

DOI: 10.13376/j.cblls/2019007

文章编号: 1004-0374(2019)01-0049-06

RNA修饰对长链非编码RNA的调控作用

马文博, 颜景斌*

(上海市儿童医院, 上海医学遗传研究所, 上海交通大学附属儿童医院, 国家卫健委
胚胎分子生物学重点实验室, 上海市胚胎与生殖工程重点实验室, 上海 200040)

摘要: 长链非编码 RNA (lncRNA) 能在表观遗传、转录以及转录后水平上调控基因表达, 与疾病的发生、发展和防治有着密切的联系。RNA 修饰介导的表观转录组学调控是表观遗传的新领域, 可以在转录后水平调控基因表达, 并且可以作为一种重要的修饰手段对 lncRNA 进行调控。RNA 修饰可以通过对 lncRNA 表达水平、剪切方式及二级结构的调控, 影响各种生物学进程。现回顾和展望 RNA 修饰对 lncRNA 的调控作用和其潜在的生物学功能。

关键词: RNA 修饰; 长链非编码 RNA; 表观遗传

中图分类号: Q522 **文献标志码:** A

Regulation of RNA modification on long noncoding RNA

MA Wen-Bo, YAN Jing-Bin*

(Shanghai Key Laboratory of Embryo and Reproduction Engineering, Key Laboratory of Embryo Molecular Biology of National Health Commission, Shanghai Institute of Medical Genetics, Shanghai Children's Hospital, Shanghai JiaoTong University, Shanghai 200040, China)

Abstract: With the ability to regulate the gene expression in epigenetic, transcriptional or/and post-transcriptional manners, long non-coding RNA (lncRNA) is closely associated with occurrence, development and treatment of some diseases. As a new field, epigenetic transcriptomics through RNA modification could influence gene expression in post-transcriptional manner, which is an important modification to regulate lncRNA. Through regulating the expression, splicing and secondary structure of lncRNA, RNA modification is capable of affecting various biological processes. In this paper, we will review and prospect the regulatory effects of RNA modification on lncRNA and its potential biological functions.

Key words: RNA modification; long noncoding RNA; epigenetic

1 lncRNA概述

长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 是一类长度超过 200 nt 的非编码 RNA^[1], 其不具有或很少具有蛋白质编码功能。其中大多数 lncRNA 由 RNA 聚合酶 II (RNA pol II) 转录, 有与 mRNA 相似的结构, 如 5' 帽子和 poly A 尾巴^[2]。lncRNA 在分化过程中可动态表达, 通过聚腺苷酸化和不同的选择性剪接形成不同的成熟体 lncRNA, 使得同一基因可以形成不同转录本的 lncRNA^[3]。根据它们在基因组上相对于蛋白质编码基因的位置, 可以将 lncRNA 分为 5 种类型: 正义链 (sense)、反义链

(antisense)、双向 (bidirectional)、内含子间 (intronic)、基因间 (intergenic)^[4]。lncRNA 能通过不同的机制参与各种生物学过程, 目前比较公认的是, lncRNA 主要通过三个层面发挥功能: 表观遗传调控、转录调控、转录后调控。这三种调控方式主要是 lncRNA 依靠其二级结构与蛋白质结合, 引起染色质重构, 影响转录因子功能等; 其次是通过顺式调控影响其上下游 mRNA 的表达, 也可以直接与

收稿日期: 2018-08-23; 修回日期: 2018-10-17

*通信作者: E-mail: yanjingbin0130@hotmail.com; Tel: 021-62472308

mRNA 结合,影响 mRNA 翻译、剪切、降解过程^[5]。lncRNA 通过这些方式调控细胞周期、诱导细胞分化以及影响疾病的发生和发展。

最新的研究发现,lncRNA 不仅可以调控 DNA 甲基化、组蛋白修饰和 RNA 修饰过程,同时也受到 DNA 甲基化、组蛋白修饰和 RNA 修饰的调控^[6]。本文将就 RNA 修饰对 lncRNA 调控作用的研究进展做一综述。

2 RNA的动态修饰过程

RNA 修饰是指发生在 RNA 上的修饰,目前发现的修饰方式已经超过 100 种。已有的研究表明, RNA 修饰和 RNA 修饰的改变在人类疾病的发生和发展中起重要的作用。

