

糖芯片制备和应用的最新研究进展

万钢俊^{*1} 王琨² 张洪才^{1,2} 李慧丽³ 王德农^{*4}

(上海交通大学化学与化工学院¹, 农业与生物学院², 药学院³, 上海 200240)

⁴(Tumor Glycomics Laboratory, Center for Cancer Research, SRI International Biosciences Division, CA 94025-3493, USA)

摘 要 糖芯片是一种研究微量糖与生物大分子之间相互作用的生物检测技术,因其具有用量少、快速、高效和高通量等特点,现已被广泛应用到药物开发、免疫学、临床诊断和细菌检测等诸多领域中。近年来,尽管对糖芯片的制备方法和应用进行了较为深入的研究,但对糖芯片的制备方法和应用的综述还较少报道。本文主要介绍糖芯片的制备原理、非化学修饰和化学修饰制备糖芯片的最新方法,然后对糖芯片在自组装等方面应用的最新进展进行综述,并对糖芯片所遇到的挑战和发展趋势也作了展望。

关键词 微阵列; 生物芯片; 糖芯片; 自组装; 综述

1 引 言

生物芯片主要包括基因芯片、蛋白质芯片和糖芯片等几大类^[1]。随着基因芯片和蛋白质芯片在生物学和医学研究领域广泛应用,高通量和微样品的芯片分析方法也得到了更深入的扩展^[2~5]。糖芯片是检测糖体与生物大分子之间相互作用的高通量高灵敏度的先进技术^[6~9]。在生命体中,糖类化合物除了储备能量之外,还承担生物识别和生物信息传递的重要作用^[10,11]。比如细胞膜上的多糖在防止病原侵袭^[12],释放流感病毒和艾滋病病毒^[13],扩散肿瘤细胞等方面有着重要的作用^[14]。细胞糖靶常常是病原体入侵的门户。多种微生物的特异性细胞受体是糖链组成的,与病原微生物入侵动物体如流感病毒传染的属主限制性密切相关。因此,糖链是生物信息的重要载体。近年来,由于糖芯片在生物、医药、环境和遗传等诸多领域显现出巨大的应用价值,制备糖芯片和深入研究糖与生物大分子间的特异性作用也逐渐成为人们关注的热点^[15~20]。然而糖基在糖芯片上密度分布不均匀,糖分子的稳定性和性能较差,这都对糖芯片的分子生物学活性有较大的影响。这些都将是今后开发新型糖芯片和进行糖基化修饰时所要考虑的问题^[21,22]。

2 糖芯片的技术特点

2002 年, Wang 等^[23]在《Nature》杂志上首次用微量点样法将 48 种微生物糖蛋白和多糖抗原点印在包被有硝酸纤维素膜玻片上的糖芯片技术。其后,多种糖芯片技术平台相继建立并投入应用^[24~26],但仍遇到了诸多困难和挑战,如糖芯片上糖的多样性及其呈现方式不规则,导致检测效率普遍偏低;其次,除天然糖以外,合成糖在合成条件和方式上受到制约和限制,直接影响糖芯片检测的特异性等。

糖芯片的制备原理与基因芯片、蛋白芯片相似,是将多种微量的糖类化合物以点阵的形式固定在某种材料制作的底片上,采用高通量扫描技术和荧光染色等手段分析和检测靶标糖分子与其它生物大分子之间的特异性结合,进而研究其的生物功能和作用机制^[27]。糖芯片具有检测样品用量少、特异性高、高敏感性、高通量和长期稳定性等优点^[14,28~33],极大地提高了糖化学研究的效率。糖芯片可分为单糖或二糖芯片、寡糖芯片、多糖芯片和复合式芯片;根据用途不同可分为功能糖组学芯片,药物开发糖体芯片和糖抗原免疫诊断芯片等。

2012-04-27 收稿; 2012-06-16 接受

本文系中国国家自然科学基金项目(No. 51173104)、上海纳米专项(No. 11nm0503500)和美国 NIH 基金项目(No. CA128416)资助

* E-mail: wanajun@sjtu.edu.cn; denong.wang@sri.com

3 糖芯片的制备

3.1 非化学修饰糖类固定

此方法无需对糖基进行修饰,通过点样仪点样的方法将糖直接固定在玻片上,属于非特异性结合。此方法无需对糖基进行修饰,通过点样仪点样的方法把糖体直接固定在特定的固体介质上。

3.1.1 非活性表面的非共价固定 直接以非共价键结合的方式将糖体固定在固体介质上,属于非特异性结合。适用于多糖,糖蛋白,糖脂和其他糖复合物。例如,Wang 等^[23]研制的糖芯片(异硫氰酸荧光素(FITC)-多糖复合物作为探针)就是通过非共价固定的方式固定在硝酸纤维素膜修饰的玻片上制备的。该糖芯片风干后可以在室温下长期稳定保存,并且具有高度敏感性,可同时检测微量血清样品中的多种特异性抗体(图 1)。Wang 等^[34]在硝酸纤维素膜载玻片上制备了简单和高通量的糖抗原芯片,用于检测抗原。Willats 等^[35]是将相对疏水的黑色聚苯乙烯玻片通过物理修饰来提高微阵列对多糖的非共价吸附能力制备多糖微阵列。他们发现这种微阵列比传统的酶联免疫吸附法(ELISA)具有更低的检测限和更高密度的样品检测阵列系统,可满足糖组学快速、灵敏和高通量分析的要求。非共价固定方法弥补了某些糖分子由于共价结合难度较大而造成的局限性,但只限于分子量较大的一些糖类。

