

利用 Micro-CT 对斑马鱼内部形态进行观察

王鑫

(中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430072)

摘要: Micro-CT以X射线为光源成像, 当X射线透过样本时, 样本的各个部位密度不同, 对X射线的吸收大小不同, 最终在X射线检测器上成像。作者在利用Micro-CT技术对斑马鱼样品成像实验中对样品前处理、样品扫描方法、数据处理进行了优化, 并取得了突破。

关键词: 斑马鱼;Micro-CT

在 Micro-CT 技术包括样品前处理、样品扫描方法、数据处理等方面取得了以下成果, 具体如下:

1 样品前处理技术

Micro-CT 以 X 射线为光源成像, 当 X 射线透过样本时, 样本的各个部位密度不同, 对 X 射线的吸收大小不同, 最终在 X 射线检测器上成像。生物样本各部位密度组成相近, 因此直接进行 Micro-CT 扫描时, 各组织成像对比度不明显, 为了提高样本各组之间图像对比度, 研究了生物样品的前处理方法, 如冷冻干燥法、化学干燥法、碘染色、磷钨酸染色等, 发现磷钨酸染色效果最好, 可以提供不同组织类型之间良好的 x 射线吸收对比度, 如图 1、2 所示。

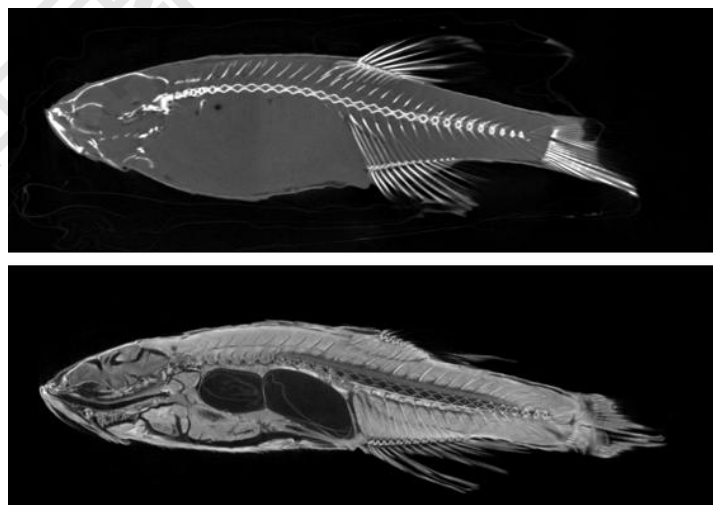


图 1 磷钨酸对斑马鱼全鱼染色效果图, 上图未染色 CT 成像效果图, 下图磷钨酸染色后 CT 效果图

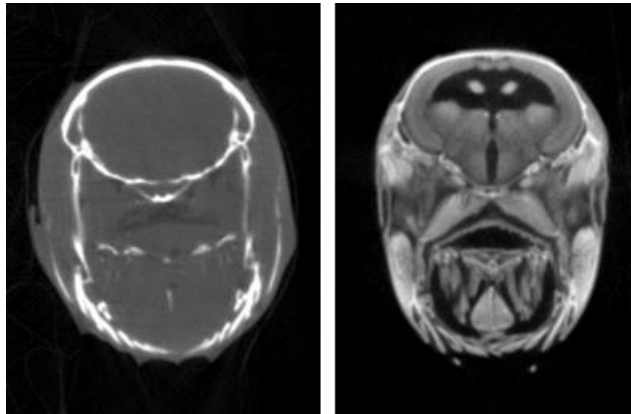


图2 磷钨酸对斑马鱼脑部染色效果图，左图未染色 CT 成像效果图，右图磷钨酸染色后 CT 效果图

2 基于 Micro-CT 的斑马鱼脂肪组织无损测定方法研究

