

面向小分子检测的MALDI MS 基质研究进展

续红妹¹, 王梁臣¹, 闵乾昊²

(1. 山西大学环境科学研究所, 太原 030006;

2. 南京大学化学化工学院, 生命分析化学国家重点实验室, 南京 210023)

摘要 低分子量化合物的分析与鉴定对于追踪药物分布和探究生物体内不同的代谢途径至关重要。基质辅助激光解吸电离质谱(MALDI MS)在生物分子分析方面发挥着重要作用, 但是传统的有机基质自身电离产生的碎片信号会对小分子检测造成干扰, 且基质与样品结晶的不均匀性也严重影响信号的重复性和成像的空间分辨率。为了克服这些问题, 研究者们开发了一系列适用于小分子检测的基质。本文介绍了用于小分子检测的MALDI MS基质开发的研究进展, 主要包括去质子化基质、改性商业化基质、高分子量有机基质、反应性基质和纳米材料基质, 并对新型的MALDI MS基质的适用范围与应用领域进行了总结和展望。

关键词 基质辅助激光解吸电离; 质谱成像; 小分子检测

中图分类号 O657.63

文献标志码 A

doi: 10.7503/cjcu20240285

Advances in MALDI MS Matrices for the Detection of Small Molecules

XU Hongmei¹, WANG Liangchen¹, MIN Qianhao^{2*}

(1. Institute of Environmental Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;

2. State Key Laboratory of Analytical Chemistry for Life Science, School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210023, China)

Abstract The analysis of small molecules is of great interest to profile the distribution of small pharmaceutical drugs rapidly, or to trace and understand metabolic pathways. Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry (MALDI MS) plays a central role in the analysis of biological molecules. However, its application for analysis of low molecular weight compounds is restricted by conventional organic matrices interferences in the low m/z region. In addition, inhomogeneity of matrix and sample crystals also impedes the detection repeatability and imaging spatial resolution. Several strategies regarding matrices preparation and functionalization have been investigated to overcome this problem. This review gives an overview on the rational design strategies used to develop matrix systems for the analysis of small molecules, focusing on the exploration of deprotonating matrices, modified conventional matrices, high molecular weight organic matrices, reactive matrices, and nanomaterial-based matrices. In final, the design and application of the new matrices for mass spectrometry analysis of small molecules are summarized and prospected.

Keywords Matrix-assisted laser desorption ionization; Mass spectrometry imaging; Analysis of small molecule

收稿日期: 2024-06-13. 网络首发日期: 2024-08-30.

联系人简介: 闵乾昊, 男, 博士, 教授, 主要从事纳米生物分析与质谱分析方面的研究. E-mail: minqianhao@nju.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 22104075)和山西省基础研究计划项目(批准号: 20210302124014)资助.

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No.22104075) and the Applied Basic Research Project of Shanxi Province, China (No.20210302124014).

基质辅助激光解吸电离质谱(MALDI MS)是20世纪80年代由Karas等提出的一种软电离质谱分析方法^[1],在有机化合物(基质)存在的情况下,基质分子可吸收光能并将光能转化成热能,携带样品一起升华至气相并发生电离.因此,基质是整个解吸电离过程的核心.由于基质与分析物的结合效率、解吸和电离效率可能会有所不同,选择合适的基质对于提高目标分子检测灵敏度非常关键^[2].在过去的几十年里,各种适合不同大分子检测的基质已经被陆续开发出来.如2,5-二羟基苯甲酸(DHB)、 α -氰基-4-羟基肉桂酸(CHCA)和芥子酸(SA)被广泛应用于鉴定分析多肽、蛋白质、聚糖等生物大分子^[3,4].但是,在低分子量范围内,基质自身电离碎片会对小分子检测造成干扰,因此MALDI MS通常不适用于低分子量化合物的分析.然而基于代谢组学、脂质组学及暴露组学等领域的研究需求,该技术在低分子量化合物鉴定分析领域受到越来越多的关注^[5,6].

合适的质谱基质通常需要满足以下条件:(1)较低的背景信号干扰,与大部分化合物不反应;(2)在匹配的紫外激光波长处(氮分子激光:337 nm;Nd:YLF激光:349 nm;Nd:YAG激光:355 nm)具有较强的吸收;(3)可与分析物形成共结晶,并在高真空环境中保持稳定^[7].针对目前广泛使用的商业化有机基质在小分子检测方面存在的问题,研究者们尝试开发多种适配于小分子检测的基质来推动MALDI MS的应用.一方面,以传统的有机基质作为基质设计改性的出发点,研究者们尝试对已有的商业化基质进行改性修饰以及设计高分子量有机基质的策略,进一步提升基质的解吸电离效率,规避低分子量分析物检测的背景信号干扰^[8].由此衍生的反应性基质除了可以作为衍生化试剂来提高目标分析物的电离效率外,还可以直接作为成像基质来辅助目标物离子化^[9].另一方面,以传统基质的激光能量吸收与解吸电离原理为切入点,借助纳米材料光学性能可调、表面位点丰富且易于改性等特点,开发具有高效紫外光吸收与能量传导能力的纳米材料基质,以实现小分子样品的高效富集与解吸电离^[10-16].

本文将系统介绍适配低分子量目标物检测的MALDI MS基质的研究进展,主要包括去质子化基质、改性商业化基质、高分子量有机基质、反应性基质以及纳米材料基质等,并对该领域未来的发展方向和亟待解决的问题进行了探讨.

1 去质子化基质

传统商业化基质DHB, CHCA及SA等是典型的调控目标物质子化反应的基质,通常含有苯甲酸和肉桂酸等结构.这些基质中的羧酸基团既可以增加其在极性溶剂中的溶解性,又能与分析物发生质子转移反应而最终生成质子化的产物.虽然大多数低分子量化合物偏向于在正离子模式下检测,但商业化基质的背景干扰峰限制了其在低分子量化合物检测方面的应用.此外,对于分析含有脂肪酸、羧基代谢物、酚类、脂质及聚糖等酸性官能团的分子,通常需要借助去质子化反应产生[M-H]⁻离子来增强分析物的离子化效率.中等强度的碱是常用的调控分析物去质子化的基质,这类基质通常含有氨基基团,可以从分析物中吸收质子而产生[M-H]⁻信号.9-氨基吡啶(9-AA)是第一个使用的去质子化基质,目前已被用于分析羧酸类、磺酸类以及酚类物质,特别是在内源性寡糖、磷脂以及代谢物分析领域^[17-19].Zenobi等^[20]利用9-AA在负离子模式下成功检测到单个酵母细胞内多组代谢小分子如三磷酸腺苷(ATP)和乙酰辅酶A等.Hopf等^[21]通过将CHCA的羧基转化为酰胺基合成了4-苯基- α -氰基肉桂酸酰胺(ph-CCA-NH₂),提高了负离子模式下脂质分析结果的灵敏度和重现性,同时抑制了基质自身的信号干扰.此外,2-(2-氨基乙胺)-5硝基吡啶和槲皮素等也被用于负离子模式下脂质的检测分析^[22,23].最近,Han等^[24]综合*N*-(1-萘基)乙二胺盐酸盐[*N*-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride, NEDC]和9-AA两种基质来分析小鼠鼠脑中磷脂的分布信息,检测到的磷脂种类显著增加.Costello等^[25]使用氨基碱物质1,5-二氨基萘(1,5-Diaminonaphthalene, DAN)作为小分子检测基质,获取小鼠肝、脑和肾组织中的金属离子、氨基酸、羧酸、核苷酸衍生物及脂质等代谢物的分布情况.此外,DAN盐中的Cl⁻与糖类物质可以形成离子加合物,因此DAN基质可以较容易地实现难电离物质(如糖类等中性分子)的离子化^[26].Li等^[27]利用3-氨基邻苯二甲酰肼(3-Aminophthalhydrazide, 3-APH)作为双极性基质,在正、负

