

LES LECTINES DE TYPE C DE VENINS DE SERPENTS ET LEURS RECEPTEURS SUR LES PLAQUETTES ET LES CELLULES CANCEREUSES

S. SARRAY^{1,2*}, J. LUIS⁴, M. EL AYEB¹ ET N. MARRAKCHI^{1,3}

¹ Laboratoire des venins et toxines, Institut Pasteur de Tunis, Tunis, Tunisie.

² Faculté des Sciences de Tunis, Tunis, Tunisie.

³ Faculté de Médecine de Tunis, Tunis, Tunisie.

⁴ INSERM UMR 911-CRO2, Aix-Marseille Université, Marseille, France

* Auteur correspondant : E-mail: sameh_sarray@yahoo.fr

RESUME

Les venins constituent une véritable ressource naturelle de molécules bioactives, telles que les peptides, les protéines et les enzymes, de plus en plus utilisés en recherche biomédicale à des fins de diagnostics ou thérapeutiques. Les composants peptidiques des venins appartiennent à diverses familles comme les sérines protéases, les phospholipases, les désintégrines, les métalloprotéases et les lectines de type C. De par leurs effets sur les récepteurs GPIb, GPVI, $\alpha_2\beta_1$, ..., les lectines de type-C ont été d'abord considérées comme des modulateurs de l'aggrégation plaquettaire. Certaines d'entre elles n'ont été que récemment décrites pour leur effet potentiel anti-tumoral en bloquant l'adhérence, la migration, la prolifération et l'invasion des différentes lignées de cellules cancéreuses. Les lectines de type C ont également un puissant effet anti-angiogénique *in vivo* et *in vitro* en interagissant avec les intégrines des cellules endothéliales.

Mots clés: Venins de serpent, plaquettes, lectines de type-C, récepteurs, cellule cancéreuse.

SUMMARY

Snake venoms are a rich natural source of bioactive molecules, such as peptides, proteins and enzymes, more and more used in biomedical research in diagnostic or therapeutic purposes. The protein components of snake venoms belong to diverse families such as serine proteases, phospholipases, disintegrins, metalloproteinases and C-type lectins. Due to their effects on various receptors such as GPIb, GPVI, $\alpha_2\beta_1$, ..., the C-type lectins were considered, in first time, as modulators of the platelet aggregation. Recently, some of them have been described for their anti-tumoral potential effect due to their capacity to inhibit adhesion, migration, proliferation and invasion of different cancer cell lines. Also, the C-type lectins have a powerful anti-angiogenic effect *in vivo* and *in vitro* by interacting with integrins of endothelial cells.

Key words: Snake venom, platelets, C-type lectin, receptors, cancerous cells.

INTRODUCTION

Le terme lectine de type-C (CTL) a été introduit pour distinguer le groupe des protéines animales Ca^{2+} dépendantes (type-C), des protéines Ca^{2+} indépendantes. L'étude structurale des lectines de type C a permis de découvrir que la liaison des sucres est médiée par un domaine CRD (Carbohydrate recognition Domain) qui est présent dans les lectines Ca^{2+}

dépendantes et non les autres^{1,2,3}. La comparaison des séquences des CRD au niveau de différentes lectines de type C révèle des résidus conservés, caractéristiques de ce domaine^{2,3,4} appelé C-type CRD ou domaine des C-type lectines. Cependant, toutes les protéines contenant le C-type CRD ne peuvent lier les sucres ou le Ca^{2+} . Pour les distinguer, le terme C-type "lectine-like" domaine a été introduit (CTLD)^{5,6}.

Les lectines de type-C sont largement représentées dans la nature. On les retrouve au niveau des plantes, des bactéries, des vertébrés et des champignons⁷. Dans les venins de serpents, les lectines de type C peuvent être classées en deux grands groupes:

- Les lectines vraies, Ca^{2+} dépendantes avec un domaine CRD 8 qui lie des sucres spécifiques de façon réversible et non covalente. Ces lectines possèdent une structure homodimérique avec des ponts disulfures inter-chaînes formant, en s'associant, de grands multimères.
- Les lectines, dépourvues de la boucle de fixation du sucre 5 et du Ca^{2+} , possèdent une structure hétérodimérique $\alpha\beta$ (unité structurale à partir de laquelle les différentes lectines se forment par oligomérisation⁹). Ces protéines sont les plus fortement représentées au niveau du venin de serpent.

La détermination de la structure des CTL par cristallographie a montré que les deux sous-unités forment une surface concave¹⁰ entre elles. L'étude structurale des lectines complexées avec leurs ligands a montré que cette surface est le principal site de liaison du ligand^{11, 12, 13}.

La structure 3D des CTL, de hautes masses moléculaires est plus complexe. A titre d'exemple, la flavocétine, la mucrocétine et la convulxine sont des tétramères cycliques $(\alpha\beta)_4$ arrangés tête-bêche et liés par des ponts disulfures^{14, 15, 16, 17}. Cependant, la structure tétramérique de certaines lectines, comme l'aggreteine¹⁸, contient des liaisons non covalentes entre les chaînes α et β . Par ailleurs, l'alboaggrégine A possède 4 sous-unités différentes α_1 , α_2 , β_1 et β_2 ¹⁹.

En dépit de leur structure primaire hautement conservée, les CTL sont caractérisées par des activités biologiques diverses. Ils sont considérés comme modulateur de la fonction plaquettaire en se liant au facteur von Willebrand et aux récepteurs spécifiques tels que GPIb, GPVI.... Les protéines hétérodimériques inhibent la fonction plaquettaire, alors que les molécules multimériques activent les plaquettes (Tableau I).

LES LECTINES DE TYPE-C ET LE COMPLEXE RECEPTEUR GPIb-V-IX

Les étapes initiales d'adhésion des plaquettes au niveau d'un vaisseau lésé sont assurées par l'interaction entre le complexe GPIb-V-IX plaquettaire et le facteur von Willebrand (vWF). Ce complexe est constitué de 4 glycoprotéines transmembranaires GPIb α , GPIb β qui sont liées par un pont disulfure, la GPV et la GPIX qui sont associées de manière non covalente.

Le composant important de ce complexe, en terme de site fonctionnel, est la chaîne GPIb α qui constitue le site de fixation du domaine A1 du vWF²⁰.

Plusieurs CTL ont été isolées et caractérisées pour leur spécificité vis-à-vis du récepteur GPIb. La botrocétine issue du venin de *Bothrops jararaca* et la bitiscétine isolée du venin de *Bitis arietans* induisent la liaison du facteur von Willebrand (vWF) au GPIb, présent au niveau des plaquettes, entraînant ainsi leur agglutination. L'étude cristallographique du domaine A1 du vWF avec la botrocétine et la bitiscétine a été déterminée^{12, 13}. La structure du complexe GPIb/botrocétine/domaine A1 montre que les CTL utilisent leur région concave comme site principal de liaison pour le domaine A1. Des liaisons électrostatiques sont également impliquées. Il a été suggéré que la botrocétine se lie au domaine A1 entraînant une altération de la conformation de ce domaine. Cependant, la structure cristallographique du complexe ne confirme pas cette hypothèse à cause d'une absence de modifications conformationnelles au niveau du domaine A1.

