

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2011.00322

# 线粒体 T12338C 突变可能是与 Leber 遗传性视神经病变相关的突变位点

冀延春<sup>1,2</sup>, 刘晓玲<sup>2</sup>, 赵福新<sup>2</sup>, 张娟娟<sup>2</sup>, 章豫<sup>1,2</sup>, 周翔天<sup>2</sup>, 瞿佳<sup>2</sup>, 管敏鑫<sup>1,3,4</sup>

1. 温州医学院 Attardi 线粒体生物医学研究院和浙江省医学遗传学重点实验室, 温州 325035;
2. 温州医学院眼视光学院, 温州 325027;
3. Division of Human Genetics, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati OH 45229, USA;
4. Department of Pediatrics, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati OH 45229, USA

**摘要:** Leber 遗传性视神经病变(Leber's hereditary optic neuropathy, LHON) 是一种与线粒体DNA (Mitochondrial DNA, mtDNA) 突变相关的母系遗传性眼病。文章报道了两例具有典型LHON 临床、分子遗传特征的中国汉族家系。首先通过对家系先证者和其他成员进行眼科相关检查, 发现两个家系成员中视力都仅有先证者一人损害严重, 即外显率很低。经常规的方法对母系成员进行mtDNA 测序及相关软件分析, 结果发现携带ND4 G11696A和ND5 T12338C 同质性突变位点, 多态性变异位点均属于东亚单体型F2。线粒体DNA ND4 G11696A 是一个已知的与LHON 相关的突变位点, 而T12338C 位于线粒体氧化磷酸化复合体I 亚基ND5 的第2 个碱基, 该突变使起始密码子由蛋氨酸转变成苏氨酸, 并且紧连tRNA<sup>Leu(CUN)</sup> 的 3'末端。这可能影响tRNA<sup>Leu(CUN)</sup>空间结构和稳定性发生改变, 以及起始密码子改变导致线粒体ND5 蛋白合成功能受损和ATP 障碍, 最终导致需求能量高的视神经受损和视力损害。因此, 线粒体ND4 G11696A和ND5 T12338C 突变可能协同作用Leber遗传性视神经病变的发生, 是与LHON 相关的mtDNA 突变位点, 但外显率很低说明突变本身不足以造成LHON 的表型表达, 提示其他修饰因子(核修饰基因、环境等)可能对这两个家系发病起协同作用。

**关键词:** Leber 遗传性视神经病变; 外显率; 线粒体 DNA; 突变; 视力

## The mitochondrial ND5 T12338C mutation may be associated with Leber's hereditary optic neuropathy in two Chinese families

JI Yan-Chun<sup>1, 2</sup>, LIU Xiao-Ling<sup>2</sup>, ZHAO Fu-Xin<sup>2</sup>, ZHANG Juan-Juan<sup>2</sup>, ZHANG Yu<sup>1, 2</sup>, ZHOU Xiang-Tian<sup>2</sup>, QU Jia<sup>2</sup>, GUAN Min-Xin<sup>1, 3, 4</sup>

1. Giuseppe Attardi Institute of Mitochondrial Biomedicine and Zhejiang Provincial Key Laboratory of Medical Genetics, School of Life Sciences, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China;
2. School of Ophthalmology and Optometry, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325027, China;
3. Division of Human Genetics, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati OH 45229, USA;
4. Department of Pediatrics, University of Cincinnati College of Medicine, Cincinnati OH 45229, USA

收稿日期: 2010-07-19; 修回日期: 2010-11-18

基金项目: 国家杰出青年科学基金及海外、港澳青年学者合作研究基金(编号: 30628013), 浙江省自然科学基金重大项目(编号: Z204492), 浙江省自然科学基金项目(编号: Y2090649), 温州市科技计划项目(编号: Y20090273)和浙江省大学生科技创新活动计划(新苗人才计划)项目(编号: 2010R413035)资助

作者简介: 冀延春, 在读硕士, 专业方向: 分子诊断学。Tel: 15088552981; E-mail: yanchunji@gmail.com

通讯作者: 管敏鑫, 教授, 博士生导师, 研究方向: 人类遗传学。Tel: 0577-86689905; E-mail: gminxin88@gmail.com

