# 미토콘드리아 유전자 A1555G 돌연변이에 의한 가족성 난청 : 한국의 1가계

서울대학교 의과대학 이비인후과학교실,[1] 소아과학교실,[2] 이화대학교 의과대학 이비인후과학교실[3]
오승하[1] · 장선오[1] · 박홍주[1] · 김동영[1] · 전상준[1] · 임문정[1] · 정해일[2] · 박혜원[2] · 변성완[3]

# Familial Hearing Loss Associated with mtDNA A1555G Mutation in Korea : 1 Pedigree

**Seung Ha Oh, MD[1], Sun O Chang, MD[1], Hong Ju Park, MD[1], Dong-Young Kim, MD[1], Sang Jun Jeon, MD[1], Mun Jung Lim[1], Hae Il Cheong, MD[2], Hey Won Park, MD[2] and Sung Wan Byun, MD[3]**

*[1]Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, [2]Pediatrics, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, [3]Department of Otolaryngology, College of Medicine, Iwha Womens University, Seoul, Korea*

**ABSTRACT**

**Background and Objectives** : Familial aminoglycoside-induced deafness has been described in a number of Chinese and Japanese pedigrees. Recently, the familial aminoglycoside-induced ototoxicity is proved to be associated with a mutation in mitochondrial (mt) 12S ribosomal RNA (rRNA) gene at nucleotide position 1555 in some families. In this study, we analyzed mt 12S rRNA gene to find out this particular mutation in Korean pedigrees who had a family history of hearing loss. **Materials and Methods** : Peripherial blood was obtained from 91 individuals of 30 families, and total genomic DNA (gDNA) was extracted. A fragment of DNA including a part of mt 12S rRNA gene was amplified by polymerase chain reaction (PCR). The PCR products were analyzed by restriction digestion with Bsm A1 and DNA sequencing. **Results** : We found one family of mtDNA A1555G. Six family members had mutant genotype and three of them showed severe sensorineural hearing loss or deafness. The mutation was homoplasmic in all affected family members, and the genotype revealed maternal transmission. **Conclusion** : We found the first case of familial hearing loss genetically proved to be associated with the mt 12S rRNA gene mutation, in Korea. Because it is possible that an individual with this mutation shows a progressive sensorineural hearing loss, a screening of mtDNA A1555G mutation for the familial members who have a maternal inheritant hearing loss might be necessary. **(Korean J Otolaryngol 1999;42:1353-8)**

**KEY WORDS** : Mitochondrial gene · Mutation · Aminoglycoside-ototoxicity.

## 서 론

비가역적인 난청은 aminoglycoside 항생제의 중요한 부작용이다. 이러한 aminoglycoside의 이독성은 잘 확립되어 있어 국내에서도 이계통 약제의 사용이 많이 줄기는 했지만 항결핵제 치료의 일부분으로 사용되거나, 감염증의 치료에 항생제 감수성 검사에 따라 불가피하게 투약되는 경우도 많이 있다.

이러한 aminoglycoside의 이독성은 투여량이 지나치면 투약된 모든 사람들에게 영향을 미치지만, 최근 극동지역에서 aminoglycoside의 이독성에 대해 비정상적으로 감수성이 높은 환자군 들이 발견되었다. Higashi 등(1989)이 일본에서 streptomycin 이독성 난청 환자가 있는 28가계를 검사한 결과 2가계에서 난청이 모계를 따라 유전되었으며, 가족력이 있는 이독성 난청 환자의 경우는 단발적으로 발생한 이독성 환자보다 더 짧은 기간에 이독성 난청이 발생하였음을 보고하였다.[1)] 중국에서도 이독성에 대한 감수성이 비정상적으로 높은 환자군 들이 발견되었고, 가계도를 추적한 결과 남녀 발생 빈도는 유사하였으나 모계를 통해서만 유전되는 것으로 확인되었다.[2)] 즉 개개인의 aminoglycoside 이독성에 대한 감수성이 차이가 클 수 있으며, 이러한 감수성이 높은 사람들에게 모계를 통해 전달되는 강한 유전적 소인이 있다는 사실이 시사되었다.[1)2)]

