

文章编号：1004-0374(2013)01-0001-07

· 基金动态 ·

mRNA翻译水平调控参与果蝇生殖干细胞 不对称分裂的机制研究

夏来新*, 陈大华*

(中国科学院动物研究所, 计划生育生殖生物学国家重点实验室, 北京 100101)

摘要：生殖干细胞是唯一能够将遗传物质传给下一代的成体干细胞。果蝇的雌性生殖干细胞是一个非常成熟的用来研究干细胞自身不对称分裂的系统，来自微环境的信号控制其增殖和分化。果蝇的生殖干细胞受到转录水平、转录后水平、mRNA翻译水平和蛋白质水平的精确调控，多年来的研究表明很多翻译相关的RNA结合蛋白的突变都会导致果蝇的生殖干细胞提前分化或者不分化。综述了mRNA翻译水平调控与果蝇生殖干细胞命运决定的关系，特别是该领域近年来的一些重大进展，并讨论了翻译水平调控参与果蝇生殖干细胞命运决定的可能具体分子机制。

关键词：生殖干细胞；翻译水平调控；不对称分离；果蝇

中图分类号：Q132.1 **文献标志码**：A

Translational control in *Drosophila* female germline stem cell asymmetric division

XIA Lai-Xin*, CHEN Da-Hua*

(State Key Laboratory of Reproductive Biology, Institute of Zoology,
Chinese Academy of Science, Beijing 100101, China)

Abstract: Germline stem cells have the sole character of transmitting their genetic information to the next generation. *Drosophila* female germline stem cells are a very powerful and sophisticated system to study stem cell asymmetric division behavior, which is controlled by the niche signal. These stem cells are regulated at many different levels including transcriptional level, post-transcriptional level, translational level and protein level. The study from the last two decades shows that many RNA binding proteins mutants in *Drosophila* have either germline stem cell loss or over-proliferation phenotypes. Here, this review tried to summarize the relationship between translational control and germline stem cell fate determination, especially focused on recent progresses in the field. And we also discuss the probable molecular detailed mechanisms involved in the process.

Key words: germline stem cell; translation control; asymmetric division; *Drosophila*

人体含有 200 多种类型的细胞，它们以多种方式组合在一起，形成各种不同的组织与器官，产生各种不同的生理功能。然而这些细胞又是从哪里来的，从什么时候产生的呢？研究表明，在多细胞的后生动物体内存在干细胞，干细胞是生物体内少数处于无限增殖、未分化或低分化状态并具有多种或一种分化潜能的细胞群。干细胞直接参与组织的更新，能以不对称分裂的方式产生分化的功能子细胞

和其自身^[1]。

繁殖是生命的本能，为了在交配期能够源源不断地产生配子，生殖系统中通常存在干细胞。由于

收稿日期：2012-06-29

基金项目：国家自然科学基金重点项目(30630042, 30825026)

*通信作者：E-mail: xialx@izo.ac.cn; chendh@izo.ac.cn

果蝇作为遗传发育研究模式物种的优势条件,果蝇雌性生殖干细胞是一个目前研究的比较清楚的生殖干细胞系统^[2-6]。雌果蝇含有一对卵巢,每个卵巢又由大约16个独立的卵巢管构成。在每个卵巢管的前末端有一个称为germarium的结构,在germarium的顶部含有2~3个干细胞。前端的末端细胞(terminal filament, TF)和帽细胞(cap cell, Cpc)构成干细胞生存的微环境(niche)。微环境通过分泌BMP配体来控制干细胞的自我维持和更新。干细胞通过不对称分裂产生分化的子细胞(cystblast),随后分化的子细胞经过四轮的四分裂,形成一个16细胞的合胞体,该合胞体中心的一个细胞最终会被选择成为卵母细胞,完成减数分裂,成为成熟的配子(图1)。

来自niche的BMP(Dpp、Gbb)信号分子通过抑制分化因子Bam在干细胞中的表达,来维持干细胞的不对称分裂^[7-10]。在干细胞中,BMP结合到I型受体Tkv和II型受体Punt上,活化的Tkv磷酸化R-SMAD(Mad),磷酸化的Mad与Medea一起形成复合物,然后该复合物进入细胞核,结合到bam silencer上,结果导致了bam的转录被抑制。而在分化的子细胞中,因为BMP信号强度减弱,bam的转录被激活,结果分化因子Bam大量表达,从而引导子细胞分化,最终形成配子^[11-12]。

