



北京大学  
PEKING UNIVERSITY

# $m^6A$ 甲基转移酶复合物核心组分METTL14的结构、 序列与功能特异性分析

ABC Seminar Report

**G02成员:** 陶梓心, 杨梓芊, 朱昕露, 冯凯怡

**报告人:** 陶梓心

**2025.12**

# CONTENTS

01 背景

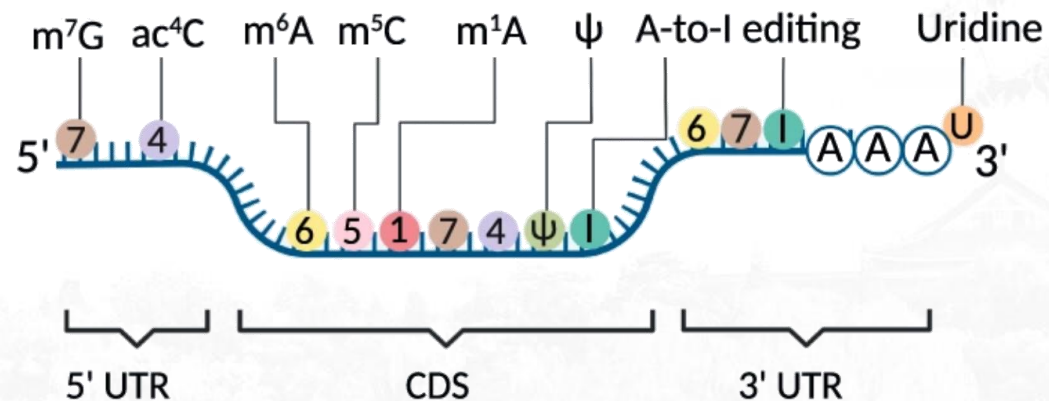
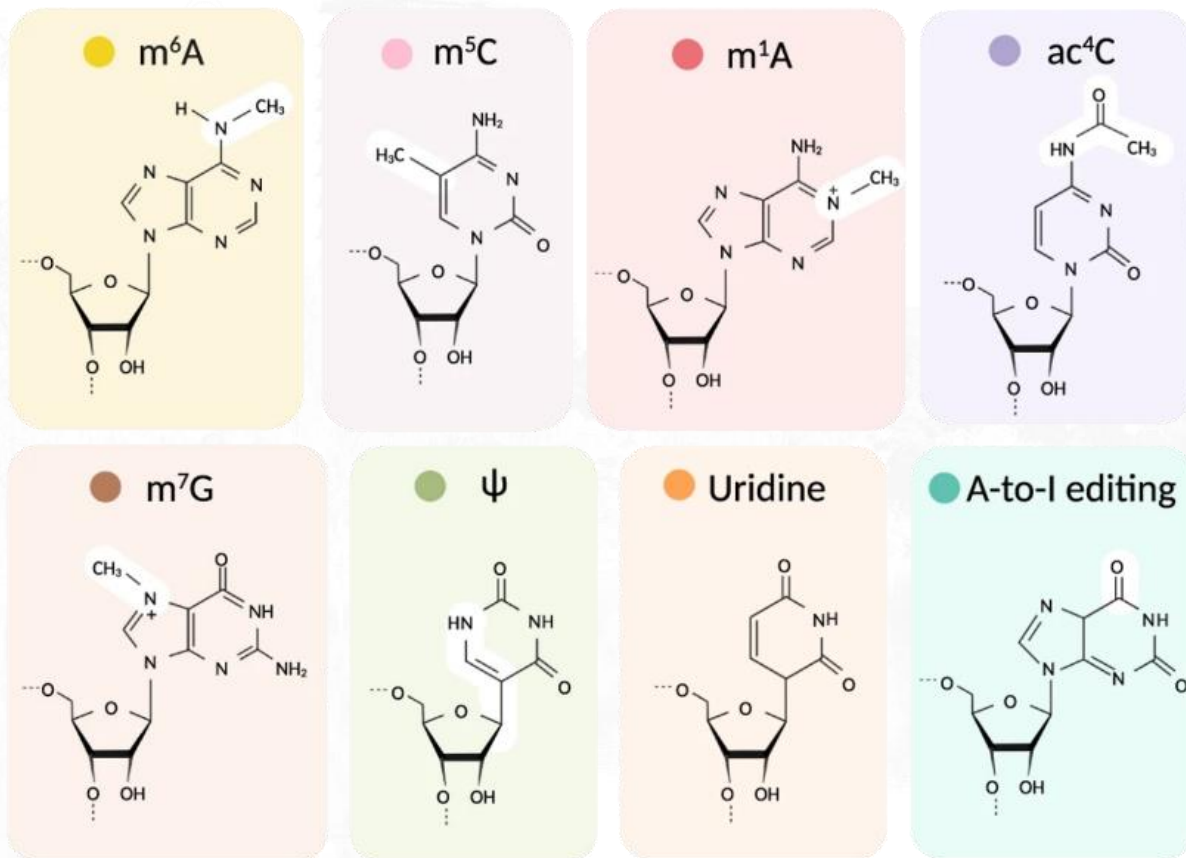
02 METTL14蛋白序列分析

