

基于分子动力学模拟研究YTHDF3与m⁶A修饰RNA的相互作用动力学及关键位点

周文雪, 韩中杰, 吴志祥, 李春华*

北京工业大学环境与生命学部, 北京

收稿日期: 2022年7月26日; 录用日期: 2022年8月26日; 发布日期: 2022年9月5日

摘要

YTHDF3 (YTH domain family protein 3)能够特异性识别N6-甲基腺嘌呤(N6-methyladenosine, m⁶A)修饰的RNA, 参与调控mRNA加工代谢、正常生理和异常病理等重要生命进程, 与许多癌症息息相关。研究YTHDF3与m⁶A修饰RNA的相互作用动力学及关键位点具有重要意义。在本工作中, 采用分子动力学(Molecular dynamics, MD)模拟方法研究了YTHDF3单体及与甲基化RNA复合物的动力学性质。研究发现, 甲基化RNA的结合使得YTHDF3结构更加紧凑, 构象更加稳定。运动相关性分析揭示了YTHDF3上负责结合甲基化RNA的重要区域。最后, 构造运动相关性加权的复杂网络, 识别了参与m⁶A修饰特异性识别的关键残基, 与实验结果高度吻合。另外, 还识别了一些远离结合界面但对结构稳定发挥重要功能的残基。本研究有助于理解YTHDF3与m⁶A修饰RNA之间的相互作用和关键位点, 可为靶向药物设计提供重要信息。

关键词

YTHDF3, 分子动力学, 关键残基

Study on the Interacting Dynamics and Key Residues between YTHDF3 and m⁶A-Mediated RNA Based on Molecular Dynamics Simulation

Wenxue Zhou, Zhongjie Han, Zhixiang Wu, Chunhua Li*

Faculty of Environmental and Life Sciences, Beijing University of Technology, Beijing

Received: Jul. 26th, 2022; accepted: Aug. 26th, 2022; published: Sep. 5th, 2022

*通讯作者。

文章引用: 周文雪, 韩中杰, 吴志祥, 李春华. 基于分子动力学模拟研究 YTHDF3 与 m⁶A 修饰 RNA 的相互作用动力学及关键位点[J]. 计算生物学, 2022, 12(3): 32-39. DOI: 10.12677/hjcb.2022.123005

Abstract

YTHDF3 (YTH domain family protein 3) plays an important role in regulating mRNA processing, metabolism, normal physiology and abnormal pathology, which is associated with a variety of cancers. Investigating the interacting dynamics and key residues between YTHDF3 and m⁶A-mediated RNA is of important significance. Here, the molecular dynamics (MD) simulation is utilized to analyze the dynamic properties of YTHDF3 on apo and bound to methylated RNA states. The results reveal that upon RNA binding, the structure and the conformation of YTHDF3 become more compact and stable. The dynamical cross-correlated map analysis shows the important regions on YTHDF3 for the binding of methylated RNA. Finally, the covariance matrix is weighted to protein structure network for analyzing the key residues associated with specific interaction of m⁶A-modified RNA, which is consistent with the experimental information. In addition, we also find the residues which are far away from the binding interface but critical for the structural stability of YTHDF3. This study is helpful for the understanding of the interaction and key residues of YTHDF3 and m⁶A-mediated RNA, and can provide important information for the related drug design.

Keywords

YTHDF3 (YTH Family Protein 3), Molecular Dynamics, Key Residues

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

m⁶A (N6-methyladenosine)是真核生物信使 RNA(mRNA)上存在最为广泛的化学修饰,在调节大脑发育和免疫反应等许多生物过程中发挥重要作用。含有 YTH 结构域的蛋白质能够特异性识别 m⁶A,被称作 Reader [1]。作为最后被结晶的 YTH 蛋白, YTHDF3 拥有类似于其他成员特异性识别 m⁶A 的结合表面和芳香笼[2]。然而, YTHDF3 识别 m⁶A 的分子基础还未解释清楚。考虑到 YTHDF3 在癌症进展中的重要性,探索 YTHDF3 与 m⁶A 修饰 RNA 的结合动力学,并识别结合过程中发挥关键作用的残基,对于了解其分子机制和开发 YTHDF3 特异性抑制剂具有重要意义[3]。

