Manuskrypt otrzymany: 13.04.2018

Manuskrypt przyjęty do druku: 27.05.2018

**Molekularne podłoże chorób spowodowanych mutacjami w genach kodujących podjednostki syntazy ATP**

Emilia Baranowska

Joanna Rytka,

Róża Kucharczyk🖂

🖂Zakład Genetyki, Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, ul. Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa, tel. (22) 5921221, e-mail: [roza@ibb.waw.pl](mailto:roza@ibb.waw.pl)

**Słowa kluczowe**: syntaza ATP, gen *ATP12,* gen *ATP6,* gen *ATP8*, choroby mitochondrialne

**Wykaz skrótów:** OXPHOS – fosforylacja oksydacyjna; mtDNA – mitochondrialny DNA; nDNA - jądrowy DNA; IMM – wewnętrzna błona mitochondrialna; IMS – przestrzeń międzybłonowa; Pi – fosforan nieorganiczny; ROS – reaktywne formy tlenu (z ang. Reactive Oxygen Species); ATP – adenozynotrójfosforan; ADP – adenozynodwufosforan; CH - chloro-heksydyna; NaPT - pirytion sodu

**Podziękowania**: Praca powstała w trakcie realizacji projektu badawczego NCN DEC-2016/23/B/NZ3/02098, finansowanego ze środków przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki. Analiza efektów mutacji in silico wykonana została we współpracy z dr A. Dautant z IBGC, CNRS, Bordeaux.

**STRESZCZENIE**

Syntaza ATP jest ostatnim enzymem systemu OXPHOS, odpowiedzialnym za syntezę ATP. Mutacje zarówno w genach jądrowych jak i mitochondrialnych, kodujących podjednostki enzymu (17 białek), prowadzą do chorób neurodegeneracyjnych. Dwie podjednostki tego enzymu, *8* (ATP8, inna nazwa A6L) i *a* (ATP6), kodowane są w genomie mitochondrialnym przez geny *MT-ATP8* i *MT-ATP6*. 17 mutacji związanych z chorobami zidentyfikowano w pięciu genach jądrowych kodujących podjednostki enzymu. 58 mutacji zostało opisanych w genach *MT-ATP8* i *MT-ATP6*, 36 z nich zostało zdeponowanych w bazie danych MITOMAP. Dla większości z nich zarówno patogenny charakter jak i mechanizm choroby nie są znane. W tej pracy podsumowujemy aktualną wiedzę na temat molekularnych podstaw chorób spowodowanych dysfunkcjami syntazy ATP. Opisujemy mutacje w genach kodujących podjednostki enzymu oraz dane biochemiczne uzyskane w badaniach komórek pacjentów, modeli komórkowych i drożdżowych, a ponadto badania wykorzystujące drożdże mające na celu selekcję leków i poznanie ich mechanizmu działania. Mutacje w podjednostkach *8* i *a* wprowadziliśmy do ostatnio opublikowanej struktury domeny błonowej enzymu i dyskutujemy ich strukturalne i funkcjonalne konsekwencje.

**WPROWADZENIE**

Mitochondria to organelle otoczone dwiema warstwami błony, rozdzielonymi przestrzenią międzybłonową (IMS). Błony otaczają macierz mitochondrialną. Błona wewnętrzna tworzy wpuklenia do wnętrza macierzy, tzw. grzebienie. Mitochondria mają własny genom i własny system syntezy białek. Kolista cząsteczka ludzkiego mtDNA długości 16569 par zasad koduje 37 genów: 22 tRNAs, 2 rRNAs i 13 białek. Wielkość, kształt i liczba mitochondriów w komórce jest różna, zależna od organizmu, a w obrębie jednego organizmu zależy od specjalizacji komórki/tkanki. Najważniejszą funkcją mitochondriów jest synteza komórkowej energii w formie ATP na drodze fosforylacji oksydacyjnej (OXPHOS), przeprowadzanej przez kompleksy łańcucha oddechowego [[1](#_ENREF_1)]. System OXPHOS buduje 77 białek kodowanych w jądrowym DNA (nDNA), i 13 białek kodowanych w mitochondrialnym DNA (mtDNA). Białka te są osadzone w wewnętrznej błonie mitochondrialnej (IMM), wchodzą w skład czterech wielopodjednostkowych kompleksów (I-IV) oraz syntazy ATP [[2](#_ENREF_2)]. Elektrony pochodzące z utleniania metabolitów przenoszone są na tlen, co prowadzi do uwalniania energii koniecznej do pompowania protonów z macierzy mitochondrialnej do przestrzeni międzybłonowej. Skutkuje to utworzeniem elektrochemicznego gradientu protonów w poprzek błony, nazywanego siłą motoryczną, gdzie zewnętrzna strona IMM jest naładowana dodatnio a wewnętrzna ujemnie. Syntaza ATP wykorzystuje ten gradient do produkcji ATP z ADP i nieorganicznego fosforanu (Pi) [[3](#_ENREF_3)]. Mitochondria, obok ich głównej funkcji jaką jest synteza komórkowej energii w formie ATP, pełnią szereg innych funkcji istotnych dla wzrostu i różnicowania komórek czy regulacji cyklu komórkowego. Są to synteza aminokwasów, lipidów, hemu czy mostków żelazowo-siarkowych, utrzymanie homeostazy jonów wapnia czy indukcja apoptozy. Oksydacyjnej fosforylacji towarzyszy produkcja reaktywnych form tlenu (ROS), które są bardzo ważne w przekazywaniu sygnałów w komórce. Zaburzenie którejkolwiek z funkcji mitochondriów prowadzi do chorób zwanych chorobami mitochondrialnymi.

**CHOROBY MITOCHONDRIALNE**

Choroby mitochondrialne należą do chorób o podłożu genetycznym, spowodowane są mutacjami zarówno w nDNA jak i w mtDNA [[4](#_ENREF_4)]. Mutacje w mtDNA to delecje, rearanżacje oraz mutacje punktowe w genach kodujących rRNA, tRNA czy białka kompleksów oddechowych (8 u *Saccharomyces cerevisiae*, 13 u ludzi). Mutacje jądrowe występują zarówno w genach kodujących podjednostki kompleksów łańcucha oddechowego, jak i czynniki niezbędne do ich prawidłowego składania w błonie. Skutkują one nieprawidłowym działaniem mitochondriów, także systemu OXPHOS, co leży u podstaw ponad 150 zdefiniowanych chorób genetycznych [[5-10](#_ENREF_5)], występujących z częstością 1 na 4300 osób dorosłych [[11](#_ENREF_11)]. Dotyczą one organów i tkanek o wysokim zapotrzebowaniu na energię. Typowe objawy kliniczne obejmują wady słuchu/wzroku, encefalopatię, choroby serca, układu mięśniowo-nerwowego, ataksje, zaburzenia metaboliczne, funkcji wątroby, nerek czy gruczołów dokrewnych, często towarzyszy im cukrzyca [[12-14](#_ENREF_12)]. Około 15% przypadków spowodowanych jest mutacjami w mtDNA, co wynika z narażenia tego DNA na mutacje z powodu bezpośredniego kontaktu ze źródłem ROS oraz z niskiej wydajności systemu naprawy w mitochondriach [[15](#_ENREF_15)]. W różnych jednostkach chorobowych opisano ponad 600 mutacji mtDNA, w tym delecje dużych jego fragmentów i rearanżacje genomu [[16](#_ENREF_16)]. Pomimo wielu charakterystycznych objawów defektów funkcji mitochondriów, diagnoza tych chorób jest trudna, z powodu ich dużej różnorodności i nasilenia, zależnych od rodzaju mutacji. Występowanie mtDNA w tysiącach kopii na komórkę, w stanie homoplazmatycznym (wszystkie kopie o jednakowej sekwencji) jak i heteroplazmatycznym (kopie mtDNA różniące się pomiędzy sobą, np. na skutek mutacji, występujące w różnych proporcjach) [[9](#_ENREF_9)] oraz dziedziczenie po linii matki są jedną z przyczyn różnorodności fenotypowej. Minimalny poziom zmutowanego mtDNA powodujący chorobę to 60%, jest on często różny w różnych tkankach [[9](#_ENREF_9)]. Przebieg choroby jest zróżnicowany, nawet w przypadku chorób powodowanych przez tę samą mutację, zależy bowiem od stopnia heteroplazmii i innych czynników genetycznych, w tym haplogrupy mtDNA czy towarzyszącym mutacjom.

Badania prowadzone w naszym zespole skoncentrowane są na poznaniu molekularnego podłoża chorób wynikających z mutacji w mtDNA w genach *MT-ATP8* i *MT-ATP6* (*ATP8* i *ATP6* w dalszej części artykułu), kodujących podjednostki syntazy ATP.

# STRUKTURA I FUNKCJONOWANIE SYNTAZY ATP

Syntaza ATP zlokalizowana jest w błonie wewnętrznej mitochondriów. Buduje ją 17 białek tworzących domenę błonową FO i katalityczną F1 połączonych ramieniem centralnym i zewnętrznym(Ryc. 1, Tabela 1) [[17-19](#_ENREF_17)]. Skierowaną do macierzy domenę katalityczną F1 tworzy heksamer podjednostek (*αβ*)3. Ramię centralne, złożone z podjednostek *γδε*, łączy się z centrum domeny katalitycznej poprzez podjednostkę *γ*. Domenę FO tworzy osiem podjednostek *c* u człowieka, a 10 podjednostek Atp9 u drożdży wraz z podjednostką *a* (Atp6), pomiędzy którymi następuje transport protonów przez membranę podczas procesu katalizy. Dodatkowo w skład domeny Fo wchodzą małe podjednostki: *8* (ATP8, alias *A6L*), *f*, 6.8PL (*i/j* u drożdży), które wraz z podjednostkami *b (*Atp4u drożdży*)*, *d*, *F6* (*h* u drożdży), oraz *OSCP* tworzą ramię zewnętrzne. Trzy podjednostki *e,* *g,* DAPIT (*k* u drożdży), stabilizują dimery syntazy ATP [[20](#_ENREF_20),[21](#_ENREF_21)], które usytuowane wzdłuż błony prowadzą do jej wygięć i tworzenia grzebieni [[22](#_ENREF_22),[23](#_ENREF_23)].

Syntaza ATP wykorzystuje gradient protonów na błonie wewnętrznej, które w procesie syntezy ATP przedostają się do macierzy poprzez kanał utworzony przez hydrofilowe aminokwasy podjednostek *c* i *a*, powodując rotację pierścienia. Wraz z pierścieniem rotują podjednostki ramienia centralnego. W centrum błony, protony są wiązane do konserwowanego aminokwasu kwaśnego w drugiej helisie podjednostki *c* (*c*H2) (*c*E58 u *H. sapiens*, *c*E59 u drożdży), zlokalizowanego na zewnętrznej powierzchni pierścienia*.* Przyjęto, że związanie protonu do grupy karboksylowej kwasu glutaminowego (E) niszczy oddziaływanie elektrostatyczne pomiędzy nią a naładowaną pozytywnie, konserwowaną argininą w podjednostce *a* w helisie 5 (*a*H5) (*a*R159 u *H. sapiens*, *a*R186 u drożdży) [[24-27](#_ENREF_24)]. Argininie przypisuje się funkcję elektrostatycznego separatora pomiędzy ścieżką dla protonów napływających z IMS do środka błony a drugą ścieżką, którą protony, po przejściu pełnego obrotu pierścienia, przedostają się do macierzy [[28](#_ENREF_28)]. Uzyskanie dokładnej struktury syntazy ATP drożdży dostarczyło wielu informacji na temat budowy kanału dla protonów [[24](#_ENREF_24)]. Wielkość hydrofilowej kieszeni, tworzącej kanał po stronie macierzy, to około 15 Å. Arginina *a*R186 skierowana jest do jej środka, a jej „ścianki” tworzą polarne aminokwasy helisy *a*H5 (u drożdży S250, Y251, K253, D254, H259) i *a*H6 (u drożdży E172, S175, R179, S182), spośród których E172 oraz D254 są konserwowane i zostały zaproponowane jako bezpośrednio biorące udział w transporcie protonów [[24](#_ENREF_24)]. Na skutek rotacji pierścienia i ramienia centralnego podjednostka katalityczna *β* przechodzi trzy stany konformacyjne, pozwalające na związanie ADP i Pi i syntezę ATP zgodnie z mechanizmem zaproponowanym przez Boyer [[3](#_ENREF_3)]. Syntaza ATP może również hydrolizować ATP, wówczas protony transportowane są z macierzy do przestrzeni międzybłonowej.

**MODELE DROŻDŻOWE I KOMÓRKOWE MUTACJI W GENACH MITOCHONDRIALNYCH SYNTAZY ATP**

Aby prawidłowo sklasyfikować mutację potrzeba wielu danych, np. informacji o rodzinnej historii choroby, stopniu hetreoplazmii i jego korelacji z objawami choroby, czy danych biochemicznych o aktywności zmutowanego enzymu i o jego strukturze. Ze względu na heteroplazmię mtDNA u człowieka, oraz występowanie w nim polimorfizmów w populacji, trudno jest sklasyfikować daną mutację jako patologiczną. Dane biochemiczne uzyskane na komórkach czy tkankach pacjentów nie pozwalają na określenie skutków pojedynczej mutacji. Dodatkowo, efekt mutacji może być wzmocniony poprzez występowanie jednocześnie innych mutacji, także w genomie jądrowym [[29](#_ENREF_29),[30](#_ENREF_30)]. Mimo tych trudności badania bezpośrednio na komórkach czy tkankach od pacjentów pokazały jaki poziom dysfunkcji systemu OXPHOS prowadzi do rozwoju choroby.