03 METTL14蛋白结构与性质分析

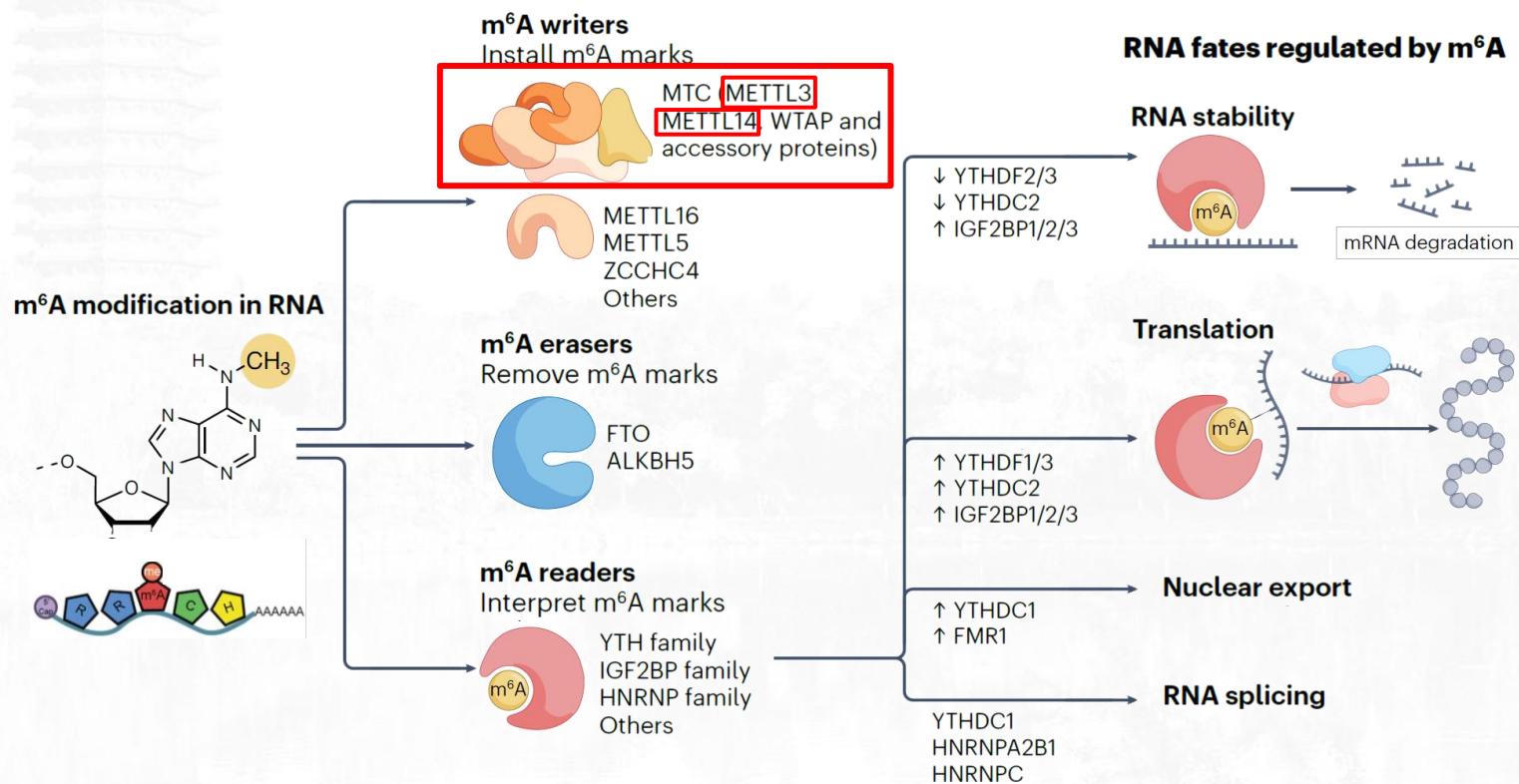
04 METTL14功能特异性分析

05 总结与感悟

## 1.1 RNA修饰与表观遗传学



- 真核生物RNA上存在多样的转录后化学修饰，对RNA功能起到调节作用
- *N*<sup>6</sup>-甲基腺苷 (m<sup>6</sup>A): 真核生物RNA中最常见、高度动态和可逆的表观修饰

1.2 m<sup>6</sup>A与其相关调控蛋白

- m<sup>6</sup>A 通过一系列m<sup>6</sup>A调控蛋白 (Writers, Erasers, Readers) 调控RNA命运
- m<sup>6</sup>A 由甲基转移酶复合物 (MTC) 特异性添加至具有RRACH motif的转录本

## 1.3 研究流程

## 序列分析

利用UniProt与MEGA进行序列比对和系统发生树构建

## 结构与结构域分析

利用PyMOL与UniProt进行蛋白结构可视化

## 理化性质与亚细胞定位分析

通过ProtScale和UniProt分析与查看蛋白理化性质和亚细胞定位

## 蛋白-蛋白互作网络分析

使用STRING查找蛋白-蛋白互作网络

## 功能特异性分析

查阅文献，结合PyMOL对蛋白结构与功能关系进行分析  
(结构可视化、测量、模型构建)



## 2.1 序列比对

Species	Scientific name	Accession	AA Length
Human	<i>H. sapiens</i>	Q9HCE5	456 AA
Mouse	<i>M. musculus</i>	Q3UIK4	456 AA
Zebra fish	<i>D. rerio</i>	Q6NZ22	455 AA
Fruit fly	<i>D. melanogaster</i>	Q9VLP7	397 AA
Arabidopsis	<i>A. thaliana</i>	Q94AI4	775 AA
Yeast	<i>S. cerevisiae</i>	P25583	335 AA

