

生物物理所等创建出RNA结合蛋白靶标研究新方法LACE-seq

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/14176.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！

6月10日凌晨，中国科学院生物物理研究所研究员薛愿超课题组及其合作者在*Nature Cell Biology*上，在线发表了题为*Global profiling of RNA-binding protein target sites by LACE-seq*的论文。

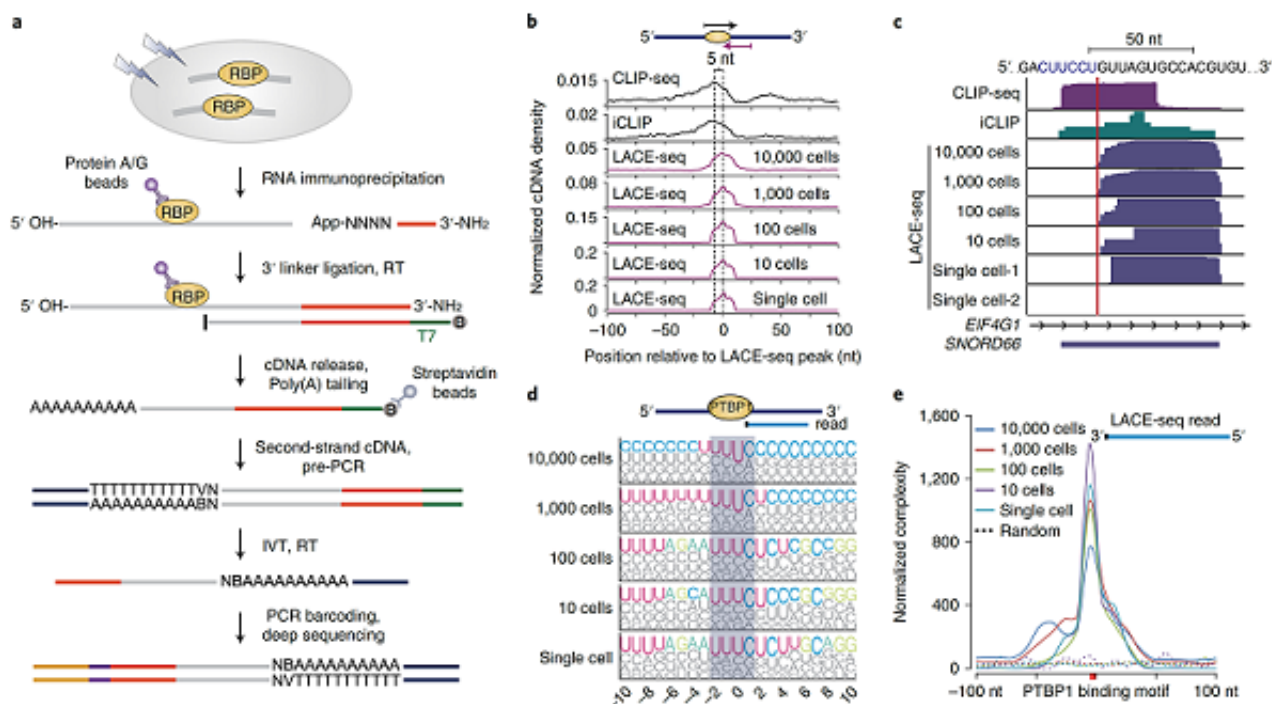
人类基因组编码了约1500个RNA结合蛋白（RNA-binding protein, RBP），它们往往通过结合RNA分子上的特定基序或结构元件而调控细胞内各种RNA分子的加工、定位、翻译和稳定性等。研究表明，RBP在早期生殖、个体发育、细胞分化、增殖和凋亡等几乎所有的生理过程中都发挥了关键的调控作用。RNA结合蛋白的突变会导致多种遗传性疾病，比如，FUS和TDP43的突变可导致肌肉萎缩性侧索硬化症，而U2AF35、SF3B1等的突变会导致骨髓增生异常综合症的发生。准确鉴定RBP的结合靶标及精确结合位置是理解其生理和病理调控机制的前提。

目前，常用的鉴定RBP靶标的方法主要有RIP-seq和CLIP-seq。由于这两种方法均依赖于利用特异性抗体富集RBP及其所结合的RNA，且需要百万数量级的细胞，因此，限制了这些方法在稀有细胞类型及临床穿刺样本中的应用。例如，RBP在早期生殖和胚胎发育过程中发挥关键调控作用，但由于缺乏可在微量细胞甚至单细胞水平研究RBP靶标的实验方法，导致早期生殖过程中RBP及其复合物的分子机制研究仍缺少。针对该领域存在的难题以及现有实验方法的缺点，薛愿超课题组及合作者于近期开发了可在微量细胞中鉴定RBP作用靶点的新技术LACE-seq（Linear amplification of cDNA ends and sequencing）。通过线性扩增逆转录酶在RBP结合位点处的终止信号，该研究首次实现了在单碱基分辨率和单细胞层面精准鉴定RBP的结合位点，为研究RBP在胚胎发育和生殖疾病中的功能机制打开了大门。

利用创建的LACE-seq方法，研究团队取得如下研究成果：（1）首次在卵细胞中绘制出Ddx4、Ptblp1、Ago2和Mili等RBP的具体靶标和结合位置；（2）率先发现Ago2/endo-siRNA沉默复合物在卵细胞中以非完全互补配对的方式抑制mRNA的翻译，并证明endo-siRNA的靶标Bub3、Chk1、Nuf2等的蛋白质水平变化可能与Ago2敲除后的表型相关；（3）证明了Ago2/endo-siRNA复合物可切割由逆转座子（Long-terminal repeat retrotransposons）启动子起始的嵌合体RNA，该机制确保了卵细胞中转录组的完整性。

研究工作获得科学技术部重点研发计划、国家自然科学基金委和中科院战略性先导科技专项等的资助。生物物理所博士研究生苏瑞宝、副研究员曹唱唱和中科院动物研究所博士研究生樊立华为论文的共同第一作者；薛愿超、动物所及广东省第二人民医院教授孙青原、北京大学及北大-清华生命科学联合中心教授黄超兰为论文的共同通讯作者。

论文链接



LACE-seq方法可在微量细胞中准确鉴定PTBP1的结合靶标

研究团队单位：生物物理研究所

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

本文版权归作者所有，请勿用于商业用途，[爱科学iikx.com](https://www.iikx.com)转发