

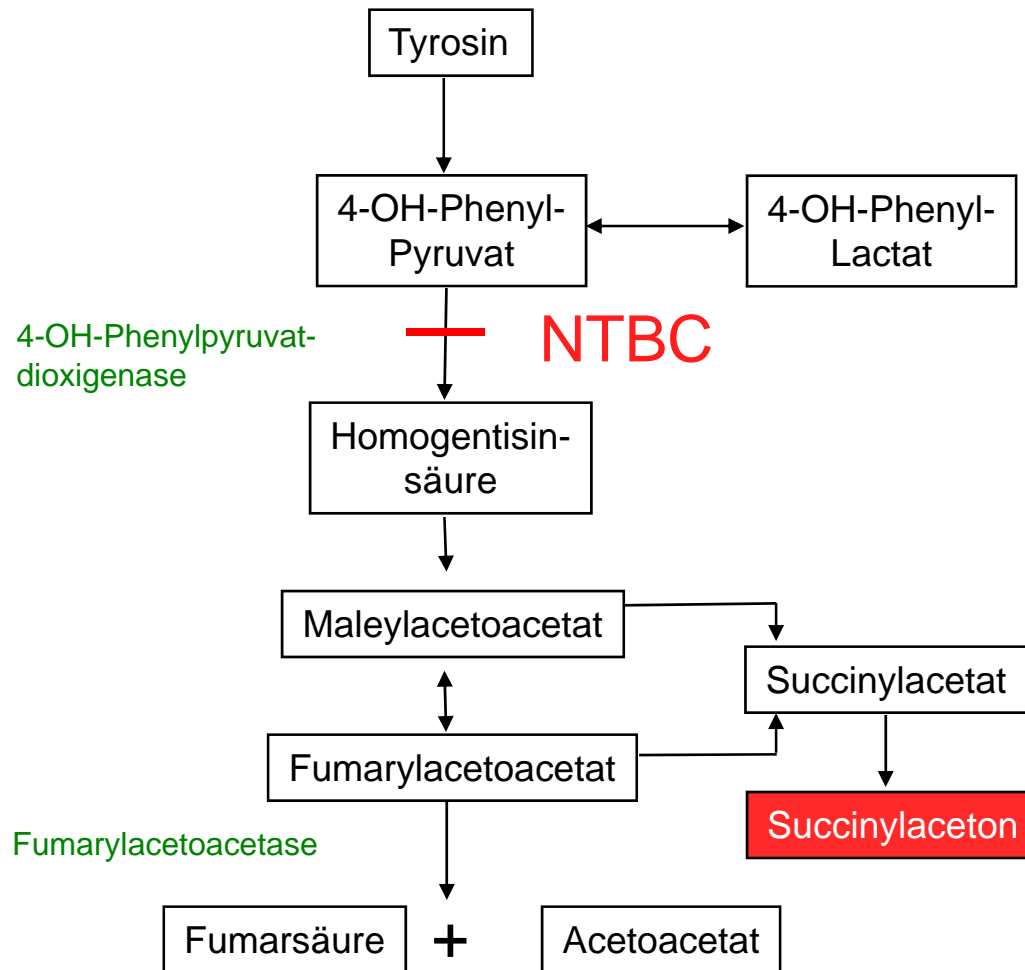


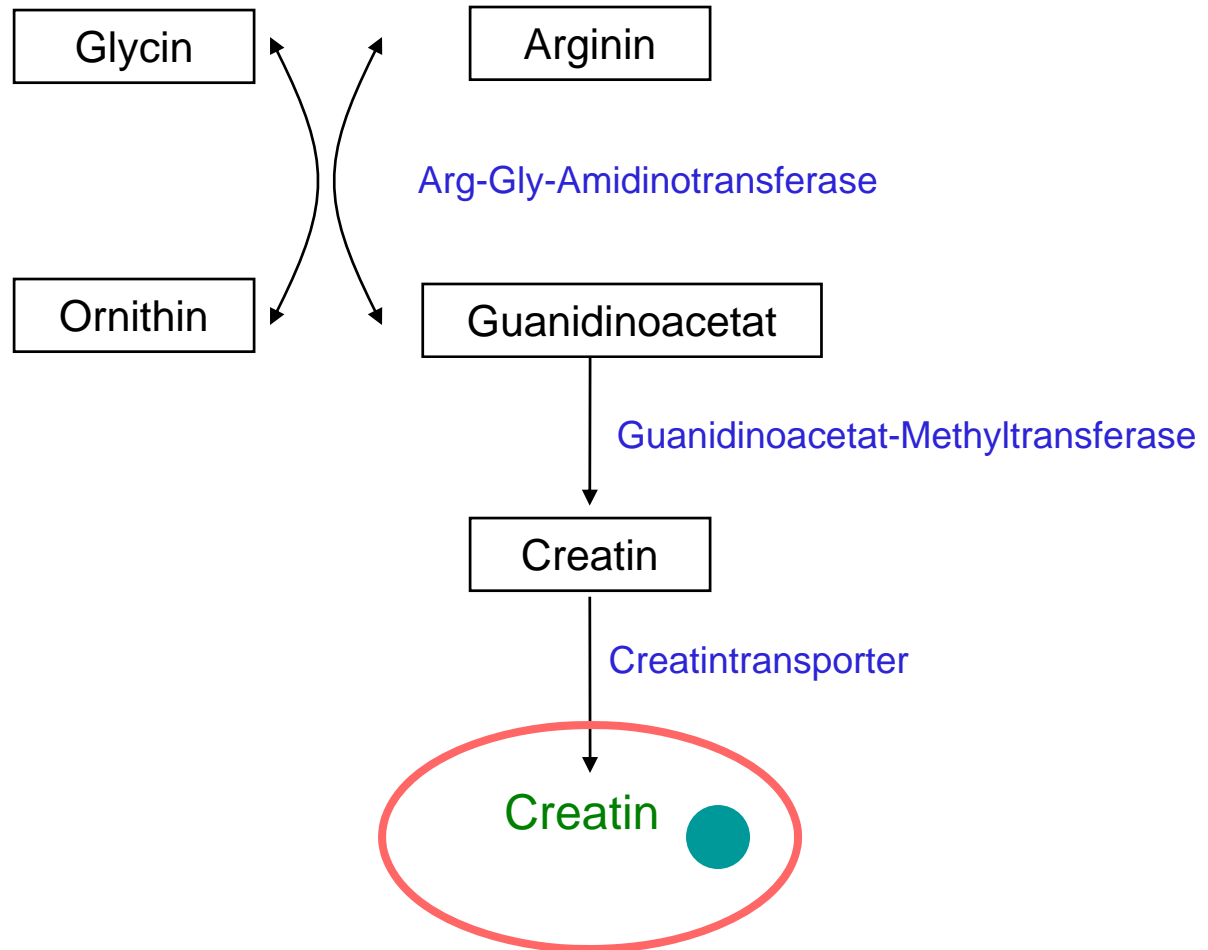
Medikamentöse Prävention von Stoffwechselstörungen bei Kindern

