

PHÂN TÍCH CẤU TRÚC 3D CỦA MỘT SỐ ĐỘT BIẾN TRÊN GEN *CYP11B1* ĐƯỢC TÌM THẤY Ở BỆNH NHÂN TĂNG SẢN THƯỢNG THẬN BẨM SINH TẠI VIỆT NAM

Nguyễn Thu Hiền, Nguyễn Huy Hoàng

Viện Nghiên cứu hệ gen, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

CYP11B1 là một cytochrome P450 thuộc nhóm *CYP11B* tham gia chủ yếu vào quá trình sinh tổng hợp steroid hormone tuyến thượng thận. Gen *CYP11B1* mã hóa enzyme 11 β -hydroxylase, xúc tác quá trình chuyển hóa deoxycortisol tạo cortisol. Đột biến trên gen *CYP11B1* gây ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt tính của enzyme 11 β -hydroxylase. Suy giảm hoạt tính *CYP11B1* (11 β -hydroxylase) dẫn đến hiện tượng tích lũy các tiền chất trung gian. Đây là nguyên nhân chính thứ hai gây nên bệnh tăng sản thượng thận bẩm sinh chiếm 5%, còn hơn 90% nguyên nhân gây bệnh là do thiếu hụt enzyme 21-hydroxylase. Cấu trúc của P450 đã được nghiên cứu nhiều tuy nhiên các nghiên cứu về cấu trúc 3D của *CYP11B1* và các đột biến trên gen này vẫn còn hạn chế. Trong nghiên cứu này, trình tự gen *CYP11B1* của người được so sánh với các gen *CYP11B1*, *CYP11B2* của một số loài khác để tìm ra các vùng gen cấu trúc quan trọng. Chúng tôi sử dụng phần mềm tin sinh học spdbv 4.10 và ViewerLite 4.2 để mô phỏng cấu trúc 3D của protein *CYP11B1*. Từ đó, phân tích sự thay đổi trong cấu trúc 3D của một số đột biến trên gen *CYP11B1* được tìm thấy ở bệnh nhân tăng sản thượng thận bẩm sinh tại Việt Nam. Kết quả thu được sẽ góp phần cho hướng nghiên cứu đột biến ảnh hưởng cấu trúc 3D protein liên quan tới suy giảm hoạt tính protein và biểu hiện lâm sàng của người bệnh.

Từ khóa: Cấu trúc không gian 3D, 11 β -hydroxylase, cytochrome P450, tăng sản thượng thận bẩm sinh (CAH).

