

引用格式: 雷婷玥, 李万万. 质谱流式技术用功能微纳米材料研究进展[J]. 中国材料进展, 2025, 44(7): 648-655.

LEI T Y, LI W W. A Review on Functional Micro/Nano-Materials for Mass Cytometry[J]. Materials China, 2025, 44(7): 648-655.

质谱流式技术用功能微纳米材料研究进展

雷婷玥, 李万万

(上海交通大学材料科学与工程学院, 上海 200240)

摘要: 质谱流式技术(mass cytometry, MC)是一种新兴的生物分析技术,该技术通过质谱流式细胞仪(CyTOF)中电感耦合等离子体飞行时间质谱(ICP-TOF-MS)分析仪进行检测,其中作为质量标签的功能微纳米材料可同时标记、测量多达 50 种生物标志物,因此该技术能够在单细胞水平识别、量化细胞系统的各种参数。随着新材料技术的发展,通过 CyTOF 获得的信息范围不断增加,而其中典型的功能微纳米材料主要包括金属螯合聚合物(metal chelating polymers, MCP)、金属纳米颗粒(metal nanoparticles, MNP)和聚合物微球等。介绍、总结了这几种功能微纳米材料作为质量标签试剂的主要性能、特点和研究现状,并对其未来的发展方向做了简单评述,以助力质谱流式技术的发展。

关键词: 质谱流式技术; 质谱流式细胞仪; 质量标签试剂; 功能微纳米材料

中图分类号: TB383; 0657 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-3962(2025)07-0648-08

A Review on Functional Micro/Nano-Materials for Mass Cytometry

LEI Tingyue, LI Wanwan

(School of Materials Science and Engineering, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: Mass cytometry (MC) is an emerging biological analysis technique which detected by inductively coupled plasma time of flight mass spectrometry (ICP-TOF-MS). Functional micro/nano-material as mass tag makes simultaneous labeling and measurement for up to 50 biomarkers a reality. Therefore, this technology can recognize and quantify different biomarkers at single cell level. With the development of new materials serving as mass tag, the range of information obtained through CyTOF continues to increase. Typical functional micro/nano-materials include metal chelating polymers (MCP), metal nanoparticles (MNP) and polymer microspheres. This article introduces and summarizes the main characteristics and applications of these materials as mass tag reagents, and provides a brief review of their future development to assist the progress of mass cytometry.

Key words: mass cytometry; cytometer time of flight; mass tag reagent; functional micro/nano-materials

1 前言

随着多路复用单细胞分析方法的快速发展,人们对测量复杂基质中低丰度生物分子越来越感兴趣^[1]。特征蛋白、DNA/RNA、小分子等,通常被称为“生物标志物”^[2-4],可用于描述细胞状态。在基因组学与蛋白组学的许多研究中,为了解不同蛋白质、基因、小分子等之

间的相互作用,多路复用检测是十分必要的^[5]。基于荧光标记的流式技术可以同时检测十几种待测物,但荧光标记信号间的光谱重叠在一定程度上限制了其多路复用的能力^[6]。

质谱流式技术(mass cytometry, MC)是一种近年来快速发展的单细胞分析技术,它可以克服上述由荧光分子光谱重叠带来的限制。这种分析方法将流式细胞术与质谱分析相结合,用重金属同位素标记的抗体(Ab)对细胞进行染色,通过电感耦合等离子体飞行时间质谱(inductively coupled plasma time of flight mass spectrometry, ICP-TOF-MS)仪进行进一步分析。

2001年清华大学张新荣团队首次将 ICP-MS 技术与抗原抗体免疫反应相结合,基于 Eu³⁺离子信号进行了人

收稿日期: 2023-10-23 修回日期: 2023-11-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81971704, 82372089)

第一作者: 雷婷玥,女,1998年生,硕士研究生

通讯作者: 李万万,男,1976年生,研究员,博士生导师,

Email: wwli@sjtu.edu.cn

DOI: 10.7502/j.issn.1674-3962.202310015

血清中促甲状腺激素的标定, 提出了一种新的免疫测定方法, 形成了质谱流式技术的新概念^[7,8]。2009 年多伦多大学 Tanner 团队^[5] 提出质谱流式细胞仪 (CyTOF), CyTOF 是基于非光学的物理检测原理和不同检测标签的化学性质, 利用飞行时间质谱的高分辨率、灵敏、快速分析的特点进行分析^[9-11], 其检测原理如图 1 所示^[12]。质量标签试剂是指质谱流式细胞术中所使用的功能微纳米材料, 可以偶联生物标志物与特定细胞靶向结合, 开

发这样的材料十分关键。许多元素如镧系元素等, 已被用于 CyTOF。理论上 CyTOF 可以同时测定上百种生物标志物, 为了充分发挥这一特质, 研究开发用于多参数测定的功能材料来构建质量标签试剂对多路复用检测至关重要。本文拟介绍、总结 3 种典型功能微纳米材料作为质量标签试剂的主要性能特点和研究现状, 并对其未来的发展方向做简单评述, 以助力质谱流式技术的发展。

