

# RNA 甲基化修饰调控和规律

杨莹<sup>1,2,3</sup>, 陈宇晟<sup>1,3</sup>, 孙宝发<sup>1,2,3</sup>, 杨运桂<sup>1,2,3</sup>

1. 中国科学院北京基因组研究所, 中国科学院精准基因组医学重点实验室, 北京 100101
2. 中国科学院干细胞创新研究院, 北京 100101
3. 中国科学院大学, 北京 100049

**摘要:** 表观遗传学修饰包括 DNA、RNA 和蛋白质的化学修饰, 基于非序列改变所致基因表达和功能水平变化。近年来, 在 DNA 和蛋白质修饰基础上, 可逆 RNA 甲基化修饰研究引领了第 3 次表观遗传学修饰研究的浪潮。RNA 存在 100 余种化学修饰, 甲基化是最主要的修饰形式。鉴定 RNA 甲基化修饰酶及研发其转录组水平高通量检测技术, 是揭示 RNA 化学修饰调控基因表达和功能规律的基础。本文主要总结了近年来本课题组与合作团队及国内外同行在 RNA 甲基化表观转录组学研究中取得的主要前沿进展, 包括发现了 RNA 去甲基酶、甲基转移酶和结合蛋白, 揭示 RNA 甲基化修饰调控 RNA 加工代谢, 及其调控正常生理和异常病理等重要生命进程。这些系列研究成果证明 RNA 甲基化修饰类似于 DNA 甲基化, 具有可逆性, 拓展了 RNA 甲基化表观转录组学研究新领域, 完善了中心法则表观遗传学规律。

**关键词:** 表观转录组学; RNA 甲基化; RNA 加工; 6-甲基腺嘌呤; 5-甲基胞嘧啶

## RNA methylation: regulations and mechanisms

Ying Yang<sup>1,2,3</sup>, Yusheng Chen<sup>1,3</sup>, Baofa Sun<sup>1,2,3</sup>, Yungui Yang<sup>1,2,3</sup>

1. CAS Key Laboratory of Genomic and Precision Medicine, Beijing Institute of Genomics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China
2. Institute of Stem Cell and Regeneration, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China
3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** Epigenetic modifications include the chemical modifications on DNA, RNA and proteins characterized by altered gene expression and function without any changes in the gene sequence. In addition to well-established DNA and protein epigenetic modifications, the reversible RNA methylation has led the third wave of studies in the epigenetic field. RNA has more than 100 chemical modifications, among which methylation is the major type. The identification of catalyzing enzymes for RNA methylation and the development of high-throughput detection technologies for RNA

收稿日期: 2018-06-29; 修回日期: 2018-10-08

基金项目: 国家重点研发计划项目(973 计划)(编号: 2016YFC0900300), 国家自然科学基金项目(编号: 31500659, 31770872)和中国科学院青年创新促进会项目(编号: CAS 2018133)资助[Supported by the Ministry of Science and Technology of China (No. 2016YFC0900300), the National

Natural Science Foundation of China (Nos. 31500659; 31770872) and the Youth Innovation Promotion Association (No. CAS 2018133)]

作者简介: 杨莹, 博士, 副研究员, 研究方向: RNA 表观转录组学。E-mail: yingyang@big.ac.cn

通讯作者: 杨运桂, 博士, 研究员, 研究方向: RNA 表观转录组学。E-mail: ygyang@big.ac.cn

DOI: 10.16288/j.ycz.18-175

网络出版时间: 2018/11/6 11:15:37

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20181106.1115.001.html>

modification at the transcriptomic level are the prerequisites for revealing the regulatory role of RNA methylation in gene expression and biological functions. In this review, we summarize the recent frontier in RNA methylation-mediated epitranscriptomics from our and other laboratories, with emphasis on the discoveries of RNA modification demethylase, methyltransferase and binding protein as well as the illustration of regulatory roles of RNA methylation modification in hematopoietic stem cell differentiation, spermatogenesis, brain development and other pivotal life processes. These findings have shown that RNA methylation is just as reversible as DNA methylation, and opened up a novel field in RNA methylation-mediated epitranscriptomics, which appends a new layer of epigenetic regulation to the central genetic dogma.

**Keywords:** epitranscriptomics; RNA methylation; RNA processing;  $N^6$ -methyladenosine ( $m^6A$ ); 5-methylcytosine ( $m^5C$ )

RNA 修饰是一种转录后水平的调控方式, 目前已鉴定到超过 150 种 RNA 修饰, 它们广泛分布于信使 RNA (messenger mRNA, mRNA)、转运 RNA (transfer RNA, tRNA)、核糖体 RNA (ribosomal RNA, rRNA)、非编码小 RNA (small non-coding RNA) 和长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 等各类 RNA 上。

6-甲基腺嘌呤( $N^6$ -methyladenosine, 即  $m^6A$ )是 mRNA 上最为常见的一类 RNA 修饰, 它广泛存在于酵母、植物、果蝇以及哺乳动物等各类真核生物中。虽然早在 19 世纪 70 年代就已鉴定到了 RNA 上的  $m^6A$  存在, 但其具体的分子功能却一直处于未知阶段。2011 年以来, 随着 RNA  $m^6A$  第一个去甲基酶 FTO (fat mass and obesity-associated protein) 的鉴定及抗体富集和高通量测序技术的发展, 转录组水平  $m^6A$  分布图谱的精确绘制得以实现, 超过 25% 的转录本上被鉴定到 10 000 个以上的  $m^6A$  峰, 这些  $m^6A$  具有保守修饰基序 RRACH (R 表示 A 或 G, H 表示 A、U 或 C), 并且分布富集于长外显子、终止密码子附近以及 3' 非翻译区 (3'untranslated region, 3'UTR)。转录本  $m^6A$  的修饰水平受甲基转移酶(编码器)、结合蛋白(阅读器)和去甲基化酶(消码器)的动态调控。近年来以  $m^6A$  为代表的 RNA 修饰研究成果, 证明了 RNA 修饰动态可逆性调控 RNA 代谢和加工过程及干细胞定向分化等重要生物学功能<sup>[1,2]</sup>。

5-甲基胞嘧啶(5-methylcytosine,  $m^5C$ )是近年来引起广泛关注的另外一种新的修饰类型。 $m^5C$  最早发现于 tRNA 和 rRNA 中, mRNA 中的  $m^5C$  修饰也已被发现 40 余年, 但对于 mRNA 中  $m^5C$  修饰的特

征及功能目前并不完全清楚。最初基于重亚硫酸盐处理结合转录组测序的研究发现 HeLa 细胞中上千个 mRNA 上的  $m^5C$  修饰位点<sup>[3]</sup>。基于  $m^5C$  抗体免疫沉淀结合重亚硫酸盐测序的研究也鉴定到了古生菌 mRNA 中的  $m^5C$  修饰位点, 及其保守序列 AU ( $m^5C$ ) GANGU<sup>[4]</sup>。近期, 全转录组水平的  $m^5C$  分布特征及功能研究表明,  $m^5C$  具有物种和组织细胞特异性<sup>[5~7]</sup>。其中,  $m^5C$  甲基转移酶 NSUN2 (NOP2/Sun RNA methyltransferase family member 2) 及结合蛋白 ALY-REF (Aly/REF export factor) 的发现, 也充分证明了 RNA  $m^5C$  修饰具有动态可逆性并且能够调控 RNA 代谢和加工过程及重要的生物学功能。

## 1 RNA 修饰相关蛋白

### 1.1 RNA 去甲基酶(Demethylase)

#### 1.1.1 $m^6A$ 去甲基化酶 FTO

19 世纪 70 年代 Desrosiers 等<sup>[8]</sup>发现 mRNA 中存在  $m^6A$  修饰, 但 RNA 修饰研究一直滞后于 DNA 修饰研究, 究其原因, RNA 修饰研究中悬而未决的核心问题是 RNA 修饰是否调控基因表达, 是否具有动态性和可逆性? 通过体外模拟生理环境下的去甲基化反应条件, 将肥胖基因 *FTO* 的野生型和突变型蛋白分别与甲基化底物孵育, 利用质谱和高效液相技术, 对多种甲基化形式进行探索, 最终发现 FTO 对单链 RNA 上的  $m^6A$  具有去甲基化功能; 同时, 在细胞内经高效液相色谱-串联质谱联用(liquid chromatography-tandem mass chromatography, LC-MS/

MS)实验验证发现, *FTO* 基因敲低细胞中 mRNA 中的  $m^6A$  水平升高, 而 *FTO* 过表达细胞中 mRNA 中的  $m^6A$  水平降低。通过免疫荧光实验证实, *FTO* 在细胞核中呈点状分布。通过与各种细胞核内亚细胞器标志分子共染, 发现 *FTO* 与核小斑标志分子 SC35 (splicing component, 35 kDa)、U4/U6.U5 snRNA 相关蛋白 SART1 (U4/U6.U5 tri-snRNP-associated protein 1)、转录酶 RNA Pol II (2 位 Ser 磷酸化) 有部分共定位。转录抑制后, 类似 RNA Pol II (2 位 Ser 磷酸化), *FTO* 会聚集到核小斑。这些实验结果证实了 *FTO* 催化 mRNA 上  $m^6A$  修饰的去甲基化<sup>[9]</sup>。这一重要发现首次揭示了 RNA 化学修饰存在可逆性, 奠定了 RNA 甲基化表观转录组学研究新领域的理论基础。