Afin d'identifier le site de contact entre GPIb et la botrocétine, une structure impliquant les trois molécules, a été réalisé par Lu et coll.²¹ (Figure 1). Dans ce modèle, la sous-unité β de la botrocétine est très proche de la région C-terminale de GPIb α . De plus, les lysines 45, 102 et 107, situées au niveau de la sous-unité β , sont bien placées pour constituer des sites potentiels de liaison pour les trois résidus tyrosine présents sur GPIb α ²¹ (Figure 1A). La bitiscétine se lie au domaine A1 sur un site différent de celui utilisé par la botrocétine¹³. Dans un modèle trimoléculaire formé, en superposant le domaine A1, la sous-unité β de la bitiscétine et la GPIb, on observe une structure homologue à la botrocétine montrant un rapprochement de la région C-terminale de la GPIb α ainsi que la présence de trois lysines^{20, 21} et 121 qui constituent un site de liaison potentiel homologue à celui de la botrocétine pour les résidus tyrosines de la GPIb α ²¹ (Figure 1B).

En dépit de ces différences au niveau des points de liaison, la botrocétine^{22, 23} et la bitiscétine^{24, 25} appartiennent à la famille des lectines qui induisent une agglutination ou une agrégation plaquettaire à côté de l'alboaggrégine A et B^{19, 26, 27} ainsi que les lectines multimériques^{14, 16, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35}. Certaines de ces lectines multimériques peuvent se lier à plusieurs molécules de GPIb à la fois provoquant ainsi l'agglutination des plaquettes. Bien que ces protéines possèdent une forte similarité de séquence, elles

Tableau I: les C-type lectines qui interagissent avec les plaquettes.

CTL	Espèce	Cibles	Séquence	Fonctions	Références
Mucétine	<i>Trimeresurus mucrosquamatus</i>	GP1b	+	Agoniste plaquettaire	34, 35
Mucrocétine	<i>Trimeresurus mucrosquamatus</i>	GP1b	+	Agglutinant	32
Flavocétine-A	<i>Trimeresurus flavoviridis</i>	GP1b	+	Antagoniste plaquettaire	16, 14, 28
Mamushigine	<i>Agkistrodon balys blombhoffii</i>	GP1b	+	Agoniste plaquettaire	31
Alboaggrégine-B	<i>Trimeresurus albolabris</i>	GP1b	-	Agoniste plaquettaire	36, 37
Alboaggrégine-C	<i>Trimeresurus albolabris</i>	GP1b	-		26
Agglucétine	<i>Agkistrodon acutus</i>	GP1b	-	Pro-agglutinant	29 30
GP1b-BP	<i>Bothrops jararaca</i>	GP1b	+		84, 85
Agkicétine	<i>Agkistrodon acutus</i>	GP1b	+	Antiagglutinant	42, 43
CHH-A et B	<i>Crotalus horridus horridus</i>	GP1b	+	Antagoniste plaquettaire	39
Echicétine	<i>Echis carinatus</i>	GP1b/IgMk	+	Antagoniste plaquetteite	44, 45
Lebécétine	<i>Macrovipera lebetina</i>	GP1b	+	Antagoniste plaquettaire	40, 41
TSV-GPIB-BP	<i>Trimeresurus stejnegeri</i>	GP1b	+	Antagoniste plaquettaire et Antiagglutinant	47
Tokaracétine	<i>Trimeresurus tokarensis</i>	GP1b	-	Antagoniste plaquettaire	38
Dabocétine	<i>Daboia russellii siamensis</i>	GP1b	+	Anti-agglutinant	46
Purpuréotine	<i>Trimeresurus purpureomaculatus</i>	GP1b	+	Agoniste plaquettaire	33
Agkistine	<i>Agkistrodon acutus</i>	GP1b	+	Anti-agglutinant et Antagoniste plaquettaire	86
Convulxine	<i>Crotalus durissus terrificus</i>	GP1b, GPVI	+	Agoniste plaquettaire	52, 53, 54
Alboaggrégine-A	<i>Trimeresurus albolabris</i>	GP1b, GPVI	+	Agoniste plaquettaire	19, 26
Stejnulxine	<i>Trimeresurus stejnegeri</i>	GPVI	+	Agoniste plaquettaire	56
Ophioluxine	<i>Ophiophagus hannah</i>	GPVI	-	Agoniste plaquettaire	57
Alboluxine	<i>Trimeresurus albolabris</i>	GP1b, GPVI	-	Agoniste plaquettaire	58
Botrocétine	<i>Bothrops jararaca</i>	FvW /GP1b	+	Pro-agglutinant	22, 23
Bitiscétine	<i>Bitis arietans</i>	FvW/GP1b	+	Agoniste plaquettaire	13, 24, 25
EMS16	<i>Echis multisquamatus</i>	GP1a/IIa	+	Antagoniste plaquettaire	75, 76
Aggretine	<i>Calloselasma rhodostoma</i>	GP1b, GP1a/IIa	+	Agoniste plaquettaire	72, 73, 74
Rhodocétine	<i>Calloselasma rhodostoma</i>	GP1a/IIa	+	Antagoniste plaquettaire	70, 71
Bilinoxine	<i>Agkistrodon bilineatus</i>	GP1b, GP1a/IIa	+	Agglutinant	87
Ba25	<i>Bitis arietans</i>	GP1b, GP1b/IIIa	+	Pro-agglutinant	67
Agkisacutacine	<i>Agkistrodon acutus</i>	GP1b, IX/X	+	Anti-coagulant et Anti-agglutinant	88, 89
Agkaggregine	<i>Agkistrodon acutus</i>	inconnu	-	Agoniste plaquettaire	90
Crotacétine	<i>Crotalus durissus cascavella</i>	inconnu	+	Agoniste plaquettaire	91
BML1et BML2	<i>Bungarus multicinctus</i>	inconnu	+	proagglutinant	92
Rhodoaggretine	<i>Calloselasma rhodostoma</i>	inconnu	-	Agoniste plaquettaire	93
CRL	<i>Crotalus atrox</i>	Galactose	+	--	94
TSL	<i>Trimeresurus stejnegeri</i>	Galactose	+	--	95
IsL	<i>Lachesis muta stenophrys</i>	Galactose	+	Pro-agglutinant	96, 97
RSL	<i>Crotalus atrox</i>	Galactose	+	Pro-agglutinant	98, 99
CAL	<i>Crotalus atrox</i>	Galactose	+	--	99
APL	<i>Agkistrodon piscivorus</i>	Galactose		Proagglutinant	100
BaL	<i>Bitis arietans</i>	Galactose	+		101
BjcuL	<i>Bothrops jararacussu</i>	Galactose	+	Proagglutinant	83

interagissent différemment sur les plaquettes. Par exemple, l'alboaggrégine B^{36, 37} et l'agglucétine^{29, 30} provoquent une agglutination des plaquettes *via* le récepteur GPIb. Par contre, l'alboaggrégine A active les plaquettes *via* le récepteur GPIb et GPVI¹⁹. La flavocétine A forme de petits agglutinats avec les plaquettes lavées, contrairement à la mucrocétine³² qui forme de grands agglutinats. La pupurétine et la mucétine provoquent une agrégation plaquettaire impliquant l'activation du récepteur GPIb^{33, 35}.

Parallèlement, il existe un autre groupe de lectines qui inhibent l'agrégation en bloquant l'interaction du vWF au récepteur GPIb, (exemple: la tokaracétine³⁸, la CHH-A et B³⁹, la lébécétine^{40, 41}, l'agkicétine^{42, 43}, l'échicétine^{44, 45}) ou l'agglutination plaquettaire induite

par la ristocétine (exemples: la dabocétine⁴⁶ et la TSV⁴⁷). Ces différences d'activité sont probablement dues à des différences au niveau des séquences de ces lectines, se trouvant pour la plupart en dehors du site de liaison.

Certaines CTL, se liant au récepteur GPIb, agissent différemment *in vivo* et *in vitro*, cela est probablement dû à des interactions additionnelles avec des protéines endothéliales ou plasmatiques. Ainsi, l'échicétine qui bloque l'interaction des plaquettes au vWF et la thrombine *via* GPIb⁴⁸, se lie également à un composant du plasma, IgMk. Le complexe formé clustérise le récepteur GPIb se trouvant à la surface des plaquettes et assure la liaison des molécules de GPIb entre les plaquettes provoquant ainsi leur agglutination^{49, 50}.