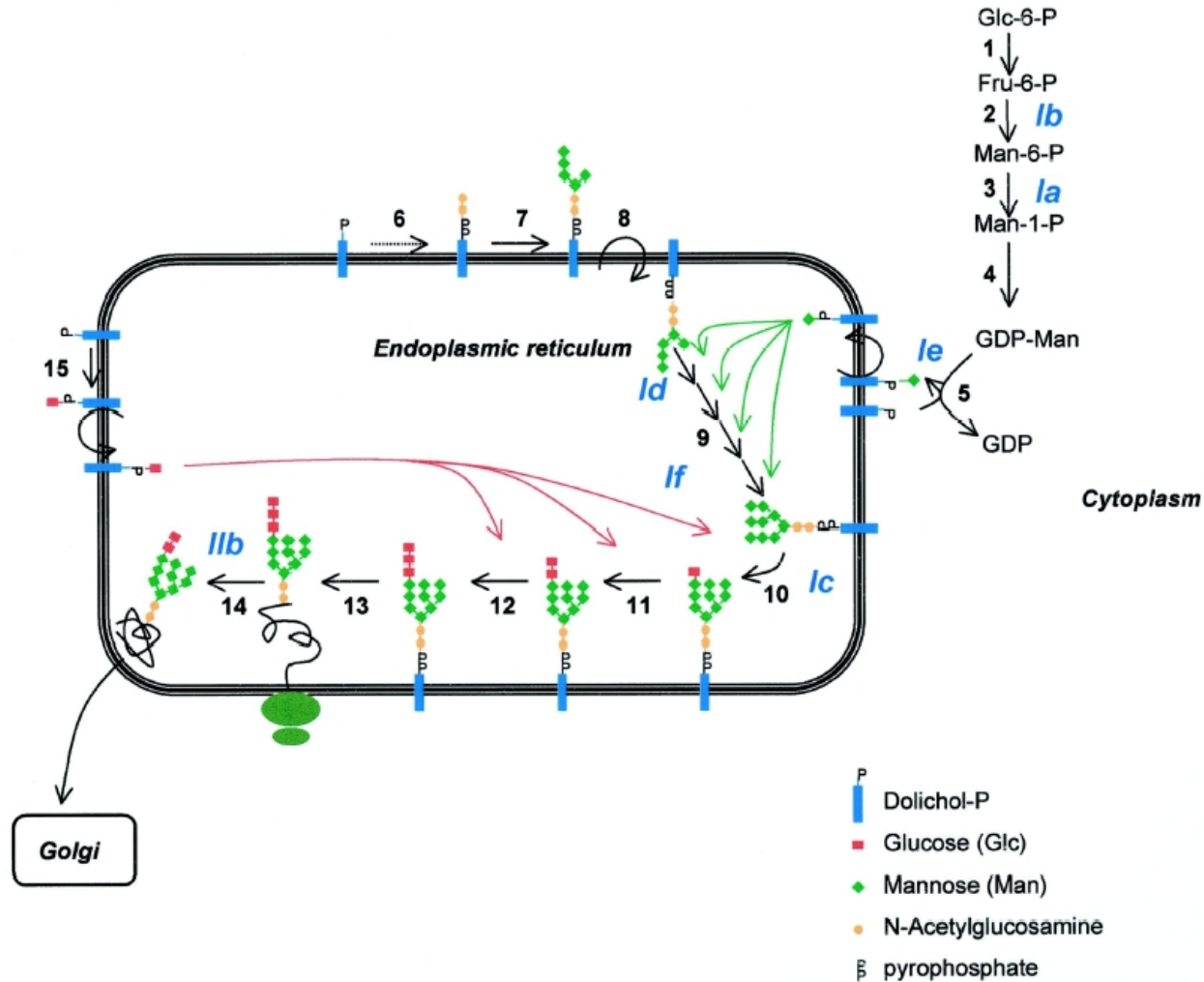
Ania C. Muntau

Molekulare Pädiatrie
Dr. von Haunersches Kinderspital
Ludwig-Maximilians-Universität

