

基于mRNA疫苗产品生产技术探讨监管检查关注要点

韩彬, 樊华伟, 曹萌* (上海药品审评核查中心, 上海 201203)

摘要 **目的:** 探讨提升商业化mRNA疫苗生产质量水平以降低风险、提升获益, 确保疫苗生产过程符合法规要求, 并推进监管领域相关标准、技术指南的完善。**方法:** 通过分析mRNA疫苗生产技术特点, 梳理mRNA疫苗产品各个生产环节中的质量风险点, 综述相关领域研究进展, 并探讨mRNA疫苗生产现场监管检查的一些要点。**结果与结论:** mRNA疫苗生产一般包括转录模板制备、原液生产、制剂生产和灌装等步骤, 其中产生抗原作用的mRNA分子一般采用体外表达系统, 制剂生产一般采用脂质纳米颗粒(LNP)技术。基于mRNA疫苗产品的固有风险、特定生产要求和工艺特征, 明确应关注DNA模板的制备、场地设施条件、对RNA酶的控制、工艺杂质控制能力及质量保证程度、LNP生产稳健性、储运低温与防震能力、委托检验管理等方面的现场情况。建议尽快制定相关标准、指南细则, 以包容审慎的态度在保证质量的前提下推进mRNA产业发展, 提升疫苗生产全链条质量保证水平。

关键词: 信使核糖核酸; 新冠; 疫苗; 生产; 药品生产质量管理规范; 监管

中图分类号: R95 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2022)01-0016-09

doi:10.16153/j.1002-7777.2022.01.003

Perspective of Regulatory Inspection in Consideration of Advances in mRNA Vaccine Manufacturing Technology

Han Bin, Fan Huawei, Cao Meng* (Shanghai Center for Drug Evaluation and Inspection, Shanghai 201203, China)

Abstract **Objective:** To explore and improve the quality level of commercial mRNA vaccine production to reduce risks and increase benefits, ensure that the vaccine manufacture process meets the requirements of regulations, and promote the improvement of relevant standards and technical guidelines in the regulatory field. **Method:** By analyzing the features of mRNA vaccine manufacture technology, the quality risk points in each manufacture link of mRNA vaccine products were summarized, the research progress in related fields was reviewed, and some key points of on-site supervision and inspection for mRNA vaccine production were discussed. **Results and Conclusion:** The manufacture process of mRNA vaccines generally includes transcription template preparation, original solution production, preparation and filling. The mRNA molecules producing antigenic effects are generally expressed from in-vitro transcription system, and the preparation production generally uses LNP technology. Based on the inherent risks, specific production requirements and process characteristics of mRNA vaccine products, it is clear that attention should be paid to the preparation of DNA templates, site facilities, control of RNA enzymes, process impurity control capability and quality assurance, process robustness of LNP production, low temperature storage/transportation condition

and shock resistance, entrusted inspection management and other aspects of the site situation. It is suggested that relevant standards and guidelines be formulated as soon as possible, the development of mRNA industry be promoted inclusively and prudently on the premise of quality assurance, and the quality assurance level of the whole chain of vaccine production be improved.

Keywords: mRNA; COVID-19; vaccines; manufacturing; GMP; regulation

1 前言

以信使核糖核酸 (Messenger Ribonucleic Acid, mRNA) 为基础的疫苗概念可追溯到20世纪90年代^[1]。早期的脂质递药系统由于毒性过大,并不适合于人体使用。直至21世纪初,在基于干扰RNA (RNA Interference, RNAi) 治疗产品的发展带动下,脂质纳米颗粒 (Lipid Nanoparticles, LNP) 技术得到开发,才使得今日的人用mRNA疫苗的问世成为可能。2012年,诺华制药公司 (Novartis International AG) 的研究人员^[2]采用包裹mRNA的LNP用于动物模型试验,显示出很好的预防呼吸道病毒效果。随着近年的技术进步,mRNA的LNP生产水平得到较大提升,推动了越来越多的候选疫苗进入临床试验,研究结果也显示出其在预防和治疗领域的潜力^[3-5]。2019年,一场突如其来的新型冠状病毒 (以下简称“新冠”) 疫情席卷全球,让mRNA疫苗有机会临危受命,并“一战成名”,展示出其潜在的巨大价值。可以说,属于mRNA疫苗的时代已经到来^[6]。

