

## 真核 5-甲基胞嘧啶 (m<sup>5</sup>C) RNA 甲基转移酶的作用机制研究

栾娜, 周钦, 王建伟\*

浙江大学医学院第二附属医院教育部肿瘤预防与干预重点实验室结直肠外科 浙江杭州

**【摘要】** 5-甲基胞嘧啶(m<sup>5</sup>C)是一种丰富的核糖核酸(RNA)修饰,其存在于多种RNA中,包括细胞质和线粒体的核糖体RNA(rRNAs)和转移RNA(tRNAs),以及信使RNA(mRNA)、增强子RNA(eRNAs)和一些非编码RNA。在真核生物中,RNA胞嘧啶的C5甲基化是由NOL1/NOP2/SUN结构域(NSUN)家族的酶以及DNA甲基转移酶同源物DNMT2催化的。近年来,甲基转移酶催化的底物RNA和修饰的靶核苷酸已经得到鉴定,结构分析和生化分析学为研究这些酶是如何实现靶特异性奠定了基础。这些酶的功能特征及其介导的修饰揭示了它们在线粒体和核基因表达的不同方面的重要作用。重要的是,这些发现使我们能够更好地理解编码m<sup>5</sup>C甲基转移酶的基因突变或这些酶的表达水平的改变所导致的一些疾病的分子基础。

**【关键词】** RNA 甲基转移酶; RNA 修饰; 表观转录组; 5-甲基胞嘧啶; 转移RNA(tRNA); 信使RNA(mRNA)

**【基金项目】** 国家自然科学基金资助项目“tRNA衍生片段(tRFs)调控LncRNA MALAT-1影响结肠癌转移基因SMC1A选择性剪接的机制分析”(项目编号:81871917)

### The action mechanism of eukaryotic 5-methylcytosine (M<sup>5</sup>C) RNA methyltransferase

Na Luan, Qin Zhou, Jianwei Wang\*

Department of Colorectal Surgery and Oncology, Key Laboratory of Cancer Prevention and Intervention, Ministry of Education, The Second Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou

**【Abstract】** 5-methylcytosine (m<sup>5</sup>C) is a rich ribonucleic acid (RNA) modification, which exists in a variety of RNA, including cytoplasmic and mitochondrial ribosomal RNA (rRNAs) and transfer RNA (tRNAs), as well as messenger RNA (mRNA), enhancer RNA (eRNAs) and some non-coding RNAs. In eukaryotes, C5 methylation of RNA cytosine is catalyzed by enzymes in the NOL1/NOP2/SUN domain (NSUN) family and DNA methyltransferase homologous DNMT2. In recent years, substrate RNA and modified target nucleotides catalyzed by methyltransferases have been identified, and structural and biochemical analyses have laid the foundation for the study of how these enzymes achieve target specificity. The functional characteristics of these enzymes and their mediated modifications reveal their important roles in different aspects of mitochondrial and nuclear gene expression. Importantly, these findings enable us to better understand the molecular basis of some diseases caused by mutations in the genes that encode M<sup>5</sup>C methyltransferase or by changes in the expression levels of these enzymes.

**【Keywords】** RNA methyltransferase; RNA modification; Apparent transcriptome; 5-methylcytosine; Transfer RNA (tRNA); Messenger RNA (mRNA)

核酸的化学修饰是一个关键的细胞过程。在DNA中检测到的修饰相对有限(6种),而RNA中存在的修饰种类要高得多,到目前为止报道的修饰类型超过140种[1]。在真核生物中,DNA中的

作者简介:栾娜(1992-),女,山东德州人,博士生,主要从事结直肠癌肝转移的临床和基础研究。

\*通讯作者:王建伟(1972-),男,山东东营人,主任医师,博士生导师,主要从事结直肠癌肝转移的临床和机制研究。

5-甲基胞嘧啶(5mC)及其氧化衍生物 (5-羟甲基胞嘧啶(5hmC)、5-甲基胞嘧啶 (5fC) 和 5-羧基胞嘧啶 (5caC) 是最主要的修饰方式, 可以通过各种不同的机制调控基因的表现遗传[2]。然而, 5-甲基胞嘧啶 (m<sup>5</sup>C)也存在于不同的 RNA 中, 它已成为基因表达许多方面的重要调节因子, 包括 RNA 输出、核糖体组装、翻译和 RNA 稳定性。目前有许多 m<sup>5</sup>C 的检测方法, 如亚硫酸氢盐测序、抗 m<sup>5</sup>C 交联和免疫沉淀(CLIP)、Aza-IP 和甲基化 ICLIP(MICLIP), 使得 m<sup>5</sup>C 在基因组和转录组中修饰的位置都有精准的定位。在这篇综述中, 我们讨论了目前关于人类 RNA m<sup>5</sup>C 修饰的机制, 重点是 m<sup>5</sup>C 甲基转移酶的作用机制、细胞功能及其作用位点的修饰, 以及这些酶缺陷对疾病发生的影响。

