

microRNA研究指南



AB Applied
Biosystems

Ambion
THE RNA COMPANY®

microRNAs 简介及实验概述

miRNA 定义和生成.....	1
miRNA 实验概述.....	2

microRNA 分离和富集

miRNA 分离

mirVana™ miRNA Isolation Kits.....	3
“miRNA Certified” FirstChoice® Total RNA	3
RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit.....	3
TaqMan MicroRNA Cells-to-CT Kit	7

miRNA 富集

flashPAGE™ Fractionator System	5
--------------------------------------	---

microRNAs 的定量和检测

少量靶点的检测

TaqMan microRNA Assay.....	10
TaqMan MicroRNA Assay Endogenous Controls.....	10

图谱分析

Megaplex RT Primers.....	10
TaqMan MicroRNA Arrays.....	10

microRNA 功能分析

Anti-miR™ miRNA Inhibitors	16
Pre-miR™ miRNA Precursor Molecules	17
siPORT™ NeoFX™ Transfection Agent	17
pMIR-REPORT™ miRNA Expression Reporter Vector	18

microRNA 信息资源

参考信息

常用细胞系中的 miRNA 相对表达情况.....	19
---------------------------	----

microRNAs 简介

一类具有全局调控作用的小分子调控物

microRNAs 定义

microRNAs 是一类进化上保守的非编码小分子 RNA，具有在翻译水平调控基因表达的功能。

尽管第一个 microRNA 早在 1993 年被发现，一直到最近几年这类基因的多样性和广泛性才被揭示出来。据推測脊椎动物基因组有多达 1000 个不同的 miRNAs，调控至少 30%以上的基因表达。

miRNAs 有以下特性：

- ✓ 在个体发育过程中起重要作用
- ✓ 在组织中广泛表达，在不同组织中表达不同
- ✓ 参与病毒感染过程
- ✓ 和原癌基因有关

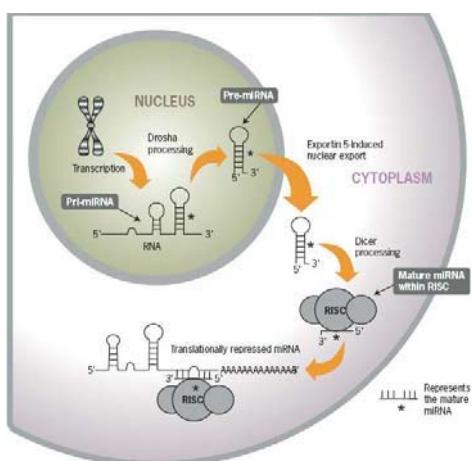


Figure 4. The miRNA Processing Pathway.

microRNA 的生成：

在细胞核内，基因组 DNA 转录生成较长的 RNA 分子（可长达 1000nt），被双链 RNA 特异的核糖核酸酶 Drosha 切割成长度大约 70-100 碱基的、具发夹结构的 RNA 分子（前体 microRNA）。这些发夹结构的 RNA 通过核输出蛋白 exportin5 机制转运到细胞质，然后被第二个双链 RNA 特异的核糖核酸酶 Dicer 切割，得到 19-23nt 大小的成熟的 miRNAs 产物。

成熟的单链 miRNAs 与类似 RNA 诱导沉默复合物 (RISC)结合，并参与 RNA 干扰反应(RNAi)。在动物中，结合在复合物上的 miRNA 以一种目前尚未完全清楚的机制结合到序列基本互补(并非完全互补)的 mRNA 上----但这种结合往往不像 RNAi 反应那样参与 mRNA 降解----而是阻止所结合的 mRNA 的翻译，导致相应基因表达水平的下降。

大约 60% 的 miRNAs 为独立表达，15% 左右的 miRNAs 成簇表达，还有 25% 的 miRNAs 位于内含子。

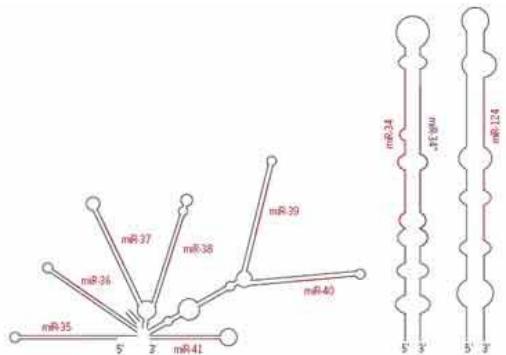


Figure 3. Transcription of miRNAs. Approximately 60% of miRNAs are expressed independently, 15% of miRNAs are expressed in clusters, and 25% are in introns.

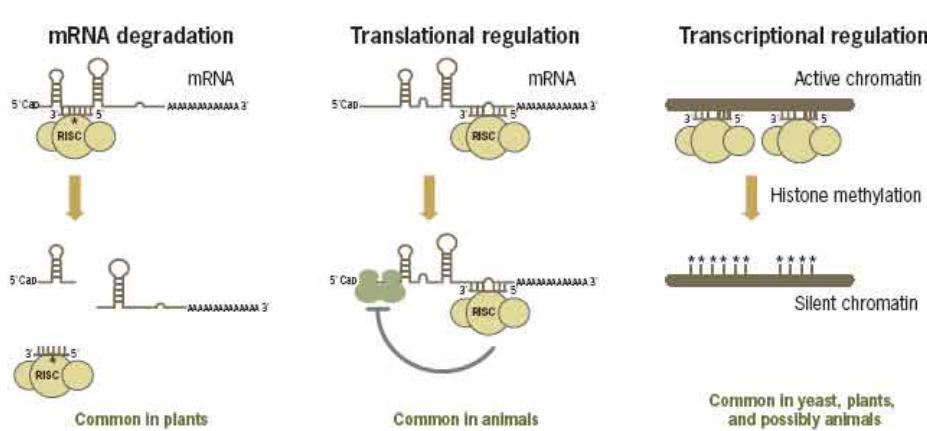


Figure 1. Small RNAs—Key Regulators of Gene Expression.

miRNA 实验概述

作为一类独特的小分子RNA, 要准确和灵敏地分析miRNAs需要专门的研究工具。AB与Ambion的科学家开发了一系列产品, 为此类基因的准确鉴别和分类提供完整的解决方案。这些工具将帮助研究人员揭开miRNA和蛋白表达之间的关系, 有助于发掘新的诊断和治疗靶标。

分离与富集

分析miRNAs的第一步就是从生物样品中纯化miRNAs。多数RNA分离试剂盒都是为mRNA回收而设计的, 通常会弃去较小的RNA分子如miRNAs。mirVana™ miRNA分离试剂盒特别为分离包括小于200碱基的小分子RNA在内的所有RNA分子而设计, flashPAGE™ Fractionator可用于分离包括成熟miRNA在内的10-40碱基大小的RNA小分子。

检测与定量

基于定量PCR方法的检测与定量通过对分析方法的创新改造, 美国应用生物系统公司将TaqMan分析和实时定量PCR的特异性、灵敏度和重复性的金标准引入了miRNA的检测和定量。单个的MicroRNA Assays适合特定的miRNA定量流程, 而新的Megaplex Primer Pools则是人、小鼠和大鼠的完整图谱研究的理想选择。

功能分析

miRNA功能分析可以用类似普通基因的分析方法进行。上调miRNAs的表达可用于鉴别“功能获得”的表型, 下调或者抑制miRNAs则可以用于鉴别功能缺失的表型。结合上调或者下调miRNAs可用于鉴别调控特定miRNAs的基因, 以及用于鉴别特定miRNAs参与的细胞进程。

全基因组的microRNA发现

应用生物系统公司的新一代测序仪SOLiD, 以其高通量、准确的序列测定技术, 为从整个基因组水平研究microRNA提供了可靠的平台。(相关资料欢迎索取)

产品系列

- mirVana™ miRNA Isolation Kit
- mirVana™ PARIS™ Kit
- RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit for FFPE
- flashPAGE™ Fractionator
- TaqMan microRNA Cell to Ct Kit **新**
- “miRNA Certified” FirstChoice® Total RNA

产品系列

- 少量靶点的检测
- TaqMan microRNA Assay
- TaqMan MicroRNA Assay Endogenous Controls
- 图谱分析
- Megaplex RT Primers**新**
- TaqMan MicroRNA Arrays**新**

产品系列

- Pre-miR™ miRNA Precursor Molecules
- Anti-miR™ miRNA Inhibitors
- siPORT™ NeoFX™ Transfection Agent
- pMIR-REPORT™ miRNA Expression Reporter Vector

miRNA分离

Ambion专门为miRNA和其他小分子RNA的制备而开发了试剂盒----mirVanaTM RNA分离试剂盒。不同于传统的RNA分离产品，mirVana能定量的回收小于200碱基的小分子RNA，避免实验偏差，保持小分子RNA代表性。

良好的开始是成功的一半小分子RNA分析的第一个关键步骤就是从生物样本中纯化小分子RNAs。多数传统RNA分离试剂盒目的是为回收mRNA而设计的往往丢弃去较小的RNA分子以减少干扰提高mRNA得率因此这些步骤会导致一些小分子RNAs如miRNAs的损失。多数RNA纯化试剂盒采用的标准玻璃纤维滤膜或者硅胶滤膜，不能有效的回收小分子RNA。从图5可以看出(GFF行5A和5B)尽管能有效回收5.8S rRNA，但其他小分子RNA如U1 snRNA, 5S rRNA, tRNA, 和各种miRNAs部分或者全部被丢弃。

mirVanaTM miRNA Isolation Kits

mirVanaTM miRNA Isolation Kit采用改良的玻璃纤维滤膜方法来快速回收细胞或者组织样品中全部RNA分子包括小分子RNA mirVanaTM PARISTM Kit更进一步，除了回收包含小分子RNA在内的全部RNA，还可以用于回收样品中的蛋白质。Ambion的miRNA分离产品保证有效定量地回收各种小分子RNA，以供后继实验顺利进行。