W celu zbadania efektów pojedynczej mutacji wykorzystuje się modele homoplazmatycznych linii komórkowych, cybrydy [[31](#_ENREF_31)]. Takie linie udało się otrzymać dla jedenastu mutacji w genie *ATP6* [[32-44](#_ENREF_32)]. Inne podejście to wykorzystanie komórek drożdży *S. cerevisiae*, których kompleksy systemu OXPHOS i syntaza ATP wykazują wysokie podobieństwo do kompleksów OXPHOS i syntazy ATP w mitochondriach ludzkich [[45-49](#_ENREF_45)]. Drożdże *S. cerevisiae* są organizmem, w którym jest możliwa ukierunkowana mutageneza mtDNA. Metodą biolistyczną wprowadza się do mitochondriów syntetyczny DNA kodujący zmutowaną wersję genu. Taki gen na drodze rekombinacji łatwo wprowadzić do kompletnego genomu mitochondrialnego [[50](#_ENREF_50)]. Drożdże nie tolerują stanu heteroplazmii, zatem zawsze otrzymuje się komórki homoplazmatyczne [[51](#_ENREF_51)]. Dzięki zdolności do fermentacji glukozy komórki drożdży są żywotne nawet kiedy system OXPHOS nie funkcjonuje [[52-54](#_ENREF_52)].

Na modelu drożdżowym bada się wzrost zależny od oddychania komórkowego, stabilność mtDNA, morfologię mitochondriów, zużycie tlenu przez wyizolowane mitochondria, efektywność syntezy i hydrolizy ATP, poziom potencjału na wewnętrznej błonie mitochondriów, stan złożenia/stabilność syntazy ATP oraz poziom syntezy białek kodowanych mitochondrialnie. Skonstruowane mutanty w mtDNA *S. cerevisiae* wykorzystaliśmy do zbadania efektu dziewięciu mutacji w genie *ATP6* przypisanych określonym chorobom [[36](#_ENREF_36),[53](#_ENREF_53),[55-62](#_ENREF_55)].

**MUTACJE W GENACH KODUJĄCYCH PODJEDNOSTKI SYNTAZY ATP**

Mutacje w genach syntazy ATP prowadzą do bardzo ciężkich chorób, często kończących się śmiercią w pierwszym miesiącu czy roku życia. Spis tych chorób przedstawiono w Tabeli 2. Zaburzają one funkcje enzymu, np. transport protonów przez domenę błonową, i/lub jego ilość z powodu nieefektywnego składania zmutowanej podjednostki, obniżonej stabilności enzymu czy zdolności do tworzenia struktur oligomerycznych [[6](#_ENREF_6),[63](#_ENREF_63)].

MUTACJE W GENACH JĄDROWYCH

Mutacje w pięciu jądrowych genach syntazy ATP, kodujących podjednostki *α, δ* i *ε*, oraz dwa białka będące czynnikami składania enzymu - ATP12 i TMEM70, zidentyfikowano w różnych jednostkach chorobowych [[6](#_ENREF_6)]. Opisano dwóch pacjentów z mutacją w genie *ATP5A1* (podjednostka α), dwóch pacjentów z mutacjami w genie *ATP5F1D* (podjednostka *δ),* po jednym pacjencie z mutacjami odpowiednio w *ATPAF2* (ATP12) i *ATP5E* (podjednostka *ε*) oraz pięćdziesięciu pacjentów z mutacjami w genie *TMEM70*, w którym zidentyfikowano dotychczas dwanaście mutacji.

Pierwszą mutację jądrową znaleziono w genie *ATPAF2*, kodującym białko ATP12, niezbędne do składania domeny F1, u pacjenta z encefalopatią noworodkową o bardzo ostrym przebiegu [[64](#_ENREF_64)]. Mutacja *c.280T>A* w obu allelach genu, prowadziła do zamiany tryptofanu w pozycji 94 na argininę (W94R), prawdopodobnie zaburzając oddziaływanie ATP12 z podjednostką *α*. Skutkuje to obniżeniem ilości kompleksów syntazy ATP. Badania na modelu drożdżowym pokazały, że białko z odpowiadającą białku ludzkiemu substytucją, Atp12-W103R, ma obniżoną rozpuszczalność i agreguje w macierzy mitochondrialnej, przez to jego funkcja jako czynnika składania podjednostki *α* do domeny F1 jest zaburzona [[65](#_ENREF_65)].

U dwudziestu trzech pacjentów z noworodkową encefalo-kardiopatią, której towarzyszyła kwasica mleczanowa, zidentyfikowano mutację *c.317-2A>G* w genie *TMEM70* [[66](#_ENREF_66)]. W komórkach pacjentów wykazano obniżoną aktywność syntazy ATP, na skutek obniżonego poziomu kompletnego enzymu oraz akumulacji domeny F1. Na tej podstawie przypisano białku TMEM70 funkcję czynnika składania domeny F1. Inna mutacja w tym genie *c.317-2A>G*,opisana u trzydziestu pacjentów, występuje w miejscu wycięcia intronu przed trzecim egzonem i skutkuje brakiem syntezy białka TMEM70. U pojedynczych pacjentów zidentyfikowano w tym genie mutacje: *c.316+1G>T*, delecję *g.2436–3789*, delecję *c.578\_579delCA*, *c.336T>A*, delecję *c.211–450\_317–568del*, *c.238C>T*, podwójną mutację *c.317-2A>G* i *c.118\_119insGT*, podwójną mutację *c.317-2A>G* i *c.494G>A*, podwójną mutację *c.317-2A>G* i *c.628A>G*,oraz *c.535C>T*. Wszystkie powodują syntezę skróconego białka TMEM70 z wyjątkiem ostatniej, która powoduje zamianę tyrozyny 179 na histydynę.

Mutację *c.35A>G* w genie *ATP5E*, prowadzącą do zamiany tyrozyny 12 na cysteinę w podjednostce *ε*, znaleziono u pacjenta z kwasicą mleczanową i 3-metyloglutakonową (3-MGA), opóźnieniem umysłowym i zaburzeniami funkcji nerwów obwodowych [[67](#_ENREF_67)]. Mutacja prowadzi do wadliwego składania enzymu. Obniżony poziom enzymu w komórkach pacjenta skutkował deficytem syntezy ATP.

Mutację *c.985C>T*w genie *ATP5A1*, prowadzącą do zamiany argininy 329 na cysteinę w podjednostce *α*, znaleziono u dwójki dzieci z noworodkową encefalopatią, które zmarły w pierwszym tygodniu życia [[68](#_ENREF_68)]. Badania na fibroblastach pacjentów wykazały silne obniżenie ilości enzymu, sugerując zaburzenia we wczesnych etapach jego biogenezy.

Dwie mutacje, c.245C>T oraz c.317T>G, w genie *ATP5F1D* zamieniające odpowiednio prolinę 82 w leucynę i walinę 106 w glicynę w podjednostce *δ* syntazy ATP, zidnetyfikowano u dwójki niespokrewnionych ze sobą dzieci. Pierwsza powodowała zaburzenia metaboliczne: kwasicę mleczanową i 3-metyloglutakonową (3-MGA) i wysokie stężenie amoniaku we krwi a druga encefalopatię [[69](#_ENREF_69)]. Badania na fibroblastach pacjentów wykazały silne obniżenie ilości enzymu, jego aktywności, a w konsekwecji akumulację metabolitów cyklu Krebsa.

# MUTACJE W GENACH MITOCHONDRIALNYCH *ATP8* I *ATP6*

Geny *ATP8* i *ATP6* sąsiadują ze sobą w mtDNA w ten sposób, że koniec genu *ATP8* (mtDNA 8366-8572) i początek genu *ATP6* (mtDNA 8527-9207) nachodzą na siebie odcinkiem 46 nukleotydów, między pozycjami 8527 oraz 8572 mtDNA. Mutacje w tym obszarze zaburzają funkcję obu podjednostek. W literaturze opisano dotychczas 58 mutacji w tych genach, 36 z nich znajduje się w bazie MITOMAP na liście mutacji potencjalnie patologicznych. Dzięki rozwojowi technik sekwencjonowania DNA i ich dostępności w diagnostyce, ich liczba ciągle wzrasta. Aktualna lista mutacji w genach *ATP8* i *ATP6* (sprawdzona w marcu 2018r.), wraz z chorobami z jakimi są powiązane i danymi biochemicznymi dostępnymi obecnie, zawarta jest w Tabeli 2. Pozycje zamienionych reszt aminokwasowych w białkach Atp8 i Atp6 na drożdżowym modelu struktury kanału protonów pokazano na Rycinie 2.

MUTACJE W GENIE KODUJACYM PODJEDNOSTKĘ *8*

Dziesięć mutacji w podjednostce *8* zidentyfikowano u pacjentów z: padaczką (**m.8502A>T** (*8*N46I), aż w 40 na 44 badanych przypadków) [[70](#_ENREF_70)]; syndromami LVHT lub MIDD(**m.8381A>G** (*8*T6A) (polskie nazwy chorób znajdują się w legendzie do Tabeli 2) [[71](#_ENREF_71),[72](#_ENREF_72)]; padaczką, niewydolnością mięśniową lub chorobą neurologiczną z głuchotą (**m.8393C>T** (*8*P10S) [[73](#_ENREF_73)], **m.8403T>C** (*8*I13T) [[42](#_ENREF_42)], i **m.8411A>G** (*8*M16V)) [[74](#_ENREF_74)], chorobą serca (**m.8481C>T** (*8*P39L)) [[75](#_ENREF_75)]; schizofrenią (**m.8463A>G** (*8*Y33C)**, m.8510A>G** (*8*K49E)i **m.8519G>A** (*8*E52K)) [[76](#_ENREF_76),[77](#_ENREF_77)]; oraz autyzmem (**m.8472C>T** (*8*P36L)) [[78](#_ENREF_78)]. Wydaje się, że mutacje w genie kodującym tę podjednostkę prowadzą do chorób o słabiej wyrażonym fenotypie w porównianiu z mutacjami w genie kodującym podjednostkę *a*, co może wynikać z faktu, że jest ona zaangażowana w transport protonów w sposób pośredni. Za mniejszym znaczeniem tej podjednostki dla funkcji enzymu przemawia też niska konserwatywność ewolucyjna sekwencji białka.

# MUTACJE W OBSZARZE WSPÓLNYM DLA OBU PODJEDNOSTEK *8* i *a*

Trzy mutacje w obszarze mtDNA wspólnym dla obu genów *ATP8* i *ATP6* (**m.8528T>C** (*8*W55R + *a*M1T), **m.8529G>A** (*8*W55STOP + *a*M1I), **m.8558C>T** (*8*P65S + *a*A11V)) zostały opisane u pacjentów z kardiomiopatią [[44](#_ENREF_44),[79-81](#_ENREF_79)]. Czwarta mutacja w tym obszarze (**m.8561C>G** (*8*P66A + *a*P12R)) występowała w mtDNA u pacjenta z ataksją, neuropatią obwodową i cukrzycą [[82](#_ENREF_82)].

MUTACJE W GENIE KODUJACYM PODJEDNOSTKĘ *a*

W przeciwieństwie do podjednostki *8*, sekwencja podjednostki *a* jest wysoce konserwowana. 32 mutacje z 48 zmieniają konserwowane aminokwasy u kręgowców, 18 z nich jest zachowane także u drożdży.

Dwie mutacje w tej samej pozycji mtDNA opisano już u osiemdziesięciu ośmiu pacjentów z syndromem NARP lub MILS: **m.8993T>G** (*a*L156R) i **m.8993T*>*C** (*a*L156P) (Tabela 2). Pierwsza z nich, jednocześnie pierwsza opisana mutacja w podjednostce *a* [[83](#_ENREF_83)], prowadzi do ostrzejszego przebiegu chorób niż druga. Stopnień nasilenia objawów chorobowych zależy też od stopnia heteroplazmii mtDNA z mutacją [[84](#_ENREF_84),[85](#_ENREF_85)]. Zaburza ona transport protonów przez domenę błonową enzymu, redukując jego aktywność nawet do 10% aktywności w komórkach zdrowych. Zaproponowano też, że brak syntezy ATP przez zmutowany enzym wynika z nieefektywnego wykorzystania gradientu protonowego do fosforylacji ADP [[37-41](#_ENREF_37),[86-93](#_ENREF_86)]. Niektóre prace donoszą o zaburzeniu składania / stabilności enzymu, ale badania na modelu drożdżowym pokazały, że zmutowany enzym jest stabilny [[62](#_ENREF_62)]. W przeciwieństwie do argininy, prolina w pozycji156 prowadzi do zaburzenia biogenezy enzymu oraz obniża ilość kompletnych jego kompleksów w błonie, co skutkuje obniżeniem produkcji ATP do 70% [[42](#_ENREF_42),[58](#_ENREF_58),[91](#_ENREF_91),[94](#_ENREF_94),[95](#_ENREF_95)]. Obok deficytu w funkcjonowaniu systemu OXPHOS, obie mutacje powodowały wzrost produkcji ROS i zaburzenie morfologii mitochondriów.

Dwie mutacje w innej pozycji tego genu, powodują głównie MILS (Tabela 2): **m.9176T>G** (*a*L217R) i **m.9176T>C** (*a*L217P). Zamiana leucyny w argininę całkowicie blokuje przyłączanie podjednostki *a* do enzymu, w efekcie jest ona degradowana, a ilość enzymu w mitochondriach jest śladowa [[96](#_ENREF_96)]. Badania na modelu drożdżowym potwierdziły ten mechanizm choroby [[59](#_ENREF_59)]. Druga mutacja obok MILS powoduje też chorobę Charcota-Mariego-Tootha, spastyczną paraplegię (osłabienie mięśni kończyn dolnych) i porażenia okresowe. Mutacja obniża poziom syntetyzowanego ATP do 75%, zaburzając najprawdopodobniej funkcjonowanie syntazy ATP, obserwowano też niestabilność enzymu [[97](#_ENREF_97),[98](#_ENREF_98)].

Najczęstsza (znaleziona u sześćdziesięciu jeden pacjentów) mutacja, **m.9185T>C** (*a*L220P), powoduje różnorodne choroby: MILS, chorobę neuronu ruchowego, Charcota-Mariego-Tootha, porażenie okresowe czy ataksję rdzeniowo-móżdżkową [[42](#_ENREF_42),[99-102](#_ENREF_99)]. Badania biochemiczne, także na komórkach drożdży, wskazują, że zaburza ona funkcjonowanie enzymu obniżając w konsekwencji syntezę ATP do 50-90% [[55](#_ENREF_55)].

