

# PPR 蛋白在水稻生长发育中的功能研究进展

李景芳, 王宝祥, 刘 艳, 刘金波, 陈庭木, 孙志广, 杨 波, 邢运高, 迟 铭, 徐 波, 徐大勇  
(江苏徐淮地区连云港农业科学研究所, 连云港 222000)

**摘要:**水稻是我国最主要的粮食作物之一。水稻的安全生产越来越依赖分子生物学功能基础研究。PPR (Pentatricopeptide repeat) 蛋白是水稻中较大的蛋白家族之一, 研究证明 PPR 蛋白由核基因编码并参与细胞器前体 RNA 加工, 如 RNA 起始翻译、RNA 稳定、RNA 剪接、RNA 编辑, 调控水稻叶绿体和线粒体等的发育, 进而影响水稻的花粉、胚、胚乳、叶片及其他组织的生长发育。该类蛋白表达受抑制将严重影响水稻正常生长发育。对近年报道的水稻 PPR 蛋白结构、分类、定位、RNA 作用靶位点、作用方式及其对水稻生长发育的影响进行综述。对已报道水稻 PPR 蛋白功能作出总结并对今后 PPR 蛋白对水稻种质资源的创新应用等可能的研究方向进行了展望。

**关键词:** 水稻; PPR; RNA 加工; 生长发育

## Progress of Research in Functions of PPR Proteins in Growth and Development of Rice

LI Jing-fang, WANG Bao-xiang, LIU Yan, LIU Jin-bo, CHEN Ting-mu,  
SUN Zhi-guang, YANG Bo, XING Yun-gao, CHI Ming, XU Bo, XU Da-yong  
(Jiangsu Xuhuai Area Lianyungang Institute of Agricultural Sciences, Lianyungang 222000)

**Abstract:** Rice is one of the most important grain crops in China. The safe production of rice paddy increasingly relies on basic research in molecular biological function. The large number of PPR (Pentatricopeptide repeat) proteins is one of the relatively large protein families in rice. Studies have shown that PPR proteins are encoded by nuclear genes and is involved in the RNA processing of organelle precursor, such as RNA translation initiation, RNA stability, RNA splicing, RNA editing, regulating chloroplast and mitochondria development in rice, and then influence the growth and development of pollen, embryo, endosperm, leaf and other tissues. Inhibition of the expression of PPR proteins would seriously hinder the normal growth and development of rice. A review of rice PPR protein structure, classification, localization, RNA target sites, action mode and its influence on rice growth and development reported in recent years is provided. The functions of PPR proteins that have been reported in rice are summarized, and prospects for possible research directions like the innovation application of PPR proteins on rice germplasm resources in the future are discussed.

**Key words:** rice; PPR; RNA processing; growth and development

我国是人口大国, 粮食安全生产至关重要, 水稻是我国重要的粮食作物之一, 也是功能基因组学、驯化和基因组进化等研究的典型谷类作物模型<sup>[1-2]</sup>。

对水稻生长发育模式(如植株形态建成、胚胎和种子的发育等过程)的研究有助于提高水稻的产量和品质, 满足更多的消费需求。近年来, 已有研究报道

收稿日期: 2021-06-02 修回日期: 2021-07-03 网络出版日期: 2021-08-12

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20210602001>

第一作者研究方向为水稻遗传育种, E-mail: jingfangli@163.com

通信作者: 徐大勇, 研究方向为水稻遗传育种, E-mail: xudayong3030@sina.com

基金项目: 连云港市财政专项资金(QNJJ2102); 苏北科技专项(LYG-SZ201922)

**Foundation projects:** Financial Grant Support Program of Lianyungang City (QNJJ2102), The Special Project of Science and Technology in Northern Jiangsu Province (LYG-SZ201922)

相关蛋白能够影响水稻的生长发育,如水稻光敏色素 B 介导的 B-Box 型锌指蛋白能够调控水稻植株的形态建成<sup>[3]</sup>;DEP1 与水稻穗型发育有关,能够影响水稻产量<sup>[4]</sup>;Pib 能够影响水稻稻瘟病抗性,为中国水稻育种工作抗性改良提供了重要依据<sup>[5-7]</sup>。随着水稻基因功能组学研究和分子生物学技术的发展越来越多的蛋白功能被报道。

2000 年在拟南芥中鉴定出一类具有相同特征的蛋白,由 35 个氨基酸重复串联组成,并命名为 PPR 蛋白<sup>[8]</sup>。PPR 蛋白主要存在真核生物中,其中陆生植物编码的 PPR 蛋白数量最大,如玉米、水稻、拟南芥、棉花等植物,原核生物中数量很少。水稻中有超过 400 个 PPR 蛋白,其中已报道的 OsPPR16、FLO18、OsPPR939 分别参与水稻叶片<sup>[9]</sup>、胚和胚乳<sup>[10]</sup>、花粉<sup>[11]</sup>的发育过程。PPR 蛋白由核基因编码,在叶绿体和线粒体中发挥作用,也有极少数在细胞核中行使功能<sup>[12]</sup>,其主要功能是与细胞器基因组转录产物特异序列相结合,参与转录后加工过程(RNA 编辑、RNA 剪接、RNA 稳定、起始翻译)以获得成熟的转录本。本文对近年来水稻中报道的 PPR 蛋白对水稻生长发育的影响和作用方式进行综述,并就未来 PPR 蛋白对水稻生长发育调控的研究方向进行展望。

## 1 PPR 蛋白的分布及结构分类

PPR (pentatricopeptide repeat) 蛋白属于核酸结合蛋白大家族,它是由低度保守的 31~36 个氨基酸基序重复串联组成,串联基序通常为 2~26 个<sup>[13]</sup>,晶体结构表明这些基序形成 1 对稳定反向平行的  $\alpha$  螺旋结构<sup>[14-15]</sup>。PPR 基因广泛存在于各种生物中,拟南芥中的 PPR 蛋白有 450 个左右<sup>[13, 16-17]</sup>,Chen 等<sup>[18]</sup>利用全基因组分析发现玉米自交系 B37 中含有 491 个 PPR 蛋白、PH207 中有 456 个 PPR 蛋白;He 等<sup>[19]</sup>研究表明棉花中有 1059 个 PPR 蛋白;水稻中有 491 个 PPR 蛋白,其中 246 个 PPR 蛋白属于 P 亚家族,24 个 PPR 蛋白属于 PLS 亚家族,90 个属于 E 亚类,131 个属于 DYW 亚类,水稻中 PPR 蛋白个数与土豆 471 个(233 个 P 亚家族和 238 个 PLS 亚家族)和谷子 486 个(263 个 P 亚家族和 223 个 PLS 亚家族)PPR 蛋白相差不大<sup>[20]</sup>。

根据 PPR 蛋白结构域特点,将其分为典型的只包含 P 基序的 P 亚家族和含有基序长短不一的 PLS 亚家族。P 亚家族只含有 P 基序。PLS 亚家族除了含有 P 基序外还有含 35~36 个氨基酸的长类

型和 31 个氨基酸的短类型 PPR 重复基序<sup>[13, 21-25]</sup>,根据 C 短端结构域的不同,PLS 亚家族又可分为 4 类,C 端未连接特殊结构域的 PLS 亚类<sup>[12, 26]</sup>、C 端连接 E 结构域的 E 亚类<sup>[27-30]</sup>、C 端连有 E+ 结构域的 E+ 亚类<sup>[31-35]</sup>,以及 C 端连接天冬氨酸-酪氨酸-色氨酸(DYW, aspartate-tyrosine-tryptophan)结构域的 DYW 亚类<sup>[13]</sup>,如水稻 PPS1<sup>[36]</sup>、OsPGL1<sup>[37]</sup>、OGR1<sup>[38]</sup>都属于 DYW 亚类。目前也有少部分报道的 C 端连有小的蓝藻 MutS 基因相关(SMR, small MutS-related)结构域的 PPR-SMR 亚类,如水稻 OsATP4、拟南芥 pTAC2、GUN1、SOT1、SVR7 都属于 PPR-SMR 亚类<sup>[21-22]</sup>,不同类型的 PPR 蛋白,以不同的 RNA 加工方式影响植物生长发育。

