

# 应用台式 MALDI-TOF MS 分析 mRNA 药物递送系统脂质纳米粒的原料分子量

MALDI-034

**摘要:** 本文应用岛津台式 MALDI-TOF 质谱仪 MALDI-8020 对 mRNA 药物及疫苗生产所用的脂质纳米粒 (LNPs) 的四种原料 (可电离脂质、中性辅助脂质、胆固醇和 PEG 修饰脂质) 进行质谱分析, 可以快速检测原料样品的分子量及组成信息。本方法操作简便、分析速度快, 结果直接可靠, 为 mRNA 药物及疫苗递送介质原料的质量控制提供了参考。

**关键词:** MALDI-TOF 脂质纳米粒 原料 分子量

脂质纳米粒 (LNPs) 是目前 mRNA 药物和疫苗研究应用最多的递送系统, 也可用于递送寡核苷酸药物, 通常由可电离脂质, 胆固醇, 中性辅助脂质和 PEG 修饰脂质四种成分组成。可电离脂质的头部氨基在酸性条件下会质子化并带正电荷, 这使其对 RNA 有很强的包载能力, 增强体内逃逸。胆固醇常作为 LNP 配方的结构脂质, 可以增强 LNP 的稳定性, 介导 LNP 内吞, 并有利于确保 LNP 的双层结构及脂质的流动性。辅助性中性脂质一般为饱和磷脂, 可以自发地组织形成脂质双层。PEG 修饰脂质位于脂质纳米粒表面, 其亲水端 (PEG 链) 向外形成脂质纳米粒的保护性外壳, 可以阻止血清蛋白吸附和单核吞噬细胞系统的摄取, 同时防止 LNP 颗粒聚集, 提高 LNP 的

稳定性。

不同供应商的 LNPs 原料质量不一, 原料质量的细小变化可能会造成 LNP 形态及 mRNA 包裹效果的差异, 最终对 mRNA 药物和疫苗的有效性及其作用发挥的稳定性产生影响。因此, 对作为 LNPs 主要原料的分子量进行监测, 保证原料批次间的一致性与稳定性, 对保障 mRNA 药物临床效果的有效性及其稳定性具有重要意义。本文应用台式 MALDI-TOF 质谱仪 MALDI-8020 对可电离脂质 Dlin-MC3-DMA 与 SM-102、中性辅助脂质 DSPC、胆固醇、PEG 修饰脂质 DMG-PEG2000 等 5 种 LNPs 常见的原料样品进行分子量检测, 同时可以对样品的纯度进行确认, 可作为核酸药物和疫苗辅料质控的参考。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 MALDI-8020

### 1.2 分析条件

调谐模式: 线性正离子模式

激光能量: 70-80

激光器: 355 nm 固态激光器

离子门阈值: 300

扫描范围: m/z 300-4000

脉冲引出质量 (Da): 1800

### 1.3 样品前处理

称取样品使用甲醇溶解, 配制为 1 mg/mL 的样品溶液。取 0.5  $\mu$ L NaTFA 溶液 (1 mg/mL)、1  $\mu$ L 样品溶液和 1  $\mu$ L 基质溶液 (30 mg/mL) 依次点靶, 自然干燥后将靶板送入质谱分析。各样品对应的基质信息见下表。

表 1 各样品对应的基质及辅助盐信息

样品	Dlin-MC3-DMA	SM-102	Cholesterol	DSPC	DMG-PEG2000
基质	DHB	DHB	9-AA	DHB	葱三酚
盐	NaTFA	NaTFA	-	NaTFA	NaTFA

## ■ 结果与讨论

### 2.1 可电离脂质、中性辅助脂质、胆固醇分子量检测

应用 MALDI-8020 检测可电离脂质 Dlin-MC3-DMA 与 SM-102、中性辅助脂质 DSPC、结构脂质胆固醇的分子量，结果如图 1 所示，分子量检测信息见表 2。

图 1A 为可电离脂质 Dlin-MC3-DMA 的质谱图，样品检测到  $m/z$  642.51、 $m/z$  690.47 的离子峰，其中  $m/z$  642.51 为 Dlin-MC3-DMA 的加氢峰 ( $[M+H]^+$ ，理论值为  $m/z$  642.62)， $m/z$  690.47 推测为杂质。

