

# miRNA 芯片常见问题



上海欧易生物 技术支持部

# miRNA 芯片常见问题

## 目 录

1. 什么是 miRNA? .....	2
2. miRNA 芯片的实验目的? .....	2
3. 欧易生物如何保证 miRNA 芯片检测服务的质量? .....	2
4. 欧易生物是否获得服务认证? .....	2
5. 欧易生物可以提供哪些物种的 miRNA 芯片检测服务? .....	3
6. Agilent miRNA 芯片与 Affymetrix miRNA 芯片有什么区别? .....	3
7. miRNA 芯片的分析流程? .....	3
8. miRNA 芯片、miRNA 测序、miRNA PCR array 以及 miRNA 定量 PCR 技术之间的异同点? .....	4
9. miRNA 芯片一个样品需求的 RNA 量? .....	4
10. 组织、细胞或者血液分别需要多少用量? 如何进行运输? .....	4
11. 样品该如何收集与处理? .....	4
12. 血清/浆样本的取材有哪些注意事项? .....	4
13. 生物学重复是必须的吗? 一般应重复几次? .....	4
14. 芯片的变异系数 (CV 值) 怎么解释? .....	5
15. 欧易生物提供的 miRNA 芯片报告内容有哪些? .....	5
16. miRNA 靶基因预测软件有哪些? .....	5
17. miRNA 数据库有哪些? .....	6
18. miRNA 进行 RT-PCR 验证时出现非特异性扩增, 如何解决? .....	6

# miRNA 芯片常见问题

## 1. 什么是 miRNA?

microRNA(miRNA)是在真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码 RNA,它本身不具有开放阅读框架(ORF),不编码蛋白质,其大小长约 20~25 个核苷酸。miRNA 的共同特征包括:长度短(17-25nt),前体带有可预测的茎环结构,高度保守,其表达具有时序性和组织特异性。

## 2. miRNA 芯片的实验目的?

与 Northern blot、RT-PCR 及直接克隆等传统的检测方法相比,miRNA 芯片具有信息量大、特异性强、灵敏度高、稳定性好、经济有效且可靠易行的特点。由于 miRNA 的高度保守性,根据已知的 miRNA 序列设计特异性的探针,可以对已知基因组信息物种的 miRNA 进行差异表达筛选及靶基因预测。

