mRNA疫苗原料

守护生命健康·缔造美好生活

BIORI 宝锐生物

目录

contents

一、mRNA疫苗药物开发流程与行业背景

二、产品清单

三、理论知识考核

BIORI 宝锐生物



一、mRNA疫苗药物开发流程与行业背景

mRNA疫苗的开发背景

mRNA疫苗的开发背景可追溯至20世纪80年代：

1. 早期探索与基础发现

- 1987年，Robert Malone首次证明脂质体包裹的mRNA可使细胞表达蛋白质，为mRNA作为药物载体奠定基础。
- 1989年，Vical公司成功将mRNA包裹于脂质纳米颗粒（LNP）中，实现体外转录mRNA向真核细胞的递送，首次证实mRNA可在活体组织中指导蛋白质合成。

2. 免疫学理论的推动

- 1990年代，Toll样受体（TLR）等免疫识别机制的发现，揭示mRNA可激活先天免疫反应，为mRNA疫苗的佐剂效应提供理论依据。
- 2005年，Katalin Karikó和Drew Weissman发现通过修饰mRNA核苷酸（如用假尿苷替代尿苷），可降低免疫原性，提高安全性与翻译效率，这一突破解决了mRNA疫苗的关键技术瓶颈。

3. 技术优化与递送系统发展

- 脂质纳米颗粒（LNP）技术的成熟是mRNA疫苗成功的关键。可电离脂质的开发使LNP在生理条件下保持稳定，同时促进mRNA进入细胞并逃逸内体降解。
- 微流控技术的应用实现了LNP的规模化生产，确保mRNA疫苗的稳定性和一致性。

4. 临床应用的探索与验证

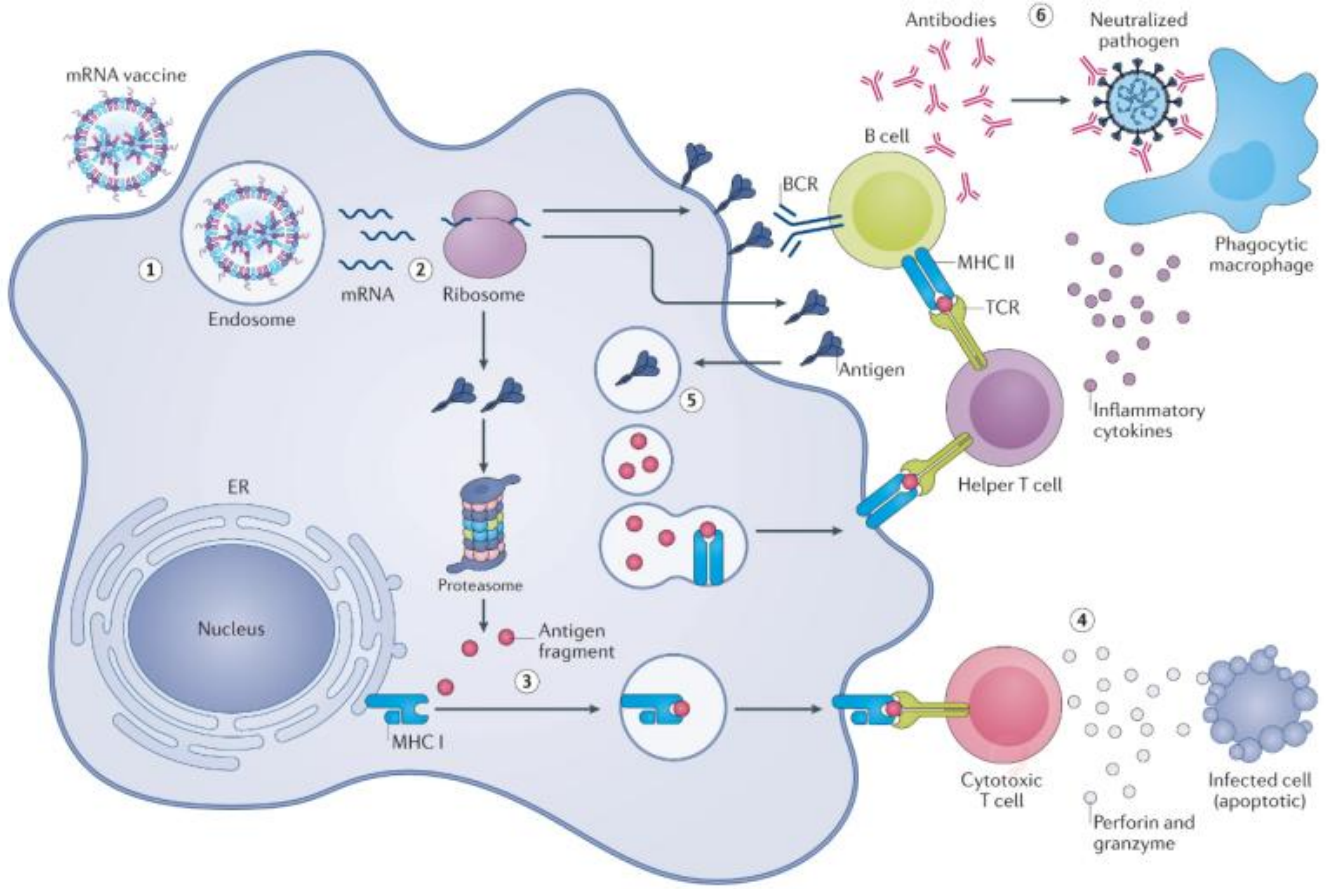
- 2000年代，多家公司开展mRNA疫苗的临床试验，涵盖癌症、传染病等领域。
- 2020年，新冠疫情期间，mRNA疫苗（如BioNTech/Pfizer和Moderna的疫苗）因快速研发、高效免疫原性及安全性，成为全球抗疫的关键工具，推动mRNA疫苗技术进入广泛应用阶段。mRNA疫苗的开发是多学科协作的成果，结合了分子生物学、免疫学、材料科学等领域的突破，其背景体现了从基础研究到临床应用的快速转化，为应对新兴传染病和个性化医疗提供了创新平台。现了从基础研究到临床应用的快速转化，为应对新兴传染病和个性化医疗提供了创新平台。

BiOri 宝锐生物

mRNA疫苗作用机理

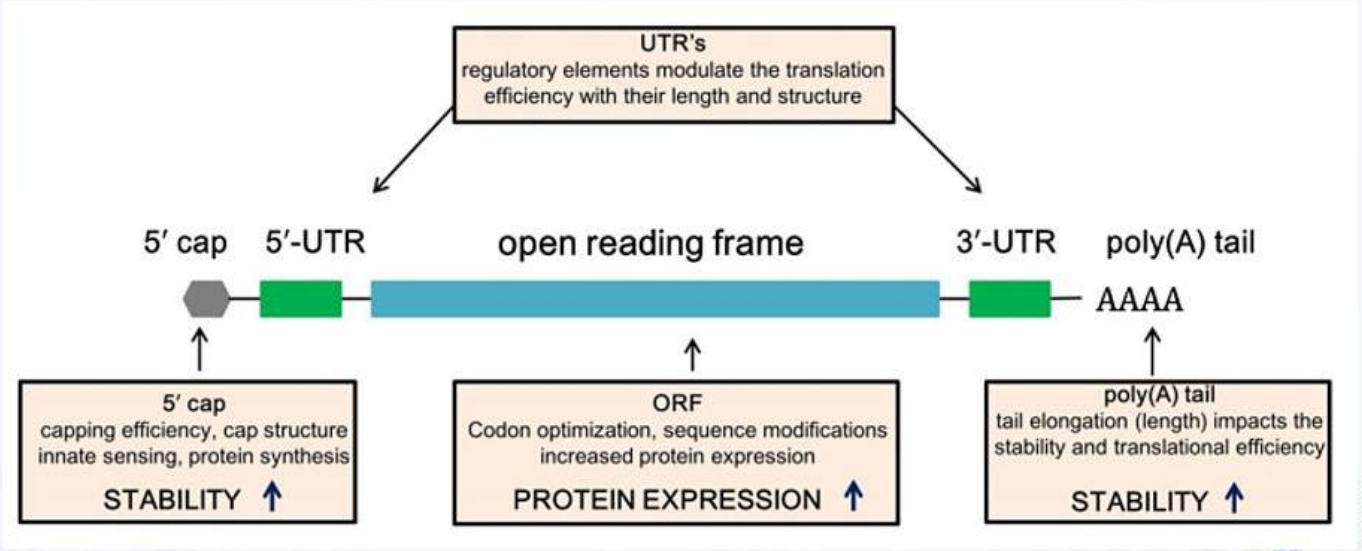
一般情况下，mRNA疫苗通过特定的递送系统进入体内后，主要经历以下步骤：胞吞内化、抗原翻译与降解、溶酶体降解、细胞外表达、B细胞识别、MHC-I呈递和MHC-II呈递。

它会在细胞质中被翻译成抗原蛋白。这些蛋白质可以进一步被降解，然后通过MHC-I分子呈递给CD8 T细胞，或通过MHC-II分子呈递给CD4 T细胞，从而激活免疫反应。



mRNA结构

mRNA药物的核心部分是人工合成的mRNA分子。这是mRNA药物发挥主要功能的结构，指导细胞生成特定蛋白质。
mRNA分子由5个主要的元件组成——5’端帽(5’cap)、5’端非翻译区(5’UTR)、开放阅读框(ORF)、3’端非翻译区(3’UTR)和多腺嘌呤尾(Poly(A) tail)。

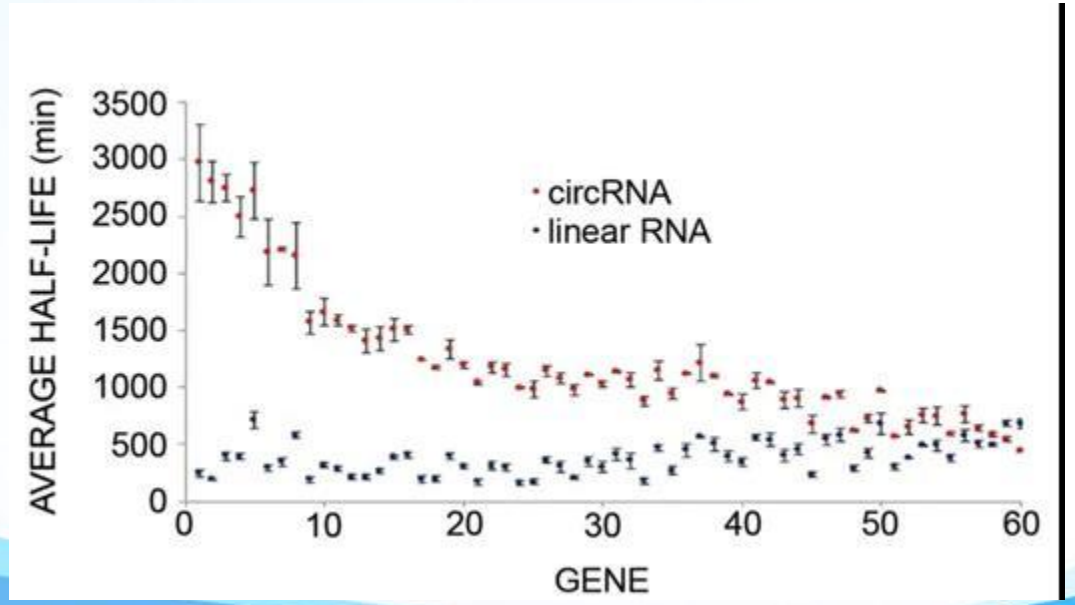


- 5’cap的作用之一是防止mRNA分子被细胞中识别病毒RNA的传感器发现，从而预防不必要的免疫反应。它还保护mRNA不受到核酸外切酶的降解。此外，它与Poly(A) tail、Poly(A)结合蛋白和翻译起始因子协同使mRNA环化并招募核糖体以启动翻译。
- 5’UTR和3’UTR共同调控mRNA的翻译、半衰期和细胞内定位。对UTR进行修饰可以改变mRNA在细胞中的靶向作用，并保护其免受核酸酶降解。
- ORF是mRNA分子中的关键区域，负责编码蛋白质。对ORF序列进行优化可以显著提高其表达效率。
- Poly(A) tail的长度间接调节了mRNA翻译和半衰期。足够长的尾部(100-250bp)可以与Poly(A)结合蛋白、5’cap和翻译起始因子相结合形成复合物，以募集核糖体并且启动翻译过程。

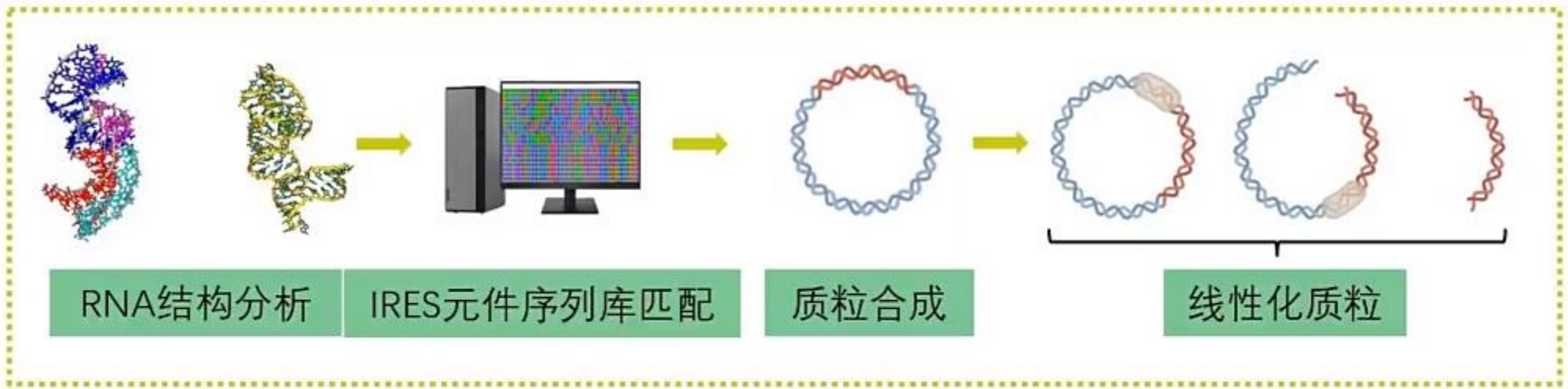
BiOri 宝锐生物

circ RNA背景介绍

环状 RNA (circRNA)是一类单链闭合的环状RNA分子，由mRNA前体（pre-mRNA）通过可变剪接（AS, Alternative Splicing），外显子环化或内含子环化）产生，内源性环状RNA包括编码或非编码性RNA，不包含5'端帽结构和3'端poly(A)，缺乏游离末端，因此不易被核酸外切酶降解，比线性RNA更稳定。有研究人员比较乳腺细胞中同一基因转录出来的circRNA和对应的linear mRNA的半衰期发现，circRNA的半衰期（18.8 – 23.7 h）是Linear mRNA（4.0 – 7.4 h）的至少2.5倍以上，说明circRNA要比linear mRNA更加稳定。



circ RNA 体外制备策略





质量控制

国家药品监督管理局药品审评中心发布《预防用mRNA疫苗药学研究技术指导原则（征求意见稿）》，系统提升mRNA疫苗全生命周期质量控制要求，首次纳入自复制型、环状RNA等前沿技术，为行业高质量发展指明方向。

•mRNA原液/成品： 关键质控项目包括mRNA完整性、加帽率、Poly(A)尾长度及分布等。文件特别指出，应采用高灵敏度方法（如RP-HPLC、毛细管电泳、质谱法）进行检测，并随着研究深入不断收紧标准。

•mRNA-LNP成品： 关键质控项目包括包封率、粒径大小及分布、Zeta电位等。鼓励使用冷冻电镜等技术研究颗粒的微观形态，并探索其与生物学活性的相关性。

•杂质研究： 要求系统性地识别和控制产品相关杂质（如dsRNA、截短序列）和工艺相关杂质（如残留溶剂、残留酶）。特别是对脂质降解产物、mRNA-脂质加合物等新型杂质，要求进行深入的鉴别、结构解析和风险评估。

•生物学活性： 强调建立能够反映产品效力的生物学活性检测方法，并鼓励开展体外活性与体内效力的相关性研究（IVIVC），以期未来能用更稳定、更精确的体外方法替代动物体内效力试验。



国家药品监督管理局药品审评中心
CENTER FOR DRUG EVALUATION, NMPA

网站地图 联系我们 CDE邮箱

请输入关键词 搜索

当前位置：新闻中心>>工作动态>>通知公告>>新闻正文

关于公开征求《预防用mRNA疫苗药学研究技术指导原则（征求意见稿）》意见的通知

发布日期：20250916

为鼓励、规范和指导预防用mRNA疫苗的研发，经广泛调研和讨论，我中心起草了《预防用mRNA疫苗药学研究技术指导原则（征求意见稿）》，现公开征求意见。

我们诚挚地欢迎社会各界对征求意见稿提出宝贵意见和建议，并及时反馈我们，以便后续完善。征求意见时限为自发布之日起1个月。

您的反馈意见请以征求意见反馈表形式发送至以下联系人的邮箱：

联系人：杨丹、胡琳

联系方式：yangdan@cde.org.cn，hul@cde.org.cn

感谢您的参与和大力支持。

国家药品监督管理局药品审评中心

2025年9月16日

BiOri 宝锐生物



二、产品介绍

GMP级生产；执行标准ISO13485；DMF备案

产品目录

质粒模板线性化系列

BspQ I
Bsa I
EcoR I

体外转录系列

T7 RNA聚合酶（常用）
Thermostable T7 RNA聚合酶（热稳定）
T7 RNA聚合酶 3.0（低dsRNA）
RNase Inhibitor
无机焦磷酸酶
DNase I

加帽体系系列

牛痘病毒加帽酶
二氧甲基转移酶

核苷酸类

ATP Solution(100mM)
GTP Solution(100mM)
CTP Solution(100mM)
UTP Solution(100mM)
pUTP Solution(100mM)
N1-Me-pUTP Solution(100mM)
SAM
LZCap® AG(3'Acm)帽类似物

工具酶类

RNase R（性能优异）
RNase H
RNaseH II
RNase A

RNA合成试剂盒类

T7 高效转录试剂盒
T7 高效转录试剂盒(含N1-Me-pUTP)
T7 高效转录试剂盒(含pUTP)
mRNA共转录合成试剂盒
mRNA加帽试剂盒
CircRNA合成试剂盒（国内首发）
CircRNA合成试剂盒（一步法）
dsRNA合成试剂盒

RNA质量控制系列

RNA Ladder 1000/6000/12000（国内首发）
mRNA加帽率检测前处理试剂盒
mRNA加帽率检测前处理试剂盒（2.0）
PolyA尾长度分布检测前处理试剂盒
dsRNA残留定量检测试剂盒 2.0
DNase残留定量检测试剂盒
RNase残留定量检测试剂盒
circRNA分离预制胶试剂盒

BiOri 宝锐生物

厂商情况

在mRNA疫苗领域，主要友商：NEB、瀚海新酶、诺唯赞、翌圣、近岸等

NEW ENGLAND BioLabs

瀚海新酶生物科技 NEW BIOCALYSIS SOLUTION

YEASEN 翌圣生物

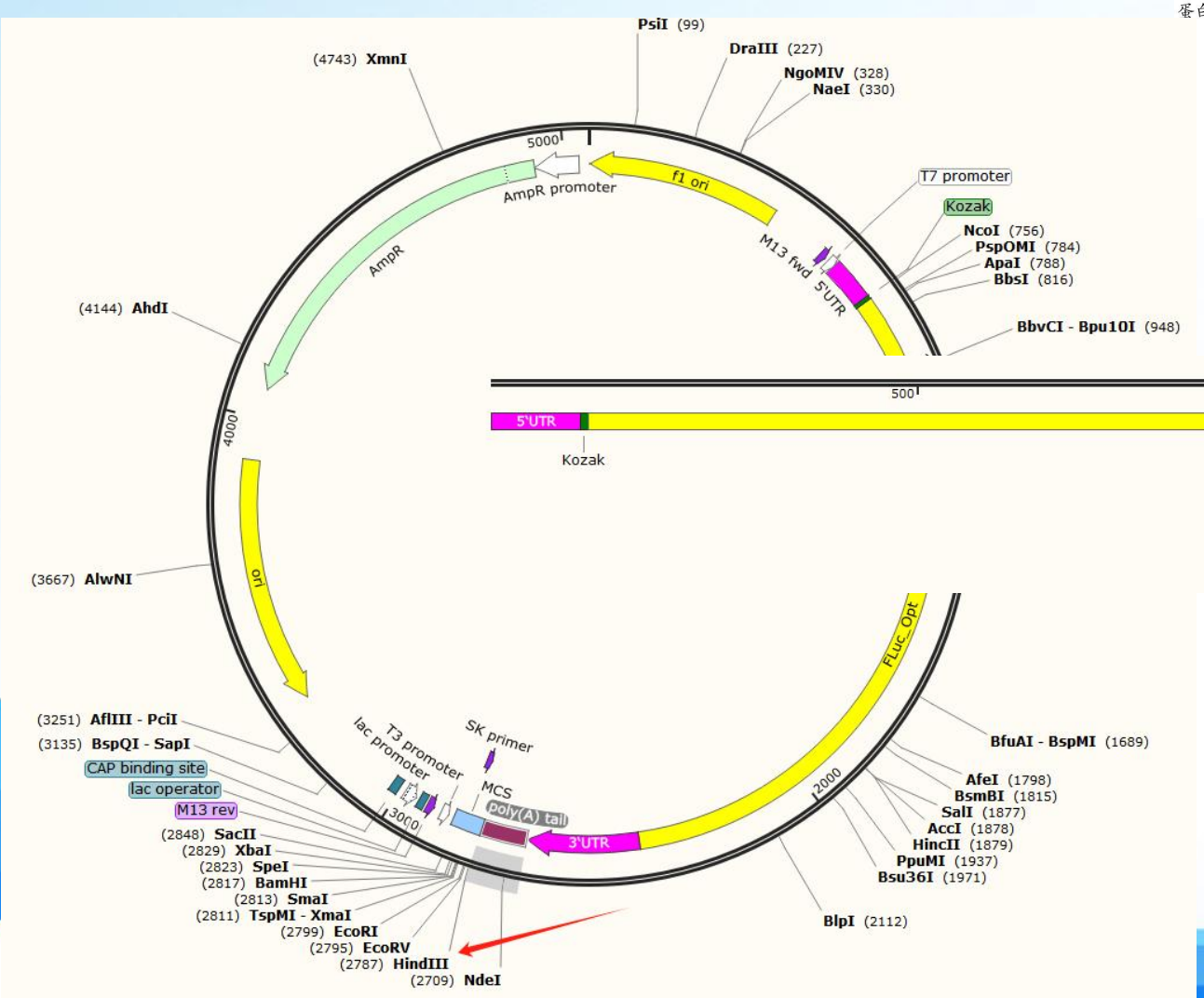
诺唯赞 Vazyme

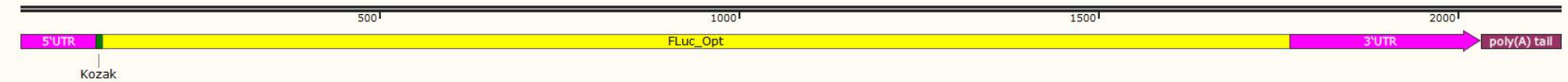
novoprotein 近岸蛋白质

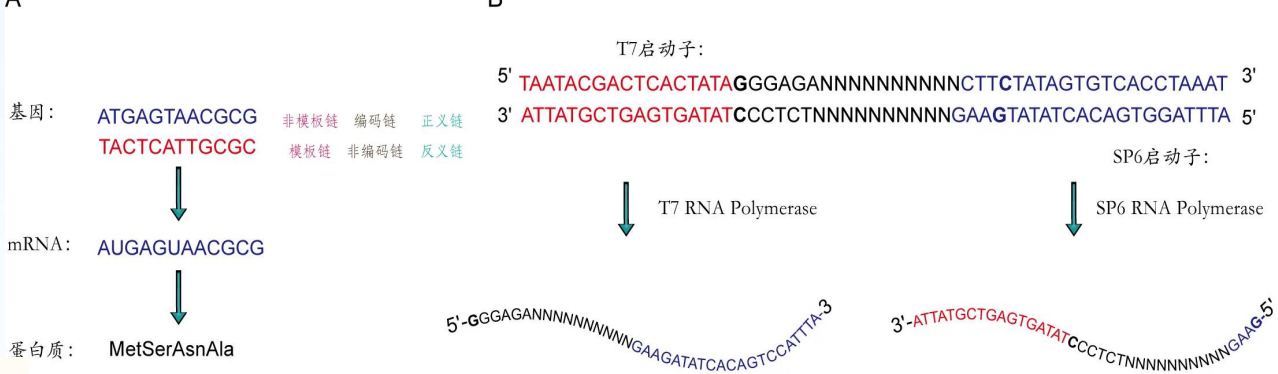
BIORI 宝锐生物

转录模板一览

环状质粒由于缺乏有效的终止信号，而RNA聚合酶又具有持续合成的能力，因此若以环状质粒为模板，会导致转录产物长度不一。这时，就需要借助限制性内切酶来彻底线性化质粒，以便进行高效转录。







Orientation:

Transcription using the RNA polymerase corresponding to T7 promoter will make sense RNA (the same sequence as the mRNA). If the RNA polymerase for SP6 promoter is used, antisense RNA will be transcribed.



