

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.23377

CSTR: 32231.14.PSJ.2095-0837.23377

李晓旭, 王晨璨, 丁文静, 梅曼, 张玉倩, 蔺宏霞, 赵媛媛. 空间代谢组技术在植物研究中的应用与前景[J]. 植物科学学报, 2024, 42 (5): 654-663

Li XX, Wang CC, Ding WJ, Mei M, Zhang YQ, Lin HX, Zhao YY. Application and prospects of spatial metabolomics technology in plant research[J]. *Plant Science Journal*, 2024, 42 (5): 654-663

空间代谢组技术在植物研究中的应用与前景

李晓旭^{1, 2, 3, 4, 5 #}, 王晨璨^{1, 2, 3, 4, 5 #}, 丁文静^{1, 2, 3, 4, 5}, 梅曼^{1, 2, 3, 4, 5},
张玉倩^{1, 2, 3, 4, 5}, 蔺宏霞^{1, 2, 3, 4, 5}, 赵媛媛^{1, 2, 3, 4, 5 *}

(1. 北京林业大学生物科学与技术学院, 林木遗传育种全国重点实验室, 北京 100083; 2. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083; 3. 北京林业大学树木发育与基因编辑研究院, 北京 100083; 4. 北京林业大学林木育种与生态修复国家工程研究中心, 北京 100083; 5. 北京林业大学, 树木资源高效生产全国重点实验室, 北京 100083)

摘要: 空间代谢组技术是一种整合了质谱成像和代谢组学的新兴研究技术, 该项技术可以获得生物组织中大量已知或未知内源性代谢物分子的结构、含量和空间分布信息, 精准定位组织中的代谢物分布, 对揭示植物代谢物的合成、积累和调控机理至关重要。本文介绍了空间代谢组技术的研究现状, 重点综述了空间代谢组技术在植物组织研究方面的前沿应用, 探讨了空间代谢组技术在植物单细胞水平研究领域中的应用与挑战, 以期为进一步研究植物生长发育及空间代谢网络的调控提供新的途径, 为解决农业生产、植物能源开发等领域的问题提供关键支持。

关键词: 空间代谢组技术; 质谱成像; 代谢物空间分布; 植物生长发育

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837 (2024) 05-0654-10

Application and prospects of spatial metabolomics technology in plant research

Li Xiaoxu^{1, 2, 3, 4, 5 #}, Wang Chencan^{1, 2, 3, 4, 5 #}, Ding Wenjing^{1, 2, 3, 4, 5}, Mei Man^{1, 2, 3, 4, 5},
Zhang Yuqian^{1, 2, 3, 4, 5}, Lin Hongxia^{1, 2, 3, 4, 5}, Zhao Yuanyuan^{1, 2, 3, 4, 5 *}

(1. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2. College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 3. Research Institute of Tree Development and Gene Editing, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 4. National Engineering Research Center of Tree Breeding and Ecological Restoration, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 5. State Key Laboratory of Efficient Production of Forest Resources, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: Spatial metabolomics is an emerging research technology that integrates mass spectrometry imaging and metabolomics to analyze the structure, concentration, and spatial distribution of endogenous metabolites within biological tissues. This approach enables the acquisition of both known and unknown metabolite information at high spatial resolution, allowing for precise localization within tissues. It is crucial for elucidating the synthesis, accumulation, and regulation of plant metabolites. This article reviews the current research status of spatial metabolomics technology, with a focus on cutting-edge applications in plant tissue

收稿日期: 2023-12-14, 接受日期: 2024-01-07。

基金项目: 科技部外国专家项目 (G20221090007L)。

作者简介: 李晓旭 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向为木本植物生长发育 (E-mail: lixiaoxu82@163.com); 王晨璨 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向为木本植物生长发育 (E-mail: w3387134833@163.com)。

共同作者。

* 通信作者 (Author for correspondence. E-mail: yyzhao@bjfu.edu.cn)。

research. Special attention is given to its potential and challenges in the field of single-cell plant studies, aiming to provide new avenues for studying plant growth and development and regulating spatial metabolic networks. Additionally, this technology offers crucial insights for solving problems in agricultural production, plant-based energy development, and other fields.

Key words: Spatial metabolomics technology; Mass spectrometry imaging; Spatial distribution of metabolites; Plant growth and development

植物代谢组学一直是植物科学的热点研究方向之一。植物内源代谢物在广泛的空间范围内发生变化, 研究其在不同生长发育时期或者受到某种外界或内部刺激时代谢物的含量变化规律及代谢调控机制具有重要意义^[1]。植物体内代谢物的合成和累积往往具有精准的空间分布, 且生理功能常与其在组织甚至单细胞中的空间分布紧密相关。因此, 实现代谢物在组织中高空间分辨率的精准定位对阐明植物中代谢物的合成、积累和调控机理至关重要^[2]。

随着代谢组学的发展和质谱成像 (Mass spectrometry imaging, MSI) 技术的出现, 空间代谢组技术 (Spatial metabolomics technology) 应运而生, 该技术整合了质谱成像和传统代谢组学的研究技术^[3], 利用离子源直接扫描生物样品成像, 在无标记的条件下, 对生物组织切片进行扫描分析, 完成代谢物的定性、定量和定位分析, 突破了传统代谢组学研究损失空间信息的瓶颈^[4]。空间代谢组技术通过分析不同组织和器官中植物代谢物的空间分布, 可以更好地厘清植物在不同环境条件下的生理响应机制^[5], 为研究植物生长发育、适应环境以及植物资源开发提供了新的途径。本文系统总结了空间代谢组技术的研究现状, 重点综述了空间代谢组学在植物组织中的最新应用进展, 并对空间代谢组技术在植物单细胞领域的前景和挑战进行了总结和展望。

1 空间代谢组技术研究概况

1.1 空间代谢组技术特征

植物代谢组研究旨在全面测定细胞和组织中的所有代谢物及其代谢途径, 反映基因组、转录组和蛋白质组的调控, 并与表型精确关联^[6]。代谢组研究主要基于色谱、质谱、核磁共振 (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) 等方法, 旨在定性和定量分析生物系统中的所有代谢物。质谱因其