检测鱼体内脂肪分布情况和脂肪含量是鱼类脂代谢研究的关键技术，目前已有的检测鱼体脂肪分布和含量的方法具有过程繁琐、损坏鱼体组织等局限性，因此，研究一种简易、快速且不破坏鱼体组织的脂肪检测技术非常必要。本成果以模式生物斑马鱼为研究材料，建立了一种利用 Micro-CT 快速、无损检测鱼体脂肪分布和含量的成像技术，优化了斑马鱼脂肪 CT 扫描方法，详细介绍了数据处理软件 CTAn 中进行脂肪定量计算的操作步骤，构建了斑马鱼脂肪组织 3D (Three-dimensional) 模型，可以全方位展现全鱼脂肪组织分布情况。本技术利用 CT 技术进行脂肪组织成像，优化了斑马鱼脂肪组织扫描的参数，并开发了利用数据处理软件 CTAn 进行脂肪定量计算的方法，同时构建了斑马鱼脂肪组织分布的 3D 动态模型，展示了脂肪组织在斑马鱼体内分布的不同区域，为鱼类脂代谢研究提供了一种新的、快速的、无损的检测手段，相关研究成果以第一作者发表在 *Applied Science* (Wang et al., 2021, *Applied Science*.)

在优化斑马鱼 CT 扫描成像参数中，比较了相机 2K 和 4K 像素下脂肪组织信号的成像质量，以及 180°和 360°扫描的成像效果。发现 2K 像素下斑马鱼脂肪组织和非脂肪组织的对比度最好，便于后期的图像处理和脂肪组织的定量计算。此外，对样品进行 360°的扫描能够有效去除扫描伪影，在 2K 像素下进行 180°扫描时，重建图像中可以看到骨组织周围存在黑色的伪影，而在 360°扫描的重建图像中，伪影情况得到显著改善，骨组织与非骨组织边界清晰，利于后续的图像处理和脂肪组织的定量计算。在 3D 查看软件中，可以根据样本内的灰度信息进行彩色渲染，对脂肪组织、肌肉组织、骨组织赋予不同的颜色，并在 3D 空间内进行任意方向的切割，观察样本内部结构。通过比较 CTvox 和 CTvol 两种观察方式发现，斑马鱼脂肪组织主要分布在头部，身体两侧皮下，背部皮下，腹部以及鱼鳃两侧（图 3）。最后，使用体脂含量和脂肪厚度两项指标用做体脂方面的评估，通过分析软件 CTAn 自定义

