

基于离子淌度质谱技术的离子光谱研究进展

王娜¹, 粟雯¹, 张谛², 江游², 方向², 岳磊¹

(1. 湖南大学生物学院, 化学和生物化学质谱实验室, 化学生物传感与计量学国家重点实验室, 湖南长沙 410082;

2. 中国计量科学研究院, 北京 100013)

摘要: 离子光谱结合了质谱的高灵敏度和光谱的分子结构特异性的优势, 可对蛋白质、多肽、糖类、寡核苷酸等复杂体系进行结构表征和鉴定。但当存在同分异构体时, 离子光谱难以从叠加的谱图中得到单个异构体的光谱信息。离子淌度质谱技术可通过区分待测离子质荷比和分子空间尺寸差异来实现异构体的分离。离子淌度可以对异构体分离后分别引入到后续的光谱和质谱分析中, 减少了由异构体引起的光谱叠加问题, 光谱可以进一步验证离子淌度的分离效果, 因此质谱、光谱、离子淌度谱的有机结合在得到异构体精确光谱的同时, 也为离子淌度质谱分析带来了新的维度和深度。本文概述了近 20 年来基于各类离子淌度质谱技术的光谱仪器发展和应用情况, 总结目前存在的问题, 并展望多维度结构质谱的新需求。

关键词: 离子淌度谱 (ion mobility spectrometry, IMS); 离子光谱 (ion spectroscopy, IS); 结构质谱 (structural mass spectrometry, SMS); 低温离子光谱 (cold/cryogenic ion spectroscopy, CIS)

中图分类号: O657.63

文献标志码: A

文章编号: 1004-2997(2022)05-0635-08

doi: 10.7538/zpxb.2022.0155

Perspective on Developments in Ion Mobility Spectrometry-Mass Spectrometry Combined with Ion Spectroscopy

WANG Na¹, SU Wen¹, ZHANG Di², JIANG You², FANG Xiang², YUE Lei¹

(1. State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, Mass Spectrometry Lab of Bio-Chemistry, College of Biology, Hunan University, Changsha 410082, China;

2. China Institute of Metrology, Beijing 100013, China)

Abstract: Combined with mass spectrometry, ion spectroscopy can obtain a spectrum of the target ion by measuring its intensity change, which is induced by laser strength and wavelength. It integrates the high sensitivity of mass spectrometry and the structural specificity of spectroscopy, and thus proves to be very useful in structure characterization of complex biomolecules, such as proteins, peptides, glycans, oligonucleotides, etc. However, the electronic or vibrational spectra becomes too complex to be resolved when analyzing isomeric ions. Ion mobility spectrometry (IMS) allows ionized molecules to be separated on the basis of mobilities in the gas phase, and its coupling with electrospray and MALDI ion sources opens up possibilities for structural studies of a wide range of biomolecules in gas-phase. Ion mobility spectrometry coupled with mass

spectrometry has seen spectacular growth for the last two decades. The introduction of ion mobility to ion spectroscopy has been of growing attention in recent years. While IMS can be used as an isomer filter to reduce spectral congestion of ions, highly resolved ion spectra facilitates the identification of the isomer peaks separated by IMS. Taken together, spectra and collision cross section (CCS) measurements on the same system prove to be rather useful for structural analysis and provide clearer spectroscopic fingerprint to isomers. Therefore, this paper briefly summarized advances in ion spectroscopy research based on ion mobility-mass spectrometry technology, introduced representative researches, and prospected possible development in multi-dimensional structural mass spectrometry.

Key words: ion mobility spectrometry (IMS); ion spectroscopy (IS); structural mass spectrometry (SMS); cold/cryogenic ion spectroscopy (CIS)

质谱是现在广泛使用的分析技术之一。早期质谱只应用于物理学和元素化学领域,但四极杆质谱、离子阱质谱、飞行时间质谱、磁质谱、傅里叶变换离子回旋共振质谱等质量分析器的发展,给质谱带来了丰富的组装和应用的可能性^[1];电子轰击、化学电离、电喷雾电离、激光解吸电离等离子源的出现,实现了待测物的有效离子化;碰撞诱导解离(CID)、电子转移解离(ETD)等解离手段的研发拓展了质谱的研究领域^[2]。近年来,质谱成像、非变性质谱、临床质谱、结构质谱等新技术也在快速发展^[3-9]。但由于质谱本身只能得到分析物的质荷比,难以对复杂结构化合物进行定性分析。

