



HZYMES

Double-stranded RNA (dsRNA) ELISA kit

dsRNA定量检测试剂盒 (ELISA法)

四种标准品针对四种修饰, 结果更准确, 使用更放心!

瀚海新酶生物科技有限公司



目录 CONTENTS

dsRNA 定量检测试剂盒 (ELISA法)

Double-stranded RNA (dsRNA) ELISA kit

货号规格	P01
检测背景	P01
检测原理	P02
产品用途	P02
产品组分	P02
检测流程	P03
储存条件及有效期	P03
产品性能	P04
注意事项	P07
Q&A	P08

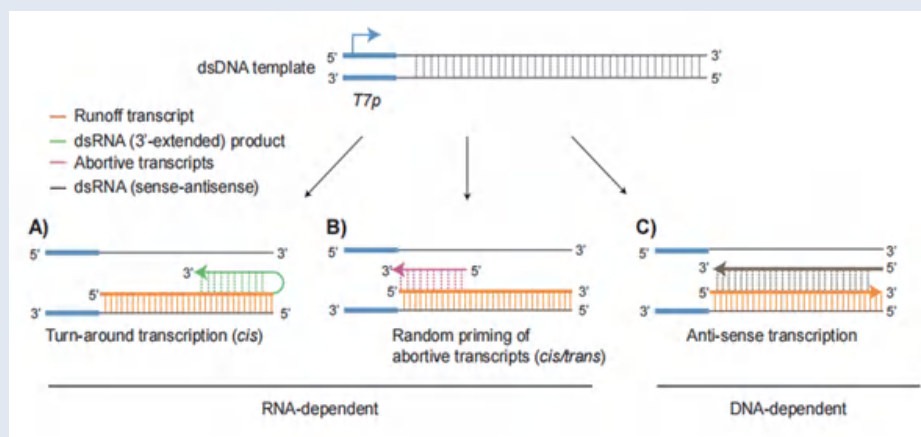
dsRNA 定量检测试剂盒 (ELISA法)

货号 规格

货号	产品名称
HBP003800	dsRNA定量检测试剂盒 (ELISA法) (48T)
HBP003801	dsRNA定量检测试剂盒 (ELISA法) (96T)

检测背景

利用T7 RNA聚合酶体外转录 (IVT, In Vitro Transcription) 制备mRNA的过程,同时会产生短链RNA、双链RNA (dsRNA, double-stranded RNA) 等副产物,其中dsRNA可被RIG-I样受体 (RIG-I like receptors, RLRs) 识别,继而触发机体的天然免疫反应;另外,dsRNA可激活寡聚腺苷酸合成酶 (OSA, oligoadenylates synthesis),从而结合并激活RNase L,导致mRNA发生降解。因此,dsRNA的残留量是mRNA药物的关键质量属性,IVT制备mRNA时,需尽可能去除dsRNA,以获得免疫原性较低的功能性mRNA,同时提高mRNA表达水平。



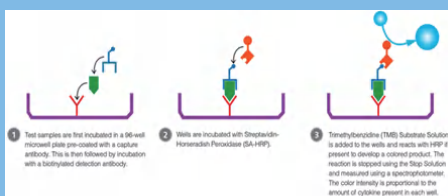
引自December 2019.Genetic engineering & biotechnology news: GEN 39(12):56-58

检测原理

本试剂盒采用双抗体夹心法原理，并偶联生物素-链霉亲和素系统，用于定量检测样本中双链 RNA(dsRNA)含量，检测的 dsRNA 长度大于等于 60 bp，该双链 RNA 与其核酸序列无关。

酶标板微孔中包被抗 dsRNA 抗体，加入样本后孵育洗涤，再加入生物素化检测抗体孵育，形成抗体-抗原-抗体复合物，再次洗涤后加入辣根过氧化物酶（HRP）标记链霉亲和素（streptavidin, SA）。

经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色，TMB 在过氧化物酶的催化下转化成蓝色，经酸的终止作用转化成最终的黄色。颜色的深浅和样品中 dsRNA 含量呈正相关。用酶标仪在 450nm 波长下测定吸光度（OD值），根据标准曲线计算样品中 dsRNA 浓度。