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cortisol là thành phần chính của glucocorticoid, có vai trò duy trì chuyển hóa năng lượng và huyết áp. Sự thiếu cortisol sẽ dẫn đến các rối loạn nghiêm trọng như suy nhược, hạ đường huyết, sốc và có thể tử vong. Cortisol được tổng hợp từ tiền chất cholesterol dưới sự xúc tác của 5 loại enzyme thuộc họ P450: 21-hydroxylase (21-OH), 11 β hydroxylase (11-OH), 17-hydroxylase (17-OH), 3 β -hydroxylase dyhydrogenase (3 β -HSD) và 20/22 Desmolase. Sự thiếu hụt một trong các enzyme này gây nên tình trạng ứ đọng các tiền chất trong quá trình chuyển hóa steroid hormone. Đây là nguyên nhân gây nên bệnh tăng sản thượng thận bẩm sinh (TSTTBS). Bên cạnh nguyên nhân chính của bệnh chiếm trên 90% là do thiếu hụt 21-hydroxylase, nguyên nhân chủ yếu thứ hai chiếm khoảng 5% do thiếu hụt 11 β -hydroxylase (White *et al.*, 1994). Tỷ lệ mắc bệnh TSTTBS do suy giảm hoạt tính enzyme 11-OH là 1/200 000 trẻ được sinh ra (Belkina *et al.*, 2001). Nhiều trường hợp mắc TSTTBS do suy giảm 11 β -hydroxylase đã được tìm thấy trong số những người Do thái ở Israel nhập cư từ Ma Rốc. Trong nhóm người này, tỷ lệ mắc bệnh lên tới 1/5.000 – 1/7.000 ca mới sinh. Các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng, có khoảng 2/3 bệnh nhân thiếu hụt 11 β -hydroxylase có biểu hiện huyết áp tăng cao. Ngoài ra, bệnh nhân còn có triệu chứng dư thừa quá mức androgen và có kiểu hình nam hóa ở nữ (Bhangoo *et al.*, 2006). *CYP11B1* là một cytochrome P450 tham gia chủ yếu vào quá trình sinh tổng hợp steroid hormone tuyến thượng thận. Năm 1987, Poulos và cộng sự đã miêu tả cấu trúc tinh thể của P450_{cam} (*CYP101*) từ *Pseudomonas putii*. Vào đầu những năm 1990, người ta đã xác định được cấu trúc của những cytochrome P450, tên là P450_{BMG} (*CYP102*), P450_{lam} (*CYP108*), P450_{orf} (*CYP107*) và P450_{nor} (*CYP55*). Cho đến nay, những nghiên cứu cấu trúc tinh thể đã xác định được cấu trúc của một số P450 của vi khuẩn. Đến năm 2001, nhóm tác giả Belkina và cộng sự đã thành công trong nghiên cứu cấu trúc 3D của *CYP11B1* và *CYP11B2* (Belkina *et al.*, 2001). Các nghiên cứu về cấu trúc P450 cho thấy tất cả cytochrome đều biểu thị là một dạng nếp gấp và hình học Topo, các liên kết N- và C- cuối cùng được sắp xếp xung quanh các heme sắt. Cấu trúc lõi của P450 gồm có 6 dạng xoắn: D, E, I, L, K và J. Trong khi đó, cấu trúc gấp nếp β bao gồm hai dạng: gấp nếp β dạng 1 chứa 5 sợi và cấu trúc gấp nếp β dạng 2 chứa 2 sợi. Heme sắt nằm ở giữa dạng xoắn I và L (Peterson, Graham, 1989). Dựa vào sự sắp xếp của các thành viên họ CYP2C, Gotcho cho rằng 6 vùng tham gia vào việc nhận dạng cơ chất, định rõ SRS (vùng nhận dạng cơ chất) (Gotcho, 1992). Tại SRS-1 (xoắn B'), SRS-2 (carboxyl cuối của dạng xoắn F) và SRS-3 (axit amin cuối ở dạng xoắn G), có một cấu trúc không gian biến đổi liên tục. Ngược lại, vùng SRS-4 (giữa dạng xoắn I), SRS-5 (β 6-1/ β 6-4) và SRS-6 (β 4-hình kẹp tóc) chỉ chứa những cấu trúc không gian cố định. Bên cạnh đó, những dạng trình tự đồng nhất bao gồm dạng EXXR tại liên kết C- cuối ở dạng xoắn K, dạng CXGXXLA ở túi Cys và dạng AGXXT ở dạng xoắn I, gồm có một vài chất lỏng lẻo giữa những CYP, và dạng DXXXF ở dạng xoắn K' (Mestres, 2005).

Cấu trúc của P450 đã được nghiên cứu nhiều tuy nhiên các nghiên cứu về cấu trúc 3D của *CYP11B1* và các đột biến trên gen này vẫn còn hạn chế. Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành mô phỏng và phân tích cấu trúc 3D của một số đột biến trên gen *CYP11B1* được tìm thấy ở bệnh nhân tăng sản thượng thận bẩm sinh tại Việt Nam.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

Mô hình cấu trúc 3D của *CYP11B1* được sử dụng theo mô hình cấu trúc không gian *CYP11B1* từ phòng nghiên cứu của giáo sư Rita Bernhardt tại CHLB Đức (Belkina *et al.*, 2001). Các số liệu về đột biến trên gen *CYP11B1* ở người Việt Nam được thu thập từ nhóm nghiên cứu: p.A386V, p.R43Q (Lê Bắc Việt *et al.*, 2012), p.R51K, p.N152K, p.E147D (chưa công bố)

Phương pháp

Những thay đổi trên cấu trúc của *CYP11B1* được xây dựng bằng phần mềm spdbv (<http://www.expasy.org/spdbv/>) (Guex,

Pertsch, 1997). Các đột biến được tối thiểu hóa về mặt năng lượng nhờ thuật toán trong phần mềm spdbv. Các cấu trúc bị biến đổi sẽ được thể hiện rõ hơn bằng phần mềm ViewerLite.

KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

So sánh trình tự amino acid của CYP11B1

CYP11B1 và CYP11B2 là hai cytochrom P450 tham gia vào những bước cuối cùng trong quá trình tổng hợp Glucorticoid và Mineralcorticoid. Trong đó CYP11B1 mã hóa enzyme 11 β -hydroxylase xúc tác phần ứng chuyển hóa 11-deoxycortisol tạo cortisol còn CYP11B2 xúc tác cho quá trình chuyển hóa từ 11-deoxycorticosterone tạo ra aldosterone. Trong tách dòng và phân tích CYP11B1, White và các đồng sự đã phân lập một gene trao đổi chéo, và xác định được trình tự của CYP11B2 có tỷ lệ 95% giống so với CYP11B1 trong vùng mã hóa exon và 90% trong vùng không mã hóa intron (White et al., 1989). Để tìm hiểu về mối quan hệ giữa cấu trúc và chức năng của CYP11B1 đòi hỏi phải nghiên cứu về cấu trúc không gian 3D của enzyme này. Trình tự amino acid của CYP11B1 ở người được so sánh với trình tự CYP11B1 và CYP11B2 của bò, chuột, lợn để tìm ra những vùng cấu trúc quan trọng. Năm 2001, Belkina và cộng sự cũng thành công khi lần đầu tiên đưa ra được mô hình cấu trúc của 3D của CYP11B1 và CYP11B2. Trong nghiên cứu đó, nhóm tác giả dựa trên trình tự của P450 của vi khuẩn là CYP102, CYP108 để mô phỏng cấu trúc của CYP 11B ở người (Belkina et al., 2001).

Sau khi tiến hành so sánh trình tự các P450 trên phần mềm ClustalW2, kết quả thu được như sau:

	A-Helix	Al-Helix
hc11B1	-----MALRAKAEVCMVAVPWLSQLRAQALGTRAAARVPRTVLPEFAMPQRPGRNWR	51
hc11B2	-----MALRAKAEVCAVAPWLSLQRAALGTRAAARAPRTVLPFPEAMPQHPGNRWL	50
pc11B1	-----MATWAKAEAWIAGFWLALNRARTLGTAVLAPKGVLPFEAIPQFPGKXW	50
bc11B1	-----MALWAKARVMAGFWLSLHEARLLGTGAAAPKAVLPEAMPFCGKXW	50
rc11B1	-----MALRVTAADVWLARFWQCLHRTRALGTAKVAPKTLKPFEEAIPQYSRNKWL	50
hmC11B1	-----MTMALRVTTDVWLARFWQCLHRTRALGTATLAPKTLQFPEAIPQYSRNKWL	52
rc11B2	MGACDNDFIELHSRVTAADVWLARFWQCLHRTRALGTATLAPKTLKPFEEAIPQYSRNKWL	60
mC11B2	-----MALRVTAADVWLARFWQCLHRTRALGTATLAPKTLQFPEAIPQYSRNKWL	50

	C-Helix	C'-Helix	D-Helix
hc11B1	--MSLEPWVAYRQHGHKCGVFLNNGFEWRFNRLRLNPEVLSNAVQRFLPMVDVARDF	168	
hc11B2	--MILEPWVAYRQHGHKCGVFLNNGFEWRFNRLRLNPEVLSNAVQRFLPMVDVARDF	168	
pc11B1	--DVPGPWLAYRHLRQGHKCGVFLNNGFTNRLDRLQLNHEGVLSQLQAMQKFTPLVDGVARDF	168	
bc11B1	--MILEPWVAYRQARGHKCGVFLNNGFQWRDLRLNPEVLSNALQKXFTPLVDGVARDF	168	
rc11B1	--MPLEPWVARELRLRGGVFLNNGADWRFNRLQLNPNMLSPKAIVQSFVFDVVDVARDF	168	
hmC11B1	--MPLESWIVHRELRLRGLRGGVFLNNGPEWYFNRLQNLNPNVLSPKAVQKFPVPLVDGIARDF	170	
rc11B2	--MHLEPWVARELRLRGGVFLNNGAEWRFNRLKLNPNVLSPKAVQNEVPMVDEVARDF	178	
mC11B2	--MHLEPWVARELRLRGGVFLNNGFEWRLNRLNPNVLSPKAVQKFEVPMVMDVARDF	168	

