



RNA m⁶A 甲基化修饰的研究进展

茹文秀, 沈雪梅, 张晓燕, 陈 宏*

(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: RNA m⁶A 甲基化修饰是发生在 RNA 腺嘌呤(A)第 6 位 N 原子上的一种转录后修饰方式。它是由甲基转移酶和去甲基酶以及识别蛋白所催化的一种动态可逆的修饰方式, 具有重要的调控功能。本文综述了 m⁶A 甲基化的发现、相关酶的作用以及在生命过程中的重要功能, 以期对未来研究 m⁶A 在牛的遗传育种方面的调控作用提供重要的理论支持。

关键词: m⁶A 甲基化; 甲基转移酶; 去甲基酶; 识别蛋白; 调控功能

中图分类号: S823; Q341 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9111(2019)04-0044-06

RNA 在遗传信息传递过程中是连接 DNA 到蛋白质的一个关键, 但合成的蛋白水平不一定和 mRNA 的水平正相关, 这提示了 RNA 转录后修饰的重要性。到目前为止已经鉴定出来了 100 多种不同的 RNA 转录后修饰方式, 其中最常见 RNA 修饰方式是 N⁶-甲基腺嘌呤(m⁶A)^[1]。m⁶A 是一种可逆的动态 RNA 修饰, 可能会影响生物学调控, 类似于 DNA 的甲基化和蛋白质的磷酸化, mRNA 中的腺苷甲基化代表了一个额外的调控层, 可以潜在地改变 mRNA 功能和影响基因表达^[2]。

1 m⁶A 的发现

20 世纪 70 年代, 一些研究小组发现哺乳动物细胞中的聚腺苷酸 RNA 含有丰富的 m⁶A 化学修饰^[3]。然而由于当时缺乏研究 m⁶A 修饰的相关技术, 导致数 10 年来 m⁶A 研究领域并没有什么进展, 这使人们怀疑 m⁶A 是否是 mRNA 中普遍存在的修饰, 以及这种修饰是否在生物学过程中发挥了重要作用^[4]。2012 年, 两组研究人员首次在 mRNA 转录本上鉴定出了发生 m⁶A 修饰的位点, 他们应用的方法称为 MeRIP-Seq 或 m⁶A-seq, 依赖于高度特异性的 m⁶A 抗体来免疫沉淀甲基化 mRNA, 然后通过高通量测序来确定甲基化的转录本。他们在人类和小鼠的细胞中检测到了超过 7 000 mRNA 转录本和上百个长链非编码 RNA(lncRNAs)中具有 m⁶A 峰。同时这些 m⁶A 峰在人类和小鼠中是保守的^[5-6]。研究者们发现, 在哺乳动物 mRNA 中 m⁶A 修饰发生在

在 5'UTRs, 终止密码子附近以及临近终止密码子的 3'UTRs。m⁶A 修饰在转录组中分布不均匀, 它们优先富集在临近终止密码子的 3'UTRs 附近, 再是 CDS 区和 5'UTR^[7]。利用 motif 算法对 MeRIP-Seq 数据进行生物信息学分析, 确定了 m⁶A 发生的共同 motifs:(G/A)(m⁶A)C。几乎 90% 的 m⁶A 峰包含了这些 motifs^[5-6]。目前已经在许多真核生物中发现了 m⁶A 修饰, 从酵母、拟南芥、果蝇到哺乳动物, 甚至在病毒中也存在 m⁶A 修饰^[8-9]。在哺乳动物中, m⁶A 广泛存在于多个组织中, 其中在肝脏、肾脏和大脑中 m⁶A 修饰水平最高^[6]。可见, m⁶A 修饰存在普遍性, 同时也有组织偏好性。

2 m⁶A 酶系统

2.1 m⁶A 甲基转移酶

m⁶A 修饰主要由甲基转移酶复合体催化形成的, 被称为“writers”。它是由 2 个亚基复合体: m⁶A-METTL 复合体(MAC)和 m⁶A-METTL 关联复合体(MACOM)组成^[10]。m⁶A-METTL 复合体包括甲基转移酶 3(METTL3)与甲基转移酶 14(METTL14), 它们可以形成稳定的异二聚体, 前者作为催化亚基是第一个被发现的甲基转移酶^[11], 后者可以促进与 RNA 的结合^[12-13], 它们是 m⁶A 修饰所必需的^[14]。研究发现 METTL3 和 METTL14 之间的物理联系具有协同作用, METTL14 可以使 METTL3 甲基转移酶的活性更高^[15]。

进一步研究发现了 m⁶A-METTL 关联复合体,

收稿日期: 2019-04-20 修回日期: 2019-04-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(31772574)

作者简介: 茹文秀(1992—), 女, 在读博士, 主要从事生物技术与家畜育种研究。E-mail: ruwenxiu@163.com

* 通讯作者: 陈宏(1955—), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事生物技术与家畜育种研究。E-mail: chen hong1212@263.net

