

DOI: 10.13376/j.cblls/2014148

文章编号: 1004-0374(2014)10-1032-06

tRNA转录后修饰的功能及其与人类疾病的关系

周 觅^{1,2}, 刘如娟^{1*}, 王恩多^{1,3*}

(1 中国科学院上海生命科学研究院, 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 100049; 3 上海科技大学, 上海 200031)

摘 要: 转移核糖核酸 (tRNA) 的转录后修饰对 tRNA 正常行使生物学功能具有重要意义, 这些功能包括 tRNA 的正确折叠和维持其稳定性、在核糖体上正确解码。虽然 tRNA 转录后大部分核苷酸修饰形式在 20 世纪 70 年代已被鉴定出, 但最近才在大肠杆菌及酵母中鉴定出催化这些 tRNA 核苷酸修饰的酶的绝大部分基因。这些修饰酶基因的鉴定为研究 tRNA 转录后修饰的生物功能开启了新的大门。人胞质 tRNA 和线粒体 tRNA(mt tRNA) 都存在大量核苷酸修饰, 这些修饰的缺陷常常与多种人类疾病相关。因此, 研究 tRNA 核苷酸修饰有助于我们了解相关疾病的发病机理。

关键词: tRNA; tRNA 修饰; 生物功能; 人类疾病

中图分类号: Q522^{+.1} **文献标志码:** A

Function of posttranscriptional modifications of transfer RNAs and its relationship with human diseases

ZHOU Mi^{1,2}, LIU Ru-Juan^{1*}, WANG En-Duo^{1,2*}

(1 State Key Laboratory of Molecular Biology, Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China; 2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3 Shanghai Tech University, Shanghai 200031, China)

Abstract: The posttranscriptional modifications of transfer RNA (tRNA) are critical for tRNA biological functions, including tRNA folding, stability and decoding. Most tRNA posttranscriptional modifications were discovered in the 1970s, however, the discovery of genes encoding the proteins for these tRNA posttranscriptional modifications has lagged behind. Until recently, the near complete map of tRNA modification enzymes genes was identified in both model organisms *Saccharomyces cerevisiae* and *Escherichia coli*. The discovery of these genes opens a new window for studying the biological functions of tRNA posttranscriptional modifications. There are a wide variety of posttranscriptional modifications in human cytoplasmic and mitochondrial tRNAs, and the defect of these modifications is often associated with human diseases. Therefore, the study of tRNA posttranscriptional modifications helps in understanding the pathogenesis of related human diseases.

Key words: tRNA; tRNA modification; biological function; human disease

1 tRNA转录后修饰具有重要功能

转移核糖核酸 (tRNA) 自 50 多年前被 Hoagland 和 Zamecnik 发现以来, 一直受到科学家们的广泛关注。tRNA 是细胞内主要的 RNA 分子之一, 通常由 73~93 个核苷酸组成, 其三级结构呈“倒 L”型。tRNA 的经典功能是参与蛋白质合成。其 3' 末端负责将相应的氨基酸携带进入核糖体, 然后通过反密

码子与信使 RNA (mRNA) 上的密码子相互配对识别, 从而确保遗传信息的精确传递^[1]。tRNA 作为连接遗传信息和对应氨基酸之间的“接头分子”,

收稿日期: 2014-07-21; 修回日期: 2014-09-01

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(31130064)

*通信作者: E-mail: liurj@sibcb.ac.cn (刘如娟);
edwang@sibcb.ac.cn (王恩多)