3.1.2 活性表面的共价固定 非化学修饰共价固定方法在保持糖芯片较高特异性和高效性的同时,还要求糖分子探针能够

高效、稳定地粘附在基质上。此方法是将载体材料表面衍生出氨基、酰肼基或光活性等基团,直接与各种未修饰的糖分子反应形成化学键。如 Zou 等^[36]以聚乙烯微孔板为固相载体,并在上面铺一层有机硅凝胶薄膜,将非化学修饰的糖分子直接固定在载体上。该方法研究的对象可以是所有具有还原端的单糖、寡糖和多糖,且排列的方向整齐。Park 等^[37]采用单步执行酸调节方式在玻片表面上用亚胺酯类化合物进行表面修饰,发现用 TFOH 进行表面修饰效果优于 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 。Hsiao 等^[19]利用糖的羟基与玻璃表面的硼酸形成稳定共价的硼酸盐制备糖芯片,用来鉴定糖-蛋白质表面相互作用。Ebran 等^[38]通过非接触式点样仪在聚苯乙烯微孔板上制备糖芯片,并且研究了糖基与刀豆凝集素、麦胚等凝集素的固定效率和特异性。这些经过共价固定制成的糖芯片普遍都要衍生出联接基,这往往破坏了糖分子的结构并且制备过程复杂,导致结合率偏低。只有理想的间距和糖配体的正确取向才能形成高亲和性的多价结合,这也正是今后的研究重点。

这些方法寡糖和多糖都适用。因糖体与基质形成多点偶联,共价固定高效。但提呈的糖链有多种构形。从而在同一微点上的抗原决定簇有微细差异^[39]。

3.2 化学修饰糖类固定

由于糖类化合物的性质,如分子量、空间结构、溶解性、反应位点和反应活性,差别较大,有些不能直接以非共价结合的方式直接固定在固体介质上。为了克服这些缺陷,需要对糖进行化学修饰,即嫁接上能与载体表面产生特异性结合的基团,然后再对其进行固定。

3.2.1 非活性表面的共价固定 Mamidyala 等^[40]将 C_8F_{17} 基团接在糖分子末端的羟基上,通过氟化物

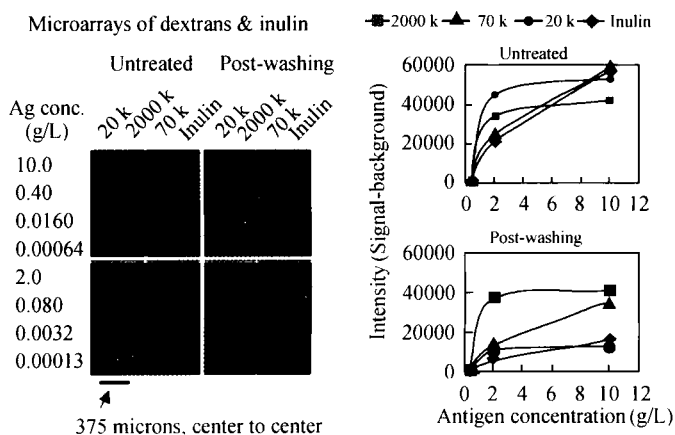


图 1 多糖在硝酸纤维素膜修饰的玻片上的固定(A)洗脱前后呈现在糖芯片上的斑点图;(B)荧光强度与洗脱前后印迹糖芯片浓度的定量关系图^[23]

Fig. 1 Immobilization of polysaccharides on a nitrocellulose-coated glass slide (A) Image of the carbohydrate microarray spots before and after washing; (B) Quantitative illustration of the relation of fluorescence intensity and the concentration of printed carbohydrate microarrays before and after washing^[23]. Reproduced with permission from Nature Publishing Group

之间的强作用力将糖分子有效固定(图 2)。Norberg 等^[41]在一系列高聚物(如聚苯乙烯、聚丙烯酰胺、聚乙二醇、聚(2-乙基-2-恶唑啉)、聚丙烯)的表面嫁接上各种各样的糖(如甘露糖, β -半乳糖, *N*-乙酰基-D-氨基葡萄糖)制备了具有识别特性的生物材料,并利用石英晶体微天平(Quartz crystal microbalance, QCM)检测蛋白质-糖之间的相互作用,从而鉴定出一系列糖结合活性蛋白(如凝集素等)。

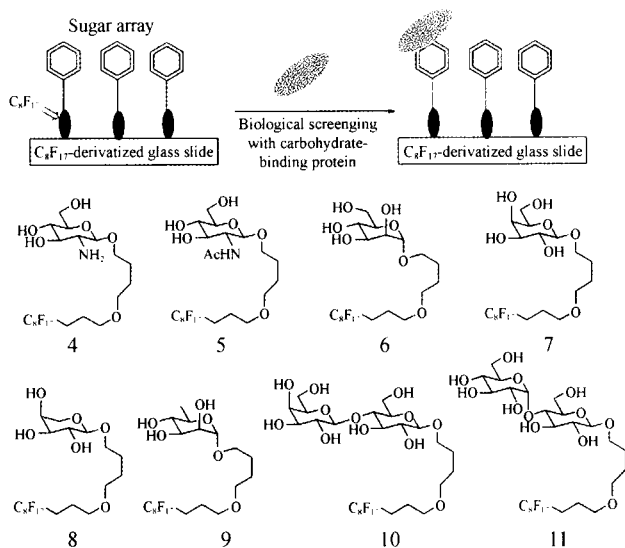


图 2 微阵列中用氟标记糖(4~11)筛选糖结合蛋白^[40]

