



創薬機構

化合物ライブラリー活用の参考資料 — より深く知りたい方に —

本資料の情報をすべて把握されなくとも、必要な情報をその都度
お尋ねいただくことで支援研究に支障はございませんのでご安心ください

東京大学大学院薬学系研究科附属創薬機構

2024年7月

2025年5月(改)

1. 創薬機構所有ライブラリーの収集コンセプトと構成
 - 1-1. アカデミア創薬を志向した化合物ライブラリー構成
 - 1-2. 創薬機構所有ライブラリーのサブセットライブラリー
 - 1-3. 企業ライブラリー
 - 1-4. AMED中分子タンパク質間相互作用阻害候補ライブラリー
2. スクリーニング化合物の選択
 - 2-1. スクリーニングするライブラリーの選択
 - 2-2. 化合物カクテルを用いたスクリーニング
 - 2-3. インシリコスクリーニングの利用
3. プレート分注の形態
 - 3-1. 化合物サンプルの提供形態
 - 3-2. アッセイレディ (Assay-ready) プレート
4. 品質管理
 - 4-1. 化合物ライブラリーサンプルの保管
 - 4-2. 化学構造の確認
 - 4-3. 非特異的化合物、反応性化合物の取扱

□ 創薬機構所有ライブラリーは、幅広いタンパク質との親和性を期待するため多様な化学構造の市販化合物で主に構成されています

- ライブラリー化合物は、ゼロの段階から、数百万種の市販サンプルデータベースより(株)ファルマデザイン・京大・理研と協働し、製薬企業のノウハウを含む当時の最新知見を考慮したインシリコ選定後、複数の化学者での構造式目視確認により選抜することから収集
- 生物活性が報告されていた化合物の類縁化合物を積極的に収集
- 所有サンプルの約9割について原末を保有し、必要不可欠な時に提供

□ Druglikeness (Leadlikeness) を考慮しています

- LipinskiらのDruglikenessやOpreaらのLeadlikenessの指標を参考にフィルター条件を定め、相応しくない候補化合物は排除
- 忌避部分構造を排除し、随時見直して構成を改善

□ 所有ライブラリー化合物のほとんどは公知の化学構造で、ヒット化合物の化学構造開示、論文発表等公表が容易です

- 物質特許取得を目指す場合、ヒット化合物からの合成展開段階で分子設計

□ 逐次、構成の拡充を継続しています

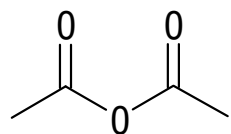
- sp^3 炭素含有化合物、マクロサイクリック化合物等を追加して構造の多様性を拡張
- 大学研究室合成によるユニークな構造の化合物の収集
- 市販の既存薬や既知薬理活性物質、開発中止品を追加収集
- 企業やAMED DISCライブラリーからの寄託化合物の受入

