货号：BP-18-32

dsRNA 残留定量检测试剂盒 2.0

2026V01

产品名称

dsRNA 残留定量检测试剂盒 2.0

产品规格

32T/盒

预期用途

本试剂盒用于样品中双链 RNA(dsRNA)的定量检测，仅供研究使用。

产品概述

使用 T7 RNA 聚合酶体外转录（IVT, In Vitro Transcription）制备 mRNA 的过程中会产生双链 RNA（dsRNA, double-stranded RNA）等副产物，dsRNA 除了会触发机体的天然免疫反应，还可能导致 mRNA 发生降解，因此 dsRNA 的残留量是 mRNA 药物的关键质量属性。本试剂盒应用双抗体夹心酶联免疫法(ELISA)检测体外转录体系或合成的 mRNA 原液中 dsRNA 的含量。用捕获抗体包被微孔板，形成固相抗体，向固相抗体微孔板中加入 dsRNA 标准品和待测样品，然后添加辣根过氧化物酶（HRP）标记的检测抗体，形成抗体-抗原-抗体复合物，经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色，显色液在 HRP 酶的催化下转化成蓝色并在酸的作用下最终转换成黄色，颜色的深浅与样品中 dsRNA 的量呈正相关。

试剂盒组分

	组分	规格	储存温度
盒 1	dsRNA 标准品（无修饰 UTP，3μg/mL）	15 μL×1 管	-20±5℃
	dsRNA 标准品（pUTP 修饰，3μg/mL）	15 μL×1 管	
	dsRNA 标准品（N1-Me-pUTP 修饰，3μg/mL）	15 μL×1 管	
	检测抗体	10 μL×1 管	
盒 2	抗 dsRNA 抗体预制酶标板	4×8 孔，32 孔	2-8℃
	浓缩洗涤液（20×）	6 mL×1 瓶	
	样品稀释液	10 mL×1 瓶	
	抗体稀释液	5 mL×1 瓶	
	显色液	5 mL×1 瓶	
	终止液	3 mL×1 瓶	
	封板膜	3 张	
	说明书	1 份	

注：本试剂盒不可与其他商品化试剂盒混用。

自备材料

去离子水或蒸馏水、洗板机、微量移液器、恒温箱、酶标仪与配套灭菌枪头、加样槽、吸水纸等耗材。

储存条件及有效期

1. 盒 1 于-20±5℃存储，盒 2 于 2-8℃储存，避免强光直射。

2. 预制酶标板拆封使用后，应将剩余预制酶标板密封，在 2- 8℃储存并于有效期内使用。
3. 盒 1、盒 2 使用结束后需及时放回相应的储存条件下保存。
4. 盒 1 试剂在使用时应减少反复冻融次数。

检验方法

1. 实验前准备

1.1. 将试剂盒从冷藏环境中取出，放置室温(18 - 28℃)平衡至少 30 min。

1.2. 配制 1×洗涤液：将浓缩洗涤液(20×)用去离子水或蒸馏水 20 倍稀释，混匀备用。例如 10 mL 浓缩洗涤液(20×)用 190 mL 去离子水或蒸馏水稀释。

1.3. 标准品的配制：配制过程可参考下方表 1 和表 2。为保证实验结果有效性，每次实验请使用新配制的标准品溶液。由于实验室条件不同，标曲响应范围可能存在差异，可根据实验结果调整线性范围，保证标曲拟合大于 6 个点。若反应性偏高，可降低标曲首点浓度，反之则提高标曲首点浓度。

A：无修饰、pUTP 修饰 dsRNA 标准品：取标准品原液(3μg/mL)稀释 1000 倍后为标准品的第一个点(3ng/mL)，再 2 倍倍比稀释成 1.5、0.75、0.375、0.187、0.093、0.047 ng/mL。

B：N1-Me-pUTP 修饰 dsRNA 标准品：取标准品原液(3μg/mL)稀释 500 倍后为标准品的第一个点(6ng/mL)，再 2 倍倍比稀释成 3、1.5、0.75、0.375、0.187、0.093 ng/mL。

表 1　无修饰、pUTP 修饰 dsRNA 标准品的配制

移取	加入至	dsRNA 标准品浓度
1μL 的 3μg/mL 的标准品母液	999μL 的样品稀释液	3ng/mL
500μL 的 3ng/mL 的标准品	500μL 的样品稀释液	1.5ng/mL
500μL 的 1.5ng/mL 的标准品	500μL 的样品稀释液	0.75ng/mL
500μL 的 0.75ng/mL 的标准品	500μL 的样品稀释液	0.375ng/mL
500μL 的 0.375ng/mL 的标准品	500μL 的样品稀释液	0.187ng/mL
500μL 的 0.187ng/mL 的标准品	500μL 的样品稀释液	0.093ng/mL
500μL 的 0.093ng/mL 的标准品	500μL 的样品稀释液	0.047ng/mL
500μL 的样品稀释液	空管(对照孔)	0ng/mL

表 2　N1-Me-pUTP 修饰 dsRNA 标准品的配制

移取	加入至	dsRNA 标准品浓度
2μL 的 3μg/mL 的标准品母液	998μL 的样品稀释液	6ng/mL
500μL 的 3ng/mL 的标准品	500μL 的样品稀释液	3ng/mL
500μL 的 1.5ng/mL 的标准品	500μL 的样品稀释液	1.5ng/mL
500μL 的 0.75ng/mL 的标准品	500μL 的样品稀释液	0.75ng/mL
500μL 的 0.375ng/mL 的标准品	500μL 的样品稀释液	0.375ng/mL
500μL 的 0.187ng/mL 的标准品	500μL 的样品稀释液	0.187ng/mL
500μL 的 0.093ng/mL 的标准品	500μL 的样品稀释液	0.093ng/mL
500μL 的样品稀释液	空管(对照孔)	0ng/mL

