

· 综述 ·

DOI: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2018.07.04

PPR 蛋白调控植物细胞器 RNA 加工的分子功能

李秀兰^{1), 2)}, 姜曰水¹⁾*

(¹⁾曲阜师范大学生命科学学院, 山东 曲阜 273165; (²⁾山东大学生命科学学院, 济南 250100)

摘要 35 肽重复 (pentatricopeptide repeat, PPR) 蛋白是 2000 年发现的一类由多个重复单位串联而成的核编码蛋白质。PPR 蛋白广泛存在于真核生物中, 在陆生植物中尤为普遍。PPR 蛋白大多定位于线粒体或叶绿体。多项研究表明, PPR 蛋白为序列特异性 RNA 结合蛋白质, 在细胞器 RNA 编辑、剪接、稳定、切割及翻译等转录后加工过程发挥重要作用。PPR 蛋白功能缺陷会导致植物生长发育异常, 甚至胚胎致死。本文主要就 PPR 蛋白功能及作用机制进行综述, 并对尚待解决的问题及研究前景加以探讨, 以期为 PPR 蛋白的深入研究提供思路。

关键词 PPR 蛋白; 叶绿体; 线粒体; RNA 加工

中图分类号 Q7

The Roles of PPR Proteins on Plant Organelle RNA Processing

LI Xiu-Lan^{1), 2)}, JIANG Yue-Shui¹⁾*

(¹⁾ College of Life Sciences, Qufu Normal University, Qufu 273165, Shandong, China;

²⁾ College of Life Sciences, Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract Pentatricopeptide repeat (PPR) proteins, which were identified in 2000 are nucleus coding proteins that compose of multiple tandem repeats. PPR proteins are widely found in eukaryotes and particularly prevalent in terrestrial plants. Most of them target to mitochondria or chloroplasts where they participate in post-transcriptional processes including RNA editing, splicing, stability, cleavage and translation by binding to specific RNA sequences. Functional defects of PPR proteins will lead to abnormal growth of plants, even death of embryo lethal. This review summarizes the function and molecular mechanism of PPR proteins, and discusses the challenge and prospects of PPR research, which will provide clues for further understanding of the roles of PPR proteins.

Key words pentatricopeptide repeat (PPR) protein; chloroplast; mitochondrion; RNA processing

35 肽重复 (pentatricopeptide repeat, PPR) 基因是 2000 年 Small 和 Peeters^[1] 对拟南芥基因组进行序列分析时发现的一类新的基因家族。PPR 蛋白与 34 肽重复 (tetratricopeptide repeat, TPR) 蛋白家族成员类似, 是由多个重复单位串联而成的一类核编码蛋白质, 因每个重复单位约含有 35 个氨基酸残基而被命名。多数 PPR 蛋白的 N 末端含有定位信号序列, 除拟南芥的 PPR 蛋白 1 (PPR protein localized to the nucleus and mitochondria 1, PNM1) 双定位于细胞核和线粒体^[2], 富含谷氨酰胺蛋白 23 (glutamine-rich protein 23, GRP23)^[3] 定位于细胞核外, 迄今所报道的 PPR 蛋白都定位于线粒体或叶绿体^[4]。越来越多的正反向遗传学和体内外结合实验证实, PPR 蛋白为序列特异性 RNA 结合蛋白, 主

要参与线粒体或叶绿体 RNA 的转录后加工过程, 包括 RNA 编辑、RNA 剪接、RNA 稳定和 RNA 成熟等。PPR 蛋白功能的缺失通常会引起线粒体或叶绿体功

收稿日期: 2017-12-15; 修回日期: 2018-02-01; 接受日期: 2018-03-04

山东省高等学校科技计划项目 (No. J16LE09); 曲阜师范大学博士启动基金 (No. BSQD20152493) 资助

* 通讯作者 Tel: 18266780390; E-mail: jewelseeker@163.com

Received: December 15, 2017; Revised: February 1, 2018; Accepted: March 4, 2018

Supported by Shandong Province Higher Educational Science and Technology Program (No. J16LE09) and Qufu Normal University Doctoral Fund Project (No. BSQD20152493).

