ORIGINAL ARTICLE

Molecular Analysis of tRNAGlu, Trp, Ala, Asp Genes of mtDNA in Patients with Long QT Syndrome

Mehri Khatami[1],
Monireh Eghbali Ebrahimabadi[2]

[1] Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran
[2] MSc in Genetics, Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran

(Received March 10, 2013 ; Accepted August 9, 2014)

Abstract

Background and purpose: Long QT syndrome is a heart arrhythmia identified by prolongation of the QT interval which is a cause of sudden cardiac death in young individuals. In most cases, abnormalities in heart repolarization are reasons of prolongation of action potential and arrhythmia. The activity of ion channels is sensitive to ATP level, therefore, mitochondrial disorders are considered to be very important. The purpose of this study was to investigate the areas of mtDNA that are identified as hot spots in most cardiac diseases.

Material and Methods: Total DNA was extracted from the peripheral blood of 30 patients with LQT syndrome and 35 normal persons. Mitochondrial $tRNA^{Trp\text{-}Ala\text{-}Apn\text{-}Glu}$genes and cytochrome b gene were amplified by polymerase chain reaction (PCR). Then, PCR fragments were screened for single-strand conformation polymorphism analysis (SSCP) and all positive samples were sequenced.

Results: We observed a homoplasmic and conserved T14687C mutation in the mitochondrial tRNA glutamic acid gene in one patient with pervious syncope. We found a homoplasmic C14766T transition in five patients that changed threonine to isoleucine substitution at amino acid 7. Also, we found a heteroplasmy G14838A mutation in mitochondrial cytochrome b gene which is nonsense and changed tryptophan to a stop codon in position 31.

Conclusion: Mitochondria ATP synthesis is important in heart, therefore, it is possible that mutations in mitochondrial genes could constitute a predisposing factor in combination with environmental factors and may also trigger the syncope in patients with L QT.

Keywords: Long QT syndrome, mitochondrial tRNA, mutation, PCR-SSCP

J Mazandaran Univ Med Sci 2014; 24(116): 141-148 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و چهارم شماره ۱۱۶ شهریور سال ۱۳۹۳ (۱۴۸-۱۴۱)

بررسی مولکولی tRNA های اسید گلوتامیک، تریپتوفان، آلانین وآسپارژین درژنوم میتوکندری بیماران مبتلا به‌سندرم Long QT در مقایسه با گروه کنترل

مهری خاتمی[1]
منیره اقبالی ابراهیم آبادی[2]

چکیده

سابقه و هدف: سندرم(Long QT (LQT نوعی آریتمی قلبی است که با طویل شدن فاصله QT شناسایی می‌شود و منجر به مرگ‌های ناگهانی در افراد جوان می‌گردد. در اغلب موارد، اختلال در رپلاریزاسیون قلب منجر به طولانی شدن پتانسیل عمل و آریتمی می‌شود. چون کانال‌های یونی قلب با مصرف انرژی کار می‌کنند، اختلالات میتوکندری در آن‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است. هدف این مطالعه، بررسی بخش‌هایی از mtDNA است که در اکثر بیماری‌های قلبی به عنوان نقاط داغ معرفی شده‌اند.

مواد و روش ها: DNA ژنومی از نمونه‌های خون محیطی ۳۰ بیمار LQT و ۳۵ فرد سالم استخراج گردید. قطعات ژنی $tRNA^{Trp-Ala-Asn-Glu}$ و سیتوکروم b با Polymerase Chain Reaction(PCR) تکثیر شد. سپس غربال‌گری جهش‌ها با استفاده از SSCP انجام شد و نمونه‌هایی که دارای الگوی باندی متفاوت بودند،تعیین توالی شدند.

یافته ها: در این مطالعه جهش هموپلاسمی و حفاظت شده T14687C در tRNA گلوتامیک اسید در یک بیمار با سابقه سنکوب دیده شد. جهش هموپلاسمی دیگری در C14766T در ۵ بیمار پیدا شدکه این جهش، اسیدآمینه ترئونین را با ایزولوسین در هفتمین اسید آمینه جایگزین می‌کرد. هم‌چنین جهش بی‌معنی و هتروپلاسمی G14838A در ژن سیتوکروم b پیدا شد که باعث تغییر اسیدآمینه تریپتوفان در موقعیت ۳۱ به کدون انتهایی ختم می‌شود.