出版时间: 2011-2-17

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20110217.1520.004.html>

**Abstract:** Leber's hereditary optic neuropathy (LHON) associated with mitochondrial DNA mutation is a maternally inherited eye disease. We reported here the clinical, genetic and molecular characterization of two Han Chinese families with Leber's hereditary optic neuropathy. Ophthalmologic examinations revealed that the variable severity and age-of-onset in visual impairment among probands and other matrilineal relatives of these families. Strikingly, there were extremely low penetrances of visual impairment in these families. Sequence analysis of complete mitochondrial genomes in these pedigrees identified the homoplasmic *ND4* G11696A and *ND5* T12338C mutation and distinct sets of polymorphism belonging to haplogroups F2. It is well known that mitochondrial DNA *ND4* G11696A is associated with LHON. The *ND5* T12338C mutation resulted in replacement of the first amino acid, translation-initiating methionine with a threonine, and shortening two amino acids of *ND5*. This mutation also locates in two nucleotides adjacent to the 3' end of the tRNA<sup>Leu(CUN)</sup>. Thus, this mutation may alter structural formation and stabilization of functional tRNA, thereby leading to a failure in protein synthesis and mitochondrial dysfunction involved in visual impairment. Therefore, the *ND4* G11696A and *ND5* T12338C mutation is likely associated with LHON in these two Chinese families. But these families exhibited extremely low penetrances of visual impairment. It suggests that other factors, such as nuclear modifier gene(s) or environmental factor(s), may play a role in the phenotypic expression of the LHON-associated *ND4* G11696A and *ND5* T12338C mutation.

**Keywords:** Leber's hereditary optic neuropathy; penetrance; mitochondrial DNA; mutation; visual impairment

Leber 遗传性视神经病变(Leber's hereditary optic neuropathy, LHON) 是一种双眼同时或先后急性或亚急性无痛性视力减退, 同时可伴有中心视野缺失及色觉障碍的母系遗传性疾病<sup>[1,2]</sup>。本病是 1871 年由德国眼科医生 Leber 首先描述其临床特征, 好发于青年男性。自 1988 年 Wallace 等<sup>[3]</sup>发现第一个与 LHON 相关的线粒体 DNA(Mitochondrial DNA, mtDNA) 突变位点 G11778A 后, 认为线粒体 DNA 突变是导致其发病的主要分子基础, 并先后报道已有 50 多个 mtDNA 突变与 LHON 有关<sup>[4]</sup>。其中, 经研究发现 LHON 家系中 50% 以上是由线粒体氧化磷酸化复合体 I 亚基中 *ND1* G3460A、*ND4* G11778A 和 *ND6* T14484C 这 3 个原发突变位点<sup>[5-8]</sup>所致。为了深入探究中国人群 LHON 的分子致病机制和突变频谱, 我们在全中国范围内建立 LHON 家系收集网络, 并进行了系统性的分析研究。除发现上述 3 个原发性突变位点外, 相继发现线粒体 *ND1* T3394C、*ND1* T3866C、tRNA<sup>Met</sup> A4435G、*ND4* G11696A、*ND6* T14502C、tRNA<sup>Glu</sup> A14693G、tRNA<sup>Thr</sup> A15951G 突

变也可能与 LHON 的致病相关<sup>[9-16]</sup>。本研究报道了两例带有典型 LHON 临床特征的汉族家系, 我们对家系先证者及其他成员进行了临床、分子遗传评估并且对线粒体全基因组进行了系统分析, 线粒体基因检测显示这两个家系均不携带 3 个原发突变位点, 而发现线粒体 *ND4* G11696A 和 *ND5* T12338C 突变位点可能协同作用影响线粒体功能, 造成能量需求比较高的视神经发生病变, 这为进一步阐明 LHON 的发病机制提供了理论依据。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

根据温州医学院伦理道德委员会管理规定, 收集来自浙江温州地区的具有典型 LHON 临床特征两个汉族家系编号为 WZ211 和 WZ212 的家系, 如图 1 所示。对先证者及家系其他成员签署知情同意书, 收集相关临床病史资料, 并采集外周静脉血样 3 mL。

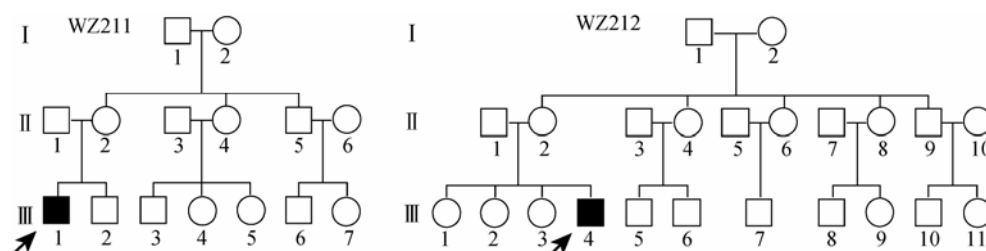


图1 两个 LHON 家系图

同时, 收集 104 例汉族健康受试者外周静脉血样 3 mL 作为正常对照。

## 1.2 方法

### 1.2.1 眼科临床检查

对两个家系的先证者和其他家系成员进行眼科临床检查, 包括标准对数视力表检测视力、俞自萍色觉图检查、视野计检查视野、电生理仪检测视觉诱发电位(VEP)、眼底照相拍片等检查。视力损害程度参照以下标准: 正常  $>0.3$ ; 0.1 轻度 0.3; 0.05 中度 $<0.1$ ; 0.02 重度 0.05; 极重度 $<0.02$ (参考世界卫生组织标准)。

