

はじめに

加齢による身体活動能力の低下は、間違いなく全てのヒトに生じる現象であるが、その進行状況、深刻さには個人差が大きい。もちろん、その原因には長きにわたる生活習慣の相違やそれに由来する生活習慣病の有無、さらに居住環境などが関与すると考えられるが、そのほかに、遺伝的要因も考慮されるべきであろう。事実、近年、肥満や各種成人病など、加齢に伴い生じやすくなる症状との関連が強い遺伝子が次々と発見されている。さらに、疾患だけでなく、筋力トレーニング効果とも関連のあるといわれる遺伝子もみつけた (Montgomery, et al., 1998)。したがって、加齢による身体活動能力の低下をもたらす原因の一つとして、上述した獲得形質に由来する要因だけでなく、遺伝的に決定づけられている要因が関与している可能性は否定できない。

身体活動だけでなく、生体すべての活動の原動力となっているのは ATP である。したがって、様々な活動の能力は、ATP 供給能力に大きく依存する。ATP 供給に直接関わる細胞内小器官であるミトコンドリアは、持久的な運動種目の競技者と一般人の骨格筋について比較すると、競技者の方が有意に多い (Gollnick, et al., 1972)。また、ミトコンドリアによる ATP 供給がスムーズに行われない、いわゆるミトコンドリア関連疾患の患者においては、常に一定レベル以上の ATP 供給が不可欠な、脳、神経系により深刻な影響が現れる (Goto, et al., 1990)。したがって、加齢に伴う運動機能の低下にも ATP 供給能力の個

人差が関わっている可能性がある。

ミトコンドリアとミトコンドリア DNA

ミトコンドリアは、主に酸化による ATP 再合成を行う細胞小器官で、二重膜をもつ構造をしており、内、外膜および膜内腔に約 300 種のタンパク質をもつ。そのうち 100 あまりのタンパク質が ATP 合成のための電子の伝達に関与しており、電子伝達系と呼ばれる。電子伝達系は核 DNA のみによってコードされるのではなく、個々のミトコンドリアに存在しているミトコンドリア DNA (以下 mtDNA) によっても一部コードされている。

ヒトの mtDNA は、16,569 塩基対の環状の二重らせんであり (Anderson, et al., 1981)、母系遺伝する。ミトコンドリア DNA は、個々のミトコンドリアのマトリックス部分にそれぞれ 5~10 個ほど存在しているといわれているが、総 DNA との数の比率は、組織によって大きく異なり、骨格筋は脳の約 5 倍、心筋は骨格筋の約 3 倍という報告もある (Van den Bogert, et al., 1993)。ヒトを含む動物細胞の mtDNA には、核 DNA とは異なり、イントロンは認められない。電子伝達系は、複合体 I (NADH-CoQ 還元酵素)、複合体 II (コハク酸 CoQ 還元酵素)、複合体 III (CoQ-シトクロム c 還元酵素)、複合体 IV (シトクロム酸化酵素) と複合体を構成しない CoQ とシトクロム c にその機能から大きく分類される。電子伝達系には分類されないが、 F_0F_1 -ATP 合成酵素は、複合体 V と呼ばれている。このうち、mtDNA にコードされているのは、複合体 I、III、IV、V のサブユニットの一部で、サブユ

ニットとしては 13 個分である。複合体 II は全て核 DNA によってコードされる。その他、大小のリボソーム RNA、22 個の tRNA も mtDNA にコードされている。mtDNA にコードされているこれらのサブユニットは、mtDNA のリボソーム RNA と tRNA を用いて翻訳される。したがって mtDNA がコードする電子伝達系のサブユニットは、一度もミトコンドリア外に出ることなくミトコンドリア内で最初から合成される。

