

综述

高等植物线粒体内 RNA 编辑的研究进展

易 平¹ 黄靖宇² 刘 义¹ 朱英国^{2, *}

(¹ 武汉大学化学与分子科学学院; ² 武汉大学植物发育生物学教育部重点实验室, 湖北武汉 430072)

摘 要 RNA 编辑普遍存在于高等植物线粒体中, 是线粒体产生功能蛋白所必不可少的步骤。本文概述了高等植物线粒体 RNA 编辑的研究进展。

关键词 线粒体; RNA 编辑; 细胞质雄性不育

中图分类号: Q75

Research Progress of RNA Editing in Higher Plant Mitochondria

YI Ping¹, HUANG Jing-Yu², LIU Yi¹, ZHU Ying-Guo^{2, *}

(¹ College of Chemistry and Molecular Science, ² The Key Laboratory of MOE for Plant Developmental Biology, Wuhan University, Wuhan 430072 Hubei, China)

Abstract RNA editing is a process in which the genetic information of a gene transcript is changed during or after transcription. As a result, the nucleotide sequences of transcripts are different from those encoded in genome. RNA editing exists extensively in higher plant mitochondria, and affects predominantly protein-coding regions. The amino acids are usually altered because of the editing action generally in the first or second position of codon. There are more than 1 000 RNA editing sites in plant mitochondria. RNA editing has been a required step for forming functional proteins in higher plant mitochondria.

Key words Mitochondria; RNA editing; Cytoplasmic male sterility

在过去的 40 多年中,随着分子生物学向纵深发展,人们对中心法则的修改和补充一直持续不断,最近一次挑战来自 RNA 编辑现象的发现。转录后的 RNA 编辑改变了特定转录本的编码能力,并产生多态性的基因表达产物,这使得通过线粒体 DNA 序列直接预测氨基酸序列成为历史。

1 RNA 编辑的发现与类型

RNA 编辑是指由 RNA 水平的核苷酸改变所引起的密码子发生变化的一种预定修饰,它使转录产物的核苷酸序列不能忠实地反映模板 DNA 的一级序列。RNA 编辑首先是在四膜虫的线粒体中发现的,四膜虫 *cox2* 基因转录本中存在着 4 个非 DNA 编码的 U 残基^[1]。此后在多种高等植物线粒体内也

发现了 RNA 编辑的现象^[2]。截止目前,已在所有陆生植物和 3 种苔藓植物线粒体中检测到了 RNA 编辑^[3,4]。

RNA 编辑是线粒体基因转录本成熟化的过程之一,依据其特性分为二种,一种是插入或缺失编辑,即碱基加入到或从转录本中移走,这种方式主要存在于四膜虫线粒体中;第二种是替代(修饰)编辑,即一种碱基转变成另外一种^[5]。在高等植物中 RNA 编辑的方式普遍是 C-U 的转变,该方式是通过基因组编码的 C 残基进行脱氨基来完成的,胞嘧啶脱氨基酶的同源基因已在线粒体基因组中发现^[6]。

2 RNA 编辑改变遗传信息

高等植物线粒体 RNA 编辑优先作用于蛋白质

*基金项目:国家 973 项目(2001CB108806)。

作者简介:易平(1974-),女,四川人,博士后,主要从事水稻细胞质雄性不育的分子机理研究。E-mail: ypever@sina.com

*通讯作者:朱英国,男,教授,博士生导师,主要从事植物发育遗传学和植物雄性不育及育性恢复的分子机理等方面的研究。

Tel: 027-87876530, E-mail: zhuyg@public.whu.hb.cn

Received (收稿日期): 2003-01-06, Accepted (接受日期): 2003-12-28.

基因的编码区,且主要发生在密码子的第一和第二位点上,所以常常导致编码的氨基酸种类发生变化^[7]。RNA 编辑的发现合理解释了线粒体中存在的与标准密码使用规律不一致的现象。CGG 在标准密码中编码精氨酸,但在线粒体中则成为色氨酸的密码子,这是借助 G-U 的 RNA 编辑造成 CGG 在 RNA 水平转变为 UGG 的结果^[2]。叶绿体中大约有 21~31 个编辑位点^[8],而月见草线粒体中的编辑位点估计超过 1 000 个^[9]。拟南芥线粒体中已知有 456 个编辑位点,且均为 G-U 的编辑,其中 441 个位于蛋白质编码区,其余 15 个位于非编码区,包括内含子和 5'、3' 非翻译区^[10]。

