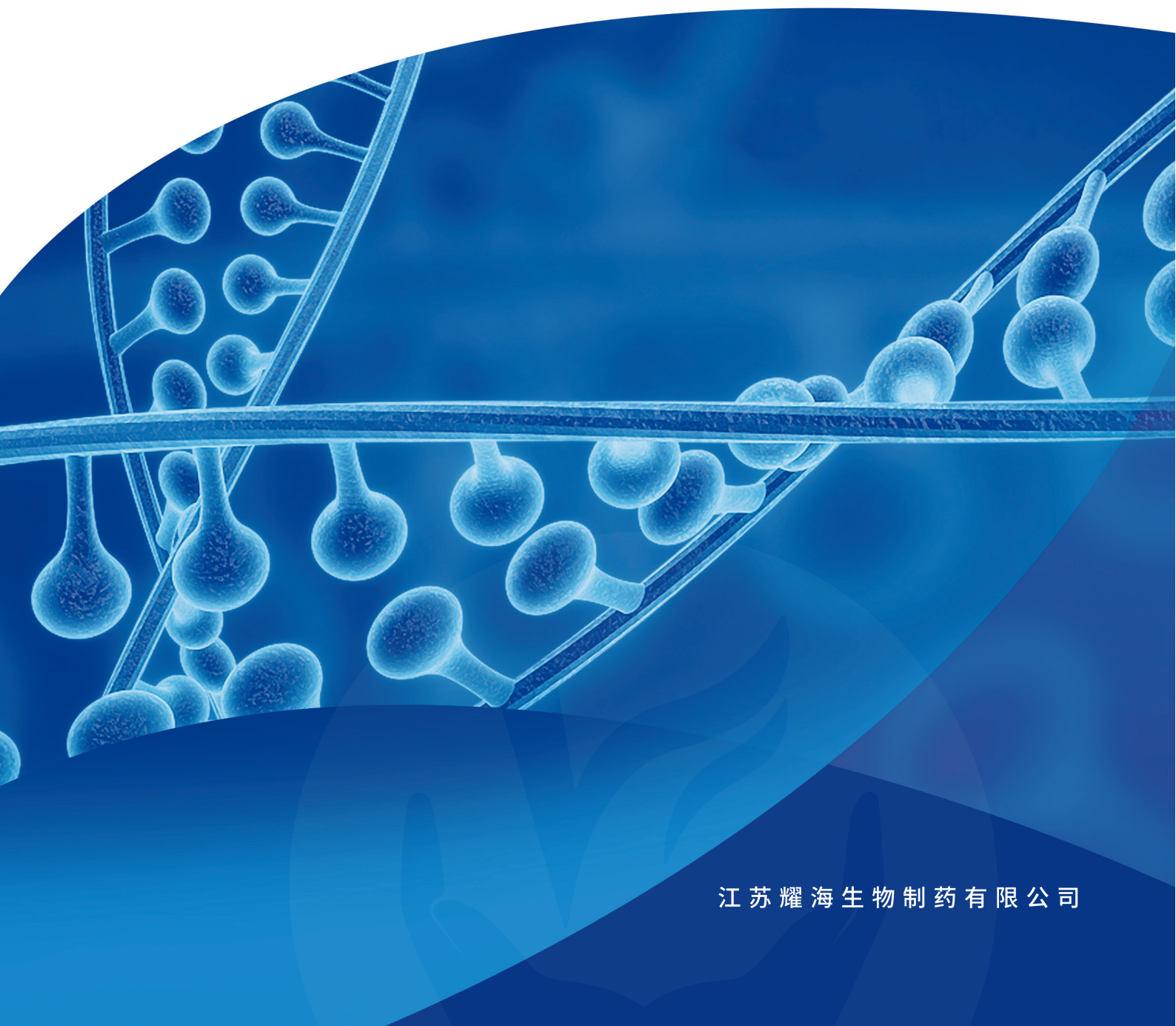


YAOHAIBIO 耀海生物

mRNA

一站式服务平台





CONTENTS

01	关于耀海	01-02
02	mRNA科研级样品制备服务概述	03-05
03	mRNA序列设计与优化服务	06-08
04	mRNA转录模板质粒服务	09-12
05	mRNA体外转录服务	13-18
06	mRNA酶法加帽服务	19-21





07	mRNA共转录加帽服务	22-24
08	mRNA纯化服务	25-27
09	mRNA冻干服务	28-30
10	mRNA-LNP包封服务	31-34
11	mRNA质量分析与控制服务	35-42
12	mRNA体外表达验证服务	43-44
13	mRNA服务案例&合作客户	45-46



ABOUT YAOHAI BIO-PHARMA

关于耀海

江苏耀海生物制药有限公司成立于2010年8月，立足于江苏泰州中国医药城园区。2012年获得《药品生产许可证》，国家高新技术企业。是一家专注微生物表达体系CRDMO服务提供商，业务聚焦在“重组蛋白/多肽、纳米抗体、重组新型疫苗、重组质粒及RNA药物”等领域，致力于打造CRO/CDMO/MAH开放式、一体化的产研服务平台。业务涵盖工程菌构建、菌种库建立、小试工艺开发优化、中试工艺放大生产、临床样品制备、质量标准建立、分析方法开发验证、合规化生产(GMP)、注册申报等CMC一站式服务。

公司秉承“用心服务、共创未来”的服务理念

以“打造全球标准，助推新药进程，成就健康生活”为使命，
持续赋能全球新药创制。



端到端的微生物表达体系 CRDMO / MAH

一站式服务平台

重组蛋白 / 多肽

纳米抗体

重组新型疫苗

重组质粒

RNA 药物

菌种及菌种库
构建服务

CELL BANK AND
CELL BANK
CONSTRUCTION
SERVICES

工艺开发
优化服务

PROCESS
DEVELOPMENT &
OPTIMIZATION
SERVICES

方法开发和
质量控制服务

METHOD
DEVELOPMENT &
QUALITY CONTROL
SERVICES

临床及商业化
产品GMP生产

GMP PRODUCTION
OF CLINICAL &
COMMERCIAL
PRODUCTS

注册申报
服务

REGISTRATION
SERVICE



SERVE WITH HEART &
CREATE THE FUTURE TOGETHER

mRNA

科研级样品制备服务概述

2020年新冠疫情爆发,将mRNA技术推向舞台中央,相关研究热度前所未有的,在传染病预防、肿瘤治疗、蛋白替代疗法、再生医学、细胞与基因疗法等多个领域快速发展。

mRNA 应用领域

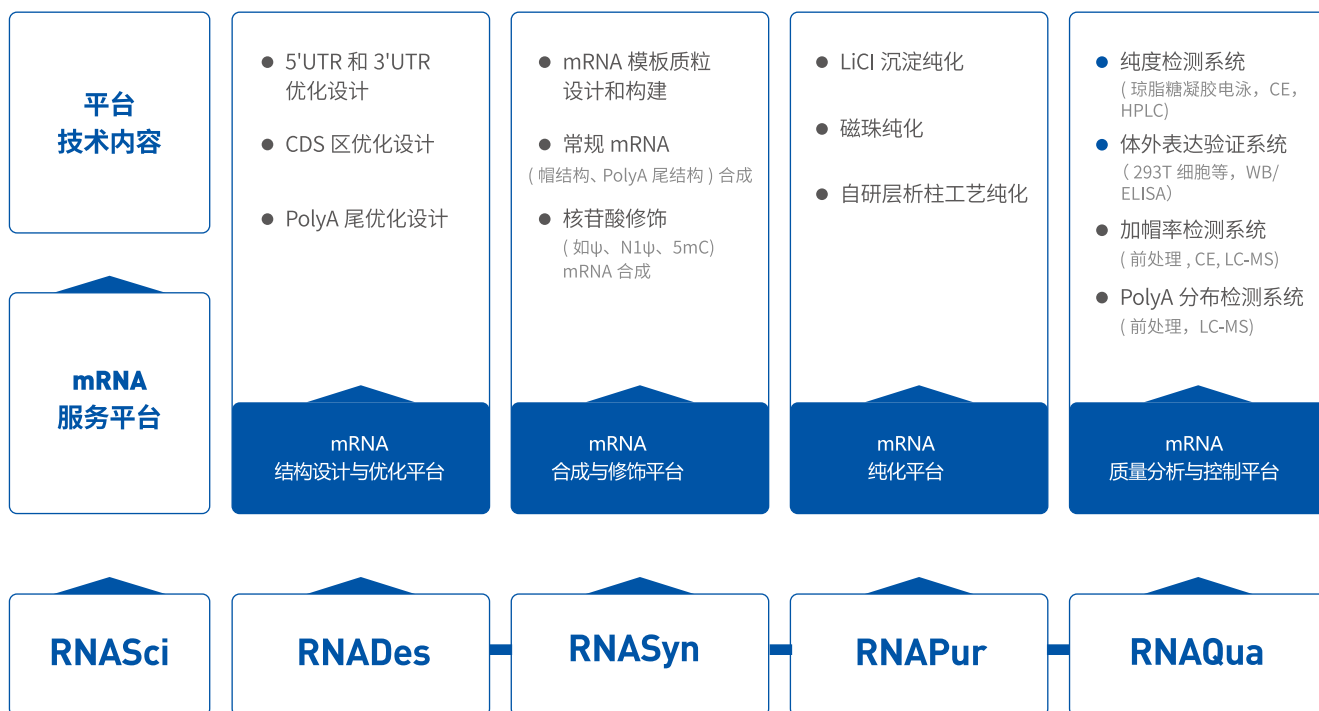


耀海生物重磅搭建了成熟完善的“RNASci”mRNA 科研级样品制备服务平台，该平台包含四大技术模块，可为客户提供序列设计与优化、基因合成、重组质粒制备、线性化模板制备、IVT 和纯化及 mRNA 质控等一站式服务，贯穿 mRNA 设计至成样的全生命周期，全面赋能 mRNA 疫苗及药物研发。



“RNASci”mRNA

服务平台



“RNASci”mRNA 服务平台特色



高表达天然&改造UTR

- 建立天然UTR库，多元化UTR来源选择，可为不同品种匹配合适的UTR序列；
- 5' UTR优化改造，实现模板更高效转录；
- 国际化PolyA尾结构设计策略；
- 成熟密码子优化方法，特殊优化需求，可与专业AI算法团队合作完成。



卓越加帽工艺, 高效转录, 提高应用活性

- 高产稳定加帽工艺，加帽效率 > 95%；
- PolyA尾一体化转录形成，分布更为均一；
- 多样化mRNA修饰核苷酸，有效降低mRNA在人体中不良免疫反应；
- 灵活的质粒模板设计方案，满足客户特殊定制需求



通用&自主研发层析工艺, 提供多样化纯化方式

- **多样化:**
切向流过滤&多种层析填料组成的综合纯化方案，可有效去除mRNA粗品中的杂质，满足高质量要求的应用场景；
- **通用&自主研发纯化工艺:**
成熟完善的LiCl沉淀&磁珠纯化&层析纯化解决方案，完全自主开发，可有效去除mRNA制备过程中产生的各种杂质。



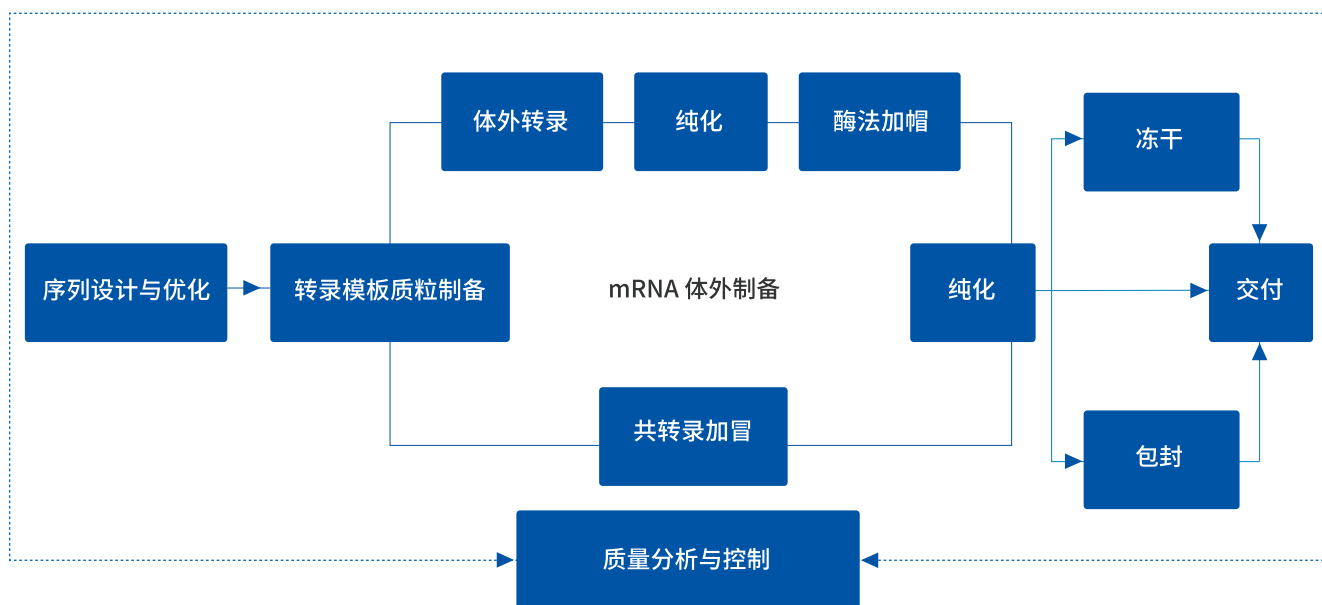
全面质控平台, 满足各研究阶段特殊质控需求

- 匹配科研级浓度、纯度等常规质控需求；
- 满足mRNA翻译测试、加帽率、尾巴分布等特殊质控需求。

mRNA

科研级样品制备服务概述

工艺开发流程



服务详情

服务项目	可选项目	服务详情	交付周期 (天)	交付内容
mRNA 序列设计与优化	编码序列的设计与优化	CDS 序列设计与密码子优化	1-3	序列文件
	非编码序列的设计与优化	UTR, polyA 序列的设计与优化		
转录模板 质粒制备	重组质粒制备	基因合成	7-10	
		质粒扩增和提取	4	
		质粒线性化和纯化		

