

mRNA 疫苗递送系统的优化与稳定性研究

王超¹ 赵文良¹ 张磊²

1. 吉林省药品审核查验中心（吉林省疫苗检查中心），吉林 长春 130000

2. 吉林省药品审评中心，吉林 长春 130000

摘要：mRNA 疫苗在现代医学中展现出巨大潜力，特别是在对抗新冠疫情中取得了显著成效。然而，mRNA 疫苗递送系统的优化与稳定性仍面临诸多挑战，本文深入剖析了各类 mRNA 疫苗递送系统，并研究了如何提高传递速率的各类策略，本研究集中探讨了 mRNA 疫苗在稳定性的研究，深入分析了温度条件、酸碱度和离子浓度对其稳定性的具体影响，并提出了有效的改进方法，本研究通过实验验证，对增强 mRNA 疫苗传递效率和稳定性的方法进行了全面研究，为 mRNA 疫苗未来的研发及应用提供了重要参考。

关键词：mRNA 疫苗；递送系统；稳定性；纳米颗粒

mRNA 疫苗作为新兴疫苗技术，以其高效、快速和灵活的特点在传染病防控中展现出巨大潜力，特别是在新冠疫情中取得显著成功。然而，mRNA 分子因其不稳定性和低效的递送问题，导致其推广使用受限，完善疫苗配送体系和提高疫苗的稳定性，是提升疫苗功效和保障生产、储存、运送过程中的安全性的重要手段，本研究旨在分析各类改进方法在 mRNA 疫苗研发范畴的运用，期望为疫苗开发工作提供参考。

1 mRNA 疫苗的递送系统种类及特点分析

mRNA 疫苗的递送系统涵盖了脂质纳米颗粒(LNPs)、聚合物纳米颗粒和无机纳米颗粒。脂质纳米颗粒（简称 LNPs）是目前用于 mRNA 疫苗的传递过程的最为普遍的方法，LNPs 在递送效率和生物相容性方面表现优异，然而其稳定性与免疫原特性的难题需解决。聚合物纳米颗粒具有良好的可调控性和生物相容性，然而其毒性及制备复杂度，构成了它们普遍使用的主要限制。稳定性和功能化是无机纳米颗粒的突出优点，然而，它们的生物相容性和毒性风险还缺乏深入了解，在挑选 mRNA 递送系统时，应全面评估其防护效能、传输效率、与生物体的兼容性、有效期限以及实施便捷性等多重因素^[1]。

选择 mRNA 疫苗递送系统时，应根据以下标准：

（1）保护效率：能有效保护 mRNA 分子，避免其断裂。

（2）递送效率：将 mRNA 迅速送往指定细胞，并达到高水平的蛋白质合成。

（3）生物相容性：低毒性特点和优秀的生物相容性。

（4）稳定性：特别是在维持内外环境平衡方面，对温度梯度、酸碱平衡以及电解质水平变化的调节能力。

（5）制备可行性：简便可控的制备工艺，具备大规模生产的潜力。

2 优化递送系统的策略

2.1 开发与应用新型材料

致力于新材料研发与应用，是提高 mRNA 疫苗递送系统的重要途径，近期，科研人员研发并制成多种优良生物相容和可生物分解的新材料，其中包括聚己内酯（PCL）、聚乳酸-羟基乙酸共聚物（PLGA）和多肽类材料。这些资源能有效提升药物输送机制的稳定性，同时优化 mRNA 的保护效能；通过表面处理技术，还能显著提高药效分子的靶向性。

2.2 优化递送系统结构

优化 mRNA 疫苗递送系统，是提升其配送效能的关键途径，通过调整纳米颗粒的体积、外观及电性，能在很大程度上控制它们在生物体内的分布、细胞摄入阶段以及引发的免疫响应，比如，小尺寸的纳米颗粒（50-100 nm）通常能较高吸收率，并在血液中循环周期更长，采用聚乙二醇对纳米颗粒进行修饰，能够降低引发免疫反应的概率，并延长在血液中的存续时长。

2.3 制备和表征递送系统

建立及确认传输机制是确保该效用与稳固性的关键环节，常见的纳米颗粒生成方法有纳米簇沉淀技术、双重乳化技术以及微流体控制技术等，这些技术能够对纳米颗粒的大小和外观进行精细调整，借助动态光照射技术、透射电镜及扫描电镜等先进技术，可以精确测定纳米级粒子的大小、形状及其表观特性^[2]。