此外, 近期研究还发现了 *FTO* 的其他底物, 包括  $N^6, 2'$ -O-二甲基腺嘌呤( $N^6, 2'$ -O-dimethyladenosine,  $m^6A_m$ )<sup>[10-12]</sup> 和 1-甲基腺嘌呤( $N^1$ -methyladenosine,  $m^1A$ )<sup>[11]</sup>。最新的研究系统阐述了 *FTO* 介导的 RNA 去甲基化, 其中, 细胞核的 *FTO* 介导  $m^6A$  的去甲基化, 细胞质中的 *FTO* 介导  $m^6A_m$  和  $m^6A$  的去甲基化; 此外, *FTO* 还可以结合 tRNA, 介导 tRNA 的  $m^1A$  的去甲基化并进一步影响蛋白的翻译速率<sup>[11]</sup>。

### 1.1.2 $m^6A$ 去甲基化酶 ALKBH5

*FTO* 是二价铁/ $\alpha$ -酮戊二酸盐依赖型双加氧酶 AlkB 家族成员之一, 该家族其他成员包括 ALKBH1-8。这些 ALKBH 成员是否也具有  $m^6A$  去甲基酶活性? 整合质谱学、细胞生物学、基因组学、生物信息学和模式生物学等, 鉴定到 ALKBH5 (alkB homolog 5, RNA demethylase) 具有催化  $m^6A$  去甲基化活性。在细胞系中敲低 *ALKBH5*, mRNA 的  $m^6A$  水平显著升高; 与野生型小鼠睾丸相比, *Alkbh5* 敲除小鼠的睾丸中  $m^6A$  水平升高, 这些结果证明 ALKBH5 类似于 *FTO*, 具有催化  $m^6A$  去甲基化活性。通过对雄性 *Alkbh5* 敲除小鼠的表型分析, 发现雄性小鼠睾丸变小、生精异常、精子活力受损。利用转录组测序(RNA sequencing, RNA-seq)和基因功能聚类分析筛查 *Alkbh5* 敲除小鼠的睾丸组织差异表达基因, 发现受累基因功能通路涉及精子发生, 提示  $m^6A$  去甲基化参与调控小鼠精子发育过程<sup>[13]</sup>。

## 1.2 RNA 甲基转移酶(Methyltransferase)

### 1.2.1 $m^6A$ 甲基转移酶复合物核心组分 METTL3、METTL14 和 WTAP

$m^6A$  去甲基酶 *FTO* 和 *ALKBH5* 的发现, 为鉴定  $m^6A$  甲基转移酶提供了重要线索。早期研究发现 RNA  $m^6A$  甲基转移酶全酶复合物由至少两个亚复合物 MT-A (~200 kDa) 和 MT-B (~800 kDa) 组成, 但基于鉴定技术和酶学方法的缺乏, 只有 METTL3 (methyltransferase like 3, ~70 kDa) 蛋白被鉴定, 而该亚基单独是没有酶活性的<sup>[14-16]</sup>。因此, 具有酶活性的  $m^6A$  甲基转移酶核心组分的鉴定, 是研究  $m^6A$  调控功能和作用规律的关键。利用串联亲和沉淀结合质谱分析, 发现甲基转移酶复合物中的另外两个组分—WTAP (Wilms' tumor 1-associating protein) 和 METTL14 (methyltransferase like 14); 结合免疫荧光共聚焦显微镜技术和基于光交联免疫共沉淀技术(photoactivatable ribonucleoside-enhanced crosslinking and immunoprecipitation, PAR-CLIP) 的测序技术, 鉴定了 WTAP 和 METTL3 在细胞内主要作用底物 mRNA 具有  $m^6A$  保守基序特征 RRACH, 发现在 *WTAP* 基因敲低的情况下 METTL3 和 METTL4 在负责 mRNA 加工的亚细胞器—核小斑上的定位信号减少及 METTL3 结合 RNA 亲和力降低, 提示 WTAP 作为调节亚基, 调控  $m^6A$  甲基转移酶催化亚基 METTL3/METTL14 复合物定位和结合 mRNA; *WTAP* 和 *METTL3* 基因敲低导致斑马鱼胚胎组织分化发育异常以及细胞凋亡的增多<sup>[17]</sup>。

### 1.2.2 其他组分

$m^6A$  甲基转移酶属于多因子功能复合物, 除了催化亚基 METTL3, 国内外多个实验室鉴定到的多个新组分包括 METTL14<sup>[17-19]</sup>、WTAP<sup>[17, 19-21]</sup>、VIRMA (vir like  $m^6A$  methyltransferase associated, 也称 KIAA1429)<sup>[22, 23]</sup>、RBM15 (RNA binding motif protein 15)<sup>[24]</sup> 和 ZC3H13 (zinc finger CCCH-type containing 13)<sup>[25-27]</sup>, 这些组分的功能很大程度上是作为调节亚基, 调控 METTL3 在细胞内的活性。METTL3 的同源蛋白 METTL16 (methyltransferase like 16) 通过动态调控 U6 snRNA 和靶 mRNA 的  $m^6A$  修饰, 从而调

节细胞内 S-腺苷基甲硫氨酸(S-adenosyl methionine, SAM)水平。METTL16 的活性需要 UACAGAGAA 九聚体和一类特殊的 RNA 结构<sup>[28]</sup>。

### 1.2.3 miRNA 调控 m<sup>6</sup>A 甲基转移酶活性

m<sup>6</sup>A 修饰在 mRNA 保守序列 RRACH 中碱基腺嘌呤(A)位点选择性形成。应用 m<sup>6</sup>A 抗体免疫共沉淀-高通量测序技术(m<sup>6</sup>A-specific methylated RNA immunoprecipitation with next generation sequencing, MeRIP-seq), 可以检测到成熟 mRNA 中 1%~5% 的 RRACH 基序被甲基化, 因此这些被甲基化的 A 位点可能存在选择性机制。利用 m<sup>6</sup>A 甲基化测序技术分析了 4 种不同多能性程度的细胞(胚胎干细胞、诱导性多能干细胞、神经干细胞、睾丸支持细胞)中 mRNA 上的 m<sup>6</sup>A 修饰图谱, 发现 m<sup>6</sup>A 修饰具有基因和细胞类型特异性并且 m<sup>6</sup>A 修饰在 microRNA (miRNA)靶位点富集。在小鼠神经干细胞(neural stem cell, NSC)和人 HeLa 细胞中, 敲低或过表达负责 miRNA 生成的核酸内切酶 Dicer 显著影响了 m<sup>6</sup>A 水平。在小鼠 NSC 中过表达或抑制与 m<sup>6</sup>A 修饰区域互补配对的 miRNA, 发现 miRNA 相应靶标位点的 m<sup>6</sup>A 水平显著升高或降低。利用免疫荧光技术发现 Dicer 能调控 METTL3 的核小斑定位; 利用 PAR-CLIP 技术发现 Dicer 敲低后, METTL3 结合的 RNA 水平急剧下降; 利用 RNA 免疫共沉淀技术(RNA immunoprecipitation, RIP)发现 miRNA 过表达或敲低显著增加或降低了 METTL3 结合的 miRNA 靶标 mRNA 的水平, 说明 miRNA 通过调控 METTL3 结合 mRNA 的能力来调控其 m<sup>6</sup>A 甲基转移酶活性。在表达 4 个 Yamanaka 因子(*Oct4*、*Sox2*、*Klf4*、*c-Myc*)的小鼠胚胎成纤维细胞(mouse embryonic fibroblasts, MEF)中过表达或敲低 *Mettl3* 显著提高或降低了 m<sup>6</sup>A 的水平和重编程效率, 以及多能性因子 *Oct4*、*Sox2*、*Nanog* 的表达, 说明 m<sup>6</sup>A 修饰促进体细胞重编程为多能性细胞<sup>[29]</sup>。这些研究结果揭示了 miRNA 通过序列互补调控 mRNA 甲基化修饰形成这一全新的作用机制及 m<sup>6</sup>A 修饰调控细胞重编程命运重要功能。

### 1.2.4 m<sup>5</sup>C 甲基转移酶 NSUN2

除了 m<sup>6</sup>A 修饰, RNA 还存在 m<sup>5</sup>C 修饰, 其在

tRNA、rRNA 和 mRNA 等各类 RNA 中均有分布。尽管在 19 世纪 70 年代就已在 mRNA 上鉴定到 m<sup>5</sup>C 的存在<sup>[8, 30]</sup>, 然而受限于检测技术, 直到近年来随着高通量测序技术的发展, m<sup>5</sup>C 研究才取得了进展。为揭示 mRNA 上 m<sup>5</sup>C 修饰的分布规律和生物学功能, 通过优化 RNA m<sup>5</sup>C 单碱基测序及分析方法, 绘制了人类 HeLa 细胞系及小鼠 6 个组织的 m<sup>5</sup>C 转录组分布图谱, 发现 m<sup>5</sup>C 在 mRNA 具有物种保守性, 显著富集于翻译起始密码子下游以及 CG 富集区域; 而在小鼠不同组织中, m<sup>5</sup>C 修饰具有组织特异性和发育动态性, 提示 m<sup>5</sup>C 在发育和分化过程中扮演重要调控角色。为鉴定 mRNA 的 m<sup>5</sup>C 甲基转移酶, 运用超高效液相色谱-三重四级杆-多重反应检测质谱(ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry with multiple-reaction monitoring, UHPLC-QQQ-MRM-MS/MS)技术鉴定并发现了 NSUN2 是 mRNA 特异的 m<sup>5</sup>C 甲基转移酶, 其催化活性依赖于 C271 (Cysteine 271)和 C321 (Cysteine 321)两个半胱氨酸位点; 高通量测序分析结果也表明, NSUN2 敲低能够显著降低 mRNA m<sup>5</sup>C 的修饰水平<sup>[5]</sup>。