	K-helix	SRS-4
hc11B1	ASISEHPQKATTELPLLRRAALKETLRLYPVGGFLERIVSSDLVLQNYHIPAGTLVRVFLY	408
hc11B2	ASISEHPQKATTELPLLRRAALKETLRLYPVGGFLERIVSSDLVLQNYHIPAGTLVQVFLY	408
pc11B1	ARISENPQKAI TELPLLRRAALKETLRLYPVGGFLDRCVTS DLVLQNYHIPAGTLVKVLLY	408
bc11B1	ARISENPQKAI TELPLLRRAALKETLRLYPVGGITLEREVSSDLVLQNYHIPAGTLVKVLLY	408
rc11B1	ASIVANPQKAMSDLP LLRAALKETLRLYPVGSFVERIVHSDLVLQNYHVPAGTFVITYLY	407
hmC11B1	ASIAANPQKAMSDLP LLRAALKETLRLYPVGTFLERILSSDLVLQNYHVPAGTFVNVNLY	409
rc11B2	ASIAANPQKAMSDLP LLRAALKETLRLYPVGGFLERILNSSLVLQNYHVPAGTLVLLLYL	418
mC11B2	ASIAANPQKAMSDLP LLRAALKETLRLYPVGGFLGRILSSDLVLQNYHVPAGTLVLLLYL	408

Hình 1: So sánh trình tự amino acid CYP11B1 và CYP11B2 của người, bò, chuột, lợn và bằng chương trình CLUSTALW 1. Phần gạch dưới trình tự là các helix. Vùng bôi vàng là vùng nhận biết cơ chất trong họ CYP2 (Gotoh, 1992). Điểm đột biến được đánh dấu đỏ

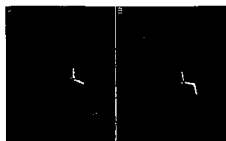
Dựa vào nghiên cứu của Belkina và nhóm nghiên cứu đã đưa ra trình tự các vùng helix của CYP11B1 và CYB11B2. Kết quả nghiên cứu cho thấy, trình tự các vùng helix, đặc biệt, 6 domain xoắn D, E, I, L, J và K và 15 vùng bảo thủ SCR_s (structurally conserved regions) của CYP11B1 ở người có độ tương đồng cao với CYP11B1 ở chuột, bò, lợn (Belkina et al., 2001). Điều này hoàn toàn phù hợp với những nghiên cứu trước đây về P450. Các xoắn α và phiến gấp nếp β có thể cuộn lại với nhau thành từng bó có hình dạng lặp thể đặc trưng cho từng loại protein. Cấu trúc không gian này có vai trò quyết định đối với hoạt tính và chức năng của protein. Từ sự tương đồng của các Cytochrom P450, chúng tôi xác định được các vùng nhận biết cơ chất SRS (substrate recognition site) của CYP11B1. Đây là vùng cấu trúc rất quan trọng của protein, đột biến xảy ra tại vùng cấu trúc này sẽ ảnh hưởng trực tiếp đến hoạt tính của protein.

Mô hình cấu trúc 3D của các đột biến điểm trên CYP11B1

Với trình tự CYP11B1 từ phòng nghiên cứu của Giáo sư Rita Bernhardt tại CHLB Đức (Belkina et al., 2001), mô hình cấu trúc không gian của CYP11B1 được thể hiện bằng phần mềm ViewerLite.



Hình 2: Mô hình cấu trúc không gian của CYP11B1. Protein gồm 6 đoạn xoắn α -helix kí hiệu D, E, I, L, J và K, dạng gấp nếp β -sheet (phần màu góc dưới bên phải). Nhân Heme nằm giữa α -helix L và α -helix I. Vị trí của 5 đột biến điểm (màu xanh): A386V, R51K, R43Q, N152K và E1447D được phát hiện ở mẫu bệnh nhân người Việt Nam.



Hình 3: Mô hình cấu trúc 3D của đột biến A386V. A: Mô hình bình thường; B: Mô hình đột biến

Tại đây, hình ảnh của các vùng cấu trúc được thể hiện một cách tổng quát trong không gian. Mô hình cũng thể hiện rõ vị trí của các đột biến quan tâm. Vị trí xảy ra đột biến cũng là một yếu tố quan trọng trong việc xác định ảnh hưởng đột biến đến hoạt tính của protein. Đột biến sẽ có ảnh hưởng lớn khi xảy ra tại các vùng cấu trúc quan trọng.

