

미토콘드리아의 tRNA^{Asp} 유전자의 한 돌연변이와 그의 억제 유전자들

강 영 원

서울대학교 자연과학 미생물학과내 분자미생물학 연구센터

1. 서 론

미토콘드리아는 거의 모든 진정핵 세포에 존재하는 세포체(Organelle)의 하나로, 그 주된 역할은 Oxidative phosphorylation을 통한 에너지를 생성해 내는 일이다.

미토콘드리아는 식물의 엽록체와 더불어, 스스로의 생합성에 참여하는 일부 유전자들 독립적으로 가지고 있으며 이들 유전자로부터 유전정보를 해독, 단백질을 합성하기 위한 별도의 단백질 합성 체계를 가지고 있어, 미토콘드리아 유전자의 발현과 한 세포안에서의 핵속의 유전자와 미토콘드리아 유전자와의 상호조절은 현대 분자 세포생물학의 주요 관심사의 하나로 많은 연구가 이루어져 왔다.

미토콘드리아 게놈(genome)은 그 크기가 종에 따라 커다란 차이를 보이나, 한 게놈이 가지고 있는 유전정보는 종에 관계없이 대체로 일정하다. Sanger 그룹에 의해 사람의 미토콘드리아 게놈의 완전한 염기 배열이 밝혀진 이래 현재까지 십 수종의 생물체로부터 미토콘드리아 전체 염기배열이 보고되어 있으며, 효모나 곰팡이류 등의 비교적 큰 크기의 미토콘드리아 게놈은 여러 그룹에 의해 부분적으로 염기배열이 조사되어, 현재 거의 대부분의 염기배열이 알려져 있다. 미토콘드리아 게놈은 공통적으로 ATPase complex 중 2개의 subunit, cytochrome C oxidase의 subunit 3개, 그리고 apocytochrome b 유전자를 가지고 있으며, 이 유전자로부터 단백질을 합성해 내는데 필요한 한벌의 tRNA들과 미토콘드리아 ribosome의 large와 small rRNA 유전자들 지니고 있다(Fig. 1).

미토콘드리아 유전자의 발현과 핵 유전자와의 상호 조절 작용은 주로 사람과 효모를 이용하여 집중적으로 연구되어 왔다. 효모는 고등 진정핵 세포

들과는 달리 생리적으로 facultative anaerobic이므로 미토콘드리아 유전자의 발현이 저해되어도 살 수가 있고, 풍부한 유전학 정보가 축적되어 있으며, 유전학적 조작이 용이한 점 등으로 미토콘드리아 유전학의 모델 생물로 널리 이용되어 왔다.

tRNA는 그 생화학적인 역할이 잘 알려져 있고 구조적으로 안정하며, 이용할 수 있는 분자 생물학적인 자료가 많아, 유전자 발현과 유전자 산물간의 조직적인 상호작용을 연구하는데 적합한 재료이다. 효모의 미토콘드리아에는 24개의 tRNA 유전자가 있어, 단백질 합성에 필요한 tRNA를 자급하고 있으나, 유전자 발현과 processing에 관여하는 모든 정보가, tRNA의 5' 부위를 process하는데 관여하는 효소 중 RNA subunit인 9S RNA를 산출하는 *tsl* 유전자를 제외하고, 핵 유전자에 존재한다. 효모의 대표적인 종인 *Saccharomyces cerevisiae*의 tRNA^{Asp} 유전자에 결함이 생긴 한 돌연변이 균주의 성질을 조사하고, 억제현상(suppression)을 규명하므로써 tRNA의 구조적 특성을 파악하고, 나아가 미토콘드리아 생성에 관여하는 핵 유전자들 찾아보고자 한다.