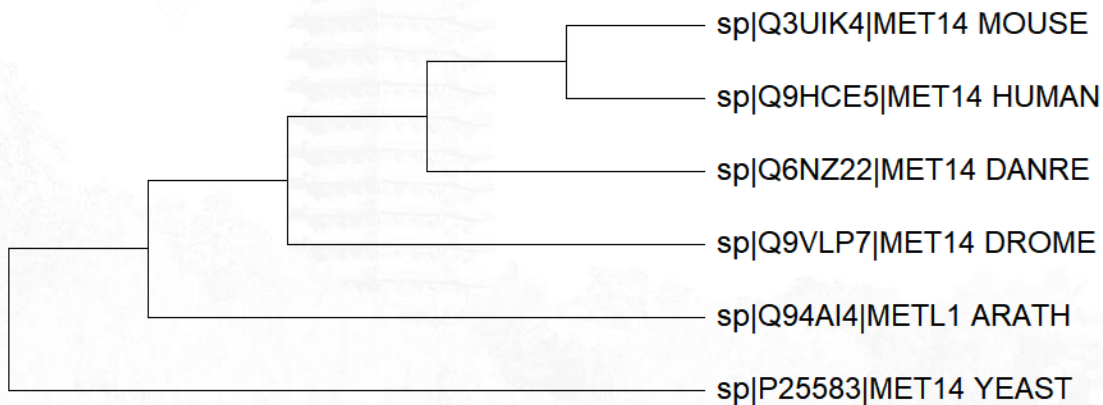
	Yeast	Arabidopsis	Fruit fly	Human	Mouse	Zebra fish
Yeast	100.00%	28.51%	26.92%	26.81%	26.81%	26.90%
Arabidopsis	28.51%	100.00%	44.86%	41.82%	41.82%	42.27%
Fruit fly	26.92%	44.86%	100.00%	65.90%	65.90%	66.32%
Human	26.81%	41.82%	65.90%	100.00%	98.68%	83.44%
Mouse	26.81%	41.82%	65.90%	98.68%	100.00%	83.44%
Zebra fish	26.90%	42.27%	66.32%	83.44%	83.44%	100.00%

```

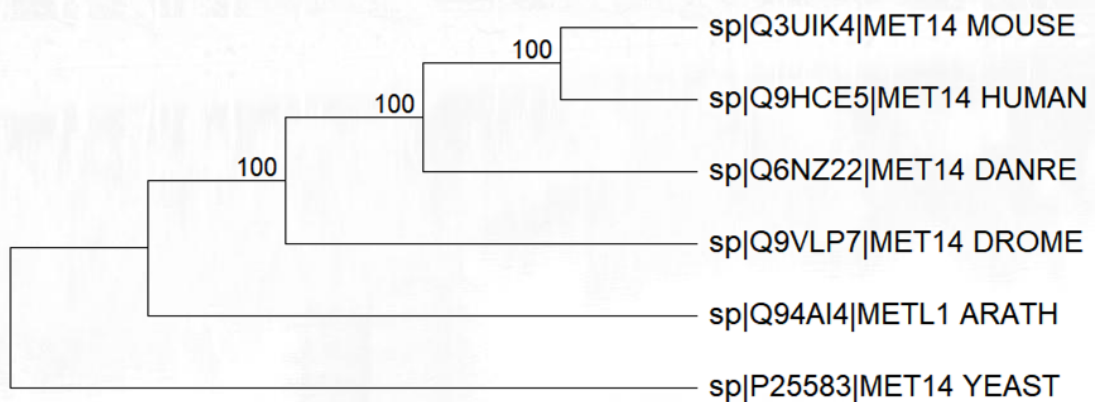
sp|P25583|MET14_YEAST
sp|Q94AI4|METL1_ARATH
sp|Q9HCE5|MET14_HUMAN
sp|Q9VLP7|MET14_DROME
-----
TPGRTNFVQTPNRYQTPOGTRGNRPLRGGKGRPAGGRENQOGAIPMPIMGSPFANLGMPPSPIHSLTPGMSP|PGTSVTPVFMPPFAPTLIWPARGVDG--NMLPVPPVLSPLPPGSPGRFP
MDSRLQE-----IRERQKLR--RQLLAQQL--GAESADSIGAVLNSKDEQREIAETRETCRAS
MSDVLKS-----SQERSRKR--RLLLAQTL--GLSSVDDLKKAIGNAEDINS-----
-----
MAFQDPTYDQN-KSRHINNSHLQGN-----QETIEMKSKHVSFKPSRDFHTNDYSNNYIHGKSLPQQHVTNI--ENRVDGYPKLQKLFQAKAKOINQFATTPFGCKIGIDSI-----
SIGTPPNPNMFFTPPGSD-RGGPPNFPGSNI-SGQMGRGMPGSDKTSGGWVPPRGGGPPGKAPSRGEQNDYSQNFVDTGMRPQNFIRELELT-NVEDYPKLREL|QKKDEIVSNSASAPMYLKGDLHEVELSPELFGTKFDVILV
YDTSAPNAKRKYLDEGETDEDKMEFYKDELEMQQDEENLPY----EEEIYKDSSTFLKGTQSLNPHNDYQGHFVDTGHRPQNFIRDVGLADRFEYYPKLREL|RLKDELIAKSNTPPMYLQADIEAFDI--RELTPKFDVILL
-----SRQLNSGGQREEE-----DGGASSSKKTP----NEI|YRDSSTFLKGTQSSNPHNDYQGHFVDTGHRPQNFIRDVGLADRFEYYPKLREL|KLKDKL|QDTASAPMYLKADLKSLDV--KTLGAKFDVILT
-----
VPTLNHWIQENLTFDVMIGCLTENQFIYPILTO|PLDRLISKPGFLFIWANSQKINELTKLLNNEIWAKKFRSEELVFVPIIDKKSPFYPLDQDDDELMEKMQWHQWMC|TGTVRRSTDGHL|HCNVDLDS|ETKDT-T
DPPWEYYVHRA---PGVS---DSMEYWTFEDI|NKIEA|ADTPSFLFLWVGDGVGLEQGRQ---CLKKWGFRRCE|ICWVKTNKSNA-APTLRHDSRTVFORKEHCLMG|KGTVRRSTDGHI|HANIDT|DVI|AEEPPYG
EPLLEYYRET---GIT---ANEKCWTWDDIMKLEIDE|AAPRSF|FLWCGSGEGLDLGRV---CLRKWGFRRCE|ICWIKTNKNNP-GKTKLDPKAVFQRTKEHCLMG|KGTVRRSTDGDF|HANVDI|DLI|TEEPEIG
EPLLEYYARAA---PSVATVGGAPRVFVNWDDI|LN|DVGE|AAHRSFVFLWCGSSEGLDMGRN---CLKKWGFRRCE|ICWIRTN|NKP-GHSKQLEPKAVFQRTKEHCLMG|KGTVRRSTDGDF|HANVDI|DLI|SEEEFG
-----
NGAVPSHLYR|AENFSTATRRLHI|PARTGYETPVKVRPGWV|VSPDVMLDNFSPKRYKEE|IANLGSN-IPLKNEI|ELLRPRSPVQKAQ-----
NIEKPVEIFHI|EHFCLGRRRLHLFGR-----DSTIRPGWLT|VGP|TLNSNYNAETYASYFSAPNSYLTGCTEE|ERLRPKSPPPKSKSDRGGG--APRGGGRGGT|SAGRGRERNRSNFRGERGGFRGGRGGAHRRGGFPPR
SFEKPIEIFHI|EHFCLGRRRLHLFGR-----DSSIRPGWLT|VGP|ELTNSNFNSEL|YQTYFAEA--PATGCTSR|ELLRPKSPPPNKSVLRGRGRGFPRGRGRPR-----

