



WIE-biotech

立效生物

m6A 和 m7G

汇总版

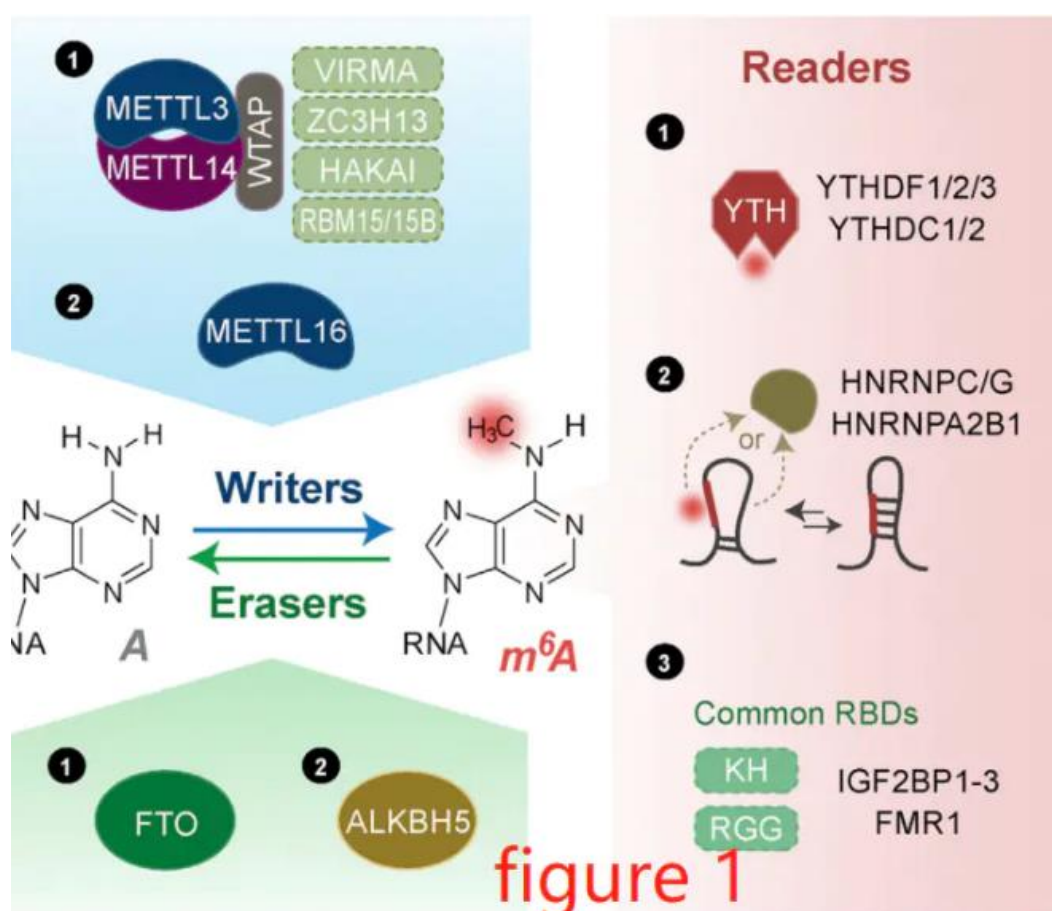
方案组

2023/8/2

m6A 甲基化各种转移酶发挥的作用

前言：

早期研究发现，m6A 主要发生在 (G/A) (m6A)C 序列上。最近的研究发现，m6A 主偏向于出现在终止密码子和 3' UTR 上，因此我们可以推断，m6A 可以影响基因的表达。m6A 途径的效应器(effectors)包括写入器(writers), 擦除器(erasers)和读取器(readers)，其中写入器往核苷酸上添加甲基，擦除器反之，即去掉核苷酸上的甲基，读取器则是能够识别那些核苷酸上含有甲基的序列，他们成员如下图所示：



机体的整个生物学环境会影响 m6A 通路，并且决定了 m6A 的功能。一方面，不同的细胞，以及环境刺激能影响 m6A 这些效应器自身的表达水平，PTM 以及细胞定位。例如，在多数细胞系中，m6A 的去甲基化酶(demethylase)FTO 主要位于细胞核，并且参与 5%-10% 的 mRNA 的 m6A 去甲基化，但是在某些淋巴瘤细胞系中，这个比例达到 40%。另一方面，RNA 分子自身的异质性又增加了 m6A 的研究难度，这是因为：

①RNA 种类繁多，包括 mRNA，tRNA，rRNA，以及其它大量的非编码 RNA；

- ②不同类型的细胞中的 RNA 丰度不同;
- ③RNA 存在着复杂的二级结构;
- ④RNA 存在着不同的转录状态 (例如非活跃时, RNA 与组蛋白紧密结合, 转录活跃时, 则与组蛋白松开);
- ⑤RNA 中的顺式/反式作用元件 (例如一些 RNA 结合蛋白, RBP, RNA binding proteins) 会调控 m6A 效应子与 RNA 底物。因此说, m6A 的活动与环境紧密相关。

m6A 甲基化的写入器

m6A 是通过一个复合物加到 mRNA 上的 (Figure1), 这个复合物有多个亚基, 包括 METTL3, METTL14, WTAP, VIRMA, ZC3H13, HAKAI, RBM15/15B。其中包括以下成员:

- METTL3/14, 全称是 methyltransferase-like 3/14, 即甲基转移酶 3/14, 这两个甲基转移酶是这个复合物的核心成员, 其中 METTL3 起催化作用, METTL14 促进复合物与 RNA 结合。
- WTAP, 全称是 Wilms tumor 1-associated protein, 其功能是结合 METTL3/14, 诱导它们向底物招募以及定位。
- VIRMA, 全称是 Vir like m6A methyltransferase associated, 功能是将 m6A 与 3' UTR 结合。
- ZC3H13, 全称是 zinc finger CCH-type containing 13, 功能是诱导写入器复合物向核内转移。
- RBM15/15B 全称是 RNA binding motif protein 15/15B, 功能是与尿嘧啶富集区域结合, 促进某些 RNAs 的甲基化。

