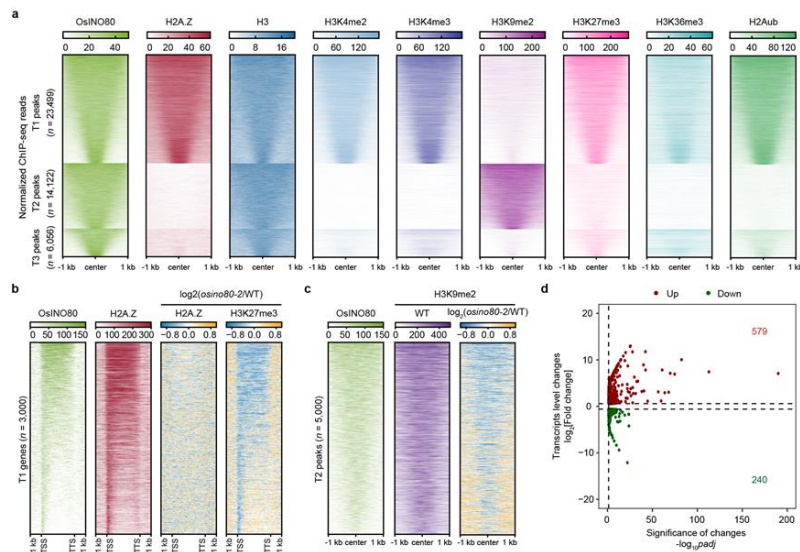


复旦大学董爱武教授课题组于 *Nature Communications* 杂志上发表题为 “The chromatin remodeling factor OsINO80 promotes H3K27me3 and H3K9me2 deposition and maintains TE silencing in rice” 的研究成果 (Du, et al., *Nature Communications*, 15(1):10919. doi: 10.1038/s41467-024-55387-4)。在研究过程中, 课题组利用国重平台的人工气候室, 鉴定获得了水稻染色质重塑因子 OsINO80 的缺失突变体和过表达株系。同时, 利用非接触式超声波破碎仪, 超声破碎水稻幼苗细胞的基因组DNA, 用于后续染色质免疫沉淀 (ChIP) 和建库测序, 解析了水稻染色质重塑因子 OsINO80 调控组蛋白 H3K27me3 和 H3K9me2 修饰分布并介导转座子沉默的分子机制。



水稻染色质重塑因子 OsINO80 富集在三种类型的染色质区域: T1 区域富集 H2A.Z; T2 区域富集 H3K9me2; T3 区域不富集 H2A.Z 或 H3K9me2。OsINO80 缺失导致 T1 区域 H3K27me3 修饰以及 T2 区域 H3K9me2 修饰的下降, 并导致转座子的激活和转座。

in H3K9me2 at type II regions, which correlates with TE activation and transposition. Our findings reveal that OsINO80 facilitates H3K27me3 establishment, promotes H3K9me2 deposition, and maintains TE silencing.

The INO80 chromatin remodeling complex plays a critical role in shaping the dynamic chromatin environment. The diverse functions of the evolutionarily conserved INO80 complex have been widely reported. However, the role of INO80 in modulating the histone variant H2A.Z is controversial. Moreover, whether INO80 helps regulate heterochromatin remains unknown. Here, we characterize the regulatory effects of OsINO80 on protein-coding genes and transposable elements (TEs) in rice. Upon OsINO80 overexpression in rice, we found three types of OsINO80-occupied regions with different chromatin signatures: type I (enriched with H2A.Z), type II (enriched with H3K9me2), and type III (deficient in H2A.Z/H3K9me2). Loss of OsINO80 results in a decrease in H3K27me3, but not H2A.Z, at type I regions as well as a decrease

染色质免疫沉淀测序 (ChIP-seq) 是一种检测蛋白质和染色质相互作用的技术, 借助抽提的染色质和识别特定抗原的抗体, 并结合 NGS 测序平台, 来真实、完整地检测结合在基因组 DNA 上的调控蛋白质。基于免疫学方法的染色质沉淀以及 NGS 测序平台的短读长特性, 都对染色质 DNA 片段化提出了较高要求。生成随机双链断裂且不产生碱基偏倚的两种常见的 DNA 片段化方法是酶消化法和超声处理法。其中, 超声处理法是 DNA 片段化的传统方法, 需要借助探头式超声仪或非接触式超声仪来进行。