m⁶A 修饰的 RNA 与 YTHDF3 中 YTH 结构域复合的 2.7 Å 分辨率晶体结构[2],由 4 个 α 螺旋和 4 个 β 片层组成。β1 与 β2、β4 平行,与 β3 反平行共同形成 β 桶形结构,周围 4 个 α 螺旋构成其疏水核心[4]。RNA 被紧紧结合在由 α1、loop2、loop4、loop5 和 loop6 形成的疏水性口袋中,其中 loop5 也被称为识别环(残基 Lys480-Lys500) [2]。细节上, m⁶A 位于由 3 个芳香残基组成的芳香笼中,分别由来自 loop5 的 Trp492 构成基底,来自 loop2 的 Trp438 和来自 loop5 的 Trp497 构成墙壁。Trp438 和 Trp492 在 YTH 结构域蛋白家族中绝对保守,其丙氨酸突变完全破坏了 YTHDF3 与 m⁶A 修饰 RNA 的特异性结合[5]。

YTH 结构域蛋白受到了实验和理论研究者的广泛关注。在实验方面, Xu 等人进行了等温滴定量热法分析,发现无论 RNA 长度如何,人类和酵母的 YTH 结构域家族蛋白都可以识别含 m⁶A 的 RNA,这意味着 YTH 结构域是一个进化保守的依赖于 m⁶A 修饰的 RNA 结合结构域[6]。此外, Wang 等人利用液相色谱-串联质谱方法发现 YTHDF3 与甲基化 RNA 的结合亲和力比未甲基化 RNA 高 5 倍[7]。在理论方面, Li 等人在 2020 年通过对 YTHDF1, YTHDF2 和 YTHDF3 进行 MD 模拟,发现 YTHDF3 与 YTHDF1

和 YTHDF2 具有相似的内在可塑性和蛋白质动力学性质[2]。同年, Li 等人利用炼金术自由能模拟方法研究了甲基化对于 YTHDC1 特异性识别 RNA 的重要性[8]。以上研究为 YTH 结构域对 m⁶A 修饰 RNA 的特异性识别提供了部分线索。然而, 还未有人开展 YTHDF3 与 m⁶A 修饰 RNA 复合物的动力学研究, 关于 YTHDF3 与 RNA 之间的分子识别、构象变化及其涉及的关键残基还需进一步研究。

本工作对 YTHDF3 在单体和其结合 m⁶A 修饰 RNA 的复合物分别进行分子动力学模拟, 研究了结合 m⁶A 修饰 RNA 对 YTHDF3 动力学行为的影响, 并结合复杂网络方法识别了 YTHDF3 中参与 m⁶A 修饰特异性识别及构象变化的关键残基。

2. 研究方法

2.1. 分子动力学模拟

从蛋白质数据库(Protein data bank, PDB)中获取人源 YTHDF3 与 m⁶A 修饰 RNA 结合的复合物晶体结构[2] (PDB ID: 6ZOT), 保留其核心结构域(Arg417-Phe553)。本文的 MD 模拟包含 2 个体系: 移除 RNA, 保留蛋白质的 apo_pro 单体体系和保留蛋白质-RNA 的 m⁶A_com 复合物体系。将两个模拟体系分别溶剂化, 采用 TIP3P 水模型[9]并添加 0.15 mol/L 的 NaCl 保持整个体系呈电中性。采用最陡下降法约束模拟体系的重原子位置, 在最大约束力达到 1000 kJ·mol⁻¹·nm⁻¹ 后便停止优化。而后在恒温恒容(NVT)条件下进行 1 ns 的模拟。最后去除所有约束条件, 将整个体系在恒温恒压(NPT)条件下进行 500 ns 的平衡分子动力学模拟。所有的 MD 模拟均采用 GROMACS 2020 软件包[10]完成, 模拟温度保持在 300 K, 压强维持在 1 bar。采用 CHARMM36 全原子力场[11], 为了参数化 m⁶A, 使用附加的 CHARMM 力场[12]。范德华相互作用通过一个双截断半径(10 Å 和 12 Å)函数进行计算, 长程静电相互作用采用 particle-mesh Ewald (PME)方法计算[13], 在模拟过程中采用周期性边界条件, 积分步长为 2 fs, 对所有键均用 LINCS 方法[14]约束。

2.2. 复杂网络模型

基于蛋白质-RNA 结构, 以残基为节点(C α 和 C5' 原子分别代表氨基酸和核苷酸)和连接节点的边构建加权的复杂网络。其中, 两个节点之间的距离在截断距离内, 则认为有相互作用用边连接, 反之则不连[15]。对于蛋白质、RNA 以及界面节点间的截断距离分别设置为 7、13 和 10 Å。节点 i 和节点 j 之间边的权重 w_{ij} 是由 MD 平衡轨迹的运动相关性关系 C_{ij} 计算得到, 其可以衡量信息通过该边的概率。

$$w_{ij} = -\log(|C_{ij}|) \quad (1)$$

进而计算加权网络的特征路径长度(CPL)及衡量特征路径长度变化的 Z -score:

$$Z\text{-score}_k = \left| \frac{\Delta CPL_k - \overline{\Delta CPL_k}}{\sigma} \right| \quad (2)$$

