



致力法規科學  
守護生命健康  
Regulatory Science, Service for Life

## 脂質奈米粒包覆 mRNA 疫苗類型產品 – 於 CMC 放行規格檢測項目與適合的分析方法考量

謝東儒、黃豐淳<sup>1</sup>

### 前言

目前 mRNA 疫苗產品生產製備，普遍使用體外轉錄(*in-vitro* transcription, IVT)技術平台，採取無細胞(*cell-free*)之酵素製程進行；相較於其他傳統類別疫苗，例如：病毒載體、不活化/去活化病毒、與基因重組製造蛋白質次單元等產品，開發 mRNA 疫苗產品具備的優勢，在於其製程不包括繁瑣的病毒種批與疫苗生產細胞受質株(庫)等，關鍵起始物之製備(須執行相對耗時的病毒檢測與疫苗生產細胞庫(批)特性分析)，並且，實際投入生產不須進行長時間的生產細胞擴增培養流程。因此，面對新興傳染病或是突發疫情等狀況，mRNA 疫苗產品展現出高度的產品競爭力，其生產靈活性優勢，使得迅速開發與生產疫苗變得可能。

經歷 2010 年代前後，所累積的技術突破與進展，科學家已經能夠開發出更穩定、有效的 mRNA 序列與脂質奈米粒(*lipid nanoparticles, LNPs*)等配方，藉由脂質奈米粒的包覆，使 mRNA 在人體內，具備安定性和細胞傳輸的效果，此技術發展遇到了公衛醫療迫切的需求，使研究人員與社會大眾迎來了 mRNA 疫苗產品在歷史上的初登場。2019 年底，COVID-19 疫情大流行從中國爆發，開始向全球各地迅速傳播。2020 年 1 月初，中國科學家首次分享新型冠狀病毒(*SARS-CoV-2*)的全基因組序列，Moderna 與 BioNTech 等藥廠，旋即投入 COVID-19 mRNA 候選疫苗的設計與量產等開發計畫，接下來不到一年的時間裡，被選中的候選 mRNA 核酸疫苗，先後經歷了加速研發與臨床試驗；此兩家藥廠採取以 LNP 包覆 mRNA 核酸(*mRNA-LNP*)的疫苗產品，均迅速取得美國食品藥物管理局(*Food and Drug Administration, FDA*)緊急使用授權(*Emergency*

<sup>1</sup> 財團法人醫藥品查驗中心 藥劑科技組



Use Authorization, EUA)、與歐盟醫藥管理局(European Medicines Agency, EMA)的有條件上市許可(Conditional Marketing Authorization, CMA)，並陸續在世界各國獲得核准，於全球進行大規模接種施打。依據第三期的臨床試驗結果，預估該類型 mRNA 疫苗產品，接種後的保護力高達 94%，可以有效地降低疫情擴散與重症死亡風險。其中 BioNTech 的 Comirnaty<sup>®</sup> 更於 2021 年 8 月 23 日率先獲得美國 FDA 的上市許可，而 Moderna 的 Spikevax<sup>®</sup> 產品則於 2022 年 1 月 31 日，取得美國 FDA 的上市許可。

### 一、品質管理至關重要

以 mRNA 為基礎之創新藥品，如同其他藥品的生產過程具備優良的品質管理，社會公眾應對其有信心。然，如同其他多數的生物製劑，mRNA 疫苗產品開發過程相當複雜，從早期臨床前開發階段的小規模試製、到符合大規模臨床試驗需求的生產，或多或少會面臨到製程中使用原物料、生產設備與流程步驟，甚至是產品配方調整等各種類型的變更，這些生產製程上的改變，是否對產品品質一致性造成影響，須要全面審慎評估；其中必須評估的項目，少不了對於品質管控分析方法的合適性評估，因為若使用不合適的品質分析方法，很可能影響檢測結果之正確性，進而危及產品的品質與安全性。舉例來說，早期臨床試驗之小規模生產所使用的品質分析方法，原則上，應已完成一定程度的方法確認，然而同樣的分析方法於更大規模的開發生產研究中，未必仍然適用。此乃因製程變更可能引起品質變化，此時生產製造商，若未能使用合適的品質分析方法，來正確識別與妥善解決這些因製程變更所引起的品質變化，就很有可能無法監控試驗藥品品質，甚而影響臨床試驗的結果，嚴重的甚至會延宕法規單位最終的審核批准。因此，良好的 mRNA 疫苗產品於生產品質管理系統預先建立起一套穩健的測試方法，以確認與維持產品品質的一致性，至為重要。

