

参 考 情 報

参 考 情 報

参考情報は、医薬品の品質確保の上で必要な参考事項及び参考となる試験法を記載し、日本薬局方に付したものである。したがって、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律に基づく承認の際に規定された場合を除き、医薬品の適否の判断を示すものではないが、日本薬局方を補足する重要情報として位置付けられている。参考情報を日本薬局方と一体として運用することにより、日本薬局方の質的向上や利用者の利便性の向上に資することができる。

参考情報はその内容により以下のカテゴリーに分類し、それぞれに固有の番号を付している。固有番号は三つのブロックで構成され、左ブロックはカテゴリー番号、中央ブロックはカテゴリー内での番号を示す。右ブロックの数字は、左から2桁で直近改正（改正のない場合は新規作成）時の日局を示し、3桁目は大改正を0、第一追補を1、第二追補を2、一部改正を3とする。参考情報間で引用を行う場合は、該当する参考情報の番号を〈 〉を付して示す。

- G0. 医薬品品質に関する基本的事項
- G1. 理化学試験関連
- G2. 物性関連
- G3. 生物薬品関連
- G4. 微生物関連
- G5. 生薬関連
- G6. 製剤関連
- G7. 容器・包装関連
- G8. 標準品関連
- G9. 医薬品添加剤関連
- G10. 名称関連
- GZ. その他

本改正の要旨は次のとおりである。

1. 参考情報のカテゴリー分類に「G10. 名称関連」を新設した。
2. 新たに作成したものは次のとおりである。
 - (1) 溶解度測定法 〈G2-6-190〉
 - (2) パイオアッセイ 〈G3-18-190〉
 - (3) 日本薬局方収載微生物株の学名表記について 〈G4-14-190〉
 - (4) 微生物学的試験法の適合性試験等における留意事項 〈G4-12-190〉
 - (5) 単球活性化試験法 〈G4-13-190〉
 - (6) ^1H スピン情報に基づいた参照 NMR スペクトルと日本薬局方試薬への応用 〈G5-9-190〉
 - (7) 吸入液剤の空気力学的粒度測定法 〈G6-8-190〉
 - (8) 点鼻剤の噴霧量均一性試験法 〈G6-9-190〉
 - (9) 化学名参考事項 〈G10-1-190〉
 - (10) 目的に応じた日本薬局方の適用方法 〈GZ-4-190〉
3. 改正したものは次のとおりである。
 - (1) 固体又は粉体の密度 〈G2-1-190〉
 - (2) 日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件 〈G3-13-190〉
 - (3) 微生物迅速試験法 〈G4-6-190〉
 - (4) 遺伝子解析による微生物の迅速同定法 〈G4-7-190〉
 - (5) 核磁気共鳴(NMR)法を利用した定量技術と日本薬局方試薬への応用 〈G5-5-190〉
 - (6) 無菌医薬品の包装完全性の評価 〈G7-4-190〉
 - (7) 日本薬局方における標準品及び標準物質 〈G8-1-190〉
 - (8) 第十九改正日本薬局方における国際調和 〈GZ-3-190〉

なお、(8)の改正については、改正数を繰り上げたのみである。

G0. 医薬品品質に関する基本的事項

医薬品原薬及び製剤の品質確保の基本的考え方〈G0-1-172〉

はじめに

医薬品原薬及び製剤の品質は、一般的にその設計・開発段階、製造段階から得られた知見を、適切に原料・資材管理、製造工程管理及び規格等に反映し、GMP管理下で製造及び試験されることにより保証される。通則に示されるように、日局の医薬品の適否は、医薬品各条の規定、通則、生薬総則、製剤総則及び一般試験法の規定によって判定するものの、それに加えてGMPの遵守、原料・資材の管理及び製造工程管理は、日局の医薬品の品質を実際の製造において保証する上で必要な要素である。

本参考情報は、化学合成及び半合成の抗生物質等を含む化学物質、合成ペプチド、オリゴヌクレオチド並びに生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)を主な対象とした医薬品原薬及び製剤の品質確保の方策に関する一般的考え方をまとめ、局方各条にこれら医薬品を収載する際の原則的な考え方を示したものである。放射性医薬品、生薬、植物製剤及び動植物由来の原料を含む生薬製剤を対象としないものの、本考え方はいずれの医薬品にとっても有益である。

基本的考え方

近年、原料・資材の管理を含む製造工程における管理及び最終製品(原薬又は製剤)の品質試験を相互補完的に行うことで医薬品の品質を確保するという管理戦略に従って医薬品の品質管理が実施されることが主流となりつつある。この管理戦略は品質リスクマネジメント(QRM: Quality Risk Management)に従って立てられるが、まず重要品質特性(CQA: Critical Quality Attribute)、すなわち要求される製品品質を保証するために必要な特性又は性質であって、適切な限度内、範囲内、分布内であるべき物理学的、化学的、生物学的、微生物学的特性又は性質を特定することが必要である。次いでそのCQAが定められた範囲や限度、分布内に入ることを規格試験、工程内試験や様々な方策を用いて保証することにより、最終的に医薬品品質が確保されることになる。

規格及び試験方法は、管理戦略の中の要素の一つであり、必ずしも全てのCQAを規格に含める必要はない。CQAは、(1)規格及び試験方法に含まれ、最終製品を試験し保証する(定期的試験/スキップ試験(後述)の設定を含む)、又は(2)規格及び試験方法に含まれるが、製造工程における管理(例えば、リアルタイムリリース試験(後述))を通して保証する、あるいは(3)規格及び試験方法には含まれないが、出発物質・原材料、製造工程等における管理を通して保証することができる。(3)の例としては、頑健な製造工程に対する効果的な管理により、特定の不純物が許容できるレベル内で管理されていること又は容認できるレベル以下まで効率的に除去されることが保証可能であり、最終製品を対象とした純度試験の実施を必要とせず、最終製品の規格及び試験方法にそれを含めなくてもよい場合等がある。この場合、局方収載品目では、CQAに関連する製造工程管理について、必要であれば各条における製造要件にその管理方法及び管理値を示す。

あるCQAにどのような管理戦略を適用すべきかは、製造工程の理解とリスクに応じて、QRMにより個別に決定される。

1. 製造工程管理

1.1. 製造工程に対する留意点

規格に適合し、CQAを満たす原薬又は製剤の製造を可能にする製造工程を確立し、一貫性のある製造・品質管理等を適切に行うには、製造方法の適切な設計や製造工程が有する能力の確認と把握が重要である。

このような観点から、製造工程の各種の管理基準値は、開発初期から実生産規模の製造に至る間の全ての過程で得られた情報に基づいたものとすると共に、QRMによる製造工程の評価、検証、照査等によってその妥当性が確認される必要がある。

工程内試験は、最終製品を対象とした規格試験ではなく、原薬や製剤の製造工程中で実施される試験のことである。工程内試験は、原薬又は製剤の品質に影響を及ぼす可能性の大きい製造ステップでの品質確認のため、又は製造工程が適切に作動していることの確認のために実施するものである。また、工程内試験はCQAの評価に用いられる場合もある。

工程内試験は、通常、当該工程の品質に対するリスクに応じ、適切に設定されるものであるが、重要度が相対的に低い製造ステップでも、製造業者が社内での処置基準値を用いて、製造工程が一定に保持されていることを評価することは重要である。医薬品開発段階及び製造工程の評価/検証の段階で得たデータを根拠にして、製造工程に対して設定すべき暫定的処置基準値が設定され、この基準値は、医薬品製造販売承認後の製造経験及び蓄積されたデータに基づき、更に適切に見直していくべきものである。

1.2. 原料・資材(出発物質、添加剤、包装材料等)に対する留意点

原薬(又は製剤)の製造に使用する原料・資材は、その使用目的にかなった品質基準を満たす必要があり、CQAの保証に必要な規格及び試験方法の設定が適宜必要となる。特に生物由来原料/原材料に関しては、慎重な評価を行い、有害な内感性感染性物質又は外来性感感染性物質の有無を確認しなければならない場合がある。工程中でアフィニティクロマトグラフィー(例えばモノクローナル抗体を用いたクロマトグラフィー)を使用する場合には、抗体を作製する過程及びそれをクロマトグラフィー用担体とする際に生成する可能性がある製造工程由来不純物や、混入する可能性がある汚染物質が当該原薬や製剤の品質及び安全性を損なわないことを担保できるよう、適切なリスク対策を講じておく必要がある。