离子模式下通过傅里叶变换离子回旋共振质谱成像技术实现了 159 和 207 种鼠脑代谢物的原位成像, 并将其应用于鼠脑缺血-再灌注损伤中代谢物变化评估. 在此基础上, 该课题组利用苯胍作为基质, 通过分别添加三氟乙酸和氨水, 在正、负离子模式下实现了生物组织中小分子、脂质及蛋白的质谱成像分析^[28]. 此外, 他们还开发了 4-氨基噌啉-3-甲酰胺作为双极性基质以实现阿尔兹海默症转基因老鼠脑和血液中代谢物的监测^[29]. 很多新型的去质子化基质包括 *N*1, *N*4-二亚苄基苯-1, 4-二胺 (*N*1, *N*4-dibenzylidenebenzene-1, 4-diamine, DBDA)、4-二甲氨基苯甲醛 (4-Dimethylaminobenzaldehyde, DMABA) 也被陆续开发并用于分析酸类物质以及核苷酸、氨基酸、短肽等生物分子^[30,31]. 另外一类去质子化基质是“质子海绵”基质, 这种基质具有强碱性, 能够在液相体系吸引质子而产生分析物阴离子和基质阳离子的离子对形式. 该离子对受到激光照射后会吸收能量转移到气相体系电离. 1, 8-双(二甲氨基)萘 [1, 8-Bis(dimethylamino)naphthalene, DMAN] 是第一个质子海绵基质, 该基质通过两个 N 原子来整合质子, 从而使分析物去质子化(图 1). Palmisano 等^[32]利用 DMAN 基质实现了完整细菌细胞膜上多组羧基脂质的同步分析. 很多 DMAN 类似结构的基质如 1, 8-双(四甲基胍)-萘 [1, 8-Bis(tetramethylguanidino)-naphthalene, TMGN] 被用于环境水样中氰酸化物质的分析, 1, 8-二(哌啶基)-萘 [1, 8-Di(piperidinyl)-naphthalene, DPN] 用于代谢组学分析等^[33,34]. 此外, “质子海绵”基质虽然具有强的质子吸收特性, 但是在高真空环境下非常不稳定, 因此在长时间的质谱成像分析应用中具有一定的限制.

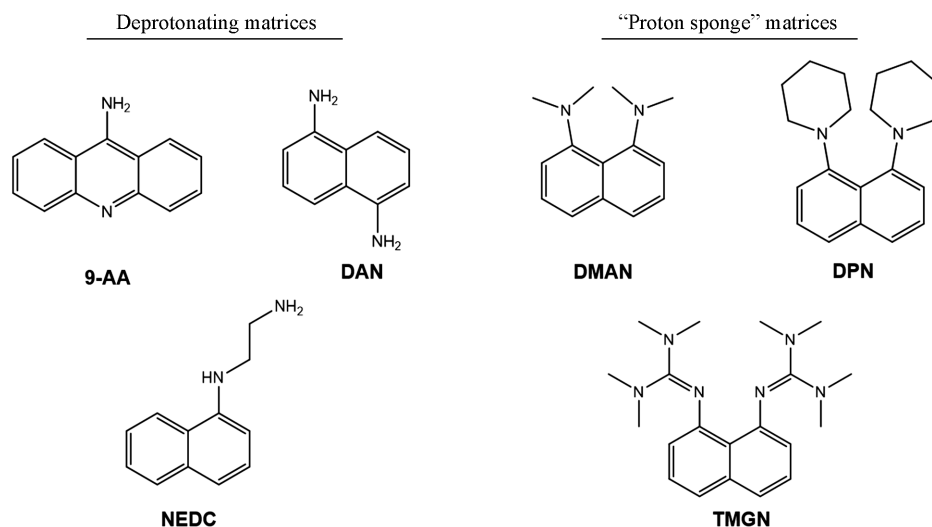


Fig. 1 Molecular structures of some deprotonating matrices

2 改性商业化基质

为了确保基质在低分子量检测范围内具有很好的真空稳定性和较少的背景干扰, 研究者们以常规的商业化基质分子为核心骨架进行功能改造. 主要策略包括设计合成离子液体(ionic liquid, IL)基质和共价偶联高分子聚合物.

2.1 离子液体基质

离子液体是由有机阳离子和有机阴离子或无机阴离子构成的有机盐^[35], 在常温下呈液态. 离子液体基质主要是由有机酸基质如 DHB, CHCA, SA 和有机碱形成的有机盐, 常见的有机碱主要包括三乙胺、正丁胺、*N,N*-二异丙基乙胺和 *N,N*-二甲基苯胺等. 有机碱的种类和含量都会影响离子液体基质的性能, 因此选择最优的有机碱非常关键. 离子液体基质电离效率高, 真空稳定性好, 能够显著减少基质的背景信号, 并且与样品共结晶效果好, 因此高通量测定以及质谱成像领域应用广泛^[36]. Fournier 等^[37]将 DHB 与不同的含氮碱如 3-乙酰基吡啶(3-AP)、苯胺(ANI)及吡啶(Pyrr)合成离子液体, 实现了含磷酸胆碱脂质的鉴定分析. 此外, 由 DHB 与 3-AP 组成的离子液体基质 DHB/3-AP 可以在正、负模式下实现脂质检测(图 2). Kasper 等^[38]使用 *N,N*-二异丙基乙胺作为有机碱与 CHCA 组成离子液体基质, 实

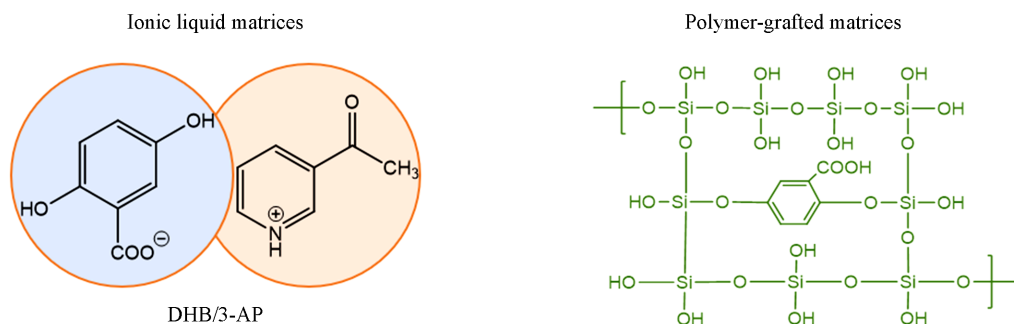


Fig. 2 Modified matrices for small molecules analysis^[7]

Copyright 2021, Wiley-VCH.

