要针对lncRNA在多能干细胞尤其是多能干细胞干性维持和分化方面的作用进行阐述。

关键词 长链非编码RNA; 多能干细胞; 自我更新; 细胞分化

Research Progress of lncRNA in Pluripotent Stem Cells

Liu Fang, Xiang Jinzhu, Li Xueling*

(State Key Laboratory for Reproductive Regulation and Breeding of Grassland Livestock, Inner Mongolia University, Hohhot 010070, China)

Abstract Pluripotent stem cells (PSCs) can proliferation, self-renew and differentiate without restriction, most commonly refer to embryonic stem cells (ESCs) and induced pluripotent stem cells (iPSCs), which have received extensive attention in modern biology. Studies have shown that the maintenance of pluripotency of PSCs is regulated by a variety of factors, such as the common regulation of transcription factors and non-coding RNA. Long non-coding RNA (lncRNA) as a new regulatory molecule has become a new research hotspot. lncRNA is a type of RNA molecule with more than 200 nt of transcripts, which exists in the nucleus or cytoplasm but cannot encode proteins. play important regulatory roles in many biological processes of PSCs particularly during the process of cell self-renewal and differentiation. This review will focus on the research progress of in the maintenance and differentiation of PSCs based on the latest reports.

Keywords long non-coding RNA; PSCs; self-renewal; cell differentiation

多能干细胞(pluripotent stem cells, PSCs)可以无限自我更新并分化为多种细胞类型, 两种最常见的PSCs分别为来源于早期囊胚内细胞团(inner cell mass, ICM)的胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和

通过体细胞重编程获得的诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)。PSCs的性质决定其具有广泛的应用前景, 不仅为探讨胚胎发生、组织细胞分化等发育生物学问题建立理想的研究模型, 还可作

收稿日期: 2018-11-14 接受日期: 2019-03-11

国家自然科学基金(批准号: 81471001)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0471-3679807, E-mail: lixueling@hotmail.com

Received: November 14, 2018 Accepted: March 11, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81471001)

*Corresponding author. Tel: +86-471-3679807, E-mail: lixueling@hotmail.com

网络出版时间: 2019-09-12 15:11:20

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190912.1511.046.html>

为细胞治疗的良好资源。因此,明确其多能性调控的分子机制具有十分重要的意义。越来越多的证据显示,长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)在PSCs多能性调控以及分化中发挥着重要的调控作用。lncRNA是一类转录本超过200 nt的RNA分子,存在于细胞核或细胞质内,不能编码蛋白质,以RNA的形式多层次调控基因的表达^[1]。近年来,随着基因组测序等相关技术的发展,越来越多的lncRNA被发现,lncRNA的功能多样,不仅可以调控PSCs的分化和多能性维持,在胚胎发育等其它生物学过程中也起着重要的调控作用,本文主要针对lncRNA在PSCs多能性维持及分化中发挥的作用进行论述。

1 lncRNA

1.1 lncRNA的发现

2002年,日本科学家Okazaki等^[2]在小鼠全长cDNA文库大规模测序过程中,发现了一类新的转录物,后经鉴定该类新的转录物即为lncRNA,这是对lncRNA的首次描述。

近年来,基因组大规模的深度测序和转录组分析已经鉴定了数以万计的lncRNA^[3]。越来越多的证据表明,lncRNA在生物过程中起着广泛的作用,并且可以通过多种机制以顺式或反式方式对基因的表达进行调节^[4-5]。在哺乳动物中,75%的基因组是可转录的,其中绝大多数转录本是非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA),只有少数编码蛋白质^[6]。转录组学研究表明,lncRNA是构成哺乳动物转录组的重要部分^[7-8]。在人转录组分析中,蛋白质编码序列仅占基因组转录本的一小部分^[9]。大多数人类基因组转录物是非编码RNA,特别是lncRNA^[10]。通常,lncRNA在物种间不太保守,表现出低表达水平和高组织特异性^[11]。因此,当它们初次被发现的时候,lncRNA通常被认为是转录噪声^[12]。随着基因组测序等技术的发展,越来越多的研究表明,一些lncRNA不是转录噪声,具有重要功能,例如调控胚胎发育、干细胞自我更新和分化^[13-15]等。功能研究表明,lncRNA通过调节关键多能性因子参与PSCs的自我更新^[16]、介导染色质修饰^[17]等。

