细胞表面聚糖标记研究进展

李晨, 周志昉*, 吴志猛*

江南大学生物工程学院, 糖化学与生物技术教育部重点实验室, 无锡 214122

* 联系人, E-mail: zhifangzhou@jiangnan.edu.cn; zwu@jiangnan.edu.cn

收稿日期: 2018-11-06; 接受日期: 2018-12-21; 网络版发表日期: 2019-02-18

国家自然科学基金(批准号: 21472070, 21602084)、中央高校自主科研计划青年基金(批准号: JUSRP11729)和国家“111计划”(批准号: 111-2-06)资助

摘要 细胞表面聚糖与细胞的多种生理过程密切相关, 是目前生命科学研究的热点之一. 聚糖的糖链结构十分复杂, 其合成没有直接的基因模板, 且糖类化合物难以标记和检测, 这些原因导致聚糖的研究面临着巨大的挑战. 近年来, 基于代谢糖工程和化学酶法聚糖标记策略的迅速发展, 为糖生物学研究提供了重要的聚糖标记手段. 这两种策略分别通过代谢糖工程和化学酶法将具有化学报告基团的非天然糖类似物标记在聚糖结构上, 并通过生物正交反应对这些聚糖结构进行研究. 本文主要总结了两种策略近几年的进展, 分析了两种方法各自的优缺点, 并探讨了两种策略在糖生物学研究中的应用和未来发展的潜力.

关键词 代谢糖工程标记, 化学酶法标记, 聚糖

细胞表面聚糖参与了一系列重要的生理活动, 与人类的各种疾病密切相关, 是生命科学研究的重要内容. 然而, 由于没有直接的基因模板、糖链结构复杂、糖类分子自身没有发光基团等, 难以对聚糖直接进行检测和分析, 故聚糖的研究面临巨大的挑战. 近年来, 基于代谢糖工程(metabolic oligosaccharide engineering, MOE)的细胞表面聚糖标记策略, 被广泛应用于糖化学生物学的研究以及疾病诊断和治疗等现实需求中^[1,2]. 另外, 最近发展的化学酶法(chemoenzymatic glycan labeling, CeGL)细胞表面聚糖标记新策略, 进一步对复杂糖链实现了高特异性的标记和检测^[3]. 两种方法都为聚糖的生物学研究和动态分析提供了有效的标记策略, 为进一步精确解析聚糖在细胞生理活动过程中的作用提供了有效技术手段.

1 细胞表面聚糖的生物学研究需要新方法

糖类化合物不仅是能量储存物质, 而且在细胞识别、信号转导、免疫应答等多种重要的生命过程中有非常关键的作用. 聚糖通过影响细胞表面分子的化学和生物学性质, 来调节细胞与细胞、细胞与基质之间的相互作用, 对细胞分化、增殖、迁移等生理过程有重要的生物学意义. 细胞表面聚糖的变化与人类的各种疾病也密切相关, 如肿瘤细胞表面异常表达的糖抗原, 已作为生物标记物应用于各种肿瘤的诊断和治疗研究^[4,5]. 然而, 糖类分子本身化学结构复杂较难检测, 且与蛋白质和核酸不同, 聚糖的合成不是由基因直接控制合成, 不能直接套用基因和蛋白质的研究技术来研究聚糖, 因此目前聚糖的研究面临着巨大的挑战^[3,6].

引用格式: 李晨, 周志昉, 吴志猛. 细胞表面聚糖标记研究进展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 563–574

Li C, Zhou Z F, Wu Z M. Recent advances in glycan labeling on cell surface (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 563–574, doi: 10.1360/N052018-00252

因为糖类分子自身没有发光基团, 为了有效地检测糖类化合物, 往往需要对糖类化合物进行化学衍生化, 如传统的菲林法、二硝基水杨酸法等, 这类衍生化方法无法得到单一糖类的分析结果. 近年来发展迅速的柱前衍生化, 使糖链带上紫外或荧光基团, 结合高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)或质谱等分析手段, 为糖类的分析提供了至关重要的技术^[7]. 然而这些化学方法一般对样品具有破坏性, 难以用于活细胞及动态生物学的研究. 基于生物大分子的相互识别功能, 具有糖特异性结合能力的蛋白, 如抗体和凝集素, 也被用于聚糖研究^[4,8]. 这些蛋白与荧光探针偶联后可以用于聚糖的标记. 虽然这种方法能够有效识别培养细胞和组织切片上的聚糖结构, 但是凝集素和抗体对聚糖的标记具有局限性. 凝集素与聚糖的结合缺乏严格的特异性, 且对细胞有毒害作用. 而对于抗体, 它与糖表位的结合能力一般较弱, 且难以获得特定聚糖的抗体. 凝集素和抗体的组织穿透性都较弱, 因而也难以广泛应用到活体研究中^[9].

基于糖生物学的重要性和传统聚糖分析手段的局限性, 对细胞表面聚糖的研究亟需开发新的化学生物学方法. 本文总结了近些年基于代谢糖工程策略和化学酶法策略对细胞表面聚糖进行标记的研究进展^[10,11]. 这两种方法, 第一步都是利用非天然的糖分子, 通过代谢糖工程或糖基转移酶的方法, 对生物活性分子或细胞进行处理, 从而使细胞表面表达相应的非天然糖结构; 第二步, 利用互补的生物正交官能团^[12]或其他手段^[13-15], 将第一步中的非天然糖标记出来, 并通过荧光探针、化学发光等手段, 检测细胞表面的糖链结构. 其中, 生物正交反应官能团是应用最为广泛的一种手段, 具有选择性高、反应快速等优点, 保证了探针可以有效地结合到糖分子上^[16].

2 代谢糖工程标记

2.1 代谢糖工程标记的原理

代谢糖工程标记策略最早由Reutter课题组^[17]提出. 他们发现, 利用甘露糖胺(ManNAc)的非天然类似物作为代谢前体对细胞和小鼠进行处理后, 细胞和小鼠表达出了具有相应非天然基团的唾液酸结构. 证明唾液酸的体内生物合成途径, 能够耐受非天然的甘露糖胺前体, 并且在不影响这个非天然化学基团的情况

下, 表达出相应的唾液酸结构(图1). 这一发现表明, 利用携带化学报告基团的非天然糖类类似物作为前体参与代谢表达, 随后可以进一步利用其上面的化学报告基团对细胞和生物体进行可视化标记^[12,18].