METTL3 的功能

METTL3 在各类细胞中的分布不同, 例如在 HeLa 细胞中, METTL3/METTL14 会形成二聚体结构与 WTAP 产生相互作用, 然后进入细胞核形成斑点 (speckle)。METTL3 和 WTAP 中含有 NLS (nuclear localization signals), NLS 的突变会导致复合物无法入核。METTL3 还存在于一些细胞质中, 例如在一些癌细胞系, 包括 HeLa, MDA-MB-231, MOLM13 细胞系等。还有一些情况, 例如在小鼠皮质神经元中, METTL14 位于细胞质和细胞核。现在还不清楚为什么 METTL3 的定位为什么会出现如此差异。METTL3/METTL14 的比例在不同的细胞系中也有差异, 这可能会影响 METTL3 的定位。

METTL3 在细胞核中的作用

当出现热休克时，METTL3 就会定位到染色质的热休克相关的基因上，m6A 就会被添加到热休克转录本上，从而诱导这些转录本在应激压力下被清除。UV 诱导 DNA 破坏时，METTL3/14 就会在 2 分钟内定位到 UV 诱导的损伤位点，同时伴随着 m6A 活动的增强。在人类多能干细胞的 TGF- β 信号转录通路转导方面，活化的 SMAD2/3 会与 METTL3/14-WTAP 相互作用，诱导 m6A 添加到特定的转录本上。在 AML 细胞中，一部分 METTL3 会通过 METTL14 非依赖方式与 CCAAT 增强子结合蛋白 zeta(CEBPZ)的启动子区域结合。在 HepG2 细胞中，H3K36me3 能通过与 METTL14 相互作用招募写入器，诱导 mRNA 的 CDS 和 3' UTR 上添加 m6A。

METTL3 在细胞质中的促进翻译作用

METTL3 还能作为一个潜在的 m6A 读取器，在 Figure 2B 中，我们可以看到，在肺癌细胞中，METTL3 此时并没有发挥催化作用，而是在细胞质中锚定到了 3' UTR 上，促进了一个报告 mRNA 的翻译。进一步的研究表明，METTL3 是通过 eIF3h 相互作用来促进翻译的。

METTL3 蛋白自身会通过 PTM 或其它蛋白质相互作用来发挥调控功能，例如人类的 METTL14 能够诱导 METTL3 的丝氨酸 399 磷酸化。人类的 METTL3 会出现 SUMOylation 修饰，导致 METTL3/14 的活性降低。但这些现象的机制还不清楚。

序列和结构特异性诱导的甲基化

METTL3/14 复合物偏爱 RRACH 模序(R=A 或 G; H=A, C 或 U)，METTL16 则偏爱另外的序列与结构。METTL16 被验证的两个特异性序列是 U6(U6 small nuclear RNA, snRNA)和人类 MAT2A(methionine adeno-syltransferase 2A)上的一个发夹结构(hp1)，MAT2A 编码 S-腺苷甲硫氨酸合成酶(S-adenosylmethionine synthetase, SAM synthetase)。有实验分析发现，METTL16 偏爱一个形成茎环结构膨大处的 UAC(m6A)GAGAA 序列。METTL16 介导的 MAT2A 甲基化是 SAM 稳态的负反馈信号。最近发现了 ZCCH4 是一个新的 m6A 读取器。

m6A 读取器

m6A 读取器通过作用于含有 m6A 的 mRNA 来发挥作用，Figure 1 中可以把读取器分为三类。

第一类读取器含有 YTH 结构域(YTH 的全是 YT521-B homology)，这些成员包括 YTHDF1-3(YTH domain family 1-3)，YTHDC1-2(YTH domain containing 1-2) (参考 Figure 1)。细胞质中的 YTHDF2 会通过招募 CCR4-NOT 腺嘌呤酶复合物来诱导靶转录本的部分降解。细胞质中的 YTHDF1 和 YTHDF3 能促进 HeLa 细胞中靶转录本的翻译。细胞核中的 YTHDC1 有多个作用，包括招募某些剪接因子调控

mRNA 的剪接，促进 mRNA 的输出，加速某些转录本的降解。YTHDC2 调控 mRNA 的稳定，翻译以及精子形成。

第二类读取器是 HNRNPs，全称是 heterogeneous nuclear ribonucleoproteins，成员包括 HNRNPC，HNRNPG 与 HNRNPA2B1，它们能调控靶转录本的剪接，加工，它们能与 RNA 的某些结构结合，这些结构是由 m6A 介导形成的，因为 m6A 会重构局部的 RNA 结构，调控 RNA-蛋白质之间的相互作用，这一现象称为 m6A 开关(m6A-switch)。

第三类读取器含有相同的 RNA 结合结构域(RBD, RNA binding domains)，例如 KH 结构域(K homology)，RNA 识别模序(RNA recognition motif)，以及 RGG(arginine/glycine-rich)结构域，它们都能与含有 m6A 的 mRNA 结合，包括 FMR1 和 IGF2BP1-3。FMR1(Fragile X mental retardation 1)含有 3 个 KH 结构域，1 个 RGG 结构域，它有可能通过与 YTHDF1 和 YTHDF2 相互作用来影响 RNA 的转移，RNA 的稳定。IGF2BP1-3(insulin-like growth factor 2 mRNA-binding proteins 1 - 3)能通过 m6A 的方式稳定靶转录本（YTHDF2 与之相反，它是降解靶转录本）。IGF2BP 蛋白功能的核心是 KH3-4 结构域，这是与 m6A 结合的关键区域。Prirc2a 是最近发现的一个读取器，它与髓鞘形成有关，具体机制不明。