基于质谱仪器的离子光谱技术的发展历史悠久,如红外多光子解离技术(infrared multiphoton dissociation, IRMPD)^[10-11]、紫外光解离技术(ultraviolet photodissociation, UVPD)^[12-13]、低温离子光谱(cold/cryogenic ion spectroscopy, CIS)^[14-16]等。离子光谱技术的原理是用激光激发特定质量数的离子,离子吸收光子后内能增加,通过分子内振动再分配(intramolecular vibrational redistribution, IVR)^[17]的过程转移能量,离子中较弱的化学键或非共价键发生解离,通过观测其不同波长激光作用下发生解离的变化过程得到相应的光谱图。如果离子对特定波长没有吸收或吸收很少,目标离子强度基本没有变化;如果可以吸收该波长的能量,目标离子则会产生相应的碎片离子。

近年来发展的低温离子光谱将特定离子冷却后以很弱的分子间相互作用力结合小分子标

签(如 He、N₂、H₂、D₂、Ar 等),通过给予激光作用使得这些小分子标签离去,此过程可以反映目标离子微小的结构差异变化^[14-16]。低温下的离子大部分会通过碰撞冷却稳定到全局或局域能量最低点附近,如,采用低温红外离子光谱检测时可以避免较多热振动的光谱信号,呈现清晰的分子骨架振动特征,极大地减少了理论预测的工作量,有助于在实验和理论上协同实现精确的分子结构分析。但使用低温离子光谱分析具有稳定异构体的分子时依然存在困难。这是因为异构体具有特异性的振转光谱,对激光波长的响应不同,每种异构体具有不同的光谱,这些异构体光谱信号的重叠不利于单个异构体的谱图提取和分析。

激光双共振技术可以选择一束合适波长的激光去除混合物中的一部分离子,再通过第二路激光分析剩余离子^[18-19]。由于光谱的灵敏性,激光双共振技术能够鉴别出很多构象异构体或同分异构体,但是需要足够丰富的离子囚禁在较小的空间中,按照不同的时间顺序分别受到2束激光的激发,在实际操作中费时费力。当混合物含有3种及以上异构体时,难以通过双共振实验同时去除大部分的干扰异构体,而多路的激光共振实验更加困难,缺乏实用价值。

离子淌度,又称离子迁移谱(IMS),是根据离子在电场和气体作用下碰撞截面积的差异或迁移率对电场变化响应的差异分离分析待测离子^[20-23]。由于离子淌度的分离时间只需要数毫秒或数十毫秒,因此既可单独作为检测器,也可以与各种类型的质谱仪联用。离子淌度与质谱

技术的联用可以同时区分待测物离子质荷比和分子空间尺寸的差异,因此在复杂体系分析中得到了广泛应用^[24-27]。基于离子淌度质谱(IMS-MS)技术的离子光谱可实现异构体选择性的光谱分析,提高离子淌度和质谱的定性分析能力。本文将介绍近年来发展的离子迁移质谱和离子光谱联用的各种不同装置及其在团簇分子、蛋白质、多肽、聚糖等复杂生物分子的应用情况,并对质谱在结构分析的新需求和新维度进行展望。

1 各类离子迁移谱、质谱和光谱技术结合的发展及应用

2002年,Fromherz等^[28]尝试将时间漂移管离子淌度质谱(DT-IMS-MS)与光电子能谱(PES)联用,首先使用脉冲电弧源产生团簇阴离子,然后将阴离子注入到充满He缓冲气的漂移管中,通过时间飞行质谱后被PES检测,其装置示于图1。该仪器成功地分离了碳团簇($C_n, n=5\sim 13$)的环状和链状异构体,分别得到了相对应的异构体的光电子能谱,与单独使用PES测得的参考谱图重合度较高。该IMS末端使用相对较大的锥孔(0.2~0.4 mm)用于减少注入的离子损失,以确保有足够的离子信号用于光电子能谱分析。但该装置实际测得的传输效率只有约2%,分辨率和灵敏度均不足。2011年,Weis等^[29]引入离子漏斗技术^[30],极大地减少了离子损失,研发了可实现生物分子构象选择的DT-IMS-PES-MS仪器,通过IMS分离寡核苷酸离子得到了4个可分辨峰,并确