製剤化の際に(場合によっては原薬の製造の際に)使用する添加剤及び一次包装材料の品質は、当該医薬品の特性に応じ、必要な規格を設定し、管理することが必要である。これらに日局で規格及び試験方法が設定されている場合には、日局の基準を最低限満たす必要がある。日局に収載されていない添加剤等に関しては、適切な規格及び試験方法を別途設定する必要がある。

2. 製品の品質試験(規格及び試験方法)

「規格及び試験方法」とは、試験項目、用いる分析方法及びその方法で試験したときの規格値/適否の判定基準(数値で表した限度値又は範囲若しくはその他の基準)を示したものと定義される。日局各条の規格及び試験方法は、日局原薬及び製剤がその使用目的にかなっていると判定するために必要な品質特性をセットにして定めたものである。「日局各条規格に適

合する」とは、日局原薬及び製剤について、一般試験法又は医薬品各条に示された各試験方法に従って試験するときに、日局の規定中、性状の項並びに製剤に関する貯法及び有効期間の項を除いた、全ての規格値／適否の判定基準に適合するということである。

ただし、基本的考え方の項で記載したように、原薬及び製剤の各条規格及び試験方法は、その品質及びその恒常性を確保するための方策の一要素である。他の要素としては、開発段階での医薬品の十分な特性解析(規格及び試験方法の多くは、これを基盤とするものである)や製造工程の評価、更にその検証、照査、原料・資材及び製造工程の管理等といった製造・品質管理(すなわちGMPの遵守)が挙げられる。

3. 定期的試験／スキップ試験

定期的試験やスキップ試験は、試験されなかったロットであっても、その製品について設定された全ての判定基準に適合していなければならないことをよく理解した上で、出荷時の特定の試験を、ロットごとではなく、あらかじめ定められたロット数ごと又はあらかじめ定められた期間ごとに行うことである。この概念を適用する場合には、事前に行政当局にその妥当性を示し承認を受ける必要がある。この概念は、例えば、経口固形製剤における残留溶媒の試験及び微生物学的試験に適用できるものであろう。製造販売承認申請時には限られたデータだけしか得られていないこともあるので、この試験の実施は、通常、承認後に検討されるものである。試験を行った場合に、定期的試験を行うに当たって設定された判定基準に適合しないようなことがあれば、どのような不適合であっても、それを適切な形で行政当局に報告する必要がある。これらのデータから、全てのロットに対する試験が必要と判断される場合には、ロットごとの出荷試験を再開すべきである。

4. リアルタイムリリース試験及びパラメトリックリリース

リアルタイムリリース試験とは、工程内データ(工程内試験の結果のほか、工程パラメーターに係るデータを含む)に基づいて、工程内製品や最終製品の品質を評価し、その品質が許容されることを保証する試験である。リアルタイムリリース試験は規格及び試験方法の一種であり、通常あらかじめ評価されている物質(中間製品)特性と工程管理との妥当な組み合わせから構成される。リアルタイムリリース試験を当局に申請し、承認された場合には、出荷可否決定を最終製品試験の結果に基づき行う代わりに、リアルタイムリリース試験の結果に基づき行う。

リアルタイムリリース試験の設定により、必ずしも最終製品に対する試験の設定自体が不要になるとは限らない。測定機器の故障により工程内データが取得できなかった場合や安定性を評価する場合など、何らかの理由で最終製品試験の実施が求められることもあることから、出荷可否決定をリアルタイムリリース試験で行う場合であっても、最終製品試験を規格として設定しておく必要がある。また、当該試験を実施した場合にはこれに適合する必要がある。

同様に、リアルタイムリリース試験により製造販売承認された医薬品が局方各条に収載された場合には、リアルタイムリリース試験をその医薬品の出荷可否決定に引き続き用いることができるが、リアルタイムリリース試験が保証する最終製品の品質特性に関して、最終製品に対して設定された規格及び試験方法が局方試験として設定される必要がある。また、各条に規格及び試験方法が収載された医薬品であっても、リアルタイムリ

リース試験を当局に新たに製造販売承認申請(あるいは製造販売承認事項一部変更承認申請)し、承認された場合には、局方試験の代わりにリアルタイムリリース試験の結果に基づき出荷可否決定を行うことができる。なお、局方試験を実施した場合にはこれに適合する必要がある。また、いずれの場合においても、局方試験が設定された場合のリアルタイムリリース試験については、既に対象となるCQAに対する管理基準が示されていることから、改めて各条における製造要件に試験方法及び判定基準を示す必要はない。

リアルタイムリリース試験を出荷可否決定のための試験として採用した場合には、その結果が規格外になる、又は規格外に向かう傾向が認められたからといって、最終製品試験によって安易に代替すべきではない。いかなる場合であれ、リアルタイムリリース試験の結果が規格外又は規格外に向かう傾向が認められた場合には、その原因について適切に究明調査を行い、是正措置を講じる必要がある。また、リアルタイムリリース試験が規格外となった場合は、機器の故障等の分析上の不具合が原因であることが明白となった場合を除き、原則製品出荷はできない。規格外に向かう傾向が認められた場合は、調査結果に基づき、出荷可否を慎重に行うことが必要となる。

パラメトリックリリースはリアルタイムリリースの一つと考えることができ、最終段階で滅菌を行う製剤の出荷可否決定を無菌試験結果に代えて滅菌工程に係る工程内データをもって行うことがその一つの例である。この場合、各ロットの出荷は、製剤製造の最終滅菌段階での特定のパラメーター、例えば、温度、圧力及び時間が満足しうる値を示していることを確認した上で行う。限られた数の最終製品についての無菌試験の結果に基づく出荷可否決定よりも、上述のパラメーターを用いたパラメトリックリリースの方が、製品の無菌性保証の観点から信頼性は高い。なお、パラメトリックリリースの場合も、安定性試験時や収去試験時に必要となるため、最終製品試験の設定が必要となる。パラメトリックリリースに用いる工程内データが許容範囲外となった場合、製品の出荷はできない。リアルタイムリリース試験と異なる点は、例えば最終滅菌工程パラメーターのデータ取得が機器の故障等の分析上の不具合など何らかの理由によりできなかった場合の対応である。すなわち、データ取得の不備はその滅菌工程自体の保証ができていないことを意味することから、最終製品に対する無菌試験による代替は原則適用できないこととなる。

品質リスクマネジメントの基本的考え方〈G0-2-170〉

はじめに

品質リスクマネジメント(QRM: Quality Risk Management)は医薬品品質システム(PQS: Pharmaceutical Quality System)の重要な構成要素である。PQSは品質に関して企業の指揮及び管理を行うための品質システムであり、品質システムは国際規格ISO 9001, ISO 14001, ISO 27001等の基本概念となっている。PQSは、PDCAサイクル(計画Plan→実行Do→評価Check→改善Act)による業務の維持、継続的改善等をその骨子とするものであり、ICH Q10ガイドラインに

基本理念として取り入れられた。QRMは、原薬、製剤、生物薬品(生物起源由来医薬品及びバイオテクノロジー応用医薬品)を含むあらゆる医薬品の品質確保に適用できるものである。QRMは、製品及び製造工程についての最新の知識及び理解を反映した管理戦略とあいまって、品質に関わるリスクへの柔軟かつ確実な対応を可能とし、一貫した品質の医薬品製造の実現及び維持に資するものである。

医薬品そのものの設計上の品質に関わるリスクは、日本薬局方収載時に評価され、その結果は医薬品各条規格に反映される。しかし、医薬品各条に規定される同じ医薬品であっても、製造方法が異なれば、それに応じて生じる品質に関わるリスクも異なることから、実際の医薬品の開発及び製造においては、そうした製造上の品質に関わるリスクについて適切な評価及び管理が行われていることが必要である。また、医薬品の品質に関わるリスクは、そのライフサイクル、すなわち医薬品の初期開発から、市販を経て製造販売中止に至るまでの過程に応じて、定期的に再評価されるべきであり、その結果に基づき適切な対策を講じることが必要である。