“miRNA Certified” FirstChoice[®] Total RNA

如果实验计划采用已经纯化的商品化RNA用于miRNA分析，那么这些RNA的纯化方法也是一个重要的考虑因素，因为如果这些RNA是用常规玻璃纤维膜制备的，那么很可能缺失了部分甚至全部小分子RNA组分。

Ambion 提供来自人类、小鼠和大鼠的“miRNA Certified”FirstChoice[®] Total RNA，已经验证包含miRNAs在内的小分子RNAs。

RecoverAllTM Total Nucleic Acid Isolation Kit

Ambion新推出专利的 RecoverAllTM Total Nucleic Acid Isolation Kit是专门为福尔马林固定石蜡包埋样本的RNA和DNA提取而设计的，提取的核酸包括了FFPE样品中的全部miRNAs，配 flashPAGETM Fractionator系统和mirVanaTM miRNA Array可用于miRNA表达图谱分析。

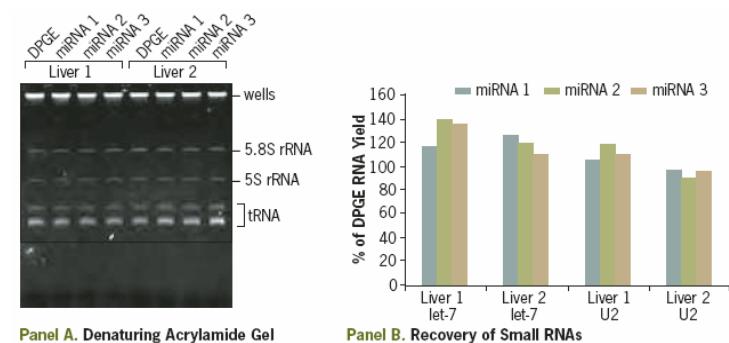


Figure 6. mirVanaTM miRNA Isolation Kit for Efficient Recovery of miRNA. (A) Total RNA was isolated from the same mouse liver lysate using a double phenol/guanidinium extraction (DPGE) or the mirVana miRNA Isolation Kit procedure in triplicate (miRNA 1 to 3). The experiment was performed with two different mouse liver lysates. Each sample RNA (1 µg) was analyzed on a denaturing 15% polyacrylamide gel stained with ethidium bromide. (B) RNAs from the same gel were transferred to a membrane and probed for U2 snRNA and let-7 miRNA. The relative amount of small RNA in each lane was quantified with a phosphorimager. The graph shows the percentage of recovery with respect to the DPGE prep.

表1，小RNA分离与富集产品选择指南

分离样本		小分子 RNA	总RNA	蛋白
产 品	主要优点			
mirVana™ miRNA Isolation Kit	简单地从培养细胞和大多数组织（包括核糖酶丰富的组织）中分离小分子 RNA	●	●	
mirVana™ PARIS™ Kit	快速简单的从培养细胞和多数组织样本中分离小分子 RNA 和蛋白质	●	●	●
"miRNA Certified iFirstChoice® Total RNA	即用型高质量 RNA, 有源自人类、小鼠和大鼠多种组织以及人类培养细胞系可供选择	●	●	
RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit for FFPE	专门为从 FFPE 组织中分离包括 miRNAs 在内的总核酸而设计	●	●	

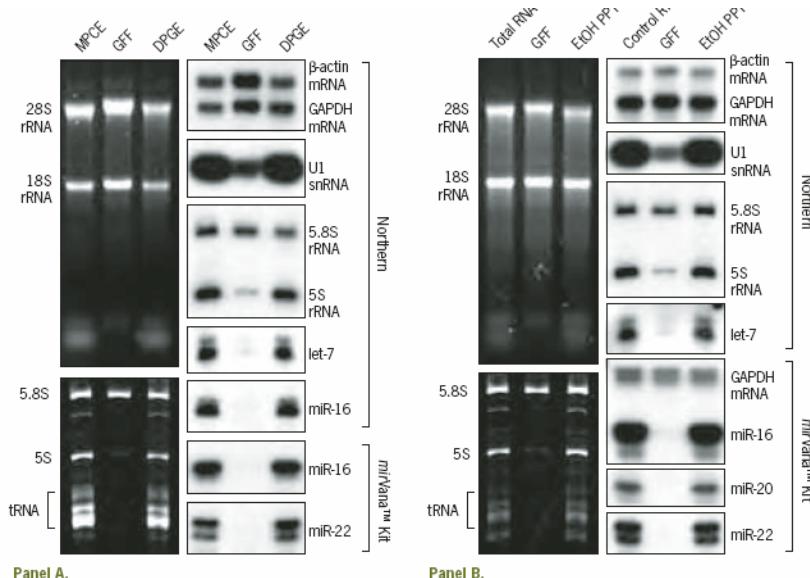


Figure 5. Differential Recovery of Small RNAs. (A) Total RNA was isolated from 1×10^6 HeLa cells using three different techniques: monophasic phenol/chaotropic extraction (MPCE), binding on glass fiber filter in guanidinium solution (GFF) or double phenol/guanidinium extraction (DPGE). Purified RNA (1 µg) was resolved on a 1.2% denaturing agarose gel (top left panel) or 15% denaturing polyacrylamide gel (bottom left panel). The indicated mRNAs or small RNAs were detected by Northern blot or using the mirVana™ miRNA Detection Kit (right panels). (B) FirstChoice® Mouse Kidney Total RNA (20 µg) was either bound and eluted from a GFF or precipitated with 0.5 M NH₄OAc and 3 volumes of EtOH (EtOH PPT). The untreated or recovered RNAs (1 µg) were compared by gel analysis, Northern blot, or solution hybridization as described in (A).

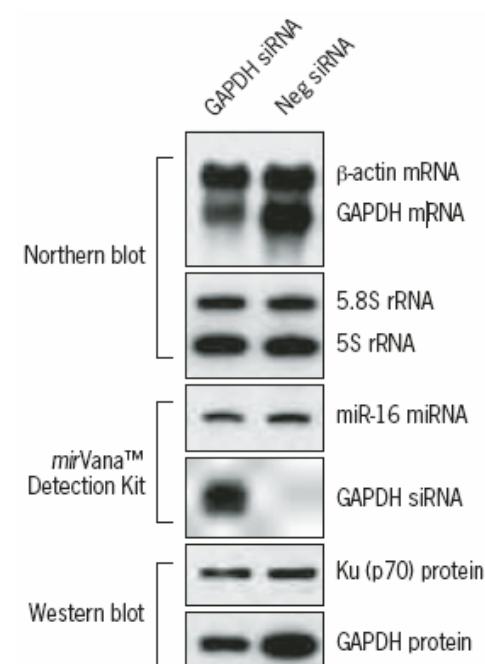


Figure 7. Using the mirVana™ PARIS™ Kit to Analyze RNAi Effects. 1.5×10^6 HUVEC cells were electroporated (800 V, 120 µs, 2 pulses, 0.5 s between pulses) with siRNA (10 µg) targeting GAPDH mRNA (GAPDH) or a negative control sequence (Neg) in 400 µl of siPORT™ siRNA Electroporation Buffer. Total RNA and protein were isolated with the mirVana PARIS Kit 48 hr after electroporation. One µg of total RNA was used to detect the indicated RNA species by Northern blot or with the mirVana miRNA Detection Kit. RNA probes were prepared by in vitro transcription (mRNA probes, MAXIscript® Kit) or by 5' end labeling (rRNA, miRNA, and siRNA probes, mirVana Probe & Marker Kit). Western blots were performed with 15 µg of total protein and antibodies specific for GAPDH or Ku p70 proteins.

miRNA 富集

作为细胞内丰度很低的一类 RNA 小分子，miRNA 难以分离和纯化，间接导致其一直没有被详细分析研究。成熟的具有功能的 miRNAs 大小在 19-23 个碱基之间，是较大的前体“Pri-miRNA”分子的产物。精确的微阵列图谱和深入的 miRNAs 研究首先需要借助聚丙烯酰胺凝胶将成熟 miRNAs 从较长的发夹 Pre-miRNA 和初始转录本 Pri-miRNA 中分离出来。

flashPAGE™ Fractionator System

最快，最容易的 PAGE 分离 10-40 碱基小分子核酸

优点

- ✚ 去除 99%以上
超过 40 碱基
的核酸分子
- ✚ 真实保持样品
中各 RNA 分
子代表性
- ✚ 每个柱可处理
高达 100ug 总
RNA

Ambion
flashPAGE™
Fractionator

System 是用于分
离小于 40nt 核酸
分子的最快、最
容易也是最可靠
的工具。这个系
统专门为从较大
的前体分子中分
离 19-23nt 大小的成熟 miRNAs 分子而设计优化。相比
传统的小分子核酸分离纯化方法----费时费力的聚丙烯酰
胺凝胶电泳分离和后继洗脱步骤， flashPAGE™
Fractionator System 可轻松简单而且高效地富集成熟
miRNAs 分子，去除较长的前体 miRNA 分子，平均每次
运行时间仅需 12 分钟。



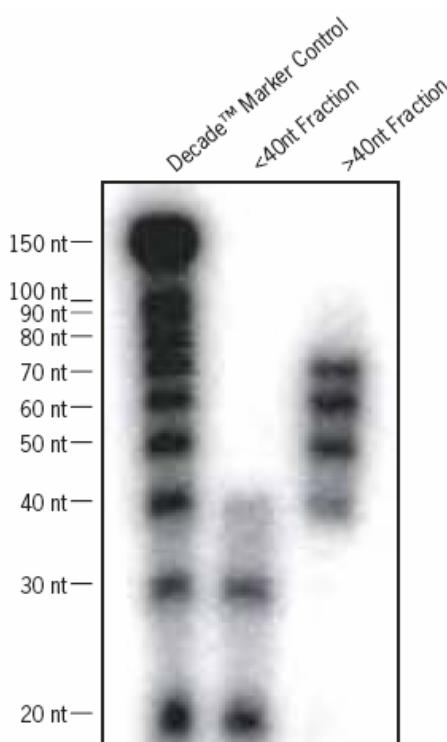
Figure 8. The flashPAGE™ Fractionator Apparatus.