### 1.2.2 基因组 DNA 提取

将两个家系先证者及其他成员和 104 例正常对照者经 EDTA-K2 抗凝的外周静脉血用 DNA 提取试剂盒(QIAGEN) 提取基因组总 DNA,  $-20^{\circ}\text{C}$  保存。

### 1.2.3 PCR 扩增及测序分析

以提取的基因组总 DNA 为模板, 首先对先证者及家系其他成员 3 个原发突变位点 G11778A、G3460A 和 T14484C 所在的片段线粒体 DNA *ND1*、*ND4*、*ND6* 进行引物设计, PCR 目的条带扩增、产物纯化, 然后用自动测序仪进行测序<sup>[8,10]</sup>。

为了进一步确定线粒体基因组的变异位点, 我们利用上述同样的方法并使用 24 对有部分重叠的正反向引物对两个家系线粒体基因组进行全序列 PCR 扩增、纯化、正反向引物测序<sup>[17]</sup>。

测序结果使用 Chromas 2.24、DNASTAR 5.0 和 Clustal X 1.83 等软件对测序结果与剑桥参考序列<sup>[18]</sup>进行比对分析。

同时, 利用同样的方法对 104 例正常对照进行线粒体 DNA 测序、分析。

### 1.2.4 种系发生学分析和单体型分析

根据 GenBank 选取 28 种不同进化物种, 如人 (*Homo sapiens*)、牛 (*Bos taurus*)、小鼠 (*Mus musculus*)、非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*) 等对线粒体序列进行种系发生学分析。

根据东亚线粒体单体型树对测序结果的多态性变异位点进行单体型分型<sup>[19]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 临床分析

WZ211 家系来自温州乐清市, 先证者(III-1)17 岁, 6 岁时无明显诱因出现双眼视力同时下降遂至温州医学院附属眼视光医院就诊。经视力检查右眼 0.06, 左眼 0.05, 矫正均不提高, 双眼色觉正常, 瞳孔对光反射存在; 视野检查发现视盘颞侧色淡偏白, 双眼中心暗点; 眼压检测为右眼: 17.6 mmHg, 左眼: 18.3 mmHg; VEP 检查 P100 峰潜时延长, 振幅下降, 高频明显, 表现为典型的 LHON 临床特征。家系中其他成员视力均无异常。

WZ212 家系来自温州瑞安市, 先证者(IV-4)20 岁, 自幼双眼视力差, 3 年前视力下降到眼视光医院门诊诊断为 LHON, 视力右眼 0.1, 左眼 0.06, 双眼色觉正常。双眼视野向心性缩小, 双眼中心暗点; 眼压右侧为 15 mmHg, 左侧 16.6 mmHg; VEP 检查 P100 峰潜时延长, 振幅下降; 经 CT/MRI 检查未发现其他疾病, 并且患者无其他不良嗜好和外伤史。其他成员视力均正常。

### 2.2 线粒体基因组分析

首先对这两个家系先证者及其他成员在原发性突变位点片段 *ND1*、*ND4*、*ND6* 进行基因检测分析, 结果发现均不存在 *ND4* G11778A、*ND1* G3460A 和 *ND6* T14484C 这 3 个原发性突变位点。为进一步研究该家系的线粒体基因突变对 LHON 的影响, 对家系先证者进行了线粒体全基因组的扩增、测序, 测序结果与剑桥参考序列<sup>[18]</sup>比对。结果显示 3 个先证者的 mtDNA 序列上携带多个线粒体基因突变位点(表 1), 分别位于 D-loop 区 7 个, 12S rRNA 基因区 3 个, 16S rRNA 基因区 2 个, tRNA 基因区 1 个, 编码多肽基因区共 21 个, 包含 10 个错义突变和 11 个同义突变, 其中 10 个错义突变为: *ND1* 基因 G4084A (Val260Leu), *ATP6* 基因 A8860G (Thr112Ala), *CO3* 基因 G9612C (Val136Leu), *ND4* 基因 G11696A (Val313Ile), *ND5* 基因 T12338C (Met1Thr)、G13708A (Ala458Thr)、G13928C (Ser531Thr)、A14002G (Thr556Ala), *Cytb* 基因 C14766T (Thr7Ile)、A15326G (Thr194Ala)。这些变异位点中 *ND4* G11696A 已经证明是与 LHON 的相关的线粒体突变位点<sup>[11]</sup>, 其他变异位点通过对

