〔原 著 論 文〕

糖鎖模倣ペプチドのインフルエンザヘマグルチニンに対する結合活性の多価効果

松原 輝彦^{*1}・大西 愛^{*1}・齋藤 智美^{*1}
山口 大介^{*1}・佐藤 智典^{*1}

(受付 2015 年 9 月 1 日・審査終了 2015 年 10 月 5 日)

(早期公開 2015 年 12 月 28 日・DOI:10.1295/koron.2015-0052)

要 旨 インフルエンザウイルスは細胞表面のシアル酸含有糖鎖に結合して感染することから、感染過程を阻害する化合物は抗インフルエンザ薬として期待できる。筆者らは以前にファージ提示法を用いてヘマグルチニン (HA) に対する親和性選択を行い、ペプチドライブラリーから HA に結合する s2 配列 (ARLPRTMVHPKPAQP) を得た。s2 配列にステアロイル基を修飾したペプチドはウイルスの感染阻害活性を示し、s2 配列が感染阻害剤として有用であることが示された。そこで本報では、HA との結合親和性を高めるための分子設計として、s2 配列の短鎖化およびデンドリマー化を行った。その結果、s2 配列は短鎖化により親和性が低下したが、デンドリマー化することによって顕著に親和性が向上した。とくに N 末端 5 残基の四分岐デンドリマーでは、s2 配列の 70 倍を超える親和性の向上が達成された。

1 結 言

インフルエンザはインフルエンザウイルスを病原とする感染症であり、核タンパク質およびマトリックスタンパク質の抗原性の違いから、ウイルスは A 型、B 型および C 型に分類される。A 型ウイルスの表面には、二つの抗原性タンパク質としてヘマグルチニン (hemagglutinin, HA) およびノイラミニダーゼ (neuraminidase, NA; シアリダーゼとも呼ばれる) が存在する¹⁾。これらのタンパク質はその抗原性の違いにより、HA および NA にそれぞれ 16 種類および 9 種類の亜型が確認されている²⁾。インフルエンザの感染予防や重症化に対してはワクチンが有効であるが、ワクチンの製造には半年以上かかり、また実際に流行する株を予測して製造されている³⁾。

一方、抗インフルエンザ薬が近年有効とされ、処方されるようになった⁴⁾。M2 タンパク質の阻害剤として他の病気の薬として使われていたアマンタジンやリマンタジンが当初、抗インフルエンザ薬として用いられていたが、現在流行しているウイルスではすべて耐性ができており、現在は使用されていない⁵⁾。1990 年代よりノイラミニダーゼ阻害剤 (オセルタミビルやザナミビルなど) が上市され、現在はさらに種類が増えている。ここでノ

イラミニダーゼは細胞内で増殖したウイルスが発芽する過程に必要な酵素である。2009 年の A/H1N1 パンデミックでは、2009 年 4 月 15 日の最初の患者の報告からわずか 2 週間で、世界規模でのパンデミックの警告 (pandemic alert, phase 5) が行われた⁶⁾。このような場合、ワクチンの準備は間に合わない。多くの国でノイラミニダーゼ阻害剤が使用され、発展途上国においては世界保健機関 (WHO) から配布された⁷⁾。抗インフルエンザ薬が開発されて以降人類が経験する初めてのパンデミックであり、その後ウイルスの流行や耐性株の動向が注視された。実はパンデミック直前の 2008/09 シーズンでは、流行した季節性 H1N1 型ウイルスはオセルタミビル耐性株で占められていたが、今回パンデミックとなった H1N1 型ウイルスは耐性株ではなかった⁸⁾。パンデミック後のシーズンでは耐性株ではないウイルスが流行しているが、耐性株が再び蔓延する可能性があり、耐性株のできにくい薬剤や作用機序の異なる新規な抗インフルエンザ薬の開発が求められている。

インフルエンザウイルスの感染は、HA が細胞表面のシアル酸を含む糖鎖 (シアリルガラクトース構造, Neu5Ac-Gal) に結合することから始まる⁹⁾。筆者らは最初のステップである HA がシアル酸含有糖鎖に結合する過程を阻害するペプチドの開発を行っている。これはノイラミニダーゼ阻害剤とは異なる作用機序で働く抗インフルエンザ薬として期待できる。筆者らは以前にファージ提示法を用いて HA に対する親和性選択を行い、ペプチドライ

^{*1} 慶應義塾大学理工学部 (☎ 223-8522 横浜市港北区日吉 3-14-1)

