血液型抗原の生化学*

檜 山

登**

I. はじめに

血液型という現象は抗原抗体反応に基づいて起こる。すなわち、赤血球の表面に分布している抗原物質（凝集原）と、それに対応する抗体（凝集素）との間の特異反応に基づく。ヒトの血液型には ABO 式をはじめ MN 式, Rh 式, Lewis 式など多数の種類があり、したがって、それぞれの赤血球表面には、その血液型に特異的な抗原物質（いわゆる血液型物質）あるいは構造が存在するわけである。事実、ヒトの赤血球基質から A 型あるいは B 型活性を持った物質が分離され、その本体が糖脂質であることが明らかにされているし、また、赤血球を蛋白分解酵素で処理すると、M 型あるいは N 型活性を有する糖蛋白分画が遊離してくる。

ところが、ヒトの血液型のうち ABO 式では、血液型活性物質が赤血球に分布しているだけでなく、唾液や胃液など諸種の粘性分泌液中にも分泌されている^{1,2)}（いわゆる分泌型）。また、これらの分泌液には Lewis 式型物質も分泌されており、ことに 1 部のヒト（いわゆる非分泌型）の分泌液中には Le^a 物質が分泌されている。そしてこれらの物質の本体は、いずれも糖蛋白質である。

著者は、糖蛋白の研究から血液型物質の研究に入ったもので、したがって、以下に述べる血液型物質は ABO (H) 式及び Lewis 式に属し、かつ、糖蛋白性のもの、そして、分泌液に由来するものであることをおこたわりしておきたい。ただし、上述したように、赤血球起原の ABO(H) 式及び Lewis 式血液型物質は糖脂質であり、分泌液起原のそれは糖蛋白質であるが、それらの分子内で直接血液型活性を発現する構造は糖部分にあり、その糖部分は同じ型活性を有する物質間でみると、同一またはきわめて近似したものであることがわかってきている。

分泌液中の血液型物質は、赤血球の場合とちがって、主として水溶液の状態が存在する。これを検出し、あるいは、その活性を測定するには、通常、赤血球凝集阻止試験や沈降反応が用いられる。

II. 糖蛋白性血液型物質 (ABH 式

及び Lewis 式) の性状

一般に糖蛋白 (glycoproteins) とは、比較的分子量の小さい糖鎖—オリゴ糖あるいは多糖のごく小さいもの—が蛋白と共有結合で結合しているものをさす。この場合

1) 糖の含量: 1% 以下のものから 85%, あるいはそれ以上に及ぶものまで、種々の段階のものがある。

2) 糖部分の存在形態: 1 本の糖鎖として蛋白部分に結合しているもの、2 本以上 10 数本、場合によっては数 100 本に分かれて結合しているものもある。また、糖鎖の大きさにも二糖体程度の小さいものから数糖体、十数糖体の大きさのものまであって、まちまちである。

3) 糖部分を構成する単糖の種類: ヘキソサミン、ヘ

Fig. 1. Schematic representation of some glycoprotein molecules.

* Biochemistry of blood-group antigens.

** Noboru Hiyama, 弘前大学医学部生化学教室.

Table 1. Some physico-chemical data of blood-group A and B substances isolated from human ovarian cyst fluids⁷⁾.

Blood-group (Preparation)	V (ml/g)	D _{20,w} ($\times 10^{-7}$)	S _{20,w} ($\times 10^{-13}$)	$[\eta]$ (g/dl) ⁻¹	M _(s,D) ($\times 10^5$)	f/f ₀	$\left[\alpha\right]_D^{20}$	
A {	Sp I -1	0.622	0.38	16.8	0.96	28.2	6.3	+24.3
	Sp I -2	0.628	0.45	13.5	1.01	19.7	6.0	+19.0
	Sp II -1	0.630	0.39	15.3	1.03	24.9	6.3	+25.3
B {	Sp I -1	0.612	0.47	9.7	0.49	13.1	6.7	- 3.0
	Sp I -2	0.622	0.44	11.7	0.85	17.1	6.5	-10.3
	Sp II -1	0.624	0.38	14.2	1.04	24.4	6.6	- 4.0
A {	Fr I	0.628	0.52	12.6	1.02	16.5	5.3	+16.3
	Fr II	0.642	0.92	9.7	0.81	7.9	3.9	+15.4
	Fr III	0.644	0.93	7.6	0.47	5.5	4.0	+ 8.8
B {	Fr I	0.620	0.45	12.3	1.23	17.5	6.3	-29.2
	Fr II	0.619	0.64	9.7	0.87	9.7	5.4	-30.6
	Fr III	—	0.90	7.1	0.42	5.2	4.7	-29.6

Table 2. Carbohydrate composition of blood-group A, B, H and Le^a substances isolated from human saliva, gastric juice and ovarian cyst fluids⁵⁾.

