

miRNA研究策略 与研究技术

microRNA简介

microRNA (miRNA) 是真核生物中一类内源性的小非编码RNA, 长度约为17-25nt。自1993年科学家发现 miRNA以来, 小RNA领域的进展颠覆了我们对基因调控的认识。从胚胎发育开始, 到细胞凋亡, 乃至肿瘤生长, miRNA在一系列生理和病理过程中发挥着重要的作用。各种遗传、代谢、传染病和肿瘤相关的 miRNA为科学家进行病理研究提供了新的角度, 并有望成为可靠的疾病生物标志物, 科学家们也正积极地通过探索 miRNA的功能以及研发新的体内递送方法, 寻求新的疾病干预治疗手段。更多的miRNA还有待探索, 锐博生物将与您同行。

研究策略

1 目标miRNA筛选

- 新一代测序: Small RNA测序
- miRNA文库高通量高内涵筛选
- miRNA及靶基因表达水平检测: qPCR

2 生物信息分析

- miRNA表达差异分析
- miRNA靶基因预测
- 通过mRNA的UTR区域预测相关的miRNA

3 体外实验功能验证

- 功能获得性研究: mimic
- 功能缺失性研究: inhibitor
- 靶基因验证: 3'UTR报告基因载体
- miRNA靶基因的功能研究
- 基因编辑: CRISPR-Cas9体系产品

4 体内实验验证

- 构建动物模型
- 体内高表达miRNA: agomir
- 体内抑制miRNA: antagomir
- 化学修饰siRNA体内抑制miRNA靶基因
- 检测生理、生化等各种指标

Small RNA测序

近年来,由于新一代高通量测序在小RNA鉴定的应用,越来越多的miRNA被发现并开展其后续功能研究,为miRNA研究提供了有力的工具。锐博生物根据提取方法和建库类型的不同,提供以下miRNA测序项目:

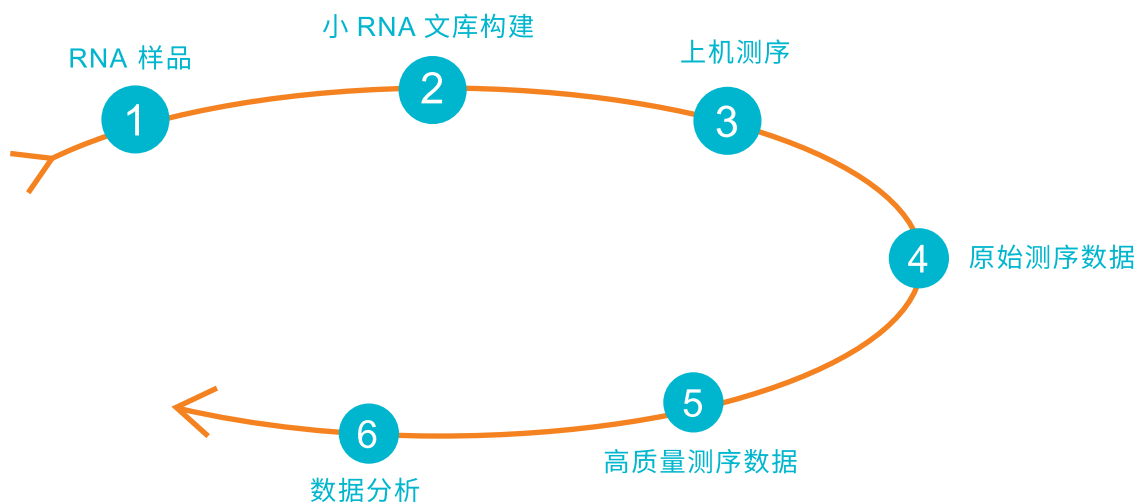
- 组织、细胞Small RNA测序
- 外泌体 (exosomes) Small RNA测序

测序内容	提取方法	建库方式
Small RNA (组织、细胞)	提取总RNA	RNA末端接头法
Small RNA (exosomes)	富集exosomes提取RNA	RNA末端接头法

技术特色

- 可检测单个碱基差异,精准区分相同家族或序列相似度极高的 miRNA
- 提供 piRNA 分析和 tsRNA 分析
- 提供肿瘤研究的临床数据分析,使得分析结果更加饱满
- 专利外泌体抽提技术,全面提升外泌体产量和纯度,提供外泌体 Small RNA 测序整体服务
- 采用 3 个外泌体或囊泡数据库,注释信息更完善,深入挖掘研究结果的佐证

项目流程



* 请到锐博生物官网 www.ribobio.com 的“技术服务询价与下单”中提交委托需求并询价!

