

УДК 576.311.347

МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЧЕЛОВЕКА

© 2010 г. И. О. Мазунин*, Н. В. Володько, Е. Б. Стариковская, Р. И. Сукерник

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, 630090*

Поступила в редакцию 25.03.2010 г.

Принята к печати 08.04.2010 г.

На сегодняшний день известно более 400 точковых мутаций и более сотни структурных перестроек митохондриальной ДНК (мтДНК), связанных с нейромышечными и другими митохондриальными синдромами — от летальных в неонатальном периоде до заболеваний с поздним началом. Причина возникновения и развития митохондриальных расстройств кроется, в первую очередь, в дефектах системы окислительного фосфорилирования. Отличительная особенность митохондриальных заболеваний человека состоит в их фенотипической многоликости и в феномене гетероплазии. Существует необходимость точной оценки количества мутантных мтДНК, поскольку уровень гетероплазии во многом определяет фенотипическое проявление заболевания. Несмотря на то, что с момента установления причинно-следственной связи между мутацией в мтДНК и определенной клинической картиной в митохондриальной биологии достигнут значительный прогресс, митохондриальные заболевания и по сей день остаются неизлечимыми.

Ключевые слова: митохондриальный геном, окислительное фосфорилирование, мутации митохондриальной ДНК, гетероплазия, митохондриальные заболевания, терапия дефектов дыхательной цепи митохондрий.

MITOCHONDRIAL GENOME AND HUMAN MITOCHONDRIAL DISEASES, by *I. O. Mazunin**, *N. V. Volodko*, *E. B. Starikovskaya*, *R. I. Sukernik* (Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia; *e-mail: ilya.mazunin@yandex.ru). Today there are described more than 400 point mutations and more than hundred of structural rearrangements of mitochondrial DNA associated with characteristic neuromuscular and other mitochondrial syndromes, from lethal in the neonatal period of life to the disease with late onset. The defects of oxidative phosphorylation are the main reasons of mitochondrial disease development. Phenotypic diversity and phenomenon of heteroplasmy are the hallmark of mitochondrial human diseases. It is necessary to assess the amount of mutant mtDNA accurately, since the level of heteroplasmy largely determines the phenotypic manifestation. In spite of better understanding of the processes of phenotypic expression, currently there are no adequate treatments for mitochondrial diseases.

Key words: mitochondrial genome, oxidative phosphorylation, mtDNA mutations, heteroplasmy, mitochondrial diseases, mitochondrial respiratory chain defect therapy.

Митохондрии выполняют в клетке множество функций, наиболее важная из которых — выработка энергии путем окислительного фосфорилирования (ОФ). В отличие от других органелл митохондрии имеют собственную ДНК (мтДНК), которая кодирует некоторые субъединицы комплексов ОФ. Мутации мтДНК могут приводить к нарушению выработки энергии и, в конечном счете, к гибели клетки.

Подобные нарушения высококодифференцированных клеток различных тканей и органов человека приводят к различным патологическим состояниям [1–3]. О том, что нарушения процесса выработки энергии в форме АТФ могут быть причиной некоторых нейромышечных синдромов, известно уже давно [4, 5], однако причинно-следственную связь между известными заболеваниями/синдромами и

Принятые сокращения: ОФ — окислительное фосфорилирование; мтДНК — митохондриальная ДНК; КР — контрольный регион; ND — NADH-дегидрогеназа; Cytb — убинол-цитохром-*c*-оксидоредуктаза; CO — цитохром-*c*-оксидаза; LHON — наследственная оптическая нейропатия (атрофия) Лебера; LS — синдром Лея; NARP/MILS — нейропатия, атаксия, пигментная ретинопатия и наследуемый по материнской линии синдром Лея; SNHL/DEAF — нейросенсорная глухота и аминогликозид-индуцированная глухота; MELAS — митохондриальная энцефалопатия с инсультоподобными эпизодами и лактат-ацидозом; MERRF — миоклональная эпилепсия с “разорванными красными мышечными волокнами”; KSS — синдром Кернса–Сейра; CPEO — хроническая прогрессирующая наружная офтальмоплегия; АФК — активные формы кислорода; ЦТК — цикл трикарбоновых кислот.

* Эл. почта: ilya.mazunin@yandex.ru

мутациями в кодирующем районе мтДНК обнаружили значительно позже [6–9]. На сегодняшний день установлено, что от митохондриального заболевания страдает в среднем 1 из 10000 взрослых жителей планеты [10, 11].

В обзоре рассмотрены современные представления о структуре и организации митохондриального генома, а также о молекулярных механизмах возникновения митохондриальных заболеваний, обусловленных мутациями мтДНК. Мы также сравним молекулярные методы детекции мутаций мтДНК и экспериментальные стратегии, направленные на исправление дефектов ОФ. В заключении мы обсудим способы предотвращения наследования мутаций мтДНК, поскольку это актуальная проблема митохондриальной медицины в общем и медико-генетического консультирования в частности.

СТРУКТУРА МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА

мтДНК человека представляет собой двухцепочечную кольцевую молекулу размером 16568 п.н., в которой расположены 37 генов, участвующих в процессе выработки энергии в дыхательной цепи митохондрий. В их число входят 13 структурных генов, кодирующих субъединицы комплексов ОФ, а также гены 22 тРНК и двух рРНК, принимающих участие в синтезе белка непосредственно в митохондриях. Большинство регуляторных участков находятся в некодирующем, так называемом контрольном, районе (КР) протяженностью 1122 п.н. В процессе репликации мтДНК в КР образуется трехцепочечный фрагмент размером 710 п.н., называемый D-петлей (displacement loop). Большую часть митохондриального генома занимает кодирующая последовательность, внутри которой межцистронным участкам принадлежат всего 87 п.н. В КР размещены промоторы тяжелой (HSP1 и HSP2) и легкой (LSP) цепей, а также точка инициации репликации тяжелой цепи (O_H). Точка инициации репликации легкой цепи (O_L) находится за пределами КР. Цепи мтДНК характеризуются асимметричным распределением G/C-пар. Обогащенная остатками гуанина тяжелая цепь содержит оба гена рРНК, 12 структурных генов и 14 генов тРНК. Оставшиеся восемь генов тРНК и один структурный ген (*ND6*) располагаются в легкой цепи (рис. 1а) [12].

Несмотря на некоторое сходство в строении мтДНК человека и ДНК прокариот, заключающееся, в частности, в отсутствии интронов и перекрывании генов, структурная организация генома митохондрий значительно сложнее [13]. Установлено, что молекулы мтДНК (пять–семь молекул) соматических клеток организованы в нуклеоиды, в состав которых входят гистоноподобные белки и белки, участвующие в регуляции транскрипции и репликации мтДНК, основные из которых – mtSSB, POLG, TFAM и Twinkle [13–16]. Нуклеоиды взаимодей-

ствуют с внутренней мембраной митохондрий посредством белков, которые специфически связываются с КР мтДНК (предположительно, с D-петлей), с одной стороны, и внутренней мембраной митохондрий, с другой, объединяя и стабилизируя несколько молекул мтДНК [17, 18]. Предполагается, что нуклеоид имеет многослойную организацию: в его центральной части происходят процессы репликации и транскрипции, а на периферии – процессинг РНК и ее трансляция [16]. Вероятно, роль нуклеоидной организации заключается в защите мтДНК от повреждений, а взаимное расположение молекул мтДНК в составе нуклеоида способствует процессу репарации путем генной конверсии. Предполагается также, что нуклеоид это основная единица сегрегации мтДНК [15].

Установлено, что отдельные нуклеоиды крайне редко обмениваются мтДНК [19]. Это косвенным образом подтверждает гипотезу “стойкого нуклеоида” (faithful nucleoid) [20]. Согласно альтернативной модели “динамичного нуклеоида” (dynamic nucleoid), мтДНК свободно перемещается между нуклеоидами с последующей рекомбинацией [21].

ОСОБЕННОСТИ РЕПЛИКАЦИИ, ТРАНСКРИПЦИИ И ТРАНСЛЯЦИИ мтДНК

В настоящее время обсуждаются две возможные модели репликации мтДНК. Согласно одной из них, репликация происходит по традиционному асинхронному механизму, начинается в O_H и двигается по тяжелой цепи вплоть до O_L , после чего начинает реплицироваться легкая цепь в противоположном направлении [22, 23]. В альтернативной модели копирование также начинается в O_H , однако синтез обеих цепей происходит одновременно [24, 25]. Предполагается, что в зависимости от состояния клетки репликация может происходить по тому или иному механизму. В стационарной фазе роста мтДНК реплицируется, по-видимому, по синхронному механизму, переключаясь на асинхронный, когда необходимо быстро увеличить число митохондрий [24, 25]. Известно, что репликация осуществляется с участием белков, кодируемых яДНК, – митохондриальной ДНК-полимеразой (POLG), геликазой (Twinkle) и белком, связывающимся с оцДНК (mtSSB) [26, 27].

Транскрипция мтДНК начинается с двух промоторов тяжелой цепи (HSP1 и HSP2) и одного промотора легкой цепи (LSP). С LSP синтезируется полицистронная РНК, состоящая из восьми тРНК и одной мРНК, кодирующей субъединицу ND6, в то время как с HSP1 и HSP2 синтезируются транскрипты, включающие остальные 14 тРНК, две рРНК и 12 мРНК, причем количество транскриптов, включающих две рРНК и две тРНК (короткий транскрипт с HSP1), на порядок больше. Особенностью созревания индивидуальных мРНК является их вырезание из полицистронного транскрипта пу-

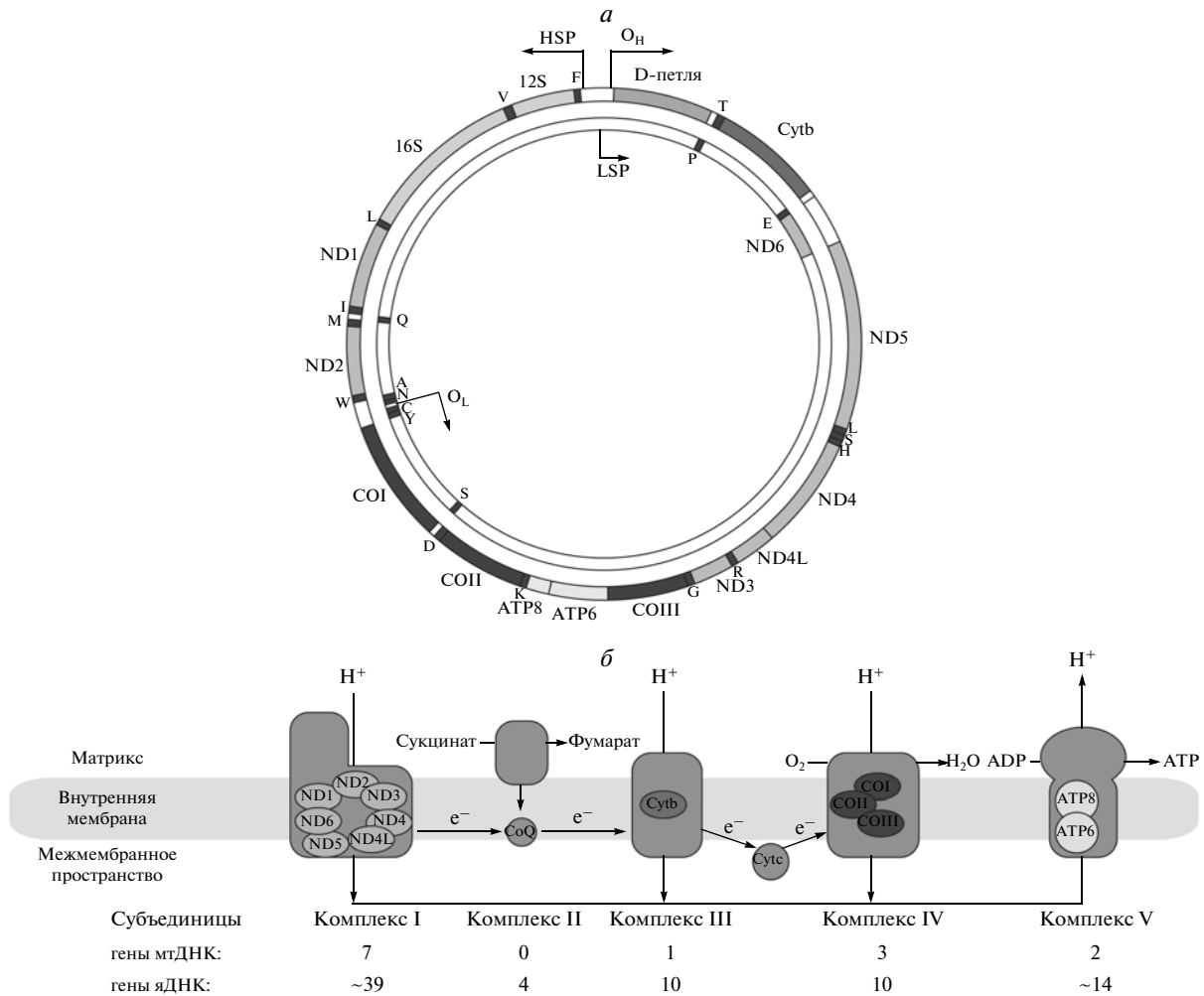


Рис. 1. Карта митохондриального генома человека (а) и схема окислительного фосфорилирования (б). Геном включает 37 генов, из которых 13 (*ND1–ND6*, *ND4L*, *Cytb*, *COI–COIII*, *ATP6*, *ATP8*) кодируют субъединицы комплексов окислительного фосфорилирования, два гена (12S и 16S) – рРНК, 22 гена (обозначены заглавными английскими буквами) – тРНК. D-петля – трехцепочечный участок контрольного региона мтДНК, образующийся в процессе репликации; в контрольном регионе находятся также точки инициации транскрипции тяжелой (HSP) и легкой (LSP) цепи и точка инициации трансляции тяжелой цепи (O_H). Точка инициации трансляции легкой цепи (O_L) находится вне контрольного региона. Система окислительного фосфорилирования включает пять комплексов: комплекс I состоит из 46 субъединиц (семь кодируются мтДНК и 39 – яДНК); комплекс II состоит из четырех субъединиц (яДНК); комплекс III – из 11 субъединиц (одна – мтДНК и 10 – яДНК); комплекс IV состоит из 13 субъединиц (три – мтДНК и 10 – яДНК); комплекс V состоит из 16 субъединиц (две – мтДНК и 14 – яДНК); и два специфических переносчика электронов, CoQ и Cytc. По мере движения электронов по дыхательной цепи, протоны переносятся из матрикса в межмембранное пространство комплексами I, III и IV, а затем, через комплекс V, возвращаются в матрикс. Комплекс V синтезирует ATP из ADP и неорганического фосфата за счет Ψ p. Адаптировано из [2].