在 RNA 甲基化修饰过程中,有三类分子参与其中:甲基化转移酶、甲基化结合蛋白和去甲基化酶。其中甲基化转移酶介导 RNA 的甲基化修饰过程。结合蛋白可以识别 RNA 甲基化修饰的信息,并参与下游 RNA 的翻译、降解等过程。去甲基化酶可以介导 RNA 的去甲基化修饰过程。目前已知的 RNA 修饰主要包括 6-甲基腺苷(m6A)、5-甲基胞嘧啶(m5C)、5-核糖尿嘧啶(Ψ)、1-甲基腺苷(m1A)等,参与 lncRNA 调控的主要是 m6A、m5C、 Ψ 三种修饰。

2.1 m6A

1974 年,科学家首次发现 m6A 修饰^[7],其广泛存在于 tRNA、rRNA、ncRNA 和 mRNA 中^[8],m6A 由甲基化转移酶复合物在细胞核内催化产生,由结合蛋白对甲基化状态进行识别,并可通过去甲基化酶进行消除。

催化 m6A 生成的甲基化转移酶在细胞核内以复合物的形式发挥催化作用,复合物由 METTL3 和其他几种相互作用的蛋白组成,包括 METTL14、WTAP。甲基化转移酶复合物能以 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)为甲基化供体,催化 m6A 的形成^[9]。除了以上复合物的核心组成蛋白以外,还有新发现的亚基 KIAA1429、RBM15、RBM15B 和 METTL16 等可以通过不同的作用机制将甲基化写入 RNA 上^[10-12]。

目前已经发现了两个 m6A 去甲基化酶:FTO 和 ALKBH5。FTO 是 ALKB 双加氧酶家族成员,是第一个发现的 m6A 去甲基化酶^[13],能有效地在体外中性 pH 条件下进行去甲基化,细胞 mRNA 中 m6A 的水平受体内 FTO 氧化活性的影响^[14]。ALKBH5 是 ALKB 家族同源蛋白的成员,是第二个发现的

m6A 去甲基化酶,ALKBH5 可以完成 m6A 到 A 的一步催化^[15]。

m6A 结合蛋白可以读取 RNA 甲基化修饰的信息,并参与下游 RNA 的翻译、降解等过程。目前发现的 m6A 结合蛋白主要包括:含有 YTH 同源结构域的蛋白和真核起始因子 3(eIF3)。其中 YTHDF1、YTHDF2 是一组在细胞质中发挥作用的 m6A 结合蛋白,参与调节翻译效率和维持 mRNA 稳定性^[16],YTHDF3 的作用机制目前还不清楚。eIF3 可以与 5'-UTR 中的 m6A 结合,介导 mRNA 的翻译起始^[17]。m6A 的动态修饰可以通过选择性地与结合蛋白作用,影响 mRNA 的翻译状态和生命周期。

目前 m6A 修饰在非编码 RNA 中有很多新的研究成果,其中 lncRNA *KCNK15-AS1* 可以通过 ALKBH5 去甲基化从而抑制胰腺癌的转移^[18]。在 lncRNA *TUG1* 的 A1114 位发现 m6A 修饰^[19],但其具体作用方式还不清楚。同时还有研究发现,m6A 在 mRNA 和 lncRNA 中分布情况不同,说明 lncRNA 的 m6A 修饰可能不同于 mRNA,其具体机制还需进一步研究。

2.2 m5C

m5C 发生在 mRNA、tRNA、rRNA 和 lncRNA 上,与 m6A 一样属于动态可逆修饰,一般位于翻译起始位点下游 100 nt 处和 UTR 处^[20-21]。目前发现的真核生物 m5C 甲基转移酶主要包括:NOP2/SUN RNA 甲基转移酶家族和 DNMT2,其中 NOP2/SUN RNA 甲基转移酶家族有七个成员,其都可以单独作用于 tRNA、rRNA、mRNA、ncRNA 等,起到去甲基化作用,发生突变或进行敲除后会影响到小鼠正常发育和分化,并且在癌细胞中会发生表达量和拷贝数的变化。DNMT2 之前被认为是 DNA 甲基化转移酶^[22],但现有研究发现其可以作用于 tRNA,并且与其他 RNA 甲基化转移酶一样,常在癌细胞中发生表达量的变化^[23]。ALYREF 是一种 mRNA 接头蛋白,被鉴定为一种 m5C 结合蛋白,可促进细胞核中的 mRNA 转运^[23]。目前 m5C 的去甲基化酶还有待发现。