“miRNA Certified” FirstChoice®Total RNA

Human	Total	RNA-Normal	CAT #	SIZE
Adrenal			AM7994	100 µg
Aorta			AM6844	100 µg
Left Atrium			AM6854	100 µg
Right Atrium			AM6858	100 µg
Bladder			AM7990	100 µg
Brain			AM7962	100 µg
Breast			AM7952	100 µg
Cervix			AM7992	100 µg
Colon			AM7986	100 µg
Distal Colon			AM6836	100 µg
Proximal Colon			AM6834	100 µg
Duodenum			AM6832	100 µg
Esophagus			AM6842	100 µg
Fallopian Tube			AM6862	50 µg
Heart			AM7966	100 µg
Ileum			AM6828	100 µg
Jejenum			AM6830	100 µg
Kidney			AM7976	100 µg
Liver			AM7960	100 µg
Lung			AM7968	100 µg
Lymph Node			AM7894	50 µg
Ovary			AM7974	100 µg
Pancreas			AM7954	100 µg
Pericardium			AM6852	100 µg
Placenta			AM7950	100 µg
Prostate			AM7988	100 µg
Skeletal Muscle			AM7982	100 µg
Small Intestine			AM7984	100 µg
Spleen			AM7970	100 µg
Stomach			AM7996	100 µg
Testes			AM7972	100 µg
Thymus			AM7964	100 µg
Thyroid			AM6872	50 µg
Trachea			AM6846	100 µg
Uterus			AM7892	100 µg
Vena Cava			AM6848	50 µg
Left Ventricle			AM6856	100 µg
Right Ventricle			AM6860	100 µg

ORDERING INFORMATION

Product	CAT #	SIZE
mirVana™ miRNA Isolation Kit	AM1560	40 purifications
mirVana™ PARIS Kit	AM1556	40 purifications
RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit for FFPE	AM1975	40 purifications

**Figure 9. flashPAGE™ Fractionation of Decade Marker.**

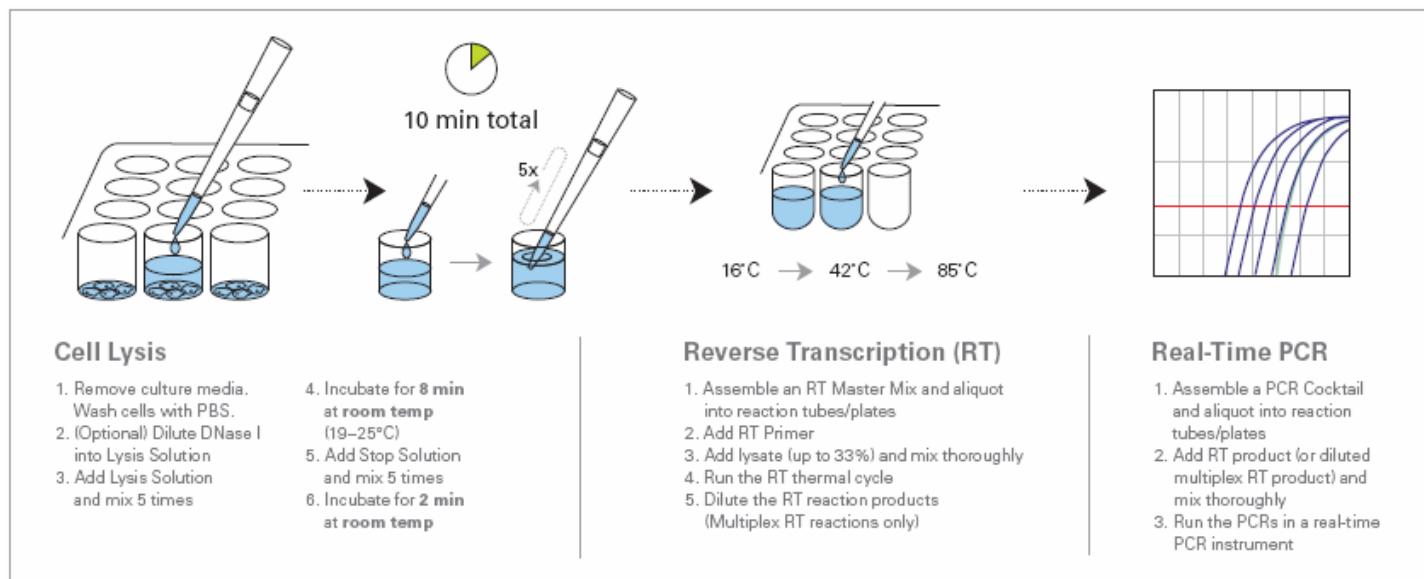
Ambion's Decade Marker, in a background of 10 µg mouse brain total RNA, was loaded onto a pre-cast flashPAGE Gel Cartridge and electrophoresed with the flashPAGE Fractionator. Two successive fractions were collected. For the first fraction, the lower buffer was collected and precipitated when the second dye indicator band had reached the lower end of the gel cartridge (middle lane). After adding fresh lower buffer to the apparatus, the sample was electrophoresed for 10 more minutes. The second lower buffer fraction was then collected and precipitated (right lane).

Mouse	Total RNA-Normal	CAT #	SIZE
Liver		AM7810	200 µg
Brain		AM7812	200 µg
Thymus		AM7814	200 µg
Heart		AM7816	200 µg
Lung		AM7818	200 µg
Spleen		AM7820	200 µg
Testicle		AM7822	200 µg
Ovary		AM7824	200 µg
Kidney		AM7826	200 µg
Embryo (10–12 days)		AM7828	200 µg
Assorted		AM7800	10x25 µg

Rat Total RNA-Normal Tissue	CAT #	SIZE
Liver	AM7910	200 µg
Brain	AM7912	200 µg
Thymus	AM7914	200 µg
Heart	AM7916	200 µg
Lung	AM7918	200 µg
Spleen	AM7920	200 µg
Testicle	AM7922	200 µg
Ovary	AM7924	200 µg
Kidney	AM7926	200 µg
Embryo (10–12 days)	AM7928	200 µg
Assorted	AM7900	10x25 µg

Product	CAT #	SIZE
flashPAGE™ Fractionator	AM13100	1 apparatus
flashPAGE™ Pre-cast Gels (Type A)	AM10010	10 gels
flashPAGE™ Buffer Kit (Type A)	AM9015	1 kit
flashPAGE™ Reaction Clean-up Kit	AM12200	20 reactions

TaqMan MicroRNA Cells-to-CT Kit



无需RNA纯化，直接对培养细胞进行miRNA表达图谱分析，全靠有TaqMan MicroRNA Cells-to-CT Kit令一切成为可能！首次专门为miRNA表达分析而设计的工作流程，既简单，又完整；即适用于少量样品，又可以方便地整合到自动化高通量应用中。

完整、已经验证的解决方案----
优化的操作流程包含细胞裂解试剂和DNase，以独特的方法在裂解培养细胞的同时去除基因组DNA，保留RNA完整性。试剂盒所包含的TaqMan MicroRNA反转录试剂和TaqMan Universal PCR Master Mix可进行实时PCR分析。试剂盒中所有组分已经优化配套，以获得更好的一致性和可靠性，避免了单独购买不同的样品制备、反转录和实时

PCR试剂盒混搭而可能产生的不确定因素。TaqMan MicroRNA Cells-to-CT Kit 已 经 过 TaqMan MicroRNAAssays(单独销售)进行反复测试和验证，确保可靠。

快速简单而方便----10分钟内制备样品,无需繁琐的 RNA 分离步骤。样品细胞数量可从 10 个到 100,000 个，在培养板或者试管中均可进行：细胞经过PBS洗涤后在室温下裂解8分钟，同时进行 DNase 处理；然后加入终止液在室温下处理2分钟即可终止裂解过程，得到的裂解液即可用于反转录实验或者稳定保存于 -20°C 达 5 个月之久由于未经 RNA 纯化过程，所有的小分子RNA 均得 以保存以备分析。由于样品可以直接在细胞96孔或者384 孔培养板中裂解，省掉了多个