产品用途

本试剂盒应用双抗体夹心酶联免疫法检测双链RNA(dsRNA)的残留。

产品组分

组分	HBP003800	HBP003801
1.反应板	48孔	96孔
2.生物素化检测抗体(100×)	0.06 mL	0.12 mL
3.HRP-链霉亲和素(100×)	0.06 mL	0.12 mL
4.稀释液	15 ml	30 mL
5.显色剂	6 ml	12 mL
6.终止液	3 ml	6 mL
7.浓缩洗涤液(20×)	20 ml	40 mL
8.标准品(5ng/μL)	无修饰, 5ng/μL, 5μL pUTP修饰, 5ng/μL, 5μL N1-Me-pUTP修饰, 5ng/μL, 5μL 5-OMe-UTP修饰, 5ng/μL, 5μL	无修饰, 5ng/μL, 10μL pUTP修饰, 5ng/μL, 10μL N1-Me-pUTP修饰, 5ng/μL, 10μL 5-OMe-UTP修饰, 5ng/μL, 10μL
9.封板膜	2张	4张
10. STE buffer	7.5 mL	15 mL
11.COA	1份	1份
12.说明书	1册	1册

dsRNA 定量检测试剂盒 (ELISA法)

检测 流程



储存条件 及有效期

- ① 试剂盒于2-8 $^{\circ}$ C储存, 避免强光直射, 有效期12个月。
- ② 包被条拆封使用后, 应将剩余包被条密封, 在2~8 $^{\circ}$ C储存, 在有效期内使用。
- ③ 试剂盒其他组分使用后要及时放回到2~8 $^{\circ}$ C条件, 在有效期内使用。

产品 性能

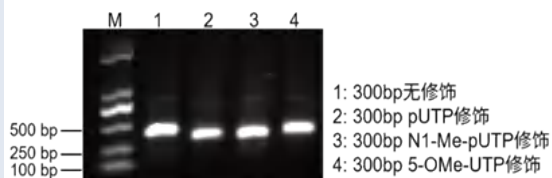
1. 四种标准品

试剂盒搭配四种不同修饰类型dsRNA标准品，保证针对不同修饰类型dsRNA都能做到精确定量。

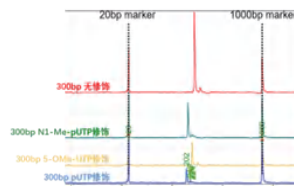
- 对于同一浓度不同修饰类型dsRNA，抗体对的识别信号是不同的。

抗原浓度(pg/μl)	无修饰	pUTP修饰	N1-Me-pUTP修饰	5-OMe-UTP修饰
1	2.4657	2.8386	2.6829	1.0914
0.25	0.9013	1.0268	0.8882	0.3614
0.0625	0.2812	0.3252	0.2807	0.1523
0	0.0662	0.0752	0.0648	0.0756

