

等离子体复合材料辅助小分子代谢物的 质谱半定量分析及鉴定

曹 婷, 舒伟康, 万晶晶

(华东师范大学化学与分子工程学院, 上海 200241)

摘要 利用枝状介孔二氧化硅纳米球(DMSN)作为载体, 将金、银纳米颗粒均匀负载在其表面, 制备了DMSN@Ag/Au复合材料, 并将其作为基质辅助激光解吸离子化(MALDI)基质. 该基质可实现高灵敏度小分子代谢物分析, 检测限为0.005 mg/mL. 该基质具有较好的检测重现性, 并提供自身的Au⁺信号作为信号参比, 从而提高定量分析准确度. 此外, DMSN@Ag/Au可诱导分析物发生Ag⁺加和, 辅助代谢物鉴定. 该基质有望作为新一代的多功能MALDI基质, 为临床质谱分析提供新的思路.

关键词 基质辅助激光解吸/电离质谱; 小分子检测; 枝状介孔二氧化硅纳米球; 等离子体材料

中图分类号 O657.6

文献标志码 A

doi: 10.7503/cjcu20240325

Plasmonic Composites Aid Semi-quantitative Analysis and Identification of Low-molecular-weight Metabolites by Mass Spectrometry

CAO Ting, SHU Weikang*, WAN Jingjing*

(School of Chemistry and Molecular Engineering, East China Normal University, Shanghai 200241, China)

Abstract DMSN@Ag/Au composites, with DMSN (dendritic mesoporous silica nanosphere), as the support and Au/Ag nanoparticles homogeneously loading on the surface, were employed as MALDI (matrix-assisted laser desorption/ionization) matrices. These composites enable highly sensitive MALDI metabolic analysis with a detection limit of 0.005 mg/mL. Moreover, these composites demonstrated good reproducibility in detection and provided an intrinsic Au⁺ signal as a reference to enhance the accuracy of quantitative analysis. Additionally, DMSN@Ag/Au facilitated Ag⁺ addition to the analyte and assisted in metabolite identification process. The composites are expected to serve as a new generation of multifunctional MALDI matrix and provide new ideas for clinical mass spectrometry analysis.

Keywords Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry; Low-molecular-weight metabolites detection; Dendritic mesoporous silica nanosphere; Plasmonic material

代谢组学旨在对生物体内差异代谢物进行定性及定量分析以阐明代谢波动与生理过程的关系. 相比转录组学和蛋白组学, 代谢组学更加贴近生物表型^[1], 可以及时反映体内生命活动的变化^[2]. 目前代谢检测的主要方法是核磁共振(NMR)^[3]和质谱(MS)^[4]. NMR在生物医学和药物研发等方面得到了广泛应用^[5,6], 但是因为其低灵敏度在实际诊断和后续监测中应用受阻. 基质辅助激光解吸/电离质谱(MALDI-MS)因为检测通量高、分析速度快、操作简单等优点成为研究代谢组学的新兴方法^[7]. 对于MALDI-MS检测, 基质的选择非常重要, 几十年来, 基质的研究已有较大的发展^[8-11]. 目前, 商品化的

收稿日期: 2024-07-01. 网络首发日期: 2024-09-25.

联系人简介: 舒伟康, 男, 博士, 主要从事质谱多功能材料设计方面的研究. E-mail: wkshu@chem.ecnu.edu.cn

万晶晶, 女, 博士, 教授, 主要从事临床质谱多组学技术开发及应用方面的研究. E-mail: jjwan@chem.ecnu.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 22122404)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No.22122404).

MALDI基质大多为有机基质^[12-14],主要用于蛋白质和多肽的检测.在小分子代谢物检测方面,有机基质在低 m/z 区产生背景信号干扰,同时辅助代谢小分子电离效率较弱,这些问题限制了其在代谢检测中的应用^[15].目前,多种无机纳米材料已经展现出较好的辅助离子化性能,如金属氧化物、金属有机框架材料、碳基材料等^[7,15-17].其中等离子体材料(如 Au, Ag, Pt 等)能够提供独特的表面等离子共振和热载流子^[18],并且具有优异的光吸收和导电性^[19,20],是理想的 MALDI 基质.但是这些等离子体材料单独作为基质使用时容易发生团聚,导致检测信号的重现性差,难以直接用于 MALDI 检测.枝状介孔二氧化硅纳米球(DMSN)具有稳定的结构、大比表面积以及可控的孔径,已被作为多种药物和催化剂的理想载体^[21-23].上述特性使 DMSN 有望成为等离子体材料在 MALDI 检测过程中的理想载体.此外,研究发现不同等离子体材料之间存在协同增强,可以有效提升材料的光吸收能力,从而提高 MALDI 的检测性能^[24,25].因此,DMSN 负载双等离子体材料作为 MALDI 基质有望实现高灵敏、高重现性的代谢分析.