传统的探头式超声仪存在较多的局限, 包括: 1) 探头与样品直接接触, 一次只能处理一个样品, 且不同样品共用一个探头, 导致实验周期较长, 易造成样品交叉污染; 2) 无法精准控制探头伸入样品的深度, 导致不同样品的超声能量分布存在差异, 影响实验结果的准确性和重复性; 3) 由于探头和样品暴露在空气中, 超声过程容易产生气雾, 带来潜在的生物危险。国重平台的非接触式超声波破碎仪由主机、杯式探头、样品管适配器、冷却循环水浴等部件构成, 能保证最多 18 个样品在全封闭试管中同时进行超声, 实验效率高, 且避免了气雾传播带来的安全风险。同时, 非接触式超声波破碎仪安装的超声波发生器能保证水浴槽完全处于超声波的作用范围内, 搭配的低温水浴和自动旋转适配器能使超声能量在不同样品间均匀分布, 保证每个样品超声作用完全, 显著提高了实验的重复性和结果的可靠性。



超声波细胞粉碎机
SCIENTZ-ID



聚焦超声样品处理系统
Covaris ME220

复旦大学代谢与整合生物学研究院汪凌波课题组和合作团队于 *Human Reproduction Open* 杂志上发表题为“Bi-allelic variants in *DNAH3* cause male infertility with asthenoteratozoospermia in humans and mice”的文章((Meng et al., Hum Reprod Open, 2024))。作者通过基因编辑系统、遗传分析、超分辨影像系统研究发现, *DNAH3* 双等位基因突变男性患者, 精子运动力减弱, 生育力完全丧失, 无法正常生育后代。汪凌波课题组及合作者通过免疫染色分析发现突变患者精子发育过程中多种蛋白表达异常, 其中精子上SPAG6 (中央微管组成成分) 蛋白缺失, TOMM20 (线粒体鞘组成成分)、AKAP4 (纤维鞘组成成分) 蛋白分布异位。该研究表明*DNAH3*在精子发生过程中具有重要作用, *DNAH3*的缺陷会导致人和小鼠的弱畸形精子症。