为什么读取器会结合一些 m6A 位点

以下为作者的几个猜测。

第一，读取器有可能与其它 RBP 相互作用，从而被招募到 mRNA 的不同区域。IGF2BP1-3 和 YTHDF2 通过在不同位点来调控 mRNA 的稳定性，例如 IGF2BP1-3 结合到 3' UTR，而 YTHDF2 结合到 CDS 区。而 RBP 对 RNA 的识别取决于多个因素，例如结合位点的序列，序列的侧翼以及 RNA 的二级结构。因此 RBP 与读取器蛋白质的相互作用有可能涉及了 m6A 位点的特异性。

第二，m6A 位点的密度和序列也可能与之有关。

第三，读取器蛋白会在细胞区室的特定位置富集，因此会偏向与局部一些 RNA 类型结合。例如，YTHDF1-3，FMR1 和 HNRNPA2B1 位于细胞的应激颗粒核心地区。在乳腺癌细胞中，YTHDF1-3，HNRNPK 和 IGF2BP2-3 位于细胞的突起(protrusion)。

甲基化可以促进翻译或影响某一转录本的稳定性，这取决于细胞环境下哪个读取器占主导地位：

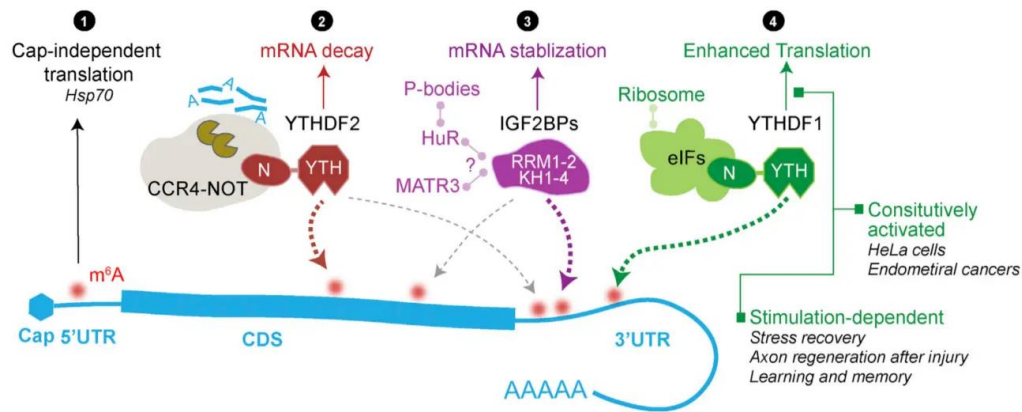


Figure 3. Region-, Reader-, and Stimulation-Dependent Roles of m⁶A Methylation on mRNA

读取器对外界刺激的应答

在某些刺激下，例如热休克应激或病毒感染会诱导细胞质中的 YTHDF 进入细胞核。在热休克出现的几小时内，YTHDF2 的转录本与蛋白水平都上升，并且多数 YTHDF2 转移到细胞核内。有人认为，YTHDF2 核心的 YTHDF2 会与去甲基化酶 FTO 竞争，阻止那些热休克应答基因 5'UTR 的去甲基化，从而增强这些基因在细胞质中非加帽方式的翻译 (cap-independent translation)。体外实验发现，YTHDF2 能抑制 FTO 的去甲基化活性。在 Vero 细胞感染实验中，细胞感染了 enterovirus type 71 后，YTHDF1 和 YTHDF2 会上调，并且在感染 12 小时后分布在细胞质，感染 24 小时后分布在细胞核，这一现象机制不明。

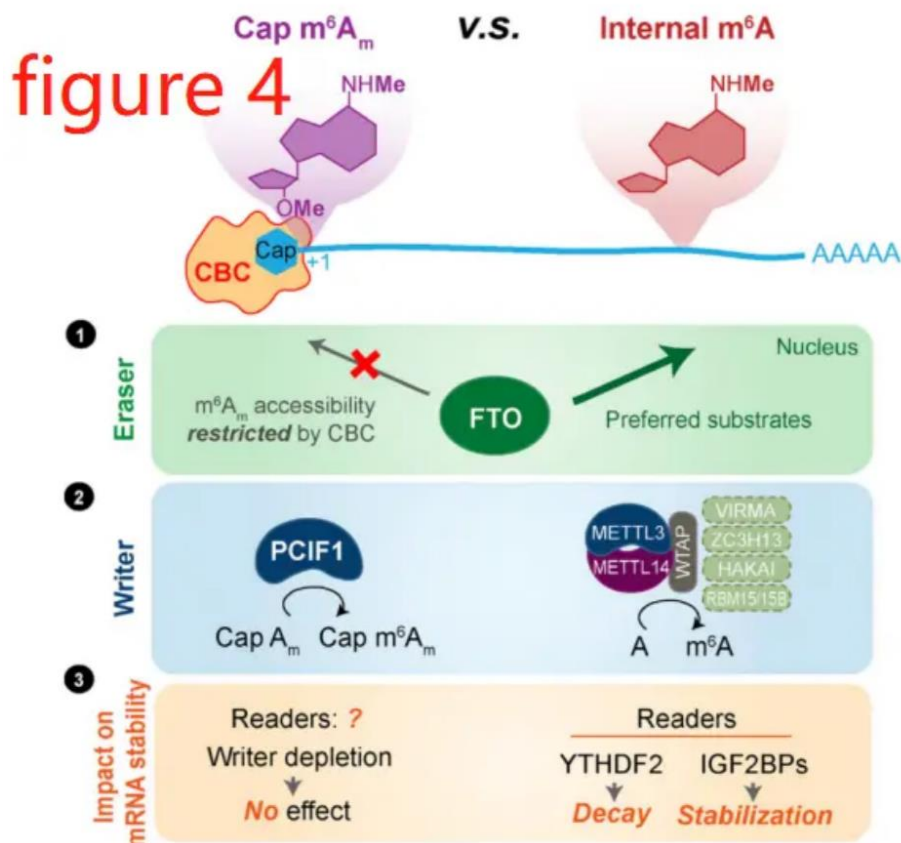
在有丝分裂后期的细胞中，当需要功能蛋白时，YTHDF1 的翻译促进作用就变得特别明显 (Figure 3)。在损伤诱导的轴突再生的背根节 (DRG) 模型中，再生相关基因大量地被甲基化，在这个恢复过程中，YTHDF1 是蛋白质强烈合成所必需的条件；相比之下，YTHDF1 在损伤前的基础翻译增强方面，作用很小。这一现象与最初在 HeLa 细胞中研究 YTHDF1 时类似，YTHDF1 会促进一些转录本的翻译。在关于记忆研究方面，有研究发现，YTHDF1 的缺陷会导致海马依赖性神经元功能出现障碍，恢复 YTHDF1 的蛋白水平，则能修复这种问题。YTHDF1 依赖的翻译增强会在一些癌细胞中持续出现，而在其它一些细胞中则是由刺激诱导的，这一过程是如何触发的，还不清楚。