有部分研究表明,m5C 中的 lncRNA 修饰可能起到重要作用,其中 lncRNA *H19* 的 C1709 位点在不同细胞中表现出差异化的 m5C 修饰,不同环境下 lncRNA *H19* m5C 修饰水平的差异可能使其具有不同的功能^[24]。*RPPH1* 是核糖核苷酸内切酶的 RNA 组成部分,可切割 tRNA 前体分子^[25]。Squires 等^[21]在 *RPPH1* 等几个 lncRNA 中鉴定出 m5C 修饰

位点, 这些研究结果表明 lncRNA 的功能可能受到 m5C 修饰的调控。

2.3 Ψ

Ψ 修饰是体内最丰富的 RNA 修饰之一, 1951 年在 tRNA、rRNA、小核 RNA (snRNA)、小核仁 RNA (snoRNA)、mRNA 和 ncRNA 中发现^[26]。Ψ 是常规 RNA 尿苷的异构体, 由于其丰度很高, Ψ 甚至被称为“第五核苷酸”^[27]。其可以增强 RNA 的碱基堆叠能力, 使糖-磷酸骨架更加坚硬^[28]。在人类中, 已经鉴定了 13 种含有假尿苷合成酶结构域的蛋白质, 这些假尿苷合成酶 (PUS) 可以分为两类: RNA 依赖性 or RNA 非依赖性。但截至目前还没有发现 Ψ 的结合蛋白和去 Ψ 修饰的蛋白。主要原因可能是由于碱基和核糖之间形成的 C-C 键 (Ψ) 比 C-N 键 (尿苷) 惰性更强, 因此, Ψ 的形成可能是不可逆的, 并且假尿苷化可能会被 RNA 分子本身的结构变化所读取, 进而影响 RNA 分子的稳定性及其与蛋白质的相互作用, 而不需要专门的识别蛋白介导^[28]。

有研究通过对酵母细胞和人细胞进行压力处理后发现, mRNA 和 lncRNA 中 Ψ 分布模式会发生改变^[29], 表明 RNA 修饰可以通过扩展遗传密码来适应环境的改变。现阶段还有少数研究报道了单个转录物中 RNA 修饰的位置, 例如 *Kcnq1ot1*、*MALAT1* 等基因, *Kcnq1ot1* 是一种与组蛋白甲基转移酶 G9a 和多梳蛋白 (polycomb group, PcG) 复合体相互作用的印迹 lncRNA, 在心肌梗死患者中表达升高, 并具有转录干扰功能, 其在 U64919 位含有 Ψ 修饰^[30]; *MALAT1* 在 U5160、U5590 和 U3374 位置也含有几个 Ψ 修饰^[29]; 在 *ST7-ASI* (U1138)、*ZFAS1* (U569)、*SNHG7* (U292)、*DICER1-ASI* (U463) 处都发现了 Ψ 修饰^[30]。目前这些位点的 RNA 修饰的功能还不清楚, 有待进一步研究。

3 RNA修饰对lncRNA的调控作用

Shafik 等^[31]在 1 072 个 lncRNA 转录物中发现了 9 965 个 m5C 位点, 在 12 348 个转录物中发现了 15 357 个 m6A 位点, 在 150 个转录物中发现了 162 个 Ψ 修饰位点。这些在 lncRNA 中发现的大量 RNA 修饰突出显示了 RNA 修饰在 lncRNA 的调控中可能发挥重要的作用。

RNA 修饰能够在转录后水平上调控 mRNA 和 ncRNA 的稳定性与二级结构形成^[16,32]。在 tRNA 和 rRNA 中, RNA 修饰的主要功能是调控翻译和 RNA

稳定性^[33]。在 lncRNA 中, RNA 修饰可调控 lncRNA 表达、选择性剪切和二级结构的改变。

3.1 RNA修饰调控lncRNA表达

RNA 修饰可以被其结合蛋白识别, 促进 mRNA 的表达和降解, 其中具有 YTHDF 结构域的 RNA 识别蛋白能够识别并结合 RNA 中的 m6A, 这种结合会降低 mRNA 的半衰期促使其降解, 从而影响 mRNA 的表达量。

在 lncRNA 中, RNA 修饰也会对其表达进行调控。FTO 作为 m6A 去甲基化酶, 在血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 的增殖中起重要作用, Chen 等^[34]在 VSMCs 中过表达 FTO 后, lncRNA *BC033150* 的表达明显增加, 推测 m6A 修饰可能会通过对 lncRNA 去甲基化, 保护 lncRNA 不被 RNA 甲基化依赖的 RNA 降解酶识别, 进而影响到 lncRNA 的表达水平。