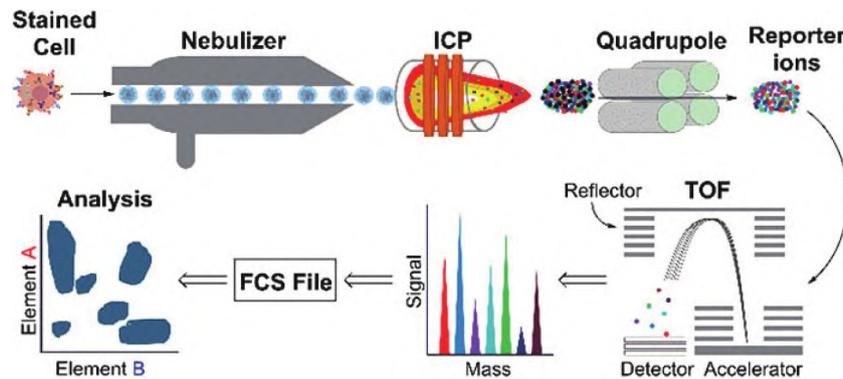


图 1 质谱流式细胞仪的工作原理^[12]: 细胞与偶联抗体的质量标签材料共同孵育, 在雾化器中形成液滴后经电感耦合等离子体 (ICP) 形成离子云; 低质荷比的离子被四极杆过滤, 重同位素离子则通过飞行时间质谱仪进行检测

Fig. 1 The principle of CyTOF^[12]: cells with target antigens stained with Ab-mass tag conjugates, then the labeled cells are introduced to the inductively coupled plasma (ICP) where they are atomized and ionized in the form of ion cloud; through the quadrupole, low m/z ions are filtered and reporter ions are detected by time-of-flight detector

2 典型的质谱流式细胞技术用微纳米材料

2.1 金属螯合聚合物

金属螯合聚合物 (metal chelating polymers, MCP) 是一种含有多个金属元素同位素的聚合物, 其中金属共轭一般是通过配位螯合配体实现。具有代表性的配体有 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸 (DOTA) 和二亚乙基三胺五乙酸 (DTPA)^[13,14]。DOTA 和 DTPA 可以通过线性丙烯酸聚合物提供的氮原子和羧基与三价阳离子形成稳定的络合物, 即螯合镧系金属元素^[15,16]。它们具有较好的热力学稳定性, 可避免一些金属离子泄漏^[17,18]。对于一些细胞标记物, MCP 可通过偶联其特异性表达的抗体 (Ab-MCP) 进行定量。对于 MCP, 每个聚合物含有 20~50 个金属原子; 对于 Ab-MCP, 每个抗体可携带 100~250 个金属原子, 这样的金属含量可以检测并量化高丰度生物标志物。这两种配体合成的 MCP, 在大部分实验过程中, 金属解离均可忽略不计, 这表明同时使用两种或多种含有不同的 Ln^{3+} 同位素 Ab-MCP 缀合物, 不会产生显著的同位素信号干扰^[19]。

目前, 含有 Ln^{3+} 的 Ab-MCP 缀合物在悬浮质谱流式 (suspension mass cytometry, SMC) 和成像质谱流式 (imaging mass cytometry, IMC) 技术中成功应用并商业化

(Maxpar MCPs, Fluidigm)。2007 年, Lou 等^[20] 报道了一种具有 DOTA 侧基、末端马来酰亚胺可用来偶联抗体的聚丙烯酰胺共聚物, 该共聚物成为后续 MCP 质量标签的材料模板。该 MCP 总平均聚合度为 52 ($\text{DP}_n = 52$), 每个聚合物链含有 33 个 DOTA 基团螯合金属。聚合物通过硫醇-马来酰亚胺反应将这些 MCP 偶联到一系列抗体上, 具体过程如下: ① 通过可逆加成-断裂链转移聚合, 合成具有 N-N 二甲基丙烯酰胺和 N-羟基琥珀酰亚胺的无规共聚物; ② 选择 DOTA 作为金属螯合剂, 得到马来酰亚胺官能化的聚合物-配体偶联物; ③ 抗体的部分还原会产生游离半胱氨酸残基, 与上述含 DOTA 的聚合物共同孵育; ④ 用所需镧系金属离子进行处理, 可以得到不同金属离子标记的抗体。该技术后续以 MAXPAR (Fluidigm) 试剂盒的形式为用户提供简化的抗体标记步骤。

随着 CyTOF 技术的快速发展, 需要合成方法更加直接、更多侧基上携带金属螯合剂的新型 MCP, 使抗体上可以偶联更多金属。2010 年, Majonis 等^[14] 使用易开环的单体, 可控自由基聚合来制备具有窄长度分布和适合 Ab 官能化的端基聚合物, 之后修饰侧基引入金属螯合剂, 实现了在每个侧基上连接 DTPA。该聚合物用不同的镧系元素同位素标记了 11 个抗体, 通过质谱流式技术可以确定少量全血样本中存在的主要细胞类型。Majonis

等^[21] 随后的研究中报道了使用具有苯基端基、DPn = 79 的氨基聚合物二硫化物作为常见前体, 合成含有 EDTA、DTPA、TTHA 和 DOTA 侧基的聚合物。负载 Pd 和 Pt 用于质谱免疫测定, 在细胞群中可以有效识别凋亡细胞。上述聚合物满足分子量分布均一、端基可偶联 Ab 及偶联 Ab 后仍可识别抗原的要求。

大规模细胞术的发展使得其他需求也逐渐凸显。在检测中, ICP-MS 的灵敏度与可识别的金属离子数量存在线性关系^[9], 需要增加聚合物上金属离子的数量以提高检测精度。2012 年, Illy 等^[22] 基于活性环丙烷的阴离子开环聚合成新型 MCP, 它具有用于引入金属螯合剂的侧基和正交反应性的官能端基偶联 Ab, 得到 DPn = 35、每条链结合 (49.5 ± 6) 个 Ln³⁺ 的聚合物, 通过负载不同类型的 Ln³⁺ 离子, 偶联了 10 种不同的 Ab。在成人外周血单细胞分析中, 能够鉴定出占比小 (0.05%) 的造血干细胞 (CD34+, CD38-)。