开发速度是mRNA疫苗技术的灵魂。通过研究病原体的基因序列,可以快速地锁定潜在抗原编码片段,其序列融入脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic Acid, DNA) 模板并以此合成相应的mRNA后,加以脂质纳米包封形成疫苗制剂即可递送至人体^[7]。重要的是,mRNA技术具备一定的通用性,理论上可以利用相似过程开发各类所需要的疫苗,而传统疫苗开发则可能需要经历更复杂的候选初筛、昂贵的人力物力投入且耗时漫长的研发路径。莫德纳制药公司 (Moderna Inc.) 和辉瑞制药公司 (Pfizer Inc.) 的mRNA新冠疫苗产品即是基于可快速开发的特点和相对简单的生产环节以较短时间进入了临床阶段或获批上市^[8-10]。

尽管开发和生产优势明显,但是目前商业化mRNA疫苗生产技术仍处于初级状态,成熟程度尚

远远不及传统疫苗,诸多方面还有待提升。主要的挑战包括原材料价格昂贵、药物副作用明显^[11]、运输冷链依赖、需要多针免疫、存在安全剂量瓶颈等。可以看出,通过研究创新加以持续改进是十分必要的,特别是扎实地提高商业化mRNA疫苗生产技术水平以降低风险、提升获益,并推进监管领域相关标准、技术指南的完善,才能充分地发挥出mRNA疫苗潜在的巨大应用前景^[12-15]。

作为一项新技术产品,商业化生产mRNA疫苗在《药品生产质量管理规范》^[16] (Good Manufacturing Practice, GMP) 符合性方面也面临与传统疫苗所不同的风险点,需要结合产品质量要求和生产过程技术特点加以深入理解。本文基于mRNA疫苗生产技术特点进行分析,结合相关领域研究,对mRNA疫苗生产现场检查的一些要点进行深入探讨,提出相关建议,为mRNA疫苗的生产现场检查提供参考。

2 mRNA疫苗生产技术特点

mRNA疫苗生产一般包括转录模板质粒种子库的建立和检定、原液生产、制剂生产、质量检验等过程。其中,原液生产可能需要模板生产和mRNA制备,包括种子复苏、扩增、规模细胞培养、细胞收集、细胞裂解、澄清过滤、质粒纯化、质粒线性化、模板纯化、转录反应 (可能包含加帽反应) 和mRNA纯化。制剂生产可能包括mRNA疫苗半成品配制、灌装 (可能包含冻干) 和包装。

2.1 mRNA疫苗的生产流程

mRNA疫苗的生产工艺与传统疫苗或基于细胞培养技术的蛋白类产品生产过程相比,在mRNA原液生产和LNP制备等步骤具有差异。作为疫苗中主要产生抗原作用的成分,mRNA分子的制备一般通过体外表达 (in Vitro Transcription, IVT) 体系进行生产,经过适当的纯化工艺后,通过脂质纳米制剂技术制成疫苗产品。生产过程见图1。

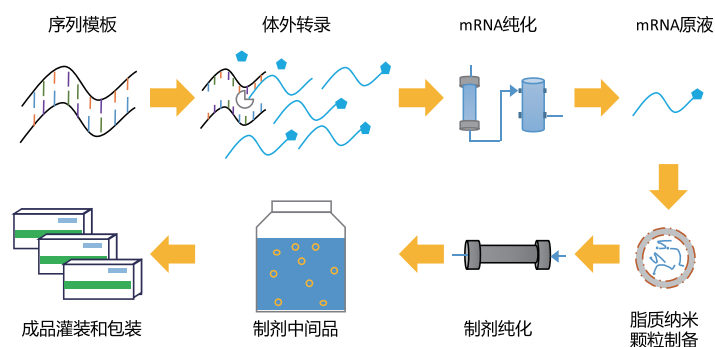


图1 mRNA疫苗生产工艺流程简图

递送系统是mRNA技术的关键,通过形成mRNA载体来实现mRNA疫苗的递送,主要包括多聚体载体技术、纳米粒脂质体载体技术和鱼精蛋白载体技术。阳离子脂质体与mRNA通过静电作用聚集而成的多层囊状复合物为脂质体复合物(Lipoplex, LP),位于复合物中的mRNA不容易被RNA酶降解。mRNA经阳离子聚合物浓缩后被包裹于囊状空腔中形成脂质体聚合物(Lipopolyplex, LPP),也可用于mRNA的转染。LNP是目前主流的递送载体,一般由脂质双分子层构成,目前全球的mRNA疫苗企业如Moderna、BioNTech和CureVac均采用了LNP技术^[17]。

与传统疫苗相比,mRNA疫苗最重要的优势之一是制造步骤相对简单,但是目前仍然缺乏类似单抗技术的成熟制造平台,由于企业研发产品的管线差异,产品工艺步骤可能会有所不同。序列DNA模板一般通过种子复苏→种子扩增→发酵→菌体收