ところで、mtDNA はミトコンドリアの内膜近傍のマトリックス内に存在するため、電子伝達系からの代謝産物として漏出する活性酸素ラジカルに常にさらされている。その上、mtDNA は核 DNA のヒストンに相当する保護タンパク質が存在しないため、傷害を受けやすい。このような特性から、mtDNA は点突然変異を起こしやすいことが明らかにされている。mtDNA のなかでも、全てのミトコンドリアタンパクの合成に重要な役割を果たす tRNA をコードする部位に点突然変異を生じた場合には特に正常な酵素が生産されないため、十分な ATP が合成されず、さまざまな機能が低下する場合がある(Goto, et al., 1990)。しかしながら、mtDNA の点突然変異が生じた部位が、電子伝達系の機能に支障を来すことなく、かつその変異が生殖系列細胞において生じた場合には、母親から子へとその変異は受けつがれ、子孫においては全ての mtDNA がホモプラズミックにその変異をもつことになる。したがって、個体内の mtDNA の均一性は維持されつつも、個体間には様々な多型が蓄積される。これらの個体間の mtDNA の多様性は、実際、世界各地域の人種・民族の由来の分類にも利用されている(Wallace, 1995)。例えば日本人においても現在数十種

類の mtDNA の型が知られている(宝来, 1997)。これらの点突然変異は、ミトコンドリアの機能に深刻な影響を及ぼさないために、その個体が子孫を残すことができたが故に受け継がれてきているのではあるが、必ずしも変異が全く影響を及ぼしてはいないとは限らない。生体の生存にかかわるほど深刻ではないが、ごくわずかに平均と比較して機能が劣る場合や、逆に機能が高い場合も考えられる。つまり、ATP 供給能力には当然個人差があるが、この個人差は、純粋にランダムに生じているものではなく、mtDNA の変異により生じる機能の差が紛れ込んでい可能性がある。

ところで、mtDNA の変異と運動能力に関しては、制限酵素による切断パターンの相違と $\dot{V}O_{2max}$ との関連を検討した例があり、「トレーニングを積んでいない一般健常者」において、比較的 $\dot{V}O_{2max}$ が高い者に特徴的にみられる変異が数種類知られている(Bouchard, et al., 1992)。さらに、有酸素性のトレーニング効果に対しても同様の検討を加えたところ、やはり特徴的な変異がみられることが明らかになっている(Bouchard, et al., 1992)。しかしながら、同様の変異の出現率を一般人と持続的種目競技者とで比較すると、有意な差はみられなかった(Rivera, et al., 1998)ことから、これらの変異が全身の有酸素性作業能力に及ぼす影響については、まだ疑問が残る。これは、前述の通り、制限酵素による切断パターンによる比較という方法を用いているため、変異の検索部位が全 mtDNA のおよそ 0.1%程度にすぎないこともあるがこれらの研究の限界は、変異の有無と全身での運動能力との直接の関連について検討したに過ぎず、変異により本当にミトコンドリア自体の機能が影響をうけたかどうかについて、全く検討してい

ないという点にある。もし、変異が全身の有酸素性作業能力に影響するとすれば、変異→ミトコンドリア機能の差→全身の有酸素性作業能力への影響 という3ステップで示されるべきである。しかし現時点では、ミトコンドリア機能→全身の有酸素性作業能力への影響という点については、「ミトコンドリア密度」「ミトコンドリア数」が多いことによる機能の高さが、有酸素性作業能力と関連があるという点については数多くの研究があるものの(Gollnick, et al., 1972)、変異と機能に関しては、いわゆるミトコンドリア関連疾患の患者にみられる変異と、その機能との関連を示した先行研究はあるが、一般健常人にごく普通にみられる変異と、ミトコンドリアとの機能について検討した例はみられない。したがって、これら一般人に存在している mtDNA の多型が、個々のミトコンドリアの機能に関連があるとすれば、加齢に伴い低下する運動機能が、各個人で大きく異なる原因の一つとなっている可能性もある。そこで本研究では、①一般高齢者と高齢競技者との間、および② mtDNA の変異の有る者とない者についてミトコンドリアの機能を比較することにより加齢に伴う運動機能低下に対して mtDNA の多型が影響を及ぼすかどうかを明らかにすることを目的とした。

