



线粒体转移核糖核酸 (mt-tRNA) 的牛磺酸修饰*

——纪念邹承鲁先生百年诞辰

彭桂鑫^{1,2,3)} 王恩多^{1,2,3)**} 周小龙^{1,2)**}⁽¹⁾ 中国科学院分子细胞科学卓越创新中心/上海生物化学与细胞生物学研究所, 分子生物学国家重点实验室, 上海 200031;⁽²⁾ 中国科学院大学, 北京 100864; ⁽³⁾ 上海科技大学生命科学与技术学院, 上海 201210)

摘要 转移核糖核酸 (tRNA) 是转录后修饰种类最多和修饰最密集的 RNA 分子, 特别是其反密码子环含有大量的修饰。线粒体具有相对独立的蛋白质合成系统, 线粒体 tRNA (mt-tRNA) 全部由线粒体基因组编码。研究表明, 5-牛磺酸甲基尿嘧啶核苷 (5-*taurinomethyluridine*, tm^5U) 修饰只存在于高等真核生物 mt-tRNA 第 34 位, 能够调节密码子和反密码子相互作用的精确性, 控制翻译的速度和保真性。人类 GTP 结合蛋白质 3 (GTPBP3) 和线粒体翻译优化蛋白 1 (MTO1) 介导 tm^5U 修饰, 其缺陷可能引起线粒体脑肌病。本文综述了 tm^5U 修饰及其修饰酶的生物学性质, 为深入研究 tm^5U 修饰的机制, 及认识 tm^5U 修饰缺陷导致线粒体疾病的致病机理提供一个新的视角。

关键词 转移核糖核酸, 转录后修饰, 线粒体疾病, 生物学功能

中图分类号 Q5

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0060

转移核糖核酸 (tRNA) 是蛋白质合成的接头分子, 携带对应的氨基酸, 在核糖体上其反密码子与信使 RNA (mRNA) 上的密码子精确配对, 按 mRNA 的序列合成蛋白质, 在基因信息传递过程中发挥至关重要的作用^[1]。tRNA 通常由 70~90 个核苷酸组成, 具有三叶草型二级结构和倒 L 型的三级结构, 包括氨基酸接受茎、二氢尿嘧啶茎/环 (D 茎/环)、反密码子茎/环、可变茎/环、T Ψ C 茎/环和 CCA 3' 端^[2-3] (图 1)。tRNA 分子上各个碱基有一套固定的命名规则, 例如, 反密码子统一标注为 34-35-36 位, CCA 末端统一标注为 74-75-76 位。tRNA 的成熟过程包括一系列的转录后加工, 并且在核苷酸上添加多种化学修饰。截至目前, RNA 上已经发现约 150 种修饰, 其中 tRNA 修饰约占 80%^[4]。这些 tRNA 修饰大多位于 D 茎/环、反密码子茎/环、可变茎/环和 T Ψ C 茎/环, 各自具有不同的作用。其中位于 D 茎/环、可变茎/环和 T Ψ C 茎/环的修饰, 可以稳定 tRNA 结构和促进正确折叠, 并增强 tRNA 与相关蛋白质的相互作用。位于反密码子茎/环上的修饰最多, 大多数集中在 34 和 37

位, 其中摆动 (Wobble) 位 34 位的修饰在稳定密码子和反密码子的配对、扩展 tRNA 的解码能力、确保蛋白质合成的精确性方面起着关键作用^[5-6], 37 位的修饰具有增强碱基堆叠和防止 U33:A37 的环内碱基配对的作用, 以提高翻译的保真性^[7-8], 维持 tRNA 反密码子茎和环结构^[9]。

线粒体通过氧化磷酸化产生 ATP, 为细胞提供能量^[10]。线粒体有自己独立的基因组。哺乳动物的线粒体 DNA (mtDNA) 有 37 个基因, 编码 2 种核糖体 RNA (rRNA) 和 22 种 tRNA, 用于解码 mtDNA 编码的 11 种 mRNA, 产生 13 种负责呼吸链复合物功能和组装的蛋白质亚基^[11]。哺乳动物线粒体的解码系统有别于经典的遗传学密码, AUA 密码子编码甲硫氨酸 (Met), UGA 密码子编码色

* 国家重点研发计划 (2021YFA1300800) 和国家自然科学基金 (32271300) 资助项目。

** 通讯联系人。

王恩多 Tel: 021-54921242, E-mail: edwang@sibcb.ac.cn

周小龙 Tel: 021-54921247, E-mail: xlzhou@sibcb.ac.cn

收稿日期: 2023-02-24, 接受日期: 2023-03-29

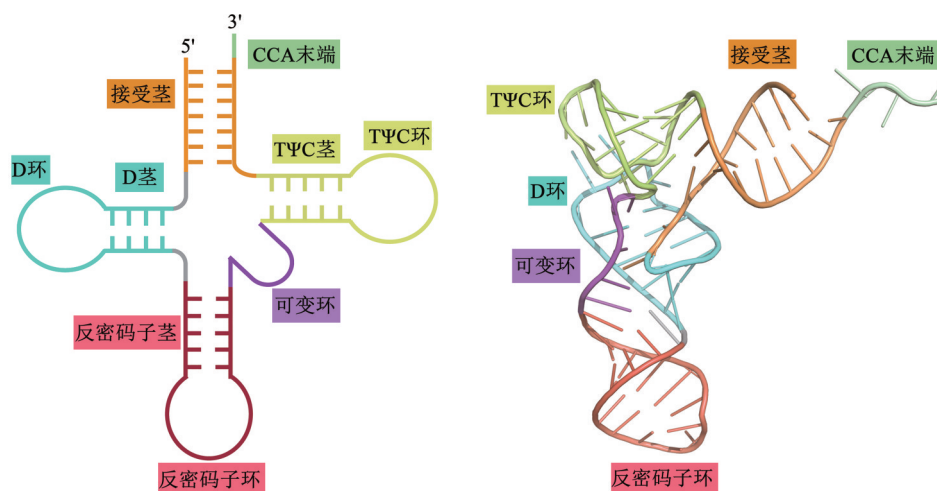


Fig. 1 Secondary and tertiary structures of canonical tRNA

图1 tRNA的二级结构和三级结构

左边为tRNA三叶草型的二级结构，右边是倒L型的三级结构。

氨酸 (Trp)，AGA 和 AGG 是终止密码子^[12]。线粒体蛋白质合成是线粒体中最重要的生命活动之一，调控氧化磷酸化和呼吸链复合物活性，影响细胞能量稳态。

已经报道人类22种mt-tRNA的137个位点存在18种tRNA修饰，牛mt-tRNA的118个位点存在15种tRNA修饰^[13-14]。虽然mt-tRNA存在诸多修饰，但只有2-甲基硫代-*N*⁶-苏氨酰氨甲酰基腺苷 (2-methylthio-*N*⁶-isopentenyl adenosine, ms²i⁶A)、5-甲酰胞苷 (5-formylcytidine, f^cC)、5-牛磺酸甲