是蛋白质合成中的关键生物大分子之一。

由于 tRNA 的精确解码对于细胞生存至关重要, 细胞基因组中有很一部分基因的作用是确保 tRNA 可以正确行使其功能, 而 tRNA 的核苷酸修饰就是其中至关重要的一种功能的质量控制方式。在细胞内, 直接由转录产生的 tRNA 前体并不能直接行使其功能, 需要经过一系列的剪接和转录后修饰等加工过程形成成熟的 tRNA 方能获得生物学功能。事实上, 基因组中大约 1%~10% 的基因编码的蛋白质都参与 tRNA 核苷酸修饰过程, 远多于编码 tRNA 本身的基因数目^[2]。大部分转录后修饰在 20 世纪 70 年代被鉴定出来, 但负责这些修饰的酶基因直到最近几年才在模式生物大肠杆菌和酵母中被鉴定。tRNA 是各类 RNA 中含有转录后修饰核苷酸数目和类型最多的一类 RNA^[3]。目前已有约 90 种核酸修饰被发现, 平均每个 tRNA 分子中大约有 11.9% 的核苷酸具有修饰^[4-5]。这些修饰大部分位于 tRNA 反密码环和“倒 L”型三级结构的拐肘部位, 尤其是反密码环的 34 和 37 位^[2,5]。tRNA 转录后核苷酸的修饰对于维持 tRNA “倒 L”型三级结构的稳定性, 保证在核糖体上阅读框正确地翻译有重要作用^[6]。tRNA 核苷酸修饰参与细胞内蛋白质翻译、新陈代谢以及细胞压力条件下应答等多方面的生物学功能, 是 tRNA 行使生物学功能和精确调节 tRNA 参与的翻译有效性和忠实性的物质基础, 对维持细胞生长代谢有重要作用。有些 tRNA 核苷酸修饰的缺失甚至导致细胞死亡和相关人类疾病。

tRNA 第 34 位核苷酸位于 tRNA 反密码子上的第一位摆动位点 (Wobble position), 即携带同一种氨基酸的 tRNA 等受体往往在这一位置为不同核苷酸, 该位核苷酸修饰通常影响 tRNA 对密码子的精确识别。在细菌和酵母中, tadA 负责催化 tRNA^{Arg} 摆动碱基位的 I34 修饰, 对于细胞生长有重要作用^[7]。tRNA 反密码环第 34 位核苷酸修饰的缺失或损伤将会导致基因表达紊乱, 并引起细菌毒性、病原性及细胞对压力应答等表型的显著改变^[8-12]。不仅如此, tRNA 的第 34 位核苷酸修饰还被发现与人类疾病密切相关。研究发现了一类特殊的含牛磺酸衍生物基团的修饰, 该修饰主要位于 mt tRNA^{Lys}_{UUU} 和 mt tRNA^{Leu}_{UAA} 反密码子第 34 位 U 上。位于这两种 mt tRNA 基因上的多种突变可以导致 tRNA 上相应摆动位点的核苷酸修饰缺失, 从而引起遗传性脑肌病。

tRNA 核苷酸修饰与环境因素相关, 受到诸如

细胞生长温度或生长速率等外界环境影响。例如, 在高温下培养嗜热菌时, 这些细菌的 tRNA 转录后修饰增加^[13], 大肠杆菌 tRNA 上的硫醇化修饰在大肠杆菌的不同生长阶段有所不同^[14]。酵母中 Trm9 催化位于 tRNA^{Arg}_{UCU} 和 tRNA^{Glu}_{UUC} 的 34 位摇摆碱基上尿嘧啶 U 上的甲基化修饰。Trm9 通过修饰 tRNA 加强专一密码子的功能, 利用大量产生的一些与 DNA 损伤修复相关蛋白质基因的转录本为模板, 进而大量表达 DNA 损伤修复相关蛋白质来应对甲磺酸乙酯 (MMS) 等引发的 DNA 损伤^[15]。

2 tRNA转录后修饰与相关人类疾病

虽然大部分的 tRNA 核苷酸修饰已经被鉴定出来, 但负责催化这些修饰的基因及对应的修饰酶在人细胞中仍不是完全清楚, 使研究这些 tRNA 核苷酸修饰的生物学功能困难重重。目前, 随着研究手段日益先进, 科学家们对细胞代谢过程中的重要 tRNA 核苷酸修饰的研究逐渐深入。越来越多的研究显示 tRNA 核苷酸修饰与人类疾病相关。

