

m⁶A 修饰及其对病毒复制过程调控研究进展

薛鹏¹, 蒋涛¹, 沈兴家^{1,2}

1. 江苏科技大学生物技术学院, 江苏省蚕桑生物学与生物技术重点实验室, 镇江 212018

2. 中国农业科学院蚕业研究所, 农业部蚕桑遗传改良重点实验室, 镇江 212018

摘要: *N*⁶-甲基腺嘌呤(*N*⁶-methyladenosine, m⁶A)修饰是一种在真核生物中普遍存在的 RNA 修饰方式, 在 mRNA 转运、稳定、翻译等过程中具有重要作用。m⁶A 修饰在病毒复制周期中扮演不同的角色, 病毒的复制和宿主对病毒的免疫反应都受到 m⁶A 甲基化的影响。本文总结了近年来关于 m⁶A 修饰方面的分子作用机制及其对病毒复制以及宿主免疫反应的影响相关研究, 以期为病毒生命周期中的表观遗传调控研究提供一定的参考。

关键词: *N*⁶-甲基腺嘌呤; RNA 修饰; 病毒; 复制; 免疫

Advances in m⁶A modification and its regulation of viral replication

Peng Xue¹, Tao Jiang¹, Xingjia Shen^{1,2}

1. Jiangsu Key Laboratory of Sericultural Biology and Biotechnology, School of Biotechnology, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang 212018, China

2. Key Laboratory of Silkworm and Mulberry Genetic Improvement, Ministry of Agriculture, Sericultural Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhenjiang 212018, China

Abstract: *N*⁶-methyladenosine (m⁶A) is a prevalent modification of RNA in eukaryotes and plays an important role in the process of mRNA translocation, stabilization and translation. m⁶A exerts different influences on the viral replication cycle, and both viral replication and host immune response to the virus are affected by m⁶A. In this review, we summarize recent studies on the mechanism of m⁶A modification and its effects on viral replication and host immune response, in order to provide a reference for epigenetic regulation in the viral life cycle.

Keywords: *N*⁶-methyladenosine; RNA modification; virus; replication; immunity

收稿日期: 2019-02-20; 修回日期: 2019-04-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 31672490), 江苏省自然科学基金项目(编号: BK20151322)和江苏省高校自然科学研究重大项目(编号: 15KJA180001)资助[Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31672490), the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK20151322) and Major Project of Natural Science Foundation for Universities of Jiangsu Province (No. 15KJA180001)]

作者简介: 薛鹏, 硕士研究生, 专业方向: 基因表达调控。E-mail: xuepeng0603@163.com

通讯作者: 沈兴家, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 基因表达调控。E-mail: shenxjsri@163.com

DOI: 10.16288/j.ycz.19-042

网络出版时间: 2019/4/16 17:17:28

URI: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20190416.1717.001.html>

RNA 不仅能将遗传信息翻译成蛋白质,而且能调控多种生物学进程,因而其在生物系统中具有重要的作用。作为重要的遗传介质,mRNA 的化学修饰是一种重要的 RNA 转录后调控机制,在众多已知的 RNA 修饰方式中,m⁶A 甲基化修饰是真核生物 mRNA 中最普遍的一种修饰方式,于 1974 年首次被发现,并引起了人们的极大兴趣^[1,2]。m⁶A 修饰在从酵母、植物、果蝇到哺乳动物等真核生物到 RNA 病毒都具有较高的保守性^[3]。在体外对甲基转移酶突变和底物偏好性的研究发现,m⁶A 修饰主要集中在终止密码子附近及 3'端非翻译区,其共有基序为 [G/A/U][G>A]m⁶AC[U>A>C],而在拟南芥的起始密码子附近也发现了 m⁶A 甲基化修饰^[4,5]。mRNA 上 m⁶A 普遍存在而含量极少并且是非随机分布的,这意味着 m⁶A 修饰可能在转录后调控中具有重要的作用,而已有的研究表明,m⁶A 修饰可以影响 mRNA 代谢过程,包括 mRNA 的加工、出核运输、翻译和稳定性,以及在 RNA 转录后水平调控基因的表达,进而影响各种生理过程,如生长、发育、生殖、细胞多能性、减数分裂、昼夜节律和疾病发生等^[6,7]。

病毒被称为细胞的“寄生虫”,致病病毒对人类的生命健康构成了巨大威胁。病毒的生命周期是依赖宿主细胞的相关机制和途径进行的,从表观遗传学角度研究病毒活动过程对促进抗病毒机制的研究具有重要意义。人们最先在腺病毒(Ad)和甲型流感病毒(IAV)的 mRNA 上检测到 m⁶A^[8,9]。随后,在单纯疱疹病毒 1 型(HSV-1)、劳斯氏肉瘤病毒(RSV)、猴空泡病毒 40 (SV40)、B77 肉瘤病毒、禽流感病毒和猫白血病毒等病毒 RNA 中也检测到了 m⁶A^[10]。研究发现 m⁶A 甲基化表观遗传修饰在病毒的侵染复制过程中具有重要作用。本文对 m⁶A 修饰的相关概念、m⁶A 在病毒复制中的作用及对免疫反应的影响等方面进行了阐述,以期更深入地了解 m⁶A 修饰在病毒感染中的作用,为抗病毒药物的研发提供参考。