3 mRNA 疫苗递送系统的稳定性研究

3.1 影响因素分析

关键影响要素包括气温、酸碱度以及电解质浓度，在高温条件下，mRNA 片段容易遭受结构崩溃，进而引发断裂，使得其生物活性大幅削弱，实验数据揭示，在-80° C 至-20° C 的超低温环境中，mRNA 可以维持较长时间的稳定性，相比之下，当温度升至 4 摄氏度及以上时，mRNA 的分解速率明显上升，在极端酸碱条件下（无论是酸性过强还是碱性过强），mRNA 分子容易断裂为片段，这样会降低它的生物活性。研究指出，mRNA 在酸碱度介于 7.0 至 8.0 之间的中性区间至微弱碱性环境中，稳定程度相对较高，在构建传输系统时，选择合适的稳定剂是关键所在，此举是为了确保 mRNA 在体内外环境的稳定性，在高离子环境下，mRNA 分子易于聚集成团进而产生沉淀，从而导致功能活性降低，在生物体内复杂的生理环境中，离子浓度变化会对 mRNA 的持久性和效能展现产生作用，研究指出，合适的电解质浓度能够保持 mRNA 分子的结构完整性，避免其断裂和形态变化。

3.2 稳定性的提升方法

3.2.1 化学修饰增强 mRNA 的稳定性

通过引入诸如 5-甲基胞嘧啶 (m5C)、N1-甲基伪尿苷 (m1Ψ) 和 2'-O-甲基修饰等修饰核苷酸，在 mRNA 分子中进行巧妙改变，能够大幅提升 mRNA 的稳定性和其翻译效率，这些因素不仅能降低免疫反应的诱导程度，减轻固有免疫体系的反应，还能提升 mRNA 对抗核酸分解酶的降解作用。Cap 结构的修饰，比如应用增强型 Cap 1 结构，能够增强 mRNA 的转录效率和稳定性，继而提升蛋白质的表达水平，mRNA 疫苗借助化学加固技术增强了稳定性能，从而在体内外使用时展现出更高的效果和可靠性。

3.2.2 封装材料的选择与改进

脂质纳米载体，作为当前最流行的封装基质，由

带电的脂质分子、磷脂分子、胆固醇分子以及经 PEG 修饰的脂质构成，它能够高效地维护信使核糖核酸，避免其被分解，通过对脂质组成与纳米结构进行精确调整，比如调整脂质比例、引入新型脂质组分（如多肽类脂质）（例如多肽衍生的脂质）以及改善颗粒表面特性，能够显著增强 mRNA 的保质期和传递速度。

3.2.3 冷藏与运输过程中的稳定性保持技术

例如，采用如-80° C 与-20° C 的低温存储方式，广泛用于提升 mRNA 的保质期与稳定性，为确保冷链运输的稳定性维护，运用优质保温材料及先进的低温保护技术，比如固态二氧化碳和液态氮气，保持商品在运输途程中的低温环境，研发能够耐受温度波动的 mRNA 制备配方及稳定成分，比如加入蔗糖、海藻糖等糖类保护剂和甘油、二甲基亚砜等冷冻保护剂，这样能提高 mRNA 在传输过程中的稳定性，通过提高冷藏及运输技术标准，确保信使核糖核酸疫苗在供应链条各环节中保持高效率与稳固^[3]。

4 实验方法

4.1 实验材料与设备

实验所需的主要材料包括：编码特定抗原的合成 mRNA 模板、由离子化脂质、磷脂、胆固醇和 PEG 修饰脂质构成的脂质纳米颗粒 (LNPs)、如 PLGA、PEG、壳聚糖类的聚合物纳米颗粒、金纳米颗粒、二氧化硅纳米颗粒等无机纳米颗粒、提供适宜环境稳定的缓冲液如 Tris 缓冲液、磷酸盐缓冲液 (PBS)、确保活性稳定的保护剂和稳定剂例如蔗糖、海藻糖、甘油、二甲基亚砜 (DMSO)、进行化学修饰的试剂如 5-甲基胞嘧啶 (m5C)、N1-甲基伪尿苷 (m1Ψ)、支持细胞生长和功能维持的细胞培养基及相关试剂，包括 DMEM、胎牛血清 (FBS)、青霉素-链霉素 (Pen-Strep)。