并揭示了它们如何促进甲基转移酶复合体的作用和特异性。Wilms 肿瘤 1 相关蛋白(WTAP)有助于协调 METTL3-METTL14 异二聚体在核斑中的定位,从而促进 m⁶A 沉积^[16]。m⁶A 甲基转移酶相关的病毒(VIRMA)对 m⁶A 特异性地沉积到 3'UTR 是至关重要的^[17]。CCCH 型 13 锌指蛋白(ZC3H13)可以促进复合体的核定位^[18]。RNA 结合蛋白 15/15B(RBM15/15B)可以结合富含 U 的区域并可能促进特定 RNA 的甲基化^[19]。通过对甲硫氨酸腺苷转移酶(MAT2A)基因中 SAM 调控内含子保留的研究时发现,METTL16 可以催化 U6 和 MAT2A mRNA 中的 U6 样发夹形成 m⁶A 修饰^[20]。

2.2 m⁶A 去甲基酶

m⁶A 甲基化是个动态可逆的过程,它可以由去甲基化酶 FTO 或 ALKBH5 来逆转。它们都属于 AlkB 家族,以 Fe(II)-和 α -酮戊二酸酯依赖的方式催化 m⁶A 去甲基化,被称为 m⁶A “erasers”^[7,21]。2011 年,首次发现 FTO 可以有效地去除体外和细胞内 mRNA 的 m⁶A 甲基修饰^[22]。随后的研究表明,FTO 可以将 m⁶A 氧化成两种之前未知的中间体——N⁶-羟甲基腺苷(hm⁶A)和 N⁶-甲酰腺苷(f⁶A)^[23]。最近的一项研究表明,FTO 不仅可以去除 m⁶A 甲基修饰,还可以将细胞内 m⁶A_m 去甲基化,而且催化活性更高^[24]。m⁶A_m 可以稳定 mRNA 的帽子结构,因此,FTO 同样是 m⁶A_m 的橡皮擦,这个角色对 mRNA 的稳定性有影响^[25]。在 FTO 被发现后不久,ALKBH5 被鉴定为第二种哺乳动物 m⁶A 去甲基酶。与 FTO 不同的是,ALKBH5 直接将 m⁶A 逆转腺苷,从而检测不到任何中间产物^[26]。

2.3 m⁶A 结合蛋白

虽然 RNA 的 m⁶A 修饰是由甲基转移酶和去甲基化酶参与的一种动态可逆的方式塑造的,但优先识别 m⁶A 修饰的蛋白质(m⁶A readers)可以与甲基化的 RNA 结合并赋予其特定的功能^[7]。

研究表明,YTH 结构域可以选择性地结合 RNA 中的 m⁶A 位点,并赋予 YTH 结构域蛋白特定的功能^[27]。可以识别 m⁶A 修饰并含有 YTH 结构域的蛋白有:YTHDC1、YTHDC2、YTHDF1、YTHDF2 和 YTHDF3。研究发现,与 YTHDF2 结合导致 mRNA 定位到衰变位点,如定位到处理体(p-body)加速降解^[28]。相比之下,YTHDF1 和 YTHDF3 在 HeLa 细胞中可以通过招募翻译起始因子来促进翻译^[29-30]。YTHDC1 具有多种调控作用,包括通过募集特定的剪接因子来调节 mRNA 剪接^[31],加速 mRNA 输出^[32],促进特定转录本的衰变^[33]。最近的研究表明,YTHDC2 通过其解旋酶作用可以提高 HIF1 α

mRNA 的翻译效率^[34],并可以调节精子的发生^[35]。

Meyer 等报道了真核起始因子 3(eIF3),它是 43S 翻译起始复合物的一个组成部分,可以直接与发生 m⁶A 的 mRNA 5'UTR 结合,这对翻译起始起着重要作用^[36]。HNRNPC 是一种丰富的核 RNA 结合蛋白,已知参与 pre-mRNA 的加工^[37-38],研究发现 m⁶A 可以调控 HNRNPC-RNA 的结合从而影响了靶基因的丰度和选择性剪接^[39]。对哺乳动物细胞内 mRNA 的结构分析显示,mRNA 的甲基化区域往往缺乏二级结构,这突出了 m⁶A 在改变 RNA 结构中的潜在作用^[40-41]。HNRNP 家族另一成员 HNRNPA2B1 最初被鉴定为 m⁶A 结合蛋白可以影响 microRNA 的形成^[42]。另外一类 readers,胰岛素样生长因子 2 结合蛋白 1-3(IGF2BP1-3)以依赖于 m⁶A 的方式稳定靶 mRNA^[43]。最近的一项研究证实了 Prrc2a 是一种 m⁶A readers,结果显示重组 Prrc2a 可以稳定髓鞘形成所需的 m⁶A-修饰的转录产物^[44]。