1 m⁶A 修饰的分子机制

m⁶A 是腺苷酸(A)在甲基转移酶复合物的催化下,第 6 位的 N 发生甲基化的修饰方式。RNA 的 m⁶A 修饰是一个可逆的动态过程,此过程由甲基转

移酶复合物、去甲基化酶和读取蛋白共同完成(图 1)。

1.1 m⁶A 甲基转移酶复合物

甲基转移酶复合物(Writers)由多种甲基转移酶(如 METTL3 和 METTL14)和相关蛋白质亚基(如 WTAP)组成。甲基转移酶样 3 (METTL3)有催化活性,但 METTL3 需要和甲基转移酶样 14 (METTL14)按 1:1 的比例结合,形成异源二聚体,并在肾母细胞瘤 1 相关蛋白(WTAP)的引导下到达 RNA 上需要被修饰的位点,由 METTL3 将 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)上的甲基在转移到腺苷酸(A)上第 6 位的 N 上^[11]。近年来又陆续发现并鉴定了 KIAA1429^[12]、RBM15、HAKAI^[13]和 METTL16^[14]等 m⁶A 甲基转移酶复合物的新组分。

1.2 m⁶A 去甲基化酶

m⁶A 去甲基化酶(Erasers)负责去除 RNA 上的甲基化基团。迄今为止,在哺乳动物中只发现了两种 m⁶A 去甲基酶:肥胖相关蛋白(FTO)和 ALKB 同源蛋白 5(ALKBH5),它们都属于 Fe²⁺/α-酮戊二酸依赖的非血红素双加氧酶 ALKB 蛋白家族^[15,16]。FTO 首先氧化 m⁶A 生成氧化中间体 N⁶-羟甲基腺苷(hm⁶A),再进一步氧化生成 N⁶-甲酰腺苷(f⁶A),最终在其他酶的作用下,还原成腺苷。相较于 FTO,ALKBH5 直接将 m⁶A 还原成腺苷,不产生中间产物^[17]。近期有研究表明,FTO 更多的是在另一种甲基化修饰——N⁶,2'-O 二甲基腺苷(m⁶Am)的去甲基化过程中行使功能^[18]。

1.3 m⁶A 读取蛋白

m⁶A 的功能是通过 RNA 结合蛋白介导的,此类蛋白被称为 m⁶A “阅读器”(Readers),Readers 可以选择性地结合到含有 m⁶A 的 RNA 上。m⁶A 读取蛋白通过 YTH521-B 同源域(YTH)直接与 m⁶A 结合,从而识别发生 m⁶A 修饰的 RNA^[19]。人类中已发现 5 种含 YTH 域蛋白,包括两种亚型——YTHDFs 和 YTHDCs,其中 YTHDFs 包括 YTHDF1、YTHDF2 和 YTHDF3^[20],YTHDCs 包括 YTHDC1 和 YTHDC2^[21,22]。YTHDF2 是第一个被鉴定的具有生物学功能的 YTH 家族蛋白^[23,24],它选择性结合 m⁶A 修饰的 mRNA,然后通过招募 CCR4-NOT 去腺苷酸酶复合物的 CNOT 亚基,

