



黄伯贤, 生殖医学与子代健康全国重点实验室研究员, 博士研究生导师, 生殖医学与子代健康全国重点实验室(苏州)副主任, 中国药科大学-斯坦福大学联合培养博士, 江苏省333高层次人才, 苏州姑苏卫生重点人才, 主要从事表观遗传与生殖发育以及生殖衰老领域研究。在国际高水平杂志*Science*、*Mol Ther*、*Clin Transl Med*、*J Biol Chem*、*Stem Cells*等发表文章多篇。主持、完成国家自然科学基金重大项目、国家重点研发计划等多项国家级课题。获华夏医学科技奖等省部级科技奖二等奖1项, 三等奖3项。获授权国家发明专利3项。

RNA表观修饰在卵子发生调控中的研究进展

江静[#] 张明[#] 陆嘉逢 黄伯贤^{*}

(生殖医学与子代健康全国重点实验室, 南京医科大学附属苏州医院, 苏州市立医院, 南京医科大学姑苏学院, 苏州 215000)

摘要 卵子发生是生殖发育中的重要过程, 涉及卵母细胞的发育和成熟, 对雌性生殖健康和种群遗传多样性具有重要影响。卵子发生涉及复杂而精准的基因调控过程。核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)修饰是在RNA分子中添加化学修饰基团的过程, 通过该修饰能够调控RNA的功能和稳定性, RNA修饰在生殖及发育生物学中起着关键的作用。该综述将对近期关于RNA修饰与卵子发生的研究进展进行综述和展望, 重点阐述RNA修饰调节信使核糖核酸(messenger RNA, mRNA)转录翻译过程、染色质开放水平、组蛋白修饰以及可变剪切等的机制, 及其对卵子发生及胚胎发育过程的影响, 以完善RNA表观修饰调控生殖发育的理论研究。

关键词 RNA修饰; 表观遗传学; 卵子发生; 胚胎发育

Research Progress of RNA Epigenetic Modifications in Regulation of Oogenesis

JIANG Jing[#], ZHANG Ming[#], LU Jiafeng, HUANG Boxian^{*}

(State Key Laboratory of Reproductive Medicine and Offspring Health, Suzhou Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Suzhou Municipal Hospital, Gusu School, Nanjing Medical University, Suzhou 215000, China)

Abstract Oogenesis is a pivotal process in reproductive development, involving the development and maturation of oocytes, which significantly impacts female reproductive health and population genetic diversity. Oogenesis entails intricate and precise genetic regulatory mechanisms. RNA (ribonucleic acid) modifications refer to the process of adding chemical groups to RNA molecules, thereby regulating RNA functionality and stability, playing a critical role in reproductive and developmental biology. This review provides an overview and prospects of recent research progress concerning

收稿日期: 2023-12-23

接受日期: 2024-03-11

国家自然科学基金(批准号: 92168104、82071720)资助的课题

[#]共同第一作者

^{*}通信作者。Tel: 0512-62362461, E-mail: huangboxiannj@163.com

Received: December 23, 2023

Accepted: March 11, 2024

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.92168104, 82071720)

[#]These authors contributed equally to this work

^{*}Corresponding author. Tel: +86-512-62362461, E-mail: huangboxiannj@163.com

RNA modifications and oogenesis. It primarily elucidates RNA modification regulation of mRNA (messenger RNA) transcription and translation processes, chromatin accessibility, histone modifications, alternative splicing mechanisms, as well as the effects of RNA modifications on oogenesis and embryonic development. This review aims to enhance theoretical research on the regulation of reproductive development through comprehensive RNA epigenetic modifications.

Keywords RNA modifications; epigenetics; oogenesis; embryonic development

RNA表观修饰是在不改变碱基序列的情况下对RNA进行的化学修饰,可形成表观转录组,从而调节基因转录后表达^[1]。目前为止,在多种类型细胞中发现近170多种RNA化学修饰,包括作用于编码mRNA(coding mRNA)和非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)的修饰^[2-4]。卵子发生是指由原始生殖细胞形成卵原细胞,再形成成熟卵细胞的过程。卵子发生始于胚胎期,卵原细胞经历数次有丝分裂后,启动减数分裂形成初级卵母细胞。在出生后,卵母细胞停滞于生发泡期,与其周围的颗粒细胞共同构成原始卵泡。性成熟后,部分原始卵泡进入生长卵泡期。多项研究表明, RNA表观修饰在卵子发生的复杂过程中起着关键调控作用,从而影响雌性的生育能力。本文聚焦于多种RNA表观修饰类型在卵子发生、成熟中的调控作用,进行最新研究综述。

1 RNA表观修饰类型

真核生物中RNA包含多种内部修饰,如甲基化、

乙酰化、羟甲基化、磷酸化、假尿嘧啶(pseudouridine, ψ)修饰和肌苷(inosine)修饰等。RNA甲基化修饰主要包括5-甲基胞嘧啶(5-methylcytidine, m^5C)、 N^1 -甲基腺苷(N^1 -methyladenosine, m^1A)、 N^6 -甲基腺苷(N^6 -methyladenosine, m^6A)、 N^7 -甲基鸟苷(N^7 -methylguanosine, m^7G)等; RNA乙酰化修饰主要包括 N^4 -乙酰胞苷(N^4 -acetylcytidine, ac^4C); RNA羟甲基化修饰包括5-羟甲基胞苷(5-hydroxymethylcytidine, hm^5C)和6-羟甲基腺苷(6-hydroxymethyladenosine, hm^6A); RNA磷酸化修饰包括2'-磷酸尿苷(2'-uridine phosphate, U^p)^[5]。其中, RNA甲基化修饰是目前研究最广泛的RNA修饰类型,而 m^6A 修饰最早被证明存在于mRNA和非编码RNA中^[6]。常见的RNA修饰化学结构见图1。