BspQ Ⅰ

货号：BP-E09

本制品来源于大肠杆菌表达的球形芽孢杆菌（Bacillus sphaericus）BspQ Ⅰ基因编码的重组蛋白，是一种 IIS 型限制性内切酶，主要用于体外转录模板的线性化，酶切质粒以制备含有poly(A/T/G/C)末端的线性化DNA片段；其识别序列和切割位点如下：

5'…GCTCTTC(N)↓…3'

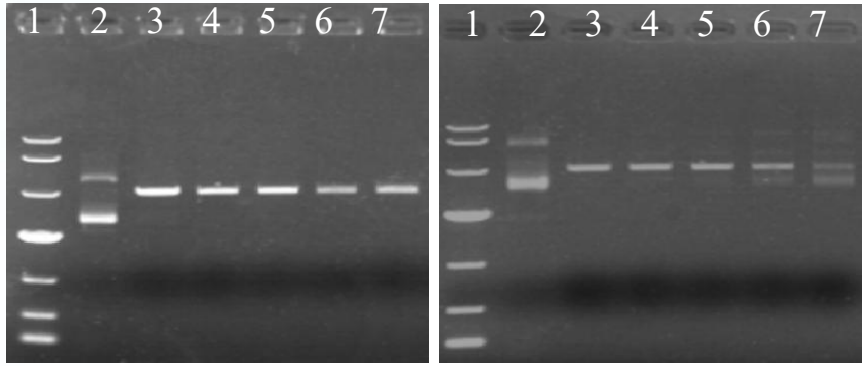
3'…CGAGAAG(NNNN)↑…5'

产品优势

1. 活性高
2. 特异性强
3. 无星号活性

质量控制

- 溶液澄清透明，无可见异物
- 蛋白纯度≥95%
- 无DNase、RNase活性



1：DNA Maker
2：质粒模板
3：宝锐BspQ Ⅰ消化（10^{-1}U）
4：宝锐BspQ Ⅰ消化（10^{-2}U）
5：宝锐BspQ Ⅰ消化（10^{-3}U）
6：宝锐BspQ Ⅰ消化（10^{-4}U）
7：宝锐BspQ Ⅰ消化（10^{-5}U）

1：DNA Maker
2：质粒模板
3：竞品BspQ Ⅰ消化（10^{-1}U）
4：竞品BspQ Ⅰ消化（10^{-2}U）
5：竞品BspQ Ⅰ消化（10^{-3}U）
6：竞品BspQ Ⅰ消化（10^{-4}U）
7：竞品BspQ Ⅰ消化（10^{-5}U）

相比于竞品，线性化等量的质粒，宝锐生物BspQ Ⅰ用量少两个数量级，显示出宝锐BspQ Ⅰ具有更高的活性。

BIORI 宝锐生物

Bsa Ⅰ 货号：BP-E10

本产品Bsa I 属于 IIS 类限制性内切酶，来源于重组大肠杆菌嗜热脂肪芽孢杆菌（Bacillus stearothermophilus）Bsa I 基因编码蛋白突变体。Bsa I 限制性内切酶常用于制备含有完整 poly（A）的线性化质粒模板，其识别和切割序列如下图：

5'.....GGTCTC(N) ↓.....3′

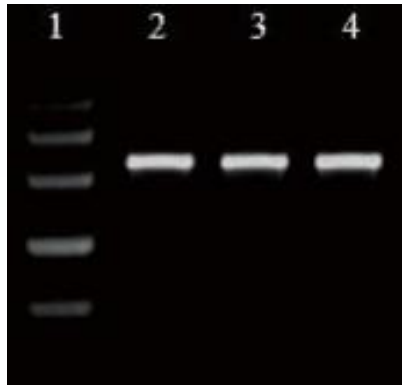
3'.....CCAGAG(NNNNN)↑..... 5′

产品优势

1. 活性高
2. 特异性强
3. 无星号活性

质量控制

- 溶液澄清透明，无可见异物
- 蛋白纯度≥95%
- 无DNase、RNase活性



1：Marker 5000　　2：Repeat 1

3：Repeat 2　　4：Repeat 3

Bsa I线性化的质粒模板转录后，条带单一，电泳显示纯度较高。

BIORI 宝锐生物

EcoR Ⅰ 货号：BP-E16

本产品EcoR I属于IIS类限制性内切酶，适用于质粒DNA、PCR产物以及基因组DNA的酶切。

其识别和切割序列如下图：

5'.....G↓AATTC .....3'

3'.....CTTAA↑G .....5'

产品优势

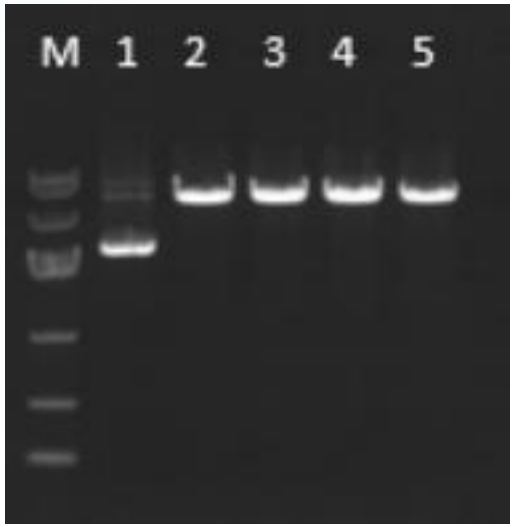
1 活性高

2 特异性强

3 无星号活性

质量控制

- 溶液澄清透明，无可见异物
- 蛋白纯度≥95%
- 无DNase、RNase活性



M：Marker 10000

1：质粒

2：20UEcoRI酶切

3：10UEcoRI酶切

4：2UEcoRI酶切

5：0.2UEcoRI酶切

EcoR I酶切活性高，低酶量下仍可完全酶切等量质粒。

BIORI 宝锐生物

体外转录的过程

制备好的线性DNA在T7 RNA 聚合酶的作用下，从T7 启动子开始，在体外利用A/U/C/G四种底物，合成mRNA链。在此过程中，根据5'端修饰的选择，按一定的比例加入Cap帽子结构，根据实验的需求，此步骤可在体外转录合成mRNA的过程中同时进行，也可以在合成好的mRNA结构上，利用牛痘病毒加帽酶将Cap0加至mRNA的5'端。随后利用甲基转移酶，以含Cap0的mRNA为底物，将甲基转移至Cap0结构上形成Cap1结构。根据载体序列相关信息，选择是否进行加poly（A)尾部结构。

2. 体外转录

2.1 取出 T7 RNA 聚合酶、RNase Inhibitor、无机焦磷酸酶立即放置在冰上；取出 ATP Solution、GTP Solution、 CTP Solution、UTP Solution 室温下解冻之后立即转移至冰上；涡旋 10×Transcription Buffer，直到完全溶解，一旦解冻，放置在室温下，并在室温条件下配制转录反应。

2.2 按下表依次加入各组分：

组分	体积
RNase-free ddH_2O	Up to 20μL
ATP Solution	2μL
CTP Solution	2μL
GTP Solution	2μL
UTP Solution	2μL
10×Transcription Buffer	2μL
RNase Inhibitor	1μL
无机焦磷酸酶	2μL
T7 RNA 聚合酶	2μL
Template	1μg

2.3 混匀

轻轻拨动试管或用移液枪将混合物上下吹打，瞬离收集反应混合物至试管底部。

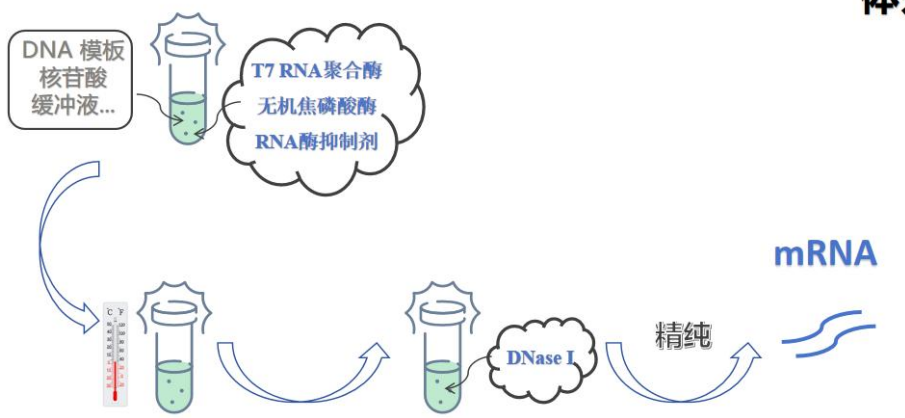
2.4 转录

使用带热盖的设备，37℃至少反应 2h，对于小片段的 RNA（≤300bp）体外转录，为了确保充足的产量，建议延长体外转录的时间至 3h。在一定范围（16h）内延长体外转录的时间，并不会对产物的质量产生影响。

2.5 消化模板 DNA

向反应体系中加入 1μL 的 DNase I 和 2μL 10×DNase I Reaction Buffer，37℃继续反应 15min，消化 DNA 模板。

体外转录示意图



T7 RNA聚合酶 货号：BP-E01

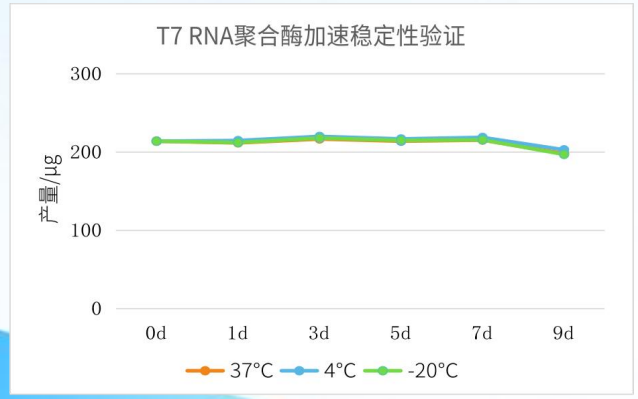
T7启动子是自然界转录效率最高的启动子，基于此，宝锐生物成功开发出针对T7启动子的T7 RNA聚合酶，采用先进的生产工艺，可确保实现批间差异和高活性的质量控制，搭配经过大量工艺优化的转录反应缓冲液，T7 RNA聚合酶能够以含有T7启动子序列的DNA序列为模板，精准高效识别T7启动子区域（5'-TAATACGACTCACTATAG-3'），从此区域的G开始，利用底物NTPs将后序的DNA序列高效、稳定地转录成单链RNA。

产品优势

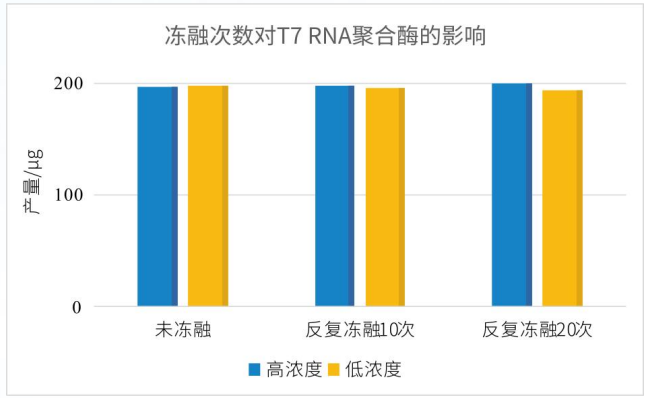
1. 纯度高
2. 活性高
3. 稳定性强
4. 模板适应性强

质量控制

- 溶液澄清透明，无可见异物
- 蛋白纯度≥95%
- 无DNase、RNase活性
- 无核酸外切酶、核酸内切酶活性



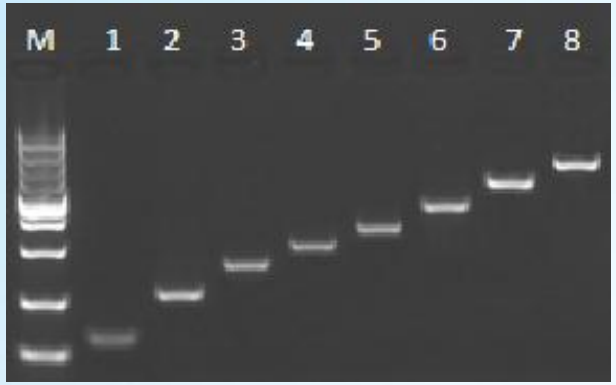
不同批次T7 RNA聚合酶37°C加速9天，产量基本保持不变，与-20°C一致



转录产量受冻融次数的影响不明显

宝锐生物T7 RNA聚合酶表现出较好的稳定性

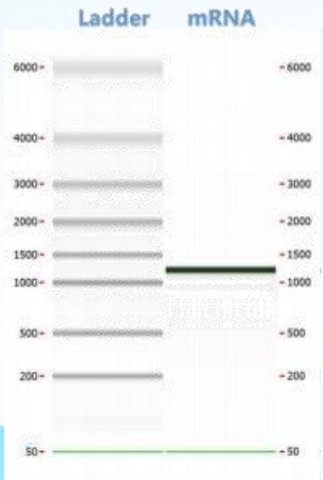
BiOri 宝锐生物

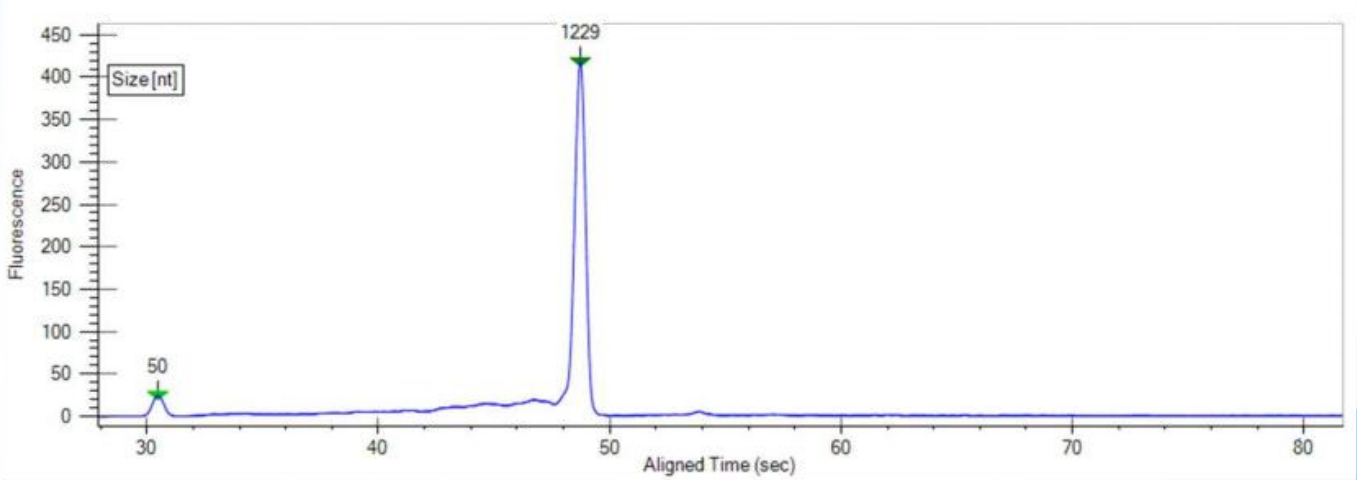


M：DNA Maker　1：200bp
2：1000bp　3：2000bp
4：3000bp　5：4000bp
6：6000bp　7：8000bp　8：10000bp

宝锐生物T7 RNA聚合酶应用于不同长度片段的转录(37℃)

宝锐生物T7 RNA聚合酶转录产物毛细管电泳检测显示高完整性、高纯度





Thermostable T7 RNA聚合酶 货号：BP-E14

Thermostable T7 RNA聚合酶经改造后具有耐热特性的 T7 RNA 聚合酶，通过精确识别T7 启动子区域（5’-TAATACGACTCACTATAG-3’），以NTP为底物，在 50-52℃条件下，合成与启动子下游的反向单链DNA互补的RNA，同时可降低dsRNA副产物的产生，此外，该产品也可在37℃条件下进行转录。

产品优势

1. 耐高温
2. 纯度高
3. 活性高
4. 稳定性强

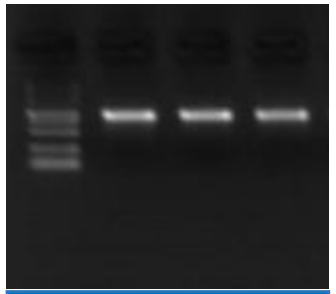
质量控制

- 溶液澄清透明，无可见异物
- 蛋白纯度≥95%
- 无DNase、RNase活性
- 无核酸外切酶、核酸内切酶活性

ATP
CTP
GTP
UTP

无机焦磷酸酶
RNase inhibitor
Thermostable T7 RNA聚合酶
50℃、1小时

→ mRNA



Thermostable T7 RNA 聚合酶转录

Thermostable T7 RNA聚合酶制备高纯度mRNA

BIORI 宝锐生物

T7 RNA聚合酶 3.0 货号：BP-E11

在 IVT 反应过程中生成的副产物 dsRNA 会强烈刺激细胞内 RNA 受体，触发天然免疫信号。宝锐生物自主研发并进行多级纯化后的T7 RNA Polymerase 3.0 针对不同模板、不同核酸类型，均具有较高的转录催化活性。相较于普通T7 RNA 聚合酶，T7 RNA Polymerase 3.0 转录生产的副产物 dsRNA含量显著降低。T7 RNA Polymerase 3.0 能够精确识别 T7 启动子区域(5'-TAATACGACTCACTATAG-3')并从此区域的G开始，将后序的 DNA 序列转录成单链 RNA，以天然核苷酸或修饰核苷酸为底物，通过短时间的体外转录孵育，在合适的反应缓冲体系下，用户能通过该酶高效地从 DNA 获得大量的RNA产物。

产品优势

1 常温

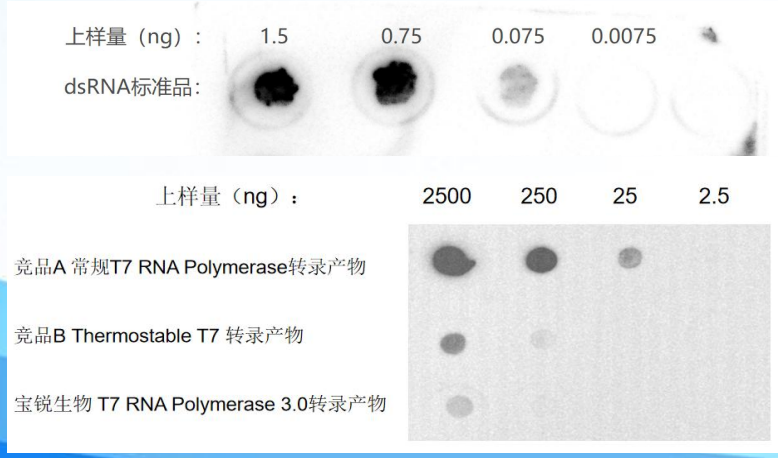
2 高产量

3 低dsRNA

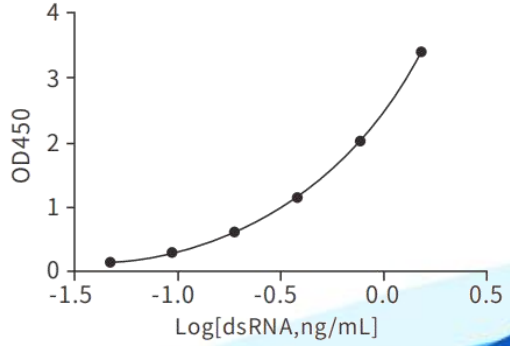
质量控制

- 溶液澄清透明，无可见异物
- 蛋白纯度≥95%
- 无DNase、RNase活性
- 无核酸外切酶、核酸内切酶活性

宝锐T7 RNA 聚合酶 3.0能有效降低dsRNA的产生，在等量转录产物中检测到的副产物dsRNA含量远少于常规T7与耐高温T7竞品组。



dsRNA浓度 ng/mL	复孔-1	复孔-2
1.5 ng/mL	3.579	3.371
0.75 ng/mL	2.128	2.058
0.375 ng/mL	1.286	1.171
0.1875 ng/mL	0.686	0.672
0.09375 ng/mL	0.395	0.358
0.046875 ng/mL	0.222	0.218
0	0.056	0.051

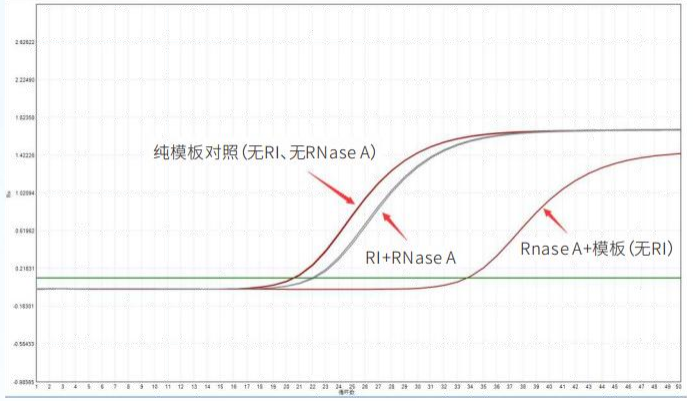


名称	反应温度	用量(μL)	产量（μg）	dsRNA
竞品T7 RNA聚合酶	37℃	2	185	>10μg/mg
T7 RNA聚合酶3.0	37℃	2	183	<1μg/mg

BIORI 宝锐生物

RNase Inhibitor 货号：BP-E02

RNase Inhibitor是通过重组表达，高度精制纯化获得的重组 RNA 酶抑制剂，能够以 1:1 形式通过非共价键高亲和力结合 RNA 酶，从而抑制RNase A、RNase B、RNase C的活性，但是不影响 RNase H、S1 Nuclease 活性。本品对 Phage RNA Polymerases (SP6, T7, or T3）、Taq、AMV、MMLV 等无抑制作用，且具有更强的抗氧化能力，能够在较低浓度 DTT 条件下保持稳定，适用于 mRNA 体外转录过程中排除 RNA 酶污染。



用RNA做模板，qPCR验证 RNase Inhibitor对 RNA模板的保护作用

- 纯模板对照组：（无RI，无RNase A）
  RNaseA对照组：（无RI，含RNase A）
  实验组：（含RI，含RNase A）

经qPCR验证，RNase Inhibitor能有效保护RNA，阻止RNase A降解RNA模板

质量控制

■ 溶液澄清透明，无可见异物 ■ 蛋白纯度≥95% ■ 无DNase、RNase活性 ■ 无核酸外切酶、核酸内切酶活性

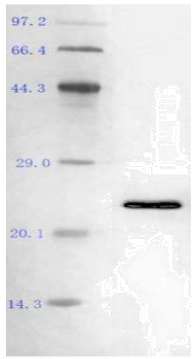
无机焦磷酸酶 货号：BP-E03

本产品是 E.coli 重组表达纯化得到的无机焦磷酸酶，可催化无机焦磷酸盐水解生成正磷酸盐。在体外转录过程中，无机焦磷酸酶可水解随着反应生成的无机焦磷酸盐，避免其对反应体系的抑制，使反应平衡向产物生成方向平移，在分子生物学中应用于体外转录反应，可显著提高 RNA 产量。

