

# 薬剤標的タンパク質選定支援に向けた 立体構造上での株間変異情報表示システムの開発

大石 智博<sup>1,a)</sup> 石田 貴士<sup>1</sup>

**概要:** 感染症を引き起こす寄生原虫などの寄生生物には繁殖地域ごとに異なる株が存在し、それぞれタンパク質のアミノ酸配列が僅かに異なっている。感染症向けの薬剤では、このような株間変異が原因となって創薬対象となった株以外で薬効が低下するという問題が生じている。この薬効低下の原因はいくつか考えられるが、その1つとして、薬剤が結合するタンパク質の薬剤結合ポケット付近に存在する変異が、薬剤との相互作用を弱めてしまうことで薬剤が結合しづらくなることによって引き起こされることが考えられる。一つの創薬には莫大なコストと時間がかかるため、開発された薬剤がどの株に対しても効くように、ポケット付近に変異のあるタンパク質などを避けて薬剤標的タンパク質を選定することは創薬研究において非常に重要である。そこで本研究では、創薬研究者が寄生原虫の株間の変異情報を立体構造上で確認し、その影響を判断できるように、薬剤標的タンパク質選定を支援するシステムの開発を行った。

**キーワード:** 薬剤標的タンパク質, 感染症, 株間変異

## Development of display system for mutation information on 3D structure in order to support of drug target protein selection

TOMOHIRO OISHI<sup>1,a)</sup> TAKASHI ISHIDA<sup>1</sup>

**Abstract:** In parasites causing infectious diseases, different strains exist in different breeding areas, and the amino acid sequences in the proteins are slightly different. In medicines for infectious diseases, the medicinal efficacy is lowered except for strains that were often targeted for drug discovery due to such mutation among strains. This is caused by a mutation that exists near the drug binding pocket of the protein to which the drug binds weakens the interaction with the drug, thereby making it difficult for the drug to bind. Since one drug discovery takes a huge cost and time, it is important to select a drug target protein by avoiding mutated proteins near the pocket so that the developed drug will work on any strain, it is very important in drug discovery research. Therefore, in this research, we developed a system that supports drug target protein selection so that drug discovery researchers can confirm the mutation information of parasite among strains on the three-dimensional structure and judge its influence.

**Keywords:** Drug target protein, Infection, Strain mutation

### 1. 導入

創薬の手法として、予め疾病に関連の深い生体分子を定め、その機能を障害、もしくは活性化する薬剤を設計する target-based drug discovery が最近では注目されてい

る [1]。標的となる生体分子は脂質、炭水化物、核酸、タンパク質と大きく分けられるが、現在では、多くの場合タンパク質が薬剤の標的とされている。この標的とされたタンパク質を薬剤標的タンパク質という。

Target-based drug discovery では、まず薬剤標的タンパク質を定めて創薬を試みるが、多くの場合標的になりうるタンパク質は複数存在する。そのため、どのタンパク質を

<sup>1</sup> 東京工業大学 情報理工学院 情報工学系 知能情報コース

<sup>a)</sup> oishi@cb.cs.titech.ac.jp

薬剤の標的として選定するか決めなければならない。特に感染症では、寄生生物のタンパク質のうち致死的なもの全てが候補となりうるため、多数の候補からの選定が必要となり、より効率的かつ実用的な創薬を行うために、選定を最適化する様々な指標が必要となってくる。例えば、宿主タンパク質との配列相同性の情報や立体構造の情報が薬剤標的タンパク質選定において重要な指標として使われている。Target-based drug discovery の中でもタンパク質の立体構造から得られる情報に基いて薬剤を設計する手法を Structure-Based Drug Discovery (SBDD) という。薬物は多くの場合、タンパク質と特異的に結合し複合体を形成することで、その機能を調整し疾病を治療へ導く。薬剤とタンパク質の結合する部分を結合部位と呼び、タンパク質の立体構造の情報を用いることで、結合部位に合わせた薬剤を設計することができるのである。この SBDD の手法を利用することでランダムに探索するより数十倍の効率で薬剤の候補となる分子を発見することができる [2]。そのため、低コストな薬剤開発のために、タンパク質の立体構造、特に薬剤との相互作用部位の構造の情報は極めて重要な情報といえる。

