

其他相关

综合新闻

- ▶ 通知公告
- ▶ 学术活动
- ▶ 学术会议
- ▶ 媒体报道
- ▶ 科研进展
- ▶ 人才引进与招聘
- ▶ 办事指南
- ▶ 相关链接
- ▶ 联系我们

吴立刚研究组发明一种基于共价连接的适合高通量应用的新型高精度CLIP方法

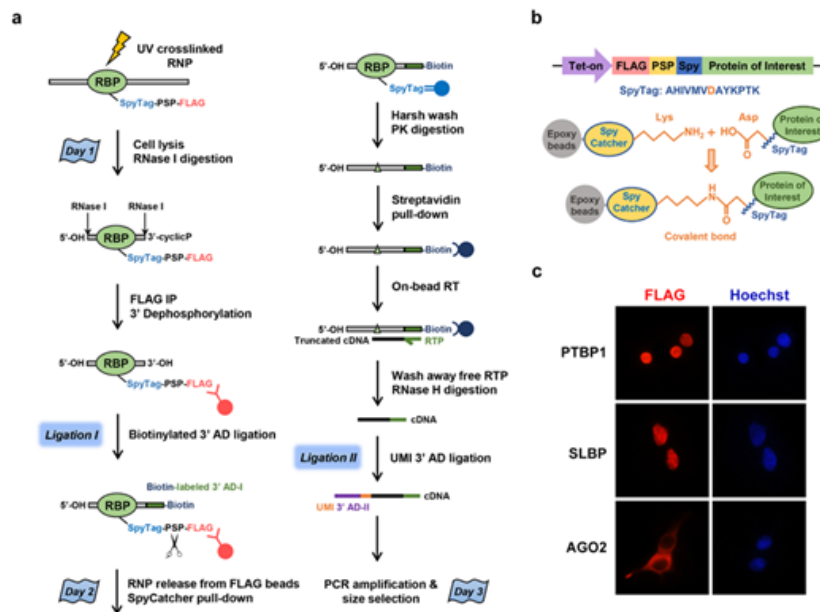
1月31日, 国际学术期刊*Nucleic Acids Research*在线发表了中国科学院生物化学与细胞生物学研究所吴立刚实验室的研究成果: "SpyCLIP: an easy-to-use and high-throughput compatible CLIP platform for the characterization of protein-RNA interactions with high accuracy"。该研究将SpyTag-SpyCatcher这一共价交联系统创新性地应用到CLIP技术中, 极大地降低了CLIP技术的难度并提高了所获数据的特异性。研究还对CLIP建库流程进行了重新设计, 使之适应于自动化操作和高通量应用的要求。

目前已知的RNA结合蛋白已经超过一千种, 许多过去被认为不结合RNA的蛋白质近期亦被发现具有RNA结合能力, 所结合的RNA对调控这些蛋白质机器的活性发挥了重要作用。CLIP是研究体内蛋白质-RNA相互作用最为先进的方法之一。该方法历经改进, 产生了多种变体, 但现有CLIP版本均依赖于高特异性的抗体, 实验步骤繁杂, 通常要采用放射性同位素标记, 所获数据的可重复性差, 无法规模化应用。因此, 研发简洁高效且适合高通量应用的新方法是系统性理解蛋白质-RNA相互作用的关键和当务之急。

本研究采用一种全新的基于SpyTag-SpyCatcher这一共价交联系统的纯化策略, 极大地提高了所获蛋白质-RNA复合物的纯度。同时对CLIP建库的流程进行创新设计, 避免了传统CLIP方法中多步限制规模化操作和大量损耗起始材料的效率限制性步骤。此外, 还引入通用的input文库用以背景扣除, 进一步提高了CLIP方法的特异性。这些核心改进不仅避免了现有CLIP方法对抗体的依赖, 提高了数据的信噪比和可重复性, 并大幅降低了操作的难度和时长, 使得SpyCLIP方法能够适应高通量研究的需求。利用SpyCLIP这一新工具, 研究人员在哺乳动物细胞中研究了内含子结合蛋白PTBP1和RBFOX2的结合图谱, 发现SpyCLIP可以真实、高效地捕获它们的剪接调控位点; 研究了组蛋白mRNA专一性结合蛋白SLBP, 发现SpyCLIP能以极高地特异性捕获其与组蛋白mRNA的相互作用, 并发现了新的非组蛋白结合对象; 研究了microRNA效应器蛋白AGO2的结合图谱, 比较和揭示了3'非翻译区和编码区microRNA靶位点的机制和特征。SpyCLIP对多种RNA结合蛋白均表现出杰出的灵敏度和特异性, 为规模化、系统性研究蛋白质-RNA相互作用提供了一种简洁易用且具备高精度的新工具。

生化与细胞所吴立刚研究员为本文通讯作者, 副研究员赵雅和博士研究生张尧为本文共同第一作者。该项研究工作得到了中科院、基金委和科技部的经费支持。

地址: 上海市岳阳路320号
邮编: 200031
电话: 86-21-54920000
传真: 86-21-54921011
邮箱: sibcb@sibcb.ac.cn



SpyCLIP为研究细胞内蛋白质-RNA相互作用提供了更为简便、准确的方法