ブラリーから HA の糖鎖受容体結合部位に挿入される 15 残基のペプチド s2 (ARLPRTMVHPKPAQP) を同定した¹⁰⁾。この時の親和性選択において、HA と結合しているファージをシアリルガラクトース含有糖鎖で溶出したことから、得られたペプチドはシアル酸含有糖鎖を機能的に模倣すると考えられる。また、このペプチドの N 末端をステアロイル基で修飾することにより、ウイルスの感染阻害活性がみられた ($IC_{50}=11 \mu M$, H1N1)。ステアリン酸を連結することによってペプチドは自己集合し、集合体の形成によって感染阻害活性を示したと考えられた。しかし s2 の阻害活性は全長の 15 残基である必要はなく、N 末端の 8 残基もしくは 5 残基さえあれば十分な感染阻害活性を示した (5 残基の場合、 $IC_{50}=1.9 \mu M$)¹⁰⁾。またカルボシラン骨格を使ったデンドリマーにおいても、糖鎖の代わりにペプチドが利用できることがわかった¹¹⁾。これらの結果は、HA に結合するペプチドは感染阻害活性を有する分子となることを示すが、ここで HA に対する結合親和性を劇的に向上させることができれば、より高い感染阻害活性を有する分子となる可能性がある。そこで本報では、s2 配列を短鎖化したペプチドおよびリジン (Lys) を骨格としたデンドリマーを設計し、s2 の HA との相互作用を評価した結果について報告する。

2 実験

2.1 試料

ヘマグルチニン (HA) はインフルエンザウイルスのエーテル処理を行い、HA タンパク質を抽出したものをを用いた¹⁰⁾。H1 および H3 型は、それぞれ A/New

Caledonia/20/99 (H1N1), A/NewYork/55/2004 (H3N2), A/Wyoming/3/2003 (H3N2) から得た。

2.2 ペプチド合成

s2-biotin および s2r-biotin は (株) ペプチド研究所から入手した。それ以外のペプチドは多種品目自動ペプチド合成装置 PSSM-8((株) 島津製作所製) を用い、9-fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) 化学に基づいた固相合成法により合成した。C 末端カルボン酸の負電荷の影響を避けるため、合成用樹脂 Fmoc-NH-SAL-Resin (渡辺化学工業 (株) 製) を用いて合成し、C 末端をアミド化した。ビオチンは、Lys 側鎖にビオチンが連結された Fmoc-Lys(biotin)-OH を用いて導入した。合成したペプチドを樹脂から切断した後、高性能液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて精製を行った。HPLC で 95% 以上の純度であることを確認した。MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption ionization/time-of-flight mass spectrometry) を用いて目的の分子量 (Table 1, 2) であることを確認した。MALDI-TOF MS (m/z) s2(1-8)-biotin: calcd for $[M+H]^+$ 1296.74, found 1295.25; s2(1-5)-biotin: calcd for $[M+H]^+$ 965.59, found 965.40; s2(1-4)-biotin: calcd for $[M+H]^+$ 809.48, found 809.42; biotin-s2(1-8): calcd for $[M+H]^+$ 1296.74, found 1296.46; (ARLP₂)₂K-K(biotin)-NH₂: calcd for $[M+H]^+$ 1687.06, found 1687.54; [(ARLP₂)₂K]₂K-K(biotin)-NH₂: calcd for $[M+H]^+$ 3130.00, found 3132.89; (ARLP₄)₂K-K(biotin)-NH₂: calcd for $[M+H]^+$ 2143.23, found 2144.65; (ARLP₇)₂K-K(biotin)-NH₂: calcd for $[M+H]^+$ 2485.36, found 2486.33; (ARLP₁₀)₂K-K(biotin)-NH₂: calcd for $[M+H]^+$ 2827.49, found 2828.17.

Table 1. Dissociation constant (K_d) of monomeric peptides for H1 and H3 HAs determined by the ABC method

code	peptide structure ^{a)}	K_d (μM)		
		H1HA	H3HA	anti-GM3 antibody
s2-biotin	ARLPRTMVHPKPAQP-K(biotin)-NH ₂	31 ^{b)}	22 ^{b)}	24
s2(1-8)-biotin	ARLPRTMV-K(biotin)-NH ₂	61	97	>400
s2(1-5)-biotin	ARLPK-K(biotin)-NH ₂	74	181	>400
s2(1-4)-biotin	ARLP-K(biotin)-NH ₂	>400	—	>400
s2r-biotin	PQAPKPHVMTRPLRA-K(biotin)-NH ₂	>200	>200	—
biotin-s2(1-8)	K(biotin)-ARLPRTMV-NH ₂	>400	>400	—

^{a)} K(biotin), *N*-ε-biotinyl-L-lysine. ^{b)} Adapted from reference¹⁰⁾.

