

应用成像质谱显微镜对佩奥特掌 (Peyote) 植株本体与花中的麦司卡林进行空间分布研究

IMS-007

摘要： 本文应用岛津成像质谱显微镜 iMScope QT 对佩奥特掌 (Peyote) 植株本体与花中的麦司卡林的空间分布进行了分析，发现麦司卡林在导管相对集中的区域含量更高，为司法检测中微损取材提供参考，同时也为麦司卡林合成与运输机制的研究提供了线索。

关键词： 成像质谱显微镜 iMScope QT 麦司卡林 空间分布

麦司卡林是佩奥特掌 (Peyote, 拉丁名为 *Lophophora williamsii*, 隶属于仙人掌科仙人掌属) 的次级代谢产物，因其致幻性被列为管制。不同种属的仙人掌外观极度相似，非专业人士无法仅凭外观区分，不少非法分子以佩奥特掌充作普通仙人掌进行非法交易。液相色谱串联质谱 (LC-MS/MS) 法是进行佩奥特掌鉴别的传统方法，但该方法前处理复杂，对植物的破坏性极大，且无法获得其在植株中的位置信息。麦司卡林在植株和花不同部位的分布并不均匀，了解麦司卡林在植物体内不同位置的空间分布信息可以帮助技术

人员精准确认取材部位，减少对植株的破坏。岛津成像质谱显微镜 iMScope QT，前端搭载高分辨光学显微镜以及大气压基质辅助激光解吸电离源，后端为 Q-TOF 质谱仪，既可以对样品进行形态学上的细微观察，又可以得到样品上特定部位化合物的分布信息，用一台仪器即可实现检测物质的定性、定量以及定位分析。本文应用岛津成像质谱显微镜 iMScope QT 对麦司卡林在植株本体和花的不同部位中的空间分布信息进行了分析，为佩奥特掌微损取材提供线索。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津成像质谱显微镜 iMScope QT

1.2 仪器参数

分析模式：正离子模式

像素间距：30 μm *30 μm

激光能量：45 (范围 0-100)

扫描频率：2000 Hz

检测器电压：2.40 kV

激光器：355 nm YAG 激光器

激光照射直径：5 μm

激光照射次数：200 shots

扫描范围：m/z 50-400



图 1 岛津成像质谱显微镜 iMScope QT

1.3 试剂与样品

基质: DCTB (反式 -2-[3-(4-叔丁基苯基)-2-甲基-2-亚丙烯基]丙二腈)、CHCA (α -氰基-4-羟基肉桂酸)、DHB (2,5-二羟基苯甲酸)、9-AA (9-氨基吡啶)、super-DHB、葱三酚、DHAP (2,5-二羟基苯乙酮)

标准品: 麦司卡林 (分子式: $C_{11}H_{17}NO_3$, MW_{mono} : 211.1208 Da)

样品: 佩奥特掌植株、花萼、花瓣、雄蕊、雌蕊

1.4 样品前处理

样品准备: 将植株样品冷冻包埋后固定在冰冻切片机上制作切片, 切片厚度为 40 μm , 将切片贴在导电载玻片上。花萼、花瓣、雄蕊、雌蕊通过导电双面胶直接粘贴在载玻片上。

基质涂敷: 使用手动喷枪在导电载玻片上喷涂 DCTB (反式 -2-[3-(4-叔丁基苯基)-2-甲基-2-亚丙烯基]丙二腈) 基质 (使用少量二氯甲烷溶解, 加入乙腈稀释至 10 mg/mL), 将载玻片送入成像质谱显微镜进行分析。

■ 结果与讨论

2.1 标准品测试与基质筛选

选用 CHCA (α -氰基-4-羟基肉桂酸)、DHB (2,5-二羟基苯甲酸)、9-AA (9-氨基吡啶)、super-DHB、葱三酚、DCTB、DHAP (2,5-二羟基苯乙酮) 等七种基质分别测试麦司卡林标准品 (分子式: $C_{11}H_{17}NO_3$, MW_{mono} : 211.1208 Da), 考察基质对样品的辅助离子化效果。当以 DCTB 为基质时, 在正离子模式下, 标准品的一级质谱综合响应情况最好、信号强度最高 (图 2), 质谱图上可见 m/z 212.1282 的离子峰, 为麦司卡林的氢离子加合峰 ($[M+H]^+$, 理论值为 m/z 212.1287), 故选择 DCTB 作为后续分析用的基质。