## 2 PPR 蛋白的定位

PPR 蛋白是在对拟南芥进行预测定位在线粒体和叶绿体蛋白时系统筛选发现的<sup>[13]</sup>。大多数已知的 PPR 蛋白都是在叶绿体和线粒体中起作用,通过使用 TargetP 和 Predotar 预测程序进一步证明该蛋白家族大部分定位在线粒体或质体当中<sup>[13, 39]</sup>。水稻中定位在叶绿体中的有 WSL4<sup>[40]</sup>、OsPPR4<sup>[41]</sup>、OsPPR16<sup>[9]</sup>、ATP4<sup>[22]</sup>等,线粒体定位的有 FLO18<sup>[10]</sup>、OsPPR939<sup>[11]</sup>、MPR25<sup>[31]</sup>、PPS1<sup>[36]</sup>、FLO10<sup>[42]</sup>、RL1<sup>[43]</sup>、PPR5<sup>[44]</sup>等。PPR 蛋白除了定位在质体和线粒体外,细胞核定位的 PPR 蛋白也陆续被报道,如水稻 OsNPPR1<sup>[45]</sup>和 OsNPPR2<sup>[46]</sup>。以上皆是单独的线粒体、质体或细胞核定位的蛋白,近几年双定位的 PPR 蛋白相继被报道,如玉米 PPR2263<sup>[47]</sup>、DEK39<sup>[48]</sup>和水稻 OsPGL1<sup>[37]</sup>是线粒体和叶绿体双定位,另外有报道指出玉米 DEK43<sup>[49]</sup>同时定位在细胞核和线粒体中。

## 3 PPR 蛋白定位及其作用机制对水稻生长发育的影响

前人的研究表明,大部分 PPR 蛋白是与细胞器基因组靶 RNA 的特定定位点相结合,参与转录后的加工过程以形成成熟的转录本,包括 RNA 编辑:与编辑位点上游顺式元件特异结合,将胞苷(C)转化为尿苷(U)<sup>[50-51]</sup>;内含子剪接:去除顺式和反式内含子并将外显子连接在一起,以及能够结合在多顺反子基因间隔区,定义两基因末端<sup>[26, 52-53]</sup>;RNA 成熟:修饰 mRNA 前体的末端;RNA 翻译:能够结合 5' 端特定短序列促进 mRNA 翻译调控,还有末端加工和稳定的功能<sup>[10, 15, 54]</sup>。Chen 等<sup>[20]</sup>研

究也表明水稻在生物和非生物胁迫下能够诱导多种 PPR 蛋白的表达。Yan 等<sup>[55]</sup>、Yin 等<sup>[56]</sup>已经证明了各种 PPR 蛋白晶体结构, PPR 蛋白中每个重复的 PPR 基序折叠形成 1 对反向平行的  $\alpha$ -螺旋, 连续的串联重复基序组装成 1 个右手超螺旋  $\alpha$ -螺旋结构。不同的 PPR 蛋白具有特异结合 RNA 的特性, PPR 蛋白具有重复单元结构串联成的 1 个阵列, 该阵列形成 1 个平面用来结合单链 RNA<sup>[57-58]</sup>。Barkan 等<sup>[57]</sup>阐明了 PPR 蛋白识别靶 RNA 的代码, 其中起决定作用的是每个重复基序的第 5 位和第 35 位组合双残基, Yagi 等<sup>[59]</sup>证明的第 6 位和第 1 位双残基负责 RNA 碱基识别, 这些双残基被称为 PPR 代码。Yan 等<sup>[55]</sup>、Shen 等<sup>[60]</sup>利用人工设计的 PPRs 对相关 PPR 代码进行了验证, 并开发了 1 种高通量构建设计 PPR 蛋白的模块化组装方法, 利用这种方法, 构建了包含各种 PPR 代码的设计型 PPR 蛋白, 系统地探索和描述了这些 PPR 代码和 RNA 碱基之间的相关性, 并基于这种相关性开发了 PPRCODE (<http://yinlab.hzau.edu.cn/pprcode>) 在线服务网站, 为大量 PPR 蛋白家族的靶标 RNA 预测和功能研究提供了一个平台。

不同结构类型的 PPR 蛋白功能不同, P 亚家族 PPR 蛋白多与细胞器转录本前体 RNA 的剪接、稳定和转录起始翻译有关。RNA 编辑是一种转录后加工过程, 包括核苷酸的插入、删除或转换。在开花植物中, RNA 编辑通常是指将质体和线粒体中的 C 转化为 U, 在细胞器的生物合成、对环境变化适应以及信号转导等过程中发挥重要作用, 而 PLS 亚家族的 PPR 蛋白就属于该类位点特异性编辑因子, 它们大多参与 RNA 编辑过程, 近几年也有研究指出 PLS 亚家族 PPR 蛋白也能结合 RNA 末端, 起到 RNA 稳定作用<sup>[12, 55]</sup>。相关报道指出水稻中 PPR 蛋白无法行使正常功能时, 会导致出现相应的缺陷表型, 如植株生长滞缓、株高变矮、叶片变小、白化、种子胚和胚乳发育受损等(表 1)。

### 3.1 PPR 蛋白与 RNA 末端加工调控水稻生长发育

P 亚家族的 PPR 蛋白可以参与 RNA 的末端加工以及在多顺反子转录过程中的基因间隔区加工, 获得重叠的转录产物。PPR 蛋白的稳定机理是结合特异 RNA 序列, 以阻断核酸外切酶切割, 保护 RNA 稳定不被降解。目前该类报道在玉米和拟南芥中较多, 水稻中相对较少。Yu 等<sup>[10]</sup>研究表明水稻 FLO18 属于线粒体定位的 P 亚家族 PPR 蛋白, 其作用机理是与线粒体 *nad5* 的 5'UTR 区域结合,

参与 *nad5* 转录本 5'末端的加工过程。FLO18 基因突变导致水稻线粒体形态改变, 电子传递链中复合物 I 的装配减少, 无法正常行使功能, 导致发育过程中以及成熟种子淀粉粒形态和排布出现异常, 成熟种子胚乳不透明, 无法正常成苗。

### 3.2 PPR 蛋白与 RNA 剪接调控水稻生长发育

RNA 剪接是去除内含子并把两侧外显子连接在一起, 产生具有功能的 mRNA 的过程。目前报道参与 RNA 剪接过程的 PPR 蛋白是 P 亚家族蛋白, 该类蛋白含有不同数量的 P 基序。

**3.2.1 叶绿体定位的 PPR 蛋白与 RNA 剪接对水稻生长发育的影响** Tan 等<sup>[52]</sup>报道了叶绿体定位的 PLS 亚家族 PPR 蛋白 WSL, WSL 对叶绿体 *rpl2* 转录本剪接至关重要, *wsl* 突变体中异常的 *rpl2* 转录本积累, 正常的 *rpl2* 转录本减少, 表现出对 ABA、盐度和糖的敏感性增强, 且比野生型积累更多的  $H_2O_2$ , 推测质体组装翻译效率降低可能会影响突变体对非生物胁迫的响应。