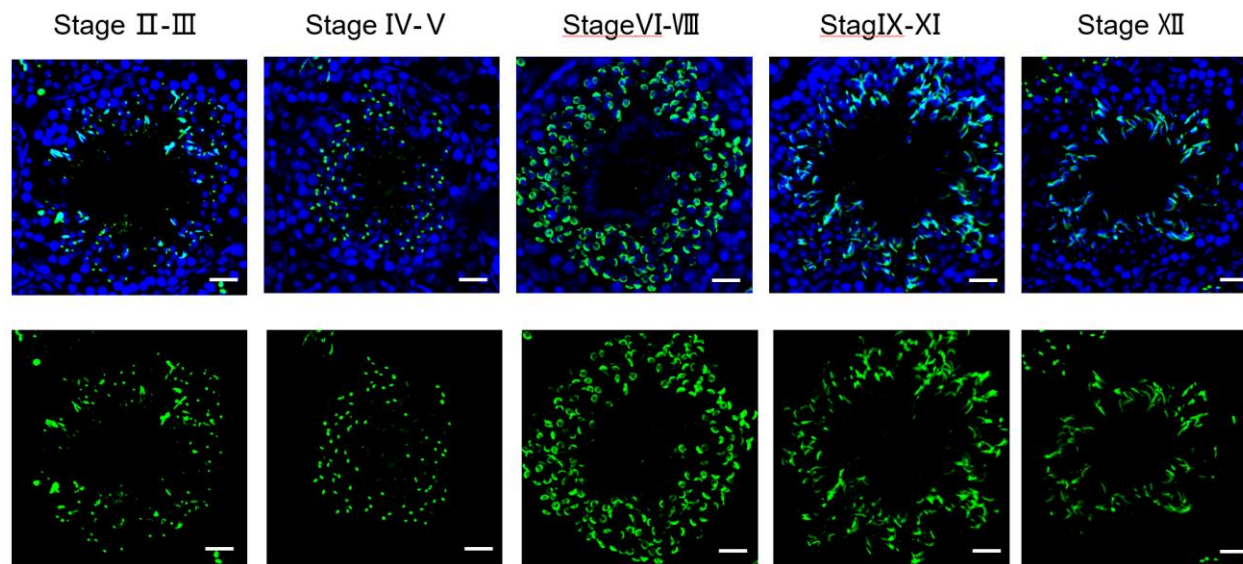


Fig.1 Identification of stages (II-XII) and cell types using a combination of PNA-FITC Immunofluorescence. The panels of are merged images of PNA-FITC-labeled acrosomes (green) and Hoechst-labeled nuclei (blue). Scale bar, 25 μ m.

花生凝集素 (Peanut Agglutinin, PNA) 是一种来源于花生的植物凝集素, 能与半乳糖 β (1 \rightarrow 3)-N-乙酰半乳糖胺碳水化合物序列特异性结合。精子顶体含有多糖类物质及各种水解酶, PNA能够特异的将早期圆形精子细胞至晚期长形精子细胞的顶体染色, 由于各期顶体形态特征变化明显, 所以通过PNA染色能够判定生精上皮处于哪一阶段。通过PNA染色后顶体的形态能够将精子发生 (Spermatogenesis) 分为十二个阶段。我们利用PNA能够将精子不用阶段区分开这一特点发现了许多在精子发生过程中非常重要的基因。其中*DNAH3*在精子发生过程中具有重要作用, 研究过程中发现*DNAH3*缺失会造成人和小鼠的弱畸形精子症。

弱畸形精子症 (Asthenoteratozoospermia, AT) 是一种普遍存在的影响精子运动和形态的疾病。它是男性不育的潜在原因之一, 通常与遗传因素缺陷有关。我们与合作团队的研究在三个无关家系的三个AT患者中发现了*DNAH3*基因的遗传变异, 两个*Dnah3*基因敲除的小鼠模型都表现出与弱畸形精子症特征。这些发现表明*DNAH3*是AT的一个新的候选致病基因。



Nikon A1
正置激光扫描共聚焦显微镜



Olympus FV3000
激光共聚焦显微镜

复旦大学王陈继研究员课题组于*Redox Biology*杂志上发表题目为“The covalent modification of STAT1 cysteines by sulforaphane promotes antitumor immunity via blocking IFN- γ -induced PD-L1 expression”的文章。在研究过程中，王陈继研究员课题组利用国重平台的Roche定量PCR仪-384孔，实现了通过测定蛋白质溶解曲线进而判断蛋白质的热稳定性。Roche（罗氏）的定量PCR仪，尤其是其LightCycler系列，是分子生物学和临床诊断中广泛使用的高性能实时荧光定量PCR设备。该系列仪器通过实时监测PCR反应中的荧光信号，实现对DNA、RNA及蛋白质的定量分析。

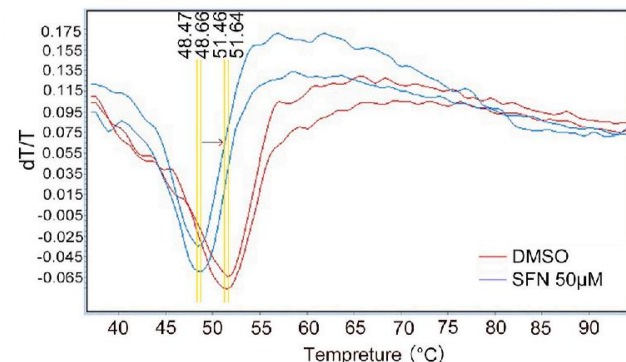
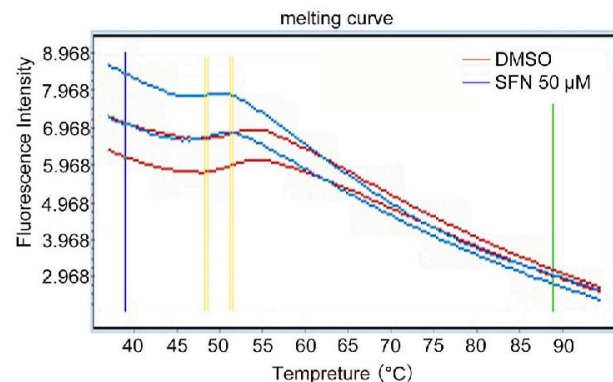
差示扫描荧光法（DSF），是一种用于研究蛋白质热稳定性的生物物理技术。该技术通过监测蛋白质在升温过程中荧光信号的变化，来评估蛋白质的构象稳定性及其与配体（如小分子化合物、核酸或其他蛋白质）的相互作用。当蛋白质被加热时，其三维结构会逐渐展开（变性），暴露出内部的疏水区域。在实验中使用疏水性荧光染料，这些染料在游离状态下荧光信号较弱，但当蛋白质变性后，染料会与暴露的疏水区域结合，导致荧光信号显著增强。通过实时监测荧光强度的变化，可以绘制出蛋白质的溶解曲线，并确定蛋白质的熔点（ T_m ），即蛋白质变性温度。