定了每个峰对应的光电子能谱图。

2011年,Rizzo等^[31-32]将高场不对称离子迁移谱(high-field asymmetric-waveform ion-mobility spectrometry, FAIMS)与低温离子光谱(CIS-UV-PD)^[14]联用,通过FAIMS分析得到了缓激肽 $[bk+2H]^{2+}$ 的2种构象异构体离子,紫外激光激发得到的2个谱图与混合物谱图中的谱线一一对应,表明IMS与离子光谱联用可以很好地分析异构体。但同时发现,缓激肽离子经过FAIMS时,在高电场中会与缓冲气体碰撞吸收能量发生不必要的异构化,增加了谱图的复杂性。从原理上看,FAIMS可以与CIS-UV-PD有效联用,DTIMS也可与之联用,相比之下,后者使用的电场更低,更容易控制构象异构化;若将冷离子光谱与DTIMS联用,可以在很大程度上减少分子离子本身带来的异构化,得到更准确的信息。

2013年,Zenobi等^[33]将差分迁移谱技术(differential mobility analyzer, DMA)与激光诱导荧光光谱(laser-induced fluorescence, LIF)联用,实现了同时提取气相离子的电迁移率和荧光光谱的二维信息,仪器示意图示于图2a。LIF可通过测定蛋白质的结合位点、构象跃迁或分子内距离而获得分子结构信息。DMA相比于传统的DTIMS具有更高的传输效率(可达50%),比通过离子门产生脉冲离子束的IMS更具优势。该课题组使用罗丹明染料作为参考物得到迁移率和LIF光谱,然后单独使用IMS和LIF对其进行检测,重合度较好,证明该仪器可用于不同染料及其共轭化合物的气相荧光研究。2014年,该课题组^[35]对仪器进行了部分改进,包括DMA输入孔的离子漏斗界面和DMA输出孔的喷嘴束。改进后的仪器不仅可以检测染料及其团簇,还可以从荧光标记的生物分子中检测到荧光光谱。绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)具有独特的性质,其只在自然状态下发出荧光,一旦结构稍有变化荧光会消失。在高真空离子回旋共振光谱仪上,GFP在真空状态下的荧光消失^[34],但在改进的仪器上首次探测到GFP在气相中发出荧光,示于图2b。表明这种方法需要的高真空环境质谱对生物分子是温和的,也证明一些生物荧光分子从液相转移到气相时可以保持液相中的结构^[35]。

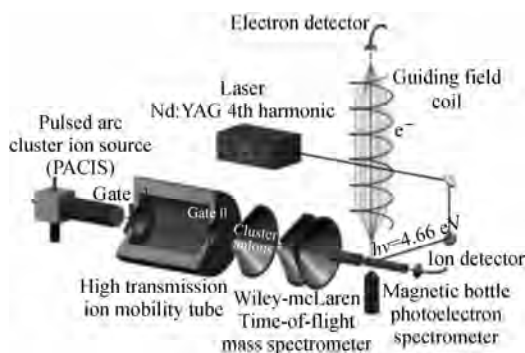
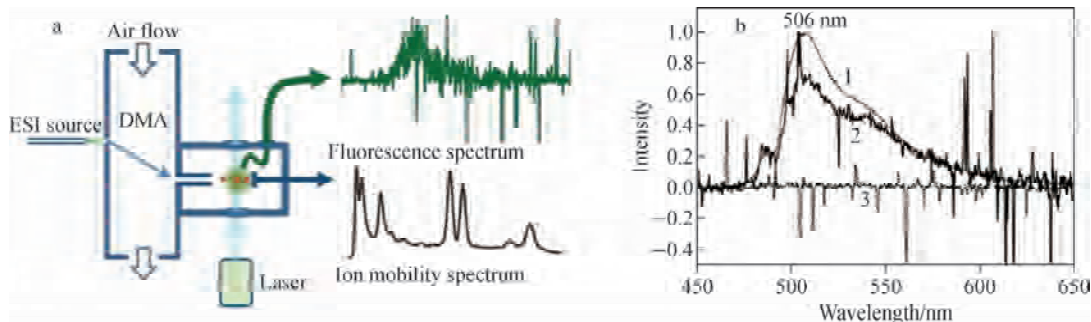


图1 IMS-TOF-PES仪器示意图^[28]

Fig. 1 Schematic diagram of IMS-TOF-PES instrument^[28]



注:1. 在液相中;2,3. 使用 DMA 在气相中;DMA 出口处电压 1 800~2 200 V(2) 和 500~1 500 V(3)

