

高级搜索

## 生科魏文胜课题组再次发文报道长非编码RNA的功能性筛选新方法

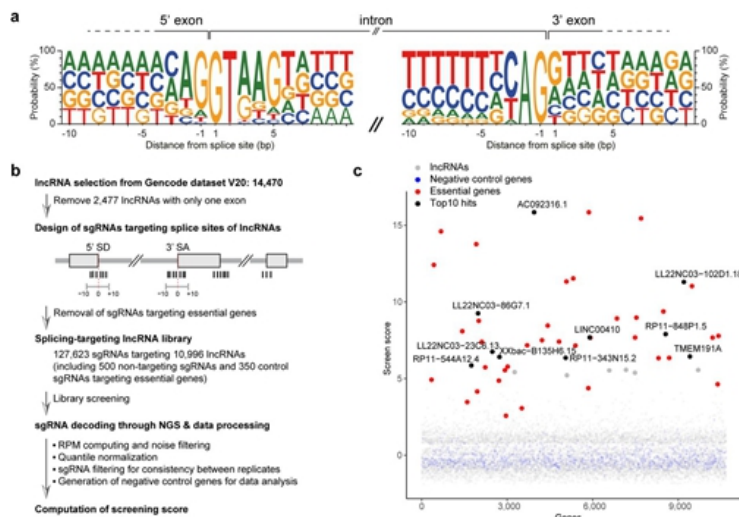
日期：2018-11-06 信息来源：生命科学学院

2018年11月5日，北京大学生命科学学院魏文胜课题组在*Nature Biotechnology*杂志在线发表了题为“[Genome-wide screening for functional long noncoding RNAs in human cells by Cas9 targeting of splice sites](#)”的研究论文。

作为强大的基因编辑工具，CRISPR/Cas9系统能够在蛋白编码基因的外显子区域产生移码突变而彻底破坏蛋白表达及功能，这一特性被广泛应用于基因的大规模功能性筛选研究。人类基因组中除了蛋白编码基因，绝大多数区域为非编码序列。其中长链非编码RNA（lncRNA）已有上万个位点被注释，但是它们绝大多数功能未知，一些已知功能的lncRNA与癌症等很多疾病的发生发展密切相关。

魏文胜课题组与合作者之前已率先建立了通过成对gRNA（pgRNA）在基因组中产生大片段删除的策略对lncRNA进行高通量功能性筛选（Zhu et al. *Nature Biotechnol* 2016）。后续又有报道通过CRISPRi（Liu et al. *Science* 2017）以及CRISPRa（Joung et al. *Nature* 2017）等方法进行lncRNA的高通量功能性筛选。这些方法在效率、质量（假阳性、假阴性）上各有欠缺：比如CRISPRi方法只能实现基因表达抑制而不能完全敲除；CRISPRa的方法只能上调基因表达，无法对基因不可或缺的作用实施筛选评估。大片段删除的策略由于步骤繁琐，也限制了其更大规模的应用。

为了突破以上方法的局限，魏文胜课题组设计了新的筛选策略，构建了特异性靶向基因的剪接位点的新型CRISPR文库，以高通量的方式产生基因的外显子缺失或者内含子滞留。运用这一策略，实现了全基因组水平上对lncRNA功能的高效筛选。他们利用靶向10,996个lncRNA的特殊CRISPR文库，在慢性髓性白血病细胞K562中筛选并发现了230个lncRNA与细胞存活或增殖相关。研究团队在HeLa细胞和人B淋巴细胞GM12878中分别发现了115个、220个影响细胞存活与增殖的lncRNA，并通过进一步分析表明，lncRNA功能在不同细胞种类中具有显著异质性。这一新型高通量技术平台的建立，首次真正实现了从全基因组水平对长链非编码RNA进行基于完全敲除的高通量筛选，该方法学将为系统发现和解析lncRNA功能提供有效工具。



这项研究于11月5日在线发表于*Nature Biotechnology* (DOI: 10.1038/nbt.4283)。魏文胜课题组博士生刘莹 (CLS 2014级)、曹中正 (CLS 2015级), 王轶楠博士 (CLS 2013级) 及博士后郭昱为该论文的共同第一作者。该研究得到国家自然科学基金重点项目、北京未来基因诊断高精尖创新中心和北大-清华生命科学联合中心的基金支持。

编辑: 麦洛

责编: 白杨

北京大学官方微博



北京大学新闻网



北京大学官方微信



[打印页面] [关闭页面]

转载本网文章请注明出处

友情链接

合作伙伴



投稿邮箱 E-mail: xinwenzx@pku.edu.cn 新闻热线: 010-62756381