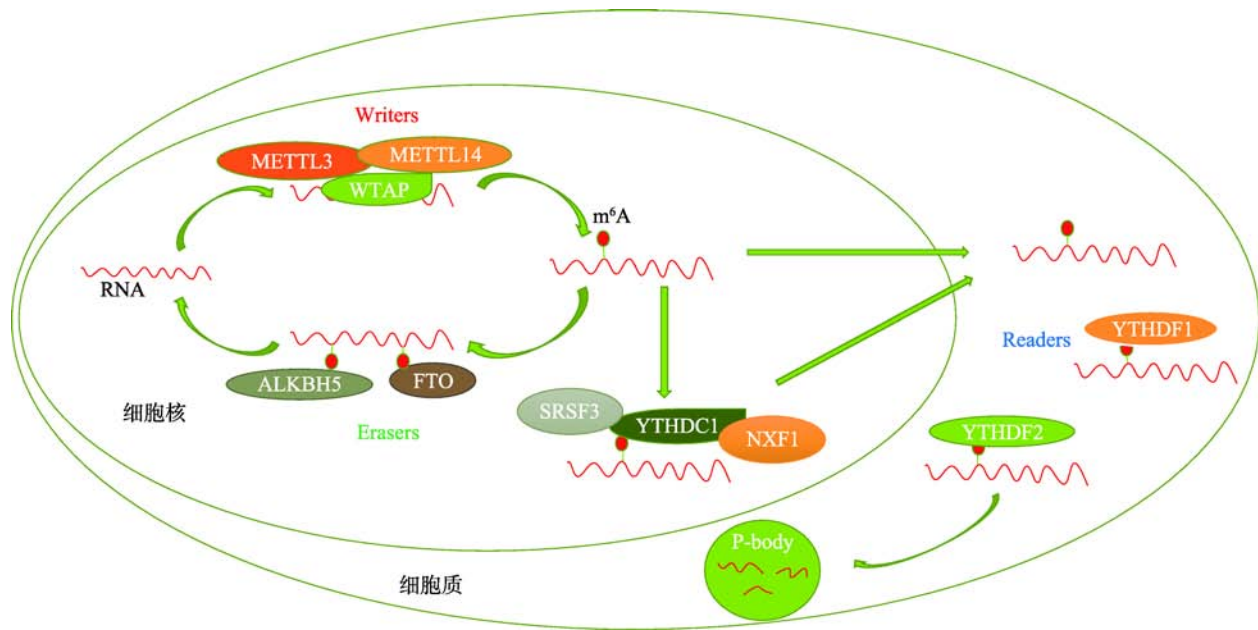


图 1 m⁶A 修饰的分子机制

Fig. 1 The molecular mechanism of m⁶A modification

METTL3、METTL14 和 WTAP 组成甲基转移酶复合物(Writers)。ALKBH5 和 FTO 是常见的去甲基化酶(Erasers)。YTHDF1、YTHDF2 和 YTHDC1 是常见的读取蛋白(Readers)。SRSF3 是剪接因子。NXF1 是核 RNA 输出因子。P-body 是 RNA 降解的场所。核内 RNA 在甲基转移酶复合物的作用下,形成 m⁶A;而核内 RNA 上的 m⁶A 也可在去甲基化酶的作用下发生去甲基化。随后,在核内 RNA 的进一步加工过程中,核内的读取蛋白会与 m⁶A 位点结合;而当成熟的 RNA 出核后,细胞质内的读取蛋白会与 RNA 上的 m⁶A 位点结合。不同的读取蛋白结合到 m⁶A 位点后执行不同的功能,如 YTHDC1 能够识别 RNA 上的 m⁶A 位点,同时与 SRSF3 及 NXF1 相互作用,从而促进 RNA 的核输出;YTHDF1 能够促进 mRNA 的翻译;YTHDF2 识别 RNA 上的 m⁶A 位点后,能够引导 RNA 至 P-body,从而促进 RNA 的降解。

促进 mRNA 的去腺苷酸化和降解^[25]。YTHDF2 主要存在于细胞质中,但在热休克压力下,YTHDF2 会转移到细胞核中以保护 5'非翻译区的 m⁶A 免受 FTO 去甲基化作用的影响,并促进 mRNA 的非帽依赖性翻译^[26]。YTHDC1 主要存在于细胞核中,能够通过多种剪接因子的互作,调控 mRNA 的剪接^[27,28]。YTHDC2 在提高其靶 mRNA 的翻译效率和降低

mRNA 丰度方面具有双重作用^[29]。

2 m⁶A 修饰与病毒复制

目前有关 m⁶A 修饰对病毒复制的调控及其机制的研究相对较少,m⁶A 修饰作为一种表观遗传修饰,对不同病毒的复制具有完全相反的调控作用(表 1)。

表 1 m⁶A 对病毒复制的调控及其机制

Table 1 Regulation and mechanism of virus replication by m⁶A

病毒	m ⁶ A 对病毒复制的调控	作用机制	参考文献
HIV-1	存在分歧	促进病毒 mRNA 出核运输	[30,33]
		影响减少 HIV-1 病毒 gRNA 丰度	
		降低转录本稳定性	
IVA	正调控	未知	[35]
ZIKV	负调控	促进病毒裂解转录本的降解来抑制 ZIKV 的裂解复制	[36]
HCV	负调控	YTHDF 蛋白可能通过与病毒 RNA 竞争核衣壳蛋白来抑制感染性病毒粒子的产生	[37]

续表

病毒	m ⁶ A 对病毒复制的调控	作用机制	参考文献
HBV	未知	HBV 转录本 pgRNA 5'端茎环上的 m ⁶ A 修饰促进 pgRNA 的逆转录	[38]
		HBV 转录本 pgRNA 3'端茎环上的 m ⁶ A 修饰降低 HBV RNA 的稳定性	
KSHV	存在分歧	调节 ORF50 pre-RNA 的剪接	[39,40]
		影响病毒转录本的稳定性	
SV40	正调控	促进晚期转录本的翻译	[42]
AMV	负调控	引发病毒 mRNA 的沉默和衰减来抑制病毒的复制	[43]

2.1 m⁶A 修饰对 RNA 病毒复制的调控

2.1.1 m⁶A 修饰对人类免疫缺陷病毒 I 型病毒 (HIV-1)复制的调控

研究发现, HIV-1 的感染会引起宿主和病毒 mRNA 的 m⁶A 丰度升高。Lichinchi 等^[30]通过 shRNA 介导 METTL3、METTL14 和 ALKBH5 的沉默, 然后对 HIV-1 包膜糖蛋白 GP120 的 RNA 水平进行定量分析, 并对感染后 72 h 的病毒衣壳蛋白 p24 进行免疫印迹, 发现 METTL3 和 METTL14 的沉默, 使 GP120 和 p24 表达水平降低, ALKBH5 沉默使 GP120 和 p24 表达水平显著增加, 表明 m⁶A 的修饰丰度与 GP120 和 p24 表达水平呈正相关。此外, HIV-1 Rev 响应元件(RRE) RNA 茎环 区域的保守腺苷(A7883)发生 m⁶A 修饰, 增加了 HIV-1 Rev 蛋白与 RRE 的结合, 促进了 RNA 的出核运输, 从而增强了 HIV-1 的复制。Kennedy 等^[31]发现 YTHDF 蛋白尤其是 YTHDF2 蛋白的过表达显著增强了 293T 细胞感染 HIV-1 病毒 24 和 48 h 后 Nef、Tat 和 Rev 的 mRNA 以及病毒基因组 RNA (gRNA)的表达。Tirumuru 等^[32]观察到 HeLa 细胞中 m⁶A 识别蛋白 YTHDF1-3 的过表达使 HIV-1 感染被抑制, 而在 YTHDF1-3 沉默后, 增加了 HIV-1 的感染, 尤其是 YTHDF2, 其过表达对 HIV-1 感染的抑制效果与叠氮胸苷(AZT)对 HIV-1 的抑制效果相近, 推测 YTHDF1-3 可能通过抑制 HIV-1 的逆转录活性来抑制 HIV-1 的感染。Lu 等^[33]对 m⁶A 识别蛋白 YTHDF1-3 抑制 HIV-1 的逆转录进而抑制 HIV-1 的感染的机制进行了深入研究, 发现 YTHDF1-3 降低了病毒 gRNA 的水平并抑制了早期和晚期的逆转录产物的产生, 推测 YTHDF1-3 可能是通过影响病毒 gRNA 和逆转录产物的稳定性实现对 HIV-1 感