其中, ΔCPL_k 是移除节点 k 后 CPL 的变化, $\overline{\Delta CPL_k}$ 代表的是所有节点依次移除后 CPL 变化的平均值, σ 代表的是相应的标准差。CPL 的改变指依次移除每个残基观察其对网络 CPL 变化的影响, 它反映了该节点对网络通信的影响, 因此 Z -score 值较大的为介导变构信号传导的功能性关键残基。

3. 结果与讨论

3.1. m⁶A 修饰 RNA 结合对 YTHDF3 动力学行为的影响

根据系统的均方根偏差(root mean square deviation, RMSD)随时间的变化, 可知 50 ns 后 apo_pro 和

m^6A_{com} 系统均达到平衡状态, 因此, 所有分析均基于 450 ns 后的平衡轨迹。在平衡阶段, apo_pro 体系有较大的波动 $RMSD = 1.90 \pm 0.16 \text{ \AA}$, 而 m^6A_{com} 中蛋白质波动则相对稳定 $RMSD = 2.23 \pm 0.12 \text{ \AA}$, 这表明甲基化 RNA 结合使得 YTHDF3 结构更稳定。同时绘制了 YTHDF3 在结合甲基化 RNA 前后的残基均方根涨落, 如图 1(a)所示。从图 1(a)中, 可以发现甲基化 RNA 结合使得 YTHDF3 的 loop1, loop4, 识别环和 loop6 区域柔性明显下降, 这表明 RNA 的结合限制了这些区域的灵活性, 促使 YTHDF3 的构象更加稳定, 与 RMSD 的分析具有一致性。此外, 为了揭示 YTHDF3 在结合甲基化 RNA 前后结构的变化, 计算能够反映分子紧凑程度的回转半径, 可知相较于 YTHDF3 单体($14.15 \pm 0.12 \text{ \AA}$), 甲基化 RNA 的结合使复合物($14.02 \pm 0.08 \text{ \AA}$)变得更紧凑, 暗示着甲基化 RNA 结合导致 YTHDF3 的结合口袋产生闭合构象, 进而可以解释 m^6A_{com} 中蛋白的 RMSD 平均值高于 apo_pro 的原因。为了便于理解, 分别从 apo_pro 和 m^6A_{com} 的平衡轨迹中提取平均构象并进行叠落, 如图 1(b)所示。从图 1(b)中, 可以发现相较于 YTHDF3 的单体, 甲基化 RNA 结合后使得 YTHDF3 上的 loop1, 识别环, loop4 和 loop6 均向中间靠拢, 结构更为紧凑, 与回转半径的分析结果具有一致性。

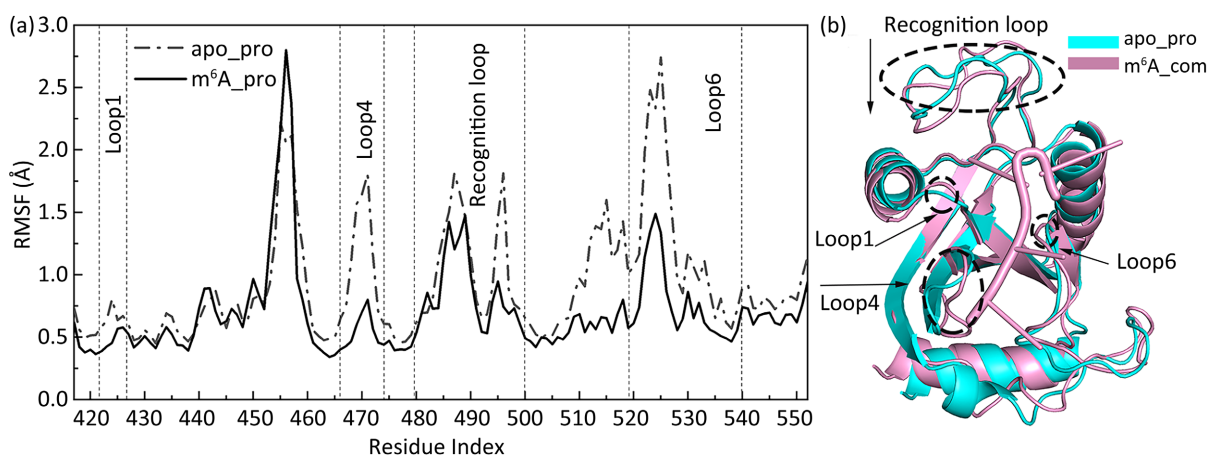


Figure 1. (a) Root mean square fluctuations (RMSFs) of YTHDF3 in apo (dotted line) and methylated RNA-bound (solid line) states. (b) Comparison of average conformation from the equilibrium trajectories of apo_pro (cyan) and m^6A_{com} (pink) systems