为了能够将该策略应用于糖生物学研究, 特别是活细胞或体内糖生物学研究, 对于所用的化学标记反应, 需要生物兼容性好的生物正交反应方法. 首先该反应不能与周围环境中的生物分子进行反应而被干扰, 且又能在水相、37℃及中性pH环境中进行反应; 其次, 虽然非天然糖前体能够被体内糖代谢途径耐受, 其上的化学报告基团, 必须足够小, 能够被代谢途径中的酶识别. 另外, 因为聚糖在细胞培养环境或体内系统中的浓度较低, 且聚糖的动态变化研究也是糖生物学研究中的重要部分, 因此要求该反应具有较快的反应动力学性质. 目前常用的生物正交反应主要有: 叠氮-三苯基膦之间的Staudinger偶联反应、亚铜催化的“点击化学”(叠氮-末端炔基环加成反应)以及在此基础上进一步改进的“无铜点击化学”反应(无铜催化叠氮-炔基环加成反应)等, 这些生物正交反应为代谢糖标记的应用提供了重要支持^[12]. 除了生物正交反应, 最近, 拉曼散射光谱成像探针以及一些基于核磁共振检测、质谱检测的手段也被用于代谢糖工程标记的应用中^[13,19].

2.2 非天然糖前体的开发

近几年, 人们从各个角度对代谢糖工程策略进行了方法的开发和应用的拓展, 包括不同的糖类分子的拓展, 提高细胞选择性和细胞摄取能力的策略的开发以及该策略在不同生物学研究领域应用的拓展. 已广泛应用于代谢糖标记的非天然糖前体, 主要包括ManNAc类似物^[12]、唾液酸(Neu5Ac)类似物^[20-22]、葡萄糖胺(GlcNAc)类似物^[23,24]、半乳糖胺(GalNAc)类似物^[25]、岩藻糖(Fucose)类似物等^[7,26](图2). 这些非天然糖前体为研究聚糖在肿瘤、细菌等相关疾病发生和发展提供了重要手段. 然而, 这些常用的单糖类似物不能满足所有糖生物学的研究需求, 人们一方面拓展糖代谢标记的应用, 另一方面, 寻找更多合适的非天然糖前体, 用于特殊的糖生物学研究中.

结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*)严重地威胁着全球人类的健康和生命安全, 然而因为结核杆菌特殊的细胞壁构造, 使得结核杆菌的诊断和治疗都

图 1 代谢糖工程标记示意图. A: 带有化学报告基团R的非天然糖前体通过细胞的糖生物合成途径代谢并表达于细胞膜外; B: 通过化学报告基团R与探针分子进行生物正交反应, 标记细胞表面聚糖

Figure 1 Schematic of metabolic oligosaccharide engineering (MOE). A: Unnatural monosaccharides with chemical reporters are metabolic engineered into the cell surface through glycobiological pathways. B: The glycans carrying chemical reporters on cell surface are labelled with probes by biorthogonal chemical reaction

面临着极大的挑战. Bertozzi课题组^[27]研究发现, 海藻糖(trehalose)作为分枝杆菌(*Mycobacteria*)细胞壁糖脂的主要组成成分, 在细菌的代谢中有其特定的代谢通路, 他们根据海藻糖的结构及其在结核杆菌中独特的代谢途径开发非天然海藻糖前体, 用于结核杆菌的代谢糖标记(图2, trehalose). 例如, 他们合成了四种带有叠氮标记的海藻糖类似物用于几种分枝杆菌的代谢标记^[28,29]. 结果证明, 四种类似物都能被有效地代谢并成功标记出分枝杆菌. 随后, 他们进一步使用非天然海藻糖前体代谢策略, 用于棒状杆菌、分枝杆菌糖脂的可视化及动力学研究, 结核杆菌的快速检测, 针对结核杆菌的药物开发及药理研究等一系列工作中^[30-34].

细胞表面有些蛋白质通过与脂肪酸共价结合锚定在细胞膜上, 这类脂质以二酰甘油疏水结构为基础, 糖脂被称为糖基磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidylinositol, GPI)锚(GPI anchor). 在不同生物中, GPI锚的结构不尽相同, 但都具有葡糖胺(GlcN)糖苷键6位与脂质肌醇(inositol)头部基团相连的基本结构^[35,36]. GPI和GPI锚定蛋白在众多生物学过程中具有重要的作用, 且GPI锚定蛋白的变化与一些病理相关, 因此它们可以作为疾病的诊断和治疗的重要靶标^[37]. 然而, 天然GPI结构复杂且多样, 其锚定蛋白具有亲疏水两性, 给蛋白的分离提纯造成一定困难. 而且GPI锚定蛋白的含量很低, 也使得对它的研究面临着巨大的挑战. 为了解决这个问题, Guo课题组^[38]根据GPI锚的化学结构, 开发了以

非天然肌醇作为前体的代谢工程标记策略, 用于标记活细胞中的GPI锚定蛋白, 并进一步用于蛋白质的鉴定、纯化和生物学研究(图2, inositol). 他们设计并合成了几种不同结构的肌醇衍生物, 在不同羟基位连接有叠氮基团以及乙酰化的类似物. 用这些肌醇衍生物对肿瘤细胞进行处理后, 通过点击化学标记, 利用流式细胞仪和荧光显微镜分析细胞代谢非天然肌醇的效率; 并通过蛋白质印迹法进一步分析了GPI锚定蛋白, 该方法为GPI锚定蛋白的研究提供了重要的标记手段.

2.3 提高细胞选择性和细胞摄取能力的策略开发

已开发的各种非天然糖前体, 非选择性地扩散到细胞内部, 因此不能高效地被细胞摄取和利用, 如何提高细胞对糖前体的摄取效率成为该策略在实际应用中必须要解决的一大问题. 同时, 由于非天然糖前体能被多种类型细胞代谢, 为了将代谢糖标记的策略用于活体研究以及动态生物学研究, 必须要增强非天然糖前体对细胞种类的选择.