染的调控。

2.1.2 m⁶A 修饰对甲型流感病毒(IAV)复制的调控

IAV 含有一个分段的、负性的单链 RNA 基因组, 在其 mRNA 上发现了大约 24 个 m⁶A 修饰位点, 其中 8 个位点集中在血凝素(HA) mRNA 片段上^[34]。Courtney 等^[35]发现, 人肺上皮细胞系 A549 中关键的 m⁶A 甲基转移酶 METTL3 的突变能够抑制 IAV 复制, 相反地, 过表达 m⁶A 读取蛋白 YTHDF2 能够促进 IAV 复制和感染性病毒颗粒的产生。通过检测 HA 的 mRNA 和 vRNA 上的 m⁶A 位点并将其 mRNA 和 vRNA 上的甲基化位点突变, 作者发现 HA 基因表达水平和 IAV 致病性降低。尽管实验结果表明 m⁶A 修饰能够增强 IAV 的复制, 但具体的作用机制还有待进一步研究。

2.1.3 m⁶A 修饰对寨卡病毒(ZIKV)复制的调控

ZIKV 的 RNA 中含有丰富的 m⁶A 修饰位点, 其复制受宿主甲基转移酶 METTL3 和 METTL14 以及去甲基化酶 ALKBH5 和 FTO 的调控, 当 METTL3 和 METTL14 的表达量降低时, ZIKV 的复制增加, 而将 ALKBH5 和 FTO 沉默, 会减少 ZIKV 的复制^[36]。研究人员在分析读取蛋白 YTHDF1-3 对 ZIKV 复制的影响时发现, 相较于 YTHDF1 和 YTHDF3, YTHDF2 的沉默引起 ZIKV 复制增加的程度最大; 同样, YTHDF2 的过表达降低 ZIKV RNA 的表达水平的效果最显著, 进一步研究发现 YTHDF2 可能通过促进病毒裂解转录本的降解来抑制 ZIKV 的裂解复制, 这表明 m⁶A 修饰在 ZIKV 病毒的复制过程中起负调控作用(图 2)。

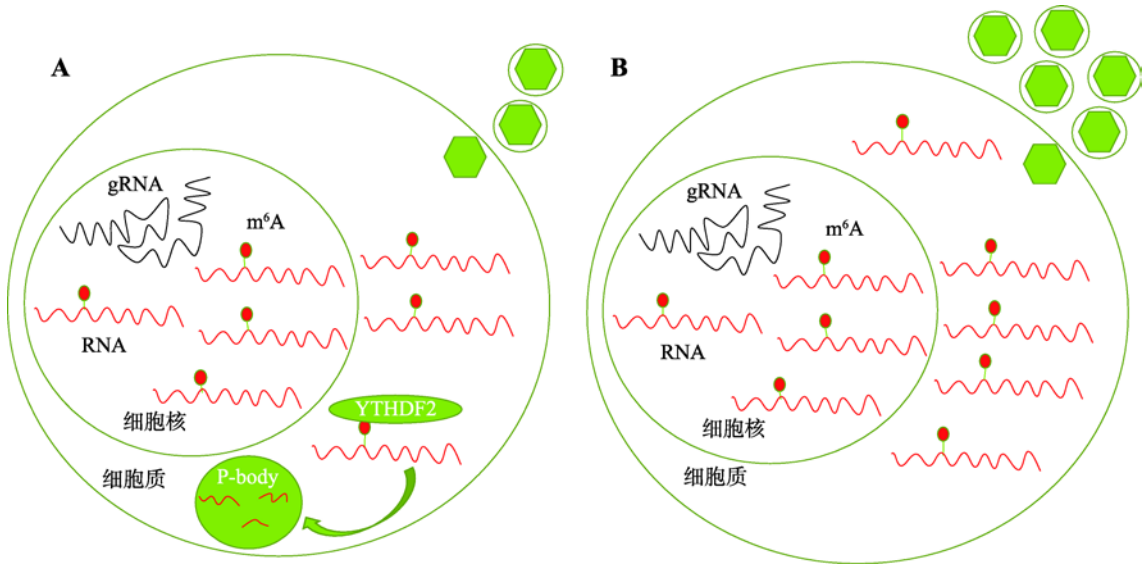


图 2 m^6A 修饰在 ZIKV 裂解增殖中的作用

Fig.2 The role of m^6A in lytic replication of ZIKV

A: 正常情况下, 发生 m^6A 修饰的裂解转录本会被 YTHDF2 识别并降解, 产生的病毒粒子较少; B: 在 YTHDF2 沉默的情况下, 发生 m^6A 修饰的裂解转录本的降解减少, 产生的病毒粒子增多。gRNA 是 ZIKV 的基因组 RNA。

2.1.4 m^6A 修饰对丙型肝炎病毒(HCV)复制的调控

Gokhale 等^[37]在研究 m^6A 修饰对 HCV 复制的影响时发现, METTL3 和 METTL14 的表达量的变化对 HCV RNA 的复制和翻译没有影响, 但能调控感染性 HCV 病毒粒子的产生及释放, 并且这种调控作用是与 m^6A 修饰丰度是负相关的。此外, 在 HCV 感染过程中, YTHDF 蛋白重新定位到脂滴——病毒装配位点, 调节病毒粒子的产生, 而 YTHDF 的沉默增加了感染性病毒颗粒的产生。HCV 病毒 E1 基因上 m^6A 修饰位点的突变, 导致病毒 RNA 与核衣壳蛋白(或称核心蛋白)结合增加, 而与 YTHDF 蛋白的结合减少, 进而导致感染性病毒颗粒的增加, 因此, Gokhale 等^[37]推测 YTHDF 蛋白可能通过与病毒 RNA 竞争核衣壳蛋白来抑制感染性病毒粒子的产生。