质谱检测的实验探索中, MCP 除了偶联抗体靶向识别抗原, 还可偶联适配体^[23, 24]、生物素^[25, 26]、DNA 寡核苷酸^[27]、表皮生长因子^[28]、凝集素^[29, 30] 等生物分子。在实际应用场景中, CyTOF 更倾向于检测低丰度生物标志物, 因此需要开发负载更多数量金属原子的 MCP。尽管 MCP 已经有了巨大的发展, 但在可螯合的金属同位素种类、每个聚合物所含金属数量和每个抗体可连接聚合物数量等方面仍可改进。通过引入新的金属螯合剂(如去铁胺)^[31]、官能化 MCP(如多官能化的树枝状聚合物如聚酰胺)^[32], 来提高螯合基团的数量等方法都可以扩大 MCP 可螯合的金属同位素范围、提高金属元素含量, 以充分利用质谱仪的多参数特性。

2.2 金属纳米颗粒

在 CyTOF 中用金属纳米颗粒 (metal nanoparticle, MNP) 来做质量标签的概念形成于质谱流式技术发展早期, 但对于纳米材料的研究开发与上述 MCP 相比挑战更大。近年才逐渐有文献报道可有效用于 CyTOF 中的纳米颗粒。MNP 的两个特点使其在 CyTOF 中的应用具有极大的潜力: ① 它们可以将难以螯合在 MCP 中的元素引入 CyTOF; ② 与 MCP 相比, MNP 可以包含更多重金属同位素。MNP 中原子数量一般超 10⁶, 具体的数量取决于其组分和尺寸。基于 MNP 的质量标签试剂的开发有望显著提高 CyTOF 测定的灵敏度, 甚至直接定量低丰度细胞标记物。但是, MNP 的引入与使用也存在较大挑战, 一是 MNP 合成较复杂, 二是从过量 MNP 或过量 Ab 中分离 NP-Ab 缀合物较为困难。

含有 Au 或 Ag 的纳米颗粒是¹⁹⁷Au、¹⁰⁷Ag 和¹⁰⁹Ag 这 3 个质量通道潜在的高灵敏质量标签材料。它们的密度较高,

小尺寸 MNP 中原子数量也可以大于 10³ (粒径为 10 nm 的 AuNPs, 单个纳米颗粒含大约 3 × 10⁴ 个 Au 离子)。Schulz 等^[33] 用链霉亲和素修饰直径为 40 nm 的 AgNPs (~2 × 10⁶ 个 Ag 原子/纳米颗粒), 该金属纳米颗粒可以特异性检测外周血调节性 T 细胞中低丰度 CD25, 这样的检测效果无法通过 MCP 达到, 并且 AgNPs 提供的信号强度比 MCP 用于更高丰度标记物得到的信号强度高 3~15 倍。

镧系金属纳米颗粒 (LnNP) 也是一种很有潜力的高灵敏质量标签材料, 尤其是由单一同位素组成的 LnNP。例如, ¹⁶⁵Ho 具有 100% 天然丰度, 直径为 10 nm 的 NaHoF₄ NP 携带约 10⁴ 个 ¹⁶⁵Ho³⁺^[33]。相比之下, ¹⁵²Sm 天然丰度较低 (~30%), 直径为 10 nm 的 NaSmF₄ NP 含大概 3000 个 ¹⁵²Sm³⁺。因此, NaLnF₄ 形式的 LnNP 可以构建高灵敏质量标签报告分子。LnNP 作为质量标签材料必须具有尺寸可控、单分散的特点。Lu 等^[34] 报道了一系列 NaLnF₄ NPs (Ln = Y, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho)^[34-36] 的合成, 其尺寸范围为 4~30 nm, 尺寸分布均一, 直径变异系数 ≤ 5%。LnNP 通常在有机溶剂、高温环境下合成, 具有由油酸分子组成的表面层, 因此在合成出具有适当尺寸和尺寸分布的 LnNP 后, 需要对 LnNP 进行表面修饰, 目的有 3 点: ① 使其稳定存在于含磷酸盐的缓冲液中, ② 最小化或抑制非特异性吸附, ③ 引入靶向分子。表面改性方法有配体交换^[37, 38]、包覆脂质涂层^[39-41] 和包覆 SiO₂^[42] 等。

Pichaandi 等^[39] 报道了脂质包覆直径为 30 nm NaYF₄: Yb, Er 的过程, 如图 2 所示, 通过柠檬酸盐将金属离子交换转移到水溶液中, 后在脂质体中包封, 以最大限度地减少它们与细胞之间的相互作用。后验证 MNP 与 3 种不同的悬浮细胞系 Ramos、THP-1 和 KG1a 细胞的非特异性结合。2019 年, Pichaandi 等^[42] 用薄 SiO₂ 涂层包覆 12 nm 的 NaHoF₄ NP, 利用聚乙二醇 (PEG) 表面功能化的 NP-PEG-COOH 颗粒, 经 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳酰二亚胺 (EDC)、NHS 活化, 引入马来酰亚胺基; 同时用 2-亚氨基硫烷盐酸盐 (Traut's 试剂) 处理羊抗鼠二级抗体以引入反应性硫醇, 与纳米颗粒偶联。与相应的 MCP 相比, U937 细胞的信号强度增强了 450 倍以上。