U pojedyńczych pacjentów z syndromami NARP lub MILS (Tabela 2) opisano osiem innych mutacji w genie podjednostki *a* (**m.8597T>C** (*a*I24T), **m.8618insT**, **m.8839G>C** (*a*A105P), **m.8989G>C** (*a*A155P), **m.9025G>A** (*a*G167S), **m.9032T>C** (*a*L169P), **m.9127delAT** (*a*I201PfsX2) oraz **m.9191T>C** (*a*L222P)). Badania biochemiczne wskazują na patogenność niektórych z nich, np. m.8989G>C obniżała aktywność hydrolityczną syntazy ATP [[103](#_ENREF_103)], m.9032T>C prowadziła do obniżenia oddychania oraz wzrostu ROS i potencjału na błonie wewnętrznej [[33](#_ENREF_33)]. U podłoża chorób spowodowanych przez **m.9191T>C** leży drastyczne obniżenie przyłączania podjednostki *a* do syntazy ATP [[55](#_ENREF_55)].

U dwudziestu jeden pacjentów cierpiących na ataksję znaleziono mutację **m.9035T>C** (*a*L170P) [[35](#_ENREF_35),[104](#_ENREF_104)]. W badaniach na cybrydach pokazano, że obok obniżenia aktywności hydrolitycznej syntazy ATP i poziomu komórkowego ATP o około 50 %, ilość ROS w komórce była podwyższona aż 5-7 razy. Inna mutacja, **m.8611insC** (*a*L29PfsX36), wywołuje ataksję, której towarzyszyła encefalopatia [[105](#_ENREF_105)].

Mutacja **m.8969G>A** (*a*S148N) została znaleziona u dwóch pacjentów z syndromem MLASA [[106](#_ENREF_106)] oraz z nefropatią [[36](#_ENREF_36)]. Badania naszego zespołu pokazały, że asparagina w pozycji 148 bezpośrednio blokuje drogę wyjścia protonów po stronie macierzy, poprzez tworzenie wiązania wodorowego z kwasem glutaminowym w pozycji 145 (Skoczen N., w trakcie rewizji w BBA-BIO), któremu przypisano funkcję bezpośredniego wiązania protonu w trakcie jego przejścia przez kanał po stronie macierzy [[24](#_ENREF_24)]. Tym samym, jest to jedyna mutacja w genach syntazy ATP o tak dokładnie sprecyzowanym mechanizmie na poziomie molekularnym.

Mutacja **m.8851T>C** (*a*W109R) została zidentyfikowana u pacjentów z dwustronnym obumarciem prążkowia (FBSN) [[107](#_ENREF_107),[108](#_ENREF_108)]. Badania na modelu drożdżowym wykazały patogenny charakter mutacji m.8851T>C, która zaburza aktywności enzymu do poziomu 5% blokując transport protonów przez kanał [[57](#_ENREF_57)]. Dwie mutacje powiązano z zespołem metabolicznym: **m.9134A>G** (*a*E203G) i **m.8890A>G** (*a*K122E), w przypadku pierwszej pacjent cierpiał również na kardiomiopatię [[109](#_ENREF_109),[110](#_ENREF_110)].

Dziesięć mutacji w genie *ATP6* powoduje dziedziczną neuropatię nerwu wzrokowego Lebera (LHON), jedyny zespół spowodowany mutacjami mtDNA, a dotyczący jednego tylko organu. Sa to mutacje: (**m.8668T>C** (*a*W48R), **m.8684C>T** (*a*T53I), **m.8697G>A** (*a*M57I), **m.8836A>G** (*a*M104V), **m.8950G>A** (*a*V142I), **m.9011C>T** (*a*A162V), **m.9016A>G** (*a*I164V), **m.9029A>G** (*a*H168R), **m.9101T>C** (*a*I192T) i **m.9139G>A** (*a*A205T) (Tabela 2). Tylko dla dwóch (m.9029A>G i m.9101T>C) wykazano obniżoną aktywność systemu OXPHOS, podwyższony poziom ROS i potencjał na błonie wewnętrznej, ale mechanizm leżący u podłoża tych efektów nie jest znany [[33](#_ENREF_33),[111](#_ENREF_111)].

Dwie mutacje wywołują chorobę neuro-mieśniową: **m.8932C>T** (*a*P136S) i **m.8527A>G** (*a*M1V) [[112](#_ENREF_112)]. Co ciekawe, pierwszą z nich zidentyfikowano również w komórkach raka prostaty [[113](#_ENREF_113)]. Badania na modelu drożdżowym tej mutacji wykazały, że obniża ona oddychanie komórkowe i aktywność syntazy ATP o 50%, z dużym prawdopodobieństwem ma ona patologiczny charakter [[61](#_ENREF_61)]. Ponadto wykazaliśmy jej znaczenie dla indukcji procesu apoptozy [[114](#_ENREF_114)].

Delecja **m.9205delTA** eliminuje kodon STOP i została opisana u trzech pacjentów z kwasicą mleczanową i encefaliopatią [[32](#_ENREF_32),[115](#_ENREF_115)]. W policistronowym mRNA kodującym *ATP8* i *ATP6* znajduje się również gen *COX3*, którego początek to pozycja m.9207. Wykazano, że mutacja zaburza dojrzewanie policitronowego mRNA, co prowadzi do obniżenie poziomu dojrzałych mRNA genów *ATP6* i *COX3*. W konsekwencji ilość podjednostki *a* w mitochondriach jest śladowa, a podjednostki COX3 obniżona o połowę. Mechanizm patologiczny tej mutacji oparty jest na zaburzeniu funkcji obu kompleksów łańcucha oddechowego: oksydazy cytochromu c i syntazy ATP.

Konsekwencje następujących mutacji, a więc ich patogenny charakter, nie są znane: **m.8719G>A** (*a*G65X) i **m.9058A>G** (*a*T178A) zidentyfikowano u pacjentów z zespołem niescalonego mięśnia lewej komory (LVHT) [[81](#_ENREF_81),[116](#_ENREF_116)]. Dziesięć kolejnych: **m.8701A>G** (*a*T59A), **m.8723G>A** (*a*R66Q), **m.8794C>T** (*a*H90Y), **m.8843T>C** (*a*I106T), **m.8902G>A** (*a*A126T), **m.8945T>C** (*a*M140T), **m.9055G>A** (*a*I177T), **m.9071C>T** (*a*S182L), **m.9094C>T** (*a*L190F) i **m.9160T>C** (*a*Y212H) znaleziono u pacjentów z autyzmem lub schizofrenią (Tabela 2).

**LOKALIZACJA PODSTAWIEŃ AMINOKWASOWYCH W PODJEDNOSTCE *8* I *a***

W ostatnich latach uzyskano, technikami mikroskopii elektronowej, struktury syntazy ATP wołu *Bos taurus* oraz drożdży *Yarrowia lipolytica* i *S. cerevisiae* [[18](#_ENREF_18),[20](#_ENREF_20),[24](#_ENREF_24)]. Skład podjednostkowy syntazy ATP drożdży nie różni się od enzymu kręgowców (Tabela 1) [[21](#_ENREF_21)], również struktury enzymu u tych organizmów są bardzo podobne. Jedyną różnicą pomiędzy enzymem drożdży a człowieka jest ilość podjednostek *c* w pierścieniu (10 u drożdży, 8 u człowieka) (Ryc. 1) [[117](#_ENREF_117)]. Wykorzystując model *S. cerevisiae*, zaznaczyliśmy w podjednistce *8* i *a* pozycje aminokwasów zamienionych przez mutacje u pacjentów (Ryc. 2) oraz zaanalizowaliśmy ich potencjalne znaczenie dla struktury i funkcji enzymu, które opisujemy poniżej.

PODSTAWIENIA AMINOKWASOWE W PODJEDNOSTCE *a*

Helisa piąta podjednostki *a* (*a*H5) jest zakrzywiona wokół pierścienia podjednostek *c*, przez co obracający się pierścień znajduje się w bezpośrednim jej sąsiedztwie. Polarne aminokwasy helisy *a*H5 oraz helisy *a*H6 tworzą hydrofiowe kieszenie - drogę protonu po obu stronach błony [[24](#_ENREF_24)]. Pięć mutacji zmieniających hydrofobowy aminokwas alaninę lub leucynę na prolinę znajduje się właśnie w helisie *a*H5, blisko istotnej dla transportu protonu argininy *a*R159 (*a*A105P, *a*A155P i *a*L156P), leżącej naprzeciwko wiążącego proton kwasu glutaminowego (*c*E58), lub blisko *a*H168/*a*E203 – dwóch aminokwasów prawdopodobnie wiążących proton w trakcie jego przejścia przez domenę błonową po stronie przestrzeni międzybłonowej (*a*L169P, *a*L170P). Te mutacje mogą zmieniać kształt helisy *a*H5. Mutacje w pozycjach 155 i 156, również położone blisko *a*R159, mogą zaburzać mechanizm transportu protonu, wydłużając jego drogę [[28](#_ENREF_28)] lub zmieniając oddziaływanie *a*R159 z *c*E58. W helisie *a*H6, mutacje *a*L217P, *a*L220P i *a*L222P znajdują się na krawędzi kieszonki wyjścia protonu do macierzy. Ich poważne konsekwencje mogą wynikać ze zmiany położenia kwasu asparaginowego w pozycji 224 (*a*D224), prawdopodobnie bezpośrednio zaangażowanego w transport protonu [[24](#_ENREF_24)]. Podobnie, *a*P136S może zmieniać położenie pętli pomiędzy helisami *a*H4 i *a*H5 zaburzając drogę protonu w tym rejonie kanału.

Defekt w przyłączaniu podjednostki *a*L217R do syntazy ATP [[59](#_ENREF_59)] spowodowany jest zamianą hydrofobowej reszty aminokwasowej na masywniejszą i naładowaną dodatnio, co utrudnia składanie tej silnie hydrofobowej podjednostki w błonie. Zamiana *a*L156R może blokować transport protonu [[62](#_ENREF_62)], z powodu elektrostatycznej lub sferycznej przeszkody jaką jest arginina, która może spowalniać rotację pierścienia. Zamiana *a*S148N, zlokalizowana w kieszeni wyjścia protonu do macierzy [[36](#_ENREF_36)], może hamować transport protonu blokując bezpośrednio niezbędny do tego procesu kwas glutaminowy *a*E145, tworząc z nim wiązanie wodorowe (Skoczen, w druku w BBA-BIO). Położenie *a*H168 w kanale po stronie macierzy [[33](#_ENREF_33)] i zamiana jej reszty aminokwasowej na pozytywnie naładowaną resztę argininy może odcinać drogę protonu z przestrzeni do pierścienia podjednostek *c*. Podobny efekt może powodować zamiana *a*W109R, blokując szczególnie drogę wejścia protonu z macierzy w trakcie hydrolizy ATP [[57](#_ENREF_57)], co nie wyklucza hamowania wyjścia protonu do macierzy w trakcie syntezy ATP. Podobne konsekwencje może mieć zamiana *a*K122E.

Substytucje *a*M140T, *a*G167S, *a*A177T, *a*I192T, *a*A205T i *a*Y212H obniżają hydrofobowość powierzchni pomiędzy podjednostką *a* i pierścieniem podjednostek *c*, co może być istotne dla rotacji pierścienia. Choć trudno przewidzieć konsekwencje na poziomie struktury zamiany hydrofobowych reszt aminokwasowych na hydrofilowe i obojętne (*a*I24T, *a*I106T, *a*A126T) lub odwrotnie (*a*T53I, *a*T59A, *a*T178A, *a*S182L) oraz substytucje, które zmieniają hydrofobowość (*a*M57I, *a*M104V, *a*V142I, *a*A162V, *a*I164V, *a*L190F), to lokalizacja tych aminokwasów w obrębie helis kluczowych dla transportu protonów *a*H4-6 pozwala domniemywać o ich patogennym charakterze.

PODSTAWIENIA AMINOKWASOWE W PODJEDNOSTCE *8*

Podjednostka *8* u drożdży ma strukturę helisy błonowej od strony N-końca i krótkiej helisy wystającej do macierzy[[20](#_ENREF_20),[24](#_ENREF_24)]. Model syntazy ATP wołu jest pozbawiony C-końcowej struktury podjednostki *8* dlatego model drożdżowy został wykorzystany do analizy strukturalnej mutacji patologicznych [[18](#_ENREF_18)]. Podjednostka *8* stabilizuje w błonie N-końcową połowę podjednostki *a* [[20](#_ENREF_20)]. Cztery mutacje znalezione u pacjentów (*8*T6A, *8*P10S, *8*I13T, *8*M16V) grupują się w N-końcowym regionie helisy *8*H1 w bliskim sąsiedztwie czwartej helisy podjednostki *a* (*a*H4), co sugeruje, że mogą zaburzać stabilność oddziaływania pomiedzy tymi podjednostkami [[20](#_ENREF_20)]. Pozostałe sześć mutacji (*8*Y33C, *8*P36L, *8*P39L, *8*N46I, *8*K49E, *8*E52K) znajduje się w krótkiej helisie *8*H2. Mogą nie być obojętne dla oddziaływania z błonową częścią ramienia zewnętrznego, a tym samym dla stabilności domeny błonowej enzymu. Mogą też wpływać pośrednio na transport protonów przez tę domenę.

**DIMERY SYNTAZY ATP A MORFOLOGIA MITOCHONDRIÓW**

Syntaza ATP występuje w błonie wewnętrznej mitochondriów w formie dimerów i oligomerów, które przyczyniają się do zakrzywiania błony i tworzenia grzebieni wewnątrz mitochondriów (Rycina 1) [[20](#_ENREF_20),[118-120](#_ENREF_118)]. W przypadku wielu mutacji obserwowano zaburzenie morfologii mitochondriów (Tabela 2), także takie defekty zaobserwowaliśmy w modelach drożdżowych niektórych mutacji [[59](#_ENREF_59)]. Sugeruje to, że wtórnym efektem mutacji zaburzających składanie enzymu jest brak grzebieni, co jest kluczowe dla lokalizacji całego systemu OXPHOS, nie tylko syntazy ATP.