3.2 RNA修饰调控lncRNA的选择性剪切

研究表明, 定位于细胞核内的识别蛋白 YTHDC1 参与 mRNA 的剪接调控, YTHDC1 能招募 SRSF3 同时抑制 SRSF10 结合在 RNA 上, 从而导致 mRNA 剪接形式的改变^[35]。与 mRNA 一样, lncRNA 也存在选择性剪接, 不同的剪接形式可能行使着不同的功能, 研究发现 m6A 甲基化对 lncRNA 的选择性剪接也存在着调控作用。通过在 lncRNA 上进行 PAR-CLIP 测序和 m6A 修饰分析发现, 有超过一半的 lncRNA 能够被结合蛋白 YTHDC1 结合, 并且在 YTHDC1 敲低的情况下, lncRNA *RP11-420G6.4* 的第二外显子的保留水平下降, *C12orf47* 的第二外显子的保留水平上升, 说明 m6A 结合蛋白 YTHDC1 能够影响 lncRNA 的选择性剪接^[36]。

3.3 RNA修饰调控lncRNA二级结构

哺乳动物的 lncRNA *MALAT1*、*XIST* 和 *HOTAIR* 等可以通过与染色质修饰蛋白复合物相互作用而在染色质水平上发挥功能^[37-38]。这种能力可能涉及相应 lncRNA 的结构而不是序列特征, RNA 修饰可以阻止互补链形成双链, 实现双链的发夹转化, 而且通过形成不同的二级结构来影响 RNA 结构^[39], 从而进一步影响 lncRNA 与蛋白质的相互作用能力。

Yang 等^[40]的研究发现, *linc1281* 可以通过 ceRNA 吸附 let-7 家族 miRNA 的机制, 调控着小鼠胚胎干细胞 (mESC) 的分化过程, 在敲减 METTL3 后, *linc1281* 的 RNA 甲基化水平下降。通过对 RNA 甲基化区域 (915~1058 区段) 进行点突变检测, 发现 RNA 的甲基化并不影响 *linc1281* 的表达水平, 也

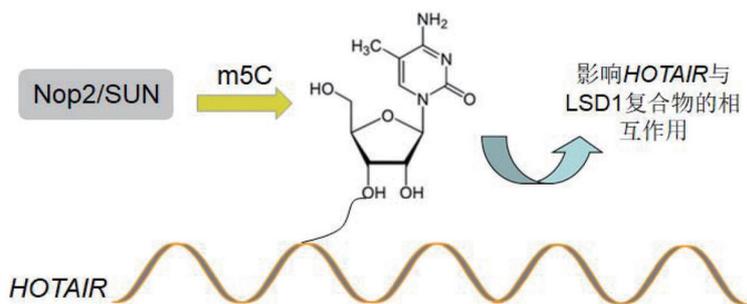
就意味着 m6A 可能通过影响 *linc1281* 的互作位点从而起到对 mESC 分化的调控作用。

MALAT1 是长约 8 kb、序列高度保守的长链非编码 RNA，可以调控多个基因的表达和选择性剪接^[41-42]，在肿瘤的发生和发展中有重要的作用。Liu 等^[19]利用 SCARLET 方法精确测定 m6A 的状态，发现在 HeLa 细胞中 *MALAT1* 的 m6A 修饰可能会起重要的生物学作用。通过实验分析和二级结构预测发现 *MALAT1* 的发夹结构中两个 m6A 的位点，进一步对此发夹结构处甲基化和未甲基化的对比发现，发夹结构中 m6A 的存在降低了双链结构的稳定性，增加了发夹结构的开放性。*MALAT1* 发夹的整体结构在 m6A 修饰时保持不变，但其碱基的双链配对会变得松散，从而影响 RNA 的结合作用^[43]。m6A 可以增强负责 pre-mRNA 加工的核 RNA 结合蛋白 (heterogeneous nuclear ribonucleoproteins C1/C2, HNRNPC) 与 *MALAT1* 发夹的结合，亲和力是未经过 m6A 修饰的 8 倍^[32,43]。进一步的研究发现，*MALAT1* 上的 m6A 修饰是高度动态的，可以通过紫外线、生长因子等进行调控^[44]。