最近,FANTOM联盟绘制了完整的人lncRNA图谱^[18],利用基因表达加帽分析(cap analysis of gene expression, CAGE)技术构建出具有准确5'端的人lncRNA图谱,从而准确地标明它们在基因组中何处

起始转录。图谱含有27 919种人lncRNA,是首次在人细胞和组织中总结出的表达谱。将这一图谱与基因组数据和遗传数据结合分析显示,人类基因组中存在19 175种潜在的功能性lncRNA。Lim和Weissman等^[19]开发出一种CRISPR干扰(CRISPR interference, CRISPRi)技术,靶向7种不同细胞系(6种转化的细胞系,包括慢性髓性白血病细胞系K562、宫颈癌细胞系HeLa、胶质母细胞瘤细胞系U87、人胚肾细胞系HEK293T和2种乳腺癌细胞系MCF7和MDA-MB-231以及1种人iPSCs)中的16 401个lncRNA位点,通过利用经过修饰的CRISPR技术抑制每个候选lncRNA的表达从而对上千个位点进行筛选,鉴定出499个lncRNA位点是细胞生长所必需的,其中89%的位点似乎仅在一种细胞类型中发挥功能。这项新的研究揭示,lncRNA在每个细胞中发挥着独特的作用,并且在理解这些分子如何发挥作用方面取得重大进展。虽然,lncRNA作为多能干细胞命运决定的一类新的调节因子出现,但特定lncRNA的功能有待进一步研究。

1.2 lncRNA的分类及作用机制

根据lncRNA在基因组中的位置,lncRNA可以分为7类:(1)发散型(divergent),于邻近的基因反义链转录并与其呈现发散趋势;(2)收敛型(convergent),于邻近基因反义链转录并与其呈现聚拢趋势;(3)基因间(intergenic),于2个基因间的区域转录而来;(4)基因重叠型(overlapping),序列与蛋白编码基因(有义链或无义链)有部分重叠;(5)增强子(enhancer),由增强子单向或双向转录而来;(6)内含子(intronic),完全来源于另一个基因的内含子;(7)miRNA前体,其序列包含一个miRNA^[20]。

随着lncRNA被不断发现,其作用机制及功能研究也不断完善。根据目前已报道的lncRNA,可以总结为以下4点。(1)支架分子:lncRNA可以作为衔接子,通过将多种成分(如蛋白质、RNA或DNA)聚集在一起形成核糖核蛋白复合物,例如HOTAIR(Hox antisense intergenic RNA, Hox反义基因间RNA)、LncKdm2b(gene symbol A930024E05Rik)、Lncenc1(一种在Naïve胚胎干细胞中高度丰富的长非编码RNA)(图1A);(2)向导分子:这类lncRNA作为向导分子,通过标准碱基对,可以使特定的核糖核酸蛋白复合物定位到染色体的特定部位,发挥分子向导的作用,例如lncR 492、tsRMST(trans-spliced noncoding RNA RMST)(图1B);(3)分子诱饵:某些lncRNA可充当分

子诱饵的作用, lncRNA可以与蛋白质复合物RNA或miRNA分子结合离开特定区域并阻止它们与其天然靶标, 例如生长抑制特异性转录物5(Gas5)、PANDA(*P21*相关的lncRNA DNA损伤激活)(图1C); (4) 调控miRNA: lncRNA能够通过调节miRNA表达影响其靶基因的表达(图1D)^[21]。