多様性志向の化合物選択

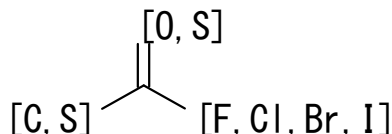
将来の未定標的分子に備えるため、
化合物の多様性を確保した

生物活性が期待される化合物空間
忌避構造によるフィルタリング
物性値、部分構造によるクラスタリング
代表化合物の選択

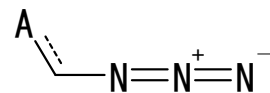
忌避構造の例



anhydride



acyl halide



aromatic azide

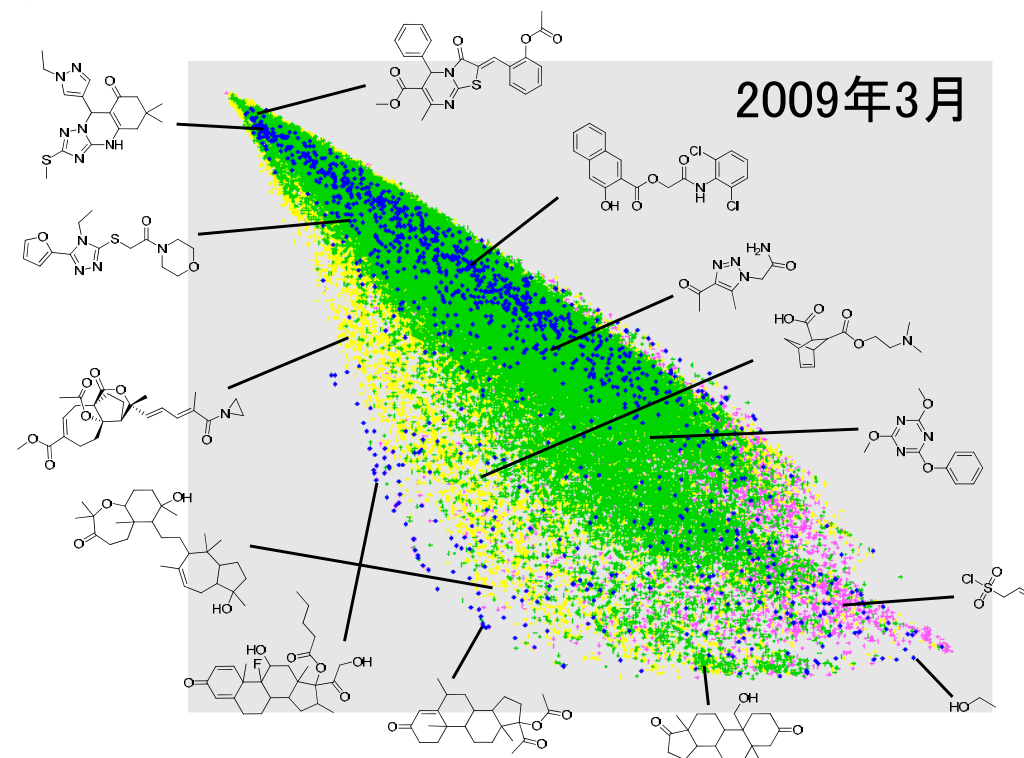


収集化合物の多様性評価

ケミカルスペース（化合物空間）比較

10⁶⁰個とも言われる
バーチャルな低分子化合物の
理論的な組合わせ数

化合物の性状を示す記述子を
座標にしてプロット



骨格数比較

データベース	骨格数	(/ 化合物数 = 骨格数の割合)
東京大学	71,330	(/ 142,731 = 50.0%)
DrugStore	721	(/ 1,225 = 58.9%)
StARLite*	109,745	(/ 391,200 = 28.1%)
市販化合物	744,508	(/ 4,231,876 = 17.6%)

- ◆ : DrugStore (薬物)
- : 東京大学
- : StARLite (生物活性)
- : ChemACX (試薬)

*現ChEMBL

骨格数計算 : Xu *J Med Chem* 2002 45, 5311

□ 創薬機構所有ライブラリーには独自に収集作成したサブセットライブラリーがあり、セットごとの提供が可能です（括弧内はサンプルの概数）

- 既製マスタープレートのコピープレートを提供
 - ✓ Validated Library：既存薬 (1,800) と、活性既知化合物 (2,300)
 - ✓ Core (9,600)：ランダムスクリーニング用
 - pilotスクリーニング用代表化合物：類縁体も数個ずつ確保
 - 細胞内用Core (2400)：Coreの内、脂溶性が高めの化合物を若い提供順位に固めて設定
 - ✓ Advanced Core (22,400)：ランダムスクリーニング用
 - 医薬向けにCoreよりも条件を厳しく選定
 - Coreとの重なりはなく、追加アッセイにより多様性向上
 - ✓ 各種標的へのFocused Library
 - GPCR、Ion channel、kinase、タンパク質間相互作用、protease
- マスタープレート化はしていませんが、以下のサンプル群の提供も可能
 - ✓ Fragment Library (10,000)
 - ✓ Scaffold Library：Fragmentよりは少し大きい分子 (17,000)
 - ✓ 大学研究室由来化合物 (10,000)
 - ✓ 構造既知天然物 (1,000)
- サブセットライブラリーの部分提供や分割提供も可能