现了非法药物如可卡因、麦角酸二乙胺、左旋咪唑和罂粟碱的分析。此外，离子液体基质还被用于分析碳水化合物、寡糖和木质素等^[36,37]。

2.2 共价偶联高分子聚合物

将传统基质与芳香族化合物共价结合可以改变基质的分子量从而避免小分子化合物检测的背景干扰。将环糊精与商业化基质如CHCA、THAP共孵育可以将基质固定在环糊精空腔结构中，从而减少基质干扰信号以及待测物金属加合离子的出现^[39]。将2,4,6-三羟基苯乙酮(2,4,6-Trihydroxyacetophenone, THAP)加入到环糊精中可以实现睾酮和地西洋的检测，同样将DHB与环糊精结合可以实现衍生类固醇如雌酮、睾酮和孕酮的分析鉴定^[40]。除环糊精外，很多研究者将基质分子与聚合物骨架进行结合，这种方法很好地保留了基质的化学结构，而且保证了基质在低的激光强度下不会被解吸。Chen等^[41]将DHB与四羟基硅烷共缩合，通过DHB羟基与硅氧烷骨架偶联形成溶胶-凝胶结构(图2)。DHB的羧基并未参与反应，因此能够在保留基质功能的同时降低DHB基质背景峰干扰，最终将该溶胶-凝胶结构成功应用氨基酸和小肽等生物物质的检测。Rotello等^[42]将CHCA与多巴胺聚合后的产物连接到硅球表面实现了葡萄糖、蔗糖等碳水化合物以及某些氨基酸如精氨酸、苯丙氨酸等的检测分析。

3 高分子量有机基质

为了避免商业化基质在小分子检测时的背景干扰，设计并筛选高分子量有机基质是另外一种可行的方法。卟啉和酞菁都是含氮共轭大环，在400 nm的波长范围内有很强的吸收。对于非金属化衍生物，氮原子上的孤对电子可以被酸性化合物质子化。Ayorinde等^[43]首次使用内消旋-四(五氟苯基)卟啉[*meso*-Tetrakis(pentafluorophenyl)-porphyrin, F20TPP]分析了壬基酚聚氧乙烯酯(m/z 范围为331~771)，由于卟啉基质的分子量为974.57，可以有效避免目标物检测范围内的基质干扰。此外，他们进一步将F20TPP应用于脂肪酸、糖、抗坏血酸和其它低分子量分析物的检测^[44,45]。有研究者发现，在卟啉基质F20TPP中加入锂或钠盐时，小分子的离子化效率进一步提升，从而实现了更好的分辨率^[46]。Ling等^[47]筛选了17种卟啉结构用于分析维生素B1, B2, B6, B12和维生素c。结果表明，羟基或羧基取代基有利于维生素的检测分析。酞菁(Metal-phthalocyanines, MPcs)是另一类高分子量基质，在350~400 nm附近也有较强的吸收。由于MPcs具有金属中心，目标物可以轻易与MPcs形成加合物，从而将分析物的检测区域转移到了更高的分子量范围，目前已经被广泛应用于氨基酸、肽及脂肪酸等物质的分析^[48]。芳香族低聚物通常也在337 nm波长范围内有较强的吸收。根据聚合单元数和取代基的不同，吸收的最大值和电离电位也会有区别。研究者们利用这一点来针对性设计特定的结构。噻吩是一种小型的杂芳香族聚合物，Roeraade等^[49]首先研究了低聚噻吩和低聚苯并二苯醚对小分子化合物的分析性能，它们通过电子转移过程而使分析物获得自由基阳离子信号。Combariza等^[50]设计了低聚苯乙烯(PV)衍生物作为电子转移基质，用于分析低分子量配合物和芳香族化合物。PV衍生物在低激光强度下形成自由基阳离子从而促进分析物的离子化。Lissel等^[51]筛选了5种共轭聚合物分子基质用于鼠脑中不同药物分子的分布成像。这些聚合物分子在正、负离子模式下均表现出良好的解吸离子化效率，通过选择合适的

聚合物侧链长度及种类, 可以调整基质与目标分子的共结晶状态, 从而有利于提升目标物的离子化性能.

4 反应性基质

“反应性基质”一词最早是由 Volmer 等提出的^[9], 他们利用 2,4-二硝基苯肼(2,4-Dinitrophenylhydrazine, DNPH)作为衍生化试剂, 通过与羰基结构的特异性反应提高类固醇物质的离子化效率. 同时, DNPH 也可以作为质谱基质来辅助类固醇物质的解吸电离. 理论上, 反应性基质应同时具备衍生化性能以及基质特性, 既可以实现特定功能小分子的快速衍生化, 又可以作为基质提高分析物电离效率和 MALDI MS 检测灵敏度. 因此, 反应性基质应满足 MALDI MS 基质的特性, 如特定紫外波长吸收峰(如 Nd:YAG 激光: 355 nm)、高的解吸电离效率等, 同时也应该具有反应性官能团, 从而可以与目标分析物发生特征成键反应. 由于基质与目标分析物之间形成化学键, 因此使用反应性基质可以避免基质与分析物之间结晶不均匀的问题, 在分析物高灵敏检测以及定量评估中具有大的应用潜力. 目前, 反应性基质主要用于 MALDI MS 分析含羰基、氨基、羟基的化合物以及脂质异构体中的碳碳双键.

4.1 羰基化合物反应性基质

生物体内含有活性羰基基团的化合物种类繁多, 其中类固醇类化合物如类固醇激素具有调节免疫、抗炎及促进发育等功能, 其含量异常与肾上腺疾病、乳腺癌等疾病密切相关^[52]. 然而, 固醇类激素是一类四环脂肪烃化合物, 由于其丰度和离子化效率低, 直接 MALDI MS 分析非常困难. 基于类固醇分子结构中的活性羰基和羟基基团, 很多研究者们开发了羰基衍生化反应性基质来提高其检测灵敏度. Volmer 等^[9]利用 DNPH 与分析物中的羰基基团发生特异性反应形成腙键来提高分析物的离子化效率, 该反应基质也被陆续用于类固醇激素以及氧化磷脂的分析鉴定^[53]. 此外, 含有酰肼基团的基质也可与羰基化合物发生缩合反应, 且该反应可以在溶液中快速发生, 因此在分析气态的羰基化合物中应用广泛^[54]. Clench 等^[55]利用 4-二甲氨基-6-(4-甲氧基-1-萘基)-1,3,5-三嗪-2-肼作为反应基质, 对哮喘药物丙酸氟替卡松进行衍生化后质谱成像, 最后成功应用于鼠肺组织中该药物的质谱成像分析. Pan 等^[56]在 DHB 基质基础上引入酰肼基团合成了 6 种类似物, 并比较了它们与麦芽六糖的反应效率, 发现 2,5-DHB-NH-NH₂(DHBH)具有更高的衍生化效率, 并将其与传统的 DHB 基质混合用于结肠癌患者血液样本中 N-聚糖的定性与定量分析[图 3(A)]. 除了利用酰肼基团反应基质外, 很多研究者也陆续开发了含有芳香胺基团的试剂来实现羰基化合物的衍生与鉴定^[57-59]. 芳香胺基团可以与羰基反应产生