图 1. (a) YTHDF3 在单体(虚线)和结合甲基化的 RNA(实线)状态下的均方根涨落。(b) apo_pro (青色)和 m^6A_{com} (粉色)平衡轨迹中的平均构象的比较

3.2. 运动相关性分析

为了理解残基运动的关联性, 采用 m^6A_{com} 系统的平衡轨迹计算了残基涨落间的交叉相关系数, 可以揭示与空间运动和相互作用相关的信息, 如图 2 所示。从图 2 中可以看到, α 螺旋与大多数 β 片层经历相似的相关位移(区域 A), 这些二级结构构成了 YTHDF3 的折叠核心, 它们之间的强相关运动有助于维持结构的稳定性。Loop6 的大部分与 β 片层和 $\alpha 2$ (区域 B)存在较强的负相关, 其中的相互作用有利于约束 loop6 不发生明显的构象变化, 导致 RNA 结合口袋的松散。相比之下, 识别环与 YTHDF3 的其它部分没有显著的相关性, 这有利于识别环进行自由的构象变化结合甲基化的 RNA [16]。

而对于蛋白质-RNA 之间的相关性, 可以看到, loop1 (残基 Tyr424-Ser425, 区域 C)、loop4 (残基 Asn468-Gly471, 区域 E)、识别环(残基 Gly490-Lys500, 区域 F)和 loop6 (残基 Thr530-Thr535, 区域 H)分别与甲基化 RNA 有一定程度的正相关, 这些区域都位于甲基化 RNA 的结合表面, 与 RNA 存在广泛的接触。其中, 根据 X-ray 实验, 发现位于 loop4 上的 Gly469 与 RNA 的 U5 形成氢键, 位于 loop6 上的 Asn524 与 RNA 的 C3 形成氢键[4], 表明这些区域对于甲基化 RNA 的识别具有一定的作用[17]。此外, 还可

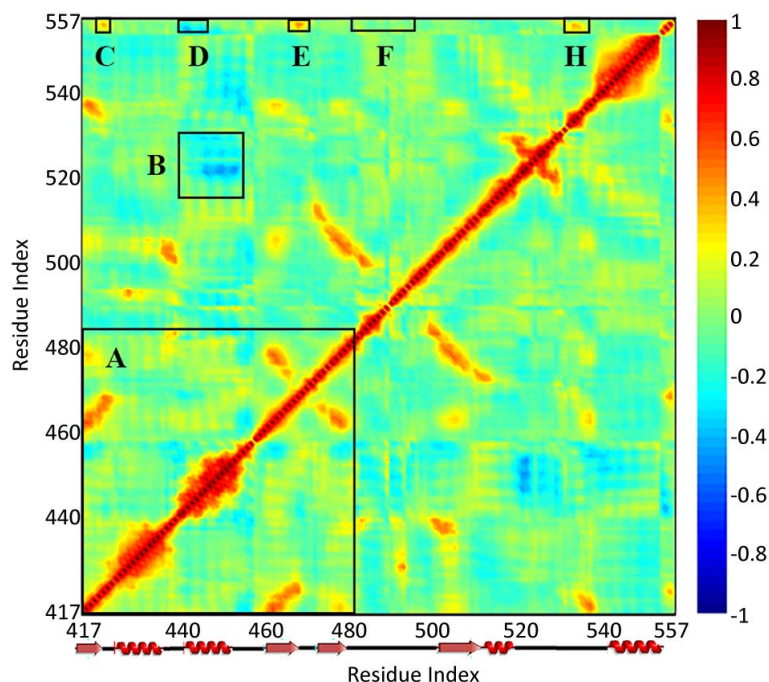


Figure 2. The cross-correlation of m^6A_{com} system
图 2. m^6A_{com} 体系的运动相关性

以看到 loop2 (残基 Ser436-Thr441, 区域 D)与甲基化 RNA 之间存在较强的负相关,这是由于该区域不仅能够提供构成芳香笼的疏水残基 Tyr438, 其中的 Cys439 还可与 m^6A 形成氢键[2]。总之,在复合物中, YTHDF3 上的 loop1、loop2、loop4、识别环和 loop6 与甲基化 RNA 分别有较强的运动相关性,表明它们有助于 YTHDF3 对甲基化 RNA 的特异性识别。