读取器的不同功能

YTHDF1-3 的结构类似，它们都含有 N 末端低复杂序列，和 C 末端的保守 YTH 结构域。但是它们的功能并不相同，在不同的细胞中，它们有的能促进蛋白翻译，有的能抑制蛋白翻译，具体的案例可以参考原文。并且在不同的 m⁶A 阅读器蛋白之间还存在着交叉作用或竞争作用，即使在 FTO 和阅读器之间，也有着类似的作用。因为这些蛋白本身就构成了一个有相互作用的网络结构，因此要理解它们的环境调控作用对于相关的研究有着重要意义。

m6A 擦除器

m6A 甲基化可以被 FTO 或 ALKBH5 逆转，这两个蛋白也就是 m6A 擦除器。FTO 是第一个被发现的 m6A 擦除器。FTO 能够去甲基化 m6Am，以及部分 mRNA 上的 cap-m6Am，如下图



CLIP-seq 验证了很多 FTO 的结合位点,这些结合位点包括 tRNAs,snRNA 等。FTO 的空间分布也能发挥调控作用,FTO 的 N 末端有一个 NLS,它能部分地分布在细胞核中,也能分布在细胞质中,FTO 的分布在不同的细胞系中有所不同,例如在 AML 细胞中的分布和 HEK,HeLa 细胞中的分布就不同,这可能与肿瘤的发生有关,FTO 在 AML 细胞中的这种分布也有可能是环境依赖的,因为 2HG (2-hydroxy-glutarate)能抑制 FTO。

CLIP-seq 的测序数据分析表明,在某些细胞系中,FTO 偏爱结合 GAC-和/或 GGAC 模序。有研究发现,FTO 的表达和定位可能被 PTM 调控(例如 Lys-216)。Cap-m6A_m位于 mRNA 的 5' cap 中的+1 核糖上,它几乎是与内部 m6A(internal m6A,这个内部指的是 mRNA 中间的部分)同时发现的。m6A 可能占据了整个腺苷酸的 0.1%-0.4%,它主要发生在第二个核苷酸 2' -O-methylated(m⁷GpppN_m)的帽子结构附近。只有不到 30%的 m⁷GpppN_m含有 m6Am。m6Am 的比例占到整个 mRNA 的 m6A

十分之一或更低（在一些细胞系中还要低）。m6A 丰度要远高于 m6Am，因此，虽然 FTO 更偏爱结合 m6Am，但是 FTO 的主要靶点还是 m6A。由于几乎所有的 mRNA 帽子结构都在胃镜核中被加帽蛋白结合，因此在细胞核中，cap-m6Am 不太可能被去甲基化，这也反映了 FTO 对 cap-m6Am 的局限，如 Figure 4 所示。现在研究发现的 FTO 还功能涉及：热休克应答，UV 损伤应答，HCV 感染等方面。