基-2-硫尿苷 (5-taurinomethyl-2-thiouridine, τ m^ss²U) 和5-牛磺酸甲基尿苷 (τ m^sU) 4种修饰特异地存在于mt-tRNA上。 τ m^sU和 τ m^ss²U修饰 (统称为牛磺酸修饰) 发生在mt-tRNA的U34位 (图2)，其中 τ m^sU在亮氨酸tRNA UUR (mt-tRNA^{Leu} (UUR)) 和色氨酸tRNA (mt-tRNA^{Trp})， τ m^ss²U在赖氨酸tRNA (mt-tRNA^{Lys})、谷氨酸tRNA (mt-tRNA^{Glu}) 和谷氨酰胺tRNA (mt-tRNA^{Gln}) (表1)^[13, 15]。这两种修饰在21世纪初通过质谱法已经被鉴定^[16-17]。有趣的是，真海鞘mt-tRNA^{Met}

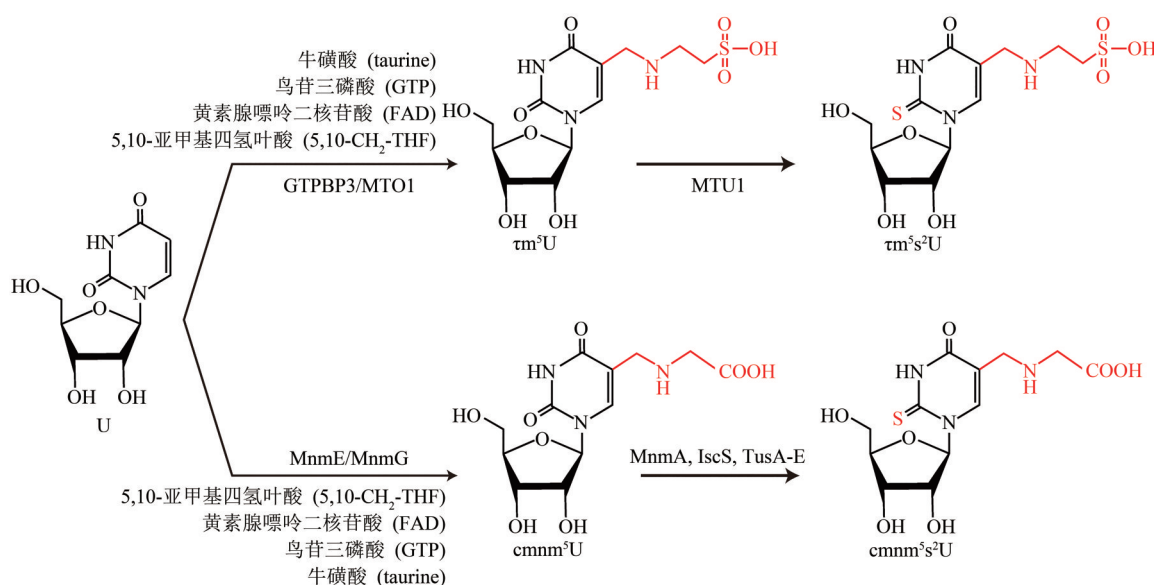


Fig. 2 The biosynthesis of τ m⁵(s²)U and cmnm⁵(s²)U

图2 τ m⁵(s²)U和cmnm⁵(s²)U的生物合成过程

(AUR) 和 mt-tRNA^{Gly} (AGR) (R 为嘌呤核苷酸 A 或 G) 上也发现了 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰^[18], 而长枪乌贼 mt-tRNA^{Leu} (UUR) 存在 $\tau\text{m}^5\text{s}^2\text{U}$ 修饰 (表1)^[19]。在细菌和酵母中, 具有与哺乳动物 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 和 $\tau\text{m}^5\text{s}^2\text{U}$ 高度相似的修饰, 分别称为 5-羧甲基氨甲基尿苷 (5-carboxymethylaminomethyluridine, cmnm^5U) 和 5-羧甲基氨甲基-2-硫尿苷 (5-carboxymethylaminomethyl-2-thiouridine, $\text{cmnm}^5\text{s}^2\text{U}$) 修饰^[20] (图2)。

Table 1 Taurine modifications and its similar modifications
表1 牛磺酸修饰及其类似修饰

修饰类型	物种	tRNAs	酶
$\tau\text{m}^5\text{U}$	人类	mt-tRNA ^{Leu} (UUR)、mt-tRNA ^{Trp}	GTPBP3、MTO1
	真海鞘	mt-tRNA ^{Met} (AUR)、mt-tRNA ^{Gly} (AGR)	?
$\tau\text{m}^5\text{s}^2\text{U}$	人类	mt-tRNA ^{Lys} 、mt-tRNA ^{Glu} 、mt-tRNA ^{Gln}	GTPBP3、MTO1、MTU1
	长枪乌贼	mt-tRNA ^{Leu} (UUR)	?
cmnm^5U	大肠杆菌	tRNA ^{Leu} (UAA)、tRNA ^{Arg} (UCU)、tRNA ^{Gly} (UCC)	MnmE、MnmG
$\text{cmnm}^5\text{s}^2\text{U}$	人类	mt-tRNA ^{Trp}	可能是GTPBP3、MTO1
	大肠杆菌	tRNA ^{Lys} (UUU)、tRNA ^{Glu} (UUC)、tRNA ^{Gln} (UUG)	MnmE、MnmG、MnmA、IscS、TusA-E
	人类	mt-tRNA ^{Gln}	可能是GTPBP3、MTO1
	酵母线粒体	mt-tRNA ^{Lys} 、mt-tRNA ^{Glu} 、mt-tRNA ^{Gln}	MSS1、MTO1、MTU1
	甲烷球菌	tRNA ^{Lys} (UUU)	?

研究表明, 牛磺酸修饰具有重要的生物学意义, 并且与线粒体疾病的发生密切相关。 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 和 $\tau\text{m}^5\text{s}^2\text{U}$ 修饰可以促进对 NNR (N 为 4 种核苷酸 U、C、A 或 G; R 为嘌呤核苷酸 A 或 G) 密码子的精确解码, 防止 NNY (Y 为嘧啶核苷酸 U 或 C) 密码子的错误识别。mt-tRNA^{Leu} (UUR) 上的 A3243G 突变导致 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰缺乏, 引起线粒体脑肌病伴高乳酸血症和卒中样发作 (mitochondrial encephalomyopathy with lactic acidosis and stroke-

like episode, MELAS)^[21-22] (图3); 类似的情况是, mt-tRNA^{Lys} 上的 A8344G 突变导致 $\tau\text{m}^5\text{s}^2\text{U}$ 修饰缺乏, 引起肌阵挛性癫痫伴破碎红纤维综合征 (myoclonic epilepsy associated with ragged red fiber, MERRF)^[16, 23] (图3)。虽然上述疾病已经发现 20 多年, 但是潜在的致病分子机制依然未知。研究牛磺酸修饰及其修饰酶, 有助于更好地理解其生物学功能, 为后续阐述牛磺酸修饰缺陷导致相关疾病的潜在机制奠定理论基础。