人、牛、小鼠和非洲爪蟾共 4 种物种经 mtDNA 种系发生学进行分析,发现这些变异位点除 T1005C、G9612C、A10005G、T12338C 突变在进化上保守外,其他位点在物种进化上均不保守,属于多态性变异位点。但是进一步对 28 个物种的 mtDNA 种系发生学进行分析,发现 T12338C 突变位于 *ND5* 基因的第 2 位碱基(图 2),编码 *ND5* 蛋白的起始密码子蛋氨酸,其保守系数为 100%,而其余的变异位点均不保守。并且 Chen 等<sup>[20]</sup>报道 *ND5* T12338C 突变可能与耳聋相关的 12S rRNA A1555G 突变协同作用的重要修饰因子,其他变异位点则均已报道可能与 LHON 发病无关<sup>[4]</sup>。根据东亚线粒体单体型系统进化树<sup>[19]</sup>分析发现,这两个家系的 mtDNA 序列均属于东亚单体型 F2,提示他们可能是来自中国共同的祖先。同时,这两个家系中其他母系成员进行基因检测分析发现也携带 *ND4* G11696A 和 *ND5* T12338C 突变位点,而对 104 例正常对照和家系中非母系成员分析,他们并不携带 G11696A 和 T12338C 突变位点。

表 1 两个先证者线粒体 DNA 全序列突变位点分析

基因	位置	碱基改变	氨基酸改变	保守性 (人/牛/鼠/爪蟾)	修正的剑桥参考 序列 <sup>[18]</sup>	家系		是否 <sup>a</sup> 报道
						WZ211	WZ212	
D-loop	73	A→G			A	G	G	是
	195	T→C			T	C	C	是
	249	Del A			A	Del	Del	是
	263	A→G			A	G	G	是
	309	C→CC			C		CC	是
	310	T→CTC			T	CTC	CTC	是
	16304	T→C			T	C	C	是
12S rRNA	750	A→G		A/A/A/-	A	G	G	是
	1005	T→C		T/T/T/T	T	C	C	是
	1438	A→G		A/A/A/G	A	G	G	是
16S rRNA	1824	T→C		T/A/A/A	T	C	C	是
	2706	A→G		A/G/A/A	A	G	G	是
<i>ND1</i>	3970	C→T			C	T	T	是
	4084	G→A	Val260Leu	V/M/T/M	G	A	A	是
<i>ND2</i>	4769	A→G			A	G	G	是
<i>CO1</i>	6392	T→C			T	C	C	是
	7028	C→T			C	T	T	是
<i>CO2</i>	7828	A→G			A	G	G	是
<i>ATP6</i>	8860	A→G	Thr112Ala	T/A/A/T	A	G	G	是
<i>CO3</i>	9612	G→C	Val136Leu	V/V/V/V	G	C	C	是
Gly	10005	A→G		A/A/A/A	A	G	G	是
<i>ND3</i>	10310	G→A			G	A	A	是
<i>ND4L</i>	10535	T→C			T	C	C	是
	10586	G→A			G	A	A	是
<b><i>ND4</i></b>	<b>11696</b>	<b>G→A</b>	<b>Val313Ile</b>	<b>V/T/T/M</b>	<b>G</b>	<b>A</b>	<b>A</b>	<b>是</b>
	11719	G→A			G	A	A	是
<b><i>ND5</i></b>	<b>12338</b>	<b>T→C</b>	<b>Met1Thr</b>	<b>M/M/M/M</b>	<b>T</b>	<b>C</b>	<b>C</b>	<b>是</b>
	13708	G→A	Ala458Thr	A/L/A/A	G	A	A	是
	13928	G→C	Ser531Thr	S/T/S/T	G	C	C	是
	14002	A→G	Thr556Ala	T/I/I/S	A	G	G	是
	14560	G→A			G	A	A	是
<i>Cytb</i>	14766	C→T	Thr7Ile	T/S/T/S	C	T	T	是
	15326	A→G	Thr194Ala	T/M/I/I	A	G	G	是
	15862	T→C			T	C	C	是

<sup>a</sup>见线粒体基因组数据库网站: <http://www.mitomap.org> 和 <http://www.genpat.uu.se/mtDB/>。