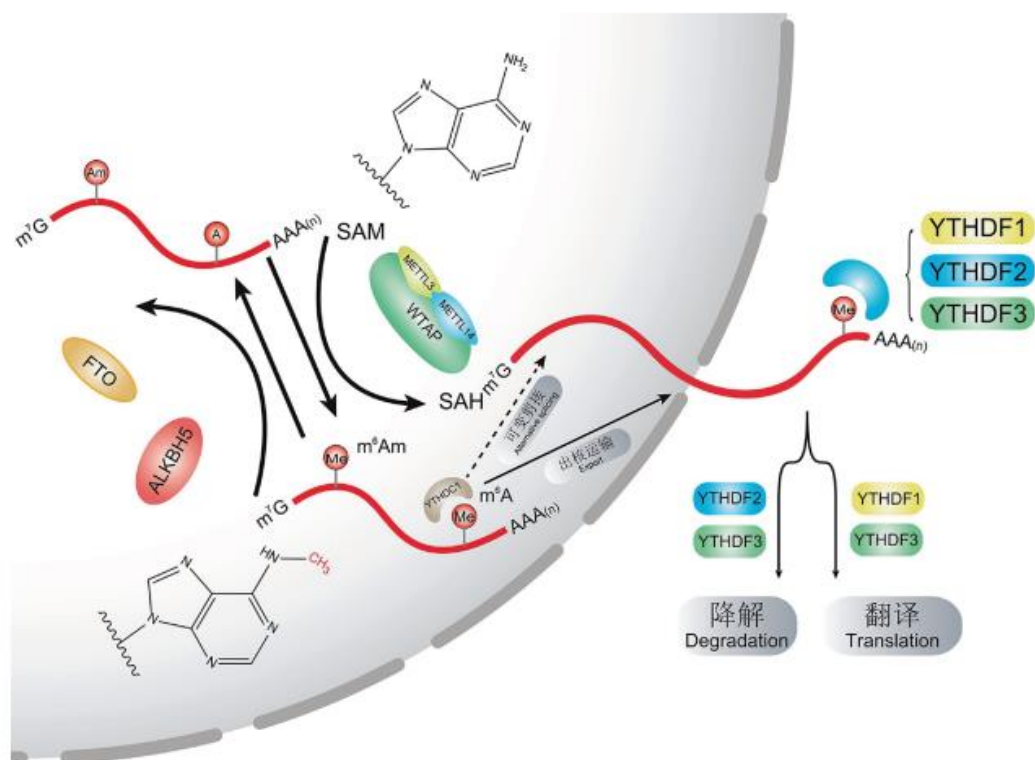
mRNA 的甲基化不影响转录本的稳定

最初研究认为 FTO 介导的 cap-m6Am 的去甲基化在功能上类似于 DCP-2 介导的去帽(decapping)化诱导 mRNA 的降解以及 miRNA 介导的 mRNA 降解。当敲低 FTO 后，FTO 的靶 mRNA 出现了很多变化，这些效应被认为是由于 cap-m6Am 的去甲基化导致的，但是 FTO 敲低与那些只含有 m6A 或 cap-m6Am 转录本水平之间的相关却不支持这个结论，并且发现只有内部 m6A 修饰的转录本的变化与 FTO 的敲低相关。

后来发现了 PCIF1 是 mRNA 的 cap-m6Am 甲基转移酶，它只加工 cap-m6Am，却不加工内部的 m6A(internal m6A)。还有研究发现，PCIF1 添加的 m6Am 并不改变基因表达的水平或转录本的稳定性，这也不支持刚开始的观点，即 FTO 介导的 cap-m6Am 的去甲基化导致的 mRNA 降解。另外，有研究发现，当 FTO 敲低时，cap-m6Am 被认为还能促进那些含有 cap-m6Am mRNA 的翻译效率，但也有一些研究发现了相反的现象，这一过程的调控也有可能是与环境有关。

ALKBH5 的作用与底物

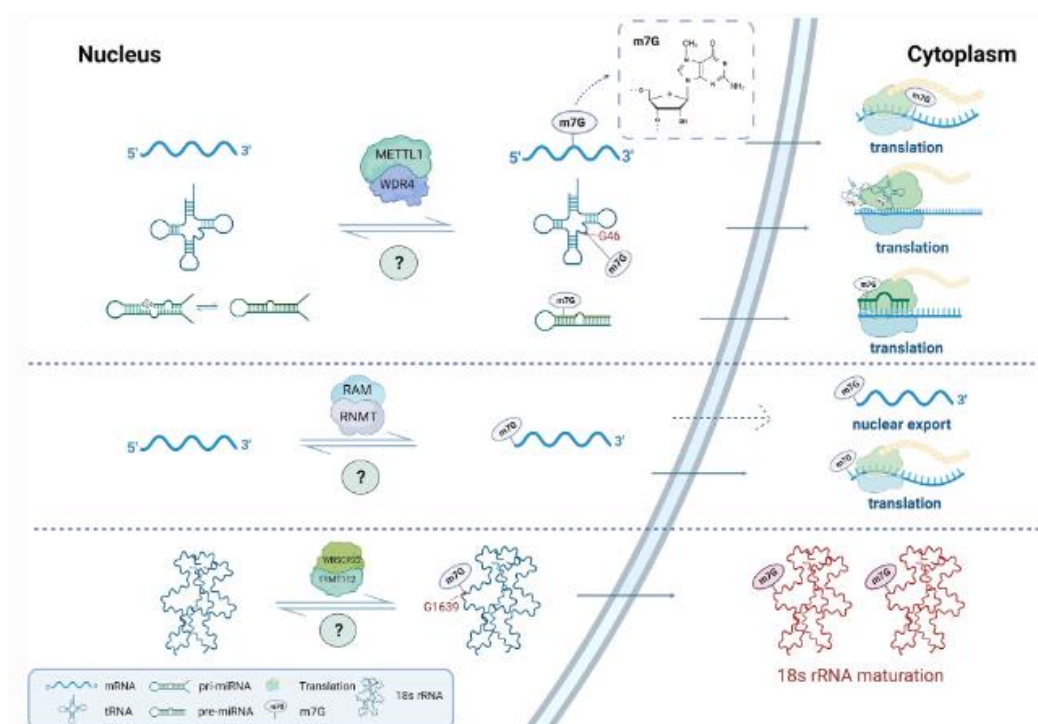
ALKBH5 是第二个被发现的 m6A 去甲基化酶。ALKBH5 在小鼠的精子形成中发挥了作用，ALKBH5 和 FTO 的表达在不同组织中各异。例如，在小鼠中，Alkbh5 主要表达在睾丸，而 Fto 主要表达在大脑，这可能与它们参与的不同生物学途径有关。在人源细胞系中敲低 ALKBH5 后，会诱导其靶 RNA 从细胞核转移到细胞质。几乎所有报道的 ALKBH5 功能研究都揭示了类似的分子途径，ALKBH5 介导某些转录本的 3' UTR m6A，其中就包括促进缺氧诱导的 HIF 依赖的乳腺癌干细胞表型，通过 ALKBH5-FOXO1 途径调节的胶质母细胞瘤增殖和肿瘤发生，调控雄性生殖细胞中长 3' UTR mRNAs 的剪接和稳定。



(m6A 甲基化修饰机制。来源：10.16431/j.cnki.1671-7236.2022.01.021)

m7G 甲基化

与 m6A 类似, m7G 是鸟苷的 N7 位上修饰甲基。m7G 修饰是一个多层次的过程。已经确定了一些 m7G 甲基转移酶, 包括 METTL1、WDR4、RNMT、RAM、WBSCR22 和 TMRT112, 它们能够在目标 RNA 分子上 (包括 mRNA、tRNA、rRNA 和 miRNA) 安装 m7G 修饰。METTL1/WDR4 复合物将 m7G 修饰安装在 mRNA (内部位点)、tRNA (G46 位点) 和 miRNA (G 四链结构) 上, 从而调控全局翻译。RNMT/RAM 复合物负责在 mRNA 的 5' 端加入 m7G 修饰, 介导其核外运输和翻译过程。WBSCR22/TMRT112 复合物将 m7G 修饰添加到 18S rRNA 的 G1638 位点, 促进 18S rRNA 的成熟。