HOTAIR 是一种长约 2.2 kb 的基因间 lncRNA^[45]。

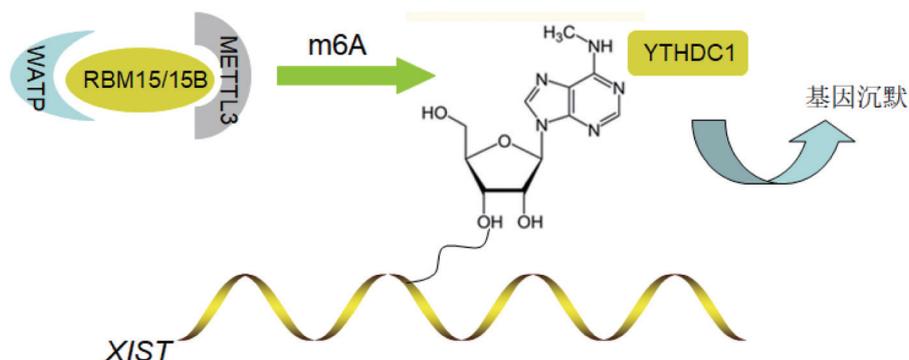
Amort 等^[46]发现 *HOTAIR* 中与染色质相关结合蛋白作用的位点等重要功能区域存在 m6A 修饰。利用人中枢神经元前体细胞系 (NT2) 中分离出的 *HOTAIR* 进行检测发现，在 C1683 位点处存在一个 m5C 修饰；乳腺癌、卵巢癌中的研究显示，C1683 的甲基化在不同细胞类型中广泛存在，修饰率可达 100%，并且这种位点特异性的修饰不受表达水平的限制^[46]。C1683 所在的区域与赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1 (lysine specific demethylase1, LSD1) 复合物的相互作用有关^[38]，这表明 *HOTAIR* 的 m5C 修饰可能会影响 *HOTAIR* 与 LSD1 的相互作用 (图 1)。

X 染色体失活指一对 X 染色体中的一条发生随机性的转录沉默，*XIST* 是 X 失活中心区域表达的长约 17 kb 的 lncRNA，*XIST* 可以通过招募特定的蛋白复合物介导 X 染色体上基因的转录沉默。研究发现，RBM15B 和 RBM15 这两个结合蛋白可以与 WTAP 相互作用，并进一步与甲基转移酶 METTL3 结合作用于 *XIST*，催化 *XIST* 的 m6A 修饰，然后 *XIST* 中的 m6A 被 YTHDC1 识别，介导基因沉默^[47] (图 2)。但 YTHDC1 与 *XIST* 的结合如何导



Nop2/SUN催化*HOTAIR*的C1683位点m5C修饰，进而影响*HOTAIR*与LSD1复合物的相互作用。

图1 m5C修饰介导lncRNA与蛋白质互作的作用原理



RBM15B和RBM15这两个结合蛋白可以与WTAP相互作用，并进一步与甲基转移酶METTL3结合作用于*XIST*，催化*XIST*的m6A修饰，然后*XIST*中的m6A被YTHDC1识别，介导基因沉默。

图2 m6A修饰介导基因沉默的作用原理

致基因的沉默机制尚不清楚。同时在体外实验中显示, *XIST* 的 m5C 修饰会影响 *XIST* 与染色质修饰复合物 PRC2 的结合^[45]。进一步说明在 *XIST* 中, m6A 可能充当沉默蛋白复合物组装的支架。这些发现将促使 m6A 在其他 RNA 中类似作用的发现^[48]。

4 展望

随着高通量测序技术的发展, 越来越多的 lncRNA 得到注释, 但是绝大多数 lncRNA 的功能还不清楚, RNA 修饰对 lncRNA 的调控作用也有待进一步研究, 因此相关领域具有极大的研究价值和意义。现阶段的研究基本集中在 lncRNA 对下游基因的调控能力上, 但由于 lncRNA 种类和功能的多样性, 使 lncRNA 研究结果相互之间的参考价值不高, 而通过研究 lncRNA 的上游调控方式, 特别是 RNA 修饰对其的调控作用, 可以进一步了解 lncRNA 在发育过程中和不同组织细胞中特异性表达的分子机制, 以及其在疾病中的表达方式, 从而阐明疾病发生的具体机制。

[参 考 文 献]

