A General Comparison of Two Major Families of Animal Lectins

二大動物レクチン家系の総合比較論

Hirabayashi, J.

Department of Biological Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University, Sagamiko,
Kanagawa 199-01, Japan, FAX: 81-4268-5-1606**Key Words:** animal lectin, bricolage product, β -galactoside binding, C-type, S-type**Abstract**

There are two major families of carbohydrate-binding proteins (lectins) in the animal kingdom: the family of calcium-dependent (C-type) lectins and the family of metal-independent β -galactoside-binding lectins (so-called S-type). As one of the approaches to an understanding of reasons for their being, a general comparison of these protein families is attempted. C-type lectins form a vast family consisting of various extracellular proteins including both lectins and lectin-related proteins. Although they have diverse molecular architectures and functions, insofar as they are known, each molecule shows rather limited biological functions and histological distributions. Such C-type lectins can be regarded as "bricolage products", developed in the course of molecular evolution having made the best use of the carbohydrate-recognition domain (CRD). On the other hand, S-type lectins form a relatively small family. At the moment, only three types of soluble metal-independent β -galactoside-binding lectins are members of this family. Though their biological roles remain elusive, recent findings of apparent homologues in some of the most primitive multicellular animals, such as sponge and nematode, strongly suggest their fundamental importance. Marked evidence that they are initially synthesized as cytoplasmic proteins implies so far unknown cytoplasmic function(s). They are possibly involved in the "essential minimum" functions for all multicellular animals in cooperation with their partner glycoconjugates, such as lactosaminoglycans. All of these contrastive properties represent the S-type lectins as "antithesis" to the C-type lectins.

要約

動物レクチン(糖結合タンパク質)には二つの大きなタンパク家系がある。一つはカルシウム要求型(C-型)レクチンの家系で、もう一つは金属イオン非要求性の β -ガラクトシド結合性レクチン(いわゆるS-型)の家系である。動物レクチンの存在意義を解明する一環として両レクチン家系の総合比較を試みた。C-型レクチンは多種多様な細胞外タンパクの巨大集団であり、それらはレクチンおよびレクチン関連タンパク質からなる。C-型レクチンの分子構築様式は多様性に富み、また知りうるかぎり、生体での機能もさまざまである。しかし、個々の分子についてみると、比較的狭い生物・組織分布を示し、概して機能の特殊化が目立つ。そのようなC-型レクチンは、分子進化の過程で、有用な糖認識ドメイン(いわゆるCRD)を最大限に活用してできた、いわば「ブリコラージュの産物」とみなしうる。一方、S-型レクチンの多様性はC-型レクチンと比べるとずっと小さい。目下のところ、わずか三種の金属非要求型の可溶性 β -ガラクトシド結合性レクチンがこの家系を構成するにすぎない。S-型レクチンの生体機能についてはよくわかってないが、ごく最近、海綿や線虫といった原始的な多細胞動物でも相同なレクチンが見つかった。このことはS-型レクチンの基本的重要性を示唆する。また、S-型レクチンは明らかに細胞質タンパクとして合成されており、この点は本レクチンの未知なる細胞内機能という期待をいだかせる。おそらく、S-型レクチンはラクトサミノグリカンのような複合糖鎖を伴侶として選びとり、ともに多細胞動物にとって欠くことのできない要素となっているにちがいない。このようなS-型レクチンの諸性質は、C-型レクチンに対する「アンチテーゼ」として対比しうる。

A. Introduction

One of the central questions for glycobiologists - "What is the function of glycoconjugates?" - has not been answered, partly because of practical difficulties in approaching them directly. An alternative approach of studying a group of carbohydrate-binding proteins (lectins), assuming them to be "complementary molecules" to the glycoconjugates, seems to be promising. For this purpose, a general understanding of various lectins is necessary.

The lectin which was first investigated was ricin, a

A. はじめに

糖鎖生物学の中心課題である「複合糖鎖の機能解明」に取り組むとき、我々が真っ先に直面するのは複合糖質を直接扱ううえでの実際面での難しさであろう。一方、複合糖鎖と相互作用する糖結合タンパク質(レクチン)を「相補的分子」とみため、レクチンの側から研究する立場もあるはずである。このためには、いろいろなレクチンの一般的な性質について十分把握しておく必要がある。

最初に発見されたレクチンは植物起源の毒タンパク、リシ

toxic protein from a plant source (1), but recently much attention has been paid to animal lectins from the viewpoint of endogenous factors to distinguish complex cell surface structures through carbohydrate recognition. Thereby, they are supposed to function in various regulatory phenomena in animals: *e.g.*, embryogenesis, morphogenesis, tumorigenesis and also defense against microorganism infection. Now animal lectins are studied as intensively and extensively as plant lectins in diverse fields.

Most animal lectins are classified into two protein families on the basis of their amino acid sequences, especially those of characteristic carbohydrate-recognition domains (CRD)(2). One is the family of lectins requiring calcium ion for their sugar-binding activity (C-type)(3). The other is the family of metal-independent β -galactoside-binding lectins which occasionally require sulfhydryl groups (so-called S-type) (4-7) [irrelevance of this terminology is described later]. An increasing amount of data on structural and functional aspects of diverse animal lectins has now been accumulated. The recent findings of a series of selectins (reviewed in 8-10) is especially noteworthy, since their carbohydrate recognition functions have been for the first time attributed clearly to an important biological phenomenon: *i.e.*, leukocyte adhesion to inflammatory loci. These findings considerably stimulated glycoscience and glycotechnology.

At the same time, however, recent progress in molecular biological techniques has revealed a significant number of lectin-related proteins, which turned out to be homologous to the known animal lectins after sequence determination. Since this is particularly prominent for the C-type lectin family, this family is growing very rapidly. However, there remains an important question of whether or not these lectin-related proteins actually have sugar-binding ability. Now, it seems better to step back a little from this chaotic situation because information on animal lectins is too complex and detailed to search for meaningful patterns or relationships. In this article I am attempting to compare the two major lectin families from a more general viewpoint as an approach to understanding possible reasons for their existence. Though Drickamer already attempted a similar approach (2), the situation has changed significantly during the last few years.

B. Members of the C-Type Lectin Family

Members of the C-type lectin family seem to be too diverse to be classified by a simple criterion. However, they can roughly be divided into insoluble (*e.g.*, receptors) and soluble groups. Subsequently, each group is categorized into smaller groups. For convenience, protein architecture, biological function, distribution and other properties are used as criteria (Table I).

B-1. Receptor Proteins

ン(1)である。しかし、近年、複雑な動物細胞表面の糖鎖構造を認識する内在性の因子として、動物レクチンが注目されるようになった。動物レクチンは特異的な糖鎖の識別を介して、胚発生、形態形成、腫瘍形成、さらには微生物に対する感染防御といったさまざまな生体制御現象にかかわっていると考えられている。動物レクチンに関する研究は、いまや植物レクチンと同様、幅広く、かつ集約的になされていると言ってよい。

ほとんどの動物レクチンは、アミノ酸配列に基づいて二つのタンパク質家系に分類される。これらは、それぞれの家系に特徴的な糖認識ドメイン(CRD)をもつ(2)。一つは糖結合活性にカルシウムイオンを要求するC-型レクチンの家系(3)で、もう一つは金属イオンを要求しない β -ガラクトシド結合性レクチンの家系である。後者に属するレクチンは、しばしば活性維持にスルフヒドリル基を必要とすることから(4-7)、S-型と呼ばれることが多い。この呼称が適切ではないことについては後述する。今やいろいろな動物レクチンの構造や機能に関する知見が数多く得られているが、中でも最近発見された一連のセレクトリン(8-10に総説)は注目に値しよう。セレクトリンは炎症箇所における白血球の接着という重要な生命現象に関与するが、この分子の研究を通して、糖鎖認識のはたす一つの役割がはじめて明確に示されたからだ。この発見が端緒となり、糖鎖科学、糖鎖工学といった関連分野がにわかに活気づいたのは周知のとおりである。

しかし、分子生物学の技術的進歩にともない、多くのレクチン様(関連)タンパク質が生じている点を見落してはならない。これらは、構造解析により既知の動物レクチンと類似していることが明らかになった分子であるが、この傾向はとくにC-型レクチンの家系でつよい。その結果、この家系は最近たいへん急速な広がりを示している。だが、多くのレクチン関連タンパク質については、依然として糖結合能力の有無が確認されていない。動物レクチンに関するこのような混乱を含む膨大な情報から、意味あるパターンやつながりを見いだすには、しばしば各論レベルの状態から一歩身をひくことが肝要であろう。ここでは、二つの主要動物レクチン家系の存在意義を解明すべく、より総合的な立場からそれらの相互比較をおこなう。同様な試みとして、かつてのDrickamerによる分析が挙げられようが(2)、ここ二、三年における状況の変化には看過しがたいものがある。

B. C-型レクチン家系を構成するタンパク質

C-型レクチン家系はさきわめて多様なタンパク質から成り立っており、これらを一律に分類するのはむずかしい。しかし、大まかには受容体などの不溶性タンパク群と可溶性のタンパク群に二分できる。さらに、便宜的ではあるが、それぞれの群をタンパク構築様式や生物機能、分布様式などによって、以下のように小さなグループに分類することができよう(表1)。

B-1. 受容体タンパク群

Table I. Classification of C-type lectins and related proteins.

Name	Source	Sugar specificity	Other domains	Reference
I. Receptors				
(1) Type-I receptors				
Selectins				
L-selectin	man, mouse	Sia+Fuc	TM, CRx2, EGF	8, 13-15
E-selectin	man	Sia+Fuc	TM, CRx6, EGF	9, 16, 17
P-selectin	man	Sia+Fuc	TM, CRx9, EGF	10, 18, 19
Mannose receptor	man	Man, Fuc	TM, CRDx8, FN-II, CYS	12, 20-23
Thrombomodulin	man	?	TM, EGFx6	24-26
(2) Type-II receptors				
Hepatocyte receptor	rat, man	Gal, GalNAc	TM	30-33
	chicken	GlcNAc	TM	34, 35
Kupffer cell receptor	rat	Gal, Fuc	TM	36, 37
Macrophage receptor	rat, mouse	Gal, GalNAc	TM	38, 39
B cell IgE-receptor	man, mouse	(Gal)	TM	40-43
HIV-gp120 binding protein	man	Fuc, Man	TM	49
T cell antigen Ly-49	mouse	?	TM	45
B cell antigen Lyb-2	mouse	?	TM	46
NK cell antigens				
NKG2-A,C,D	man	?	TM	47
NKR-P1	mouse	?	TM	48
II. Soluble Proteins				
(1) Collagenous proteins				
Mannose-binding protein	rat, man liver	Man, Fuc>GlcNAc	CLG	50, 51
	rat serum	Man, Fuc>GlcNAc	CLG	50
Conglutinin	beef	GlcNAc>Man>Fuc	CLG	52
Pulmonary surfactant protein	dog, man, rat	Fuc, Man, Gal	CLG	56-58, 61-63
(2) Proteoglycan core proteins				
Cartilage proteoglycan	rat, chick	Gal, Fuc	GAG, HLA, CYS	64, 65
Fibroblast proteoglycan	man	?	EGFx2, CYS	66
(3) Snake venom proteins				
Hemagglutinin	rattlesnake	Gal		71
Platelet agglutinin	<i>Bothrops jararaca</i>	?		72
Coagulation factor IX/X inhibitor	habu snake	?		74
Coagulating factor X activating enzyme (light chain)	Russell's viper	?	MP, DIS, CYS (heavy chain)	75
Phospholipase inhibitor	habu snake serum	?		76
(4) Invertebrate body fluid Lectins				
Galactose-specific lectin	tunicate	Gal		77
	sea urchin	Gal		78
	fresh fly	Gal		79
	barnacle	Gal		82, 83
Regenectin	cockroach	Sucrose		80
26-kDa lectin		Ram		80
LPS-binding protein		<i>E. coli</i> LPS		81
(5) Others				
Pancreatic stone protein	man	?		85, 86
Regenerating islet protein	man	?		87, 88
Tetranectin	man	?		89
Anti-freeze protein	smelt, sea raven	?		90, 91

Abbreviations: TM, transmembrane domain; CR, complement regulatory domain; EGF, epidermal growth factor-like domain; CRD, C-type carbohydrate-recognition domain; CYS, Cysteine-rich domain; FN-II, fibronectin type II repeat; CLG, collagenous domain; GAG, glycosaminoglycan domain; HLA, hyaluronic acid binding domain; MP, metalloproteinase domain; DIS, disintegrin-like domain; LPS, lipopolysaccharide.

B-1-a. Type-I Receptors (8-10, 12-29)

Type-I receptors are membrane-integrated proteins, of which N-terminal regions are exoplasmic and C-terminal regions are cytoplasmic (11). Their precursors may have a cleavable signal (leader) sequence. Though most receptor molecules take such orientation, only few examples have been found among C-type lectins, *i.e.*, selectins (reviewed in 8-10) and macrophage mannose receptor (reviewed in 12). In these cases, C-type CRDs are located in the N-terminal region exposed on the cell surface.

There are three types of selectins; L-selectin (LECAM-1) isolated from leukocytes (8, 13-15), E-selectin (LECAM-2) from endothelial cells (9,16,17), and P-selectin (LECAM-3) from platelets (10,18,19). Though the function of the macrophage mannose receptor (removal of foreign materials via endocytosis) resembles that of type-II receptor lectins described below (20), it is unique in that it has a cleavable signal sequence and as many as eight tandemly repeated CRDs (21-23). Thrombomodulin, known as a modulator of the coagulation system, is also categorized into this group (24-26), though its sugar-binding ability has not been confirmed. It shows relatively low sequence homologies to selectins (15-20% identities), while its molecular architecture apparently resembles those of selectins. It has extracellular EGF-like repeats (as many as 6 times) as well as an N-terminal CRD-like structure. The former region includes important parts essential for the binding to thrombin and protein C (27-29).