* Corresponding author Tel: 18266780390; E-mail: jewelseeker@163.com

能缺陷,进而导致植物生长发育异常,甚至细胞质雄性不育或胚胎致死^[5]。

1 PPR 蛋白的分布与进化

PPR 基因存在于所有真核生物中,在陆生植物中尤为普遍,多数物种含有 400 个以上成员,卷柏基因组中 PPR 基因的数目达 1 000 多个^[4,6]。其他真核生物中,PPR 基因一般少于 30 个,如衣藻和绿藻基因组含有 12 个 PPR 基因^[7],果蝇和人类基因组分别包含 2 个和 6 个 PPR 基因^[4]。除真核生物外,在少数细菌基因组中也发现了 PPR 基因,这些细菌为真核生物的病原菌或内共生体,推测它们的 PPR 基因可能是通过水平转移从真核宿主中获得的^[8]。

尽管 PPR 蛋白与 TPR 蛋白高度相似,但 TPR 蛋白广泛存在于原核生物和真核生物中。这暗示 PPR 蛋白可能是由 TPR 蛋白演变而来的。关于 PPR 蛋白的进化,认为它可能出现在真核生物进化的早期,甚至随第 1 个真核生物的出现而出现。对 PPR 基因的扩增,一种推测认为,与逆转座相关,如高等植物的多数 PPR 基因无内含子^[6],而小粒碗藓 75% 以上的 PPR 基因含有内含子,且它们与高等植物中有内含子的 PPR 基因高度同源^[9];另一种推测认为,PPR 基因家族成员的增加与基因组复制有关。被子植物进化过程中基因组的复制使得 PPR 基因被大量复制,造成基因数目增加^[10]。TPR 基因与 PPR 基因的存在方式相似,但它的数目并未随被子植物的进化而明显增加,推测可能在陆生植物中存在某种调控 PPR 基因复制的机制。此外,不同物种间的同源 PPR 基因功能保守,如玉米 PPR 蛋白 6 (maize PPR6, MPPR6) 可互补拟南芥同源蛋白功能缺陷的突变表型^[11],并且部分 PPR 蛋白的出现及进化与高等植物细胞器 RNA 编辑密切相关^[12]。因此,认为 PPR 基因可能以独立于核基因组复制的方式完成数量的增加,至于其调控机制尚待研究。

2 PPR 蛋白的结构与类型

PPR 蛋白重复单位的个数为 2 ~ 30 不等,每个重复单位称为 1 个 PPR 基序。PPR 蛋白的晶体结构解析发现,每个 PPR 基序折叠成一对由短环(loop)相连的反向平行 α 螺旋,即螺旋-环-螺旋(helix-loop-helix)结构,PPR 蛋白的多个串联基序进一步螺旋化形成右手超螺旋结构^[13]。

不同 PPR 基序间存在长度及序列差异^[2],根据所包含氨基酸残基数目的不同,PPR 基序可分成 P

(pentatricopeptide) 基序、L (long) 基序和 S (short) 基序。P 基序含有 35 个氨基酸残基,L 基序含有 35 或 36 个氨基酸残基,S 基序含有 31 个氨基酸残基。根据所包含基序及 C 末端氨基酸序列特征的不同,将 PPR 蛋白分为 P 和 PLS 两大类。P 类 PPR 蛋白只包含 P 基序,PLS 类 PPR 蛋白除含有 P 基序外,还包含 L 基序和 S 基序,且这 3 类基序以 P-L-S 次序排列。PLS 类 PPR 蛋白的 C 末端通常含有保守的 E (extended) 和 DYW (末端含有高度保守的 3 个氨基酸 Asp-Tyr-Trp) 结构域。根据这一特征,又将 PLS 类 PPR 蛋白分成 PLS、E 和 DYW 亚类^[4]。PLS 亚类只包含 P、L、S 基序,E 亚类的 C 末端包含 E 结构域,DYW 亚类的 C 末端除 E 结构域,还有 DYW 结构域。少数 P 类 PPR 蛋白的 C 末端也包含额外的特征序列,如小 MutS 相关 (small MutS-related, SMR) 结构域^[14],LAGLIDADG (His-Cys box and GIY-YIG, H-N-H) 结构域^[15] 和 RNA 识别结构域 (RNA recognition motif, RRM)^[16] 等。

3 PPR 蛋白的功能

不同类型的 PPR 蛋白功能上存在差异。PLS 类 PPR 蛋白主要参与细胞器 RNA 的编辑,而 P 类 PPR 蛋白可参与剪接、稳定、成熟等多种 RNA 加工过程^[5] (Fig. 1)。

3.1 C 到 U 的 RNA 编辑

植物细胞器中,最常见的 RNA 编辑方式是胞嘧啶(C)到尿嘧啶(U)的替换。如拟南芥叶绿体中有 43 个 C 到 U 的编辑位点^[17],线粒体中多达 600 多个^[18]。RNA 编辑常发生在基因的编码区,极少发生在内含子和非编码区^[19]。RNA 编辑的完成常常维持一个保守的氨基酸密码子^[20],有时也会产生一个起始密码子或终止密码子^[21]。因此,RNA 编辑在细胞器基因表达中起重要作用,编辑缺陷将破坏基因表达蛋白质的功能。植物细胞器 C 到 U 的编辑是由 RNA 和蛋白因子组成的编辑复合体完成的,PPR 蛋白被认为是编辑复合体的主要蛋白因子之一^[5]。叶绿体光呼吸减弱因子 4 (chlororespiratory reduction 4, CRR4) 是第一个被证实参与叶绿体 RNA 编辑的 PPR 蛋白^[21]。随后多个参与植物细胞器 RNA 编辑的 PPR 蛋白被依次发现。除 P 类编辑调节 PPR 蛋白 (P-type PPR-modulating editing, PPME)^[22] 和 PPR596^[23] 属于 P 类 PPR 蛋白,其余参与植物细胞器 RNA 编辑的 PPR 蛋白都属于 E 或 DYW 亚类^[5]。