□ 複数の企業の化合物ライブラリーが寄託され、スクリーニングの実施が可能です

- 小野薬品工業、第一三共、田辺三菱製薬の合計63,000サンプルを保有
- 提供企業の意向に基づき、共同研究者も含めてアカデミア研究者のみが利用
- 各社オリジナルの選りすぐりの合成サンプルを提供
- 創薬機構所有ライブラリーとは異なったケミカルスペースの化合物を試験可能
- 企業ライブラリーからのヒット化合物をもとに、提供企業との共同研究交渉
- アカデミア創薬研究を医薬品開発へと速やかに推進するためには、早期に企業と共同研究を開始することが有効
- 共同研究へ進まない場合も、協議の上、独自の合成展開推進も可能
- 各社毎、既製マスタープレートがあり、サンプルを分割して提供可能
- 寄託量の関係から、提供量に制限があるため、原則Echo nL分注 (ウェブサイトQ&A Q10参照) で提供
- ヒット化合物の化学構造式の開示数は制限
- 化学構造式の公表は提供企業の事前了承が必要
- 各社異なる条件のため、利用検討用の比較資料*があり、事前に化合物提供契約書条文の閲覧も可能
- 申請書は創薬機構所有ライブラリーの様式12の化合物サンプル提供依頼申請書とは異なる様式42、43、44*を使用

*比較資料、様式42、43、44は利用希望者にお渡しします

□ AMEDのDISCライブラリーからアカデミア向けに約75,000サンプルが寄託されています

- AMEDの指示により、共同研究者も含めてアカデミア研究者のみが利用
- 中分子とはいえ、分子量は400～800と小さめで合成展開可能
- タンパク質間相互作用 (PPI) の界面の形状として、 α ヘリックス、 β シート、 β ターンおよび γ ターンなどを対象として合成したPPI阻害候補化合物
- オリジナル合成品、市販品にて構成される寄託時期の異なるA～Eのセットあり
- 既製マスタープレートがあり、サンプルを分割して提供可能
- 寄託量が少なく、提供量に制限があるため、原則Echo nL分注 (ウェブサイトQ&A Q10参照) で提供
- ヒット化合物の化学構造式の開示は企業ライブラリーのような制限はなく、創薬機構所有サンプルと同様の扱い
- AMED職員が職務上必要な場合、使用者情報や試験データを閲覧できることの下承が必要
- 申請書は創薬機構所有ライブラリーの様式12の化合物サンプル提供依頼申請書とは異なる様式45を使用し、利用希望者にお渡しします

