

СПЕЦИФИЧНОСТЬ ГАЛЕКТИНОВ ЧЕЛОВЕКА В СОСТАВЕ КЛЕТОК

Обзор

© 2015 Е.М. Рапопорт, Н.В. Бовин*

Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10; факс: +7(495)330-5592,
электронная почта: professorbovin@yandex.ru

Поступила в редакцию 05.03.15
После доработки 13.04.15

Галектины – β -галактозидсвязывающие белки, объединенные в одну группу по гомологии аминокислотной последовательности углеводсвязывающего сайта. Их углеводная специфичность вне клетки ранее широко изучалась, основным выводом этих исследований является то, что для галектинов есть несколько уровней узнавания углеводных лигандов: 1) дисахарид Gal β 1-4GlcNAc (LN, лактозамин) связывается сильнее, чем β -галактопираноза; 2) некоторые заместители при O-2 и O-3 остатка галактозы, а также при O-6 GlcNAc принципиально увеличивают аффинность; 3) одинаково гликозилированные белки могут существенно отличаться по аффинности к галектинам. Информация об истинных клеточных рецепторах галектинов весьма ограничена. До недавнего времени не было возможным экспериментальное изучение специфичности галектинов, находящихся в составе *клетки*. Модель, основанная на контролируемом встраивании индивидуального галектина в гликокаликс клетки и последующем взаимодействии нагруженных клеток с набором синтетических гликопроб методом проточной цитометрии, открыла недавно такую возможность. В обзоре систематизированы данные об углеводной специфичности галектинов прото-, химерного и тандемного типов в составе клетки и проведен сравнительный анализ полученных результатов с литературными данными по специфичности галектинов в бесклеточных тестах. Основными выводами этого цикла исследований стали следующие: 1) галектины в составе клетки практически неспособны связываться с дисахаридом LN, но проявляют сродство к 3'-замещенным олиголактозаминам и олигомерам типа LN_n; 2) галектины тандемного типа способны узнавать другой дисахарид, а именно Gal β 1-3GlcNAc (Le^c); 3) у галектинов тандемного типа в составе клеток сохраняется высокая аффинность к антигенам групп крови системы АВН; 4) в целом галектины становятся значительно более избирательными при взаимодействии с гликоконъюгатами, когда находятся в среде клеточного гликокаликса. Полученные данные позволили предположить, что конкурентное взаимодействие галектинов клетки с микроокружением (эндогенными клеточными гликанами) является основным фактором, обуславливающим избирательность галектинов *in vivo*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: галектины, гликаны, клетка, углеводная специфичность, углеводсвязывающий домен.

Галектины – это семейство β -галактозидсвязывающих лектинов, гомологичных по аминокислотной последовательности углеводсвязывающего сайта белка [1, 2]. В настоящее время у млекопитающих идентифицированы пятнадцать белков этого семейства. В зависимости от структурной организации углеводсвязывающего домена (УСД) галектины разделяют на три группы: прото-, тандемный и химерный типы [3]. Галектины прототипа имеют один УСД и способны образовывать димеры (рис. 1); галектины

тандемного типа содержат два УСД (N-УСД и C-УСД), соединенных коротким пептидным линкером. Галектин-3, единственный белок-химера, имеет один C-концевой УСД, соединенный с регуляторным доменом, в составе которого присутствуют повторяющиеся коллагеноподобные участки [4].

Неослабевающий уже на протяжении более 30 лет интерес к исследованию галектинов обусловлен тем, что эти белки вовлечены в многочисленные процессы, такие как регуляция клеточного цикла, специфическая адгезия клеток друг к другу и к межклеточному матриксу, передача межклеточных сигналов и многие другие. Некоторые галектины являются медиаторами воспаления, маркерами онкотрансформации и хемоаттрактантами [5–7].

Принятые сокращения: гал – галектин, УСД – углеводсвязывающий домен, Glc – гликановый фрагмент в составе гликопробы, fluo – флуоресцеин, PAA – полиакриламид.

* Адресат для корреспонденции.



Рис. 1. Структурная организация галектинов. УСД выделены черным цветом, линкер галектинов тандемного типа – белым цветом, регуляторный домен гал-3 – серым цветом. *K* – коллагеновый, *N* – *N*-концевой участки регуляторного домена

Несмотря на огромное количество работ, информация об истинных (функциональных, а не потенциальных) клеточных лигандах (т.е. гликанах) галектинов крайне ограничена. В то же время она востребована, т.к. дает ключ к идентификации их природных рецепторов (т.е. гликопротеинов и, возможно, гликосфинголипидов).

Углеводная специфичность галектинов исследовалась многочисленными внеклеточными методами, такими как твердофазные [8–11], плазменный резонанс [12], поляризация флуоресценции [11], фронтальная аффинная хроматография [3, 13], калориметрия [14]. С развитием микрочипной технологии, когда на один чип стало возможным наносить несколько сот различных гликанов, была получена информация об углеводсвязывающей активности всех известных в настоящее время галектинов млекопитающих [15, 16].

Следует отметить, что полученные в разных системах данные по специфичности одного и того же галектина не всегда совпадают друг с другом. Так, методом изотермической калориметрии было показано, что гал-3 связывается с лактозаминем (LN) [14], однако с этим же самым дисахаридом на гликочипе взаимодействия не наблюдалось [16]. Другой пример – GM1 был идентифицирован как лиганд гал-1 на клетках нейробластомы SK-N-MC при использовании клеточного варианта иммуноферментного анализа [17], но при анализе методом фронтальной аффинной хроматографии на гликочипе связывания с гликаном, входящим в состав ганглио-

зида, не было [3, 16]. Увеличение числа фрагментов LN в олиголактозаминовой цепи приводило к усилению связывания с ними гал-1 и -8 в твердофазных системах, но не при исследовании методом фронтальной аффинной хроматографии [3, 8, 11]. Расхождения, имеющиеся в литературе, по-видимому, связаны с особенностями дизайна тест-систем, в частности с ограничениями в пространственной доступности лигандов.

Суммируя данные, полученные в бесклеточных системах, можно отметить следующие закономерности:

1) галектины связываются с олиголактозаминами, причем аффинность белка к гликанам в ряду $LN \rightarrow (LN)_2 \rightarrow (LN)_3 \rightarrow (LN)_5$ для большинства галектинов возрастает;

2) галектины связываются с сульфатированными и сиалилированными гликанами, при этом наличие отрицательно заряженной группы значительно повышает аффинность галектинов к гликанам;

3) наличие остатка фукозы при LN-коре повышает сродство галектинов к гликанам, связывание всех исследованных галектинов с $Fuc\alpha 1-2(LN)_2$ было выше, чем с соответствующим дилактозамином $(LN)_2$;

4) за исключением гал-1 галектины в той или иной степени узнают лактозаминовые гликаны, содержащие $Gal\alpha/GalNAc\alpha$.

Очевидно, что при такой способности узнавать широкий набор гликанов у галектинов должен быть достаточно большой репертуар рецепторов. Действительно, рецепторы галектинов идентифицированы практически во всех органах – это гликопротеины внеклеточного матрикса и иммунных клеток, интегрин, интегральные белки мембран лизосом LAMP-1 и -2, ганглиозиды и гликосфинголипиды (результаты систематизированы в обзорах [6, 18–21]). Следует отметить, что имеющаяся информация о клеточных рецепторах в основном основывается на данных, полученных с использованием внеклеточных моделей, когда: 1) галектины преципитируют с экстрактами мембранных белков клеток или внеклеточного матрикса, 2) гликопротеины выделяют хроматографией лизата клеток на сорбенте с иммобилизованным галектином, 3) исследуется связывание рекомбинантных галектинов с гликопротеинами твердофазными методами анализа. Так, при хроматографии лизата Т-клеток на сефарозе с иммобилизованным гал-3 с последующим электрофорезом, вестерн-блоттингом полученных белков и их детекцией соответствующими антителами в дот-блоте было показано, что на Т-лимфоцитах гал-3 связывается с гликанами на гликопротеинах CD29, CD43, CD45