目前已知在高等植物线粒体中除 *Tuf13* 不编辑外,几乎所有的编码蛋白质的基因的转录本都受到编辑,但不同基因转录本的编辑程度不同。有的基因(如 *atpA*)只有 4 个编辑位点,仅导致 0.4% 的氨基酸改变^[11],而 *nad3* 基因却有 21 个编辑位点,改变了 15% 的氨基酸^[12]。此外,同一基因在不同物种中的编辑位点也不相同,比较 DNA 序列后发现,部分编辑位点的消失是由于 C 残基已在 DNA 水平转变成了 T 残基^[13]。高等植物线粒体中的 RNA 编辑不只局限于蛋白质编码区,还作用于转录本的 5' 和 3' 非翻译区、内含子、tRNA 和 rRNA 基因的转录本,但一般情况下,蛋白质编码区的编辑位点远远多于非编码区的。RNA 编辑已经成为线粒体基因产生功能蛋白所必需的加工步骤,同时也成为细胞核调控线粒体基因表达的重要方式之一^[14]。

3 RNA 编辑引起基因表达产物的多态性

高等植物线粒体中的转录本因其编辑程度的差异可分为完全编辑、部分编辑和未编辑的转录本 3 类。多数情况下,部分编辑的转录本占有较大比重。矮牵牛 *atp6* 基因转录本中,部分编辑的丰度值远高于完全编辑的,但利用质谱表达仪对纯化的 ATP6 进行分析,结果表明仅存在一种完全编辑转录本的终产物^[15]。由于带有内含子的转录本也可以与核糖体结合,所以推测植物线粒体的翻译装置似乎对转录本没有选择性,利用蛋白质选择性降解或许可解释仅存一种 ATP6 的现象^[15]。与之相反,在玉米和矮牵牛线粒体中均检测到了 *rps12* 基因编辑与部分编辑转录本的终产物。只是玉米中的部分编辑产物 RPS12 不能组装入核糖体^[17],其功能显然有别于完全编辑的 RPS12。矮牵牛中所有类型转录本的终产物均可以参与核糖体的组装,但这样组装后的核糖体功能是否发生变化尚不清楚^[18]。由此可见,

RNA 编辑导致单一基因表达产物出现多态性,但这些多态性产物是否最终发挥功能还有待进一步证实。

4 编辑位点专一性的决定因素

四膜虫线粒体中“guide”RNA (gRNA) 在识别编辑位点中的作用已被证实,GRNA (45~70 nt) 可作为确定编辑位点的模板,通过碱基配对与目标区域结合^[19]。高等植物中还未检测到这种 RNA 分子的存在^[20]。对大量已知的线粒体基因编辑位点的两侧序列进行比较后,没有得到预想中的统一的保守序列,且 RNA 的二级结构似乎也与位点识别的关系不大^[21]。结果仅发现一些位点选择的偏好性,其所编辑的 C 残基的前一个碱基一般不会是嘌呤类的,尤其不会是 G;一些密码子,如丝氨酸和脯氨酸的密码子较其他类的更易受到编辑^[22]。

高等植物线粒体基因组中频繁的重组常常导致相同 DNA 序列的重复,这些处于不同遗传背景下的同源 DNA 序列为研究编辑位点专一性的决定因素提供了机会。这些同源序列上的原有编辑位点绝大多数保持正常的编辑状态,只有少数编辑位点因 5' 旁侧序列的改变而成为“沉默”的编辑位点^[23]。重组和重排引起转录本序列的改变会影响编辑位点的识别,若保持编辑位点周围的初级序列,处于嵌合状态的 DNA 序列上的编辑位点仍可编辑,这表明紧邻编辑位点的上游序列对位点的专一性识别意义重大^[14]。

5 RNA 编辑的生物学意义

绝大多数 RNA 编辑会导致氨基酸类型的变化,通过氨基酸序列同源性比较分析证实了 RNA 编辑能够提高编码的蛋白产物在不同物种间氨基酸序列的保守性^[2,16]。RNA 编辑可以通过产生终止密码而缩短原始转录本的大小,一般情况下,缩短的转录本仍然具有活性^[15]。RNA 编辑还可以引入新的起始密码子,如将 ACG 转变为 AUG 即为小麦 *nad1* 和西红柿 *cox1* 基因的转录本创造了新的起始密码子^[24]。此外,蛋白质编码区的编辑一定程度上还能提高转录本的稳定性和编码蛋白的疏水性^[10,25]。

以上是 RNA 编辑作用于蛋白质编码区后产生的几种不同的效应,而 RNA 编辑对 tRNA 基因和内含子的影响则往往与二级结构有关。*tRNA^{phe}* 基因的转录本第 4 位置的 C 发生编辑转变为 U,校正了 A₆₉-C₄ 的错配,形成正确的二级结构,大大提高了 tRNA 的加工效率^[26]。此外,内含子与外显子交接