与 MCP 试剂相比, 不同 MNP 金属含量对比如表 1 所示^[27, 33, 39, 42-47]。理论上 MNP 应提供更高倍的信号增强, 然而目前实验结果中信号增强程度小于预期^[46, 48]。2020 年, Zhang 等^[43] 报道的 TaO₂ NP (~5.7 nm, 2700 Ta 原子/纳米颗粒), 为悬浮质谱流式应用引入了无法通过 MCP 螯合的新元素 Ta (*m/z* = 181), 但其灵敏度仅与现有的 MCP 相当, 虽然在检测中随着纳米颗粒的增加可以在一定程度上提高金属信号响应强度, 但同时存在着不可忽略的非特异性吸附问题。

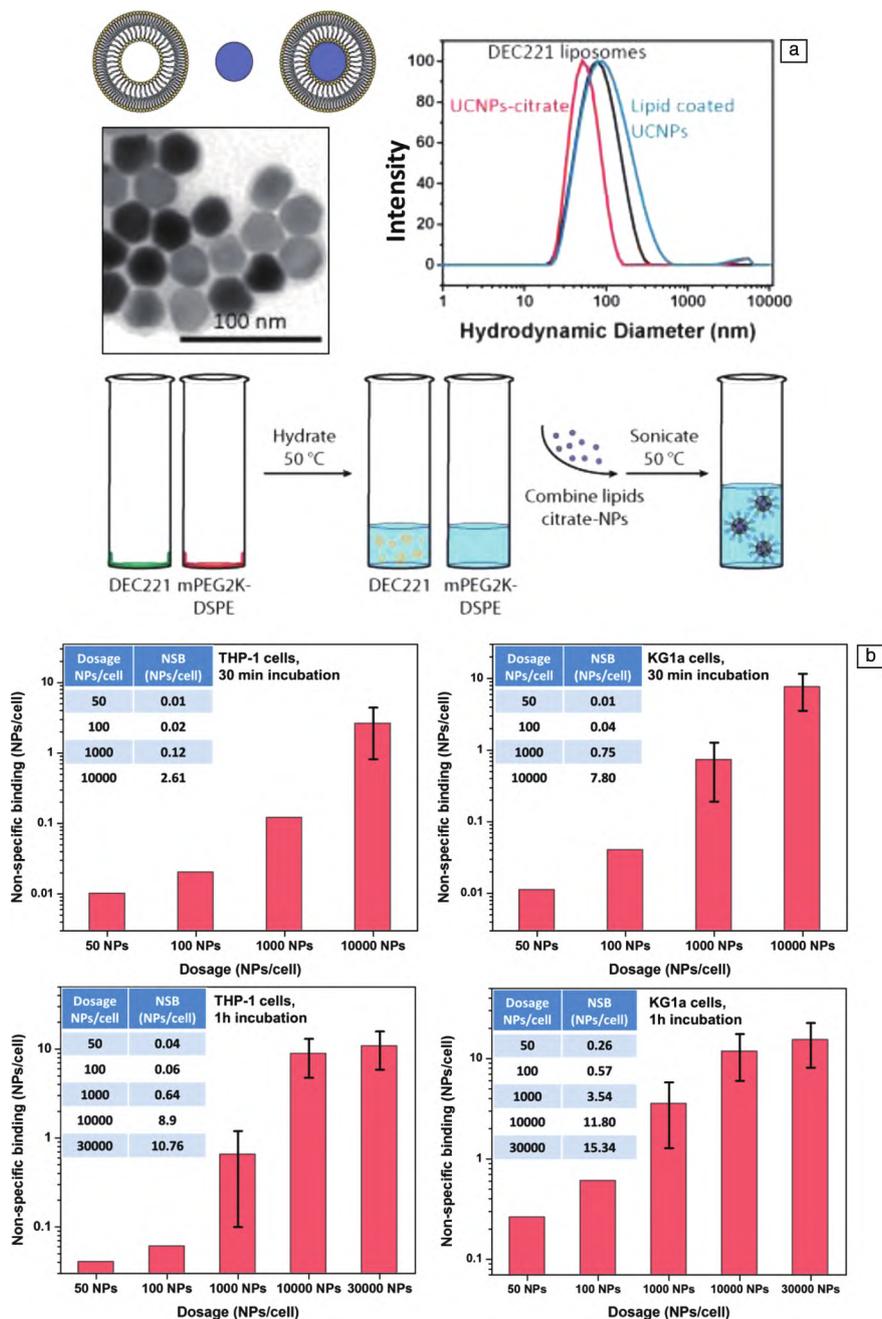


图 2 二醇基脂酰胆碱 (DOPC)、卵鞘磷脂 (ESM) 和绵羊胆固醇 (Chol) 以物质的量比为 2 : 2 : 1 (DEC221) 混合组成的脂质体修饰 NaYF₄:Yb,Er NPs (a) ; 用含有 6% mPEG-2K-DSPE 的 DEC 221 脂质修饰 NaYF₄:Yb,Er NP 对 Ramos , KG1a 和 THP-1 细胞进行非特异性结合检测 (b) [39]

Fig. 2 NaYF₄:Yb,Er nanoparticles coated by 2:2:1 mol ratio mixture of DOPC, ESM and Chol (a); nonspecific binding (NPs per cell) with Ramos , KG1a and THP-1 cell by NaYF₄:Yb,Er nanoparticles coated with DEC 221 containing 6wt% mPEG-2K-DSPE (b) [39]

很多研究者希望通过质谱流式技术研究不同细胞类型,同时在样本中深入挖掘一些反应机制。因此可用的质量标签数量亟待增加,需要引入新的材料。量子点^[44,45]、纳米金属有机框架 (nano metal organic frame , NMOF)^[46,49]、半导体聚合物点 (polymer dots , Pdots)^[47] 等纳米材料在CyTOF中的应用表明多种结构纳米材料有望作为