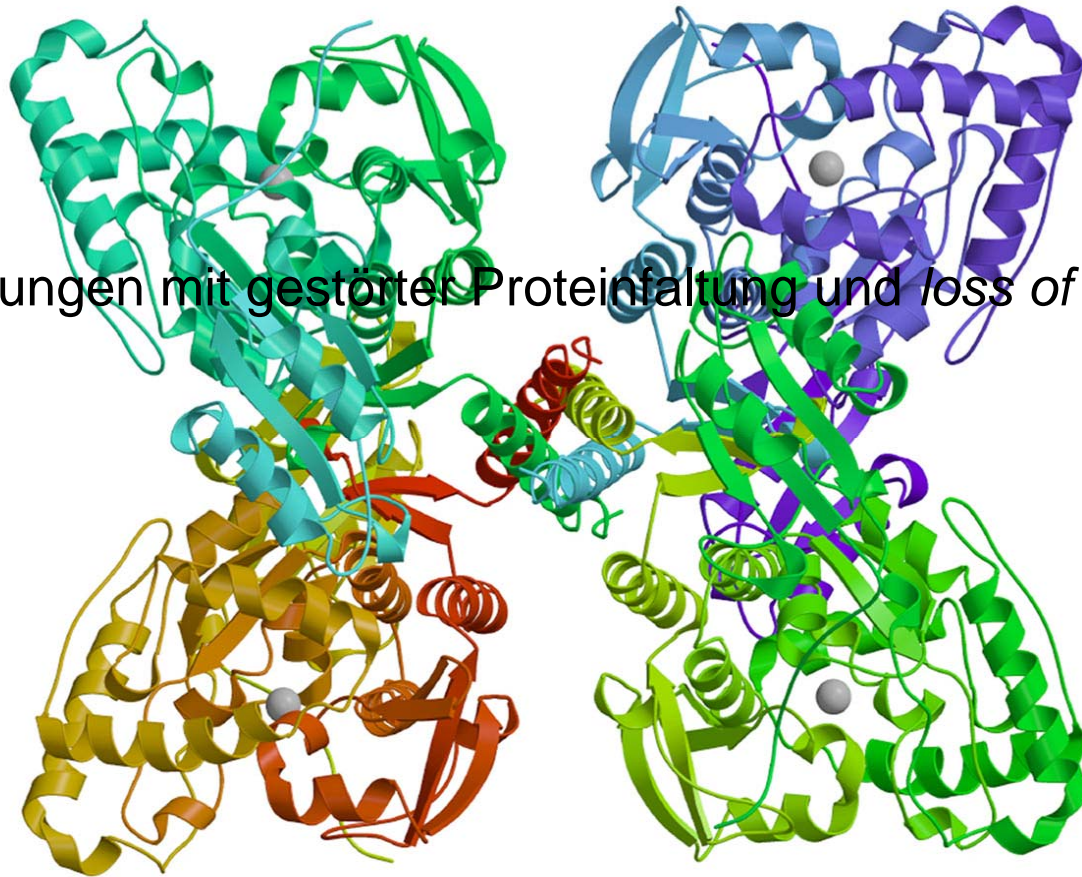


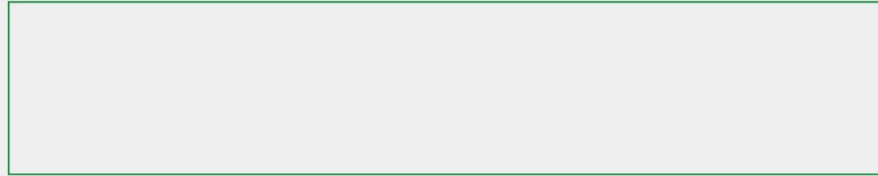






Erkrankungen mit gestörter Proteinfaltung und *loss of function*



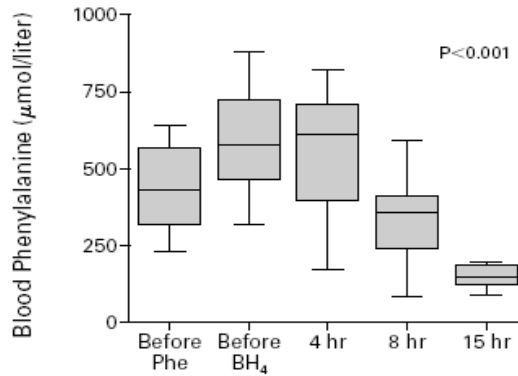


The New England Journal of Medicine

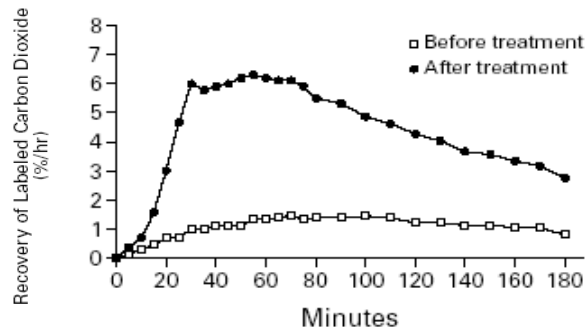
**TETRAHYDROBIOPTERIN AS AN ALTERNATIVE TREATMENT
FOR MILD PHENYLKETONURIA**

ANIA C. MUNTAU, M.D., WULF RÖSCHINGER, M.D., MATTHIAS HABICH, HANS DEMMELMAIR, PH.D., BJÖRN HOFFMANN,
CHRISTIAN P. SOMMERHOFF, M.D., AND ADELBERT A. RÖSCHER, M.D.

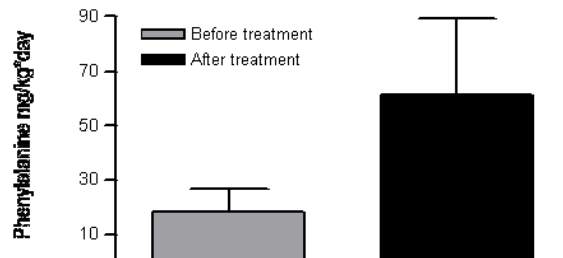
2002, 347: 2122-2132



BH_4 reduziert die Phenylalaninkonzentration im Blut



BH_4 erhöht die Phenylalaninoxidation *in vivo*



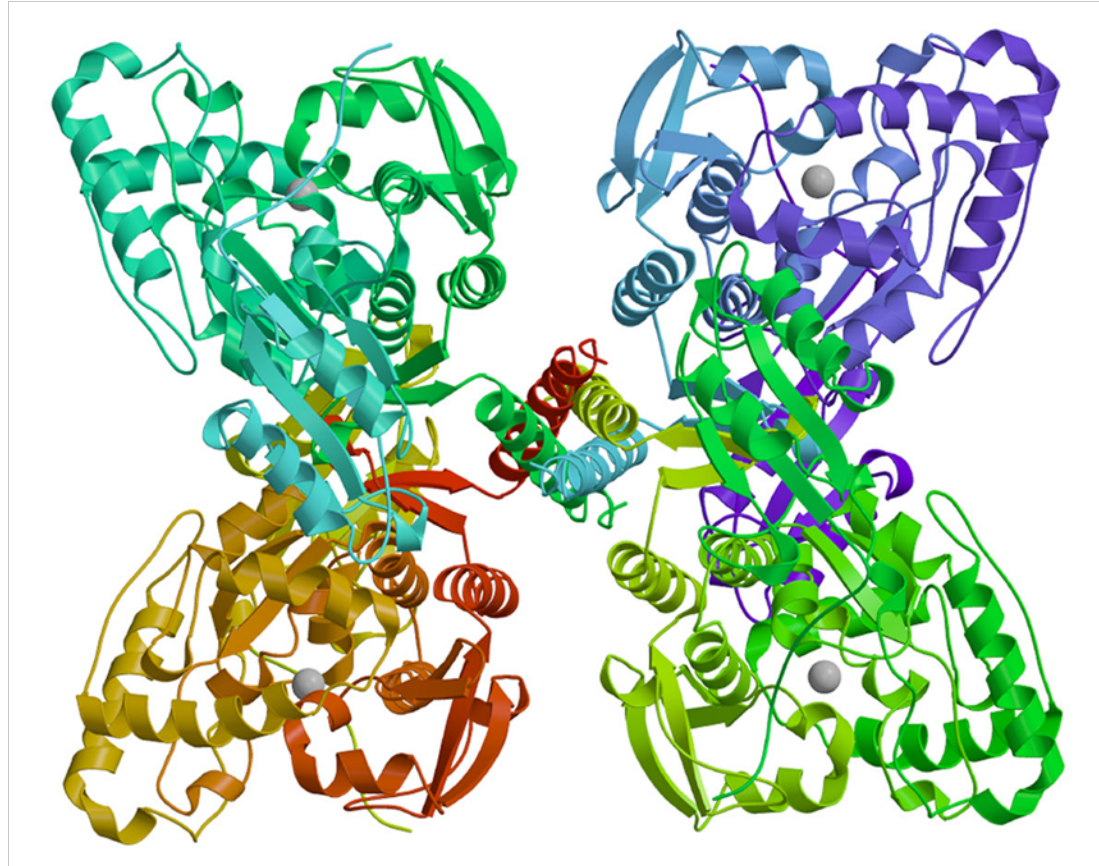
BH_4 erhöht die diätetische Phenylalanintoleranz *in vivo*



Hypothesen



- Die Phenylketonurie ist eine Proteinfaltungserkrankung
- BH₄ entfaltet seine Wirkung als pharmakologisches Chaperone