3 m⁶A 的生物学功能

最近的研究表明 mRNA 中存在的 m⁶A 修饰在基因表达调控^[45],动物发育^[46]和人类疾病^[47]中起着重要作用。

3.1 基因表达调控

m⁶A 甲基化修饰通过影响 mRNA 的剪接、翻译、降解、定位对基因表达起着重要调控作用。METTL3、METTL14、WTAP 和 ALKBH5 主要定位在核斑中,部分 FTO 也定位在核斑,众所周知核斑是 pre-mRNA 的处理场所^[48]。敲除 WTAP 或 METTL3 确实会产生不同的 mRNA 剪切体,并且 WTAP 是已知的剪接因子^[16,49]。此外,ALKBH5 也被证明会影响剪接速率^[50]。最近的研究发现 m⁶A 修饰可以通过改变 mRNA 的局部结构来影响与 HNRNPC 的结合,HNRNPC 已证明参与 pre-mRNA 的加工^[39]。在 3T3-L1 前体脂肪细胞中敲除 FTO 的研究报道了 m⁶A 在 mRNA 剪接中的调控作用。研究人员发现,FTO 缺失后导致 m⁶A 水平升高,提高了 RNA 结合调控蛋白 SRSF2 的剪接能力,导致靶外显子的数量增加^[51]。这些研究为 m⁶A 调控 mRNA 剪接事件提供了强有力的证据。

由于 mRNA 是蛋白质合成的模板,外显子和终止密码子附近存在的 m⁶A 使得 RNA 甲基化调控翻译成为可能。在酵母和人类细胞中检测 mRNA 中的 m⁶A 分布时发现核糖体相关组分明显富集。相反,在无 m⁶A 修饰的 mRNA 中并未发现核糖体相关组分的存在^[52]。另一方面,对 m⁶A “阅读器”YTHDF1 的功能研究表明,它通过与起始因子和核糖体

亚基的直接相互作用,提高了 m^6A 修饰的 mRNA 的翻译效率^[29]。值得注意的是,最近在小鼠胚胎干细胞(ESCs)的研究中发现通过核糖体质谱分析野生型和 Mettl3 敲除的 ESCs 的翻译效率发现,在甲基化转录本上,敲除细胞的翻译效率有显著的提高^[33]。

m^6A 介导的 RNA 在细胞质中降解的一个重要机制是利用“阅读器”。对 RNA 半衰期的研究发现,与对照相比 YTHDF2 敲除细胞的稳定性有显著提高。这种影响与 YTHDF2 的结合密切相关,结合越多的 YTHDF2 RNA 稳定性越差。重要的是, YTHDF2 定位在细胞处理器(P-body)上^[28]。另一项研究发现, YTHDF2 结合 RNA 上的 m^6A 修饰,并通过与 CNOT1 的直接相互作用招募 CCR4-NOT 脱腺苷酸化酶复合体,加速 RNA 的脱腺苷酸化与降解^[54]。另一种参与 RNA 降解的 m^6A “阅读器”是 YTHDC2,研究发现在 YTHDC2 敲除的睾丸中 m^6A 修饰的转录本上调^[35]。不同于“阅读器”, m^6A 调控 RNA 稳定性的另一种方式可能是通过影响其二级结构。RNA 结合蛋白 HuR,它可以与 mRNA 3'-UTR 中的 U 富集区域结合,可以阻断 miRNA 结合 Ago 复合物,从而防止降解^[55]。研究表明,由 miRNA 调控的靶基因,并且该转录本上存在 m^6A 修饰,则 HuR 的结合受损,从而促进了 mRNA 的降解。同时, Mettl3 的敲除导致 Ago2 与目标 mRNA 结合受到抑制,从而提高了其稳定性^[28]。

寨卡病毒和 HIV-1 都存在高的 m^6A 甲基化修饰,它们利用这种修饰在复制过程中增强了核输出和其他加工步骤^[56]。在未受感染的人类细胞中, m^6A 结合蛋白 YTHDC1 介导了甲基化 mRNA 从细胞核向细胞质的运输。YTHDC1 可以与 SRSF3 相互作用, SRSF3 也可以与核输出受体 NXF1 相互作用。抑制 YTHDC1 并不会影响 mRNA 中 m^6A 的整体水平,但会导致 mRNA 在核中的积累^[32]。

3.2 动物发育

越来越多的研究表明, m^6A 修饰对生物早期的胚胎发育至关重要。在果蝇中, m^6A 甲基化修饰对性别决定和神经元功能是至关重要的^[57]。同时 METTL3 同源蛋白 Ime4 的敲除对胚胎发育具有亚致死作用,由于 NOTCH 信号通路受损,成年个体生育能力下降^[58]。同样在拟南芥中, METTL3 同源蛋白 MTA 缺失会影响其发育^[59]。在酵母中, Ime4 基因在酵母的减数分裂过程中发挥着重要作用^[60]。在斑马鱼早期胚胎发育过程中母本向合子过渡时(MZT),母源转录本被快速降解,胚胎的基因组会被激活。研究发现,部分母源 mRNA 被 m^6A 甲基