LNP 包覆 mRNA 疫苗產品的技術應用相對較新穎，產品開發者急需了解各國法規單位的審查考量。由世界衛生組織(World Health Organization, WHO)率先發表 LNP 包覆 mRNA 疫苗產品的法規考量，而財團法人醫藥品查驗中心因應國內學研單位和藥廠開發需求，亦研擬 LNP 包覆 mRNA 疫苗產品之研發策略指導原則，提供開發者與製



造商針對 mRNA 疫苗產品的鑑別(identity)、純度/不純物(purity/impurity)、以及含量(content)等幾項重要品質屬性進行必要管控之說明<sup>[1-3]</sup>。

## 二、生產製程與品質管控適用的分析方法

一般而言，產品的開發和生產商須依據其開發的產品特性，自行開發一套適合的內部品質分析方法和管制標準；然而，為滿足對 LNP 包覆 mRNA 類型產品開發之迫切醫療需求，並加速其產品開發，美國藥典(US Pharmacopeia, USP)發布一套適用於 mRNA 疫苗原料藥及其成品放行規格檢驗之品質分析方法標準。於 2022 年 2 月，USP 公布該分析方法初版草案，並同時徵求全球產學研各界，針對 mRNA 疫苗產品品質分析方法之草案的意見反饋，並鼓勵提交任何替代方法和額外的支持文件(例如：方法驗證/確效文件)。目前 USP 已將第一個版本所收集獲得的評論與建議內容進行整合，並更新至草案第二版。USP 並再次徵求 mRNA 疫苗產品供應商和製造商、委託製造商(contract development and manufacturing organizations, CDMOs)、藥物檢測機構、各國法規單位，以及來自業界、學術界和政府的專家，對於該草案所描述品質分析方法，提供反饋與建議。

本文將參考 USP 公告之 LNP 包覆 mRNA 疫苗產品之品質分析方法第二版草案的內容<sup>[4]</sup>，說明 mRNA 疫苗原料藥及其成品放行規格檢驗之品質分析方法標準，並整理重要分析方法的內容。期望本文能讓國內學研究和產品開發商，瞭解國際對於 mRNA 疫苗產品之品質分析方法的現況，以利其產品分析方法的開發。

### mRNA原料藥放行規格檢驗項目與合適的分析方法

USP 草案在原料藥規格部分，建議執行包含外觀與性狀(Appearance)、鑑別(Identity)、含量(Content)、完整性(Integrity)、純度/不純物(Purity)、效價(Potency)與安全性(Safety)等各項檢測(表一)。與其他法規單位公布之指引/審查考量內容<sup>[1-3]</sup>略有不同，USP 草案明列須分析並規範 mRNA 聚集不純物(mRNA aggregation)之限量，



致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

以確保製程的一致性並提高 mRNA 的生物活性、穩定性與安全性。此外，USP 草案於原料藥規格檢驗階段，即建議使用 cell-based assay 作為效價測試、並分析 mRNA 原料藥，是否可被順利轉譯成目標蛋白/抗原，必要時，應使用 ELISA 方法去驗證，被轉譯出的目標蛋白/抗原結構仍具有預期可供識別之構型。

表一、USP 草案第二版建議之 mRNA 原料藥放行規格檢驗項目與合適的分析方法

測試項目	相關 mRNA 原料藥 品質屬性分析	合適的分析方法
鑑別	mRNA 序列鑑別確認	高通量定序 (high throughput sequencing, HTS)
		桑格氏定序 (Sanger sequencing)
		反轉錄酶-聚合酶連鎖反應 (reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR)
含量	RNA 濃度	定量聚合酶連鎖反應 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR)
		數位聚合酶連鎖反應 (digital polymerase chain reaction, dPCR)
		紫外線光譜法 (ultraviolet spectroscopy, UV spectroscopy,)
完整性	mRNA 結構完整性	毛細管電泳 (capillary electrophoresis, CE)
		毛細管凝膠電泳 (capillary gel electrophoresis, CGE)
		瓊脂糖凝膠電泳 (agarose gel electrophoresis)
純度	5' 端帽效率(%)	逆相液相層析-質譜法 (reverse-phase liquid chromatography mass spectroscopy, RP-LC-MS/MS)
		離子對逆相高效能液相層析法 (ion pair reverse-phase high-performance liquid chromatography, IP-RP-HPLC)



