

# 小白鼠肾脏线粒体三维结构的重构\*

张景强 叶巧真  
(昆虫学研究所)

赖德锦 杨 洪  
(无线电电子学系)

## 摘 要

讨论了应用计算机图像处理技术,从小白鼠肾脏线粒体的系列超薄切片的电子显微照片中,重构三维立体结构的方法和技术。

**关键词** 连续切片像,图示技术,三维重构

许多生物组织的超微立体结构,一般是人们观察了大量该结构的二维投影像后构思出来的。对某一细微结构进行连续薄切片,然后把这一系列切片的照片经过数字化处理,输入计算机,并应用图像处理技术,重现这一细微组织的立体结构。这种方法,首先是由Sjöstrand(1958)<sup>[1]</sup>论证其可行性和可靠性的。而较实用的方法则是由Hillman(1977)初步解决的。目前国外许多学者将三维重构技术应用于光学显微镜图像的立体重构中<sup>[2,3]</sup>,我们则将这一技术应用到电子显微镜图像的立体重构中。

## 1 材料与样品制备

### 1.1 材料

用于连续切片的铜网,其椭圆孔的两轴分别为1mm和2mm,能容纳20片左右、厚度为500~600 Å的连续切片带,因此三维重构的对象其直径宜为0.5~1.2 μm。我们选择了小白鼠肾脏的线粒体为研究对象,这种线粒体在组织中分布均匀,数量、大小适中,形状合适。

### 1.2 样品制备

样品除用戊二醛-四氧化锇双重固定外,还用1.5%  $K_3Fe(CN)_6$ 固定1小时,以增加膜性结构的反差,其它步骤按常规流程处理。其中用2%醋酸铀(用50%乙醇配制)块染30分钟,包埋剂用ERL-4206树脂。包埋块修整成上下平行的梯形面,高约0.1~0.2mm,使10~20片超薄连续切片带恰好安放在覆盖有Formvar膜的单椭圆孔的铜网上。超薄切片在LKB2188V型机上进行,间隙角为3°,切片速度为2mm/s,把很长的连续切片带分成长约为2mm的短带,用铜网捞起,使超薄切片带正好落在铜网的椭圆孔上,在LKB 2168自动染色机上染色,醋酸铀20分钟,柠檬酸铅10分钟。

本文1989年12月13日收到

\*参加本课题研究工作的还有叶健、卢炳英

## 2 电子显微镜观察和记录

线粒体图像的观察和记录是使用 JEM-100CX/Ⅰ 带有侧插样品台的电子显微镜。观察时,首先在连续切片的中段,寻找大小约为0.5~1.2 μm,双层膜和脊完整、清晰的圆形或椭圆形的线粒体,并确定1~2个参考物,然后向两个方向、在每一超薄切片中跟踪这个线粒体,如果在这一连续切片中包括了整个线粒体,而且每一超薄切片的这个线粒体的像都是清晰的,结构是完整的,则选择合适,否则另找。我们使用 EM-BSR 样品旋转台寻找到合适的线粒体后,把整个线粒体的所有切片像都依次拍摄记录下来,这样便获得了整个线粒体的连续切片图像。图1就是一个完整线粒体被切成16张连续切片的电子显微像中的12张。

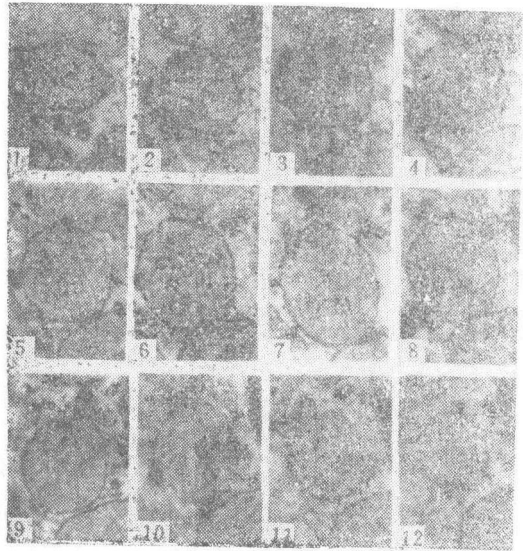


图1 鼠肾脏线粒体超薄连续切片的电子显微照片 18000×  
Fig.1 Electron micrographs of serial ultra-thin section of mitochondria. 18000×

