

RNA结合蛋白在多能干细胞命运转变中的研究进展

王秀芹[#] 尹梦然[#] 夏晴 王丽莎 秦宝明 姚红杰^{*}

(中国科学院广州生物医药与健康研究院, 广州 510530)

摘要 RNA结合蛋白(RNA binding proteins, RBPs)是一类通过其RNA结合结构域与RNA相互作用的蛋白质,在细胞内发挥着非常重要的作用。RBPs参与从RNA代谢(包括RNA的可变剪接、稳定性、翻译)到表观遗传修饰等多种调控途径。已有大量文献报道转录因子、表观遗传修饰和细胞外信号通路参与调控干细胞的多能性维持、分化和体细胞重编程,但对于RBPs在细胞命运转变中作用的研究报道甚少。该文主要综述了RBPs通过调控RNA的可变剪接、mRNA稳定性、翻译水平、microRNA代谢及组蛋白修饰进而调控干细胞多能性维持和体细胞重编程。

关键词 RNA结合蛋白; 多能性; 多能干细胞; 细胞命运转变

Research Progress of RNA-Binding Proteins in Fate Determination of Pluripotent Stem Cells

WANG Xiuqin[#], YIN Mengran[#], XIA Qing, WANG Lisha, QIN Baoming, YAO Hongjie^{*}

(Guangzhou Institutes of Biomedicine and Health, Chinese Academy Sciences, Guangzhou 510530, China)

Abstract RNA binding proteins are a class of proteins that interact with RNA through their RNA binding domains, and play very important roles in a variety of regulatory pathways, from RNA metabolism (including alternative splicing, stabilization of RNA, translation) to epigenetic modification. It has been reported that transcriptional factors, epigenetic modifications and extracellular signaling pathways play the important roles in regulating pluripotency maintenance and differentiation of pluripotent stem cells and somatic cell reprogramming. However, there are few reports on the role of RNA binding proteins in stem cell fate determination. In this review, we summarize the roles of RBPs in regulating pluripotency maintenance of pluripotent stem cells and somatic cell reprogramming through regulating alternative splicing, mRNA stability, translation level, microRNA metabolism and histone modifications.

Keywords RNA binding protein; pluripotency; pluripotent stem cell; cell fate determination

胚胎干细胞(embryonic stem cells, ESCs)和诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)在再生医学的临床应用中具有巨大的潜力。ESCs是植入前胚胎建立的多能性细胞,来源于哺乳动物胚胎发育早期囊胚的内细胞团,具有发育的全能性,保留

了自我更新和分化成特定细胞类型的能力。ESCs和iPSCs能够分化为组成机体所有类型的细胞,进而形成机体组织和器官。iPSCs是2006年日本科学家YAMANAKA SHINYA研究组^[1]使用病毒载体将Oct4、Sox2、Klf4和c-Myc(OSKM)四个关键的转录因子导

收稿日期: 2019-03-06 接受日期: 2019-07-12

国家重点研发计划(批准号: 2016YFA0100400)和广州再生医学与健康广东省实验室重点研发项目(批准号: 2018GZR110104007)资助的课题

[#]共同第一作者

^{*}通讯作者。Tel: 020-32015279, E-mail: yao_hongjie@gibh.ac.cn

Received: March 6, 2019 Accepted: July 12, 2019

This work was supported by the National Key R&D Program of China (Grant No.2016YFA0100400) and Key Research & Development Program of Guangzhou Regenerative Medicine and Health Guangdong Laboratory (Grant No.2018GZR110104007)

[#]These authors contributed equally to this work

^{*}Corresponding author. Tel: +86-20-32015279, E-mail: yao_hongjie@gibh.ac.cn

URL: <http://www.cjcb.org/arts.asp?id=5164>

入到小鼠胚胎成纤维细胞中,使其重编程为类似胚胎干细胞的一种细胞类型。iPSCs在细胞形态、表观遗传修饰水平、分化能力、类胚体和畸形瘤生成能力等方面都与ESCs相似。在小鼠胚胎成纤维细胞重编程为iPSCs的过程中,OSKM四因子进入体细胞后,起始了一系列阶段性转变,首先是体细胞基因的表达下调,接着是间充质-上皮转化,然后是多能性基因的表达上调^[2-3],这些阶段性转变涉及许多分子生物学事件并严格调控重编程过程。多能干细胞多能性的维持和退出以及体细胞重编程过程中多能性的恢复和稳定都受到转录和转录后水平的多种精确调控。