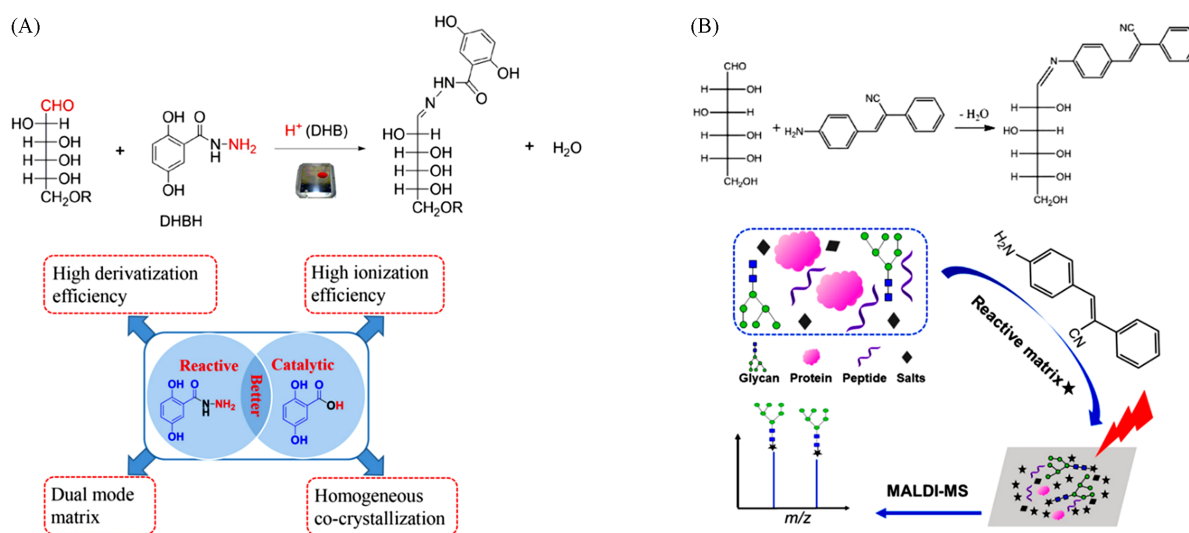


Fig. 3 Combination of DHBH and DHB for profiling of N-glycans(A)^[56] and PAPAN as reactive matrix for analysis of glycans(B)^[57]

(A) Copyright 2019, American Chemical Society; (B) Copyright 2019, American Chemical Society.

席夫碱结构来提高目标物在正离子或负离子模式下的离子化效率。Guo等^[57]利用2-苯基-3-(对氨基苯基)丙烯腈[2-Phenyl-3-(*p*-aminophenyl)acrylonitrile, PAPAN]作为反应性基质,利用其与聚糖末端羰基反应,通过优化反应体系中基质浓度、溶液酸碱值等条件,显著提高了聚糖的离子化效率,最终成功实现了血液中聚糖的分析鉴定[图3(B)].与商业化DHB基质相比,该方法的检测灵敏度提高了近100倍。Bottaro等^[60]利用9-(3,4-二氨基酚)吡啶[9-(3,4-diaminophenol)acridine, DAA]与双羰基化合物如乙基乙二醛、二甲基乙二醛和二苯基乙二醛等生成真空稳定的二羰基喹啉吡啶衍生物来提高正离子模式下的检出灵敏度。

4.2 氨基和羟基化合物反应性基质

生物体内很多功能性分子如神经递质、氨基酸和一些外源性药物分子均含有氨基基团,特别是神经递质。由于某些氨基化合物离子化效率低的原因,合成氨基化合物特定的反应基质对于成像分析其生物体内的分布非常重要。Andr n等^[61]选择吡喃鎓盐作为反应基质,可以与一级胺在室温下快速反应形成吡啶盐从而提高目标物的离子化效率。由于衍生化产物具有吡啶正离子基团,因而可以显著提升神经递质的解吸与离子化效率。他们比较了3种吡喃鎓盐的衍生化效率以及与神经递质多巴胺的共结晶效果,发现2,4-联苯-吡喃鎓盐(2,4-diphenyl-pyrylium, DPP)结晶效果最好,最终将其用于鼠脑中苯丙胺的成像分析。他们^[62]还设计合成了2,4,6-三苯基吡喃鎓盐(Tetrafluoroborate salts of 2,4,6-triphenyl-pyrylium, TPP)以及溴代吡喃鎓盐(Br-TPP)用于鼠脑中伯胺类神经递质分子的成像分析。最近,他们合成了多组氟化甲基吡啶同系物(FMP)用于含有酚羟基或伯胺、仲胺基的神经递质的原位衍生化与质谱成像分析。氟化吡啶基团可以实现与仲胺、伯胺以及酚羟基基团的高效反应效率,同时蒽环结构有利于该基质在紫外波长(355 nm)的高效吸收来提高分析物的离子化效率。最终他们利用该反应性基质实现了鼠脑中多巴胺和5-羟色胺的代谢通路鉴定以及其它代谢物的同步成像分析,并成功绘制了帕金森鼠脑中的代谢网络^[63]。Jiang等^[64]设计合成了2,4,6-三甲基-吡喃-四氟硼酸盐(FMP-TFB)用于鼠脑中多巴胺的原位成像分析。此外,一些含有芳香基团的醛类化合物如4-羟基-3-甲氧基肉桂醛(4-Hydroxy-3-methoxycinnamaldehyde, CA)、2,4-二羟基苯甲醛(2,4-Dihydroxybenzaldehyde, DHBA)和2,5-二羟基苯乙酮(2,5-Dihydroxyacetophenone, DHAP)等均可以作为反应基质来实现胺类化合物的分析鉴定^[65, 66]。在羟基化合物的分析中,硼酸基团是常用的衍生化基团,4-(*N*-甲基)硼酸吡啶常被用来特异性分析儿茶酚胺类物质。硼酸基团可以与1,2-和1,3-二醇形成稳定的环硼化酯结构,同时吡啶基团可以进一步提高衍生物的电离效率。利用该反应基质,Kaya等^[67]成功获取了猪肾上腺组织中儿茶酚胺的空间分布信息并实现了氨基醇、邻二醇、糖类以及聚糖的成像分析(图4)。

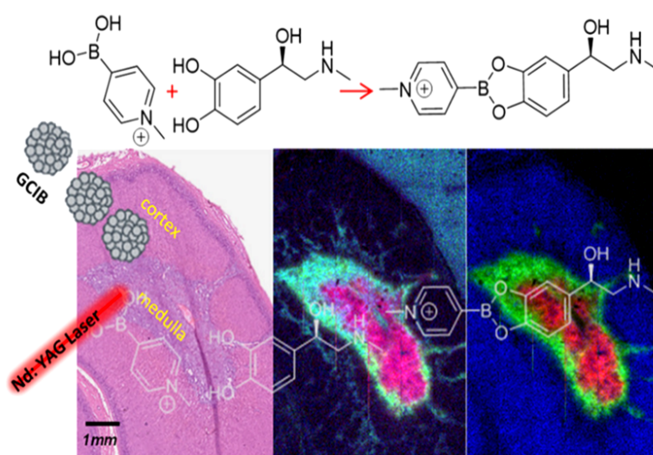


Fig. 4 4-(*N*-Methyl) pyridinium boronic acid as the reactive matrix for mass spectrometry imaging of epinephrine^[67]

Copyright 2018, American Chemical Society.