3.3. 基于复杂网络识别 YTHDF3 的关键位点

利用复杂网络中 CPL 的变化可以识别蛋白质变构相关的关键残基,因此计算了 m^6A_{com} 的 Z-score 值,阈值设置为 1.0。如图 3(a)所示,共识别出 10 个残基簇,其中心残基分别映射到复合物的三级结构上,如图 3(b)所示。簇 10 为 m^6A ,扰动该节点会导致 Z-score 最大程度的变化,说明其在网络中对于介导信号传递起到重要作用,一致于前人的研究[18]。甲基化有利于 RNA 被蛋白识别并进行后续的生理过程,同时也表明利用 Z-score 是识别关键残基的有效方法。

关键残基簇 1 在 $\beta 1$ 上,其中带正电的 Arg417 和 Lys422 位于 RNA 结合表面,负电性 RNA 与之存在广泛接触。Lys422 在 YTH 蛋白中高度保守, Luo 等人将酵母中 YTH 结构的对应残基 Lys184 进行突变,发现该突变完全阻断了 YTH 结构域与甲基化 RNA 的结合[19]。簇 2 位于 loop2 上,其中 Trp438 参与构成识别 m^6A 的芳香笼,在所有 YTH 蛋白中保守存在并与 m^6A 形成稳定的 π - π 堆积相互作用[20], Chang 等人通过诱变实验发现将 Trp438 突变会导致 YTHDF3 与 RNA 的结合亲和性有很大程度上降低[5]。同时,在 YTHDF3 的 X-ray 实验中发现,簇 2 中 Cys439 上的氧原子能够与 m^6A 上发生甲基化的 N6 原子之间形成氢键[2],有利于识别甲基化的 RNA,并且该氢键在 YTH 蛋白中保守存在,可以有效地避免腺苷酸发生双甲基化[18]。簇 4, 5 和 6 均位于识别环上,其中 Trp492 和 Trp497 是构成芳香笼的重要残基, Trp492 在 YTH 蛋白中高度保守。根据结晶实验发现 Trp492 与 m^6A 上甲基形成阳离子- π 相互作用, Trp497 同 Trp438 一样与腺苷形成 π - π 堆叠相互作用[21]。Govindaraju 等人对恶性疟原虫 pfYTH2 蛋白的 Trp46 (对应 Trp492)进行定点突变实验和 MD 模拟[22],发现该残基对于 m^6A 的结合至关重要。

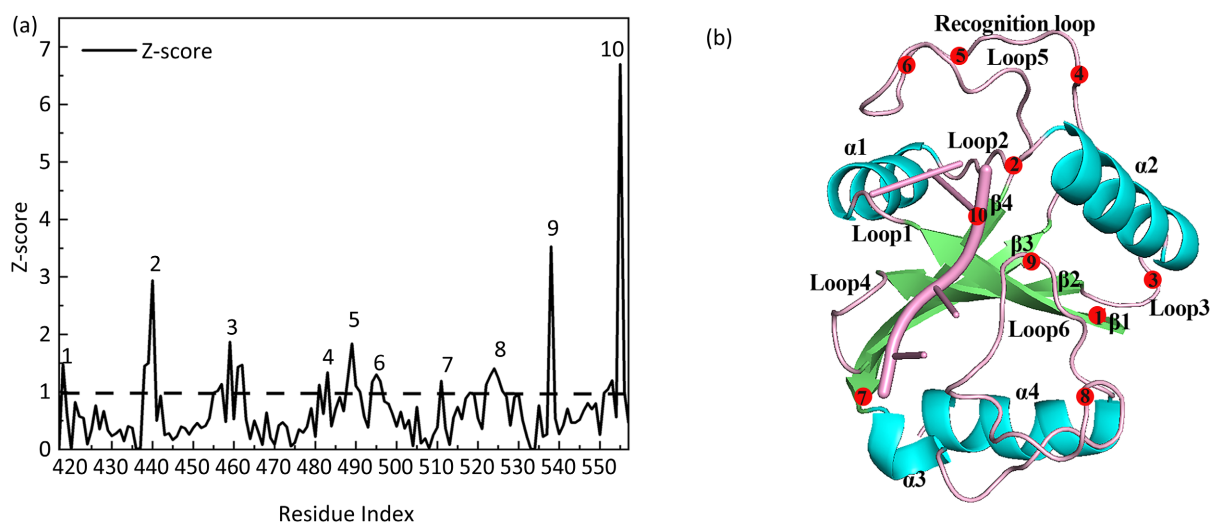


Figure 3. (a) The Z-score value for the difference in CPL. (b) Locations of the central residues for the 10 clusters of key residues