致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

	3' 端聚腺苷酸序列長度	離子對逆相高效能液相層析法
	原料藥相關不純物 – 雙股 RNA	免疫墨點分析 (immunoblot) 酵素結合免疫吸附分析法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)
	原料藥相關不純物 – mRNA 聚集物	分子篩高效能液相層析法 (size exclusion chromatography HPLC, SEC-HPLC)
	原料藥相關不純物 – mRNA 片段百分比	逆相高效能液相層析法 (reverse phase HPLC, RP-HPLC)或離子對逆相高效能液相層析法
	製程相關不純物 – DNA 模板殘留	定量聚合酶連鎖反應
	製程相關不純物 – 未反應核苷酸	逆相液相層析-質譜法
	製程相關不純物 – RNA 聚合酶殘留	酵素結合免疫吸附分析法 (ELISA)
效價	目標蛋白/抗原之表現	細胞分析 (cell based assay)
安全性	內毒素	可參考中華藥典第九版 (3085)、(3086)
	微生物檢驗	可參考中華藥典第九版 (3061)
其他	外觀	可參考中華藥典第九版 (4794)
	溶劑殘留量	可參考中華藥典第九版 (2467)、(2468)
	pH 值	可參考中華藥典第九版 (1793)

### 三、原料藥放行規格檢驗項目之適用分析方法介紹

本節特別針對上述適用於 mRNA 但不常見於其他生物製劑之分析方法：離子對逆相高效能液相層析法(IP-RP-HPLC)進行介紹；如對上述其他分析方法感興趣者，相關細節內容可參考 USP 草案<sup>[4]</sup>。



## 離子對逆相高效能液相層析法

IP-RP-HPLC 結合了離子對試劑和逆相層析法的特點，能夠有效地分離具有相似性質的 mRNA 分子(例如：分離 5' 端 capped 或 uncapped 的 mRNA、或是 3' 端具有不同 poly-A tail 長度的 mRNA)。通過添加適當的離子對試劑(例如：Triethylammonium acetate buffer, pH 7.0)，改變 mRNA 分子的極性，可改變其在逆相層析管柱上的滯留與增強分離能力，使得具有些許不同 mRNA 分子能夠得到有效的分離。IP-RP-HPLC 可適用於不同類型的 mRNA 分子的分離，包括小型 mRNA、長鏈 mRNA 以及具有不同序列和結構的 mRNA (例如：lipid-mRNA adduct 等產品相關不純物)。此外，本方法可根據實際需要，適當使用離子對試劑的類型與濃度，從而達到對 mRNA 分子的選擇性分離，並排除其他雜質或干擾物質。IP-RP-HPLC 是一種相對成熟的分析技術，具有不錯的穩健性和可重複性，且有助於深入了解 mRNA 分子的結構與功能。

## LNP 包覆 mRNA 疫苗成品放行規格檢驗項目與合適的分析方法

LNP 包覆 mRNA 疫苗成品規格部分，USP 草案建議執行包含外觀與其他性狀、鑑別、含量、完整性、LNP 顆粒大小與多分散性、效價、與安全性等各項檢測 (表二)。相較其他法規單位公布指引/審查考量之內容<sup>[1-3]</sup>，USP 草案再次建議分析 mRNA 聚集不純物 (mRNA aggregation)限量的必要性。另外，因最近有研究<sup>[5]</sup>指出，目前 LNP 產品所使用的可離子化陽離子脂質(ionizable cationic lipid)結構中，具有三級胺構造，在經過氧化與水解反應降解之後，可生成具有反應性的 lipid 不純物，能與 mRNA 核苷酸上的鹼基反應形成 lipid-mRNA adducts，進而導致這些未預期的 lipid-mRNA adduct 分子，即便被運送進入目標細胞的細胞質當中，也無法順利地進行轉譯反應表現出目標蛋白或抗原分子；因此，為確保 mRNA 疫苗產品不會因 lipid-mRNA adduct 及相關不純物而影響活性，故於表二中建議增加 lipid-mRNA adduct 的含量管制。