图 2 DMA-LIF 仪器示意图(a)^[33] 和 GFP 的荧光光谱(b)^[35]

Fig. 2 Schematic diagram of DMA-LIF instrument (a) and fluorescence spectrum of GFP (b)^[35]

2015年, Pagel等^[36]使用离子淌度质谱结合多光子红外解离光谱技术(ion mobility-mass spectrometry-IR multi-photo dissociation spectroscopy, IM-MS-IRMPD)研究电喷雾离子化产生的离子在气相和液相中不同离子位点的竞争性问题^[37-40]。该课题组选取对氨基苯甲酸乙酯类化合物苯佐卡因作为标准模型,采用自由电子激光器(free electron lasers, FEL)对其在中红外范围内的IR振动光谱和IMS-MS进行研究。实验得到同时具有 m/z 和漂移时间分辨的IR光谱,分离鉴定了2个质子化位点不同的异构体,示于图3。理论计算进一步表明,质子的首选位置可能会随周围介质的电性质而发生显著变化^[36]。该工作融合了离子淌度、质谱、红外解离光谱技术,为研究电喷雾过程中离子位点的竞争性问题提供参考。

2018年, Chivot等^[41]将IMS与荧光共振能量转移(fluorescence/Förster resonance energy

transfer, FRET)联用探测气相离子结构。FRET广泛应用于生物大分子相互作用、细胞生理研究、免疫分析等领域,对特定距离的变化探测灵敏。该报道通过精准地控制离子注入和激光激发时间,选择性激发不同时间相关的离子,测量离子相应的损耗得到对应的FRET光谱。其通过研究肽类化合物QSY7作为模型展示IMS-FRET测量的可能性,将该装置扩展到对代表性蛋白泛素的研究。

为了分析糖类化合物,2017年,Rizzo等^[42-43]将传统的时间漂移管离子淌度(DTIMS)与低温离子光谱(CIS)联用,对具有代表性的2种亚类糖胺聚糖,即硫酸软骨素(chondroitin sulfate, CS)和硫酸乙酰肝素(heparan sulfate, HS)异构体双糖进行鉴定。CS和HS双糖异构体在连接、化学组成和硫酸盐基团位置上的微小差异使得它们的漂移时间差别不大,但由于OH的氢键模式不同,可以观察到二者在 $3\ 200\sim 3\ 700\text{ cm}^{-1}$ 的红外振动指纹图谱明显不同,因此可以进行特异性识别和鉴定,示于图4。低温红外光谱技术的应用提高了振动光谱的分辨率,使得对结构的细微变化感应更灵敏,对于识别结构非常相似的异构体至关重要。2018年,为了验证IMS-CIS-MS联用方法的普适性,Rizzo等^[43-44]对母乳中的低聚糖进行异构体分离鉴定,尽管漂移时间相似,但这些糖类异构体在氢键伸缩振动区域的光谱截然不同,因此可作为指纹图谱的重要参考。

由于DTIMS的分辨率有限,即使1.8 m漂移管分离长度的分辨率也不到100,难以有效分离糖类异构体。2019年,Rizzo等^[45-46]将

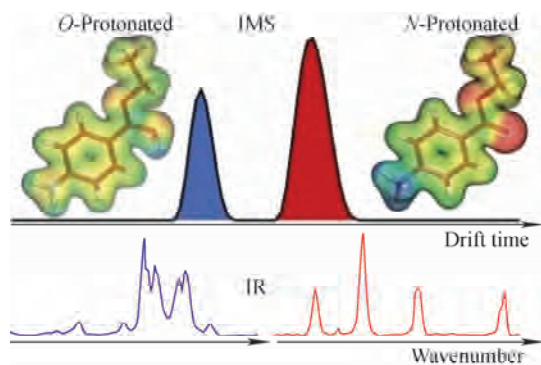


图 3 IM-MS-IRMPD 探测的苯佐卡因 IR 光谱图^[36]

Fig. 3 IR spectra of benzocaine by IM-MS-IRMPD^[36]

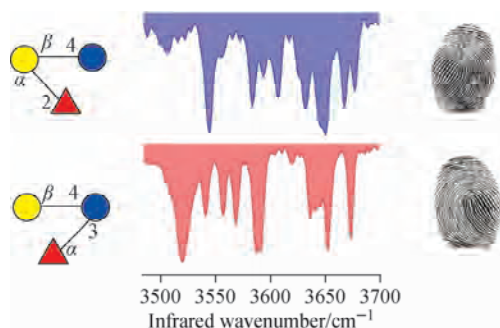


图4 使用IMS-MS-CIS探测的硫酸软骨素和硫酸乙酰肝素的红外振动光谱^[42-43]