тем узнавания вторичных структур тРНК, гены которых располагаются между структурными генами [28]. Ключевой процесс в экспрессии митохондриальных мРНК – полиаденилирование, так как в ходе него для некоторых мРНК создаются стоп-кодоны (UAA), отсутствующие в пре-мРНК [29]. В число основных белков транскрипционной машины входят митохондриальная РНК-полимераза (POLRMT), митохондриальные факторы активации транскрипции А (TFAM), В1 (TFB1M) и В2 (TFB2M), а также фактор терминации транскрипции (mTERF) [30–32].

Трансляция белков, кодируемых мтДНК, происходит в матриксе на митохондриальных рибосомах (миторибосомы), которые содержат меньше рРНК (по сравнению с бактериальными или эукариотическими рибосомами), но больше рибосомных белков. Трансляционный аппарат митохондрий человека включает два фактора инициации (IF2, IF3), три фактора элонгации (EFG, EFTs, EFTu) и по крайней мере один фактор терминации (mtRF1). К особенностям трансляции в митохондриях относится использование уникального генетического кода, присутствие 22 тРНК и отсутствие кепов, необходимых

для узнавания мРНК сайтов связывания на рибосомах [33–35].

ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

ОФ — одна из фундаментальных метаболических реакций, протекающая во внутренней мембране митохондрий. Она заключается в сопряжении транспорта электронов с образованием АТФ. Система ОФ включает пять белковых комплексов, каждый из которых состоит из нескольких субъединиц (рис. 1б). У эукариот электроны переносятся по дыхательной цепи, начиная с NADH, через комплекс I (NADH-убихинон-редуктаза), либо с молекулы сукцината через комплекс II (сукцинат-убихинон-редуктаза), а затем последовательно — на интегральный мембранный переносчик электронов CoQ, комплекс III (убихинол-цитохром *c*-редуктаза), переносчик электронов цитохром *c* (Cyt_c) и, наконец, через комплекс IV (цитохром-*c*-оксидаза) на молекулярный кислород [36–38]. Энергия, высвобождаемая потоком электронов, используется для переноса протонов из матрикса в межмембранное пространство комплексами I, III и IV [39–42]. Это создает электрохимическую разницу потенциалов (Ψ_r , протонный градиент) по обе стороны внутренней мембраны. Энергия, запасенная в виде Ψ_r , используется комплексом V (АТФсинтаза). По мере обратного транспорта протонов в матрикс через протонный канал (F_o -субъединица АТФсинтазы) происходит фосфорилирование ADP неорганическим фосфатом с образованием молекулы АТФ [42]. Таким образом, процесс окисления субстрата и восстановления кислорода сопряжен с образованием АТФ.

Установлено, что комплексы ОФ дрейфуют по внутренней мембране не в виде отдельных структур, а в составе единого высокомолекулярного суперкомплекса — респирасомы [43–45]. Соотношение комплексов в респирасоме, вероятно, видоспецифично [46–49]. Очевидно, что истинная респирасома, т.е. образование, способное переносить электроны от NADH к молекулярному кислороду, — это суперкомплекс, включающий комплексы I, II, III и IV, а также специфические агенты-переносчики CoQ и Cyt_c [50]. Предполагается, что существует АТФ-синтасома, объединяющая комплекс V, переносчик неорганического фосфата и адениннуклеотид-трансферазу (ANT) в соотношении 1 : 1 : 1 [51, 52]. Однако получены свидетельства в пользу независимого функционирования этих компонентов [53].

Несмотря на всеобщее признание теории Митчелла [54], механизм переноса протонов из матрикса в межмембранное пространство до сих пор не ясен — неизвестно, какие именно структуры комплексов вовлечены в этот процесс. Однако сравнительный анализ комплексов ОФ у представителей разных видов показал, что перенос протонов и электронов

осуществляется при участии субъединиц, кодируемых мтДНК.

Помимо синтеза АТФ, ОФ представляет собой эндогенный источник активных форм кислорода (АФК): O_2^- (супероксид), H_2O_2 (пероксид водорода) и OH^- (гидроксильный радикал) [55–57]. O_2^- формируется, главным образом, в комплексах I и III [39, 58, 59]. При помощи митохондриальной Mn-зависимой супероксиддисмутазы либо Cu–Zn-зависимой супероксиддисмутазы O_2^- превращается в H_2O_2 , которую, в свою очередь, глутатионпероксидаза превращает в H_2O . Кроме того, в присутствии ионов Fe^{2+} и Cu^{2+} H_2O_2 может превращаться в OH^- . O_2^- может реагировать и с NO (оксид азота), который, как показано [60, 61], образуется эндогенно в митохондриях при помощи митохондриальной NO-синтазы, приводя к образованию ONOO⁻ (пероксинитрит). Установлено, что в формировании активных форм азота принимает участие комплекс IV [56]. Хроническое воздействие АФК на клетку приводит к окислительному повреждению белков, липидов и нуклеиновых кислот, а острое воздействие — к инактивации Fe–S-центров ферментативных комплексов ОФ и фермента цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) — аконитазы [62], что приводит к снижению продукции АТФ [63, 64]. Высокоактивный ONOO⁻ нитрирует остатки тирозина окружающих белков, в результате чего повреждаются комплекс I и митохондриальная супероксиддисмутаза [65, 66]. Кроме того, в комплексе I сульфгидрильные группы могут подвергаться нитрозилированию, что приводит к подавлению активности комплекса [67]. Воздействие АФК на мтДНК приводит к накоплению множественных мутаций, снижению скорости ОФ и еще большему накоплению АФК. Все это в итоге нарушает функционирование клетки, вызывает программируемую клеточную смерть — апоптоз [68–70].

ПАТОГЕННЫЕ МУТАЦИИ мтДНК И МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Скорость мутирования у мтДНК примерно в 17 раз выше, чем у яДНК [71]. Это определяется совокупностью таких факторов, как особенности структурной организации митохондриального генома, функциональное состояние рибонуклеотидредуктазы, ошибки репликации, мутации ядерных генов, кодирующих белки, действующие в митохондриях. Однако наиболее значителен вклад АФК [72]. Путь от возникновения мутации в мтДНК до клинического проявления заболевания во многом неясен: предполагается, что возникновение мутаций мтДНК приводит к накоплению АФК, изменению кальциевого обмена, активации митохондриальных пор повышенной проницаемости (mtPTP, mitochondrial permeability transition pore) и, в итоге, к апоптозу. Такой сценарий, вероятно, характерен для нейродеге-

Таблица 1. Патогенные точечные мутации мтДНК

Заболевание	Патогенные мутации в структурных генах				Патогенные мутации в генах рРНК и тРНК	
	комплекс I (гены <i>ND</i>)	комплекс III (<i>Cytb</i>)	комплекс IV (гены <i>CO</i>)	комплекс V (<i>ATP6</i> и <i>ATP8</i>)	рРНК	тРНК
LHON	43	6	8	4	—	3
LS	13	—	1	4	—	5
NARP/MILS	—	—	—	5	—	—
SNHL/DEAF	1	1	6	—	15	10
MELAS	14	1	2	—	1	15
MERRF	—	—	—	—	—	5
KSS	—	—	—	—	—	3
CPEO	1	—	—	—	—	17
Другие	39	21	43	7	4	112
Всего мутаций	111	29	60	20	20	170

Примечание. *ND* – NADH-дегидрогеназа; *Cytb* – убихинол-цитохром-*c*-оксидоредуктаза; *CO* – цитохром-*c*-оксидаза; *ATP* – АТФсинтаза; LHON – наследственная оптическая нейропатия (атрофия) Лебера; LS – синдром Лея; NARP/MILS – нейропатия, атаксия, пигментная ретинопатия и наследуемый по материнской линии синдром Лея; SNHL/DEAF – нейросенсорная глухота и аминогликозид-индуцированная глухота; MELAS – митохондриальная энцефалопатия с инсультоподобными эпизодами и лактацидозом; MERRF – миоклональная эпилепсия с “разорванными красными мышечными волокнами”; KSS – синдром Кернса–Сейра; CPEO – хроническая прогрессирующая наружная офтальмоплегия.

неративных процессов, обусловленных мутациями мтДНК [73, 74].

На сегодняшний день клинико-биохимические характеристики митохондриальных заболеваний хорошо известны [75–80]. Однако при установлении диагноза, а значит, и прогноза для заболевших и степени риска для здоровых носителей не обойтись без молекулярного анализа мтДНК. Для описания заболеваний обычно применяют классификацию, основанную на том, какую область мтДНК затрагивает мутация. В соответствии с этим патогенные мутации мтДНК подразделяют на: 1) мутации структурных генов; 2) мутации генов рРНК и тРНК и 3) структурные перестройки, затрагивающие большие сегменты мтДНК.

Патогенные мутации в структурных генах

Патогенные мутации, изменяющие нуклеотидную последовательность структурных генов мтДНК, подразделяют на четыре группы, в зависимости от того, какой комплекс ОФ они затрагивают.

Мутации митохондриальных генов комплекса I. Наибольшее число патогенных мутаций обнаружено в структурных генах комплекса I [81, 82]. Согласно базе данных MITOMAP [10] (данные на 09/02/2010), в гене *ND1* обнаружено 33 патогенных мутации, в *ND2* – 12, *ND3* – 6, *ND4L* – 5, *ND4* – 14, *ND5* – 22 и *ND6* – 18, т.е. всего 110 мутаций.

Наследственная оптическая нейропатия (атрофия) Лебера (LHON) – наиболее распространенное митохондриальное заболевание, обусловленное мутациями в структурных генах мтДНК и, в большинстве случаев, в генах *ND* (табл. 1). Клинически LHON характеризуется дегенерацией ганглиозного слоя сетчатки и атрофией зрительного нерва. Около 95% случаев LHON в европейской популяции вызываются тремя мутациями первичного риска: A3460G (*ND1*), G11778A (*ND4*) и T14484C (*ND6*). В генах мтДНК выявлено множество редких мутаций, ассоциированных с LHON, число которых постоянно растет [83, 84]. LHON – одно из немногих митохондриальных заболеваний, для которого установлена корреляция между экспрессией патогенной мутации и принадлежностью к определенной филетической линии (гаплогруппе мтДНК): так, мутации G11778A и T14484C часто ассоциированы с гаплогруппой J, в то время как мутация G3460A – с гаплогруппой K [85, 86]. Нами, в частности, показано, что мутация G3460A, найденная на территории Сибири, ассоциирована с гаплогруппами, производными макрогаплогруппы M, которая с наибольшей частотой представлена у коренных жителей Сибири (алтайцев, тувинцев, бурят); в то же время, мутация G11778A, в соответствии с опубликованными данными, экспрессируется на фоне гаплогрупп кластера TJ [85, 87].

Другое распространенное заболевание, связанное с мутацией в генах *ND*, синдром Лея (LS) — прогрессирующее нейродегенеративное состояние, при котором поражаются ствол головного мозга и базальные ганглии с образованием характерных симметричных некротических изменений. Подобные симптомы вызываются мутациями генов *COIII* и *ATP6*, а также некоторых тРНК [88].