### 1.1 感染症創薬における株間変異の問題

感染症とは、病原性の寄生生物が人の体内に侵入することで発症する疾患である。感染症を引き起こす寄生生物は、創薬における標的タンパク質の選定が非常に困難であるとされる。主に開発途上国の熱帯地域に蔓延している感染症として NTDs ( Neglected Tropical Diseases ) が存在する。これは蔓延している地域の所得水準の問題などから、新薬開発の対象になりづらい感染症である。NTDs 患者はアジア・アフリカ・中南米を中心に 10 億人以上と推定され、毎年 50 万人以上が命を落としている地球規模の問題である [3]。NTDs には世界保健機関 (WHO) により 17 の疾患が定義されていて [4]、代表的な疾患にリンパ系フィラリア症、シャーガス病、デング熱などがある。NTDs の一つであるシャーガス病は寄生原虫の *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) を病原体とした感染症で、ラテンアメリカを中心に 700 ~ 800 万人が感染していると推定されていて、放置していると突然死に至ることもある感染症である [5]。

*T. cruzi* を含め寄生原虫は繁殖地域ごとに分類された複数の株が存在し、それぞれタンパク質中のアミノ酸配列が僅かに変異している [7]。この株間の変異により、標的にしているタンパク質によっては薬剤が効く寄生原虫の株と薬剤が効かない寄生原虫の株が生じることがある。たとえば、シャーガス病治療薬の Posaconazole は株間で薬効に差が出る一例である [8]。Posaconazole は *T. cruzi* 中の CYP51 酵素に作用する薬剤であるが、実験の結果から、それぞれの株に対して薬剤の活性に大きな差が生じることが明らかになっている。*T. cruzi* の株間でなぜ薬効に差が生

じたのかを調べるために、*T. cruzi* の株の一つである CL Brener non Esmeraldo-like 株に対して各株で配列相同性検索をかけたところ、CYP51 酵素には計 7 つの株間変異が存在していることが判明した。これらのアミノ酸配列中の株間変異が薬効に差をもたらしていると考えられる。

薬剤の開発には莫大なコストと時間がかかる。そのため、出来る限り株間変異による薬効の差が出ないように、適切なタンパク質を標的にして創薬をすることが重要である。

### 1.2 感染症創薬における株間変異の薬効への影響の推定

株間変異が発生している寄生原虫のタンパク質は全て薬剤標的から除外できるわけではない。ほとんどのタンパク質が他の株とどこかしらに変異を持っているからである。そこで重要となるのが、タンパク質中のどの変異が薬効に影響をあたえるのかという議論である。複数存在する変異の中でも、薬効に影響を与える変異もあれば薬効に影響を与えない変異も存在する。薬効に影響を与えうる変異がどうか判定するためにはタンパク質の配列情報を用いたり立体構造情報を用いる手法が考えられる。立体構造の情報を使って変異の薬効への影響を推定する研究はなされていなかったため、本研究ではタンパク質の立体構造の情報を使って、変異の薬効への影響度を調べる手助けをする。通常、薬物はタンパク質の pocket 部位に結合することで役割を果たす。そのため立体構造の pocket 付近の変異は危険性が高い変異であると推測される。また、立体構造の端の部分のような簡単に切れてしまってもおかしくない部位の変異はさほど重要でないと予測できる。そういった予測による変異の重要度の情報はアミノ酸配列のみでは読み取ることができない。そのため、立体構造上に変異を確認できるようにすることでそれらを議論できるようにすることは重要であると考えられる。

## 2. 本研究の提案手法

本研究では、立体構造情報を用いることで薬剤標的タンパク質選定の精度を上げることを目標とする。創薬研究者が、変異の危険性を推測し、薬剤標的タンパク質を選定しやすくなるように、画面上で寄生原虫のアミノ酸配列及び立体構造を表示し、双方で変異の情報を確認できるようなツールの開発を試みる。また、一般の創薬研究者は計算機システムの扱いに慣れていないことが考えられるため、Web ブラウザからの利用が可能となるよう、配列と立体構造上で寄生原虫の株間変異を可視化する Web ツールの開発を行った。

全ての感染症に対し本研究の技術は適用できるが、特に今回はシャーガス病を引き起こす寄生原虫 *T. cruzi* を対象にした。他の様々な感染症に対し、開発した Web ツールの技術を活用し、また、変異情報の元となるゲノム情報の最新のデータを適宜取り込んでいくために、Web ツール

を動的に作成することにした．動的に作成するために CGI と呼ばれる，Web サーバが Web ブラウザなどからの要求に応じてプログラムを起動するための仕組みを用いた．