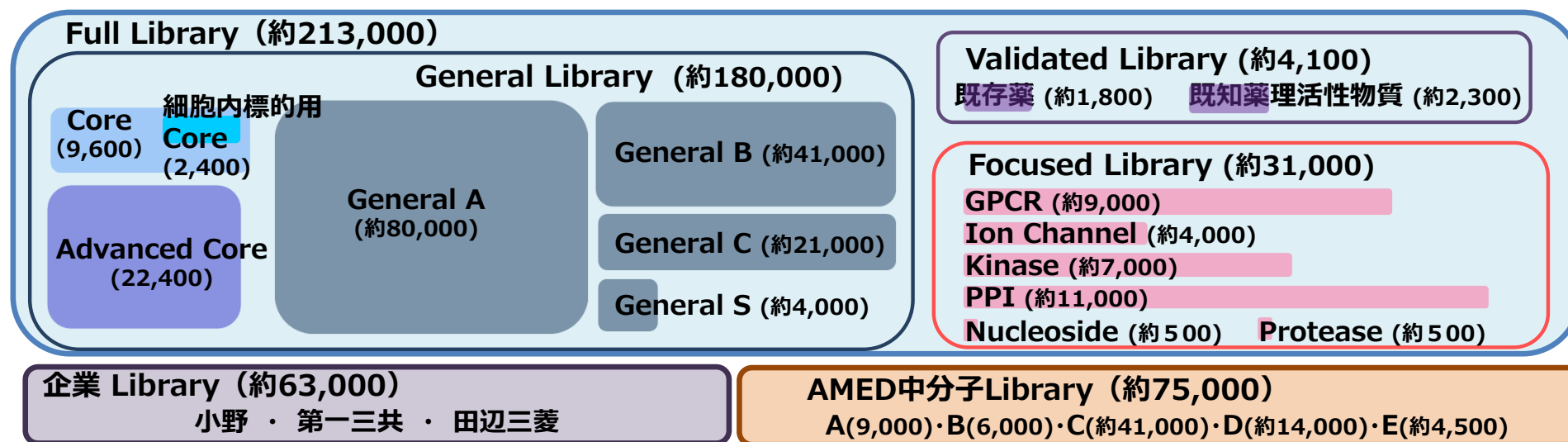
参考ウェブサイト：

https://www.amed.go.jp/news/release_20210219-02.html

<https://amedfind.amed.go.jp/amed/index.html> 課題名：「PPI界面三次元構造に基づくPPI化合物ライブラリー」

2-1. スクリーニングするライブラリーの選択

- 化合物探索の目的や利用希望サンプル数、アッセイ系のスループットに適したサブセットライブラリーを選択可能です
- 活性既知の化合物から探索したい場合：**Validated Library**
 - ✓ Repositioning目的の場合：**既存薬**
 - 構造多様性重視のランダムスクリーニングの場合：**General Library**
 - ✓ スループットの高い系(1536・384プレート使用)では**Full Library**、スループットの低い系(384・96プレート使用)の場合は**Core Library**、結果に鑑みて**Advanced Core Library**を追加する例が多数あり
 - 標的に応じたヒット率の高いライブラリー希望の場合：**Focused Library**
 - ✓ タンパク質間相互作用が標的の場合：**PPI Library**や**AMED中分子Library**
 - 企業との共同研究交渉への近道：**企業Library**



各ヒット化合物に対し、Full Libraryから類縁体を検索し、類縁体だけ集めたプレートを提供可能

□ 省力化、効率向上のための化合物カクテルを用いたスクリーニングにも対応可能です

- 異なるサンプルを一つのウェルに分注して混和したプレートを用い、一度に複数サンプルのアッセイを実施 (poolアッセイ、mixアッセイ)
- スクリーニング用に化合物カクテルのプレート提供実績あり
- ヒットサンプルの同定が想定以上に難航する場合あり
- ヒット率が高いアッセイ系ではかえって手間取る場合あり

□ 創薬機構所有ライブラリー化合物の化学構造情報を収載したデータベースをご利用いただけます

- BINDS支援課題用途で申請者あるいはインシリコ解析ユニット支援担当者へ機関契約下の秘密情報としてデータベースを貸与（T-で始まる化合物サンプルIDと構造式は秘密情報です）
- 利用完了後、その後も必要とする一部のデータを除き、データ消去が必要
- 構造情報はSDファイル形式とSMILES形式での提供で、それらから化学構造式に変換するには化学ソフトウェアが必要
- データベースを実際に使用される方が所属する機関より、ウェブサイト掲載の化合物データベース提供申請書（様式11）を提出
- インシリコスクリーニングでヒット選抜された化合物について、同サイトの化合物サンプル提供依頼申請書（様式12）提出で、wetの試験用に実サンプルを提供可能

□ ヒット化合物の類縁体検索も可能です

- ヒット化合物の構造類縁体を創薬機構所有ライブラリーサンプルの中からデータベースを用いて検索でき、必要サンプルのみをプレートに分注して提供
- 市販化合物データベースからのヒット化合物類縁体の探索支援も可能
- Core Library化合物の構造類縁体をそれぞれ数サンプルずつ収集済