## 1.3 RNA 甲基化修饰结合蛋白

### 1.3.1 m<sup>6</sup>A 结合蛋白 YTHDC1

m<sup>6</sup>A 调控 mRNA 加工和代谢功能很大程度上依赖于其结合蛋白的有效识别。转录组结合 MeRIP-seq 分析表明, FTO 表达降低可导致 m<sup>6</sup>A 的水平升高, 分化各时期的 m<sup>6</sup>A 修饰以及 FTO 介导的 m<sup>6</sup>A 修饰在 5'和 3'剪接位点相邻的外显子区域显著富集, 调节脂肪前体细胞分化, 提示 m<sup>6</sup>A 修饰可能作为一种新顺式元件调控 mRNA 的剪接<sup>[31]</sup>。那么细胞核内 m<sup>6</sup>A 修饰如何调控 mRNA 选择性剪接? 通过免疫共沉淀结合质谱分析技术, 发现定位于细胞核内的 m<sup>6</sup>A 结合蛋白 YTHDC1 (YTH domain containing 1)与剪接因子 SRSF3 (serine and arginine rich splicing factor 3)和 SRSF10 (serine and arginine rich splicing factor 10)发生相互作用, 提示 m<sup>6</sup>A 通过 YTHDC1 调控 mRNA 选择性剪接。运用 RNA-seq 分析, 发现 YTHDC1、METTL3 和 SRSF3 敲低后, 转录本外显子的保留水平在总体上是降低的, 而 SRSF10 敲低后



则相反。结合光交联增强型免疫共沉淀及测序技术(PAR-CLIP-seq)进一步分析,发现有  $m^6A$  修饰的外显子更倾向于被保留。剪接因子 SRSF3 和 SRSF10 能够与 YTHDC1 直接相互作用,并且竞争性的结合 YTHDC1。*YTHDC1* 或 *METTL3* 敲低后, SRSF3 的 RNA 结合能力以及蛋白的核内定位信号明显减弱,而 SRSF10 则呈现相反趋势,说明 YTHDC1 招募 SRSF3 到 RNA 的结合位点,同时抑制 SRSF10 到 RNA 结合位点,揭示了  $m^6A$  在细胞核内通过调控选择性剪接的方式影响转录本<sup>[32]</sup>。

此外,近期一项研究工作表明, YTHDC1 可与 SRSF3 及 RNA 出核因子 NXF1 (nuclear RNA export factor 1)相互作用,促进  $m^6A$  修饰的 mRNA 的出核<sup>[33]</sup>。该研究进一步拓展了 YTHDC1 介导的  $m^6A$  对 mRNA 代谢的调控作用。

近期研究对于 HNRNP 家族成员 HNRNPA2B1 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1)是否是  $m^6A$  结合蛋白还存在争议。Alarcón 等<sup>[34]</sup>发现 HNRNPA2B1 可直接结合  $m^6A$  并且与 METTL3 协同调控可变剪接事件以及 miRNA 前体的加工。而 Wu 等<sup>[35]</sup>基于蛋白结构的分析发现了一种由 HNRNPA2B1 介导的“ $m^6A$  开关”而非直接结合的机制。此外,其他两种 HNRNP 蛋白—HNRNPC (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C)<sup>[36]</sup>和 HNRNPG (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein G)<sup>[37]</sup>,也可调控  $m^6A$  修饰的 RNA 转录本的加工。其中,  $m^6A$  作为一种结构开关改变 RNA 的结构,从而调控 HNRNPC 和 HNRNPG 对转录本的结合。

### 1.3.2 $m^6A$ 结合蛋白 YTHDF2

2014 年,研究人员首次报道了  $m^6A$  的结合蛋白 YTHDF2 (YTH domain family, member 2)可介导  $m^6A$  修饰的 mRNA 的降解。正常条件下, YTHDF2 可与脱腺苷酸酶复合物及脱帽复合物蛋白共定位,并且将其靶基因的转录本带入降解小体<sup>[38]</sup>。随后的研究进一步表明, YTHDF2 通过招募 CCR4-NOT 脱腺苷酸复合物从而加速  $m^6A$  修饰的转录本的降解<sup>[39]</sup>。

### 1.3.3 $m^6A$ 结合蛋白 YTHDF1

YTHDF1 (YTH domain family, member 1)最初

被发现可结合到  $m^6A$  修饰的转录本的终止密码子附近,其整体分布与  $m^6A$  修饰非常相似。此外, YTHDF1 可与翻译起始复合物直接作用,从而促进  $m^6A$  修饰的 RNA 底物的翻译效率<sup>[40]</sup>。

### 1.3.4 $m^6A$ 结合蛋白 YTHDF3

定位在细胞质的  $m^6A$  结合蛋白包括 YTHDF1、YTHDF2、YTHDF3 (YTH domain family, member 3) 和 YTHDC2 (YTH domain containing 2)。通过串联亲和和沉淀结合质谱技术以及 GST-Pull down 实验,鉴定出 YTHDF3 和 YTHDF1 与核糖体 40S 小亚基和 60S 大亚基蛋白相互作用。利用新蛋白合成实验,发现 YTHDF3 可以促进翻译效率,回补实验证明这种现象只能被野生型的 YTHDF3 蛋白回补,而不能被  $m^6A$  结合关键位点突变体(Tryptophan 438, W438; Tryptophan 492, W492) YTHDF3 蛋白回补。PAR-CLIP-seq 结合生物信息学分析发现, YTHDF1 和 YTHDF3 结合基序相似,结合位点都主要位于 3'UTR。YTHDF3 可以促进 YTHDF1 和 YTHDF3 共有靶基因的翻译效率,提示 YTHDF3 和 YTHDF1 协同调控 mRNA 翻译效率,揭示了  $m^6A$  在细胞质内阅读器 YTHDF3 调控 mRNA 的翻译效率的新机制<sup>[41]</sup>。

此外,通过与 YTHDF2 直接作用, YTHDF3 还可以介导 mRNA 降解<sup>[42]</sup>。

### 1.3.5 $m^6A$ 结合蛋白 YTHDC2

YTHDC2 是 YTH 家族中分子量最大的一个成员,也倾向于结合  $m^6A$  修饰的保守基序,并增强其底物的翻译效率或降低底物的丰度<sup>[43~46]</sup>。此外, YTHDC2 还与小鼠精子发生密切相关<sup>[43]</sup>。

### 1.3.6 其他 $m^6A$ 结合蛋白

在酵母中, YTH 家族的另一成员 Mrb1 (methylated RNA binding protein 1)也被报道可结合  $m^6A$  修饰的 RNA<sup>[47]</sup>。此外,一些基于 RNA pull-down 的研究检测到了其他的  $m^6A$  结合蛋白,包括 ELAVL1 (ELAV-like protein 1)<sup>[18, 48, 49]</sup>、FMR1 (fragile X mental retardation 1)<sup>[50, 51]</sup>、LRPPRC (leucine rich pentatricopeptide repeat containing)<sup>[51]</sup>以及 IGF2BP 家族蛋白(insulin like growth factor 2 mRNA binding proteins)<sup>[52]</sup>。然而,

这些蛋白是否直接结合  $m^6A$ , 以及他们是否是  $m^6A$  结合复合物的一部分, 还有待深入研究。

### 1.3.7 $m^5C$ 结合蛋白 ALYREF

为了鉴定  $m^5C$  的结合蛋白, 设计了包含和不含  $m^5C$  两种 RNA 寡聚核苷酸底物, 通过寡聚核苷酸富集联合蛋白质质谱技术, 鉴定到 mRNA 出核功能复合物组分 ALYREF 蛋白能够结合  $m^5C$  修饰的 RNA 寡聚核苷酸。结合凝胶迁移实验 (electrophoretic mobility shift assay, EMSA) 及 RIP 结合 HPLC 和测序技术, 发现 ALYREF 的 K171 (Lysine 171) 突变能够显著降低其结合  $m^5C$  的能力, 进而降低其与 RNA 的结合能力。利用荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 技术, 发现 mRNA 出核效率随着 *NSUN2* 和 *ALYREF* 的敲低而降低。通过回补实验, 发现只有 *NSUN2* 和 *ALYREF* 的野生型蛋白能够分别回补 *NSUN2* 和 *ALYREF* 敲低而导致的 mRNA 出核降低, 提示  $m^5C$  在 mRNA 出核过程中具有重要的调控作用<sup>[5]</sup>。

## 2 RNA 甲基化修饰的生物学功能

### 2.1 RNA 甲基化修饰 $m^6A$ 调控造血干细胞定向分化

METTL3 介导的  $m^6A$  修饰在生物节律、DNA 损伤应答、干细胞的自我更新和多能性调控、母源-合子转换、果蝇神经功能调节与性别决定、小鼠早期胚胎发育等真核生物的各种生物学过程和个体发育中发挥着非常重要的作用<sup>[29, 31, 53-60]</sup>。RNA 甲基修饰酶和结合蛋白及其参与 RNA 代谢加工的发现, 提示 RNA 甲基化修饰具有重要生物学功能。脊椎动物中, 造血干细胞最初由特化的生血内皮通过内皮-造血转化过程 (endothelial-to-haematopoietic transition, EHT) 产生于胚胎期主动脉-性腺-中肾区, 随后向血组织迁移并进行扩增, 向胸腺迁移发育为淋系细胞, 最后向骨髓 (小鼠和人) 或骨髓 (斑马鱼) 迁移以维持终生造血。通过  $m^6A$  抗体进行 MeRIP-seq 和  $m^6A$  单碱基分辨率的 miCLIP-seq 测序技术, 绘制了斑马鱼胚胎发育的  $m^6A$  修饰精细图谱, 发现  $m^6A$  通过特异性修饰内皮-造血转化过程中的关键基因 *notch1a*,