集→菌体裂解→澄清过滤→质粒纯化→质粒线性化→模板纯化等工艺步骤制得。原液生产可分为上游(包括mRNA的酶生成)和下游(包括纯化mRNA产品所需的单元操作)^[18]。

2.2 mRNA疫苗的上游生产流程

上游生产通常包括一步或两步合成反应,经过下游纯化制得mRNA原液。上游采用无细胞系统生产,不使用动物来源的原料,降低了细胞来源的杂质或外源因子污染风险。反应体系通常采用含有核苷酸三磷酸(Nucleotide Triphosphates, NTPs)底物、聚合酶辅因子、含有多胺和抗氧化剂的pH缓冲液,通过RNA聚合酶催化,从前序步骤制备的DNA模板来合成靶mRNA。与生产传统疫苗的过程耗时相比,mRNA上游生产时间极大地缩短,在提高效率的同时也有利于降低污染风险^[19]。如图2所示。

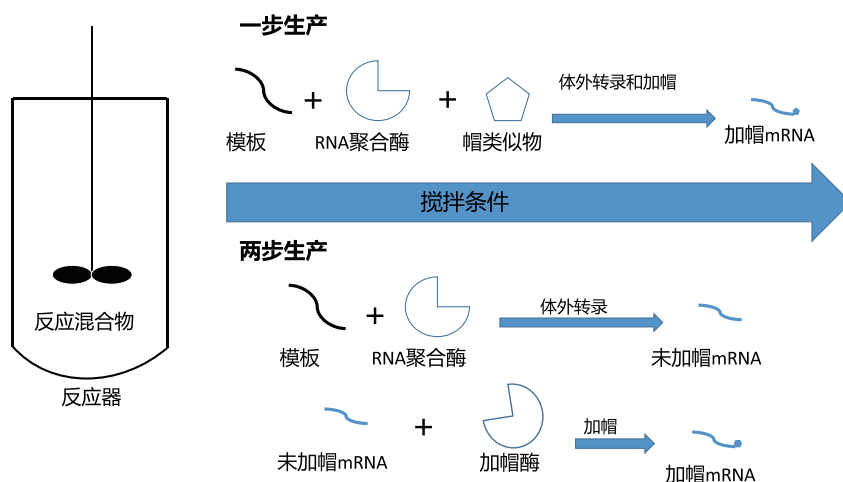


图2 mRNA原液上游生产示意图

转录后的mRNA需要经过一系列修饰才能构成完整分子,在5'端形成一个cap结构,在3'端形成PolyA尾结构。cap结构和PolyA尾结构可以抑制mRNA被降解,同时增强翻译效率。在体外转录过程中可以将合成好的5' cap结构添加到特定的转录起始序列,直接转录出具有天然cap1结构的mRNA。该工艺流程简单、加帽率高、重复性好,但是cap1类似物的化学合成难度一般较高。加帽步

骤完成后,后续需要一系列的纯化和除菌过程(浓缩和膜渗滤、亲和层析、切向流过滤等)来除去RNA聚合酶、DNA等杂质。

2.3 mRNA疫苗的下游生产流程

下游生产通常使用层析色谱柱工艺对mRNA转录产物纯化以去除污染物和反应物,还可能使用过滤/超滤技术来去除或置换不需要的分子和缓冲成分。如图3所示。

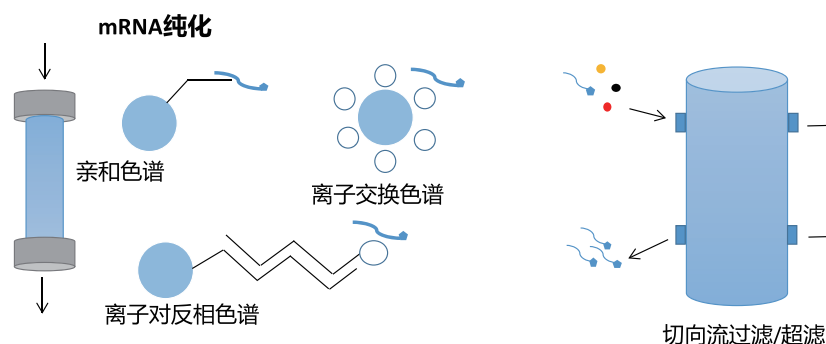


图3 mRNA疫苗原液下游纯化示意图

将纯化的mRNA与脂质材料在微流体混合器或其他适当的制剂设备中混合,在适当条件下可制成LNP制剂。一般采用快速混合的方式使脂质材料瞬间包封mRNA,并以自组装纳米粒子的形式进行富