RNA结合蛋白(RNA binding proteins, RBPs)可以影响转录后基因表达调控的所有步骤,“经典”的RBPs可参与核糖蛋白复合物的形成,进而调控基因的表达。RBPs通过与RNA序列结合或结构基序的模块化组合来调控基因表达,这些组合包括RNA识别基序、hnRNP K同源基序或DEAD盒解旋酶域等。RBPs与RNA两者存在不同的作用方式,第一种是RBPs可通过RNA结合结构域与RNA相互作用,调节RNA的加工、代谢和功能,实现参与调控基因表达的目的(图1左)。第二种与前者不同,RNA可通过与RBPs结合调控RBPs的结构与功能,如许多长链非编码RNA(LncRNA)可作为支架招募转录因子或染色质修饰复合物到基因表达相关蛋白复合物或染色质上^[4](图1右),调控相关转录因子或染色质修饰复合物的功能,进而激活或抑制基因的转录表达。RNA结合结构域存在一种组合密码,在不同的细胞条件

下能够形成不同子集的RBPs复合物,从而指导特定的细胞过程,如细胞凋亡^[5]。有报道表明,RBP LIN28A在重编程过程中具有替代Klf4的能力^[6],揭示了RBPs在调控重编程过程中的关键作用。越来越多的研究表明,RBPs在维持细胞身份的过程中不仅起着结构型功能,还在细胞命运转变及其维持上具有其他的重要作用^[7]。然而,目前对细胞命运转变机制的研究主要集中在转录因子、DNA甲基化修饰、组蛋白修饰以及microRNAs等方面,对于RBPs在细胞命运转变(如:体细胞重编程、干细胞多能性维持、分化及转分化)中的功能知之甚少。

1 RBPs通过可变剪接进而调控多能性

在基因转录过程中,首先在RNA聚合酶的作用下产生初级转录物,初级转录物需要经过加工处理才能成为成熟的mRNA,而在大多数情况下,可变剪接是该过程所必需的。可变剪接会影响mRNA的最终序列、结构和稳定性,可使相同的初级转录产物产生多种成熟mRNA。RNA聚合酶II一旦合成新的初级转录物,该转录物就会被不同的RBPs所包被。RBPs与新生mRNA转录物的结合对正确的剪接至关重要。RBPs通过结合到前体mRNA可变外显子侧翼的内含子或外显子本身而发生可变剪接^[9],通过调节剪接体对剪接位点的识别^[10],影响前体mRNA的剪接模式,进而使得基因表达的复杂性大大增加;并且在基因组没有被编辑的情况下产生细胞类型特异的基因产物^[11],使得同一基因经过不同的可变剪接模式,获得具有不同功能的基因产物,进而赋予细

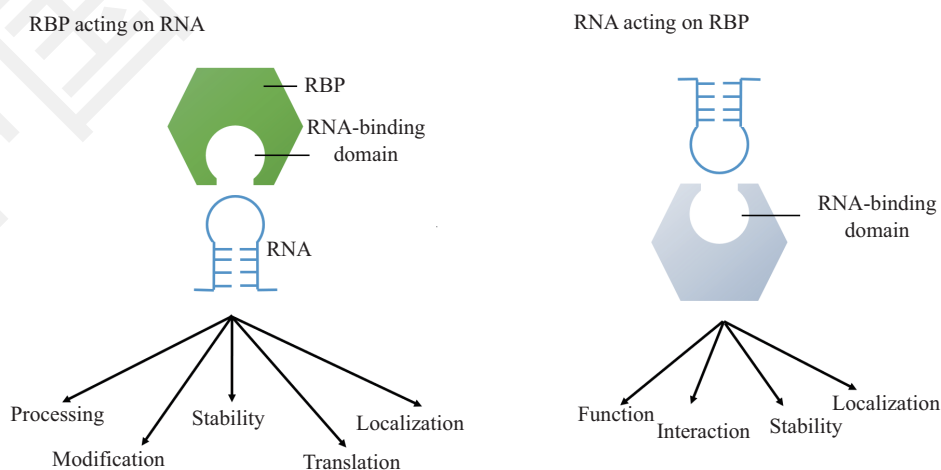


图1 蛋白质与RNA之间的功能联系(根据参考文献[8]修改)

