

# 使用人类疾病模型生物斑马鱼的高通量成像实验

## 为什么使用斑马鱼进行筛选?

目前，基于斑马鱼的筛选由于花费，通量和伦理原因作为一种哺乳动物筛选的替代受到欢迎。

斑马鱼由于其与人类的高度生物相似性，成为一种有用的药物开发模型。在个体学和器官形成研究中体现了其主要器官系统与人类极其相似，且斑马鱼和人类的相似度高达 70 - 80%。

斑马鱼由于其繁殖力强，胚胎透明能看到器官结构且易于基因操作的特性对筛选有益。由于其体积小，所以可以放入微孔板中用化合物处理。然后表型能使用高内涵筛选系统来进行检测。

ImageXpress® 高内涵筛选系统提供更好的灵活性来拍摄大视野的高质量图像。

MetaXpress® 高内涵图像获取和分析软件允许以简单的工作流程来实现宽范围的实验应用的图像分析。并且结合用于数据挖掘的 AcuityXpress 高内涵信息学软件，这种端到端的解决方案显著的增强了基于斑马鱼的体内实验的通量。

## 基于斑马鱼的体内实验应用

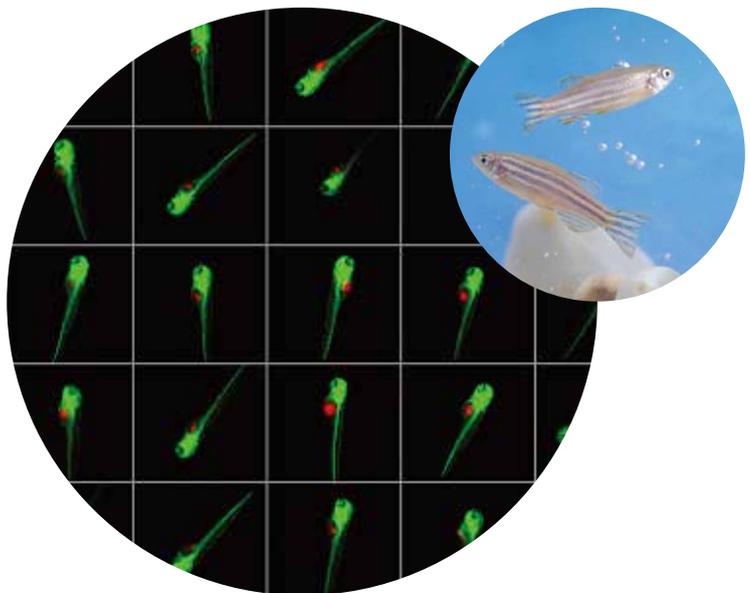
有大量的已开发的人类疾病斑马鱼模型如：

- 代谢综合症: 肥胖 (内脏肥胖)，血脂异常，脂肪肝，糖耐受失调
- 人类癌症细胞异种移植: 肿瘤血管生成，远端转移
- 循环疾病: 心力衰竭，药物诱导的心率失调
- 中枢神经系统失调: 耳聋，视力障碍，嗅觉失调，癫痫，发育紊乱，睡眠唤醒障碍，肌营养不良 (ALS)

一系列例子能用来展示如何将高内涵用于研究以上失调。

## 优点

- 完整生命体在三维环境下几天就能评价成千上万的化合物。
- 筛选宽范围的疾病和毒性模型。
- 单图像能可视化和测量完整表型。
- 通过自动化高速 Z 堆叠拍摄从头到尾保持拍摄在最佳焦平面。



## 人类肿瘤细胞异种移植后的转移模型

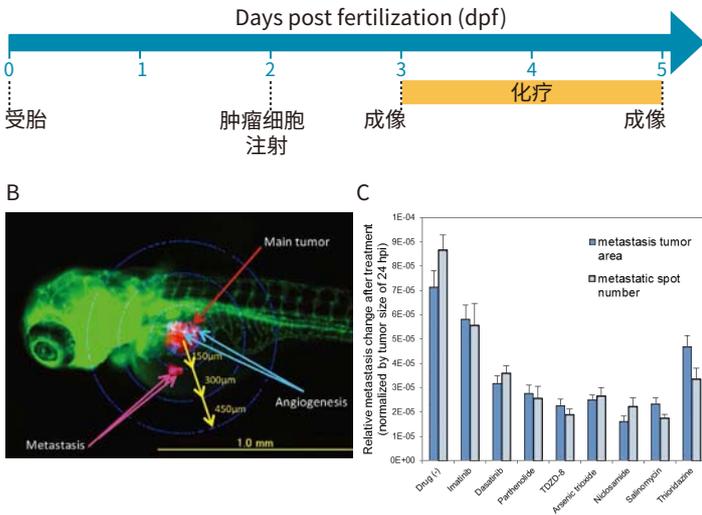


图1 (A) 斑马鱼植入人肿瘤细胞工作流程。(B) 标记 Kusabira-orange (红色) 的人白血病干细胞移植入斑马鱼胚胎的图像 (绿色)。(C) 测量肿瘤大小和转移并于柱状图中展示不同化合物的抑制程度。