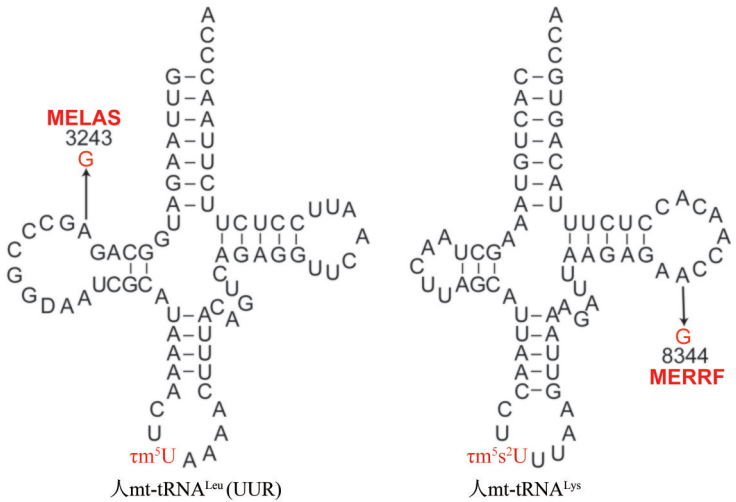


Fig. 3 Pathogenic point mutations associated with MELAS and MERRF on human mitochondrial tRNAs
图3 人mt-tRNA上与MELAS和MERRF相关的致病点突变

1 牛磺酸修饰及其类似形式修饰

1.1 $\tau\text{m}^5\text{U}$

2002年,日本学者 Kimitsuna Watanabe 发现了牛 mt-tRNA 的 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰,揭示牛磺酸 (taurine) 作为生物大分子参与 τm^5 基团的形成 (图2)。哺乳动物中, GTP 结合蛋白质 3 (GTP binding protein 3, GTPBP3) 和线粒体翻译优化蛋白 1 (mitochondrial tRNA translation optimization 1, MTO1) 高度保守并催化 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 的修饰。在细菌和酵母中同源蛋白质分别是 MnmE 和 MSS1 (对应 GTPBP3)、MnmG 和 MTO1 (对应 MTO1) [24-26]。在哺乳动物线粒体中, GTPBP3 和 MTO1 形成复合物, 利用牛磺酸、5,10-亚甲基四氢叶酸 (5,10- $\text{CH}_2\text{-THF}$)、黄素腺嘌呤二核苷酸 (FAD)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NADH)、鸟苷三磷酸 (GTP) 作为反应底物和其他辅因子共同催化 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰 [15] (图2)。在这个过程中, 丝氨酸羟甲基转移酶 2 (serine hydroxymethyltransferase, SHMT2) 首先将丝氨酸 (serine) 转化成甘氨酸 (glycine), 然后丝氨酸的 $\beta\text{-C}$ 转移至四氢叶酸 THF, 以此合成 5,10- $\text{CH}_2\text{-THF}$ [27], 然后 5,10- $\text{CH}_2\text{-THF}$ 在反应中为 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 第5位的甲基提供 1C 来源。虽然催化 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰的底物及修饰酶已经明确, 但是具体的生物合成过程以及催化步骤依然不清楚, 且体外重组 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰效率极低 (3.3%)。有趣的是, 大肠杆菌 MnmE 和 MnmG 可以利用牛磺酸和其他的底物, 在体外有限地合成 $\tau\text{m}^5\text{U}$ [15], 暗示随着线粒体不断进化, GTPBP3/MTO1 复合物逐渐能够特异性识别牛磺酸。研究发现, 培养 HeLa 细胞时去掉培养基中的牛磺酸, $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰的丰度会急剧下降, 随后添加高浓度的牛磺酸, $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰的丰度有一定程度的恢复 [15], 这说明细胞内的牛磺酸浓度可以动态调控体内 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰的丰度。在猫和比目鱼的动物实验中, 也观察到类似的结果, 进一步证明从细胞外摄入的牛磺酸可以让 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰维持在较高的丰度, 揭示了牛磺酸在生理上的重要性。 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰调控核糖体 A 位点密码子和反密码子的配对, 通过稳定 U:G 的摆动配对, 促进对 UUG 密码子的有效解码 [21, 28]。

1.2 $\tau\text{m}^5\text{s}^2\text{U}$

$\tau\text{m}^5\text{s}^2\text{U}$ 是在 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 的基础上, 34 位核苷酸尿嘧啶的第二位氧被硫取代而成 (图2)。 $\tau\text{m}^5\text{s}^2\text{U}$ 的 τm^5 和 s^2 修饰是相互独立的, 没有修饰的先后之分。线

粒体 tRNA 特异性 2-硫代尿苷酶 1 (mitochondrial tRNA-specific 2-thiouridylase 1, MTU1) 特异性催化 mt-tRNA 的 s^2 修饰 [29], 其在细菌和酵母中的同源蛋白质分别是 MnmA 和 MTU1; 细胞质 tRNA 的 s^2 修饰由 Urm1/Uba4/NCS2/NCS6/TUM1 催化 [30-31], 但是这些过程的具体底物和反应步骤尚不清楚。在酵母中, 敲除 *MTU1* 会引起 mt-tRNA^{Lys}、mt-tRNA^{Glu}、mt-tRNA^{Gln} 的 s^2 修饰缺陷以及这些 tRNA 稳态水平降低, 进而影响线粒体翻译和酵母生长 [29, 32]。人 *MTU1* 基因突变会引起可逆性婴儿肝衰竭 (reversible infantile liver failure, RILF), 导致 mt-tRNA 的 s^2 修饰水平显著降低 [33-34]。*MTU1* 纯合敲除小鼠在胚胎发育的第 8 天前就会死亡。另外, 特异性敲除 *MTU1* 小鼠, 其肝细胞线粒体翻译和呼吸链复合物活性受到严重损伤 [35], 证明 s^2 修饰缺失导致的线粒体功能障碍是引起 RILF 的主要原因。

