

线粒体呼吸链酶复合物 V 缺陷与线粒体病

李溪远 综述 杨艳玲 审校

(北京大学第一医院儿科,北京 100034)

〔摘 要〕 线粒体呼吸链酶复合物 V,也称为 ATP 合酶,是位于线粒体内膜上的大蛋白复合体,由 2 个功能性蛋白复合物 F₀ 及 F₁ 构成。复合物 V 是线粒体呼吸链的最后一个复合物,在线粒体中通过电化学梯度传递质子,以 ADP、Pi 及 Mg²⁺ 为原料合成 ATP,为细胞供能。大多数患者新生儿期发病,导致严重脑损害或多脏器损害,病死率很高。主要临床表现为神经肌肉病、心肌病、高乳酸血症及 3-甲基戊烯二酸尿症等,因受累器官的不同导致显著的临床异质性。复合物 V 由 16 个亚基组成,由线粒体基因与核基因共同编码。迄今,国内外已报道了 MT-ATP6、MT-ATP8、ATPAF2、TMEM70、ATP5E 基因突变导致的复合物 V 缺陷。本文总结了线粒体呼吸链复合物 V 的结构及功能,并对复合物 V 缺陷的病理、临床表现、诊断、治疗及分子遗传学研究进展进行了综述。

[中国当代儿科杂志,2013,15(7):596 – 600]

〔关 键 词〕 线粒体呼吸链;复合物 V;ATP 合酶;线粒体病

Mitochondrial disorders associated with mitochondrial respiratory chain complex V deficiency

LI Xi-Yuan, YANG Yan-Ling. Department of Pediatrics, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China (Email: clovernet@126.com)

Abstract: The mammalian mitochondrial ATP synthase, also as known as mitochondrial respiratory chain complex V, is a large protein complex located in the mitochondrial inner membrane, where it catalyzes ATP synthesis from ADP, Pi, and Mg²⁺ at the expense of an electrochemical gradient of protons generated by the electron transport chain. Complex V is composed of 2 functional domains F₀ and F₁. The clinical features of patients are significantly heterogeneous depending on the involved organs. Most patients with complex V deficiency had clinical onset in the neonatal period with severe brain damage or multi-organ failure resulting in a high mortality. Neuromuscular disorders, cardiomyopathy, lactic acidosis and 3-methylglutaconic aciduria are common findings. Complex V consists of 16 subunits encoded by both mitochondrial DNA and nuclear DNA. On MT-ATP6, MT-ATP8, ATPAF2, TMEM70 and ATP5E gene of mitochondrial DNA, many mutations associated with Complex V deficiency have been identified. Here, the pathology, clinical features, diagnosis, treatment and molecular genetics of Complex V deficiency were summarized.

[Chin J Contemp Pediatr, 2013, 15(7):596 – 600]

Key words: Mitochondrial respiratory chain; Complex V; ATP synthase; Mitochondrial disease

线粒体的主要功能包括氧化磷酸化、清除氧自由基,并在信号传导、细胞凋亡、细胞分化中起到重要作用。线粒体氧化磷酸化是指电子经一系列膜结合的电子载体(即呼吸链)从 NADH 或 FADH₂ 到 O₂,同时产生线粒体内外膜质子电势差而驱动复合物 V 催化合成 ATP 的过程。呼吸链位于线粒体内膜上,由跨膜蛋白复合物(I、II、III、IV)、泛醌以及细胞色素 C 共同组成^[1]。由于复合物 V(ATP synthase, EC 3. 6. 1. 3, 又称为 F₁F₀-ATP 酶)是与呼吸链

四个酶复合物偶联完成氧化磷酸化生成 ATP,因此常又称为 ATP 合酶。

复合物 V 缺陷是导致线粒体病的主要病因之一,与其他复合物缺陷所导致的线粒体病类似,复合物 V 缺陷主要导致线粒体能量代谢障碍,主要损伤中枢神经系统、肌肉、肝脏、肾等能量代谢旺盛的器官或组织。随着酶学及分子生物学检测技术的发展,该病的确诊率提高,对复合物 V 缺陷导致的线粒体病患者的临床表型与基因型的研究愈发深入。

〔收稿日期〕2012 – 11 – 06;〔修回日期〕2012 – 12 – 04
〔基金项目〕“十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAI09B04)。
〔作者简介〕李溪远,女,博士研究生。