2 型糖尿病 (type 2 diabetes, T2D) 是一种由于环境和遗传因素综合影响发生的疾病。世界上大约有 20 亿以上的 2 型糖尿病患者, 并且这个数值还在不断增加^[16]。2 型糖尿病的表型为胰岛 β 细胞分泌胰岛素的功能紊乱和胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR)^[17], 但对其发生的机制仍无定论。大量全基因组研究表明 cdk5 调节相关蛋白 1 同源蛋白质 *cdk11* (cdk5 regulatory associated protein 1-like 1, *cdk11*) 基因是 2 型糖尿病高致病性基因之一。研究发现, *cdk11* 基因突变与胰岛素分泌相关, 而不与胰岛素抵抗和肥胖相关联。尽管 *cdk11* 的生理学功能尚不清楚, 但近期研究显示, *cdk11* 是一类 tRNA 甲硫基转移酶, 专一催化哺乳动物中 tRNA^{Lys}_{UUU} 第 37 位的 2-甲硫基-N6-苏氨酰氨甲酰腺苷酸 (ms^2t^6A) 修饰。tRNA^{Lys}_{UUU} 第 37 位的 ms^2t^6A 修饰在高速翻译过程中对于阻止密码子错配以及阅读框移码有重要作用。甲硫基化 (ms^2A) 修饰通过与 mRNA 密码子第一个核苷酸的碱基的相互作用来稳定密码子和反密码子相互作用^[18]。在全身 *cdk11* 基因敲除和胰岛 β 细胞中 *cdk11* 基因特异敲除的小鼠中, ATP 的产生以及第一阶段胰岛素的分泌均有降低。同时, 胰岛 β 细胞中 *cdk11* 基因特异敲除的小鼠中还伴有胰岛肥大及血糖调控损伤的现象。由于 ms^2t^6A 修饰的缺失导致 tRNA^{Lys}_{UUU} 在胰岛素前体的翻译过程中发生错配, 进而引起胰岛素前体的错误折叠, 随

后引发内质网压力应答改变,产生胰岛素功能紊乱最终发生2型糖尿病^[19]。

智力障碍 (mental retardation, MR), 又称为智力缺陷 (intellectual disability, ID), 是一类神经发育紊乱疾病, 给患者及其家人造成极大痛苦。智力障碍在人群中的发生概率约为 1%~3%, 通常由基因变异或缺陷导致。近期, 科学家们通过对一个帕金森疾病家系中智力障碍患者基因的分析发现, 智力障碍患者的 *Nsun2* 基因编码的蛋白质的 679 位保守甘氨酸残基突变为精氨酸残基。*Nsun2* 基因编码的蛋白质是一类甲基化酶, 特异催化 tRNA^{Leu}_{CAA} 第 34 位摆动碱基位胞嘧啶核苷酸上的甲基化 (m⁵C), 对于在细胞分裂过程中的纺锤体组装和染色体分裂有重要作用。当细胞处于分裂期时, *Nsun2* 编码的蛋白质结合 18S rRNA 作为核酸-蛋白质复合体从核仁转位到纺锤体处。*Nsun2* 基因的缺失导致多种细胞分裂缺陷, 包括产生未组装的纺锤体、多极性的纺锤体、染色体分裂异常等现象, 进而导致非整倍体的发生及细胞死亡^[20]。在小鼠脑细胞中, *Nsun2* 编码的蛋白质定位于小脑浦肯野细胞的核仁当中, 而 *Nsun2* 基因突变后其编码的蛋白质不能再定位到核仁中。*Nsun2* 编码的蛋白质的功能缺陷将会导致常染色体隐性智力发育障碍^[21]。人们还发现另一个 tRNA 甲基转移酶 FTSJ1 也与 X-连锁 (X-linked) 智力障碍相关, 在多个家族遗传性智力障碍患者中鉴定到其基因的表达缺陷^[22-24]。虽然人 FTSJ1 的确切功能还不清楚, 但它在酵母中的同源物 Trm7 负责催化三种 tRNA 的第 32 位和第 34 位的 2'-O-甲基化修饰^[25]。人 FTSJ1 的细胞功能及其导致智力障碍的致病机理都有待进一步研究。

与细胞质 tRNA 类似, mt tRNA 的核苷酸也存在许多修饰。线粒体是真核生物细胞中负责能量转换的重要细胞器, 其基因组为闭合环状的双链 DNA 分子。通过基因分析发现人线粒体内有 22 种 mt tRNA 参与蛋白质翻译。许多核因子都与 mt tRNA 的功能相关, 尤其是 tRNA 修饰酶。这些核因子的突变往往导致各种疾病的发生, 暗示 mt tRNA 对于线粒体功能具有重要意义。mt tRNA 的核苷酸修饰是它的结构特征之一^[26-27]。与原核细胞或者真核细胞质中 tRNA 相比, mt tRNA 结构不稳定, 其二级结构中 AU 配对和非 Watson-Crick 配对含量较高, 这种不稳定性导致 mt tRNA 易发生碱基突变进而导致线粒体功能异常引起的疾病, 这种疾病通常简称为线粒体疾病。因此, mt tRNA 的核苷酸修饰至关