1.3 cmnm^5U 和 $\text{cmnm}^5\text{s}^2\text{U}$

1981 年, 在枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*) tRNA^{Lys} 反密码子环的 34 位上发现了 cmnm^5U 和 $\text{cmnm}^5\text{s}^2\text{U}$ 修饰 (图2) [36], 这两种修饰广泛存在于各类细菌、酵母和古菌中。 cmnm^5U 修饰存在于细菌 tRNA^{Leu} (UAA)、tRNA^{Arg} (UCU) 和 tRNA^{Gly} (UCC) (表1); $\text{cmnm}^5\text{s}^2\text{U}$ 修饰存在于细菌 tRNA^{Lys} (UUU)、tRNA^{Glu} (UUC)、tRNA^{Gln} (UUG), 酵母 mt-tRNA^{Lys}、mt-tRNA^{Glu} 和 mt-tRNA^{Gln}, 以及古菌甲烷球菌 (*Methanococcus maripaludis*) tRNA^{Lys} (UUU) (表1) [20, 37-39]。对古菌和酵母细胞质的 tRNA 修饰图谱了解不多, 它们的其他 tRNA 上或许也存在 cmnm^5U 修饰。 cmnm^5U 相较于 $\tau\text{m}^5\text{U}$, 甘氨酸参与 cmnm^5 基团的形成, 而不是牛磺酸 (图2)。在大肠杆菌中, MnmE 和 MnmG 形成 $\alpha 2\beta 2$ 异源四聚体复合物, 利用与 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰反应过程中相似的底物和辅因子, 催化 cmnm^5U 形成 [20, 40] (图2)。在大肠杆菌中, MnmA、IscS 和 TusA-E 共同负责 $\text{cmnm}^5\text{s}^2\text{U}$ 中 s^2 修饰的生成 [41-42]; 在酵母中, MTU1 催化 $\text{cmnm}^5\text{s}^2\text{U}$ 中 s^2 修饰的生成 [29]。然而, MnmE/MnmG 复合物和 MnmA 在催化过程中发挥的作用, 以及反应过程中的关键步骤还不清楚。此外, MnmE 和 MnmG 是某些人类病原体毒性的重要调控元件 [43-44], 暗示 cmnm^5U 修饰对它们的生存至关重要。有趣的是, 当培养基不含牛磺酸培养细胞时, cmnm^5U 出现在人 mt-tRNA^{Leu} (UUR) 和 mt-tRNA^{Trp} 上, $\text{cmnm}^5\text{s}^2\text{U}$ 出现在人 mt-tRNA^{Glu} 和

mt-tRNA^{Gln}上, 后续回补牛磺酸, cmnm⁵U 和 cmnm⁵s²U 则完全检测不到, 而 τ m⁵U 和 τ m⁵s²U 的丰度会逐渐增加^[15], 表明在牛磺酸缺乏的环境下, GTPBP3/MTO1 复合物会利用甘氨酸合成微量的 cmnm⁵U。进一步研究发现, cmnm⁵U 和 cmnm⁵s²U 分别天然存在于人 mt-tRNA^{Trp} 和 mt-tRNA^{Gln} 上 (表1)^[14]。从某种程度上说, cmnm⁵U 和 cmnm⁵s²U 修饰是哺乳动物线粒体翻译的一个替代修饰, 但是哺乳动物 mt-tRNA 中 cmnm⁵U 和 cmnm⁵s²U 修饰的生物学功能和意义尚不清楚, 猜测可能与 τ m⁵U、 τ m⁵s²U 功能类似。

2 τ m⁵U 修饰酶与线粒体疾病

2.1 GTPBP3

2.1.1 人类GTPBP3 (hGTPBP3) 的GTPase活性

根据序列比对和海栖热袍菌 (*Thermotoga maritima*) MnmE 的结构, hGTPBP3 有 3 个结构域, 分别是 N 端结构域、G 结构域、螺旋结构域。其中, N 端结构域负责与 5,10-CH₂-THF 结合以及蛋白质二聚化; G 结构域有 G1、G2、G3 和 G4 四个基序, 能够结合和水解 GTP, 行使催化功能。最近本课题组^[45]鉴定了 hGTPBP3 的成熟形式, 确定其进入线粒体的信号肽序列为 N 端前 20 个氨基酸残基, 揭示 hGTPBP3 是一个有活力的 GTPase, 确定其以同源二聚体的形式行使 GTP 水解功能。大肠杆菌 MnmE 的 G 结构域拥有和全长 MnmE 一样高的 GTPase 活力^[46], 然而 hGTPBP3 的 G 结构域表现出极低的 GTPase 活力。研究表明, 失去 GTP 水解功能的 MnmE 突变体无法对体内的 tRNA 进行修饰, 证明 MnmE 的 GTPase 活力对 cmnm⁵U 的形成是必要的^[20]。在 *MSS1* 基因敲除的酵母中回补 hGTPBP3, 可以拯救酵母生长^[47], 回补 GTPase 活力缺陷的 hGTPBP3 突变体却无法拯救酵母生长, 表明 hGTPBP3 的 GTP 水解能力对 τ m⁵U 修饰的功能很重要。

2.1.2 hGTPBP3 基因突变与线粒体疾病

全外显子组测序鉴定到 *hGTPBP3* 基因上存在纯合或者复合杂合的单点突变、双点突变或者删除突变, 这些突变会引起线粒体缺陷相关疾病, 病人表现为肥厚性心肌病、乳酸血症及脑病^[13], 但是潜在的致病分子机制未知。大部分的突变是错义单点突变, 遍布 hGTPBP3 的 N 端到 C 端, 以 G 结构域和螺旋结构域最为集中。研究发现, 在 hGTPBP3 致病突变细胞系中, 线粒体翻译和氧气

消耗能力受损进而造成线粒体功能障碍^[48]。本课题组^[45]的研究结果显示, 一些 hGTPBP3 致病突变体的体外 GTPase 活力和蛋白质稳态水平显著降低, 而这些不稳定的突变体通过泛素-蛋白酶体途径降解。该研究还揭示 hGTPBP3 的 R3L 突变会影响其线粒体定位, E142-R136 和 E159-R431 的相互作用对于维持 hGTPBP3 结构与功能至关重要, 而 hGTPBP3-E142K 和 hGTPBP3-E159V 的突变破坏了这种相互作用, 可能是引发疾病的主要原因^[45]。尽管 *hGTPBP3* 基因上一系列致病点突变导致线粒体疾病的生化与细胞基础已经建立, 但是这些突变是否影响 τ m⁵U 修饰尚需进一步验证。在 HEK293T 中敲除 *hGTPBP3* 会导致 τ m⁵U 修饰缺陷, 线粒体翻译受损以及氧化磷酸化效率降低^[15]。令人意外的是, *gtpbp3* 敲除的斑马鱼却表现出 mt-tRNA 氨基酰化效率总体升高, 而这种 mt-tRNA 的异常代谢, 显著减少了 ATP 的生成, 造成氧化磷酸化失衡, 最终可能导致心脏发育缺陷^[49]。

2.1.3 hGTPBP3 的新蛋白质同源异构体

NCBI 和 UniProt 数据库显示 hGTPBP3 有 4 个同源异构体, 其中前 3 个同源异构体在 N 端有一段进入线粒体的信号肽, 而第 4 个 hGTPBP3 同源异构体 7 (hGTPBP3-Iso7) 的 N 端则完全与它们不同。本课题组^[45]发现了一个新的 hGTPBP3-Iso7, 与数据库的相比, 它仅少了 1 个外显子, 其他序列都一致, 并且确定它在人的诸多细胞系里都存在。有趣的是, 该 hGTPBP3-Iso7 以同源二聚体的形式在细胞质内存在, 说明它并不参与 τ m⁵U 的生成, 暗示其有未知的新功能, 有可能在信号通路中起 GTP 水解的作用。

2.2 MTO1

人类 MTO1 (hMTO1) 是高度保守的 mt-tRNA 修饰酶, 根据嗜嗜热菌 (*Aquifex aeolicus*) MnmG 的晶体结构^[50], hMTO1 可能在修饰 τ m⁵U 过程中结合 FAD, 负责与 tRNA 结合, 但这些都需要进一步验证。在酵母中敲除 *MTO1* 基因, 会导致线粒体呼吸和翻译受损, 而回补 hMTO1, 可以拯救酵母生长^[26], 表明 hMTO1 可以代偿酵母 MTO1 的功能。*hMTO1* 基因突变会引起多种病变, 包括视神经病变、认知障碍、乳酸中毒和肥厚型心肌病^[51-52]。很多病人会在出生后第 1 年表现出症状, 而有些病人则在出生后不久由于急性心脏功能障碍而死亡。这些致病性突变大部分是错义单点突变, 遍布 hMTO1 的 N 端到 C 端, 在人类基因组数据库

