

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 4 月 29 日現在

機関番号：10106

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05612

研究課題名(和文) 硫酸化糖鎖の未解明抗ウイルス性メカニズムの解決

研究課題名(英文) Elucidation of unresolved anti-HIV mechanism of sulfated polysaccharides

研究代表者

吉田 孝 (Yoshida, Takashi)

北見工業大学・工学部・特任教授

研究者番号：40166955

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：硫酸化糖鎖の抗HIV活性は硫酸基に由来する(-)電荷とHIV表皮タンパク質gp120中の塩基性アミノ酸に由来する(+)電荷との静電的相互作用と推定した。HIV表皮タンパク質gp120中のオリゴペプチドを合成し、SPRやDLS装置などを用いて相互作用を解析し抗HIV活性メカニズムを明らかにした。インフルエンザウイルスやデング熱ウイルスに対しても硫酸化糖鎖の抗ウイルス活性メカニズムを解明した。次にアルキルオリゴ糖鎖も抗ウイルス活性や細胞毒性など未解明問題があり、糖鎖およびタンパク質の両面からSPRやDLS測定により硫酸化アルキルオリゴ糖鎖の抗ウイルス活性、細胞毒性メカニズムを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ウイルス表皮タンパク質中の感染に関係する領域のオリゴペプチドを合成し硫酸化糖鎖との相互作用をSPRやDLS装置を用いて測定し明らかにした。硫酸化アルキルオリゴ糖鎖の高い抗HIV性における長鎖アルキル鎖の役割は、ウイルスや細胞のモデルとしてリポソームとの相互作用をSPR、DLS、高分解能NMRなどにより定量的に調べた。

硫酸化糖鎖、硫酸化アルキルオリゴ糖鎖のHIV、デング熱ウイルス、インフルエンザウイルスなどの抗ウイルス活性発現メカニズムや細胞毒性メカニズムが明らかになり学術的意義は高い。また、ウイルス吸着性能を持つ不織布マスクやフィルター、生医学材料への応用も期待され社会的意義もある。

研究成果の概要(英文)： Electrostatic interactions of oligopeptides from virus envelope glycoproteins with sulfated polysaccharides were investigated using SPR and DLS measurements. Sulfated polysaccharides interacted ionically with clustered and concentrated regions of basic amino acids on the envelope glycoproteins to prevent the infections to cells. Acidic and bulky amino acids inhibit in the electrostatic interactions.

Sulfated 1-alkyl-triazole-maltoheptaosides having potent anti-HIV activity were synthesized and subjected to SPR with liposomes to elucidate the cytotoxic mechanism. Nonsulfated and sulfated 1-alkyl-triazole-maltoheptaosides bearing a C18 alkyl chain showed the highest apparent association-rate constant and lowest dissociation-rate constant against liposomes, indicating that the alkyl groups bearing longer-chains interact tightly with the liposomes. The results suggest that the longer-chain alkyl groups penetrate into the lipid bilayer of MT-4 cells to induce cytotoxicity.

研究分野：高分子材料関連

キーワード：硫酸化糖鎖 硫酸化アルキルオリゴ糖鎖 ウイルス表皮タンパク質 オリゴペプチド 表面プラズモン共鳴(SPR)装置 動的光散乱(DLS)装置

## 1. 研究開始当初の背景

硫酸化糖鎖の抗ウイルス性は分子量や硫酸化度に大きく関係し(Choi, Yoshida, Uryu 他, *Carbohydr. Res.*, **282**, 113–123 (1996)), 分枝構造も抗ウイルス性に重要であることを見出した(Han, Yoshida 他, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **47**, 913–924 (2009)), 硫酸基に由来する(-)電荷と HIVgp120 の塩基性アミノ酸に由来する(+ )電荷との静電的相互作用と予測したが未解明課題である。さらにオリゴ糖鎖の抗ウイルス性は低いが、長鎖アルキル鎖を導入した硫酸化アルキルオリゴ糖鎖では高い抗 HIV 性を示すことも見出し(Uryu, Yoshida 他, *Biochem. Pharmacol.*, **43**, 2385–2392 (1992)), セッケンや界面活性剤のように親水性と疎水性とのバランスで高い抗 HIV 性を発現するのではと予測したが今だ未解明課題である。

これら2つの未解明課題を新しい方法論や手法によって解決することが本研究の目的である。硫酸化糖鎖、硫酸化アルキルオリゴ糖鎖抗 HIV 性発現では「相互作用」が重要であり、これまで硫酸化糖鎖と短いオリゴペプチドとの相互作用を解析し HIVgp120 の V3 loop や C 末端との相互作用を推定した(Tungalag, Yoshida 他, *Int. J. Biol. Macromol.*, **125**, 909–914 (2019))。これらの研究背景から本研究では長いペプチド鎖や HIV モデルリポソームとの相互作用を SPR、DLS、高分解能 NMR 測定などから解明し硫酸化糖鎖、硫酸化アルキルオリゴ糖鎖の未解明問題を解決する。