2 RNA甲基化修饰调控卵子发生

2.1 RNA m^6A 甲基化修饰

m^6A 是真核生物内部mRNA中最丰富的修饰。它主要以RRACH共识基序模式出现在mRNA中,尤

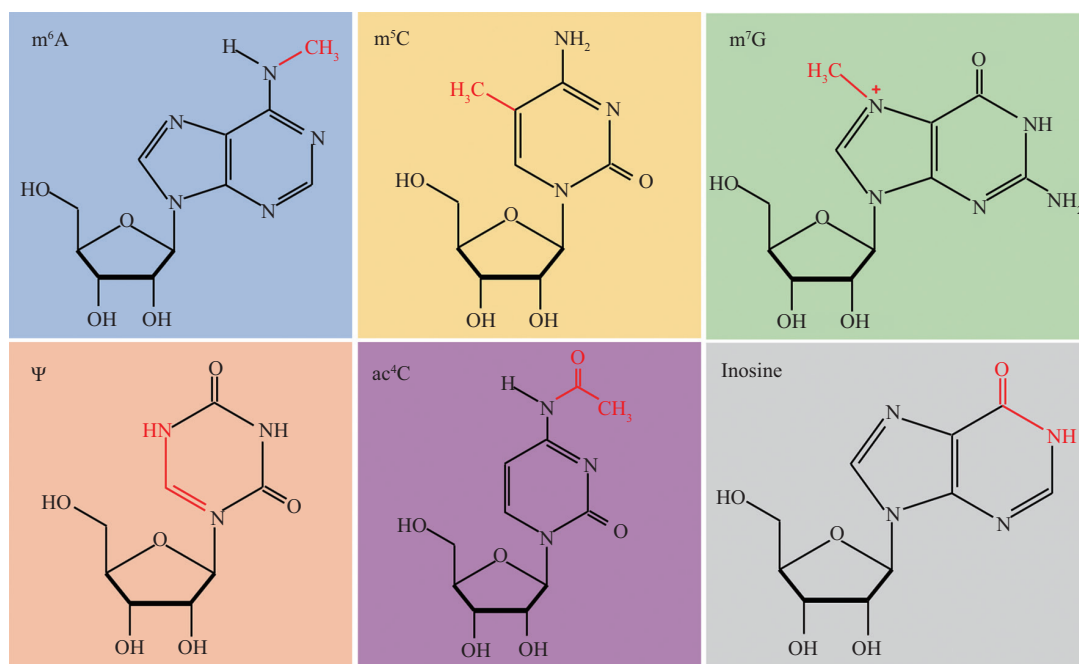


图1 RNA修饰化学结构图

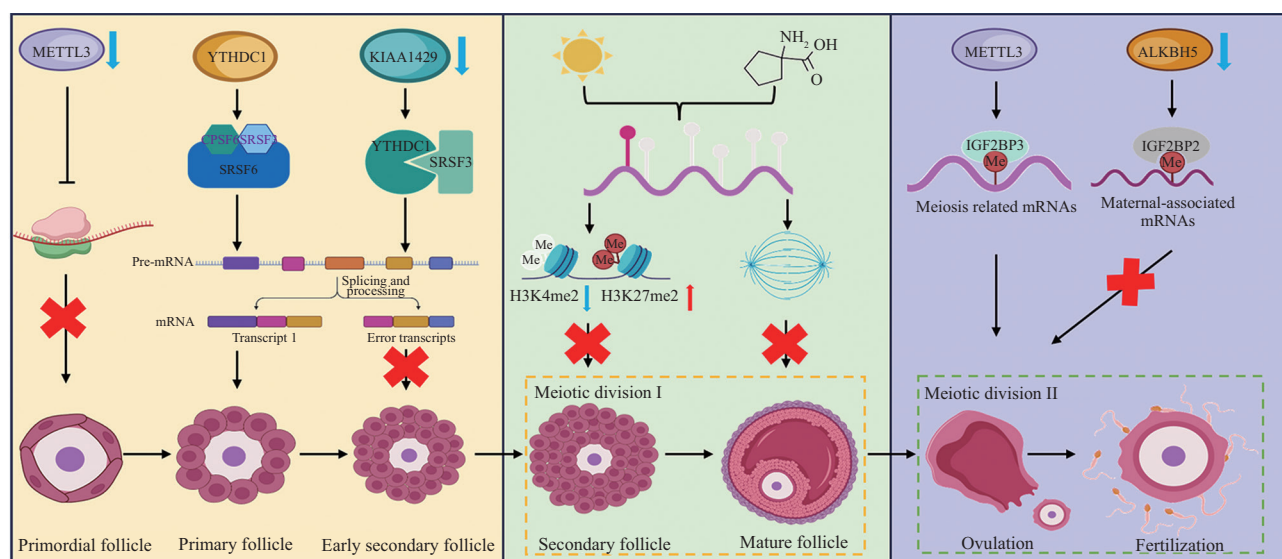
Fig.1 Diagram of the chemical structures of RNA modification

其富集于3'非翻译区域(untranslated regions, UTRs)和mRNA终止密码子附近^[7-8]。m⁶A修饰与DNA甲基化修饰方式相似,修饰过程是动态可逆的,主要通过影响mRNA转录、剪切、定位、翻译和衰变过程调节应激、免疫应答、胚胎发育等重要生理病理过程^[9]。

2.1.1 m⁶A修饰调控器 m⁶A甲基化修饰的启动与终止是由甲基转移酶(methyltransferase)、去甲基化酶(demethylase)和识别蛋白(binding proteins)共同调控完成。甲基转移酶可催化mRNA上腺苷发生甲基化,甲基转移酶包括METTL3、METTL14、WTAP、VIRMA、RBM15/15B、HAKAI、ZC3H13、METTL16等,它们可通过形成甲基化转移酶复合物(m⁶A methyltransferase complex, MTC)的方式共同行使催化功能^[9-10]。去甲基化酶包括FTO和ALKBH5,它们对已发生的m⁶A碱基修饰产生去甲基化作用^[11-12]。m⁶A

修饰后的RNA需要通过m⁶A识别蛋白(包括YTHDFs、YTHDC1/2、IGFBP1/2/3、hnRNP和eIF等)来行使特定的生物学功能^[9]。

2.1.2 RNA m⁶A修饰调控卵子发生机制 卵子发生是从原始生殖细胞到成熟卵母细胞的复杂精细过程,其中基因表达可受到程序化和动态的调控。卵子发生过程包括生殖干细胞的维持、不对称分裂、分化、有丝分裂、减数分裂以及母体mRNA的产生和降解。PGCs向卵母细胞分化过程中可高度依赖于基因的转录调控,并通过影响调控机制加速或阻滞卵子的形成与成熟^[13]。在卵子发生的过程中,m⁶A修饰可广泛参与可变剪接(alternative splicing, AS)、组蛋白修饰、染色质开放、RNA加工与代谢等调控过程。这充分表明,m⁶A修饰在卵子发生中发挥着重要作用,但其具体机制尚需深入研究(图2)。



m⁶A修饰在卵子发生的过程中起着关键的调控作用。METTL3依赖的m⁶A修饰影响卵母细胞的成熟和母体RNA的降解。YTHDC1的缺失导致卵母细胞发生可变剪切缺陷。卵母细胞中KIAA1429的特异性缺陷影响与卵子发生相关的基因外显子跳跃事件。这些事件都会导致卵泡发育异常和卵母细胞RNA代谢阻滞。降低卵母细胞中m⁶A修饰水平,会导致组蛋白甲基化水平的变化,从而影响纺锤体的组装和染色体的排列,最终导致减数分裂的阻滞。ALKBH5的缺失影响了母源RNA的及时降解,具体机制是独特的m⁶A峰值转录子集被IGF2BP2识别,导致RNA清除受损。这些结果表明,m⁶A修饰水平及其调控蛋白参与卵子发生的各个阶段。图中红色向上箭头代表组蛋白修饰水平的升高,蓝色向下箭头表示m⁶A相关调控因子表达水平或相关组蛋白修饰水平的降低,红色叉号代表阻碍该项进程。

m⁶A modification plays a key regulatory role in the process of oogenesis. METTL3-dependent m⁶A modification affects oocyte maturation and maternal RNA degradation. Deletion of YTHDC1 leads to alternative splicing defects in oocytes. Specific defects of KIAA1429 in oocytes affect exon skipping events of genes associated with oogenesis. All of these events lead to abnormal follicular development and RNA metabolism arrest in oocytes. Reducing the m⁶A modification level in oocytes leads to alterations in histone methylation levels, subsequently affecting spindle assembly and chromosome alignment, ultimately resulting in the blockade of meiosis. The deletion of ALKBH5 affects the timely degradation of maternal RNA, and the specific mechanism is that a unique subset of m⁶A peak transcripts is recognized by IGF2BP2, resulting in impaired RNA clearance. These results suggest that the level of m⁶A modification and their regulatory proteins are involved in various stages of oogenesis. In the figure, the red up-arrow indicates the increase of histone modification level, blue down-arrow indicates reduced levels of expression of m⁶A-related regulators or associated histone modifications, and the red cross indicates the obstruction of the process.

图2 RNA m⁶A修饰对卵子发生的调控

Fig.2 The regulatory role of RNA m⁶A modification in oogenesis

mRNA m⁶A影响RNA加工与代谢。m⁶A修饰可对RNA的加工和代谢[包括AS、选择性聚腺苷酸化(alternative polyadenylation, APA)、RNA的转录、输出、降解等]产生广泛影响^[9]。随着信息组检测技术的快速发展, XIAO等^[14]已绘制出人类胎儿多组织m⁶A修饰图谱, 并发现不同组织间存在显著的m⁶A修饰差异, 这表明m⁶A与维持胎儿发育期间基因组稳态密切相关。在卵子发生过程中, m⁶A对于雌性生殖细胞的分化至关重要, 确保了雌性特异性基因*Sxl*(sex-lethal)的适当剪接^[15]。QI等^[16]对非洲爪蟾GV(germinal vesicle)期和MII(meiosis final)期卵母细胞中的mRNA进行了m⁶A修饰的测序, 结果表明m⁶A修饰在卵母细胞的细胞翻译和细胞分裂中发挥着关键作用。

