

LA TRADUCCIÓ GENÈTICA MITOCONDRIAL I MALALTIES ASSOCIADES

TANIT GUITART^{1,3} I LLUÍS RIBAS DE POUPLANA^{1,2}

¹ *Institute for Research in Biomedicine (IRB Barcelona), Barcelona*

² *Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), Barcelona*

³ *Adreça actual: Centre de Regulació Genòmica (CRG), Barcelona*

Adreça per a la correspondència: Lluís Ribas de Pouplana. Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats. Passeig de Lluís Companys, 23. 08010 Barcelona. Tel.: 934 034 868.
Adreça electrònica: lluis.ribas@irbbarcelona.org.

RESUM

En humans, com en la majoria d'organismes eucariotes, la síntesi proteica té lloc simultàniament al citoplasma i en òrgans que posseeixen un genoma propi. Els mitocondris requereixen una maquinària traduccional pròpia per sintetitzar els tretze polipèptids, codificats al genoma mitocondrial, que formen part dels complexos de la cadena respiratòria i la fosforilació oxidativa responsables de proporcionar energia a la cèl·lula. Els elements que componen aquesta maquinària es troben codificats tant al genoma mitocondrial com al nuclear i participen de manera coordinada en la traducció genètica. Mutacions en els gens que codifiquen aquests factors de l'aparell de traducció genètica mitocondrial desencadenen un ampli ventall de malalties greus en humans, caracteritzades per símptomes heterogenis que en dificulten el diagnòstic i tractament. Hi ha malalties mitocondrials humanes causades per mutacions en el DNA mitocondrial que afecten específicament els tRNA i rRNA i, a més, s'han descrit mutacions en proteïnes mitocondrials codificades en el genoma nuclear, entre les quals es troben mutacions en factors de traducció, enzims de processament i modificació dels tRNA, proteïnes mitoribosòmiques i aminoacil-tRNA-sintetases mitocondrials. La complexitat de les malalties mitocondrials, la varietat de símptomes que causen i la dificultat de manipular genèticament el DNA mitocondrial compliquen la recerca relacionada amb aquestes malalties i justifiquen la generació de models animals que permetin caracteritzar-les i desenvolupar noves estratègies terapèutiques.

Paraules clau: traducció genètica, malaltia mitocondrial, aminoacil-tRNA-sintetasa.

MITOCHONDRIAL GENE TRANSLATION AND RELATED DISEASES

SUMMARY

In humans, as in the majority of eukaryotic organisms, protein synthesis occurs simultaneously in the cytoplasm and in those organelles that possess their own genome. Mitochondria require its own translational machinery in order to synthesize the 13 polypeptides, encoded in the mitochondrial genome, which are part of the respiratory chain and the oxidative phosphorylation complexes, responsible for supplying energy to the cell. The elements that compose this machinery are encoded both in the mitochondrial and the nuclear genome, and participate in gene translation in a coordinate manner. Mutations in genes that code for these factors of the gene translation apparatus trigger a wide range of severe pathologies in humans, characterized by heterogeneous symptoms that difficult their diagnostic and treatment. There exist human mitochondrial diseases caused by mutations in the mitochondrial DNA which specifically affect tRNA and rRNA and, additionally, mutations in nuclear encoded mitochondrial proteins have been described, among which are mutations in translation factors, enzymes involved in tRNA processing and modification, mitoribosomal proteins, and aminoacyl-tRNA synthetases. The complexity of mitochondrial pathologies, the variety of symptoms they cause, and the difficulty to manipulate mitochondrial DNA complicate the research related to these diseases and justify the generation of animal models that allow their characterization and the development of new therapeutic strategies.

Key words: gene translation, mitochondrial disease, aminoacyl-tRNA synthetase.

La traducció genètica és un procés universal que té lloc en tots els organismes eucariotes i procariotes, i que consisteix en la descodificació consecutiva de la informació continguda en molècules de mRNA (àcid ribonucleic missatger) en forma de cadena polipeptídica, tot seguint escrupolosament les normes establertes pel codi genètic. El codi genètic estàndard, amb algunes excepcions, és utilitzat per tots els éssers vius, i consisteix en la correlació dels diferents triplets de nucleòtids de mRNA, anomenats *codons*, amb la vintena d'aminoàcids usats en la síntesi de proteïnes.

La traducció genètica requereix la participació de nombroses proteïnes i molècules de RNA que funcionen de manera coordinada. Els codons de mRNA no reconeixen directament els aminoàcids que es-

pecificuen, sinó que ho fan a través d'unes molècules adaptadores que relacionen minuciosament cada triplet de mRNA amb l'aminoàcid corresponent. Els tRNA (RNA de transferència) són aquestes molècules adaptadores. A la cèl·lula hi ha almenys un tRNA per a cada aminoàcid, però, en molts casos, diversos isoacceptors tenen l'habilitat de reconèixer els diferents codons que assignen un mateix aminoàcid, de manera única o redundant. Els tRNA són aminoacilats específicament amb l'aminoàcid assignat mitjançant les aminoacil-tRNA-sintetases (aaRS). Aquesta família d'enzims consta d'almenys vint proteïnes, una per a cada aminoàcid del codi genètic estàndard (Ribas de Pouplana i Schimmel, 2001).

La traducció genètica, tant procariota com eucariota, es pot dividir en dos estadis

principals: l'aminoacilació dels tRNA i la traducció ribosòmica. El primer estadi es basa en el reconeixement específic i l'activació de l'aminoàcid feta per l'aaRS, i en la incorporació d'aquest a l'extrem 3' del tRNA adient. Un cop el tRNA és aminoacilat, és dirigit mitjançant els factors d'iniciació o elongació cap al ribosoma, un complex format per proteïnes associades a molècules de rRNA (RNA ribosòmic), on té lloc la mecànica d'interacció entre els tRNA aminoacilats i els triplets de mRNA, i constitueix la peça central de la síntesi de proteïnes.

EL MITOCONDRI

Els mitocondris són òrgans presents en totes les cèl·lules nucleades eucariotes que transformen energia per impulsar reaccions cel·lulars, i per això la integritat mitocondrial és essencial per a la vida, i el trastorn de la seva funció pot veure's traduït en malaltia. Tot i que l'origen de la cèl·lula eucariota és, encara, motiu de controvèrsia, nombrosos estudis filogenètics donen suport a la teoria que aquesta és el producte d'una sèrie de processos endosimbiòtics produïts a través d'evolució horitzontal, per la fusió, o fusions, entre una cèl·lula arqueobacteriana i una cèl·lula eubacteriana (Sagan, 1967; Margulis, 1981; Cavalier-Smith, 1987; Margulis, 1993). En general, es considera que el mitocondri actual té un origen monofilètic, que prové d'un ancestre eubacterià de vida lliure (protomitocondri) que va ser captat per una cèl·lula hoste; tot i així, l'origen d'aquesta última encara està en ple debat (Gray *et al.*, 1999; Davidov i Jurkevitch, 2009). Diferents hipòtesis intenten explicar com l'ancestre mitocondrial va envair i evitar l'eliminació de l'hoste. Algunes d'aquestes teories postulen que l'origen dels eucariotes i dels mitocondris es donà de manera

simultània, quan un arqueobacteri metanogen es fusionà amb un α -proteobacteri metanòtrof amb l'objectiu d'obtenir compostos essencials per al metabolisme en condicions d'anòxia, com l'hidrogen (Martin i Muller, 1998). Una altra teoria proposa que la simbiosi tingué lloc entre un proteobacteri aerobi i un hoste anaerobi per sobreviure a la presència d'oxigen (Andersson *et al.*, 2003). Posteriorment, tingué lloc un segon procés d'endosimbiosi, en què l'eucariota mitocondriat captà un cianobacteri ancestral, que constitueixen els plastidis dels organismes fotosintètics actuals (Dyall *et al.*, 2004).

Pel seu estat en endosimbiosi, els protomitocondris van anar reduint progressivament el contingut del seu genoma, mitjançant la transferència de molts dels seus gens al genoma nuclear de l'hoste i l'eliminació d'enzims redundants (Gray *et al.*, 1999). Actualment, la majoria de les proteïnes mitocondrials estan codificades al genoma nuclear, mentre que el DNA mitocondrial (mtDNA) tan sols conserva un reduït nombre de gens que codifiquen proteïnes involucrades en la cadena respiratòria i la fosforilació oxidativa (OXPHOS), alguns tRNA i rRNA. Els mitocondris actuals són estructures intracel·lulars delimitades per un sistema de doble membrana, format per la MME (membrana mitocondrial externa) i la MMI (membrana mitocondrial interna), que s'associen formant xarxes complexes. Les dues membranes mitocondrials delimiten dos compartiments diferents: la matriu mitocondrial, que conté un elevat nombre d'enzims relacionats amb el metabolisme mitocondrial, proteïnes implicades en l'expressió de l'mtDNA, tRNA, rRNA i nombroses còpies del genoma mitocondrial; i l'espai intermembrana, que conté proteïnes involucrades amb la fisiologia, amb la mort cel·lular o amb la producció d'energia.

El genoma mitocondrial és un DNA cir-

cular de cadena doble similar al DNA bacterià primitiu (Leblanc *et al.*, 1997), que es troba en un elevat nombre de còpies formant agrupacions de DNA anomenades *nucleoides*. Aquestes estructures no estan protegides per histones, però s'han identificat proteïnes associades a aquestes que tenen un paper essencial en el manteniment de l'mtDNA, com ara Twinkle (Spelbrink *et al.*, 2001) o el factor de transcripció mtTFA (Difley i Stillman, 1991; Larsson *et al.*, 1998). Generalment, el genoma mitocondrial es transmet per herència materna, no presenta introns ni extenses regions intergèniques, té gens superposats, utilitza un codi genètic diferent de l'universal (Clayton, 2000) i, en animals, codifica 22 tRNA, 2 rRNA (12S i 16S) i 13 polipèptids estructurals que formen part del sistema OXPHOS. Com s'ha esmentat anteriorment, gran part de les proteïnes mitocondrials són codificades al genoma nuclear; entre aquestes, totes les proteïnes involucrades en la traducció genètica mitocondrial (vegeu la figura 2). El transport correcte d'aquestes proteïnes a l'òrganul és essencial per a la biogènesi i funció mitocondrials.