样品处理步骤，也可最大程度减少样品丢失或者转移操作失误等问题。无需加热，清洗，离心等步骤，这个试剂盒将传统费时费力的过程大大简化为10分钟处理。

专一性达到金标准----配合TaqMan MicroRNA 试剂可获得更出色的结果。ABI为成熟的小分子 miRNAs 的检测特别开发了设计精妙的解决方案。TaqMan MicroRNA Assays (单独销售)包括一个目标特异的、带茎环结构的独特反转录引物，茎环结构用于特异靶向成熟的目标miRNA分子，不会像其他方法一样不分青红皂白地扩增延伸样品中所有的RNA。TaqMan MicroRNA Cells-to-CT Kit 试剂盒中包含的TaqMan MicroRNA反转录试剂经过特别设计而适用于这种创新引物设计。

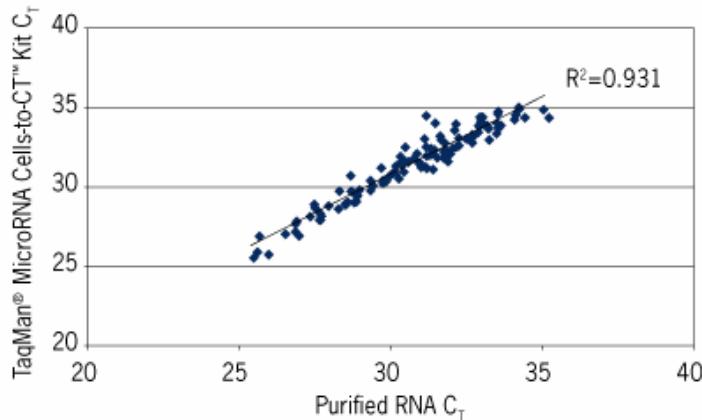
能区分大量高度同源的成熟 miRNA 并从中识别靶目标，这对于精确的 miRNA 表达分析来说是必须的。TaqMan MicroRNA Cells-to-CT Kit 联合 TaqMan MicroRNA Assays 即可获得足够的专一性，以区分高度同源靶目标。如图 3，从 TaqMan MicroRNA Cells-to-CT Kit 制备的裂解物或者纯化的 miRNA 用 TaqMan MicroRNA Assays 分别进行实时 PCR 以检测外源 miRNA 模板上单个碱基的区别，结果显示 TaqMan MicroRNA Cells-to-CT Kit 制备的裂解物检测结果专一性足以媲美用纯化 RNA 检测的结果。

适用广泛 表现出色----足以媲美已经纯化的 RNA。新试剂盒 已 经过 TaqMan MicroRNA Assays 大

范围反复多次验证，裂解产物在后继实验中得到的结果完全足以媲美已纯化 RNA 所得到的结果(Figure 4)。TaqMan MicroRNA Cells-to-CT Kit 独特的工作流程配合现有超过 900 个 TaqMan MicroRNA Assays，miRNA 表达分析无出其右！

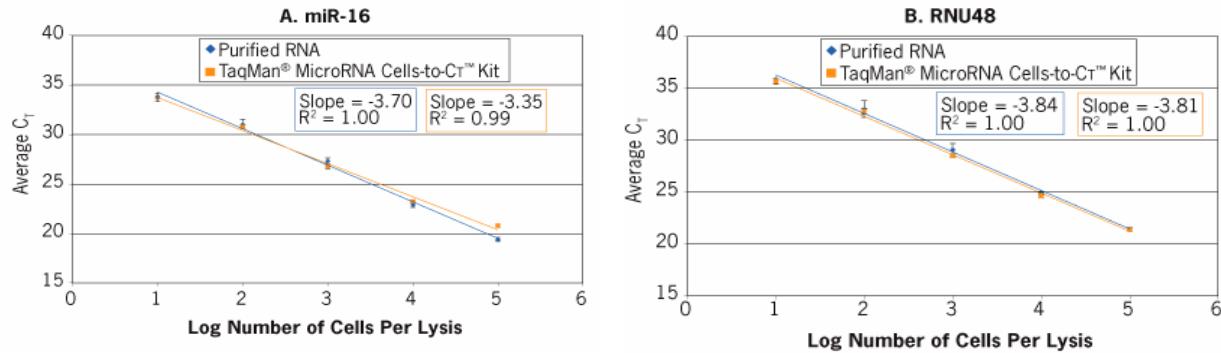
宽动态范围----少至 10 个细胞，多至 100,000 个细胞的宽范围内均可得到线性检测结果。不同发育阶段或者疾病进程，不同样品类型的 miRNAs 表达模式各不相同，因此高灵敏度的检测工具对于 miRNA 表达分析来说非常重要。有了这个试剂盒，从几个拷贝到数百万拷贝的 miRNAs 靶标都可以在同一个实验中被精确定量。TaqMan

MicroRNA Cells-to-CT Kit 适用性强，少至 10 个细胞，多至 100000 个细胞的样本均可适用。TaqMan MicroRNA Cells-to-CT Kit 中的反转录体系（单重反转录）可容纳更高比例的样品以进一步提高检测灵敏度：样品裂解物最高可达反应体积的 33%而不影响反转录反应。图 5 可以证实：起始样品量跨越 5 个对数级，TaqMan MicroRNA Cells-to-CT Kit 裂解物的检测结果保持良好线性和灵敏度。此外 TaqMan MicroRNA Cells-to-CT Kit 裂解物不会影响 TaqMan MicroRNA Assays 的超宽动态范围(数据未显示)，更令人放心。



Performance Equivalent to Purified RNA

The TaqMan® MicroRNA Cells-to-CT™ Kit demonstrated equivalent performance vs. purified RNA when tested against a panel of 111 TaqMan® MicroRNA Assays. CT values from reactions using 1,000 HeLa cells prepared with TaqMan MicroRNA Cells-to-CT Kit (Y-axis) or purified total RNA (X-axis) as template were plotted. Results demonstrate similar expression patterns and equal sensitivity between both sample preparation procedures ($R^2 = 0.931$, slope = 0.977).



Linear Real-time RT-PCR using 10 to 100,000 Cells

A dilution series of 10–100,000 HeLa cells was processed in duplicate with the TaqMan® MicroRNA Cells-to-CT™ Kit, and with traditional purification. Two representative assays (Assay miR-16 #4373121, panel A, and Assay RNU48 #4373383, panel B) were performed in duplicate and averaged values were plotted as a function of cellular input.

ORDERING INFORMATION

Description	Size	Part Number
TaqMan® MicroRNA Cells-to-Ct™ Kit 100 lysis reactions with gDNA removal 200 miRNA cDNA synthesis reactions (15 µL) 500 PCR (20 µL)	100 lysis rxns 500 Real-Time PCR rxns	4391848
TaqMan® MicroRNA Cells-to-Ct™ Kit 400 lysis reactions with gDNA removal 1,000 miRNA cDNA synthesis reactions (15 µL) 2,000 PCR (20 µL)	400 lysis rxns 2,000 Real-Time PCR rxns	4391996

Please inquire about bulk pricing.

For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.

RELATED PRODUCTS

Product Type	Description	Part Number
Accessories	MicroAmp® 96- & 384-Well Optical Adhesive Film	4311971
	RNaseZap® RNase Decontamination Solution	AM9782
	Nuclease-free Water (not DEPC-treated)	AM9938
	RT-PCR Grade Water	AM9935
Assays	TaqMan® MicroRNA Assays A comprehensive collection of >900 pre-designed, pre-optimized probe and primer sets for quantitative gene expression analysis of human, mouse, rat, <i>Arabidopsis</i> , <i>Drosophila</i> , and <i>C. elegans</i> mature miRNAs http://mirna.appliedbiosystems.com	
Instruments	StepOne™ Real-Time PCR System	4376357
	StepOnePlus™ Real-Time PCR System	4376600
	Applied Biosystems 7300 Real-Time PCR System	4351101
	Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System	4351104
	Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR System, Standard 96-Well Block	4329003
	Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR System, Standard 384-Well Block	4329001
RT	TaqMan® MicroRNA Reverse Transcription Kit	4366596
Master Mixes	TaqMan® Universal PCR Master Mix	4324018
		4364341
		4364343
		4326614
Plates	MicroAmp® Fast Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode, 0.1 mL	4366932
	MicroAmp® Optical 384-Well Reaction Plate	4343370
	MicroAmp® Optical 96-Well Reaction Plate	4316813

TaqMan® MicroRNA Assays and Arrays

miRNA定量和图谱分析的便利、可扩展的解决方案

- 新的 Megaplex Primer Pools——人、小鼠和大鼠 miRNA 图谱分析的理想解决方案
- 高度特异——仅针对有生物学活性的成熟 miRNA 进行定量
- 灵敏——只需最小的总 RNA 样品量，保存有限的样品
- 动态范围广——高达 7 个数量级对数——在单个实验中同时检测高和低的表达子
- 快速、简单、可扩展——两步法的 qRT-PCR 分析快速提供高品质的结果
- 整体的解决方案——从样品制备到 miRNA 数据分析



新的Megaplex Primer Pools和TaqMan MicroRNA Arrays组合产生了完整的miRNA图谱，具有无法比拟的灵敏度、特异性和动态范围，能在5小时之内完成。.

