

PPR蛋白家族在植物生长发育中的研究进展

沈诗菁

浙江师范大学生命科学学院, 浙江 金华

收稿日期: 2023年4月20日; 录用日期: 2023年5月19日; 发布日期: 2023年5月29日

摘要

PPR (pentatricopeptide repeat) 蛋白家族是最大的蛋白质家族之一, 其主要定位于陆生植物线粒体与叶绿体中。研究表明, PPR蛋白在植物生长发育过程中起着至关重要的作用。本文对PPR蛋白结构特征及分布展开简单的介绍并围绕PPR蛋白的功能进行详细阐述, PPR蛋白作为序列特异性RNA结合蛋白, 参与植物细胞器mRNA转录后加工(编辑、加工、剪接等), 并影响植物的生长发育、细胞质雄性不育恢复和胚胎发育。本文旨在阐明PPR蛋白在植物生长发育中的作用, 为探究PPR蛋白在植物生长发育分子机制提供研究思路和科学依据。

关键词

PPR蛋白, 研究进展, 细胞质雄性不育

Research Progress of PPR Protein Family in Plant Growth and Development

Shijing Shen

School of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua Zhejiang

Received: Apr. 20th, 2023; accepted: May 19th, 2023; published: May 29th, 2023

Abstract

PPR (pentatricopeptide repeat) protein family is one of the largest protein families, which is mainly located in mitochondria and chloroplasts of terrestrial plants. Studies have shown that PPR proteins play a vital role in plant growth and development. In this paper, the structural characteristics and distribution of PPR proteins are briefly introduced and the functions of PPR proteins are elaborated in detail. As a sequence-specific RNA binding protein, PPR proteins are involved in the post-transcriptional processing (editing, processing, splicing, etc.) of plant organelle mRNA, and affect plant growth and development, cytoplasmic male sterility recovery and embryonic de-

velopment. The purpose of this paper is to clarify the role of PPR protein in plant growth and development, and to provide research ideas and scientific basis for exploring the molecular mechanism of PPR protein in plant growth and development.

Keywords

Pentatricopeptide Repeat (PPR) Protein, Research Progress, Restoration of CMS

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

PPR (pentatricopeptide repeat)广泛存在于真核生物中, 是一类包含三角形五肽重复结构域的蛋白质。它在陆生高等绿色开花植物中种类尤为丰富, 在拟南芥中存在 450 多个成员[1], 而在哺乳动物和酵母中只有不到 20 个成员[2] [3]。大量的研究及 N 端信号肽定位预测分析表明 PPR 蛋白主要定位于线粒体和叶绿体, 参与 mRNA 转录及转录后加工的各个环节, 确保细胞器转录产物的成熟、稳定、拼接、编辑和翻译[4] [5]。科学家们自发现这个蛋白家族以来, 已对植物 PPR 蛋白的生物学和分子功能进行了广泛研究[6]。但由于细胞器基因转录与转录后加工等环节较为复杂, 使得对于 PPR 蛋白的功能研究存在一定困难。大多数 PPR 蛋白的生物学功能及其参与植物逆境生长发育的分子机理仍不清楚, 因此该蛋白家族是植物界中最为神秘的家族之一[7]。

PPR 蛋白家族的功能取决于它们识别和结合特定靶 RNA 序列的能力[8] [9]。从遗传角度来看, 植物 PPR 蛋白的功能缺失突变体表型主要表现在以下三个方面:(1) 线粒体或叶绿体形态异常和功能的缺失;(2) 植物生长发育受阻;(3) 出现细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)或胚胎致死[8]。此外, PPR 蛋白的生物学功能还包括植物逆境防御调控等。