LightCycler 480 II
荧光实时定量PCR仪



QuantStudio™ 7 Flex
实时荧光定量PCR仪



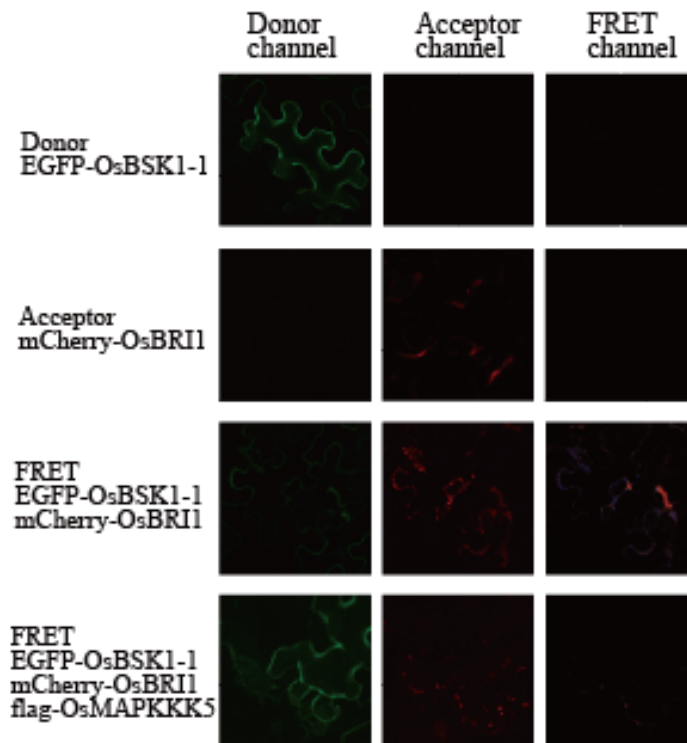
The curve represents the protein’s stability profile, showing changes in fluorescence intensity as the protein undergoes thermal denaturation. The inflection points of the curve, known as the melting temperature (T_m), represents the temperature at which 50 % of the protein is unfolded. Compare the T_m values of different samples to assess protein stability or ligand binding effects.

Roche定量PCR仪在DSF实验中具有显著优势，包括高精度的温度控制、高灵敏度的荧光检测、快速实验周期、多重检测能力以及高通量筛选能力。这些优点使其成为蛋白质热稳定性研究、药物筛选和蛋白质-配体相互作用分析的理想工具。通过结合DSF技术，Roche定量PCR仪为蛋白质科学研究提供了高效、精确的实验平台。

复旦大学罗小金教授课题组于*Plant Biotechnology Journal*杂志上发表题为“OsMAPKKK5 Affects Brassinosteroid Signal Transduction via Phosphorylating OsBSK1-1 and Regulates Rice Plant Architecture and Yield”的研究论文 (Yan, P., Wang, Y., Luo, X, et al. (2025), *Plant Biotechnol. J*, DOI: 10.1111/pbi.70008)。该研究利用国重平台的Leica全光谱多光子荧光寿命成像系统共聚焦显微镜在烟草细胞中观察在OsMAPKKK5的存在是否会影响OsBSK1-1与OsBRI1的互作强弱,发现OsMAPKKK5存在时, OsBSK1-1-GFP与OsBRI1-mCherry之间的荧光能力共振转移效率下降。基于这个结果,作者认为OsMAPKKK5可以负调控OsBSK1-1与OsBRI1的互作,从而抑制水稻油菜素甾醇信号转导,最终影响水稻株型和产量。该仪器为阐述基因的作用机制提供了有力证据之一。



全光谱多光子荧光寿命成像系统
Leica TCS SP8 DIVE FALCON



FRET images. Scale bars = 5 μm.

