

Réécriture du matériel génétique : fonctions et mécanismes de l'édition de l'ARN

Valérie Blanc, Jean-Claude Farré,
Simon Litvak, Alejandro Araya

► L'information contenue dans une séquence génomique est, dans la plupart des cas, fidèlement retrouvée dans l'ARN, même si celui-ci est soumis à divers processus de maturation comme l'épissage, la polyadénylation ou l'ajout d'une coiffe en 5'. Dans certains cas, le transcrit subit une véritable « correction d'épreuve » qui modifie sa séquence. Ce processus appelé édition de l'ARN regroupe en fait des mécanismes très divers permettant l'ajout, la suppression ou la conversion de nucléotides. Il peut se traduire par des changements d'acides aminés, la création de codons d'initiation ou de terminaison de la traduction, la création de nouveaux cadres de lecture. L'édition peut aussi influencer sur la maturation ou l'épissage des ARN. Découverte chez les trypanosomes, l'édition de l'ARN s'observe chez de nombreux organismes eucaryotes, mais aussi dans certains virus. Les conséquences fonctionnelles sont très variées : l'édition de l'ARN est impliquée, chez l'homme, dans le métabolisme lipidique, la neurotransmission ou l'immunité, elle joue un rôle dans la réplication de certains virus comme le virus de la rougeole, de l'hépatite delta ou le virus Ebola mais aussi probablement dans la pathogénie du VIH. ◀

Le terme édition de l'ARN (*RNA editing*) désigne un certain nombre de mécanismes, de natures différentes, qui ont en commun d'entraîner des changements de la séquence d'un ARN par rapport à la séquence génomique (ARN ou ADN). Le produit d'un gène édité subit des modifications telles que l'information exprimée au cours de la vie de la cellule n'est pas tout à fait la même que celle transmise à la descendance. En d'autres termes, l'édition peut être définie comme une altération programmée de la structure primaire d'un ARN, permettant de

produire une séquence fonctionnelle qui aurait dû être codée au niveau du gène. L'édition de

l'ARN affecte les trois types d'ARN cellulaires (ARNm, ARNr et ARNt) et s'ajoute à d'autres mécanismes de maturation de transcrits comme l'épissage, la polyadénylation ou l'ajout d'une coiffe en 5' que l'on observe dans les ARNm. Le siège de l'édition des transcrits concerne tous les compartiments cellulaires où a lieu l'expression génique, le noyau, les mitochondries et les chloroplastes. Ces mécanismes d'insertion, de suppression ou de conversion de nucléotides, qui s'observent dans différents organismes eucaryotes mais aussi chez certains virus, peuvent se traduire par des changements d'acides aminés, l'apparition de nouveaux codons d'initiation ou de terminaison, l'inhibition de l'épissage, etc. Les conséquences fonctionnelles de l'édition peuvent être ainsi très variées et l'inhibition de ce processus peut se traduire chez l'homme par l'émergence de certaines pathologies. La liste des organismes qui utilisent ce processus, la découverte des nouveaux mécanismes d'édition d'ARN et de leurs retombées physiologiques ne cessent d'augmenter. Les exemples les plus marquants de ce processus et ses conséquences sont décrits dans cette revue.

Laboratoire de réplication et
expression des gènes eucaryotes
et rétroviraux, Cnrs UMR 5097,
Université Victor Segalen-Bordeaux II,
146, rue Léo Saignat,
33076 Bordeaux Cedex, France.

L'édition des ARN chez les trypanosomes

C'est au cours de l'année 1986 que le processus d'édition de l'ARN fut découvert chez certains *kinetoplastidae*. Ces organismes unicellulaires flagellés sont, pour la plupart, des parasites capables d'infecter une large variété d'organismes, plantes, invertébrés et vertébrés. Ils sont notamment à l'origine de maladies humaines, et des centaines de millions de personnes, essentiellement en Asie, Afrique et Amérique du Sud souffrent de trypanosomiasis et de leishmanioses, plus connues sous les noms de maladie du sommeil et de maladie de Chagas.

La principale caractéristique des *kinoplastidae* réside dans le fait qu'ils n'ont qu'une mitochondrie, appelée kinétoplaste [1]. L'expression du génome mitochondrial confiné dans les kinétoplastes a été étudiée en détail chez trois membres de cette famille : *Leishmania tarentolae* et *Trypanosoma brucei* dont le cycle cellulaire se partage entre insectes (mouches) et vertébrés (lézards et mammifères, respectivement) et *Crithidia fasciculata*.

C'est par la découverte de certains transcrits mitochondriaux dont les gènes semblaient absents que l'édition de l'ARN fut révélée [2]. Cette nouvelle forme de maturation post-transcriptionnelle, qui peut être décrite comme une correction d'épreuve, consiste en des insertions massives et, à un degré moindre, des suppressions d'uridines. Dans certains cas, l'édition se limite à l'insertion de quelques résidus dans une région limitée du transcrit, dans d'autres, l'édition est très importante, allant jusqu'à modifier une séquence « non-sens » pour donner un cadre de lecture complet. L'édition de l'ARN peut introduire des codons d'initiation ou de terminaison de la traduction et même créer une séquence codant pour une protéine parfaitement fonctionnelle [3-5]. Ainsi, chez *T. brucei*, 18 gènes cryptiques codant pour des protéines mitochondriales ont été mis en évidence et, sur l'ensemble des ARNm, l'édition représente 3583 uridines ajoutées et 322 éliminées.

La structure du génome mitochondrial des trypanosomes est unique. Elle consiste en un réseau d'ADN circulaire de deux types : 5 000 à 12 000 minicercles de 0,9 à 2,5 kilobases (kb) selon l'espèce, de séquences très hétérogènes et 20 à 50 maxicercles de 23 à 40 kb [1]. Les maxicercles sont homologues aux ADN mitochondriaux présents chez les autres eucaryotes. Les minicercles représentent la majorité du réseau d'ADN et codent pour de petits ARN appelés ARN guides (ARNg). Pendant longtemps, le rôle exact des minicercles est resté inexpliqué. Depuis la découverte de l'édition des ARNm mitochondriaux, on sait que ce processus résulte d'une parfaite

collaboration des gènes contenus dans les maxi- et les minicercles, les maxicercles fournissant les ARN pré-édités et quelques ARN guides, les minicercles apportant la majorité des ARN guides (Figure 1A).

Édition des ARN par insertions ou suppressions d'uridines

L'édition des transcrits mitochondriaux, modifiant et créant des cadres de lecture fonctionnels, doit donc être un processus extrêmement précis afin d'éviter que l'insertion ou la suppression d'un mauvais nombre d'uridines puisse conduire à la synthèse d'un cadre de lecture non traduisible. La clé de cette précision réside dans les ARN guides qui présentent des caractéristiques structurales communes (Figure 1B). Ils possèdent une séquence complémentaire de la région éditée qui détermine le nombre précis d'uridines à ajouter ou à supprimer. Outre cette séquence, leur région 5', appelée séquence d'ancrage, s'apparie au transcrit pré-édité, et leur région 3', particulière aux ARN guides, est une queue de poly(U) qui pourrait être impliquée dans la stabilisation du complexe ARNm-ARNg.

La formation du premier complexe ARNm-ARNg est cruciale dans le déclenchement du processus d'édition. L'ARN guide associé au transcrit sert de matrice pour l'insertion ou la suppression d'uridines (Figure 1B). Dans certains cas, l'édition crée un nouveau site d'ancrage pour un second ARN guide, et l'action consécutive des ARN guides fait de l'édition un processus orienté (3'-5') qui se répète jusqu'à ce que l'ARNm soit complètement édité. On peut également souligner qu'outre des appariements A:U, on observe des appariements G:U, faisant de ces guides des matrices non conventionnelles.

S'il paraît évident que l'ARN pré-édité et l'ARN guide doivent s'associer avant que le transfert d'information n'ait lieu, la nature des partenaires protéiques, leur rôle ainsi que la chronologie des événements font l'objet de nombreuses études.