Des d'un punt de vista funcional els mitocondris són òrganuls que aprofiten l'energia amb finalitats biològiques, mitjançant el procés d'acoblament quimiostàtic que té lloc gràcies a la cadena transportadora d'electrons, també anomenada *cadena respiratòria*, localitzada a la membrana mitocondrial interna (Berg *et al.*, 2007). La cadena respiratòria consta de quatre grans complexos proteics formats per diverses subunitats, codificades tant al genoma nuclear com al mitocondrial. Tres d'aquests complexos són capaços de transportar electrons i bombar protons a l'espai intermembrana. El quart complex, que forma part del cicle de Krebs, és codificat al nucli i no té la capacitat d'impulsar protons. En el transport entre complexos també intervenen trans-

portadors electrònics, com ara el coenzim Q (ubiquinona) o el citocrom c.

La fosforilació oxidativa (OXPHOS) és el procés mitjançant el qual es forma ATP com a resultat del gradient electroquímich entre la MMI i l'espai intermembrana, fruit de la transferència d'electrons a través de la cadena respiratòria fins al O₂ i de l'impuls de protons a través de la MMI (Mitchell, 1961). Es genera una força protomotriu que consisteix en un gradient de pH, i el flux de protons que són retornats a la matriu mitocondrial impulsa la síntesi d'ATP. Com a conseqüència d'aquesta activitat el mitocondri és una de les principals fonts de ROS (*reactive oxygen species*; espècies reactives d'oxigen o radicals lliures). L'acumulació de ROS provoca danys a les membranes cellulars i al DNA, molt especialment a l'mtDNA, que no està proveït d'histones que el protegeixin, i per això el mitocondri posseeix defenses antioxidants, com ara el glutatió, una variant de la superòxid-dismutasa o la catalasa, que actuen per eliminar l'excés de ROS (Duchen, 2004).

A part de la cadena respiratòria i l'OXPHOS, el mitocondri acull el cicle de Krebs, també anomenat cicle dels àcids tricarbòxílics o cicle de l'àcid cítric, que subministra substrats reduïts a la cadena transportadora d'electrons. Aquesta via consta d'un seguit d'enzims, la majoria dels quals estan situats a la matriu mitocondrial, que converteixen l'acetil-CoA, que procedeix d'hidrats de carboni i de lípids, en diòxid de carboni (CO₂) i GTP. El cicle de Krebs, a més, proporciona precursors per a processos de biosíntesi de nucleòtids, proteïnes i grups hemo (Berg *et al.*, 2007).

Amb l'objectiu de garantir la síntesi correcta de tots els components essencials d'aquestes vies metabòliques que romanen codificades al genoma mitocondrial és necessari un sistema de traducció genètica independent del sistema citoplasmàtic.

Per tal que la traducció genètica mitocondrial tingui lloc, cal, per una banda, que l'mtDNA sigui correctament mantingut, replicat i transcrit i, per l'altra, que els diferents elements codificats en l'nDNA (DNA nuclear) que participen en la traducció genètica en aquest orgànul siguin correctament sintetitzats i transportats des del citoplasma (Smits *et al.*, 2010).

LA TRADUCCIÓ CITOPLASMÀTICA I MITOCONDRIAL

La traducció ribosòmica citoplasmàtica eucariota consta de quatre fases: iniciació, elongació, terminació i reciclatge (Pestova *et al.*, 2001; Kapp i Lorsch, 2004; Dale i Uhlenbeck, 2005; Hernández *et al.*, 2010) (vegeu la figura 1). La fase d'iniciació comença amb el reconeixement del Met-tRNA_i (metionil-tRNA d'iniciació) feta per l'eIF (*eukaryotic initiation factor*; factor d'iniciació eucariòtic) 2, i acaba quan aquest Met-tRNA_i s'acomoda al lloc P de la subunitat 40S del ribosoma.

Durant la fase d'elongació, el factor d'elongació eucariòtic 1A forma un complex ternari amb GTP amb un nou aminoacil-tRNA (aa-tRNA), i es dirigeix fins al lloc A del ribosoma. Un cop l'aa-tRNA s'ha assentat al lloc A, el centre peptidil-transferasa ribosòmic catalitza la formació d'un enllaç peptídic entre l'aminoàcid incorporat i el peptidil-tRNA. Un cop format l'enllaç peptídic, el tRNA desacilat se situa ara al lloc E del ribosoma i el peptidil-tRNA abandona el lloc A per acomodar-se al lloc P. L'alliberament del tRNA al lloc E acaba aquest cicle, el qual es repeteix fins que es detecta un codó de terminació a l'mRNA.

La fase de terminació té lloc en resposta a la presència d'un dels tres codons de terminació eucariotes (UGA, UAA o UAG) al lloc A del ribosoma. El factor de terminació

eucariòtic 1, juntament amb el factor eRF3 que hidrolitza l'enllaç èster entre el tRNA del lloc P i la cadena polipeptídica, alliberen el polipèptid complet del ribosoma (Pisarev *et al.*, 2007).

La traducció genètica als mitocondris té moltes similituds amb la traducció genètica procariota, fet que està en consonància amb l'origen endosimbiòtic d'aquests orgànuls. Tot i així, la traducció mitocondrial presenta certes particularitats que difereixen tant del sistema de traducció citoplasmàtic eucariota com del procariota. La traducció genètica mitocondrial, igual que la traducció procariota i la citoplasmàtica eucariota, està dividida en dos estadis: l'aminoacilació del tRNA i la traducció ribosòmica, que alhora està subdividida en quatre fases: iniciació, elongació, terminació i reciclatge, les quals requereixen la participació dels ribosomes mitocondrials (mitoribosomes) i de diversos factors de traducció.

MALALTIES MITOCONDRIALS HUMANES DE TRADUCCIÓ GENÈTICA

Un elevat nombre de malalties humanes són causades per alteracions en components involucrats en la traducció gènica. Les mutacions que afecten proteïnes de l'aparell de traducció genètica citoplasmàtica donen lloc a un ampli ventall de malalties que mostren un grau d'afectació variable segons el teixit o l'òrgan (Scheper *et al.*, 2007b). En aquesta revisió ens centrarem, però, en les malalties causades per components de la maquinària mitocondrial de traducció gènica.

Les malalties hereditàries mitocondrials són un grup heterogeni de desordres causats per mutacions en gens de l'mtDNA o de l'nDNA que codifiquen proteïnes, tRNA o rRNA relacionats amb la funció mito-

condrial. Les característiques clíniques d'aquestes malalties són molt variables, fet que en dificulta el diagnòstic i tractament. Les primeres malalties mitocondrials humanes descrites, l'any 1988, van ser la KSS (*Kearns-Sayre syndrome*; síndrome de Kearns-Sayre), causada per extenses delecions de mtDNA (Holt *et al.*, 1988), i la LHON (*Leber hereditary optic neuropathy*; neuropatia òptica hereditària de Leber), fruit de mutacions puntuals en el genoma mitocondrial (Wallace *et al.*, 1988). Des d'aleshores, s'han identificat centenars de mutacions relacionades amb malalties mitocondrials, tant en l'mtDNA com en l'nDNA (Ruiz-Pesini *et al.*, 2007) (vegeu la figura 2).

Les malalties associades a mutacions en tRNA i rRNA mitocondrials es veuen influenciades per l'heteroplàsmia, és a dir, per la coexistència de poblacions de mtDNA wt (*wild-type*; de tipus salvatge) i de mtDNA mutant. Durant la divisió cel·lular els mitocondris es distribueixen a l'atzar entre les cèl·lules filles, de manera que la proporció de mtDNA mutant pot variar entre teixits d'un mateix individu. Les mutacions somàtiques de l'mtDNA apareixen en molts casos per l'efecte dels ROS, i la manca de mecanismes eficients de reparació fa que aquestes s'acumulin amb l'edat. Durant l'oogènesi les molècules de mtDNA són repartides en oòcits i es genera un ventall d'heteroplàsmia, fet que té implicacions importants en la transmissió de l'mtDNA mutant, així com en el grau d'expressió clínica de la malaltia en la descendència (Schapira, 2006). La manifestació de la malaltia té lloc quan el nombre de còpies de mtDNA mutant és el suficient per impedir el metabolisme energètic que permet el funcionament correcte d'un teixit, fenomen conegut com a efecte llindar. Per això, tot i que els defectes de l'mtDNA poden afectar tot tipus de teixits, perjudiquen especialment aquells que tenen un alt requisit energètic, com el múscul, el cor o el

sistema nerviós. La connexió genotip-fenotip en les malalties de l'mtDNA és complexa, atès que una malaltia pot ser deguda a diferents mutacions i una mutació pot correlacionar amb diverses malalties.

Els tRNA i rRNA mitocondrials tenen un paper clau en la traducció de les proteïnes mitocondrials que formen part de la cadena respiratòria; per això, en molts casos, mutacions en aquestes molècules estan connectades amb disfuncions metabòliques (vegeu la taula 1). Més del 50 % de mutacions relacionades amb malalties humanes es concentren en gens de tRNA, tot i que aquests gens només representen un 10 % del genoma mitocondrial. Les mutacions més prevalents són l'A3243G en el tRNA^{Leu} (UAA), que provoca el 80 % dels casos de MELAS (*mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes*; miopatia mitocondrial, encefalopatia, acidosi làctica i episodis similars a l'íctus) i l'A8344G en el tRNA^{Lys}, que és responsable del 80-90 % de casos de MERRF (*myoclonic epilepsy and ragged red fibers*; epilèpsia mioclònica associada a fibres roges trencades).