解决这一问题的策略之一是把非天然的糖前体设计成全乙酰化保护, 增强其脂溶性, 使之更易透过细胞膜, 进而提高细胞对非天然糖前体的内吞效率^[12,39](图2). 进入细胞质后, 保护基团会被酯酶水解, 从而进入糖代谢途径. 但是, 这种方法的效率在不同的细胞系中相差很大, 可能是因为不同细胞的酯酶表达水平高低不同^[40,41]. 随后, 其他的疏水保护基团也被开发用于非天然糖前体的改造, 使之具有更好的细胞膜穿透能力^[42]. 然而, 这些不同的单糖衍生物对活细胞的毒性不一, 被细胞摄取和代谢的活性也不同.

靶向投递药物是增加药物的利用率、提高疗效、降低成本、减少毒副作用的有效途径, 这一方法为非天然糖前体的体内投递以及细胞摄取效率的改进提供了很好的思路. 例如, Bertozzi课题组^[43]根据前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen, PSA)蛋白酶在前列腺癌细胞中大量表达的特征, 将一段PSA蛋白酶底物肽(Mu-HSSKLY六肽, 其中Mu为morpholino ureidyl)偶联到乙酰化甘露糖胺前体的6位羟基上作为代谢标记前体. 该前体能够被PSA蛋白酶选择性地快速水解, 其水解产物Ac₃ManNAz被前列腺癌细胞高效代谢. 而在正常前列腺细胞的环境中, 该前体Ac₃ManNAz不能被高效地代谢. 通过这种靶向肿瘤细胞的策略, 可以选择性地标记前列腺癌细胞, 为组织特异性的聚糖标记以

图2 常见的用于代谢糖工程标记的糖分子衍生物

Figure 2 Chemical structures of natural saccharides and their derivatives used in metabolic glycoengineering

及癌症诊断提供了潜在的方法。

最近, Chen课题组^[21]在增强代谢糖工程的细胞选择性和标记效率方面做了系统而深入的研究。该课题组开发了脂质体辅助生物正交策略(liposome-assisted biorthogonal reporter, LABOR)用以增强代谢糖标记对

细胞和组织的选择性(图3)。这种策略的原理是将非天然糖装载在具有靶向配体的脂质体内, 通过配体靶向目标细胞表面特异性高表达的受体, 促进脂质体被细胞内吞并将所载非天然糖投递到目标细胞内。例如, 他们使用叶酸偶联的脂质体作为载体, 将9位Az修饰

图 3 脂质体辅助靶向投递非天然糖前体

Figure 3 Targeted delivery of unnatural saccharide precursors using liposome-assisted biorthogonal reporter strategy

的唾液酸(9AzSia)靶向投递到叶酸受体高表达的肿瘤细胞. 9AzSia被代谢后表达于肿瘤细胞表面, 通过点击化学, 即可把荧光探针标记到叶酸受体高表达的HeLa细胞上, 用于荧光免疫检测. 他们利用具有RGD环肽的脂质体作为9AzSia的载体将该策略进一步用于活体研究, 其中的RGD环肽能够靶向肿瘤表面的整合素^[44]. 通过体内荧光探针的标记, 该方法能够显示唾液酸化蛋白在肿瘤增长过程中的变化, 且唾液酸糖蛋白能进一步被富集用于蛋白质组学研究. 这些研究表明, 脂质体辅助策略比单用糖前体具有更好的标记效率和特异性^[45].

LABOR策略还被用于大脑中唾液酸的研究. 由于存在血脑屏障, 叠氮糖本身很难通过血液进入大脑对神经系统进行标记, 而神经系统中存在大量的唾液酸糖基化修饰, 如神经节苷脂等, 与神经系统疾病具有潜在生物学关系. Chen课题组^[46]通过研究证明, 利用PEG修饰的脂质体作为叠氮糖的载体, 可以有效地对神经组织进行唾液酸标记, 而且该策略能用于大脑中唾液酸化糖蛋白组学的鉴定. 对LABOR策略的机制研究表明^[47], 载有叠氮糖的脂质体被细胞内吞后, 进入溶酶体释放单糖分子, 并通过溶酶体的单糖运载体进入细胞质, 从而进入代谢途径.

2.4 代谢糖工程标记的应用拓展

代谢糖工程标记策略除了直接应用于细胞和活体的聚糖标记以及糖蛋白质组学的分析和鉴定, 还被广泛应用于其他生物学研究中, 例如, Guo课题组^[48-50]开发了基于代谢糖工程标记的肿瘤免疫治疗策略, Han课题组开发了2,4-二硝基苯修饰的唾液酸(2,4-dinitro-

phenylated sialic acid, DNP-Sia)用于肿瘤的免疫治疗, Ott课题组^[51]将该方法应用于胞外基质的生物材料科学研究中, 以期使这些材料用于组织再生和修复等.

最近, Wang课题组^[52]将代谢糖工程标记应用于招募抗体的免疫治疗中. 该策略包括三个步骤: 首先, 使用合成的具有叶酸修饰的甘露糖胺衍生物处理细胞, 特异性靶向具有叶酸受体高表达的肿瘤细胞, 使细胞表面表达带叠氮的唾液酸; 其次, 通过点击化学反应将鼠李糖(rhamnose, Rha)半抗原标记于细胞表面; 最后, 体内天然存在的抗鼠李糖抗体就能识别肿瘤细胞表面的鼠李糖, 并通过免疫机制摧毁目标肿瘤细胞. 实验结果证明该方法在多种肿瘤细胞模型中能高效、选择性地标记肿瘤细胞, 且该策略保证了半抗原在细胞表面稳定、长时间地存在, 有效介导了免疫机制对肿瘤细胞的杀伤作用.

代谢糖工程策略还被用于其他的一些生物学研究中. 例如, Avci课题组^[53]将该策略应用于HIV-1的gp120糖蛋白的糖基化研究中, 揭示了gp120上糖基化与宿主细胞之间的相互关系. Wang课题组^[54]将基于杂交链反应的荧光共振能量转移标记方法(fluorescence resonance energy transfer, FRET)和代谢糖标记联用, 对特定蛋白上面的糖基化进行荧光成像, 该方法具有潜在的监控糖基化动态、药物筛选等价值. Tung课题组^[55]将代谢糖标记方法用于外泌体的生物学性质研究和基于外泌体的治疗手段开发中. Stockmann课题组^[56]建立了时间分辨的FRET代谢糖标记方法, 可以用于研究细胞表面G蛋白偶联受体、细胞因子受体及GPI锚定蛋白.