Fig. 2 Fluorous-tagged sugars (4–11) included in a microarray for screening with carbohydrate-binding proteins^[40]. Copyright Elsevier and reproduced with permission

3.2.2 活性表面的共价固定 首先将糖分子修饰后接上活性基团,然后与活化的表面快速反应共价固定制备糖芯片,因为共价键的形成,使得嫁接的更加稳定,特异性较高。Seo 等^[26]提出了一种温和、高效和廉价的方法,即一步将糖基固定在玻片上制备糖芯片(图 3),并通过还原氨化反应修饰糖基化合物,并接枝上 4-(γ -氨基乙基)苯胺;将修饰后的糖通过氨基化反应接枝在 *N*-羟基琥珀酰亚胺 NHS 活化的玻片上,形成稳定的酰胺键。Deng 等^[42]建立了一条立体的高产率的合成路径,并将五氟丙烯酸酐基通过光化学引发接枝到聚合物表面,并将其运用到糖芯片的制备上。Ratner 等^[42]将表面涂有牛血清蛋白(BSA)的玻片用马来亚酰胺进行表面修饰,再固定糖基化的硫醇,并应用糖芯片技术证实了在 HIV 表面的糖蛋白 gp120 与其它糖结合蛋白相互作用。Tong 等^[43]通过制备糖纳米颗粒芯片研究多糖与凝集素的关系,用荧光素和荧光素二氧化硅掺杂染料(FSNP)标记该糖芯片,显著提高了高亲和性糖配基的荧光强度。

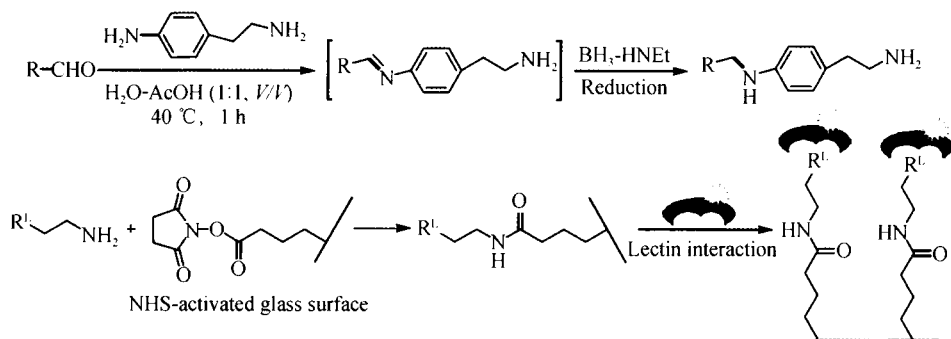


图 3 糖修饰后固定在改性玻片表面的示意图^[26]

Fig. 3 Strategy for carbohydrate modification and direct immobilization onto a glass surface. Copyright Wikipedia and reproduced with permission^[26]

R: Free saccharide; R¹: R-CH₂-NH-Ph.

4 糖芯片的应用

4.1 糖芯片在糖组学和蛋白质组学中的应用

糖芯片技术主要应用于发现与鉴定具有生物活性的糖靶或决定部位,筛选相应的糖配体,为糖药物的开发提供快速的筛选方法。同时对研究糖结合的构效关系、鉴定糖的结构以及临床应用等也有不可替代的作用^[44~46]。在蛋白质组学和糖组学研究中,可用于高通量的糖芯片分析蛋白质-糖之间的相互作用和快速鉴定新型的糖结合蛋白,快速测定与糖相关的酶的底物特异性和酶活性;鉴定和表征未知多糖的结构。另外,可以将未知的多糖制备成糖芯片,利用已知的糖结合蛋白的特异性识别作用鉴定多糖类型,结合质谱法测定多糖结构的序列。糖芯片也可以快速鉴定出样品中是否具有糖结合的活性蛋白质(如凝集素)^[47~49]。Pond 等^[50]报道了一种快速糖-凝集素结合的特性,将糖功能化的囊泡固定在硝酸纤维素玻片上制备糖芯片,该糖芯片为探究其它未知凝集素的功能提供可能。

4.2 糖芯片在药物开发及临床诊断中的应用

许多疾病的发生是由于病毒细胞表面的凝集素对宿主细胞表面的糖类特异性识别造成的,破坏这种识别作用的抑制剂将有可能治疗这些疾病^[50,51]。糖芯片就能以高通量的方式进行筛选结合蛋白抑制剂。某些与糖有关的酶(如糖苷酶和糖基转移酶)直接与某些疾病相关的糖进行生物合成,筛选这些酶的抑制剂将有助于筛选新药物^[45]。微生物多糖芯片也可用于人类血清样品的研究中,通过研究抗体与糖之间的相互作用来诊断病原体的入侵。人们仅用一滴血液标本即可同时检测数千种不同的病原体感染,它对于流行病的诊断和大规模调查、环境检测等都有很重要的作用。如 Zhang 等^[52]建立并成功将拟糖蛋白芯片应用到单克隆体的开发、生物标记和疫苗的优化中。Han 等^[53]通过增强化学发光(Enhanced chemiluminescence, ECL)的方法制备了一种糖基功能化的 CdS 纳米复合材料,该复合材料是用巯基丙酸包覆的 CdS 量子点首先被固定在碳纳米管修饰的电极上,然后与表面功能化的聚甘露糖结合,该复合材料展示出了较高的敏感性和稳定性,并能识别伴刀豆球蛋白上的靶细胞,能通过活细胞上的糖类化合物对药物进行灵活监控。