**3.2.2 线粒体定位的 PPR 蛋白与 RNA 剪接对水稻生长发育的影响** 水稻中 RL1、FLO10、OsPPR939、PPR5 属于线粒体定位且行使 RNA 剪接功能的 P 亚家族 PPR 蛋白。RL1 蛋白特异参与线粒体 *nad4* 内含子 1 剪接, *nad4* 编码线粒体复合物 I 的一个亚基, RL1 基因突变致使 *nad4* 内含子 1 无法正常剪接, 导致线粒体形状改变, ATP 含量降低, 纯合突变体种子延迟发芽, 胚中的胚根出现缺陷, 无主根, 籽粒胚乳充实受损, 胚乳出现歪白, 尤其是籽粒中心部位<sup>[43]</sup>。Wu 等<sup>[42]</sup>克隆了一个新的 P 亚家族 PPR 蛋白 FLO10, *flo10* 突变体中 *nad1* 内含子 1 的剪接缺陷导致线粒体复合物 I 的组装减少、活性降低, ATP 含量减少, 交替呼吸途径转录产物积累, *flo10* 种子呈粉质不透明胚乳, 籽粒大小和千粒重都降低<sup>[44]</sup>。Zheng 等<sup>[11]</sup>研究结果表明线粒体定位的水稻 OsPPR939 是线粒体基因 *nad5* 内含子 1、2、3 剪接必须的, OsPPR939 基因敲除后导致 *nad5* 内含子剪接效率降低, 线粒体复合物 I 的含量和活性降低, 并增强了交替呼吸途径的表达, 雄配子不存活, 但不影响雌配子发育, 植株生长稍微滞缓。OsPPR939 对水稻生长发育的作用机制与 FLO10 相似但又有差异。水稻中另一个线粒体定位的 P 亚家族 PPR 蛋白 PPR5, Zhang 等<sup>[44]</sup>证明该基因突变之后导致线粒体 *nad4* 内含子 3 的剪接效率降低以及线粒体复合物 I 组装降低, 导致 *ppr5* 突变体的线粒体结构形态发生改变, 胚乳表现为粉质, 糊粉层发育异常、

表 1 部分已报道水稻 PPR 基因  
Table 1 Some PPR genes reported in rice

序号 No.	基因名称 Name of gene	亚型 Subclass	靶基因 Target gene	定位 Localization	基因功能 Function of gene	基因表达受阻后表型 Gene expression suppression phenotype	参考文献 References
1	<i>OGR1</i>	DYW	<i>nad4</i> , <i>nad2</i> , <i>cox2</i> , <i>cox3</i>	线粒体	RNA 编辑	生长迟缓, 花粉发育缺陷, 种子不透明	[38]
2	<i>MPR25</i>	E	<i>nad5</i>	线粒体	RNA 编辑	淡绿, 生长阻滞	[31]
3	<i>OsPPR4</i>	P	<i>petB</i> , <i>rps16</i> , <i>atpF</i> , <i>ndhA</i> , <i>rpl2</i> , <i>rps12-2</i>	叶绿体	RNA 剪接、编辑	白化、幼苗致死	[41]
4	<i>OsSMK1</i>	E	<i>nad7</i>	线粒体	RNA 编辑	种子瘪缩、歪白, 胚无分化, 萌发率低	[27]
5	<i>WSL</i>	PLS	<i>rpl2</i>	叶绿体	RNA 剪接	白条纹	[52]
6	<i>OsPPR6</i>	DYW	<i>ndhB</i> , <i>ycf3</i>	叶绿体	RNA 编辑、剪接	白化、苗期致死	[61-62]
7	<i>WSL4</i>	P	<i>atpF</i> , <i>ndhA</i> , <i>rpl2</i> , <i>rps12</i> , <i>rpoB</i>	叶绿体	RNA 剪接、编辑	白条纹、低温下白化致死	[40]
8	<i>WSL5</i>	P	<i>rpl2</i> , <i>atpA</i> , <i>rps12</i>	叶绿体	RNA 编辑、剪接	白条纹、低温下白化致死	[26]
9	<i>FLO10</i>	P	<i>nad1</i>	线粒体	内含子 1 剪接	籽粒粉质不透明	[42]
10	<i>OsPGL1</i>	DYW	<i>ccmFc</i> , <i>ndhD</i>	叶绿体、线粒体	RNA 编辑	叶片淡绿, 淀粉粒堆减少, 不致密等	[37]
11	<i>PPS1</i>	DYW	<i>nad3</i>	线粒体	RNA 编辑	影响花粉粒的发育, 花粉萌发率降低, 穗子变短, 结实率降低	[36]
12	<i>RL1</i>	P	<i>nad4</i>	线粒体	RNA 剪接	胚发育缺陷、胚乳歪白	[43]
13	<i>OsNPPR1</i>	P	CUCAC 基序	细胞核	RNA 剪接	粉质胚乳	[45]
14	<i>OsNPPR2</i>	P	<i>nad1</i>	细胞核	内含子剪接	种子粉质皱缩不透明, 萌发迟缓, 幼苗畸形, 苗期致死	[46]
15	<i>PPR34</i>	P	<i>ccmFc</i>	叶绿体、线粒体	RNA 编辑	萌发延迟、株高变矮	[63]
16	<i>OsPPR16</i>	DYW	<i>rpoB</i>	叶绿体	RNA 编辑	叶片白化	[9]
17	<i>FLO18</i>	P	<i>nad5</i>	线粒体	5' 端加工	种子不透明, 无法正常发芽	[10]
18	<i>PPR5</i>	P	<i>nad4</i>	线粒体	内含子剪接	籽粒粉质	[44]
19	<i>PPR756</i>	E	<i>atp6</i> , <i>ccmC</i> , <i>nad7</i>	线粒体	RNA 编辑	生长延时、花粉败育、结实率降低	[64]
20	<i>OsPPR939</i>	P	<i>nad5</i>	线粒体	内含子剪接	影响花粉发育, 植株生长迟缓	[11]
21	<i>OsATP4</i>	SMR	<i>rpl16-rpl14</i> , <i>rps8</i>	叶绿体	RNA 编辑	叶绿素含量降低, 低温更明显, 叶宽减小	[22]
22	<i>DUAI</i>	DYW	<i>rps8</i> , <i>rpoB</i>	叶绿体	RNA 编辑	叶片在低温下白化	[65-66]

P: 仅包括典型的 35 个氨基酸的三角五肽重复基序; PLS: 典型的三角五肽重复基序 - 长基序 - 短基序; DYW: 天冬氨酸 - 酪氨酸 - 色氨酸; E: E 结构域; SMR: 小的蓝藻 MutS 基因相关

P: Comprising only canonical 35 amino acids Pentatricopeptide Repeat motifs - Longer motifs - Shorter motifs, DYW: Aspartate-Tyrosine-Tryptophan, E: E domain, SMR: Small MutS-related

蛋白质、淀粉含量降低,该研究证明 PPR5 控制线粒体 *nad4* 内含子 3 的顺式剪接对水稻线粒体和胚乳的发育至关重要。

**3.2.3 细胞核定位的 PPR 蛋白与 RNA 剪接对水稻生长发育的影响** 水稻 OsNPPR1 和 OsNPPR2 是定位在细胞核中的 P 亚家族 PPR 蛋白,二者有相似的作用机制,都参与 RNA 剪接过程。OsNPPR1 特异结合 CUCAC 基序,影响一系列核基因的剪接,其中包含许多与线粒体有关的基因,OsNPPR1 基因突变体中线粒体发育出现缺陷;OsNPPR2 参与线粒体 *nad1* 内含子 1 的剪接,二者都影响了线粒体的正常功能,OsNPPR2 基因突变体种子还表现出皱缩表型,种子无法正常萌发,OsNPPR1 和 OsNPPR2 基因无法行使功能时,种子都出现粉质胚乳表型,植株生长缓慢,这种表型在 OsNPPR2 突变体中表现更明显<sup>[45-46]</sup>。

### 3.3 PPR 蛋白与 RNA 编辑调控水稻生长发育

遗传和生化证据表明 PPR 蛋白能够与 RNA 编辑位点上游的 5~20 个核苷酸的顺式元件结合,参与胞嘧啶转化为尿嘧啶进而改变 RNA 序列的转录后加工过程<sup>[50,67]</sup>。