La substitució A3243G en el gen del tRNA^{Leu} (UAA) n'afecta l'estructura, l'estabilitat i l'eficiència d'aminoacilació (Park *et al.*, 2003) i indueix la formació de complexos dimèrics que impedeixen l'associació adequada del tRNA a proteïnes. A part, la mutació inhibeix el processament correcte de l'intermediari RNA19, que conté els transcrits de l'rRNA 16S, el tRNA^{Leu} (UAA) i l'mRNA del gen *ND1*. Es postula que l'intermediari de processament RNA19 mutant seria incorporat als mitoribosomes i en provocaria el bloqueig. La simptomatologia de la malaltia associada a la mutació A3243G es pot explicar per l'ús de codons de l'mRNA *ND6*, que codifica una subunitat del complex I. El canvi, A3243G impedeix la síntesi de la modificació taurina a la posició *wobble* del tRNA^{Leu} (UAA), la qual

cosa dificulta el reconeixement del codó UUG. L'mRNA *ND6* conté un 42,1 % de codons leucina UUG, i per consegüent, s'especula que la mutació impediria la traducció correcta de la subunitat ND6 i, per tant, es veuria reduïda l'abundància de complex 1 a la cadena respiratòria, fet que concorda amb el fenotip associat a MELAS (Scheper *et al.*, 2007b; Scaglia i Wong, 2008). En una soca de llevat amb mutacions en el tRNA^{Leu} (UAA) equivalents a les responsables de la malaltia MELAS en humans, els fenotips aberrants són complementats quan se sobreexpressa el factor mtEF-Tu (Feuermann *et al.*, 2003). A més, la mu-

tació A3243G també és complementada per la LRS (leucil-tRNA-sintetasa) mitocondrial humana sobreexpressada en cïbrids transmitocondrials que contenen l'mtDNA mutant (Li i Guan, 2010). Aquests són dos exemples d'estudis que suposen un avenç en la recerca d'intervencions terapèutiques per a malalties mitocondrials.

La substitució A8344G en el gen del tRNA^{Lys} n'afecta el nivell d'aminoacilació (Enríquez *et al.*, 1995) i impedeix la formació de la modificació taurina del nucleòtid *wobble* de l'anticodó (Yasukawa *et al.*, 2001), fet que es tradueix en una dèbil interacció codó-anticodó al ribosoma que desemboca

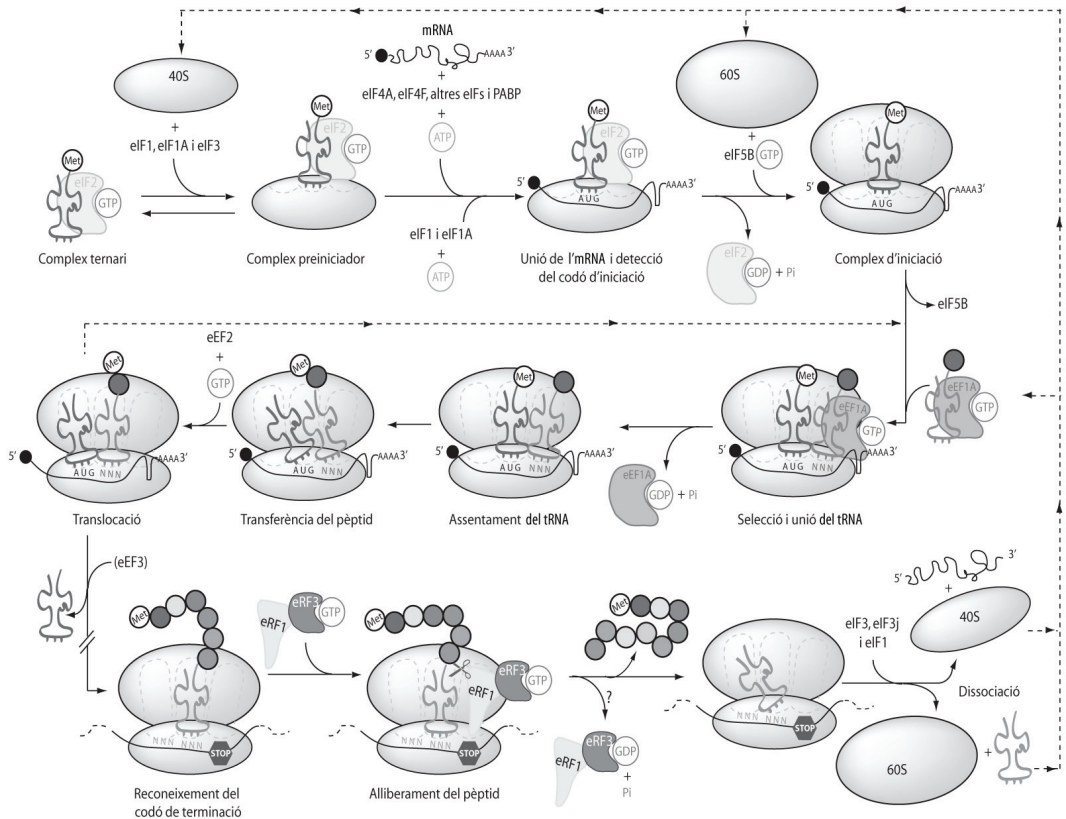


FIGURA 1. La traducció genètica citoplasmàtica eucariota. Representació esquemàtica de les quatre fases de la traducció ribosòmica: iniciació, elongació, terminació i reciclatge.

TAULA 1. Malalties causades per mutacions en gens de rRNA i de tRNA

Gen	RNA	Exemples de mutacions	Malalties associades
MT-TA	tRNA ^{Ala}	G5591A i G5650A	MM
MT-TN	tRNA ^{Asn}	G5703A	CPEO i MM
MT-TR	tRNA ^{Arg}	G10406A; A10438G	MM; PEM
MT-TD	tRNA ^{Asp}	A7526G	MM
MT-TC	tRNA ^{Cys}	G5783A	Sordesa
MT-TQ	tRNA ^{Gln}	G4332A	MELAS i encefalopatia
MT-TE	tRNA ^{Glu}	T14709C	DMDF+MM
MT-TG	tRNA ^{Gly}	GT10010C	PEM
MT-TH	tRNA ^{His}	G12147A	MELAS/MERRF
MT-TI	tRNA ^{Ile}	G4298A; A4300G	CPEO; MICM
MT-TK	tRNA ^{Lys}	A8344G i T8356C	MERRF
MT-TL1	tRNA ^{Leu} (UAA)	A3243G C3256T i T3271C A3260G i C3303T	MELAS, LS, CPEO, DMDF i MM MELAS MMC
MT-TL2	tRNA ^{Leu} (UAG)	G12315A	CPEO i KSS
MT-TM	tRNA ^{Met}	T4409C i G4450A	MM
MT-TF	tRNA ^{Phe}	G583A	MELAS i MM+EXIT
MT-TP	tRNA ^{Pro}	C15990T; A15965G	MM; susceptibilitat a PD
MT-TS1	tRNA ^{Ser} (UGA)	A7475G i 7472insC G7497A	SNHL MM i EXIT
MT-TS2	tRNA ^{Ser} (GCU)	C12258A G12207A	DMDF i SNHL MELAS/MERRF
MT-TT	tRNA ^{Thr}	G15950A	Susceptibilitat a PD
MT-TW	tRNA ^{Trp}	5537insT i T5523G T5523G i G5521A	LS MM
MT-TY	tRNA ^{Tyr}	T5874G	EXIT
MT-TV	tRNA ^{Val}	G1606A	AMDF
MT-RNR1	rRNA 12S	A1555G i C1494T	DEAF
MT-RNR2	rRNA 16S	C3093G	MELAS

Informació recopilada de MITOMAP (Ruiz-Pesini *et al.*, 2007). Abreviacions: AMDF (*ataxia, myoclonus and deafness*; atàxia, mioclonia i sordesa), CPEO (*chronic progressive external ophthalmoplegia*; oftalmoplègia externa progressiva crònica), DEAF (*maternally inherited deafness*; sordesa d'herència materna), DMDF (*diabetes mellitus + deafness*; diabetis + sordesa), EXIT (*exercise intolerance*; intolerància a l'exercici), ins (inserció), KSS (*Kearns-Sayre syndrome*; síndrome de Kearns-Sayre); LS (*Leigh syndrome*; síndrome de Leigh), MELAS (*mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes*; miopatia mitocondrial, encefalopatia, acidosis làctica i episodis similars a l'ictus), MERRF (*myoclonic epilepsy and ragged red fibers*; epilèpsia mioclònica associada a fibres roges trencades), MICM (*maternally inherited cardiomyopathy*; cardiomiopatia d'herència materna), MM (miopatia mitocondrial), MMC (*maternal myopathy and cardiomyopathy*; miopatia materna i cardiomiopatia), PD (*Parkinson's disease*; malaltia de Parkinson), PEM (*progressive encephalopathy*; encefalopatia progressiva) i SNHL (*sensorineural hearing loss*; pèrdua auditiva neurosensorial).

en la terminació prematura de la traducció. Amb l'objectiu de desenvolupar possibles tractaments per a la malaltia, la mutació A8344G s'ha aconseguit complementar

parcialment mitjançant el transport des del citoplasma de derivats del tRNA^{Lys} citoplasmàtic de llevat. El tRNA^{Lys} exogen és aminoacilat, transportat, utilitzat en el pro-

cés de traducció mitocondrial i és capaç de restaurar parcialment les funcions mitocondrials afectades (Kolesnikova *et al.*, 2004).

Pel que fa al sistema de serilació mitocondrial humà, nombroses mutacions en tots dos isoacceptors mitocondrials de tRNA^{Ser} s'han vinculat amb malalties, especialment les mutacions en el gen del tRNA^{Ser} (UGA). La majoria de canvis puntuals en aquest gen desencadenen la malaltia SNHL (*sensorineural hearing loss*; pèrdua auditiva neurosensorial); per exemple: les mutacions situades al límit entre el gen CO1 i l'extrem 3' del tRNA^{Ser} (UGA) comprometen l'estructura secundària del lloc 3' de processament del tRNA (Yan *et al.*, 2006); o la inserció 7472insC trastorna la síntesi i l'aminoacilació del tRNA^{Ser} (UGA) (Toompuu *et al.*, 2002), la qual es pot manifestar en forma de SNHL, de fenotips similars a MERRF o de miopatia. La mutació G7497A en el mateix gen no causa SNHL sinó MM (miopatia mitocondrial) i EXIT (*exercise intolerance*; intolerància a l'exercici) (Jaksch *et al.*, 1998; Grafakou *et al.*, 2003). En el gen del tRNA^{Ser} (GCU) s'han determinat les substitucions: C12246A, que genera pseudoobstrucció intestinal crònica amb miopatia i oftalmoplègia (Lauber *et al.*, 1991), C12258A, que, a part de produir SNHL, està relacionada amb el fenotip DMDF (*diabetes mellitus + deafness*; diabetis + sordesa) (Lynn *et al.*, 1998) i G12207A, que provoca fenotips similars a MELAS/MERRF (Wong *et al.*, 2006).