新质量标签。

2.3 聚合物微球

聚苯乙烯作为用于 CyTOF 的聚合物,可以与多种溶剂兼容,多以微球颗粒^[50-55]的形式应用。为了通过质谱流式技术获得稳定、可靠的检测结果,聚苯乙烯微球需满足以下要求^[52]: ① 直径为 1~5 μm, 尺寸分布均一,

表 1 金属纳米颗粒质量标签中金属同位素含量与应用
Table 1 Metal isotope content and the application in NP-based mass tag reagent

Materials	Representative NPs	Size/nm	Metal content	Applications	Ref.
Lanthanide nanoparticles	DEC221-NaYF ₄ :Yb,Er	30	~ 10 ⁴ ~ 10 ⁵ Ln ³⁺ /NP	Nonspecific binding with different cells	[39]
	SiO ₂ -NaHoF ₄	12		Compared the sensitivity of NP and MCP to seven different biomarkers	[42]
Metal nanoparticles	Ag NPs	10~40	~ 10 ⁵ ~ 10 ⁷ Ag or Au /NP	AgNPs with different sizes as reporter incell surface	[33]
	Au NPs	15		DNA-functional AuNPs as high mass probes in SMC	[27]
Metal-organic framework nanoparticles	Zr-NMOF	33	~ 10 ⁵ Zr ³⁺ /NP	First applied as mass tag	[46]
Quantum dots	CdSe	—	~ 10 ² Cd ²⁺ or Se ²⁻ /NP	Have potential to be used as mass tag	[44]
	PbTe	—	~ 10 ² Pd ²⁺ or Te ²⁻ /NP		[45]
Metal oxide nanoparticles	TaO ₂	5.7	~ 10 ⁴ Ta ⁴⁺ /NP	Add a new isotope to CyTOF, increase the multiplexing capacity of mass cytometry	[43]
Polymer dots	Pdots	10~30	~ 10 ³ Ln ³⁺ /NP	Analysis in both flow cytometry and mass cytometry	[47]

微球可被 ICP 完全离子化; ② 每个微球颗粒包含足够 ($10^4 \sim 10^8$) 的金属离子; ③ 微球之间金属含量差异小。聚苯乙烯微球中负载元素由已知同位素的混合物组成, 尽可能覆盖质谱仪的检测范围, 目前主要作为检测的内部校准^[53, 54, 56, 57]。

最早的聚合物微球由 DVS Sciences(现 Fluidigm Canada) 公司合成, 其中含有 5 种镧系元素同位素 (¹³⁹La、¹⁴¹Pr、¹⁵⁹Tb、¹⁶⁹Tm 和 ¹⁷⁵Lu), 称为校准球。第二代校准球以 Ce, Eu, Ho 和 Lu 作为校准元素, 并成功商业转化(eq 4 校准球, Fluidigm)。最新的 CyTOF Helios 系统的检测范围覆盖⁸⁹Y 至 ²⁰⁹Bi, 检测通道数量的增加需要在原有金属编码微球的基础上增加元素。2020 年, Liu 等^[56]报道了一种含有 7 种元素的聚苯乙烯微球(在 eq 4 校准球的基础上增加 Y, In 和 Bi), 覆盖更大范围, 将成为新一代校准球。2019 年, Budzinski 等^[58]在商用聚苯乙烯微球表面修饰了 OsO₄, 扩大了聚苯乙烯微球的应用, 一方面利用 Os 进行信号补偿; 另一方面, 可以将金属 Os 引入质谱流式检测, 增加可检测的通道数量。

此外, 利用不同同位素制备金属编码微球结合质谱流式技术, 与基于荧光检测的多元分析方法相比显示出独特的优势。在荧光编码微球多元检测分析的基础上, 可通过在不同聚合微球中掺入浓度水平不同的金属元素/同位素, 利用 CyTOF 进行逐个微球的读取与解码。2009 年, Abdelrahman 等^[53]通过多级分散聚合的方式合成并表征了金属编码聚苯乙烯微球。在分散聚合的过程中, 苯乙烯在乙醇中转化约 10%, 即在颗粒成核阶段完成后,

向反应体系中加入已知量的镧系元素氯化物(LnCl₃) 和配体, 将不同的镧系元素负载到微球中。其中含有 La, Ho, Tb 和 Tm 这 4 种元素, 共 5 种可调节的浓度, 单个微球中含有约 $10^6 \sim 10^8$ 个螯合的镧系元素离子。这一系列微球可以满足不同编码方案的要求, 从而为构建多元检测系统打下基础。2010 年, Thickett 等^[55]通过种子乳液聚合的方法合成单分散微米级聚苯乙烯颗粒, 其中每个微球镧系元素离子负载量可达 10^7 。微球通过 MES、EDC 进行活化, 与预先标记了金属螯合物的生物素共同孵育, 证实了使用金属标记的蛋白质可共价附着在微球表面, 并定量测定偶联的待测物, 说明利用质谱流式检测生物分子可用聚苯乙烯微球作为反应载体。