## 2. 研究の目的

本研究は抗 HIV 活性試験、表面プラズモン共鳴 (SPR)、動的散乱 (DLS) や高分解能 NMR を用いて長いアミノ酸配列の相互作用位置を解明することが目的であり、体外でウイルスを吸着除去出来るような医用材料を創成し、人類の健康と福祉に貢献する成果を得ることを最終的な研究目標とする。第1として、HIVgp120 の表皮タンパク質の長い(約 50 アミノ酸残基) loop 状および直鎖状ペプチドのアミノ酸配列をペプチド固相合成機で合成し、ペプチドのどの部位が相互作用にどのように関わるのかを SPR による見かけの結合速度定数 ( $k_d$ ) および解離速度定数 ( $k_d$ )、DLS による粒子径やゼータ ( $\zeta$ ) 電位、高分解能 NMR による相互作用の位置特定などで定量的かつ詳細な研究を行う。医学部の分担研究者と医工連携により硫酸化糖鎖の生理活性作用機構を解明する。第2として、硫酸化アルキルオリゴ糖鎖の高い抗 HIV 性における長鎖アルキル鎖の役割について、硫酸化アルキルオリゴ糖鎖を新たに合成し実際の HIV ウイルスを用いて HIV に対する効果を調べ、リポソームとの相互作用を SPR、DLS などを用いて定量的に解析する。

## 3. 研究の方法

長いオリゴペプチド(約 44 アミノ酸残基)の合成と SPR、DLS による相互作用を定量的に解析した。硫酸化アルキルオリゴ糖鎖を合成し、抗ウイルス性を MTT 法により測定した。50%増殖抑制濃度 (EC<sub>50</sub>) および 50%細胞毒性濃度 (CC<sub>50</sub>) により硫酸化糖鎖、硫酸化アルキルオリゴ糖鎖の抗 HIV 性を定量的に測定、評価した。

## 4. 研究成果

### (1) ウイルスオリゴペプチドの合成と硫酸化糖鎖との相互作用<sup>1), 2)</sup>

抗ウイルス活性や抗凝血性などの硫酸化糖鎖の生理活性は糖鎖中の硫酸基と相手ウイルスタンパク質中の塩基性アミノ酸との静電的相互作用と考えられているが、相互作用を詳細に調べた研究は少ない。ウイルスは表皮タンパク質と感染先の細胞表面のレセプタータンパク質のウロン酸誘導体や酸性アミノ酸などとイオニックに相互作用して感染

Table 1. Biotinylated viral oligopeptides and model peptides of DI/III site in dengue virus

Virus name	Position	Sequence <sup>a</sup>	AA <sup>b</sup>	Molecular weight <sup>c</sup>		Remark
				Calcd	Obsd	
A/Yamagata	HA	[Biotin]- <sup>221</sup> <u>SHYSRR</u> FTPEIA <u>KRPK</u> V <u>RGQEGR</u> <sup>243</sup>	23	2982.42	2981.73	Lys/Arg/His rich
A/Brisbane	HA	[Biotin]- <sup>221</sup> <u>SHYSRK</u> FTPEIA <u>KRPK</u> V <u>RDQEGR</u> <sup>243</sup>	23	3012.45	3011.28	Lys/Arg rich
B/Hong Kong	HA	[Biotin]- <sup>221</sup> <u>SNPQK</u> FTSSANGVT <u>THYV</u> SQIGG <sup>243</sup>	23	2606.85	2606.03	Lys/His poor
Dengue	DI/III-1	[Biotin]- <sup>284</sup> <u>KCRLR</u> MD <u>KLQK</u> GMSYSMCTG <u>KFKIVK</u> <sup>310</sup>	27	3420.31	3416.01	Lys/Arg/ rich
Dengue	DI/III-2	[Biotin]- <sup>386</sup> <u>QLKLD</u> W <u>FKK</u> GSSIGQM <u>FETMR</u> G <u>AKR</u> <sup>411</sup>	26	3270.88	3298.64	Lys/Arg/ rich
Model peptide-9		[Biotin]- <sup>1</sup> <u>KGRGR</u> GGG <u>GKGGG</u> GGGGGGG <u>GKGGK</u> <sup>27</sup>	27	2408.50	2410.41	Model of DI/III-1
Model peptide-10		[Biotin]- <sup>1</sup> <u>GGR</u> GGGGGGG <u>KRGGG</u> GGGGG <u>KRGG</u> <sup>24</sup>	24	2266.43	2263.33	Continuous basic Amino acids
HIV gp120 V3 long	V3 region	[Biotin]- <sup>295</sup> <u>NCTR</u> PNNN <u>TRKRIR</u> IQRG <u>PGRA</u> FVTIG <u>KIGNMR</u> QAHCNISR <u>AKW</u> <sup>338</sup>	44	5318.23	5204.54	Long peptide
HIV gp120 C ter long	C terminus	[Biotin]- <sup>468</sup> <u>FR</u> PGGDMRDNWR <u>SELYKYKVV</u> <u>KIE</u> PLGV <u>APT</u> <u>KA</u> KRRV <u>VQREKR</u> <sup>511</sup>	44	5442.40	5452.37	Long peptide
HIV gp120 V3 short <sup>d</sup>	V3 region	[Biotin]- <sup>297</sup> <u>TR</u> PNNN <u>TRKRIR</u> IQRG <u>PGRA</u> <sup>316</sup>	20	2587.35	2586.75	Short peptide
HIV gp120 C ter short <sup>d</sup>	C terminus	[Biotin]- <sup>493</sup> <u>PLGV</u> APT <u>KA</u> KRRV <u>VQREKR</u> <sup>511</sup>	19	2415.34	2414.95	Short peptide