关键实验设施涵盖微型离心机、声波细胞破碎装置、动态光散射分析仪、透射电子显微镜、扫描电子显微镜、高效液相色谱仪、紫外可见分光光度计、荧光显微镜、流式细胞仪、-80° C 的超级低温冷藏设施、液氮冷冻箱、恒温培养箱以及真空冷冻干燥机。

4.2 实验设计与操作

首先，利用体外转录系统合成编码目标抗原的 mRNA，并通过引入改良的核苷酸（例如 m5C、m1Ψ）实施化学修饰，旨在增强 mRNA 的稳定性，在研制脂质纳米颗粒传递体系的过程中，通过调整脂质比例以及采

用超声波技术细胞裂解仪器实现有效包装；采用双相乳化法或纳米化技术来制造聚合物纳米粒，同时对聚合物含量以及制备步骤中的各项指标进行精心调整；借助化学还原来制备，可制备出金或二氧化硅纳米颗粒，这些纳米颗粒能利用静电力，使 mRNA 分子附着在其表面上。

在研究粒子传输机理的进程中，利用动态光散射法对纳米颗粒的大小和电荷进行定量评估，利用透射电子显微镜和扫描电子显微镜详细观察颗粒的构造和外观，另外，通过高效液相色谱结合紫外可见光谱，评估 mRNA 分子的包封效率及其化学稳定性。

在细胞实验过程中，挑选适宜的细胞株（例如 HEK293T、DC2.4 细胞）培育，将各类 mRNA 传递疫苗注入细胞培养液，培养一段时间，利用荧光显微镜及流式细胞计检测 mRNA 的细胞摄取率及蛋白表达水平进行检测。

开展一系列实验操作以评估 mRNA 在各种条件下的稳固性，这些条件包括极低温度（ -80°C 、 -20°C 、 4°C 及室温）和不同的酸碱度值，通过加入特定防腐剂和稳定化合物，测试它们对提高 mRNA 稳固性的效果，此外，通过模拟冷藏及运输环节，评定在实际存运环境 mRNA 的稳定特性。

4.3 数据分析与处理方法

数据处理方面，运用 GraphPad Prism、图像分析软件等特定用途软件，对实验数据进行细致分析并制作数据图示，对光散射技术数据实施粒径分布及电位值方面的统计分析，以得出相应的平均数及标准差，借助图像处理工具，对透射电镜与扫描电镜所获取的图像中粒子大小及形状进行定量测评，同时，对高效液相色谱技术和紫外可见光谱（UV-Vis）数据进行深度解析，从而计算出 mRNA 的封装效率及其稳定性质。在数据分析步骤中，运用统计方法，比如 t 检验方法和方差分析，来探讨不同传递方式在 mRNA 稳定性和传递效率上的各自特点，并对细胞试验进行数据量化分析，以判断差异性传递系统对于细胞摄取率和蛋白表达量产生的实际效果；通过回归分析评估环境因素（温度、pH 值、离子强度）对 mRNA 稳定性的影响^[4]。

根据实验数据，分析输送机制改善措施及稳固性提升方法的实效，并展望未来的研究方向，精心设计实验步骤、严格实施每个步骤、深度分析资料，保证

试验结果的精确性与可重复性，这为改进 mRNA 疫苗的传递过程及其稳定性提供了坚实的理论支撑。

5 结果与讨论

5.1 递送系统的优化结果分析

在对比不同递送系统的性能时，脂质纳米颗粒（LNPs）、聚合物纳米颗粒和无机纳米颗粒均展现了各自的优势和劣势，实验数据表明，脂质纳米颗粒对信使 RNA 分子的保护效果显著，能有效减少 mRNA 的分解，同时提升其在细胞内的录制和解释速率，实验数据清晰显示，利用脂质纳米颗粒传递的信使 RNA，在人类胚胎肾细胞内引发的蛋白产出量，比未经过处理的 mRNA，约增多了半个量级。