上述聚苯乙烯微球颗粒负载金属的方法, 对掺入的金属离子数量缺乏有效的控制, 为了获得目标金属同位素, 目标掺杂量的微球需反复进行实验验证, 存在重复性较差的问题。Liu 等^[59, 60]报道了一种新的合成方法, 使用可与聚合 DTPA 衍生物络合的金属可克服上述问题。这种方式制备的微球尺寸与金属含量均一, 且合成过程中不同金属的掺入效率相似, 提供了可控镧系离子含量的均一微球合成思路。2022 年, Liu 等^[60]与 Fluidigm(现为 Standard BioTools) 合作, 在微球表面修饰不同的 Ab, 靶向捕获溶液中的细胞因子, 首先提出利用金属编码微球对细胞因子混合物进行多重分析的概念, 并通过 9 种细胞因子和 CD163 进行概念验证实验。质谱信号强度对标准溶液中的细胞因子浓度变化均有响应, 并在低分析物浓度下具有较高的检测灵敏度, 如图 3 所示。

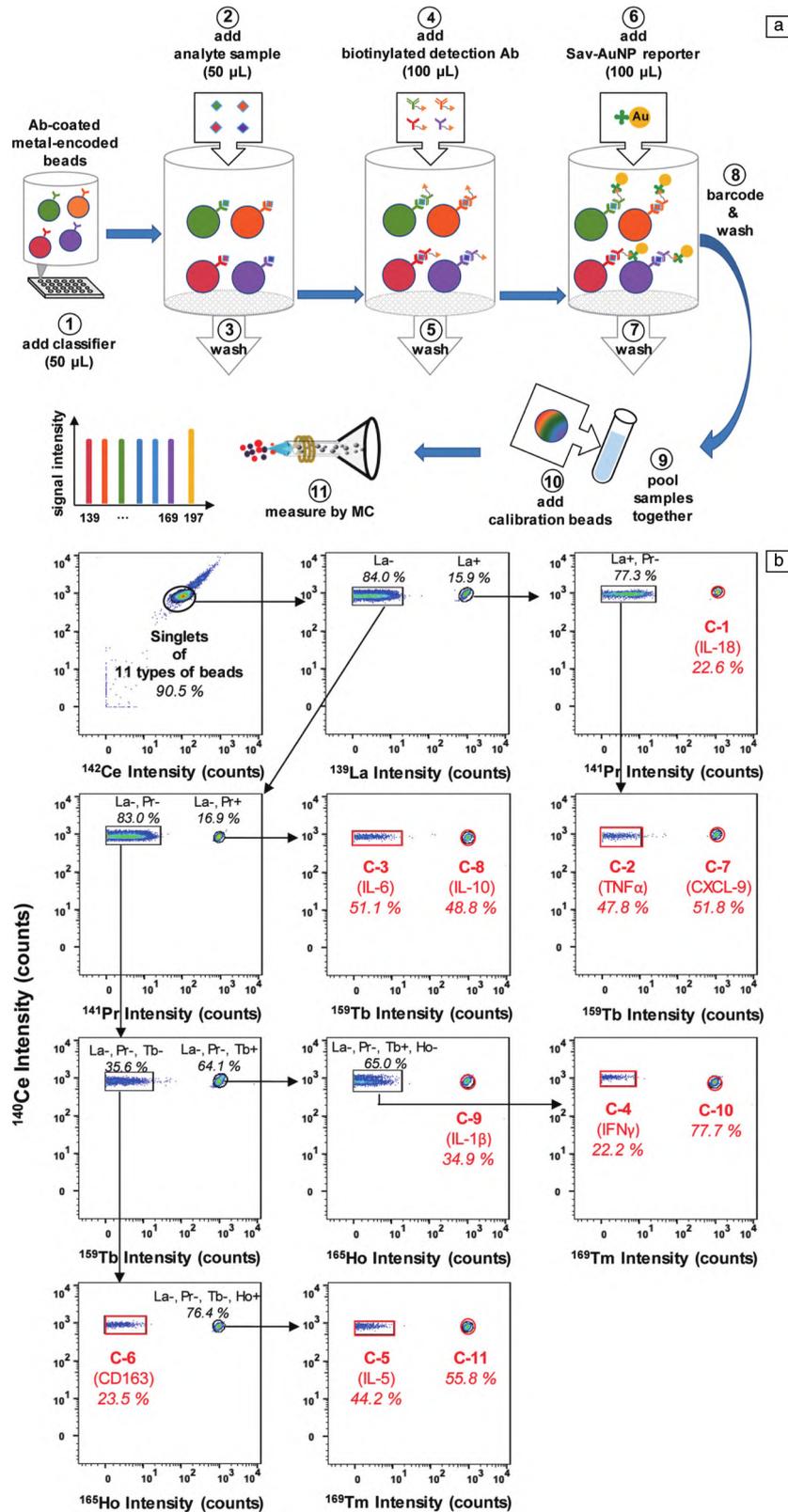


图 3 金属编码微球对细胞因子混合物的多重分析示意图^[60]: (a) 对微球表面进行修饰以偶联抗体, 并对溶液中的细胞因子进行识别与分类; (b) 通过 CyTOF 及对应数据处理方式进行多重分析

Fig. 3 Schematic of multiplexed analysis by metal-encoded beads^[60]: (a) modified by different capture Abs, metal-encoded beads could recognize and classifier target cytokine and chemokine standard samples; (b) diagrams show the strategies to identify different type of the beads by gating, analyzed by CyTOF

