

# 利用激光扫描共聚焦显微镜解析 FXR1 激活翻译机制

王艳

(中科院 分子细胞科学卓越创新中心 细胞分析技术平台, 上海 200031)

**摘要:** 细胞分析技术平台(简称细胞平台)是中国科学院分子细胞科学卓越创新中心重要的公共技术机构。自 2015 年平台运行以来,我们采用激光扫描共聚焦显微镜为所内外多家科研机构提供了若干细胞生物学领域相关的技术服务。本案例主要利用激光扫描共聚焦显微镜解析 FXR1 激活翻译机制。

**关键词:** 全光谱激发共聚焦显微成像技术;相分离

## 1 专业技术成果介绍

激光扫描共聚焦显微镜是 20 世纪 80 年代中期发展起来并得到广泛应用的新技术,它是激光、电子摄像和计算机图像处理等现代高科技手段渗透,并与传统的光学显微镜结合产生的先进的细胞分子生物学分析仪器,在生物及医学等领域的应用越来越广泛,已经成为生物医学实验研究的必备工具。在传统光学显微镜基础上,激光扫描共聚焦显微镜用激光作为光源,采用共轭聚焦原理和装置,并利用计算机对所观察的对象进行数字图像处理观察、分析和输出。其特点是可以对样品进行断层扫描和成像,进行无损伤观察和分析细胞的三维空间结构。同时,利用免疫荧光标记和离子荧光标记探针,该技术不仅可观察固定的细胞、组织切片,还可以对活细胞的结构、分子、离子及生命活动进行实时动态观察和检测,在亚细胞水平上观察诸如  $Ca^{2+}$ , pH 值,膜电位等生理信号及细胞形态的变化,成为形态学、分子细胞生物学、神经科学、药理学、遗传学等领域中新一代强有力的研究工具,极大地丰富了人们对细胞生命现象的认识。

细胞分析技术平台(简称细胞平台)是中国科学院分子细胞科学卓越创新中心重要的公共技术机构。自 2015 年平台运行以来,我们采用激光扫描共聚焦显微镜为所内外多家科研机构提供了若干细胞生物学领域相关的技术服务。

2022 年 8 月 12 日, *Science* 在线发表了中国科学院分子细胞科学卓越中心刘默芳研究组的攻关成果,报道了她们在小鼠后期精子细胞中发现 FXR1 通过相分离介导 mRNA 翻译激活的最新研究。在这项工作中,研究人员联合蛋白组学筛选, RNA 多种组学分析,体外、体内实验以及多个突变小鼠模型,确认 RNA 结合蛋白 FXR1 通过相分离介导小鼠后期精子

细胞中 mRNA 的翻译激活，从而保障小鼠精子形成过程正常进行。这项工作不但揭示了后期精子细胞中 FXR1 介导 mRNA 翻译激活的新机制，而且证明了液液相分离（liquid-liquid phase separation, LLPS）为 FXR1 激活翻译及保障精子形成和雄性生育必需。

此项探究过程中，很重要的一点是对于 FXR1 相分离能力的确认。我们协助研究人员利用共聚焦显微成像技术，在全光谱激发共聚焦显微镜（Leica SP8 WLL）上设置了合适的成像模板，在我们技术人员的指导帮助下，EGFP 标记的 FXR1 颗粒在 C2C12 细胞内的动态融合过程得以被顺利捕捉（图 2）。随后，为了对小鼠生精细胞内的 FXR1 颗粒进行高分辨率的刻画，我们通过比对了多台共聚焦显微镜的成像差异性后，为研究团队选择激光扫描共聚焦显微镜（Olympus FV3000）对 FXR1 与 EIF4G3 的共定位情况进行了拍摄，获得了更加清晰及精准的图像。实验结果非常有力地表征了二者在后期精子细胞中显著高表达且定位于 FXR1 颗粒的现象，为 FXR1 介导 mRNA 翻译激活的机制提供了有力的证据（图 3）。为了进一步阐明 FXR1 颗粒就是 mRNA 翻译激活的场所，核糖体与 FXR1 的互作定位关系亟待确认。我们协助研究人员对 FXR1 与核糖体大亚基 RPL7a 的共聚焦成像结果使用 Imaris 软件进行 3D 模拟及数据展示，结果很好地反映了 FXR1 颗粒与核糖体的临近关系，证明翻译活动发生在 FXR1 颗粒界面（图 4）。