Fig. 4 IR vibrational spectra of CS and HS by IMS-MS-CIS instrument^[42-43]

基于无损离子传输技术(structures for lossless ion manipulation, SLIM)的离子淌度与MS、CIS联用,示于图5。SLIM技术是Smith于2014年提出的一种离子淌度新技术^[47-48],其分辨率比传统的DTIM技术具有更大的优势,主要由于其分辨率与漂移路径长度的平方根近似成比例,在离子损耗很少的情况下,可以通过相同的SLIM结构反复循环分离,直至达到所需的分辨率。该课题组在15 cm×15 cm的印刷电路板(PCB)上实现了这项技术,具有1.8 m的单次路径长度,离子分离后可进入低温离子

阱,也可以被送回PCB的起始处完成另一个IM分离循环,直至达到所需的分辨率。该课题组^[45-46]继续探索基于SLIM-CIS-MS的糖鉴定,并比较其与同一双糖分子上的IR-IR双共振光谱。利用该方法结合¹⁸O同位素标记,可以实现快速有效分离一系列二糖在溶液中的 α 和 β 异头体(anomer),再根据各异构体的IR光谱进行识别。2020年,在SLIM-CIS-MS基础上,Yue等^[49]搭建了可进行诱导碰撞解离的长距离无损离子传输离子淌度(SLIM-XL)、质谱和低温离子光谱相结合的仪器(SLIM XL-CID-CIS-MS),该仪器单次SLIM-IM具有7.5 m分离距离,分辨率达200,8次循环分辨率可超过600。类似源内裂解接口的设计实现了异构体选择性的CID,通过低温离子光谱分析碎片离子,最终实现不同糖类化合物的分离分析^[49-50]。2021年,Warnke等^[51]搭建了可以进行高通量低温离子光谱的无损离子传输离子淌度-质谱-多通道低温离子光谱仪(SLIM-multi-trap-CIS-MS),将IMS分离的异构体储存在阵列低温离子阱中,通过一次激光激发实现多个异构体的解离,极大地提高了异构体的光谱分析通量,单次分析时间从10 min缩短至30 s,为商业化应用奠定了基础。

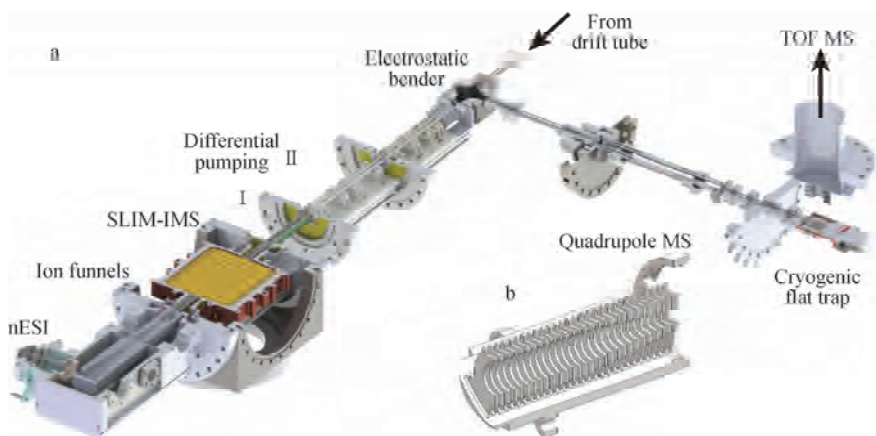


图5 高分辨SLIM-MS-CIS仪器示意图^[47-48]

Fig. 5 Schematic diagram of high-resolution SLIM-MS-CIS instrument^[47-48]

2 总结及展望

IMS-MS与光谱的协同作用能够为分子离子的结构表征提供强大的分析手段。采用IMS与IS联用鉴定气相生物分子离子结构具

有较多优势:一方面,IMS可以减少同分异构体或构象异构体引起的光谱重叠,便于结构分析;另一方面,分子特异性的离子光谱可以作为IMS精确的异构体区分标尺,能够有效提高分

分辨率、检测数量和效率。值得注意的是,采用IMS辅助离子光谱进行异构体分离需要满足以下条件:1)能够分离出给定离子的同分异构体;2)被分离的异构体需要在实验时间尺度上具有稳定性;3)尽量避免迁移谱分离后和光谱分析前的离子发生结构变化。