**WYKORZYSTANIE MITOCHONDRIALNYCH MUTANTÓW *S. CEREVISIAE* DO SELEKCJI ZWIĄZKÓW ODWRACAJĄCYCH EFEKTY MUTACJI I BADANIA ICH MECHANIZMÓW DZIAŁANIA**

Obecnie choroby mitochondrialne są nieuleczalne a ich leczenie polega na łagodzeniu objawów. Na przykład na modelu cybrydowym oraz komórkach od pacjenta z mutacją m.8993T>G pokazano, że zastosowanie związków antyoksydacyjnych poprawiało oddychanie komórkowe i syntezę ATP [[40](#_ENREF_40)]. W oparciu o tę obserwację stosuje się często suplementację diety koenzymem Q10, N-acetylocysteiną, kwasem dihydrolipoinowym, karnityną, kreatyną czy witaminami, ale jej efekty są znikome [[7](#_ENREF_7)].

Do selekcji aktywnych związków przywracających wzrost zależny od oddychania nasz zespół wykorzystał mutanta drożdżowego *fmc1Δ*, w którym zaburzone jest składanie domeny katalitycznej syntazy ATP. Jest to doskonaly model defektów spowodowanych mutacjami w genach jądrowych *ATPAF2* i *TMEM70* [[121-123](#_ENREF_121)]. W doświadczeniach użyliśmy, między innymi, bibliotekę Prestwick, związków o znanej cytotoksyczności, które są lub były testowane w badaniach klinicznych, mogą więc być dużo łatwiej wprowadzone do stosowania jako leki. Komórki defektywnego oddechowo mutanta *fmc1Δ* wysiewano w gęstości 108 na podłoże stałe z niefermentowalnym źródłem węgla, na powierzchni agaru umieszczano sterylne filtry, na które nanoszono związki w stężeniu 10 µM. Związki przywracające wzrost oddechowy powodowały wzrost komórek mutanta wokół filtra, często w formie pierścienia, co wskazywało jednocześnie na działanie związku w określonych stężeniach i na jego toksyczność w wysokich stężeniach. Wyizolowaliśmy dwa związki: chloroheksydynę (CH) i pirytion sodu (NaPT). CH poprawiała dwukrotnie zużycie tlenu i syntezę ATP w mutancie *fmc1Δ* dzięki zwiększonej ilości kompleksów łańcucha oddechowego w błonie wewnętrznej. CH przywracała również wzrost oddechowy szczepów posiadających mutacje homologiczne do m.8993T>G i m.8851T>C, ponadto wykazywała aktywność na modelu cybrydowym mutacji m.8993T>G w sposób zależny od stężenia. Wykazaliśmy, że w obecności CH poziom ekspresji genu *QCR9*, kodującego podjednostkę kompleksu cytochromów bc1, był znacząco podwyższony, co wskazuje, że poprawa ekspresji kompleksów OXPHOS w błonie wewnętrznej przez CH wymaga funkcji białka Qcr9 [[121](#_ENREF_121)].

Obok komplementacji braku wzrostu oddechowego mutanta *fmc1Δ,* NaPT przywracał również wzrost zależny od oddychania mutantów m.9176T>G i m.8993T>G (Tabela 2). W celu poznania mechanizmu działania NaPT wykorzystaliśmy kolekcję mutantów heterozygotycznych drożdży by zidentyfikować, takie, które wykazywały podwyższoną wrażliwość na obecność związku w pożywce. Pozwala to zidentyfikować białka czy procesy komórkowe, poprzez które działa w komórce dany związek [[124](#_ENREF_124),[125](#_ENREF_125)]. W obecności NaPT największą wrażliwość wykazały dwa mutanty w podjednostkach translokazy mitochondrialnej TIM23 - *tim17Δ/TIM17* i *tim23Δ/TIM23* [[126](#_ENREF_126),[127](#_ENREF_127)]. W dalszych badaniach wykazaliśmy, że NaPT znacząco indukuje tempo transportu białek do wewnętrznej błony mitochondrialnej przez komplex TIM23, w tym kompleksów systemu OXPHOS. Badania sugerują, że niewielka modulacja transportu do błony wewnętrznej mitochondriów może mieć efekt terapeutyczny, co więcej także w przypadku innych chorób, u podłoża których leżą dysfunkcje systemu OXPHOS. Jednocześnie pokazują one ogromny potencjał drożdży jako modelu badawczego nie tylko do badania mechanizmów chorób genetycznych ale też poszukiwania leków.

# PODSUMOWANIE I PERSPEKTYWY

Zrozumienie mechanizmu chorób mitochondrialnych jest niezbędne do opracowania skutecznej terapii, której obecnie nie ma. Te spowodowane mutacjami w genach mitochondrialnych są szczególnie dużym wyzwaniem do badania, ze względu na heteroplazmię mtDNA, dziedziczenie matczyne czy wpływ tła genetycznego na ich przebieg, a więc i na efekty mutacji. Rozwój techniki konstruowania homoplazmatycznych linii komórkowych jak i wykorzystanie modeli drożdżowych, a także dostępność struktur syntazy ATP (szczególnie bardzo dokładnej struktury syntazy ATP drożdży) pozwala na badanie dysfunkcji tego enzymu. Szczególnym zadaniem, jest wykorzystanie drożdży do poznanie funkcji podjednostki *8*, która nie jest zbadana, i w której patogenne mutacje nie są rzadkością. Ciągle jesteśmy na początku drogi prowadzącej do poznania mechanizmów tych chorób, ale te badania dają nadzieję na terapię w przyszłości.

# PIŚMIENNICTWO

[1] Saraste M (1999) Oxidative phosphorylation at the fin de siecle. Science 283: 1488-1493

[2] Lenaz G, Genova ML (2010) Structure and organization of mitochondrial respiratory complexes: a new understanding of an old subject. Antioxid Redox Signal 12: 961-1008

[3] Boyer PD (1997) The ATP synthase--a splendid molecular machine. Annu Rev Biochem 66: 717-749

[4] Chinnery PF. (1993) Mitochondrial Disorders Overview. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al. (eds). GeneReviews(R), Seattle (WA).

[5] Tuppen HA, Blakely EL, Turnbull DM, Taylor RW (2010) Mitochondrial DNA mutations and human disease. Biochim Biophys Acta 1797: 113-128

[6] Hejzlarova K, Mracek T, Vrbacky M, Kaplanova V, Karbanova V, Nuskova H, Pecina P, Houstek J (2014) Nuclear genetic defects of mitochondrial ATP synthase. Physiol Res 63 Suppl 1: S57-71

[7] Ng YS, Turnbull DM (2016) Mitochondrial disease: genetics and management. J Neurol 263: 179-191

[8] Chinnery PF (2015) Mitochondrial disease in adults: what's old and what's new? EMBO Mol Med 7: 1503-1512

[9] Stewart JB, Chinnery PF (2015) The dynamics of mitochondrial DNA heteroplasmy: implications for human health and disease. Nat Rev Genet 16: 530-542

[10] Xu T, Pagadala V, Mueller DM (2015) Understanding structure, function, and mutations in the mitochondrial ATP synthase. Microb Cell 2: 105-125

[11] Skladal D, Halliday J, Thorburn DR (2003) Minimum birth prevalence of mitochondrial respiratory chain disorders in children. Brain 126: 1905-1912

[12] DiMauro S, Schon EA (2003) Mitochondrial respiratory-chain diseases. N Engl J Med 348: 2656-2668

[13] Vafai SB, Mootha VK (2012) Mitochondrial disorders as windows into an ancient organelle. Nature 491: 374-383

[14] Zeviani M, Carelli V (2007) Mitochondrial disorders. Curr Opin Neurol 20: 564-571

[15] Wallace DC (2010) Mitochondrial DNA mutations in disease and aging. Environ Mol Mutagen 51: 440-450

[16] Lott MT, Leipzig JN, Derbeneva O, Xie HM, Chalkia D, Sarmady M, Procaccio V, Wallace DC (2013) mtDNA Variation and Analysis Using MITOMAP and MITOMASTER. Curr Protoc Bioinformatics 1: 1 23 21-21 23 26

[17] Morales-Rios E, Montgomery MG, Leslie AG, Walker JE (2015) Structure of ATP synthase from Paracoccus denitrificans determined by X-ray crystallography at 4.0 A resolution. Proc Natl Acad Sci U S A 112: 13231-13236

[18] Zhou A, Rohou A, Schep DG, Bason JV, Montgomery MG, Walker JE, Grigorieff N, Rubinstein JL (2015) Structure and conformational states of the bovine mitochondrial ATP synthase by cryo-EM. Elife 4: e10180

[19] Allegretti M, Klusch N, Mills DJ, Vonck J, Kuhlbrandt W, Davies KM (2015) Horizontal membrane-intrinsic alpha-helices in the stator a-subunit of an F-type ATP synthase. Nature 521: 237-240

[20] Hahn A, Parey K, Bublitz M, Mills DJ, Zickermann V, Vonck J, Kuhlbrandt W, Meier T (2016) Structure of a Complete ATP Synthase Dimer Reveals the Molecular Basis of Inner Mitochondrial Membrane Morphology. Mol Cell 63: 445-456

[21] He J, Ford HC, Carroll J, Douglas C, Gonzales E, Ding S, Fearnley IM, Walker JE (2018) Assembly of the membrane domain of ATP synthase in human mitochondria. Proc Natl Acad Sci U S A 115: 2988-2993

[22] Parsons DF (1963) Mitochondrial Structure: Two Types of Subunits on Negatively Stained Mitochondrial Membranes. Science 140: 985-987

[23] Strauss M, Hofhaus G, Schroder RR, Kuhlbrandt W (2008) Dimer ribbons of ATP synthase shape the inner mitochondrial membrane. EMBO J 27: 1154-1160

[24] Guo H, Bueler SA, Rubinstein JL (2017) Atomic model for the dimeric FO region of mitochondrial ATP synthase. Science 358: 936-940

[25] Vik SB, Antonio BJ (1994) A mechanism of proton translocation by F1F0 ATP synthases suggested by double mutants of the a subunit. J Biol Chem 269: 30364-30369

[26] Junge W, Lill H, Engelbrecht S (1997) ATP synthase: an electrochemical transducer with rotatory mechanics. Trends Biochem Sci 22: 420-423

[27] Pogoryelov D, Krah A, Langer JD, Yildiz O, Faraldo-Gomez JD, Meier T (2010) Microscopic rotary mechanism of ion translocation in the F(o) complex of ATP synthases. Nat Chem Biol 6: 891-899

[28] Mitome N, Ono S, Sato H, Suzuki T, Sone N, Yoshida M (2010) Essential arginine residue of the F(o)-a subunit in F(o)F(1)-ATP synthase has a role to prevent the proton shortcut without c-ring rotation in the F(o) proton channel. Biochem J 430: 171-177

[29] Cai W, Fu Q, Zhou X, Qu J, Tong Y, Guan MX (2008) Mitochondrial variants may influence the phenotypic manifestation of Leber's hereditary optic neuropathy-associated ND4 G11778A mutation. J Genet Genomics 35: 649-655

[30] Swalwell H, Blakely EL, Sutton R, Tonska K, Elstner M, He L, Taivassalo T, Burns DK, Turnbull DM, Haller RG, Davidson MM, Taylor RW (2008) A homoplasmic mtDNA variant can influence the phenotype of the pathogenic m.7472Cins MTTS1 mutation: are two mutations better than one? Eur J Hum Genet 16: 1265-1274

[31] King MP, Attardi G (1989) Human cells lacking mtDNA: repopulation with exogenous mitochondria by complementation. Science 246: 500-503

[32] Hejzlarova K, Kaplanova V, Nuskova H, Kovarova N, Jesina P, Drahota Z, Mracek T, Seneca S, Houstek J (2015) Alteration of structure and function of ATP synthase and cytochrome c oxidase by lack of Fo-a and Cox3 subunits caused by mitochondrial DNA 9205delTA mutation. Biochem J 466: 601-611

[33] Lopez-Gallardo E, Emperador S, Solano A, Llobet L, Martin-Navarro A, Lopez-Perez MJ, Briones P, Pineda M, Artuch R, Barraquer E, Jerico I, Ruiz-Pesini E, Montoya J (2014) Expanding the clinical phenotypes of MT-ATP6 mutations. Hum Mol Genet 23: 6191-6200

[34] Blanco-Grau A, Bonaventura-Ibars I, Coll-Canti J, Melia MJ, Martinez R, Martinez-Gallo M, Andreu AL, Pinos T, Garcia-Arumi E (2013) Identification and biochemical characterization of the novel mutation m.8839G>C in the mitochondrial ATP6 gene associated with NARP syndrome. Genes Brain Behav 12: 812-820

[35] Sikorska M, Sandhu JK, Simon DK, Pathiraja V, Sodja C, Li Y, Ribecco-Lutkiewicz M, Lanthier P, Borowy-Borowski H, Upton A, Raha S, Pulst SM, Tarnopolsky MA (2009) Identification of ataxia-associated mtDNA mutations (m.4052T>C and m.9035T>C) and evaluation of their pathogenicity in transmitochondrial cybrids. Muscle Nerve 40: 381-394

[36] Wen S, Niedzwiecka K, Zhao W, Xu S, Liang S, Zhu X, Xie H, Tribouillard-Tanvier D, Giraud MF, Zeng C, Dautant A, Kucharczyk R, Liu Z, di Rago JP, Chen H (2016) Identification of G8969>A in mitochondrial ATP6 gene that severely compromises ATP synthase function in a patient with IgA nephropathy. Sci Rep 6: 36313

[37] Nijtmans LG, Henderson NS, Attardi G, Holt IJ (2001) Impaired ATP synthase assembly associated with a mutation in the human ATP synthase subunit 6 gene. J Biol Chem 276: 6755-6762

[38] Carrozzo R, Rizza T, Stringaro A, Pierini R, Mormone E, Santorelli FM, Malorni W, Matarrese P (2004) Maternally-inherited Leigh syndrome-related mutations bolster mitochondrial-mediated apoptosis. J Neurochem 90: 490-501