استنتاج: به دلیل اهمیت تولید ATP در قلب، جهش در ژن‌های میتوکندریایی ممکن است همراه با عوامل محیطی در افزایش وخامت سندرم LQT نقش داشته باشند.

واژه های کلیدی: سندرم Long QT، tRNA میتوکندریایی،جهش، PCR-SSCP

مقدمه

سندرم (Long QT(LQT یک اختلال آریتموژنیک نادر است که با طویل شدن فاصله QT در الکتروکاردیوگرام (ECG) قابل تشخیص است. بیماران LQTs مستعد Torsade de Pointes بطنی هستند و به‌طور جدی در معرض مرگ ناگهانی قلبی حتی در صورت داشتن قلب سالم می باشند(۱، ۲). تظاهرات این سندرم شامل حمله قلبی، طپش قلب و سنکوپ است و معمولاً زمانی اتفاق می‌افتد که فرد در شرایط استرس‌های

مولف مسئول: مهری خاتمی- یزد- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یزد E-mail: m.khatami@yazd.ac.ir
۱. استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یزد
۲. کارشناس ارشد ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه یزد
تاریخ دریافت : ۱۳۹۲/۱۲/۱۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۳/۳/۱۹ تاریخ تصویب : ۱۳۹۳/۵/۱۸

روحی یا جسمی باشد. این در حالی است که فرد جوان بوده و سلامت عمومی بالایی داشته باشد. مرگ و میر بالا و نشانه‌های اندک این سندرم پزشکان را در تشخیص و دنبال کردن علایم برای غربالگری بیماران دچار مشکل کرده است(۳، ۴). فاصله QT در الکتروکاردیوگرام، نمایانگر زمان رپلاریزه شدن بطن‌ها است.طول این فاصله در افراد به عوامل متعددی مانند سن، جنسیت، بیماری‌های قلبی، مصرف داروهای مختلف و عملکرد عمومی قلب بستگی دارد ولی به‌طور متوسط باید کم‌تر از ۴۸۰ میلی‌ثانیه باشد. درحالیکه در افراد مبتلا به این سندرم در شرایط استرس‌های محیطی به حدود ۵۵۰ تا ۶۰۰ میلی‌ثانیه می رسد و بعد از رهایی از این شرایط استرس‌زا به مقدار طبیعی خودش بازمی‌گردد(۵).

مطالعات مولکولی ثابت کرده است، کانالهای یونی که فعالیت الکتریکی قلب را کنترل می‌کنند، در بروز LQTs نقش دارند و در این ارتباط، جهش‌هایی در ژنهای کد کننده کانالهای سدیم و پتاسیم قلب شناسایی شده است(۶، ۷). با این وجود برای تقریباً ۳۰ تا ۴۰ درصد موارد بیماری، نمی‌توان جهش‌های کانال‌های یونی را مسئول دانست و احتمال دارد علاوه بر ژنوم هسته‌ای، mtDNA نیز در وخامت بیماری سهم داشته باشد(۴، ۸). چون کانال‌های یونی قلب به انرژی اکسیداتیو تولید شده در میتوکندری‌ها بسیار وابسته‌اند، هرگونه نقص در کمپلکس‌های زنجیره تنفسی مستقیماً باعث اختلال در عملکرد قلب می‌شود(۹، ۱۰).جهش‌های مختلفی در گروه‌های ژنتیکی و قومیتی متفاوت وجود دارند که این موضوع از نظر شخصی‌سازی درمان و تشخیص‌های مولکولی اهمیت زیادی دارد(۱۱). جهش در ژن‌های tRNA معمولاً باعث نقص در عملکرد کمپلکس‌های I و III و همین طور کمپلکس سیتوکروم c اکسیداز (IV) می‌شود و روی سنتز ATP مؤثر است. اما روی کمپلکس II به دلیل این‌که تمام زیر واحدهایش توسط ژن‌های هسته‌ای کد می‌شود، تأثیری ندارد(۱۲، ۱۳). هدف از این تحقیق، مطالعه بخشی از ژنوم میتوکندری حاوی ژن‌های مربوط به tRNA های تریپتوفان، آلانین، آسپارژین و گلوتامیک اسید و بخشی از سیتوکروم b با استفاده از روش PCR-SSCP است. دلیل انتخاب این نواحی از ژنوم میتوکندری این است که این ژن‌ها غالباً در بیماری‌های قلبی مانند کاردیومیوپاتی به عنوان نقاط داغ معرفی می‌شوند.