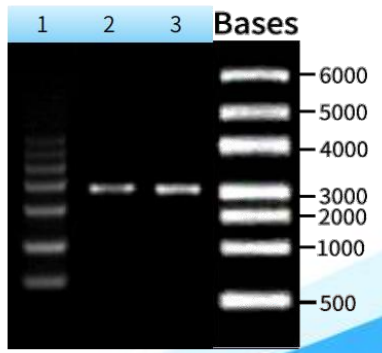
质量控制

■ 溶液澄清透明，无可见异物 ■ 蛋白纯度≥95%
■ 无DNase、RNase活性 ■ 无核酸外切酶、核酸内切酶活性

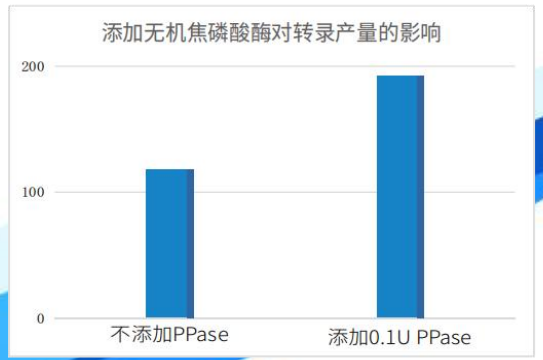
SDS-PAGE验证 产物验证



- PPase经SDS-PAGE验证，纯度≥95%,产品纯度良好



1:RNA ladder
2:T7转录+无PPase
3:T7转录+0.1U PPase



- 0.1U宝锐生物自产的PPase能大幅提升转录产量

BiOri 宝 锐 生 物

DNase I　货号：BP-E04

DNase I（Deoxyribonuclease I），即脱氧核糖核酸酶I，该酶可高效地消化单链或双链 DNA 片段。DNase I的活性非常依赖于 Ca^{2+}水平，并能被Mg^{2+}或 Mn^{2+}激活。在 Mg^{2+}存在条件下，DNase I可从任意位点对 DNA 片段进行随机剪切；在Mn^{2+}存在条件下，DNase I 可在双链 DNA 的大约相同位点进行剪切，形成平末端 DNA 片段，或是包含 1-2 个核苷酸突出的粘末端。当工作pH范围在7-8时，DNase I具有最佳的核酸内切酶活性，可应用于在各种RNA样品中去除单链或双链DNA片段。

产品优势

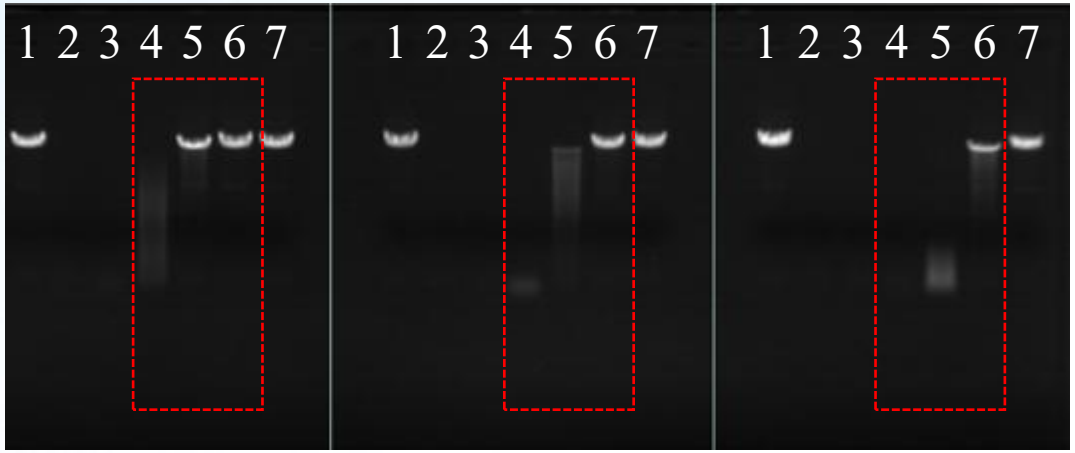
1 纯度高

2 稳定性强

3 活性高

质量控制

- 溶液澄清透明，无可见异物
- 蛋白纯度≥95%
- 无RNase活性



1：国外竞品DNase I消化（0U）
2：国外竞品DNase I消化（10^{-1}U）
3：国外竞品DNase I消化（10^{-2}U）
4：国外竞品DNase I消化（10^{-3}U）
5：国外竞品DNase I消化（10^{-4}U）
6：国外竞品DNase I消化（10^{-5}U）
7：国外竞品DNase I消化（10^{-6}U）

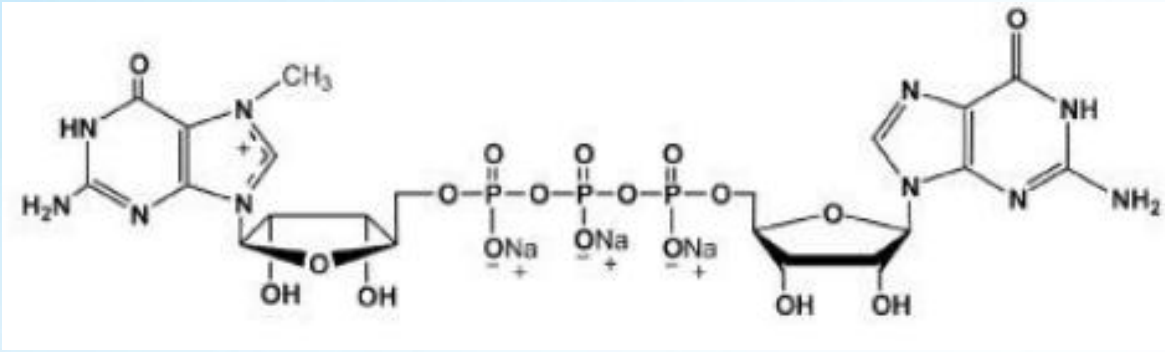
1：国内竞品DNase I消化（0U）
2：国内竞品DNase I消化（10^{-1}U）
3：国内竞品DNase I消化（10^{-2}U）
4：国内竞品DNase I消化（10^{-3}U）
5：国内竞品DNase I消化（10^{-4}U）
6：国内竞品DNase I消化（10^{-5}U）
7：国内竞品DNase I消化（10^{-6}U）

1：宝锐DNase I消化（0U）
2：宝锐DNase I消化（10^{-1}U）
3：宝锐DNase I消化（10^{-2}U）
4：宝锐DNase I消化（10^{-3}U）
5：宝锐DNase I消化（10^{-4}U）
6：宝锐DNase I消化（10^{-5}U）
7：宝锐DNase I消化（10^{-6}U）

消化等量（1μg)的线性化模板宝锐DNase I投料与竞品呈数量级差异

BiOri 宝锐生物

体外转录-加帽的选择



方案一、转录，加帽同步进行：

m7G(5')ppp(5)G 用于体外转录反应中5’帽RNA分子的合成。

弊端：

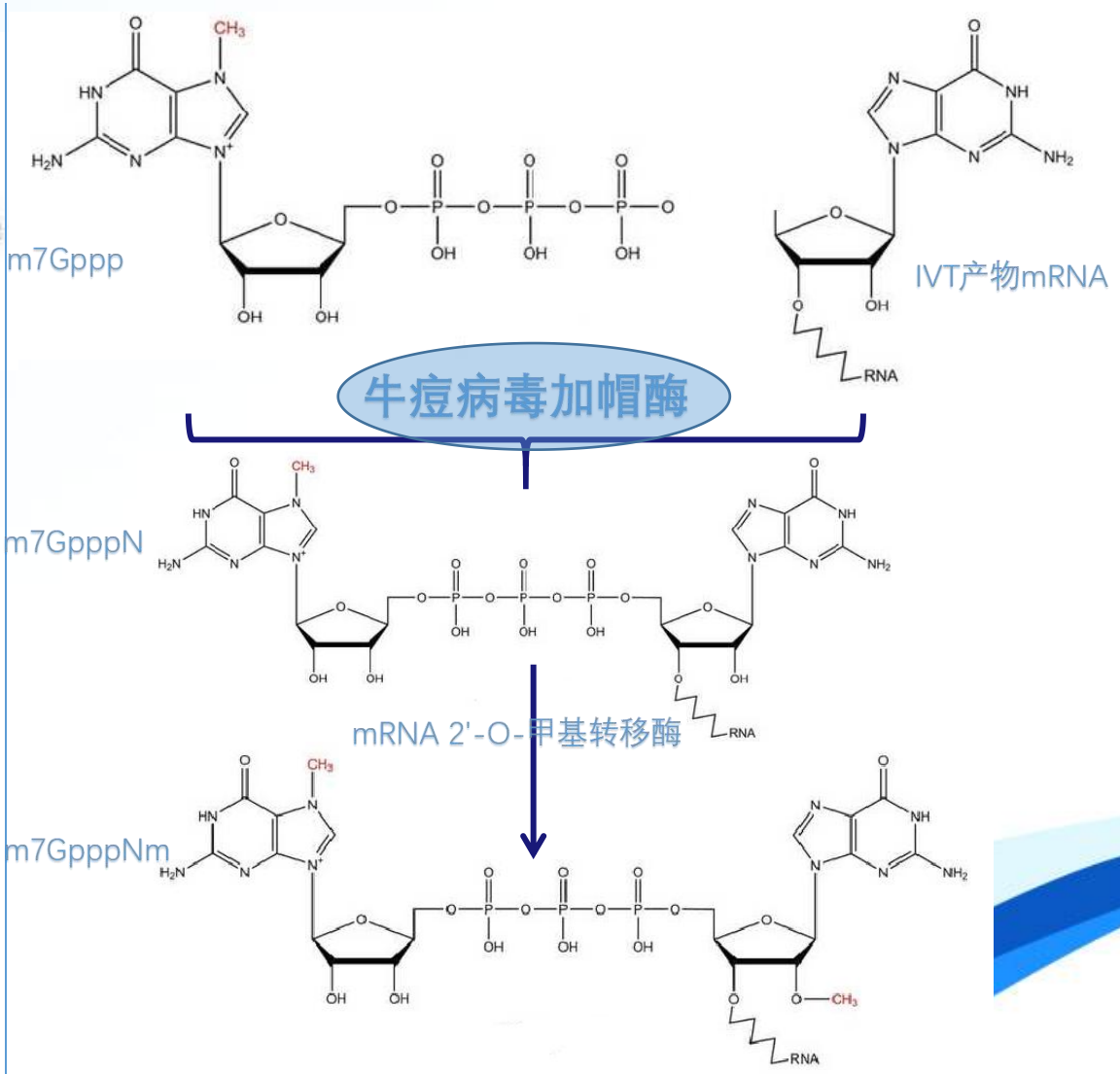
1、体外转录反应中含有高水平的cap模拟物会显著降低转录产物的产量。

2、非结合cap类似物是蛋白质合成起始的有效抑制剂。

实验优化：

帽状mRNA分子的比例　　转录产量

Cap模拟:GTP比率：4:1



方案二、转录，Cap0，Cap1分步进行

BiOri 宝 锐 生 物

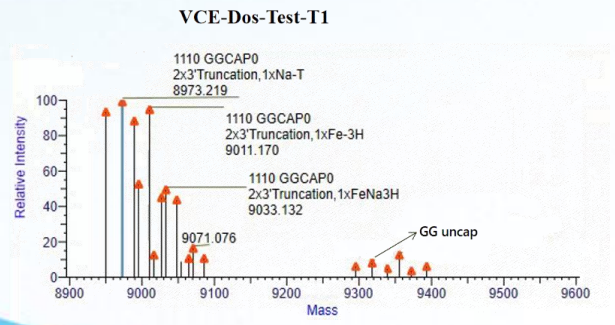
牛痘病毒加帽酶 货号：BP-E05

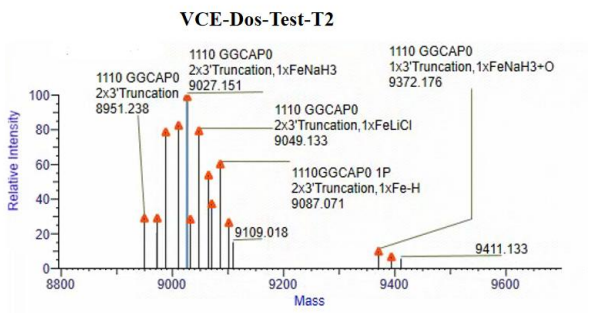
在真核生物中转录后修饰形成的成熟 mRNA的 5'端都有一个特殊结构，即 m7GPPPN 结构，又称为甲基鸟苷帽子。帽子结构作为 mRNA 翻译起始的必要结构不仅可以保护 mRNA不被 RNase切割，延长半衰期，还能提高 mRNA 在翻译、剪接以及从细胞核导出等环节中的稳定性。宝锐生物自主研发的牛痘病毒加帽酶(Vaccinia Capping Enzyme,VCE)整合了mRNA三磷酸酯酶、鸟苷酰基转移酶和鸟嘌呤甲基转移酶等加帽酶必要活性，在 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)作为甲基供体和鸟苷三磷酸(GTP)存在的情况下，它可以直接高效地将 m7G 帽结构按照正确的方向加到 mRNA 的 5'端，生产带有 Cap0 帽结构的RNA，单次反应最高可实现100%的加帽率。搭配宝锐生物的二氧甲基转移酶(2'-O-Methyltransferase，2OM)(BP-E06)可获得带有 Cap1 帽结构的 RNA。

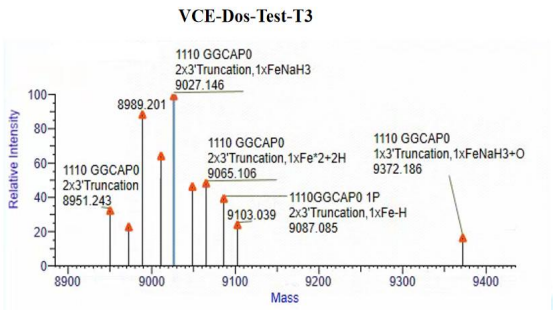
质量控制

- 溶液澄清透明，无可见异物
- 蛋白纯度≥95%
- 无DNase、RNase活性
- 无核酸外切酶、核酸内切酶活性

通过投料调整，利用牛痘病毒加帽酶可实现100%加帽





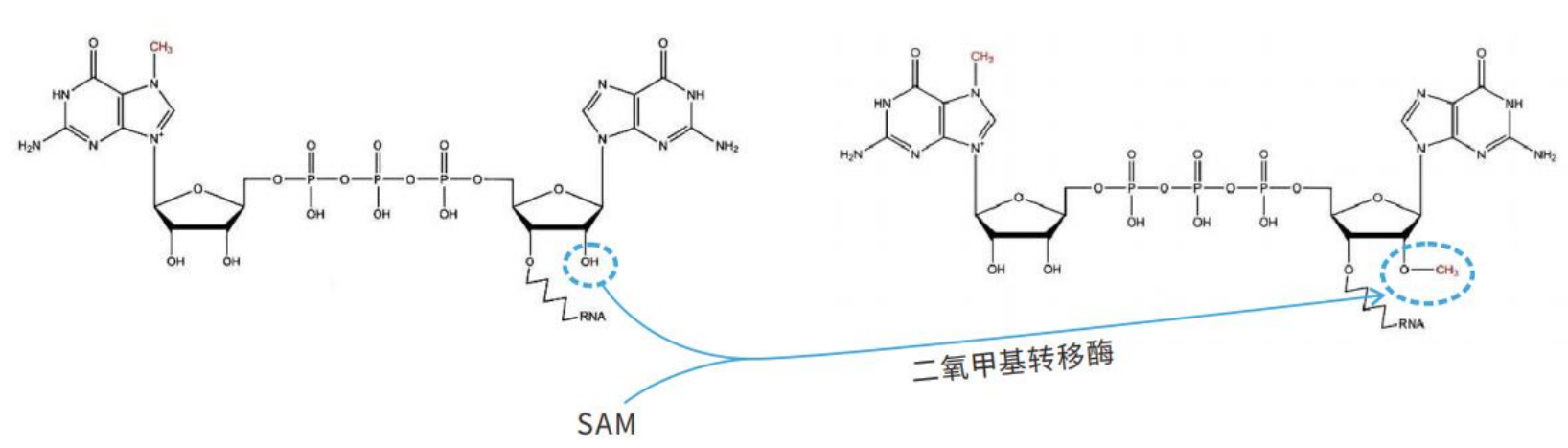


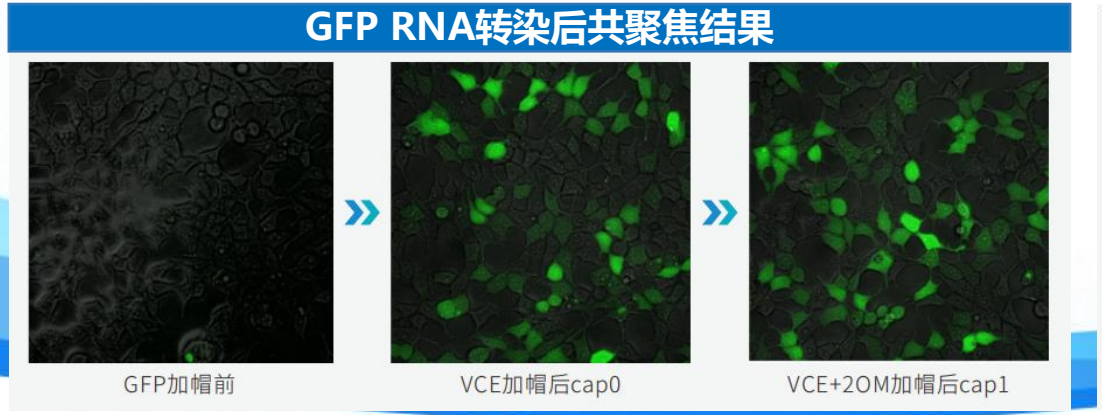
二氧甲基转移酶 货号：BP-E06

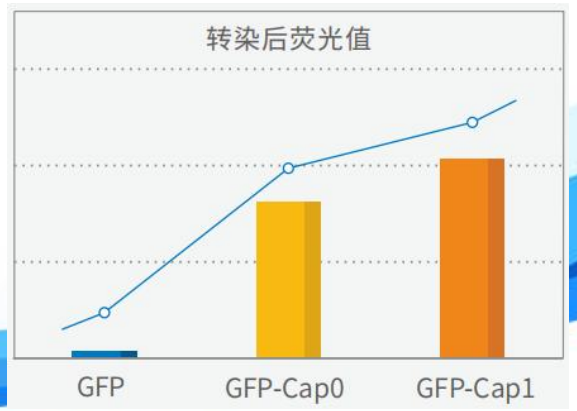
二氧甲基转移酶(2'-O-Methyltransferase,2OM)为重组E.coli表达的牛痘病毒DNA编码的一种甲基转移酶，是一款将Cap0帽结构进一步转变成Cap1帽结构的甲基转移酶。该酶利用S-腺苷甲硫氨酸(S-Adenosylmethionine,SAM)为甲基供体，在RNA 5'端紧邻帽结构(Cap0)的第一个核苷酸的2'-0位点添加甲基基团，形成带有Cap1结构的mRNA。能进一步降低mRNA自身的免疫原性，提高其转染后编码蛋白的表达水平。

质量控制

- 溶液澄清透明，无可见异物
- 蛋白纯度≥95%
- 无DNase、RNase活性
- 无核酸外切酶、核酸内切酶活性







核苷酸类产品

宝锐生物提供高纯度的四种NTP和修饰核苷酸，不含DNase和RNase污染。配套宝锐生物T7酶等转录原料可制备高纯度，高产量的RNA。

产品优势

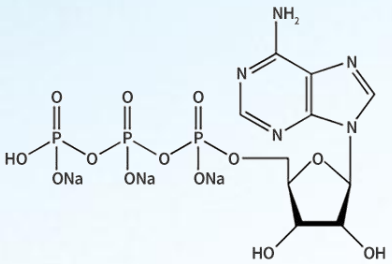
1 纯度高

2 稳定性强

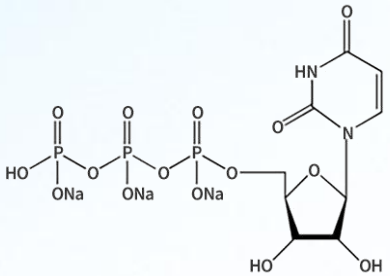
3 转录产量高

质量控制

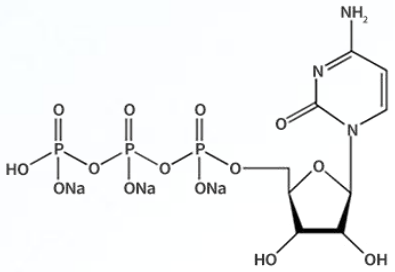
- 纯度>99.5%
- 内毒素≤2EU/mL
- 无RNase、DNase污染



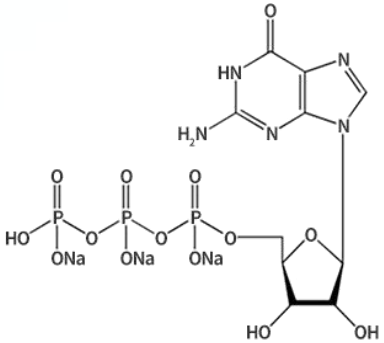
ATP Solution
货号：BP-AS-01



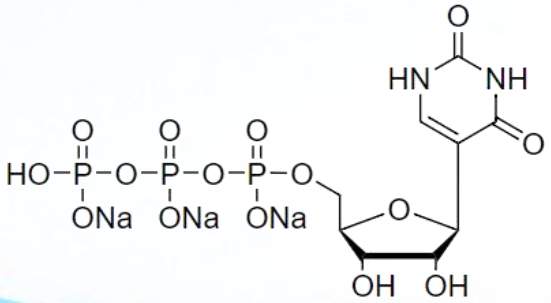
UTP Solution
货号：BP-AS-04



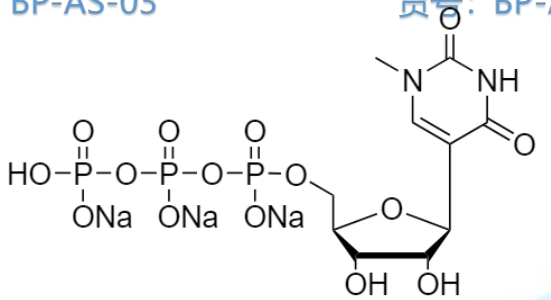
CTP Solution
货号：BP-AS-03



GTP Solution
货号：BP-AS-02



pUTP Solution
货号：BP-AS-05



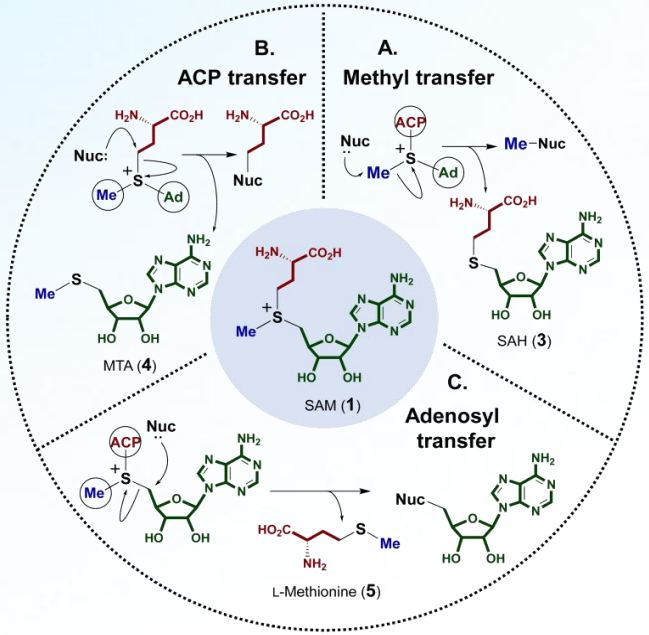
N1-Me-pUTP Solution
货号：BP-AS-06

SAM（S-腺苷甲硫氨酸） 货号：BP-AS-06

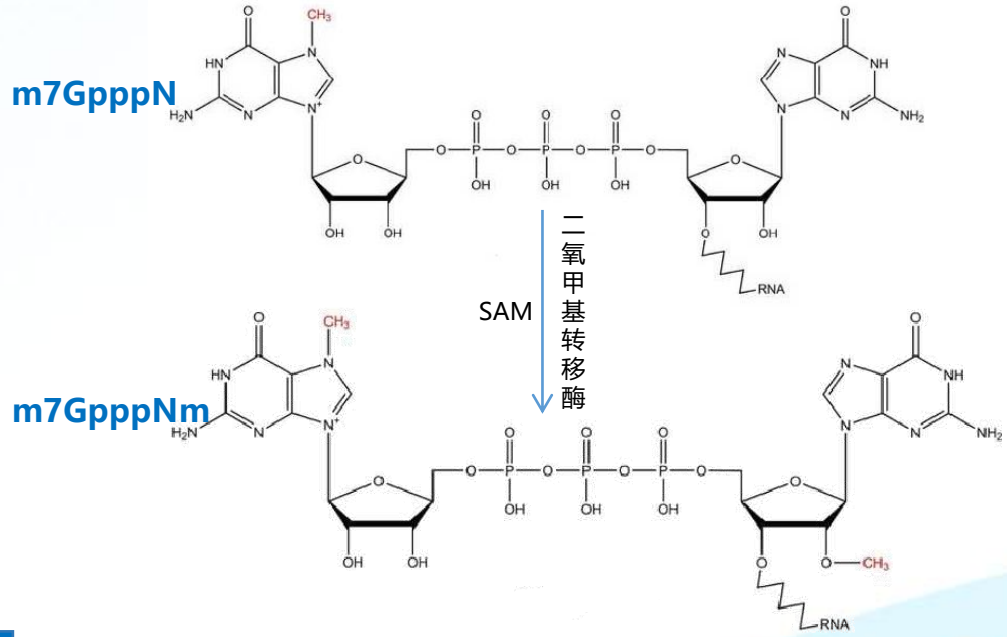
S-腺苷基甲硫氨酸是一种化学物质。是细胞正常功能和存活的重要物质。作为Me供体在无数生物和生物化学事件中发挥着关键作用。SAM被三个关键的代谢途径所利用：转甲基化、转硫化和多胺合成。在转甲基化反应中，SAM的Me基团被赋予多种受体底物，包括DNA、磷脂和蛋白质。在mRNA的体外合成中，SAM以具有Cap0结构的mRNA为底物，在二氧甲基转移酶的作用下，将甲基转移至mRNA序列的一号位核苷酸五碳糖上形成具有Cap1帽子结构的mRNA。

