

姜上川,梅超,王小芳,等. PPR 蛋白 APPR6 参与 ABA 调控拟南芥种子萌发与幼苗生长[J]. 江苏农业科学,2016,44(4):53-57.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.04.014

# PPR 蛋白 APPR6 参与 ABA 调控拟南芥种子萌发与幼苗生长

姜上川,梅超,王小芳,张大鹏

(清华大学生命科学学院,北京 100084)

**摘要:**植物激素脱落酸(ABA)参与调控植物生长发育各个阶段,并在植物对多种胁迫的抗逆反应中起着重要作用。PPR 基因家族是拟南芥最大的基因家族之一,PPR 蛋白在调控植物生长发育与响应逆境胁迫过程中发挥重要作用,然而参与 ABA 信号转导的线粒体 PPR 蛋白仍有待进一步研究。本研究发现拟南芥线粒体 PPR 蛋白 APPR6 的 2 个 T-DNA 插入突变体在萌发与萌发后幼苗早期生长过程中对外源 ABA 超敏,报道 APPR6 参与 ABA 信号转导为进一步阐明线粒体 PPR 蛋白的作用机制以及复杂的 ABA 信号网络提供了新的信息。

**关键词:**脱落酸(ABA);APPR6;PPR 蛋白;种子萌发;幼苗生长;拟南芥

**中图分类号:** Q945.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)04-0053-05

PPR (pentatricopeptide repeats) 蛋白是拟南芥中最大的细胞核编码的蛋白家族之一,最早在拟南芥基因组序列中发现<sup>[1]</sup>。在拟南芥中约有 450 个 PPR 蛋白,其他陆生植物基因组序列中可编码更多<sup>[2-3]</sup>,并且来自不同种属的 PPR 蛋白具有高度同源性。PPR 蛋白的主要结构特征是以 35 个氨基酸为重复单位连续排列,串联重复可达到 30 次<sup>[2]</sup>。PPR 蛋白在细胞内主要分布在线粒体与叶绿体中,在线粒体和叶绿体等细胞器 RNA 代谢过程中起着重要作用<sup>[3]</sup>,包括 RNA 剪接<sup>[4-6]</sup>、稳定<sup>[7]</sup>、编辑<sup>[8-11]</sup>、加工<sup>[12]</sup>以及蛋白质翻译起始和核糖体组装等<sup>[13]</sup>。大量研究表明,PPR 具有直接结合 RNA 功能,通过 PPR 基序形成的螺旋结构直接结合 RNA,或与其辅助因子共同结合 RNA<sup>[2-3]</sup>。近年来结构生物学研究为进一步阐明 PPR 蛋白的识别机理与识别密码奠定基础<sup>[14]</sup>。

脱落酸(ABA)是植物体内最重要的激素之一,参与调控植物生长发育各个阶段,并在植物应对干旱、渗透、盐、低温等

非生物胁迫以及病虫害等生物胁迫的响应中起着重要作用<sup>[15-16]</sup>。定位在线粒体或叶绿体的 PPR 蛋白在调控植物生长发育与逆境胁迫响应的过程中发挥重要作用<sup>[2-3]</sup>。有的 PPR 蛋白还与雄性胞质不育有密切联系<sup>[17-18]</sup>。目前人们在拟南芥中已经发现几个线粒体定位的 PPR 蛋白参与了 ABA 信号转导过程,包括 ABO5<sup>[4]</sup>、SLO2<sup>[9]</sup>、SLG1<sup>[10]</sup>、AHG11<sup>[11]</sup>、PPR40<sup>[19]</sup>与 PCN<sup>[20]</sup>等,这几种 PPR 蛋白通过调控线粒体中活性氧(ROS)的变化参与 ABA 信号转导过程。然而在拟南芥庞大的 PPR 蛋白家族中,仍有更多可能参与 ABA 信号转导的线粒体 PPR 蛋白有待鉴定。

最近研究发现拟南芥线粒体 PPR 蛋白 APPR6 参与调控胚胎发育过程<sup>[21]</sup>。APPR6 (Atlg77360)的 3 个 T-DNA 插入突变体 SALK\_045714 (appr6-1)、SALK\_091917 (appr6-2)和 SALK\_061950 (appr6-3)的杂合体中,仅 3/4 的种子能够萌发并且没有纯合体植株;另外 1/4 纯合体种子在发育的角果中颜色透明、胚胎发育迟缓,成熟后干种子体积小、皱缩,在土中不能直接萌发,而在含有蔗糖的 MS 培养基上表现为生长发育严重滞后、植株矮小等<sup>[21]</sup>。然而对于 APPR6 在拟南芥中的其他功能仍有待研究。