图 3. (a) 特征路径长度变化的 Z-score; (b) 10 个中心残基簇在结构上的映射

簇 8 和 9 主要位于 loop6 上, 其上具有带正电的残基 Arg517, Arg520, Lys527 和 Arg533, 与 RNA 的磷酸二酯主链有良好的静电相互作用, 有利于结合 RNA [4]。簇 8 中的 Asn524 和簇 9 中的 Arg533 和 Asp534 在 YTH 家族蛋白中具有高度保守性。根据 YTHDC2 的 X-ray 实验发现, Asn524 对应的 Asn1392 以及 Arg533 对应的 Arg1401 均能与核苷酸 C3 形成稳定的氢键[4]。对于簇 9 中的 Asp534, YTHDF3 的实验解析发现, 一个保守的水分子介导了 m^6A 的 N7 原子与 Asp534 侧链之间的氢键, 进一步稳定了 RNA 的结合[2]。另外残基 Arg533 的侧链胍基还能与核苷酸 C3 的碱基形成阳离子- π 相互作用, Xu 等人将 YTHDC1 中 Arg475 (对应 YTHDF3 的 Arg533)突变为苯丙氨酸和丙氨酸, 发现对结合亲和力分别降低 9

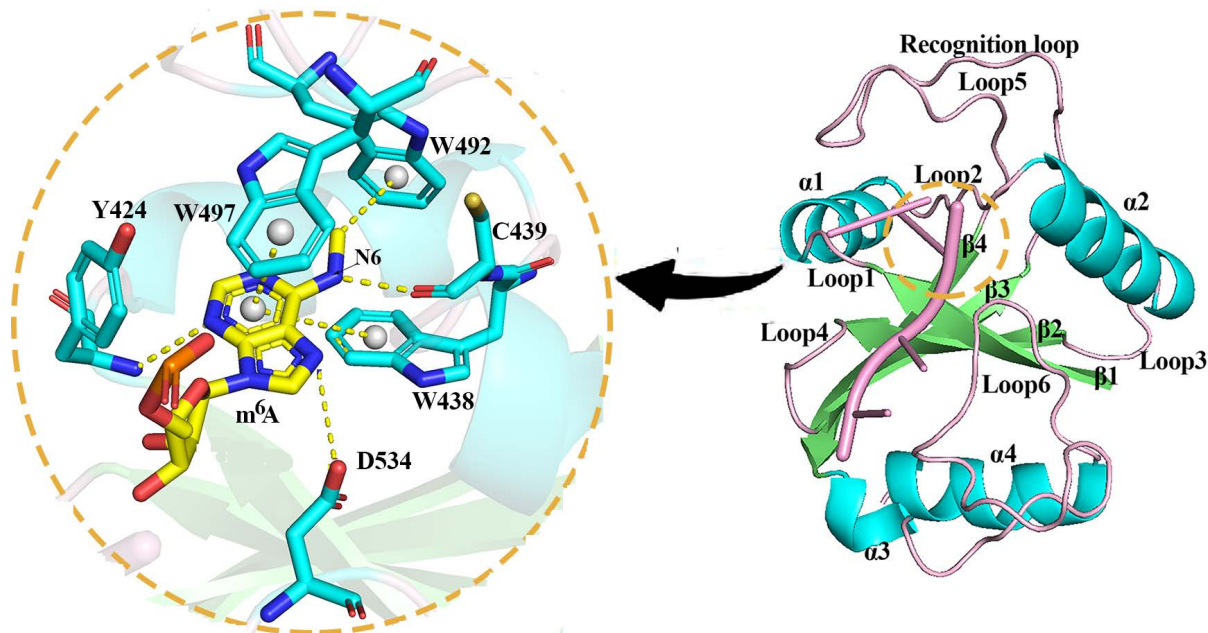


Figure 4. The diagram of interaction pattern (including H-bonds, π - π stacking and cation- π interactions) between residues in YTHDF3 and m^6A .

