

시알산(Sialic Acid) 분자종의 다양성의 기원과 생물학적 역할

이 영 춘

동아대학교 생명자원과학부

시알산(sialic acid, Sia)만큼 고도의 화학적, 생물학적 다양성을 가진 당은 자연계에 알려져 있지 않고 있으며, 이러한 여러 가지 시알산의 역할에 대한 이해가 이제 시작단계에 접어들었다. 본 특집에서는 생물학적, 병태생리학적 대상에 대한 시알산의 *N*-치환기, *O*-치환기의 영향에 대해서 논하고자 한다. 시알산 family는 40종으로 되어 있으나 그들은 모두 2-keto-deoxy-nononic acid(Kdn)의 유도체로서 인식되고 있으며, 5번 위치의 아미노 유도체가 잘 알려져 있는 뉴라민산(neuraminic acid)이다. 한편 Kdn은 정식으로 말하면 5-desamino, 5-hydroxy-neuraminic acid이므로 모든 시알산은 아미노기 또는 수산기에 다른 치환기를 가진 뉴라민산의 유도체로서 나타내어 진다[1-3]. Fig. 1은 뉴라민산의 아미노기가 아세틸화 또는 글리코릴화 되어 있는 반면, 글리코시드 결합이 없는 모든 수산기의 한 부분 혹은 여러 부분에 아세틸화가 일어날 가능성이 있음을 나타내고 있다. 일반적으로 *O*-아세틸기는 1개만으로 대부분이 9번 위치에 있지만, di- 혹은 tri-*O*-아세틸화된 시알산도 소의 약하선과 인간 대장유래의 mucin중에 존재하는 것이 알려져 있다[4]. 또한 9번 위치의 수산기에 lactyl잔기나 인산잔기의 수식이 일어날 수도 있고, 8번 위치에 메틸기 혹은 황산기의 수식이 생길 수도 있으므로, 8-*O*-메틸기, 9-*O*-아세틸기, *N*-글리코릴기와 같이 이러한 다른 치환기는 모두 조합시킬 수가 있기 때문에 Table 1에서와 같은 여러 가지 시알산종이 만들어 질 수 있다[3]. 이러한 시알산은 시알산 생합성과정에서 중간체의 유리당으로서 발견되는 *N*-아세틸뉴라민산-9-인산(Neu5Ac9P)을 제외하고는 일반적으로 올리고당, 당단백질, 당지질의 글리코시드 결합중에 존재하고 [1-3, 6], 이와는 대조적으로 2, 3-불포화시알산은 여러 가지 *N*-치환기, *O*-치환기를 가지고 있지만 글리코시드 결합이 가능한 수산기가 없기 때문에 인간이나 동물의 체액중에 매우 저농도로 유리된 단당으로 존재하고 있다. 그러한 것은 아마도 시알산의 CMP배당체 유래 혹은 시알산분해효소(sialidase)의 작용에 의해 생성된 것이므로 천연의 시알산분해효소의 저해제로서 작용할 수도 있는 것으로 추정되고 있다[3]. 2-deoxy-2,3-didehydro-*N*-아세틸뉴라민산(Neu5Ac2en)의 4-아미노 또

는 4-구아니디노 합성유도체는 바이러스에 존재하는 시알산분해효소의 강한 저해제로서 밝혀져 있고, 인플루엔자에 대한 유효한 약제가 될 것으로 기대되고 있다[7]. 가장 널리 존재하고 있는 시알산은 *N*-아세틸뉴라민산(Neu5Ac), *N*-글리코릴뉴라민산(Neu5Gc), *N*-아세틸-9-*O*-아세틸뉴라민산(Neu5,9Ac₂)의 3종류인데 오직 Neu5Ac만이 보편적으로 존재하고 다른 2종은 모든 생물종에서 발견되는 것은 아니며, 지금까지 가장 많이 연구되어 온 시알산은 Neu5Ac이고 그 다음이 Neu5Gc인데 Neu5Gc는 동물계에서 발견되지만 일부종양에서의 소량을 제외한 건강한 사람조직이나 박테리아에서는 발견되지 않는다. 위의 3종을 제외한 그 다음으로 넓게 분포되어 있는 시알산은 Kdn으로 16년전에 발견되었지만[8], 이것은 기생물이나 동물 중에서 빈번히 발견되고 있으며, 황산화된 시알산과 메틸화된 시알산은 극피동물에 한정되어 있는 것 같다. 모든 시알산이 한 개의 세포 또는 생물에 존재하는 것 만은 아니며 그 분포는 세포의 기능 뿐만 아니라 동물종, 세포종에 의존하고 있고 유전자 수준에서 엄밀히 제한되어 있는 것 같다. 소는 서로 다른 시알산을 가장 대량으로 가지고 있으며, 약하선

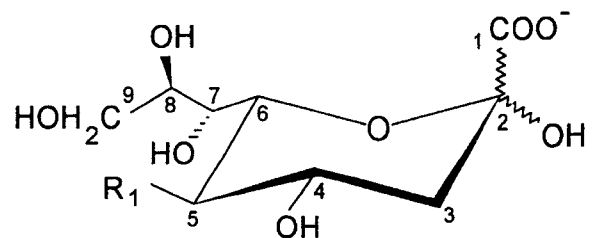


Fig. 1. Structures of natural sialic acids. R₁ can be NH-acetyl(Neu5Ac), NH-glycolyl(Neu5Gc) or OH(Kdn). In the case of NH₂ it is neuraminic acid, which does not exist as free monosaccharide. The hydroxyls of C-4, C-7, C-8 and C-9 can be esterified with acetyl groups, the hydroxyl of C-8 methylated or sulfated, and the hydroxyl at C-9 lactylated or phosphorylated. For a list of all known natural Sia also showing the combinations of these different substituents in the sialic acids from natural sources as well as unsaturated and anhydro derivatives. See Ref. 3. Some of these Sia are denominated in Table I.

Table 1. Sialic acid species found in the glycoconjugates of man and the starfish *Asterias rubens*[3]

| Name | Abbreviation | Source |
|--|---------------------------|------------------------|
| <i>N</i> -Acetylneuraminic acid | Neu5Ac ^a | man |
| <i>N</i> -Acetyl-7- <i>O</i> -acetylneuraminic acid | Neu5,7Ac ₂ | man |
| <i>N</i> -Acetyl-9- <i>O</i> -acetylneuraminic acid | Neu5,9Ac ₂ | man |
| <i>N</i> -Acetyl-7,9-di- <i>O</i> -acetylneuraminic acid | Neu5,7,9Ac ₃ | man |
| <i>N</i> -Acetyl-9- <i>O</i> -L-lactylneuraminic acid | Neu5Ac9Lt | man |
| <i>N</i> -Acetyl-8- <i>O</i> -methylneuraminic acid | Neu5Ac8Me | starfish |
| <i>N</i> -Acetyl-9- <i>O</i> -acetyl-8- <i>O</i> -methylneuraminic acid | Neu5,9Ac ₂ 8Me | starfish |
| <i>N</i> -Glycolyneuraminic acid | Neu5Gc | starfish, human tumors |
| <i>N</i> -Glycolyl-8- <i>O</i> -methylneuraminic acid | Neu5Gc8Me | starfish |
| 9- <i>O</i> -Acetyl- <i>N</i> -glycolyl-8- <i>O</i> -methylneuraminic acid | Neu9Ac5Gc8Me | starfish |