2 PSCs

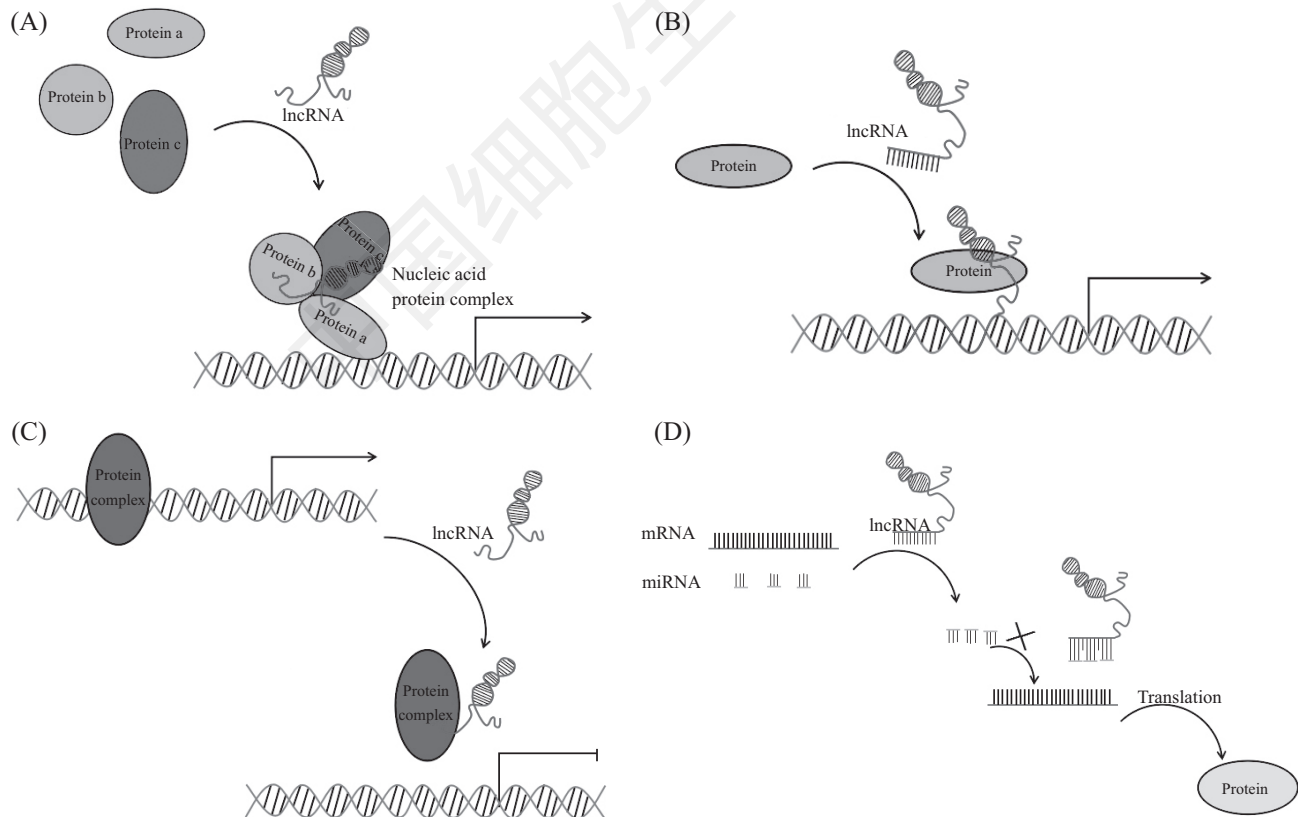
ESCs是来源于早期囊胚内细胞团的一类具有多向分化潜能和自我更新能力的高度未分化细胞系, 在体外特定诱导条件下, 可定向分化为内胚层、中胚层和外胚层来源的多种类型细胞^[22-23]。ESCs具有两大基本特征: 分化多能性和无限自我更新能力。ESCs自我更新和多能性的维持是一个复杂的过程, 受多种信号通路(TGF β 信号通路、Wnt信号通路、FGF信号通路等)、核心调控基因(*Oct4*、*Sox2*、*Nanog*等)以及ncRNA(microRNA、lncRNA等)等的调控^[24-25]。目前, 随着科学工作者们的深入探索、生物学技术的发展、基因编辑技术的不断革新, 为

胚胎干细胞的研究提供了新的方向和平台。因此, ESCs在发育生物学、细胞生物学和遗传学等领域有着巨大的研究前景。

iPSCs是指将体细胞进行重编程, 转化为具有ESCs特性和功能的PSCs。iPSCs最初是由日本科学家利用病毒载体将4个转录因子*Oct4*、*Sox2*、*Klf4*、*c-Myc*转入分化的体细胞中使其重编程, 得到与ESCs类似的细胞, 证明干细胞分化为体细胞是可逆的过程^[26]。iPSCs的出现, 在干细胞、表观遗传学及再生医学等研究领域引起了高度的关注, 这不仅因为它在基础研究方面的重要性, 而且它能够避免移植对宿主引起的免疫性疾病, 具有广阔的临床应用前景。

3 lncRNA对PSCs的调控作用

lncRNA的转录和加工似乎与蛋白质编码基因的转录和加工相似——包括Pol II转录、5'-加帽和聚腺苷酸化, 但它们缺乏编码蛋白质潜力。随着基因组测序等相关技术的发展, lncRNA在调节多能性



A: 支架分子; B: 向导分子; C: 分子诱饵; D: 调控miRNA。

A: scaffold molecule; B: guide molecule; V: molecular decoy; D: regulatory miRNA.