مواد و روش ها

این مطالعه از نوع مورد- شاهدی بوده که با نمونه‌های در دسترس انجام گرفته است. در این تحقیق ۳۰ بیمار مبتلا به LQTs و۳۵ فرد سالم که هیچ سابقه خانوادگی از بیماری‌های قلبی- عروقی نداشتند، مورد مطالعه قرار گرفتند. مبنای تشخیص بالینی این سندرم، بر اساس مشاهدات الکتروکاریوگرام و سابقه خانوادگی از سکته قلبی بود. طیف سنی بیماران مورد مطالعه ۹ تا ۵۴ سال بود که ۱۱ نفر از بیماران مرد و بقیه زن بودند. ۵ نفر از این بیماران سابقه سنکوب داشتندکه منجر به مرگ نشده بود (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: مشخصات بیماران مبتلا به سندرم LQT و افراد کنترل

معیار	بیماران	افراد کنترل
تعداد	۳۰	۳۵
سن*	۲۴±۵/۶	۲۵±۵/۸
جنسیت (مذکر)**	۱۱	۱۵
مشخصه‌ی اصلی	۵ مرد دارای سابقه سنکوپ	بدون سابقه بیماری های قلبی و میتوکندریایی
سن بروز سنکوپ	۹-۴۳	-

* P value = 0.545
**P value = 0.799

این بیماران از بین افراد مراجعه کننده به کلینیک آریتمی تهران انتخاب شدند. افراد کنترل از نظر سنی و قومیت، با نمونه‌های بیماران مطابقت داشتند. این افراد کسانی بودند که هیچ‌گونه علامتی از بیماری‌های قلبی و حتی بیماری‌های میتوکندریایی نداشتند. همین طور نمونه‌گیری خون و انجام طرح، از کمیته اخلاق در پژوهش زیست شناسی- دانشگاه یزد، مجوز لازم کسب کرده بود و تمام افراد مورد مطالعه رضایت‌نامه تدوین شده را آگاهانه امضا کردند.

استخراج DNA و واکنش زنجیره ای پلیمراز

استخراج DNA از نمونه خون افراد بیمار و شاهد با روش استاندارد رسوب نمکی انجام گرفت(۱۴). برای تکثیر دو قطعه ژن که اولی شامل ژن‌های $tRNA^{Trp-Ala-Asn}$ و دومی شامل ژن‌های $tRNA^{Glu}$ و سیتوکروم b بود، دو جفت پرایمر طراحی شد (جدول شماره ۲).

هر واکنش Polymerase Chain Reaction(PCR) با حجم نهایی ۲۵ µl حاوی مواد زیر با غلظت نهایی بافر PCR به میزان ۱x، پرایمر ۰/۴ µM، Mgcl2 با غلظت ۱/۵ mM، dNTPs با غلظت ۰/۲ mM، آنزیم Taq DNA Polymerase با غلظت نهایی ۰/۰۵ U/µl و DNA حدود ۱۰۰ng انجام شد. تمامی ترکیبات (به جز پرایمرها که از شرکت تکاپوزیست–ایران تهیه گردید) از شرکت سیناکلون تهیه شد.

برنامه تنظیمی واکنش‌های PCR برای به دست آوردن میزان اپتیمم DNA به شرح زیر است: مرحله اول شامل: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، دناتوراسیون ثانویه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه. مرحله اتصال در دمای ۵۷/۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه. مرحله گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه. واکنش هایPCR در ۳۰ سیکل انجام شد.