2.2 m^6A 修饰对 DNA 病毒复制的调控

2.2.1 m^6A 修饰对乙型肝炎病毒(HBV)复制的调控

与 HCV 不同, HBV 是一种 DNA 病毒, 通过一种称为前基因组 RNA (pgRNA) 的中间 RNA 完成其生命周期。Imam 等^[38]研究发现, pgRNA 5'端 ϵ 茎环

和 HBV 转录本 3'端都存在 m^6A 修饰。METTL3 和 METTL14 的沉默导致 HBc 和 HBs 两种病毒蛋白的表达增加, 而 ALKBH5 和 FTO 的沉默降低了 HBV 病毒蛋白的表达。同样地, YTHDF2 或 YTHDF3 的沉默显著延长了 HBV 转录本的半衰期, 并增加了 HBV 蛋白 HBs 和 HBc 的表达, 表明 YTHDF 蛋白也负向调控 HBV 蛋白的表达。在 HBV 转录本中, pgRNA 5'端茎环上的 m^6A 修饰对 pgRNA 的逆转录起着正向调控的作用, 而 HBV 转录本 3'端茎环上的 m^6A 修饰对 HBV RNA 的稳定性进行负向调控, 这表明 m^6A 修饰位点的差异性可引起后续调控功能的差异。

2.2.2 m^6A 修饰对卡波氏肉瘤相关疱疹病毒(KSHV)复制的调控

KSHV 在宿主细胞中建立潜伏感染仅需表达几个潜伏基因。当潜伏感染的细胞被重新激活时, 进行裂解复制, 表达大多数病毒基因并产生病毒粒子^[39]。 m^6A 修饰的阻断抑制了编码关键 KSHV 裂解开关蛋白复制转录激活因子(RTA)的 pre-mRNA 的剪接, 阻断了病毒的裂解复制。RTA 诱导 m^6A 并增强其自身的 pre-mRNA 剪接。Ye 等^[39]的实验结果不仅证明了 m^6A 在调控 RTA pre-mRNA 剪接中的重要作用, 而

且表明 KSHV 已经进化出一种通过操纵宿主 m⁶A 修饰,来使其在促进裂解复制方面发挥优势的机制。Tan 等^[40]过表达 YTHDF3,发现病毒转录本的水平下降但相关病毒蛋白的水平没有显著变化。KiSLK 细胞中 YTHDF2 沉默导致病毒粒子的产生增加到了原来的 4 倍,同时病毒 mRNA ORF50、ORF57、ORFK8 和 ORF65 的表达量上升了 2~6 倍进而导致蛋白质水平的升高,而 YTHDF2 过表达能够扭转这些影响,这表明 YTHDF2 可能通过促进病毒裂解转录本的降解来抑制 KSHV 的裂解复制,而这可能是细胞抑制病毒复制的一种防御机制。Hesser 等^[41]报道,在感染致癌的人类 DNA 病毒卡波西肉瘤相关疱疹病毒(KSHV)的细胞中,m⁶A 水平显著升高,但发现 m⁶A 修饰机制的沉默对不同细胞中病毒基因的表达有不同的影响。在 iSLK.219 和 iSLK.BAC16 细胞中,METTL3 和 YTHDF2 的沉默使病毒裂解转激活因子 ORF50 发生转录后积累,进而显著减少了病毒粒子的产生,这表明 m⁶A 起着促进病毒产生的作用。相比之下,在 KSHV 感染的 B 细胞中,METTL3 或 YTHDF2 缺失时,ORF50 蛋白表达增加,进而增加了病毒粒子的产生。虽然结果存在差异,但却都表明 m⁶A 修饰通过调控 ORF50 来调控 KSHV 的裂解复制。

2.2.3 m⁶A 修饰对猴空泡病毒 40 (SV40)复制的调控

SV40 是一种 DNA 病毒,属于多瘤病毒家族。Tsai 等^[42]研究发现,过表达 m⁶A 读取蛋白质 YTHDF2 能够诱发更快速的病毒复制,而 YTHDF2 基因的突变失活或 METTL3 的沉默则会抑制病毒的复制。利用同义突变,使 SV40 晚期 mRNA 上的大多数 m⁶A 修饰位点发生突变,可以观察到突变型 SV40 比野生型 SV40 复制速度减慢,相较于野生型病毒,突变型病毒的转录本水平并没有显著变化,而 VP1 蛋白水平显著下降,因而 Tsai 等^[42]推测 m⁶A 修饰主要通过促进晚期转录本的翻译来增强病毒基因表达,进而促进 SV40 病毒的复制。