Com ja s'ha esmentat anteriorment, el nucli codifica un ampli grup de proteïnes que funcionen al mitocondri, entre les quals hi ha nombrosos components del metabolisme mitocondrial, les proteïnes de transport, els elements de manteniment, replicació i transcripció de l'mtDNA i totes les proteïnes implicades en la traducció a l'òrganul. Relacionades amb la traducció genètica mitocondrial, hi ha diverses mutacions

associades a malalties en gens que donen lloc a factors de traducció de mRNA específics, enzims de modificació dels tRNA mitocondrials, proteïnes dels mitoribosomes, factors de traducció generals i aminoacil-tRNA-sintetases.

Entre els factors que participen en la traducció de mRNA específics hi ha l'LRPPRC, que està involucrat en la traducció i l'estabilització de l'mRNA COX1. La mutació A354V en la LRPPRC desencadena una variant de la síndrome de Leigh, fruit d'una expressió de proteïnes mitocondrials limitada i d'uns nivells baixos dels mRNA de COX1 i COXIII (Xu *et al.*, 2004). Un altre exemple és la inserció d'un nucleòtid en el gen TACO1, que codifica un factor activador de la síntesi de COX1, la qual provoca fenotips similars a la síndrome de Leigh i deficiència de l'activitat de la citocrom c-oxidasa (Weraarpachai *et al.*, 2009).

Pel que fa a enzims de modificació dels tRNA, s'han descrit les mutacions R116W (Bykhovskaya *et al.*, 2004) i E220X (Fernández-Vizorra *et al.*, 2007) en la pseudouridina-sintetasa humana (PUS1), que s'associen amb la malaltia MLASA (*mitochondrial myopathy, lactic acidosis and sideroblastic anemia*; miopatia mitocondrial, acidosi làctica i anèmia sideroblàstica). La manca de pseudouridilació d'un o més tRNA mitocondrials sembla el mecanisme patogènic més plausible. Alguns individus amb insuficiència renal i acidosi làctica posseeixen diverses mutacions en el gen TRMU, que codifica un enzim que catalitza la 2-tiouridilació de tRNA mitocondrials (Zeharia *et al.*, 2009).

En relació amb la formació dels mitoribosomes, s'ha detectat la mutació R111X en la proteïna MRPS16 (Miller *et al.*, 2004), i la mutació letal R170H en la proteïna MRPS22 (Saada *et al.*, 2007). Totes dues proteïnes, en condicions normals, s'associen amb l'rRNA 12S i formen part de la subunitat petita dels mitoribosomes. Les mutacions causen fenotips

tips molt severos amb disfunció de la cadena respiratòria deguda a la inhibició de la traducció dels mRNA mitocondrials. Les proteïnes ribosòmiques mitocondrials (MRP) mutants provoquen una disminució de la quantitat de rRNA 12S i un acoblament incorrecte de la subunitat petita del mitoribosoma (Haque *et al.*, 2008). La paraplegina és una proteasa involucrada en l'escissió de la preseqüència de senyalització mitocondrial de la proteïna ribosòmica MRPL32. La paraplegia espàstica hereditària està provocada per mutacions en la paraplegina, que impliquen el processament inadequat de la MRPL32 i l'agrupament incorrecte dels mitoribosomes (Casari *et al.*, 1998).

Alguns individus que pateixen malalties severes molt variables simptomàticament i de mortalitat primerenca mostren mutacions en gens que codifiquen els factors d'elongació. La primera mutació identificada en l'mtEF-G1 (N174S) (Coenen *et al.*, 2004) afecta un residu conservat i essencial per a

la unió de GTP. Es prediu que la substitució té un efecte dràstic en la unió al nucleòtid i, en conseqüència, una pèrdua de la funció enzimàtica. Posteriorment, s'han identificat altres mutacions en aquest factor, com ara la substitució S321P, una deleció de dos nucleòtids (Antonicka *et al.*, 2006), el canvi R47X i la substitució M496R (Valente *et al.*, 2007). El factor mtEF-Tu, encarregat d'acompanyar l'aa-tRNA fins al mitoribosoma durant la fase d'elongació, pot presentar la mutació R336Q (Valente *et al.*, 2007), que inactiva completament la capacitat d'unir l'aa-tRNA per tal de formar el complex ternari (Valente *et al.*, 2009). Se suggereix que la mutació R312W en el factor mtEF-Ts (Smeitink *et al.*, 2006), que regenera l'mtEF-Tu-GDP a mtEF-Tu-GTP, podria produir una reducció en la capacitat d'unio a l'mtEF-Tu i generar defectes en l'intercanvi nucleotídic (Akama *et al.*, 2010). D'altra banda, el polimorfisme C798T en el gen que codifica el factor d'iniciació mtIF3 presenta associació al·lèlica amb la malaltia de Parkinson, i això suggereix que es tracta d'un factor de vulnerabilitat a la malaltia (Abahuni *et al.*, 2007). Recentment, en alguns subjectes afectats d'encefalopatia, s'han trobat delecions d'un nucleòtid en el gen *C12orf65*, que codifica un possible membre de la família dels factors de terminació mitocondrials. Les delecions induïxen l'aparició d'un codó de terminació prematur (Antonicka *et al.*, 2010).

L'any 2005 es va conèixer el primer cas en què mutacions en aaRS mitocondrials codificades al nucli es podien relacionar amb malalties humanes. El treball publicava una possible vinculació entre algunes variants del gen *larS2*, que codifica la leucil-tRNA-sintetasa mitocondrial humana (LARS2), amb la susceptibilitat a patir diabetis de tipus 2. Es van determinar vuit polimorfismes en individus malalts, dels quals un (H324Q) semblava potenciar el risc de patir la malaltia, tot i que l'estu-

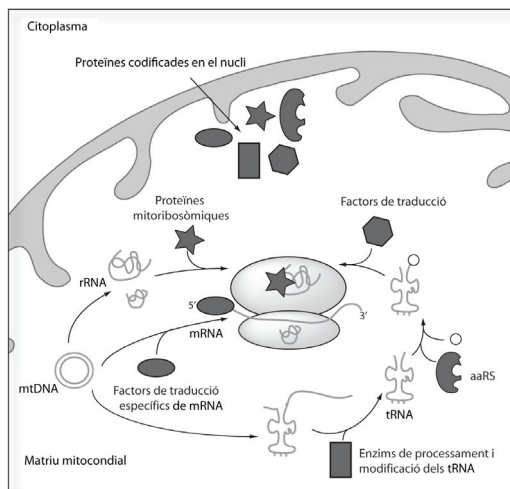


FIGURA 2. Procedència dels elements de traducció genètica mitocondrial associats a malalties humanes. Esquema de components de síntesi proteica mitocondrial codificats en l'mtDNA (en gris clar) i de l'nDNA (en gris fosc) alterats en malalties mitocondrials humanes.

di estadístic no assolia nivells de significació suficients (Hart *et al.*, 2005). Recentment, s'ha publicat un estudi més ampli, de poder estadístic més gran, que refuta l'associació entre les variants de la LARS2 i la diabetis de tipus 2 (Reiling *et al.*, 2010).

L'any 2007 van sortir a la llum les dues primeres publicacions que connectaven directament mutacions en gens d'aaRS mitocondrials amb diverses malalties hereditàries:

— La malaltia humana autosòmica recessiva LBSL (*leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement and elevated lactate*; leucoencefalopatia amb implicació del tronc cerebral i la medulla espinal amb lactat elevat) es diagnostica per detecció d'un ventall d'anormalitats en imatges i espectroscòpia de ressonància magnètica, i es caracteritza per atàxia cerebel·losa, espasticitat, discapacitat cognitiva variable i nivells elevats de lactat en la matèria blanca (Knaap *et al.*, 2003). El primer estudi publicat revelava que la LBSL pot ser causada per nombroses mutacions en el gen *DARS2*, que codifica l'aspartil-tRNA-sintetasa mitocondrial humana (*DARS2*). La mutació més freqüent (R76SfsX5) afecta el lloc d'empalament de l'intró 2, que provoca la deleció de l'exó 3, un canvi de pauta de lectura i la terminació prematura de la proteïna. Les mutacions són letals en homozigosi i afecten l'activitat d'aminoacilació de la *DARS2*. Tanmateix, aquesta limitació no afecta la funció mitocondrial de fibroblasts, limfoblasts, ni teixit muscular. Aquesta observació planteja dues hipòtesis: que el desencadenament de la malaltia sigui conseqüència d'una activitat de la *DARS2* mutant per sota d'un llindar específic per a les cèl·lules neuronals, o bé que la malaltia sigui causada per defectes subtils en el mitocondri (Scheper *et al.*, 2007a).

— La PCH (*pontocerebellar hypoplasia*; hipoplàsia pontocerebel·losa) engloba un

grup heterogeni d'afeccions caracteritzades per una reducció notable de la mida del cerebel i del tronc cerebral (Barth, 1993). Els individus malalts són homozigots per a dues variants del gen *RARS2*, que dona lloc a l'arginil-tRNA-sintetasa mitocondrial humana (*RARS2*): un canvi R291K i una substitució (L13RfsX3) en el lloc d'empalament de l'intró 2, que produeix l'escissió de l'exó 2 i un canvi de pauta de lectura. Com a conseqüència de les mutacions, s'observa una davallada del nivell d'Arg-tRNA^{Arg} en fibroblasts de pacients, tot i que presenten una activitat residual atribuïda a un romanent de transcrits processats correctament (Edvardson *et al.*, 2007). En contrast amb el cas de la *DARS2*, el múscul i la pell de subjectes amb PCH mostren defectes evidents en la funció mitocondrial, encara que els símptomes clínics de la malaltia només es manifestin al cervell.