## 显示抑制血管生成

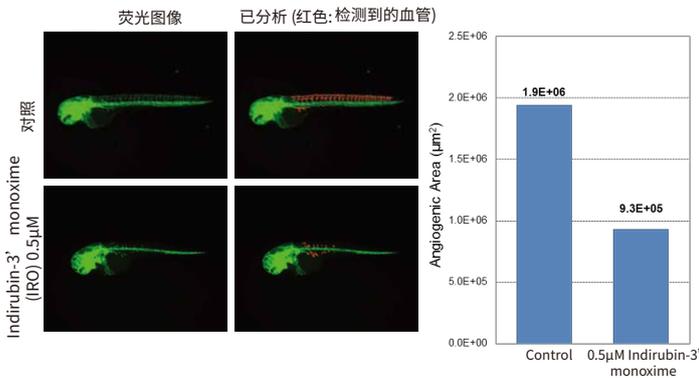


图2 血管上皮细胞表达GFP的斑马鱼暴露在化合物中 12 - 48 小时。节间血管，细的背部和腹部血管和躯干区分开，使用 MetaXpress 软件血管生成应用模块分析。生成的血管生长在化合物处理后明显抑制。

## 心脏功能分析

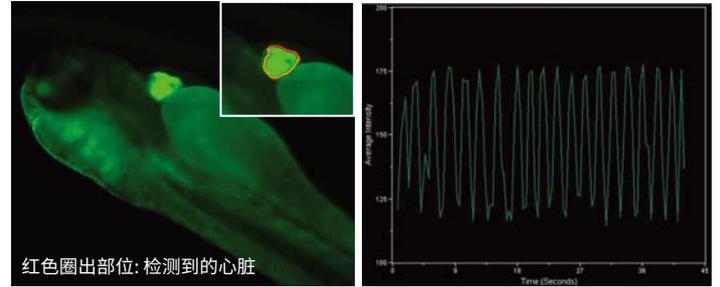


图3 心脏中带有表达 GFP 标记蛋白的细胞的斑马鱼的心血管功能通过将心脏圈出来作为所关心的区域并时序拍摄并测量面积和亮度随时间的变化来表示心跳。MetaXpress 展示荧光随时间的波动。

## 基因敲除定量<sup>2</sup>

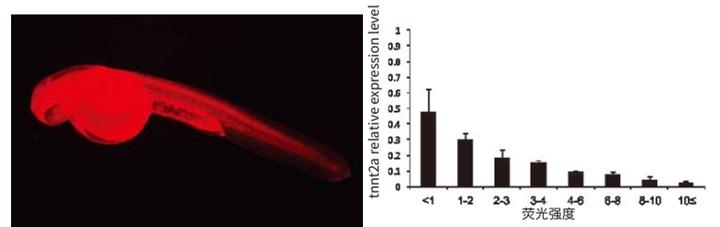


图4 丽丝胺荧光用于表示与注射的反义吗啉环寡核苷酸 (MO) 相关的敲除程度。

## 测量耳毒性

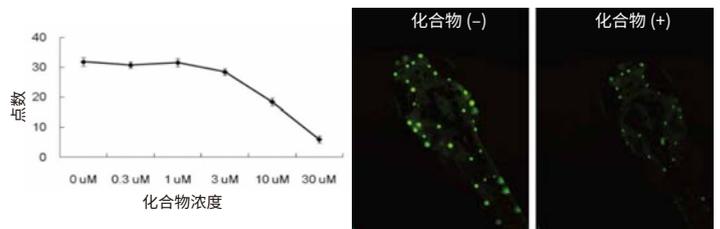


图5 斑马鱼毛发细胞的破坏可作为耳毒性的指示。对斑马鱼进行已知毒性化合物处理之后导致耳毒性，荧光标记的毛发细胞使用点计数算法测量。

## 鉴定神经毒性

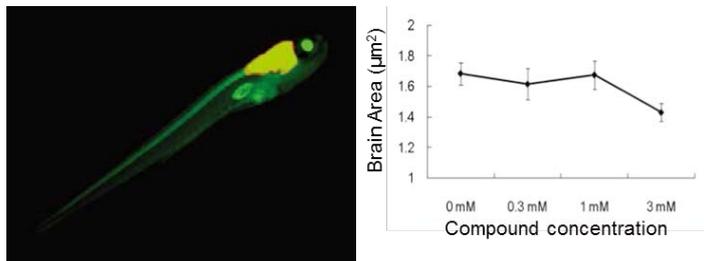


图6 以神经毒性化合物处理神经元标记了荧光的斑马鱼(图像中的黄色)并测量药物处理后的脑面积作为神经毒性的指示。在高浓度的化合物条件下测量的荧光脑面积明显小于未处理的对照组胚胎。