2.3 m⁶A 修饰对植物病毒复制的调控

植物病毒对于植物的正常生长与发育构成重大

威胁。m⁶A 表观修饰不仅发生在影响动物的病毒中,在植物病毒中也有报道。Martinez-Perez 等^[43]在拟南芥多功能紫花苜蓿花叶病毒(AMV)与衣壳蛋白(CP)相互作用的酵母双杂交筛选中,鉴定出了去甲基化酶 AlkB 家族成员 atALKBH9B。在雀麦花叶病毒科的两个成员 AMV 和 CMV(黄瓜花叶病毒)的基因组中也发现了 m⁶A 的存在,并发现 atALKBH9B 的突变导致 AMV 基因组中 m⁶A 水平上升了 35%,而超甲基化降低了 AMV 的感染效率。进一步的研究发现 atALKBH9B 与小干扰 RNA(siRNA)的组成部分 SGS3 和处理小体(P-body)中的一种降解酶 DCP1 完全重叠,这表明 m⁶A 修饰可能通过引发病毒 mRNA 的沉默和衰减来负向调节 AMV 的复制。

3 m⁶A 修饰对免疫反应的影响

免疫系统是高等生物抵御病毒侵染的重要屏障。目前,对于 m⁶A 在免疫系统中的作用及其在宿主病原体相互作用中的作用知之甚少。先天免疫提供对病毒感染的第一反应,入侵的病原体核酸被细胞质甲酸诱导基因 I (RIG-I)样受体和膜结合的 Toll 样受体(TLRs)识别并结合,从而激活先天免疫反应。先天免疫必须区分宿主和病原体的核酸,以便在不激活自身免疫反应的情况下产生保护性免疫反应。当修饰过的核苷酸存在于 RNA 分子中时,会降低先天免疫反应的幅度,如含有 m⁶A 修饰的病毒 RNA 与 RIG-I 结合较差,因而无法触发强烈的先天免疫反应^[44]。Karikó 等^[45]的研究表明,经过 m⁶A 修饰的 RNA 刺激 DC 细胞只能引起少量的细胞因子的释放,同样地,当甲基化的 RNA 刺激表达 TLRs 的细胞时,也只引起少量免疫激活标志物的释放,而无法触发强烈的先天免疫反应。Lichinchi 等^[30]用 HIV-1 (LAI 病毒株)感染 CD4⁺ T 细胞,发现细胞中总 RNA 中 m⁶A 的水平上升了约 30%,这表明 HIV-1 感染 T 细胞可促进病毒和宿主 RNA 的甲基化,从而抑制免疫监视或扰乱宿主遗传网络,从而成功复制^[46]。此外,ZIKV 在潜伏期时,通过提高自身 m⁶A 水平来逃避宿主细胞的免疫监视,在裂解复制期间,ZIKV 可动态修改宿主免疫相关转录本,通过篡夺 m⁶A 修饰机制来抑制宿主的抗病毒反应^[10]。在 IAV 感染过程中

过表达 YTHDF2 可提高感染性病毒粒子的释放,而 YTHDF2 介导的 mRNA 降解可能降低宿主抗病毒基因转录本,从而增强病毒复制^[35]。总之,病毒通过借助宿主的 m⁶A 修饰机制,来逃避免疫系统的监察或抑制免疫系统的功能等,使病毒自身能够存活。

4 结语与展望

随着对 m⁶A 修饰机制研究的逐渐深入,发现其对 RNA 水平的调控作用变得更加复杂和多样。m⁶A 修饰的调控功能通过读取蛋白来执行,一方面,读取蛋白能够促进经 m⁶A 修饰的 mRNA 的翻译,另一方面,也会通过降低靶 mRNA 的稳定性而促进其降解,有关这两种调控功能的选择的机制还有待研究。关于 m⁶A 修饰在病毒复制过程中的调控机制的研究表明, m⁶A 修饰对病毒复制的调控是通过影响病毒 mRNA 或基因组 RNA 的稳定性来实现的,众多研究都证实了读取蛋白 YTHDF2 对病毒复制的影响,实验结果也表明 YTHDF2 的过表达能抑制多种病毒的复制。另外,也有实验表明 YTHDF2 能够促进病毒的复制。这些研究结果提示可以将靶向调控 m⁶A 修饰的药物作为抗病毒药物的开发方向,如 3-脱氮腺苷(3-deazaadenosine, DAA)已经被证明可以通过阻断的 S-腺苷高半胱氨酸(SAC)的水解,使 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)降解,从而阻断 mRNA 底物中 m⁶A 的加入^[10]。Kennedy 等^[31]用 DAA 处理 HIV-1 感染的 CEM-SS 细胞,发现 HIV-1 的复制受到抑制,证明 DAA 对 HIV-1 复制的有效抑制作用。同时,有报道称 DAA 可以抑制 RSV、IAV 等病毒的复制^[47,48]。在研究 m⁶A 修饰对病毒复制的调控时,也应对 m⁶A 修饰的动态变化对宿主细胞的影响给予高度关注,这或许可以为新型抗病毒药物的开发提供参考。此外,病毒 RNA 的高甲基化使部分病毒成功躲过免疫系统的监察,那么生物体内是否存在某些机制能够监测到这些异常的甲基化,进而反馈给免疫系统进行处理,这有待进一步的研究。

参考文献(References):