### 3. データセットの構築

本研究の目的は寄生原虫のタンパク質の立体構造上に変異情報を表示させることである．そのためには大きく 2 つの情報が必要である．

- 寄生原虫のタンパク質の株間変異情報
- 寄生原虫のタンパク質の立体構造

株間変異の存在する位置や変異前後のアミノ酸残基などの情報については，寄生原虫のゲノム情報やアミノ酸配列情報のデータベースである TriTrypDB[6] にて公表されているゲノムデータを元に自ら検出することを試みた．また，Protein Data Bank (PDB)[9] にタンパク質の立体構造のデータが 2017 年 1 月現在 117,344 件登録されているが，*T. cruzi* のタンパク質の立体構造についてはデータが 2017 年 1 月現在 182 件しか保存されていない．これは *T. cruzi* の 10,831 個のタンパク質に比べると非常に少ない．そこで寄生原虫のタンパク質の立体構造については，ホモロジーモデリングを用いて予測モデルを作ることでこの問題を解消することを試みた．

#### 3.1 株間変異の検出

株間変異情報を取得するために，以下を行った．

- (1) 対象とする寄生原虫の複数株のアミノ酸配列を用意
- (2) 各株間で同一のタンパク質を探し出す
- (3) それらの間で変異している箇所を見つけ，その情報を取ってくる

##### 3.1.1 寄生原虫のアミノ酸配列の準備

寄生原虫 *Trypanosoma cruzi* には 50 以上の異なる株が存在し [7]，その内ゲノムが決定されている 7 つの株について，そのゲノムから得られたタンパク質のアミノ酸配列の情報が TriTrypDB で入手可能である．今回そこからとってきた 8 つの株の配列をデータセットとして使用する．中でも CL Brener non Esmeraldo-like 株は *T. cruzi* 研究における標準的な株であり，多くの実験はこの株を対象に行われている．使用した株は表 1 に示す．

##### 3.1.2 同一のタンパク質の検出

次に株間で同一の機能を持つタンパク質を見つけ出す必要がある．同一のタンパク質を見つけるために，配列相同性検索を行い，以下で示す一定の基準を満たすものを同一のタンパク質であると推定して進めてゆく．

###### 3.1.2.1 配列相同性検索

まず BLAST version 2.2.31+ [10] を用いて配列相同性検索を行った．BLAST は近似的なアルゴリズムだが計算速度が速く，相同性検索に最も広く使われているソフ

株の名前	繁殖地域	データの種類
CL Brener Esmeraldo-like	Rio Grande do Sul, Brazil	Annotated
CL Brener non Esmeraldo-like	Rio Grande do Sul, Brazil	Annotated
Dm28c	Carabobo, Venezuela	Annotated
Esmeraldo	Bahia, Brazil	ORFs_AA
Sylvio X10/1	Para, Brazil	Annotated
JR cl4	Anzoategui, Venezuela	ORFs_AA
Tulahuen cl2	Tulahuen, Chile	ORFs_AA

表 1 使用する *T. cruzi* 株の情報

トウェアである．先述の通り *T. cruzi* の中で CL Brener non Esmeraldo-like 株は標準的な株であり，後にこの株の立体構造を表示することを考慮し，データベース側を CL Brener non Esmeraldo-like 株として，その他 6 つの株を 1 つづつ入力配列とし，計 6 つのペアワイズアラインメント結果を得た．

###### 3.1.2.2 同一タンパク質の同定

BLAST で配列相同性検索を行った結果に対し，一定の基準を設けて各株間での同一のタンパク質を判定する．この時大きく分けて 2 つの点が重要である．

- タンパク質間の配列長の違い
- タンパク質間のアミノ酸残基の一致率

一つ目の理由としては，同一のタンパク質の長さが各株間で常に一致しているとは限らない．タンパク質によっては両端のアミノ酸が切れてしまうなど，長さが変化してしまうことがよく起こりうるからである．そこで比較しているタンパク質の長さがどの程度までなら異なっても同一のタンパク質と考えられるか考慮しなければならない．また二つ目に，タンパク質間のアミノ酸残基の一致率がどの程度で同一のタンパク質と判定するかも重要になってくる．この基準を高くしすぎると同一のタンパク質であっても，変異が少し起きているだけで候補から弾かれてしまうし，基準を低くしすぎるとそもそも同一でない異なるタンパク質を調べてしまうことになりかねない．そこで異なるタンパク質は排除しつつ同一のタンパク質を見つけるために適切な基準を設けることで同一タンパク質を見つけ出す必要がある．