4.3 糖芯片在遗传生物学及免疫学中的应用

微生物抗原细胞表面的糖基复合物是宿主识别与响应的主要结构区,而某些病原微生物的表面抗原可模拟宿主细胞的糖分子结构以逃避宿主免疫系统的攻击。因此,鉴定这类抗原结构对于免疫学研究具有重要意义。糖芯片还可用来翻译糖组学中寡糖遗传密码^[54,56],而且大多数病原体细胞表面都有特殊的多糖,人类感染病原体后产生能够和多糖特异性结合的抗体。糖芯片能有效的检测这些抗体,如 Ratner 等^[57]将糖芯片技术被应用在蛋白质-糖类、蛋白质-糖蛋白相互作用所关联的艾滋病病毒糖生物学中。Tetala 等^[58]将包含的神经节苷酯 GM2 和 GM3 模拟为一系列的活性血清反抗神经节苷酯抗体并能长期免疫调节神经疾病(糖芯片进行检测),被当作诊断和治疗反抗神经节苷酯抗体的有效工具。

4.4 糖芯片在细菌检测研究中的应用

细菌表面含有许多多糖或糖基复合物,如荚膜多糖、脂多糖和糖蛋白等。利用糖芯片检测细菌和研究细菌中糖键结合的特异性已有报道。Pieters 等^[59]报道了糖类化合物可调解细菌粘附,使得预防和治疗细菌性感染成为可能。Wang 等^[60]将掺杂了纳米二氧化硅的荧光染料(FSNPs)用于多糖标记,用 FSNP 示踪多糖技术进行观察、检测细菌,并研究糖-凝集素之间的交换。

4.5 自组装在糖生物芯片中的应用

自组装(Self-Assembly)是指在基于非共价键的相互作用下自发组织或聚集为一个稳定的,具有一定规则几何外观的结构^[61,62]。2004 年,Yan 等^[63]在《Science》上首次报道了宏观超分子自组装。此后,自组装的一些应用进入了崭新的研究阶段^[64~69]。近年来,在糖芯片的研究中提出了三维糖芯片(3-D Arrays)^[70]。该芯片基质表面带有疏水作用的基团,探针包裹在微量的凝胶微球中,由于微球的空间立体结构,使得探针分子呈三维分布,存在更多的结合点,因而比二维芯片有更高的灵敏度和结合效率。三维糖芯片可以使用凝胶、无机或有机纳米颗粒作为基体材料,具有操作方便、负载量大、灵敏度高等诸多优点,具有巨大的开发潜力^[27]。Ke 等^[71]通过自组装形成了具有蜂巢状的一种两性嵌段共聚物(聚(苯乙

烯-(甲基丙烯酸 β 羟乙酯)), 并在其上嫁接上封闭型的糖基单体, 用 3-D 荧光标记法标记, 羟基基本上都被附着在毛孔里, 从而为定向表面修饰提供了一种新的研究方法。

Pulsipher 等^[72]报道了一种新型的可再生的芯片技术, 通过自组装单分子层(SAMs)可固定且释放糖类和蛋白质。该方法成功应用到生物传感器、生物细胞分析等研究领域。Zhou 等^[73]报道了一种随时可用的新的生物芯片平台和敏感的糖芯片。该技术利用 3-D 的聚酰胺-胺型树形聚合物单层自组装在一个玻璃表面(图 4), 功能化的氨基键和酰肼键在特定的嫁接糖类中生成许多不同的糖类(如单糖、寡糖和多糖)(图 5), 在糖的连接过程中能有效加速通过微波辐射的能量。更重要的是, 该生物芯片展现出的糖链方向和簇集结构可用来探究糖的结构和糖抗原的多样性构象及功能性质。

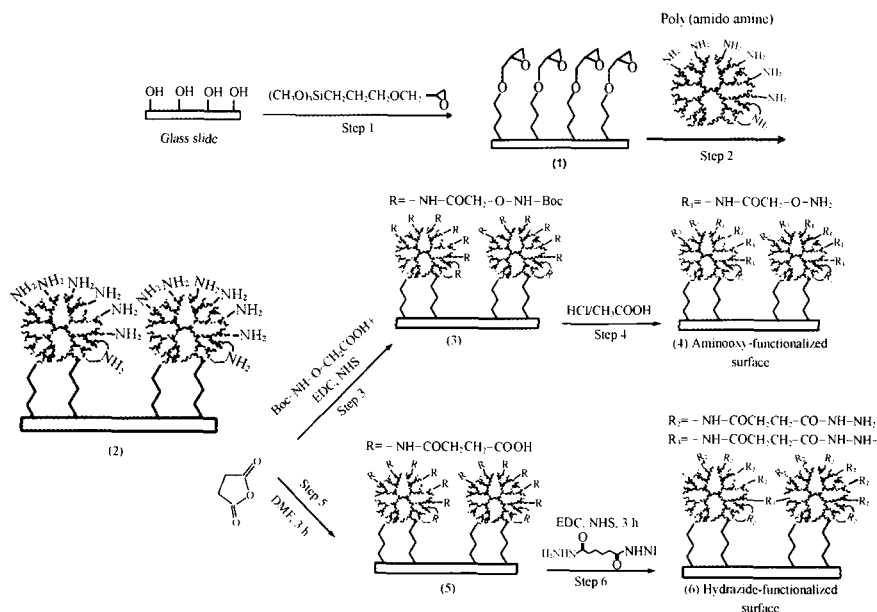


图 4 制备 3-D 氨基化合物和酰肼功能化玻片的化学过程^[73]

Fig. 4 Chemical process for preparation of 3-D aminoxy- and hydrazide functionalized glass slides. Copyright ACS and reproduced with permission^[73]