- [1] 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]
- [2] Perry RP, Kelley DE. Existence of methylated messenger RNA in mouse L cells. *Cell*, 1974, 1(1): 37–42. [DOI]
- [3] Ye F, Dan D, Gideon R, Chuan H. Gene expression regulation mediated through reversible m⁶A RNA methylation. *Nat Rev Genet*, 2014, 15(5): 293–306. [DOI]
- [4] LI YL, YU J, Song SH. Recent progresses in RNA N⁶-methyladenosine research. *Hereditas (Beijing)*, 2013, 35(12): 1340–1351.
李语丽, 于军, 宋述慧. RNA 中 6-甲基腺嘌呤的研究进展. *遗传*, 2013, 35(12): 1340–1351. [DOI]
- [5] Zhao BS, Roundtree IA, He C. Post-transcriptional gene regulation by mRNA modifications. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 18(1): 31–42. [DOI]
- [6] Roignant JY, Soller M. M6A in mRNA: an ancient mechanism for Fine-Tuning gene expression. *Trends in Genetics*, 2017, 33(6): 380–390. [DOI]
- [7] Wu R, Jiang D, Wang Y, Wang X. N⁶-methyladenosine (m⁶A) methylation in mRNA with a dynamic and reversible epigenetic modification. *Mol Biotechnol*, 2016, 58(7): 450–459. [DOI]
- [8] Krug RM, Morgan MA, Shatkin AJ. Influenza viral mRNA contains internal N⁶-methyladenosine and 5'-terminal 7-methylguanosine in cap structures. *J Virol*, 1976, 20(1): 45–53. [DOI]
- [9] Moss B, Koczot F. Sequence of methylated nucleotides at the 5'-terminus of adenovirus-specific RNA. *J Virol*, 1976, 17(2): 385–392. [DOI]
- [10] Tan B, Gao SJ. RNA epitranscriptomics: regulation of infection of RNA and DNA viruses by N⁶-methyladenosine (m⁶A). *Quaest Math*, 2018, 29(1): 125–131. [DOI]
- [11] Zhang X, Jia GF. RNA epigenetic modification: N⁶-methyladenosine. *Hereditas(Beijing)*, 2016, 38(4): 275–288.
张笑, 贾桂芳. RNA 表观遗传修饰: N⁶-甲基腺嘌呤. *遗传*, 2016, 38(4): 275–288. [DOI]
- [12] 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 m6A writers reveals two distinct classes of mRNA methylation at internal and 5' sites. *Cell Rep*, 2014, 8(1): 284–296. [DOI]
- [13] Horiuchi K, Kawamura T, Iwanari H, Ohashi R, Naito M, Kodama T, Hamakubo T. Identification of Wilms' tumor 1-associating protein complex and its role in alternative

- splicing and the cell cycle. *J Biol Chem* 2013, 288(46): 33292–33302. [DOI]
- [14] Pendleton KE, Chen B, Liu K, Hunter OV, Xie Y, Tu BP, Conrad NK. The U⁶ snRNA m⁶A methyltransferase METTL16 regulates SAM synthetase intron retention. *Cell*, 2017, 169(5): 824–835.e14. [DOI]
- [15] Jia G, Fu Y, Zhao X, Dai Q, Zheng G, Yang Y, Yi C, Lindahl T, Pan T, Yang YG, He C. N⁶-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nat Chem Biol*, 2011, 7(12): 885–887. [DOI]
- [16] Zheng G, Dahl JA, Niu Y, Fedorcsak P, Huang CM, Li CJ, Vågbø 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*, 2012, 49(1): 18–29. [DOI]
- [17] Aik WS, Scotti JS, Choi H, Gong L, Demetriades M, Schofield CJ, McDonough MA. Structure of human RNA N⁶-methyladenine demethylase ALKBH5 provides insights into its mechanisms of nucleic acid recognition and demethylation. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42(7): 4741–4754. [DOI]
- [18] 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 m⁶Am in the 5' cap controls mRNA stability. *Nature*, 2016, 541(7637): 371–375. [DOI]
- [19] Patil DP, Pickering BF, Jaffrey SR. Reading m⁶A in the transcriptome: m⁶A-binding proteins. *Trends Cell Biol*, 2017, 28(2): 113–127. [DOI]
- [20] Xiao W, Lu Z, Gomez A, Hon GC, Yue Y, Han D, Ye F, Parisien M, Dai Q, Jia G. m⁶A-dependent regulation of messenger RNA stability. *Nature*, 2014, 505(7481): 117–120. [DOI]
- [21] Meyer KD, Jaffrey SR. Rethinking m(6)A Readers, Writers, and Erasers. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2017, 33(1): 319–342. [DOI]
- [22] Patil DP, Chen CK, Pickering BF, Chow A, Jackson C, Guttman M, Jaffrey SR. m⁶A RNA methylation promotes XIST-mediated transcriptional repression. *Nature*, 2016, 537(7620): 369–373. [DOI]
- [23] 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. N⁶-methyladenosine-dependent regulation of messenger RNA stability. *Nature*, 2013, 505(7481): 117–120. [DOI]
- [24] Wang Y, Li Y, Toth JI, Petroski MD, Zhang Z, Zhao JC. N⁶-methyladenosine dification destabilizes developmental regulators in embryonic stem cells. *Nat Cell Biol*, 2014, 16(2): 191–198. [DOI]
- [25] Du H, Zhao Y, He J, Zhang Y, Xi H, Liu M, Ma J, Wu L. YTHDF2 destabilizes m⁶A-containing RNA through direct recruitment of the CCR4–NOT deadenylase complex. *Nat Commun*, 2016, 7: 12626. [DOI]
- [26] Zhou J, Wang J, Gao X, Zhang X, Jaffrey SR, Qian SB. Dynamic m(6)A mRNA methylation directs translational control of heat shock response. *Nature*, 2015, 526(7574): 591–594. [DOI]
- [27] 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(6)A reader YTHDC1 regulates mRNA splicing. *Mol Cell*, 2016, 61(4): 507–519. [DOI]
- [28] Ying Y, Chen YS, Sun BF, Yang YG. RNA methylation: regulations and mechanisms. *Hereditas(Beijing)*, 2018, 40(11): 964–976.
杨莹, 陈宇晟, 孙宝发, 杨运桂. RNA 甲基化修饰调控和规律. *遗传*, 2018, 40(11): 964–976. [DOI]
- [29] Duan HC, Wang Y, Jia G. Dynamic and reversible RNA N⁶-methyladenosine methylation. *Wires Rna*, 2018, 10(1): e1507. [DOI]
- [30] Lichinchi G, Gao S, Saletore Y, Gonzalez GM, Bansal V, Wang Y, Mason CE, Rana TM. Dynamics of the human and viral m(6)A RNA methylomes during HIV-1 infection of T cells. *Nat Microbiol*, 2016, 1(4): 16011. [DOI]
- [31] Kennedy E, Bogerd H, Kornepati AR, Kang D, Ghoshal D, Marshall JB, Poling BC, Tsai K, Gokhale N, Horner SM. Posttranscriptional m⁶A editing of HIV-1 mRNAs enhances viral gene expression. *Cell Host Microbe*, 2017, 22(6): 830. [DOI]
- [32] Tirumuru N, Zhao BS, Lu W, Lu Z, He C, Wu L. Correction: N(6)-methyladenosine of HIV-1 RNA regulates viral infection and HIV-1 Gag protein expression. *eLife*, 2016, 5:e15528. [DOI]
- [33] Lu W, Tirumuru N, St Gelais C, Koneru PC, Liu C, Kvaratskhelia M, He C, Wu L. N⁶-methyladenosine-binding proteins suppress HIV-1 infectivity and viral production. *J Biol Chem*, 2018, 293(34): 12992–13005. [DOI]
- [34] Narayan P, Ayers DF, Rottman FM, Maroney PA, Nilsen TW. Unequal distribution of N⁶-methyladenosine in influenza virus mRNAs. *Mol Cell Biol*, 1987, 7(4): 1572–1575. [DOI]
- [35] Courtney DG, Kennedy EM, Dumm RE, Bogerd HP, Tsai K, Heaton NS, Cullen BR. Epitranscriptomic enhancement