2.5 代谢糖工程标记的局限性

从以上代谢糖工程标记策略的进展中可见, 不管是对该策略本身的发展, 还是该策略在生物学应用中的发展, 都呈现出了非常迅猛的势头. 因此, 代谢糖工程标记已经成为糖生物学研究领域非常有效、应用广泛、不可缺少的研究手段. 然而, 代谢糖工程标记有一定的局限性. 首先, 所用的糖前体分子进入细胞后, 可能会参与多条代谢途径, 从而可能存在多种非天然基团的糖结构. 其次, 这些非天然的糖可以被多种糖基转移酶代谢, 使得其糖链的化学连接结构多样化, 不能特异性控制. 更重要的是, 除了应用于分枝杆菌研究的海藻糖是二糖的结构, 其他的非天然糖前体基

本都是单糖前体, 这种策略不能对单一、具有高级结构的复杂糖链结构进行特异性标记. 另外, 这些人工修饰的糖前体只在细胞和动物活体中得到证实, 在临床中还没有进一步的应用.

3 化学酶法聚糖标记

3.1 化学酶法聚糖标记的原理

在生命活动中, 细胞表面糖主要是以复杂糖链的结构参与细胞的识别、信号的传导等重要生物学过程, 因此对于细胞表面具有复杂高级结构的糖链的研究, 仅仅靠单糖的标记已不能满足所有的需求. 化学酶法聚糖标记, 利用糖基转移酶等将单糖类似物以核苷酸糖供体的形式转移到特定的聚糖受体上, 并通过该类似物带有的标记或化学反应基团, 偶联探针分子用于检测, 这一策略近年来也得到巨大发展(图4).

最早的关于化学酶法聚糖标记的工作, 可以追溯到Paulson课题组^[57]利用唾液酸转移酶催化转移含¹⁴C同位素标记的唾液酸, 使之修饰到红细胞表面. 利用这一方法也可以将³H标记的半乳糖核苷酸供体, 利用牛奶来源的半乳糖转移酶转移到淋巴细胞的GlcNAc残基上^[58]. 该研究发现这种单一O-GlcNAc修饰主要发生在细胞质和细胞核上. 改变后的糖基化, 对胞内信号调控、细胞的营养和压力等反应都有一定影响.

近年来由于荧光探针和亲和探针在生物体系中的巨大发展, CeGL技术可以与生物探针联合使用, 在糖

图4 化学酶法聚糖标记示意图

Figure 4 Schematic of chemoenzymatic glycan labelling (CeGL)

基转移酶专一性催化下, 具有化学修饰基团的糖类供体类似物可以选择性地修饰到细胞表面, 并用于标记具有高级结构和特定糖苷键的聚糖.

2003年, Hsieh-Wilson课题组^[59]报道, 二磷酸尿核苷(UDP)-半乳糖类似物作为糖供体, 在 β 1-4半乳糖转移酶(β 1-4 galactosyltransferase, GalT1, Y289L)的作用下对O-GlcNAc修饰的糖蛋白进行标记. 半乳糖类似物中的酮基进一步被含有胍的生物素分子捕捉, 并用于糖蛋白检测和研究.

随后, 基于生物正交反应的迅速发展和最初的化学酶法策略的启发, 各种糖基转移酶被开发用于化学酶法对聚糖的标记(表1), 并被用于糖生物学研究, 其标记的糖蛋白通过富集纯化, 可用于蛋白质组学的鉴定.

3.2 化学酶法聚糖标记中所使用的糖基转移酶

(1) β 1-4半乳糖基转移酶. β 1-4半乳糖基转移酶(β 1-4 galactosyltransferase, GalT1)来源于牛奶, 将活性

表1 用于化学酶法标记细胞表面聚糖的糖基转移酶^{a)}

Table 1 Examples of glycosyltransferases used in chemoenzymatic glycan labelling (CeGL)

糖基转移酶	受体	供体	参考文献
β 1-4半乳糖基转移酶(β 1-4 galactosyltransferase, GalT1)	O-GlcNAc受体(C4位)	UDP-Gal	[59~65]
α 1-3岩藻糖基转移酶(α 1-3 Fucosyltransferase, α 1-3 FucT)	II型乳糖胺(LacNAc, Gal β 1-4GlcNAc)受体(GlcNAc的C3位)	GDP-Fuc	[66,67]
β 1-4 N-乙酰半乳糖胺转移酶(β 1-4 N-acetylgalactosaminyl-transferase, CgtA)	Neu5Ac α 2-3 Gal受体(Gal的C4位)	UDP-GalNAc	[68,69]
人A型血抗原糖基转移酶(human blood group A antigen glycosyltransferase, BgtA))	Fucose- α (1-2)-galactose(Fuc α 1-2 Gal)受体(Gal的C3位)	UDP-GalNAc	[70]
α 1-2岩藻糖转移酶(α 1-2 fucosyltransferase, WbwK)	Gal β 1-3 GalNAc受体(Gal的C2位)	GDP-Fuc	[71,72]
唾液酸转移酶ST6GalI	N-聚糖受体, 大多数LacNAc(Gal β 1-4GlcNAc)	CMP-Neu5Ac	[73,75,76]
唾液酸转移酶ST3GalI	O-聚糖受体, Gal β 1-3GalNAc(TF抗原, O-聚糖核1)和GlcNAc β 1-6 (Gal β 1-3)GalNAc(O-聚糖核2)	CMP-Neu5Ac	[73,74,77]
唾液酸转移酶ST6GalNAc-IV	Gal β 1-3GalNAc受体	CMP-Neu5Ac	[78]

a) GlcNAc, N-乙酰葡萄糖胺; Gal, 半乳糖; Fuc, 岩藻糖; Neu5Ac, N-乙酰神经氨酸; GalNAc, N-乙酰半乳糖胺; LacNAc, N-乙酰乳糖胺

UDP-半乳糖供体转移半乳糖到寡糖受体的GlcNAc残基的C4位上. 最早被用于CeGL的就是Hsieh-Wilson课题组报道的一系列利用GalT1酶进行的化学酶法标记研究. 因为异常的O-GlcNAc糖基化与人类的病理密切相关, 为了探究这一糖基化的病理学意义, Hsieh-Wilson课题组^[60]利用CeGL策略和荧光标记方法, 对含有O-GlcNAc糖基化的蛋白进行了蛋白质组学分析. 这种方法能够用于胶检测和O-GlcNAc蛋白的质谱分析, 从哺乳动物大脑中鉴定了146种新的糖蛋白. 同时, 这种方法也被用于O-GlcNAc动态变化的定量检测, 并在细胞水平进行O-GlcNAc糖基化蛋白的成像. 这种策略为O-GlcNAc的生理学功能研究提供了新的工具^[59,61-64].