本文利用 DMSN 作为载体,将金、银纳米颗粒均匀负载在其表面得到 DMSN@Ag/Au 复合基质.该基质具有稳定的结构,可有效降低等离子体材料的团聚现象.相较于负载单一等离子体材料,DMSN@Ag/Au 具有更好的 MALDI 检测灵敏度.复合基质在 m/z 196.98 处会产生强烈的 Au⁺本征信号^[26],利用此信号作为分析物检测信号的参比可实现质谱信号的校正并用于半定量分析.复合基质还可与小分子发生 Ag⁺加和,产生 [M+Ag]⁺质谱信号,[M+Ag]⁺的引入有望提升代谢分子在 MALDI-MS 一级谱图中的鉴定精度.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

三乙醇胺(TEA)、十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)、水杨酸钠(NaSal)、硅酸乙酯(TEOS)、无水乙醇(EtOH)、氯丙基三乙氧基硅烷(APTES)、氯金酸(HAuCl₄)、硝酸银(AgNO₃)、硼氢化钠(NaBH₄)、甘露醇(Man)、葡萄糖(Gluc)、色氨酸(Try)、苯丙氨酸(Phe)、脯氨酸(Pro)、蛋氨酸(Met)、三氟乙酸(TFA)和赖氨酸(Lys),分析纯,购自上海泰坦科技股份有限公司;牛血清白蛋白(BSA,纯度98%),购自上海泰坦科技股份有限公司;去离子水,电导率为 18.2 MΩ·cm.

Autoflex MALDI-TOF/TOF 型 MALDI 质谱仪,美国布鲁克公司;D8 Advance 型 X 射线衍射仪(XRD),美国 Bruker 公司;S4800 型扫描电子显微镜(SEM)和 HT-7700 型透射电子显微镜(TEM),日本日立集团;TriStarII3020 型表面积和孔隙率分析仪,美国麦克默瑞提克仪器有限公司;UV1900 型紫外-可见分光光度计(UV-Vis)和 ICAP7200HS 型电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES),美国赛默飞世尔科技公司.

1.2 实验过程

1.2.1 DMSN 的制备 在 25 mL 水中加入 68 mg TEA,在 80 °C 下搅拌 30 min. 随后加入 380 mg CTAB 和 67.2 mg NaSal,搅拌 1 h,再向上述溶液中加入 4 mL TEOS 和 62.5 μL EtOH,再搅拌 2.5 h. 最后离心分离,并用乙醇洗涤 3 次,干燥收集.

1.2.2 DMSN@Au 的制备 首先,对 DMSN 进行氨基化,将 0.01 g DMSN,40 mL EtOH,0.05 mL APTMS 混合,在 80 °C 下搅拌回流 24 h,产物过滤并用去离子水洗涤 3 次,在 60 °C 下干燥.将 0.01 g 氨基功能化 DMSN 分散在 10 mL 水中,随后加入 2 mL HAuCl₄(2 mmol/L),超声 30 min 后,在快速搅拌下,滴加过量 NaBH₄. 所得产物经去离子水洗涤、过滤 3 遍,在 80 °C 下干燥,产物记为 DMSN@Au.

1.2.3 DMSN@Ag 的制备 将 0.5 g 氨基功能化的 DMSN 超声分散于 50 mL 去离子水中. 然后加入 0.47 mL AgNO₃(50 mmol/L),在黑暗中室温搅拌 3 h. 随后,滴加过量 NaBH₄,持续搅拌 30 min. 得到的产物过滤后用去离子水洗涤 3 遍,在 80 °C 下干燥,产物记为 DMSN@Ag.

1.2.4 DMSN@Ag/Au 的制备 将 0.05 g DMSN@Au 超声分散于 5 mL 去离子水中,然后加入 0.094 mL AgNO₃(50 mmol/L),在黑暗中室温下搅拌 3 h. 随后,滴加过量 NaBH₄,持续搅拌 30 min. 得到的产物过

滤后用去离子水洗涤3遍,在80 °C下干燥,产物记为DMSN@Ag/Au.

1.2.5 AuAg合金的制备 在80 mL煮沸的去离子水中快速加入1.0 mL 0.01 mol/L H₂AuCl₄和1.0 mL 0.01 mol/L AgNO₃水溶液,不断搅拌.溶液充分混合后,加入8 mL 0.02 mol/L NaSal,并继续搅拌10 min,随后,将烧杯从水浴中取出,在室温下缓慢冷却后离心洗涤,所得产物记为AuAg合金.

1.2.6 材料的表征 将样品超声分散在水溶液中形成均匀的悬浮液,随即滴在洁净的铝箔上等待干燥,随后在SEM下进行观察.将样品超声分散在水溶液中形成均匀的悬浮液,随即滴在覆有碳支持膜的铜网上干燥,然后在TEM下进行观察.XRD谱图由X射线衍射仪在Cu K α 射线($\lambda=0.154$ nm)下采集.材料的UV-Vis吸收光谱由紫外-可见分光光度计进行测试.氮气吸附-脱附等温线由表面积和孔隙率分析仪在77 K下测量,在进行分析前,样品先在200 °C的真空下脱气6 h. BET(Brunauer-Emmett-Teller)比表面积在相对压力(p/p_0)0.05~0.30的范围内计算.