### 1 真核 m<sup>5</sup>C RNA 甲基转移酶及其催化机制

已知 RNA 中的 m<sup>5</sup>C 是由 NOL1/NOP2/SUN 结构域(NSUN)蛋白家族的成员引入的, 该家族包含人类 NSUN 家族中的 7 个成员(NSUN1-7)[3]以及 DNA 甲基转移酶(DNMT)的同源物 DNMT2。NSUN1、NSUN2 和 NSUN5 在真核生物中都是保守的(在酵母中, 分别命名为 Nop2、Trm4 和 Rcm1), 而其余的 NSUN 蛋白仅存在于高等真核生物中。NSUN 蛋白是 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)依赖性甲基转移酶, 其典型结构特征是 RNA 识别基序(RRM)和容纳 SAM 辅助因子的 Rossmann 折叠催化核心。机制上, NSUN 蛋白家族在活性位点使用两个催化的半胱氨酸, 而 DNMT2 更倾向是使用单一活性位点半胱氨酸的 DNA 甲基转移酶[4, 5]。在这两种机制中, 蛋白质的半胱氨酸和 RNA 中的胞嘧啶之间形成共价中间体, 以激活缺电子的嘧啶杂环, 使 C5 对 SAM 的甲基亲核攻击。

NSUN 家族利用位于氨基酸基序 VI 中的半胱氨酸对 RNA[4]中目标胞嘧啶的碳 6 进行亲核攻击。在所有 7 个人类 NSUN 变异体中, 催化半胱氨酸之前都有苏氨酸。在基序 IV 中, 与脯氨酸的主链羰基和天冬氨酸侧链的氢键将碱基定位在活性位点, 并通过胞苷内环 N3 的瞬时质子化协助形成键。然后, 活化的核酸碱基接受来自 SAM 辅助因子的甲基, 从而形成碳碳键和生成 S-腺苷同型半胱氨酸(SAH)。为了完成这一反应, 共价结合的甲基化 RNA 必须从酶中释放出来。这一释放过程是由位于

NSUN 蛋白基序 IV 中的半胱氨酸辅助的。这种半胱氨酸位于部分保守的脯氨酸旁边, 作为脱质子的碱基, 并启动释放反应。对于 NSUN1 蛋白 Nop2 的酵母同源物, 已经证明在苏氨酸旁边的基序 VI 中的半胱氨酸是功能[6]所必需的。此外, 对 NOP2 以及人 NSUN2 和 NSUN3 的研究表明, 半胱氨酸在基序 IV 中突变为丙氨酸或丝氨酸, 导致稳定的共价键[7-9]。与 NSUN 蛋白相比, DNMT 家族的甲基转移酶在基序 VI 中不含有半胱氨酸, 而是使用基序 IV 中的半胱氨酸作为亲核剂在碳 6 处攻击。基序 VI 中保守的谷氨酸在 NSUN 酶的基序 IV 中起着天冬氨酸的作用, 通过 N3[10]的质子化促进共价键的形成。因此, 在 NSUN 和 DNMT 甲基转移酶家族中, 基序 IV 和 VI 的作用似乎被转换。用抑制剂对含有 5,6-二氢嘧啶的共价键进行了结构研究, 如 5-氟嘧啶底物类似物, 与酶形成稳定的复合物[11]。另外, 5-氮胞嘧啶作为抑制剂, 导致核酸和酶之间稳定的共价交联。