1 线粒体呼吸链酶复合物 V 的结构和功能特点

复合物 V 是一个可旋转的酶,该酶利用电子传递过程中在线粒体内膜两侧形成的质子电化学势梯度来合成 ATP^[2]。分子量约为 600 kDa,由 16 种不同亚基构成^[2](表 1)。其中 3 个 α 亚基、3 个 β 亚基、1 个 γ 亚基、1 个 δ 亚基和 1 个 ε 亚基组成 F_1 ,由 γ 亚基、 δ 亚基和 ε 亚基则组成 F_1 的中心茎部。c 亚基形成的环以及 a 亚基、b 亚基、d 亚基、F6 亚基和寡霉素敏感蛋白(oligomycin sensitivity-conferring

protein,OSCP)组成 F_0 ,由 b 亚基、d 亚基、F6 亚基和 OSCP 构成 F_0 外围茎部,另外 e、f、g 和 A6L 亚基也与 F_0 相关联。膜外的水溶性蛋白 F_1 起催化作用,跨膜的疏水蛋白 F_0 起质子转移作用, F_1 、 F_0 两复合物以柄部相连^[3]。复合物 V 旋转的部位由与茎部相连的 c 亚基组成的环构成^[4]。尽管复合物 V 以单体形式最为多见,最近也发现了其二聚体等低聚体形式。两个复合物 V 单体主要通过 F_0 部分相互作用,由于两个单体相互作用的角度,二聚体导致线粒体内膜弯曲,被称为线粒体嵴^[5],由于非单体形式较为稳定并影响线粒体内膜形成,二聚体或低聚体形式的复合物 V 对细胞更有益。

表 1 哺乳动物复合物 V 亚基及其功能^[2]

亚基	对应基因(人类)	基因位置	对应基因的染色体位置	酶的位置	功能
α ^[6-11]	ATP5A1	nDNA	18q21.1	F_1 基质	ATP 合成,IF ₁ 结合
β ^[6-11]	ATP5B	nDNA	12q13.3	F_1 基质	ATP 合成,IF ₁ 结合
γ ^[6-12]	ATP5C1	nDNA	10p14	F_1 中心茎部	旋转,IF ₁ 结合
a ^[7, 12-13]	ATP6	mtDNA	mtDNA: 8526 ~ 9206	F_0 亚基	质子传递
b ^[7, 12-13]	ATP5F ₁	nDNA	1p13.2	F_1 外围茎部	定子
c ^[6-7, 12-15]	ATP5G1,ATP5G2,ATP5G3	nDNA	17q21.32,12q13.13,2q31.1	F_0 亚基	旋转,质子传递
OSCP ^[7, 13, 16]	ATP5O	nDNA	21q22.11	F_0 外围茎部	连接定子与 F_1 亚基,结合雌激素
δ ^[6-8, 13]	ATP5D	nDNA	19p13.3	F_1 中心茎部	连接 F_1 、 F_0 亚基,旋转亚基
ε ^[6-7, 13, 17]	ATP5E	nDNA	20q13.32	F_1 中心茎部	连接 F_1 、 F_0 亚基,旋转亚基
d ^[6-8, 13, 18-21]	ATP5H	nDNA	17q25	F_0 外围茎部	定子,结合 δ PKC/亲环蛋白 D
F6 ^[6, 8]	ATP5J	nDNA	21q21.1	F_0 外围茎部	部分定子
e ^[6, 12]	ATP5I	nDNA	4p16.3	F_0 亚基	结合 B 因子/二聚化
f ^[6, 8, 12, 22]	ATP5J2	nDNA	7q22.1	F_0 亚基	-
g ^[6, 8, 12, 22-23]	ATP5L,ATP5L2	nDNA	11q23.3,22q13.2	F_0 亚基	结合 B 因子/二聚化
A6L ^[12, 24-25]	ATP8	mtDNA	mtDNA: 8366 ~ 8572	F_0 亚基	-
IF ₁ ^[11, 26]	ATP1F ₁	nDNA	1:28,562,620-28,573,417	将 F_1 催化区结合于复合物 V	抑制 ATP 水解

复合物 V 的作用是在 F_1 部位催化 ADP 和 Pi 形成 ATP,反应的能量来源于线粒体内膜两侧的质子梯度差,质子可通过复合物 V 的 F_0 部分穿过线粒体内膜,由膜间隙进入基质。跨膜的质子梯度形成的质子动力势由两部分组成,即 pH 梯度和膜电势($\Delta\psi_m$)。其释放的能量使 F_0 的 c 亚基环和与之相连的 F_1 的 γ 、 δ 、 ε 亚基旋转。 $\alpha\beta\beta_3$ 六聚体中 γ 亚基的旋转为 ATP 合成提供能量,这就是“旋转催化”。该过程可用“结合改变”机理解释。该机制认为 ATP 合成和水解的催化位点位于 3 个 β 亚基与相邻的 α 亚基的交接处。在 ATP 合成的情况下,每个位点通过构象的改变使 ADP 与 Pi 结合形成 ATP,并将其释放;在 ATP 水解时,则使用相反的途径。这些构象的转变都是通过 γ 亚基的旋转实现的。在催化的过程中, $\alpha\beta\beta_3$ 六聚体通过外围茎部固定在 a 亚基上。因此,复合物 V 又可以分为“转子”