(细胞中 m7G 修饰的机制。来源: 10.1186/s13045-022-01285-5)

目前研究还比较少, 可以通过以下几篇文献做简单了解:

1. METTL1-WDR4 甲基化 tRNA 的结构和机制

RNA 的调控修饰对于正确的基因表达非常重要。tRNA 富含各种影响其稳定性和功能的化学修饰。tRNA 46 位的 7-甲基鸟苷 (m7G) 是一种保守修饰, 可调节稳态 tRNA 水平以影响细胞生长。METTL1-WDR4 复合物在人类中生成 m7G46, METTL1-WDR4 的失调与脑畸形和多种癌症有关。在这里, 我们展示了 METTL1 和 WDR4 如何合作识别 RNA 底物并催化甲基化。METTL1-WDR4 的晶体结构和 METTL1-WDR4-tRNA 的冷冻电镜结构表明, 复合蛋白表面通过形状互补性识别 tRNA 弯头。METTL1-WDR4-tRNA 与 S-腺苷甲硫氨酸或 S-腺苷高半胱氨酸的冷冻电子显微镜结构以及 METTL1 晶体结构通过揭示多种状态的活性位点, 为催化机制提供了额外的见解。METTL1 N 末端将辅因子与 tRNA、催化环和 WDR4

C 末端的构象变化结合起来，充当激活 m⁷G 甲基化的开关。因此，我们的结构模型解释了 METTL1 N 末端的翻译后修饰如何调节甲基化。我们的工作共同阐明了 METTL1 修饰 m⁷G 的核心和调控机制，为理解其对生物学和疾病的贡献提供了框架。

64.8 1区 > Nature. 2023 Jan;613(7943):383-390. doi: 10.1038/s41586-022-05565-5.

Epub 2023 Jan 4.

Structures and mechanisms of tRNA methylation by METTL1-WDR4

Victor M Ruiz-Arroyo^{1 2 3}, Rishi Raj^{1 2 3}, Kesavan Babu^{1 2 3}, Otgonbileg Onolbaatar^{1 2 3}, Paul H Roberts^{1 2 3}, Yunsun Nam^{4 5 6}

Affiliations + expand

PMID: 36599982 PMCID: PMC9930641 DOI: 10.1038/s41586-022-05565-5

Free PMC article

Abstract



Specific, regulated modification of RNAs is important for proper gene expression^{1,2}. tRNAs are rich with various chemical modifications that affect their stability and function^{3,4}. 7-Methylguanosine (m⁷G) at tRNA position 46 is a conserved modification that modulates steady-state tRNA levels to affect cell growth^{5,6}. The METTL1-WDR4 complex generates m⁷G46 in humans, and dysregulation of METTL1-WDR4 has been linked to brain malformation and multiple cancers⁷⁻²². Here we show how METTL1 and WDR4 cooperate to recognize RNA substrates and catalyse methylation. A crystal structure of METTL1-WDR4 and cryo-electron microscopy structures of METTL1-WDR4-tRNA show that the composite protein surface recognizes the tRNA elbow through shape complementarity. The cryo-electron microscopy structures of METTL1-WDR4-tRNA with S-adenosylmethionine or S-adenosylhomocysteine along with METTL1 crystal structures provide additional insights into the catalytic mechanism by revealing the active site in multiple states. The METTL1 N terminus couples cofactor binding with conformational changes in the tRNA, the catalytic loop and the WDR4 C terminus, acting as the switch to activate m⁷G methylation. Thus, our structural models explain how post-translational modifications of the METTL1 N terminus can regulate methylation. Together, our work elucidates the core and regulatory mechanisms underlying m⁷G modification by METTL1, providing the framework to understand its contribution to biology and disease.

© 2023. The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Limited.

2. METTL1-WDR4 调节 m⁷G tRNA 修饰的结构基础

RNA 的化学修饰在许多生物过程中发挥着关键作用。N⁷-甲基鸟苷 (m⁷G) 是大量 tRNAs 维持完整性和稳定性所必需的。含有甲基转移酶 1-WD 重复序列的蛋白 4 (METTL1-WDR4) 复合物是一种甲基转移酶，可修饰某些 tRNA 可变环中的 G46，其失调会导致多种癌症类型的肿瘤发生。WDR4 突变会导致人类发育表型改变，包括小头畸形。METTL1-WDR4 如何修饰 tRNA 底物并受到调节仍然难以捉摸。在这里，我们通过对人类 METTL1-WDR4 的结构、生化和细胞研究表明，WDR4 可作为 METTL1 和 tRNA T 臂的支架。tRNA 结合后，METTL1 的 α C 区域转变为螺旋，与 α 6 螺旋一起固定 tRNA 可变环的两端。出乎意料的是，我们发现 METTL1 预测的无序 N 端区域是催化口袋的一部分，并且对于甲基转移酶活性至关重要。此外，我们发现 METTL1 N 末端区域的 S27 磷酸化通过局部破坏催化中心来抑制甲基转移酶活性。我们的结果提供了对 METTL1-WDR4 tRNA 底物识别和磷酸化介导的调节的分子理解，并揭示了 METTL1 假定的无序

N 端区域作为甲基转移酶活性的联系。

64.8 1区 > Nature. 2023 Jan;613(7943):391-397. doi: 10.1038/s41586-022-05566-4.

Epub 2023 Jan 4.