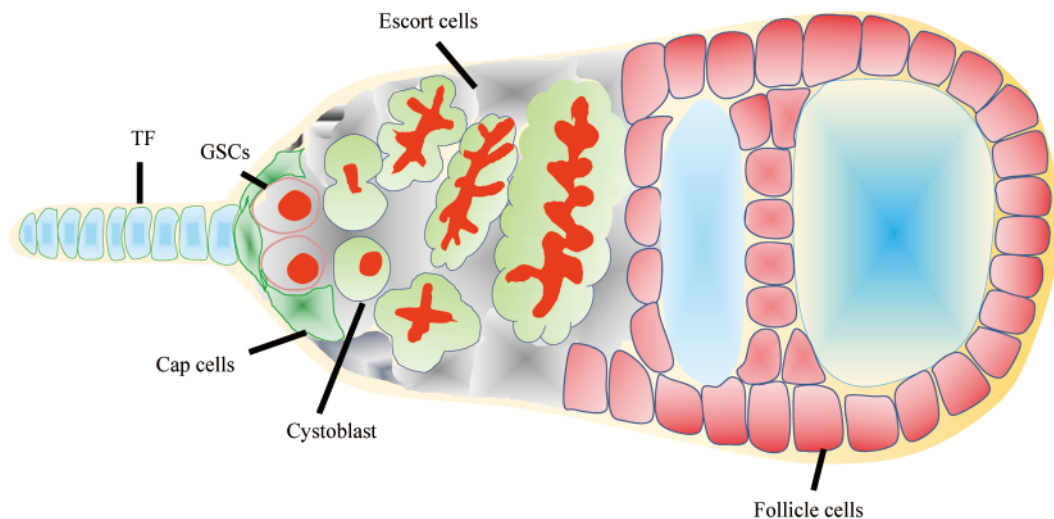
除了BMP/Dpp信号分子参与果蝇雌性生殖干细胞的自我维持和更新外,还有很多其他的因子也参与了这一过程。其中一大类参与了mRNA翻译

水平调控的基因和信号通路备受瞩目,它们是microRNA信号通路、Nos/Pum复合体、Bam/Bgcn复合体以及与Mei-P26/Brat相关的信号通路。翻译水平的调控有利于在更精细的时空点和细胞发育的特定阶段控制基因的表达,进而决定细胞的行为。本文将对这些翻译水平调控决定果蝇生殖干细胞的维持和分化的分子机制做一总结。

1 microRNAs (miRNAs)信号通路参与了果蝇生殖干细胞的维持与分化

miRNAs是一类小分子非编码RNA,其前体通过Dicer蛋白的剪切,最终形成能够被Argonaute(Ago)结合的双链RNA,长度一般是18~25个碱基。最终通过碱基配对靶向互补的mRNA序列,抑制靶mRNA翻译起始或延伸,从而产生翻译水平的沉默^[13-14]。

果蝇中参与miRNA途径的重要成员Dicer1、Loquacious(Loqs)、Ago1等蛋白均已被分离鉴定,并且都以内源的方式参与了果蝇雌性生殖干细胞的维持与分化^[15-17]。Loqs是一个RNA双链结合蛋白,是TRBP蛋白在果蝇中的同源物,其主要生化功能是将miRNAs的前体pre-miRNAs剪切加工成成熟的miRNAs。已有报道表明,Loqs突变体的雌性果蝇繁殖能力降低,进一步检查发现生成配子的雌性生殖干细胞减少,甚至完全丢失。不同来源的Loqs突变体都有类似的表型,这进一步排除了遗传背景的可能,表明的是由于Loqs的突变引起了生殖



不同的细胞类型对应不同的形状或颜色。TF和Cap cells构成生殖干细胞生存的微环境,它们分泌Dpp维持生殖干细胞的自我更新。

图1 果蝇germarium的结构示意图

干细胞自我维持和更新的缺陷^[16]。本课题组使用基因打靶技术,获得了编码区完全缺失的突变体,该突变体的果蝇是致死的。使用 FLP/FRT 体细胞重组技术,获得 Loqs 在干细胞中特异性缺失的干细胞克隆。随着时间的推移,对照野生型的干细胞克隆仍然存在,而 Loqs 突变体的干细胞克隆却迅速消失。这表明 Loqs 是作为干细胞的一个内源因子参与了其维持和更新。