B-1-b. Type-II Receptors (30-49)

A larger proportion of membrane-integrated C-type lectins are categorized into type-II receptors. They have an N-terminal cytoplasmic region, a hydrophobic transmembrane region and a C-terminal exoplasmic region including CRD. They are synthesized without a cleavable signal sequence (11). Various well-known receptors; *i.e.*, hepatic asialoglycoprotein receptor (30-32, for review see 33), chicken hepatic lectin (34, 35), Kupffer cell receptor (36, 37) and macrophage asialoglycoprotein binding protein (38, 39) are typical type-II receptors. They have well-defined functions: removal of glycoproteins by endocytosis and phagocytosis. Low-affinity IgE receptor (FcεRII, also known as CD23, 40-43) is thought to bind an IgE molecule by a mechanism other than carbohydrate recognition (44). However, it was recently found to have galactose-binding activity (Ochiai, S., personal communication). Various lymphocyte-specific antigens were also found to fall into this category, though their sugar-binding activities are to be confirmed (45-48). Most of them show significant genetic polymorphism (45, 47, 48). More recently, a placental mannose-specific protein known as an HIV gp120-binding protein became a new member of this subgroup (49).

B-2. Soluble Proteins

B-1-a. I-型受容体(8-10, 12-29)

I-型受容体は、膜貫通領域をはさんでN-末端側が細胞外に、C-末端側が細胞内に配置している膜タンパク質である(11)。翻訳後の前駆体は、のちに切断されるシグナル(リーダー)配列をもつのが普通である。多くの他の受容体タンパク質がこの仲間に入るが、C-型レクチンには比較的少なく、セレクトイン類(8-10に総説)とマクロファージのマンノース受容体(12に総説)のみがこれに相当する。これらの分子のCRDはいずれもN-末端側に位置し、したがって細胞表面に露出している。

セレクトインには三つのタイプがある。白血球由来のL-セレクトイン(LECAM-1)(8, 13-15)、内皮細胞由来のE-セレクトイン(LECAM-2)(9, 16, 17)、血小板などに由来するP-セレクトイン(LECAM-3)(10, 18, 19)である。マクロファージのマンノース受容体はエンドサイトーシスにより外来物質の除去をおこなう点で(20)、後述するII-型受容体レクチンの仲間と似ているが、切断されるシグナル配列をもつ点、八個ものCRDが直列につながった構造をしているという点でユニークである(21-23)。血液凝固系の調節因子として知られているトロンボモジュリンも構造上はこのグループに属するが(24-26)、糖結合能については確認されていない。とくに高い配列相同性が示されているわけではないが(15-20%程度)、この分子の全体的な構築様式がセレクトインと似ているのは注目に値しよう。すなわち、トロンボモジュリンにはN-末端部位のCRD様構造と六回のEGF様繰り返し構造をもつ。EGF様構造中には、トロンビンやプロテインCへの結合部位が含まれているという(27-29)。

B-1-b. II-型受容体(30-49)

膜結合性のC-型レクチンの多くはII-型受容体に属する。これらの分子は、中ほどの膜結合性の疎水性領域をはさみ、N-末端部に細胞内領域、C-末端部に細胞外領域をもつ。CRDはC-末端領域(細胞外領域)に含まれる。I-型受容体と異なり、生合成の際に切断されるシグナル配列をもたない(11)。肝臓のアシアロ糖タンパク受容体(30-32, 33に総説)、ニワトリ肝臓レクチン(34, 35)、クッパー細胞受容体(36, 37)、マクロファージのアシアロ糖タンパク受容体(38, 39)など、よく知られた受容体レクチン類がこのII-型受容体に属する。これらの分子はエンドサイトーシスやファゴサイトーシスと呼ばれる現象により、血清から糖タンパクを除去するという機能を担う。低親和性のIgE受容体(FcεRII、またはCD23とも、文献40-43)は糖認識によらずにIgE分子に結合するとされているが(44)、最近、ガラクトース結合活性をもつことも示された(落合ら、私信)。各種リンパ球に特異的な抗原タンパクの多くが構造的にこの仲間であることが示されているが(45-48)、糖結合活性については報告されていない。また、これらの多くが遺伝的多型を示すという(45, 47, 48)。最近では、エイズウイルスのgp120抗原に対する胎盤受容体(マンノース特異的)が新しい仲間となっている(49)。

B-2. 可溶性タンパク群

B-2-a. Collagen-like Proteins (50-63)

This type is a chimera composed of an N-terminal collagenous domain and a C-terminal CRD. Mannose-binding protein (50, 51) and conglutinin (52) are supposed to activate the complement system by the classical pathway (53, 54). The latter molecule has a significantly long collagenous domain, and this domain is necessary for its function, because truncated forms of the mannose-binding protein lacking this region failed to stimulate the complement system *in vitro* (55).

A major component of pulmonary surfactant designated PS-A (28-36 kDa), which potentiates the surface tension-reducing properties of surfactant lipids, is the first "lectin-related" protein revealed by cDNA cloning (56-58); its sugar-binding activity was demonstrated later (59, 60). Recently, the primary structure of a minor component of the surfactant designated PS-D (43 kDa) was also determined for several species (61-63), and their striking similarities to bovine serum conglutinin (almost 70% identities) was found, while similarities to PS-A were relatively low (ca. 40% identities). This indicates that SP-Ds probably correspond to the bovine serum conglutinin.

B-2-b. Proteoglycan Core Proteins (64-67)

Proteoglycan is a very large glycoprotein consisting of various domains; *e.g.*, a large number of attachment sites for glycosaminoglycan and hyaluronic acid, etc. So far, partial cDNA sequences for proteoglycans of rat and chicken cartilage (64, 65) and human fibroblast (66) have been reported. CRDs are located in their C-terminal regions. The segment encompassing C-terminal 130 residues of rat cartilage proteoglycan showed fucose- and galactose-specific lectin activity (67). The biological significance, however, of the involvement of C-type CRD in the proteoglycans remains unclear.

B-2-c. Snake Venom Lectins and Lectin-related Proteins (69-76)

Crotalid and viperid snakes have a set of characteristic venomous proteins including various hydrolytic enzymes that cause complex local injury (68). The venoms also contain galactose-specific lectins which show strong hemagglutinating ability both for intact and trypsin-sensitized erythrocytes (69-72). These lectins also stimulate platelet aggregation by sugar- and calcium-dependent manners (72,73). We determined for the first time the complete primary structure of a rattlesnake venom lectin and showed it is a member of the C-type lectin family (71).

As lectin-related molecules, an inhibitor of coagulation factor X (74) and an activator of coagulation factor IX/X (75) have been isolated from habu snake and viper venoms, respectively. The latter is a two-chain-composed multidomain protein. The heavy chain contains metalloprotease, disintegrin (platelet aggregation inhibitor)-like and unknown cysteine-rich domains, while the light chain consists of

B-2-a. コラーゲン様タンパク質(50-63)

マンノース結合タンパク質(50, 51)、コングルチニン(52)はN-末端側にコラーゲン様構造を、C-末端側にCRDをもつキメラ構造をしている。コングルチニンのコラーゲン様配列はマンノース結合タンパク質のそれより長い。これらの分子は古典経路を介した補体系の活性化に関与すると考えられているが(53, 54)、コラーゲン様ドメインはこの機能を発揮するうえで重要である。マンノース結合タンパク質でこの部分を削除すると、補体系活性化能が失われてしまう(55)。

肺サーファクタントタンパク質の主要成分であるPS-A(28-36 kDa)は、cDNAクローニングの結果、はじめてレクチン関連タンパク質であることが示された最初の例である(56-58)。このタンパク複合体はサーファクタント脂質の表面張力を低くするものと考えられているが、その後の実験で、PS-Aに糖結合活性があることが確認された(59, 60)。最近、サーファクタント複合体の少量成分であるPS-D(43 kDa)の一次構造が、いくつかの動物について決定された(61-63)。驚くべきことに、PS-Dはウシのコングルチニンと非常によく似ていた(約70%一致、PS-Aとの類似性は約40%)。構造決定されたPS-Dはウシ血清コングルチニンの相同物なのかもしれない。

B-2-b. プロテオグリカンコアタンパク質(64-67)

プロテオグリカンは多様なドメイン構造をした巨大糖タンパク質であり、グリコサミノグリカンやヒアルロン酸等の多くの結合部位をもつ。これまでに、ラット、およびニワトリの軟骨(64, 65)、さらにヒト繊維芽細胞由来(66)のプロテオグリカンに対する部分cDNA構造が報告されている。これらプロテオグリカン中、CRDはC-末端に位置するが、実際にラット軟骨プロテオグリカンのC-末端130残基を含む断片は、フコース、およびガラクトースに特異的なレクチン活性を示した(67)。しかし、プロテオグリカンに含まれるC-型CRDの意義については明らかにされていない。

B-2-c. 蛇毒レクチンおよび関連タンパク質(69-76)

マムシ科やクサリヘビ科の蛇の毒液中には、複雑な局所性の障害を起こす一連の毒タンパクが含まれている(68)。この中にガラクトース特異的レクチンが見つかり、未処理、およびトリプシン処理した赤血球に対し、高い凝集活性を示す(69-72)。これら蛇毒レクチンは糖、およびカルシウム依存的に血小板凝集も起こす(72,73)。筆者らは、いち早くガラガラ蛇毒に含まれるレクチンの一次構造を決定し、これがC-型レクチンの仲間であることを示した(71)。

蛇毒由来のレクチン関連タンパク質としては、凝固系第X因子の阻害因子(74)がハブから、第IX/X因子の活性化因子(75)がクサリヘビからそれぞれ単離されている。後者の活性化因子は二本鎖からなる多ドメイン性タンパク質で、CRDは軽鎖を構成する。一方の重鎖は金属プロテアーゼドメイン、ジスインテグリン(血小板凝集阻害因子)様ドメイン、システインに富む未知

only a CRD. Besides venom, habu snake serum contains a kind of phospholipase inhibitor which turned out to have a C-type lectin-like structure (76). It has not been confirmed whether or not these lectin-related proteins have sugar-binding activities. It is not known why these C-type lectins and related proteins have been found exclusively in crotalids and viperids, and never found in other poisonous snakes such as elapids (cobra) and hydrophiids (sea snake). However, the latter snakes are known to possess distinguished lethal neurotoxins, while the former do not.

B-2-d. Invertebrate Body Fluid Lectins (77-84)

C-type lectins have been found in the body fluids of various invertebrate species; *i.e.*, tunicate (77), sea urchin (78), fly (79), cockroach (80, 81) and barnacle (82, 83). Most of them are galactose-specific, while a cockroach hemolymph protein shows specific affinity for lipopolysaccharide of *Escherichia coli* (81). Their subunit structures are usually simple consisting of only a CRD. However, they usually form high molecular weight polymeric structures under non-denaturing conditions. They are supposed to be substitutes for immunoglobulins and be involved in defense against bacterial infection. The lectin of sarcophaga plays an important role during metamorphosis (84).

B-2-e. Others (85-91)

Pancreatic stone protein, being present in pancreatic

のドメインからなる。毒液ではないが、ハブの血清からはC型レクチン様構造をしたフォスフォリパーゼ阻害因子が見つっている(76)。これらレクチン関連タンパク質の糖結合活性は、まだ確認されていない。なぜ、これらC型レクチンとその関連タンパク質が、もっぱらマムシ科とクサリヘビ科の蛇で見つかって、コブラ科やウミヘビ科の蛇では見つからないのだろうか。後者の毒蛇はきわめて致死活性の高い神経毒を備えているので、そのことと関係あるかもしれない。

B-2-d. 無脊椎動物体液レクチン(77-84)

多くの無脊椎動物[ホヤ(77)、ウニ(78)、ハエ(79)、ゴキブリ(80, 81)、フジツボ(82, 83)]は、その体液にC型レクチンを含む。これらの多くはガラクトースに特異的だが、ゴキブリの血リンパには大腸菌のリポ多糖に特異性を示すレクチンも見いだされている(81)。無脊椎動物レクチンのサブユニットは一般にCRDだけからなる簡単なものだが、非変性条件下では高分子量の多量体構造をとっていることが多い。免疫グロブリンを欠く無脊椎動物では、これらの分子が細菌などに対する感染防御にはたらくと考えられている。ハエのレクチンは生体防御だけでなく、変態過程でも重要な役割をはたしているらしい(84)。

B-2-e. その他(85-91)

膵臓で炭酸カルシウムの結晶形成を防ぐ膵石阻害タンパク

Table II. Classification of β -galactoside-binding lectins

Name	Source	Reference
(1) Proto type: 14-16 kDa		
	man (placenta, lung, muscle, spleen)	93-99
	marmoset (whole body)	100
	rat (lung, uterus)	101
	beef (muscle)	107
	mouse (fibroblast)	102-106
	pig (heart)	108
	chick (embryonic skin, adult intestine)	109-111
	(embryonic muscle, adult liver)	112
	frog (<i>Xenopus</i> skin)	113
	(<i>Rana</i> oocyte)	114
	electric eel (electric organ)	115
	conger eel (mucus skin)	116a
	sponge	116b
(2) Chimera type: 29-35 kDa		
	man (macrophage, breast cancer)	117-120
	rat (leukemia, lung)	121-123
	mouse (fibroblast, lung, macrophage)	124-128
(3) Tandem-repeat type: 32-36 kDa		
	<i>Caenorhabditis elegans</i>	92
	rat (intestine)	130

juice inhibiting growth of calcium carbonate crystals (85, 86), and Langerhans islet regeneration-specific protein (reg gene product) (87, 88) were recently proved to be the same protein. Tetranectin, a regulator of the coagulation system (89), and a type-II antifreeze protein found in smelt (90) and sea raven sera (91) are also soluble, C-type lectin-related proteins. All these molecules have a simple structure consisting of only a CRD, though their sugar binding properties have not been confirmed.