集。对纳米颗粒溶液进行层析、透析或过滤,以除去非水溶剂和未封装的mRNA。纯化后的mRNA疫苗制剂中间品用于成品灌装,保持过程无菌,储存于西林瓶制成成品。如图4所示。

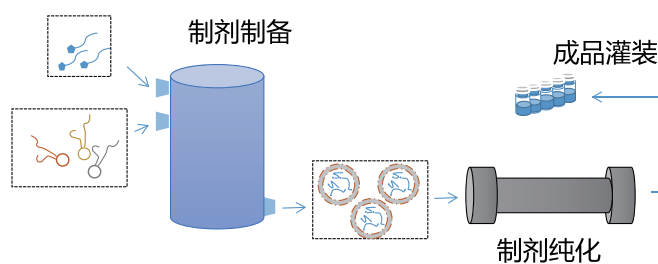


图4 mRNA疫苗制剂生产示意图

2.4 mRNA疫苗的质量控制和质量保证

mRNA疫苗质量检验包括原辅料检验、中间产品检验和成品检验,特别关注DNA转录模板、mRNA原液、制剂中间产物和制剂成品的鉴别、理化、含量、纯度和安全性项目,具体可参考国家药品监督管理局药品审评中心相关指导原则^[12]。为适应临床规模的样品试制和商业化生产,企业需要建

立符合GMP的质量管理体系,包括建立相应的体系文件、作业指导书、制造与检定规程、批生产和批检验记录等,具备符合资质的人员,配备与生产规模相适应的设施设备,对物料和供应商进行管理,配备与申报阶段相适应的质量检验实验室,以及制定相应的质量标准和检验方法,使用备案或获批的符合质量要求的包装和标签,并能够进行产品追

溯,按照相关要求开展药物警戒管理等。企业质量保证部门应定期开展自检,确保生产全过程持续符合GMP要求。

3 生产现场检查关注点

作为疫苗产品,mRNA制品应当按照经核准的生产工艺和质量控制标准进行生产和检验,生产全过程应当符合GMP的要求。mRNA疫苗的生产工艺需要专门的步骤与设施设备,与传统疫苗相比,存在病原体基因组测序、mRNA制备、LNP制备等特殊之处:首先需确定病原体基因组测序,再依编码抗原的序列构建pDNA,并利用适当生物基质(一般为大肠杆菌)制备高纯线性pDNA;pDNA在体外环境被聚合酶转录为mRNA;mRNA产物经过HPLC色谱纯化以除去污染物、酶、核酸等杂质,以满足纯度要求;经纯化的mRNA与脂质混合形成LNP,以便于体内递送;利用过滤或透析的方法除去非水溶剂和未经载体封装的mRNA;经过无菌灌装,即可制得mRNA疫苗成品^[20]。

检查中考虑关注mRNA疫苗生产过程中的关键质量属性、关键工艺参数和关键步骤,例如mRNA的酶解制备、mRNA的稳定性参数和mRNA疫苗的脂质纳米制剂过程,结合批生产记录评估所生产疫苗产品的质量情况。除了疫苗和生物制品检查常规的关注项之外,基于mRNA疫苗产品特定的风险和工艺特征,可以考虑关注DNA模板的制备、场地设施条件、对RNA酶的控制、原液与制剂中间品的纯化过程对工艺杂质控制能力及质量保证程度、LNP工艺的稳健性、储运过程的低温和防震能力以及委托检验管理等方面的现场情况。

目前,全球仍处于新冠疫情快速传播的时期,新冠疫苗也仍是防止疫情扩散的重要工具。mRNA疫苗由于其可快速开发和生产的技术优势,可作为大量生产的疫苗考量。国内也有诸多企业已经布局mRNA疫苗的研发和生产管线。因此,对mRNA疫苗这一产业的GMP生产监管科学加以研究,推进相关指导原则和技术规范,有利于提升mRNA新冠疫苗的安全、有效和质量可控。在此背景下,有必要对生产现场的检查关注点进行深入探讨。

3.1 质粒生产现场检查关注点

国内指导原则将质粒DNA模板制备作为原液生产工艺部分的情况下,疫苗企业是否可以自主生

产质粒DNA模板,以及如何按照GMP进行管理,需要予以关注。以辉瑞公司/BioNTech公司的新冠疫苗BNT162b2的生产流程为例^[21],一般使用的DNA质粒为环状质粒,含有设计好的序列模块并包括刺突蛋白编码。利用电流打破细胞膜并将环状DNA质粒引入大肠杆菌;将大肠杆菌置于含大量营养物质的溶液中进行繁殖扩增;大肠杆菌每20 min分裂1次,4天内可以得到数万亿DNA质粒;提取纯化DNA质粒,过滤溶液,去除细菌及其他物质;利用酶将纯化后的环状DNA质粒切割为链状;所得溶液被分装冷藏,通过质量控制环节,运送至下一阶段的生产场地。上述阶段生产过程耗时10天,若将质控和运输环节纳入考虑则共耗时约17天。考虑到质粒生产的流程,需要在后续检查中对相应的质量风险点进行关注,例如:菌种和酶的保存条件、纯化过滤设备的清洁验证、冷链运输验证等。