논문접수일 : 1999년 6월 14일 / 심사완료일 : 1999년 10월 22일
교신저자 : 오승하, 110 - 460 서울 종로구 연건동 28번지
서울대학교 의과대학 이비인후과학교실
전화 : (02) 760 - 2442 · 전송 : (02) 745 - 2387
E - mail : shaoh@plaza.snu.ac.kr

인간의 수정란에 있는 미토콘드리아는 전적으로 난자로부터 유래하고[3] 미토콘드리아의 결함이 있는 경우 표현형은 남녀에 같은 비율로 발생한다는 사실로부터, 일본과 중국에서 관찰된 aminoglycoside 이독성에 대한 감수성의 유전적 소인이 변이(mutation)가 있는 미토콘드리아를 통해 전달되는 것이라는 가설이 세워졌으며, 신경 근육계 질환이나 당뇨병과 관련된 감각신경성 난청이 미토콘드리아 유전자(mtDNA) 변이와 관련이 있다는 사실이 보고되어[4-6] 이러한 가설이 더욱 개연성을 가지게 되었다.

Prezant등(1993)은 aminoglycoside 이독성 난청의 유전적 소인이 있는 중국의 2가계와 모계 유전되는 선천성 난청이 있는 아랍-이스라엘계 1가계에서 mtDNA에 대한 염기 서열을 탐색하여, 278명의 정상인에서는 전혀 발견되지 않으면서 3가계에 공통적으로 발견되는 미토콘드리아 12S 리보좀RNA(rRNA) 유전자의 1555번 염기 서열의 A → G 변이를 발견하고 보고하여 이러한 가설을 증명하였다.[7] 그리고, Fischel-Ghodsian 등(1993)도 단발적인(sporadic) aminoglycoside 이독성 난청 환자 36명의 말초 혈액에서 mtDNA를 뽑아 검사한 결과 1명에서 1555번 염기 서열의 A → G 변이를 확인하고 보고하였다.[8]

중국과 일본에서 이같은 변이가 발견된 것은 한국에도 이 같은 변이가 발견될 가능성을 시사하므로 본 연구자들은 한국인 난청 환자의 말초 혈액에서 mtDNA를 추출하여 이 같은 변이의 존재를 확인하고자 하였다.

## 대상 및 방법

난청을 주소로 서울대학교병원 이비인후과 외래를 방문한 환자 중 난청의 가족력을 보이는 30개의 가계 총 91명의 환자 및 가족을 대상으로 혈액을 얻었다. 30가계 중에는 확실히 모계유전을 보이는 가족은 2가계였고 audosomal recessive가 의심되는 경우는 17가계, autosomal dominalt 4가계, X-linked 3가계이었으며 나머지는 확실히 알 수 없었다. 대조군으로 난청을 보이지 않고 가계력이 없는 정상인 70명의 혈액을 동시에 검사 하였다. 모든 환자에 대하여 경구 또는 주사형태의 항생제 투여 여부 및 난청의 발생시기에 대해 조사하였으며, 청력검사를 시행하였다. 한편 일반 혈액검사를 통하여 간기능과 신장기능이 정상임을 확인하였다.

말초 혈액에서 분리된 유핵세포로 부터 genomic DNA(gDNA)를 추출하고자 말초혈액내 유핵세포를 3% Dextran이 들어있는 생리식염수로 분리하였다. 남아 있는 적혈구는 저장(0.2%) 식염수를 이용하여 용혈시켜 제거하고 얻어진 백혈구를 10% SDS(sodium dodecylsulfate)로 처리한 후 phenol/chloroform/isopropanol을 이용하여 gDNA를 추출하였다.[9]

백혈구로부터 추출된 gDNA를 template로 하여 mt 12S rRNA 유전자의 3′쪽 일부와 인접한 $tRNA^{VAL}$ 유전자의 전장 및 16S rRNA 유전자의 5′쪽 일부를 포함하는 약 359 bp fragment의 미토콘드리아 DNA를 PCR법으로 증폭하였다. PCR의 primer는 Forward : 5′-AGA CGT TAG GTC AAG GTG TA-3′, Reverse : 5′-GTT TAG CTC AGA GCG GTC AA-3′(한국생공, 청원)을 주문제작하여 사용하였다. PCR 산물은 우선 *Bsm* A1(Boehringer-Mannheim, Germany) 제한효소로 처리하고 겔 전기영동하여 제한 절편 양상을 확인하였다. 제한 절편 양상이 정상과 다른 PCR 산물은 pT7Blue T-vector(Novagen, USA)로 cloning한 후 DNA sequencing을 하여(ABI automatic sequencer, USA) 12S rRNA 유전자 내 1555번 염기서열에서의 돌연변이를 확인하였다.