MicroRNA (miRNA) 是一类天然存在的非编码RNA，在基因调控中扮演着重要角色。这些转录本是高度保守的单链RNA (~22个核苷酸)，从更长的发夹结构前体转录本中剪切而来。miRNA利用RNA干扰途径调控基因表达，通过剪切，更常见的是抑制目标信使RNA (mRNA) 的翻译。

TaqMan MicroRNA Assays——实时定量PCR的革命

通过对分析方法的创新改造，美国应用生物系统公司将TaqMan分析和实时定量PCR的特异性、灵敏度和重复性的金标准引入了miRNA的检测和定量。TaqMan MicroRNA Assays包含了

带有目标特异性茎环结构的反转录引物（图1）。这个创新设计解决了miRNA定量中的基本问题：成熟miRNA的短序列 (~22nt) 无法进行传统的随机引物反转录步骤和随后的实时分析步骤。茎环结构提供了只针对成熟miRNA模板的特异性，并形成RT引物/成熟miRNA嵌合体从miRNA的3'端开始延伸。产生的较长的反转录扩增产物可作为模板用于TaqMan标准的实时定量PCR分析。为了保证准确的结果，每一个TaqMan MicroRNA分析都在实验室条件下验证过。

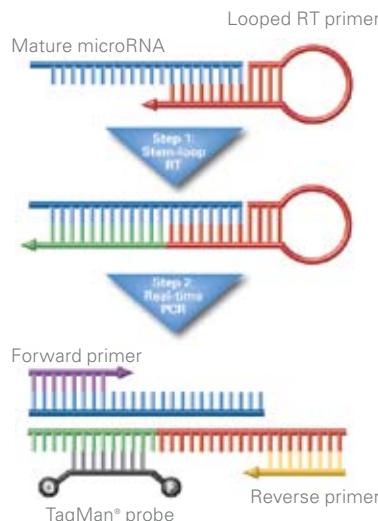


图1. TaqMan MicroRNA Assay的机理。简单的两步法机理带来了用实时定量PCR来定量miRNA的优势。.

灵活性满足你的实验需求

TaqMan MicroRNA Assays有多种形式。单个的MicroRNA Assays适合特定的miRNA定量流程，而新的Megaplex Primer Pools则是人、小鼠和大鼠的完整图谱研究的理想选择。

区分高度同源的成熟miRNA

TaqMan MicroRNA Assays不仅可以特异针对成熟的miRNA，它们还能区分高度同源的目标。由于许多miRNA家族成员在序列上仅仅只有一个碱基的差别，利用TaqMan Assays进行的实时定量PCR分析提供了区分研究所必需的特异性（图2）。

起始材料需求量少

TaqMan MicroRNA Assays非常灵敏——与杂交等方法需要的几百纳克总RNA相比，研究人员只需要很少量的纯化总RNA样品。单个的TaqMan MicroRNA Assays只需1-10ng的起始材料。而利用新的Megaplex Primer Pools与任一单个的TaqMan MicroRNA Assays，或进行图谱研究TaqMan MicroRNA Array共同使用，所需样品量更是进一步降低了300倍。

miRNA Assays	Synthetic miRNA Target				
	let-7a	let-7b	let-7c	let-7d	let-7e
let-7a	100	0.3	3.7	0.0	0.0
let-7b	0.0	100	0.3	0.0	0.0
let-7c	0.0	2.5	100	0.1	0.0
let-7d	0.1	0.0	0.0	100	0.0
let-7e	0.0	0.0	0.0	0.0	100



图2. 单个的TaqMan MicroRNA Assays区分单个碱基。根据完全匹配和错配分析的Ct差异来计算相关检测（%）。.

无可比拟的动态范围

无论是单个的TaqMan MicroRNA Assays，还是 Megaplex Pools 与 TaqMan MicroRNA Assays联用，你都可以得到TaqMan Assays高达7个数量级倍数的线性动态范围。从几个拷贝到几百万个拷贝的microRNA靶点都可以在同一实验中准确定量——考虑到miRNA的浓度在不同的细胞、组织类型和疾病状态时差异很大，这是一个相当关键的因素。

快速得到结果

由于使用了金标准TaqMan试剂技术以及通用的热循环条件，TaqMan MicroRNA Assays实验的建立可谓快速轻松。只需要将你的总RNA样品放入任何一台ABI的实时定量PCR系统，三个小时之内就能得到结果。Megaplex Primer Pools、TaqMan MicroRNA Assays和7900HT快速定量PCR仪可以进行简化多个分析的平行运行来额外提升通量。仅需5个小时即可获得全局miRNA图谱分析（图3），而相比之下微阵列通常需要几天时间。

microRNA图谱分析的理想选择

为了鉴定差异表达的miRNA，许多研究都以整体的miRNA表达图谱作为起始。Megaplex Pools，与 TaqMan MicroRNA Assay Sets 或 TaqMan MicroRNA Array 共同使用，是microRNA图谱分析实验的理想选择。它们能在1个工作日内分别产生人、小鼠或大鼠的667、518或303个miRNA的图谱，样品量最低只需要1ng。由于结合了TaqMan Assay试剂的各方面优势，这与微阵列相比具有显著的优势（微阵列需要几天，及几百纳克的起始RNA）。

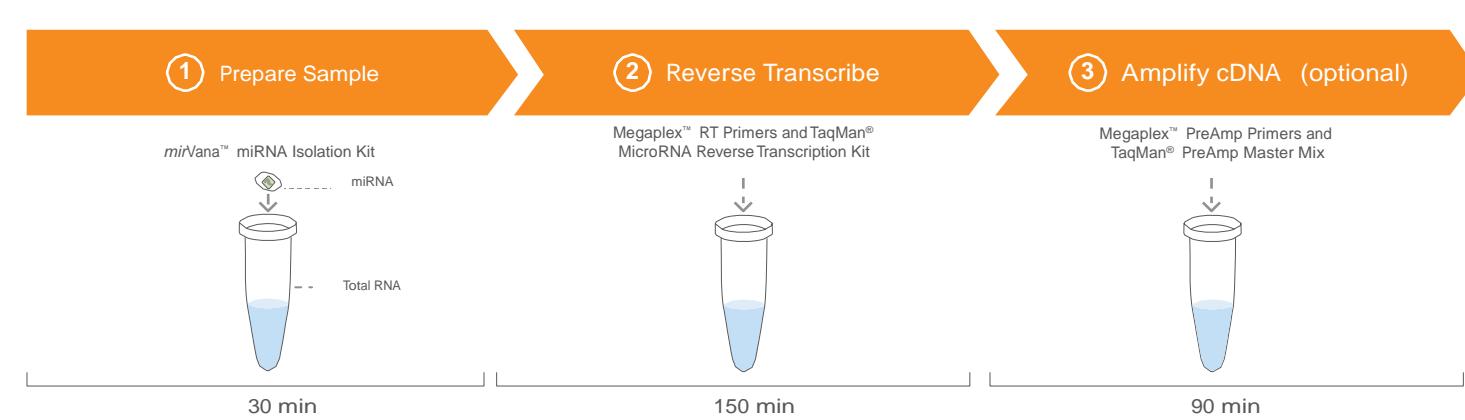


图3. Megaplex Primer Pools能让完整的人或啮齿动物miRNA图谱分析仅需5小时就能完成，加上可选的Megaplex PreAmp Primers和TaqMan PreAmp Master Mix步骤也只需6.5小时。

TaqMan MicroRNA Assays产品家族

适用于图谱分析工作流程中产品

新的 Magaplex Primer Pools

无论你的图谱分析实验是需要最大的灵敏度还是最宽的覆盖度，抑或二者兼具，Magaplex Primer Pools 的灵活性都能满足你的实验目标。Magaplex Primer Pools 提供了 Sanger MiRBase v10 的综合覆盖度，与 TaqMan MicroRNA Assays 共同使用，是 miRNA 图谱分析的理想解决方案：

Mgaplex RT Primers

Mgaplex RT Primers 为简化实验流程而设计，为制备TaqMan Human或Rodent MicroRNA Array 中实时定量PCR所需的 cDNA 提供了单反应的解决方案。每个物种有两套Mgaplex RT Primer pools。Mgaplex RT Primers 能与单独的human TaqMan MicroRNA Assays 或TaqMan MicroRNA Assay Sets 共同使用，以简化miRNA图谱分析。.

ABI和Ambion——完美的组合

由于 Ambion 和 ABI 的整合，我们得以提供最全面而又创新 miRNA 产品，以及满足你实验需求的解决方案。Ambion mirVana miRNA Isolation Kit 能快速提取完整质量的总 RNA，而不会损失 miRNAs。区别于其他的基于滤膜的 RNA 纯化步骤

TaqMan MicroRNA Assays 非常便利，是预设计和功能验证过的，有几种不同形式可选，能最大程度地满足各种研究的需求。让你的宝贵时间花在获得结果，而不是设计和问题排除的分析上。

Mgaplex PreAmp Primers

当实验的灵敏度成为最重要的因素，Mgaplex PreAmp Primers for human and rodent 能显著增加低表达 miRNA 的检测能力。使用低至 1ng 的总 RNA，就能产生综合的表达图谱。与 Mgaplex RT Primers 的内容相匹配，每个物种也有两套 Mgaplex PreAmp Primer pools。用 Mgaplex RT Primers 进行反转录后，Mgaplex PreAmp Primers 与 TaqMan PreAmp Master Mix 共同使用，能均一地扩增所有的 miRNA，用于 TaqMan MicroRNA Arrays 和 7900HT 系统的实时定量 PCR 分析。

TaqMan MicroRNA Arrays

TaqMan MicroRNA Arrays 将 TaqMan MicroRNA Assays 的所有优势集合预装成方便的微流体芯片形式，特别适合人或啮齿动物的图谱分析。每个阵列的内容与各自的 Mgaplex Primer Pool 匹配，