Une série de réactions enzymatiques déclenchées par l'appariement de l'ARN guide permet à une endonucléase de cliver l'ARN messenger au niveau de la première base mal appariée. Le fragment 5' ainsi formé est maintenu à proximité du fragment 3' via des interactions ARN-ARN mettant en jeu la queue poly(U) de l'ARN guide [6] et des protéines du complexe multimérique comportant les enzymes et les facteurs intervenant dans l'édition des ARN. Cet ensemble est appelé « édosome ». La seconde étape correspond à l'addition ou à la suppression d'uridines en 3' du fragment 5', réaction catalysée par la terminale uridine transférase (TUTase), une enzyme qui agit indépendamment de toute matrice [7]. Les uridines nouvellement ajoutées

s'appartient à l'ARN guide au niveau de la région d'information de celui-ci. Les résidus excédentaires non appariés sont éliminés par une exonucléase spécifique (3'-5'), qui semble aussi impliquée dans le processus d'édition par suppression d'uridines. Les deux fragments d'ARN (5' et 3') qui sont maintenus ensemble par complémentarité avec l'ARN guide sont finalement liés par une ligase de l'ARN pour reconstituer le transcrit mûr. Cette ligase semble jouer un rôle crucial dans le contrôle du nombre exact de résidus non appariés à éliminer [8]. Les différentes enzymes décrites dans ce modèle ont été caractérisées à des degrés différents à la fois chez *Leishmania tarentolae* et *T. brucei*.

Pendant, la composition protéique complète de l'éditosome reste encore à déterminer. La fraction active la plus purifiée à partir d'un extrait de *T. brucei* contient environ 20 protéines [9], et tout semble indiquer que certaines sont impliquées dans le positionnement et l'appariement des ARN. De même, une activité hélicase semble associée au complexe d'édition [10, 11]. La liste des pos-

sibles candidats engagés dans l'éditosome devrait s'allonger dans les années à venir jusqu'à la compréhension approfondie de la formation de ce complexe et de la fonction de chacun de ses composants.

La machinerie de l'édition chez les trypanosomes, une possible cible thérapeutique

Le contrôle de l'édition par insertion/suppression d'uridines, au cours du cycle du parasite a été étudié essentiellement chez *T. brucei*. Le passage du parasite du vecteur insecte vers l'hôte vertébré s'accompagne de modifications physiologiques du kinétoplaste [12]. Le processus d'édition affecte les transcrits codant pour les protéines mitochondriales de la chaîne respiratoire (sous-unité de la NADH déshydrogénase, cytochrome oxydase, ATP synthase et apocytochrome b). Le parasite, lorsqu'il est présent chez un hôte mammifère (forme sanguine ou *bloodstream*), n'a pas de cytochromes et utilise comme source d'énergie la voie glycolytique. À ce stade, les transcrits codant pour les composants de la chaîne respiratoire ne sont pas édités. En revanche, cette forme sanguine utilise une

autre activité NADH déshydrogénase et les transcrits codant pour les protéines de cette voie alternative sont, eux, édités. Lors du passage de l'hôte au vecteur, la mitochondrie utilise à nouveau la voie de l'oxydation phosphorylante mitochondriale et les transcrits sont alors édités.

La possibilité d'inhiber le processus d'édition apparaît comme une

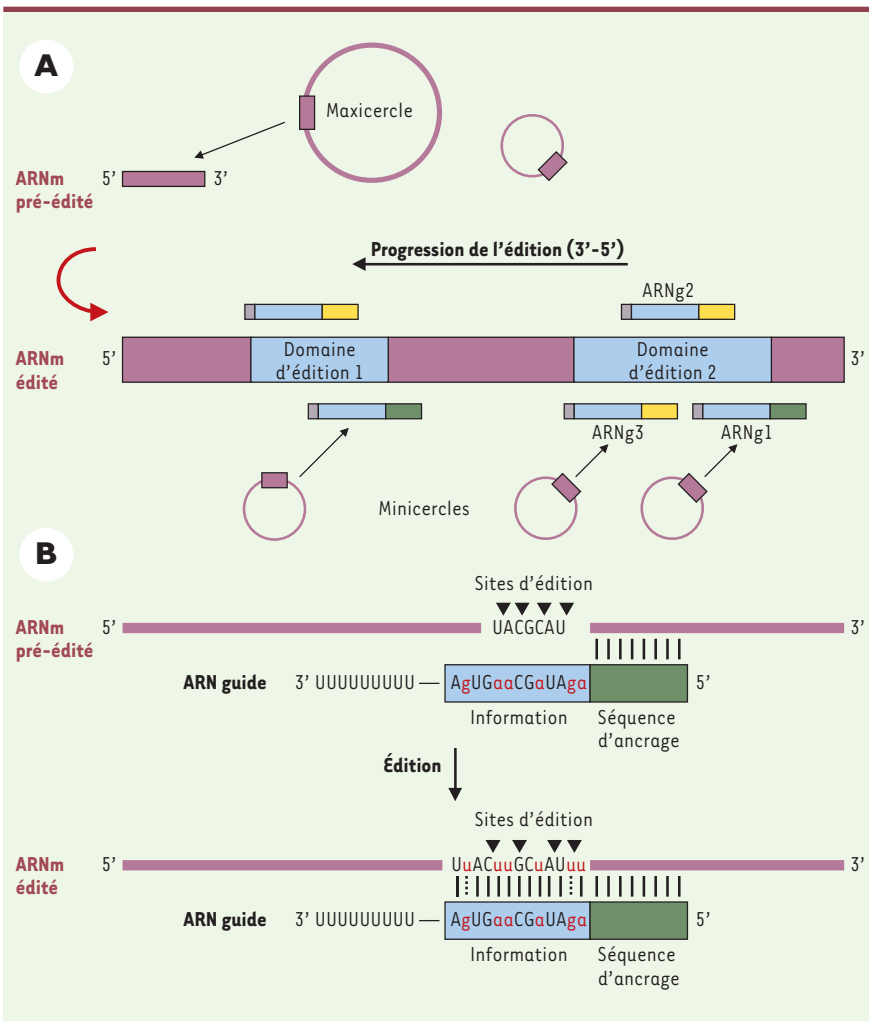


Figure 1. A. Mécanisme d'édition des

ARNm chez les trypanosomes. Les deux domaines d'édition sur l'ARNm sont représentés en bleu, les régions non éditées en mauve. Les ARN guides ont une séquence d'ancrage (vert). Au fur et à mesure que l'ARNm est édité, une nouvelle région d'ancrage est créée pour un deuxième ARN guide (marquée en jaune), ce qui fait que l'édition opère avec une polarité 3'-5'. **B. Éléments structuraux des ARN guides.** L'ARN guide interagit avec l'ARN messager pré-édité en aval du site d'édition le plus proche de l'extrémité 3' du messager, via la séquence d'ancrage représentée en vert. La spécificité de l'édition est déterminée par la séquence « information » en bleu. Les résidus ajoutés lors de l'édition sont marqués en rouge.

stratégie intéressante pour arrêter le développement du parasite. Schnauffer *et al.* [13] ont récemment montré que la répression d'un composant de l'éditosome est létale pour la forme du parasite présent dans le sang. L'édition pourrait donc représenter une nouvelle cible dans la lutte contre les maladies provoquées par ces agents pathogènes.

Édition d'un ARNt par conversion C-U

Si l'édition par insertion/suppression d'uridines semble être la modification la plus spectaculaire chez les trypanosomes, on trouve chez ces organismes une autre forme d'édition mitochondriale, la conversion de C en U. En effet, les kinétoplastes possèdent un code génétique non universel dans lequel le codon stop UGA est utilisé comme un codon tryptophane. Mais, l'ARNt^{Trp} porte l'anticodon CCA complémentaire du codon Trp universel UGG (Figure 2). Alfonso *et al.* [14] ont décrit récemment que dans la mitochondrie de *L. tarentolae*, la lecture du codon Trp UGA implique une étape d'édition de l'ARNt^{Trp} qui change la première position de son anticodon CCA en UCA, permettant ainsi de décoder le codon d'arrêt de la traduction UGA comme un codon tryptophane (Figure 2). Cette observation soulève la question de la relation entre l'édition par ajout/suppression des uridines et l'édition par conversion C-U. Il se présente alors une situation paradoxale dans laquelle l'édition par insertion d'un résidu uridine peut produire un codon stop UGA, lequel sera traduit en Trp par un ARNt qui devra subir, à son tour, un processus d'édition par modification de base pour pouvoir lire ce codon particulier. Cet exemple illustre la complexité des mécanismes d'édition et leur répercussion dans les processus d'expression génique des organismes eucaryotes. L'édition de l'ARNm par modification de base joue aussi un rôle très important dans les organismes supérieurs et notamment chez l'homme où elle contribue aux fonctions aussi diverses que le métabolisme des lipides ou les mécanismes de réponse neuronale et probablement bien d'autres processus qui restent encore inexplorés.