本研究通过鉴定 APPR6 另外 2 个 T-DNA 插入突变体 SALK\_078430 (appr6-4)与 SALK\_005601 (appr6-5)在种子萌发与萌发后幼苗早期生长过程中对 ABA 的响应,发现 APPR6 参与 ABA 信号转导,为进一步阐明线粒体 PPR 蛋白的作用机制以及 ABA 信号网络奠定基础。

(3):362-365.

[6]方从兵,李贺勤,宛晓春,等. 不同理化因子对野葛悬浮培养细胞生长及异黄酮合成的影响[J]. 中国中药杂志,2006,31(19):1580-1583.

[7]梁晓芳,朱学艺,李红芳. 前体和诱导子对大豆悬浮细胞中异黄酮积累的影响[J]. 厦门大学学报:自然科学版,2009,48(1):113-118.

[8]吴桂容,陈春岚,曲芬霞,等. 鸡血藤嫩叶愈伤组织诱导最佳培养

基的筛选[J]. 现代农业科技,2009,37(18):93-94.

[9]张坚,高文远,王娟. 杠柳细胞悬浮培养体系中蔗糖浓度与氮源的考察[J]. 中国药理学杂志,2011,46(2):98-101.

[10]Sugiyama M. Historical review of research on plant cell dedifferentiation[J]. Journal of Plant Research,2015,128(3):349-359.

[11]张安宁,刘连成. 响应面法优化香菇液体发酵条件[J]. 江苏农业科学,2014,42(3):200-203.

1 材料与方法

1.1 植物材料

拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)野生型(Col)种子购自美国俄亥俄州立大学拟南芥生物资源中心(Arabidopsis Biological Resource Center, Ohio State University, USA, 简称 ABRC)。

*APPR6*(At1g77360)基因 T-DNA 插入突变体 SALK\_078430(*appr6-4*)以及 SALK\_005601(*appr6-5*)种子购自 ABRC,其遗传背景为 Col 生态型。

*ABI1*(AT4G26080)基因 T-DNA 插入突变体 *abi1-3*(SALK\_076309)、*ABI2*(AT5G57050)基因 T-DNA 插入突变体 *abi2-2*(SALK\_015166)购自 ABRC,其遗传背景为 Col 生态型。*abi1-3 abi2-2* 双突变体纯合体由中国农业大学生命科学学院郭岩教授馈赠。

1.2 方法

1.2.1 拟南芥种植 将适量拟南芥种子用 0.5% 次氯酸钠(NaClO)表面消毒,振荡 20 min 后用无菌水漂洗 5 次,播种于固体 MS<sup>[22]</sup>培养基(MS 干粉 4.43 g/L,蔗糖 30 g/L,琼脂 7~8 g/L,pH 值 5.8~6.0)上,将培养皿置于 4℃ 环境中低温处理 3 d 后取出,置于光照培养箱中培养 10~14 d,光周期为光照 16 h—黑暗 8 h,温度 20℃,光照度约 80 μmol/(m<sup>2</sup>·s)。将适龄幼苗移栽入小盆中,种植用土的成分体积配比为营养土:草炭土:蛭石=2:1:1。幼苗覆膜培养 5 d 后揭膜,光周期为光照 16 h—黑暗 8 h,温度 22~24℃,光照度为 120 μmol/(m<sup>2</sup>·s)。

1.2.2 T-DNA 插入突变体鉴定 采用表 1 中所示引物对突变体进行鉴定。T-DNA 插入突变体 *appr6-4* 和 *appr6-5* 纯合体基因组 DNA 用自身基因 RP 引物与 T-DNA 序列 LBa1 引物可以扩增出特异条带,而 LP+RP 引物扩增不出条带;野生型或无插入植株基只有 LP+RP 引物能扩增出目的条带。PCR 程序:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 30 s,58℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1.5 min,35 个循环;之后 72℃ 总延伸 10 min。