化,并被 YTHDF2 快速清除。敲除 YTHDF2 后,母源 mRNA 半衰期延长,阻止了卵子向受精卵的转变,胚胎无法及时启动 MZT,导致子代斑马鱼的发育延迟^[61]。这些研究表明 m^6A 甲基化修饰在动物早期胚胎发育中具有重要作用。

最近的研究表明, m^6A 修饰参与了机体重要生命过程,如干细胞自我更新分化、脂类代谢、DNA 损伤修复、热休克反应的控制,昼夜节律的控制等均有紧密的联系。在小鼠模型中, YTHDF1 缺陷会损害海马依赖型神经功能,如空间学习和记忆等,但在海马体中过表达 YTHDF1 蛋白可以恢复这种损伤。在分子水平上, m^6A 修饰的转录本和 YTHDF1 结合促进了突触传递和长时程增强基因的功能^[62]。在机体发生热休克后, METTL3 定位于热休克基因染色质中,并使热休克基因发生 m^6A 甲基化修饰,核 YTHDF2 将与去甲基化酶 FTO 竞争,以防止热休克反应基因中 5'UTR 的去甲基化,从而增强它们在细胞质中以不依赖于帽子结构的方式翻译^[63]。同样在 DNA 紫外线损伤后, METTL3 催化产生的 m^6A 修饰的 RNA 迅速定位在损伤部位,招募 DNA 聚合酶 κ (Pol κ) 促进损伤修复^[64]。 m^6A 甲基化在设定昼夜节律周期和决定生物钟节律和稳定性方面的重要生理功能。 m^6A 的缺失则延长了生物钟基因 Per2 和 Arntl 成熟 mRNA 在细胞核存在的时间^[65]。 m^6A 甲基化修饰还可以影响细胞中脂类代谢。研究发现抑制 AMPK 可以促进脂质的积累,同时细胞中 m^6A 甲基化水平降低。进一步研究发现, AMPK 通过调控 FTO 的表达,改变骨骼肌细胞中 m^6A 甲基化水平,进而调节脂质代谢^[66]。

多能干细胞(ESCs)具有 2 个基本属性—自我更新和多能性。在近期的研究中 METTL3 完全敲除的小鼠胚胎干细胞(mESCs)和上皮细胞表现出自我更新的增加,但分化为成熟心肌细胞和神经元的能力明显受损^[53,67]。在免疫缺陷小鼠皮下注射 METTL3 敲除的 mESCs 后,在体内产生了更大但分化较差的畸胎瘤,这说明 m^6A 在 mESCs 中可以抑制细胞自我更新,促进分化^[67]。在待激活态的小鼠上胚层干细胞(mEpiSCs)向幼稚态 mESCs 的重编程过程中, METTL3 的早期缺失破坏了待激活态细胞的多能稳定性,破坏了它们的重编程能力,而 METTL3 的晚期缺失则显著提高了 mEpiSCs 的重编程效率^[53]。值得注意的是,敲除 METTL3 可以导致胚胎死亡^[53]。另一项研究表明在小鼠胚胎成纤维细胞(MEFs)中过表达 METTL3,导致 m^6A 修饰显著增加,关键多能基因表达增强,重编程效率提高。这表明 MEF 重编程为多能性细胞需要 m^6A 修饰^[68]。这

些研究表明,m⁶A 修饰可以精确调控干细胞的分化和重编程。

3.3 人类疾病

目前已经发现 m⁶A RNA 甲基化在人类疾病尤其是癌症的发生发展过程中具有重要调控功能,m⁶A 功能的失调与各种癌症密切相关。在人骨髓白血病细胞系中,METTL3 的缺失诱导细胞分化和凋亡,并在体内延缓受体小鼠白血病的发展^[69]。METTL14 在急性骨髓白血病(AML)细胞系中也高表达,通过调控肿瘤基因 MYB 和 MYC 的 m⁶A 甲基化来发挥其致癌作用^[70]。同样 WTAP 在 AML 细胞系中的缺失会导致癌细胞增殖减少,分化凋亡增加^[71]。然而在某些类型的 AML 中降低 m⁶A RNA 的甲基化发挥了致癌功能。例如,在 t(11q23)、t(15;17)、FLT3-ITD 类型的 AML 细胞系中 FTO 显著高表达,它能够诱发原癌基因介导的细胞转化从而引发白血病,FTO 还可以抑制全反式维甲酸(ATRA)治疗后引起的急性骨髓白血病细胞的分化^[72]。

