

miRNA 测序常见问题



上海欧易生物 技术支持部

miRNA 测序常见问题

目 录

1. miRNA 测序对样本抽提有什么要求?	2
2. miRNA 测序需求的样本量?	2
3. miRNA 测序和 miRNA 芯片之间有何区别?	2
4. miRNA 测序和 miRNA 芯片这两种技术如何选择?	2
5. miRNA 测序的项目周期是多少个工作日?	2
6. miRNA 的提取和普通的 RNA 提取有什么区别吗?	2
7. miRNA 测序的文库是如何构建的?	3
8. 什么是 miRNA 的种子序列?	3
9. miRNA 测序推荐数据量?	3
10. miRNA 靶基因预测软件有哪些?	3
11. miRNA 数据库有哪些?	4
12. miRNA 测序的分析流程	4
13. miRNA 进行 RT-PCR 验证时出现非特异性扩增, 如何解决?	4

miRNA 测序常见问题

1. miRNA 测序对样本抽提有什么要求？

为防止小 RNA 丢失，提取总 RNA 时请不要使用普通过柱法和 LiCl 沉淀法。

2. miRNA 测序需求的样本量？

miRNA 测序最低需求量为 1 μ g total RNA，但由于质检会损耗部分 RNA，所以建议客户提供 3-4 μ g total RNA。细胞样品请提供至少 5 \times 10⁶ 个细胞，组织样品请提供至少 300mg 的组织块或切片，全血请提供至少 2ml 并分离好白细胞。

3. miRNA 测序和 miRNA 芯片之间有何区别？

	miRNA 芯片	miRNA 测序
miRNA 检测数量	几千或上万个 miRNA	几千或上万个 miRNA
物种	常见的研究物种	理论上所有物种
是否需要 qPCR 验证	需要	需要
能否发现新的 miRNA	不能	能
检测 miRNA 前体	部分产品可以	可以
实验周期	20-25 个工作日	60-65 个工作日
最低样品量	Agilent: 200ng	1 μ g
(total RNA)	Affymetri: 250ng	
仪器	芯片扫描系统	测序仪