进一步对突变体的 T-DNA 序列插入位置进行分析。以突变体纯合体植株的基因组 DNA 为模板,用 T-DNA 序列左右端引物 LBa1 5′-TGTTTCACGTAGTGGGCCATCG-3′、RBa1 5′-TGTTTCACGTAGTGGG CCATCG-3′分别与基因组序列两端引物 RP、LP(表 1)扩增,将所得目的扩增产物片段用凝胶回收试剂盒回收,之后重组到克隆载体上(pEASY-T1),送至北京 Life Technologies 测序并比对分析 T-DNA 插入位置。

表 1 APPR6 T-DNA 插入突变体鉴定引物		
突变体名称(编号)	引物名称	引物序列(5′→3′)
<i>appr6-4</i> (SALK_078430)	LBa1	TGGTTCACGTAGTGGGCCATCG
	<i>appr6-4</i> LP	TCAGACCATTGGAAGAACCTG
	<i>appr6-4</i> RP	ATCAAGCTCCACAACAAATGG
<i>appr6-5</i> (SALK_005601)	LBa1	TGGTTCACGTAGTGGGCCATCG
	<i>appr6-5</i> LP	ACTCAACAAGGTTTGTCAATG
	<i>appr6-5</i> RP	GCCATCTAATAGAACGAGGGG

1.2.3 实时荧光定量 PCR 检测基因表达 采用通用植物总

RNA 提取试剂盒提取不同植物材料 RNA,反转录后采用实时荧光定量 PCR 分析。所用的引物如表 2 所示。反应体系(10 μL)中加入 SYBR Premix Ex Taq(2×)5 μL,正向引物与反向引物(20 μmol/L)各 0.1 μL,cDNA 模板 0.2 μL,ddH<sub>2</sub>O 补至 10 μL。每个反应体系重复 3 次,充分混匀,短暂离心后采用 CFX96 荧光定量 PCR 仪(Bio-Rad,美国)进行扩增。实时荧光定量 PCR 反应程序:95℃ 30 s,94℃ 5 s,60℃ 20 s 读取荧光值并重复 40 个循环,95℃ 10s,65℃ 升温至 95℃,每次上升 0.5℃,每次 5 s 读取荧光值。数据分析:*C<sub>T</sub>* 值为 PCR 反应荧光信号达到所设域值时对应的循环数,Δ*C<sub>T</sub>* 为目的基因引物 *C<sub>T</sub>*(*APPR6*)与内参引物 *C<sub>T</sub>*(*Actin*)值之差,ΔΔ*C<sub>T</sub>* 为处理组与对照组 Δ*C<sub>T</sub>* 之差,以 2<sup>-ΔΔ*C<sub>T</sub>*</sup> 衡量标准化后基因表达差异。

表 2 实时荧光定量 PCR 引物	
引物名称	引物序列(5′→3′)
<i>Actin2/8</i> for	GGTAACATGTGTCTCAGTGGTGG
<i>Actin2/8</i> rev	AACGACCTTAATCTTCATGCTGC
<i>APPR6</i> for	CGGGAAATGATTGATGCGGG
<i>APPR6</i> rev	TCAAGCCGTTCTCAGTTCC

1.2.4 种子萌发试验 将适量拟南芥种子表面消毒后,播种在含有不同浓度(±)ABA 的固体 MS 培养基上,经 4℃ 左右低温处理 2~3 d 后将培养皿转移至光照培养箱中。种子萌发以种子露白作为记录标准,分别在不同时间点(12、24、36、48、60、72 h)记录不同基因型种子对应的萌发数量。按照公式“萌发率=萌发数/总数×100%”对萌发率数据进行统计分析。

1.2.5 幼苗萌发后生长试验 将适量拟南芥种子表面消毒后,播种在含有不同浓度(±)ABA 的固体 MS 培养基上,经 4℃ 低温层积处理 2~3 d 后将培养皿转移至光照培养箱中,经适当生长天数(10 d)后观察记录幼苗生长状况。