```

## 2.2 系统发生树构建



最大似然法 (ML)



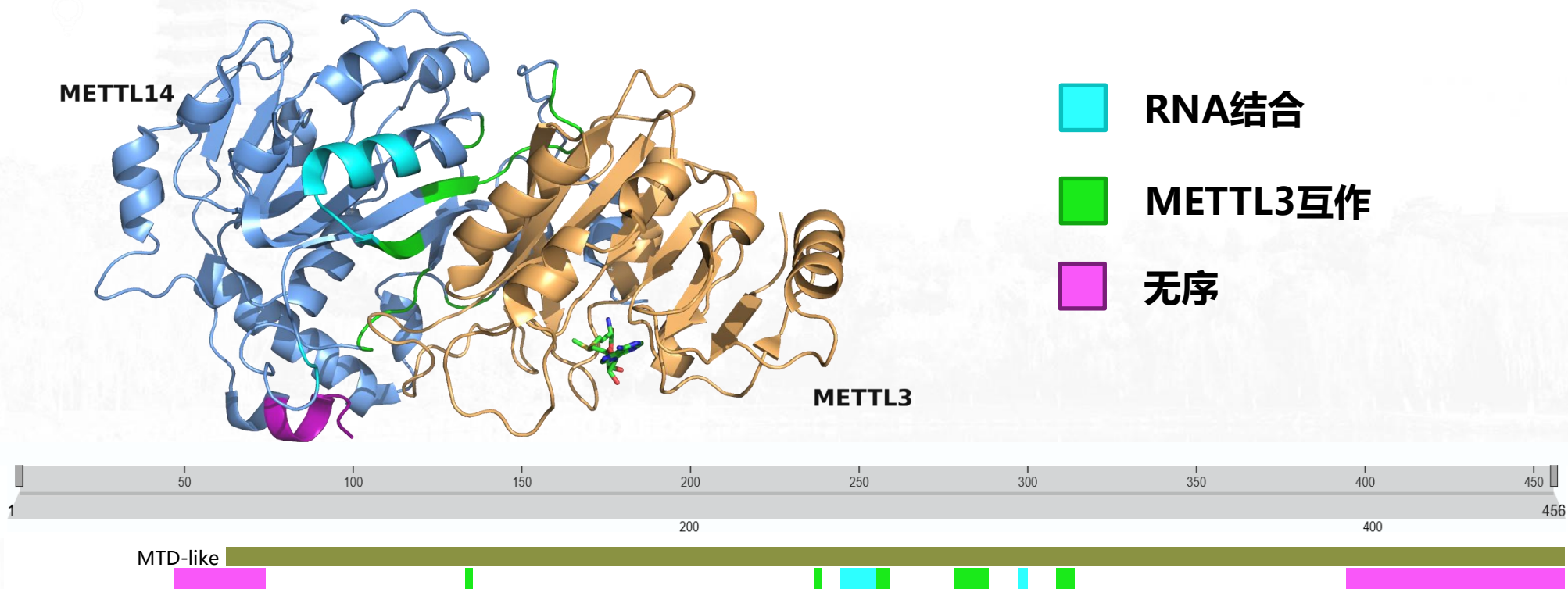
邻接法 (NJ)