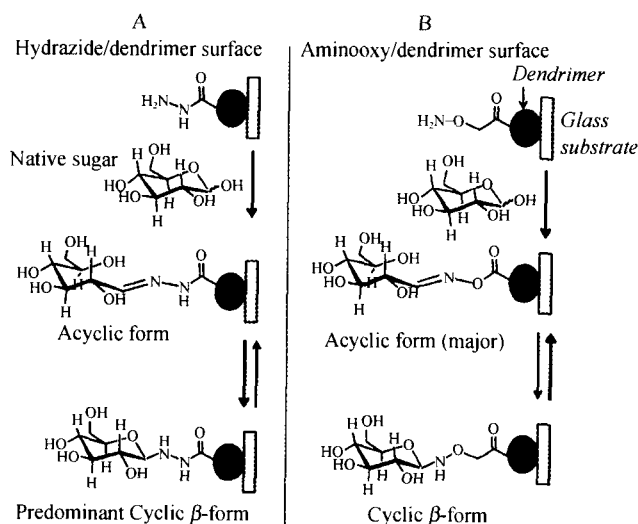


图 5 在氨基键和酰肼键修饰玻片上寡糖的固定机制^[73]

Fig. 5 Immobilization mechanism of oligosaccharides onto aminoxy-dendrimer and Hydrazide-dendrimer coated slides. Copyright ACS and reproduced with permission^[73]

Tyagi 等^[74]用磷脂酸类巯基化合物制成光激活的自组装单分子层后, 在玻片上进行点印和光固定制作成糖芯片, 并通过表面等离子体共振技术(SPRi)研究了蛋白绑定对糖芯片的影响。研究结果表明, 固

定了的糖配体保留了与凝集素的密切联系,其等级次序与溶剂中自由糖链上的等级次序相同。Tantakitti 等^[75]研究了多糖能够在金粒子基质上形成高密度的糖簇,该多糖自组装单分子层可大大提高了糖分子的结合效率,这一研究将为糖组学和糖芯片的研究开辟了一条新的道路(图 6)。通过自组装制成的多维糖芯片,由于聚集的树形聚合物高度支化,并具有三维空间结构的单分散大分子,且大分子表面堆砌致密,内部有空隙,分子尺寸在纳米级,在糖芯片上具有广阔的应用前景。

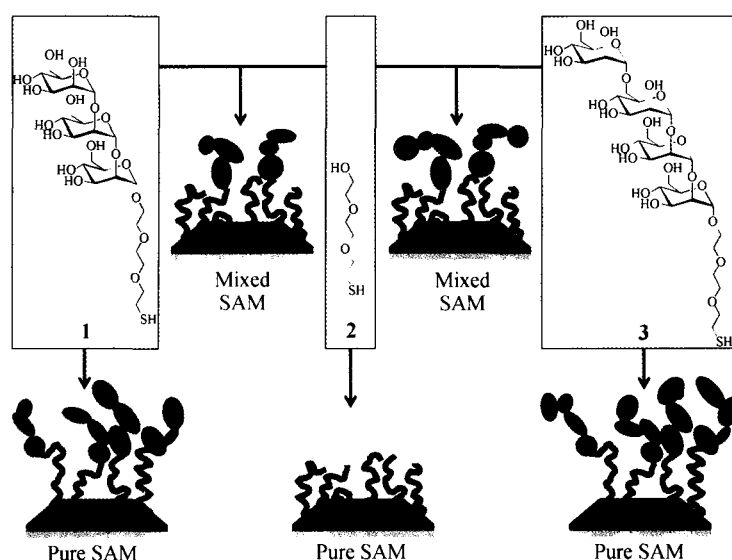


图 6 在金粒子基底上组装纯的和糖(1)、(3)和 OEG(2)疏醇混合的自组装单分子层^[75]

Fig. 6 Assembly of pure and mixed SAMs of sugars (1) and (3) and OEG (2) thiols on gold.

Copyright ACS and reproduced with permission^[75]

Sugar (1): a synthetic trisaccharide; sugar (3): a synthetic tetrasaccharide; OEG (2): hydroxyl-terminated oligo (ethylene glycol) thiol.

5 展 望

糖芯片是研究糖类化合物生物功能的有效工具之一。糖芯片在制备技术上发展很快,已达到现代生物芯片的先进水平。但面临的挑战和需要改进的方面还很多。

(1)载体材料的选择 如何构建理想的载体材料是成功制备糖芯片的前提条件,理想的载体材料要具有足够的稳定性、惰性和良好的生物兼容性,并且具有与糖分子结合的活性表面。常用的固相载体是玻璃片、硅胶片、纤维膜、微孔板和微球。在制备糖芯片过程中,糖分子必须整齐的排列在载体表面,并保持它们的三维结构,以便于与相应的分子结合。

(2)糖的合成及修饰 鉴于天然糖的匮乏,近年来,逐渐出现了较多新方法(如组合合成法、迈克尔加成法、固相合成法和程序化一锅反应法),制备结构多样和复杂的糖化合物。在自然界中,存在大量结构未知的糖类,由于糖分子本身具有复杂和特异的结构,糖芯片的发展也因此受到较大的限制。从自然界中获得的糖类远比合成糖更为重要^[76],这也是今后所要研究的关键问题。

