
科研人员建立高灵敏RNA结合位点检测技术

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：<https://www.iikx.com/news/progress/38589.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！

科研人员建立高灵敏RNA结合位点检测技术

。近日，中国科学院分子细胞科学卓越创新中心团队等，开发了检测RNA结合蛋白（RBP）在RNA上结合位点的高灵敏、高信噪比深度测序方法uSpyCLIP，并运用这一技术揭示了两种目前应用最为广泛的Cas13核酸酶——Prevotella sp. P5-125 (Psp)Cas13b和Ruminococcus flavefaciens XPD3002 (Rfx)Cas13d的gRNA依赖性以及gRNA非依赖性脱靶结合位点的特征，为未来RNA编辑、检测和治疗应用中Cas13和gRNA的优化设计提供了指导。

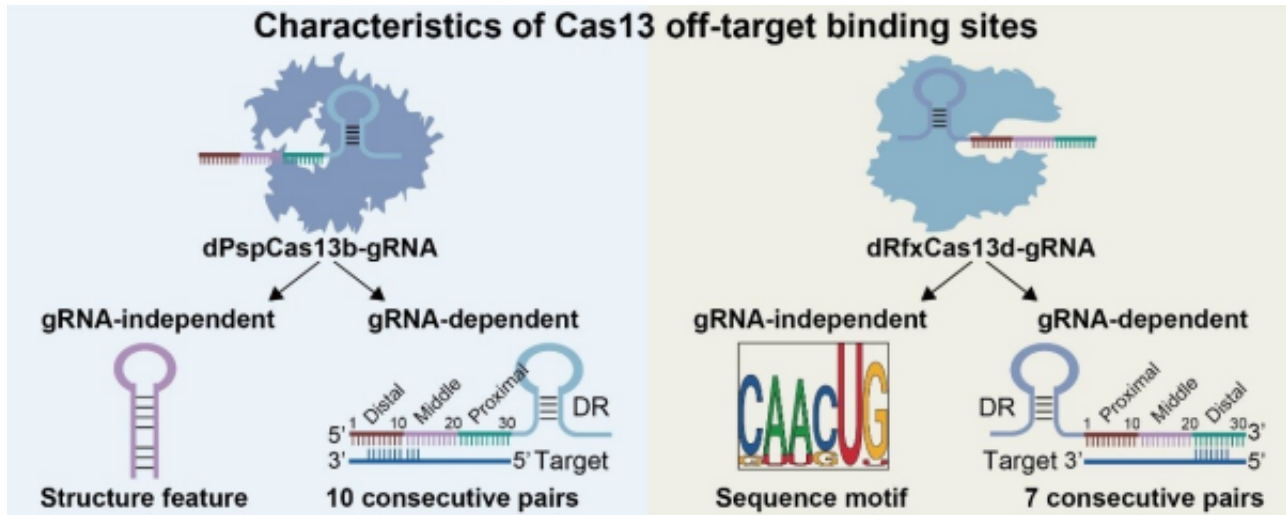
该技术通过最小化RBP融合标签设计，降低了对RBP活性的干扰，在识别RBP结合位点时具有高灵敏性和特异性，可以在相同测序深度下检测到更多的结合位点，并支持仅使用1000个细胞完成RBP结合位点图谱测定。此外，uSpyCLIP技术依托磁珠进行操作，便于实现自动化、减少人工投入，且整个流程仅需两天。

研究人员运用uSpyCLIP技术，绘制出dPspCas13b-gRNA和dRfxCas13d-gRNA复合物在转录组中的结合位点分布图谱。结果显示，dCas13的结合行为比先前预想的更为广泛。研究同时对两种dCas13-gRNA复合物的脱靶结合行为进行表征和验证，证实dCas13蛋白的gRNA非依赖性脱靶位点，具有独特的RNA识别位点结构和序列特征。对gRNA依赖性脱靶位点的分析显示，gRNA的DR远端区和中部区域在决定结合特异性中具有关键作用。研究还发现，以上部分脱靶事件导致非靶标基因的mRNA和/或蛋白质水平基因表达发生变化。这表明，基于dCas13或dCas13—效应子融合蛋白的应用，如转录后调控、RNA成像和RNA编辑，可能因脱靶结合而产生复杂的毒副作用。

这一研究为检测Cas13的脱靶结合位点提供了新的技术手段与研究策略，并深化了关于Cas13系统的认知，为特异性gRNA的合理设计以及Cas蛋白的工程改良提供了理论支撑。

相关研究成果在线发表在《核酸研究》（Nucleic Acids Research）上。研究工作得到国家自然科学基金委员会、科学技术部、中国科学院的支持。

[论文链接](#)



dPspCas13b-gRNA和dRfxCas13d-gRNA复合物脱靶结合位点的特征

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](http://www.iikx.com)转发