QRMと日本薬局方との関係について付言すれば、医薬品品質を適正に保持するためには、日本薬局方の規格試験の実施に加え、原料・資材の変更、その他、製造・品質管理上の変更において生じる、規格試験のみでは十分に管理できない隠れたリスクを適切にコントロールするための方策を立て、実施することが重要である。リスクの再評価の結果によっては、日本薬局方で規定されている規格試験の改定が必要となる場合も考えられる。

1. QRMの意義

一般に、リスクとは危害の発生する確率とそれが顕在化した場合の重大性の組み合わせであると認識されている。しかし、利害関係者ごとに認識しているリスクの種類と大きさが異なっているかもしれない、多様な利害関係者の間でリスクマネジメントの適用について共通の認識を得ることは困難である。医薬品に関していえば、患者、医療従事者、行政、企業等多様な利害関係者が存在しているものの、QRMを適用することにより患者を保護するというのが最優先されるべきである。

医薬品及びその成分の製造や使用には、必然的にある程度のリスクが伴う。品質に関するリスクは、その全体のリスクの一部分である。医薬品の品質を維持するための要素は、臨床試験で使用された時のものと一貫していなければならないというように、医薬品の品質は、その製品ライフサイクルを通して維持されていなければならない。有効なQRMの取り組みは、開発及び製造中の品質問題を特定し、リスクへの予防的な手段を提供し、結果として患者に対しより高品質な医薬品を提供することにつながる。さらにQRMを実施することで、品質問題が生じた場合の対策の質、意思決定の早さを改善させることができる。また、行政は企業の潜在リスクへの対応能力を確認でき、また、それが規制当局の薬事監視能力に好影響を与える。

QRMについては、常に形式に従ったリスクマネジメントプロセスの運用が適切であるとは限らず、また必要というわけでもない。形式にとらわれないリスクマネジメントプロセスも許容される。QRMを適切に使用すれば、規制要件の遵守が容易になるが、製薬企業が遵守すべき規制要件がなくなったり、企業と規制当局間の適切なコミュニケーションに置き換わったりするものではない。

2. 適用範囲

QRMは、原薬、製剤、生物薬品[生物起源由来医薬品及びバイオテクノロジー応用医薬品(製剤、生物起源由来医薬品及びバイオテクノロジー応用医薬品への原料、溶剤、添加剤、包装及び表示材料の使用を含む)]のライフサイクル全般における、開発、製造、配送、査察及び承認申請／審査のあらゆる側面に適用しうる。

3. QRMの原則

QRMの二つの主要原則は以下のとおりである。

- ・品質に対するリスクの評価は、科学的知見に基づき、かつ最終的に患者保護に帰結されるべきである。
- ・QRMプロセスにおける労力、形式、文書化の程度は当該リスクの程度に相応すべきである。

4. 一般的なQRMのプロセス

QRMとは、医薬品のライフサイクルにわたる品質に関わるリスクのアセスメント、コントロール、コミュニケーション、レビューに対する系統立ったプロセスである。QRMの一つのモデル例を図1に示す。図中の枠内の各要素のうち、強調すべきものは事例によって異なるかもしれないが、頑健なプロセスでは、これら全ての要素が特定のリスクの程度に適切に対応したレベルで組み込まれると考えられる。プロセスのどの時点でも意思決定が必要になる可能性があるため、図中には意思決定ノードが示されていない。これらの意思決定は、その決定を裏付ける情報に基づき、前のステップに戻り、更なる情報を求めたり、リスクモデルを変更したり、さらにはリスクマネジメントプロセスを終結する場合もある。

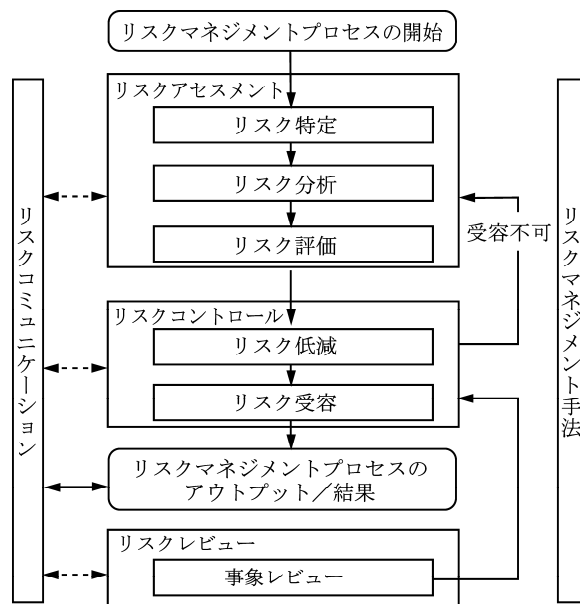


図1 QRMの概要

4.1. QRMのプロセスの開始

QRMは、リスクに関する科学に基づいた決定を調整、促進、改善するように設計された体系的なプロセスを含むべきである。QRMプロセスを開始、計画するために用いられるステップには、以下が考えられる。

- ・課題及びリスクの可能性を特定する適切な仮定も含むリスクに関する質問を定義すること。

- ・当該リスクアセスメントに関連する潜在的なハザード(危害の潜在的な原因)、危害又は健康への影響に関する背景情報及びデータを集約すること。
- ・リーダーと必要な資源を明確にすること。
- ・リスクマネジメントプロセスの実施計画、成果物及び意思決定の適切な水準を明確にすること。

上記において責任者(意思決定者)は、組織内の様々な機能及び部門にわたるQRMを調整する義務を負う。また、QRMプロセスの定義づけ、適切な経営資源の投入、QRMプロセスのレビューなどを確実に実施する責務を負う。

4.2. リスクアセスメント

リスクアセスメントはハザードの特定及びこれらハザードへの曝露に伴うリスクの分析及び評価から構成される。ステップには、「リスク特定」、「リスク分析」、「リスク評価」が含まれる。

リスクアセスメントの目的に対してリスクを明確に定義する一助として、以下の三つの基本的な質問が役立つ場合が多い。

1. 何がうまくいかないかもしれないのか。
2. うまくいかない可能性はどれくらいか。
3. うまくいかなかった場合、どんな結果(重大性)となるのか。

「リスク特定」とは、リスクに関する質問又は問題点の記述を参照しながらハザードを特定するために体系的に情報を利用することである。情報には過去のデータ、論理的分析、寄せられた意見、利害関係者の懸念等が含まれる。リスクの特定とは、起こりうる結果の特定を含めて「何がうまくいかないかもしれないのか」という質問を取り扱うことである。これが、QRMプロセスの次のステップの基礎となる。

「リスク分析」とは、特定されたハザードに関連するリスクの推定である。それは、危害が生じる確率とその重大性を定性的又は定量的に結びつけるプロセスである。一部のリスクマネジメント手法においては、危害を検出する能力(検出性)もリスク推定の因子に含まれる。

「リスク評価」では、特定、分析されたリスクを所定のリスク基準に従って比較する。リスク評価では、前述の三つの基本的な質問全てに対する証拠の確実さを考慮する。

リスクアセスメントの結果は、リスクの定量的な算定か、リスク範囲の定性的な表現のどちらか一方である。リスクを定量的に表現する場合、発生の可能性は数値により表される。一方、リスクは「高」「中」「低」等の定性的な記号を使って表現することもできるが、それらの記号はできるだけ詳細に定義されるべきである。時として、リスクランキングにおいて、更に明確に記述するために「リスクスコア」が用いられる。定量的なリスクアセスメントにおいては、リスク算定は、一定のリスク発生環境における特定の(危害の)事象の起こりやすさを示す。このように定量的なリスク算定では、一時に一つの特定の事象を算定するのに有用である。一方、リスクマネジメントの手法によっては、相対リスクの測定手段を用いて多様なレベルの重大性と確率を組み合わせ、相対リスクの総合的な推定を行うこともある。リスクスコアプロセスの中間段階では、定量的なリスク算定が採用されることもある。