- METTL14在真核生物进化过程中高度保守，暗示其在生物体中承担极重要且基础的生物学功能

- 最大似然法与邻接法两种方法得到一致拓扑结构，表明树形稳定可靠

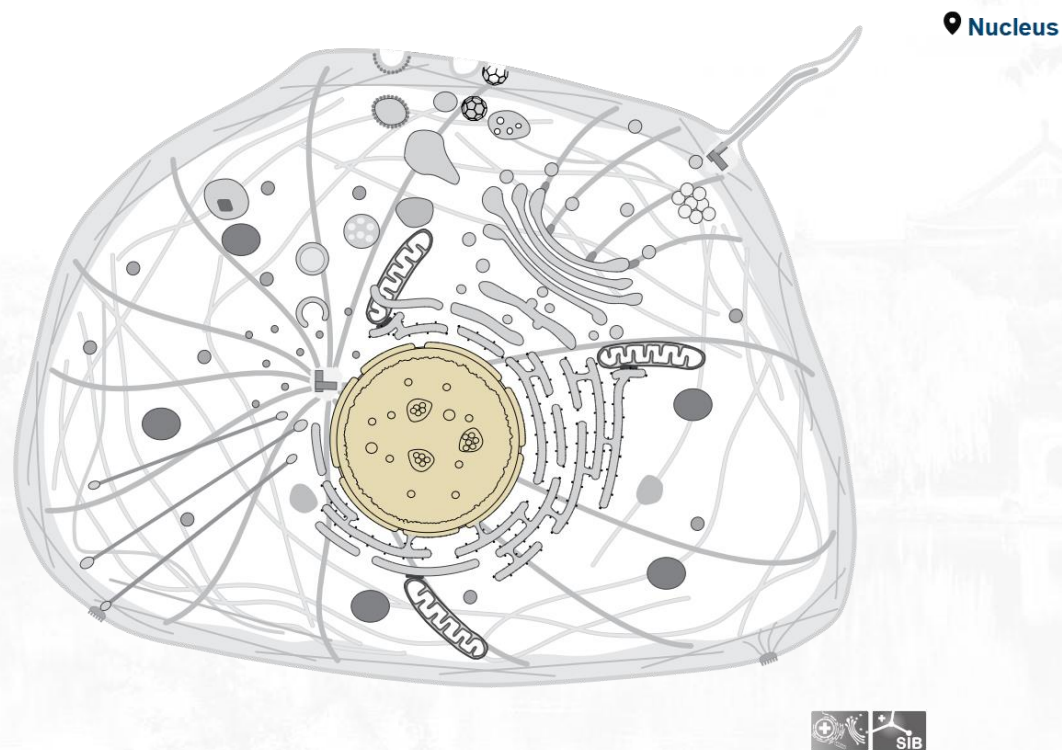
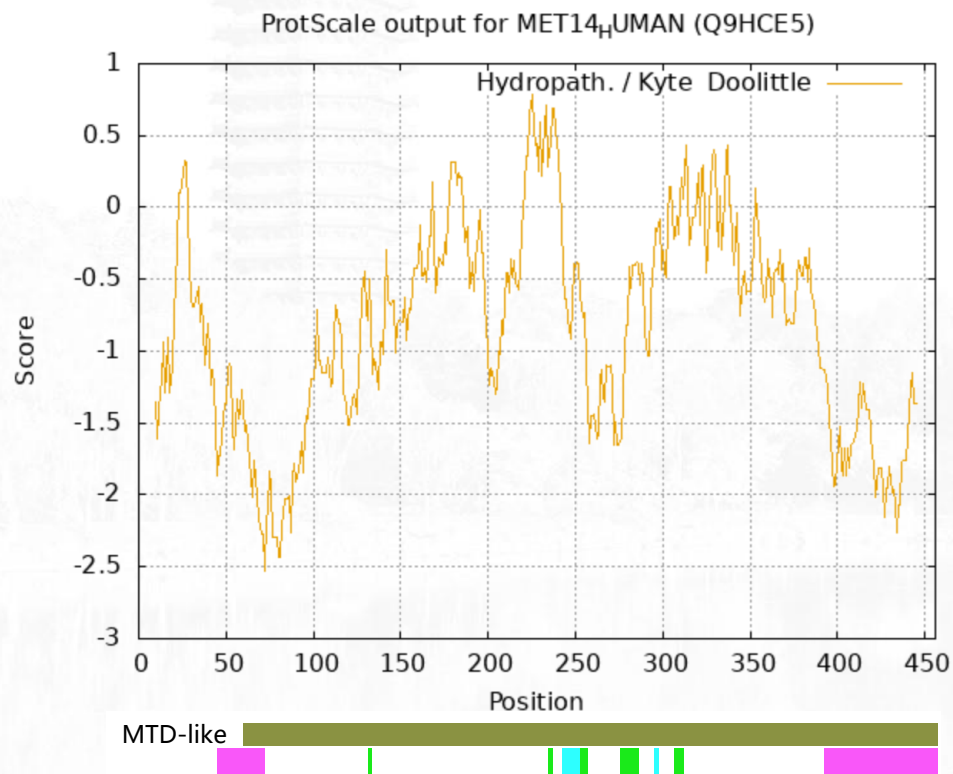
- METTL14及其相关家族成员在不同真核谱系中发生了显著分化，说明其在维持m<sup>6</sup>A写入核心结构的同时经历了谱系特异的结构与功能演化