方法

被検者

被検者は、高齢競技者および茨城県大洋村に在住する一般健常高齢者とした(表1)。競技者については各被検者とも、競技大会のある種目については、全国大会上位入賞以上のレベルである。

表1 被検者プロフィール

分類	名前	年齢	性別	平均	± SD
一般高齢者	A	79	F	78.67	± 2.52
	F	81	F		
	B	76	F		
高齢競技者	G	86	M	85.50	± 0.58
	C	86	M		
	D	85	M		
	E	85	M		

細胞

ミトコンドリアの機能を比較する最も簡単な方法は、血液などの組織からミトコンドリアのみを含む画分を遠心分離でとりわけ、その酵素活性などを測定する、というものである。本研究では、mtDNA の点突然変異とミトコンドリア機能との関連を明らかにする事を目的としているが、前述の通り、電子伝達系は13個のサブユニットをのぞいて、mtDNA ではなく核 DNA によってコードされているため、この方法で得られる機能の測定では、核 DNA の影響を受けることを免れない。そこで、本研究では、「 ρ^0 -HeLa 細胞」を用いて培養細胞に被検者の mtDNA を導入し、その機能を比較することとした。 ρ^0 -HeLa 細胞は HeLa 細胞をエチジウムブロマイドで処理することにより mtDNA を完全に除去したものである(Hayashi, et al., 1991)。ミトコンドリア自体は残存しているが、mtDNA が全く存在しないため、この細胞では電子伝達系が機能せず、生存のエネルギーは全て解糖による ATP 合成に依存している。この細胞に、被検者由来の血小板を融合させ、数世代継代培養する。血小板には核が存在しないので、細胞質融合 (cytoplasmic hybrid すなわち cybrid) を行うのと同じことになる。もともと mtDNA をもたなかった ρ^0 -HeLa 細胞に、被検者の血小板のミトコンドリアが導入される結果、融

合細胞のミトコンドリアには被検者の mtDNA が導入されることになる。融合細胞の核 DNA は、すべて HeLa 細胞のものであるので、融合細胞のミトコンドリアの酵素は、mtDNA コードのサブユニットについては、被検者の mtDNA の多様性による影響を受け、核 DNA によってコードされる領域については、HeLa 細胞の核 DNA によってコードされることとなり、「mtDNA の影響」を検討するモデルとして、被検者間の比較が可能となる。血小板の採取と ρ^0 -HeLa 細胞との融合

各被検者から同意を得た後、肘静脈より 2ml 採血した。凝固防止のために、EDTA-2Na を加え、採取した血液は融合までの間 4℃にて保存した。採取した血液にリン酸緩衝食塩水を 5ml 加え、1260 rpm で 15 分間遠心分離を行った。遠心分離後、血小板の含まれる上清のみを取り他のチューブに移した。この上清に、トリブシン処理によりカルチャーディッシュから剥離した ρ^0 -HeLa 細胞を、 ρ^0 -HeLa 細胞：血小板=1：10 になるよう加え、2800 rpm で 3 分間遠心分離した。その後、上清を取り除き、血小板と ρ^0 -HeLa 細胞を融合させるため、ペレットにポリエチレングリコールを 2 滴加えた。ポリエチレングリコールを加えて 15 秒後、チューブの底をたたき、血小板と ρ^0 -HeLa 細胞を融合させた。その 15 秒後に培地を 5 ml 加え、ポリエチレングリコールの活性を止めた。この細胞浮遊液を 2800 rpm で 3 分間遠心分離を行った。遠心後のペレットを培地で攪拌し、10 ml の培地が入ったディッシュに加えた。2 日間 37℃、CO₂ 濃度 5.0% で培養した。2 日後からは、解糖系による ATP 合成に不可欠な要素を欠くために、融合細胞のみが生育でき、融合されな