服务项目	可选项目	服务详情	交付周期 (天)	交付内容
mRNA 体外转录	共转录加帽 (一步法)	体外转录 (Clean Cap 帽类似物)	1-2	N/A
		核苷酸修饰 (UTP/CTP 修饰)		
		DNA 模板去除 (DNase I)		
	酶法加帽 (两步法)	体外转录	2-3	
		核苷酸修饰 (UTP/CTP 修饰)		
DNA 模板去除 (DNase I)				
mRNA 纯化 (氯化锂 / 磁珠)				
酶法加帽				
mRNA 纯化	常规纯化方案	氯化锂沉淀	1	mRNA 原液
		磁珠纯化		
	层析柱纯化方案	多种层析方式组合	1-2	
溶液置换	超滤换液	1		
mRNA 冻干	冷冻干燥	预冻	2-3	mRNA 冻干粉
		一次升华		
		二次升华		
mRNA 包封	LNP 包封	LNP 包封	2-3	mRNA-LNP 制剂
		浓缩换液与过滤		
mRNA 质量分析	mRNA 原液 / 冻干粉	浓度、纯度	1	检测报告
		完整性	2	
		加帽率 (前处理 +CE)	5	
		加帽率 (前处理 +LC-MS)	5-10	
		polyA 分布 (前处理 +LC-MS)	5	
	mRNA-LNP 制剂	包封率	1	
		粒径及分布检测		
Zeta 电位检测				
mRNA 表达验证	293T 细胞评价	细胞铺板	4	
		细胞瞬时转染		
		荧光信号观察	1-3	
		Western blot/ELISA		

预制品目录

编码蛋白分类	产品名称	可选修饰核苷酸	交付样式	产品规格
报告基因	mRNA_mCherry-eGFP	<ul style="list-style-type: none"> • 无修饰 • 假尿嘧啶 (Ψ) • N1 甲基假尿嘧啶 (N1Ψ) • N5 甲基胞嘧啶 (5mC) • 其他修饰 	<ul style="list-style-type: none"> • 冻干粉 • 原液 (500ng/μl) * 交付原液浓度可调整	<ul style="list-style-type: none"> • 10μg • 50μg • 100 μg • 1 mg • 10 mg
	mRNA_eGFP			
	mRNA_mCherry			
	mRNA_luciferase			
病毒抗原	mRNA_Spike protein (COVID-19)			
细胞因子	mRNA_IL-2			
	mRNA_IL-4			
	mRNA_IL-22			
免疫原	mRNA_OVA			
核酸酶	mRNA_Cas9			

服务优势

一体化服务流程

提供从前端序列设计至后端mRNA制备、质量控制与表达验证等系列服务。

国际前沿的序列设计与优化

专业mRNA序列设计及优化，助力mRNA高效表达。

多样化核苷酸修饰

有效提高mRNA表达量，降低mRNA不良免疫反应。

成熟纯化平台

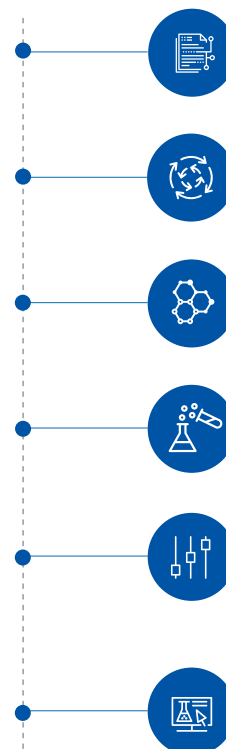
通用&自研组合的纯化工艺，提供高纯度mRNA样品。

完善质控平台

丰富QC选项，可满足浓度、A260/280纯度、完整性等常规检测，及加帽率/polyA分布等高质量需求。

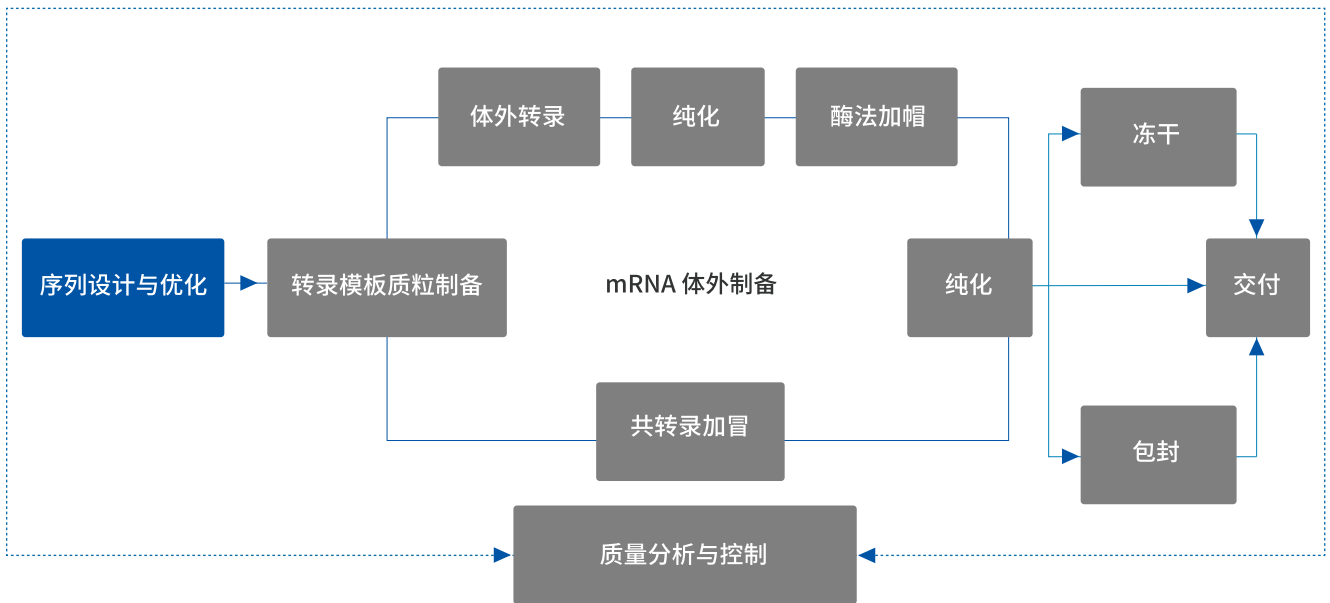
快速交付

mRNA预制品即日发货；定制化mRNA除序列合成委外，可实现最快7天交付。

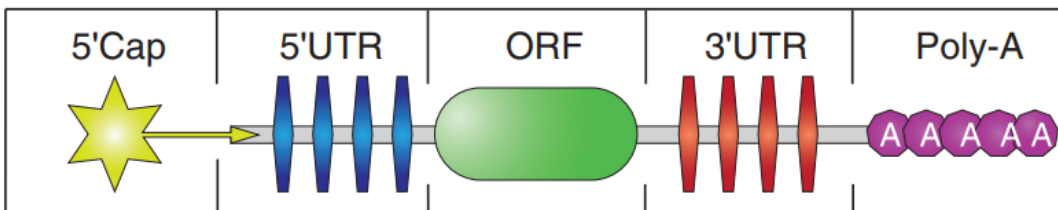


mRNA

序列设计与优化服务



根据中心法则，信使RNA(mRNA)是遗传物质从DNA传递至蛋白质的桥梁。mRNA通过在体内编码蛋白发挥生物学作用，真核生物体内成熟的mRNA包括5个组成元件：5' Cap（帽结构）、5' UTR（非编码区域）、ORF（开放性阅读框）、3' UTR和3' polyA尾（多聚腺苷酸尾）。



mRNA结构示意图

mRNA各组成元件的功能与优化策略参考如下:

mRNA元件	生物学功能	优化策略
5' Cap	保护 mRNA 不被外切酶降解，与 3' 端的 polyA 尾、polyA 结合蛋白和翻译起始因子蛋白协同作用，启动蛋白质的翻译。	天然的 Cap1 结构可避免模式受体识别，从而降低天然免疫反应，可通过一步法共转录加帽或两步法酶法加帽实现【详见 mRNA 酶法加帽和共转录加帽】
5' UTR	可被核糖体识别，调控 mRNA 的翻译、影响 mRNA 的稳定性。	包含 Kozak 序列，不存在非常稳定的二级结构。 高表达基因的天然 UTR 是合成 mRNA 的首选，如 α - 和 β - 珠蛋白基因来源。
CDS	蛋白编码区，抗原、抗体或其他功能性蛋白的编码序列。	密码子优化可增加翻译水平，注意某些非最佳密码子可能在蛋白折叠中发挥作用。
3' UTR	调控 mRNA 的翻译和稳定性。	高表达基因的天然 UTR 是合成 mRNA 的首选，如 α - 和 β - 珠蛋白基因来源。
3' polyA 尾	调控蛋白的表达、保护帽结构不被降解。	需足够的长度 (100-150 bp)； 在转录模板质粒上编码 poly(A) 尾可确保产生较为确定的 polyA 尾长度。

[1] Linares-Fernández S, et al. Trends Mol Med. 2020;26(3):311-323.

服务详情

服务项目	可选项目	详细步骤	交付周期 (天)
mRNA 序列设计与优化	编码序列的设计与优化	<ul style="list-style-type: none"> • CDS 序列比对 • CDS 密码子优化 	1
	非编码序列的设计与优化	<ul style="list-style-type: none"> • 5' UTR 序列设计与优化 • 3' UTR 序列设计与优化 • polyA 序列设计与优化 	1-2

专利来源:左涛,等.一种用于调控mRNA高表达的UTR及其应用的制作方法. 202310793276.9[P]. 2023-08-04.

服务优势

多元化UTR来源选择

多来源高表达天然 & 改造 UTR 库; 成熟 UTR 改造策略。

前沿CDS优化团队

与专业 AI 算法团队合作, 完成密码子的优化。

均一polyA尾分布

PolyA 尾一体化转录形成, 分布更为均一。

多元化优化方案组合

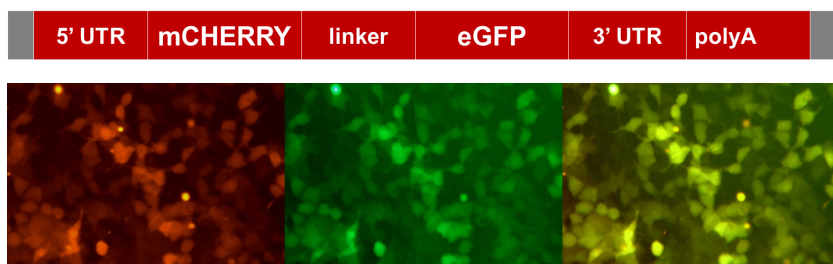
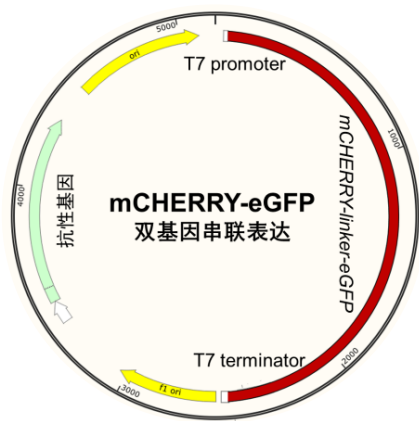
实现 mRNA 的高效表达及低免疫原性。



案例展示

耀海生物mRNA服务内容持续升级,设计并优化了双报告基因串联序列,可实现双基因的共表达。

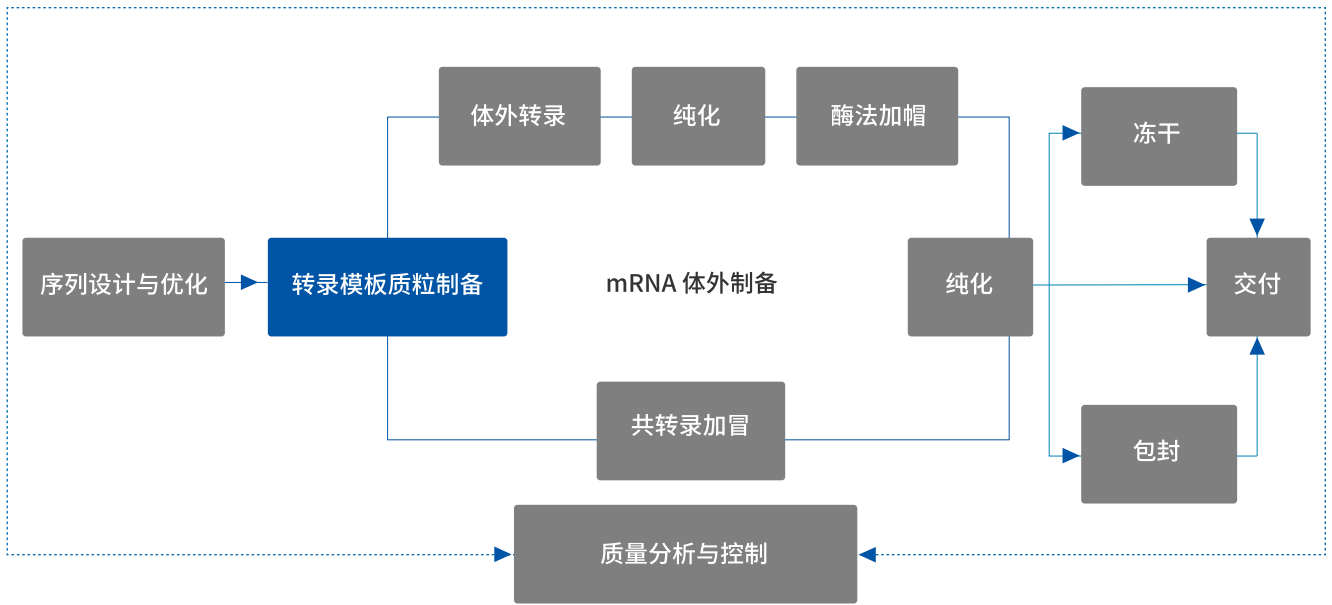
使用一种常规的转染试剂,将双基因串联序列mRNA_mCherry-eGFP转染293T细胞,48小时后检测到mCherry(红色)和eGFP(绿色)两种荧光信号同时表达,叠图显示为黄色。