C. Members of the S-Type Lectin Family

Compared with C-type lectins, S-type lectins are apparently less diverse. At present, only soluble metal-independent β -galactoside-binding lectins seem to be members of the family. Based on their molecular architectures, they are subdivided into three types (92), as follows (Table II).

C-1. Proto Type (14-kDa Lectin) (93-116b)

The most common vertebrate lectins are dimeric proteins, generally called "14-kDa lectin" according to their approximate subunit sizes [14-16 kDa] (for references, see Table II). "Proto" does not necessarily mean "primitive" from the viewpoint of molecular evolution. However, very recently, lectins from a sponge, *Geodia cydonium*, were actually isolated and proved to fall into this category (116b).

One of the unanswered questions is the occurrence of isoelectins. In the case of chicken (131), there are two isoelectins, called 14-kDa (109, 110) and 16-kDa lectins (112) according to their apparent sizes estimated by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. Actually, both of them have almost the same molecular weight (ca. 15,000 Da). Human 14-kDa lectin was originally isolated from placenta (132). Recently, the presence of an additional 14-kDa lectin was suggested by cDNA (93, 99) and gene cloning (98, 99). Sequence homologies between these isoelectins are not so high (ca. 40-50% identities). Their expressions appear to be regulated differently (99, 112, 133). Some animal species belonging to the same orders (but to different class or family) also have distinct lectins (sequence identities, ca. 40%); e.g., in the cases of frogs [*Xenopus* (113) and *Rana* (114)] and eels [electric eel (115) and conger eel (116a)]. However, such differences may reflect the rather long time period after the divergence of these species.

C-2. Chimera Type (29-35-kDa Lectin) (117-128)

Chimera-type lectins are multidomain proteins consisting of a lectin domain and other non-lectin domain(s). Mammalian lectins having higher molecular weights (29-35 kDa), and being called by different names such as "CBP-35" (124), "L-34" (125) or "S-Lac29" (122), are in fact chimeras composed of an N-terminal domain resembling some heterogeneous ribonucleoprotein (hnRNP) and a C-terminal lectin domain homologous to proto-type lectins (ca. 30% identities).

(85, 86)とランゲルハンス島再生タンパク質(reg遺伝子産物)(87, 88)は、同一分子であることが最近示された。線溶系調節因子であるテトラネクチン(89)、極地海域に棲息する魚類[ワカサギ(90)やケムシカジカ(91)]の血清に含まれる抗凍結タンパク質(II型)も、可溶性のC-型レクチン関連タンパク質である。これらの分子はいずれもCRDだけからなる比較的簡単な構造をしているが、糖結合活性については確認されていない。

C. S-型レクチン家系を構成するタンパク質

以上述べてきたC-型レクチンと比較すると、S-型レクチンの多様性はずっと小さい。目下のところ、可溶性 β -ガラクトシド結合性レクチンの仲間だけがこの家系を構成する。これらは分子構築様式に基づき、以下のように三つのタイプに分類できる(92) (表II)。

C-1. プロト型(14 kDaレクチン)(93-116b)

もっとも一般的な β -ガラクトシド結合性レクチンは二量体構造をとる。サブユニット分子量が14-16 kDaであることから、14 kDaレクチンと呼ばれることが多い(文献については表IIを参照)。ここで、プロトとは必ずしも進化的な原型を意味しないが、実際、海綿の一種である*Geodia cydonium*からこのタイプに属するレクチンが単離されており、ごく最近、構造決定された(116b)。

このタイプには、イソレクチンに関する問題がある。たとえば、ニワトリには以前から二種のイソレクチンが存在することが知られている(131)。それぞれ、SDS電気泳動上の見かけの分子量から14 kDaレクチン(109, 110)、16 kDaレクチン(112)と呼ばれているが、実際に一次構造から求められた分子量は、両者とも約15,000でほとんど変わらない。ヒトの14 kDaレクチンはもともと胎盤で見つかったものだが(132)、最近、新種の14 kDaレクチンがcDNA(93, 99)や遺伝子(98, 99)のクローニングを通して同定されている。これら同一種におけるイソレクチン間の配列ホモロジーはけっして高くなく、40-50%程度の一致を示すにすぎない。また、それらの発現も別々に調節されているようである(99, 112, 133)。このほか、近縁動物種のプロト型レクチンの間でも、低い相同性(40-50%程度の一致)しか示さない例がある。カエルの*Xenopus*(113)と*Rana*(114)のレクチン、魚類の電気ウナギ(115)とアナゴ(116b)のレクチンなどである。しかし、こういったアミノ酸配列のちがいは、むしろ種分化後の経過時間の長さを反映したものかもしれない。

C-2. キメラ型(29-35 kDaレクチン)(117-128)

キメラ型レクチンはレクチン、および非レクチンドメインからなる多ドメイン性のタンパク質である。哺乳類にはCBP-35(124)、L-34(125)、S-Lac29(122)など、さまざまな名まえで呼ばれる高分子型のレクチン(29-35 kDa)が存在するが、これらは(種が同じなら)すべて同一分子である。実際に、このレクチンは、ある種の不均一リボ核タンパク質(hnRNP)と相同なN-末端ドメインとプロト型レクチンと相同な(30%程度の一致)C-末端レクチンドメインからなるキメラ分子である。すでに本誌でも

As reviewed before (128), they had also been studied independently by several researching groups as proteins having biological activity other than lectin activity, and thus, called by different names; e.g., IgE-binding protein (ϵ BP, 121), activated macrophage antigen (Mac-2, 126), and non-integrin family laminin-binding protein (127). They turned out to be the same protein and actually to have β -galactoside-binding activity. So far, these chimera-type lectins have been found only in mammals.

C-3. Tandem-repeat Type (Nematode 32-kDa Lectin) (92, 129, 130)

This type was identified for the first time in a 32-kDa galactoside-binding protein isolated from *Caenorhabditis elegans* (92). This protein is composed of two tandemly repeated lectin domains, each showing ca. 25% sequence identities to vertebrate 14-kDa lectins. More recently, a rat intestinal 36-kDa lectin also turned out to be a tandem-repeat type (130). Apparently, tandem repeat structures are the result of gene duplication(s). Such a repeat structure has also been found in the C-type lectin family; i.e., macrophage mannose receptor (12).

D. Comparison of the Two Lectin Families

D-1. Structural Characteristics in Relation to Localization

All of the C-type lectins and structurally related proteins including receptors have primary structures typical to extracellular proteins or membrane-anchored proteins. Their nascent peptides have either a cleavable N-terminal signal sequence or a hydrophobic sequence required for integration into the membrane. Many of them are glycosylated, and all of them have stable intramolecular disulfide bonds under extracellular (oxidizing) conditions. The presence of two highly conserved disulfide bonds is one of the best proofs of their assignment to C-type lectins (2, 3).

In contrast, S-type β -galactoside-binding lectins have inherent characteristics of cytoplasmic proteins (5-7). Since no other lectins including plant ones show such properties except for discoidin I (134), this is a remarkable feature, and thus, worth restating; that is, i) they have no hydrophobic signal sequence; ii) they are not glycosylated even if they have a potential glycosylation signal; iii) they have no disulfide bond even if multiple cysteine residues are present; iv) their N-terminal amino groups are acetylated, as far as examined. All these properties are typical to cytoplasmic proteins.

If reactive cysteine residues exist, undesirable disulfide bond(s) are likely to be formed when the lectin is left under oxidizing (extracellular) conditions. Indeed, most mammalian and chicken 14-kDa lectins were found to undergo inactivation in the absence of a thiol-reducing reagent (5-7, 135, 136). This is the reason why β -galactoside-binding lectins were called "S-type" (2), because sulfhydryl groups were thought to be es-

触れたように(128)、これらのタンパクは複数の独立した研究グループによって、非レクチンタンパク質として調べられていたというユニークな経歴をもつ。すなわち、IgE結合タンパク質(ϵ BP, 121)、活性化マクロファージ特異抗原(Mac2, 126)、非インテグリン性ラミニン結合タンパク質(127)としてである。しかし、クローニングの結果、これらはやはり、同一種であれば同一なタンパク分子であることが判明し、また、 β -ガラクトシド結合活性についてものちほど確認された。このキメラ型レクチンは現在のところ、哺乳類でしか見つかっていない。

C-3. 直列反復型(線虫32 kDaレクチン)(92, 129, 130)

この型のレクチンは、線虫、*Caenorhabditis elegans*ではじめて見つかった(92)。線虫の32 kDaガラクトシド結合性タンパクは、脊椎動物の14 kDaレクチンと相同なレクチンドメイン(約25%一致)が二回繰り返した構造をとっている。この型はラットの腸にも存在することがごく最近わかった(ラット36 kDaレクチン)(130)。直列反復型が遺伝子重複の産物であることはまちがいないが、そのような例はマクロファージのマンノース受容体(12)のようにC型レクチンの中にも見いだせる。

D. 二大レクチン家系の比較

D-1. 構造的特徴と局在

すべてのC型レクチンとその関連タンパク質は、受容体分子であれ可溶性分子であれ、細胞外タンパク質に典型的な一次構造の特徴を示す。言い換えれば、それらは翻訳後切断されるシグナル配列、もしくは細胞膜貫通に必要な疎水性領域をもつ。このため、多くのC型レクチンには糖鎖が付加されており、すべてのC型レクチンが酸化的(細胞外)条件下では安定なジスルフィド結合を形成する。C型レクチンをもっとも特徴づける構造が、進化過程でつよく保存された二対の分子内ジスルフィド結合であることが想起されよう(2, 3)。

これに対し、S型である β -ガラクトシド結合性レクチンは細胞質タンパクとしての属性を備えている(5-7)。このような性質はディスコイジンI(134)にも共通するが、植物起源のものを含め、ほとんどのレクチンとは一線を画すものなので、詳しく述べることにする。第一に、 β -ガラクトシド結合性レクチンは疎水性のシグナル配列をもたない。第二に、糖付加のシグナルがある場合でも、糖鎖の付加は起こらない。第三に、システイン残基は遊離状態(スルフヒドリル基)で存在し、ジスルフィド結合を形成しない。第四に、アミノ末端は調べられたかぎりアセチル化されている。こういった特徴はすべて細胞質タンパクを特徴づける性質である。

反応性の高いシステイン残基があると、酸化的(細胞外的)な条件では好ましくないジスルフィド結合ができるかもしれない。実際、ほとんどの14 kDaレクチン(哺乳類やニワトリ)はチオール性還元剤がないと失活してしまう(5-7, 135, 136)。スルフヒドリル基が糖結合活性に必要なであるとの憶測から「S型」

sential for sugar-binding. However, this terminology does not seem truly relevant from present knowledge. Actually, many mammalian 14-kDa lectins have some reactive cysteine residues especially in the N-terminal (Cys2) and C-terminal regions (Cys130) (101). These two turned out to form an intrachain disulfide bond under oxidizing conditions (137). This causes significant conformational change of the proteins resulting in substantial loss of sugar-binding activity (135, 136). However, these cysteine residues are not conserved in other subfamilies. Mammalian 29-35-kDa lectins have only a single cysteine residue (corresponding to Cys60 of human 14-kDa lectin). But this cysteine residue was hardly reactive (138). Moreover, the nematode 32-kDa lectin completely lacks cysteine (92). In the cases of mammalian 14-kDa lectins, it turned out that modification of cysteine residue(s) with moniodoacetamide substantially protected the lectins against oxidative inactivation (135). Recent site-directed mutagenesis analysis showed that none of six cysteine residues of human 14-kDa lectin is necessary for the sugar-binding function (136). All these lines of evidence rule out the essential role of cysteine residues.

One of the basic problems of β -galactoside-binding lectins, however, is that no convincing explanation for the mechanism of their extracellular transport has been given. This suggests the presence of an unknown secretion mechanism which does not depend on hydrophobic signal sequence other than a classical signal theory applied to C-type lectins. Cooper *et al.* (139), and Harrison and Wilson (141) independently reported that, during murine myoblast fusion, the 14-kDa lectin molecules are initially distributed diffusely within the cell, and as the fusion progresses, they become concentrated in peripheral regions of the cytosol, then are evaginated to form vesicles, and finally secreted to extracellular space. Based on this observation, Cooper *et al.* proposed the term "ectocytosis" (139), though it apparently resembles a "degranulation/exocytosis" process previously observed in some granular proteins (141). Though the biological significance of ectocytosis or degranulation/exocytosis is not clear, this mechanism may be necessary for preventing lectins from interfering with sugar processing events occurring in the endoplasmic reticulum, or advantageous when secretion of abundant lectins in a short time is required.

In contrast to C-type lectins which have typical extracellular domains, of which CRDs are always located in extracellular spaces, S-type lectins are originally cytoplasmic proteins and should have so far unknown cytoplasmic function(s). Then, they seem to be externalized by a non-classical pathway and play some extracellular roles including the interaction with ligand glycoconjugates.