在乳腺癌(BC)的发展过程中,METTL3 通过增加 m⁶A 修饰促进 HBXIP 基因的表达,形成 HBXIP/let-7g/METTL3/HBXIP 的正反馈回路,导致乳腺癌细胞增殖加快^[73]。在人类胰腺癌(PC)中,YTHDF2 的 mRNA 和蛋白水平上均上调,并促进癌细胞增殖和上皮-间质转化(EMT)^[74]。METTL14 可以与 DGCR8 相互作用,以 m⁶A 依赖的方式调控 pri-miRNA126 的成熟,从而抑制肝癌细胞的转移能力^[75]。然而最近的研究表明,METTL3 在人类肝癌细胞(HCC)中上调,体外细胞实验证实敲除 METT3 后能够显著抑制肝癌的增殖迁移以及转移。研究发现 METTL3 可以显著增强 SOCS2 基因 mRNA 甲基化修饰,以依赖于 YTHDF2 的方式降解,最终导致肝癌恶化^[76]。这两项研究结果大相径庭,意味着在 RNA 甲基化领域,目前仍然有较多的工作等待我们去挖掘和开发。

胶质瘤干细胞(glioblastoma stem cell,GSC)是恶性肿瘤内存在的具有自我更新和分化能力的细胞。研究发现,在 GSCs 细胞中敲低 METTL3 和 METTL14,m⁶A 甲基化水平降低,可以促进原癌基因 ADAM19、EPHA3 和 KLF4 mRNA 的表达,促进细胞的生长和分化。然而,过表达 METTL3 或者敲低 FTO 则抑制 GSC 的生长和分化从而抑制肿瘤的发生,延长了 GSC 移植小鼠的寿命^[77]。最新的研究表明,RNA m⁶A 修饰通过调控树突状细胞的溶酶体组织蛋白酶翻译效率,影响肿瘤抗原特异性的 T 细胞免疫应答。在小鼠中敲除 YTHDF1 可以增强肿瘤抗原特异性 CD8⁺ T 细胞的应答反应。进一步研

究表明,多个树突细胞溶酶体组织蛋白酶的 mRNA 上均存在 m⁶A 甲基化修饰,且可以被 YTHDF1 识别,进而促进其翻译^[78]。

4 结语与展望

与 DNA 甲基化类似,RNA m⁶A 修饰是由甲基转移酶和去甲基酶以及识别蛋白所催化的动态可逆的修饰方式。它广泛存在于原核生物和真核生物中的各种 RNA 上。m⁶A 可以通过调控 RNA 稳定、定位、运输、剪接和翻译来发挥重要的生物学功能。已知 m⁶A 修饰与胚胎发育、癌症的发生转移、免疫应答、干细胞自我更新分化、脂类代谢、DNA 损伤修复、热休克反应的控制,昼夜节律的控制等均有紧密的联系。然而,m⁶A 甲基化修饰在牛上的研究还未起步,尤其是在遗传育种方面是否也发挥重要调控作用及其机制尚不清楚,这还需要科研工作者的进一步深入探索。

参考文献:

- [1] PAN Yu-tian, MA Pei, LIU Yu, et al. Multiple functions of m⁶A RNA methylation in cancer [J]. J. Hematol. Oncol., 2018, 11:48.
- [2] Meyer K D, Jaffrey S R. The dynamic epitranscriptome: N⁶-methyladenosine and gene expression control [J]. Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 2014, 15:313-326.
- [3] Desrosiers R, Friderici K, Rottman F. Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikoff hepatoma cells [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1974, 71:3971-3975.
- [4] CAO Guang-chao, LI Hua-bing, YIN Zhi-nan, et al. Recent advances in dynamic m⁶A RNA modification [J]. Open Biol., 2016, 6:160003.
- [5] 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, 485:201-206.
- [6] Meyer K D, Saletore Y, Zumbo P, et al. Comprehensive analysis of mRNA methylation reveals enrichment in 3' UTRs and near stop codons [J]. Cell, 2012, 149:1635-1646.
- [7] YUE Ya-nan, LIU Jian-zhao, HE Chuan. RNA N⁶-methyladenosine methylation in post-transcriptional gene expression regulation [J]. Genes Dev., 2015, 29:1343-1355.
- [8] Krug R M, Morgan M A, Shatkin A J. Influenza viral mRNA contains internal N⁶-methyladenosine and 5'-terminal 7-methylguanosine in cap structures [J]. J. Virol., 1976, 20:45-53.
- [9] Horowitz S, Horowitz A, Nilsen T W, et al. Mapping of N⁶-methyladenosine residues in bovine prolactin mRNA [J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1984, 81:5667-5671.
- [10] Lence T, Paolantoni C, Worpenberg L, et al. Mechanistic insights into m⁶A RNA enzymes [J]. Biochim. et Biophys. Acta (BBA): Gene Regulatory Mechanisms, 2019, 1862:222-229.
- [11] Bokar J A, Shambaugh M E, Polayes D, et al. Purification and cDNA cloning of the AdoMet-binding subunit of the human mRNA (N⁶-adenosine)-methyltransferase [J]. RNA, 1997, 3:1233-1247.
- [12] Wang P, Doxtader K A, Nam Y. Structural basis for cooperative

