

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2014 年 7 月 3 日(03.07.2014)



(10) 国際公開番号

WO 2014/104401 A1

- (51) 国際特許分類:
G01N 33/48 (2006.01) G01R 33/32 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/085330
- (22) 国際出願日: 2013 年 12 月 25 日(25.12.2013)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2012-281823 2012 年 12 月 25 日(25.12.2012) JP
- (71) 出願人: 味の素株式会社(AJINOMOTO CO., INC.)
[JP/JP]; 〒1048315 東京都中央区京橋一丁目 1 番 1 号 Tokyo (JP). 独立行政法人産業技術総合研究所(NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒1008921 東京都千代田区霞が関一丁目 3 番 1 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 小玉 優哉(KODAMA, Yuya); 〒2108681 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の素株式会社内 Kanagawa (JP). 竹内 恒(TAKEUCHI, Koh); 〒1350064 東京都江東区青梅 2-3-2 6 独立行政法人産業技術総合研究所内 Tokyo (JP). 高橋 栄夫(TAKAHASHI, Hideo); 〒1350064 東京都江東区青梅 2-3-2 6 独立行政法人産業技術総合研究所内 Tokyo (JP). 嶋田 一夫(SHI-

MADA, Ichio); 〒1350064 東京都江東区青梅 2-3-2 6 独立行政法人産業技術総合研究所内 Tokyo (JP).

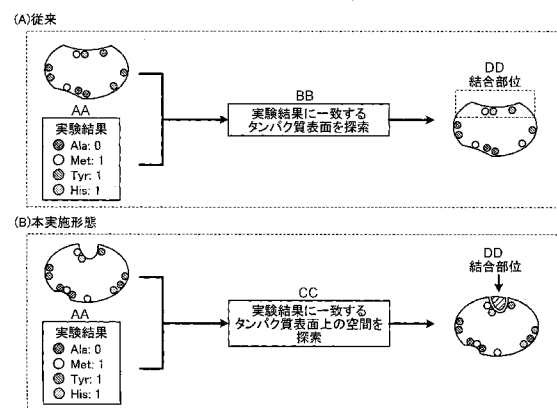
- (74) 代理人: 酒井 宏明, 外(SAKAI, Hiroaki et al.); 〒1006020 東京都千代田区霞が関三丁目 2 番 5 号 霞が関ビルディング 酒井国際特許事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI

[続葉有]

(54) Title: BINDING SITE IDENTIFICATION DEVICE, BINDING SITE IDENTIFICATION METHOD, AND BINDING SITE IDENTIFICATION PROGRAM

(54) 発明の名称: 結合部位同定装置、結合部位同定方法および結合部位同定プログラム

第1図



- (A)... PRIOR ART
(B)... EMBODIMENT OF PRESENT INVENTION
AA... EXPERIMENT RESULTS
BB... SEARCH FOR PROTEIN SURFACE CORRESPONDING TO EXPERIMENT RESULTS
CC... SEARCH FOR SPACE ON PROTEIN SURFACE CORRESPONDING TO EXPERIMENT RESULTS
DD... BINDING SITE

(57) Abstract: The present invention addresses the problem of providing a binding site identification device, a binding site identification method and a binding site identification program which are capable of identifying a suitable binding site, even when using a low molecular weight binding substance. According to one embodiment of the present invention, on the basis of the three-dimensional structure of a target substance, and experiment results pertaining to the numbers of substances of interest deemed to participate in binding, a location deemed to correspond to the experiment results with regard to the numbers of the substances of interest is found from a search space including the surface of the target substance, and a binding site is identified on the basis of the found location.

(57) 要約: 低分子のような結合物質であっても適切な結合部位を同定することができる結合部位同定装置、結合部位同定方法および結合部位同定プログラムを提供することを課題とする。本実施形態では、標的物質の立体構造と、注目物質について結合に関与すると見做されるものの数に関する実験結果とに基づいて、標的物質の表面を含む探索空間から、注目物質の数について実験結果と一致すると見做される箇所を探索し、探索された当該箇所に基づいて結合部

位を同定する。

WO 2014/104401 A1



(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：

結合部位同定装置、結合部位同定方法および結合部位同定プログラム

技術分野

[0001] 本発明は、結合部位同定装置、結合部位同定方法および結合部位同定プログラムに関するものである。

背景技術

[0002] 非特許文献1には、タンパク質にリガンドを結合させた際の当該タンパク質における当該リガンドの結合部位を同定する技術が開示されている。具体的には、非特許文献1には、タンパク質の立体構造と、予め設定された複数種類のアミノ酸残基について結合に関与すると見做されるものの数に関する実験結果とに基づいて、当該タンパク質の表面から、当該複数種類のアミノ酸残基の数について当該実験結果と一致する箇所を探索し、探索された当該箇所を結合部位として同定する技術が開示されている。

[0003] なお、その他の先行技術文献として特許文献1が挙げられる。特許文献1の段落0077には、結合ドメインの位置と配列を、既知のアミノ酸配列とNMR (Nuclear Magnetic Resonance) で同定されたアミノ酸を比較することで決定する、と記載されている。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：米国特許出願公開第2004/0185506号明細書

非特許文献

[0005] 非特許文献1：Kodama, Y. et al., "Rapid identification of protein-protein interfaces for the construction of a complex model based on multiple unassigned signals by using time-sha

ring NMR measurements.", J. Struct. Biol., 2011, 174, p. 434-442

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] ここで、リガンドとして低分子を対象とする場合、当該低分子はタンパク質のポケットの途中にあるアミノ酸残基と結合することが多々ある。そのため、必ずしも、当該低分子と結合するアミノ酸残基同士が当該タンパク質の表面に沿った距離において近い位置にある、とは限らない。

[0007] しかしながら、非特許文献1では、タンパク質の表面に沿って結合部位を探索する、つまりタンパク質の表面だけを探索範囲としているので、低分子を対象とする場合には適切な結合部位を同定することが困難である、という問題点があった。

[0008] 本発明は、上記問題点に鑑みてなされたもので、低分子のような結合物質であっても適切な結合部位を同定することができる結合部位同定装置、結合部位同定方法および結合部位同定プログラムを提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0009] 上述した課題を解決し、目的を達成するために、本発明にかかる結合部位同定装置は、標的物質における結合物質の結合部位を同定する、制御部を備えた結合部位同定装置であって、前記制御部は、前記標的物質の立体構造と、注目物質について前記結合に関与すると見做されるものの数に関する取得結果とに基づいて、前記標的物質の表面を含む探索空間から、前記注目物質の数について前記取得結果と一致すると見做される箇所を探索し、探索された当該箇所に基づいて前記結合部位を同定する同定手段を備えることを特徴とする。

[0010] また、本発明にかかる結合部位同定装置は、前記の結合部位同定装置において、前記探索空間の大きさは、前記結合物質の大きさに基づいて設定されたものであることを特徴とする。

[0011] また、本発明にかかる結合部位同定装置は、前記の結合部位同定装置にお

いて、前記結合物質の大きさは、前記結合物質の体積であることを特徴とする。

[0012] また、本発明にかかる結合部位同定装置は、前記の結合部位同定装置において、前記探索空間の大きさは、前記結合物質を包含する最小の球の半径に基づいて設定されたものであることを特徴とする。

[0013] また、本発明にかかる結合部位同定装置は、前記の結合部位同定装置において、前記探索空間の形状は、球、楕円体または多面体であることを特徴とする。

[0014] また、本発明にかかる結合部位同定装置は、前記の結合部位同定装置において、前記同定手段は、前記立体構造に基づいて探索点を設定する探索点設定手段と、前記探索点設定手段で設定された前記探索点を基準とする前記探索空間を設定する探索空間設定手段と、前記立体構造に基づいて、前記探索空間設定手段で設定された前記探索空間に存在する前記注目物質の数を計算する物質数計算手段と、前記物質数計算手段で得られた計算結果と前記取得結果との一致または不一致の度合いを評価する度合い評価手段と、前記度合い評価手段で評価された前記度合いが所定の条件を満たす前記探索点を決定する探索点決定手段と、前記探索点決定手段で決定された前記探索点に基づいて前記結合部位を同定する探索点基準同定手段と、をさらに備えることを特徴とする。

[0015] また、本発明にかかる結合部位同定装置は、前記の結合部位同定装置において、前記度合い評価手段は、前記計算結果に含まれる前記注目物質の数と前記取得結果に含まれる前記注目物質の数との差の絶対値を前記度合いとして計算し、前記所定の条件は、前記絶対値が所定値以下であるという条件であることを特徴とする。

[0016] また、本発明にかかる結合部位同定装置は、前記の結合部位同定装置において、前記取得結果に前記注目物質の数が複数パターン含まれている場合、前記度合い評価手段は、各々の前記パターンごとに前記絶対値を計算し、計算された前記絶対値の総和を前記度合いとして計算し、前記所定の条件は、

前記総和が所定値以下であるという条件であることを特徴とする。

[0017] また、本発明にかかる結合部位同定装置は、前記の結合部位同定装置において、前記探索点設定手段は、前記立体構造に基づいて、相互作用エネルギーの観点から、分子が結合する可能性のある点を検出し、検出された当該点を前記探索点として設定することを特徴とする。

[0018] また、本発明にかかる結合部位同定装置は、前記の結合部位同定装置において、前記同定手段は、前記探索点決定手段で決定された前記探索点から、前記結合物質の大きさに基づいて、ノイズと見做されるものを削除するノイズ削除手段をさらに備え、前記探索点基準同定手段は、前記ノイズ削除手段が実行された後に残った前記探索点に基づいて前記結合部位を同定することを特徴とする。

[0019] また、本発明にかかる結合部位同定装置は、前記の結合部位同定装置において、前記取得結果に含まれる、前記注目物質について前記結合に関与すると見做されるものの数は、前記標的物質に含まれる前記注目物質の数と前記結合部位に存在する前記注目物質の数との比を考慮して定義された閾値に基づいて計算されたものであることを特徴とする。

[0020] また、本発明にかかる結合部位同定装置は、前記の結合部位同定装置において、前記標的物質はタンパク質であり、前記結合物質は当該タンパク質と結合するものであり、前記注目物質は1種類または複数種類のアミノ酸であることを特徴とする。

[0021] また、本発明にかかる結合部位同定方法は、標的物質における結合物質の結合部位を同定する、制御部を備えた情報処理装置で実行される結合部位同定方法であって、前記制御部で実行される、前記標的物質の立体構造と、注目物質について前記結合に関与すると見做されるものの数に関する取得結果とに基づいて、前記標的物質の表面を含む探索空間から、前記注目物質の数について前記取得結果と一致すると見做される箇所を探索し、探索された当該箇所に基づいて前記結合部位を同定する同定ステップを含むことを特徴とする。

[0022] また、本発明にかかる結合部位同定プログラムは、標的物質における結合物質の結合部位を同定する、制御部を備えた情報処理装置に実行させるための結合部位同定プログラムであって、前記制御部に実行させるための、前記標的物質の立体構造と、注目物質について前記結合に関与すると見做されるものの数に関する取得結果とに基づいて、前記標的物質の表面を含む探索空間から、前記注目物質の数について前記取得結果と一致すると見做される箇所を探索し、探索された当該箇所に基づいて前記結合部位を同定する同定ステップを含むことを特徴とする。

[0023] また、本発明にかかる記録媒体は、一時的でないコンピュータ読み取り可能な記録媒体であって、情報処理装置に前記の結合部位同定方法を実行させるためのプログラム化された命令（前記の結合部位同定プログラム）を含むこと、を特徴とする。

[0024] また、本発明にかかる情報処理装置は、制御部を備えた情報処理装置（探索点設定装置）であって、前記制御部は、標的物質の立体構造に基づいて探索点を設定する探索点設定手段を備え、前記探索点設定手段で設定された探索点は、前記標的物質の表面を含む探索空間を設定するときに用いられるものであること、を特徴とする。

[0025] また、本発明にかかる情報処理装置は、制御部を備えた情報処理装置（探索空間設定装置）であって、前記制御部は、予め設定された探索点を基準とする、標的物質の表面を含む探索空間を設定する探索空間設定手段を備え、前記探索空間設定手段で設定された探索空間は、前記標的物質の立体構造に基づいて当該探索空間に存在する注目物質の数を計算するときに用いられるものであり、前記予め設定された探索点は、前記立体構造に基づいて設定されたものであること、を特徴とする。

[0026] また、本発明にかかる情報処理装置は、制御部を備えた情報処理装置（物質数計算装置）であって、前記制御部は、標的物質の立体構造に基づいて、予め設定された探索空間に存在する注目物質の数を計算する物質数計算手段を備え、前記物質数計算手段で得られた計算結果は、前記注目物質について

前記標的物質と結合物質との結合に関与すると見做されるものの数に関する取得結果と当該計算結果との一致または不一致の度合いを評価するときに用いられるものであり、前記予め設定された探索空間は、前記立体構造に基づいて設定された探索点を基準として設定された、前記標的物質の表面を含むものであること、を特徴とする。

[0027] また、本発明にかかる情報処理装置は、制御部を備えた情報処理装置（度合い評価装置）であって、前記制御部は、予め設定された計算結果と、注目物質について標的物質と結合物質との結合に関与すると見做されるものの数に関する取得結果との一致または不一致の度合いを評価する度合い評価手段を備え、前記度合い評価手段で評価された度合いは、前記標的物質の立体構造に基づいて設定された探索点から、当該度合いが所定の条件を満たす探索点を決定するときに用いられるものであり、前記予め設定された計算結果は、前記立体構造に基づいて設定された探索点を基準として設定された前記標的物質の表面を含む探索空間に存在する前記注目物質の数に関して前記立体構造に基づき計算されたものであること、を特徴とする。