Édition des ARNm cellulaires par modifications de type C-U : l'exemple de l'apolipoprotéine B

L'exemple probablement le mieux connu d'édition de l'ARN chez les mammifères concerne l'apolipoprotéine B (ApoB). Il existe en effet deux ApoB, l'ApoB100 et l'ApoB48, codées par le même gène

APOB. L'ApoB100 est une protéine de 4 536 acides aminés qui est synthétisée exclusivement dans le foie et est le constituant de toutes les lipoparticules athérogènes. Elle est nécessaire à la synthèse et à la sécrétion des VLDL (*very low density lipoprotein*) qui seront métabolisées en LDL (*low density lipoprotein*). L'ApoB48 est, elle, synthétisée dans l'intestin et permet l'assemblage des chylomicrons, lipoparticules assurant le transport des lipides alimentaires.

En 1987, Powell *et al.* [15] mettaient en évidence le mécanisme d'édition de l'ARNm de *APOB* permettant à ce gène unique de conduire à la synthèse de ces deux protéines. Dans le foie, le transcrite dirige la synthèse de la protéine ApoB100, tandis que dans l'intestin, il est édité et produit l'ApoB48. L'édition du transcrite *ApoB* procède par une réaction de désamination spécifique affectant une seule cytidine (C6666) dans un triplet CAA. Cette étape de désamination produit une uridine et introduit donc un codon de terminaison de la traduction UAA au milieu du cadre de lecture (Figure 3).

Les composants essentiels mis en jeu lors de ce processus sont résumés dans la Figure 4. Les éléments agissant en *cis* sont rassemblés dans une région de 30 nucléotides comprenant le site d'édition. Cette région se caractérise par un pourcentage élevé de résidus AU et contient un domaine situé 5 nucléotides en aval du site d'édition, qui est appelé séquence d'ancrage et est

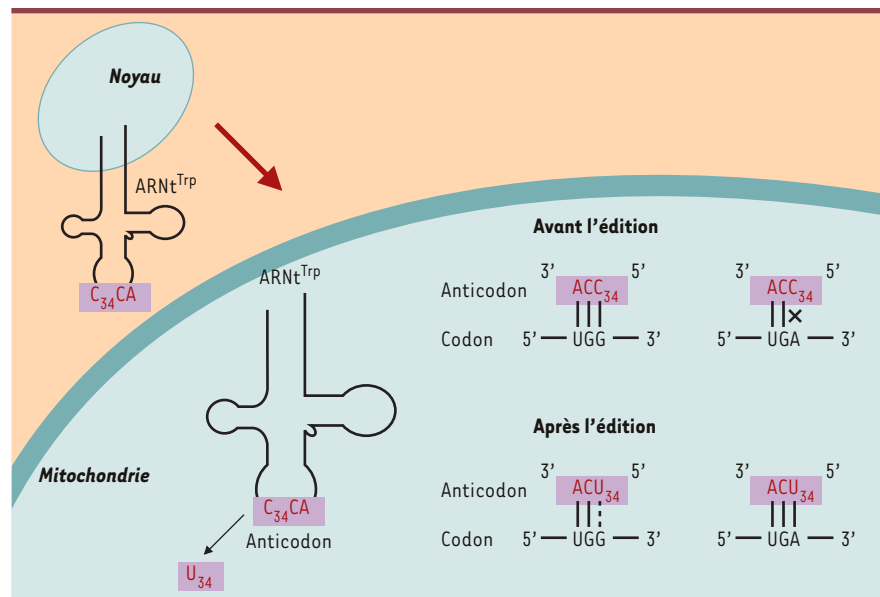
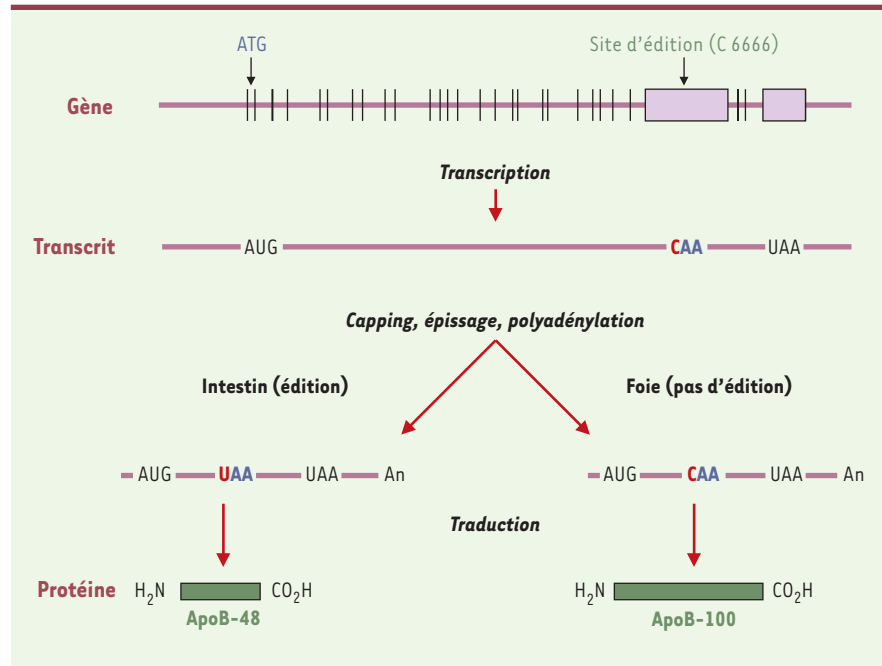


Figure 2. Édition de l'anticodon de l'ARNt^{Trp} mitochondrial. L'ARNt^{Trp} codé dans le génome nucléaire, après la transcription, est importé vers la mitochondrie. Dans la mitochondrie, le codon UGA qui est un codon de terminaison de la traduction dans le code génétique universel est utilisé comme un codon tryptophane. L'édition du nucléotide C34 en U34 dans l'anticodon de l'ARNt, permet de décoder le codon UGA comme tryptophane. Plus de 40% des ARNt^{Trp} sont édités à la position 34.

Figure 3. Édition de l'ARNm d'Apo B. La première ligne représente la structure génomique d'ApoB avec ses 29 exons schématisés par des lignes verticales. Le transcrit mûr d'ApoB est produit dans l'intestin et dans le foie chez l'homme. Le résidu C à éditer est marqué en rouge. Chez l'homme, l'édition a lieu exclusivement dans l'intestin. Deux protéines sont produites par le même transcrit : ApoB-48 est traduite à partir du message édité et ApoB-100 à partir du message non édité.



impliqué dans la spécificité du mécanisme de conversion C-U [16]. D'autres éléments de séquence, localisés en 5' et 3' du site d'édition sont également requis pour l'efficacité de cette réaction.

L'édition nécessite aussi un certain nombre de facteurs protéiques qui s'assemblent pour former un complexe, l'éditosome (Figure 4). La sous-unité catalytique de ce complexe est connue sous le terme d'apo-

bec-1, une protéine de 27 kDa. Apobec-1 est une cytidine désaminase qui présente de nombreuses caractéristiques biochimiques et structurales décrites pour d'autres cytidines désaminases [17]. Sa séquence primaire contient notamment un motif de liaison du zinc (His-Val-Glu-X [24-30]-Pro-Cys-X-X-Cys) qui coïncide avec le site catalytique. Outre sa fonction catalytique, apobec-1 interagit directement avec l'ARNm, et ces deux fonctions de la protéine, nécessaires au processus d'édition, sont parfaitement dissociables.