图 4. YTHDF3 的残基与 m^6A 的相互作用(包括氢键, π - π 堆积相互作用和阳离子- π 相互作用)模式图

倍或 100 倍以上,表明该残基对 YTH 蛋白结合 RNA 具有重要作用[23]。为了方便理解,将氨基酸残基-m⁶A 的相互作用进行细节显示,如图 4 所示。综上所述,可以知道 YTHDF3 的芳香笼残基 Trp438、Trp492 和 Trp497 在 YTHDF1-2 中保守存在,而在 YTHDC1-2 中,Trp497 可为亮氨酸。因此可以推断 YTHDF1-2 与 m⁶A 的相互作用同 YTHDF3 具有相似性,而对于 YTHDC1-2 与 m⁶A 的相互作用,则会略有区别。

另外,对于识别到的簇 3 和簇 7 分别位于 loop3 和 β 4 上,扰动簇 3 残基,会显著改变蛋白结构网络的信号传递,而且残基具有高柔性,因此我们认为簇 3 有利于进行构象转变并在结合 RNA 过程中起到传感的重要作用。对于簇 7,不仅在 RNA 结合后 RMSF 明显降低,而且在相关性分析中发现其与 β 2 和 β 3 具有强的正相关,所以我们认为该处的残基能够以分子内部相互作用的形式稳定复合物的结构。

4. 结论

YTHDF3 是一种 RNA 结合蛋白,能够特异性识别 m⁶A 修饰的 RNA 片段,在 mRNA 的翻译和降解中发挥着重要作用。首先,对 YTHDF3 单体和复合物分别进行了分子动力学模拟,发现甲基化的 RNA 结合能够使得 YTHDF3 的构象更加稳定,结构更为紧凑。计算复合物的运动相关性,发现甲基化的 RNA 主要与 YTHDF3 的 loop1、loop2、loop4、识别环和 loop6 具有一定的相关性,进而阐明这些 loop 区域对于甲基化 RNA 识别的重要性。最后基于加权的复杂网络,识别到了 YTHDF3 上与实验信息高度吻合的关键残基,另外所预测到的一些尚未被实验证实的关键位点可为未来实验提供重要信息。本工作有助于深入理解 YTHDF3 识别 m⁶A 修饰 RNA 的动力学机制,对于药物设计具有一定的指导意义。

基金项目

国家自然科学基金(31971180)资助项目。

参考文献

- [1] Liao, S., Sun, H. and Xu, C. (2018) YTH Domain: A Family of N⁶-methyladenosine (m⁶A) Readers. *Genomics Proteomics Bioinformatics*, **16**, 99-107. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.04.002>
- [2] Li, Y., Bedi, R.K., Moroz-Omori, E.V. and Caflisch, A. (2020) Structural and Dynamic Insights into Redundant Function of YTHDF Proteins. *Journal of Chemical Information and Modeling*, **60**, 5932-5935. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.0c01029>
- [3] Patil, D.P., Pickering, B.F. and Jaffrey, S.R. (2018) Reading m⁶A in the Transcriptome: m⁶A-Binding Proteins. *Trends in Cell Biology*, **28**, 113-127. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2017.10.001>
- [4] Ma, C., Liao, S. and Zhu, Z. (2019) Crystal Structure of Human YTHDC2 YTH Domain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **518**, 678-684. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.08.107>
- [5] Chang, G., Shi, L., Ye, Y., Shi, H., Zeng, L., Tiwary, S., et al. (2020) YTHDF3 Induces the Translation of m⁶A-Enriched Gene Transcripts to Promote Breast Cancer Brain Metastasis. *Cancer Cell*, **38**, 857-871.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.10.004>
- [6] Xu, C., Liu, K., Ahmed, H., Loppnau, P., Schapira, M. and Min, J. (2015) Structural Basis for the Discriminative Recognition of N6-Methyladenosine RNA by the Human YT521-B Homology Domain Family of Proteins. *Journal of Biological Chemistry*, **290**, 24902-24913. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.680389>
- [7] Wang, X., Lu, Z., Gomez, A., Hon, G.C., Yue, Y., Han, D., et al. (2014) N⁶-Methyladenosine-Dependent Regulation of Messenger RNA Stability. *Nature*, **505**, 117-120. <https://doi.org/10.1038/nature12730>
- [8] Li, Y., Bedi, R.K., Wiedmer, L., Sun, X., Huang, D. and Caflisch, A. (2021) Atomistic and Thermodynamic Analysis of N6-Methyladenosine (m⁶A) Recognition by the Reader Domain of YTHDC1. *Journal of Chemical Theory and Computation*, **17**, 1240-1249. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.0c01136>
- [9] Jorgensen, W.L., Chandrasekhar, J. and Madura, J.D. (1983) Comparison of Simple Potential Functions for Simulating Liquid Water. *The Journal of Chemical Physics*, **79**, 926-935. <https://doi.org/10.1063/1.445869>
- [10] Pronk, S., Páll, S., Schulz, R., Larsson, P., Bjelkmar, P., et al. (2013) GROMACS 4.5: A High-Throughput and Highly Parallel Open Source Molecular Simulation Toolkit. *Bioinformatics*, **29**, 845-854. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt055>