RNA 编辑中,PPR 蛋白按照每个基序的第 5 和 35 位氨基酸共同决定识别一个核苷酸的原则^[24],与编辑位点上游的 RNA 序列识别结合。编辑位点的特异性通过最后一个基序识别编辑位点上游第 4 个核苷酸来保证。C 到 U 的编辑是 C 在胞嘧啶脱氨酶的作用下,脱去氨基生成 U。PPR 蛋白的 DYW 结构域含有胞嘧啶脱氨酶的高度保守序列 ChxE(x)PCxxC,且 DYW 亚类 PPR 蛋白与植物细胞器 C 到 U 的编辑在进化上高度一致^[12]。因此,普遍认为 DYW 结构域具有胞嘧啶脱氨酶活性。然而,该结构域的脱氨酶活性至今尚未获得证实。反而发现 CRR22、CRR28 及细胞器转录加工因子 82(organelle transcript processing 82, OTP82)的 DYW 结构域,对某些位点编辑并不是必需的,被删除后依然能够互补编辑缺陷表型^[25, 26]。相比, CRR22、CRR28 及 CRR21 的 E 结构域对 RNA 编辑是必需的,且 CRR22 和 CRR28 E 结构域的互换并不影响彼此的 RNA 编辑功能,推测 PPR 蛋白的 E 结构域可能负责招募编辑酶^[27]。

E 亚类 PPR 蛋白 CRR4 和 DYW 亚类 PPR 蛋白 DYW1 对 *ndhD-1* 的编辑是必需的, *crr4* 和 *dyw1* 具有相同的突变表型。DYW1 仅含有 DYW 结构域, CRR4 可特异性地识别 *ndhD-1* 编辑位点。CRR4-DYW1 融合蛋白能互补双突变的表型,表明 DYW 结构域可与 E 亚类 PPR 蛋白互作,共同参与 RNA 编辑^[28]。同样, DYW 亚类 PPR 蛋白拟南芥叶绿体早期生物发生因子 2(*arabidopsis early chloroplast biogenesis 2*, ATECB2)和 *accD* RNA 编辑必需因子 1(required for *accD* RNA editing 1, RARE1),共同负责 *accD* 的编辑^[29]。RARE1 为 *accD* 编辑位点的识别因子,推测两个 DYW 亚类 PPR 蛋白形成异源二聚体参与 *accD* 的编辑。因此,关于 DYW 亚类 PPR 蛋白参与细胞器 RNA 编辑的机制,认为它通过形成同源二聚体,与其他 DYW 亚类或 E 亚类 PPR 蛋白形成异源二聚体,在 RNA 编辑中发挥功能。

3.2 II 类内含子的剪接

高等植物细胞器中,几乎所有的内含子都属于 II 类内含子,如开花植物叶绿体和线粒体基因组中都含有 20 多个 II 类内含子,而 I 类内含子仅有 1 个^[30]。这些 II 类内含子通常位于保守结构基因内部,它们的精准剪接对细胞器基因的正常表达及功能实施起关键作用。II 类内含子属于自我剪接内含子,原核生物 II 类内含子的自我剪接由内含子编码的成熟酶完成。高等植物细胞器编码成熟酶的开放

阅读框(open reading frame, ORF)发生丢失或结构变异^[31]。开花植物的线粒体和叶绿体基因组中仅存在 1 个编码成熟酶的 ORF, *mat-r* 和 *trnK*。*mat-r* 编码线粒体的成熟酶 MatR(maturase related),它结构严重缺陷,自剪接能力完全丧失。*trnK* 编码的叶绿体的成熟酶 MatK(maturase K)缺乏 II 类内含子移动所必需的结构域,只可参与少数叶绿体内含子的剪接^[32]。因此,高等植物线粒体和叶绿体 II 类内含子的剪接需要核编码蛋白因子辅助完成。近年的研究表明,PPR 蛋白是参与这一过程的主要核编码蛋白因子之一。目前,已报道多个参与高等植物细胞器 II 类内含子剪接的 PPR 蛋白^[5],这些 PPR 蛋白,除 OTP70^[33] 和小粒蕨藓 PPR 蛋白 43(*Physcomitrella patens* PPR43, Pp_PPR43)^[34] 属于 PLS 类外,其余均属于 P 类。