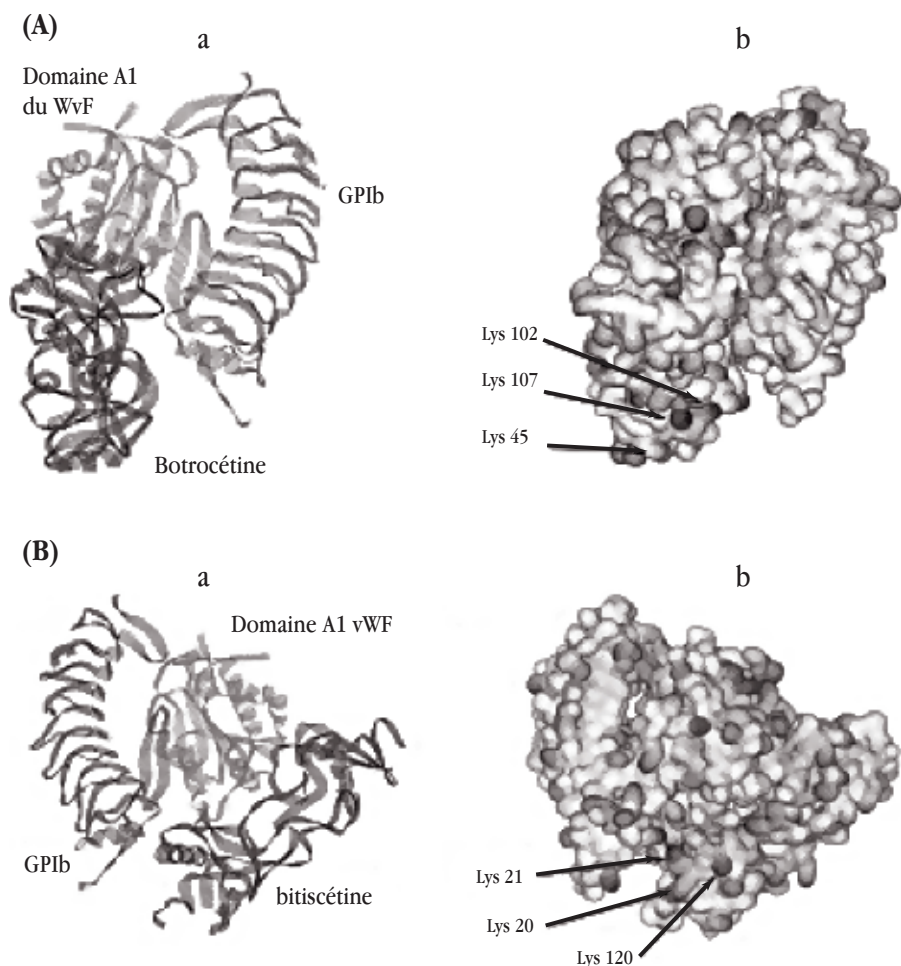


Figure 1. Structure du complexe trimoléculaire entre le domaine GPIba, le domaine A1 du vWF, la botrocétine (A) ou la bitiscétine (B). Structure en ruban (a); les positions occupées par les lysines (b)²¹.

LES LECTINES DE TYPE-C ET LE RECEPTEUR GPVI

La GPVI est le récepteur majeur pour le collagène au niveau des plaquettes. Il appartient à la superfamille des immunoglobulines (Ig) et est constitutivement exprimé à la surface plaquettaire sous forme de complexe non covalent avec la chaîne γ commune aux récepteurs des Ig: FcR γ ⁵¹. Le récepteur GPVI est une cible de choix pour les protéines des venins de serpents car sa clustérisation induite est suffisante pour entraîner une activation massive des plaquettes.

La convulxine, issue du venin de *Crotalus durissus terrificus*^{52, 53, 54}, est la 1^{ère} lectine identifiée appartenant à ce groupe. Elle constitue un outil pharmacologique précieux qui a permis d'identifier, de purifier et de caractériser la GPVI et d'en étudier les propriétés structurales et fonctionnelles⁵⁵. Le site de liaison de la convulxine sur le récepteur GPVI est probablement localisé au niveau de la surface concave entre les deux sous-unités. La convulxine active les plaquettes *via* ce récepteur, mais il n'est pas encore clair si le fait qu'une molécule de convulxine clustérise 4 molécules de GPVI, est à l'origine d'un signal fort ou bien qu'il y a des amplifications additionnelles dues à des interactions entre les molécules de convulxine⁵⁵. Il faut également signaler que la convulxine se lie très faiblement au récepteur GPIb⁵⁴.

D'autres CTL multimériques agissent *via* le récepteur GPVI telles que l'alboaggrégine A^{19, 26}, la stejnulxine⁵⁶, l'ophioluxine⁵⁷ et l'alboluxine⁵⁸. L'alboaggrégine A ou l'alboluxine se lie au récepteur GPVI et GPIb et induisent une puissante activation. L'alboaggrégine A active les plaquettes affectées par le syndrome de Bernard Soulier et les cellules transfectées avec GPVI montrant que l'interaction avec le récepteur GPIb n'est pas essentielle pour l'activation.

LES LECTINES DE TYPE-C ET LES INTEGRINES

Les intégrines sont les membres d'une famille de récepteurs impliqués dans les interactions adhésives entre cellules et entre les cellules et la matrice extracellulaire (MEC)⁵⁹. Ce sont des hétérodimères formés d'une chaîne α et d'une chaîne β liées de façon non covalente⁵⁹. Les intégrines sont impliquées dans diverses pathologies humaines, comme les thromboses, l'inflammation ou encore, les infections bactériennes et parasitaires. Ce sont des modulateurs de certaines grandes fonctions biologiques comme l'adhérence, la prolifération, l'apoptose ainsi que la migration et l'invasion cellulaire.

En effet, l'interaction des intégrines avec leurs ligands extracellulaires entraîne le regroupement des intégrines à la surface membranaire et leur connexion au cytosquelette actinique⁶⁰. Ainsi sont formées les adhérences focales qui constituent des points d'ancrage de la cellule à la MEC. Cette connexion est essentielle pour l'adhérence des cellules mais interviennent également dans l'établissement de la polarité de la cellule et par conséquent dans la migration cellulaire⁶¹. Parallèlement, l'adhérence des intégrines à certaines protéines de la MEC déclenche une signalisation positive qui favorise la croissance cellulaire en stimulant la progression du cycle cellulaire⁶². Les cellules normales sont incapables de proliférer sans ancrage à la MEC. Au contraire les cellules tumorales se répliquent même en absence de cette liaison⁶³.

La survie des cellules est également dépendante de l'adhérence des intégrines à la MEC. En effet, lorsque les cellules adhérentes perdent contact avec la MEC, elles ne reçoivent plus de signaux de survie *via* les intégrines et entrent en apoptose ou mort cellulaire programmée. Cette forme d'apoptose, induite suite au décrochement des cellules de la MEC est appelée anoikis⁶⁴.

Il est actuellement clair que les intégrines jouent un rôle central dans la malignité et la progression tumorale⁶⁵. Il n'est donc pas surprenant que l'expression des intégrines soit dérégulée lors de la transformation tumorale. Ainsi, les cellules tumorales présentent souvent un répertoire en intégrines à la surface cellulaire différent de celui des cellules dont elles sont issues. Cette variation du répertoire favorise l'acquisition, par les cellules tumorales humaines, des propriétés invasives ainsi que l'adaptation à un nouvel environnement lors de la formation des métastases.