METTL3作为m⁶A甲基化转移酶复合体的重要组成成员, 其缺失或异常表达会对细胞内RNA的m⁶A水平产生重要影响。在哺乳动物中, 卵母细胞的成熟过程伴随着母体RNA的翻译激活和降解, 包括减数分裂后GV、生发囊泡破裂(germinal vesicle breakdown, GVBD)以及两个连续的中期[MI(meiosis initial)和MII]阶段。在斑马鱼中, *Mettl3*缺失导致卵母细胞在早期发育停滞, 并降低了生育能力^[17]。在红粉甲虫中, *Mettl3*敲低影响了雌虫卵子数量和质量^[18]。敲低小鼠GV期卵母细胞中的*Mettl3*会破坏卵母细胞的成熟和早期胚胎发育^[19]。同时, m⁶A修饰在GV期卵母细胞中倾向于优先降解RNA, 而在MII期卵母细胞中, m⁶A修饰则促进了转录及翻译过程^[20]。这些研究表明, *Mettl3*依赖的m⁶A修饰影响卵母细胞的成熟和母体RNA的降解。

脊椎动物的YTH家族蛋白可分为: YTHDF家族、YTHDC1和YTHDC2。YTHDF家族则由三个同源蛋白YTHDF1、YTHDF2和YTHDF3组成。YTH家族蛋白均具备YTH结构域, 通过识别和结合m⁶A修饰, 影响mRNA命运^[21]。研究表明, YTHDF1和YTHDF3能够提高其靶基因mRNA的翻译效率, 而YTHDF2降低这些mRNA的稳定性^[22]。在斑马鱼中, 3种YTHDFs均被证实可与母体mRNA结合, 引发m⁶A修饰的衰减^[23]。在卵母细胞和早期胚胎发育中, 脱腺苷化(deadenylation)会抑制mRNA的翻译^[24]。研究表明在斑马鱼的卵子发生和胚胎发育过程中, YTHDFs蛋白具有冗余功能, *Ythdf2*和*Ythdf3*的单独缺失并不会影响母源性mRNA的整体降解, 但m⁶A修饰促进了这些mRNA脱腺苷化, 脱腺苷化的mRNA与miR-430相互作用, 共同促进特定转录物的降解^[25-26]。研究发现*Ythdc1*的缺失导致小鼠

卵母细胞中广泛的选择性聚腺苷化, 改变3'UTR长度, 并引发大量的可变剪切缺陷, 从而导致卵母细胞发育在初级卵母期受到阻碍^[27]。

小鼠卵母细胞中*Kiaa1429*的特异性缺陷可降低小鼠卵母细胞的m⁶A水平, 并影响与卵子发生相关基因外显子跳跃事件, 导致卵泡发育异常和GV期卵母细胞的RNA代谢阻滞^[28]。IGF2BP(insulin-like growth factor-2 mRNA-binding protein)蛋白作为一种新的m⁶A识别蛋白, 有助于增加mRNA的稳定性, 进而调控其表达^[29]。*Igf2bp3*对斑马鱼母体mRNA的稳定性起着重要调节作用。母体*Igf2bp3*的缺失在MZT(maternal-to-zygotic transition)之前破坏母体mRNA的稳定性, 引发细胞骨架结构异常和细胞分裂异常, 导致严重的发育缺陷^[30]。

综上所述, m⁶A修饰水平以及m⁶A调控蛋白通过影响卵母细胞母体RNA的降解、相关靶基因的翻译以及可变剪切等过程, 从而调控卵子发生进程。

RNA m⁶A修饰对卵母细胞减数分裂和染色质开放的影响。近年来研究发现RNA上的m⁶A表观遗传修饰在卵母细胞减数分裂成熟过程中起着重要作用。m⁶A修饰可调节染色质全局状态和转录过程^[31]。对小鼠卵母细胞进行持续强光照射, 可降低卵母细胞中DNA和RNA的甲基化水平, 同时影响纺锤体组装和染色体排列, 从而损害减数分裂成熟及卵母细胞发育能力^[32]。甲基化抑制剂(环亮氨酸)可显著降低猪卵母细胞m⁶A甲基化修饰, 并干扰染色体排列、破坏纺锤体形成, 导致减数分裂阻滞^[33-34]。同样, 在小鼠GV期卵母细胞中微量注射*Mettl3*特异性小干扰RNA下调m⁶A甲基化修饰可导致纺锤体组装受损和第一极体排出障碍^[35]。研究还表明, 条件性敲除小鼠卵母细胞*Mettl3*, 阻滞了细胞周期, 并诱发了卵母细胞成熟和减数分裂相关的母体mRNA丰度下调。*Mettl3*也可靶向作用于*Itsn2*进行m⁶A修饰, 增强其稳定性, 加速卵母细胞成熟和减数分裂^[36]。此外, *Alkbh5*敲除小鼠卵母细胞出现严重的减数分裂缺陷, 引发雌性不育。研究发现*Alkbh5*敲除后MII期卵母细胞中m⁶A异常富集, 并在*Alkbh5*敲除卵母细胞中观察到RNA积累, 揭示了*Alkbh5*介导m⁶A水平提升在母体RNA降解中发挥促进作用^[37]。

综上, m⁶A修饰及其调控蛋白可通过作用于卵母细胞减数分裂相关母体mRNA稳定性、染色质排列和纺锤体组装过程, 影响卵母细胞的发育和成熟

过程。

RNA m⁶A修饰与卵母细胞组蛋白修饰相互串扰。组蛋白修饰在卵子发生过程中扮演着关键角色。研究发现,在秀丽隐杆线虫卵子发生到胚胎发生的转变过程中,多数组蛋白修饰(除H3K4me3外)保持相对稳定的状态。在母体-胚胎转化期间,H3K4me2和H3K4me3修饰在基因组上发生广泛重塑。这种重塑有两方面:H3K4me2/3变化富集的基因集,以及H3K4me2/3在基因间的具体分布模式从广泛的“基因体”模式转变为集中在启动子处的积累^[38]。研究发现卵母细胞中的H3K4me3具有独特的结构,即在启动子和大量远端位点处以宽峰形式存在一种非规范形式的H3K4me3(ncH3K4me3)^[39]。ncH3K4me3在2细胞晚期胚胎中重编程为典型的H3K4me3,该过程依赖于合子转录发生。这提示ncH3K4me3可能对卵子发生过程中的基因组沉默发挥重要作用^[40]。近期研究表明,卵母细胞的转录静止状态可能与H3K4me3和H3K9me3共存密切相关^[41]。H3K4me3修饰的增加通常被认为是转录激活的标志,而H3K9me3与细胞命运改变和基因表达抑制有关。在孤雌胚胎发育过程中,环亮氨酸可降低RNA m⁶A、H3K4me3和H3K9me3水平,并上调H4K16的乙酰化修饰水平^[34]。近期一项研究表明,通过下调H3K27me3能够有效地促进雌性生殖系干细胞存活。这些雌性生殖系干细胞可以在体外成功分化为功能卵母细胞^[42]。对小鼠进行持续恒定光干扰后,小鼠卵母细胞中m⁶A RNA甲基化水平和H3K4me2组蛋白甲基化水平降低,同时H3K27me2组蛋白甲基化水平上调^[32]。另一项研究表明,抗坏血酸可重塑DNA、RNA和组蛋白的甲基化状态,从而促进猪卵母细胞的成熟和发育。抗坏血酸可降低成熟卵母细胞中m⁶A和组蛋白H3K27me3的修饰水平,同时增加组蛋白H3K4me3和H3K36me3的修饰水平^[43]。因此,m⁶A修饰与组蛋白修饰可形成相互干扰模式,并通过精准调控卵母细胞发育的相关基因来影响卵子发生进程。