2. 미토콘드리아 tRNA^{Asp} 돌연변이주(FF 1210-170)의 억제균주

FF1210-170 균주는 미토콘드리아의 tRNA^{Asp} 유전자의 72번 Cystidine 염기가 Thymidine 염기로 치환됨으로써, 정상적인 호흡기능을 할 수 없는 균주로(Miller *et al.*, 1981), 아주 낮은 양의 tRNA^{Asp}를 산출해 내고, 이 tRNA^{Asp}는 aspartate 아미노산을 수용하지 못하는 것으로 보고 되었다(Faye *et al.*, 1976). C⁷²→T⁷²의 염기 치환은 tRNA^{Asp}의 acceptor stem의 최말단 부위의 Watson-Crick 염기결합을 파괴시켜, 정상적인 tRNA^{Asp}의 기능을 상실한 것으

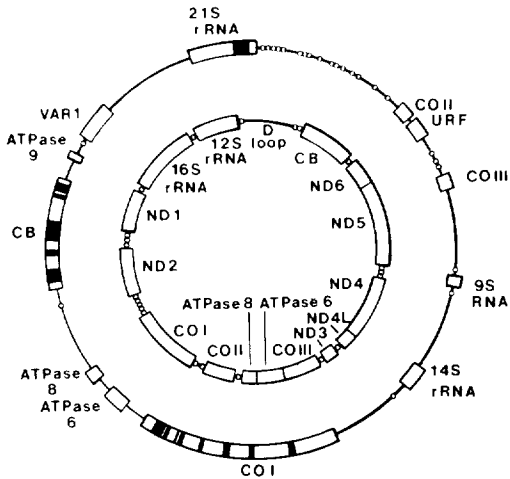


Fig. 1. Organization of the yeast and human mitochondrial genomes. Inner circle represents human mitochondrial genome (16,569 bp) and outer circle represents yeast mitochondrial genome (approximately 85 Kb). Genes and reading frames are depicted by open bars except tRNA genes which are depicted by small circles. Solid bars inside some open bars represent intron sequences. Genes are labeled with their products. ATPase 6, 8 and 9 are the genes for subunits 6, 8 and 9 of the oligomycin sensitive ATPase. CB represents the gene encoding apoprotein of cytochrome b; COI, COII and COIII representing the genes encoding the subunits I, II and III of cytochrome oxidase, respectively. The ND series on human mitochondrial genome are genes encoding the subunits of NADH-CoQ reductase.

Except for the subunits of NADH-CoQ reductase, the yeast mitochondrial genome has all genes in the human mitochondrial genome and has three extra genes; a gene (*var1*) encoding a mitochondrial ribosomal protein, a gene producing a 9S RNA involved in tRNA maturation, and *g* gene for ATPase subunit 9.

로 추측된다. 이 말단 부위는 tRNA의 maturation(3', 5' processing과 -CAA addition)이 일어나는 부위를 쉽게 짐작할 수 있으며, 또한 tRNA synthetase가 tRNA를 인지하는 부위 중 일부가 acceptor stem 입은 이미 알려져 있다. 따라서 이 Watson-Crick 염기 결합 상실이 tRNA^{Asp} 기능을 저하시켜 호흡불능의 상태로 유도하는 근본적인 원인인지, 그리고 tRNA의 acceptor stem 구조와 관계하는 유전자 산물이 무엇인지를 알아보기 위해 FF1210-

170으로부터 억제균주를 만들어내고 각각의 억제균주를 유전학적, 분자생물학적인 측면에서 분석해 보았다.

MnCl₂와 EMS(ethyl methane sulfonate)를 이용하여 억제 균주를 유도해내고 각 억제 균주의 특성을 조사해 보았다. 27주의 표현형 회복 균주가 MnCl₂ 처리조에서, 22주의 표현형 회복 균주가 EMS 처리조에서 각각 얻어졌다. 재차 호흡기능 회복력을 검사한 후 호흡 회복력이 안정되고 비교적 성장이 양호한 38균주에 대한 온도민감성을 조사하였다. 이 중 8균주는 Wild-type(FF1210-6C)와 같은 왕성한 성장을 모든 실험온도에서 보여 제 위치의 염기가 다시 원상태의 염기로 재치환되는 back mutation에 의한 true revertant로 추정되었다. 30°C에서는 비교적 높은 성장을 보이나 37°C에서는 호흡기능이 마비되는 균주들이 suppression에 의하여 호흡기능이 회복된 것으로 가정되었다. 이들 균주로부터 미토콘드리아 DNA(mtDNA)를 추출하여, restriction fragment polymorphism에 의거하여 intragenic, intergenic 또는 true revertant로 분류하고 최종적으로 mtDNA 염기서열을 조사하므로써 확정 동정하였다(Fig. 2, 3). 3 intragenic revertant는 모두 처음의 C⁷²→T⁷²의 치환과 함께 acceptor stem 상대편쪽에서 G¹→A¹으로의 제 2의 치환이 일어나 원래의 G·C Watson-Crick 염기결합이 보다 결합력이 약한 A·U Watson-Crick 염기결합으로 대체되었음을 알 수 있다. 상대적으로 결합력이 낮은 A·U 염기결합으로의 대치는 이들 회복 균주들이 보이는 온도 민감성과 一事性이 있다. 다른 형태의 intragenic suppression은 찾아 볼 수가 없어 acceptor stem의 말단 Watson-Crick 염기결합이 tRNA^{Asp}의 구조와 기능에 중요한 요소임을 알 수가 있다.

온도 민감성을 보이는 균주 중에서 restriction pattern이 원래의 돌연변이주와 같은 4균주는 intergenic suppression으로 추정하고, mtDNA에 의한 suppression인지 nuclear DNA에 의한 suppression 인지를 검증하기 위하여 EtBr로 회복균주의 mtDNA를 완전히 제거한 다음, mutant tRNA^{Asp} 유전자를 가진 균주와 mating을 시켜 suppression 유무를 살펴보았다. 부모代에서는 양쪽이다 mtDNA 결합에 의하여 호흡이 불가능한 상태이므로, nuclear DNA에 억제 유전자가 존재할 경우에만 호흡기능을 회복할 수

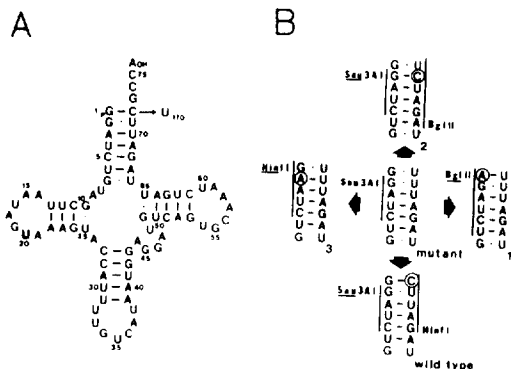


Fig. 2. A; Cloverleaf structure of mitochondrial tRNA^{Asp} showing the single base substitution present in FF1210-6C/170. Bases are numbered using the method of Sprinzl *et al.* (1985). B; Single base substitution which would restore Watson-Crick base pairing in one of two terminal base pairs of the acceptor stem. The substituted base is circled. diagnostic restriction enzyme sites are indicated by vertical bars.

있다. 4군주 모두 mutant tRNA^{Asp} 유전자를 억제시키는 것으로 보아 nuclear DNA에 의한 억제작용으로 결론지었다.

가장 많은 숫자의 회복군주(24군주)는 전혀 예기치 않은 형태로 suppression이 매우 불안정하며 (호흡기능이 없어도 자랄 수 있는 Glucose 배지에서는 24시간 이내에 90% 이상의 개체가 호흡기능을 상실한다.), tRNA^{Asp} 유전자 근처의 restriction pattern이 기대되는 양상과는 다른 모양을 보인다. 이 그룹의 restriction pattern은 mutant의 mtDNA restriction pattern에 tRNA^{Asp} 유전자를 포함하는 mtDNA 일부가 상대적으로 증폭되어 있는 형태로, 전형적인 vegetative petite 군주의 mtDNA(ρ^-)와 정상적인 크기의 mtDNA(ρ^+)가 한 세포내에 공존하는 이른바 heteroplasmic한 군주이다. 호흡기능이 절대적으로 요구되는 Glycerol 배지에 배양할 경우, 2종류의 mtDNA가 segregation 되지않고 호흡기능이 없어도 자랄 수 있는 Glucose 배지에서는 쉽게 segregation이 일어나 호흡기능을 상실하는 것으로 보아 증폭된 mutant tRNA^{Asp} 유전자가 suppression을 유발하는 원인임을 짐작할 수가 있었으며, 실제로 이 군주들에서는 tRNA^{Asp}가 다른 tRNA보다 월등히 많이(약 50~100배) 생산되고 있었다. 이 사실은 FF1210-170의 tRNA^{Asp}는 낮은

정도나마 기능을 가지고 있어, 상대적으로 많은 양의 결합된 tRNA^{Asp}로 비록 미약하나마 Glycerol 배지에서 성장할 수 있을 만큼 호흡기작을 지원할 수가 있다고 보여진다.

결론적으로 한 염기의 치환으로 야기된 tRNA^{Asp} 말단의 Watson-Crick 염기 결합 상실은 tRNA^{Asp}의 기능을 현격히 저하시켜 호흡결합으로 유도시키고, 표현형 측면에서의 호흡기능 회복은 ① 원래의 Watson-Crick 결합의 재현 ② 다른 종류의 Watson-Crick 결합으로의 대체 ③ 양적 증폭으로 저하된 기능의 보전, 그리고 ④ 핵 유전자 변화에 의한 tRNA^{Asp} 기능의 간접적 회복으로 나누어 볼 수 있다.

3. 핵에 존재하는 억제 유전자

억제작용이 핵 속의 유전자에 기인한다고 분류된 4군주 중 성장이 아주 느린 한 군주를 제외하고 나머지 3군주에 대하여 그 유전학적 특성을 조사하고, 그 중 한 군주인 FF1210-170/E22로부터 그 억제 유전자를 클로닝하고 그 작용기작을 조사하였다.

각각의 nuclear revertant를 mtDNA가 없는 6 β 2 군주와 mating한 후 sporulation시켜 자손1대에서 억제현상을 관찰하였다. 자손 1대에서 각각의 nuclear revertant와 행한 실험조에서는 Glycerol 배지에서 자라는 spore의 수와 자라지 못하는 spore의 수가 1:1의 비율로 나누어 지는 점으로 보아 각각의 억제 유전자들이 염색체에 놓여 있음을 보여주었고, intragenic revertant인 R26를 이용한 대조구에서는 기대했던 대로 100% Glycerol 배지에서 자라, mtDNA에 의한 호흡기능의 회복임을 확인시켜 주었다. 3 nuclear revertant 들이 같은 complementation 그룹에 속하는지의 여부를 조사하기 위해 각각의 군주들을 mating type은 다르지만 억제 유전자를 지니고 있으며 또한 mutant tRNA^{Asp} 유전자를 mtDNA에 가지고 있는 군주들을 서로 mating시켜 억제 유전자의 segregation 양상을 살펴보았다. 서로 다른 억제 유전자를 지닌 군주들을 mating시켰을 경우 3:1의 비율로 호흡기능한 spore와 호흡이 결합된 spore로 segregation 되었고, 같은 억제 유전자를 지닌 군주끼리 mating 시켰을 경우 100% 호흡 가능한 spore만 예상하였던 대로 나와,