招募结合蛋白 YTHDF2 降解 mRNA, 抑制了 Notch 信号通路, 使得内皮-造血转化过程有序发生, 促进内皮细胞转化为造血干/祖细胞 (haematopoietic stem/progenitor cells, HSPCs)。在 *mettl3* 缺陷的斑马鱼胚胎中,  $m^6A$  修饰水平显著降低, *notch1a* 无法正常降解使得 Notch 信号通路持续激活, 最终导致内皮细胞无法正常转化为造血干/祖细胞<sup>[61]</sup>。此外, *Mettl3* 敲除小鼠胚胎中也表现出相似的表型<sup>[62]</sup>。这些结果揭示 mRNA  $m^6A$  甲基化修饰在脊椎动物造血干细胞命运决定中的调控机制, 阐释 RNA 的表观修饰在血液发育中的关键作用。

### 2.2 RNA 甲基化修饰 $m^6A$ 调控精子发生

由于 *Mettl3* 敲除会导致小鼠早期胚胎致死<sup>[56]</sup>, *Mettl3* 条件敲除介导的  $m^6A$  修饰在哺乳动物体内组织发育中的生物学功能还不清楚。利用 CRISPR/Cas9 系统介导的同源重组技术和 Cre-loxP 系统成功地建立了生殖细胞 (Vasa-Cre) 中特异性敲除 *Mettl3* 的小鼠 (*Mettl3*<sup>CKO</sup>) 模型, 并利用该模型系统地研究了 METTL3 介导的  $m^6A$  修饰在小鼠精子发生过程中的重要作用和调控机制。通过 H&E (苏木素-伊红) 染色、免疫荧光染色、核染色体铺片等研究表明, *Mettl3* 敲除会抑制小鼠精原干细胞分化和减数分裂起始过程, 最终导致雄性小鼠不育。通过 RNA-seq、 $m^6A$ -miCLIP-seq 和生物信息学分析发现, *Mettl3* 缺失会导致  $m^6A$  水平下降, 引起与精原干细胞维持和分化、细胞周期和减数分裂相关基因的 RNA 可变剪接异常和生殖细胞整体基因表达的紊乱, 最终导致精子发生过程受阻, 说明 RNA 甲基转移酶 METTL3 介导的  $m^6A$  修饰在哺乳动物小鼠精子发生过程中的重要生物学功能<sup>[63]</sup>。

在小鼠生殖细胞中用 Vasa-Cre 特异性敲除 *Mettl3* 或者 *Mettl14* 会导致  $m^6A$  水平下降, 引起精原干细胞增殖和分化相关基因转录物的翻译功能失调, 精原干细胞逐渐耗尽; 利用 Stra8-GFP-Cre 同时敲除 *Mettl3* 和 *Mettl14*, 会破坏精子发生过程中单倍体特异性基因的翻译, 最终导致精子形成受阻<sup>[64]</sup>。而雄性  $m^6A$  去甲基酶 *Alkbh5*<sup>-/-</sup> 小鼠也出现睾丸变小、生精异常、精子活力异常等表型; 同时在发育至 VII 期的生精小管中检测到初级与次级精母细胞数量显

著增加,粗线精母细胞与成熟精子的数量明显减少,同时伴有细胞凋亡<sup>[13]</sup>。*Ythdc2* 敲除小鼠也发生在精细胞减数分裂前期出现过度的细胞凋亡,从而导致睾丸变小及精子发育异常<sup>[43]</sup>。*YTHDC2* 的  $m^6A$  结合能力及其 3'→5'解旋酶活性对于维持精子发育过程中减数分裂相关基因的正确表达模式具有重要调控功能<sup>[45]</sup>。上述研究提示 RNA  $m^6A$  甲基化修饰的动态平衡是配子(精子)发育过程中重要的调控因素。

### 2.3 RNA 甲基化修饰 $m^6A$ 调控脑发育

$m^6A$  修饰在神经系统的发育以及功能的行使中也发挥不可替代的调控作用<sup>[59, 65, 66]</sup>。 $m^6A$  RNA 甲基化修饰在中枢神经系统的发育以及功能行使中发挥重要的调控作用。敲除 *Ime4* 基因的果蝇可以出生并存活,但果蝇寿命变短,并表现出明显的行为异常,提示  $m^6A$  修饰的缺失影响果蝇神经系统功能<sup>[59]</sup>。在小鼠的中枢神经系统中特异地敲除 *Mettl14* 基因会严重影响小鼠大脑皮质的发育<sup>[67]</sup>。小鼠中 *Ythdf2* 基因缺失导致  $m^6A$  整体水平升高,使得参与神经干细胞分化和神经元轴树突形成的重要因子无法正常进入 RNA 降解途径,从而导致大脑皮层神经干细胞不能正常地进行不对称分裂,造成神经前体细胞的大量缺失、严重影响神经元的分化,致使小鼠的前脑大脑皮层发育缓慢<sup>[68]</sup>。除大脑皮层外,小脑的 RNA  $m^6A$  甲基化模式和水平尤为突出。 $m^6A$  甲基化与去甲基化的动态过程贯穿于小脑出生后发育的整个过程,且在低压低氧环境下 *Alkbh5* 基因缺失造成参与小脑发育调控进程基因的  $m^6A$  水平紊乱,加快了 RNA 出核过程,从而导致小脑发育明显滞后<sup>[69]</sup>。

通过 Cre-loxP 系统在小鼠的中枢神经系统中特异地敲除 *Mettl3* 基因,以探究  $m^6A$  甲基化修饰对中枢神经系统发育的影响。在中枢神经系统特异地敲除 *Mettl3* 导致小鼠在哺乳期表现出严重的运动功能障碍,并导致死亡。解剖和病理切片检测发现由 *Mettl3* 敲除引起的  $m^6A$  甲基化修饰的缺失严重影响大脑皮层和小脑的发育,导致大脑皮层偏薄和小脑发育不良。 $m^6A$  甲基化修饰的缺失引起小脑内颗粒神经元分化和成熟过程中基因表达调控紊乱,导致新生的颗粒神经元大量凋亡<sup>[70]</sup>,揭示了 *METTL3* 介导的  $m^6A$  修饰在哺乳动物中枢神经系统发育中的重

要作用。

除了对中枢神经系统发育的影响, $m^6A$  修饰也参与成体的神经系统调控,神经轴突损伤会促使神经细胞内  $m^6A$  修饰水平提高,进而提高包括轴突再生相关基因在内的一系列基因的蛋白质翻译效率<sup>[70]</sup>。

### 2.4 RNA 甲基化修饰 $m^6A$ 与 RNA 代谢

目前越来越多的研究表明,从细胞核内的前体 mRNA 加工、mRNA 表达到细胞质的 mRNA 翻译和降解, $m^6A$  几乎参与调控了 RNA 加工代谢的各个过程。在细胞核内, $m^6A$  通过结合蛋白 *YTHDC1* 招募 *SRSF3* 参与调控前体 mRNA 的选择性剪接过程<sup>[32]</sup>;通过调控最后一个外显子的选择性剪接,参与调控腺苷多聚体的多样性<sup>[71, 72]</sup>;而  $m^6A$  修饰酶体系 *METTL3*、*ALKBH5* 和 *YTHDC1* 还被发现参与调控 mRNA 的出核过程<sup>[13, 33]</sup>。在细胞质中, $m^6A$  调控翻译的机制十分多样,既有通过 *YTHDF1-eIF3* (eukaryotic translation initiation factor 3) 通路调控 mRNA 翻译效率的方式<sup>[40]</sup>,也存在 *IGF2BP* 家族蛋白介导的调控过程<sup>[52]</sup>,并且在应激状态下, $m^6A$  参与一类不依赖于 5'帽子的翻译调控通路<sup>[73]</sup>;并且其对 mRNA 稳定性的调控也存在不同的通路,既包括通过 *YTHDF2* 将 mRNA 招募至 P 小体降解 mRNA 的调控方式<sup>[38]</sup>,近期有报道指出 *IGF2BP* (insulin-like growth factor 2 mRNA-binding proteins) 家族蛋白通过特异性结合  $m^6A$  修饰 mRNA 维持其稳定性<sup>[52]</sup>。此外, $m^6A$  还可通过调控 RNA 的二级结构调控其代谢过程<sup>[36, 37]</sup>。

### 2.5 RNA 甲基化修饰 $m^5C$ 的生物学功能

近年来越来越多的研究表明,mRNA 上的  $m^5C$  修饰在 RNA 加工代谢及正常生理过程中发挥重要的调控作用,包括 RNA 代谢、干细胞分化及应激反应等过程。对小鼠胚胎干细胞和大脑的研究表明,在干细胞分化不同时期, $m^5C$  修饰水平和分布明显不同<sup>[7]</sup>。在拟南芥中,mRNA 上的  $m^5C$  修饰呈现组织特异性,且对植物发育非常重要<sup>[6, 74]</sup>。拟南芥中的  $m^5C$  甲基转移酶 *TRM4B* 突变体植株的根顶端分生组织细胞分裂受阻,从而导致除根较短,并且对