中罕见。在 *hMTO1* 基因突变病人的成纤维细胞中，呼吸链复合物 I 和 IV 活力下降，线粒体翻译受到抑制以及线粒体内蛋白酶激活^[52]。小鼠细胞敲除 *Mto1*，导致 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰完全消失，严重影响氧化磷酸化复合物 II 的组装及其稳定性^[15, 52]，同时损害内质网结构以及出现线粒体非折叠蛋白反应 (mitochondrial unfolded protein response, UPR^{mt})^[53]。纯合 *Mto1* 敲除的小鼠由于线粒体翻译的严重损伤会在胚胎发育早期死亡，心脏特异性敲除的 *Mto1* 新生小鼠会在 24 h 内死亡^[53]，证明 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰对动物胚胎发育至关重要。

2.3 MELAS和MERRF

核基因和线粒体基因组的基因突变都可以导致线粒体功能障碍和代谢紊乱，造成人类疾病（主要包括脑病、肌病、脑肌病），统称为线粒体疾病^[12]。已发现约 400 种基因突变导致的线粒体病，而超过 200 种定位于 22 种 mt-tRNA 基因中^[54-55]。这些致病突变的致病机理不尽相同，包括影响 tRNA 三级结构、tRNA 修饰、tRNA 氨基酰化、核糖体解码等多方面^[56]。MELAS 和 MERRF 是研究比较多的线粒体疾病。大约 80% 的 MELAS 病人携带 mtDNA 上 A3243G 的突变，导致 mt-tRNA^{Leu} (UUR) 上的 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 缺失（图 3）。研究表明，mt-tRNA^{Leu} (UUR) 因缺乏 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰，无法解码 UUG 密码子，导致呼吸链复合物 I 和 IV 活力下降，进而引发线粒体功能障碍^[21]。在 A8344G 突变导致 MERRF 的患者中，mt-tRNA^{Lys} 缺乏 $\tau\text{m}^5\text{s}^2\text{U}$ 修饰（图 3），无法解码 AAA 和 AAG 密码子，造成线粒体翻译缺陷和呼吸链复合物活性下降^[21]。目前认为 s^2 修饰在 MERRF 患者中对解码效率起着关键作用，但是具体的分子机制有待研究。虽然 A3243G (D 环) 和 A8344G (T Ψ C 环) 位于不同 tRNA 基因的不同位置，但它们对 tRNA 的影响相似，充分说明了牛磺酸修饰对于维持正常生命活动的重要性。

3 治疗牛磺酸修饰缺陷导致线粒体疾病的潜在方法

MELAS 和 MERRF 是比较严重且典型的线粒体疾病，潜在的分子致病机制依然不完全清楚。迄今为止，线粒体疾病尚无有效药物，仅有一些候选药物可以潜在地减轻由牛磺酸修饰缺陷引起的线粒体功能障碍。针对 MELAS 病人，牛磺酸是目前最新研发的药物。补充高浓度的牛磺酸，可以提高 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰的丰度^[57]。临床试验表明，口服牛磺酸

会提高 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰的丰度^[58]。另一种药物为牛磺熊去氧胆酸 (tauroursodeoxycholic acid, TUDCA)，它是一种牛磺酸偶联的胆酸，可以作为分子伴侣促进蛋白质的折叠和预防蛋白质的聚集^[59]。研究表明，用 TUDCA 处理小鼠 *Mto1* 敲除的细胞，会阻碍错误折叠蛋白质的聚集，进而抑制 UPR 的细胞毒性和提高呼吸链复合物的活性^[53]。在人体中已经证明了 TUDCA 的安全性，同时该药物在神经疾病的临床试验中也取得了不错的效果^[60]。

除了药物治疗，遗传学方法清除 mtDNA 突变日渐成为主流。基于定位于线粒体的转录激活样效应因子核酸酶 (TALEN) 基因编辑技术可以靶向 mtDNA^[61]。研究发现，TALEN 可以特异性地结合和切割带有致病突变的 mtDNA^[62]，造成 DNA 双链断裂。由于 mtDNA 的修复不像细胞核 DNA 那样高效，双链造成的断裂会消除整个突变的 DNA^[63]。从理论上讲，若 TALEN 可以应用到人类卵母细胞，将可能预防线粒体疾病传播到子代。考虑到安全性，应严格检测 TALEN 在其他 mtDNA 区域的脱靶效应。

传统的 CRISPR-Cas9 基因编辑技术需要将 RNA 引入线粒体，一直被认为不适合治疗线粒体疾病。最近新研发的单碱基编辑工具 DddA-derived cytosine base editor (DdCBE) 可以在不产生 DNA 双链断裂的情况下对 mtDNA 进行精确编辑。具体来说，介导双链 DNA 胞苷脱氨基化的细菌毒素 DddA，它可以把胞嘧啶 (C) 转化为尿嘧啶 (U)。将 DddA 与 TALEN 和尿嘧啶糖基化酶抑制剂融合，构建出 RNA 非依赖的胞嘧啶碱基编辑器 DdCBE，催化 mtDNA 中 C•G 到 T•A 的高效特异性转化^[64-65]。DdCBE 不仅在人细胞中实现线粒体的成功编辑，更在人类早期胚胎中实现了高效的线粒体碱基编辑^[66-67]。不过，DdCBE 依然有几方面的缺陷：a. DddA 对哺乳动物细胞有毒；b. 尿嘧啶很容易从 DNA 上切下来；c. 有非常严重的脱靶效应。总的来说，DdCBE 为线粒体疾病的机制研究和治疗提供了十分有效的工具，是线粒体研究里程碑式的突破，不过后续需要继续优化，尽量减轻其副作用带来的影响。此外，最近的研究提示，CRISPR-Cas9 基因编辑技术也可以在线粒体中发挥作用，但是其编辑效率尚需进一步优化^[68]。

4 总结与展望

tRNA 作为接头分子，精确解码 mRNA 的密码

子,为蛋白质的生物合成提供原料。约10%~20%的tRNA碱基或核糖携带修饰,而大量的tRNA修饰都集中在反密码子环的摆动位34,保证翻译精确性。至今为止,已经鉴定超过30种摆动位的修饰,它们调控tRNA解码能力。哺乳动物线粒体的tRNA修饰图谱已经建立,而目前只发现了39种细胞质tRNA修饰^[69]。相比于高等真核生物,大肠杆菌tRNA有31种修饰,以及酿酒酵母tRNA有26种修饰已经被鉴定,两者tRNA修饰的功能得到了广泛的研究^[4]。此外,tRNA的修饰酶和催化机制还有诸多未知,这些修饰酶的功能也需进一步探索。