a) Positively charged amino acid was marked by underline.

b) Number of amino acid.

c) The molecular weight of biotinylated peptides was confirmed by using MALDI-TOF-MS.

d) Tungalag et al., *Int. J. Biol. Macromol.*, **125**, 909–914 (2019).

する。そこでペプチド固相合成装置によって HIV gp120、インフルエンザウイルス HA、デング熱ウイルス DI/DIII などの表皮タンパク質のアミノ酸配列から N-末端にビオチン基を導入したオリゴペプチドおよびモデルペプチドを合成し表面プラズモン共鳴 (SPR) 装置、動的光散乱 (DLS) 装置を用いて結合速度定数 ( $k_a$ )、解離速度定数 ( $k_d$ )、解離定数 ( $K_D$ )、粒子径、ゼータ ( $\zeta$ ) 電位などから糖鎖とオリゴペプチドとの相互作用を検討した。表1は本研究で合成したウイルスオリゴペプチドの配列一覧である。オリゴペプチドは 19-44 アミノ酸残基で SPR センサーチップ SA への固定化のために N-末端に biotin 基を導入した。表1に本研究で合成したオリゴペプチドの配列を示す。

表1のオリゴペプチドをセンサーチップ SA に固定化しカードラン硫酸、デキストラン硫酸との相互作用を SPR によって調べた。硫酸化糖鎖はデング熱ウイルスに対して抗ウイルス性を示す。デング熱ウイルスの表皮タンパク質 DI/DIII から感染に関係している領域の DI/DIII-1 と DI/DIII-2 オリゴペプチドとカードラン硫酸、デキストラン硫酸との相互作用の結果を図1に示す。

作用メカニズムを解明する目的で、相互作用を SPR (結合速度定数  $k_a$ 、解離速度定数  $k_d$ 、結合定数  $K_D$ ) を用いて解析した。硫酸化糖鎖との  $k_a$  は Dengue DI/DIII-1 より DI/DIII-2 の方が大きな値、 $k_d$  は Dengue DI/DIII-2 の方が DI/DIII-1 より小さな値となった。すなわち Dengue DI/DIII-2 は結合速度が速く解離速度も遅いことを意味し相互作用が強いことを示している。Dengue DI/DIII-1 と DI/DIII-2 の構造の違いは、Dengue DI/DIII-2 では連続する塩基性アミノ酸配列を持ち、Dengue DI/DIII-1 では塩基性アミノ酸数は多いものの連続する塩基性アミノ酸配列は存在していない。

そこで、Dengue DI/DIII-1 と DI/DIII-2 と硫酸化糖鎖との相互作用の違いを解明するために、連続する塩基性アミノ酸配列を持つ Model peptide-10 と持たない Model peptide-9 を合成し硫酸化糖鎖との相互作用を検討した (図1E、1F)。Model peptide-9 及び Model peptide-10 と硫酸化糖鎖との  $k_a$  値はほとんど同じ値になり大きな違いは見られなかった。一方、 $k_d$  は Model peptide-10 の方が Model peptide-9 より小さな値、すなわち解離速度が遅いことを意味し相互作用が強いことを示している。Model peptide-9 と 10 の構造の違いは、Model peptide-10 では連続する塩基性アミノ酸配列を持っているが、Model peptide-9 では塩基性アミノ酸数は同じであるが連続する塩基性アミノ酸配列を持たない。Dengue DI/DIII-2 も連続する塩基性アミノ酸配列が存在し相互作用も大きいので、Model peptide と硫酸化糖鎖との相互作用の結果から連続する塩基性アミノ酸配列が硫酸化糖鎖との相互作用に関係すると考えた。

