

# 岛津生物兼容液相 Nexera Bio 联合蒸发光散射检测器测定 mRNA 递送介质 DMG-PEG2000 的含量

LC-258

**摘要：** 本文采用岛津生物兼容液相 Nexera Bio，建立了 mRNA 递送介质 DMG-PEG2000 脂质体含量测定的方法。该方法中，DMG-PEG2000 在 5~200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内线性良好，相关系数为 0.9982。精密度实验中，DMG-PEG2000 的保留时间 RSD% 为 0.06-0.20%，峰面积 RSD% 为 0.56-2.14%。实验结果表明，该方法能快速准确地测定 DMG-PEG2000 脂质体的含量。

**关键词：** Nexera Bio 脂质体 mRNA

mRNA 是带有负电荷的长链大分子，而细胞膜表面也带有负电荷，静电排斥使得 mRNA 分子较难穿过细胞膜进入细胞内。并且，因为 mRNA 分子是单链，本身极其脆弱，体内的多种酶都能将它迅速降解。mRNA 编码信息中涵盖了核糖体生成蛋白的序列，必须递送至细胞内才能编码蛋白。因此需要合适的递送介质将 mRNA 递送到细胞内部。

mRNA 疫苗 / 药物递送载体主要包括病毒载体和非病毒载体。病毒载体以慢病毒、腺相关病毒、仙台病毒等载体为主的病毒载体虽能进行核酸递送，但可能会因载体引起的免疫反应而受到限制，影响其应用。而非病毒载体主要包括脂质体、树突细胞、无机纳米粒子、阳离子细胞穿膜肽等。目前，脂质载体已成为递送 mRNA 最为有效的非病毒载体。目前，用于递送 mRNA 的非病毒载体中以脂质体应用的最为广泛，主

要包括阳离子脂质体复合物、脂质体聚合物、脂质体纳米粒、阳离子纳米乳等。

DMG-PEG2000 (1,2-二肉豆蔻酰-rac-甘油-3-甲氧基聚乙二醇) 是一种新型的 mRNA 疫苗 / 药物阳离子脂质体递送介质，随着新冠疫苗的火热研制而迅速蹿红被大家认识，该材料是通过 PEG 化修饰了一种短链脂质，DMG-PEG2000 的短链 (肉豆蔻酸, C14) 比 DSPE-mPEG2000 长链 (硬脂酸, C18) 半衰期小可更快降解，可降低脂质体与细胞间的相互作用。

DMG-PEG2000 的含量检测会对优化 mRNA 药物的给药方式，药效研究等具有重要意义。

本实验使用生物兼容液相 Nexera Bio 联合蒸发光散射器建立了 mRNA 递送介质 DMG-PEG2000 的含量测定方法，该方法分析速度快，准确度好。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

生物兼容液相系统 Nexera Bio，配置信息如下：

系统控制器：CBM-20A

自动进样器：SIL-20AC XR

输液泵：LC-20AD XR

脱气机：DGU-20A 3R

检测器：ELSD-LT II

色谱工作站：Labsolutions Ver. 5.98

### 1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack Scepter C4-300 (50 mm  $\times$  2.1 mm I.D., 1.9  $\mu\text{m}$ , 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 227-31175-03)

流动相 A: 10 mmol 三乙胺乙酸 (TEAA) 水溶液 (pH 7.0)

流动相 B: 10 mmol 三乙胺乙酸 (TEAA) 甲醇溶液 (pH 7.0)

流速: 0.5 mL/min

柱温: 55 $^{\circ}\text{C}$

进样体积: 10  $\mu\text{L}$

雾化气: 350 MPa

检测器温度: 40  $^{\circ}\text{C}$

检测器增益: 4 (x8)

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相起始浓度为 70%, 时间程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
2.00	泵	B Conc	70
6.00	泵	B Conc	100
14.00	泵	B Conc	100
14.10	泵	B Conc	70
18.01	控制器	Stop	

### 1.3 流动相和标准品配制

流动相 A: 取 10 mmol 的三乙胺于适量水中, 用乙酸调节 pH 至 7.0, 后稀释至 1000 mL 混匀, 超声脱气即得;  
 流动相 B: 取 10 mmol 的三乙胺于适量甲醇中, 用乙酸调节 pH 至 7.0, 后稀释至 1000 mL 混匀, 超声脱气即得;  
 对照品储备液制备: 称取标准品 5.09 mg, 用水溶解稀释成 5 mg/mL;  
 利用对照品储备液配制线性标曲, 浓度分别为 5, 10, 20, 50, 100, 200  $\mu\text{g/mL}$ 。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 标准曲线