Мутации митохондриальных генов комплекса III. В гене *Cytb* выявлено 29 патогенных мутаций, которые приводят, как правило, к миопатиям [10, 81]. Кроме того, мутации в гене *Cytb* ассоциированы с энцефаломиопатией, кардиомиопатией, тубулопатией и LHON [89–91].

Мутации митохондриальных генов комплекса IV. К настоящему времени в гене *COI* найдено 33 патогенных мутации, 14 мутаций — в *COII*, 13 — в *COIII* [10]. У большинства больных с мутациями в этих генах развиваются нейромышечные синдромы, а некоторые мутации связаны с LHON и SNHL (нейросенсорная глухота) [91, 92], отдельные мутации гена *COI* ассоциированы с раком предстательной железы [93].

Мутации митохондриальных генов комплекса V. В гене *ATP6*, кодирующем субъединицу АТФсинтазы, обнаружено 19 патогенных мутаций [10], а в гене субъединицы АТФ8 идентифицирована лишь одна мутация, А8381G, приводящая к MIDD (сахарный диабет типа 2 и нейросенсорная глухота) [94].

Наиболее распространенное заболевание, ассоциированное с мутацией Т8993G гена *ATP6*, — комплекс симптомов, включающих нейропатию, атаксию и пигментную ретинопатию (NARP). Интересно отметить, что в виде NARP мутация Т8993G проявляется, когда мутантная мтДНК составляет 70–90% всей мтДНК в клетке, а при 90–95% эта мутация вызывает развитие наследуемого по материнской линии синдрома Лея (MILS). Подобные синдромы связаны с мутациями Т8993С, Т9176G и Т9176С [95]. Патогенные мутации Т8993G и Т8993С, приводящие в замене высококонсервативного остатка лейцина в положении 156 на пролин или аргинин, соответственно, снижают ток протонов через АТФсинтазу на 30% [96]. Отмечено, что принадлежность к определенной митохондриальной гаплогруппе может влиять на патогенез заболевания [97].

Патогенные мутации генов рибосомных и транспортных РНК

Мутации в генах рРНК и тРНК, которые участвуют в биосинтезе белков в митохондриях, могут быть причиной ряда митохондриальных заболеваний [10].

Патогенные мутации генов рРНК. К настоящему времени выявлено 16 патогенных мутаций, изменяющих структуру 12S рРНК; в гене 16S рРНК мутаций, приводящих к заболеваниям, не обнаружено.

Наиболее часто в рРНК встречается транзигция G1555A, фенотипически проявляющаяся в виде SNHL. Эта мутация задевает высококонсервативную область 12S рРНК, входящую в состав малой субъединицы рибосомы, в результате чего изменяется аминокликозид-связывающий сайт 12S рРНК, и больные становятся чувствительными к ототоксичным аминокликозидам [98]. Все другие патогенные мутации в гене 12S рРНК также приводят к SNHL [99].

Патогенные мутации генов тРНК. Примерно две трети (166 мутаций) патогенных точковых мутаций мтДНК локализованы в генах тРНК. Мутации, затрагивающие различные тРНК, проявляются в виде разнообразных клинических синдромов. Наиболее распространены мутации в генах тРНК^{Leu} и тРНК^{Lys}.

Так, мутация А3243G диагностируется примерно в 80% случаев MELAS (митохондриальная энцефалопатия с инсультоподобными эпизодами и лактацидозом). Эта транзигция влияет на третичную структуру тРНК^{Lys} и процессы метилирования, ацетилирования и тауриновой модификации антикодона, что приводит к нарушению трансляции [100]. Интересно отметить, что мутация А3243G находится, как правило, в состоянии гетероплазмии. При этом соотношение мутантной мтДНК и мтДНК дикого типа сильно варьирует в различных тканях: наибольшее количество мутантной мтДНК обнаруживается в мышечной ткани и клетках головного мозга, наименьшее — в лейкоцитах крови [100, 101]. С возрастом содержание мутантных мтДНК может увеличиваться во всех тканях, кроме клеток крови, очевидно, вследствие специфического отбора [102]. Помимо MELAS, мутация А3243G ассоциируется с MERRF (миоклональная эпилепсия с “разорванными красными мышечными волокнами”), SPEO (хроническая прогрессирующая наружная офтальмоплегия), KSS (синдром Кернса–Сейра), SNHL и LS [100].

Другая наиболее распространенная мутация — транзигция А8344G в гене тРНК^{Lys}, в 80% случаев ассоциирована с MERRF [103]. В результате этой мутации изменяется высококонсервативный нуклеотид в псевдоуридиновой петле тРНК, что приводит к блокированию митохондриального синтеза белка. Отмечено, что для фенотипического проявления заболевания необходимо, чтобы уровень гетероплазмии достигал 85–90% [104].

Структурные перестройки, затрагивающие большие сегменты мтДНК

Делеции мтДНК лежат в основе некоторых митохондриальных заболеваний и, вероятно, играют ключевую роль в процессе старения постмитотических тканей. В настоящее время рассматриваются две модели происхождения делеций в мтДНК [105]. Согласно первой, делеции возникают во время репликации мтДНК по асинхронному механизму. Дру-

гая модель постулирует, что делеции формируются в ходе репарации двухцепочечных разрывов мтДНК. Как правило, делеции возникают спорадически и не передаются следующему поколению [106].

Обширная делеция мтДНК размером 4977 п.н. (участок 8488–13460) считается наиболее частой причиной KSS, при котором наблюдается прогрессирующая наружная офтальмоплегия, пигментная ретинопатия и ранняя манифестация (до 20 лет) [107].

Основная причина СРЕО – либо одна обширная делеция, либо множество коротких. СРЕО характеризуется прогрессирующим параличом глазодвигательной мышцы, который приводит к уменьшению подвижности глаза и птозу [108].

Синдром Пирсона (PS) – довольно редкое заболевание детей раннего возраста, при котором развивается сидеробластная анемия с панцитопенией и экзокринной недостаточностью поджелудочной железы. Заболевание характеризуется крайне тяжелым течением и приводит к ранней смерти; у выживших больных развиваются клинические симптомы KSS. Как правило, при данных синдромах все ткани и органы содержат большое количество мтДНК с делециями [109, 110].

Развитие каждого из трех описанных синдромов связано с делециями мтДНК определенного размера и локализации, что следует учитывать при постановке диагноза [111].

ПАТОГЕННЫЕ МУТАЦИИ яДНК И МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

В биогенезе митохондрий принимают участие около 2000 генов ядерного генома [112, 113], поэтому очевидно, что повреждения яДНК также приводят к митохондриальным заболеваниям. Дефекты яДНК значительно более разнообразны, нежели дефекты мтДНК, они включают как мутации генов системы ОФ и аппарата белкового синтеза в митохондриях, так и мутации генов системы импорта/экспорта в митохондрии, движения митохондрий, слияния/деления митохондрий, транскрипции и репликации мтДНК, а также мутации генов различных ферментативных циклов (ЦТК, β -окисление жирных кислот) и других метаболических путей, связанных с функционированием митохондрий [82, 114, 115]. Указанные дефекты яДНК и связанные с ними заболевания, которые клинически отличаются от “классических” митохондриальных, в нашем обзоре не рассматриваются.

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ПРОЯВЛЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ

Наблюдаемое разнообразие клинических симптомов митохондриальных заболеваний формируется за счет таких факторов, как гетероплазмия, поро-

говый эффект и эффект бутылочного горлышка (генетической воронки).

Существование множества копий мтДНК в клетке зачастую приводит к возникновению гетероплазмии, т.е. состоянию, при котором в одной митохондрии, клетке или органе сосуществуют несколько вариантов мтДНК, в отличие от гомоплазмии, когда все мтДНК идентичны [116]. При делении клетки митохондрии распределяются между дочерними клетками случайным образом вследствие митотической сегрегации, в результате чего дочерние клетки могут различаться уровнем гетероплазмии [117]. Предполагается, что в дочерних (соматических) клетках скорость сдвига в сторону мутантных мтДНК, либо мтДНК дикого типа определяется составом нуклеоида родительской клетки. И мутантная мтДНК, и мтДНК дикого типа могут входить в состав одного нуклеоида (гетероплазматический нуклеоид, heteroplasmic nucleoid), либо в отдельные нуклеоиды (гомоплазматический нуклеоид, homoplasmic nucleoid). Если материнская клетка содержит гетероплазматические нуклеоиды, то колебание уровня гетероплазмии дочерних клеток остается незначительным, однако, если нуклеоиды гомоплазматические – уровень гетероплазмии дочерних клеток различается весьма значительно и зависит от отбора и генетического дрейфа [118, 119].

Уровень гетероплазмии патогенной мутации мтДНК, как правило, определяет тяжесть митохондриального заболевания [120]. При этом для манифестации заболевания необходимо, чтобы количество мутантной мтДНК превысило определенный уровень – это явление получило название порогового эффекта. Так, в случае MERRF количество мтДНК с мутацией A8344G должно составлять 85–90%. Мутация T8993G может приводить к развитию одного заболевания (NARP), если ее содержание (уровень гетероплазмии) достигает 70–90%, однако, при более высоком уровне гетероплазмии, 90–95%, возникают клинические симптомы другого заболевания (MILS) [121].

мтДНК млекопитающих, за некоторым исключением, наследуется по материнской линии. Зрелые яйцеклетки содержат по крайней мере 100000 копий мтДНК, примерно по одной–две копии на каждую митохондрию [122–124]. Несмотря на большое число копий мтДНК в яйцеклетке, уже в следующем поколении мтДНК может быть представлена новыми вариантами. Так, быстрая сегрегация новых вариантов мтДНК (мутации D-петли) у крупного рогатого скота произошла всего за несколько поколений [125]. Это позволило выдвинуть концепцию о влиянии эффекта бутылочного горлышка на одной из стадий развития яйцеклеток (рис. 2). Действительно, последующее изучение ультраструктуры показало, что после оплодотворения происходит череда зиготических делений без деления митохондрий (и, соответственно, без репликации мтДНК), в результате чего митохондриальный пул вдвое умень-

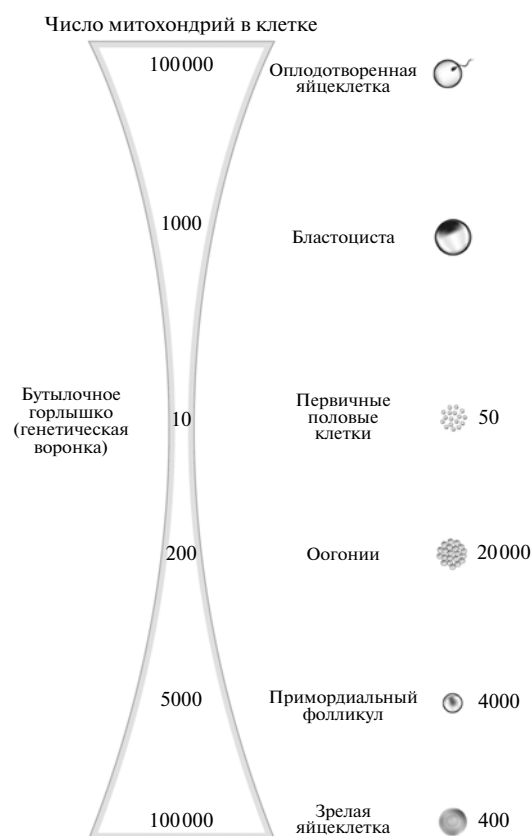


Рис. 2. Схематическое представление изменения количества митохондрий в течение развития женских половых клеток у мышей. Указано количество митохондрий на каждой стадии развития. Эффект бутылочного горлышка (генетической воронки) наблюдается на стадии формирования первичных половых клеток. Справа приведено примерное количество половых клеток у мышей. Адаптировано из [127].

шается с каждым клеточным делением. Так, первичные половые клетки мыши содержат всего примерно 10 митохондрий [126, 127]. Таким образом, при формировании предшественников половых клеток митохондрии составляют лишь малую часть (0.01%) от изначального митохондриального пула зиготы [128–130]. Предполагается, что количество митохондрий, характерное для зрелой яйцеклетки, восстанавливается за счет лишь некоторых субпопуляций митохондрий примордиальных фолликулов [131].

Поскольку количество митохондрий, характерное для зрелой яйцеклетки, происходит из весьма ограниченного набора митохондрий первичных половых клеток, вновь образовавшиеся митохондрии будут, очевидно, гомогенными (или почти гомогенными) по составу. Другими словами, фундаментальное значение эффекта генетической воронки в эволюции заключается, вероятно, в поддержании гомоплазии мтДНК, минимизируя гетероплазию [132].

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МУТАЦИЙ мтДНК И УРОВНЯ ГЕТЕРОПЛАЗМИИ

Известно, что уровень гетероплазии во многом определяет фенотипическое проявление мутации, поэтому при проведении молекулярного анализа необходимо оценивать количество мутантных мтДНК. Следует заметить, что оценка уровня гетероплазии уже включает детекцию мутации, в то время как методы обнаружения мутации не всегда учитывают уровень ее гетероплазии.