D-2. Sugar-binding Properties

C-Type lectins require of the order of 1 mM calcium ion

レクチンという呼称が生まれるのだが、この呼び方は現在の知識からすると適当とは言えない。このことを以下に説明しよう。たしかに、多くの哺乳動物の14kDaレクチンは、反応性に富んだシステイン残基をN-末端部(Cys2)とC-末端部(Cys130)にもっている(101)。これらシステイン残基は、酸化条件では分子内ジスルフィド結合を形成する(137)。さらに、このことが引き金になって、レクチン分子に重大なコンフォメーション変化が起こり、その結果、糖結合活性が失われる(いわゆる酸化失活、135、136)。しかし、これらのシステイン残基は、他の β -ガラクトシド結合性レクチンでは必ずしも保たれていない。たとえば、哺乳類のキメラ型29-35 kDaレクチンにはシステインが一残基あるだけで(ヒト14 kDaレクチンのCys60に相当)、しかもほとんど反応性がない(138)。先の線虫レクチンにいたってはシステインがまったくない(92)。また、哺乳類の14 kDaレクチンのシステイン残基をモノヨードアセタミドで修飾すると、効果的に酸化失活を防げる(135)。最近、われわれはヒト14 kDaレクチンについて部位特異的変異をおこなったが、このレクチンが6個もつシステイン残基は、いずれも糖結合機能に重要ではなかった(136)。これらの観察結果から、システイン残基の重要性は完全に否定される。

β -ガラクトシド結合性レクチンにおける重要な一つの未解決問題は、細胞外輸送に関する問題である。このレクチンが特定のシグナル配列をもたないのに分泌されているからだ。C-型レクチンとは異なり、 β -ガラクトシド結合性レクチンには従来のシグナル理論では説明できない別の分泌機構があるらしい。Cooperら(139)、およびHarrisonとWilson(141)は、マウスの筋芽細胞の融合期における14 kDaレクチンの局在について、独立に研究をおこなった。彼らの報告によると、レクチン分子は最初、細胞質に散在しているが、融合期になると細胞質内の周辺に集まるようになり、やがて出芽物を形成し、最後には培地へと放出されるという。この観察にもとづいて、Cooperらは「エクトサイトーシス」という分泌機構を提唱している(139)。おもしろいことに、この現象は顆粒球タンパクなどで知られている「脱顆粒/エキソサイトーシス」という現象と似ている(141)。このエクトサイトーシス(脱顆粒/エキソサイトーシス)の生理的意義はよくわかっていないが、小包体内での糖鎖のプロセッシングを妨げずにすむ、必要なときに多量のレクチンタンパクを一度に分泌することができる、などの理由が考えられよう。

以上まとめると、典型的な細胞外タンパク質で、いつもCRDを細胞外に配備しているC-型レクチンとは対照的に、S-型レクチンは基本的に細胞質タンパクとしての属性を備えている。このことは、S-型レクチンが細胞内で未知の機能を発揮している可能性を示唆する。一方、S-型レクチンは古典的な分泌過程によらない独自の機構で細胞外へと輸送され、複合糖鎖との相互作用を含んだ細胞外機能にたずさわるらしい。

D-2. 糖結合に関する性質

C-型レクチンは、一般に活性発現に1 mM程度のカルシウム

to express their activity. Recently, three-dimensional structures of the rat mannose-binding protein in its free (142) and sugar-complexed forms (143) were reported. Two or three calcium ions are bound to one CRD, and one of them was found to coordinate amino acid residues involved in the sugar binding. Since calcium binding is reversible, this property has been often utilized for purification. However, this should also be of biological importance because lectin activity can be regulated by the change in calcium ion concentration. A recent study on the biosynthesis of hepatic asialoglycoprotein receptor suggested that calcium ion is also required for the translocation from endoplasmic reticulum to Golgi apparatus (144).

Lee *et al.* systematically analyzed sugar-binding properties of C-type lectins, *N*-acetylglucosamine-specific chicken hepatic lectin (145), galactose-specific rat hepatic lectin (146) and rat serum mannose-binding protein (147) using a series of competitive oligosaccharides. These C-type lectins showed several common properties in spite of their different sugar specificities; that is, i) they recognize only non-reducing terminal monosaccharide moieties; ii) 3- and 4-hydroxyl groups of the target monosaccharide are important for recognition; iii) they show extremely high affinity for branched sugar chains (clustering effect).

The second point explains well why most mannose-specific lectins have affinity for *N*-acetylglucosamine besides mannose, because the substituting group at C-2 position is not critical. This also explains the first point, because hydroxyl groups of C-3 and C-4 positions are often used for the formation of glycosidic bond in sugar chains. The third clustering effect seems the most important characteristics of C-type lectins. In fact, they show extremely enhanced affinity for bi- and triantennary sugar chains, while that for a uniantennary chain is rather low (K_i of the order of 1 mM). This suggests that these C-type lectins adopt highly organized oligomeric structures. The X-ray crystallographic analysis revealed that two CRD of rat mannose-binding protein binds two non-reducing end mannose residues of the branches of a biantennary chain which extend in opposite directions (143). Thus, recognition by these C-type lectins can be said to be "superficial" (only terminal recognition) but "tight" (clustering effect).

A different mode had been expected for selectins, since they appear to recognize both fucose and sialic acid present in Sia-Le^x or Sia-Le^a structure (148-150). However, systematic analysis of E-selectin using monoclonal antibodies and mutant lectins showed that these two saccharide moieties are located closely enough to be recognized by a relatively small part of the lectin (151). There is also evidence that L-selectin requires sulphation of the ligand (152). Thus, true structures of selectin ligands remain to be elucidated. However, it seems that the involvement of an acidic group in the ligand recognition confuses the lectin researchers unnecessarily.

μイオンを必要とする。最近、ラットのマンノース結合性タンパク質の遊離型(142)、および糖鎖との複合体(143)の三次構造が報告されたが、カルシウムイオンはCRDあたり二ないし三分子結合し、そのうちの一個が糖結合にかかわるアミノ酸残基の配向性を規定していることがわかった。カルシウムイオンとの結合は可逆的なため、精製などに際しても便利だが、実用面ばかりでなく、生物機能のうえでも重要にちがいない。たとえば、カルシウムイオンの濃度変化による活性調節も可能であろう。肝レクチンの生合成に関する最近の知見では、カルシウムイオンは小包体からゴルジ体への輸送の際にも必要であるという(144)。

Leeらは、さまざまなオリゴ糖を阻害剤としてもちい、いろいろなC-型レクチンの糖結合に関する系統的な解析をおこなった。すなわち、N-アセチルグルコサミンに特異的なニトリ肝レクチン(145)、ガラクトースに特異的なラット肝レクチン(146)、そしてラットの血清型マンノース結合性レクチン(147)について調べたところ、これら一連のC-型レクチンが、糖特異性にかかわらず、共通の結合上の性質をもつことがわかった。第一に、いずれのレクチンも非還元末端の単糖を認識する。第二に、この認識に重要なのは、標的単糖の3位、および4位である。第三に、分岐型糖鎖に対してとくに高い親和性を示す(クラスター効果)。

第二の点は、なぜ多くのマンノース特異的レクチンがN-アセチルグルコサミンにも高い親和性を示すのかをうまく説明できる。C-2位の置換基や立体は重要でないのだ。このことは、また第一の点ともつじつまがあう。なぜなら、多くの場合、C-3、C-4位の水酸基はグリコシド結合に使われているため、必然的に末端認識になるためである。第三のクラスター効果は、C-型レクチンの糖結合モードを記述するうえでもっとも大切だ。実際に、C-型レクチンは一本鎖型糖鎖に対しては1 mM程度の K_i 値しか示さないが、二本鎖、三本鎖型と分岐がふえると親和力は相乗的に増加していく。このことは、C-型レクチンが高度に組織化されたオリゴマー構造をとっていることを物語る。先のラットのマンノース結合性レクチンのX-線結晶解析では、二つのCRDは正反対方向にのびた二本の糖鎖の非還元末端マンノースをうまくとらえていた(143)。よって、C-型レクチンの糖結合様式を要約するなら、「広く浅く、しかし、総じてつよく」となるだろうか。

セレクトインはSia-Le^x、およびSia-Le^a糖鎖構造のフコースとシアル酸の両方を認識するため(148-150)、若干異なる結合モードを考えなければならない。しかし、E-セレクトインについて単クローン抗体や変異体セレクトインをもちいた系統的な解析によると、フコースとシアル酸双方は、セレクトインの比較的せまい部分による認識が可能らしい(151)。最近、L-セレクトインの認識には硫酸化が重要との知見もあり(152)、セレクトインのリガンド検索についてはしばらく予断を許さない状況である。ただ、特異性の問題に酸性基がからんだことが、必要以上にこの種の仕事に混乱を招いているようにも思える。

Binding modes of S-type lectins revealed by several independent groups (153-158) are as follows: i) both proto- and chimera-type lectins recognize disaccharide units such as lactosamine; ii) in this case, the 4- and 6-hydroxyl groups of galactose and the 3-hydroxyl group of β -linked glucosamine are important; iii) little clustering effect is observed even when branched sugars are ligands. Sialylation of non-reducing terminal galactose residue by α 2,6 linkage results in drastic reduction of the binding activity, while sialylation by α 2,3 linkage has little effect (153, 154). Therefore, the sugar-binding function of S-type lectins might be controlled via sialylation events by the actions of different sialyltransferases.

The lectins also show affinity for Gal β 1-3GlcNAc with a binding strength almost comparable to that for lactosamine (Gal β 1-4GlcNAc). Model building of these isomers indicates that all three hydroxyl groups discussed above can be located in almost the same positions by rotating the glycosidic bond. Therefore, it is the spacial arrangement made of the three hydroxyl groups that are important for recognition. It is possible that a similar mechanism is adopted in the case of Gal β 1-3(4)GlcNAc α 2,3-sialyltransferase (159), which transfers sialic acid to either Gal β 1-3GlcNAc or Gal β 1-4GlcNAc with comparable efficiency.

Though sugar-binding specificities of proto-type and chimera-type lectins are similar, they are not the same; for example, the rat 29-kDa lectin shows 100-fold higher affinity than the rat 14-kDa lectin for a lactosamine derivative, GalNAc β 1-3(Fuc α 1-2)Gal β 1-4GlcNAc (153, 154). Therefore, their endogenous ligands and their functions should be different. Polygalactosamine has been nominated as a possible endogenous ligand of β -galactoside-binding lectins (158, 160-164). This was first demonstrated by Oda and Kasai by the combination of photoaffinity labeling and endo- β -galactosidase digestion (165). A number of experiments suggested that laminin which contains polygalactosamine structure is one of the possible endogenous receptors. In fact, proteins purified from human melanoma and thioglycolate-elicited mouse macrophage by an immobilized laminin column proved to be human 14-kDa lectin (162) or mouse chimera-type 35-kDa lectin (127), respectively. Tissue-type fibronectin is also a candidate receptor (158). However, it is difficult to obtain conclusive evidence by such experiments done in non-physiological conditions.

As discussed above, there are distinct differences in sugar-binding properties between C-type and S-type lectins; that is, i) calcium dependency; ii) recognition unit (terminal or internal; and iii) significance of clustering effect.

D-3. Structure-function Relationship

A clear result on structure-function relationship for a C-type lectin was obtained by a Drickamer's group (166, 167)

一方、S-型レクチンの糖結合モードについては、多くの独立したグループによる一致した結果が得られている(153-158)。第一に、プロト型もキメラ型のレクチンもラクトサミンのような二糖構造を認識単位とする。第二に、この認識に重要なのはガラクトースの4-位と6-位の水酸基、および β 結合でつながったグルコサミンの3-位の水酸基である。第三に、分岐型糖鎖に対するクラスター効果はほとんど認められない。もし、非還元末端のガラクトースが α 2-6結合によってシアル化されると結合活性が大きく低下してしまうが、 α 2-3結合ではほとんど影響がない(153,154)。したがって、S-型レクチンの糖結合活性が、異なるシアル酸転移酵素による修飾を介して調節されている可能性がある。

S-型レクチンはラクトサミン(Gal β 1-4GlcNAc)のほかに、その異性体であるGal β 1-3GlcNAcにも同等の親和性を示す。グリコシド結合を回転させ、これらの分子模型を組んでみると、先に述べた三つの水酸基はすべてほぼ同じ位置にくることがわかる。したがって、S-型レクチンの認識に重要なのは、これら三つの水酸基の空間的な配置となる。同様な例として、Gal β 1-3(4)GlcNAc α 2-3シアル酸転移酵素(159)が挙げられるかもしれない。この酵素は、Gal β 1-3GlcNAcとGal β 1-4GlcNAc双方にシアル酸を転移するからだ。

プロト型とキメラ型レクチンの特異性はまったく同じではない。たとえば、ラットの29 kDaレクチンは、ラクトサミンの一誘導体であるGalNAc β 1-3(Fuc α 1-2)Gal-GlcNAcに対し、同じラット由来の14 kDaレクチンより百倍も高い親和性を示す(153, 154)。このことは、これらのレクチンに対する内在性リガンドが実際は異なり、よって機能も異なっていることを示唆する。 β -ガラクトシド結合性レクチンの内在性リガンドは、以前からポリラクトサミン型の糖鎖だと言われている(158, 160-164)。これは、光標識架橋とエンド β ガラクトシダーゼをもちいた小田と笠井の実験によってはじめて示された(165)。また、多くの実験結果から、レクチンのレセプターとしてポリラクトサミン構造をもったラミニンが候補に挙げられている。事実、ヒト黒色腫細胞や、チオグリコール酸で刺激したマウスマクロファージからラミニン固定化カラムをもちいて精製されたタンパクは、それぞれヒト14 kDaレクチン(162)、およびマウス35 kDaレクチン(127)であった。組織型のフィブロネクチンもポリラクトサミン構造をもつため、レセプター候補となろう(158)。しかし、これらの実験は、いずれも生理的に起こっている現象を忠実に反映しているわけではなく、論証の決定打とはならない。

以上議論してきたように、C-型レクチンとS-型レクチンの糖結合特性には根本的なちがいが認められる。それは、カルシウムに対する依存性、認識糖鎖の単位(末端のみか内部も含むのか)、そしてクラスター効果における差異としてとらえられる。

D-3. 構造—機能相関

C-型レクチンの構造—機能相関の問題については、ごく最

very recently. They performed X-ray analysis of the CRD of the rat mannose-binding protein complexed with an Asn-linked biantennary sugar chain (143). The results were: i) amino acid residues involved in the sugar binding are located in the C-terminal region encompassing 25 residues, ii) two "acid-amide" pairs, Glu185/Asn187 and Glu193/Asn205, recognize the 3- and 4-hydroxyl groups of mannose, respectively, by cooperative hydrogen bonding, iii) these hydrogen bonds are strictly coordinated by the presence of one calcium ion. They found that one of the pairs, Glu185/Asn187, is critical in the sugar-specificity determination by superimposing various saccharide molecules other than mannose on a computer screen. Substitution by recombinant DNA technique of the sequence "Glu-Pro-Asn", a characteristic motif of mannose-specific lectins, with "Gln-Pro-Asp", that of galactose-specific lectins (see Fig. 1), resulted in the change of sugar specificity; *i.e.*, a mannose-binding protein became galactose-specific. This mutant protein had lost a half of its original affinity for mannose (166).