处的编辑程度直接影响正确二级结构的形成和内含子的有效剪切^[27]。

6 RNA 编辑与细胞质雄性不育

细胞质雄性不育 (Cytoplasmic Male Sterility, CMS) 普遍存在于高等植物中,是受细胞核与细胞质遗传物质双重控制的一种母性遗传性状。国内外大量的研究表明,线粒体基因组分子内或分子间频繁重组所形成的异常嵌合基因是 CMS 产生的分子基础。

A3-CMS 高粱不育系线粒体中存在着一个由 *atp9* 基因 5'非编码区和部分编码序列以及一段未知来源的序列组成的嵌合基因——*orf107*。*orf107* 上有 4 个位于 *atp9* 基因同源区的编辑位点。不育系中,位点 1 完全编辑,位点 2 接近不编辑,位点 3 和 4 的编辑频率分别为 80 %和 60 %^[28]。CMS 高粱有 *rf3* 和 *rf4* 两个恢复基因。*rf3* 的存在不影响第一和第二个编辑位点的编辑频率,但位点 3 和 4 则出现较大变动,分别由原来的 80 %和 60 %降至 40 %和 10 %。而由 *rf3* 增强加工活性的加工位点恰巧位于第 4 编辑位点下游第 79 碱基处,推测位点 3 和 4 的编辑能提高由 *rf3* 介导的加工效率^[28,29]。此外 CMS 高粱线粒体中的 *atp6* 基因的编辑程度还表现出花药专一性的降低,且不具有 *rf4* 基因的核背景均不能恢复 *atp6* 基因的正常编辑。 F_2 代分离群体中,*atp6* 基因的编辑程度与花粉活力之间存在一致性,推测二者之间有着某种联系^[30]。

orf79 是 BT 型水稻 CMS 相关基因,位于 *atp6* 基因的下流,并与之共转录,产生出一个 2.0 kb 的转录本。*orf79* 上游的 *atp6* 基因 3'末端存在 9 个编辑位点,这 9 个位点在不育系和育性恢复系中保持一致,但不育系中各位点的编辑程度低于育性恢复系中的。推测恢复基因增强转录本的加工活性的同时,间接提高了转录本的编辑频率,即正确加工的转录本趋向于完全编辑,而未加工的则较少编辑^[31]。

小麦的一个不育系与正常品系相比,*atp9* 基因编辑不完全,且存在多种新的编辑方式。恢复基因的引入能使 *atp9* 的编辑恢复正常。此后利用转基因技术将未编辑的 *atp9* 基因转入烟草,出现了 CMS 植株,直接证实了 RNA 编辑与 CMS 的相关性^[32]。

References

- [1] Benne R, Van den Burg J, Brakenhoff J P, Sloof P, Van Boom J H, Triomp M C. Major transcript of the frame shifted *cox2* gene from *Trypanosoma mitochondria* contains four nucleotides that are not encoded in the DNA. *Cell*, 1986, **46**:819 - 826
- [2] Hiesel R, Wissinger B, Schuster W, Brennicke A. RNA editing in plant mitochondria. *Science*, 1989, **246**:1 632 - 1 634
- [3] Hiesel R, Comgettes B, Brennicke A. Evidence for RNA editing in mitochondria of all major groups of land plants except the bryophyta. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, **91**: 629 - 633
- [4] Malek O, Lattig K, Hiesel R, Brennicke A, Knoop V. RNA editing in bryophytes and a molecular phylogeny of land plants. *EMBO J*, 1996, **15**:1 403 - 1 411
- [5] Cattaneo R. Different types of messenger RNA editing. *Annu Rev Genet*, 1991, **25**:71 - 88
- [6] Yu W, Schuster W. Evidence for a site specific cytidine deamination reaction involved in C to U RNA editing of plant mitochondria. *J Biol Chem*, 1995, **270**: 18 227 - 18 233
- [7] Gray M W. The endosymbiont hypothesis revisited. *Int Rev Cytol*, 1992, **141**: 233 - 257
- [8] Corneille S, Lutz K, Maliga P. Conservation of RNA editing between rice and maize plastids: are most editing events dispensable? *Mol Gen Genet*, 2000, **264**: 419 - 424
- [9] Schuster W, Brennicke A. The plant mitochondrial genome: physical structure, information content, RNA editing, and gene migration to the nucleus. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1994, **45**: 61 - 78
- [10] Gege P, Brennicke A. RNA editing in Arabidopsis mitochondria effects 441 C to U changes on ORFs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 15 324 - 15 329
- [11] Schuster W, Termes R, Knoop V, Hiesel R, Wissinger B, Brennicke A. Distribution of RNA editing sites in *Oenothera* mitochondrial mRNAs and rRNA. *Curr Genet*, 1991, **20**: 397 - 404
- [12] Gosskopt D, Mulligan R M. Developmental and tissue-specificity of RNA editing in mitochondria of suspension-cultured maize cells and seedlings. *Curr Genet*, 1996, **29**: 556 - 563
- [13] Wingz H, Hanson M R. A termination codon is created by RNA editing in the petunia mitochondrial *atp9* gene transcript. *Curr Genet*, 1991, **19**:61 - 64
- [14] Mulligan R M, Williams M A, Schanahan M T. RNA editing site recognition in higher plant mitochondria. *The Journal of Heredity*, 1999, **90**:338 - 344
- [15] Lu B, Hanson M R. A single homogeneous form of ATP6 protein accumulates in petunia mitochondria despite the presence of differentially edited *atp6* transcripts. *Plant Cell*, 1994, **6**: 1 955 - 1 968
- [16] Williams M A, Tallakson W A, Phreaner C G, Mulligan R M. Editing and translation of ribosomal protein S13 transcripts: unedited translation products are not detectable in maize mitochondria. *Curr Genet*, 1998, **34**: 221 - 226
- [17] Phreaner C G, Williams M A, Mulligan R M. Incomplete editing of *rps12* transcripts results in the synthesis of polymorphic polypeptides in plant mitochondria. *Plant Cell*, 1996, **8**:107 - 117
- [18] Lu B, Wilson R K, Phreaner C G, Mulligan R M, Hanson M R. Protein polymorphism generated by differential RNA editing of a plant mitochondrial *rps12* gene. *Mol Cell Biol*, 1996, **16**:1 543 - 1 549
- [19] Allen T E, Heidmann S, Reed R, Myler P J, Ulrich Göttinger H, Stuart K D. Association of guide RNA binding protein gBP21 with active RNA editing complexes in *Trypanosoma brucei*. *Mol Cell Biol*, 1998, **18**: 6 014 - 6 022
- [20] Bock R, Maliga P. In vivo testing of a tobacco plastid DNA segment for