- dsRNA标准品纯度高，琼脂糖凝胶电泳和毛细管电泳双重方法验证标准品中除了dsRNA无其它明显杂质，保证了用A260给标准品定值的准确性。

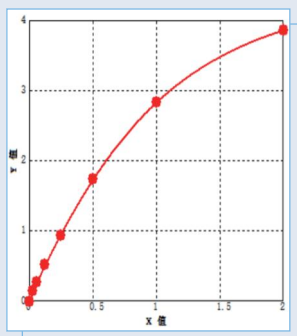


图一：标准品纯度电泳结果



图二：标准品纯度CE结果

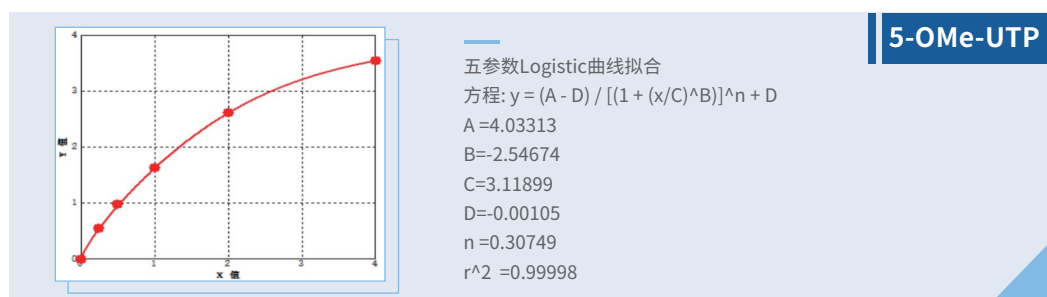
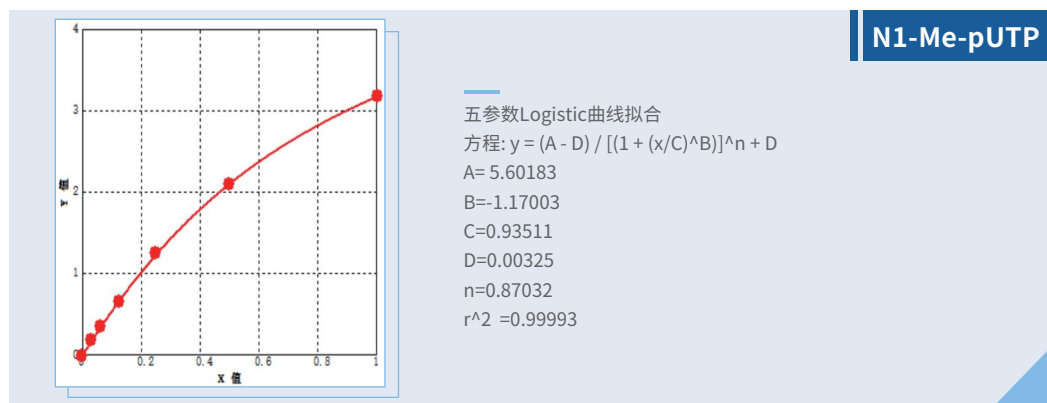
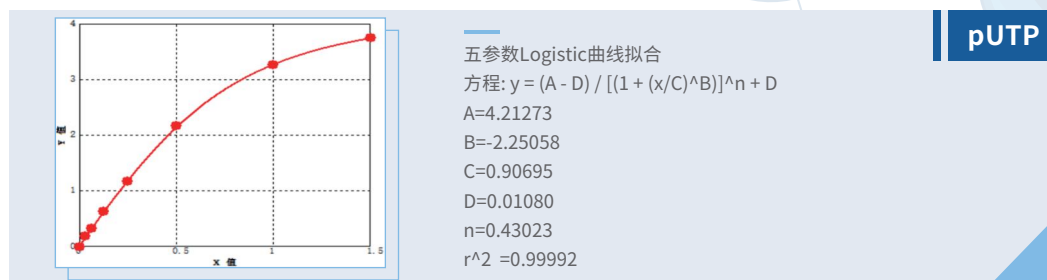
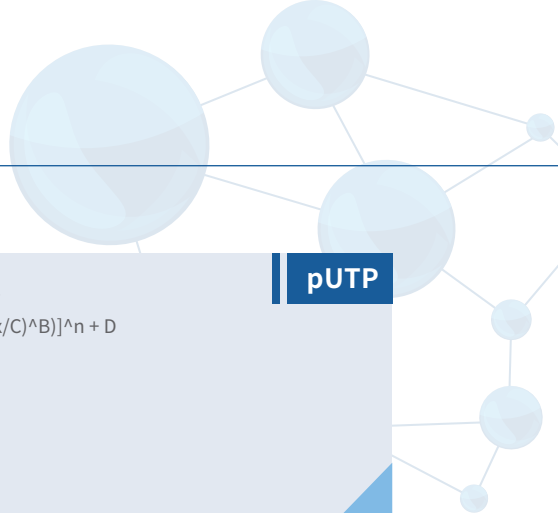
2. 标准曲线拟合准确



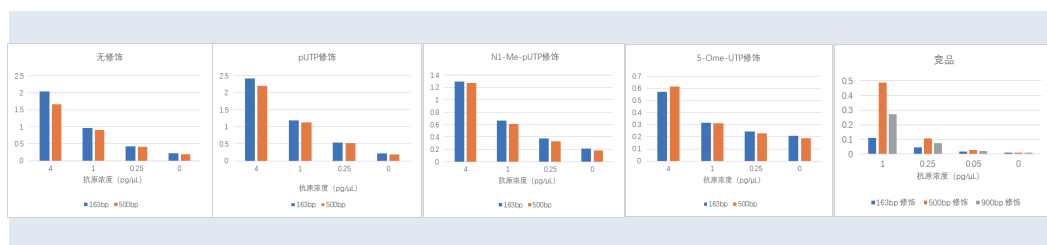
五参数Logistic曲线拟合
 方程: $y = (A - D) / [(1 + (x/C)^{\beta})^n + D]$
 A=4.65019
 B=-1.91802
 C=1.35616
 D=0.00337
 n=0.48430
 $r^2 = 0.99994$

UTP

dsRNA 定量检测试剂盒 (ELISA法)