1.2.7 MALDI测试 在0.1% TFA溶液(溶剂体积比为1:1的水/乙腈)中配制4 mg/mL α -氰基-4-羟基肉桂酸(CHCA)和20 mg/mL 2,5-二羟基苯甲酸(DHB).通过逐级稀释法配制代谢小分子(葡萄糖、甘露醇、苯丙氨酸、色氨酸、脯氨酸、蛋氨酸和赖氨酸等)的标准溶液(0.005~0.100 mg/mL).为了考察基质的耐盐耐蛋白性能,在标准溶液中分别加入了盐分(0.5 mol/L NaCl)和蛋白质(5 mg/mL BSA)进行后续测试.将DMSN@Ag/Au(1 mg/mL,去离子水)、DMSN@Au(1 mg/mL,去离子水)和DMSN@Ag(1 mg/mL,去离子水)、AuAg合金(1 mg/mL,去离子水)、CHCA(4 mg/mL, 0.1% TFA)和DHB(20 mg/mL, 0.1%TFA)分别作为基质使用.在MALDI-MS测试中,将1 μ L不同分析物溶液点样在质谱靶板上,在室温下等待样品干燥.随后,将1 μ L基质溶液滴加在干燥的分析物上,再次在室温下进行干燥.MALDI-MS使用MALDI质谱仪(355 nm的Nd:YAG智能固态激光器)进行检测.MS数据在MALDI-MS正离子反射模式下使用延时引出技术采集,激光频率为1 kHz,离子加速电压设定为20 kV.

2 结果与讨论

2.1 DMSN@Ag/Au的制备与表征

首先合成了DMSN作为基质载体.如图1(A)所示,其具有均一的尺寸和多孔的表面,直径约为80 nm,其表面积为315.7 m²/g[图1(C)].然后,制备了DMSN@Ag/Au[图1(A)插图],Au和Ag均匀生

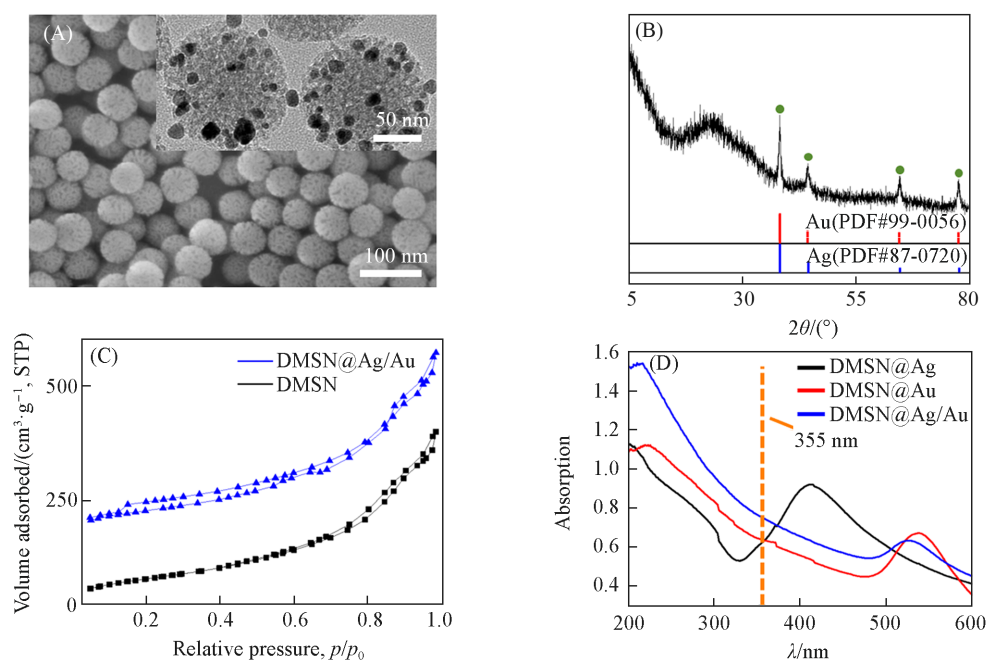


Fig. 1 SEM image of DMSN and TEM image of DMSN@Ag/Au(inset)(A), XRD pattern of DMSN@Ag/Au (B), nitrogen adsorption-desorption isotherms of DMSN and DMSN@Ag/Au(C), UV-Vis spectra of DMSN@Ag/Au, DMSN@Ag and DMSN@Au(D)

长在 DMSN 表面, 未发生团聚现象. Au 和 Ag 负载后, 材料依旧保持了多孔的形貌, 其表面积为 298.5 m^2/g [图 1(C)], 无明显下降. 由 XRD 谱图可见, DMSN@Ag/Au 在 $2\theta=38.39^\circ, 44.47^\circ, 64.58^\circ, 77.57^\circ$ 处展示了 Au(PDF#99-0056)和 Ag(PDF#87-0720)的典型衍射峰[图 1(B)]. 对材料进行了 ICP 测试, 得到 Au 的负载量为 6.73%, Ag 的负载量为 4.21%. 除此之外, 还对材料的光学特性进行表征, 由于质谱基质需要吸收 355 nm 波长的激光, 通过光电转化将能力传递给代谢物进行电离, 所以分别对 DMSN@Ag/Au, DMSN@Ag 和 DMSN@Au 的紫外吸收-可见光谱进行测试[图 1(D)], 得到 DMSN@Ag/Au 在 355 nm 波长处的紫外吸收最强, 说明其光电转化效率更高.