[39] Trounce I, Neill S, Wallace DC (1994) Cytoplasmic transfer of the mtDNA nt 8993 T-->G (ATP6) point mutation associated with Leigh syndrome into mtDNA-less cells demonstrates cosegregation with a decrease in state III respiration and ADP/O ratio. Proc Natl Acad Sci U S A 91: 8334-8338

[40] Mattiazzi M, Vijayvergiya C, Gajewski CD, DeVivo DC, Lenaz G, Wiedmann M, Manfredi G (2004) The mtDNA T8993G (NARP) mutation results in an impairment of oxidative phosphorylation that can be improved by antioxidants. Hum Mol Genet 13: 869-879

[41] Pallotti F, Baracca A, Hernandez-Rosa E, Walker WF, Solaini G, Lenaz G, Melzi D'Eril GV, Dimauro S, Schon EA, Davidson MM (2004) Biochemical analysis of respiratory function in cybrid cell lines harbouring mitochondrial DNA mutations. Biochem J 384: 287-293

[42] Aure K, Dubourg O, Jardel C, Clarysse L, Sternberg D, Fournier E, Laforet P, Streichenberger N, Petiot P, Gervais-Bernard H, Vial C, Bedat-Millet AL, Drouin-Garraud V, Bouillaud F, Vandier C, Fontaine B, Lombes A (2013) Episodic weakness due to mitochondrial DNA MT-ATP6/8 mutations. Neurology 81: 1810-1818

[43] Majander A, Lamminen T, Juvonen V, Aula P, Nikoskelainen E, Savontaus ML, Wikstrom M (1997) Mutations in subunit 6 of the F1F0-ATP synthase cause two entirely different diseases. FEBS Lett 412: 351-354

[44] Jonckheere AI, Hogeveen M, Nijtmans LG, van den Brand MA, Janssen AJ, Diepstra JH, van den Brandt FC, van den Heuvel LP, Hol FA, Hofste TG, Kapusta L, Dillmann U, Shamdeen MG, Smeitink JA, Rodenburg RJ (2008) A novel mitochondrial ATP8 gene mutation in a patient with apical hypertrophic cardiomyopathy and neuropathy. J Med Genet 45: 129-133

[45] Steinmetz LM, Scharfe C, Deutschbauer AM, Mokranjac D, Herman ZS, Jones T, Chu AM, Giaever G, Prokisch H, Oefner PJ, Davis RW (2002) Systematic screen for human disease genes in yeast. Nat Genet 31: 400-404

[46] Reinders J, Zahedi RP, Pfanner N, Meisinger C, Sickmann A (2006) Toward the complete yeast mitochondrial proteome: multidimensional separation techniques for mitochondrial proteomics. J Proteome Res 5: 1543-1554

[47] Prokisch H, Scharfe C, Camp DG, 2nd, Xiao W, David L, Andreoli C, Monroe ME, Moore RJ, Gritsenko MA, Kozany C, Hixson KK, Mottaz HM, Zischka H, Ueffing M, Herman ZS, Davis RW, Meitinger T, Oefner PJ, Smith RD, Steinmetz LM (2004) Integrative analysis of the mitochondrial proteome in yeast. PLoS Biol 2: e160

[48] Pagliarini DJ, Calvo SE, Chang B, Sheth SA, Vafai SB, Ong SE, Walford GA, Sugiana C, Boneh A, Chen WK, Hill DE, Vidal M, Evans JG, Thorburn DR, Carr SA, Mootha VK (2008) A mitochondrial protein compendium elucidates complex I disease biology. Cell 134: 112-123

[49] Rhee HW, Zou P, Udeshi ND, Martell JD, Mootha VK, Carr SA, Ting AY (2013) Proteomic mapping of mitochondria in living cells via spatially restricted enzymatic tagging. Science 339: 1328-1331

[50] Bonnefoy N, Fox TD (2001) Genetic transformation of Saccharomyces cerevisiae mitochondria. Methods Cell Biol 65: 381-396

[51] Okamoto K, Perlman PS, Butow RA (1998) The sorting of mitochondrial DNA and mitochondrial proteins in zygotes: preferential transmission of mitochondrial DNA to the medial bud. J Cell Biol 142: 613-623

[52] Baile MG, Claypool SM (2013) The power of yeast to model diseases of the powerhouse of the cell. Front Biosci (Landmark Ed) 18: 241-278

[53] Lasserre JP, Dautant A, Aiyar RS, Kucharczyk R, Glatigny A, Tribouillard-Tanvier D, Rytka J, Blondel M, Skoczen N, Reynier P, Pitayu L, Rotig A, Delahodde A, Steinmetz LM, Dujardin G, Procaccio V, di Rago JP (2015) Yeast as a system for modeling mitochondrial disease mechanisms and discovering therapies. Dis Model Mech 8: 509-526

[54] Bietenhader M, Martos A, Tetaud E, Aiyar RS, Sellem CH, Kucharczyk R, Clauder-Munster S, Giraud MF, Godard F, Salin B, Sagot I, Gagneur J, Dequard-Chablat M, Contamine V, Hermann-Le Denmat S, Sainsard-Chanet A, Steinmetz LM, di Rago JP (2012) Experimental relocation of the mitochondrial ATP9 gene to the nucleus reveals forces underlying mitochondrial genome evolution. PLoS Genet 8: e1002876

[55] Kabala AM, Lasserre JP, Ackerman SH, di Rago JP, Kucharczyk R (2014) Defining the impact on yeast ATP synthase of two pathogenic human mitochondrial DNA mutations, T9185C and T9191C. Biochimie 100: 200-206

[56] Kucharczyk R, Ezkurdia N, Couplan E, Procaccio V, Ackerman SH, Blondel M, di Rago JP (2010) Consequences of the pathogenic T9176C mutation of human mitochondrial DNA on yeast mitochondrial ATP synthase. Biochim Biophys Acta 1797: 1105-1112

[57] Kucharczyk R, Giraud MF, Brethes D, Wysocka-Kapcinska M, Ezkurdia N, Salin B, Velours J, Camougrand N, Haraux F, di Rago JP (2013) Defining the pathogenesis of human mtDNA mutations using a yeast model: the case of T8851C. Int J Biochem Cell Biol 45: 130-140

[58] Kucharczyk R, Rak M, di Rago JP (2009) Biochemical consequences in yeast of the human mitochondrial DNA 8993T>C mutation in the ATPase6 gene found in NARP/MILS patients. Biochim Biophys Acta 1793: 817-824

[59] Kucharczyk R, Salin B, di Rago JP (2009) Introducing the human Leigh syndrome mutation T9176G into Saccharomyces cerevisiae mitochondrial DNA leads to severe defects in the incorporation of Atp6p into the ATP synthase and in the mitochondrial morphology. Hum Mol Genet 18: 2889-2898

[60] Kucharczyk R, Zick M, Bietenhader M, Rak M, Couplan E, Blondel M, Caubet SD, di Rago JP (2009) Mitochondrial ATP synthase disorders: molecular mechanisms and the quest for curative therapeutic approaches. Biochim Biophys Acta 1793: 186-199

[61] Niedzwiecka K, Kabala AM, Lasserre JP, Tribouillard-Tanvier D, Golik P, Dautant A, di Rago JP, Kucharczyk R (2016) Yeast models of mutations in the mitochondrial ATP6 gene found in human cancer cells. Mitochondrion 29: 7-17

[62] Rak M, Tetaud E, Duvezin-Caubet S, Ezkurdia N, Bietenhader M, Rytka J, di Rago JP (2007) A yeast model of the neurogenic ataxia retinitis pigmentosa (NARP) T8993G mutation in the mitochondrial ATP synthase-6 gene. J Biol Chem 282: 34039-34047

[63] Houstek J, Pickova A, Vojtiskova A, Mracek T, Pecina P, Jesina P (2006) Mitochondrial diseases and genetic defects of ATP synthase. Biochim Biophys Acta 1757: 1400-1405

[64] De Meirleir L, Seneca S, Lissens W, De Clercq I, Eyskens F, Gerlo E, Smet J, Van Coster R (2004) Respiratory chain complex V deficiency due to a mutation in the assembly gene ATP12. J Med Genet 41: 120-124

[65] Meulemans A, Seneca S, Pribyl T, Smet J, Alderweirldt V, Waeytens A, Lissens W, Van Coster R, De Meirleir L, di Rago JP, Gatti DL, Ackerman SH (2010) Defining the pathogenesis of the human Atp12p W94R mutation using a Saccharomyces cerevisiae yeast model. J Biol Chem 285: 4099-4109

[66] Cizkova A, Stranecky V, Mayr JA, Tesarova M, Havlickova V, Paul J, Ivanek R, Kuss AW, Hansikova H, Kaplanova V, Vrbacky M, Hartmannova H, Noskova L, Honzik T, Drahota Z, Magner M, Hejzlarova K, Sperl W, Zeman J, Houstek J, Kmoch S (2008) TMEM70 mutations cause isolated ATP synthase deficiency and neonatal mitochondrial encephalocardiomyopathy. Nat Genet 40: 1288-1290

[67] Mayr JA, Havlickova V, Zimmermann F, Magler I, Kaplanova V, Jesina P, Pecinova A, Nuskova H, Koch J, Sperl W, Houstek J (2010) Mitochondrial ATP synthase deficiency due to a mutation in the ATP5E gene for the F1 epsilon subunit. Hum Mol Genet 19: 3430-3439

[68] Jonckheere AI, Renkema GH, Bras M, van den Heuvel LP, Hoischen A, Gilissen C, Nabuurs SB, Huynen MA, de Vries MC, Smeitink JA, Rodenburg RJ (2013) A complex V ATP5A1 defect causes fatal neonatal mitochondrial encephalopathy. Brain 136: 1544-1554

[69] Olahova M, Yoon WH, Thompson K, Jangam S, Fernandez L, Davidson JM, Kyle JE, Grove ME, Fisk DG, Kohler JN, Holmes M, Dries AM, Huang Y, Zhao C, Contrepois K, Zappala Z, Fresard L, Waggott D, Zink EM, Kim YM, Heyman HM, Stratton KG, Webb-Robertson BM, Snyder M, Merker JD, Montgomery SB, Fisher PG, Feichtinger RG, Mayr JA, Hall J, Barbosa IA, Simpson MA, Deshpande C, Waters KM, Koeller DM, Metz TO, Morris AA, Schelley S, Cowan T, Friederich MW, McFarland R, Van Hove JLK, Enns GM, Yamamoto S, Ashley EA, Wangler MF, Taylor RW, Bellen HJ, Bernstein JA, Wheeler MT (2018) Biallelic Mutations in ATP5F1D, which Encodes a Subunit of ATP Synthase, Cause a Metabolic Disorder. Am J Hum Genet 102: 494-504

[70] Gurses C, Azakli H, Alptekin A, Cakiris A, Abaci N, Arikan M, Kursun O, Gokyigit A, Ustek D (2014) Mitochondrial DNA profiling via genomic analysis in mesial temporal lobe epilepsy patients with hippocampal sclerosis. Gene 538: 323-327

[71] Perucca-Lostanlen D, Narbonne H, Hernandez JB, 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 277: 771-775

[72] Finsterer J, Stollberger C, Schubert B (2004) Acquired left ventricular hypertrabeculation/noncompaction in mitochondriopathy. Cardiology 102: 228-230

[73] Galimberti CA, Diegoli M, Sartori I, Uggetti C, Brega A, Tartara A, Arbustini E (2006) Brain pseudoatrophy and mental regression on valproate and a mitochondrial DNA mutation. Neurology 67: 1715-1717

[74] Mkaouar-Rebai E, Kammoun F, Chamkha I, Kammoun N, Hsairi I, Triki C, Fakhfakh F (2010) A de novo mutation in the adenosine triphosphatase (ATPase) 8 gene in a patient with mitochondrial disorder. J Child Neurol 25: 770-775

[75] Tansel T, Pacal F, Ustek D (2014) A novel ATP8 gene mutation in an infant with tetralogy of Fallot. Cardiol Young 24: 531-533

[76] Ueno H, Nishigaki Y, Kong QP, Fuku N, Kojima S, Iwata N, Ozaki N, Tanaka M (2009) Analysis of mitochondrial DNA variants in Japanese patients with schizophrenia. Mitochondrion 9: 385-393

[77] Sequeira A, Rollins B, Magnan C, van Oven M, Baldi P, Myers RM, Barchas JD, Schatzberg AF, Watson SJ, Akil H, Bunney WE, Vawter MP (2015) Mitochondrial mutations in subjects with psychiatric disorders. PLoS One 10: e0127280

[78] Piryaei F, Houshmand M, Aryani O, Dadgar S, Soheili ZS (2012) Investigation of the Mitochondrial ATPase 6/8 and tRNA(Lys) Genes Mutations in Autism. Cell J 14: 98-101

[79] Ware SM, El-Hassan N, Kahler SG, Zhang Q, Ma YW, Miller E, Wong B, Spicer RL, Craigen WJ, Kozel BA, Grange DK, Wong LJ (2009) Infantile cardiomyopathy caused by a mutation in the overlapping region of mitochondrial ATPase 6 and 8 genes. J Med Genet 46: 308-314

[80] Imai A, Fujita S, Kishita Y, Kohda M, Tokuzawa Y, Hirata T, Mizuno Y, Harashima H, Nakaya A, Sakata Y, Takeda A, Mori M, Murayama K, Ohtake A, Okazaki Y (2016) Rapidly progressive infantile cardiomyopathy with mitochondrial respiratory chain complex V deficiency due to loss of ATPase 6 and 8 protein. Int J Cardiol 207: 203-205

[81] Tang S, Batra A, Zhang Y, Ebenroth ES, Huang T (2010) Left ventricular noncompaction is associated with mutations in the mitochondrial genome. Mitochondrion 10: 350-357

[82] Kytovuori L, Lipponen J, Rusanen H, Komulainen T, Martikainen MH, Majamaa K (2016) A novel mutation m.8561C>G in MT-ATP6/8 causing a mitochondrial syndrome with ataxia, peripheral neuropathy, diabetes mellitus, and hypergonadotropic hypogonadism. J Neurol 263: 2188-2195