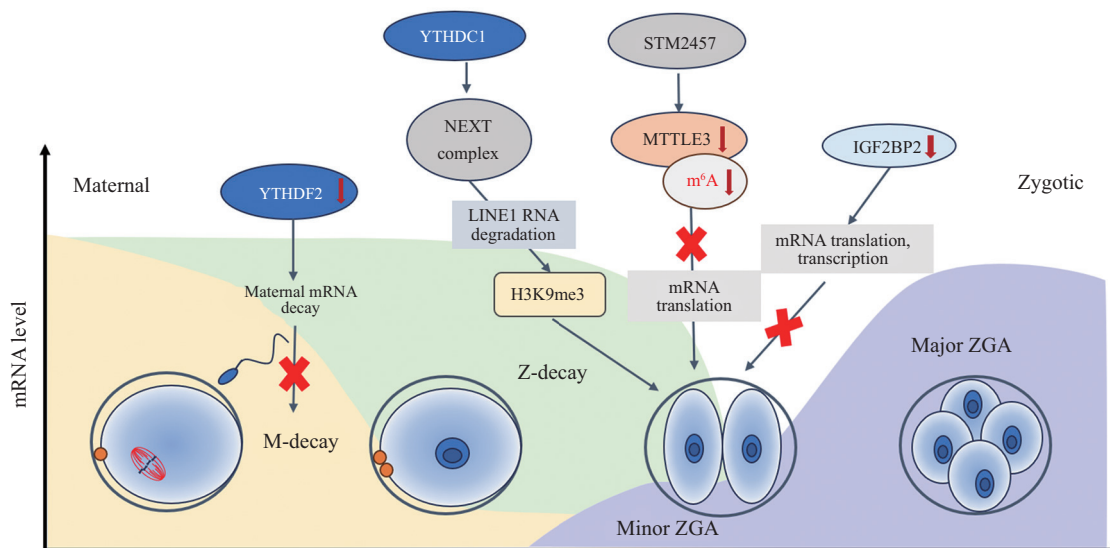
RNA m⁶A修饰稳定卵母细胞线粒体结构与功能。在多数哺乳动物胚胎着床前,线粒体处于静息状态。直到胚胎发育至囊胚阶段,线粒体激活其自身功能,为胚胎发育提供所需的能量。线粒体的遗传信息主要由母体传递。因此,线粒体的数量和活性会随着胚胎发育的进程而发生变化。线粒体结构和功能的异常可能会导致卵子和胚胎质量下降。哺

乳动物的线粒体活性对于卵母细胞成熟至关重要。线粒体功能障碍导致卵母细胞减数分裂缺陷和发育延迟^[44]。研究发现持续恒定光干扰不仅导致小鼠卵母细胞中RNA的m⁶A甲基化水平降低,也可造成卵母细胞中过度积累ROS,导致线粒体数量和ATP水平显著下降^[32]。同时,使用甲基化抑制剂处理猪卵母细胞可增加线粒体活性氧的产生量,致使卵母细胞成熟受阻^[34]。IME4(inducer of meiosis 4)是酵母菌的m⁶A甲基转移酶,研究表明酵母菌缺失IME4会导致线粒体断裂^[45]。

2.1.3 RNA m⁶A修饰对MZT机制的调控 成熟卵母细胞在转录上通常处于沉默状态。然而,在受精卵分裂到特定发育阶段(小鼠为2细胞晚期,人类为8细胞时期)时,合子基因组的转录激活(zygotic genome activation, ZGA)被启动。与此同时,大量母源mRNA开始降解,最终实现MZT,母源mRNA的降解是哺乳动物卵母细胞向受精卵发展的关键步骤。合子基因组的激活通常经历两个主要阶段,即初级ZGA和主要ZGA。初级ZGA倾向于转录一小部分基因和一些重复序列,而主要ZGA则表现为大量基因的正常激活^[46]。此外,已经证明mRNA的甲基化修饰在母源RNA的不稳定性中起着关键作用^[47](图3)。

m⁶A修饰对mRNA稳定性的影响。MZT过程中母源mRNA的降解是一个连续过程,包括母源mRNA的稳定储存、翻译激活和降解。这些mRNA的降解通过2种模式完成,一种依赖于母体转录本(被称为M衰变),而另一种依赖于合子转录(被称为Z衰变)。最近研究发现,m⁶A在MZT中可维持小鼠Z衰变mRNA的稳定性,并促进2细胞期特异性mRNA的衰变^[48]。抑制m⁶A形成的Mettl3抑制剂STM2457可导致胚胎2细胞期发育异常、囊胚形成延迟和分化缺陷^[48]。另一项研究表明^[19],Mettl3作为母源效应基因,其敲除会导致小鼠2细胞期胚胎中母源mRNA的整体翻译效率降低,并增加2细胞阻滞率,降低2细胞期整体转录活性,从而影响胚胎基因组的激活。

研究人员通过多组学分析小鼠MZT过程中m⁶A修饰的动态变化^[49],发现m⁶A修饰可通过母系遗传或受精作用获得。母源mRNA上的m⁶A修饰不仅与mRNA降解相关,还可维持部分mRNA的稳定性,从而促进它们在受精后的翻译。YTHDC1和YTHDF2是在小鼠着床前发育中起着重要作用的m⁶A识别蛋白,研究发现斑马鱼^[50]母源mRNAs中超过三分



m⁶A修饰在母体到合子的转变过程中也起着关键的调控作用, m⁶A在MZT中维持小鼠Z衰变mRNA的稳定性, 并促进2细胞期特异性mRNA的衰变。YTHDF2的减少会阻碍母源mRNA的降解。YTHDC1通过NEXT复合物介导的核降解促进这些m⁶A修饰的LINE1元件的衰变。IGF2BP2的缺失影响2细胞期mRNA的翻译和转录。而METTL3和IGF2BP2的敲除会降低2细胞期母源mRNA翻译效率。这些研究证实, m⁶A修饰水平及其调控因子在MZT过程中对母体mRNA的稳定性具有关键的调控作用, 并影响正常的MZT进程。图中红色向下箭头表示m⁶A相关调控因子表达水平以及m⁶A修饰水平的降低, 红色叉号代表阻碍该项进程。

m⁶A modification plays a key regulatory role in the transition from maternal to zygote, and m⁶A maintains the stability of Z-decay mRNA in mouse MZT, and promotes the decay of specific mRNA in the 2-cell stage. Reduction of YTHDF2 hinders the degradation of maternal mRNA. YTHDC1 promotes the decay of these m⁶A-modified LINE1 elements through NEXT complex-mediated nuclear degradation. Deletion of IGF2BP2 affects the translation and transcription of mRNA at the 2-cell stage. However, the knockout of METTL3 and IGF2BP2 reduces the translation efficiency of maternal mRNA at the 2-cell stage. These studies confirm that the level of m⁶A modification and its regulators are critical regulators of maternal mRNA stability during MZT and affect normal MZT progression. In the figure, the red down-arrow indicates the reduction of the expression level of m⁶A related regulators and the level of m⁶A modification, and the red cross represents the obstruction of the process.

图3 RNA m⁶A修饰对母源合子转变的调控

Fig.3 The regulatory role of RNA m⁶A modification in maternal-to-zygotic transition

之一可被m⁶A修饰, 发生m⁶A修饰的母源mRNAs由YTHDF2识别并促进降解。当去除 $Ythdf2$ 时, m⁶A修饰的母源mRNA的降解会减速, 从而阻碍ZGA进程。这些结果表明, YTHDFs可通过m⁶A修饰调控MTZ过程中mRNA的稳定性。另一项研究指出, $Igf2bp2$ 在小鼠卵母细胞和早期胚胎中高度表达, 小鼠母体 $Igf2bp2$ 的缺失会导致90%的胚胎在体外2细胞时期发育停滞, 而添加 $Igf2bp2$ 激动剂可以部分挽救胚胎发育阻滞^[51]。

综上所述, m⁶A修饰水平及其调控因子在MZT过程中对mRNA的稳定性具有关键的调控作用, 并影响卵母细胞和早期胚胎正常发育。

RNA m⁶A修饰对染色质可及性和组蛋白修饰的影响。精子和卵母细胞在染色质表观修饰状态上存在显著差异。受精后, 受精卵通过染色质重塑、基因组空间重组和转录变化等方式恢复其全能性。在着床前胚胎发育过程中, H3K4三甲基化通常与转录激

活相关, H3K27三甲基化则与调控异染色质相关, 而H3K27乙酰化则与染色质开放状态相关^[39-40, 52-53]。

近期研究表明, 在mESCs(mouse embryonic stem cells)中 Fto 可介导长分散元件1(long interspersed nuclear element 1, $LINE1$)的m⁶A去甲基化作用, 调控 $LINE1$ 的丰度和局部染色质状态, 从而影响mESCs的增殖、分化及胚胎发育^[54]。此外, 染色质相关调控RNA(chromosome-associated regulatory RNA, carRNA)的m⁶A修饰也在调节染色质状态和转录中发挥关键作用。mESCs核内m⁶A识别蛋白 $Ythdc1$ 在维持和诱导早期胚胎发育中发挥重要作用。 $Ythdc1$ 的缺失可减弱 Ncl (Nucleolin)对 $LINE1$ 的结合, 并抑制 $LINE1$ 复合物对 $Kap1$ 的招募, 导致H3K9me3建立受阻^[55]。当敲除mESCs中的 $Mettl3$ 或 $Ythdc1$ 时, 染色质的可及性增强, 并通过m⁶A依赖的方式激活转录。 $Mettl3$ 在mESCs染色质相关RNA[启动子相关RNA、增强子RNA(enhancer RNA, eRNA)和重复RNA]上沉