质量控制

- 纯度>90%
- 内毒素≤2EU/mL
- 无RNase、DNase污染



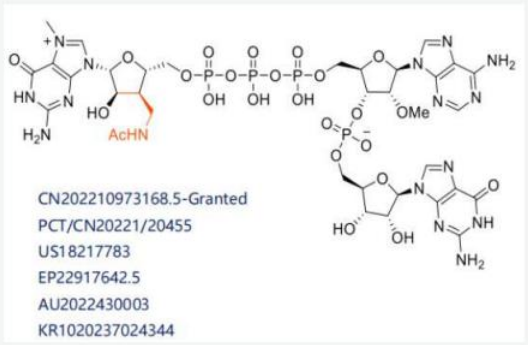
亲核试剂进攻SAM硫鎓部分的不同碳，导致不同位置的C-S键断裂，形成不同基团转移。

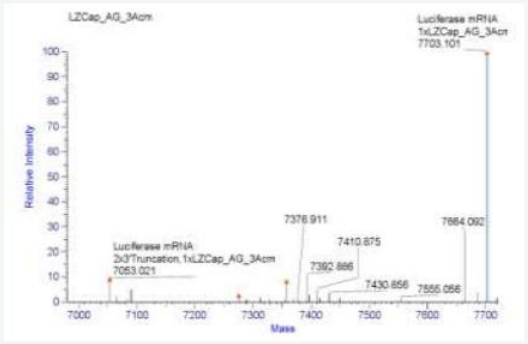


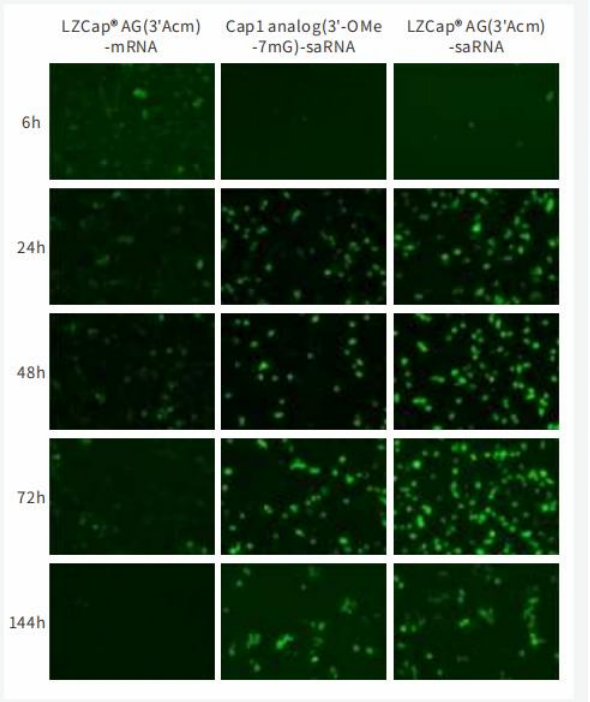
SAM在Cap0到Cap1形成的过程中提供甲基

LZCap® AG(3'Acm)帽类似物

宝锐生物提供高纯度的共转录加帽帽类似物，适用于mRNA和saRNA的生产，能够产生高加帽率的样品，细胞和动物测试都表明该帽类似物能产生较高的蛋白表达。







Product	Market Cap1 Analog	LZCap®AG(3'Acm)	AG(no capping)
mRNA yield(μg)	164	173	200

Modification	Monoisotopic Mass	Theoretical Mass(Da)	Fractional Abundance	capping efficiency
1×LZCap_AG_3Acm	7703.101	7703.09	33.04	97.59%
2×3' Truncation, 1×LZCap_AG_3Acm	7053.021	7053.001	3.08	
1×3' Truncation, 1×LZCap_AG_3Acm	7358.052	7358.043	2.76	
1×Diphos	7274.966	7274.97	0.96	

RNase R 货号：BP-E08

Rnase R(Ribonuclease R)是一种来源于大肠杆菌 RNR 超家族且依赖 Mg^{2+}的核糖核酸外切酶，从 3'→5'方向将线性RNA完全水解成二核苷酸和三核苷酸。对环状 RNA 及双链 RNA 不敏感，可用于特殊结构 RNA 的生产，如环状RNA(circRNA)、套索结构 RNA(lariat RNA)、3'突出末端少于7个核苷酸的双链 RNA 以及具有复杂结构的 tRNA等。RNase R常用于基因表达和可变剪切研究，可消化线性 RNA 使 circ RNA 或 lariat RNA 得到富集。

产品优势

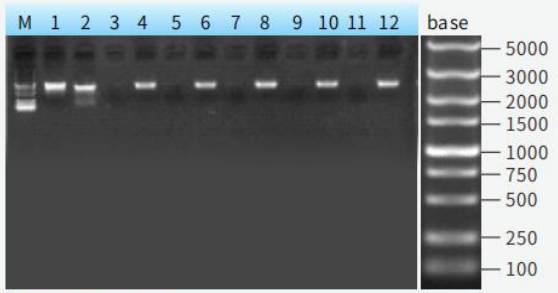
1 活性高

2 特异性强

3 稳定性强

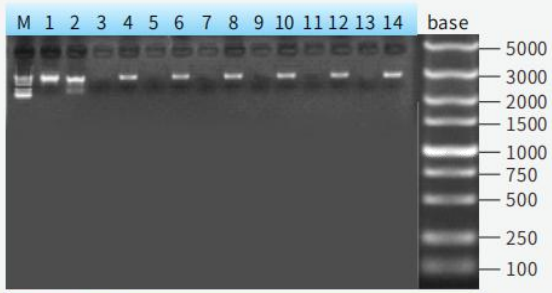
质量控制

- 溶液澄清透明，无可见异物
- 蛋白纯度≥95%
- 无DNase、RNase活性
- 无核酸外切酶、核酸内切酶活性



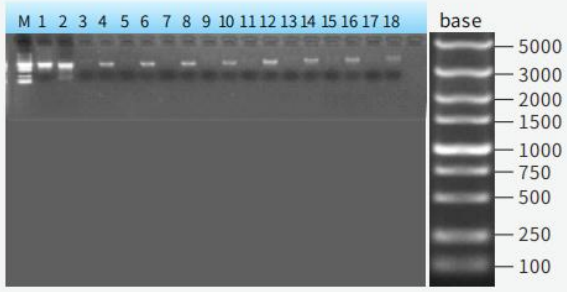
M:DL5000 marker
1:circRNA转录产物
2:circRNA成环产物
3:circRNA转录产物+宝锐 RR(未加速)
4:circRNA成环产物+宝锐 RR(未加速)
5:circRNA转录产物+宝锐RR(37°C加速1Day)
6:circRNA成环产物+宝锐RR(37°C加速1Day)
7:circRNA转录产物+宝锐RR(37°C加速3Day)
8:circRNA成环产物+宝锐RR(37°C加速3Day)
9:circRNA转录产物+宝锐RR(37°C加速5Day)
10:circRNA成环产物+宝锐RR(37°C加速5Day)
11:circRNA转录产物+宝锐RR(37°C加速7Day)
12:circRNA成环产物+宝锐RR(37°C加速7Day)

• 宝锐RNase R 37°C储存稳定性验证



M:DL5000 marker
1:circ RNA转录产物
2:circ RNA成环产物
3:circ RNA转录产物+宝锐1U RR (Lot 1)
4:circ RNA成环产物+宝锐1U RR (Lot 1)
5:circ RNA转录产物+宝锐1U RR (Lot 2)
6:circ RNA成环产物+宝锐1U RR (Lot 2)
7:circ RNA转录产物+宝锐1U RR (Lot 3)
8:circ RNA成环产物+宝锐1U RR (Lot 3)
9:circ RNA转录产物+宝锐1U RR (Lot 4)
10:circ RNA成环产物+宝锐1U RR (Lot 4)
11:circ RNA转录产物+宝锐1U RR (Lot 5)
12:circ RNA成环产物+宝锐1U RR (Lot 5)
13:circ RNA转录产物+宝锐1U RR (Lot 6)
14:circ RNA成环产物+宝锐1U RR (Lot 6)

• 宝锐不同批次RNase R 酶切验证



• 宝锐与竞品RR特异性对比

M:DL5000 marker
1:circ RNA转录产物
2:circ RNA成环产物
3:circ RNA转录产物+宝锐4U RR
4:circ RNA成环产物+宝锐4U RR
5:circ RNA转录产物+宝锐6U RR
6:circ RNA成环产物+宝锐6U RR
7:circ RNA转录产物+宝锐8U RR
8:circ RNA成环产物+宝锐8U RR
9:circ RNA转录产物+宝锐10U RR
10:circ RNA成环产物+宝锐10U RR
11:circ RNA转录产物+竞品K 4U RR
12:circ RNA成环产物+竞品K 4U RR
13:circ RNA转录产物+竞品K 6U RR
14:circ RNA成环产物+竞品K 6U RR
15:circ RNA转录产物+竞品K 8U RR
16:circ RNA成环产物+竞品K 8U RR
17:circ RNA转录产物+竞品K 10U RR
18:circ RNA成环产物+竞品K 10U RR

BiOri 宝锐生物

RNase系列产品

RNA酶（RNase）是一种能够催化RNA分子降解的酶，广泛存在于生物体内，尤其在真核生物的细胞质中发挥着重要作用。RNA酶可以根据其作用方式和催化机理进行分类，不同的RNA酶在生物体内具有各自独特的角色和用途。

产品优势

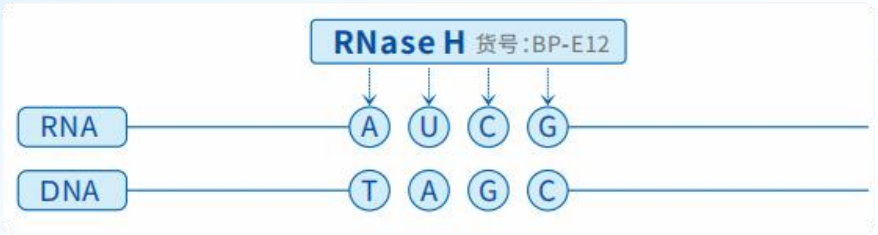
1 活性高

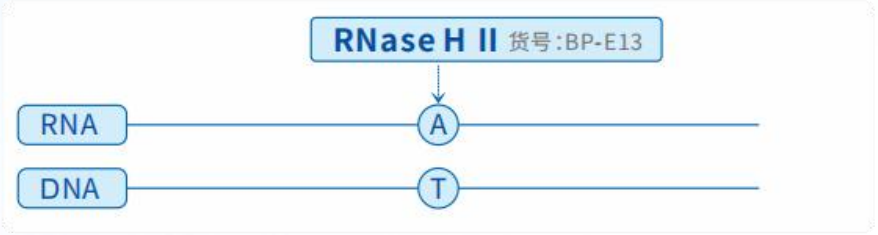
2 特异性强

3 稳定性强

质量控制

- 溶液澄清透明，无可见异物
- 蛋白纯度≥95%
- 无DNase、RNase活性
- 无核酸外切酶、核酸内切酶活性







- RNase H和RNase H II都是核糖核酸内切酶，可特异性地水解DNA/RNA杂交链上的RNA的磷酸二酯键，但不会水解单链和双链DNA或RNA中的磷酸二酯键。其中，RNase H必须要有4个以上的杂合子位点供识别，且无特异性；RNase HII可识别1个杂合子位点。
- RNaseA是一种嘧啶特异性的核酸内切酶，可断裂RNA上的胞嘧啶或尿嘧啶核苷与相邻核苷酸之间的5'磷酸二酯键，形成2',3'-环磷酸衍生物，并进一步水解成3'C或3'U寡聚核苷酸（例如，pG-pG-pC-pA-pG将切割为pG-pG-pCp和A-pG）。该酶仅作用于RNA，对DNA不起作用。

BiOri 宝锐生物

T7 高效转录试剂盒 货号：BP-01-50

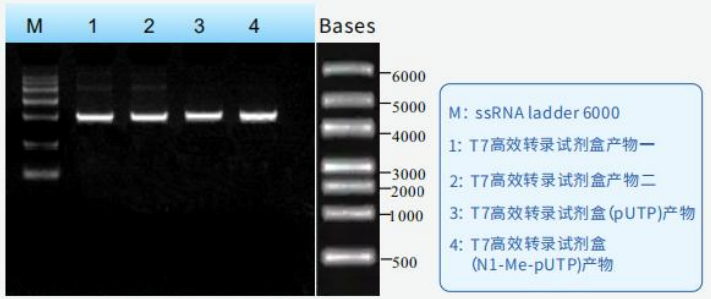
依托于完善的mRNA合成酶原料系列产品，宝锐生物开发了针对不同模板、不同核苷酸类型优化后的T7高效转录试剂盒（货号:BP-01-50）。客户使用该试剂盒，通过短时间的体外转录，能够一次性得到大量RNA，1μg的模板投入量可获得200μg以上的产物。此外，在反应底物中添加Cap 0或者Cap 1等帽结构或帽结构类似物，也可通过该试剂盒转录产生具有帽子结构的mRNA。

产品优势

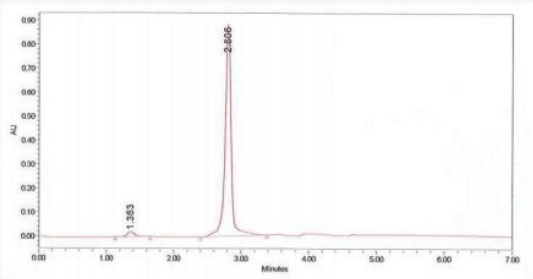
1. 方便快捷，单组分预留优化空间
2. 转录产量高
3. dsRNA残留量低
4. 转录产物纯度高

质量控制

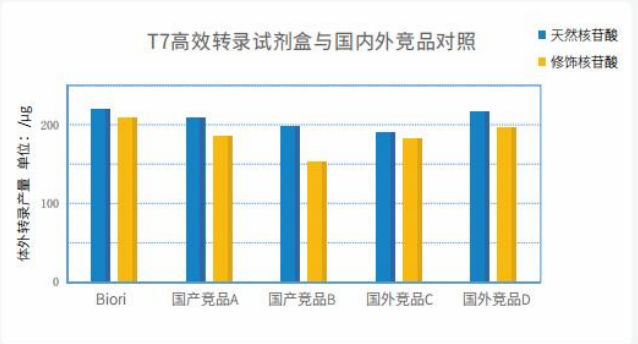
- 溶液澄清透明，无可见异物
- 蛋白纯度≥95%
- 无DNase、RNase活性
- 无核酸外切酶、核酸内切酶活性



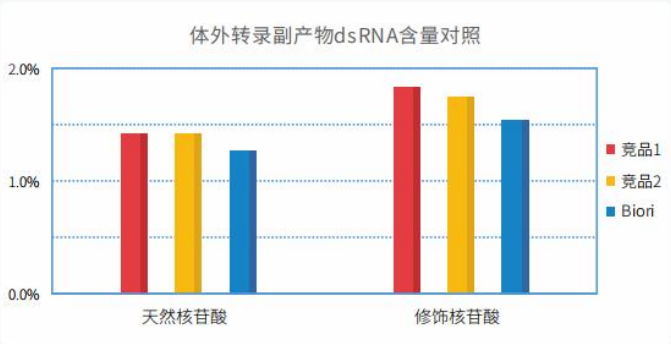
● T7高效转录试剂盒转录产物电泳显示条带单一，纯度高



● T7高效转录试剂盒转录产物HPLC显示纯度＞98.5%，纯度较高



● T7高效转录试剂盒转录产量与竞品相比有一定的优势



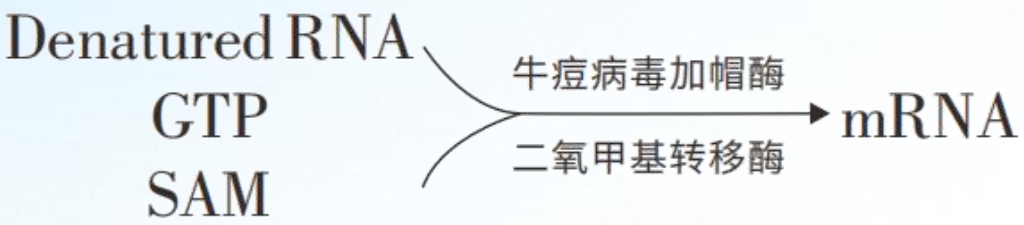
● T7高效转录试剂盒转录副产物dsRNA产量低于竞品

BiOri 宝锐生物

mRNA加帽试剂盒 货号：BP-04-50

宝锐生物自主研发的 mRNA 加帽试剂盒，内部含有牛痘病毒加帽酶Vaccinia Capping Enzyme(VCE)和二氧甲基转移酶2'-O-Methyltransferase(2OM)。Vaccinia Capping Enzyme 能高效地对 mRNA 的 5'端添加 m7G 帽子，即生产 Cap0 帽结构的 RNA。2'-O-Methyltransferase 对 Cap0 帽结构的 RNA，在帽结构后第一个核苷酸的2'-O 位置处增加一个甲基，形成 Cap1 帽结构的 RNA。

本试剂盒可在一管反应中同时进行 VCE 和 2OM 加帽，直接获得 Cap1 帽结构RNA，能极大提高 mRNA 在细胞内的稳定性,促进翻译效率。。



组分	体积
牛痘病毒加帽酶	1μL
二氧甲基转移酶	1μL
变性RNA	50pmol
SAM(4mM)	1μL
GTP(10mM)	1μL
RNase inhibitor	0.5μL
10×反应缓冲液	2μL
无核酸酶水	补至20μL

BiOri 宝锐生物

CircRNA合成试剂盒 货号：BP-13-50

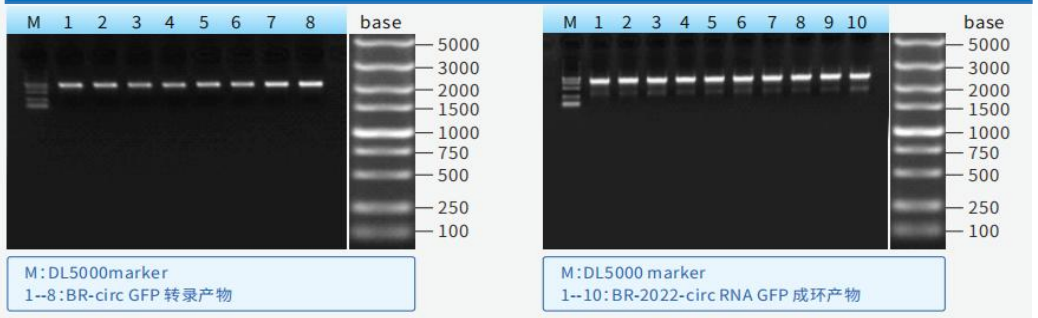
环状 RNA (Circular RNA，circRNA)是一种通过典型的5'-3'磷酸二酯键形成的环形结构的 RNA 分子。相比于线性RNA,circRNA 不包含 5'端帽结构和 3'端 poly(A)，缺乏游离末端，不易被核酸外切酶降解，比线性 RNA 更稳定。目前常用体外转录制备环状 RNA 的方法主要是通过先体外生成线性 RNA，然后通过酶法连接环化、内含子自剪切核酶切割连接环化。宝锐生物开发出一种操作简单制备环状 RNA 的试剂盒，环状 RNA 制备试剂盒进行环化的原理是，在 GTP 和 Mg^{2+}存在的条件下，环状 RNA 前体分子能通过双酯交换反应实现自动环化，本试剂盒操作仅需一步孵育即可完成，因此环化产物不需要进行纯化,可直接用于后续实验。本试剂盒提供的环化反应体系可以按照比例放大反应体系，对环状 RNA 产物的得率无显著影响。

产品优势

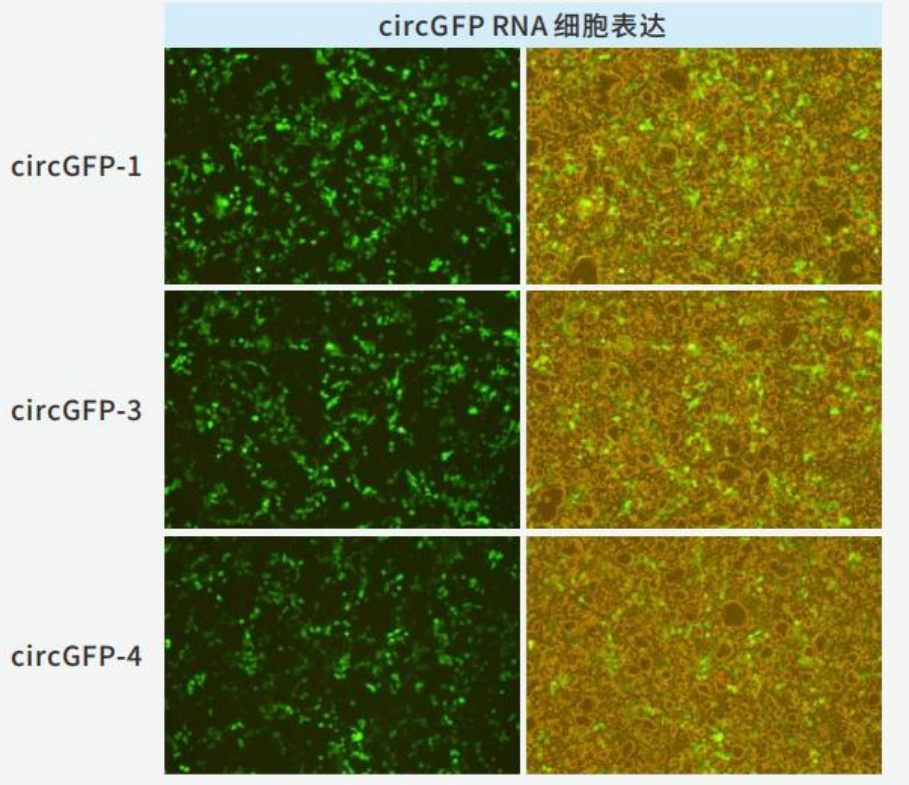
1 方便快捷

2 模板适应性好

宝锐CircRNA合成试剂盒从转录到环化直至鉴定“一气呵成”