Đột biến A386V

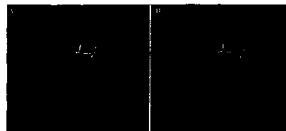
Đây là đột biến làm thay đổi acid amin Alanine thành Valine. Đột biến này xảy ra tại vị trí amino acid thứ 386 và không nằm trên vùng quan trọng nào của trình tự amino acid (Hình 1,2). Cả hai acid amin này đều là amino acid trung tính, không làm thay đổi liên kết hydro trong phân tử protein (Hình 3). Vì thế, có thể dự đoán rằng, đột biến này không làm ảnh hưởng đến hoạt tính protein. Những nghiên cứu của chúng tôi về sự biểu hiện của đột biến cho thấy, đột biến này hoàn toàn không làm ảnh hưởng đến hoạt tính enzyme 11 β -hydroxylase (Lê Bắc Việt *et al.*, 2012).

Đột biến A386V được phát hiện ở một bệnh nhân nam có biểu hiện của tăng sản thượng thận bẩm sinh do suy giảm 11 β -hydroxylase; dương vật lớn, da sạm, huyết áp cao. Tuy nhiên, bệnh nhân này ngoài đột biến A386V còn phát hiện thêm đột biến R43Q. Vì vậy, biểu hiện của bệnh tăng sản thượng thận có thể do đột biến R43Q gây nên.

Đột biến R43Q

Đột biến được phát hiện ở bệnh nhân có biểu hiện tăng sản thượng thận bẩm sinh. Xét nghiệm trình tự gen *CYP11B1* phát hiện được hai đột biến A386V và R43Q.

R43Q là đột biến làm thay đổi acid amin Arginine thành Glutamine. Đột biến này xảy ra tại vị trí amino acid 43. Đột biến làm biến đổi một acid amin mang tính kiềm, tích điện dương thành một axit amin trung tính, không tích điện, nên sẽ ảnh hưởng đến ái lực liên kết ion trong phân tử protein. Vì thế, có thể dự đoán rằng, đột biến này sẽ làm ảnh hưởng tới hoạt tính của protein. Dự đoán này khá phù hợp với các nghiên cứu trước đây về đột biến R43Q. Đột biến này xảy gen trên *CYP11B1* làm suy giảm khoảng 30%-50% của 11 β -hydroxylase (Silvia *et al.*, 2010)



Hình 4: Mô hình cấu trúc 3D của đột biến R43Q. A: Mô hình bình thường; B: Mô hình đột biến



Hình 5: Mô hình cấu trúc 3D của đột biến R51K. A: Mô hình bình thường; B: Mô hình đột biến

Đột biến R51K

Đây là đột biến làm thay đổi acid amin Agrinine thành Lysino, được phát hiện ở một bệnh nhân nữ. Bệnh nhân có bộ phận sinh dục ngoài bất thường: Na⁺ giảm, K⁺ và huyết áp tăng cao. Xét về tính chất acid – bazơ của amino acid, Agrinine và Lysine đều là acid amin mang tính kiềm, tích điện dương. Tuy nhiên, đột biến này xảy ra tại vị trí amino acid thứ 51, nằm trên vùng xoắn A1-helix, vùng bảo thủ của CYP11B1. Mô hình đột biến cấu trúc 3D cho thấy, đột biến này đã làm mất đi một liên kết hydro giữa Lysine và Glutamine ở vị trí acid amin 54 (Hình 4). Điều này có thể ảnh hưởng đến sự tương tác giữa các amino acid, có thể ảnh hưởng đến cấu trúc của phân tử protein. Vì thế, có thể dự đoán, đột biến này sẽ ảnh hưởng không ít tới hoạt tính của protein. Theo các nghiên cứu trước đây, đột biến R51K trên gen *CYP11B1* đã làm suy giảm từ 30 – 50% hoạt tính của enzyme 11 β -hydroxylase (Barr *et al.*, 2006).