и CD71 [22]. Другой пример, коиммунопреципитацией с лизатом клеток СНО (клетки китайского хомячка), трансфицированных геном, кодирующим белок подопронин, было продемонстрировано, что последний является рецептором гал-8 на эндотелиальных клетках [23]. При исследовании связывания с гал-1, иммобилизованным на пластике, белков из лизата HUVEC (эндотелиальных клеток из пупочной вены) в качестве рецептора галектина был идентифицирован нейропилин [24]. Однако известны примеры, когда *in vivo* галектины избирательны, т.е. связываются только с некоторыми лигандами. Например, гал-9 непосредственно не связывается с TIM-3 эндотелиальных клеток [25], хотя ранее был кристаллизован комплекс лектина с гликопротеином [26]. Гал-4 опосредует адгезию только тех клеток, на поверхности которых экспонированы сульфатированные гликолипиды [27]; индукция гал-1 адгезии клеток к внеклеточному матриксу связана с избирательным связыванием галектинов с олиголактозаминовыми цепями только определенных белков, а именно ламинина или фибронектина [28, 29]. Очевидно, что внеклеточные методы не воспроизводят в полной мере особенности взаимодействия галектина с клеточными гликанами. В связи с этим встает вопрос, насколько корректно бесклеточные системы отражают реальную ситуацию, т.е. когда галектины закорены в гликокаликсе? За исключением гал-3 (который предположительно существует в виде пентамера [30]) галектины двухвалентны, у них нет других функциональных доменов, кроме УСД. Если оба УСД задействованы в связывании с лигандами собственных клеток (*цис*-лигандами), то в таком состоянии белок не способен узнавать «внешние» (*транс*-)гликаны. Понятно, что вне клетки создать такую модель, которая имитировала бы влияние *цис*-гликанов, а также межклеточные взаимодействия, не представляется возможным.

Для изучения специфичности клеточных лектинов широко используются клетки, в которые трансфицируются соответствующие гены [31–34], и далее анализируется связывание таких клеток с гликопробами цитофлуориметрией или с помощью твердофазной системы (клеточного варианта иммуноферментного анализа). В результате были получены данные по углеводной специфичности сиглеков [31], макрофагального галактозоспецифического лектина MGL [33] и лектина дендритных клеток DC-SIGN [34]. В ряде случаев при исследованиях наблюдались расхождения с данными, полученными в бесклеточных системах. Например, большинство сиглеков связывалось с гликопробами (выявленными как аффинные в твердо-

фазной системе) после десилилирования клеток [31], что указывало на маскированность УСД лектинов *цис*-сиалозидами.

Галектины не имеют сигнальной последовательности и трансмембранного домена, что осложняет получение стойких трансфектных линий [35], поэтому описанный выше подход для них неприменим. В связи с этим информация о клеточных лигандах галектинов в основном базируется на результатах, полученных с помощью «зеркального» подхода, когда изучается связывание внешнего галектина с гликанами клетки, нативными или целенаправленно измененными с помощью гликозидаз или ингибиторов гликозилирования [16, 36–38].

Для изучения специфичности галектинов в составе клеточного гликокаликса в 2008 г. была предложена модель, когда галектин нагружают на клетки Raji (β -лимфоциты, которые не экспрессируют эндогенных галектинов, рис. 2, I–II), после чего исследуется связывание клеток с полиакриламидными флуоресцеин-мечеными гликоконъюгатами (гликопробами Glyc-PAА-fluo) методом проточной цитофлуориметрии (рис. 2, III) [37, 38, 41]. Glyc – это характерные гликаны (как правило, их терминальные фрагменты), которые формируют гликокаликс животных клеток: олиголактозамины, сульфатированные и сиалилированные гликаны, олигосахариды системы АВН и др. (представлены в таблице).

ГАЛЕКТИНЫ ПРОТОТИПА

Галектины прототипа -1, -2 и -7 в клеточной системе не связывались с дисахаридом LN, но проявляли сродство к олиголактозаминам со связью β 1-3 между LN-звеньями (рис. 3, верхняя панель). В целом галектины связывались с линейными (таблица, № 27, 29) олиголактозаминами в той же степени, что и с разветвленными (№ 30, 32). В отличие от опубликованных ранее данных [8, 16], увеличение числа LN-звеньев в цепи не приводило к увеличению связывания. Несмотря на то, что галектины прототипа не связываются с дисахаридом Le^c, гал-2 и -7 проявляли сродство к более сложным гликанам, составной частью которых является этот дисахарид, а именно Le^c3'Lac, Le^c3'LN и Le^c3'Le^c (таблица, № 25, 33, 34). Эти лектины связывались также с АВН-гликанами (таблица, № 19, 20, 36–39).

Основное отличие от результатов, полученных в бесклеточных системах, наблюдалось в отношении связывания отрицательно заряженных гликанов. В бесклеточных системах, как правило, наблюдалось увеличение аффинности лигандов при наличии сульфата или Neu5Ac α

положении О-3 остатка галактозы, иногда очень существенное. Так, 3'OSuLe^c и 3'OSuLN были идентифицированы как самые аффинные гликаны гал-1 и -7 [15, 16, 43], сродство к этим ди-

сахаридам выше, чем к более протяженным олиголактозаминам. 3'-Сиалилированные олиголактозаминны показали еще больший уровень связывания [9, 16].

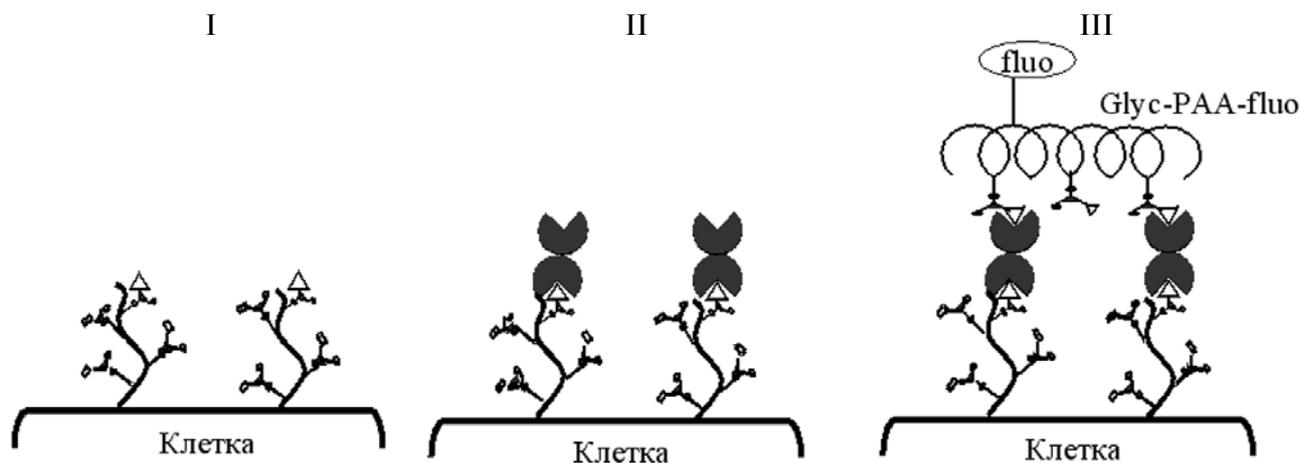


Рис. 2. Схема методологии, позволяющей изучать специфичность галектинов в составе клетки: галектины нагружают на клетки Raji и исследуют их связывание с гликопробами Glyc-PAA-fluo, где PAA – полиакриламид, Glyc – углеводный остаток, fluo – остаток флуоресцеина [39, 40]