F55L

I65S

H170Q

P275L

A300S

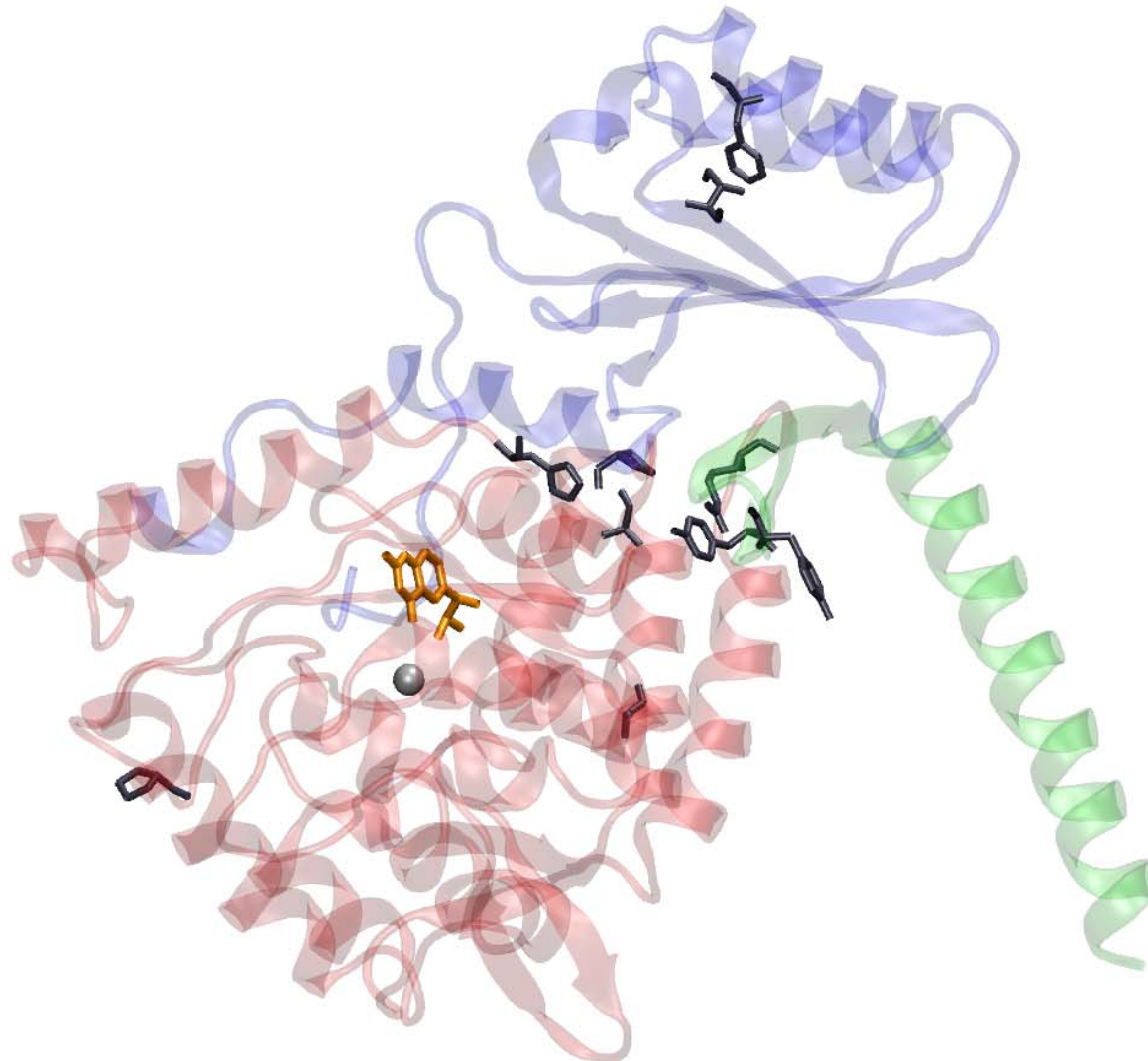
S310Y

P314S

R408W

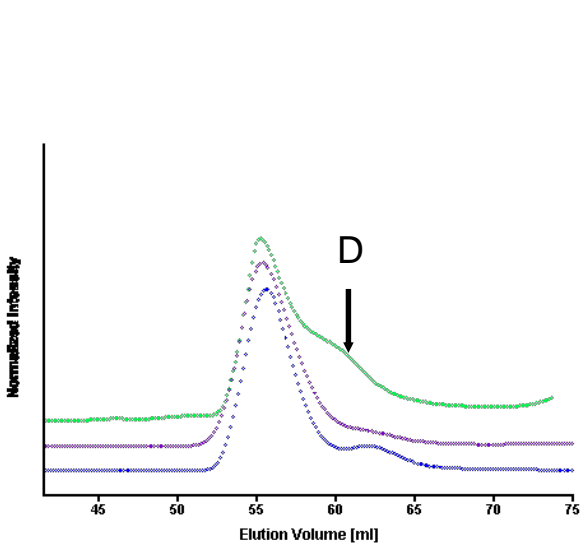
Y414C

Y417H

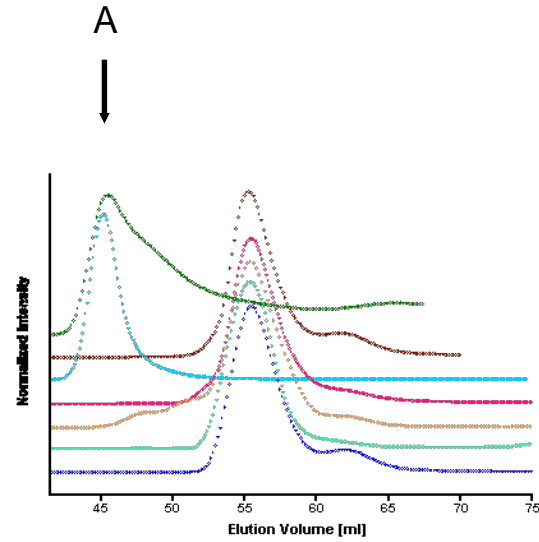


Variant PAH-Protein	L-Phe			Activation fold	Substrate Inhibition	BH ₄		
	V _{max} μM	[S] _{0.5} μM	<i>h</i>			V _{max} μM	K _m μM	Cofactor Inhibition
WT	3470±75	155±6	3.0	3.0	+	3425±139	24±3	+
F55L	2088±66	128±9	1.5	1.5	-	2408±112	22±3	+
I65S	2214±130	168±20	1.4	1.0	-	3762±152	29±3	+
H170Q	2174±37	125±4	3.1	3.6	-	2197±43	25±2	-
P275L	1706±25	76±3	1.6	2.3	-	3216±67	65±4	-
A300S	2990±64	148±6	2.4	3.7	-	3320±58	17±2	-
S310Y	0	n.a.	n.a.	n. a.	n.a.	0±	n.a.	n.a.
P314S	780±22	49±2	1.9	1.3	-	760±39	25±4	+
R408W	0	n.a.	n.a.	n. a.	n.a.	0±	n.a.	n.a.
Y414C	1877±51	104±4	2.2	2.0	+	1870±50	16±2	-
Y417H	2258±54	135±4	2.5	1.5	+	2866±188	31±4	+