### 2 m<sup>5</sup>C RNA 甲基转移酶的细胞功能及其特定位点的修饰

#### 2.1 NSUN1 和 NSUN5 修饰细胞质核糖体 RNA (rRNA)

真核生物细胞质核糖体是一种大型核糖核蛋白复合物, 由四种核糖体 RNA (rRNAs)和大约 80 种核糖体蛋白组成, 是细胞中蛋白质产生的场所。在 rRNAs 成熟过程中, rRNA 会发生大量的化学修饰, 其中大多数是由小核仁 RNPs (SnoRNPs)引入的 2'-O-核糖甲基化或假尿苷[12, 13]。真核生物的 rRNA 还含有许多碱基修饰, 例如在 28S/25S rRNA 的 3761 (人)/2870(酵母)和 4413(人)/2278(酵母)两个位置上发生的 m<sup>5</sup>Cs 修饰。由 NSUN5 (人)/Rcm1 (酵母)修饰甲基化的是 28S-C3761/25S-C2278 的 C5, 而 NSUN1 (人)/NOP2 (酵母)靶向的是 28S-C4413/25S-C2870[14, 15]。在成熟核糖体内, 这些修饰位于大核糖体亚单位 (LSU) 和亚单位间桥 eB14 内的肽转移酶中心 (PTC; 28S-C4413/25S-C2870) 附近。

在分子水平上, m<sup>5</sup>C 通过促进碱基堆积和增加鸟嘌呤氢键的热稳定性从而稳定 RNA 结构[16, 17]。因此, rRNA 中存在的 m<sup>5</sup>Cs 可能有助于稳定核糖体这些功能重要区域内的 rRNA 折叠。与此一致, 在酵母中, Rcm1 的缺失会影响氧化应激条件

下 25S rRNA 中螺旋 69/70 的结构构象[14], 而且 25S-G2288 附近的 25S- $m^5C$ 2278 和 2'-O-甲基化的同时缺失会极大地破坏 LSU 前体的稳定性[15], 这表明 LSU 核糖体蛋白的募集失败。Rcm1/NSUN5 介导的  $m^5C$  修饰会进一步影响核糖体功能, 有研究发现, 从酵母中删除 Rcm1 可促进提前终止密码子的读取[14]。在成熟的酵母核糖体中,  $m^5C$ 2278 直接与核糖体蛋白 eL41 (RPL41)接触, 该蛋白在翻译过程中充当小亚基(SSU)旋转的枢纽[18], 这可能为修饰如何影响翻译提供了分子基础。虽然已知 LSU 的生物发生需要 NSUN1/Nop2[19], 但有研究表明一些 RNA 修饰酶除了催化修饰之外还有其他功能[20], 但尚不清楚 NSUN1 或 28S- $m^5C$ 3761 是否对 LSU 组装有重要作用。

## 2.2 细胞质转运 RNA(tRNA)由 NSUN2、NSUN6 和 DNMT2 催化甲基化

转移 RNA (tRNA)是修饰最广泛的细胞 RNA。已有研究证明三种  $m^5C$  甲基转移酶 NSUN2, NSUN6 和 DNMT2 对细胞质 tRNA 修饰起作用。尽管 NSUN6 和 DNMT2 分别负责 tRNA C72 和 C38 位的甲基化, 但 NSUN2 具有更宽的靶谱, 能够在若干不同的 tRNA 以及其他 RNA 中修饰多个位置 (C34、C40、C48、C49 和 C50) [7]。

虽然 tRNA 的修饰发生在 tRNA 生物发生的不同阶段, 但大多数 tRNA 修饰酶是在核内的, 这表明大多数修饰发生在 tRNA 生物发生的早期阶段。与此相一致, NSUN2 主要定位于细胞核, 并且 NSUN2 介导的 tRNA<sup>Leu</sup> (CAA) C34 的甲基化修饰仅发生在含有内含子的 tRNA 前体上[21]。值得注意的是, 在人类和果蝇中, DNMT2 存在于细胞核和细胞质中, 这表明  $m^5C$ 38 的修饰也可能在 tRNA 生物发生的后期阶段发生[22]。值得注意的是, NSUN6 定位在细胞质, 且在靠近高尔基体和中心粒部位更为丰富[23], 表明 tRNA C72 部位的甲基化修饰是出核后发生的。

一般来说, 在 tRNA 核心内部的修饰, 可以影响 tRNA 结构、稳定性, 而在 tRNA 反密码子的修饰则通过影响密码子-反密码子相互作用从而有助于 tRNA 发挥功能; tRNA<sup>Leu</sup> (CCA) 是唯一在反密码子内由  $m^5C$  甲基转移酶修饰的细胞质 tRNA[21]。然而, tRNA<sup>Leu</sup> (CAA) - $m^5C$ 34 是在反