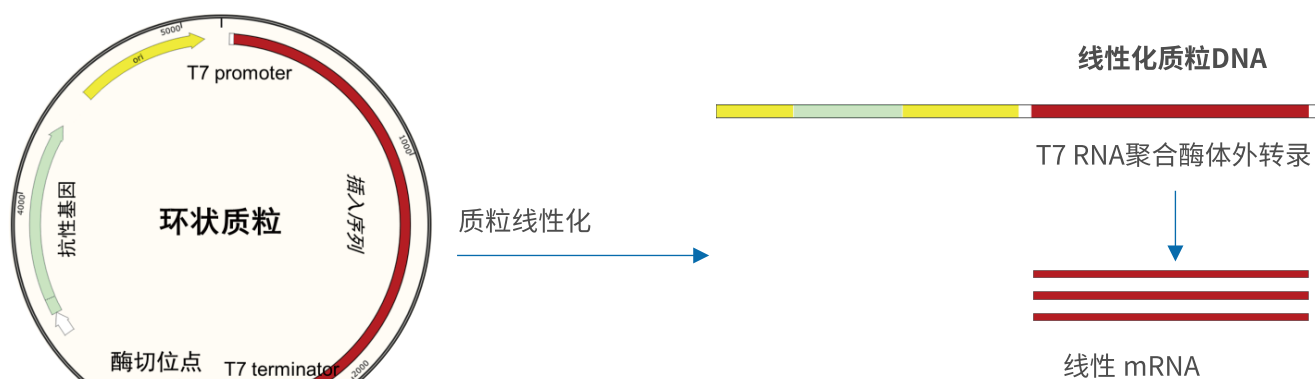
mRNA 双报告基因串联序列的设计与表达验证

mRNA

序列设计与优化服务



体外制备mRNA的工艺过程中,需以线性化的质粒DNA为转录模板,借助T7 RNA聚合酶进行体外转录,高质量的质粒DNA对于下游的体外转录(IVT)至关重要。基于成熟的质粒制备服务平台,耀海生物可提供高纯度、高标准的线性化质粒DNA制备服务,实现下游IVT的高效转录。



以线性化质粒 DNA 为模板的体外转录示意图

服务详情

服务项目	可选服务	服务详情	交付周期 (天)
环状质粒制备	基因合成	基因合成 (委外)	7-10
	质粒扩增	质粒扩增	2
		质粒提取	
线性化质粒制备	质粒线性化与纯化	质粒线性化	1
		线性化产物纯化	
质粒 DNA 质量放行	浓度纯度	紫外分光光度法 (UV)	1-2
	质粒构象	琼脂糖凝胶电泳 (AGE)	
		毛细管电泳 (CE)- 可选	
质粒完整性	限制酶酶切鉴定 (AGE)		

服务优势

FreeCut模板质粒

灵活的质粒模板设计方案，满足客户特殊定制需求。

高回收率

不断优化 DNA 提取与纯化方式，实现高回收率。

平台工艺成熟

提供高标准、高效率的质粒制备和质量控制服务，满足下游实验需求。

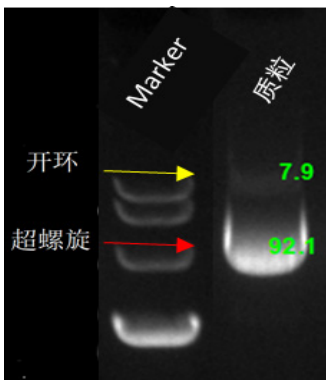
严格质量控制标准

科研用质粒样品超螺旋构象 > 70%。

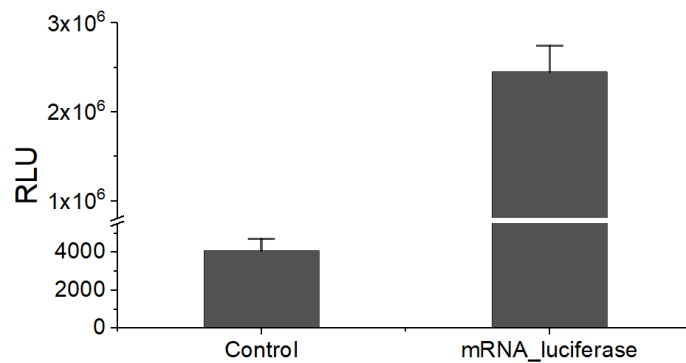
案例展示

以耀海生物预制品 mRNA_luciferase 为例，转录模板质粒样品（科研级）超螺旋比例超过 90%，线性化比例接近 100%，后续转录比可达 1:200（线性化质粒 DNA:mRNA）。

以线性化质粒为模板制备得到的 mRNA_luciferase，将其转染 293T 细胞，转染 24 小时后评估酶-底物反应活性，可检测到明显的强荧光素酶活信号，即 luciferase 蛋白高效表达，提示转录模板的纯度，可充分满足高质量 mRNA 的制备需求。



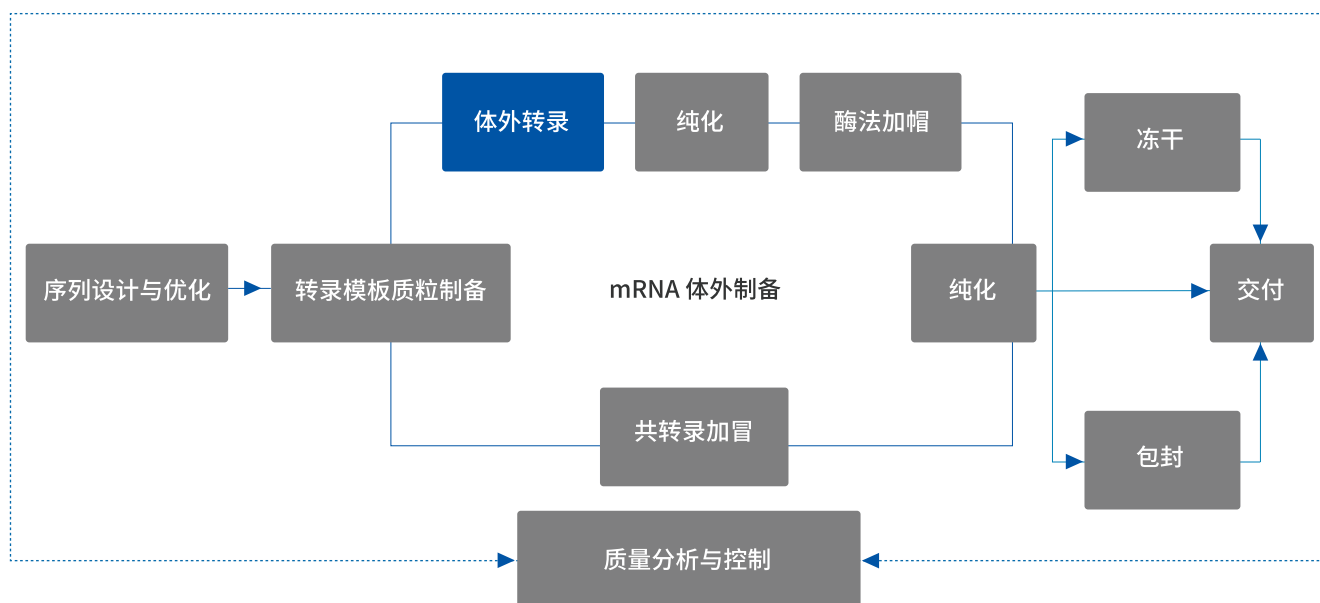
质粒超螺旋比例检测



mRNA-luciferase 体外表达验证

mRNA

体外转录服务

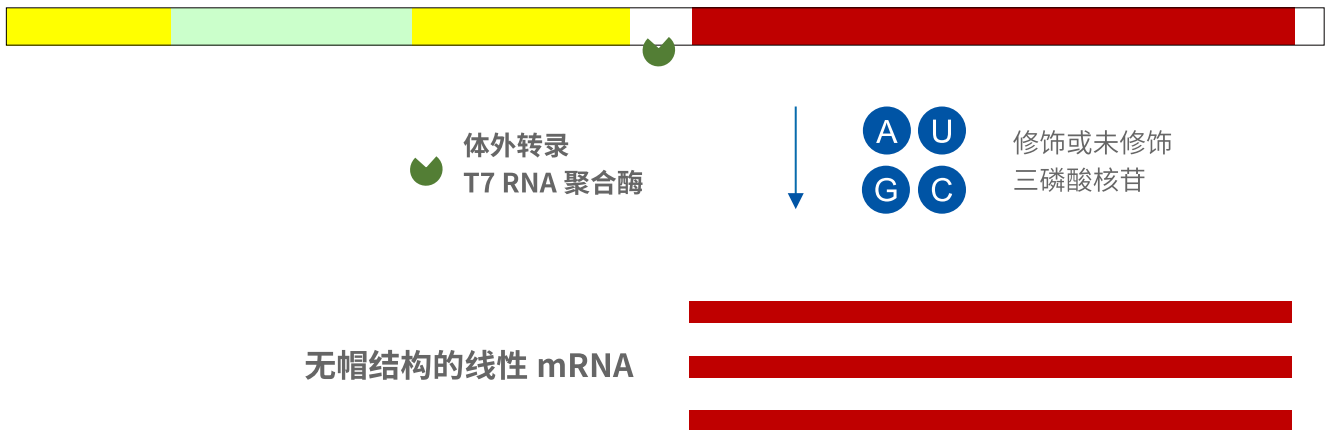


关于mRNA批量制备, 较高效且成熟的方法为体外转录(IVT, In Vitro Transcription)。IVT反应以含T7启动子的线性化质粒DNA为模板, 在T7 RNA聚合酶作用下, 以三磷酸核苷(NTPs)为底物合成mRNA。

核苷酸修饰是mRNA成药探索中的一大重要突破, 未修饰的mRNA分子被细胞内的RNA传感器识别而激活先天免疫。出于对mRNA体内免疫原性和翻译效率的考量, IVT过程常使用某种修饰的NTPs, 常见的修饰核苷酸有假尿嘧啶(Ψ)、N1-甲基-假尿嘧啶(N1 Ψ)、5-甲基胞嘧啶(5mC)。

mRNA体外转录过程

线性化质粒 DNA



图示：IVT 反应示意图

服务详情

服务项目	服务详情	交付周期 (天)
体外转录 (IVT)	反应体系确认	1
	体外转录 (IVT)	
	核苷酸修饰 (Ψ /N1 Ψ /5mC)	
	DNA 模板去除 (DNase I)	
IVT 条件优化 - 可选	反应体系设计与优化	2-5

服务优势

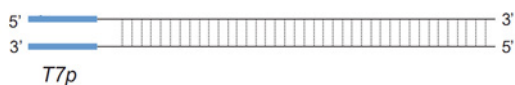
- 多样化核苷酸修饰策略**
 提高mRNA的体内稳定性和蛋白表达水平。
- 严谨的实验设计与优化**
 可实现长达10kb mRNA片段的制备。
- 高效转录**
 通过优化IVT反应条件，实现高效转录，转录比可达1:200。
- 严格控酶标准**
 通过对实验环境与耗材严格控酶，以有效防止mRNA的降解。



案例展示

当前IVT反应体系大致是由适用于长约100 nt的合成体系优化而来，并非适用于任意长度的mRNA，mRNA序列越长，转录难度越高，并且更容易发生降解。

为制备长度约10kb的mRNA定制化序列，耀海生物经过严谨的实验设计，对反应条件进行持续优化，严格控制RNase，成功制备得到符合客户需求的高质量样品，转录比高达1:135，1 μg线性化质粒体外转录后得到135 μg粗纯的mRNA产物。