## 결 과

전체 30가족 중 모계 유전을 보이는 한 가족에서 1555번째 염기의 A → G 점상 돌연변이를 발견할 수 있었다.

가족의 가계도는 Fig. 1과 같다. 검사가 가능하였던 가계 구성원 중 6명에서 12S rRNA 1555의 돌연변이를 발견할 수 있었다. 이들 6명 모두는 한 여자 환자에서 시작되어 모계유전의 형태를 보이고 있었다. 모든 환자는 과거력상 중이염 등의 염증성 병변의 병력을 부인하였고 고막 소견도 모두 정상이었다. 이들 중 3명은 난청을 호소하였으며 나머지 3명은 난청을 호소하지 않았다. 난청을 호소하지 않은 사람 중 1명(case 4)은 청력검사상 8 kHz에서 역치상승이 있었으나 어음역에서는 정상범위였고 소아 2명(case 5, case 6)은 정상 청력이였다. 난청이 발견된 3명 중 2명(case 1, case 3)은 과거에 항생제 주사를 맞은 적이 있었으나 난청과의 시기적인 연관성은 명확하지 않았고, 1명(case 2)은 항생제의 사용 유무와 관계없이 7년 전부터 난청이 시작되었다고 하였다(Fig. 1). 이들 모두는 난청 이외에 이명이나 어지러움 등의 이학적 증상을 호소하지 않았다.

이들의 제한효소 절단양상은 다음과 같았다. 정상적으로 nucleotide 1319번과 1677번 사이의 359 bp의 PCR 산물 중에는 1개의 *Bsm* A1 작용부위가 있어 236 bp와 123 bp의 두 부분으로 나누어진다. 하지만 1555 A → G 점상 돌연변이가 있으면 *Bsm* A1 작용 부위가 소실되어 359 bp의 한 band만을 보이게 된다(Fig. 2). 모든 돌연변이 환자군에서 이러한 절단 양상은 동일하였으며 전혀 *Bsm*