[0028] また、本発明にかかる情報処理装置は、制御部を備えた情報処理装置（探索点決定装置）であって、前記制御部は、予め設定された探索点から、予め設定された度合いが所定の条件を満たす探索点を決定する探索点決定手段を備え、前記探索点決定手段で決定された探索点は、当該探索点に基づいて標的物質における結合物質の結合部位を同定するときに用いられるものであり、前記予め設定された探索点は、前記標的物質の立体構造に基づいて設定されたものであり、前記予め設定された度合いは、前記予め設定された探索点を基準として設定された前記標的物質の表面を含む探索空間に存在する注目物質の数に関して前記立体構造に基づき計算された計算結果と、前記注目物質について前記標的物質と前記結合物質との結合に関与すると見做されるものの数に関する取得結果との一致または不一致の度合いに関して評価されたものであること、を特徴とする。

[0029] また、本発明にかかる情報処理装置は、制御部を備えた情報処理装置（探

索点基準同定装置)であって、前記制御部は、予め設定された探索点に基づいて、標的物質における結合物質の結合部位を同定する探索点基準同定手段を備え、前記予め設定された探索点は、前記標的物質の立体構造に基づいて設定された探索点を基準として設定された前記標的物質の表面を含む探索空間に存在する注目物質の数に関して前記立体構造に基づき計算された計算結果と、前記注目物質について前記標的物質と前記結合物質との結合に関与すると見做されるものの数に関する取得結果との一致または不一致の度合いが所定の条件を満たすと決定されたものであること、を特徴とする。

[0030] また、本発明にかかる情報処理装置は、制御部を備えた情報処理装置（ノイズ削除装置）であって、前記制御部は、予め設定された探索点から、標的物質に結合する結合物質の大きさに基づいて、ノイズと見做されるものを削除するノイズ削除手段を備え、前記ノイズ削除手段が実行された後に残った前記探索点は、当該探索点に基づいて前記標的物質における前記結合物質の結合部位を同定するときに用いられるものであり、前記予め設定された探索点は、前記標的物質の立体構造に基づいて設定された探索点を基準として設定された前記標的物質の表面を含む探索空間に存在する注目物質の数に関して前記立体構造に基づき計算された計算結果と、前記注目物質について前記標的物質と前記結合物質との結合に関与すると見做されるものの数に関する取得結果との一致または不一致の度合いが所定の条件を満たすと決定されたものであること、を特徴とする。

[0031] また、本発明にかかる結合部位同定システムは、標的物質の立体構造に基づいて探索点を設定する探索点設定手段と、前記探索点設定手段で設定された前記探索点を基準とする、前記標的物質の表面を含む探索空間を設定する探索空間設定手段と、前記立体構造に基づいて、前記探索空間設定手段で設定された前記探索空間に存在する注目物質の数を計算する物質数計算手段と、前記物質数計算手段で得られた計算結果と、前記注目物質について前記標的物質と結合物質との結合に関与すると見做されるものの数に関する取得結果との一致または不一致の度合いを評価する度合い評価手段と、前記度合い

評価手段で評価された前記度合いが所定の条件を満たす前記探索点を決定する探索点決定手段と、前記探索点決定手段で決定された前記探索点に基づいて、前記標的物質における前記結合物質の結合部位を同定する探索点基準同定手段と、を備えたことを特徴とする。

発明の効果

- [0032] 本発明によれば、標的物質の立体構造と、注目物質について結合に関与すると見做されるものの数に関する取得結果とに基づいて、標的物質の表面を含む探索空間から、注目物質の数について取得結果と一致すると見做される箇所を探索し、探索された当該箇所に基づいて結合部位を同定する。これにより、低分子のような結合物質であっても適切な結合部位を同定することができるという効果を奏する。
- [0033] 本発明によれば、探索空間の大きさは、結合物質の大きさに基づいて設定されたものである。これにより、注目物質の数について取得結果と一致すると見做される箇所を効率よく探索することができるという効果を奏する。
- [0034] 本発明によれば、結合物質の大きさは、結合物質の体積である。これにより、注目物質の数について取得結果と一致すると見做される箇所を効率よく探索することができるという効果を奏する。
- [0035] 本発明によれば、探索空間の大きさは、結合物質を包含する最小の球の半径に基づいて設定されたものである。これにより、注目物質の数について取得結果と一致すると見做される箇所を効率よく探索することができるという効果を奏する。
- [0036] 本発明によれば、探索空間の形状は、球、楕円体または多面体である。これにより、注目物質の数について取得結果と一致すると見做される箇所を効率よく探索することができるという効果を奏する。
- [0037] 本発明によれば、立体構造に基づいて探索点を設定し、設定された探索点を基準とする探索空間を設定し、立体構造に基づいて、設定された探索空間に存在する注目物質の数を計算し、得られた計算結果と取得結果との一致または不一致の度合いを評価し、評価された度合いが所定の条件を満たす探索

点を決定し、決定された探索点に基づいて結合部位を同定する。これにより、適切な結合部位を、より確実に同定することができるという効果を奏する。

[0038] 本発明によれば、計算結果に含まれる注目物質の数と取得結果に含まれる注目物質の数との差の絶対値を度合いとして計算し、所定の条件は、絶対値が所定値以下であるという条件である。これにより、注目物質の数について取得結果と一致すると見做される探索点を、より確実に決定することができるという効果を奏する。

[0039] 本発明によれば、取得結果に注目物質の数が複数パターン含まれている場合、各々のパターンごとに絶対値を計算し、計算された絶対値の総和を度合いとして計算し、所定の条件は、総和が所定値以下であるという条件である。これにより、取得結果が、注目物質の数について曖昧さまたは不確実さが考慮されたものであっても、注目物質の数について取得結果と一致すると見做される探索点を決定することができるという効果を奏する。

[0040] 本発明によれば、立体構造に基づいて、相互作用エネルギーの観点から、分子が結合する可能性のある点を検出し、検出された当該点を探索点として設定する。これにより、注目物質の数について取得結果と一致すると見做される可能性のある探索点を設定することができるという効果を奏する。また、相互作用エネルギーの観点から探索点をある程度絞ることで、本発明の計算で考慮するグリッドの数を減らし、計算時間を短くすることができるという効果を奏する。また、相互作用エネルギーの観点を取り入れることで、計算精度を上げることができるという効果を奏する。

[0041] 本発明によれば、決定された探索点から、結合物質の大きさに基づいて、ノイズと見做されるものを削除し、ノイズ削除が実行された後に残った探索点に基づいて結合部位を同定する。これにより、適切な結合部位を、より確実に同定することができるという効果を奏する。

[0042] 本発明によれば、取得結果に含まれる、注目物質について結合に関与すると見做されるものの数は、標的物質に含まれる注目物質の数と結合部位に存

在する注目物質の数との比を考慮して定義された閾値に基づいて計算されたものである。これにより、より正確な取得結果に基づいて適切な結合部位を同定することができるという効果を奏する。

[0043] 本発明によれば、標的物質はタンパク質であり、結合物質は当該タンパク質と結合するものであり、注目物質は1種類または複数種類のアミノ酸である。これにより、アミノ酸に注目して、タンパク質における結合物質の適切な結合部位を同定することができるという効果を奏する。

図面の簡単な説明

[0044] [図1]図1は、本実施形態の概要を示す図である。

[図2]図2は、結合部位同定装置1の構成の一例を示すブロック図である。

[図3]図3は、結合部位同定装置1で行われるメイン処理の一例を示すフローチャートである。

[図4]図4は、MAPK14および阻害剤の立体構造の一例を示す図である。

[図5]図5は、阻害剤滴定実験の結果の一例を示す図である。

[図6]図6は、6種類のアミノ酸残基種に由来する各シグナルについての、規格化された化学シフト変化量の一例を示す図である。

[図7]図7は、加重平均値の分布の一例を示す図である。

[図8]図8は、探索点設定部10a1の処理結果の一例を示す図である。

[図9]図9は、度合い評価部10a4の処理結果の一例を示す図である。

[図10]図10は、探索点決定部10a5の処理結果の一例を示す図である。

[図11]図11は、ノイズ削除部10a6の処理結果の一例を示す図である。

[図12]図12は、探索点基準同定部10a7の処理結果の一例を示す図である。

[図13]図13は、図12に示されている結合部位の同定結果と、MAPK14と阻害剤の複合体共結晶構造と、を重ね合わせたものの一例を示す図である。

[図14]図14は、MAPK14と脂質の複合体構造の一例を示す図である。

[図15]図15は、デカン酸滴定実験の結果の一例を示す図である。

[図16]図16は、6種類のアミノ酸残基種に由来する各シグナルについての、規格化された化学シフト変化量の一例を示す図である。

[図17]図17は、探索点決定部10a5の処理結果の一例を示す図である。

[図18]図18は、ノイズ削除部10a6の処理結果および探索点基準同定部10a7の処理結果の一例を示す図である。

[図19]図19は、図18に示す結合部位の同定結果と、MAPK14と β -OGの複合体構造と、を重ね合わせたものの一例を示す図である。

[図20]図20は、デカン酸および β -OGの滴定実験および変異実験の結果の一例を示す図である。

[図21]図21は、結合部位同定装置1で用いられた、結合部位の同定結果が示されているapo構造と、Factor Xaと阻害剤の複合体共結晶構造と、を重ね合わされたものの一例を示す図である。

[図22]図22は、結合部位同定装置1で用いられた、結合部位の同定結果が示されているapo構造と、Galectin-9 N-domainとラクトースの複合体共結晶構造と、を重ね合わされたものの一例を示す図である。

[図23]図23は、結合部位同定装置1で用いられた、結合部位の同定結果が示されているapo構造と、Angiotensin I 変換酵素 N-domainと阻害剤の複合体共結晶構造と、を重ね合わされたものの一例を示す図である。

発明を実施するための形態

[0045] 以下に、本発明にかかる結合部位同定装置、結合部位同定方法および結合部位同定プログラムの実施形態を、図面に基づいて説明する。なお、本実施形態により本発明が限定されるものではない。特に、本実施形態では、標的物質をタンパク質とし、結合物質を当該タンパク質に特異的に結合するリガンドとし、注目物質をアミノ酸として説明する場合があるが、本発明はこの場合に限定されるものではない。例えば、標的物質を、核酸（DNAまたはRNA）または核酸-タンパク質複合体としてもよい。また、例えば、結合

物質を、タンパク質、核酸、またはこれらの複合体としてもよい。また、例えば、注目物質を、核酸（標的物質がDNAであればA、T、GまたはC、標的物質がRNAであればA、U、GまたはC）、または、標的物質が複合体の場合であれば上記核酸とアミノ酸の片方または両方としてもよい。なお、標的物質および結合物質のいずれにおいても、タンパク質は、補酵素と結合したものでもよい。

[0046] [1. 本実施形態の概要]

図1は、本実施形態の概要を示す図である。本実施形態は、従来のように、タンパク質の表面に沿って（換言すると、タンパク質の表面だけを探索範囲として）当該タンパク質におけるリガンドの結合部位を探索するのではなく、タンパク質の表面上の空間から当該タンパク質におけるリガンドの結合部位を探索する、ことが特徴である。

[0047] ここで、低分子をリガンドとする場合、当該低分子はタンパク質のポケットの途中にあるアミノ酸残基と結合することが多々ある。そのため、必ずしも、当該低分子と結合するアミノ酸残基同士が当該タンパク質の表面に沿った距離において近い位置にある、とは限らない。そこで、本実施形態では、タンパク質の表面上の空間から結合部位を探索することにより、低分子のような結合物質であっても適切な結合部位を同定することが可能となる。

[0048] なお、本実施形態では、(i) タンパク質の立体構造と、予め設定した複数種類のアミノ酸について結合に関与すると見做されるものの数に関する実験結果とを予め取得しておき、(ii) 立体構造の表面上からリガンドのサイズを考慮した点までの空間内に、各種類のアミノ酸残基の数について実験結果と一致する箇所を探索し、(iii) 探索された当該箇所に基づいて結合部位を同定してもよい。例えば、予め設定された複数種類のアミノ酸がAla、MetおよびTrpで、実験結果が、結合部位にAlaが5個、Metが3個およびTrpが2個存在するというデータを含むものである場合、本実施形態では、立体構造の表面上からリガンドのサイズを考慮した点までの空間内から、Alaが5個、Metが3個およびTrpが2個存在する箇

所を探索し、探索された当該箇所を結合部位として同定する。

[0049] また、本実施形態では、(i) 事前に、以下の(A)から(C)の工程を実施して実験結果を取得しておき、(ii) 立体構造周辺の任意の一点から球状に限定された空間（例えばリガンドの体積に依存する大きさの空間など）内に在る、予め設定した複数種類のアミノ酸残基の数を計算し（カウントし）、(iii) 実験結果に含まれている各種類のアミノ酸残基の数と計算された各種類のアミノ酸残基の数とに基づいて、一致度または不一致度に関する所定のスコアを計算し、(iv) 前記の(ii)および(iii)の処理を、立体構造周辺の各点（例えば、特定の間隔で存在する各点）に対し実行し、(v) 計算された各点でのスコアに基づいて結合部位を同定してもよい。

[0050] (A) NMR解析で得られるシグナルの数が、予め設定した各種類のアミノ酸残基ごとに識別できるように、各種類のアミノ酸ごとに用意された所定の同位体でタンパク質を標識（ラベル）する。なお、アミノ酸残基の種類は、例えば、結合部位の界面に存在する傾向を考慮して設定することが好ましい。

(B) リガンドの結合前後での化学シフト変化をNMR解析で検出する。

(C) 化学シフト変化が所定の閾値よりも大きいシグナルを、結合に関与するまたは結合部位に存在するアミノ酸残基に因るものであると判断して（見做して）、当該シグナルの個数を各種類のアミノ酸残基ごとに計算する。なお、NMRスペクトル上で観測されないシグナルがあった場合には、当該観測されないシグナルの化学シフト変化は検出せず、化学シフト変化が所定の閾値よりも大きいケースと小さいケースでのシグナルの個数を計算してもよい。このようにして実験結果にシグナルの個数について複数のケースを含めることで、NMR解析で得られる情報に曖昧さまたは不確実さが含まれる場合でも、適切な結合部位を探索することができる。