Dicer1 也是一个进化中高度保守的 RNA 双链结合蛋白,它是将 miRNAs 的前体 pre-miRNAs 剪切加工成成熟的 miRNAs 的核心内切酶。缺失了 Dicer1 的果蝇,其雌性生殖干细胞也会出现自我维持和更新的缺陷,不过它的突变体的干细胞克隆相比 Loqs 突变体的干细胞克隆丢失得慢一些。这可能是由于突变体并没有完全缺失功能,或者是由于 Dicer2 可能会部分弥补 Dicer1 的功能。因此 Dicer1 也是作为一个关键的内源因子参与了果蝇生殖干细胞的自我维持和更新。

Ago1 是 RISC (RNA-induced silencing complex) 复合物中的关键酶组分^[13],它包含两个关键的结构域: PIWI 和 PAZ。PAZ 结构域识别 miRNA 3' 端的两个突出碱基,而 PIWI 结构域则指导 miRNA 识别靶 mRNA,然后进一步造成翻译的沉默。使用干细胞克隆技术表明,缺失了 Ago1 的雌性生殖干细胞不能自我维持和更新^[17]。而在生殖细胞中超表达 Ago1 则会引起干细胞增多的表型,这进一步表明了 Ago1 在维持干细胞命运决定中的关键作用^[17]。尽管从 miRNA 的生成到发挥功能的重要核心蛋白都对果蝇生殖干细胞的维持与分化有重要作用,但是相关的功能性的 miRNA 却还有待鉴定。

miRNA 途径不仅以内源的方式直接参与了干细胞的增殖与更新,而且还以外源的方式在微环境中发挥作用,通过微环境间接控制干细胞的命运^[18-19]。dFMR1 是人类脆性 X 染色体综合征致病基因在果蝇中的同源物,是一个 RNA 结合蛋白,而且与 miRNA 的核心组分 Ago1 存在物理上的相互作用^[20]。通过 dFMR1 的突变体和内源的干细胞克隆分析表明:尽管 dFMR1 的突变体有干细胞丢失的表型,但是其内源的干细胞克隆却能正常自我更新和维持,这表明 dFMR1 主要是通过外源途径来影响干细胞的命运^[19]。进一步以 dFMR1 为诱饵,纯化与其相互作用的小分子 RNA,结果发现一个小分子 bantam 能够和 dFMR1 发生相互作用。深入的表型分析表明, bantam 的突变体也有类似 dFMR1 突变

体的表型即干细胞缓慢丢失。同时该表型不能被干细胞中表达 bantam 所挽救,这说明 bantam 也是在微环境中发挥功能来维持生殖干细胞的功能。而且 bantam 和 dFMR1 存在剂量上的遗传相互作用,这进一步表明 dFMR1 和 bantam 共同存在于微环境细胞中,作为一个复合体来调控生殖干细胞的维持与更新。

2 Nos/Pum复合体参与果蝇生殖干细胞的维持与分化

Nanos(Nos) 是一个进化上保守的,含锌指结构的 RNA 结合蛋白^[21]。在果蝇的受精卵中 Nanos 的 mRNA 定位于受精卵的后端,沿着前后轴的方向形成了蛋白的浓度梯度,该浓度梯度决定了果蝇后部的模式形成^[22]。同时亦有证据表明 Nanos 和 Pumilio (Pum) 位于一共同的复合体中,通过抑制转录因子 hunchback 的翻译,从而维持后部的发育^[22]。因为 Nos/Pum 在果蝇的雌性生殖干细胞中也有表达,所以检查了 Nos 和 Pum 的突变体在生殖干细胞中的表型。结果发现缺失了 Nos 或 Pum 蛋白,雌性生殖干细胞的自我维持和更新机制就被破坏,造成干细胞的普遍丢失^[23]。有趣的是 Nos 突变体和 Pum 突变体的表型还不完全一样, Nos 突变体首先出现的是后端分化细胞的减少,然后再逐渐扩展到前端的干细胞丢失。而 Pum 突变体则相反,首先从前端的干细胞开始丢失,慢慢地引起整个生殖细胞系的枯竭。这可能是由于不同的突变体的性质引起的,但更可能是在生殖干细胞中 Nos 和 Pum 除了作为一个复合体发挥功能外,还有自己独特的功能,然而这些都有待证实^[23]。更详细的细胞克隆分析则表明, Nos 主要是作为一个翻译抑制因子在干细胞和原始生殖细胞中抑制干细胞的分化,从而使得干细胞的干性得以维持,然而其具体的靶 mRNA 仍然有待鉴定^[24]。

