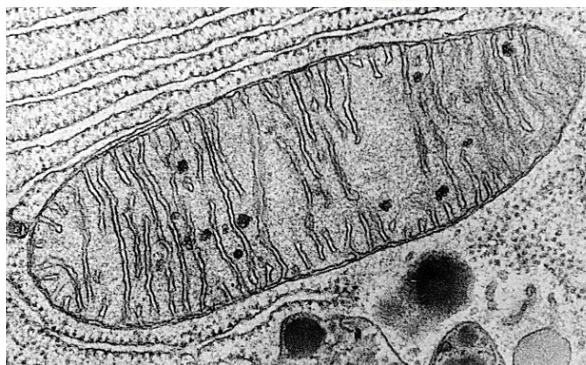
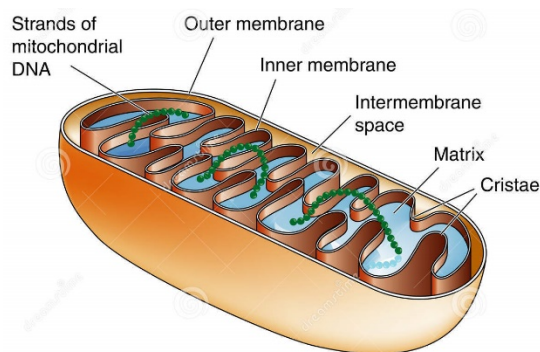


Mitochondriaal DNA

Hoewel het meeste DNA ter hoogte van de chromosomen in de celkern zit, bevatten de mitochondriën ook een kleine hoeveelheid DNA. Dit genetische materiaal is het mitochondriale DNA inhoud. De mitochondriën zijn de celorganellen die de energie in voedingsstoffen omzetten naar een vorm (adenosine trifosfaat (ATP)) van energie die de cel kan gebruiken. Elke cel bevat 100 tot duizenden mitochondria, allemaal gelegen in het cytoplasma van de cel.



Figuur 1: Structuur van een mitochondrion (links: schets; rechts: elektronenmicroscopisch).

De belangrijkste functie van de mitochondria is de celademhaling en de productie van ATP door middel van de oxidatieve fosforylatie (OXFOS). Het mechanisme van de OXFOS bestaat uit vijf transmembranaire complexen. De elektronen, die vrijkomen bij de oxidatie van de vetten en koolhydraten, worden overgedragen naar zuurstof over de eerste 4 complexen van de ademhalingsketen. Hierbij wordt er water gevormd en de nodige energie om protonen over het binnenste membraan van de mitochondrion te pompen vanuit de matrix naar de intermembranaire ruimte. Hierbij wordt er een elektrochemische gradiënt gecreëerd die mogelijk maakt dat het vijfde complex van de ademhalingsketen adenosine difosfaat (ADP) fosforyleert tot adenosine trifosfaat (ATP). Hiernaast controleren de mitochondria ook de calcium-concentraties in het

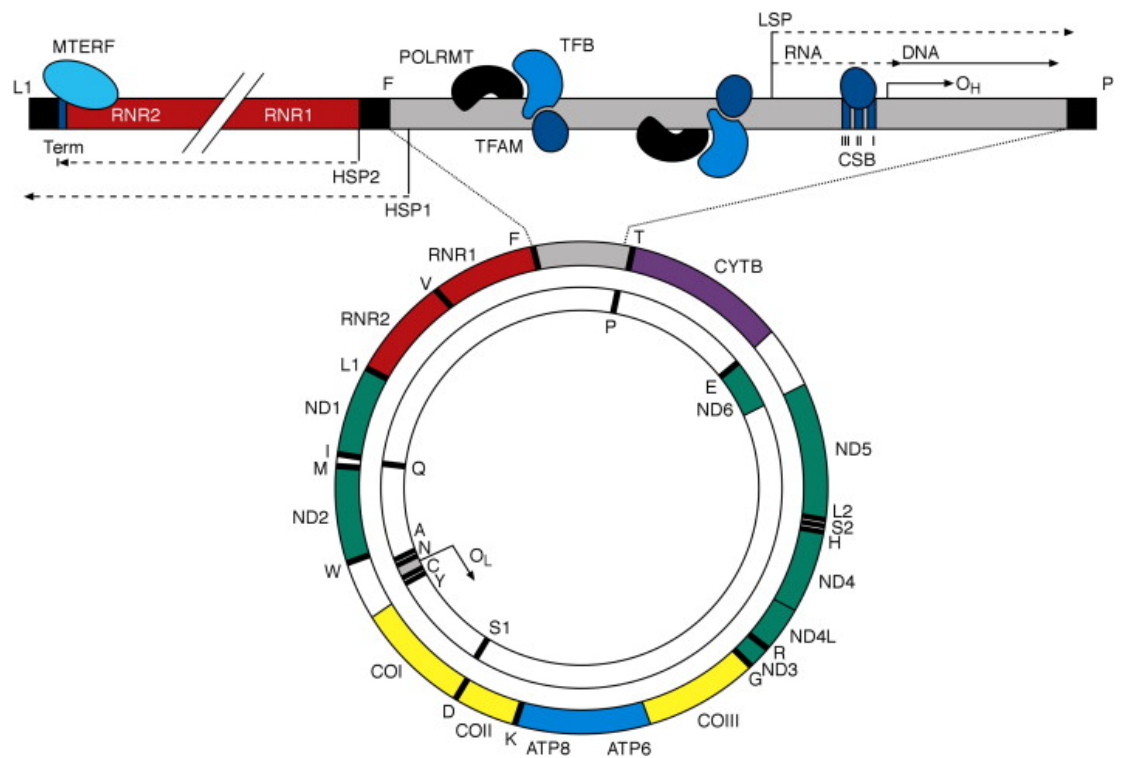


Mitochondriaal DNA

cytosol en regelen ze de geprogrammeerde celdood (ook wel: apoptose). De mitochondriën zijn de belangrijkste bron van reactieve zuurstof species (ROS) in de cel.