Certes indispensable à l'édition, Apobec-1 n'est cependant pas suffisante et doit, pour catalyser la réaction d'édition, s'associer à d'autres facteurs. L'identification de ces facteurs auxiliaires fait l'objet de nombreuses études et plusieurs protéines interagissant avec le transcrit ApoB ou apobec-1 ont été proposées comme candidats. A la différence d'apobec-1, qui est exclusivement exprimée dans le foie, ces facteurs auxiliaires le sont dans plusieurs tissus, notamment dans ceux qui n'expriment ni apobec-1, ni le transcrit ApoB [18]. Cependant, un seul de ces facteurs s'est révélé capable de compléter apobec-1 dans un essai d'édition *in vitro*. Ce facteur est désigné ACF pour *apobec-1 complementing factor* [19]. L'ACF interagit avec apobec-1 et se lie au transcrit ApoB sur une région encadrant le site d'édition. Lié à la séquence d'ancrage,

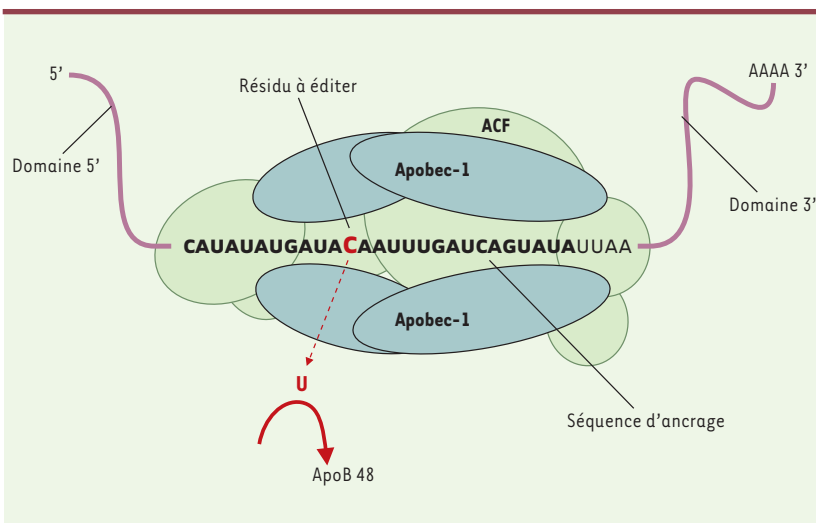


Figure 4. Les différents éléments participant à l'édition de l'ARNm de l'apolipoprotéine B sont représentés dans un complexe ribonucléoprotéique appelé «éditosome». Deux protéines sont suffisantes et nécessaires pour l'édition du site C6666 (en rouge), la désaminase apobec-1 et le facteur auxiliaire ACF. D'autres protéines encore mal connues participeraient au contrôle du processus d'édition. Les régions 5' et 3' autour du site d'édition ont un effet dans l'efficacité de la réaction d'édition.

l'ACF serait alors capable de placer la sous-unité catalytique apobec-1 sur le site d'édition. ACF présente trois motifs de reconnaissance de l'ARN. Comme chaque motif peut être impliqué dans la reconnaissance de différents transcrits et que l'ACF est exprimé dans de nombreux tissus, il est possible que ce facteur participe aussi à l'édition d'autres ARNm et/ou à d'autres processus de maturation des ARN. Bien que l'ACF associé à apobec-1 semble constituer l'élément central de l'éditeur, il est très probable que d'autres facteurs soient recrutés lors de l'édition *in vivo*. Récemment, un nouveau facteur (GRY-RBP) a été identifié comme inhibant l'édition du transcrit *ApoB* *in vitro* et *in vivo*, en séquestrant ACF et en l'empêchant ainsi d'adresser apobec-1 vers le site d'édition [20].

Enfin, deux nouveaux gènes de la famille apobec-1 ont été décrits. Le premier code pour la protéine Apobec-2 qui est exprimée exclusivement dans le muscle squelettique et cardiaque, mais ne présente pas d'activité d'édition sur l'ARNm *ApoB* [21]. Le second, AID (*activation-induced deaminase*)(→), code pour une protéine supposée participer aux mécanismes d'hypermutation somatique et de changement de classe des gènes des immunoglobulines au cours de l'activation des lymphocytes B induite par l'antigène [22].

Vers une nouvelle forme de thérapie génique contre l'hypercholestérolémie ?

Comme nous l'avons vu, les voies cataboliques de l'ApoB 100 et l'ApoB48 divergent. Les particules VLDL qui contiennent l'ApoB100 sont métabolisées en LDL dont la production excessive augmente les risques d'athérosclérose. Des sujets exprimant une ApoB tronquée, à la suite des mutations somatiques, manifestent des symptômes cliniques associés à un syndrome d'hypo-β-lipoprotéïnémie. De plus, les sujets hétérozygotes semblent être protégés contre les risques d'athérosclérose [23]. Ces observations semblent indiquer que privilégier l'expression d'une apolipoprotéine B tronquée pourrait représenter une stratégie permettant de réduire le taux de cholestérol circulant, par exemple en favorisant l'édition de l'ARNm et donc la formation d'ApoB48 au détriment d'ApoB100.

Des expériences fondées sur l'expression transitoire dans le foie du gène codant pour la désaminase (éditase) apobec-1, chez des lapins déficients en récepteurs des LDL et présentant une hypercholestérolémie importante, ont permis de montrer, d'une part qu'il est possible d'induire l'édition dans les cellules hépatiques, et d'autre part que ceci permet de réduire considérablement l'hypercholestérolémie [24]. Ces résultats apparaissent certes très prometteurs, mais doivent être considérés

avec précaution. En effet, la surexpression d'apobec-1 et donc la stimulation excessive du processus d'édition chez la souris et chez le lapin transgéniques provoque l'apparition de cancers du foie. Cette hyperactivité se caractérise par l'édition non spécifique de transcrits codant pour d'autres protéines [25] (→). L'utilisation d'apobec-1 dans le traitement de l'hyperlipidémie pourrait donc offrir des perspectives encourageantes, mais crée un nouveau défi, celui de la mise au point de systèmes d'expression transitoires, spécifiques et strictement contrôlés.

(→) m/s
1997, n°6/7,
p. 879

Édition des ARNm cellulaires par modifications de type A-I

Une famille d'adénosine désaminases

Dans les exemples précédents, c'est la découverte de l'édition de l'ARN qui a motivé la recherche des mécanismes enzymatiques en cause. En revanche, dans le cas de l'édition par modifications d'une adénosine en inosine (A-I), le chemin suivi a été inverse : l'enzyme impliquée dans cette réaction, une adénosine désaminase spécifique des ARN double brin, avait été découverte bien avant que la cible de cette activité ne soit identifiée. Cette enzyme, décrite pour la première fois chez *Xenopus laevis*, est appelée ADAR (*adenosine deaminase acting on RNA*) [26, 27]. Présente dans tous les organismes métazoaires, elle catalyse la désamination de l'adénosine en inosine dans les ARN par une réaction analogue à celle responsable de la désamination des cytosines en uridines (Figure 5). En revanche, la cible ARN est différente puisqu'il s'agit ici d'un ARN double brin. Ce duplex comporte un brin où se trouve le résidu A cible, et un brin complémentaire (ECS pour *editing complementary sequence*) qui peut être proche ou très éloigné du site d'édition. La modification A-I peut concerner la conversion de multiples adénosines de façon non spécifique (hypermutation). Ainsi, l'utilisation d'un duplex synthétique d'ARN montre, qu'à la différence d'autres processus, la désamination A-I n'a besoin que de l'activité ADAR. Néanmoins, dans l'édition des ARNm de certains récepteurs du système nerveux central décrits plus loin, la modification observée est spécifique [28].

Une famille constituée de trois ADAR a été trouvée par homologie de séquences. Cette famille de protéines a probablement évolué à partir de l'adénosine désaminase qui transforme A en I dans l'ARNt [29]. Il est intéressant de souligner que la première preuve de la présence de l'inosine dans l'ARN date de plusieurs décennies. ADAR-1 et -2 sont impliquées dans l'édition A-I, et sont exprimées dans de nombreux tissus. En

(→) m/s
2000 n°10,
p. 1142

revanche, ADAR-3 s'exprime seulement dans le cerveau, ne catalyse la transformation A-I qu'avec un duplex synthétique comme substrat et n'a aucune autre cible d'ARN naturel identifiée.

Édition des récepteurs du glutamate

Les conséquences fonctionnelles de l'édition A-I ont été particulièrement étudiées dans le cas des canaux ioniques associés aux récepteurs du glutamate du système nerveux central. Les ARNm de certaines sous-unités des récepteurs du glutamate (GluR) possèdent des résidus G à la place des résidus A codés dans le gène respectif. Pourquoi trouve-t-on des G, alors que l'édition est de type A-I ? L'inosine, tout comme la guanosine, s'apparie avec la cytidine : ainsi, quand une molécule d'ADNc est synthétisée par RT-PCR à partir de l'ARN édité, la conversion observée sera celle d'un A en G. Néanmoins, il est clairement établi que le produit final *in vivo* est une inosine. Ces modifications peuvent toucher un à sept résidus selon la sous-unité de GluR, concernent cinq nucléotides pour le récepteur de la sérotonine, et un seul dans le cas du génome du virus de l'hépatite delta (voir édition chez les virus).