Table 2. Affinity of s2(1-5) peptide dendrimers for H1 and H3 HAs determined by the ABC method

code	peptide structure ^{a)}	H1HA		H3HA	
		K_d (μM) ^{b)}	relative affinity	K_d (μM) ^{b)}	relative affinity
monomer	ARLPK-K(biotin)-NH ₂	74 ^{c)}	1	181 ^{c)}	1
dimer	(ARLP ₂) ₂ K-K(biotin)-NH ₂	14	5.3	2.6	70
tetramer	[(ARLP ₂) ₂ K] ₂ K-K(biotin)-NH ₂	0.40	185	0.31	584

^{a)} K(biotin), *N*-ε-biotinyl-L-lysine. ^{b)} K_d values are calculated based per peptide (ARLP₂) unit. ^{c)} Table 1.

2.3 ABC 法 (avidin-biotin-peroxidase complex method)

HA および抗 GM3 抗体は、タンパク質固定化用の 96 穴イムノプレート (code 442404, nunc) に物理吸着もしくはカルボプレート (code MS-8796F, SUMILON) に以前に報告した方法で固定化した¹⁰⁾。ここで H1 もしくは H3 型 HA は、PBS (phosphate-buffered saline) で 70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ に希釈した溶液を用いた。また抗 GM3 抗体 (生化学工業 (株) 製) は同様に PBS で 10 ng/mL に調製して用いた。

タンパク質を固定化した 96 穴プレートに系列希釈したビオチン化ペプチドを加え、室温で 2 時間インキュベートした。PBS で洗浄後、5,000 倍希釈したペルオキシダーゼ標識アビジンを加え、室温で 1 時間インキュベートした。結合したペプチド量は、*o*-phenylenediamine (OPD) を用いて発色させ、492 nm の吸光度で定量した。

2.4 解離定数 (K_d) の算出

ABC 法で得られた吸光度 (ΔA) を相互作用させたビオチン化ペプチドの濃度に対してプロットした。Langmuir 型の結合飽和曲線が得られた場合、ペプチド濃度 ($[\text{peptide}]$) に対して $[\text{peptide}]/\Delta A$ をプロットし、回帰直線の切片から見かけの解離定数 (K_d) を求めた。

2.5 分子モデリング

ペプチドデンドリマーの分子モデリングは、Dassault Systemes Biovia 社製 (旧名: Accelrys 社) の Discovery Studio 2.1 を用いた。Biopolymer モジュールを用いてペプチド ARLPR を構築し、CHARMM force field にてエネルギー最小化計算 (minimization) を行った。デンドリマーは Lys を連結して二分岐もしくは四分岐を構築し、エネルギー最小化および分子動力学計算 (standard dynamics cascade) を行った後の典型的な構造の一つを表示した。

3 結果と考察

3.1 s2 ペプチドの HA に対する結合活性

ペプチドの HA に対する結合活性は、アビジン-ビオチン複合体 (avidin-biotin-peroxidase complex, ABC) 法を

用いて評価した。H1 もしくは H3 HA を 96 穴プレートに固定化し、ビオチンを C 末端に修飾したペプチドを加えた後、結合しているペプチドをペルオキシダーゼ標識アビジンで検出した。以前の論文で求めた s2 配列 (ARLPRTMVHPKPAQP) の H1 および H3 HA に対する見かけの解離定数 K_d はそれぞれ 31 および 22 μM であった¹⁰⁾。まず s2 配列を逆にして合成したペプチド (s2r, PQAPKPHVMTRPLRA) の K_d 値を求めたところ、s2 と比較して低い結合量を示し、配列特異性があることが示された (Figure 1(A), Table 1)。