氧化应激非常敏感<sup>[6]</sup>。

### 3 结语与展望

在读码器和消码器的共同作用下, RNA m<sup>6</sup>A 修饰水平得以实现动态调控, 并通过招募不同的结合蛋白实现对 RNA 加工过程的精细调控。虽然该研究领域还有部分观点存在不确定性, 需要在将来投入更多的研究工作来证明。目前通过改造 DNA 聚合酶实现 m<sup>6</sup>A 修饰位点错配以检测单碱基精度的 m<sup>6</sup>A 转录组修饰水平<sup>[75]</sup>, 以及借助纳米孔测序直接检测转录本上鉴定 RNA 修饰的技术<sup>[76]</sup>, 已成为领域内最热门的研究热点。该技术的实现, 将成为阐明 m<sup>6</sup>A 修饰动态调控机制及其分子功能的核心关键。

对于 m<sup>5</sup>C 修饰, 更为精确的 m<sup>5</sup>C 检测方法的开发对于高可信度的 m<sup>5</sup>C 修饰谱的建立至关重要。同样, 纳米孔测序对于 m<sup>5</sup>C 的研究也非常重要。其次, m<sup>5</sup>C 的书写器、阅读器和擦除器的研究才刚刚开始, 这些方向的发展将为揭示 RNA m<sup>5</sup>C 修饰的生物学功能提供线索。此外, 由 m<sup>5</sup>C 氧化产生的 5-羟甲基-

胞嘧啶(5-hydroxymethylcytosine, hm<sup>5</sup>C)等新型 RNA 修饰类型的特征及功能也有待未来进行深入研究。

除了 m<sup>6</sup>A 与 m<sup>5</sup>C 之外, RNA 新型化学修饰也是近期研究的热点。最近研究人员发现 mRNA 上还存在另外一种新型甲基化修饰——m<sup>1</sup>A, 研究人员利用特异识别 m<sup>1</sup>A 的抗体来富集含有 m<sup>1</sup>A 的 RNA 片段并结合高通量测序, 获得了全转录组水平的 m<sup>1</sup>A 甲基化谱图, 发现 m<sup>1</sup>A 特异富集在 5'非翻译区(5'UTR)区域<sup>[77, 78]</sup>; 并且, 还发展出单碱基分辨率的 m<sup>1</sup>A 检测方法, 发现核编码和线粒体编码转录本上存在不同类型的 m<sup>1</sup>A 甲基化组<sup>[79]</sup>。目前对于 mRNA 上 m<sup>1</sup>A 修饰的研究仍然处于起步阶段, 例如 5'UTR 的 m<sup>1</sup>A 甲基转移酶, m<sup>1</sup>A 修饰参与 RNA 代谢调控的具体分子机制, m<sup>1</sup>A 修饰是否像 m<sup>6</sup>A 修饰一样在多个生物学过程中发挥调控作用等都有待未来进行深入的研究。

综上所述, 以 m<sup>6</sup>A 为代表的 RNA 修饰在 RNA 加工及生命过程中扮演着重要的调控作用(表 1)。随着研究的深入及先进技术的开发, RNA 修饰调控基因表达的生物过程与机制一定会更加清楚。

表 1 RNA 修饰的主要功能及调控蛋白

Table 1 The functions and regulatory machinery of RNA modifications

修饰类型	主要功能	调节蛋白	参考文献
m <sup>6</sup> A	鉴定了第一个 m <sup>6</sup> A 去甲基化酶 FTO	FTO	[9]
	FTO 还可以催化 m <sup>6</sup> A <sub>m</sub> 和 m <sup>1</sup> A 的去甲基化	FTO	[10~12]
	去甲基化酶 FTO 介导的 m <sup>6</sup> A 修饰可以作为新型顺式元件调控 mRNA 剪接, 及脂肪前体细胞分化	FTO	[31]
	鉴定了第二个 m <sup>6</sup> A 去甲基化酶 ALKBH5, 发现 m <sup>6</sup> A 去甲基化参与 mRNA 出核及小鼠精子发育	ALKBH5	[13]
	鉴定了 m <sup>6</sup> A 甲基转移酶复合物的新组分 WTAP 和 METTL14, WTAP 作为调节亚基调控催化亚基 METTL3/METTL14 复合物的定位及底物结合能力	WTAP/METTL3/METTL14	[17]
	发现 miRNA 通过序列互补调控 mRNA 甲基化修饰形成机制及 m <sup>6</sup> A 调控细胞重编程的重要功能	METTL3	[29]
	Mettl3 介导的 m <sup>6</sup> A 调控小鼠精子发生过程	METTL3	[63]
	Mettl3 介导的 m <sup>6</sup> A 调控小鼠小脑发育	METTL3	[70]
	m <sup>6</sup> A 甲基转移酶复合物的组分鉴定, 包括 METTL14, WTAP, VIRMA, RBM15, ZC3H13, 以及 METTL16 等	METTL14、WTAP、VIRMA、RBM15、ZC3H13、METTL16	[17~28]
	m <sup>6</sup> A 结合蛋白 YTHDC1 可与 SRSF3 及 SRSF10 直接相互作用, 调控 mRNA 选择性剪接	YTHDC1	[32]
	m <sup>6</sup> A 结合蛋白 YTHDC1 可与 SRSF3 及 RNA 出核因子 NXF1 相互作用, 调控 mRNA 出核	YTHDC1	[33]



续表

修饰类型	主要功能	调节蛋白	参考文献
m <sup>6</sup> A	m <sup>6</sup> A 结合蛋白 YTHDF1 可与翻译起始复合物直接作用, 促进 m <sup>6</sup> A 修饰的 RNA 底物的翻译效率	YTHDF1	[40]
	m <sup>6</sup> A 结合蛋白 YTHDF2 介导 m <sup>6</sup> A 修饰的 mRNA 的降解	YTHDF2	[38, 39]
	m <sup>6</sup> A 调控造血干细胞定向分化	YTHDF2、METTL3	[61, 62]
	m <sup>6</sup> A 结合蛋白 YTHDF3 可与 YTHDF1 协同作用调控 mRNA 翻译	YTHDF3/YTHDF1	[41]
	m <sup>6</sup> A 结合蛋白 YTHDF3 可与 YTHDF2 协同作用介导 mRNA 降解	YTHDF3/YTHDF2	[42]
	m <sup>6</sup> A 结合蛋白 YTHDC2 调控 mRNA 翻译或降解, 以及小鼠精子发生过程	YTHDC2	[43~46]
	m <sup>6</sup> A 结合蛋白 IGF2BP1/2/3 介导 mRNA 稳定性及翻译	IGF2BP1/2/3	[52]
	其他可能的 m <sup>6</sup> A 结合蛋白	Mrb1, ELAVL1、FMR1、LRPPRC	[18, 47~51]
m <sup>5</sup> C	发现了 mRNA m <sup>5</sup> C 的分布规律, 鉴定了 mRNA m <sup>5</sup> C 的主要甲基转移酶 NSUN2 和第一个结合蛋白 ALYREF, 及其调控 mRNA 出核的分子机制	NSUN2、ALYREF	[5]
	拟南芥 mRNA m <sup>5</sup> C 修饰调控组织发育, 甲基转移酶为 TRM4B	TRM4B	[6]
m <sup>1</sup> A	揭示了全转录组水平的 m <sup>1</sup> A 甲基化图谱		[77, 78]
	发展了单碱基分辨率的 m <sup>1</sup> A 测序方法, 发现核编码及线粒体编码转录本上不同类型的 m <sup>1</sup> A 甲基化组	ALKBH3	[79]

## 参考文献(References):

- [1] Yang Y, Hsu PJ, Chen YS, Yang YG. Dynamic transcriptomic m<sup>6</sup>A decoration: writers, erasers, readers and functions in RNA metabolism. *Cell Res*, 2018, 28(6): 616–624. [DOI]
- [2] Frye M, Harada BT, Behm M, He C. RNA modifications modulate gene expression during development. *Science*, 2018, 361(6409): 1346–1349. [DOI]
- [3] Squires JE, Patel HR, Nousch M, Sibbritt T, Humphreys DT, Parker BJ, Suter CM, Preiss T. Widespread occurrence of 5-methylcytosine in human coding and non-coding RNA. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(11): 5023–5033. [DOI]
- [4] Edelheit S, Schwartz S, Mumbach MR, Wurtzel O, Sorek R. Transcriptome-wide mapping of 5-methylcytidine RNA modifications in bacteria, archaea, and yeast reveals m<sup>5</sup>C within archaeal mRNAs. *PLoS Genet*, 2013, 9(6): e1003602. [DOI]
- [5] Yang X, Yang Y, Sun BF, Chen YS, Xu JW, Lai WY, Li A, Wang X, Bhattarai DP, Xiao W, Sun HY, Zhu Q, Ma HL, Adhikari S, Sun M, Hao YJ, Zhang B, Huang CM, Huang N, Jiang GB, Zhao YL, Wang HL, Sun YP, Yang YG. 5-methylcytosine promotes mRNA export-NSUN2 as the methyltransferase and ALYREF as an m<sup>5</sup>C reader. *Cell Res*, 2017, 27(5): 606–625. [DOI]
- [6] David R, Burgess A, Parker B, Li J, Pulsford K, Sibbritt T, Preiss T, Searle IR. Transcriptome-wide mapping of RNA 5-methylcytosine in *Arabidopsis* mRNAs and noncoding RNAs. *Plant Cell*, 2017, 29(3): 445–460. [DOI]
- [7] Amort T, Rieder D, Wille A, Khokhlova-Cubberley D, Riml C, Trixl L, Jia XY, Micura R, Lusser A. Distinct 5-methylcytosine profiles in poly(A) RNA from mouse embryonic stem cells and brain. *Genome Biol*, 2017, 18(1): 1. [DOI]
- [8] Desrosiers R, Friderici K, Rottman F. Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikoff hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, 71(10): 3971–3975. [DOI]
- [9] Jia G, Fu Y, Zhao X, Dai Q, Zheng G, Yang Y, Yi C, Lindahl T, Pan T, Yang YG, He C. N<sup>6</sup>-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(12): 885–887. [DOI]
- [10] Mauer J, Luo X, Blanjoie A, Jiao X, Grozhik AV, Patil DP, Linder B, Pickering BF, Vasseur JJ, Chen Q, Gross SS, Elemento O, Debat F, Kiledjian M, Jaffrey SR. Reversible methylation of m<sup>6</sup>A<sub>m</sub> in the 5' cap controls mRNA stability.