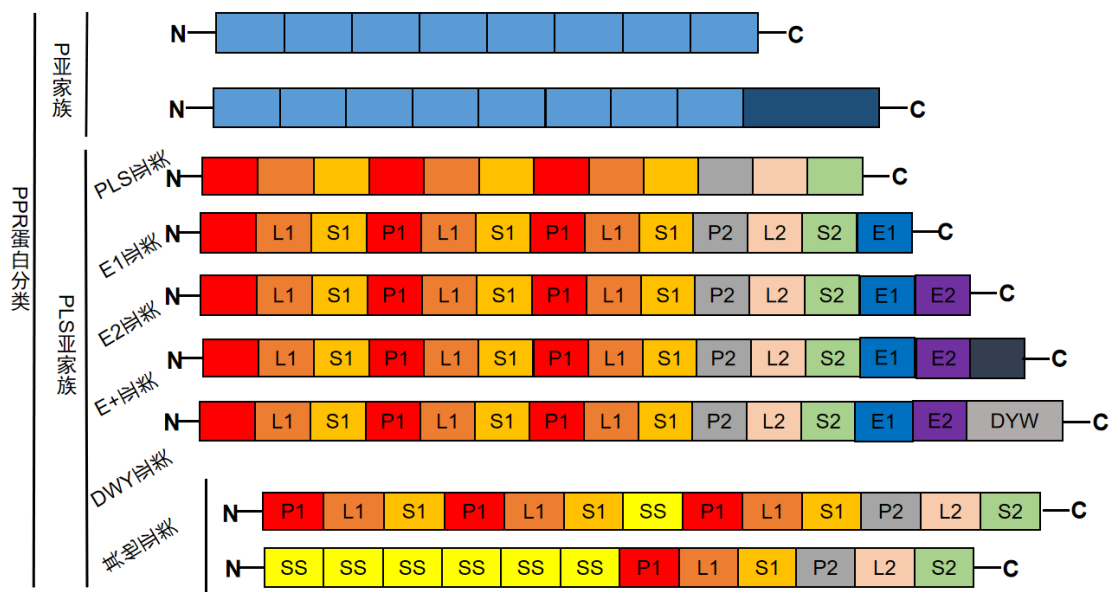
2. PPR 蛋白结构特征及其分布

2.1. PPR 蛋白结构特征

PPR 蛋白典型结构特征是含有多个串联重复序列, 并且该结构的氨基酸是以发卡状 α -螺旋的形式存在的[10]。最近研究表明, 在拟南芥中, PPR 基因中一共含有 3 种基序: 一种为 P 基序(motif), 编码 35 个氨基酸; 另外一种为 S 基序(PPR-like small motif), 编码 31 个氨基酸; 还有一种为 L 基序(PPR like long motif), 编码 35~36 个氨基酸[11]。因此, 根据包含基序结构的不同, PPR 蛋白家族可分为两个亚家族, 即 P 亚家族和 PLS 亚家族, 而依据它们的 C 末端保守结构域的不同, PLS 亚家族蛋白质又可进一步划分为四个亚族, 即 PLS、E、E+和 DYW 亚族, 这四个亚族蛋白的功能似乎与 RNA 编辑密切相关。

随着 PPR 蛋白研究的深入, 在对 PPR 结构分类有了更为细致的划分。Lurin 等(2004) [12]、Cheng 等(2016) [13]以及 Wang 等(2020) [14]依据 α -螺旋的差异对 PPR 基序进行重新定义(如图 1)。P 基序根据第一个螺旋不同分为 P1 与 P2; 而 L 基序依据第二个螺旋的差异分为的 L1 与 L2; 同样, S 基序也分为了常规的 S1 和由 32 个氨基酸组成的 S2 基序; 此外, Cheng 等(2016) [13]新命名了一种 SS 基序, 这种基序同时存在与 S1 和 P1 基序重叠的序列; 同时, Cheng 等(2016) [13]对 C 端的 E、E+、DYW 基序也重新进行了定义, 提出了两个新的由 34 个氨基酸组成的基序——E1 和 E2。因此, PLS 亚家族被分为以下 6 个