Fig.1 Functional crosstalk between proteins and RNA (modified from reference [8])

胞特定的状态。

可变剪接在多能干细胞命运转变中发挥重要的作用。小鼠和人胚胎干细胞分化和体细胞重编程过程受到可变剪接的调控。研究表明,可变剪接调节因子Zcchc24、Espr1、Mbnl1/2和Rbm47在多能干细胞和体细胞中存在差异性表达^[9],这些调节因子对细胞状态特异性基因转录本的正确剪接具有重要调节作用。多能性因子Oct4、Sall4、Nanog、Foxp1、Mbd2、Tcf3和Yy2具有多种剪接变体,其表达、细胞内定位、稳定性及功能都会因它们的编码外显子或非翻译区域的可变剪接不同而存在差异^[12-16]。

RBP ESRP1(epithelial splicing regulatory protein 1)是多能性负调节因子,该基因被沉默可抑制小鼠 ESCs的分化。ESRP1通过与Sox2和Oct4 mRNA的5'非翻译区(untranslated region, UTR)结合,阻止它们有效添加到多核糖体上^[17]。然而,另一项研究发现,ESRP1在小鼠体细胞重编程过程中差异表达,异位表达ESRP1可通过调节上皮特异性转录因子Grhl1的可变剪接来提高体细胞重编程的效率^[9]。此外,多能性相关转录因子Nanog、Dnmt3b、Oct4和Sall4也被证明它们自身会受到可变剪接的影响^[13,18-19]。Oct4是ESCs中自我更新的主要调节因子,可以编码Oct4A和Oct4B两种剪接变体。Oct4的不同剪接变体在不同细胞类型中具有独特的表达模式,Oct4A仅在ESCs和胚胎癌细胞中表达,而Oct4B可在多种非多能性细胞中检测到。另外还检测到一种新的Oct4剪接变体Oct4B1,主要在人ESCs和胚胎癌细胞中表达,并在分化后表达下调^[13]。这些研究结果表明,RBPs通过可变剪接可以改变一些重要蛋白的结构,改变其在细胞中的功能,进而调控细胞多能性的转变,但剪接因子与多能性因子之间的关系及其在多能干细胞命运转变中的作用还需要进一步研究。

2 RBPs通过影响mRNA稳定性来调控多能性

RBPs不仅影响前体mRNA的可变剪接,还能通过与mRNA相互作用来影响mRNA的稳定性,从而决定mRNA的命运。RBPs被描述为“mRNA的衣服”,它确保不同的mRNA区域:5'和3'UTR以及编码区在不同的条件下被覆盖或暴露,从而在生命不同阶段协助加工处理mRNA^[8]。这些过程都会影响mRNA的稳态数量,改变细胞可获得的蛋白质数量

及其在细胞中所发挥的功能,最终赋予细胞不同的功能,对多能干细胞的命运转变可能有非常重要的影响。

RBP PUM1(Pumilio RNA binding family member 1)是ESCs退出多能性状态所必需的,它针对多能性基因的mRNA,在分化开始时可加速其降解。PUM1蛋白在小鼠naïve ESCs中的靶标基因包括了Tfcp2l1、Sox2、Tbx3和Esrrb^[20],由此可见,PUM1可以通过靶向这些基因的mRNA,影响其表达,进而调控ESCs naïve状态的维持。

RNA解旋酶DDX6(DEAD-box helicase 6)、RO60和RNY1(非编码RNA,形成参与细胞内核苷酸感知的复合物),对于诱导多能干细胞的形成是必不可少的。RO60/RNY1/DDX6复合物在mRNA处理小体形成之前形成,是RNA代谢的核心分子。破坏DDX6表达可抑制体细胞重编程为iPSCs,它通过靶向间充质表型相关的亲本mRNA,进而使mRNA发生衰变。亲本mRNA的清除是细胞重编程的先决条件,而DDX6在此过程中起着重要作用^[21]。这些研究都表明,RBPs可以通过影响mRNA的稳定性来调控细胞的命运转变,进而揭示了RBPs在该过程中的重要性。