LES PRINCIPALES INTEGRINES INTERAGISSANT AVEC LES LECTINES DE TYPE C

L'intégrine $\alpha_{IIb}\beta_3$

L'intégrine $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GPIIb-IIIa), est un complexe glycoprotéiné de membrane plaquettaire. C'est un récepteur du fibrinogène, du vWF, de la fibronectine, la vitronectine et les thrombospondines⁶⁶. Il est donc impliqué à la fois dans les phénomènes d'adhésion et d'agrégation plaquettaire. L'inhibition de ce récepteur permet d'éviter l'agrégation plaquettaire quelque soit le mécanisme d'activation. Il constitue donc une cible thérapeutique stratégique dans la prévention de la thrombose artérielle.

Rares sont les C-type lectines qui interagissent avec l'intégrine $\alpha_{IIb}\beta_3$. En général, ce récepteur est bloqué par un motif peptidique RGD se trouvant au niveau de protéines de type désintégrine, empêchant ainsi sa liaison au vWF et entraînant une inhibition de l'agrégation plaquettaire. Dans le venin de *Bitis arietans*, une CTL, La Ba25, a pu être isolée par chromatographie d'affinité sur le récepteur GPIIb/IIIa immobilisé. C'est une protéine hétérodimérique qui agglutine les plaquettes en présence du fibrinogène⁶⁷. Cependant, il n'est pas établi si cette protéine se lie au récepteur se trouvant au niveau des membranes plaquettaire.

L'intégrine $\alpha_2\beta_1$

L'intégrine, $\alpha_2\beta_1$ (GPIa/IIa), est un récepteur du collagène^{68, 69}. Elle est présente au niveau des plaquettes et certaines lignées de cellules cancéreuses. Plusieurs CTL agissent *via* cette intégrine en empêchant son interaction avec le collagène, inhibant ainsi l'agrégation plaquettaire et/ou l'adhésion de certaines lignées de cellules cancéreuses à leur MEC.

La rhodocétine, qui possède une structure hétérodimérique formée de deux chaînes a et b liées de façon non covalente^{70, 71}, se lie au récepteur GPIIb. Cependant, sa cible principale est le domaine I de la sous-unité α_2 de l'intégrine $\alpha_2\beta_1$, entraînant une inhibition de l'agrégation plaquettaire. L'aggrétine (appelée également rhodocytine)^{72, 73, 74} requiert, en plus de l'intégrine $\alpha_2\beta_1$, le récepteur GPIIb pour activer les plaquettes. De plus, l'aggrétine active la prolifération et la migration des cellules endothéliales de type HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cell). C'est également une protéine pro-angiogénique *in vivo* et *in vitro*. En effet, elle induit la formation de nouveaux vaisseaux sanguins sur la membrane chorioallantoïque d'embryon de poulet, ainsi que la formation de tubes capillaires *in vitro*. Ces activités pourraient être exploitées pour élucider l'implication de l'intégrine $\alpha_2\beta_1$ dans le processus de l'angiogenèse.

L'EMS16, une autre lectine de type-C hétérodimérique isolée à partir du venin d'*Echis multisquamatus*^{75, 76}, inhibe l'adhésion des cellules HUVEC sur les protéines de la MEC ainsi que leur migration en inhibant la liaison de l'intégrine $\alpha_2\beta_1$ au collagène⁷⁷. Le complexe formé avec le domaine I de la sous-unité α_2 révèle que le site de liaison du collagène au niveau du domaine I est complètement couvert par sa

liaison à l'EMS16¹¹. Cette liaison se fait au niveau de la surface concave de l'EMS¹⁶, mais il existe d'autres sites de liaison aux deux extrémités de cette surface.

Les intégrines α_v et $\alpha_5\beta_1$

L'agglucétine, est une protéine tétramérique qui, en plus de son effet proagglutinant, possède un effet pro-angiogénique *in vitro* et induit la prolifération des cellules endothéliales (HUVEC). Ces effets sont médiés *via* l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ ⁷⁸.

La **lebécétine** et la **lebécétine** purifiées à partir du venin de *Macrovipera lebetina*, sont les deux seules lectines de type-C, jusqu'au jour d'aujourd'hui, pourvues d'un effet anti-tumoral évident, en plus de leur effet anti-agrégant sur les plaquettes. En effet, ces deux lectines inhibent l'adhésion de diverses lignées de cellules cancéreuses: cellules de mélanome (IGR39), d'adénocarcinome (HT29-D4), de fibrosarcome (HT1080) et des cellules leucémiques (K562) sur différentes protéines de la MEC. Elles inhibent également leur prolifération, leur migration et leur invasion^{79, 80}. Les intégrines impliquées sont α_v et $\alpha_5\beta_1$ ⁸⁰.

L'effet de ces deux lectines, ne s'est pas limité aux plaquettes et aux cellules cancéreuses. En effet, elles bloquent l'angiogenèse tumorale en interagissant directement avec les intégrines des cellules endothéliales. Ainsi, il a été démontré que la lebécétine et la lebécétine (à effet moindre), inhibent l'adhésion, la migration, la prolifération et la tubulogenèse sur MatrigelTM des cellules HBMEC (Human Brain Microvascular Endothelial Cell). Cet effet anti-angiogénique est également observé *in vivo* sur membrane chorioallantoïque⁸¹ d'embryons de poulets. Ces effets requièrent une interaction directe des peptides avec les intégrines $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$ et $\alpha_5\beta_1$, principaux récepteurs de la vitronectine et de la fibronectine essentielles à l'angiogenèse^{80, 81}.

Une autre lectine, la BjcUL issue du venin de *Bothrops jararacussa*, a été également décrite pour son pouvoir anti-tumoral, mais le récepteur ou l'intégrine mis en jeu n'est pas encore élucidé. Cette protéine, homodimérique de 29 kDa, inhibe la prolifération de plusieurs lignées cellulaires d'origine rénale, pancréatique, prostatique et de mélanome mais aucun effet n'a été observé sur les cellules de cancer de colon ou du sein⁸². La BjcUL affecte aussi la viabilité de certaines lignées de cellules tumorales d'origines diverses. Elle est toxique à des concentrations supérieures à 1 μ M. Cependant, elle n'a pas

d'effet sur la croissance des cellules K562 et T24, suggérant que ces cellules n'expriment pas le récepteur reconnu par la lectine et qui reste encore à identifier⁸³.

CONCLUSION

Bien que les composants natifs des venins de serpents sont souvent inconvenables comme agents thérapeutiques, l'intervention des scientifiques et les cliniciens dans la recherche et développement pharmaceutique permettrait d'employer les protéines des venins de serpents comme agents thérapeutiques pour plusieurs pathologies en se basant sur leur structures et fonctions.

En effet, avec le développement des études structurales, on a pu comprendre, non seulement les implications de l'interaction des peptides issus de venins de serpents avec des récepteurs protéiques mais on a pu développer des outils efficaces ciblant des fonctions spécifiques des protéines humaines. Comme exemple, l'ancrod, une protéase à sérine purifiée du venin *Akistrodon rhodostoma*, a été employé comme anti-coagulant thérapeutique pour un certain nombre de pathologies y compris chez les patients présentant une thrombocytopénie induite par l'héparine¹⁰². Plusieurs désintégrines ont été également identifiées comme des puissants inhibiteurs de l'agrégation plaquettaire *in vitro* et *in vivo*, et leurs structures ont servis de modèle pour la conception de médicaments tels que l'eptifibatide (integrilin) et le tirofiban^{103, 104}.