-
- [11] Huang, J. and MacKerell, A.J. (2013) CHARMM36 All-Atom Additive Protein Force Field: Validation Based on Comparison to NMR Data. *Journal of Computational Chemistry*, **34**, 2135-2145. <https://doi.org/10.1002/jcc.23354>
- [12] Xu, Y., Vanommeslaeghe, K., Aleksandrov, A., MacKerell, A.D., MacKerell, J. and Nilsson, L. (2016) Additive CHARMM Force Field for Naturally Occurring Modified Ribonucleotides. *Journal of Computational Chemistry*, **37**, 896-912. <https://doi.org/10.1002/jcc.24307>
- [13] Darden, T., York, D. and Pedersen, L. (1993) Particle Mesh Ewald: An Nlog(N) Method for Ewald Sums in Large Systems. *Journal of Chemical Physics*, **98**, 10089-10092. <https://doi.org/10.1063/1.464397>
- [14] Hess, B. (2008) P-LINCS: A Parallel Linear Constraint Solver for Molecular Simulation. *Journal of Chemical Theory and Computation*, **4**, 116-122. <https://doi.org/10.1021/ct700200b>
- [15] Shao, Q., Gong, W. and Li, C. (2020) A Study on Allosteric Communication in U1A-snRNA Binding Interactions: Network Analysis Combined with Molecular Dynamics Data. *Biophysical Chemistry*, **264**, Article ID: 106393. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2020.106393>
- [16] Krepl, M., Damberger, F.F., von Schroetter, C., Theler, D., Pokorná, P., Allain, F.H., *et al.* (2021) Recognition of N⁶-Methyladenosine by the YTHDC1 YTH Domain Studied by Molecular Dynamics and NMR Spectroscopy: The Role of Hydration. *The Journal of Physical Chemistry B*, **125**, 7691-7705. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.1c03541>
- [17] Luo, S. and Tong, L. (2014) Molecular Basis for the Recognition of Methylated Adenines in RNA by the Eukaryotic YTH Domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **111**, 13834-13839. <https://doi.org/10.1073/pnas.1412742111>
- [18] Shi, R., Ying, S., Li, Y., Zhu, L., Wang, X. and Jin, H. (2021) Linking the YTH Domain to Cancer: The Importance of YTH Family Proteins in Epigenetics. *Cell Death & Disease*, **12**, Article No. 346. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-03625-8>
- [19] Zhang, Z., Theler, D., Kaminska, K.H., Hiller, M., de la Grange, P., Pudimat, R., *et al.* (2010) The YTH Domain Is a Novel RNA Binding Domain. *Journal of Biological Chemistry*, **285**, 14701-14710. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.104711>
- [20] Govindaraju, G., Kadumuri, R.V., Sethumadhavan, D.V., Jabeena, C.A., Chavali, S. and Rajavelu, A. (2020) N⁶-Adenosine Methylation on mRNA Is Recognized by YTH2 Domain Protein of Human Malaria Parasite *Plasmodium falciparum*. *Epigenetics & Chromatin*, **13**, Article No. 33. <https://doi.org/10.1186/s13072-020-00355-7>
- [21] Xu, C., Wang, X., Liu, K., Roundtree, I.A., Tempel, W., Li, Y., *et al.* (2014) Structural Basis for Selective Binding of m⁶A RNA by the YTHDC1 YTH Domain. *Nature Chemical Biology*, **10**, 927-929. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1654>
- [22] Xu, C., Wang, X., Liu, K., *et al.* (2014) Structural Basis for Selective Binding of m⁶A RNA by the YTHDC1 YTH Domain. *Nature Chemical Biology*, **10**, 927-929. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1654>
- [23] Luo, S. and Tong, L. (2014) Molecular Basis for the Recognition of Methylated Adenines in RNA by the Eukaryotic YTH Domain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, **111**, 13834-13839. <https://doi.org/10.1073/pnas.1412742111>