## 3.1 METTL14的结构与结构域



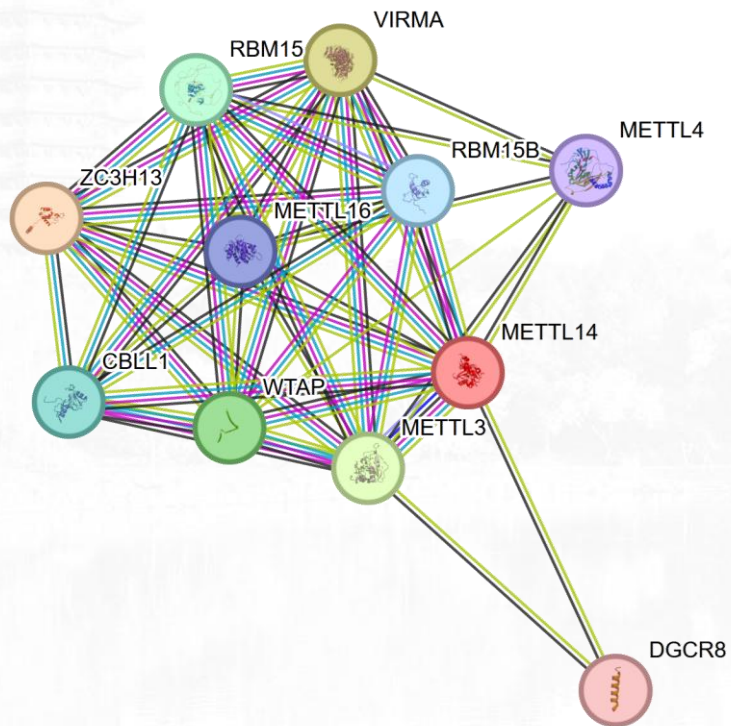
- METTL14和METTL3是m<sup>6</sup>A甲基转移酶复合物 (writer) 的核心组分
- METTL14是非催化活性的, 但在酶活性调节和底物选择性方面有关键作用

## 3.2 理化性质和亚细胞定位分析



- METTL14序列中缺少长片段的疏水部分：可溶性、不跨膜、适合于水溶液表达纯化
- METTL14定位于细胞核：与在“核斑点”内参与共转录添加m<sup>6</sup>A的功能对应

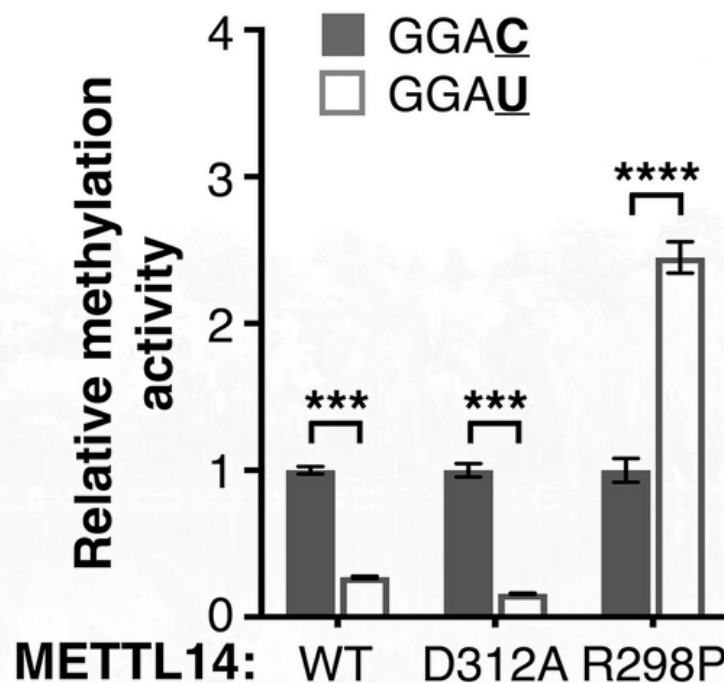
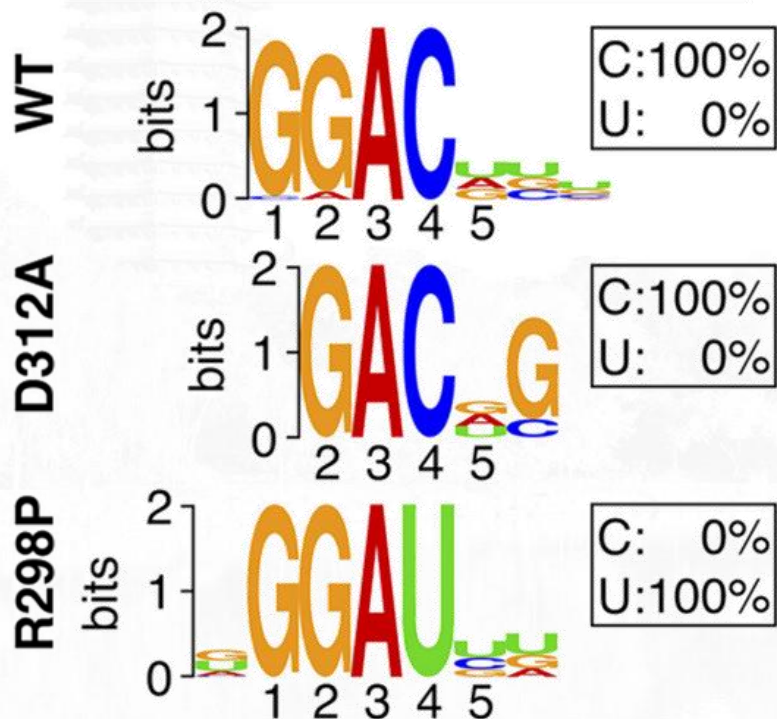
## 3.3 蛋白-蛋白互作网络分析



	Neighborhood	Gene Fusion	Cooccurrence	Coexpression	Experiments	Databases	Textmining	[Homology]	Score
ZC3H13				●	●	●	●		0.999
VIRMA				●	●	●	●		0.999
METTL3			●	●	●	●	●	●	0.999
WTAP				●	●	●	●		0.999
RBM15				●	●	●	●		0.999
CBLL1				●	●	●	●		0.999
RBM15B				●	●	●	●		0.999
METTL16				●			●		0.996
METTL4				●			●		0.992
DGCR8				●			●		0.989