有研究认为,在MELAS或者MERRF病人中,GTPBP3/MTO1复合物无法识别突变的tRNA,进而导致牛磺酸修饰缺陷。临床试验发现口服牛磺酸会轻微提高mt-tRNA^{Leu}(UUR)上 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰的丰度,有效减少病人中风的再次发生^[58]。tRNA修饰为动态调控,tRNA修饰丰度会随细胞环境的变化而变化。最近兴起的基因编辑技术有望从基因水平治疗疾病,但其效率、编辑种类、脱靶效应、安全性等都需要进一步优化。

本课题组^[45]的研究表明,不稳定的hGTPBP3致病突变体,在人细胞中通过泛素-蛋白酶体途径降解,而在酵母中能够稳定存在,这可能是由于酵母缺乏相应的E3连接酶所致。未来需进一步寻找hGTPBP3的E3连接酶,通过添加小分子抑制剂,抑制E3连接酶活性,RNA干扰或蛋白质靶向降解技术下调E3连接酶蛋白质含量等手段,让不稳定的hGTPBP3致病突变体在细胞中稳定存在,或许可以缓解hGTPBP3基因突变造成的线粒体疾病。

虽然体外重组 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰已经成功,但是重组效率太低。需要进一步优化反应体系和条件,如纯化出高纯度的酶,以及添加合适的辅因子,来提升 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰重组的效率。深入研究高等真核生物的GTPBP3和MTO1,有利于加深对 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰生物合成途径和生物学功能的理解,为揭示tRNA基因突变导致MELAS的分子机制奠定理论基础。

参 考 文 献

- [1] Rodnina M V, Wintermeyer W. The ribosome as a molecular machine: the mechanism of tRNA-mRNA movement in translocation. *Biochem Soc Trans*, 2011, **39**(2): 658-662
- [2] Sharp S J, Schaack J, Cooley L, *et al*. Structure and transcription of eukaryotic tRNA genes. *CRC Crit Rev Biochem*, 1985, **19**(2): 107-144
- [3] Lant J T, Berg M D, Heinemann I U, *et al*. Pathways to disease from natural variations in human cytoplasmic tRNAs. *J Biol Chem*, 2019, **294**(14): 5294-5308
- [4] Boccaletto P, Stefaniak F, Ray A, *et al*. MODOMICS: a database of RNA modification pathways. 2021 update. *Nucleic Acids Res*, 2022, **50**(D1): D231-D235
- [5] Motorin Y, Helm M. tRNA stabilization by modified nucleotides. *Biochemistry*, 2010, **49**(24): 4934-4944
- [6] Nedialkova D D, Leidel S A. Optimization of codon translation rates *via* tRNA modifications maintains proteome integrity. *Cell*, 2015, **161**(7): 1606-1618
- [7] Murphy F V T, Ramakrishnan V, Malkiewicz A, *et al*. The role of modifications in codon discrimination by tRNA^(Lys)UUU. *Nat Struct Mol Biol*, 2004, **11**(12): 1186-1191
- [8] Stuart J W, Gdaniec Z, Guenther R, *et al*. Functional anticodon architecture of human tRNA^{Lys3} includes disruption of intraloop hydrogen bonding by the naturally occurring amino acid modification, t⁶A. *Biochemistry*, 2000, **39**(44): 13396-13404
- [9] Sundaram M, Durant P C, Davis D R. Hypermodified nucleosides in the anticodon of tRNA^{Lys} stabilize a canonical U-turn structure. *Biochemistry*, 2000, **39**(41): 12575-12584
- [10] Chan D C. Mitochondria: dynamic organelles in disease, aging, and development. *Cell*, 2006, **125**(7): 1241-1252
- [11] Anderson S, Bankier A T, Barrell B G, *et al*. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 1981, **290**(5806): 457-465
- [12] Suzuki T, Nagao A, Suzuki T. Human mitochondrial tRNAs: biogenesis, function, structural aspects, and diseases. *Annu Rev Genet*, 2011, **45**: 299-329
- [13] Zhou X L, Ruan Z R, Wang M, *et al*. A minimalist mitochondrial threonyl-tRNA synthetase exhibits tRNA-isoacceptor specificity during proofreading. *Nucleic Acids Res*, 2014, **42**(22): 13873-13886
- [14] Suzuki T, Yashiro Y, Kikuchi I, *et al*. Complete chemical structures of human mitochondrial tRNAs. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 4269
- [15] Asano K, Suzuki T, Saito A, *et al*. Metabolic and chemical regulation of tRNA modification associated with taurine deficiency and human disease. *Nucleic Acids Res*, 2018, **46**(4): 1565-1583
- [16] Yasukawa T, Suzuki T, Ishii N, *et al*. Defect in modification at the anticodon wobble nucleotide of mitochondrial tRNA^{Lys} with the MERRF encephalomyopathy pathogenic mutation. *FEBS Lett*, 2000, **467**(2-3): 175-178
- [17] Suzuki T, Suzuki T, Wada T, *et al*. Taurine as a constituent of mitochondrial tRNAs: new insights into the functions of taurine and human mitochondrial diseases. *EMBO J*, 2002, **21**(23): 6581-6589
- [18] Suzuki T, Miyauchi K, Suzuki T, *et al*. Taurine-containing uridine modifications in tRNA anticodons are required to decipher non-universal genetic codes in ascidian mitochondria. *J Biol Chem*, 2011, **286**(41): 35494-35498
- [19] Ohira T, Suzuki T, Miyauchi K, *et al*. Decoding mechanism of non-universal genetic codes in *Loligo bleekeri* mitochondria. *J Biol*