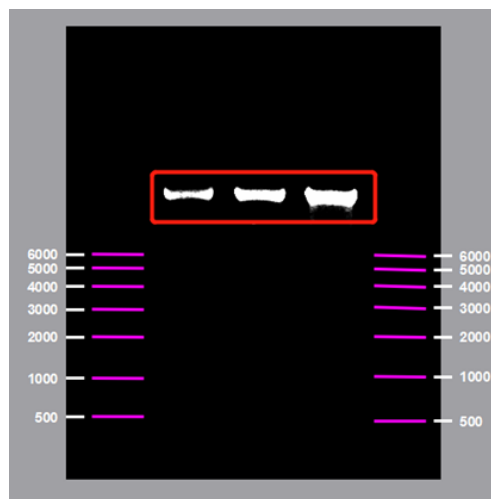
DNA模板 1 μg



IVT反应
氯化锂粗纯



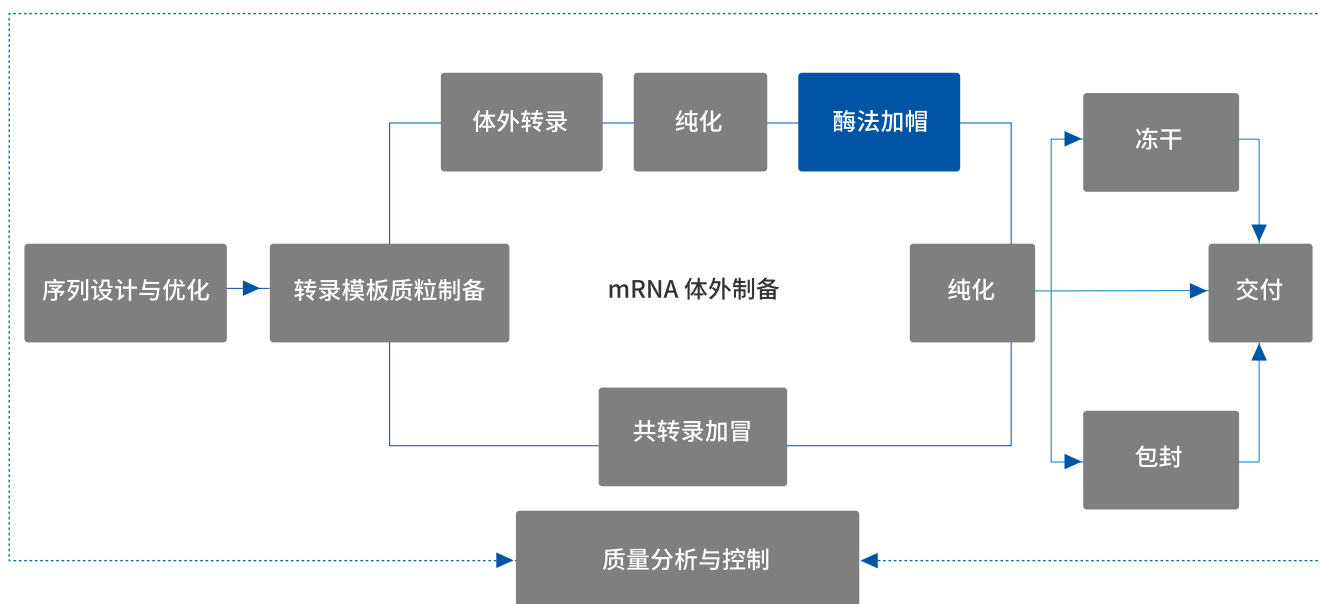
粗纯后mRNA产物 135 μg



mRNA长度和纯度检测

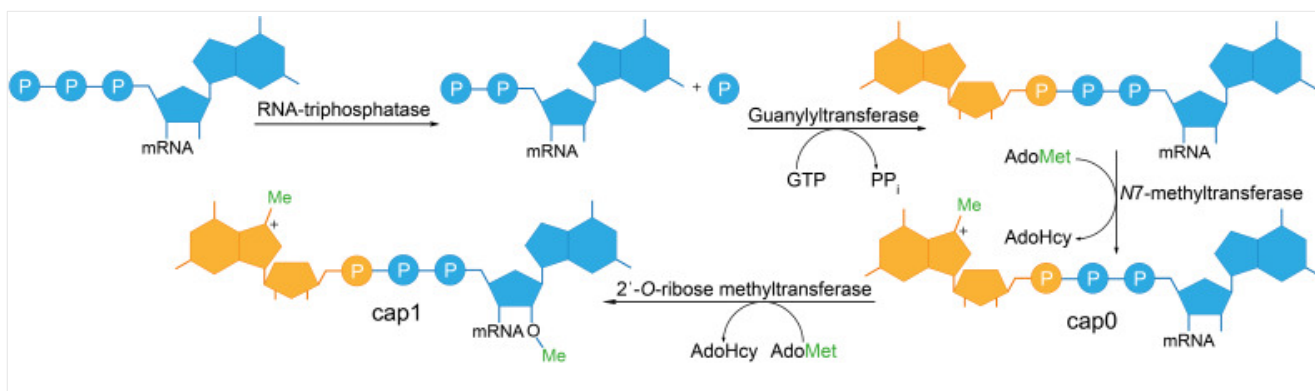
mRNA

酶法加帽服务



5'-端加帽(capping)是mRNA必不可少的一种修饰方式,带帽结构的mRNA,尤其是Cap1帽结构,有助于mRNA逃避体内先天性免疫反应,从而实现高效的蛋白质翻译。

酶法加帽(两步法)是传统的mRNA加帽方法,类似于真核生物体内的加帽过程,在一系列酶的作用下,7-甲基鸟嘌呤(m7G)通过5'-5'三磷酸键与mRNA的5'-端连接并发生甲基化修饰,形成帽结构Cap 1(m7GpppN)。

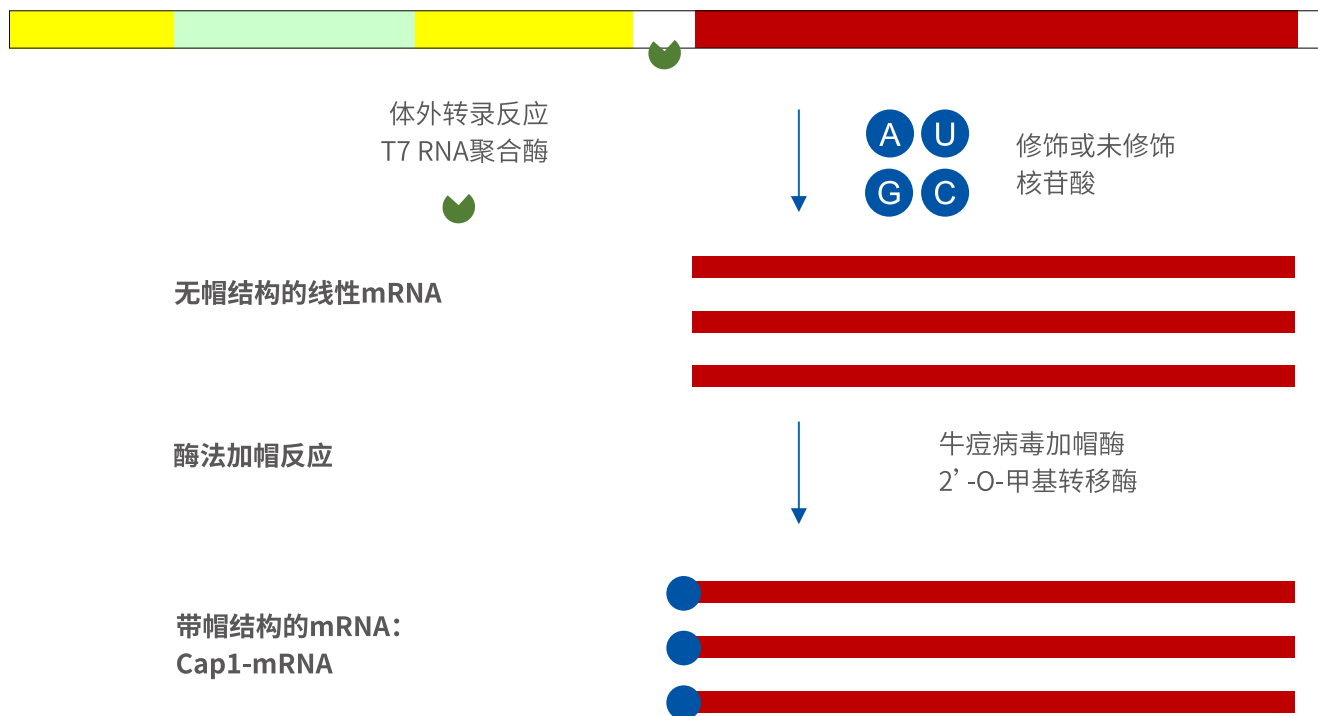


图示: 天然帽结构形成示意图

酶法加帽反应流程如下：

以线性化质粒DNA为模板，在T7聚合酶作用下进行体外转录(IVT)，
经一步纯化后使用牛痘病毒加帽酶和2'-O-甲基转移酶，形成5'端帽结构的mRNA。

线性化质粒DNA



图示: mRNA酶法加帽反应示意图

服务详情

服务项目	详细步骤	交付周期 (天)
mRNA 酶法加帽	反应体系确认	1
	酶法加帽反应	
加帽反应优化 - 可选	反应体系设计与优化	3-7

服务优势

加帽反应体系设计与优化

调整 IVT 反应体系，mRNA 转录产物大幅提升。

体外表达验证

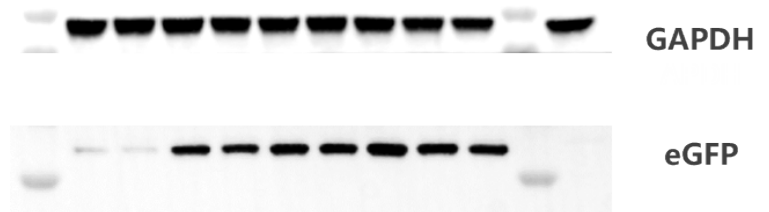
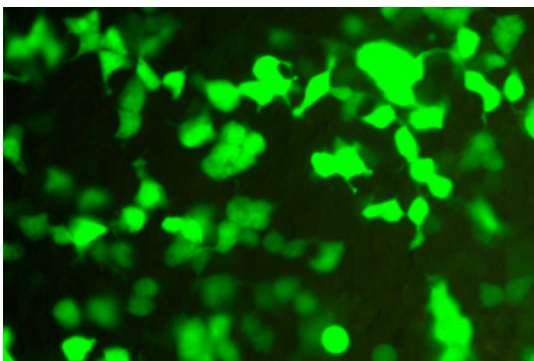
将加帽后的 mRNA 转染 293T 细胞，可检测到目标蛋白的表达。

严格控酶标准

通过对实验环境与耗材严格控酶，有效防止 mRNA 的降解。

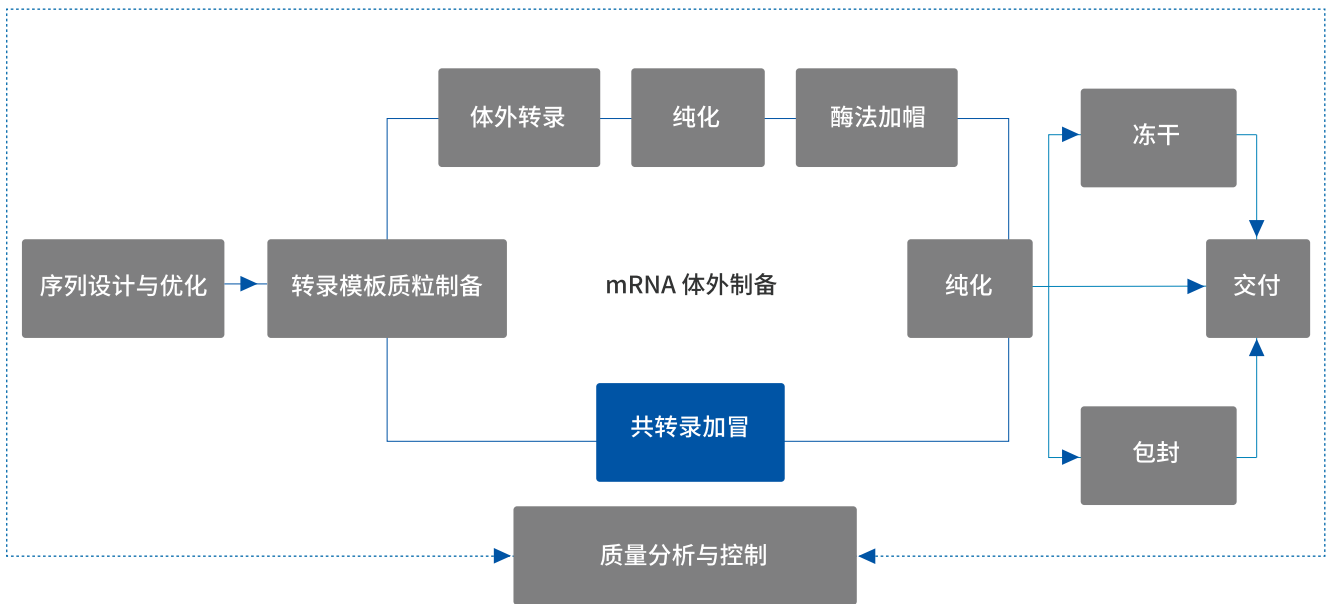
案例展示

耀海生物mRNA平台搭建了完善的加帽反应体系,通过酶法加帽制备的mRNA预制品mRNA_eGFP,转染293T细胞24小时后,可观察到高水平的eGFP荧光信号(绿色荧光),Western Blot检测到明显信号,验证了目标蛋白eGFP在体外可实现高效表达。



mRNA

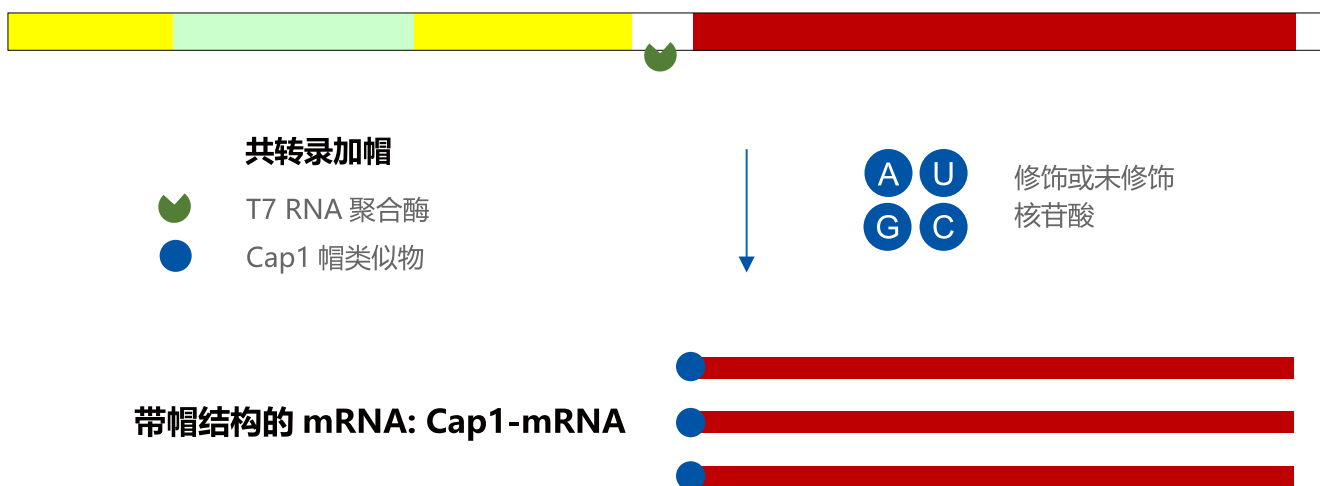
共转录加帽服务



相比两步法的酶法加帽，一步法共转录加帽法可极大地减少工艺流程。该方法以结果为导向，通过在体外转录反应体系中添加帽类似物，可在转录起始处引入帽类似物，转录完成即可获得带帽结构的mRNA，当前第三代帽类似物可避免反向加帽，直接在转录产物中加入Cap 1帽结构。