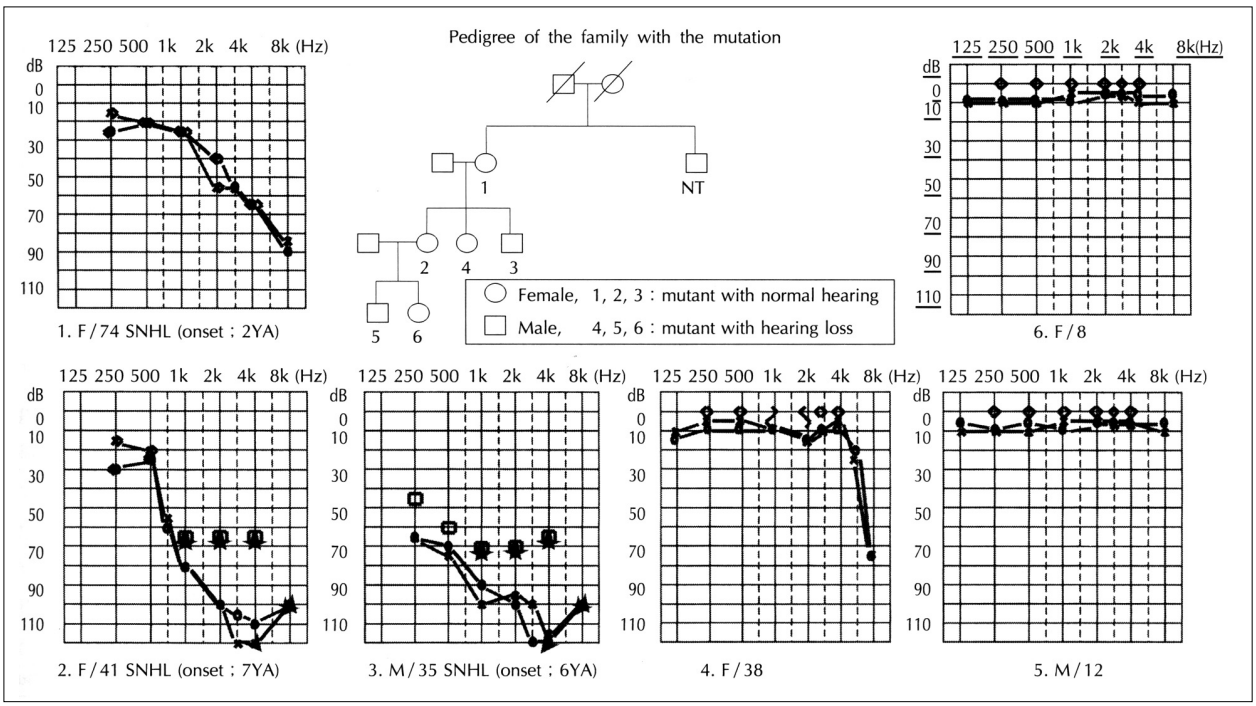


**Fig. 1.** Pedigree and audiograms for six family members with 1555 mutation. Below the pedigree are the number of each familial members who showed mutation. Three members (case 1, 2, and 3) show moderate to severe sensorineural hearing loss while the others (case 4, 5, and 6) show nearly normal hearing. The patient number 2 denied any usage of aminoglycoside. Note that the children show completely normal hearing even though they have a mutant gene. NT ; not tested.

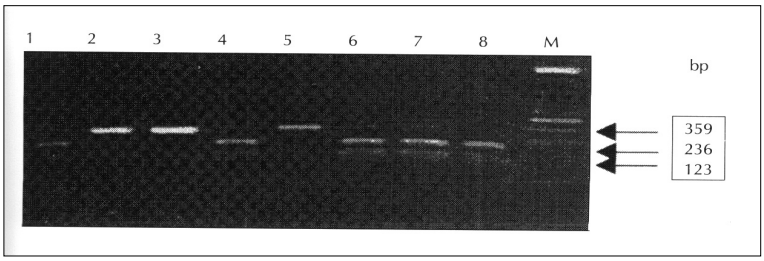


**Fig. 2.** RFLP analysis of the 1555 A G mutation. The 359 bp PCR reaction fragment of wild-type mtDNA (lane 1, 4, 6, 7 and 8) contains one restriction site for the enzyme *Bsm* A1 resulting in two fragments (236, 123 bp). mtDNA with the 1555 A G (lane 2, 3 and 5) contains no restriction site resulting in one fragment (359 bp). M ; molecular marker.

A1으로 절단되지 않아 환자의 말초혈액내 유핵세포의 미토콘드리아는 전부가 돌연변이를 보이는 균일한 양상(homoplasmic pattern)이었음이 확인되었다.

위에 기술한 미토콘드리아의 1555번 염기서열의 돌연변이를 보인 환자들의 PCR 산물을 pT7Blue T-vector로 cloning한 후 DNA sequencing을 통해 nucleotide1555번 염기서열에서 A → G로의 돌연변이를 확인할 수 있었다(Fig. 3). 염기서열 분석의 결과 다른 돌연변이나 polymorphism은 발견되지 않았다. 한편 정상 대조군에서는 모두 1555번 돌연변이가 발견되지 않았다.

## 고 찰

미토콘드리아의 기능과 돌연변이에 의한 유전자 질환 각 세포에는 수백개의 미토콘드리아가 있어 여러 대사 과정에 관여하는 기능을 한다. 이 중 가장 중요한 기능은 산화적 인산화 반응(oxidative phosphorylation)을 통한 ATP의 합성이다. 인간의 세포에 존재하는 수천개의 미토콘드리아에는 16,569-bp의 double-stranded circle로 구성된 mtDNA 염색체가 있어 핵 유전자와 별도로 복제, 전사, 번역이 일어나며 미토콘드리아의 리보좀에서 13개의 단백질로 번역된다. 이 단백질들은 유핵세포 자체의 핵에서 전사된 mRNA로부터 만들어진 60여개의 단백질과 5개의 효소 복합체(enzyme complex)를 형성한다. 이 복합체가 바로 산화적 인산화 반응에 관여하는 효소들이다.[10] 미토콘드리아의 유전자에 돌연변이가 있으면 산화적 인산화 반응에 지장을 초래하며 해당 조직의 기능 이상이 생기게 된다. 한편, 미토콘드리아와 무핵세포(prokaryote) 사이에는 여러가지 유