- Chem, 2013, **288**(11): 7645-7652
- [20] Yim L, Moukadiri I, Bjork G R, *et al.* Further insights into the tRNA modification process controlled by proteins MnmE and GidA of *Escherichia coli*. Nucleic Acids Res, 2006, **34**(20): 5892-5905
- [21] Kirino Y, Yasukawa T, Ohta S, *et al.* Codon-specific translational defect caused by a wobble modification deficiency in mutant tRNA from a human mitochondrial disease. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, **101**(42): 15070-15075
- [22] Goto Y, Nonaka I, Horai S. A mutation in the tRNA^{(Leu)(UUR)} gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. Nature, 1990, **348**(6302): 651-653
- [23] Shoffner J M, Lott M T, Lezza A M, *et al.* Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNA^{Lys} mutation. Cell, 1990, **61**(6): 931-937
- [24] Mann M, Jensen O N. Proteomic analysis of post-translational modifications. Nat Biotechnol, 2003, **21**(3): 255-261
- [25] Bykhovskaya Y, Mengesha E, Wang D, *et al.* Phenotype of non-syndromic deafness associated with the mitochondrial A1555G mutation is modulated by mitochondrial RNA modifying enzymes MTO1 and GTPBP3. Mol Genet Metab, 2004, **83**(3): 199-206
- [26] Cell Repli X, Li R, Lin X, *et al.* Isolation and characterization of the putative nuclear modifier gene MTO1 involved in the pathogenesis of deafness-associated mitochondrial 12S rRNA A1555G mutation. J Biol Chem, 2002, **277**(30): 27256-27264
- [27] Ducker G S, Rabinowitz J D. One-carbon metabolism in health and disease. Cell Metab, 2017, **25**(1): 27-42
- [28] Kurata S, Weixlbaumer A, Ohtsuki T, *et al.* Modified uridines with C5-methylene substituents at the first position of the tRNA anticodon stabilize U-G wobble pairing during decoding. J Biol Chem, 2008, **283**(27): 18801-18811
- [29] Umeda N, Suzuki T, Yukawa M, *et al.* Mitochondria-specific RNA-modifying enzymes responsible for the biosynthesis of the wobble base in mitochondrial tRNAs. Implications for the molecular pathogenesis of human mitochondrial diseases. J Biol Chem, 2005, **280**(2): 1613-1624
- [30] El Yacoubi B, Bailly M, De Crécy-Lagard V. Biosynthesis and function of posttranscriptional modifications of transfer RNAs. Annu Rev Genet, 2012, **46**: 69-95
- [31] Duechler M, Leszczyńska G, Sochacka E, *et al.* Nucleoside modifications in the regulation of gene expression: focus on tRNA. Cell Mol Life Sci, 2016, **73**(16): 3075-3095
- [32] Yan Q, Li X, Faye G, *et al.* Mutations in MTO2 related to tRNA modification impair mitochondrial gene expression and protein synthesis in the presence of a paromomycin resistance mutation in mitochondrial 15 S rRNA. J Biol Chem, 2005, **280**(32): 29151-29157
- [33] Zeharia A, Shaag A, Pappo O, *et al.* Acute infantile liver failure due to mutations in the TRMU gene. Am J Hum Genet, 2009, **85**(3): 401-407
- [34] Schara U, Von Kleist-Retzow J C, Lainka E, *et al.* Acute liver failure with subsequent cirrhosis as the primary manifestation of TRMU mutations. J Inher Metab Dis, 2011, **34**(1): 197-201
- [35] Wu Y, Wei F Y, Kawarada L, *et al.* Mtu1-mediated thiouridine formation of mitochondrial tRNAs is required for mitochondrial translation and is involved in reversible infantile liver injury. PLoS Genet, 2016, **12**(9): e1006355
- [36] Yamada Y, Murao K, Ishikura H. 5-(carboxymethylaminomethyl)-2-thiouridine, a new modified nucleoside found at the first letter position of the anticodon. Nucleic Acids Res, 1981, **9**(8): 1933-1939
- [37] Moukadiri I, Prado S, Piera J, *et al.* Evolutionarily conserved proteins MnmE and GidA catalyze the formation of two methyluridine derivatives at tRNA wobble positions. Nucleic Acids Res, 2009, **37**(21): 7177-7193
- [38] Wang X, Yan Q, Guan M X. Combination of the loss of cmnm⁵U₃₄ with the lack of s²U₃₄ modifications of tRNA^{Lys}, tRNA^{Glu}, and tRNA^{Gln} altered mitochondrial biogenesis and respiration. J Mol Biol, 2010, **395**(5): 1038-1048
- [39] Wolff P, Villette C, Zumsteg J, *et al.* Comparative patterns of modified nucleotides in individual tRNA species from a mesophilic and two thermophilic archaea. RNA, 2020, **26**(12): 1957-1975
- [40] Hagervall T G, Edmonds C G, McCloskey J A, *et al.* Transfer RNA (5-methylaminomethyl-2-thiouridine) -methyltransferase from *Escherichia coli* K-12 has two enzymatic activities. J Biol Chem, 1987, **262**(18): 8488-8495
- [41] Ikeuchi Y, Shigi N, Kato J, *et al.* Mechanistic insights into sulfur relay by multiple sulfur mediators involved in thiouridine biosynthesis at tRNA wobble positions. Mol Cell, 2006, **21**(1): 97-108
- [42] Kambampati R, Lauhon C T. MnmA and IscS are required for in vitro 2-thiouridine biosynthesis in *Escherichia coli*. Biochemistry, 2003, **42**(4): 1109-1117
- [43] Cho K H, Caparon M G. tRNA modification by GidA/MnmE is necessary for *Streptococcus pyogenes* virulence: a new strategy to make live attenuated strains. Infect Immun, 2008, **76**(7): 3176-3186
- [44] Shippy D C, Eakley N M, Bochsler P N, *et al.* Biological and virulence characteristics of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium following deletion of glucose-inhibited division (*gidA*) gene. Microb Pathog, 2011, **50**(6): 303-313
- [45] Peng G X, Zhang Y, Wang Q Q, *et al.* The human tRNA taurine modification enzyme GTPBP3 is an active GTPase linked to mitochondrial diseases. Nucleic Acids Res, 2021, **49**(5): 2816-2834
- [46] Scrima A, Wittinghofer A. Dimerisation-dependent GTPase reaction of MnmE: how potassium acts as GTPase-activating element. EMBO J, 2006, **25**(12): 2940-2951
- [47] Li X, Guan M X. A human mitochondrial GTP binding protein related to tRNA modification may modulate phenotypic expression of the deafness-associated mitochondrial 12S rRNA mutation. Mol Cell Biol, 2002, **22**(21): 7701-7711
- [48] Kopajtich R, Nicholls T J, Rorbach J, *et al.* Mutations in GTPBP3