3 RBPs通过影响翻译水平来调控多能性

RBPs在转录后事件中发挥关键作用,它们可以通过反式作用来协调特定mRNA翻译的抑制或激活^[22]。另外,在翻译起始阶段,真核翻译起始因子eIF4A1(也被称为DDX2A)和eIF4A2(也被称为DDX2B)需要被eIF4F复合物(包括eIF4E和eIF4G)相关的各种因子激活,进而解开mRNA 5'UTR中的二级结构,使核糖体能够与mRNA有效结合并起始翻译^[10]。因为这些翻译起始因子都属于RBPs,所以揭示了RBPs在翻译过程扮演着重要角色。研究表明,蛋白质的合成在ESCs分化过程中是增加的^[23],可见翻译对ESCs状态的转变非常重要,由此推测RBPs对多能干细胞命运的转变可能起到非常重要的作用。

RBP DAZL(deleted in azoospermia-like)存在于小鼠胎儿生殖母细胞的细胞核和细胞质中,是生殖细胞特异性的蛋白质。DAZL已被证明对包括人在内的多种物种的生殖细胞发育很重要。在Dazl敲除的原始生殖细胞中,多能性相关基因的表达出现异常,并且不能建立具有多能性的胚胎生殖细胞,突出了DAZL在多能性建立中的作用^[24]。除生殖细胞之

外, 研究发现, DAZL在ESCs的细胞质中表达^[25-27]。而且DAZL在小鼠ESCs中会影响mRNA的稳定性, 它通过与*Oct4*、*Sox2*和*Mvh*的3'UTR结合进而抑制这些基因的翻译, 从而降低小鼠ESCs中这些多能性调节因子的稳态水平, 平衡干细胞的维持和分化, 调控细胞的命运^[28], 异位表达DAZL导致小鼠ESCs分化成类似于精子细胞和卵母细胞的细胞^[29]。DAZL标记的小鼠ESCs亚群, 表明其正在积极向naïve多能性状态转变。DAZL与*Tet1*的mRNA结合并增强其翻译, 促进整体胞嘧啶羟甲基化水平升高。在体细胞重编程过程中DNA甲基化修饰呈现动态变化, 对细胞命运转变具有非常重要的作用, 这就更能体现DAZL介导的翻译调控对于naïve和primed多能性状态之间转换的重要性^[30]。

在人类ESCs中, LIN28与RNA解旋酶A相互作用并调节*Oct4* mRNA翻译进而支持多能性状态的维持^[31]。LIN28促进人体细胞的重编程^[32], 并促进小鼠细胞从naïve状态向primed状态转换。在分子水平上, LIN28通过Let-7依赖和Let-7非依赖两种方式发挥作用。在Let7非依赖的调节方式中, LIN28与代谢相关基因的mRNA结合并抑制其翻译表达, 进而赋予细胞具有primed多能性状态的代谢特征^[7]。可见, RBPs可以通过影响细胞命运决定相关基因mRNA的翻译, 进而赋予细胞不同的身份特征。

4 RBPs通过影响microRNAs来调控多能性

microRNAs的生成和成熟经历了细胞核和细胞质中一系列的生化反应, 其生命周期的大部分时间都与RBPs结合。microRNAs参与调控ESCs的增殖和分化, 并调控体细胞重编程为iPSCs^[33]。RBPs通过与microRNAs相互作用进而调控microRNAs的特异性和功能。具有细胞特异性功能的核心RBPs, 如DROSHA、DGCR8、DICER和AGO等蛋白质, 是大多数microRNAs生物发生和功能所必需的^[34]。

研究表明, 在ESCs以及重编程过程中, RBPs调控特定microRNAs的生物发生和功能。RBPs DICER和DGCR8的缺失会导致microRNAs成熟过程受阻, 从而影响细胞周期的调控和多能性的维持。敲除*Dgcr8*可以使ESCs失去从naïve状态转变为primed状态的能力^[34]。RNA干扰途径可调节ESCs的自我更新和分化, AGO2是RNA诱导沉默复合物的重要组