Il existe une grande diversité de récepteurs du glutamate (GluR) qui sont constitués de plusieurs sous-

unités codées par une famille multigénique. Les propriétés fonctionnelles des canaux dépendent des sous-unités qui les composent et, en particulier, de la nature d'un acide aminé localisé à une position précise dans un des domaines trans-membranaires. Ainsi, la présence d'un résidu arginine à la place d'un résidu glutamine suffit pour diminuer la perméabilité au calcium du canal. Une des sous-unités des récepteurs du glutamate, GluR-B, possède ce résidu arginine, mais celui-ci n'est pas codé par le gène, qui contient en fait un triplet codant pour un résidu glutamine à cette position [30]. L'apparition d'un résidu arginine dans la protéine est expliquée par l'édition de l'ARNm qui change un triplet glutamine (Q) CAG en CIG qui code pour l'arginine (R). Cet événement d'édition a pour conséquence de diminuer la perméabilité au Ca^{2+} de GluR-B. L'importance physiologique de l'édition Q/R est devenue évidente grâce à l'obtention d'une lignée mutante de souris exprimant la sous-unité GluR-B avec un résidu Q (et non R) dans le site Q/R. Les souris hétérozygotes ont un phénotype épileptique sévère et meurent précocement après la naissance. Récemment, Higuchi *et al.* [31] ont montré que des souris qui n'expriment plus ADAR-2 se développent normalement, mais meurent des atteintes neurologiques peu après le sevrage. En revanche, des souris n'exprimant qu'une sous-unité GluR-B qui possède déjà le codon arginine (R) ont un

phénotype normal, et ceci même en l'absence d'ADAR-2. Ceci montre que le transcrite GluR-B est la cible principale d'ADAR-2 et que cette enzyme agit essentiellement au niveau du système nerveux central.

On peut comparer ces données à celles obtenues chez la mouche du vinaigre, *Drosophila melanogaster*, qui possède un seul type d'ADAR exprimé exclusivement dans le système nerveux central. La mutation de cette enzyme conduit à un phénotype similaire à celui des souris mutantes hétérozygotes pour ADAR-2. Les mouches sont viables et leur durée de vie est normale mais, elles marchent difficilement, sont incapables de voler et une dégénération progressive du tissu nerveux apparaît. De nombreuses expériences réalisées sur l'édition des ARNm chez la drosophile démontrent sans ambiguïté le rapport entre ce processus post-transcriptionnel catalysé par l'ADAR et la fonction du système nerveux central [32].

L'édition des ARN chez les virus

Malgré leur simplicité et leur quantité restreinte d'information génétique, les virus sont des organismes qui ont développé des mécanismes très sophistiqués pour infecter les cellules, exprimer leurs gènes et finalement se reproduire en de nombreuses copies. Parmi les stratégies utilisées, certains virus ARN à brin négatif, non

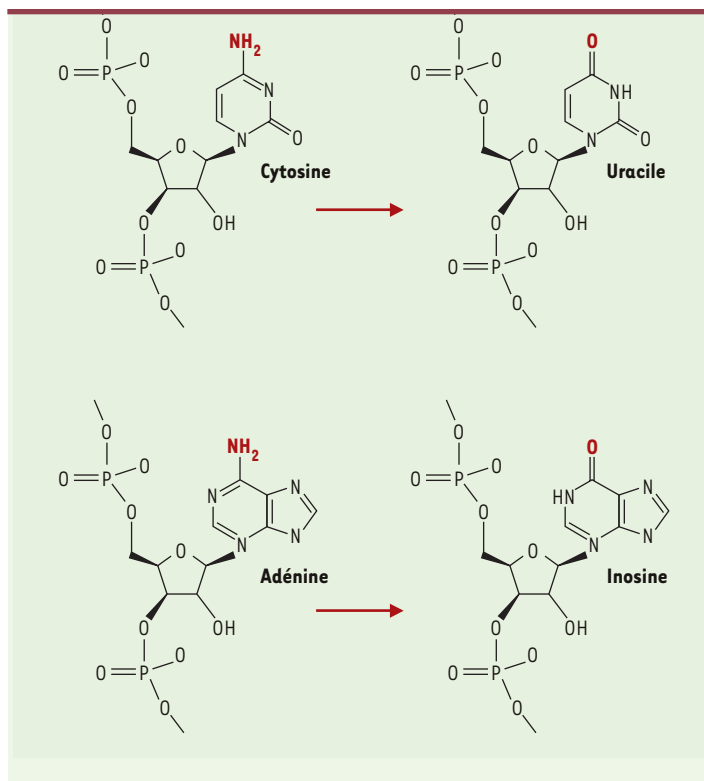


Figure 5. Édition de l'ARN par modification de base. Conversion par désamination de la cytosine en uridine et de l'adénine en inosine.

segmentés, appartenant à la famille *Paramyxoviridae* (Paramyxovirus) ou *Filoviridae* (virus Ebola) font appel à l'édition des transcrits destinés à la synthèse de protéines virales. D'autres, comme le virus de l'hépatite delta, utilisent la machinerie d'édition de la cellule infectée pour l'édition de leurs ARN. Enfin, le cas du virus VIH montre à quel point la machinerie d'édition pourrait avoir des conséquences dans la pathogénie virale.

Les paramyxovirus et le virus Ebola : le bégaiement de la réplicase

Les paramyxovirus sont responsables de maladies humaines comme la rougeole, les oreillons ou d'autres infections respiratoires, et sont impliqués aussi dans des infections sévères du système nerveux central [33]. De même, ils sont responsables de pathologies animales comme la maladie de Newcastle chez les oiseaux, le *distemper* canin (maladie de Carré), etc. Le virus Ebola est quant à lui responsable de la fièvre hémorragique. Ces deux familles de virus ARN à brin négatif ont en commun la présence d'une ARN polymérase dépendante de l'ARN (ou réplicase) responsable à la fois de la réplication et de la transcription du génome viral. La réplication procède par la synthèse complète d'un ARN complémentaire (antigénome) à partir de l'ARN génomique.

L'édition des transcrits de ces virus se produit au cours de leur synthèse par un mécanisme assez particulier que l'on peut qualifier de «bégaiement» de la réplicase, c'est-à-dire l'arrêt et le glissement du complexe de transcription sur la matrice.

Dans le cas des paramyxovirus, le génome consiste en une molécule d'ARN négatif de 15-16 kb qui contient l'information pour environ six gènes séparés par des séquences répétées et un signal d'arrêt à la fin de chaque gène. Les différents ARNm sont synthétisés par un mécanisme d'arrêt transitoire de la réplicase dans les jonctions entre les gènes [34]. Si la plupart des gènes de paramyxovirus produisent un seul transcrit polyadénylé, le gène *P* est une exception notable car il peut produire plusieurs protéines en faisant jouer des événements aussi différents que l'utilisation de codons d'initiation alternatifs ou l'édition de l'ARN. Dans ce dernier cas, un résidu G est introduit dans certains ARNm issus du gène *P* au cours de leur synthèse [35], une situation assez commune aux différents paramyxovirus. Ainsi, deux protéines du virus de la rougeole (MeV) sont codées par le gène *P*, la protéine P de 70 kDa et la protéine V de 46 kDa. Cette dernière contient une région N-terminale commune avec P, mais est différente dans la région C-terminale. L'analyse des transcrits montre que P est synthétisée à partir d'un ARNm dans lequel un résidu G a été introduit dans une région spécifique caractéristique de type AnG [35] qui est responsable du «bégaiement» de la

réplicase (Figure 6). Cependant, les séquences adjacentes peuvent avoir aussi un rôle dans ce processus d'édition et, chez divers paramyxovirus, certaines variations des séquences autour du site d'édition peuvent se traduire par des différences dans le nombre de résidus G ajoutés.

En outre, les ARNm de paramyxovirus sont synthétisés dans le cytoplasme de la cellule infectée et, contrairement aux ARNm cellulaires, ne portent pas de coiffe en 5' et ne possèdent pas de signal de polyadénylation reconnu par la machinerie cellulaire. L'acquisition de la région poly(A) est créée par la propre réplicase pendant la synthèse de l'ARNm. Il est admis que l'acquisition de la queue poly(A) et l'édition procèdent par le même mécanisme de «bégaiement» résultant des pauses de la réplicase. La polyadénylation se produit par des arrêts sur des séquences riches en U (4-7 résidus) présentes à la fin des gènes, et l'édition dans la région du gène *P* contenant la séquence U6G3 [36].