[83] Holt IJ, Harding AE, Petty RK, Morgan-Hughes JA (1990) A new mitochondrial disease associated with mitochondrial DNA heteroplasmy. Am J Hum Genet 46: 428-433

[84] Jonckheere AI, Smeitink JA, Rodenburg RJ (2012) Mitochondrial ATP synthase: architecture, function and pathology. J Inherit Metab Dis 35: 211-225

[85] Uziel G, Moroni I, Lamantea E, Fratta GM, Ciceri E, Carrara F, Zeviani M (1997) Mitochondrial disease associated with the T8993G mutation of the mitochondrial ATPase 6 gene: a clinical, biochemical, and molecular study in six families. J Neurol Neurosurg Psychiatry 63: 16-22

[86] Tatuch Y, Christodoulou J, Feigenbaum A, Clarke JT, Wherret J, Smith C, Rudd N, Petrova-Benedict R, Robinson BH (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

[87] Houstek J, Klement P, Hermanska J, Houstkova H, Hansikova H, Van den Bogert C, Zeman J (1995) Altered properties of mitochondrial ATP-synthase in patients with a T-->G mutation in the ATPase 6 (subunit a) gene at position 8993 of mtDNA. Biochim Biophys Acta 1271: 349-357

[88] Garcia JJ, Ogilvie I, Robinson BH, Capaldi RA (2000) Structure, functioning, and assembly of the ATP synthase in cells from patients with the T8993G mitochondrial DNA mutation. Comparison with the enzyme in Rho(0) cells completely lacking mtdna. J Biol Chem 275: 11075-11081

[89] Sgarbi G, Baracca A, Lenaz G, Valentino LM, Carelli V, Solaini G (2006) Inefficient coupling between proton transport and ATP synthesis may be the pathogenic mechanism for NARP and Leigh syndrome resulting from the T8993G mutation in mtDNA. Biochem J 395: 493-500

[90] Baracca A, Sgarbi G, Mattiazzi M, Casalena G, Pagnotta E, Valentino ML, Moggio M, Lenaz G, Carelli V, Solaini G (2007) Biochemical phenotypes associated with the mitochondrial ATP6 gene mutations at nt8993. Biochim Biophys Acta 1767: 913-919

[91] Morava E, Rodenburg RJ, Hol F, de Vries M, Janssen A, van den Heuvel L, Nijtmans L, Smeitink J (2006) Clinical and biochemical characteristics in patients with a high mutant load of the mitochondrial T8993G/C mutations. Am J Med Genet A 140: 863-868

[92] Cortes-Hernandez P, Vazquez-Memije ME, Garcia JJ (2007) ATP6 homoplasmic mutations inhibit and destabilize the human F1F0-ATP synthase without preventing enzyme assembly and oligomerization. J Biol Chem 282: 1051-1058

[93] Vazquez-Memije ME, Shanske S, Santorelli FM, Kranz-Eble P, DeVivo DC, DiMauro S (1998) Comparative biochemical studies of ATPases in cells from patients with the T8993G or T8993C mitochondrial DNA mutations. J Inherit Metab Dis 21: 829-836

[94] Vilarinho L, Barbot C, Carrozzo R, Calado E, Tessa A, Dionisi-Vici C, Guimaraes A, Santorelli FM (2001) Clinical and molecular findings in four new patients harbouring the mtDNA 8993T>C mutation. J Inherit Metab Dis 24: 883-884

[95] Craig K, Elliott HR, Keers SM, Lambert C, Pyle A, Graves TD, Woodward C, Sweeney MG, Davis MB, Hanna MG, Chinnery PF (2007) Episodic ataxia and hemiplegia caused by the 8993T->C mitochondrial DNA mutation. J Med Genet 44: 797-799

[96] Carrozzo R, Tessa A, Vazquez-Memije ME, Piemonte F, Patrono C, Malandrini A, Dionisi-Vici C, Vilarinho L, Villanova M, Schagger H, Federico A, Bertini E, Santorelli FM (2001) The T9176G mtDNA mutation severely affects ATP production and results in Leigh syndrome. Neurology 56: 687-690

[97] Verny C, Guegen N, Desquiret V, Chevrollier A, Prundean A, Dubas F, Cassereau J, Ferre M, Amati-Bonneau P, Bonneau D, Reynier P, Procaccio V (2011) Hereditary spastic paraplegia-like disorder due to a mitochondrial ATP6 gene point mutation. Mitochondrion 11: 70-75

[98] Jacobs LJ, de Coo IF, Nijland JG, Galjaard RJ, Los FJ, Schoonderwoerd K, Niermeijer MF, Geraedts JP, Scholte HR, Smeets HJ (2005) Transmission and prenatal diagnosis of the T9176C mitochondrial DNA mutation. Mol Hum Reprod 11: 223-228

[99] Castagna AE, Addis J, McInnes RR, Clarke JT, Ashby P, Blaser S, Robinson BH (2007) Late onset Leigh syndrome and ataxia due to a T to C mutation at bp 9,185 of mitochondrial DNA. Am J Med Genet A 143A: 808-816

[100] Moslemi AR, Darin N, Tulinius M, Oldfors A, Holme E (2005) Two new mutations in the MTATP6 gene associated with Leigh syndrome. Neuropediatrics 36: 314-318

[101] Pitceathly RD, Murphy SM, Cottenie E, Chalasani A, Sweeney MG, Woodward C, Mudanohwo EE, Hargreaves I, Heales S, Land J, Holton JL, Houlden H, Blake J, Champion M, Flinter F, Robb SA, Page R, Rose M, Palace J, Crowe C, Longman C, Lunn MP, Rahman S, Reilly MM, Hanna MG (2012) Genetic dysfunction of MT-ATP6 causes axonal Charcot-Marie-Tooth disease. Neurology 79: 1145-1154

[102] Childs AM, Hutchin T, Pysden K, Highet L, Bamford J, Livingston J, Crow YJ (2007) Variable phenotype including Leigh syndrome with a 9185T>C mutation in the MTATP6 gene. Neuropediatrics 38: 313-316

[103] Duno M, Wibrand F, Baggesen K, Rosenberg T, Kjaer N, Frederiksen AL (2013) A novel mitochondrial mutation m.8989G>C associated with neuropathy, ataxia, retinitis pigmentosa - the NARP syndrome. Gene 515: 372-375

[104] Pfeffer G, Blakely EL, Alston CL, Hassani A, Boggild M, Horvath R, Samuels DC, Taylor RW, Chinnery PF (2012) Adult-onset spinocerebellar ataxia syndromes due to MTATP6 mutations. J Neurol Neurosurg Psychiatry 83: 883-886

[105] Jackson CB, Hahn D, Schroter B, Richter U, Battersby BJ, Schmitt-Mechelke T, Marttinen P, Nuoffer JM, Schaller A (2017) A novel mitochondrial ATP6 frameshift mutation causing isolated complex V deficiency, ataxia and encephalomyopathy. Eur J Med Genet 60: 345-351

[106] Burrage LC, Tang S, Wang J, Donti TR, Walkiewicz M, Luchak JM, Chen LC, Schmitt ES, Niu Z, Erana R, Hunter JV, Graham BH, Wong LJ, Scaglia F (2014) Mitochondrial myopathy, lactic acidosis, and sideroblastic anemia (MLASA) plus associated with a novel de novo mutation (m.8969G>A) in the mitochondrial encoded ATP6 gene. Mol Genet Metab 113: 207-212

[107] Honzik T, Tesarova M, Vinsova K, Hansikova H, Magner M, Kratochvilova H, Zamecnik J, Zeman J, Jesina P (2013) Different laboratory and muscle biopsy findings in a family with an m.8851T>C mutation in the mitochondrial MTATP6 gene. Mol Genet Metab 108: 102-105

[108] De Meirleir L, Seneca S, Lissens W, Schoentjes E, Desprechins B (1995) Bilateral striatal necrosis with a novel point mutation in the mitochondrial ATPase 6 gene. Pediatr Neurol 13: 242-246

[109] Honzik T, Tesarova M, Magner M, Mayr J, Jesina P, Vesela K, Wenchich L, Szentivanyi K, Hansikova H, Sperl W, Zeman J (2012) Neonatal onset of mitochondrial disorders in 129 patients: clinical and laboratory characteristics and a new approach to diagnosis. J Inherit Metab Dis 35: 749-759

[110] Ye W, Chen S, Jin S, Lu J (2013) A novel heteroplasmic mitochondrial DNA mutation, A8890G, in a patient with juvenileonset metabolic syndrome: a case report. Mol Med Rep 8: 1060-1066

[111] Lamminen T, Majander A, Juvonen V, Wikstrom M, Aula P, Nikoskelainen E, Savontous ML (1995) 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 56: 1238-1240

[112] Felhi R, Mkaouar-Rebai E, Sfaihi-Ben Mansour L, Alila-Fersi O, Tabebi M, Ben Rhouma B, Ammar M, Keskes L, Hachicha M, Fakhfakh F (2016) Mutational analysis in patients with neuromuscular disorders: Detection of mitochondrial deletion and double mutations in the MT-ATP6 gene. Biochem Biophys Res Commun 473: 61-66

[113] Petros JA, Baumann AK, Ruiz-Pesini E, Amin MB, Sun CQ, Hall J, Lim S, Issa MM, Flanders WD, Hosseini SH, Marshall FF, Wallace DC (2005) mtDNA mutations increase tumorigenicity in prostate cancer. Proc Natl Acad Sci U S A 102: 719-724

[114] Niedzwiecka K, Tisi R, Penna S, Lichocka M, Plochocka D, Kucharczyk R (2018) Two mutations in mitochondrial ATP6 gene of ATP synthase, related to human cancer, affect ROS, calcium homeostasis and mitochondrial permeability transition in yeast. Biochim Biophys Acta 1865: 117-131

[115] Jesina P, Tesarova M, Fornuskova D, Vojtiskova A, Pecina P, Kaplanova V, Hansikova H, Zeman J, Houstek J (2004) Diminished synthesis of subunit a (ATP6) and altered function of ATP synthase and cytochrome c oxidase due to the mtDNA 2 bp microdeletion of TA at positions 9205 and 9206. Biochem J 383: 561-571

[116] Tang S, Wang J, Zhang VW, Li FY, Landsverk M, Cui H, Truong CK, Wang G, Chen LC, Graham B, Scaglia F, Schmitt ES, Craigen WJ, Wong LJ (2013) Transition to next generation analysis of the whole mitochondrial genome: a summary of molecular defects. Hum Mutat 34: 882-893

[117] Watt IN, Montgomery MG, Runswick MJ, Leslie AG, Walker JE (2010) Bioenergetic cost of making an adenosine triphosphate molecule in animal mitochondria. Proc Natl Acad Sci U S A 107: 16823-16827

[118] Schagger H, Pfeiffer K (2000) Supercomplexes in the respiratory chains of yeast and mammalian mitochondria. EMBO J 19: 1777-1783

[119] Paumard P, Vaillier J, Coulary B, Schaeffer J, Soubannier V, Mueller DM, Brethes D, di Rago JP, Velours J (2002) The ATP synthase is involved in generating mitochondrial cristae morphology. EMBO J 21: 221-230

[120] Davies KM, Daum B, Gold VA, Muhleip AW, Brandt T, Blum TB, Mills DJ, Kuhlbrandt W (2014) Visualization of ATP synthase dimers in mitochondria by electron cryo-tomography. J Vis Exp: 51228

[121] Couplan E, Aiyar RS, Kucharczyk R, Kabala A, Ezkurdia N, Gagneur J, St Onge RP, Salin B, Soubigou F, Le Cann M, Steinmetz LM, di Rago JP, Blondel M (2011) A yeast-based assay identifies drugs active against human mitochondrial disorders. Proc Natl Acad Sci U S A 108: 11989-11994

[122] Aiyar RS, Bohnert M, Duvezin-Caubet S, Voisset C, Gagneur J, Fritsch ES, Couplan E, von der Malsburg K, Funaya C, Soubigou F, Courtin F, Suresh S, Kucharczyk R, Evrard J, Antony C, St Onge RP, Blondel M, di Rago JP, van der Laan M, Steinmetz LM (2014) Mitochondrial protein sorting as a therapeutic target for ATP synthase disorders. Nat Commun 5: 5585

[123] Lefebvre-Legendre L, Vaillier J, Benabdelhak H, Velours J, Slonimski PP, di Rago JP (2001) Identification of a nuclear gene (FMC1) required for the assembly/stability of yeast mitochondrial F(1)-ATPase in heat stress conditions. J Biol Chem 276: 6789-6796

[124] Hoon S, Smith AM, Wallace IM, Suresh S, Miranda M, Fung E, Proctor M, Shokat KM, Zhang C, Davis RW, Giaever G, St Onge RP, Nislow C (2008) An integrated platform of genomic assays reveals small-molecule bioactivities. Nat Chem Biol 4: 498-506

[125] Ho CH, Magtanong L, Barker SL, Gresham D, Nishimura S, Natarajan P, Koh JL, Porter J, Gray CA, Andersen RJ, Giaever G, Nislow C, Andrews B, Botstein D, Graham TR, Yoshida M, Boone C (2009) A molecular barcoded yeast ORF library enables mode-of-action analysis of bioactive compounds. Nat Biotechnol 27: 369-377

[126] Hoogenraad NJ, Ward LA, Ryan MT (2002) Import and assembly of proteins into mitochondria of mammalian cells. Biochim Biophys Acta 1592: 97-105

[127] Meier S, Neupert W, Herrmann JM (2005) Conserved N-terminal negative charges in the Tim17 subunit of the TIM23 translocase play a critical role in the import of preproteins into mitochondria. J Biol Chem 280: 7777-7785

[128] Tsai JD, Liu CS, Tsao TF, Sheu JN (2012) A novel mitochondrial DNA 8597T>C mutation of Leigh syndrome: report of one case. Pediatr Neonatol 53: 60-62