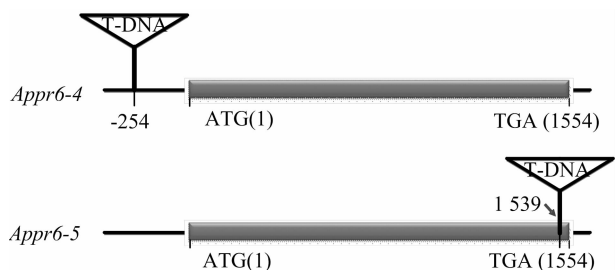
2 结果与分析

2.1 突变体 *appr6-4* 和 *appr6-5* 的 T-DNA 插入位点鉴定 之前报道的 T-DNA 插入突变体 SALK\_045714(*appr6-1*)和 SALK\_091917(*appr6-2*)均插入拟南芥 *APPR6* 基因起始密码子下游 1 435 bp,SALK\_061950(*appr6-3*)插入拟南芥 *APPR6* 基因起始密码子下游 1 449 bp,这几个突变体纯合体种子胚胎发育异常、不能正常萌发生长;在添加蔗糖的培养基上生长出的植株移入土中生长后,其株高与角果大小均显著小于野生型,生长严重滞后。

本研究选择 *APPR6* 另外 2 个 T-DNA 插入突变体 SALK\_078430(*appr6-4*)与 SALK\_005601(*appr6-5*)。*appr6-4* 突变体中 T-DNA 插入 *APPR6* 基因启动子区,即起始密码子 ATG 上游第 271 bp 到第 254 bp 之间,插入造成约 18 bp 碱基缺失;*appr6-5* 突变体中 T-DNA 插入 *APPR6* 基因起始密码子 ATG 下游 1539 bp 到终止密码子 TGA 下游 37 bp 之间,插入造成约 52 bp 碱基缺失(图 1)。

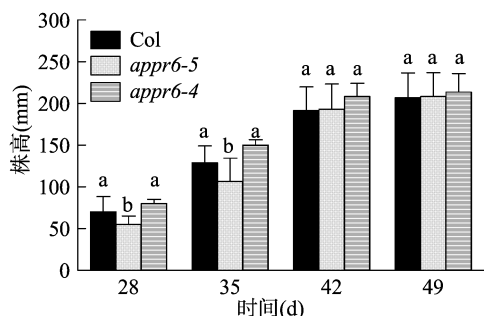
同时,与野生型相比,*appr6-4* 和 *appr6-5* 突变体的纯合体种子形态与野生型接近,并能够正常萌发,在土中可继续生长;进入生殖生长阶段,仅 *appr6-5* 在早期(35 d 前)表现出株高(花序高度)较低、生长滞后,然而在 42 d 后 *appr6-4* 和 *appr6-5* 突变体与野生型相比植株高度差异不显著(图

2)。因此选择 *appr6-4* 和 *appr6-5* 突变体作为遗传材料进行后续研究。



矩形表示外显子，两端黑线表示基因起始密码子（ATG）上游或终止密码子（TGA）下游；*appr6-4*和*appr6-5*突变体中T-DNA及其插入位置由三角区域表示

图1 突变体*appr6-4*和*appr6-5*的T-DNA插入位置



误差线代表标准误差，采用Duncan's新复极差法对同一时间点的不同基因型植株高度差异显著性进行多重比较，不同字母表示处理间差异显著( $P < 0.05$ )

图2 *appr6-4*和*appr6-5*突变体植株高度跟随检测

## 2.2 APPR6 基因表达在种子中最高并受到 ABA 诱导

首先检测了拟南芥不同生长期 *APPR6* 表达变化情况 (图 3 - A)。采用实时荧光定量 PCR 检测野生型低温层积处理 3 d 后生长 24 h 种子、生长 12 d 幼苗和 21 d 幼苗中 *APPR6* 基因表达情况，发现 *APPR6* 在种子中表达量显著上调。在基因表达数据公共网站 Arabidopsis eFP Browser (<http://bar.utoronto.ca/efp/cgi-bin/efpWeb.cgi>) (图 3 - C) 以及 Genevestigator (<http://www.genevestigator.com>) (图 3 - D) 查找生物芯片检测相关数据，发现 *APPR6* 在不同组织、器官中均有表达，并在种子中表达量最高。这些数据与图 2 - A 中试验结果基本一致。

进一步检测了 ABA 处理后 *APPR6* 基因表达变化，结果图 3 - B 表明。施加不同浓度 ( $\pm$ ) ABA (0、1、3  $\mu\text{mol/L}$ ) 低温处理 3 d 后生长 24 h 的野生型 Col 种子中，*APPR6* 表达随 ABA 浓度升高而显著升高。