В табл. 2 указаны основные методы определения уровня гетероплазии мутаций мтДНК. Метод клонирования, дающий достоверные количественные результаты, считается наиболее трудоемким и продолжительным. Более точные результаты при меньшей трудоемкости можно получить с помощью флуоресцентной ПЦР, однако, метод не позволяет выявлять мелкие делеции и вставки. Денатурирующая высокоразрешающая жидкостная хроматография дает воспроизводимые результаты при любых видах мутаций (делеции, вставки, точковые мутации), находящихся в состоянии гетероплазии. Оценка уровня гетероплазии с помощью этого метода более точна по сравнению с клонированием и флуоресцентной ПЦР [133]. Для обнаружения и количественной оценки мутаций мтДНК использовали также метод ПЦР в реальном времени: превосходные результаты получены как при использовании гидролизуемых зондов (TaqMan), так и интеркалирующего красителя SYBR [134]. В другой работе [135] для детекции мутаций мтДНК и количественной оценки уровня гетероплазии предложено использовать “молекулярные маячки” (Molecular beacon). Модификация системы TaqMan, заключающаяся в применении специфических праймеров, использована для оценки уровня гетероплазии мутации A3243G [136]. Сравнение трех методов определения уровня гетероплазии — секвенирования ДНК, Саузерн-блот-анализа, комбинированного метода ПНК (пептидо-нуклеиновые кислоты) и ПЦР в реальном времени, показало, что комбинация ПНК/ПЦР в реальном времени позволяет более точно (количественно) разграничить мутантную мтДНК и мтДНК дикого типа, нежели секвенирование; Саузерн-блот-анализ не отражает реального уровня гетероплазии [137]. Как оказалось, наиболее точные оценки дают три метода: SNaPshot [138], пиросеквенирование [139] и Biplax Invader [140]. Однако при сопоставимой точности Biplax Invader оказался наиболее простым в использовании, а SNaPshot — наиболее дорогостоящим [141]. В настоящее время, когда обнаружение мутаций мтДНК выходит на поток, предпочтение отдается чиповым технологиям, позволяющим анализировать основные патогенные мутации мтДНК сразу во множестве образцов, устанавливая при этом уровень гетероплазии каждой отдельной мутации [142, 143].

Таблица 2. Методы детекции гетероплазмы мутаций мтДНК

Метод	Ссылка
Клонирование	[133]
Флуоресцентная ПЦР	[133]
Денатурирующая высокоразрешающая жидкостная хроматография	[133, 214]
Высокоразрешающий анализ плавления	[133, 215]
Саузерн-блот-гибридизация	[137]
Viplex Invader® assay	[140]
Комбинированный метод ПНК/ПЦР в реальном времени	[137]
Количественная ПЦР в реальном времени	[134, 135]
Минисеквенирование (SNaPshot)	[138]
Пиросеквенирование	[139]
Чиповые технологии	[142, 143]

ТЕРАПИЯ ДЕФЕКТОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

К настоящему времени митохондриальные заболевания не поддаются излечению. Используемые в клинической практике стратегии симптоматического лечения включают применение фармакологических средств, специальных диет [144–149], а также физических нагрузок [150–153]. Некоторые патологии, обусловленные мутациями в мтДНК, корректируют посредством хирургических вмешательств. Так, при нейросенсорной потере слуха, сопровождающей синдрома MELAS, SNHL и KSS, применяют улитковые имплантаты; нарушение проводимости

сердца при KSS можно компенсировать вживлением водителя ритма [146, 153, 154].

Экспериментальные методы (табл. 3), направленные на устранение дефектов дыхательной цепи путем воздействия на генетический аппарат митохондрий, находятся на стадии разработки и их применение в ближайшем будущем сомнительно [155]. Далее будут рассмотрены основные стратегии устранения дефектов дыхательной цепи митохондрий.

Стратегия аллотопической экспрессии заключается в создании векторной конструкции, содержащей нормальную копию митохондриального гена. Клетку трансформируют этой конструкцией и после ее встраивания в ядерный геном начинается экспрессия нормального митохондриального гена. Однако не все митохондриальные гены можно экспрессировать таким образом [156]. К настоящему времени подобную процедуру применили на клеточных линиях для устранения дефектов генов *ND1*, *ND4* и *ATP6* [9, 157–162].

Ксенотопическая экспрессия подразумевает использование генов субъединиц комплексов ОФ других видов организмов. Так, для компенсации дефектов комплекса I в клетках млекопитающих применили дрожжевую NADH-оксидазу (*Ndi1*) [163–165]. В другой работе дефекты комплекса I устраняли путем доставки в ядро и последующей экспрессии гена альтернативной оксидазы (AOX, cyanide-insensitive alternative oxidase) из асцидии [166]. Теоретически, альтернативные комплексы ОФ могут компенсировать работу дефектного комплекса вне зависимости от мутации, которая нарушила работу комплекса. Однако большинство таких альтернативных комплексов не способны перекачивать протоны из матрикса в межмембранное пространство [38].

Несмотря на то, что остаются сомнения в возможности импорта тРНК в митохондрии (в норме тРНК в митохондрию не импортируется, поскольку

Таблица 3. Методы генной терапии дефектов дыхательной цепи

Заболевание	Мутация мтДНК	Методы генной терапии дефектов дыхательной цепи					
		аллотопическая экспрессия	ксенотопическая экспрессия	коррекция системы трансляции (тРНК)	эндонуклеазы рестрикции	пептидо-нуклеиновые кислоты	метилазы типа “цинковые пальцы”
LHON	A11778G G3460G	[158, 161, 162] [160]	[164]				
NARP/MILS	T8993G	[9, 157, 159, 161]	[216]		[175, 176]		[183]
MERRF	A8344G G611A			[169, 170] [172]		[177, 178]	
MELAS	A3234G			[174]			

Примечание. Сокращения, как в табл. 1.

полностью там синтезируется), эксперименты в этом направлении продолжают [167–169]. Так, используя комплекс импорта тРНК (RIC, tRNA import complex) из *Leishmania tropica*, удалось доставить тРНК^{Lys} в митохондрии, компенсировав тем самым дефект трансляции, и восстановить клеточное дыхание [170, 171]. Патогенные мутации тРНК компенсировали при помощи модификации либо гиперэкспрессии соответствующих аминоксил-тРНК-синтетаз [172–174].

Стратегия манипулирования уровнем гетероплазмы состоит в использовании молекулярных конструкций, которые специфически связываются с определенной нуклеотидной последовательностью в мтДНК, блокируя ее транскрипцию и/или репликацию. Изменять уровень гетероплазмы в сторону мтДНК дикого типа могут эндонуклеазы рестрикции, которые узнают определенные сайты, возникшие после появления мутации, и специфически разрезают мутантную мтДНК [175]. Интересно, что участок узнавания определенной эндонуклеазой рестрикции не обязательно должен быть уникальным: мутантная мтДНК и мтДНК дикого типа могут отличаться по количеству сайтов рестрикции [176]. Использование ПНК, представляющих собой линейные полимеры N-(2-аминоэтил)-глицина, замещенные по атому азота аминоэтильной группы производными азотистых оснований, и способных к нековалентному взаимодействию с азотистыми основаниями ДНК и РНК, также весьма перспективно для изменения соотношения мтДНК, мутантных и дикого типа. Эти химические соединения специфически связываются с мутантной мтДНК, блокируя репликацию [177–181]. Модифицированный вариант ПНК, названный СМСО (cell membrane crossing oligomers), имеет большую полярность, нежели ПНК, и лучше проникает в митохондрию [182]. Более того, оказалось, что связываться с определенной нуклеотидной последовательностью в мтДНК могут также белки типа “цинковые пальцы” [183].

Перемещение нормальных митохондрий из стволовых и соматических клеток в клетки с дефектными митохондриями с последующим восстановлением клеточного дыхания в перспективе может применяться при митохондриальных заболеваниях [184–186].

Интересным направлением в разработке стратегий лечения митохондриальных заболеваний считается доставка ДНК/белка непосредственно в дефектные митохондрии. С этой целью используют жирорастворимые капсулы – липосомы, в которые упаковывают ДНК/белки. Такие капсулы, имея сходство к митохондриальной мембране, специфически связываются с митохондриями и, сливаясь с ними, высвобождают в митохондриальный матрикс свое содержимое [187, 188].

Основная проблема терапии митохондриальных заболеваний, как и всех наследственных заболева-

ний, заключается в отсутствии возможности адресной доставки необходимого вещества во все митохондрии всех (либо определенных) клеток человека. Таким образом, предотвращение передачи патогенных мутаций мтДНК от матери детям рассматривается в данный момент в качестве единственной альтернативы.

СТРАТЕГИИ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ПЕРЕДАЧИ ПАТОГЕННЫХ МУТАЦИЙ мтДНК

Предотвращение передачи мутантных мтДНК потомству представляется особо актуальной проблемой на данном этапе развития митохондриальной медицины [189]. Предотвратить передачу мутантной мтДНК следующему поколению можно с помощью **донорской яйцеклетки**. Полученный в результате экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) эмбрион имплантируют в матку, таким образом будущему ребенку удастся избежать митохондриального заболевания, которым страдает его мать [189, 190]. Важно учитывать, что привлечение родственниц со стороны матери (в качестве донора яйцеклетки) не рекомендуется, поскольку они могут быть носителями патогенной мутации мтДНК.

Пренатальная диагностика (ПНД) с целью взятия плодного материала для последующего лабораторного исследования [191] имеет серьезные ограничения из-за неравномерного распределения мутаций мтДНК в различных тканях и органах. Утверждены критерии проведения ПНД митохондриальных заболеваний [192]. Согласно этим критериям достоверно интерпретировать результаты ПНД можно лишь в случае мутаций с высокой степенью корреляции между уровнем гетероплазмы и тяжестью заболевания, равномерным распределением во всех тканях и уровнем гетероплазмы, который не меняется в течение жизни. Как оказалось, такие требования справедливы лишь для мутаций T8993G/C.

Преимплантационная генетическая диагностика (ПГД) – диагностика генетических аномалий у эмбрионов до момента их имплантации в матку. Такую диагностику можно проводить на отдельных клетках эмбрионов, полученных в результате процедуры ЭКО [193]. Для выявления мутаций мтДНК можно использовать как полярное тельце, так и один либо два бластомера раннего эмбриона (до 8-клеточной стадии), поскольку все эти клетки обладают одинаковым уровнем гетероплазмы. Установлено, что эффективность оценки уровня гетероплазмы в бластомерах значительно выше, нежели в полярном тельце [194]. Эмбрион имплантируют в матку в случае полного отсутствия патогенных мутаций, либо при низком уровне гетероплазмы, поскольку критерии, принятые для ПНД [192], здесь также справедливы. Нужно отметить, что эту процедуру применяли лишь дважды [195, 196].

Несомненное преимущество ПГД перед ПНД состоит в возможности сохранить беременность [197–199].

Цитоплазматический транспорт представляет собой перенос нормально функционирующих митохондрий (из другой яйцеклетки или зиготы) в яйцеклетку, содержащую дефектные митохондрии, чтобы снизить количество дефектных митохондрий и компенсировать нарушение выработки энергии [200]. Однако результаты экспериментов по переносу донорской цитоплазмы в пораженную яйцеклетку для последующего распространения донорских митохондрий оказались неутешительными: уровень хромосомных аномалий у новорожденных значительно превышал средний показатель [201, 202]. Как оказалось, помимо митохондрий с цитоплазмой переносятся мРНК, белки и другие факторы, которые вносят вклад в новое окружение ядерного генома [203, 204].

Ядерный транспорт теоретически может выполняться на разных стадиях развития яйцеклетки/зиготы в случае пересадки: а) зародышевого пузырька; б) хромосом зрелой яйцеклетки; в) пронуклеусов; г) ядра одного из бластомеров [205–209]. В связи с этическими проблемами клонирования следует уточнить, что первые три этапа не связаны с клонированием, поскольку на этих стадиях еще не произошло дублирования яДНК. Однако использование ядра одного из бластомеров это уже, по определению, клонирование, запрещенное в отношении человека (59/280 Декларация Организации Объединенных Наций о клонировании человека от 8 марта 2005; Законопроект о продлении запрета на клонирование человека, Россия, от 22 января 2010).