## 孔中或斑马鱼特定区域靶目标图像获取

对于那些可能不在每个孔中相同区域物体,靶目标成像能够使用低放大倍数标记出关心的物体然后返回到相应坐标来拍摄更高放大倍数的图像。

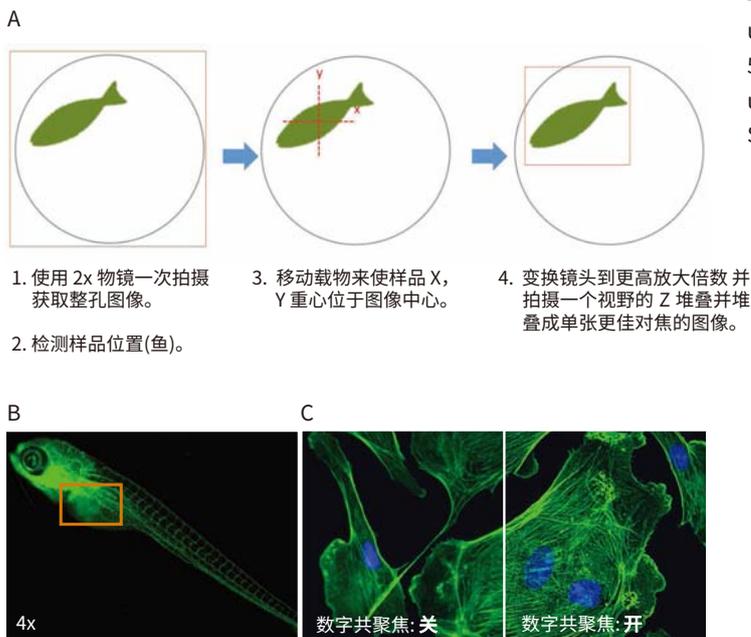


图7. 单视野完整鱼成像。(A) 为实现的完整的在焦图像, 拍摄多 z 轴层面并使用 best-focus 算法组合成一张图像。(B) 关心区域(橙色框)使用高放大倍数再次成像。(C) 数字共聚焦特性是一种实时反卷积方法能用来加强分辨率并利于亚细胞结构分区。



更多精彩内容  
尽在官方微信

## 总结

斑马鱼胚胎作为一种有价值的表达研究脊椎动物模型。使用 ImageXpress 高内涵筛选系统来, 再焦的、从头到脚大视野拍摄斑马鱼并高速 Z 轴系列堆叠成像, 这种能力可实现检测疾病或毒性表型测量。高内涵进行斑马鱼体内成像并结合 MetaXpress 高内涵分析软件强显著的增加通量来强化实验室, 并使其几天筛选成千上万的化合物。建立并运行自动化成像筛选来显示血管生成的抑制, 定量基因敲除, 并以端到端的解决方案来检测耳毒性和神经毒性。

## 参考文献

1. Zhang, B., et al., Quantitative phenotyping-based in vivo chemical screening in a zebrafish model of leukemia stem cell xenotransplantation, PLoS One, 2014 Jan 15; 9(1).
2. Umemoto, N., et al., Fluorescent-based methods for gene knockdown and functional cardiac imaging in zebrafish, Mol Biotechnol, 2013 Oct; 55(2): 131-42.
3. Kanungo, J., et al., In vivo imaging and quantitative analysis of changes in axon length using transgenic zebrafish embryos. Neurotoxicol Teratol, 2011 Nov-Dec; 33(6): 618-23.
4. Diekmann, H., et al., Characterization of optic nerve regeneration using transgenic zebrafish. Front Cell Neurosci, 2015 April 9; 9:118.
5. Huan, H., et al., High-throughput screening for bioactive molecules using primary cell culture of transgenic zebrafish embryos. Cell Rep, 2012 Sep 27; 2(3):695-704.

## 美谷分子仪器(上海)有限公司

全国咨询服务热线: 400-820-3586  
上海 电话: 86-21-3372 1088  
北京 电话: 86-10-6410 8669  
成都 电话: 86-28-6558 8820  
台北 电话: 886-2-2656 7585  
香港

www.MolecularDevices.com.cn Email: info.china@moldev.com  
传真: 86-21-3372 1066  
传真: 86-10-6410 8601  
传真: 86-28-6558 8831  
传真: 886-2-2894 8267  
传真: 852-2289 5385

地址: 上海市长宁区福泉北路 518 号 1 座 501 室 200335  
地址: 北京市朝阳区广渠东路 3 号中水电国际大厦 612 & 613 室 100124  
地址: 成都市锦江区东御街 18 号百扬大厦 2208 室 610016  
地址: 台北市内湖区堤顶大道二段 89 号 3 楼  
地址: 香港中环皇后大道中 15 号置地广场 公爵大厦 21 楼