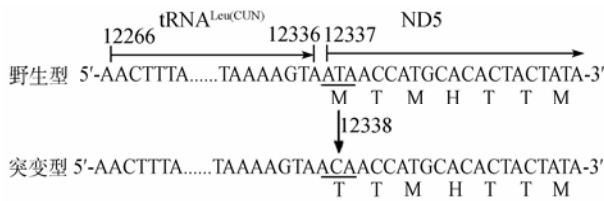


图 2 T12338C 突变的序列结构简图

箭头所指为 T12338C 突变位置。

### 3 讨论

本研究对两例具有典型 LHON 表现但不携带 G11778A、G3460A 和 T14484C 这 3 个原发突变位点的中国汉族人 LHON 家系进行临床评估、遗传和分子生物学特征分析。对先证者及其他母系成员的线粒体全基因组进行突变分析,发现这两个家系母系成员均携带 *ND4* G11696A 和 *ND5* T12338C 同质性突变位点(图 3)。Zhou 等<sup>[11]</sup>已经证明 *ND4* G11696A 突变位点是与 LHON 相关的线粒体突变位点,它位于 *ND4* 亚基上,参与编码一个缬氨酸,位于一个跨膜区, G11696A 突变则使 *ND4* 亚基 313 位非保守的缬氨酸变成异亮氨酸。如图 2 所示, *ND5* T12338C 突变类似于 *ND1* T3308C 突变<sup>[21]</sup>,它位于 *ND5* 基因的第 2 位碱基,该突变使得起始密码子由非极性的蛋氨酸(Met)变为极性中性的苏氨酸(Thr),使得 *ND5* 基因转录起始位点向后移动 2 个氨基酸,即:合成的多肽链比正常少 2 个氨基酸,可能会影响 *ND5* 编码蛋白功能的表达。同时, T12338C 位点紧连 tRNA<sup>Leu(CUN)</sup> 的 3'

末端,此突变可能会影响 tRNA<sup>Leu(CUN)</sup> 前体的合成和加工过程,使 tRNA<sup>Leu(CUN)</sup> 的空间结构和功能稳定性发生改变,从而 tRNA 代谢功能障碍。由此,这两方面可能会导致导致线粒体蛋白合成功能受损,从而造成线粒体代谢功能障碍,使 ATP 产生降低,最终引起对能量需求比较高的视网膜部的视神经发生病变。同时,根据线粒体单体型进化树分析,线粒体 *ND5* T12338C 突变作为 mtDNA 单体型 F2 的一个标记物<sup>[19]</sup>,说明线携带有 T12338C 突变的粒体单体型 F2 可能在 LHON 的表型表达中起作用。而其他变异位点属于多态性位点,可能不影响 LHON 的表型表达。

尽管这两个家系先证者具有典型的 LHON 临床特征即双眼同时或先后急性或亚急性无痛性视力减退,同时可伴有中心视野缺失或缩小,最后为视神经萎缩,但外显率、发病年龄和病情严重程度均存在差异。携带 *ND4* G11696A 和 *ND5* T12338C 同质性突变的这两个家系外显率都很低分别为 9%、7.1%,与已经报道的分别仅携带 G11778A、G3460A、T14484C 这 3 个原发性突变位点的低外显率家系<sup>[22-24]</sup>类似,并且与 G11696A、A14693G、T14502C 和 T3394C 突变的中国汉族人家系外显率相近<sup>[9, 11, 12, 15]</sup>(表 2),而与同时携带原发性 G11778A 突变和继发性 mtDNA 突变(A4435G、G11696A、A15951G)的中国汉族人 LHON 家系的外显率(57.1%、33%、60%)相比较低<sup>[10, 13, 25]</sup>,而远远低于 Zhou 等<sup>[26]</sup>报道的一个仅携带 G11778A 突变的山东