密码子位置形成的超修饰化的中间体, 当内含子去除后,  $m^5C$  由  $\alpha$ -酮戊二酸和  $Fe^{2+}$  依赖性双加氧酶 ALKBH1 氧化, 以产生 5-羟甲基胞嘧啶 (hm $^5C$ ), 5-甲酰胞嘧啶 (f $^5C$ ), 然后在将 tRNA 运输到细胞质后, FTSJ1 以介导 2'-O 核糖甲基化修饰, 产生 5-羟甲基-2'-O-甲基胞苷 (hm $^5Cm$ ), 5-甲酰-2'-O-甲基胞苷 (f $^5Cm$ )。有趣的是, tRNA<sup>Leu</sup> (CCA) 的摆动碱基修饰与调节翻译有关[24]。在酵母中, tRNA<sup>Leu</sup> (CCA) 的 C34 在正常条件下也会发生化学修饰, 但在氧化应激时甲基化修饰程度增加。这导致密码子中富含 UUG 的 mRNA 的翻译增强, 例如氧化应激反应所需的核糖体蛋白 eL22a (Rpl22a) [24]。DNMT2 介导的 tRNA<sup>Asp</sup> (<sup>GUC</sup>) 的反密码子环中 C38 的甲基化也促进了特定因子集的翻译, 但在这种情况下, 该修饰促进了与天门冬氨酸-tRNA 合成酶的关联, 导致氨酰化和富天冬氨酸蛋白的翻译增强[25]。DNMT2 介导的 C38 修饰也被认为通过提高同源和近同源密码子之间的区分度来影响翻译的准确性; 缺乏 tRNA<sup>Asp</sup>- $m^5C$ 38 会降低 tRNA<sup>Asp</sup> 与邻近同源的 tRNA (例如 tRNA<sup>Glu</sup>) 竞争的能力, 导致氨基酸误入率增加[26]。

细胞质 tRNA 中的其他  $m^5C$  修饰均存在于反密码子环之外, 因此该  $m^5C$  修饰可能主要影响 tRNA 结构和稳定性。NSUN2 甲基化酶负责在与 T 环交界处的可变环内  $m^5C$ -48/49/50 的修饰。值得注意的是, NSUN2 介导的可变环内的甲基化也已被证明可以保护 tRNA 免受应激引起的、由血管因子介导的内切核苷酸的侵害。缺乏  $m^5C$ 48/49/50 修饰的 tRNA 被血管紧张素更多地切割, 导致 5' tRNA 衍生的小 RNA 片段的积累, 从而触发细胞应激并导致疾病。与 NSUN2 介导的修饰相比, NSUN6 介导的  $m^5C$ 72 修饰位于 tRNA 受体臂内, 目前, 这些修饰的确切作用仍然未知。

## 2.3 NSUN3 和 NSUN4 介导线粒体 RNA 的 $m^5C$ 甲基化修饰

线粒体基因表达对于氧化磷酸化系统成分的产生至关重要。虽然氧化磷酸化系统中的这些蛋白质的大多数是由线粒体信使 RNA (mt-mRNA) 编码的, 而且 12S 和 16S mt-rRNA 和 22mt-tRNA, 也都是从线粒体基因组中转录的, 但线粒体翻译机制的组装需要大量核编码的蛋白质。七种 NSUN 蛋白中

有两种 (NSUN3 和 NSUN4) 在细胞质核糖体上合成, 并定位在线粒体上。NSUN4 在进入线粒体之后, 其含有 25 氨基酸的线粒体导肽即被切割, 这表明 NSUN4 是通过 TOM-TIM23 通道进入到线粒体的 [27]。虽然 NSUN3 已被证明能够定位到线粒体, 但它进入线粒体的通道尚未报道 [28]。