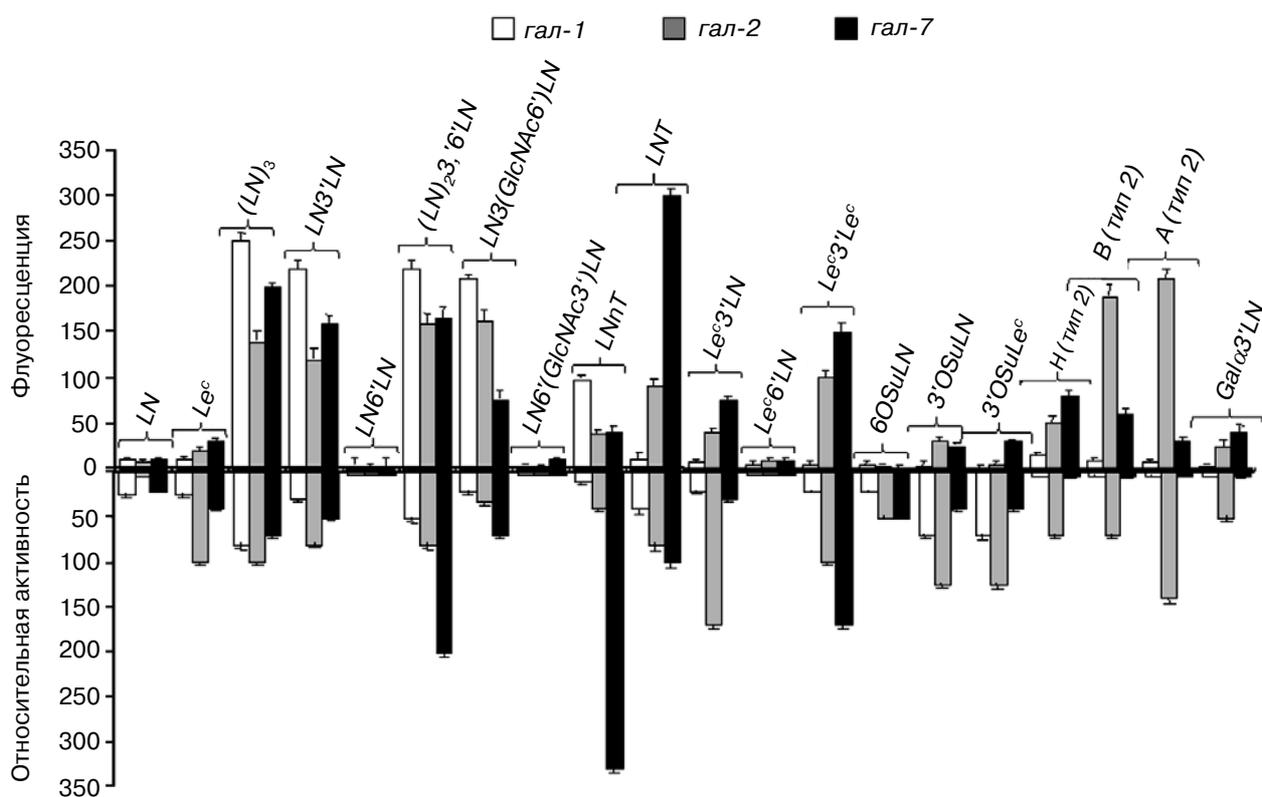


Рис. 3. Сравнение профилей специфичности галектинов прототипа в клеточной и бесклеточной тест-системах. Верхняя панель – клеточная система, цитофлуориметрия; по оси ординат приведено значение увеличения флуоресценции; за отсутствие связывания принимали величину флуоресценции <20. Нижняя панель – твердофазный ингибиторный анализ [42], по оси ординат – относительная ингибиторная активность

Гликаны в составе Glyc-РАА-fluo

№	Glyc	Аббревиатура
1	2	3
Дисахариды		
1	Gal β 1-4GlcNAc β	LN
2	Gal β 1-3GlcNAc β	Le ^c
3	Gal β 1-3GalNAc α	TF
4	Gal β 1-3GalNAc β	T _{BB}
5	3-O-Su-Gal β 1-4GlcNAc β	3'OSuLN
6	4-O-Su-Gal β 1-4GlcNAc β	4'OSuLN
7	6-O-Su-Gal β 1-4GlcNAc β	6'OSuLN
8	Gal β 1-4(6-O-Su)GlcNAc β	6OSuLN
9	3-O-Su-Gal β 1-3GlcNAc β	3'OSuLe ^c
10	3-O-Su-Gal β 1-3GalNAc α	3'OSuTF
11	GalNAc α 1-3GalNAc β	Fs-2
12	GalNAc β 1-4GlcNAc β	LacdiNAc
13	GalNAc β 1-4(6-O-Su)GlcNAc β	6OSuLacdiNAc
Трисахариды		
14	Neu5Ac α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β	3'SiaLN
15	Neu5Ac α 2-6Gal β 1-4GlcNAc β	6'SiaLN
16	Neu5Ac α 2-3Gal β 1-3GlcNAc β	3'SiaLe ^c
17	Neu5Ac α 2-3Gal β 1-3GalNAc α	3'SiaTF
18	Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc β	Gal α 3'LN
19	Fuc α 1-2Gal β 1-3GlcNAc β	H (тип 1)
20	Fuc α 1-2Gal β 1-4GlcNAc β	H (тип 2)
21	Fuc α 1-2Gal β 1-3GalNAc α	H (тип 3)
22	Fuc α 1-2Gal β 1-3GalNAc β	H (тип 4)
23	Gal α 1-3(Fuc α 1-2)Gal β	B _{tri}
24	GalNAc α 1-3(Fuc α 1-2)Gal β	A _{tri}
Тетра-, пента- и гексасахариды		
25	Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc β	Le ^c 3'Lac (LNT)
26	Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4Glc β	LN3'Lac (LNnT)
27	Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β	LN3'LN
28	Gal β 1-4GlcNAc β 1-6Gal β 1-4GlcNAc β	LN6'LN
29	Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β	(LN) ₃
30	Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β GlcNAc β 1-6	LN3'(GlcNAc6')LN
31	Gal β 1-4GlcNAc β 1-6Gal β 1-4GlcNAc β GlcNAc β 1-3	LN6'(GlcNAc3')LN
32	Gal β 1-4GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β Gal β 1-4GlcNAc β 1-6	(LN) ₂ 3',6'LN
33	Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β	Le ^c 3'LN

Окончание таблицы

1	2	3
34	Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-3GlcNAc β	Le ^c 6'LN
35	Gal β 1-3GlcNAc β 1-6Gal β 1-4GlcNAc β	Le ^c 3'Le ^c
36	GalNAc α 1-3Gal β 1-3GlcNAc β Fuc α 1-2	A (тип 1)
37	GalNAc α 1-3Gal β 1-4GlcNAc β Fuc α 1-2	A (тип 2)
38	Gal α 1-3Gal β 1-3GlcNAc β Fuc α 1-2	B (тип 1)
39	Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc β Fuc α 1-2	B (тип 2)
40	Gal α 1-3Gal β 1-3GalNAc α Fuc α 1-2	B (тип 3)
41	Gal α 1-3Gal β 1-3GalNAc β Fuc α 1-2	B (тип 4)

Галектины прототипа, нагруженные на клетки, не проявляли сродство к 3'-О-сульфатированным и 3'-сиалилированным производным LN (таблица, № 5, 8, 14) и Le^c (таблица, № 9, 16) (рис. 3, верхняя панель), хотя в твердофазной системе [42] связывание наблюдалось (рис. 3, нижняя панель). Отметим, что в обоих случаях с галектинами взаимодействовали Глус-РАА-гликопробы одной и той же молекулярной массы и с одной и той же нагрузкой компонента Глус, т.е. принципиальным отличием было только наличие гликокаликса в клеточной системе анализа.

ГАЛЕКТИН-3

Так же как галектины прототипа, гал-3 в клеточной системе не связывался с дисахаридом LN (рис. 4, верхняя панель). В то же время гал-3 взаимодействовал с олигомерными формами LN (таблица, № 27, 29, 30, 32), причем увеличение LN-звеньев в цепи приводило к увеличению сродства. Из гликанов, содержащих терминальный Le^c-фрагмент, лектин связывался только с Le^c3'Las, хотя и несколько слабее, чем с LN3'Las. Кроме того, гал-3 проявлял сродство к трисахариду Gal α 3'LN и тетрасахаридам А- и В (типов 1 и 2). При этом по сравнению с Gal α 3'LN (таблица, № 18) связывание с В (тип 2), который отличается нали-

чием Fuc α в положении О-2 при остатке Gal (таблица, № 39), было слабее, т.е. вклад остатка фукозы в данном случае был отрицательным.

Как и в случае галектинов прототипа, гал-3 связывался с 3'OSuLN, 3'OSuLe^c и 6OSuLN в твердофазных системах (рис. 4, нижняя панель), но не в составе клеток [15, 16].

