

知識天地

植物粒線體內令人迷惑的RNA編輯現象

謝明勳助研究員(植物暨微生物學研究所)

一、植物細胞內有三種基因體

在植物細胞內，除了大家所熟知的細胞核內有DNA之外，在另外兩種胞器，粒線體與葉綠體內也有各自的DNA，以及自己的基因表現系統。科學家們普遍認為現今的植物細胞，在演化上至少經過了兩次獨立的內共生過程(endosymbiosis)，現在的粒線體是由甲型變形菌(α -proteobacteria)演化而來，而葉綠體則是由藍綠藻(cyanobacteria)與真核細胞共生之後，逐漸演化而來。經過長時間的演化，原本位於粒線體與葉綠體內的基因，大多數都轉移到細胞核，只留下了少部分的基因在粒線體與葉綠體內。相較於細胞核內的基因體，粒線體與葉綠體的基因體要小很多，而且這兩個基因體所含有的基因數目都相當少。一般而言，植物粒線體內的基因數目不超過一百個，而大部分植物葉綠體內也只要一、兩百個基因。

以當今最受植物學家歡迎的模式植物阿拉伯芥為例，阿拉伯芥粒線體內的基因體只有367 Kb，57個基因，阿拉伯芥葉綠體內的基因體只有154 Kb，87個基因，而阿拉伯芥細胞核內的基因體則大約有120 Mb，三萬個基因(1)。雖然植物的粒線體與葉綠體內分別只有幾十個基因，但是科學家們估算阿拉伯芥的粒線體與葉綠體內分別有3000多種蛋白質。因此，這兩種胞器內大多數的蛋白質都是由細胞核內的基因所控制。這些蛋白質在細胞質內合成之後，再經由特定的運送機制，分別運送到粒線體與葉綠體內去執行各自的任務。

二、植物粒線體內的基因及其表現系統

植物粒線體與葉綠體內的基因雖然不多，但是它們的基因表現系統卻相當地複雜，而我們對這些胞器內的基因表現及調控，所知相當有限。目前科學家們普遍認為植物粒線體與葉綠體基因表現的調控，最重要的應該是在轉錄之後的層次(post-transcriptional regulation)。以下僅就植物粒線體內的基因表現系統，作一個簡單的介紹。

目前存在於植物粒線體內的基因，就功能區分，大致可分為兩大類：第一類是所謂的house-keeping genes，這些基因的功能與粒線體內的基因表現系統以及蛋白質合成有直接的關係，例如核糖蛋白、tRNA以及rRNA等的基因；第二大類的基因，則是與粒線體內呼吸作用的電子傳遞鏈有直接的關係。在粒線體內，參與電子傳遞與ATP合成的蛋白質複合體共有五個(complex I-V)，而組成這些複合體的蛋白質，大部分是由細胞核內的基因所控制，另外有一小部分的蛋白質，是由粒線體的基因所控制，並且直接在粒線體內合成。除了上述兩大類已知功能的粒線體基因之外，植物的粒線體內還有一些未知功能的基因，這些基因暫時被簡稱為orf(open reading frame)。

植物粒線體基因轉錄時所需要的RNA聚合酶是細胞核基因的產物，因此，植物粒線體基因的表現，完全受到了細胞核基因的控制。在轉錄之後，很多粒線體的RNA必須經過一連串複雜的剪接、修飾以及編輯之後，才能進一步合成蛋白質。這些轉錄之後的調控，被統稱為“RNA metabolism”，目前科學家們普遍認為RNA metabolism在植物粒線體基因表現的調控上扮演重要的角色，而在各種的RNA metabolism之中，科學家們對RNA編輯(RNA editing)的現象及其作用機制所知最少。

三、植物粒線體內的RNA編輯作用

在一九八九年時，一群法國與加拿大的科學家同時在小麥的粒線體中發現了RNA編輯的現象(2, 3)。他們發現原本在粒線體DNA序列上是“C”的核苷酸，在mRNA的序列上卻變成了“U”。有趣的是這些C→U的變化，往往造成了遺傳密碼(codon)的改變，而產生了不同的胺基酸序列。這種RNA編輯的現象，普遍存在植物的粒線體和葉綠體內，目前仍未發現植物細胞核基因有RNA編輯的現象。阿拉伯芥的葉綠體內有34個RNA編輯位置，而阿拉伯芥的粒線體內則已經發現了約500個的RNA編輯位置(4)，這些RNA編輯全部都是C→U，而且大部分會造成遺傳密碼的改變。這些因為RNA編輯而改變的遺傳密碼往往有一個共同的特性，即改變後所產生的胺基酸，恢復了與其他物種同源蛋白質相同