图1 lncRNA的作用机制

Fig.1 Mechanisms of lncRNA function

和早期谱系分化中的重要性逐渐被认知。

3.1 lncRNA在PSCs自我更新中的作用

lncRNA涉及多种生物学过程,包括ESC的干性维持,但是它们的功能机制在很大程度上仍未明确。Sheik等^[25]首次提出,lncRNA参与小鼠ESC多能性的调节,并拓宽已建立的小鼠ESC调控网络模型,包括小鼠ESC关键转录因子直接控制的lncRNA。研究发现,许多lncRNA参与小鼠和人ESC的命运决定^[27-30]。Chakraborty等^[27]报道了*Panct1*的功能特征,*Panct1*是一种在小鼠ESC中表达的核lncRNA,*Panct1*与X染色体编码的蛋白质A830080D01Rik(简称为瞬时八聚体结合因子1,TOBF1)相互作用,以影响小鼠ESC命运。

lncRNA是ESC中最近被关注的调控因子,基于它们的特异性表达模式,已经在ESC中鉴定出了多种与多能性相关的lncRNA^[25]。*Gas5*属于5'末端寡嘧啶类,是非蛋白质编码多核仁小分子RNA(small nucleolar RNA, snoRNA)宿主基因,是lncRNA中的一员^[28]。研究表明,在人ESC中*Gas5*的转录受多能性调控因子*Oct4*和*Sox2*的控制,*Gas5*可通过与NODAL的靶向miRNA竞争来促进NODAL信号传导,且miRNA的表达与*Gas5*介导的NODAL信号传导之间存在反向关系。*Gas5*敲低显著损害人ESC自我更新,并且*Cas5*的过表达可显著促进人ESC自我更新,表明*Gas5*可通过NODAL信号通路调节人ESC的自我更新相关^[29]。然而,*Gas5*在其他多能干细胞,如小鼠ESC和iPSC中的作用仍然未知。直到2018年,Tu等^[30]才通过敲低*Gas5*在体外研究了小鼠ESC自我更新、分化和增殖,结果显示,*Gas5*是小鼠ESC和iPSC的自我更新和多能性所必需的。*Gas5*与小鼠ESC中的一组关键多能调节因子(*Sox2*、*Oct4*、*Nanog*、*Tcl1*、*Esrrb*和*Tet1*)形成正反馈调节网络;*Gas5*通过介导miRNA竞争机制起作用;此外,*Gas5*受Dicer-miR291a-cMyc调控,参与小鼠ESC的DNA去甲基化过程^[30]。综上,*Gas5*在调节PSC的自我更新和多能性方面发挥重要作用。

Cyrano(linc-oip5, 1700020I14Rik)是小鼠ESC中转录的lncRNA,Cyrano最初在斑马鱼中被发现,主要调控斑马鱼大脑、眼睛和鼻腔的发育;随后,通过高级直系同源性实验的证实,Cyrano可能在小鼠中具有类似的作用^[31]。随后,Smith等^[32]通过转录组分析,揭示了Cyrano对促进ESC自我更新维持的信号传导途径和基因表达具有广泛的影响;Cyrano的

缺失会通过阻碍*Nanog*的表达来影响ESC自我更新信号传导和基因表达调控网络。因此,Cyrano对于ESC自我更新的维持至关重要。

Lncenc1是一种在Naïve ESCs(naïve embryonic stem cells, nESC)中高度丰富的lncRNA^[33]。在小鼠nESC中敲低或敲除*Lncenc1*会下调核心多能性基因的表达且不利于集落的形成。此外,当*Lncenc1*下调后,糖酵解活性严重受损,其相关基因的表达会显著降低,表明*Lncenc1*可通过调节糖酵解过程来维持nESC的自我更新。

端粒RNA(TERRA或TelRNA)是一种lncRNA,在小鼠ESC中高度表达,当小鼠ESC分化时其表达量会显著下降;TERRA可以调节TCF3的表达,TCF3是干细胞形成的主要抑制因子,在小鼠ESC中由TCF3抑制的多能性基因*Esrrb*、*Tfcp2l1*和*Klf2*的表达水平在TERRA过表达细胞中增加^[34]。这表明,TERRA在维持小鼠ESC多能性方面具有调节作用。