s2, s2(1-8), s2(1-5) のステアロイル化ペプチドのブランクアッセイによる H1N1 型インフルエンザウイルスの感染阻害活性は、 IC_{50} 値 (感染を 50% 阻害するときのリガンド濃度) でそれぞれ 11 μM , 3.0 μM , 1.9 μM であり¹⁰⁾、ペプチドが短くなるに従って阻害活性が向上する傾向が示されている。そこで次に s2(1-8) および s2(1-5) の HA に対する K_d 値を求めた。ビオチン修飾ペプチド s2(1-8) の結合量は、50 μM の時に s2 と比較して 1/5 以下となった (Figure 1(B))。400 μM まで測定を行い、飽和に達したのに関して K_d 値を求めた。その結果、s2(1-8) の K_d 値は全長の s2 配列と比較して H1 型で 2.0 倍 (61 μM)、H3 型で 4.4 倍 (97 μM) となり、親和性の低下がみられた (Table 1)。さらに s2(1-5) では、HA に対する親和性はさらに低下しており (74 μM および 181 μM)、s2(1-4) では相互作用は検出できなかった ($>400 \mu\text{M}$)。H1 と H3 のいずれの亜型においても、ペプチドが短くなるに従って親和性が低下する傾向がみられた。

s2 ペプチドは短くすると HA に対する親和性が低下することが今回明らかになったが、ステアロイル化すると短い配列のウイルス感染阻害活性の方が高かった¹⁰⁾。ステアロイル化ペプチドは自己集合することによって高密度となり、ペプチドの結合活性が高くなったと考えられる。実際、ウイルス感染阻害の指標である IC_{50} 値はどのステアロイル化ペプチドでもそれぞれの臨界ミセル濃度以上であった (データは示さず)。ただし臨界ミセル濃度はペプチド配列に大きく依存しなかったことから

Figure 1. HA-binding of sialic acid-mimic peptides determined by the ABC method. (A) Binding of s2 and s2r peptides to H1 and H3 HAs. (B) Relative binding amounts of s2, s2(1-8), s2(1-5), and s2(1-4) peptides to H1 and H3 HAs ($[\text{biotinylated peptide}] = 50 \mu\text{M}$).

Figure 2. HA-binding of biotinylated s2(1-8) peptides determined by the ABC method. Binding of biotin-s2(1-8) and s2(1-8)-biotin peptides to H1 and H3 HAs.

(1 μM 程度)、高密度となる以外の要素の寄与によって高い感染阻害活性を示したと考えられる。詳細な作用機序は現段階では明らかにできていないが、ペプチドを高密度にして結合親和性を高くする設計は阻害活性分子を得る際に有用であると考えられる。

3.2 ビオチン修飾する位置の検討

3.1 節の結果はC末端にビオチンを修飾しているペプチドを用いたが、ビオチン修飾の位置が結合活性に影響を示す可能性がある。そこで、s2(1-8)のN末端にビオチンを修飾したペプチドを合成し、HAへの結合量を評価した (Figure 2)。その結果、N末端側にビオチン修飾したs2(1-8)ではH1およびH3 HAへの結合は検出されなかった。またN末端側にビオチン修飾したs2(1-4)においても、同様にHAへの結合を検出できなかった (データは示さず)。この理由として、N末端のアミノ酸にビオチンが修飾されたことで立体障害などによりHAとの相互作用を阻害したか、ペプチドがHAと相互作用した状態のビオチンをアビジンが認識できなかったと考えられる。

s2 ペプチドのHAへの結合を評価するには、C末端側をビオチン修飾し、N末端側のアミノ酸残基がフリーの状態にあることが必要であることが明らかになった。この結果は、s2 配列中のN末端の5残基が感染阻害活性に必須であることや、ドッキングシミュレーションにおいてペプチドがHAの受容体結合部位に認識される知見と一致している¹⁰⁾。

3.3 抗GM3抗体に対する結合活性：シアル酸含有糖鎖の模倣

ガングリオシド GM3 (Neu5Acα2-3Galβ1-4GlcCer) はシアル酸をもつスフィンゴ糖脂質で、HAの受容体の一つとして知られている⁹⁾。ファージ提示法でs2ペプチドを得た際には、シアリルルイスXやガングリオシド GM3などのシアリルガラクトース構造を有する糖鎖を溶出分子に用いてバイオパニングを行った¹⁰⁾。s2はシアル酸含有糖鎖の模倣分子として働くと考えられるため、抗GM3抗体とも相互作用する可能性がある。

Figure 3. Binding of biotinylated peptides to an anti-GM3 antibody determined by the ABC method.