为了确定 Nos 和 Pum 在调控干细胞维持和分化网络中的节点位置,进一步分析了 Pum 和已知的干细胞命运调控因子 Bam 与 Piwi 间的遗传相互作用^[25-26]。发现 Pum 和 Bam 的双突变体仍然表现干细胞丢失的表型,这说明 Pum 通过一条平行的不依赖 Bam 的信号通路来发挥作用,而且在干细胞中 Pum 的主要功能是抑制分化因子的翻译,而在分化的祖细胞中 Bam 则主要是促进这些分化因子的翻译^[25]。

另外,近来还发现 Pum 可以抑制促分化因子

Brat mRNA 在干细胞中的表达。因为 Pum 只在前端的干细胞中高表达, 所以 Brat 在干细胞中的表达缺失, 而在分化细胞中的表达增高, 因而促进了干细胞的不对称分裂^[27]。

3 Bam/Bgcn 复合物参与了果蝇生殖干细胞的维持与分化

Bam 是果蝇雌性生殖干细胞系统中控制分化的主基因, 当生殖细胞中缺乏 Bam 的时候, 生殖干细胞就完全不能分化, 结果形成巨大的生殖系肿瘤^[28]; 而当在干细胞中异位表达 Bam, 则会造成干细胞快速的丢失^[29]。Bgcn 是一个 RNA 解旋酶, 含 ATP 依赖的 DEAH 结构域, Bgcn 的突变体含有类似 Bam 突变体的表型, 即巨大的生殖系肿瘤, 而且在 Bgcn 突变体的背景下, Bam 异位表达的表型也会消失, 这表明 Bgcn 位于 Bam 的下游, 或者和 Bam 处于同一个复合物中。进一步的分析表明 Bgcn 和 Bam 还存在剂量上敏感的遗传相互作用^[30], 同时免疫共沉淀实验也表明, Bgcn 和 Bam 的确处在同一物理复合物中^[31]。尽管 *bam* 基因控制着干细胞的分化, 但是 Bam 蛋白的生化功能却一直未能确定, 最近, 刚鉴定出 *nanos* 的 mRNA 可能是 Bam 的靶标^[31]。在野生型的卵巢管中, Nanos 和 Bam 的表达呈完全互补的模式, Bam 的表达局限于从分化的祖细胞到 8 细胞的胚囊这一阶段; 而 Nanos 正好相反, 它只表达于最前端的干细胞和后面分化的 16 细胞的胚囊。而在 *bam* 突变体的背景下, Nanos 的表达却扩展到所有的生殖细胞, 这强烈的暗示 Nanos 位于 Bam 的下游, 其表达受控于 Bam。同时还发现, Nanos 的 3' 端非翻译区前 100 bp 控制其表达模式, 将这 100 bp 的调控区删除后, Nanos 在卵巢管中的表达就扩展到所有的生殖细胞, 不再受控于 Bam 的表达^[31]。

非常有趣的是, Bam 编码基因自身的转录亦受控于其所处的微环境。2003 年, 陈大华首先成功地从 *bam* 启动子包括 5' 非翻译区中筛选到 18 bp 的 *bam* 沉默子, 该沉默子包含转录因子 Mad 和 Medea 的结合位点。而 Mad 和 Medea 则是果蝇中 BMP/Dpp 信号通路的核心效应因子, 这样 Bam 沉默子就可以响应来自微环境的 Dpp 信号强度, 造成 Bam 在干细胞中的沉默, 祖细胞中的激活^[7, 9, 32]。这项关于干细胞与其微环境相互作用的经典工作已经被写入 J.D. Watson 主编的分子生物学教材《基因的分生物学》(第 6 版)。

4 Trim-NHL 蛋白参与果蝇生殖干细胞的维持与分化

Trim-NHL 蛋白包含一个 RING 结构域(有时无), 一个 B-box 结构域, 一个 coiled-coil 结构域(统称 Trim 结构域)和一个 C 端的 NHL 结构域^[33]。Trim-NHL 蛋白从线虫到果蝇到人都高度保守, 广泛参与了 RNA 代谢的调控^[33-35]。果蝇含有两个 Trim-NHL 蛋白 Brat 和 Mei-P26, 结构上基本相同, 除了 Mei-P26 比 Brat 多一个 RING 结构域^[33]。Brat 和 Mei-P26 都参与了果蝇雌性生殖干细胞的维持和分化^[27, 35-36]。