数据分析 (部分为模式物种特有分析)

标准信息分析

ncRNA 分类与注释
 已知 miRNA 分析
 · 已知 miRNA 表达量 · 已知 miRNA 碱基偏好性分析
 · 已知 miRNA 长度 · 已知 miRNA 整体表达量分析
 基因组重复区域注释
 功能元件注释
 新 miRNA 预测
 共有及特有序列分析
 样品间 miRNA 表达差异分析
 miRNA 表达聚类分析
 miRNA 家族分析 (仅限于模式物种)
 miRNA 保守性分析 (仅限于模式物种)
 miRNA 碱基编辑分析
 差异构建 miRNA 调控网络
 样品间相关性分析
 样品间主成份分析
 差异 miRNA 靶基因预测
 差异 miRNA 靶基因的 KEGG 通路富集分析
 差异 miRNA 靶基因的 GO 功能富集分析

高级信息分析

miRNA 靶基因预测 (非模式物种或新 miRNA)
 新 miRNA 差异表达分析
 miRNA 与疾病关联数据库注释 (仅限于人)
 miRNA 组织特异性表达 (基于数据库挖掘, 仅限于人)
 miRNA 组织特异性表达 (多组织测序结果, 不限物种)
 外泌体数据库注释 (仅限于人 / 大鼠 / 小鼠三个物种)
piRNA 分析 (仅限于人 / 大鼠 / 小鼠 / 果蝇四个物种)
 已知 piRNA 分析表达量
 已知 piRNA 长度分析
 已知 piRNA 碱基偏好性分析
 已知 piRNA 整体表达量分析
 piRNA 差异分析
 piRNA 表达聚类分析
 piRNA 靶基因预测
 piRNA 靶基因的 KEGG 通路富集分析
 piRNA 靶基因的 GO 功能富集分析
tsRNA 分析
 tsRNA 来源分析
 tsRNA 表达量分析
 tsRNA 差异分析
 tsRNA 表达聚类分析

生物信息分析软件

分析内容	分析软件
数据质控	fastqc
基因组比对、产出数据统计	BWA
小 RNA 分类注释	miRDeep2, blast
小 RNA 表达及差异表达	内部程序, Edger (可选)
差异 miRNA 靶基因预测 (模式物种)	TargetScan, miRDB, miRTarBase, miRWalk

推荐测序模式

Hiseq2500, SE50 10M clean reads

参考案例

- [1] Xu Y P, Qiu Y, Zhang B, *et al.* Zika virus infection induces RNAi-mediated antiviral immunity in human neural progenitors and brain organoids[J]. *Cell research*, 2019, 29(4): 265.
- [2] Xia R, Chen C, Pokhrel S, *et al.* 24-nt reproductive phasiRNAs are broadly present in angiosperms[J]. *Nature communications*, 2019, 10(1): 627.
- [3] Qiu Y, Xu Y, Zhang Y, *et al.* Human virus-derived small RNAs can confer antiviral immunity in mammals[J]. *Immunity*, 2017, 46(6): 992-1004. e5.



miRNA研究工具

miRNA 功能研究

micrON™ miRNA mimic

mimic 是细胞中内源性成熟 miRNA 的模拟物,适用于细胞水平 miRNA 功能获得性 (gain-of-function) 研究。

micrOFF™ miRNA inhibitor

通过与成熟 miRNA 分子特异性结合而抑制 miRNA 作用,适用于细胞水平 miRNA 功能缺失性 (loss-of-function) 研究。

micrON™ miRNA precursor

模拟内源性的 miRNA 前体分子,用于表达、剪切、加工、结构等相关研究。



目录编号	产品名称	规格	目录价
Varies	micrON™ miRNA mimic	5 nmol	请见官网
Varies	micrOFF™ miRNA inhibitor	5 nmol	请见官网
Varies	micrON™ miRNA precursor	2 nmol	请见官网