[0051] ここで、化学シフト変化が大きいシグナルの選び方について簡単に説明する。従来では、得られた全てのシグナルの化学シフト変化量の平均値を、化

学シフト変化が大きいシグナルを選ぶ際の閾値とすることが多かった。また、相互作用部位（結合部位）の界面に存在する傾向が、アミノ酸の種類により異なる（例えば、文献「J. Chem. Inf. Model. , 2007 , 47, 400」参照）。そこで、本実施形態では、一部のアミノ酸に由来するシグナルのみをNMR解析で観測する。

[0052] しかし、観測対象とするアミノ酸を変更すると、これに応じて閾値が変わるので、最終的に得られる結果（化学シフト変化が大きいシグナルの数）も変わる可能性がある。そこで、本実施形態では、結合部位への存在傾向を表す重みを用いた加重平均値を、化学シフト変化が大きいシグナルを選ぶ際の閾値とする。

[0053] 具体的には、まず、アミノ酸残基の種類ごとに、数式1で定義される重み w_j を計算する。数式1において、 j は、予め設定したアミノ酸残基の種類を識別するための文字である。数式1において、 $N_{a,ii}$ および N_j は、全タンパク質を母集団とする統計に従う特徴を有する仮想的なタンパク質に存在する、全アミノ酸残基の数およびアミノ酸残基 j の数である。 n_j は、前記仮想的なタンパク質のリガンドとの結合部位に存在するアミノ酸残基 j の数である。つまり、数式1において、「 $\sum n_j / N_{a,ii}$ 」の項は、結合部位に存在するアミノ酸残基の割合を表しており、「 n_j / N_j 」の項（本発明の「標的物質に含まれる注目物質の数と結合部位に存在する注目物質の数との比」に相当）は、アミノ酸残基 j について結合部位に存在する割合を表しており、「 $N_j / N_{a,ii}$ 」の項は、タンパク質中におけるアミノ酸残基 j の存在比率を表しており、「 $n_j / \sum n_j$ 」の項は、結合部位に存在する全てのアミノ酸残基のうちアミノ酸残基 j が占める割合を表している。

[数1]

$$w_j = \frac{\frac{\sum_j n_j}{N_{all}}}{\frac{n_j}{N_j}} = \frac{\frac{N_j}{N_{all}}}{\frac{n_j}{\sum_j n_j}} \dots (\text{数式 1})$$

[0054] つぎに、数式2で定義される加重平均値 $\Delta \omega_{threshold}$ （本発明の「標的物質に含まれる注目物質の数と結合部位に存在する注目物質の数との比を考慮して定義された閾値」に相当）を閾値とし、この閾値より化学シフト変化量が大きいシグナルを、結合に関与しているアミノ酸残基に由来するシグナルであるとする。数式2において、 j は、予め設定したアミノ酸残基の種類を識別するための文字である。数式2において、 w_j は、数式1で得られる、アミノ酸残基 j についての重みである。数式2において、 a_j および k_j は、それぞれ、アミノ酸残基 j に由来するシグナルの化学シフト変化量の和、およびアミノ酸残基 j の個数である。

[数2]

$$\Delta \omega_{threshold} = \frac{\sum_j w_j a_j}{\sum_j w_j k_j} \dots (\text{数式 2})$$

[0055] なお、式「 $\omega_t = m_w + C_{11g} S_w$ 」で定義される ω_t （本発明の「標的物質に含まれる注目物質の数と結合部位に存在する注目物質の数との比を考慮して定義された閾値」に相当）を閾値としてもよい。当該式において、 m_w は数式2で定義される加重平均値であり、 C_{11g} は所定の定数（例えば、 $1/2$ 、または $3/2$ など）であり、 S_w は加重標準偏差である。

[0056] 以上、本実施形態の概要について説明したが、本実施形態によれば、結合が弱い小さな分子であっても、結合部位の同定、および競合の有無などを迅

速に判断することができる。また、本実施形態によれば、例えば創薬などにおけるヒット化合物の結合部位についてのバリデーションを迅速に行うことができ、例えば創薬においては、タンパク質間相互作用（PPI）阻害剤のような、結合部位が容易に推測できない薬剤について、結合部位の同定が可能である。また、本実施形態によれば、アロステリック部位を迅速に同定することができる、例えば酵素阻害剤の結合部位は酵素の活性中心付近であることが多いが、アロステリックな作用による酵素阻害剤について、その結合部位を誤ることなく同定できる。また、アロステリックな作用による作動薬について、その結合部位を同定可能である。特に、本実施形態によれば、前記化合物などの結合部位を同定することで、計算化学による結合様式の予測と当該結合様式による合成への展開の指針を提供することができる。また、本実施形態によれば、基質結合部位を同定することで、変異箇所を選定することができる。特に、本実施形態によれば、構造情報に基づくタンパク質改変を、計算化学による結合様式の予測と併せて実現することが可能となる。

[0057] また、本実施形態によれば、立体構造としてモデル構造（例えばホモログの構造から構築されたものなど）を用いても、結合部位を同定することができる。また、本実施形態によれば、結合に関与しているアミノ酸残基の一部が予測（ほぼ決定）することができるので、結合部位が決まった後、ドッキングシミュレーションを行うことにより、精度の高い複合体モデル構造を構築することが可能となる。また、本実施形態によれば、実験結果はNMR解析で得られるものに限らず、他の手法で得られるものでもよい。

[0058] [2. 本実施形態の構成]

図2は、結合部位同定装置1の構成の一例を示す図である。結合部位同定装置1は、当該装置を統括的に制御するCPU等の制御部10と、ルータ等の通信装置および専用線等の有線または無線の通信回線を介して当該装置をネットワーク2（例えばインターネット、イントラネットまたはLAN（有線／無線の双方を含む）等）に通信可能に接続する通信インターフェース部11と、各種のデータベース、テーブルまたはファイルなどを格納する記憶

部12と、入力装置14および出力装置15に接続する入出力インターフェース部13と、を備え、これら各部は任意の通信路を介して通信可能に接続される。

[0059] 通信インターフェース部11は、結合部位同定装置1とネットワーク2との間における通信を媒介する。通信インターフェース部11は、他の端末と通信回線を介してデータを通信する機能を有する。

[0060] 入出力インターフェース部13は、入力装置14および出力装置15と接続される。出力装置15には、モニタ（家庭用テレビを含む）の他、スピーカまたはプリンタなどを用いることができる。入力装置14には、キーボード、マウスまたはマイクの他、マウスと協働してポインティングデバイス機能を実現するモニタを用いることができる。

[0061] 記憶部12は、ストレージ手段である。記憶部12として、例えば、RAM・ROM等のメモリ装置、ハードディスクのような固定ディスク装置、フレキシブルディスク、または光ディスク等を用いることができる。記憶部12には、OS（Operating System）と協働してCPUに命令を与えて各種処理を行うためのコンピュータプログラムが記録されている。記憶部12には、立体構造記憶部12a、実験結果記憶部12b、計算結果記憶部12c、評価結果記憶部12dおよび同定結果記憶部12eが含まれる。

[0062] 立体構造記憶部12aには、各種物質（例えばタンパク質など）の立体構造に関するデータを公開している外部データベース（例えばPDB（Protein Data Bank）など）からネットワーク2を介して取得された、標的物質（例えばタンパク質など）の立体構造が格納される。なお、立体構造には、物質を構成する各原子の3次元座標などが含まれる。また、立体構造は、標的物質単体に関するものでもよく、対象とするリガンド（本発明の結合物質に相当）以外の別の或るリガンドと標的物質の複合体に関するものでもよい。また、立体構造は、その全部または一部が計算化学的な手法によって予測されたモデル構造でもよい。また、立体構造は、標的物質の

ホモログの構造から構築されたモデル構造でもよい。

[0063] 実験結果記憶部 12b には、注目物質（例えば 1 種類または複数種類のアミノ酸など）について結合に関与すると見做されるものの数に関する実験結果（本発明の取得結果に相当）が格納される。ここで、実験結果には、例えば、注目物質の名称（種類）と、実験で得られた注目物質の数と、が含まれる。また、実験結果は、NMR 実験で得られたものが好ましい。また、実験結果に含まれる、注目物質について結合に関与すると見做されるものの数は、例えば、標的物質に含まれる注目物質の数と結合部位に存在する注目物質の数との比（例えば前記の数式 1 で定義される重み w_j など）を考慮して定義された閾値（例えば、前記の数式 2 で定義される加重平均値 $\Delta \omega_{\text{threshold}}$ または前記の式「 $\omega_i = m_w + C_{i,j} S_w$ 」で定義される ω_i など）に基づいて計算されたものでもよい。

[0064] 計算結果記憶部 12c には、後述する物質数計算部 10a3 で得られた、後述する探索空間設定部 10a2 で設定された探索空間に存在する注目物質の数に関する計算結果が格納される。ここで、計算結果には、例えば、探索空間または後述する探索点設定部 10a1 で設定された探索点を一意に識別するための識別番号と、注目物質の名称（種類）と、計算された注目物質の数と、が含まれる。なお、探索空間は、探索点設定部 10a1 で設定された探索点と関連付けられている。

[0065] 評価結果記憶部 12d には、後述する度合い評価部 10a4 で得られた、計算結果と実験結果との一致または不一致の度合いに関する評価結果が格納される。ここで、評価結果には、例えば、探索点を一意に識別するための識別番号と、一致または不一致の度合いに関する値と、が含まれる。

[0066] 同定結果記憶部 12e には、後述する同定部 10a（具体的には、後述する探索点決定部 10a5）で得られた、結合部位に関する同定結果が格納される。ここで、同定結果には、例えば、探索点決定部 10a5 で決定された探索点（具体的には、後述するノイズ削除部 10a6 でノイズと見做される探索点が削除された後に残った探索点）を一意に識別するための識別番号と

、探索点の3次元座標と、が含まれる。

[0067] 制御部10は、OS (Operating System) 等の制御プログラム・各種の処理手順等を規定したプログラム・所要データなどを格納するための内部メモリを有し、これらのプログラムに基づいて種々の情報処理を実行する。制御部10は、同定部10aおよび描画部10bを備える。同定部10aは、探索点設定部10a1、探索空間設定部10a2、物質数計算部10a3、度合い評価部10a4、探索点決定部10a5、ノイズ削除部10a6および探索点基準同定部10a7を備える。

[0068] 同定部10aは、立体構造記憶部12aに格納されている立体構造と実験結果記憶部12bに格納されている実験結果とに基づいて、標的物質の表面を含む探索空間から、注目物質の数について実験結果と一致すると見做される箇所を探索し、探索された当該箇所に基づいて結合部位を同定する。ここで、探索空間の大きさは、対象とするリガンドの大きさ（例えばリガンドの体積など）に基づいて設定されたもの、または対象とするリガンドを包含する最小の球の半径に基づいて設定されたものでもよい。また、探索空間の形状は、球、楕円体または多面体でもよい。

[0069] 探索点設定部10a1は、立体構造記憶部12aに格納されている立体構造に基づいて、3次元空間上の探索点（グリッド）（例えば、標的物質の表面上または標的物質の表面近傍（例えば、表面上の或る点との距離が例えば10 Å以下である点を含む3次元領域など）に在る探索点など）を設定する。探索点設定部10a1は、設定された探索点を、当該探索点の3次元座標と関連付ける。ここで、探索点設定部10a1は、立体構造に基づいて、相互作用エネルギーの観点から、分子（例えば疎水的または親水的な分子など）が結合する可能性のある点を検出し、検出された当該点を探索点として設定してもよい。具体的には、例えば、文献「Bioinformatics . . . , 2009, 25, 3185」に公開されているプログラムを用いて、分子が結合する可能性のある点を検出してもよい。また、探索点設定部10a1は、探索点を、特定の間隔（例えば0.5 Åなど）を空けて設定してもよ

い。

[0070] 具体的には、文献「Bioinformatics. , 2009, 25, 3185」に公開されているプログラムを、相互作用エネルギーを求める際のプローブをCME Tとし、相互作用エネルギーの観点から分子が結合する可能性のある点を検出する際の閾値を-8. 0として、実行してもよい。ここで、当該文献で公開されているプログラムは、E a s y M I F sとS i t e H o u n dの2つのプログラムからなる。

[0071] E a s y M I F sでは、タンパク質周囲にグリッドを設け、指定したプローブが存在した場合にどの程度のエネルギー的寄与が得られるかを、各グリッドについて計算する。ここで、後述する実施例では、プローブにCME T、グリッドの間隔に0. 5 Åを設定した。

[0072] S i t e H o u n dでは、プローブの存在により一定以上（域値は自分で指定）のエネルギー的寄与が見込まれるグリッドのみを残す。なお、グリッドのクラスタリングを行ってもよい。ここで、後述する実施例では、閾値に-8. 0、クラスタリングの際のリンクにa v e r a g e、カットオフに7. 8を設定した。なお、リンクとカットオフをどのように設定しても、得られる「分子が結合する可能性のある点」は変わらない。

[0073] 探索空間設定部10a2は、探索点設定部10a1で設定された探索点を基準とする探索空間を設定する。探索空間設定部10a2は、設定された探索空間を、探索点と関連付ける。ここで、探索空間設定部10a2は、探索空間の大きさを、対象とするリガンドの大きさ（例えばリガンドの体積など）に基づいて設定してもよく、また対象とするリガンドを包含する最小の球の半径に基づいて設定してもよい。また、探索空間設定部10a2は、探索空間の形状を、球、楕円体または多面体としてもよい。