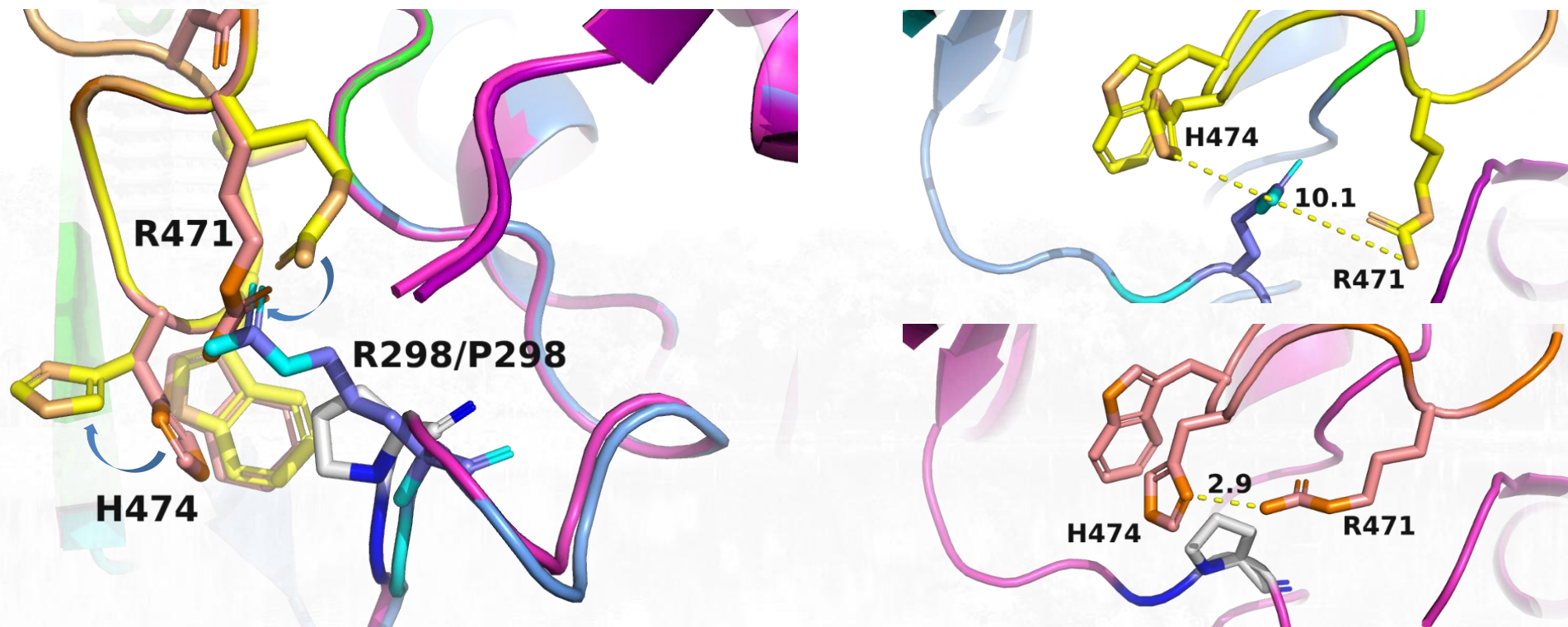
- METTL14与众多调节亚基存在直接互作，说明m<sup>6</sup>A的添加过程是被精密调控的

## 4.1 METTL14 R298P 突变能够改变MTC的底物选择性

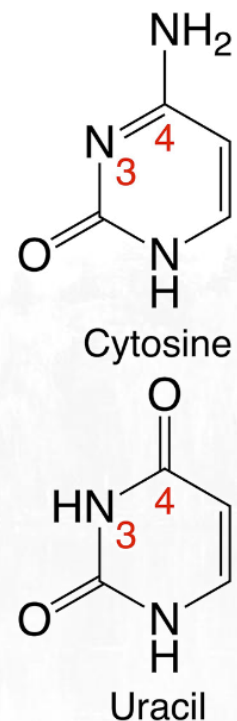
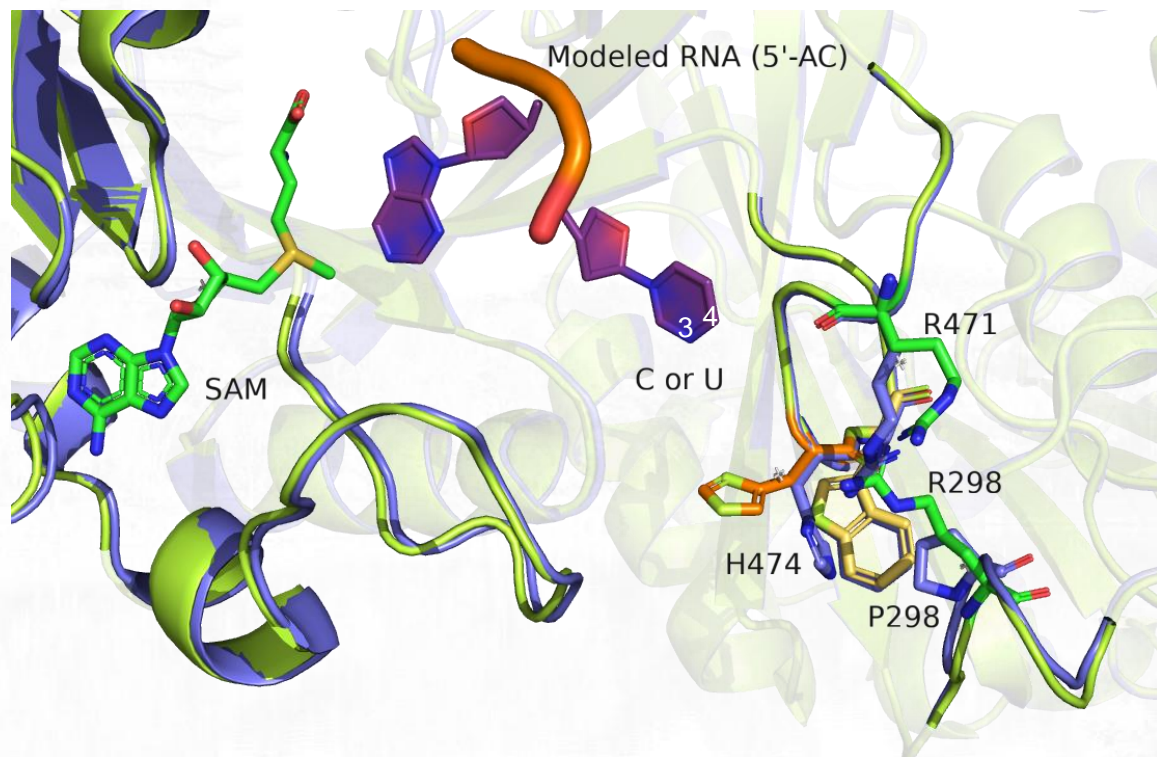