Brat 突变体的卵巢管含有过多的干细胞, 通常野生型的卵巢管仅有 2~3 个 p-MAD 染色阳性的细胞, 而在 Brat 突变体中, 却含有 5~6 个 p-MAD 染色阳性的干细胞, 超表达 Brat 则会引起干细胞的丢失。这表明 Brat 参与了干细胞的分化。同时检查 Dpp 信号在干细胞中的报告基因 Dad-lacZ, 发现 Dad-lacZ 的表达也有上调。结合 p-MAD 表达的增强, 这暗示 Brat 可能是通过下调 Dpp 信号强度来促进干细胞的不对称分裂。进一步分析 Brat 的靶基因, 发现 Brat 作为一个翻译抑制因子通过 Mad 的 3' 非翻译区抑制 Mad mRNA 的翻译表达^[27]。

Mei-P26 是果蝇中的另外一个 Trim-NHL 蛋白, 它含有 RING 结构域。一般含 RING 结构域的蛋白是典型的 E3 泛素连接酶, Mei-P26 在哺乳动物中的同源物 Trim32 已被证明含 E3 泛素连接酶活性, 而且其连接酶活性是神经元分化所必需的^[34, 37]。已证明 Mei-P26 与 RISC 复合物中的关键酶组分 Ago1 存在物理上的相互作用, 抑制 microRNA 的生成。Mei-P26 的突变体表现出卵巢 microRNA 总量减少, 同时呈现生殖细胞肿瘤的表型, 并且不能被异位表达 Bam 所抑制, 这表明 Mei-P26 位于 Bam 的下游^[35]。

Mei-P26 的细胞克隆分析表明, 缺失了 Mei-P26 的干细胞克隆不能自我维持, 会很快分化, 这表明 Mei-P26 具有维持干细胞的功能^[36]。进一步的分析表明, 促分化因子 Orb mRNA 的 3' 端非翻译区包含 Mei-P26 的结合位点, Mei-P26 可以抑制 Orb 的 mRNA 表达。Mei-P26 的突变体干细胞不能自我维持, 同时分化的祖细胞亦不能正常分化, 这样祖细胞就会大量扩增, 结果就会表现出生殖细胞肿瘤的表型。这表明 Mei-P26 在干细胞和分化的祖细胞中具有完全不同的类似于双向分子开关的功能, 然而其在祖细胞中的靶分子仍然有待确定^[36]。