致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

表二、USP 草案第二版建議之 mRNA 疫苗成品放行規格檢驗項目與合適的分析方法

測試項目	相關 mRNA-LNP 成品 質屬性分析	合適的分析方法
鑑別	mRNA 序列鑑別確認	桑格氏定序
		反轉錄酶-聚合酶連鎖反應
	脂質鑑別	配備有電霧式偵測器的逆相高效能液相層析法 (RP-HPLC with charged aerosol detector, RP-HPLC-CAD)
含量	RNA 濃度/包覆效率	螢光測定法 (Fluorescence based assay)
	脂質含量	配備有電霧式偵測器的逆相高效能液相層析法
完整性	LNP 顆粒大小與多分散性指數	動態光散射 (dynamic light scattering, DLS) 粒徑分析
	mRNA 結構完整性	毛細管凝膠電泳
純度	成品相關不純物 –mRNA 聚集	分子篩高效能液相層析法
	成品相關不純物 –mRNA 片段百分比	離子對逆相高效能液相層析法
	LNP 相關不純物 – e.g., lipid-mRNA adduct <sup>[5]</sup>	離子對逆相高效能液相層析法
效價	目標蛋白/抗原之表現	細胞分析
安全性	內毒素	可參考中華藥典第九版 (3085)、(3086)
	無菌	可參考中華藥典第九版 (3071)
其他	外觀	可參考中華藥典第九版 (4794)
	溶劑殘留量	可參考中華藥典第九版 (2467)、(2468)
	溶液滲透濃度	可參考中華藥典第九版 (1785)

台灣藥物法規  
資訊網法規公告台灣藥品  
臨床試驗資訊TFDA 藥物  
食品安全週報致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

非目視可見微粒物質	可參考中華藥典第九版 (5787)
注射劑容器內容量	可參考中華藥典第九版 (4697)
容器封蓋系統完整性	可參考中華藥典第九版 (4659)、(4671) 或 USP <1207>
pH 值	可參考中華藥典第九版 (1793)

## 一、成品放行規格檢驗項目之適用分析方法介紹

由於在 LNP 包覆 mRNA 疫苗成品進行品質測試時，部分方法須要預先從 mRNA-LNP 成品中，提取 RNA 或脂質方能執行。在更新版的 USP 草案<sup>[4]</sup>中，納入 mRNA 與脂質成分的提取方法之執行細節(包含提取液成分)。

本節著重從 mRNA-LNP 疫苗成品中，提取 RNA 或脂質的萃取方法(Method for RNA and Lipid extraction from mRNA-LNP)、RNA 濃度/包覆效率分析之螢光測定法(Fluorescence based assay)、以及脂質鑑別/含量測定使用，須要配備有電霧式偵測器的逆相高效能液相層析法(RP-HPLC-CAD)進行介紹；如對上述其他分析方法感興趣者，詳細內容可參考 USP 草案<sup>[4]</sup>。

## 二、從 mRNA-LNP 萃取 RNA 之方法

依據 USP 草案<sup>[4]</sup>之內容，建議使用其列舉的兩種試劑與萃取方法進行。

### (一) 異丙醇沉澱法(Isopropanol [IPA] precipitation)

首先使用 100% 異丙醇去配製合適體積、且含有 60 mM ammonium acetate 之萃取緩衝溶液；接下來透過異丙醇沉澱法，將 mRNA 自 mRNA-LNP 成品中萃取出來。詳細操作步驟分述如下：將 100  $\mu$ L mRNA-LNP 成品樣本加入 900  $\mu$ L 上述的萃取緩衝液中，進行 10 倍稀釋。透過 vortex 徹底混合後，樣品在 4°C, 14,000 x g 條件下，進行離心處理 15 分鐘。捨去上清液，然後用 1 mL 的 100% 異丙醇洗滌離心的沉澱物，透過 vortex 混合後，重複一次 14,000 x g 離心處理 15 分鐘。待離心結束後，使用 70%





的乙醇洗滌離心後的沉澱物，之後在室溫下於真空濃縮器中乾燥 20 分鐘。得到的乾燥樣品即為 mRNA 萃取成分，可於室溫下使用 100  $\mu$ L 的 RNase-free 水回溶，即可進行 mRNA 相關之品質試驗分析。