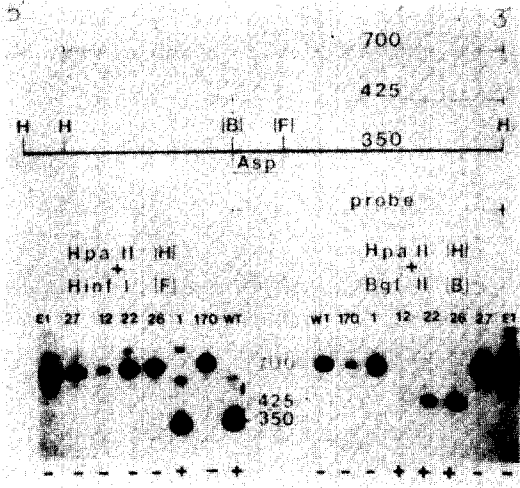


Fig. 3. Identification of restriction fragment polymorphisms in revertants of mutant FF1210-170. Top panel: The 700 bp *Hpa* II fragment carrying the $tRNA^{Asp}$ gene is shown as a heavy line. The location of the $tRNA^{Asp}$ gene is indicated by the box extending below the heavy line. The location of restriction enzyme sites for *Hpa*II, *Bgl*II and *Hin*I are indicated by H, B, and F, respectively. Brackets indicate sites which are present in some revertants but which are absent in the mutant. The distances in base pairs from the downstream *Hpa*II site are indicated above the heavy line. The hybridization probe used in these experiments is the 425 bp fragment indicated below the line. Bottom Panels: Autoradiographs of a Southern transfer of isolated mtDNA following digestion with *Hpa*II and *Hin*I (left panel) or *Hpa*II and *Bgl*II (right panel). Transfers of both digests were hybridized with the nick-translated probe indicated above. Numbers above the lanes indicate lanes containing digests of mtDNA from revertants R1 (same-site revertant), R12, R22, R26 (intragenic revertants), R27 and E1 (nuclear suppressors). WT and 170 indicated digests of mtDNA from wild-type and mutant, respectively. The presence or absence of *Hin*I sites (left panel) or *Bgl*II sites (right panel) is indicated by a + or a - below the lane. The sizes of the fragments in base pairs is shown between the two panels.

이들 3 억제 유전자는 서로 연관되지 않고 독립적인 segregation 되므로 각각 다른 유전자임을 알 수 있었다.

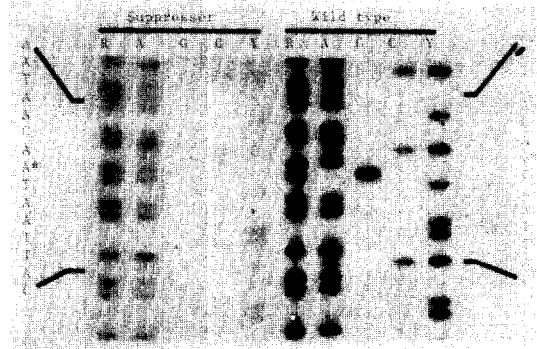


Fig. 4 DNA sequencing gel showing the point mutation in the *NSM3* gene. A 6% polyacrylamide-7 M urea gel showing the comparison of DNA sequences between the suppressor and the wild-type genes. The DNA sequences of *Taq*I-*Hinc*II DNA fragments from both the suppressor and the wild-type genes were determined by the method of Maxam and Gilbert (1980). The G to A transition is marked with an asterisk. R represents G+A; A represents A>C; Y represents C+T, respectively.

일차적으로 FF1210-170/E22로부터 억제유전자 (*NSM3*; Nuclear Suppression of a Mitochondrial mutation)의 억제기작을 조하하기 위하여 이 유전자를 클로닝하였다. E22의 genomic DNA를 *Sau*3 AI으로 부분적으로 자른 다음 shuttle vector인 YE p 13에 삽입시켜 FF1210-170의 미토콘드리아 allele을 가진 호흡불능의 균주에 transformation을 시켜 호흡능력이 회복되는 clone을 선택하였다.

*Hinc*II와 *Bgl*II로 잘리는 약 3.5 kb DNA 절편이 mt $tRNA^{Asp}$ 의 mutation을 억제시키는 부위였다. 이 3.5 kb DNA 절편을 Maxam과 Gilbert의 Chemical modification 법에 의해 염기서열을 조사하였다. 이 3.5 kb 절편에는 658 아미노산으로 구성되어 있는 긴 open reading frame이 존재하고 있었다. 또 이 절편을 probe로 이용하여 RNA transcript를 조사한 결과 이에 상응하는 약 2,000 nucleotide의 transcript가 존재하고 있음을 확인하여 생리적으로 active한 유전자임을 알 수가 있었다. 이 ORF를 Microgenie(Beckmann)의 data base와 비교한 결과 효모와 쥐의 간세포에서 분리한 cytoplasm에 존재하는 aspartyl-tRNA synthetase와 상당한 아미노산 배열의 유사성을 보이는 것으로 보아 aspartyl-tRNA