- Nature*, 2017, 541(7637): 371–375. [DOI]
- [11] Wei J, Liu F, Lu Z, Fei Q, Ai Y, He PC, Shi H, Cui X, Su R, Klungland A, Jia G, Chen J, He C. Differential m<sup>6</sup>A, m<sup>6</sup>A<sub>m</sub>, and m<sup>1</sup>A demethylation mediated by FTO in the cell nucleus and cytoplasm. *Mol Cell*, 2018, 71(6): 973–985. [DOI]
- [12] Su R, Dong L, Li C, Nachtergaele S, Wunderlich M, Qing Y, Deng X, Wang Y, Weng X, Hu C, Yu M, Skibbe J, Dai Q, Zou D, Wu T, Yu K, Weng H, Huang H, Ferchen K, Qin X, Zhang B, Qi J, Sasaki AT, Plas DR, Bradner JE, Wei M, Marcucci G, Jiang X, Mulloy JC, Jin J, He C, Chen J. R-2HG exhibits anti-tumor activity by targeting FTO/m<sup>6</sup>A/MYC/CEBPA signaling. *Cell*, 2018, 172(1–2): 90–105.e23. [DOI]
- [13] Zheng G, Dahl JA, Niu Y, Fedorcsak P, Huang CM, Li CJ, Vagbo CB, Shi Y, Wang WL, Song SH, Lu Z, Bosmans RP, Dai Q, Hao YJ, Yang X, Zhao WM, Tong WM, Wang XJ, Bogdan F, Furu K, Fu Y, Jia G, Zhao X, Liu J, Krokan HE, Klungland A, Yang YG, He C. ALKBH5 is a mammalian RNA demethylase that impacts RNA metabolism and mouse fertility. *Mol Cell*, 2013, 49(1): 18–29. [DOI]
- [14] Tuck MT. Partial purification of a 6-methyladenine mRNA methyltransferase which modifies internal adenine residues. *Biochem J*, 1992, 288(Pt1): 233–240. [DOI]
- [15] Bokar JA, Rath-Shambaugh ME, Ludwiczak R, Narayan P, Rottman F. Characterization and partial purification of mRNA N<sup>6</sup>-adenosine methyltransferase from HeLa cell nuclei. Internal mRNA methylation requires a multisubunit complex. *J Biol Chem*, 1994, 269(26): 17697–17704. [DOI]
- [16] Bujnicki JM, Feder M, Radlinska M, Blumenthal RM. Structure prediction and phylogenetic analysis of a functionally diverse family of proteins homologous to the MT-A70 subunit of the human mRNA: m<sup>6</sup>A methyltransferase. *J Mol Evol*, 2002, 55(4): 431–444. [DOI]
- [17] Ping XL, Sun BF, Wang L, Xiao W, Yang X, Wang WJ, Adhikari S, Shi Y, Lv Y, Chen YS, Zhao X, Li A, Yang Y, Dahal U, Lou XM, Liu X, Huang J, Yuan WP, Zhu XF, Cheng T, Zhao YL, Wang X, Rendtlew Danielsen JM, Liu F, Yang YG. Mammalian WTAP is a regulatory subunit of the RNA N<sup>6</sup>-methyladenosine methyltransferase. *Cell Res*, 2014, 24(2): 177–189. [DOI]
- [18] Wang Y, Li Y, Toth JI, Petroski MD, Zhang Z, Zhao JC. N<sup>6</sup>-methyladenosine modification destabilizes developmental regulators in embryonic stem cells. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(2): 191–198. [DOI]
- [19] Liu J, Yue Y, Han D, Wang X, Fu Y, Zhang L, Jia G, Yu M, Lu Z, Deng X, Dai Q, Chen W, He C. A METTL3-METTL14 complex mediates mammalian nuclear RNA N<sup>6</sup>-adenosine methylation. *Nat Chem Biol*, 2014, 10(2): 93–95. [DOI]
- [20] Zhong S, Li H, Bodi Z, Button J, Vespa L, Herzog M, Fray RG. MTA is an Arabidopsis messenger RNA adenosine methylase and interacts with a homolog of a sex-specific splicing factor. *Plant Cell*, 2008, 20(5): 1278–1288. [DOI]
- [21] Agarwala SD, Blitzblau HG, Hochwagen A, Fink GR. RNA methylation by the MIS complex regulates a cell fate decision in yeast. *Plos Genet*, 2012, 8(2): e1002732. [DOI]
- [22] Schwartz S, Mumbach MR, Jovanovic M, Wang T, Maciag K, Bushkin GG, Mertins P, Ter-Ovanesyan D, Habib N, Cacchiarelli D, Sanjana NE, Freinkman E, Pacold ME, Satija R, Mikkelsen TS, Hacohen N, Zhang F, Carr SA, Lander ES, Regev A. Perturbation of m<sup>6</sup>A writers reveals two distinct classes of mRNA methylation at Internal and 5' sites. *Cell Rep*, 2014, 8(1): 284–296. [DOI]
- [23] Yue YN, Liu J, Cui XL, Cao J, Luo GZ, Zhang ZH, Cheng T, Gao MS, Shu X, Ma HH, Wang FQ, Wang XX, Shen B, Wang YZ, Feng XH, He C, Liu JZ. VIRMA mediates preferential m<sup>6</sup>A mRNA methylation in 3'UTR and near stop codon and associates with alternative polyadenylation. *Cell Discov*, 2018, 4: 10. [DOI]
- [24] Patil DP, Chen CK, Pickering BF, Chow A, Jackson C, Guttman M, Jaffrey SR. m<sup>6</sup>A RNA methylation promotes XIST-mediated transcriptional repression. *Nature*, 2016, 537(7620): 369–373. [DOI]
- [25] Guo J, Tang HW, Li J, Perrimon N, Yan D. Xio is a component of the *Drosophila* sex determination pathway and RNA N<sup>6</sup>-methyladenosine methyltransferase complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(14): 3674–3679. [DOI]
- [26] Knuckles P, Lence T, Haussmann IU, Jacob D, Kreim N, Carl SH, Masiello I, Hares T, Villaseñor R, Hess D, Andrade-Navarro MA, Biggiogera M, Helm M, Soller M, Bühler M, Roignant JY. Zc3h13/Flacc is required for adenosine methylation by bridging the mRNA-binding factor Rbm15/Spenito to the m<sup>6</sup>A machinery component Wtap/FI(2)d. *Genes Dev*, 2018, 32(5–6): 415–429. [DOI]
- [27] Wen J, Lv R, Ma H, Shen H, He C, Wang J, Jiao F, Liu H, Yang P, Tan L, Lan F, Shi YG, He C, Shi Y, Diao J. Zc3h13 regulates nuclear RNA m<sup>6</sup>A methylation and mouse embryonic stem cell self-renewal. *Mol Cell*, 2018, 69(6): 1028–1038.e6. [DOI]
- [28] Pendleton KE, Chen B, Liu K, Hunter OV, Xie Y, Tu BP,