### (二) Phenol/Chloroform/Isoamyl alcohol (25:24:1) 試劑之萃取法

[注意，全程僅使用玻璃材質的容器與注射針筒(器)]

在 50°C 下，於 10  $\mu$ L 1% Triton X-100 中，加入 100  $\mu$ L 的 mRNA-LNP 成品樣品，振搖 10 分鐘。接著加入 900  $\mu$ L Phenol/Chloroform/Isoamyl alcohol (25:24:1) 萃取緩衝液來提取 mRNA。之後加入十分之一體積的 3M sodium acetate 與 2.5 倍體積的 100% 乙醇，將提取所得的 mRNA 進行沉澱。接著，樣品於 -20°C 條件下，靜置 12 小時，再於 4°C，12,000 x g 條件下離心 10 分鐘。捨去上清液，使用 70% 乙醇洗滌離心後沉澱物，然後在室溫之真空濃縮器中，乾燥 20 分鐘。得到的乾燥樣品即為 mRNA 萃取成分，可在室溫下使用 100  $\mu$ L RNase-free 水回溶，即可進行 mRNA 相關之品質試驗分析。

### (三) 從 mRNA-LNP 萃取脂質之方法

#### Methanol : Chloroform 試劑之萃取法

[注意，全程僅使用玻璃材質的容器與注射針筒(器)]

將 100  $\mu$ L 的 mRNA-LNP 成品樣品，加入以 2 mL 玻璃瓶盛裝的 200  $\mu$ L 萃取緩衝溶液(100% cold ethanol)中，透過 vortex 徹底混合，以促進蛋白質沉澱。使用玻璃注射針筒(器)加入 500  $\mu$ L 氯仿並進行 vortex 混合之後，將樣品置於冰上維持 10 分鐘。再加入 200  $\mu$ L 的 RNase-free 水進行相分離動作。充分 Vortex 混合之後置於冰上 10 分鐘。將瓶子插入 15 或 50 mL 的具有旋蓋帽試管中，以 600 rpm 轉速離心 5 分鐘。小心地使用注射器將底部約 300  $\mu$ L 的氯仿層取出，並將其轉移至另一個新的避光玻璃瓶中。然後在真空中乾燥樣品或在室溫下乾燥 20 分鐘，或亦可在氮氣氣流下乾燥，乾燥後的 Lipid 萃取樣品，可在 -20°C 條件下儲存直到分析。樣品可以使用異丙醇：甲醇 (1:1) 回溶後，即可進行 Lipid 相關之品質試驗分析。



致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

#### (四) RNA 濃度/包覆效率分析之螢光測定法(Fluorescence based assay)

[注意-所有溶液配製與操作均應在 RNase-free 情況下執行·並使用 RNase-free 的玻璃容器與移液器；TE 緩衝液: 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 0.1 mM EDTA]

mRNA-LNP 的 mRNA 包覆效率可以通過螢光測定方法·使用 RiboGreen 等染料來測量。

#### RNA 定量標準曲線：

分別製備兩條標準曲線(全程使用 TE 緩衝液·預先配置含有 mRNA 溶液濃度為 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ·在 1000–10 ng/mL 範圍內·作出 10 個稀釋階並置於比色皿(Cuvette)當中; 分別加入 1 mL RiboGreen 試劑 [1:200 稀釋·使用 TE 緩衝液]); 選擇其中一條標準曲線·在起始的 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  RNA 溶液中·加入 0.15% Triton X-100·另一條則不加入。

#### 對照組：

將 16S 和 23S 核糖體 RNA 標準溶液·於 TE 緩衝液中適當稀釋·得到 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的工作溶液作為對照組。

#### 試驗組：

為了確定游離的 mRNA 濃度與包覆效率·先以 TE 緩衝液稀釋得到 2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  濃度之 mRNA-LNP 樣品數份·體積各為 1 mL; 分別加入上述的 RiboGreen 試劑各 1 mL。取其中一份 mRNA-LNP 與 RiboGreen 混合物·加入 0.15% Triton X-100·來釋放被 LNP 包覆的 mRNA·並將上述樣品轉移至比色皿中·等待測量螢光反應 (使用激發波長 [Excitation wavelength] 480 nm; 偵測發射波長[Emission wavelength detection] 520 nm)。