آنالیز مولکولی و PCR-SSCP

برای تشخیص جهش‌های نقطه‌ای هتروپلاسمی و هموپلاسمی در ژنوم میتوکندری از روش PCR-SSCP استفاده شد. حساسیت روش SSCP آن‌قدر بالا است که قادر است جهش‌های هتروپلاسمیک با فراوانی بسیار کم را نیز شناسایی کند(۱۵). در این مطالعه دو قطعه هر دو با اندازه ۲۷۹bp جهت بررسی انتخاب و با PCR تکثیر شدند. سپس محصولات PCR (۵ میکرولیتر) به طور جداگانه با بافر دناتوره کننده SSCP (۹۵درصد فرمامید، ۱۰میلی مولNaOH، ۰/۲۵درصدبرموفنل بلو و ۰/۲۵درصد زایلن سیانول) (۵ میکرولیتر) مخلوط شده و به مدت ۵ دقیقه در درجه حرارت ۹۵ درجه قرار داده شدو سپس به سرعت در یخ قرار داده شد. مقدار ۵ میکرولیتر از محلول حاصل در ژل اکریل آمید (۸درصد) به مدت ۲۰ ساعت الکتروفورز شد. قطعات DNA افراد بیمار و کنترل به صورت کنار هم آنالیز شدند و هر تفاوتی در الگوی باندینگ بین بیماران و افراد کنترل، که نشان دهنده جهش‌های هموپلاسمی یا هتروپلاسمی است(۱۶) جهت تعیین تغییر نوکلئوتیدی برای تعیین توالی ارسال شد.

آنالیز آماری

تست آماری فیشر(Fisher's exact) برای تعیین ارتباط بین دو گروه شاهد و بیمار مورد استفاده قرار گرفت، P کم‌تر از ۰/۰۵ نیز به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. محاسبات با استفاده از نرم افزار GraphPad انجام گرفت.

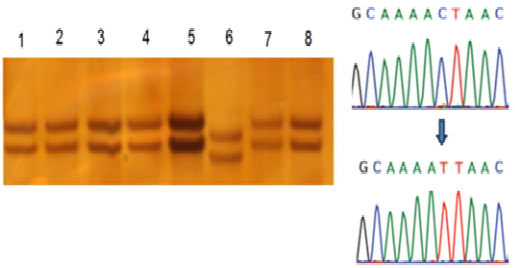
یافته ها

۳۰ بیمار (۱۹ زن و ۱۱ مرد) مبتلا به سندرم LQT مورد مطالعه قرار گرفتند. با استفاده از روش SSCP و تعیین توالی بخشی از mtDNA بیماران، موفق به یافتن ۳ جهش

جدول شماره ۲: توالی و موقعیت پرایمرها

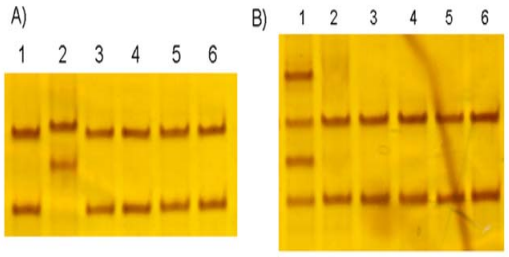
طول قطعه تکثیر شده(bp)	توالی پرایمر	موقعیت نوکلئوتیدی	ناحیه ژنی	نام پرایمر
۲۷۹	5'- CCCTTACCACGCTACTCCTA- 3'	5461-5480	$tRNA^{Ala,Trp,Asn}$	ONP86
	5'- GGCGGGAGAAGTAGATTGAA- 3'	5740-5721		ONP89
۲۷۹	5'-ACCACACCGCTAACAATCAA- 3'	14561-14580	$tRNA^{Glu}$ و بخشی از سیتوکروم b	ONP96
	5'- CAACATCTCCGCATGATGAA- 3'	14840-14821		ONP97

نقطه‌ای گشتیم که عبارتند از: جهش هموپلاسمی C14766T که در ۵ بیمار دیده شد که قبلا دچار سنکوپ نشده بودند. این جهش باعث تغییر اسید آمینه ترئونین به ایزولوسین در موقعیت ۷ می‌شود (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: شناسایی جهش C14766T با آنالیز SSCP و تعیین توالی. لاین ۱: کنترل، لاین ۲، ۳، ۴، ۵، ۷ و ۸: بیماران بدون جهش و لاین ۶: بیمار با جهش هموپلاسمی