重要, 这些修饰可以帮助线粒体正确折叠, 形成稳定的 mt tRNA 结构^[28], 减少 mt tRNA 碱基突变发生的概率, 从而降低线粒体疾病发生的风险。研究表明, 体外转录产生的不含任何修饰的 mt tRNA 转录本将会产生多种折叠形式的无功能 tRNA^[29]。当在 mt tRNA^{Lys} 第 9 位核苷酸 A 加上一个甲基化修饰 (m¹A9) 后, 有效地阻止了 A9-U64 的非正确配对, 从而使 mt tRNA^{Lys} 可以折叠成唯一正确构象, 同时具有相应生物学功能^[30]。目前为止, 从人或者牛的线粒体中分离到的 11 种成熟形式 tRNA 的序列被测定, 鉴定到 16 种修饰核苷酸, 其中包括 3 种线粒体特异性修饰: 甲酰化修饰 (5-formylcytidine, f⁵C)^[31]、牛磺酸甲基化修饰 (5-taurino-methyluridine, τ m⁵U), 以及 5-牛磺酸甲基化-2-硫代修饰 (5-taurino-methyl-2-thiouridine, τ m⁵s²U)^[32]。

mt tRNA 核苷酸修饰的异常与人类的线粒体疾病息息相关^[33]。由于中枢神经系统和骨骼肌系统对于能量的依赖性最强, 故线粒体疾病又称为线粒体脑肌病。如果病变以中枢神经系统为主, 则称为线粒体脑病; 如果病变以骨骼肌系统为主, 则称为线粒体肌病^[34-35]。线粒体性脑肌病、乳酸中毒和中风样发作综合症 (mitochondrialencephalomyopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes, MELAS) 是一类典型的线粒体疾病。早期研究发现, MELAS 症主要由 mt tRNA^{Leu}_{UAA} 基因的点突变造成, 并且 80% 以上为 A3243G 突变^[33,36-38]。mt tRNA^{Leu}_{UAA}-A3243G 突变体转录本接受亮氨酸能力与野生型 mttRNA^{Leu}_{UAA} 转录本相比明显降低, 同时突变体的三级结构更不稳定^[39]。从 MELAS 症患者组织样本中分离出来的 mt tRNA^{Leu}_{UAA}-A3243G 基因突变体, 经过质谱鉴定发现这些基因突变体对应的 tRNA 缺失 34 位牛磺酸甲基化修饰 (τ m⁵U)^[40]。同时, 在线粒体基因其他几个 (G3244A、T3258C、T3271C、T3291C) 可引发 MELAS 症的 mt tRNA^{Leu}_{UAA} 基因突变体中也检测到对应 tRNA 的 34 位 τ m⁵U 修饰的缺失^[41]。由此证明, mt tRNA^{Leu}_{UAA} 的 34 位 τ m⁵U 修饰的缺失是产生 MELAS 症的表型特征关键元件。位于 34 位的 τ m⁵U 修饰是解码 UUG 密码子所必需的, 暗示 τ m⁵U 修饰可稳定摆动碱基位的 U:G 配对^[42]。 τ m⁵U 修饰缺失引起的 UUG 密码子解码失调暗示了线粒体蛋白质合成系统中的翻译缺陷。根据 13 种人线粒体 DNA 编码蛋白质中使用亮氨酸密码子频率发现, UUG 密码子在大部分蛋白质翻译过程中使用频率非常低, 仅在 *ND6* 基因中使用频率较高。*ND6* 基因编码呼吸

链 NADH 脱氢酶复合物中的一个组分^[42]。研究发现 ND6 的翻译活性在 MELAS 症患者中明显降低, 而在正常人体内无此现象发生^[43-44], 即 MELAS 症中 tRNA^{L^{eu}}_{UAA} 缺失 34 位 $\tau\text{m}^5\text{U}$ 修饰引起富含 UUG 密码子的 ND6 基因的翻译量大大降低。