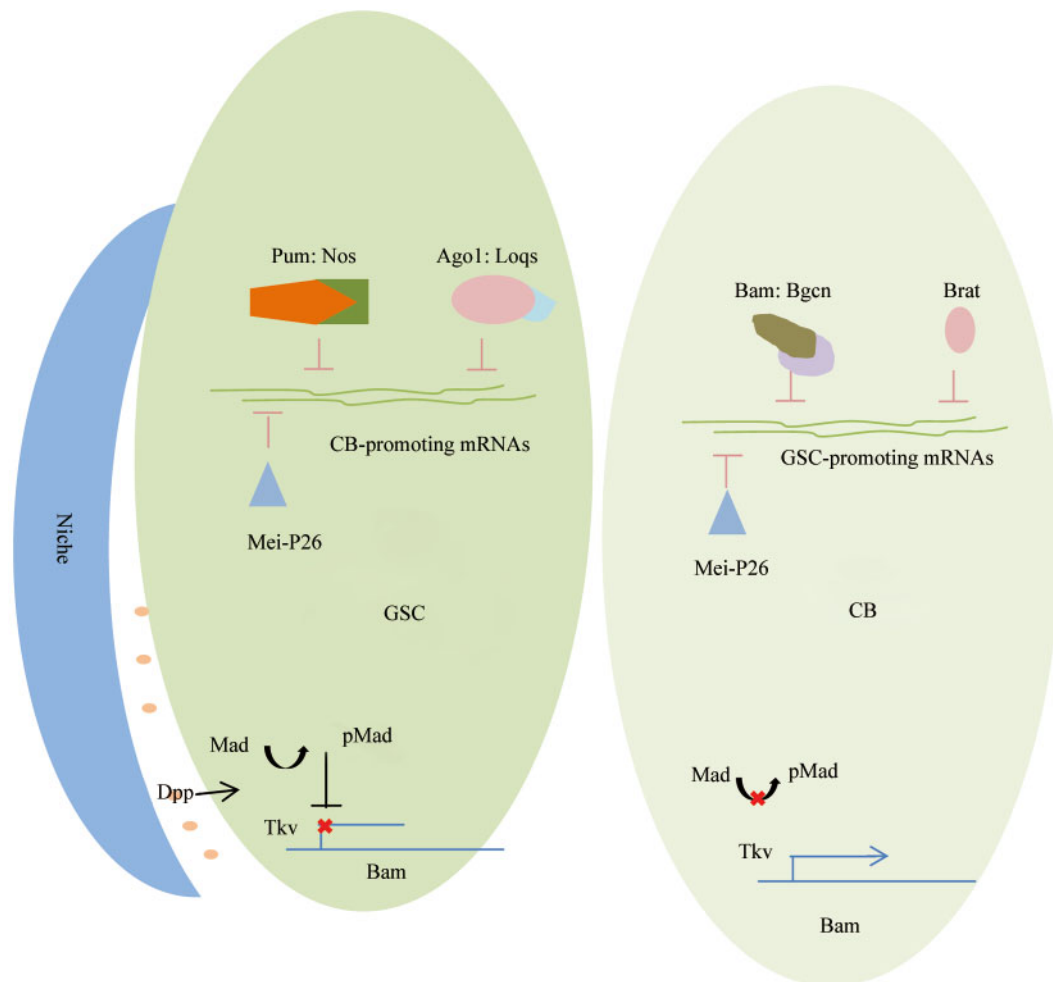
5 讨论和展望

遗传学和生物化学一直是现代分子生物学的两大支柱, 前者的主要研究对象是遗传物质脱氧核糖核酸 DNA, 而生物化学的传统则一直是研究蛋白质、酶等的化学和结构性质。作为遗传信息从 DNA 到蛋白质的中间体 RNA, 其相关的研究相对要滞后一些, 然而最近 30 年从 RNA 的剪接到 microRNA 的发现, 都表明 RNA 水平的调控对生命的维持和进化起着非常重要的作用^[38-39]。

干细胞是成体内少数可以保持长期增殖的细胞群, 其自身的增殖与分化受到内源和外源各种因素的综合调控。与干细胞命运决定相关基因的表达, 在转录、转录后、翻译和蛋白质水平受到精确严密

的控制^[10-11]。而 mRNA 翻译水平的调控在果蝇生殖干细胞的不对称分裂行为中发挥着非常重要的作用。从目前揭示的情况来看, microRNAs (miRNAs) 信号通路、Nos/Pum 复合体、Bam/Bgcn 复合物和 Trim-NHL 蛋白是相对独立地在干细胞或分化的祖细胞中发挥功能, 而且它们的主要靶点都集中于 mRNA 的 3' 端非翻译区, 对靶 mRNA 的翻译起负调控作用 (图 2)。

真核生物 mRNA 翻译水平的调控存在如下几个调控点: (1) 模板 RNA 的稳定性; (2) 翻译起始的调控; (3) 翻译延伸的调控^[40-41]。目前的证据表明, 这三个主要的调控点在干细胞 mRNA 的调控中都发挥着重要的作用。然而具体机制却揭示的很少,



生殖干细胞GSC中主要存在Pum:Nos复合物、miRNA信号通路和Mei-P26相关的复合物, 它们通过抑制分化相关mRNA表达来控制干细胞的自我维持和更新。而在祖细胞CB中存在Bam:Bgcn复合物、Brat相关的复合物和Mei-P26相关的复合物, 它们通过抑制干细胞维持相关mRNA的表达来促进祖细胞的分化。同时分化相关的关键分子Bam的表达受控于微环境Niche的Dpp信号, 因而形成了一个从蛋白质水平的信号转导到转录到翻译调控的复杂环路。注意Mei-P26作为一个双向的开关分子在干细胞和祖细胞中发挥相反的功能。

图2 RNA代谢相关的复合物和信号通路控制果蝇生殖干细胞的不对称分裂

这一方面是由于生殖细胞的研究缺乏简化的体外研究系统,另一方面是由于分析 mRNA 翻译水平的调控缺乏稳健的阅读体系。所以前期的遗传筛选虽然揭示了很多 mRNA 代谢相关的基因参与了果蝇生殖干细胞的增殖和分化,但是仍有待于新的强有力的工具来解释细节与机制。