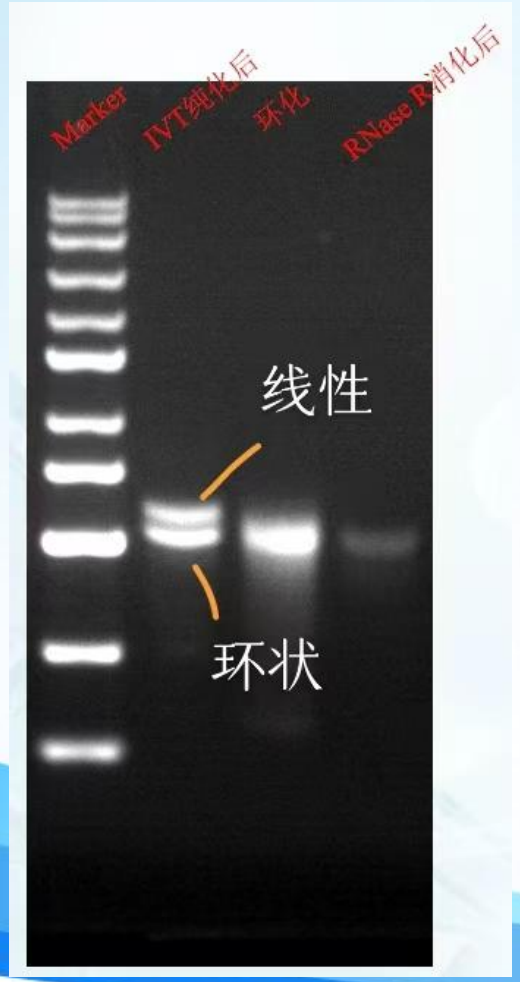
宝锐CircRNA合成试剂盒产物表达验证



BiOri 宝锐生物

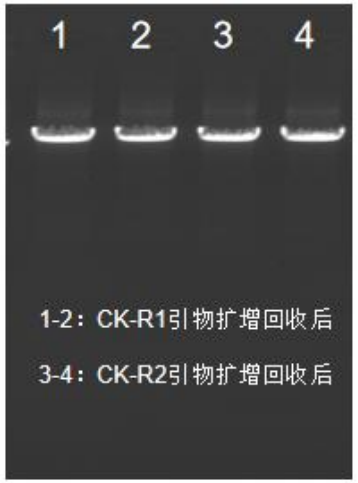
CircRNA合成试剂盒 货号：BP-13-50

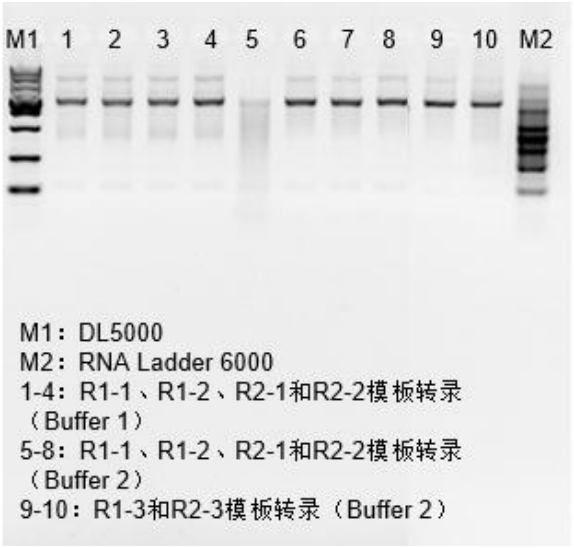
客户反馈：通过试剂盒制备的线性前体RNA经过成环反应后大部分完全环化，经RNase R富集纯化后获得环状RNA。



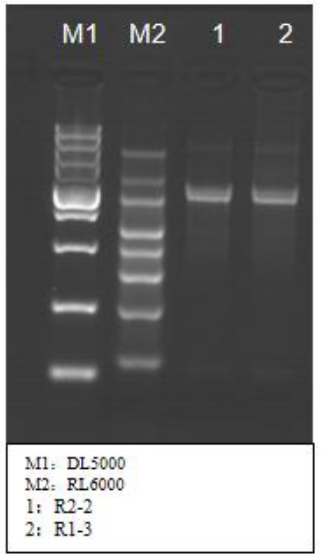
客户案例

背景：设计引物扩增制备的PCR产物作为模板，转录产物多杂带。

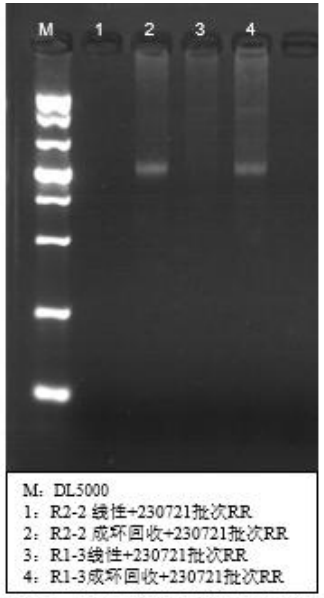




优化结果：调整扩增体系筛选得到较好的PCR产物模板，转录、成环及消化后制备的环状RNA纯度良好。



240704：CK PCR模板转录回收产物电泳验证（1%TAE YeaRed核酸染料 20min）

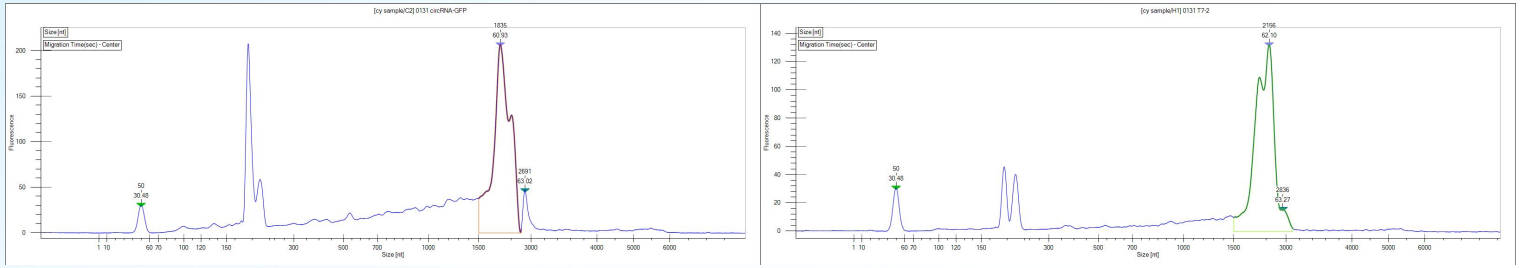


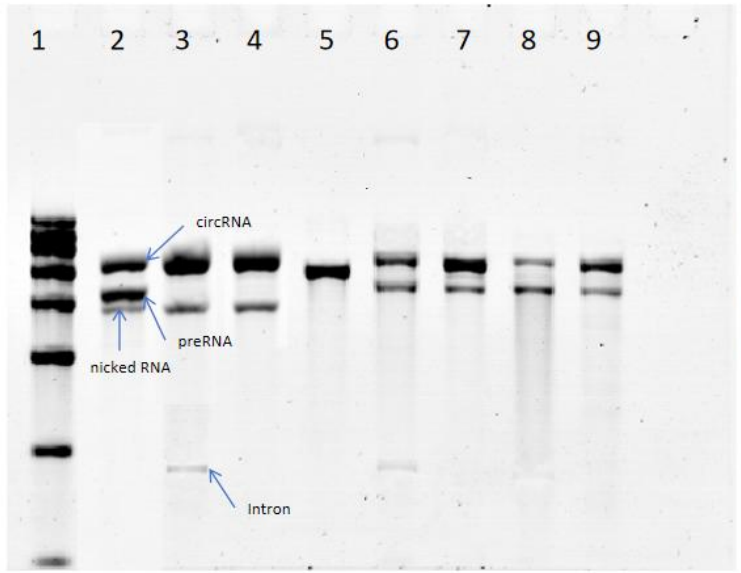
240705：RNA成环回收消化的电泳验证（2%TAE YeaRed核酸染料 30min）

CircRNA合成试剂盒（一步法） 货号：BP-17-20

PIE系统的circRNA合成需要进行两步反应，先转录线性前体，随后进行成环反应，中间需要经历多次纯化回收，工艺相对复杂。

宝锐生物开发的circRNA合成试剂盒（一步法）使用热稳定的T7 RNA聚合酶，搭配转录体系的各种离子和GTP，将体外转录与成环两步合并在一步中进行，可在转录进行的同时将大部分线性RNA环化成环状RNA，经过消化后回收即可得到纯度大于95%的circRNA。毛细管电泳检测发现，一步法合成的circRNA其纯度与先转录后成环的circRNA一致。

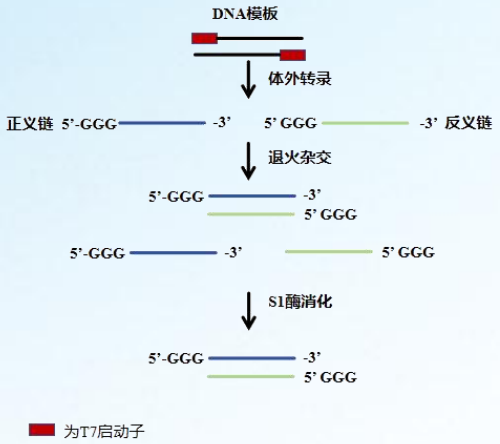




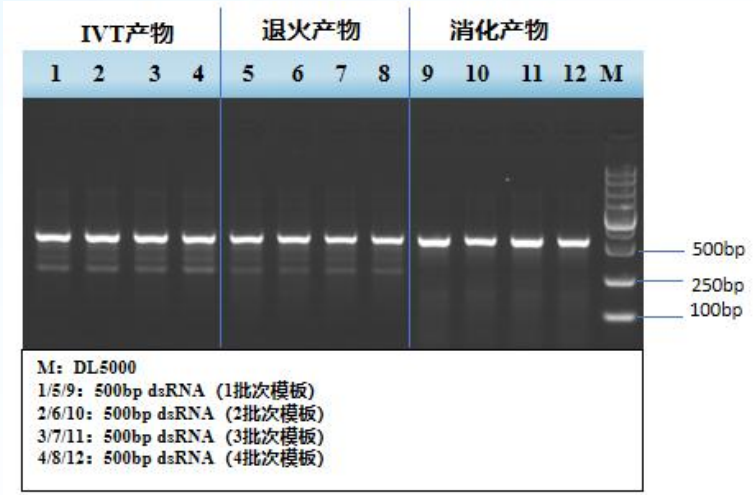
1：RNA Marker
2：普通转录体系生产preRNA（存在边转录边成环现象）
3：preRNA经过成环反应（杂质为nicked RNA、Intron）
4：消化回收circRNA（杂质为nicked RNA）
5：宝锐开发的特殊体系生产preRNA（只转录，不成环）
6：特殊体系生产的preRNA经过成环反应（杂质为nicked RNA、Intron）
7：特殊体系消化回收的circRNA（杂质为nicked RNA）
8：一步法成环反应（杂质为nicked RNA、Intron）
9：一步法消化成环反应消化回收（杂质为nicked RNA）

dsRNA合成试剂盒 货号：BP-21-50

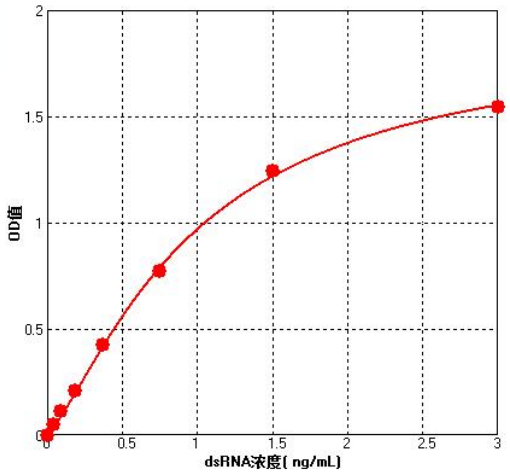
本试剂盒利用了T7 RNA 聚合酶可以识别带有T7启动子的双链DNA模板，可以对T7启动子下游的DNA序列进行转录，高效合成单链RNA，体外转录反应后退火可以合成dsRNA，再经过酶消化去除多余微量杂质（如单链的RNA）。一般情况下，使用本试剂盒进行单个反应可以合成15-60μg的dsRNA，纯度可达到85%以上。



操作简便：通过转录后退火合成dsRNA纯度就可已达到85%以上，再经酶消化单链后纯度可达90%以上。



成本低：直接使用氯化锂沉淀回收，不需要特定磁珠进行纯化回收。



纯度高：利用此试剂盒制备的dsRNA可作为其标准品，可应用于RNA中dsRNA残留检测试剂盒中。（四参数拟合，R2=0.99）

BiOri 宝锐生物

体外转录-RNA的回收

IVT混合物组分：

各种酶，**A/U/C/G**底物，帽子结构底物，**RNA**片段，**DNA**模板，目的基因片段。

产物纯化方法：

1、酚/氯仿纯化法

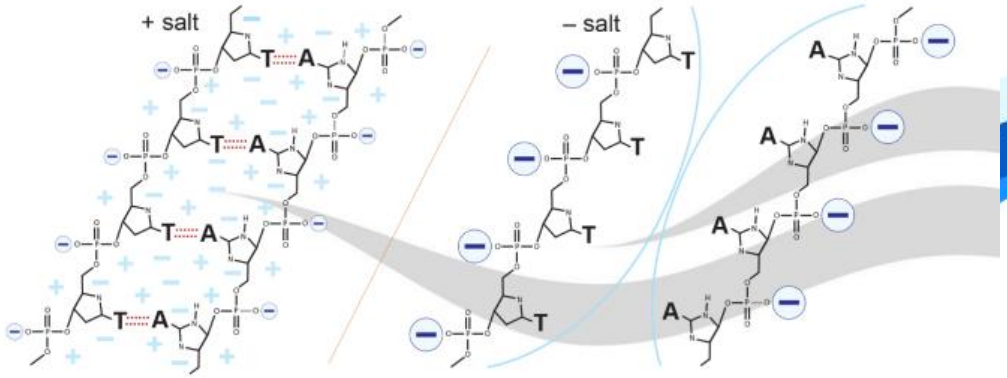
2、柱纯化

3、磁珠纯化

4、氯化锂纯化：**RNA** 小于 **300nt** 或浓度小于 **100ng/μl** 时，不能通过此方法得到有效沉淀。**RNA** 浓度大于 **400ng/μl** 时沉淀效果最好。

两步纯化法：

基于**oligo dT**的亲和层析（捕获带**PolyA**尾的**mRNA)+**疏水或阴离子交换层析(去除**dsRNA** ， **short transcripts**）



通过AT之间氢键的结合和断裂达到分离目的

RNA Ladder

RNA Ladder是一种由不同长度的ssRNA（单链RNA）片段组成的分子量梯度，通过电泳可以显示出明显的条带，是一种用于鉴定单链RNA分子大小的标准品。通过已知的RNA片段大小，RNA Ladder可以帮助估计其他RNA片段的大小。这是根据分子量与通过凝胶基质的迁移速率成反比的原理来实现的。因此，RNA Ladder在研究RNA分子时不可或缺，它能为科研人员提供RNA片段大小的参考，以便更好地理解和分析RNA分子的结构和功能。

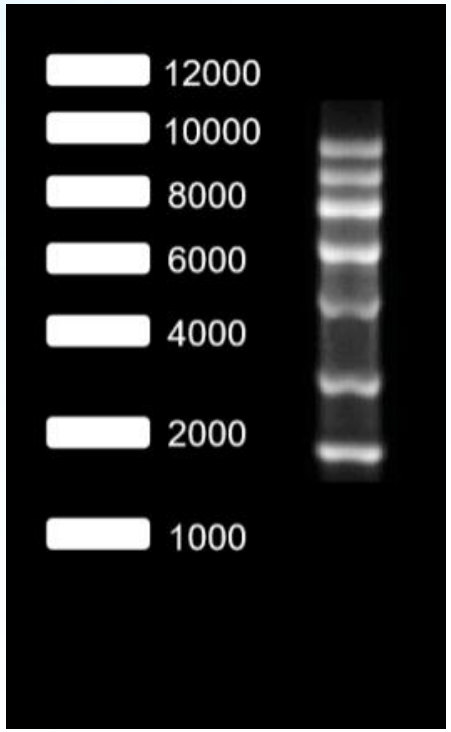
RNA电泳的基本原理是利用RNA分子的大小和电荷差异来实现分离。RNA分子具有负电荷，可以在电场中向阳极迁移。在琼脂糖凝胶中，不同长度的RNA分子会因为大小和结构差异而具有不同的迁移速度，其中较短的RNA分子迁移较快，而较长的RNA分子迁移较慢。通过调节琼脂糖凝胶的孔隙大小、电泳条件和电泳时间，可以实现对RNA分子的分离。通常，使用分子量标记物作为参照物，根据参照物的迁移距离和RNA样品的迁移距离，可以确定RNA分子的大小。在变性条件下（如使用变性凝胶），RNA的泳动率与分子量对数呈线性的关系，因此可以测定RNA分子量。

BiOri 宝 锐 生 物

RNA Ladder



RNA Ladder 6000



RNA Ladder 12000

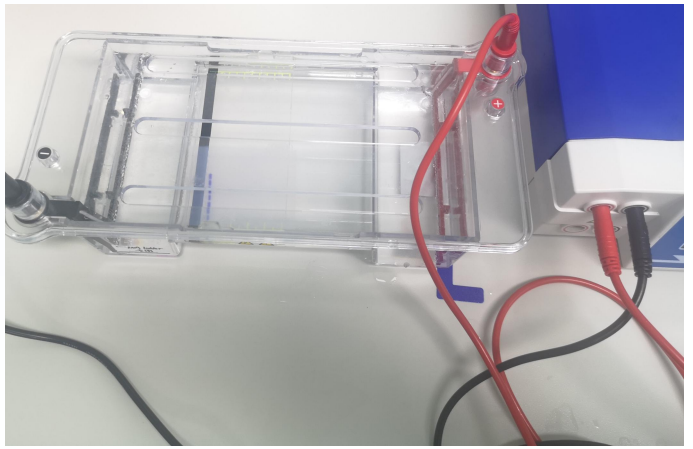


RNA Ladder 1000

BIORI 宝锐生物

RL的使用





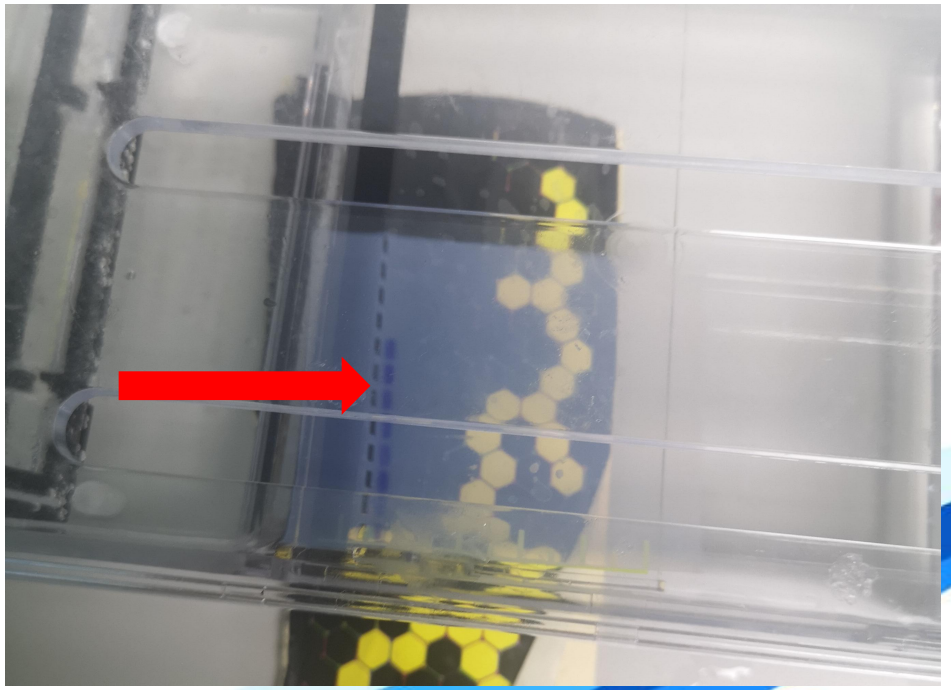
（一）TAE/TBE琼脂糖凝胶电泳

1、配制1%的TAE或者TBE琼脂糖凝胶，按比例加入适量核酸染料。

2、按照下表制备RNA样品：

试剂	体积
RNA Ladder 6000	2μL
2× Loading Dye	2μL

样品混匀后置于70℃变性10min，立刻放置冰上3min变性处理。



3、使用步骤2中处理后样品直接上样电泳即可，5V/cm(不同电泳槽大小不同，根据正负极之间的距离)。

4、使用凝胶成像设备照胶。

RNA Ladder 6000 货号：BP-10-50

RNA Ladder 6000是由八条线性 DNA 模板经体外转录后混合在一起的不同大小的RNA分子。其中包括200 bp、500 bp、1000 bp、1500 bp、2000 bp、3000 bp、4000 bp和6000bp八条参考带。通过已知的RNA片段大小，RNA Ladder 可以帮助估计其他 RNA 片段的大小。本产品适用于包括非变性凝胶、变性凝胶等多种电泳条件。

推荐使用方法

1. TAE / TBE 琼脂糖凝胶电泳。

1.1 配制 1%的 TAE 或者 TBE 琼脂糖凝胶，按比例加入适量核酸染料。

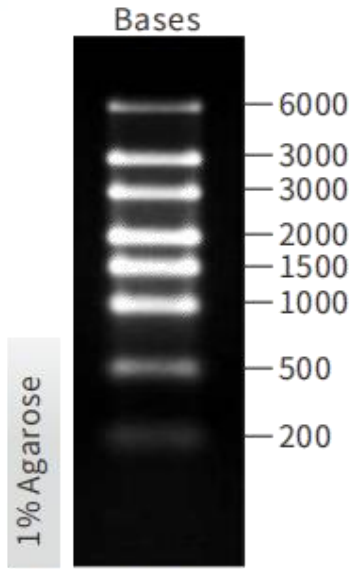
1.2 按照下表制备 RNA 样品:

试剂	体积
RNA Ladder 6000	2μL
2×Loading Dye	2μL

样品混匀后置于 70°C变性 10min，立刻放置冰上 3min 变性处理。

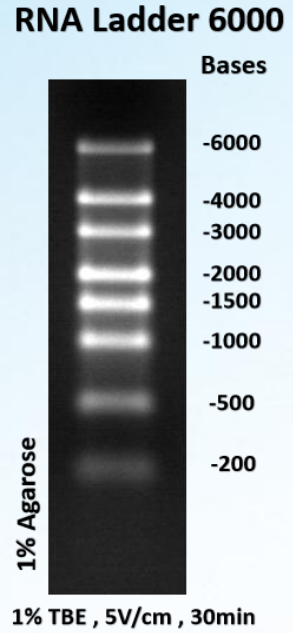
1.3 使用步骤 1.2 中处理后样品直接上样电泳即可，5V/cm。

RNA Ladder 6000

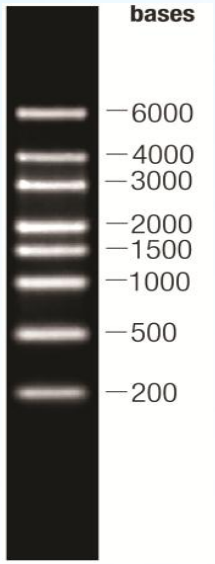


1% TBE , 5V/cm , 30min

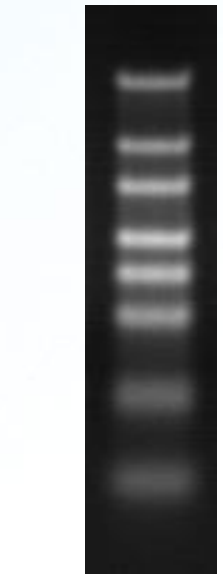
竞品对比



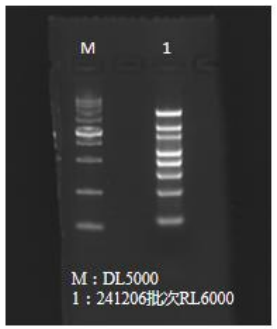
宝锐RNA Ladder



T厂家宣传图

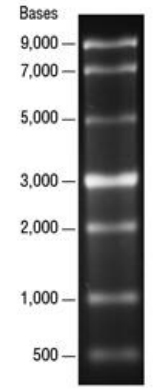


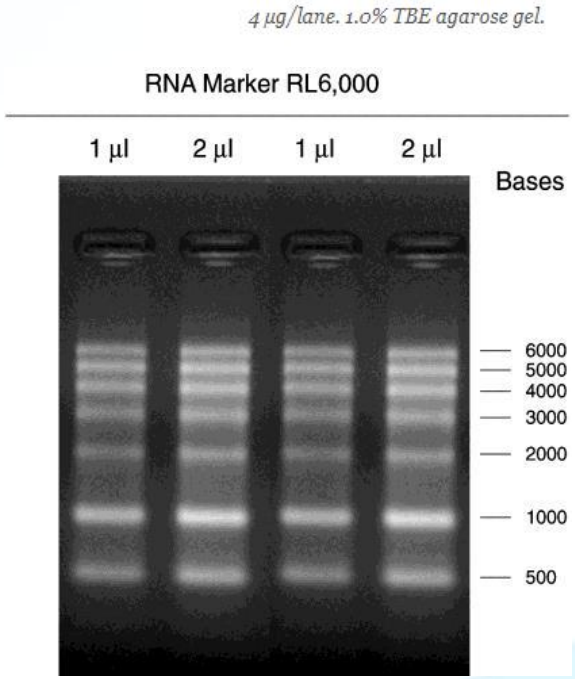
T厂家实际跑胶图



250113：新配制RL6000电泳验证（20min）2%ATE

厂家N宣传图





厂家B宣传图

RNA Ladder 1000 货号：BP-20-50

RNA Ladder 1000 是由六条线性DNA模板经体外转录后混合在一起的不同大小的RNA分子。其中包括50 bp、80 bp、150 bp、300 bp、500 bp和1000 bp六条参考带。通过已知的RNA片段大小，RNA Ladder可以帮助估计其他RNA片段的大小。