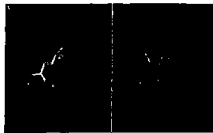
Đột biến N152K

Đây là đột biến làm thay đổi acid amin Asparagine thành Lysine, xảy ra tại vị trí amino acid thứ 152 trên chuỗi protein. Đột biến làm biến đổi một acid amin trung tính, không tích điện thành một acid amin mang tính kiềm tích điện dương. Sự thay đổi điện tích của acid amin sẽ làm biến đổi ái lực liên kết ion trong phân tử protein. Mô hình cấu trúc 3D của đột

biến cho thấy, đột biến làm mất hai cầu nối hydro giữa Lysine và Arginine ở vị trí p.156 (Hình 6). Sự thay đổi về liên kết hydro sẽ làm ảnh hưởng đến sự tương tác giữa các acid amin, làm ảnh hưởng đến mối liên kết chung trong phân tử protein, vì thế có thể ảnh hưởng đến hoạt tính của protein. Dự đoán trên có cơ sở thực tế vì biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân mang đột biến này rất điển hình của bệnh TSTTBS nguyên nhân do suy giảm 11 β -hydroxylase: bộ phận sinh dục ngoài của nữ nhưng có kiểu hình của nam, sạm da, hàm lượng Na⁺ tăng, K⁺ giảm, huyết áp tăng cao... Đây là một đột biến hoàn toàn mới chưa từng được phát hiện. Vì thế, chúng tôi đang tiếp tục tiến hành các nghiên cứu tiếp theo để xác định mức độ ảnh hưởng của đột biến lên hoạt tính của 11 β -hydroxylase.



Hình 6: Mô hình cấu trúc 3D của đột biến N152K. A: Mô hình bình thường. B: Mô hình đột biến.



Hình 7: Mô hình cấu trúc 3D của đột biến E147D. A: Mô hình bình thường. B: Mô hình đột biến.

Đột biến E147D

Đột biến này làm biến đổi Glutamic thành Aspartic tại vị trí acid amin 147. Đây là đột biến xảy ra trên vùng C'-helix. Kết quả mô hình đột biến cho thấy đột biến này đã làm mất đi một liên kết hydro giữa Aspartic và Arginine ở vị trí acid amin thứ 454, một liên kết hydro giữa Aspartic và Arginine ở vị trí acid amin 143 (Hình 7). Sự thay đổi về liên kết hydro có thể ảnh hưởng đến mối tương quan chung của các acid amin trong phân tử protein. Vì thế, đột biến này có khả năng ảnh hưởng không ít đến hoạt tính của protein. Dự đoán này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu về mức độ ảnh hưởng của đột biến cũng như biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân: Huyết áp tăng cao, chỉ số Na⁺ giảm, K⁺ tăng, 17 OHP giảm... Ngoài ra, theo Fish và cộng sự, đột biến này làm suy giảm đáng kể hàm lượng 11 β -hydroxylase, do đó, làm giảm việc chuyển đổi DOC tới corticosterone (Fisher *et al.*, 2000).