(3)糖与生物大分子之间的结合 糖芯片与生物分析样品(DNA、蛋白质或者细胞)反应之前,都需要对其作封闭处理,防止分析样品对糖芯片产生非特异性吸附,降低背景吸收。因此,必须根据生物样品来选择和优化蛋白质与糖特异性结合的条件,同时也要保持蛋白质的生物活性。目前常用的封闭试剂是 BSA,其能有效降低背景吸收,但也有人认为 BSA 的使用可能会干扰蛋白质对糖芯片的识别作用。因此,要提高封闭效率和最大的信噪比,仍需要改良封闭方法。

(4)样品的制备和检测方法 制备糖芯片普遍的方法是将经化学修饰的糖分子以共价结合的方式嫁接到经衍生化处理的基质表面。目前,糖芯片的制备普遍存在特异性不高和合成效率低等问题,近些年报道的光化学及光刻技术对糖芯片的制备及检测将是糖芯片研究的重要途径^[77,78]。目前,常用的检

测分析方法有荧光光谱法、表面等离子体共振光谱法、质谱法以及同位素标记检测法等^[79,80]。鉴于糖芯片检测效率普遍较低,开发更为有效的检测手段也是今后的研究方向之一。

糖芯片在疾病诊断、基因组研究、细菌检测、药物开发和临床疾病诊断等领域里显示出巨大的应用潜力,这将对人类的生活产生广泛和深远的影响^[2,81~84]。另外,糖-蛋白质数据库及蛋白质数据库等的建立与完善为糖芯片的高通量分析提供强有力的支持,相信随着糖化学研究的不断深入,糖芯片必定会大大促进糖生物学及糖组学的研究^[85]。我们将会深入分析和比较各种制备方法的优缺点,取长补短,综合运用 DNA 芯片,生物传感器和蛋白芯片技术的优势,进一步开发出一些简单并适用于各种糖类化合物制备方法,例如 Wendeln 和 Ravoo 研究微结构化学能有效解决糖分子固定在基质上效率低的难题,将在糖芯片制备上显示出较大的应用空间^[86]。在糖芯片制备的过程中,糖类须以合适的空间和取向固定,便于蛋白识别,自组装单层技术^[68]是将糖以自组装的方法固定到载体表面,形成排列整齐的单层结构,从而对其实现空间和方位的控制。由于芯片实验室(Lap-on-a-chip)体积小,携带方便,能同时检测多种生物分子等特点,使其具有巨大的商业价值和应用潜力。

References

- 1 Shin I, Park S, Lee M R. *Chem-Eur J.*, **2005**, 11(10): 2894–2901
- 2 Godula K, Bertozzi C R. *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, 132(29): 9963–9965
- 3 Liu Y. *Biochem. Soc. T.*, **2010**, 38: 1361–1367
- 4 Galan M C, Corfield A P. *Biochem. Soc. T.*, **2010**, 38: 1368–1373
- 5 Huang C H, Chen Y Y, Wang C X, Zhu W, Ma H W, Jin G. *Thin. Solid. Films.*, **2011**, 519(9): 2763–2777
- 6 Tokunaga Y, Iwamoto T, Nakashima S, Shoji E, Nakata R. *Tetrahedron. Lett.*, **2011**, 52(2): 240–243
- 7 Kiessling L L, Cairo C W. *Nat. Biotechnol.*, **2002**, 20(3): 234–235
- 8 Liu Y, Palma A S, Feizi T. *Biol. Chem.*, **2009**, 390(7): 647–656
- 9 Wang D N. *Proteomics*, **2003**, 3(11): 2167–2175
- 10 Seeberger P H, Werz D B. *Nature*, **2007**, 446(7139): 1046–1051
- 11 Horlacher T, Oberli M A, Werz D B, Krock L, Bufali S, Mishra R, Sobek J, Simons K, Hirashima M, Niki T, Seeberger P H. *Chembiochem.*, **2010**, 11(11): 1563–1573
- 12 Stevens J, Blixt O, Paulson J C, Wilson I A. *Nat. Rev. Microbiol.*, **2006**, 4 (11): 1857–1864
- 13 Smith A E, Helenius A. *Science*, **2004**, 304 (5668): 1237–1242
- 14 Fuster M M, Esko, J D. *Nat. Rev. Cancer*, **2005**, 5 (7): 1526–1542
- 15 Park S, Pai J, Han E H, Jun C H, Shin I. *Bioconjugate. Chem.*, **2010**, 21(7): 1246–1253
- 16 Szunerits S, Niedziolka-Jonsson J, Boukherroub R, Woisel P, Baumann J S, Siriwardena A. *Anal. Chem.*, **2010**, 82(19): 8203–8210
- 17 Chang C F, Pan J F, Lin C N, Wu I L, Wong C H, Lin C H. *Glycobiology*, **2011**, 21(7): 895–902
- 18 Hoffmann-Roder A, Schoenhentz J, Wagner S, Schmitt E. *Chem. Commun.*, **2011**, 47(1): 382–384
- 19 Hsiao H Y, Chen M L, Wu H T, Huang L D, Chien W T, Yu C C, Jan F D, Sahabuddin S, Chang T C, Lin C C. *Chem. Commun.*, **2011**, 47(4): 1187–1189
- 20 Lee M R, Park S, Shin I. *Methods. Mol. Biol.*, **2012**, 808, 103–1116
- 21 Oyelaran O, Gildersleeve J C. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2009**, 13 (4): 406–1413
- 22 Tantakitti F, Burk-Rafel J, Cheng F, Egnatchik R, Owen T, Hoffman M, Weiss D N, Ratner D M. *Langmuir*, **2012**, 28 (17): 6950–6959
- 23 Wang D N, Liu S Y, Trummer B J, Deng C, Wang A L. *Nat. Biotechnol.*, **2002**, 20(3): 275–281
- 24 Deng L Q, Norberg O, Uppalapati S, Yan M D, Ramstrom O. *Org Biomol. Chem.*, **2011**, 9(9): 3188–3198
- 25 Tamborrini M, Liu X Y, Mugasa J P, Kwon Y U, Kamena F, Seeberger P H, Pluschke G. *Bioorgan. Med. Chem.*, **2010**, 18(11): 3747–3752
- 26 Seo J H, Kim C S, Hwang B H, Cha H J. *Nanotechnol.*, **2010**, 21(21): 215101
- 27 Dyukova V I, Shilova N V, Galanina O E, Rubina A Y, Bovin N V. *Bba-Gen. Subjects.*, **2006**, 1760(4): 603–609
- 28 Feizi T. *Int. Exp. Pathol.*, **2004**, 85(4): A51–A52