**3.3.1 叶绿体定位的 PPR 蛋白与 RNA 编辑对水稻生长发育的影响** 水稻 OsPPR16、OsATP4、DUA1 是叶绿体定位并参与 RNA 编辑的 PPR 蛋白。osppr16 是 Huang 等<sup>[9]</sup>利用基因编辑技术对 DYW 亚家族 PPR 基因 OsPPR16 进行敲除获得的突变体,osppr16 早期叶片表现出白化,之后又恢复正常,OsPPR16 行使质体 *rpoB* RNA 第 545 位点的核苷酸 C-U 的编辑功能,质体编码的 RNA 聚合酶亚基 RpoB 是叶绿体发育和植物生长所必须的,OsPPR16 基因的敲除导致 RpoB 的积累减少,水稻叶绿素的合成和叶绿体发育受损。水稻 OsATP4 是叶绿体定位的带有 SMR 结构域的 PPR 蛋白,具有影响 *rpl16-rpl14* 多顺反子转录本积累的功能,另外还发现 OsATP4 参与叶绿体 *rps8-182* 位点 RNA 编辑,osatp4 突变体中光合复合物的积累降低,低温时会整体缺失,叶绿素含量降低,表现出分蘖数减少、叶宽减小等表型<sup>[22]</sup>。Cui 等<sup>[65]</sup>在水稻 Dular 品种中克隆了 DUA1 基因,该基因编码一个 DYW 亚类的 PPR 蛋白,dual 突变体在低温下表现出白化表型。DUA1 蛋白参与叶绿体 *rps8-182*、*rpoB-545* 和 *rpoB-560* 位点的编辑,能够与 RNA 编辑辅助因子 WSP1 互作,低温下 WSP1 能够增强 DUA1 的稳定性,参与水稻叶绿体发育。Du 等<sup>[66]</sup>证明 DUA1 蛋

白参与调控水稻核基因编码的 RNA 聚合酶和质体编码的 RNA 聚合酶相关基因的表达,且能够与转录起始因子 OsSIG1 互作,揭示了 PPR-SIG 模块响应光和温度调节叶绿体基因表达以及叶绿体发育的机制。

**3.3.2 线粒体定位的 PPR 蛋白与 RNA 编辑对水稻生长发育的影响** 水稻中定位线粒体且参与 RNA 编辑的 PPR 蛋白有 OsSMK1<sup>[27]</sup>、MPR25<sup>[31]</sup>、PPS1<sup>[36]</sup>、OGR1<sup>[38]</sup>、OsEMP5<sup>[68]</sup>、PPR756<sup>[64]</sup>, OsSMK1、MPR25 和 PPR756 属于 E 亚类 PPR 蛋白,水稻 OsSMK1 是玉米 SMK1 的假定同源基因,两基因的 E 结构域、PPR 基序及基因功能都高度保守,能够对线粒体 *nad7* 行使 RNA 编辑功能,水稻若缺失该基因,后代种子瘪缩,胚乳歪白,胚无分化,萌发率低。Toda 等<sup>[31]</sup>通过转座子插入获得 MPR25 基因缺失突变体,mpr25 表现为幼苗叶片淡绿色,光合速率降低,根长变短,生长阻滞等弱化表型,虽然 MPR25 定位在线粒体中,但其突变体后代却表现出叶绿体和线粒体缺陷时的表型,遗传和生化实验结果表明 MPR25 参与线粒体 *nad5-1580* 位点 RNA 编辑,虽然线粒体呼吸链复合物 I 的组装没有受到影响,但 mpr25 突变体中交替氧化酶基因表达增多。Zhang 等<sup>[64]</sup>利用 RNA 干扰和基因编辑技术获得 PPR756 基因突变体,突变体苗期绿叶片增多,生长延迟,叶夹角减小,叶片直立,花粉粒表现出皱缩和扭曲,种子结实率降低,过表达家系表现出与此相反的表型,表现为苗期叶片发黄,叶夹角增大,花粉粒呈规则球型,穗子变大等表型。进一步探究 PPR756 作用机理,发现 PPR756 影响了线粒体 *atp6-368*、*ccmC-236* 和 *nad7-83* 3 个位点 RNA 编辑,而且通过 EMSA 和 RIP 实验证明 PPR756 能够在体外和体内与线粒体 *atp6*、*ccmC* 和 *nad7* 转录本特异结合,调控线粒体呼吸链复合物的组装,进而调控水稻生长发育。PPS1、OGR1、OsEMP5 属于 DYW 亚类 PPR 蛋白,PPS1 是线粒体 *nad3* 特异位点的 RNA 编辑所必须的,pps1 突变体营养生长阶段生长缓慢,矮化,发育迟缓,花粉粒的发育受到影响,柱头上花粉萌发率降低,稻穗变短且结实率降低<sup>[36]</sup>。同样,调控水稻花粉粒发育的 OGR1 参与 RNA 编辑位点较多,包括 *nad4-C401*、*C416*、*C433* 3 个编辑位点,*nad2-C167*、*C1457* 2 个编辑位点,*cox3-C572* 编辑位点。ogr1-1 突变体种子粉质不透明,生长滞缓,分蘖减少,出现大量有缺陷的花粉粒<sup>[38]</sup>。OsEMP5 是玉米 EMP5 的假定同源基因,

二者作用机制相似,都参与到线粒体 RNA 编辑,*OsEmp5* 的 RNA 干扰家系后代随着其表达量的降低,后代种子缺陷表型更加明显,幼苗生长缓慢,苗期之后能够恢复正常生长<sup>[68]</sup>。

**3.3.3 叶绿体和线粒体双定位的 PPR 蛋白与 RNA 编辑对水稻生长发育的影响** 水稻 OsPGL1、PPR34 是行使 RNA 编辑功能的叶绿体和线粒体双定位 PPR 蛋白, Xiao 等<sup>[37]</sup> 利用基因编辑技术获得 *Ospgl1* 突变体, *Ospgl1* 表现出叶片淡绿色,叶绿素含量降低,叶片淀粉粒堆较野生型减少且不致密,通过透射电镜观察到叶绿体结构形态遭到破坏,但不影响线粒体结构。经遗传分析和生化实验证明 OsPGL1 属于 DYW 亚类 PPR 蛋白,通过其自身的 PPR 基序能够直接识别绑定叶绿体 *ndhD* 转录本实现 *ndhD*-C878 位点的 RNA 编辑,调节水稻叶绿体的发育和光合作用。有趣的是 OsPGL1 虽然也能特异识别和绑定到线粒体 *ccmFc* 的转录本上对 *ccmFc*-543 位点进行 RNA 编辑,但编辑前后的氨基酸序列并没有发生改变,这可能是 *Ospgl1* 突变体中线粒体的结构和呼吸链复合物 III 的组装没有发生改变的原因。同样定位在叶绿体和线粒体的 PPR 蛋白 PPR34 也参与了 *ccmFc* 的 RNA 编辑过程,对 *ppr34* 突变体的检测结果表明 *ccmFc*-301、*ccmFc*-2087 和 *ccmFc*-543 等位点编辑效率显著降低,突变体种子萌发延迟,株高、生物量和产量都显著降低。转录组结果表明 *ppr34* 突变体的萌发与矮化与潮霉素的代谢有关,而 PPR34 是行使 RNA 编辑功能的 P 亚家族 PPR 蛋白,目前 P 亚家族 PPR 蛋白参与 RNA 编辑的报道相对较少<sup>[63]</sup>。

### 3.4 线粒体定位的 PPR 蛋白与水稻细胞质雄性不育的育性恢复

目前水稻细胞质雄性不育 (CMS, cytoplasmic male sterility) 及其恢复机制相关研究取得重要进展,该机制在水稻杂交制种中已经普遍应用,相关 PPR 基因被报道为细胞质雄性不育的恢复基因 *Rf*,在抑制不育系毒蛋白的形成中发挥重要作用<sup>[69-72]</sup>。水稻红莲型细胞质不育 (HL-CMS, Honglian-cytoplasmic male sterility) 的育性恢复分子机理研究相对深入,其不育性状与异常的线粒体嵌合转录产物 *atp6-orfH79* 相关,免疫印迹表明 ORF79 在小孢子中特异积累, *orf79* 翻译形成的细胞素毒蛋白能够使雄性配子体不育。Wang 等<sup>[69]</sup> 在 *Rf-1* 位点处鉴定出 1 个三角状五肽重复蛋白簇,其中 *Rf1a* 和 *Rf1b* 为 2 个育性恢复基因,二者都是定位在线粒