4.3. リスクコントロール

「リスクコントロール」には、リスクを低減及び受容するための意思決定が含まれる。リスクコントロールの目的はリスク

を受容できるレベルまで減らすことである。リスクコントロールのための労力は当該リスクの重大性に比例すべきである。意思決定者は、リスクコントロールの最適なレベルを知るために費用便益分析等、異なる方法を使用することがある。

リスクコントロールは以下のような質問に焦点を合わせる必要がある。

- ・リスクは受容レベルを超えているか。
- ・リスクを低減、除去するために何ができるか。
- ・利益、リスク、資源の間のバランスをどの程度にするのが良いか。
- ・特定のリスクを制御した結果、新たなリスクが発生しないか。

「リスク低減」では、品質に関わるリスクが規定した(受容可能な)レベルを超えた場合(図1参照)の、そのリスクを低減又は回避するプロセスに着目する。リスク低減は、危害の重大性や発生の確率を軽減するための行為を含むことがある。リスクコントロール方策の一部としてハザードや品質に関わるリスクの検出性を改善するプロセスが用いられる場合もある。リスク低減方策の実施により、新たなリスクがシステムの中に生じたり、既存の他のリスクの重大性が増加したりする場合がある。そのため、リスク低減のプロセスを実行した後は、可能性のあるリスクの変化を特定及び評価するためにリスクアセスメントに戻ることが妥当である場合がある。

「リスク受容」とはリスクを受容する意思決定である。リスク受容は、残留リスクを受容するための形式に従った意思決定、又は残留リスクが明確になっていない場合には受動的な意思決定となることがある。ある種の危害に対しては、最良のQRMを実践しても、完全にはリスクを取り除くことはできないかもしれない。このような状況下では、適切なQRM方策が適用されており、品質に関わるリスクは規定された(受容可能な)レベルまで低減されているということで合意に達するかもしれない。この(規定した)受容可能なレベルは多くの要因に依存しており、個別に決定されるべきである。

4.4. リスクコミュニケーション

「リスクコミュニケーション」とは、リスクとそのマネジメントに関しての情報を、意思決定者とそれ以外の人との間で共有することである。関係者はリスクマネジメントプロセスのどの段階においても情報共有ができる(図1、破線矢印参照)。リスクマネジメントプロセスのアウトプット/結果は適切に伝達され、かつ文書化されるべきである(図1、実線矢印参照)。コミュニケーションには、規制当局と企業間、企業と患者間、企業内、業界内、規制当局内等、様々な利害関係者間でのコミュニケーションが含まれることがある。情報の内容は、品質に対するリスクの有無、本質、形態、発生の確率、重大性、受容可能性、管理、対応、検出性、その他の側面等に関するかもしれない。コミュニケーションは、個別にかつ全てのリスク受容に対して実施される必要はない。企業と規制当局間において、QRMの意思決定に関するコミュニケーションは、法規制やガイダンスに規定されているような既存の方法を用いて実行されることがある。

4.5. リスクレビュー

リスクマネジメントは、品質マネジメントプロセスの継続的な一部であるべきであり、事象のレビューや監視のための仕組みを働かせるべきである。

リスクマネジメントプロセスのアウトプット／結果は、新しい知見や経験に基づいて見直すべきである。一度、QRMを開始した後は、もとのQRMの決定を左右する恐れのある事象に対しては、そのリスクマネジメントプロセスを継続して活用すべきである。なお、これら事象には計画されたもの(製品レビュー、査察、監査、変更管理の結果等)も計画されていないもの(不良調査や回収で判明した根本原因等)も含まれる。見直す頻度はリスクの程度に応じるべきである。リスクレビューは、リスク受容決定の再検討を含む場合もある(4.3.参照)。

5. まとめ

QRMの厳密さや形式の程度は、利用できる知識の量を反映すべきであり、また対応する問題の複雑さ及び重大性に比例すべきである。

QRMは、それが品質システムに統合されると、科学的根拠に基づく現実的な意思決定を支援するプロセスとなる。ただし、適切にQRMを使用したとしても、企業が遵守すべき規制要件が免除されるわけではない。

6. QRMに関する用語

意思決定者：適切かつタイムリーな品質リスクマネジメントに関する決定を行う能力及び権限を有する人又は人々。

危害：健康への被害。製品品質の不良又は安定供給の欠如による被害を含む。

検出性：ハザードの存在、出現、事実を発見又は決定する能力。

重大性：ハザードから生じうる結果の大きさ。

ハザード：危害の潜在的な原因(ISO/IEC Guide 51)。

製品ライフサイクル：初期開発から市販を経て製造販売中止に至るまでの製品寿命の全過程。

品質：製品、システム又は工程に関わる本質的性質の組合せが要求事項を満たす程度。医薬品原薬あるいは製剤の場合は、意図した用途への適切さのこと。同一性、含量、物質の純度のような特性を指すこともある。

品質システム：品質方針を実行し、品質目標への適合を保証するシステムに関わるあらゆる側面の総和。

品質リスクマネジメント(QRM)：製品ライフサイクルを通じて、医薬品の品質に関わるリスクについてのアセスメント、コントロール、コミュニケーション、レビューからなる系統立ったプロセス。

要求事項：患者やその代弁者(医療従事者、規制当局、国会議員等)により明確化された又は暗黙のニーズ又は期待。本参考情報においての要求事項とは、法令上、立法上、若しくは規制上の要求事項のみならず、上記のようなニーズ及び期待を含むものとする。

利害関係者：リスクに影響を与え、リスクの影響を受け、又はリスクの影響を受けると認識する個人、グループ又は組織。意思決定者もまた利害関係者である場合がある。本参考情報の目的においては、主要な利害関係者とは、患者、医療従事者、規制当局、企業を指す。

リスク：危害の発生の確率とそれが発生したときの重大性の組合せ(ISO/IEC Guide 51)。

リスクアセスメント：リスクマネジメントプロセスの中で、リスクに関わる決定を支持する情報を整理する系統立ったプロセス。ハザードの特定、及びそれらハザードへの曝露に伴うリスクの分析と評価からなる。

リスクコミュニケーション：リスク及びリスクマネジメントの

情報を意思決定者及び他の利害関係者の間で共有すること。

リスクコントロール：リスクマネジメントの意思決定を実施する行動(ISO Guide 73)。

リスク受容：リスクを受容する意思決定(ISO Guide 73)。

リスク低減：危害の発生の確率及びその危害の重大性を低減するための行動。

リスク特定：リスクへの質問又は問題の記述を参照して、危害の潜在的な原因(ハザード)を特定するための情報を系統立てて使用すること。

リスク評価：リスクの重大性を決めるため、定量的又は定性的な尺度を使い、推定されたリスクを一定のリスク基準と比較すること。

リスク分析：特定されたハザードに関連するリスクの推定。

リスクマネジメント：リスクのアセスメント、コントロール、コミュニケーション、レビューの各作業に対し、品質マネジメントの方針、手順、実施を系統立てて適用すること。

リスクレビュー：リスクに関わる新しい知見や経験を(適切ならば)考慮して、リスクマネジメントプロセスのアウトプット／結果を見直し、監視すること。

化学合成される医薬品原薬及びその製剤の不純物に関する考え方〈G0-3-181〉

1. 化学合成医薬品に含まれる不純物の種類とその管理に際して準拠すべきガイドライン

化学合成医薬品中に存在する不純物は、有機不純物、無機不純物及び残留溶媒に大別される。新有効成分含有医薬品では、以下に示す医薬品規制調和国際会議(以下「ICH」という)で合意されたガイドラインに基づきこれらの不純物は管理されている。すなわち、有機不純物については、原薬は平成9年4月1日以降の製造承認申請から、また、製剤は平成11年4月1日以降の製造承認申請から、それぞれ「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドラインについて(平成7年9月25日薬審第877号)」(以下「ICH Q3Aガイドライン」という)¹⁾並びに「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドラインについて(平成9年6月23日薬審第539号)」(以下「ICH Q3Bガイドライン」という)²⁾に基づいて規格が設定されている。一方、無機不純物については、日局の基準値や既知の安全性データに基づいて設定されていたところであるが、平成29年4月1日以降の製造販売承認申請から「医薬品の元素不純物ガイドラインについて(平成27年9月30日薬食審査発0930第4号)」(以下「ICH Q3Dガイドライン」という)が、残留溶媒については、平成12年4月1日以降の製造承認申請から「医薬品の残留溶媒ガイドラインについて(平成10年3月30日医薬審第307号)」(以下「ICH Q3Cガイドライン」という)が適用されている。不純物の中でもDNA反応性不純物については、主として平成28年1月15日以降の製造承認申請から「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中DNA反応性(変異原性)不純物の評価及び管理ガイドラインについて(平成27年11月10日薬生審査発1110第3号)」が適用されている。また、有機不純物の一種である光学対掌体については、ICH Q3Aガイドラインは対象外としているものの、その後に公表された「新医薬品の規格及び試験方法