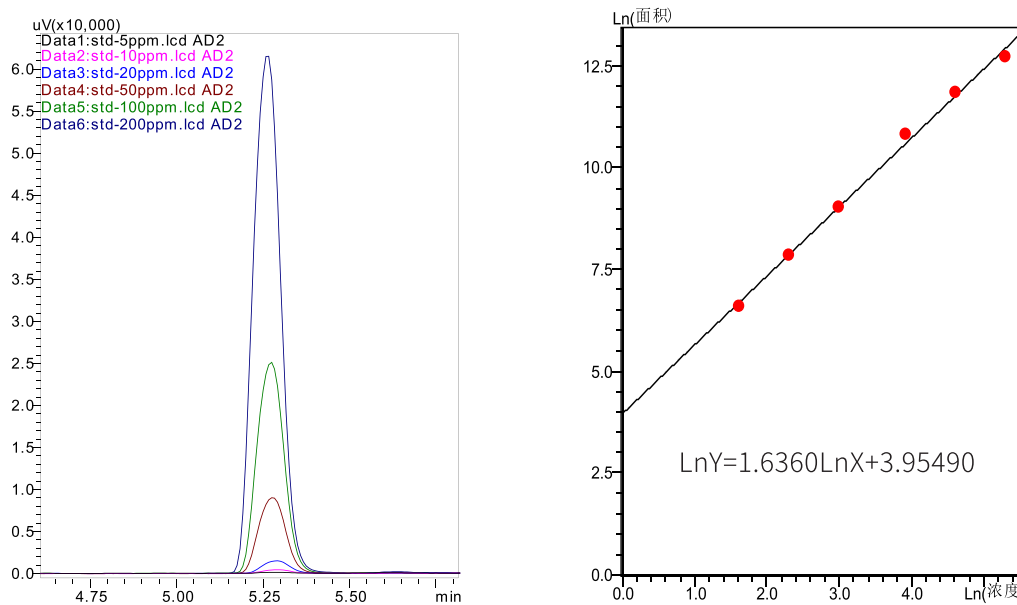


图 1 DMG-PEG2000 对照溶液 (5 ~200  $\mu\text{g/mL}$ ) 图谱 (左) 和 DMG-PEG2000 标准曲线 (右)

按 1.2 中的分析条件进行测定, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 采用外标法建立指数标准曲线, 结果如图 2 所示, DMG-PEG2000 在 5-200  $\mu\text{g/mL}$  线性浓度范围内, 线性相关性良好, 相关系数为 0.9982, 准确度为 89.3~114.2% (图 1)。

### 2.2 精密度实验

按照 1.2 分析条件测定, 选择浓度为 5、20 和 200  $\mu\text{g/mL}$  的 DMG-PEG2000 对照品溶液分别连续进样测定 6 次。DMG-PEG2000 的保留时间 RSD% 为 0.06-0.20%; 峰面积 RSD% 为 0.56-2.14%, 结果见表 2 所示。实验结果表明, 生物兼容液相系统 Nexera Bio 具有良好的精密度。

表 2 DMG-PEG2000 对照品溶液精密度实验结果 (n=6)

序号	5 µg/mL		50 µg/mL		200 µg/mL	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	5.285	667	5.252	48670	5.234	325037
2	5.279	638	5.255	47057	5.217	325328
3	5.269	636	5.256	49066	5.231	328397
4	5.271	648	5.256	47926	5.242	324382
5	5.275	641	5.257	49793	5.242	324062
6	5.297	626	5.262	47763	5.246	327871
平均值	5.279	643	5.256	48379	5.235	325846
RSD(%)	0.20	2.14	0.06	2.04	0.20	0.56

### 2.3 样品含量测定

将供试品 mRNA 疫苗制剂利用纯水稀释 50 倍后进样分析, 结果如表 3 所示。最终折算样品中 DMG-PEG2000 的含量为 1760 µg/mL。

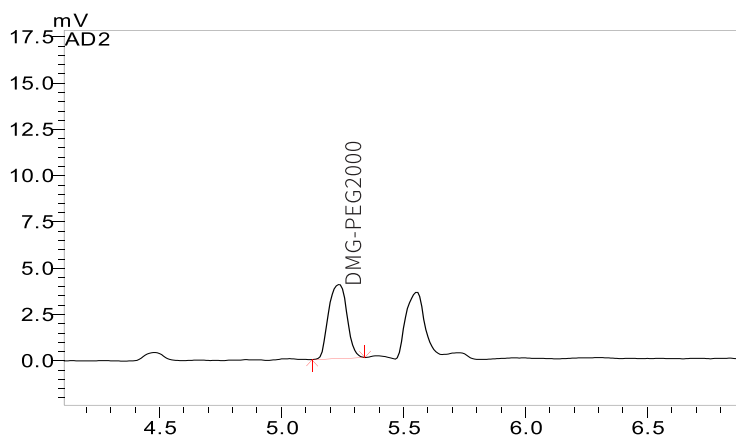


图 2 稀释后供试品溶液色谱图

表 3 mRNA 疫苗制剂中 DMG-PEG2000 含量测定结果

化合物名称	保留时间	峰面积	稀释后浓度 (µg/mL)	样品中 DMG-PEG2000 含量 (µg/mL)
DMG-PEG2000	5.236	21717	35.200	1760

### ■ 结论

本实验使用岛津生物兼容液相系统 Nexera Bio 联合蒸发光散射检测器, 建立了 DMG-PEG2000 的含量测定方法。结果表明, DMG-PEG2000 在 5~200 µg/mL 线性范围内线性良好, 相关系数为 0.9982。精密度实验中, 连续进样 6 针, DMG-PEG2000 的保留时间 RSD 为 0.06-0.20%; 峰面积 RSD 为 0.56-2.14%, 仪器精密度良好。该实验方法分析速度快, 准确性好。

岛津应用云