- [1] Yang F, Zhang L, Huo XS, et al. Long noncoding RNA high expression in hepatocellular carcinoma facilitates tumor growth through enhancer of zeste homolog 2 in humans. *Hepatology*, 2011, 54: 1679-89
- [2] Gibb EA, Brown CJ, Lam WL. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Mol Cancer*, 2011, 10: 38
- [3] Zhang Y, Yang L, Chen LL. Life without A tail: new formats of long noncoding RNAs. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, 54: 338-49
- [4] Raponavoli NA, Poth EM, Zhu H, et al. The long noncoding RNA *Six3OS* acts in trans to regulate retinal development by modulating *Six3* activity. *Neural Dev*, 2011, 6: 1-15
- [5] Yang G, Lu X, Yuan L. LncRNA: a link between RNA and cancer. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1839: 1097
- [6] Zhou J, Yang L, Zhong T, et al. *H19* lncRNA alters DNA methylation genome wide by regulating S-adenosylhomocysteine hydrolase. *Nat Commun*, 2015, 6: 10221
- [7] Desrosiers R, Friderici K, Rottman F. Identification of methylated nucleosides in messenger RNA from Novikoff hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1974, 71: 397 1-5
- [8] Molinie B, Wang J, Lim KS, et al. m6A level and isoform characterization sequencing (m6A-LAIC-seq) reveals the census and complexity of the m6A epitranscriptome. *Nat Methods*, 2016, 13: 692-8
- [9] Bokar JA, Shambaugh ME, Polayes D, et al. Purification and cDNA cloning of the AdoMet-binding subunit of the human mRNA (N6-adenosine)-methyltransferase. *RNA*, 1997, 3: 1233-47
- [10] Schwartz, Mumbach MR, Jovanovic M, et al. Perturbation of m6A writers reveals two distinct classes of mRNA methylation at internal and 5' sites. *Cell Rep*, 2014, 8: 284-96
- [11] Horiuchi K, Kawamura T, Iwanari H, et al. Identification of Wilms' tumor 1-associating protein complex and its role in alternative splicing and the cell cycle. *J Biol Chem*, 2013, 288: 33292-302
- [12] Warda AS, Kretschmer J, Hackert P, et al. Human METTL16 is a N6-methyladenosine (m6A) methyltransferase that targets pre-mRNAs and various non-coding RNAs. *EMBO Rep*, 2017, 18: 2004
- [13] Jia G, Fu Y, Zhao X, et al. N⁶-methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nat Chem Biol*, 2011, 7: 885-7
- [14] Fu Y, Jia G, Pang X, et al. FTO-mediated formation of N6-hydroxymethyladenosine and N6-formyladenosine in mammalian RNA. *Nat Commun*, 2013, 4: 1798
- [15] Lu H, Samanta D, Xiang L, et al. Chemotherapy triggers HIF-1-dependent glutathione synthesis and copper chelation that induces the breast cancer stem cell phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 4600-9
- [16] Wang X, Lu Z, Gomez A, et al. m6A-dependent regulation of messenger RNA stability. *Nature*, 2014, 505: 117-20
- [17] Meyer K, Patil D, Zhou J, et al. 5'UTR m⁶A promotes cap-independent translation. *Cell*, 2015, 163: 999-1010
- [18] He Y, Hu H, Wang Y, et al. ALKBH5 inhibits pancreatic cancer motility by decreasing long non-coding RNA *KCNK15-AS1* methylation. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48: 838-46
- [19] Liu N, Parisien M, Dai Q, et al. Probing N6-methyladenosine RNA modification status at single nucleotide resolution in mRNA and long noncoding RNA. *RNA*, 2013, 19: 1848-56
- [20] Amort T, Rieder D, Wille A, et al. Distinct 5-methylcytosine profiles in poly(A) RNA from mouse embryonic stem cells and brain. *Genome Biol*, 2017, 18: 1
- [21] Squires JE, Patel HR, Marco N, et al. Widespread occurrence of 5-methylcytosine in human coding and non-coding RNA. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40: 5023-33
- [22] Kaiser S, Jurkowski TP, Kellner S, et al. The RNA methyltransferase Dnmt2 methylates DNA in the structural context of a tRNA. *RNA Biol*, 2016, 14: 1
- [23] Yang X, Yang Y, Sun BF, et al. 5-methylcytosine promotes mRNA export — NSUN2 as the methyltransferase and ALYREF as an m5C reader. *Cell Res*, 2017, 27: 606-25
- [24] 孙振, 崔恒宓. 长链非编码RNAH195-甲基胞嘧啶修饰的精确定位定量分析[A]// 遗传多样性: 前沿与挑战——中国的遗传学研究(2013-2015). 北京: 中国遗传学会大会论文摘要汇编[C]
- [25] Baer M, Nilsen TW, Costigan C, et al. Structure and transcription of a human gene for H1 RNA, the RNA component of human RNase P. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18: 97-103
- [26] Cohn WE, Volkin E. Nucleoside-5'-phosphates from ribonucleic acid. *Nature*, 1951, 167: 483-4