积m⁶A修饰,由*Mettl3*缺失而导致carRNAs的特异性m⁶A位点去甲基化则可以提高carRNAs的水平,从而促进染色质开放以及下游基因转录^[31]。

综上,m⁶A修饰水平及其调控因子通过调节表观修饰重塑过程来影响胚胎发育。

m⁶A修饰调控转座元件活性。非编码RNA以及内源性逆转录病毒或重复元件(转座子或重复元件)的转录本在MZT的调控中发挥关键作用。在着床前的胚胎中,内源性逆转录病毒或重复元件表现出阶段动态的特异性表达^[56]。*LINE1*在小鼠中调节早期胚胎中的染色质可及性,并抑制2细胞发育程序^[57]。研究表明m⁶A修饰在卵母细胞和ZGA阶段有着不同的调控功能,m⁶A修饰维持卵母细胞中母源RNA的稳定性,以及受精后短暂表达转录本的及时降解。研究首次发现,在非编码转录本中有大量m⁶A修饰存在于转座子RNA上。其中,母源的转座子*MTA*和2细胞期特异性表达的转座子*Mervl*具有高度的m⁶A修饰富集^[48]。*Ythdc1*的缺失可导致2细胞期的相关逆转录转座子位点转录去抑制化,*Ythdc1*通过NEXT复合物介导的核降解促进m⁶A修饰RNA(特别是*LINE1*元件家族)的降解^[31]。

2.2 RNA m⁵C甲基化修饰

RNA m⁵C修饰与多种生物过程(如DNA损伤修复、细胞增殖和迁移、干细胞的发育、分化和重编程等)密切相关。此外,最近的研究揭示了m⁵C在RNA加工中的多种分子功能,包括对mRNA输出、RNA稳定性和翻译等过程的调控。值得关注的是,RNA m⁵C修饰在卵子发生和胚胎发育中具有重要作用。

2.2.1 m⁵C修饰调控因子类型 5-甲基胞嘧啶(m⁵C)是一种广泛存在于多种RNA中的修饰,包括核糖体RNA(ribosomal RNA, rRNA)、转运RNA(transfer RNA, tRNA),以及mRNA、eRNA和一些非编码RNA^[58]。在真核生物中,NOL1/NOP2/SUN结构域(NOL1/NOP2/SUN domain, NSUN)家族酶以及DNA甲基转移酶同源物*DNMT2*作为RNA m⁵C修饰主要的甲基转移酶。NSUN家族包括NSUN1~7,其中NSUN2主要在细胞质中调节tRNA修饰,NSUN1和NSUN5参与28S RNA修饰,NSUN3调节线粒体tRNA m⁵C修饰,NSUN4调节线粒体rRNA修饰,而NSUN7与mRNA转录调控相关^[59]。m⁵C修饰的识别蛋白包括ALYREF和YBX1^[60-61]。

2.2.2 m⁵C修饰调控卵子发生机制 以小鼠、人、

斑马鱼、果蝇、热带爪蟾和非洲爪蟾为发育动物模型,在不同发育阶段绘制mRNA m⁵C图谱发现主要由NSUN2和NSUN6催化母体mRNA发生趋同或差异的甲基化。母体mRNA m⁵C修饰丢失可导致胚胎表现为细胞周期延迟,MZT转变延迟等现象^[62]。研究显示*Nsun5*^[63]的缺失阻碍了卵泡的发生和发育,敲除*Nsun5*基因的卵母细胞GVBD和MII阶段成熟率显著低于野生型,导致胚胎发育迟缓,囊胚形成率降低。此外,*Nsun5*敲除还增加了卵母细胞纺锤体和染色体缺陷的发生率。m⁵C修饰缺失降低了*Mad2l2*和*Gdf9*的翻译效率导致其蛋白水平降低,从而对母体mRNA的稳定性产生影响。此外,*Nsun5*敲除引发了卵巢中*Brd8*外显子区域的异常事件。另一项研究发现,一种被称为PyNSUN2的NSUN2同源物稳定了疟原虫的mRNA,参与了疟原虫配子体的发育^[64]。进一步研究表明,核糖体RNA m⁵C甲基转移酶NSUN1对秀丽隐杆线虫卵子发生具体调控作用。*Nsun1*缺失可导致翻译重塑,影响细胞稳态并引起高度特异性的发育缺陷,包括卵母细胞成熟失败^[65]。Y-box结合蛋白1(Y-box binding protein 1, YBX1)是一种RNA结合蛋白,参与前体mRNA剪接、mRNA的成熟和翻译调控^[66]。研究发现*Ybx1*作为全局翻译抑制因子,其母体*Ybx1*的缺失导致斑马鱼卵子激活和早期胚胎发育严重缺陷^[67]。另外,YBX1还参与山羊胚胎的选择性剪接和母体mRNA的降解^[68]。在猪单细胞胚胎中,*Ybx1*的缺失抑制母源基因降解和ZGA基因产生,导致囊胚百分比降低^[69]。*Ybx1*的敲低通过降低组蛋白修饰如H3K9ac、H3K27ac和H3K4me2,从而促进ZGA期间的基因转录。此外,研究发现H3K27ac在*Ybx1*启动子中高度富集,促进了*Ybx1* mRNA转录和YBX1蛋白质翻译^[70]。研究发现斑马鱼中母源*Ybx1*对抑制卵母细胞和胚胎的全局翻译至关重要,母源*Ybx1*基因缺失导致卵母细胞成熟和卵子活化受损。母源*ybx1*(*maternal ybx1*, *Mybx1*)突变胚胎不能进行正常的卵裂和MZT^[67]。在果蝇研究中,*YPS*作为YBX1的同源物通过优先结合含m⁵C修饰的RNA促进卵巢生殖系干细胞的维持、增殖和分化^[71]。

综上所述,m⁵C甲基化修饰也表现出与m⁶A相似的调控机制,m⁵C修饰水平及其调控因子可以通过影响卵母细胞母体mRNA稳定、染色质排列以及RNA加工、翻译和剪切过程来调控卵子发生进程。

2.3 RNA m⁷G甲基化修饰调控卵子发生机制

N⁷-甲基鸟苷(m⁷G)修饰广泛分布在mRNA、

tRNA和rRNA中,在调节RNA加工、代谢和功能中具有关键作用。 m^7G 修饰甲基转移酶(methyltransferase)家族成员包括METTL1-WDR4甲基转移酶复合体、RNA鸟嘌呤-7甲基转移酶(RNA guanine-7 methyltransferase, RNMT)和Williams-Beuren综合征染色体22区蛋白(Williams-Beuren syndrome chromosomal region 22 protein, WBSCR22)等。然而,负责 m^7G 修饰的去甲基化酶和特异性识别蛋白目前尚不清楚。研究显示,在非洲爪蟾卵母细胞成熟过程中,细胞质中鸟嘌呤-7-甲基转移酶的活性增加,并且在卵母细胞成熟过程中,mRNA的5'加帽结构和3'端多聚A尾的 N^7 甲基协同促进翻译^[72]。

2.4 RNA m^1A 甲基化修饰调控卵子发生机制

m^1A 是真核生物tRNA和rRNA中丰度较高的一种转录后修饰,与 m^6A 同属一类异构体。研究揭示了 m^1A 去甲基化酶ALKBH3通过去除纤毛生成的主要抑制因子Aurora A mRNA的 m^1A 修饰,从而增加其稳定性并增强其翻译,最终抑制脊椎动物纤毛生成和胚胎发育^[73]。

