



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: shyysw@sina.com

产品名称: **ALC-0315**  
CAS 号: **2036272-55-4**  
产品货号: **S89624**

**生物活性:**

|                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Description</b> | <p>ALC-0315 是一种可电离的氨基脂质, 负责 mRNA 压缩, 帮助 mRNA 的细胞传递和胞质释放。</p> <p>ALC-0315 可作为脂质纳米粒 (LNP) 运载工具的组分之一。脂质纳米粒已经用于 mRNA (COVID-19) 疫苗的研究。</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>In Vitro</b>    | <p>脂质纳米粒子的制备</p> <p>我们在此提供 FDA 批准的 BNT162b2 (一种 COVID-19 mRNA 疫苗) 中 LNP 的脂质摩尔比。此配方中的脂质摩尔比为 ALC-0315 : DSPC : 胆固醇 : ALC-0159 = 46.3 : 9.4 : 42.7 : 1.6, RNA 与脂质的重量比为 0.05 (wt/wt)[1]。</p> <p>A. 脂质混合物的制备</p> <p>1. 将脂质溶解于乙醇中, 配制 10 mg/mL 的储备溶液。脂质储备溶液可储存于 -20°C 以备后用。</p> <p>注 1: 可电离脂质通常是液体。由于其粘度, 应始终称重, 而不是依赖自动移液器的体积。</p> <p>注意事项 2: 胆固醇溶液需保温 (&gt;37°C) 以保持流动性。应及时转移胆固醇溶液, 避免冷却。</p> <p>2. 按照说明制备脂质混合物溶液。每毫升脂质混合物添加以下物质: 560 <math>\mu</math>L 10mg/mL ALC-0315、261 <math>\mu</math>L 10mg/mL 胆固醇、117 <math>\mu</math>L 10mg/mL DSPC 和 62 <math>\mu</math>L ALC-0159。充分混合溶液以获得澄清溶液。此混合物含有 10 mg 总脂质。</p> <p>注 3: 脂质和比例的选择可以根据需要进行改变, 这将影响 LNP 特性 (大小、多分散性和功效) 以及所需的 mRNA 量。</p> <p>B. mRNA 制备</p> <p>1. 用 100 mM pH 5 醋酸钠缓冲液制备 166.7 <math>\mu</math>g/mL mRNA 溶液。</p> <p>注 4: 脂质: mRNA 重量比影响封装效率。可制备其他重量比作为替代配方, 用户应进行相应调整。</p> <p>C. 混合</p> <p>实现溶液快速混合的常用方法有三种: 移液器混合法、涡旋混合法和微流体混合法。所有这些混合方法都可用于各种应用。</p> <p>值得注意的是, 移液器混合法和涡旋混合法可能会产生更多异质性 LNP, 封装效率较低, 并且容易产生变异。微流体装置能够以高度可控、可重复的方式快速混合, 从而实现均质 LNP 和高封装效率。在这些装置中, 乙醇脂质混合物和水溶液在单独的流中快速混合。当两股流混合时形成 LNP, 然后收集到单个收集管中。</p> <p>1. 移液器混合法:</p> <p>1.1. 吸取 3 mL mRNA 溶液, 快速加入 1 mL 脂质混合物溶液中 (一般采用 1:3 的乙醇脂质混合物与水性缓冲液比例)。快速上下移液 20-30 秒。</p> <p>1.2. 将所得溶液在室温下孵育最多 15 分钟。</p> <p>1.3. 混合后, 将 LNPs 用 PBS (pH 7.4) 透析 2 小时, 用 0.2<math>\mu</math>m 过滤器无菌过滤, 并在 4°C 下储存。</p> <p>2. 涡旋混合法:</p> <p>1.1. 在涡旋混合器上以中等速度涡旋 3 mL mRNA 溶液。然后, 快速将 1 mL 脂质混合物溶液加入涡旋溶液中 (通常使用 1:3 的乙醇脂质混合物与水性缓冲液的比例)。继续涡旋所得分散液 20-30 秒。</p> <p>1.2. 将所得溶液在室温下孵育最多 15 分钟。</p> <p>1.3. 混合后, 将 LNPs 用 PBS (pH 7.4) 透析 2 小时, 用 0.2<math>\mu</math>m 过滤器无菌过滤, 并在 4°C 下储存。</p> |