3.2 mRNA疫苗生产场地现场检查关注点

mRNA疫苗生产的厂房设备设施和公用系统的设计应合理,厂房和环境的空气洁净度级别应当与产品和生产操作相适应,应有良好的预防污染、交叉污染、混淆和差错的措施。mRNA疫苗生产步骤相对不多,设备体积相对不大,理论上不需很大的生产区域空间,但是因其工艺溶媒和在线清洁灭菌等方面的需要,仍应具备符合商业化生产条件的配套公用系统,包括洁净空调系统、水系统、蒸汽系统、冷库等。在研发阶段,往往较小的车间空间即可满足mRNA疫苗临床样品试制的需要,而在规模放大之前对商业化生产配套保障功能的合理设计应予以关注,例如在模板生产、原液生产和LNP生产区域是否有效分隔,空调系统是否独立,人员通道和物料通道的流动走向是否可以有效防止混淆。

由于mRNA分子对mRNA酶极其敏感^[22],环境中存在的mRNA酶有可能造成mRNA降解从而降低收率,增加有关物质风险,影响产品稳定性,从而对产品质量造成不良影响。根据mRNA疫苗产品的工艺特点,应关注生产场地和生产设备是否可以实现无核酸核糖酶(Ribonuclease, RNA酶)的环境,避免mRNA受污染降解或引起产品批次间的差异。考虑重点关注工艺用水,直接接触料液的管路、罐体或耗材表面,以及涉及敞口操作工艺环节的层流保护等方面,是否均能够潜在RNA酶风险控制可在可接受的范围。对于厂房墙及地面、设备表

面、员工洁净服、重复使用的生产和取样器具、批记录用具等,考虑关注其清洁验证是否能够有效保证避免RNA酶污染,使用的清洁剂种类是否在风险评估中考虑了RNA酶相关风险等。

3.3 纯化工艺现场检查关注点

mRNA疫苗的商业化生产工艺还在逐渐成熟当中,平台化程度低。目前拟开展商业化生产的产品,不同厂家的原液上游工艺可能会有所不同,包括使用的原料、缓冲体系、酶、加帽方式等;制剂制备工艺也可能会有所差异,包括混合方式、摩尔比、缓冲液、浓度、温度、包封率等。在此情况下,不同上游工艺下的原液纯化或制剂纯化工艺参数可控制点也各不相同,因此,应关注其纯化工艺细节是否全面考虑了上游工艺相关杂质,以及其质量保证程度是否能支持其持续、稳定地生产出符合纯度要求的原液和制剂中间品。应根据不同的工艺阶段来制定不同的现场检查关注点:1)针对生产过程中产生的毒性杂质(无帽mRNA和转录副产物dsRNA)的控制和清除是否合理;2)生产用原辅料和耗材的检查,例如生产过程中的培养基配制应有储存时限规定,并有相应的数据支持,生产用的培养基应与批准的一致;3)mRNA加帽步骤之后的柱层析纯化,例如层析填料的使用寿命是否明确规定、层析柱的合格标准和清洁消毒方法是否明确规定、层析柱用于不同产品生产或同一产品的不同生产阶段的情况下是否有清洁验证。

3.4 LNP生产现场检查关注点

对于mRNA疫苗产品所用的LNP,应关注制备工艺一致性、粒径均一稳定性、包封率是否达到设计要求。对于会影响制备工艺一致性、粒径均一稳定性的产品制备工艺、处方和原辅料(例如mRNA活性组分、可电离阳离子脂质、聚乙二醇化脂质、中性脂质和胆固醇等),需要在后续检查中关注与注册批件是否一致,对于不同的物料应根据风险等级制定物料验收和检验标准。同时,针对涉及生产工艺的变更和偏差,需关注其是否具有充分的研究验证和纠正与预防措施(Corrective And Preventive Action, CAPA),以避免影响产品质量的稳定性。mRNA疫苗的生产过程中,LNP对mRNA分子需进行有效包封,例如,mRNA/LNP制备方法可能采用两相混合技术或乙醇稀释法;前者方法制备的LNP为多层结构,mRNA分子位于脂质双层,但