成部分, 缺乏AGO2的ESCs的microRNAs的成熟受到严重影响, 导致小RNA介导的基因沉默发生异常, 并且最终导致ESCs的自我更新能力受到影响^[35], 进而影响ESCs多能性的维持。

RBP LIN28介导Let-7 microRNAs家族的降解, 有利于维持ESCs的多能性状态且抑制分化发生^[36-37]。LIN28在多能干细胞中被MAPK/ERK磷酸化, 在不阻断Let-7的情况下增强对靶标mRNA的调控, 促进体细胞重编程的发生^[7,38]。由于LIN28可以通过microRNAs来影响多能干细胞多能性状态的维持, 以及促进体细胞重编程过程的发生, 表明RBPs对多能干细胞的命运转变发挥非常重要的作用。

ADAR1(adenosine to inosine acting on RNA enzyme 1)是一种RNA编辑酶, 它通过酶依赖和酶非依赖途径来调节microRNAs的生物发生。研究发现, 人类ESCs中的ADAR1可以直接结合Pri-miR-302, 抑制微小RNA处理器(microprocessor)复合体的活性来抑制miR-302的表达^[39]。ADAR1缺失导致miR-302表达上调, 使人类ESCs不能适当地分化成神经元谱系细胞。这是RBPs调节ESCs特定microRNAs表达的一个例子^[34]。

DDX5也是一种RNA解旋酶。敲除*Ddx5*导致ESCs中多种microRNAs失调。*Ddx5*缺失显著地促进了iPSCs的形成。DDX5与非经典多梳蛋白抑制复合物1(polycomb repressive complex 1, PRC1)的亚基RYBP存在相互作用, 并且敲除*Ddx5*后显著地上调了RYBP的水平。进一步发现, DDX5缺失是通过抑制miR-125b的加工和表达, 进而导致RYBP的表达上调以及依赖RYBP的组蛋白修饰H2AK119ub1水平上升, 从而抑制谱系特异性基因的表达^[40]。由于RBPs在ESCs和重编程过程中发挥重要作用, 未来的工作可以从RBPs调控microRNAs的角度进一步揭示出更多参与调控干细胞命运转变的microRNAs及其作用机制。

5 RBPs通过影响表观遗传修饰来调控多能性

RBPs除了在转录后水平调控多能干细胞命运的转变外, 还能通过影响表观遗传修饰调控该过程。组蛋白修饰在体细胞重编程过程中呈现动态变化, 调控细胞多能性的获得, 并且在ESCs中组蛋白修饰等表观遗传修饰对ESCs的多能性维持及自

我更新至关重要。WDR5(WD repeat domain 5)是一个将长链非编码RNA与ESCs中的基因激活联系起来的RBP,它是MLL1-4和SET1A/1B复合物的核心亚基,是H3K4甲基化的“效应子”,参与活跃表达基因的标记——组蛋白H3K4甲基化的形成。WDR5与LncRNA HOTTIP结合,可以将MLL复合物募集到5'*HOXA*的基因座上,驱动H3K4me3修饰并促进转录发生^[41],而且WDR5所结合的一部分LncRNA分子本身对于ESCs多能性维持及分化也是必需的^[42]。WDR5能够与多能性转录因子Oct4相互作用,其表达是iPSCs有效形成所必需的。全基因组蛋白定位和转录组分析也证明了Oct4和WDR5之间具有重叠的基因调控功能,它维持的活性染色质状态有助于ESCs的自我更新,在体细胞重编程过程中也发挥重要作用^[43]。这些都表明,WDR5在ESCs多能性维持中具有重要的功能。

RBP PSPC1(paraspeckle component 1)在多能干细胞中通过RNA依赖性方式将TET2募集到染色质中,协同HDAC1/2调控逆转录病毒元件转录本的降解,并抑制相关基因表达^[44]。多梳蛋白家族成员是不具有DNA结合结构域的染色质重塑复合物,因此需要蛋白质和非编码RNA的辅助去结合靶标^[45]。多梳蛋白复合物2(polycomb complex 2, PRC2)通过催化组蛋白H3K27位点的三甲基化介导表观遗传沉默^[46-47],它介导的这一组蛋白修饰对于ESCs多能性维持可能不是必需的,但是对于ESCs分化和胚胎发育却起着非常重要的作用^[48-49]。X染色体失活是一种在早期发育过程中发生基因剂量补偿的过程,而两条X染色体活性的维持是ESCs分化的障碍。EZH2和SUZ12是PRC2的催化亚基,它们能结合LncRNA介导基因沉默。而且X染色体失活需要将PRC2募集到染色体上,进而通过LncRNA Xist沉默X染色体^[50]。RBPs通过表观遗传激活或抑制基因的转录或者改变染色质的结构功能,使多能性相关基因的表达受到相应的影响,进而改变细胞命运。