亚类：PLS 亚类、E1 亚类、E2 亚类、E+亚类、DYW 亚类以及其他亚类。



参考 Lurin 等(2004) [12]、Cheng 等(2016) [13]以及 Wang 等(2020) [14]并作部分修改。

Figure 1. Classification and motif structure of PPR proteins

图 1. PPR 蛋白的分类及其基序结构

2.2. PPR 蛋白分布

随着生物信息学的发展,对 PPR 蛋白家族有了更深入的认识。从基因结构分析角度而言,大多数 PPR 蛋白无内含子且各个结构域十分保守;从宏观的生物体角度而言,PPR 基因存在于所有真核生物中,且几乎不存在于原核生物和原生生物基因组中[15]。此外,该基因在植物中数目庞大,无论是拟南芥[12]还是水稻[15]或者是毛果杨[16]中均存在 PPR 蛋白家族。研究发现,除拟南芥 PNM1 与 GRP23 蛋白定位在细胞核以外,绝大多数 PPR 蛋白主要定位在叶绿体或者定位在线粒体,还有一些 PPR 蛋白是叶绿体和线粒体的双定位,如玉米 PPR2263 等[10]。此外,像拟南芥 PNM1 这类特殊的 PPR 蛋白即定位于线粒体,也定位于细胞核中[17]。

3. PPR 蛋白生物学功能

近年来的研究表明,PPR 蛋白在植物生长发育调控中扮演着极为重要的角色。作为序列特异性 RNA 结合蛋白,其主要是在细胞器 RNA 的转录后加工(包括:RNA 编辑、顺式及反式拼接及转录产物的成熟和稳定)发挥作用。PPR 蛋白功能缺陷会导致植物生长发育异常,甚至胚胎致死。下文将重点介绍 PPR 蛋白参与叶绿体和线粒体 RNA 加工、细胞雄性不育的恢复以及 PPR 基因突变导致的细胞致死方面的功能。

3.1. PPR 蛋白参与叶绿体和线粒体 RNA 加工

叶绿体是植物进行光合作用的反应场所。植物在经历光合作用的同时,也不断经历着光合氧化应激反应。叶绿体作为半自主细胞器,需自己编码部分蛋白质,还需核基因编码蛋白质协助其加工与成熟,PPR 蛋白也就参与其中。目前研究表明,PPR 蛋白中参与叶绿体 RNA 编辑的主要为 PLS 类 PPR 蛋白家族,而参与叶绿体 RNA 的剪接、稳定和成熟则主要是 P 类 PPR 蛋白家族。拟南芥 CRR4 [18]是首个已鉴定的参与叶绿体 RNA 编辑的 PPR 蛋白,随后相继发现拟南芥 CRP1 和 PGR 基因均可参与叶绿体的 RNA

编辑。同时,在叶绿体 RNA 剪接过程中,PPR 蛋白通过切除叶绿体 RNA 前体中 II 类内含子来完成 RNA 加工的。目前,已发现多种 PPR 蛋白参与叶绿体 II 类内含子剪接,如:拟南芥 PDM3 和 PDM4,它们均通过调控叶绿体基因 *ndhB* 和 *clpP-1* 的内含子的剪接,来影响拟南芥叶绿体的发育,同时这两个基因也可对叶绿体 RNA 前体进行选择性的剪接[19]。

此外,PPR 蛋白可使植物叶绿体中 RNA 转录本稳定性得到增强,进一步使转录末端成熟。它主要通过结合在转录本 5' 或 3' 末端,抑制核酸外切酶的降解作用,从而加强 RNA 的稳定性。已有多 PPR 蛋白已被证实参与了叶绿体 RNA 的稳定与成熟,如:拟南芥 PPR10,它通过结合在多顺反子 ORF 的间隔序列(约为 18 个核苷酸),在抑制 5'-3' 或 3'-5' 核酸外切酶的活性的同时,保证了多顺反子的正确加工,从而促进 RNA 成熟[20]。