[129] Lopez-Gallardo E, Solano A, Herrero-Martin MD, Martinez-Romero I, Castano-Perez MD, Andreu AL, Herrera A, Lopez-Perez MJ, Ruiz-Pesini E, Montoya J (2009) NARP syndrome in a patient harbouring an insertion in the MT-ATP6 gene that results in a truncated protein. J Med Genet 46: 64-67

[130] Kumar M, Tanwar M, Saxena R, Sharma P, Dada R (2010) Identification of novel mitochondrial mutations in Leber's hereditary optic neuropathy. Mol Vis 16: 782-792

[131] Venkatesh S, Kumar M, Sharma A, Kriplani A, Ammini AC, Talwar P, Agarwal A, Dada R (2010) Oxidative stress and ATPase6 mutation is associated with primary ovarian insufficiency. Arch Gynecol Obstet 282: 313-318

[132] Abu-Amero KK, Bosley TM (2006) Mitochondrial abnormalities in patients with LHON-like optic neuropathies. Invest Ophthalmol Vis Sci 47: 4211-4220

[133] Abu-Amero KK, Bosley TM (2005) Detection of mitochondrial respiratory dysfunction in circulating lymphocytes using resazurin. Arch Pathol Lab Med 129: 1295-1298

[134] Ciafaloni E, Santorelli FM, Shanske S, Deonna T, Roulet E, Janzer C, Pescia G, DiMauro S (1993) Maternally inherited Leigh syndrome. J Pediatr 122: 419-422

[135] Puddu P, Barboni P, Mantovani V, Montagna P, Cerullo A, Bragliani M, Molinotti C, Caramazza R (1993) Retinitis pigmentosa, ataxia, and mental retardation associated with mitochondrial DNA mutation in an Italian family. Br J Ophthalmol 77: 84-88

[136] Rojo A, Campos Y, Sanchez JM, Bonaventura I, Aguilar M, Garcia A, Gonzalez L, Rey MJ, Arenas J, Olive M, Ferrer I (2006) NARP-MILS syndrome caused by 8993 T>G mitochondrial DNA mutation: a clinical, genetic and neuropathological study. Acta Neuropathol 111: 610-616

[137] Baracca A, Barogi S, Carelli V, Lenaz G, Solaini G (2000) Catalytic activities of mitochondrial ATP synthase in patients with mitochondrial DNA T8993G mutation in the ATPase 6 gene encoding subunit a. J Biol Chem 275: 4177-4182

[138] Sakai Y, Kaga K, Kodama K, Higuchi A, Miyamoto J (2004) Hearing evaluation in two sisters with a T8993G point mutation of mitochondrial DNA. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 68: 1115-1119

[139] Enns GM, Bai RK, Beck AE, Wong LJ (2006) Molecular-clinical correlations in a family with variable tissue mitochondrial DNA T8993G mutant load. Mol Genet Metab 88: 364-371

[140] de Vries DD, van Engelen BG, Gabreels FJ, Ruitenbeek W, van Oost BA (1993) A second missense mutation in the mitochondrial ATPase 6 gene in Leigh's syndrome. Ann Neurol 34: 410-412

[141] Fujii T, Hattori H, Higuchi Y, Tsuji M, Mitsuyoshi I (1998) Phenotypic differences between T-->C and T-->G mutations at nt 8993 of mitochondrial DNA in Leigh syndrome. Pediatr Neurol 18: 275-277

[142] Hurvitz H, Naveh Y, Shoseyov D, Klar A, Shaag A, Elpeleg O (2002) Transmission of the mitochondrial t8993c mutation in a new family. Am J Med Genet 111: 446-447

[143] Kara B, Arikan M, Maras H, Abaci N, Cakiris A, Ustek D (2012) Whole mitochondrial genome analysis of a family with NARP/MILS caused by m.8993T>C mutation in the MT-ATP6 gene. Mol Genet Metab 107: 389-393

[144] Martikainen MH, Gorman GS, Goldsmith P, Burn DJ, Turnbull DM, Schaefer AM (2015) Adult-onset myoclonus ataxia associated with the mitochondrial m.8993T>C "NARP" mutation. Mov Disord 30: 1432-1433

[145] Santorelli FM, Shanske S, Jain KD, Tick D, Schon EA, DiMauro S (1994) A T-->C mutation at nt 8993 of mitochondrial DNA in a child with Leigh syndrome. Neurology 44: 972-974

[146] Debray FG, Lambert M, Lortie A, Vanasse M, Mitchell GA (2007) Long-term outcome of Leigh syndrome caused by the NARP-T8993C mtDNA mutation. Am J Med Genet A 143A: 2046-2051

[147] Shidara K, Wakakura M (2012) Leber's hereditary optic neuropathy with the 3434, 9011 mitochondrial DNA point mutation. Jpn J Ophthalmol 56: 175-180

[148] Povalko N, Zakharova E, Rudenskaia G, Akita Y, Hirata K, Toyojiro M, Koga Y (2005) A new sequence variant in mitochondrial DNA associated with high penetrance of Russian Leber hereditary optic neuropathy. Mitochondrion 5: 194-199

[149] Mordel P, Schaeffer S, Dupas Q, Laville MA, Gerard M, Chapon F, Allouche S (2017) A 2 bp deletion in the mitochondrial ATP 6 gene responsible for the NARP (neuropathy, ataxia, and retinitis pigmentosa) syndrome. Biochem Biophys Res Commun 494: 133-137

[150] La Morgia C, Achilli A, Iommarini L, Barboni P, Pala M, Olivieri A, Zanna C, Vidoni S, Tonon C, Lodi R, Vetrugno R, Mostacci B, Liguori R, Carroccia R, Montagna P, Rugolo M, Torroni A, Carelli V (2008) Rare mtDNA variants in Leber hereditary optic neuropathy families with recurrence of myoclonus. Neurology 70: 762-770

[151] Dionisi-Vici C, Seneca S, Zeviani M, Fariello G, Rimoldi M, Bertini E, De Meirleir L (1998) Fulminant Leigh syndrome and sudden unexpected death in a family with the T9176C mutation of the mitochondrial ATPase 6 gene. J Inherit Metab Dis 21: 2-8

[152] Thyagarajan D, Shanske S, Vazquez-Memije M, De Vivo D, DiMauro S (1995) A novel mitochondrial ATPase 6 point mutation in familial bilateral striatal necrosis. Ann Neurol 38: 468-472

[153] Makino M, Horai S, Goto Y, Nonaka I (1998) Confirmation that a T-to-C mutation at 9176 in mitochondrial DNA is an additional candidate mutation for Leigh's syndrome. Neuromuscul Disord 8: 149-151

[154] Ronchi D, Bordoni A, Cosi A, Rizzuti M, Fassone E, Di Fonzo A, Servida M, Sciacco M, Collotta M, Ronzoni M, Lucchini V, Mattioli M, Moggio M, Bresolin N, Corti S, Comi GP (2011) Unusual adult-onset Leigh syndrome presentation due to the mitochondrial m.9176T>C mutation. Biochem Biophys Res Commun 412: 245-248

[155] Synofzik M, Schicks J, Wilhelm C, Bornemann A, Schols L (2012) Charcot-Marie-Tooth hereditary neuropathy due to a mitochondrial ATP6 mutation. Eur J Neurol 19: e114-116

[156] Saneto RP, Singh KK (2010) Illness-induced exacerbation of Leigh syndrome in a patient with the MTATP6 mutation, m. 9185 T>C. Mitochondrion 10: 567-572

[157] Brum M, Semedo C, Guerreiro R, Pinto Marques J (2014) Motor Neuron Syndrome as a New Phenotypic Manifestation of Mutation 9185T>C in Gene MTATP6. Case Rep Neurol Med 2014: 701761

[158] Seneca S, Abramowicz M, Lissens W, Muller MF, Vamos E, de Meirleir L (1996) A mitochondrial DNA microdeletion in a newborn girl with transient lactic acidosis. J Inherit Metab Dis 19: 115-118

Tabela 1. Lista genów oraz podjednostek syntazy ATP u człowieka i u drożdży.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Człowiek | | *S. cerevisiae* | |
| Gen | Podjednostka | Gen | Podjednostka |
| *ATP5A1* | *α* | *ATP1* | *α* |
| *ATP5B* | *β* | *ATP2* | *β* |
| *ATP5C1* | *γ* | *ATP3* | *γ* |
| *ATP5D* | *δ* | *ATP16* | *δ* |
| *ATP5E* | *ε* | *ATP15* | *ε* |
| *ATP5F1,* | *b* | *ATP4* | *4 lub b* |
| *ATP5G1, ATP5G2, ATP5G3* | *c1, c2, c3\** | *ATP9* | *9 lub c* |
| *ATP5H* | *d* | *ATP7* | *d* |
| *ATP5I* | *e* | *ATP21 lub TIM11* | *e* |
| *ATP5J* | *F6* | *ATP14* | *h* |
| *ATP5J2* | *f* | *ATP17* | *f* |
| *ATP5L* | *g* | *ATP20* | *g* |
| *ATP5O* | *OSCP* | *ATP5* | *5 lub OSCP* |
| *MT-ATP6* | *a lub ATP6* | *ATP6* | *a lub Atp6* |
| *MT-ATP8* | *8, ATP8 lub A6L* | *ATP8* | *8 lub Atp8* |
| *C14orf2* | *6.8 kDa* | *ATP18* | *i lub j* |
| *USMG5* | *DAPIT* | *ATP19* | *k* |

\* podjednostki c1, c2, c3, kodowane są przez trzy różne geny, różnią się jedynie sekwencją sygnałową kierującą do mitochondriów, która jest odcinana po dotarciu białka do błony wewnętrznej.

