

Scheme 1. Differences in binding affinity between monomers in the PAH tetramer in patients 2 and 14 as predicted by the program FoldX 5.0. Interaction energy (ΔG) between monomers A to D calculated using combinations of the alleles 1 and 2 found in each patient. Differences between the energies of mutant and wild-type proteins ($\Delta\Delta G = \Delta G_{mut} - \Delta G_{wt}$) above 1.6 kcal/mol should significantly affect the stability of the tetramer.

Energies data.							$\Delta\Delta G = \Delta G_{mut} - \Delta G_{wt}$.						
Patient													
2.	p.Pro175Arg(;)Arg252Trp..												
	AB	AC	AD	BC	BD	CD	AB	AC	AD	BC	BD	CD	
1222	-46.523	-8.438	-0,343	-0,195	-5.842	-42.918	1222	-0,539	-0,974	-0,042	-0,029	-0,408	-1.357
2122	-48.010	-8.624	-0,315	-0,232	-6.116	-44.107	2122	-2.026	-1.161	-0,014	-0,065	-0,682	-2.547
2212	-46.876	-8.592	-0,348	-0,212	-5.923	-42.796	2212	-0,893	-1.129	-0,047	-0,045	-0,489	-1.236
2221	-47.380	-8.333	-0,338	-0,237	-5.774	-43.346	2221	-1.396	-0,87	-0,038	-0,07	-0,34	-1.786
1122	-46.739	-8.440	-0,344	-0,21	-5.838	-42.988	1122	-0,755	-0,977	-0,043	-0,043	-0,404	-1.427
1212	-46.614	-8.427	-0,342	-0,219	-5.894	-42.710	1212	-0,63	-0,963	-0,042	-0,053	-0,46	-1.150
1221	-46.645	-7.871	-0,341	-0,178	-6.111	-43.995	1221	-0,661	-0,408	-0,04	-0,012	-0,677	-2.434
2112	-47.519	-8.780	-0,362	-0,239	-6.136	-43.197	2112	-1.535	-1.317	-0,062	-0,073	-0,702	-1.636
2121	-48.936	-7.985	-0,367	-0,235	-6.210	-43.796	2121	-2.953	-0,521	-0,066	-0,069	-0,776	-2.235
2211	-48.755	-8.658	-0,348	-0,202	-6.321	-42.816	2211	-2.772	-1.194	-0,047	-0,035	-0,887	-1.256
1112	-46.739	-8.443	-0,321	-0,21	-6.126	-42.685	1112	-0,755	-0,979	-0,02	-0,043	-0,693	-1.124
1121	-46.739	-8.333	-0,341	-0,192	-5.766	-44.178	1121	-0,755	-0,869	-0,04	-0,026	-0,332	-2.617
2111	-47.738	-8.610	-0,339	-0,239	-5.926	-43.069	2111	-1.755	-1.147	-0,038	-0,073	-0,492	-1.509
1211	-46.885	-8.432	-0,351	-0,23	-5.903	-42.991	1211	-0,901	-0,968	-0,05	-0,064	-0,469	-1.431
1111	-46.739	-8.441	-0,344	-0,21	-5.889	-42.979	1111	-0,755	-0,977	-0,043	-0,043	-0,455	-1.419
2222	-47.882	-8.129	-0,344	-0,215	-5.888	-43.082	2222	-1.899	-0,665	-0,043	-0,048	-0,454	-1.521
WT	-45.984	-7.464	-0,301	-0,166	-5.434	-41.560							
Patient													
14	p.Arg158Gln(;)Gly352ValfsTer48												
	AB	AC	AD	BC	BD	CD	AB	AC	AD	BC	BD	CD	
1222	-13.504	-0,31	-0,036	0,006	-0,092	-4.755	1222	32.480	7.154	0,265	0,172	5.341	36.805
2122	-2.238	-0,531	0,001	-0,04	-0,038	-4.418	2122	43.746	6.933	0,302	0,126	5.396	37.142
2212	-4.133	0,09	0,004	-0,021	-0,111	-14.279	2212	41.851	7.554	0,305	0,145	5.322	27.281
2221	-4.133	-0,4	-0,038	0,001	-0,082	-14.457	2221	41.850	7.063	0,263	0,167	5.352	27.103

1122	-48.328	0,103	-0,012	-0,076	-0,024	-4.134	1122	-2.345	7.567	0,289	0,09	5.410	37.426
1212	-13.565	-8.426	-0,03	-0,072	-0,085	-14.433	1212	32.419	-0,962	0,271	0,094	5.348	27.128
1221	-13.613	-0,033	-0,552	0,004	-0,059	-7.001	1221	32.371	7.430	-0,251	0,171	5.375	34.560
2112	-3.617	0,014	0,001	-0,588	-0,092	-15.995	2112	42.367	7.477	0,302	-0,421	5.342	25.566
2121	-5.948	-0,49	-0,08	-0,066	-6.369	-5.050	2121	40.035	6.973	0,221	0,1	-0,935	36.511
2211	-4.133	0,367	-0,078	-0,012	0,028	-42.931	2211	41.851	7.830	0,223	0,155	5.461	-1.370
1112	-47.619	-8.370	-0,052	-0,282	-0,04	-13.244	1112	-1.635	-0,906	0,249	-0,116	5.394	28.316
1121	-46.868	0,105	-0,717	-0,083	-6.316	-4.620	1121	-0,884	7.568	-0,416	0,083	-0,882	36.940
2111	-8.452	-0,42	-0,083	-0,485	-6.255	-44.368	2111	37.532	7.044	0,218	-0,319	-0,821	-2.807
1211	-13.906	-8.124	-0,111	-0,096	-0,017	-43.545	1211	32.077	-0,661	0,19	0,07	5.417	-1.985
1111	-46.027	-8.071	-0,343	-0,236	-5.897	-44.191	1111	-0,043	-0,608	-0,042	-0,07	-0,463	-2.630
2222	-4.133	-0,35	-0,001	-0,001	-0,08	-3.595	2222	41.850	7.113	0,3	0,166	5.354	37.965
WT	-45.984	-7.464	-0,301	-0,166	-5.434	-41.560							

Note: Differences above 1.6 kcal/mol are considered significant. Differences above -1.6 kcal/mol suggests more affinity between subunits than the wild-type. Differences above +1.6 kcal/mol suggests less affinity between subunits than the WT.