Dans le cas du virus Ebola, qui infecte tout d'abord des phagocytes mononucléés, puis d'autres cellules, le tropisme paraît lié à une glycoprotéine de 130 kDa (gp130) localisée à la surface du virion [37]. Cette protéine est codée par un gène qui contient deux cadres de lecture séparés par un codon de terminaison. Ainsi, la synthèse de la gp130 ne peut être complète sans modification du cadre de lecture, et seule la forme éditée de l'ARNm possédant un résidu A supplémentaire (environ 20 % des transcrits) peut être traduite en gp130 [38](→). Ici encore, l'édition se produit au cours de la synthèse de l'ARN par l'arrêt et le glissement du complexe de transcription sur la matrice, dans une région riche en U.

Ainsi, les membres de la famille des paramyxovirus et le virus Ebola ont mis à profit une faiblesse de leur réplicase, le processus d'arrêt de synthèse, qui est en soi propice à produire des erreurs, afin d'augmenter

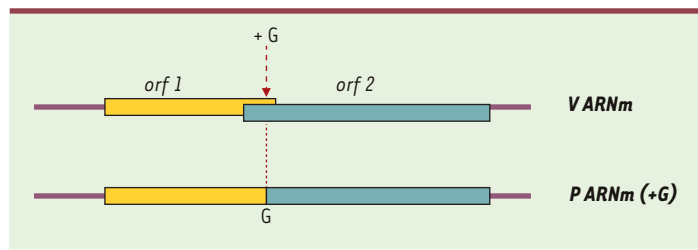


Figure 6. Édition par insertion de résidu G dans l'ARNm de paramyxovirus.

L'insertion de deux résidus G par la réplicase virale dans l'ARNm qui code pour la protéine V (orf 1) permet la création d'un nouveau cadre de lecture qui résulte de la fusion de l'orf 1 et de l'orf 2. L'ARNm ainsi édité permet la traduction de la protéine virale P.

(→) m/s
1998, n°5,
p. 659

les fonctions codées par leur petit génome et de contrôler les différentes étapes de leur cycle réplcatif.

L'édition de l'ARN du virus de l'hépatite delta : ou comment détourner les fonctions cellulaires

Le virus de l'hépatite delta (VHD) est un virus hépatotrope satellite du virus de l'hépatite B et qui peut être la cause d'hépatites fulminantes chez l'homme et chez les primates. Le génome du VHD est une petite molécule d'ARN simple brin circulaire de 1 679 nucléotides. Il se présente sous une forme très structurée grâce à une grande complémentarité de sa séquence. La réplication du VHD procède par la synthèse d'un ARN antigénomique catalysée par l'ARN polymérase II nucléaire [39].

Le génome du VHD renferme très peu d'informations. Cependant, deux protéines codées par VHD, p24 (Ag-S) et p27 (Ag-L) sont nécessaires à la réplication virale (Figure 7). Toute la séquence de p24 est contenue dans la protéine p27 qui contient 19 acides aminés supplémentaires dans sa région C-terminale. L'analyse des ARN des cellules infectées montre que ces deux protéines sont issues de messagers viraux qui ne diffèrent que par un seul résidu situé à la même position. Ainsi, un triplet génomique AUC est changé en ACC lors de l'édition.

Au cours de la synthèse des ARNm, le triplet AUC génomique produit un codon stop UAG qui devient le codon de terminaison de p24. Après édition, la modifi-

cation du génome viral va produire un deuxième ARNm qui change le codon stop en codon tryptophane UGG, ce qui explique la synthèse de la protéine plus longue p27. Si l'on a d'abord cru qu'il s'agissait d'une nouvelle activité d'édition par transformation U-C [40], une analyse plus approfondie montra qu'en réalité le substrat de l'édition n'était pas directement le génome viral lui-même mais l'intermédiaire de réplication, l'antigénome (Figure 7). Cette observation change complètement les données du problème, car il n'était plus question d'un changement U-C mais d'un changement A-I du même type que ceux qui sont observés pour certains ARNm cellulaires. L'édition de l'ARN du VHD peut se produire en l'absence de protéines virales, ce qui indique l'implication probable de facteurs cellulaires dans ce processus, notamment d'un des membres de la famille ADAR. Ainsi, contrairement aux paramyxovirus et au virus Ebola qui utilisent leur propre machinerie enzymatique pour l'édition, le virus VHD semble, lui, détourner la fonction d'édition de la cellule hôte pour subvenir à ses propres besoins lors de la réplication virale. Les conséquences de ce processus sur le cycle viral pourraient être très importantes. En effet, l'Ag-S/p24 codé par l'ARNm non édité participe au déclenchement de la réplication virale, tandis que l'Ag-L/p27 produit après l'édition par ADAR inhibe la réplication, ce qui suggère que l'efficacité du processus d'édition jouerait un rôle décisif au cours de l'infection virale [41].

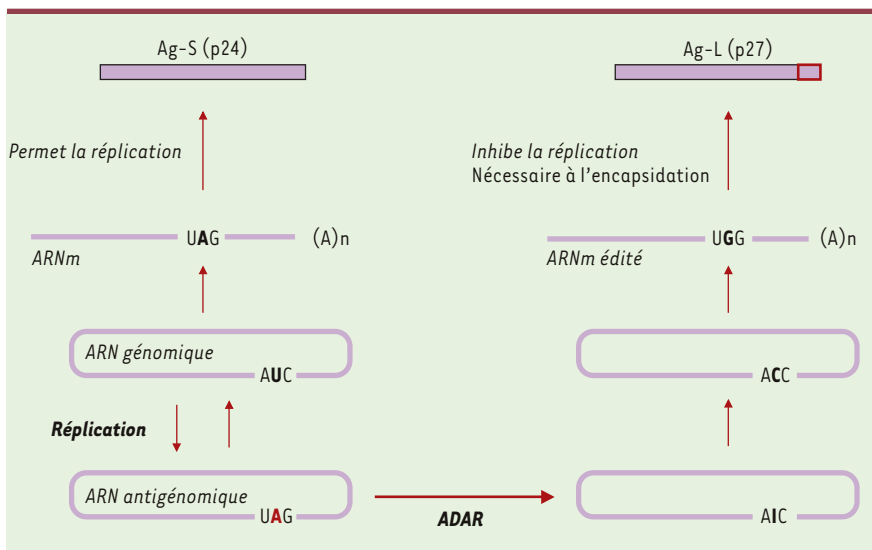


Figure 7. Mécanisme d'édition de l'ARNm du virus de l'hépatite delta. L'édition par désamination de A en I a lieu dans le brin de l'ARN antigénomique. Lors de la synthèse de l'ARN viral sur l'ARN édité, une nouvelle forme d'ARN génomique est engendrée. Il contient un résidu C à la place du U présent dans l'ARN génomique, et servira à la synthèse d'un messager contenant un codon UGG à la place d'un codon de terminaison UAG. L'ARNm issu de l'ARN génomique code pour une protéine de 24 kDa alors que l'ARNm résultant du processus d'édition code pour une protéine plus longue de 27 kDa (encadré rouge). D'après Polson *et al.* [41].

Édition des ARNm du VIH

L'étude d'un rétrovirus humain comme le VIH est intéressante dans la mesure où sa stratégie d'expression génétique et le contrôle de cette expression sont d'une grande complexité. Récemment, nous avons observé que les ARNm du VIH-1 exprimés dans des cellules H-9 infectées de façon chronique par le VIH-1(Lai) présentaient des changements de base de type G-A et C-U sur certains sites spécifiques. Ces modifications se produisent dans une région qui est commune aux ARNm de *vpr*, *vif* et *tat* [42]. L'absence de ces modifications dans l'ADN proviral et dans l'ARN génomique, qui sera encapsidé dans la particule virale, montre qu'il s'agit d'un processus d'édition touchant de façon spécifique les ARNm viraux destinés à l'épissage et à la traduction. Le mécanisme impliqué dans le changement G-A reste à élucider, mais des résultats récents montrent

que la modification C-U paraît procéder par un mécanisme analogue à celui touchant l'ARNm *ApoB*.