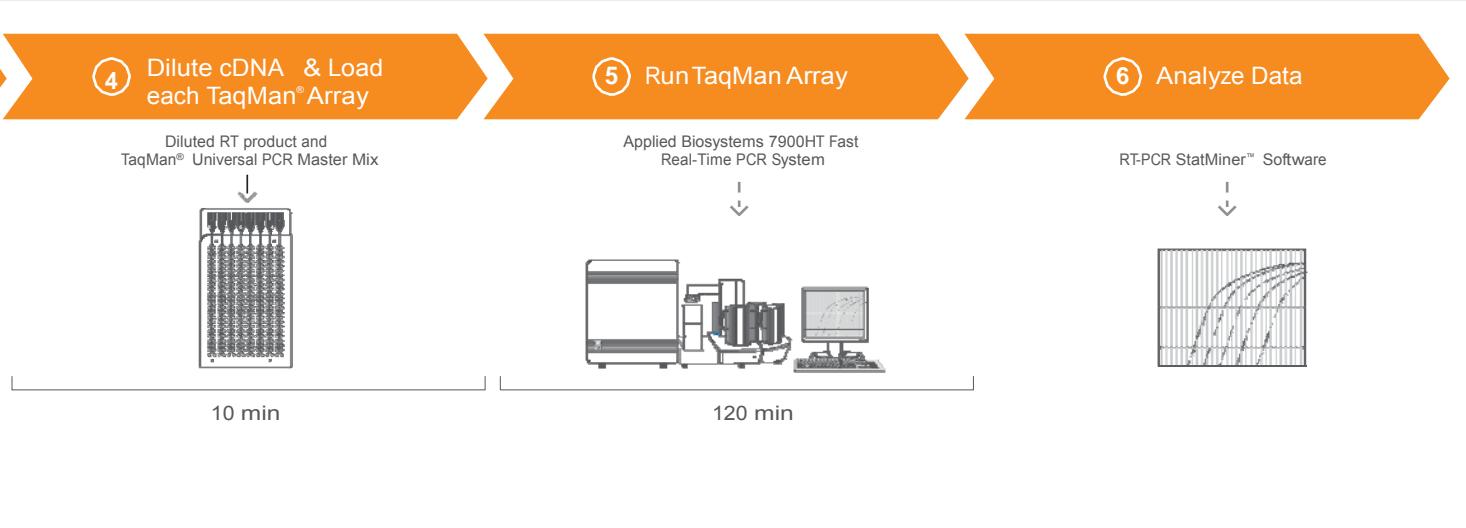
包含最多 381 个独立的 TaqMan MicroRNA Assays，有效缩短准备时间和减少实验的不确定性。用 Mgaplex RT Primers 反转录 miRNA 靶点及用 Mgaplex PreAmp Primers 预扩增之后，TaqMan Universal PCR Master Mix 可与每个反应简单混合，并移至 TaqMan Array 的八个上样口之一，简化了样品处理，并增加了通量。每个物种有一套两个 TaqMan MicroRNA Arrays。与 Mgaplex RT Primers 和可选的 Mgaplex PreAmp Primers 共同使用，一个工作日内就能产生覆盖 Sanger miRBase 的综合数据集。

TaqMan MicroRNA Assay Sets

完整的人和啮齿动物（小鼠和大鼠）的分析组包含所有物种特异的单个 TaqMan MicroRNA Assays，以方便的预包装成形式提供。这些分析组为设计和操作实验提供了最大的灵活性。

常常会损失小分子 RNA (<200nt)，而 mirVana miRNA Isolation Kit 能提取从 10-mers 到几千个碱基的总 RNA。30 分钟的快速操作流程即可获得卓越的纯度和完整无损的总 RNA，适用于广泛的组织和样品类型，包括富含核酸酶的组织。另外，如果是用培养的细胞进行研究，TaqMan MicroRNA Cells-to-Ct

Kit 的快速流程能显著减少上游样品制备工作，是高通量应用的理想选择。10 分钟的步骤产生了能立即用于 qRT-PCR 的细胞裂解液，而移液和样品操作步骤非常少。另外，Ambion 的 Anti-miR 和 Pre-miR miRNA 分子能通过上调或下调细胞内特定的 miRNA，来进行 miRNA 功能分析。



适用于靶点定量分析的工具

单个的TaqMan MicroRNA Assays

目前已有单管的TaqMan MicroRNA Assays，覆盖人、小鼠、大鼠、果蝇、线虫和拟南芥的单个靶点。每个试剂盒包括了TaqMan Assay和目的靶点特异的反转录引物。ABI一直保持与Sanger miRBase数据库一致，不断增加每个物种的分析种类。由于不同物种之间的miRNA存在高度保守性，覆盖度显然超过了这些核心物种之外。

TaqMan MicroRNA Assay Endogenous Controls

对人、小鼠、大鼠物种的内源对照分析的选择简化了数据标准化工作。经过精心挑选，一些与miRNA不相关的非编码小分子RNA成为对照。这些对照在各种细胞类型、组织和实验条件下均表达水平恒定。

TaqMan MicroRNA Reverse Transcription (RT) Kit

TaqMan MicroRNA RT Kit为最佳的TaqMan MicroRNA Assay性能提供了所有必需的成分。该试剂盒的成分与每个TaqMan MicroRNA Assay提供的单个RT引物，或Megaplex RT Primers共同使用，能在实时定量PCR之前将miRNA转变成cDNA。

ABI实时定量PCR平台

ABI的实时定量PCR系统提供了强大的解决方案，能满足各种实验室的需求，让实时定量PCR更容易开展。每个系统都具有新一代的软件，使用简单，并由**ABI**过往在性能与质量和长期可靠性方面的无可匹敌的记录作为支持。

ORDERING INFORMATION

Content		Input Quantity	Species	Megaplex™ Pools P/N	TaqMan® Array P/N	TaqMan® PreAmp Master Mix P/N	TaqMan® MicroRNA RT Kit P/N	TaqMan® Universal PCR Master Mix, No AmpErase® UNG P/N		
A pool only	Unlimited Sample (without PreAmp Primers)	Human	4399966	4398965	N/A	4391128	4366596 or 4366597	4324018		
	Rodent	4399970	4398967							
	Limited Sample (includes PreAmp Primers)	Human	4401009	4398965	4391128					
	Rodent	4401090	4398967							
B pool only	Unlimited Sample (without PreAmp Primers)	Human	4399968	4398966	N/A	4391128				
	Rodent	4399972	4398968							
	Limited Sample (includes PreAmp Primers)	Human	4401010	4398966	4391128					
	Rodent	4401011	4398968							
A and B pools	Unlimited Sample (without PreAmp Primers)	Human	4400928	4400238	N/A	4391128				
	Rodent	4400926	4400239							
	Limited Sample (includes PreAmp Primers)	Human	4401091	4400238	4391128					
	Rodent	4401012	4400239							

Additional TaqMan MicroRNA Assay Products

	P/N	Contents
TaqMan® MicroRNA Assays (Individual)	Multiple ‡	<ul style="list-style-type: none"> • RT primer tube: 5X reaction mix • TaqMan® Assay tube: 20X reaction mix • 50 RT (15µL) and 150 real-time PCR reactions (20µL)
TaqMan® MicroRNA Endogenous Controls	Multiple ‡	<ul style="list-style-type: none"> • RT primer tube: 5X reaction mix • TaqMan Assay tube: 20X reaction mix • 50 RT (15µL) and 150 real-time PCR reactions (20µL)
TaqMan® MicroRNA Assay Sets	Multiple ‡	<ul style="list-style-type: none"> Per Assay: • RT primer tube: 5X reaction mix • TaqMan Assay tube: 20X reaction mix • 50 RT (15µL) and 150 real-time PCR reactions (20µL)
TaqMan® MicroRNA RT Kit		<ul style="list-style-type: none"> • 10X RT buffer • dNTP mix w/dTTP (100mM total) • RNase Inhibitor (20U/µL) • MultiScribe™ RT enzyme (50U/µL)
200 reactions (100 rxns without PreAmp, 200 with PreAmp)	4366596	
1,000 reactions (500 rxns without PreAmp, 1,000 with PreAmp)	4366597	

‡ For the latest information on TaqMan MicroRNA Assays, including a list of available assays, visit mirna.appliedbiosystems.com

Related Products Required for Use with TaqMan MicroRNA Assays

TaqMan® Universal PCR Master Mix, No AmpErase® UNG

TaqMan® PreAmp Master Mix

miRvana™ miRNA Isolation Kit

Other Related Products for Use with TaqMan MicroRNA Assays

TaqMan® MicroRNA Cells-to-C_r™ Kit

Anti-miR™ miRNA Molecules, Controls, and Libraries

Pre-miR™ miRNA Molecules, Controls, and Libraries

miRNA 功能分析

miRNA 的功能分析可采用类似标准基因的方法进行分析。 miRNA 的上调可用于鉴定功能获得表型；抑制或下调可以研究功能缺失表型（表 2 和图 22）。上调与下调的结合可用于鉴定被特定 miRNA 调节的基因，以及特定 miRNA 参与的细胞进程。

主要应用包括：

- miRNA 靶定位点的鉴定和验证
- 筛选调节某个特定基因表达的 miRNAs
- 筛选影响某个特定细胞进程的 miRNAs

细胞中 miRNA 的上调可以通过转染合成的 miRNAs 或表达 miRNAs 的质粒来实现。使用合成 miRNAs 有几个好处：

- ✓ 对于永生化的细胞，小分子 RNA 的转染效率可以接近 100%，合成 miRNAs 的高效转染对于高通量应用如 miRNA 功能筛选尤其有利
- ✓ 小分子 RNA 如 miRNA 可以通过电转很容易的进入原代细胞而不会显著引起细胞死亡
- ✓ 合成 miRNA 可以用不同浓度进行转染，利于剂量反应研究
- ✓ 与质粒产生的 miRNA 不同，参与翻译调控的合成 miRNA 分子的序列是确定的。由于 miRNA 剪切和激活机制尚未完全明确，目前仍难以保证由质粒表达的目标 miRNA 分子的加工和激活。