かった ρ^0 -HeLa 細胞が生育できない選択培地 (DM170：極東社製、炭酸水素ナトリウム、牛血清、ナイスタチン、ゲンタシンを加えたもの) にて培養を行い、融合細胞のみを生育させた。その後、ディッシュ上に形成されたコロニーをシリンダー法にてクローニングした。通常用いた培地は、RPMI 160 培地 (白水製薬社製) にピルビン酸、牛胎児血清、グルタミン酸、炭酸水素ナトリウム、ウリジン、ナイスタチン、ゲンタシンを加えたものである。

DNA 抽出

血液より

融合に必要な血小板を除いた血球部分より、総 DNA を WB キット (和光純薬) を用いて抽出した。

融合細胞より

トリブシン処理を行った細胞から、フェノール処理により総 DNA を抽出した。

融合細胞への mtDNA 導入の確認

融合細胞より抽出した総 DNA を、mtDNA の 3243 番目の塩基対をはさむ領域を PCR により増幅し、mtDNA の導入の有無を確認した。

制限酵素処理

血液より得られた総 DNA を用い、先行研究において「有酸素性作業能力の比較的高い被検者に特徴的にみられた変異」(Bouchard, et al., 1992) (Rivera, et al., 1998) (表 2) を検索した。検索部位を挟む部分を PCR にて増幅したのち、それぞれ必要な制限酵素で切断し、その産物をアガロースゲル上で電気泳動したものをエチジウムブロマイドを用いて可視化し、切断の有無を検討した。

表2 制限酵素の種類とPCR産物の大きさ

切断部位	制限酵素	コードする部位	PCR産物の大きさ	切断されるPCR産物の大きさ
13364	<i>NciI</i>	NADH ⁺ ヒド'ク'ナ-ヒ'5	533	364+169
13470	<i>BamHI</i>	NADH ⁺ ヒド'ク'ナ-ヒ'5	533	294+259
12406	<i>HincII</i>	NADH ⁺ ヒド'ク'ナ-ヒ'5	702	484+218

酸素消費量測定

培養後、融合細胞 1×10^7 個あたりの酸素消費量を測定した。測定には生物用酸素モニターを用いた (YSI 社製、Model 5300) (Ito, et al., 1999)。トリプシン処理によりカルチャーディッシュに接着している細胞をはがし、血球計算板で 1×10^7 個の細胞をリン酸緩衝食塩水 100 μ l で懸濁し、あらかじめリン酸緩衝食塩水を 1 ml 入れ、37°C に維持された生物用酸素モニターのチャンバー内に移し、その酸素飽和度の低下から求めた酸素量の減少を $\text{nmolO}_2/\text{min}/10^7\text{cells}$ で算出した。

酵素活性

mtDNA のコードしているサブユニットを含む、複合体 I+III の活性を測定した。いずれも、ジギトニン処理によりミトコンドリア画分を集めたものに対し、37°C 中のシトクローム C を含むバッファーにおける、550nm の吸光度の変化、およびブラッドフォード法により計量したタンパク量より算出したものである (Miyabayashi, et al., 1984)。なお、結果は HeLa 細胞を基準とし、それに対する相対値で算出した。

統計処理

得られた結果はすべて平均値 \pm 標準偏差で表した。被検者の人数を考慮し、統計処置は行わなかった。

結果

すべての分析には、mtDNA の導入が確認された融合細胞のみを用いた。高齢競技者と一般高齢者由来の融合細胞の酸素消費は、図 1 で示す通り、両群間に顕著な差はみられなかった。また、複合体 I+III の活性にも、一般高齢者と高齢競技者との間に顕著な差はみられなかった (図 2)。