Wu课题组^[65]利用GalT1化学酶法标记的策略, 对CD8⁺ T细胞进行了蛋白质组学的研究, 对翻译后修饰相关蛋白进行了定性和定量的分析, 并且从中发现, O-GlcNAc糖基化密切参与了转录与翻译的过程, 从而大大促进了效应T细胞的增殖.

(2) α 1-3岩藻糖基转移酶. α 1-3岩藻糖基转移酶(α 1-3 Fucosyltransferase, α 1-3 FucT)来源于幽门螺旋杆菌, 可将活性GDP-岩藻糖供体的岩藻糖转移至II型乳糖胺(LacNAc, Gal β 1-4GlcNAc)受体GlcNAc的C3位上. Wu课题组^[66,67]最早将 α 1-3 FucT用于II型LacNAc的聚糖检测. 这种含有LacNAc的聚糖的异常表达与结肠癌相关, 同时也是半乳糖凝集素家族相关蛋白的配体, 与细胞凋亡、增殖等相关.

(3) β 1-4 N乙酰半乳糖胺转移酶. β 1-4 N乙酰半乳糖胺转移酶(β 1-4 N-acetylgalactosaminyltransferase, CgtA)来源于空肠弯曲杆菌, 可将UDP-GalNAc活性供体的半乳糖胺转移至Neu5Ac α 2-3 Gal受体Gal的C4位上. Neu5Ac α 2-3 Gal糖链结构与很多致病菌相关, 如流感病毒等^[68]. 因此, 基于CgtA酶的化学酶法可以将细胞表面的Neu5Ac α 2-3 Gal糖链结构进行可视化标记, 并应用于细胞筛选和蛋白质组学分析中, 对疾病的诊断和治疗有实际意义^[69].

(4) 人A型血抗原糖基转移酶. 人A型血抗原糖基转移酶(human blood group A antigen glycosyltransferase, BgtA)能将UDP-GalNAc活性供体的GalNAc转移至Fucose- α (1-2)-galactose(Fuc α 1-2 Gal)中Gal的C3位置. Fuc α 1-2 Gal的结构与很多生理过程相关, 如学习和记忆、炎症、哮喘、肿瘤等, 但是含该二糖结构的聚糖结构复杂, 导致难以对其进行检测和研究. Hsieh-

Wilson课题组^[70]开发的BgtA能耐受C2位具有化学修饰基团的GalNAc底物, 用于检测Fuc α 1-2 Gal聚糖结构. 实验结果发现, 癌细胞表达了更高水平的Fuc α 1-2 Gal聚糖, 而正常细胞的表达量则较低.

(5) α 1-2岩藻糖转移酶(α 1-2 fucosyltransferase, WbwK)与BgtA的联用. WbwK是岩藻糖转移酶, 能将GDP-Fuc活性供体的Fuc转移至Gal β 1-3 GalNAc受体的Gal的C2位上. Gal β 1-3GalNAc, 也就是Thomsen-Friedenreich (TF)抗原, 高表达于多种癌细胞表面, 与肿瘤的发展和转移相关^[71]. WbwK酶对TF抗原具有高选择性, 因此, 可以先利用WbwK将Fuc转移到TF上形成BgtA酶特异性识别的Fuc α 1-2 Gal的糖链结构, 然后利用BgtA酶对其进行标记. Yi课题组^[72]利用这种串联化学酶法标记策略, 将TF二糖抗原转变为一个可以检测的四糖结构, 并通过生物正交方法进行检测.

(6) 唾液酸转移酶ST6Gal1, ST3Gal1以及ST6GalNAc-IV. 唾液酸转移酶ST6Gal1(β galactoside α 2-6 sialyltransferase 1)是将CMP-Neu5Ac唾液酸活性供体的Neu5Ac转移至N-聚糖受体上, 即大多数LacNAc (Gal β 1-4GlcNAc)的C6位上, 而ST3Gal1(β galactoside α 2-3 sialyltransferase 1)是将Neu5Ac转移至O-聚糖受体上, 包括Gal β 1-3GalNAc(TF抗原, O-聚糖核1)和GlcNAc β 1-6(Gal β 1-3)GalNAc(O-聚糖核2). 因此, ST3Gal1被用于O-糖基化的检测^[73,74], ST6Gal1被用于N-糖基化的检测^[73,75,76]. 一些课题组将几种酶联用, 可以对样品中的N-糖基化和O-糖基化都进行表征. Wu课题组^[77]报道了唾液酸转移酶ST3Gal1和ST6Gal1联用的策略, 用于检测同一个样品上面的O-或N-连接聚糖, 或检测唾液酸化或非唾液酸化聚糖.

ST6GalNAc-IV唾液酸转移酶(α -N acetylgalactosaminide sialyltransferase)能将CMP-Neu5Ac唾液酸活性供体的Neu5Ac转移至Gal β 1-3GalNAc受体的GalNAc上. 唾液酸化TF抗原(Neu5Ac α 2-3Gal β 1-3GalNAc α -O-Ser/Thr, sialyl-T)与多种癌症相关, 但是因其结构复杂性和相对低丰度的表达, 使其难以被检测. Wang课题组^[78]开发了快速、灵敏、高选择性的一步化学酶法标记, 利用带有生物素的CMP唾液酸活性供体对sialyl-T进行检测, 对sialyl-T糖蛋白进行表征和鉴定.

(7) 多种糖基转移酶的联用. Wu课题组^[79]利用多种糖基转移酶, 包括唾液酸和岩藻糖转移酶, 将非天然糖类类似物组装到细胞表面, 开发了基于细胞的检测

平台. 他们利用这一平台, 发现了Siglec-15与唾液酸聚糖的高亲和力, 且通过实验研究了Siglec-15对骨细胞分化的影响. 他们提出了原位聚糖编辑(*in situ* glycan editing)的概念, 简单、快速地对细胞表面的糖萼进行改造^[80]. 该方法被应用于干细胞的研究, 实验发现, 小肠组织中的Paneth 细胞大量表达乙酰氨基乳糖LacNAc, 但是Lgr5+上细胞不表达大量的LacNAc^[81].