注: 其他规格的mimic和inhibitor报价,请联系当地销售工程师。

miRNA 文库及筛选服务

锐博生物研发出的 miRNA mimic 文库和 miRNA inhibitor 文库等,适用于 miRNA 细胞高通量筛选实验,极大地方便了高通量检测的需求,快速筛选与细胞增殖、细胞分化、细胞凋亡、组织发育等细胞功能相关的 miRNA。

文库产品信息

	文库产品名称	物种	基因数量	规格
Varies	micrON™ miRNA mimics Library	human、mouse、rat	Varies	0.25 nmol
Varies	micrOFF™ miRNA inhibitors Library	human、mouse、rat	Varies	0.25 nmol
Varies	Selection miRNA mimic/inhibitor Set (>10 mimics / inhibitors)	human、mouse、rat	Varies	0.25 nmol

筛选服务内容

细胞增殖与周期	细胞健康与毒性	细胞形态与表型变化	信号通路与分析/筛选	系统生物学应用
细胞增殖*	细胞毒性*	细胞核形态分析、细胞迁移*	蛋白转位	组织切片
细胞周期*	细胞凋亡*	细胞分化、血管生成*、克隆形成	蛋白激酶活性分析	模式生物
有丝分裂指数	活细胞/死细胞分析*		GPCR信号通路分析	

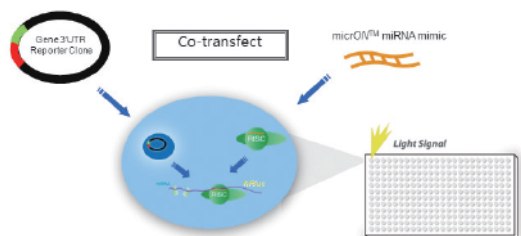
* 为常备检测项目,其他项目需定制,详情请电询。

服务优势: 筛选速度快:多至3000靶点/天;筛选费用仅为传统模式的1~10%;多个筛选指标同时检测;全自动化、重复性好。

miRNA 作用机制研究

miRNA 靶基因验证服务

miRNA 靶基因验证是 miRNA 作用机制研究的关键环节,锐博生物可提供 3'UTR 报告基因载体构建服务及 miRNA 靶基因验证服务,能够简单、高效、准确地帮客户验证目标 miRNA 与靶基因是否有直接相互作用。



目录编号	服务名称	备注	价格
SR1040	3'UTR报告基因载体构建服务	< 1.5kb	请在线询价
SR1050	miRNA靶基因验证服务*	35个工作日	请在线询价

注: *此靶基因验证服务价格为3' UTR插入1.5kb以内的序列,仅含一个潜在结合位点的情况;服务包括构建一个野生型(WT)和一个单突变型(MUT)3' UTR载体,WT和MUT载体分别与 NC mimic 和 miRNA mimic共转做靶点验证。

miRNA体内实验

锐博生物拥有国际领先的寡核酸合成与修饰技术,世界一流的 cGMP 寡核酸生产平台,可以根据客户的需求,设计合成各种不同规格、不同长度、不同修饰方式、不同纯化方式的寡核酸,用于 miRNA 的体内研究。锐博生物国内首创专门针对动物实验用的 miRNA 产品,产品经过特殊设计与处理,在体内作用更高效而稳定。根据不同实验的用途,产品可分为:

micrON™ miRNA agomir

特殊化学修饰的 MIRNA 激动剂,适用于进行体内功能获得性研究。

micrOFF™ miRNA antagomir

特殊化学修饰的 MIRNA 拮抗剂,可适用于进行体内功能缺失性实验。

产品优势

- 独特化学修饰,保护核酸不受核酸酶降解,作用时间长
- 直接注射于实验动物,即可被细胞吸收,操作简单
- 使用灵活,可局部作用或全身作用
- 超过三百篇客户文章,大量成功案例可供参考