Dans la dernière décennie, de nombreuses C-type lectines ont été isolées, séquencées et leurs mécanismes d'actions ont été déterminés. Elles pourraient être utiles dans l'évaluation des thromboses et des hémostases. La possibilité de trouver des lectines utilisant de nouveaux récepteurs, autres que le GPIb, GPVI et $\alpha 2\beta 1$, permettrait de développer et de fournir de nouvelles possibilités dans le diagnostic et le traitement de l'hémostasie.

Parallèlement, la découverte de nouvelles activités (anti-tumorales et anti-angiogéniques) chez certaines lectines (la lébécétine, la lébectine et la BJcuL) ouvrent de nouvelles perspectives thérapeutiques dans le domaine de traitement des cancers.

REFERENCES

1- K. Drickamer (1988). Two distinct classes of carbohydrate-recognition domains in animal lectins. *J. Biol. Chem.*, **263**, 9557-9560.

2- K. Drickamer, M.S. Dordal and L. Reynolds (1986). Mannose-binding proteins isolated from rat liver contain carbohydrate-recognition domains linked to collagenous tails. Complete primary structures and homology with pulmonary surfactant apoprotein. *J. Biol. Chem.*, **261**, 6878-6887.

3- K. Drickamer (1989). Demonstration of carbohydrate-recognition activity in diverse proteins which share a common primary structure motif. *Biochem. Soc. Trans.*, **17**, 13-15.

4- K. Drickamer (1993). Evolution of Ca^{2+} -dependent animal lectins. *Prog. Nucleic. Acid. Res. Mol. Biol.*, **45**, 207-232.

5- K. Drickamer (1999). C-type lectin-like domains. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **9**, 585-590.

6- W.I. Weis, M.E. Taylor and K. Drickamer (1998). The C-type lectin superfamily in the immune system. *Immunol. Rev.*, **163**, 19-34.

7- D.C. Kilpatrick (2002). Animal lectins: a historical introduction and overview. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1572**, 187-197.

8- K. Drickamer and M.E. Taylor (1993). Biology of animal lectins. *Annu. Rev. Cell. Biol.*, **9**, 237-264.

9- M.H. Toyama, E. Carneiro, S. Marangoni, M.E.C. Amaral, L.A. Velloso, and A.C. Boschero (2001). Isolation and characterization of a convulxin-like protein from *crotalus durissus collilineatus* venom. *J. Protein.*, **20**, 585-591.

10- H. Mizuno, Z. Fujimoto, M. Koizumi, H. Kano, H. Atoda and T. Morita (1999). Crystal structure of coagulation factor IX-binding protein from habu snake venom at 2.6 Å: implication of central loop swapping based on deletion in the linker region. *J. Mol. Biol.*, **289**, 103-112.

11- K. Horii, D. Okuda, T. Morita and H. Mizuno (2004). Crystal structure of EMS16 in complex with the integrin $\alpha 2\text{-I}$ domain. *J. Mol. Biol.*, **341**, 519-527.

12- K. Fukuda, T.A. Doggett, L.A. Bankston, M.A. Cruz, T.G. Diacovo and R.C. Liddington (2002). Structural basis of von Willebrand factor activation by the snake toxin botrocetin. *Structure*, **10**, 943-950.

13- N. Maita, K. Nishio, E. Nishimoto, T. Matsui, Y. Shikamoto, T. Morita, J.E. Sadler and H. Mizuno (2003). Crystal structure of von willebrand factor A1 domain complexed with snake venom, bitiscetin: insight into glycoprotein Ib α binding mechanism induced by snake venom proteins. *J. Biol. Chem.*, **278**, 37777-37781.

- 14- **K. Fukuda, H. Mizuno, H. Atoda and T. Morita** (2000). Crystal structure of flavocetin-A, a platelet glycoprotein Ib-binding protein, reveals a novel cyclic tetramer of C-type lectin-like heterodimers. *Biochemistry*, **39**, 1915-1923.
- 15- **K.F. Huang, T.P. Ko, C.C. Hung, J. Chu, A.H. Wang and S.H. Chiou** (2004). Crystal structure of a platelet-agglutinating factor isolated from the venom of Taiwan habu (*Trimeresurus mucrosquamatus*). *Biochem. J.*, **378**, 399- 407.
- 16- **Y. Shin, I. Okuyama, J. Hasegawa and T. Morita** (2000). Molecular cloning of glycoprotein Ib-binding protein, flavocetin-A, which inhibits platelet aggregation. *Thromb. Res.*, **99**, 239-247.
- 17- **T. Batuwangala, M. Leduc, J.M. Gibbins, C. Bon and E.Y. Jones** (2004). Structure of the snake-venom toxin convulxin. *Acta. Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.*, **60**, 46-53.
- 18- **C.H. Chung, L.C. Au and T.F. Huang** (1999). Molecular cloning and sequence analysis of aggrexin, a collagen-like platelet aggregation inducer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **263**, 723-727.
- 19- **D. Dormann, J.M. Clemetson, A. Navdaev, B.E. Kehrel and K.J. Clemetson** (2001). Alboaggregin A activates platelets by a mechanism involving glycoprotein VI as well as glycoprotein Ib. *Blood*, **97**, 929-936
- 20- **M.C. Berndt, Y. Shen, S.M. Dopheide, E.E. Gardiner and R.K. Andrews** (2001). The vascular biology of the glycoprotein Ib-IX-V complex. *Thromb. Haemost.*, **86**, 178-188.
- 21- **Q. Lu, A. Navdaev, J.M. Clemetson and K.J. Clemetson** (2005). Snake venom C-type lectins interacting with platelet receptors. Structure-function relationships and effects on haemostasis. *Toxicon*, **45**, 1089-1098.
- 22- **Y. Usami, Y. Fujimura, M. Suzuki, Y. Ozeki, K. Nishio, H. Fukui and K. Titani** (1993). Primary structure of two-chain botrocetin, a von Willebrand factor modulator purified from the venom of *bothrops jararaca*. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **9**, 928-932.
- 23- **U. Sen, S. Vasudevan, G. Subbarao, R.A. McClintock, R. Celikel, Z.M. Ruggeri and K.I. Varughese** (2001). Crystal structure of the von Willebrand factor modulator botrocetin, *Biochemistry*, **40**, 345-352.
- 24- **J. Hamako, T. Matsui, M. Suzuki, M. Ito, K. Makita, Y. Fujimura, Y. Ozeki and K. Titani** (1996). Purification and characterization of bitiscetin, a novel von Willebrand factor modulator protein from *Bitis arietans* snake venom. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **226**, 273-279.
- 25- **S. Hirotsu, H. Mizuno, K. Fukuda, M.C. Qi, T. Matsui, J. Hamako, T. Morita and K. Titani** (2001). Crystal structure of bitiscetin, a von Willebrand factor-dependent platelet aggregation inducer. *Biochemistry*, **40**, 1359-13597.
- 26- **M.A. Kowalska, L. Tan, J.C. Holt, M. Peng, J. Karczewski, J.J. Calvete and S. Niewiarowski** (1998). Alboaggregins A and B. Structure and interaction with human platelets. *Thromb. Haemost.*, **79**, 609-613.
- 27- **J. Arpijuntarangkoon, P. Rojnuckarin, C. Muanpasitporn, S. Kaeothip, P. Sangvanich and T. Intragumtornchai** (2007). Molecular cloning and sequence analysis of alboaggregin B. *Platelets*, **18**, 266-272.
- 28- **Y. Taniuchi, T. Kawasaki, Y. Fujimura, M. Suzuki, K. Titani, Y. Sakai, S. Kaku, N. Hisamichi, N. Satoh, T. Takenaka et al.**, (1995). Flavocetin-A and -B, two high molecular mass glycoprotein Ib binding proteins with high affinity purified from *Trimeresurus flavoviridis* venom, inhibit platelet aggregation at high shear stress. *Biochim. Biophys. Acta.*, **1244**, 331-338.
- 29- **W.J. Wang, Q.D. Ling, M.Y. Liao and T.F. Huang** (2003). Tetrameric glycoprotein Ib-binding protein, agglucetin, from Formosan pit viper: structure and interaction with human platelets. *Thromb. Haemost.*, **90**, 465- 475.
- 30- **W.J. Wang and T.F. Huang** (2001). A novel tetrameric venom protein, agglucetin from *Agkistrodon acutus*, acts as a glycoprotein Ib agonist. *Thromb. Haemost.*, **86**, 1077-1086
- 31- **Y. Sakurai, Y. Fujimura, T. Kokubo, K. Imamura, T. Kawasaki, M. Handa, M. Suzuki, T. Matsui, K. Titani and A. Yoshioka** (1998). The cDNA cloning and molecular characterization of a snake venom platelet glycoprotein Ib-binding protein, mamushigin, from *Agkistrodon halys blomhoffii* venom. *Thromb. Haemost.*, **79**, 1199-1207.
- 32- **K.F. Huang, T.P. Ko, C.C. Hung, J. Chu, A.H. Wang and S.H. Chiou** (2004). Crystal structure of a platelet-agglutinating factor isolated from the venom of Taiwan habu (*Trimeresurus mucrosquamatus*). *Biochem. J.*, **378**, 399- 407.