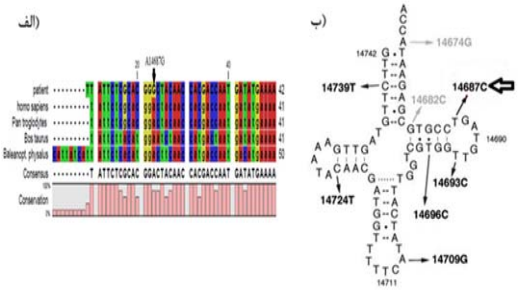
جهش هموپلاسمی A14687G در ژن tRNA اسید گلوتامیک که در لوپ TψC قرار دارد (تصویر شماره ۲). جهش هتروپلاسمی G14838A در ژن سیتوکروم b که در یک بیمار ۹ ساله مشخص شد. این فرد قبلا دچار سنکوپ شده بود. این جهش از نوع بی‌معنی است و در موقعیت ۳۱ پروتئین اسید آمینه ترپتوفان به کدون ختم تبدیل می‌شود (تصویر شماره ۳).



تصویر شماره۲: آنالیزSSCPبرای یافتن جهش ها. A)جهش A14687G (لاین۲: بیمار دارای جهش هموپلاسمی، لاین های۳، ۴ و ۵ بیمارانی که این جهش را ندارند و لاین ۱: فرد کنترل).B) جهش G14838A (لاین ۱: بیمار دارای جهش هتروپلاسمی، لاین‌های ۲-۵: بیمارانی که این جهش را ندارند و لاین ۶: فرد کنترل)

بحث

جهش‌در ژن‌های tRNA میتوکندریایی در بیماری‌های عصبی، قلبی و ماهیچه‌ای رایج است، زیرا شکل‌گیری و عملکرد tRNA روی سنتز پروتئین‌های میتوکندریایی مؤثر است و در نتیجه باعث اختلال در کمپلکس‌های چند آنزیمی فسفریلاسیون اکسیداتیو می شوند(۱۷).جهش A14687G در tRNA گلوتامیک اسید در لوپ TΨC قرار گرفته است، بررسی این نوکلئوتید در بین پستانداران نشان دهنده حفاظت شدگی آن طی تکامل است (تصویر شماره۴). این جهش در لوپ T قرار دارد که در میانکنش‌هایی که برای شکل‌گیری ساختار سوم لازم است، تأثیر گذاشته و می‌تواند به شکل‌گیری ساختار نادرست و کارایی پایین این tRNA منجر شود. این امر باعث می‌شود tRNA نتواند عملکرد صحیح خود را داشته باشد و در نهایت منجر به کاهش سنتز پروتئین‌های سازنده کمپلکس تنفسی و کاهش تولید ATP شود. این جهش در یک بیمار مرد ۱۷ ساله دیده شد که سابقه سنکوب داشته است و پیش از این نیز در یک مرد ۱۶ ساله مبتلا به میوپاتی میتوکندریایی و نارسایی تنفسی به عنوان یک جهش بیماری‌زا گزارش شده است(۱۸).



تصویر شماره ٤: الف) همردیفی توالی‌های tRNA گلوتامیک اسید میتوکندری در پستانداران. ب) موقعیت جهش A14687G در tRNA گلوتامیک اسید.

ژن سیتوکروم b در جایگاه ۱۴۷۴۷ تا۱۵۸۸۷ قرار دارد که کد کننده یک پروتئین ۳۸۰ اسیدآمینه‌ای است. مطالعات بیش‌تر در مورد سیتوکروم b ثابت کرده است که جهش در ژن سیتوکروم b علاوه بر این‌که سیستم اکسیداتیو فسفریلاسیون را تخریب می‌کند و تولید ATP را کاهش می‌دهد در شکل‌گیری ساختاری

کمپلکس‌های I و III نیز اختلال ایجاد کرده و حتی در پایداری و فعالیت کمپلکس I نیز تاثیر دارد(۱۹). جهش C14766T در این ژن باعث تغییر اسید آمینه ترئونین به ایزولوسین می‌شود.