の設定について(平成13年5月1日医薬審発第568号)」(以下「ICH Q6Aガイドライン」という)では管理すべき不純物として規定され、測定可能な場合にはICH Q3Aガイドラインの原則に従い、管理されるべきであるとされた。

品質確保の観点から新有効成分含有医薬品以外の医薬品においても上記ガイドラインに準じた不純物の管理が求められているところであり、製造販売承認申請(あるいは製造販売承認事項一部変更承認申請)がなされる場合に適宜これらのガイドラインが適用される。残留溶媒は日局17の通則で、全ての日局収載医薬品が医薬品各条において規定する場合を除き、原則として一般試験法の残留溶媒に係る規定に従って管理されなければならないことが明記され、管理されることとなった。また、元素不純物に関しては日局への取込みとして試験法と管理方法の収載を段階的に進めてきた。日局18では、通則34の項においてICH Q3Dガイドラインに基づく元素不純物に係る規定を設け、併せて一般試験法「元素不純物試験法(2.66)」と参考情報「製剤中の元素不純物の管理」を統合すると共にICH Q3Dガイドラインの改正を反映した一般試験法「元素不純物(2.66)」を収載した。

2. 有機不純物の管理に関するICH Q3A及びQ3Bガイドラインの考え方

ICH Q3A及びQ3Bガイドラインは、新薬の開発段階において得られる情報を基に有機不純物の規格値を設定することを求めている。ICH Q3Aガイドラインでは、原薬中の不純物について、化学的観点並びに安全性の観点から検討対象とすべき事項に言及している。ICH Q3BガイドラインはQ3Aガイドラインを補完するものであり、基本的考え方は同一である。化学的観点の事項としては、不純物の分類と構造決定と報告の方法、規格の設定及び分析法の検討が含まれ、安全性の観点の事項としては、安全性試験及び臨床試験に用いられた原薬のロット中に全く存在しなかったか、あるいはかなり低いレベルでしか存在しなかった不純物の安全性を確認するための指針が含まれている。

安全性の確認とは、規格に設定された限度値のレベルでの個々の不純物又は不純物全体の安全性を立証するために必要なデータを集めて評価する作業のことである。不純物の判定基準の妥当性に関する安全性の側面からの考察を製造販売承認申請時の添付資料に記載することとする。既に安全性試験や臨床試験で十分安全であることが確かめられている新原薬中に存在しているすべての不純物については、試験に用いられた試料中に存在するレベルまでは安全性が確認されたものと通常考えることができる。

ガイドラインに従い得られたデータに基づき、個別規格設定不純物、個別規格が設定されない不純物及び不純物総量が設定される。原薬の場合、個別規格を設定しない不純物の閾値は、1日当たりの原薬の摂取量に依存して定められており、最大1日投与量が2 g以下の場合0.10%と規定されており、0.10%を超える不純物は個別規格を設定する必要がある。

また、製剤に関しては、ICH Q3Bガイドラインでは、原薬の分解生成物又は原薬と添加剤若しくは一次包装との反応による生成物を対象としている。したがって、原薬中の分解生成物以外の有機不純物(副生成物や合成中間体など)は、製剤中の不純物として認められたとしても既に原薬の規格として管理されていることから、個別規格を設定する必要はないが、製剤中で

増加する分解生成物は規格を設定する必要がある。

3. 日局収載品目における有機不純物の管理の原則

従前より、日局においては、ICH Q3A及びQ3Bガイドラインに従って不純物を管理していた医薬品については日局収載時にICH Q3A及びQ3Bガイドラインに従って、個別規格設定不純物、個別規格が設定されない不純物及び不純物総量が設定されている(なお、収載時期が古くこれらガイドラインが適用される前に収載された医薬品についてはこの限りでない。ただし、これらの日局収載医薬品であっても、新たに製造販売承認申請などがなされる場合には、必要に応じてICH Q3A及びQ3Bガイドラインに準じた不純物の管理が求められる場合がある)。設定に際しては、原案作成会社から提出される開発時の分析データに加え、製造が安定した後の商業生産時のロットの不純物の分析データが評価の対象となる。安全性の評価は、承認時に実施されていることから、日局収載時に改めて実施されることはない。

ICH Q3A及びQ3Bガイドラインでは、化学的合成法で製造される原薬及びこの原薬を用いて製造される製剤中の不純物を対象としており、日局においても同様に、生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)、ペプチド、オリゴヌクレオチド、放射性医薬品、醗酵生成物、醗酵生成物を原料とした半合成医薬品、生薬及び動植物由来の医薬品は対象としない。

ICH Q3A及びQ3Bガイドラインの原則に従って評価された有機不純物を日局純度試験として収載する際に、日局の運用上の合理性を考慮し、独自の修正がなされている。①例外的な場合を除き不純物標準品は設定されず、不純物を液体クロマトグラフィーで同定する場合には、原薬に対する不純物の相対保持時間により行われる。②高純度の医薬品で特定されない不純物(0.1%以下)のみが設定されている場合、不純物総量の設定は通例免除される。③規格値を実測値ベースのみで設定すると、多数の不純物が少しずつ異なる規格値を有することになる場合は、代表的な少数の規格値から構成されるように考慮する。④不純物の化学構造情報や化学名は開示しない。これらの措置により、不純物標準品を使用することなく不純物の管理が可能であり、高純度の医薬品に関しては、システム適合性試験を簡略化することを可能としている。

一方、相対保持時間を利用して不純物を同定する方法は、カラム依存的であり、適切なカラムが入手できないと分析が困難になることから、日局17では、原薬の純度試験の設定に際して、不純物標準品を用いる分析方法も並行して認めることとした。さらに、原則として光学対掌体を含め、不純物の情報として化学名及び構造式を日局においても開示する方針とされた。

なお、ICH Q3Aガイドラインでも言及されているように、不純物の構造決定は不完全な場合も存在する。そのため、各条中のその他の項で開示する化学構造は、NMRなどにより確定されている構造の他、合成経路などから推定される化学的に妥当な構造を含めて示している。その際、立体化学が確定していない場合には、当該部分の構造は波線を用いて表記し、当該炭素に結合している水素は記載せず(構造を示すうえで必須である場合を除く)、化学名には*R*体と*S*体、*E*体と*Z*体の別を記載しないこととする。

製剤の有機不純物に対する純度試験に関しても日局に収載される際に独自の配慮がなされる場合がある。日局においても、

製剤中の不純物として、原薬と添加剤若しくは一次包装との反応による生成物に由来する不純物が規定される。これら不純物は、処方依存性であり、異なる処方では、生成してこない場合もある。多様な処方を許容する公定書である日局においては、一律に各条において規定することが適当でない場合には、「別に規定する」として承認の際の規定に委ねられる場合がある。

新たに日局各条に医薬品を収載する際に不純物の規格を見直す場合には、以下の考え方に従って不純物の規格値が再検討される場合がある。すなわち、ICH Q6Aガイドラインは、製造販売承認申請時に得られているデータには限りがあり、それが判定基準を設定するのに影響を及ぼし得ることを考慮する必要があることを指摘している。不純物に関しても、製造段階では、開発段階で得られた不純物のプロファイルと異なる不純物プロファイルが得られることがあり、製造段階における不純物プロファイルの変化については、必要に応じて考慮されるべきであるとされている。この考えに従い、日局収載時に規格設定の対象となる不純物については、開発段階で得られる情報のほか、製造段階における不純物プロファイルの変化がある場合にはその情報、更に製品製造が安定生産に至った後の段階(以下「安定製造段階」という)での情報も考慮される。