Blood-group Source (Number of preparation)		GlcN (%)	GalN (%)	Gal (%)	Fuc (%)	Sialic (%)	Total (%)	Gal HexN	GlcN GalN
A	Saliva (5)	19	14	25	18	1.0	85	0.77	1.4
	Gastric juice (1)	17	15	25	19	4.2	88	0.79	1.2
	Ovarian cyst (8)	17	15	24	19	3.0	86	0.75	1.3
B	Saliva (5)	19	7	34	20	1.4	88	1.28	2.5
	Gastric juice (1)	17	8	29	18	2.9	81	1.15	1.9
	Ovarian cyst (6)	17	7	31	17	3.7	82	1.26	2.5
H	Saliva (1)	22	9	27	15	1.4	82	0.90	2.5
	Gastric juice (1)	21	9	29	22	3.6	92	0.95	2.4
	Ovarian cyst (2)	16	10	26	22	5.2	85	1.01	1.8
Le ^a	Saliva (2)	30		30	14	1.4	83	1.00	—
	Ovarian cyst (3)	15	12	28	8	12	82	1.04	1.3

GlcN: glucosamine, GalN: galactosamine, Gal: galactose, Fuc: fucose, Sialic: sialic acid.

キソースを主成分とし、ほかにフコースやシアル酸を種々量含み、ウロン酸を含まないのが一般的な特徴であるが、これも個々の糖蛋白によって異なる。Fig. 1. に糖蛋白分子の形態を模式図的に示した。

ここで述べる血液型物質は、N-アセチル-D-グルコサミン (GlcNAc), N-アセチル-D-ガラクトサミン (GalNAc), D-ガラクトース (Gal), L-フコース (Fuc) 及び約15種のアミノ酸よりなる高分子物質* で、糖部分の含量は75~85%, 1分子中の糖鎖数は数100本にも及

び、糖蛋白のうちでも最も複雑なものに属する (Fig. 1. の顎下腺糖蛋白に類する)。

この種のものを物質として把握するには、まず、その分離方法、精製物質の物理化学的性状、糖及びアミノ酸組成などについての知識が必要であるが、それらについては、既報の文献^{3,4,5,6)}を参照されたい。ここには、われわれの研究室で分離した型物質の物理定数ならびに糖組成の一端を表示するととどめる (Table 1. 及び 2.)。

* ほかに、しばしば種々の量のシアル酸が加わる (Table 2.)。

III. 糖蛋白性血液型物質の構造*

1. 糖鎖の構造

型物質の構造研究を著しく困難なものにしている最大の理由は、このものが蛋白分解酵素の作用に対して強く抵抗するという点にある^{8,9,10)}。多くの糖蛋白では、パパインやプロナーゼなど基質特異性の低い蛋白分解酵素を十分作用させると、1本の糖鎖に僅少のアミノ酸、極端な場合には、ただ1個のアミノ酸が結合した、いわゆる糖ペプチドが得られる。したがって、この段階で糖ペプチドを分別して均一なものとし、それらについて糖鎖の構造、糖-アミノ酸間の結合様式、更には結合部附近のアミノ酸配列の状態を解明することができる。

これに反して型物質の場合は、後述するように複雑な構造の糖鎖が蛋白コアに密集して結合しており、しかも蛋白部分を構成しているアミノ酸にはプロリンが特に多いという事情から、蛋白分解酵素の作用が著しく限定され、上記のような単純な糖ペプチドは得られない。そこで糖鎖の構造研究では、やむをえず高分子の型物質を直接希酸、希アルカリ、あるいは、その他の方法（加酢分解、ヒドラジン分解など）で部分分解し、できたオリゴ糖断片を単離してその構造を決める。ついで、それらをつなぎあわせて、もとの糖鎖の構造を推定するという方法をとる。

Fig. 2. の(1)は、このような実験に基づいて、英国の Morgan らが提案した糖鎖の構造を示したものである^{6,11)}。この構造で特徴的な点をあげてみると、