L'establiment d'una relació directa entre mutacions en gens d'aaRS i diverses malalties ha fet d'aquests gens nous candidats per a malalties humanes d'etiologia desconeguda. D'aquesta manera, en els dos darrers anys, ha crescut exponencialment el nombre de malalties mitocondrials humanes causades per mutacions en aaRS mitocondrials: individus afectats per la malaltia MLASA presenten una mutació en la tirosil-tRNA-sintetasa mitocondrial (*YARS2*) (Riley *et al.*, 2010); mutacions en el gen que codifica la seril-tRNA-sintetasa mitocondrial (*SARS2*) causen la síndrome HUPRA (*hyperuricemia, pulmonary hypertension, renal failure in infancy and alkalosis*; hiperuricèmia, hipertensió pulmonar, insuficiència renal infantil i alcalosi) (Belostotsky *et al.*, 2011); substitucions en el gen de la histidil-tRNA-sintetasa mitocondrial (*HARS2*) estan relacionades amb la síndrome de Perrault (Pierce *et al.*, 2011); canvis en el gen que codifica l'alanil-tRNA-sintetasa mitocondrial (*AARS2*) provoquen cardiomiopa-

tia mitocondrial infantil (Götz *et al.*, 2011); s'han trobat rearranjaments en el gen que codifica la metionil-tRNA-sintetasa mitocondrial (MARS2) en pacients d'ARSAL (*autosomal recessive spastic ataxia with leukoencephalopathy*; atàxia espàstica autosòmica recessiva amb leucoencefalopatia) (Bayat *et al.*, 2012); mutacions en la glutamil-tRNA-sintetasa mitocondrial (EARS2) estan involucrades en malalties com la LTBL (*leukoencephalopathy with thalamus and brain stem involvement and high lactate*; leucoencefalopatia amb implicació del tàlem i del tronc cerebral i lactat elevat) (Steenweg *et al.*, 2012) o la malaltia multisistèmica infantil (Talim *et al.*, 2012).

MODELS DE MALALTIES DE TRADUCCIÓ GENÈTICA MITOCONDRIAL

La impossibilitat de manipular genèticament el genoma mitocondrial ha suposat un greu inconvenient a l'hora d'estudiar les relacions entre mutacions en els tRNA i rRNA mitocondrials i els fenotips clínics en animals model. Inicialment, molts processos bioquímics i cel·lulars conseqüència de mutacions en l'mtDNA s'han analitzat mitjançant cèl·lules cíbrides transmitocondrials, és a dir, línies cel·lulars humanes immortalitzades de les quals s'ha extret l'mtDNA (ϱ°) repoblades amb mitocondris que procedeixen del pacient (King i Attardi, 1989). Aquesta eina ha permès confirmar la patogenicitat de mutacions en l'mtDNA, determinar els mecanismes que provoquen determinats desordres mitocondrials, demostrar l'efecte llindar causat per nivells concrets d'heteroplàsmia i avaluar la importància del fons genètic nuclear a l'hora de determinar la segregació de mutacions heteroplàsmiques. Les cèl·lules cíbrides, però, provenen de cultius derivats de tumors

que presenten inestabilitat genètica a llarg termini, fet que impedeix la reproducció dels trets propis de cèl·lules diferenciades (Jacobs, 2001).

Saccharomyces cerevisiae és un dels sistemes model emprats per entendre la significació fisiològica de mutacions als tRNA mitocondrials. La similitud entre el tRNA^{Leu} (UAA) de llevat i d'humà i la disponibilitat de tècniques de transformació mitocondrial en aquest organisme han permès la construcció de soques que posseeixen algunes de les mutacions en el tRNA^{Leu} (UAA) associades amb la malaltia MELAS. Aquests llevats tenen problemes de creixement en substrats respiratoris, exhibeixen una morfologia mitocondrial aberrant i acumulen delecions en l'mtDNA (Feuermann *et al.*, 2003). Els inconvenients d'aquest organisme són, per una banda, les diferències estructurals d'alguns tRNA respecte als d'humans i, per altra banda, que moltes de les propietats de biogènesi i metabolisme mitocondrials i aspectes propis d'organismes multicel·lulars no són reproduïbles en llevats.

Tot i la manca de models apropiats amb mutacions en tRNA o rRNA mitocondrials, s'ha progressat notablement en el desenvolupament de ratolins amb delecions o mutacions patogèniques en l'mtDNA. Després de diversos intents fallits, fa uns deu anys que es van aconseguir els primers models de ratolí transmitocondrial heteroplasmàtics, amb signes evidents de disfunció a l'òrganul i capaçs de transmetre l'mtDNA mutant a les generacions següents (Marchington *et al.*, 1999; Sligh *et al.*, 2000). Els ratolins transmitocondrials es van obtenir per fusió de cèl·lules mare embrionàries de femelles, amb cèl·lules anucleades amb un mtDNA que confereix resistència a l'inhibidor de mitoribosomes cloramfenicol, a causa d'una mutació puntual propera a l'extrem 3' del gen de l'rRNA 16S (Blanc *et al.*,

1981). Posteriorment, s'ha emprat aquest sistema per generar ratolins model heteroplasmàtics per a mutacions en l'mtDNA que afecten gens de la cadena respiratòria, com ara el *ND6*, o el *CO1*, que mostren alteracions en la respiració mitocondrial, dany tissular i anormalitats estructurals als mitocondris (Fan *et al.*, 2008). Addicionalment, s'ha construït un ratolí model trans-mitocondrial amb una extensa deleció de mtDNA que elimina sis tRNA i, en conseqüència, aboleix la síntesi proteica i desencadena trets similars als de la síndrome de Kearns-Sayre (Inoue *et al.*, 2000).

La generació de models enfocats a l'estudi de gens nuclears de funció mitocondrial té l'avantatge que no ha d'afrontar les limitacions tècniques relacionades amb la manipulació genètica de l'mtDNA. L'invertebrat *Caenorhabditis elegans* s'ha emprat com a model de desordres mitocondrials causats per la depleció de proteïnes de la cadena respiratòria codificades al nucli com, per exemple, la subunitat citocrom b560 del complex II (Ishii *et al.*, 1998), d'una proteïna fèrrica del complex I (Kayser *et al.*, 1999) o la subunitat catalítica FMN del complex I (Grad i Lemire, 2004); i també s'ha utilitzat com a model de deficiència d'elements de replicació i manteniment de l'mtDNA, com la DNA-polimerasa γ o la SSBP1 (Addo *et al.*, 2010).

Hi ha nombrosos ratolins model de malalties mitocondrials generats per manipulació de gens nuclears essencials per a la funció a l'òrganul (Chinnery i Turnbull, 2000). Entre d'altres, s'han generat ratolins genoanul·lats per als gens de: l'ANT1, que pateixen el bloqueig del transport d'ATP/ADP i una superproducció de ROS; la superòxid-dismutasa mitocondrial, que presenten una acumulació de ROS i disfunció de la cadena respiratòria; la frataxina, que afecta la cadena respiratòria; o el citocrom c, que mostren mortalitat *in utero*. També, s'ha creat un

model de la malaltia de LHON mitjançant l'expressió al·lotípica de la subunitat ND4 del complex I de la cadena transportadora d'electrons amb la mutació R340H (Qi *et al.*, 2007). A més, s'ha generat un ratolí transgènic genomodificat que posseeix una mutació puntual al gen *NDUFS4* que compromet específicament el funcionament del complex I de la cadena respiratòria (Ingraham *et al.*, 2009).

Hi ha escassos models animals de malalties mitocondrials causades per mutacions en gens nuclears que codifiquen proteïnes de traducció genètica mitocondrial. Un d'aquests és el ratolí genoanul·lat per al factor de transcripció mitocondrial mtTFA, que exhibeix una reducció en el nombre de còpies de mtDNA i, en conseqüència, una disfunció de la cadena respiratòria. El genoanul·lat específic de la línia germinal produeix: mortalitat embrionària, retard en el desenvolupament neuronal, absència de cor i disc òptic i apoptosi (Larsson *et al.*, 1998). La manca de mtTFA específica de cor provoca: cardiomiopatia, bloqueig de la conducció atrioventricular i apoptosi (Wang *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2000); en cèl·lules β : diabetis i deficiència a la insulina (Silva *et al.*, 2000); i en neurones: estrès oxidatiu, neurodegeneració i mort cel·lular massiva (Sorensen *et al.*, 2001).

Un altre model animal és el *technical knockout* (tko) de *Drosophila melanogaster*, que presenta una mutació puntual en el gen nuclear *MRPS12* que afecta un residu conservat de la proteïna ribosòmica mitocondrial S12 (L85H), la qual genera fenotips de sordesa i retard en el desenvolupament. La mutació provoca: la inhibició de la síntesi proteica mitocondrial, la reducció de l'activitat enzimàtica redox i la davallada dels nivells de rRNA, que es tradueix en la inestabilitat de la subunitat petita del mitoribosoma (Toivonen *et al.*, 2001).

Drosophila melanogaster també s'ha utilit-

zat com a model per reproduir els símptomes de la malaltia ARSAL causada per alteracions en el gen *MARS2* (Bayat *et al.*, 2012).

Cal desitjar que de la creixent acumulació de nous models animals per a malalties mitocondrials, i de les dades resultants de l'anàlisi d'aquestes, apareguin aviat estratègies curatives o palliatives per a aquestes malalties majoritàriament intractables.

AGRAÏMENTS

Aquest treball ha estat finançat parcialment pel projecte BIO2009-09776 del Ministeri d'Investigació i Ciència.