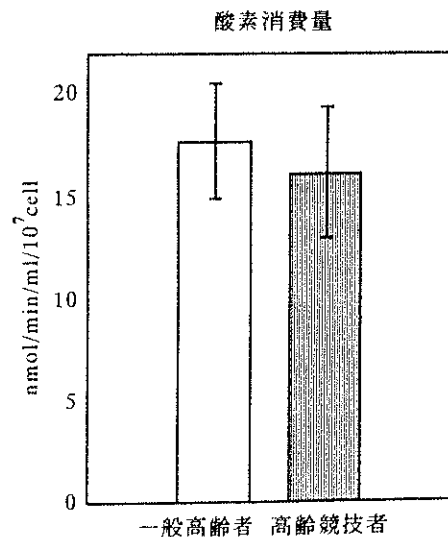


図1 酸素消費量の比較

点突然変異については、高齢競技者および一般高齢者それぞれ 1 名ずつ、12406 の部位に変異がみられた (図 3)。12406 付近において *HincII* での切断がみられなかった場合、その部位に変異があると考えられるが、具体的に塩基がどのように置換されているかはそれだけではわからない。そこで、変異のみられ

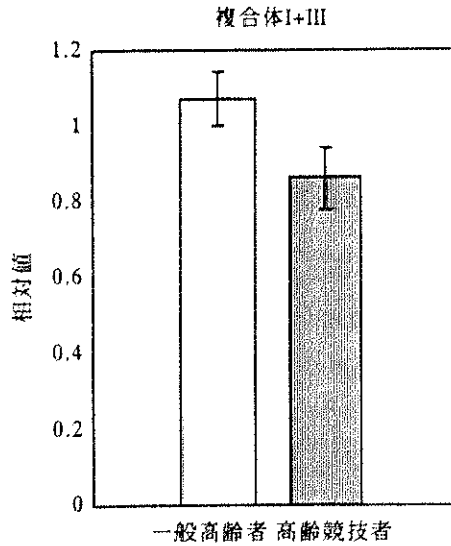


図2 複合体I+IIIの比較

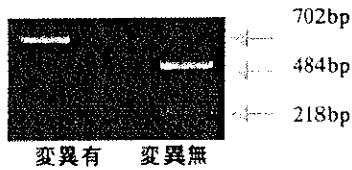


図3 電気泳動による変異の確認

た被検者のみについて、塩基の置換を DNA 配列解析 (サワデーテクノロジー) により検討したところ 12406 部位が G から A に変異していた。この変異により、バリンがイソロイシンに置換されたと考えられる。この部位がコードするのは、NADH デヒドロゲナーゼ 5 で、これは、複合体 I のサブユニットである。したがって、本来は複合体 I のみの酵素活性を比較すべきであるが、技術的に困難なため、本研究では複合体 I+III をもって比較した。変異のみられた被検者の人数が合計 2 名であったので、統計的な検定は不可能であり、図 4,5 に被検者個別の酸素消費および複合体 I+III の活性を示すにとどめるが、いずれの項目に関しても、変異のある被検者とない被検者について、顕著な相違はみられなかった。なお、1 被検者に対し、5、6 サンプルの測定を行った。