^aWith regard to the nomenclature of the abbreviations it has to be considered that the amino group of neuraminic acid is at C-5.

mucin중에는 15종류의 시알산이 발견되고 있고 그 대부분이 측쇄에 *O*-아세틸화 외에도 *N*-아세틸화, *N*-글리코릴화와 더불어 9-*O*-lactyl화도 되어 있다. 한편 사람에서는 시알산 종류가 매우 적는데 Neu5Ac가 일반적이고 그 다음이 Neu5, 9Ac₂이다(Table 1). 놀랍게도 불가사리 *Asterias rubens*와 같은 극피동물로부터도 매우 많은 시알산종이 알려져 있고 그 중의 몇 개는 Neu5Ac, Neu5Gc, *O*-아세틸체 등으로 고등동물에서 잘 알려져 있는 단당도 포함되어 있지만, 높은 확률로 이들 시알산은 8-*O*-메틸화되어 있으며[3], 흥미롭게도 다른 생물에서 이러한 수식은 지금까지 발견되고 있지 않으므로 진화과정에서 8-*O*-메틸화는 보존되어 있지 않은 것 같다. 8-*O*-메틸화된 시알산과는 달리 Neu5Ac나 *O*-아세틸화된 시알산은 이미 언급한 것처럼 극피동물 뿐만 아니라 고등동물중에서 빈번히 발견되고 있으므로 이것은 극피동물이 처음 출현했다고 여겨지는 적어도 500만년 전에 이러한 시알산분자종을 합성하는 효소가 처음 출현한 것을 의미한다. 또한 시알산은 극피동물보다도 하등한 동물에서는 항상 발견되지 않으므로 Neu5Ac도 이 무렵 처음으로 합성된 것이라는 가정이 있지만, 초파리의 배형성중의 짧은 시간에 Neu5Ac가 발현되고 있다는 사실은[9] 이 가정에 반대되고 있다. 따라서 극피동물보다 하등한 동물에서 시알산을 찾는 것은 가치있는 일이며 몇 종류의 미생물중에서 시알산이 발견되고 있는 것은 이들 세포가 동물과는 다른 시알산 생산기구를 발달시켜 온 것인지 아니면 고등동물의 전신인가 하는 의문도 생길 수 있지만 미생물은 시알산을 얻기 위하여 다른 방법도 진화시켜 오고 있다. 어떤 것은 동물과 동일한 방법으로 시알산을 합성하고 있지만[5], *Neisseria meningitidis*와 같은 미생물은 숙주의 CMP-Neu5Ac로부터 시알산을 얻고 있고 자기 자신은 시알산전효소만을 합성하고 있다[10]. 또한 미국이나 아프리카의 편모충인 트리파노소마는 transsialidase활성에 의해 글리코시드 결합한 시알산을 숙주로부터 얻는 것이 알려져 있다[11, 12]. 이러한 미생물이 자연적으로 일어난 유전자 전이에 의해 시알산대사에 관여하는 효소를 숙주로부터 획득한 것인지 어떤지는 아직 명확하지 않지만 동물

과 때로는 병원성 미생물간에 1차구조가 유사한 시알산분해효소에 대해서는 증거가 모여지고 있다[13].

시알산의 일반적인 생물학적 기능

시알산은 세포에서 주로 세포외막(세포표면)에 존재하고 있기 때문에 다른 세포표면분자나, 세포간 기질, 호르몬과 같은 effector분자와 상호작용하는 것을 생각한다면 왜 그렇게 많은 시알산분자종이 존재하는가를 이해할 수 있다. 세포표면에서 시알산은 당단백질, 당지질에 큰 화학적 구조의 다양성을 부여하고, 그 조성은 세포특이적인 것 같으므로 세포의 “화장(make-up)”의 역할을 연출하고 있는 것 같으며, 이 다양성은 시알산분자 자신의 수식에 의해 더욱더 증가하여 그 결과 시알산 함유 복합당질의 생물학적 다양성이 생긴다. 이와 같이 세포정보전달을 위해 복잡한 「문장」이나 「언어」가 탄생되고 시알산 수식이 세포의 행동을 미묘하게 조절하고 있을 것으로 생각되고 있으며, 단백질의 아미노산 배열이나 핵산의 염기서열 등과는 달리 글리칸 구조는 종종 분지(branching)되기 때문에 Kasai와 Hirabayashi는 이러한 당의 특성을 「복잡한 한자」로 비유하고 있다[14].

지금까지 알려져 있는 시알산의 기본적인 생물학적 기능은 Table 2에 나타내었는데, 각각의 시알산 치환기의 생물학적 역할에 대해서는 참고문헌 1-3에 요약되어 있다. 시알산이 나타내고 있는 기능중에서 가장 근본적인 특징으로서는 다른 당분자와는 달리 음전하를 띠고 있으며 부피가 큰 구조를 가지고 있다는 점이지만 특이적인 기능에 대해서는 점차적으로 해

Table 2. Basic biological functions of sialic acids

| |
|--|
| Function due to the negative charge |
| Influence on the structure of macromolecules |
| Protection from enzymatic attack |
| Influence on the specificity of antigens |
| Representation of recognition sites |
| Anti-recognition (masking) effect |

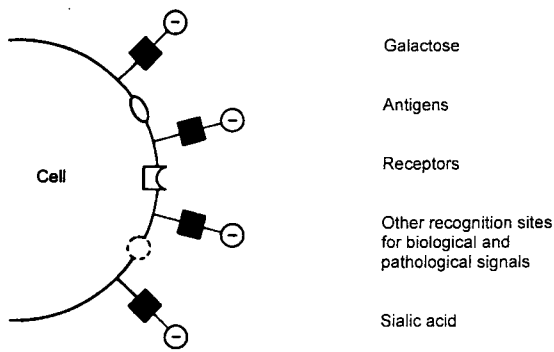


Fig. 2. Model of the masking effect of membrane-bound sialic acids on biological recognition sites.

명되고 있다. 시알산은 생물학적 인식을 방해하는 mask로서 중요한 역할을 하고 있는 반면 반대로 시알산 자신이 인식부위를 형성하고 있는 것으로 널리 알려져 있는데[15, 16], 아래에 언급하는 것처럼 시알산의 수식에서 생각해 보면 masking 기능과 수용체 기능을 정반대의 기능으로 변환할 수 있다. 예를 들면, O-아세틸화는 시알산이 인플루엔자 A바이러스나 B바이러스의 접착과정에서 상대방 수용체로되는 것을 방해하지만[17], C바이러스의 경우에는 이 수식에 의해 반대로 바이러스의 접착을 용이하게 한다[18]. Masking효과에 대해서는 시알산이 글리칸쇄의 다른당과 협력해서 호르몬 수용체나 항원의 생물학적 인식부위를 mask하는데, Fig. 2에 나타난 바와 같이 보다 일반적인 경우와 갈락토스 잔기나 N-아세틸락토사민 잔기를 특이적으로 보호하는 경우와를 구별해서 생각하는 편이 좋을 것이다. 전자의 보다 일반적인 경우는 시알산을 시알산분해효소반응으로 제거하면 분자가 세포표면에 접근하기 쉽게 되거나 항원성이 증가하지만, 후자의 경우에는 노출된 갈락토스가 갈락토스를 인식하는 수용체와 상호작용할 수 있게 되어 계속해서 분자와 세포의 결합이 일어나게 된다. 전자의 예로서는 태반의 합포체 영양세포막에 밀집되어 있는 시알산