超保守元件(UCE)在人类、小鼠和大鼠基因组中保留序列同一性的独特特征。它们中的大多数被转录并代表新的lncRNA家族。尽管转录的UCE(TUCE)参与人类癌症,但其生理作用仍然未知。2018年,Fiorenzano等^[35]将含有转录超保守元件uc.170+的lncRNA命名为T-UCstem1,T-UCstem1在细胞质和细胞核中发挥作用的机制是不同的,在细胞质中T-UCstem1主要通过降低miR-9的表达水平来调节ESC的增殖,但在细胞核中,T-UCstem1则通过稳定二价结构域上的PRC2来维持ESC自我更新。该研究首次证明了T-UCstem1在维持ESC多能性中的重要作用。

lncKdm2b是一种针对*Kdm2b*基因的lncRNA,较为保守地存在于多种哺乳动物中,在ESC和早期胚胎中均有较高的表达。有报道称,lncKdm2b敲除会损害ESC自我更新并导致早期胚胎致死^[36],表明lncKdm2b对于ESC自我更新的维持及早期胚胎的正常发育是必需的。作用机制研究表明,lncKdm2b可以通过促进Snf2相关的CREBBP激活蛋白复合物(SRCAP)的装配和ATP酶活性来激活*Zbtb3*,而*Zbtb3*的激活可促进*Nanog*的表达,从而起到维持ESC自我更新以及早期胚胎正常发育的作用^[37]。

3.2 lncRNA在PSCs分化中的作用

研究人员也注意到,当ESC开始分化为其他细胞类型时,mRNA/lncRNA基因以相同的方式受到调

表 1 PSCs相关lncRNA的功能
Table 1 Functions of PSCs related lncRNA

lncRNA名称 lncRNA names	物种 Species	功能 Function	参考文献 References
Panct1	Mouse, human	Maintain mouse embryonic stem cell	[27]
Gas5	Mouse, human	Regulates ESC and iPSC self-renewal	[29-30]
Cyrano	Mouse	Regulates ESC self-renewal	[32]
Lncenc1	Mouse	Maintains naïve embryonic states of mouse ESCs by promoting the glycolysis pathway	[33]
TERRA/TelRNA	Mouse	Promotes mESC self-renewal	[34]
T-UCstem1	Human	Maintains ESC self-renewal	[35]
LncKdm2b	Mouse	Regulates ESC self-renewal	[36-37]
HBL1	Human	Blocking the differentiation of hiPSCs into cardiomyocytes	[39]
lncR492	Mouse	Inhibits neural differentiation of mESCs	[40]
tsRMST	Human	Impedes hESCs differentiation	[41]
DEANR1	Human	Facilitates human endoderm differentiation by activating FOXA2 expression	[42]
DIGIT	Human	Controls endoderm and ESCs differentiation	[43]
AK048794	Mouse	Maintains mESC pluripotency	[44]
lncPRESS1	Human	Maintains mESC pluripotency	[45]

节, 即成对的mRNA和lncRNA一起上调或下调, 这进一步证实mRNA转录和lncRNA转录之间的关系, 这一发现可能重新定义我们对基因组成和调节的理解^[38]。lncRNA不仅可以调节PSCs的自我更新, 在PSCs分化过程中也发挥着十分重要的作用。据报道, 敲低Gas5可促进小鼠ESC向内胚层分化^[30]。

Liu等^[39]发现了HBL1(heart brake lncRNA 1), 该lncRNA为人类特异性lncRNA, 在hiPSCs中发挥着十分重要的作用: MIR1是hiPSCs向心肌细胞分化的重要调节因子, MIR1可通过序列特异性的方式与HBL1结合, HBL1作为MIR1的阻遏物会抑制MIR1功能的发挥从而阻碍hiPSCs向心肌细胞的分化。HBL1除了作为MIR1的阻遏物发挥作用以外, 还可以被多能性调节因子Sox2所调控, Sox2可与HBL1启动子结合从而激活HBL1的转录, 在hiPSCs中敲除Sox2则会导致HBL1表达的降低, 并能提高hiPSCs向心肌细胞分化的效率。综上所述, HBL1通过与Sox2和MIR1形成调节网络, 在hiPSCs向心肌细胞分化的过程中发挥其调节作用。