出于对mRNA体内免疫原性和翻译效率的考量，IVT过程常使用某种修饰的NTPs，常见的修饰核苷酸有假尿嘧啶(Ψ)、N1-甲基-假尿嘧啶(N1Ψ)、5-甲基胞嘧啶(5mC)。

线性质粒 DNA



图示：mRNA 共转录加帽反应示意图

服务详情

服务项目	服务详情	交付周期 (天)
共转录加帽	反应体系确认	1-2
	体外转录反应 (Clean Cap 帽类似物)	
	核苷酸修饰 (Ψ /N1 Ψ /5mC)	
	DNA 模板去除 (DNase I)	
IVT 反应优化 - 可选	反应体系设计与优化	3-7

服务优势

- 多样化核苷酸修饰策略**

多种可选的核苷酸修饰策略，提高蛋白表达水平。
- 优化的反应体系**

实现高转录比和高加帽率。
- 稳定的加帽工艺**

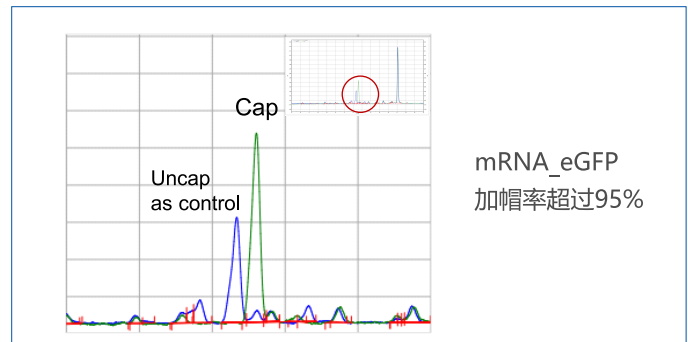
可实现95%以上的加帽率。
- 严格控酶标准**

通过对实验环境与耗材严格控酶，有效防止mRNA的降解。

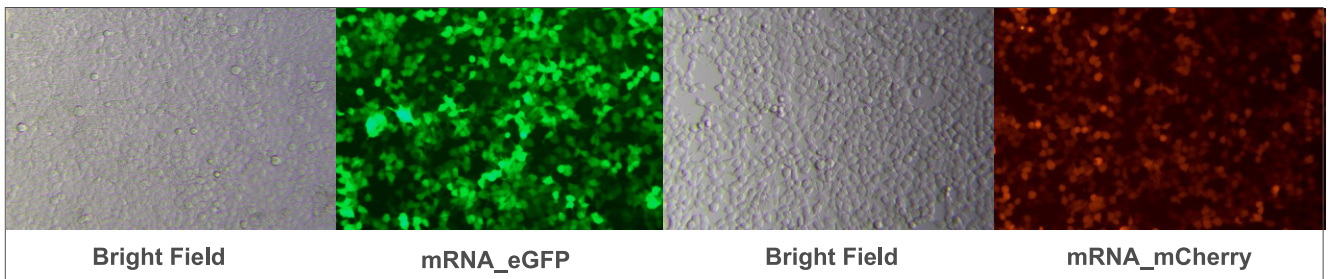


案例展示

耀海生物搭建了成熟的共转录加帽工艺平台，使用 Clean Cap 帽类似物直接加入 Cap1 帽结构，同时避免反向加帽。经过标准化的样品前处理、毛细管电泳检测等，预制品 mRNA_eGFP 加帽率可达 95% 以上。

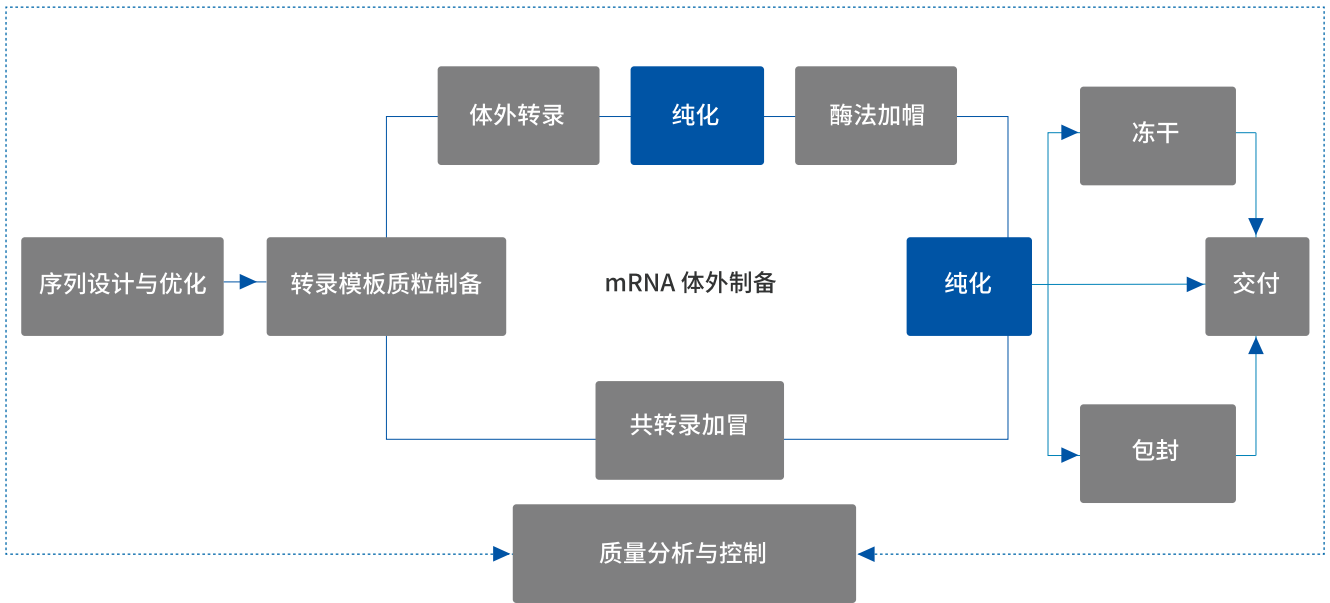


将共转录加帽制备的预制品 mRNA_eGFP 和 mRNA_mCherry 分别转染至 293T 细胞，48h 后观察到强烈的荧光信号，提示 mRNA 在 293T 细胞中高效表达。



mRNA

纯化服务



经体外转录(IVT)与加帽反应制备得到的mRNA，需进一步纯化以去除IVT及加帽反应产生的具有免疫原性未消耗的底物和反应副产物，以确保mRNA药物有效性和安全性。

耀海生物可提供成熟的LiCl沉淀、磁珠纯化、层析纯化等解决方案，能有效去除多种杂质，制备高纯度mRNA。



LiCl 沉淀法

少量mRNA简易纯化方案，可用于细胞转染、部分动物实验；
用于体外转录后、加帽前样品的纯化。



RNA Clean Beads 磁珠纯化法

少量mRNA纯化方案，可用于细胞转染、部分动物实验；
用于体外转录后、加帽前样品的纯化。



层析纯化法

具备亲和、离子交换、疏水层析等多种层析组成的纯化方案；
满足质量要求更高的下游应用场景，如细胞转染、LNP包封等。

服务详情

服务项目	可选项目	详细步骤	交付周期 (天)	交付
mRNA 纯化	常规纯化方案	氯化锂沉淀	1	mRNA 原液
		磁珠纯化		
	高纯度纯化方案	亲和层析或多种层析组合	2	
	溶液置换	超滤换液	1	
mRNA 质量控制	浓度检测	紫外分光光度法 (UV)	0.5	检测报告
	完整性和纯度检测	琼脂糖凝胶电泳 (AGE)		
		毛细管电泳 (CE)- 可选	1	
		HPLC- 可选	1	

服务优势



多种可选的纯化方案，满足不同
的下游应用场景。



mRNA纯度常规可达95%以
上，最高纯度达100%。

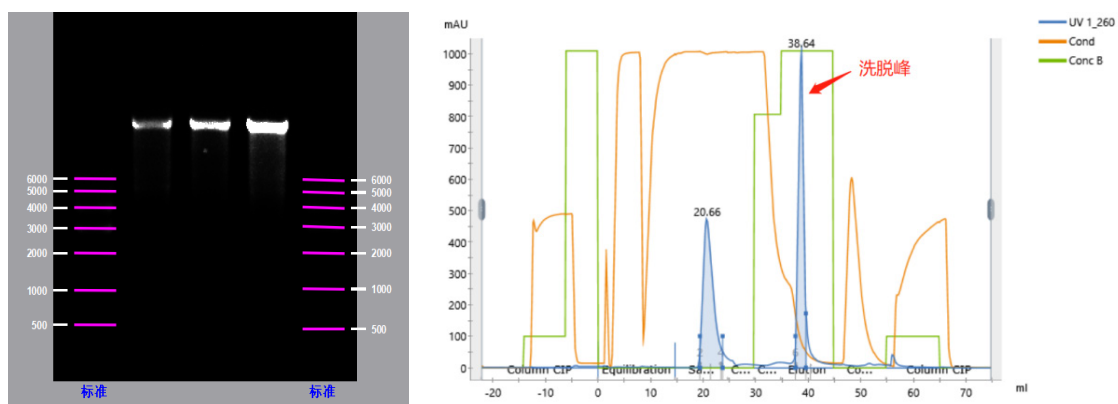


严格控酶标准，通过对实验
环境与耗材严格控酶，有效
防止mRNA的降解。

案例展示

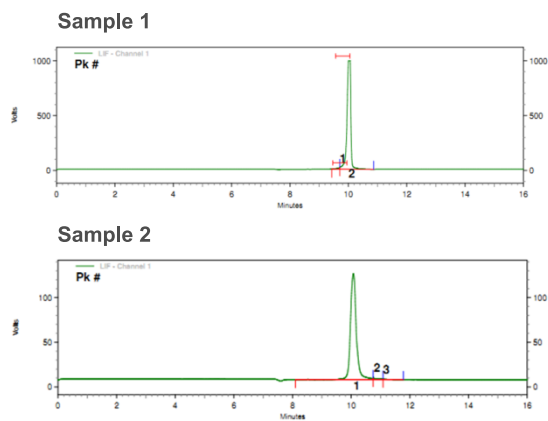
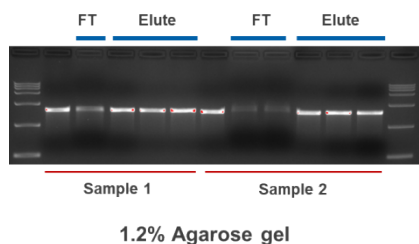
耀海生物建可提供成熟的mRNA纯化解决方案，能够有效去除各种小分子工艺相关杂质。