2.2 DMSN@Ag/Au 在标准体系中的辅助离子化性能

贵金属纳米材料可以作为 MALDI-MS 基质, 但是单金属无法满足实际样本检测所需的灵敏度和精确度, 所以在 DMSN 上同时负载 Au 和 Ag, 在表面形成 AuAg 合金. AuAg 合金具有独特的局部表面等离子体共振, 光吸收更强, 在激光照射下更易辅助小分子分析物电离^[27,28].

为了考察 DMSN@Ag/Au 作为 MALDI 基质的小分子检测性能, 分别以 DMSN@Ag/Au、AuAg 合金、DMSN@Au、DMSN@Ag、CHCA 和 DHB 为基质对 0.1 mg/mL Man 进行 MALDI 检测, 重复检测 15 次. 如图 2(A)所示, 以 DMSN@Ag/Au、AuAg 合金、DMSN@Au、DMSN@Ag、CHCA 为基质时, Man 的钠离子加和峰 $[\text{Man}+\text{Na}]^+$ 强度分别约为 9000, 6800, 1600, 7800, 700, 而 DHB 几乎检测不出信号强度. 除此之外, 还分别以 DMSN@Ag/Au、AuAg 合金和 CHCA 为基质, 对 0.1 mg/mL Man 进行 MALDI 检测, 重复次数 30 次, 如图 2(B)所示, DMSN@Ag/Au、AuAg 合金、CHCA 的变异系数(Coefficient of variation, CV)分别为 5.372%, 7.880% 和 10.470%. 结果表明, DMSN@Ag/Au 的偏离度更低, 重现性更好. 这是因为 DMSN 作为载体, 可以避免贵金属的团聚. 还比较了 DMSN@Ag/Au、AuAg 合金和 DMSN@Ag 的银离子加和能力, 以 DMSN@Ag/Au、AuAg 合金和 DMSN@Ag 为基质, 重复检测 15 次. $[\text{Man}+^{107}\text{Ag}]^+$ 和 $[\text{Man}+^{109}\text{Ag}]^+$ 的平均峰强度分别约为 20000, 15000 和 7000[图 2(C)]. 综上所述, 以 DMSN@Ag/Au 为基质时, 小分子在 MALDI MS 检测中展现了更强的钠离子和银离子加和能力.

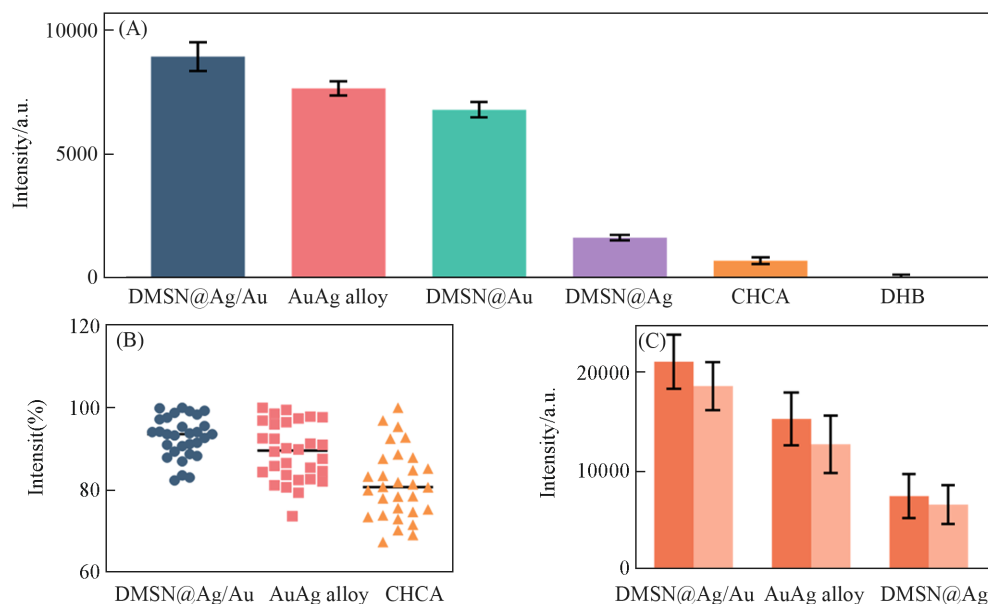


Fig. 2 Mean intensities of Na^+ adducted peaks for 0.1 mg/mL mannitol in 15 experiments using DMSN@Ag/Au, AuAg alloy, DMSN@Au, DMSN@Ag, CHCA and DHB as the matrix(A), shot-to-shot and the spot-to-spot reproducibility of 30 times experiments using DMSN@Ag/Au, AuAg alloy and CHCA(B), mean intensities of Ag^+ adducted peaks for 0.1 mg/mL mannitol in 15 experiments using DMSN@Ag/Au, AuAg alloy and DMSN@Ag(C)