층이 모체의 면역시스템의 공격으로부터 태아를 보호하고 있으며[20, 21], 병원성 미생물유래의 시알산분해효소의 작용으로 세포표면의 시알산을 제거하면 사구체 신염과같은 자기면역 질환이 생길 수도 있고[19], 어떤 종양세포는 과잉의 시알산 부가에 의해 세포표면을 보호하고 있다는 것도 추정되고 있다. 한편, 후자의 예로서는 Fig. 3에 나타난 바와 같이 시알산분해효소 처리에 의해 적혈구, 임파구, 혈소판이 마크로파지의 수용체에 결합하여 때로는 phagocytosis에 의해 제거되거나[2, 23], 탈시알산화된 당단백질이 간세포상의 갈락토스 인식수용체와 결합한다는 것이 잘 알려져 있는데[22] 이러한 발견은 동물세포에는 갈락토스 특이적 수용체가 광범위하게 존재하고 있다는 인식을 한층 더 깊게하고 있다[16, 24]. 따라서, 갈락토스를 통한 분자와 세포의 접촉은 갈락토스잔기의 시알산 부가에 의해 조절되고 있다는 것이 알려져 있고[16, 21], 이와 같은 가역반응은 임파구에서도 볼 수 있는데, 임파구는 시알산분해효소를 처리하면 마크로파지에 결합하지만 수시간 지나면 시알산의 재부가에 의해 마크로파지로부터 떨어져 나온다[25]. 또한 이러한 가역반응은 배형성기나 종양세포의 확산을 포함한 다른 생물과정에도 필요한 것으로 생각되고 있다.

시알산의 수식은 세포의 상호작용을 방해하는 것으로 알려

Table 3. Cells, viruses and biologically active molecules containing or representing sialic acid-binding proteins[1-3, 16]

| |
|------------------|
| Vertebrate cells |
| Protozoa |
| Bacteria |
| Mycoplasma |
| Viruses |
| Hormones |
| Toxins |
| Lectins |
| Enzymes |
| Antibodies |

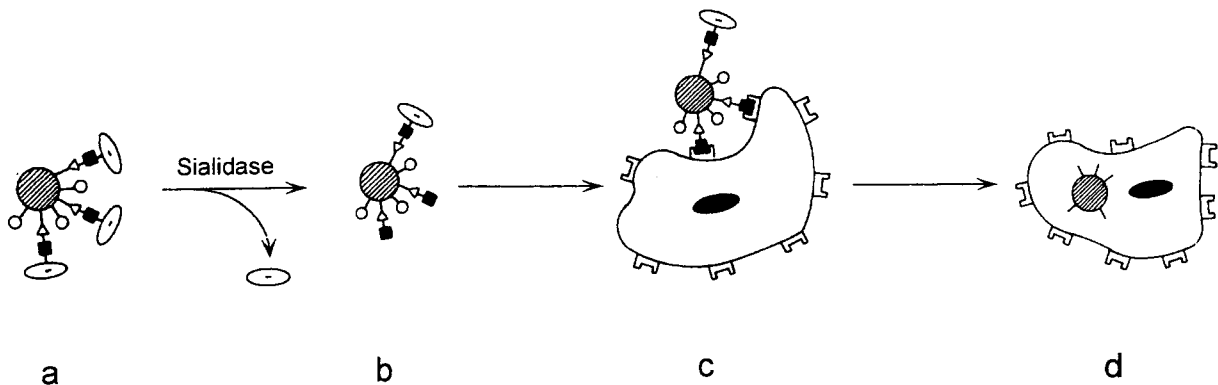


Fig. 3. Galactose-mediated binding and phagocytosis of sialidase-treated erythrocytes by macrophages. a, native erythrocyte; b, sialidase-treated cell with demasked galactose residues; c, binding; and d, phagocytosis of the erythrocyte. This model can also be applied to other blood cells, including cancer cells. ⊖, sialic acid; ■, galactose residues; ○, △, other monosaccharides of the glycan chains; □, galactose-binding receptor on the macrophage surface.

Table 4. Occurrence and glycan specificity of members of the sialoadhesin family

| Adhesin | Occurrence | Function as evidenced by gene knock out | Glycan specificity (counter receptor) |
|--------------------------------------|---|---|--|
| Sialoadhesin(Sn) | Tissue macrophages | Unknown | Neu5Ac α 2,3Gal |
| Myelin-associated glycoprotein (MAG) | Myelinating cells(oligodendrocytes and Schwann cells) | Organisation of myelin, regulation of neurite outgrowth[27, 28] | |
| Schwann cell myelin protein (SMP) | Myelinating cells | Unknown | Neu5Ac α 2,3Gal |
| CD33 | Myeloid precursor cells, monocytes | Unknown | Neu5Ac α 2,3Gal |
| CD22 | Immature and mature B cells | Modulation of B cell-dependent response[29-31] | Sia α 2,6Gal(human) Neu5Gc α 2,6Gal(murine) |

져 있는데 *O*-아세틸화나 *N*-아세틸수산화는 시알산분해효소의 작용을 방해하여 글리칸이 갈락토스 수용체와 상호작용하는 것을 저해하는데 이러한 기구에 의해서 적혈구의 수명이 보다 길어진다[26]. 인식부위, 상대방수용체 혹은 수용체 단백질의 리간드로서 작용하는 시알산에 대해서는 Table 3에 나타내고 있으며, 이에 관한 보고는 급속하게 증가하고 있다[1-3, 15, 16]. 어떤종의 바이러스나 하등 동물유래의 단백질이 시알산에 결합하는 것은 전부터 알려져 왔지만 최근 척추동물 중에서도 그와 같은 수용체가 발견되어 sialoadhesin family로 명명되었다. Sialoadhesin family를 존재부위와 인식하는 sialoglycan의 특이성 및 기능에 따라 Table 4에 나타내었다. 이중에서 면역글로블린 superfamily에 속하는 sialoadhesin의 유전자수준에서의 연구와 시알산 결합에 필요한 아미노산의 연구 및 sialoadhesin의 특성에 관해서는 참고문헌 15와 16에 상세히 설명되어 있다. 한편, 시알산의 상대방 수용체 기능에 대해서는 시알산의 구조변화가 매우 큰 영향을 미치는데 Neu5Ac의 *O*-아세틸화와 *N*-아세틸수산화는 시알산분해효소나 엔도글리코시다제와 같은 분해효소의 작용을 받기 어렵게 할 뿐만 아니라 상호작용에 대한 새로운 특이성을 부여하여 새로운 항원성을 만들어 내거나 Neu5Ac의 수용체의 결합력을 약하게 하거나 잃어버리게 한다.