Winzi等^[40]研究证实, lncR 492可以阻碍小鼠ESC向神经外胚层分化, lncR 492可与mRNA的结合蛋白HuR相互作用, 通过激活Wnt信号发挥其调节功能。lncR 492以及HuR的敲低均可阻碍Wnt信号的传

导, 相反, lncR 492和HuR的过表达则可促进Wnt信号的传导, 表明, lncR 492与HuR通过Wnt信号通路来调节小鼠ESC向外胚层的分化。

Yu等^[41]证实, tsRMST是一种反式剪接的lncRNA, 在人ESC中高度表达并且对人ESC多能性的维持和早期谱系分化起重要作用, tsRMST可通过调节非经典Wnt信号通路, 来阻碍上皮-间质转化(EMT)和ESC的体外分化。这表明, 反式剪接的lncRNA可能是调节基因、信号通路的重要因子, 同时可能成为多能干细胞技术发展的潜在目标。与PSCs自我更新和分化相关的lncRNA如表1所示。

4 小结与展望

lncRNA是具有多种功能的转录本, 在生物发育过程中起重要的调控作用。lncRNA在转录水平、转录后水平及表观遗传水平调控基因表达, 从而影响剂量补偿、基因印迹、细胞周期、端粒生物学、亚细胞结构组成、发育、配子形成及染色体结构动态变化等生物学过程。lncRNA与ESC的分化和自我更新有关, 对某些lncRNA基因敲除会引起特有基因表达的变化^[46]。lncRNA主要是通过靶向多能性相关转录因子或者与染色质蛋白复合体和miRNAs的结合来调控ESC的自我更新和分化。

随着基因测序技术的飞速发展,越来越多的生物全基因组已经被测序或正在测序中,被发现的lncRNA的数目也迅速增加,lncRNA虽然不编码蛋白质,但在PSCs增殖、分化以及自我更新的维持中发挥着重要的调控作用,lncRNA将逐步成为生物学领域的研究热点之一。但是目前存在的一些问题,如lncRNA种类及数量不断提升,关于lncRNA的调节机制及功能尚未完全清楚,部分存在争议,而且大动物的研究较少。关于lncRNA在早期胚胎发育过程如何合理的进行实验研究,具体的机制及功能,以及lncRNA如何应用于临床,及适用临床的哪方面都需要进一步研究。总之,lncRNA相关科研的发展空间巨大,它将会为人们进一步了解PSCs的自我更新和分化机制、探索和发现新的调控网络、阐明表观遗传调控机制、扩大干细胞应用范围以及完善干细胞临床治疗水平和疾病治疗奠定基础。

参考文献 (References)