|                           | <p>3. 微流体混合方法:</p> <p>1.1 将 3 mL mRNA 缓冲液与 1 mL 脂质混合物溶液在微流控装置中以 12 mL/min 的总流速混合(一般采用 1:3 的乙醇脂质混合物与水性缓冲液的比例)。</p> <p>注 5: 可以改变流量比和总流量等参数来微调 LNP。</p> <p>1.2. 混合后, 将 LNPs 用 PBS (pH 7.4) 透析 2 小时, 用 0.2μm 过滤器无菌过滤, 并在 4°C 下储存。</p> <p>参考</p> <p>1. Curr Issues Mol Biol. 2022 年 10 月 19 日; 44(10): 5013-5027。</p> <p>2. Curr Protoc. 2023;3(9):e898.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                           |                            |           |            |       |      |           |           |            |      |           |           |           |       |           |           |           |
|---------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------|------------|-------|------|-----------|-----------|------------|------|-----------|-----------|-----------|-------|-----------|-----------|-----------|
| Solvent&Solubility        | <p><b>细胞实验:</b></p> <p>Ethanol 中的溶解度 : 100 mg/mL (130.50 mM; 超声助溶)</p> <p>DMSO 中的溶解度 : 50 mg/mL (65.25 mM; 超声助溶; 吸湿的 DMSO 对产品的溶解度有显著影响, 请使用新开封的 DMSO)</p> <table><tr><th rowspan="4">Preparing Stock Solutions</th><th>Solvent Mass Concentration</th><th>1 mg</th><th>5 mg</th><th>10 mg</th></tr><tr><td>1 mM</td><td>1.3050 mL</td><td>6.5251 mL</td><td>13.0502 mL</td></tr><tr><td>5 mM</td><td>0.2610 mL</td><td>1.3050 mL</td><td>2.6100 mL</td></tr><tr><td>10 mM</td><td>0.1305 mL</td><td>0.6525 mL</td><td>1.3050 mL</td></tr></table> <p>*请根据产品在不同溶剂中的溶解度选择合适的溶剂配制储备液; 一旦配成溶液, 请分装保存, 避免反复冻融造成的产品失效。</p> <p>储备液的保存方式和期限: -80°C, 6 months; -20°C, 1 month (protect from light)。-80°C 储存时, 请在 6 个月内使用, -20°C 储存时, 请在 1 个月内使用。</p> <p><b>动物实验:</b></p> <p>请根据您的实验动物和给药方式选择适当的溶解方案。</p> <p>以下溶解方案都请先按照 In Vitro 方式配制澄清的储备液, 再依次添加助溶剂:</p> <p>——为保证实验结果的可靠性, 澄清的储备液可以根据储存条件, 适当保存; 体内实验的工作液, 建议您现用现配, 当天使用;</p> <p>以下溶剂前显示的百分比是指该溶剂在您配制终溶液中的体积占比; 如在配制过程中出现沉淀、析出现象, 可以通过加热和/或超声的方式助溶</p> <p>方案 一</p> <p>请依序添加每种溶剂: 10% DMSO → 40% PEG300 → 5% Tween-80 → 45% Saline</p> <p>Solubility: ≥ 2.5 mg/mL (3.26 mM); 澄清溶液</p> <p>此方案可获得 ≥ 2.5 mg/mL (饱和度未知) 的澄清溶液。</p> <p>以 1 mL 工作液为例, 取 100 μL 25.0 mg/mL 的澄清 DMSO 储备液加到 400 μL PEG300 中, 混合均匀; 再向上述体系中加入 50 μL Tween-80, 混合均匀; 然后再继续加入 450 μL 生理盐水 定容至 1 mL。</p> <p>生理盐水的配制: 将 0.9 g 氯化钠, 溶解于 ddH<sub>2</sub>O 并定容至 100 mL, 可以得到澄清透明的生理盐水溶液。</p> <p>方案 二</p> <p>请依序添加每种溶剂: 10% DMSO → 90% (20% SBE-β-CD in Saline)</p> <p>Solubility: 2.5 mg/mL (3.26 mM); 悬浊液; 超声助溶</p> <p>此方案可获得 2.5 mg/mL 的均匀悬浊液, 悬浊液可用于口服和腹腔注射。</p> <p>以 1 mL 工作液为例, 取 100 μL 25.0 mg/mL 的澄清 DMSO 储备液加到 900 μL 20% 的 SBE-β-CD 生理盐水水溶液 中, 混合均匀。</p> | Preparing Stock Solutions | Solvent Mass Concentration | 1 mg      | 5 mg       | 10 mg | 1 mM | 1.3050 mL | 6.5251 mL | 13.0502 mL | 5 mM | 0.2610 mL | 1.3050 mL | 2.6100 mL | 10 mM | 0.1305 mL | 0.6525 mL | 1.3050 mL |
| Preparing Stock Solutions | Solvent Mass Concentration                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                           | 1 mg                       | 5 mg      | 10 mg      |       |      |           |           |            |      |           |           |           |       |           |           |           |
|                           | 1 mM                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                           | 1.3050 mL                  | 6.5251 mL | 13.0502 mL |       |      |           |           |            |      |           |           |           |       |           |           |           |
|                           | 5 mM                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                           | 0.2610 mL                  | 1.3050 mL | 2.6100 mL  |       |      |           |           |            |      |           |           |           |       |           |           |           |
|                           | 10 mM                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 0.1305 mL                 | 0.6525 mL                  | 1.3050 mL |            |       |      |           |           |            |      |           |           |           |       |           |           |           |