ГАЛЕКТИНЫ ТАНДЕМНОГО ТИПА

Так же как галектины прото- и химерного типов, галектины тандемного типа не связывались (гал-4, гал-8) или взаимодействовали слабо (гал-9) с LN (рис. 5, а, верхняя панель), но проявляли сродство к линейным и разветвленным олиголактозаминам; увеличение LN-звеньев в цепи не оказывало влияния на связывание. В отличие от других галектинов гал-9 связывался не только с LN3'LN3 и LN3'(GlcNAc β)LN (таблица, № 27, 30), но и с олигосахаридами, в которых LN-звенья соединены связью β 1-6, а именно с LN6'LN, LN6'(GlcNAc3')LN (таблица, № 28, 31), хотя сродство к таким гликанам было ниже, чем к версиям β 1-3 (рис. 5, а, верхняя панель). Способность гал-9 связывать β 1-6 олиго-LN является уникальной особенностью именно этого галектина, а не клеточной тест-системы [15].

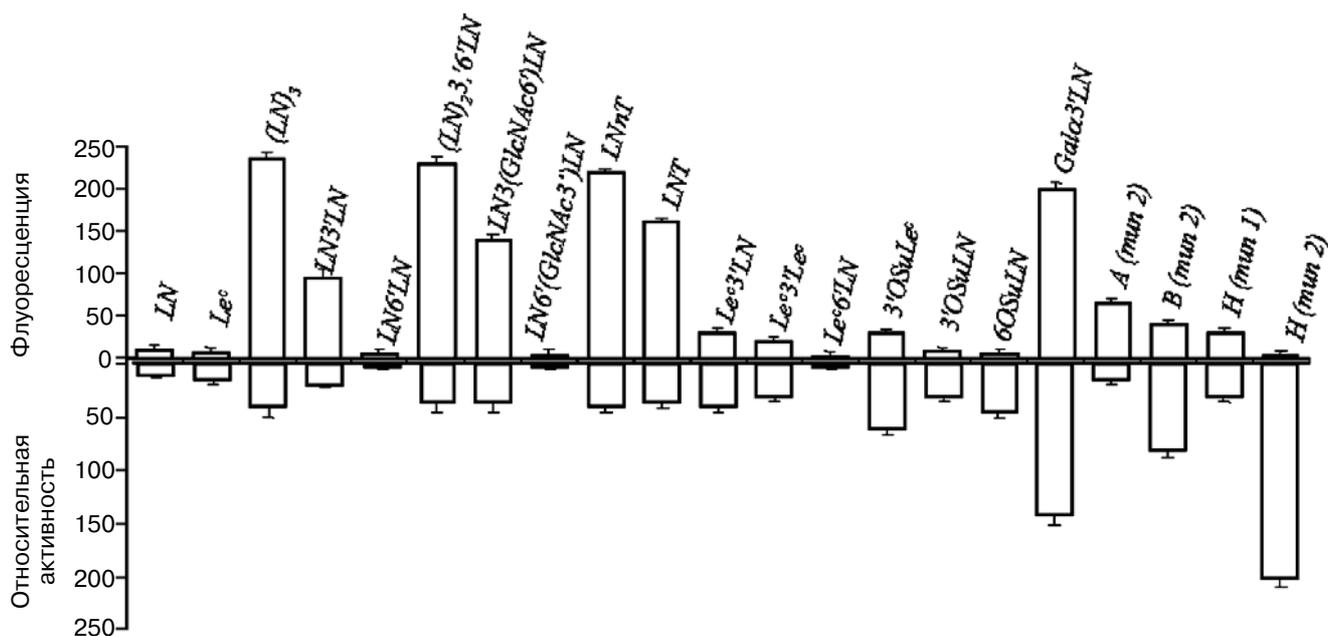


Рис. 4. Сравнение профилей специфичности гал-3 в клеточной и бесклеточной тест-системах: верхняя панель – цитофлуориметрия; нижняя панель – твердофазный анализ (детали см. в подписи к рис. 3)

Как уже упоминалось выше, LN не является аффинным лигандом галектинов tandemного типа, однако гал-8 и гал-9, но не гал-4, связывались с его изомером дисахаридом Le^c (таблица, № 2). В то же время все галектины, включая гал-4, проявляли сродство к гликанам, содержащим Le^c -фрагмент – тетрасахаридам Le^c3Le^c и Le^c3Lac (№ 34, 25) (рис. 5, *a*, верхняя панель). Следует отметить, что в отличие от галектинов прото- и химерного типов гал-8 и -9 связывались с дисахаридами $T_{\beta\beta}$ и TF [38], в которых галактоза присоединена по положению O-3 остатка GalNAc α или GalNAc β (таблица, № 3, 4).

Все три исследованных нами галектина tandemного типа в той или иной степени проявляли сродство к сульфатированным гликанам, а именно к 3'OSuLN, 6OSuLN, 3'OSuLe c и 3'OSuTF. Однако связывание с ними у гал-8 и гал-9 было сравнимо с их нейтральными аналогами LN, Le c и TF, а положительный эффект от наличия отрицательно заряженной группы наблюдался только в отношении гал-4 (рис. 5, *a*, верхняя панель).

Самыми аффинными лигандами галектинов tandemного типа были группоспецифические антигены крови системы АВН, связывание с ними было значительно выше, чем с олиголактозаминами (рис. 5, *a*, верхняя панель), при этом гал-4 и -8 предпочтительнее связывались с А-, а гал-9 – с В-гликанами.

В твердофазной системе самыми аффинными лигандами полноразмерных галектинов были

отрицательно заряженные гликаны, только гал-9 проявил сродство к А- и В-гликанам (рис. 5, *a*, нижняя панель). В этой же твердофазной системе N-однодоменные галектины проявляли сродство к олиголактозаминам, в то время как с АВН-гликанами связывался C-однодоменный гал-4 (рис. 5, *b*). Как C-, так и N-однодоменные галектины связывались с отрицательно заряженными гликанами, хотя аффинность N-форм была к ним выше. На основании полученных в твердофазной системе данных можно сделать вывод, что у галектинов tandemного типа за связывание с олиголактозаминами и отрицательно заряженными гликанами отвечает N-УСД, а к АВН-гликанам проявляет сродство C-УСД. Если это так, то при заякоривании галектина на клетке ключевая роль принадлежит N-УСД, в то время как C-домену отведена роль узнавания экзогенных гликанов.

ОБЩИЕ ОСОБЕННОСТИ УЗНАВАНИЯ ЛИГАНДА ГАЛЕКТИНАМИ, НАХОДЯЩИМИСЯ В СОСТАВЕ КЛЕТКИ

Связывание с короткими дисахаридными лигандами. Взаимодействия заякоренных на клетке галектинов (за исключением гал-9) с LN-содержащим гликоконъюгатом не наблюдалось, хотя этот дисахарид считается «каноническим» лигандом для всех галектинов и в различных