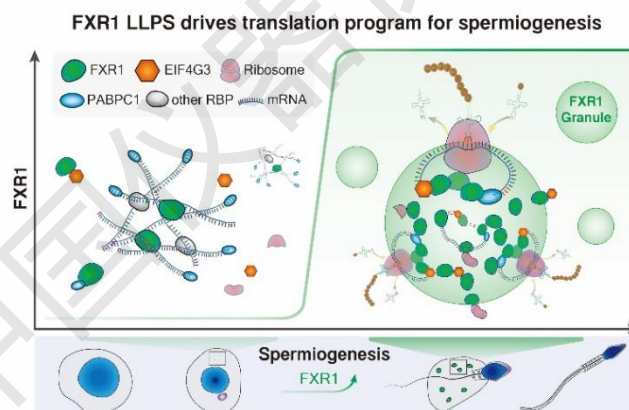


图 1 FXR1 通过相分离激活后期精子细胞中 mRNA 的翻译

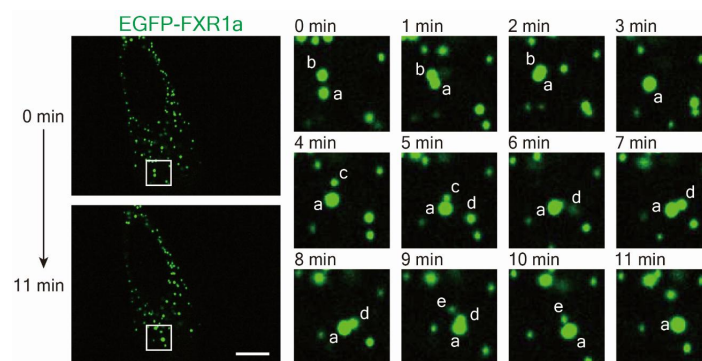


图 2 FXR1 在细胞内动态融合形成颗粒

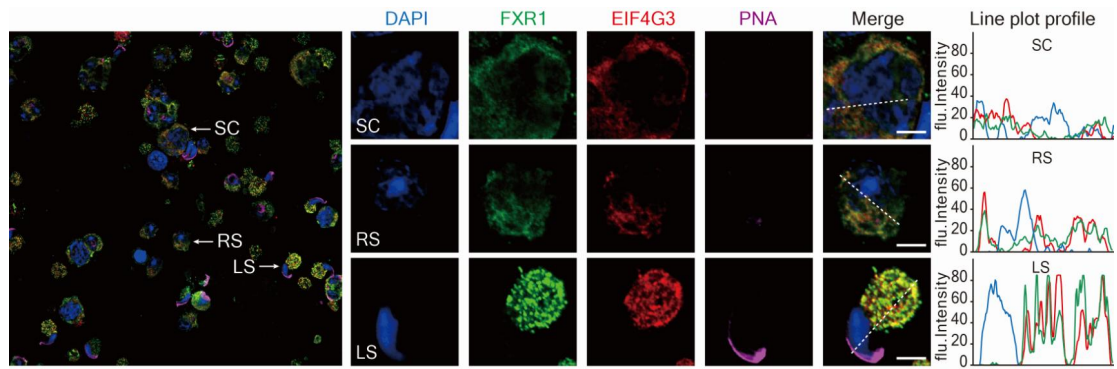


图3 FXR1 与翻译起始因子 EIF4G3 在精子细胞中共定位

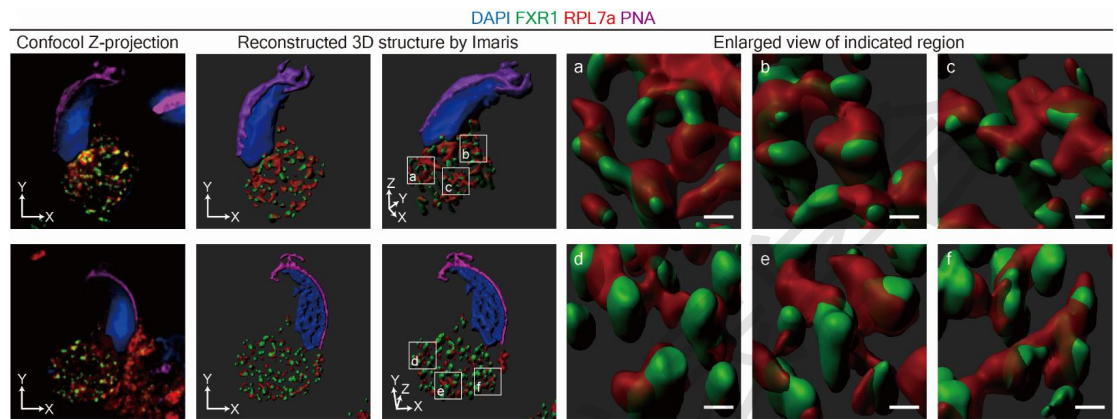


图4 FXR1 与核糖体大亚基在精子细胞中共定位

## 2 专业技术人员介绍

### 2.1 个人简介

王艳，硕士，高级工程师。2004年毕业于山西师范大学，2008年于首都师范大学获硕士学位；2006-2008年中国医学科学院药用植物研究所联合培养。2008年加入中科院生物化学和细胞生物学研究所细胞分析技术平台，从事细胞成像类大型仪器运维及技术服务的共享，以及细胞成像技术的开发和应用。

### 2.2 专业技术研究方向

熟练掌握激光共聚焦显微成像系统的所有关键技术，保证所内科研工作的顺利进行。这些技术主要包括：蛋白的免疫荧光组织定位，蛋白亚细胞定位、共定位；蛋白质相互作用检测（荧光共振能量转移 FRET）；细胞膜流动性分析（荧光漂白修复 FRAP）；动态荧光测量（细胞内离子浓度变化分析等）；细胞及组织结构三维重组分析，胶原蛋白结构成像（二次谐波成像），超高分辨率成像、组织切片。

## 3 承担科技项目及代表论著

### 3.1 承担科技项目：

(1)《双光子显微镜系统二次谐波成像的功能开发》

(项目编号: 1731317600311, 2013)

(2)上海市专业技术人才知识更新工程急需紧缺人才培养项目-荧光显微成像技术培训  
(2020年)

(3)《荧光显微镜细胞超高分辨率动态成像功能开发》

(项目编码: E11L3101, 2021)

### 3.2 代表性论著:

[1]王艳. 二次谐波成像技术及其在胶原蛋白研究中的应用[J]. 生命的化学,2016,36(2):141-145. DOI:10.13488/j.smhx.20160201.

## 4 获奖及荣誉

所级中心能工巧匠。

中国仪器仪表学会