今回それら 2 つの点を鑑み，アラインメントの結果 (identities = アラインメントで一致している残基数) / (データベース側の配列長) の値を同一のタンパク質と見なすためのスコアとして用いる．これがある一定値を超えるものについて同一のタンパク質とみなす．この基準により，配列の長さが大きく異なるものについてはアラインメントされる数が小さくなることで基準を満たさなくなり，残基の一致率とスコアが比例するため値が大きくなるほど同一の

タンパク質の可能性が高くなる．本研究ではいくつかの数値を試行し，この値が 0.9 以上のものについて同一のタンパク質と推定して進めてゆく．

### 3.1.3 変異情報の抽出

最後に，比較しているタンパク質の変異前後のアミノ酸残基，変異位置をまとめたデータファイルを作ることによって膨大な BLAST の結果を扱いやすくしておく．CL Brener non Esmeraldo-like 株の 10,831 個のタンパク質に対して，他の株のタンパク質の全てが総当たりで検索されているので，膨大な量のデータになっている．それらの情報を最小限に収めるため，同一のタンパク質をみきわめ，その中で必要な情報だけを取り出しておく．これにより後の Web ツールを動的に動かす際の時間短縮が見込める．効率的に情報を取り出すために BioPython の NCBI XML モジュールを使用した [11]．

必要な情報はそれぞれ，以下の場所から取得可能である．

- Database 側のタンパク質の名前や ID : Alignment 内の title
- 入力配列としている株のタンパク質の名前や ID : Header 内の query
- Database 側のアミノ酸配列 : HSP 内の `subject`
- 入力配列側のアミノ酸配列 : HSP 内の `query`
- アラインメントによるアミノ酸残基の一致率 : HSP 内の `identities`
- アラインメント結果 : HSP 内の `match`

これらを取り出すことで，CL Brener non Esmeraldo-like 株に対する各株の必要な変異情報を取得した．

## 3.2 立体構造の準備

次に寄生原虫のタンパク質の立体構造を準備していく．今回 *Trypanosoma cruzi* の CL Brener non Esmeraldo-like 株の立体構造を表示したい．タンパク質の立体構造は Protein Data Bank (PDB) に数多く掲載されているが，寄生原虫のタンパク質については立体構造のデータが非常に少ない．そのためここでは立体構造の予測モデルを作成し，それらを代用していくことにする．

### 3.2.1 PDB ファイルの用意

CL Brener non Esmeraldo-like 株の立体構造の予測モデルを得るために Modeller [12] というタンパク質ホモロジーモデリングプログラムを使用した．ホモロジーモデリングとは，構造未知のタンパク質から，配列相同性の高い構造既知のタンパク質を探し出し，構造未知のタンパク質の立体構造を予測する手法である．これにより CL Brener non Esmeraldo-like 株の 10,831 個のタンパク質のうち 3,934 個のタンパク質の立体構造の予測モデルが得られた．これらの予測モデルでは，予測モデルを作る際に行われるアラインメントが全長で得られなかった場合は，両端を削除した部分的な立体構造である．そのため多くの立体構造は実

際の配列長よりも短いものになっている．後述する Web ツールにはその情報についても表示している．

## 4. Web ツールの開発

変異情報と立体構造の準備が整ったため，これらのデータを利用して *T. cruzi* のタンパク質配列及び立体構造を表示し，変異を双方で確認できる web ツールを実装した．変異情報の基となるゲノム情報や立体構造の情報は，日々更新されており，最新のデータを適宜取り込んで行くことを考え，Python の CGI を用いて動的にページを生成するよう開発を行った．

実際に使用する上で，web ツールに実装した機能は以下のとおりである．

- CL Brener non Esmeraldo-like 株の 10,831 個のタンパク質に対する検索機能
- 選択したタンパク質のアミノ酸配列と変異情報を表示する機能
- 選択したタンパク質の立体構造と変異情報を表示する機能
- 特定の変異を確認する機能