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: shyyssw@sina.com

|      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      | <p>2 g SBE-<math>\beta</math>-CD (磺丁基醚 <math>\beta</math>-环糊精) 粉末定容于 10 mL 的生理盐水中, 完全溶解至澄清透明。</p> <p>方案 三</p> <p>请依序添加每种溶剂: 10% DMSO <math>\rightarrow</math> 90% Corn Oil</p> <p>Solubility: <math>\geq 2.5</math> mg/mL (3.26 mM); 澄清溶液</p> <p>此方案可获得 <math>\geq 2.5</math> mg/mL (饱和度未知) 的澄清溶液, 此方案实验周期在半个月以上的动物实验酌情使用。</p> <p>以 1 mL 工作液为例, 取 100 <math>\mu</math>L 25.0 mg/mL 的澄清 DMSO 储备液加到 900 <math>\mu</math>L 玉米油中, 混合均匀。</p> |
| 参考文献 | <p>[1]. Moghimi SM. Allergic Reactions and Anaphylaxis to LNP-Based COVID-19 Vaccines. Mol Ther. 2021;29(3):898-900.</p> <p>[2]. Ferraresso F, Strilchuk AW, Juang LJ, Poole LG, Luyendyk JP, Kastrup CJ. Comparison of DLin-MC3-DMA and ALC-0315 for siRNA Delivery to Hepatocytes and Hepatic Stellate Cells. Mol Pharm. 2022;19(7):2175-2182.</p>                                                                                    |

#### 完整储备液配制表:

请根据产品在不同溶剂中的溶解度选择合适的溶剂配制储备液; 一旦配成溶液, 请分装保存, 避免反复冻融造成的产品失效。

储备液的保存方式和期限:  $-80^{\circ}\text{C}$ , 6 months;  $-20^{\circ}\text{C}$ , 1 month (protect from light)。  $-80^{\circ}\text{C}$  储存时, 请在 6 个月内使用,  $-20^{\circ}\text{C}$  储存时, 请在 1 个月内使用。

| 可选溶剂           | 质量<br>溶剂体积<br>浓度 | 1 mg      | 5 mg      | 10 mg      | 25 mg      |
|----------------|------------------|-----------|-----------|------------|------------|
| DMSO / Ethanol | 1 mM             | 1.3050 mL | 6.5251 mL | 13.0502 mL | 32.6256 mL |
|                | 5 mM             | 0.2610 mL | 1.3050 mL | 2.6100 mL  | 6.5251 mL  |
|                | 10 mM            | 0.1305 mL | 0.6525 mL | 1.3050 mL  | 3.2626 mL  |
|                | 15 mM            | 0.0870 mL | 0.4350 mL | 0.8700 mL  | 2.1750 mL  |
|                | 20 mM            | 0.0653 mL | 0.3263 mL | 0.6525 mL  | 1.6313 mL  |
|                | 25 mM            | 0.0522 mL | 0.2610 mL | 0.5220 mL  | 1.3050 mL  |
|                | 30 mM            | 0.0435 mL | 0.2175 mL | 0.4350 mL  | 1.0875 mL  |
|                | 40 mM            | 0.0326 mL | 0.1631 mL | 0.3263 mL  | 0.8156 mL  |
|                | 50 mM            | 0.0261 mL | 0.1305 mL | 0.2610 mL  | 0.6525 mL  |
|                | 60 mM            | 0.0218 mL | 0.1088 mL | 0.2175 mL  | 0.5438 mL  |
| DMSO           | 80 mM            | 0.0163 mL | 0.0816 mL | 0.1631 mL  | 0.4078 mL  |
|                | 100 mM           | 0.0131 mL | 0.0653 mL | 0.1305 mL  | 0.3263 mL  |