目录编号	产品名称	规格	目录价
Varies	micrON™ miRNA agomir	2 nmol	请见官网
Varies	micrOFF™ miRNA antagomir	2 nmol	请见官网
miR04101	micrON™ miRNA agomir Negative Control #22	2 nmol	请见官网
miR03101	micrOFF™ miRNA antagomir Negative Control #22	2 nmol	请见官网

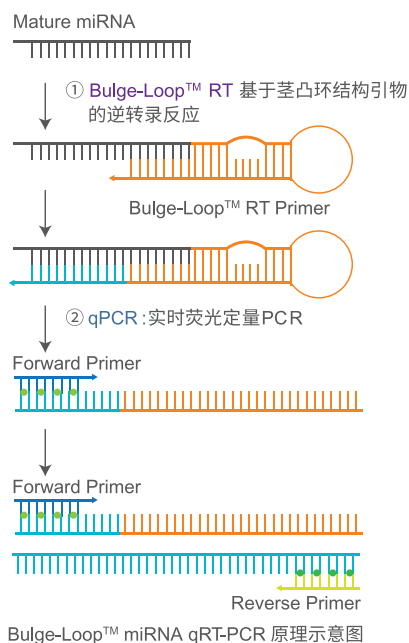
注: 其他规格agomir 和antagomir 报价,请联系当地销售工程师。

miRNA qPCR检测

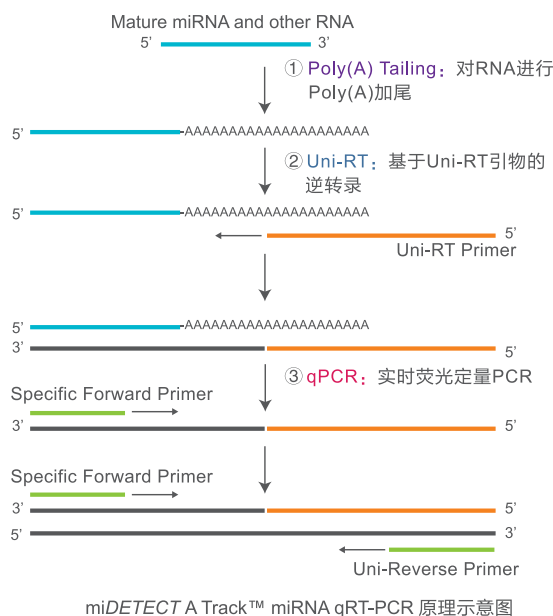
基于qPCR检测技术的miRNA表达与表达差异分析是对测序、芯片结果的有效补充与验证,是确定研究对象并进行后续功能研究或者 biomarker筛选的基础。锐博生物在十多年的核酸研究基础上,自主研发出Bulge-Loop™和miDETECT A Track™两种不同的miRNA qPCR检测方法。

	Bulge-Loop™ miRNA qRT-PCR	miDETECT A Track™ miRNA qRT-PCR
特点	特异性强,灵敏度高 特异地检测较低样本量中的目的miRNA	通用性强,节省样本 单个样本可同时检测大量miRNA及其他类型RNA
检测方法	SYBR Green染料法	SYBR Green染料法
反转录步骤	特异性RT引物(每个miRNA需要单独RT)	针对Poly(A)化RNA的通用型RT引物
PCR步骤	特异性PCR正向引物(与miRNA部分序列匹配)	特异性PCR正向引物(与miRNA全部序列匹配)
特异性	最大能分辨仅有一个碱基差别的miRNA	能分辨绝大部分成熟miRNA

Bulge-Loop™ miRNA qRT-PCR



miDETECT A Track™ miRNA qRT-PCR



目录编号	产品名称	规格	目录价
C10210-1	Bulge-Loop™ miRNA qRT-PCR Starter Kit (20T RT + 60T qPCR)	1 kit	请见官网
MQP-0101	Bulge-Loop™ miRNA qRT-PCR Primer Set	100 rxns	请见官网
C10712-1	miDETECT A Track™ miRNA qRT-PCR Starter Kit (20T polyA+ 20T RT+200T qPCR)	20T + 20T + 200T	请见官网
Varies	miDETECT A Track™ miRNA qPCR Forward Primer (100T)	1nmol	请见官网

注: 锐博生物同时提供 miRNA qRT-PCR实验服务, 详情请咨询当地销售工程师。