Недавно удалось переместить ядерный материал зрелой яйцеклетки примата (*Macaca mulatta*) на стадии метафазы II в энуклеированную яйцеклетку [210]. Анализ мтДНК показал, что во время переноса хромосом митохондрии не переместились. Уникальность процедуры заключается в выборе нужной стадии (метафаза II), когда кариопласт яйцеклетки свободен от митохондрий. Другой способ, который позволяет избежать переноса митохондрий вместе с яДНК — их уничтожение [209].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на значительный прогресс, достигнутый с момента установления причинно-следственной связи между мутацией мтДНК и заболеванием человека [6–9], вылечить от митохондриальных болезней в настоящее время практически невозможно. В первую очередь, это связано с пробелами в понимании биогенеза митохондрий. Однако по мере развития физико-химических, молекулярно-генетических и биоинформатических методов данные о структуре и функциях митохондрий постоянно корректируются и дополняются. Кроме того, существует большая пропасть между молекулярными и

патофизиологическими исследованиями, поскольку за исключением мышиных моделей (mitomouse) и клеточных линий [211–213], человек остается практически единственным объектом исследований, что, естественно, вносит массу ограничений в связи с возможностью опасных для здоровья/жизни последствий. Тем не менее, существуют возможности избежать наследования патогенной митохондриальной мутации, либо отсрочить развитие заболевания, вызванного нарушением функции митохондрий.

Авторы признательны Г.М. Дымшицу (ИЦиГ СО РАН) и К.Ю. Попадьину (ИППИ РАН) за полезные замечания по прочтении рукописи.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (09-04-00183а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сукерник Р.И., Дербенева О.А., Стариковская Е.Б., Володько Н.В., Михайловская И.Е., Бычков И.Ю., Лотт М.Т., Браун М.Д., Уоллес Д.К. 2002. Митохондриальный геном и митохондриальные болезни человека. *Генетика*. **38**, 1–10.
2. DiMauro S., Schon E.A. 2008. Mitochondrial disorders in the nervous system. *Annu. Rev. Neurosci.* **31**, 91–123.
3. Di Donato S. 2009. Multisystem manifestations of mitochondrial disorders. *J. Neurol.* **256**, 693–710.
4. Ernster L., Ikkos D., Luft R. 1959. Enzymic activities of human skeletal muscle mitochondria: a tool in clinical metabolic research. *Nature*. **184**, 1851–1854.
5. Luft R., Ikkos D., Palmieri G., Ernster L., Afzelius B. 1962. A case of severe hypermetabolism of monthyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control: a correlated clinical, biochemical, and morphological study. *J. Clin. Invest.* **41**, 1776–1804.
6. Holt I.J., Harding A.E., Morgan Hughes J.A. 1988. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature*. **331**, 717–719.
7. Wallace D.C., Singh G., Lott M.T., Hodge J.A., Shurr T.G., Lezza A.M., Elsas L.J. 2nd, Nikoskelainen E.K. 1988. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science*. **242**, 1427–1430.
8. van den Ouweland J.M., Lemkes H.H., Ruitenbeek W., Sandkuijl L.A., de Vijlder M.F., Struyvenberg P.A., van de Kamp J.J., Maassen J.A. 1992. Mutation in mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) gene in a large pedigree with maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness. *Nat. Genet.* **1**, 368–371.
9. Tatuch Y., Christodoulou J., Feigenbaum A., Clarke J.T., Wherret J., Smith C., Rudd N., Petrova-Benedict R., Robinson B.H. 1992. Heteroplasmic mtDNA mutation (T→G) at 8993 can cause Leigh disease when the percentage of abnormal mtDNA is high. *Am. J. Hum. Genet.* **50**, 852–858.
10. A Human Mitochondrial Genome Database. www.mitomap.org, 2009.

11. Schaefer A.M., McFarland R., Blakely E.L., He L., Whittaker R.G., Taylor R.W., Chinnery P.F., Turnbull D.M. 2008. Prevalence of mitochondrial DNA disease in adults. *Ann. Neurol.* **63**, 35–39.
12. Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G., de Bruijn M.H., Coulson A.R., Drouin J., Eperon I.C., Nierlich D.P., Roe B.A., Sanger F., Schreier P.H., Smith A.J., Staden R., Young I.G. 1981. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature.* **290**, 457–465.
13. Spelbrink J.N. 2010. Functional organization of mammalian mitochondrial DNA in nucleoids: history, recent developments, and future challenges. *IUBMB. Life.* **62**, 19–32.
14. Iborra F.J., Kimura H., Cook P.R. 2004. The functional organization of mitochondrial genomes in human cells. *BMC. Biol.* **24**, 2–9.
15. Holt I.J., He J., Mao C.C., Boyd-Kirkup J.D., Martinsson P., Sembongi H., Reyes A., Spelbrink J.N. 2007. Mammalian mitochondrial nucleoids: organizing an independently minded genome. *Mitochondrion.* **7**, 311–321.
16. Bogenhagen D.F., Rousseau D., Burke S. 2008. The layered structure of human mitochondrial DNA nucleoids. *J. Biol. Chem.* **8**, 3665–3675.
17. He J., Mao C.C., Reyes A., Sembongi H., Di Re M., Granycome C., Clippingdale A.B., Fearnley I.M., Harbour M., Robinson A.J., Reichelt S., Spelbrink J.N., Walker J.E., Holt I.J. 2007. The AAA+ protein ATAD3 has displacement loop binding properties and is involved in mitochondrial nucleoid organization. *J. Cell. Biol.* **15**, 141–146.
18. Di Re M., Sembongi H., He J., Reyes A., Yasukawa T., Martinsson P., Bailey L.J., Goffart S., Boyd-Kirkup J.D., Wong T.S., Fersht A.R., Spelbrink J.N., Holt I.J. 2009. *Nucl. Acids Res.* **37**, 5701–5713.
19. Gilkerson R.W., Schon E.A., Hernandez E., Davidson M.M. 2008. Mitochondrial nucleoids maintain genetic autonomy but allow for functional complementation. *J. Cell. Biol.* **30**, 1117–1128.
20. Jacobs H.T., Lehtinen S.N., Spelbrink J.N. 2000. No sex please, we're mitochondria: a hypothesis on the somatic unit of inheritance of mammalian mtDNA. *BioEssays.* **22**, 564–572.
21. D'Aurelio M., Gajewski C.D., Lin M.T., Mauck W.M., Shao L.Z., Lenaz G., Moraes C.T., Manfredi G. 2004. Heterologous mitochondrial DNA recombination in human cells. *Hum. Mol. Genet.* **15**, 3171–3179.
22. Clayton D.A. 1982. Replication of animal mitochondrial DNA. *Cell.* **28**, 693–705.
23. Clayton D.A. 2003. Mitochondrial DNA replication: what we know. *IUBMB. Life.* **55**, 213–217.
24. Holt I.J., Lorimer H.E., Jacobs H.T. 2000. Coupled leading- and lagging-strand synthesis of mammalian mitochondrial DNA. *Cell.* **100**, 515–524.
25. Fish J., Raule N., Attardi G. 2004. Discovery of a major D-loop replication origin reveals two modes of human mtDNA synthesis. *Science.* **306**, 2098–2101.
26. Korhonen J.A., Pham X.H., Pellegrini M., Falkenberg M. 2004. Reconstitution of a minimal mtDNA replisome *in vitro*. *EMBO J.* **23**, 2423–2429.
27. Holt I. 2009. Mitochondrial DNA replication and repair: all a flap. *Trends Biochem. Sci.* **34**, 358–365.
28. Ojala D., Montoya J., Attardi G. 1981. tRNA punctuation model of RNA processing in human mitochondria. *Nature.* **290**, 470–474.
29. Nagaïke T., Suzuki T., Ueda T. 2008. Polyadenylation in mammalian mitochondria: insights from recent studies. *Biochim. Biophys. Acta.* **1779**, 266–269.
30. Asin-Cayuela J., Gustafsson C.M. 2007. Mitochondrial transcription and its regulation in mammalian cells. *Trends Biochem. Sci.* **32**, 111–117.
31. Scarpulla R.C. 2008. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function. *Physiol. Rev.* **88**, 611–638.
32. Сологуб М.Ю., Кочетков С.Н., Темяков Д.Е. 2009. Транскрипция и ее регуляция в митохондриях млекопитающих и человека. *Молекуляр. биология.* **43**, 215–229.
33. Spemulli L.L., Coursey A., Navratil T., Hunter S.E. 2004. Initiation and elongation factors in mammalian mitochondrial protein biosynthesis. *Prog. Nucleic Acids Res. Mol. Biol.* **77**, 211–261.
34. Coenen M.J., Antonicka H., Ugalde C., Sasarman F., Rossi R., Heister J.G., Newbold R.F., Trijbels F.J., van den Heuvel L.P., Shoubbridge E.A., Smeitink J.A. 2004. Mutant mitochondrial elongation factor G1 and combined oxidative phosphorylation deficiency. *N. Engl. J. Med.* **351**, 2080–2086.
35. Rorbach J., Soleimanpour-Lichaei R., Lightowlers R.N., Chrzanoska-Lightowlers Z.M. 2007. How do mammalian mitochondria synthesize proteins? *Biochem. Soc. Trans.* **35**, 1290–1291.
36. Hatefi Y. 1985. The mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation system. *Annu. Rev. Biochem.* **54**, 1015–1069.
37. Moser C.C., Farid T.A., Chobot S.E., Dutton P.L. 2006. Electron tunneling chains of mitochondria. *Biochim. Biophys. Acta.* **1757**, 1096–1109.
38. Lenaz G., Genova M.L. 2010. Structure and organization of mitochondrial respiratory complexes: a new understanding of an old subject. *Antioxid. Redox Signal.* **12**, 961–1008.
39. Zickermann V., Dröse S., Tocilescu M.A., Zwicker K., Kerscher S., Brandt U. 2008. Challenges in elucidating structure and mechanism of proton pumping NADH:ubiquinone oxidoreductase (complex I). *J. Bioenerg. Biomembr.* **40**, 475–483.
40. Hunte C., Palsdottir H., Trumpower B.L. 2003. Protonmotive pathways and mechanisms in the cytochrome bc1 complex. *FEBS Lett.* **12**, 39–46.
41. Belevich I., Verkhovsky M.I. 2008. Molecular mechanism of proton translocation by cytochrome c oxidase. *Antioxid. Redox Signal.* **10**, 1–29.
42. von Ballmoos C., Wiedenmann A., Dimroth P. 2009. Essentials for ATP synthesis by F1F0 ATP synthases. *Annu. Rev. Biochem.* **78**, 649–672.
43. Schaeffer H. 2001. Respiratory Chain Supercomplexes. *IUBMB. Life.* **52**, 119–128.
44. Wittig I., Carrozzo R., Santorelli F.M., Schägger H. 2006. Supercomplexes and subcomplexes of mito-