BIBLIOGRAFIA

- ABAHUNI, N.; GISPERT, S.; BAUER, P.; RIESS, O.; KRUGER, R.; BECKER, T.; AUBURGER, G. (2007). «Mitochondrial translation initiation factor 3 gene polymorphism associated with Parkinson's disease». *Neurosci. Lett.*, 414: 126-129.
- ADDO, M. G.; COSSARD, R.; PICHARD, D.; OBIRI-DANSO, K.; ROTIG, A.; DELAHODDE, A. (2010). «*Caenorhabditis elegans*, a pluricellular model organism to screen new genes involved in mitochondrial genome maintenance». *Biochim. Biophys. Acta*, 1802: 765-773.
- AKAMA, K.; CHRISTIAN, B. E.; JONES, C. N.; UEDA, T.; TAKEUCHI, N.; SPREMULLI, L. L. (2010). «Analysis of the functional consequences of lethal mutations in mitochondrial translational elongation factors». *Biochim. Biophys. Acta*, 1802: 692-698.
- ANDERSSON, S. G.; KARLBERG, O.; CANBACK, B.; KURLAND, C. G. (2003). «On the origin of mitochondria: a genomics perspective». *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 358: 165-177. [Discussió: 177-179]
- ANTONICKA, H.; OSTERGAARD, E.; SASARMAN, F.; WERARAPACHAI, W.; WIBRAND, F.; PEDERSEN, A. M.; RODENBURG, R. J.; KNAAP, M. S. van der; SMEITINK, J. A.; CHRZANOWSKA-LIGHTOWLERS, Z. M.; SHOUBRIDGE, E. A. (2010). «Mutations in *C12orf65* in patients with encephalomyopathy and a mitochondrial translation defect». *Am. J. Hum. Genet.*, 87: 115-122.
- ANTONICKA, H.; SASARMAN, F.; KENNAWAY, N. G.; SHOUBRIDGE, E. A. (2006). «The molecular basis for tissue specificity of the oxidative phosphorylation deficiencies in patients with mutations in the mitochondrial translation factor EFG1». *Hum. Mol. Genet.*, 15: 1835-1846.
- BARTH, P. G. (1993). «Pontocerebellar hypoplasias. An overview of a group of inherited neurodegenerative disorders with fetal onset». *Brain Dev.*, 15: 411-422.
- BAYAT, V.; THIFFAULT, I.; JAISWAL, M.; TETREAU, M.; DONTI, T.; SASARMAN, F.; BERNARD, G.; DEMERS-LAMARCHE, J.; DICAIRE, M. J.; MATHIEU, J.; VANASSE, M.; BOUCHARD, J. P.; RIOUX, M. F.; LOURENCO, C. M.; LI, Z.; HAUETER, C.; SHOUBRIDGE, E. A.; GRAHAM, B. H.; BRAIS, B.; BELLEN, H. J. (2012). «Mutations in the mitochondrial methionyl-tRNA synthetase cause a neurodegenerative phenotype in flies and a recessive ataxia (ARSAL) in humans». *PLoS Biol.*, 10: e1001288.
- BELOSTOTSKY, R.; BEN-SHALOM, E.; RINAT, C.; BECKER-COHEN, R.; FEINSTEIN, S.; ZELIGSON, S.; SEGEL, R.; ELPELEG, O.; NASSAR, S.; FRISHBERG, Y. (2011). «Mutations in the mitochondrial seryl-tRNA synthetase cause hyperuricemia, pulmonary hypertension, renal failure in infancy and alkalosis, HUPRA syndrome». *Am. J. Hum. Genet.*, 88: 193-200.
- BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. (2007). *Biochemistry*. Nova York: W. H. Freeman and Company.
- BLANC, H.; ADAMS, C. W.; WALLACE, D. C. (1981). «Different nucleotide changes in the large rRNA gene of the mitochondrial DNA confer chloramphenicol resistance on two human cell lines». *Nucleic Acids Res.*, 9: 5785-5795.
- BYKHOVSKAYA, Y.; CASAS, K.; MENGESHA, E.; INBAL, A.; FISCHEL-GHODSIAN, N. (2004). «Missense mutation in pseudouridine synthase 1 (PUS1) causes mitochondrial myopathy and sideroblastic anemia (MLASA)». *Am. J. Hum. Genet.*, 74: 1303-1308.
- CASARI, G.; FUSCO, M. de; CIARMATORI, S.; ZEVIANI, M.; MORA, M.; FERNÁNDEZ, P.; MICHELE, G. de; FILLA, A.; COCOZZA, S.; MARCONI, R.; DURR, A.; FONTAINE, B.; BALLABIO, A. (1998). «Spastic paraplegia and OXPHOS impairment caused by mutations in paraplegin, a nuclear-encoded mitochondrial metalloprotease». *Cell*, 93: 973-983.
- CAVALIER-SMITH, T. (1987). «The simultaneous symbiotic origin of mitochondria, chloroplasts, and microbodies». *Ann. NY Acad. Sci.*, 503: 55-71.
- CHINNERY, P. F.; TURNBULL, D. M. (2000). «Mitochondrial DNA mutations in the pathogenesis of human disease». *Mol. Med. Today*, 6: 425-432.
- CLAYTON, D. A. (2000). «Vertebrate mitochondrial DNA—a circle of surprises». *Exp. Cell. Res.*, 255: 4-9.
- COENEN, M. J.; ANTONICKA, H.; UGALDE, C.; SASARMAN, F.; ROSSI, R.; HEISTER, J. G.; NEWBOLD, R. F.; TRIJBELS,

- F. J.; HEUVEL, L. P. van der; SHOUBRIDGE, E. A.; SMEITINK, J. A. (2004). «Mutant mitochondrial elongation factor G1 and combined oxidative phosphorylation deficiency». *N. Engl. J. Med.*, 351: 2080-2086.
- DALE, T.; UHLENBECK, O. C. (2005). «Amino acid specificity in translation». *Trends Biochem. Sci.*, 30: 659-665.
- DAVIDOV, Y.; JURKEVITCH, E. (2009). «Predation between prokaryotes and the origin of eukaryotes». *Bioessays.*, 31: 748-757.
- DIFFLEY, J. F.; STILLMAN, B. (1991). «A close relative of the nuclear, chromosomal high-mobility group protein HMG1 in yeast mitochondria». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88: 7864-7868.
- DUCHEN, M. R. (2004). «Mitochondria in health and disease: perspectives on a new mitochondrial biology». *Mol. Aspects Med.*, 25: 365-451.
- DYALL, S. D.; BROWN, M. T.; JOHNSON, P. J. (2004). «Ancient invasions: from endosymbionts to organelles». *Science*, 304: 253-257.
- EDVARDSON, S.; SHAAG, A.; KOLESNIKOVA, O.; GOMORI, J. M.; TARASSOV, I.; EINBINDER, T.; SAADA, A.; ELPELEG, O. (2007). «Deleterious mutation in the mitochondrial arginyl-transfer RNA synthetase gene is associated with pontocerebellar hypoplasia». *Am. J. Hum. Genet.*, 81: 857-862.
- ENRÍQUEZ, J. A.; CHOMYN, A.; ATTARDI, G. (1995). «MtDNA mutation in MERRF syndrome causes defective aminoacylation of tRNA(Lys) and premature translation termination». *Nat. Genet.*, 10: 47-55.
- FAN, W.; WAYMIRE, K. G.; NARULA, N.; LI, P.; ROCHER, C.; COSKUN, P. E.; VANNAN, M. A.; NARULA, J.; MACGREGOR, G. R.; WALLACE, D. C. (2008). «A mouse model of mitochondrial disease reveals germline selection against severe mtDNA mutations». *Science*, 319: 958-962.
- FERNÁNDEZ-VIZARRA, E.; BERARDINELLI, A.; VALENTE, L.; TIRANTI, V.; ZEVIANI, M. (2007). «Nonsense mutation in pseudouridylylase synthase 1 (PUS1) in two brothers affected by myopathy, lactic acidosis and sideroblastic anaemia (MLASA)». *J. Med. Genet.*, 44: 173-180.
- FEUERMAN, M.; FRANCISCI, S.; RINALDI, T.; LUCA, C. de; ROHOU, H.; FRONTALI, L.; BOLOTIN-FUKUHARA, M. (2003). «The yeast counterparts of human 'MELAS' mutations cause mitochondrial dysfunction that can be rescued by overexpression of the mitochondrial translation factor EF-Tu». *EMBO Rep.*, 4: 53-58.
- GÖTZ, A.; TYNISMÄÄ, H.; EURO, L.; ELLONEN, P.; HYÖTYLAINEN, T.; OJALA, T.; HAMALAINEN, R. H.; TOMMISKA, J.; RAIVIO, T.; ORESIC, M.; KARIKOSKI, R.; TAMMELA, O.; SIMOLA, K. O.; PAETAU, A.; TYNI, T.; SUOMALAINEN, A. (2011). «Exome sequencing identifies mitochondrial alanyl-tRNA synthetase mutations in infantile mitochondrial cardiomyopathy». *Am. J. Hum. Genet.*, 88: 635-642.
- GRAD, L. I.; LEMIRE, B. D. (2004). «Mitochondrial complex I mutations in *Caenorhabditis elegans* produce cytochrome *c* oxidase deficiency, oxidative stress and vitamin-responsive lactic acidosis». *Hum. Mol. Genet.*, 13: 303-314.
- GRAFAKOU, O.; HOL, F. A.; OTFRIED SCHWAB, K.; SIERS, M. H.; TER LAAK, H.; TRIJBELS, F.; ENSENAUER, R.; BOELEN, C.; SMEITINK, J. (2003). «Exercise intolerance, muscle pain and lactic acidemia associated with a 7497G>A mutation in the tRNA^{Ser}(UCN) gene». *J. Inher. Metab. Dis.*, 26: 593-600.
- GRAY, M. W.; BURGER, G.; LANG, B. F. (1999). «Mitochondrial evolution». *Science*, 283: 1476-1481.
- HAQUE, M. E.; GRASSO, D.; MILLER, C.; SPREMULLI, L. L.; SAADA, A. (2008). «The effect of mutated mitochondrial ribosomal proteins S16 and S22 on the assembly of the small and large ribosomal subunits in human mitochondria». *Mitochondrion*, 8: 254-261.
- HART, L. M. t; HANSEN, T.; RIETVELD, I.; DEKKER, J. M.; NIJPELS, G.; JANSSEN, G. M.; ARP, P. A.; UITERLINDEN, A. G.; JORGENSEN, T.; BORCH-JOHNSEN, K.; POLS, H. A.; PEDERSEN, O.; DUIJN, C. M. van; HEINE, R. J.; MAASSEN, J. A. (2005). «Evidence that the mitochondrial leucyl tRNA synthetase (LARS2) gene represents a novel type 2 diabetes susceptibility gene». *Diabetes*, 54: 1892-1895.
- HERNÁNDEZ, G.; ALTMANN, M.; LASKO, P. (2010). «Origins and evolution of the mechanisms regulating translation initiation in eukaryotes». *Trends Biochem. Sci.*, 35: 63-73.
- 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.
- INGRAHAM, C. A.; BURWELL, L. S.; SKALSKA, J.; BROOKES, P. S.; HOWELL, R. L.; SHEU, S. S.; PINKERT, C. A. (2009). «NDUFS4: creation of a mouse model mimicking a Complex I disorder». *Mitochondrion*, 9: 204-210.
- INOUE, K.; NAKADA, K.; OGURA, A.; ISOBE, K.; GOTO, Y.; NONAKA, I.; HAYASHI, J. I. (2000). «Generation of mice with mitochondrial dysfunction by introducing mouse mtDNA carrying a deletion into zygotes». *Nat. Genet.*, 26: 176-181.
- ISHII, N.; FUJII, M.; HARTMAN, P. S.; TSUDA, M.; YASUDA, K.; SENOO-MATSUDA, N.; YANASE, S.; AYUSAWA, D.; SUZUKI, K. (1998). «A mutation in succinate dehydrogenase cytochrome b causes oxidative stress and ageing in nematodes». *Nature*, 394: 694-697.