4. miRNA 测序和 miRNA 芯片这两种技术如何选择？

对于常见物种例如人、大鼠和小鼠，有对应的商品化 miRNA 芯片，建议选择 miRNA 芯片，对于其它无对应芯片的物种，建议选择 miRNA 测序。

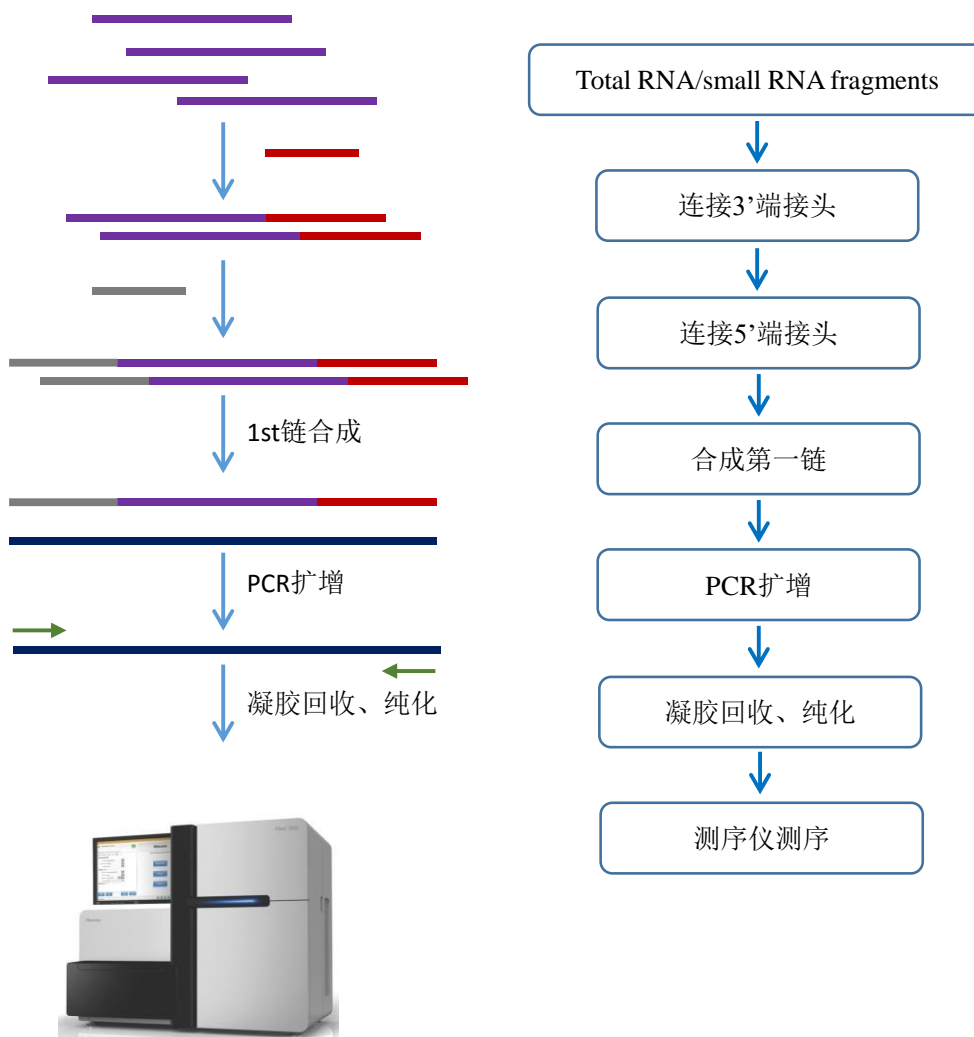
5. miRNA 测序的项目周期是多少个工作日？

一般是 45 个工作日。

6. miRNA 的提取和普通的 RNA 提取有什么区别吗？

有区别，miRNA 的提取是需要专门的试剂盒，如果您用的样品是细胞，建议加 Ambion 裂解液。

7. miRNA 测序的文库是如何构建的?



8. 什么是 miRNA 的种子序列?

种子序列是成熟 miRNA 序列第 2-8 位, 与 mRNA 结合中最关键的序列。

9. miRNA 测序推荐数据量?

一般推荐数据量 10M Reads。

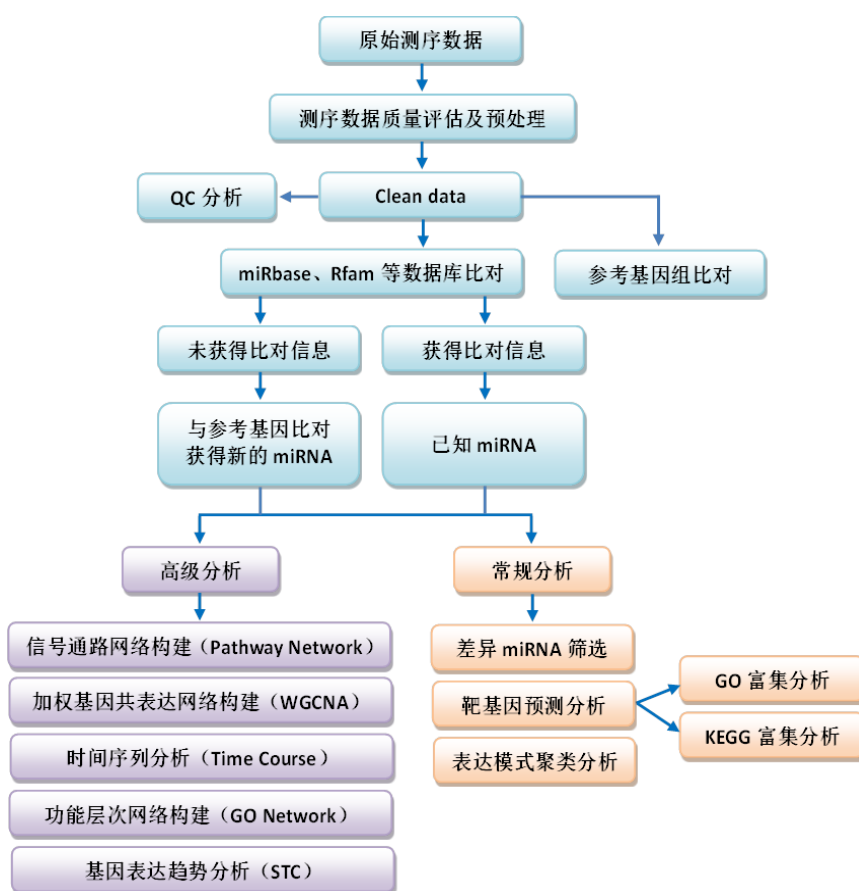
10. miRNA 靶基因预测软件有哪些?

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

11. 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。

12. miRNA 测序的分析流程



13. 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

市场联络邮箱：market@oebiotech.com

技术服务咨询邮箱：service@oebiotech.com

邮编：201210

微信：