肌阵挛性癫痫发作伴破碎红纤维病变 (myoclonic epilepsy with ragged red fibers, MERRF) 是一种主要的线粒体脑肌病。该疾病主要由 mt tRNA^{Lys} 基因上 A8344G 突变造成, 大约 80% 的具有典型 MERRF 症的患者都检测到该突变^[45]。mt tRNA^{Lys} 第 34 位摇摆碱基位存在 5- 牛磺酸甲基化 -2- 硫代修饰 ($\tau\text{m}^5\text{s}^2\text{U}$), 该修饰对有效并精确解码相应密码子至关重要^[46]。从携带 mt tRNA^{Lys} 基因 A8344G 突变的 MERRF 症患者体内得到的 mt tRNA^{Lys} 经过质谱鉴定, 均没有检测到 $\tau\text{m}^5\text{s}^2\text{U}$ 修饰^[47]。mt tRNA^{Lys}-A8344G 突变体由于缺失 $\tau\text{m}^5\text{s}^2\text{U}$ 修饰, 在核糖体上相应密码子和反密码子完全不能配对, 在翻译系统中不能解码赖氨酸 AAA 和 AAG 密码子^[48]。研究发现 s^2U 修饰是解码赖氨酸 AAG 密码子所必需的^[49], 因此, 相对于前面提到的 MELAS 症, MERRF 症患者体内的线粒体翻译系统失调, 暗示 mt tRNA 上每一个修饰都具有重要意义^[48,50]。

急性婴儿肝衰竭是由于肝功能紊乱导致的肝脏损害。虽然发现患者呼吸链复合物 I、III、IV 活力降低以及线粒体翻译系统效率下降, 但尚未发现 mt DNA 的突变, 由此暗示问题可能出现在核编码的线粒体因子上。研究者通过对急性肝衰竭患者样本分析, 发现在线粒体的 tRNA 特异性硫化酶 *MTUI* 基因上的点突变, 同时 mt tRNA^{Lys}、mt tRNA^{Gln}、mt tRNA^{Glu} 的 s^2U 修饰水平明显降低^[51]。通过对比 *MTUI* 基因在大肠杆菌中的类似物 *MnmA* 编码的蛋白质与 tRNA 的共晶结构发现, 急性肝衰竭患者携带的 *MTUI* 基因编码的蛋白质可直接影响 tRNA34 位 s^2U 修饰^[52-53]。

肌病、乳酸中毒和铁粒幼红细胞性贫血综合征 (myopathy, lactic acidosis, and sideroblastic anemia, MLASA) 是一类先天性贫血综合征, 表现为细胞铁离子代谢紊乱和骨骼肌及骨髓细胞氧化磷酸化失调^[54]。遗传分析发现, MLASA 症相关的线粒体基因 *PUS1* 编码的假尿嘧啶核苷酸 (Ψ) 合成酶 1 上存在 R144W 和 E220X 两个主要的突变。突变后的酶无法催化合成 tRNA 中的假尿嘧啶核苷酸 Ψ 。这些结果暗示 MLASA 症可能与 mt tRNA 中缺少 Ψ 相关。

3 小结

tRNA 的转录后修饰广泛存在于各个生物体中, 对 tRNA 精确发挥其生物学功能至关重要。人胞质及线粒体 tRNA 都存在众多的转录后修饰, 其中多种转录后修饰缺陷能导致如糖尿病、智力障碍、线粒体疾病综合征等一系列人类重大疾病。因此, 对相关 tRNA 转录后修饰机理和功能的研究将有助于理解这些疾病的发生机制并为进一步治疗提供理论基础。

[参 考 文 献]

- [1] Hoagland M. Enter transfer RNA. *Nature*, 2004, 431: 249
- [2] 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
- [3] Björk GR, Hagervall TG. Transfer RNA modification [M]// Curtiss RIII, Böck A, IngrahamJI(eds), et al. *Escherichia coli* and *Salmonella*: cellular and molecular. Chap. 4.6.2. Washington DC: ASM Press, 2005
- [4] Hori H. Methylated nucleosides in tRNA and tRNA methyltransferases. *Front Genet*, 2014, 5: 144
- [5] Phizicky EM, Hopper AK. tRNA biology charges to the front. *Genes Dev*, 2010, 24: 1832-60
- [6] Grosjean H. Fine tuning of RNA functions by modification and editing[M]//HohmannS(ed). *Topics in current genetics*. New York: Springer Verlag, 2005: 1-16
- [7] Wolf J, Gerber AP, Keller W. tadA, an essential tRNA-specific adenosine deaminase from *Escherichia coli*. *EMBO J*, 2002, 21: 3841-51
- [8] Karita M, Etterbeek ML, Forsyth MH, et al. Characterization of *Helicobacter pylori* dapE and construction of a conditionally lethal dapE mutant. *Infect Immun*, 1997, 65: 4158-64
- [9] Forsyth RA, Haselbeck RJ, Ohlsen KL, et al. A genome-wide strategy for the identification of essential genes in *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol*, 2002, 43: 1387-400
- [10] Gong S, Ma Z, Foster JW. The Era-like GTPase TrmE conditionally activates gade and glutamate-dependent acid resistance in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, 2004, 54: 948-61
- [11] Sha J, Kozlova EV, Fadl AA, et al. Molecular characterization of a glucose-inhibited division gene, *gidA*, that regulates cytotoxic enterotoxin of *Aeromonashydrophila*. *Infect Immun*, 2004, 72: 1084-95
- [12] Shin JH, Lee HW, Kim SM, et al. Proteomic analysis of *Acinetobacter baumannii* in biofilm and planktonic growth mode. *J Microbiol*, 2009, 47: 728-35
- [13] Noon KR, Guymon R, Crain PF, et al. Influence of temperature on tRNA modification in Archaea: *Methanococcoides burtonii* (optimum growth temperature [T_{opt}], 23°C and *Stetteria hydrogenophila*[T_{opt}], 95°C). *J Bacteriol*, 2003, 185: 5483-90