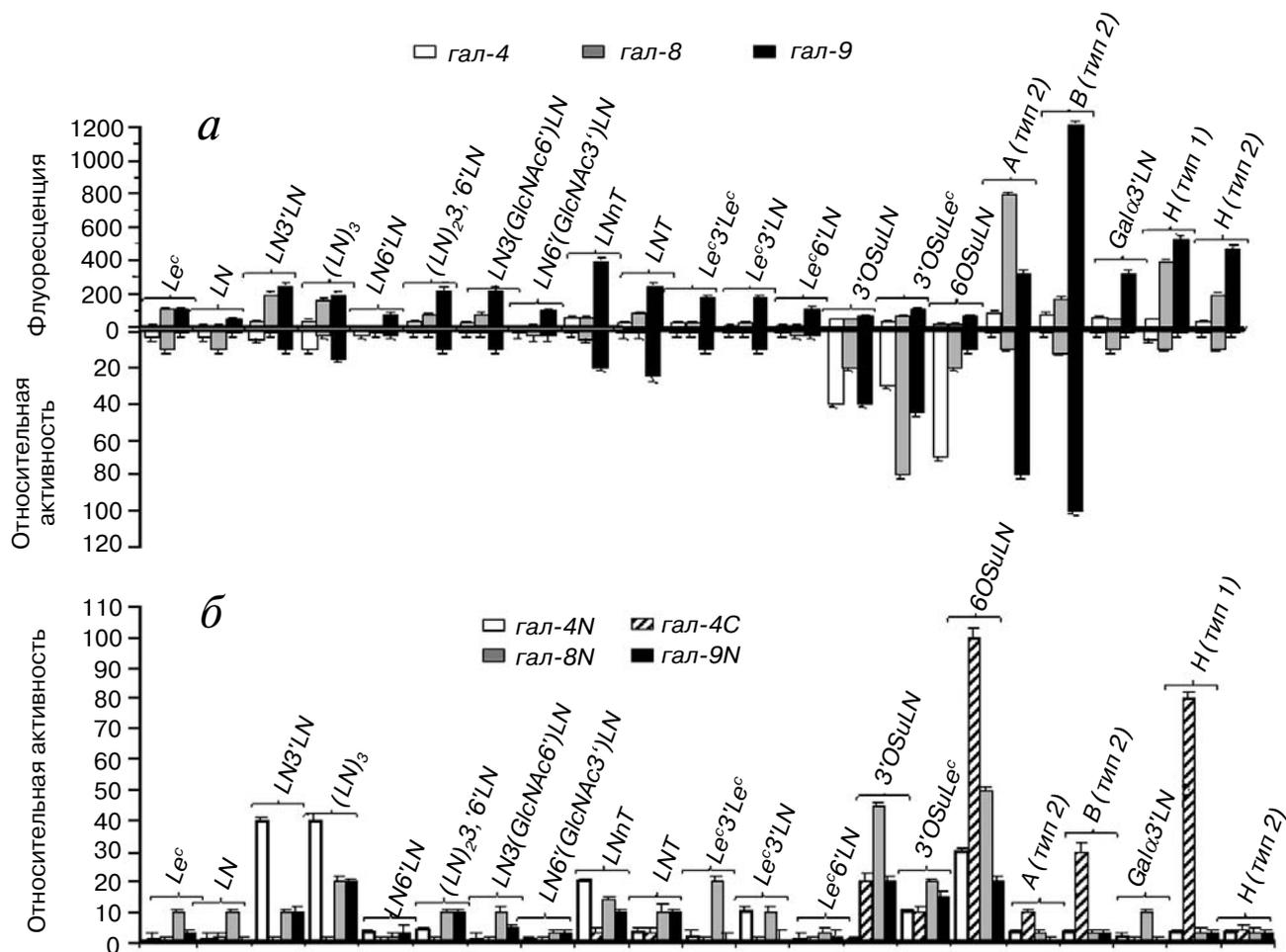


Рис. 5. Сравнение профилей специфичности галектинов тандемного типа в клеточной и бесклеточной тест-системах. *a* – Полноразмерные галектины: верхняя панель – цитофлуориметрия, нижняя панель – твердофазный анализ; *б* – однодоменные (рекомбинантные) галектины – твердофазная система (детали см. в подписи к рис. 3)

бесклеточных системах с галектинами значимо связывается [14, 44]. Другие β -галактозо-терминированные дисахариды, такие как Le^c ($Gal\beta 1-3GlcNAc\beta$), TF ($Gal\beta 1-3GalNAc\alpha$) и $T_{\beta\beta}$ ($Gal\beta 1-3GalNAc\beta$), в составе гликоконъюгатов галектинами также не узнавались, за исключением галектинов тандемного типа (-8 и -9).

Связывание с олиголактозаминами и Le^c -терминированными гликанами. Все исследованные галектины на клетке проявляли сродство к олиголактозаминам, в которых фрагменты LN связаны между собой связью 1–3. Увеличение числа LN-звеньев в цепи с 2 до 3 не влияло значительно на связывание лектинов с этими гликанами, линейный и разветвленный трилактозамин практически не различались, исключение составил гал-8, который с разветвленными вариантами связывался слабее [38]. Несмотря на то, что с дисахаридом Le^c взаимодействовали

только галектины тандемного типа, все остальные (за исключением гал-1) в той или иной степени проявляли сродство к Le^c -терминированным олигосахаридам.

Связывание с гликанами, содержащими остатки Fuc α , Gal α , GalNAc α , Neu5Ac α , HSO $_3$. Наличие Fuc α при O-2 или(и) Gal α /GalNAc α при O-3 остатка галактозы дисахарида Gal $\beta 1-4GlcNAc$ приводит к тому, что инертный к галектинам гликан приобретает свойства лиганда. Для тех дисахаридов, которые лишь слабо связывались (см. выше), подобное усложнение структуры также сказывалось положительно. Наиболее ярко аффинность к антигенам групп крови проявляется в случае галектинов тандемного типа. Все галектины (за исключением гал-1) проявляют сродство к АВН-гликанам типов 1 или 2, в то время как с гликанами, содержащими Gal $\beta 1-3GalNAc\alpha$, т.е. типа 3 (таблица, № 21, 40), и

Gal β 1-3GalNAc β , т.е. типа 4 (таблица, № 22, 41), связываются только галектины тандемного типа.

В то время как наличие нейтральных заместителей при О-3 остатка Gal (см. выше) положительно сказывается на связывании галектинов с гликанами, сульфат в том же положении не влияет на взаимодействие, по крайней мере в случае дисахаридов, которые не связываются с галектинами прото- и химерного типов, а с галектинами тандемного типа — в той же незначительной степени, что и в случае нейтральных дисахаридов. Несмотря на то, что в бесклеточных системах 3'-сиалилирование приводит к увеличению связывания галектинов с олиголактозаминами [9], на клетках положительный эффект документирован в отношении гал-8, взаимодействие которого с клетками после их десалилирования уменьшалось [38]. В то же время обработка клеток нейраминидазой приводила к увеличению связывания гал-2, -3 [16], -4 и -9 [38]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что 3'-сиалилирование скорее мешает связыванию этих галектинов с гликанами. В пользу этого говорит тот факт, что взаимодействие гал-1, -3 и -2 с СНО-клетками, в которых нарушен биосинтез 3'-сиалилированных гликанов, было сильнее, чем с интактными клетками [36].

ПРИЧИНЫ ИЗБИРАТЕЛЬНОСТИ ГАЛЕКТИНОВ, НАХОДЯЩИХСЯ В СОСТАВЕ КЛЕТКИ

Исследования, включавшие более десятка галектинов, а также около сорока гликанов в составе гликопроб, позволяют сделать следующее общее заключение. Хотя паттерн специфичности галектинов, нагруженных на клетки, похож на таковой, наблюдаемый в бесклеточных тест-системах, на клетках галектины демонстрируют повышенную избирательность, а именно вообще не связываются с некоторыми лигандами, даже таким «классическим», как LN. Можно с уверенностью утверждать, что причиной такой избирательности не является стерическая недоступность коротких дисахаридных лигандов, т.к. некоторые из дисахаридов все-таки демонстрируют аффинность. Не связано наблюдаемое явление и с зарядом лигандов. Нет оснований считать артефактными слабые взаимодействия дисахаридов (в т.ч. сульфатированных) в искусственных тестах, хотя бы потому, что результаты совершенно разных методологий в целом совпадают.

Если ранжировать лиганды по аффинности в бесклеточных анализах, то совсем неактивными в клеточной системе оказываются наименее аф-

финные из них, т.е. клетка отменяет слабые взаимодействия, в то же время не оказывая влияния на сильные, что похоже на ингибиторный эффект. В качестве ингибитора, по-видимому, выступает гликокаликс клетки, т.е. собственные клеточные гликаны, которые мы называем *цис*-лигандами (в противоположность *транс*-лигандам гликопробы или второй клетки-партнера в процессе галектин-опосредованной адгезии). Для галектинов установлено, что с их УСД контактирует область гликана, большая, чем дисахарид, поэтому неудивительно, что природные гликаны легко выигрывают конкуренцию. Кроме того, если *цис*-лиганд расположен в непосредственной близости от заякоренного галектина, он с точки зрения энтропии имеет преимущество перед свободно перемещающимся *транс*-конкурентом. Ряд экспериментов подтверждает гипотезу о *цис*-влиянии, это, в частности, обработка галектин-нагруженных клеток β -галактозидазой, приводящая к потере избирательности, характерной для галектинов нативной клетки, как показано на рис. 6.