시알산의 *O*-아세틸화의 역할

O-아세틸화에는 2종류가 있는데, 한종류는 피라노스환의 4번 위치에서 일어나고, 다른 한종류는 글리세롤 측쇄에서 일어난다. 이러한 수식의 생합성에 대해서는 지금까지 acetyl CoA:sialic acid-4-*O*-acetyltransferase와 7(9)-*O*-acetyltransferase의 2종류의 효소가 알려져 있는데, 4-*O*-아세틸화는 horse, donkey, guinea pig, echidna(*Tachyglossus aculeatus*), *Tribolodon hakonensis*에서만 발견되고 있기 때문에[1-4, 32], acetyl CoA:sialic acid-4-*O*-acetyltransferase는 드문 효소인 것 같다. 반대로 측쇄에서 일어나는 *O*-아세틸화는 동물계에서

는 극피동물에서 인간에 이르기까지 많은 종에서 발견되기 때문에[1-4], 7(9)-*O*-acetyltransferase는 일반적으로 존재하는 효소인 것 같다. 한편 이러한 2종류의 *O*-아세틸화 일부 박테리아의 복합당질에도 존재하고 있다. 시알산 함유 복합당질의 분리나 글코시드 결합형 또는 유리형에 존재하는 불안정한 시알산의 해석기술이 개량되어 오고 있기 때문에[33] 이러한 에스테르화되어 있는 시알산을 가진 물질은 앞으로도 많이 발견될 것이다. 당단백질이나 강글리오시드의 정제과정 및 약산이나 시알산분해효소를 이용한 글리코시드결합으로부터 시알산을 유리시키는 과정과 유리시알산을 해석하기 전의 정제과정에서 에스테르기가 소실되는 것은 여러조직에서 흔히 존재하고 있는 시알산 특이적인 4-*O*-acetyltransferase나 9-*O*-acetyltransferase의 작용에 때문일 가능성이 크다[1-3, 34]. 이러한 문제는 조직이나 분리한 복합당질중에서 *O*-아세틸화된 시알산을 직접적으로 아주 민감하게 검출하는 것으로 해결될 수 있다고 생각되지만, 현재로서는 intact 인플루엔자 C바이러스[33, 36]나 바이러스 표면단백질에서 에스테라제 활성을 가진 hemagglutinin의 활성부위와 인간의 IgG의 Fc부분으로 이루어진 chimera를 사용함으로써 가능한 것으로 알려져 있다 [37]. *O*-아세틸화된 시알산 복합당질에 결합한 바이러스나 chimera는 에스테라제 활성이나 항체에 의해 가시화되기 때문에 이 방법에 의해 여러 동물이나 사람의 점막 및 내피층에서 *O*-아세틸화된 시알산의 존재를 확인할 수 있었으므로 이러한 기술을 모두 적용한다면 *O*-아세틸시알산이나 상응하는 효소계의 존재를 조사하는 것이 가능하게 되고 시알산 수식의 생물학적, 병리생화학적 역할을 이해할 수 있을 것이다.

4-*O*-아세틸화의 생리적 역할에 대해서는 말(horse)의 당단백질이나 echidna 유종의 올리고당을 이용해서 처음으로 연구되었는데, 이 수식에 의해 시알산 복합당질이 거의 모든 시알산분해효소에 대해 완전히 내성을 나타내게 된다는 사실만이 알려져 있고[5], 인플루엔자 바이러스의 시알산분해효소만이 다른 시알산분해효소와는 달리 4-*O*-아세틸기가 적합하는 포켓을 활성중심에 가지고 있어 *N*-아세틸-4-*O*-아세틸뉴라민산

(Neu4,5Ac₂)의 글리코시드 결합을 천천히 가수분해 할 수 있으며[38], 시알산 리아제에 의한 분해도 이 수식에 의해 저해된다[39]. 이러한 현상의 기능은 4-O-아세틸시알산을 가진 복합당질을 대사적으로 안정화시키는 것이므로 일반적으로 리소솜의 시알산분해효소에 의해 일어나는 이러한 분자들의 이화 작용에는 4-O-아세틸기를 제거하기 위한 에스테라제가 필요하게 된다. 예를 들면, 말(horse)의 간장중에 존재하는 이러한 효소는 Neu4,5Ac₂는 우선적으로 가수분해하지만 Neu5, 9Ac₂는 천천히 가수분해한다[2, 3].

측쇄의 O-아세틸화에 대해서는 보다 많은 데이터가 얻어져 있는데 가장 중요한 생물학적 기능은 Table 5에 나타내고 있다. 측쇄의 3개의 수산기는 그중 1개 또는 2개 그리고 3개 모두 아세틸화될 수 있는 후보이기 때문에 mono아세틸시알산으로부터 tri아세틸시알산까지의 모두에 대해서 특이적인 기능을 명확하게 하는 것은 어려운 일이지만[3], 가장 잘 발견되는 O-아세틸유도체인 Neu5,9Ac₂에 대해서는 확실하게 알려져 있다. 예를 들면, O-아세틸화 진행에 따라서 복합당질에 대한 시알산분해효소나 리아제의 작용이 약 70% 정도 저하하거나 혹은 mono-O-아세틸시알산만을 인식하는 인플루엔자 C바이러스에서 발견되는 것과 같이[36] Neu5,9Ac₂과 수용체와의 상호작용이 저해되는 것처럼 O-아세틸화가 진행되면 9-O-아세틸화의 효과가 저하하는 가능성이 있다. 또한 O-아세틸화가 고도로 일어나면 당단백질이나 강글리오시드가 세포막의 구조나 세포의 정보전달에 중요한 당부분에 대해서는 더욱더 소수성으로 되는 것으로 생각되고 있다.

시알산 분해가 지연되면 측쇄가 O-아세틸화된 시알산을 가진 복합당질이나 세포의 수명이 보다 길어지고, 이러한 O-아세틸화가 순환중의 적혈구 수명을 연장시킬 뿐만 아니라[26], 또한 O-아세틸기는 박테리아의 시알산분해효소나 다른 분해효소로부터 결장의 점막을 보호하는 것으로 생각되어진다[19]. 아프리카의 편모충인 트리파노소마 유래의 trans-sialidase도 O-아세틸시알산에 대해서 활성이 저하하고[40], 거의 Neu5Ac만 함유되어 있는 tse-tse fly의 피(blood)를 먹이로 하고 있는 경우와 비교하면 O-아세틸시알산을 가진 숙주의 경우 트리파노소마의 표면은 숙주의 복합당질로부터 보다 늦은 속도로 사알산화되기 때문에 O-아세틸시알산은 트리파노소마의 독성을

Table 5. Biological significance of sialic acid O-acetyl groups

| |
|---|
| Slower activity of sialidases, trans-sialidase and sialate lyases |
| Hindering the binding of sialic acids to their receptors |
| Providing epitopes for the binding of viruses |
| Modulation of the virulence of microorganisms |
| Representing differentiation antigens and influencing morphogenesis |
| Representing tumor-associated antigens |
| Role in immunology |

생물산업

약하게 하는 것으로 생각되어진다. 이것은 적혈구 중에 Neu5,9Ac₂를 가진 Ndama소가 거의 치환되어 있지 않은 Neu5Ac만을 가진 Zebu소보다도 *Trypanosoma brucei*에 잘 감염되지 않는다는 이유가 될 수도 있다[41].