- 33- X. Li, L. Zheng, C. Kong, P.R. Kolatkar and M.C. Chung (2004). Purpureotin: a novel di-dimeric C-type lectin-like protein from *Trimeresurus purpureomaculatus* venom is stabilized by non-covalent interactions. *Arch. Biochem. Biophys.*, **424**, 53-62.
- 34- Q. Wei, Q.M. Lu, Y. Jin, R. Li, J.F. Wei, W.Y. Wang and Y.L. Xiong (2002). Purification and cloning of a novel C-type lectin-like protein with platelet aggregation activity from *Trimeresurus mucrosquamatus* venom. *Toxicon*, **40**, 1331-1338.
- 35- Q.M. Lu, A. Navdaev, J.M. Clemetson and K.J. Clemetson (2004). GPIIb is involved in platelet aggregation induced by mucetin, a snake C-type lectin protein from Chinese habu (*Trimeresurus mucrosquamatus*) venom, *Thromb. Haemos.*, **91**, 1168-1176.
- 36- E. Yoshida, E. Fujimurax, S. Miura, M. Sugimoto, H. Fukui, N. Narita, Y. Usami, M. Suzuki and K. Titani (1993). Alboaggregin-B and botrocetin, two snake venom proteins with highly homologous amino acid sequences but totally distinct functions on von Willebrand factor binding to platelets. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **191**, 1386-1392.
- 37- M. Peng, W. Lu and E.P. Kirby (1991). Alboaggregin-B: a new platelet agonist that binds to platelet membrane glycoprotein Ib. *Biochemistry*, **30**, 11529-11536.
- 38- T. Kawasaki, Y. Taniuchi, N. Hisamichi, Y. Fujimura, M. Suzuki, K. Titani, Y. Sakai, S. Kaku, N. Satoh, T. Takenaka et al. (1995). Tokaracetin, a new platelet antagonist that binds to platelet glycoprotein Ib and inhibits von Willebrand factor-dependent shear-induced platelet aggregation. *Biochem. J.*, **308**, 947-953.
- 39- R.K. Andrews, M.H. Kroll, C.M. Ward, J.W. Rose, R.M. Scarborough, A.I. Smith, J.A. Lopez and M.C. Berndt (1996). Binding of a novel 50-kilodalton alboaggregin from *Trimeresurus albolabris* and related viper venom proteins to the platelet membrane glycoprotein Ib-IX-V complex. Effect on platelet aggregation and glycoprotein Ib-mediated platelet activation, *Biochemistry*, **35**, 12629-12639.
- 40- S. Sarray, N. Srairi, J. Luis, J. Marvaldi, M. El Ayeb and N. Marrakchi (2001). Lebecetin, a C-lectin protein from the venom of *Macrovipera lebetina* that inhibits platelet aggregation and adhesion of cancerous cells. *Haemostasis*, **31**, 173-176.
- 41- S. Sarray, N. Srairi, M. Hatmi, J. Luis, H. Louzir, I. Regaya, H. Slema, J. Marvaldi, M. El Ayeb and N. Marrakchi (2003). Lebecetin, a potent antiplatelet C-type lectin from *Macrovipera lebetina* venom. *Biochim. Biophys. Acta*, **1651**, 30-40.
- 42- Y.L. Chen and I.H. Tsai (1995). Functional and sequence characterization of agkicetin, a new glycoprotein Ib antagonist isolated from *Agkistrodon acutus* venom. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **210**, 472- 477.
- 43- G. Xu, H. Ulrichs, S. Vauterin, S.F. De Meyer, H. Deckmyn, M. Teng and L. Niu (2005). How does agkicetin-C bind on platelet glycoprotein Ibalpha and achieve its platelet effects? *Toxicon*, **45**, 561-570.
- 44- J. Polgar, E.M. Magnenat, M.C. Peitsch, T.N. Wells, M.S. Saqi and K.J. Clemetson (1997). Amino acid sequence of the alpha subunit and computer modelling of the alpha and beta subunits of echicetin from the venom of *Echis carinatus* (saw-scaled viper). *Biochem. J.*, **323**, 533-537.
- 45- J. Jasti, M. Paramasivam, A. Srinivasan and T.P. Singh (2004). Crystal structure of echicetin from *Echis carinatus* (Indian saw-scaled viper) at 2.4Å resolution. *J.Mol.Bio.*, **335**, 67-76.
- 46- S.R. Zhong, Y. Jin, J.B. Wu, R.Q. Chen, Y.H. Jia, W.Y. Wang, Y.L. Xiong and Y. Zhang (2006). Characterization and molecular cloning of dabocetin, a potent antiplatelet C-type lectin-like protein from *Daboia russellii siamensis* venom. *Toxicon*, **47**, 104-112.
- 47- W.H. Lee and Y. Zhang (2003). Molecular cloning and characterization of a platelet glycoprotein Ib-binding protein from the venom of *Trimeresurus stejnegeri*. *Toxicon*, **41**, 885-892.
- 48- M. Peng, F.A. Emig, A. Mao, W. Lu, E.P. Kirby, S. Niewiarowski and M.A. Kowalska (1995). Interaction of echicetin with a high affinity thrombin binding site on platelet glycoprotein GPIIb. *Thromb. Haemost.*, **74**(3), 954-957.
- 49- A. Navdaev, D. Dormann, J.M. Clemetson and K.J. Clemetson (2001). Echicetin, a GPIIb-binding snake C-type lectin from *Echis carinatus*, also contains a binding site for IgMκ responsible for platelet agglutination in plasma and inducing signal transduction. *Blood*, **97**, 2333-2341.