经毛细管电泳检测，层析纯化制备的mRNA样品纯度可达95%以上，ELISA试剂盒检测dsRNA含量低于0.06%，高质量满足mRNA的下游应用需求。



定制化 > 9kb mRNA的纯化

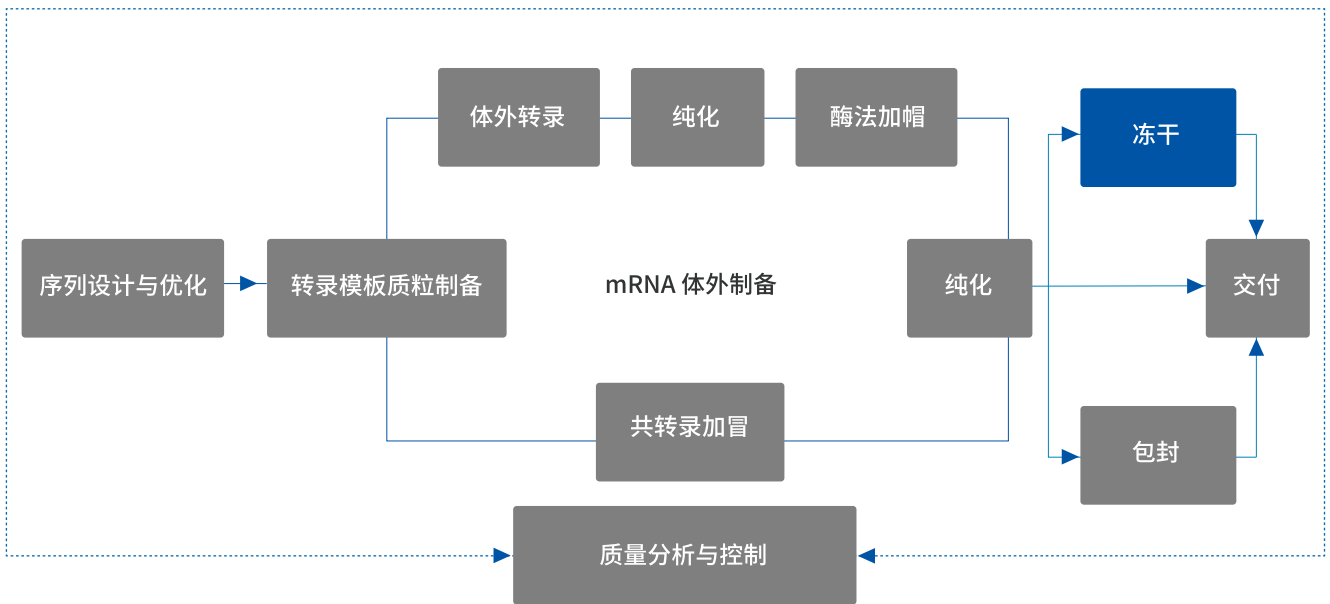
Oligo-dT purification



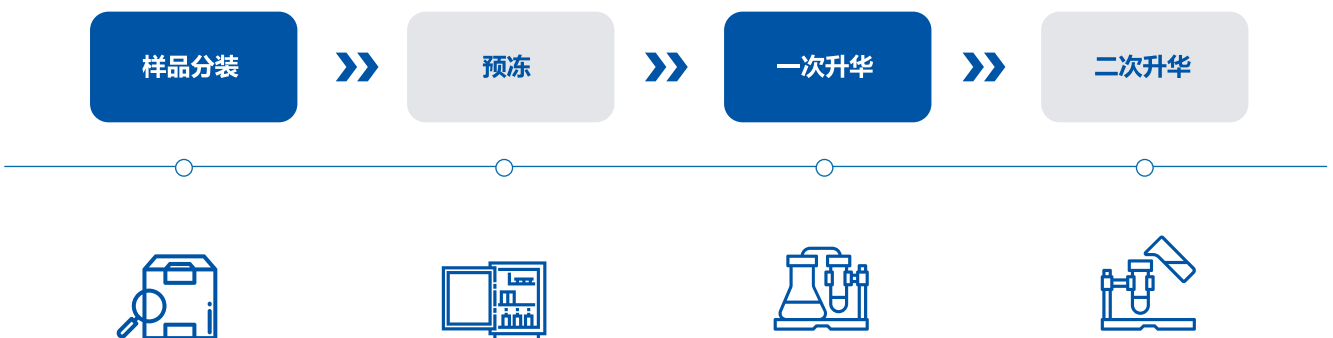
预制品mRNA_spike protein(新冠病毒)的纯度达95%以上

mRNA

冻干服务



为提高mRNA的稳定性，避免存储及运输中的损耗，耀海生物可为客户提供mRNA冻干服务，将mRNA原液进行冷冻干燥，以冻干粉形式保存或运输，大幅降低减少存储和运输过程中mRNA的降解和损耗。

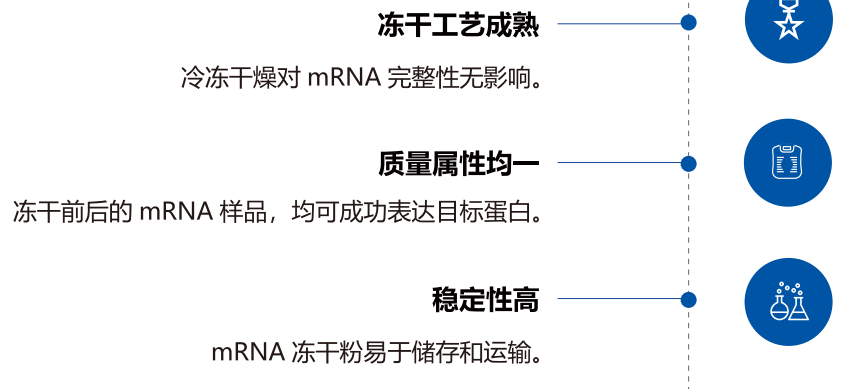




服务详情

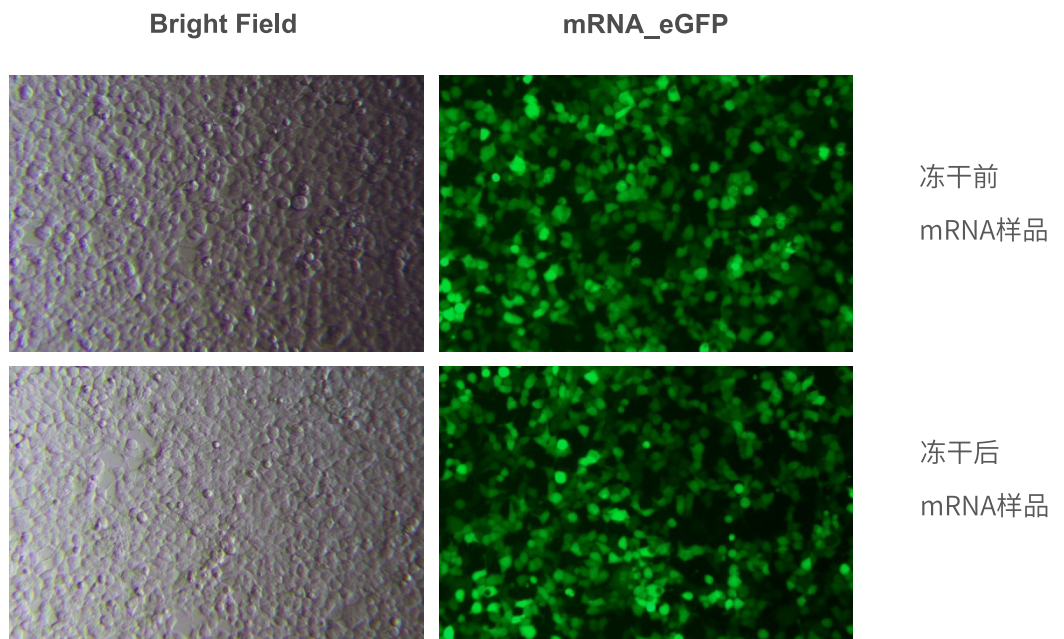
服务项目	可选项目	详细步骤	交付周期 (天)	交付
mRNA 冻干	样品分装	分装	2-3	mRNA 冻干粉
	冷冻干燥	预冻		
		一次升华		
		二次升华		
mRNA 质量控制	冻干粉复溶	复溶 / 重悬	-	检测报告
	冻干粉溶解性	外观检测	-	
		紫外分光光度法 (UV)	0.5	
	浓度检测	琼脂糖凝胶电泳 (AGE)		
	完整性和纯度检测	毛细管电泳 (CE)- 可选	1	
HPLC- 可选		1		

服务优势



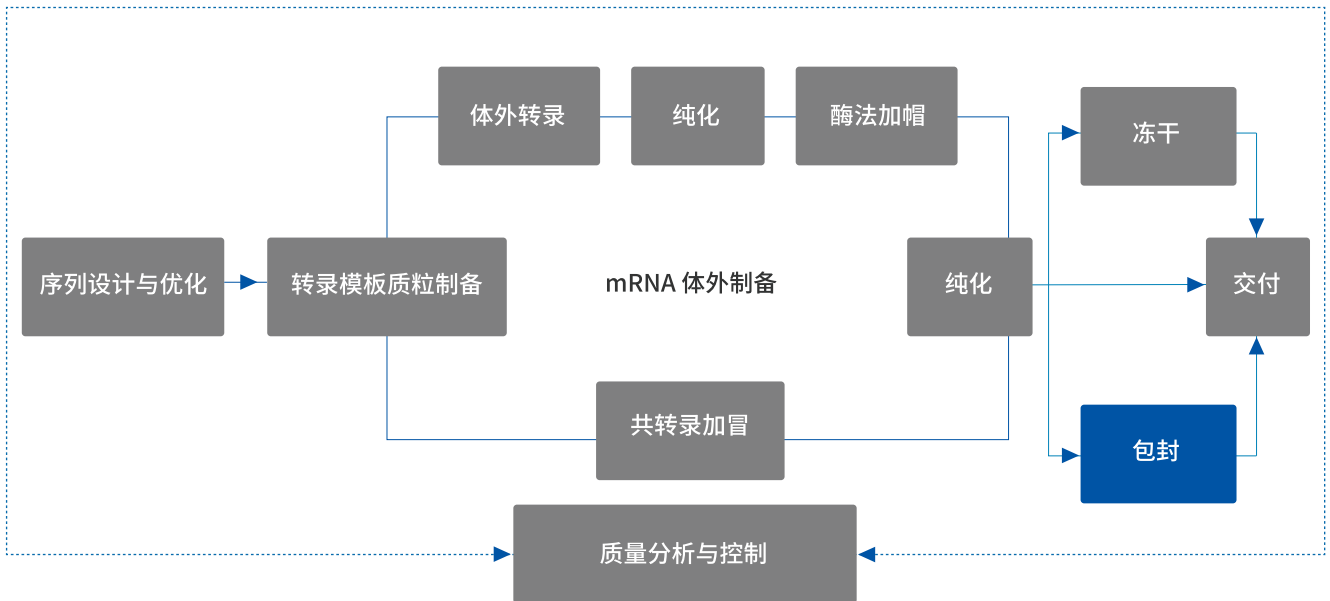
案例展示

使用常规脂质体，将冻干前与冻干后复溶的mRNA样品转染293T细胞，进行细胞评价。结果显示，冻干前后的预制品mRNA_eGFP样品均观察到强荧光信号，可在体外高效表达目标蛋白。



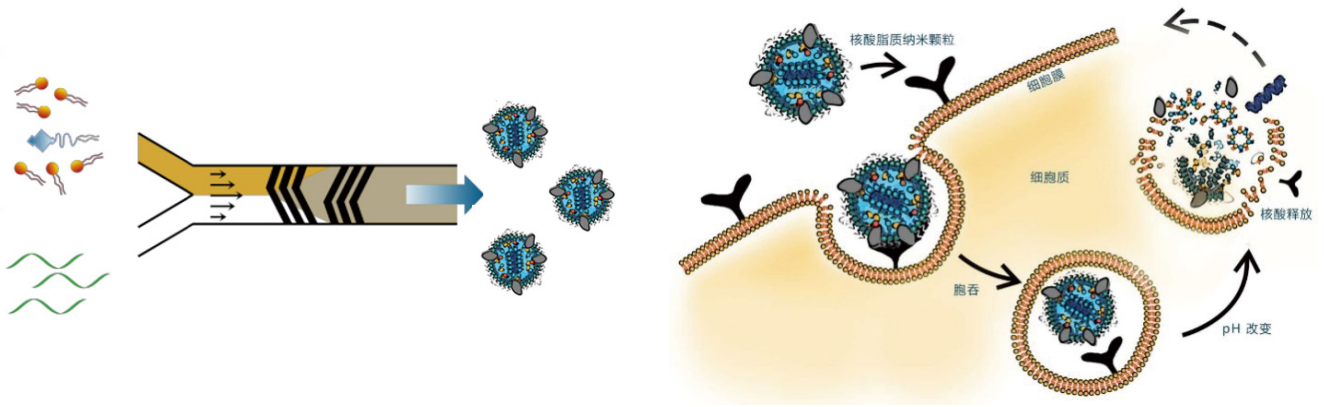
mRNA-LNP

包封服务



包封的基础是递送系统的设计开发。良好设计的递送系统才能使mRNA分子进入人体后避免被RNA酶降解，继而被有效递送至靶点、穿过细胞膜并在胞内释放。脂质纳米颗粒(LNP)是目前最佳的递送系统，与其他递送系统相比，其包封效果、体内表达效果、体内安全性等方面都更具优势。带有核酸片段的脂质纳米粒容易被吞进细胞内，形成胞内体。一旦进入细胞后，胞内体的酸性环境使电离脂质的头部质子化并带正电荷，从而与胞内体的内膜融合，释放目标核酸到细胞中发挥作用。

耀海生物mRNA服务内容持续完善，目前可提供mRNA-LNP包封服务，优化相关关键工艺参数，提高mRNA药物生产的一致性和重现性。



料液预处理	微流控	切向流过滤	除菌过滤
 <p>两股料液的准备： 一股是处于水性缓冲液的mRNA，一股是溶解在乙醇中的脂质。</p>	 <p>使用微流控设备快速混合脂类、mRNA两相溶液，从而实现均匀的LNP和高效封装。</p>	 <p>采用超滤技术将料液浓缩至目标制剂浓度，并将缓冲液置换为中性储存溶液，去除未封装的mRNA、多余的脂类和乙酸。</p>	 <p>符合药物无菌性法规要求，选择终端除菌过滤并且需通过细菌挑战实验验证。</p>

服务详情

服务项目	详细步骤	交付周期 (天)	交付
mRNA-LNP 包封	料液预处理	2	mRNA-LNP 制剂
	微流控设备混合		
	超滤浓缩	1	
	除菌过滤		
mRNA-LNP 质量控制	包封率	1	检测报告
	粒径及分布检测		
	Zeta 电位检测		
	mRNA-LNP 表达验证	5-7	

服务优势

工艺成熟 合成速度快，研发效率高，可提供预先优化方案；

包封率高 通过优化 LNP 各组分含量、水相 / 有机相比例，将 mRNA-LNP 包封率提升至 90% 以上；

粒径适中 通过改变流体注入速率和比率，将 LNP 粒径控制在 80~100nm，并且粒度分布均匀 (PDI<0.10)；

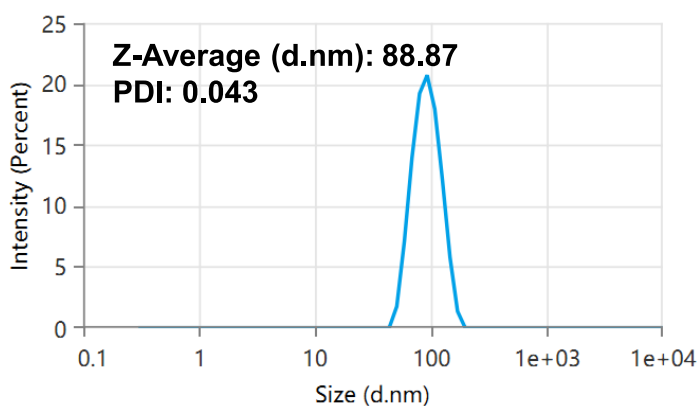
高效表达 mRNA-LNP 预制品经体外细胞表达验证，可高效表达目的蛋白。

案例展示

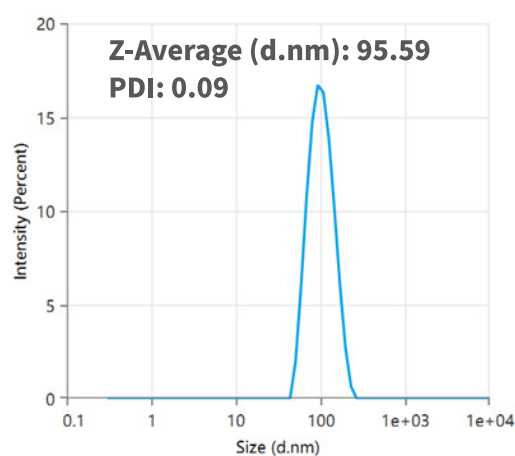
借助耀海微流控包封平台,我们对mRNA包封条件进行了优化,包括LNP各组分比例、水相与有机相比例、微流控各相流速。随后检测了成品mRNA-LNP的粒径和粒径分布。