的序列。

以阿拉伯芥粒線體內的 *nad4-449* 為例，RNA 編輯發生在 *nad4* mRNA 由轉譯起始密碼 AUG 算起第 449 個核苷酸的位置。在原本 DNA 序列上的密碼為 CCA，經過 C→U 的 RNA 編輯之後變成了 CUA，這個改變使原來的密碼所產

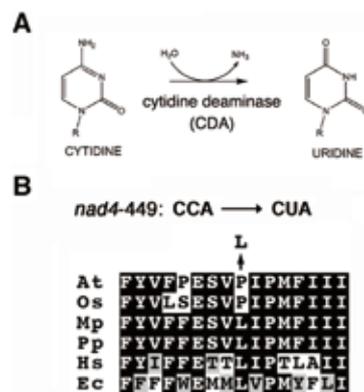
生的第 150 個胺基酸由 proline 變成了 leucine (P150L)。除了阿拉伯芥，這個 RNA 編輯位置在水稻中也有類似的現象。可是其他物種，例如苔蘚、人類及大腸桿菌的 *nad4* mRNA，在這個位置並沒有 RNA 編輯的現象，這些物種在此處的密碼原本就是 CUA (leucine)。由胺基酸序列的比對分析，我們可以很清楚的看到 *nad4-449* 的 C→U RNA 編輯，讓阿拉伯芥在這個位置的遺傳密碼產生了 P150L 的改變，進而恢復了與其他物種 NAD4 蛋白質相同的胺基酸序列(圖一)。目前我們對於植物粒線體內 RNA 編輯的意義與生理功能並不是很瞭解，有些科學家認為這些 RNA 編輯作用可以恢復與同源蛋白質相同的胺基酸序列，也因此恢復了這個蛋白質的生理功能。如果真的是這樣，那麼植物粒線體內的 RNA 編輯作用就相當重要了。

四、植物粒線體內 RNA 編輯的作用機制

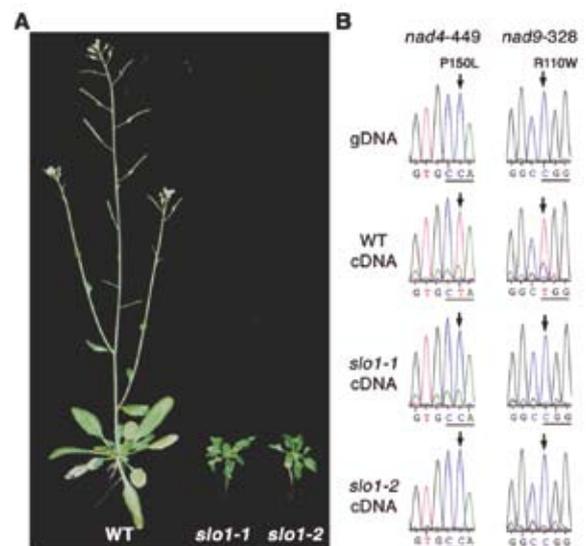
事實上，自從二十一年前科學家發現了植物粒線體內的 RNA 編輯作用之後，我們對這個現象的瞭解依然相當地有限。目前我們還很難去討論這超過 500 個已知的 RNA 編輯作用，到底有什麼樣的生理功能與意義。舉例來說，我們還不知道植物到底是以什麼酵素來催化 C→U 的反應。動物的細胞核基因所產生的 mRNA 也有 C→U 的編輯現象，而這個反應是由一種叫做 cytidine deaminase (CDA) 的酵素所催化。到目前為止，植物界並還沒有發現 CDA 酵素，因此植物粒線體內 C→U 的反應到底如何完成，仍然是一個謎。

一般認為要完成 RNA 的編輯，除了需要特定的編輯酵素之外，應該還需要一些 RNA 序列上的 cis-elements，以及具有 RNA 序列專一性的 trans-acting factors 來協助完成 RNA 的編輯。在二〇〇九年，科學家首度在阿拉伯芥中找到了一個與粒線體的 RNA 編輯作用有關的蛋白質 MEF1 (mitochondrial editing factor1)(5)。當 MEF1 失去功能時，粒線體內 *rps4-956*、*nad7-963* 和 *nad2-1160* 的 RNA 編輯便無法順利完成。可是不具有 MEF1 正常功能的阿拉伯芥突變株，在生長與發育上並沒有什麼異樣。這些結果間接說明了 *rps4-956*、*nad7-963* 和 *nad2-1160* 的 RNA 編輯可能沒有什麼重要的生理功能。