是该方法的包封率不理想;后者方法将脂质溶于乙醇,将mRNA组分溶于酸性缓冲液,随后将两相快速混合,通过稀释乙醇相降低脂质的溶解度,使LNP在混合溶液中逐渐析出,可实现对mRNA分子的高效包封,但应关注工艺对有机溶剂风险的控制^[23]。

3.5 mRNA疫苗产品灌装、贮藏和运输的现场检查关注点

mRNA疫苗产品的灌装、贮藏和运输对环境有较高的要求,例如温度、震动等,都会对制剂质量产生影响,因此,需通过各项措施对环境进行有效控制。关注点包括:企业是否制定对应的生产、搬运、暂存、仓储及物流管理制度,并通过文件和记录对疫苗产品的灌装、贮藏和运输等环节进行严格管控以确保产品符合贮藏要求;冷链储存和运输设备设施是否有效管理并符合预定用途,例如仓库和生产车间是否有相关文件规定确保温度要求的管理措施及温度异常情况下的处理预案,冷链运输是否经过验证,超温条件下的暴露时限以及冷链运输过程中是否有全程的温度控制和记录。

此外,由于mRNA疫苗产品的种子、模板、原液、制剂中间品、成品等有较多的检验项目,检验原理涵盖不同的学科领域,有些可能依赖专用设备,部分项目可能采用委托检验的形式,例如测序检验和体内效力试验等。应关注受托检验机构的资质、受托方审计的情况以及可能的数据可靠性风险。

4 生产技术发展对监管的影响

4.1 mRNA疫苗生产技术的发展

面对mRNA疫苗的生产技术存在的挑战,新的研究已经尝试针对性的解决问题,并取得了一些进展。在提升运输稳定性方面,使用与辉瑞制药公司/BioNTech制药公司相同LNP技术的CureVac公司采用新技术将mRNA折叠至紧密的三维结构中,可以在普通冷藏温度下保存数月而不需低温冷冻^[8];另据苏州艾博生物科技有限公司报道,其专注于LNP的质量研究并取得相关成果,开发了可以在室温条件下保存1周的疫苗产品^[24]。在减少接种次数方面,美国马萨诸塞州剑桥Vaxess科技报道了一种可穿戴的皮肤贴片,使用带有丝绸针尖的可溶性微针头将疫苗缓慢滴注至体内,可以避免因漏接种第2针而达不到免疫效果,并且有助于降低

短时大剂量注射疫苗带来的副反应,在疫情期间暂时可以接受mRNA疫苗接种带来的疲劳、肌肉疼痛和其他问题^[25]。如果未来的新冠疫苗接种变得像流感一样常态化,降低不良反应将有助于提升该类疫苗的接种意愿。

疫苗生产过程中,mRNA合成和LNP制备工艺可能引入的杂质是不良反应的主要诱因,考虑到纯化技术和LNP优化技术自身的瓶颈,给药剂量已难再有提升,而通过构建自扩增(self-amplifying)mRNA则有望解决这一问题^[12,26-27]。这一类mRNA疫苗产品的序列优化和生产过程更加复杂精细,但是可以通过模仿天然病毒入侵的机制,注射后在宿主细胞内进行扩增,从而引发更强、更广泛的免疫反应,单剂接种即可能获得足量的免疫效果。

此外,纳米药物技术的快速发展有望进一步改进mRNA疫苗的载药、保护、释放和定位性能^[28]。在mRNA分子本身的设计优化方面,也有一系列的研究进展有望提升其抗原表达水平^[29-30]。

4.2 生产技术对监管的影响

当前和未来一段时间,监管科学研究还会不断关注mRNA疫苗作为新产品和应急产品监管要求的发展。欧盟监管指南(Questions and Answers on the Principles of GMP for the Manufacturing of Starting Materials of Biological Origin used to Transfer Genetic Material for the Manufacturing of ATMPs)^[31]将质粒DNA模板作为起始物料管理,可以由疫苗企业委托医药合同生产组织(Contract Manufacture Organization, CMO)进行生产;我国《新型冠状病毒预防用疫苗研发技术指导原则(试行)》^[11,32]将质粒DNA模板作为原液生产工艺部分管理,须由企业自主生产,检查中如何关注企业把控质粒这一原液生产中的起始物料,以及如何关注在部分辅料尚未取得国家注册备案登记号的情况下参照GMP要求开展管理,在实施细则方面可以进一步深入探讨。mRNA疫苗的部分生产物料在新冠疫情下采购周期长、供应紧缺,在进入商业化规模生产后该类问题可能会凸显,因此,需关注企业如何进行健全的物料和供应商管理。当前新冠病毒变异速度快,也需关注针对现有毒株的mRNA疫苗是否能够高效中和新的变异毒株,以及由此引起的企业产线和产能调整。