## 2.3 APPR6 调控种子萌发对 ABA 的响应

植物种子休眠与萌发过程受到 ABA 的调控，外源 ABA 会在一定程度上抑制种子的正常萌发过程。为研究 *APPR6* 在种子萌发过程中对 ABA 敏感性的影响，采用 ABA 诱导的种子萌发抑制试验检测不同基因型种子在萌发过程中对 ABA 敏感性的差异。用 ABA 信号转导负调节子编码基因 *ABI1* 与 *ABI2* 双突变体 *abi1-3 abi2-2* 作为对 ABA 敏感的对照，将野生型 Col、突变体 *appr6-4* 和 *appr6-5*、双突变体 *abi1-3 abi2-2* 的种子播种在无 ABA (0  $\mu\text{mol/L}$ ) 以及含有 ( $\pm$ ) ABA (0.5、1  $\mu\text{mol/L}$ ) 的 MS 培养基上，经 4  $^{\circ}\text{C}$  低温处理

约 3 d 后放入光照培养箱中正常生长，计算其在 12 ~ 72 h 的萌发率，统计结果如图 4 所示。在不含 ABA 的 MS 培养基上，野生型 Col、*appr6-4* 和 *appr6-5* 突变体种子在生长 36 h 后萌发率均可达到 100%。而在含有不同浓度 ( $\pm$ ) ABA (0.5、1  $\mu\text{mol/L}$ ) 的 MS 培养基上，与野生型 Col 相比，*appr6-4* 和 *appr6-5* 突变体的萌发率受到 ABA 显著抑制，其超敏程度低于双突变体 *abi1-3 abi2-2*。

## 2.4 APPR6 调控幼苗早期生长对 ABA 的响应

高浓度 ABA 能够抑制植物幼苗生长。为研究 *APPR6* 对幼苗早期生长过程中对 ABA 敏感性的影响，采用 ABA 诱导的萌发后生长抑制试验检测不同基因型幼苗早期生长过程中对 ABA 敏感性的差异。用 ABA 信号转导负调节子编码基因 *ABI1* 与 *ABI2* 双突变体 *abi1-3 abi2-2* 作为对 ABA 敏感的对照。

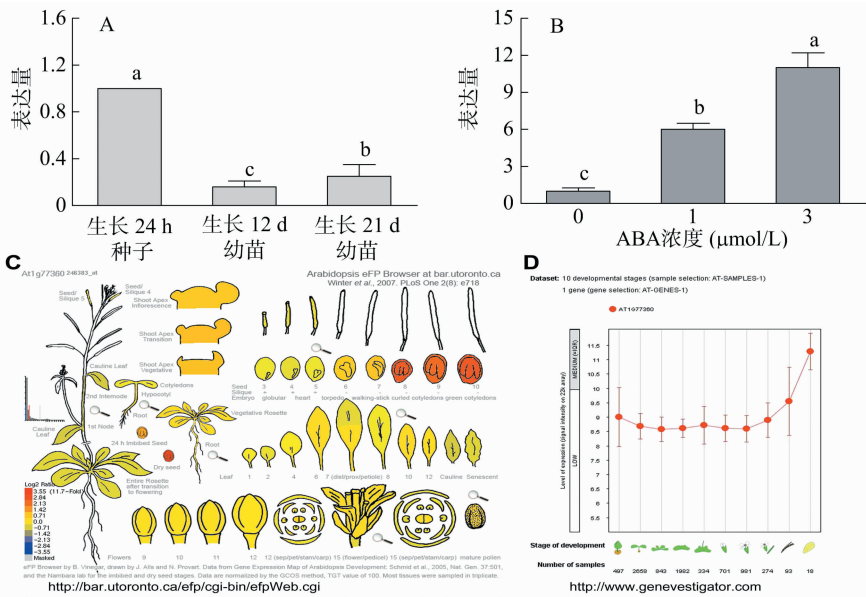
将不同基因型种子直接播种在无 ABA (0  $\mu\text{mol/L}$ ) 以及含有不同浓度 ( $\pm$ ) ABA 的 MS 培养基上，经 4  $^{\circ}\text{C}$  低温处理约 3 d 后放入光照培养箱中正常生长 10 d，结果如图 5 所示。在无 ABA (0  $\mu\text{mol/L}$ ) 培养基上，除 *appr6-5* 根长略短、表现出显著生长滞后外，其他基因型植物根长差异不显著。在含有 0.3  $\mu\text{mol/L}$  ABA 的 MS 培养基上，*appr6-5* 突变体的子叶不能变绿伸展、胚轴与根部生长受到 ABA 显著抑制，*appr6-4* 尽管超敏程度低于 *appr6-5* 突变体，但根系生长受到 ABA 抑制程度显著高于野生型 (图 5 - A、图 5 - B)。在 0.5  $\mu\text{mol/L}$  ABA 的 MS 培养基上，*appr6-4* 受到 ABA 抑制程度仍显著高于野生型，*appr6-5* 突变体的生长状态与双突变体 *abi1-3 abi2-2* 接近 (图 5 - A、图 5 - B)。为排除 *appr6-5* 根长生长滞后的影响，以无 ABA (0  $\mu\text{mol/L}$ ) 培养基上根长数值为参照，将不同材料根长换算为相对值 (图 5 - C)，其结果与图 5 - B 中根长变化趋势一致。