- function of Mettl3 and Mettl14 methyltransferases[J]. *Mol. Cell*, 2016, 63:306-317.
- [13] Wang X, Feng J, Xue Y, et al. Structural basis of N(6)-adenosine methylation by the METTL3-METTL14 complex[J]. *Nature*, 2016, 534:575-578.
- [14] Knuckles P, Bühler M. Adenosine methylation as a molecular imprint defining the fate of RNA[J]. *FEBS Lett.*, 2018, 592: 2845-2859.
- [15] LIU Jian-zhao, YUE Ya-nan, HAN Da-li, et al. A METTL3-METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N⁶-adenosine methylation[J]. *Nat. Chem. Biol.*, 2014, 10:93-95.
- [16] Ping X L, Sun B F, Wang L, et al. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N⁶-methyladenosine methyltransferase[J]. *Cell Reports*, 2014, 24:177-189.
- [17] Yue Y, Liu J, Cui X, et al. VIRMA mediates preferential m⁶A mRNA methylation in 3'UTR and near stop codon and associates with alternative polyadenylation[J]. *Cell Discov.*, 2018-01-01, doi:10.1038/s41421-018-0019-0.
- [18] Wen J, Lv R, Ma H, et al. Zc3h13 regulates nuclear RNA m(6)A methylation and mouse embryonic stem cell self-renewal[J]. *Mol. Cell*, 2018, 69:1028-1038.
- [19] Patil D P, Chen C K, Pickering B F, et al. m(6)A RNA methylation promotes XIST-mediated transcriptional repression[J]. *Nature*, 2016, 537:369-373.
- [20] Pendleton K E, Chen B B, Liu K Q, et al. The U6 snRNA m⁶A methyltransferase METTL16 regulates SAM synthetase intron retention[J]. *Cell*, 2017, 169:824-835.
- [21] Fu Y, Dominissini D, Rechavi G, et al. Gene expression regulation mediated through reversible m⁶A RNA methylation[J]. *Nat. Rev. Genet.*, 2014, 15:293-306.
- [22] JIA Gui-fang, FU Ye, ZHAO Xu, et al. N⁶-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO[J]. *Nat. Chem. Biol.*, 2011, 7:885-887.
- [23] FU Ye, JIA Gui-fang, PANG Xue-qin, et al. FTO-mediated formation of N⁶-hydroxymethyladenosine and N⁶-formyladenosine in mammalian RNA[J]. *Nat. Commun.*, 2013, 4:1798.
- [24] Mauer J, Luo X, Blanjoie A, et al. Reversible methylation of m⁶A_m in the 5' cap controls mRNA stability[J]. *Nature*, 2017, 541:371-375.
- [25] Meyer K D, Jaffrey S R, Rethinking m⁶A readers, writers, and erasers[J]. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2017, 33:319-342.
- [26] Zheng G Q, Dahl J A, Niu Y M, et al. Sprouts of RNA epigenetics: The discovery of mammalian RNA demethylases[J]. *RNA Biol.*, 2013, 10:915-918.
- [27] Theler D, Dominguez C, Blatter M, et al. Solution structure of the YTH domain in complex with N⁶-methyladenosine RNA: A reader of methylated RNA[J]. *Nucleic Acids Res.*, 2014, 42: 13911-13919.
- [28] Wang X, Lu Z K, Gomez A, et al. N⁶-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability[J]. *Nature*, 2014, 505: 117-120.
- [29] Wang X, Zhao B X S, Roundtree I A, et al. N(6)-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency[J]. *Cell*, 2015, 161:1388-1399.
- [30] Shi H, Wang X, Lu Z, et al. YTHDF3 facilitates translation and decay of N⁶-methyladenosine-modified RNA[J]. *Cell Res.*, 2017, 27:315-328.