- chondrial oxidative phosphorylation. *Biochim. Biophys. Acta.* **1757**, 1066–1072.
45. Schäfer E., Dencher N.A., Vonck J., Parcej D.N. 2007. Three-dimensional structure of the respiratory chain supercomplex I₁III₂IV₁ from bovine heart mitochondria. *Biochemistry.* **46**, 12579–12585.
 46. Vonck J., Schaefer E. 2009. Supramolecular organization of protein complexes in the mitochondrial inner membrane. *Biochim. Biophys. Acta.* **1793**, 117–124.
 47. Wittig I., Schaeffer H. 2009. Supramolecular organization of ATP synthase and respiratory chain in mitochondrial membranes. *Biochim. Biophys. Acta.* **1787**, 672–680.
 48. Lenaz G., Genova M.L. 2009. Structural and functional organization of the mitochondrial respiratory chain: A dynamic super-assembly. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* **41**, 1750–1772.
 49. Dudkina N.V., Kouřil R., Peters K., Braun H.P., Boekema E.J. 2010. Structure and function of mitochondrial supercomplexes. *Biochim. Biophys. Acta.* In press.
 50. Acín-Pérez R., Fernández-Silva P., Peleato M.L., Pérez-Martos A., Enriquez J.A. 2008. Respiratory active mitochondrial supercomplexes. *Mol. Cell.* **32**, 529–539.
 51. Ko Y.H., Delannoy M., Hüllihen J., Chiu W., Pedersen P.L. 2003. Mitochondrial ATP synthasome. Cristae-enriched membranes and a multiwell detergent screening assay yield dispersed single complexes containing the ATP synthase and carriers for Pi and ADP/ATP. *J. Biol. Chem.* **278**, 12305–12309.
 52. Chen C., Ko Y., Delannoy M., Ludtke S.J., Chiu W., Pedersen P.L. 2004. Mitochondrial ATP synthasome: three-dimensional structure by electron microscopy of the ATP synthase in complex formation with carriers for Pi and ADP/ATP. *J. Biol. Chem.* **279**, 31761–31768.
 53. Chinopoulos C., Adam-Vizi V. 2010. Mitochondria as ATP consumers in cellular pathology. *Biochim. Biophys. Acta.* **1802**, 221–227.
 54. Mitchell P. 1961. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature.* **191**, 144–148.
 55. Murphy M. P. 2009. How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem. J.* **417**, 1–13.
 56. Poyton R.O., Ball K.A., Castello P.R. 2009. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling. *Trends Endocrinol. Metab.* **20**, 332–340.
 57. Poyton R.O., Castello P.R., Ball K.A., Woo D.K., Pan N. 2009. Mitochondria and hypoxic signaling: a new view. *Ann. NY Acad. Sci.* **1177**, 48–56.
 58. St-Pierre J., Buckingham J.A., Roebuck S.J., Brand M.D. 2002. Topology of superoxide production from different sites in the mitochondrial electron transport chain. *J. Biol. Chem.* **277**, 44784–44790.
 59. Sun J., Trumppower B.L. 2003. Superoxide anion generation by the cytochrome bc₁ complex. *Arch. Biochem. Biophys.* **419**, 198–206.
 60. Giulivi C. 2003. Characterization and function of mitochondrial nitric-oxide synthase. *Free Radic. Biol. Med.* **34**, 397–408.
 61. Giulivi C. 2007. Mitochondria as generators and targets of nitric oxide. *Novartis Fdn Symp.* **287**, 92–100.
 62. Melov S., Coskun P., Patel M., Tuinstra R., Cottrell B., Jun A.S., Zastawny T.H., Dizdaroglu M., Goodman S.I., Huang T.T., Mizioro H., Epstein C.J., Wallace D.C. 1999. Mitochondrial disease in superoxide dismutase 2 mutant mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **96**, 846–851.
 63. Andreyev A.Y., Kushnareva Y.E., Starkov A.A. 2005. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (Mosc).* **70**, 200–214.
 64. Fariss M.W., Chan C.B., Patel M., van Houten B., Orrenius S. 2005. Role of mitochondria in toxic oxidative stress. *Mol. Interv.* **5**, 94–111.
 65. Yamakura F., Taka H., Fujimura T., Murayama K. 1998. Inactivation of human manganese-superoxide dismutase by peroxynitrite is caused by exclusive nitration of tyrosine 34 to 3-nitrotyrosine. *J. Biol. Chem.* **273**, 14085–14089.
 66. Riobó N.A., Clementi E., Melani M., Boveris A., Cadenas E., Moncada S., Poderoso J.J. 2001. Nitric oxide inhibits mitochondrial NADH:ubiquinone reductase activity through peroxynitrite formation. *Biochem. J.* **359**, 139–145.
 67. Clementi E., Brown G.C., Feelisch M., Moncada S. 1998. Persistent inhibition of cell respiration by nitric oxide: crucial role of S-nitrosylation of mitochondrial complex I and protective action of glutathione. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **95**, 7631–7636.
 68. Kroemer G., Petit P., Zamzami N., Vayssière J.L., Mignotte B. 1995. The biochemistry of programmed cell death. *FASEB J.* **9**, 1277–1287.
 69. Perkins G., Bossy-Wetzel E., Ellisman M.H. 2009. New insights into mitochondrial structure during cell death. *Exp. Neurol.* **218**, 183–192.
 70. Scorrano L. 2009. Opening the doors to cytochrome c: changes in mitochondrial shape and apoptosis. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* **41**, 1875–1883.
 71. Wallace D.C., Ye J.H., Neckelmann S.N., Singh G., Webster K.A., Greenberg B.D. 1987. Sequence analysis of cDNAs for the human and bovine ATP synthase beta subunit: mitochondrial DNA genes sustain seventeen times more mutations. *Curr. Genet.* **12**, 81–90.
 72. Тодоров И.Н., Тодоров Г.И. 2009. Мультифакторная природа высокой частоты мутаций в мтДНК соматических клеток млекопитающих. *Биохимия.* **74**, 1184–1194.
 73. Turnbull H.E., Lax N.Z., Diodato D., Ansorge O., Turnbull D.M. 2010. The mitochondrial brain: From mitochondrial genome to neurodegeneration. *Biochim. Biophys. Acta.* **1802**, 111–121.
 74. Abramov A.Y., Smulders-Srinivasan T.K., Kibry D.M., Acín-Pérez R., Enriquez J.A., Lightowers R.N., Duchon M.R., Turnbull D.M. 2010. Mechanism of neurodegeneration of neurons with mitochondrial DNA mutations. *Brain.* **133**, 797–807.
 75. Munnich A., Rustin P. 2001. Clinical spectrum and diagnosis of mitochondrial disorders. *Am. J. Med. Genet.* **106**, 4–17.

76. Taylor R.W., Schaefer A.M., Barron M.J., McFarland R., Turnbull D.M. 2004. The diagnosis of mitochondrial muscle disease. *Neuromuscul. Disord.* **14**, 237–245.
77. Haas R.H., Parikh S., Falk M.J., Saneto R.P., Wolf N.I., Darin N., Cohen B.H. 2007. Mitochondrial disease: a practical approach for primary care physicians. *Pediatrics.* **120**, 1326–1333.
78. Haas R.H., Parikh S., Falk M.J., Saneto R.P., Wolf N.I., Darin N., Wong L.J., Cohen B.H., Naviaux R.K. 2008. The in-depth evaluation of suspected mitochondrial disease. *Mol. Genet. Metab.* **94**, 16–37.
79. Rahman S., Hanna M.G. 2009. Diagnosis and therapy in neuromuscular disorders: diagnosis and new treatments in mitochondrial diseases. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* **80**, 943–953.
80. McFarland R., Turnbull D.M. 2009. Batteries not included: diagnosis and management of mitochondrial disease. *J. Intern. Med.* **265**, 210–228.
81. Wong L.J. 2007. Pathogenic mitochondrial DNA mutations in protein-coding genes. *Muscle Nerve.* **36**, 279–293.
82. Rotig A. 2010. Genetic bases of mitochondrial respiratory chain disorders. *Diabetes Metab.* **36**, 97–107.
83. Carelli V., La Morgia C., Valentino M.L., Barboni P., Ross-Cisneros F.N., Sadun A.A. 2009. Retinal ganglion cell neurodegeneration in mitochondrial inherited disorders. *Biochim. Biophys. Acta.* **1787**, 518–528.
84. Yu-Wai-Man P., Griffiths P.G., Hudson G., Chinnery P.F. 2009. Inherited mitochondrial optic neuropathies. *J. Med. Genet.* **46**, 145–158.
85. Brown M.D., Starikovskaya E., Derbeneva O., Hosseini S., Allen J.C., Mikhailovskaya I.E., Sukernik R.I., Wallace D.C. 2002. The role of mtDNA background in disease expression: a new primary LHON mutation associated with Western Eurasian haplogroup. *J. Hum. Genet.* **110**, 130–138.
86. Hudson G., Carelli V., Spruijt L., Gerards M., Mowbray C., Achilli A., Pyle A., Elson J., Howell N., La Morgia C., Valentino M.L., Huoponen K., Savontaus M.L., Nikoskelainen E., Sadun A.A., Salomaa S.R., Belfort R.Jr., Griffiths P., Man P.Y., de Coo R.F., Horvath R., Zeviani M., Smeets H.J., Torroni A., Chinnery P.F. 2007. Clinical expression of Leber hereditary optic neuropathy is affected by the mitochondrial DNA-haplogroup background. *Am. J. Hum. Genet.* **81**, 228–233.
87. Володько Н.В., Львова М.А., Стариковская Е.Б., Дербенева О.А., Бычков И.Ю., Михайловская И.Е., Погожева И.В., Федотов Ф.Ф., Соян Г.В., Прокачио В., Уоллес Д.С., Сукерник Р.И. 2006. Спектр патогенных мутаций мтДНК в семьях больных наследственной нейропатией зрительного нерва Лебера в Сибири. *Генетика.* **42**, 78–87.
88. Finsterer J. 2008. Leigh and Leigh-like syndrome in children and adults. *Pediatr. Neurol.* **39**, 223–235.
89. Johns D.R., Neufeld M.J. 1991. Cytochrome b mutations in Leber hereditary optic neuropathy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **181**, 1358–1364.
90. Valnot I., Kassis J., Chretien D., de Lonlay P., Parfait B., Munnich A., Kachaner J., Rustin P., Rötig A. 1999. A mitochondrial cytochrome b mutation but no mutations of nuclear encoded subunits in ubiquinol cytochrome c reductase (complex III) deficiency. *Hum. Genet.* **104**, 460–466.
91. Abu-Amero K.K., Bosley T.M. 2006. Mitochondrial abnormalities in patients with LHON-like optic neuropathies. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **47**, 4211–4220.
92. Lévêque M., Marlin S., Jonard L., Procaccio V., Reynier P., Amati-Bonneau P., Baulande S., Pierron D., Lacombe D., Duriez F., Francannet C., Mom T., Journel H., Catros H., Drouin-Garraud V., Obstoy M.F., Dollfus H., Eliot M.M., Faivre L., Duvillard C., Couderc R., Garabedian E.N., Petit C., Feldmann D., Denoyelle F. 2007. Whole mitochondrial genome screening in maternally inherited non-syndromic hearing impairment using a microarray resequencing mitochondrial DNA chip. *Eur. J. Hum. Genet.* **15**, 1145–1155.
93. Petros J.A., Baumann A.K., Ruiz-Pesini E., Amin M.B., Sun C.Q., Hall J., Lim S., Issa M.M., Flanders W.D., Hosseini S.H., Marshall F.F., Wallace D.C. 2005. mtDNA mutations increase tumorigenicity in prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **102**, 719–724.
94. Perucca-Lostanlen D., Narbonne H., Hernandez J.B., Staccini P., Saunieres A., Paquis-Flucklinger V., Vialettes B., Desnuelle C. 2000. Mitochondrial DNA variations in patients with maternally inherited diabetes and deafness syndrome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **3**, 771–775.
95. Schon E.A., Santra S., Pallotti F., Girvin M.E. 2001. Pathogenesis of primary defects in mitochondrial ATP synthesis. *Semin. Cell. Dev. Biol.* **12**, 441–448.
96. Solaini G., Harris D.A., Lenaz G., Sgarbi G., Baracca A. 2008. The study of the pathogenic mechanism of mitochondrial diseases provides information on basic bioenergetics. *Biochim. Biophys. Acta.* **1777**, 941–945.
97. D'Aurelio M., Vives-Bauza C., Davidson M.M., Manfredi G. 2010. Mitochondrial DNA background modifies the bioenergetics of NARP/MILS ATP6 mutant cells. *Hum. Mol. Genet.* **19**, 374–386.
98. Cortopassi G., Hutchin T. 1994. A molecular and cellular hypothesis for aminoglycoside-induced deafness. *Hear Res.* **78**, 27–30.
99. Kokotas H., Petersen M.B., Willems P.J. 2007. Mitochondrial deafness. *Clin. Genet.* **71**, 379–391.
100. Finsterer J. 2007. Genetic, pathogenetic, and phenotypic implications of the mitochondrial A3243G tRNA^{Leu}(UUR) mutation. *Acta Neurol. Scand.* **116**, 1–14.
101. Ma Y., Fang F., Yang Y., Zou L., Zhang Y., Wang S., Xu Y., Pei P., Qi Y. 2009. The study of mitochondrial A3243G mutation in different samples. *Mitochondrion.* **9**, 139–143.
102. Sue C.M., Quigley A., Katsabanis S., Kapsa R., Crimmins D.S., Byrne E., Morris J.G. 1998. Detection of MELAS A3243G point mutation in muscle, blood and hair follicles. *J. Neurol. Sci.* **161**, 36–39.
103. Silvestri G., Ciafaloni E., Santorelli F.M., Shanske S., Servidei S., Graf W.D., Sumi M., DiMauro S. 1993. Clinical features associated with the A→G transition at nucleotide 8344 of mtDNA (“MERRF mutation”). *Neurology.* **43**, 1200–1206.