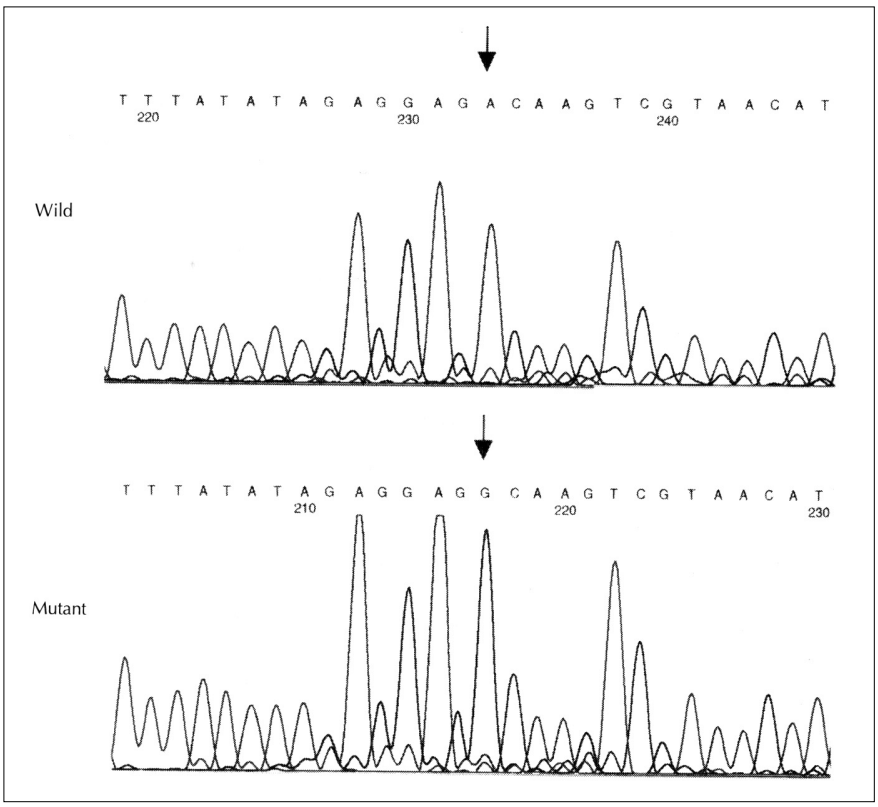


**Fig. 3.** The sequences of wild and mutant gene. Electropherogram from an ABI 377 automatic sequencer are shown. The arrows indicate the location of the base change (1555A→G).

사성이 있어, 미토콘드리아의 기원에 대한 설명으로 진화의 과정 중에서 무핵세포의 조상이 유핵세포(eukaryote)의 조상에 우연히 들어온 후 유핵세포 내의 환경에 잘 적응하여 현재까지 남아있는 것이라는 가설이 이를 연구하는 학자들 사이의 유력한 견해이다.[7)8)]

미토콘드리아 내의 유전자에 돌연변이가 있을 때 반드시 한 세포 내에 모든 미토콘드리아가 동일한 돌연변이를 보이는 것은 아니다. 경우에 따라 정상 유전자 정보를 갖는 미토콘드리아도 상당히 혼합되어 있을 가능성이 있으며 이렇게 서로 다른 유전자 정보를 갖는 미토콘드리아가 한 세포 내에 혼합되어 있을 때 이를 heteroplasmy라 한다. 미토콘드리아 유전자의 돌연변이에 의한 유전성 질환은 정상과 비정상 유전자의 비율에 따라 그 임상상이 결정되며 모계유전을 할 때, 그리고 각 세포가 분열할 때마다 각각 다음세대 세포로 유전된다. 그러므로 모계유전이 되어도 세대간 유전 질환의 임상상이 차이날 수 있으며 한 개체 내에서도 젊은 세포에서는 이상이 없다가 세포의 노화가 진행되면서 돌연변이 미토콘드리아의 수가 증가됨으로써 미토콘드리아의 기능이상을 보이게 되는 임상양상을 보이기도 한다.[11)]