しかしながら、安定製造段階で十分に低いレベルとなった、若しくは検出されなくなった不純物について、個別規格設定の候補化合物リストからむやみに外すことは望ましくない。日局収載医薬品については、医薬品各条の規格に適合することで医薬品として認められることになるが、原案作成会社の原薬とは製造方法が同一ではない後発医薬品等の場合、不純物のプロファイルが異なり、それらの不純物を含有することも想定されるからである。日局収載時に開発段階で検出された結果に基づき情報を提供することは、日局医薬品として流通する原薬及び製剤に含まれる不純物を網羅することにつながる可能性がある。

したがって、安定製造段階で十分に低いレベルとなった、若しくは検出されなくなった不純物について、日局の個別規格設定リストから外す際には、ICH Q3A及びQ3Bガイドラインの考え方にに基づき安全性の観点から十分に設定の必要性が検討される。

また、不純物標準物質を用いて不純物を特定する方法で承認された原薬については、日局各条においても、原則として、特定された不純物が同定可能となるように適切に規格及び試験方法を設定することが望ましい。なお、製造時における不純物の管理に関しては、出荷試験、工程内試験及び工程パラメーターの管理を含め適切な管理戦略を設定し、不純物を管理することが可能である。

4. 参考資料

- 1) ICH: Guideline for Q3A, Impurities in New Drug Substances.
- 2) ICH: Guideline for Q3B, Impurities in New Drug Products.

医薬品の安定性試験の実施方法〈G0-4-171〉

1. 序論

医薬品が製造されてから患者に投与されるまでの間、その品

質が保持されていることが不可欠であり、品質が保持されていることを保証するために安定性試験を行う。安定性試験を実施することで、温度、湿度、光等の様々な環境要因の影響の下での医薬品の品質の経時的変化を評価し、その結果に基づき、原薬のリテスト期間、製剤の有効期間及び医薬品の保存条件の設定に必要な情報を得る。

原薬のリテスト期間とは、原薬が定められた条件の下で保存された場合に、その品質が規格内に保持されていると想定される期間であり、当該原薬が製剤の製造に使用できる期間をいう。この期間を超えて保存された原薬のロットを製剤の製造に使用する場合は、規格への適合性を確認し、速やかに使用する。原薬のロットは複数回再確認することができる。ただし、不安定であることが知られている抗生物質等の原薬については、リテスト期間より有効期間を設定するほうが適切である。また、製剤の有効期間とは、製剤が定められた条件下で保存されたときに、規格を満たしていることが想定される期間をいう。

本参考情報は、主として化学薬品の原薬及び製剤の安定性試験を行う際に設定可能な標準の実施方法を示すものであるが、化学薬品以外の医薬品の安定性試験においても参考にすることができる。なお、試験対象となる物質の特性や、特殊な科学的理由のために実際に直面しうる状況に対しては、柔軟に対応する必要がある。科学的に妥当な理由がある場合には、本参考情報以外の適切な方法を用いて評価することもできる。

2. 試験条件

医薬品の安定性試験として苛酷試験、長期保存試験、加速試験及び必要があれば中間的試験を行う。

2.1. 苛酷試験

原薬の苛酷試験は、生成の可能性がある分解生成物を同定し、分解経路や医薬品本来の安定性を明らかにするために行う。また、安定性試験に用いる分析方法の開発及びその妥当性を評価するのにも役立つ。苛酷試験は、加速試験の保存温度条件よりも10℃ずつ高くなっていく温度条件(例えば、50℃、60℃、...)、又は、適切な湿度条件(例えば、75%RH以上)で実施する。同時に、酸化及び光分解による影響についても検討する。溶液又は懸濁液中では、広い範囲のpH領域における加水分解に対する反応性を検討する。

製剤の苛酷試験は、苛酷条件の影響を評価するために行う。光安定性試験や特定の製剤(例えば、定量吸入式製剤、クリーム剤、乳剤、冷蔵保存の液剤など)については、特殊試験を行う。

2.2. 長期保存試験、加速試験及び中間的試験

長期保存試験は、原薬のリテスト期間及び製剤の有効期間を設定するために、定められた保存条件下で行う試験である。

加速試験は原薬及び製剤の化学的変化又は物理的変化を促進する保存条件を用いて行う試験である。加速試験の成績は、長期保存試験成績と共に、定められた保存方法で長期間保存した場合の化学的影響を評価するのに利用できる。同時に輸送中に起こり得る保存方法からの短期的な逸脱の影響の評価にも利用できる。

中間的試験は、25℃において長期間保存する原薬や製剤について、化学的分解や物理的変化を緩やかに加速するように計画された試験であり、30℃/65%RHの条件下で行う。中間的試験は、加速試験において「明確な品質の変化」が認められた場合に追加で実施される。

長期保存試験及び加速試験並びに必要なに応じて中間的試験は、3ロット以上の基準ロットについて実施する。原薬の基準ロットは最終的な製造方法及び製造工程を反映して製造されたロットで、その品質は実生産で製造されるものの品質を反映する必要がある、生産スケールロット又はパイロットスケールロット以上でなくてはならない。市販するものと同一の包装又はそれに準じて包装したものに対して試験する。製剤の基準ロットは、市販予定製剤と同一処方、同一の包装(必要ならば二次包装及び容器ラベルを含める)とする。製造工程は実生産で適用される方法を反映するものとし、市販予定製剤と同等な品質で、かつ同じ品質規格を満たすものとなるようにする。3ロットのうちの2ロットはパイロットスケール以上とし、他の1ロットは、正当化できれば小規模でも差し支えない。もちろん、基準ロットは、生産スケールロットでもよい。可能ならば、製剤の各ロットは、異なる原薬ロットを使用して製造する。ここで、パイロットスケールロットとは実生産に適用される製造方法、製造工程を十分に反映して製造されたものであり、経口製剤においては、通常、少なくとも実生産スケールの10分の1又は10万錠(カプセル)のいずれか大きい方をパイロットスケールとする。

表1に試験に用いられる保存条件を記す。

表1 異なる保存条件及び包装の医薬品の安定性試験における保存条件

保存条件及び包装	長期保存試験	加速試験	中間的試験
一般的な原薬及び製剤	25±2℃/60±5% RH 又は 30±2℃/65±5% RH ¹⁾	40±2℃/75±5% RH	30±2℃/65±5% RH ²⁾
冷蔵庫で保存する原薬及び製剤 ³⁾	5±3℃	25±2℃/60±5% RH	—
冷凍庫で保存する原薬及び製剤 ⁴⁾	−20±5℃	—	—
−20℃以下で保存される原薬及び製剤	個別に妥当な保存条件の下で試験を実施する		
水分及び溶媒が透過しない不透過性の容器に入れられた製剤	相対湿度を調整する必要はない		
半透過性の容器に包装された製剤 ⁵⁾	25±2℃/40±5% RH 又は 30±2℃/35±5% RH ⁶⁾	40±2℃/25% RH 以下	30±2℃/65±5% RH ⁷⁾

¹⁾ 試験者は、長期保存試験として25±2℃/60±5% RH又は30±2℃/65±5% RHのどちらの条件で行うかを決定する。

²⁾ 加速試験において「明確な品質の変化」が認められた場合、中間的な条件で追加の試験を実施する。ただし、30±2℃/65±5% RHが長期保存条件の場合は、中間的条件はない。ここで、原薬についての「明確な品質の変化」とは、規格からの逸脱が認められた場合をいう。製剤についての「明確な品質の変化」とは、次に掲げる場合である。