Structural basis of regulated m⁷G tRNA modification by METTL1-WDR4

Jiazhì Li ^{# 1 2 3}, Longfei Wang ^{# 2 4 5}, Quentin Hahn ¹, Radosław P Nowak ^{2 3}, Thibault Viennet ^{2 3}, Esteban A Orellana ^{1 2}, Shourya S Roy Burman ^{2 3}, Hong Yue ^{2 3}, Moritz Hunkeler ^{2 3}, Pietro Fontana ^{2 4}, Hao Wu ^{2 4}, Haribabu Arthanari ^{2 3}, Eric S Fischer ^{2 3}, Richard I Gregory ^{6 7 8 9 10 11}

Affiliations + expand

PMID: 36599985 DOI: 10.1038/s41586-022-05566-4

Abstract



Chemical modifications of RNA have key roles in many biological processes¹⁻³. N⁷-methylguanosine (m⁷G) is required for integrity and stability of a large subset of tRNAs⁴⁻⁷. The methyltransferase 1-WD repeat-containing protein 4 (METTL1-WDR4) complex is the methyltransferase that modifies G46 in the variable loop of certain tRNAs, and its dysregulation drives tumorigenesis in numerous cancer types⁸⁻¹⁴. Mutations in WDR4 cause human developmental phenotypes including microcephaly¹⁵⁻¹⁷. How METTL1-WDR4 modifies tRNA substrates and is regulated remains elusive¹⁸. Here we show, through structural, biochemical and cellular studies of human METTL1-WDR4, that WDR4 serves as a scaffold for METTL1 and the tRNA T-arm. Upon tRNA binding, the αC region of METTL1 transforms into a helix, which together with the α6 helix secures both ends of the tRNA variable loop. Unexpectedly, we find that the predicted disordered N-terminal region of METTL1 is part of the catalytic pocket and essential for methyltransferase activity. Furthermore, we reveal that S27 phosphorylation in the METTL1 N-terminal region inhibits methyltransferase activity by locally disrupting the catalytic centre. Our results provide a molecular understanding of tRNA substrate recognition and phosphorylation-mediated regulation of METTL1-WDR4, and reveal the presumed disordered N-terminal region of METTL1 as a nexus of methyltransferase activity.

© 2023. The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Limited.

3. TMEM11 通过 METTL1 介导的 ATF5 mRNA m⁷G 甲基化调节心肌细胞增殖和心脏修复

线粒体跨膜 (TMEM) 蛋白家族具有多种重要的生理功能。然而，其在心肌细胞增殖和心脏再生中的作用尚不清楚。在这里，我们检测到 TMEM11 在体外抑制心肌细胞增殖和心脏再生。TMEM11 缺失增强了心肌细胞增殖，恢复了心肌损伤后的心脏功能。相反，TMEM11 过表达抑制了小鼠心脏中新生心肌细胞的增殖和再生。TMEM11 直接与 METTL1 相互作用，增强了 Atf5 mRNA 的 m⁷G 甲基化，从而增加 ATF5 的表达。ATF5 的 TMEM11 依赖性增加促进了 Inca1 的转录，Inca1 是一种细胞周期蛋白依赖性激酶的抑制剂，通过与细胞周期蛋白 A1 相互作用，抑制心肌细胞增殖。因此，我们的研究表明，TMEM11 介导的 m⁷G 甲基化参与心肌细胞增殖的调节，靶向 TMEM11-METTL1-ATF5-INCA1 轴可能作为促进心脏修复和再生的新治疗策略。

TMEM11 regulates cardiomyocyte proliferation and cardiac repair via METTL1-mediated m⁷G methylation of ATF5 mRNA

Xin-Zhe Chen ^{# 1}, Xin-Min Li ^{# 1}, Shi-Jun Xu ^{# 2}, Shen Hu ^{# 3}, Tao Wang ¹, Rui-Feng Li ¹, Cui-Yun Liu ¹, Jun-Qiang Xue ⁴, Lu-Yu Zhou ¹, Yun-Hong Wang ⁵, Pei-Feng Li ⁶, Kun Wang ⁷

Affiliations + expand

PMID: 37286744 PMCID: PMC10307882 DOI: 10.1038/s41418-023-01179-0

Free PMC article

Abstract



The mitochondrial transmembrane (TMEM) protein family has several essential physiological functions. However, its roles in cardiomyocyte proliferation and cardiac regeneration remain unclear. Here, we detected that TMEM11 inhibits cardiomyocyte proliferation and cardiac regeneration in vitro. TMEM11 deletion enhanced cardiomyocyte proliferation and restored heart function after myocardial injury. In contrast, TMEM11-overexpression inhibited neonatal cardiomyocyte proliferation and regeneration in mouse hearts. TMEM11 directly interacted with METTL1 and enhanced m⁷G methylation of Atf5 mRNA, thereby increasing ATF5 expression. A TMEM11-dependent increase in ATF5 promoted the transcription of Inca1, an inhibitor of cyclin-dependent kinase interacting with cyclin A1, which suppressed cardiomyocyte proliferation. Hence, our findings revealed that TMEM11-mediated m⁷G methylation is involved in the regulation of cardiomyocyte proliferation, and targeting the TMEM11-METTL1-ATF5-INCA1 axis may serve as a novel therapeutic strategy for promoting cardiac repair and regeneration.

© 2023. The Author(s).

4. METTL1/WDR4 介导的 tRNA m⁷G 修饰和 mRNA 翻译控制促进肿瘤发生和阿霉素耐药性

骨肉瘤是导致青少年和儿童高死亡率的最常见骨肿瘤。tRNA m⁷G 甲基转移酶 METTL1 位于染色体 12q14.1 中，该区域在骨肉瘤患者中经常扩增，而其在骨肉瘤调节中的功能和潜在机制仍然未知。本文表明，METTL1 和 WDR4 在骨肉瘤中过表达，与患者预后不良有关。敲低 METTL1 或 WDR4 导致 tRNA m⁷G 修饰水平降低并阻碍体外和体内骨肉瘤的进展。METTL1/WDR4 过表达可促进骨肉瘤的增殖、迁移和侵袭。tRNA 甲基化和 mRNA 翻译分析表明，METTL1/WDR4 修饰的 tRNA 可通过更多 m⁷G tRNA 解码密码子增强 mRNA 的翻译，包括细胞外基质（ECM）重塑效应子，从而促进骨肉瘤进展和对阿霉素的化疗耐药。研究表明 METTL1/WDR4 介导的 tRNA m⁷G 修饰通过改变致癌 mRNA 翻译来增强骨肉瘤进展和对阿霉素的耐药，具有关键的致癌功能，表明 METTL1 抑制联合化疗是治疗骨肉瘤患者的有希望的策略。