Мощь *цис*-эффекта демонстрирует другая серия экспериментов, где сравнивалось взаимодействие с гликопробами двух разновидностей клеток МДСК (эпителиальные клетки почки собаки), а именно обычных и трансфицированных α 2,6-сиалилтрансферазой [41]. Трансфекция приводит к тому, что гликокаликс в несколько раз обогащается 2,6-связанной нейраминовой кислотой, и, соответственно, падает уровень 2,3-связанной нейраминовой кислоты. Гал-8 имеет два разных УСД, один из которых (*N*-домен) хорошо связывается с последним вариантом нейраминовой кислоты, т.е. с Neu5Ac α 2-

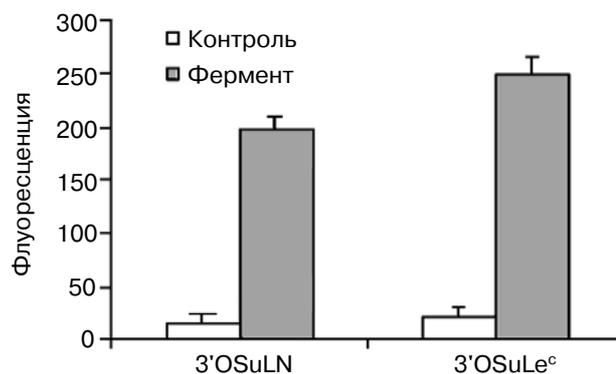


Рис. 6. Гал-1 в составе клеток Raji не связывается с никоаффинными лигандами в виде проб 3'OSuLN-PAA-флюо и 3'OSuLe^c-PAA-флюо. В то же время после обработки β -галактозидазой появляется взаимодействие, по интенсивности типичное для лигандов среднего или даже высокого ранга

3Gal β 1-4GlcNAc-терминированными гликанами, и именно этим УСД гал-8 заякоривается на клетке. Второй УСД (C-домен) специфичен к антигенам групп крови, в частности максимально аффинен к тетрасахариду А (тип 2), но слабо взаимодействует с Neu5Ac α 2-3Gal β 1-4GlcNAc. Таким образом, второй УСД погруженного в гликокаликс гал-8 или остается свободным, или маскируется оказавшимся вблизи *цис*-Neu5Ac α 2-3Gal β 1-4GlcNAc. Когда к клеткам добавляют А(тип 2)-пробу, она должна конкурировать с *цис*-Neu5Ac α 2-3Gal β 1-4GlcNAc. Оказалось, что в клетках, обогащенных *цис*-Neu5Ac α 2-3Gal β 1-4GlcNAc, высокоаффинный лиганд А (тип 2) плохо конкурирует за C-домен с низкоаффинным Neu5Ac α 2-3Gal β 1-4GlcNAc, т.к. последний имеет преимущество *цис*-лиганда. *цис*-Эффект микроокружения связанного с клеткой галектина, по-видимому, является одним из механизмов, который обеспечивает высокую избирательность при межклеточном узнавании: *цис*-лиганды маскируют галектины, предотвращая их взаимодействие с низкоаффинными, но в то же время разрешая взаимодействие с высокоаффинными гликанами.

Необходимо отметить, что, хотя типичным явлением оказалось маскирование слабых взаимодействий в клеточной системе, иногда наблюдаются и противоположные тенденции. В частности, гал-4 и гал-7 практически не взаимодействуют с антигенами АВН в твердофазной системе, но достоверно связываются в клеточной. Таким образом, гипотеза о *цис*-регуловке не отражает всей сложности и многосторонности галектин-опосредованной межклеточной адгезии.

ГАЛЕКТИНЫ ДРУГИХ ЖИВОТНЫХ

Из-за ограниченности опубликованных данных за рамками данного обзора осталось сравнение профилей галектинов человека и других животных.

Исследованные профили специфичностей птичьих и человеческих галектинов, нагруженных на клетки, мало отличались друг от друга [41, 45]. Но в то же время есть и отличия, в частности в специфичности галектинов грызунов и их человеческих ортологов; интересно, что они проявлялись исключительно в клеточной, но не в твердофазной системе (Рапопорт Е.М., неопубликованные результаты). Имеющиеся сегодня данные позволяют говорить скорее о консервативности, чем об эволюционировании профиля специфичности галектинов высших животных.

ВОПРОСЫ, НА КОТОРЫЕ ПОКА НЕТ ОТВЕТОВ

Как уже говорилось выше, есть основания считать, что у галектинов существуют «естественные» рецепторы, т.е. гликопротеины или другие гликоконъюгаты, аффинность которых в силу неизвестных нам причин оказывается на порядки выше, чем аффинность гликанов как таковых. Это, например, могут быть пока еще не идентифицированные минорные гликаны; косвенным намеком на это является предпочтение тандемными галектинами птиц АВН-гликанов, которых у птиц нет вовсе. Можно предположить, что естественными рецепторами являются похожие, пока не обнаруженные гликаны. Нельзя также исключить, что высокоаффинными лигандами для галектинов служат не гликаны, а молекулярные паттерны (microbe- и damage associated molecular patterns – MAMP и DAMP [46, 47]), в состав которых входят гликаны. В пользу такой возможности свидетельствует несколько работ, описывающих неклассическое взаимодействие галектинов, в частности: 1) тандемные галектины человека связываются с полисахаридом бактерий штамма *E. coli* O86, который содержит антигенную детерминанту группы крови В [48, 49]; 2) тандемные галектины связываются также с рамнополисахаридом из *E. coli* 19ab, в котором «классический» фрагмент для связывания галектинов Gal β 1-4GlcNAc или что-то похожее отсутствует вовсе [49]; 3) гал-3 взаимодействует с β 1,2-маннозидами *Candida albicans* [50]; 4) гал-3, -7 и -9 связываются с частично десульфатированными гликозаминогликанами [51].

В то же время есть достаточно аргументов против предположения о существовании высокоаффинных лигандов, в частности не было документировано ни одного опыта, где нагруженный на клетки (изучено семь клеточных линий) галектин (изучено четыре белка) связывался с эндогенными гликанами клетки настолько сильно, что не выявлялся гликопробами.

На сегодняшний день остается открытым вопрос о расположении галектинов в гликокаликсе клетки, — неизвестно, заглублены ли они в гликокаликс (что согласуется с механизмом выхода из клетки) или аккумулируются на его периферии (что представляется естественным для выполнения функции адгезии), распределены более или менее равномерно, концентрируются в рафтах или дислоцируются каким-то совсем иным способом; тем более нет представлений о динамике распределения галектинов по гликокаликсу. Исследования распределения галектинов в толще гликокаликса затрудняются еще и тем, что

практически не изучен трехмерный гликом гликокаликса, т.е. неизвестно, как распределены наиболее аффинные лиганды галектинов. Конфокальная микроскопия в сочетании с обсуждаемой здесь экспериментальной моделью позволит ответить хотя бы частично на эти вопросы.