- of influenza A virus gene expression and replication. *Cell Host Microbe*, 2017, 22(3): 377–386.e5. [DOI]
- [36] Lichinchi G, Zhao BS, Wu Y, Lu Z, Qin Y, He C, Rana T. Dynamics of human and viral RNA methylation during Zika virus infection. *Cell Host Microbe*, 2016, 20(5): 666–673. [DOI]
- [37] Gokhale N, McIntyre ARR, Mcfadden M, Roder A, Kennedy E, Gandara J, Hopcraft S, Quicke K, Vazquez C, Willer J. N⁶-methyladenosine in flaviviridae viral RNA genomes regulates infection. *Cell Host Microbe*, 2016, 20(5): 654–665. [DOI]
- [38] Imam H, Khan M, Gokhale NS, McIntyre ABR, Kim G-W, Jang JY, Kim S-J, Mason CE, Horner SM, Siddiqui A. N⁶-methyladenosine modification of hepatitis B virus RNA differentially regulates the viral life cycle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(35): 8829–8834. [DOI]
- [39] Ye F, Lei X, Gao SJ. Mechanisms of Kaposi's Sarcoma-Associated herpesvirus latency and reactivation. *Adv Virol*, 2011, 2011(1687–8639). [DOI]
- [40] Tan B, Hui L, Zhang S, Silva S RD, Lin Z, Jia M, Cui X, Yuan H, Sorel O, Zhang SW. Viral and cellular N⁶-methyladenosine and N⁶,2'-O-dimethyladenosine epitranscriptomes in the KSHV life cycle. *Nat Microbiol*, 2017, 3(1): 108–120. [DOI]
- [41] Hesser CR, Karijovich J, Dominissini D, He C, Glaunsinger BA. N⁶-methyladenosine modification and the YTHDF2 reader protein play cell type specific roles in lytic viral gene expression during Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection. *PLoS Pathog*, 2018, 14(4): e1006995. [DOI]
- [42] Tsai K, Courtney DG, Cullen BR. Addition of m⁶A to SV40 late mRNAs enhances viral structural gene expression and replication. *PLoS Pathog*, 2018, 14(2): e1006919. [DOI]
- [43] Martínez-Pérez M, Aparicio F, López-Gresa MP, Bellés JM, Sánchez-Navarro JA, Pallás V. Arabidopsis m⁶A demethylase activity modulates viral infection of a plant virus and the m⁶A abundance in its genomic RNAs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(40): 10755–10760. [DOI]
- [44] Durbin AF, Wang C, Marcotrigiano J, Gehrke L. RNAs containing modified nucleotides fail to trigger RIG-I conformational changes for innate immune signaling. *Mbio*, 2016, 7(5): e00833–16. [DOI]
- [45] Karikó K, Buckstein M, NiH, Weissman D. Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors: the Impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA. *Immunity*, 2005, 23(2): 165–175. [DOI]
- [46] Kennedy EM, Courtney DG, Tsai K, Cullen BR. Viral Epitranscriptomics. *J Virol*, 2017, 91(9): JVI.02263–16. [DOI]
- [47] Bader JP, Brown NR, Chiang PK, Cantoni GL. 3-Deazaadenosine, an inhibitor of adenosylhomocysteine hydrolase, inhibits reproduction of Rous sarcoma virus and transformation of chick embryo cells. *Virology*, 1978, 89(2): 494–505. [DOI]
- [48] Chiang PK. Biological effects of inhibitors of S-adenosylhomocysteine hydrolase. *Pharmacol Therapeut*, 1998, 77(2): 115–134. [DOI]

(责任编辑: 岑山)