METTL1/WDR4-mediated tRNA m⁷G modification and mRNA translation control promote oncogenesis and doxorubicin resistance

Zhaoyu Wang ^{# 1}, Peng Yu ^{# 2 3}, Yutong Zou ^{# 4}, Jieyi Ma ^{1 5}, Hui Han ¹, Wei Wei ¹, Chunlong Yang ¹, Siyi Zheng ¹, Siyao Guo ¹, Juan Wang ⁶, Lianlian Liu ⁷, Shuibin Lin ⁸

Affiliations + expand

PMID: 37185458 DOI: 10.1038/s41388-023-02695-6

Abstract

Osteosarcoma is the most common bone tumor that leads to high mortality in adolescents and children. The tRNA N⁷-methylguanosine methyltransferase METTL1 is located in chromosome 12q14.1, a region that is frequently amplified in osteosarcoma patients, while its functions and underlying mechanisms in regulation of osteosarcoma remain unknown. Herein we show that METTL1 and WDR4 are overexpressed in osteosarcoma and associated with poor patient prognosis. Knockdown of METTL1 or WDR4 causes decreased tRNA m⁷G modification level and impairs osteosarcoma progression in vitro and in vivo. Conversely, METTL1/WDR4 overexpression promotes osteosarcoma proliferation, migration and invasion capacities. tRNA methylation and mRNA translation profiling indicate that METTL1/WDR4 modified tRNAs enhance translation of mRNAs with more m⁷G tRNA-decoded codons, including extracellular matrix (ECM) remodeling effectors, which facilitates osteosarcoma progression and chemoresistance to doxorubicin. Our study demonstrates METTL1/WDR4 mediated tRNA m⁷G modification plays crucial oncogenic functions to enhance osteosarcoma progression and chemoresistance to doxorubicin via alteration of oncogenic mRNA translation, suggesting METTL1 inhibition combined with chemotherapy is a promising strategy for treatment of osteosarcoma patients.

© 2023. The Author(s), under exclusive licence to Springer Nature Limited.

5. QKI 将 m⁷G 修饰的内部转录物穿梭到应激颗粒中并调节 mRNA 代谢

N⁷ 甲基鸟苷 (m⁷G) 修饰通常发生在 mRNA 5' 端或 tRNA/rRNA 内, 也存在于 mRNA 内部。尽管 m⁷G 5' 端对于 pre mRNA 加工和蛋白质合成至关重要, 但 mRNA 内部 m⁷G 修饰的确切作用仍然难以捉摸。在这里, 我们报道了 mRNA 内部 m⁷G 被震动蛋白 (Quaking proteins, QKIs) 选择性识别。通过对 m⁷G 甲基组和 QKI 结合位点的转录组全谱分析/定位, 我们鉴定了 1000 多个具有保守 “GANGAN (N=a/C/U/G)” 基序的 m⁷G 修饰和 QKI-结合的高置信度 mRNA 靶标。QKI7 与应激颗粒 (SG) 核心蛋白 G3BP1 相互作用 (通过 C 末端), 并将 m⁷G 修饰的内部转录物穿梭到 SG 中, 以调节 mRNA 在应激条件下的稳定性和翻译。具体而言, QKI7 减弱河马信号通路中基本基因的翻译效率, 从而使癌症细胞对化疗敏感。总之, 我们将 QKIs 表征为调节靶 mRNA 代谢和细胞耐药性的 mRNA 内部 m⁷G 结合蛋白。

QKI shuttles internal m⁷G-modified transcripts into stress granules and modulates mRNA metabolism

Zhicong Zhao¹, Ying Qing², Lei Dong², Li Han³, Dong Wu², Yangchan Li⁴, Wei Li², Jianhuang Xue⁵, Keren Zhou², Miao Sun⁶, Brandon Tan², Zhenhua Chen², Chao Shen², Lei Gao², Andrew Small², Kitty Wang², Keith Leung², Zheng Zhang², Xi Qin², Xiaolan Deng², Qiang Xia⁷, Rui Su⁸, Jianjun Chen⁹

Affiliations + expand

PMID: 37379838 DOI: 10.1016/j.cell.2023.05.047

Abstract



N⁷-methylguanosine (m⁷G) modification, routinely occurring at mRNA 5' cap or within tRNAs/rRNAs, also exists internally in messenger RNAs (mRNAs). Although m⁷G-cap is essential for pre-mRNA processing and protein synthesis, the exact role of mRNA internal m⁷G modification remains elusive. Here, we report that mRNA internal m⁷G is selectively recognized by Quaking proteins (QKIs). By transcriptome-wide profiling/mapping of internal m⁷G methylome and QKI-binding sites, we identified more than 1,000 high-confidence m⁷G-modified and QKI-bound mRNA targets with a conserved "GANGAN (N = A/C/U/G)" motif. Strikingly, QKI7 interacts (via C terminus) with the stress granule (SG) core protein G3BP1 and shuttles internal m⁷G-modified transcripts into SGs to regulate mRNA stability and translation under stress conditions. Specifically, QKI7 attenuates the translation efficiency of essential genes in Hippo signaling pathways to sensitize cancer cells to chemotherapy. Collectively, we characterized QKIs as mRNA internal m⁷G-binding proteins that modulate target mRNA metabolism and cellular drug resistance.

Keywords: G3BP1; METTL1; N(7)-methylguanosine; QKI; drug resistance; m(7)G; mRNA metabolism; mRNA stability; stress granule; translational regulation.

Copyright © 2023 Elsevier Inc. All rights reserved.