高灵敏度、高选择性和宽动态范围而成为代谢组研究的主要平台^[7]。离子源技术的革新使物质电离效果不断得到优化, 质量分析器的更新换代提升了质谱的分辨率、灵敏度、扫描速度等能力。气相色谱-质谱技术 (GC-MS) 的局限性在于其要求被测分子具有挥发性, 无法对热稳定性差的化合物进行检测。相比于气态样品分析, 液相色谱-质谱技术 (LC-MS) 适合于高沸点、热稳定性差和大分子量等待测物的检测^[8]。NMR 技术具有通过一种或多种类型的原子核 (如¹H、¹³C、³¹P 或¹⁵N) 检测代谢物的能力, 能够利用各种稳定同位素标记的前体追踪代谢途径并测量代谢通量, 但其存在灵敏度较低、动态监测范围较小、分辨率不高等问题^[9]。综上, 传统的代谢组技术存在各种局限性, 缺少空间维度信息, 导致无法准确反映生物体的动态代谢过程以及代谢网络^[10]。

空间代谢组技术作为一项新兴前沿的分析技术, 通过质谱仪直接采集组织样本切片的离子信息, 将质谱数据可视化, 准确定位代谢物分子在组织切片中的空间分布^[11], 并借助传统代谢组学技术对生物组织进行生物信息学分析, 获得代谢物种类和含量^[12], 具有免标记、无需基质、周期短的特点, 借助质谱成像手段还可以直接获得植物组织的代谢物空间分布信息^[13]。NMR 技术在空间代谢组中起着重要作用, NMR 波谱具有空间选择性体内成像和生物体组织代谢动态分析的能力, 能够提供有关物质结构和动力学的详细信息^[14]。NMR 可以同时检测多种代谢物, 对生物体内的代谢产物进行非破坏性的定量与定性分析, 确定代谢物的结构和含量, 揭示不同组织和器官之间的代谢差异, 以及定位代谢产物在空间上的分布^[15]。

1.2 空间代谢组研究流程

空间代谢组主要流程包括组织样本切片制备、质谱数据采集和质谱成像数据处理 (图 1), 可直接测量植物样本中代谢物的空间分布, 进一步理

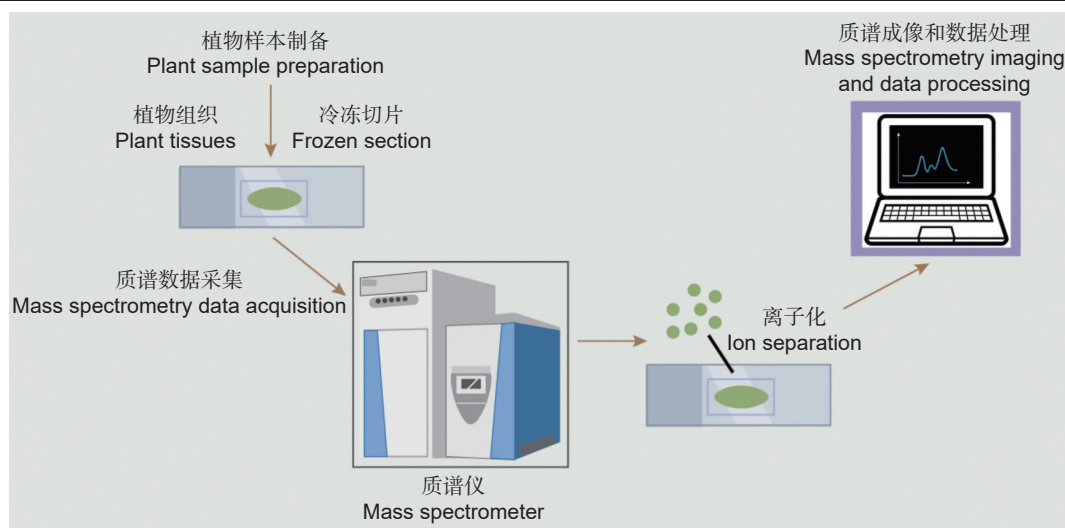


图 1 植物空间代谢组技术分析流程

Fig. 1 Plant spatial metabolomics technology analysis process

解植物成分内部调控机制，已用于植物的根、茎、叶、花、果实中。切片制备是影响质谱成像准确性的关键环节，获得的植物样本应快速冷冻于液氮，后进行切片^[16]。切片前应确认植物新鲜组织样本的最佳取材位置，取样过程中需要保持低温环境，后续进行包埋制备待测样本，利用冷冻切片机制将包埋样本制备成厚度约为 5~20 μm 的冷冻切片^[17]。将冷冻切片转移至质谱靶上，质谱仪按照采集程序，利用激光或高能离子束、带电喷雾液滴等扫描样本，使其表面的分子或离子解吸离子化，离子化的分子经过适当的电场或磁场作用，在空间或时间上按照其质量与电荷比的大小被分离，通过检测器获得质谱信号，使用成像软件将测得的质谱数据转化为对应像素点，并重构出目标化合物在组织表面的空间分布图像^[18]。

空间代谢组最重要的是进行图谱的原位分析，对植物样本的切片进行扫描检测后，获取切片上代谢物的 m/z 、响应强度和位置信息，然后通过比对邻位切片匀浆的定性结果，最终获取植物代谢物的定性、定量和定位信息^[19]。对于获取到的数据，可基于 H&E 染色的结果，或通过降维聚类方法，如 t-分布领域嵌入算法（t-Distributed stochastic neighbor embedding, t-SNE）、一致的流形近似和投影（Uniform manifold approximation and projection, UMAP）等对代谢物结果进行分区，再对不同区域的代谢物信号进行处理，获得定量数据，定性方法一般基于库匹配或者标准品比对，将代谢物与

已知数据库中的结构进行比对，得到注释代谢物分子等信息。获得空间代谢物定性定量结果后，可以采用多元统计分析方法（PCA、PLS-DA、OPLS-DA）对不同空间位置的代谢物进行比较，寻找差异显著的代谢物或代谢通路，进行差异 KEGG 富集、ROC 等分析，进一步探究代谢物在不同区域或样本间的差异分布、生物学意义等。