In comparison with C-type lectins, structure-function studies on S-type lectins have advanced less. However, comparison of primary sequences of a number of proteins from diverse origins left a rather limited number of conservative residues. Their roles have been analyzed either by site-directed mutagenesis (136) or by deletion analysis (168). We constructed a series of mutants of human 14-kDa lectin, focusing on conservative hydrophilic residues, because assumed binding sites of many carbohydrate-binding proteins are mainly formed by hydrophilic residues (143, 169). Hydropathy analysis of S-type lectin CRDs revealed that the central region (residues 30-90) is particularly hydrophilic. In addition, most of the conservative residues including many hydrophilic ones are located in the central region, and are encoded by a single exon (98, 99, 106, 111, 123). These observations suggest that this region plays a central role in the carbohydrate recognition (shaded in Fig. 2). Actually, substitutions of a series of the conserved hydrophilic residues (His44, Asn46, Arg48, Asn61, Glu71 and Arg73) led to an almost complete loss of the binding ability, while substitutions of hydrophilic residues either less conservative (Lys63) or located in the C-terminal region (Arg111 and Asp125) had little effect on the activity (136, 170). On the other hand, both terminal regions seem to be necessary for correct folding, because mutant proteins of the bovine 14-kDa lectin lacking N-terminal or C-terminal 10 residues were found to be inactive (168). In this context, the well-conserved central region is the most important but may not be sufficient to express full activity. There are lines of evidence that the N-terminal and C-terminal regions of 14-kDa lectins are buried in the molecules or involved in the inter-subunit association (140, 171).

A single conservative tryptophan (Trp68) had long

近、Drickamerのグループが明快な結論をだした(166, 167)。ラットのマンノース結合性レクチンのCRDとAsn結合型糖鎖の複合体についてX-線解析がなされたことは先にも触れたが(143)、その結果、以下のことがわかった。第一に、糖結合に関与するアミノ酸残基は、レクチンのC-末端付近の25残基からなる領域に位置する。第二に、二つの「酸-アミド対」、Glu185/Asn187、およびGlu193/Asn205が協調的な水素結合を介してそれぞれマンノースの3-位と4-位の水酸基を認識する。第三に、これらの水素結合はカルシウムイオンによって厳密に規定されている。Drickamerは、コンピュータ画面上にマンノースをはじめ、いろいろな単糖分子のモデルを重ねあわせるという作業をおこない、Glu185/Asn187という「酸-アミド対」が糖特異性を決めるうえで重要と推定した。そこで、マンノース特異的レクチンを特徴づける「Glu-Pro-Asn」という配列モチーフをガラクトース特異的レクチンを特徴づける「Gln-Pro-Asp」というモチーフに変えたところ(図1)、このマンノース結合性タンパクはガラクトース特異的レクチンに衣替えしてしまったのである。この変異体はマンノースに対する親和性を天然型の半分も失っていた(166)。

一方、S-型レクチンの構造と機能に関する研究は、C-型レクチンほど進展していない。しかし、さまざまな種由来のS-型レクチンの一次構造が数多くわかっているため、完全に保存されているアミノ酸はかなり限られる。これら保存残基の役割については、部位特異的な変異法による解析(136)と削除変異体をもちいた解析(168)がある。われわれは保存性の親水性残基に着目して、ヒト14 kDaレクチンに一連の変異を導入した。これは、多くの糖結合タンパクの結合部位が、もっぱら親水性残基で形成されているためだ(143, 169)。疎水性パラメーターの解析によると、S-型レクチンの中央部(14 kDaレクチンの30-90残基目に相当)が親水性に富んでおり、また、ほとんどの保存残基がこの領域に位置する。さらに、ゲノム解析によると、この中央領域は一個のエクソンによってコードされている(98, 99, 106, 111, 123)。これらの観察結果から、この領域がS-型レクチンの糖認識において中心的な役割を担っていると考えるのは妥当であろう。実際、これら保存性の親水性残基であるHis44、Asn46、Arg48、Asn61、Glu71、Arg73を置換すると、糖結合活性はほとんど失われてしまう。これに対し、中央領域でも保存性のあまり高くないLys63や、保存性は高くてもC-末端領域にあるArg111やAsp125を置換しても、活性にはほとんど影響がない(136, 170)。しかし、削除変異体による解析によると、N-末端やC-末端の10残基ほどを除くだけでレクチン活性は失われてしまうという(168)。よって、保存された中央領域は、レクチンの機能上もっとも大切ではあるが、周辺部位もペプチド鎖の正しい折りたたみのうえで重要なのだろう。中央部だけでは活性を発揮するには不十分ということになる。14 kDaレクチンについては、これら周辺部位が分子中に埋もれているか、サブユニットの会合に関わっているという証拠もある(140, 171)。

S-型レクチンでは、長らく一個の保存性トリプトファン

			3-OH	4-OH	Ca	
[Man-type]			*	*	*	*
MBP-A	Man	W---	EPN	E-C	WND-C	C
CON	GlcNAc, Man	W---	EPN	E-C	WND-C	C
ManR-4	Man	W---	EPN	E-C	WND-C	C
GP120BP	Man	W---	EPN	E-C	WND-C	C
CHL	GlcNAc	W---	EPN	E-C	WND-C	C
L-SEL	Fuc+Sia	W---	EPN	E-C	WND-C	C
E-SEL	Fuc+Sia	W---	EPN	E-C	WND-C	C
P-SEL	Fuc+Sia	W---	EPN	E-C	WND-C	C
[Gal-type]						
ASGPR	Gal	W---	QPD	E-C	WND-C	C
KCR	Gal, Fuc	W---	QPD	E-C	WND-C	C
MACR	Gal	W---	QPD	E-C	WND-C	C
CPG	Gal, Fuc	W---	QPD	E-C	WND-C	C
FPG	Gal, Fuc	W---	QPD	E-C	WND-C	C
RSL	Gal	W---	QPD	E-C	WND-C	C
SPL	Gal	W---	NPD	E-C	WND-C	C
SUL	Gal	W---	NPD	E-C	WID-C	C
BAR	Gal	W---	NPN	Q-C	WDD-C	C
TUN	Gal	W---	EPS	Q-C	LDD-C	C
[Others]						
PSAP	Fuc, Man, Gal	W---	EPA	E-C	WND-C	C
LPSBP	LPS	W---	IPD	E-C	LND-C	C
FCER	?	W---	EPT	E-C	WND-C	C
TM	?	W---	DLN	P-C	WEE-C	C
TETN	?	W---	QPD	E-C	WFD-C	C
IRP	?	W---	YPN	G-C	WRD-C	C
PSP	?	W---	APS	G-C	WKD-C	C
AFP	?	W---	QPD	E-C	WND-C	C

Fig. 1. Sequence motifs defining sugar-binding specificities of C-type lectins. Only relevant residues are shown (others shown by dashed lines). Asterisks denote structurally invariant residues. Blanks represent deletions for maximum homology. Motifs, "EPN", specific for mannose-binding lectins and "QPD", specific for galactose-binding lectins are boxed, and corresponding regions in all sequences are shaded. Abbreviations; MBP-A, mannose-binding protein-A; CON, concanavalin; ManR-4, macrophage mannose receptor CRD-4; GP120BP, placental HIV gp120-binding protein; CHL, chicken hepatic lectin; L-, E-, P-SEL, L-, E-, P-selectins, respectively; ASGPR, hepatic asialoglycoprotein receptor; KCR, Kupffer cell receptor; MACR, macrophage receptor; CPG, cartilage proteoglycan core protein; FPG, fibroblast proteoglycan core protein; RSL, rattlesnake venom lectin; SUL, sea urchin lectin; BAR, barnacle lectin; TUN, tunicate lectin; PASP, major component of pulmonary surfactant apoprotein; LPSBP, cockroach lipopolysaccharide-binding protein; FCER, low affinity IgE receptor (CD23); TM, thrombomodulin; TETN, tetranectin; IRP, islet regenerating protein; PSP, pancreatic stone protein; AFP, smelt anti-freeze protein.

Fig. 2. Polypeptide architectures of β -galactoside-binding lectins. Representative conserved residues are shown above the prototype structure, among which perfectly conserved ones are denoted by asterisks (residue numbers are those of human 14-kDa lectin). Large capitals represent critical residues, possibly involved in the sugar-binding function shown by site-directed mutagenesis (136 and our unpublished result). Conservative central regions which proved to be encoded by a single exon are shaded.

been believed to have an essential role in sugar binding (115,172). However, Trp68 of the human 14-kDa lectin was shown to be less important, because it could be replaced with tyrosine with only a slight decrease in the sugar-binding ability (136). In fact, *Rana* egg 14-kDa lectin has tyrosine in the position corresponding to Trp68 (114).

To establish the structure-function relationship of S-type lectins, however, elucidation of the three-dimensional structure is of urgent necessity.

E. General View

E-1. C-Type Lectins as "Bricolage Products"

As described, each member of the C-type lectin family appears to have rather specialized functions. This is consistent with their distribution; though C-type lectins as a whole are widely found in the animal kingdom, individual molecules show rather restricted biological distribution. It will be hardly possible to find lectins having the same functions as hepatic lectin (asialoglycoprotein receptor) or lymphocyte-specific antigens in invertebrates. There are also examples of very specialized C-type lectins such as antifreeze protein (only found in fishes living in polar seas; reviewed in 173) and snake venom hemagglutinin (exclusively found in the crotalid but scarcely in the elapid families; 69). Individual members of the C-type lectin family seem to have diverged, become tissue-specific (as seen from their designations, e.g., "macrophage receptor" and "T-lymphocyte specific antigen") as well as species-specific, and thus, obtained more specialized functions during the evolution of animals.

My own hypothesis concerning C-type lectins is as follows. It is well known that in primitive societies people often make up various tools from handy parts that originally had a completely different purposes. C. Levi-Straus, a cultural anthropologist, described this phenomenon as "bricolage" in contrast to products made by modern manufactures. F. Jacob pointed out that almost all biomolecules are the result of none other than bricolage (174). Then, we can consider that all animal species have utilized CRD as an extremely useful part to create a variety of carbohydrate-binding proteins with specialized functions during evolution under different circumstances; membrane-bound receptors or soluble proteins, having strict sugar selectivity like selectins or broad specificity like pulmonary surfactant proteins, and so on. C-Type lectins are no doubt "bricolage products".