[0074] 物質数計算部10a3は、立体構造記憶部12aに格納されている立体構造に基づいて、探索空間設定部10a2で設定された探索空間に存在する注目物質の数を計算する。物質数計算部10a3は、計算された注目物質の数を、探索空間または探索点と関連付けて計算結果記憶部12cに格納する。

- [0075] 度合い評価部 10a4 は、計算結果記憶部 12c に格納されている計算結果と実験結果記憶部 12b に格納されている実験結果との一致または不一致の度合いを評価する。度合い評価部 10a4 は、評価された度合いに関する値を、探索空間の基準とされた探索点と関連付けて評価結果記憶部 12d に格納する。ここで、度合い評価部 10a4 は、計算結果に含まれる注目物質の数と実験結果に含まれる注目物質の数との差の絶対値を度合いとして計算してもよい。また、実験結果に注目物質の数が複数パターン含まれている場合、度合い評価部 10a4 は、各々のパターンごとに絶対値を計算し、計算された絶対値の総和を度合いとして計算してもよい。
- [0076] 探索点決定部 10a5 は、評価結果記憶部 12d に格納されている評価結果に基づいて、度合い評価部 10a4 で評価された度合いが所定の条件を満たす探索点を決定する。探索点決定部 10a5 は、決定された探索点を、当該探索点の 3 次元座標と関連付けて同定結果記憶部 12e に格納する。ここで、度合い評価部 10a4 が前記の絶対値を度合いとして計算する場合には、所定の条件は当該絶対値が所定値以下であるという条件でもよい。また、度合い評価部 10a4 が前記の総和を度合いとして計算する場合には、所定の条件は当該総和が所定値以下であるという条件でもよい。
- [0077] ノイズ削除部 10a6 は、同定結果記憶部 12e に格納されている探索点から、対象とするリガンドの大きさ（例えばリガンドの体積など）に基づいて、ノイズと見做されるものを削除する。ここで、ノイズ削除部 10a6 は、例えば、対象とするリガンドの大きさに対して小さい探索点の集合（探索点の塊）を、ノイズと見做して同定結果記憶部 12e から削除してもよい。
- [0078] 探索点基準同定部 10a7 は、同定結果記憶部 12e に格納されている探索点に基づいて結合部位を同定する。ここで、探索点基準同定部 10a7 は、同定結果記憶部 12e に格納されている探索点で構成される 3 次元領域を、結合部位に相当する領域として同定してもよい。
- [0079] 描画部 10b は、同定部 10a に含まれている各処理部で得られた処理結果を、モニタ 15 に表示させる。描画部 10b は、例えば、同定部 10a に

含まれている各処理部で得られた処理結果が反映された、標的物質の立体構造または標的物質と対象とする結合物質の複合体構造を、モニタ 15 に表示させる。

[0080] [3. 本実施形態の処理]

図3は、結合部位同定装置1で行われるメイン処理の一例を示すフローチャートである。なお、本説明では、標的物質をタンパク質とし、結合物質を当該タンパク質と特異的に結合する低分子（例えば、分子量が例えば1,000以下の分子など（ただし、低分子と見做される分子は、この例示に限定されるものではない。））とし、注目物質を、低分子の結合部位に存在している傾向が高いことが知られている複数種類のアミノ酸とする。また、本説明では、実験結果記憶部12bに格納されている実験結果は、少なくとも1種類のアミノ酸についてその数を複数パターン（ケース）含むものであるとする。また、本説明では、実験結果記憶部12bに格納されている実験結果は、アミノ酸特異的な同位体ラベルに関する手法およびNMR解析によって得られた、各種類のアミノ酸について化学シフトの変化が所定の閾値（例えば、前記の数式2で定義される加重平均値 $\Delta\omega_{\text{threshold}}$ または前記の式「 $\omega_t = m_w + C_{ig} S_w$ 」で定義される ω_t など）に対して大きいシグナルの個数を含むものであるとする。

[0081] まず、探索点設定部10a1は、立体構造記憶部12aに格納されている立体構造に基づいて、3次元空間上のグリッド（格子点）を特定の間隔（例えば0.5 Åなど）を空けて複数設定し、設定された各グリッドを3次元座標と関連付ける（ステップSA1）。

[0082] つぎに、探索空間設定部10a2は、ステップSA1で設定された各グリッド対し探索空間を設定し、設定された各探索空間をグリッドと関連付ける（ステップSA2）。ここで、ステップSA2で設定される探索空間は、グリッドを中心とし、低分子を包含する最小の球（最小包含球）の半径に所定値（例えば4 Åなど）を足し合わせた値を半径とする球の内側の空間とする。

[0083] つぎに、物質数計算部 10a3 は、立体構造記憶部 12a に格納されている立体構造に基づいて、ステップ SA2 で設定された各探索空間に対して、探索空間に存在する各種類のアミノ酸の数を計算し、計算された各探索空間に対応する各種類のアミノ酸の数を、グリッドと関連付けて計算結果記憶部 12c に格納する（ステップ SA3）。ここで、ステップ SA3 では、溶媒露出度が 2% 以下であるアミノ酸は、計算対象から除外される。

[0084] つぎに、度合い評価部 10a4 は、計算結果記憶部 12c に格納されている計算結果に含まれる各種類のアミノ酸の数と実験結果記憶部 12b に格納されている実験結果に含まれる各種類のアミノ酸の数との差の絶対値を、当該実験結果に含まれている各ケースに対し計算し、計算された各ケースに対する絶対値の総和を計算し、計算された総和をグリッドと関連付けて評価結果記憶部 12d に格納し、そしてこれらの処理を、ステップ SA1 で設定された全てのグリッドに対し実行する（ステップ SA4）。具体的には、度合い評価部 10a4 は、計算結果と実験結果の不一致度を表す、数式 3 で定義される、グリッドが有する最終的なペナルティスコア S_{tot} を、各グリッドに対し計算し、計算されたペナルティスコア S_{tot} をグリッドと関連付けて評価結果記憶部 12d に格納する。なお、数式 3 において、 i はケースを識別するための識別番号であり、 a はアミノ酸残基種を識別するための文字である。また、数式 3 において、 S_i は、ケース i における、グリッドに対するペナルティスコアであり、 R_a は、計算結果に含まれている、グリッドの探索空間に存在するアミノ酸残基種 a の数であり、 D_a は、実験結果記憶部 12b に格納されている実験結果に含まれている、各種類のアミノ酸残基種 a の、化学シフト変化が大きいシグナルの数である。

[数3]

$$S_{tot} = \sum_i S_i = \sum_i \sum_a |R_a - D_a| \quad \dots(\text{数式 3})$$

[0085] ここで、数式 3 に基づくペナルティスコアの計算例について説明する。例えば、実験結果に「Met」の数が 1、Ala の数が 2、Phe の数が 0 また

は1」というデータが含まれているとし、また、或るグリッドに対する計算結果に「Metの数が0、Alaの数が2、Pheの数が0」というデータが含まれているとする。この場合、実験結果から、ケース1として「Metの数が1、Alaの数が2、Pheの数が0」が設定され、ケース2として「Metの数が1、Alaの数が2、Pheの数が1」が設定される。そして、ケース1におけるペナルティスコア S_1 の値は1と計算され、ケース2におけるペナルティスコア S_2 の値は2と計算される。そして、ペナルティスコア S_{tot} の値は、 S_1 の値である1と S_2 の値である2を足し合わせて、3と計算される。

[0086] つぎに、探索点決定部10a5は、評価結果記憶部12dに格納されている評価結果に基づいて、ステップSA4で計算された総和が所定値以下である条件を満たすグリッド（具体的には、ステップSA4で計算されたペナルティスコア S_{tot} の値が所定値以下であるという条件を満たすグリッド）を決定し、決定されたグリッドをその3次元座標と関連付けて同定結果記憶部12eに格納する（ステップSA5）。

[0087] つぎに、ノイズ削除部10a6は、同定結果記憶部12eに格納されているグリッドから、低分子の大きさ（例えば低分子の体積など）に対して小さい、グリッドの集合を、ノイズと見做して削除する（ステップSA6）。

[0088] つぎに、探索点基準同定部10a7は、同定結果記憶部12eに格納されているグリッドで構成される3次元領域を、タンパク質における低分子の結合部位に相当する領域として同定する（ステップSA7）。

[0089] [4. 本実施形態のまとめ、および他の実施形態]

以上、本実施形態によれば、タンパク質の立体構造と、複数種類のアミノ酸について結合に関与すると見做されるものの数に関する実験結果とに基づいて、タンパク質の表面を含む探索空間から、各種類のアミノ酸の数について実験結果と一致すると見做される箇所を探索し、探索された当該箇所に基づいて、タンパク質におけるリガンド（例えば低分子など）の結合部位を同定する。これにより、低分子のような結合物質であっても適切な結合部位を

同定することができる。

[0090] なお、本実施形態によれば、立体構造に基づいて探索点を設定し、設定された探索点を基準とする探索空間を設定し、立体構造に基づいて、設定された探索空間に存在する各種類のアミノ酸の数を計算し、得られた計算結果と実験結果との一致または不一致の度合いを評価し、評価された度合いが所定の条件を満たす探索点を決定し、決定された探索点に基づいてリガンドの結合部位を同定してもよい。これにより、適切な結合部位を、より確実に同定することができる。

[0091] ここで、本実施形態によれば、探索空間の大きさは、リガンドの大きさ（例えばリガンドの体積など）に基づいて設定されたもの、または結合物質を包含する最小の球の半径に基づいて設定されたものでもよく、さらに探索空間の形状は、球、楕円体または多面体でもよい。これにより、注目物質の数について実験結果と一致すると見做される箇所（探索点）を効率よく探索することができる。

[0092] また、本実施形態によれば、計算結果に含まれる各種類のアミノ酸の数と実験結果に含まれる各種類のアミノ酸の数との差の絶対値を度合いとして計算し、計算された絶対値が所定値以下であるという条件を満たす探索点を決定してもよい。これにより、各種類のアミノ酸の数について実験結果と一致すると見做される探索点を、より確実に決定することができる。また、本実施形態によれば、実験結果に各種類のアミノ酸の数が複数ケース含まれている場合、各々のケースごとに絶対値を計算し、計算された絶対値の総和を度合いとして計算し、計算された総和が所定値以下であるという条件を満たす探索点を決定してもよい。これにより、実験結果が、各種類のアミノ酸の数について曖昧さまたは不確実さが考慮されたものであっても、各種類のアミノ酸の数について実験結果と一致すると見做される探索点を決定することができる。

[0093] また、本実施形態によれば、立体構造に基づいて、相互作用エネルギーの観点から、分子が結合する可能性のある点を検出し、検出された当該点を探

索点として設定してもよい。これにより、各種類のアミノ酸の数について実験結果と一致すると見做される可能性のある探索点を設定することができる。また、相互作用エネルギーの観点から探索点をある程度絞ることで、本実施形態の計算で考慮するグリッドの数を減らし、計算時間を短くすることができる。また、相互作用エネルギーの観点を取り入れることで、計算精度を上げることができる。

[0094] また、本実施形態によれば、決定された探索点から、リガンドの大きさに基づいて、ノイズと見做されるものを削除し、ノイズ削除が実行された後に残った探索点に基づいて結合部位を同定してもよい。これにより、適切な結合部位を、より確実に同定することができる。

[0095] また、本実施形態によれば、実験結果に含まれる、各種類のアミノ酸について結合に関与すると見做されるものの数は、タンパク質に含まれる各種類のアミノ酸の数と結合部位に存在する各種類のアミノ酸の数との比（例えば前記の数式1で定義される重み w_i など）を考慮して定義された閾値（例えば、前記の数式2で定義される加重平均値 $\Delta \omega_{\text{threshold}}$ または前記の式「 $\omega_i = m_w + C_{i,i} S_w$ 」で定義される ω_i など）に基づいて計算されたものでもよい。これにより、より正確な実験結果に基づいて適切な結合部位を同定することができる。

[0096] さて、これまで本発明の実施形態について説明したが、本発明は、上述した実施形態以外にも、特許請求の範囲に記載した技術的思想の範囲内において種々の異なる実施形態にて実施されてよいものである。

[0097] また、実施形態において説明した各処理のうち、自動的に行われるものとして説明した処理の全部または一部を手動的に行うこともでき、あるいは、手動的に行われるものとして説明した処理の全部または一部を公知の方法で自動的に行うこともできる。

[0098] このほか、上記文献中や図面中で示した処理手順、制御手順、具体的名称、各処理の登録データや検索条件等のパラメータを含む情報、画面例、データベース構成については、特記する場合を除いて任意に変更することができる。

る。

[0099] また、結合部位同定装置 1 に関して、図示の各構成要素は機能概念的なものであり、必ずしも物理的に図示の如く構成されていることを要しない。

[0100] 例えば、結合部位同定装置 1 が備える処理機能、特に制御部 10 にて行われる各処理機能については、その全部または任意の一部を、CPU (Central Processing Unit) および当該 CPU にて解釈実行されるプログラムにて実現してもよく、また、ワイヤードロジックによるハードウェアとして実現してもよい。尚、プログラムは、情報処理装置に本発明にかかる結合部位同定方法を実行させるためのプログラム化された命令を含む一時的でないコンピュータ読み取り可能な記録媒体に記録されており、必要に応じて結合部位同定装置 1 に機械的に読み取られる。すなわち、ROM または HDD などの記憶部 12 などには、OS (Operating System) と協働して CPU に命令を与え、各種処理を行うためのコンピュータプログラムが記録されている。このコンピュータプログラムは、RAM にロードされることによって実行され、CPU と協働して制御部を構成する。

[0101] また、このコンピュータプログラムは、結合部位同定装置 1 に対して任意のネットワークを介して接続されたアプリケーションプログラムサーバに記憶されていてもよく、必要に応じてその全部または一部をダウンロードすることも可能である。