- [14] Emilsson V, Näslund AK, Kurlad CG. Thiolation of transfer RNA in *Escherichia coli* varies with growth rate. *Nucleic Acids Res*, 1992, 20: 4499-505
- [15] Begley U, Dyavaiah M, Patil A, et al. Trm9-catalyzed tRNA modifications link translation to the DNA damage response. *Mol Cell*, 2007, 28: 860-70
- [16] Omori S, Tanaka Y, Takahashi A, et al. Association of CDKAL1, IGF2BP2, CDKN2A/B, HHEX, SLC30A8, and KCNJ11 with susceptibility to type 2 diabetes in a Japanese population. *Diabetes*, 2008, 57: 791-5
- [17] Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: pathogenesis and treatment. *Lancet*, 2008, 371: 2153-6
- [18] Jenner LB, Demeshkina N, Yusupova G, et al. Structural aspects of messenger RNA reading frame maintenance by the ribosome. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17: 555-60
- [19] Wei FY, Tomizawa K. Functional loss of Cdkal1, a novel tRNA modification enzyme, causes the development of type 2 diabetes. *Endocr J*, 2011, 58: 819-25
- [20] Hussain S, Benavente SB, Nascimento E, et al. Thenucleolar RNA methyltransferase Misu (NSun2) is required for mitotic spindle stability. *J Cell Biol*, 2009, 186: 27-40
- [21] Khan MA, Rafiq MA, Noor A, et al. Mutation in NSUN2, which encodes an RNA methyltransferase, causes autosomal-recessive intellectual disability. *Am J Hum Genet*, 2012, 90: 856-63
- [22] Freude K, Hoffmann K, Jensen LR, et al. Mutations in the FTSJ1 gene coding for a novel S-adenosylmethionine-binding protein cause nonsyndromic X-linked mental retardation. *Am J Hum Genet*, 2004, 75: 305-9
- [23] Ramser J, Winnepenninckx B, Lenski C, et al. A splice site mutation in the methyltransferase gene FTSJ1 in Xp11.23 is associated with non-syndromic mental retardation in a large Belgian family (MRX9). *J Med Genet*, 2004, 41: 679-83
- [24] Takano K, Nakagawa E, Inoue K, et al. A loss-of-function mutation in the FTSJ1 gene causes nonsyndromic X-linked mental retardation in a Japanese family. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2008, 147B: 479-84
- [25] Pintard L, Lecointe F, Bujnicki JM, et al. Trm7p catalyses the formation of two 2'-O-methylriboses in yeast tRNA anticodon loop. *EMBO J*, 2002, 21: 1811-20
- [26] Cantara WA, Crain PF, Rozenski J, et al. The RNA modification database, RNAMDB: 2011 update. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39: D195-201
- [27] Suzuki T. Biosynthesis and function of tRNA wobble modifications[M]//Grosjean H (ed). *Fine-tuning of RNA functions by modification and editing*. Berlin: Springer-Verlag, 2005: 23-69
- [28] Motorin Y, Helm M. tRNA stabilization by modified nucleotides. *Biochemistry*, 2010, 49: 4934-44
- [29] Helm M, Brule H, Degoul F, et al. The presence of modified nucleotides is required for cloverleaf folding of a human mitochondrial tRNA. *Nucleic Acids Res*, 1998, 26: 1636-43
- [30] Helm M, Giegé R, Florentz C. A Watson-Crick base-pair-disrupting methyl group (m¹A9) is sufficient for cloverleaf folding of human mitochondrial tRNA^{Lys}. *Biochemistry*, 1999, 38: 13338-46
- [31] Moriya J, Yokogawa T, Wakita K, et al. A novel modified nucleoside found at the first position of the anticodon of methionine tRNA from bovine liver mitochondria. *Biochemistry*, 1994, 33: 2234-9
- [32] 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: 6581-9
- [33] 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: 651-3
- [34] Vafai SB, Mootha VK. Mitochondrial disorders as windows into an ancient organelle. *Nature*, 2012, 491: 374-83
- [35] Rötig A. Human diseases with impaired mitochondrial protein synthesis. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1807: 1198-205
- [36] Goto Y, Nonaka I, Horai S. A new mtDNA mutation associated with mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes (MELAS). *Biochim Biophys Acta*, 1991, 1097: 238-40
- [37] Kobayashi Y, Momoi MY, Tominaga K, et al. A point mutation in the mitochondrial tRNA^{Leu}(UUR) gene in MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes). *Biochem Biophys Res Commun*, 1990, 173: 816-22
- [38] Shoffner JM, Lott MT, Lezza AM, et al. Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNA^{Lys} mutation. *Cell*, 1990, 61: 931-7
- [39] Hao R, Yao YN, Zheng YG, et al. Reduction of mitochondrial tRNA^{Leu}(UUR) aminoacylation by some MELAS-associated mutations. *FEBS Lett*, 2004, 578: 135-9
- [40] Yasukawa T, Suzuki T, Ueda T, et al. Modification defect at anticodon wobble nucleotide of mitochondrial tRNAs^{Leu} (UUR) with pathogenic mutations of mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes. *J Biol Chem*, 2000, 275: 4251-7
- [41] Kirino Y, Goto Y, Campos Y, et al. Specific correlation between the wobble modification deficiency in mutant tRNAs and the clinical features of a human mitochondrial disease. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 7127-32
- [42] 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: 15070-5
- [43] Dunbar DR, Moonie PA, Zeviani M, et al. Complex I deficiency is associated with 3243G:C mitochondrial DNA in osteosarcoma cell hybrids. *Hum Mol Genet*, 1996, 5: 123-9
- [44] Hayashi J, Ohta S, Takai D, et al. Accumulation of mtDNA with a mutation at position 3271 in tRNA^{Leu} (UUR) gene introduced from a MELAS patient to HeLa