1.3 空间代谢组常用检测方法

质谱成像是一种可以直接获得生物组织中已知和未知的内源性代谢物分子的结构、含量和空间分布信息^[20]，生成组织分子成像图的分子成像方法，具有无需标记、高通量、高灵敏度、高准确度的特点^[21]。现阶段，可将空间代谢组学中应用的质谱成像技术分为有基质和无基质两类（表 1）。其中，有基质空间代谢组检测方法包括二次离子质谱成像（Secondary ion mass spectrometry, SIMS）技术、解吸电喷雾电离质谱成像（Desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging, DESI-MSI）技术和激光溅射-电喷雾电离质谱成像（Laser ablation electrospray ionization mass spectrometry imaging, LA-ESI-MSI）技术，而 MALDI-MSI 是典型的基质辅助激光解析电离型的质谱成像技术^[22]，其在内源性代谢物、脂质、外源性药物等小分子成像中受到越来越多的关注，是目前应用最广泛的一项技术^[23]。

SIMS 技术的空间分辨率为 0.05~100 μm ，是目前为止具有最高空间分辨率的质谱成像方法^[24]。

表 1 常见质谱成像技术特点
Table 1 Characteristics of common mass spectrometry imaging techniques

技术类型 Technology type	缩写 Abbreviation	检测物质 Testing substances	空间分辨率 Spatial resolution	是否需要基质 Matrix
二次离子质谱成像	SIMS	分子量小于 1 000 Da 的脂质、代谢物	0.05~100 μm	否
解吸电喷雾电离质谱成像	DESI-MSI	代谢物的分子量为 0~2 000 Da	50 μm	否
激光溅射-电喷雾电离质谱成像	LA-ESI-MSI	植物细胞的整体分析和较大植物组织的成像分析	30~300 μm	否
基质辅助激光解吸/电离质谱成像	MALDI-MSI	蛋白、多肽、脂质	5 μm	是

SIMS 技术是用聚焦离子束轰击材料表面，通过质谱分析器检测溅射出来的带有正负电荷的二次离子的质荷比，从而得到样品表面元素组成的一种分析技术^[25]，可用于分子量小于 1 000 Da 的脂质、代谢物、小分子药物和部分元素的单细胞成像分析^[26]。DESI-MSI 技术使用溶剂喷雾对样品组织进行软电离，可以直接分析未处理的冷冻样品切片，对样品制备进行了进一步简化，其检测代谢物的分子量为 0~2 000 Da，但其空间分辨率低于 SIMS，约为 50 μm ，适合于较大组织样品的成像^[27]。与 DESI-MSI 相比，LA-ESI-MSI 技术大幅提升了空间分辨率，通常分辨率在 30~300 μm 。与 DESI 源相似，LA-ESI-MSI 技术的优势在于可在大气压下直接分析，且不需要基质，无需复杂的样品前处理，该方法比较适合于植物细胞的整体分析和较大植物组织的成像分析^[28]。利用 800 nm 飞秒激光对样本进行非共振溅射采样的方法，Coello 等^[29]对洋葱（*Allium cepa* L.）表皮细胞进行了高分辨成像。Shrestha 等^[30]实现了洋葱表皮细胞间酚皮素和花青素等代谢物的差异性分布，证明了 LA-ESI-MSI 技术可以用于植物组织的原位细胞成像。MALDI-MSI 技术使用紫外或红外激光电离样品表面，具有软电离特性，检测的质量高达 100 000 Da^[31]，能达到约 5 μm 的分辨率^[32]。近年来，多种常压敞开式离子化质谱成像技术（Ambient MSI）相继出现^[33, 34]，该技术是无需复杂的样品前处理，且可在开放环境下对样品进行解吸和离子化的质谱技术，解决了对质谱采集环境要求的限制。敞开式离子源聚集了样品原位解吸、待测物实时离子化和离子传输至质谱分析器这 3 个核心过程，按照其离子化过程和机理大体可分为 3 大类：直接电离离子源、直接解吸电离离子源及解吸后电离离子源^[35]。新型常压敞开式空气动力辅助离子化技术（Air flow assisted ionization, AFAI）提高了

远距离敞开式离子化的灵敏度和稳定性，扩展了待测样品的空间和操作灵活性。

2 空间代谢组技术在植物研究中的主要应用

近年来，空间代谢组技术的快速发展，将组学信息延伸到了二维水平，进一步提升了对样本信息的深入认知^[36]。在植物研究中已有空间代谢组技术的尝试及应用，该技术可直接检测植物样本中代谢物的空间分布，进一步探究植物成分内部调控机制，并应用于植物研究的各个方向，如生长发育、色泽品质、胁迫等^[22-61]（表 2）。

2.1 空间代谢组技术在植物生长发育研究中的进展

通过对不同生长阶段和不同组织部位的植物样品进行空间代谢组学分析，可以揭示植物在生长发育过程中的代谢变化规律，进而深入研究其体内代谢途径的调控机制，为植物育种和栽培提供重要的参考依据。

Yin 等^[22]利用 MALDI-MSI 技术检测了玉米（*Zea mays* L.）种子中糖类、氨基酸类、脂质类等多种代谢物随不同萌发时间的空间分布成像变化，通过这些功能性代谢物的组织特异性分布信息，可为作物种子的生长、发育和生物/非生物胁迫响应等调控机制提供更深入的见解。利用 MALDI-MSI 技术和气相色谱-质谱法（Gas chromatography mass spectrometry, GC-MS）观察不同萌发时间水稻（*Oryza sativa* L.）种子 γ -氨基丁酸（GABA）和氨基酸的动态变化，并对其分布进行定量分析，结果显示种子萌发前较短时间的真空浸渍促进了 GABA 和必需氨基酸的产生，而高强度的真空浸渍通过破坏细胞结构和细胞膜而产生负面影响，导致水稻种子萌发能力降低，代谢物产量减少，研究有助于探索具有高 GABA 和必需氨基酸含量的适合水稻种子萌发的过程和条件^[37]。

表 2 空间代谢组技术在植物研究中的应用汇总
Table 2 Summary of applications of spatially resolved metabolomics in plant research