表 2，用于 miRNA 功能研究的产品

产 品	功 能
Pre-miR™ miRNA Precursor Molecules	合成的 miRNA 分子，用于上调 miRNA 活性
Anti-miR™ miRNA Inhibitors	合成的 miRNA 抑制物，降低 miRNA 活性
pMIR-REPORT™ miRNA Expression Reporter Vector	精确、定量表达的 miRNA 报告载体，以检测 miRNA 活性

表 3，合成的 miRNA 与其它方法的比较

	Pre-miR™ Synthetic miRNA Design	Vector Expression Design	siRNA Design
高效转染	●		●
正确的序列选择	●	●	
miRNA 浓度精确定控	●		●
确定有效序列	●		

Anti-miR™ miRNA Inhibitors

敲除特异 miRNA 活性的最简单方法

产品介绍

Anti-miR miRNA Inhibitors 是序列特异的、经化学修饰以专一靶向和敲除特定 miRNA 的分子。

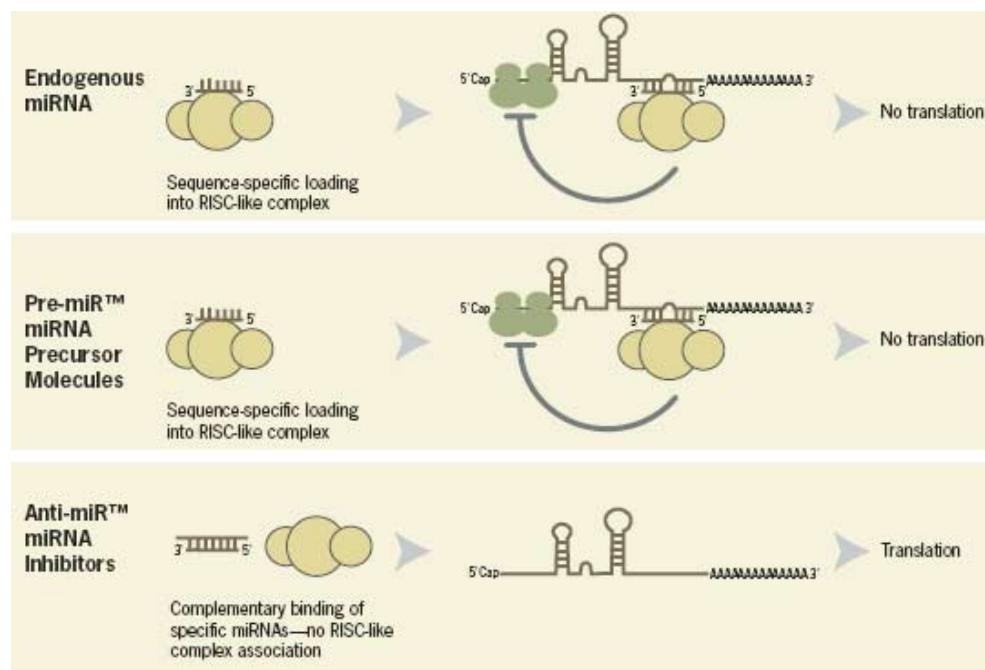


Figure 22. Activity of Pre-miR™ miRNA Precursor Molecules and Anti-miR™ miRNA Inhibitors.

ORDERING INFORMATION

Product	CAT #	SIZE
mirVana™ miRNA Probe and Marker Kit	AM1554	30 rxns; 10 marker rxns
Anti-miR™ miRNA Inhibitors	AM17000	5 nmol
	AM17001	20 nmol (4x5 nmol)
order online at www.ambion.com/catalog/mirna_search.php		
Anti-miR™ miRNA Inhibitors – custom defined sequence	AM17003	20 nmol
order online at www.ambion.com/catalog/mirna_search.php		
Anti-miR™ Negative Control #1	AM17010	5 nmol

Pre-miR™ miRNA Precursor Molecules

合成的 miRNA 分子，用于上调细胞中的特定 miRNA 水平

Pre-miR™ miRNA Precursor Molecules（专利申请中）是化学修饰和优化的核酸分子，设计用于模拟细胞内的 miRNA 分子。Pre-miR™ miRNA Precursor Molecules 可直接进入 miRNA 加工途径，与细胞内的内源 miRNA 分子一样。有了 Pre-miR™ miRNA Precursor Molecules，你能：

- 调控特定 miRNA 活性
- 严谨调控细胞内 miRNA 水平
- 以最小细胞毒性，实现最佳的导入效率

合成的 miRNA 要真正发挥作用，一定要有活性、耐受性强，

最重要的，是要有适合的双链构型（stranded?）。正如 Schwarz et al. 所指出，如 siRNA 和 miRNA 一类的双链小分子 RNA 呈现的链型中，两条互补 RNA 分子中仅有一条 RNA 会先进入 miRNA（或 siRNA）通路。小分子 RNA 的序列组成和双链稳定性决定了哪一条会在细胞中有活性。转染的 miRNA 应模拟同样的链型以确保活性 miRNA 链的有效进入 miRNA 通路，不正确的互补链被排除在外。

由于 Pre-miR™ miRNA Precursor Molecules 直接进入 miRNA 信号通路，可避免 siRNA 类设计会出现的非 miRNA 细胞应答。与质粒表达 miRNA 不同，Pre-miR™ miRNA Precursor Molecules 很容易转染，胞内应激反应极小，适用于通过严谨的剂量调控进行特定的剂量反应分析。

ORDERING INFORMATION

Product	CAT #	SIZE
Pre-miR™ miRNA Precursor Molecules order online at www.ambion.com/catalog/mirna_search.php	AM17100	5 nmol
Pre-miR™ miRNA Precursor Molecules custom defined sequence order online at www.ambion.com/catalog/mirna_search.php	AM17101	20 nmol (4x5 nmol)
Pre-miR™ Negative Control #1	AM17103	20 nmol
Pre-miR™ Negative Control #2	AM17110	5 nmol
Pre-miR™ Negative Control #2	AM17111	5 nmol

siPORT™ NeoFX™ Transfection Agent

适用于转染小分子 RNA，以及共转染 miRNA/pMIR-REPORT

siPORT NeoFX 基于脂质体的配方可用于有效转染多种细胞类型——尤其是传代培养的贴壁细胞——而不会增加的细胞毒性。从头到尾，最快可在 24 小时内成功完成基因沉默实验。精简的反向转染（neofection）步骤广泛适用于多

种细胞和实验设计，包括高通量应用。NeoFX 转染试剂能有效转染低浓度的 miRNA 和 siRNA。例如，在 HeLa 细胞中 siPORT NeoFX 介导的高水平的基因沉默 (>80%) 仅仅需要 0.1-10nM siRNA（靶定 GAPDH）就能实现。

ORDERING INFORMATION

Product	CAT #	SIZE
siPORT™ NeoFX™ Transfection Agent	AM4510	0.4ml
	AM4511	1.0ml

pMIR-REPORT™ miRNA Expression Reporter Vector

灵敏、定量监测 miRNA 表达

pMIR-REPORT miRNA Expression Reporter Vector 可在细胞内准确、定量地测量 miRNA 的表达。这个已经验证的报告系统包含两个哺乳动物表达载体（图 24）。pMIR-REPORT 包含一个受哺乳动物启动子/终止子系统控制的荧光素酶，在荧光素酶基因序列下游带有一个 miRNA 靶标（miRNA 结合区域）的克隆位点。这个载体特别为克隆 miRNAs 靶点从而评估 miRNA 调控水平而设计。第二个载体，pMIR-REPORT Beta-gal Control Vector，可用于平衡转染效率。

pMIR-REPORT miRNA Expression Reporter Vector 用于克隆和验证潜在的 miRNA 结合位点。pMIR-REPORT 转染哺乳动物细胞，可用于评估内源 miRNA 表达，也用于评估 Pre-miR miRNA Molecules 和 Anti-miR miRNA Inhibitor Molecules 的上调或下调。pMIR-REPORT miRNA Expression Reporter Vector 还可作为一个序列筛选工具来鉴定 miRNA 靶点，或筛选 Pre-miR miRNA Molecules 文库从而鉴别能调节表达的因素。

ORDERING INFORMATION

Product	CAT #	SIZE
pMIR-REPORT™ miRNA Expression Reporter Vector	AM5795	1 kit (supercoiled plasmids in E. coli)

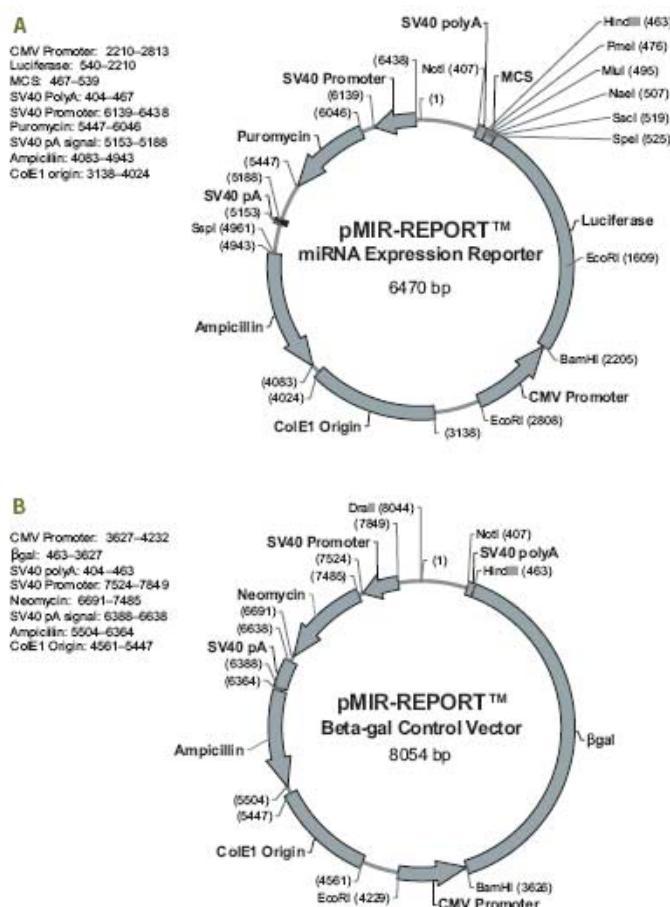


Figure 24. (A) pMIR-REPORT™ miRNA Expression Reporter Vector. (B) pMIR-REPORT™ -Galactosidase Control Vector.