- Conrad NK. The U6 snRNA m<sup>6</sup>A methyltransferase METTL16 regulates SAM synthetase intron retention. *Cell*, 2017, 169(5): 824–835.e14. [DOI]
- [29] Chen T, Hao YJ, Zhang Y, Li MM, Wang M, Han WF, Wu YS, Lv Y, Hao J, Wang LB, Li A, Yang Y, Jin KX, Zhao X, Li YH, Ping XL, Lai WY, Wu LG, Jiang GB, Wang HL, Sang LS, Wang XJ, Yang YG, Zhou Q. m<sup>6</sup>A RNA methylation is regulated by microRNAs and promotes reprogramming to pluripotency. *Cell Stem Cell*, 2015, 16(3): 289–301. [DOI]
- [30] Perry RP, Kelley DE. Existence of methylated messenger-RNA in mouse L cells. *Cell*, 1974, 1(1): 37–42. [DOI]
- [31] Zhao X, Yang Y, Sun BF, Shi Y, Yang X, Xiao W, Hao YJ, Ping XL, Chen YS, Wang WJ, Jin KX, Wang X, Huang CM, Fu Y, Ge XM, Song SH, Jeong HS, Yanagisawa H, Niu Y, Jia GF, Wu W, Tong WM, Okamoto A, He C, Rendtlew Danielsen JM, Wang XJ, Yang YG. FTO-dependent demethylation of N<sup>6</sup>-methyladenosine regulates mRNA splicing and is required for adipogenesis. *Cell Res*, 2014, 24(12): 1403–1419. [DOI]
- [32] Xiao W, Adhikari S, Dahal U, Chen YS, Hao YJ, Sun BF, Sun HY, Li A, Ping XL, Lai WY, Wang X, Ma HL, Huang CM, Yang Y, Huang N, Jiang GB, Wang HL, Zhou Q, Wang XJ, Zhao YL, Yang YG. Nuclear m<sup>6</sup>A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing. *Mol Cell*, 2016, 61(4): 507–519. [DOI]
- [33] Roundtree IA, Luo GZ, Zhang Z, Wang X, Zhou T, Cui Y, Sha J, Huang X, Guerrero L, Xie P, He E, Shen B, He C. YTHDC1 mediates nuclear export of N<sup>6</sup>-methyladenosine methylated mRNAs. *eLife*, 2017, 6: pii: e31311. [DOI]
- [34] Alarcón CR, Goodarzi H, Lee H, Liu X, Tavazoie S, Tavazoie SF. HNRNPA2B1 is a mediator of m<sup>6</sup>A-dependent nuclear RNA processing events. *Cell*, 2015, 162(6): 1299–1308. [DOI]
- [35] Wu BX, Su SC, Patil DP, Liu HH, Gan JH, Jaffrey SR, Ma JB. Molecular basis for the specific and multivalent recognitions of RNA substrates by human hnRNP A2/B1. *Nat Commun*, 2018, 9: 420. [DOI]
- [36] Liu N, Dai Q, Zheng G, He C, Parisien M, Pan T. N<sup>6</sup>-methyladenosine-dependent RNA structural switches regulate RNA-protein interactions. *Nature*, 2015, 518(7540): 560–564. [DOI]
- [37] Liu N, Zhou KI, Parisien M, Dai Q, Diatchenko L, Pan T. N<sup>6</sup>-methyladenosine alters RNA structure to regulate binding of a low-complexity protein. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(10): 6051–6063. [DOI]
- [38] Wang X, Lu Z, Gomez A, Hon GC, Yue Y, Han D, Fu Y, Parisien M, Dai Q, Jia G, Ren B, Pan T, He C. N<sup>6</sup>-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability. *Nature*, 2014, 505(7481): 117–120. [DOI]
- [39] Du H, Zhao Y, He JQ, Zhang Y, Xi HR, Liu MF, Ma JB, Wu LG. YTHDF2 destabilizes m<sup>6</sup>A-containing RNA through direct recruitment of the CCR4-NOT deadenylase complex. *Nat Commun*, 2016, 7: 12626. [DOI]
- [40] Wang X, Zhao BS, Roundtree IA, Lu Z, Han D, Ma H, Weng X, Chen K, Shi H, He C. N<sup>6</sup>-methyladenosine modulates messenger RNA translation efficiency. *Cell*, 2015, 161(6): 1388–1399. [DOI]
- [41] Li A, Chen YS, Ping XL, Yang X, Xiao W, Yang Y, Sun HY, Zhu Q, Baidya P, Wang X, Bhattarai DP, Zhao YL, Sun BF, Yang YG. Cytoplasmic m<sup>6</sup>A reader YTHDF3 promotes mRNA translation. *Cell Res*, 2017, 27(3): 444–447. [DOI]
- [42] Shi H, Wang X, Lu Z, Zhao BS, Ma H, Hsu PJ, Liu C, He C. YTHDF3 facilitates translation and decay of N<sup>6</sup>-methyladenosine-modified RNA. *Cell Res*, 2017, 27(3): 315–328. [DOI]
- [43] Hsu PJ, Zhu Y, Ma H, Guo Y, Shi X, Liu Y, Qi M, Lu Z, Shi H, Wang J, Cheng Y, Luo G, Dai Q, Liu M, Guo X, Sha J, Shen B, He C. Ythdc2 is an N<sup>6</sup>-methyladenosine binding protein that regulates mammalian spermatogenesis. *Cell Res*, 2017, 27(9): 1115–1127. [DOI]
- [44] Bailey AS, Batista PJ, Gold RS, Chen YG, de Rooij DG, Chang HY, Fuller MT. The conserved RNA helicase YTHDC2 regulates the transition from proliferation to differentiation in the germline. *eLife*, 2017, 6, pii: e26116. [DOI]
- [45] Wojtas MN, Pandey RR, Mendel M, Homolka D, Sachidanandam R, Pillai RS. Regulation of m<sup>6</sup>A transcripts by the 3'→5' RNA helicase YTHDC2 is essential for a successful meiotic program in the mammalian germline. *Mol Cell*, 2017, 68(2): 374–387.e12. [DOI]
- [46] Jain D, Puno MR, Meydan C, Lailier N, Mason CE, Lima CD, Anderson KV, Keeney S. *ketu* mutant mice uncover an essential meiotic function for the ancient RNA helicase YTHDC2. *eLife*, 2018, 7, pii: e30919. [DOI]
- [47] Schwartz S, Agarwala SD, Mumbach MR, Jovanovic M, Mertins P, Shishkin A, Tabach Y, Mikkelsen TS, Satija R, Ruvkun G, Carr SA, Lander ES, Fink GR, Regev A. High-resolution mapping reveals a conserved, widespread, dynamic mRNA methylation program in yeast meiosis. *Cell*, 2013, 155(6): 1409–1421. [DOI]
- [48] Zhang S, Zhao BS, Zhou A, Lin K, Zheng S, Lu Z, Chen Y, Sulman EP, Xie K, Bogler O, Majumder S, He C, Huang S.

- m<sup>6</sup>A demethylase ALKBH5 maintains tumorigenicity of glioblastoma stem-like cells by sustaining *FOXM1* expression and cell proliferation program. *Cancer Cell*, 2017, 31(4): 591–606.e6. [DOI]
- [49] Hosono Y, Niknafs YS, Prensner JR, Iyer MK, Dhanasekaran SM, Mehra R, Pitchiaya S, Tien J, Escara-Wilke J, Poliakov A, Chu SC, Saleh S, Sankar K, Su F, Guo S, Qiao Y, Freier SM, Bui HH, Cao X, Malik R, Johnson TM, Beer DG, Feng FY, Zhou W, Chinnaiyan AM. Oncogenic role of *THOR*, a conserved cancer/testis long non-coding RNA. *Cell*, 2017, 171(7): 1559–1572.e20. [DOI]
- [50] Edupuganti RR, Geiger S, Lindeboom RGH, Shi H, Hsu PJ, Lu Z, Wang SY, Baltissen MPA, Jansen P, Rossa M, Muller M, Stunnenberg HG, He C, Carell T, Vermeulen M. N<sup>6</sup>-methyladenosine (m<sup>6</sup>A) recruits and repels proteins to regulate mRNA homeostasis. *Nat Struct Mol Biol*, 2017, 24(10): 870–878. [DOI]
- [51] Arguello AE, DeLiberto AN, Kleiner RE. RNA chemical proteomics reveals the N<sup>6</sup>-methyladenosine (m<sup>6</sup>A)-regulated protein-RNA interactome. *J Am Chem Soc*, 2017, 139(48): 17249–17252. [DOI]
- [52] Huang H, Weng H, Sun W, Qin X, Shi H, Wu H, Zhao BS, Mesquita A, Liu C, Yuan CL, Hu YC, Huttelmaier S, Skibbe JR, Su R, Deng X, Dong L, Sun M, Li C, Nachtergaele S, Wang Y, Hu C, Ferchen K, Greis KD, Jiang X, Wei M, Qu L, Guan JL, He C, Yang J, Chen J. Recognition of RNA N<sup>6</sup>-methyladenosine by IGF2BP proteins enhances mRNA stability and translation. *Nat Cell Biol*, 2018, 20(3): 285–295. [DOI]
- [53] Fustin JM, Doi M, Yamaguchi Y, Hida H, Nishimura S, Yoshida M, Isagawa T, Morioka MS, Kakeya H, Manabe I, Okamura H. RNA-methylation-dependent RNA processing controls the speed of the circadian clock. *Cell*, 2013, 155(4): 793–806. [DOI]
- [54] Xiang Y, Laurent B, Hsu CH, Nachtergaele S, Lu Z, Sheng W, Xu C, Chen H, Ouyang J, Wang S, Ling D, Hsu PH, Zou L, Jambhekar A, He C, Shi Y. RNA m<sup>6</sup>A methylation regulates the ultraviolet-induced DNA damage response. *Nature*, 2017, 543(7646): 573–576. [DOI]
- [55] Aguilo F, Zhang F, Sancho A, Fidalgo M, Di Cecilia S, Vashisht A, Lee DF, Chen CH, Rengasamy M, Andino B, Jahouh F, Roman A, Krig SR, Wang R, Zhang W, Wohlschlegel JA, Wang J, Walsh MJ. Coordination of m<sup>6</sup>A mRNA methylation and gene transcription by ZFP217 regulates pluripotency and reprogramming. *Cell Stem Cell*, 2015, 17(6): 689–704. [DOI]
- [56] Geula S, Moshitch-Moshkovitz S, Dominissini D, Mansour AA, Kol N, Salmon-Divon M, Hershkovitz V, Peer E, Mor N, Manor YS, Ben-Haim MS, Eyal E, Yunger S, Pinto Y, Jaitin DA, Viukov S, Rais Y, Krupalnik V, Chomsky E, Zerbib M, Maza I, Rechavi Y, Massarwa R, Hanna S, Amit I, Levanon EY, Amariglio N, Stern-Ginossar N, Novershtern N, Rechavi G, Hanna JH. Stem cells. m<sup>6</sup>A mRNA methylation facilitates resolution of naive pluripotency toward differentiation. *Science*, 2015, 347(6225): 1002–1006. [DOI]
- [57] Zhao BS, Wang X, Beadell AV, Lu ZK, Shi HL, Kuuspalu A, Ho RK, He C. m<sup>6</sup>A-dependent maternal mRNA clearance facilitates zebrafish maternal-to-zygotic transition. *Nature*, 2017, 542(7642): 475–478. [DOI]
- [58] Haussmann IU, Bodi Z, Sanchez-Moran E, Mongan NP, Archer N, Fray RG, Soller M. m<sup>6</sup>A potentiates *Sxl* alternative pre-mRNA splicing for robust *Drosophila* sex determination. *Nature*, 2016, 540(7632): 301–304. [DOI]
- [59] Lence T, Akhtar J, Bayer M, Schmid K, Spindler L, Ho CH, Kreim N, Andrade-Navarro MA, Poeck B, Helm M, Roignant JY. m<sup>6</sup>A modulates neuronal functions and sex determination in *Drosophila*. *Nature*, 2016, 540(7632): 242–247. [DOI]
- [60] Shen L, Liang Z, Gu X, Chen Y, Teo ZW, Hou X, Cai WM, Dedon PC, Liu L, Yu H. N<sup>6</sup>-methyladenosine RNA modification regulates shoot stem cell fate in *Arabidopsis*. *Dev Cell*, 2016, 38(2): 186–200. [DOI]
- [61] Zhang CX, Chen YS, Sun BF, Wang L, Yang Y, Ma DY, Lv JH, Heng J, Ding YY, Xue YY, Lu XY, Xiao W, Yang YG, Liu F. m<sup>6</sup>A modulates haematopoietic stem and progenitor cell specification. *Nature*, 2017, 549(7671): 273–276. [DOI]
- [62] Lv JH, Zhang YF, Gao SW, Zhang CX, Chen YS, Li W, Yang YG, Zhou Q, Liu F. Endothelial-specific m<sup>6</sup>A modulates mouse hematopoietic stem and progenitor cell development via Notch signaling. *Cell Res*, 2018, 28(2): 249–252. [DOI]
- [63] Xu K, Yang Y, Feng GH, Sun BF, Chen JQ, Li YF, Chen YS, Zhang XX, Wang CX, Jiang LY, Liu C, Zhang ZY, Wang XJ, Zhou Q, Yang YG, Li W. Mettl3-mediated m<sup>6</sup>A regulates spermatogonial differentiation and meiosis initiation. *Cell Res*, 2017, 27(9): 1100–1114. [DOI]
- [64] Lin Z, Hsu PJ, Xing X, Fang J, Lu Z, Zou Q, Zhang KJ, Zhang X, Zhou Y, Zhang T, Zhang Y, Song W, Jia G, Yang X, He C, Tong MH. Mettl3-/Mettl14-mediated mRNA N<sup>6</sup>-methyladenosine modulates murine spermatogenesis. *Cell Res*, 2017, 27(10): 1216–1230. [DOI]