体中的 PPR 蛋白, *RF1A* 和 *RF1B* 作用机制不同,分别是通过核酸内切酶切割双顺反子 *B-atp6/orf79* mRNA 和降解 *B-atp6/orf79* mRNA 来阻断 ORF79 的产生,使花粉具有育性。Hu 等<sup>[71]</sup> 和 Huang 等<sup>[72]</sup> 分别克隆出的 *Rf5* 和 *Rf6* 能够与互作蛋白结合促进 *atp6-orfH79* RNA 的切割,使得花粉正常发育并恢复育性。*Rf5* 基因编码一个线粒体定位的 PPR 蛋白,该蛋白不直接与 *atp6-orfH79* 结合,而是与其互作的富含甘氨酸的蛋白质 (GRP162) 通过一段 RNA 识别基序结合异常的 *atp6-orfH79* 转录本,促进其第 1169 位核苷酸的切割来阻碍毒蛋白的形成以恢复花粉育性。*Rf6* 编码一个新的线粒体定位的 PPR 蛋白,在线粒体中能够与己糖激酶 6 (OsHXK6) 互作促进异常细胞质雄性不育相关的转录本 *atp6-orfH79* 第 1238 位核苷酸的切割,以恢复水稻红莲型细胞不育系育性, *Rf6* 蛋白中重复基序 3 对于 *Rf6*-OsHXK6 的互作、异常转录本的加工和育性的恢复至关重要。

Luo 等<sup>[73]</sup> 鉴定了水稻野败型细胞质雄性不育 (CMS-WA, Wild-Abortive type CMS) 的线粒体基因 *WA352*,该基因在 CMS-WA 品系中呈组成型表达,但 *WA352* 蛋白优先在花药绒毡层中积累,能够与核编码的线粒体蛋白 COX II 相互作用,进而抑制 COX II 在过氧化代谢中的作用,导致过早的绒毡层程序性细胞死亡以及随之而来的雄性不育。Tang 等<sup>[74]</sup> 成功克隆了 *Rf4* 基因, *Rf4* 编码的 PPR 蛋白定位在线粒体中,该基因能够降低 *WA352* mRNA 水平,从而恢复 *WA352* 和 COX II 介导的野败型雄性不育。

### 3.5 水稻中同时影响 RNA 编辑和剪接的 PPR 蛋白

水稻中近几年报道出一些多功能的 PPR 蛋白,如 OsPPR4、OsPPR6、WSL4、WSL5 同时具有 RNA 编辑和 RNA 剪接功能,且皆为叶绿体定位的 PPR 蛋白。

Asano 等<sup>[41]</sup> 证明水稻 OsPPR4 是叶绿体定位的 P 亚家族 PPR 蛋白,该蛋白参与叶绿体基因的转录后调控, *OsPPR4* 表达紊乱影响多个叶绿体基因内含子剪接和 *ndhA* 转录本 RNA 编辑 (表 1),致使水稻幼苗出现白化和致死表型。Tang 等<sup>[61]</sup>、温凯<sup>[62]</sup> 研究表明 OsPPR6 定位在叶绿体中,该基因影响质体编码的 RNA 聚合酶和核基因编码的 RNA 聚合酶基因协调表达, OsPPR6 不仅参与叶绿体转录本 *ndhB* 的 RNA 编辑还影响 *ycf3* 的内含子剪接,对早期叶绿体生物发育至关重要。水稻 WSL4 蛋

白与其作用机制相似,是叶绿体定位的P亚家族PPR蛋白, *WSL4* 参与4个叶绿体基因 *atpF*、*ndhA*、*rpl2* 和 *rps12* 的剪接,影响质体 *rpoB*-C545、C560位点的编辑效率, *wsl4* 突变体表现为白条纹叶片,低温下表现为白化表型,1个月后致死<sup>[40]</sup>。Liu等<sup>[26]</sup>鉴定了叶绿体定位的P亚家族PPR蛋白 *WSL5*, *wsl5* 突变体叶片表现出白条纹,低温下呈现白化和致死的表型, RNA-seq等实验结果证明 *wsl5* 突变体中光合作用相关基因表达受到影响,同时叶绿体 *rpl2*、*atpA* 的编辑效率和 *rpl2*、*rps12-2* 剪接效率降低,推测 *WSL5* 在低温胁迫下能维持质体到细胞核的逆向信号以调控水稻叶绿体的发育。以上报道中除 *OsPPR6* 属于 PLS 亚家族外, *OsPPR4*、*WSL4*、*WSL5* 都属于 P 亚家族。

#### 4 总结与展望

水稻报道的 PPR 蛋白中,不同的 PPR 蛋白可能作用于线粒体同一个基因,如 *OsPPR939* 和 *MPR25* 都定位在线粒体且二者靶基因都是线粒体 *nad5*,但是作用方式不同, *OsPPR939* 作用是参与 *nad5* 内含子 1、2 和 3 的剪接, *MPR25* 是参与到 *nad5*-1580 位点的编辑过程,抑制两基因表达产生的缺陷表型有相同之处也有差异, *osppr939-4* 突变体表现出花粉育性降低,植株生长滞缓, *mpr25* 突变体表现出水稻叶片淡绿色,生长缓慢<sup>[11,31]</sup>。*OsPPR939* 和 *MPR25* 影响的靶基因相同却由于作用方式不同产生了不同的缺陷表型, PPR 蛋白是否还有其他生物学功能及其共同调控水稻生长发育机制研究还有待进一步深入。

PPR 蛋白存在于许多植物中,数量非常庞大,不同植物中 PPR 蛋白的数量各不相同,本文总结出近年来水稻中线粒体、叶绿体、细胞核不同定位的 PPR 基因参与水稻生长发育的调控过程的相关报道(表 1)。PPR 蛋白参与调控植物各个生长过程,能够参与定义基因的 5' 端和 3' 端<sup>[15]</sup>,参与 RNA 起始翻译, RNA 的成熟与稳定, RNA 的剪接, RNA 编辑等过程,从而调控植物的一系列生长发育过程,如植物的耐胁迫性、细胞质雄性不育的恢复、细胞器的发育、植物的光合作用、呼吸作用到胚胎的发育、胚乳的发育、叶片的生长、植株的形态建成等,在优良品种选育和生产应用方面具有极大的应用价值和潜力。越来越多的 PPR 蛋白在水稻、玉米、拟南芥等植物中被鉴定出,但 PPR 蛋白特异性识别与 RNA 结合、加工因子的互作以及各蛋白调控机制之间的