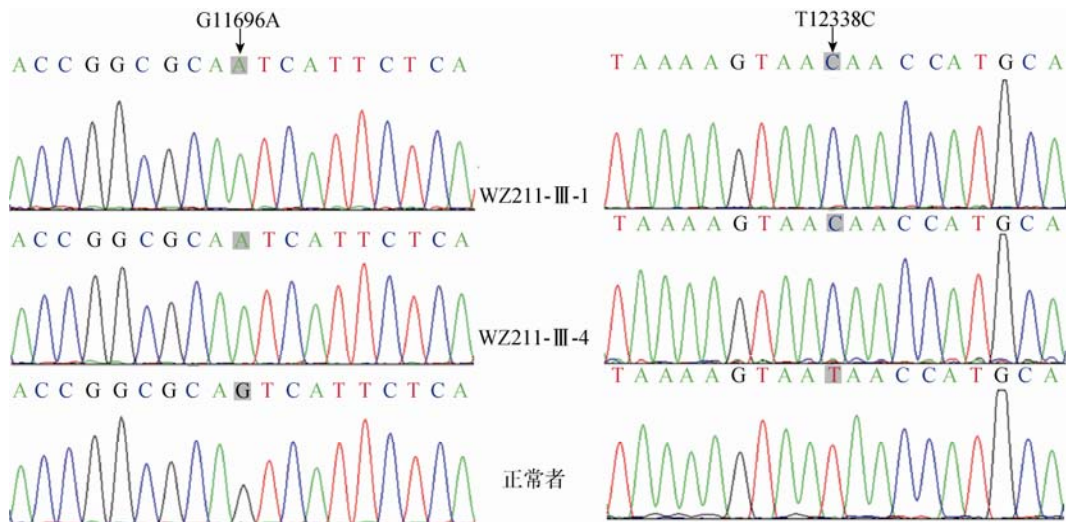


图 3 两个先证者及正常对照者 *ND4* G11696A 和 *ND5* T12338C 基因的部分测序峰图

箭头所指为突变位置。



赵氏大家系的外显率(89.2%)。两个先证者的发病年龄分别为 17、20 岁, 平均为 18.5 岁, 与 Qu 等<sup>[24]</sup>报道的携带 ND6 T14484C 突变和 Zhou 等<sup>[11]</sup>报道的仅携带 ND4 G11696A 突变的 LHON 家系(平均为 18.6 岁、18.4 岁)接近, 也符合 LHON 好发于 20 左右。这两个家系母系成员的视力障碍均为中度, 不同于报道过的其他携带 G11778A、G3460A、T14484C 等<sup>[22-24]</sup>家系的视力损伤程度分别为从轻度到重度不等。说明 G11696A 和 T12338C 同质性突变可能是与 LHON 致病相关的线粒体突变位点。

表 2 与已报道的突变位点的比较

已报道突变位点	平均发病年龄(岁)	男女比例	平均外显率(%)
G11778A <sup>[22]</sup>	17.8	12:2	13
G3460A <sup>[23]</sup>	21.3	5:3	10.2
T14484C <sup>[24]</sup>	18.6	9:1	10.3
T3394C <sup>[9]</sup>	12.5	3:1	7.7
A14693G <sup>[15]</sup>	9	2:3	9.8
T14502C <sup>[12]</sup>	14.3	1:2	11.8
G11696A <sup>[11]</sup>	18.4	1:4	11.5

ND4 G11696A 突变位点是已知的与 LHON 相关的线粒体突变位点<sup>[11]</sup>, 而且 Chen 等<sup>[20]</sup>报道 ND5 T12338C 可能与耳聋相关的 12SrRNA A1555G 突变协同作用的重要修饰作用。ND4 G11696A 和 ND5 T12338C 同质性突变同时存在于不同遗传背景的 LHON 家系中, 携带这两个位点突变的家系中视力障碍、发病年龄、性别等与以前已报道的其他突变位点家系相类似, 这表明 G11696A 和 T12338C 突变可能协同作用 Leber 遗传性视神经病变的发生, 是与 LHON 相关的线粒体突变位点, 是视神经病变发病的分子基础, 但外显率很低说明突变本身不足以造成 LHON 的表型表达, 提示可能存在其他修饰因子(如环境、核修饰基因等)可对这两个 LHON 家系发病起作用。