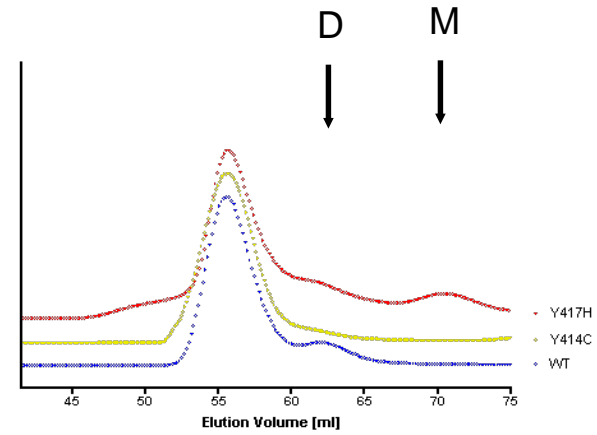
Missense Mutationen im *PAH* Gen können Konformationsänderungen des Proteins induzieren



Mutationen
der regulatorischen Domäne



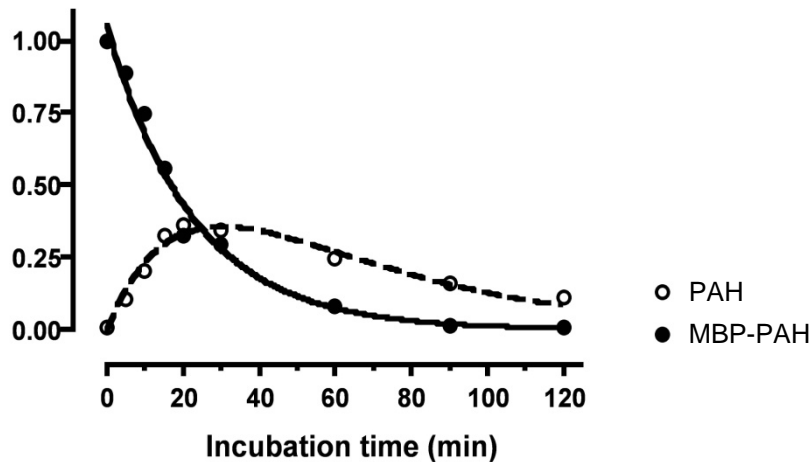
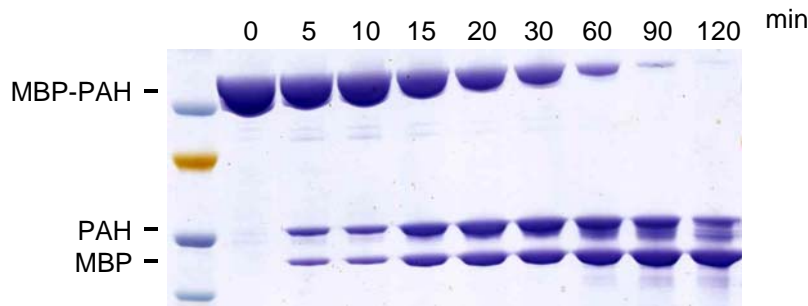
Mutationen
der katalytischen Domäne



Mutationen
der Tetramerisierungsdomäne

Missense Mutationen im *PAH* Gen führen zu Proteinfehlfaltung in Bezug auf die Quartärstruktur des Proteins

Proteolysis by proteinase K

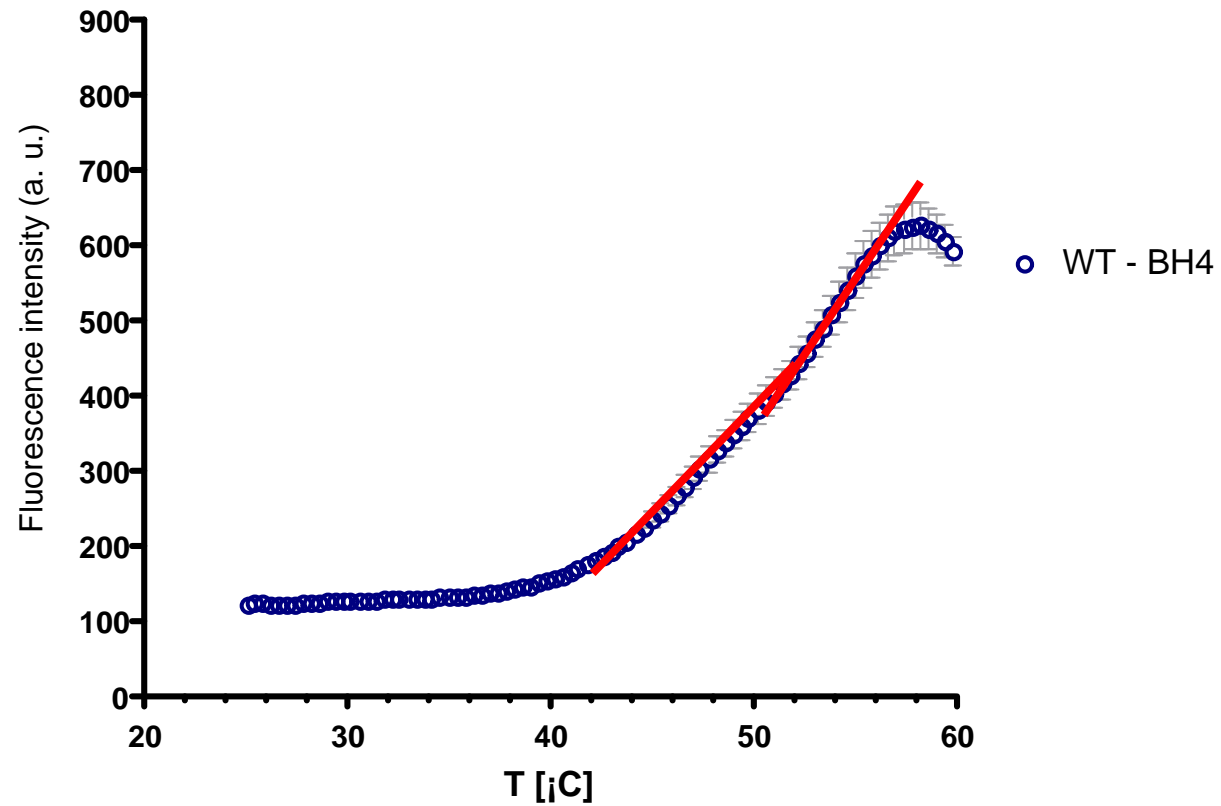


	$t_{1/2}$ FP	$t_{1/2}$ PAH
WT	8	50
F55L	6	50
I65S	3	43
H170Q	2	30
P275L	3	28
A300S	2	25
S310Y	n.d.	n.d.
P314S	13	72
R408W	n.d.	n.d.
Y414C	4	35
Y417H	4	43