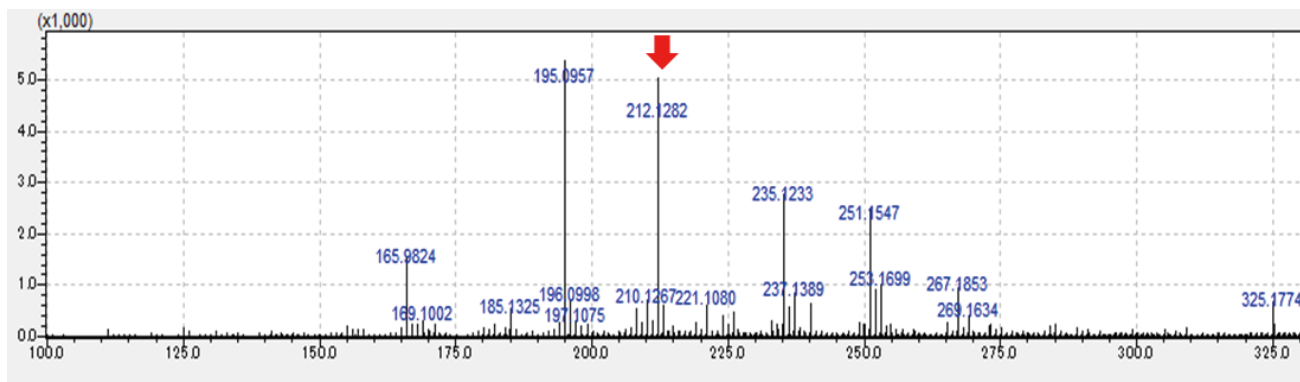


图 2 麦司卡林标准品质谱图

2.2 植株中麦司卡林的空间分布分析

将植株冷冻包埋后制作切片, 分成根部、中部、顶部三部分分别进行质谱采集, 采集的数据使用 IMAGEREVEAL MS 软件设定 ROI 区域进行分析, 分析质量误差设定为 20 ppm。植株外观、光学图像及 ROI 区域设定见图 3。麦司卡林在植株各区域的定量分析结果见表 1。