A simple question then arises: Did the primitive (ancestral) CRD motif really have sugar-binding ability? In consideration of the facts that most of the reported CRD-containing proteins actually function as a lectin, the answer might be "yes". Since most of the invertebrate lectins so far characterized are galactose-specific and all of the soluble C-type lectins of vertebrates which have rather simple structures are

(Trp68)が糖結合のうえで中心的役割をはたしていると考えられていた(115、172)。しかし、ヒトの14 kDaレクチンでは、このトリプトファンはあまり重要ではないことが判明している。Trp68をチロシンに置換しても、わずかな結合活性の減少をみるにとどまった(136)。実際の例として、カエル(*Rana*)卵由来14 kDaレクチンでは、Trp68に相当する位置がチロシンになっていた(114)。

言うまでもなく、S-型レクチンの三次構造が解明されなければ、このレクチンの構造-機能相関の問題も解決されない。

E. 総合討論

E-1. 「ブリコラージュの産物」としてのC-型レクチン

以上みてきたように、C-型レクチン家系を構成するタンパク質は概して特殊化した機能をもつようだ。このことは、C-型レクチンの分布と関係づけられそうである。すなわち、C-型レクチンは、全体としては動物界にひろく存在しているが、各分子についてみると比較的せまい生物分布を示す。たとえば、無脊椎動物界で、肝レクチン(アシアロ糖タンパク受容体)や各種リンパ球特異的抗原などとまったく同じ機能をしている分子を見つけるのは無理だろう。特殊化したC-型レクチンの典型として、抗凍結タンパク質(極海域に棲息する魚類にのみ存在、文献171)や、蛇毒の赤血球凝集素(もっぱらマムシ科に存在し、コブラ科にはない、文献69)が挙げられる。さらに、個々のC-型レクチンは種特異的であるばかりでなく、組織特異的でもあるようだ。このことは、たとえば「マクロファージ受容体」、「リンパ球特異的抗原」といった名称からも察することができよう。

C-型レクチンに対する筆者の考えを以下に述べる。未開社会では、本来の用途とは必ずしも関係のない手近な部品をもちいて、いろいろな道具を組み立てるといふ。文化人類学者、C. レヴィ=ストロースはこのことを近代工業と対比して、ブリコラージュ(鋳掛け屋仕事)と呼んだ。F. ヤコブによると、生物の営みとはあまねくこの鋳掛け屋仕事にほかならない(174)。すべての動物は、それぞれの環境に応じて、CRDというこのうえもなく便利な部品を最大限に活用しながら、さまざまな機能分子を創造してきたのではないだろうか。それらは受容体であったり、可溶性因子であったり、あるいはセレクトインのように厳密な特異性をもつものから、肺サーファクタンタンパク質のように比較的広い特異性をもつものまで様々であったろう。C-型レクチンは、まさに「ブリコラージュの産物」といえる。

ここで、素朴な疑問が生じる。原始CRDにはたして糖結合能があったのだろうか。今までに報告された多くのCRD含有タンパク質が、実際、レクチン機能をもっていることを考えると、この可能性は高いだろう。また、これまでに単離されているほとんどの無脊椎動物レクチンや、比較的簡単な構造をした

also galactose-specific, the primitive CRD seems to have been galactose-specific.

As animal species diverged (speciated), individual molecular species may have well attained specialization. Some lectins may have maintained their sugar-binding ability during their metamorphosis to more sophisticated molecules such as receptors or collagenous proteins. On the other hand, some may have almost lost the sugar-binding ability while they acquired other functions. All these natural processes would have resulted in today's molecular diversity.

E-2. Are S-Type Lectins "Bricolage Products"?

Animal metal-independent β -galactoside-binding lectins have been regarded as "onco-developmental" proteins, based on their prominent occurrence in embryonic and tumorigenic tissues and cells (4-7, 175). No universal explanations for their *raison d'être* have been given, though various hypotheses have been presented based on a variety of observations; i.e., cross-linking of glycoconjugates through carbohydrate recognition (176, 177), some function as an activated macrophage antigen (117, 126), prophylactic and therapeutic effect on some autoimmune diseases (178, 179), stimulant for macrophage to produce tumor-killing factor (180), involvement in metastasis of tumor cells (175), function as a negative cytostatic factor (105), function as a novel transformation growth factor (181), association with glucocorticoid-induced leukemia apoptosis (182), inhibition of fucosyltransferase action (183), etc. Though they are distributed ubiquitously, they still remain as "unsung heroes".

However, two recent findings revolutionized our concept of S-type lectins; the occurrence of invertebrate lectins, i.e., in nematode *Caenorhabditis elegans* (92, 129) and sponge *Geodia cydonium* (116b). Therefore, S-type lectins should have originated from a very early stage in the evolution of animals, probably in the Precambrian era (more than 600 million years ago). This suggests that they have much more fundamental role(s) than had ever been thought. At the same time, it follows that their partner molecules, possibly lactosaminoglycans, should have concurrently occurred in these primitive multicellular animals. To prove this, we have to accumulate more information on both lectins and glycoconjugates of invertebrate species.

In contrast to C-type lectins, S-type lectins do not seem to be bricolage products. For this discussion, however, we have to consider the possibility that we have only biased data because affinity adsorbents favorable for β -galactoside-binding lectins such as asialofetuin-agarose have been used for detection and isolation in most cases. Nevertheless, there are a number of proteins which were initially regarded as "non-lectin" proteins but later turned out to be identical to one of the known β -galactoside-binding lectins; e.g., IgE-binding protein (121), Mac-2 antigen (126), laminin-binding protein

脊椎動物のレクチンが、ガラクトース特異的であることを考えると、原始CRDはガラクトース特異的だったのかもしれない。

様々な動物種が分化をとげ特殊化していくとき、各分子種もまた特殊化していくのだろう。あるレクチンは糖結合能を保ちつつ、受容体やコラーゲン様タンパク質といった洗練された機能分子へと変容していったらうし、あるものは進化の過程で糖結合能を失ってしまい、代わりに新しい機能を獲得することもあったらう。このような自然のなす創造と模索の結果として、今日われわれがみるような分子の多様性(ブリコラージュ)があるはずである。

E-2. S-型レクチンは「ブリコラージュの産物」か？

金属非要求性の β -ガラクトシド結合性レクチンは、胚組織や腫瘍組織における含量がとくに高いことから、「癌発生」関連タンパク質とみなされてきた(4-7, 175)。しかし、このレクチンの役割については今だに定説がない。いろいろな観察結果から推測されていることは、糖認識を介した複合糖鎖の架橋(176, 177)、活性化マクロファージ抗原としての機能(117, 126)、ある種の免疫疾患に対する予防、および治療効果(178, 179)、マクロファージの腫瘍殺傷因子産生(180)、腫瘍細胞転移反応への関与(175)、負の成長因子としての機能(105)、新種の腫瘍成長因子としての機能(181)、グルココルチコイドで誘導されるアポトーシスとの関連(182)、フコース転移酵素活性の阻害(183)などである。S-型レクチンが偏在性の高いタンパク質であることはまちがいないが、その役割は理解されずに、依然として「*unsung hero*」の地位に甘んじている。

ところが最近、S-型レクチンに対する従来の概念を打ち破るような二つの発見があった。原始的な無脊椎動物である線虫、*Caenorhabditis elegans*(92, 129)と海綿、*Geodia cydonium*(116b)から脊椎動物と相同なS-型レクチンが発見された。これらの発見は、S-型レクチンが動物進化のかかなり早い時期(おそらく先カンブリア期(今から約6億年以上前)に誕生したことを意味する。これらの事実が示すことは、S-型レクチンの役割が依然から考えられていたより、はるかに基本的だあるということである。同時に、本レクチンの伴侶となる分子(おそらくラクトサミングリカン)も、やはりこれら原始的多細胞動物に存在し、機能しているかもしれない。しかし、この仮説の証明には、無脊椎動物のレクチンや複合糖鎖についての情報をもっと集めなければならない。

C-型レクチンと比較すると、S-型レクチンにはあまりブリコラージュの産物としての特色(多様性)が見られないが、この判断には注意が必要である。というのは、われわれが今まで、 β -ガラクトシドに特異的なレクチンばかりを選びとってきた可能性があるからだ。たとえば、レクチンの検出や単離には、もっぱらアシアロフェツイン-アガロースのような有用性の高い吸着体が使われてきた。しかし、実際には、当初は非レクチンタンパクとして研究されていたものが、のちに既知の β -ガラクトシド結合性レクチンであることが判明した例がたいへん多い。IgE結合性タンパク質(121)、Mac-2抗原(126)、ラミニン結

(127, 162), negative growth factor (105), transformation growth factor (181), and glucocorticoid-induced apoptosis-associated protein (182). All of them were found to be β -galactoside-specific. Therefore, all S-type lectins so far studied are β -galactoside-binding lectins, and there is no diversity in sugar-binding specificity.

On the other hand, from the viewpoint of molecular diversity, S-type lectins seem to be also bricolage products. In man, for example, four members of this protein family are already known; *i.e.*, two proto types (a well-characterized placenta-type lectin and a hepatoma-type lectin predicted by cDNA cloning), one chimera type, and eosinophil Charcot-Leyden crystal (CLC) protein (lysophospholipase) [CLC protein is a novel member of the S-type lectin family reported very recently, though its sugar-binding activity has not been confirmed (184)]. The number should be larger because the occurrence of a tandem-repeat type in man (a homologue to the rat 36-kDa lectin; 130) is very likely. Therefore, at least five β -galactoside-binding lectins are present in man.

To summarize, S-type lectins appear to have conserved the structural feature of cytoplasmic proteins and the functional one of β -galactoside binding. From these viewpoints, S-type lectins are "antithesis" to C-type lectins.

F. Concluding Remarks

Jacob's remark that all proteins are "bricolage products" is readily acceptable in the case of C-type lectins, while it seems harder to apply to S-type lectins, which are less diverse especially as regards carbohydrate specificity. I wish to emphasize that such a conservative feature in spite of molecular diversity should represent the biological importance of the recognition of β -galactoside-containing structures through the whole history of multicellular animals.

C-Type and S-type lectins are really distinct carbohydrate-binding proteins, so to speak, in both their origins and nature. This makes a clear contrast (or symmetry) between the two families. In particular, difference in their cytochemical localization reminds us of "habitat segregation". K. Imanishi, a field biologist, stated that evolution is an increase in the density of the habitat segregation of the species (185). This concept proposed originally for ecosystems seems to be applicable in some degree to "molecular species societies".

In spite of extensive studies on animal lectins, we are still far from a complete understanding of their essentials. For example, antifreeze activity which had never been anticipated was recently demonstrated for the C-type rattlesnake venom lectin (186), hepatic lectin was recently found to be also present in intestine (187), and CLC protein which has lysophospholipase activity associated with eosinophil inflammation proved to be a new member of the S-type lectin family (184). Such surprises, however, may be attributed to

合性タンパク質(127, 162)、負の成長因子(105)、腫瘍成長因子(181)、グルココルチコイド誘導性アポトーシス関連タンパク(182)などがこれに相当する。また、今まで見つかったS-型レクチンの仲間には例外なく β -ガラクトシド特異的であって、他の特異性をもつものは見つっていない。

一方、分子の多様性に着目すると、S-型レクチンもプリコラーージュの産物としての様相を呈してくる。たとえば、ヒトではすでに四種のS-型レクチンが知られている。すなわち、二種のプロト型レクチン(よく調べられている胎盤型のレクチンとcDNAクローニングからその存在が示されている肝癌型のレクチン)、一種のキメラ型レクチン、そして好酸球のCharcot-Leyden結晶(CLC)タンパク(リゾホスホリパーゼ)である[CLCタンパクはごく最近報告されたS-型レクチン家系の新しい構成員。糖結合活性についてはまだ確認されていない(184)]。しかも、これは過小評価した数であって、ラットの36 kDaレクチンに相当する直列反復型のレクチン(130)がヒトにも存在する可能性は高い。したがって、五種類以上の β -ガラクトシド結合性レクチンの仲間がヒトに存在することになる。

要約すると、S-型レクチンは細胞質タンパクとしての構造上の特徴と、 β -ガラクトシド結合性という機能上の特徴を合わせもち、これらをつよく保っている。比較分析的な立場から考察すれば、S-型レクチンはC-型レクチンの「アンチテーゼ」として成り立とう。

F. おわりに

「すべてのタンパク分子はプリコラーージュの産物である」というF. ヤコブが示した見解は、C-型レクチンでは即座に受け入れられるが、S-型レクチンにはそのまま適用しにくい。S-型レクチンは、分子レベルでは一応の多様性を示すものの、糖特異性に関しては多様性を欠いているからだ。このようにS-型レクチンの糖特異性が保たれているのは、 β -ガラクトシド糖鎖を認識するという現象が、多細胞動物の生物史上、きわめて重要であったことを物語る。筆者の主張はまさにここにある。

C-型レクチンとS-型レクチンはいわば、生まれも育ちもまったく異なるタンパク質である。両者の性質はことごとく対照的であり("対称的"とさえ言える)、なかでも、両レクチンの局在性の違いは、われわれに「棲みわけ」さえ思い起させる。野外生物学者であった今西錦司は、「進化とは(生物)種における棲みわけの密度化にほかならない」という金言を残しているが(185)、生態学で生まれた棲みわけの概念が、「分子種社会」にどのように適用できるのか、今後、考察してみる価値がありそうである。

さて、動物レクチンに対するこれまでの広範な研究にもかかわらず、このタンパク質に対するわれわれの知識は、いまだその本質的理解には達していないようである。というのは、われわれを驚かす予期せぬ知見がつぎつぎと得られているからだ。たとえば、ガラガラ蛇毒のC-型レクチンに、最近、抗凍結活性が見いだされた(186)。また、いわゆる"肝"レクチンは"腸"でも見ついている(187)。好酸球の炎症関連リゾフォスホリパーゼ(CLCタンパク)がS-型レクチンの仲間であったのは驚きである(184)。しかし、このような意外な事実の成因も、単に

our prejudice or ignorance, that is, we cannot see the wood for the trees.

When the answer to the significance of cytoplasmic properties of S-type lectins is given, we will understand a new principle of the life. Why are S-type lectins always specific for β -galactosides? Or alternatively, why were β -galactosides chosen as their ligands? Unfortunately, our current knowledge is too limited to answer these basic questions. It seems to be the time to reconsider the present state in which too much emphasis is put on higher animals, and instead, to pay more attention to simpler and more primitive animals such as nematode, an excellent model animal (188). Lastly, I wish to emphasize the finding of the nematode lectin as "the dawn of glycobiology in nematode".

Acknowledgement

I wish to thank Prof. Ken-ichi Kasai for his critical reading of the manuscript. This work was supported in part by grant-in-aid for scientific research from the Ministry of Education, Science and Culture of Japan, and by The Naito Foundation.