常用细胞系中的 miRNA 相对表达情况

采用 miRNA 阵列（7-8 页）的方法分析 7 种常用细胞系中 miRNA 表达谱，芯片上产生非常高表达信号的 miRNA 以++++表示，高信号以+++表示，中等信号以++表示，低信号以+表示，0 代表 miRNA 信号没有超过芯片上的负对照。

miRNAs	293	MCF7	HeLa	HeLa S3	A549	HepG2	K562
let-7A	+	++	+	+	++	+	+
let-7C	+	+	++	++	++	+	+
let-7D-AS	0	0	+	0	0	0	0
let-7G	+	++	0	+	+	+	+
miR-1	+	++	+	+	++	++	+
miR-7	+	++	+	0	+	++	+
miR-9	0	0	0	0	0	0	0
miR-10A	0	0	0	0	0	0	+
miR-15A	0	+	+	0	+	+	0
miR-16	++	++	+++	+++	+++	++++	+++
miR-17-3P	+	++++	+++	++++	+	++	++++
miR-17-5P	+	0	++	++	0	0	+++
miR-18	+	+++	++	++	0	+	++++
miR-19A	+	++	0	0	+	+	++
miR-20	+	++++	++	+	+	++	+++
miR-21	++	++++	+++	++	++++	++	++
miR-22	+	++	++	0	0	+	+
miR-23B	+	++	++++	+++	+	0	+++
miR-24	++	++	++++	++++	+	+	+++
miR-25	+	++	++	+++	++	++	+++
miR-26A	++	+++	++	++	++	++	+++
miR-27A	+	++	+	++	++	+	++
miR-28	0	+	0	+	+	+	++
miR-29B	0	0	0	0	0	0	0
miR-30A	+	++	+++	+++	++	+	+
miR-31	+++	+	++++	++++	+	+	+
miR-32	0	0	0	0	0	0	0
miR-33	0	+	0	0	+	0	+
miR-34A	0	++	+	+	+	+	+
miR-92	0	+++	++	+++	+	0	++++
miR-93	+	++	+++	++++	++	+	++++
miR-95	0	0	+	0	0	0	0
miR-96	+	+	+	+	+	0	0
miR-98	0	0	0	0	+	0	+
miR-99A	+	++	+	++	++	+	+
miR-100	+	+	++	++	+	+	+
miR-101	0	0	0	0	0	0	0
miR-103	0	++	0	+	+	+	+
miR-105	0	0	+	0	0	0	+

miRNAs	293	MCF7	HeLa	HeLa S3	A549	HepG2	K562
miR-106A	0	++++	++	+++	+	+	++++
miR-107	0	++	++	+++	+	+	+++
miR-122A	+	++	0	+	++	+	+
miR-124A	0	0	0	0	0	0	0
miR-125A	0	0	+	+	+	+	+
miR-126	++	0	0	0	0	+	+++
miR-127	0	0	0	0	+	+	0
miR-128A	0	0	0	0	0	0	0
miR-129	0	0	0	0	0	0	0
miR-130A	+	++	+	+	+	+	+
miR-132	+	+	+	+	+	+	+
miR-133A	0	0	0	0	0	0	0
miR-134	+	0	+	0	0	+	0
miR-135A	0	0	+	0	0	0	0
miR-136	0	0	+	0	0	0	0
miR-137	0	0	+	0	0	0	+
miR-138	0	0	+	0	0	0	+
miR-139	0	0	0	+	0	0	0
miR-140	+++	+++	++	++	++	++	+++
miR-141	0	0	+	0	0	0	0
miR-1425P	+	+	+	0	+	+	+
miR-143	+	+	+	0	+	+	0
miR-144	0	0	+	0	0	0	0
miR-145	+++	+++	+++	++	++	++	+++
miR-146	+	+	+	0	+	+	0
miR-147	+	+	+	+	+	++	+
miR-148A	+	+	0	0	+	+	0
miR-149	+	+	0	0	+	0	0
miR-150	0	0	0	0	0	0	0
miR-151	0	0	0	0	0	0	0
miR-152	0	0	0	0	0	0	0
miR-153	0	+	0	+	+	+	+
miR-154	0	0	0	0	+	0	0
miR-155	+	++	+	+	+	+	+
miR-181A	0	0	++	+	0	0	+
miR-182	++	++	+	+	++	++	++
miR-183	0	+	0	+	+	+	+
miR-184	0	0	0	0	0	0	0
miR-185	0	0	+	++	0	0	+++

miRNAs	293	MCF7	HeLa	HeLa S3	A549	HepG2	K562	miRNAs	293	MCF7	HeLa	HeLa S3	A549	HepG2	K562
miR-186	0	0	+	0	0	0	0	miR-291-5P	+++	+	+	++	+	+	++
miR-187	0	0	0	0	0	0	+	miR-292-5P	0	+	0	0	+	0	+
miR-188	+	+	++	0	+	0	0	miR-293	0	0	0	0	0	0	0
miR-189	+	+	0	0	+	+	+	miR-294	0	0	0	0	0	0	0
miR-190	0	0	0	0	0	0	0	miR-295	0	0	0	0	0	0	0
miR-191	+	+++	+++	+++	++	+	++++	miR-296	++	++	++	+	++	++	++
miR-192	+	+++	0	+	+	0	+	miR-297	0	0	+	0	0	0	0
miR-193	0	0	0	0	0	0	0	miR-298	0	+	0	0	+	0	+
miR-194	+	++++	0	+	+	+	+	miR-299	0	0	0	0	0	0	0
miR-195	0	0	0	0	+	0	0	miR-300	0	0	+	0	0	0	0
miR-196-2	0	0	0	++	0	0	0	miR-301	0	+	0	0	+	0	0
miR-197	0	0	0	0	0	0	+	miR-302	+	+	0	0	+	+	0
miR-198	+	++	+	+	+	+	+	miR-320	+	++	++++	++++	+	0	++++
miR-199	0	0	+	0	0	0	0	miR-321	++++	++++	+++	+++	++++	+++	++++
miR199AAS+	++	+	+	+	+	+	+	miR-322	0	0	+	0	0	0	0
miR-200B	+	++	0	0	++	+	0	miR-323	+	+	+	0	+	+	0
miR-201	0	0	0	0	0	0	0	miR-324-5P	0	0	0	0	0	0	0
miR-202	+	+	0	0	0	0	+	miR-325	+	0	0	0	+	+	0
miR-203	0	0	0	0	0	0	0	miR-326	0	0	0	0	0	0	0
miR-204	0	0	+	0	0	0	0	miR-328	0	0	0	0	0	0	0
miR-205	0	0	0	0	0	0	0	miR-329	0	0	+	0	0	0	0
miR-206	+	+	+	0	+	+	0	miR-330	+	0	0	0	0	0	0
miR-207	0	0	0	0	0	0	0	miR-331	0	0	+	0	0	0	0
miR-208	0	0	0	0	0	+	0	miR-337	++	+	+	+	++	++	+
miR-210	0	+	++	+++	0	0	++	miR-338	+	+	+	0	+	+	+
miR-211	0	0	+	0	0	0	0	miR-339	0	0	0	0	0	0	0
miR-212	0	0	0	0	0	0	0	miR-340	0	0	+	0	0	0	0
miR-214	0	0	0	0	0	0	0	miR-341	+	0	0	0	0	0	+
miR-215	0	0	+	0	0	0	0	miR-342	+	++	++	++	+	0	+++
miR-216	+	+	+	0	+	+	+	miR-344	0	0	+	0	0	0	0
miR-217	+	+	0	0	+	+	+	miR-345	0	0	+	0	0	0	+
miR-218	+	+	+	0	+	+	0	miR-346	+	0	+	0	0	0	+
miR-219	0	0	+	0	0	0	0	miR-350	0	0	0	0	0	0	0
miR-220	0	0	0	0	0	0	0	miR-351	++	+	+	0	+	+	+
miR-221	++	++	+++	+++	+	++	+++								
miR-222	+	+	+++	+++	+	+	+								
miR-223	+	+	+	0	+	+	+								
miR-224	+	+	++	0	0	+	+								
miR-290	0	0	+	0	0	0	0								