产品技术的革新可以带来新的临床获益,而

其工艺过程、设施设备改进以保证稳定的商业化生产能力则是决定技术革新可否应用于上市产品的关键。新工艺的开发和变更应按照相关指导原则开展充分的研究,并按照GMP要求进行全生命周期风险管理和变更管理^[33-34]。在制药技术方面,可以更多地考虑采用自动化生产检验手段、过程分析技术以及数字化的质量保证^[35]。

5 结语

随着mRNA疫苗时代的到来,该技术广泛得到研究机构、监管机构和工业界的关注,相关研究成果也有望更多地应用于人类健康事业,在此背景下,如何尽快制定相关标准、指南细则,以包容审慎的态度在保证质量的前提下推进mRNA疫苗产业发展,需要社会各界加强沟通、共同探讨。本文论述了mRNA疫苗产品的生产工艺和质量风险点,也讨论了mRNA疫苗生产技术的快速发展对监管方向的影响,可对目前快速发展的mRNA疫苗产业的GMP生产提供参考。

参考文献:

- [1] Martinon F, Krishnan S, Lenzen G, et al. Induction of Virus-specific Cytotoxic T Lymphocytes in Vivo by Liposome-entrapped mRNA[J]. Eur J Immunol, 1993, 23 (7): 1719-1722.
- [2] Geall AJ, Verma A, Otten GR, et al. Nonviral Delivery of Self-amplifying RNA Vaccines[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109 (36): 14604-14609.
- [3] Van Hoecke L, Verbeke R, Dewitte H, et al. mRNA in Cancer Immunotherapy: Beyond a Source of Antigen[J]. Mol Cancer, 2021, 20 (1): 48.
- [4] Sandbrink JB, Shattock RJ. RNA Vaccines: A Suitable Platform for Tackling Emerging Pandemics?[J]. Front Immunol, 2020 (11): 608460.
- [5] Flemming A. mRNA Vaccine Shows Promise in Autoimmunity[J]. Nat Rev Immunol, 2021, 21 (2): 72.
- [6] Verbeke R, Lentacker I, De Smedt SC, et al. The Dawn of mRNA Vaccines: The COVID-19 Case[J]. J Control Release, 2021 (333): 511-520.
- [7] Zhang C, Maruggi G, Shan H, et al. Advances in mRNA Vaccines for Infectious Diseases[J]. Nat Biomed Eng, 2019 (10): 594.