[0102] また、本発明にかかる結合部位同定プログラムを、一時的でないコンピュータ読み取り可能な記録媒体に格納してもよく、また、プログラム製品として構成することもできる。ここで、この「記録媒体」とは、メモリーカード、USB メモリ、SD カード、フレキシブルディスク、光磁気ディスク、ROM、EPROM、EEPROM、CD-ROM、MO、DVD、および、Blu-ray (登録商標) Disc 等の任意の「可搬用の物理媒体」を含むものとする。

[0103] また、「プログラム」とは、任意の言語または記述方法にて記述されたデ

ータ処理方法であり、ソースコードまたはバイナリコード等の形式を問わない。なお、「プログラム」は必ずしも単一的に構成されるものに限られず、複数のモジュールやライブラリとして分散構成されるものや、OS (Operating System) に代表される別個のプログラムと協働してその機能を達成するものをも含む。なお、実施形態に示した各装置において記録媒体を読み取るための具体的な構成および読み取り手順ならびに読み取り後のインストール手順等については、周知の構成や手順を用いることができる。

[0104] 記憶部12に格納される各種のデータベース等（立体構造記憶部12aに格納される立体構造、実験結果記憶部12bに格納される実験結果、計算結果記憶部12cに格納される計算結果、評価結果記憶部12dに格納される評価結果および同定結果記憶部12eに格納される同定結果など）は、RAM、ROM等のメモリ装置、ハードディスク等の固定ディスク装置、フレキシブルディスク、および、光ディスク等のストレージ手段であり、各種処理やウェブサイト提供に用いる各種のプログラム、テーブル、データベース、および、ウェブページ用ファイル等を格納する。

[0105] また、結合部位同定装置1は、既知のパーソナルコンピュータまたはワークステーション等の情報処理装置として構成してもよく、また、任意の周辺装置が接続された当該情報処理装置として構成してもよい。また、結合部位同定装置1は、当該情報処理装置に本発明の結合部位同定方法を実現させるソフトウェア（プログラムまたはデータ等を含む）を実装することにより実現してもよい。

[0106] 更に、装置の分散・統合の具体的形態は図示するものに限られず、その全部または一部を、各種の付加等に応じてまたは機能負荷に応じて、任意の単位で機能的または物理的に分散・統合して構成することができる。すなわち、上述した実施形態を任意に組み合わせて実施してもよく、実施形態を選択的に実施してもよい。

実施例 1

[0107] 結合部位同定装置1の実施可能性を検証した実施例1を、図4から図13を参照して説明する。

[0108] 図4は、MAPK14および阻害剤の立体構造の一例を示す図である。立体構造の画像作成には、DS Visualizer 2.5（アクセルリス株式会社）を用いた。実施例1では、MAPK14（MAP kinase p38 α ）を標的物質とし、その阻害剤である2-amino-3-benzyl-oxy pyridineを結合物質とし、6種類のアミノ酸（Met、Ala、His、Tyr、TrpおよびPhe）を注目物質とした。実施例1では、結合部位同定装置1に入力する、6種類のアミノ酸について結合に関与すると見做されるものの数に関する実験結果を、アミノ酸特異的な同位体ラベルに関する手法およびNMR解析で得た（例えば、文献「J. Struct. Biol., 2011, 174, p. 434-442」を参照）。実施例1では、結合部位同定装置1に入力するMAPK14の立体構造を、PDB（Protein Data Bank）から得た。なお、欠損している原子の座標は、Swiss-PdbViewer 4.0.1を用いて構築した。

[0109] 図5は、阻害剤滴定実験の結果の一例を示す図である。図6は、6種類のアミノ酸残基種に由来する各シグナルについての、文献「J. Struct. Biol., 2011, 174, 434」に記載されているように規格化された化学シフト変化量（ $\Delta\omega_{\text{RMS}}$ ）の一例を示す図であり、図中横線は、前記の式「 $\omega_t = m_w + C_{\text{lig}} S_w$ 」で表される閾値である。図7は、規格化された化学シフト変化量（ $\Delta\omega_{\text{RMS}}$ ）の分布の一例を示す図であり、 ω_t は前記の式「 $\omega_t = m_w + C_{\text{lig}} S_w$ 」で表される閾値である。阻害剤滴定実験により、3つのAla残基、1つのMet残基および1つのTyr残基で、化学シフトが有意に変化していることが観測され、一方、His残基、Trp残基およびPhe残基で、化学シフトが有意に変化していることは観測されなかった。ただし、His残基およびPhe残基のそれぞれで、阻害剤の添加前後のいずれにおいても、シグナルが1つ観測されなかった。そこで、観測され

なかった1つのシグナルが結合に関与する可能性を考慮して、結合に関与すると見做されるHis残基の数およびPhe残基の数として、それぞれ0または1という2つのケースを設定した。従って、全ての組合せを考慮し、4つのケース((His, Phe) = {(0, 0), (0, 1), (1, 0), (1, 1)})を設定した。

[0110] 以上、阻害剤滴定実験の結果、結合に関与すると見做されるアミノ酸残基の数は、Ala残基で3、Met残基で1、Tyr残基で1、His残基で0または1、Phe残基で0または1、そしてTrp残基で0であった。

[0111] 図8は、探索点設定部10a1の処理結果の一例を示す図である。探索点設定部10a1が、立体構造に基づいて、相互作用エネルギーの観点から、疎水的な分子が結合する可能性のある点を検出し、検出された当該点をグリッドとして設定した場合において、設定された当該グリッド(図8において紫色で示されている点)をMAPK14の立体構造と重ね合わせてモニタ15に表示した。

[0112] 図9は、度合い評価部10a4の処理結果の一例を示す図である。設定されたグリッドを、ペナルティスコア $S_{t,t}$ の値(換言すると一致度の高さ)に応じて色分けして、MAPK14の立体構造と重ね合わせてモニタ15に表示した。図9において、ペナルティスコア $S_{t,t}$ の値が低いグリッド(換言すると一致度が高いグリッド)は赤色で示され、ペナルティスコア $S_{t,t}$ の値が高くなるにつれて、グリッドの色が、オレンジ色、黄色、緑色の順に変化し、そしてペナルティスコア $S_{t,t}$ の値が高いグリッド(換言すると一致度が低いグリッド)は青色で示されている。

[0113] 図10は、探索点決定部10a5の処理結果の一例を示す図である。設定されたグリッドのうち、ペナルティスコア $S_{t,t}$ の値が低かった、主に赤色またはオレンジ色などで示されているグリッドを、MAPK14の立体構造と重ね合わせてモニタ15に表示した。

[0114] 図11は、ノイズ削除部10a6の処理結果の一例を示す図である。阻害剤の大きさに基づいてノイズであると判断されたグリッドの小さな塊が削除

された後のペナルティスコア $S_{t.o.t}$ の値が低かったグリッドを、MAPK14 の立体構造と重ね合わせてモニタ15に表示した。

- [0115] 図12は、探索点基準同定部10a7の処理結果の一例を示す図である。ノイズが削除された後に残ったグリッドの塊（図12において赤色で示されている領域）を、MAPK14の立体構造と重ね合わせてモニタ15に表示した。当該グリッドの塊は、結合部位（結合時に阻害剤が存在している空間）として同定された。ここで、各グリッドは探索空間の中心を示す点であり、結合部位として考えられる空間は当該グリッドの塊よりも広い範囲となるため、図12では、例として炭素原子を置いた塊に置き換えて、炭素原子をCPK表示し、その表面を赤色で示している。

- [0116] 図13は、図12に示されている結合部位の同定結果と、既知の、MAPK14と阻害剤の複合体共結晶構造と、を重ね合わせたものの一例を示す図である。図13において、複合体共結晶構造は緑色で示されている。結合部位同定装置1で同定された結合部位の空間は複合体共結晶構造で確認される結合部位の空間とほぼ同じであり、結合部位同定装置1はMAPK14における阻害剤の結合部位を適切に同定することができた。なお、結合部位同定装置1で同定された結合部位の位置が、複合体共結晶構造で確認される結合部位の位置から若干ずれているのは、結合に伴う構造変化があったことに因るものと考えられる。

実施例 2

- [0117] 結合部位同定装置1の実施可能性を検証した実施例2を、図14から図20を参照して説明する。

- [0118] 図14は、MAPK14と脂質（ β -OG）の複合体構造の一例を示す図である。MAPK14と脂質の複合体構造は既知であるが、MAPK14における脂肪酸の結合部位を明確に示した実験的証拠は得られていない。そこで、結合部位同定装置1を用いて、MAPK14における脂肪酸（デカン酸）の結合部位の同定を試みた。なお、実施例2では、MAPK14を標的物質とし、デカン酸を結合物質として用いた。また、実施例2では、6種類の

アミノ酸 (Met、Ala、His、Tyr、TrpおよびPhe) を注目物質として用いた。実施例2では、結合部位同定装置1に入力する、6種類のアミノ酸について結合に関与すると見做されるものの数に関する実験結果を、アミノ酸特異的な同位体ラベルに関する手法およびNMR解析で得た (例えば、文献「J. Struct. Biol., 2011, 174, p. 434-442」を参照)。実施例2では、結合部位同定装置1に入力するMAPK14の立体構造を、PDB (Protein Data Bank) から得た。なお、欠損している原子の座標は、Swiss-PdbViewer 4.0.1を用いて構築した。

- [0119] 図15は、デカン酸滴定実験の結果の一例を示す図である。図16は、6種類のアミノ酸残基種に由来する各シグナルについての、文献「J. Struct. Biol., 2011, 174, 434」に記載されているように規格化された化学シフト変化量 ($\Delta\omega_{\text{RMS}}$) の一例を示す図であり、図中横線は、前記の式「 $\omega_t = m_w + C_{ig} S_w$ 」で表される閾値である。デカン酸滴定実験により、1つのMet残基、1つのAla残基、1つのHis残基および1つのTrp残基で、化学シフトが有意に変化していることが観測され、一方、Tyr残基およびPhe残基で、化学シフトが有意に変化していることは観測されなかった。ただし、His残基およびPhe残基のそれぞれで、デカン酸の添加前後のいずれにおいても、シグナルが1つ観測されなかった。そこで、観測されなかった1つのシグナルが結合に関与する可能性を考慮して、結合に関与すると見做されるHis残基の数として1または2という2つのケースを設定し、結合に関与すると見做されるPhe残基の数として0または1という2つのケースを設定した。従って、全ての組合せを考慮し、4つのケース ((His, Phe) = {(1, 0), (1, 1), (2, 0), (2, 1)}) を設定した。

- [0120] 以上、デカン酸滴定実験の結果、結合に関与すると見做されるアミノ酸残基の数は、Ala残基で1、Met残基で1、Tyr残基で0、His残基で1または2、Phe残基で0または1、そしてTrp残基で1であった。

- [0121] 図17は、探索点決定部10a5の処理結果の一例を示す図である。設定されたグリッドのうち、ペナルティスコア $S_{t,t}$ の値が低かった、主に赤色またはオレンジ色などで示されているグリッドを、MAPK14の立体構造と重ね合わせてモニタ15に表示した。
- [0122] 図18は、ノイズ削除部10a6の処理結果および探索点基準同定部10a7の処理結果の一例を示す図である。デカン酸の大きさに基づいてノイズであると判断されたグリッドの小さな塊が削除された後のペナルティスコア $S_{t,t}$ の値が低かったグリッドを、MAPK14の立体構造と重ね合わせてモニタ15に表示した。ノイズが削除された後に残ったグリッドの塊（図18においてオレンジ色で示されている領域）は、結合部位（結合時にデカン酸が存在している空間）として同定された。
- [0123] 図19は、図18に示す結合部位の同定結果と、既知の、MAPK14と β -OGの複合体構造と、を重ね合わせたものの一例を示す図である。結合部位同定装置1で同定されたデカン酸の結合部位の空間は、複合体構造で確認される β -OGの結合部位の空間とほぼ同じであることが示された。
- [0124] 図20は、デカン酸および β -OGの滴定実験の結果の一例を示す図である。結合部位同定装置1で同定された結合部位が正しいことを、滴定実験および変異実験で確認した。まず、デカン酸および β -OGの滴定実験により、Trp残基由来のシグナルについて化学シフトの変化を調べたところ、デカン酸の添加により化学シフトが大きく変化したシグナルと、 β -OGの添加により化学シフトが大きく変化したシグナルは同じであった。変異実験により、デカン酸または β -OGの添加により化学シフトが大きく変化したシグナルは、197番目のTrp残基であることが判明した。従って、デカン酸の結合部位および β -OGの結合部位のどちらにも共通して197番目のTrp残基が存在する、つまりデカン酸の結合部位と β -OGの結合部位はほぼ同じであることが判明した。MAPK14と β -OGの複合体構造からも、197番目のTrp残基は β -OGの結合部位に存在することが明らかとなっている。よって、デカン酸の結合部位は、結合部位同定装置1で同定

された結合部位であることが確認された。

実施例 3

[0125] 結合部位同定装置 1 の実施可能性を検証した実施例 3 を、図 2 1 から図 2 3 を参照して説明する。立体構造の画像作成には、PyMOL 1. 5. 0. 3 (シュレーディンガー株式会社) を用いた。なお、実施例 3 では、既知のタンパク質-低分子複合体の結晶構造において、低分子の周囲 5 Å 以内に存在する注目物質の数を予め取得し、結合に関与すると見做されるものの数に関する取得結果とした。

[0126] 図 2 1 は、結合部位同定装置 1 を用いて同定された結合部位が示されている Factor Xa の apo 構造と、Factor Xa と阻害剤の既知の複合体共結晶構造と、が重ね合わされたものの一例を示す図である。なお、結合部位同定装置 1 で結合部位を同定するにあたり、Factor Xa を標的物質とし、阻害剤を結合物質とし、6 種類のアミノ酸 (Met、Ala、His、Tyr、Trp および Phe) を注目物質とした。図 2 1 において、apo 構造は灰色で示されており、複合体共結晶構造は緑色で示されている。結合部位同定装置 1 で同定された阻害剤の結合部位の空間 (図 2 1 において赤色で示されている空間) は、複合体共結晶構造で確認される阻害剤 (図 2 1 において青色で示されている) が存在する空間とほぼ同じであり、結合部位同定装置 1 は apo 構造から阻害剤の結合部位を適切に同定することができた。