- 50- A. Navdaev and K.J. Clemetson (2002). Glycoprotein Ib cross-linking/ligation on echinectin-coated surfaces or echinectin-IgMkappa in stirred suspension activates platelets by cytoskeleton modulated calcium release. *J. Biol. Chem.*, **277**, 45928- 45934.
- 51- J.M. Clemetson, J. Polgar, E. Magnenat, T.N. Wells and K.J. Clemetson (1999). The platelet collagen receptor glycoprotein VI is a member of the immunoglobulin superfamily closely related to Fc alphaR and the natural killer receptors. *J. Biol. Chem.*, **274**, 29019-29024.
- 52- M.T. Murakami, S.P. Zela, L.M. Gava, S. Michelin-Duarte, A.C. Cintra and R.K. Arni (2003). Crystal structure of the platelet activator convulxin, a disulfide-linked alpha4beta4 cyclic tetramer from the venom of *Crotalus durissus terrificus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **310**, 478- 482.
- 53- M. Leduc and C. Bon (1998). Cloning of subunits of convulxin, a collagen-like platelet-aggregating protein from *Crotalus durissus terrificus* venom. *Biochem. J.*, **333**, 389-393.
- 54- S. Kanaji, T. Kanaji, K. Furihata, K. Kato, J.L. Ware and T.J. Kunicki (2003). Convulxin binds to native, human glycoprotein Iba. *J. Biol. Chem.*, **278**, 39452-39460.
- 55- J. Polgar, J.M. Clemetson, B.E. Kehrel, M. Wiedemann, E.M. Magnenat, T.N. Wells and K.J. Clemetson (1997). Platelet activation and signal transduction by convulxin, a C-type lectin from *Crotalus durissus terrificus* (tropical rattlesnake) venom via the p62/GPVI collagen receptor. *J. Biol. Chem.*, **272**, 13576-13583.
- 56- W.H. Lee, X.Y. Du, Q.M. Lu, K.J. Clemetson and Y. Zhang (2003). Stejnulxin, a novel snake C-type lectin-like protein from *Trimeresurus stejnegeri* venom is a potent platelet agonist acting specifically via GPVI. *Thromb. Haemost.*, **90**, 662-671.
- 57- X.Y. Du, J.M. Clemetson, A. Navdaev, E.M. Magnenat, T.N. Wells and K.J. Clemetson (2002b). Ophioluxin, a convulxin-like C-type lectin from *Ophiophagus hannah* (King cobra) is a powerful platelet activator via glycoprotein VI. *J. Biol. Chem.*, **277**, 35124-35132.
- 58- X.Y. Du, E. Magnenat, T.N. Wells and K.J. Clemetson (2002a). Alboluxin, a snake C-type lectin from *Trimeresurus albolabris* venom is a potent platelet agonist acting via GPIb and GPVI. *Thromb. Haemost.*, **87**, 692-698.
- 59- R.O. Hynes (1987). Integrins: a family of cell surface receptors. *Cell*, **48**, 549-554.
- 60- R.O. Hynes (2002). Integrins: bidirectional, allosteric signalling machines. *Cell*, **110**, 673-687.
- 61- C. Brakebusch, S. Fillatreau, A.J. Potocnik, G. Bungartz, P. Wilhelm, M. Svensson, P. Kearney, H. Korner, D. Gray and R. Fassler (2002). Beta1 integrin is not essential for hematopoiesis but necessary for the T-cell dependent IgM antibody response. *Immunity*, **16**, 465-477.
- 62- R.K. Assoian (1997). Anchorage-dependent cell cycle progression. *J. Cell Biol.*, **136**, 1- 4.
- 63- M. Stocker, C. O'Neill, S. Berryman and V. Waxman (1968). Anchorage and growth regulation in normal and virus cells. *Int. J. Cancer*, **3**, 683-693.
- 64- R.G. Deschesnes, A. Patenaude, J.L. Rousseau, J.S. Fortin, C. Ricard, M.F. Côté, J. Huot, R. C-Gaudreault and E. Petitclerc (2007). Microtubule destabilizing agents induce focal adhesion structures disorganization and anoikis in cancer cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **320**, 853-864.
- 65- B. Felding-Habermann, T.E. O'Toole, J.W. Smith, E. Fransvea, Z.M. Ruggeri, M.H. Ginsberg, P.E. Hughes, N. Pampori, S.J. Shattil, A. Saven and B. M. Mueller (2001). Integrin activation controls metastasis in human breast cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 1853-1858.
- 66- J.S. Bennett (2005). Structure and function of the platelet integrin alphaIIb beta3. *J. Clin. Invest.*, **115**, 3363-3369.
- 67- B. Jennings, W. Spearman and E. Shephard (2005). A novel 25 kDa protein from the venom of Bitis arietans with similarity to C-type lectins causes fibrinogen-dependent platelet agglutination. *Toxicon*, **46**, 687-698.
- 68- R.O. Hynes (1992). Integrins: versatility, modulation and signalling in cell adhesion. *Cell*, **69**, 11-25.
- 69- E.F. Plow, T.A. Haas, L. Zhang, J. Lotfus and J.W. Smith (2000). Ligand binding to integrins. *J. Biol. Chem.*, **275**, 21785-21788.
- 70- R. Wang, R.M. Kini and M.C. Chung (1999). Rhodocetin, a novel platelet aggregation inhibitor from the venom of *Calloselasma rhodostoma* (Malayan pit viper): synergistic and

- noncovalent interaction between its subunits. *Biochemistry*, **38**, 7584-7593.
- 71- J.A. Eble and D.S. Tuckwell (2003). The $\alpha_2\beta_1$ inhibitor rhodocetin binds to the A-domain of the integrin α_2 subunit proximal to the collagen binding site. *Biochem. J.*, **15**, 77-85.
 - 72- C.H. Chung, L.C. Au and T.F. Huang (1999). Molecular cloning and sequence analysis of aggretin, a collagen-like platelet aggregation inducer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **263**, 723-727.
 - 73- W. Bergmeier, D. Bouvard, J.A. Eble, R. Mokhtari-Nejad, V. Schulte, H. Zirngibl, C. Brakebusch, R. Fassler and B. Nieswandt (2001). Rhodocytin (aggretin) activates platelets lacking $\alpha_2\beta_1$ integrin, glycoprotein VI, and the ligand-binding domain of glycoprotein Iba. *J. Biol. Chem.*, **276**, 25121-25126.
 - 74- A. Navdaev, J.M. Clemetson, J. Polgar, B.E. Kehrel, M. Glauner, E. Magnenat, T.N. Wells and K.J. Clemetson (2001). Aggretin, a heterodimeric C-type lectin from *Calloselasma rhodotoma* (malayan pit viper), stimulates platelets by binding to $\alpha_2\beta_1$ integrin and glycoprotein Ib, activating Syk and phospholipase C γ 2, but does not involve the glycoprotein VI/Fc receptor γ chain collagen receptor. *J. Biol. Chem.*, **276**, 20882-20889.
 - 75- C. Marcinkiewicz, R.R. Lobb, M.M. Marcinkiewicz, J.L. Daniel, J.B. Smith, C. Dangelmaier, P.H. Weinreb, D.A. Beacham and S. Niewiarowski (2000). Isolation and characterization of EMS16, a C-lectin type protein from *Echis multisquamatus* venom, a potent and selective inhibitor of the $\alpha_2\beta_1$ integrin. *Biochemistry*, **39**, 9859-9867.
 - 76- K. Horii, D. Okuda, T. Morita and H. Mizuno (2003). Structural characterization of EMS16, an antagonist of collagen receptor (GPIa/IIa) from the venom of *Echis multisquamatus*. *Biochemistry*, **42**, 12497-12502.
 - 77- C. Marcinkiewicz, R.R. Lobb, M.M. Marcinkiewicz, J.L. Daniel, J.B. Smith, C. Dangelmaier, P.H. Weinreb, D.A. Beacham and S. Niewiarowski (2000). Isolation and characterization of EMS16, a C-lectin type protein from *Echis multisquamatus* venom, a potent and selective inhibitor of the $\alpha_2\beta_1$ integrin. *Biochemistry*, **39**, 9859-9867.
 - 78- W.J. Wang (2008). Agglucetin, a tetrameric C-type lectin-like venom protein, regulates endothelial cell survival and promotes angiogenesis by activating integrin $\alpha_5\beta_3$ signaling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **369**, 753-760.
 - 79- S. Sarray, V. Berthet, J.J. Calvete, J. Secchi, J. Marvaldi, M. El-Ayeb, N. Marrakchi and J. Luis (2004). Lebecetin, a novel C-type lectin from *Macrovipera lebetina* venom, inhibits integrin-mediated adhesion, migration and invasion of human tumour cells. *Lab. Invest.*, **84**, 573-581.
 - 80- S. Sarray, E. Delamarre, J. Marvaldi, M. El Ayeb, N. Marrakchi and J. Luis (2007). Lebecetin and lebecetin, two C-type lectins from snake venom, inhibit $\alpha_5\beta_1$ and $\alpha_5\beta_3$ -containing integrins. *Matrix. Biol.*, **26**, 306-313.
 - 81- A. Pilorget, M. Conesa, S. Sarray, J. Michaud-Levesque, S. Daoud, K.S. Kim, M. Demeule, J. Marvaldi, M. El Ayeb, N. Marrakchi, R. Béliveau and J. Luis (2007). Lebecetin, a *Macrovipera lebetina* venom-derived C-type lectin, inhibits angiogenesis both *in vitro* and *in vivo*. *J. Cell. Physiol.*, **211**, 307-315.
 - 82- M. Pereira-Bittencourt, D.D. Carvalho, A.R. Gagliard and D.C. Collins (1999). The effect of a lectin from the venom of the snake, *Bothrops jararacussu*, on tumor cell proliferation. *Anticancer. Res.*, **19**, 4023- 4025.
 - 83- D.D. de Carvalho, S. Marangoni and J.C. Novello (2002). Primary structure characterization of *Bothrops jararacussu* snake venom lectin. *J. Protein. Chem.*, **21**, 43-50.
 - 84- T. Kawasaki, Y. Fujimura, Y. Usami, M. Suzuki, S. Miura, Y. Sakurai, K. Makita, Y. Taniuchi, K. Hirano and K. Titani (1996). Complete amino acid sequence and identification of the platelet glycoprotein Ib-binding site of jararaca GPIb-BP, a snake venom protein isolated from *Bothrops jararaca*. *J. Biol. Chem.*, **271**, 10635-10639.
 - 85- Y. Fujimura, Y. Ikeda, S. Miura, E. Yoshida, H. Shima, S. Nishida, M. Suzuki, K. Titani, Y. Taniuchi and T. Kawasaki (1995). Isolation and characterization of jararaca GPIb-BP, a snake venom antagonist specific to platelet glycoprotein Ib. *Thromb. Haemost.*, **74**, 743-750.
 - 86- C.H. Yeh, M.C. Chang, H.C. Peng and T.F. Huang (2001). Pharmacological characterization and antithrombotic effect of agkistatin, a platelet glycoprotein Ib antagonist. *Br. J. Pharmacol.*, **132**, 843-850.