- [31] Xiao W, Adhikari S, Dahal U, et al. Nuclear m(6)A Reader YTHDC1 Regulates mRNA Splicing[J]. *Mol. Cell*, 2016, 61: 507-519.
- [32] Roundtree I A, Luo G Z, Zhang Z, et al. YTHDC1 mediates nuclear export of N⁶-methyladenosine methylated mRNAs[J]. *Elife*, 2017, 6:e31311.
- [33] Shima H, Matsumoto M, Ishigami Y, et al. S-adenosylmethionine synthesis is regulated by selective N⁶-adenosine methylation and mRNA degradation involving METTL16 and YTHDC1[J]. *Cell Reports*, 2017, 21:3354-336.
- [34] Tanabe A, Tanikawa K, Tsunetomi M, et al. RNA helicase YTHDC2 promotes cancer metastasis via the enhancement of the efficiency by which HIF-1 α mRNA is translated[J]. *Cancer Lett.*, 2016, 376:34-42.
- [35] Hsu P J, Zhu Y, Ma H, et al. Ythdc2 is an N⁶-methyladenosine binding protein that regulates mammalian spermatogenesis[J]. *Cell Reports*, 2017, 27:1115-1127.
- [36] Meyer K D, Patil D P, Zhou J, et al. 5'UTR m(6)A promotes cap-independent translation[J]. *Cell*, 2015, 163:999-1010.
- [37] Julian K, Kathi Z, Gregor R, et al. iCLIP reveals the function of hnRNP particles in splicing at individual nucleotide resolution[J]. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2010, 17:909-915.
- [38] Cieniková Z, Damberger F F, Hall J, et al. Structural and mechanistic insights into poly(uridine) tract recognition by the hnRNP-PC RNA recognition motif[J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 2014, 136: 14536-14544.
- [39] LIU Nian, DAI Qing, ZHENG Guan-qun, et al. N(6)-methyladenosine-dependent RNA structural switches regulate RNA-protein interactions[J]. *Nature*, 2015, 518:560-564.
- [40] Schwartz S, Agarwala S D, Mumbach M R, et al. High-resolution mapping reveals a conserved, widespread, dynamic mRNA methylation program in yeast meiosis[J]. *Cell*, 2013, 155:1409-1421.
- [41] Wan Y, Qu K, Zhang Q F C, et al. Landscape and variation of RNA secondary structure across the human transcriptome[J]. *Nature*, 2014, 505:706-709.
- [42] Alarcón C R, Hyeseung L, Hani G, et al. N⁶-methyladenosine marks primary microRNAs for processing[J]. *Nature*, 2015, 519: 482-485.
- [43] 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, 20:285-295.
- [44] Wu R, Li A, Sun B, et al. Anovel m⁶A reader Prrc2 controls oligodendroglial specification and myelination[J]. *Cell Res.*, 2019, 29:23-41.
- [45] Roundtree I A, Evans M E, Pan T, et al. Dynamic RNA modifications in gene expression regulation[J]. *Cell*, 2017, 169: 1187-1200.
- [46] Frye M, Harada B T, Behm M, et al. RNA modifications modulate gene expression during development[J]. *Science*, 2018, 361: 1346-1349.
- [47] Hsu P J, Shi H, He C. Epitranscriptomic influences on development and disease[J]. *Genome Biol.*, 2017, 18:197.
- [48] Mao Y S, Zhang B, Spector D L. Biogenesis and function of nuclear bodies[J]. *Trends Genet.*, 2011, 27:295-306.
- [49] Little N A, Hastie N D, Davies R C. Identification of WTAP, a novel Wilms' tumour 1-associating protein[J]. *Hum. Mol. Genet.*, 2000, 9:2231-2239.
- [50] Zheng G Q, Dahl J A, Niu Y M, et al. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertil-