相关性还有待深入研究。

#### 参考文献

- [1] Goff S A, Ricke D, Lan T H, Presting G, Wang R, Dunn M, Glazebrook J, Sessions A, Oeller P, Varma H, Hadley D, Hutchison D, Martin C, Katagiri F, Lange B M, Moughamer T, Xia Y, Budworth P, Zhong J, Miguel T, Paszkowski U, Zhang S, Colbert M, Sun W L, Chen L, Cooper B, Park S, Wood T C, Mao L, Quail P, Wing R, Dean R, Yu Y, Zharkikh A, Shen R, Sahasrabudhe S, Thomas A, Cannings R, Gutin A, Pruss D, Reid J, Tavtigian S, Mitchell J, Eldredge G, Scholl T, Miller R M, Bhatnagar S, Adey N, Rubano T, Tusneem N, Robinson R, Feldhaus J, Macalma T, Oliphant A, Briggs S. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*). *Science*, 2002, 296(5565): 92-100
- [2] Sang T, Ge S. Understanding rice domestication and implications for cultivar improvement. *Current Opinion in Plant Biology*, 2013, 16(2): 139-146
- [3] 赵杰. 光敏色素调控的一个 B-BOX 型锌指蛋白基因在水稻生长发育中的作用. 济南: 山东师范大学, 2013  
Zhao J. The functions of a phytochrome-regulated B-BOX type zinc finger protein gene in rice growth and development. Jinan: Shandong Normal University, 2013
- [4] Huang X, Qian Q, Liu Z, Sun H, He S, Luo D, Xia G, Chu C, Li J, Fu X. Natural variation at the *DEP1* locus enhances grain yield in rice. *Nature Genetics*, 2009, 41(4): 494-497
- [5] Wang Z X, Yano M, Yamanouchi U, Iwamoto M, Monna L, Hayasaka H, Katayose Y, Sasaki T. The *Pib* gene for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes. *The Plant Journal*, 1999, 19(1): 55-64
- [6] 时克, 雷财林, 程治军, 许兴涛, 王久林, 万建民. 稻瘟病抗性基因 *Pita* 和 *Pib* 在我国水稻主栽品种中的分布. *植物遗传资源学报*, 2009, 10(1): 21-26  
Shi K, Lei C L, Cheng Z J, Xu X T, Wang J L, Wan J M. Distribution of two blast resistance genes *Pita* and *Pib* in major rice cultivars in China. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2009, 10(1): 21-26
- [7] 王宝祥, 刘艳, 邢运高, 迟铭, 徐波, 杨波, 李健, 孙志广, 刘金波, 陈庭木, 卢百关, 方兆伟, 徐大勇. 抗稻瘟病基因 *Pi-ta*、*Pi-b*、*Pi-54* 和 *Pikm* 在黄淮稻区水稻品种资源中的抗性分布. *植物遗传资源学报*, 2019, 20(6): 1465-1471  
Wang B X, Liu Y, Xing Y G, Chi M, Xu B, Yang B, Li J, Sun Z G, Liu J B, Chen T M, Lu B G, Fang Z W, Xu D Y. The distribution of blast resistant genes *Pi-ta*, *Pi-b*, *Pi-54* and *Pikm* in rice varieties of Huang-Huai-Hai region. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, 20(6): 1456-1471
- [8] Small I D, Peeters N. The PPR motif—a TPR-related motif prevalent in plant organellar proteins. *Trends in Biochemical Sciences*, 2000, 25(2): 46-47
- [9] Huang W, Zhang Y, Shen L, Fang Q, Liu Q, Gong C, Zhang C, Zhou Y, Mao C, Zhu Y, Zhang J, Chen H, Zhang Y, Lin Y, Bock R, Zhou F. Accumulation of the RNA polymerase subunit *RpoB* depends on RNA editing by *OsPPR16* and affects chloroplast development during early leaf development in rice. *New Phytologist*, 2020, 228(4): 1401-1416

- [ 10 ] Yu M, Wu M, Ren Y, Wang Y, Li J, Lei C, Sun Y, Bao X, Wu H, Yang H, Pan T, Wang Y, Jing R, Yan M, Zhang H, Zhao L, Zhao Z, Zhang X, Guo X, Cheng Z, Yang B, Jiang L, Wan J. Rice *FLOURY ENDOSPERM 18* encodes a pentatricopeptide repeat protein required for 5' processing of mitochondrial *nad5* mRNA and endosperm development. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2020, 63 ( 5 ): 834-847
- [ 11 ] Zheng P, Liu Y, Liu X, Huang Y, Sun F, Wang W, Chen H, Jan M, Zhang C, Yuan Y, Tan B C, Du H, Tu J. OsPPR939, a *nad5* splicing factor, is essential for plant growth and pollen development in rice. *Theoretical and Applied Genetics*, 2021, 134 ( 3 ): 923-940
- [ 12 ] Hammani K, Takenaka M, Miranda R, Barkan A. A PPR protein in the PLS subfamily stabilizes the 5'-end of processed *rpl16* mRNAs in maize chloroplasts. *Nucleic Acids Research*, 2016, 44 ( 9 ): 4278-4288
- [ 13 ] Lurin C, Andres C, Aubourg S, Bellaoui M, Bitton F, Bruyere C, Caboche M, Debast C, Gualberto J, Hoffmann B, Lecharny A, Le Ret M, Martin-Magniette M L, Mireau H, Peeters N, Renou J P, Szurek B, Taconnat L, Small I. Genome-wide analysis of *Arabidopsis* pentatricopeptide repeat proteins reveals their essential role in organelle biogenesis. *The Plant Cell*, 2004, 16 ( 8 ): 2089-2103
- [ 14 ] 李泉秀. PPR 蛋白的结构生物学和生物化学研究. 北京: 清华大学, 2015  
Li Q X. Structural and biochemical study of PPR proteins. Beijing: Tsinghua University, 2015
- [ 15 ] Zhang Y F, Suzuki M, Sun F, Tan B C. The mitochondrion-targeted PENTATRICOPEPTIDE REPEAT78 protein is required for *nad5* mature mRNA stability and seed development in maize. *Molecular Plant*, 2017, 10 ( 10 ): 1321-1333
- [ 16 ] Schmitz-Linneweber C, Small I. Pentatricopeptide repeat proteins: a socket set for organelle gene expression. *Trends in Plant Science*, 2008, 13 ( 12 ), 663-670
- [ 17 ] Fujii S, Small I. The evolution of RNA editing and pentatricopeptide repeat genes. *New Phytologist*, 2011, 191 ( 1 ): 37-47
- [ 18 ] Chen L, Li Y, Li C, Shi Y, Song Y, Zhang D, Li Y, Wang T. Genome-wide analysis of the pentatricopeptide repeat gene family in different maize genomes and its important role in kernel development. *BMC Plant Biology*, 2018, 18 ( 1 ): 366-379
- [ 19 ] He P, Wu S, Jiang Y, Zhang L, Tang M, Xiao G, Yu J. GhYGL1d, a pentatricopeptide repeat protein, is required for chloroplast development in cotton. *BMC Plant Biology*, 2019 ( 1 ): 19: 350-361
- [ 20 ] Chen G, Zou Y, Hu J, Ding Y. Genome-wide analysis of the rice PPR gene family and their expression profiles under different stress treatments. *BMC Genomics*, 2018, 19 ( 1 ): 720-733
- [ 21 ] Zhang Y, Lu C M. The enigmatic roles of PPR-SMR proteins in plants. *Advanced Science*, 2019, 6: 1900361
- [ 22 ] Zhang J, Guo Y, Fang Q, Zhu Y, Zhang Y, Liu X, Lin Y, Barkan A, Zhou F. The PPR-SMR protein ATP4 is required for editing the chloroplast *rps8* mRNA in rice and maize. *Plant Physiology*, 2021, 184 ( 4 ): 2011-2021
- [ 23 ] Liu S, Melonek J, Boykin L M, Small I, Howell K A. PPR-SMRs: ancient proteins with enigmatic functions. *RNA Biology*, 2013, 10 ( 9 ): 1501-1510
- [ 24 ] Zhou S R, Yin L L, Xue H W. Functional genomics based understanding of rice endosperm development. *Current Opinion in Plant Biology*, 2013, 16 ( 2 ): 236-246
- [ 25 ] Barkan A, Small I. Pentatricopeptide repeat proteins in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 2014, 65 ( 2 ): 415-442
- [ 26 ] Liu X, Lan J, Huang Y S, Cao P H, Zhou C L, Ren Y K, He N Q, Liu S J, Tian Y L, Nguyen T L, Jiang L, Wan J M. WSL5, a pentatricopeptide repeat protein, is essential for chloroplast biogenesis in rice under cold stress. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69 ( 16 ): 3949-3961
- [ 27 ] Li X J, Zhang Y F, Hou M, Sun F, Shen Y, Xiu Z H, Wang X, Chen Z L, Sun S S M, Small I, Tan B C. *Small kernel 1* encodes a pentatricopeptide repeat protein required for mitochondrial *nad7* transcript editing and seed development in maize (*Zea mays*) and rice (*Oryza sativa*). *Plant Journal*, 2014, 79 ( 5 ): 797-809
- [ 28 ] Dai D, Jin L, Huo Z, Yan S, Ma Z, Qi W, Song R. Maize pentatricopeptide repeat protein DEK53 is required for mitochondrial RNA editing at multiple sites and seed development. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 20 ( 22 ): 6246-6261
- [ 29 ] Qi W, Tian Z, Lu L, Chen X, Chen X, Zhang W, Song R. Editing of mitochondrial transcripts *nad3* and *cox2* by Dek10 is essential for mitochondrial function and maize plant development. *Genetics*, 2020, 205 ( 4 ): 1489-1501
- [ 30 ] Wang H C, Sayyed A, Liu X Y, Yang Y Z, Sun F, Wang Y, Wang M, Tan B C. SMALL KERNEL4 is required for mitochondrial *cox1* transcript editing and seed development in maize. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2020, 62 ( 6 ): 777-792
- [ 31 ] Toda T, Sota F S, Noguchi K, Kazama T, Toriyama K. Rice *MPR25* encodes a pentatricopeptide repeat protein and is essential for RNA editing of *nad5* transcripts in mitochondria. *Plant Journal*, 2012, 72 ( 3 ): 450-460
- [ 32 ] Wang G, Zhong M, Shuai B, Song J, Zhang J, Han L, Ling H, Tang Y, Wang G, Song R. E+ subgroup PPR protein defective kernel 36 is required for multiple mitochondrial transcripts editing and seed development in maize and *Arabidopsis*. *New Phytologist*, 2017, 214 ( 4 ): 1563-1578
- [ 33 ] Ding S, Liu X Y, Wang H C, Wang Y, Tang J J, Yang Y Z, Tan B C. SMK6 mediates the C-to-U editing at multiple sites in maize mitochondria. *Journal of Plant Physiology*, 2019, 240: 152992
- [ 34 ] Ren Z, Fan K, Fang T, Zhang J, Yang L, Wang J, Wang G, Liu Y. Maize *Empty Pericarp602* encodes a P-type PPR protein that is essential for seed development. *The Plant Cell Physiology*, 2019, 60 ( 8 ): 1734-1746
- [ 35 ] Xu C, Song S, Yang Y Z, Lu F, Zhang M D, Sun F, Jia R, Song R, Tan B C. DEK46 performs C-to-U editing of a specific site in mitochondrial *nad7* introns that is critical for intron splicing and seed development in maize. *Plant Journal*, 2020, 103 ( 5 ): 1767-1782
- [ 36 ] Xiao H, Zhang Q, Qin X, Xu Y, Ni C, Huang J, Zhu L, Zhong F, Liu W, Yao G, Zhu Y, Hu J. Rice *PPS1* encodes a DYW motif-containing pentatricopeptide repeat protein required for five