以葡萄糖的异构体分析为例,展望质谱在结构分析方面的应用。葡萄糖在溶液中存在2种可以相互转换的异头体(α -D-glucose, β -D-glucose)。Jonathan等^[52]通过IR-IR双共振光谱技术成功鉴定了[葡萄糖+钠]⁺的8种构象异构体,其中包括3个 α -构象和5个 β -构象。然而,虽然具有超过600的IM分辨能力(目前商品化离子淌度的极限分辨能力),SLIM/CIS仅能实现[葡萄糖+钠]⁺的2种异头体分离和低温离子振动光谱分析^[45-46]。这表明在超高分辨离子淌度分离和高分辨低温离子光谱中会遗漏部分构象异构体信息,而这类情况可能是广泛存在而被长期忽视的。未来开发高分辨率、检测快速的离子淌度技术、不同类型的光谱技术,以及各类创新性组合的离子淌度质谱联用技术非常重要。

参考文献:

- [1] GLISH G L, VACHET R W. The basics of mass spectrometry in the twenty-first century [J]. Nat Rev Drug Discovery, 2003, 2(2): 140-150.
- [2] DOMON B, AEBERSOLD R. Mass spectrometry and protein analysis [J]. Science, 2006, 312(5771): 212-217.
- [3] WU C, DILL A L, EBERLIN L S, COOKS R G, IFA D R. Mass spectrometry imaging under ambient conditions [J]. Mass Spectrom Rev, 2013, 32(3): 218-243.
- [4] HECK A J. Native mass spectrometry: a bridge between interactomics and structural biology [J]. Nat Meth, 2008, 5(11): 927-933.
- [5] CHACE D H. Mass spectrometry in the clinical laboratory [J]. Chem Rev, 2001, 101(2): 445-478.
- [6] BIEMANN K. Contributions of mass spectrometry to peptide and protein structure [J]. Biomed Environ Mass Spectrom, 1988, 16(1/2): 99-111.
- [7] DELL A, MORRIS H R. Glycoprotein structure determination by mass spectrometry [J]. Science, 2001, 291(5512): 2351-2356.
- [8] KIND T, FIEHN O. Advances in structure elucidation of small molecules using mass spectrometry [J]. Bioanal Rev, 2010, 2(1): 23-60.
- [9] LEITNER A, FAINI M, STENGEL F, AEBERSOLD R. Crosslinking and mass spectrometry: an integrated technology to understand the structure and function of molecular machines [J]. Trends Biochem Sci, 2016, 41(1): 20-32.
- [10] ARAI S, SUGITA K, MA P, ISHIKAWA Y, KAETSU H, ISOMURA S. Two-stage IRMPD process for practical ¹³C enrichment. CHCl₃/Br₂ mixtures [J]. Chem Phys Lett, 1988, 151(6): 516-519.
- [11] CROWE M C, BRODBELT J S. Infrared multiphoton dissociation (IRMPD) and collisionally activated dissociation of peptides in a quadrupole ion trap with selective IRMPD of phosphopeptides [J]. J Am Soc Mass Spectrom, 2004, 15(11): 1581-1592.
- [12] INOKUCHI Y, BOYARKIN O V, KUSAKA R, HAINO T, EBATA T, RIZZO T R. UV and IR spectroscopic studies of cold alkali metal ion-crown ether complexes in the gas phase [J]. J Am Chem Soc, 2011, 133(31): 12256-12263.
- [13] REILLY J P. Ultraviolet photofragmentation of biomolecular ions [J]. Mass Spectrom Rev, 2009, 28(3): 425-447.
- [14] SVENDSEN A, LORENZ U J, BOYARKIN O V, RIZZO T R. A new tandem mass spectrometer for photofragment spectroscopy of cold, gas-phase molecular ions [J]. Rev Sci Instrum, 2010, 81(7): 073107.
- [15] WOLK A B, LEAVITT C M, GARAND E, JOHNSON M A. Cryogenic ion chemistry and spectroscopy [J]. Acc Chem Res, 2014, 47(1): 202-210.
- [16] ROITHOVÁ J, GRAY A, ANDRIS E, JASIK J, GERLICH D. Helium tagging infrared photodissociation spectroscopy of reactive ions [J]. Acc Chem Res, 2016, 49(2): 223-230.
- [17] STANNARD P R, GELBART W M. Intramolecular vibrational energy redistribution [J]. J Phys Chem, 1981, 85(24): 3592-3599.
- [18] PLÜTZER C, NIR E, de VRIES M, KLEIN-