## 3 图像处理 and 三维重构

实际上就是切片操作、电镜观察、拍摄的逆过程。它是在IBAS图像处理机和 IBM PC/AT微电脑上进行的。首先,对切片图像进行预处理。由于显微镜图像边缘较模糊,用黑色描图笔将各切片图像中需重构部分的轮廓线描在白纸上,用黑白摄像机完成轮廓图像的扫描,然后在 IBAS 图像处理机上的人机交互式图像分析系统上进行轮廓增强、分割和细化,并将每张图像数字化为512×512空间分辨的二值图像,接着通过RS-23串行通信,将图像数据传输到 IBM PC/AT 系统,IBM PC/AT 内便贮存有各切片的二维坐标值和相应的灰度值,再在 IBM PC/AT 上运行数据转换程序、三维计算程序 RC3DCL,即在读入二维轮廓图 形数据 的基础上,根据切片厚度决定 对应每片的正坐标,从而形成三维轮廓图形,于是读入分隔点数据,用三次B样条插值曲线将各切片连接起来,形成网格形的三维表面,同时根据给定的观察点坐标和旋转角度、比例等,完成三维坐标变换的计算,最后运行隐白消除程序和三维显示程序,这样,在屏幕上就能得到重构的三维轮廓图像和网格形图像,网格图像还可以沿 x-, y-, z-轴 以任意角度旋转,以观察不同方向的表面,如图2所示。三次B样条插值曲线为:

$$P(t) = \sum_{i=0}^3 F_{i,3}(t) \cdot B_i = \frac{1}{6} [t^3 \ t^2 \ t \ 1] \begin{pmatrix} -1 & 3 & -1 & 1 \\ 3 & -6 & 3 & 0 \\ -3 & 0 & 3 & 0 \\ 1 & 4 & 1 & 0 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} B_0 \\ B_1 \\ B_2 \\ B_3 \end{pmatrix}$$

$0 \leq t \leq 1.$

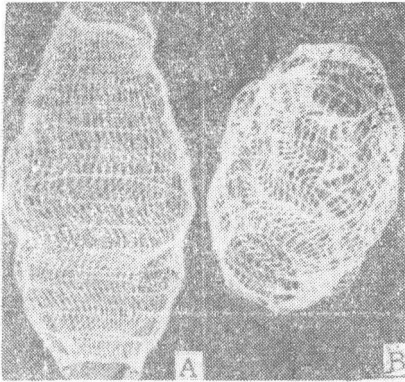


图2 重建图像

A. 旋转角度 ( $x=45^\circ, y=-45^\circ, z=45^\circ$ )

观察坐标 (256, 256, -900)

B. 旋转角度 ( $x=45^\circ, y=0^\circ, z=0^\circ$ )

观察坐标 (256, 256, 900)

Fig.2 Reconstructed images

A. Rotation Angles ( $x=45, y=-45, z=-45$ ), Observation point (256, 256, -900)B. Rotation Angles ( $x=45, y=0, z=0$ ), Observation point (256, 256, 900)

## 4 讨论

(1) 目前从电子显微照片进行三维重构的方法不少,如付里叶变换法等,但对于大小约为 $0.5\sim 1.5\mu\text{m}$ 的超微结构都存在困难,而连续切片法正好能解决这类结构的重构,所以说这方法是有实用意义的。

(2) 连续切片重构方法技术上困难较大,主要是在连续超薄切片的收集和计算机重构处理时的参考轴的确定比较困难。

(3) 在对线粒体进行连续超薄切片时,最初及最后的切片,其切片方向与膜并不正交,使得这些切片的图像的双层膜结构比较模糊。

(4) 本文的工作还未处理内部结构的重构。

## 参 考 文 献

- [1] Sjostrand F S, *J. Ultrastruct. Res.*, 2 (1958), 122~17Q
- [2] Norlo Baba et al., *J. Electron Microscopy Technique*, 3 (1986), 401
- [3] Hiroshi Yaegashi, *J. Microscopy*, 146 (1987), 55~65

## 3-D Reconstruction of Mitochondria from Mouse kidney

Zhang Jingqiang\* Ye Qiaozhen Lai Dejin Yang Hong

### Abstract

The method and technique of three dimensional reconstruction from serial ultrathin section electron micrographs of mitochondria from mouse kidney by graphics technique are discussed.

**Keywords** serial section images, graphics technique, 3-D reconstruction,

\*Institute of Entomology