104. Shoffner J.M., Lott M.T., Lezza A.M., Seibel P., Ballinger S.W., Wallace D.C. 1990. Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNA(Lys) mutation. *Cell*. **6**, 931–937.
105. Krishnan K.J., Reeve A.K., Samuels D.C., Chinnery P.F., Blackwood J.K., Taylor R.W., Wanrooij S., Spelbrink J.N., Lightowlers R.N., Turnbull D.M. 2008. What causes mitochondrial DNA deletions in human cells? *Nat. Genet.* **40**, 275–279.
106. Chinnery P.F., DiMauro S., Shanske S., Schon E.A., Zeviani M., Mariotti C., Carrara F., Lombes A., Laforet P., Ogier H., Jaksch M., Lochmüller H., Horvath R., Deschauer M., Thorburn D.R., Bindoff L.A., Poulton J., Taylor R.W., Matthews J.N., Turnbull D.M. 2004. Risk of developing a mitochondrial DNA deletion disorder. *Lancet*. **364**, 592–596.
107. Maceluch J.A., Niedziela M. 2006. The clinical diagnosis and molecular genetics of kearns-sayre syndrome: a complex mitochondrial encephalomyopathy. *Pediatr. Endocrinol. Rev.* **4**, 117–137.
108. van Goethem G., Martin J.J., van Broeckhoven C. 2003. Progressive external ophthalmoplegia characterized by multiple deletions of mitochondrial DNA: unraveling the pathogenesis of human mitochondrial DNA instability and the initiation of a genetic classification. *Neuromolecular Med.* **3**, 129–146.
109. Rötig A., Cormier V., Blanche S., Bonnefont J.P., Leideist F., Romero N., Schmitz J., Rustin P., Fischer A., Saudubray J.M. 1990. Pearson's marrow-pancreas syndrome. A multisystem mitochondrial disorder in infancy. *J. Clin. Invest.* **86**, 1601–1608.
110. Lee H.F., Lee H.J., Chi C.S., Tsai C.R., Chang T.K., Wang C.J. 2007. The neurological evolution of Pearson syndrome: case report and literature review. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* **11**, 208–214.
111. López-Gallardo E., López-Pérez M.J., Montoya J., Ruiz-Pesini E. 2009. CPEO and KSS differ in the percentage and location of the mtDNA deletion. *Mitochondrion*. **9**, 314–317.
112. Dimmer K.S., Rapaport D. 2008. Proteomic view of mitochondrial function. *Genome Biol.* **9**, 209.
113. Ruiz-Romeo C., Blanco F.J. 2009. Mitochondrial proteomics and its application in biomedical research. *Mol. BioSyst.* **5**, 1130–1142.
114. Jacobs H.T., Turnbull D.M. 2005. Nuclear genes and mitochondrial translation: a new class of genetic disease. *Trends Genet.* **21**, 312–314.
115. Zhu X., Peng X., Guan M.-X., Yan Q. 2009. Pathogenic mutations of nuclear genes associated with mitochondrial disorders. *Acta Biochim. Biophys. Sin.* **41**, 179–187.
116. Kmiec B., Woloszyńska M., Janska H. 2006. Heteroplasmy as a common state of mitochondrial genetic information in plants and animals. *Curr. Genet.* **50**, 149–159.
117. Wonnapijit P., Chinnery P.F., Samuels D.C. 2008. The distribution of mitochondrial DNA heteroplasmy due to random genetic drift. *Am. J. Hum. Genet.* **83**, 582–593.
118. Gilkerson R.W., Schon E.A. 2008. Nucleoid autonomy: An underlying mechanism of mitochondrial genetics with therapeutic potential. *Commun. Integr. Biol.* **1**, 34–36.
119. Gilkerson R.W. 2009. Mitochondrial DNA nucleoids determine mitochondrial genetics and dysfunction. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **41**, 1899–1906.
120. Lightowlers R.N., Chinnery P.F., Turnbull D.M., Howell N. 1997. Mammalian mitochondrial genetics: heredity, heteroplasmy and disease. *Trends Genet.* **13**, 450–455.
121. DiMauro S., Schon E.A. 2001. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Am. J. Med. Genet.* **106**, 18–26.
122. van Blerkom J. 2008. Mitochondria as regulatory forces in oocytes, preimplantation embryos and stem cells. *Reprod. Biomed. Online*. **16**, 553–569.
123. van Blerkom J. 2009. Mitochondria in early mammalian development. *Semin. Cell Dev. Biol.* **20**, 354–64.
124. Ramalho-Santos J., Varum S., Amaral S., Mota P.C., Sousa A.P., Amaral A. 2009. Mitochondrial functionality in reproduction: from gonads and gametes to embryos and embryonic stem cells. *Hum. Reprod. Update*. **15**, 553–572.
125. Hauswirth W.W., Laipis P.J. 1982. Mitochondrial DNA polymorphism in a maternal lineage of Holstein cows. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **79**, 4686–4690.
126. Jansen R.P., de Boer K. 1998. The bottleneck: mitochondrial imperatives in oogenesis and ovarian follicular fate. *Mol. Cell. Endocrinol.* **145**, 81–88.
127. Shoubridge E.A., Wai T. 2007. Mitochondrial DNA and the mammalian oocyte. *Curr. Top. Dev. Biol.* **77**, 87–111.
128. Cao L., Shitara H., Horii T., Nagao Y., Imai H., Abe K., Hara T., Hayashi J., Yonekawa H. 2007. The mitochondrial bottleneck occurs without reduction of mtDNA content in female mouse germ cells. *Nat. Genet.* **39**, 386–390.
129. Cree L.M., Samuels D.C., de Sousa Lopes S.C., Rajasimha H.K., Wonnapijit P., Mann J.R., Dahl H.H., Chinnery P.F. 2008. A reduction of mitochondrial DNA molecules during embryogenesis explains the rapid segregation of genotypes. *Nat. Genet.* **40**, 249–254.
130. Stewart J.B., Freyer C., Elson J.L., Larsson N.G. 2008. Purifying selection of mtDNA and its implications for understanding evolution and mitochondrial disease. *Nat. Rev. Genet.* **9**, 657–662.
131. Wai T., Teoli D., Shoubridge E.A. 2008. The mitochondrial DNA genetic bottleneck results from replication of a subpopulation of genomes. *Nat. Genet.* **40**, 1484–1488.
132. Cummins J.M. 2001. Mitochondria: potential roles in embryogenesis and nucleocytoplasmic transfer. *Hum. Reprod. Update*. **7**, 217–228.
133. Kurelac I., Lang M., Zuntini R., Bartoletti S.A., Santamaria M., Attimonelli M., Gasparre G., Romeo G. 2009. Experimental and critical assessment of six methodological approaches to quantify heteroplasmy of mitochondrial mutations. *Europ. Hum. Genet. Conf. 2009*. Vienna, Austria – May 23–26, 2009. Abstract/Poster.

134. Wong L.J., Bai R.K. 2006. Real-time quantitative polymerase chain reaction analysis of mitochondrial DNA point mutation. *Methods Mol. Biol.* **335**, 187–200.
135. Poe B.G., Navratil M., Arriaga E.A. 2007. Absolute quantitation of a heteroplasmic mitochondrial DNA deletion using a multiplex three-primer real-time PCR assay. *Anal. Biochem.* **362**, 193–200.
136. Bai R.K., Wong L.J. 2006. Detection and quantification of heteroplasmic mutant mitochondrial DNA by real-time amplification refractory mutation system quantitative PCR analysis: a single-step approach. *Clin. Chem.* **50**, 996–1001.
137. Thèves C., Keyser-Tracqui C., Crubézy E., Salles J.P., Ludes B., Telmon N. 2006. Detection and quantification of the age-related point mutation A189G in the human mitochondrial DNA. *J. Forensic Sci.* **51**, 865–873.
138. Alvarez-Iglesias V., Barros F., Carracedo A., Salas A. 2008. Minisequencing mitochondrial DNA pathogenic mutations. *BMC Med. Genet.* **10**, 9–26.
139. White H.E., Durston V.J., Seller A., Fratter C., Harvey J.F., Cross N.C. 2005. Accurate detection and quantitation of heteroplasmic mitochondrial point mutations by pyrosequencing. *Genet. Test.* **9**, 190–199.
140. Mashima Y., Nagano M., Funayama T., Zhang Q., Egashira T., Kudho J., Shimizu N., Oguchi Y. 2003. Rapid quantification of the heteroplasmy of mutant mitochondrial DNAs in Leber's hereditary optic neuropathy using the Invader technology. *Clin. Biochem.* **37**, 268–276.
141. Pati N., Schowinsky V., Kokanovic O., Magnuson V., Ghosh S. 2004. A comparison between SNaPshot, pyrosequencing, and biplex invader SNP genotyping methods: accuracy, cost, and throughput. *J. Biochem. Biophys. Methods.* **60**, 1–12.
142. Du W., Li W., Chen G., Cao H., Tang H., Tang X., Jin Q., Sun Z., Zhao H., Zhou W., He S., Lv Y., Zhao J., Zhang X. 2009. Detection of known base substitution mutations in human mitochondrial DNA of MERRF and MELAS by biochip technology. *Biosens. Bioelectron.* **24**, 2371–2376.
143. Nishigaki Y., Ueno H., Coku J., Koga Y., Fujii T., Sashiki K., Nakano K., Yoneda M., Nonaka M., Tang L., Liou C.W., Paquis-Flucklinger V., Harigaya Y., Ibi T., Goto Y.I., Hosoya H., Dimauro S., Hirano M., Tanaka M. 2010. Extensive screening system using suspension array technology to detect mitochondrial DNA point mutations. *Mitochondrion.* **10**, 300–308.
144. Chinnery P., Majamaa K., Turnbull D., Thorburn D. 2006. Treatment for mitochondrial disorders. *Cochrane. Database. Syst. Rev.* **1**, CD004426.
145. Dimauro S., Rustin P. 2009. A critical approach to the therapy of mitochondrial respiratory chain and oxidative phosphorylation diseases. *Biochim. Biophys. Acta.* **1792**, 1159–1167.
146. Parikh S., Saneto R., Falk M.J., Anselm I., Cohen B.H., Haas R., Medicine Society T.M. 2009. A modern approach to the treatment of mitochondrial disease. *Curr. Treat. Options Neurol.* **11**, 414–430.
147. Finsterer J. 2010. Treatment of mitochondrial disorders. *Eur. J. Paediatr. Neurol.* **14**, 29–44.
148. Finsterer J., Segall L. 2010. Drugs interfering with mitochondrial disorders. *Drug. Chem. Toxicol.* **33**, 138–151.
149. Kerr D.S. 2010. Treatment of mitochondrial electron transport chain disorders: A review of clinical trials over the past decade. *Mol. Genet. Metab.* **99**, 246–255.
150. Taivassalo T., Haller R.G. 2004. Implications of exercise training in mtDNA defects—use it or lose it? *Biochim. Biophys. Acta.* **1659**, 221–231.
151. Taivassalo T., Haller R.G. 2005. Exercise and training in mitochondrial myopathies. *Med. Sci. Sports Exerc.* **37**, 2094–2101.
152. Gardner J.L., Craven L., Turnbull D.M., Taylor R.W. 2007. Experimental strategies towards treating mitochondrial DNA disorders. *Biosci. Rep.* **27**, 139–150.
153. Edmonds J.L. Jr. 2004. Surgical and anesthetic management of patients with mitochondrial dysfunction. *Mitochondrion.* **4**, 543–548.
154. Footitt E.J., Sinha M.D., Raiman J.A., Dhawan A., Moganasundram S., Champion M.P. 2008. Mitochondrial disorders and general anaesthesia: a case series and review. *Br. J. Anaesth.* **100**, 436–441.
155. Chinnery P.F., Bindoff L.A., European neuromuscular center. 2003. *116th ENMC international workshop: the treatment of mitochondrial disorders*, 14th–16th March 2003, Naarden, The Netherlands. *Neuromuscul. Disord.* **13**, 757–764.
156. Oca-Cossio J., Kenyon L., Hao H., Moraes C.T. 2003. Limitations of allotopic expression of mitochondrial genes in mammalian cells. *Genetics.* **165**, 707–720.
157. Manfredi G., Fu J., Ojaimi J., Sadlock J.E., Kwong J.Q., Guy J., Schon E.A. 2002. Rescue of a deficiency in ATP synthesis by transfer of MTATP6, a mitochondrial DNA-encoded gene, to the nucleus. *Nat. Genet.* **30**, 394–399.
158. Guy J., Qi X., Pallotti F., Schon E.A., Manfredi G., Carelli V., Martinuzzi A., Hauswirth W.W., Lewin A.S. 2002. Rescue of a mitochondrial deficiency causing Leber Hereditary Optic Neuropathy. *Ann. Neurol.* **52**, 534–542.
159. Zullo S.J., Parks W.T., Chloupkova M., Wei B., Weiner H., Fenton W.A., Eisenstadt J.M., Merrill C.R. 2005. Stable transformation of CHO Cells and human NARP cybrids confers oligomycin resistance (oli(r)) following transfer of a mitochondrial DNA-encoded oli(r) ATPase6 gene to the nuclear genome: a model system for mtDNA gene therapy. *Rejuvenation Res.* **8**, 18–28.
160. Bonnet C., Augustin S., Ellouze S., Bénit P., Bouaita A., Rustin P., Sahel J.A., Corral-Debrinski M. 2008. The optimized allotopic expression of *ND1* or *ND4* genes restores respiratory chain complex I activity in fibroblasts harboring mutations in these genes. *Biochim. Biophys. Acta.* **1783**, 1707–1717.
161. Bonnet C., Kaltimbacher V., Ellouze S., Augustin S., Bénit P., Forster V., Rustin P., Sahel J.A., Corral-Debrinski M. 2007. Allotopic mRNA localization to the mitochondrial surface rescues respiratory chain defects in fibroblasts harboring mitochondrial DNA mutations affecting complex I or v subunits. *Rejuvenation Res.* **10**, 127–144.