1) 型によって多少異なるが、糖鎖の大きさが五糖〜七糖体程度と考えられていること。

2) A, B, H型には、更にI型とII型の2種類の糖鎖があるとされていること。

3) β の型にも共通な直鎖四糖体構造 ($\text{Gal} \xrightarrow{\beta} \text{GlcNAc} \xrightarrow{\beta} \text{Gal} \xrightarrow{\beta} \text{GalNAc}$) があり、この基本糖鎖の非還元端位を占める Gal 残基に Fuc が α -1, 2-結合したものが H 型糖鎖であり、この H 型糖鎖の同じ Gal 残基に更に GalNAc が α -1, 3-結合したものが A 型、Gal が同じ結合したものが B 型という関係になっていること（図中 A 型及び B 型糖鎖の※印 GalNAc に更に Fuc が α -1, 4-結合することがある）、Le^a 糖鎖は H 型-I に類似するが、Fuc の結合位置及び結合様式が異なること、** などである。

その後、米国の Kabat らは、型物質に水素化ホウ素ナトリウム存在下でのアルカリ分解法を適用し、各種の

(1) Morgan et al.

(2) Kabat et al.

Fig. 2. Proposed structures for the carbohydrate chains in blood-group-specific substances.

オリゴ糖断片を分離して、その構造を決定し、それに立脚して糖鎖の構造を推定した^{12,13)}。Fig. 2. の(2)は、最近氏らが提案した H 型糖鎖の構造である。この糖鎖の特徴は、

1) Morgan らの糖鎖に比べてかなり大きく、かつ、複雑であること (megalosaccharide)。

2) Morgan らの I 型と II 型を 1 本の糖鎖に融合させていること（非還元末端側が 2 本の枝に分かれ、一方が I 型、他方が II 型の構造になっている）。

3) 還元末端の GalNAc 残基にも、オリゴ糖側鎖が結合していることなどである。なお、糖鎖内の分枝部の Gal 残基に第 3 の側鎖が考えられているが、これについては、まだ確実ではない。

なお、ここに示したのは H 型糖鎖の構造であるが、A 型糖鎖では非還元端の Gal 残基に、更に GalNAc が、B 型では同じ位置に Gal が、それぞれ α -1, 3-結合す

* 以下に述べる型物質の構造に関する知見は、ヒト卵巣のう腫液より得られた型物質についてのものである。

** 基本糖鎖への Fuc, GalNAc, Gal の結合に対する遺伝子支配については、文献^{6,12,13)}を参照されたい。

る^{12,13)}. この点は Morgan らと一致している.*

さてここで型物質分子内の糖鎖は Morgan 型か Kabat 型かの疑問が生じてくるが、次にわれわれの成績を簡単に述べる。佐々木ら¹⁴⁾は Le^a 物質を弱アルカリ性 (トリエチルアミン 2.5% を含む 50% メタノール水中) のもとで加熱、部分分解し、その分解産物より数種のオリゴ糖 (Fig. 3. の (1)) を分離した^{**}。このうち 4 種の分枝オリゴ糖は、糖鎖内の同一構造部分に由来し、かつ Kabat らの糖鎖の分枝部 (Gal 位での) に相当すると考えられるものである。また、還元端側に chromogen を持つ三糖体は、Kabat らの糖鎖の還元端側に見られる側鎖に相当する。すなわち、佐々木らの成績は、Kabat らの提案した構造を、部分的にはあるが、支持するものであった。

(1) Oligosaccharides from Le^a substance (Sasaki et al.).

(2) Oligosaccharides from A substance (Nakahata et al.).

Fig. 3. Partial structures of oligosaccharides isolated from blood-group A and Le^a substances (human ovarian cyst fluids).