References

1. Sharon, N., and Lis, H. (1989) Lectins, Chapman and Hall Ltd., London
2. Drickamer, K. (1988) *J. Biol. Chem.* **263**, 9557-9560
3. Drickamer, K. (1989) *Ciba Found. Symp.* **145**, 45-58
4. Barondes, S.H. (1984) *Science* **223**, 1259-1264
5. Kasai, K. (1990) in *Advances in Lectin Research* (Franz, H., ed.) Vol. 3, pp. 10-35, VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin
6. Caron, M., Bladier, D., and Joubert, R. (1990) *Int. J. Biochem.* **22**, 1379-1385
7. Harrison, L. (1991) in *Lectin Reviews* Vol. 1, pp. 17-39, Sigma, St. Louis, MO.
8. Rosen, S.D., Imai, Y., Singer, M.S., and Huang, K. (1992) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **4**, 1-13
9. Goelz, S.E. (1992) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **4**, 14-24
10. Larsen, E. (1992) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **4**, 25-31
11. High, S., and Dobberstein, B. (1992) *Curr. Opin. Cell Biol.* **4**, 581-586
12. Pontow, S.E., Kery, V., and Stahl, P.D. (1992) in *International Review of Cytology: A Survey of Cell Biology* (Friedlander M., and Mueckler, M. eds.) Vol. 137B (Molecular Biology of Receptors and Transporters), pp. 221-244, Academic Press, San Diego
13. Lasky, L.A., Singer, M.S., Yednock, T.A., Dowbenko, D., Fennie, C., Rodriguez, H., Nguyen, T., Stachel, S., and Rosen, S.D. (1989) *Cell* **56**, 1045-1055
14. Siegelman, M.H., Van De Rijn, M., and Weissman, I.L. (1989) *Science* **243**, 1165-1172
15. Ord, D.C., Ernst, T.J., Zhou, L.-J., Rambaldi, A., Spertini, O., Griffin, J., and Tedder, T.F. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 7760-7767
16. Bevilacqua, M.P., Stengelin, S., Gimble, M.A., Jr., and Seed, B. (1989) *Science* **243**, 1160-1164
17. Collins, T., Williams, A., Johnston, G.I., Kim, J., Eddy, R., Shows, T., Gimbrone, M.A., Jr., and Bevilacqua, M.P. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 2466-2473
18. Johnston, G.I., Cook, R.G., and McEver, R.P. (1989) *Cell* **56**, 1033-1044
19. Johnston, G.I., Bliss, G.A., Newman, P.J., and McEver, R.P. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 21381-21385
20. Lennartz, M.R., Cole, F.S., Shepherd, V.L., Wileman, T.E., and Stahl, P.D. (1987) *J. Biol. Chem.* **262**, 9942-9944
21. Taylor, M.E., Conary, J.T., Lennartz, M.R., Stahl, P.D., and Drickamer, K. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 12156-12162
22. Ezekowitz, R.A., Sastry, K., Bailly, P., and Warner, A. (1990) *J. Exp. Med.* **172**, 1785-1794
23. Taylor, M.E., Bezouska, K., and Drickamer, K. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 1719-1726
24. Jackman, R.W., Beeler, D.L., Fritze, L., Soff, G., and Rosenberg, R.D. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 6425-6429
25. Suzuki, K., Kusumoto, H., Deyashiki, Y., Nishioka, J., Maruyama, I., Zushi, M., Kawahara, S., Honda, G., Yamamoto, S., and Horiguchi, S. (1987) *EMBO J.* **6**, 1891-1897
26. Wen, D., Dittman, W.A., Ye, R.D., Deaven, L.L., Majerus, P.W., and Sadler, J.E. (1987) *Biochemistry* **26**, 4350-4357
27. Kurosawa, S., Stearn, O., Jackson, K.W., and Esmon, C.T. (1988) *J. Biol. Chem.* **263**, 5993-5996
28. Suzuki, K., Hayashi, T., Nishioka, J., Kosaka, Y., Zushi, M., Honda, G., and Yamamoto, S. (1989) *J. Biol. Chem.* **264**, 4872-4876
29. Hayashi, T., Zushi, M., Yamamoto, S., and Suzuki, K. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 20156-20159
30. Drickamer, K., Mamon, J.F., Binns, G., and Leung, J.O. (1984) *J. Biol. Chem.* **259**, 770-778
31. Spiess, M., Schwartz, A.L., and Lodish, H.F. (1985) *J. Biol. Chem.* **260**, 1979-1982
32. Leung, J.O., Holland, E.C., and Drickamer, K. (1985) *J. Biol. Chem.* **260**, 12523-12527

われわれの偏見や無知を表しているのに過ぎないのかもしれない。木を見て森を見ずということか。

「なぜS-型レクチンが細胞質タンパクなのか」に対する答えが用意できたとき、われわれは生命についての新しい原理を見いだすことになるかもしれない。繰り返しになるが、なぜS-型レクチンはいつも β -ガラクトシドに特異的なのだろうか。あるいは、なぜ他の糖鎖でなく β -ガラクトシドが選ばれたのか……。残念ながら、この基本的な問いにさえ、われわれは満足な答えがだせない。その一因として、高等動物に偏りがちな現在の糖鎖生物学、さらには生命科学の潮流が挙げられないだろうか。いまこそ、線虫のような優れたモデル動物(188)に目をむけるべきときであろう。最後に、この原始的な小動物に相同なレクチンが発見されたことを、「線虫における糖鎖生物学の夜明け」として銘記したい。

33. Geffen, I., and Spiess, M. (1992) in *International Review of Cytology: A Survey of Cell Biology* (Friedlander M., and Mueckler, M. eds.) Vol. 137B (Molecular Biology of Receptors and Transporters), pp. 181-219, Academic Press, San Diego
34. Drickamer, K. (1981) *J. Biol. Chem.* **256**, 5827-5839
35. Bezouska, K., Crichtow, G.V., Rose, J.M., Taylor, M.E., and Drickamer, K. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 11604-11609
36. Hoyle, G.W., and Hill, R.L. (1988) *J. Biol. Chem.* **263**, 7487-7492
37. Hoyle, G.W., and Hill, R.L. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 1850-1857
38. Ii, M., Kurata, H., Itoh, N., Yamashina, I., and Kawasaki, T. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 11295-11298
39. Sato, M., Kawakami, K., Osawa, T., and Toyoshima, S. (1992) *J. Biochem. (Tokyo)* **111**, 331-336
40. Kikutani, H., Inui, S., Sato, R., Barsumian, E.L., Owaki, H., Yamasaki, K., Kaisho, T., Uchibayashi, N., Hardy, R.R., Hirano, T., Tsunasawa, S., Sakiyama, F., Suemura, M., and Kishimoto, T. (1986) *Cell* **47**, 657-665
41. Ikuta, K., Takami, M., Kim, C.W., Honjo, T., Miyoshi, T., Tagaya, Y., Kawabe, T., and Yodoi, J. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 819-823
42. Suter, U., Bastos, R., and Hofstetter, H. (1987) *Nucleic Acids Res.* **15**, 7295-7308
43. Bettler, B., Hofstetter, H., Rao, M., Yokoyama, W.M., Kilchherr, F., and Conrad, D.H. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**, 7566-7570
44. Vercelli, D., Helm, B., Marsh, P., Padlan, E., Geha, R.S., and Gould, H. (1989) *Nature* **338**, 649-651
45. Yokoyama, W.M., Jacob, L.B., Kanagawa, O., Shevach, E.M., and Cohen, D.I. (1989) *J. Immunol.* **143**, 1379-1386
46. Nakayama, E., Von Hogen, I., and Parnes, J.R. (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**, 1352-135647. Houchins, J.P., Yabe, T., McSherry, C., and Bach, F.H. (1991) *J. Exp. Med.* **173**, 1017-1020
48. Yokoyama, W.M., Ryan, J.C., Hunter, J.J., Smith, H.R.C., Stark, M., and Seaman, W.E. (1991) *J. Immunol.* **147**, 3229-3236
49. Cutris, B.M., Scharnowske, S., and Watson, A.J. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, 8356-8360
50. Drickamer, K., Dordal, M.S., and Reynolds, L. (1986) *J. Biol. Chem.* **261**, 6878-6887
51. Drickamer, K., and McCreary, V. (1987) *J. Biol. Chem.* **262**, 2582-2589
52. Lee, Y.-M., Leiby, K.R., Allar, J., Paris, K., Lerch, B., and Okarma, T.B. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 2715-2723
53. Linacott, W.D., Ranken, R., and Triglia, R.P. (1978) *J. Immunol.* **121**, 658-664
54. Ikeda, K., Sannoh, T., Kawasaki, N., Kawasaki, T., and Yamashina, I. (1987) *J. Biol. Chem.* **262**, 7451-7454
55. Schweinle, J.E., Nishiyasu, M., Ding, T.Q., Sastry, K., Gillies, S.D., and Ezekowitz, A.B. (1993) *J. Biol. Chem.* **268**, 364-370
56. Benson, B., Hawgood, S., Schilling, J., Clements, J., Damm, D., Cordell, B., and White, R.T. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 6379-6383
57. White, R.T., Damm, D., Miller, J., Spratt, K., Schilling, J., Hawgood, S., Benson, B., and Cordell, B. (1985) *Nature* **317**, 361-363
58. Floros, J., Steinbrink, R., Jacobs, K., Phelps, D., Kriz, R., Recny, M., Sultzman, L., Jones, S., Taeusch, H.W., Frank, H.A., and Fritsh, E.F. (1986) *J. Biol. Chem.* **261**, 9029-9033
59. Haagsman, H.P., Haywood, S., Sargeant, T., Buckley, D., White, R.T., Drickamer, K., and Benson, B.J. (1987) *J. Biol. Chem.* **262**, 13877-13880
60. Childs, R.A., Wright, J.R., Ross, G.F., Yuen, C.-T., Lawson, A.M., Chai, W., Drickamer, K., and Feizi, T. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 9972-9979
61. Shimizu, H., Fisher, J.H., Papst, P., Benson, B., Lau, K., Mason, R.J., and Voelker, D.R. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 1853-1857
62. Lu, J., Willis, A.C., and Reid, K.B.M. (1992) *Biochem. J.* **284**, 795-802
63. Crouch, E., Rust, K., Veile, R., Donis-Keller, H., and Grosso, L. (1993) *J. Biol. Chem.* **268**, 2976-2983
64. Doege, K., Fernandez, P., Hassell, J.R., Sasaki, M., and Yamada, Y. (1986) *J. Biol. Chem.* **261**, 8108-8111
65. Sai, S., Tanaka, T., Kosher, R.A., and Tanzer, M.L. (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**, 5081-5085
66. Krusius, T., Gehlsen, K.R., and Rouslahti, E. (1987) *J. Biol. Chem.* **262**, 13102-13125
67. Halberg, D.F., Proulx, G., Doege, K., Yamada, Y., and Drickamer, K. (1988) *J. Biol. Chem.* **263**, 9486-9490
68. Ohsaka, A. (1979) in *Snake Venoms* (Lee, C.-Y. ed.) pp. 480-546, Springer-Verlag, Berlin
69. Ogilvie, M.L., and Gartner, T.K. (1984) *J. Herpetol.* **18**, 285-290
70. Gartner, T.K., and Ogilvie, M.L. (1984) *Biochem. J.* **224**, 301-307
71. Hirabayashi, J., Kusunoki, T., and Kasai, K. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 2320-2326
72. Usami, Y., Fujimura, Y., Suzuki, M., Ozeki, Y., Nishio, K., Fukuki, H., and Titani, K. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 928-932
73. Ogilvie, M., Wilson, J., and Gartner, T.K. (1989) *Thromb. Haemost.* **62**, 704-707
74. Atoda, H., Hyuga, M., and Morita, T. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 14903-14911
75. Takeya, H., Nishida, S., Miyata, T., Kawada, S., Saisaka, Y., Morita, T., and Iwanaga, S. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 14109-14117
76. Inoue, S., Kogaki, H., Ikeda, K., Samejima, Y., and Omori-Satoh, T. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 1001-1007
77. Suzuki, T., Takagi, T., Furukohri, T., Kawamura, K., and Nakauchi, M. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 1274-1281
78. Giga, Y., Ikai, A., and Takahashi, K. (1987) *J. Biol. Chem.* **262**, 6197-6203
79. Takahashi, H., Komano, H., Kawaguchi, N., Kitamura, N., Nakanishi, S., and Natori, S. (1985) *J. Biol. Chem.* **260**, 12228-12233
80. Kubo, T., and Natori, S. (1987) *Eur. J. Biochem.* **168**, 75-82
81. Jomori, T., and Natori, S. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 13318-13323
82. Muramoto, K., and Kamiya, H. (1986) *Biochim. Biophys. Acta* **874**, 285-295
83. Muramoto, K., and Kamiya, H. (1990) *Biochim. Biophys. Acta* **1039**, 42-51
84. Kawaguchi, N., Komano, H., and Natori, S. (1991) *Dev. Biol.* **144**, 86-93
85. De Caro, A.M., Bonicel, J.J., Rouimi, P., De Caro, J.C., Sarles, H., and Rovey, M. (1987) *Eur. J. Biochem.* **168**, 201-207
86. Rouquier, S., Verdier, J.-M., Iovanna, J., Dagorn, J.-C., and Giorgi, D. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 786-791
87. Terazono, K., Yamamoto, H., Takasawa, S., Shiga, K., Yonemura, Y., Tochino, Y., and Okamoto, H. (1988) *J. Biol. Chem.* **263**, 2111-2114
88. Watanabe, T., Yonekura, H., Terazono, K., Yamamoto, H., and Okamoto, H. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 7432-7439
89. Fuhlendorff, J., Clemmensen, I., and Magnusson, S. (1987) *Biochemistry* **26**, 6757-6764
90. Ewart, K.V., Rubinsky, B., and Fletcher, G.L. (1992) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **185**, 335-340
91. Ng, N.F., Trinh, K.Y., and Hew, C.L. (1986) *J. Biol. Chem.* **261**, 15690-15695