اسیدآمینه ترئونین در موقعیت هفتم در انتهای N پروتئین سیتوکروم b قرار دارد. اسیدآمینه ترئونین در این موقعیت در بین پستانداران به طور متوسط حفاظت شده است، این اسیدآمینه در ساختارهای هلیکسی شرکت ندارد و داخل ماتریکس میتوکندری جای گرفته است. این جابه‌جایی قبلاً در بیماری‌های LHON، MELAS، دیستروفی میوتونیک مادرزادی، دیابت نوع دو به ارث رسیده از مادر و سندرم مرگ ناگهانی نوزادان مشاهده شده است(۲۰). این جهش در اسیدآمینه عملکردی پروتئین قرار ندارد و در میزان فعالیت پروتئین تأثیری ندارد، ولی از آن‌جایی که مشخصات هیدروپاتی پروتئین را در یک ناحیه آبدوست تغییر می‌دهد، ممکن است در پایداری پروتئین و در نتیجه پایداری کمپلکس III اثر داشته باشد و افراد دارای این جهش در معرض بیش‌تر ابتلا به بیماری‌های میتوکندریایی باشند. جهش G14838A، در ژن سیتوکروم b جهشی هتروپلاسمی و بی‌معنی است که باعث از دست رفتن بیش از ۹۱ درصد پروتئین می‌شود. این تغییر قبلا به عنوان یک جهش بیماریزا در کاردیومیوپاتی گزارش شده است(۲۱، ۲۲) و باعث از دست ۳۵۰ اسید آمینه پروتئین می‌شود. به احتمال زیاد این حذف باعث کاهش پروتئین‌های هسته و پروتئین آهن- سولفات می‌شود. در نتیجه واکنش فسفوریلاسیون اکسیداتیو دچار اختلال شده و ATP تولید شده توسط میتوکندری کاهش می‌یابد. مخصوصاً این که جهش در بیماری با سن پایین (۹ ساله) دیده شده است که قبلاً سابقه سنکوب داشته است و این نشان‌دهنده این موضوع است که این جهش به دلیل این که منجر به سنتز پروتئین ناکامل سیتوکروم b می‌شود یک کمبود اساسی را در زنجیره انتقال الکترون ایجاد کرده که با وجود هتروپلاسمی بودن سلول‌ها قادر به جبران میزان ATP تولیدی کاسته شده در اثر این جهش نبوده‌اند. هم‌چنین نتایج ما نشان داد که هیچ کدام از جهش‌های گزارش شده در این مطالعه در افراد کنترل دیده نشد. نکته مهم آن است که میزان زیاد جهش‌های mtDNA در بیماران سبب ناپایداری ژنوم میتوکندری این بیماران در مقایسه با افراد سالم می‌شود. جهش‌های ژنوم میتوکندری ممکن است متابولیسم اکسیداتیو انرژی را تحت تاثیر قرار دهد و بنابراین کمبود ATP را القاء کند. از طرفی ژنوم میتوکندری نسبت به آسیب‌های DNA به علت تولید انواع اکسیژن‌های رادیواکتیو حساس است، چون پروتئین‌های هیستون محافظی برای mtDNA وجود ندارد و هم‌چنین این ژنوم قابلیت ترمیم محدودی دارد. بنابراین جهش‌های mtDNA ممکن است در سندروم LQT درگیر باشند و تجمعشان و ناپایداری mtDNA می‌تواند فاکتورهای خطری برای این سندرم باشد.

سپاسگزاری

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه یزد انجام گرفته است و مراتب امتنان خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه اعلام می‌داریم. از آقای دکتر محمود افتخار زاده فوق تخصص آریتمی قلبی از مرکز آریتمی تهران که بیماران را جهت این مطالعه ارجاع داده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود. از تمام بیماران رضایت‌نامه جهت این مطالعه دریافت شده است و از آن‌ها به علت همکاریشان قدردانی می‌شود.

References

1. Beckmann BM, Pfeufer A, Kaab S. Inherited cardiac arrhythmias: diagnosis, treatment, and prevention. Dtsch Arztebl Int. 2011 Sep; 108(37): 623-633; quiz 634.