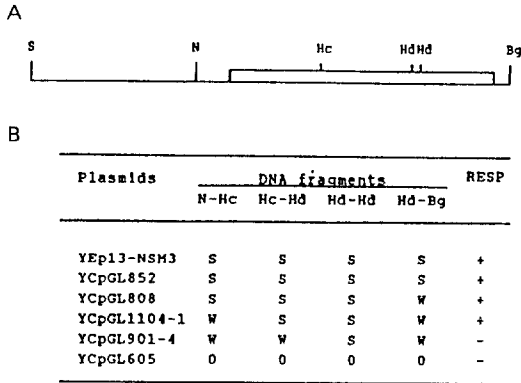


Fig. 5. Determination of the location of the suppressing mutation in *NSM3*. Panel A: A segment of the chromosomal DNA showing the reading frame for mitochondrial aspartyl-tRNA synthetase (open box) and the flanking region. The relative location of restriction enzyme sites (S, *Sall*; N, *NcoI*; Hc, *HincII*; H, *HindIII*; Bg, *BglII*) used in the fragment substitutions is shown above the line. Panel B: Plasmid YEp 13-NSM3 carrying the suppressing version of the gene was used as a positive control. Plasmid YCpGL605 is the vector for the construction of the four YCp plasmids carrying the gene switched between the wild type and suppressing versions. Fragments from the suppressing plasmid are designated S; fragments from the wild type are designated W; and fragments missing from the plasmid are designated 0. A+ in the column on the right (RESP) indicate that the altered plasmid is suppressive and produces respiration in the recipient; (-) indicate that the altered plasmid is not suppressive and does not result in respiring cells. Hc-Hd fragment is the site of mutation of *NAM3* allele.

synthetase임을 시사하고 있다. 최근에 보고된 효모의 미토콘드리아에 있는 aspartyl-tRNA synthetase 유전자(Gambel & Tzagoloff, 1989)와는 거의 동일한 염기 서열을 보여, 이 억제 유전자는 미토콘드리아 aspartyl-tRNA synthetase의 돌연변이에 의한 것임을 알 수 있다.

NAM3 allele의 aspartyl-tRNA synthetase는 synthetase의 기능을 가지면서 mutant tRNA^{Asp}를 인지하여야 하므로, 이 allele은 wild-type과 비교하여 하나 또는 극소수의 염기가 치환되었을 것으로 예상되므로, Szostak 등의 double-strand-break-repair

모델에 기초하여 유전자 재조합 방법으로 돌연변이가 일어난 부위를 예측하고 이 부위의 염기서열을 wild-type과 *NAM3* allele를 상호 비교한 결과 ORF의 AUG codon으로부터 1163번 위치에 있는 Guanosine이 Adenine으로 치환되어, 예상되는 단백질의 Serine(AGU)이 Asparagine(AAU)로 바뀌어 지고 있음을 알 수 있었다(Fig. 4). 이 치환이 억제현상을 일으키는 유일한 원인을 확인하기 위해, 여러 가지 종류의 wild-type과 *NAM3* 유전자로 재조합된 plasmid를 만들어내고, 이들을 각각 FF 1210-170 allele을 억제할 수 있는지의 여부를 조사한 결과 *NAM3* mutation이 들어있는 DNA 절편이 있는 경우에만 호흡능력을 회복시킬 수 있어, 이 단일 염기 치환이 suppression을 일으키는 직접적인 원인으로 결론지었다(Fig. 5).

4. 결론 및 고찰

미토콘드리아 tRNA^{Asp} 유전자의 C⁷²→A⁷²에 의해 야기된 호흡결함은 tRNA^{Asp}의 acceptor stem 말단의 Watson-Crick 염기결함을 잃어버리므로서 일어난 것임이 다른 형태의 Watson-Crick 염기결함으로 대치된 intragenic revertant를 조사해 봄으로써 증명되었다.

Mutant 유전자의 증폭에 의하여서도 부분적으로 호흡이 회복되는 것으로 보아 이 mutant tRNA^{Asp}는 비록 정상적인 양으로는 Glycerol 배지에서 성장에 필요한 만큼 충분한 기능을 가지지는 못할 정도로 미약하나마 그 기능을 완전히 상실한 것은 아님을 알 수 있었다. 이러한 heteroplasm에 의한 mtDNA mutation의 억제는 현재까지 2경우가 *S. cerevisiae* (Dieckermann *et al.*, 1984; Muller *et al.*, 1984)에서 보고된 바 있으나, 그 억제기작은 서로 다르다. 이번의 경우는 단순히 유전자 증폭에 의한 tRNA의 양적 증가가 떨어진 tRNA^{Asp}의 기능 저하를 보상해주는데 반하여 앞서의 2경우는 어떤 signal을 recombination에 의해 재창출해 내므로써 잃어버린 signal을 다른 signal로 대치하는 경우이다. 이와 비슷한 현상이 사람의 근육계통의 환자들에게서 여러 경우가 보고된 바가 있다(D. wallace, 1989). 특히, myoclonic epilepsy(MERRF)와 같은 경우는 mt tRNA^{Lys}의 TψC loop의 한 염기가 치환되어 있으면서