162. Ellouze S., Augustin S., Bouaita A., Bonnet C., Simonutti M., Forster V., Picaud S., Sahel J.A., Corral-Debrinski M. 2008. Optimized allotopic expression of the human mitochondrial ND4 prevents blindness in a rat model of mitochondrial dysfunction. *Am. J. Hum. Genet.* **83**, 373–387.
163. Seo B.B., Wang J., Flotte T.R., Yagi T., Matsuno-Yagi A. 2000. Use of the NADH-quinone oxidoreductase (ND1) gene of *Saccharomyces cerevisiae* as a possible cure for complex I defects in human cells. *J. Biol. Chem.* **275**, 37774–37778.
164. Park J.S., Li Y.F., Bai Y. 2007. Yeast ND11 improves oxidative phosphorylation capacity and increases protection against oxidative stress and cell death in cells carrying a Leber's hereditary optic neuropathy mutation. *Biochim. Biophys. Acta.* **1772**, 533–542.
165. Marella M., Seo B.B., Yagi T., Matsuno-Yagi A. 2009. Parkinson's disease and mitochondrial complex I: a perspective on the Ndi1 therapy. *J. Bioenerg. Biomembr.* **41**, 493–497.
166. Hakkaart G.A., Dassa E.P., Jacobs H.T., Rustin P. 2006. Allotopic expression of a mitochondrial alternative oxidase confers cyanide resistance to human cell respiration. *EMBO Rep.* **7**, 341–345.
167. Kolesnikova O.A., Entelis N.S., Mireau H., Fox T.D., Martin R.P., Tarassov I.A. 2000. Suppression of mutations in mitochondrial DNA by tRNAs imported from the cytoplasm. *Science.* **289**, 1931–1933.
168. Entelis N.S., Kolesnikova O.A., Martin R.P., Tarassov I.A. 2001. RNA delivery into mitochondria. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **49**, 199–215.
169. Kolesnikova O.A., Entelis N.S., Jacquin-Becker C., Goltzene F., Chrzanowska-Lightowlers Z.M., Lightowlers R.N., Martin R.P., Tarassov I. 2004. Nuclear DNA-encoded tRNAs targeted into mitochondria can rescue a mitochondrial DNA mutation associated with the MERRF syndrome in cultured human cells. *Hum. Mol. Genet.* **13**, 2519–2534.
170. Mahata B., Mukherjee S., Mishra S., Bandyopadhyay A., Adhya S. 2006. Functional delivery of a cytosolic tRNA into mutant mitochondria of human cells. *Science.* **314**, 471–474.
171. Mukherjee S., Mahata B., Mahato B., Adhya S. 2008. Targeted mRNA degradation by complex-mediated delivery of antisense RNAs to intracellular human mitochondria. *Hum. Mol. Genet.* **17**, 1292–1298.
172. Ling J., Roy H., Qin D., Rubio M.A., Alfonso J.D., Fredrick K., Ibba M. 2007. Pathogenic mechanism of a human mitochondrial tRNAPhe mutation associated with myoclonic epilepsy with ragged red fibers syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **104**, 15299–15304.
173. Rorbach J., Soleimanpour-Lichaei R., Lightowlers R.N., Chrzanowska-Lightowlers Z.M. 2007. How do mammalian mitochondria synthesize proteins? *Biochem. Soc. Trans.* **35**, 1290–1291.
174. Park H., Davidson E., King M.P. 2008. Overexpressed mitochondrial leucyl-tRNA synthetase suppresses the A3243G mutation in the mitochondrial tRNA(Leu(UUR)) gene. *RNA.* **14**, 2407–2416.
175. Tanaka M., Borgeld H.J., Zhang J., Muramatsu S., Gong J.S., Yoneda M., Maruyama W., Naoi M., Ibi T., Sahashi K., Shamoto M., Fuku N., Kurata M., Yamada Y., Nishizawa K., Akao Y., Ohishi N., Miyabayashi S., Umemoto H., Muramatsu T., Furukawa K., Kikuchi A., Nakano I., Ozawa K., Yagi K. 2002. Gene therapy for mitochondrial disease by delivering restriction endonuclease SmaI into mitochondria. *J. Biomed. Sci.* **9**, 534–541.
176. Bacman S.R., Williams S.L., Hernandez D., Moraes C.T. 2007. Modulating mtDNA heteroplasmy by mitochondria-targeted restriction endonucleases in a 'differential multiple cleavage-site' model. *Gene Ther.* **14**, 1309–1318.
177. Taylor R.W., Chinnery P.F., Turnbull D.M., Lightowlers R.N. 1997. Selective inhibition of mutant human mitochondrial DNA replication *in vitro* by peptide nucleic acids. *Nat. Genet.* **15**, 212–215.
178. Chinnery P.F., Taylor R.W., Diekert K., Lill R., Turnbull D.M., Lightowlers R.N. 1999. Peptide nucleic acid delivery to human mitochondria. *Gene Ther.* **6**, 1919–1928.
179. Muratovska A., Lightowlers R.N., Taylor R.W., Turnbull D.M., Smith R.A., Wilce J.A., Martin S.W., Murphy M.P. 2001. Targeting peptide nucleic acid (PNA) oligomers to mitochondria within cells by conjugation to lipophilic cations: implications for mitochondrial DNA replication, expression and disease. *Nucleic Acids Res.* **29**, 1852–1863.
180. Taylor R.W., Wardell T.M., Smith P.M., Muratovska A., Murphy M.P., Turnbull D.M., Lightowlers R.N. 2001. An antigenomic strategy for treating heteroplasmic mtDNA disorders. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **49**, 121–125.
181. Flierl A., Jackson C., Cottrell B., Murdock D., Seibel P., Wallace D.C. 2003. Targeted delivery of DNA to the mitochondrial compartment via import sequence-conjugated peptide nucleic acid. *Mol. Ther.* **7**, 550–557.
182. Kyriakouli D.S., Boesch P., Taylor R.W., Lightowlers R.N. 2008. Progress and prospects: gene therapy for mitochondrial DNA disease. *Gene Ther.* **15**, 1017–1023.
183. Minczuk M., Papworth M.A., Kolasinska P., Murphy M.P., Klug A. 2006. Sequence-specific modification of mitochondrial DNA using a chimeric zinc finger methylase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **103**, 19689–19694.
184. Spees J.L., Olson S.D., Whitney M.J., Prockop D.J. 2005. Mitochondrial transfer between cells can rescue aerobic respiration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **103**, 1283–1238.
185. Csordás A. 2006. Mitochondrial transfer between eukaryotic animal cells and its physiologic role. *Rejuvenation Res.* **9**, 450–454.
186. Dani M.A., Dani S.U. 2010. Improving upon nature's somatic mitochondrial DNA therapies. *Med. Hypotheses.* **74**, 1021–1025.
187. Yamada Y., Harashima H. 2008. Mitochondrial drug delivery systems for macromolecule and their therapeutic application to mitochondrial diseases. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **60**, 1439–1462.

188. Boddapati S.V., D'Souza G.G., Weissig V. 2010. Liposomes for drug delivery to mitochondria. *Methods Mol. Biol.* **605**, 295–303.
189. Brown D.T., Herbert M., Lamb V.K., Chinnery P.F., Taylor R.W., Lightowlers R.N., Craven L., Cree L., Gardner J.L., Turnbull D.M. 2006. Transmission of mitochondrial DNA disorders: possibilities for the future. *Lancet.* **368**, 87–89.
190. Poulton J., Kennedy S., Oakeshott P., Wells D. 2009. Preventing transmission of maternally inherited mitochondrial DNA diseases. *BMJ.* **338**, b94.
191. South S.T., Chen Z., Brothman A.R. 2008. Genomic medicine in prenatal diagnosis. *Clin. Obstet. Gynecol.* **51**, 62–73.
192. Poulton J., Turnbull D.M. 2000. 74th ENMC international workshop: mitochondrial diseases 19–20 november 1999, Naarden, the Netherlands. *Neuromuscul. Disord.* **10**, 460–462.
193. Geraedts J.P., De Wert G.M. 2009. Preimplantation genetic diagnosis. *Clin. Genet.* **76**, 315–325.
194. Dean N.L., Battersby B.J., Ao A., Gosden R.G., Tan S.L., Shoubridge E.A., Molnar M.J. 2003. Prospect of preimplantation genetic diagnosis for heritable mitochondrial DNA diseases. *Mol. Hum. Reprod.* **9**, 631–638.
195. Bickerstaff H., Flinter F., Yeong C.T., Braude P. 2001. Clinical application of preimplantation genetic diagnosis. *Hum. Fertil. (Cambridge).* **4**, 24–30.
196. Steffann J., Frydman N., Gigarel N., Bulet P., Ray P.F., Fanchin R., Feyereisen E., Kerbrat V., Tachdjian G., Bonfont J.P., Frydman R., Munnich A. 2006. Analysis of mtDNA variant segregation during early human embryonic development: a tool for successful NARP preimplantation diagnosis. *J. Med. Genet.* **43**, 244–247.
197. Bredenoord A.L., Dondorp W., Pennings G., De Die-Smulders C.E., De Wert G. 2008. PGD to reduce reproductive risk: the case of mitochondrial DNA disorders. *Hum. Reprod.* **23**, 2392–2401.
198. Bredenoord A.L., Pennings G., Smeets H.J., de Wert G. 2008. Dealing with uncertainties: ethics of prenatal diagnosis and preimplantation genetic diagnosis to prevent mitochondrial disorders. *Hum. Reprod. Update.* **14**, 83–94.
199. Bredenoord A., Dondorp W., Pennings G., de Die-Smulders C., Smeets B., de Wert G. 2009. Preimplantation genetic diagnosis for mitochondrial DNA disorders: ethical guidance for clinical practice. *Eur. J. Hum. Genet.* **17**, 1550–1559.
200. Brenner C.A., Barritt J.A., Willadsen S., Cohen J. 2000. Mitochondrial DNA heteroplasmy after human ooplasmic transplantation. *Fertil. Steril.* **74**, 573–578.
201. Cohen J., Scott R., Alikani M., Schimmel T., Munné S., Levron J., Wu L., Brenner C., Warner C., Willadsen S. 1998. Ooplasmic transfer in mature human oocytes. *Mol. Hum. Reprod.* **4**, 269–280.
202. Barritt J.A., Brenner C.A., Malter H.E., Cohen J. 2001. Mitochondria in human offspring derived from ooplasmic transplantation. *Hum. Reprod.* **16**, 513–516.
203. Hawes S.M., Sapienza C., Latham K.E. 2002. Ooplasmic donation in humans: the potential for epigenic modifications. *Hum. Reprod.* **17**, 850–852.
204. Harvey A.J., Gibson T.C., Quebedeaux T.M., Brenner C.A. 2007. Impact of assisted reproductive technologies: a mitochondrial perspective of cytoplasmic transplantation. *Curr. Top. Dev. Biol.* **77**, 229–249.
205. Taylor R.W., Turnbull D.M. 2005. Mitochondrial DNA mutations in human disease. *Nat. Rev. Genet.* **5**, 389–402.
206. Fulka H., Fulka J. Jr. 2007. The use of micromanipulation methods as a tool to prevention of transmission of mutated mitochondrial DNA. *Curr. Top. Dev. Biol.* **77**, 187–211.
207. Fulka J. Jr., Fulka H., John J. C. 2007. Transmission of mitochondrial DNA disorders: possibilities for the elimination of mutated mitochondria. *Cloning Stem Cells.* **9**, 47–50.
208. Bredenoord A.L., Pennings G., de Wert G. 2008. Ooplasmic and nuclear transfer to prevent mitochondrial DNA disorders: conceptual and normative issues. *Hum. Reprod. Update.* **14**, 669–678.
209. Fulka H., Langerova A., Barnetova I., Novakova Z., Mosko T., Fulka J. Jr. 2009. How to repair the oocyte and zygote? *J. Reprod. Dev.* **55**, 583–587.
210. Tachibana M., Sparman M., Sritanadomchai H., Ma H., Clepper L., Woodward J., Li Y., Ramsey C., Kolotushkina O., Mitalipov S. 2009. Mitochondrial gene replacement in primate offspring and embryonic stem cells. *Nature.* **461**, 367–372.
211. Khan S.M., Smigrodzki R.M., Swerdlow R.H. 2007. Cell and animal models of mtDNA biology: progress and prospects. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* **292**, 658–669.
212. Vempati U.D., Torraco A., Moraes C.T. 2008. Mouse models of oxidative phosphorylation dysfunction and disease. *Methods.* **46**, 241–247.
213. Wallace D.C., Fan W. 2009. The pathophysiology of mitochondrial disease as modeled in the mouse. *Genes Dev.* **23**, 1714–1736.
214. Lim K.S., Naviaux R.K., Wong S., Haas R.H. 2008. Pitfalls in the denaturing high-performance liquid chromatography analysis of mitochondrial DNA mutation. *J. Mol. Diagn.* **10**, 102–108.
215. Dobrowolski S.F., Hendrickx A.T., van den Bosch B.J., Smeets H.J., Gray J., Miller T., Sears M. 2009. Identifying sequence variants in the human mitochondrial genome using high-resolution melt (HRM) profiling. *Hum. Mutat.* **30**, 891–898.
216. Ojaimi J., Pan J., Santra S., Snell W.J., Schon E.A. An algal nucleus-encoded subunit of mitochondrial ATP synthase rescues a defect in the analogous human mitochondrial-encoded subunit. *Mol. Biol. Cell.* **13**, 3836–3844.