調べたいタンパク質を選択し，変異情報をアミノ酸配列上及び立体構造上で確認できるようにすることで本研究の趣旨を満たす．また，アミノ酸配列上の変異をクリックすることで立体構造上のどの変異であるか確認できるようにすることでユーザーの使い勝手を向上させる．また，アミノ酸配列上の変異をクリックすることでその変異がどの比較相手の株のタンパク質によるものなのか詳細情報を表示できるようにすることでユーザーの多様なニーズを満たす．

これらの機能を実現するために，それぞれ次のような手法で実装した．

### 4.1 タンパク質の検索機能

TritrypDB で定義されたタンパク質の id を入力することで，CL Brener non Esmeraldo-like 株の全 10,831 個のタンパク質を検索できるように実装した．転送方法を post で指定することで，入力された情報をプログラム上で取得し，そのタンパク質のアミノ酸配列や立体構造の表示が可能である．

### 4.2 アミノ酸配列上に変異を表示

選択したタンパク質のアミノ酸配列を表示するために，まず選択されたのがどのタンパク質であるかの情報が必要になる．今回表示するタンパク質の立体構造は MODELLER を用いて作られた予測モデルであるため，立体構造の示すアミノ酸配列長が実際よりも短い場合がある．そのため，立体構造の示すアミノ酸配列の部分は背景色を grey で表示させることでそれを示した．また，表示したアミノ酸配列上に変異情報を表示させるために，予め作成した株間変

異情報がまとまったファイルにタンパク質の id で検索をかけ、変異位置、変異前後のアミノ酸残基などの情報を取得した。取得した変異位置を使って、その部分の残基の色を変えることで変異箇所であることを示した。

#### 4.3 立体構造上に変異を表示

タンパク質を web 上に表示させるため、JavaScript による分子構造ビューワである JSmol[13] を使用した。JSmol で立体構造を表示することで、拡大や回転など、ユーザーが変異箇所付近を調べるのに役立つ様々な機能が使用可能である。立体構造上の変異を見やすくするため、立体構造は cartoon 形式で表示している。

表示させたい立体構造モデルはホモロジーモデリングによる予測モデルのため、しばしばアミノ酸配列上の部分的な構造である。そのため、立体構造上の変異位置とアミノ酸配列上の変異位置が一致するように適切な変換をほどこし、変異箇所を同定し、色を変えて表示した。ひと目で変異が全体にどの程度存在するか確認できるように、すべての変異が初めから色付された状態で表示した。

CL Brener non Esmeraldo-like 株に対して、その他7つの株の変異箇所を見比べるため、アミノ酸残基一箇所に複数株との変異を持つ場合がある。そのような場合を区別するために、変異箇所の色分けを以下のように行うことを考えた。

- 変異一株：赤
- 変異二株：紫
- 変異三株以上：青

#### 4.4 特定の変異の確認

アミノ酸配列上の変異が立体構造上のどの変異と対応しているか分かるように、アミノ酸配列上の変異をクリックすることで立体構造上の変異がハイライトされるような仕組みを実装した。また、変異が具体的にどの株と発生しているかという情報がユーザー次第で必要になってくると考え、アミノ酸配列上の変異をクリックした時、比較株の情報を動的に表示させた。

完成した web ツールの全体像が図1である。表示されているのは CL Brener non Esmeraldo-like 株の TcCLB.503815.10 という id で定義されたタンパク質で、アミノ酸配列上の 231 番目の変異 T をクリックしたときの様子を示している。

## 5. 考察

開発した Web ツールを用いて、本研究の目的である薬剤標的タンパク質選定の支援が達成できているか検証を行った。薬剤がタンパク質の pocket 部分に結合している *T. cruzi* の立体構造のデータが PDB に存在するので、立体構造の予測モデルと PDB の立体構造データの差し替え