物种 Plant species	代谢组技术 Metabolomics technology	组织 Tissues	成像代谢物质 Imaging metabolites	文献 Reference
玉米 <i>Zea mays</i> L.	MALDI-MSI	种子	糖类、氨基酸类、脂质类	[22]
水稻 <i>Oryza sativa</i> L.	MALDI-MSI、GC-MS	种子	γ-氨基丁酸、氨基酸	[37]
茶 <i>Camellia sinensis</i> (L.) O. Kuntze	DESI-MSI	叶、根	ECG/CG、EGCG/GCG、没食子酸、EC/C、EGC/GC、assamicain A、L-茶氨酸和缬氨酸	[38]
马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i> L.	MALDI-MSI	块茎	糖基生物碱	[39]
牡丹 <i>Paeonia suffruticosa</i> Andr.、芍药 <i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	MALDI-MSI、LC-MS	根	单萜、丹皮酚苷类、鞣质类、黄酮类、糖类和脂类	[40]
银杏 <i>Ginkgo biloba</i> L.	MALDI/LDI MSI	叶	黄酮、银杏酸、腰果酚、糖类、磷脂和叶绿素	[41]
长春花 <i>Catharanthus roseus</i> (L.) G. Don	MALDI-MSI	花	生物碱	[42]
香蕉 <i>Musa nana</i> Lour.	MALDI-TOF、GC-MS	果实	糖类、氨基酸和单胺类	[43]
蓝莓 <i>Vaccinium</i> spp.	LA-ESI-MSI	果皮	花青素	[44]
草莓 <i>Fragaria ananassa</i> Duch.	MALDI-TOF IMS	果实	柠檬酸、可溶性糖和花青素	[45]
枸杞 <i>Lycium chinense</i> Miller	MALDI-MSI	果实	柠檬酸、己糖	[46]
番茄 <i>Solanum lycopersicum</i> L.	MALDI-MSI	果实	甾体糖苷类生物碱、花青素和甜菜素	[47]
拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i> (L.) Heynh	DESI-MSI	叶	茉莉酸、水杨酸、脱落酸和生长素	[49]
板蓝根 <i>Isatis tinctoria</i> L.	DESI-MSI	根	3-醛基吡啶、吡啶酚、直铁线莲宁 B、胆碱、L-精氨酸、多巴胺和吡咯素	[54]
人参 <i>Panax ginseng</i> C. A. Mey	MALDI-MSI	根	皂苷	[56]
雷公藤 <i>Tripterygium wilfordii</i> Hook. f.	MALDI-MSI	根	三萜类化合物、雷公藤红素、倍半萜吡啶生物碱	[57]
丹参 <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge	DESI-MSI	根、叶	酚酸、丹参酮、琥珀酸和柠檬酸	[58]
光果甘草 <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	MALDI-MSI	根茎	三萜皂苷和黄酮	[59]
白芍 <i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	MALDI-MSI	根	没食子酸鞣质	[60]
灵芝 <i>Ganoderma lucidum</i> (Curtis) P. Karst.	LC-MS、DESI-MSI	子实体	灵芝酸	[61]

Liao 等^[38]采用 DESI-MSI 技术研究了茶（*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze）中代谢物在组织内的空间分布，确定了茶中某些特征代谢物在组织内的空间分布信息，其中，叶片两侧的儿茶素分布没有显著差异，ECG/CG、EGCG/GCG、没食子酸均匀分布在叶片两侧，EC/C、EGC/GC、assamicain A 分布在叶脉附近。Deng 等^[39]基于光学显微镜和 MALDI-MSI 联用技术对不同贮藏时间的马铃薯（*Solanum tuberosum* L.）块茎中糖基生物碱的含量及分布情况进行检测，结果表明随着贮藏时间的延长，髓质中 4 种糖基生物碱的相对含量增加较少，周皮增加较多，芽部增加最多。

通过空间代谢组构建物种代谢物空间分布图谱，有助于物种的识别。Li 等^[40]基于 MALDI-MSI 成像技术结合液相色谱-质谱（Liquid chromatograph mass spectrometry, LC-MS）代谢物检测技术，系统表征了牡丹（*Paeonia suffruticosa* Andr.）和芍药（*Paeonia lactiflora* Pall.）根中单萜、

丹皮酚苷类、鞣质类、黄酮类、糖类和脂类等多种代谢产物的空间分布。Li 等^[41]对银杏（*Ginkgo biloba* L.）叶、幼茎、根组织切片样本进行 MALDI 和激光/解吸电离（Laser desorption/ionization, LDI）质谱成像，结果表明，黄酮主要分布于银杏叶上下表皮中，银杏酸和腰果酚分布于分泌腔中，糖类、磷脂和叶绿素主要存在于叶肉细胞中。Dutkiewicz 等^[42]对几种长春花（*Catharanthus roseus* (L.) G. Don）生物碱的空间分布进行检测成像，通过空间代谢组解析了花瓣物质的积累特征，为深入了解植物生长发育特性提供了重要线索。

2.2 空间代谢组技术在植物品质检测中的研究进展

空间代谢组技术在植物品质改良育种中具有重要的应用价值。通过对植物代谢产物的分析和定量，帮助识别关键的代谢通路和深入了解植物的代谢调控机制，有利于我们识别关键的代谢途径和相关基因，从而为植物研究和育种工作提供重要的理论基础和实践指导，为植物品质改良和

农业生产发展做出贡献。

Yin 等^[43]采用基质辅助激光解吸电离飞行时间成像质谱(MALDI time-of-flight mass spectrometer, MALDI-TOF IMS)和常规 GC-MS 代谢组学分析方法,研究巴西和东莞香蕉(*Musa nana* Lour.)采后成熟过程中果肉内代谢物的空间分布和动态变化,结果表明,香蕉果肉中的双糖以三糖的形式共定位分布,而单糖则表现出不同的积累模式。Berisha 等^[44]利用 LA-ESI-MSI 技术鉴定出花青素主要分布在蓝莓(*Vaccinium spp.*)外表皮,并对蓝莓中氨基酸、碳水化合物和花青素在内的 41 种代谢物进行了鉴定。

Wang 等^[45]采用 MALDI-TOF IMS 技术,研究了草莓(*Fragaria ananassa* Duch.) 4 个不同成熟度阶段中柠檬酸、可溶性糖和花青素的分布差异,通过空间代谢组解析草莓果实成熟过程中的物质积累,为其品质研究的应用提供了重要基础。枸杞(*Lycium chinense* Miller)果实富含糖类、有机酸、生物碱、黄酮类和多酚等内源性分子,并且随着果实的发育而合成和降解,导致其空间分布和含量发生变化,从而对枸杞果实的营养、潜在功能价值和品质产生重要影响。Zhao 等^[46]首次利用 MALDI-MSI 表征了枸杞成熟过程中内源分子的分布和变化,在枸杞果实发育过程中,柠檬酸均匀分布在果实区域,并在成熟过程中被强烈代谢而减少,己糖主要积累在果皮和果肉中,并在发育过程中呈积累趋势。Dong 等^[47]利用超高质量分辨率 MALDI-MSI 技术对番茄(*Solanum lycopersicum* L.)果实中甾体糖苷类生物碱的合成途径进行了可视化分析,结果发现相应代谢物的分布模式与基因沉默模式高度相关,提供了一种直接的方法来研究确切的基因-代谢物关系。