NSUN4 负责在小鼠 12S rRNA (相当于人类的 12S-m<sup>5</sup>C 841) 的 911 位介导 m<sup>5</sup>C 修饰, 该修饰位于线粒体小核糖体亚单位 (mt-SSU) 的解码位点内 [29]。与其他 NSUN 蛋白相比, NSUN4 缺乏 RNA 识别基序, 与线粒体转录因子 MTERF4 形成异二聚体复合物 [30]。然而, MTERF4 对 NSUN4 介导的 mt-12S-C911 的 C5 甲基化不是必需的, 这表明这是甲基转移酶的独立功能。与 NSUN4 相反, NSUN3 是一种线粒体 tRNA m<sup>5</sup>C 甲基转移酶, 特异性介导 mt-tRNA<sup>Met</sup> 的摆动位置 (C34) [31]。Mt-tRNA<sup>Met</sup>-C34 在体内几乎完全修饰, 有趣的是, 尽管重亚硫酸盐和还原性重亚硫酸盐测序分析表明在该位置存在一些 m<sup>5</sup>C, 但大多数被 ALKBH1 进一步氧化生成 f<sup>5</sup>C。

#### 2.4 mRNA 中的 m<sup>5</sup>C 修饰

在利用从 HeLa 细胞中提取的 RNA 的双硫酸盐测序进行的一项开创性研究中, 报告了大约 8500 mRNA 中的 10, 000 多个 m<sup>5</sup>C 位点 [32]。随后, m<sup>5</sup>C 检测方法在不同生物体和细胞类型的 RNA 中展开应用, 包括小鼠胚胎干细胞 (ESC) [33], 各种小鼠组织 (小肠, 心脏, 肌肉, 大脑, 肾脏和肝脏), 植物, 酵母菌, 和古细菌 [34]。这些研究支持 mRNA 中存在 m<sup>5</sup>C 修饰, 并提示 m<sup>5</sup>C 在 5' 和 3' 非翻译区 (UTR) 中较为丰富, 在靠近翻译起点位置尤为突出。然而, 在这些研究中检测到的 m<sup>5</sup>C 的数量和位置差异很大, 也有研究表明 mRNA 上的 m<sup>5</sup>C 修饰要么没有, 要么很少。出现这种差异的原因, 可能是由于细胞类型特定修饰的存在, 但也可能由于目前可用的 m<sup>5</sup>C 检测方法的局限性和偏差而导致。因此, mRNA 中的 m<sup>5</sup>C 数量和位置仍然存在争议, 需要进一步的研究解决这些问题。目前, 尚未确认 mRNA 中介导 m<sup>5</sup>C 修饰的甲基转移酶, mRNA 中 m<sup>5</sup>C 的功能在很大程度上仍未明确。一些研究结果表明 NSUN2 与 mRNA 甲基化有关联。据报道, NSUN2 的敲低、过表达可以改变 mRNA 中的 m<sup>5</sup>C

总量, 而非 NSUN1、NSUN5 或 NSUN6 [35]。

体外甲基化检测和分析表明, NSUN2 在特定的 mRNA (例如 p27 (KIP1)、CDK1、p21、SHC、ICAM、p53、E2F3 和 ErbB2 中介导 m<sup>5</sup>C 的修饰, 并且这些修饰会影响 mRNA 翻译 [36]。然而, 缺乏证据支持这些修饰存在于内源性 mRNA 中。有研究表明, mRNA 中的 m<sup>5</sup>C 修饰可以通过影响 RNA-蛋白质相互作用发挥其功能 [35]。

#### 3 m<sup>5</sup>C RNA 甲基转移酶在发育和疾病中的作用

与 m<sup>5</sup>C 甲基转移酶在 RNA 代谢中的重要作用一致, 编码这些甲基化酶的基因突变与各种人类疾病有关, 在各种癌症中观察到 m<sup>5</sup>C 甲基转移酶的表达水平变化。NSUN2 功能丧失的突变是几种神经发育障碍的基础 [37]。在常染色体隐性智力残疾个体中检测到 NSUN2 基因的纯合突变, 该突变导致蛋白质中甘氨酸 679 取代精氨酸 (p.Gly679Arg) [38]。这种氨基酸的改变通过阻止 NSUN2 在细胞核中作用位点的定位从而阻碍 NSUN2 发挥作用。NSUN2 也与 Dubowitz 综合征有关, Dubowitz 综合征的特点是头小症、生长和智力迟钝、湿疹和典型的面部特征; exon6 的纯合突变导致 NSUN2 mRNA 的不稳定性、蛋白质水平显著降低以及 NSUN2 靶 RNA 甲基化的减少 (tRNA<sup>Asp</sup> (GUC) 的 m<sup>5</sup>C47/48) [39]。在小鼠中, 研究发现由于缺乏 NSUN2 介导的 tRNA 甲基化导致的 5'tRNA 片段的积累会损害神经发生, 导致上层神经元产生减少和大脑发育减少, 这部分揭示了在 NSUN2 功能受损的人类中观察到的神经发育障碍的机制基础 [40]。