(c 环、 γ 、 δ 、 ε)和“定子”($\alpha\beta\beta_3$ 、a、b、d、F6、OSCP)两部分^[2]。同时,腺嘌呤核苷酸转移酶(adenine nucleotide transporter,ANT)也对 $\Delta\psi_m$ 敏感,ANT 可以将复合物 V 合成的 ATP 泵至线粒体外同时将胞浆中的 ADP 转移至线粒体内。不同电势条件下 ANT 与复合物 V 共同决定了 ATP/ADP 的合成方向以及走向^[2]。 $\Delta\psi_m$ 也受线粒体内 Pi、ATP、ADP、二价阳离子等浓度影响^[27-28]。正常生理条件下,复合物 V 在线粒体基质中通过磷酸化 ADP 来产生 ATP,大部分 ATP 通过 ANT 跨过线粒体内膜,为机体供能。同样,ANT 将 ADP 转运回线粒体基质进行再磷酸化。病理状态下,由于电子传递链的损伤或线粒体内膜渗透率增高导致 $\Delta\psi_m$ 变化,复合物 V 功能改变成为腺苷三磷酸酶(ATPase),水解 ATP 为泵出线粒体基质中的质子供能,来阻止 $\Delta\psi_m$ 流失。

复合物 V 功能缺陷导致复合物 V 磷酸化水平

不足,ATP产生障碍;同时,线粒体膜电位的升高伴随线粒体呼吸链产生的活性氧(reactive oxygen species, ROS)的含量增加。能量供应不足以及氧化应激增加这两重因素共同导致了线粒体病^[29]。除酶功能缺陷外,线粒体形态及构成异常也可导致复合物V缺陷。复合物V缺陷可导致细胞凋亡,引起神经、肌肉、肝、肾等多脏器损伤,另外其缺陷也与衰老、心血管疾病、癌症等多种疾病密切相关^[30]。

2 临床研究进展

2.1 发病情况

复合物V缺陷是线粒体呼吸链酶复合物缺陷中发病率最少的一类,仅占1%^[31],由于发病率低,尚未发现遗传方式及发病率方面明显的种族差异性。复合物V缺陷导致氧化磷酸化障碍,能量产生不足,引起多脏器损害,常累及能量代谢旺盛的器官,与其他复合物缺陷相似,以中枢神经系统、肝脏、肾脏以及肌肉疾病较多见。一些患者表现为临床综合征,以Leigh综合征最为常见^[32-34];其次,共济失调及色素性视网膜炎、间断性帕金森综合征^[35-36]等也有报道。复合物V缺陷患者多在婴幼儿时期发病,表型复杂,需要依赖酶学或基因诊断确诊^[34]。

2.2 临床表现

与其他线粒体病类似,患者临床症状与体征缺乏特异性,个体差异很大,并具有显著的组织异质性,由于受累脏器的不同,患者表现出不同的脏器功能损伤。脑病和肌病是复合物V缺陷较常见的表型,表现为无力、肌张力低下、运动障碍、共济失调及色素性视网膜炎、小头畸形、表观异常以及纹状体坏死^[37]。一些患者表现为其他脏器损害或多脏器损害,如肝病、肾病、心肌病、听力障碍、视力障碍等。患者病程呈进行性加重,病死率、致残率极高。少数患儿在胎儿时期即存在发育异常,如宫内发育迟缓,常伴羊水过少、小头、难产等围产期异常。

2.3 实验室检查

多数复合物V缺陷患者存在不同程度的代谢性酸中毒、高乳酸血症、高丙酮酸血症,一些患者合并低血糖、高氨血症,脑脊液乳酸、丙酮酸水平升高,血液、尿液3-甲基戊烯二酸水平升高。受累组织病理学分析对于疾病诊断具有辅助参考价值,如线粒体基因8993位点突变导致的复合物V缺陷患者肌肉组织可见破碎样红纤维(ragged red fiber, RRF),是典型线粒体病的病理特征,破碎样红纤维可以看作线粒体合成ATP超负荷的标志^[38],8993位点影

响了F₀部分的质子易位以及F₁部分的ATP合成^[39]。但是,核基因突变所导致的复合物V缺陷患者肌肉组织病理分析可能正常或为非特异性改变。

2.4 影像学检查

受累脏器超声、CT、MRI检查可发现病理改变。国内外已报道线粒体基因8993、9176等点突变患者脑MRI可见双侧基底节、脑干对称性病变以及内囊后肢损伤^[34, 40],符合Leigh综合征特征。肝脏受累的患者可表现为胆汁淤积症、弥漫性肝病。心肌受累的患者超声心动图可见肥厚性心肌病、限制性心肌病样改变^[41]。