- ERMANN S K. IR-UV double-resonance spectroscopy of the nucleobase adenine[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2001, 3(24): 5 466-5 469.
- [19] LEAVITT C M, WOLK A B, FOURNIER J A, KAMRATH M Z, GARAND E, van STIPDONK M J, JOHNSON M A. Isomer-specific IR-IR double resonance spectroscopy of D2-tagged protonated dipeptides prepared in a cryogenic ion trap[J]. *J Phy Chem Lett*, 2012, 3(9): 1 099-1 105.
- [20] EICEMAN G A, KARPAS Z. Ion mobility spectrometry[M]. CRC Press, 2005.
- [21] KANU A B, DWIVEDI P, TAM M, MATZ L, HILL Jr H H. Ion mobility-mass spectrometry[J]. *J Mass Spectrom*, 2008, 43(1): 1-22.
- [22] EICEMAN G A. Advances in ion mobility spectrometry: 1980-1990[J]. *Crit Rev Anal Chem*, 1991, 22 (1/2): 471-490.
- [23] DODDS J N, BAKER E S. Ion mobility spectrometry: fundamental concepts, instrumentation, applications, and the road ahead[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2019, 30(11): 2 185-2 195.
- [24] GABELICA V, SHVARTSBERG A A, AFONSO C, BARRAN P, BENESCH J L, BLEIHOLDER C, BOWERS M T, BILBAO A, BUSH M F, CAMPBELL J L. Recommendations for reporting ion mobility Mass Spectrometry measurements[J]. *Mass Spectrom Rev*, 2019, 38(3): 291-320.
- [25] WU Q, WANG J Y, HAN D Q, YAO Z P. Recent advances in differentiation of isomers by ion mobility mass spectrometry[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2020, 124: 115 801.
- [26] LAPHORN C, PULLEN F, CHOWDHRY B Z. Ion mobility spectrometry-mass spectrometry (IMS-MS) of small molecules: separating and assigning structures to ions[J]. *Mass Spectrom Rev*, 2013, 32(1): 43-71.
- [27] COLLINS D, LEE M. Developments in ion mobility spectrometry-mass spectrometry[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2002, 372(1): 66-73.
- [28] FROMHERZ R, GANTEFÖR G, SHVARTSBERG A A. Isomer-resolved ion spectroscopy[J]. *Phys Rev Lett*, 2002, 89(8): 083 001.
- [29] VONDERACH M, EHRLER O T, WEIS P, KAPPES M M. Combining ion mobility spectrometry, mass spectrometry, and photoelectron spectroscopy in a high-transmission instrument[J]. *Anal Chem*, 2011, 83(3): 1 108-1 115.
- [30] SHAFFER S A, PRIOR D C, ANDERSON G A, UDSETH H R, SMITH R D. An ion funnel interface for improved ion focusing and sensitivity using electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Anal Chem*, 1998, 70(19): 4 111-4 119.
- [31] PAPADOPOULOS G, SVENDSEN A, BOYARKIN O V, RIZZO T R. Spectroscopy of mobility-selected biomolecular ions[J]. *Faraday Discuss*, 2011, 150: 243-255.
- [32] PAPADOPOULOS G, SVENDSEN A, BOYARKIN O V, RIZZO T R. Conformational distribution of bradykinin $[bk + 2H]^{2+}$ revealed by cold ion spectroscopy coupled with FAIMS[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2012, 23(7): 1 173-1 181.
- [33] FRANKEVICH V, MARTINEZ-LOZANO SINUES P, BARYLYUK K, ZENOBI R. Ion mobility spectrometry coupled to laser-induced fluorescence[J]. *Anal Chem*, 2013, 85(1): 39-43.
- [34] ZIMMER M. Green fluorescent protein (GFP): applications, structure, and related photophysical behavior[J]. *Chem Rev*, 2002, 102(3): 759-782.
- [35] FRANKEVICH V E, BARYLYUK K V, MARTINEZ-LOZANO SINUES P, ZENOBI R. Ion mobility spectrometry coupled to laser-induced fluorescence for probing the electronic structure and conformation of gas-phase ions[J]. *J Anal Chem*, 2014, 69(13): 1 215-1 219.
- [36] WARNKE S, SEO J, BOSCHMANS J, SOBOTT F, SCRIVENS J H, BLEIHOLDER C, BOWERS M T, GEWINNER S, SCHÖLLKOPF W, PAGEL K. Protomers of benzocaine: solvent and permittivity dependence[J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137(12): 4 236-4 242.
- [37] TIAN Z, KASS S R. Gas-phase versus liquid-phase structures by electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 121(7): 1 347-1 349.
- [38] CHANG T M, PRELL J S, WARRICK E R, WILLIAMS E R. Where's the charge? Protonation sites in gaseous ions change with hydration[J]. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(38): 15 805-15 813.
- [39] CHAI Y, HU N, PAN Y. Kinetic and thermo-