次にインフルエンザウイルス HA オリゴペプチドとの相互作用を検討した (図2)。硫酸化糖鎖は A 型インフルエンザウイルスの表皮タンパク質ヘマグルチニン (HA) 由来のオリゴペプチドと相互作用するが、B 型 HA では塩基性アミノ酸が少ないため相互作用しない。硫酸化糖鎖との相互作用では A/Yamagata ウイルス、A/Brisbane ウイルスは同じようなアミノ酸配列を持ち、SPR 測定でも同じ相互作用挙動を示すことが分かった。

B/HongKong ウイルスでは相互作用しなかった。硫酸化糖鎖は A 型ウイルスには効果が高いが B 型ウイルスには効果を示さない理由を明らかにした。さらにインフルエンザウイルス HA も連続する塩基性アミノ酸配列 (Cluster) が存在し、硫酸化糖鎖との相互作用にデング熱ウイルスと同様、重要な役割を担っていることを見出した。

図3にはカードラン硫酸、デキストラン硫酸と HIV gp120 V3 と C terminus 領域の long と short オリゴペプチドとの相互作用を示す。V3、C 末端領域 short オリゴペプチドは、相互作用を阻害すると考えられる酸性アミノ酸や bulky な側

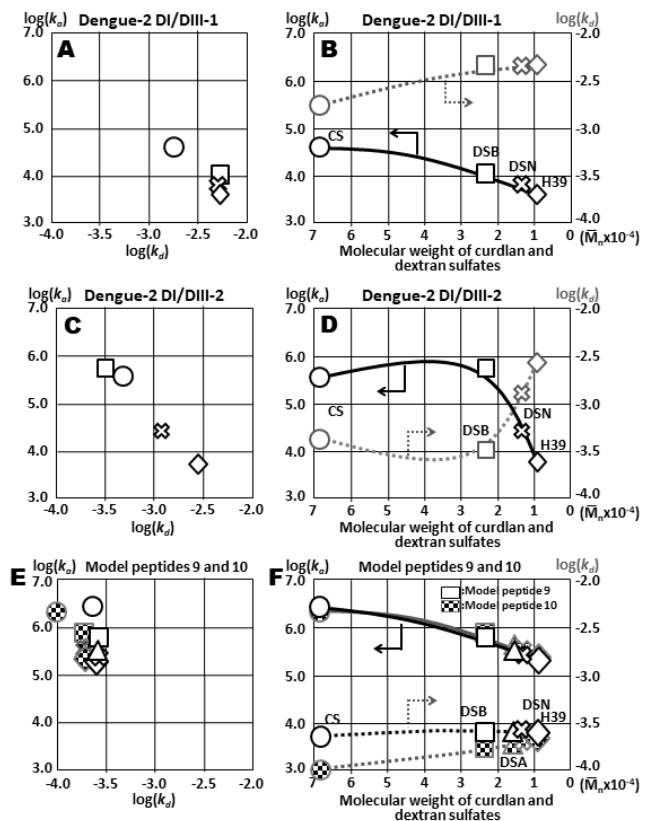


Fig.1. The  $k_a$  and  $k_d$  of (A)-(D) dengue fever virus DI/DIII-1 and -2, and (E) and (F) model peptides 9 and 10 against curdlan and dextran sulfates. Curdlan (CS) and dextran sulfates (DSB, DSA, DSN, and H39) with  $M_n = 68.4 \times 10^3$  ( $S=14.1\%$ ),  $23.0 \times 10^3$  ( $S=14.1\%$ ),  $16.5 \times 10^3$  ( $S=14.2\%$ ), and  $13.1 \times 10^3$  ( $S=17.6\%$ ), and  $8.5 \times 10^3$  ( $S=18.4\%$ ) were used. Symbols: circle; CS, square; DSB, triangle; DSA, X; DSN, and rhombus; H39.