抗GM3抗体を96穴プレートに固定化し、ビオチン修飾ペプチドを加えた後、結合しているペプチドをペルオキシダーゼ標識したアビジンで検出した。s2ペプチドは濃度依存的に抗GM3抗体への結合性を示し、 K_d 値は24 μMであった (Figure 3)。これらの結果より、s2およびその短鎖ペプチドはシアル酸含有糖鎖を模倣していることが示唆された。一方s2(1-5)およびs2(1-8)では、抗GM3抗体への結合性が顕著に低下した (いずれも $K_d > 400$ μM, Table 1)。s2配列の短鎖化により抗GM3抗体への親和性が低下し、HAに対する選択性が向上することが明らかになった。

3.4 N末端5残基のデンドリマー化

以前の報告で、s2ペプチド単体ではウイルスの感染阻害活性を示さなかったが、ステアリル化することで阻害することを報告した¹⁰⁾。ペプチドはステアリル化することによって自己集合し、結合親和性を高めるなどの効果で感染阻害活性を示したと考えられた。そこで自己集合しなくとも高密度にペプチドを配置させるため、短鎖化ペプチドのLys骨格によるデンドリマーを設計した。

s2(1-5)配列 (Ala-Arg-Leu-Pro-Arg) をLys側鎖で分岐させた二分岐および四分岐のペプチドデンドリマー (dimer および tetramer) を合成した (Figure 4, Table 2)¹²⁾。H1型およびH3型HAへの結合をABC法で評価したところ、分岐数が増えるに従い、結合親和性が劇的に向上した (Figure 5)。dimerのH1型に対する親和性はモノマーと比較して5.3倍向上し ($K_d = 14$ μM, peptide unit)、tetramerでは185倍向上した (0.40 μM)。同様にH3型HAに対する親和性もdimerとtetramerでそれぞれ70倍と584倍向上した (2.6 μM, 0.31 μM)。s2(1-5)配列は多価の効果によりHAへの結合親和性が顕著に向上し、とくに四分岐のデンドリマーではH1およびH3型の両方のHAに対し、s2配列の70倍を超える親和性があることが明らかになった。

3.5 デンドリマーのスペーサーの検討

s2(1-5)配列はLysで分岐および連結することでHAとの親和性が向上したが、次にHAの3カ所の受容体結合

Figure 4. A series of peptide dendrimers with a lysine-branched core (monomer, dimer, and tetramer). Chemical structures (*left*), symbolic representations (*center*), and molecular modeling (*right*) of dendrimers. The distance between ARLPR peptide units was 0.8 nm.

Figure 5. HA-binding of peptide dendrimers determined by the ABC method. Binding of the monomer, dimer, and tetramer to H1 and H3 HAs.

部位の空間配置に基づき、分子設計を行った。HAは三量体で存在し、その受容体結合部位の距離は約4.6 nmであることから¹³⁾、その距離に近いスペーサーを有する dendrimer を設計した。s2(1-5)配列とLysの間にグリシン (Gly) をスペーサーとして4残基、7残基、10残基を挿入した二分岐ペプチドを合成した (G4, G7, G10 dimer, Figure 6(A)). dimer の s2(1-5) 配列の C 末端のカルボニル炭素間の距離は、スペーサーなしでは約0.8 nm であるが (Figure 4), 4残基、7残基、10残基が伸長した状態では、それぞれ3.3–3.5, 5.2–5.5, 7.2–7.5 nm であると見積もることができる (Figure 6(C)). またグリシンによるスペーサーは特定の高次構造をとることはないため、スペーサーがない dimer と比較してペプチド間の距

離やペプチドが提示される方向の自由度は高いと考えられる。

HA との相互作用を測定したところ、4残基以上の長さにおいて、スペーサーがない dimer よりも1.5倍から1.8倍結合量が向上した ([peptide unit]=16 μM, Figure 6(B)). 高い結合性を示したのは多価の効果に加え、スペーサーを介して適切な距離をとることにより、ペプチドユニットが同時に複数の受容体の結合部位近傍に位置することが可能であったためと考えられる。結果として、受容体結合部位の距離に匹敵するスペーサーを有するグリシン7残基のG7 dimer よりも、1.5倍程度の長さのG10 dimer が最も高い結合量を示した。

Figure 6. HA-binding of peptide dimers having glycine spacers. (A) Schematic structures of peptide dimers having Gly₄ (G4 dimer), Gly₇ (G7 dimer), and Gly₁₀ (G10 dimer) spacers. (B) Binding of dimers to H1 HA determined by the ABC method. (C) Molecular modeling of dendrimers and schematic representation HA trimers. The distances between ARLPR peptide units were shown.