- cause a mitochondrial translation defect associated with hypertrophic cardiomyopathy, lactic acidosis, and encephalopathy. *Am J Hum Genet*, 2014, **95**(6): 708-720
- [49] Chen D, Zhang Z, Chen C, *et al.* Deletion of Gtpbp3 in zebrafish revealed the hypertrophic cardiomyopathy manifested by aberrant mitochondrial tRNA metabolism. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47**(10): 5341-5355
- [50] Osawa T, Ito K, Inanaga H, *et al.* Conserved cysteine residues of GidA are essential for biogenesis of 5-carboxymethylaminomethyluridine at tRNA anticodon. *Structure*, 2009, **17**(5): 713-724
- [51] Baruffini E, Dallabona C, Invernizzi F, *et al.* MTO1 mutations are associated with hypertrophic cardiomyopathy and lactic acidosis and cause respiratory chain deficiency in humans and yeast. *Hum Mutat*, 2013, **34**(11): 1501-1509
- [52] Tischner C, Hofer A, Wulff V, *et al.* MTO1 mediates tissue specificity of OXPHOS defects via tRNA modification and translation optimization, which can be bypassed by dietary intervention. *Hum Mol Genet*, 2015, **24**(8): 2247-2266
- [53] Fakruddin M, Wei F Y, Suzuki T, *et al.* Defective mitochondrial tRNA taurine modification activates global proteostress and leads to mitochondrial disease. *Cell Rep*, 2018, **22**(2): 482-496
- [54] Abbott J A, Francklyn C S, Robey-Bond S M. Transfer RNA and human disease. *Front Genet*, 2014, **5**: 158
- [55] Brandon M C, Lott M T, Nguyen K C, *et al.* MITOMAP: a human mitochondrial genome database--2004 update. *Nucleic Acids Res*, 2005, **33**: D611-D613
- [56] Boczonadi V, Horvath R. Mitochondria: impaired mitochondrial translation in human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 2014, **48**(100): 77-84
- [57] Rikimaru M, Ohsawa Y, Wolf A M, *et al.* Taurine ameliorates impaired the mitochondrial function and prevents stroke-like episodes in patients with MELAS. *Intern Med*, 2012, **51**(24): 3351-3357
- [58] Ohsawa Y, Hagiwara H, Nishimatsu S I, *et al.* Taurine supplementation for prevention of stroke-like episodes in MELAS: a multicentre, open-label, 52-week phase III trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2019, **90**(5): 529-536
- [59] Cortez L, Sim V. The therapeutic potential of chemical chaperones in protein folding diseases. *Prion*, 2014, **8**(2): 197-202
- [60] Kars M, Yang L, Gregor M F, *et al.* Tauroursodeoxycholic acid may improve liver and muscle but not adipose tissue insulin sensitivity in obese men and women. *Diabetes*, 2010, **59**(8): 1899-1905
- [61] Zhang H X, Zhang Y, Yin H. Genome editing with mRNA encoding ZFN, TALEN, and Cas9. *Mol Ther*, 2019, **27**(4): 735-746
- [62] Yang Y, Wu H, Kang X, *et al.* Targeted elimination of mutant mitochondrial DNA in MELAS-iPSCs by mitoTALENs. *Protein Cell*, 2018, **9**(3): 283-297
- [63] Kazak L, Reyes A, Holt I J. Minimizing the damage: repair pathways keep mitochondrial DNA intact. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, **13**(10): 659-671
- [64] Mok B Y, De Moraes M H, Zeng J, *et al.* A bacterial cytidine deaminase toxin enables CRISPR-free mitochondrial base editing. *Nature*, 2020, **583**(7817): 631-637
- [65] Aushev M, Herbert M. Mitochondrial genome editing gets precise. *Nature*, 2020, **583**(7817): 521-522
- [66] Chen X, Liang D, Guo J, *et al.* DdCBE-mediated mitochondrial base editing in human 3PN embryos. *Cell Discov*, 2022, **8**(1): 8
- [67] Wei Y, Xu C, Feng H, *et al.* Human cleaving embryos enable efficient mitochondrial base-editing with DdCBE. *Cell Discov*, 2022, **8**(1): 7
- [68] Bi R, Li Y, Xu M, *et al.* Direct evidence of CRISPR-Cas9-mediated mitochondrial genome editing. *Innovation*, 2022, **3**(6): 100329
- [69] De Crécy-Lagard V, Boccaletto P, Mangleburg C G, *et al.* Matching tRNA modifications in humans to their known and predicted enzymes. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47**(5): 2143-2159

Mitochondrial Transfer Ribonucleic Acid (mt-tRNA) Taurine Modification*

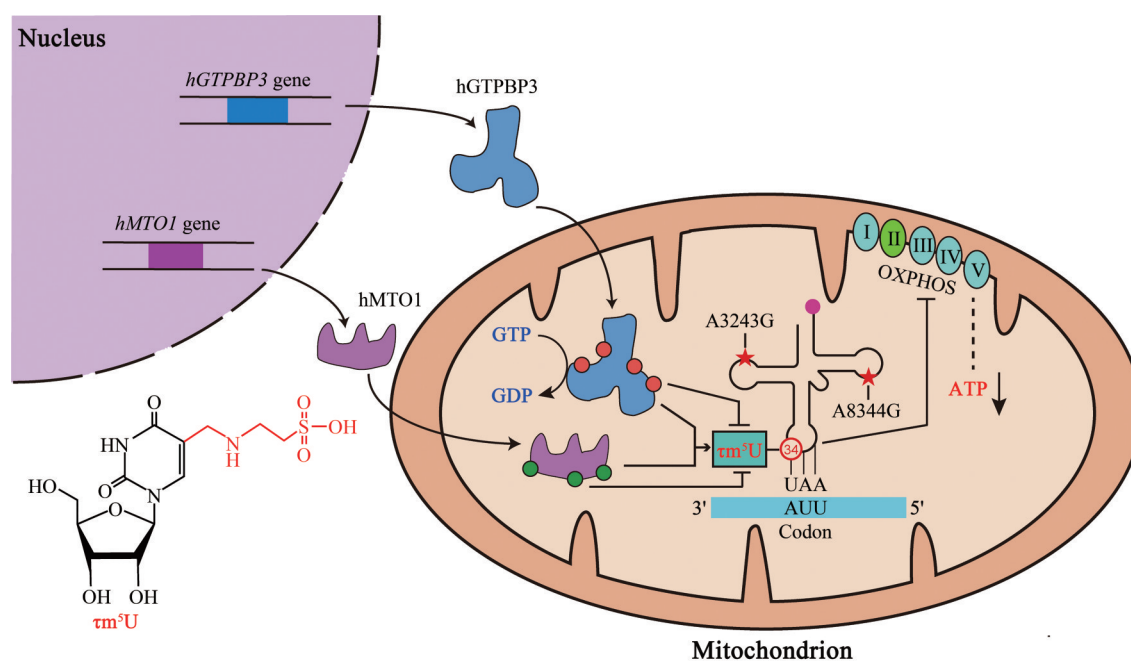
PENG Gui-Xin^{1,2,3)}, WANG En-Duo^{1,2,3)**}, ZHOU Xiao-Long^{1,2)**}

⁽¹⁾Center for Excellence in Molecular Cell Science, Shanghai Institute of Biochemistry and Cell Biology, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China;

⁽²⁾University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100864, China;

⁽³⁾School of Life Science and Technology, ShanghaiTech University, Shanghai 201210, China)

Graphical abstract



Abstract Transfer ribonucleic acid (tRNA) is the RNA molecule with the largest variety of post-transcriptional modifications. In particular its anticodon loop contains a large number of modifications. Mitochondria have a relatively independent protein synthesis system, mitochondrial tRNAs (mt-tRNAs) are all encoded by the mitochondrial genome. Studies have shown that 5-taurinomethyluridine modification (tm^5U) only exists at position 34 of mitochondrial tRNAs of higher eukaryotes, regulating the fidelity of codon and anticodon interaction and contributing to translation speed and fidelity. Human GTPBP3 and MTO1 mediate mitochondrial tm^5U modification, whose functional defects may cause mitochondrial encephalomyopathy. This review summarizes the biological properties of tm^5U modification and its modifying enzymes, providing a new insight into the mechanism of tm^5U modification and the pathogenesis of mitochondrial diseases caused by tm^5U modification defects.

Key words tRNA, post-transcriptional modifications, mitochondrial diseases, biological functions

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0060

* This work was supported by grants from the National Key Research and Development Program of China (2021YFA1300800) and The National Natural Science Foundation of China (32271300).

** Corresponding author.

WANG En-Duo. Tel: 86-21-54921242, E-mail: edwang@sibcb.ac.cn

ZHOU Xiao-Long. Tel: 86-21-54921247, E-mail: xlzhou@sibcb.ac.cn

Received: February 24, 2023 Accepted: March 29, 2023