1.4. 配制 1×检测抗体：将检测抗体用抗体稀释液稀释成 1×检测抗体，假设配制 1.7mL，则需要取 4μL 检测抗体，根据检测数确定稀释体积(每孔 100 μL)。注意取样前将检测抗体充分混匀。

2. 检测步骤

2.1. 酶标板孔排列：根据实验量从铝箔袋中取出相应数量板条，剩余的板条放回铝箔纸中密封好，2-8℃保存。

2.2. 加样：在酶标板中每孔加入 100μL 样品/标准品，用封板膜封板后，放入 37°C恒温培养箱孵育 1h。（当无法估计待测样品中的 dsRNA 大概含量时，应当用样品稀释液做多个稀释倍数做检测，以免含量过高不能够读取有效数值。）

2.3. 洗板：孵育完成后，小心揭去封板膜，弃掉孔内液体，每孔至少加入 300μL 1×洗涤液，静置浸泡 60s，连续洗板 4 次，最后一次尽量去除残留液体。

2.4. 加检测抗体：以每孔 100μL 加样量加入 1×检测抗体，用封板膜封板后，放入 37°C恒温培养箱孵育 1h。

2.5. 洗板：孵育完成后，小心揭去封板膜，弃掉孔内液体，每孔至少加入 300μL 1×洗涤液，静置浸泡 60s，连续洗板 4 次，最后一次尽量去除残留液体。

2.6. 按每孔 100μL TMB 显色液加入酶标板，用封板膜封板后，放入 37°C恒温培养箱避光孵育 25min。

2.7. 终止/读值：每孔加入 50μL 终止液，轻轻混匀后用酶标仪检测各孔在 450nm 单波长处 OD 值（建议用双波长 450nm/630nm），15min 内完成读值。

结果分析

1. 标准品和样品孔测得的 OD 值扣除对照孔的 OD 值用于结果计算。

2. 以标准品的浓度为横坐标，OD 值为纵坐标，采用四参数方式拟合绘制标准曲线。如有设置复孔，则应取其平均值计算。检测时，标准曲线相关系数 $R^2 \geqslant 0.99$，否则实验无效。

3. 将样品的 OD 值代入标准曲线的拟合方程式，计算出样品浓度，即为样品的实际浓度。若样品 OD 值高于标准曲线上限，应适当稀释后重测，计算浓度时应乘以稀释倍数。每次实验均应生成新的标准曲线，以理论浓度标准品绘制的标准曲线如下图 1 所示。

dsRNA 浓度 (ng/mL)	$OD_{样本}$-$OD_{对照孔}$
3	2.787
1.5	1.732
0.75	0.966
0.375	0.503
0.1875	0.255
0.09375	0.143
0.046875	0.055
0	0

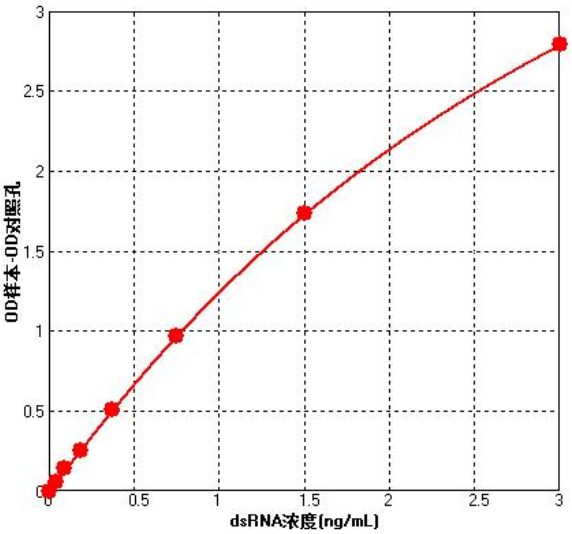


图 1　dsRNA 标准品（无修饰 UTP）的标准曲线

产品性能

1. 精密度：板内变异系数<10%；板间变异系数<15%。

2. 准确度：80%-120%。

3. 线性范围：无修饰、pUTP 修饰 dsRNA 检测线性范围 0.047-3ng/mL；N1-Me-pUTP 修饰 dsRNA 检测线性范围 0.093-6ng/mL。

注意事项

1. 操作前仔细阅读使用说明书，严格按照试剂盒说明书进行实验操作。
2. 避免在恶劣的环境(如含有 84 消毒液、次氯酸钠、酸碱或乙醛等高浓度腐蚀性气体及灰尘的环境)条件下进行实验，实验室消毒应在实验结束后进行。RNA 酶III和全能核酸酶能降解 dsRNA，所以切勿在含有 RNA 酶III以及全能核酸酶的环境中进行实验。
3. 试剂盒应平衡至室温再使用，试剂使用前应充分摇匀。试剂使用后，剩余试剂及时密封，参考说明书进行保存。
4. 酶标板可拆卸，每次将需用数量的板条取出后，其余未用板条需放回铝箔袋内于 2-8°C储存。避免对酶标仪底部刮花或其他影响光密度测量的操作。
5. 捕获抗体、标准品、检测抗体、SA-HRP 体积较少，使用前可用离心机将管壁、管盖上的液体离心至管底。
6. 封板膜不可重复使用。不同批号的试剂组分不可混用，微量移液器枪头不可混用，以免交叉污染。
7. 洗板推荐使用洗板机，洗板过程中避免串流或气泡，以防影响实验结果准确性。最后一次洗板后，应将孔中残留的液体拍干。
8. 请在反应终止后 15 min 内进行读值。
9. 为了您的安全和健康，操作中需佩戴一次性手套和实验室规定的防护物品。
10. 本产品仅供科学研究使用。