4.3 脂质异构体中碳碳双键反应性基质

脂质作为细胞膜的重要组成部分,参与着生物体内许多的信号传递过程.生物体中大部分脂质都是不饱和脂质,碳碳双键位置以及顺反异构体解析对于筛选和发现疾病标志物异常重要.虽然MALDI MS成像技术可以获得多种脂质分子的分布信息差异,但用于不饱和脂质异构体成像分析鉴定的基质仍相对缺乏.Heiles等^[68]利用Paternò-Büchi(PB)反应实现脂质异构体的原位衍生化.PB反应是[2+2]环加成反应,在激光诱导下可以生成氧杂环丁烷衍生物.他们利用二苯甲酮(BPh)作为脂质异构体成像的反应基质,MALDI质谱仪中的激光源充当PB反应激光,实现了对小鼠脑组织以及曼氏吸虫外皮磷脂中碳碳双键的MALDI串联质谱成像分析(图5).在此基础上,他们进一步设计合成了2-苯甲酰吡啶(2-benzoylpyridine, BzPy)来提升衍生物的离子化效率,最终实现了小鼠肾脏和胰脏中12类不饱和脂质的可视化分析^[69].

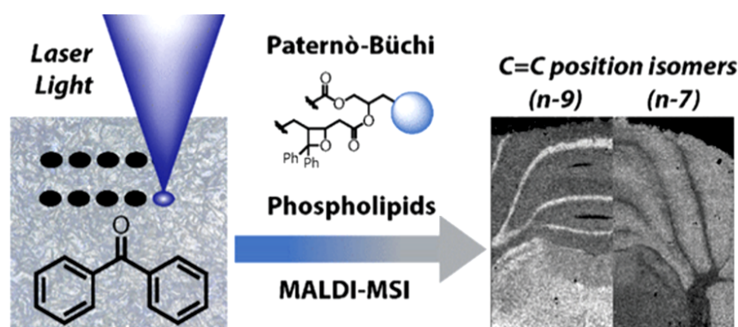


Fig. 5 Benzophenone as the reactive matrix for the double-bond localization in isomeric phospholipids^[68]

Copyright 2019, American Chemical Society.

5 纳米材料基质

纳米材料具有高的紫外吸收性、大的比表面积以及表面可进行可控修饰等性质,有利于样品的高效富集和样品分子的快速升温气化,因此在大分子蛋白富集以及生物小分子成像分析领域受到广泛关注.目前所用的纳米材料基质主要包括硅基材料、金属、金属氧化物、金属有机骨架(MOF)材料和碳基材料等.硅基材料是一种常用的激光解析电离质谱(LDI MS)基质,其高紫外吸收和优异的电学性质有助于样品的高效解吸电离.硅基材料主要包括固定相基底和纳米结构材料两类.SiO₂纳米球采用溶胶-凝胶法制备,操作简单且易于表面功能化,因此常被用作LDI MS分析的纳米基底材料.Qian等^[70]制备了SiO₂@Ag纳米颗粒,银壳辅助目标分子电离,而二氧化硅核作为热载体,最终实现了葡萄糖的高灵敏检测.此外,其它复合材料包括G@SiO₂纳米复合材料和ZrO₂-SiO₂纳米棒也被用于小分子分析^[71,72].在纳米阵列构建方面,目前主要包括多孔硅、硅纳米线(Silicon nanowires, SiNWs)和硅纳米柱阵列(Silicon nanopost array, NAPA)^[11,73-75].Wu等^[76]构建了SiNWs垂直排布的LDI MS基底,通过增强尖端的电场来促进尖端吸附的分析物的离子化效率,该方法可用于分析皮肤和组织的代谢物分布情况.金属或金属氧化物材料具有良好的光学性能和表面易于修饰等优点,是应用最广泛的LDI MS基质材料.Siuzdak等^[77]用氟化碳链修饰的AuNPs作为基质,对不同饮食结构下小鼠结肠组织中的代谢物组成,包括葡萄糖、脂质、氨基酸等进行了成像.由于氟化碳链从AuNPs释放所需的能量很低,因此所需激光强度也较低,有利于得到代谢物完整的分析物信号.同时,AuNPs表面氟化碳的疏水性降低了基质喷涂过程中可能发生的代谢物溶解和空间移位现象[图6(A)].与金属材料相比,金属氧化物具有高熔、沸点,不易被电离,大大降低了在低分子量区的背景干扰.Sweedler等^[78]采用多巴胺修饰的TiO₂作为基质,提高了TiO₂的紫外吸收性和表面pH值,突破了TiO₂在检测磷脂分子方面的限制,对脂肪酸、胆固醇等路易斯碱表现出良好的选择性和灵敏度,最终成功鉴定了鼠脑组织中103种小分子,进一步通过基板上预先吸附的神经酰胺标准物质实现了大鼠脑组织神经酰胺的定量分析.Li等^[79,80]先后

设计合成了金纳米粒子-TiO₂复合基质 AuNPs-FPTDF 和 AuNPs/SH-β-CD-TiO₂等, 在正负离子模式下成功检测到碳水化合物、脂肪酸等多种生物分子, 并将其应用于植物中小分子代谢物的原位成像分析. 金属有机骨架具有比表面积高、孔隙均匀、易于功能化等特点, 被广泛应用于小分子分析领域^[81-83]. Cai等^[84]设计合成了3种沸石咪唑骨架架构(ZIF-7, ZIF-8和ZIF-90)用于环境污染物如双酚类物质的检测. 其中ZIF-8具有最大的比表面积、最高的离子化效率以及最低的背景信号, 有利于提升激光的吸附效率. Gu等^[85]设计合成了二维Zn(bim)₄纳米片并用于分析氨基酸、碱基、神经递质及激素等小分子物质, 该MOF基质具有背景干扰小、耐盐性好及解吸离子化效率高优点. 碳基材料如碳纳米管、碳量子点和石墨烯等因具有连续的π共轭体系而表现出很强的紫外吸收性和优异的电荷及能量传导能力. Jiang等^[86,87]设计合成了一系列功能化石墨烯材料来辅助小分子解吸电离. 他们在氧化石墨烯表面修饰抗体来提高对特定分析物的选择性, 同时材料表面丰富的含氧基团确保了材料良好的分散性和结果的可重复性. 他们进一步合成了氟化石墨烯材料, 该材料可以促进分析物形成氢键而加速电离过程^[87]. 此外, 氟化石墨烯具有更好的热力学稳定性, 可保证LDI过程中更少的离子碎片和背景干扰. 本课题组^[88]设计合成了氮掺杂石墨烯材料, 其大的π共轭体系以及吡啶氮掺杂使其可以作为质子捕获剂实现目标分子的去质子化, 最终成功应用于氨基酸、脂肪酸、多肽、类固醇和抗癌药物等低分子量分析物的检测[图6(B)]. 最近, 我们又采取自上而下的方法设计合成了杂原子掺杂的石墨烯量子点(HGQDs), 该量子点同样具有π共轭结构来保证能量传递, 同时杂原子如N原子和B原子的掺杂可提升负离子模式下的检测灵敏度^[89]. 与其它量子点相比, NGQDs在氨基酸、脂肪酸、糖类、小肽、核碱基、抗癌药物和双酚类污染物等小分子的检测中表现出更强的LDI效率. HGQDs辅助MS方法进一步实现了短肽为底物的酶动力学研究. 此外, 由于具有较高的耐盐性和信号再现性, 我们最终获取了大鼠脑组织中低分子量物质的丰度和分布信息, 并实现了创伤性脑损伤大鼠脑冠状切片的低分子量脂质成像[图6(C)].