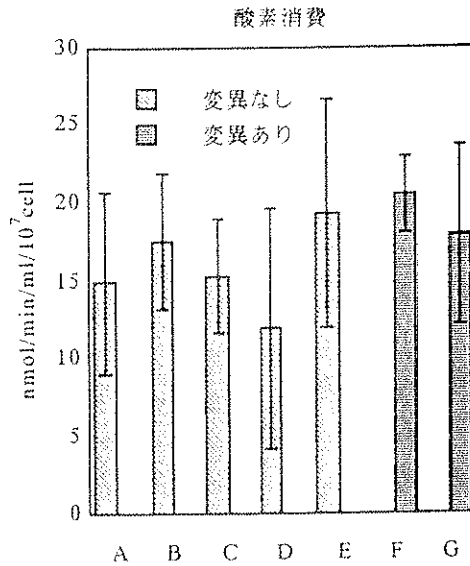


図4 変異の有無と酸素消費
被検者 A,B,F は一般高齢者、C,D,E,G は高齢競技者である。

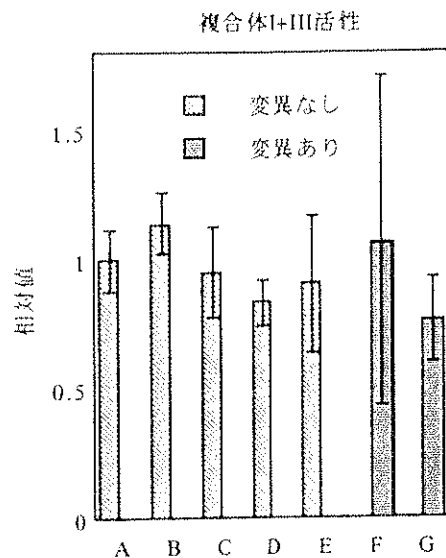


図5 変異の有無と複合体I+III活性
被検者 A,B,F は一般高齢者、C,D,E,G は高齢競技者である。

論議

本研究では、高齢競技者と一般高齢者の間に、ミトコンドリアの酸素消費および電子伝達系複合体 I+III の活性の顕著な差はみられなかった。本研究では、一般高齢者と高齢競技者とのあいだに、性、年齢の差が生じた。本研究で用いた評価方法では、ミトコンドリア数についてはほぼ一定とみなすことができ

る。したがって、年齢、性別による影響が無視できないとすれば、これらのパラメータがミトコンドリア構成タンパク自体に影響を及ぼすか否かを考慮しさえすればよい。まず、性別による電子伝達系の機能については、いままでこの差を比較した例はみられない。mtDNA がコードする部分に関しては、mtDNA は、性別とは無関係に母性遺伝するため、性別についての考慮は必要ないと思われる。また、核 DNA のコードする部分については、生体内での機能としてはその影響が全くないかどうかはわからないが、本研究では、すべて HeLa 細胞の核 DNA にコードされている、というモデルを用いているので、得られた結果に関しては、核 DNA の影響を考慮する必要も全くなくなる。したがって、核 DNA、mtDNA とともに性差を考慮する必要はないと思われる。一方、年齢の差については、生体内でミトコンドリア機能は加齢に伴い、低下することが知られている(香川, 1996)。本研究では、核 DNA に関しては、HeLa 細胞由来のものであるので、mtDNA についてのみ、加齢による影響を検討すればよい。ところで、加齢に伴い、mtDNA には欠失突然変異が蓄積するという報告がある(Gadaleta, et al., 1992)。これは、活性酸素などにより mtDNA が損傷を受け、加齢に伴い、その損傷が蓄積する、というものである。しかし、この現象は骨格筋や神経細胞など、細胞自体が新陳代謝しない、分裂停止組織においておもに観察されるものである。確かに、血小板を生成する骨髄は、加齢とともにその密度が低下するが、血小板自体の半減期はわずか 4 日であるため(Ganong, 1996)、欠失突然変異の蓄積に関してはその影響を無視してよいと思われる。また、本研究と同じモデルで加齢に伴うミトコ