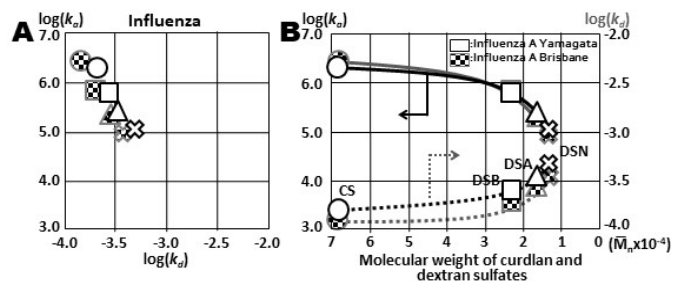
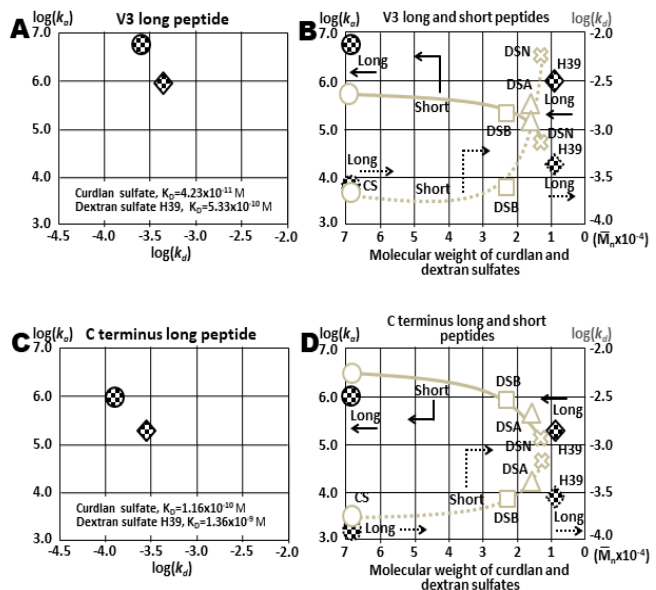


Fig.2. The  $k_a$  and  $k_d$  of influenza A/Yamagata and A/Brisbane HA oligopeptides against curdlan and dextran sulfates. Circle; CS, square; DSB, triangle; DSA, X; DSN.

鎖を持つアミノ酸が少なく、塩基性アミノ酸がほとんどであるので強く相互作用することが分かった。V3 short オリゴペプチドでは cluster 塩基性アミノ酸は1ヶ所、C terminus では2ヶ所存在している。従って **図3B** と **3D** で薄い色で示した short オリゴペプチドとの相互作用では cluster 塩基性アミノ酸が多い C terminus の相互作用が強いことが明らかになった。次に long オリゴペプチドとの相互作用を検討した。cluster 塩基性アミノ酸を2ヶ所持つ C terminus long オリゴペプチドの方が相互作用が大きいと予測した。しかし、 $k_a$  は V3 の方が大きな値を示し、 $k_d$  は C terminus の方が小さな値を示した。すなわち結合速度は V3 long オリゴペプチドが速く、解離速度は C terminus の方が遅いことを意味している。V3 long オリゴペプチドには酸性アミノ酸は無く、bulky アミノ酸も2コしか存在していない。

一方、C terminus long オリゴペプチドでは多数の酸性アミノ酸、bulky アミノ酸が存在している。すなわち、結合は酸性アミノ酸や bulky アミノ酸が少ない V3 long オリゴペプチドの方が速くなると考えた。解離では一度結合すると cluster 塩基性アミノ酸を2ヶ所持つ C terminus long オリゴペプチドと硫酸化糖鎖とは結合が強くなりそのため解離し難くなり  $k_d$  は小さな値になったと考えた。解離定数  $K_D$  を計算すると、V3 long オリゴペプチドの方が小さな値を示し、V3 long オリゴペプチドの相互作用が大きいことが分かった。硫酸化糖鎖は gp120 の V3 領域を中心にして C terminus に掛けて相互作用して抗 HIV 活性を発現していると推定した。

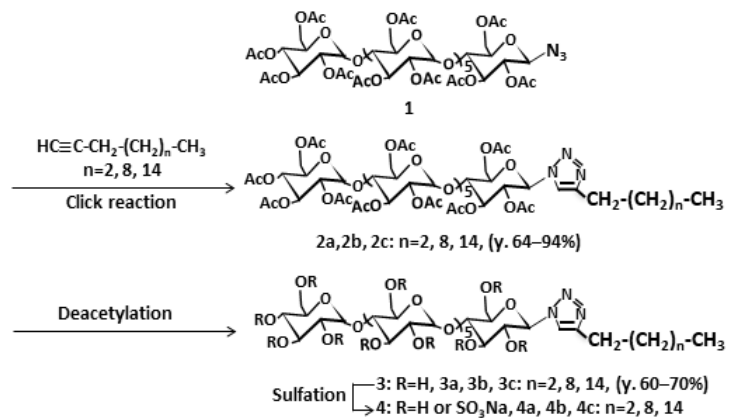


**Fig. 3.** The  $k_a$  and  $k_d$  of (A) and (B) V3 and (C) and (D) C terminus long oligopeptides in HIV gp120 against curdlan and dextran sulfates. The light gray color exhibited the  $k_a$  and  $k_d$  of the short oligopeptides against sulfated polysaccharides. Black symbols show the long oligopeptides against curdlan (circle) and dextran H39 (rhombus) sulfates.