- [65] Li L, Zang L, Zhang F, Chen J, Shen H, Shu L, Liang F, Feng C, Chen D, Tao H, Xu T, Li Z, Kang Y, Wu H, Tang L, Zhang P, Jin P, Shu Q, Li X. Fat mass and obesity-associated (FTO) protein regulates adult neurogenesis. *Hum Mol Genet*, 2017, 26(13): 2398–2411. [DOI]
- [66] Weng YL, Wang X, An R, Cassin J, Vissers C, Liu Y, Liu Y, Xu T, Wang X, Wong SZH, Joseph J, Dore LC, Dong Q, Zheng W, Jin P, Wu H, Shen B, Zhuang X, He C, Liu K, Song H, Ming GL. Epitranscriptomic m<sup>6</sup>A regulation of axon regeneration in the adult mammalian nervous system. *Neuron*, 2018, 97(2): 313–325.e6. [DOI]
- [67] Yoon KJ, Ringeling FR, Vissers C, Jacob F, Pokrass M, Jimenez-Cyrus D, Su Y, Kim NS, Zhu Y, Zheng L, Kim S, Wang X, Doré LC, Jin P, Regot S, Zhuang X, Canzar S, He C, Ming GL, Song H. Temporal control of mammalian cortical neurogenesis by m<sup>6</sup>A methylation. *Cell*, 2017, 171(4): 877–889.e17. [DOI]
- [68] Li M, Zhao X, Wang W, Shi H, Pan Q, Lu Z, Perez SP, Suganthan R, He C, Bjoras M, Klungland A. Ythdf2-mediated m<sup>6</sup>A mRNA clearance modulates neural development in mice. *Genome Biol*, 2018, 19(1): 69. [DOI]
- [69] Ma C, Chang M, Lv H, Zhang ZW, Zhang W, He X, Wu G, Zhao S, Zhang Y, Wang D, Teng X, Liu C, Li Q, Klungland A, Niu Y, Song S, Tong WM. RNA m<sup>6</sup>A methylation participates in regulation of postnatal development of the mouse cerebellum. *Genome Biol*, 2018, 19(1): 68. [DOI]
- [70] Wang CX, Cui GS, Liu XY, Xu K, Wang M, Zhang XX, Jiang LY, Li A, Yang Y, Lai WY, Sun BF, Jiang GB, Wang HL, Tong WM, Li W, Wang XJ, Yang YG, Zhou Q. METTL3-mediated m<sup>6</sup>A modification is required for cerebellar development. *Plos Biol*, 2018, 16(6): e2004880. [DOI]
- [71] Ke S, Alemu EA, Mertens C, Gantman EC, Fak JJ, Mele A, Haripal B, Zucker-Scharff I, Moore MJ, Park CY, Vågbo CB, Kusnierczyk A, Klungland A, Darnell JE, Jr., Darnell RB. A majority of m<sup>6</sup>A residues are in the last exons, allowing the potential for 3' UTR regulation. *Genes Dev*, 2015, 29(19): 2037–2053. [DOI]
- [72] Molinie B, Wang JK, Lim KS, Hillebrand R, Lu ZX, Van Wittenberghe N, Howard BD, Daneshvar K, Mullen AC, Dedon P, Xing Y, Giallourakis CC. m<sup>6</sup>A-LAIC-seq reveals the census and complexity of the m<sup>6</sup>A epitranscriptome. *Nat Methods*, 2016, 13(8): 692–698. [DOI]
- [73] Zhou J, Wan J, Gao X, Zhang X, Jaffrey SR, Qian SB. Dynamic m<sup>6</sup>A mRNA methylation directs translational control of heat shock response. *Nature*, 2015, 526(7574): 591–594. [DOI]
- [74] Cui XA, Liang Z, Shen LS, Zhang Q, Bao SJ, Geng YK, Zhang B, Leo V, Vardy LA, Lu TG, Gu XF, Yu H. 5-Methylcytosine RNA methylation in *Arabidopsis Thaliana*. *Mol Plant*, 2017, 10(11): 1387–1399. [DOI]
- [75] Aschenbrenner J, Werner S, Marchand V, Adam M, Motorin Y, Helm M, Marx A. Engineering of a DNA polymerase for direct m<sup>6</sup>A sequencing. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2017, 57(2): 417–421. [DOI]
- [76] Garalde DR, Snell EA, Jachimowicz D, Sipos B, Lloyd JH, Bruce M, Pantic N, Admassu T, James P, Warland A, Jordan M, Ciccone J, Serra S, Keenan J, Martin S, McNeill L, Wallace EJ, Jayasinghe L, Wright C, Blasco J, Young S, Brocklebank D, Juul S, Clarke J, Heron AJ, Turner DJ. Highly parallel direct RNA sequencing on an array of nanopores. *Nat Methods*, 2018, 15(3): 201–206. [DOI]
- [77] Li X, Xiong X, Wang K, Shu X, Ma S, Yi C. Transcriptome-wide mapping reveals reversible and dynamic N<sup>1</sup>-methyladenosine methylome. *Nat Chem Biol*, 2016, 12(5): 311–316. [DOI]
- [78] Dominissini D, Nachtergaele S, Moshitch-Moshkovitz S, Peer E, Kol N, Ben-Haim MS, Dai Q, Di Segni A, Salmon-Divon M, Clark WC, Zheng G, Pan T, Solomon O, Eyal E, Hershkovitz V, Han D, Doré LC, Amariglio N, Rechavi G, He C. The dynamic N<sup>1</sup>-methyladenosine methylome in eukaryotic messenger RNA. *Nature*, 2016, 530(7591): 441–446. [DOI]
- [79] Li X, Xiong X, Zhang M, Wang K, Chen Y, Zhou J, Mao Y, Lv J, Yi D, Chen XW, Wang C, Qian SB, Yi C. Base-resolution mapping reveals distinct m<sup>1</sup>A methylome in nuclear- and mitochondrial-encoded transcripts. *Mol Cell*, 2017, 68(5): 993–1005.e9. [DOI]

(责任编辑: 宋旭)