## Aminoglycoside의 작용기전

정상적으로는 codon과 anticodon이 잘못 결합된 aminoacyl-tRNA는 불안정하기 때문에 그대로 유지되지 못한다. 세균에 대한 연구[12)]에서 밝혀진 바로는 aminoglycoside가 리보좀에서 codon과 anticodon이 잘못 결합된 aminoacyl-tRNA를 안정화시키기 때문에 여러가지 단백질이 잘못 번역(translation)되게 만들고 이렇게 잘못 번역된 단백질은 제 기능을 못하기 때문에 세포, 즉 세균의 죽음을 가져오는 것이다.[13)] 따라서 aminoglycoside 이독성의 작용 부위도 진화론적으로 세균의 리보좀과 관련이 있는 미토콘드리아 리보좀일 가능성이 많다. 그러나 왜 와우(이독성)와 신장(신독성) 조직에서만 aminoglycoside에 의해 미토콘드리아 리보좀이 영향을 받고 다른 조직에서는 독성이 문제되지 않는지는 아직 잘 밝혀져 있지 않다.

## 비정상적 감수성과 1555번 염기 서열 변이의 의의

다량의 aminoglycoside에 의해서는 대부분의 정상인들도 이독성을 보인다. 그러나 정상인들에서는 문제가 되지 않는 소량의 aminoglycoside에도 유전적인 감수성 소인을 지닌 사람들에게는 이독성을 유발할 수 있다. Prezant 등[8)]은 이러한 변이가 있는 사람에게 정상인에게는 이독성이 없는 소량의 aminoglycoside가 투여될 때 와우의 유모세포 같은 특정 조직의 미토콘드리아의 단백질 합성 체계에 장애를 일으키고 이에 따라 ATP 합성 및 세포의 기능에

장애가 생겨 난청이 유발되는 것임을 주장하였다.

변이가 문제가 되는 이 1555번을 포함하는 염기 서열은 12S 리보좀 RNA유전자 중에서 진화론적으로 오래된(highly conserved) 염기 서열이고, aminoglycoside가 결합하는 부위의 유전자 정보를 포함한다.[14] 또한 E. coli,[15] yeast[16]의 미토콘드리아에서 streptomycin과 paromomycin에 대한 내성을 일으키는 변이가 발견된 부위이기도 하다. 따라서 염기 서열 1555가 A → G 변이를 일으켜 12S 리보좀 단백질의 입체 구조가 변하면(conformational change), 낮은 농도의 aminoglycoside라도 정상 리보좀에서보다 더 강하거나 비가역적인 결합을 이루어 단백질 합성을 저해하므로 이독성에 대한 높은 감수성을 보이지 않을까 하는 기전을 추측해 볼 수 있다. 하지만 1555 점성 돌연변이가 있는 환자에서 왜 내이 이외의 장기 특히 신장에는 과민성 반응에 의한 신독성이 보고되지 않는지 아직은 설명할 수 없으며 앞으로 더 많은 연구가 필요한 실정이다.