2.3 空间代谢组技术在植物胁迫研究中的进展

除了对植物自身代谢物的空间分布和积累过程进行可视化外,空间代谢组技术还可用于研究植物对胁迫的响应机制^[48]。通过对植物在不同环境条件下的空间代谢组学分析,可以揭示植物在逆境胁迫下对环境的响应机制和适应策略。

为了研究机械损伤对拟南芥(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh)植物激素和代谢物水平的影响,Zhang 等^[49]通过 DESI-MSI 方法,揭示了拟南芥受伤叶片内部区域的激素差异,结果显示,

与对照叶片相比,损伤叶片部位表现出茉莉酸、水杨酸、脱落酸和生长素的特异积累,尤其是茉莉酸受到损伤的强烈诱导。Dai 等^[50]建立了一种新的空间分辨率靶向代谢组学方法,提供了包括儿茶素、生物碱、茶氨酸、茶黄素、黄酮醇、氨基酸和酚酸等 56 种内源代谢物的叶内定量分布信息,并能够区分茶叶中的异构体化合物,该方法在机械穿孔茶叶中的应用表明,收敛性儿茶素、槲皮素和槲皮素苷可能参与了茶树对损伤的反应,有助于了解茶树对生物和非生物胁迫的防御机制。

3 空间代谢组技术在药用植物研究中的应用

空间代谢组技术可以清晰直观地揭示药用植物成分在不同组织内的累积位点,为探索药用成分的生物合成机制提供新的参考^[51, 52]。MALDI 质谱成像技术作为一种新型的可视化技术,通过直接获得植物组织切片表面分子的组成、丰度及原位空间分布信息,从而精确定位药用植物的药效部位,有利于药用植物的资源开发与应用^[53]。

空间代谢组技术对药用植物的特征成分进行原位表征,在药用植物质量控制中具有广阔的应用前景。Nie 等^[54]利用 DESI-MSI 技术对板蓝根(*Isatis tinctoria* L.)中的 3-醛基吲哚、吲哚酚、直铁线莲宁 B 的空间分布信息进行了研究,首次在板蓝根中鉴定出了胆碱、L-精氨酸、多巴胺和吡咯素 4 种成分。2022 年,Nie 等^[55]确定 3-甲酰基吲哚、紫丁香苷和精氨酸等 11 个代谢物作为区分优质和劣质板蓝根的质量控制标志物。Bai 等^[56]通过 MALDI-MSI 研究了不同生长年限人参(*Panax ginseng* C. A. Mey)中皂苷的空间分布特征,并结合多变量分析方法区分鉴别 2、4 和 6 年生的人参药材,为提高人参的资源利用及中药材质量控制提供了重要依据。

此外,空间代谢组技术通过表征药用植物活性成分及其代谢物在不同组织器官整体或部分的的空间代谢分布,能够更加完整地呈现药用植物的代谢过程。Lange 等^[57]利用 MALDI-MSI 对雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook. f.)根中的特定代谢物分布进行了检测,发现三萜类化合物在含有木栓化的细胞壁中显著积累,雷公藤红素仅在根周皮中检测到,倍半萜吡啶生物碱在整个根皮层检

测到强烈信号,结果表明雷公藤药用成分在各组织部位的积累存在明显差别。丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)根在传统中药中应用广泛,Tong等^[58]对DESI-MSI方法进行了系统优化,进行了丹参不同组织中不同类别代谢产物的空间分布可视化。作为丹参中重要的生物活性代谢物,酚酸在皮质中特别丰富,丹参酮仅在周皮中检测到,茎中检测到的酚酸分布在皮层的外层,参与三羧酸循环的琥珀酸和柠檬酸主要位于花托内,通过空间代谢组技术获得丹参不同植物部位的详细空间和化学信息,为中药药用成分空间分布提供了新的研究策略。

甘草(*Glycyrrhiza glabra* L.)中的黄酮和三萜皂苷类物质为主要药用活性物质,Li等^[59]通过MALDI-MSI技术揭示了光果甘草根茎中三萜皂苷和黄酮的空间分布,甘草酸是光果甘草中重要的三萜皂苷类成分,广泛分布于木栓层、皮层、木质部和韧皮部,黄酮苷类成分主要存在于髓部、木质部和韧皮部。Li等^[60]利用MALDI-MSI直观揭示了没食子酸鞣质在白芍(*Paeonia lactiflora* Pall.)根中的分布特征,发现含没食子酰基的葡萄糖主要分布在木质部和木栓层,没食子酰葡萄糖在木质部导管、木质部纤维和皮层的含量上升。Xia等^[61]将LC-MS和DESI-MSI技术相结合,结合高灵敏度和可视化的优势,获得了灵芝(*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.) 4个不同成熟期不同区域的详细空间和化学信息。通过代谢组学初步鉴定出142种代谢物,对18个化合物的定量分析结果表明,各成熟阶段和各组织类型灵芝内灵芝酸的主要积累模式具有相关性,并随着发育而发生变化。综上,MSI技术有助于从空间角度了解药用植物的代谢物质、有益成分和药用成分的位置,更好地开发利用药用植物中有价值的部分。

随着质谱成像在揭示重要药用成分在植物组织中分布的广泛应用,空间代谢组技术将有利于探索药用植物的药理作用机制,从而提高药用植物特定成分富集过程的效率,促进对药用植物资源的有效利用。

4 空间代谢组技术在植物研究中的应用前景

随着MSI技术在空间分辨率和灵敏度方面的

提高,代谢物的空间成像水平将进入单细胞时代^[62]。单细胞水平的空间代谢组学能够可视化组织切片内的细胞间代谢差异,并提供单个细胞的详细代谢概况和生化变化^[63],这对于植物生长发育过程中代谢活动的研究具有重要意义。然而,空间代谢组在植物单细胞水平上的应用目前还处于起步阶段,在技术和方法上仍存在一些有待解决的问题。