- 29 Feizi T. *Febs. J.*, **2006**, 273: 27
- 30 Feizi T, Chai W G. *Nat. Rev. Mol. Cell. Bio.*, **2004**, 5(7): 582–588
- 31 Feizi T, Fazio F, Chai W C, Wong C H. *Curr. Opin. Struc. Biol.*, **2003**, 13(5): 637–645
- 32 Wang C C, Huang Y L, Ren C T, Lin C W, Hung J T, Yu J C, Yu A L, Wu C Y, Wong C H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **2008**, 105(33): 11661–11666
- 33 Wang D N, Carroll G T, Turro N J, Koberstein J T, Kovac P, Saksena R, Adamo R, Herzenberg L A, Steinman L. *Proteomics*, **2007**, 7(2): 180–184
- 34 Wang D. *Methods. Mol. Biol.*, **2012**, 808: 241–249
- 35 Willats W G T, Rasmussen S E, Kristensen T, Mikkelsen J D, Knox J P. *Proteomics*, **2002**, 2(12): 1666–1671
- 36 Zou L, Pang H L, Chan P H, Huang Z S, Gu L Q, Wong K Y. *Analyst*, **2008**, 133(9): 1195–1200
- 37 Park S, Lee M R, Shin I. *Bioconjugate. Chem.*, **2009**, 20(1): 155–162
- 38 Ebran J P, Dendane N, Melnyk O. *Methods. Mol. Biol.*, **2012**, 808: 377–391
- 39 Sharma P, Basir S F, Nahar P. *J. Colloid. Interf. Sci.*, **2010**, 342(1): 202–204
- 40 Mamidyala S K, Ko K S, Jaipuri F A, Park G, Pohl N L. *J. Fluorine. Chem.*, **2006**, 127(4-5): 571–579
- 41 Norberg O, Deng L Q, Aastrup T, Yan M D, Ramstrom O. *Anal. Chem.*, **2011**, 83(3): 1000–1007
- 42 Ratner D M, Seeberger P H. *Curr. Pharm. Design.*, **2007**, 13(2): 173–183
- 43 Tong Q, Wang X, Wang H, Kubo T, Yan M. *Anal. Chem.*, **2012**, 84 (7): 3049–3052
- 44 Patwa T, Li C, Simeone D M, Lubman D M. *Mass. Spectrom. Rev.*, **2010**, 29(5): 830–844
- 45 Kosik O, Auburn R P, Russell S, Stratilova E, Garajova S, Hrmova M, Farkas V. *Glycoconjugate. J.*, **2010**, 27(1): 79–87
- 46 Park S, Lee M R, Shin I. *Chem. Commun.*, **2008**, (37): 4389–4399
- 47 Park S, Lee M R, Pyo S J, Shin I. *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126(15): 4812–4819
- 48 Park S, Lee M R, Shin I. *Nat. Protoc.*, **2007**, 2(11): 2747–2758
- 49 Gupta G, Surolia A, Sampathkumar S G. *Omics*, **2010**, 14(4): 419–436
- 50 Pond M A, Zangmeister R A. *Talanta*, **2012**, 91(15): 134–139
- 51 Lucas J M. *Allergol. Immunopath.*, **2010**, 38(3): 153–161
- 52 Zhang Y L, Campbell C, Li Q A, Gildersleeve J C. *Mol. Biosyst.*, **2010**, 6(9): 1583–1591
- 53 Han E, Ding L, Jin S, Ju H X. *Biosens. Bioelectron.*, **2011**, 26(5): 2500–2505
- 54 Zhang J, Pourceau G, Meyer A, Vidal S, Praly J P, Souteyrand E, Vasseur J J, Morvan F, Chevolut Y. *Chem. Commun.*, **2009**, (44): 6795–6797
- 55 Suvorov A, Takser L. *Environ. Health. Persp.*, **2010**, 118(1): 97–102
- 56 Li B Z, Cheng J S, Qiao B, Yuan Y J. *J. Ind. Microbiol. Biot.*, **2010**, 37(1): 43–55
- 57 Ratner D M, Seeberger P H. *Curr. Pharm. Design.*, **2007**, 13(2): 173–183
- 58 Tetala K K R, Heikema A P, Pukin A V, Weijers C A G M, Tio-Gillen A P, Gilbert M, Endtz H P, van Belkum A, Zuilhof H, Visser G M, Jacobs B C, van Beek T A. *J. Med. Chem.*, **2011**, 54(10): 3500–3505
- 59 Pieters R J. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **2011**, 715: 227–240
- 60 Wang X, Ramstrom O, Yan M D. *Chem. Commun.*, **2011**, 47(14): 4261–4263
- 61 Berger R, Delamarche E, Lang H P, Gerber C, Gimzewski J K, Meyer E, Guntherodt H J. *Science*, **1997**, 276(5321): 2021–2024
- 62 Nelson J. *Science*, **2001**, 293(5532): 1059–1060
- 63 Yan D Y, Zhou Y F, Hou J. *Science*, **2004**, 303(5654): 65–67
- 64 Wiesner U, Arora H, Du P, Tan K W, Hyun J K, Grazul J, Xin H L, Muller D A, Thompson M O. *Science*, **2010**, 330(6001): 214–219
- 65 Estevez J M, Velasquez S M, Ricardi M M, Dorosz J G, Fernandez P V, Nadra A D, Pol-Fachin L, Egelund J, Gille S, Harholt J, Ciancia M, Verli H, Pauly M, Bacic A, Olsen C E, Ulvskov P, Petersen B L, Somerville C, Iusem N D. *Science*, **2011**, 332(6036): 1401–1403
- 66 Zhang X J, Yadavalli V K. *Anal. Chim. Acta*, **2009**, 649(1): 1–7