Wu课题组利用多种酶对O-GlcNAc糖基化进行了研究, 包括O-GlcNAc转移酶(O-GlcNAc transferase, OGT)^[82]和 β -1,3-*N*-乙酰甘露糖胺转移酶(β -1,3-*N*-acetylglucosaminyltransferase, B3GALNT2)^[83]. 通过几种酶的组合使用, 他们可以实现对不同糖基化位点的分别标记.

3.3 化学酶法聚糖标记的挑战和发展方向

与代谢糖工程标记相比, 化学酶法聚糖标记策略是一种比较新的研究糖的手段. 它主要面临的挑战是开发更多的可以用于该策略的糖基转移酶, 这些酶要

同时满足对非天然糖供体的耐受和对聚糖受体结构的高选择性. 而糖基转移酶的筛选、优化和体外体内的应用研究本身也是糖生物学重要的研究内容. 该策略目前不能满足所有聚糖受体结构的鉴定需求, 因此, 今后还要实现将该策略应用于更多的聚糖受体. 同时, 提高该策略的应用效率等也是该策略开发的前进方向.

4 总结

目前细胞表面聚糖的标记方法主要有代谢糖工程标记和化学酶法, 作为新兴糖生物学的研究方法, 特别是对阐明许多关键的细胞生理过程具有不可或缺的作用. 因此, 对代谢糖工程标记和化学酶法的改进及在生物学研究中的应用已经越来越受到人们的关注. 这两种技术的相互补充和相互促进, 可以满足未来糖生物学更高的研究需求, 将为细胞表面聚糖的标记研究带来更广阔的前景.

参考文献

- Bertozzi C R, Kiessling L L. Chemical glycobiology. *Science*, 2001, 291: 2357–2364
- Dube D H, Bertozzi C R. Metabolic oligosaccharide engineering as a tool for glycobiology. *Curr Opin Chem Biol*, 2003, 7: 616–625
- Lopez Aguilar A, Briard J G, Yang L, et al. Tools for studying glycans: recent advances in chemoenzymatic glycan labeling. *ACS Chem Biol*, 2017, 12: 611–621
- Gorelik E, Galili U, Raz A. On the role of cell surface carbohydrates and their binding proteins (lectins) in tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev*, 2001, 20: 245–277
- Rouhanifard S H, Nordström L U, Zheng T, et al. Chemical probing of glycans in cells and organisms. *Chem Soc Rev*, 2013, 42: 4284–4296
- Freeze H H. Genetic defects in the human glycome. *Nat Rev Genet*, 2006, 7: 537–551
- Palaniappan K K, Bertozzi C R. Chemical glycoproteomics. *Chem Rev*, 2016, 116: 14277–14306
- Ghazarian H, Idoni B, Oppenheimer S B. A glycobiology review: carbohydrates, lectins and implications in cancer therapeutics. *Acta Histochem*, 2011, 113: 236–247
- Manimala J C, Roach T A, Li Z, et al. High-throughput carbohydrate microarray profiling of 27 antibodies demonstrates widespread specificity problems. *Glycobiology*, 2007, 17: 17C–23C
- Xie R, Hong S, Chen X. Cell-selective metabolic labeling of biomolecules with bioorthogonal functionalities. *Curr Opin Chem Biol*, 2013, 17: 747–752
- Ovryn B, Li J, Hong S, et al. Visualizing glycans on single cells and tissues-visualizing glycans on single cells and tissues. *Curr Opin Chem Biol*, 2017, 39: 39–45
- Wratil P R, Horstkorte R, Reutter W. Metabolic glycoengineering with *N*-acyl side chain modified mannosamines. *Angew Chem Int Ed*, 2016, 55: 9482–9512
- Hong S, Lin L, Xiao M, et al. Live-cell bioorthogonal raman imaging. *Curr Opin Chem Biol*, 2015, 24: 91–96
- Pham N D, Parker R B, Kohler J J. Photocrosslinking approaches to interactome mapping. *Curr Opin Chem Biol*, 2013, 17: 90–101
- Pham N D, Fermain C S, Rodriguez A C, et al. Cellular metabolism of unnatural sialic acid precursors. *Glycoconj J*, 2015, 32: 515–529