## (2) 硫酸化アルキルオリゴ糖鎖の抗 HIV 活性と細胞毒性メカニズム<sup>3), 4), 5)</sup>

カードラン、マルトースを加水分解、精製したラミナリオリゴ糖、マルトオリゴ糖の還元末端に長鎖アルキル鎖をグリコシド結合させ硫酸化した硫酸化アルキルオリゴ糖鎖は高い抗 HIV 活性 ( $EC_{50} < 1 \mu\text{g/mL}$ ) を示し低細胞毒性 ( $CC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ ) であることを以前に発表した。硫酸化アルキルオリゴ糖鎖の抗 HIV 活性は長鎖アルキル鎖と HIV 脂質二重膜との相互作用と予測された。そこで 1-アセチレンとアセチル化 1-N<sub>3</sub>-マルトオリゴ糖鎖との click 反応により 1 位のトリアゾール環を通して長鎖アルキル鎖を導入した 1-alkyl-triazole- maltoheptaosides を新たに合成し脂質二重膜のモデルとしてリポソームとの相互作用を SPR により解析した。 **図4** には本研究で用いた硫酸化アルキルオリゴ糖鎖 sulfated 1-alkyl- triazole-maltoheptaosides の合成スクームを示す。硫酸化前の 1-alkyl-triazole-maltoheptaosides **3a-3c** では硫酸化していないので抗 HIV 活性は示さない。しかし、MT-4 細胞に対する細胞毒性では長鎖アルキル鎖の長さが C6 ときは  $CC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$  となり低毒性であった。長鎖アルキル鎖の長さが長くなるに従い細胞毒性を示すようになり、C18 のアルキルオリゴ糖鎖 **3c** では  $CC_{50} > 70 \mu\text{g/mL}$  となった。硫酸化後の sulfated 1-alkyl-triazole-maltoheptaosides **4a-4c** では、抗 HIV 活性を示し、C6 の長鎖アルキル鎖を持つ **4a** では  $EC_{50} = 4.6 \mu\text{g/mL}$  の高い活性を示すことが分かった。一方、細胞毒性は **4c** では  $CC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$  の低い値であったが、長鎖アルキル鎖が長くなるほど細胞毒性を示し C18 の長い長鎖アルキル鎖を持つ **4c** では  $CC_{50} > 43 \mu\text{g/mL}$  となり強い細胞毒性を示した。

硫酸化アルキルオリゴ糖鎖の抗 HIV 活性は、長鎖アルキル鎖部分が HIV の脂質二重膜と相互作用して固定化され、硫酸化オリゴ糖鎖部分が HIV gp120 と静電的相互作用して発現すると SPR でリポソームとの相互作用を解析して明らかにした。そこで細胞毒性は長鎖アルキル鎖の長さが長いほど高くなるので、細胞毒性発現メカニズムも MT-4 細胞の脂質二重膜と長鎖アルキル鎖との相互作用と考え、 **図4** に示したように長さが異なる長鎖アルキル鎖を持つアルキルオリゴ糖鎖および硫酸化アルキルオリゴ糖鎖を合成してリポソームとの相互作用を SPR を用いて解析した。 **図 5**



**Fig. 4.** Synthesis of sulfated 1-(alkyl-1, 2, 3-triazole)-1-O-deoxy-maltoheptaosides by click reaction. A long-chain alkyl group is bounded at the reducing end through triazole ring.

は C6、C12、C18 の長さが異なる長鎖アルキル鎖を持つ硫酸化前後のアルキルオリゴ糖鎖の  $k_a$ 、 $k_d$  との関係を示す。図 5 に示すように長鎖アルキル鎖が長くなるに従い、 $k_a$  は大きくなり、 $k_d$  は小さくなるのが分かった。C18 長鎖アルキル鎖を導入した nonsulfated 及び sulfated 1-alkyl-triazole-maltoheptaosides の  $k_a$  は大きな値 ( $1.20 \times 10^5$  and  $1.00 \times 10^7$  1/M)、 $k_d$  は小さな値 ( $7.30 \times 10^{-7}$  and  $1.39 \times 10^{-4}$  1/s) を示しリポソームと特に強く相互作用することを見出した。すなわち、長鎖アルキル鎖の長さが長いほど相互作用が強いことが明らかになった。これは長鎖アルキル鎖がリポソームに深く penetration したことを示している。すなわち、図 6 の模式図に示すように長い長鎖アルキル鎖では細胞の脂質二重膜に深く相互作用することで細胞膜を壊しその結果細胞毒性が発現すると考えた。