2.5 诊断

由于患者临床缺乏特异性,从症状、体征、一般化验、病理及影像学检查难以获得诊断,必须依赖线粒体呼吸链酶复合物酶活性测定及相关基因分析才能确诊。

受累脏器组织线粒体复合物V活性测定是理想的分析方法^[42],但需要采取新鲜样本并冻存。小鼠实验验证实,肌肉组织须在死亡6h以内保存在-70℃环境中,肝脏组织则应在死亡2h以内置-70℃保存,才能保证线粒体呼吸链酶活性^[43],故人体样本也需要尽快冻存以防止酶活性的二次下降。鉴于组织活检困难,外周血白细胞容易获得,目前,国内外已经有一些患者通过测定外周血白细胞中线粒体呼吸链酶复合物酶活性被诊断^[34]。

基因分析是确诊复合物V缺陷的可靠依据,但是,由于复合物V主要由核基因编码,线粒体基因突变分析阳性率很低。迄今我国仅报道了一些线粒体基因点突变导致的复合物V缺陷病例^[34],尚需建立相关核基因分析技术。

3 线粒体呼吸链酶复合物V缺陷的分子遗传学进展

复合物V由16个亚基构成,仅2个亚基(a和A6L亚基)为线粒体基因编码,其余14个亚基为核基因编码。表1为已知的编码复合物V的相关基因,关于以下几种基因的研究比较深入。

3.1 复合物V相关线粒体基因

3.1.1 MT-ATPase6 基因 MT-ATPase6 ATP6基因(MIM:516060,简称MT-ATP6或ATP6)对应于线粒体基因组第8527~9207碱基对,编码位于F₀部分的a亚基,起到质子传递的作用。已报道的ATP6基因突变的患者,主要表现为智力运动发育迟

滞、肌张力减退,30%的患者外周神经损伤。另有一些患者表现为婴儿脑损伤、共济失调及色素性视网膜炎、Leigh 综合征以及家族双纹状体坏死^[44]。

迄今发现了多种 ATP6 基因致病突变,如 8528T>C、8597T>C、8618 ins T、8851T>C、8860A>G、8993T>C、8993T>G、9101T>C、9176T>C、9185T>C、ΔTA9205。1992 年 Tatuch 等^[45]最早发现了 8993T>G 突变导致的 Leigh 综合征,也是复合物 V 缺陷中最常见且研究最深入的突变。8993T>G 突变损害复合物 V 的稳定性,影响质子在 F₀ 亚基上的传递,但不影响复合物 V 形成二聚体或多聚体^[2]。国内已报告了许多 8993 突变导致的 Leigh 综合征的病例^[34, 38]。

动物模型研究发现,ATP6 基因敲除动物几乎没有复合物 V 活性,导致能量缺陷,由于氧化磷酸化水平的降低,产生一系列代偿性改变,比如糖酵解增加、生酮作用以及三羧酸循环活性增加。另外,在 ATP6 基因敲除动物中,琥珀酸脱氢酶活性明显降低,线粒体超复合物形成也严重受阻,这也从功能方面解释了复合物 V 缺陷的病因^[46]。

3.1.2 MT-ATPase8 基因 MT-ATPase8 (MIM: 516070;简称 MT-ATP8 或 ATP8) 对应于线粒体基因组第 8366~8572 碱基对,编码位于复合物 V 茎部的 A6L 亚基。曾报道一位 ATP8 基因 8383C>T 突变患者表现为智力运动发育迟滞、睡眠障碍及 EEG 异常,MRI 显示侧脑室增大^[47]。一位 8529G>A 患者表现为肥厚性心肌病、语言、运动障碍及腱反射降低^[48]。Ware 等^[41]报道了 4 位无亲缘关系的 8258T>C 突变患者,分别表现为肥厚性心肌病以及充血性心力衰竭。Yu 等^[49]建立了小鼠 ATP8 基因 7778G>T 基因突变小鼠模型,功能研究提示部分雌性小鼠生育功能下降,线粒体结构改变,H₂O₂ 合成增多,CD4 T 细胞对线粒体氧化磷酸化损伤的适应性得以增高。进一步确定了线粒体在自身免疫性疾病及生殖中的作用。

3.2 复合物 V 相关核基因

核基因编码复合物 V 蛋白的 14 个亚基,以下是与复合物 V 缺陷相关的经常被报道的三个基因。

3.2.1 ATPAF2 基因 ATPAF2 基因 (MIM: 608918) 也称 ATP12,位于 17p11.2,编码 F₁ 部分 α 亚基的特异装配因子,特异装配因子与 F₁ 部分 α 亚基特异性结合,阻止 α 亚基在酶组装过程中形成无用单位。文献报道的 ATPAF2 基因突变患者主要疾病表现为退行性脑病,患者血液、脑脊液、尿液中乳酸显著增高,智力运动重度发育迟滞,癫痫,MRI 显