- 16 Bertozzi C R. A decade of bioorthogonal chemistry. *Acc Chem Res*, 2011, 44: 651–653
- 17 Kayser H, Zeitler R, Kannicht C, et al. Biosynthesis of a nonphysiological sialic acid in different rat organs, using *N*-propanoyl-*D*-hexosamines as precursors. *J Biol Chem*, 1992, 267: 16934–16938
- 18 Mahal L K, Yarema K J, Bertozzi C R. Engineering chemical reactivity on cell surfaces through oligosaccharide biosynthesis. *Science*, 1997, 276: 1125–1128
- 19 Whited J, Zhang X, Nie H, et al. Recent chemical biology approaches for profiling cell surface sialylation status. *ACS Chem Biol*, 2018, 13: 2364–2374
- 20 Lin B, Wu X, Zhao H, et al. Redirecting immunity via covalently incorporated immunogenic sialic acid on the tumor cell surface. *Chem Sci*, 2016, 7: 3737–3741
- 21 Xie R, Hong S, Feng L, et al. Cell-selective metabolic glycan labeling based on ligand-targeted liposomes. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 9914–9917
- 22 Wang J, Cheng B, Li J, et al. Chemical remodeling of cell-surface sialic acids through a palladium-triggered bioorthogonal elimination reaction. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 5364–5368
- 23 Zaro B W, Yang Y Y, Hang H C, et al. Chemical reporters for fluorescent detection and identification of O-GlcNAc-modified proteins reveal glycosylation of the ubiquitin ligase Nedd4-1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 8146–8151
- 24 Chuh K N, Zaro B W, Piller F, et al. Changes in metabolic chemical reporter structure yield a selective probe of O-GlcNAc modification. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 12283–12295
- 25 Hang H C, Yu C, Kato D L, et al. A metabolic labeling approach toward proteomic analysis of Mucin-type O-linked glycosylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 14846–14851
- 26 Becker D J, Lowe J B. Fucose: biosynthesis and biological function in mammals. *Glycobiology*, 2003, 13: 41R–53R
- 27 Woodruff P J, Carlson B L, Siridechadilok B, et al. Trehalose is required for growth of *Mycobacterium smegmatis*. *J Biol Chem*, 2004, 279: 28835–28843
- 28 Swarts B M, Holsclaw C M, Jewett J C, et al. Probing the mycobacterial trehalome with bioorthogonal chemistry. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 16123–16126
- 29 Lin F L, van Halbeek H, Bertozzi C R. Synthesis of mono- and di-deoxygenated α,α -trehalose analogs. *Carbohydr Res*, 2007, 342: 2014–2030
- 30 Tapia H, Young L, Fox D, et al. Increasing intracellular trehalose is sufficient to confer desiccation tolerance to *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 6122–6127
- 31 Kamariza M, Shieh P, Bertozzi C R. Imaging mycobacterial trehalose glycolipids. *Methods Enzymol*, 2018, 598: 355–369
- 32 Kamariza M, Shieh P, Ealand C S, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum with a solvatochromic trehalose probe. *Sci Transl Med*, 2018, 10: eaam6310
- 33 Rodriguez-Rivera F P, Zhou X, Theriot J A, et al. Acute modulation of mycobacterial cell envelope biogenesis by front-line tuberculosis drugs. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 57: 5267–5272
- 34 Rodriguez-Rivera F P, Zhou X, Theriot J A, et al. Visualization of mycobacterial membrane dynamics in live cells. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 3488–3495
- 35 Wu Z, Guo X, Wang Q, et al. Sortase a-catalyzed transpeptidation of glycosylphosphatidylinositol derivatives for chemoenzymatic synthesis of GPI-anchored proteins. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 1567–1571
- 36 Wu Z, Guo X, Gao J, et al. Sortase a-mediated chemoenzymatic synthesis of complex glycosylphosphatidylinositol-anchored protein. *Chem Commun*, 2013, 49: 11689–11691
- 37 Gao J, Zhou Z, Guo J, et al. Synthesis of biotin-labelled core glycans of GPI anchors and their application in the study of GPI interaction with pore-forming bacterial toxins. *Chem Commun*, 2017, 53: 6227–6230
- 38 Lu L, Gao J, Guo Z. Labeling cell surface GPIs and GPI-anchored proteins through metabolic engineering with artificial inositol derivatives. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 9679–9682
- 39 Saxon E, Luchansky S J, Hang H C, et al. Investigating cellular metabolism of synthetic azidosugars with the Staudinger ligation. *J Am Chem Soc*, 2002, 124: 14893–14902
- 40 Zou W, Borrelli S, Gilbert M, et al. Bioengineering of surface GD3 ganglioside for immunotargeting human melanoma cells. *J Biol Chem*, 2004, 279: 25390–25399

- 41 Horstkorte R, Lee H Y, Lucka L, et al. Biochemical engineering of the side chain of sialic acids increases the biological stability of the highly sialylated cell adhesion molecule Ceacam1. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 283: 31–35
- 42 Aich U, Campbell C T, Elmouelhi N, et al. Regioisomeric scfa attachment to hexosamines separates metabolic flux from cytotoxicity and MUC1 suppression. *ACS Chem Biol*, 2008, 3: 230–240
- 43 Chang P V, Dube D H, Sletten E M, et al. A strategy for the selective imaging of glycans using caged metabolic precursors. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 9516–9518
- 44 Schottelius M, Laufer B, Kessler H, et al. Ligands for mapping $\alpha_v \beta_3$ -integrin expression *in vivo*. *Acc Chem Res*, 2009, 42: 969–980
- 45 Xie R, Dong L, Huang R, et al. Targeted imaging and proteomic analysis of tumor-associated glycans in living animals. *Angew Chem Int Ed*, 2014, 53: 14082–14086
- 46 Xie R, Dong L, Du Y, et al. *In vivo* metabolic labeling of sialoglycans in the mouse brain by using a liposome-assisted bioorthogonal reporter strategy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 5173–5178
- 47 Sun Y, Hong S, Xie R, et al. Mechanistic investigation and multiplexing of liposome-assisted metabolic glycan labeling. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 3592–3602
- 48 Zhou Z, Liao G, Stepanovs S, et al. Quantifying the efficiency of *N*-phenyl-*D*-mannosamine to metabolically engineer sialic acid on cancer cell surface. *J Carbohydr Chem*, 2014, 33: 395–407
- 49 Zhou Z, Mondal M, Liao G, et al. Synthesis and evaluation of monophosphoryl lipid a derivatives as fully synthetic self-adjuncting glycoconjugate cancer vaccine carriers. *Org Biomol Chem*, 2014, 12: 3238–3245
- 50 Qiu L, Li J, Yu S, et al. A novel cancer immunotherapy based on the combination of a synthetic carbohydrate-pulsed dendritic cell vaccine and glycoengineered cancer cells. *Oncotarget*, 2015, 6: 5195–5203
- 51 Ren X, Evangelista-Leite D, Wu T, et al. Metabolic glycan labeling and chemoselective functionalization of native biomaterials. *Biomaterials*, 2018, 182: 127–134
- 52 Li S, Yu B, Wang J, et al. Biomarker-based metabolic labeling for redirected and enhanced immune response. *ACS Chem Biol*, 2018, 13: 1686–1694
- 53 Sun L, Ishihara M, Middleton D R, et al. Metabolic labeling of HIV-1 envelope glycoprotein gp120 to elucidate the effect of gp120 glycosylation on antigen uptake. *J Biol Chem*, 2018, 293: 15178–15194
- 54 Yuan B, Chen Y, Sun Y, et al. Enhanced imaging of specific cell-surface glycosylation based on multi-FRET. *Anal Chem*, 2018, 90: 6131–6137
- 55 Lee T S, Kim Y, Zhang W, et al. Facile metabolic glycan labeling strategy for exosome tracking. *Biochim Biophys Acta*, 2018, 1862: 1091–1100
- 56 Stockmann H, Todorovic V, Richardson P L, et al. Cell-surface receptor-ligand interaction analysis with homogeneous time-resolved FRET and metabolic glycan engineering: application to transmembrane and GPI-anchored receptors. *J Am Chem Soc*, 2017, 139: 16822–16829
- 57 Paulson J C, Sadler J E, Hill R L. Restoration of specific myxovirus receptors to asialoerythrocytes by incorporation of sialic acid with pure sialyltransferases. *J Biol Chem*, 1979, 254: 2120–2124
- 58 Torres C R, Hart G W. Topography and polypeptide distribution of terminal *N*-acetylglucosamine residues on the surfaces of intact lymphocytes. Evidence for O-linked GlcNAc. *J Biol Chem*, 1984, 259: 3308–3317
- 59 Khidekel N, Arndt S, Lamarre-Vincent N, et al. A chemoenzymatic approach toward the rapid and sensitive detection of O-GlcNAc posttranslational modifications. *J Am Chem Soc*, 2003, 125: 16162–16163
- 60 Yi W, Clark P M, Mason D E, et al. Phosphofructokinase 1 glycosylation regulates cell growth and metabolism. *Science*, 2012, 337: 975–980
- 61 Khidekel N, Ficarro S B, Peters E C, et al. Exploring the O-GlcNAc proteome: direct identification of O-GlcNAc-modified proteins from the brain. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 13132–13137
- 62 Clark P M, Dweck J F, Mason D E, et al. Direct in-gel fluorescence detection and cellular imaging of O-GlcNAc-modified proteins. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 11576–11577
- 63 Rexach J E, Rogers C J, Yu S H, et al. Quantification of O-glycosylation stoichiometry and dynamics using resolvable mass tags. *Nat Chem Biol*, 2010, 6: 645–651
- 64 Rao X, Duan X, Mao W, et al. O-GlcNAcylation of G6pd promotes the pentose phosphate pathway and tumor growth. *Nat Commun*, 2015, 6: 8468
- 65 Lopez Aguilar A, Gao Y, Hou X, et al. Profiling of protein O-GlcNAcylation in murine CD8⁺ effector- and memory-like T cells. *ACS Chem Biol*, 2017, 12: 3031–3038