线粒体作为能量代谢主要场所,也是含有遗传表达系统的半自主细胞器。迄今为止,已经在多种真核生物中证实线粒体 RNA 的加工需要 PPR 蛋白,但对于 PPR 蛋白在植物线粒体中的作用机制知之甚少。研究表明,在拟南芥中,大约有 60% 的 PPR 蛋白以线粒体的复合体 I(NADH 脱氢酶)的亚基为靶点[21][22]。复合体 I 中的亚基包括 *nad1*、*nad2*、*nad3*、*nad4*、*nad4L*、*nad5*、*nad6*、*nad7* 和 *nad9* 这九种。如: *ABA OVERLY SENSITIVE 8 (ABO8)* 负责线粒体 *nad4* 第 3 个内含子的剪接[23]; *MITOCHONDRION-MEDIATED GROWTH DEFECT 1 (MIDI)* 负责线粒体中 *nad2* 第 1 个内含子的剪接[24]; *PENTATRICOPEPTIDE REPEAT 19(PPR19)* 特异性结合 *nad1* 转录本 3' 端末端的特定性序列,并稳定 *nad1* 中第 2 个外显子和第 3 个外显子[25]。在玉米中, *DEK35* 基因突变均会导致 *nad4* 第一个内含子剪切效率降低;并参与 NADH 脱氢酶复合体 I 的一些内含子的拼接[26]。上述基因的突变往往造成复合体 I 活性降低、ROS 增多。除复合体 I 亚基外,目前尚未有 PPR 蛋白参与线粒体复合体 II mRNA 加工过程的报道。少部分 PPR 蛋白参与复合体 III、IV 和 V 线粒体复合体 II mRNA 加工。除上述的五种电子传递链复合体外,由线粒体编码的细胞色素 c 合成基因也参与 mRNA 加工过程。

其中,PLS 型 PPR 蛋白质通常负责 RNA 编辑,也与 mRNA 剪接有关。例如, *SLOW GROWTH 2 (slo2)* 突变体中 *nad1-2*、*nad1-40*、*nad4L-110* 和 *nad-739* 这四个 RNA 编辑位点存在缺陷,并且 *mttB-144*、*mttB-145* 和 *mttB-666* 这三个编辑位点编辑效率明显降低[27]。 *MITOCHONDRIAL EDITING FACTOR 35 (MEF35)* 在 *rpl16-209*、*cob-286*、*nad4-1373* 均有 RNA 编辑缺失的情况[27]。总而言之,无论是线粒体还是叶绿体,PPR 蛋白对它们 RNA 转录后加工的各个环节而言,都是至关重要的。但迄今为止,关于 PPR 蛋白的作用机制尚未十分明确。

3.2. PPR 蛋白参与细胞质雄性不育恢复

PPR 蛋白也参与细胞质雄性不育恢复。细胞质雄性不育(CMS)是指核基因和细胞质基因共同控制的花粉败育的母系遗传现象。CMS 在农作物杂交制种中有重要的作用,它广泛应用于农作物育种生产实践中[28][29]。研究表明,在 CMS 系统中,核基因组含有能够恢复植物花粉活力的核恢复基因(*Rf*),该基因可以使线粒体中 CMS 相关基因的表达发生改变,所以 *Rf* 基因通常被认为是细胞质雄性不育的关键基因。*Rf* 基因首先被从矮牵牛属植物中分离得到[8],迄今为止,在水稻、油菜和萝卜等植物中均已成功分离获得 *Rf* 基因,这些 *Rf* 基因可编码 PPR 蛋白[30]。

Rf 基因编码的 PPR 蛋白定位在线粒体中,它能调控雄性不育基因的表达量下降,从而达到育性恢复的目的[31]。*Rf* 基因研究最为深入的农作物是水稻。研究表明,水稻的育性恢复基因 *RF1a* [32]、*RF1b* [32]、*RF4* [20] 均编码 PPR 蛋白。牵牛花中控制 CMS 的两个 *Rf* 基因同源性很高,分别是编码 591 个氨基酸的 *PPR591* 基因和编码 592 个氨基酸的 *PPR592* 基因[33];此外,通过对 CMS 的棉花进行全基因组分析,结果表明 CMS 和恢复大部分与 PLS 亚族的 PPR 蛋白有关[34]。