6 结语与展望

RBPs参与细胞内一系列的调控途径,通过与RNA的结合对RNA代谢的多个层面起作用,影响RNA的加工处理,进而调控相关基因的表达,导致蛋白功能发生变化,产生细胞特异性蛋白。RBPs还可以影响表观遗传修饰与多能性调节网络的相

互作用,进而影响多能干细胞的命运转变。RBPs具有典型的RNA结合域,能直接且特异地结合RNA靶标。RBPs通过不同的特异性序列或结构产生不同的RNA识别模式。RBPs可使用RNA作为募集蛋白复合物的平台,进而影响RNA及蛋白的功能。虽然已经鉴定了许多RBPs在多能干细胞多能性的维持、分化以及体细胞重编程过程中具有潜在的作用,如:通过可变剪切、RNA稳定性、多能性状态相关的microRNAs、表观遗传等方面发挥调控作用,但是对于RBPs在多能干细胞命运转变中作用机制的研究仍然不多。在细胞内复杂的信息调控网络中,RBPs是如何帮助实现正确的可变剪接,剪接因子与多能性网络之间是如何联系的,RBPs如何特异地激活靶基因并发生相应的生物学反应,RBPs如何实现细胞命运转变等问题还需要进一步揭示。随着对RBPs在多能干细胞中的作用研究报道的增多,更多的调控机制将被挖掘出来。这些机制将为细胞命运转变的研究和技术开发提供新思路,将为多能干细胞在将来的临床应用提供更多的证据支持。

参考文献 (References)

- [1] TAKAHASHI K, YAMANAKA S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors [J]. *Cell*, 2006, 126(4): 663-76.
- [2] LI R, LIANG J, NI S, et al. A mesenchymal-to-epithelial transition initiates and is required for the nuclear reprogramming of mouse fibroblasts [J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 7(1): 51-63.
- [3] SAMAVARCHI-TEHRANI P, GOLIPOUR A, DAVID L, et al. Functional genomics reveals a BMP-driven mesenchymal-to-epithelial transition in the initiation of somatic cell reprogramming [J]. *Cell Stem Cell*, 2010, 7(1): 64-77.
- [4] CECH T R, STEITZ J A. The noncoding RNA revolution-trashing old rules to forge new ones [J]. *Cell*, 2014, 157(1): 77-94.
- [5] KING H A, COBBOLD L C, PICHON X, et al. Remodelling of a polypyrimidine tract-binding protein complex during apoptosis activates cellular IRESs [J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21(1): 161-71.
- [6] BINDHYA S, SIDHANTH C, SHABNA A, et al. Induced pluripotent stem cells: A new strategy to model human cancer [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2018, 107: 62-8.
- [7] ZHANG J, RATANASIRINTRAUOOT S, CHANDRASEKARAN S, et al. LIN28 regulates stem cell metabolism and conversion to primed pluripotency [J]. *Cell Stem Cell*, 2016, 19(1): 66-80.
- [8] HENTZE M W, CASTELLO A, SCHWARZ T, et al. A brave new world of RNA-binding proteins [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(5): 327-41.
- [9] CIEPLY B, PARK J W, NAKAUKA-DDAMBA A, et al. Multi-phasic and dynamic changes in alternative splicing during induction of pluripotency are coordinated by numerous RNA-binding