Missense Mutationen im *PAH* Gen führen zu einer Destabilisierung des Proteins



ANS-Fluoreszenz

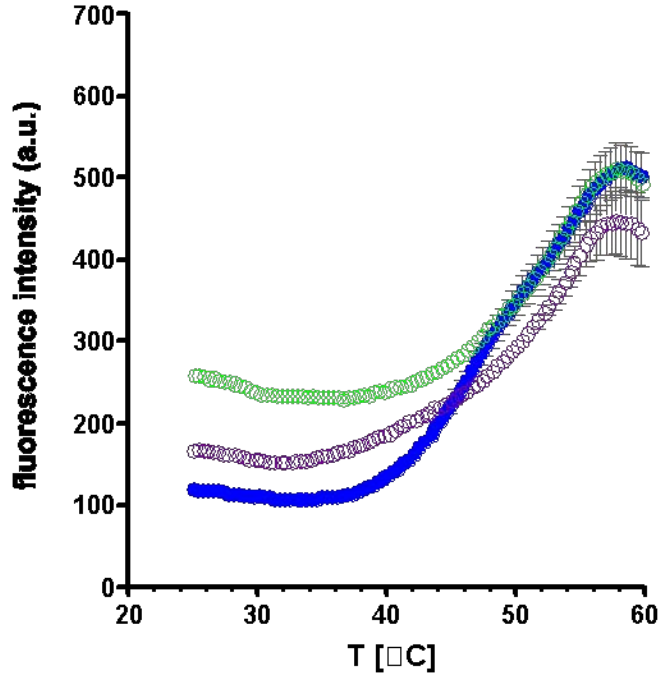




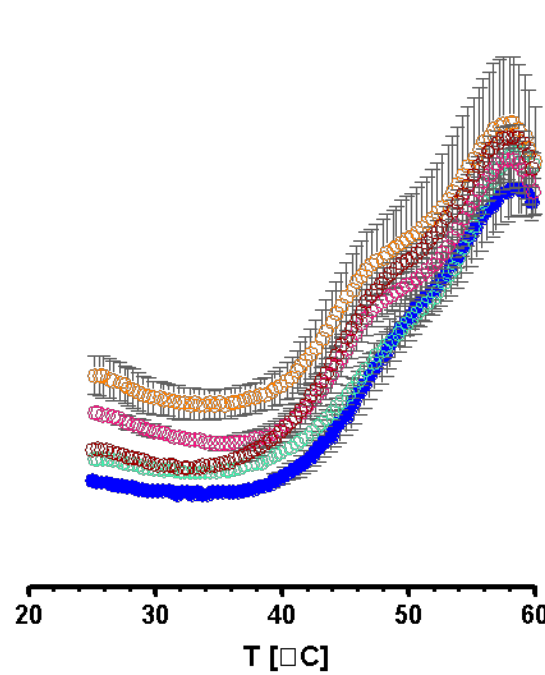
- WT
- F55L
- I65S

- WT
- H170Q
- P275L
- A300S
- P314S

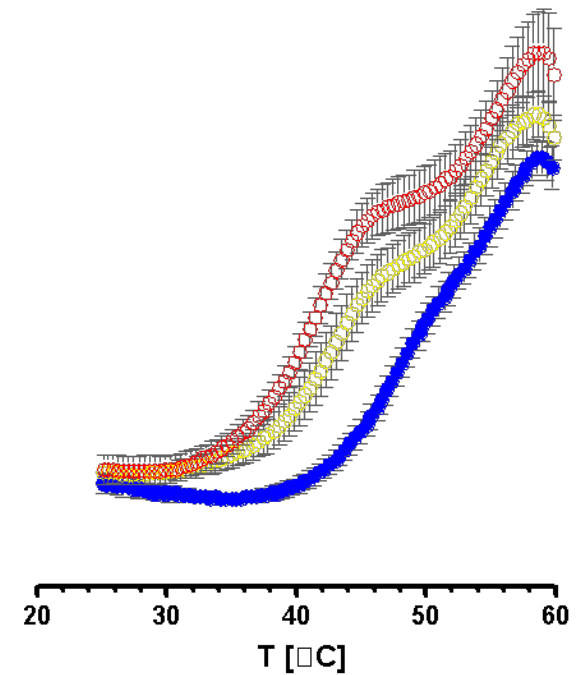
- WT
- Y414C
- Y417H



Mutationen
der regulatorischen Domäne



Mutationen
der katalytischen Domäne

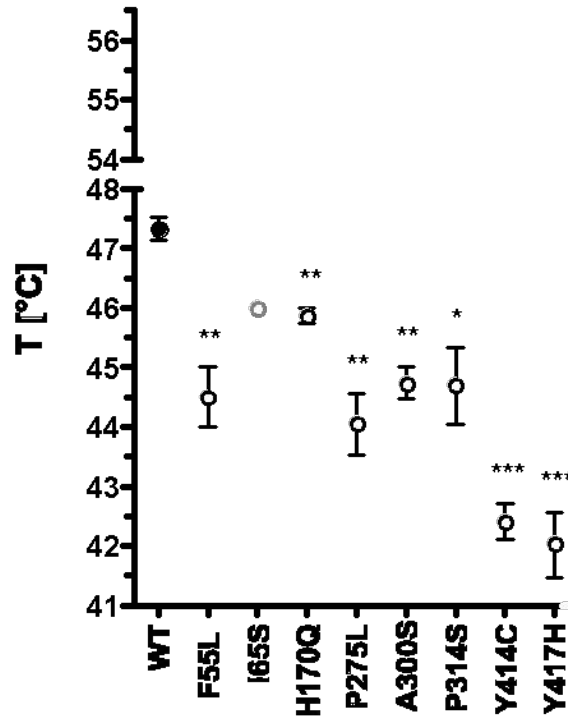


Mutationen
der Tetramerisierungsdomäne

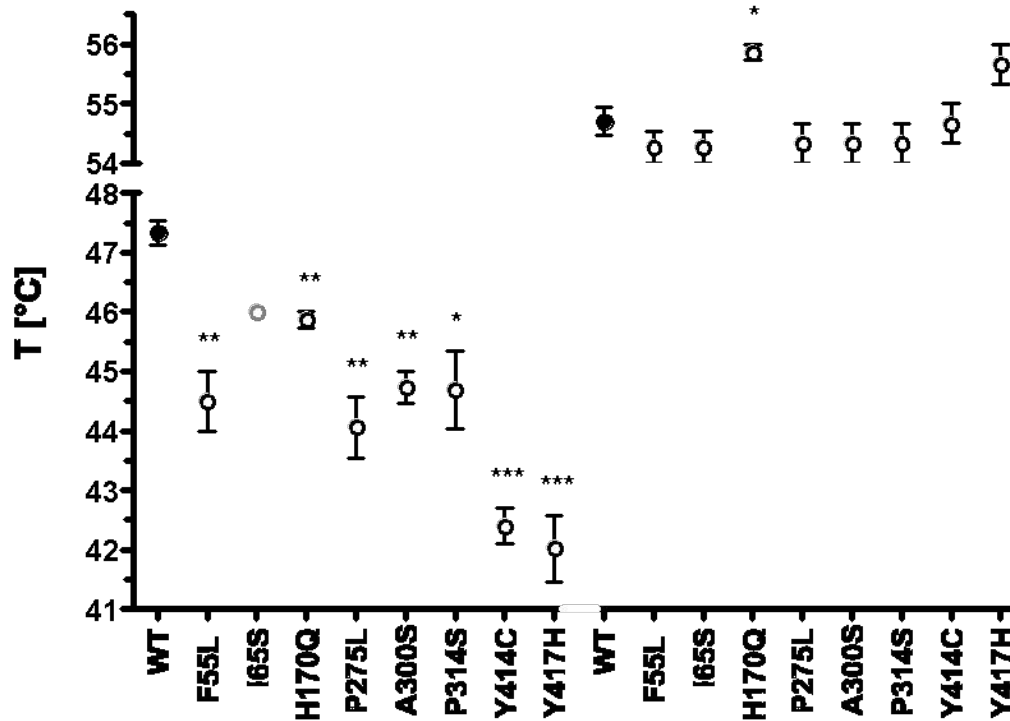


Erster Übergang

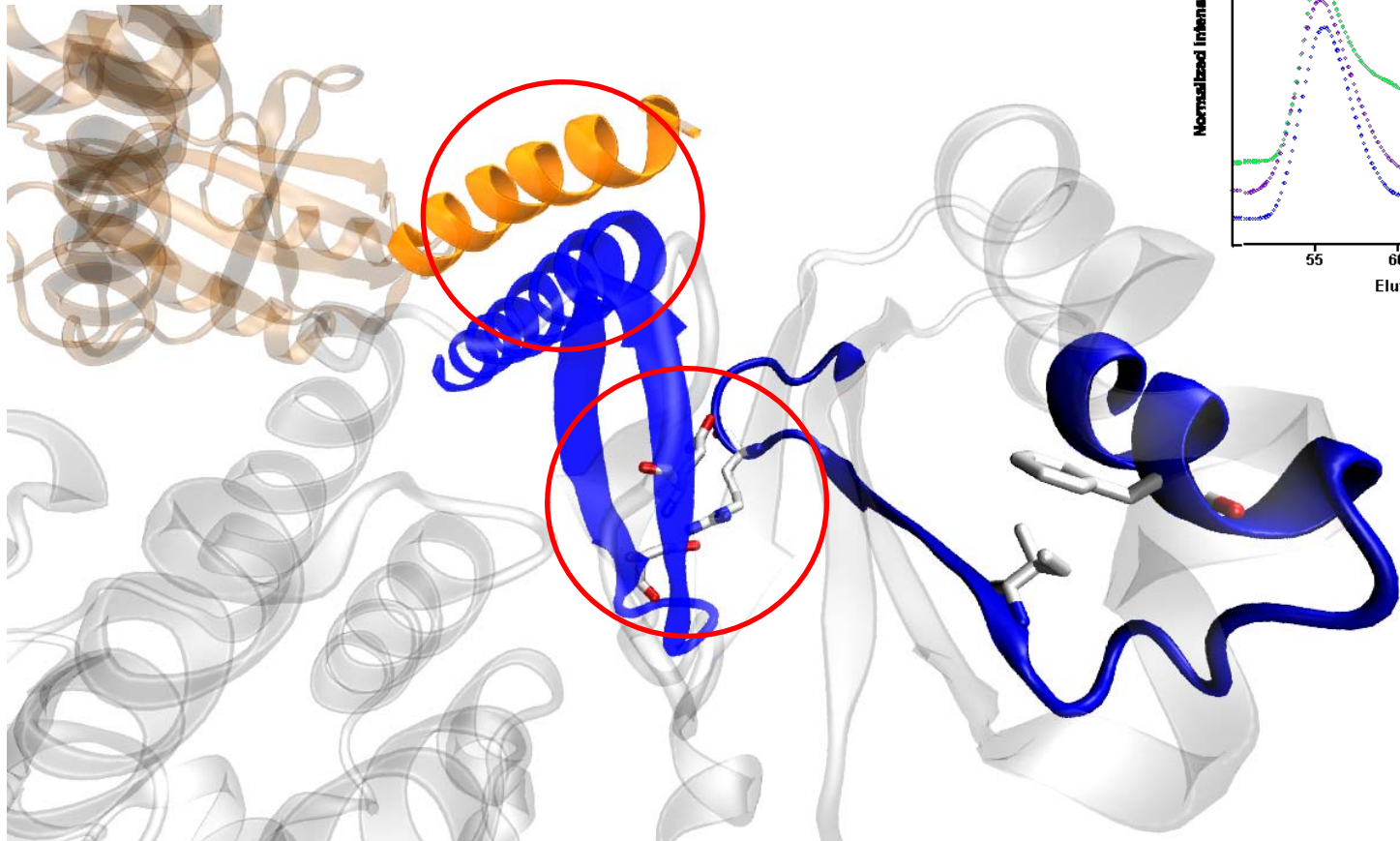
Entfaltung regulatorische Domäne



Erster Übergang **Zweiter Übergang**
Entfaltung regulatorische Domäne Entfaltung katalytische Domäne



Missense Mutationen im *PAH* Gen führen zu beschleunigter thermaler Entfaltung insbesondere der regulatorischen Domäne