□ 化合物サンプル提供には以下の形態があり、同一サンプル数の提供でも、実費負担額が異なる場合があります（料金表はウェブサイトに掲示しています）

➤ DMSO溶液

- ✓ **ピペットμL分注プレート**：チップタイプの自動分注装置により、指示量のDMSO溶液がμL単位で分注されている従来型のプレートで、サンプル溶液を後から添加する場合や繰り返し測定が必要な場合に使用
- ✓ **Echo nL分注プレート**：Echo分注装置により、指示量のDMSO溶液がnL単位で精確に分注されており、アッセイレディプレートとして使用可能（3-2. アッセイレディ (Assay-ready) プレート参照）1回で使い切りとなるため、失敗等でやり直し希望の場合は、同一プレートを再提供可能
- ✓ **マイクロチューブによる提供**：高次評価等で必要量が多い場合（5サンプル程度以内とし、サンプル数が多い場合は、ピペットμL分注プレートで提供し、必要に応じ、申請者にて移してください）

➤ 原末

- ✓ DMSO溶液サンプルの提供を原則
- ✓ DMSO溶液サンプルでは実施できない試験用途（溶解度を考慮した高濃度試験、共結晶作製、NMR測定）に、秤量してマイクロチューブで提供
- ✓ in vivo試験用途等で必要量が多い場合には提供できないため、入手元情報の開示を受け、申請者にて別途調達

お願い： 限りある化合物サンプルを皆さんで共有していますので、有効活用と節約にご協力ください

- **アッセイレディプレートとは、アッセイで使用するプレートへ直接、試験1回の分量だけDMSO溶液サンプルをEcho分注したプレートのこと、一律量の反応液や細胞懸濁液を加えるだけでアッセイできる上、実験プロトコルの単純化によるバラツキの軽減も期待できます**
 - **一次スクリーニング用アッセイレディプレート**
 - ✓ 既製マスタープレートから試験1回分の量をEcho分注したコピープレート
 - ・ 化合物サンプル提供依頼申請書の「既製プレートのコピー」を選択
 - ・ 使用可能なプレートは同申請書の「Echo使用可能プレート」を確認
 - ・ 作製手順、使用例はウェブサイトQ&A「Q10 Echoとは何のことですか？」を参照
 - **選択化合物 (オンデマンド) のマスタープレートからのアッセイレディプレート**
 - ✓ 一次スクリーニングやインシリコスクリーニングにより選抜された化合物のみを集めたEcho分注用のオンデマンドのマスタープレートを作製し、そこから試験1回分の量をEcho分注したプレート
 - ・ 化合物サンプル提供依頼申請書の「別添化合物IDシートで指定」を選択
- **試験の目的にあわせてレイアウトの選択を変更することで、同じ実験プロトコルで試験可能です (レイアウトの詳細は、化合物サンプル提供依頼申請書の中のEchoレイアウトシートを参照してください)**
 - **一次試験用プレート**：サンプル1濃度、N=1
 - **再現性確認試験用プレート**：サンプル1濃度、N=4
 - **濃度依存性試験用プレート**：サンプル5濃度、N=4 または サンプル8濃度、N=2

□ 創薬機構では、化合物の原末およびDMSO溶液両サンプルを以下の条件で保管しています

➤ 溶液サンプル

- ✓ 原末サンプル入手後、DMSOに溶解して作製
- ✓ 10 mMの溶液のストックを原則としているが、サンプルが溶解しない場合2 mMに希釈してストック それでも溶けない場合は懸濁状態で2 mM溶液として取扱

➤ 長期保存への対応

- ✓ DMSO溶解時にLCMSで純度を分析して結果を記録し、化学構造情報開示時に初期純度分析データとして申請者に通知
- ✓ 原末サンプルは4℃、溶液サンプルは-20℃で保管し、警報付の温度管理下で保管
- ✓ 溶液サンプル保管庫は24時間以上保温可能な非常用発電機に接続
- ✓ ライブラリー化合物のほとんどは分解しない保存条件ですが、全てのサンプルが変化しない保証はないため、必要に応じ、溶液サンプルの現時点での純度測定を依頼可能
- ✓ DMSOは吸湿性が高く、吸湿すると溶解している化合物が析出することがあるため、溶液サンプルの容器（チューブ、プレート）を開封する部屋を低湿度に空調
- ✓ 各溶液サンプルは凍結融解回数を管理し、残量を踏まえた総合判断で廃棄
- ✓ Echo分注時に表示される含水率の基準値を超えるウェル数が許容割合を超えたマスタープレートは廃棄し、再作製