在植物研究中,Wei等^[64]开发了一种脉冲直流电喷雾电离质谱(Pulsed direct current electrospray ionization mass spectrometry, Pulsed-dc-ESI-MS),利用恒定高压远程诱导产生单极性脉冲电喷雾,用来系统地分析和确定小体积样品中的成分,并将该方法应用到了洋葱单细胞中,在单个洋葱细胞中精准鉴定了162种代谢物以及28种不同修饰的多糖分子。Yamamoto等^[65]首次利用10 μm空间分辨率成像质谱和单细胞质谱(Live single-cell mass spectrometry)技术,对药用植物长春花中萜类吡咯生物碱(TIA)等抗肿瘤药物及其中间产物在单细胞水平进行了空间定位。结果显示,大多数TIA前体物质环烯醚萜定位于表皮细胞,但蛇根碱和长春碱等主要前体物质定位于异形细胞。

截至目前,空间代谢组技术在植物中的应用仍存在着许多挑战。植物细胞中的一些特殊结构,如角质层和蜡质层的存在会阻碍对植物叶片内源代谢分子的检测分析,为质谱成像制造困难^[66]。研究者经过多种方法学的探索与改良,在空间分辨率、仪器特异性和灵敏度等方面进行了调整,以尽可能地实现特定物质的准确鉴定和清晰成像^[67]。然而,目前空间代谢组在植物领域的应用仍有巨大的发展空间等待探索。

5 展望

空间代谢组技术是一种综合利用多种分析技术,对植物代谢物进行全面、高通量的分析方法,在揭示植物代谢物的空间分布特征方面具有独特的优势,能够帮助我们更加深入地了解植物的生长发育状况、适应能力以及应对外界环境变化的机制,在植物研究中具有广泛的应用前景。

空间代谢组在植物单细胞领域的应用仍处于起步阶段,在对单细胞进行快速、灵敏的原位分析,提供精准检测单个细胞所需的高空间分辨率

以确定植物代谢状态的研究上存在一定的挑战。未来,对植物空间代谢组技术的应用与推广不仅可以在基础研究中发挥重要作用,还可以为植物的育种改良、抗逆性提高以及农业生产的可持续发展等方面提供重要的理论依据和实践指导。随着技术的不断发展和完善,相信空间代谢组技术在植物研究中的应用前景将更加广阔。

参考文献:

- [1] Wurtzel ET, Kutchan TM. Plant metabolism, the diverse chemistry set of the future[J]. *Science*, 2016, 353 (6305): 1232–1236.
- [2] Etalo DW, de Vos RCH, Joosten MHAI, Hall RD. Spatially resolved plant metabolomics: some potentials and limitations of laser-ablation electrospray ionization mass spectrometry metabolite imaging[J]. *Plant Physiol*, 2015, 169 (3): 1424–1435.
- [3] Petras D, Jarmusch AK, Dorrestein PC. From single cells to our planet-recent advances in using mass spectrometry for spatially resolved metabolomics[J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2017, 36: 24–31.
- [4] DeBerardinis RJ, Keshari KR. Metabolic analysis as a driver for discovery, diagnosis, and therapy[J]. *Cell*, 2022, 185 (15): 2678–2689.
- [5] Lee YJ, Perdian DC, Song ZH, Yeung ES, Nikolau BJ. Use of mass spectrometry for imaging metabolites in plants[J]. *Plant J*, 2012, 70 (1): 81–95.
- [6] Johnson CH, Ivanisevic J, Siuzdak G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2016, 17 (7): 451–459.
- [7] Jun D, Feng YQ. Mass spectrometry-based metabolomics for clinical study: recent progresses and applications[J]. *TrAC Trends Anal Chem*, 2023, 158: 116896.
- [8] Beccaria M, Cabooter D. Current developments in LC-MS for pharmaceutical analysis[J]. *Analyst*, 2020, 145 (4): 1129–1157.
- [9] Nagana Gowda GA, Raftery D. NMR-based metabolomics[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1280: 19–37.
- [10] 郭凤丹,王兴军,侯蕾,赵术珍,厉广辉,夏晗.植物代谢组学研究进展[J].*山东农业科学*, 2017, 49 (12): 154–162.
- Guo FD, Wang XJ, Hou L, Zhao SZ, Li GH, Xia H. Research progress of metabolomics in plants[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2017, 49 (12): 154–162.
- [11] Ma X, Fernández FM. Advances in mass spectrometry imaging for spatial cancer metabolomics[J]. *Mass Spec-trom Rev*, 2024, 43 (2): 235–268.
- [12] Dyar KA, Eckel-Mahan KL. Circadian metabolomics in time and space[J]. *Front Neurosci*, 2017, 11: 369.
- [13] 王希,汤冬娥,蔡晚霞,尹良红,戴勇.空间代谢组学研究进展[J].*临床医学工程*, 2021, 28 (S1): 36–40.
- Wang X, Tang DE, Cai WX, Yin LH, Dai Y. Research process in spatially resolved metabolomics[J]. *Clinical Medicine & Engineering*, 2021, 28 (S1): 36–40.
- [14] Emwas AH. The strengths and weaknesses of NMR spectroscopy and mass spectrometry with particular focus on metabolomics research[J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1277: 161–193.
- [15] Markley JL, Brüschweiler R, Edison AS, Eghbalnia HR, Powers R, et al. The future of NMR-based metabolomics[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2017, 43: 34–40.
- [16] Buchberger AR, DeLaney K, Johnson J, Li LJ. Mass spectrometry imaging: a review of emerging advancements and future insights[J]. *Anal Chem*, 2018, 90 (1): 240–265.
- [17] He MJ, Pu WJ, Wang X, Zhang W, Tang D, Dai Y. Comparing DESI-MSI and MALDI-MSI mediated spatial metabolomics and their applications in cancer studies[J]. *Front Oncol*, 2022, 12: 891018.
- [18] 张琦玥,聂洪港.质谱成像技术的研究进展[J].*分析仪器*, 2018 (5): 1–10.
- Zhang QY, Nie HG. Advances in mass spectrometry imaging technology[J]. *Analytical Instrumentation*, 2018 (5): 1–10.
- [19] Qin L, Zhang YW, Liu YQ, He HX, Han MM, et al. Recent advances in matrix-assisted laser desorption/ionisation mass spectrometry imaging (MALDI-MSI) for *in situ* analysis of endogenous molecules in plants[J]. *Phytochem Anal*, 2018, 29 (4): 351–364.
- [20] 再帕尔·阿不力孜.质谱分子成像技术与应用进展[J].*分析测试学报*, 2022, 41 (9): 1335–1344
- Zeper-Abliz. Progress on mass spectrometry imaging technology and its application[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2022, 41 (9): 1335–1344.
- [21] Fujimura Y, Miura D. MALDI mass spectrometry imaging for visualizing *in situ* metabolism of endogenous metabolites and dietary phytochemicals[J]. *Metabolites*, 2014, 4 (2): 319–346.
- [22] Yin ZB, Huang WJ, Fernie AR, Yan SJ. Mass spectrometry imaging techniques: a versatile toolbox for plant metabolomics[J]. *Trends Plant Sci*, 2023, 28 (2): 250–251.
- [23] Tuck M, Grélard F, Blanc L, Desbenoit N. MALDI-MSI towards multimodal imaging: challenges and perspectives[J]. *Front Chem*, 2022, 10: 904688.
- [24] Anderton CR, Gamble LJ. Secondary ion mass spectrometry imaging of tissues, cells, and microbial systems[J]. *Microsc Today*, 2016, 24 (2): 24–31.
- [25] Marin Carbonne J, Kiss A, Bouvier AS, Meibom A, Baum-