We determined whether competitive relationship between OsMAPKKK5–OsBSK1–1–OsBRI1 and OsMAPKKK5–OsBSK1–1–OsPPKL1 also influenced the effects of BR on the rice plant architecture and yield. Our Förster resonance energy transfer (FRET) analysis and the luciferase complementation assay showed that the strength of the interaction between OsBSK1–1 and OsBRI1/OsPPKL1 decreased in the presence of OsMAPKKK5.

油菜素甾醇 (BR) 是一种甾醇植物激素,可调节植物在不同阶段的生长和发育。与水稻BR合成和信号转导相关的突变体常常表现为植株生长受阻、发育不良、产量下降。丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号级联近些年来也被发现参与调控水稻产量,但BR信号和MAPK信号之间如何串扰,及其共同调控水稻株型和产量网络仍待深入解析。复旦大学罗小金团队挖掘出一个调控水稻株型和产量的关键基因 OsMAPKKK5,通过功能解析发现,OsMAPKKK5 编码一个MAPK级联信号激酶,与OsBSK1-1互作并使其磷酸化。进一步研究阐明,这种磷酸化会使二者的互作更紧密,使OsBSK1-1无法充分发挥作为BR受体行使传递BR信号的功能。综上所述,OsMAPKKK5作为重要的MAPKKK家族激酶,对水稻产量性状的调控表现出一因多效性,影响株高、分蘖数、籽粒大小等性状。OsMAPKKK5通过磷酸化OsBSK1-1抑制其作为BR受体传递BR信号的能力,使BR下游重要调控因子OsBZR1无法进入细胞核,负调控其下游基因表达来抑制BR信号转导,进而影响产量性状。因此,使用CRISPR/Cas9系统敲除OsMAPKKK5、或通过杂交用功能缺陷的OsMAPKKK5等位基因替换强功能的OsMAPKKK5等位基因,有望进一步改良水稻的株型和产量。本研究阐述了水稻产量性状调控的网络机制,为水稻高产育种提供了理论依据和基因资源。

复旦大学鲁伯坝教授课题组于*Science Translational Medicine*杂志上发表题为“MEK1/2 inhibitors suppress pathological α -synuclein and neurotoxicity in cell models and a humanized mouse model of Parkinson’s disease”的文章 (H. W. et al. B. Lu, *Science Translational Medicine*, 2025)。在研究过程中，鲁教授课题组利用国重平台的高内涵细胞成像和分析系统Operetta CLS，通过自动化图像采集和定量分析系统进行了小分子化合物筛选工作，并对帕金森病 (PD) 的病理机制做了深入探究。该技术平台可针对PD神经元的关键病理标志物——丝氨酸129磷酸化 α -突触核蛋白 (p- α syn) 进行高通量原位成像和定量分析，为探究小分子化合物降低病理性分子水平和挽救神经元死亡提供了极其便利的途径。



Operetta CLS 高内涵细胞成像和分析系统



Zeiss LSM710 高敏感度激光扫描共聚焦显微镜

负责老师: 史丹 仪器位置: 国重平台E101 Tel: 31246565
仪器预约网址: <http://lifesupporting.fudan.edu.cn/>