实际结果显示,耀海预制品mRNA-eGFP(~1200nt)目前包封后,可将粒径控制在80nm左右,PDI<0.1

客户案例,~8000nt mRNA,通过工艺优化,最终将粒径控制在80-100nm之间,PDI<0.1



YH预制品 mRNA-eGFP



客户案例 8000nt mRNA

其他服务

• mRNA序列设计与优化

• mRNA转录模板质粒制备

• mRNA体外转录

• mRNA酶法加帽

• mRNA共转录加帽

• mRNA纯化

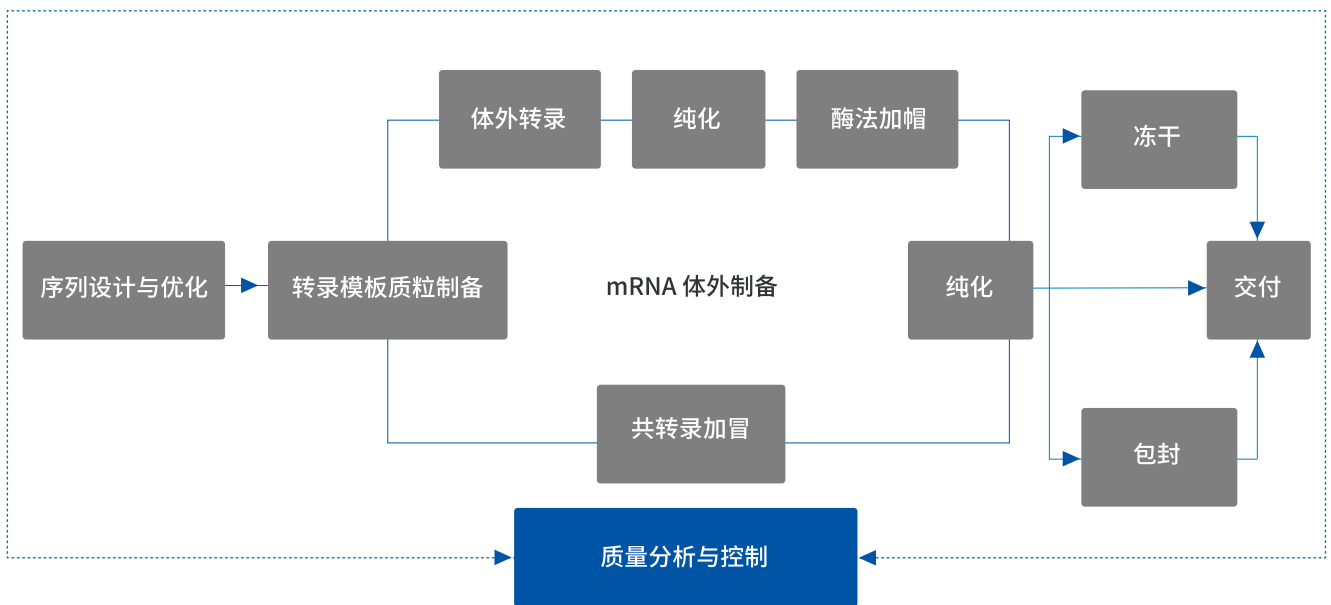
• mRNA-LNP包封

• mRNA冻干

• mRNA质量分析与控制

mRNA

质量分析与控制服务



2020年NMPA发布的《新型冠状病毒预防用mRNA疫苗药学研究技术指导原则》中, 建议对DNA模板、mRNA原液及成品mRNA-LNP进行质量控制。

耀海生物可提供环状和线性化质粒、mRNA原液及成品LNP-mRNA质量分析服务, 向客户交付完整的COA报告。

检测项目详细如下:

服务详情

质粒阶段关键质量属性

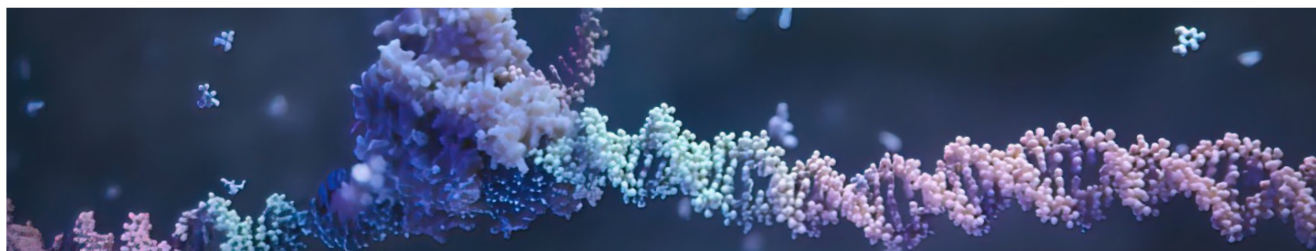
质控类别	检测项目	检测方法	科研级	临床报批级
鉴别	外观		✓	✓
	PH		✓	✓
	DNA 序列确认	Sanger 测序	—	✓
	限制性内切酶图谱	Restriction enzyme analysis with agarose gel electrophoresis	✓	✓
浓度	DNA 浓度	UV260 (Ultraviolet spectroscopy (UV))	✓	✓
纯度及杂质	质粒超螺旋比例	CE-LIF (Capillary electrophoresis)	—	✓
		AEX-HPLC (High-performance liquid chromatography (HPLC))	—	✓
		Agarose gel electrophoresis	✓	✓
	质粒纯度 Plasmid purity (A260/280)	Ultraviolet spectroscopy (UV)	✓	✓
	宿主 DNA 残留	qPCR	—	✓
	宿主 RNA 残留	逆转录 -qPCR	—	✓
	宿主蛋白残留	ELISA	—	✓
	卡那霉素残留	ELISA	—	✓
安全性	细菌内毒素检查	凝胶法	—	✓
		动态显色法	✓	—
	微生物限度	计数法	—	✓
	无菌	薄膜过滤法	—	✓

备注：科研级样品，检测项目如有需求，可任选增加

mRNA原液阶段关键质量属性

质控类别	检测项目	检测方法	科研级	临床报批级
鉴别	mRNA 序列	NGS	—	✓
	Poly(A) 尾产物长度	CE-LIF	—	✓
		酶切 -LC-MS	—	✓
浓度	mRNA 浓度	UV260/280	✓	✓
完整性	mRNA 完整性	Capillary electrophoresis	—	✓
		Capillary gel electrophoresis (CGE)-LIF	—	✓
		Agarose gel electrophoresis	✓	✓
	Product related impurities - aggregate quantitation	Size exclusion-high-performance liquid chromatography (SEC-HPLC)	—	✓
	Product related impurities - percentage of fragment mRNA	Reversed-phase HPLC (RP-HPLC)	—	✓
纯度及杂质	mRNA 加帽率	CGE	—	✓
		Reverse-phase liquid chromatography mass spectroscopy (RP-LC-MS/MS)	—	✓
	双链 RNA 残留	ELISA	—	✓
	宿主 DNA 残留	qPCR	—	✓
	宿主蛋白残留	ELISA	—	✓
安全性	细菌内毒素	凝胶法	✓	✓

备注：科研级样品，检测项目如有需求，可任选增加



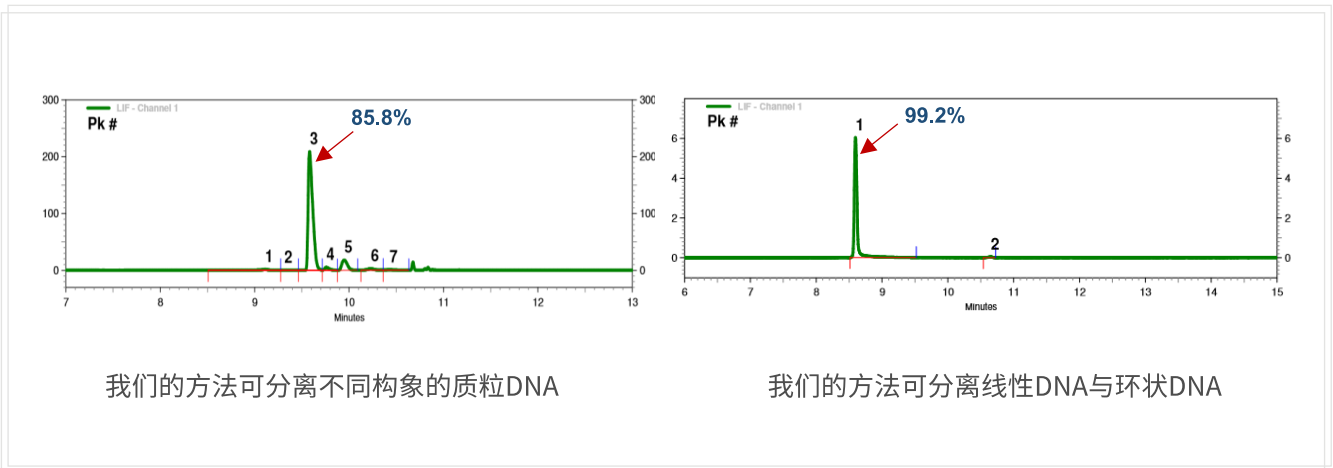
LNP-mRNA制剂阶段关键质量属性

质控类别	检测项目	检测方法	科研级	临床报批级
鉴别	mRNA sequence identity confirmation	Sanger sequencing	—	✓
	LNP 组分	CAD-HPLC	—	✓
含量	LNP 组分含量	CAD-HPLC	—	✓
浓度	包封率	荧光法	✓	✓
纯度	Product related impurities - aggregate quantitation	Size exclusion-high-performance liquid chromatography (SEC-HPLC)	—	✓
	Product related impurities - percentage of fragment mRNA	Ion pair reversed-phase high-performance liquid chromatography (IP-RP-HPLC)	—	✓
一般理化性质	渗透压	—	✓	✓
	PH	—	✓	✓
	Zeta 电位	马尔文粒度仪	✓	✓
	LNP-mRNA 粒度分析	DLS	✓	✓
	分散系数 (PDI)	马尔文粒度仪	✓	✓
安全性	细菌内毒素	凝胶法	✓	✓
	异常毒性	豚鼠法	—	✓