面临的另外一个主要挑战就是,这些翻译调控通路或复合物所调控的靶 mRNA 仍然有待确定。目前免疫共沉淀分离复合物结合的 RNA,然后施行高通量测序鉴定靶 RNA 已是非常成熟的技术。但是在果蝇的雌性生殖干细胞系统中鉴定出来的靶 RNA 还是非常的少,这可能有两个原因:首先是材料比较难富集,因而实际有效的靶 RNA 浓度非常低,造成信噪比高,难以鉴定;另外一个原因可能是,这些复合物与其靶 RNA 的结合只是一个暂时的过程,可能是某个酶学转换过程的一环节,因而降低了免疫共沉淀的效率。因此,直接分析 mRNA 的结构、修饰状态和稳定性(特别是在体内)显得尤为重要而紧迫。

最后,这么多的蛋白复合物在 mRNA 水平调控其翻译,它们之间又有怎样的关联?它们是否有协同性或者拮抗性?在其他的干细胞系统是否也存在如此丰富的 mRNA 水平调控?干细胞使用这种调控方式,有何优点?在进化上又有什么深刻的原因?干细胞中 mRNA 翻译水平的调控存在一个非常复杂的立体网络有待我们去发现,去理解。这不仅对干细胞生物学和再生医学有非常重要的意义,而且会极大地增进我们对 RNA 代谢和调控的认识。

[参 考 文 献]

- [1] Spradling A, Drummond-Barbosa D, Kai T. Stem cells find their niche. *Nature*, 2001, 414(6859): 98-104
- [2] Resende LP, Jones DL. Local signaling within stem cell niches: insights from *Drosophila*. *Curr Opin Cell Biol*, 2012, 24(2): 225-31
- [3] Li L, Xie T. Stem cell niche: structure and function. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2005, 21: 605-31
- [4] Yamashita YM, Fuller MT. Asymmetric stem cell division and function of the niche in the *Drosophila* male germline. *Int J Hematol*, 2005, 82(5): 377-80
- [5] Decotto E, Spradling AC. The *Drosophila* ovarian and testis stem cell niches: similar somatic stem cells and signals. *Dev Cell*, 2005, 9(4): 501-10
- [6] King FJ, Szakmary A, Cox DN, et al. Yb modulates the divisions of both germline and somatic stem cells through piwi- and hh-mediated mechanisms in the *Drosophila* ovary. *Mol Cell*, 2001, 7(3): 497-508
- [7] Chen D, McKearin D. Dpp signaling silences bam transcription directly to establish asymmetric divisions of germline stem cells. *Curr Biol*, 2003, 13(20): 1786-91
- [8] Chen D, McKearin DM. A discrete transcriptional silencer in the bam gene determines asymmetric division of the *Drosophila* germline stem cell. *Development*, 2003, 130(6): 1159-70
- [9] Song X, Wong MD, Kawase E, et al. Bmp signals from niche cells directly repress transcription of a differentiation-promoting gene, bag of marbles, in germline stem cells in the *Drosophila* ovary. *Development*, 2004, 131(6): 1353-64
- [10] Losick VP, Morris LX, Fox DT, et al. *Drosophila* stem cell niches: a decade of discovery suggests a unified view of stem cell regulation. *Dev Cell*, 2011, 21(1): 159-71
- [11] Xia L, Jia S, Huang S, et al. The Fused/Smurf complex controls the fate of *Drosophila* germline stem cells by generating a gradient BMP response. *Cell*, 2010, 143(6): 978-90
- [12] Guo Z, Wang Z. The glypican Dally is required in the niche for the maintenance of germline stem cells and short-range BMP signaling in the *Drosophila* ovary. *Development*, 2009, 136(21): 3627-35
- [13] Liu Q, Paroo Z. Biochemical principles of small RNA pathways. *Annu Rev Biochem*, 2010, 79: 295-319
- [14] Gangaraju VK, Lin H. MicroRNAs: key regulators of stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10(2): 116-25
- [15] Jin Z, Xie T. Dcr-1 maintains *Drosophila* ovarian stem cells. *Curr Biol*, 2007, 17(6): 539-44
- [16] Park JK, Liu X, Strauss TJ, et al. The miRNA pathway intrinsically controls self-renewal of *Drosophila* germline stem cells. *Curr Biol*, 2007, 17(6): 533-8
- [17] Yang L, Chen D, Duan R, et al. Argonaute 1 regulates the fate of germline stem cells in *Drosophila*. *Development*, 2007, 134(23): 4265-72
- [18] Yang Y, Xu S, Xia L, et al. The *bantam* microRNA is associated with *Drosophila* fragile X mental retardation protein and regulates the fate of germline stem cells. *PLoS Genet*, 2009, 5(4): e1000444
- [19] Yang L, Duan R, Chen D, et al. Fragile X mental retardation protein modulates the fate of germline stem cells in *Drosophila*. *Hum Mol Genet*, 2007, 16(15): 1814-20
- [20] Zarnescu DC, Shan G, Warren ST, et al. Come FLY with us: toward understanding fragile X syndrome. *Genes Brain Behav*, 2005, 4(6): 385-92
- [21] Sada A, Suzuki A, Suzuki H, et al. The RNA-binding protein NANOS2 is required to maintain murine spermatogonial stem cells. *Science*, 2009, 325(5946): 1394-8
- [22] Struhl G, Johnston P, Lawrence PA. Control of *Drosophila* body pattern by the hunchback morphogen gradient. *Cell*, 1992, 69(2): 237-49
- [23] Forbes A, Lehmann R. Nanos and Pumilio have critical roles in the development and function of *Drosophila* germline stem cells. *Development*, 1998, 125(4): 679-90