缺乏 NSUN3 介导的修饰会影响线粒体的翻译, 导致线粒体功能降低。NSUN3 的缺乏阻碍了小鼠胚胎干细胞向神经外胚层谱系的分化, 这意味着线粒体翻译功能降低会影响正常的分化程序 [41]。

对小鼠的研究表明, 在发育过程中, NSUN7 在广泛的组织中表达 [42], 但在成人中, 主要存在于睾丸细胞中, 尤其是精母细胞和单倍体精子细胞。此外, 导致 Gln333 转化为终止密码子 (p.Gln333\*) 的化学诱导突变导致精子活力降低, 导致不育或低生育力。在弱精子症患者中已鉴定出 NSUN7 外显子 4 和外显子 7 的点突变, 其将 Val 157 转变为终止密码子 (p.Val157\*) 并诱导丝氨酸替换为丙氨酸

[43]。到目前为止,在编码  $m^5C$  甲基转移酶 NSUN1, NSUN5 和 NSUN4 的基因中没有发现特定的疾病相关突变。然而, NSUN4 的缺失是胚胎致死性的,并且发现小鼠心脏组织中的条件性 NSUN4 敲除会导致心肌病[29]。Williams-Belen 综合征是由于位于染色体 7q11.23 处关键区域的一段约 1.5 Mb 缺失造成的 NSUN5 基因无法正常表达,这提高了由于 NSUN5 修饰酶或 28S- $m^5C$ 3761 缺失造成的多系统疾病发生的风险[44]。然而,果蝇和秀丽隐杆线虫 NSUN5 同源物在衰老细胞中的表达减少。NSUN5 及其同源 RNA 修饰的减少有助于通过促进应激相关的 mRNA 的翻译,从而抵消衰老相关的影响,延长生物体的寿命[14]。

#### 4 总结

通过揭示七种 NSUN 蛋白和 DNMT2 对 RNA 底物的修饰在细胞质和线粒体核糖体组装和翻译中的重要作用,以及在调节 tRNA 稳定性、mRNA 输出和转录中的重要作用,有助于我们对  $m^5C$  修饰在基因表达调节中的作用的认知。虽然各种  $m^5C$  检测方法的发展极大地扩展了转录组中潜在的  $m^5C$  位点,但  $m^5C$  修饰在低丰度 RNA 物种中的修饰范围和精确位置仍需要进一步明确。此外,  $m^5C$  甲基转移酶如何与蛋白质或酶协调发挥作用的机制也需要进一步探究。