시알산의 O-아세틸화가 분자간, 세포간 접착의 강한 조절인자라는 증거가 많이 축적되고 있고, 3개의 sialoadhesins, 미엘린결합형 당단백질(MAG), 마크로파지 sialoadhesin, CD22는 모두 시알산이 9-O-아세틸화되면 시알산과의 결합이 저해되는 것으로 *in vitro* 연구에서 밝혀졌다[15, 16, 42, 43]. 또한 임파구는 Neu5,9Ac₂를 가지고 있기 때문에 이것이 CD22 수용체를 매개로 하는 B임파구와 T임파구 상호작용의 조절에 의한 면역응답에 영향을 미칠 가능성도 있다. 치환되어 있지 않은 Neu5Ac와 Neu5Gc만을 인식하는 인플루엔자A 바이러스나 B 바이러스의 hemagglutinin에 의한 sialo글리칸과의 결합에 있어서 O-아세틸화에 의한 항접착작용이 관찰되었고[17], 반대로 인플루엔자C 바이러스는 다른 몇 종류의 바이러스와 마찬가지로 Neu5,9Ac₂만을 인식하므로 그것이 인간의 호흡계에 있어서 인플루엔자C 바이러스에 의한 감염기구에 결정적인 역할을 하고 있는 것으로 생각되고 있다[18, 44]. 코점막의 mucin에서도 O-아세틸시알산의 존재가 보고되어 있고[3], 다른 뚜렷한 현상으로서 9-O-아세틸화에 의해 마우스의 적혈구가 말라리아에 감염되지 않는다는 사실도 알려져 있다[45]. O-아세틸시알산을 필요로 하는 기작을 알려져 있지 않지만 분화항원 혹은 종양관련 항원일 수도 있고, O-아세틸화의 현저한 변화는 닭의 적혈구[46]나 소의 약하선[47]의 발생단계에서 발견되고 있으며, 마우스의 배(embryo)에 Neu5,9Ac₂을 파괴하는 에스테라제를 도입하면 마우스의 성장이 저해되었다[48]. 말단에 Neu5,9Ac₂잔기를 가진 강글리오시드 GD3는 신경성장(neurite growth)이나 분지(branching)를 자극하는 것으로 알려져 있는데[49], 이 강글리오시드는 정상적인 피부에 비해 사람의 피부암인 melanoma[50]와 basalioma[51]중에서 함량이 증가하는 것으로 확인되어 있지만, melanoma세포의 항원성의 증가를 제외하면 GD3 함량의 증가가 종양세포의 생체에 영향을 미치는가는 아직 알려져 있지 않다. 한편, 악성으로 전이성이 높은 인간 대장암유래의 mucin에서는 O-아세틸화의 정도가 감소하고 있고[52, 53], 인간, 소, 말, 송어에서 발견되는 N-acetyl-9-O-L-lactylneuraminic acid (Neu5Ac9Lt)[3, 4]의 중요성에 대해서는 전혀 알려져 있지 않다.

시알산 N-아세틸기의 수산화의 역할

N-글리코틸뉴라민산(Neu5Gc)은 극피동물로부터 영장류에 이르기까지 많은 고등동물에서 발견되고 있지만 정상적인 인간 조직에는 존재하지 않고, 박테리아에서도 발견되지 않고 있다. 시알산 분획중에서 Neu5Gc를 가장 높은 비율로 가지고

Table 6. Biological significance of *N*-glycolylneuraminic acid

| |
|--|
| Slower activity of sialidases and sialate lyases |
| Modulation of sialic acid receptor interactions |
| Dog and cat blood group determinants |
| Tumor-associated antigen |
| Differentiation marker |

있으며 상세하게 조사된 동물은 불가사리 *Asterias rubens*와 돼지이고 Neu5Gc의 생물학적 역할에 대한 연구결과는 급속도로 증가하고 있다(Table 6). *O*-아세틸화와 마찬가지로 *N*-아세틸기에 산소분자가 도입되면 시알산분해효소나 시알산 리아제의 작용이 저해되어 시알산 함유 복합당질의 수명이 연장된다. Neu5Gc는 sialoadhesin과의 결합 저해작용과 같은 수용체 생물학의 강한 modulator로서 알려져 있는데[42, 43], 가장 놀라운 것은 인간 CD22가 Neu5Ac를 인식하는데 반해 마우스 CD22는 Neu5Gc를 가장 잘 인식하며, 고양이나 개에서 Neu5Gc가 혈액형 결정자인 것이 밝혀져 있다[54]. 글리코시드 결합중에서 Neu5Gc의 중요한 기능은 특히 인간에 있어서 종양관련 항원과 발생단계의 marker로서 작용하는 것으로 생각되고 있는데[1-3], 소의 태아에서는 Neu5Gc의 상대량이나 절대량이 어른소에 비해 보다 적은 것으로 알려져 있는 반면[47], 돼지의 소장에서는 반대의 현상이 발견되었다[55]. 이러한 변화에 대한 구체적인 기작에 대해서는 아직 설명할 수 없지만 배형성기 동안 복합당질과 수용체 단백질과의 상호작용에 관여하여 조직이 성장하는 동안에 세포를 이동시키거나 역으로 세포의 이동을 정지시키거나 하는 기능이 존재할 것으로 생각되고 있다.

시알산의 *O*-메틸화와 *O*-황산화의 역할

현재까지 8번 위치에 메틸화된 시알산은 Neu5Gc를 많이 가지고 있는 불가사리 *Asterias rubens*에서 가장 상세하게 연구되어 있고, 극피동물에서만 발견되어 있다. 이러한 메틸기의 중요성에 대해서는 복합당질 유래의 메틸화된 시알산에 대한 시알산분해효소의 작용이 저해되는 것이 관찰되고 있으나, 이러한 화학적 수식이 극피동물에서만 존재하는 특별한 시알산 생합성에 영향을 미치고 있는 것으로 생각되고 있다. 예를 들면, 강글리오시드의 분지한 당쇄[4, 56]나 Neu5Gc8Me 잔기가

N-글리코틸기를 통해서 서로 α -글리코시드결합을 하고 있는 (Fig. 4) 유리 올리고당, 혹은 강글리오시드나 당단백질에 결합한 올리고당 등이 있다[57-59]. 각종 불가사리나 성게에서 검출되는 시알산의 이러한 올리고머화는 잘 알려져 있는 α -2,8결합의 polysialic acid의 형성이 8번 위치의 *O*-메틸화에 의해 저해되는 것을 대체할 수 있는 가능성도 있다.

시알산의 *O*-황산화도 성게와 같은 극피동물에서만 동정되어 있는데[3, 4], 이러한 시알산 변화에 대해서 2가지 기능이 알려져 있다[59, 60]. 첫째는 *N*-아세틸- 혹은 *N*-글리코틸-8-*O*-sulfoneuraminic acid(Neu5Ac8S, Neu5Gc8S)가 성게 정모세포 또는 난세포종의 복합당질의 신장과정 중에서 올리고시알산쇄에 삽입됨으로서 글리칸의 계속적인 신장이 정지되는 것이고, 둘째는 이러한 수식이 시알산 잔기간의 락톤형성을 용이하게 한다는 것이다. Table 1에 나타난 것과 같이 특히 9-*O*-아세틸기를 함유하면 극피동물은 이미 놀랄울 정도로 많은 시알산종을 가지고 있다. 이러한 종의 동물의 특징이라고 생각되지만 일반적으로 시알산을 새롭게 만들어 낸다는 것은 더구나 서로 다른 종류의 시알산을 새롭게 만들어 내는 것과 동시에 복합당질의 구조를 다양화시켜 보다 고등한 동물로의 진화나 생명의 질을 향상시키는 것과 연관성이 있을 수 있다고 가정된다.