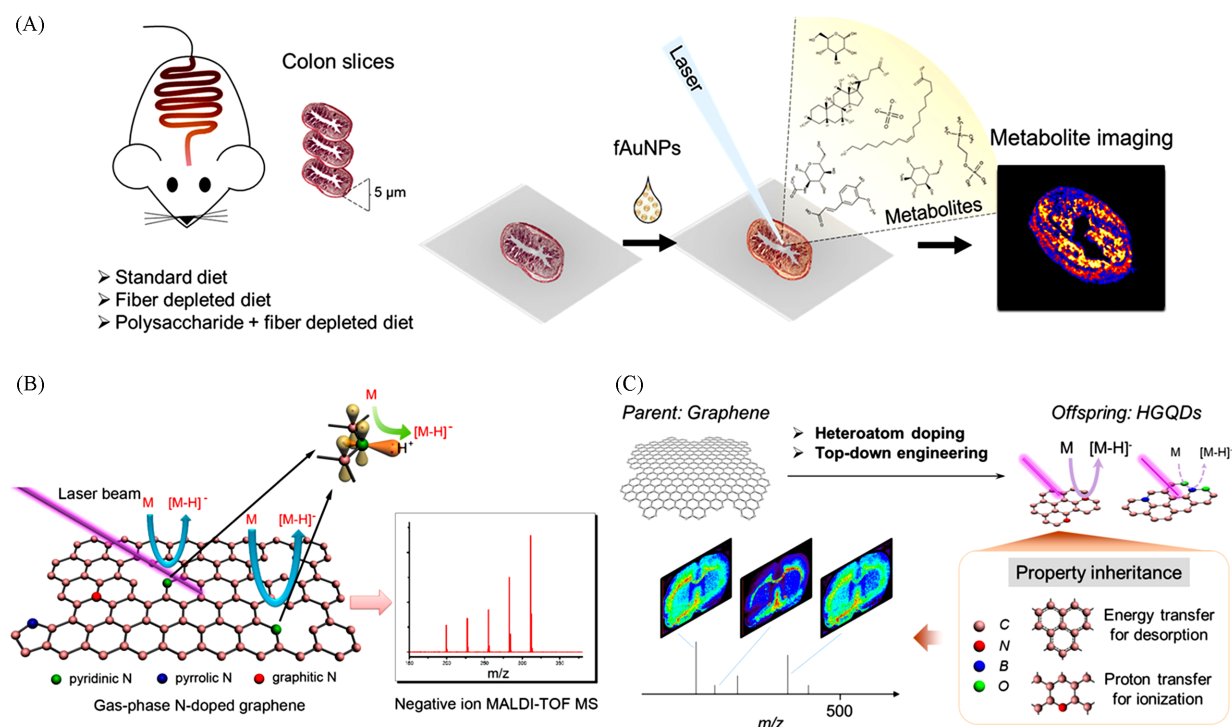


Fig. 6 AuNPs-facilitated LDI MS imaging of metabolites(A)^[77], N-doped graphene-based LDI MS detection of small molecules(B)^[88] and HGQDs for LDI MS detection and imaging of small biomolecules(C)^[89]

(A) Copyright 2018, American Chemical Society; (B) Copyright 2014, American Chemical Society;

(C) Copyright 2022, American Chemical Society.

6 总结与展望

近年来, MALDI MS 技术凭借其高的检测灵敏度、宽的分子量监测范围以及良好的耐盐度等已经受到越来越多的关注. 特别是 MALDI MS 成像技术, 无需标记便可以同步获取多个目标化合物的相对含量分布信息, 被广泛应用于代谢组学、蛋白组学和脂质组学等多个领域. 由于传统的商业化基质电离产生的碎片信号会对小分子检测造成干扰, 与样品结晶的不均匀性也影响到成像的空间分辨率和信号重现性, 研究者们开发了多种适配于小分子化合物鉴定分析的 MALDI MS 基质. 本文系统阐述了这些 MALDI MS 基质的研究进展, 包括去质子化基质、改性商业化基质、高分子量有机基质、反应性基质以及纳米材料基质的设计、开发与应用. 尽管新型基质的开发有效克服了传统有机基质在小分子 MALDI MS 分析中存在的解吸电离效率不高、背景信号干扰较大等技术问题, 但仍有以下问题未得到解决: (1) 去质子化基质虽然降低了负离子检测模式下的背景干扰, 但是这些基质大部分只适用于酸性化合物的检测, 而无法满足其它类型小分子的检测; (2) 离子液体基质具有基质与溶剂的双重功能, 可以显著提高分析物检测的灵敏度与重现性, 但是其基质阴离子与有机碱阳离子之间的作用机理及其对待测物解吸电离能力的贡献仍有待进一步研究; (3) 应用于 MALDI MS 成像的反应性基质须具备温和条件下的高效衍生反应能力, 这也对基质结构中的反应性基质基团设计提出了更高的要求; (4) 纳米材料作为 MALDI MS 基质可以提高样品的解吸电离效率, 但对于其如何促进目标物解吸电离的内在能量传导与电荷转移机制仍需进一步探讨. 为了推进 MALDI MS 技术在小分子检测中的应用, 组合多种基质可能有利于提高生物分子检出的范围与检测的灵敏度. 此外, 深入研究基质与小分子之间的结构特征与作用机理, 通过目标分子与基质之间的特异性作用来发展匹配特定目标物分析的 MALDI MS 基质可以提高低丰度信号分子的检测灵敏度, 为疾病标志物筛选以及信号通路研究提供新的技术手段.