#### 参考文献

- [1] Boccaletto, P., et al., *MODOMICS: a database of RNA modification pathways. 2017 update*. Nucleic Acids Res, 2018. **46**(D1): p. D303-D307.
- [2] Breiling, A. and F. Lyko, *Epigenetic regulatory functions of DNA modifications: 5-methylcytosine and beyond*. Epigenetics Chromatin, 2015. **8**: p. 24.
- [3] Reid, R., P.J. Greene, and D.V. Santi, *Exposition of a family of RNA  $m(5)C$  methyltransferases from searching genomic and proteomic sequences*. Nucleic Acids Res, 1999. **27**(15): p. 3138-45.
- [4] Liu, Y. and D.V. Santi,  *$m^5C$  RNA and  $m^5C$  DNA methyltransferases use different cysteine residues as catalysts*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(15): p. 8263-5.
- [5] King, M.Y. and K.L. Redman, *RNA methyltransferases utilize two cysteine residues in the formation of 5-methylcytosine*. Biochemistry, 2002. **41**(37): p. 11218-25.
- [6] King, M., D. Ton, and K.L. Redman, *A conserved motif in the yeast nucleolar protein Nop2p contains an essential cysteine residue*. Biochem J, 1999. **337** ( Pt 1): p. 29-35.
- [7] Blanco, S., et al., *Aberrant methylation of tRNAs links cellular stress to neuro-developmental disorders*. EMBO J, 2014. **33**(18): p. 2020-39.
- [8] Xing, J., et al., *NSun2 Promotes Cell Growth via Elevating Cyclin-Dependent Kinase 1 Translation*. Mol Cell Biol, 2015. **35**(23): p. 4043-52.
- [9] Redman, K.L., *Assembly of protein-RNA complexes using natural RNA and mutant forms of an RNA cytosine methyltransferase*. Biomacromolecules, 2006. **7**(12): p. 3321-6.
- [10] Jeltsch, A., *Beyond Watson and Crick: DNA methylation and molecular enzymology of DNA methyltransferases*. Chembiochem, 2002. **3**(4): p. 274-93.
- [11] Cheng, X., *Structure and function of DNA methyltransferases*. Annu Rev Biophys Biomol Struct, 1995. **24**: p. 293-318.
- [12] Watkins, N.J. and M.T. Bohnsack, *The box C/D and H/ACA snoRNPs: key players in the modification, processing and the dynamic folding of ribosomal RNA*. Wiley Interdiscip Rev RNA, 2012. **3**(3): p. 397-414.
- [13] Sloan, K.E., et al., *Tuning the ribosome: The influence of rRNA modification on eukaryotic ribosome biogenesis and function*. RNA Biol, 2017. **14**(9): p. 1138-1152.
- [14] Schosserer, M., et al., *Methylation of ribosomal RNA by NSUN5 is a conserved mechanism modulating organismal lifespan*. Nat Commun, 2015. **6**: p. 6158.
- [15] Gigova, A., et al., *A cluster of methylations in the domain IV of 25S rRNA is required for ribosome stability*. RNA, 2014. **20**(10): p. 1632-44.
- [16] Hayrapetyan, A., H. Grosjean, and M. Helm, *Effect of a quaternary pentamine on RNA stabilization and enzymatic methylation*. Biol Chem, 2009. **390**(9): p. 851-61.
- [17] Motorin, Y. and M. Helm, *tRNA stabilization by modified nucleotides*. Biochemistry, 2010. **49**(24): p. 4934-44.
- [18] Sharma, S. and D.L.J. Lafontaine, *'View From A Bridge': A New Perspective on Eukaryotic rRNA Base Modification*.