2. Priori SG. Inherited arrhythmogenic diseases: the complexity beyond monogenic disorders. Circ Res. 2004 Feb 6; 94(2): 140-145.
3. Chiang CE. Congenital and acquired long QT syndrome. Current concepts and management. Cardiol Rev. 2004 Jul- Aug; 12(4): 222- 234.
4. Crotti L, Celano G, Dagradi F, Schwartz PJ. Congenital long QT syndrome. Orphanet J Rare Dis. 2008; 3:18.
5. Grant AO, Carboni MP, Neplioueva V, Starmer CF, Memmi M, Napolitano C, et al. Long QT syndrome, Brugada syndrome, and conduction system disease are linked to a singlesodium channel mutation. J Clin Invest. 2002 Oct; 110(8): 1201-1209.
6. Naik A. Long QT syndrome revisited. J Assoc Physicians India. 2007 Apr;55 Suppl:58-61.
7. Moss AJ, Kass RS. Long QT syndrome: from channels to cardiac arrhythmias. J Clin Invest. 2005 Aug;115(8): 2018-2024.
8. Towbin JA, Vatta M. Molecular biology and the prolonged QT syndromes. Am J Med. 2001 Apr 1;110(5): 385-398.
9. Casademont J, Miro O. Electron transport chain defects in heart failure. Heart Fail Rev. 2002 Apr; 7(2): 131-139.
10. Opdal SH, Vege A, Egeland T, Musse MA, Rognum TO. Possible role of mtDNA mutations in sudden infant death. Pediatr Neurol. 2002 Jul; 27(1):23-29.
11. Kass RS, Moss AJ. Long QT syndrome: novel insights into the mechanisms of cardiac arrhythmias. J Clin Invest. 2003 Sep; 112(6): 810-815.
12. Mayr JA, Moslemi AR, Forster H, Kamper A, Idriceanu C, Muss W, et al. A novel sporadic mutation G14739A of the mitochondrial tRNA (Glu) in a girl with exercise intolerance. Neuromuscul Disord. 2006 Dec; 16(12): 874-877
13. Acin-Perez R, Bayona- Bafaluy MP, Fernandez-Silva P, Moreno-Loshuertos R, Perez-Martos A, Bruno C, et al. Respiratory complex III is required to maintain complex I in mammalian mitochondria. Mol Cell. 2004 Mar 26; 13(6): 805-815.
14. Eridani S1, Sgaramella V, Cova L.Stem cells: From embryology to cellular therapy? An appraisal of the present state of art. Cytotechnology. 2004 Mar;44(3): 125-41.
15. Wong LJ, Liang MH, Kwon H, Park J, Bai RK, Tan DJ. Comprehensive scanning of the entire mitochondrial genome for mutations. Clin Chem. 2002 Nov; 48(11): 1901-1912.
16. Jaksch M, Gerbitz KD, Kilger C. Screening for mitochondrial DNA (mtDNA) point mutations using nonradioactive single strand conformation polymorphism (SSCP) analysis. Clin Biochem. 1995 Oct; 28(5): 503-509.
17. Florentz C, Sissler M. Disease-related versus polymorphic mutations in human mitochondrial tRNAs. Where is the difference? EMBO Rep. 2001 Jun; 2(6): 481-486.
18. Bruno C, Sacco O, Santorelli FM, Assereto S, Tonoli E, Bado M, et al. Mitochondrial myopathy and respiratory failure associated with a new mutation in the mitochondrial transfer ribonucleic acid glutamic acid gene. J Child Neurol. 2003 Apr; 18(4): 300-303.
19. Sierotzki H, Frey R, Wullschleger J, Palermo S, Karlin S, Godwin J, et al. Cytochrome b gene sequence and structure of Pyrenophora teres and P. tritici-repentis andimplications for QoI resistance. Pest Manag Sci. 2007 Mar; 63(3): 225-233.

20. Lamminen T, Majander A, Juvonen V, Wikstrom M, Aula P, Nikoskelainen E, et al. A mitochondrial mutation at nt 9101 in the ATP synthase 6 gene associated with deficient oxidative phosphorylation in a family with Leber hereditary optic neuroretinopathy. Am J Hum Genet. 1995 May; 56(5): 1238-1240.
21. Andreu AL, Bruno C, Shanske S, Shtilbans A, Hirano M, Krishna S, et al. Missense mutation in the mtDNA cytochrome b gene in a patient with myopathy. Neurology. 1998 Nov; 51(5): 1444-1447.
22. Blakely EL, Mitchell AL, Fisher N, Meunier B, Nijtmans LG, Schaefer AM, et al. A mitochondrial cytochrome b mutation causing severe respiratory chain enzyme deficiency inhumans and yeast. FEBS J. 2005 Jul; 272(14): 3583-3592.