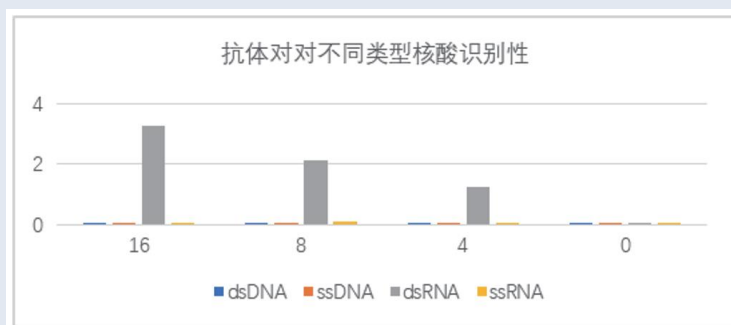


3.受dsRNA长度、序列影响小



4. 特异性检测dsRNA

抗原浓度(pg/ μ L)	dsDNA	ssDNA	dsRNA	ssRNA
16	0.081	0.085	3.284	0.086
8	0.084	0.083	2.128	0.089
4	0.081	0.085	1.252	0.082
0	0.086	0.081	0.084	0.077



5. 抗体预包装、热稳定性好

瀚海标准品						
抗原浓度 (pg/ μ l)	对照		37°C 8天		变量	
	300bp 无修饰	300bp N1-Me-pUTP修饰	300bp 无修饰	300bp N1-Me-pUTP修饰	300bp 无修饰	300bp N1-Me-pUTP修饰
4	3.487	3.4061	3.5723	3.502	2%	3%
1	1.6487	1.9246	1.6969	1.8151	3%	-6%
0.25	0.6072	0.7402	0.5661	0.6485	-7%	-12%
0	0.0441	0.0382	0.0442	0.0425	0%	11%

竞品标准品							
抗原浓度 (pg/ μ l)	对照			37°C 7天			变量
	测值1	测值2	均值	测值1	测值2	均值	
2	2.819	2.7837	2.8014	1.2411	1.2534	1.2473	-55%
0.5	1.0332	1.1264	1.0798	0.2905	0.3188	0.3047	-72%
0.125	0.3761	0.356	0.3661	0.1204	0.125	0.1227	-66%
0	0.06	0.0591	0.0596	0.0646	0.0647	0.0647	9%

6.其他性能

标准品类型	线性范围 (相关系数>0.99)	定量限 (CV小于10%,回收率80-120%)	检出限	回收率	CV
无修饰	0.0312-1	0.0312pg/ μ L	<0.001pg/ μ L	80-120%	<10%
	pg/ μ L				
N1-Me-pUTP修饰	0.0312-1	0.0312pg/ μ L	<0.001pg/ μ L	80-120%	<10%
	pg/ μ L				
pUTP修饰	0.0312-1	0.0312pg/ μ L	<0.001pg/ μ L	80-120%	<10%
	pg/ μ L				
5-OMe-UTP修饰	0.125-4	0.125pg/ μ L	<0.001pg/ μ L	80-120%	<10%
	pg/ μ L				

注意 事项

- ①显色温度和时间对实验结果至关重要，应准确把握。
- ②洗涤过程中应使洗涤液浸泡反应板30s后再甩干，以充分洗涤非特异性吸附的成分。
- ③所有试剂使用前应充分摇匀，加样时应将所加样物加入酶标板孔中底部，避免加在孔壁上部，加样时注意不可溅出，不可产生气泡。
- ④若发现浓缩洗涤液中有结晶，可在37°C水浴锅中孵育，待结晶完全溶解后再混匀稀释至工作浓度。
- ⑤样本中应避免引入叠氮化钠（NaN₃），叠氮化钠会破坏辣根过氧化酶活性，使检测值偏低。
- ⑥实验操作过程中要严格避免RNase污染。



Q&A

Q1: 需要客户自己预包被吗?

答: 我们提供的是预包被板, 方便操作者使用。

Q2: 样本稀释液是配好的吗? 具体是什么成分?

答: 样本稀释液是配好的。

Q3: 洗涤液是浓缩的; 是一次配好, 还是现配现用? 谢谢。

答: 浓缩的, 现配现用。

Q4: 加入的显色液是什么物质? 作用原理?

答: 显色剂, 是经典的TMB显色系统。具体原理可以参考免疫方面的教科书。在这里不详细列出。

Q5: 终止液是什么物质? 如何做到终止反应的?