시알산 대사

시알산의 대사에 대해서 Fig. 5에 나타난 바와 같이 간략하게 설명하면 세포질에서 다단계의 반응을 거쳐 글루코스로부터 Neu5Ac가 합성된 후, Neu5Ac의 글리코시드 결합이 CTP에 의해 핵내에서 활성화되어 translocator를 통해서 세포질에서 골지체막 내강에 수송된 다음 시알산전이효소에 의해 성장하고 있는 당단백질이나 당지질에 전이된다[61]. 이 과정중에 수산화는 CMP-NeuAc수준에서 수송이나 전이되기 전에 일어나지만, 4번위치나 측쇄의 *O*-아세틸화는 쥐의 간장[1, 62], 소의 약하선[63]에서 연구되어 있는 바와 같이 골지체내에서 글리코시드 결합한 시알산수준에서 일어나는 것 같다. 지금까지 제창되어진 가설[64]이나 인용되고 있는 실험에 의하면 측쇄의 *O*-아세틸화에 대해서는 다음과 같은 기작이 생각되어 지는데, 즉 아세틸CoA유래의 첫번째의 아세틸기가 처음 7번 위치

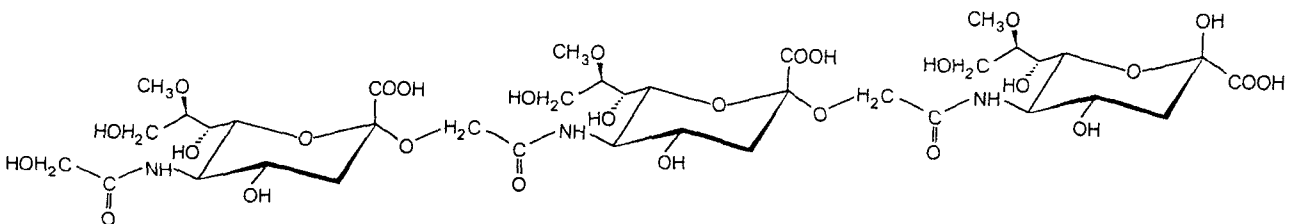


Fig. 4. Structure of a Neu5Gc8Me trisaccharide from *Asterias rubens*.

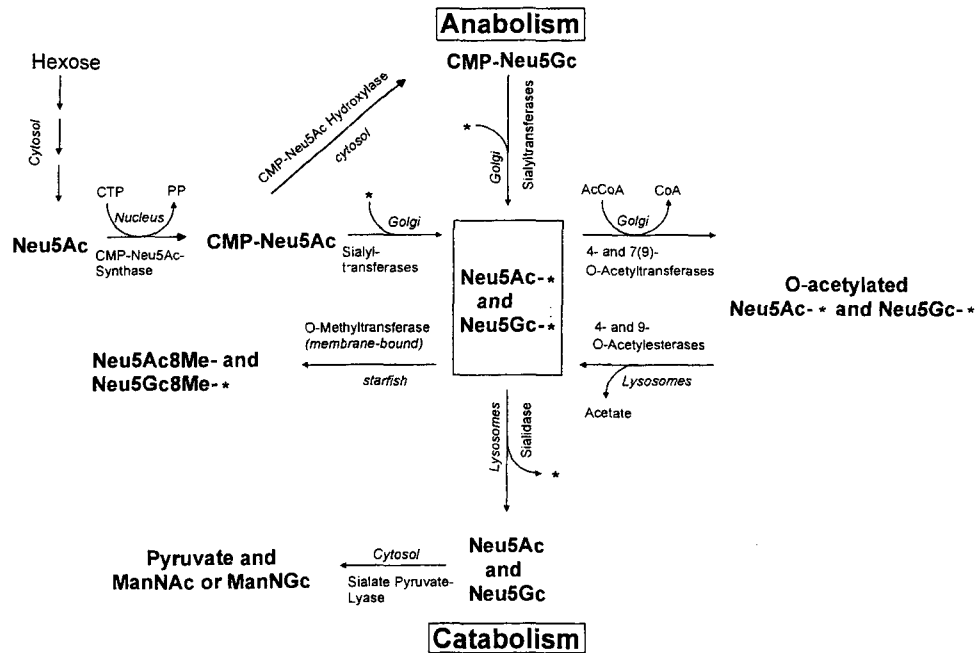


Fig. 5. Enzyme reactions of the metabolism of sialic acids. For details of the nomenclature, occurrence, specificity, and reaction mechanisms of these anabolic and catabolic enzymes see Refs. 1-3, 5. The scheme does not contain the hypothetical sialate 8-*O*-sulfotransferase and 9-*O*-lactyltransferase supposed to exist in sea urchins and horse liver, respectively(see the text). *, nascent glycoprotein or glycolipid molecule accepting sialic acid.

에 삽입된 다음 9번 위치로 이동하고 계속해서 두 번째의 아세틸기가 7번 위치에 삽입된 다음 8번 위치로 이동하며 마지막으로 세 번째의 아세틸기가 7번 위치에 들어가는 이러한 기작에 의해 소의 악하선에서 발견되는 tri-*O*-아세틸시알산이 만들어 질 수 있다. 그러나 시알산축체에 특이적인 여러 종류의 *O*-아세틸전이효소의 존재도 무시할 수 없는데, 물고기의 복합당질중에 9-*O*-아세틸화 Kdn가 발견되어 있기 때문에[65], 여러 종에서 더 많은 *O*-아세틸전이효소가 존재할 가능성도 있다. 또한 불가사리에서도 유리된 형태 혹은 글리코시드 결합형태의 시알산이 막에 결합된 특이적인 *O*-메틸전이효소에 의해 *O*-메틸화된다고 하는 증거도 있다. 황산에스테르를 시알산에 도입하는 효소에 대해서는 아직 알려져 있지 않고 Neu5Ac9Lt의 형성은 말의 간장분획에서 발견되어 있지만 그 생성기작이나 lactyl기의 공여체에 대해서도 알려져 있지 않다[66].

복잡한 당에 결합하고 있는 시알산의 이화작용에 대해서 말하자면, 위에서 언급된 치환기들은 글리코시드 결합으로부터 유리된 시알산을 분해하여 피루브산과 아실만노사민의 생성에 관여하는 리아제(세포질에 존재)와 동물세포내의 리소솜에 존재하거나 종종 미생물 및 바이러스에서 발견되는 시알산분해효소의 작용을 저해하는데, 이러한 효소들의 존재위치, 효소생화학적 및 분자유전학적 특성은 이미 잘 알려져 있다[2, 3, 5, 13]. 따라서 시알산 치환기들은 이러한 효소들의 작용을 저해하기 때문에 치환기들이 사전에 유리되어진다면 이화작용경로에 유리할 것으로 생각되어 지는데, 이러한 것으로 리소솜에

생물산업

존재하는 에스테라제에 의한 *O*-아세틸기의 가수분해가 알려져 있다. 시알산-9-*O*-아세틸에스테라제는 인플루엔자 C 바이러스를 포함하여 광범위하게 존재하는 데 반해, 4-*O*-아세틸에스테라제는 지금까지 말의 간장에서만 발견되어 있고(2, 34), 4-*O*-아세틸시알산의 분해에서 시알산분해효소나 리아제의 작용이 가능하도록 해 주는 것 같다.