他方、中畑ら¹⁵⁾は、Kabat らと同じ分解方法¹²⁾を用いて、A型物質より比較的分子の大きいオリゴ糖2種を分離した (Fig. 3. の (2)), これらはA型活性を有し、intact な糖鎖と考えられるものであるが、その1つ、七

糖体はMorgan らのA型糖鎖にきわめて近似しており、他の十一糖体は、Morgan 型の主糖鎖に更にオリゴ糖側鎖が、Kabat らの場合と同じように還元端位の糖残基の位置で結合した形のものである。

以上のわれわれの成績は、まだデータ不足ではあるが、型物質分子内の糖鎖は、決して単一なパターンのも
のばかりでなく、Morgan 型のものも Kabat 型のものも
あり、また、それらの中間的なものもあって、かなり不
均一なものであることを示している。

さきにも述べたように、Morgan らの場合でも Kabat らの場合でも、提案された構造は、いずれも部分分解で得られたより小さいオリゴ糖の構造をもとにして組立てられたものであって、いわば可能な平均的な構造を示すに過ぎない。糖鎖の構造については、できるだけ intact なものを分離して、その構造を解明していく努力が今後必要であろう。

2. 血液型活性を支配する構造

前項の記述からすでに明らかであるが、A, B, H型の型決定構造 (I型のみ) を Fig. 4. に示した。糖鎖の非還元末端側を占めるオリゴ糖部分がこれにあたる。紙面の都合上 Le^a 及び Le^b 型の構造は省略されているが、

Fig. 4. Structures for A, B, and H specific groupings.

* 前頁脚注 ** に同じ

**** Chromogen** は、還元端の N-アセチルヘキソサミンが弱アルカリ環境のもとで modify されて、2 次的に生じたものであって、その前身為 N-アセチルグルコサミンか N-アセチルガラクトサミンであることを示す。

略記すると次のようである。これらの知見は、とくに Morgan らに負うところが大きい。

上記の構造が、それぞれの型特異性を支配する構造であることは、このような構造のオリゴ糖が対応するそれぞれの型物質から実際に分離され、しかもそれらが型活性を示すということから疑う余地がない。そのうえ、A型あるいはB型活性のオリゴ糖から、酵素的に非還元末端位を占める GalNAc 基または Gal 基をそれぞれ脱離させると、残余の部分が、H型活性を示すようになること、また、逆にH型オリゴ糖の非還元端 Gal 残基に GalNAc または Gal 分子をそれぞれ酵素的に付加させると、A型あるいはB型活性を発現するようになること（試験管内型転換現象）も、すでに諸家によって確かめられている。ただし、型物質分子内に存在する多数の糖鎖のうちには、血液型活性を示さない未完成の糖鎖が存在することも考えられる。

3. 糖蛋白質の結合様式に関するわれわれの実験

糖がペプチド鎖内のセリンまたはトレオニン残基の OH 基と O-グリコシド結合している場合、その結合はアルカリに不安定で容易に切れる。この反応は β 排除 (β -elimination) 反応で、carbonyl 基に対して β 位にある水酸基の置換基の脱離反応である。

さきに Anderson ら¹⁶⁾ 及び Kabat ら¹⁷⁾ は、型物質そのもの（巨大分子）に β 排除反応を適用して、分子内における糖鎖と蛋白部分の結合は、前者の還元端糖残基とペプチド鎖内のセリン、トレオニン残基との間の O-グリコシド結合であることを指摘した。しかしながら、その反応の定量的検討は、なお十分でなかった。

橋本ら¹⁸⁾ は、希酸 (0.03 N-HCl) 中での加熱処理とプロナーゼ処理の併用によってA型物質の低分子化をはかり（糖鎖の短縮とペプチド鎖の部分的切断）、平均分子量の異なる4種の糖ペプチド分画を得た (Table 3.)。これらの Gp. A-1~4 で注目されることは、第1にトレオニンとセリンの合計が全アミノ酸の約 2/3 に及ぶこと、第2に両アミノ酸の合計モル数が GalNAc のモル数に一致することである。この所見は、糖-アミノ酸間の結合が GalNAc と Thr 及び Ser の間であることを推定させる。

ところで前述の β 排除反応を実施する場合、反応液に NaBH_4 を添加しておく、遊離した糖の還元性基は直ちに還元されて第1級アルコール基に移行するため、結合に直接関与していた糖とアミノ酸は、反応の進行に伴い 1:1 の割合で減少することになる。

Fig. 5. は Gp. A 標品に β 排除反応 (NaBH_4 添加) を適用し、反応混液中の糖及びアミノ酸の減少を経時的

Table 3. Analytical figures for glycopeptides prepared from blood-group A substance from human ovarian cyst fluids.