- 体外甲基化实验中观察到METTL3-METTL14<sup>R298P</sup> 发生motif偏好性变化 (GGAC→GGAU)

## 4.2 METTL14 R298P突变促使METTL3关键残基位移



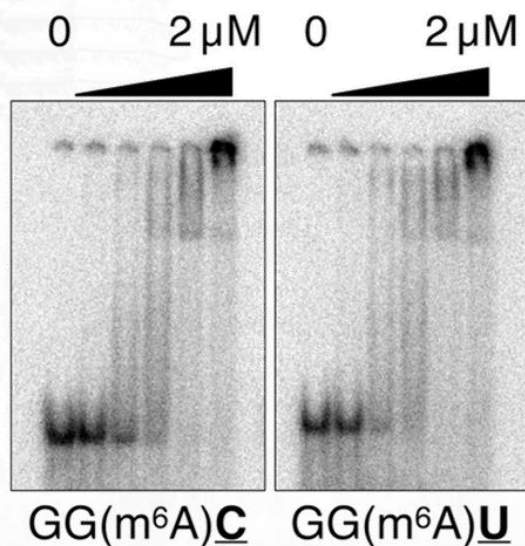
- 复合物METTL3-METTL14<sup>R298P</sup>中，METTL3 R471与H474侧链向内移动并填充了原本被METTL14<sup>WT</sup> R298侧链占据的空间，且距离减小，表明产生了构象改变与可能的新的氢键作用模式

4.3 RNA与METTL3/METTL14<sup>wt</sup>/R298P互作模型构建

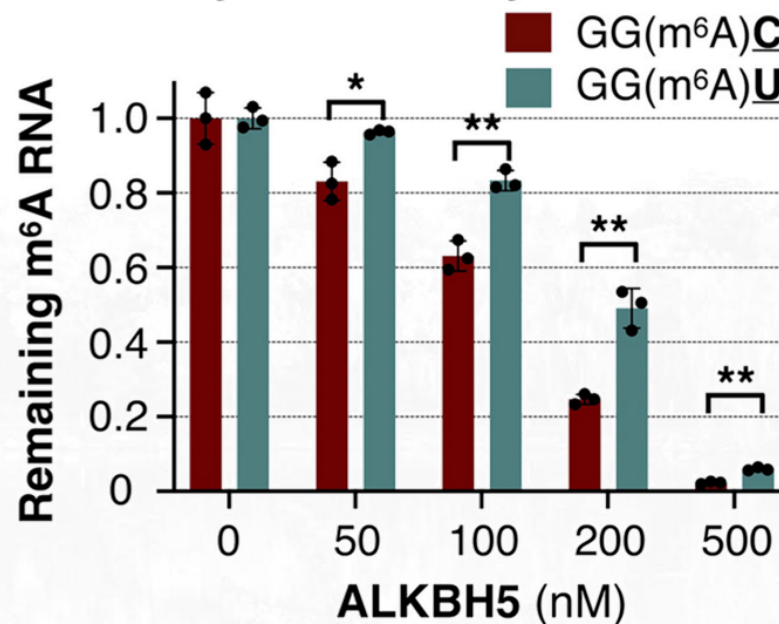
- 结合文献，利用同源蛋白构建催化模型，RNA底物中的嘧啶与METTL3-METTL14关键残基接近
- 关键残基的突变与移动可能改变了对嘧啶底物的结合模式，使序列偏好性改变

## 4.4 METTL14 R298P 突变的生物学效应

Binding affinity of ALKBH5



Demethylation activity of ALKBH5



- METTL14<sup>R298P</sup>介导生成的m<sup>6</sup>A对去甲基化酶 (Eraser) ALKBH5具有更高的抵抗性

- METTL14是真核生物高度保守的蛋白，在m<sup>6</sup>A甲基转移酶复合物中发挥非催化活性的底物结合与调控功能，并与众多调节亚基和功能相关蛋白有直接互动
- METTL14 R298P突变使底物结合口袋中关键残基发生重排，并改变了MTC的底物选择性，使能够抵抗去甲基化酶的m<sup>6</sup>A异常增多，提示METTL14 R298及其邻近残基对RNA识别的重要性
- 生物信息学是一门交叉学科，既需要扎实的化学与生物学知识，也对数学和计算机知识有要求
- 生物信息学方法与工具众多，需要结合实例多加练习才能熟能生巧



## 小组成员与分工



**朱昕露：METTL14蛋白序列比对**

**杨梓芊：METTL14蛋白系统发生树构建**

**冯凯怡：METTL14蛋白理化性质分析**

**陶梓心：METTL14蛋白互作网络查询、结构与功能分析**





北京大學  
PEKING UNIVERSITY

# Thanks for listening

---