#### 結果分析：

使用儀器測量其螢光反應·並依據 0.15% Triton X-100 的存在與不存在之條件所取得的標準曲線·進行線性迴歸模型分析·並回推樣品中的 mRNA 濃度與其包覆效率。



## 脂質鑑別/含量測定 – 使用配備有電霧式偵測器(Charged Aerosol Detector, CAD)的逆相高效能液相層析法(RP-HPLC-CAD)

傳統的色譜檢測方法，如 UV 檢測，通常基於目標化合物的吸收或發射波長訊號來執行。然而，脂質分子通常在 UV 範圍內，沒有吸收或發射波長訊號特徵，因此就無法使用 UV 偵測，來執行脂質分子鑑別與含量測定。而電霧式偵測器可以接在樣品通過逆相高效能液相層析管柱分離之後，即將樣品霧化成微小的液滴噴出。噴射出的液滴通過加熱器，會在瞬間失去溶劑，只留下溶質(例如：脂質分子)的微小顆粒。此時微小顆粒會再經過一個電場區域，使顆粒帶上負電荷。這些帶電的顆粒進入檢測器之後，則可與霧化的氣體(通常是氮氣)相互作用，進而產生荷電的粒子雲、電流信號與層析圖譜。這使得 CAD 偵測器可以透過比較各種脂質純化標準品的層析圖譜之對照結果，來分析複雜樣品中的脂質分子含量檢測，如脂質類藥物、微脂粒(liposome)與脂質代謝產物等，並可提供準確的分析結果。

### 結語

毫無疑問地，由於 COVID-19 疫苗成功的開發，使得 mRNA 疫苗產品獲得前所未有的關注，並為未來一系列新的 mRNA 疫苗產品鋪路。相比其他平台，基於 mRNA 的疫苗開發設計和生產速度更快，並且更靈活。這些優點使其成為一個應對未來人畜共通病毒，以及未知的新興病原體所造成感染的解決方案。此外，一些 mRNA 類型產品，也正應用於治療囊腫纖維化(cystic fibrosis)與各種癌症之臨床試驗中，確認其可用於治療性藥物開發之可行性。雖然這些 mRNA 疫苗產品都極具潛力、可望在未來取得更大的突破，然而拉回到現實層面來看，這類新興產品在被廣泛應用之前，尚待法規單位與相關產學研界彼此之間的努力，來克服許多法規上的瓶頸，例如：在生產和品質控制方面，法規單位須要確保 mRNA 藥物的生產過程具有一致性，並符合相應的品質標準要求。這些標準的建立仰賴於法規單位，制定明確的生產與品質管控指引，包含針對其品質分析適用方法之建議。



台灣藥物法規  
資訊網法規公告



台灣藥品  
臨床試驗資訊



FDA  
TFDA 藥物  
食品安全週報



致力法規科學  
守護生命健康

Regulatory Science, Service for Life

目前美國 USP 草案，率先針對 mRNA 疫苗產品放行規格建議檢測之項目，並收集業界先進既已建立之產品和方法開發的知識，逐步建構 mRNA 疫苗產品適用之分析方法等詳細技術性資料。雖然目前 USP 草案仍可能會再進行編修，但內容已有一定的完整度，可供各國法規單位以及開發者有所參考和依循。

因各國法規單位尚未在細項審查標準上完全協和，且科學與時俱進，建議於研發階段早期與衛生主管機關協商，依現行科學進展狀況，對應個別產品之特殊考量，進行討論。

## 參考文獻

1. WHO regulatory considerations document for mRNA vaccines – Evaluation of the quality, safety and efficacy of messenger RNA vaccines for the prevention of infectious diseases; 2021.
2. 財團法人醫藥品查驗中心網站: 預防傳染性疾病之 mRNA 疫苗的品質、安全與療效評估: 法規考量\_第一版 (草案); 2022.
3. Guideline for Pandemic COVID-19 Vaccine (mRNA) – Official Control Authority Batch Release Of Pandemic COVID-19 Vaccine (mRNA) – elaborated by the EDQM; 2022.
4. USP Analytical Procedures for mRNA Vaccine Quality – 2<sup>nd</sup> Edition; 2023.
5. Packer, M., et al. A novel mechanism for the loss of mRNA activity in lipid nanoparticle delivery systems. *Nat Commun.* 2021, **12**: 6777.