示脑皮质萎缩、脑白质发育不良,常伴随表观异常^[50]。

3.2.2 TMEM70 基因 TMEM70 基因 (MIM: 612418) 位于 8q21.11,是近年发现的与多种疾病相关的基因,可能编码线粒体跨膜蛋白。Torraco 等^[51]报道在其研究的复合物 V 缺陷患者及其家属中,317-2A>G 是较常见的突变。患儿常于新生儿期起病,主要表现为线粒体脑肌病。新生儿时期临床特征为智力运动发育迟滞、小头畸形、肌张力减退、肥厚性心肌病、尿道下裂、高乳酸血症,尿液 3-甲基戊烯二酸增高,很多患者存在表观畸形。严重患者存在胎儿时期异常,宫内发育迟缓、羊水过少、肌张力减退以及心肌增厚^[52-53]。

Spiegel 等^[54]在肌肉组织的异常涡旋状嵴线粒体中发现了 TMEM70 杂合缺陷。胶体金与 X 断层摄影发现 mtDNA 的类核出现分裂,类核和呼吸链酶复合物都与涡旋状嵴外圈粘连。这也许能解释不同组织中复合物 V 缺陷导致的表达和组装异常。TMEM70 在复合物 V 功能中的机制不明确,但是通过胶体金技术发现其突变引起线粒体嵴分裂,从而影响了线粒体类核的完整性,最终影响氧化磷酸化过程^[55]。

3.2.3 ATP5E 基因 ATP5E 基因 (MIM: 606153) 位于 20q13.32,编码 ε 亚基,即 F₁ 中心茎部,起到连接 F₁、F₀ 部分以及旋转的作用^[17],可能参与 c 亚基形成转子结构^[56]。Mayr 等^[56]曾报道一位 22 岁妇女 ATP5E 基因突变 35A>G,复合物 V 缺陷,临床表现为新生儿期以吸吮困难、呼吸障碍发病,后出现轻度智力发育落后、3-甲基戊烯二酸尿症、高乳酸血症、进行性末梢神经病,经治疗后患者好转。

4 治疗及预后

随着对线粒体病研究的深入,复合物 V 缺陷药物治疗方面的研究也有所进展。减少有毒性产物产生、通过旁路传递电子、补充代谢辅酶以及抗氧化是常用治疗手段,常用药为辅酶 Q10、硫辛酸、维生素 B1、维生素 C、维生素 K、左卡尼汀等。Mattiazzi 等^[57]将 N-乙酰半胱氨酸、二氢硫辛酸用于 8993T>G 突变的细胞中,结果细胞呼吸明显增加,说明该类药物具有一定治疗潜力。资料显示增加线粒体底物水平磷酸化,在对 8993T>G 突变细胞培养中加入 α-酮戊二酸盐以及天冬氨酸后,细胞 ATP 水平接近正常且细胞死亡率降低^[58]。

遗传学方面,以基因治疗以及细胞疗法为主,仍在研究阶段。基因治疗方面,有报道通过对 MT-ATP6 基因重排,并使其 mRNA 导向 8993T>G 突变的线粒体表面,最终使复合物 V 活性得以修复^[59]。细胞疗法,即细胞核转移疗法,是将 mtDNA 突变人类女性的卵母细胞或受精卵的细胞核转移入摘除了细胞核的正常卵母细胞或受精卵中,从而避免 mtDNA 的遗传^[60]。随着基因敲除动物模型、细胞模型的建立,基因治疗和细胞疗法有望成为新的有效治疗方法。

[参 考 文 献]