시알산 대사에 관여하는 이들 효소중 일부에 대해서만 알려져 있지만[2, 3, 67, 68], 모두가 균일하게 정제되어 그들의 1차구조 뿐 만 아니라 발현조절에 관해서도 잘 알려져 있지 않기 때문에 특히 발현조절에 관한 많은 정보가 얻어진다면 세포생물학에 있어서 시알산과 그 수식의 역할에 대해 잘 이해할 수 있을 것이다. 예를 들면, 위에서 언급한 s:aloadhesin family와 시알산과의 상호작용에 대한 시알산 치환기의 영향에서와 같이[15, 16, 42, 43], 시알산 대사에 관한 동화효소와 이화효소 모두 이들 adhesin에 의한 여러 가지 세포의 상호작용에 강하게 영향을 미치고 있는 것은 명확한 것 같다. CD22는 면역학적으로 중요성을 가지고 있는데 예를 들면, 시알산전이효소 활성화는 세포표면을 고도로 시알산화 시킴으로서 상호작용하는 힘을 positive하게 제어하는데 반해 시알산분해효소는 정보전달을 negative하게 제어하는 것 같고, 수산화, *O*-아세틸화, 탈 *O*-아세틸화는 상호작용의 힘을 질적 및 양적으로 조절하고 있을 가능성이 있다. 따라서, 이들 효소활성에 이상이 생기면 생리적 현상에 장애가 일어나 여러 질병이 발생하는 것으로 생각되고 있다. 시알산은 세포표면의 글리칸 chain

상에서 거의 노출되어 있으므로 세포주변 분자와의 상호작용에 가장 밀접하게 관련되어 있기 때문에 시알산의 화학적 수식에 의한 세포정보전달의 미세한 조절이 발생단계중의 생물이나 성숙된 생물에 있어서 세포와 조직간의 협동작용의 많은 과정에 관여하고 있다. 또한 병원성 미생물도 이러한 상호작용을 이용하고 있다는 사실들이 잘 알려져 있는데, 소의 악하선 mucin에서 발견되는 15종류의 시알산종의 다양성은 수많은 종의 소장 미생물과 점막 상피세포와의 접착을 촉진 또는 저해하는 등의 조절에 있어서 중요성을 잘 나타내고 있는 것 같고, 인간의 초유중에 고농도로 존재하는 O-아세틸시알산은 신생아의 소장에서 병원성의 박테리아나 바이러스가 기생하여 증식할 수 없도록 하는 항독성인자로서 작용하는 것으로 생각되고 있다[68].

결언

N-아세틸뉴라민산은 여러 가지 효소에 의한 많은 구조적 수식에 의해 다수의 시알산 분자종으로 이루어진 일대의 family가 형성되어 있다. 그들 중 대부분은 극피동물이후의 진화과정에서 보존되어 있고, N-아세틸기의 수산화나 O-아세틸화 같은 수식은 시알산 함유 복합당질(sialoglycoconjugates)구조의 다양성을 증가시켜 다채로운 생물학적 또는 병태생리학적 역할에 관여한다. 본고에서는 sialobiology와 sialopathology의 분야에서 가장 중요한 기능에 관하여 많은 데이터중에서 3가지 정도의 예를 들어 설명하였고, 동시에 앞으로 해결해야 할 문제에 대해서도 언급하였다. 그 중에는 동물이나 사람에서의 발생단계, 성숙단계, 노화단계, 악성종양세포, 조직에 있어서 다른 시알산의 분포나, 미생물종 또는 동물종에 있어서 시알산종의 차이에 대한 아직 미지의 문제도 포함되어 있다. 시알산 수식을 완전히 이해하기 위해서는 이러한 수식과정에 필요한 효소들의 특성과 이들 효소의 유전자 수준에서의 조절기구를 규명할 필요가 있으며, 이에 대한 연구가 활발히 전개되고 있다.

참고문헌

1. Varki, A. 1992. *Glycobiology* **2**: 24-40.
2. Schauer, R., S. Kelm, G. Reuter, P. Roggentin, and L. Shaw. 1995. in *Biology of the Sialic Acids*, p. 7-67, In: A. Rosenberg(ed.), *New York, Plenum Press*.
3. Schauer, R., and J.P. Kamerling. 1997. in *Glycoproteins*, Vol. 29B, In: J. Montreuil, J.F.G. Vliegthart, and H. Schachter(eds.), *Amsterdam, Elsevier*.
4. Corfield, A.P., and R. Schauer. 1982. in *Sialic Acids*, p. 5-50, In: R. Schauer(ed.), *Wien, Springer*.
5. Corfield, A.P., and R. Schauer. 1982. in *Sialic Acids*, p. 195-261, In: R. Schauer(ed), *Wien, Springer*.
6. Montreuil, J., J.F.G. Vliegthart, and H. Schachter(eds.).

1995. in *Glycoproteins*, *New Comprehensive Biochemistry*, Vol. 29a, *Amsterdam, Elsevier*.
7. von Itzstein, M., W.-Y. Wu, G.B. Kok, M.S. Pegg, J.C. Dyason, B. Jin, T. Van Phan, M.L. Smythe, H.F. White, S.W. Oliver, P.M. Colman, J.N. Varghese, D.M. Tyan, J.M. Woods, R.C. Bethell, V.J. Hotham, J.M. Cameron, and C.R. Penn. 1993. *Nature* **363**: 418-423.
8. Nadano, D., M. Iwasaki, S. Endo, K. Kitajima, S. Inoue, and Y. Inoue. 1986. *J. Biol. Chem.* **261**: 11550-11557.
9. Roth, J., A. Kemp, G. Reuter, R. Schauer, and W.J. Gehring. 1992. *Science* **256**: 673-675.
10. Mandrell, R.E., H. Smith, G.A. Jarvis, J.M. Griffiss, and J.A. Cole. 1993. *Microbial Pathogen* **14**: 307-313.
11. Engstler, M., and R. Schauer. 1993. *Parasitology Today* **9**: 222-225.
12. Engstler, M., R. Schauer, and R. Brun. 1995. *Acta Tropica* **59**: 117-129.
13. Roggentin, P., R. Schauer, L.L. Hoyer, and E.R. Vimr 1993. *Mol. Microbiol.* **9**: 915-921.
14. Kasai, K.-i., and J. Hirabayashi. 1996. *J. Biochem.* **119**: 1-8.
15. Kelm, S.m., R. Schauer, and P.R. Crocker. 1996. *Glycoconjugate J.* **13**: 913-926.
16. Kelm, S., and R. Schauer. 1997. in *Int. Review Cytology*, Vol. 175, p.137-240, In: K.W. Jeon, and J.W. Jarvik(eds.), *San Diego, Academic Press*.
17. Higa, H.H., G.N. Rogers, and J.C. Paulson. 1985. *Virology* **144**: 279-282.
18. Herrler, G., R. Rott, H.-D. Klenk, H.-P. Muller, A.K. Shukla, and R. Schauer. 1985. *EMBO J.* **4**: 1503-1506.
19. Corfield, T. 1992. *Glycobiology* **2**: 509-521.
20. Schauer, R. 1988. *Adv. Exp. Med. Biol.* **228**: 47-72.
21. Schauer, R. 1985. *Trends Biochem. Sci.* **10**: 357-360.
22. Harford, J., R.D. Klausner, and G. Ashwell. 1984. *Biol. Cell.* **51**: 173-179.
23. Schauer, R. 1992. in *Hepatic Endocytosis of Lipids and Proteins*, p. 127-136, In: E. Windler, and H. Greten(eds.), *Munich, W. Zuckschwert Verlag*.
24. Recent Topics on Galectins 1997. *Trends Glycosci. Glycotechnol.* **9**: 1-184.
25. Fischer, C., S. Kelm, B Ruch, and R. Schauer. 1991. *Carbohydr. Res.* **213**: 263-273.
26. Kiehne, K., and R. Schauer. 1992. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **373**: 1117-1123.
27. Ng, W.P., N. Cartel, C.M. Li, J. Roder, and A. Lozano. 1996. *Neuroreport* **7**: 861-864.
28. Schafer, M., M. Fruttiger, D. Montag, M. Schachner, and R. Martini. 1996. *Neuron* **16**: 1107-1113.
29. O'Keefe, T.L., G.T. Williams, S.L. Davies, and M.S. Neuberger. 1996. *Science* **274**: 798-801.
30. Otipoby, K.L., K.B. Andersson, K.E. Draves, S.J. Klaus, A.G. Farr, J.D. Kerner, R.M. Perlmutter, C.L. Law, and