- JACOBS, H. T. (2001). «Making mitochondrial mutants». *Trends Genet.*, 17: 653-660.
- JAKSCH, M.; KLOPSTOCK, T.; KURLEMANN, G.; DORNER, M.; HOFMANN, S.; KLEINLE, S.; HEGEMANN, S.; WEISSERT, M.; MULLER-HOCKER, J.; PONGRATZ, D.; GERBITZ, K. D. (1998). «Progressive myoclonus epilepsy and mitochondrial myopathy associated with mutations in the tRNA(Ser(UCN)) gene». *Ann. Neurol.*, 44: 635-640.
- KAPP, L. D.; LORSCH, J. R. (2004). «The molecular mechanics of eukaryotic translation». *Annu. Rev. Biochem.*, 73: 657-704.
- KAYSER, E. B.; MORGAN, P. G.; SEDENSKY, M. M. (1999). «GAS-1: a mitochondrial protein controls sensitivity to volatile anesthetics in the nematode *Caenorhabditis elegans*». *Anesthesiology*, 90: 545-554.
- KING, M. P.; ATTARDI, G. (1989). «Human cells lacking mtDNA: repopulation with exogenous mitochondria by complementation». *Science*, 246: 500-503.
- KNAAP, M. S. van der; VOORN, P. van der; BARKHOF, F.; COSTER, R. van; KRAGELOH-MANN, I.; FEIGENBAUM, A.; BLASER, S.; VLES, J. S.; RIECKMANN, P.; POWWELS, P. J. (2003). «A new leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement and high lactate». *Ann. Neurol.*, 53: 252-258.
- 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.
- LARSSON, N. G.; WANG, J.; WILHELMSSON, H.; OLDFORS, A.; RUSTIN, P.; LEWANDOSKI, M.; BARSH, G. S.; CLAYTON, D. A. (1998). «Mitochondrial transcription factor A is necessary for mtDNA maintenance and embryogenesis in mice». *Nat. Genet.*, 18: 231-236.
- LAUBER, J.; MARSAC, C.; KADENBACH, B.; SEIBEL, P. (1991). «Mutations in mitochondrial tRNA genes: a frequent cause of neuromuscular diseases». *Nucleic Acids Research*, 19: 1393-1397.
- LEBLANC, C.; RICHARD, O.; KLOAREG, B.; VIEHMANN, S.; ZETSCHKE, K.; BOYEN, C. (1997). «Origin and evolution of mitochondria: what have we learnt from red algae?». *Curr. Genet.*, 31: 193-207.
- LI, H.; WANG, J.; WILHELMSSON, H.; HANSSON, A.; THOREN, P.; DUFFY, J.; RUSTIN, P.; LARSSON, N. G. (2000). «Genetic modification of survival in tissue-specific knockout mice with mitochondrial cardiomyopathy». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97: 3467-3472.
- LI, R.; GUAN, M. X. (2010). «Human mitochondrial leucyl-tRNA synthetase corrects mitochondrial dysfunctions due to the tRNA^{Leu}(UUR) A3243G mutation, associated with mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like symptoms and diabetes». *Mol. Cell. Biol.*, 30: 2147-2154.
- LYNN, S.; WARDELL, T.; JOHNSON, M. A.; CHINNERY, P. F.; DALY, M. E.; WALKER, M.; TURNBULL, D. M. (1998). «Mitochondrial diabetes: investigation and identification of a novel mutation». *Diabetes*, 47: 1800-1802.
- MARCHINGTON, D. R.; BARLOW, D.; POULTON, J. (1999). «Transmitochondrial mice carrying resistance to chloramphenicol on mitochondrial DNA: developing the first mouse model of mitochondrial DNA disease». *Nat. Med.*, 5: 957-960.
- MARGULIS, L. (1981). *Symbiosis in cell evolution*. San Francisco: Freeman.
- MARGULIS, L. (1993). «Origins of species: acquired genomes and individuality». *Biosystems*, 31: 121-125.
- MARTIN, W.; MULLER, M. (1998). «The hydrogen hypothesis for the first eukaryote». *Nature*, 392: 37-41.
- MILLER, C.; SAADA, A.; SHAUL, N.; SHABTAI, N.; BEN-SHALOM, E.; SHAG, A.; HERSHKOVITZ, E.; ELPELEG, O. (2004). «Defective mitochondrial translation caused by a ribosomal protein (MRPS16) mutation». *Ann. Neurol.*, 56: 734-738.
- MITCHELL, P. (1961). «Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism». *Nature*, 191: 144-148.
- PARK, H.; DAVIDSON, E.; KING, M. (2003). «The pathogenic A3243G mutation in human mitochondrial tRNA^{Leu}(UUR) decreases the efficiency of aminoacylation». *Biochemistry*, 42: 958-964.
- PESTOVA, T. V.; KOLUPAEVA, V. G.; LOMAKIN, I. B.; PILIPENKO, E. V.; SHATSKY, I. N.; AGOL, V. I.; HELLEN, C. U. (2001). «Molecular mechanisms of translation initiation in eukaryotes». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98: 7029-7036.
- PIERCE, S. B.; CHISHOLM, K. M.; LYNCH, E. D.; LEE, M. K.; WALSH, T.; OPITZ, J. M.; LI, W.; KLEVIT, R. E.; KING, M. C. (2011). «Mutations in mitochondrial histidyl tRNA synthetase HARS2 cause ovarian dysgenesis and sensorineural hearing loss of Perrault syndrome». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108: 6543-6548.
- PISAREV, A. V.; HELLEN, C. U.; PESTOVA, T. V. (2007). «Recycling of eukaryotic posttermination ribosomal complexes». *Cell*, 131: 286-299.
- QI, X.; SUN, L.; LEWIN, A. S.; HAUSWIRTH, W. W.; GUY, J. (2007). «The mutant human ND4 subunit of complex I induces optic neuropathy in the mouse». *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 48: 1-10.
- REILING, E.; JAFAR-MOHAMMADI, B.; RIET, E. van 't; WEEDON, M. N.; VLIET-OSTAPTCHOUK, J. V. van;