- guide RNA function in psbL editing. *Mol Gen Genet*, 1995, **247**: 439 - 443
- [21] Wissinger B, Brennicke A, Schuster W. Regenerating good sense-RNA editing and trans-splicing in plant mitochondria. *Trends Genet*, 1992, **8**:322 - 328
- [22] Gray M W, Covello P S. RNA editing in plant mitochondria and chloroplast. *FASEB J*, 1993, **7**: 64 - 71
- [23] Williams M A, Kutcher B M, Mulligna R M. Editing site recognition in plant mitochondria: the importance of 5' flanking sequences. *Plant Mol Biol*, 1998, **36**:229 - 237
- [24] Kadowaki K, Ozawa K, Kazama S, Kubo N, Akihama J. Creation of an initiation codon by RNA editing in the *cox1* transcript from tomato mitochondria. *Curr Genet*, 1995, **28**:415 - 422
- [25] Wilson R K, Hanson M R. Preferential RNA editing at specific sites within transcripts of two plant mitochondrial gene does not depend on transcriptional content or nuclear-genome. *Curr Genet*, 1996, **30**: 502 - 508
- [26] Marchfelder A, Brennicke A, Binder S. RNA editing is required for efficient excision of *tRNA^{phe}* from precursors in plant mitochondria. *J Biol Chem*, 1996, **271**:1 898 - 1 903
- [27] Yonemoto S K, Handa H. Low temperature affects the processing pattern and RNA editing status of the mitochondrial *cox2* transcripts. *Curr Genet*, 2001, **40**:203 - 208
- [28] Pring D R, Chen W, Tang H V, Howad W, Kempken F. Interaction of mitochondrial RNA editing and nucleolytic processing in the restoration of male fertility in sorghum. *Curr Genet*, 1998, **33**:429 - 436
- [29] Pring D R, Tang H V, Howad W, Kempken F. A unique two-gene gametophytic male sterility system in sorghum involving a possible role of RNA editing in fertility restoration. *The Journal of Heredity*, 1999, **90**:386 - 393
- [30] Howad W, Tang H V, Pring D R, Kempken F. Nuclear genes from Tx CMS maintainer lines are unable to maintain *atp6* RNA editing in any anther cell-type in the sorghum bicolor A3 cytoplasm. *Curr Genet*, 1999, **36**: 62 - 68
- [31] Iwabuchi M, Kjozuka J, Shimamoto L. Processing followed by complete editing of an altered mitochondrial *atp6* RNA restores fertility of cytoplasm male sterile rice. *EMBO J*, 1993, **12**: 1 437 - 1 346
- [32] Hernould M, Suharson S, Zabaleta E, Carde J P, Litvak S, Araya A, Mouras A. Impairment of tapetum and mitochondria in engineered male-sterile tobacco plants. *Plant Mol Biol*, 1998, **36**:499 - 508