- E.A. Clark, 1996. *Nature* **384**: 634-637.
31. Nitschke, L., R. Carsetti, B. Ocker, G. Kohler, and M.C. Lamers. 1997. *Curr Biol.* **7**: 133-143.
 32. Inoue, S., M. Iwasaki, K. Ishii, K. Kitajima, and Y. Inoue. 1989. *J. Biol. Chem.* **264**: 18520-18526.
 33. Reuter, G., and R. Schauer. 1994. *Methods Enzymol.* **230**: 168-199.
 34. Schauer, R., G. Reuter, and S. Stoll. 1988. *Biochimie* **70**: 1511-1519.
 35. Zimmer, G., T. Suguri, G. Reuter, R.K. Yu, and R. Schauer. 1994. *Glycobiology* **4**: 343-349.
 36. Harms, G., G. Reuter, A.P. Corfield, and R. Schauer 1996. *Glycoconjugate J.* **13**: 621-630.
 37. Klein, A., M. Krishna, and A. Varki. 1994. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**: 7782-7786.
 38. Kleineidam, R.G., K. Furuhashi, H. Ogura, and R. Schauer. 1990. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **371**: 715-719.
 39. Schauer, R., and M. Wember. 1996. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler* **377**: 293-299.
 40. Engstler, M., U. Hubl, and R. Schauer. 1995. *Glycoconjugate J.* **12**: 530.
 41. Esievo, K.A.N., A. Jaye, A.J. Nok, A.I.U. Ukoha, D. Saror, A.A. Ruth, O. Eduvie, and C.O. Njoku. 1990. *J. Comp. Pathol.* **102**: 3557-3610.
 42. Kelm, S., R. Schauer, J.-C. Manuguerra, H.-J. Gross, and P.R. Crocker. 1994. *Glycoconjugate J.* **11**: 576-585.
 43. Kelm, S., A. Pelz, R. Schauer, M.T. Filbin, S. Tang, M.-E. de Bellard, R.L. Schnaar, J.A. Mahoney, A. Hartnell, P. Bradfield, and P.R. Crocker. 1994. *Curr. Biol.* **4**: 965-972.
 44. Rogers, G.N., G. Herrler, J.C. Pauison, and H.-D. Klenk. 1986. *J. Biol. Chem.* **261**: 5947- 5951.
 45. Klotz, F.W., P.A. Orlandi, G. Reuter, S.J. Cohen, J.D. Haynes, R. Schauer, R.J. Howard, P. Palese, and L.H. Miller. 1992. *Mol. Biochem. Parasitol.* **51**: 49-54.
 46. Herrler, G., G. Reuter, R. Rott, H.-D. Klenk, and R. Schauer. 1987. *Biol. Chem. Hoppe-seyler* **368**: 451-454.
 47. Schauer, R., S. Stoll, and G. Reuter. 1991. *Carbohydr. Res.* **213**: 353-359.
 48. Varki, A., F. Hooshmand, S. Diaz, N.M. Varki, and S.M. Hendrick. 1991. *Cell* **65**: 65-74.
 49. Araujo, H., M. Menezes, and R. Mendez-Otero. 1997. *Eur. J. Cell Biol.* **72**: 202-213.
 50. Sjoberg, E.R., A.E. Manzi, K.H. Khoo, A. Dell, and A. Varki. 1992. *J. Biol. Chem.* **267**: 16200-16211.
 51. Paller, A.S., S.L. Arnsmeier, J.K. Robinson, and E.G. Bremer. 1992. *J. Invest. Dermatol.* **98**: 226-232.
 52. Corfield, A.P., N. Myerscough, M. Gough, I. Brockhausen, R. Schauer, and C. Paraskeva. 1995. *Biochem. Soc. Transact.* **23**: 840-845.
 53. Mann, B., E. Klusmann, V. Vandamme-Feldhaus, M. Iwersen, M.-L. Hanski, E.-O. Riecken, H.J. Buhr, R. Schauer, and C. Hanski. 1997. *Int. J. Cancer* **72**: 258-264.
 54. Yasue, S., S. Handa, S. Miyagawa, J. Inoue, A. Hasegawa, and T. Yamakawa. 1978. *J. Biochem.* **83**: 1101-1107.
 55. Bouhours, J.-F., and D. Bouhours. 1989. *J. Biol. Chem.* **264**: 16992-16999.
 56. Muralikrishna, G., G. Reuter, J. Peter-Katalinic, H. Egge, F.-G. Hanisch, H.-C. Siebert, and R. Schauer. 1992. *Carbohydr. Res.* **236**: 321-326.
 57. Smirnova, G.P., N.K. Kochetkov, and V.L. Sadovskaya. 1987. *Biochim. Biophys. Acta* **920**: 47-55.
 58. Bergwerff, A.A., S.H.D. Hulleman, J.P. Kamerling, J.F.G. Vliegthart, L. Shaw, G. Reuter, and R. Schauer. 1992. *Biochimie* **74**: 25-37.
 59. Kitazume, S., K. Kitajima, S. Inoue, S.M. Haslam, H.R. Morris, A. Dell, W.J. Lennarz, and Y. Inoue. 1996. *J. Biol. Chem.* **271**: 6694-6701.
 60. Ijuin, T., K. Kitajima, Y. Song, Yong, S. Kitazume, S. Inoue, S.M. Haslam, H.R. Morris, A. Dell, and Y. Inoue. 1996. *Glycoconjugate J.* **13**: 401-413.
 61. Schauer, R. 1991. *Glycobiology* **1**: 449-552.
 62. Butor, C., S. Diaz, and A. Varki. 1993. *J. Biol. Chem.* **268**: 10197-10206.
 63. Vandamme-Feldhaus, V., and R. Schauer. 1995. *Glycoconjugate J.* **12**: 507.
 64. Schauer, R. 1987. *Methods Enzymol.* **138**: 611-626.
 65. Iwasaki, M., S. Inoue, and F.A. Troy. 1990. *J. Biol. Chem.* **265**: 2596-2602.
 66. Kleineidam, R.G., O. Hofmann, G. Reuter, and R. Schauer. 1993. *Glycoconjugate J.* **10**: 116-119.
 67. Tsuji, S. 1996. *J. Biochem.* **120**: 1-13.
 68. Lawrence, M.C., J.A.R.G. Barbosa, B.J. Smith, N.E. Hall, P.A. Pilling, H.C. Ooi, and S.M. Marcuccio. 1997. *J. Mol. Biol.* **266**: 381-399.
 69. Schrotten, H.(ed.) 1993. Protektive Funktionen neuraminsaurehaltiger Glykokonjugate. in menschlicher Milch, Stuttgart, Georg Thieme Verlag.