- gartner L, *et al.* Surface analysis by Secondary Ion Mass Spectrometry (SIMS): principles and applications from Swiss laboratories[J]. *Chimia*, 2022, 76 (1-2): 26–33.
- [26] Tian H, Six DA, Krucker T, Leeds JA, Winograd N. Subcellular chemical imaging of antibiotics in single bacteria using C₆₀-secondary ion mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2017, 89 (9): 5050–5057.
- [27] Qi KK, Wu LT, Liu CY, Pan Y. Recent advances of ambient mass spectrometry imaging and its applications in lipid and metabolite analysis[J]. *Metabolites*, 2021, 11 (11): 780.
- [28] 殷志斌, 黄文洁, 伍欣宙, 晏石娟. 空间分辨代谢组学进展和挑战 [J]. 生物技术通报, 2021, 37 (1): 32–51.
- Yin ZB, Huang WJ, Wu XZ, Yan SJ. Spatially resolved metabolomics: progress and challenges[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2021, 37 (1): 32–51.
- [29] Coello Y, Jones AD, Gunaratne TC, Dantus M. Atmospheric pressure femtosecond laser imaging mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2010, 82 (7): 2753–2758.
- [30] Shrestha B, Patt JM, Vertes A. In situ cell-by-cell imaging and analysis of small cell populations by mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2011, 83 (8): 2947–2955.
- [31] Tanaka K, Waki H, Ido Y, Akita S, Yoshida Y, *et al.* Protein and polymer analyses up to *m/z* 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 1988, 2 (8): 151–153.
- [32] Zhu XP, Xu TY, Peng C, Wu SH. Advances in MALDI mass spectrometry imaging single cell and tissues[J]. *Front Chem*, 2022, 9: 782432.
- [33] He JJ, Luo ZG, Huang L, He JM, Chen Y, *et al.* Ambient mass spectrometry imaging metabolomics method provides novel insights into the action mechanism of drug candidates[J]. *Anal Chem*, 2015, 87 (10): 5372–5379.
- [34] Hieta JP, Kopra J, Räikkönen H, Kauppila TJ, Kostianen R. Sub-100 μm spatial resolution ambient mass spectrometry imaging of rodent brain with Laser Ablation Atmospheric Pressure Photoionization (LAAPPI) and Laser Ablation Electrospray Ionization (LAESI) [J]. *Anal Chem*, 2020, 92 (20): 13734–13741.
- [35] Huang MZ, Cheng SC, Cho YT, Shiea J. Ambient ionization mass spectrometry: a tutorial[J]. *Anal Chim Acta*, 2011, 702 (1): 1–15.
- [36] Jorge TF, Mata AT, António C. Mass spectrometry as a quantitative tool in plant metabolomics[J]. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*, 2016, 374 (2016): 20150370.
- [37] Kamijiam B, Suwannaporn P, Bednarz H, Na Jom K, Niehaus K. Elevation of gamma-aminobutyric acid (GABA) and essential amino acids in vacuum impregnation mediated germinated rice traced by MALDI imaging[J]. *Food Chem*, 2021, 365: 130399.
- [38] Liao YY, Fu XM, Zhou HY, Rao W, Zeng LT, Yang ZY. Visualized analysis of within-tissue spatial distribution of specialized metabolites in tea (*Camellia sinensis*) using desorption electrospray ionization imaging mass spectrometry[J]. *Food Chem*, 2019, 292: 204–210.
- [39] Deng YM, He MY, Feng F, Feng XS, Zhang Y, Zhang F. The distribution and changes of glycoalkaloids in potato tubers under different storage time based on MALDI-TOF mass spectrometry imaging[J]. *Talanta*, 2021, 221: 121453.
- [40] Li B, Ge JY, Liu W, Hu DJ, Li P. Unveiling spatial metabolome of *Paeonia suffruticosa* and *Paeonia lactiflora* roots using MALDI MS imaging[J]. *New Phytol*, 2021, 231 (2): 892–902.
- [41] Li B, Neumann EK, Ge JY, Gao W, Yang H, *et al.* Interrogation of spatial metabolome of *Ginkgo biloba* with high-resolution matrix-assisted laser desorption/ionization and laser desorption/ionization mass spectrometry imaging[J]. *Plant Cell Environ*, 2018, 41 (11): 2693–2703.
- [42] Dutkiewicz EP, Su CH, Lee HJ, Hsu CC, Yang YL. Visualizing vinca alkaloids in the petal of *Catharanthus roseus* using functionalized titanium oxide nanowire substrate for surface-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry[J]. *Plant J*, 2021, 105 (4): 1123–1133.
- [43] Yin ZB, Dong T, Huang WJ, Du MY, Chen D, *et al.* Spatially resolved metabolomics reveals variety-specific metabolic changes in banana pulp during postharvest senescence[J]. *Food Chem X*, 2022, 15: 100371.
- [44] Berisha A, Dold S, Guenther S, Desbenoit N, Takats Z, *et al.* A comprehensive high-resolution mass spectrometry approach for characterization of metabolites by combination of ambient ionization, chromatography and imaging methods[J]. *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2014, 28 (16): 1779–1791.
- [45] Wang J, Yang E, Chaurand P, Raghavan V. Visualizing the distribution of strawberry plant metabolites at different maturity stages by MALDI-TOF imaging mass spectrometry[J]. *Food Chem*, 2021, 345: 128838.
- [46] Zhao WH, Zhang YD, Shi YP. Visualizing the spatial distribution of endogenous molecules in wolfberry fruit at different development stages by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging[J]. *Talanta*, 2021, 234: 122687.
- [47] Dong YH, Sonawane P, Cohen H, Polturak G, Feldberg L, *et al.* High mass resolution, spatial metabolite mapping enhances the current plant gene and pathway discovery toolbox[J]. *New Phytol*, 2020, 228 (6): 1986–2002.
- [48] 张凤, 陈伟. 代谢组学在植物逆境生物学中的研究进展 [J]. 生物技术通报, 2021, 37 (8): 1–11