## 参考文献(References):

- [1] Qu J, Guan MX. Molecular pathogenetic mechanism of Leber's hereditary optic neuropathy. *Chin J Optometry Ophthalmol*, 2006, 8(6): 341-348. [\[DOI\]](#)
- [2] Man PYW, Turnbull DM, Chinnery PF. Leber hereditary optic neuropathy. *J Med Genet*, 2002, 39(3): 162-169. [\[DOI\]](#)
- [3] Wallace DC, Singh G, Lott MT, Hodge JA, Schurr TG, Lezza AM, Elsas LJ, Nikoskelainen EK. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science*, 1988, 242(4884): 1427-1430. [\[DOI\]](#)
- [4] MITOMAP: A Human Mitochondrial Genome Database. <http://www.mitomap.org>, 2009. [\[DOI\]](#)
- [5] Man PYW, Griffiths PG, Brown DT, Howell N, Turnbull DM, Chinnery PF. The epidemiology of Leber hereditary optic neuropathy in the North East of England. *Am J Hum Genet*, 2003, 72(2): 333-339. [\[DOI\]](#)
- [6] Mashima Y, Yamada K, Wakakura M, Kigasawa K, Kudo J, Shimizu N, Oguchi Y. Spectrum of pathogenic mitochondrial DNA mutations and clinical features in Japanese families with Leber's hereditary optic neuropathy. *Curr Eye Res*, 1998, 17(4): 403-408. [\[DOI\]](#)
- [7] Mackey DA, Oostra RJ, Rosenberg T, Nikoskelainen E, Bronte-Stewart J, Poulton J, Harding AE, Govan G, Bolhuis PA, Norby S. Primary pathogenic mtDNA mutations in multigeneration pedigrees with Leber hereditary optic neuropathy. *Am J Hum Genet*, 1996, 59(2): 481-485. [\[DOI\]](#)
- [8] Brown MD, Torroni A, Reckord CL, Wallace DC. Phylogenetic analysis of Leber's hereditary optic neuropathy mitochondrial DNA's indicates multiple independent occurrences of the common mutations. *Hum Mutat*, 1995, 6(4): 311-325. [\[DOI\]](#)
- [9] Liang M, Guan MQ, Zhao FX, Zhou XT, Yuan MX, Tong Y, Yang L, Wei QP, Sun YH, Lu F, Qu J, Guan MX. Leber's hereditary optic neuropathy is associated with mitochondrial ND1 T3394C mutation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 383(3): 286-292. [\[DOI\]](#)
- [10] Qu J, Li RH, Zhou XT, Tong Y, Lu F, Qian YP, Hu YW, Mo JQ, West CE, Guan MX. The novel A4435G mutation in the mitochondrial tRNA<sup>Met</sup> may modulate the phenotypic expression of the LHON-associated ND4 G11778A mutation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(2): 475-483. [\[DOI\]](#)
- [11] Zhou XT, Wei QP, Yang L, Tong Y, Zhao FX, Lu CJ, Qian YP, Sun YG, Lu F, Qu J, Guan MX. Leber's hereditary optic neuropathy is associated with the mitochondrial ND4 G11696A mutation in five Chinese families. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 340(1): 69-75. [\[DOI\]](#)
- [12] Zhao FX, Guan MQ, Zhou XT, Yuan MX, Liang M, Liu Q, Liu Y, Zhang YM, Yang L, Tong Y, Wei QP, Sun YH, Qu J, Guan MX. Leber's hereditary optic neuropathy is associated with mitochondrial ND6 T14502C mutation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 389(3): 466-472. [\[DOI\]](#)
- [13] Li RH, Qu J, Zhou XT, Tong Y, Hu YW, Qian YP, Lu F, Mo JQ, West CE, Guan MX. The mitochondrial tRNA<sup>Thr</sup> A15951G mutation may influence the phenotypic expression of the LHON-associated ND4 G11778A mutation in a Chinese family. *Gene*, 2006, 376(1): 79-86. [\[DOI\]](#)
- [14] 刘燕, 庄淑流, 董绎, 瞿佳, 周翔天, 赵福新, 张娟娟, 张永梅, 章豫, 管敏鑫. 线粒体 ND1 基因 T3866C 突变可能是 Leber's 遗传性视神经病和四肢畸形跛行相关的