3 多种RNA修饰调控卵子发生机制

随着表观转录组学研究的不断深入,一些非甲基化形式的RNA修饰(如 Ψ 修饰、乙酰化修饰、羟甲基化修饰、肌苷修饰等)也被报道参与调控卵子发生过程。

3.1 Ψ 修饰调控卵子发生机制

假尿嘧啶(Ψ)广泛存在于真核生物RNA如rRNA、mRNA、tRNA和小核RNA(small nuclear RNA, snRNA)中。 Ψ 由尿苷通过碱基异构化反应而衍生,这个反应被称为假尿嘧啶化。mRNA的 Ψ 修饰是由假尿嘧啶合成酶(pseudouridine synthases, PUSs)催化产生,PUSs促使尿嘧啶核苷酸(U)化学结构发生改变,形成假尿嘧啶核苷酸。PUSs主要分为2种,一种是不需要辅助因子的独立型PUSs,另一种是需要辅助因子的小核仁RNA(small nucleolar RNA, snoRNA)依赖型PUSs。研究报道,在非洲爪蟾卵母细胞中,由于剪切因子U2AF65无法识别 Ψ 修饰的多聚嘧啶序列,导致前体mRNA可变剪切发生缺陷^[74]。

此外,催化rRNA假尿苷化的H/ACA盒复合体成员核仁蛋白家族A成员(H/ACA ribonucleoprotein complex subunit 2, NHP2)蛋白缺失,会导致雌性果蝇生殖干细胞有丝分裂异常,引发4细胞和

8细胞囊泡的阻滞、但不会影响其发育为正常16细胞囊泡。这表明 Ψ 可能参与雌性生殖干细胞的分化^[75-76]。

3.2 乙酰化修饰调控卵子发生机制

真核生物的RNA乙酰化修饰主要为 N^4 -乙酰胞苷(N^4 -acetylcytidine, ac^4C)。 ac^4C 通常被定义为一种保守的、经过化学修饰的核苷,首先被发现并证明存在于tRNA和rRNA上,可精准参与调控蛋白质合成中的编码过程;此外, ac^4C 同样被发现存在于人类和酵母基因组的mRNA中,并主要出现在编码序列上,通过提高mRNA稳定性与其翻译效率调控靶基因表达^[77]。 N -乙酰基转移酶10(N -acetyltransferase 10, NAT10)作为组蛋白乙酰化转移酶GCN5相关 N -乙酰基转移酶(GCN5-related N -acetyltransferases family, GNAT)家族的成员,同时具有乙酰化酶结构域和RNA结合结构域,能够催化rRNA、tRNA和mRNA产生 ac^4C 修饰。研究发现,NAT10是小鼠卵母细胞发育所必需的。NAT10可通过介导 ac^4C 修饰,调控CCR4-NOT复合体中主要基因的表达,影响初级卵泡发育及卵母细胞成熟过程,其缺失可导致小鼠卵巢早衰^[78]。

3.3 肌苷修饰调控卵子发生机制

肌苷(inosine)修饰是由腺苷脱氨产生的RNA修饰,可由RNA的腺苷脱氨酶(adenosine adenosine deaminase acting on RNA, ADAR)家族来催化完成^[79]。在脊椎动物中已知的ADARs有3种,ADAR1、ADAR2(均显示催化活性)^[80],以及ADAR3(其酶活性尚未报道)^[81]。人和小鼠卵母细胞RNA均含有肌苷修饰^[82-83]。由于肌苷优先与胞苷碱基进行配对,肌苷碱基错配可影响各种细胞功能。同时,肌苷修饰可重新编码RNA,影响密码子、剪接位点、RNA二级结构和RNA识别基序^[84]。文献报道,Adar1的缺失会导致小鼠胚胎死亡以及多器官发育缺陷^[85]。在卵子发育过程中,与出生后12天小鼠的卵母细胞相比,发育成熟的GV期和MII期卵母细胞包含的RNA肌苷修饰更为丰富^[86],并特异性富集于mRNA蛋白编码区,提示肌苷修饰可能最终通过改变密码子的功能来影响母本mRNA的稳定性。除此以外,敲除Cnot6l会减少小鼠卵母细胞中RNA肌苷修饰,导致MI时期卵母细胞中母源性mRNA的降解异常^[87],影响母源-合子转换过程中的转录本清除,从而调控胚胎发育。因此,在卵母细胞成熟过程中存在一种新的、与肌苷修饰密切相关的母源性mRNA清除机制。

4 结论和展望

RNA修饰是表观遗传学的重要组成部分,是一个新兴发展的研究领域。在卵子发生和胚胎发育过程中,表观遗传学调控基因有序表达, RNA修饰发挥着不可或缺的作用,研究证明异常的RNA修饰会导致雌性生殖疾病发生、胚胎发育阻滞并影响子代健康。目前不同RNA修饰类型在雌性生殖领域的研究还处于起步阶段。本文总结了 m^6A 、 m^5C 、 m^1A 、 m^7G 、 ac^4C 、 hm^5C 、 Ψ 、肌苷编辑等8种RNA修饰,通过改变RNA分子的化学结构,对基因组功能和稳定性产生影响从而调控卵子发生的过程。 m^6A 作为目前研究最多的RNA修饰,被证明参与调控卵子发生和MZT过程。 m^6A 调控器可通过影响 m^6A 修饰水平,破坏卵子发生过程中基因组信息的稳态,影响mRNA的稳定性,并导致卵母细胞发育缺陷。机制研究发现, m^6A 修饰能全局调节染色质状态和转录,且 m^6A 修饰的减少影响卵母细胞染色体排列以及纺锤体组装,从而妨碍减数分裂进程,进而损害卵母细胞减数分裂及成熟。

然而,目前我们对于RNA修饰与卵子发生之间的关系解析还十分局限。需深入研究不同类型的RNA修饰在卵子发生中的具体功能和调控机制,来完善充实理论依据。随着单细胞技术和高通量测序技术的发展,研究者可以高效、精准地解读RNA修饰在卵子发生中的基因组信息,以及探索时空动态环境下RNA修饰的丰度及其协同作用机制。未来的研究方向可以通过联合应用RNA修饰和空间转录组测序方案,深入地探索RNA修饰的分布模式和调控机制,揭示RNA修饰与卵子发生之间的关系。本综述着重分析了RNA表观修饰的共转录调控关系,发现在卵子发生的过程中, RNA修饰和其他表观遗传修饰可能存在复杂的相互作用和调控网络。另外,可将RNA修饰应用到临床辅助生殖技术中。在临床实践中,随着不孕不育症样本库的建立与完善, RNA修饰检测手段可与样本库相互结合,加速解析RNA表观修饰调控的精准靶向作用方式,从预防及治疗方面更好地帮助患者解决生殖健康问题。

综上所述, RNA修饰在卵子发生中起着重要的调控功能,对于RNA修饰与卵子发生之间详细的调控机制还需进一步的研究。本综述为探索RNA修饰与卵子发生之间的关系提供了理论参考,为临床生殖健康疾病的防治和筛查提供了新思路。

参考文献 (References)