## 3 结论与讨论

本研究首次发现拟南芥线粒体 PPR 蛋白 *APPR6* 参与 ABA 调控种子萌发与幼苗生长。在种子中 *APPR6* 的表达量最高，且受到外源 ABA 诱导。利用 *APPR6* 的另外 2 个可以完成整个生命周期的 T - DNA 插入突变体 *appr6-4* 和 *appr6-5* 作为遗传材料，发现在种子萌发与萌发后幼苗生长过程中，与野生型相比，突变体 *appr6-4* 和 *appr6-5* 均表现出显著的对 ABA 敏感的表现。这些证据表明 *APPR6* 参与 ABA 信号转导。

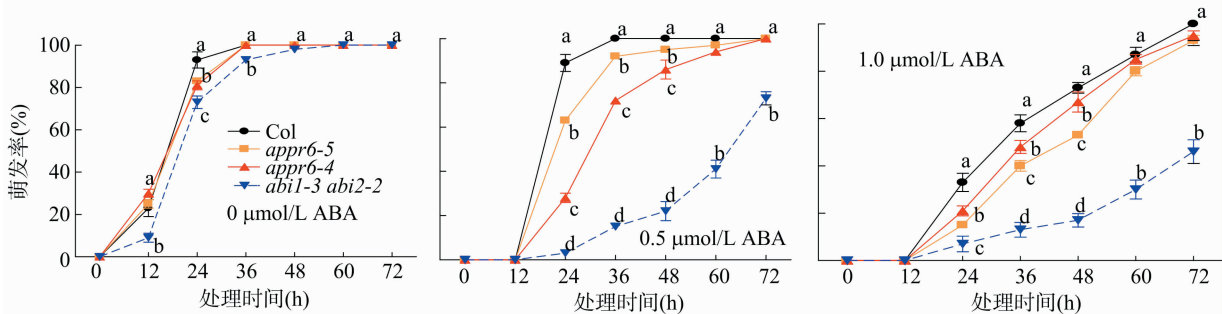
拟南芥 *APPR6* 在玉米中的同源蛋白是线粒体 PPR 蛋白 *MPPR6* (MAGIv4\_67802)，主要在种子中表达，参与促进玉米线粒体中编码核糖体蛋白 S3 的 *rps3* mRNA 5' 端成熟以及翻译起始，并影响胚胎发育；*MPPR6* 在不同物种中结构域功能的保守性较高，可恢复拟南芥 *appr6-3* 突变体的生长滞后表现型<sup>[21]</sup>。*APPR6* 以及 *MPPR6* 主要在种子中表达与其在种子阶段的关键作用密切相关。

同时，在正常生长条件下，*appr6-4* (SALK\_078430) 的生长发育状态与野生型差异不显著，而 *appr6-5* (SALK\_005601) 在早期幼苗生长过程中以及生殖生长初期表现出发育滞后表现型；并且在萌发后生长过程中，*appr6-5* 对 ABA 的超敏程度显著高于 *appr6-4*。然而这 2 个突变体均能正常完