- dynamic control of protonation in atmospheric pressure chemical ionization[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2013, 24(7): 1 097-1 101.
- [40] FÉRAUD G, ESTEVES-LOPEZ N, DEDONDER-LARDEUX C, JOUVET C. UV spectroscopy of cold ions as a probe of the protonation site[J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2015, 17(39): 25 755-25 760.
- [41] DALY S, MacALEESE L, DUGOURD P, CHIROT F. Combining structural probes in the gas phase-ion mobility-resolved action-FRET[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2017, 29(1): 133-139.
- [42] KHANAL N, MASELLIS C, KAMRATH M Z, CLEMMER D E, RIZZO T R. Glycosaminoglycan analysis by cryogenic messenger-tagging IR spectroscopy combined with IMS-MS[J]. *Anal Chem*, 2017, 89(14): 7 601-7 606.
- [43] KAMRATH M Z, RIZZO T R. Combining ion mobility and cryogenic spectroscopy for structural and analytical studies of biomolecular ions[J]. *Acc Chem Res*, 2018, 51(6): 1 487-1 495.
- [44] KHANAL N, MASELLIS C, KAMRATH M Z, CLEMMER D E, RIZZO T R. Cryogenic IR spectroscopy combined with ion mobility spectrometry for the analysis of human milk oligosaccharides[J]. *Analyst*, 2018, 143(8): 1 846-1 852.
- [45] WARNKE S, FALEH A B, PELLEGRINELLI R P, YALOVENKO N, RIZZO T R. Combining ultra-high resolution ion mobility spectrometry with cryogenic IR spectroscopy for the study of biomolecular ions[J]. *Faraday Discuss*, 2019, 217: 114-125.
- [46] BEN FALEH A, WARNKE S, RIZZO T R. Combining ultrahigh-resolution ion-mobility spectrometry with cryogenic infrared spectroscopy for the analysis of glycan mixtures[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(7): 4 876-4 882.
- [47] TOLMACHEV A V, WEBB I K, IBRAHIM Y M, GARIMELLA S V, ZHANG X, ANDERSON G A, SMITH R D. Characterization of ion dynamics in structures for lossless ion manipulations[J]. *Anal Chem*, 2014, 86(18): 9 162-9 168.
- [48] ZHANG X, GARIMELLA S V, PROST S A, WEBB I K, CHEN T C, TANG K, TOLMACHEV A V, NORHEIM R V, BAKER E S, ANDERSON G A. Ion trapping, storage, and ejection in structures for lossless ion manipulations[J]. *Anal Chem*, 2015, 87(12): 6 010-6 016.
- [49] YUE L, PELLEGRINELLI R, CARRASCOSA E, WARNKE S, FALEH A, RIZZO T. A new ion mobility tandem mass spectrometer for isomer-specific fragmentation and cryogenic IR spectroscopy of glycans[J]. *ASMS*, 2020, doi: 10.13140/RG.2.2.21237.81129.
- [50] PELLEGRINELLI R P, YUE L, CARRASCOSA E, WARNKE S, BEN FALEH A, RIZZO T R. How general is anomeric retention during collision-induced dissociation of glycans?[J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(13): 5 948-5 951.
- [51] WARNKE S, BEN FALEH A, RIZZO T R. Toward high-throughput cryogenic IR fingerprinting of mobility-separated glycan isomers[J]. *ACS Meas Sci Au*, 2021, 1(3): 157-164.
- [52] VOSS J M, KREGEL S J, FISCHER K C, GARAND E. IR-IR conformation specific spectroscopy of Na⁺ (Glucose) adducts[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2017, 29(1): 42-50.

(收稿日期:2022-09-01;修回日期:2022-09-15)