- consecutive RNA-editing sites of *nad3* in mitochondria. *New Phytologist*, 2018, 220 ( 3 ): 878-892
- [ 37 ] Xiao H, Xu Y, Ni C, Zhang Q, Zhong F, Huang J, Liu W, Peng L, Zhu Y, Hu J. A rice dual-localized pentatricopeptide repeat protein is involved in organellar RNA editing together with OsMORFs. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69 ( 12 ): 2923-2936
- [ 38 ] Kim S R, Yang J I, Moon S, Ryu C H, An K, Kim K M, Yim J, An G. Rice *OGR1* encodes a pentatricopeptide repeat-DYW protein and is essential for RNA editing in mitochondria. *Plant Journal*, 2009, 59 ( 5 ): 738-749
- [ 39 ] Emanuelsson O, Nielsen H, Brunak S, Heijne G V. Predicting subcellular localization of proteins based on their N-terminal amino acid sequence. *Journal of Molecular Biology*, 2000, 300 ( 4 ): 1005-1016
- [ 40 ] Wang Y, Ren Y, Zhou K, Liu L, Wang J, Xu Y, Zhang H, Zhang L, Feng Z, Wang L, Ma W, Wang Y, Guo X, Zhang X, Lei C, Cheng Z, Wan J. *WHITE STRIPE LEAF4* encodes a novel P-type PPR protein required for chloroplast biogenesis during early leaf development. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1116
- [ 41 ] Asano T, Miyao A, Hirochika H, Shoshi Kikuchi S, Kadowakia K. A pentatricopeptide repeat gene of rice is required for splicing of chloroplast transcripts and RNA editing of *ndhA*. *Plant Biotechnology*, 2013, 30 ( 1 ): 57-64
- [ 42 ] Wu M, Ren Y, Cai M, Wang Y, Zhu S, Zhu J, Hao Y, Teng X, Zhu X, Jing R, Zhang H, Zhong M, Wang Y, Lei C, Zhang X, Guo X, Cheng Z, Lin Q, Wang J, Jiang L, Bao Y, Wang Y, Wan J. Rice *FLOURY ENDOSPERM10* encodes a pentatricopeptide repeat protein that is essential for the trans-splicing of mitochondrial *nad1* intron 1 and endosperm development. *New Phytologist*, 2019, 223 ( 2 ): 736-750
- [ 43 ] Wu M W, Zhao H, Zhang J D, Guo L, Liu C M. RADICLELESS 1 ( RL1 )-mediated *nad4* intron 1 splicing is crucial for embryo and endosperm development in rice ( *Oryza sativa* L. ). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2019, 523 ( 1 ): 220-225
- [ 44 ] Zhang L, Qi Y, Wu M, Zhao L, Zhao Z, Lei C, Hao Y, Yu X, Sun Y, Zhang X, Guo X, Ren Y, Wan J. Mitochondrion-targeted PENTATRICOPEPTIDE REPEAT5 is required for cis-splicing of *nad4* intron 3 and endosperm development in rice. *The Crop Journal*, 2021, 9 ( 2 ): 282-296
- [ 45 ] Hao Y, Wang Y, Wu M, Zhu X, Teng X, Sun Y, Zhu J, Zhang Y, Jing R, Lei J, Li J, Bao X, Wang C, Wang Y, Wan J. The nuclear-localized PPR protein OsNPPR1 is important for mitochondrial function and endosperm development in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 18 ( 15 ): 4705-4720
- [ 46 ] 毕梦蕾,唐小涵,王云龙,段二超,滕焯,张元燕,江玲,张文伟,王益华,万建民. 一个细胞核定位 PPR 蛋白 OsNPPR2 在水稻种子发育中起重要作用. *植物生理学报*, 2020, 56 ( 4 ): 789-798
- Bi M L, Tang X H, Wang Y L, Duan E C, Teng X, Zhang Y Y, Jiang L, Zhang W W, Wang Y H, Wan J M. A nucleus-localized PPR protein OsNPPR2 is important for seed development in rice. *Plant Physiology Journal*, 2020, 56 ( 4 ): 789-798
- [ 47 ] Sosso D, Mbelo S, Vernoud V, Gendrot G, Dedieu A, Chambrier P, Dauzat M, Heurtevin L, Guyon V, Takenaka M, Peter M, Rogowsky P. PPR2263, a DYW-subgroup pentatricopeptide repeat protein, is required for mitochondrial *nad5* and *cob* transcript editing, mitochondrion biogenesis, and maize growth. *The Plant Cell*, 2012, 24 ( 2 ): 676-691
- [ 48 ] Li X, Gu W, Sun S, Chen Z, Chen J, Song W, Zhao H, Lai J. *Defective Kernel 39* encodes a PPR protein required for seed development in maize. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2018, 60 ( 1 ): 45-64
- [ 49 ] Ren R C, Wang L L, Wang L L, Zhang L, Zhao Y J, Wu J W, Wei Y M, Zhang X S, Zhao X Y. DEK43 is a P-type pentatricopeptide repeat ( PPR ) protein responsible for the Cis-splicing of *nad4* in maize mitochondria. *Journal of Intergrative Plant Biology*, 2019, 62 ( 3 ): 299-313
- [ 50 ] Chen X, Feng F, Qi W, Xu L, Yao D, Wang Q, Song R. *Dek35* encodes a PPR protein that affects cis-splicing of mitochondrial *nad4* intron 1 and seed development in maize. *Molecular Plant*, 2017, 3 ( 6 ): 427-441
- [ 51 ] Takenaka M, Jörg A, Burger M, Haag S. RNA editing mutants as surrogates for mitochondrial SNP mutants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 135: 310-321
- [ 52 ] Tan J, Tan Z, Wu F, Sheng P, Heng Y, Wang X, Ren Y, Wang J, Guo X, Zhang X, Cheng Z, Jiang L, Liu X, Wang H, Wan J. A novel chloroplast-localized pentatricopeptide repeat protein involved in splicing affects chloroplast development and abiotic stress response in rice. *Molecular Plant*, 2014, 7 ( 8 ): 1329-1349
- [ 53 ] Sun F, Zhang X, Shen Y, Wang H, Liu R, Wang X, Gao D, Yang Y Z, Liu Y, Tan B C. The pentatricopeptide repeat protein EMPTY PERICARP8 is required for the splicing of three mitochondrial introns and seed development in maize. *Plant Journal*, 2018, 95 ( 5 ): 919-932
- [ 54 ] Manavski N, Guyon V, Meurer J, Wienand U, Brettschneidera R. An essential pentatricopeptide repeat protein facilitates 59 maturation and translation initiation of *rps3* mRNA in maize mitochondria. *The Plant Cell*, 2012, 24 ( 7 ): 3087-3105
- [ 55 ] Yan J, Zhang Q, Yin P. RNA editing machinery in plant organelles. *Science China Life Sciences*, 2018, 61 ( 2 ): 162-169
- [ 56 ] Yin P, Li Q, Yan C, Liu Y, Liu J, Yu F, Wang Z, Long J, He J, Wang H W, Wang J, Zhu J K, Shi Y, Yan N. Structural basis for the modular recognition of single-stranded RNA by PPR proteins. *Nature*, 2013, 504 ( 7478 ): 168-171
- [ 57 ] Barkan A, Rojas M, Fujii S, Yap A, Chong Y S, Bond C, Small I. A combinatorial amino acid code for RNA recognition by pentatricopeptide repeat proteins. *PLoS Genetics*, 2012, 8 ( 8 ): e1002910
- [ 58 ] Cheng S, Gutmann B, Zhong X, Ye Y, Fisher M F, Bai F, Castleden I, Song Y, Song B, Huang J, Liu X, Xu X, Lim B L, Bond C S, Yiu S M, Small I. Redefining the structural motifs that determine RNA binding and RNA editing by pentatricopeptide repeat proteins in land plants. *Plant Journal*, 2016, 85 ( 4 ): 532-547
- [ 59 ] Yagi Y, Hayashi S, Kobayashi K, Hirayama T, Nakamura T. Elucidation of the RNA recognition code for pentatricopeptide repeat proteins involved in organelle RNA editing in plants. *PLoS ONE*, 2013, 8 ( 3 ): e57286
- [ 60 ] Shen C, Wang X, Liu Y, Li Q, Yang Z, Yan N, Zou T, Yin P.