KẾT LUẬN

Chúng tôi đã mô phỏng được cấu trúc 3D protein CYP11B1. Bước đầu đã phân tích được 5 đột biến điểm R43Q, A386V, R51K, E147D, N152K trên CYP11B1 liên quan tới bệnh TSTTBS. Các nghiên cứu này nhằm hiểu sâu hơn về cấu trúc của CYP11B1 ở người, từ đó đưa ra hướng phân tích các đột biến dựa trên cấu trúc 3D của bệnh tăng sản thượng thận bẩm sinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Barr M, MacKenzie SM, Wilkinson DM, Holloway CD, Friel EC, Miller S, MacDonald T, Fraser R, Connell JM, Davies E (2006). Functional effects of genetic variants in the 11beta-hydroxylase (CYP11B1) gene. *Clin Endocrinol (Oxf)* 65(8): 816-825.
- Belkina NV, Lisurek M, Ivanov AS, Bernhardt R (2001) Modelling of three-dimensional structures of cytochromes P450 11B1 and 11B2. *J Inorg Biochem* 67(4): 197-207.
- Bhangoo A, Wilson R New MI, Ten S (2006) Donor splice mutation in the 11beta-hydroxylase (Cyp11B1) gene resulting in sex reversal: a case report and review of the literature. *J Pediatr Endocrinol Metab* 19(10): 1267-1282.
- Fisher A, Fraser R, Mc Connell J, Davies E (2000) Amino acid residue 147 of human aldosterone synthase and 11beta-hydroxylase plays a key role in 11beta-hydroxylation. *J Clin Endocrinol Metab* 85(3): 1261-1266.
- Gotoh O. (1992) Substrate recognition sites in cytochrome P450 family 2 (CYP2) proteins inferred from comparative analyses of amino acid and coding nucleotide sequences. *J Biol Chem* 267(1) 83-90.
- Guex N and Peitsch MC (1997) SWISS-MODEL and the Swiss-PdbViewer: an environment for comparative protein modeling *Electrophoresis* 18(15), 2714-2723
- Lê Bắc Việt, Trần Phương Thảo, Vũ Chí Dũng, Nguyễn Kim Thoa, Rita Bernhardt, Nguyễn Huy Hoàng (2012) Nhân dạng hai đột biến điểm (R43Q và A386V) trên gen CYP11B1 ở trẻ em Việt Nam có hiện tượng tăng sản thượng thận bẩm sinh. *Tạp chí công nghệ sinh học* đang in.
- Mestres J (2005) *Structure conservation in cytochromes P450* *Proteins* 58(3): 596-609
- Peterson JA, Graham SE (1998) A close family resemblance, the importance of structure in understanding cytochromes P450. *Structure* 6(9): 1079-1085
- Silva Parajas, Lourdes Lodi, Nicole Reisch, Vivek Dhir, Ian T. Rose, Rainer Hampel, Marcus Quinkler, Gerard S. Conway, Lidia Castro-Fajoo, David Araujo-Vilar, Manuel Pombro, Fernando Dominguez, Emma L. Williams, Trevor R. Cole, Jeremy M. Kirk, Eika Kaminsky-Gill Rumsby, Wiebke Arlt, Nils Krone. (2010) Functional Consequences of Seven Novel Mutations in the CYP11B1 Gene: Four Mutations Associated with Nonclassic and Three Mutations Causing Classic 11-Hydroxylase Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 95(2) 0000 - 0000
- White P C, Cumow K M, Pascoe L (1994) Disorders of steroid 11 beta-hydroxylase isozymes *Endocr Rev* 15(4): 421-438
- White P C, Mornet E, Dupont J, Vitek A (1989) Characterization of two genes encoding human steroid 11 beta-hydroxylase (P-450(11) beta). *J Biol Chem* 264(35): 20961-20967.

ANALYSIS OF THREE-DIMENSIONAL STRUCTURAL OF SOME MISSENSE MUTATIONS IN THE *CYP11B1* GENE ON CONGENITAL ADRENAL HYPERPLASIA PATIENTS IN VIETNAM

Nguyen Thu Hien, Nguyen Huy Hoang

Institute of Genome Research, Vietnam Academy of Science and Technology

SUMMARY

CYP11B1 is a cytochrome P450 in *CYP11B* group, primarily involved in the biosynthesis of adrenal steroids hormone. *CYP11B1* gene encoding 11 β -hydroxylase enzyme, catalyzes the conversion of deoxycortisol to create cortisol. The enzyme 11 β -hydroxylase deficiency leads to accumulation of intermediates precursor. Mutations in the *CYP11B1* gene directly affect the activity of the enzyme 11 β -hydroxylase. This is the second major cause about 5% of disease causing congenital adrenal hyperplasia, more than 90% of disease is caused by the enzyme 21-hydroxylase deficiency. The structure of P450 were researched but the 3D structure of mutations on *CYP11B1* gene have been still limited. In this study, the amino acid sequences of the *CYP11B1* of human were compared with the amino acid *CYP11B1*, *CYP11B2* of some other species to figure out the regions amino acid are important structures. We use advanced bioinformatics software are ViewerLite 4:10 and spdbv 4.2 to simulate the 3D structure of the *CYP11B1* protein. Then, analyzing the changes in the 3D structure of a mutation in the *CYP11B1* gene were found in patients of congenital adrenal hyperplasia in Vietnam. The results will contribute to the research direction mutations affect protein 3D structure related to reduced protein activity and clinical manifestations of the disease.

Keywords: Congenital adrenal hyperplasia, *CYP11B1* (11 β -hydroxylase), cytochrome P450, modelling 3D structure.