### (3) まとめ

本科研費での研究では、硫酸化糖鎖、硫酸化アルキルオリゴ糖鎖の HIV、インフルエンザウイルス、デング熱ウイルスなどに対する抗ウイルス活性、細胞毒性などのメカニズムについて、ウイルス表皮タンパク質中の感染ターゲットとなる種々のオリゴペプチドを合成し、表面プラズモン共鳴 (SPR) 装置、動的散乱 (DLS) 装置などを用いて相互作用を定量的に測定することから、硫酸化糖鎖などの抗ウイルス活性メカニズム、細胞毒性メカニズムなどを解明することが出来た。それらの成果は国際専門誌に採択になった。硫酸化糖鎖の抗ウイルス活性は 1958 年に米国の Gerber らにより海藻の天然硫酸化糖鎖がインフルエンザウイルスに対して効果があることを初めて発見し、その後 1987 年に山本、中島らは海藻から抽出した硫酸化糖鎖が高い抗 HIV 活性を示すことを報告した。無水糖モノマーの開環重合法は高分子量で構造明確な立体規則性糖鎖を合成できる優れた方法である。そこで構造明確な合成硫酸化糖鎖、オリゴ糖鎖、および天然糖鎖を硫酸化した硫酸化糖鎖を用いて抗ウイルス作用メカニズムを解明する研究を続けた。糖鎖とタンパク質との相互作用は HIV や他のウイルス、癌や感染症など私たちの生活にも深く関係している。さらに硫酸化糖鎖の抗ウイルス作用メカニズムからコロナウイルスなどにも効果があると考えられ、実際、天然硫酸化糖鎖のコロナウイルスへの効果に関する多くの論文が発表されている。

本科研費による研究で示したように NMR、SPR、DSL などは *in vitro* での相互作用を基礎的に研究する有効な手段なので、今後は相互作用の研究を定量的、基礎的に進め不織布マスクやメンブランフィルターなどの生医学材料化への応用研究にも取り組んで行く。

本科研費による研究で示したように NMR、SPR、DSL などは *in vitro* での相互作用を基礎的に研究する有効な手段なので、今後は相互作用の研究を定量的、基礎的に進め不織布マスクやメンブランフィルターなどの生医学材料化への応用研究にも取り組んで行く。

- (1) T. Yoshida, "Anti-HIV mechanism of sulfated alkyl poly and oligosaccharides", *J. Fiber Sci. Technol.*, **76**(12), 387–402 (2020). (2) Tungalag Battulga, Bai Chaolumen, D. Asai, T. Koshikawa, H. Takemura, Dagaerbieke, Ayiguli, K. Miyazaki, T. Yoshida\*, "Electrostatic interaction between sulfated polysaccharides and oligopeptides from viral envelope glycoproteins using surface plasmon resonance", *Carbohydr. Res.*, Accepted (2023). (3) Bai Mingxue, Bai Chaolumen, K. Miyazaki, Daisuke Asai, Hiromu Takemura, T. Yoshida\*, "Role of a long-chain alkyl group in sulfated alkyl oligosaccharides with high anti-HIV activity revealed by SPR and DLS", *Carbohydr. Polym.*, **245** (2020) 116518. (4) Song Weiyue, Li Yin, T. Kanamoto, D. Asai, H. Takemura, H. Nakashima, K. Miyazaki, T. Yoshida\*, "Elucidation of anti-HIV mechanism of sulfated cellobiose-polylysine dendrimers by SPR and DLS", *Carbohydr. Res.*, **495** (2020) 108084. (5) Bai Mingxue, D. Asai, T. Koshikawa, H. Takemura, K. Miyazaki, T. Yoshida\*, "Synthesis and cytotoxic mechanism of sulfated alkyl oligosaccharides having potent anti-HIV activity", *J. Fiber Sci. Technol.*, Accepted (2023).