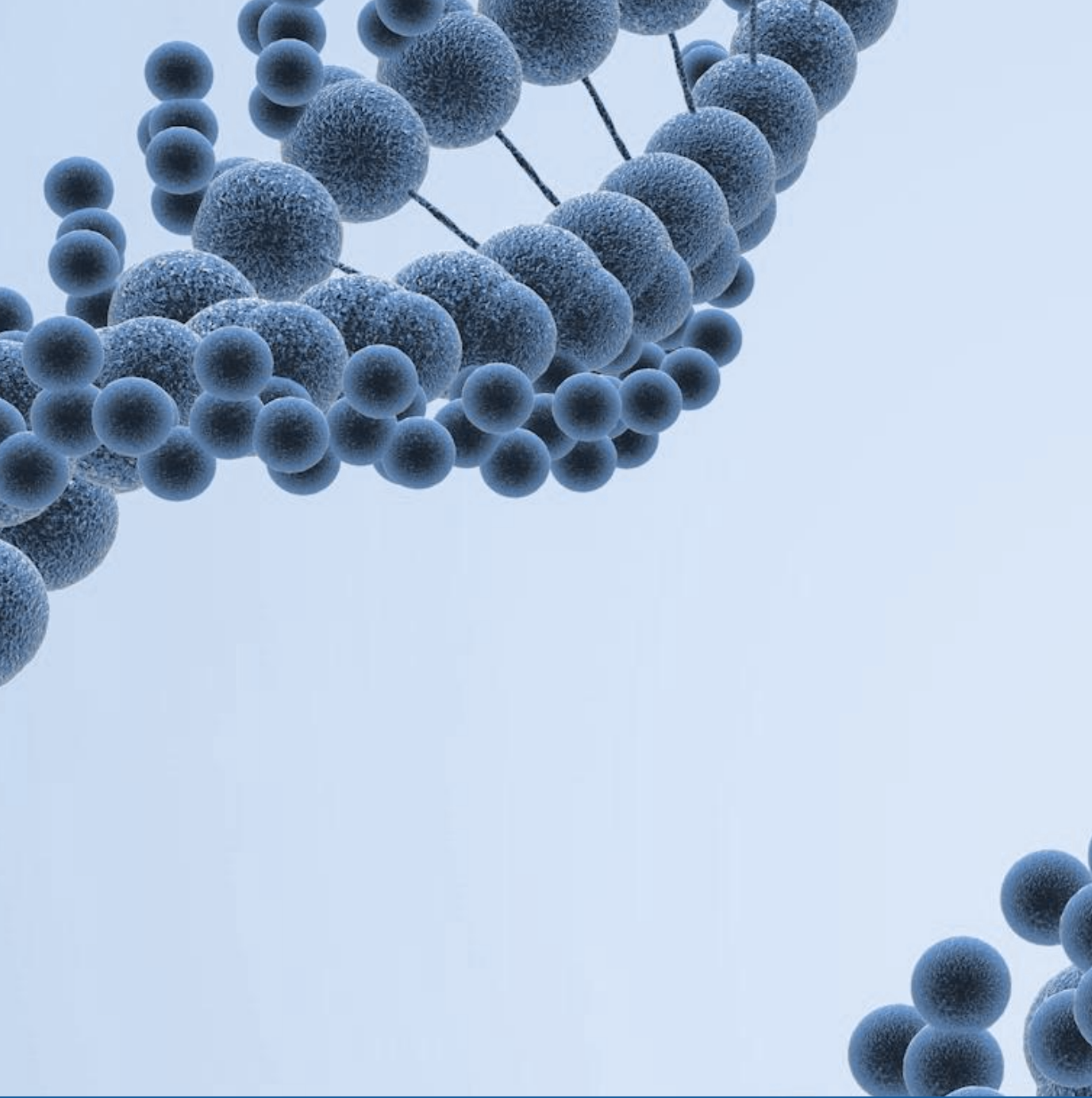
答: 终止液是2M的硫酸溶剂。终止反应也是和原理相关。这个参考教科书!

Q6: 试剂盒从冰箱取出后, 室温放置会影响其效果吗?

答: 每步反应前, 把这步要用的试剂母液拿出来, 拿稀释液配好后, 室温平衡15-25分钟, 母液建议立即放回冰箱。

Q7: 振板反应是否一定需要?

答: 如果没有振板机, 试剂盒整体反应度、性能都会受影响, 最好用上。



瀚海新酶生物科技有限公司 HZYMES BIOTECHNOLOGY CO.,LTD

营销中心:上海市奉贤区环城西路3006号瀚海大厦

联系方式: bpmarketing@hzymes.com

生产基地:武汉市高科园三路9号武汉精准医疗产业基地

技术咨询电话:027-65528952 邮编:420075 网址:www.hzymes.com



—— 公众号 ——



—— 业务咨询 ——