[0127] 図 2 2 は、結合部位同定装置 1 を用いて同定された結合部位が示されている Galectin-9 N-domain の apo 構造と、Galectin-9 N-domain とラクトースの既知の複合体共結晶構造と、が重ね合わされたものの一例を示す図である。なお、結合部位同定装置 1 で結合部位を同定するにあたり、Galectin-9 N-domain を標的物質とし、ラクトースを結合物質とし、6 種類のアミノ酸 (Met、Ala、His、Tyr、Trp および Phe) を注目物質とした。図 2 2 において、apo 構造は灰色で示されており、複合体共結晶構造は緑色で示され

ている。結合部位同定装置1で同定されたラクトースの結合部位の空間（図22において赤色で示されている空間）は、複合体共結晶構造で確認されるラクトース（図22において青色で示されている）が存在する空間とほぼ同じであり、結合部位同定装置1はapo構造からラクトースの結合部位を適切に同定することができた。

[0128] 図23は、結合部位同定装置1を用いて同定された結合部位が示されているAngiotensin I変換酵素 N-domainのapo構造と、Angiotensin I変換酵素 N-domainと阻害剤の既知の複合体共結晶構造と、が重ね合わされたものの一例を示す図である。なお、結合部位同定装置1で結合部位を同定するにあたり、Angiotensin I変換酵素 N-domainを標的物質とし、阻害剤を結合物質とし、6種類のアミノ酸（Met、Ala、His、Tyr、TrpおよびPhe）を注目物質とした。図23において、apo構造は灰色で示されており、複合体共結晶構造は緑色で示されている。結合部位同定装置1で同定された阻害剤の結合部位の空間（図23において赤色で示されている空間）は、複合体共結晶構造で確認される阻害剤（図23において青色で示されている）が存在する空間とほぼ同じであり、結合部位同定装置1はapo構造から阻害剤の結合部位を適切に同定することができた。

産業上の利用可能性

[0129] 本発明は、産業上の多くの分野、特に創薬を含む分子設計やタンパク質改変などの分野で広く実施することができ、極めて有用である。

符号の説明

[0130] 1 結合部位同定装置

10 制御部

10a 同定部

10a1 探索点設定部

10a2 探索空間設定部

10a3 物質数計算部

- 1 0 a 4 度合い評価部
- 1 0 a 5 探索点決定部
- 1 0 a 6 ノイズ削除部
- 1 0 a 7 探索点基準同定部
- 1 0 b 描画部
- 1 1 通信インターフェース部
- 1 2 記憶部
 - 1 2 a 立体構造記憶部
 - 1 2 b 実験結果記憶部
 - 1 2 c 計算結果記憶部
 - 1 2 d 評価結果記憶部
 - 1 2 e 同定結果記憶部
- 1 3 入出力インターフェース部
- 1 4 入力装置
- 1 5 出力装置
- 2 ネットワーク

請求の範囲

- [請求項1] 標的物質における結合物質の結合部位を同定する、制御部を備えた結合部位同定装置であって、
前記制御部は、
前記標的物質の立体構造と、注目物質について前記結合に関与すると見做されるものの数に関する取得結果とに基づいて、前記標的物質の表面を含む探索空間から、前記注目物質の数について前記取得結果と一致すると見做される箇所を探索し、探索された当該箇所に基づいて前記結合部位を同定する同定手段を備えること
を特徴とする結合部位同定装置。
- [請求項2] 前記探索空間の大きさは、前記結合物質の大きさに基づいて設定されたものであること
を特徴とする請求項1に記載の結合部位同定装置。
- [請求項3] 前記結合物質の大きさは、前記結合物質の体積であること
を特徴とする請求項2に記載の結合部位同定装置。
- [請求項4] 前記探索空間の大きさは、前記結合物質を包含する最小の球の半径に基づいて設定されたものであること
を特徴とする請求項2に記載の結合部位同定装置。
- [請求項5] 前記探索空間の形状は、球、楕円体または多面体であること
を特徴とする請求項1から4のいずれか一つに記載の結合部位同定装置。
- [請求項6] 前記同定手段は、
前記立体構造に基づいて探索点を設定する探索点設定手段と、
前記探索点設定手段で設定された前記探索点を基準とする前記探索空間を設定する探索空間設定手段と、
前記立体構造に基づいて、前記探索空間設定手段で設定された前記探索空間に存在する前記注目物質の数を計算する物質数計算手段と、
前記物質数計算手段で得られた計算結果と前記取得結果との一致ま

たは不一致の度合いを評価する度合い評価手段と、

前記度合い評価手段で評価された前記度合いが所定の条件を満たす
前記探索点を決定する探索点決定手段と、

前記探索点決定手段で決定された前記探索点に基づいて前記結合部
位を同定する探索点基準同定手段と、

をさらに備えること

を特徴とする請求項 1 から 5 のいずれか一つに記載の結合部位同定
装置。

[請求項7] 前記度合い評価手段は、前記計算結果に含まれる前記注目物質の数
と前記取得結果に含まれる前記注目物質の数との差の絶対値を前記度
合いとして計算し、

前記所定の条件は、前記絶対値が所定値以下であるという条件であ
ること

を特徴とする請求項 6 に記載の結合部位同定装置。

[請求項8] 前記取得結果に前記注目物質の数が複数パターン含まれている場合
、前記度合い評価手段は、各々の前記パターンごとに前記絶対値を計
算し、計算された前記絶対値の総和を前記度合いとして計算し、

前記所定の条件は、前記総和が所定値以下であるという条件である
こと

を特徴とする請求項 7 に記載の結合部位同定装置。

[請求項9] 前記探索点設定手段は、前記立体構造に基づいて、相互作用エネル
ギの観点から、分子が結合する可能性のある点を検出し、検出され
た当該点を前記探索点として設定すること

を特徴とする請求項 6 から 8 のいずれか一つに記載の結合部位同定
装置。

[請求項10] 前記同定手段は、前記探索点決定手段で決定された前記探索点から
、前記結合物質の大きさに基づいて、ノイズと見做されるものを削除
するノイズ削除手段をさらに備え、

前記探索点基準同定手段は、前記ノイズ削除手段が実行された後に残った前記探索点に基づいて前記結合部位を同定すること

を特徴とする請求項 6 から 9 のいずれか一つに記載の結合部位同定装置。

[請求項11] 前記取得結果に含まれる、前記注目物質について前記結合に関与すると見做されるものの数は、前記標的物質に含まれる前記注目物質の数と前記結合部位に存在する前記注目物質の数との比を考慮して定義された閾値に基づいて計算されたものであること

を特徴とする請求項 1 から 10 のいずれか一つに記載の結合部位同定装置。

[請求項12] 前記標的物質はタンパク質であり、前記結合物質は当該タンパク質と結合するものであり、前記注目物質は 1 種類または複数種類のアミノ酸であること

を特徴とする請求項 1 から 11 のいずれか一つに記載の結合部位同定装置。

[請求項13] 標的物質における結合物質の結合部位を同定する、制御部を備えた情報処理装置で実行される結合部位同定方法であって、

前記制御部で実行される、

前記標的物質の立体構造と、注目物質について前記結合に関与すると見做されるものの数に関する取得結果とに基づいて、前記標的物質の表面を含む探索空間から、前記注目物質の数について前記取得結果と一致すると見做される箇所を探索し、探索された当該箇所に基づいて前記結合部位を同定する同定ステップを含むこと

を特徴とする結合部位同定方法。

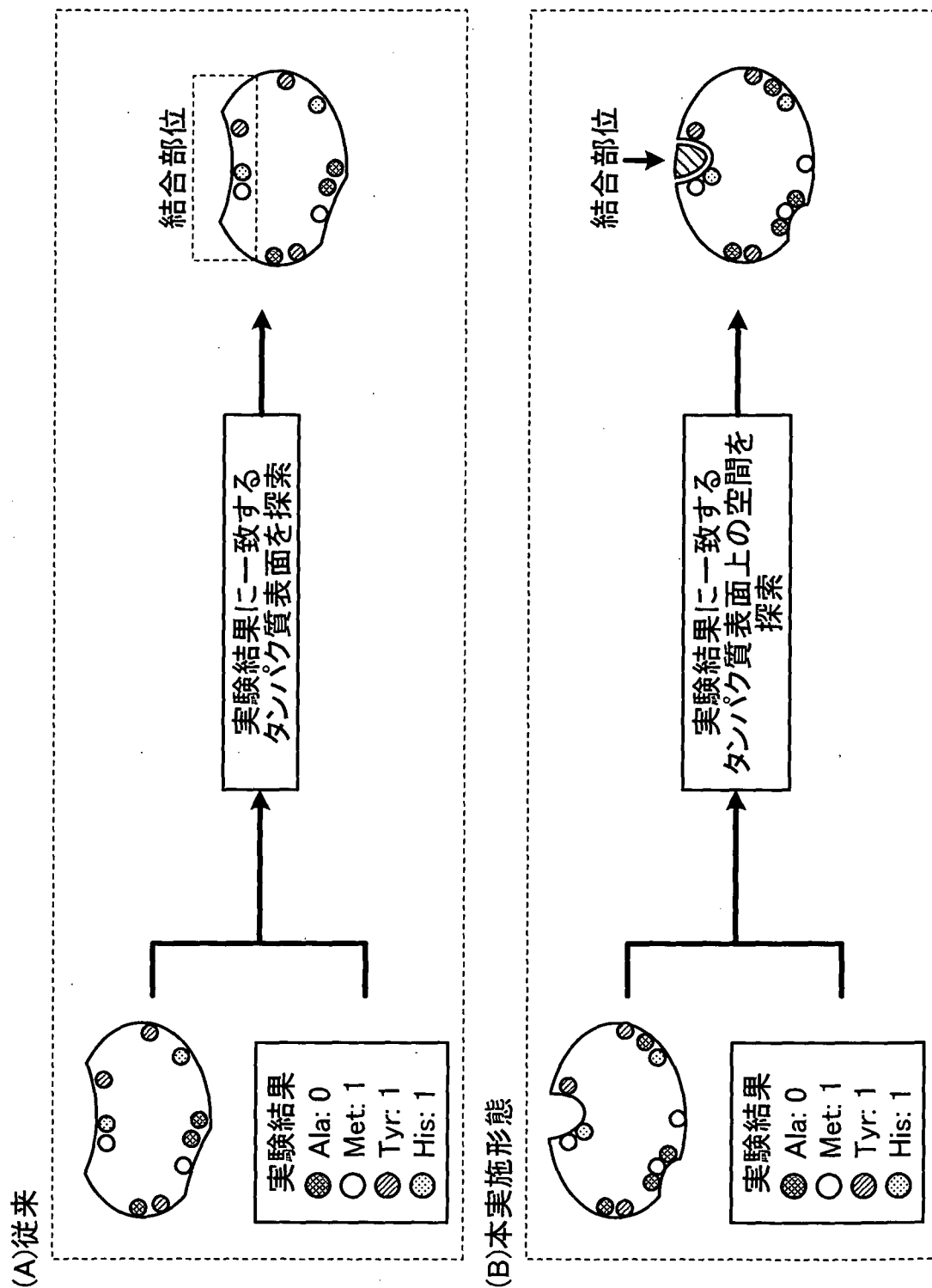
[請求項14] 標的物質における結合物質の結合部位を同定する、制御部を備えた情報処理装置に実行させるための結合部位同定プログラムであって、

前記制御部に実行させるための、

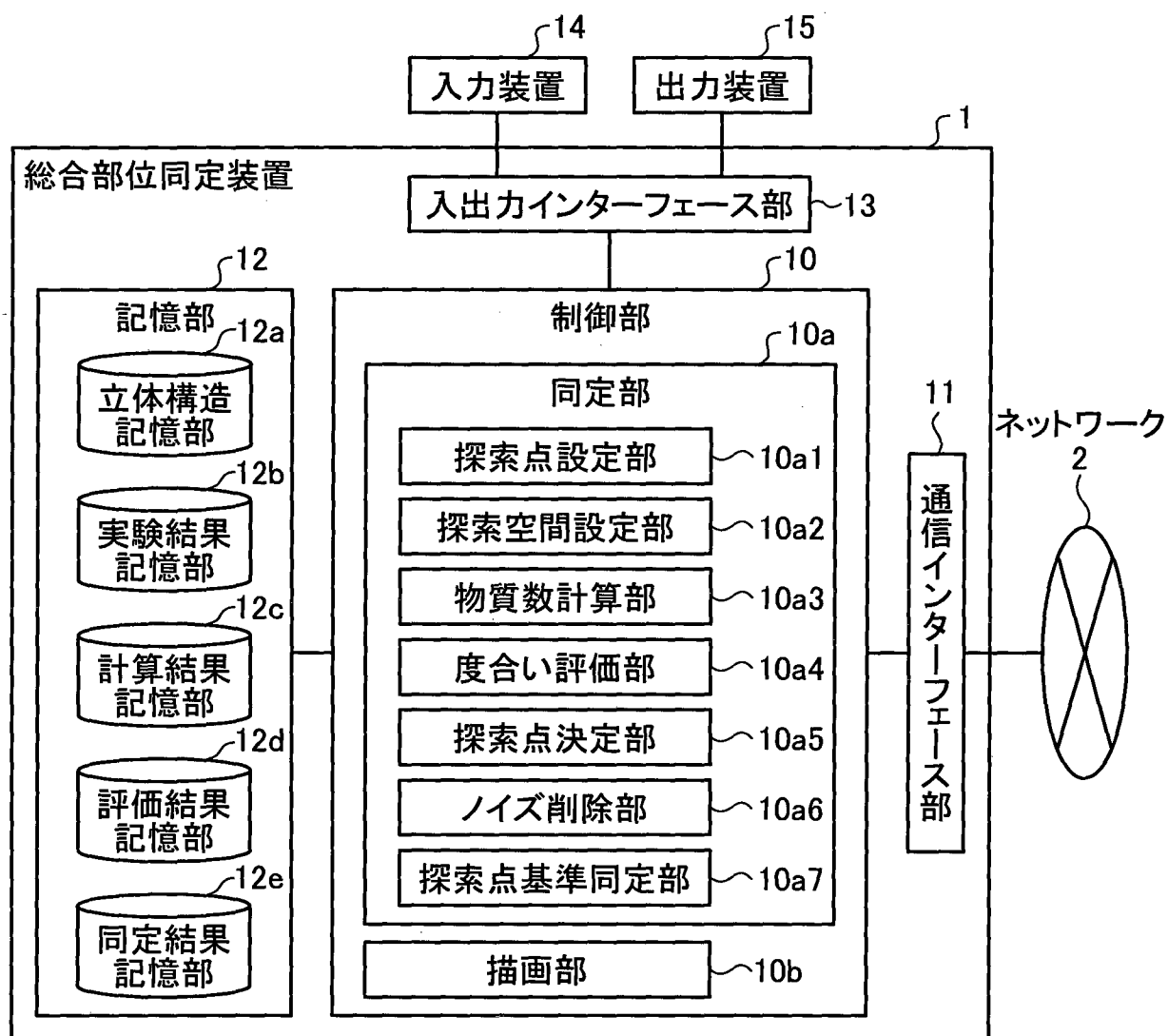
前記標的物質の立体構造と、注目物質について前記結合に関与する

と見做されるものの数に関する取得結果とに基づいて、前記標的物質の表面を含む探索空間から、前記注目物質の数について前記取得結果と一致すると見做される箇所を探索し、探索された当該箇所に基づいて前記結合部位を同定する同定ステップを含むことを特徴とする結合部位同定プログラム。