- Specific RNA recognition by designer pentatricopeptide repeat protein. *Molecular Plant*, 2015, 8(4): 667-670
- [ 61 ] Tang J, Zhang W, Wen K, Chen G, Sun J, Tian Y, Tang W, Yu J, An H, Wu T, Kong F, Terzaghi W, Wang C, Wan J. OsPPR6, a pentatricopeptide repeat protein involved in editing and splicing chloroplast RNA, is required for chloroplast biogenesis in rice. *Plant Molecular Biology*, 2017, 95(4-5): 1-13
- [ 62 ] 温凯. 水稻芽期耐盐性状全基因组关联分析和苗期白化致死基因 *OsPPR6* 的功能分析. 南京: 南京农业大学, 2018  
Wen K. Genome-wide association study related traits in rice germination stage and functional analysis of albino to lethal leaf gene *OsPPR6*. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2018
- [ 63 ] 侯桂花, 熊杰, 罗志, 李朝阳, 夏辉, 罗利军. PPR34 通过影响赤霉素代谢调控水稻种子萌发与株高. 分子植物育种, 2020, URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20201231.1024.004.html>  
Hou G H, Xiong J, Luo Z, Li Z Y, Xia H, Luo L J. PPR34 regulates rice seed germination and plant height by influencing gibberellin metabolism. *Molecular Plant Breeding*, 2020, URL: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20201231.1024.004.html>
- [ 64 ] Zhang Q, Xu Y, Huang J, Zhang K, Xiao H, Qin X, Zhu L, Zhu Y, Hu J. The rice pentatricopeptide repeat protein PPR756 is involved in pollen development by affecting multiple RNA editing in mitochondria. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 749
- [ 65 ] Cui X, Wang Y, Wu J, Han X, Gu X, Lu T, Zhang Z. The RNA editing factor DUA1 is crucial to chloroplast development at low temperature in rice. *New Phytologist*, 2019, 221(2): 834-849
- [ 66 ] Du Y, Mo W, Ma T, Tang W, Tian L, Lin R. A pentatricopeptide repeat protein DUA1 interacts with sigma factor 1 to regulate chloroplast gene expression in rice. *Photosynthesis Research*, 2021, 147(2): 131-143
- [ 67 ] Choury D, Farre J C, Jordana X, Araya A. Gene expression studies in isolated mitochondria: solanum tuberosum *rps10* is recognized by cognate potato but not by the transcription, splicing and editing machinery of wheat mitochondria. *Nucleic Acids Research*, 2005, 33(22): 7058-7065
- [ 68 ] Liu Y, Xiu Z H, Meeley R, Tan B C. *Empty Pericarp5* encodes a pentatricopeptide repeat protein that is required for mitochondrial RNA editing and seed development in maize. *The Plant Cell*, 2013, 25(3): 868-883
- [ 69 ] Wang Z, Zou Y, Li X, Zhang Q, Chen L, Wu H, Su D, Chen Y, Guo J, Luo D, Long Y, Zhong Y, Liu Y G. Cytoplasmic male sterility of rice with boro II cytoplasm is caused by a cytotoxic peptide and is restored by two related PPR motif genes via distinct modes of mRNA silencing. *The Plant Cell*, 2006, 18(3): 676-687
- [ 70 ] Huang W, Hu J, Yu C, Huang Q, Wan L, Wang L, Qin X, Ji Y, Zhu R, Li S, Zhu Y. Two non-allelic nuclear genes restore fertility in a gametophytic pattern and enhance abiotic stress tolerance in the hybrid rice plant. *Theoretical and Applied Genetics*, 2012, 124(5): 799-807
- [ 71 ] Hu J, Wang K, Huang W, Liu G, Gao Y, Wang J, Huang Q, Ji Y, Qin X, Wan L, Zhu R, Li S, Yang D, Zhu Y. The rice pentatricopeptide repeat protein RF5 restores fertility in Hong-Lian cytoplasmic male-sterile lines via a complex with the glycine-rich protein GRP162. *The Plant Cell*, 2012, 24(1): 109-122
- [ 72 ] Huang W, Yu C, Hu J, Wang L, Dan Z, Zhou W, He C, Zeng Y, Yao G, Qi J, Zhang Z, Zhu R, Chen X, Zhu Y. Pentatricopeptide-repeat family protein RF6 functions with hexokinase 6 to rescue rice cytoplasmic male sterility. *Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America*, 2015, 112(48): 14984-14989
- [ 73 ] Luo D, Xu H, Liu Z, Guo J, Li H, Chen L, Fang C, Zhang Q, Bai M, Yao N, Wu H, Wu H, Ji C, Zheng H, Chen Y, Ye S, Li X, Zhao X, Li R, Liu Y G. A detrimental mitochondrial-nuclear interaction causes cytoplasmic male sterility in rice. *Nature Genetics*, 2013, 45(5): 573-577
- [ 74 ] Tang H, Luo D, Zhou D, Zhang Q, Tian D, Zheng X, Chen L, Liu Y G. The rice restorer *Rf4* for wild-abortive cytoplasmic male sterility encodes a mitochondrial-localized PPR protein that functions in reduction of *WA352* transcripts. *Molecular Plant*, 2014, 7(9): 1497-1500