- 突变. 遗传, 2010, 32(2): 141–147. [\[DOI\]](#)
- [15] 张永梅, 冀延春, 刘晓玲, 周翔天, 赵福新, 孙艳红, 韦企平, 张娟娟, 刘燕, 瞿佳, 管敏鑫. 线粒体 tRNA<sup>Glu</sup> A14693G 可能是与 Leber 遗传性视神经病变相关的基因突变. 遗传, 2010, 32(4): 353–359. [\[DOI\]](#)
- [16] 赵福新, 周翔天, 瞿佳, 韦企平, 童绎, 杨丽, 吕建新, 管敏鑫. 中国 Leber 遗传性视神经病变 G11696A 突变的两个家系分析. 中华医学遗传学杂志, 2007, 24(5): 556–559. [\[DOI\]](#)
- [17] Rieder MJ, Taylor SL, Tobe VO, Nickerson DA. Automating the identification of DNA variations using quality-based fluorescence re-sequencing: analysis of the human mitochondrial genome. *Nucleic Acids Res*, 1998, 26(4): 967–973. [\[DOI\]](#)
- [18] Andrews RM, Kubacka I, Chinnery PF, Lightowlers RN, Turnbull DM, Howell N. Reanalysis and revision of the Cambridge reference sequence for human mitochondrial DNA. *Nat Genet*, 1999, 23(2): 147. [\[DOI\]](#)
- [19] Kong QP, Bandelt HJ, Sun C, Yao YG, Salas A, Achilli A, Wang CY, Zhong L, Zhu CL, Wu SF, Torroni A, Zhang YP. Updating the East Asian mtDNA phylogeny: a prerequisite for the identification of pathogenic mutations. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(13): 2076–2086. [\[DOI\]](#)
- [20] Chen BB, Sun DM, Yang L, Zhang C, Yang A, Zhu Y, Zhao J, Chen Y, Guan M, Wang X, Li R, Tang X, Wang J, Tao Z, Lu J, Guan MX. Mitochondrial ND5 T12338C, tRNA<sup>Cys</sup> T5802C, and tRNA<sup>Thr</sup> G15927A variants may have a modifying role in the phenotypic manifestation of deafness-associated 12S rRNA 1555A>G mutation in three Han Chinese pedigrees. *Am J Med Genet*, 2008, 146(10): 1248–1258.
- [21] Li XM, Fischel-Ghodsian N, Schwartz F, Yan QF, Friedman RA, Guan MX. Biochemical characterization of the mitochondrial tRNA<sup>Ser(UCN)</sup> T7511C mutation associated with nonsyndromic deafness. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32(3): 867–877. [\[DOI\]](#)
- [22] Qu J, Zhou XT, Zhang JJ, Zhao FX, Sun YH, Tong Y, Wei QP, Cai WS, Yang L, West CE, Guan MX. Extremely low penetrance of Leber's hereditary optic neuropathy in 8 Han Chinese families carrying the ND4 G11778A mutation. *Ophthalmology*, 2009, 116(3): 558–564. [\[DOI\]](#)
- [23] Tong Y, Sun YH, Zhou X, Zhao F, Mao Y, Wei QP, Yang L, Qu J, Guan MX. Very low penetrance of Leber's hereditary optic neuropathy in five Han Chinese families carrying the ND1 G3460A mutation. *Mol Genet Metab*, 2010, 99(4): 417–424. [\[DOI\]](#)
- [24] Qu J, Zhou XT, Zhao FX, Liu XL, Zhang ML, Sun YH, Liang M, Yuan MX, Liu Q, Tong Y, Wei QP, Yang L, Guan MX. Low penetrance of Leber's hereditary optic neuropathy in ten Han Chinese families carrying the ND6 T11484C mutation. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1800(3): 305–312. [\[DOI\]](#)
- [25] Qu J, Li RH, Zhou XT, Tong Y, Yang L, Chen J, Zhao FX, Lu CJ, Qian YP, Lu F, Guan MX. Cosegregation of the ND4 G11696A mutation with the LHON-associated ND4 G11778A mutation in a four generation Chinese family. *Mitochondrion*, 2007, 7(1–2): 140–146. [\[DOI\]](#)
- [26] Zhou XT, Zhang HX, Zhao FX, Ji YC, Tong Y, Zhang JJ, Zhang Y, Yang L, Qian YP, Lu F, Qu J, Guan MX. Very high penetrance and occurrence of Leber's hereditary optic neuropathy in a large Han Chinese pedigree carrying the ND4 G11778A mutation. *Mol Genet Metab*, 2010, 100 (4): 379–384. [\[DOI\]](#)

## • 综合信息 •

### 新款台式基因组测序仪 Ion Torrent 发现

2010 年 3 月 17 日, Life Technologies 公司在北京科技会堂举行 2011 年生命科学新技术报告会并发布了利用半导体芯片实现高通量测序的 Ion Torrent 个人化操作基因组测序仪。

据介绍, Ion Torrent (PGM™) 作为以半导体芯片进行测序的技术平台属于基因组测序领域内的革新性产品。通过专有的大规模并行半导体感应器, 对 DNA 复制时产生的离子流实现直接和实时的检测。当试剂通过集成的流体通路进入芯片中, 密布于芯片上的反应孔立即成为上百万个微反应体系。这种独特的流体体系、微体系机械设计和半导体的技术组合, 使研究人员能够在 2 小时内获取从 10Mb 到 1Gb 以上的高精确度序列(选择与 PGM™ 测序仪匹配的不同款型半导体测序芯片)。Ion Torrent 的优势在于其具有可扩展的操作平台、简捷的操作方式以及高速的测序效率。作为革新性的测序平台, Life Technologies 对其未来的市场前景充满信心, 认为 Ion Torrent 测序仪器的将大幅减低个人测序的成本, 极大推动个性化医疗、法医鉴定、农作物研究、动物健康等多个领域的研究和应用, 对人类生活和公共安全具有着重大的意义。

报告会同时还介绍了 Life Technologies 公司在分子生物体系、细胞体系与基因体系领域中的多项新技术和解决方案。有来自于生命科学与生物技术研究机构、医疗系统、公安系统、食品卫生系统等机构的近 300 多名研究工作人员参加了报告会。