92. Hirabayashi, J., Satoh, M., and Kasai, K. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 15485-15490
93. Gitt, M.A. and Barondes, S.H. (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**, 7603-7607
94. Hirabayashi, J., and Kasai, K. (1988) *J. Biochem. (Tokyo)* **104**, 1-4
95. Couroud, P.-O., Casentini-Borocz, D., Bringman, T.S., Griffith, J., McGrogan, M., and Nedwin, G.E. (1989) *J. Biol. Chem.* **264**, 1310-1316
96. Abbott, W.M., and Feizi, T. (1989) *Biochem. J.* **259**, 291-294
97. Hirabayashi, J., Ayaki, H., Soma, G., and Kasai, K. (1989) *Biochim. Biophys. Acta* **1008**, 85-91
98. Gitt, M.A., and Barondes, S.H. (1991) *Biochemistry* **30**, 82-89
99. Gitt, M.A., Massa, S.M., Leffler, H., and Barondes, S.H. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 10601-10606
100. Ohsawa, F., Hirano, F., and Natori, S. (1990) *J. Biochem. (Tokyo)* **107**, 431-434
101. Clerch, L.B., Whitney, P., Hass, M., Brew, K., Miller, T., Werner, R., and Massaro, D. (1988) *Biochemistry* **27**, 692-699
102. Raz, A., Carmi, P., and Pazerini, G. (1988) *Cancer Res.* **48**, 645-649
103. Wilson, T.J.G., Firth, M.N., Powell, J.T., and Harrison, F.L. (1989) *Biochem. J.* **261**, 847-852
104. Cooper, D.N.W., and Baronds, S.H. (1990) *J. Cell Biol.* **110**, 1681-1691
105. Wells, V., and Mallucci, L. (1991) *Cell* **64**, 91-97
106. Chiariotti, L., Wells, V., Bruni, C.B., and Mallucci, L. (1991) *Biochim. Biophys. Acta* **1089**, 54-60
107. Abbott, W.M., Mellor, A., Edwards, Y., and Feizi, T. (1989) *Biochem. J.* **259**, 283-290
108. Merkle, R.K., Zhou, Q., Schultz, T.D., Harper, W.B., and Cummings, R.D. (1989) *Arch. Biochem. Biophys.* **274**, 404-416
109. Ohshima Y., Hirabayashi J., Oda, Y., Oono, S., Kawasaki, H., Suzuki, K., and Kasai, K. (1986) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **134**, 51-56
110. Hirabayashi, J., Kawasaki, H., Suzuki, K., and Kasai, K. (1987) *J. Biochem. (Tokyo)* **101**, 775-787
111. Ohshima, Y., and Kasai, K. (1988) *J. Biochem. (Tokyo)* **104**, 173-177
112. Sakakura, Y., Hirabayashi, J., Oda, Y., Ohshima, Y., and Kasai, K. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 21573-21579
113. Marschal, P., Herrmann, J., Leffler, H., Barondes, S.H., and Cooper, D.N.W. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 12942-12949
114. Ozeki, Y., Matsui, T., Nitta, K., Kawauchi, H., Takayanagi, Y., and Titani, K. (1991) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **178**, 407-413
115. Paroutaud, P., Levi, G., Teichberg, V.I., and Strosberg, A.D. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 6345-6348
- 116a. Muramoto, K., and Kamiya, H. (1992) *Biochim. Biophys. Acta* **1116**, 129-136
- 116b. Pfeifer, K., Haasemann, M., Gamulin, V., Bretting, H., Fahrenholz, F., and Muller, W.E.G. (1993) *Glycobiology* **3**, 179-184
117. Cherayil, B.J., Chaitovitz, S., Wong, C., and Pillai, S. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**, 7324-7328
118. Robertson, M.W., Albrandt, K., and Liu, F.-T. (1990) *Biochemistry* **29**, 8093-8100
119. Raz, A., Carmi, P., Raz, T., Hogan, V., Mohamed, A., and Wolman, S.R. (1991) *Cancer Res.* **51**, 2173-2178
120. Oda, Y., Leffler, H., Sakakura, Y., Kasai, K., and Barondes, S.H. (1991) *Gene (Amsterdam)* **99**, 279-283
121. Albrandt, K., Orida, N.K., and Liu, F.-T. (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 6859-6863
122. Leffler, H., Masiaz, F.R., and Barondes, S.H. (1989) *Biochemistry* **28**, 9222-9229
123. Gritzmacher, C.A., Mehl, V.S., and Liu, F.-T. (1992) *Biochemistry* **31**, 9533-9538
124. Jia, S., and Wang, J.L. (1988) *J. Biol. Chem.* **263**, 6009-6011
125. Raz, A., Pazerini, G., and Carmi, P. (1989) *Cancer Res.* **49**, 3489-3493
126. Cherayil, B.J., Weiner, S.J., and Pillai, S. (1989) *J. Exp. Med.* **170**, 1959-1972
127. Woo, H.-J., Shaw, L.M., Messier, J.M., and Mercurio, A.M. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 7097-7099
128. Anderson, R.L., and Wang, J.L. (1992) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **4**, 43-52
129. Hirabayashi, J., Satoh, M., Ohshima, Y., and Kasai, K. (1992) *J. Biochem. (Tokyo)* **111**, 553-555
130. Oda, Y., Herrmann, J., Gitt, M., Turk, C.W., Burlingame, A.L., Barondes S.H., and Leffler, H. (1993) *J. Biol. Chem.* **268**, 5929-5939
131. Beyer, E.C., and Barondes, S.H. (1982) *J. Cell Biol.* **92**, 23-27
132. Hirabayashi J., and Kasai, K. (1984) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **122**, 938-944,
133. Akimoto, Y., Obinata, A., Hirabayashi, J., Sakakura, Y., Endo, H., Kasai, K., and Hirano, H. (1993) *Exp. Cell Res.* **205**, 251-260
134. Poore, S., Fortel, R.A., and Lamar, E. (1981) *J. Mol. Biol.* **153**, 273-289
135. Whitney, P.L., Powell, J.T., and Sanford, G.L. (1986) *Biochem. J.* **238**, 683-689
136. Hirabayashi, J., and Kasai, K. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 23648-23653
137. Tracey, B.M., Feizi, T., Abbott, W.M., Carruthers, R.A., Green, B.N., and Lawson, A.M. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 10342-10347
138. Frigeri, L.G., Robertson, M.W., and Liu, F.-T. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 20763-20769
139. Cooper, D.N.W., and Barondes, S.H. (1990) *J. Cell Biol.* **110**, 1681-1691
140. Harrison, F.L., and Wilson, T.J.G. (1992) *J. Cell Sci.* **101**, 635-646
141. Butterfield, H.H., Ackerman, S.J., Scott, R.E., Poerre, R.V., and Greich, G.J. (1984) *Exp. Hematol.* **12**, 163-169
142. Weis, W.I., Kahn, R., Fourme, R., Drickmer, K., and Hendrickson, W.A. (1991) *Science* **254**, 1608-1615
143. Weis, W.I., Drickamer, K., and Hendrickson, W.A. (1992) *Nature* **360**, 127-135
144. Lodish, H.F., Kong, N., and Wikstrom, L. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 12753-12760
145. Lee, R.T., Rice, K.G., Rao, B.N.N., Ichikawa, Y., Barthel, T., Piskarev, V., and Lee, Y.C. (1989) *Biochemistry* **28**, 8351-8358
146. Lee, R.T., Lin, P., and Lee, Y.C. (1984) *Biochemistry* **23**, 4255-4261
147. Lee, R.T., Ichikawa, Y., Fay, M., Drickamer, K., Shao, M.-C., and Lee, Y.C. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 4810-4815
148. Berg, E.L., Robinson, M.K., Mansson, O., Butcher, E.C., and Magnani, J.L. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 14869-14872
149. Polley, M., Phillip, M.L., Wayner, E., Nudelman, E., Singhal, A.K., Hakomori, S., and Paulson, J. (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88**, 6224-6228
150. Foxall, C., Watson, S.R., Dowbenko, D., Fennie, C., Lasky, L.A., Kiso, M., Hasegawa, A., Asa, D., and Brandley, B.K. (1992) *J. Cell Biol.* **117**, 895-902
151. Erbe, D.V., Wolitzky, B.A., Presta, L.G., Norton, C.R., Ramos, R.T., Burns, D.K., Rumberger, J.M., Rao, B.N.N., Foxall, C., Brandley, B.K., and Lasky, L.A. (1992) *J. Cell Biol.* **119**, 215-227
152. Imai, Y., Lasky, L.A., and Rosen, S.D. (1993) *Nature* **361**, 555-557

153. Leffler, H., and Barondes, S.H. (1986) *J. Biol. Chem.* **261**, 10119-10126
154. Sparrow, C.P., Leffler, H., and Barondes, S.H. (1987) *J. Biol. Chem.* **262**, 7383-7390
155. Abbott, M.W., Hounsell, E.F., and Feizi, T. (1988) *Biochem. J.* **252**, 283-287
156. Lee, R.T., Ichikawa, Y., Allen, H.J., and Lee, C.Y. (1990) *J. Biol. Chem.* **265**, 7864-7871
157. Ahmed, H., Allen, H.J., Sharma, A., and Matta, K.L. (1990) *Biochemistry* **29**, 5315-5319
158. Sato, S., and Hughes, R.C. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 6983-6990
159. Wen, D.X., Livingston, B.D., Medzihradsky, K.F., Kelm, S., Burlingame, A.L., and Paulson, J.C. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 21011-21019
160. Merkle, R.K., and Cummings, R.D. (1988) *J. Biol. Chem.* **263**, 16143-16149
161. Cooper, D.N.W., Massa, S.M., and Barondes, S.H. (1991) *J. Cell Biol.* **115**, 1437-1448
162. Castronovo, V., Luyten, F., van den Brule, F., and Sobel, M.E. (1992) *Arch. Biochem. Biophys.* **297**, 132-138
163. Solomon, J.C., Stoll, M.S., Penfold, P., Abbott, W.M., Childs, R.A., Hanfland, P., and Feizi, T. (1991) *Carbohydr. Res.* **213**, 293-307
164. Zhou, Q., and Cummings, R.D. (1993) *Arch. Biochem. Biophys.* **300**, 6-17
165. Oda, Y., and Kasai, K. (1984) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **123**, 1215-1220
166. Drickamer, K. (1992) *Nature* **360**, 183-186
167. Hirabayashi, J. (1993) *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **5**, 33-36
168. Abbott, M.W., and Feizi, T. (1991) *J. Biol. Chem.* **266**, 5552-5557
169. Quijcho, F.A. (1986) *Annu. Rev. Biochem.* **55**, 287-315
170. Hirabayashi, J., and Kasai, K. (1993) *Glycobiology* (in press)
171. Hirabayashi, J., and Kasai, K. (1992) *J. Chromatogr.* **597**, 181-187
172. Levi, G., and Teichberg, V.I. (1981) *J. Biol. Chem.* **256**, 5735-5740
173. Davies, P.L., and Hew, C.L. (1990) *FASEB J.* **4**, 2460-2468
174. Jacob, F. (1982) *The Possible and the Actual*, Pantheon Books, New York
175. Raz, A., and Lotan, R. (1987) *Cancer Metastasis Rev.* **6**, 433-452
176. Mandal, D.K., and Brewer, C.F. (1992) *Biochemistry* **31**, 8465-8472
177. Hsu, D.K., Zuberi, R.I., and Liu, F.-T. (1992) *J. Biol. Chem.* **267**, 14167-14174
178. Levi, G., Tarrab-Hazdai, R., and Teichberg, V.I. (1983) *Eur. J. Immunol.* **13**, 500-505
179. Offner, H., Gelnik, B., Bringman, T.S., Casentini-Borocs, D., Nedwin, G.E., and Vandenbark, A.A. (1990) *J. Neuroimmunol.* **28**, 177-184
180. Kajikawa, T., Nakajima, Y., Hirabayashi, J., Kasai, K., and Yamazaki, M. (1986) *Life Sci.* **39**, 1177-1181
181. Yamaoka, K., Ohno, S., Kawasaki, H., and Suzuki, K. (1991) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **179**, 272-279
182. Goldstone, S.D., and Lavin, M.F. (1991) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **178**, 746-750
183. Ruggiero-Lopez, D., Louisot, P., and Martin, A. (1992) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **185**, 617-623
184. Ackerman, S.J., Corrette, S.E., Rosenberg, H.F., Bennett, J.C., Mastrianni, D.M., Nicholson-Weller, A., Weller, P.F., Chin, D.T., and Tennen, D.G. (1993) *J. Immunol.* **150**, 456-468
185. Imanishi, K. (1984) *J. Social Biol. Struct.* **7**, 357-368
186. Rubinsky, B., Cogger, R., Ewart, K.V., and Fletcher, G.L. (1992) *Nature* **360**, 113-114
187. Hu, C., Lee, E.Y., Hewitt, J.E., Baenziger, J.U., Mu, J.-Z. DeSchryver-Kecskemeti, K., and Alpers, D.H. (1991) *Gastroenterology* **101**, 1477-1487
188. Wood, W.B. (1988) *The Nematode Caenorhabditis elegans*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York

Recived on February 1, 1993; accepted on June 1, 1993