- [24] Wang Z, Lin H. Nanos maintains germline stem cell self-renewal by preventing differentiation. *Science*, 2004, 303(5666): 2016-9
- [25] Chen D, McKearin D. Gene circuitry controlling a stem cell niche. *Curr Biol*, 2005, 15(2): 179-84
- [26] Szakmary A, Cox DN, Wang Z, et al. Regulatory relationship among piwi, pumilio, and bag-of-marbles in *Drosophila* germline stem cell self-renewal and differentiation. *Curr Biol*, 2005, 15(2): 171-8
- [27] Harris RE, Pargett M, Sutcliffe C, et al. Brat promotes stem cell differentiation via control of a bistable switch that restricts BMP signaling. *Dev Cell*, 2011, 20(1): 72-83
- [28] McKearin DM, Spradling AC. *bag-of-marbles*: a *Drosophila* gene required to initiate both male and female gametogenesis. *Genes Dev*, 1990, 4(12B): 2242-51
- [29] Ohlstein B, McKearin D. Ectopic expression of the *Drosophila* Bam protein eliminates oogenic germline stem cells. *Development*, 1997, 124(18): 3651-62
- [30] Ohlstein B, Lavoie CA, Vef O, et al. The *Drosophila* cystoblast differentiation factor, benign gonial cell neoplasm, is related to DExH-box proteins and interacts genetically with bag-of-marbles. *Genetics*, 2000, 155(4): 1809-19
- [31] Li Y, Minor NT, Park JK, et al. Bam and Bgcn antagonize Nanos-dependent germline stem cell maintenance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(23): 9304-9
- [32] Chen D. A discrete transcriptional silencer in the *bam* gene determines asymmetric division of the *Drosophila* germline stem cell. *Development*, 2003, 130(6): 1159-1170
- [33] Wulczyn FG, Cuevas E, Franzoni E, et al. MiRNA need a TRIM regulation of miRNA activity by Trim-NHL proteins. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 700: 85-105
- [34] Schwamborn JC, Berezikov E, Knoblich JA. The TRIM-NHL protein TRIM32 activates microRNAs and prevents self-renewal in mouse neural progenitors. *Cell*, 2009, 136(5): 913-25
- [35] Neumuller RA, Betschinger J, Fischer A, et al. Mei-P26 regulates microRNAs and cell growth in the *Drosophila* ovarian stem cell lineage. *Nature*, 2008, 454(7201): 241-5
- [36] Li Y, Maines JZ, Tastan OY, et al. Mei-P26 regulates the maintenance of ovarian germline stem cells by promoting BMP signaling. *Development*, 2012, 139(9): 1547-56
- [37] Loedige I, Filipowicz W. TRIM-NHL proteins take on miRNA regulation. *Cell*, 2009, 136(5): 818-20
- [38] Cruz JA, Westhof E. The dynamic landscapes of RNA architecture. *Cell*, 2009, 136(4): 604-9
- [39] Sonenberg N, Hinnebusch AG. Regulation of translation initiation in eukaryotes: mechanisms and biological targets. *Cell*, 2009, 136(4): 731-45
- [40] Besse F, Ephrussi A. Translational control of localized mRNAs: restricting protein synthesis in space and time. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(12): 971-80
- [41] Huntzinger E, Izaurralde E. Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(2): 99-110