- Caley DP, Pink RC, Trujillano D, Carter DR. Long noncoding RNAs, chromatin and development. *Scientific World Journal* 2010; 10(1): 90-102.
- Okazaki Y, Furuno M, Kasukawa T, Adachi J, Bono H, Kondo S, *et al.* Analysis of the mouse transcriptome based on functional annotation of 60,770 full-length cDNAs. *Nature* 2002; 420(6915): 563-73.
- Derrien T, Johnson R, Bussotti G, Tanzer A, Djebali S, Tilgner H, *et al.* The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression. *Genome Res* 2012; 22(9): 1775-89.
- Kretz M, Siprashvili Z, Chu C, Webster DE, Zehnder A, Qu K, *et al.* Control of somatic tissue differentiation by the long noncoding RNA TINCR. *Nature* 2013; 493(7431): 231-5.
- Wang Y, He L, Du Y, Zhu P, Huang G, Luo J, *et al.* The long noncoding RNA lncTCF7 promotes self-renewal of human liver cancer stem cells through activation of Wnt signaling. *Cell Stem Cell* 2015; 16(4): 413-25.
- Djebali S, Davis CA, Merkel A, Dobin A, Lassmann T, Mortazavi AM, *et al.* Landscape of transcription in human cells. *Nature* 2012; 489(7414): 101-8.
- Carninci P, Kasukawa T, Katayama S, Gough J, Frith MC, Maeda N, *et al.* The transcriptional landscape of the mammalian genome. *Science* 2005; 309(5740): 1559-63.
- Amaral PP, Dinger ME, Mercer TR, Mattick JS. The eukaryotic genome as an RNA machine. *Science* 2008; 319(5871): 1787-9.
- Bertone P, Stolc V, Royce TE, Rozowsky JS, Urban AE, Zhu X, *et al.* Global identification of human transcribed sequences with genome tiling arrays. *Science* 2004; 306(5705): 2242-6.
- Kapranov P, Cheng J, Dike S, Nix DA, Duttagupta R, Willingham AT, *et al.* RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription. *Science* 2007; 316(5830): 1484-8.
- Pauli A, Valen E, Lin MF, Garber M, Vastenhouw NL, Levin JZ, *et al.* Systematic identification of long noncoding RNAs expressed during zebrafish embryogenesis. *Genome Res* 2012; 22(3): 577-91.
- Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell* 2009; 136(4): 629-41.
- Flynn RA, Chang HY. Long noncoding RNAs in cell-fate programming and reprogramming. *Cell Stem Cell* 2014; 14(6): 752-61.
- Luo S, Lu JY, Liu L, Yin Y, Chen C, Han X, *et al.* Divergent lncRNAs regulate gene expression and lineage differentiation in pluripotent cells. *Cell Stem Cell* 2016; 18(5): 637-52.
- Rosa A, Ballarino M. Long noncoding RNA regulation of pluripotency. *Stem Cells Int* 2016; 2016: 1797692.
- Perry RB, Ulitsky I. The functions of long noncoding RNAs in development and stem cells. *Development* 2016; 143(21): 3882-94.
- da Rocha ST, Boeva V, Escamilla DA, Ancelin K, Granier C, Matias NR, *et al.* Jarid2 is implicated in the initial xist-induced targeting of PRC2 to the inactive x chromosome. *Mol Cell* 2014; 53(2): 301-16.
- Hon CC, Ramilowski JA, Harshbarger J, Bertin N, Rackham OJ, Gough J, *et al.* An atlas of human long non-coding RNAs with accurate 5' ends. *Nature* 2017; 543(7644): 199-204.
- Liu SJ, Horlbeck MA, Cho SW, Birk HS, Malatesta M, He D, *et al.* CRISPRi-based genome-scale identification of functional long noncoding RNA loci in human cells. *Science* 2017; 355(6320): aah7111.
- Schmitz SU, Grote P, Herrmann BG. Mechanisms of long noncoding RNA function in development and disease. *Cell Mol Life Sci* 2016; 73(13): 2491-509.
- Wang KC, Chang HY. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs. *Mol Cell* 2011; 43(6): 904-14.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, *et al.* Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282(5391): 1145-7.
- Shamblott MJ, Axelman J, Wang S, Bugg EM, Littlefield JW, Donovan PJ, *et al.* Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(23): 13726-31.
- Chen CY, Cheng YY, Yen CY, Hsieh PC. Mechanisms of pluripotency maintenance in mouse embryonic stem cells. *Cell Mol Life Sci* 2017; 74(10): 1805-17.
- Sheik MJ, Gaughwin PM, Lim B, Robson P, Lipovich L. Conserved long noncoding RNAs transcriptionally regulated by Oct4 and Nanog modulate pluripotency in mouse embryonic stem cells. *RNA* 2010; 16(2): 324-37.
- Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126(4): 663-76.
- Chakraborty D, Paszkowski-Rogacz M, Berger N, Ding L, Mircetic J, Fu J, *et al.* lncRNA *Panct1* maintains mouse embryonic stem cell identity by regulating TOBF1 recruitment to Oct-Sox sequences in early G1. *Cell Rep* 2017; 21(11): 3012-21.
- Smith CM, Steitz JA. Classification of gas5 as a multi-small-