ンドリアの機能について検討した例では、主に mtDNA ではなく核 DNA に機能低下の原因があるとする報告もある(Hayashi, et al., 1994)。もちろん、同様のモデルで加齢による変化がある、という報告例もあるが(Laderman, et al., 1996)、それにもとづき、本研究での被検者の平均年齢差である 7 年による機能の低下を算出すると、約 1~2%になる。これは、図からも明らかのように、測定の間隔におさまってしまうので、本研究ではこれも考慮する必要はないと思われる。したがって、被検者の群間の年齢、性別の差を考慮しないでよいとすると、高齢競技者と一般高齢者について、本研究で分析した項目については、ミトコンドリア機能には差はなかったといえる。統計的な調査によると、 $\dot{V}O_{2max}$ も mtDNA と同様、母系遺伝する傾向がある(Lesage, et al., 1985)だけでなく、有酸素性トレーニングによる $\dot{V}O_{2max}$ の向上も、母系遺伝するという報告もある(Bouchard, et al., 1999)。したがって、これらの能力の個人差に関して mtDNA の関与が考えられるが、本研究ではその傾向をあきらかにすることはできなかった。今後、高齢競技者のなかでも、よりミトコンドリアによるエネルギー供給に依存する種目に限って検討することにより、何らかの関連がみられる可能性もある。また、本研究で一般高齢者とした被検者はほぼ全て農業従事者であるため、特別な競技活動を実施していなくても、身体の運動能力は比較的高水準にあると思われる。したがって、高齢者のなかでも、日常の身体活動量が低い生活習慣を長期間にわたって継続してきた者との比較を行うことにより、何らかの影響がみられる可能性もあろう。

本研究では 12406 部位に変異をもつ被検者

が2名存在したが、統計処理には人数不足であった。そのため、本研究以外の被検者からも、この変異をもつ者を検索したが、合計約40名について検討したにもかかわらず、この部位に変異をもつ者はほかにはみられなかった。40名中2名という比率(5%)は、日本人における平均的な比率であり、妥当であった(Harihara, personal communication)。

12406の変異の有無は、ミトコンドリア機能に甚大な影響を及ぼさなかった。この12406の変異により、アミノ酸側鎖のバリンがイソロイシンになり、その結果、構造タンパクが多少変化すると考えられる。しかしながら、バリンもイソロイシンも側鎖の性質としては、いずれも非極性であるので、たとえ置換が生じたとしても、タンパク質全体の構造、特に二次構造、三次構造に変化をもたらすと考えられる極性、非極性あるいは酸性、塩基性などなどの性質の大きな差が生じるわけではないので、この結果は矛盾しないものと考えられる。しかしながら、いままで、これらの変異を報告している先行研究でも、ミトコンドリア自体の機能を比較したものはないので、これは新しい知見といえよう。

また、本研究で検索した変異は、3カ所に限られているので、それ以外の部位において変異が存在していた場合については考察できない。これを解決するには、全被検者のmtDNAの全配列を解読すればよいのであるが、現時点では技術的に困難であり、本研究では実施できなかった。したがって、未知の変異の存在は否定できず、個人のばらつきのなかに収まっているものが、実は未知の点突然変異によるものである可能性も排除できない。

文献

- Anderson, S., A. T. Bankier, B. G. Barrell, M. H. L. deBruijn, A. R. Coulson, J. Drouin, I. C. Eperon, D. P. Nierlich, B. A. Roe, F. Sanger, P. H. Schreier, A. J. H. Smith, R. Staden, and I. G. Young. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*290: 457-465, 1981.
- Bouchard, C., P. An, T. Rice, J. S. Skinner, J. H. Wilmore, J. Gagnon, L. Perusse, A. S. Leon, and D. C. Rao. Familial aggregation of $\dot{V}O_{2max}$ response to exercise training: results from the HERITAGE Family Study. *J. Appl. Physiol.*87: 1003-1008, 1999.
- Bouchard, C., F. T. Dionne, J. A. Simoneau, and M. R. Boulay. Genetics of aerobic and anaerobic performances. In: *Exercise and Sport Sciences Reviews*, edited by J. O. Holloszy. Baltimore: Williams & Wilkins, 1992. p. 27-58.
- Gadaleta, M. N., G. Rainaldi, A. M. S. Lezza, F. Milella, F. Fracasso, and P. Cantatore. Mitochondrial DNA copy number and mitochondrial DN deletion in adult and senescent rats. *Mutation Res.* 275: 181-193, 1992.
- Ganong, W.F. 皇猛他訳: 医科生理学展望, 原書第17版丸善, 1996.
- Gollnick, P. D., R. B. Armstrong, C. W. I. Saubert, K. Piehl, and B. Saltin. Enzyme activity and fiber composition in skeletal muscle of untrained and trained men. *J. Appl. Physiol.* 33: 312-319, 1972.
- Goto, Y., I. Nonaka, and S. Horai. A mutation in the tRNA^{Leu}(UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathy. *Nature*348: 651-653, 1990.
- Hayashi, J.-I., S. Ohta, Y. Kagawa, H. Kondo, H. Kaneda, H. Yonekawa, D. Takai, and S. Miyabayashi. Nuclear but not mitochondrial genome involvement in human age-related mitochondrial dysfunction.