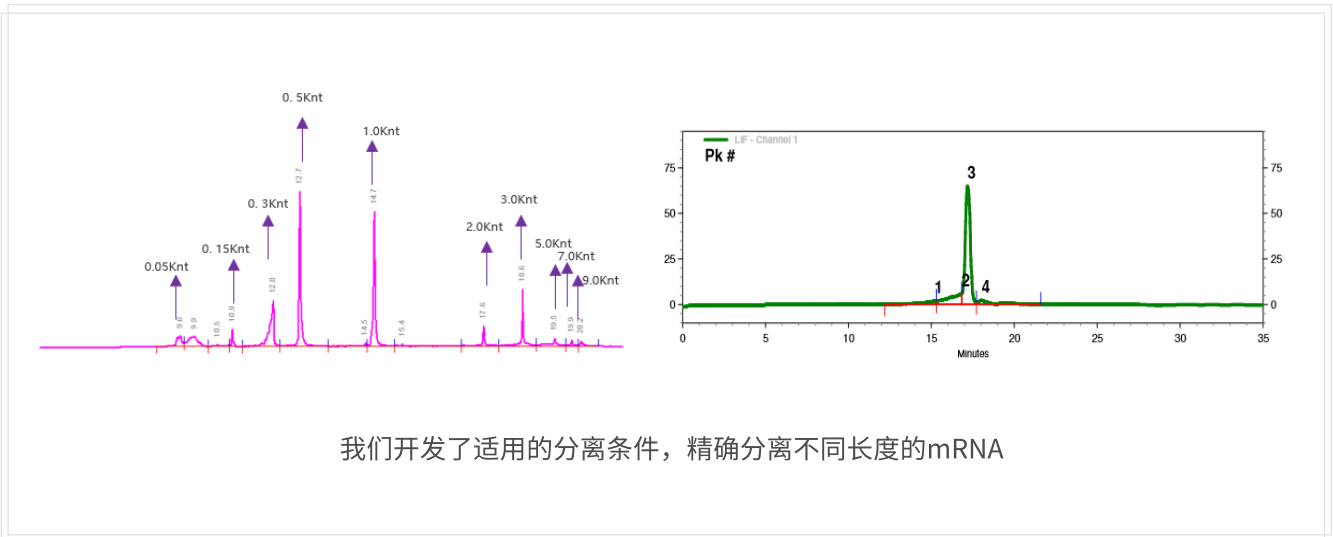
备注：科研级样品，检测项目如有需求，可任选增加

质量分析案例展示

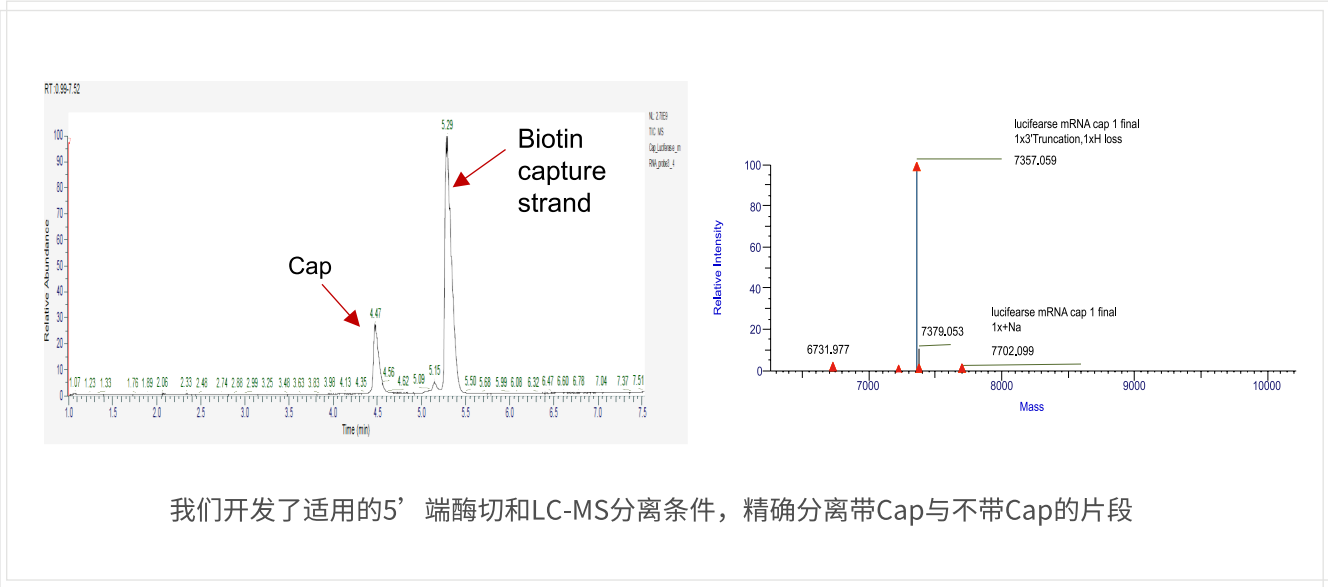
质粒DNA检测 (CE)



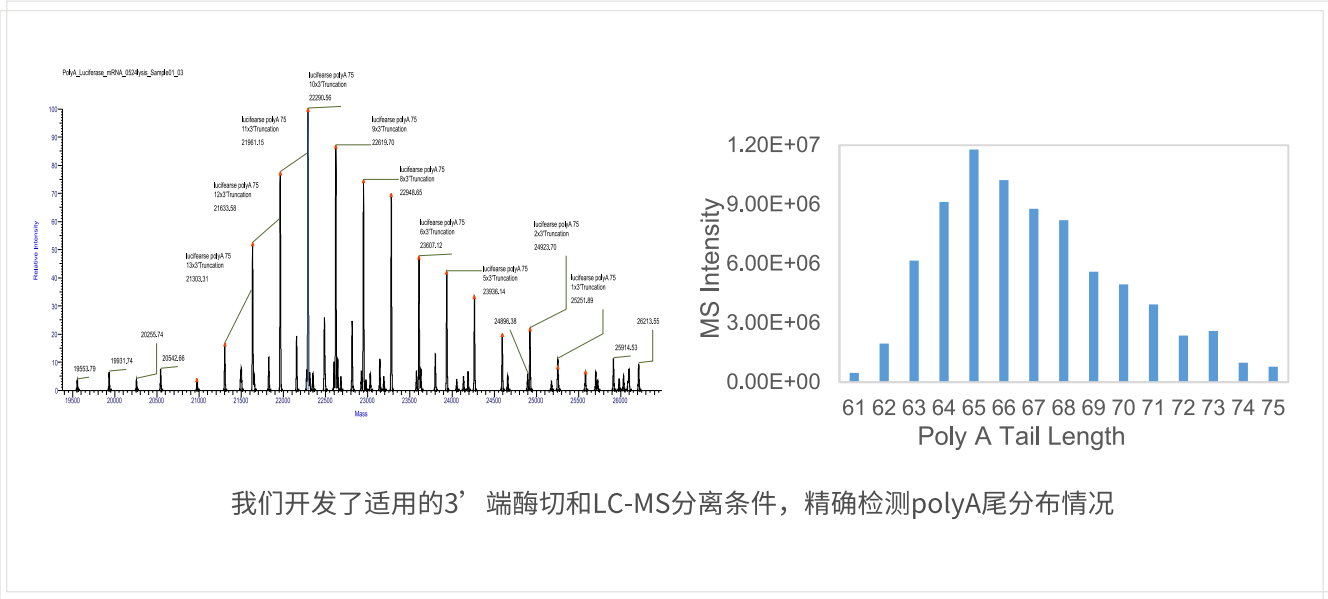
mRNA完整性检测 (CE)



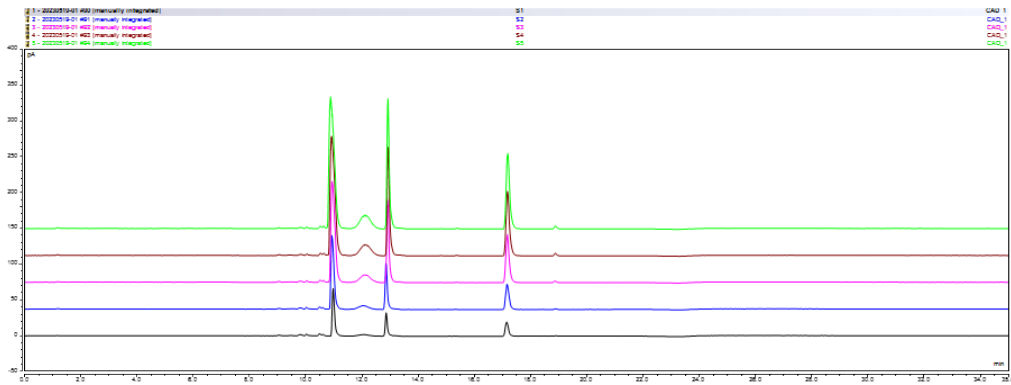
mRNA加帽率检测 (LC-MS)



mRNA polyA尾分布检测 (LC-MS)

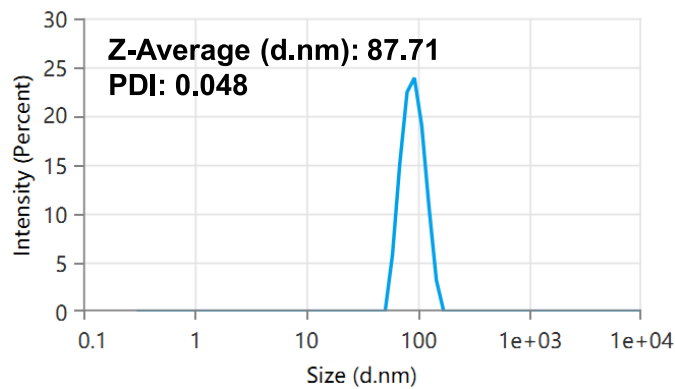


LNP各组分及含量检测 (HPLC)



耀海质量研究平台建立了适用的色谱方法，4种LNP组分实现基线分离。
我们利用HPLC检测LNP各组分含量，方法重复性很好

LNP粒径检测 (粒度仪)



耀海团队建立了粒径分析方法，该方法具有很好的重复性

LNP包封率检测（荧光法）

基于荧光结合原理，耀海团队开发了稳定的包封率检测方法。
我们对一种预制产品LNP-mRNA-Luciferase进行了多次检测，该方法具有很好的重复性。

$$\text{样品包封率} = \frac{\text{总RNA含量} - \text{游离RNA含量}}{\text{总RNA含量}}$$



其他服务

- mRNA序列设计与优化

- mRNA转录模板质粒制备

- mRNA体外转录

- mRNA酶法加帽

- mRNA共转录加帽

- mRNA纯化

- mRNA-LNP包封

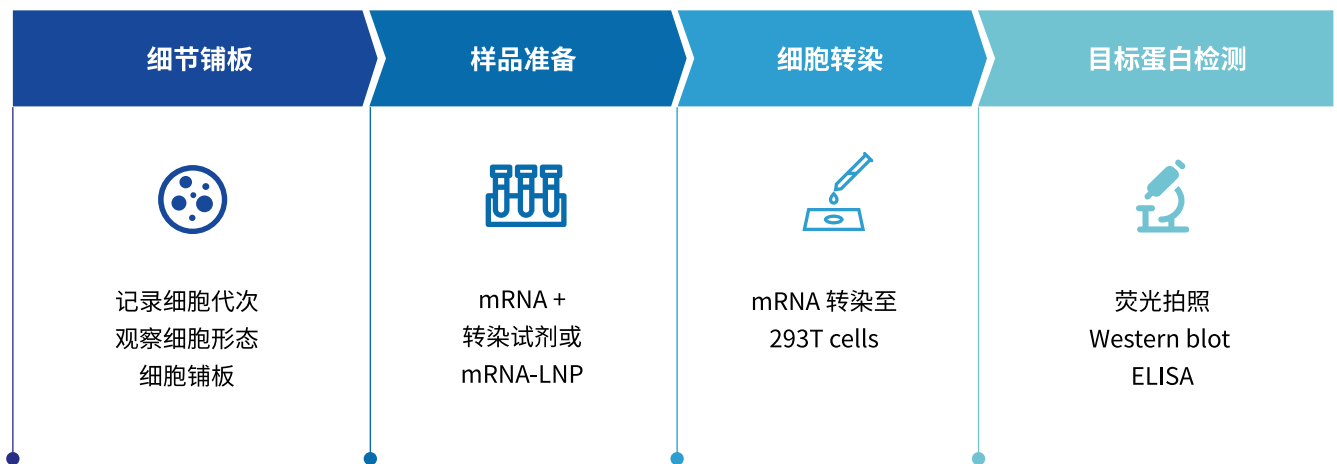
- mRNA冻干

- mRNA质量分析与控制

mRNA

体外表达验证服务

除mRNA相关质量属性外,耀海生物基于完善的细胞培养平台,可为客户提供mRNA细胞转染和目的蛋白特异性检测服务,将mRNA瞬时转染293T细胞,验证mRNA能否在体外细胞中成功表达目的蛋白。可检测样品范围包括mRNA原液和成品mRNA-LNP。

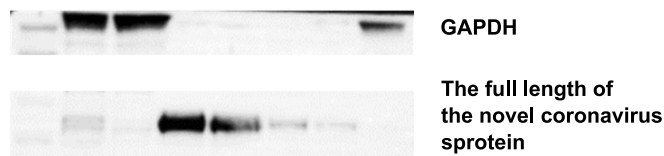
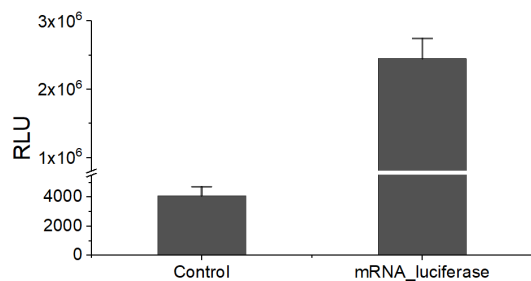
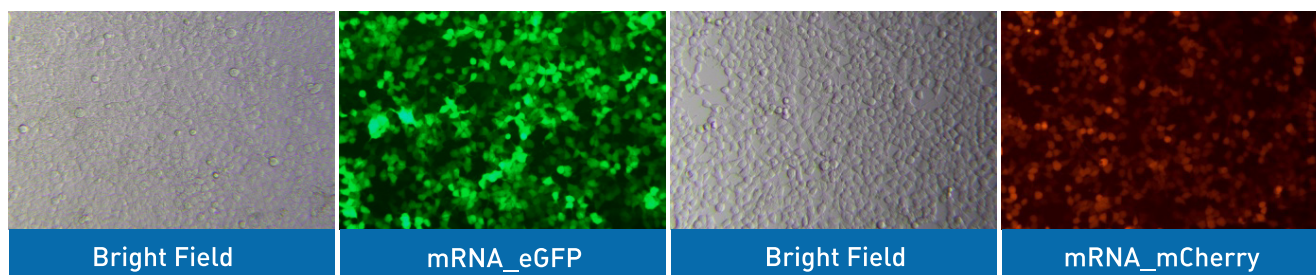


服务详情

样品	检测项目	检测方法	交付周期 (天)	交付内容
mRNA 表达验证	293T 细胞评价	细胞铺板	4	检测报告
		细胞瞬时转染		
		荧光信号观察	1-3	
		Western blot (WB)		
		ELISA		

案例展示

耀海生物搭建了完善的细胞培养、细胞转染及蛋白特异性检测平台,可基于荧光信号、Western blot/ELISA或底物-酶反应信号,验证目标蛋白的体外表达。



mRNA_luciferase

mRNA_Spike protein(新冠)

mRNA 平台



Bio-Rad 凝胶成像仪



Cytiva AKTA 纯化系统



Bio-Rad PCR 仪



Thermo qPCR仪



SCIEX 毛细管电泳仪



Waters HPLC



Thermo 全波长酶标仪



凤凰 PH-YGD荧光显微镜



PNI 微流控纳米颗粒制备系统

合作客户展示



清华大学
Tsinghua University



澳門科技大學
UNIVERSIDADE DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MACAU
MACAU UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY



復旦大學



上海交通大學
SHANGHAI JIAO TONG UNIVERSITY



西安交通大學
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY



SERVE WITH HEART & CREATE THE FUTURE TOGETHER

联系我们
CONTACT US

WWW.YAOHAI-BIO.COM

咨询热线: 0523-8628-5566

企业邮箱: SALES@YAOHAIBIO.CN

总部地址: 江苏省泰州市健康大道 801 号 29 幢



微信公众号



官方客服