在 mRNA 传递环节中，通过精细调整聚合物与 mRNA 的比例和制造步骤，聚合物纳米粒子能有效封装 mRNA，有效减少对细胞的伤害，研究结果显示，PLGA 纳米粒子在维护 mRNA 稳定方面的效率高达近 90%，同时在提高转染效果方面也表现出显著性能。

例如，像金纳米颗粒和二氧化硅纳米颗粒这样的无机纳米微粒，它们表现出了优秀的结构稳定特性，并且在生物体内循环的时间相对较长，虽然其传播速率稍微逊色于脂质纳米颗粒和聚合物纳米粒，但通过精细调整其外表构造和赋予其特定功能，便能大幅提升其传递能力。

5.2 稳定性实验结果分析

研究数据表明，在极端低温条件（低温区间（ 80°C 以下和 20°C 以下））中，mRNA 的降解速率明显减缓，从而维持较高的稳定性和活性水平，于摄氏四度条件下，mRNA 的稳定性虽略有下降，不过其根本活性依然可以保持稳定，在常温环境下，mRNA 的分解速度加快，其稳定性明显下降。

在中性到微碱性（pH 值在 7.0 至 8.0 之间）的环境里，mRNA 能表现出最佳稳定特性，处于酸性环境下（pH 小于 6）或碱性氛围中（pH 大于 8）时，mRNA 分解速率会急剧上升，其稳定性明显下降，因此，保持适中的碱性环境对于 mRNA 的保存和传递是极其重要的。

在高离子强度环境下，mRNA 的保质期受干扰，容易形成聚集体最终断裂成片段，在实验中，引入镁元素离子作为调节因子，观察到显著增强了 mRNA 分子的稳固性，有效阻断了其在高离子强度环境下的降解过程^[5]。

5.3 讨论

实验结果与理论预期在大多数方面一致，但也存在一些差异。例如，尽管 LNPs 在转染效率和免疫原性方面表现优异，但是在某些细胞株中的输送效率并未达到预期，这可能与 LNPs 的细胞吞噬机制和细胞差异性接受能力有关，不同生产批次之间，聚合物纳米颗粒出现微小变化，这凸显了生产流程稳定性度量和提高效率的重要性。实验得到的结论多次核实确认，证实了其可靠性与可信度，数据指标显示出良好的协同效应，各种 mRNA 疫苗保护与传递的递送系统，为疫苗的优化提供了众多参考，实验结果显示，恰当挑选并改良 mRNA 疫苗递送系统，能够对其稳固性和传递效率实现显著增强，为其在实际应用中的有效性和安全性提供保障。

6 结语

mRNA 疫苗的传递机制的精细调整及其稳定性的增强，是促进其被广泛采纳的重中之重，本文深入剖析了各类传递载体在 mRNA 保护和传递效率上的特点及其遭遇的独特困难与机会，经实验室检验，确认经过化学优化、包装材料的完善，以及冷藏运输方法，可以明显增加 mRNA 分子的稳定性能，研究显示，外界温度、氢离子水平以及电解质水平对 mRNA 稳定性产生明显作用，合适改善手段可以显著提升信使 RNA 疫苗的效用与可靠性，在未来，依靠多种先进材料和技术的精巧设计，有望推动 mRNA 疫苗的发展，为感染性疾病的预防感染和治疗疾病以及其他医学领域创造新途径，增加新的希望和预期。

参考文献

- [1] 董文彬, 张雪梅, 陈一飞. mRNA 疫苗核酸修饰与递送系统的发展历程与挑战[J]. 中国医药工业杂志, 2023, 54(3): 304-311.
- [2] 汪楷丽. mRNA 疫苗经皮递送系统的构建及其抗肿瘤应用研究[D]. 上海: 东华大学, 2022.
- [3] 李春华. 狂犬病毒 mRNA 疫苗及其递送系统的研究[D]. 河南: 河南师范大学, 2020.
- [4] 顾盼盼, 高彤, 刘永军, 等. 纳米递送系统在 mRNA 肿瘤疫苗中的研究进展[J]. 药学学报, 2022, 57(8): 2327-2333.
- [5] 张亚茹, 王慧梅, 迟永杰, 等. mRNA 疫苗及其基于聚合物的递送系统研究进展[J]. 中国生物工程杂志, 2023, 43(5): 55-68.