2.3 基于 DMSN@Ag/Au 的分析物半定量检测

质谱定量分析常使用外标法或内标法, 但外标法对于仪器稳定性和操作重现性要求较高, 而内标法需要选择合适的内标物, 成本较高. 在上述实验结果中, 制备的 DMSN@Ag/Au 不仅可以增强小分子

代谢物的MALDI检测信号,还在谱图中 m/z 196.98处产生强烈的本征信号.此信号强度仅受基质浓度与仪器状态影响,与待分析物无关,有望利用此信号作为分析物检测信号的参比,实现质谱信号的校正并用于半定量分析.配制了0.005~0.100 mg/mL的苯丙氨酸和蛋氨酸,以DMSN@Ag/Au作为基质,进行MALDI-MS检测.

如图3(A)和(B)所示,代谢分子的信号强度随浓度的上升而增强,呈正相关,而Au的信号强度无较大变化.首先,考察了苯丙氨酸 $[\text{Phe}+\text{K}]^+$ 信号强度与其浓度的线性关系,拟合得到 R^2 为0.947[图3(B)];进而考察了苯丙氨酸 $[\text{Phe}+\text{K}]^+$ 信号强度与 Au^+ 信号强度的比值与分析物浓度的线性关系,得到的 R^2 为0.986[图3(C)],这说明当将DMSN@Ag/Au提供的 Au^+ 信号强度作为参比时,可以得到更加精确的定量结果.在蛋氨酸的半定量检测中,相比直接利用 $[\text{Met}+\text{K}]^+$ 进行半定量分析,改用 $[\text{Met}+\text{K}]^+/\text{Au}^+$ 进行定量后拟合得到的 R^2 可从0.897提高至0.939[图3(E)和(F)],与苯丙氨酸的结果类似.上述数据说明,使用DMSN@Ag/Au作为基质时,不仅可以高灵敏度地检测代谢物分子(检测限低至0.005 mg/mL), Au^+ 信号还可作为定量检测时的信号参比,实现更为精准的半定量检测.

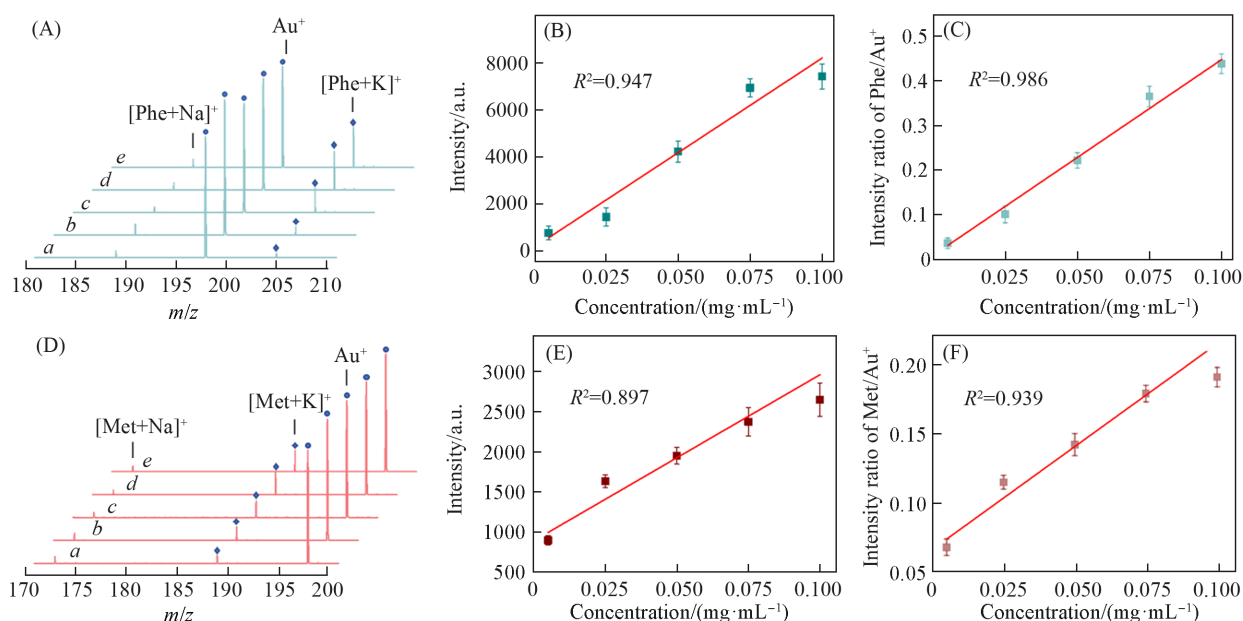


Fig. 3 Typical MALDI-MS spectra for Phe with different concentrations(A), correlations of intensities of $[\text{Phe}+\text{K}]^+$ with concentrations of Phe(B) and the ratio of $[\text{Phe}+\text{K}]^+/\text{Au}^+$ and concentrations of Phe(C), typical MALDI-MS spectra for Met with different concentrations(D), correlations of intensities of $[\text{Met}+\text{K}]^+$ with concentrations of Met(E) and the ratio of $[\text{Met}+\text{K}]^+/\text{Au}^+$ and concentrations of Met(F)

(A) and (D): a. 0.005 mg/mL; b. 0.025 mg/mL; c. 0.050 mg/mL; d. 0.075 mg/mL; e. 0.100 mg/mL.