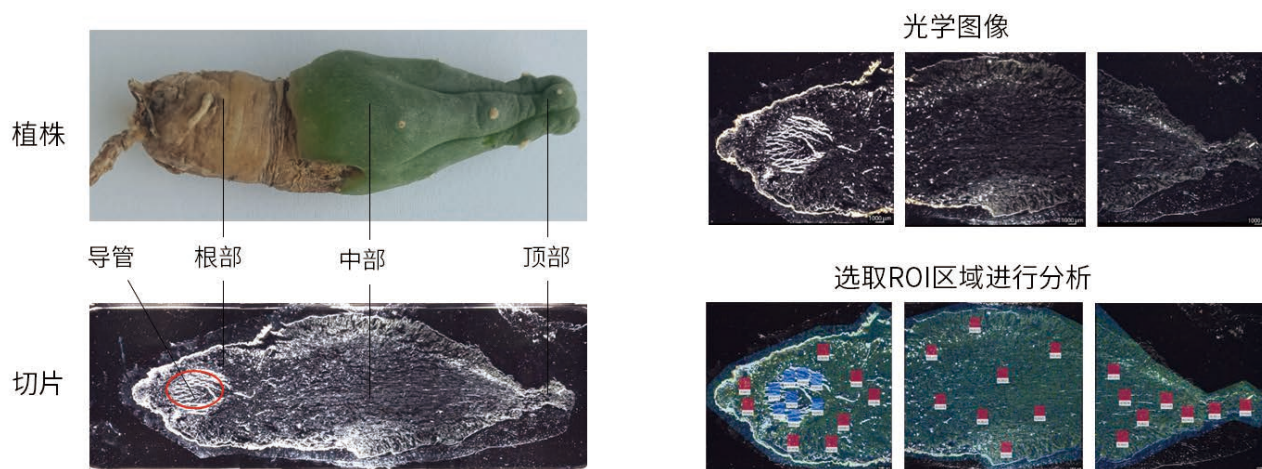


图3 植株外观、切片、光学图像与 ROI 区域设定

表1 植株各部位麦司卡林 ($[M+Na]^+$, m/z 234.1095) IMAGEREVEAL MS 定量分析结果

信号强度	ROI-1	ROI-2	ROI-3	ROI-4	ROI-5	ROI-6	ROI-7	ROI-8	Ave.
根部	3695	3673	5064	4295	3888	4203	4001	4275	4137
中部	7228	4362	5967	5562	5550	5929	7957	7464	6252
顶部	6458	8639	7684	7474	7829	8579	7460	8474	7824
根部导管	7216	7073	6790	8819	5525	9544	9640	10254	8108

备注：组织内麦司卡林 $[M+Na]^+$ 离子信号强度较高， $[M+H]^+$ 信号较弱，可能与组织内部含有丰富的钠离子有关，故组织样品中麦司卡林分析的目标离子为 $[M+Na]^+$ (m/z 234.1095)。

麦司卡林在植株各部位中的含量分布情况为：根部导管 > 顶部 > 中部 > 根部。根部导管集中的位置麦司卡林含量最高，平均信号强度是根部非导管区域的近 2 倍。根部向顶部麦司卡林含量逐渐增高。麦司卡林在植株各部位的空间分布图见图 4。

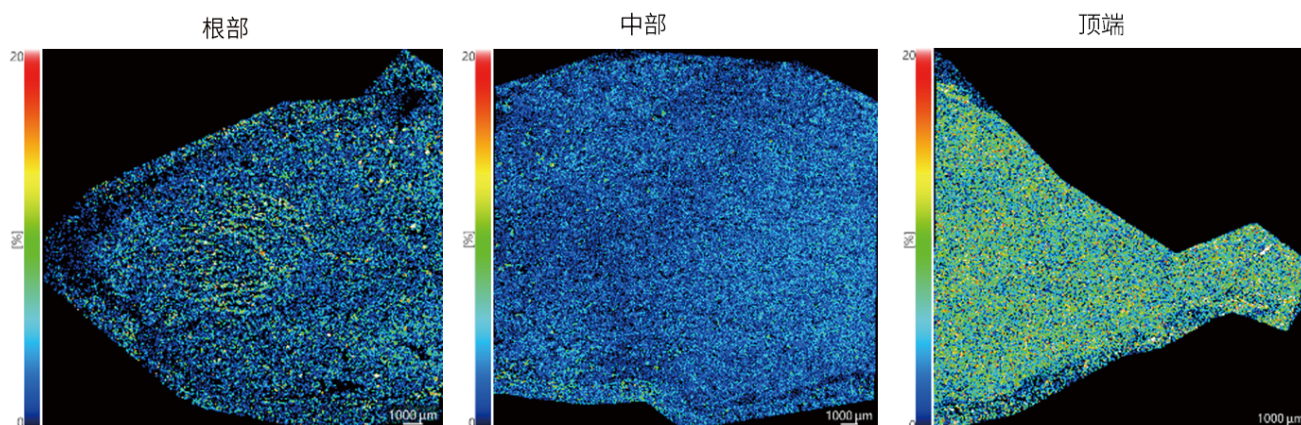


图4 植株各部位麦司卡林的空间分布图 ($[M+Na]^+$, m/z 234.1095)

选取根部导管集中的位置在 40X 物镜下进行光学照片的拍摄和质谱采集，麦司卡林的空间分布图见图 5。由图可见，麦司卡林的含量在有导管分布的区域最高，明显高于根部非导管区域，推测麦司卡林的合成与运输可能与导管附近的组织有关。