运算中的 3D 分析，可以得到脂肪组织体积、脂肪组织体积占组织总体积百分比和脂肪组织结构厚度（图 4）。

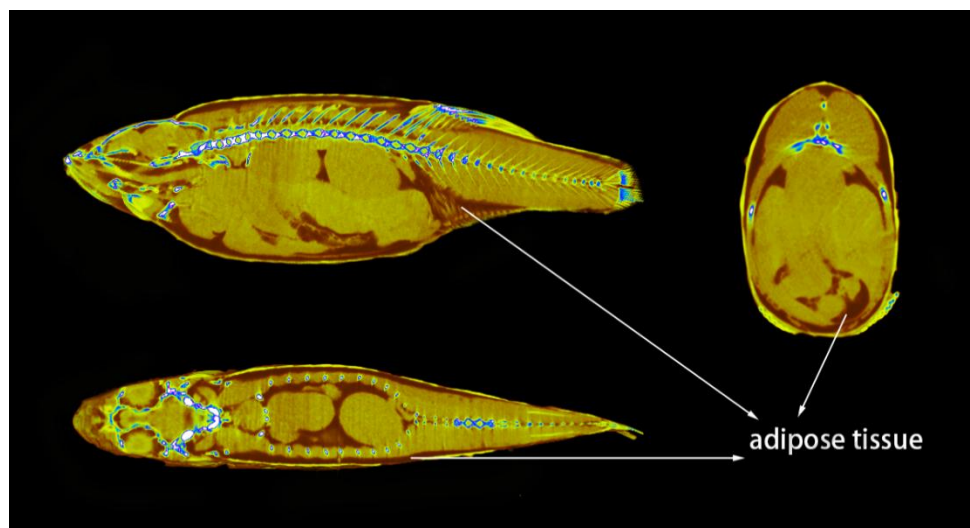


图 3 通过 3D 查看软件 Ctvox 软件进行 3D 彩色渲染

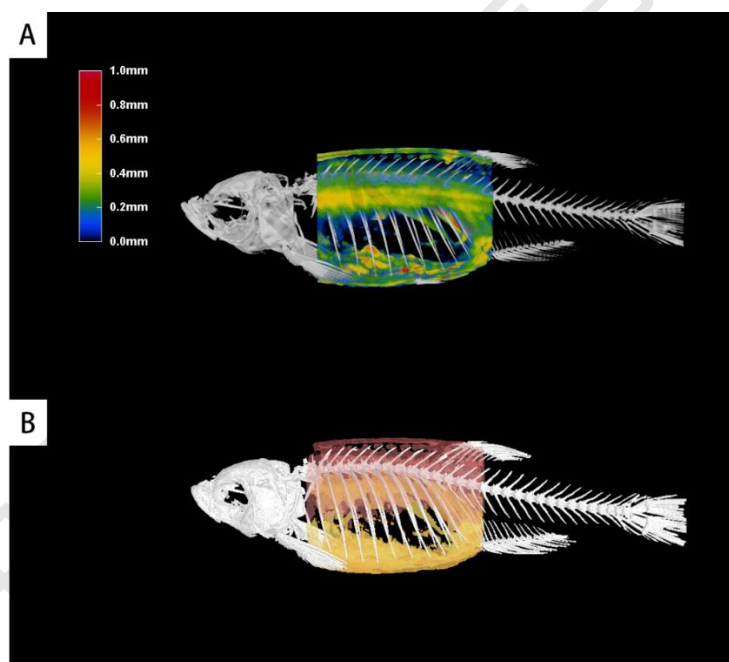


图 4 腹部脂肪组织厚度分布 (A) 和 3D 表面渲染图 (B)

3 柔弱易碎样品的石蜡切片方法

石蜡切片是组织学常规制片技术中最为广泛应用的方法。石蜡切片不仅用于观察正常细胞组织的形态结构，也是病理学中观察及判断细胞组织的形态变化的主要方法，已广泛应用于生命科学研究中。针对所内水生动植物样本柔弱、易碎的特点，建立了斑马鱼性腺、摇蚊幼虫、植物茎、叶等这类易脆、幼嫩组织样本的制样方法，解决了长期以来研究所的特殊样品、特殊处理、紧急处理等要求无法满足的难题（图 5、6）。

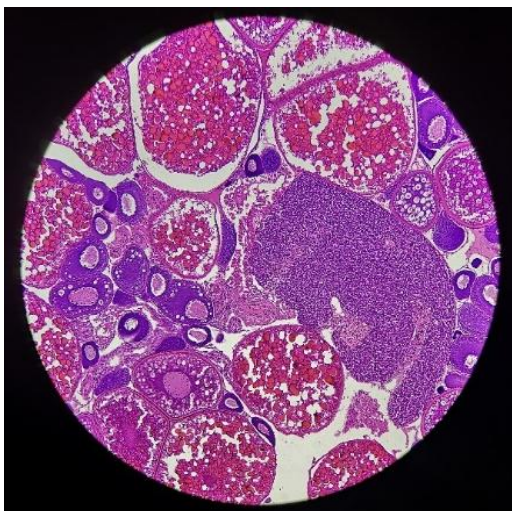


图5 斑马鱼成熟性腺

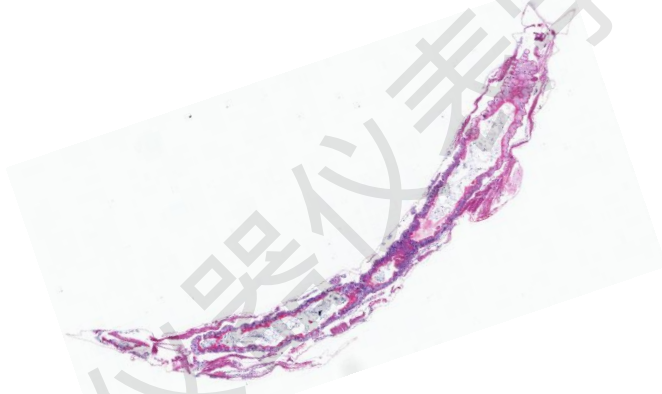


图6 摇蚊幼虫