## 3. 欧易生物如何保证 miRNA 芯片检测服务的质量?

**进口的配套试剂:**所有的试剂都是进口的配套试剂,充分保证实验的准确性和稳定性;

**完整的硬件系统:**配备芯片检测所需的所有仪器,包括杂交炉、扫描仪、2100 样品质控系统;

**专业的技术操作人员:**十年芯片实验的操作经验;专业的生物信息分析团队,熟悉各种分析算法和软件;

**更高的服务标准:**采取严格的质量标准、多重实验质控和完备的实验记录,确保更高的成功率、更低的样品损失及实验失败风险,并且客户可以参与整个芯片实验过程,接受客户监督,更加透明和可信;

**更个性化的生物信息分析服务:**与客户充分互动,提供更多个性化分析思路和分析方案;

**完善的后续验证支持:**持续专注于 miRNA 的定量检测,为上千位客户提供过相关服务;

**严谨的科学作风:**尊重科学、尊重事实、务求严谨、绝不弄虚作假;

**优秀的服务理念:**核心团队平均 12 年以上技术服务领域工作经验,均具备良好的职业操守及服务客户理念。

## 4. 欧易生物是否获得服务认证?

欧易生物是 Agilent 和 Affymetrix 公司的官方认证服务商,而且是国内近六年唯一获得 Agilent 官方认证的服务商。



## 5. 欧易生物可以提供哪些物种的 miRNA 芯片检测服务？

Agilent miRNA 芯片：人、大鼠、小鼠，基于 miRbase 21.0 进行设计；

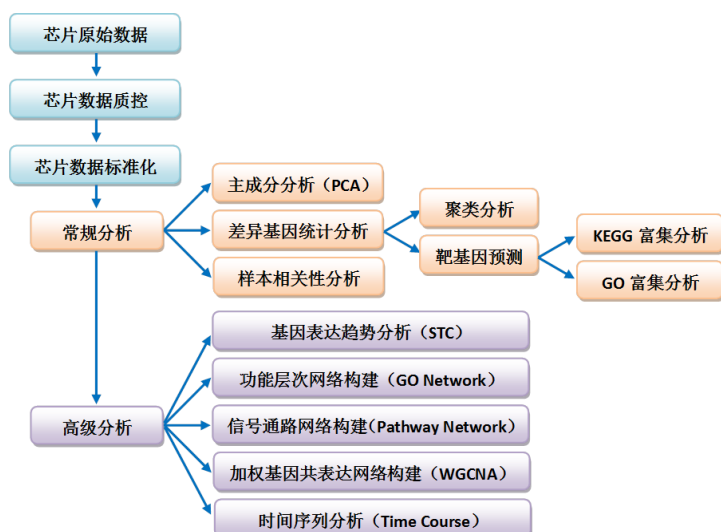
Affymetrix miRNA 芯片：可以检测 203 个物种，基于 miRbase 20.0 进行设计。

芯片详细信息请见：<http://www.oebiotech.com/index.php?s=/Index/detail/id/28.html>

## 6. Agilent miRNA 芯片与 Affymetrix miRNA 芯片有什么区别？

	Agilent miRNA 芯片	Affymetrix miRNA 芯片
芯片种类	一个物种对应一张芯片	多个物种一张芯片
物种	目前只有人、大鼠、小鼠，其它物种可以定制	一张芯片包括人、大鼠和小鼠在内的 203 个物种
miRBase 版本	V21.0	V20.0
检测 pre-miRNA	不能	能
人 miRNA 数量	2549 个成熟 miRNA	2578 个成熟 miRNA; 2025 个 pre-miRNA
小鼠 miRNA 数量	1881 个成熟 miRNA	1908 个成熟 miRNA; 1255 个 pre-miRNA
大鼠 miRNA 数量	758 个成熟 miRNA	728 个成熟 miRNA; 490 个 pre-miRNA

## 7. miRNA 芯片的分析流程？



另：我们专门整理了 miRNA 芯片报告模板，里面详细介绍了我们所提供的数据分析内容，客户可向当地销售索取。

## 8. miRNA 芯片、miRNA 测序、miRNA PCR array 以及 miRNA 定量 PCR 技术之间的异同点？

	miRNA 芯片	miRNA 测序	miRNA PCR array	miRNA 定量 PCR
通量	高通量	高通量	中通量	低通量
检测数量	几千或几百个 miRNA	几千或几百个 miRNA	某个通路的 84/372 个 miRNA	数十个 miRNA
物种	常见的研究物种	理论上所有物种	主要是人、大小鼠、恒河猴，其他物种需要定制	所有物种
qPCR 验证	需要	需要	不需要	不需要
发现新的 miRNA	不能	能	不能	不能
检测 miRNA 前体	部分产品可以	不能	不能	不能
实验周期	20-25 个工作日	60-65 个工作日	25 个工作日	10-15 个工作日
最低样品量 (total RNA)	Agilent: 200ng Affymetri: 250ng	5ug	96 孔板: 1ug 384 孔板: 4*400ng	0.5ug
所用仪器	芯片扫描系统	测序仪	定量 PCR 仪	定量 PCR 仪

## 9. miRNA 芯片一个样品需求的 RNA 量？

Agilent miRNA 芯片检测上样量为 200ng，affymetrix miRNA 芯片上样量为 250ng。但由于质检会耗损一定的 RNA 量，建议客户提供至少 1 $\mu$ g 的 total RNA。

## 10. 组织、细胞或者血液分别需要多少用量？如何进行运输？

细胞样品请提供至少 10<sup>6</sup> 个细胞，组织样品请提供至少 100mg 的组织块或切片，血清或者血浆请至少提供 400 $\mu$ l，全血样品请提供至少 2ml 并分离白细胞。