3.3. PPR 基因突变导致胚胎致死

胚胎致死是指在高等动植物中, 个体在达到性成熟前便死亡的现象。通过反向遗传学的方法表明, 许多 PPR 基因突变具有致死效应, 突变后胚胎的形态将发生改变, 并最终导致死亡。拟南芥和玉米的 PPR 基因突变体的表型具有很高的相似性。定位在线粒体的 PPR 蛋白突变体通常表现出种子发育异常或胚胎致死, 植株生长迟缓等表型。如: *EMBRYO-DECTIVE 175 (EMB175)* 作为第一个被鉴定出来定位在线粒体中的拟南芥 PPR 基因, 其突变体在胚胎发育过程中由球形胚转变为心形胚之前即停止发育[35]。拟南芥 *GLUTAMINE-RICH PROTEIN 23 (GRP23)* 基因亦是拟南芥胚胎发育所必需的, *grp23* 突变体的胚胎发育受到抑制, 胚胎发育将会停止在 16 个细胞的球形胚时期[36]。

4. 展望

PPR 蛋白在植物的生长发育中具有重要功能。PPR 基因突变会影响植物细胞器 mRNA 转录后加工(编辑、加工、剪接等), 从而影响植物的生长发育、细胞质雄性不育恢复和胚胎发育。随着 PPR 蛋白家族成员数目逐年增加, 许多 PPR 基因影响植物生长发育的作用机制尚有待分析。通过上文, 我们已经了解到 PPR 蛋白可以对线粒体与叶绿体编码基因的转录本进行修饰和加工, 但其具体的调控网络和特异性还有待进一步的探究。此外, 我们也了解到 PPR 蛋白可以使植物的雄性不育得到恢复, 然而, 如何将这一功能应用于农业生产和遗传育种还有待探究, 为解决这些难题, 今后对于 PPR 蛋白家族的研究仍旧具有重要价值。

参考文献

- [1] O'Toole, N., Hattori, M., Andres, C., *et al.* (2008) On the Expansion of the Pentatricopeptide Repeat Gene Family in Plants. *Molecular Biology and Evolution*, **25**, 1120-1128. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn057>
- [2] 丁安明, 屈旭, 孙玉合. 植物 PPR 蛋白家族研究进展[J]. 中国农学通报, 2014, 30(9): 218-224.
- [3] Herbert, C.J., Golik, P. and Bonnefoy, N. (2013) Yeast PPR Proteins, Watchdogs of Mitochondrial Gene Expression. *RNA Biology*, **10**, 1477-1494. <https://doi.org/10.4161/rna.25392>
- [4] 陆萍, 俞嘉宁. PPR 蛋白影响植物生长发育的研究进展[J]. 植物生理学报, 2013, 49(10): 989-999.
- [5] Gothandam, K.M., Kim, E.S., Cho, H., *et al.* (2005) OsPPR1, a Pentatricopeptide Repeat Protein of Rice Is Essential for the Chloroplast Biogenesis. *Plant Molecular Biology*, **58**, 421-433. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-5702-5>
- [6] Aubourg, S., Boudet, N., Kreis, M., *et al.* (2000) In *Arabidopsis thaliana*, 1% of the Genome Codes for a Novel Protein Family Unique to Plants. *Plant Molecular Biology*, **42**, 603-613. <https://doi.org/10.1023/A:1006352315928>
- [7] 李秀兰, 姜曰水. PPR 蛋白调控植物细胞器 RNA 加工的分子功能[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2018, 34(7): 28-33.
- [8] Barkan, A. and Small, I. (2014) Pentatricopeptide Repeat Proteins in Plants. *Annual Review of Plant Biology*, **65**, 415-442. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040159>
- [9] Delannoy, E., Stanley, W.A., Bond, C.S., *et al.* (2007) Pentatricopeptide Repeat (PPR) Proteins as Sequence-Specificity Factors in Post-Transcriptional Processes in Organelles. *Biochemical Society Transactions*, **35**, 1643-1647. <https://doi.org/10.1042/BST0351643>
- [10] Sosso, D., Canut, M., Gendrot, G., *et al.* (2012) PPR8522 Encodes a Chloroplast-Targeted Pentatricopeptide Repeat Protein Necessary for Maize Embryogenesis and Vegetative Development. *Journal of Experimental Botany*, **63**, 5843-5857. <https://doi.org/10.1093/jxb/ers232>
- [11] Zhou, W., Lu, Q., Li, Q., *et al.* (2017) PPR-SMR Protein SOT1 Has RNA Endonuclease Activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **114**, E1554-E1563. <https://doi.org/10.1073/pnas.1612460114>
- [12] Lurin, C., Andrés, C., Aubourg, S., Bellaoui, M., Bitton, F., Bruyère, C., Caboche, M., Debast, C., Gualberto, J., Hoffmann, B., *et al.* (2004) Genome-Wide Analysis of Arabidopsis Pentatricopeptide Repeat Proteins Reveals Their Essential Role in Organelle Biogenesis. *Plant Cell*, **16**, 2089-2103. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.022236>
- [13] Cheng, S., Gutmann, B., Zhong, X., *et al.* (2016) Redefining the Structural Motifs that Determine RNA Binding and

- RNA Editing by Pentatricopeptide Repeat Proteins in Land Plants. *The Plant Journal*, **85**, 532-547. <https://doi.org/10.1111/tpj.13121>
- [14] 王鑫伟, 安雅琪, 肖建伟. PPR 蛋白调控质体基因表达和叶绿体发育的研究进展[J]. 植物生理学报, 2018, 56(12): 2510-2516.
- [15] Wang, Z., Zou, Y., Li, X., *et al.* (2006) 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. *Plant Cell*, **18**, 676-687. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.038240>
- [16] Xing, H., Fu, X., Yang, C., *et al.* (2018) Genome-Wide Investigation of Pentatricopeptide Repeat Gene Family in Poplar and Their Expression Analysis in Response to Biotic and Abiotic Stresses. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 2817. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21269-1>
- [17] Hammani, K., des Francs-Small, C.C. and Takenaka, M. (2011) The Pentatricopeptide Repeat Protein OTP87 Is Essential for RNA Editing of Nad7 and Atp1 Transcripts in Arabidopsis Mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, **286**, 21361-21371. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.230516>
- [18] Okuda, K., Nakamura, T., Sugita, M., *et al.* (2006) A Pentatricopeptide Repeat Protein Is a Site Recognition Factor in Chloroplast RNA Editing. *Journal of Biological Chemistry*, **281**, 37661-37667. <https://doi.org/10.1074/jbc.M608184200>
- [19] Zhang, B., Liu, G., Li, X., *et al.* (2017) A Genome-Wide Identification and Analysis of the DYW-Deaminase Genes in the Pentatricopeptide Repeat Gene Family in Cotton (*Gossypium* spp.). *PLOS ONE*, **12**, e174201. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174201>
- [20] Fisk, D.G., Walker, M.B. and Barkan, A. (1999) Molecular Cloning of the Maize Gene Crp1 Reveals Similarity between Regulators of Mitochondrial and Chloroplast Gene Expression. *EMBO Journal*, **18**, 2621-2630. <https://doi.org/10.1093/emboj/18.9.2621>
- [21] Barkan, A., Rojas, M., Fujii, S., *et al.* (2012) A Combinatorial Amino Acid Code for RNA Recognition by Pentatricopeptide Repeat Proteins. *PLoS Genetics*, **8**, 1002910. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002910>
- [22] Rovira, A.G. and Smith, A.G. (2019) PPR Proteins Orchestrators of Organelle RNA Metabolism. *Physiologia Plantarum*, **166**, 451-459. <https://doi.org/10.1111/ppl.12950>
- [23] Yang, L., Zhang, J., He, J., *et al.* (2014) ABA-Mediated ROS in Mitochondria Regulate Root Meristem Activity by Controlling PLETHORA Expression in Arabidopsis. *PLOS Genetics*, **10**, e1004791. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004791>
- [24] Zhao, P., Wang, F., Li, N., *et al.* (2020) Pentatricopeptide Repeat Protein MID1 Modulates nad2 Intron 1 Splicing and Arabidopsis Development. *Scientific Reports*, **10**, Article No. 2008. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58495-5>