3 结 语

现代医学的发展离不开单细胞多路复用检测, 质谱流式技术中质谱信号的特性可以提高多路复用检测的能力, 其中质量标签功能微纳米材料的研究与开发尤为关键。本文总结了目前应用于质谱流式技术中 3 类典型质量标签功能微纳米材料的研究现状。基于金属螯合聚合物(metal chelating polymers, MCP) 的质量标签, 在每个 MCP-Ab 缀合物上都有一定数量的金属原子, 可以增加与 Ab 偶联的标志物信号强度。目前, 含 Ln^{3+} 的 MCP-Ab 是悬浮质谱流式和成像质谱流式技术应用中最成功的试剂, 已商业转化。然而 MCP 难以螯合新的金属元素, 需要开发不同螯合剂、骨架结构; 为增加标签中金属离子的数量, 可使用树枝状配体以提供螯合位点。金属纳米颗粒与 MCP 相比可以引入更多的重金属同位素, 且其高金属负载量在检测低丰度生物标志物的应用中具有很大的潜力。但其信号溢出、可能的毒性及非特异性吸附等问题不可忽视, 需要合适的表面修饰等后处理。聚苯乙烯的微球颗粒则在提高金属同位素信号、引入镧系元素以外的元素等方面显示出明显的优势, 虽然目前主要用于仪器内部校准, 但已有实验证实可在悬浮质谱流式技术中通过微球进行多重分析, 为更多的细胞检测增加了可能性。

质量标签试剂的研究重点是引入目前尚未使用的元素、提高已有金属同位素信号, 寻找含金属同位素的新型生物相容性材料。近年来, 对可作为质量标签试剂的微纳米材料的研究呈指数增长, 更多新的同位素如 Hf, Os, Pd, Pt, Re, Hg, Sn, W 等已被引入质谱流式检测; 一些新型生物材料如 MS2 病毒衣壳蛋白、核酸骨架等起到信号倍增的作用, 可以实现在复杂的生物系统中对目标分子/细胞的高灵敏检测与定量^[61, 62]。改进、优化已有的材料, 不断开发新的含有金属同位素的微纳米材料推动了质量标签的发展, 从而可以充分利用质谱流式技术中的检测通道, 提高质谱流式技术中数据的可靠性。

参考文献 References

[1] RAZUMIENKO E, ORNATSKY O, KINACH R, *et al.* Journal of Immunol Methods [J], 2008, 336(1): 56-63.
 [2] SEAN C, BENDALL E F S, PENG Q, *et al.* Science [J], 2011, 332(6030): 687-696.
 [3] MATTHEW H S, GARRY P N. Cell [J], 2016, 165(4): 780-791.
 [4] ZHANG S X, LIU R, XING Z, *et al.* Chemical Communications [J], 2016, 52(99): 14310-14313.
 [5] BANDURA D R, BARANOV V I, ORNATSKY O I, *et al.* Analytical

Chemistry [J], 2009, 81(16): 6813-6822.
 [6] ORNATSKY O, BANDURA D, BARANOV V, *et al.* Journal of Immunol Methods [J], 2010, 361(1/2): 1-20.
 [7] ZHANG C, WU F B, ZHANG Y Y, *et al.* Journal of Analytical Atomic Spectrometry [J], 2001, 16(12): 1393-1396.
 [8] ZHANG C, WU F B, ZHANG X R. Journal of Analytical Atomic Spectrometry [J], 2002, 17(10): 1304-1307.
 [9] QUINN Z A, BARANOV V I, TANNER S D, *et al.* Journal of Analytical Atomic Spectrometry [J], 2002, 17(8): 892-896.
 [10] OLSEN L R, LEIPOLD M D, PEDERSEN C B, *et al.* Cytometry Part A [J], 2019, 95(2): 156-172.
 [11] XU S T, LIU M X, BAI Y, *et al.* Angewandte Chemie International Edition [J], 2021, 60(4): 1806-1812.
 [12] DELGADO G A, SANCHEZ M R M. Analytical Chemistry [J], 2021, 93(2): 657-664.
 [13] SOSABOWSKI J K, MATHER S J. Nature Protocols [J], 2006, 1(2): 972-976.
 [14] MAJONIS D, HERRERA I, ORNATSKY O, *et al.* Analytical Chemistry [J], 2010, 82(21): 8961-8969.
 [15] CHANG S G, GUIDOS C J. Methods in Molecular Biology [J], 2019, 1989: 47-54.
 [16] MAIRINGER T, WOZNIAK K G, RÜKER F, *et al.* Journal of Analytical Atomic Spectrometry [J], 2016, 31(11): 2330-2337.
 [17] HAN G J, SPITZER M H, BENDALL S C, *et al.* Nature Protocols [J], 2018, 13(10): 2121-2148.
 [18] JOSEPH A, COTRUVO J. ACS Central Science [J], 2019, 5(9): 1496-1506.
 [19] SCHWARZ G, MUELLER L, BECK S, *et al.* Journal of Analytical Atomic Spectrometry [J], 2014, 29(2): 221-233.
 [20] LOU X D, ZHANG G H, HERRERA I, *et al.* Angewandte Chemie International Edition [J], 2007, 46(32): 6111-6114.
 [21] MAJONIS D, ORNATSKY O, KINACH R, *et al.* Biomacromolecules [J], 2011, 12(11): 3997-4010.
 [22] ILLY N, MAJONIS D, HERRERA I, *et al.* Biomacromolecules [J], 2012, 13(8): 2359-2369.
 [23] YU Y Y, DANG J Q, LIU X, *et al.* Analytical Chemistry [J], 2020, 92(9): 6312-6320.
 [24] YU Y Y, WANG X, JIA X L, *et al.* Advanced Science [J], 2021, 8(24): 2102812.
 [25] CHO H J, LIU P, PICHAANDI J, *et al.* European Polymer Journal [J], 2019, 120: 109175.
 [26] TORCHILIN V P. Bioconjugate Chemistry [J], 1999, 10(1): 146-149.
 [27] MALILE B, BRKIC J, BOUZEKRI A, *et al.* ACS Applied Bio Materials [J], 2019, 2(10): 4316-4323.
 [28] GILL M R, MENON J U, JARMAN P J, *et al.* Nanoscale [J], 2018, 10(22): 10596-10608.
 [29] LEIPOLD M D, HERRERA I, ORNATSKY O, *et al.* Journal of Proteome Research [J], 2009, 8(2): 443-449.