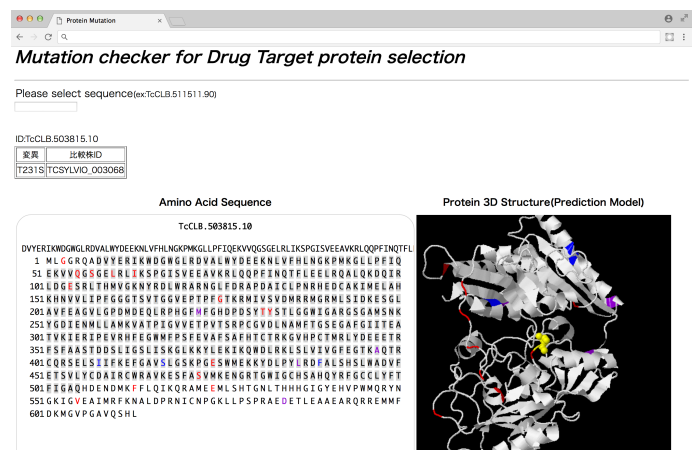


図1 Web ツールの全体像

を行い、それらについて web ツール上で表示し、変異位置と pocket 位置を確認することで変異の危険性を調べてみた。

#### 5.1 立体構造上で変異位置と pocket 位置の確認

PDB に立体構造情報が公表されている CYP51 酵素のアミノ酸配列を入力配列とし、CL Brener non Esmeraldo-like 株をデータベースとして、BLAST で相同性検索を行った結果、100%一致した TcCLB.506297.260 が CYP51 酵素と判明した。そこで TcCLB.506297.260 の PDB ファイルを元の予測モデルと置き換えて、Web ツール上で表示させてみる。わかりやすさのため薬剤の分子を緑色で表示させた。すると図2のような結果が得られた。緑色の薬剤に対し、pocket 付近に変異が存在するのが確認できる。245 番目の残基 V をクリックして、その変異をハイライトしてみる。ハイライトして確認を行った結果が図3である。図3を観察すると、pocket のちょうど入り口に当たる部分に、変異が存在していることが読み取れる。比較している株は CL Brener Esmeraldo-like 株で、このタンパク質を薬剤の標的に選定した場合、CL Brener non Esmeraldo-like 株と CL Brener Esmeraldo-like 株間で薬効に影響が出る可能性が存在する。そのため、このタンパク質は薬剤標的タンパク質としてあまりふさわしくないことについて議論ができるようになった。

検証は CYP51 酵素について行ったが、他のタンパク質についても議論可能であり、実際に今回開発した web ツールは薬剤標的タンパク質選定の支援という目的を達成した。

## 6. 結論

### 6.1 本研究のまとめ

本研究では、感染症を引き起こす寄生原虫の株間変異が原因で創薬対象となった株以外で薬効が低下する可能性がある、という問題に着目した。これは薬剤が結合するタン

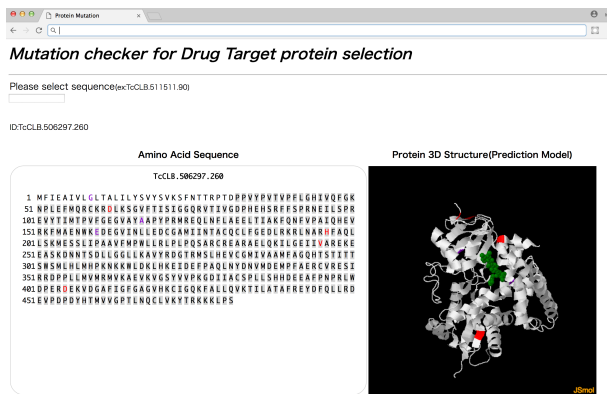


図 2 変異位置と薬剤結合部位の確認

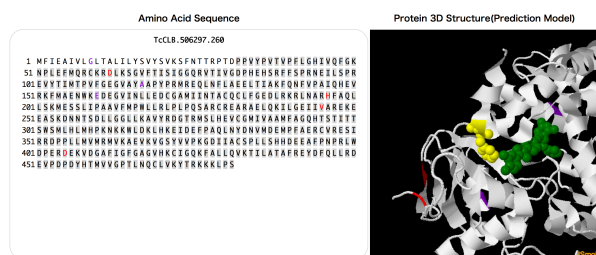


図 3 pocket 付近に存在する危険な変異

パク質の薬剤結合ポケット付近に存在する変異が、薬剤との相互作用を弱めてしまうことで薬剤が結合しづらくなることなどによって引き起こされる。そのため、ポケット付近に変異のあるタンパク質などを避けて薬剤標的タンパク質を選定することは創薬研究において非常に重要であるという点に留意した。そこで本研究では、創薬研究者が寄生原虫の株間の変異情報を立体構造上で確認し、その影響を判断できるように、薬剤標的タンパク質選定を支援するシステムとして web ツールの開発を行った。*T. cruzi* の CYP51 酵素は今回開発した web ツールを用いると危険な変異が存在していることが判明した。変異の危険性について web ツールで確認できるようになった点について、本研究の目的を果たすことができた。