- [25] Lee, K., Han, J.H., Park, Y.I., *et al.* (2017) 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. *New Phytologist*, **215**, 202-216. <https://doi.org/10.1111/nph.14528>
- [26] Chen, X., Feng, F., Qi, W., *et al.* (2017) Dek35 Encodes a PPR Protein that Affects cis-Splicing of Mitochondrial nad4 Intron 1 and Seed Development in Maize. *Molecular Plant*, **10**, 427-441. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.08.008>
- [27] Zhu, Q., Dugardeyn, J., Zhang, C., *et al.* (2012) SLO2, a Mitochondrial Pentatricopeptide Repeat Protein Affecting Several RNA Editing Sites, Is Required for Energy Metabolism. *The Plant Journal*, **71**, 836-849. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113X.2012.05036.x>
- [28] Brehme, N., Bayer-cs, S., Glass, F., *et al.* (2015) The DYW Subgroup PPR Protein MEF35 Targets RNA Editing Sites in the Mitochondrial rpl16, nad4 and cob mRNAs in Arabidopsis thaliana. *PLOS ONE*, **10**, e0140680. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140680>
- [29] Bohra, A., Jha, U.C. and Adhimoalam, P. (2016) Cytoplasmic Male Sterility (CMS) in Hybrid Breeding in Field Crops. *Plant Cell Reports*, **35**, 967-993. <https://doi.org/10.1007/s00299-016-1949-3>
- [30] Budar, F., Touzet, P. and De Paepe, R. (2003) The Nucleo-Mitochondrial Conflict in Cytoplasmic Male Sterilities Revisited. *Genetica*, **117**, 3-16. <https://doi.org/10.1023/A:1022381016145>
- [31] Bentolila, S., Alfonso, A.A. and Hanson, M.R. (2002) A Pentatricopeptide Repeat-Containing Gene Restores Fertility to Cytoplasmic Male-Sterile Plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**, 10887-10892. <https://doi.org/10.1073/pnas.102301599>
- [32] Dahan, J. and Mireau, H. (2013) The Rf and Rf-Like PPR in Higher Plants, a Fast-Evolving Subclass of PPR Genes. *RNA Biology*, **10**, 1469-1476. <https://doi.org/10.4161/rna.25568>
- [33] Komori, T., Yamamoto, T., Takemori, N., *et al.* (2003) Fine Genetic Mapping of the Nuclear Gene, Rf-1, That Restores the BT-Type Cytoplasmic Male Sterility in Rice (*Oryza sativa* L.) by PCR-Based Markers. *Euphytica*, **129**, 241-247.
- [34] Wise, R.P. and Schnable, P.S. (1994) Mapping Complementary Genes in Maize: Positioning the rf1 and rf2 Nuc-

- lear-Fertility Restorer Loci of Texas (T) Cytoplasm Relative to RFLP and Visible Markers. *Theoretical and Applied Genetics*, **88**, 785-795. <https://doi.org/10.1007/BF01253987>
- [35] Cushing, D.A., Forsthoefel, N.R., Gestaut, D.R., *et al.* (2005) Arabidopsis emb175 and Other ppr Knockout Mutants Reveal Essential Roles for Pentatricopeptide Repeat (PPR) Proteins in Plant Embryogenesis. *Planta*, **221**, 424-436. <https://doi.org/10.1007/s00425-004-1452-x>
- [36] Ding, Y.H., Liu, N.Y., Tang, Z.S., *et al.* (2006) 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. *Plant Cell*, **18**, 815-830. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.039495>