第1図

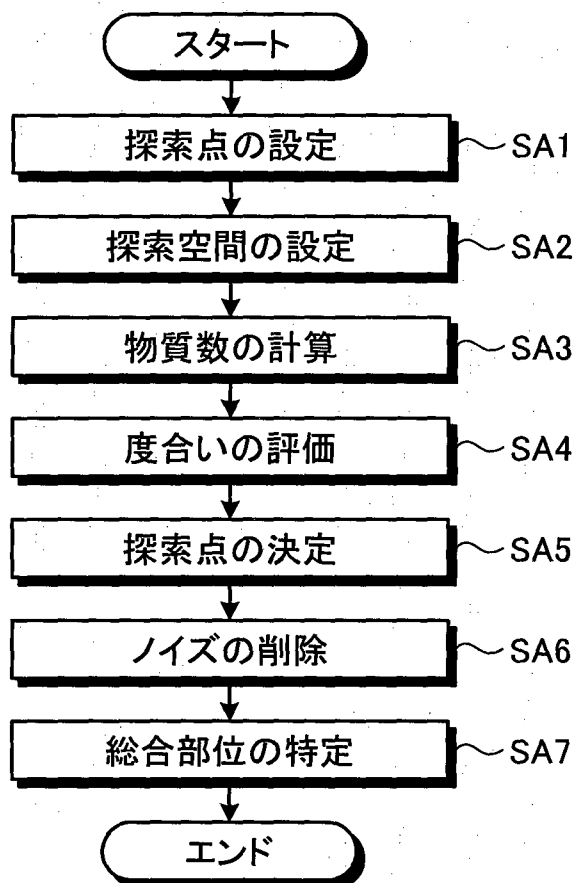


第2図



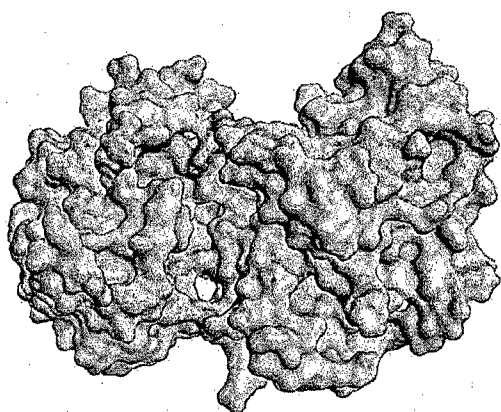
3/15

第3図



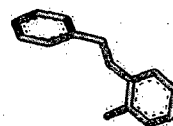
第4図

MAPK14



(PDB ID: 1R39)

2-amino-3-benzyl-oxypyridine
(MAPK14の阻害剤)

 $IC_{50} = 1.3 \text{ mM}$ Mw: 200.24

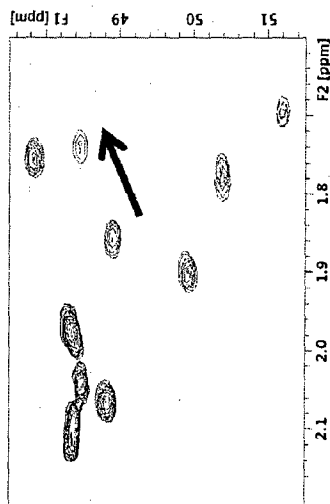
4/15

第5図

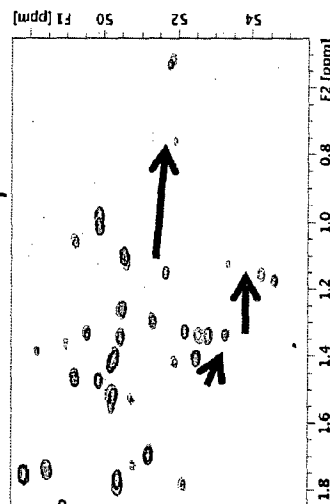
黒/青: 添加前
赤/紫: 添加後

Met	1	Ala	3	His	0 or 1
Tyr	1	Trp	0	Phe	0 or 1

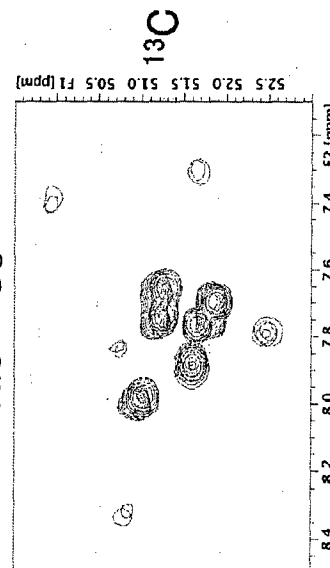
Met- $^{13}\text{C}\epsilon$



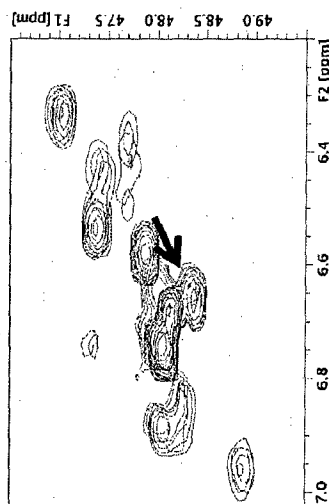
Ala- $^{13}\text{C}\beta$



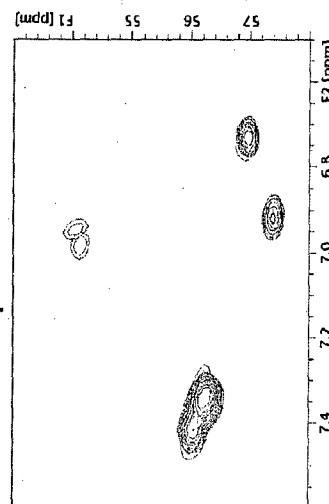
His- $^{13}\text{C}\epsilon$



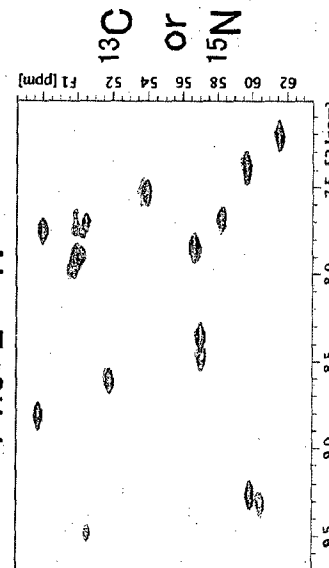
Tyr- $^{13}\text{C}\epsilon$



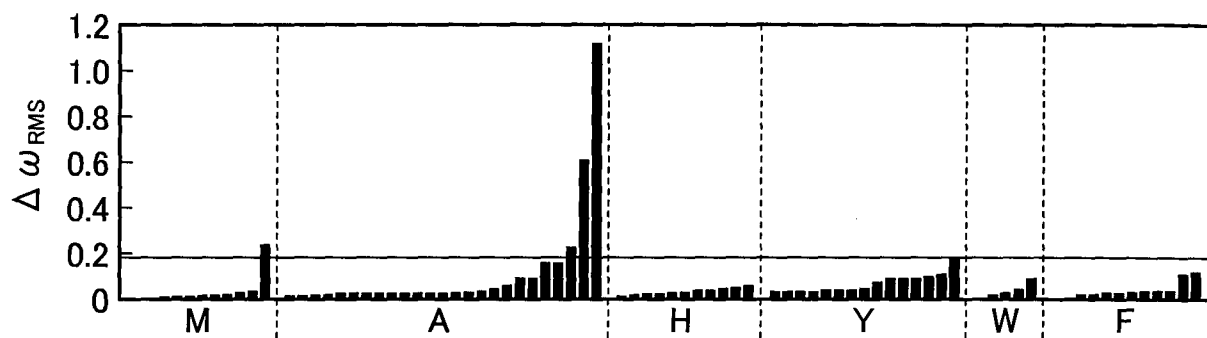
Trp- $^{13}\text{C}\delta$



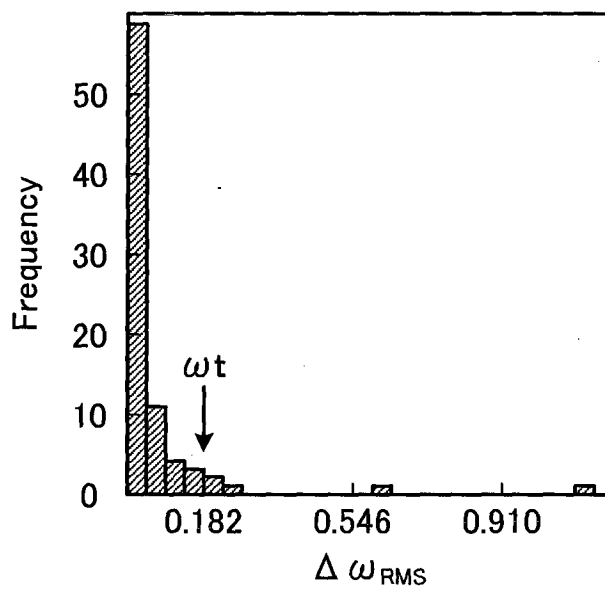
Phe-2- ^{15}N



第6図



第7図



6/15

第8図



第9図



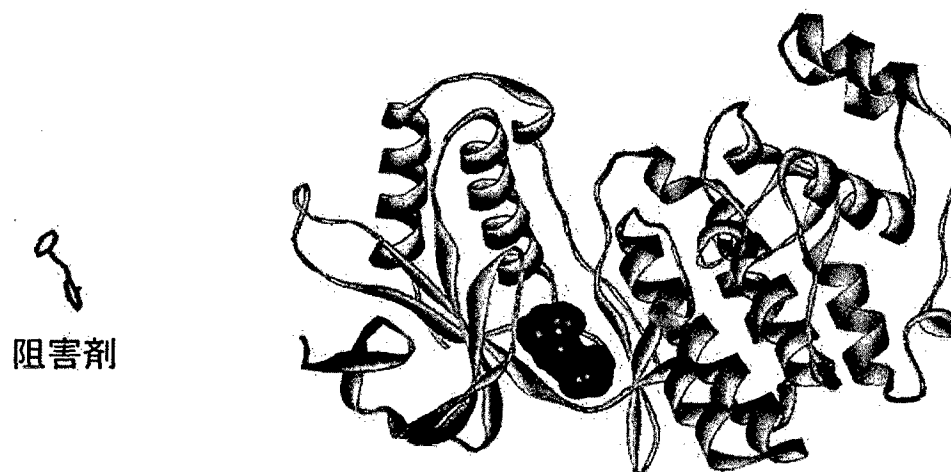
第10図



第11図



第12図

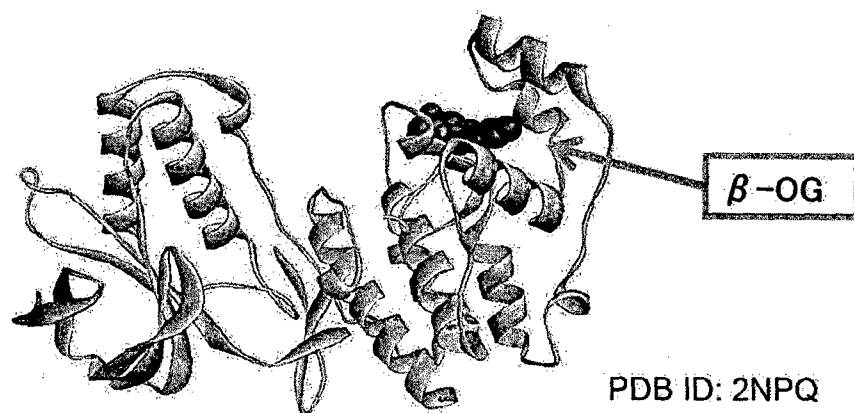


第13図



阻害剤との共結晶構造(PDB ID: 1W7H)