- [1] ROUNDTREE I A, HE C. RNA epigenetics: chemical messages for posttranscriptional gene regulation [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2016, 30: 46-51.
- [2] ROUNDTREE I A, EVANS M E, PAN T, et al. Dynamic RNA modifications in gene expression regulation [J]. *Cell*, 2017, 169(7): 1187-200.
- [3] EL YACOUBI B, BAILLY M, DE CRÉCY-LAGARD V. Biosynthesis and function of posttranscriptional modifications of transfer RNAs [J]. *Annu Rev Genet*, 2012, 46: 69-95.
- [4] KARIJOLICH J, KANTARTZIS A, YU Y T. RNA modifications: a mechanism that modulates gene expression [J]. *Methods Mol Biol*, 2010, 629: 1-19.
- [5] OHIRA T, MINOWA K, SUGIYAMA K, et al. Reversible RNA phosphorylation stabilizes tRNA for cellular thermotolerance [J]. *Nature*, 2022, 605(7909): 372-9.
- [6] DESROSIERS R, FRIDERICI K, ROTTMAN F. Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikoff hepatoma cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, 71(10): 3971-5.
- [7] WEI C M, MOSS B. Nucleotide sequences at the m^6 -methyladenosine sites of hela cell messenger ribonucleic acid [J]. *Biochemistry*, 1977, 16(8): 1672-6.
- [8] CSEPANY T, LIN A, BALDICK C J JR, et al. Sequence specificity of mRNA N^6 -adenosine methyltransferase [J]. *J Biol Chem*, 1990, 265(33): 20117-22.
- [9] ZHAO L Y, SONG J, LIU Y, et al. Mapping the epigenetic modifications of DNA and RNA [J]. *Protein Cell*, 2020, 11(11): 792-808.
- [10] GARCIA MORALES D, REYES J L. A birds'-eye view of the activity and specificity of the mRNA m^6A methyltransferase complex [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2021, 12(1): e1618.
- [11] JIA G, FU Y, ZHAO X, et al. N^6 -methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO [J]. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(12): 885-7.
- [12] ZHENG G, DAHL J A, NIU Y, et al. Alkbh5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility [J]. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 18-29.
- [13] SLAIDINA M, LEHMANN R. Translational control in germline stem cell development [J]. *J Cell Biol*, 2014, 207(1): 13-21.
- [14] XIAO S, CAO S, HUANG Q, et al. The RNA N^6 -methyladenosine modification landscape of human fetal tissues [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(5): 651-61.
- [15] HAUSSMANN I U, BODI Z, SANCHEZ-MORAN E, et al. m^6A potentiates Sxl alternative pre-mRNA splicing for robust drosophila sex determination [J]. *Nature*, 2016, 540(7632): 301-4.
- [16] QI S T, MA J Y, WANG Z B, et al. N^6 -methyladenosine sequencing highlights the involvement of mRNA methylation in oocyte meiotic maturation and embryo development by regulating translation in xenopus laevis [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(44): 23020-6.
- [17] XIA H, ZHONG C, WU X, et al. Mettl3 mutation disrupts gamete maturation and reduces fertility in zebrafish [J]. *Genetics*, 2018, 208(2): 729-43.
- [18] JIAO Y, PALLI S R. N^6 -adenosine (m^6A) mRNA methylation is required for tribolium castaneum development and reproduction [J]. *Insect Biochem Mol Biol*, 2023, 159: 103985.

- [19] SUI X, HU Y, REN C, et al. Mettl3-mediated m⁶A is required for murine oocyte maturation and maternal-to-zygotic transition [J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(4): 391-404.
- [20] YAO H, GAO C C, ZHANG D, et al. scm⁶A-seq reveals single-cell landscapes of the dynamic m⁶A during oocyte maturation and early embryonic development [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 315.
- [21] PATIL D P, PICKERING B F, JAFFREY S R. Reading m⁶A in the transcriptome: m⁶A-binding proteins [J]. *Trends Cell Biol*, 2018, 28(2): 113-27.
- [22] HSU P J, ZHU Y, MA H, et al. Ythdc2 is an N⁶-methyladenosine binding protein that regulates mammalian spermatogenesis [J]. *Cell Res*, 2017, 27(9): 1115-27.
- [23] DESPIC V, DEJUNG M, GU M, et al. Dynamic RNA-protein interactions underlie the zebrafish maternal-to-zygotic transition [J]. *Genome Res*, 2017, 27(7): 1184-94.
- [24] XIONG Z, XU K, LIN Z, et al. Ultrasensitive ribo-seq reveals translational landscapes during mammalian oocyte-to-embryo transition and pre-implantation development [J]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(6): 968-80.
- [25] KONTUR C, JEONG M, CIFUENTES D, et al. Ythdf m⁶A readers function redundantly during zebrafish development [J]. *Cell Rep*, 2020, 33(13): 108598.
- [26] IVANOVA I, MUCH C, DI GIACOMO M, et al. The RNA m⁶A reader ythdf2 is essential for the post-transcriptional regulation of the maternal transcriptome and oocyte competence [J]. *Mol Cell*, 2017, 67(6): 1059-67.e4.
- [27] KASOWITZ S D, MA J, ANDERSON S J, et al. Nuclear m⁶A reader ythdc1 regulates alternative polyadenylation and splicing during mouse oocyte development [J]. *PLoS Genet*, 2018, 14(5): e1007412.
- [28] HU Y, OUYANG Z, SUI X, et al. Oocyte competence is maintained by m⁶A methyltransferase KIAA1429-mediated RNA metabolism during mouse follicular development [J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27(8): 2468-83.
- [29] HUANG H, WENG H, SUN W, et al. Recognition of RNA N⁶-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation [J]. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(3): 285-95.
- [30] REN F, LIN Q, GONG G, et al. Igf2bp3 maintains maternal RNA stability and ensures early embryo development in zebrafish [J]. *Commun Biol*, 2020, 3(1): 94.
- [31] LIU J, DOU X, CHEN C, et al. N⁶-methyladenosine of chromosome-associated regulatory RNA regulates chromatin state and transcription [J]. *Science*, 2020, 367(6477): 580-6.
- [32] ZHANG H, YAN K, SUI L, et al. Constant light exposure causes oocyte meiotic defects and quality deterioration in mice [J]. *Environ Pollut*, 2020, 267: 115467.
- [33] WANG Y K, YU X X, LIU Y H, et al. Reduced nucleic acid methylation impairs meiotic maturation and developmental potency of pig oocytes [J]. *Theriogenology*, 2018, 121: 160-7.
- [34] ZHANG M, ZHANG S, ZHAI Y, et al. Cycloleucine negatively regulates porcine oocyte maturation and embryo development by modulating N⁶-methyladenosine and histone modifications [J]. *Theriogenology*, 2022, 179: 128-40.
- [35] ZHU Y, WU W, CHEN S, et al. Mettl3 downregulation in germinal vesicle oocytes inhibits mRNA decay and the first polar body extrusion during maturation[†] [J]. *Biol Reprod*, 2022, 107(3): 765-78.
- [36] MU H, ZHANG T, YANG Y, et al. Mettl3-mediated mRNA N⁶-methyladenosine is required for oocyte and follicle development in mice [J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(11): 989.
- [37] BAI L, XIANG Y, TANG M, et al. Alkbh5 controls the meiosis-coupled mRNA clearance in oocytes by removing the N⁶-methyladenosine methylation [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6532.
- [38] MAZZETTO M, GONZALEZ L E, SANCHEZ N, et al. Characterization of the distribution and dynamics of chromatin states in the *C. elegans* germline reveals substantial h3k4me3 remodeling during oogenesis [J]. *Genome Res*, 2024, 34(1): 57-69.
- [39] DAHL J A, JUNG I, AANES H, et al. Broad histone H3K4me3 domains in mouse oocytes modulate maternal-to-zygotic transition [J]. *Nature*, 2016, 537(7621): 548-52.
- [40] ZHANG B, ZHENG H, HUANG B, et al. Allelic reprogramming of the histone modification H3K4me3 in early mammalian development [J]. *Nature*, 2016, 537(7621): 553-7.
- [41] SANKAR A, LERDRUP M, MANAF A, et al. KDM4A regulates the maternal-to-zygotic transition by protecting broad H3K4me3 domains from H3K9me3 invasion in oocytes [J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(4): 380-8.
- [42] WANG J, FANG J, FENG M, et al. Inhibition of eed activity enhances cell survival of female germline stem cell and improves the oocytes production during oogenesis *in vitro* [J]. *Open Biol*, 2023, 13(1): 220211.
- [43] YU X X, LIU Y H, LIU X M, et al. Ascorbic acid induces global epigenetic reprogramming to promote meiotic maturation and developmental competence of porcine oocytes [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 6132.
- [44] BABAYEV E, SELI E. Oocyte mitochondrial function and reproduction [J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2015, 27(3): 175-81.
- [45] YADAV P K, RAJASEKHARAN R. The m⁶A methyltransferase Ime4 and mitochondrial functions in yeast [J]. *Curr Genet*, 2018, 64(2): 353-7.
- [46] LIU B, XU Q, WANG Q, et al. The landscape of RNA Pol II binding reveals a stepwise transition during ZGA [J]. *Nature*, 2020, 587(7832): 139-44.
- [47] JIANG Y, ADHIKARI D, LI C, et al. Spatiotemporal regulation of maternal mRNAs during vertebrate oocyte meiotic maturation [J]. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 2023, 98(3): 900-30.
- [48] WU Y, XU X, QI M, et al. N⁶-methyladenosine regulates maternal RNA maintenance in oocytes and timely RNA decay during mouse maternal-to-zygotic transition [J]. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(6): 917-27.
- [49] ZHU W, DING Y, MENG J, et al. Reading and writing of mRNA m⁶A modification orchestrate maternal-to-zygotic transition in mice [J]. *Genome Biol*, 2023, 24(1): 67.
- [50] ZHAO B S, WANG X, BEADELL A V, et al. m⁶A-dependent maternal mRNA clearance facilitates zebrafish maternal-to-zygotic transition [J]. *Nature*, 2017, 542(7642): 475-8.
- [51] LIU H B, MUHAMMAD T, GUO Y, et al. RNA-binding protein IGF2BP2/IMP2 is a critical maternal activator in early zygotic genome activation [J]. *Adv Sci*, 2019, 6(15): 1900295.
- [52] LIU X, WANG C, LIU W, et al. Distinct features of H3K4me3 and H3K27me3 chromatin domains in pre-implantation embryos [J]. *Nature*, 2016, 537(7621): 558-62.
- [53] ZHENG H, HUANG B, ZHANG B, et al. Resetting epigenetic memory by reprogramming of histone modifications in mam-