- [8] Dolgin E. How COVID Unlocked the Power of RNA Vaccines[J]. *Nature*, 2021, 589 (7841) : 189-191.
- [9] Teo S P. Review of COVID-19 mRNA Vaccines: BNT162b2 and mRNA-1273[J]. *J Pharm Pract*, 2021, DOI: 10.1177/08971900211009650.
- [10] FDA. Summary Basis for Regulatory Action[EB/OL]. (2021-08-23) [2021-10-05]. <https://www.fda.gov/media/151733/download>.
- [11] Patone M, Mei XW, Handunnetthi L, et al. Risks of Myocarditis, Pericarditis, and Cardiac Arrhythmias Associated with COVID-19 Vaccination or SARS-CoV-2 Infection[J]. *Nat Med*, 2021, DOI: org/10.1038/s41591-021-01630-0.
- [12] 国家药品监督管理局. 新型冠状病毒预防用mRNA疫苗药学研究技术指导原则(试行)[EB/OL]. (2020-08-15) [2021-10-05]. http://www.gov.cn/xinwen/2020-08/15/content_5535069.htm.
- [13] WHO. Evaluation of the Quality, Safety and Efficacy of Messenger RNA Vaccines for the Prevention of Infectious Diseases[EB/OL]. (2021-07-22) [2021-10-05]. https://cdn.who.int/media/docs/default-source/biologicals/call-for-comments/bs.2021.bs2402_who-regulatory-considerations-for-mrna-vaccines_final.pdf?sfvrsn=c8623b32_5.
- [14] EMA. Basis for Approval and Use of COVID-19 mRNA Vaccines in the EU[EB/OL]. (2021-01-01) [2021-10-05]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/presentation/presentation-basis-eu-approval-new-vaccines-henzmann-chmp_en.pdf.
- [15] FDA. Q&A for Comirnaty (COVID-19 Vaccine mRNA)[EB/OL]. (2021-10-01) [2021-10-05]. <https://www.fda.gov/vaccines-blood-biologics/qa-comirnaty-covid-19-vaccine-mrna>.
- [16] 卫生部. 卫生部令第79号 药品生产质量管理规范(2010年修订)[S]. 2011.
- [17] Buschmann MD, Carrasco MJ, Alishetty S, et al. Nanomaterial Delivery Systems for mRNA Vaccines[J]. *Vaccines (Basel)*, 2021, 9 (1) : 65. DOI:10.3390/vaccines9010065.
- [18] Rosa SS, Prazeres DMF, Azevedo AM, et al. mRNA Vaccines Manufacturing: Challenges and Bottlenecks[J]. *Vaccine*, 2021, 39 (16) : 2190-2200.
- [19] Pascolo S. The Messenger's Great Message for Vaccination[J]. *Expert Rev Vaccines*, 2015, 14 (2) : 153-156.
- [20] Chaudhary N, Weissman D, Whitehead KA. mRNA Vaccines for Infectious Diseases: Principles, Delivery and Clinical Translation[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021 (20) : 817-838.
- [21] Jared SH, Joel E, Dylan M. mRNA Covid-19 Vaccines Are Fast to Make, but Hard to Scale[EB/OL]. (2021-03-03) [2021-11-30]. https://www.wsj.com/articles/mrna-covid-19-vaccines-are-fast-to-make-but-hard-to-scale-11614776401?mod=searchresults_pos2&page=2, March 3, 2021 8:00 am ET.
- [22] Roux C, Etienne TA, Hajnsdorf E, et al. The Essential Role of mRNA Degradation in Understanding and Engineering *E. coli* metabolism[J]. *Biotechnol Adv*, 2021, DOI: 10.1016/j.biotechadv.2021.107805.
- [23] 国家纳米科学中心. 浅谈mRNA疫苗递送技术(LNP)[EB/OL]. (2021-10-28) [2021-11-30]. <https://mp.weixin.qq.com/s/kLy155IBhrDH7C1okeO6Wg>.
- [24] Zhang NN, Li XF, Deng YQ, et al. A Thermostable mRNA Vaccine against COVID-19[J]. *Cell*, 2020, 182 (5) : 1271-1283.e16.
- [25] Stinson JA, Boopathy AV, Cieslewicz BM, et al. Enhancing Influenza Vaccine Immunogenicity and Efficacy Through Infection Mimicry Using Silk Microneedles[J]. *Vaccine*, 2021, 39 (38) : 5410-5421.
- [26] Blakney AK, Ip S, Geall AJ. An Update on Self-amplifying mRNA Vaccine Development[J]. *Vaccines (Basel)*, 2021, 9 (2) : 97. DOI: 10.3390/vaccines9020097.
- [27] Pourseif MM, Parvizpour S, Jafari B, et al. A Domain-based Vaccine Construct against SARS-CoV-2, the Causative Agent of COVID-19 Pandemic: Development of Self-amplifying mRNA and Peptide Vaccines[J]. *Bioimpacts*, 2021, 11 (1) : 65-84.
- [28] Uchida S, Perche F, Pichon C, et al. Nanomedicine-based Approaches for mRNA Delivery[J]. *Mol Pharm*, 2020, 17 (10) : 3654-3684.
- [29] Jia L, Mao Y, Ji Q, et al. Decoding mRNA Translatability and Stability from the 5' UTR[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2020, 27 (9) : 814-821.
- [30] Zarghampoor F, Azarpira N, Khatami SR, et al. Improved Translation Efficiency of Therapeutic mRNA[J]. *Gene*,

- 2019 (707): 231-238.
- [31] EMA. Questions and Answers on the Principles of GMP for the Manufacturing of Starting Materials of Biological Origin Used to Transfer Genetic Material for the Manufacturing of ATMPs[EB/OL]. (2021-02-24) [2021-10-05]. https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/questions-answers-principles-gmp-manufacturing-starting-materials-biological-origin-used-transfer_en.pdf.
- [32] 国家药品监督管理局. 新型冠状病毒预防用疫苗研发技术指导原则(试行)[EB/OL]. (2020-08-15) [2021-10-05]. http://www.gov.cn/xinwen/2020-08/15/content_5535069.htm.
- [33] 李香玉, 梅妮, 陈桂良. 美国食品药品监督管理局关于“新兴制药技术”的监管理念与实践[J]. 中国药事, 2020, 34(7): 836-839.
- [34] 陈超, 张景辰, 陈桂良. 省级药监机构视角下药品上市后变更管理研究[J]. 中国药事, 2021, 35(8): 856-861.
- [35] 曹萌, 葛渊源, 张景辰, 等. 药物分析新技术在药品科学监管中的应用[J]. 中国药事, 2021, 35(6): 614-623.
- (收稿日期 2021年10月28日 编辑 郑丽娥)