- HANSEN, T.; SAXENA, R.; HAEFTEN, T. W. van; ARP, P. A.; DAS, S.; NIJPELS, G.; GROENEWOLD, M. J.; HOVE, E. C. van; UITTERLINDEN, A. G.; SMIT, J. W.; MORRIS, A. D.; DONEY, A. S.; PALMER, C. N.; GUIDUCCI, C.; HATTERSLEY, A. T.; FRAYLING, T. M.; PEDERSEN, O.; SLAGBOOM, P. E.; ALTSHULER, D. M.; GROOP, L.; ROMIJN, J. A.; MAASSEN, J. A.; HOFKER, M. H.; DEKKER, J. M.; MCCARTHY, M. I.; HART, L. M. t (2010). «Genetic association analysis of LARS2 with type 2 diabetes». *Diabetologia*, 53: 103-110.
- RIBAS DE POUPLANA, L.; SCHIMMEL, P. (2001). «Two classes of tRNA synthetases suggested by sterically compatible dockings on tRNA acceptor stem». *Cell*, 104: 191-193.
- RILEY, L. G.; COOPER, S.; HICKEY, P.; RUDINGER-THIRION, J.; MCKENZIE, M.; COMPTON, A.; LIM, S. C.; THORBURN, D.; RYAN, M. T.; GIEGE, R.; BAHLO, M.; CHRISTODOULOU, J. (2010). «Mutation of the mitochondrial tyrosyl-tRNA synthetase gene, YARS2, causes myopathy, lactic acidosis, and sideroblastic anemia—MLASA syndrome». *Am. J. Hum. Genet.*, 87: 52-59.
- RUIZ-PESINI, E.; LOTT, M. T.; PROCACCIO, V.; POOLE, J. C.; BRANDON, M. C.; MISHMAR, D.; YI, C.; KREUZIGER, J.; BALDI, P.; WALLACE, D. C. (2007). «An enhanced MITOMAP with a global mtDNA mutational phylogeny». *Nucleic Acids Res.*, 35: D823-8.
- SAADA, A.; SHAAG, A.; ARNON, S.; DOLFIN, T.; MILLER, C.; FUCHS-TELEM, D.; LOMBES, A.; ELPELEG, O. (2007). «Antenatal mitochondrial disease caused by mitochondrial ribosomal protein (MRPS22) mutation». *J. Med. Genet.*, 44: 784-786.
- SAGAN, L. (1967). «On the origin of mitosing cells». *J. Theor. Biol.*, 14: 255-274.
- SCAGLIA, F.; WONG, L. J. (2008). «Human mitochondrial transfer RNAs: role of pathogenic mutation in disease». *Muscle Nerve*, 37: 150-171.
- SCHAPIRA, A. H. (2006). «Mitochondrial disease». *Lancet*, 368: 70-82.
- SCHEPER, G. C.; KLOK, T. van der; ANDEL, R. J. van; BERKEL, C. G. van; SISSLER, M.; SMET, J.; MURAVINA, T. I.; SERKOV, S. V.; UZIEL, G.; BUGIANI, M.; SCHIFFMANN, R.; KRAGELOH-MANN, I.; SMEITINK, J. A.; FLORENTZ, C.; COSTER, R. van; PRONK, J. C.; KNAAP, M. S. van der (2007a). «Mitochondrial aspartyl-tRNA synthetase deficiency causes leukoencephalopathy with brain stem and spinal cord involvement and lactate elevation». *Nat. Genet.*, 39: 534-539.
- SCHEPER, G. C.; KNAAP, M. S. van der; PROUD, C. G. (2007b). «Translation matters: protein synthesis defects in inherited disease». *Nat. Rev. Genet.*, 8: 711-723.
- SILVA, J. P.; KOHLER, M.; GRAFF, C.; OLDFORS, A.; MAGNUSON, M. A.; BERGGREN, P. O.; LARSSON, N. G. (2000). «Impaired insulin secretion and beta-cell loss in tissue-specific knockout mice with mitochondrial diabetes». *Nat. Genet.*, 26: 336-340.
- SLIGH, J. E.; LEVY, S. E.; WAYMIRE, K. G.; ALLARD, P.; DILLEHAY, D. L.; NUSINOWITZ, S.; HECKENLIVELY, J. R.; MACGREGOR, G. R.; WALLACE, D. C. (2000). «Maternal germ-line transmission of mutant mtDNAs from embryonic stem cell-derived chimeric mice». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97: 14461-14466.
- SMEITINK, J. A.; ELPELEG, O.; ANTONICKA, H.; DIEPSTRA, H.; SAADA, A.; SMITS, P.; SASARMAN, F.; VRIEND, G.; JACOB-HIRSCH, J.; SHAAG, A.; REHAVI, G.; WELLING, B.; HORST, J.; RODENBURG, R. J.; HEUVEL, B. van den; SHOUBRIDGE, E. A. (2006). «Distinct clinical phenotypes associated with a mutation in the mitochondrial translation elongation factor EFTs». *Am. J. Hum. Genet.*, 79: 869-877.
- SMITS, P.; SMEITINK, J.; HEUVEL, L. van den (2010). «Mitochondrial translation and beyond: processes implicated in combined oxidative phosphorylation deficiencies». *J. Biomed. Biotechnol.*, 2010: 737385.
- SORENSEN, L.; EKSTRAND, M.; SILVA, J. P.; LINDQVIST, E.; XU, B.; RUSTIN, P.; OLSON, L.; LARSSON, N. G. (2001). «Late-onset corticohippocampal neurodepletion attributable to catastrophic failure of oxidative phosphorylation in MILON mice». *J. Neurosci.*, 21: 8082-8090.
- SPELBRINK, J. N.; LI, F. Y.; TIRANTI, V.; NIKALI, K.; YUAN, Q. P.; TARIQ, M.; WANROOIJ, S.; GARRIDO, N.; COMI, G.; MORANDI, L.; SANTORO, L.; TOSCANO, A.; FABRIZI, G. M.; SOMER, H.; CROXEN, R.; BEESON, D.; POULTON, J.; SUOMALAINEN, A.; JACOBS, H. T.; ZEVIANI, M.; LARSSON, C. (2001). «Human mitochondrial DNA deletions associated with mutations in the gene encoding Twinkle, a phage T7 gene 4-like protein localized in mitochondria». *Nat. Genet.*, 28: 223-231.
- STEENWEG, M. E.; GHEZZI, D.; HAACK, T.; ABBINK, T. E.; MARTINELLI, D.; BERKEL, C. G. van; BLEY, A.; DIOGO, L.; GRILLO, E.; WATER NAUDE, J. TE; STROM, T. M.; BERTINI, E.; PROKISCH, H.; KNAAP, M. S. van der; ZEVIANI, M. (2012). «Leukoencephalopathy with thalamus and brainstem involvement and high lactate 'LTBL' caused by EARS2 mutations». *Brain*, 135: 1387-1394.
- TALIM, B.; PYLE, A.; GRIFFIN, H.; TOPALOGU, H.; TOKATLI, A.; KEOGH, M. J.; SANTIBANEZ-KOREF, M.; CHINERY, P. F.; HORVATH, R. (2012). «Multisystem fatal infantile disease caused by a novel homozygous EARS2 mutation». *Brain*.
- TOIVONEN, J. M.; O'DELL, K. M.; PETIT, N.; IRVINE, S. C.; KNIGHT, G. K.; LEHTONEN, M.; LONGMUIR, M.; LUOTO, K.; TOURAILLE, S.; WANG, Z.; ALZIARI, S.; SHAH, Z. H.; JACOBS, H. T. (2001). «Technical knockout, a *Dro-*

- sophila* model of mitochondrial deafness». *Genetics*, 159: 241-254.
- TOOMPUU, M.; YASUKAWA, T.; SUZUKI, T.; HAKKINEN, T.; SPELBRINK, J. N.; WATANABE, K.; JACOBS, H. T. (2002). «The 7472insC mitochondrial DNA mutation impairs the synthesis and extent of aminoacylation of tRNASer(UCN) but not its structure or rate of turnover». *J. Biol. Chem.*, 277: 22240-22250.
- VALENTE, L.; SHIGI, N.; SUZUKI, T.; ZEVIANI, M. (2009). «The R336Q mutation in human mitochondrial EFTu prevents the formation of an active mt-EFTu. GTP.aa-tRNA ternary complex». *Biochim. Biophys. Acta*, 1792: 791-795.
- VALENTE, L.; TIRANTI, V.; MARSANO, R. M.; MALFATTI, E.; FERNÁNDEZ-VIZARRA, E.; DONNINI, C.; MEREGHETTI, P.; GIOIA, L. de; BURLINA, A.; CASTELLAN, C.; COMI, G. P.; SAVASTA, S.; FERRERO, I.; ZEVIANI, M. (2007). «Infantile encephalopathy and defective mitochondrial DNA translation in patients with mutations of mitochondrial elongation factors EFG1 and EFTu». *Am. J. Hum. Genet.*, 80: 44-58.
- WALLACE, D. C.; SINGH, G.; LOTT, M. T.; HODGE, J. A.; SCHURR, 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.
- WANG, J.; WILHELMSSON, H.; GRAFF, C.; LI, H.; OLDFORS, A.; RUSTIN, P.; BRUNING, J. C.; KAHN, C. R.; CLAYTON, D. A.; BARSH, G. S.; THOREN, P.; LARSSON, N. G. (1999). «Dilated cardiomyopathy and atrioventricular conduction blocks induced by heart-specific inactivation of mitochondrial DNA gene expression». *Nat. Genet.*, 21: 133-137.
- WERAARPACHAI, W.; ANTONICKA, H.; SASARMAN, F.; SEEGER, J.; SCHRANK, B.; KOLESAR, J. E.; LOCHMULLER, H.; CHEVRETTE, M.; KAUFMAN, B. A.; HORVATH, R.; SHOUBRIDGE, E. A. (2009). «Mutation in *TACO1*, encoding a translational activator of COX I, results in cytochrome *c* oxidase deficiency and late-onset Leigh syndrome». *Nat. Genet.*, 41: 833-837.
- WONG, L. J.; YIM, D.; BAL, R. K.; KWON, H.; VACEK, M. M.; ZANE, J.; HOPPEL, C. L.; KERR, D. S. (2006). «A novel mutation in the mitochondrial tRNA(Ser(AGY)) gene associated with mitochondrial myopathy, encephalopathy, and complex I deficiency». *J. Med. Genet.*, 43: e46.
- XU, F.; MORIN, C.; MITCHELL, G.; ACKERLEY, C.; ROBINSON, B. H. (2004). «The role of the LRPPRC (leucine-rich pentatricopeptide repeat cassette) gene in cytochrome oxidase assembly: mutation causes lowered levels of COX (cytochrome *c* oxidase) I and COX III mRNA». *Biochem. J.*, 382: 331-316.
- YAN, H.; ZAREEN, N.; LEVINGER, L. (2006). «Naturally occurring mutations in human mitochondrial pre-tRNA^{Ser}(UCN) can affect the transfer ribonuclease Z cleavage site, processing kinetics, and substrate secondary structure». *J. Biol. Chem.*, 281: 3926-3935.
- YASUKAWA, T.; SUZUKI, T.; ISHII, N.; OHTA, S.; WATANABE, K. (2001). «Wobble modification defect in tRNA disturbs codon-anticodon interaction in a mitochondrial disease». *Embo J.*, 20: 4794-4802.
- ZEHARIA, A.; SHAAG, A.; PAPP, O.; MAGER-HECKEL, A. M.; SAADA, A.; BEINAT, M.; KARICHEVA, O.; MANDEL, H.; OFEK, N.; SEGEL, R.; MAROM, D.; ROTIG, A.; TARASSOV, I.; ELPELEG, O. (2009). «Acute infantile liver failure due to mutations in the TRMU gene». *Am. J. Hum. Genet.*, 85: 401-407.

SOBRE L'AUTORA

Tanit Guitart, nascuda a Barcelona l'any 1982, es llicencià en biologia per la Universitat de Barcelona l'any 2005. El mateix any s'incorpora al Laboratori de Traducció Genètica de l'Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona com a estudiant de doctorat, sota la direcció del doctor Lluís Ribas de Pouplana. La seva tesi doctoral, defensada l'any 2010, se centra en l'estudi dels mecanismes de traducció genètica mitocondrials, i la generació de models de malalties mitocondrials humanes en *Drosophila*. Des de l'any 2011 és investigadora postdoctoral al Centre de Regulació Genòmica, sota la direcció de la doctora Fàtima Gebauer.