植物细胞器 II 类内含子的剪接与核剪接体内含子类似,都以复合体的方式完成剪接。如叶绿体 *psaA* 内含子的剪接至少需要 14 个蛋白质参与^[35],线粒体 *nad2* 第 1 个内含子的剪接至少需要 6 个蛋白质参与^[30]。尽管 PPR 蛋白对植物细胞器 II 类内含子的剪接是必需的,但其作用机制仍知之甚少。PPR4 的免疫共沉淀显示,它可特异性地结合玉米叶绿体 *rps12* 的第 1 个内含子,推测它的结合有助于内含子形成利于其剪接的构象,从而促进剪接^[16]。蛋白印记预测和体外 RNA 结合实验发现,胚缺陷因子 2654(*embryo defective 2654*, EMB2654)与拟南芥叶绿体 *rps12* 第 1 个内含子的前半部分结合,形成对内含子末端起保护作用的结构,最终促进内含子的剪接^[36]。PPR5 的 RNA 结合位点位于玉米叶绿体 *trnG* 内含子的外显子结合位点,推测它的结合阻碍 RNA 形成发夹结构^[37]。总之,认为 PPR 蛋白可能通过促进内含子折叠或阻碍发夹结构产生,形成利于剪接的内含子构象,从而提高 II 类内含子的剪接效率。

3.3 RNA 的稳定与成熟

叶绿体中, P 类 PPR 蛋白的主要功能是增强 RNA 转录本的稳定性,促进转录本末端的成熟。陆生植物中,已报道有多个参与叶绿体 RNA 稳定及成熟的 PPR 蛋白^[5]。PPR 蛋白可结合在 RNA 转录本的 5' 或 3' 末端,阻碍 5'-3' 或 3'-5' 核酸外切酶对 RNA 的降解,增强 RNA 的稳定性,界定成熟转录本的 5' 或 3' 末端。PPR 蛋白也可结合在多顺反子 ORF 的间隔序列,保证多顺反子不同 ORF 的正确加工,促进 RNA 的成熟。如 PPR10 与 *atp1-atpH*、*psaJ*-

*rpl33*基因间约 18 个核苷酸结合,阻碍 5'或 3'方向核酸外切酶的活性^[38]。对大麦、水稻和拟南芥的叶绿体基因组进行分析,发现有约 40 个 PPR 蛋白的 RNA 结合位点^[39]。这些位点大多位于 RNA 的 5'或 3'端,距末端约 20 个核苷酸,推测 PPR 蛋白可能像原核生物的发夹结构一样保护 RNA。此外,PPR 蛋白也会阻碍核酸内切酶对 RNA 的消化,如 PPR5 与 *trnG* 内含子的结合,使其在叶绿体中免受核酸内切酶的降解^[37]。

虽然植物线粒体中也存在大量 P 类 PPR 蛋白,但目前仅发现 2 个参与线粒体 RNA 转录本 3'末端的成熟^[40, 41]。对转录本 5'末端成熟及稳定发挥功能的 PPR 蛋白尚未见报道。并且蛋白印记分析,也未发现定位于转录本 5'末端的小 RNA,推测线粒体 RNA 转录本 5'末端可能以不同于叶绿体的方式进行加工。

3.4 RNA 的切割

与保护功能相反的是,PPR 蛋白可促进 RNA 的切割。植物线粒体中,育性恢复 (restorers of fertility, RF) 类 PPR 蛋白 RNA 加工因子 (RNA processing factor, RPF) 1 ~ 3 参与几个 RNA 转录本

5'端的切割^[5]。RPF5 和 RPF7 不属于 RF 类 PPR 蛋白,RPF7 参与 *nad2* 5'末端的切割^[42]。RPF5 主要参与 *nad6* 和 26S rRNA 5'端的加工^[43]。*nad 6* 和 26S rRNA 前体的 5'端序列 (相对于成熟 RNA 的-50-+9 区)高度同源,并且包含 RPF5 的预测 RNA 结合位点^[24]。据此推测,这些 PPR 蛋白可能与目标 RNA 结合后,招募核酸内切酶到特异切割位点发挥功能。虽然叶绿体中也存在 RF 类 PPR 蛋白,但尚未证明它们与 RNA 切割相关,仅发现几个 C 末端含有 DYW 结构域,或 SMR 结构域的 PPR 蛋白参与 RNA 前体的切割^[44, 45]。SMR 结构域的 RNA 内切酶活性已被证实^[46],而 DYW 结构域的 RNA 内切酶活性尚待确定。

3.5 RNA 的翻译

除上述功能外,P 类 PPR 蛋白还促进或抑制特异 mRNA 的翻译。PPR10、质子梯度调节子 3 (proton gradient regulation 3, PCR3)、ATP4 和叶绿体 RNA 加工因子 1 (chloroplast RNA processing 1, CRP1)促进叶绿体 mRNA 的翻译。这些蛋白质可与 mRNA 的 5' UTR 识别结合^[5],如 CRP1 对叶绿体 *petA* 和 *psaC* 的翻译起始是必需的,突变体中目标