Die Fehlfaltung des PAH Proteins wird über die Beeinträchtigung funktioneller Netzwerke von Aminosäuren-Seitenketten-Interaktionen innerhalb des Proteins kommuniziert

PAH Mutationen führen zu ...



- gestörter Allosterie
- gestörtem Tetrameraufbau
- Aggregation
- reduzierter proteolytischer Stabilität
- beschleunigter thermaler Entfaltung
- Fernwirkungen innerhalb des Proteins



The American Journal of Human Genetics

ARTICLE

Loss of Function in Phenylketonuria Is Caused by Impaired Molecular Motions and Conformational Instability

Søren W. Gersting,¹ Kristina F. Kemter,¹ Michael Staudigl,¹ Dunja D. Messing,¹ Marta K. Danecka,¹
Florian B. Lagler,² Christian P. Sommerhoff,³ Adelbert A. Roscher,¹ and Ania C. Muntau^{1,*}

Am J Hum Genet, 2008, 83: 5-17

Die Phenylketonurie ist eine Proteinfaltungserkrankung mit *loss of function*



Hypothesen

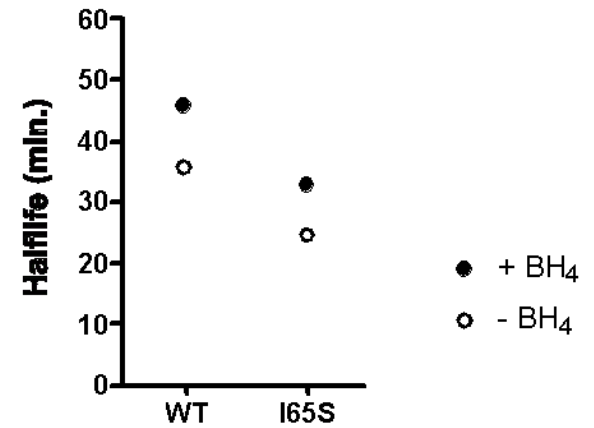
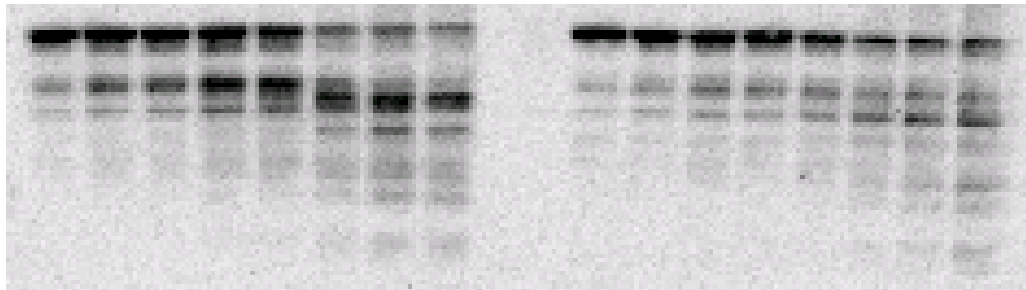


