

3',4',5,7-テトラヒドロキシフラボンとリゾチームの相互作用における pH 依存性

(北里大学) ○阿曾 哲也、原 琉斗、稲田 妙子

pH-dependence of the interaction between 3',4',5,7-tetrahydroxyflavone and lysozyme
(*Kitasato University*) ○ Tetsuya Aso, Ryuto Hara, Taeko Inada

3',4',5,7-Tetrahydroxyflavone (HF) is a natural product found in plants and is known for its antioxidant, acidichromism, and ion recognition properties. In this study, hen egg white lysozyme (HEWL, EC. 3.2.1.17) was selected as a model protein and the pH dependence of the interaction between HF and HEWL was investigated by fluorescence quenching experiments and docking simulations. The result of fluorescence quenching analysis in buffer solutions (pH=6~9) containing 3vol%DMSO shows that the static quenching constant decreases as the pH increases, and the binding constant of HEWL-HF complex is on the order of 10^4 M^{-1} regardless of pH. The docking simulation results show that HF is located near the enzyme-substrate binding site and interacts with Trp 63 (H-acceptor interaction), Trp108(H- π interaction) in a solution with pH of 7. In contrast, the ionic interaction between O^- at 4'-position of HF and Arg 61 in HEWL is suggested in alkaline solution.

Keywords : 3',4',5,7-Tetrahydroxyflavone; Fluorescence Quenching; Lysozyme; Docking Simulation

3',4',5,7-テトラヒドロキシフラボン (HF) は植物に含まれる天然化合物であり、酸化作用、アシデックロミズム特性、イオン認識能を有する。本研究では、モデルタンパク質としてニワトリ卵白リゾチーム EC. 3.2.1.17 (HEWL) を選び、HF との相互作用に対する pH 依存性の知見を得るために、蛍光消光実験およびドッキングシミュレーションを行った。

3vol%DMSO を含む緩衝液 (pH= 6~9) 中で、HF 添加による HEWL 中の Trp の蛍光消光実験の結果、中性条件下の方が静的消光の寄与が増大すること、HF と HEWL は 1:1 錯体を形成し、結合定数に pH の依存性はみられず、いずれの場合でも 10^4 M^{-1} のオーダーであることがわかった。また、ドッキングシミュレーションの結果、pH7 の溶液中では、HF は酵素基質結合サイト近傍に位置し、Trp63 (H-acceptor 相互作用), Trp108 (H- π 相互作用) との相互作用が示唆された。一方、pH8, および pH9 の溶液中では、HF は dianion form をとり、4' 位の O^- と HEWL の Arg61 との Ionic 相互作用が示唆された。