
分子细胞中心等研发出系统性鉴定siRNA脱靶位点新方法

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/11965.html>

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

12月4日，*Molecular Therapy – Nucleic Acids*

在线发表了中国科学院分子细胞科学卓越创新中心（生物化学与细胞生物学研究所）吴立刚研究组，上海市计划生育科学研究所李卫华研究组与扬州大学赵雅研究组合作的研究成果 *Identifying Cleaved and Noncleaved Targets of Small Interfering RNAs and MicroRNAs in Mammalian Cells by SpyCLIP*

。该研究运用自主研发的SpyCLIP技术，对野生型和切割活性缺失的miRNA/siRNA效应器蛋白AGO2平行进行SpyCLIP建库测序，在全基因组层面准确、高效地鉴定出siRNA、miRNA的切割活性以及非切割活性作用位点，为降低siRNA药物的潜在脱靶风险，改进siRNA的设计规则提供了强有力的手段。

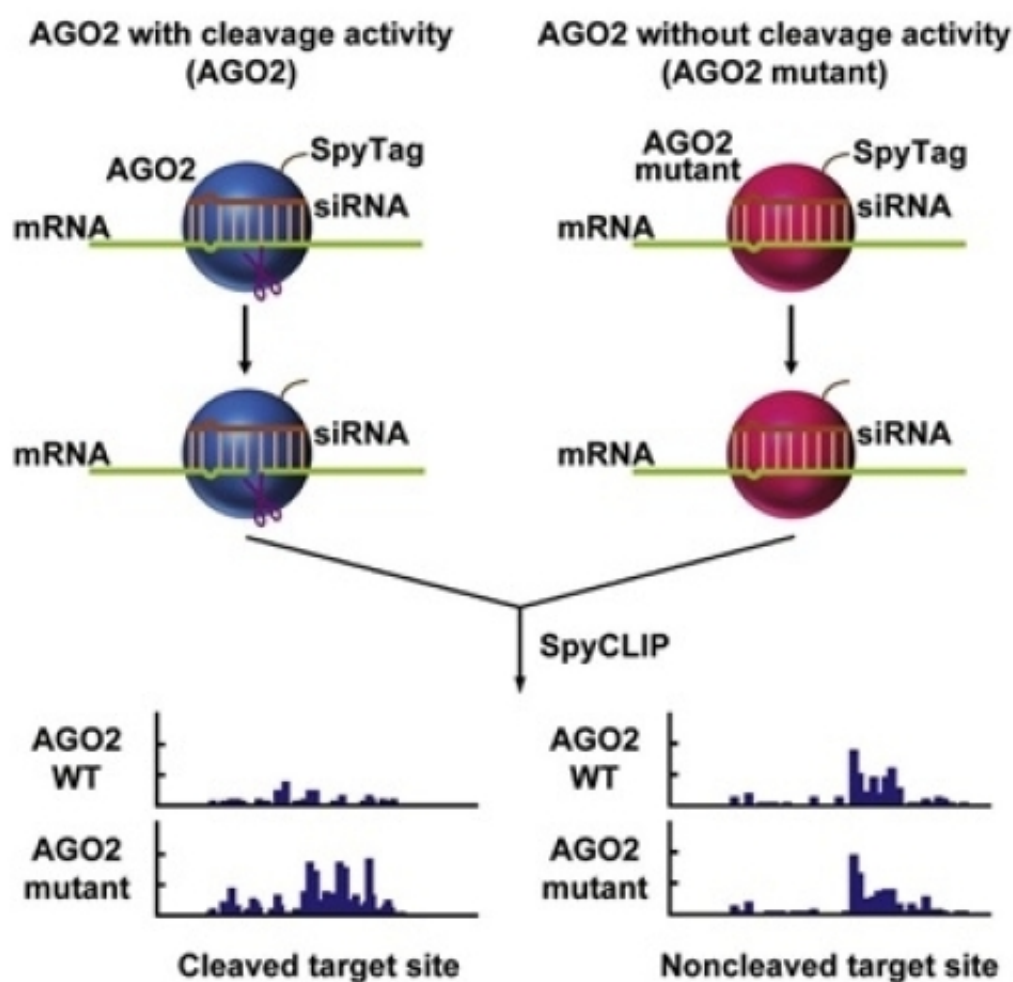
2018年8月，美国食品药品监督管理局批准了siRNA药物ONPATRO（patisiran），用于治疗遗传性转甲状腺素蛋白（hATTR）介导的淀粉样变性患者。同时，有多种化学合成的siRNA药物正处于不同的临床试验阶段。这些siRNA药物在体内除了能在on-target位点发挥功能，还会在其他位点产生切割活性的或非切割活性的脱靶效应。如何在进入临床试验前在细胞水平提前预判或及时发现siRNA的脱靶效应显得尤为重要，但是目前对于预测siRNA的脱靶效应尚未有成熟方法，主要采用类似预测miRNA靶标的方法——根据siRNA的seed区域（第2-8位碱基）进行预测。然而，siRNA的2-8序列仅为7个碱基，任何一条siRNA均会被预测发现成百上千个可能的靶位点，因而无法实际应用。因此，亟须一种可在全基因组层面上准确、高效鉴定siRNA脱靶位点的新策略。

研究人员运用自主研发的SpyCLIP技术，结合野生型和切割活性缺失的miRNA/siRNA效应器蛋白AGO2，平行地获取上述两种AGO2在siRNA的指导下所结合的所有靶标序列。被野生型AGO2-siRNA所结合的有效和脱靶靶标，其转录本通常迅速降解，难以在SpyCLIP文库中得到富集；而被突变型AGO2-siRNA所结合的有效和脱靶靶标，其转录本由于突变体AGO2仅能结合而无法发挥切割功能，从而可以在SpyCLIP文库中得到富集。通过比对上述两种AGO2-siRNA的靶标结合图谱，研究人员在全基因组层面上鉴定到所转入siRNA的脱靶位点，并分类为切割活性和非切割活性两大类，其转录本的抑制效率与siRNA的配对规则具有显著差异。研究发现，相比于非切割活性的位点，受切割活性调控的脱靶位点具有更高的抑制效率。此外，与siRNA并非接近完全互补配对的转录本，也能够受到AGO2的切割调控。这些新发现对于未来siRNA药物研发如何最大化避免脱靶效应具有重要的参考价值。

分子细胞卓越中心研究员吴立刚、上海市计划生育科学研究所研究员李卫华和扬州大学副研究员

赵雅为论文的共同通讯作者，博士研究生张尧和硕士研究生滕怡兰为论文的共同第一作者。研究工作得到国家自然科学基金委、科技部、中科院、上海市科学技术委员会和江苏省科技厅的支持。

[论文链接](#)



运用SpyCLIP技术平行捕获野生型和突变型AGO2-siRNA的靶标结合图谱，获得全基因组层面上的脱靶位点信息

研究团队单位：分子细胞科学卓越创新中心

更多 科学进展 请访问 <https://www.iikx.com/news/progress/>

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](#)转发