- Trends Biochem Sci, 2015. **40**(10): p. 560-575.
- [19] Sloan, K.E., M.T. Bohnsack, and N.J. Watkins, *The 5S RNP couples p53 homeostasis to ribosome biogenesis and nucleolar stress*. Cell Rep, 2013. **5**(1): p. 237-47.
- [20] Haag, S., J. Kretschmer, and M.T. Bohnsack, *WBSR22/Merm1 is required for late nuclear pre-ribosomal RNA processing and mediates N7-methylation of G1639 in human 18S rRNA*. RNA, 2015. **21**(2): p. 180-7.
- [21] Brzezicha, B., et al., *Identification of human tRNA:m5C methyltransferase catalysing intron-dependent m5C formation in the first position of the anticodon of the pre-tRNA Leu (CAA)*. Nucleic Acids Res, 2006. **34**(20): p. 6034-43.
- [22] Goll, M.G., et al., *Methylation of tRNA<sup>Asp</sup> by the DNA methyltransferase homolog Dnmt2*. Science, 2006. **311**(5759): p. 395-8.
- [23] Haag, S., et al., *NSUN6 is a human RNA methyltransferase that catalyzes formation of m5C72 in specific tRNAs*. RNA, 2015. **21**(9): p. 1532-43.
- [24] Chan, C.T., et al., *Reprogramming of tRNA modifications controls the oxidative stress response by codon-biased translation of proteins*. Nat Commun, 2012. **3**: p. 937.
- [25] Shanmugam, R., et al., *Cytosine methylation of tRNA-Asp by DNMT2 has a role in translation of proteins containing poly-Asp sequences*. Cell Discov, 2015. **1**: p. 15010.
- [26] Tuorto, F., et al., *The tRNA methyltransferase Dnmt2 is required for accurate polypeptide synthesis during haematopoiesis*. EMBO J, 2015. **34**(18): p. 2350-62.
- [27] Dudek, J., P. Rehling, and M. van der Laan, *Mitochondrial protein import: common principles and physiological networks*. Biochim Biophys Acta, 2013. **1833**(2): p. 274-85.
- [28] Haag, S., et al., *NSUN3 and ABH1 modify the wobble position of mt-tRNA<sup>Met</sup> to expand codon recognition in mitochondrial translation*. EMBO J, 2016. **35**(19): p. 2104-2119.
- [29] Metodiev, M.D., et al., *NSUN4 is a dual function mitochondrial protein required for both methylation of 12S rRNA and coordination of mitoribosomal assembly*. PLoS Genet, 2014. **10**(2): p. e1004110.
- [30] Camara, Y., et al., *MTERF4 regulates translation by targeting the methyltransferase NSUN4 to the mammalian mitochondrial ribosome*. Cell Metab, 2011. **13**(5): p. 527-39.
- [31] Sloan, K.E., C. Hobartner, and M.T. Bohnsack, *How RNA modification allows non-conventional decoding in mitochondria*. Cell Cycle, 2017. **16**(2): p. 145-146.
- [32] Squires, J.E., et al., *Widespread occurrence of 5-methylcytosine in human coding and non-coding RNA*. Nucleic Acids Res, 2012. **40**(11): p. 5023-33.
- [33] Amort, T., et al., *Distinct 5-methylcytosine profiles in poly(A) RNA from mouse embryonic stem cells and brain*. Genome Biol, 2017. **18**(1): p. 1.
- [34] Edelheit, S., et al., *Transcriptome-wide mapping of 5-methylcytidine RNA modifications in bacteria, archaea, and yeast reveals m5C within archaeal mRNAs*. PLoS Genet, 2013. **9**(6): p. e1003602.
- [35] Yang, X., et al., *5-methylcytosine promotes mRNA export - NSUN2 as the methyltransferase and ALYREF as an m(5)C reader*. Cell Res, 2017. **27**(5): p. 606-625.
- [36] Li, Q., et al., *NSUN2-Mediated m5C Methylation and METTL3/METTL14-Mediated m6A Methylation Cooperatively Enhance p21 Translation*. J Cell Biochem, 2017. **118**(9): p. 2587-2598.
- [37] Blanco, S. and M. Frye, *Role of RNA methyltransferases in tissue renewal and pathology*. Curr Opin Cell Biol, 2014. **31**: p. 1-7.
- [38] Khan, M.A., et al., *Mutation in NSUN2, which encodes an RNA methyltransferase, causes autosomal-recessive intellectual disability*. Am J Hum Genet, 2012. **90**(5): p. 856-63.
- [39] Martinez, F.J., et al., *Whole exome sequencing identifies a splicing mutation in NSUN2 as a cause of a Dubowitz-like syndrome*. J Med Genet, 2012. **49**(6): p. 380-5.
- [40] Flores, J.V., et al., *Cytosine-5 RNA Methylation Regulates Neural Stem Cell Differentiation and Motility*. Stem Cell Reports, 2017. **8**(1): p. 112-124.
- [41] Trixl, L., et al., *RNA cytosine methyltransferase Nsun3 regulates embryonic stem cell differentiation by promoting mitochondrial activity*. Cell Mol Life Sci, 2018. **75**(8): p. 1483-1497.

- [42] Chi, L. and P. Delgado-Olguin, *Expression of NOL1/NOP2/sun domain (Nsun) RNA methyltransferase family genes in early mouse embryogenesis*. *Gene Expr Patterns*, 2013. **13**(8): p. 319-27.
- [43] Khosronezhad, N., A.H. Colagar, and S.G. Jorsarayi, *T26248G-transversion mutation in exon7 of the putative methyltransferase Nsun7 gene causes a change in protein folding associated with reduced sperm motility in asthenospermic men*. *Reprod Fertil Dev*, 2015. **27**(3): p. 471-80.
- [44] Doll, A. and K.H. Grzeschik, *Characterization of two novel genes, WBSCR20 and WBSCR22, deleted in Williams-Beuren syndrome*. *Cytogenet Cell Genet*, 2001. **95**(1-2): p. 20-7..

**收稿日期:** 2021 年 7 月 20 日

**出刊日期:** 2021 年 8 月 27 日

**引用本文:** 栾娜, 周钦, 王建伟 真核 5-甲基胞嘧啶 ( $m^5C$ ) RNA 甲基转移酶的作用机制研究[J]. *国际临床研究杂志*, 2021, 5(3): 4-10.

DOI: 10.12208/j.ijcr.20210021

**检索信息:** RCCSE 权威核心学术期刊数据库、中国知网 (CNKI Scholar)、万方数据 (WANFANG DATA)、Google Scholar 等数据库收录期刊

**版权声明:** ©2021 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



**OPEN ACCESS**