- [1] 孙飞,周强军,孙吉,瞿宇佳,饶子和. 线粒体呼吸链膜蛋白复合体的结构[J]. 生命科学,2008,20(4): 566-578.
- [2] Johnson JA, Ogbi M. Targeting the F₁F₀ ATP synthase: modulation of the body's powerhouse and its implications for human disease[J]. Curr Med Chem, 2011, 18 (30): 4684-4714.
- [3] Gong L, Ramm G, Devenish RJ, Prescott M. HeRed, a genetically encoded fluorescent binary cross-linking agent for cross-linking of mitochondrial ATP synthase in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. PLoS One, 2012, 7 (4): e35095.
- [4] Giraud MF, Paumard P, Sanchez C, Brèthes D, Velours J, Dautant A. Rotor architecture in the yeast and bovine F₁-c-ring complexes of F-ATP synthase [J]. J Struct Biol, 2012, 177 (2): 490-497.
- [5] Wittig I, Schagger H. Structural organization of mitochondrial ATP synthase [J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1777 (7-8): 592-598.
- [6] Karrasch S, Walker JE. Novel features in the structure of bovine ATP synthase [J]. J Mol Biol, 1999, 290 (2): 379-384.
- [7] Walker JE, Lutter R, Dupuis A, Runswick MJ. Identification of the subunits of F₁F₀-ATPase from bovine heart mitochondria [J]. 1991, 30: 5369-5378.
- [8] Gibbons C, Montgomery MG, Leslie AG, Walker JE. The structure of the central stalk in bovine F₁-ATPase at 2.4 Å resolution [J]. 2000, 7(11): 1055-1061.
- [9] Rubinstein JL, Walker JE, Henderson R. Structure of the mitochondrial ATP synthase by electron cryomicroscopy [J]. EMBO J, 2003, 22 (23): 6182-6192.
- [10] Cabezón E, Montgomery MG, Leslie AG, Walker JE. The structure of bovine F₁-ATPase in complex with its regulatory protein IF₁ [J]. Nat Struct Biol, 2003, 10 (9): 744-750.
- [11] Bason JV, Runswick MJ, Fearnley IM, Walker JE. Binding of the inhibitor protein IF(1) to bovine F₁(1)-ATPase [J]. J Mol Biol, 2011, 406(3): 443-453.
- [12] von Ballmoos C, Wiedenmann A. Essentials for ATP synthesis by F₁F₀ ATP synthases [J]. Annu Rev Biochem, 2009, 78: 649-672.
- [13] Collinson IR, Runswick MJ, Buchanan SK, Fearnley IM, Skehel JM, van Raaij MJ, et al. Fo membrane domain of ATP synthase from bovine heart mitochondria: purification, subunit composition, and reconstitution with F₁-ATPase [J]. Biochemistry, 1994, 33 (25): 7971-7978.
- [14] Capaldi RA, Aggeler R. Mechanism of the F(1)F(0)-type ATP synthase, a biological rotary motor [J]. Trends Biochem Sci, 2002, 27 (3): 154-160.
- [15] Tsunoda SP, Aggeler R, Yoshida M, Capaldi RA. Rotation of the c subunit oligomer in fully functional F₁F₀ ATP synthase [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98 (3): 898-902.
- [16] Zheng J, Ramirez VD. Purification and identification of an estrogen binding protein from rat brain: oligomycin sensitivity-confering protein (OSCP), a subunit of mitochondrial F₀F₁-ATP synthase/ATPase [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 1999, 68 (1-2): 65-75.
- [17] Tu Q, Yu L, Zhang P, Zhang M, Zhang H, Jiang J, et al. Cloning, characterization and mapping of the human ATP5E gene, identification of pseudogene ATP5EP1, and definition of the ATP5E motif [J]. Biochem J, 2000, 347(Pt 1): 17-21.
- [18] Nguyen T, Ogbi M, Johnson JA. Delta protein kinase C interacts with the d subunit of the F₁F₀ ATPase in neonatal cardiac myocytes exposed to hypoxia or phorbol ester. Implications for F₁F₀ ATPase regulation [J]. J Biol Chem, 2008, 283 (44): 29831-29840.
- [19] Nguyen TT, Ogbi M, Yu Q, Johnson JA. Attenuation of the hypoxia-induced protein kinase Cdelta interaction with the d' subunit of F₁F₀-ATP synthase in neonatal cardiac myocytes: implications for energy preservation and survival [J]. Biochem J, 2010, 429 (2): 335-345.
- [20] Walker JE, Dickson VK. The peripheral stalk of the mitochondrial ATP synthase [J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1757 (5-6): 286-296.
- [21] Giorgio V, Bisetto E, Soriano ME, Dabbeni-Sala F, Basso E, Petronilli V, et al. Cyclophilin D modulates mitochondrial F₀F₁-ATP synthase by interacting with the lateral stalk of the complex [J]. J Biol Chem, 2009, 284 (49): 33982-33988.
- [22] Meyer B, Wittig I, Trifilieff E, Karas M, Schagger H. Identification of two proteins associated with mammalian ATP synthase [J]. Mol Cell Proteomics, 2007, 6 (10): 1690-1699.
- [23] Belogradov GI. Recent advances in structure-functional studies of mitochondrial factor B [J]. J Bioenerg Biomembr, 2009, 41 (2): 137-143.
- [24] Carbajo RJ, Kellas FA, Runswick MJ, Montgomery M, Walker JE, Neuhaus D. Structure of the F₁-binding domain of the stator of bovine F₁F₀-ATPase and how it binds an alpha-subunit [J]. J Mol Biol, 2005, 351 (4): 824-838.
- [25] Rees DM, Leslie AG, Walker JE. The structure of the membrane extrinsic region of bovine ATP synthase [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106 (51): 21597-21601.
- [26] Campanella M, Casswell E, Chong S, Farah Z, Wieckowski MR, Abramov AY, et al. Regulation of mitochondrial structure and function by the F₁F₀-ATPase inhibitor protein, IF₁ [J]. Cell Metab, 2008, 8(1): 13-25.
- [27] Chinopoulos C. Mitochondrial consumption of cytosolic ATP: not so fast [J]. FEBS Lett, 2011, 585(9): 1255-1259.
- [28] Chinopoulos C, Gerencser AA, Mandi M, Mathe K, Torocsik B, Doczi J, et al. Forward operation of adenine nucleotide translocase during F₀F₁-ATPase reversal: critical role of matrix substrate-level phosphorylation [J]. FASEB J, 2010, 24 (7): 2405-2416.
- [29] Mracek T, Pecina P, Vojtkova A, Kalous M, Sebesta O, Houstek J. Two components in pathogenic mechanism of mitochondrial ATPase deficiency: energy deprivation and ROS production [J]. Exp Gerontol, 2006, 41 (7): 683-687.
- [30] Frenzel M, Rommelspacher H, Sugawa MD, Dencher NA. Ageing alters the supramolecular architecture of OxPhos complexes in rat brain cortex [J]. Exp Gerontol, 2010, 45(7-8): 563-572.
- [31] Rodenburg RJ. Biochemical diagnosis of mitochondrial disorders [J]. J Inher Metab Dis, 2011, 34 (2): 283-292.
- [32] 王朝霞,杨艳玲,张月华,袁云,戚豫,陈清荣. Leigh 综合征的