- [27] Li X, Ma S, Yi C. Pseudouridine: the fifth RNA nucleotide with renewed interests. *Cur Opin Chem Biol*, 2016, 33: 108-16
- [28] Charette M, Gray MW. Pseudouridine in RNA: what, where, how, and why. *IUBMB Life*, 2000, 49: 341-51
- [29] Carlile TM, Rojasduran MF, Zinshteyn B, et al. Pseudouridine profiling reveals regulated mRNA pseudouridylation in yeast and human cells. *Nature*, 2014, 515: 143-6
- [30] Li X, Zhu P, Ma S, et al. Chemical pulldown reveals dynamic pseudouridylation of the mammalian transcriptome. *Nat Chem Biol*, 2015, 11: 592-7
- [31] Shafik A, Schumann U, Evers M, et al. The emerging epitranscriptomics of long noncoding RNAs. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1859: 59-70
- [32] Liu N, Dai Q, Zheng G, et al. N6-methyladenosine-dependent RNA structural switches regulate RNA-protein interactions. *Nature*, 2015, 518: 560-4
- [33] Alexandrov A, Chernyakov I, Gu W, et al. Rapid tRNA decay can result from lack of nonessential modifications. *Mol Cell*, 2006, 21: 87-96
- [34] Chen M, Jiang QX, Li JX, et al. Honokiol inhibiting proliferation of vascular smooth muscle cells by targeting lncRNA (BC033150) via FTO. *Int J Clin Exp Med*, 2018, 11: 201-8
- [35] Kasowitz SD, Ma J, Anderson S J, et al. Nuclear m6A reader YTHDC1 regulates alternative polyadenylation and splicing during mouse oocyte development. *PLoS Genet*, 2018, 14: e1007412
- [36] 孙慧颖. RNA m6A甲基化调控lncRNA选择性剪接[D]. 合肥: 中国科学院大学, 2016
- [37] Rinn JL, Chang HY. Genome regulation by long noncoding RNAs. *Annu Rev Biochem*, 2012, 81: 145-66
- [38] Tsai MC, Manor O, Wan Y, et al. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science*, 2010, 329: 689-93
- [39] Micura R, Pils W, Höbartner C, et al. Methylation of the nucleobases in RNA oligonucleotides mediates duplex-hairpin conversion. *Nucleic Acids Res*, 2001, 29: 3997-4005
- [40] Yang D, Qiao J, Wang G, et al. N6-methyladenosine modification of lincRNA 1281 is critically required for mESC differentiation potential. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46: 3906-20
- [41] Tripathi V, Ellis JD, Shen Z, et al. The nuclear-retained noncoding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. *Mol Cell*, 2010, 39: 925-38
- [42] Moritz E, Tony G, Monika H, et al. Loss of the abundant nuclear non-coding RNA *MALAT1* is compatible with life and development. *RNA Biol*, 2012, 9: 1076
- [43] Zhou KI, Parisien M, Dai Q, et al. N6-methyladenosine modification in a long non-coding RNA hairpin predisposes its conformation to protein binding. *J Mol Biol*, 2016, 428: 822-33
- [44] Dominissini D, Moshitchmoshkovitz S, Schwartz S, et al. Topology of the human and mouse m6A RNA methylomes revealed by m6A-seq. *Nature*, 2012, 485: 201-6
- [45] Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell*, 2007, 129: 1311-23
- [46] Amort T, Soulière MF, Wille A, et al. Long non-coding RNAs as targets for cytosine methylation. *RNA Biol*, 2013, 10: 1003
- [47] Patil DP, Chen CK, Pickering BF, et al. m(6)A RNA methylation promotes *XIST*-mediated transcriptional repression. *Nature*, 2016, 537: 369-73
- [48] Huisman B, Manske G, Carney S, et al. Functional dissection of the m6A RNA modification. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42: 85-6