2.4 DMSN@Ag/Au 诱导银离子加和辅助小分子鉴定

在临床质谱分析中,代谢物鉴定是开展后续研究的关键.MALDI-MS对于分析物的精准鉴定通常依赖串级质谱,而在筛选质谱信号时,一般通过分析物的加钠峰和加钾峰($[\text{M}+\text{Na}]^+$ 和 $[\text{M}+\text{K}]^+$)之间的位置关系来初步判定信号的归属.DMSN@Ag/Au可诱导代谢物发生 Ag^+ 加和,产生 $[\text{M}+\text{Ag}]^+$ 质谱信号^[14].基于此,有望利用同一分子的3种加和信号辅助分析物的初步判定.以DMSN@Ag/Au为基质对苯丙氨酸和赖氨酸进行了检测,如图4所示,在 m/z 272.08处和274.08处得到了 $[\text{Phe}+^{107}\text{Ag}]^+$ 和 $[\text{Phe}+^{109}\text{Ag}]^+$ 的信号[图4(A)];在 m/z 253.09和255.09处,得到了 $[\text{Lys}+^{107}\text{Ag}]^+$ 和 $[\text{Lys}+^{109}\text{Ag}]^+$ 的信号[图4(B)].两峰的强度相似,符合 Ag^{107} 和 Ag^{109} 两个同位素的自然丰度比例(51.84:48.16).此外,还在0.500 mg/mL混合标准品溶液(脯氨酸、苯丙氨酸、蛋氨酸、甘露醇、色氨酸)中检测到了上述全部标准品分子的银加和峰[图4(C)],这证明了DMSN@Ag/Au诱导分析物发生 Ag^+ 加和具有普适性.

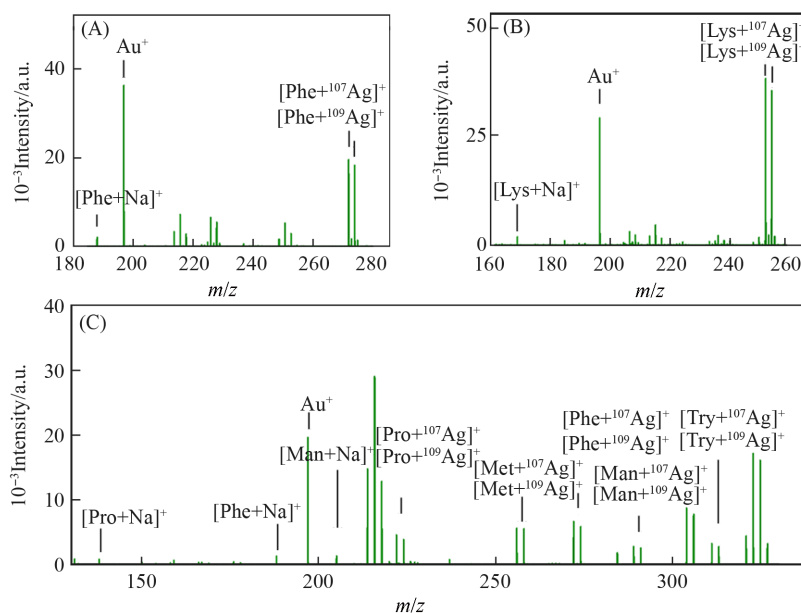


Fig. 4 Typical MALDI-MS spectra of 0.1 mg/mL phenylalanine(A), 0.1 mg/mL lysine(B) and mixture of five standard molecules(0.500 mg/mL)(C) using DMSN@Ag/Au as the matrix

2.5 DMSN@Ag/Au 在复杂模拟体系和实际样本中的辅助离子化性能

材料的耐盐耐蛋白性对其在复杂生物样本中的应用起到至关重要的作用, 因此进一步研究了 DMSN@Ag/Au 的耐盐耐蛋白能力和实际样本中的检测能力. 首先, 在脯氨酸、苯丙氨酸和甘露醇的混合标准液中加入 0.5 mol/L NaCl, 使用 DMSN@Ag/Au 作为基质, 模拟高盐浓度环境下的 MALDI 检测. 如图 5(A) 和 (C) 所示, 在 m/z 138.10, 188.12, 205.12 处分别获得了 3 种代谢物的钠离子加和峰 $[M+Na]^+$; 同时, 在高蛋白(含 5 mg/mL BSA)混合标准液以及高盐高蛋白混合液中也检测到了代谢物的钠离子加和信号 $[M+Na]^+$ 和银离子加和信号 $[M+^{107}Ag]^+$ 和 $[M+^{109}Ag]^+$, 直观地展现了在高盐、高蛋白以及高盐高蛋白 3 种环境条件下, Pro, Phe, Man 的钠离子加和信号强度虽有所减弱, 但依然保持相对较