- 线粒体 DNA 突变分析 [J]. 中华神经科杂志, 2003, 36(1): 28-31.
- [33] 张尧, 孙芳, 孔庆鹏, 魏晓琼, 戚豫, 张英, 等. Leigh 综合征患儿核基因和线粒体基因突变的初步分析 [J]. 临床儿科杂志, 2008, 26(12): 1021-1024.
- [34] 马艳艳, 吴桐菲, 刘玉鹏, 王峤, 宋金菁, 马伟楠, 等. ATP6 基因 8993T>G 突变导致的单纯线粒体 ATP 合成酶缺陷一例 [J]. 中华儿科杂志, 2011, 49(7): 557-558.
- [35] Arthur CR, Morton SL, Dunham LD, Keeney PM, Bennett JP Jr. Parkinson's disease brain mitochondria have impaired respirasome assembly, age-related increases in distribution of oxidative damage to mtDNA and no differences in heteroplasmic mtDNA mutation abundance [J]. *Mol Neurodegener*, 2009, 4: 37.
- [36] Baracca A, Sgarbi G, Mattiazzi M, Casalena G, Pagnotta E, Valentino ML, et al. Biochemical phenotypes associated with the mitochondrial ATP6 gene mutations at nt8993 [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1767(7): 913-919.
- [37] Sperl W, Jesina P, Zeman J, Mayr JA, Demeirleir L, VanCoster R, et al. Deficiency of mitochondrial ATP synthase of nuclear genetic origin [J]. *Neuromuscul Disord*, 2006, 16(12): 821-829.
- [38] 戚豫, 姜玉武, 杨艳玲, 潘虹, 王朝霞, 袁云, 等. 亚急性坏死性脑病的线粒体 DNA8993 位点突变 [J]. 中华医学遗传学杂志, 2000, 17(6): 445-446.
- [39] Sgarbi G, Baracca A, Lenaz G, Valentino LM, Carelli V, Solaini G. 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 [J]. *Biochem J*, 2006, 395(3): 493-500.
- [40] Hung PC, Wang HS. A previously undescribed leukodystrophy in Leigh syndrome associated with T9176C mutation of the mitochondrial ATPase 6 gene [J]. *Dev Med Child Neurol*, 2007, 49(1): 65-67.
- [41] Ware SM, El-Hassan N, Kahler SG, Zhang Q, Ma YW, Miler E, et al. Infantile cardiomyopathy caused by a mutation in the overlapping region of mitochondrial ATPase 6 and 8 genes [J]. *J Med Genet*, 2009, 46(5): 308-314.
- [42] Janssen AJ, Smeitink JA, van den Heuvel LP. Some practical aspects of providing a diagnostic service for respiratory chain defects [J]. *Ann Clin Biochem*, 2003, 40(Pt 1): 3-8.
- [43] Kirby DM, Thorburn DR, Turnbull DM, Taylor RW. Biochemical assays of respiratory chain complex activity [J]. *Methods Cell Biol*, 2007, 80: 93-119.
- [44] Kerrison JB, Biousse V, Newman NJ. Retinopathy of NARP syndrome [J]. *Arch Ophthalmol*, 2000, 118(2): 298-299.
- [45] Tatuch Y, Christodoulou J, Feigenbaum A, Clarke JT, Wherret J, Smith C, et al. Heteroplasmic mtDNA mutation (T-G) at 8993 can cause Leigh disease when the percentage of abnormal mtDNA is high [J]. *Am J Hum Genet*, 1992, 50(4): 852-858.
- [46] Celotto AM, Chiu WK, Van Voorhies W, Palladino MJ. Modes of metabolic compensation during mitochondrial disease using the *Drosophila* model of ATP6 dysfunction [J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e25823.
- [47] Galimberti CA, Diegoli M, Sartori I, Uggetti C, Brega A, Tartara A, et al. Brain pseudoatrophy and mental regression on valproate and a mitochondrial DNA mutation [J]. *Neurology*, 2006, 67(9): 1715-1717.