- Die Phenylketonurie ist eine Proteinfaltungserkrankung
- BH₄ entfaltet seine Wirkung als pharmakologisches Chaperone

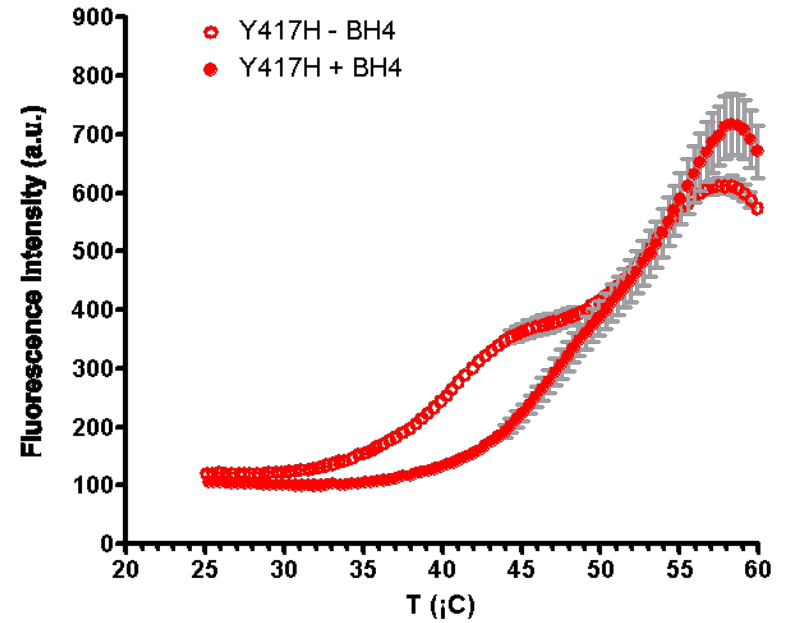
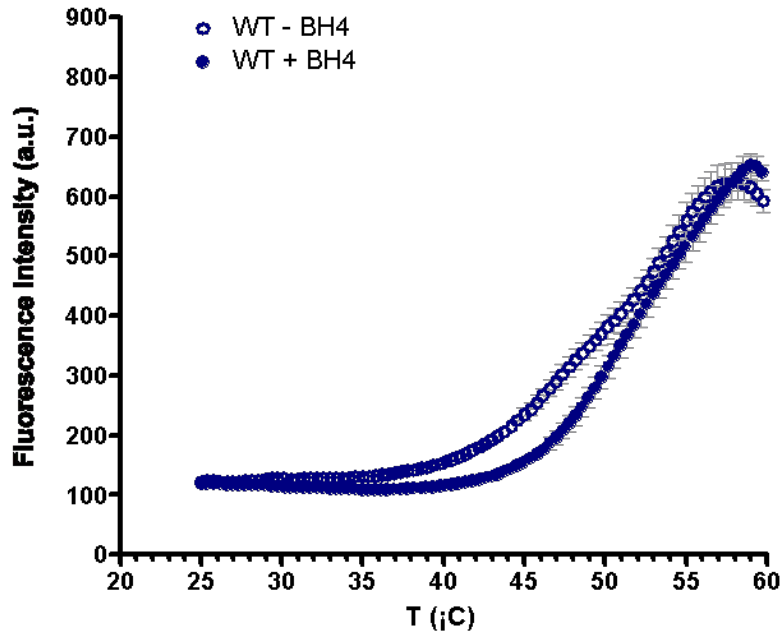


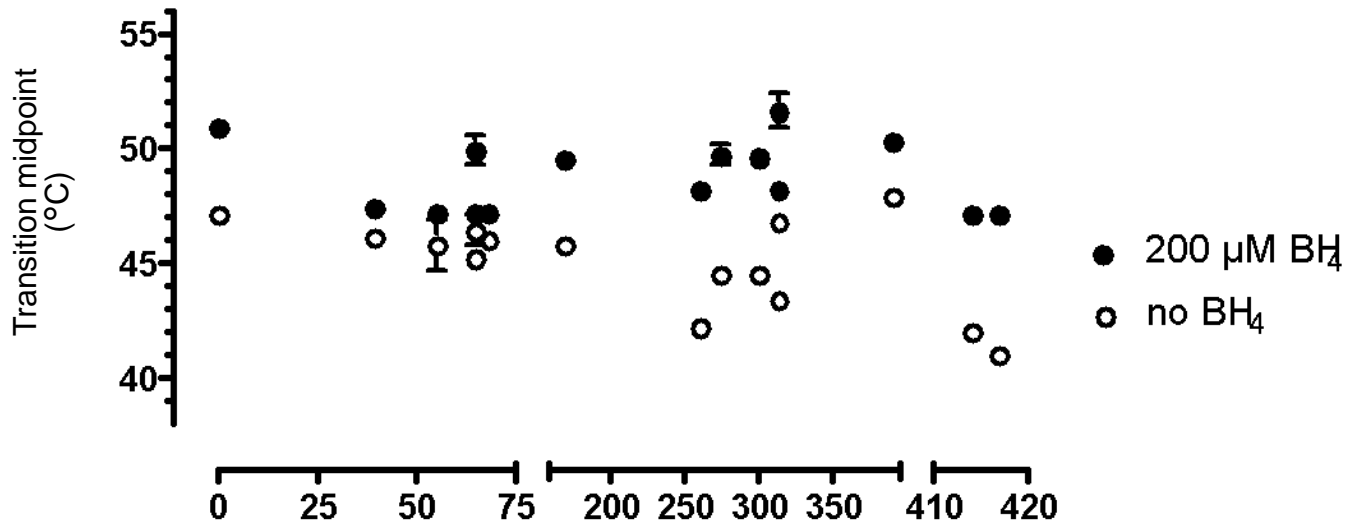
I65S - BH₄

I65S + BH₄



BH₄ schützt die PAH vor proteolytischem Abbau





BH₄ stabilisiert die PAH gegenüber thermaler Entfaltung



Hypothesen



- Die Phenylketonurie ist eine Proteinfaltungserkrankung
- BH₄ entfaltet seine Wirkung als pharmakologisches Chaperone



Hypothesen



Die Phenylketonurie ist eine Modellerkrankung
für genetische Erkrankungen mit Proteinfehlfaltung und *loss of function*

Die Proteinfehlfaltung ist durch *small molecules* therapeutisch beeinflussbar