非上海地区客户，所有样品都采用干冰运输，偏远地区应保证干冰量足够。

## 11. 样品该如何收集与处理？

针对不同类型的样品收集与处理，我们专门整理了《样品采集操作指南》，客户可以自行在我们的官网下载（<http://www.oebiotech.com/index.php?s=/Index/down/id/0.html>）或者向当地的销售索取。

## 12. 血清/浆样本的取材有哪些注意事项？

在诸多类型的样品取材中，我们发现血清/浆样本收集过程中发生 RNA 降解的情况最常见，为此我们专门整理了《血液类样品处理办法》，客户可以自行在我们的官网下载（<http://www.oebiotech.com/index.php?s=/Index/down/id/0.html>）或者向当地的销售索取。

## 13. 生物学重复是必须的吗？一般应重复几次？

是的。一般应该重复 3 次以上，具体情况需要根据具体实验来决定。样本数量越多对于统计筛选越有利，因为 p value 值与样本数量相关。

## 14. 芯片的变异系数（CV 值）怎么解释？

根据商品化芯片内部质控点的数据分别计算 CV 值，对其取中位数即代表芯片的变异系数，这是检测芯片实验好坏的重要指标，一般 CV 值都要求小于 15%。CV 值是标准偏差与平均值之比，用百分数表示，计算公式为： $CV = SD/Mean \times 100\%$ 。

## 15. 欧易生物提供的 miRNA 芯片报告内容有哪些？

欧易生物提供的 miRNA 芯片报告由实验数据、实验图像、实验文件和项目总结报告组成。实验数据文件夹包含了所有芯片的原始数据和分析数据以及详细的数据查看说明文件；实验图像文件夹包含了所有芯片的原始扫描图像，以及数据分析中的图像文件及详细的图片查看说明；实验文件文件夹包含了 RNA 质控报告、实验操作流程、常用软件及 RT-PCR 验证注意事项；项目总结报告是这个项目的完整说明。



## 16. miRNA 靶基因预测软件有哪些？

常用的 miRNA 靶基因预测软件如下：

软件	网址
RNAhybrid	<a href="http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/rnahybrid/">http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/rnahybrid/</a>
miRanda	<a href="http://www.microrna.org/">http://www.microrna.org/</a>
TargetScan	<a href="http://www.targetscan.org/">http://www.targetscan.org/</a>
RNA22	<a href="http://cbcsrv.watson.ibm.com/rna22.html">http://cbcsrv.watson.ibm.com/rna22.html</a>
PicTar	<a href="http://pictar.mdc-berlin.de/">http://pictar.mdc-berlin.de/</a>
miRWalk	<a href="http://www.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk/">http://www.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk/</a>
microRNAorg	<a href="http://www.microrna.org/microrna/home.do">http://www.microrna.org/microrna/home.do</a>
PITA	<a href="http://genie.weizmann.ac.il/pubs/mir07/mir07_data.html">http://genie.weizmann.ac.il/pubs/mir07/mir07_data.html</a>

### 17. miRNA 数据库有哪些？

常用的 miRNA 数据库包括 miRBase、PMRD 等。miRBase 是目前最为重要的 miRNA 数据库之一。该数据库不仅能够提供 miRNA 检索,还可以通过链接 microRNAorg、TargetScan、Pictar 等网站进行靶基因的预测。目前 miRBase 已升级至 21.0 版本,囊括了 223 个物种的 miRNA。PMRD (<http://bioinformatics.cau.edu.cn/PMRD/>) 是一个专门针对植物 miRNA 的数据库。

### 18. miRNA 进行 RT-PCR 验证时出现非特异性扩增，如何解决？

因为 miRNA 序列比较短，相似度又非常高，尤其是同一家族的 miRNAs，彼此间很难区分开，出现非特异性扩增是很正常的，建议使用 Taqman 探针法进行尝试。

联系我们:



公司总部: 上海市浦东新区祖冲之路 1505 弄 138 号 6 楼

服务热线: 4006-4008-26

欧易官网: [www.oebiotech.com](http://www.oebiotech.com)

市场联络邮箱: [market@oebiotech.com](mailto:market@oebiotech.com)

技术服务咨询邮箱: [service@oebiotech.com](mailto:service@oebiotech.com)

邮编: 201210

微信:

