

预防用 mRNA 疫苗药学研究技术指导原则
（征求意见稿）

国家药品监督管理局药品审评中心

2025 年 9 月

目 录

一、前言	1
二、模板设计、转录模板质粒构建和菌种种子批	3
(一) 目标抗原选择及设计	3
(二) mRNA 序列设计	5
(三) 模板质粒、种子批的建立和检验	6
1.重组质粒的构建和制备	6
2.种子批的建立与检验	7
3.模板质粒的制备与检验	7
三、生产工艺	8
(一) 一般要求	8
(二) mRNA 原液生产	10
1.生产用主要原材料	10
2.线性化转录模板的制备	11
3.mRNA 合成	12
4.mRNA 纯化	14
(三) 制剂处方及生产工艺	15
1.脂质辅料	17
2.mRNA 包封	19
3.mRNA-LNP 纯化	21
4.mRNA-LNP 冻干	21
5.特殊给药途径的制剂	22
四、质量研究	22

(一) mRNA 的结构分析和理化性质分析	23
(二) mRNA-LNP 的结构分析和理化性质分析	24
(三) 杂质分析	25
(四) 生物学活性研究	27
五、质量标准.....	28
(一) 转录模板	28
(二) mRNA 原液	29
(三) 制剂中间产物	30
(四) 半成品	31
(五) 成品	31
(六) 方法学研究和方法学验证	34
(七) 标准物质	36
六、稳定性研究.....	36
七、直接接触制品的包装材料和容器.....	37
八、平台技术产品研发的考虑	38
九、名词解释.....	39
十、参考文献.....	40
十一、缩略词列表.....	41

1 一、前言

2 mRNA 疫苗是一类将外源目的基因序列通过体外转录、修饰
3 等工艺制备为 mRNA，并通过一定递送系统导入机体细胞，在细
4 胞内表达目标抗原蛋白，从而激发机体产生特异性免疫反应以获
5 得免疫保护的核酸制剂。

6 mRNA 疫苗具有以下特点：（1）可在体内表达目标抗原蛋
7 白；（2）能够刺激免疫系统产生体液免疫和/或细胞免疫应答，
8 发挥相应的预防或治疗作用；（3）常用的递送系统在发挥递送
9 作用的同时，具有一定佐剂样功能；（4）mRNA 可通过细胞的
10 正常代谢途径降解。

11 mRNA 疫苗通常需采用较为复杂的制剂系统，其药学研发和
12 生产控制涉及多方面特殊考量，包括：（1）mRNA 序列设计对
13 其稳定性、表达效率、翻译准确性与免疫原性均可能产生影响，
14 需对目标序列的设计及密码子优化、关键元件的选择及优化、核
15 苷酸的化学修饰等方面开展充分的研究；（2）制剂组成、结构和
16 工艺具有特殊性，涉及递送系统的结构多样性、安全性和递送效
17 率，以及 mRNA-脂质纳米颗粒的结构复杂性等，需要通过经确
18 认的考察指标进行制剂处方组成、生产工艺的优化以及控制策略
19 的建立；（3）如涉及新免疫调节组分表达和/或新辅料的使用，
20 必要时，需要开展单独的安全性研究；（4）正在开发的 mRNA
21 疫苗包括非复制型、自复制型、环状 RNA 等，不同类型 mRNA

22 的作用机制、产品特性等存在显著差异，且研发进展及技术平台
23 成熟度亦不相同，需根据临床需求选择适宜的 mRNA 类型，并
24 基于产品特性和工艺特性开展相应研究。

25 近年来，随着 mRNA 技术在预防用生物制品中的应用不断
26 扩展，此类产品在生产工艺、质量属性及其对产品安全性和有效
27 性影响等方面积累了更多数据。同时，mRNA 技术路线的各项关
28 键技术要素（如生产及检测设备、原辅料、检测方法等）迅速发
29 展。基于上述进展，药审中心对《新型冠状病毒预防用 mRNA 疫
30 苗药学研究技术指导原则（试行）》的基本要求进行更新，并增
31 加了自复制型 mRNA 疫苗、环状 RNA 疫苗的相关研究要点。

32 预防用 mRNA 疫苗的递送系统主要包括但不限于以下类型：

33 （1）基于脂质的递送系统，如脂质纳米颗粒（lipid
34 nanoparticle,LNP）、脂质体（liposome）和脂质复合物（lipoplex）
35 等；（2）基于聚合物的载体系统，如多聚体（polyplexes）、纳
36 米粒等；（3）基于脂质和聚合物的复合载体系统，如脂质多聚体
37 （lipopolyplex）等。基于目前研发及申报现状，本指导原则适用
38 于以 LNP 为基础的非病毒递送系统，如采用其他类型递送系统，
39 在借鉴本指导原则时还需根据产品相关特点和属性开展相应研
40 究。

41

42 二、模板设计、转录模板质粒构建和菌种种子批

43 (一) 目标抗原选择及设计

44 目标抗原的选择是 mRNA 疫苗设计的起点,其氨基酸序列、
45 结构特征及免疫功能决定了疫苗诱导免疫应答的类型和强度。除
46 目标抗原序列设计外,抗原设计可能还包括影响抗原蛋白亚细胞
47 定位的信号肽筛选、预期空间构象的序列改构或位点突变、为调
48 节免疫反应进行的序列融合或辅助组分序列引入等,在产品开发
49 时应开展相关序列的筛选和研究工作。

50 应进行抗原设计的相关工作验证,如无法开展蛋白层面的验
51 证工作,可结合临床前非临床研究、体外功能实验等,综合评估
52 不同抗原序列选择及设计对免疫反应的适用性及优势,如对免疫
53 类型、强度、偏向性(Th1/Th2 免疫偏倚)、抗体依赖的免疫增
54 强(ADE)效应、疫苗相关增强性疾病(VAED)等的潜在影响。
55 应基于相关疫苗的先验知识(如已明确目标抗原的免疫原性依赖
56 于构象依赖性表位的呼吸道合胞病毒等)、非临床研究的风险信
57 号提示、结构确证分析的可行性等综合研判,在必要的情况下开
58 展目标抗原的结构、表位及组成等的研究确证。

59 抗原来源与序列信息,应明确目标抗原来源及理论序列(氨
60 基酸序列和对应的 mRNA 核苷酸序列),并结合生物信息学工
61 具分析其与流行病原体的序列同源性。

62 表达产物的结构与功能分析,应提供抗原蛋白分子量、等电

63 点、二硫键（如有）、翻译后修饰位点（如有）等理论预测信息。

64 建议结合已有研究或非临床研究数据等，说明该抗原蛋白是否能

65 够诱导中和抗体、激活 T 细胞应答或其他特异性免疫反应。

66 表达产物定位信息及对应的信号肽设计，应基于抗原蛋白的

67 亚细胞定位（胞外、膜结合、胞内）对其免疫原性的影响，结合

68 抗原特性和预期免疫应答类型，合理设计信号肽以引导其分泌或

69 膜定位。说明所选信号肽的来源与功能验证情况，提供表达产物

70 的细胞定位研究数据。

71 除目标抗原外，若引入其他共表达组分，包括提高蛋白表达

72 或稳定抗原构象的插入序列、免疫原性刺激和/或抑制的辅助蛋

73 白或细胞因子等，应进行全面评估，仅在提供充分科学证据、验

74 证其对疫苗有效性有明确获益且安全风险可控的前提下，方可将

75 此类共表达组分纳入产品设计。应对其功能和选择依据、表达策

76 略（融合表达、单独表达）进行阐述，并提供其与抗原 mRNA 的

77 剂量比例、表达水平、生物活性等研究数据，系统研究分析其对

78 免疫应答强度、偏向性、炎症程度、毒理风险的可能影响。若采

79 用融合表达策略，应评估融合设计对目标抗原空间构象、关键表

80 位暴露及其免疫原性的潜在影响，建议开展融合蛋白的结构和功

81 能表征研究（如质谱鉴定、抗原表位验证、功能活性分析等）。

82 若采用单独表达策略，应分别评估各表达产物的表达效率、生物

83 活性及免疫学效应，关注相互作用可能带来的协同或干扰作用。

84 若共表达组分尚无充分的先验知识，建议根据其功能、类别开展
85 必要的非临床研究，对其安全性、有效性、共表达的合理性及必
86 要性等进行系统评估。

87

88 (二) mRNA 序列设计

89 在目标抗原设计的基础上，mRNA 序列设计是另一个影响疫
90 苗表达效率、稳定性、免疫原性或反应原性的重要环节。应基于
91 抗原表达需求、预期免疫应答类型及体外转录工艺特点，系统开
92 展目标抗原 mRNA 序列与功能性元件的优化与功能验证。

93 目标抗原 mRNA 序列，如对编码目标抗原的 mRNA 序列进
94 行了序列改构或序列优化（如密码子优化、GC 含量调整等），
95 均应提供详细的设计依据和目的（如提高 mRNA 翻译效率、降
96 低先天免疫原性、增加稳定性等）。应提供结构示意图等，并对
97 基因修饰或序列改构的利弊进行权衡分析，提供支持性研究数据。

98 除目标抗原 mRNA 序列外，需提供其功能性元件的来源、
99 设计及确认研究结果，如帽子 (Cap)、非编码区 (UTR)、Poly(A)
100 尾结构及长度、核苷三磷酸 (NTP) 类型及其修饰信息（如 N1-
101 甲基假尿苷）等。同时，说明各功能元件对 mRNA 稳定性、翻译
102 效率、免疫原性的影响，以及设计优化的依据和实验验证结果。
103 如采用修饰核苷酸，应明确修饰核苷酸的类型及选用依据、修饰
104 比例等，除免疫原性外，需评估其对 mRNA 翻译准确性的潜在
105 影响。

106 对于自复制 mRNA,应对体外转录模板设计中额外含有的编
107 码 mRNA 复制酶的相关基因及其调控元件进行阐述,说明其来
108 源、调控方式及复制毒性控制相关的设计策略。建议评估复制酶
109 表达及功能,关注 mRNA 复制动力学,尤其是对 dsRNA 可能累
110 积风险的提示等。

111 对于环状 RNA,应重点阐述转录模板中为实现高效环化引
112 入的自剪接序列或酶促连接位点,以及控制翻译起始的序列元件
113 (如 IRES 或 IRES-like 序列)等,并验证翻译效率及结构准确
114 性。

115

116 (三) 模板质粒、种子批的建立和检验

117 经细菌发酵、纯化获得模板质粒并对其进行线性化处理是目
118 前常用的生产方式,建议至少将线性化质粒的生产作为产品生产
119 工艺的起始阶段。无论模板质粒划分为起始物料还是生产工艺,
120 均应符合 GMP 相关要求,确保其在源头环节具备质量可控性、
121 工艺稳定性与批次可追溯性。如转录模板采用无细胞酶促合成策
122 略制备,需基于工艺特性等开展相关研究及控制。

123 1. 重组质粒的构建和制备

124 明确构建重组质粒的表达载体来源,对载体的控制元件和选
125 择标记的序列与功能进行阐述,如:转录启动子、抗生素抗性标
126 记等。抗生素使用应符合《中华人民共和国药典》的相关要求。
127 应提供构建和制备重组质粒的详细信息和步骤、鉴定及其确证方

128 法，并对用于生产目标 mRNA 分子的全长核苷酸序列进行确认
129 分析。

130

131 2.种子批的建立与检验

132 按《中华人民共和国药典》相关规定或与国际通行要求建立
133 种子批系统，并提供完整的检验报告及可追溯的批次记录。

134 明确所用宿主菌株的来源、基因型、表型特征，提供目标克
135 隆筛选和验证的流程及相关研究数据。经转化条件优化后，将合
136 格的目标质粒转化至适宜的工程菌，经克隆筛选后建立种子批系
137 统。说明各级种子批的制备规模、保存条件、扩增条件。

138 种子批的检验应保证其无外源因子污染及目标基因序列和
139 相关功能元件的准确性，包括细菌形态学、培养物纯度、质粒限
140 制酶切图谱、目标基因和其他元件测序（如 poly(A)尾等）、工程
141 菌活性、质粒保有率、质粒超螺旋比例、质粒拷贝数、抗生素抗
142 性等。

143 开展种子批贮存稳定性和传代稳定性考察，对 poly(A)尾等
144 进行稳定性分析，通过贮存稳定性研究确定种子批的保存条件，
145 根据传代稳定性研究明确各级种子批的限定传代次数。

146

147 3.模板质粒的制备与检验

148 模板质粒的生产工艺通常包括发酵、收菌、裂解和纯化等工

149 艺步骤，应提供其生产工艺、质量研究、质量控制等研究资料，
150 并应建立完整的批记录以保证可追溯性。应对关键工艺参数及其
151 控制范围进行确认，建立相应的过程控制检测标准，包括序列准
152 确性、超螺旋比例、杂质残留等，并进行充分表征研究及质量控
153 制。制定覆盖关键质量属性的质量标准，主要包括：鉴别、浓度
154 /含量、测序、杂质（如宿主菌 DNA、宿主菌 RNA、宿主蛋白残
155 留、抗生素残留等）、超螺旋比例、poly(A)尾长度及分布、内毒
156 素和微生物限度等。

157 如需贮存，应明确其贮存条件、贮存方式并进行相关支持性
158 研究。

159

160 三、生产工艺

161 （一）一般要求

162 工艺开发应基于质量源于设计（Quality by Design, QbD）的
163 理念，并结合科学合理的试验设计方法，通过风险评估来识别并
164 逐步确定目标产品关键质量属性（Critical quality attribute, CQA），
165 及其与关键物料属性（Critical Material Attribute, CMA）和关键
166 工艺参数（Critical Process Parameter, CPP）之间的关系，进而构
167 建工艺设计空间，确立生产工艺及工艺过程控制策略，并根据对
168 产品理解的不断加深及新知识、新经验的积累持续优化更新。

169 非临床研究批次与临床研究批次相比应具有一定的代表性。

170 临床研究批次的制备工艺应具备一定规模，并具有一定的生产连
171 续性、工艺稳健性和放大可行性。生产的连续性和可控性可结合
172 开发阶段、先验知识、工艺成熟度、过程检测充分性等多方面综
173 合评价。产品开发进程中应不断积累数据，持续确认工艺的一致
174 性和可控性。建议确证性临床用样品采用与拟上市产品一致的生
175 产工艺和规模，对于临床期间的变更，需参照国内外相关指导原
176 则进行充分的可比性研究。

177 上市申报前应确定关键工艺参数，建立覆盖全流程的生产工
178 艺过程控制策略，包括工艺操作参数控制、中间产品质量属性以
179 及相应的检测方法等，并进行全面的商业化规模生产工艺验证。
180 工艺验证内容一般包括工艺的一致性、关键参数的稳健性、产品
181 相关杂质和工艺相关杂质的去除、产品质量属性批间一致性等。
182 执行工艺验证时，除常规的过程控制及放行检测项目外，应适当
183 增加取样节点和测试项目，以考察工艺过程控制、中间产物及最
184 终成品的一致性及工艺稳健性。应持续关注关键物料属性、关键
185 工艺参数控制的稳健性等，以及其对产品关键质量属性的影响。

186 原液和制剂生产过程中原则上应避免使用人源或动物源性
187 材料。如果使用人源或动物源物质，应符合《中华人民共和国药
188 典》相关规定和/或参照 ICH Q5A 等技术指南提供外源因子安全
189 性评估。

190

191 (二) mRNA 原液生产

192 mRNA 原液的生产工艺通常包括 DNA 模板线性化、mRNA
193 体外转录合成、DNA 模板消化去除、mRNA 纯化等步骤。根据
194 反应机制的不同，非复制及复制型 mRNA 的加帽和/或加尾、环
195 状 RNA 的环化可在转录过程中同步进行，也可在转录后作为单
196 独的工艺步骤实施。

197 应明确生产工艺流程，提交流程图，说明各工艺步骤的目的、
198 工艺流程步骤、过程控制策略、物料流转路径及中间产物情况等。
199 应提供原液生产各工艺步骤的研究内容，探索和优化工艺参数，
200 阐明关键工艺参数及其对关键质量属性的影响，建立稳定、可控
201 的工艺流程，并制定相应的过程控制策略。

202 1.生产用主要原材料

203 生产用原材料应符合《中华人民共和国药典》相关规定和/或
204 与国际通行要求一致。应提供关键原材料的来源、用途、关键质
205 量属性、质量标准及检验报告等，重点关注原材料的纯度、杂质
206 控制、批间一致性、使用过程中的稳定性以及商业化规模的放大
207 可行性。

208 除转录模板外，应提供以下主要原材料的来源、质量标准及
209 检验报告，包括：用于体外转录的核苷酸和修饰核苷酸、5'-帽类
210 似物、用于 mRNA 体外合成使用的各种酶（如 RNA 聚合酶、
211 DNase、加帽反应过程中添加的酶、RNA 环化使用的连接酶及

212 RNase R 等)、缓冲液、生产过程中使用的反应及纯化介质(层
213 析柱、磁珠、过滤膜)、溶剂等。

214 生产过程中使用的反应及纯化介质(层析柱、磁珠、过滤膜)
215 应具有稳定的物理和化学特性,且与直接接触的溶液、中间产物
216 等具有良好的相容性。

217 对于采用重组技术或生物/化学合成技术自行制备的生产用
218 原材料(如 RNA 聚合酶、焦磷酸酶、RNA 酶抑制剂等),需提
219 供相应的生产工艺和质量研究资料。对于生产中使用的各种酶,
220 应对酶的特异性、保真度(如适用)、酶活性等予以控制,并考
221 察其稳定性,开展 RNA 聚合酶对 dsRNA 含量影响的研究。

222 对于 5'-帽类似物、核苷酸和/或修饰核苷酸等关键原材料,
223 应说明其结构、选择依据并提供相应研究数据,其质量标准应含
224 有可充分表征产品相关杂质的纯度检测,如采用质谱、核磁、
225 HPLC 等方法。对于上述生产用原材料应严格控制核酸酶、金属
226 离子等残留量及其污染的可能性,评估其对 mRNA 转录效率、
227 杂质产生及后续包封效率的影响。

228

229 2.线性化转录模板的制备

230 如采用酶切线性化工艺制备转录模板,应系统研究并优化相
231 关工艺参数,包括:模板质粒浓度、限制性内切酶的类型与用量、
232 孵育时间和反应温度等。应对转录模板制备的关键工艺参数及其

233 控制范围进行确认，并建立相应的过程控制检测标准，如线性化
234 效率（如适用）、模板浓度、序列准确性、纯度以及杂质残留等。

235

236 3.mRNA 合成

237 提供详细的 mRNA 合成工艺步骤，并对关键工艺参数及其
238 控制范围进行研究与确认，包括：

239 （1）体外转录工艺，应提供缓冲体系组成、RNA 聚合酶类
240 型及其浓度、NTP 浓度及比例、帽类似物类型及浓度（如适用）、
241 反应时长与温度、终止反应条件等工艺参数及其研究数据，重点
242 考察序列准确性与完整性、加帽率、dsRNA 含量、poly(A)尾长度
243 及分布等。

244 （2）加帽工艺（如为单独的工艺步骤），应提供 mRNA 预
245 变性条件（如预热温度与时间）、加帽反应缓冲体系、关键物料
246 （如加帽酶、鸟苷三磷酸、S-腺苷甲硫氨酸、RNA 酶抑制剂、甲
247 基转移酶等）的投料比与补料方式、反应时长和温度等工艺参数
248 及其研究数据。如需进行去磷酸化处理，应提供磷酸酶浓度、反
249 应温度、反应时间等工艺参数及其研究数据。应对工艺过程中加
250 帽效率、潜在的 mRNA 降解、序列完整性、不同加帽结构（如
251 Cap-0、Cap-1、Cap-2 等）及其比例等进行研究和确认。

252 （3）加尾工艺，目前多采用共转录加尾工艺，即在转录模
253 板中预先设计 poly（T）序列以实现 poly（A）的同步转录。如采

254 用转录后酶促加尾法，应对反应时间与温度、poly(A)聚合酶浓度
255 和 ATP 浓度等工艺参数进行研究，重点考察 poly(A)尾的长度分
256 布、加尾效率及含尾 mRNA 的比例，确保 poly(A)尾的功能性与
257 均一性。

258 (4) DNA 酶处理工艺，应明确用于去除转录模板的核酸酶
259 类型、酶浓度、处理时长和温度、终止反应条件等，并提供相关
260 研究数据。开展转录模板去除效率相关研究，建立转录模板残留
261 的检测方法并设定控制限。

262 (5) 环化工艺(如适用)，若采用核酶介导的自剪接环化策
263 略，应明确反应缓冲体系、RNA 聚合酶浓度、反应时长和温度、
264 核苷酸浓度、终止反应条件等参数；若采用蛋白连接酶介导的环
265 化策略，应明确投料浓度和比例(如夹板寡核苷酸(如适用)、
266 RNA 底物、连接酶)、反应时长和温度、反应缓冲体系、终止反
267 应条件等。环化工艺应关注环化效率，分析环化过程中产生的杂
268 质种类并控制其残留量。对于核酶介导的环化体系，杂质包括未
269 环化的前体线性 RNA (precursor RNA)、环化过程中产生的非
270 目标 RNA (如自剪切产生的小片段内含子 RNA、未反应完全的
271 中间体 RNA 和较大尺寸多联体 RNA 等)以及开环异构体切口
272 RNA (nicked RNA) 等；对于连接酶介导的环化体系，杂质包括
273 未连接的前体线性 RNA、非特异连接的多联体 RNA (线性或环

274 状)、投入的夹板寡核苷酸残留(如适用)以及开环异构体切口
275 RNA 等。

276 应对上述工艺步骤产物进行产品相关杂质的确认,并建立必
277 要的过程控制检测,如加帽率(如适用)、poly(A)尾产物长度及
278 分布(如适用)、mRNA 序列完整性及准确性、mRNA 产物浓度、
279 杂质类型及残留量等;对于环状 RNA,应额外进行环化效率等
280 控制。

281

282 4.mRNA 纯化

283 在产品开发过程中,应明确 mRNA 生产过程中潜在产品相
284 关杂质与工艺相关杂质的来源,并逐步建立系统的杂质谱,基于
285 工艺特性及产品特性合理选择纯化策略。明确各纯化工艺步骤的
286 目的和作用,确定关键工艺参数及过程控制策略,系统评估各纯
287 化工艺步骤对杂质去除率和 mRNA 回收率的影响,开展相关研
288 究及验证,以确保杂质控制的有效性和工艺的批间一致性。如采
289 用蛋白酶(Proteinase)与超滤浓缩工艺,应对蛋白酶添加量、反
290 应时长和温度等进行优化,保证有效去除蛋白质残留的同时评估
291 其对 mRNA 结构完整性的影响,并对蛋白酶残留进行质控。如
292 采用柱层析纯化工艺,应对介质选择依据、动态载量以及杂质去
293 除率等进行研究,需要明确配基来源(合成或生物),关注和评
294 价填料的稳定性和配基脱落情况等。

295 对于自复制 mRNA 疫苗，由于其序列长度明显增加，应在
296 纯化工艺开发及验证中对 mRNA 完整性等予以重点关注。

297 对于环状 RNA 疫苗，因未环化的前体线性 RNA、环化中间
298 体 RNA、开环异构体切口 RNA 等产品相关杂质与目标环状 RNA
299 分子量相近，分离难度大，且部分杂质（如，未经处理的残留 5'
300 三磷酸线性 RNA）可能引发天然免疫激活反应，在纯化工艺开
301 发及验证中应确保相应杂质得到有效去除及有效控制，并结合最
302 终产品的天然免疫激活水平予以确认。纯化工艺中如果使用
303 RNase R 富集环状 RNA 分子，考虑 RNase R 的非特异性切割，
304 应对 RNase R 添加量、反应缓冲体系、反应时长等进行优化，考
305 察上述工艺参数对于环状 RNA 富集效果、非特异性切割引入新
306 杂质、RNase R 残留等的影响。

307

308 （三）制剂处方及生产工艺

309 制剂处方、生产设备及工艺参数是影响 mRNA-LNP 结构形
310 态、关键质量属性、递送效率、生物学活性等的关键因素，应在
311 产品早期研发阶段加强制剂处方及生产工艺的科学系统优化，通
312 过在不同工艺步骤和稳定性考察阶段取样进行质量研究，加深对
313 产品工艺特性以及关键质量属性和产品安全有效性的关联性
314 关联程度的理解。加强制剂工艺研究，建立科学合理的过程控制

315 体系和质量标准，确保 mRNA-LNP 在结构均一性、稳定性及批
316 间一致性方面具备良好表现。

317 应提供完整的制剂处方及其确定依据，明确制剂处方中每种
318 组分的功能、含量及其选择依据。可结合前期平台知识，通过不
319 同制剂处方和工艺条件的探索研究，基于 mRNA 与 LNP 之间的
320 相互作用、递送效率、生产工艺可控性与稳健性等筛选和确定初
321 步的制剂处方。通过非临床研究及早期临床研究进一步确定抗原
322 含量，并在确证性临床中予以验证。拟上市产品的制剂处方（包
323 括配制点浓度、规格等）应与确证性临床用样品一致。

324 制剂工艺开发应提供系统的研究资料，建议以关键质量属性
325 为考察指标对制剂关键工艺步骤及工艺参数控制范围的合理性
326 进行全面研究及确证，如包封率、粒径大小及分布、载药量、脂
327 质组分、氮磷比（可质子化的氨基与 mRNA 的磷酸基团的摩尔
328 比）与目标理论值的一致性。工艺开发及放大过程中应充分考
329 虑流体混合动力学、生产规模的可放大性与批间一致性，关注生
330 产时长、流速及压力等对产品关键质量属性的影响，合理选择工
331 艺设备并优化工艺参数，确保产品质量的可控性与稳定性。

332 LNP 的开发及优化应综合考虑脂质辅料的组分类型（如可电
333 离脂质、聚乙二醇脂质、辅助脂质）、结构特性、含量及比例（如
334 氮磷比、脂质辅料摩尔比等）等对产品安全性和有效性的影响。

335

336 1.脂质辅料

337 mRNA 疫苗的递送系统对 mRNA 包载、释放、稳定性、免
338 疫原性及安全性等发挥重要作用。常见的 LNP 递送系统通常由
339 可电离脂质、辅助脂质、胆固醇、聚乙二醇脂质组成，应提供脂
340 质辅料的选择依据、来源（天然或化学合成）、生产用原材料、
341 生产工艺、杂质谱特征及控制策略、表征研究、质量标准和稳定
342 性等研究资料。

343 建议对用于 LNP 制备的脂质辅料开展工艺研究和优化，提
344 高工艺稳健性，开展不同批次脂质辅料对 mRNA-LNP 包封效率、
345 纯度和粒径均一性等方面的研究，以确保 mRNA-LNP 的批间一
346 致性和质量可控性。

347 脂质辅料应进行结构确认(如采用红外、核磁、质谱等方法)、
348 纯度/含量测定、相关杂质（如工艺杂质、副产物以及储存过程中
349 可能产生的降解/氧化杂质、重金属等）、安全性指标（如内毒素、
350 微生物限度）等的质量研究及质量控制。应对脂质辅料、mRNA-
351 LNP 及相应稳定性研究样品开展质量研究，系统分析贮存期间及
352 不同条件下脂质杂质的变化趋势，对相应杂质进行鉴别、结构解
353 析与归属研究，并分析其对产品质量、安全性和有效性的影响。
354 考虑到可电离脂质分子结构直接影响 mRNA-LNP 的体内代谢动
355 力学和细胞毒性，在筛选及研究中除药学评价指标外，需结合非
356 临床研究数据进行综合评估。对于具有手性中心的可电离脂质，

357 建议根据 ICH Q6B 等指南开展其对映异构体纯度对安全性、转
358 染效率和 mRNA-LNP 质量控制影响的研究，必要时应建立不同
359 手性异构体比例的质量标准。对于聚乙二醇脂质，应关注聚乙二
360 醇链长度、连接方式（如酯键、酰胺键等）、聚合度、端基脂质
361 的取代率等结构信息，建议关注其对 mRNA-LNP 稳定性、递送
362 效率、免疫原性的影响。

363 对于已商品化的脂质辅料，除提供上述药学研究资料外，如
364 其已在国内外产品中使用，可提供相应已完成的非临床研究和人
365 体使用的安全性研究数据等作为支持性信息。鉴于不同脂质辅料
366 生产商的工艺、杂质谱可能存在差异，建议尽早确定脂质辅料的
367 生产商（尤其是可电离脂质、聚乙二醇脂质等），在脂质辅料首
368 次选用、供应商变更、生产工艺发生重大变更时，建议对脂质辅
369 料进行全面的质量研究，积累相关研究数据，确保变更对产品质
370 量不会产生不利影响，必要时开展非临床/临床研究。

371 对于尚未在国内外产品中使用的新型脂质辅料，应参照《新
372 药用辅料非临床安全性评价指导原则》对其作用原理、CMC 信
373 息（包括供应商、生产工艺、质量研究等）、安全性及其功能效
374 应进行详细的研究。提供脂质辅料结构设计的依据（如头部基团、
375 连接片段、疏水性尾部等）及相关研究数据，并说明与已上市产
376 品所用脂质结构的异同；生产工艺方面，提供各工艺步骤的目的、
377 工艺流程、工艺参数探索和优化研究数据、杂质去除效率等；质

378 量研究方面，除涵盖脂质辅料常规质控指标外，同时应关注脂质
379 降解杂质、其与 mRNA 和其他脂质组分相互作用等；安全性研
380 究方面，包括潜在毒性、可降解性、与其他化合物分子的反应性
381 及潜在新化合物的安全性和代谢分解能力；有效性研究方面，建
382 议涵盖新型脂质分子体内外递送 mRNA 效果、体内组织器官靶
383 向性以及体内递送后免疫原性等方面；鼓励开展新脂质理化及结
384 构特征（如支链疏水性或电荷性、形成 LNP 的粒径大小及分布
385 等）对疫苗生物学活性的影响、构效关系等研究。

386

387 2.mRNA 包封

388 以 LNP 为递送系统，其包封过程一般通过可电离脂质在酸
389 性条件下与辅助脂质以及 mRNA 共同自组装形成核壳结构。

390 mRNA 包封工艺通常将溶解于有机相中的脂质辅料与溶解
391 在水相缓冲液中的 mRNA 以特定方式混合，诱导纳米颗粒的自
392 组装。应对递送系统配方和包封工艺流程进行筛选和优化，研究
393 配方、包封关键工艺参数、包封设备对关键质量属性的影响。明
394 确包封工艺设备原理、生产商等，并提供设备相关参数（如管道
395 直径、管路形态设计等）。应以关键质量属性为考察指标，对包
396 封工艺进行研究和优化，确定关键工艺参数、控制范围及其制订
397 依据，建立适当的中间过程控制策略（如监测包封过程的电导、
398 压力及流速等）。mRNA 包封工艺的关键工艺参数包括但不限于：

399 物料浓度（如 mRNA 和脂质辅料浓度）、物料配比（如氮磷比、
400 脂质摩尔比等）、混合流速和流速比、稀释缓冲液组分及稀释倍
401 数等。应关注 mRNA-LNP 形成过程及后处理工艺过程对 mRNA-
402 LNP 质量特性（如形态、聚集度、粒径大小及分布、mRNA 完整
403 性）以及稳定性的影响，同时建议关注氮磷比、表面电位等与
404 mRNA 稳定性、转染效率、表达效率之间的关系。

405 含有一种以上目标 mRNA 分子的疫苗可能存在多种设计方
406 式，如序列串联、马赛克序列、LNP 分别包封不同 mRNA 后再
407 混合（先包后混工艺）、不同 mRNA 原液混合后包封（先混后包
408 工艺）等。对于后两种情形，应基于序列设计、产品属性等选择
409 适宜的工艺路线，评估不同设计方式对包封效率（如 mRNA 序
410 列长度、荷电量等对包封时序列选择性的影响）、关键质量属性
411 （如粒径大小及分布等）以及生物学活性（特异性免疫及共同免
412 疫应答）的影响，重点关注制剂均一性、各组分的相容性及稳定
413 性。建立各目标 mRNA 的含量、生物学活性等关键指标的分型
414 质控标准。

415 对于自复制 mRNA，如果编码复制酶的 mRNA 序列和表达
416 目标抗原的 mRNA 序列设计在不同分子上，应考虑不同 mRNA
417 序列对包封效率、关键质量属性、表达效率及半衰期的影响，基
418 于实现自复制特性合理选择包封工艺。

419

420 3.mRNA-LNP 纯化

421 mRNA-LNP 纯化通常采用超滤换液工艺，应对超滤系统（中
422 空纤维或膜包）、缓冲液组分及浓度、工艺参数（压力、剪切力、
423 浓缩换液倍数）等开展研究，建立适当的中间过程控制（包括粒
424 径大小及分布、包封率等）。提供工艺相关杂质和产品相关杂质
425 去除效果的相关研究资料。

426 提供各工艺步骤添加的缓冲液、pH 等信息，在工艺开发及
427 验证过程中应对不同制剂阶段（包封、超滤过程、除菌过滤后）
428 关键质量属性（如包封率、Zeta 电位、粒径大小及分布、颗粒形
429 态等）进行动态检测，通过 mRNA-LNP 关键质量属性及颗粒形
430 态等的变化，进一步阐述与论证 mRNA-LNP 的形成过程及作用
431 机制。

432

433 4.mRNA-LNP 冻干

434 对于采用冻干剂型的产品，应系统开展冻干保护剂、缓冲体
435 系及复溶介质的筛选研究，并对冻干工艺进行充分评估。开展冻
436 干工艺对产品质量属性影响的研究，特别是冻干前后 mRNA-
437 LNP 关键理化特性（如粒径大小及其分布、包封率、结构特征等）
438 和生物学活性等的比较研究，并结合 mRNA-LNP 稳定性等论述
439 剂型选择的合理性。应基于产品特性拟定适宜的冻干曲线，并明
440 确关键工艺参数及其控制范围。

441 此外，为确保最终制剂的安全性和有效性，还应确保冻干前
442 样品具备良好的质量稳定性及工艺可控性，以提高冻干产品复溶
443 后的结构完整性与关键质量属性的一致性。

444

445 5.特殊给药途径的制剂

446 如采用肌肉注射外的其他给药途径（如吸入、鼻喷等），应
447 根据其特性及作用机制等对制剂处方及生产工艺开展针对性研
448 究，关注 mRNA-LNP 粒径大小及分布、包封率、完整性等关键
449 质量属性是否可满足相应给药途径要求，并评估给药过程中可能
450 存在的剪切力等对 mRNA-LNP 关键质量属性、稳定性、安全性
451 的影响。

452 如采用微针制剂，除开展微针本身机械强度、皮肤穿刺能力、
453 以及递送效率等药物递送属性的研究外，需进一步评估 mRNA
454 分子、脂质辅料与微针基质辅料的相容性，关注微针制剂工艺、
455 释放、运输、贮存过程中对 mRNA-LNP 关键质量属性、颗粒形
456 态、含水量、释放效率等的影响。

457

458 四、质量研究

459 mRNA 疫苗质量研究通常包括结构特征、理化性质、纯度、
460 杂质（工艺相关杂质及产品相关杂质）、生物学活性以及免疫学
461 特性等方面。

462 质量研究需选择具有代表性批次（如非临床研究批次、临床
463 研究批次、商业化工艺批次）和/或适当生产阶段的样品作为研究
464 对象。

465 鼓励根据产品自身特点，开发更先进的分析方法，同时应关
466 注取样样品的代表性、样品的处理和分析过程，避免预处理等分
467 析过程对产品质量产生影响，导致分析结果无法反映样品的实际
468 质量。由于 mRNA-LNP 的结构特性和微观形态等可能影响产品
469 的安全性和有效性，而现有 mRNA 疫苗放行质量标准尚不能充
470 分表征 mRNA-LNP 结构特征等，建议结合多种互补分析技术、
471 从不同维度进行质量研究，提供尽可能全面的信息以反映样品的
472 质量属性，积累并分析 mRNA-LNP 形态结构及稳定性等属性与
473 疫苗安全性和有效性的关系。

474 （一）mRNA 的结构分析和理化性质分析

475 mRNA 质量特性研究主要包括物理特性（如外观、pH 等）、
476 核酸序列正确性（包括编码序列及影响翻译表达效率的关键元件，
477 关注插入/缺失/点突变情形）、mRNA 含量、mRNA 完整性、mRNA
478 聚集体、帽子结构及加帽率（如适用）、poly(A)尾长度及分布（如
479 适用）、含有 poly(A)尾 mRNA 的相对含量（如适用）、mRNA
480 修饰比例（如适用）等。

481 mRNA 和脂质辅料之间的相互作用可能受其序列长度及二
482 级结构影响，进而影响 mRNA-LNP 的粒径大小及分布、表面电

483 位及稳定性等，鼓励采用多种互补分析技术开展 mRNA 结构表
484 征研究，如圆二色谱法、示差扫描量热法等。

485 此外，自复制 mRNA 需额外关注其自复制的控制机制，评
486 估复制酶的活性、复制效率以及其潜在固有免疫原性和安全性，
487 鼓励探究影响其在细胞内自复制表达的关键因素，如自复制的终
488 止机制等。

489 对于环状 RNA，重点关注环化位点的序列准确性、环化比
490 例等。

491

492 (二) mRNA-LNP 的结构分析和理化性质分析

493 除 mRNA 的序列长度及二级结构外，mRNA 与 LNP 之间的
494 相互作用还受脂质辅料组分及结构等因素的影响，需结合 LNP
495 与 mRNA 相互作用的机制及特性开展必要的质量研究。研究内
496 容应涵盖 LNP 颗粒特性（如微观形态、粒径大小及分布、颗粒
497 数和颗粒浓度、脂质成分均匀性）、LNP 包封特性（如包封率、
498 mRNA/脂质比例、载药量、mRNA 在 LNP 中定位、不同条件下
499 mRNA 体外释放特征）、LNP 表面特性（如表观 pKa、等电点 pI、
500 Zeta 电位、表面 PEG）、其他理化特性（如鉴别、含量、mRNA
501 完整性、不溶性微粒、pH）、产品和工艺相关杂质（如未包封和
502 不完整 mRNA、mRNA-脂质加合物（mRNA-lipid adducts）、脂
503 质辅料杂质）、生物学活性和安全性指标（如细菌内毒素、无菌）

504 等方面。PEG 密度会影响 mRNA-LNP 的表面特性，进而影响产
505 品的稳定性、细胞相互作用和免疫反应特性，鼓励对 mRNA-LNP
506 的 PEG 密度和分布开展拓展性研究。

507 开展制剂过程不同阶段产物（如包封、pH 调节、超滤、半
508 成品及成品）的关键质量属性研究，如粒径大小及分布、包封率、
509 载药量等。鼓励采用多种互补分析技术对 mRNA-LNP 的结构及
510 理化特性进行研究，如形态结构、粒径大小及分布、颗粒浓度、
511 热稳定性、mRNA-LNP 颗粒成分均匀性、mRNA 与脂质复合过
512 程中可能产生的杂质（如 mRNA-脂质加合物）等。冷冻电镜是
513 mRNA-LNP 形态结构考察的常用方法，建议建立规范化的操作
514 流程，将其应用到关键工艺步骤及其中间产品的表征研究、工艺
515 过程稳定性及贮存稳定性研究。持续积累数据开展 mRNA-LNP
516 形态结构及质量属性与疫苗生物学活性、稳定性的相关性研究。

517

518 （三）杂质分析

519 mRNA 疫苗生产、贮存过程中可能产生多种潜在杂质，包括
520 工艺相关杂质和产品相关杂质。对于《中华人民共和国药典》收
521 纳的杂质检项，应符合相应标准。对于产品特异性的杂质应在研
522 发过程中逐步识别、积累相关数据，并最终建立适宜的质控策略。

523 对于早期临床试验申请，可初步识别潜在的产品及工艺相关
524 杂质，根据来源、风险及残留量等，对主要杂质进行安全性风险

525 评估，尽可能进行全面的监测。在上市申报前需进一步进行杂质
526 的分离、鉴别及结构确证研究。应监测相关杂质在生产和贮存过
527 程中的动态变化情况，评估其是否显著增加，结合逐步开展的非
528 临床及临床研究评估其是否可能影响疫苗的安全性与有效性。参
529 考 ICH Q6B 的理念评估其安全性风险，确定是否将相关杂质纳
530 入过程控制或放行标准；对于需纳入质控体系的项目应随着研究
531 的逐步推进加强限度标准要求。

532 mRNA 产品相关杂质建议关注可能影响其生物学功能或诱
533 发非特异性免疫反应的成分，包括但不限于转录不完全或 mRNA
534 降解/断裂导致的截短序列、多聚体、长 RNA、dsRNA、加帽不
535 完全的 mRNA、不同帽子结构的相关杂质、缺失 Poly(A)尾的
536 mRNA、去磷酸化不完全的 mRNA、mRNA 氧化产物等。对于环
537 状 RNA，应关注其特有的杂质类型。建议采用高通量测序技术
538 对 mRNA 序列中的缺失、插入或突变等杂质进行鉴定与评估。

539 mRNA 工艺相关杂质应结合工艺特点进行相关研究，包括但
540 不限于总蛋白残留、各类添加蛋白酶残留（如 RNA 聚合酶、无
541 机焦磷酸酶、DNase 等）、未掺入的 NTP 和帽类似物、缓冲液成
542 分、金属离子以及有机溶剂等。

543 除 mRNA 产品相关杂质、mRNA 工艺相关杂质、在制剂制
544 备及贮存过程中可能降解或失活的 mRNA、工艺残留溶剂等杂质
545 外，还应关注脂质辅料杂质及相关化学反应产物，包括氧化产物、

546 降解产物、脂质分子间化学反应生成的杂质（如酯交换反应）、
547 mRNA-脂质加合物等。此外，对于纳米颗粒聚集产生的颗粒物、
548 未包载 mRNA 的 LNP（Empty LNP）、在制剂制备及贮存过程
549 中产生的可能影响产品安全有效性的 LNP 异常形态（如空泡结
550 构、颗粒融合等）等也需开展相关研究。

551

552 （四）生物学活性研究

553 体外生物学活性研究主要为抗原表达量的定量检测。

554 体内效力研究，通过药效学等研究系统评估其体液免疫和细
555 胞免疫应答，同时建议开展同类品种的比较研究。

556 在产品研发期间，建议同步开展体外生物学活性、体内效力
557 的监测及数据积累，积累疫苗生物学活性检测结果与动物攻毒保
558 护效果、人体临床试验等结果的相关性数据，从而确定适宜的疫
559 苗效力控制及评价方法。

560 对于自复制 mRNA，建议采用体外细胞模型及体内模型等多
561 种研究手段开展表达动力学、抗体产生动力学等研究，为该技术
562 路线的选择提供依据。由于自复制 mRNA 体内转录过程中仍会
563 产生 dsRNA，建议开展相关炎症反应及其潜在风险的相关研究。

564 环状 RNA，除开展翻译效率、蛋白表达水平研究外，考虑其
565 线性 RNA 杂质、未使用修饰核苷酸等可能引发的免疫反应，建

566 议开展免疫反应类型强度、持久性以及其引发的免疫反应类型是
567 否与目标适应症相匹配等相关研究。

568

569 五、质量标准

570 建议参照 ICH Q6B 等国内外相关指导原则，考虑 mRNA 技
571 术路线的产品特点，综合工艺验证、质量研究、稳定性研究、非
572 临床研究和临床研究批次的研究数据等确定质量标准。对于一般
573 工艺相关杂质，如经充分验证证明工艺可对其有效、稳定地去除，
574 可结合工艺进行控制，相关残留物检测可不列于检测项目中。对
575 于在贮存过程中易发生变化，且与产品安全性和有效性相关的检
576 测项目，建议同时设置放行标准和货架期标准。鼓励采用先进的
577 理化分析方法进行质量控制，应提供方法的适用性验证等资料。

578 申报临床时可根据工艺确认资料初步拟定质量标准；上市阶
579 段应按照相关指导原则进行风险控制分析并基于工艺验证情况
580 提供完整的质量标准及方法学验证资料。

581 （一）转录模板

582 建议考虑以下质控项目：pH、外观、鉴别、模板浓度/含量、
583 测序、纯度、poly(A)尾长度及分布、线性效率（如适用）、超螺
584 旋比例（适用于模板质粒）、杂质残留（如总蛋白残留、宿主菌
585 DNA、宿主菌 RNA、宿主蛋白残留、抗生素残留等）、微生物
586 限度、内毒素等检测。

587 杂质残留可根据生产商、生产工艺等实际情况在模板质粒或
588 线性转录模板中进行质控，如宿主菌 DNA、宿主菌 RNA、抗生
589 素残留等已在模板质粒中质控，则线性转录模板可不重复检测。

590

591 (二) mRNA 原液

592 建议考虑以下质控项目：鉴别、mRNA 测序（除目的抗原序
593 列外，还应考察自复制 mRNA 复制酶基因、环状 RNA 的环化位
594 点等序列准确性）、mRNA 原液理化特性（如 pH、外观等）、
595 mRNA 含量、加帽率、poly(A)尾长度及分布、mRNA 纯度/完整
596 性、产品相关杂质（如不完整 mRNA、dsRNA、聚集体等）、工
597 艺相关杂质（如蛋白酶残留、DNA 模板残留、有机溶剂、金属离
598 子残留、游离核苷酸、未掺入的帽类似物等）、生物学活性、安
599 全性指标（如无菌、细菌内毒素）等。

600 mRNA 完整性，旨在考察完整全长 mRNA 分子（含帽子、
601 polyA 等关键元件）所占的比例（如是否可区分完整序列、无尾
602 序列、短尾序列等），应根据产品特性及生产工艺进行合理选择，
603 不同产品结构对完整性检测可能产生不同影响，建议采用两种原
604 理不同的检测方法（如 RP-HPLC、毛细管电泳法）互为补充。对
605 不同检测方法的灵敏度、分离效果等开展分析研究，需采用能准
606 确反映产品批间差异、稳定性变化趋势的灵敏度较高的检测方法。
607 同时应根据产品特性及验证数据设置合理的积分范围，包括但不
608 限于积分范围与产品有效性的相关性研究、杂质峰的分​​离确证、
609 样品经强制降解后积分范围是否还能有效表征产品质量等。

610 加帽率、poly(A)尾长度及分布与产品的安全有效性密切相关，
611 研发早期建议采用质谱法进行放行检测，开展结构解析及不同组
612 分（包括不同帽结构、poly(A)尾长度）占比研究，积累生产工艺
613 对不同组分占比的影响及其质量属性范围与产品安全有效性相
614 关性。生产工艺经验证后，若拟采用其他方法（如 RP-HPLC）进
615 行放行检测，应同时积累两种方法的检测数据并进行相关性分析。

616 对于自复制 mRNA，应结合此类产品自身结构特点及生产特
617 性进行质量标准的制定，对复制酶 mRNA 分子、目标抗原 mRNA
618 分子分别进行相应质控，同时建议对复制酶活性或复制酶的表达
619 水平进行质控。由于自复制 mRNA 的序列长度明显长于非复制
620 型 mRNA，应对其序列完整性予以重点关注。

621 对于环状 RNA，应对完整环形 RNA 的占比进行质控，不断
622 完善检测方法的准确度，开展全面的方法学验证。同时应基于成
623 环机制制定相应的杂质质控策略，除聚体、线性前体 RNA 杂质
624 外，如采用核酶介导自剪接环化法需关注内含子片段、开环异构
625 体切口 RNA 等；采用连接酶介导环化法需关注连接酶和核酸外
626 切酶残留等。

627

628 （三）制剂中间产物

629 应基于 mRNA-LNP 制备工艺的实际情况，定义制剂中间产
630 物并建立中间产物质量标准，常见中间产物包括 mRNA-LNP 包
631 封换液后样品、除菌过滤后样品、冻干前样品等。中间产物检测

632 是工艺过程控制的重要组成部分，是否定义为中间产物及对应的
633 检测要求应考虑以下因素：（1）该阶段是否存在 mRNA-LNP 结
634 构的变化、是否影响最终制剂的结构及活性；（2）后续生产工艺
635 （如冻干）、制剂处方是否对活性组分存在影响；（3）后续工艺
636 步骤是否依赖于该检测结果，如 mRNA 含量用于指导半成品配
637 制。

638 建议基于工艺关键性和风险对制剂中间产物设置必要的质
639 控项目，确保关键质量属性受控，以支撑后续工艺的稳健性，质
640 控项目包括：

641 （1）物理特性：pH、外观、粒径大小与分布、Zeta 电位等。

642 （2）鉴别：通过适当的方法进行确认，如测序、电泳、HPLC
643 等。

644 （3）含量检测：mRNA 含量、包封率检测等。

645 （4）工艺相关杂质残留。

646 （5）安全性相关分析：内毒素、无菌检查等。

647

648 （四）半成品

649 半成品应按照《中华人民共和国药典》进行无菌检查。

650

651 （五）成品

652 建议考虑以下质控项目：产品鉴别与 mRNA 序列确认（参
653 见原液相关要求）、含量测定（mRNA、递送物质及相关辅料）、
654 理化特性、纯度及相关杂质残留、生物学活性及安全性指标等。

655 （1）鉴别：应通过适当方法对 mRNA 及 LNP 组分进行鉴
656 别，对于含多个 mRNA 的疫苗，应确保各 mRNA 成分可特异性
657 区分。

658 （2）含量检测：mRNA 含量、mRNA 完整性、各脂质组分
659 含量、辅料含量（如必要）等。mRNA 含量，应对各目标 mRNA
660 的总含量分别进行质控，并确认每种 mRNA 与其他 mRNA 的比
661 例符合预期。

662 （3）理化特性：包括影响产品安全有效性的关键质控项目，
663 如包封率、粒径大小及分布、Zeta 电位（如适用）、pH 值等。
664 此外还需包括成品的常规属性检测，如外观、装量/装量差异、可
665 见异物、渗透压、不溶性微粒等。如为冻干制品，应进行残留水
666 分质控。

667 粒径大小及分布，为生产工艺和稳定性考察中的敏感指标，
668 通常采用动态光散射法（Dynamic Light Scattering, DLS）进行放
669 行检测，其结果代表具有相同平动扩散系数的等效球形颗粒直径，
670 需重点关注 mRNA-LNP 均一度、颗粒形态等对检测结果的影响。
671 建议结合 mRNA-LNP 的表征研究、不同原理方法粒径大小及分
672 布检测结果等，进一步对 DLS 检测方法的适用性进行确认。

673 (4) 杂质残留：包括工艺相关杂质残留量（如残留溶剂等）
674 和产品相关杂质残留量（如 mRNA 降解产物、脂质降解产物、
675 mRNA-脂质加合物等）。

676 脂质杂质，除总杂、特定单杂外，申报临床时应至少报告其
677 他脂质杂质检测结果。建议结合脂质辅料和制剂稳定性考察优化
678 脂质杂质相关检测方法，随着检测方法灵敏度提升可能检出更多
679 杂质，应根据 ICH Q6B 等指南逐步积累数据并建立相关杂质的
680 控制策略。建议根据脂质杂质种类及含量变化情况，同时结合非
681 临床及临床研究数据综合评价其对疫苗安全有效性的影响，建立
682 相应的杂质控制限度。不同脂质供应商、同一脂质的不同批次均
683 可能存在脂质杂质差异，建议疫苗上市许可人建立充分的质量研
684 究体系，综合供应商审计、自检数据等进行风险评估并充分完善
685 脂质质量控制体系。

686 (5) 生物学活性检测：研发早期阶段应根据质量研究数据
687 选择适宜的方法建立体内效力放行检测，建议结合先验知识、药
688 效学研究等，合理选择试验用动物、免疫程序及免疫剂量等；必
689 要时，根据产品的作用机理建立细胞免疫检测活性的质控检测；
690 尽早开展相关研究，并关注研究方法以及标准品的可溯源性。由
691 于生物学活性方法存在较大的变异性，建议设立参考疫苗以适宜
692 的比值方法予以拟定标准限度。

693 鼓励进行体外活性与体内效力相关性研究，用于替代体内效
694 力的体外方法可能是影响产品生物学活性的多个指标的组合，如
695 包封率、mRNA 完整性、mRNA 含量等。相关体外方法或其组合
696 应具备以下前提：①经过全面的方法学验证；②能科学合理地检
697 测出与生产过程控制相关的差异；③能够指示体内外生物学活性
698 的变化趋势；④建立体内-体外方法的相关性。建议在临床前和临
699 床阶段开展多批次产品体内和体外活性的同步研究，积累并分析
700 体内外生物学活性与临床保护效果相关性。采用不同条件处理样
701 品（如不同 mRNA 完整性、粒径大小及分布）开展体内外生物
702 学活性研究，确证体外活性方法的性能及其与体内效力的相关性。

703 （6）安全性指标：通常包括细菌内毒素、无菌检查等。

704 对于 mRNA 联合疫苗，应对各目标 mRNA 的鉴别、含量、
705 生物学活性等分别进行质控。

706 如终产品需要分散重组和（或）临用前载药后形成载药脂质
707 纳米颗粒的，需对分散重组脂质纳米颗粒或载药脂质纳米颗粒的
708 性状、活性成分的鉴别、有关物质和含量测定等进行质控。如终
709 产品采用特殊容器或药械组合装置，应根据装置的功能增加特定
710 的检项。

711

712 （六）方法学研究和方法学验证

713 mRNA 原液及制剂的质量控制涉及多种分析方法,所选用的
714 检测方法类型、样品的预处理过程(如逆转录、富集、酶切、裂
715 解等)以及检测条件等均会对检测结果产生影响,应对检测方法
716 进行必要的确认及方法学验证,确保检测结果的准确性与可靠性。
717 对于 mRNA 完整性、粒径大小及分布、脂质杂质、生物学活性
718 等关键质量属性,建议采取多种不同原理的分析方法进行相互佐
719 证,根据方法的灵敏性、准确性、精密性和耐用性等方法学验证
720 结果选择适宜的质控方法。定量分析方法应对检测样品的稳定性
721 具有指示性,能够检测样品在贮存期间相关质量属性的变化。准
722 确度验证中应采用可覆盖产品实际浓度范围的标准物质进行验
723 证。

724 鼓励采用先进方法进行质控,如基于三代测序技术
725 (Nanopore)等对序列完整性、dsRNA、开环异构体切口 RNA 的
726 类型及开环位点等进行检测;采用微滴式数字 PCR (Droplet
727 Digital PCR, ddPCR)等方法进行联合疫苗的组分鉴别和比例质
728 控;采用结合体外细胞表达和质谱技术,进行 mRNA 疫苗尤其是
729 联合疫苗的表达活性研究等。

730 申报临床时,应提供能初步证明检测方法适用性的方法学验
731 证资料,对重要指标或关键质量属性(如包封率、加帽率、粒径
732 大小及分布、纯度、生物学活性等)的检测方法,应提供与研发
733 阶段的控制要求及重要性相符或适用的验证资料。检测方法的开

734 发和验证应随着产品的开发和研究的不断深入而逐步完善，上市
735 阶段应按照相关指导原则提供全面的方法学验证资料。研发期间
736 若发生方法学变更或转移，应开展相应的检测方法桥接研究，关
737 注不同检测方法之间、生产工艺与产品质量属性间关联性的衔接。

738

739 （七）标准物质

740 标准物质的建立及制备应参照《中华人民共和国药典》及其
741 他相关指导原则的要求。若采用国际或国家标准物质，应明确所
742 用标准物质信息（来源、批次、检定等）。若采用自制标准物质，
743 应进行制备工艺、标定方法、稳定性等相关研究，并提供相关研
744 究资料。建议采用非临床和/或确证性临床试验批次建立关键质
745 量属性检测的标准物质，关注标准物质的可溯源性。

746

747 六、稳定性研究

748 整体上，mRNA 疫苗稳定性研究与评价可参照国内外生物制
749 品稳定性研究的相关指导原则开展。应在上市申报前完成全面的
750 稳定性考察，并选择适宜包材，明确贮藏条件及运输条件，制定
751 合理的有效期。

752 除通用要求外，稳定性考察方案应结合 mRNA 疫苗的技术
753 路线特点、剂型特点、生产工艺、临床用药方案等情况进行设计，
754 一般包括长期试验、加速试验、影响因素试验、运输稳定性试验

755 和使用稳定性试验（尤其应关注使用前需复溶混匀等情形）等，
756 应充分考虑温度变化、震荡、水分（适用于冻干剂型）、反复冻
757 融等情形对产品关键质量属性和生物学活性的影响。应采用能够
758 反映产品整体质量变化趋势的敏感指标，重点考察 mRNA 的理
759 化特性和表达效率，如，包封率、mRNA 含量及完整性、粒径大
760 小及分布、生物学活性等。除放行检测指标外，还应根据产品特
761 点增加适宜的拓展性指标，如，颗粒形态等。

762 对于自复制 mRNA 疫苗，由于序列较长，需重点关注其
763 mRNA 完整性在贮存过程中的变化趋势。对于环状 RNA 疫苗，
764 重点关注其在不同条件下的开环和降解风险。

765 疫苗生产过程中涉及到的各中间产物如需贮存，均应开展相
766 应的稳定性研究或验证研究，应明确其贮存条件、贮存方式并进
767 行可用于生产的相关研究。若中间产物或原液涉及运输，应在适
768 当的储存温度和条件下进行运输稳定性验证。

769

770 七、直接接触制品的包装材料和容器

771 mRNA 疫苗生产过程中使用的所有与产品直接接触的耗材
772 （如管道及接头、混匀芯片、膜包、过滤器等）及包装系统均应
773 具有稳定的物理和化学特性，并与接触的中间产物和溶液具有良
774 好的相容性。基于 LNP 中脂质体的表面活性特性，应关注 LNP
775 在与材料接触界面可能发生的吸附或降解现象。需按照国内外相

776 关指导原则开展各个生产阶段包材相容性研究或提供其他适用
777 的支持资料，并在申报上市时提交商业化产品及包材开展的相容
778 性研究资料。

779 若 mRNA 疫苗采用特殊的给药方式或配套给药装置（如鼻
780 喷、吸入等），应明确给药装置的作用原理、供应商来源、材质
781 等相关信息，提供选择该给药方式或给药装置的依据和合理性分
782 析、给药装置的递送效能、给药装置与疫苗活性成分的处方相容
783 性等相关资料，并对给药装置本身进行质量特性研究和质控。应
784 根据特殊给药装置与疫苗接触的不同阶段（如疫苗是否在给药装
785 置中贮存、是否仅在给药时与装置进行接触），考察组合后对疫
786 苗关键质量属性及稳定性和/或使用中稳定性的影响。

787

788 八、平台技术产品研发的考虑

789 mRNA 技术路线具有模块化、生产周期短等优势，平台技术
790 有助于加速疫苗研制进程。

791 既有技术平台是否可被视为平台技术依赖于已有产品的验
792 证程度。采用平台技术推进或简化新产品开发数据，需基于分子
793 结构及作用机制、变更风险（如关键元件、修饰核苷、制剂处方
794 等物质基础是否发生改变）、平台技术的成熟度和稳健性、工艺
795 及质控分析一致性等对平台技术数据是否适用进行充分的评估。

796 平台技术的适用性应通过产品间的可比性研究予以确认。若
797 产品间仅更换编码区序列，而平台核心要素（如关键元件、递送
798 系统、关键工艺参数、分析方法等）保持不变，且新产品关键质
799 量属性与已验证平台产品高度一致，可适当减少药学重复开发工
800 作。但对于基于平台技术开展新病原体疫苗的开发，仍需开展必
801 要的非临床和临床研究。

802 平台技术的界定系动态界定，需随着新产品的开发、行业的
803 发展等不断进行完善更新。平台数据的适用性应持续验证，同时
804 支持性数据包需不断完善，对于部分重大变更，需开展必要的非
805 临床和/或临床研究。

806

807 九、名词解释

808 非自复制 mRNA 疫苗:是一种基于 mRNA 技术的疫苗形式，
809 其 mRNA 仅编码目标抗原蛋白，不含病毒复制酶或其他自我扩
810 增元件，完全依赖宿主细胞的翻译系统完成单次抗原表达。

811 自复制 mRNA 疫苗:是一种基于病毒复制机制的 mRNA 疫
812 苗类型，通过编码病毒 RNA 聚合酶实现自我扩增以提高抗原蛋
813 白表达水平，从而实现更低剂量下的长效免疫应答。

814 环状 RNA 疫苗:是一种基于共价闭合环状 RNA 的疫苗形
815 式，其通过反向剪接形成单链闭合环状 RNA 分子，无传统线性
816 mRNA 的 5'帽结构和 3'poly(A)尾，依赖内部核糖体进入位点

817 (IRES)启动翻译;可抵抗核酸外切酶降解,显著延长 mRNA 半
818 衰期,实现低剂量下的持续抗原表达;通过滚环翻译机制生成大
819 量抗原蛋白,同时激活 CD8⁺T 细胞主导的细胞免疫和 B 细胞介
820 导的体液免疫。

821 mRNA/脂质比例: mRNA 的质量(或摩尔数)与脂质总质量
822 (或总摩尔数)的比值。

823 载药量:单位体积或单位质量的 mRNA-LNP 中所包封的有
824 效 mRNA 药物的含量,载药量=包封在 LNP 内的 mRNA 质量
825 /mRNA-LNP 的总质量(或总体积)。

826 mRNA-脂质加合物:指 mRNA 与某些脂质杂质(如活性酯、
827 醛类氧化物)发生化学反应后形成的共价结合产物,可能影响
828 mRNA 的稳定性与翻译效率。

829

830 十、参考文献

831 [1] 国家药品监督管理局.《新型冠状病毒预防用 mRNA 疫苗药
832 学研究技术指导原则(试行)》.2020 年 8 月.

833 [2] FDA. Guidance for Industry-Considerations for Plasmid DNA
834 Vaccines for Infectious Disease Indications. CBER. November 2007.

835 [3] FDA. Guidance for Industry-Liposome Drug Products Chemistry,
836 Manufacturing, and Controls; Human Pharmacokinetics and
837 Bioavailability; and Labeling Documentation. April 2018.

838 [4] FDA. Guidance for Industry-Drug Products, Including Biological
839 Products, that Contain Nanomaterials(draft guidance). December
840 2017.

841 [5] 国家药品监督管理局.《脂质体药物质量控制研究技术指导原
842 则》.2023 年 10 月.

843 [6] ICH.Q6B. Specifications: Test Procedures and Acceptance
844 Criteria for Biotechnological/Biological Products. March 1999.

845 [7] 国家药品监督管理局.《预防用 mRNA 疫苗非临床研究技术
846 指导原则》.2025 年 1 月.

847 [8] WHO. Evaluation of the Quality, Safety and Efficacy of messenger
848 RNA Vaccines for the Prevention of Infectious Diseases: Regulatory
849 Considerations. April 2022.

850 [9] EMA. Guideline on the quality aspects of mRNA vaccines (draft).
851 March 2025.

852 [10] WHO. Evaluation of the quality, safety and efficacy of messenger
853 RNA vaccines for the prevention of infectious diseases: regulatory
854 considerations. December 2021.

855

856 十一、缩略词列表

英文简称	英文	中文全称
mRNA	Messenger Ribonucleic Acid	信使核糖核酸

PCR	Polymerase Chain Reaction	聚合酶链反应
Th1	Type I Helper T cells	I 型辅助 T 细胞
Th2	Type II Helper T cells	II 型辅助 T 细胞
IRES	Internal Ribosome Entry Segments	内部核糖体进入位点
UTR	Untranslated Region	非编码区
dsRNA	Double-stranded RNA	双链 RNA
RNase R	Ribonuclease R	核糖核酸酶 R
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高效液相色谱
NTP	Nucleotide Triphosphate	核苷三磷酸
CMC	Chemical Manufacturing and Control	化学成分生产和控制
IP-RP-HPLC	Ion-pair Reversed-phase High Performance Liquid Chromatographic	离子对反相高效液相 色谱
PEG	Polyethylene Glycol	聚乙二醇脂质