- 67 Perañ P, Branderhorst H M, Kooij R, Maierhofer C, van der Kaaden M, Liskamp R M J, Wittmann V, Ruijten-beek R, Pieters R J. *Chembiochem.*, **2010**, 11(13): 1896–1904
- 68 Huang K T, Gorska K, Alvarez S, Barluenga S, Winssinger N. *Chembiochem.*, **2011**, 12(1): 56–60
- 69 Dhayal M, Ratner D A. *Langmuir*, **2009**, 25(4): 2181–2187
- 70 Dyukova V I, Dementieva E I, Zubitsov D A, Galanina O E, Bovin N V. *Anal. Biochem.*, **2005**, 347 (1): 94–105
- 71 Ke B B, Wan L S, Xu Z K. *Langmuir*, **2010**, 26(11): 8946–8952
- 72 Pulsipher A, Yousaf M N. *Chem. Commun.*, **2011**, 47(1): 523–525
- 73 Zhou X C, Turchi C, Wang D N. *J. Proteome. Res.*, **2009**, 8(11): 5031–5040
- 74 Tyagi A, Wang X, Deng L Q, Ramstrom O, Yan M D. *Biosens. Bioelectron.*, **2010**, 26(2): 344–350
- 75 Tantakitti F, Burk-Rafel J, Cheng F, Egnatchik R, Owen T, Hoffman M, Weiss D N, Ratner D M. *Langmuir*, **2012**, 28 (17): 6950–6959
- 76 Lonardi E, Balog C I A, Deelder A M, Wührer M. *Expert. Rev. Proteomic*, **2010**, 7(5): 761–774
- 77 Gregory T C, Wang D, Nicholas J T, Jeffrey T K. *Langmuir*, **2006**, 22(6): 2899–2905
- 78 Wang D N, Carroll G T, Turbo N J, Kobeststein J T, Kovac P, Saksena R, Adamo R, Herzenberg L A, Steinman L. *Proteomics*, **2007**, 7(2): 180–118
- 79 Scurr D J, Horlacher T, Oberli M A, Werz D B, Kroeck L, Bufali S, Seeberger P H, Shard A G, Alexander M R. *Langmuir*, **2010**, 26(22): 17143–17155
- 80 Li Y S, Arigi E, Eichert H, Levery S B. *J. Mass. Spectrom.*, **2010**, 45(5): 504–519
- 81 Gao J Q, Liu C, Liu D J, Wang Z X, Dong S J. *Talanta*, **2010**, 81(4-5): 1816–1820
- 82 Zeng Z, Hincapie M, Haab B B, Hanash S, Pitteri S J, Kluck S, Hogan J M, Kennedy J, Hancock W S. *J. Chromatogr. A*, **2010**, 1217(19): 3307–3315
- 83 Zhu X Y, Holtz B, Wang Y N, Wang L X, Orndorff P E, Guo A. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131(38): 13646–13650
- 84 Katrlík J, Svitel J, Gemeiner P, Kozar T, Tkac J. *Med. Res. Rev.*, **2010**, 30(2): 394–418
- 85 Szczepanek J, Styczynski J, Haus O, Tretyn A, Wysocki M. *Arch. Immunol. Ther. Ex.*, **2011**, 59(1): 61–68
- 86 Wendeln C, Ravoo B J. *Langmuir*, **2012**, 28 (13): 15527–15538

Modern Carbohydrate Microarray Bio-chip Technologies

WAN A-Jun^{*1}, WANG Kun¹, ZHANG Hong-Cai^{1,2}, LI Hui-Li³, WANG De-Nong^{*1}

(School of Chemistry and Chemical Engineering¹, School of Agriculture and Biology², School of Pharmacy³,
Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

¹(Tumor Glycomics Laboratory, Center for Cancer Research, SRI International Biosciences Division, CA 94025-3493, USA)

Abstract Carbohydrate microarray (glyco-chip), is one of modern biotechnologies for monitoring the molecular interactions between carbohydrate ligands and other biomacromolecules. It is characterized by micro-scale, quickness, high sensitivity and high-throughput and is widely applicable in many fields. Its promising R&D areas include, but are not limited to, biology, basic medical research, clinical diagnostics, drug development and bio-material & reagent industry. This article intends to summarize methods that are currently used for the construction of glyco-chips, such as immobilization of either chemically modified or non-modified carbohydrates and procedures of self-assembly for production of three-dimensional glyco-chips. Current challenges and future trends in the R&D of glyco-chips are also discussed.

Keywords Microarray; Bio-chips; Carbohydrate microarray; Self-assembly; Review

(Received 27 April 2012; accepted 16 June 2012)