我們研究室最近發現了一系列的阿拉伯芥突變株，並將它們命名為“slow growth1 (*slo1*)”，與野生型的阿拉伯芥相比，*slo1* 突變株的生長緩慢，而且植株較小。我們發現在 *slo1* 突變株內，粒線體 *nad4-449* 與 *nad9-328* 的 RNA 編輯完全喪失了作用(圖二)(6)。有趣的是 *nad4-449* 與 *nad9-328* 這兩個 RNA 編輯位置上游的核苷酸序列相當類似，因此，這兩個 RNA 編輯位置的上



圖一、(A) 由 cytidine 到 uridine (C→U) 的 RNA 編輯作用可能是由 cytidine deaminase (CDA) 所催化。在植物界尚未發現有 CDA 的存在。(B) 阿拉伯芥粒線體 *nad4-449* 經 RNA 編輯後 (CCA → CUA)，遺傳密碼由 proline (P) 變成 leucine (L)，這個改變使阿拉伯芥的 NAD4 在第 150 個胺基酸與苔蘚、人類及大腸桿菌一致。At, 阿拉伯芥; Os, 水稻; Mp, 蘚類; Pp, 苔類; Hs, 人類; Ec, 大腸桿菌。



圖二、(A) 與野生型 (WT) 阿拉伯芥比較，同樣是六週大的 *slo1-1* 與 *slo1-2* 突變株生長遲緩，而且植株較小。(B) 粒線體 *nad4-449* 與 *nad9-328* 的 RNA 編輯作用在 *slo1-1* 與 *slo1-2* 突變株內完全喪失了。箭頭所指的核苷酸在基因體 (gDNA) 的序列為 C，野生型的阿拉伯芥 (WT) 會在此位置進行 C→U 的 RNA 編輯，而 mRNA 上的 U 在 cDNA 合成時變成 T。在 *slo1-1* 與 *slo1-2* 突變株內，該位置的 cDNA 序列都是未經編輯的 C。

游可能具有特定的cis-elements，而SLO1蛋白質正是可以辨認這段特定RNA序列的editing factor。當阿拉伯芥的SLO1喪失功能時，nad4-449與nad9-328便完全無法進行RNA編輯，或許正由於這兩個基因的mRNA無法正常地編輯，而直接影響了NAD4與NAD9蛋白質的功能。NAD4與NAD9是呼吸作用電子傳遞鏈上重要的蛋白質，slo1突變株可能是因為粒線體內的電子傳遞功能受到影響，無法產生足夠的ATP，而造成植株生長緩慢。

為什麼植物的粒線體內會有這麼多的mRNA需要進行RNA編輯？這些RNA編輯作用究竟有什麼生理意義？科學家們對這些問題都還沒有什麼適當的答案。不過，包括我們的研究室在內，科學家們正陸陸續續地發現一些與RNA編輯有關的editing factors。有趣的是，目前所有已知的粒線體或葉綠體內的RNA editing factors都是屬於同一蛋白質族群，因為這類蛋白質都有數個含有35個胺基酸的domain，所以被統稱為pentatricopeptide repeat (PPR)蛋白質。我們認為，這些發現應該不是自然界一個偶發的現象，究竟PPR蛋白質與植物粒線體和葉綠體內的RNA編輯現象存在著什麼樣的關係？它們又是如何地演化而來？這些新舊夾雜的問題，依然深深地迷惑著我們。

誌謝：感謝宋姿瑩、鍾翠芸小姐協助打字與校稿。

參考文獻：

1. Arabidopsis Genome Initiative (2000) Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408: 796-815
2. Gualberto JM, Lamattina L, Bonnard G, Weil JH, Grienberger JM (1989) RNA editing in wheat mitochondria results in the conservation of protein sequences. *Nature* 341: 660-662
3. Covello PS, Gray MW (1989) RNA editing in plant mitochondria. *Nature* 341: 662-666
4. Giegé P, Brennicke A (1999) RNA editing in *Arabidopsis* mitochondria effects 441 C to U changes in ORFs. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 15324-15329
5. Zehrmann A, Verbitskiy D, van der Merwe JA, Brennicke A, Takenaka M (2009) A DYW domain-containing pentatricopeptide repeat protein is required for RNA editing at multiple sites in mitochondria of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 21:558-567
6. Sung TY, Tseng CC, Hsieh MH (2010) The SLO1 PPR protein is required for RNA editing at multiple sites with similar upstream sequences in *Arabidopsis* mitochondria. *Plant J* 63: 499-511