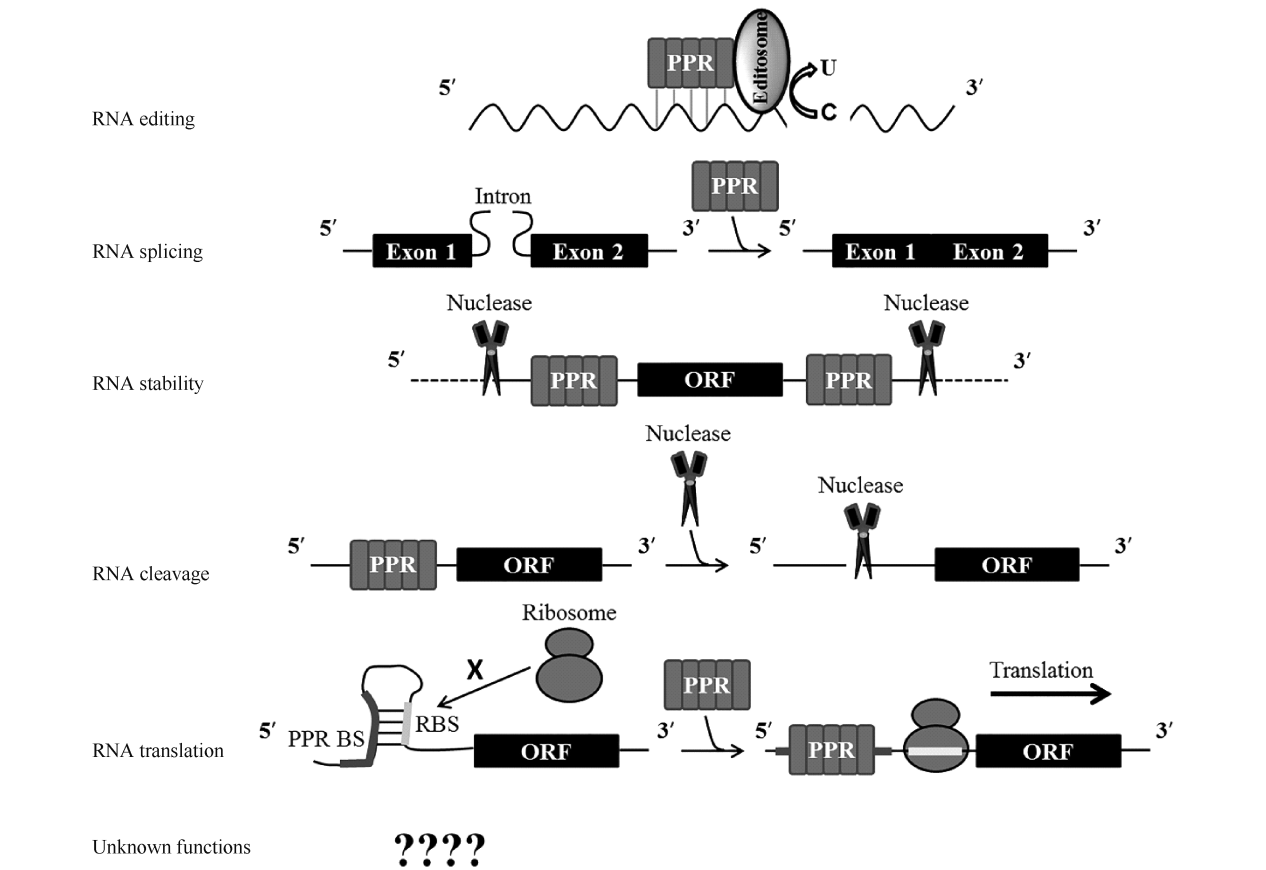


Fig. 1 Functions of PPR proteins ORF, open reading frame; PPR BS, PPR binding site; RBS, ribosome binding site

mRNA 的多聚核糖体缺失^[47]。PPR10、PGR3 与 RNA 的结合阻碍发夹结构形成,使核糖体结合位点暴露,招募核糖体,起始翻译^[48, 49]。线粒体中,除 MPPR6 促进线粒体 *rps3* 的翻译外^[11],还发现 2 个 PPR 蛋白与多聚核糖体相关^[2, 50],但其具体功能尚不清楚。这 2 个蛋白质属于短的 P 类 PPR 蛋白,这类短的 P 类 PPR 蛋白不存在于叶绿体中,但在线粒体中大量存在,暗示它们可能在线粒体中发挥特殊功能。目前发现的可抑制翻译的 PPR 蛋白均属于 RF 类 PPR 蛋白,推测可能是通过干扰核糖体的结合或移动来抑制翻译的^[51]。

综上所述,PPR 蛋白对细胞器 RNA 转录后加工的多个环节都是必需的(Fig. 1)。但关于 PPR 蛋白的功能,除目前已知的,还有未知的功能需要探索,如定位于细胞核的 PPR 蛋白发挥怎样的功能?