4 結 言

シアル酸含有糖鎖を模倣したペンタデカペプチド s2 の短鎖化およびデンドリマー化を行い、HA への結合親和性の評価を行った。全長 15 残基のペプチドよりも短くした 5 残基および 8 残基のペプチドでは HA との親和性は低下した。しかし二分岐および四分岐にデンドリマー化することによって親和性は顕著に向上し、四分岐では s2 ペプチドの 70 倍を超える親和性が得られることを見いだした。また二分岐のデンドリマーにおいて、ペプチド間にスペーサーを導入することで HA への親和性を向上させることにも成功した。HA に結合する最小のペプチド配列を用いても、多価の効果によって高い親和性をもつ分子の設計が可能であった。糖鎖模倣ペプチドの HA に対する親和性を向上させることで、高い感染阻害活性をもつ分子が得られると期待される。

文 献

- 1) R. Salomon and R. G. Webster, *Cell*, **136**, 402 (2009).
- 2) R. G. Webster and E. A. Govorkova, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1323**, 115 (2014).
- 3) “インフルエンザとかせ症候群”, 加地正郎編, 南山堂 (2003).
- 4) R. R. Regoes and S. Bonhoeffer, *Science*, **312**, 389 (2006).
- 5) T. G. Sheu, A. M. Fry, R. J. Garten, V. M. Deyde, T. Shwe, L. Bullion, P. J. Peebles, Y. Li, A. I. Klimov, and L. V. Gubareva, *J. Infect. Dis.*, **203**, 13 (2011).
- 6) F. S. Dawood, S. Jain, L. Finelli, M. W. Shaw, S. Lindstrom, R. J. Garten, L. V. Gubareva, X. Xu, C. B. Bridges, and T. M. Uyeki, *N. Engl. J. Med.*, **360**, 2605 (2009).
- 7) D. Reddy, *J. Antimicrob. Chemother.*, **65**, ii35 (2010).
- 8) H. T. Nguyen, A. M. Fry, and L. V. Gubareva, *Antiviral Ther.*, **17**, 159 (2012).
- 9) Y. Suzuki, *Prog. Lipid Res.*, **33**, 429 (1994).
- 10) T. Matsubara, A. Onishi, T. Saito, A. Shimada, H. Inoue, T. Taki, K. Nagata, Y. Okahata, and T. Sato, *J. Med. Chem.*, **53**, 4441 (2010).
- 11) K. Hatano, T. Matsubara, Y. Muramatsu, M. Ezure, T. Koyama, K. Matsuoka, R. Kuriyama, H. Kori, and T. Sato, *J. Med. Chem.*, **57**, 8332 (2014).
- 12) J. P. Tam, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 5409 (1988).
- 13) W. J. Lees, A. Spaltenstein, J. E. Kingery-Wood, and G. M. Whitesides, *J. Med. Chem.*, **37**, 3419 (1994).

[Original Papers]

Multivalent Effect in Influenza Hemagglutinin-Binding Activity of Sugar-Mimic Peptide

Teruhiko MATSUBARA^{*1}, Ai ONISHI^{*1}, Tomomi SAITO^{*1}, Daisuke YAMAGUCHI^{*1}, and Toshinori SATO^{*1}

^{*1}*Department of Biosciences and Informatics, Faculty of Science and Engineering, Keio University (3-14-1 Hiyoshi, Kohoku-ku, Yokohama 223-8522, Japan)*

Hemagglutinin (HA) of the influenza virus binds to sialyloligosaccharide receptors on the cell surface in the first step of infection; therefore, inhibitors of the HA-receptor interaction have potential as anti-influenza drugs. We previously identified the HA-binding peptide s2, ARLPRTMVHPKPAQP, from random peptide libraries using phage-display technology. The *N*-stearoyl s2 peptide showed inhibitory activity against influenza virus infection. To obtain molecules with high affinity for HAs, truncated s2 peptides and dendrimers were designed in the present study. The affinity of dendrimers functionalized with the truncated peptide was higher than that of the full-length s2 peptide, especially a tetrameric dendrimer with ARLPR was more than 70-times more effective than the s2 peptide.

KEY WORDS Peptide / Hemagglutinin / Influenza / Sialyloligosaccharide / Anti-Viral Drug /

(Received September 1, 2015; Accepted October 5, 2015; Advance Publication December 28, 2015) [*Kobunshi Ronbunshu*, **73**, 62—68 (2016)]

©2016, The Society of Polymer Science, Japan