- ity[J]. Mol. Cell, 2013, 49:18-29.
- [51] ZHAO Xu, YANG Ying, SUN Bao-Fa, et al. FTO-dependent demethylation of N⁶-methyladenosine regulates mRNA splicing and is required for adipogenesis[J]. Cell Res. , 2014, 24:1403-1419.
- [52] Bodi Z, Bottley A, Archer N, et al. Yeast m⁶A methylated mRNAs are enriched on translating ribosomes during meiosis, and under rapamycin treatment[J]. PLoS One, 2015, 10:1-13.
- [53] Geula S, Moshitch-Moshkovitz S, Dominissini D, et al. m⁶A mRNA methylation facilitates resolution of naïve pluripotency toward differentiation[J]. Science, 2015, 347:1002-1006.
- [54] Du H, Zhao Y, He J, et al. YTHDF2 destabilizes m(6)A-containing RNA through direct recruitment of the CCR4-NOT deadenylase complex[J]. Nat. Commun. , 2016, 7:12626.
- [55] Kundu P, Fabian M R, Sonenberg N, et al. HuR protein attenuates miRNA-mediated repression by promoting miRISC dissociation from the target RNA [J]. Nucleic Acids Research, 2012, 40:5088-5100.
- [56] Lichinchi G, Zhao B S, Wu Y G, et al. Dynamics of human and viral RNA methylation during zika virus infection[J]. Cell Host Microbe, 2016, 20:666-673.
- [57] Lence T, Akhtar J, Bayer M, et al. m⁶A modulates neuronal functions and sex determination in *Drosophila*[J]. Nature, 2016, 540:242-247.
- [58] Hongay C F, Orr-Weaver T L. *Drosophila* inducer of meiosis 4 (IME4) is required for Notch signaling during oogenesis [J]. PNAS, 2011, 108:14855-14860.
- [59] Bodi Z, Zhong S, Mehra S, et al. Adenosine methylation in *Arabidopsis* mRNA is associated with the 3' end and reduced levels cause developmental defects [J]. Frontiers in Plant Science, 2012, 3:48.
- [60] Agarwala S D, Blitzblau H G, Hochwagen A, et al. RNA methylation by the MIS complex regulates a cell fate decision in yeast [J]. PLoS Genetics, 2012, 8:e1002732.
- [61] 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.
- [62] Shi H, Zhang X, Weng Y L, et al. m⁶A facilitates hippocampus-dependent learning and memory through YTHDF1 [J]. Nature, 2018, 563:249-253.
- [63] Zhou J, Wan J, Gao X, et al. Dynamic m⁶A mRNA methylation directs translational control of heat shock response [J]. Nature, 2015, 526:591-594.
- [64] Xiang Y, Laurent B, Hsu C H, et al. RNA m⁶A methylation regulates the ultraviolet-induced DNA damage response [J]. Nature, 2017, 543:573-576.
- [65] Fustin J M, Doi M, Yamaguchi Y, et al. RNA-methylation-dependent RNA processing controls the speed of the circadian clock [J]. Cell, 2013, 155:793-806.
- [66] WU Wei-che, FENG Jie, JIANG Deng-hu, et al. AMPK regulates lipid accumulation in skeletal muscle cells through FTO-dependent demethylation of N⁶-methyladenosine [J]. Sci. Rep. , 2017, 7:41606.
- [67] Batista P J, Molinie B, Wang J, et al. m(6)A RNA modification controls cell fate transition in mammalian embryonic stem cells [J]. Cell Stem Cell, 2014, 15:707-719.
- [68] CHEN Tong, HAO Ya-juan, ZHANG Ying, et al. m(6)A RNA methylation is regulated by microRNAs and promotes reprogramming to pluripotency [J]. Cell Stem Cell, 2015, 16:289-301.
- [69] Vu L P, Pickering B F, Cheng Y, et al. The N⁶-methyladenosine (m⁶A)-forming enzyme METTL3 controls myeloid differentiation of normal hematopoietic and leukemia cells [J]. Nat. Med. , 2017, 23(11):1369-1376.
- [70] Weng H, Huang H, Wu H, et al. METTL14 inhibits hematopoietic stem/progenitor differentiation and promotes leukemogenesis via mRNA m⁶A modification [J]. Cell Stem Cell, 2018, 22(2):191-205.
- [71] Bansal H, Yihua Q, Iyer S P, et al. WTAP is a novel oncogenic protein in acute myeloid leukemia [J]. Leukemia, 2014, 28(5):1171-1174.
- [72] LI Ze-juan, WENG Heng-you, SU Rui, et al. FTO plays an oncogenic role in acute myeloid leukemia as a N⁶-methyladenosine RNA demethylase [J]. Cancer Cell, 2017, 31:127-141.
- [73] Cai X, Wang X, Cao C, et al. HBXIP-elevated methyltransferase METTL3 promotes the progression of breast cancer via inhibiting tumor suppressor let-7g [J]. Cancer Letters, 2018, 415:11-19.
- [74] Chen J, Sun Y, Xu X, et al. YTH domain family 2 orchestrates epithelial-mesenchymal transition/proliferation dichotomy in pancreatic cancer cells [J]. Cell Cycle, 2017, 16(23):2259-2271.
- [75] Ma J Z, Yang F, Zhou C C, et al. METTL14 suppresses the metastatic potential of hepatocellular carcinoma by modulating N⁶-methyladenosine-dependent primary microRNA processing [J]. Hepatology, 2017, 65:529-543.
- [76] Chen M, Wei L, Law C T, et al. RNA N⁶-methyladenosine methyltransferase-like 3 promotes liver cancer progression through YTHDF2-dependent posttranscriptional silencing of SOCS2 [J]. Hepatology, 2018, 67:2254-2270.
- [77] CUI Qi, SHI Hai-ling, YE Peng, et al. m⁶A RNA methylation regulates the self-renewal and tumorigenesis of glioblastoma stem cells [J]. Cell Reports, 2017, 18:2622-2634.
- [78] HAN Da-li, LIU Jun, CHEN Chuan-yuan, et al. Anti-tumour immunity controlled through mRNA m⁶A methylation and YTHDF1 in dendritic cells [J]. Nature, 2019, 566:270-274.

Recent Progresses in RNA m⁶A Methylation Research

RU Wen-xiu, SHEN Xue-mei, ZHANG Xiao-yan, CHEN Hong*

(College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: RNA m⁶A methylation is a post-transcriptional modification that occurs at the sixth N atom of RNA adenine. m⁶A is a dynamically reversible modification that catalyzed by methyltransferase, demethylase and reader proteins. It has important regulatory functions. In this review, we summarized the discovery of m⁶A, the role of related enzymes, and vital functions in biological significance, which will provide important theoretical support for the research on the regulation of m⁶A in the genetics and breeding of cattle.

Key words: N⁶-methyladenosine (m⁶A); methyltransferase; demethylase; reader proteins; regulatory function