- proteins [J]. *Cell Rep*, 2016, 15(2): 247-55.
- [10] BOURGEOIS C F, MORTREUX F, AUBOEUF D. The multiple functions of RNA helicases as drivers and regulators of gene expression [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(7): 426-38.
 - [11] LICATALOSI D D, DARNELL R B. RNA processing and its regulation: global insights into biological networks [J]. *Nat Rev Genet*, 2010, 11(1): 75-87.
 - [12] TAHMASEBI S, JAFARNEJAD S M, TAM I S, et al. Control of embryonic stem cell self-renewal and differentiation via coordinated alternative splicing and translation of YY2 [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, 2016, 113(44): 12360-7.
 - [13] ATLASI Y, MOWLA S J, ZIAEE S A, et al. Oct4 spliced variants are differentially expressed in human pluripotent and nonpluripotent cells [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(12): 3068-74.
 - [14] GABUT M, SAMAVARCHI-TEHRANI P, WANG X, et al. An alternative splicing switch regulates embryonic stem cell pluripotency and reprogramming [J]. *Cell*, 2011, 147(1): 132-46.
 - [15] HAN H, IRIMIA M, ROSS P J, et al. MBNL proteins repress ES-cell-specific alternative splicing and reprogramming [J]. *Nature*, 2013, 498(7453): 241-5.
 - [16] LU Y, LOH Y H, LI H, et al. Alternative splicing of MBD2 supports self-renewal in human pluripotent stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 15(1): 92-101.
 - [17] FAGOONEE S, BEARZI C, DI CUNTO F, et al. The RNA binding protein ESRP1 fine-tunes the expression of pluripotency-related factors in mouse embryonic stem cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72300.
 - [18] RAO S, ZHEN S, ROUMIANTSEV S, et al. Differential roles of Sall4 isoforms in embryonic stem cell pluripotency [J]. *Mol Cell Biol*, 2010, 30(22): 5364-80.
 - [19] GOPALAKRISHNAN S, VAN EMBURGH B O, SHAN J, et al. A novel DNMT3B splice variant expressed in tumor and pluripotent cells modulates genomic DNA methylation patterns and displays altered DNA binding [J]. *Mol Cancer Res*, 2009, 7(10): 1622-34.
 - [20] LEEB M, DIETMANN S, PARAMOR M, et al. Genetic exploration of the exit from self-renewal using haploid embryonic stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 14(3): 385-93.
 - [21] KAMI D, KITANI T, NAKAMURA A, et al. The DEAD-box RNA-binding protein DDX6 regulates parental RNA decay for cellular reprogramming to pluripotency [J]. *PLoS One*, 2018, 13(10): e0203708.
 - [22] HARVEY R F, SMITH T S, MULRONEY T, et al. Trans-acting translational regulatory RNA binding proteins [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2017, 9(3): e1465.
 - [23] SAMPATH P, PRITCHARD D K, PABON L, et al. A hierarchical network controls protein translation during murine embryonic stem cell self-renewal and differentiation [J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 2(5): 448-60.
 - [24] HASTON K M, TUNG J Y, REIJO PERA R A. Dazl functions in maintenance of pluripotency and genetic and epigenetic programs of differentiation in mouse primordial germ cells *in vivo* and *in vitro* [J]. *PLoS One*, 2009, 4(5): e5654.
 - [25] CAUFFMAN G, VAN DE VELDE H, LIEBAERS I, et al. DAZL expression in human oocytes, preimplantation embryos and embryonic stem cells [J]. *Mol Hum Reprod*, 2005, 11(6): 405-11.
 - [26] MOORE F L, JARUZELSKA J, DORFMAN D M, et al. Identification of a novel gene, DZIP (DAZ-interacting protein), that encodes a protein that interacts with DAZ (deleted in azoospermia) and is expressed in embryonic stem cells and germ cells [J]. *Genomics*, 2004, 83(5): 834-43.
 - [27] XU X, PANTAKANI D V, LUHRIG S, et al. Stage-specific germ-cell marker genes are expressed in all mouse pluripotent cell types and emerge early during induced pluripotency [J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22413.
 - [28] XU X, TAN X, LIN Q, et al. Mouse Dazl and its novel splice variant functions in translational repression of target mRNAs in embryonic stem cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1829(5): 425-35.
 - [29] YU Z, JI P, CAO J, et al. Dazl promotes germ cell differentiation from embryonic stem cells [J]. *J Mol Cell Biol*, 2009, 1(2): 93-103.
 - [30] WELLING M, CHEN H H, MUNOZ J, et al. DAZL regulates Tet1 translation in murine embryonic stem cells [J]. *EMBO Rep*, 2015, 16(7): 791-802.
 - [31] QIU C, MA Y, WANG J, et al. Lin28-mediated post-transcriptional regulation of Oct4 expression in human embryonic stem cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(4): 1240-8.
 - [32] YU J, VODYANIK M A, SMUGA-OTTO K, et al. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells [J]. *Science*, 2007, 318(5858): 1917-20.
 - [33] GUO W T, WANG X W, WANG Y. Micro-management of pluripotent stem cells [J]. *Protein Cell*, 2014, 5(1): 36-47.
 - [34] ZHANG Y, XIANG Y, YIN Q, et al. Dynamic epigenomic landscapes during early lineage specification in mouse embryos [J]. *Nat Genet*, 2017, 50(1): 96-105.
 - [35] SHEKAR P C, NAIM A, SARATHI D P, et al. Argonaute-2-null embryonic stem cells are retarded in self-renewal and differentiation [J]. *J Biosci*, 2011, 36(4): 649-57.
 - [36] MELTON C, JUDSON R L, BLELLOCH R. Opposing microRNA families regulate self-renewal in mouse embryonic stem cells [J]. *Nature*, 2010, 463(7281): 621-6.
 - [37] SCHULMAN B R, ESQUELA-KERSCHER A, SLACK F J. Reciprocal expression of lin-41 and the microRNAs let-7 and mir-125 during mouse embryogenesis [J]. *Dev Dyn*, 2005, 234(4): 1046-54.
 - [38] TSANOV K M, PEARSON D S, WU Z, et al. LIN28 phosphorylation by MAPK/ERK couples signalling to the post-transcriptional control of pluripotency [J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(1): 60-7.
 - [39] CHEN T, XIANG J F, ZHU S, et al. ADAR1 is required for differentiation and neural induction by regulating microRNA processing in a catalytically independent manner [J]. *Cell Res*, 2015, 25(4): 459-76.
 - [40] LI H, LAI P, JIA J, et al. RNA helicase DDX5 inhibits reprogramming to pluripotency by miRNA-based repression of RYBP and its PRC1-dependent and -independent functions [J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(4): 462-77 e6.
 - [41] ANG Y S, TSAI S Y, LEE D F, et al. Wdr5 mediates self-renewal and reprogramming via the embryonic stem cell core transcriptional network [J]. *Cell*, 2011, 145(2): 183-97.
 - [42] WANG K C, YANG Y W, LIU B, et al. A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression [J]. *Nature*, 2011, 472(7341): 120-4.