第14図

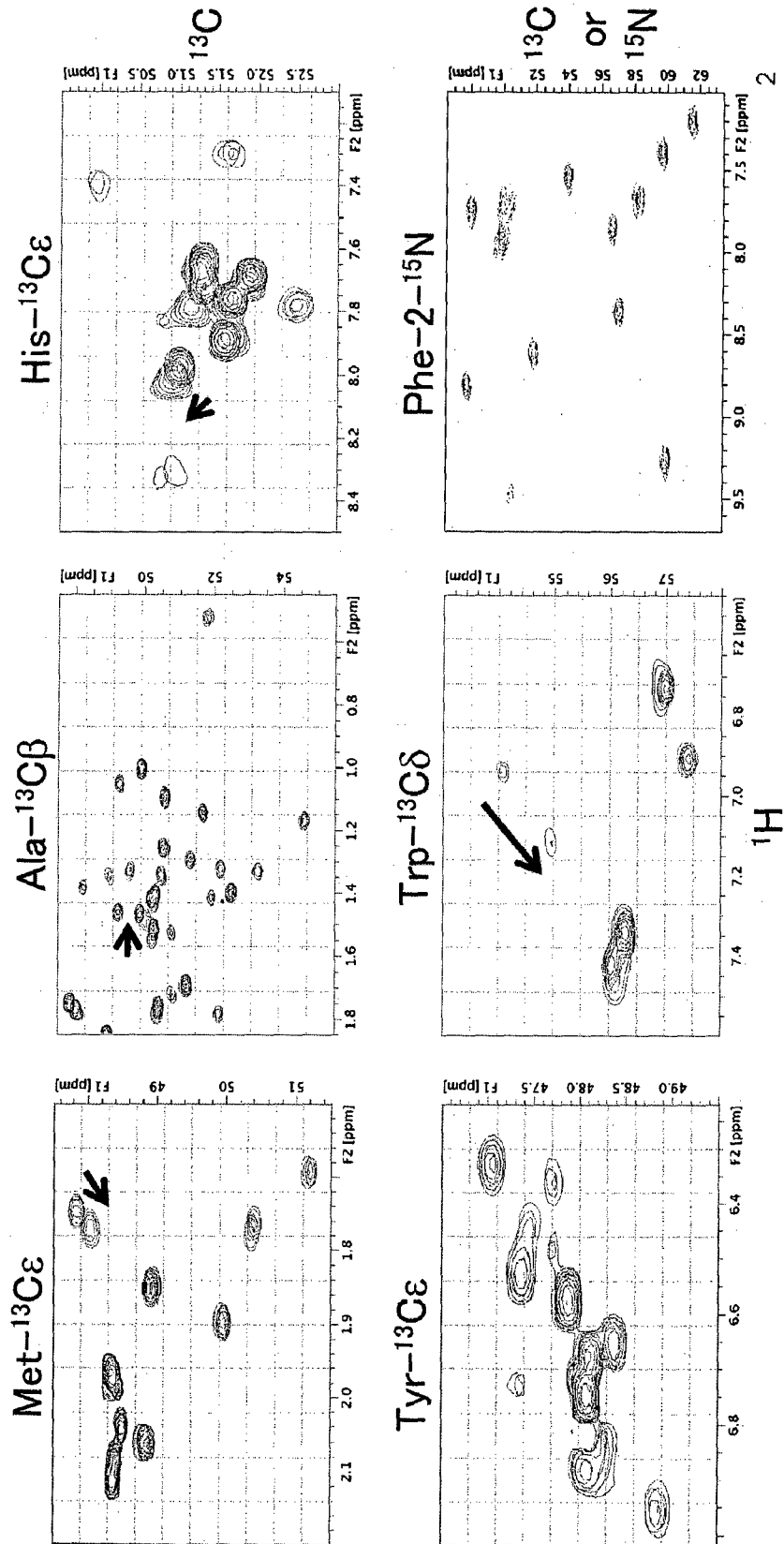


10/15

第15図

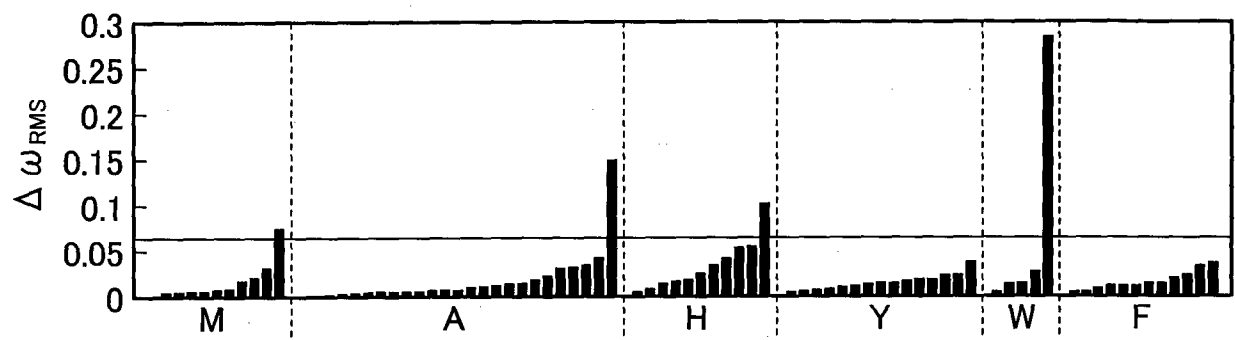
黒/青: 添加前
赤/紫: 添加後

Met	1	Ala	1	His	1 or 2
Tyr	0	Trp	1	Phe	0 or 1

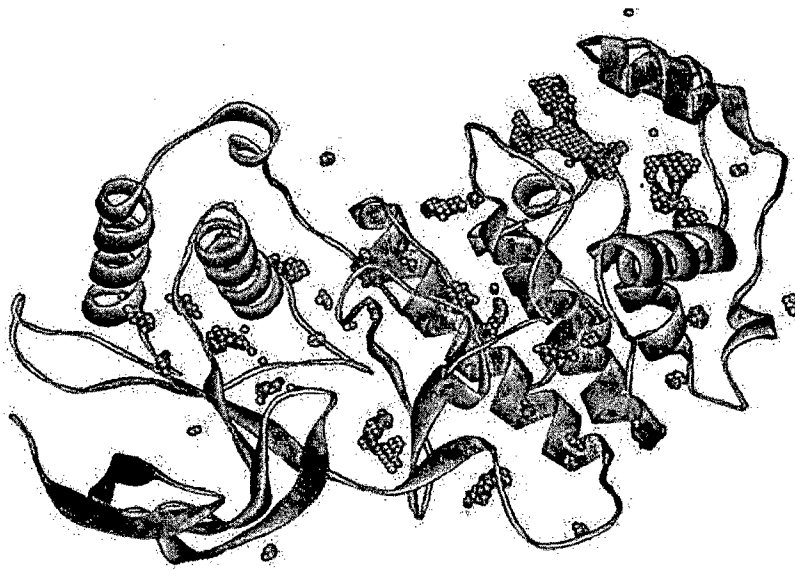


11/15

第16図



第17図



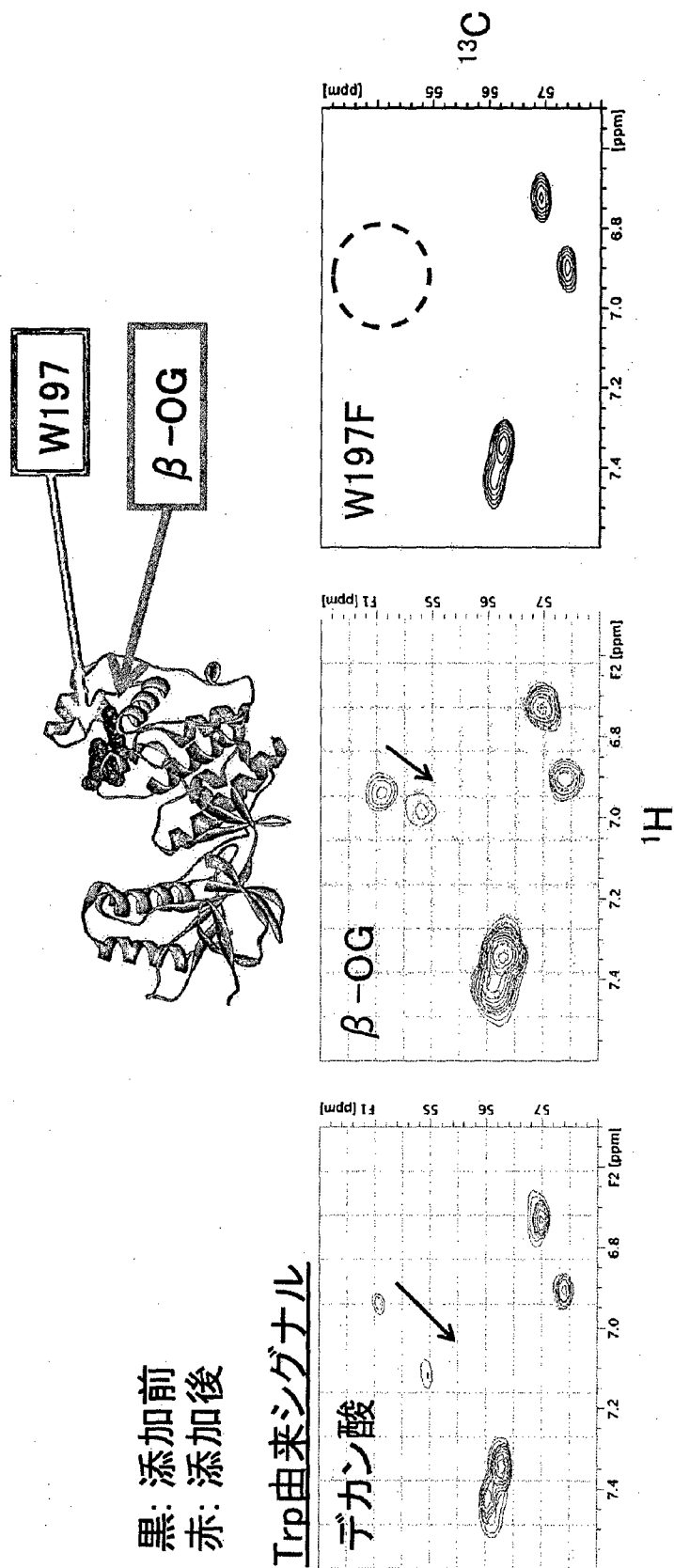
第18図



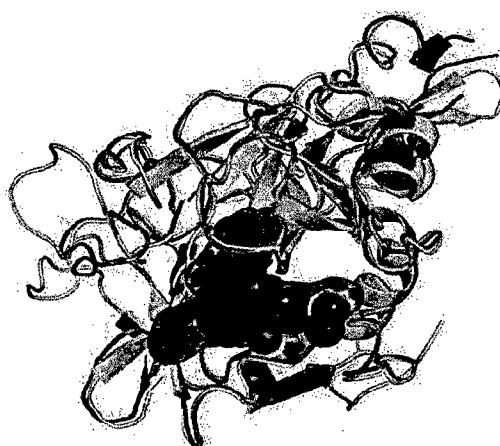
第19図



第20図



第21図



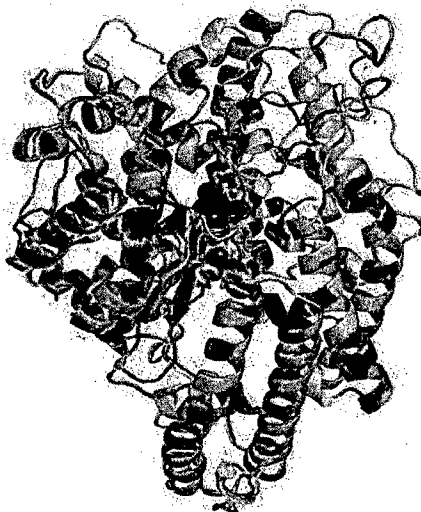
Factor Xa - 阻害剤

第22図



Galectin-9 N-domain - ラクトース

第23図



Angiotensin I 変換酵素 N-domain - 阻害剤

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/085330

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N33/48(2006.01) i, G01R33/32(2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N33/48, G01R33/32

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/Y	Shinji SOGA, "Tanpakushitsu Hyomenjo no Amino-san Sosei ni yoru Ligand Ketsugo Bui Yosoku Hoho no Kaihatsu", Nagoya University Hakase Gakui Ronbun, 25 March 2011 (25.03.2011), 1-116	1, 5-14/2-4
Y	Keiji KAKUMOTO, "A Statistical Analysis of an Effective Method to Conduct In Silico Screening for Active Compounds", URL:http://www.rs.kagu.tus.ac.jp/yoshilab/iyaku/2004ME/kakumoto.pdf, 12 February 2005 (12.02.2005)	2-4

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
04 April, 2014 (04.04.14)

Date of mailing of the international search report
15 April, 2014 (15.04.14)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N33/48(2006.01)i, G01R33/32(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. G01N33/48, G01R33/32

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 4 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 4 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 4 年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X/ Y	曾我真司, 蛋白質表面上のアミノ酸組成によるリガンド結合部位予測方法の開発, 名古屋大学博士学位論文, 2011.03.25, 1-116	1, 5-14/ 2-4
Y	角元慶二, 活性化化合物探索における in silico スクリーニングの有効な利用法の統計学的検討, URL : http://www.rs.kagu.tus.ac.jp/yoshilab/iyaku/2004ME/kakumoto.pdf , 2005.02.12	2-4

☐ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

0 4 . 0 4 . 2 0 1 4

国際調査報告の発送日

1 5 . 0 4 . 2 0 1 4

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁（I S A / J P）

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）

吉田 将志

2 J

4 6 3 6

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 2 5 2