Wat is mitochondriaal DNA?

De mitochondriën hebben doorheen de evolutie een groot deel van het genetische materiaal overgebracht naar de celkern. Alles wat er hiervan nog in de mitochondria overblijft is een compacte (16569 basenparen), dubbelstrengig (licht strand rijk aan cytosine en heavy strand rijk aan guanine), circulair genoom (Figuur 2). In één enkele cel zijn er honderden tot duizenden kopijen aanwezig.



Figuur 2: Het humaan mitochondriaal genoom. Schematisch diagram van het 16.6 kb circulair, dubbelstrengig humaan mitochondriaal genoom, met een uitvergroting van de D-loop lineair weergegeven. De buitenste cirkel geeft de heavy strand weer en de binnenste cirkel geeft de light strand weer. Uit: Tuppen HA, Blakely EL, Turnbull DM, Taylor RW: Mitochondrial DNA mutations and human disease. *Biochimica et biophysica acta* 2010, 1797(2):113-128.

Het humaan mitochondriaal genoom (mtDNA) wordt enkel matернаal overgeërfd en bevat 37 genen die coderen voor 13 polypeptiden, die belangrijke onderdelen vormen van de complexen in de ademhalingsketen en het RNA dat nodig is voor de translatie van het mtDNA. Nucleaire genen coderen voor de overige componenten voor de oxidatieve fosforylatie, zowel als de voor de proteïnen die nodig zijn voor het metabolisme en onderhoud van de mitochondriën. In de genen van het mtDNA zijn er



Mitochondriaal DNA

geen intronen en bijna geen niet-coderende nucleotiden tussen de verschillende genen, met uitzondering van de 1.1 kb *displacement* loop (D-loop), die de promotor regio's voor transcriptie bevat en ten minste één van de replicatie oorsprongen.

In tegenstelling tot het nucleaire DNA, beschikt het mitochondriale DNA niet over uitgebreide DNA herstellingsmechanismen. Gezien de mitochondria de belangrijkste producenten van ROS zijn, zullen ze hier veel mee in contact komen. Door het gebrek aan DNA herstellingsmechanismen is het mitochondriaal DNA erg vatbaar voor ROS-geïnduceerde DNA schade. De mitochondria zullen deze schade proberen te compenseren door het aantal kopieën van het mitochondriaal DNA aan te passen, hetgeen zich zal weerspiegelen in een verandering van de mtDNA inhoud. De mitochondriale functie kan enerzijds door kwantificatie van de mtDNA inhoud bepaald worden en is anderzijds ook gelinkt aan verschillende ziektemechanismen ⁽¹⁾.

Bepaling van mtDNA inhoud

De cellen in het weefsel (bijvoorbeeld: witte bloedcellen of placenta-weefsel) waarin we de DNA inhoud willen bepalen worden gelyseerd en het DNA wordt hieruit geïsoleerd. De mitochondriale DNA inhoud werd bepaald door de verhouding van de twee mitochondriale gen copy numbers (MTF3212/R3319 en MT-ND1, primers zoals gerapporteerd in Janssen et al ⁽²⁾) tot één single-copy nucleair controle gen (36B4) te bepalen door middel van quantitative real-time polymerase chain reaction (qPCR). Het geëxtraheerde DNA uit de verschillende stalen werd naar eenzelfde concentratie van verdund voor qPCR. De stalen werden steeds in triplicaat gemeten om technische variatie te controleren. Op iedere qPCR plaat werden er blanco controles en 6 interrun kalibratoren meegenomen. Na de qPCR reactie werden de ruwe data verzameld en verwerkt. De Ct (cycle treshold) waarden voor de twee mitochondriale genen werden genormaliseerd, relatief ten opzichte van het nucleaire controle gen op basis van de qBase software (Biogazelle, Zwijnaarde, België). Deze software is gebaseerd op de klassieke $\Delta\Delta Ct$ methode en brengt het referentiegen en in de interrun kalibratoren in rekening om te corrigeren voor verschillen tussen de verschillende qPCR platen waarover de stalen verdeeld zijn.



Mitochondriaal DNA

1. Taylor RW, Turnbull DM. **Mitochondrial DNA mutations in human disease.** Nat Rev Genet. 2005;6(5):389-402.
2. Janssen BG, Munters E, Pieters N, Smeets K, Cox B, Cuypers A, et al. **Placental mitochondrial DNA content and particulate air pollution during in utero life.** Environ Health Perspect. 2012;120(9):1346-52.