## 6.2 今後の課題

今回 Modeller を用いて CL Brener non Esmeraldo-like 株の全 10,831 個のタンパク質の内、3,934 個のタンパク質の立体構造の予測モデルを用いた。残りのタンパク質についても同様に表示させることが望ましい。また、Modeller ではアラインメントが得られなかった場合、両端を削除した配列について立体構造の予測モデルを作っている。この時、立体構造の予測モデルが実際のアミノ酸配列よりも明らかに短いものも存在するため、立体構造の予測モデルの精度向上を目指したい。

作成した Web ツールを使用した結果、幾つかのタンパク質では株間変異が全く表示されないケースが存在した。これは 2 つの可能性が考えられる。

- 株間変異が存在しないタンパク質であるケース
  - 同一のタンパク質の判定基準が高すぎるケース
- 一つ目は株間変異が全く存在しないケースである。今回比較している株は 7 つの株であり、その中では変異が存在していなかったパターンが考えられる。その場合は、薬剤標的タンパク質として非常に有効なタンパク質であると考えられる。

二つ目に今回 (タンパク質間で一致している残基数)/(CL Brener non Esmeraldo-like 株のタンパク質の長さ) が 0.9 以上のものを同一のタンパク質と推定しているが、基準が高すぎて本来同一であるタンパク質を除外してしまっている可能性が考えられる。そこで一部のタンパク質については基準を下げ、それぞれに対して適切な基準を設ける必要がありそうである。

本研究では、タンパク質の立体構造と変異情報まで表示することができたが、タンパク質の薬剤結合部位の情報が同様に必要と考える。この情報については立体構造から機械学習などを用いて、ポケット位置を予測するなどして今後情報を追加していきたい。

謝辞 本研究は JSPS 科研費 15K16082 の助成を受けたものである。

## 参考文献

- [1] Swinney DC.: Phenotypic vs. target-based drug discovery for first-in-class medicines, *Clinical Pharmacology & Therapeutics* vol.93(4), pp.299-301(2013).
- [2] 長野哲雄, 岩槻壮市, 高木淳一, 古谷利夫編: 融合発展する構造生物学とケミカルバイオロジーの最前線, 共立出版株式会社 (2010).
- [3] 石田貴士, 秋山泰, 関嶋政和, 大野一樹, 折田正弥: 顧みられない熱帯病に対する IT 創薬の現状, 立命館大学経営学会 (2013).
- [4] World Health Organization(online), 入手先 <http://www.who.int/en/> (2017.02.04).
- [5] Eisai ATM Navigator: シャーガス病 — 顧みられない熱帯病について (online), 入手先 <http://atm.eisai.co.jp/ntd/chagas.html> (2017.01.27).
- [6] Martin Aslett, Cristina Aurrecochea, Matthew Beriman, et al. TriTrypDB: a functional genomic resource for the Trypanosomatidae, *Nucleic Acids Research* vol.38, pp.457-462(2010).
- [7] B Zingales, SG Andrade, MRS Briones, et al.: A new consensus for *Trypanosoma cruzi* intraspecific nomenclature: second revision meeting recommends TcI to TcVI, *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol.104(7), pp.1051-1054(2009).
- [8] Carolina B. Moraes, Miriam A. Giardini, Hwayoung Kim, et al.: Nitroheterocyclic compounds are more efficacious than CYP51 inhibitors against *Trypanosoma cruzi*: implications for Chagas disease drug discovery and development, *Scientific Reports* vol.4(2014).
- [9] Helen M. Berman, John Westbrook, Zukang Feng, et al.: The Protein Data Bank, *Nucleic Acids Research* vol.28(1), pp.235-242(2000).

- [10] Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ: Basic local alignment search tool, *Journal of Molecular Biology* vol.215, pp.403-410(1990).
- [11] Peter J. A. Cock, Tiago Antao, Jeffrey T. Chang, et al.: Biopython: freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics, *Bioinformatics* vol.25(11), pp.1422-1423(2009).
- [12] Sali A, Blundell TL.: Comparative protein modelling by satisfaction of spatial restraints, *Journal of Molecular Biology* vol.234(3), pp779-815(1993).
- [13] Robert M. Hanson, Jaime Prilusky, Zhou Renjian, et al.: JSmol and the Next-Generation Web-Based Representation of 3D Molecular Structure as Applied to Proteopedia, *Israel Journal of Chemistry*, vol.53, pp.207-216(2013).