- 試験開始時から含量が5%以上変化した場合、生物学的又は免疫学的方法を用いるときは、力価が判定基準から逸脱した場合
 - 特定の分解生成物が判定基準を超えた場合
 - 外観、物理的項目及び機能性試験が判定基準から逸脱した場合(例えば、色、相分離、再懸濁性、ケーキング、硬度、1回当たりの投与量)、しかし、加速試験条件下では、物理的特性の変化(例えば、坐剤の軟化、クリームの融解)が予想されることもある。
- さらに、剤形により必要に応じて
- pHが判定基準を逸脱した場合
 - 溶出試験(12投与単位)で判定基準を逸脱した場合
 - 以下に示すような物理的な変化は、加速条件において認められることがあるが、他の項目に「明確な品質の変化」がない場合には、これらは中間的試験が要求される「明確な品質の変化」とはみなされない。
- 融点が明確に示されている場合に、37℃で溶けるよう設計された坐剤の軟化

・「明確な品質の変化」の原因が架橋によることが明らかである場合に、ゼラチンカプセル又はゲルコーティング錠の12個に対して溶出が判定基準を満たさないこと。

さらに、他の項目に「明確な品質の変化」がないことを確認する際には、他の項目がこれらの物理的な変化の影響を受ける可能性についても考慮しなければならない。

³⁾ 半透過性容器に包装された製剤の場合、水分損失の程度を評価できる適切な情報を提出する。冷蔵庫で保存する原薬及び製剤の加速試験において、測定開始後3箇月以内に「明確な品質の変化」が認められた場合、あえて6箇月まで試験を継続する必要はない。

⁴⁾ 輸送中や保管中における保存方法からの短期的な逸脱の影響を説明するため、上昇させた温度(例えば、5±3℃又は25±2℃)で適切な期間にわたる試験を実施する。

⁵⁾ 半透過性容器に包装された、水を基剤又は溶剤とした製剤の場合、水分損失の程度を評価できるように低湿度の条件で試験を行う。非水性溶剤を基剤又は溶剤とした製剤については、水を基剤又は溶剤とした製剤と同様の方法を開発し、試験を実施する。

⁶⁾ 試験者は、長期保存試験として25±2℃/40±5% RH又は30±2℃/35±5% RHのどちらの条件で行うかを決定する。

⁷⁾ 加速試験において、6箇月の試験で水分損失以外に、「明確な品質の変化」が認められた場合、中間的な条件で追加の試験を実施する。水分の損失のみに「明確な品質の変化」が認められる場合は、中間的な条件における試験は必要とされないが、製剤を25℃で40%の参照相対湿度条件下で保存した場合に、有効期間を通じて水分の損失に係る「明確な品質の変化」を認めないことを示さなければならない。ただし、30±2℃/35±5% RHが長期保存条件の場合は、中間的条件はない。ここで、半透過性の容器に容れられた製剤についての水分の損失に係る「明確な品質の変化」とは、40℃/25% RH以下、3箇月間に相当する保存の後に、5%の水分の損失が認められた場合である。しかし、小容器(1 mL以下)又は、単回投与製剤については、根拠があれば、40℃/25% RH以下、3箇月間に相当する保存の後に、5%以上の水分損失があっても許容されることがある。

3. 測定項目及び測定時期

安定性試験の測定項目として、保存により影響を受けやすい測定項目及び品質、安全性又は有効性に影響を与えるような測定項目を選定する。測定方法としては、安定性試験に用いる方法として適合性が検証された分析方法を採用する。測定の繰り返し必要性及び回数は、バリデーション試験の結果に基づき決定する。

長期保存試験における測定時期は、原薬及び製剤の安定性の特性を十分に把握できるように、1年以上のリテスト期間を設定する原薬及び1年以上の有効期間を設定する製剤については、通常、1年目は3箇月ごと、2年目は6箇月ごと、その後はリテスト期間及び有効期間を通して1年ごととする。また、加速試験にあっては試験開始時と終了時を含めて、6箇月の試験につき3回以上(例えば、0, 3, 6箇月)行うことが望ましい。加速試験において品質の明確な変化が示されたために、中間的な条件での試験が必要になった場合には、試験開始時と終了時を含めて、12箇月の試験につき4回以上(例えば、0, 6, 9, 12箇月)行うことが望ましい。

複数の試験要因(例えば、含量、容器サイズないし容れ目等)の組合わせを持つ製剤について安定性試験を行うとき、妥当であれば、測定時点の一部について測定を省略する、又は要因の組合わせの一部について測定を省略する減数試験(マトリキシング法やブラケットティング法)を適用できる。ブラケットティング法は中間的な水準にある検体の安定性は試験された両極端の安定性により示されるとの仮定に基づいている。全測定時点において、例えば、含量、容器サイズないし容れ目等の試験要因について、両極端の検体についてのみ測定する安定性試験の手法である。ブラケットティング法は、製剤の処方が同一か、又は極めて類似している含量違いの場合に適用することができる。例えば、(1)異なるサイズのカプセルに同一の混合末を充填して製造した含量違いのカプセル剤、(2)同一の顆粒で量を変えて製造した含量違いの錠剤、(3)着色剤や香料といったような

マイナーな添加剤の処方のみが異なる含量違いの経口液剤などである。また、ブラケットティング法は、他の条件が一定で容器サイズ又は容れ目だけが異なる同じ包装に適用することができる。ブラケットティング法は、試験するために選択された含量、容器サイズないし容れ目が、安定性の面からみた実質的な両極端であることが示されなければ適用することはできない。表2にブラケットティング法の試験計画例を示す。試験計画例は説明のために示したものであり、全てのケースにおいてこの手法が唯一の試験計画、又は最も適切な試験計画と考えるべきではない。

マトリキシング法は、ある測定時点における全検体の安定性は各部分集合の安定性により代表されているという仮定に基づいている。ある特定の測定時点で全ての要因の組合わせの全検体のうち選択された部分集合を測定し、連続する二つの測定時点では、全ての要因の組合わせのうちの異なる部分集合を測定する安定性試験の手法である。マトリキシング法は、同一又は極めて類似した製剤処方間での含量違いの評価に適用することができる。例えば、(1)異なるサイズのカプセルに同一の混合末を充填して製造した含量違いのカプセル剤、(2)同一の顆粒で量を変えて製造した含量違いの錠剤、(3)着色剤や香料といったようなマイナーな添加剤の処方のみが異なる含量違いの経口液剤などである。適用できる他の例として、同一の製法と設備で製造されたロット間、同一の包装のサイズないし容れ目違いなどがある。表3にマトリキシング法の試験計画例を示す。試験計画例は説明のために示したものであり、全てのケースにおいてこの手法が唯一の試験計画、又は最も適切な試験計画と考えるべきではない。

表2 ブラケットティング法の試験計画例

含 量		50 mg			75 mg			100 mg		
ロット		1	2	3	1	2	3	1	2	3
容器 サイズ	15 mL ビン	T	T	T				T	T	T
	100 mL ビン									
	500 mL ビン	T	T	T				T	T	T

T: 測定サンプル

表3 含量の異なる2種の製剤に適用する試験計画の例
「測定時点をもつマトリキシング法」

測定時点(月)		0	3	6	9	12	18	24	36
含量	S1	ロット 1	T	T		T	T		T
		ロット 2	T	T		T	T		T
		ロット 3	T		T		T	T	T
	S2	ロット 1	T		T		T		T
		ロット 2	T	T		T	T		T
		ロット 3	T		T		T		T

T: 測定サンプル

4. 光安定性試験

光安定性試験は原薬又は製剤が本来有する光に対する特性を評価するために行う苛酷試験である。

4.1. 光源

光安定性試験に用いる光源は、次に示す二つのオプションの光源のいずれかを用いることができる。

(i) オプション1 D_{65} 又は ID_{65} の放射基準に類似の出力を示すように設計された光源。例えば、可視光と紫外放射の両方の出力を示す昼光色蛍光灯ランプ、キセノンランプ、ハロゲンランプなどがある。

(ii) オプション2 このオプションを採用する場合には、次の白色蛍光灯ランプと近紫外蛍光灯ランプによる照射を同一の試料

を用いて行わなければならない。

①ISO10977 (1993)に類似の出力を示す白色蛍光灯ランプ

②320 ～ 400 nmにスペクトル分布をもち、350 ～ 370 nmに放射エネルギーの極大を示す近紫外蛍光灯ランプ。320 ～ 360 nm及び360 ～ 400 nmの波長域のそれぞれに有意な量の放射エネルギーを示すものであること。