- 66 Wang W, Hu T, Frantom P A, et al. Chemoenzymatic synthesis of GDP-L-Fucose and the Lewis x glycan derivatives. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 16096–16101
- 67 Zheng T, Jiang H, Gros M, et al. Tracking *N*-acetylglucosamine on cell-surface glycans *in vivo*. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 4113–4118
- 68 Varki A. Sialic acids in human health and disease. *Trends Mol Med*, 2008, 14: 351–360
- 69 Wen L, Zheng Y, Jiang K, et al. Two-step chemoenzymatic detection of *N*-acetylneuraminic acid- α (2-3)-galactose glycans. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 11473–11476
- 70 Wibowo A, Peters E C, Hsieh-Wilson L C. Photoactivatable glycopolymers for the proteome-wide identification of fucose- α (1-2)-galactose binding proteins. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 9528–9531
- 71 Yu L G. The oncofetal Thomsen-Friedenreich carbohydrate antigen in cancer progression. *Glycoconj J*, 2007, 24: 411–420
- 72 Li Q, Li Z, Duan X, et al. A tandem enzymatic approach for detecting and imaging tumor-associated Thomsen-Friedenreich antigen disaccharide. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 12536–12539
- 73 Yu S H, Zhao P, Sun T, et al. Selective exo-enzymatic labeling detects increased cell surface sialoglycoprotein expression upon megakaryocytic differentiation. *J Biol Chem*, 2016, 291: 3982–3989
- 74 Blixt O, Han S, Liao L, et al. Sialoside analogue arrays for rapid identification of high affinity siglec ligands. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 6680–6681
- 75 Mbua N E, Li X, Flanagan-Steet H R, et al. Selective exo-enzymatic labeling of N-Glycans on the surface of living cells by recombinant ST6Gal I. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52: 13012–13015
- 76 Sun T, Yu S H, Zhao P, et al. One-step selective exoenzymatic labeling (SEEL) strategy for the biotinylation and identification of glycoproteins of living cells. *J Am Chem Soc*, 2016, 138: 11575–11582
- 77 Lopez Aguilar A, Meng L, Hou X, et al. Sialyltransferase-based chemoenzymatic histology for the detection of *N*- and *O*-glycans. *Bioconj Chem*, 2018, 29: 1231–1239
- 78 Wen L, Liu D, Zheng Y, et al. A one-step chemoenzymatic labeling strategy for probing sialylated Thomsen-Friedenreich antigen. *ACS Cent Sci*, 2018, 4: 451–457
- 79 Briard J G, Jiang H, Moremen K W, et al. Cell-based glycan arrays for probing glycan-glycan binding protein interactions. *Nat Commun*, 2018, 9: 880
- 80 Jiang H, López-Aguilar A, Meng L, et al. Modulating cell-surface receptor signaling and ion channel functions by *in situ* glycan editing. *Angew Chem*, 2018, 130: 979–983
- 81 Rouhanifard S H, Lopez Aguilar A, Meng L, et al. Engineered glycocalyx regulates stem cell proliferation in murine crypt organoids. *Cell Chem Biol*, 2018, 25: 439–446.e5
- 82 Rodriguez A C, Kohler J J. Recognition of diazirine-modified O-GlcNAc by human O-GlcNAcase. *Med Chem Commun*, 2014, 5: 1227–1234
- 83 Wu Z L, Tatge T J, Grill A E, et al. Detecting and imaging O-GlcNAc sites using glycosyltransferases: a systematic approach to study O-GlcNAc. *Cell Chem Biol*, 2018, 25: 1428–1435.e3

Recent advances in glycan labeling on cell surface

LI Chen, ZHOU ZhiFang & WU ZhiMeng

Key Laboratory of Carbohydrate Chemistry and Biotechnology, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

Glycans on the cell surface playing important roles in many biological activities have drawn increasing interests. These glycans with complex chemical structures are not directly encoded in the genome, which causes the difficulties in labeling and detection. Consequently, it remains great challenges to study the biological functions of glycans. Recently, metabolic oligosaccharide engineering and chemoenzymatic glycan labeling have become powerful tools in glycobiological studies. Both strategies equip the glycans on cell surface with unnatural saccharide precursors carrying chemical reporters which could be further labelled with probes by biorthogonal chemistry. This article reviews current progress in both strategies, analyzes their advantages and disadvantages, and discusses their potential applications in glycobiological studies.

metabolic oligosaccharide engineering, chemoenzymatic glycan labeling, glycan

doi: [10.1360/N052018-00252](https://doi.org/10.1360/N052018-00252)