图 1B 为可电离脂质 SM-102 的质谱图，样品检测到  $m/z$  710.55 的离子峰，对应 SM-102 的加氢峰 ( $[M+H]^+$ ，理论值为  $m/z$  710.67)。

图 1C 为中性辅助脂质 DSPC 的质谱图，样品检测到  $m/z$  790.56 与  $m/z$  1580.22 的离子峰，前者对应 DSPC 的加氢峰 ( $[M+H]^+$ ，理论值为  $m/z$  790.63)，后者对应 DSPC 的二聚体加氢峰 ( $[2M+H]^+$ ，理论值为  $m/z$  1580.26)。

图 1D 为胆固醇的质谱图，样品检测到  $m/z$  387.28 的离子峰，对应胆固醇的加氢峰 ( $[M+H]^+$ ，理论值为  $m/z$  387.36)。样品整体纯度较好，质谱图上杂质峰较少。

表 2 样品分子式及分子量检测结果

名称	分子式	$[M+H]^+$ mono 理论值	实测值 ( $m/z$ )
Dlin-MC3-DMA	$C_{43}H_{79}NO_2$	642.62	642.51
SM-102	$C_{44}H_{87}NO_5$	710.67	710.55
DSPC	$C_{44}H_{88}NO_8P$	790.63	790.56
胆固醇	$C_{27}H_{46}O$	387.35	387.28

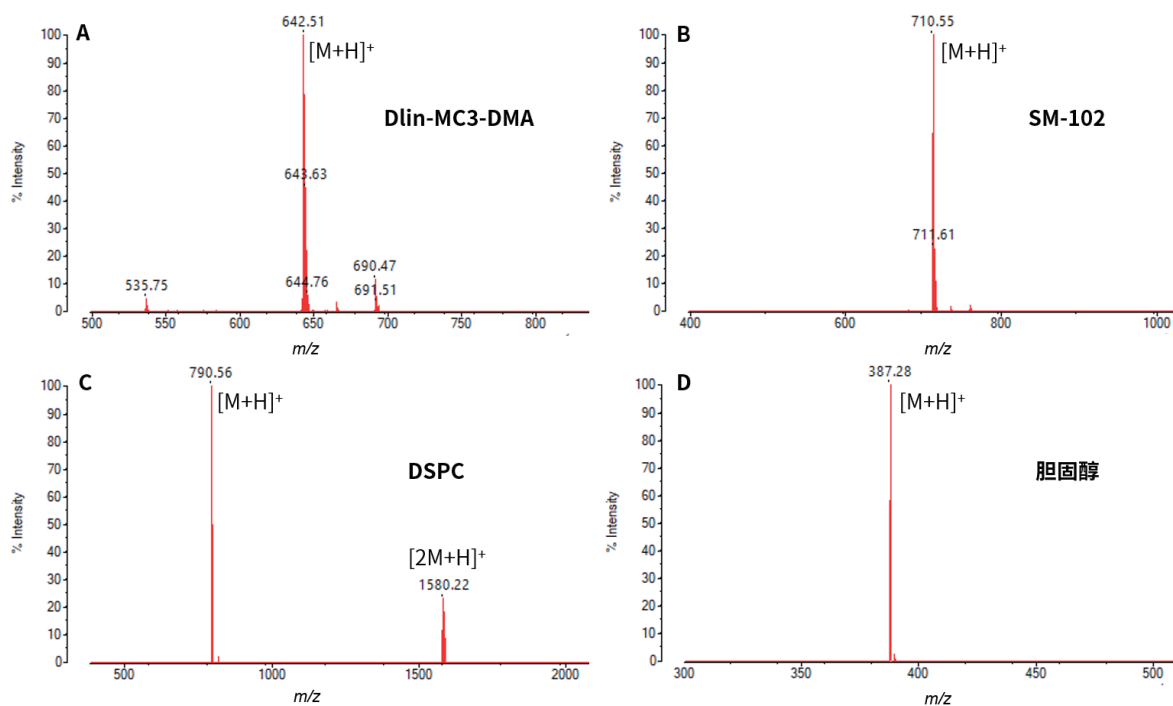


图 1 样品检测质谱图. A: Dlin-MC3-DMA; B: SM-102; C: DSPC; D: 胆固醇

### 2.2 PEG 修饰脂质 DMG-PEG2000 分子量检测

应用 MALDI-8020 对 PEG 修饰脂质 DMG-PEG2000 原料进行检测，质谱图见图 2。由图可见，样品在  $m/z$  1900-3100 范围内检测到一系列分子量依次相差 44 Da 的聚合物离子峰。使用聚合物软件 Polymerix (Sierra