Tabela 2. Mutacje w genach *ATP8* i *ATP6*, związane z nimi jednostki chorobowe, ilość opisanych przypadków (N), wiek pacjentów w latach, poziom heteroplazmii (H), patogenność (PG) oraz aktywność i stan kompleksu syntazy ATP wraz z morfologią mitochondriów.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Mutacja w mtDNA | Substytucja reszty aminokwaso-wej w białku | Jednostka chorobowa | N | Wiek  (w latach) | H  % | Syntaza ATP | | ROS / mofrologia mitochondriów | Literatura | PG |
| Aktywność | Stan złożenia enzymu |
| m.8381A>G | *8*T6A | MIDD, LVHT | 2 | 38,57 | 99 | bd | bd | bd / zaburzona | [[71](#_ENREF_71),[72](#_ENREF_72)] | N |
| m.8393C>T | *8*P10S | Padaczka | 1 | 10 | <99 | bd | bd | bd / bd | [[73](#_ENREF_73)] | N |
| m.8403T>C | *8*I13T | Epizodyczna niewydolność mięśniowa | 1 | 8 | 99 | normalna | normalny | podwyższone / bd | [[42](#_ENREF_42)] | N |
| m.8411A>G | *8*M16V | Choroba neurologiczna ze ślepotą | 1† | 10 | 97 | bd | bd | bd / bd | [[74](#_ENREF_74)] | N |
| m.8463A>G | *8*Y33C | Schizofrenia | 1 | bd | 100 | bd | bd | bd / bd | [[77](#_ENREF_77)] | N |
| m.8472C>T | *8*P36L | Autyzm | 3 | 4-8 | 100 | bd | bd | bd / bd | [[78](#_ENREF_78)] | N |
| m.8481C>T | *8*P39L | Tetralogia Fallota | 1 | 1 | 100 | bd | bd | bd / bd | [[75](#_ENREF_75)] | N |
| m.8502A>T | *8*N46I | MTLE-HS | 40 | dorośli | 11-36 | bd | bd | bd / bd | [[70](#_ENREF_70)] | P |
| 8510A>G | *8*K49E | Schizofrenia | 1 | bd | 100 | bd | bd | bd / bd | [[76](#_ENREF_76)] | N |
| m.8519G>A | *8*E52K | Schizofrenia | 1 | bd | 100 | bd | bd | bd / bd | [[77](#_ENREF_77)] | N |
| m.8528T>C | *8*W55R *a*M1T | Kardiomiopatia dziecięca | 5,3† | 0.1-4 | 90-98 | obniżona | bd | bd / bd | [[79](#_ENREF_79),[80](#_ENREF_80)] | P |
| m.8529G>A | *8*W55X *a*M1I | Kardiomiopatia z neuropatią | 1 | 16 | 90 | obniżona | defektywny | bd / bd | [[44](#_ENREF_44)] | P |
| m.8558C>T | *8*P65S *a*A11V | LVHC | 1 | 0.2 | bd | bd | bd | bd / bd | [[81](#_ENREF_81)] | C |
| m.8561C>G | *8*P66A  *a*P12R | Ataksja, neuropatia, z cukrzycą | 2 | 59,64 | 99 | obniżona | defektywny | bd / bd | [[82](#_ENREF_82)] | P |
| m.8527A>G | *a*M1V | Choroba neuro-mięśniowa | 1 | 7 | bd | bd | bd | bd / bd | [[112](#_ENREF_112)] | N |
| m.8597T>C | *a*I24T | MILS | 1 | 2 | 95 | bd | bd | bd / bd | [[128](#_ENREF_128)] | N |
| m.8611insC | *a*L29PfsX36 | Ataksja z encefalopatią | 1 | 4 | 60-80 | obniżona | defektywny | bd / zaburzona | [[105](#_ENREF_105)] | P |
| m.8618insT | *a*T33HfsX32 | NARP | 1 | 40 | 85 | bd | defektywny | bd / bd | [[129](#_ENREF_129)] | N |
| m.8668T>C | *a*W48R | LHON | 1 | dorosły | 99 | bd | bd | bd / bd | [[130](#_ENREF_130)] | N |
| m.8684C>T | *a*T53I | Autyzm  Niewydolność jajników  LHON | 1  7  1 | 4-8  25  dorosły | 100 | bd | bd | bd / bd | [[78](#_ENREF_78),[130](#_ENREF_130),[131](#_ENREF_131)] | N |
| m.8697G>A | *a*M57I | Autyzm  LHON | 5 | 4-8 | 100 | bd | bd | bd / bd | [[78](#_ENREF_78),[130](#_ENREF_130)] | N |
| m.8701A>G | *a*T59A | Autyzm | 1 | 4-8 | 100 | bd | bd | bd / bd | [[78](#_ENREF_78)] | N |
| m.8719G>A | *a*G65X | Miopatia | 1 | bd | <99 | bd | bd | bd / bd | [[116](#_ENREF_116)] | N |
| m.8723G>A | *a*R66Q | Schizofrenia | 1 | bd | 100 | bd | bd | bd / bd | [[76](#_ENREF_76)] | N |
| m.8794C>T | *a*H90Y | Schizofrenia | 1 | bd | 100 | bd | bd | bd / bd | [[77](#_ENREF_77)] | N |
| m.8836A>G | *a*M104V | LHON  Autyzm | 1  3 | 11  4-8 | 100 | bd | bd | bd / bd | [[78](#_ENREF_78),[132](#_ENREF_132)] | N |
| m.8839G>C | *a*A105P | NARP | 1 | 57 | 21-88 | normalna | bd | bd / bd | [[34](#_ENREF_34)] | P |
| m.8843T>C | *a*I106T | Schizofrenia | 2 | bd | 100 | bd | bd | bd / bd | [[76](#_ENREF_76),[77](#_ENREF_77)] | N |
| *m.8851T>C* | *a*W109R | FBSN | 2 | 3 | 87-99 | obniżona | defektywny | bd / zaburzona | [[57](#_ENREF_57),[107](#_ENREF_107),[108](#_ENREF_108)] | P |
| m.8890A>G | *a*K122E | MS | 1 | 18 | 35-38 | bd | bd | bd / bd | [[110](#_ENREF_110)] | N |
| m.8902G>A | *a*A126T | Schizofrenia | 1 | bd | 100 | bd | bd | bd / bd | [[76](#_ENREF_76)] | N |
| *m.8932C>T* | *a*P136S | Choroba neuro-mięsniowa | 1 | 7 | 100 | obniżona | defektywny | bd / bd | [[61](#_ENREF_61),[112](#_ENREF_112),[113](#_ENREF_113)] | P |
| m.8945T>C | *a*M140T | Schizofrenia | 1 | bd | 100 | bd | bd | bd / bd | [[76](#_ENREF_76)] | N |
| m.8950G>A | *a*V142I | LHON z dystonią | 1 | 23 | bd | obniżona | bd | bd / bd | [[133](#_ENREF_133)] | N |
| *m.8969G>A* | *a*S148N | MLASA  Neuropatia | 1  1 | 6  14 | 60-90 | obniżona | defektywny | podwyższone / bd | [[106](#_ENREF_106)] [[36](#_ENREF_36)] | C |
| m.8989G*>*C | *a*A155P | NARP | 1 | 53 | 33-94 | obniżona | bd | bd / bd | [[36](#_ENREF_36),[103](#_ENREF_103)] | P |
| *m.8993T>G* | *a*L156R | NARP/MILS | 53, 10† | 0.1-53 | 13-99 | obniżona | normalna | podwyższone/  zaburzona | [[37-41](#_ENREF_37),[62](#_ENREF_62),[83](#_ENREF_83),[85-93](#_ENREF_85),[134-139](#_ENREF_134)] | C |
| *m.8993T>C* | *a*L156P | NARP/MILS | 35, 4† | 0.1-77 | 20-96 | obniżona | defektywny | podwyższone /  normalna | [[41](#_ENREF_41),[42](#_ENREF_42),[58](#_ENREF_58),[90](#_ENREF_90),[91](#_ENREF_91),[93-95](#_ENREF_93),[140-146](#_ENREF_140)] | C |
| m.9011C>T | *a*A162V | LHON | 1 | 34 | 100 | bd | bd | bd / bd | [[147](#_ENREF_147)] | N |
| m.9016A>G | *a*I164V | LHON | 1 | dorosły | 100 | bd | bd | bd / bd | [[148](#_ENREF_148)] | N |
| m.9025G>A | *a*G167S | Typu MILS, NARP | 2, 1† | 0.2, bd | 100 | bd | bd | bd / bd | [[33](#_ENREF_33)] | N |
| m.9029A>G | *a*H168R | Typu LHON | 1 | 38 | 95-99 | obniżona | bd | podwyższone / bd | [[33](#_ENREF_33)] | P |
| m.9032T>C | *a*L169P | NARP | 1 | 16 | 70-90 | obniżona | bd | podwyższone / bd | [[33](#_ENREF_33)] | P |
| m.9035T>C | *a*L170P | SCA | 21 | 4-48 | 90-99 | obniżona | bd | podwyższone / bd | [[35](#_ENREF_35),[104](#_ENREF_104)] | C |
| m.9055G>A | *a*A177T | Schizofrenia | 3 | bd | 100 | bd | bd | bd / bd | [[77](#_ENREF_77)] | N |
| m.9058A>G | *a*T178A | LVHT | 1 | bd | nd | bd | bd | bd / bd | [[81](#_ENREF_81)] | N |
| m.9071C>T | *a*S182L | Schizofrenia | 1 | bd | 100 | bd | bd | bd / bd | [[76](#_ENREF_76)] | N |
| m.9094C>T | *a*L190F | Niewydolność jajników | 5 | 25 | bd | bd | bd | bd / bd | [[131](#_ENREF_131)] | N |
| m.9101T>C | *a*I192T | LHON | 1 | 21 | 100 | obniżona | bd | bd / bd | [[43](#_ENREF_43),[111](#_ENREF_111)] | P |
| m.9127delAT | *a*I201PfsX2 | NARP | 1 | 18 | 10-82 | obniżona | bd | bd / bd | [[149](#_ENREF_149)] | P |
| m.9134A>G | *a*E203G | MS z kardiomiopatią | 1 | bd | bd | obniżonad | bd | bd / bd | [[109](#_ENREF_109)] | N |
| m.9139G>A | *a*A205T | LHON | 2 | 30,45 | bd | bd | bd | bd / bd | [[150](#_ENREF_150)] | N |
| m.9160T>C | *a*Y212H | Schizofrenia | 1 | nd | 100 | bd | bd | bd / bd | [[77](#_ENREF_77)] | N |
| *m.9176T>G* | *a*L217R | MILS | 6, 3† | 3-42 | 95-99 | obniżona | defektywny | podwyższone / zaburzona | [[42](#_ENREF_42),[51](#_ENREF_51),[59](#_ENREF_59),[97](#_ENREF_97),[98](#_ENREF_98),[151-155](#_ENREF_151)] | C |
| *m.9176T>C* | *a*L217P | MILS, okresowe porażenie, CMT, HSP | 19, 4† | 1-59 | 90-99 | obniżona | defektywny | podwyższone /  zaburzona | [[42](#_ENREF_42),[51](#_ENREF_51),[56](#_ENREF_56),[97](#_ENREF_97),[98](#_ENREF_98),[151-155](#_ENREF_151)] | C |
| *m.9185T>C* | *a*L220P | Okresowe porażenie, Ataksja, MILS, CMT, MNS, SCA | 61, 4† | 2-58 | 73-99 | obniżona | defektywny | bd / zaburzona | [[42](#_ENREF_42),[55](#_ENREF_55),[99-102](#_ENREF_99),[104](#_ENREF_104),[156](#_ENREF_156),[157](#_ENREF_157)] | C |
| *m.9191T>C* | *a*L222P | MILS | 1† | 2 | 90-94 | obniżona | bd | bd / zaburzona | [[55](#_ENREF_55),[100](#_ENREF_100)] | P |
| m.9205delTA | *a* eliminacjakodonuSTOP | Encefalopatia,  kwasica mleczanowa | 3, 1† | dorosły, bd | 98-99 | obniżona | bd | bd / zaburzona | [[32](#_ENREF_32),[115](#_ENREF_115),[158](#_ENREF_158)] | C |

† - ilość pacjentów zmarłych, bd – brak danych, PG – patogenność: C – potwierdzona, P – podejrzana, N – nieznana, X – C-koniec bialka, zapis *a*T33HfsX32 oznacza zamianę treoniny na histydynę wraz z przesunięciem ramki odczytu prowadzącej do terminacji syntezy białka w odległości 32 aminokwasów od miejsca zamienionej reszty aminokwasowej, MIDD – dziedziczna cukrzyca z głuchotą, LVHT - niescalony mięsień lewej komory, MLTE-HS – padaczka skroniowa, MILS – dziedziczna podostra martwicza encefalo(mielo)patia, NARP - neurogenna miopatia z ataksją i zwyrodnieniem barwnikowym siatkówki, LHON - dziedziczna neuropatia nerwu wzrokowego Lebera, FBSN – dwustronne obumarcie prążkowia, MS – zespół metaboliczny, MLASA – miopatia z kwasicą mleczanową i anemią sideroblastyczną, CMT - Choroba Charcota-Mariego-Tootha, HSP - wrodzona paraplegia spastyczna, MNS – choroba neuronu ruchowego, SCA – ataksja rdzeniowo-móżdżkowa. Mutacje, których brak w bazie MITOMAP są podkreślone, a te dla których stworzyliśmy modele *S. cerevisiae* zaznaczono czcionką pochyłą.

**Opis rycin**

**Rycina 1.** Schemat reprezentujący dimer syntazy ATP drożdży, wykonany w programie Pymol (PyMOL Molecular Graphics System, Version 0.99, Schrödinger, LLC), w oparciu o strukturę opublikowaną i zdeponowaną w PDB Database [[24](#_ENREF_24)], (PDB code 6B8H). Poszczególne łańcuchy podjednostek dla przejrzystości obrazu zostały pokazane na jednym monomerze. Krawędzie zakrzywionej błony zaznaczono linią przerywaną a drogę protonów linią ciągłą.

**Rycina 2.** Pozycje mutacji patologicznych w podjednostkach *8* i *a* w oparciu o strukturę kanału protonów drożdży *S. cerevisiae* [[24](#_ENREF_24)]. A, widok od strony ramienia zewnętrznego, B, widok od strony macierzy. Podstawienia aminokwasowe, zaznaczone na czerwono, są zgodne z tymi w białkach ludzkich i Tabelą 2. Konserwowana arginina *a*R159 w helisie *a*H5 oraz kwas glutaminowy *c*E58 bezpośrednio zaangażowany w transport protonów w podjednostce *c*H2 zostały zaznaczona poprzez pokazanie ich łańcuchów bocznych odpowiednio w kolorach fioletowym i czerwonym. Rycina wykonana w programie Pymol.

**Molecular bases of diseases caused by mutations in genes encoding subunits of ATP synthase**

Emilia Baranowska, Joanna Rytka, Róża Kucharczyk🖂

Department of Genetics, Instytute of Biochemistry and Biophysics PAS, Pawinskiego 5A, 02-106 Warsaw, Poland

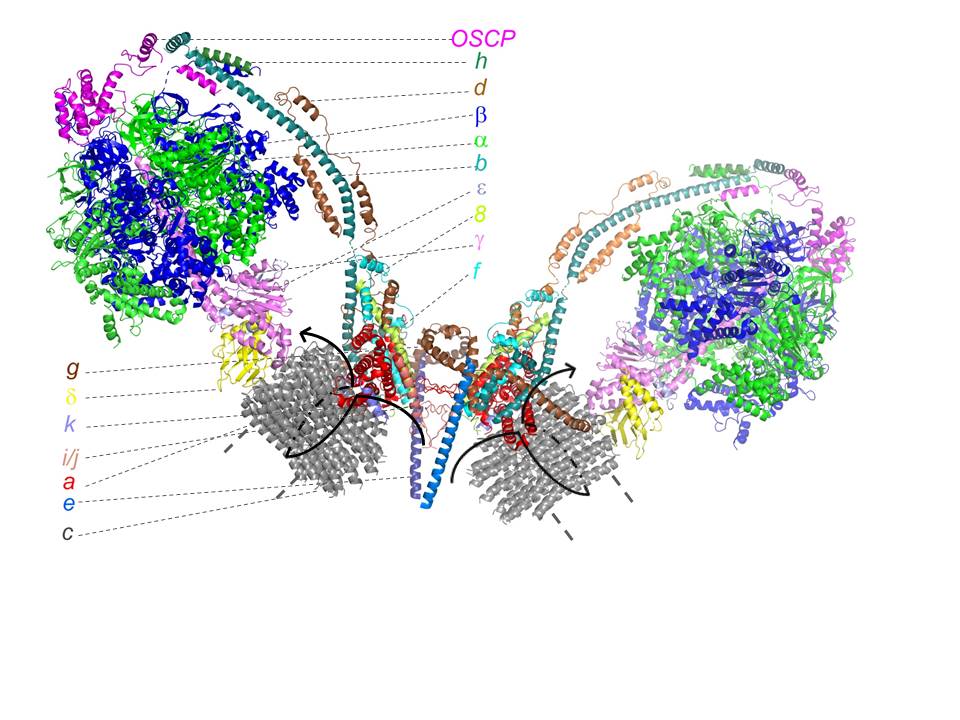
🖂e-mail.: [roza@ibb.waw.pl](mailto:roza@ibb.waw.pl)

**Key words**: ATP synthase, *ATP12* gene*, ATP6* gene*, ATP8* gene, mitochondrial diseases

**ABSTRACT**

ATP synthase is the last enzyme of the OXPHOS system synthesizing ATP. Mutations in either mitochondrial or nuclear genes encoding subunits of this enzyme (17 polypeptides) cause neurodegenerative diseases. The ATP synthase subunits *8* (ATP8, alias A6L) and *a* (ATP6) are encoded by the *MT-ATP8* and *MT-ATP6* mitochondrial genes, respectively. 17 diseases associated mutations were identified in five nuclear genes coding for subunits of this enzyme. 58 mutations were described in the *MT-ATP6* and *MT-ATP8* genes, among them 36 were deposited in MITOMAP database. For most of them neither their pathogenic character nor the mechanisms are known. This review summarizes what is known about the molecular basis of the ATP synthase deficiencies. We review the mutations in the ATP synthase genes as well as biochemical data obtained from studies of patient’s cells and cybrid or yeast models. We include yeast research about drugs selection and their mechanism of action. Moreover we position the mutations into a recently published structural model of the Fo complex and discuss their structural/functional consequences.

Rycina 1



Rycina 2