4 问题与展望

尽管大量的研究表明,PPR 蛋白可特异性地结合细胞器 RNA,参与它们的剪接、编辑、成熟、稳定等加工过程,但关于 PPR 蛋白的作用机制尚未十分明确。如细胞器 II 类内含子结构复杂,找出或预测 PPR 蛋白的 RNA 结合位点十分困难;有些参与剪接的 PPR 蛋白的 C 末端含有特殊结构,如 PPR4 的 RRM 结构域^[16],OTP51 的 LAGLIDADG 结构域^[15],这些结构域在内含子剪接中的作用尚不清楚。有研究推测,DYW 亚类 PPR 蛋白以同源或异源二聚体形式参与 RNA 编辑,E 结构域负责招募胞嘧啶脱氨酶^[28, 29],DYW 结构域完成脱氨过程,但该结构域的脱氨活性至今尚未被证实。关于 P 类 PPR 蛋白参与 RNA 稳定、翻译起始等过程的作用机制,有研究认为,PPR 蛋白与 RNA 的结合形成位点特异性阻碍,或影响 RNA 的结构^[52],进而影响 RNA 的稳定或翻译。这一推测解释了 PPR 蛋白参与 RNA 稳定,蛋白翻译起始,甚至 RNA 切割的可能机制,问题是这些功能的特异性在 PPR 蛋白中是如何保持的?对 PPR 蛋白与 RNA 特异序列的结合,尽管 Barkan 等提出了 PPR 蛋白的 RNA 结合位点的预测规则,但并不是所有 PPR 蛋白的 RNA 结合位点都与预测的一致,如 CRR4、CRR21、线粒体编辑因子 9 (mitochondrial editing factor 9, MEF9) 和缓慢生长因子 1 (slow growth 1, SLG1) 等^[5]。

PPR 蛋白家族庞大,绝大多数成员的功能尚不了解。相信,随着更多 PPR 蛋白功能的解析,凝胶阻滞 (electrophoretic mobility shift assay, EMSA)、

RNA 免疫共沉淀等实验技术的发展,PPR 蛋白的功能及分子机制将会越来越明了。

参考文献 (References)

- [1] Small ID, Peeters N. The PPR motif- a TPR-related motif prevalent in plant organellar proteins [J]. Trends Biochem Sci, 2000, **25**(2): 46-47
- [2] Hammani K, Gobert A, Hleibieh K, et al. An Arabidopsis dual-localized pentatricopeptide repeat protein interacts with nuclear proteins involved in gene expression regulation [J]. Plant Cell, 2011, **23**(2): 730-740
- [3] Ding YH, Liu NY, Tang ZS, et al. Arabidopsis GLUTAMINE-RICH PROTEIN23 is essential for early embryogenesis and encodes a novel nuclear PPR motif protein that interacts with RNA polymerase II subunit III [J]. Plant Cell, 2006, **18**(4): 815-830
- [4] Lurin C, Andrés C, Aubourg S, et al. Genome-wide analysis of Arabidopsis pentatricopeptide repeat proteins reveals their essential role in organelle biogenesis [J]. Plant Cell, 2004, **16**(8): 2089-2103
- [5] Barkan A, Small I. Pentatricopeptide repeat proteins in plants [J]. Annu Rev Plant Biol, 2014, **65**: 415-442
- [6] O'Toole N, Hattori M, Andres C, et al. On the expansion of the pentatricopeptide repeat gene family in plants [J]. Mol Biol Evol, 2008, **25**(6): 1120-1128
- [7] Merchant SS, Prochnik SE, Vallon O, et al. The chlamydomonas genome reveals the evolution of key animal and plant functions [J]. Science, 2007, **318**(5848): 245-250
- [8] Schallenberg-Rüdinger M, Lenz H, Polsakiewicz M, et al. A survey of PPR proteins identifies DYW domains like those of land plant RNA editing factors in diverse eukaryotes [J]. RNA Biol, 2013, **10**(9): 1549-1556
- [9] Saha D, Prasad AM, Srinivasan R. Pentatricopeptide repeat proteins and their emerging roles in plants [J]. Plant Physiol Biochem, 2007, **45**(8): 521-534
- [10] De Bodt S, Maere S, Van de Peer Y. Genome duplication and the origin of angiosperms [J]. Trends Ecol Evol, 2005, **20**(11): 591-597
- [11] Manavski N, Guyon V, Meurer J, et al. An essential pentatricopeptide repeat protein facilitates 5' maturation and translation initiation of *rps3* mRNA in maize mitochondria [J]. Plant Cell, 2012, **24**(7): 3087-3105
- [12] Salone V, Rüdinger M, Polsakiewicz M, et al. A hypothesis on the identification of the editing enzyme in plant organelles [J]. FEBS Lett, 2007, **581**(22): 4132-4138
- [13] Yin P, Li Q, Yan C, et al. Structural basis for the modular recognition of single-stranded RNA by PPR proteins [J]. Nature, 2013, **504**(7478): 168-171
- [14] Zschke R, Qu Y, Zubo YO, et al. Mutation of the pentatricopeptide repeat-SMR protein SVR7 impairs accumulation and translation of chloroplast ATP synthase subunits in *Arabidopsis thaliana* [J]. J Plant Res, 2013, **126**(3): 403-414
- [15] de Longevialle AF, Hendrickson L, Taylor NL, et al. The pentatricopeptide repeat gene OTP51 with two LAGLIDADG motifs is required for the cis-splicing of plastid *ycf3* intron 2 in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 2008, **56**(1): 157-168
- [16] Schmitz-Linneweber C, Williams-Carrier RE, Williams-Voelker PM, et al. A pentatricopeptide repeat protein facilitates the trans-splicing of the maize chloroplast *rps12* pre-mRNA [J]. Plant Cell, 2006, **18**(10): 2650-2663
- [17] Ruwe H, Castandet B, Schmitz-Linneweber C, et al. Arabidopsis chloroplast quantitative editotype [J]. FEBS Lett, 2013, **587**(9): 1429-1433
- [18] Bentolila S, Oh J, Hanson MR, et al. Comprehensive high-resolution analysis of the role of an Arabidopsis gene family in RNA editing [J]. PLoS Genet, 2013, **9**(6): e1003584
- [19] Takenaka M, Verbitskiy D, van der Merwe JA, et al. The