参 考 文 献

- [1] Karas M., Hillenkamp F., *Anal. Chem.*, **1988**, 60(20), 2299—2301
- [2] Krüger R., Pfenninger A., Fournier I., Glückmann M., Karas M., *Anal. Chem.*, **2001**, 73(24), 5812—5821
- [3] Chui H. X., Chan M., Hernandez D., Chong P., McCorrister S., Robinson A., Walker M., Peterson L., Ratnam S., Haldane D., Bekal S., Wylie J., Chui L., Westmacott G., Xu B. L., Drebot M., Nadon C., Knox J. D., Wang G., Cheng K., *J. Clin. Microbiol.*, **2015**, 53(8), 2480—2485
- [4] Xu H. M., Liu M., Huang X. D., Min Q. H., Zhu J. J., *Anal. Chem.*, **2018**, 90(16), 9859—9867
- [5] Bergman N., Shevchenko D., Bergquist J., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2014**, 406(1), 49—61
- [6] Kiss A., Hopfgartner G., *Methods*, **2016**, 104, 142—153
- [7] Qiao Z., Lissel F., *Chem.-Asian J.*, **2021**, 16(8), 868—878
- [8] Soltzberg L. J., Patel P., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2004**, 18(13), 1455—1458
- [9] Brombacher S., Owen S. J., Volmer D. A., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2003**, 376(6), 773—779
- [10] Leopold J., Popkova Y., Engel K. M., Schiller J., *Biomolecules*, **2018**, 8(4), 173
- [11] Sunner J., Dratz E., Chen Y. C., *Anal. Chem.*, **1995**, 67(23), 4335—4342
- [12] Xu H. M., Zhang Z. Z., Wang Y. H., Lu W. F., Min Q. H., *Analyst*, **2021**, 146(19), 5779—5799
- [13] Wei J., Buriak J. M., Siuzdak G., *Nature*, **1999**, 399(6733), 243—246
- [14] Cheng Y. H., Zhang Y., Chau S. L., Lai S. K. M., Tang H. W., Ng K. M., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2016**, 8(43), 29668—29675
- [15] Sikora K. N., Hardie J. M., Castellanos-García L. J., Liu Y., Reinhardt B. M., Farkas M. E., Rotello V. M., Vachet R. W., *Anal. Chem.*, **2020**, 92(2), 2011—2018
- [16] 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. Mater.*, **2021**, 31(52), 2106743
- [17] Vermillion-Salsbury R. L., Hercules D. M., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2002**, 16(16), 1575—1581
- [18] Teearu A., Vahur S., Rodima T., Herodes K., Bonrath W., Netscher T., Tshepelevitsh S., Trummal A., Lõkov M., Leito I., *J. Mass Spectrom.*, **2017**, 52(9), 603—617
- [19] Shroff R., Muck A., Svatoš A., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2007**, 21(20), 3295—3300
- [20] Amantonico A., Oh J. Y., Sobek J., Heinemann M., Zenobi R., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, 47(29), 5382—5385
- [21] Fülöp A., Porada M. B., Marsching C., Blott H., Meyer B., Tambe S., Sandhoff R., Junker H. D., Hopf C., *Anal. Chem.*, **2013**, 85(19), 9156—9163

- [22] Lorkiewicz P., Yappert M. C., *J. Mass Spectrom.*, **2009**, 44(1), 137—143
- [23] Wang X. D., Han J., Pan J. X., Borchers C. H., *Anal. Chem.*, **2014**, 86(1), 638—646
- [24] Wang J. N., Wang C. Y., Han X. L., *Anal. Chim. Acta*, **2018**, 1000, 155—162
- [25] Juhasz P., Costello C. E., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **1992**, 3(8), 785—796
- [26] Liu H. H., Chen R., Wang J. Y., Chen S. M., Xiong C. Q., Wang J. N., Hou J., He Q., Zhang N., Nie Z. X., Mao L. Q., *Anal. Chem.*, **2014**, 86(20), 10114—10121
- [27] Li B., Sun R. Y., Gordon A., Ge J. Y., Zhang Y., Li P., Yang H., *Anal. Chem.*, **2019**, 91(13), 8221—8228
- [28] Tang W. W., Gordon A., Wang F., Chen Y. W., Li B., *Anal. Chem.*, **2021**, 93(26), 9083—9093
- [29] Chen Y. W., Hu D. J., Zhao L. S., Tang W. W., Li B., *Anal. Chim. Acta*, **2022**, 1192, 339337
- [30] Ling L., Li Y., Wang S., Guo L. M., Xiao C. S., Chen X. S., Guo X. H., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2018**, 29(4), 704—710
- [31] Krivosheina M. S., Borisov R. S., Zhilyaev D. I., Matveeva M. D., Zaikin V. G., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2021**, 35(1), e8954
- [32] Calvano C. D., Zamboni C. G., Palmisano F., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2011**, 25(12), 1757—1764
- [33] Cao D., Wang Z. D., Han C. G., Cui L., Hu M., Wu J. J., Liu Y. X., Cai Y. Q., Wang H. L., Kang Y. H., *Talanta*, **2011**, 85(1), A345—352
- [34] Weißflog J., Svatoš A., *RSC Adv.*, **2016**, 6(79), 75073—75081
- [35] Abdelhamid H. N., *TrAC*, **2016**, 77, 122—138
- [36] Li Y. L., Gross M. L., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2004**, 15(12), 1833—1837
- [37] Meriaux C., Franck J., Wisztorski M., Salzet M., Fournier I., *J. Proteomics*, **2010**, 73, 1204—1218
- [38] Ostermann K. M., Luf A., Lutsch N. M., Dieplinger R., Mechtler T. P., Metz T. F., Schmid R., Kasper D. C., *Clin. Chim. Acta*, **2014**, 433, 254—258
- [39] Porta T., Grivet C., Knochenmuss R., Varesio E., Hopfgartner G., *J. Mass Spectrom.*, **2011**, 46(2), 144—152
- [40] Yonezawa T., Asano T., Fujino T., Nishihara H., *Chem. Phys.*, **2013**, 419, 17—22
- [41] Lin Y. S., Chen Y. C., *Anal. Chem.*, **2002**, 74(22), 5793—5798
- [42] Kim Y. K., Landis R., Vachet R. W., Rotello V. M., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2018**, 10(42), 36361—36368
- [43] Ayorinde F. O., Hambright P., Porter T. N., Keith Q. L., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **1999**, 13(24), 2474—2479
- [44] Ayorinde F. O., Garvin K., Saeed K., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2000**, 14(7), 608—615
- [45] Ayorinde F. O., Bezaheh D. Z., Delves I. G., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2003**, 17(15), 1735—1742
- [46] van Kampen J. J. A., Luider T. M., Ruttink P. J. A., Burgers P. C., *J. Mass Spectrom.*, **2009**, 44(11), 1556—1564
- [47] Chen Y. T., Ling Y. C., *J. Mass Spectrom.*, **2002**, 37(7), 716—730
- [48] Zhang S., Liu J. A., Chen Y., Xiong S. X., Wang G. H., Chen J., Yang G. Q., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2010**, 21(1), 154—160
- [49] Woldegiorgis A., Kieseritzky F. V., Dahlstedt E., Hellberg J., Brinck T., Roeraade J., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2004**, 18(8), 841—852
- [50] Castellanos-García L. J., Agudelo B. C., Rosales H. F., Cely M., Ochoa-Puentes C., Blanco-Tirado C., Sierra C. A., Combariza M. Y., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2017**, 2(12), 2548—2560
- [51] Horatz K., Giampà M., Karpov Y., Sahre K., Bednarz H., Kiriy A., Voit B., Niehaus K., Hadjichristidis N., Michels D. L., Lissel F., *J. Am. Chem. Soc.*, **2018**, 140(36), 11416—11423
- [52] Cobice D. F., Livingstone D. E. W., Mackay C. L., Goodwin R. J. A., Smith L. B., Walker B. R., Andrew R., *Anal. Chem.*, **2016**, 88(21), 10362—10367
- [53] Teuber K., Fedorova M., Hoffmann R., Schiller J., *Anal. Lett.*, **2012**, 45(9), 968—976
- [54] Shigeri Y., Yasuda A., Sakai M., Ikeda S., Arakawa R., Sato H., Kinumi T., *Eur. J. Mass Spectrom.*, **2015**, 21(2), 79—90
- [55] Flinders B., Morrell J., Marshall P. S., Ranshaw L. E., Clench M. R., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2015**, 407(8), 2085—2094
- [56] Zhao X. Y., Guo C., Huang Y., Huang L. L., Ma G., Liu Y. Q., He Q., Wang H. W., Chen K. S., Pan Y. J., *Anal. Chem.*, **2019**, 91(14), 9251—9258
- [57] Ling L., Xiao C. S., Ma Y., Jiang L. Y., Wang S., Guo L. M., Jiang S. M., Guo X. H., *Anal. Chem.*, **2019**, 91(14), 8801—8807
- [58] Ling L., Jiang L. Y., Chen Q. R., Zhao B., Li Y. Y., Guo X. H., *Food Chem.*, **2021**, 340, 128208
- [59] Rohmer M., Meyer B., Mank M., Stahl B., Bahr U., Karas M., *Anal. Chem.*, **2010**, 8(9), 3719—3726
- [60] Mugo S. M., Bottaro C. S., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2008**, 22(8), 1087—1093
- [61] Shariatgorji M., Nilsson A., Källback P., Karlsson O., Zhang X., Svenningsson P., Andrén P. E., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2015**, 26(6), 934—939
- [62] Shariatgorji R., Nilsson A., Strittmatter N., Vallianatou T., Zhang X., Svenningsson P., Goodwin R. J. A., Andrén P. E., *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2020**, 31(12), 2553—2557
- [63] Shariatgorji M., Nilsson A., Fridjonsdottir E., Vallianatou T., Källback P., Katan L., Sävmarker J., Mantas I., Zhang X. Q., Bezaud E., Svenningsson P., Odell L. R., Andrén P. E., *Nat. Methods*, **2019**, 16(10), 1021—1028
- [64] Wang Y., Tong Q., Ma S. R., Zhao Z. X., Pan L. B., Cong L., Han P., Peng R., Yu H., Lin Y., Gao T. L., Shou J. W., Li X. Y., Zhang X. F., Zhang Z. W., Fu J., Wen B. Y., Yu J. B., Cao X. T., Jiang J. D., *Signal Transduction Targeted Ther.*, **2021**, 6(1), 77