- mals [J]. *Mol Cell*, 2016, 63(6): 1066-79.
- [54] WEI J, YU X, YANG L, et al. Fto mediates line1 m⁶A demethylation and chromatin regulation in mescs and mouse development [J]. *Science*, 2022, 376(6596): 968-73.
- [55] CHEN C, LIU W, GUO J, et al. Nuclear m⁶A reader ythdc1 regulates the scaffold function of line1 RNA in mouse escs and early embryos [J]. *Protein Cell*, 2021, 12(6): 455-74.
- [56] FRANKE V, GANESH S, KARLIC R, et al. Long terminal repeats power evolution of genes and gene expression programs in mammalian oocytes and zygotes [J]. *Genome Res*, 2017, 27(8): 1384-94.
- [57] JACHOWICZ J W, BING X, PONTABRY J, et al. Line-1 activation after fertilization regulates global chromatin accessibility in the early mouse embryo [J]. *Nat Genet*, 2017, 49(10): 1502-10.
- [58] REID R, GREENE P J, SANTI D V. Exposition of a family of RNA m⁵C methyltransferases from searching genomic and proteomic sequences [J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(15): 3138-45.
- [59] LIU Y, SANTI D V. m⁵C RNA and m⁵C DNA methyl transferases use different cysteine residues as catalysts [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(15): 8263-5.
- [60] YANG X, YANG Y, SUN B F, et al. 5-methylcytosine promotes mRNA export-NSUN2 as the methyltransferase and ALYREF as an m⁵C reader [J]. *Cell Res*, 2017, 27(5): 606-25.
- [61] CHEN X, LI A, SUN B F, et al. 5-methylcytosine promotes pathogenesis of bladder cancer through stabilizing mRNAs [J]. *Nat Cell Biol*, 2019, 21(8): 978-90.
- [62] LIU J, HUANG T, CHEN W, et al. Developmental mRNA m⁵C landscape and regulatory innovations of massive m⁵C modification of maternal mRNAs in animals [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 2484.
- [63] DING C, LU J, LI J, et al. RNA-methyltransferase NSUN5 controls the maternal-to-zygotic transition by regulating maternal mRNA stability [J]. *Clin Transl Med*, 2022, 12(12): e1137.
- [64] LIU M, GUO G, QIAN P, et al. 5-methylcytosine modification by *Plasmodium* NSUN2 stabilizes mRNA and mediates the development of gametocytes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2022, 119(9): e2110713119.
- [65] HEISSENBERGER C, ROLLINS J A, KRAMMER T L, et al. The ribosomal RNA m⁵C methyltransferase nsun-1 modulates healthspan and oogenesis in *Caenorhabditis elegans* [J]. *eLife*, 2020, 9: e56205.
- [66] LYABIN D N, ELISEEVA I A, OVCHINNIKOV L P. Yb-1 protein: functions and regulation [J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2014, 5(1): 95-110.
- [67] SUN J, YAN L, SHEN W, et al. Maternal Ybx1 safeguards zebrafish oocyte maturation and maternal-to-zygotic transition by repressing global translation [J]. *Development*, 2018, 145(19): dev166587.
- [68] DENG M, CHEN B, LIU Z, et al. Ybx1 mediates alternative splicing and maternal mRNA decay during pre-implantation development [J]. *Cell Biosci*, 2022, 12(1): 12.
- [69] JIANG W J, SUN M H, LI X H, et al. Y-box binding protein 1 influences zygotic genome activation by regulating N⁶-methyladenosine in porcine embryos [J]. *J Cell Physiol*, 2023, 238(7): 1592-604.
- [70] YANG H, PAN Y, ZHANG J, et al. LncRNA FOXD3-AS1 promotes the malignant progression of nasopharyngeal carcinoma through enhancing the transcription of YBX1 by H3K27ac modification [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 715635.
- [71] 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.
- [72] GILLIAN-DANIEL D L, GRAY N K, ASTRÖM J, et al. Modifications of the 5' cap of mRNAs during xenopus oocyte maturation: independence from changes in poly(A) length and impact on translation [J]. *Mol Cell Biol*, 1998, 18(10): 6152-63.
- [73] KUANG W, JIN H, YANG F, et al. ALKBH3-dependent m⁵A demethylation of aurora a mRNA inhibits ciliogenesis [J]. *Cell Discov*, 2022, 8(1): 25.
- [74] CHEN C, ZHAO X, KIERZEK R, et al. A flexible RNA backbone within the polypyrimidine tract is required for U2AF65 binding and pre-mRNA splicing *in vivo* [J]. *Mol Cell Biol*, 2010, 30(17): 4108-19.
- [75] BLATT P, MARTIN E T, BREZNAK S M, et al. Post-transcriptional gene regulation regulates germline stem cell to oocyte transition during *Drosophila* oogenesis [J]. *Curr Top Dev Biol*, 2020, 140: 3-34.
- [76] MORITA S, OTA R, KOBAYASHI S. Downregulation of NHP2 promotes proper cyst formation in *Drosophila* ovary [J]. *Dev Growth Differ*, 2018, 60(5): 248-59.
- [77] ARANGO D, STURGILL D, ALHUSAINI N, et al. Acetylation of cytidine in mRNA promotes translation efficiency [J]. *Cell*, 2018, 175(7): 1872-86.e24.
- [78] JIANG X, CHENG Y, ZHU Y, et al. Maternal NAT10 orchestrates oocyte meiotic cell-cycle progression and maturation in mice [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 3729.
- [79] SAVVA Y A, RIEDER L E, REENAN R A. The ADAR protein family [J]. *Genome Biol*, 2012, 13(12): 252.
- [80] MELCHER T, MAAS S, HERB A, et al. A mammalian RNA editing enzyme [J]. *Nature*, 1996, 379(6564): 460-4.
- [81] CHEN C X, CHO D S, WANG Q, et al. A third member of the RNA-specific adenosine deaminase gene family, ADAR3, contains both single- and double-stranded RNA binding domains [J]. *RNA*, 2000, 6(5): 755-67.
- [82] QIU S, LI W, XIONG H, et al. Single-cell RNA sequencing reveals dynamic changes in A-to-I RNA editome during early human embryogenesis [J]. *BMC Genomics*, 2016, 17(1): 766.
- [83] WANG L Y, GUO J, CAO W, et al. Integrated sequencing of exome and mRNA of large-sized single cells [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 384.
- [84] NISHIKURA K. A-to-I editing of coding and non-coding RNAs by ADARs [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17(2): 83-96.
- [85] HARTNER J C, SCHMITTWOLF C, KISPERS A, et al. Liver disintegration in the mouse embryo caused by deficiency in the RNA-editing enzyme ADAR1 [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(6): 4894-902.
- [86] BRACHOVA P, ALVAREZ N S, HONG X, et al. Inosine RNA modifications are enriched at the codon wobble position in mouse oocytes and eggs† [J]. *Biol Reprod*, 2019, 101(5): 938-49.
- [87] BRACHOVA P, ALVAREZ N S, CHRISTENSON L K. Loss of *Cnot6l* impairs inosine RNA modifications in mouse oocytes [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(3): 1191.