Авторы выражают искреннюю благодарность проф. Х.-И. Габиусу, С. Андре за предос-

тавление галектинов, с.н.с. Е.Ю. Корчагиной и с.н.с. Г.В. Пазыниной за высказанные замечания и плодотворное обсуждение материала данной публикации.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 07-04-00969 и 13-04-00096, Е.М. Рапопорт) и РНФ (проект 14-50-00131, Н.В. Бовин).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Cooper, D.N. (2002) Galectinomics: finding themes in complexity, *Biochim. Biophys. Acta*, **1572**, 209–231.
- Kaltner, H., and Gabius, H.J. (2012) A toolbox of lectins for translating the sugar code: the galectin network in phylogenesis and tumors, *Histol. Histopathol.*, **27**, 397–416.
- Hirabayashi, J., Hashidate, T., Arata, Y., Nishi, N., Nakamura, T., Hirashima, M., Urashima, T., Oka, T., Futai, M., Muller, W.E.G., Yagi, F., and Kasai, K. (2002) Oligosaccharide specificity of galectins: a search by frontal affinity chromatography, *Biochim. Biophys. Acta*, **1572**, 232–254.
- Dumic, J., Dabelic, S., and Flogel, M. (2006) Galectin-3: an open-ended story, *Biochem. Biophys. Acta*, **1760**, 616–635.
- Liu, Zh., Zhang, Q., Peng, H., and Zhang, W.Z. (2012) Animal lectins: potential antitumor therapeutic targets in apoptosis, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, **168**, 629–637.
- Di Lella, S., Sundblad, V., Cerliani, J.P., Carlos, M., Guardia, C.M., Estrin, D.A., Vasta, G.R., and Rabinovich, G.A. (2011) When galectins recognize glycans: from biochemistry to physiology and back again, *Biochemistry*, **50**, 7842–7857.
- Viguer, M., Avedissian, T., Delacour, D., Poirier, F., and Deshayes, F. (2014) Galectins in epithelial functions, *Tissue Barriers*, e29103.
- Stowell, S.R., Dias-Baruffi, M., Penttila, L., Renkonen, O., Nyame, A.K., and Cummings, R.D. (2004) Human galectin-1 recognition of poly-N-acetyllactosamine and chimeric polysaccharides, *Glycobiology*, **14**, 157–167.
- Leppanen, A., Stowell, S., Blixt, O., and Cummings, R.D. (2005) Dimeric galectin-1 binds with high affinity to α 2,3-sialylated and non-sialylated terminal N-acetyllactosamine units on surface-bound extended glycans, *J. Biol. Chem.*, **280**, 5549–5562.
- Wu, A.M., Wu, J.H., Singh, T., Andre, S., Kaltner, H., and Gabius, H.-J. (2004) Effects of polyvalency of glycotopes and natural modifications of human blood group ABH/Lewis sugars at the gal-beta1-terminated core saccharides on the binding of domain-I of recombinant tandem-repeat-type galectin-4 from rat gastrointestinal tract (G4-N), *Biochimie*, **86**, 317–326.
- Carlsson, S., Oberg, C.T., Carlsson, M.C., Sundin, A., Nilsson, U.J., Smith, D., Cummings, R.D., Almkvist, J., Karlsson, A., and Leffler, H. (2007) Affinity of galectin-8 and its carbohydrate recognition domains for ligands in solution and at the cell surface, *Glycobiology*, **17**, 663–676.
- Munoz, F.J., Santos, J.I., Arda, A., Andre, S., Gabius, H.J., Sinisterra, J.V., Jimenez-Barbero, J., and Hernaiz, M.J. (2010) Binding studies of adhesion/growth-regulatory galectins with glycoconjugates monitored by surface plasmon resonance and NMR spectroscopy, *Org. Biomol. Chem.*, **28**, 2986–2992.
- Takeuchi, T., Tamura, M., Nishiyama, K., Iwaki, J., Hirabayashi, J., Takahashi, H., Natsugari, H., Arata, Y., and Kasai, K.-I. (2013) Mammalian galectins bind galactose β 1-4fucose disaccharide, a unique structural component of protostomial N-type glycoproteins, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **436**, 509–513.
- Brewer, C.F. (2004) Thermodynamic binding studies of galectin-1, -3 and -7, *Glycoconj. J.*, **19**, 459–465.
- CFG functional glycomics gateway, <http://www.functionalglycomics.org>.
- Stowell, S.R., Arthur, C.M., Mehta, P., Slanina, K.A., Blixt, O., Leffler, H., Smith, D.F., and Cummings, R.D. (2008) Galectins-1, -2 and -3 exhibit differential recognition of sialylated glycans and blood group antigens, *J. Biol. Chem.*, **283**, 10109–10123.
- Kopitz, J., von Reitzenstein, C., Burchert, M., Cantz, M., and Gabius, H.J. (1998) Galectin-1 is a major receptor for ganglioside GM₁, a product of the growth-controlling activity of a cell surface ganglioside sialidase, on human neuroblastoma cells in culture, *J. Biol. Chem.*, **273**, 11205–11211.
- Elola, M.T., Chiesa, M.E., Alberti, A.F., Mordoh, J., and Fink, N.E. (2005) Galectin-1 receptors in different cell types, *J. Biomed. Sci.*, **12**, 13–29.
- Рапопорт Е.М., Курмышкина О.В., Бовин Н.В. (2008) Галектины млекопитающих: структура, углеводная специфичность и функции (обзор), *Биохимия*, **73**, 483–497.
- Gabius, H., and Wu, A. (2008) *Galectins* (Klyosov, A.A., Witczak, Z.J., and Platt, P., eds), Wiley & Sons Inc., New Jersey, pp. 71–85.
- Hauselmann, I., and Borsig, L. (2014) Altered tumor-cells glycosylation promotes metastasis, *Front Oncol.* DOI: 10.3389/fonc.2014.00028.
- Stillman, B.N., Hsu, D.K., Pang, M., Brewer, F.C., Johnson, P., Liu, F.-T., and Baum, L.G. (2006) Galectin-3 and galectin-1 bind distinct cell surface glycoprotein receptors to induce T cell death, *J. Immunol.*, **176**, 778–789.
- Cueni, L.N., and Detmar, M. (2009) Galectin-8 interacts with podoplanin and modulates lymphatic endothelial cell functions, *Exp. Cell Res.*, **315**, 1715–1723.
- Hsieh, S.H., Ying, N.W., Wu, M.H., Chiang, W.F., Hsu, C.L., Wong, T.Y., Yin, Y.T., Hong, T.M., and Chen, Y.L. (2008) Galectin-1, a novel ligand of neuropilin-1, activates VEGFR-2 signaling and modulates the migration of vascular endothelial cells, *Oncogene*, **27**, 3746–3753.
- Wu, F.H., Yuan, Y., Li, D., Lei, Z., Song, C.W., Liu, Y.Y., Li, B., Huang, B., Feng, Z.H., and Zhang, G.M. (2010) Endothelial cell-expressed Tim-3 facilitates metastasis of melanoma cells by activating the NF-kappa B pathway, *Oncol. Rep.*, **24**, 693–699.
- Cao, E., Zang, X., Ramagopal, U.A., Mukhopadhyaya, A., Fedorov, A., Fedorov, E., Zencheck, W.D., Lary, J.W.,