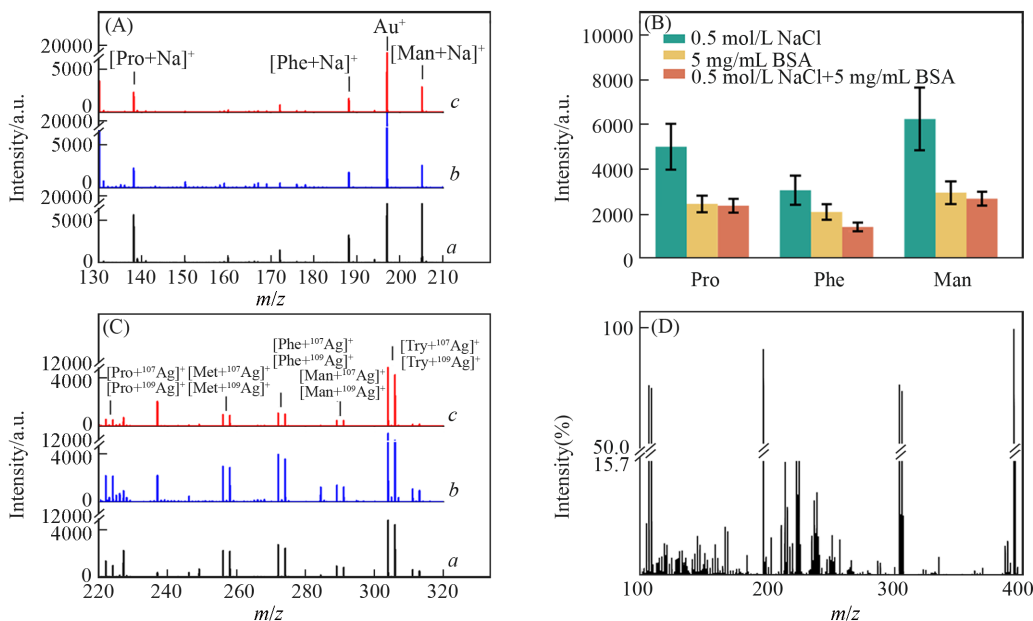


Fig. 5 Typical Na^+ adducted peaks of three standard molecules with 0.5 mol/L NaCl(a), 5 mg/mL BSA(b) and 0.5 mol/L NaCl+5 mg/mL BSA(c)(A), the corresponding averaged signal intensities in 10 experiments using DMSN@Ag/Au as the matrix(B), typical Ag^+ adducted peaks of five standard molecules with 0.5 mol/L NaCl(a), 5 mg/mL BSA(b) and 0.5 mol/L NaCl+5 mg/mL BSA(c)(C), typical mass spectrum of fetal bovine serum using DMSN@Ag/Au as the matrix(D)

高的信号水平[图5(B)],上述结果证明DMSN@Ag/Au纳米材料具有较好的耐盐耐蛋白性能.进而,对实际胎牛血清进行了MALDI检测[图5(D)],结果表明,在血清体系中DMSN@Ag/Au依旧具备较好的检测性能.

综上所述,成功合成了DMSN@Ag/Au并用于质谱代谢分析,实现了代谢物的半定量分析及辅助鉴定.相较于DMSN@Ag和DMSN@Au,DMSN@Ag/Au具有更好的MALDI检测效果,检测信号提升0.5~3.0倍.DMSN@Ag/Au在 m/z 196.98处的 Au^+ 信号可作为分析物定量检测时的强度参比,用于质谱信号强度的校正,提高定量分析准确度.DMSN@Ag/Au可诱导分析物发生 Ag^+ 加和,形成的 $[\text{M}+^{107}\text{Ag}]^+$ 和 $[\text{M}+^{109}\text{Ag}]^+$ 信号可有效辅助代谢物的判别.综上,DMSN@Ag/Au作为临床质谱代谢分析的基质材料,为未来的研究提供了有价值的研究方向和思路.

