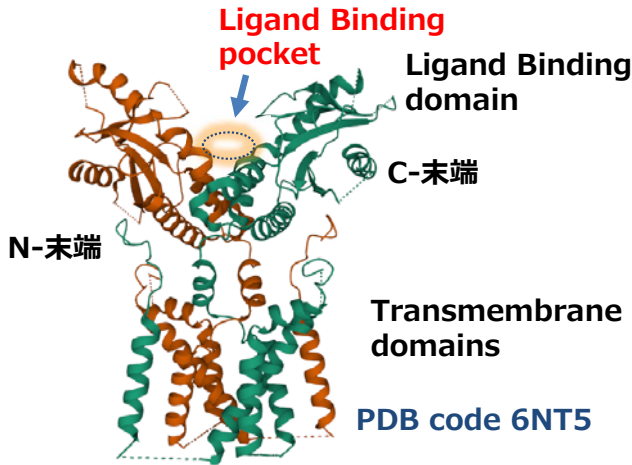


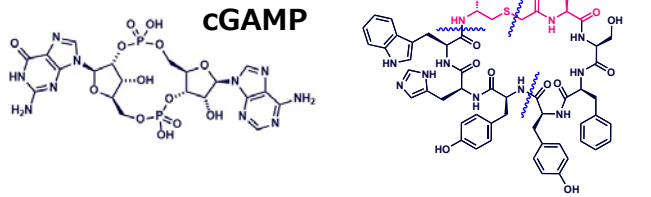
SPRを用いたタンパク質と環状ペプチドの相互作用評価

STINGタンパク質とセカンドメッセンジャーであるcGAMPの結合を阻害し、強い親和性を有する環状ペプチド (NNK-2) について、その相互作用様式をSPRを用いて明らかにした。SPRは他手法と比較して非常に少ない試料量で競合アッセイによる結合部位の推定、カインेटクス評価、熱力学評価が可能となる。

STINGタンパク質



Ligand

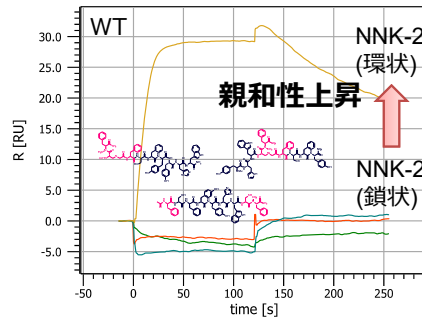


Transmembrane domains

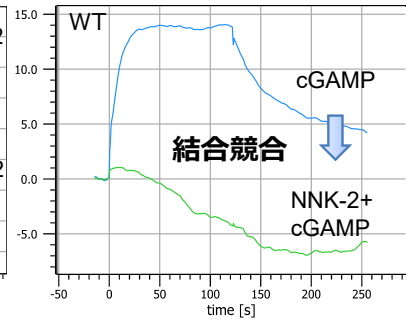
Ligand Binding domain

	1	136	153	340	379		
Human Variants							
WT		57.9%		R	G	R	R
HAQ		20.4%		H	A	R	Q
R232H		13.7%		R	G	H	R
AQ		5.2%		R	A	R	Q
R293Q		1.5%		R	G	R	Q

環状構造の影響

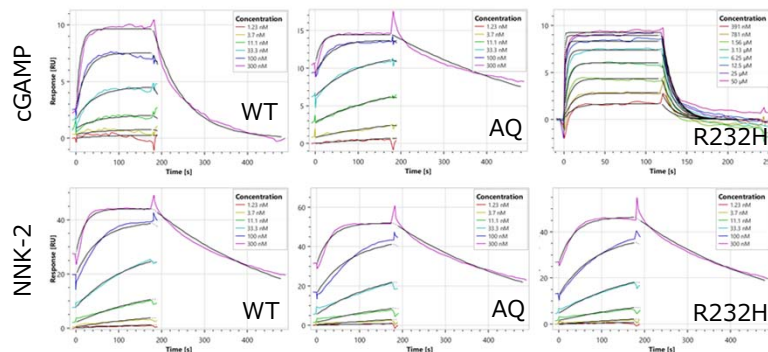


競合評価



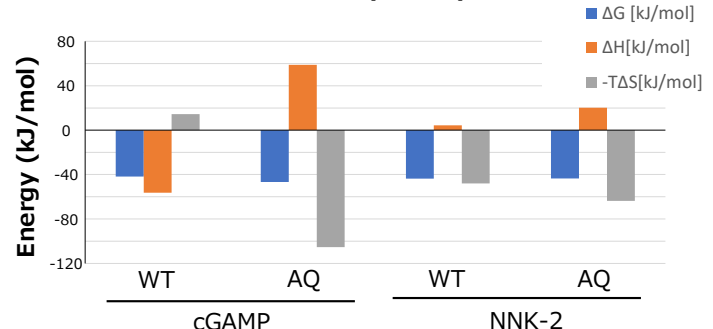
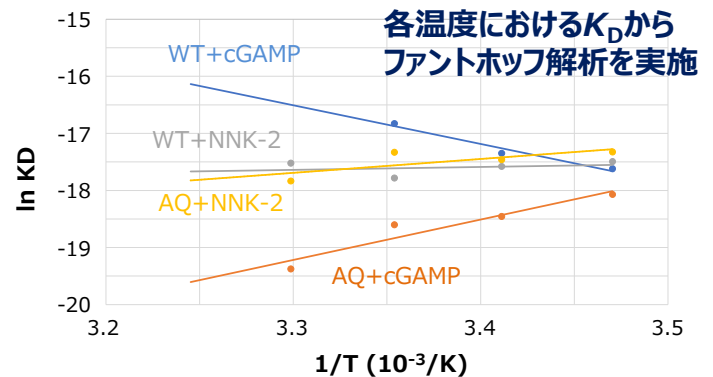
- NNK-2の環状構造がSTINGとの親和性に寄与
- cGAMPと同様のLigand Binding pocket付近で結合

Kinetic Evaluation



STING	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	K_D (nM)
cGAMP			
WT	2.87×10^5	1.41×10^{-2}	49.2
AQ	2.61×10^5	2.18×10^{-3}	8.35
R232H	3.82×10^4	7.19×10^{-2}	1880
NNK-2			
WT	1.57×10^5	2.97×10^{-3}	19.0
AQ	9.73×10^4	2.89×10^{-3}	29.7
R232H	8.80×10^4	2.99×10^{-3}	34.0

Thermal Dynamics



- NNK-2はcGAMPと異なり、STINGの変異体に対して結合の強さ (K_D) に大きな違いが見られない。
- Thermal DynamicsからcGAMPとNNK-2でSTINGに対する結合様式の違いが評価された。