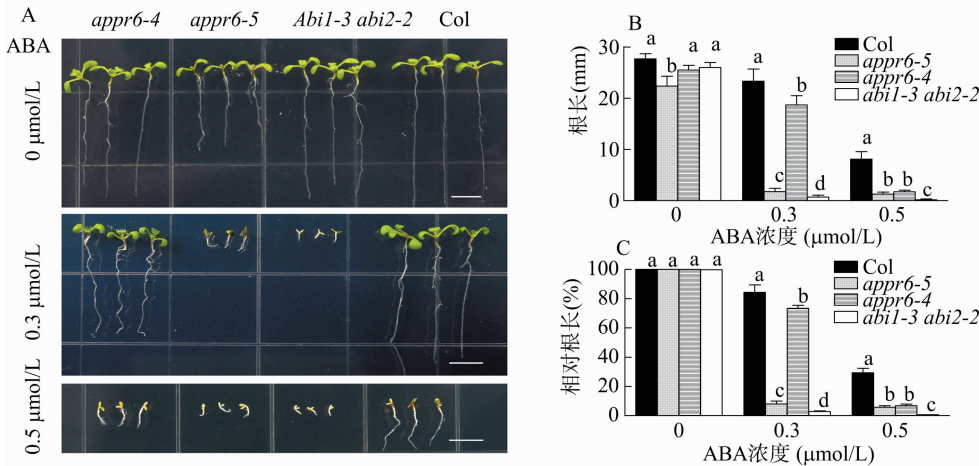
A—实时荧光定量PCR检测野生型低温层积处理 3 d 后生长 24 h 种子、生长 12 d 幼苗和生长 21 d 幼苗中 *APPR6* 基因表达情况；B—实时荧光定量PCR检测 0、1、3 μmol/L (±) ABA 处理后不同基因型种子中 *APPR6* 基因表达变化,重复 3 次,图中的误差线代表标准误差,采用 Duncan's 新复极差法对不同材料或 ABA 处理后 *APPR6* 表达变化差异显著性进行多重比较,不同字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ )；C—基因表达数据公共网站 Arabidopsis eFP Browser (<http://bar.utoronto.ca/efp/cgi-bin/efpWeb.cgi>) 中 *APPR6* 基因表达数据,图中红色表示表达量高；D—基因表达数据公共网站 Genevestigator (<http://www.genevestigator.com>) 中 *APPR6* 基因表达数据,横坐标为不同组织及发育时期,纵坐标为相对表达量

图 3 *APPR6* 基因表达情况



采用 Duncan's 新复极差法对同一时间点不同基因型萌发率的差异显著性进行多重比较,不同字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ )

图 4 *APPR6* 调控种子萌发对 ABA 的响应



A—将野生型 Col、*appr6-4* 和 *appr6-5* 突变体,以及 *abi1-3 abi2-2* 双突变体的种子直接播种在无 ABA (0 μmol/L) 以及含有 (±) ABA (0.3、0.5 μmol/L) 的 MS 培养基上生长 7 d 后观察幼苗生长情况,标尺表示 5 mm；B—对应 A 中不同基因型在 ABA 处理后根长统计；C—对应 B 中根长的相对长度,以无 ABA (0 μmol/L) 培养基上生长的根长为参照；所有试验重复 3 次,误差线代表标准误差,采用 Duncan's 氏新复极差法对不同基因型根长数据差异显著性进行多重比较,不同字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ )

图 5 *APPR6* 调控萌发后生长对 ABA 的响应

成整个生命周期,纯合体种子外观与野生型差异不显著。根据 APPR6 的结构特征<sup>[21]</sup>,之前报道的纯合体致死、胚胎发育发生严重异常的突变体株系 SALK\_045714 (*appr6-1*)、SALK\_091917 (*appr6-2*) 和 SALK\_061950 (*appr6-3*) 的 T-DNA 插入拟南芥 *APPR6* 基因的区段对应 APPR6 蛋白 PPR 结构域。突变体 *appr6-4* 的 T-DNA 插入在 *APPR6* 启动子区,其基因全长序列未受到影响;而 *appr6-5* 的 T-DNA 插入位点对应 APPR6 蛋白 C 端远离 PPR 结构域的位置。这表明 APPR6 中 PPR 结构域的完整性对其正常行使功能至关重要。

本研究为进一步阐明线粒体 PPR 蛋白的作用机制以及 ABA 信号网络提供了新的信息。进一步对拟南芥 APPR6 可能结合的 RNA 靶标进行筛选,并研究其表达变化对 ABA 信号转导关键调节基因表达的影响,有助于理解其可能的作用机制。此外由于 ABA 是重要的抗逆激素,对 APPR6 在干旱、盐、低温、渗透胁迫等主要非生物逆境中的功能有待后续鉴定。