- [30] ALLO B, LOU X D, BOUZEKRI A, *et al.* *Bioconjugate Chemistry* [J], 2018, 29(6): 2028–2038.
- [31] DELGADO-GONZALEZ A, LAZ-RUIZ J A, CANO-CORTES M V, *et al.* *Analytical Chemistry* [J], 2022, 94(30): 10626–10635.
- [32] LIN W J, HOU Y, LU Y J, *et al.* *Langmuir* [J], 2014, 30(11): 3142–3153.
- [33] SCHULZ A R, STANISLAWIAK S, BAUMGART S, *et al.* *Cytometry Part A* [J], 2017, 91(1): 25–33.
- [34] LU E, PICHAANDI J, RASTOGI C K, *et al.* *Chemistry of Materials* [J], 2019, 31(23): 9742–9749.
- [35] DÜHNEN S, RINKEL T, HAASE M. *Chemistry of Materials* [J], 2015, 27(11): 4033–4039.
- [36] TONG L, LU E, PICHAANDI J, *et al.* *The Journal of Physical Chemistry C* [J], 2016, 120(11): 6269–6280.
- [37] CAO P P, TONG L, HOU Y, *et al.* *Langmuir* [J], 2012, 28(35): 12861–12870.
- [38] ZHAO G Y, TONG L, CAO P P, *et al.* *Langmuir* [J], 2014, 30(23): 6980–6989.
- [39] PICHAANDI J, TONG L, BOUZEKRI A, *et al.* *Chemistry of Materials* [J], 2017, 29(11): 4980–4990.
- [40] LEIPOLD M D, ORNATSKY O, BARANOV V, *et al.* *Analytical Biochemistry* [J], 2011, 419(1): 1–8.
- [41] DAI Q, WALKEY C, CHAN W C W. *Angewandte Chemie International Edition* [J], 2014, 53(20): 5093–5096.
- [42] PICHAANDI J, ZHAO G Y, BOUZEKRI A, *et al.* *Chemical Science* [J], 2019, 10(10): 2965–2974.
- [43] ZHANG Y F, ZABINYAKOV N, MAJONIS D, *et al.* *Analytical Chemistry* [J], 2020, 92(8): 5741–5749.
- [44] NEWELL E W, SIGAL N, BENDALL S C, *et al.* *Immunity* [J], 2012, 36(1): 142–152.
- [45] HOROWITZ A, STRAUSS-ALBEE D M, LEIPLD M, *et al.* *Immunology* [J], 2013, 5(208): 208ra145.
- [46] DANG J Q, LI H X, ZHANG L L, *et al.* *Advanced Materials* [J], 2021, 33(35): 2008297.
- [47] WU X, DEGOTTARDI Q, WU I C, *et al.* *Angewandte Chemie International Edition* [J], 2017, 56(47): 14908–14912.
- [48] ARNETT L P, RANA R, CHUNG W W Y, *et al.* *Chemical Reviews* [J], 2023, 123(3): 1166–1205.
- [49] CHEN Y, WANG G C, WANG P, *et al.* *Angewandte Chemie International Edition* [J], 2022, 61(38): 202208640.
- [50] ABDELRAHMAN A I, THICKETT S C, LIANG Y, *et al.* *Macromolecules* [J], 2011, 44(12): 4801–4813.
- [51] LIANG Y, ABDELRAHMAN A I, BARANOV V, *et al.* *Polymer* [J], 2011, 52(22): 5040–5052.
- [52] TAN J B, ZHAO G Y, ZENG Z H, *et al.* *Macromolecules* [J], 2015, 48(11): 3629–3640.
- [53] ABDELRAHMAN A I, DAI S, THICKETT S C, *et al.* *Journal of the American Chemical Society* [J], 2009, 131(42): 15276–15283.
- [54] ABDELRAHMAN A I, ORNATSKY O, BANDURA D, *et al.* *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* [J], 2010, 25(3): 260–268.
- [55] THICKETT S C, ABDELRAHMAN A I, ORNATSKY O, *et al.* *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* [J], 2010, 25(3): 269–281.
- [56] LIU J Y, JARZABEK J, MAJONIS D, *et al.* *Analytical Chemistry* [J], 2020, 92(1): 999–1006.
- [57] FINCK R, SIMONDS E F, JAGER A, *et al.* *Cytometry Part A* [J], 2013, 83A(5): 483–494.
- [58] BUDZINSKI L, SCHULZ A R, BAUMGART S, *et al.* *The Journal of Immunology* [J], 2019, 202(10): 3103–3112.
- [59] LIU J Y, WONG E C N, LU E, *et al.* *Chemistry of Materials* [J], 2021, 33(10): 3802–3813.
- [60] LIU J Y, ALLO B, WINNIK M A. *ACS Measurement Science Au* [J], 2022, 2(6): 629–640.
- [61] YUAN R, GE F C, LIANG Y, *et al.* *Analytical Chemistry* [J], 2019, 91(8): 4948–4952.
- [62] LIU Z, LIANG Y, ZHOU Y, *et al.* *iScience* [J], 2021, 24(5): 102397.