- J.Biol.Chem.* 269: 6878-6883. 1994.
- Hayashi, J.-I., S. Ohta, A. Kikuchi, M. Takemitsu, Y. Goto, and I. Nonaka. Introduction of disease-related mitochondrial DNA deletions into HeLa cells lacking mitochondrial DNA results in mitochondrial dysfunction. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 88: 10614-10618, 1991.
- 宝来聡:DNA 人類進化学. 岩波書店,1997.
- Ito, S., S. Ohta, K. Nishimaki, Y. Kagawa, R. Soma, S. Kuno, Y. Komatsuzaki, H. Mizusawa, and J.-I. Hayashi. Functional integrity of mitochondrial genomes in human platelets and autopsied brain tissues from elderly patients with Alzheimer's disease. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* 96: 2099-2103. 1999.
- 香川靖雄. 老化のバイオサイエンス. 羊土社. 1996.
- Laderman, K. A., J. R. Penny, F. Mazzucchelli, N. Bresolin, G. Scarfato, and G. Attardi. Aging-dependent functional alterations of mitochondrial DNA (mtDNA) from Human fibroblasts transferred into mtDNA-less cells. *J.Biol.Chem.* 271: 15891-15897. 1996.
- Lesage, R., J.-A. Simoneau, J. Jobin, J. Leblanc, and C. Bouchard. Familial resemblance in maximal heart rate, blood lactate and aerobic power. *Hum.Hered.* 35: 182-189, 1985.
- Miyabayashi, S., K. Narisawa, K. Iinuma, K. Tada, K. Sakai, K. Kobayashi, Y. Kobayashi, and S. Morinaga. Cytochrome c oxidase deficiency in two siblings with Leigh encephalomyelopathy. *Brain Dev.* 6: 362-372, 1984.
- Montgomery, H. E., R. Marshall, H. Hemingway, S. Myerson, P. Clarkson, C. Dollery, M. Hayward, D. E. Holliman, M. Jubb, M. World, E. L. Thomas, A. E. Brynes, N. Saeed, M. Barnard, J. D. Bell, K. Prasad, M. Rayson, P. J. Talmud, and S. E. Humphries. Human gene for physical performance. *Nature* 393: 221-222. 1998.
- Rivera, M. A., B. Wolfarth, F. T. Dionne, M. Chagnon, J.-A. Simoneau, M. R. Boulay, T. M. K. Song, L. Perusse, J. Gagnon, A. S. Leon, D. C. Rao, J. S. Skinner, J. H. Wilmore, J. Keul, and C. Bouchard. Three mitochondrial DNA restriction polymorphisms in elite endurance athletes and sedentary controls. *Med.Sci.Sports Exerc.* 30: 687-690, 1998.
- Van den Bogert, C., H. De Vries, M. Holtrop, P. Muus, H. L. Dekker, M. J. M. Van Galen, P. A. Bolhuis, and J.-W. Taanman. Regulation of the expression of mitochondrial proteins: relationship between mtDNA copy number and cytochrome-c oxidase activity in human cells and tissues. *Biochim.Biophys.Acta.* 1144: 177-183. 1993.
- Wallace, D. C. Mitochondrial DNA variation in human evolution, degenerative disease, and aging. *Am.J.Hum.Genet.* 57: 201-223, 1995.