- 87- X.Y. Du, A. Navdaev, J.M. Clemetson, E. Magnenat, T.N. Wells and K.J. Clemetson (2001). Bilinexin, a snake C-type lectin from *Agkistrodon bilineatus* venom agglutinates platelets via GPIIb and $\alpha_2\beta_1$. *Thromb. Haemost.*, **86**, 1277-1283.
- 88- W.F. Li, L. Chen, X.M. Li and J. Liu (2005). A C-type lectin-like protein from *Agkistrodon acutus* venom binds to both platelet glycoprotein Ib and coagulation factor IX/factor X. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **332**, 904-912.
- 89- X. Cheng, Y. Qian, Q. Liu, B.X. Li, M. Zhang and J. Liu (1999). Purification, characterization, and cDNA cloning of a new fibrinogenolytic venom protein, Agkisacutacin, from *Agkistrodon acutus* venom. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **265**, 530-535.
- 90- S. Liu, Z. Zhu, J. Sun, Z. Zhu, Q. Huang, M. Teng and L. Niu (2002). Purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of agkaggregin, a C-type lectin-like protein from *Agkistrodon acutus* venom. *Acta. Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.*, **58**, 675- 678
- 91- G. R  dis-Baptista, F.B. Moreno, L. de Lima Nogueira, A.M. Martins, D. de Oliveira Toyama, M.H. Toyama, B.S. Cavada, W.F. Jr. de Azevedo and T. Yamane (2006). Crotacetin, a novel snake venom C-type lectin homolog of convulxin, exhibits an unpredictable antimicrobial activity. *Cell. Biochem. Biophys.*, **44**, 412- 423.
- 92- L.P. Lin, Q. Lin and Y.Q. Wang (2007). Cloning, expression and characterization of two C-type lectins from the venom gland of *Bungarus multicinctus*. *Toxicon*, **50**, 411-419.
- 93- R. Wang, C. Kong, P. Kolatkar and M.C. Chung (2001). A novel dimer of a C-type lectin-like heterodimer from the venom of *Calloselasma rhodostoma* (Malayan pit viper). *FEBS Lett*, **508**, 447- 453.
- 94- J. Hamako, Y. Suzuki, N. Hayashi, M. Kimura, Y. Ozeki, K. Hashimoto and T. Matsui (2007). Amino acid sequence and characterization of C-type lectin purified from the snake venom of *Crotalus ruber*. *Comp. Biochem. Physiol. Part B. Biochem. Mol. Biol.*, **146**, 299-306
- 95- Q. Xu, X.F. Wu, Q.C. Xia and K.Y. Wang (1999). Cloning of a galactose-binding lectin from the venom of *Trimeresurus stejnegeri*. *Biochem. J.*, **341**, 733-737.
- 96- F. Aragon-Ortiz, J.R. Brenes-Brenes and F. Gubensek (1990). Characterization and properties of a lectin-like protein from *Lachesis muta* snake venom. *Toxicon*, **28**, 143.
- 97- F. Aragon-Ortiz, R. Mentale and E.A. Auerswald (1996). Amino acid sequence of a lectin-like protein from *Lachesis muta stenophrys* venom. *Toxicon*, **34**, 763-769.
- 98- J. Hirabayashi, T. Kusunoki and K. Kasai (1991). Complete primary structure of a galactose-specific lectin from the venom of the rattlesnake *Crotalus atrox*. Homologies with Ca^{2+} -dependent-type lectins. *J. Biol. Chem.*, **266**, 2320-2326.
- 99- J.R. Walker, B. Nagar, N.M. Young, T. Hiram and J.M. Rini (2004). X-ray crystal structure of a galactose-specific C-type lectin possessing a novel decameric quaternary structure. *Biochemistry*, **43**, 3783-3792.
- 100- Y. Komori, T. Nikai, T. Tohkai and H. Sugihara (1999). Primary structure and biological activity of snake venom lectin (APL) from *Agkistrodon p. piscivorus* (Eastern cottonmouth). *Toxicon*, **37**, 1053-1064.
- 101- T. Nikai, J. Suzuki, Y. Komori, M. Ohkura, Y. Ohizumi and H. Sugihara (1995). Primary structure of the lectin from the venom of *Bitis arietans* (puff-adder). *Biol. Pharm. Bul.*, **18**, 1620-1622.
- 102- J.G. Kelton, J.W. Smith, D. Moffatt, A. Santos and P. Horwood (1999). The interaction of ancrod with human platelets. *Platelets*, **10**, 24-21.
- 103- E.J. Topol, T.V. Byzova and E.F. Plow (1999). Platelet GPIIb-IIIa blockers. *Lancet*. **353**, 227-231.
- 104- D.A. Vorchheimer, J.J. Badimon and V. Fuster (1999). Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonists in cardiovascular disease. *JAMA*, **281**, 1407-1414.