L'édition des ARNm du VIH-1 peut toucher la phase de lecture de *vpr* et créer des codons d'arrêt, susceptibles d'entraîner la diminution de l'expression de *vpr*. Elle peut aussi créer des séquences inhibitrices de l'épissage de l'ARNm, ce qui expliquerait le faible taux des ARNm de *Vpr* et de *Tat3*. La réduction de l'expression de *Vpr* observée dans les cellules infectées de façon chronique serait donc la conséquence de l'édition par deux voies différentes : l'apparition de signaux d'arrêt de la synthèse dans l'ARNm de *Vpr* et l'inhibition de l'épissage alternatif qui conduit à la maturation de l'ARNm. On peut ainsi émettre l'hypothèse qu'une réduction du taux de protéine VPR puisse constituer un mécanisme de protection cellulaire face à l'action cytotoxique de cette protéine capable de provoquer l'apoptose cellulaire. La présence ou l'induction d'un système d'édition de certains ARNm rétroviraux expliquerait la viabilité des cellules H9 infectées de façon chronique. La prochaine étape sera de rechercher si un tel processus existe aussi dans les cellules de patients infectés par le VIH-1, particulièrement dans celles des patients asymptomatiques à long terme (ALT). En effet, on peut supposer que les interactions hôte-pathogène font appel à des mécanismes d'édition des ARNm, ce qui pourrait avoir une grande importance dans la pathogénie virale.

Édition des ARN des plantes supérieures

L'édition des ARN touche aussi les plantes supérieures où elle se situe dans les mitochondries et les chloroplastes [43, 44]. Dans les deux cas, il s'agit d'une désamination spécifique de certains résidus C qui sont convertis en U [45, 46]. Elle concerne la quasi-totalité des ARNm. Plus de 500 changements C-U ont lieu dans la mitochondrie contre seulement une vingtaine de changements dans les chloroplastes. Certains transcrits présentent de rares conversions U-C à l'exception d'une bryophyte, *Anthoceros*, où le nombre de changements U-C est très important [43].

La possibilité d'introduire de l'ADN dans des chloroplastes par biolistique, de l'anglais *biological ballistics* (technique consistant à transférer le matériel génétique par bombardement avec des micro-billes recouvertes d'ADN à l'aide d'un canon à particules propulsé par de l'hélium à basse pression) a permis de montrer que, chez des plantes « transplastomiques » (plante qui a incorporé un transgène dans le génome chloroplastique), les régions de l'ARN nécessaires à l'édition se trouvent dans les séquences voisines du résidu C [44]. Récemment, un résultat similaire a été obtenu dans la

mitochondrie en utilisant une technique d'électroporation de mitochondries isolées [47].

La principale conséquence de l'édition est d'augmenter l'identité entre les protéines issues des transcrits édités et leurs homologues « non plantes » où l'édition n'a pas lieu. Il apparaît donc que l'édition des ARNm pourrait constituer une étape de correction aboutissant à la synthèse de protéines fonctionnelles [48].

Enfin, l'édition peut concerner certains ARNt et aussi les régions non codantes des ARNm. Dans ces cas, son importance fonctionnelle n'est pas encore élucidée, même si elle semble impliquée dans le processus de maturation des ARN précurseurs [49].

Origine de l'édition des ARN

La diversité des mécanismes d'édition des ARN montre qu'ils sont difficilement imputables à un mécanisme ancestral commun, qui daterait du « monde de l'ARN » selon les hypothèses actuelles concernant l'origine de la vie.

On peut envisager que l'édition par désamination des cytosines et des adénosines a pu émerger des activités enzymatiques qui, à l'origine, avaient comme substrats des nucléosides ou des mononucléotides. Les désaminases de cytidine et d'adénosines ou d'AMP participent aujourd'hui au métabolisme des précurseurs des acides nucléiques. Ces enzymes, incapables de reconnaître l'ARN, ont pu, après duplication génétique, évoluer et acquérir des domaines leur permettant de se lier à l'ARN, ou de s'associer à d'autres protéines d'union à l'ARN. Cette évolution pourrait expliquer d'une part l'apparition d'apobec-1, et d'autre part la formation de la famille des ADAR.

Quant à l'apparition de l'édition par ajout/suppression, elle a été décrite par Covello et Gray [50] selon le scénario suivant : les activités enzymatiques impliquées dans l'édition préexistaient et remplissaient d'autres fonctions biochimiques. Puis, une dérive génétique du génome mitochondrial a conduit à l'apparition des ARN guides par duplication partielle de gènes et par transcription inverse, phénomènes suivis de la mutation des gènes d'origine avec perte de l'information génétique. Si ce modèle est exact, dans le cas où co-existent deux mécanismes d'édition, on pourrait imaginer que l'activité de conversion C-U affectant l'ARNt de tryptophane était déjà là pour résoudre le problème de la création d'un codon d'arrêt par l'insertion d'un U, et est donc antérieure à l'apparition de l'édition par insertion/suppression.

Nos connaissances actuelles du phénomène d'édition, qui est une découverte récente, ne nous permet-

tent pas de tirer des conclusions définitives sur son origine. Cependant, l'impression globale qui se dégage actuellement est que l'édition des ARN a permis non seulement de compenser une fâcheuse dérive de certains gènes, mais aussi d'augmenter les possibilités d'évolution des organismes vivants. ♦

REMERCIEMENTS

Les recherches effectuées dans notre laboratoire ont été subventionnées par Human Frontiers Science Program, la Communauté Européenne, l'Agence Nationale de Recherches contre le SIDA (ANRS), le Ministère de l'Éducation Nationale (Programme ECOS-Sud) et le Cnrs. J.C. Farré a été boursier du MNERT et de la Fondation de la Recherche Médicale. Les auteurs remercient particulièrement Mesdames les Drs P. Borensztein et J. Villanueva pour leur aide précieuse dans la préparation du manuscrit. Le nombre de références étant strictement limité, nous nous excusons auprès de nos collègues dont les travaux méritaient d'être cités dans cette revue.

SUMMARY

RNA editing: mechanisms and functions

RNA editing is a process in which sequence information changes at the level of RNA after or during its transcription. It was first revealed by the posttranscriptional insertion and deletion of non-encoded uridines into the mitochondrial RNA of trypanosomes. RNA editing have been described in organisms from unicellular protozoa to man, and can affect the mRNAs, tRNAs, and rRNAs present in all cellular compartments. It involves several unrelated mechanisms as the insertion and deletion of nucleotides and the conversion of one base to another. This leads to changes in amino acids, creation of termination or initiation codons, new open reading frame and may also affect RNA maturation or splicing. Recent identifications of some enzymes, such as deaminases, and proteins implicated in RNA editing have provided a better understanding of its functional consequences in human physiology, the parasite cycle or viral replication. ♦

RÉFÉRENCES

1. Simpson L. The mitochondrial genome of kinetoplastid protozoa: genomic organization, transcription, replication, and evolution. *Annu Rev Microbiol* 1987 ; 41 : 363-82.
2. Benne R, Van den Burg J, Brakenhoff JP, Sloof P, Van Boom JH, Tromp MC. Major transcript of the frameshifted *coxII* gene from trypanosome mitochondria contains four nucleotides that are not encoded in the DNA. *Cell* 1986 ; 46 : 819-26.
3. Arts GJ, Benne R. Mechanism and evolution of RNA editing in kinetoplastida. *Biochim Biophys Acta* 1996 ; 1307 : 39-54.
4. Stuart K, Allen TE, Heidmann S, Seiwert SD. RNA editing in kinetoplastid protozoa. *Microbiol Mol Biol Rev* 1997 ; 61 : 105-20.
5. Estevez AM, Simpson L. Uridine insertion/deletion RNA editing in trypanosome mitochondria: a review. *Gene* 1999 ; 240 : 247-60.
6. Blum B, Bakalara N, Simpson L. A model for RNA editing in kinetoplastid mitochondria: guide RNA molecules transcribed from maxicircle DNA provide the edited information. *Cell* 1990 ; 60 : 189-98.
7. Bakalara N, Simpson AM, Simpson L. The *Leishmania* kinetoplast-mitochondrion contains terminal uridylyl-transferase and RNA ligase activities. *J Biol Chem* 1989 ; 264 : 18679-86.
8. Blanc V, Alfonzo JD, Aphasizhev R, Simpson L. The mitochondrial RNA ligase from *Leishmania tarentolae* can join RNA molecules bridged by a complementary RNA. *J Biol Chem* 1999 ; 274 : 24289-96.
9. Panigrahi AK, Gygi SP, Ernst NL, et al. Association of two novel proteins, TbMP52 and TbMP48, with the *Trypanosoma brucei* RNA editing complex. *Mol Cell Biol* 2001 ; 21 : 380-9.
10. Corell RA, Read LK, Riley GR, et al. Complexes from *Trypanosoma brucei* that exhibit deletion editing and other editing-associated properties. *Mol Cell Biol* 1996 ; 16 : 1410-8.
11. Missel A, Souza AE, Norkau G, Goring HU. Disruption of a gene encoding a novel mitochondrial DEAD-box protein in *Trypanosoma brucei* affects edited mRNAs. *Mol Cell Biol* 1997 ; 17 : 4895-903.
12. Feagin JE, Stuart K. Developmental aspects of uridine addition within mitochondrial transcripts of *Trypanosoma brucei*. *Mol Cell Biol* 1988 ; 8 : 1259-65.
13. Schnauffer A, Panigrahi AK, Panicucci B, et al. An RNA ligase essential for RNA editing and survival of the bloodstream form of *Trypanosoma brucei*. *Science* 2001 ; 291 : 2159-62.
14. Alfonzo JD, Blanc V, Estevez AM, Rubio MA, Simpson L. C to U editing of the anticodon of imported mitochondrial