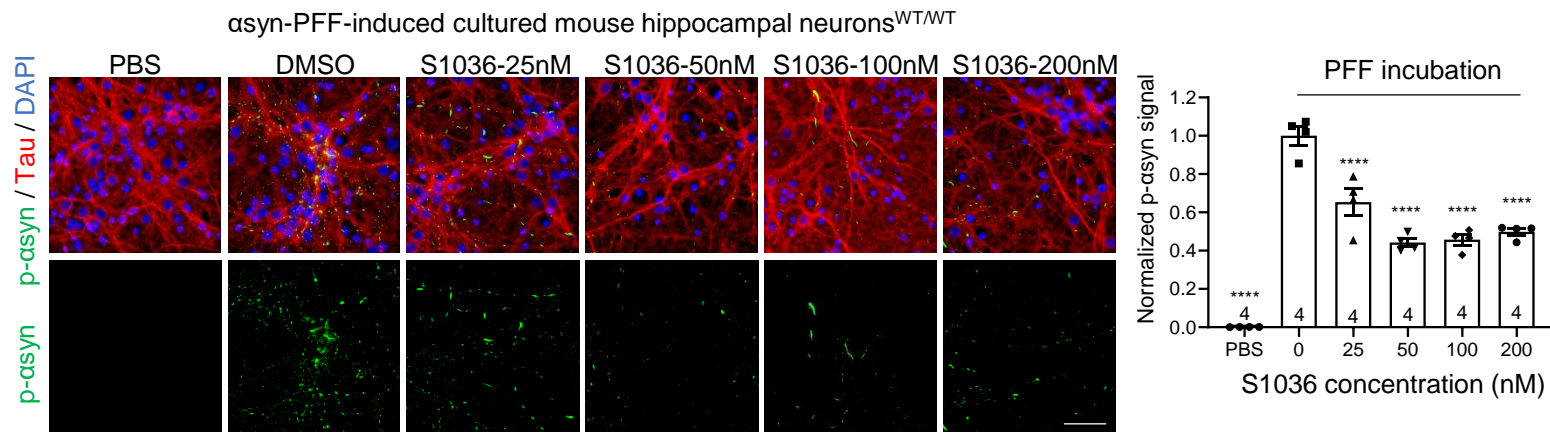


图1 利用Operetta CLS对MEK1/2抑制剂S1036处理后的PD神经元 (Tau)和丝氨酸129磷酸化的 α syn(p- α syn)进行原位成像 (左), p- α syn水平的定量分析 (右)。

The Operetta CLS high-content imaging and analysis system offers a transformative platform for investigating the pathological role of serine 129-phosphorylated α -synuclein (p- α syn) in Parkinson’s disease (PD) neurons, leveraging its high-throughput, high-resolution, and multiparametric quantitative capabilities. By integrating spinning-disk confocal microscopy with automated image acquisition, this system enables in situ imaging of primary murine neurons, precisely resolving the subcellular distribution of p- α syn in somata, axonal terminals, and presynaptic compartments. Utilizing specific fluorescent labeling and multichannel colocalization analysis, it quantitatively characterizes the localization intensity, aggregation morphology (e.g., oligomer size, fibrillar texture), and spatial interactions with organelle markers at single-cell resolution.

Compared to conventional endpoint assays like Western blot or immunohistochemistry, this technology not only enhances data throughput through automated imaging but also employs machine learning algorithms to objectively quantify pathological deposits and track their spatiotemporal dynamics. These advancements provide multidimensional pharmacodynamic evidence for evaluating therapeutic strategies or small-molecule α syn aggregation inhibitors. Furthermore, its high-throughput capacity accelerates targeted drug discovery and mechanistic studies focused on pathogenic proteins.

高内涵细胞成像和分析系统Operetta CLS凭借其高通量、高分辨率和多参数定量分析能力，为帕金森病 (PD) 神经元中丝氨酸129磷酸化 α -突触核蛋白 (p- α syn) 的病理机制研究提供了技术突破。通过整合转盘式共聚焦显微成像与自动化图像采集模块，该系统可对小鼠原代神经元进行原位成像，精准解析p- α syn在胞体、轴突终末及突触前结构的亚细胞分布特征。结合特异性荧光标记与多通道共定位分析，能够在单细胞水平同步量化其定位强度、聚集形态 (如寡聚体粒径、纤维化纹理) 以及与细胞器蛋白的空间互作关系。

相较于Western blot或免疫组化等传统终点法检测，该技术不仅通过高通量成像显著提升数据通量，还可基于机器学习算法实现病理沉积的客观量化，精准追踪其时空动态演变规律，从而为基因编辑或小分子药物的疗效评估提供多维度药效学证据。此外，其高通量优势可加速针对致病蛋白靶向药物筛选与机制解析。