参 考 文 献

- [1] Huang L., Wang L., Hu X. M., Chen S., Tao Y. W., Su H. Y., Yang J., Xu W., Vedarethinam V., Wu S., Liu B., Wan X. Z., Lou J. T., Wang Q., Qian K., *Nat. Commun.*, **2020**, *11*(1), 3556
- [2] Zenobi R., *Science*, **2013**, *342*, 1243259
- [3] Pontes J. G. M., Brasil A. J. M., Cruz G. C. F., Souza R. N., Tasic L., *Anal. Methods*, **2017**, *9*(7), 1078—1096
- [4] Gika H. G., Theodoridis G. A., Plumb R. S., Wilson I. D., *J. Pharm. Biomed.*, **2014**, *87*, 12—25
- [5] Bermingham K. M., Brennan L., Segurado R., Barron R. E., Gibney E. R., Ryan M. F., Gibney M. J., O'Sullivan A. M., *J. Proteome Res.*, **2021**, *20*(8), 3992—4000
- [6] Emwas A. H., Luchinat C., Turano P., Tenori L., Roy R., Salek R. M., Ryan D., Merzaban J. S., Kaddurah-Daouk R., Zeri A. C., Gowda G. A. N., Raftery D., Wang Y., Brennan L., Wishart D. S., *Metabolomics*, **2015**, *11*(4), 872—894
- [7] Chen J. Y., Li Y. Z., Jiang Y. M., Mao L. C., Lai M., Jiang L. X., Liu H. H., Nie Z. X., *Adv. Funct.*, **2021**, *31*(52), 2106743
- [8] Chiang C. K., Chen W. T., Chang H. T., *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, *40*, 1269—1281
- [9] Kulkarni A. S., Huang L., Qian K., *J. Mater. Chem. B*, **2021**, *9*, 3622—3639
- [10] Zhang S., Ni Y., Li S. Q., Kong X. L., *Prog. Chem.*, **2014**, *26*(1), 158—166(张森, 倪彧, 李树奇, 孔祥蕾. 化学进展, **2014**, *26*(01), 158—166)
- [11] Chen X. Y., Gao B. X., Zhou H. Y., *Chinese J. Anal. Chem.*, **2022**, *50*(01), 12—24(陈秀英, 高保祥, 周焕英. 分析化学, **2022**, *50*(1), 12—24)
- [12] Norris J. L., Caprioli R. M., *Chem. Rev.*, **2013**, *113*(4), 2309—2342
- [13] Kompauer M., Heiles S., Spengler B., *Nat. Methods*, **2017**, *14*(1), 90—96
- [14] Singhal N., Kumar M., Kanaujia P. K., Virdi J. S., *Front Microbiol.*, **2015**, *6*, 00791
- [15] Wang Y., Shu W. K., Lin S. H., Wu J. Y., Jiang M., Li S. M., Liu C., Li R. X., Pei C. C., Ding Y. J., Wan J. J., Di W., *Small*, **2022**, *18*(11), 2106412
- [16] Pei C. C., Liu C., Wang Y., Cheng D., Li R. X., Shu W. K., Zhang C. Q., Hu W. L., Jin A. H., Yang Y. N., Wan J. J., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2020**, *59*(27), 10669—11157
- [17] Huang L., Gurav D. D., Wu S., Xu W., Vedarethinam V., Yang J., Su H. Y., Wan X. Z., Fang Y., Shen B. Y., Price C. A. H., Velliou E., Liu J., Qian K., *Matter*, **2019**, *1*(6), 1669—1680
- [18] Huang L., Wan J. J., Wei X., Liu Y., Huang J. Y., Sun X. M., Zhang R., Gurav D. D., Vedarethinam V., Li Y., Chen R. P., Qian K., *Nat. Commun.*, **2017**, *8*, 220
- [19] Niihori Y., Wada Y., Mitsui M., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2021**, *60*(6), 2822—2827
- [20] Nazemi M., Panikkanvalappil S. R., Liao C. K., Mahmoud M. A., El-Sayed M. A., *ACS Nano*, **2021**, *15*(6), 10241—10252
- [21] Sun P., Cheng B. S., Ru J. X., Li X. Y., Fang G. C., Xie Y. L., Shi G. J., Hou J. C., Zhao L. W., Gan L. P., Ma L., Liang C., Chen Y., Li Z. Y., *J. Nanobiotechnol.*, **2024**, *22*, 11
- [22] Li H., Si R. F., Wang W. B., Huang Y., Xiang M. H., Wang C., Chen S., Cao W., Lu Z., Huang M. F., *Colloid Surface A.*, **2021**, *621*(20), 126586
- [23] Wang Y. B., Ma H., Guo J. J., Han Y., Ding X. P., Zhang Y. T., *J. Mater. Sci.*, **2021**, *56*, 14659—14671
- [24] He R., Wang Y. C., Wang X., Wang X. Y., Wang Z. T., Liu G., Zhou W., Wen L. P., Li Q. X., Wang X. P., Chen X. Y., Zeng J., Hou J. G., *Nat. Commun.*, **2014**, *5*, 4327
- [25] Wu H. X., Ping W., He H. L., Jin Y. D., *Nano Res.*, **2012**, *5*, 135—144
- [26] Prysiachnyi V., Bednařik A., Žalud M., Hegrová Y., Neuman J., Preisler J., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2023**, *34*(4), 570—578
- [27] Mayer K. M., Hafner J. H., *Chem. Rev.*, **2011**, *111*(6), 3828—3857
- [28] Wang X., Zhang C., Zhou X., Fu Z., Yan L., Li J., Zhang Z., Zheng H., *Nanomaterials*, **2022**, *12*(17), 2927

(Ed.: V, K, S)