- Cole, J.L., Deng, H., Xiao, H., Dilorenzo, T.P., Allison, J.P., Nathenson, S.G., and Almo, S.C. (2007) T cell immunoglobulin mucin-3 crystal structure reveals a galectin-9-independent ligand-binding surface, *Immunity*, **26**, 311–321.
27. Ideo, H., Seko, A., and Yamashita, K. (2005) Galectin-4 binds to sulfated glycosphingolipids and carcinoembryonic antigen in patches on the cell surface of human colon adenocarcinoma cells, *J. Biol. Chem.*, **280**, 4730–4737.
28. Moiseeva, E.P., Williams, B., and Samani, N.J. (2003) Galectin-1 interacts with beta-1 subunit of integrin, *Biochim. Biophys. Acta*, **1619**, 125–132.
29. Van den Brule, F., Califice, S., Garnier, F., Fernandez, P.L., Berchuck, A., and Castronovo, V. (2003) Galectin-1 accumulation in the ovary carcinoma peritumoral stroma is induced by ovary carcinoma cells and affects both cancer cell proliferation and adhesion to laminin-1 and fibronectin, *Lab. Invest.*, **83**, 377–386.
30. Ahmad, N., Gabius, H.-J., Andre, S., Kaltner, H., Sabesan, S., Roy, R., Liu, B., Macaluso, F., and Brewer, C.F. (2004) Galectin-3 precipitates as a pentamer with synthetic multivalent carbohydrates and forms heterogeneous cross-linked complexes, *J. Biol. Chem.*, **279**, 10841–10847.
31. Рапопорт Е.М., Пазынина Г.В., Саблина М.А., Крокер П.Р., Бовин Н.В. (2006) Взаимодействие сиглеков с сульфатированными олигосахаридами, *Биохимия*, **71**, 615–625.
32. Galanina, O.E., Tuzikov, A.B., Rapoport, E.M., Le Pendu, J., and Bovin, N.V. (1998) Carbohydrate-based probes for detection of cellular lectins, *Anal. Biochem.*, **265**, 282–289.
33. van Vliet, S.J., van Liempt, E., Saeland, E., Aarnoudse, C.A., Appelmelk, B., Irimura, T., Geijtenbeek, T.B.H., Blixt, O., Alvarez, R., van Die, I., and van Kooyk, Y. (2005) Carbohydrate profiling reveals a distinctive role for the C-type lectin MGL in the recognition of helminth parasites and tumor antigens by dendritic cells, *Int. Immunol.*, **17**, 661–669.
34. Meyer, S., van Liempt, E., Imberty, A., van Kooyk, Y., Geyer, H., Geyer, R., and van Die, I. (2005) DC-SIGN mediates binding of dendritic cells to authentic pseudo-LewisY glycolipids of *Schistosoma mansoni* cercariae, the first parasite-specific ligand of DC-SIGN, *J. Biol. Chem.*, **280**, 37349–37359.
35. Hughes, R.C. (1999) Secretion of the galectin family of mammalian carbohydrate-binding proteins, *Biochem. Biophys. Acta*, **1473**, 172–185.
36. Patnaik, S.K., Potvin, B., Carlsson, S., Sturm, D., Leffler, H., and Stanley, P. (2006) Complex N-glycans are the major ligands for galectin-1, -3 and -8 on Chinese hamster ovary cells, *Glycobiology*, **16**, 305–317.
37. Rapoport, E.M., Andre, S., Kurmyshkina, O.V., Pochechueva, T.V., Severov, V.V., Pazyнина, G.V., Gabius, H.-J., and Bovin, N.V. (2008) Galectin-loaded cells as platform for profiling of lectin specificity by fluorescent neoglycoconjugates: case study on galectins-1 and -3 and the impact of assay setting, *Glycobiology*, **18**, 315–324.
38. Vokhmyanina, O.A., Rapoport, E.M., Andre, S., Severov, V.V., Ryzhov, I.M., Pazyнина, G.V., Korchagina, E.Ju., Gabius, H.-J., and Bovin, N.V. (2012) Comparative study of the glycan specificities of cell-bound human tandem repeat-type galectins -4, -8 and -9, *Glycobiology*, **22**, 1207–1217.
39. Bovin, N.V., Korchagina, E.Y., Zemlyanukhina, T.V., Byramova, N.E., Galanina, O.E., Zemlyakov, A.E., Ivanov, A.E., Zubov, V.P., and Mochalova, L.V. (1993) Synthesis of polymeric neoglycoconjugates based on N-substituted polyacrylamides, *Glycoconj. J.*, **10**, 142–151.
40. Rapoport, E.M., Kovalenko, E.I., Belyanchikov, I.M., and Bovin, N.V. (2007) *Lectins: analytical technologies* (Nilsson, C.L., ed.), Elsevier B.V., San-Diego, pp. 397–415.
41. Вохмянина О.А., Рапопорт Е.М., Рыжов И.М., Корчагина Е.Ю., Пазынина Г.В., Северов В.В., Кальтнер Г., Андре С., Габиус Г.И., Бовин Н.В. (2011) Углеводная специфичность куриного и человеческого галектинов-8 в составе клеток, *Биохимия*, **76**, 1452–1460.
42. Рапопорт Е.М., Почечуева Т.В., Курмышкина О.В., Пазынина Г.В., Северов В.В., Гордеева Е.А., Беляничков И.М., Андре С., Габиус Г.И., Бовин Н.В. (2010) Твердофазные системы для исследования углеводной специфичности галектинов, *Биохимия*, **75**, 380–391.
43. Allen, H.J., Ahmed, H., and Matta, K.L. (1998) Binding of synthetic sulfated ligands by human splenic galectin 1, a beta-galactoside-binding lectin, *Glycoconj. J.*, **15**, 691–695.
44. Ahmad, N., Gabius, H.-J., Sabesan, S., Oscarson, S., and Brewer, C.F. (2004) Thermodynamic binding studies of bivalent oligosaccharides to galectin-1, galectin-3, and the carbohydrate recognition domain of galectin-3, *Glycobiology*, **14**, 817–825.
45. Rapoport, E.M., Matveeva, V.K., Kaltner, H., Andre, S., Vokhmyanina, O.A., Pazyнина, G.V., Severov, V.V., Ryzhov, I.M., Korchagina, E.Ju., Belyanchikov, I.M., Gabius, H.J., and Bovin, N.V. (2015) Comparative lectinology: delineating glycan-specificity profiles of the chicken galectins using neoglycoconjugates in a cell assay, *Glycobiology*, in press. DOI: 10.1093/glycob/cwv012.
46. Vasta, G.R. (2012) Galectins as pattern recognition receptors: structure, function, and evolution, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **946**, 21–36.
47. Sato, S., St-Pierre, Ch., Bhaumik, P., and Nieminen, J. (2009) Galectins in innate immunity: dual functions of host soluble b-galactoside-binding lectins as damage-associated molecular patterns (DAMPs) and as receptors for pathogen-associated molecular patterns, *Immunol. Rev.*, **230**, 172–187.
48. Stowell, S.R., Arthur, C.M., Dias-Baruffi, M., Rodrigues, L., Gouridine, J.-Ph., Heimburg-Molinaro, J., Ju, T., Molinaro, R.J., Rivera-Marrero, C., Xia, B., Smith, D.F., and Cummings, R.D. (2010) Innate immune lectins kill bacteria expressing blood group antigen, *Nature Med.*, **16**, 295–301.
49. Knirel, Y.A., Gabius, H.J., Blixt, O., Rapoport, E.M., Khasbiullina, N.R., Shilova, N.V., and Bovin, N.V. (2014) Human tandem-repeat-type galectins bind bacterial non-βGal polysaccharides, *Glycoconj. J.*, **31**, 7–12.
50. Fradin, C., Poulain, D., and Jouault, T. (2000) Beta-1,2-linked oligomannosides from *Candida albicans* bind to a 32-kilodalton macrophage membrane protein homologous to the mammalian lectin galectin-3, *Infect. Immun.*, **68**, 4391–4398.
51. Iwaki, J., Minamisawa, T., Tateno, H., Kominami, J., Suzuki, K., Nishi, N., Nakamura, N., and Hirabayashi, J. (2008) Desulfated galactosaminoglycans are potential ligands for galectins: evidence from frontal affinity chromatography, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **373**, 206–212.

**SPECIFICITY OF HUMAN GALECTINS
ON CELL SURFACE****E. M. Rapoport, N. V. Bovin***

*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10,
Moscow 117997, Russia; fax: +7(495)330-5592,
E-mail: professorbovin@yandex.ru*

Received March 5, 2015

Revision received April 13, 2015

Galectins are β -galactoside-binding proteins sharing homology in amino acid sequence of their carbohydrate-recognition domains. Their carbohydrate specificity outside cells has been studied previously. The main conclusion of these studies was that several levels of glycan/ligand recognition exist for galectins: 1) disaccharide Gal β 1-4GlcNAc β (LN, N-acetyllactosamine) binds stronger than β -galactopyranose; 2) substitution at O-2 and O-3 of galactose residue as well as core fragments («right» from GlcNAc) provides significant increase in affinity; 3) similarly glycosylated proteins can differ significantly in affinity to galectins. Information about the natural cellular receptors of galectins is limited. Until recently, it was impossible to study specificity of *cellular* galectins. A model based on controlled incorporation of a single protein into glycocalyx of cells and subsequent interaction of loaded cells with synthetic glycoprobes measured by flow cytometry made this possible recently. In this review, data about glycan specificity of proto-, chimera-, and tandem-repeat-type galectins on the cell surface are systematized, and comparative analysis of the results with literature data on specificity of galectins in artificial systems was performed. The following conclusions from these studies were made: 1) cellular galectins have practically no ability to bind disaccharide LN, but display affinity to 3'-substituted oligolactosamines and oligomers LN; 2) tandem-repeat type galectins recognize another disaccharide, namely Gal β 1-3GlcNAc β (Le^a); 3) on the cell surface, tandem-repeat type galectins conserve the ability to display high affinity to blood group antigens of ABH-system; 4) in general, when galectins are immersed into glycocalyx they are more selective regarding glycan interactions. Thus, we conclude that competitive interaction of galectins with cell microenvironment (endogenous cell glycans) is the main factor providing selectivity of galectins *in vivo*.

Key words: galectins, glycans, cell, carbohydrate specificity, carbohydrate-recognition domain