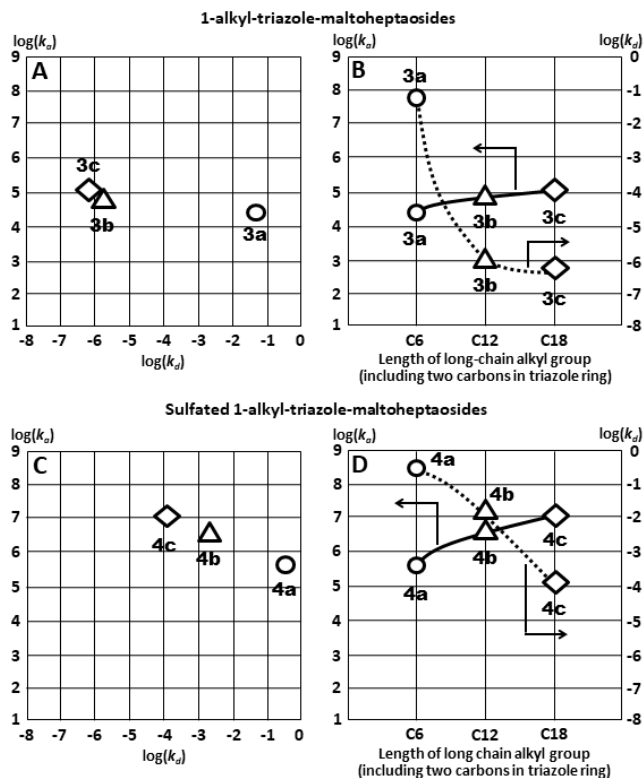


Fig. 5. Interaction of (A) and (B) nonsulfated and sulfated (C) and (D) 1-alkyl-triazole-maltoheptaosides with liposome. (A) and (C) Relationship between association-rate ( $k_a$ ) and dissociation-rate ( $k_d$ ) constants. (B) and (D) Relationship between the  $k_a$  and  $k_d$  against length of long chain alkyl group at the reducing end of maltoheptaosides. Circle: 3a and 4a, triangle: 3b and 4b, and Square: 3c and 4c.

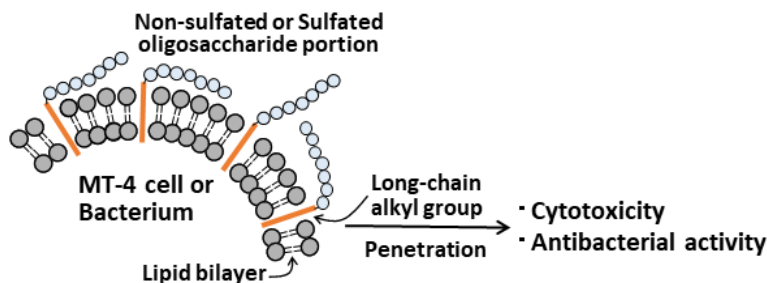


Fig. 6. アルキルオリゴ糖鎖による細胞毒性メカニズムの模式図

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Bai Mingxue, Bai Chaolumen, K. Miyazaki, Daisuke Asai, Hiromu Takemura, T. Yoshida	4. 巻 245
2. 論文標題 Role of a long-chain alkyl group in sulfated alkyl oligosaccharides with high anti-HIV activity revealed by SPR and DLS	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Carbohydr. Polym.	6. 最初と最後の頁 116518
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.carbpol.2020.116518	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Song Weiyue, Li Yin, T. Kanamoto, D. Asai, H. Takemura, H. Nakashima, K. Miyazaki, T. Yoshida	4. 巻 495
2. 論文標題 Elucidation of anti-HIV mechanism of sulfated cellobiose - polylysine dendrimers by SPR and DLS	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Carbohydr. Res.	6. 最初と最後の頁 108084
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.carres.2020.108084	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 T. Yoshida	4. 巻 76
2. 論文標題 Anti-HIV mechanism of sulfated alkyl poly and oligosaccharides	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J. Fiber Sci. Technol.	6. 最初と最後の頁 387 - 402
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2115/fiberst.2020-0043	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Bai Mingxue, D. Asai, T. Koshikawa, H. Takemura, K. Miyazaki, T. Yoshida	4. 巻 79
2. 論文標題 Synthesis and cytotoxic mechanism of sulfated alkyl oligosaccharides having potent anti-HIV activity	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J. Fiber Sci. Technol.	6. 最初と最後の頁 Accepted
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Tungalag Battulga, Dagaerbieke Ayiguli, Bai Chaolumen, D. Asai, T. Koshikawa, H. Takemura, K. Miyazaki, T. Yoshida	4. 巻 233
2. 論文標題 Electrostatic interaction between sulfated polysaccharides and oligopeptides from viral envelope glycoproteins using surface plasmon resonance	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Carbohydr. Res.	6. 最初と最後の頁 Accepted
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 吉田 孝
2. 発表標題 インフルエンザウイルス吸着機能を持つ硫酸化糖鎖フィルター
3. 学会等名 機能紙研究会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	浅井 大輔  (Asai Daisuke)  (10423485)	昭和薬科大学・薬学部・准教授   (32624)	
研究分担者	宮崎 健輔  (Miyazaki Kensuke)  (50636610)	北見工業大学・工学部・准教授   (10106)	

#### 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------