推荐使用方法

1. 配制 2~3%的 TAE 或者 TBE 琼脂糖凝胶，按比例加入适量核酸染料。
2. 按照下表制备 RNA 样品：

试剂	体积
RNA Ladder 1000	2μL
2×Loading Dye	2μL

样品混匀后置于 70°C变性 5min，立刻放置冰上 3min 变性处理。

3. 使用步骤 2 中处理后样品（4μL）直接上样电泳即可，5V/cm。



3% TBE , 5 V/cm , 40min

RNA Ladder 12000 货号：BP-15-50

RNA Ladder 12000 是由七条线性 DNA 模板经体外转录后混合在一起的不同大小的 RNA 分子。其中包括 1000 bp、2000 bp、4000 bp、6000 bp、8000 bp、10000 bp 和 12000bp 七条参考带。通过已知的 RNA 片段大小，RNA Ladder 可以帮助估计其他 RNA 片段的大小。

推荐使用方法

1. TAE/TBE 琼脂糖凝胶电泳

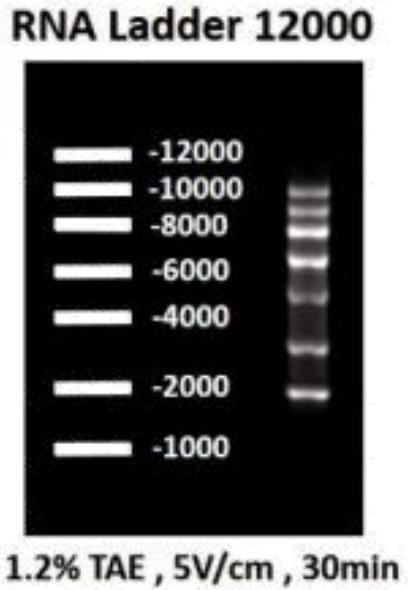
1.1 配制 1~1.5%的 TAE 或者 TBE 琼脂糖凝胶，按比例加入适量核酸染料。

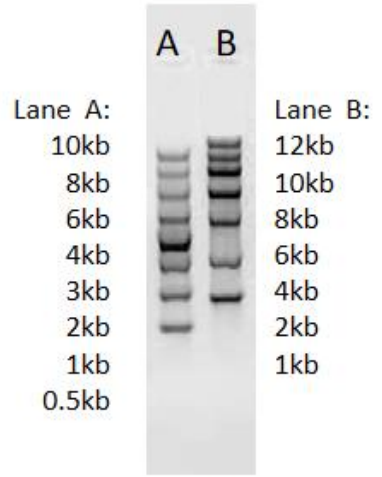
1.2 按照下表制备 RNA 样品：

试剂	体积
RNA Ladder 12000	1.75μL
2×Loading Dye	1.75μL

样品混匀后置于 70°C变性 10min，立刻放置冰上 3min 变性处理。

1.3 使用步骤 1.2 中处理后样品（3.5μL）直接上样电泳即可，5V/cm。





Lane A：厂家T产品

Lane B：宝锐RL 12000

BiOri 宝锐生物

RL跑胶条件

琼脂糖凝胶电泳是一种常见的分离DNA或RNA的方法，琼脂糖凝胶浓度的选择对于分离效果至关重要。通常，琼脂糖凝胶浓度越高，分离效果越好，但也会限制分子的迁移速度，使较大的分子迁移缓慢，需要根据核酸分子大小选择合适的琼脂糖凝胶浓度。

推荐的凝胶电泳装置内的电压是4–10 V/cm（正极和负极之间的距离，不是凝胶长度）。 如果电压太低，迁移率会降低，而且条带会因扩散而变宽。 如果电压太高，条带分辨率会降低，这主要是由于凝胶过热引起的。

Agarose needed to resolve DNA fragments of the approximate listed range:

Fragment Size	% Agarose (in 1X TAE)	% Agarose (in 1X TBE)
1,00–23,000	0.60	0.50
800–10,000	0.80	0.70
400–8,000	1.00	0.85
300–7,000	1.20	1.00
200–4,000	1.50	1.25
100–3,000	2.00	1.75

BiOri 宝锐生物

电泳缓冲液

（一）1×TAE缓冲液：40 mmol/L Tris-乙酸；2mmol/L EDTA，pH 8.0。

- TAE是使用最广泛的缓冲系统。TAE适用于大片段的分离，大于2kb的片段在TAE中的迁移速度更快（0.8%的琼脂糖凝胶中），速度比在TBE中快出约10%。
- 分辨率低，但对后续实验没影响，更适用于回收DNA，酶切反应等；
- 相比于TBE，TAE对于超螺旋的DNA分辨率更高。

（二）1×TBE缓冲液：45 mmol/L Tris-硼酸；1mmol/L EDTA，pH 8.0。

TBE 缓冲液也是常用的核酸电泳缓冲盐溶液，主要用于DNA的琼脂糖凝胶电泳。

- TBE的主要成分是Tris-硼酸盐与EDTA，缓冲能力强，适合较长时间电泳，分辨率较高，电泳小于1kb的片段时分离效果好。

- TBE的电导率>TAE。长时间电泳，TBE不太会导致电泳槽内过热。

- TBE对于较小片段的分离效果更好。对于小于300bp的片段，在2%的琼脂糖凝胶上，TBE中的迁移速度更快 。

BiOri 宝 锐 生 物

环境因素

使用RNA Ladder时，需要注意以下事项：

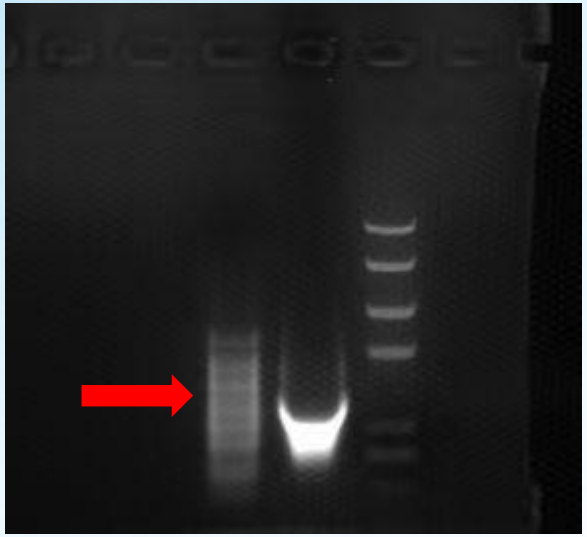
1.建议使用新鲜配制的缓冲液和新制的凝胶，以确保电泳效果和RNA Ladder的稳定性。

2.选择干净的电泳设备，最好与DNA电泳分开操作，DNA样品中残留的RNase可能会影响RNA的稳定性。

3.RNA对核糖核酸酶极其敏感，为避免RNA降解，请戴上防护手套，使用无核酸酶的耗材进行样品制备，也可用核酸酶清除剂对器皿进行处理.

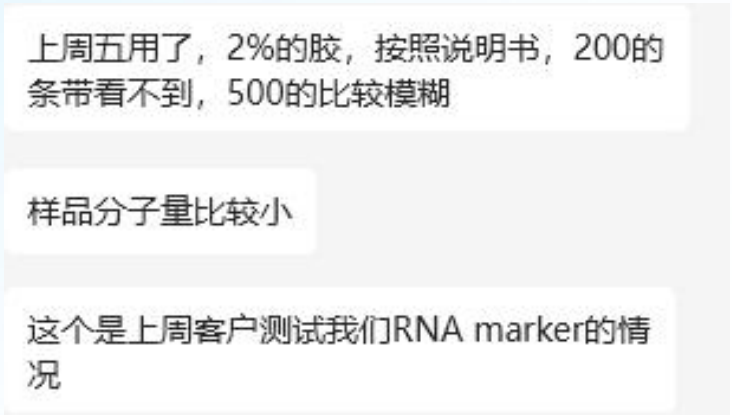
BiOri 宝锐生物

反馈分析



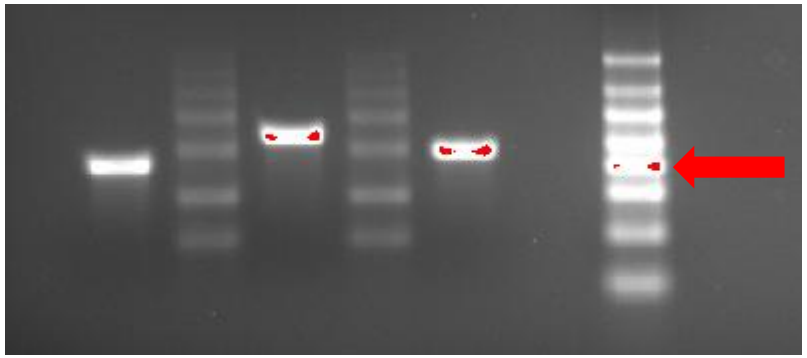
反馈一：条带分不开

原因与建议：条带跑胶降解明显，且仅跑胶22min；需延长跑胶时间同时控制跑胶环境的污染。



反馈二：分子量小的RNA模糊

原因与建议：相同条件下，小分子量的核酸在电泳迁移过程中，随着时间的延长，清晰度较高分子量的条带会模糊些，但是200bp在跑胶30min还是能起到对照的指示作用，且各家竞品表现出相同效果。建议使用2%的TBE。



反馈三：中间2k与1k的条带没有分开。

原因与建议：客户上样量为5μl,上样量高导致条带过量，降低上样量即可。

BIORI 宝锐生物

mRNA加帽率检测前处理试剂盒 货号：BP-05-10

加帽率是 mRNA 疫苗药物的重要质量属性指标，是 mRNA 类产品申报所必须的验证资料。目前，加帽率的测定主要通过液质联用的方式进行。具有帽子结构的 mRNA 与未加帽的 mRNA 其分子量之间存在百数量级的差异，相比于完整mRNA 数十万级的分子量，很难精确分析加帽与未加帽样品之间的差异。因此，对加帽率的分析首先需要将长片段的 mRNA 处理成小片段，将数十万中找百数量级的差异转变为数千中找百数量级的差异。宝锐生物开发的 mRNA 加帽率检测前处理试剂盒能精确、高效的处理 mRNA 样品，处理后的样品可直接用于液质联用的分析，助力快速分析样品加帽率。本试剂盒适用于不同加帽方式和具有各类帽子结构的 mRNA 样品前处理。

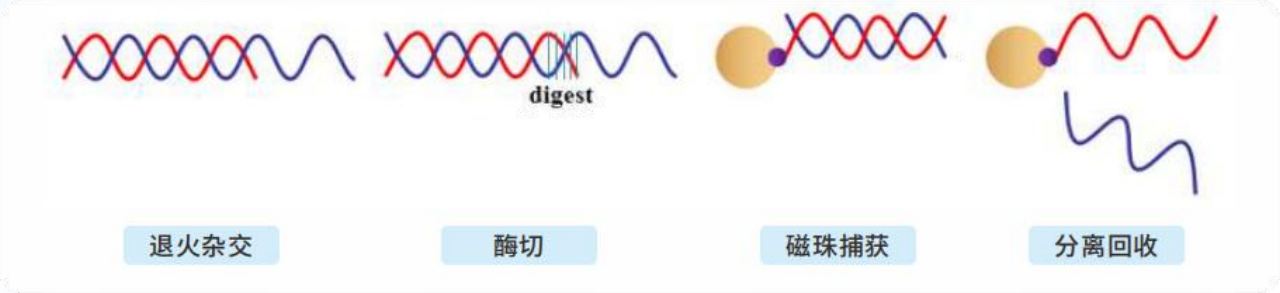
产品优势

1 适应性好

1、可用于不同加帽工艺生产mRNA的处理；
2、可用于具有不同类型帽子结构mRNA的处理；
3、可用于不同型号液质联用系统的样品处理。

2 方便快捷

3 高效省时



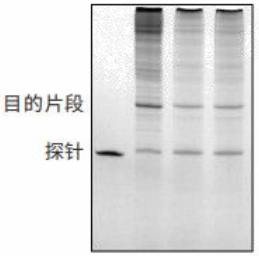
探针设计与合成

目标序列 5' A G A G C G G C C G C T T T T T C A G C A A G A T T-RNA

探针 Biotin-rUrCrUrCrGrCrCrGrGrCrGrArAr ArArArG rUrCrGdTdTdCdTdAdA

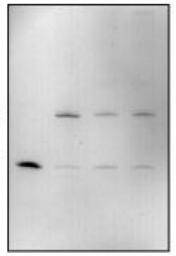
r: 2号位甲氧基修饰的核糖核苷酸　　d: 脱氧核糖核苷酸

酶切



酶切后进行SDS-PAGE检测。酶切后的体系中含有探针条带、目的片段条带和其他片段。其中，目的片段条带清晰，其含量基本和探针含量一致，明显高于其他片段，表明酶切的过程处理得当，样品可用于下一步回收操作。

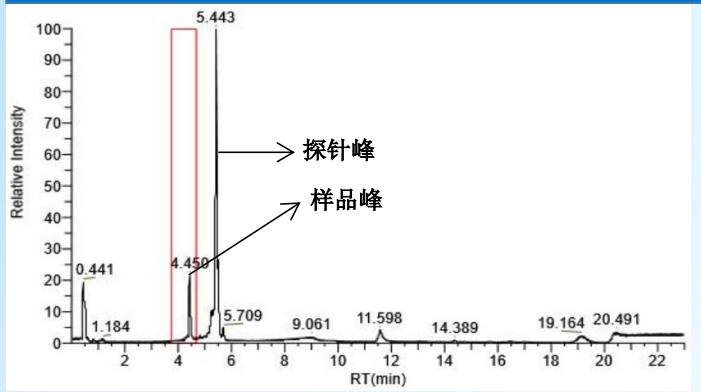
片段回收



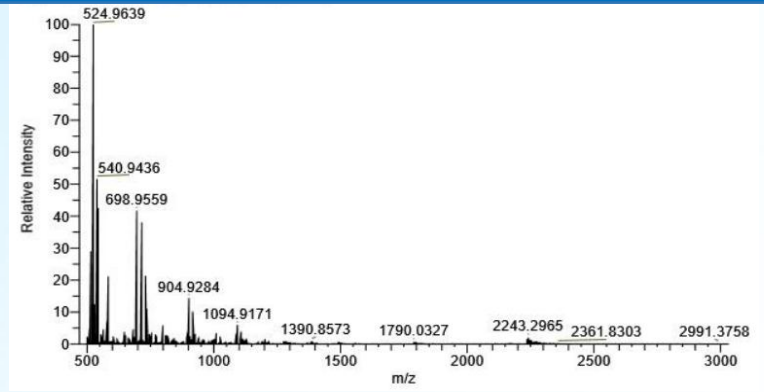
洗杂回收后的片段经过SDS-PAGE检测能够明显看到，除了目的条带和探针条带外的其他片段已被清洗干净。样品中探针的存在并不会对后续液质联用的测定产生影响，相反的，已知分子量的探针条带可以作为后续测定的标尺。

宝锐生物

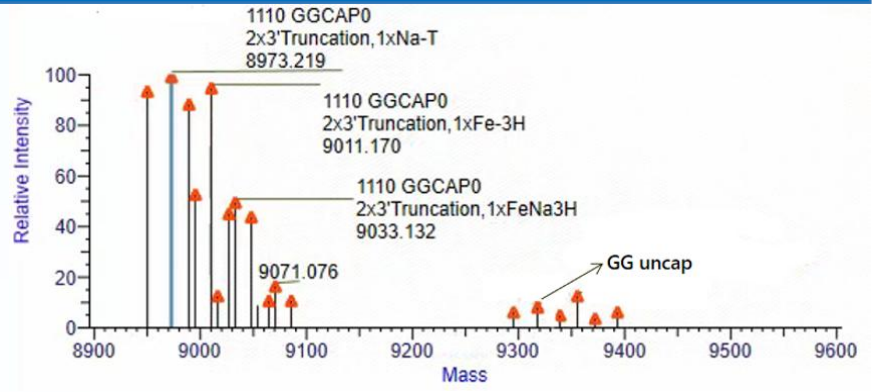
液质联用测定与分析



液相色谱图



样品峰总离子流质谱图



Cap0和unCap离子流质谱分析

Xtract Masses Table

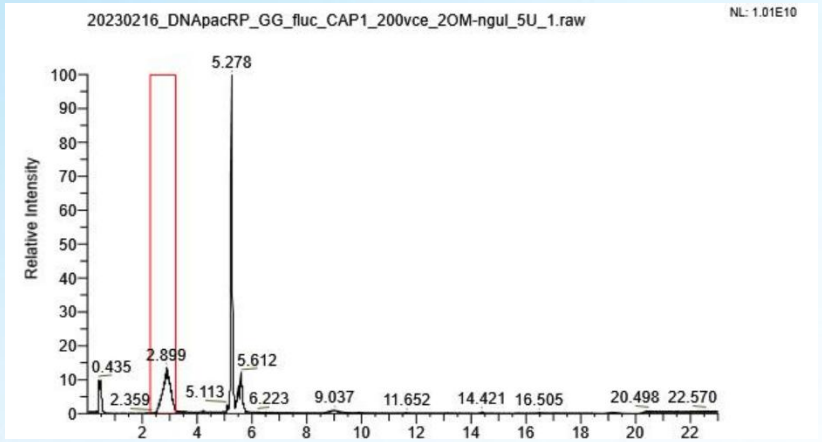
Row Number	Sequence Name	Modification	Monoisotopic Mass	Theoretical Mass (Da)	Matched Mass Error (ppm)	Average Mass	Sum Intensity	Relative Abundance	Fractional Abundance	Number of Charge States	Charge State Distribution	Average Charge	Delta Mass	Start Time (min)	Stop Time (min)
1	1110AGCAP0	2x3'Truncation,1xMg-H2	8973.210	8973.209	0.1	8977.39	744480.53	100.00	14.51	10	5 - 14	9.83	0.000	3.800	4.701
2	1110AGCAP0	2x3'Truncation,1xFe-3H	9011.170	9011.173	0.3	9015.37	708341.96	95.15	13.80	10	5 - 14	9.62	37.960	3.800	4.701
3	1110AGCAP0	2x3'Truncation	8951.242	8951.240	0.3	8955.41	698743.38	93.86	13.62	10	5 - 14	10.05	-21.968	3.800	4.701
4	1110AGCAP0	2x3'Truncation,1xK-H	8989.197	8989.195	0.3	8993.39	662839.86	89.03	12.92	10	5 - 14	9.85	15.987	3.800	4.701
5	1110AGCAP0	2x3'Truncation,1xNa2-H2	8995.171	8995.204	3.7	8999.36	393574.12	52.87	7.67	10	5 - 14	9.75	21.961	3.800	4.701
6	1110AGCAP0	2x3'Truncation,1xFeNa3H	9033.132	9033.188	6.2	9037.34	370196.32	49.73	7.21	10	5 - 14	9.37	59.922	3.800	4.701
7	1110AGCAP0	2x3'Truncation,1xFeNaH3	9027.141	9027.141	0.0	9031.35	339720.10	45.63	6.62	10	5 - 14	9.83	53.931	3.800	4.701
8	1110AGCAP0	2x3'Truncation,1xFeLiCl	9049.116	9049.160	4.8	9053.33	330676.88	44.42	6.44	10	5 - 14	9.48	75.906	3.800	4.701
9	1110AGCAP0	2x3'Truncation,1xFeLiClNa-H	9071.076	9071.142	7.2	9075.31	123756.14	16.62	2.41	7	7 - 13	9.38	97.866	3.800	4.701
10	1110AGCAP0	2x3'Truncation,1xNa3-H3	9017.137	9017.186	5.4	9021.34	116167.04	15.60	2.26	7	7 - 14	9.75	43.927	3.800	4.701
11	1110AGCAP0	1x3'Truncation,1xFeNaH3	9356.213	9356.193	2.1	9360.58	100260.42	13.47	1.95	8	7 - 14	10.47	383.003	3.800	4.701
12	1110AGCAP0	2x3'Truncation,1xFe*2+2H	9065.105	9065.124	2.1	9069.33	83295.84	11.19	1.62	6	7 - 13	9.73	91.895	3.800	4.701
13	1110AGCAP0 1P	2x3'Truncation,1xFe-H	9087.082	9087.141	6.5	9091.32	83259.74	11.18	1.62	7	7 - 13	9.49	113.872	3.800	4.701