➤ 在庫量管理

- ✓ 原末サンプル、溶液サンプル共に、在庫量を記録残量より差し引いて在庫量を管理
- ✓ 在庫時に溶液サンプルが不足する場合、原末サンプルを溶液化して補充

□ 化合物サンプルの化学構造や純度の保証は困難なため、純度検定結果をお知らせします

- 一次ヒットサンプルの構造情報開示の際、サンプル溶解時のLCMS純度を通知
- 成果公表に向けた確定ヒットサンプル取得時や合成展開検討時には、ウェブサイト「化合物ライブラリー利用申請」に掲載している化合物純度検定依頼申請書（様式14）を提出していただくことで、現時点のサンプルの純度をLCMS分析し、結果通知とその後の方針を相談可能
- 購入や合成で別途入手された同一構造化合物での評価、構造活性相関の確認等で構造式の慎重な確認を推奨

□ 確定ヒットサンプルが高純度であることを確認できない場合

- 溶液サンプルの再調製で解決する場合は、再調製とLCMS分析後、申請者による再試験を実施
- 溶液サンプルのLCMS分析では構造確認ができない場合は、NMRなどでの構造確認のための原末を提供
- 重要化合物に関しては、再合成や別ロットサンプルの入手での構造確認を推奨

□ 申請者からのアラートサンプル情報フィードバックのお願い

- 申請者にて得られた提供サンプルの純度や化学構造に関する疑義、確認情報等について、成果公表申請書提出やBINDS支援終了の際、情報共有をお願いいたします

化合物データベースでの情報管理と化合物検定

化合物の物性・アッセイ情報の一元管理

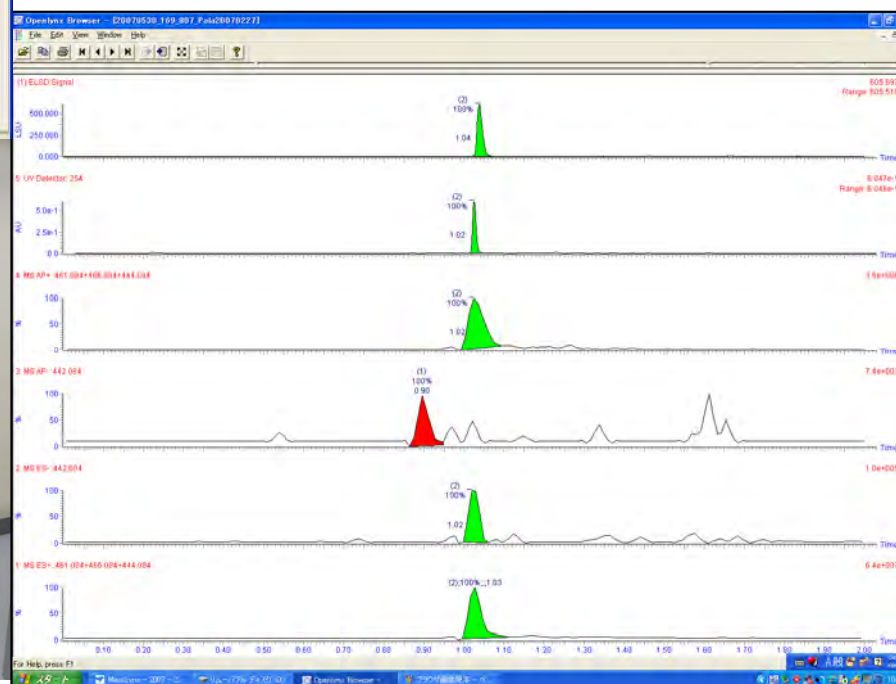
化合物に関する種々の情報をOracleに格納し、データベース化

化合物のDMSO溶液作製時にUPLCMSで純度評価し、データベースに格納
ESI (+/-), APCI (+/-), UV, ELS

The screenshot displays the Symyx Isentris 3.2 software interface. On the left, a 'Fields' list includes various attributes like CAS_NO, CHIRAL, COMMENTS, COMP_ID, COMP_NAME, DELETERIOUS, DMSO_CALC, FORMULA_NOSALT, FORMULA_WITHSALT, HBA, HBD, LOGSW_CALC, LOT, MolFormula, MOLIO, MolStructure, MW_NOSALT, MW_NOSALT_MS, MW_WITHSALT, PARENT_ID, PARENT_MOL_COUNT, PROJECT, REG_DATE, REMARKS, RING, R03, R05, RT8, SALT, SALT_DETAIL, SlogP, SMILES_NOSALT, SMILES_WITHSALT, SUPPLIER, SUPPLIER_ID, SUPPLIER_PLATE, TPSA, UT_ID, UT_NUM, Assay_Data, and Catalog_Data. The main window shows details for a compound with the chemical structure of DL-phenylalanine (C[C@H](O)Cc1ccccc1). Fields include