- process of RNA editing in plant mitochondria [J]. Mitochondrion, 2008, **8**(1): 35-46
- [20] Tillich M, Funk HT, Schmitz-Linneweber C, *et al.* Editing of plastid RNA in *Arabidopsis thaliana* ecotypes [J]. Plant J, 2005, **43**(5): 708-715
- [21] Kotera E, Tasaka M, Shikanai T. A pentatricopeptide repeat protein is essential for RNA editing in chloroplasts [J]. Nature, 2005, **433**(7023): 326-330
- [22] Leu KC, Hsieh MH, Wang HJ, *et al.* Distinct role of Arabidopsis mitochondrial P-type pentatricopeptide repeat protein-modulating editing protein, PPME, in *nad1* RNA editing [J]. RNA Biol, 2016, **13**(6): 593-604
- [23] Doniwa Y, Ueda M, Ueta M, *et al.* The involvement of a PPR protein of the P subfamily in partial RNA editing of an Arabidopsis mitochondrial transcript [J]. Gene, 2010, **454**(1-2): 39-46
- [24] Barkan A, Rojas M, Fujii S, *et al.* A combinatorial amino acid code for RNA recognition by pentatricopeptide repeat proteins [J]. PLoS Genet, 2012, **8**(8): e1002910
- [25] Okuda K, Chateigner-Boutin AL, Nakamura T, *et al.* Pentatricopeptide repeat proteins with the DYW motif have distinct molecular functions in RNA editing and RNA cleavage in Arabidopsis chloroplasts [J]. Plant Cell, 2009, **21**(1): 146-156
- [26] Okuda K, Hammani K, Tanz SK, *et al.* The pentatricopeptide repeat protein OTP82 is required for RNA editing of plastid *ndhB* and *ndhG* transcripts [J]. Plant J, 2010, **61**(2): 339-349
- [27] Okuda K, Myouga F, Motohashi R, *et al.* Conserved domain structure of pentatricopeptide repeat proteins involved in chloroplast RNA editing [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, **104**(19): 8178-8183
- [28] Boussardon C, Salone V, Avon A, *et al.* Two interacting proteins are necessary for the editing of the *NdhD-1* site in Arabidopsis plastids [J]. Plant Cell, 2012, **24**(9): 3684-3694
- [29] Yu QB, Jiang Y, Chong K, *et al.* AtECB2, a pentatricopeptide repeat protein, is required for chloroplast transcript *accD* RNA editing and early chloroplast biogenesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 2009, **59**(6): 1011-1023
- [30] Bonen L. *Cis- and trans-splicing* of group II introns in plant mitochondria [J]. Mitochondrion, 2008, **8**(1): 26-34
- [31] Schmitz-Linneweber C, Lampe MK, Sultan LD, *et al.* Organellar maturases: A window into the evolution of the spliceosome [J]. Biochim Biophys Acta, 2015, **1847**(9): 798-808
- [32] Zoschke R, Nakamura M, Liere K, *et al.* An organellar maturase associates with multiple group II introns [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, **107**(7): 3245-3250
- [33] Chateigner-Boutin AL, des Francs-Small CC, Delannoy E, *et al.* OTP70 is a pentatricopeptide repeat protein of the E subgroup involved in splicing of the plastid transcript *rpoC1* [J]. Plant J, 2011, **65**(4): 532-542
- [34] Ichinose M, Tasaki E, Sugita C, *et al.* A PPR-DYW protein is required for splicing of a group II intron of *cox1* pre-mRNA in *Physcomitrella patens* [J]. Plant J, 2012, **70**(2): 271-278
- [35] Perron K, Goldschmidt-Clermont M, Rochaix JD. A multiprotein complex involved in chloroplast group II intron splicing [J]. RNA, 2004, **10**(4): 704-711
- [36] Aryamanesh N, Ruwe H, Sanglard LV, *et al.* The pentatricopeptide repeat protein EMB2654 is essential for *trans-splicing* of a chloroplast small ribosomal subunit transcript [J]. Plant Physiol, 2017, **173**(2): 1164-1176