- Zhang F, Chen W. Research progress of metabolomics in plant stress biology[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2021, 37 (8): 1–11.
- [49] Zhang C, Žukauskaitė A, Petřík I, Pěnčík A, Hönig M, *et al.* *In situ* characterisation of phytohormones from wounded *Arabidopsis* leaves using desorption electrospray ionisation mass spectrometry imaging[J]. *Analyst*, 2021, 146 (8): 2653–2663.
- [50] Dai WD, Hu ZY, Xie DC, Tan JF, Lin Z. A novel spatial-resolution targeted metabolomics method in a single leaf of the tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. *Food Chem*, 2020, 311: 126007.
- [51] 黄烈岩, 聂黎行, 董静, 杨学欣, 贾晓飞, 姚令文. 质谱成像技术在中药研究中的应用现状 [J]. 药物分析杂志, 2022, 42 (10): 1675–1689.
- Huang LY, Nie LX, Dong J, Yang XX, Jia XF, Yao LW. Recent application of mass spectrometry imaging in traditional Chinese medicine[J]. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2022, 42 (10): 1675–1689.
- [52] Cobice DF, Goodwin RJA, Andren PE, Nilsson A, Mackay CL, Andrew R. Future technology insight: mass spectrometry imaging as a tool in drug research and development[J]. *Br J Pharmacol*, 2015, 172 (13): 3266–3283.
- [53] 赵杰, 冯素香. 空间代谢组学在中药研究中的应用 [J]. 中草药, 2023, 54 (20): 6569–6579.
- Zhao J, Feng SX. Application of spatial metabolomics in traditional Chinese medicine research[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2023, 54 (20): 6569–6579.
- [54] Nie LX, Dong J, Huang LY, Qian XY, Lian CJ, *et al.* Microscopic mass spectrometry imaging reveals the distribution of phytochemicals in the dried root of *Isatis tinctoria*[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 685575.
- [55] Nie LX, Huang LY, Wang XP, Lv LF, Yang XX, *et al.* Desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging illustrates the quality characters of *Isatidis radix*[J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 897528.
- [56] Bai HR, Wang SJ, Liu JJ, Gao D, Jiang YY, *et al.* Localization of ginsenosides in *Panax ginseng* with different age by matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry imaging[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2016, 1026: 263–271.
- [57] Lange BM, Fishedick JT, Lange MF, Srividya N, Šamec D, Poirier BC. Integrative approaches for the identification and localization of specialized metabolites in *Tripterygium* roots[J]. *Plant Physiol*, 2017, 173 (1): 456–469.
- [58] Tong Q, Zhang C, Tu Y, Chen JF, Li Q, *et al.* Biosynthesis-based spatial metabolome of *Salvia miltiorrhiza* Bunge by combining metabolomics approaches with mass spectrometry-imaging[J]. *Talanta*, 2022, 238: 123045.
- [59] Li B, Bhandari DR, Janfelt C, Römpp A, Spengler B. Natural products in *Glycyrrhiza glabra* (licorice) rhizome imaged at the cellular level by atmospheric pressure matrix-assisted laser desorption/ionization tandem mass spectrometry imaging[J]. *Plant J*, 2014, 80 (1): 161–171.
- [60] Li B, Bhandari DR, Römpp A, Spengler B. High-resolution MALDI mass spectrometry imaging of gallotannins and monoterpene glucosides in the root of *Paeonia lactiflora*[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36074.
- [61] Xia J, He XY, Yang W, Song HY, Yang JH, *et al.* Unveiling the distribution of chemical constituents at different body parts and maturity stages of *Ganoderma lingzhi* by combining metabolomics with desorption electrospray ionization mass spectrometry imaging (DESI) [J]. *Food Chem*, 2024, 436: 137737.
- [62] Yu XL, Liu ZX, Sun XW. Single-cell and spatial multi-omics in the plant sciences: technical advances, applications, and perspectives[J]. *Plant Commun*, 2023, 4 (3): 100508.
- [63] De Souza LP, Borghi M, Fernie A. Plant single-cell metabolomics-challenges and perspectives[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21 (23): 8987.
- [64] Wei ZW, Xiong XC, Guo CG, Si XY, Zhao YY, *et al.* Pulsed direct current electrospray: enabling systematic analysis of small volume sample by boosting sample economy[J]. *Anal Chem*, 2015, 87 (22): 11242–11248.
- [65] Yamamoto K, Takahashi K, Mizuno H, Anegawa A, Ishizaki K, *et al.* Cell-specific localization of alkaloids in *Catharanthus roseus* stem tissue measured with Imaging MS and Single-cell MS[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113 (14): 3891–3896.
- [66] Huang HJ, Liu HQ, Ma WW, Qin L, Chen LL, *et al.* High-throughput MALDI-MSI metabolite analysis of plant tissue microarrays[J]. *Plant Biotechnol J*, 2023, 21 (12): 2574–2584.
- [67] Qin SJ, Miao DY, Zhang X, Zhang Y, Bai Y. Methods developments of mass spectrometry based single cell metabolomics[J]. *TrAC Trends Anal Chem*, 2023, 164: 117086.

(责任编辑: 李惠英)