UT_ID, COMP_ID, PARENT_ID, COMP_NAME (DL-alpha-Methyl-), COMMENT (Inhibitor of catecholamine), FORMULA (C10H13NO3), MW_WITHS (195.2151), SUPPLIER (LOFAC 1280), SUPPLIER_ID (120693), PROJECT (Validated), DELETERIOUS (1 副作用発現抑制 Q、2 毒物、3...), VOLUME (675), CONC (2), STOCK (0), and INITIAL (m). Below this, an 'Assay_data' table is visible:

TARGET_TYP	TARGET_NAME	ASSAY_NAME_SHORT	R_TYF	R_UNI	VALUE	CON	C_UNI	FLAC	RESULT_DAT
Enzyme		_004	T/C	%	87	2	uM		20100218
Enzyme		_202	T/C	%	110	2	uM		20100218
Enzyme		_TypeR	T/C	%	100	2	uM		20100218
GPCR		MMP	T/C	%	100	5	uM		20091203
Enzyme		-1	T/C	%	102.47	10	uM		20080825
Enzyme		-1	T/C	%	80.03	10	uM		20080825

Below the table, 'Assay_Detail' shows ASSAY_NAME_SH as _004 and DETECTION as Luminescence. A 'DESCRIPTION' field is also present.



□ 創薬機構では、非特異的な作用や高い反応性が懸念される化合物にアラート情報を付与するなどの管理を行い、申請者に情報提供しています

➤ Frequent hitters

- ✓ 創薬機構化合物ライブラリーの一次スクリーニング後、追加試験用請求の頻度をサンプル毎に集計し、高頻度のサンプルには非選択的活性を疑う指標を付与 (FHフラグ)
- ✓ 高指標のサンプルはコアライブラリーやマスタープレートから除外
- ✓ 指標の数値は参考データとして、ヒット後の構造情報開示の際に通知

➤ PAINS (pan assay interference compounds)*

- ✓ PAINSと指摘されている部分構造を有する化合物には指標を付与し、構造情報開示の際に情報提供
- ✓ PAINSは必ずしも非特異的な活性ではなく、既知有用化合物も含まれていることから、化合物ライブラリーからは除去せず、ヒット化合物の優先順位付けの情報として利用

➤ Michael acceptors等の共有結合性化合物

- ✓ 高反応性部分構造を有する化合物は購入候補品選定段階で除外
- ✓ 近年共有結合性化合物を探索の対象とするケースあり
- ✓ Michael acceptors等是非特異的に必ず反応するものではないため、Frequent hittersの指標に基づいた除去対応 (積極的に加えてもいない)
- ✓ Michael acceptors等の共有結合性化合物で、Frequent hittersや細胞毒性等で指標が付与されているサンプルについて化学構造開示の際に通知

*Baell J.B. *et al.*, *J. Med. Chem.* **53**, 2719 (2010)