- nucleolar-RNA (snoRNA) host gene and a member of the 5'-terminal oligopyrimidine gene family reveals common features of snoRNA host genes. *Mol Cell Biol* 1998; 18(12): 6897-909.
- 29 Xu C, Zhang Y, Wang Q, Xu Z, Jiang J, Gao Y, *et al.* Long non-coding RNA GAS5 controls human embryonic stem cell self-renewal by maintaining NODAL signalling. *Nat Commun* 2016; 7: 13287.
- 30 Tu JJ, Tian G, Cheung HH, Wei W, Lee TL. Gas5 is an essential lncRNA regulator for self-renewal and pluripotency of mouse embryonic stem cells and induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Res Ther* 2018; 9(1): 71.
- 31 Ulitsky I, Shkumatava A, Jan CH, Sive H, Bartel DP. Conserved function of lincRNAs in vertebrate embryonic development despite rapid sequence evolution. *Cell* 2011; 147(7): 1537-50.
- 32 Smith KN, Starmer J, Miller SC, Sethupathy P, Magnuson T. Long noncoding RNA moderates MicroRNA activity to maintain self-renewal in embryonic stem cells. *Stem Cell Reports* 2017; 9(1): 108-21.
- 33 Sun ZH, Zhu MZ, Lv P, Cheng L, Wang QF, Tian PX, *et al.* The long noncoding RNA *Lncenc1* maintains naive states of mouse ESCs by promoting the glycolysis pathway. *Stem Cell Reports* 2018; 11(3): 741-55.
- 34 Xu XJ, Guo MM, Zhang N, Ye SD. Telomeric noncoding RNA promotes mouse embryonic stem cell self-renewal through inhibition of TCF3 activity. *Am J Physiol Cell Physiol* 2018; 314 (6): C712-20.
- 35 Fiorenzano A, Pascale E, Gagliardi M, Terreri S, Papa M, Andolfi G, *et al.* An ultraconserved element containing lncRNA preserves transcriptional dynamics and maintains ESC self-renewal. *Stem Cell Reports* 2018; 10(3): 1102-14.
- 36 Liu BY, Ye BQ, Yang LL, Zhu XX, Huang GL, Zhu PP, *et al.* Long noncoding RNA *lncKdm2b* is required for ILC3 maintenance by initiation of *Zfp292* expression. *Nat Immunol* 2017; 18(5): 499-508.
- 37 Ye BQ, Liu BY, Yang LL, Zhu XX, Zhang DD, Wu W, *et al.* *LncKdm2b* controls self-renewal of embryonic stem cells via activating expression of transcription factor *Zbtb3*. *EMBO J* 2018; 37(8): e97174.
- 38 Sigova AA, Mullen AC, Molinie B, Gupta S, Orlando DA, Guenther MG, *et al.* Divergent transcription of long noncoding RNA/mRNA gene pairs in embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(8): 2876-81.
- 39 Liu JL, Li Y, Lin B, Sheng Y, Yang L. *HBL1* is a Human long noncoding RNA that modulates cardiomyocyte development from pluripotent stem cells by counteracting *MIR1*. *Dev Cell* 2017; 42(4): 333-48.
- 40 Winzi M, Casas Vila N, Paszkowski-Rogacz M, Ding L, Noack S, Theis M, *et al.* The long noncoding RNA *lncR492* inhibits neural differentiation of murine embryonic stem cells. *PLoS One* 2018; 13(1): e0191682.
- 41 Yu CY, Kuo HC. The trans-spliced long noncoding RNA *tsRMST* impedes human embryonic stem cell differentiation through WNT5A-mediated inhibition of the epithelial-to-mesenchymal transition. *Stem Cell* 2016; 34(8): 2052-62.
- 42 Jiang W, Liu Y, Liu R, Zhang K, Zhang Y. The lncRNA *DEANR1* facilitates human endoderm differentiation by activating *FOXA2* expression. *Cell Rep* 2015; 11(1): 137-48.
- 43 Daneshvar K, Pondick JV, Kim BM, Zhou C, York SR, Macklin JA, *et al.* *DIGIT* is a conserved long noncoding RNA that regulates GSC expression to control definitive endoderm differentiation of embryonic stem cells. *Cell Rep* 2016; 17(2): 353-65.
- 44 Zhou Y, Dai QS, Zhu SC, Han YH, Han HL, Zhao B, *et al.* *AK048794* maintains the mouse embryonic stem cell pluripotency by functioning as an miRNA sponge for miR-592. *Biochem J* 2016; 473(20): 3639-54.
- 45 Jain AK, Xi Y, Mccarthy R, Allton K, Akdemir KC, Patel LR, *et al.* *LncPRESS1* is a p53-regulated lncRNA that safeguards pluripotency by disrupting SIRT6 mediated deacetylation of histone H3K56. *Mol Cell* 2016; 64(5): 967-81.
- 46 Guttman M, Donaghey J, Carey BW, Garber M, Grenier JK, Munson G, *et al.* LincRNAs act in the circuitry controlling pluripotency and differentiation. *Nature* 2011; 477(7364): 295-305.