- tRNA(Trp) allows decoding of the UGA stop codon in *Leishmania tarentolae*. *EMBO J* 1999 ; 18 : 7056-62.
15. Powell LM, Wallis SC, Pease RJ, Edwards YH, Knott TJ, Scott J. A novel form of tissue-specific RNA processing produces apolipoprotein-B48 in intestine. *Cell* 1987 ; 50 : 831-40.
 16. Backus JW, Smith HC. Three distinct RNA sequence elements are required for efficient apolipoprotein B (apoB) RNA editing *in vitro*. *Nucleic Acids Res* 1992 ; 20 : 6007-14.
 17. Navaratnam N, Morrison JR, Bhattacharya S, et al. The p27 catalytic subunit of the apolipoprotein B mRNA editing enzyme is a cytidine deaminase. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 20709-12.
 18. Teng B, Burant CF, Davidson NO. Molecular cloning of an apolipoprotein B messenger RNA editing protein. *Science* 1993 ; 260 : 1816-9.
 19. Mehta A, Kinter MT, Sherman NE, Driscoll DM. Molecular cloning of apobec-1 complementation factor, a novel RNA-binding protein involved in the editing of apolipoprotein B mRNA. *Mol Cell Biol* 2000 ; 20 : 1846-54.
 20. Blanc V, Navaratnam N, Henderson JO, et al. Identification of GRY-RBP as an apolipoprotein B RNA-binding protein that interacts with both apobec-1 and apobec-1 complementation factor to modulate C to U editing. *J Biol Chem* 2001 ; 276 : 10272-83.
 21. Liao W, Hong SH, Chan BH, Rudolph FB, Clark SC, Chan L. APOBEC-2, a cardiac- and skeletal muscle-specific member of the cytidine deaminase supergene family. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 ; 260 : 398-404.
 22. Jacobs H, Bross L. Towards an understanding of somatic hypermutation. *Curr Opin Immunol* 2001 ; 13 : 208-18.
 23. Linton MF, Farese RV, Young SG. Familial hypobetalipoproteinemia. *J Lipid Res* 1993 ; 34 : 521-41.
 24. Kozarsky KF, Bonen DK, Giannoni F, Funahashi T, Wilson JM, Davidson NO. Hepatic expression of the catalytic subunit of the apolipoprotein B mRNA editing enzyme (apobec-1) ameliorates hypercholesterolemia in LDL receptor-deficient rabbits. *Hum Gene Ther* 1996 ; 7 : 943-57.
 25. Yamanaka S, Poksay KS, Arnold KS, Innerarity TL. A novel translational repressor mRNA is edited extensively in livers containing tumors caused by the transgene expression of the apoB mRNA-editing enzyme. *Genes Dev* 1997 ; 11 : 321-33.
 26. Bass BL, Weintraub H. A developmentally regulated activity that unwinds RNA duplexes. *Cell* 1987 ; 48 : 607-13.
 27. Rebagliati MR, Melton DA. Antisense RNA injections in fertilized frog eggs reveal an RNA duplex unwinding activity. *Cell* 1987 ; 48 : 599-605.
 28. Seeburg PH. RNA helicase participates in the editing game. *Neuron* 2000 ; 25 : 261-3.
 29. Maas S, Rich A. Changing genetic information through RNA editing. *Bioessays* 2000 ; 22 : 790-802.
 30. Sommer B, Köhler M, Sprengel R, Seeburg PH. RNA editing in brain controls a determinant of ion flow in glutamate-gated channels. *Cell* 1991 ; 67 : 11-9.
 31. Higuchi M, Maas S, Single FN, et al. Point mutation in an AMPA receptor gene rescues lethality in mice deficient in the RNA-editing enzyme ADAR2. *Nature* 2000 ; 406 : 78-81.
 32. Reenan RA. The RNA world meets behavior: A→I pre-mRNA editing in animals. *Trends Genet* 2001 ; 17 : 53-6.
 33. Chua KB, Bellini WJ, Rota PA, Harcourt BH, Tamin A, Lam SK, et al. Nipah virus: a recently emergent deadly paramyxovirus. *Science* 2000 ; 288 : 1432-5.
 34. Hausmann S, Garcin D, Delenda C, Kolakofsky D. The versatility of paramyxovirus RNA polymerase stuttering. *J Virol* 1999 ; 73 : 5568-76.
 35. Vidal S, Curran J, Kolakofsky D. A stuttering model for paramyxovirus P mRNA editing. *EMBO J* 1990 ; 9 : 2017-22.
 36. Hausmann S, Garcin D, Morel AS, Kolakofsky D. Two nucleotides immediately upstream of the essential A6G3 slippery sequence modulate the pattern of G insertions during Sendai virus mRNA editing. *J Virol* 1999 ; 73 : 343-51.
 37. Feldmann H, Volchkov VE, Volchkova VA, Klenk HD. The glycoproteins of Marburg and Ebola virus and their potential roles in pathogenesis. *Arch Virol* 1999 ; 15 : 159-69.
 38. Sanchez A, Trappier SG, Mahy BW, Peters CJ, Nichol ST. The virion glycoproteins of Ebola viruses are encoded in two reading frames and are expressed through transcriptional editing. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 3602-7.
 39. Filipovska J, Konarska MM. Specific HDV RNA-templated transcription by pol II *in vitro*. *RNA* 2000 ; 6 : 41-54.
 40. Greeve J, Hartwig D, Windler E, Greten H. Requirements for editing in the genomic RNA of hepatitis delta virus. *Biochimie* 1994 ; 76 : 1209-16.
 41. Polson AG, Ley HLR, Bass BL, Casey JL. Hepatitis delta virus RNA editing is highly specific for the amber/W site and is suppressed by hepatitis delta antigen. *Mol Cell Biol* 1998 ; 18 : 1919-26.
 42. Bourara K, Litvak S, Araya A. Generation of G-to-A and C-to-U changes in HIV-1 transcripts by RNA editing. *Science* 2000 ; 289 : 1564-6.
 43. Steinhäuser S, Beckert S, Capesius I, Malek O, Knoop V. Plant mitochondrial RNA editing. *J Mol Evol* 1999 ; 48 : 303-12.
 44. Bock R. Sense from nonsense: how the genetic information of chloroplasts is altered by RNA editing. *Biochimie* 2000 ; 82 : 549-57.
 45. Blanc V, Litvak S, Araya A. RNA editing in wheat mitochondria proceeds by a deamination mechanism. *FEBS Lett* 1995 ; 373 : 56-60.
 46. Hirose T, Sugiura M. Involvement of a site-specific trans-acting factor and a common RNA-binding protein in the editing of chloroplast mRNAs: development of a chloroplast *in vitro* RNA editing system. *EMBO J* 2001 ; 20 : 1144-52.
 47. Farre JC, Leon G, Jordana X, Araya A. Cis recognition elements in plant mitochondrial RNA editing. *Mol Cell Biol* 2001 ; 21 : 6731-7.
 48. Zabaleta E, Mouras A, Hernould M, Suharsono, Araya A. Transgenic male-sterile plant induced by an unedited *atp9* gene is restored to fertility by inhibiting its expression with antisense RNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996 ; 93 : 11259-63.
 49. Dietrich A, Small I, Cosset A, Weil JH, Marechal-Drouard L. Editing and import: strategies for providing plant mitochondria with a complete set of functional transfer RNAs. *Biochimie* 1996 ; 78 : 518-29.
 50. Covello PS, Gray MW. On the evolution of RNA editing. *Trends Genet* 1993 ; 9 : 265-8.