가족성 난청과 단발성 난청

연구자들이 채취한 말초혈액의 미토콘드리아 DNA는 와우의 미토콘드리아가 아니지만 모계 유전되는 가족력이 있는 증례는 모든 조직 세포의 미토콘드리아에 비슷한 변이가 있을 것으로 추정할 수 있다. 따라서 말초혈액의 미토콘드리아 돌연변이로 와우의 미토콘드리아의 돌연변이를 단정하는데 무리가 없다. 특히 본 증례에서와 같이 homoplasmy를 보이는 경우는 체내 모든 세포가 같은 돌연변이를 갖을 것으로 생각된다. 하지만 case 1 환자의 부모가 모두 사망하여 검사할 수 없었고 남자 형제도 혈액 검사를 할 수 없어서 1555 돌연변이를 확인할 수 없었으므로 이 가계의 미토콘드리아 돌연변이가 원래부터 가족성이 아니고 case 1 환자로부터 단발성으로 시작되었을 가능성을 배제할 수는 없다. 가족력이 없이 단발적으로 발생한 이독성 환자의 경우 대부분의 다른 미토콘드리아 관련 질환에서 발견되는 것처럼 특정 조직(이 경우는 와우)의 미토콘드리아에서만 염기서열의 변이가 일어나게 되므로 말초 혈액에서 추출한 DNA에서는 이 같은 변이를 검출하지 못할 것이다.[8] 이러한 제한점은 단발적인 aminoglycoside 이독성 환자의 측두골 부검 검체로부터 DNA를 추출하고 염기 서열을 확인함으로써[17] 극복할 수 있겠지만 환자가 사망한 후에나 가능한 일이므로 근육내 미토콘드리아 질환처럼 조직검사를 통하여 진단하는 것과 같은 편리성은 기대할 수가 없다. 우리나라는 전통적으로 유전질환에 대한 사회적인 거부감 때문에 난청의 가족력을 부인한다든지 혈액 채취를 거부하여 완벽한 가계도를 구하는 데 어려움이 많고, 부검을 꺼려하는 국내의 현실 때문에 사후에라도 측두골 조직을 얻어 조직에 따른 변이의 차이를 증명하기가 쉽지 않다고 생각한다.

연구의 제한점과 의의

1555번 염기 서열의 변이가 있는 환자들에게서 와우에 대한 영향, 즉 이독성 난청 이외에는 다른 조직이나 장기에서의 영향은 아직 보고된 바 없다. 또한 일본(Usami, personal communication)과 스페인[18]에서는 1555번 변이를 가진 환자에 aminoglycoside의 투여 없이도 난청이 점진적으로 발생하는 증례가 발견되어 1555번 변이에 의한 난청이 다요인성(multifactorial)일 가능성을 시사하고 있다. 즉 사회가 복잡해짐에 따라 스트레스 등 다양한 외부요인이 발생하고 이러한 요인은 aminoglycoside와는 다른 기전에 의해 1555번 변이가 있는 세포에 기능 저하를 초래함으로써 난청을 유발할 가능성이 있다고 생각되며 향후 추가로 연구가 이루어 져야 할 것으로 본다.

본 논문의 가계에서 난청을 보인 가족 구성원들의 난청 원인이 aminoglycoside의 감수성 증가이었다는 증거를 제시할 수는 없었다. 현실적으로 난청이 aminoglycoside 이독성에 의한 것임을 후향적으로 밝혀내기는 거의 불가능한데 개원의 외래에서 치료 받은 경우 환자나 보호자가 어떤 종류의 약제가 투여 되었는지, 그것이 aminoglycoside 약제이었는지 알지 못하며, 설령 안다고 하더라도 aminoglycoside 약제 투여전의 청력, 투여 용량, 신장 기능, 혈중 농도, 다른 질환의 영향등에 대해 상세한 기록이 없는 경우가 대부분일 것이기 때문이다.

그러나 본 연구와 같이 전농 환자들 중에서 말초 혈액 검사로써 1555 변이를 발견할 수 있다면 aminoglycoside 이독성에 높은 감수성을 가질 수 있는 가능성이 있다는 연구의 결과를[7] 고려하여 그 모계의 친척 및 그 자손들에는 이 같은 항생제 사용을 피함으로써 난청의 발생을 예방할 수 있다는 의의를 지닌다.[8]

특히 본 가계 구성원 중 case 5와 6의 소아들은 아직 정상 청력을 보이고 있으나 앞으로 aminoglycoside의 투여를 조심하여야 하는 것은 물론이고 다른 사회생활에서 발생하는 요인에 의한 진행성 청력감소가 있을 수 있으므로[18] 이를 환자 가족에게 주지시키고 정기적인 청력 검사가 필요할 것으로 생각된다.

## 결 론

모계유전성 가족력을 보이는 전농환자 중 국내에서는 최

초로 미토콘드리아 12S rRNA 유전자의 돌연변이(1555 A → G)를 보이는 가계를 발견하였다. 이러한 돌연변이를 가진 환자에서 진행성 난청이 발생하게 되는 원인은 복합적인 요소가 관계할 것으로 생각되며 보다 정확한 난청의 기전에 대하여 향후 추가연구가 필요하다.