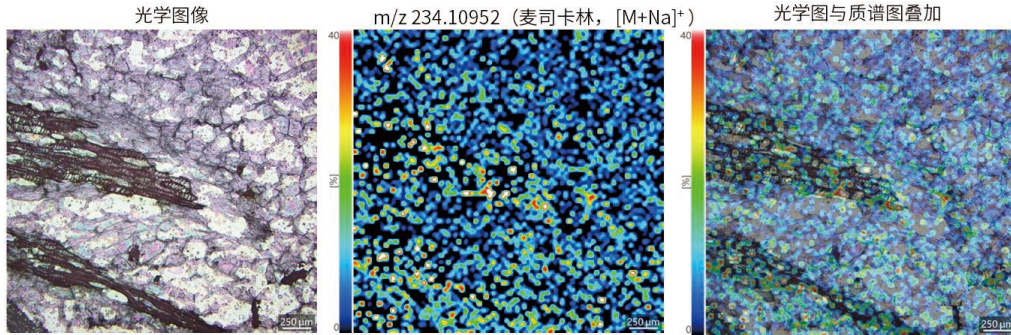


图 5 根部导管及邻近区域中麦司卡林的空间分布图

2.3 花朵中麦司卡林的空间分布分析

应用 iMScope QT 对花瓣、花萼、雄蕊、雌蕊中的麦司卡林进行检测，各部位麦司卡林的空间分布见图 6- 图 9。在花瓣中，底端的麦司卡林含量较高，顶端含量相对较低（图 6）。由光学图像可见，花瓣底端导管含量更加丰富，表明麦司卡林的分布与导管集中的区域较为一致。