#### 参考文献:

- [1] Small I D, Peeters N. The PPR motif—a TPR-related motif prevalent in plant organellar proteins[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2000, 25(2): 46–47.
- [2] Lurin C, Andres 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.
- [3] Schmitz-Linneweber C, Small I. Pentatricopeptide repeat proteins: a socket set for organelle gene expression[J]. Trends in Plant Science, 2008, 13(12): 663–670.
- [4] Liu Y, He J, Chen Z, et al. ABA overly-sensitive 5 (ABO5), encoding a pentatricopeptide repeat protein required for cis-splicing of mitochondrial nad2 intron 3, is involved in the abscisic acid response in *Arabidopsis*[J]. Plant Journal, 2010, 63(5): 749–765.
- [5] Chateigner-Boutin A, des Francs-Small C C, Delannoy E, et al. OTP70 is a pentatricopeptide repeat protein of the E subgroup involved in splicing of the plastid transcript *rpoCl*[J]. Plant Journal, 2011, 65(4): 532–542.
- [6] de Longevialle A F, Meyer E H, Andres C, et al. The pentatricopeptide repeat gene *OTP43* is required for trans-splicing of the mitochondrial *nad1* intron 1 in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Cell, 2007, 19(10): 3256–3265.
- [7] Pfalz J, Bayraktar O A, Prikryl J, et al. Site-specific binding of a PPR protein defines and stabilizes 5' and 3' mRNA termini in chloroplasts[J]. EMBO Journal, 2009, 28(14): 2042–2052.
- [8] Sung T Y, Tseng C C, Hsieh M H. The SLO1 PPR protein is required for RNA editing at multiple sites with similar upstream sequences in *Arabidopsis* mitochondria[J]. Plant Journal, 2010, 63(3): 499–511.
- [9] Zhu Q, Dugardeyn J, Zhang C, et al. SLO2, a mitochondrial pentatricopeptide repeat protein affecting several RNA editing sites, is required for energy metabolism[J]. Plant Journal, 2012, 71(5): 836–849.
- [10] Yuan H, Liu D. Functional disruption of the pentatricopeptide protein SLG1 affects mitochondrial RNA editing, plant development, and responses to abiotic stresses in *Arabidopsis*[J]. Plant Journal, 2012, 70(3): 432–444.
- [11] Murayama M, Hayashi S, Nishimura N, et al. Isolation of *Arabidopsis* ahg11, a weak ABA hypersensitive mutant defective in nad4 RNA editing[J]. Journal of Experimental Botany, 2012, 63(14): 5301–5310.
- [12] Meierhoff K, Felder S, Nakamura T, et al. HCF152, an *Arabidopsis* RNA binding pentatricopeptide repeat protein involved in the processing of chloroplast *psbB-psbT-psbH-petB-petD* RNAs[J]. Plant Cell, 2003, 15(6): 1480–1495.
- [13] Prikryl J, Rojas M, Schuster G, et al. Mechanism of RNA stabilization and translational activation by a pentatricopeptide repeat protein[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(1): 415–420.
- [14] 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.
- [15] Cutler S R, Rodriguez P L, Finkelstein R R, et al. Absciscic acid: emergence of a core signaling network[J]. Annual Review of Plant Biology, 2010, 61: 651–679.
- [16] Finkelstein R R, Gampala S S L, Rock C D. Absciscic acid signaling in seeds and seedlings[J]. Plant Cell, 2002, 14(Suppl): S15–S45.
- [17] Chetrit P, Rios R, De Paepe R, et al. Cytoplasmic male sterility is associated with large deletions in the mitochondrial DNA of two *Nicotiana sylvestris* protoclonal lines[J]. Current Genetics, 1992, 21(2): 131–137.
- [18] Wang Z H, Zou Y J, Li X Y, et al. 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[J]. Plant Cell, 2006, 18(3): 676–687.
- [19] Zsigmond L, Rigó G, Szarka A, et al. *Arabidopsis* PPR40 connects abiotic stress responses to mitochondrial electron transport[J]. Plant Physiology, 2008, 146(4): 1721–1737.
- [20] Laluk K, Abuqamar S, Mengiste T. The *Arabidopsis* mitochondria-localized pentatricopeptide repeat protein PGN functions in defense against necrotrophic fungi and abiotic stress tolerance[J]. Plant Physiology, 2011, 156(4): 2053–2068.
- [21] 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.
- [22] Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture[J]. Physiologia Plantarum, 1962, 15: 473–497.