중심 단어 : 미토콘드리아 · 유전자 · Aminoglycoside · 난청.

이 논문은 1996년 서울대학교병원 임상진료연구비(01 - 96 - 095)의 지원에 의해 이루어졌음.

## REFERENCES


1) Higashi K. *Unique inheritance of streptomycin-induced deafness. Clin Genet 1989;35:433-6.*
2) Hu DN, Qui WQ, Wu BT, Fang LZ, Zhou F, Gu YP, *et al. Genetic aspect of antibiotic induced deafness: Mitochondrial inheritance. J Med Genet 1991;28:79-83.*
3) Case JT, Wallace DC. *Maternal inheritance of mitochondrial DNA polymorphisms in cultured human fibroblasts. Somat Cell Genet 1981;7:103-8.*
4) Shoffner JM, Wallace DC. *Oxidative phosphorylation disease. Disorders of two genomes. Adv hum Genet 1990;19:267-330.*
5) Ballinger SW, Shoffner JM, Hedaya EV, Trounce I, Polak MA, Koontz DA, *et al. Maternally transmitted diabetes and deafness associated with a 10.4 kb mitochondrial DNA deletion. Nature Genet 1992;1:11-5.*
6) van den Ouweland JM, Lemkes HH, Ruitenbeek W, Sandkuijl LA, de Vijlder MF, Struyvenberg PA, *et al. Mutation in mitochondrial tRNA (Leu)(UUR) gene in a large pedigree with maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness. Nature Genet 1992;1:368-71.*
7) Prezant TR, Agapian JV, Bohlman MC, Bu X, Oztas S, Qiu WQ, *et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. Nature Genet 1993;4:289-94.*
8) Fischel-Ghodsian N, Prezant TR, Bu X, Oztas S. *Mitochondrial ribosomal RNA gene mutation in a patient with sporadic aminoglycoside ototoxicity. Am J Otolaryngol 1993;14:399-403.*
9) Shambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Isolation of high-molecular-weight DNA from mammalian cells In: Maniatis T editor. Molecular Cloning. 2nd ed. New York. Cold Spring Harbor Laboratory Press;1989. p.14 9.*
10) Attardi G, Schatz G. *Biogenesis of mitochondria. Ann Rev Cell Biol 1988;4:289-333.*
11) Lodish H, Baltimore D, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P, Darnell J. *Mitochondrial DNA: Structure, expression, and variability. In: Darnell J editor. Molecular cell biology, 3rd ed. New York: Scientific american books, Inc;1995. p.812-8.*
12) Hornig H, Woolley P, Luhrmann R. *Decording at the ribosomal A site: Antibiotics, misreading and energy of aminoacyl-tRNA binding. Biochimie 1987;69:803-13.*
13) Sande MA, Mandell GL. *Antimicrobial agents, In: Gilman AG, Rall TW, Nies AS, Taylor P editors. Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 8th edition. Pergamon. Elmsford, NY;1990. p.1098-116.*
14) Moazed D, Noller HF. *Interaction of antibiotics with functional sites in 16S ribosomal RNA. Nature 1987;327:389-94.*
15) Gravel M, Melancon P, Brakier-Gingras L. *Cross-linking of streptomycin to the 16S ribosomal RNA of Escherichia coli. Biochemistry 1987;26:6227-32.*
16) Li M, Tzagoloff A, Underbrink-Lyon K, Martin NC. *Identification of the paromomycin-resistance mutation in the 15S rRNA gene of yeast mitochondria. J Biol Chem 1982;257:5921-8.*
17) Wackym PA, Simpson TA, Gantz BJ, Smith RJ. *Polymerase chain reaction amplification of DNA from archival celloidin-embedded human temporal bone sections. Laryngoscope 1993;103:583-8.*
18) el-Schahawi M, Lopez de Munain A, Sarrazin AM, Shanske AL, Basirico M, Shanske S, *et al. Two large Spanish pedigrees with nonsyndromic sensorineural deafness and the mtDNA mutation at nt 1555 in the 12s rRNA gene: Evidence of heteroplasmy. Neurology 1997;48:453-6.*