- [43] GUTTMAN M, DONAGHEY J, CAREY B W, et al. lincRNAs act in the circuitry controlling pluripotency and differentiation [J]. *Nature*, 2011, 477(7364): 295-300.
- [44] GUALLAR D, BI X, PARDAVILA J A, et al. RNA-dependent chromatin targeting of TET2 for endogenous retrovirus control in pluripotent stem cells [J]. *Nat Genet*, 2018, 50(3): 443-51.
- [45] MARGUERON R, REINBERG D. The polycomb complex PRC2 and its mark in life [J]. *Nature*, 2011, 469(7330): 343-9.
- [46] CAO R, WANG L, WANG H, et al. Role of histone H3 lysine 27 methylation in Polycomb-group silencing [J]. *Science*, 2002, 298(5595): 1039-43.
- [47] KIRMIZIS A, BARTLEY S M, KUZMICHEV A, et al. Silencing of human polycomb target genes is associated with methylation of histone H3 Lys 27 [J]. *Genes Dev*, 2004, 18(13): 1592-605.
- [48] PASINI D, BRACKEN A P, HANSEN J B, et al. The polycomb group protein Suz12 is required for embryonic stem cell differentiation [J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(10): 3769-79.
- [49] CHAMBERLAIN S J, YEE D, MAGNUSON T. Polycomb repressive complex 2 is dispensable for maintenance of embryonic stem cell pluripotency [J]. *Stem Cells*, 2008, 26(6): 1496-505.
- [50] ZHAO J, SUN B K, ERWIN J A, et al. Polycomb proteins targeted by a short repeat RNA to the mouse X chromosome [J]. *Science*, 2008, 322(5902): 750-6.