	Gp. A-1 (%) (moles/mole)		Gp. A-2 (%) (moles/mole)		Gp. A-3 (%) (moles/mole)		Gp. A-4 (%) (moles/mole)	
GalN	33.8	98	34.4	73	32.8	40	28.0	15
GlcN	7.4	21	7.2	15	7.6	9.3	10.9	5.7
Gal	22.4	65	22.5	47	22.6	28	22.9	12
Fuc	0.34	1	0.37	0.9	0.30	0.4	0.48	0.3
Thr	13.62	59	12.99	41	13.30	25	10.93	8.6
Ser	7.64	38	7.45	27	7.73	16	6.94	6.2
Pro	4.27	19	4.22	14	4.39	8.4	4.80	3.9
Ala	2.35	14	1.96	8.4	2.06	5.1	2.15	2.3
Gly	0.95	6.6	0.86	4.4	0.90	2.6	1.28	1.6
Val	1.13	5.0	0.91	3.0	1.10	2.1	1.81	1.5

Average molecular weight: Gp. A-1 52,000; Gp. A-2 38,000; Gp. A-3 22,000; Gp. A-4 9,400.

に追跡した成績であるが、時間の経過とともに GalN と Thr+Ser とが同じ割合（モル比）で減少することが確認された。しかも、その減少率は70～80%に達した。この成績は、糖-蛋白間の結合が糖鎖還元末端の GalNAc 残基 (Fig. 2. 参照) とポリペプチド鎖内の Ser, Thr 残基との間で O-グリコシ的に行なわれていることを示すと同時に、ポリペプチド鎖内に高密度に存在するオキシアミノ酸の大部分に糖鎖が結合していることを示す。

Fig. 5. Loss of the constituents of glycopeptide by alkaline borohydride treatment.

なおポリペプチド鎖に直結している GalNAc 残基は、アビ肝よりの精製 α -N-アセチルガラクトサミニダーゼによって容易に遊離されることから、その結合は α 型であることが証明された。¹⁹⁾

4. 蛋白部分について

型物質のアミノ酸含量は標品によってかなり変動する (7～26%)。しかし、構成アミノ酸相互の量的関係は、特異性を異にする型物質間でも、有意の差を示さない²⁰⁾。アミノ酸組成の一般的特徴としては、トレオニン、セリン、プロリン含量の高いこと、芳香族及び含硫アミノ酸含量の低いことがあげられる。

パパイ、フィシン、プロナーゼなどの蛋白分解酵素は型物質を軽度分解し、粘度の低下、型活性の減弱をきたすが、生成物はなお数万から数10万の分子量をもつという^{8,9,10)}。

橋本らは精製型物質に化学的、酵素的処理を加え、トレオニン、セリン含量の合計が全アミノ酸の約2/3に及ぶ糖ペプチド分画を得、この両アミノ酸残基の大部分に

糖鎖がO-グリコシド結合しているという成績を得た(前項)。とすれば、この糖ペプチド内のアミノ酸配列は、きわめて特殊なものと考えられる。

最近、GalNAc をO-グリコシド型で結合している Thr 残基の近辺のアミノ酸配列に関する知見が、型物質以外の研究で得られた。その1つはウサギの IgG (H鎖) に関するもので²¹⁾、結合部付近のアミノ酸配列は次のようであるという。

GalNAc

.....Ser-Lys-Pro-Thr-Cys-Pro-Pro-Glu-Leu.....

今1つはポリペプチド鎖に GalNAc を導入する酵素 polypeptide N-acetylgalactosaminyl transferase に関するもので²²⁾、ウシ顎下腺より精製されたこの酵素標品は、UDP-GalNAc の GalNAc 基を中枢神経系 myelin より分離したいわゆる A 1 protein に転移させるが、その転移個所付近のアミノ酸配列は次のようであるというものである。

GalNAc

...Asn-Ile-Val-Thr-Pro-Arg-Thr-Pro-Pro-Ser-Gln...