- [65] Manier M. L., Spraggins J. M., Reyzer M. L., Norris J. L., Caprioli R. M., *J. Mass Spectrom.*, **2014**, 49(8), 665—673
- [66] Zaikin V. G., Borisov R. S., Polovkov N. Y., Slyundina M. S., *Eur. J. Mass Spectrom.*, **2015**, 21(3), 403—411
- [67] Kaya I., Brülls S. M., Dunevall J., Jennische E., Lange S., Mårtensson J., Ewing A. G., Malmberg P., Fletcher J. S., *Anal. Chem.*, **2018**, 90(22), 13580—13590
- [68] Wäldchen F., Spengler B., Heiles S., *J. Am. Chem. Soc.*, **2019**, 141(30), 11816—11820
- [69] Wäldchen F., Mohr F., Wagner A. H., Heiles S., *Anal. Chem.*, **2020**, 92(20), 14130—14138
- [70] 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(1), 220
- [71] Nasser Abdelhamid H., Wu B. S., Wu H. F., *Talanta*, **2014**, 126, 27—37
- [72] Kailasa S. K., Wu H. F., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2010**, 396(3), 1115—1125
- [73] Walker B. N., Razunguzwa T., Powell M., Knochenmuss R., Vertes A., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2009**, 48(9), 1669—1672
- [74] Walker B. N., Antonakos C., Retterer S. T., Vertes A., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, 52(13), 3650—3653
- [75] Korte A. R., Stopka S. A., Morris N., Razunguzwa T., Vertes A., *Anal. Chem.*, **2016**, 88(18), 8989—8996
- [76] Chen X. M., Wang T., Lin L. M., Wo F. J., Liu Y. Q., Liang X., Ye H., Wu J. M., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2018**, 10(17), 14389—14398
- [77] Palermo A., Forsberg E. M., Warth B., Aisporna A. E., Billing, E., Kuang E., Benton H. P., Berry D., Siuzdak G., *ACS Nano*, **2018**, 12(7), 6938—6948
- [78] Wu Q., Chu J. L., Rubakhin S. S., Gillette M. U., Sweedler J. V., *Chem. Sci.*, **2017**, 8(5), 3926—3938
- [79] Wang X. N., Li B., *Anal. Chem.*, **2022**, 94(2), 952—959
- [80] Wang X. N., Tang W., Gordon A., Wang H. Y., Xu L., Li P., Li B., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2020**, 12(38), 42567—42575
- [81] Shih Y. H., Chien C. H., Singco B., Hsu C. L., Lin C. H., Huang H. Y., *Chem. Commun.*, **2013**, 49(43), 4929—4931
- [82] Chen L. F., Ou J. J., Wang H. W., Liu Z. S., Ye M. L., Zou H. F., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2016**, 8(31), 20292—20300
- [83] Shih Y. H., Fu C. P., Liu W. L., Lin C. H., Huang H. Y., Ma S. Q., *Small*, **2016**, 12(15), 2057—2066
- [84] Yang X. Q., Lin Z., Yan X. P., Cai Z. W., *RSC Adv.*, **2016**, 6(28), 23790—23793
- [85] Liu H. L., Chang Y. J., Fan T., Gu Z. Y., *Chem. Commun.*, **2016**, 52(88), 12984—12987
- [86] Wang J., Cheng M. T., Zhang Z., Guo L. Q., Liu Q., Jiang G. B., *Chem. Commun.*, **2015**, 51(22), 4619—4622
- [87] Huang X., Liu Q., Huang X. Y., Nie Z., Ruan T., Du Y. G., Jiang G. B., *Anal. Chem.*, **2017**, 89(2), 1307—1314
- [88] Min Q. H., Zhang X. X., Chen X. Q., Li S. Y., Zhu J. J., *Anal. Chem.*, **2014**, 8(18), 9122—9130
- [89] Jin Z. H., Liu, M., Huang X. D., Zhang X. M., Qu Z. X., Zhu J. J., Min Q. H., *Anal. Chem.*, **2022**, 94(21), 7609—7618

(Ed.: W, K, M)