- [37] Beick S, Schmitz-Linneweber C, Williams-Carrier R, *et al.* The pentatricopeptide repeat protein PPR5 stabilizes a specific tRNA precursor in maize chloroplasts [J]. Mol Cell Biol, 2008, **28**(17): 5337-5347
- [38] Pfalz J, Bayraktar OA, Prikryl J, *et al.* Site-specific binding of a PPR protein defines and stabilizes 5' and 3' mRNA termini in chloroplasts [J]. EMBO J, 2009, **28**(14): 2042-2052
- [39] Ruwe H, Schmitz-Linneweber C. Short non-coding RNA fragments accumulating in chloroplasts: footprints of RNA binding proteins? [J]. Nucleic Acids Res, 2012, **40**(7): 3106-3116
- [40] Hařli N, Arnal N, Quadrado M, *et al.* The pentatricopeptide repeat MTSF1 protein stabilizes the *nad4* mRNA in Arabidopsis mitochondria [J]. Nucleic Acids Res, 2013, **41**(13): 6650-6663
- [41] Lee K, Han JH, Park YI, *et al.* The mitochondrial pentatricopeptide repeat protein PPR19 is involved in the stabilization of NADH dehydrogenase 1 transcripts and is crucial for mitochondrial function and *Arabidopsis thaliana* development [J]. New Phytol, 2017, **215**(1): 202-216
- [42] Stoll B, Zendler D, Binder S. RNA processing factor 7 and polynucleotide phosphorylase are necessary for processing and stability of *nad2* mRNA in Arabidopsis mitochondria [J]. RNA Biol, 2014, **11**(7): 968-976
- [43] Hauler A, Jonietz C, Stoll B, *et al.* RNA processing factor 5 is required for efficient 5' cleavage at a processing site conserved in RNAs of three different mitochondrial genes in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant J, 2013, **74**(4): 593-604
- [44] Hashimoto M, Endo T, Peltier G, *et al.* A nucleus-encoded factor, CRR2, is essential for the expression of chloroplast *ndhB* in Arabidopsis [J]. Plant J, 2003, **36**(4): 541-549
- [45] Hattori M, Miyake H, Sugita M. A pentatricopeptide repeat protein is required for RNA processing of *clpP* pre-mRNA in moss chloroplasts [J]. J Biol Chem, 2007, **282**(14): 10773-10782
- [46] Zhou W, Lu Q, Li Q, *et al.* PPR-SMR protein SOT1 has RNA endonuclease activity [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2017, **114**(8): e1554-e1563
- [47] Barkan A, Walker M, Nolasco M, *et al.* A nuclear mutation in maize blocks the processing and translation of several chloroplast mRNAs and provides evidence for the differential translation of alternative mRNA forms [J]. EMBO J, 1994, **13**(13): 3170-3181
- [48] Prikryl J, Rojas M, Schuster G, *et al.* Mechanism of RNA stabilization and translational activation by a pentatricopeptide repeat protein [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, **108**(1): 415-420
- [49] Yamazaki H, Tasaka M, Shikanai T. PPR motifs of the nucleus-encoded factor, PGR3, function in the selective and distinct steps of chloroplast gene expression in Arabidopsis [J]. Plant J, 2004, **38**(1): 152-163
- [50] Uyttewaal M, Mireau H, Rurek M, *et al.* PPR336 is associated with polysomes in plant mitochondria [J]. J Mol Biol, 2008, **375**(3): 626-636
- [51] Dahan J, Mireau H. The Rf and Rf-like PPR in higher plants, a fast-evolving subclass of PPR genes [J]. RNA Biol, 2013, **10**(9): 1469-1476
- [52] Zhelyazkova P, Hammani K, Rojas M, *et al.* Protein-mediated protection as the predominant mechanism for defining processed mRNA termini in land plant chloroplasts [J]. Nucleic Acids Res, 2012, **40**(7): 3092-3105