Analytics) 分析样品, 分析结果示例见图 3, 样品化学式为  $C_{32}H_{62}O_5(C_2H_4O)_n \cdot Na$ , 对应 DMG-PEG2000 (分子式  $C_{32}H_{62}O_5(C_2H_4O)_n$ ) 的钠离子加合峰。Polymerix 软件自动计算得到的数均分子量 Mn、重均分子量 Mw、质均分子量 Mz、多分散度 PD、聚合度 DP 等相关信息见图 3。

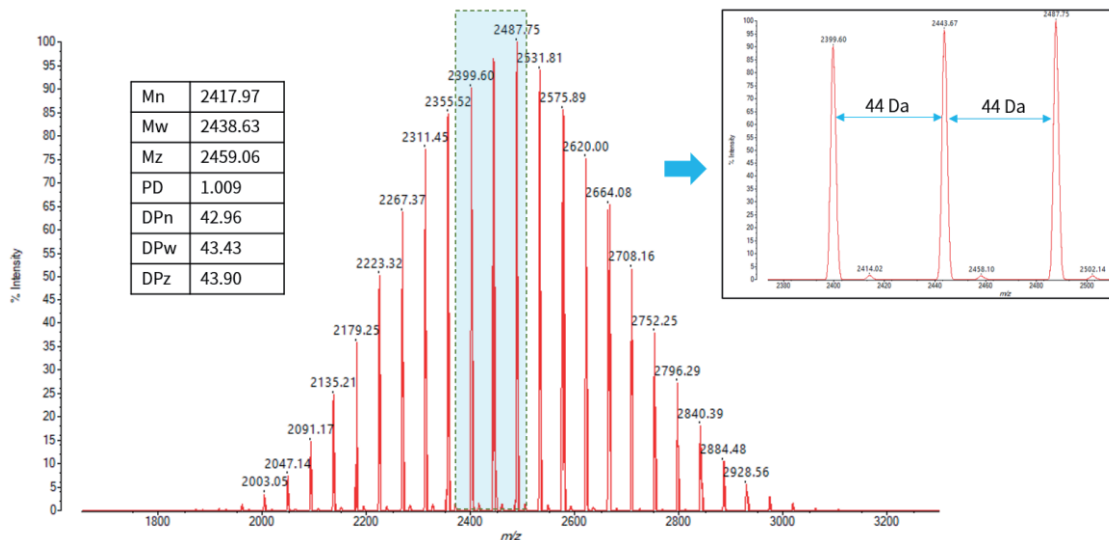


图 2 DMG-PEG2000 样品质谱图

Homopolymer Results Summary																
Series Label	Mn	Mw	Mz	PD	DPn	DPw	DPz	Percent Series	Alpha Spectrum	End Group	Repeat	Omega End Group	Charge State	Adduct	Loss	Series Formula
Total/Average	2417.966	2438.629	2459.058	1.009	42.963	43.433	43.897	100.00	100.00	CH30	C2H40	C31H59O4	1	Na		CH30 [C2H40] <sub>n</sub> C31H59O4 + Na
S1	2417.966	2438.629	2459.058	1.009	42.963	43.433	43.897	100.00	100.00	CH30	C2H40	C31H59O4	1	Na		CH30 [C2H40] <sub>n</sub> C31H59O4 + Na

图 3 Polymerix 软件分析结果

## ■ 结论

本文应用台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-8020 检测了 4 类不同类型的 LNPs 原料样品, 包括可电离脂质、中性辅助脂质、胆固醇与中性辅助脂质, 得到了具体的分子量分布及组成信息, 为 LNPs 原料的质量控制提供了依据。本方法操作简单、检测成本低、分析速度快, 结果直接、准确、可靠, 可作为 mRNA 药物及疫苗递送介质原料质控的参考。

岛津应用云