両ペプチドのアミノ酸配列に高い関連性が認められて、はなはだ示唆的である。ただし、この2つの例は、ある程度の長さを持ったペプチド鎖内に GalNAc が孤立的に結合している場合であるが、型物質では GalNAc がペプチド鎖内ではなかに近接して結合していると考えられるので、ここにも問題がある。アミノ酸シクエンスの解明も今後の型物質研究の1つの方向であろう。

引用文献

- 1) Hartmann, G.: Group Antigens in Human Organs, Munksgaard, Copenhagen (1941).
- 2) Kabat, E. A.: Blood Group Substances, Their Chemistry and Immunochemistry, Acad. Press Inc., New York (1956).
- 3) Hiyama, N.: Blood group-active mucopolysaccharides, in "Biochemistry and Medicine of Mucopolysaccharides" (ed. by F. Egami and Y. Oshima), p. 161, Maruzen, Tokyo (1962).
- 4) 檜山 登: 血液型物質, 蛋白質核酸酵素 14, 658 (1969).
- 5) 檜山 登, 佐々木照司: 血液型活性物質, 多糖生化学(鈴木, 松村, 山科編) I 化学編, 457 頁, 共立出版 (1969).
- 6) Watkins, W. M.: Blood-group specific substances, in "Glycoproteins" (ed. by A. Gottschalk), p. 462, Elsevier Publ. Co., Amsterdam (1966).
- 7) 浜井保名: ヒト卵巣のう腫液中の血液型物質 (ABH 式) の性状, とくにその物理化学的性状について, 弘前医学 22, 131 (1970). 関連文

- 献, 木村 要: ヒト唾液血液型物質の性状に関する研究, とくにその物理化学的性状について, 弘前医学 22, 61 (1970).
- 8) Puzstai, A. and Morgan, W.T.J.: The action of papain and ficin on blood-group-specific substances, *Biochem. J.* **81**, 639 (1961).
 - 9) Morgan, W.T.J. and Puzstai, A.: The products of the degradation of blood-group-specific substances by ficin and papain, *Biochem. J.* **81**, 648 (1961).
 - 10) 橋本かず: ヒト卵巣のう腫液よりの血液型ムコ多糖体に対するタンパク酵素プロナーゼの作用について (1)及び(2), 生化学 39, 79, 152 (1967).
 - 11) Marr, A.M.S., Donald, A.S.R., Watkins, W.M. and Morgan, W.T.J.: Molecular and genetic aspects of human blood-group Le^b specificity. *Nature* **215**, 1345 (1967).
 - 12) Lloyd, K.O., Kabat, E.A. and Licerio, E.: Structures and activities of oligosaccharides produced by alkaline degradation of blood-group Lewis^a substance. Proposed structure of the carbohydrate chains of human blood-group A, B, H, Le^a, and Le^b substances, *Biochemistry* **7**, 2976 (1968).
 - 13) Lloyd, K.O. and Kabat, E.A.: Proposed structures for the carbohydrate portions of blood group A, B, H, Lewis^a, and Lewis^b substances, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **61**, 1470 (1968).
 - 14) 佐々木照司, 中畑千春, 檜山 登: Le^a 型活性糖蛋白質より得られたオリゴ糖の構造について, 第44回日本生化学会大会, 昭 46. 10. 印刷準備中.
 - 15) 中畑千春, 佐々木照司, 檜山 登: 血液型活性糖蛋白質 (ABH 式) の糖質部分の構造について, 第42回日本生化学会大会, 昭44. 10. 1部発表, 印刷準備中.
 - 16) Anderson, B., Seno, N., Sampson, P., Riley, J.G., Hoffman, P. and Meyer, K.: Threonine and serine linkages in mucopolysaccharides and glycoproteins, *J. Biol. Chem.* **239**, PC 2716 (1964).
 - 17) Kabat, E.A., Bassett, E.W., Pryzwansky, K., Lloyd, K.O., Kaplan, M.E. and Layug, E.J.: The effects of alkaline borohydride and of alkali on blood group A, B, and H substances, *Biochemistry* **4**, 1632 (1965).
 - 18) 橋本かず, 檜山 登: 血液型活性糖蛋白質における糖-アミノ酸間の結合様式について, 印刷準備中.
 - 19) 橋本かず, 檜山 登: あわび肝臓の α -N-acetylgalactosaminidase, 第44回日本生化学会大会, 昭46. 10. 印刷準備中.
 - 20) Puzstai, A. and Morgan, W.T.J.: The amino acid composition of the human blood-group A, B, H and Le^a specific substances, *Biochem. J.* **88**, 546 (1963).
 - 21) Smyth, D.S. and Utsumi, S.: Structure at the hinge region in rabbit immunoglobulin-G, *Nature* **216**, 332 (1967).
 - 22) Hagopian, A., Westall, F.C., Whitehead, J.S. and Eylar, E.H.: Glycosylation of the A1 protein from myelin by a polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase, *J. Biol. Chem.* **246**, 2519 (1971).