- cells lacking mtDNA results in progressive inhibition of mitochondrial respiratory function. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, 197: 1049-55
- [45] Shoffner JM, Lott MT, Lezza AM, et al. Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNA^{Lys} mutation. *Cell*, 1990, 61: 931-7
- [46] Suzuki T, Nagao A, Suzuki T. Human mitochondrial tRNAs: biogenesis function, structural aspects, and diseases. *Ann Rev Genet*, 2011, 45: 299-329
- [47] 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: 175-8
- [48] Yasukawa T, Suzuki T, Ishii N, et al. Wobble modification defect in tRNA disturbs codon-anticodon interaction in a mitochondrial disease. *EMBO J*, 2001, 20: 4794-802
- [49] Ashraf SS, Sochacka E, Cain R, et al. Single atom modification(O→S) of tRNA confers ribosome binding. *RNA*, 1999, 5: 188-94
- [50] Enriquez JA, Chomyn A, Attardi G. MtDNA mutation in MERRF syndrome causes defective aminoacylation of tRNA^{Lys} and premature translation termination. *Nat Genet*, 1995, 10: 47-55
- [51] 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: 401-7
- [52] Numata T, Ikeuchi Y, Fukai S, et al. Snapshots of tRNA sulphuration via an adenylated intermediate. *Nature*, 2006, 442: 419-24
- [53] Guan MX, Yan Q, Li X, et al. Mutation in TRMU related to transferRNA modification modulates the phenotypic expression of the deafness-associated mitochondrial 12S ribosomal RNA mutations. *Am J Hum Genet*, 2006, 79: 291-302
- [54] Bergmann AK, Campagna DR, McLoughlin EM, et al. Systematic molecular genetic analysis of congenital sideroblastic anemia: evidence for genetic heterogeneity and identification of novel mutations. *Pediatr Blood Cancer*, 2010, 54: 273-8