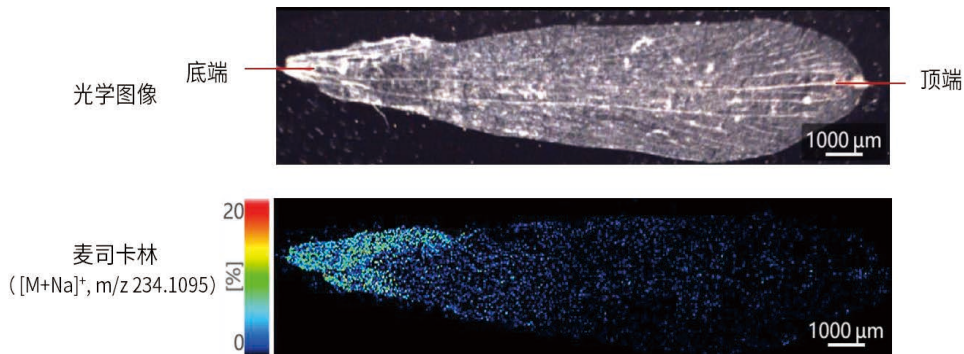


图 6 花瓣中麦司卡林的空间分布图（底端：靠近花托的位置；顶端：远离花托的位置）

同样，在花萼中靠近底端的部位麦司卡林含量较高，花萼中间部位及靠近顶端的位置麦司卡林含量相对较低（图 7）。

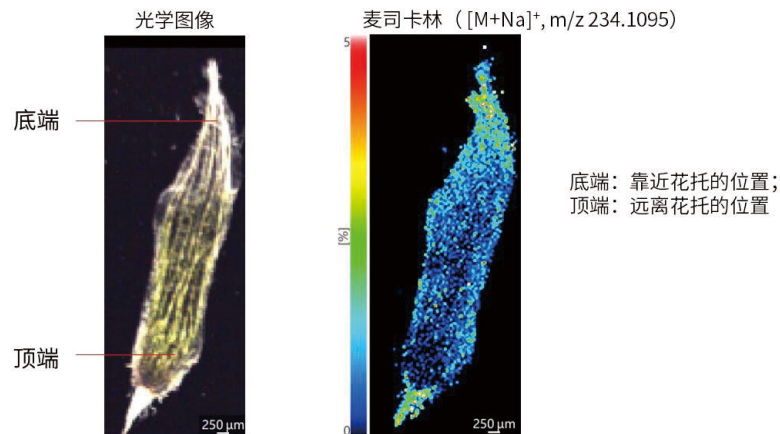


图 7 花萼中麦司卡林的空间分布图

在雄蕊中，花柱中的麦司卡林含量较高，柱头及邻近柱头的位置麦司卡林含量相对较低（图 8），这可能与花柱中导管的分布更加丰富有关。

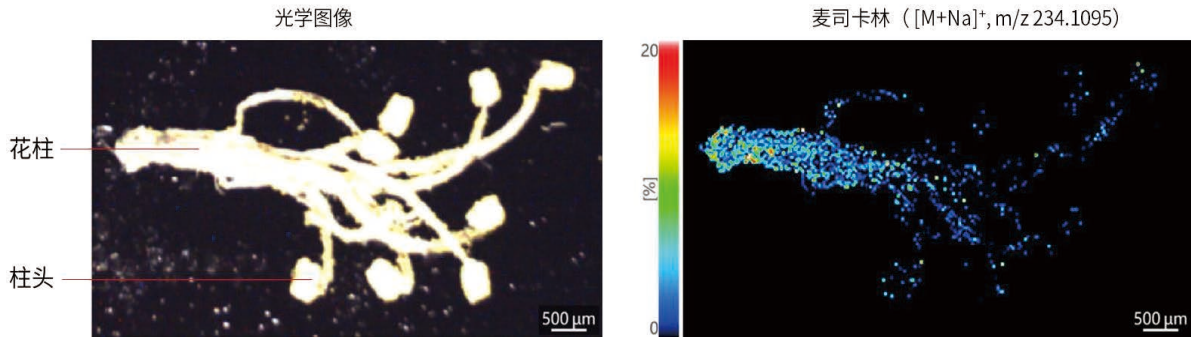


图 8 雄蕊中麦司卡林的空间分布图

在雌蕊中，麦司卡林的分布与雄蕊类似，花柱中含量略高，柱头中含量相对较低（图 9）。

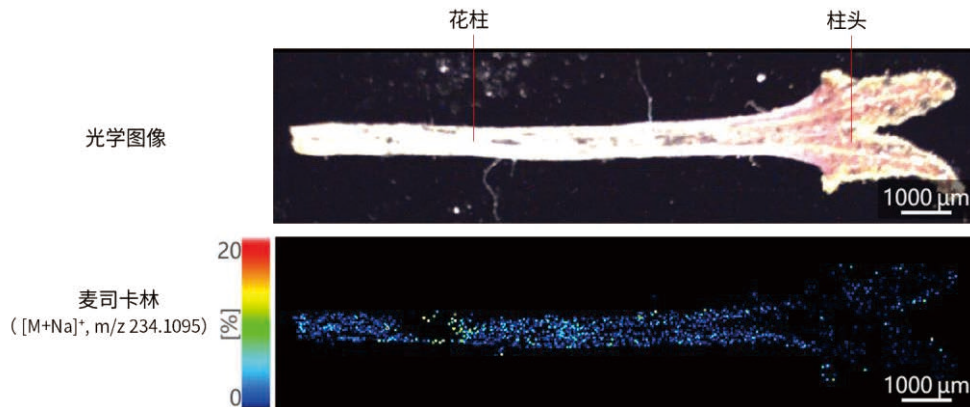


图 9 雌蕊中麦司卡林的空间分布图

应用 iMScope QT 对佩奥特掌花瓣、花萼、雄蕊、雌蕊中的麦司卡林的分布进行了分析，发现麦司卡林在花瓣花萼中靠近花托的位置、雄蕊雌蕊中的柱头等部位含量较高，而这些区域中导管的分布相对其他位置更加集中，表明麦司卡林与导管周围组织的分布有一定相关性，推测这可能与麦司卡林的合成及运输有关。

■ 结论

本文应用岛津成像质谱显微镜 iMScope QT 对佩奥特掌植株、花瓣、花萼、雄蕊、雌蕊中的麦司卡林的分布进行了分析，发现麦司卡林在导管相对集中的区域含量更高，为司法检测中微损取材提供参考，同时也为麦司卡林合成与运输机制的研究提供了线索。成像质谱显微镜完整融合了光学显微观察以及质谱成像分析，是植物中代谢小分子空间分布分析的强有力的研究手段。

岛津应用云