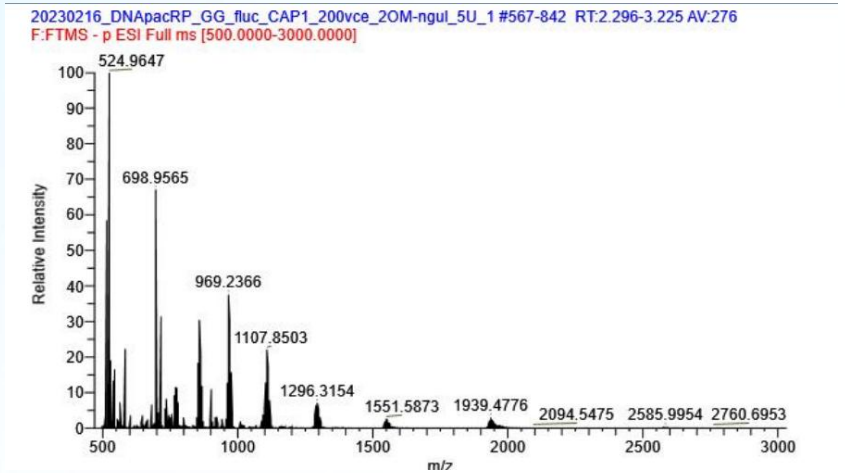
适用性强

重复稳定：多次验证，处理效果优异。

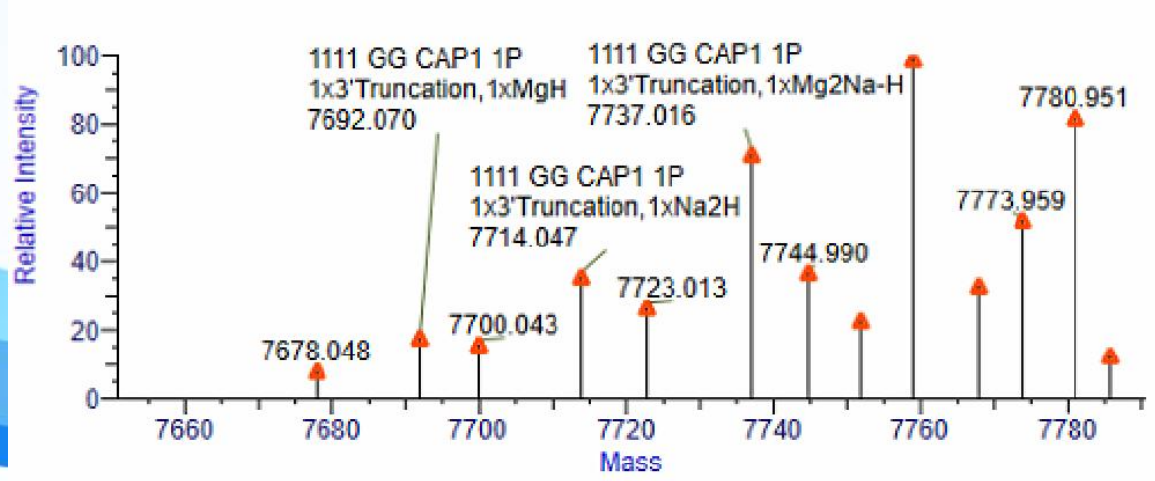
广泛应用：适用于不同帽子结构、不同加帽方式、不同型号液质系统的样本前处理



液相图

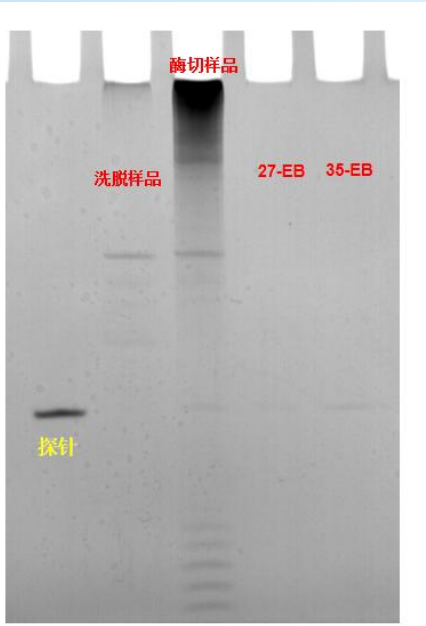


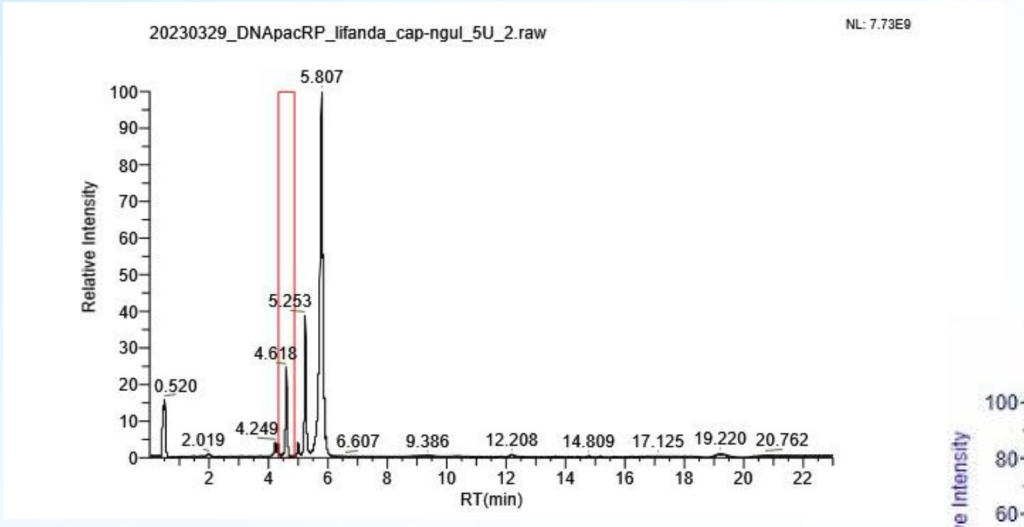
总质子流图

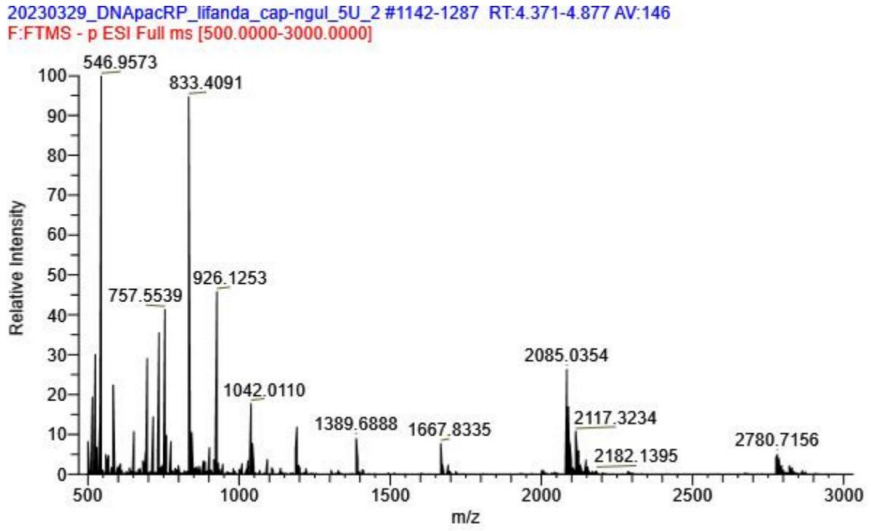


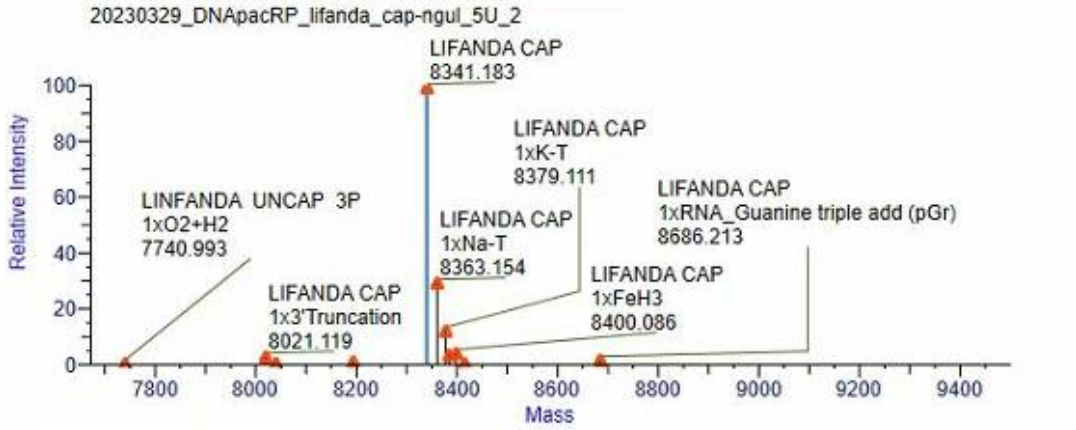
LC-MS 解卷积图

适用性强-客户一试用结果

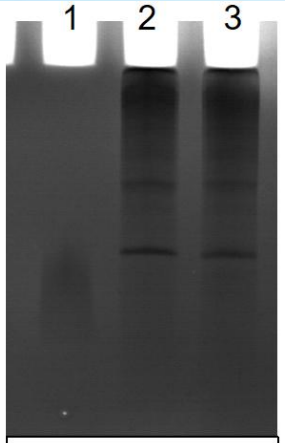






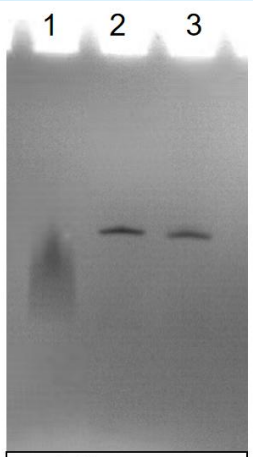


适用性强-客户二试用结果



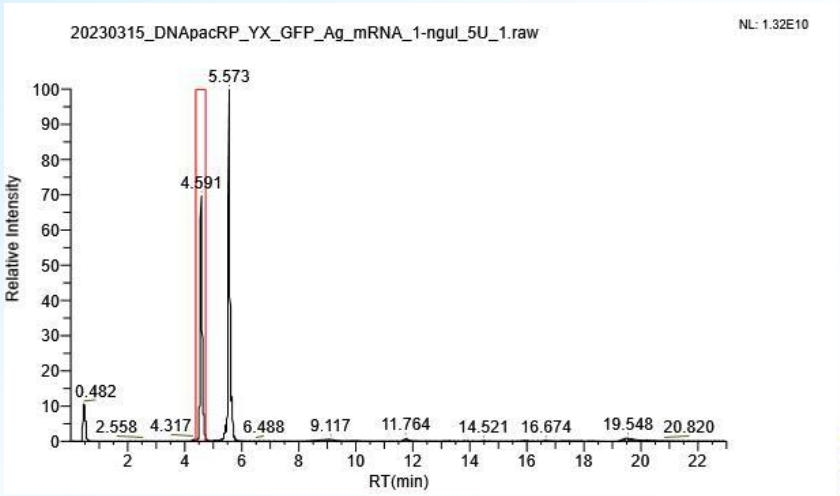
1：探针
2:GFP-Ag-mRNA-1
3:GFP-Ag-mRNA-2

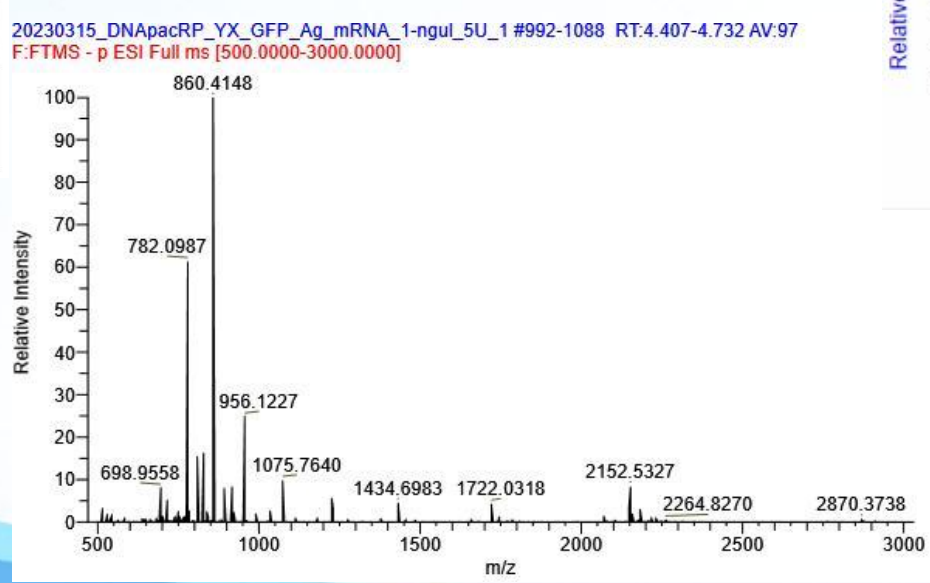
酶切

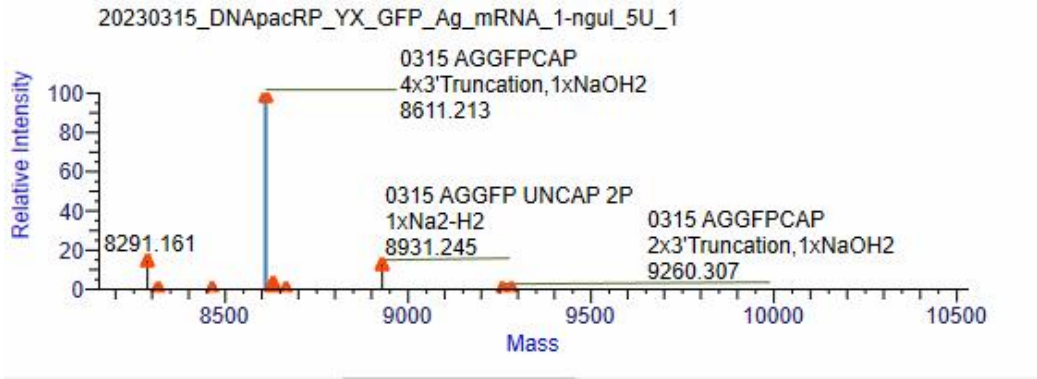


1：探针
2:GFP-Ag-mRNA-1
3:GFP-Ag-mRNA-2

回收

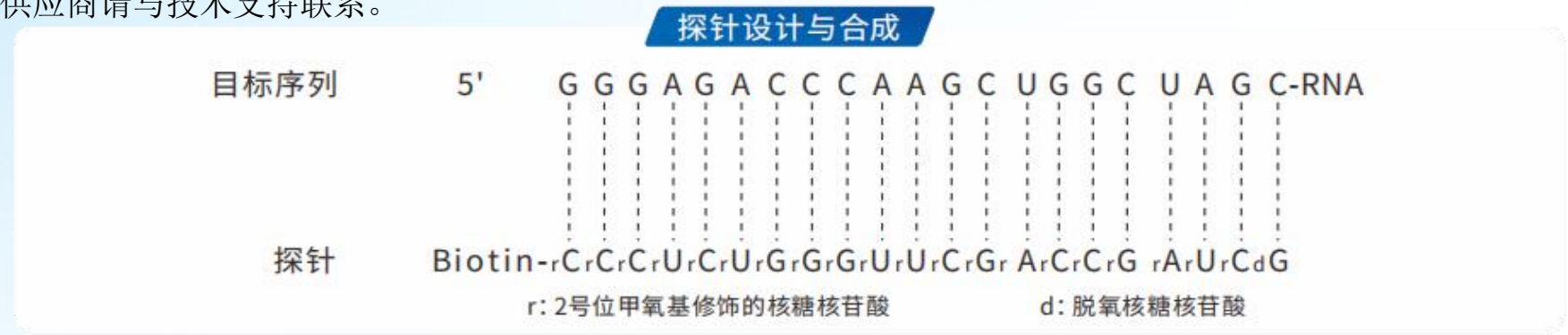




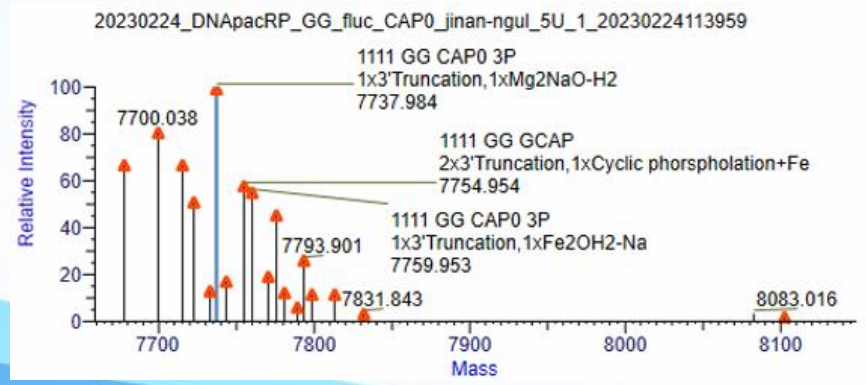


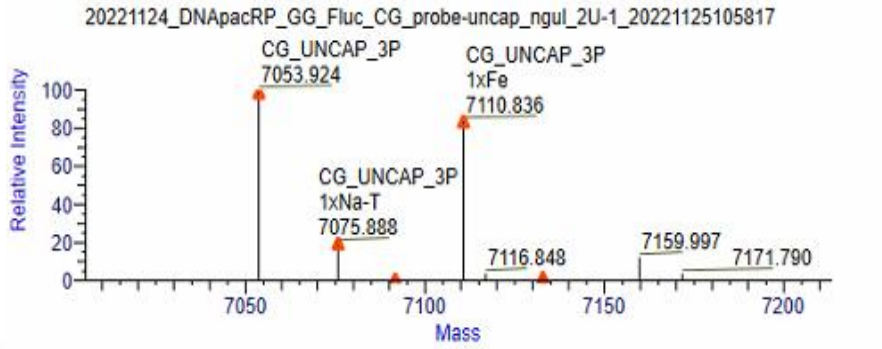
mRNA加帽率检测前处理试剂盒（2.0） 货号：BP-12-10

本试剂盒不提供特异性探针，需要根据目的序列设计探针。设计的探针须包含三部分(如图所示): 3'端 20-25 个与目标序列 5'端互补配对的核糖核苷酸序列，为避免探针的降解，此区域席列可使用修饰的核糖核苷酸，推荐使用2号位甲氧基修饰的核苷酸；随后是1个与目标序列互补配对的脱氧核糖核苷酸序列，此区域无需修饰；最后的3'端选择 Biotin 修饰。单次探针合成 10D 即可满足本试剂盒规定次数所需探针量。探针合成推荐的供应商请与技术支持联系。



相比传统处理方式mRNA加帽率检测前处理试剂盒（2.0）可以避免非特异酶切





PolyA尾长度分布检测前处理试剂盒 货号：BP-11-10

mRNA 的 Poly(A)尾分布检测是一个复杂且需要精细操作的过程。实验条件的控制、样本的处理、酶的选择和浓度、以及后续的数据分析等步骤都可能影响最终的结果。因此，在进行 Poly(A) 尾分布检测时，需要严格遵守实验步骤，确保样本的质量和纯度，以获得准确可靠的结果。基于此，宝锐生物首发推出了针对 mRNA 的 Poly(A)尾分布检测的 Poly(A)尾分布检测前处理试剂盒，针对不同特征的 mRNA 序列，不同类型的 Poly(A)尾设计，均能高效快速的得到 mRNA 的 Poly(A)尾。

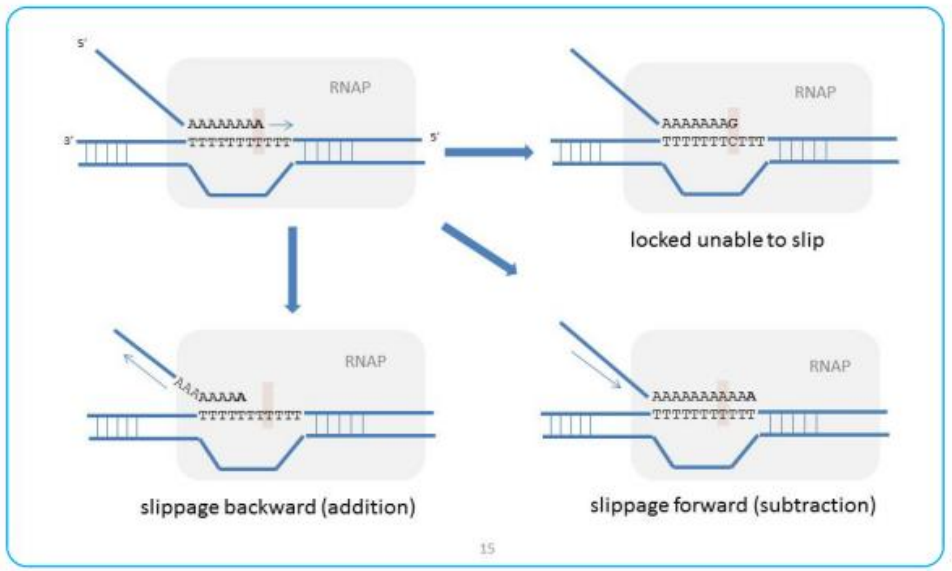


图 1 体外转录过程中的滑移机制

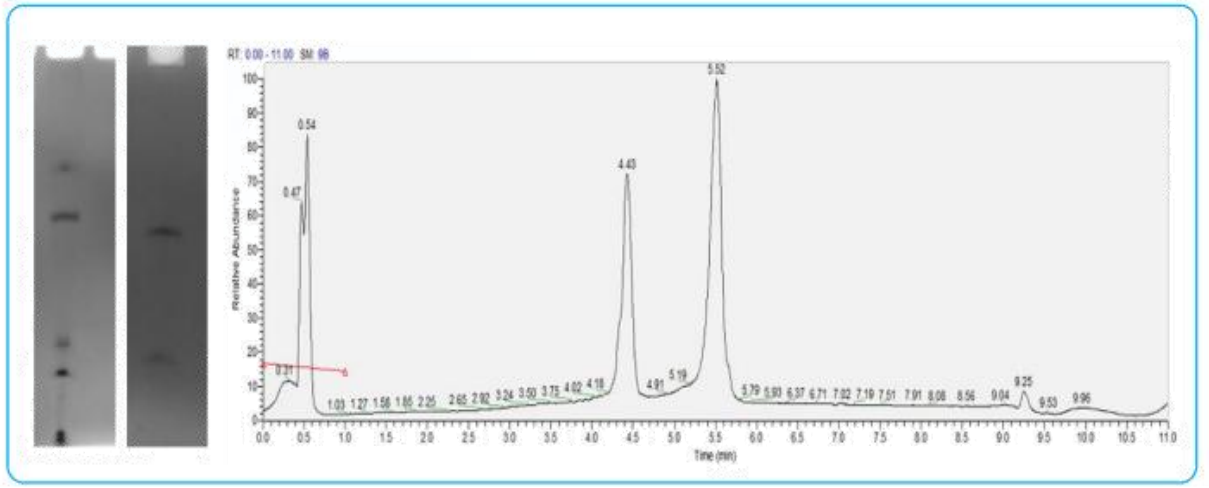


图 2 试剂盒 RNase T1 酶切后仍有较多杂质，通过纯化回收后 Poly(A)尾条带纯度明显提升，这种提升也反映在 TIC 图中，目标峰具有更高的响应值，出峰时间更为靠前。

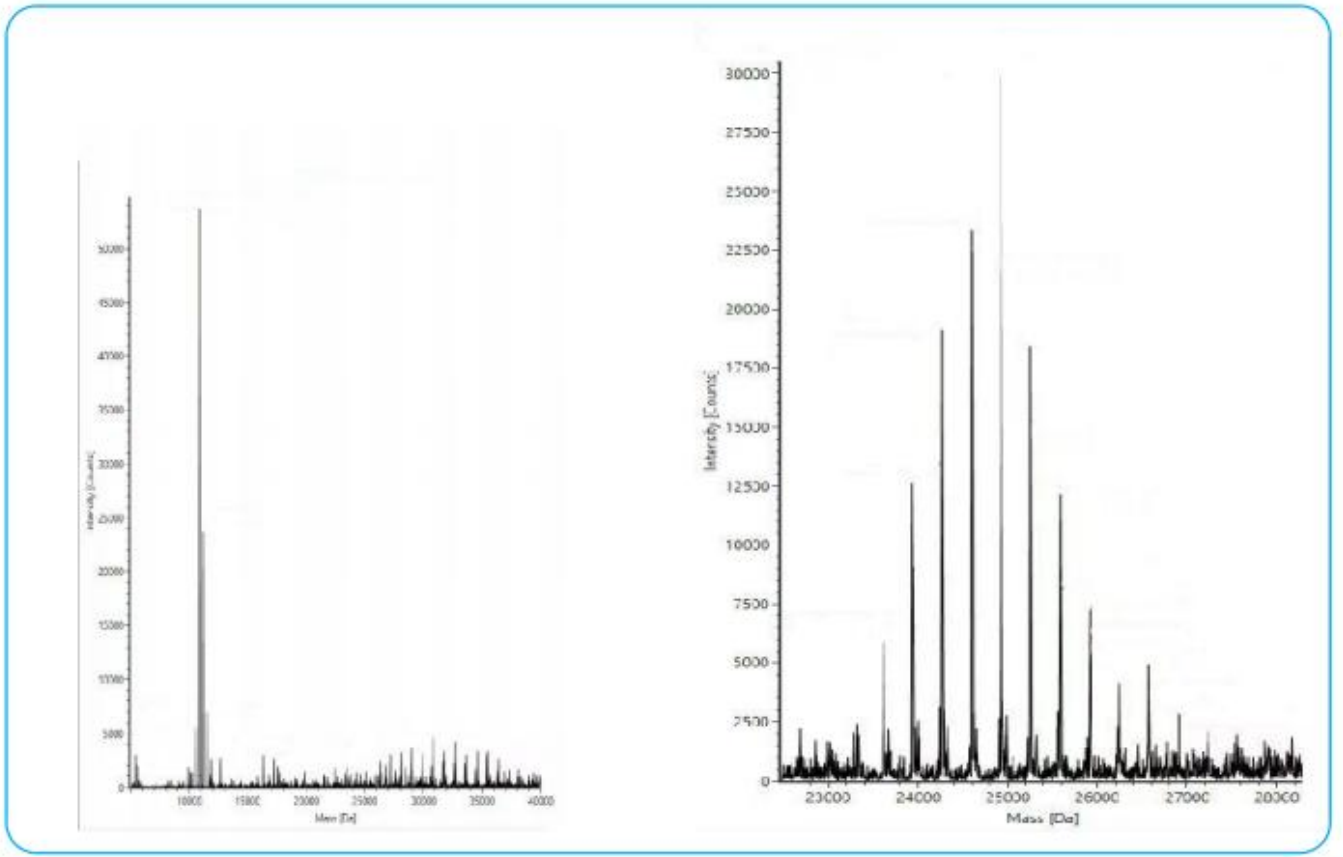


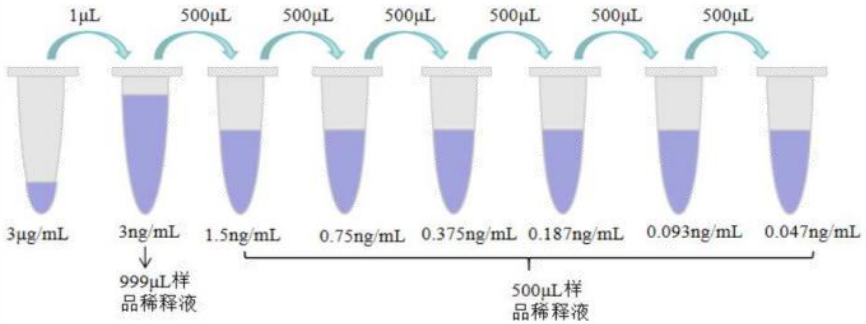
图 3 目标峰中的离子流呈现正态分布的趋势，通过对去卷积，
解谱即可得到标准的正态分布或类正态分布的 Poly(A)分布情况。

BiOri 宝锐生物

dsRNA残留定量检测试剂盒2.0

货号：BP-18-96

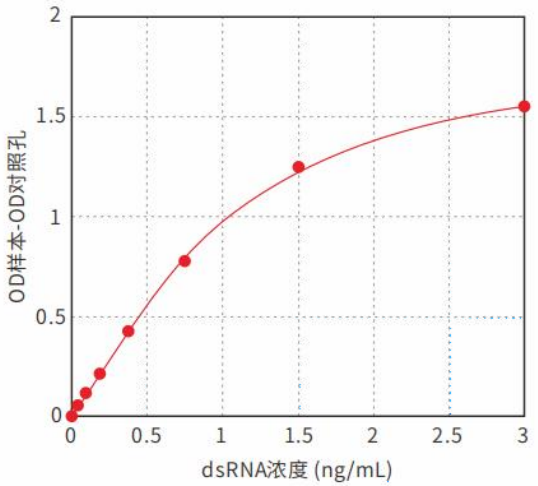
本试剂盒应用双抗体夹心酶联免疫法(夹心ELISA)检测体外转录体系或合成的mRNA原液中双链RNA(dsRNA)的含量。用捕获抗体包被微孔板，形成固相抗体，向固相抗体微孔板中加入双链RNA(dsRNA)校准品和待测样品，再加入生物素化检测抗体孵育，形成抗体-抗原-抗体复合物，洗涤后加入辣根过氧化物酶（HRP）标 记的链霉亲和素（streptavidin，SA）。经过彻底洗涤后加底物TMB显色，显色液在HRP酶的催化下转化成蓝色并在酸的作用下最终转换成黄色，颜色的深浅与样品中双链RNA(dsRNA)的量呈正相关。该试剂盒标曲范围为0.047-3ng /mL，检测限为0.047ng/mL。