heteroplasm한 상태로 유지되고 있는 점에서(Shoffner *et al.*, 1990) 시사하는 바가 크다고 하겠다. 사람은 효모와는 달리 절대적으로 미토콘드리아의 정상적인 기능이 생존에 필수적이므로 사람의 경우 heteroplasm한 상태는 질병을 유도하고, 효모의 경우 heteroplasm에 의한 revertant들이 아주 완만한 성장을 보이는 것과는 서로 밀접한 관련이 있음을 보이고 있다.

3개의 독립적인 핵에 존재하는 유전자가 이 mutation을 억제시키는 것으로 보아 적어도 3개 이상의 유전자산물(아마도 단백질)들이 tRNA acceptor stem과 직접 간접적으로 작용할 것으로 예상된다. 이 중 하나가 aspartyl-tRNA synthetase이며, 이 효소의 한 아미노산 치환이 변형된 acceptor stem을 인지하고 그 기능을 회복시켜 준다. 이 효소의 아미노산이 치환된 부위가 과연 어떠한 기능을 가지는 것인가는 좀더 많은 연구를 필요로 하며, 아마도 다른 2개의 억제 유전자를 조사하므로써 그 기능을 알 수가 있을 것이다. 또한 이 억제 유전자를 조사하므로써 acceptor stem이 tRNA synthetase를 인지하는 것 이외에도 어떠한 기능을 가지는 것인가를 유추해 볼 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Dujon, B. (1983) Mitochondrial genes, mutants and maps: A review. *in* Mitochondria 1983; Nucleo-mitochondrial interaction. R.T. Schweyen, K. Wolf and F. Kawdevitz (eds.) W. de Gruyter. Berlin.
2. Faye, G., M. Bolotin-Fukuhara and H. Fukuhara (1976) Mitochondrial mutations that affect mitochondrial transfer ribonucleic acid in *S. cerevisiae*. *in* T. Bucher *et al.*, (eds.) Genetics and Biogenesis of chloroplasts and Mitochondria. Elsevier. Amsterdam.
3. Kang, Y. and D.L. Miller (1988) Nuclear and mitochondrial revertants of a yeast mitochondrial tRNA mutant. *Mol. Gen. Genet.* **213**, 425-434.
4. Liaw, G., Y. Kang and D.L. Miller (in Press) A mutation in the nuclear gene for the mitochondrial aspartyl-tRNA synthetase suppresses a mitochondrial tRNA mutation.
5. Miller, D.L., D.R. Najarian, J.R. Folse and N.C. Martin (1981) A mutation in the tRNA^{Asp} gene from yeast mitochondria: Effects on RNA and Protein Synthesis. *J. Biol. Chem.* **256**, 9774-9777.
6. Muller, P.P., M.K. Reif, S. Zonghou, G. Sengstag, T.L. Mason and T.D. Fox (1984) A nuclear mutation that post-transcriptionally blocks accumulation of a yeast mitochondrial gene product can be suppressed by a mitochondrial gene rearrangement. *J. Mol. Biol.* **75**, 431-452.
7. Dieckermann, C.L., T.J. Koerner and A. Tzagoloff (1984) Assembly of the mitochondrial membrane system: *CBPI*, a yeast nuclear gene involved in 5' end processing of cytochrome b pre-mRNA. *J. Biol. Chem.* **259**, 4722-4731.
8. Gampel, A. and A. Tzagoloff (1989) Homology of aspartyl and lysyl-tRNA synthetases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **86**, 6023-6027.
9. Shoffner, J.M., M.T. Lott, A. M. Lezza, P. Seibel, S.W. Ballinger and D.C. Wallace (1990) Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNA^{Lys} mutation. *Cell* **61**, 931-937.
10. Wallace, D.C. (1989) Mitochondrial DNA mutation and Neuromuscular disease. *Trends in Genet.* **5**, 9-13.