- [48] Jonckheere AI, Hogeveen M, Nijtmans LG, van den Brand M, Janssen A, Diepstra H, et al. A novel mitochondrial ATP8 gene mutation in a patient with apical hypertrophic cardiomyopathy and neuropathy [J]. *J Med Genet*, 2008, 45(3): 129-133.
- [49] Yu X, Wester-Rosenlof L, Gimsa U, Holzhueter SA, Marques A, Jonas L, et al. The mtDNA nt7778 G/T polymorphism affects autoimmune diseases and reproductive performance in the mouse [J]. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(24): 4689-4698.
- [50] De Meirleir L, Seneca S, Lissens W, De Clercq I, Eyskens F, et al. Respiratory chain complex V deficiency due to a mutation in the assembly gene ATP12 [J]. *J Med Genet*, 2004, 41(2): 120-124.
- [51] Torraco A, Verrigni D, Rizza T, Meschini MC, Vazquez-Memije, Martinelli D, et al. TMEM70: a mutational hot spot in nuclear ATP synthase deficiency with a pivotal role in complex V biogenesis [J]. *Neurogenetics*, 2012, 13(4): 375-386.
- [52] Houstek J, Kmoch S, Zeman J. TMEM70 protein - a novel ancillary factor of mammalian ATP synthase [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1787(5): 529-532.
- [53] Cizkova A, Stranecky V, Mayr JA, Tesarova M, Havlickova V, Paul J, et al. TMEM70 mutations cause isolated ATP synthase deficiency and neonatal mitochondrial encephalocardiomyopathy [J]. *Nat Genet*, 2008, 40(11): 1288-1290.
- [54] Spiegel R, Khayat M, Shalev S A, Horovitz Y, Mandel H, HersHKovitz E, et al. TMEM70 mutations are a common cause of nuclear encoded ATP synthase assembly defect: further delineation of a new syndrome [J]. *J Med Genet*, 2011, 48(3): 177-182.
- [55] Cameron JM, Levandovskiy V, Mackay N, Ackerley C, Chitayat D, Raiman J, et al. Complex V TMEM70 deficiency results in mitochondrial nucleoid disorganization [J]. *Mitochondrion*, 2011, 11(1): 191-199.
- [56] Mayr JA, Havlickova V, Zimmermann F, Magler I, Kaplanova V, Jesina P, et al. Mitochondrial ATP synthase deficiency due to a mutation in the ATP5E gene for the F₁ epsilon subunit [J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(17): 3430-3439.
- [57] Mattiazzi M, Vijayvergiya C, Gajewski CD, DeVivo DC, Lenaz, G, Wiedmann M, et al. The mtDNA T8993G (NARP) mutation results in an impairment of oxidative phosphorylation that can be improved by antioxidants [J]. *Hum Mol Genet*, 2004, 13(8): 869-879.
- [58] Sgarbi G, Casalena GA, Baracca A, Lenaz G, DiMauro S, Solaini G. Human NARP mitochondrial mutation metabolism corrected with alpha-ketoglutarate/aspartate: a potential new therapy [J]. *Arch Neurol*, 2009, 66(8): 951-957.
- [59] Bonnet C, Kaltimbacher V, Ellouze S, Augustin S, Benit P, Forster V, et al. Allotopic mRNA localization to the mitochondrial surface rescues respiratory chain defects in fibroblasts harboring mitochondrial DNA mutations affecting complex I or V subunits [J]. *Rejuvenation Res*, 2007, 10(2): 127-144.
- [60] Craven L, Tuppen HA, Greggains GD, Harbottle SJ, Murphy J L, Cree LM, et al. Pronuclear transfer in human embryos to prevent transmission of mitochondrial DNA disease [J]. *Nature*, 2010, 465(7294): 82-85.

(本文编辑:钟乐)