产品优势

1. 重复性好
2. 灵敏度高
3. 稳定性强

dsRNA浓度ng/mL	OD样本-OD对照孔
3	1.5427
1.5	1.2441
0.75	0.7706
0.375	0.4253
0.1875	0.2048
0.09375	0.108
0.046875	0.0501
0	0



BiOri 宝锐生物

dsRNA残留定量检测试剂盒2.0

货号：BP-18-96

每孔加入100μL标准品/样品

↓ 37℃孵育1h

用1 x 洗涤液按300μL/孔洗板4次，拍干孔中液体，每孔加入100μL 1×检测抗体

↓ 37℃孵育1h

用1 x 洗涤液按300μL/孔洗板4次，拍干孔中液体，每孔加入100μL显色液

↓ 37℃孵育25min

每孔加入50μL终止液混匀，检测450nm处OD值

宝锐试剂盒操作程序

每孔加入100 μl样品/校准品

↓ 37℃孵育1 h

用1 × 洗涤液按300 μl/孔洗板4次，拍干孔中液体，每孔加入100 μl 1 × 检测抗体

↓ 37℃孵育1 h

用1 × 洗涤液按300 μl/孔洗板4次，拍干孔中液体，每孔加入100 μl 1 × 酶标试剂

↓ 37℃孵育1 h

用1 × 洗涤液按300 μl/孔洗板4次，拍干孔中液体，每孔加入显色液100 μl

↓ 37℃孵育15 min

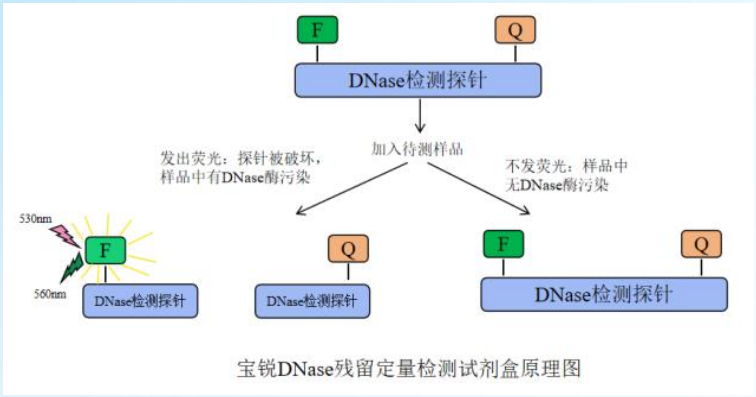
每孔加入终止液50 μl混匀，检测450 nm处OD值

竞品N试剂盒操作程序

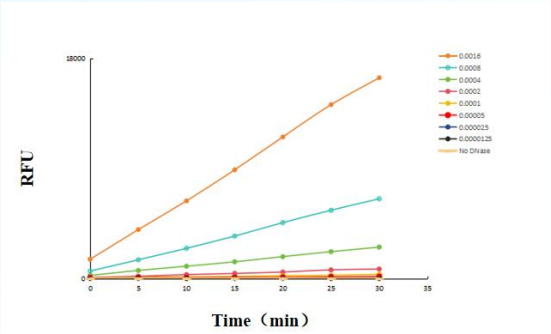
优势：检测时间短，直接标记检测抗体，避免多步骤带来的偏差且检测灵敏度和竞品N保持一致。

BiOri 宝锐生物

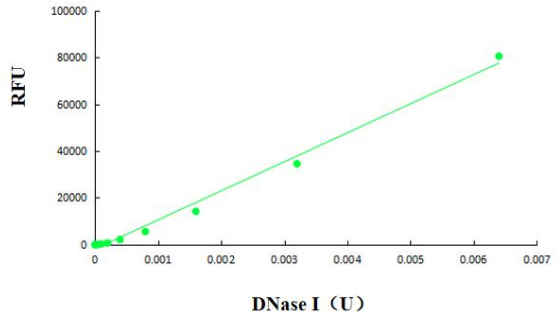
DNase残留定量检测试剂盒 货号：BP-16-100



宝锐DNase残留定量检测试剂盒原理图



30分钟内本试剂盒检测不同量的DNase I的荧光强度变化图



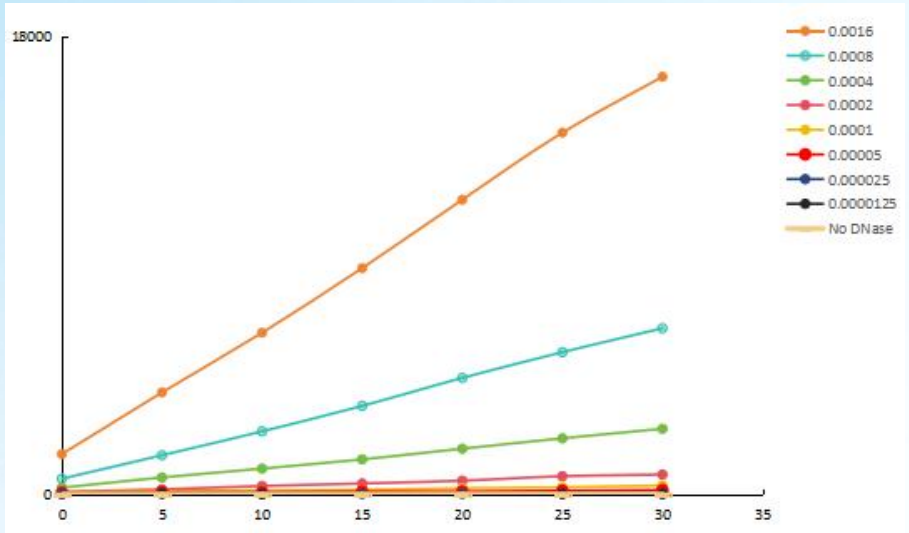
宝锐DNase残留定量检测试剂盒对DNase I标准品的检测效果

产品优势

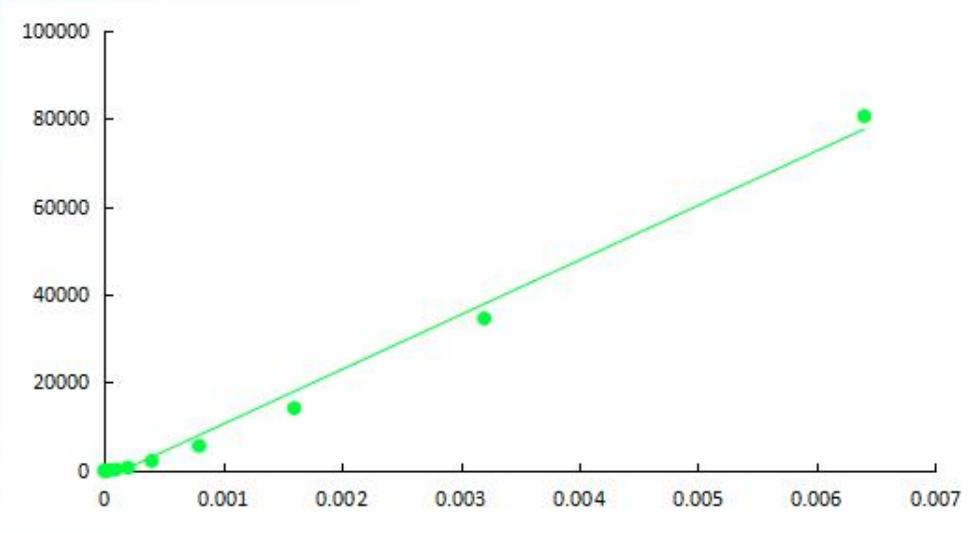
1. 基于酶活性原理设计适用DNase残留检测
2. 灵敏度高，最低检出限1.25×10^{-6}U
3. 严格质控，灵敏度，准确度，重复性等保障

BiOri 宝锐生物

DNase残留定量检测试剂盒 货号：BP-16-100



30分钟内本试剂盒检测不同量的DNase I的荧光强度变化图



宝锐DNase残留定量检测试剂盒对DNase I标准品的检测效果

优势：灵敏度高，最低检出限低至1.25×10-6 U/μL

BiOri 宝锐生物

RNase残留定量检测试剂盒 货号：BP-06-100

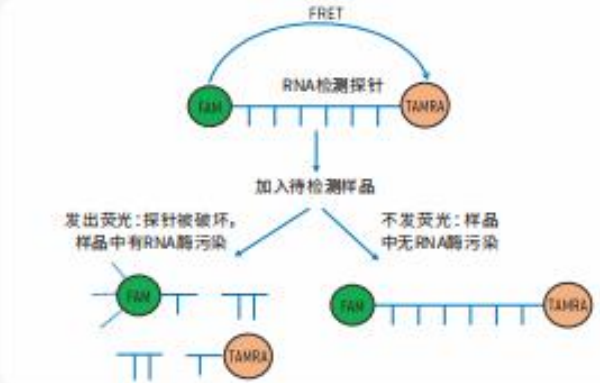
核糖核酸酶(Ribonuclease，RNase)是一类催化 RNA 降解为小片段的核酸酶。RNase 家族包括 RNase A、RNase B、RNase C、RNase H、S-RNase、RNase P、RNase T 等。其中，RNase A是一种广泛应用的核酸内切酶，RNase A 在嘧啶核苷酸残基 C 和 U 的 3'端处高效且专一地催化单链 RNA 骨架上的磷酸二酯键的断裂，形成具有 2'，3'-环磷酸衍生物的寡聚核苷酸。目前，常见的 RNase 残留检测方法主要包括放射性同位素法、分光光度法、荧光淬灭方法和电化学法等等。宝锐生物研发的 RNase 残留定量检测试剂盒是一种用荧光法快速高灵敏检测 RNaseA 活性的试剂盒，灵敏度高，最低检出限低至 0.078pg RNase。底物是一种合成的 RNA 寡核苷酸探针，其一端具有 FAM 荧光基团(Fluorophore)又称供体(Donor)，另一端具有TAMRA 淬灭基团(Quencher)又称受体(Acceptor)。这两个基团的吸收光谱有一定的重叠，当这两个荧光基团间的距离合适时，荧光能量由供体向受体转移，导致供体荧光分子自身的荧光强度衰减。当该底物被 RNase 切割后，底物首尾两端分离，两个基团分开，FAM 的荧光不再被 TAMRA 淬灭，即可检测到 FAM 的荧光，荧光信号的增加速率与酶的数量和活性呈正相关。

产品优势

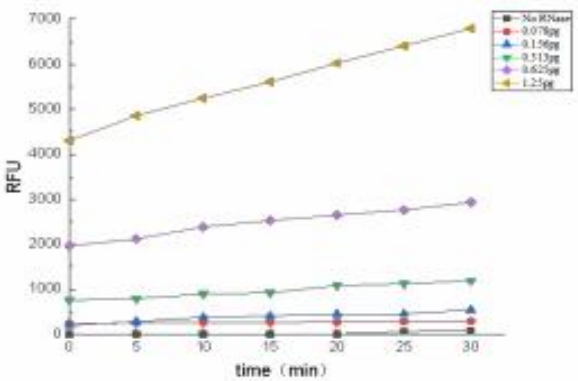
1. 基于酶活性原理设计，适用RNase的残留检测。
2. 灵敏度高，最低检出限低至0.078pg（RNase）。
3. 严格质控，灵敏度、批间/批内差、准确度等保障。

BiOri 宝锐生物

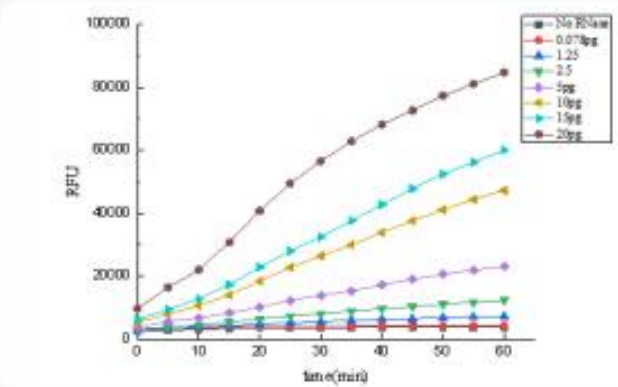
RNase残留定量检测试剂盒 货号：BP-06-100



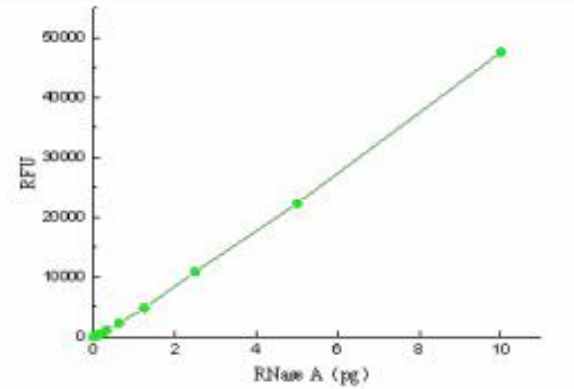
- 宝锐RNase残留检测试剂盒检测原理图



- 宝锐生物RNase残留检测试剂盒灵敏度检测效果



- 60分钟内本试剂盒检测不同量的RNase A的荧光强度变化图



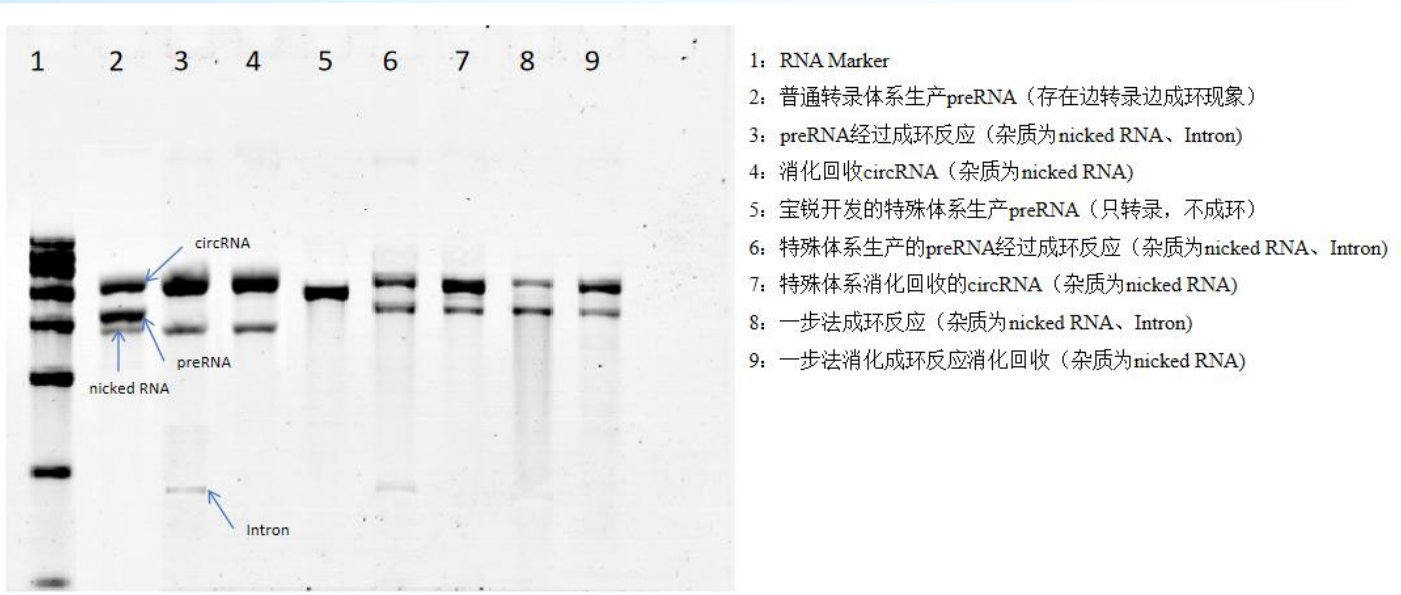
- 宝锐生物RNase残留检测试剂盒对RNase A标准品的检测效果

- 经验证试剂盒内标准品RNase A在0-10 pg范围内有良好的线性关系，R^2>0.99，可以通过设置标准曲线，计算出样品中RNase A的活性。

BiOri 宝锐生物

circRNA分离预制胶试剂盒 货号：BP-S03-10

circRNA分离预制胶试剂盒专为垂直电泳系统打造，完美适配大多数科研实验室现有的设备，无需额外购置或改装仪器，大大降低了实验成本和操作难度。整套试剂盒包含专用于circRNA分离的预制胶，优化过的独特配方的电泳缓冲液和上样缓冲液，染料更是针对circRNA电泳开发的针对性染料。在面对人工合成的circRNA 样品时，能够在极短的时间内，高效地将其中的多条目标条带清晰分离，极大地提高了实验效率和数据质量 。



1：RNA Marker
2：普通转录体系生产preRNA（存在边转录边成环现象）
3：preRNA经过成环反应（杂质为nicked RNA、Intron)
4：消化回收circRNA（杂质为nicked RNA)
5：宝锐开发的特殊体系生产preRNA（只转录，不成环）
6：特殊体系生产的preRNA经过成环反应（杂质为nicked RNA、Intron)
7：特殊体系消化回收的circRNA（杂质为nicked RNA)
8：一步法成环反应（杂质为nicked RNA、Intron)
9：一步法消化成环反应消化回收（杂质为nicked RNA)

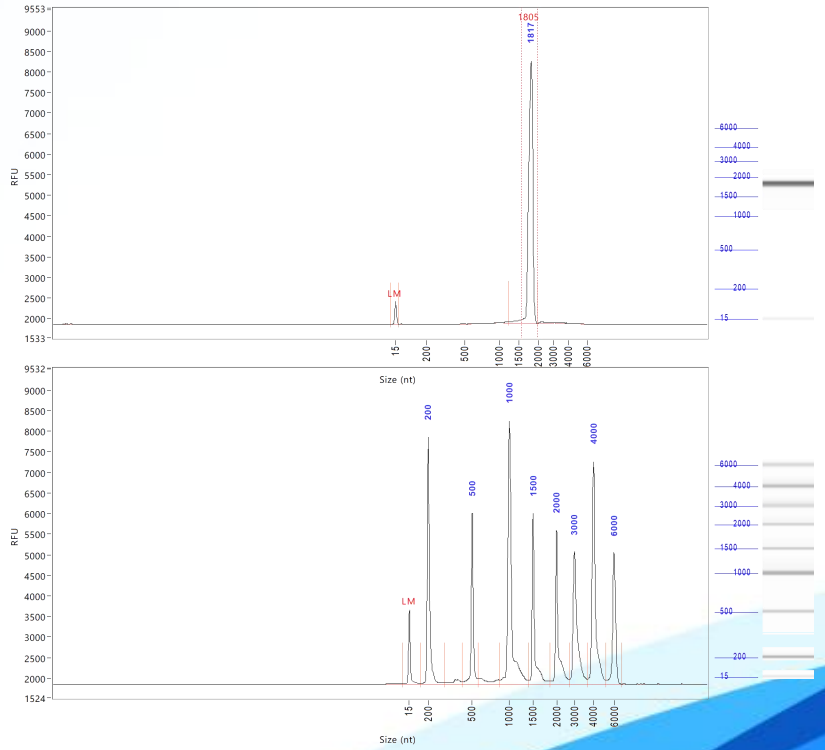


BiOri 宝锐生物

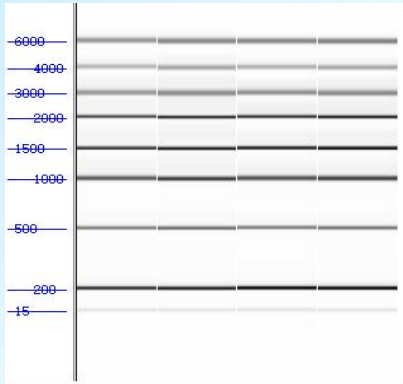
RNA完整性检测试剂盒 货号：BP-S02-25

本产品适用于6000nt以下的单链RNA（ssRNA）样品分析与检测，利用分子筛原理，溶质按分子大小逐一分离。核酸片段通过进样端用电动进样以及压力进样的方式注入，当高压电场作用于毛细管时，注入的RNA通过分离介质，依据片段的大小在介质中迁移，不同大小的片段迁移速度不同，较小片段的RNA迁移速度快于大片段RNA，实现不同分子量大小的核酸片段快速分离。产品中含变性剂，能够打开二级结构，维持RNA的单链状态，可以更准确的检测RNA的纯度与完整性。

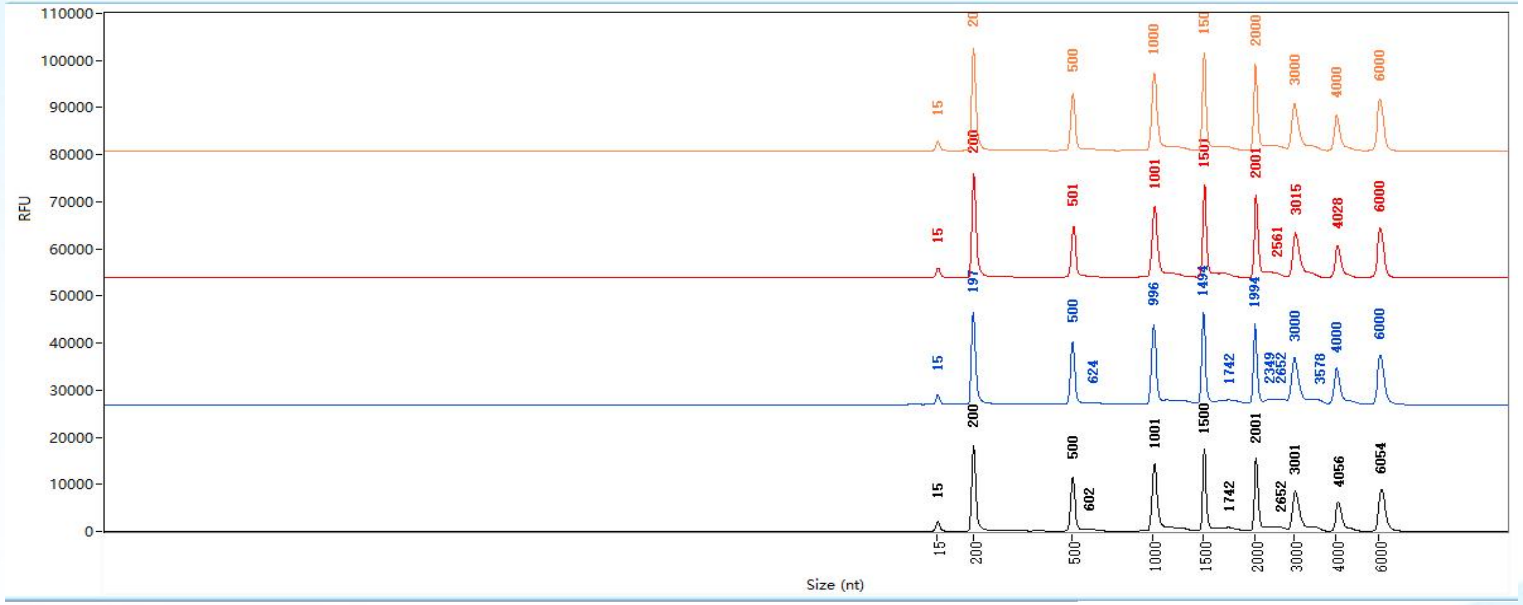
组分	货号	体积	储存温度
CE-毛细管储存液	BP-S02-AS-01	100ml	室温
CE-毛细管清洗液	BP-S02-AS-02	500ml	室温
CE-进样缓冲液	BP-S02-AS-03	50ml	2-8℃
CE-电泳补充液	BP-S02-AS-04	4ml	-20±5℃
CE-样品稀释液	BP-S02-AS-05	8ml	-20±5℃
CE-染液	BP-S02-AS-06	30μl	-20±5℃
CE-分离介质	BP-S02-AS-07	250ml	2-8℃
CE-标准品 1	BP-S02-AS-08	1ml*4	-20±5℃
CE-标准品 2	BP-S02-AS-09	60μl	-70±10℃



RNA完整性检测试剂盒 货号：BP-S02-25



重复性测试数据结果表明重复性良好，CV＜5%





三、理论知识考核（笔试）

thanks

追求卓越品质 提供一流服务

成为生命科学领域领先者

BIORI 宝锐生物