4.2. 曝光量及び曝光条件

原薬の光安定性試験は、強制分解試験と光安定性を確認するための試験(以下「確認試験」という。)の二つからなる。強制分解試験は、分析法を開発したり、分解経路を解明するためにその物質の全般的な光感受性を評価するために行う。分析法のバリデーションのためには、原薬自体のほか、単純な溶液又は懸濁液を用いて強制分解試験を行う。強制分解試験では、原薬の光感受性や使用する光源の強度に応じた曝光条件を用いることができる。分析法の開発やバリデーションが目的であるなら、分解がかなり認められたときには曝光を打ち切って、試験を終了してもよい。光に対して安定な物質については、適切な量の曝光を行ったらその時点で試験を終了してもよい。これらの実験計画は、試験者の判断に任せられるが、曝光量の妥当性が明示される必要がある。原薬の確認試験は、取扱い、包装及び表示に必要な情報を得るために行われる。確認試験における曝光量は、原薬と製剤の結果を直接比較できるように、総照度として120万lx・h以上及び総近紫外放射エネルギーとして200 W・h/m²以上でなければならない。曝光にあたり、試料の昇華、蒸発、融解等の物理的状態の変化による影響が最小になるように試料を冷却したり、密封した容器に入れるなどの努力をしなければならない。用いる容器は試験試料の曝光をできるだけ妨げないものとし、試料ととの間の相互作用等試験の妨げの原因となるものを避ける。原薬について試験を行う場合は適切なガラス又はプラスチック製の皿状容器に入れ、必要な場合には適切な透明なカバーで覆う。粉末の原薬の場合は一般的には3 mm以下の厚さになるように容器中に広げる。液状の原薬は、化学的に不活性で透明な容器に入れて曝光する。一次包装から取り出した製剤について試験する場合には、原薬について述べた条件と同様の方法で試料を配列する。試料は、光源に曝される面積が最大になるように配置する。例えば、錠剤、カプセル剤等は単一の層になるように広げて配置する。直接に曝光するのが実際的でない場合には(例えば、製剤が酸化されるために)、適切に保護できる不活性で透明な容器(例えば、石英)に試料を入れる。一次包装に入れた製剤又は最終包装の製剤についての試験が必要な場合には、曝光が最も均一になるように、試料を水平に又は光路に対して直角になるように配置する。容積の大きい包装の製剤(例えば、調剤用の包装)を試験するときには、試験条件を調節することが必要な場合もある。

5. 安定性データ評価

安定性データ評価は、長期保存試験及び加速試験並びに必要なに応じて中間的試験のデータ及び必要ならば参考資料(開発時の原薬や製剤を用いた安定性試験成績等)を評価して、原薬又は製剤の品質及び性能に影響を与えやすい重要な品質項目を決める。各項目は別々に評価し、それぞれの評価結果に基づいてリテスト期間又は有効期間を提示するために全体的な評価を行う。経時的に変化する定量的測定項目のデータからリテスト期間又は有効期間を求める場合、母平均の曲線の95%信頼限界が判定基準と交叉する時期をもって決定することができる。リ

テスト期間又は有効期間は、個々の項目に対して予測した期間を超えて提示してはならない。

医薬品包装における基本的要件と用語〈G0-5-170〉

本参考情報は、医薬品の品質保証の観点から、さらには国際調和の視点¹⁾も加味しながら、医薬品包装に求められる基本的要件を記載すると共に、包装において用いられる用語及びその定義等について記載する。

なお、本参考情報において、医薬品包装若しくは包装は、医薬品を容器に入れること又は入れた状態を含む。また、本参考情報は、製剤の包装に関連する事項を中心として記載するが、原薬又は添加物の輸送、保管等における品質確保にも適用可能な事項を含んでいる。

1. 医薬品包装における基本的要件

医薬品包装は、有効期間にわたって規定される医薬品の品質規格を保証できるよう、開発段階における包装適格性の評価に基づき、包装の要件を定めることが重要である。医薬品包装の適格性は、製品ライフサイクルを通じ、開発段階で定められた包装の要件に基づき維持されなければならない。

製剤の包装においては、品質確保に加え、適正な使用及び投与時の安全性確保に適していることも考慮する必要がある。製剤包装の適格性評価に求められる厳格性は、静脈投与、経口投与又は経皮投与など投与経路に応じたリスクの程度により異なる。また、製剤包装の適格性評価に求められる厳格性は、注射剤、液剤、半固形剤、固形剤などの剤形に応じた一次包装との相互作用に起因するリスクの程度により異なる。

1.1. 包装の設計段階における適格性評価及び要件の規定

製剤の設計段階で評価すべき包装適格性には、保護(Protection)、適合性(Compatibility)、安全性(Safety)及び機能(Performance)の要素が含まれる。

ここでは、包装設計の流れに基づいて、適格性として評価すべき基本的な項目を記載する。

1.1.1. 包装に用いる資材の安全性

プラスチック容器、ガラス容器などの一次包装に用いる資材(以下「一次包材」という。)からの高分子樹脂のモノマー、添加剤、金属不純物などの溶出物又は移行物が医薬品の安全性を損なってはならない。内容医薬品へのこれらの化学物質の溶出量又は移行量は安全性の見地から十分に低くなければならない。

医薬品と直接接触する容器等の一次包材は、参考情報「プラスチック製医薬品容器及び輸液用ゴム栓の容器設計における一般的な考え方と求められる要件〈G7-2-162〉」などに基づき、供給者等において原料や構成成分の毒性等の品質評価が適切に実施されたものを用いる。包装設計に際しては、包材の品質評価に係る情報を供給者等から可能な限り得ることが望ましい。

1.1.2. 内容医薬品との適合性

一次包装は、製剤の有効期間にわたって医薬品の品質を低下させるものであってはならない。内容医薬品が一次包装の表面に吸着したり内部に移行したりすることにより、医薬品濃度が一定以上変動することがあってはならない。また、一次包装との相互作用によって医薬品が変質するようなことがあってはな

らない。

一次包装は、内容医薬品によって変形したり、劣化したり、変質したりするものであってはならない。

一次包装との適合性は、包装の設計段階において、候補となる個別の包材と内容医薬品の組合せの中で、他の評価項目と併せて検討する。試作した一次包装が包装適格性、すなわち、水分や光からの保護、一次包装への収着、一次包装からの溶出物等の課題に対して設計仕様に適合するか否かを試験及び／又は学術文献などに基づいて検討し、適切な包材を選択する。一次包材の選択に際しては、必要に応じて二次包装を含めた適格性評価も行う。

1.1.3. 包装による保護

包装は、内容医薬品の損失、風解、潮解、蒸発などを防止し、医薬品の特性に応じて防湿性、遮光性、ガスバリア性などを付加して内容医薬品を保護できるものでなければならない。一次包装のみでは内容医薬品の品質を確保することができない場合には、二次包装も含めて複数の包材を組み合わせ、医薬品の品質を確保する。なお、注射剤、点眼剤などの容器には、異物混入が目視で確認できるような透明性の高い包材を用いることが望ましい。

加水分解されやすいなど水分が品質に影響を与えるおそれのある医薬品に関しては、乾燥剤を用いた包装や、一次包装等にガスバリア性の包材を用いるなどの防湿包装とすることができる。水分の蒸散により品質が変化するおそれのある製剤では、容器等の一次包装にガスバリア性の包材を用いることができる。酸化されやすい医薬品に関しては、空気中の酸素等から医薬品の品質を保護するために、脱酸素剤を用いた包装や、容器等の一次包装に低気体透過性の包材を用いることができる。

包装による保護は、包装設計段階において評価を行い、最終的には安定性試験により確認する。また、輸送時等における物理的な衝撃に耐えうることもについても検証する必要がある。

1.1.4. 容器の完全性(微生物汚染防止)

包装は、医薬品の特性及び選択した剤形の特性に応じて、内容医薬品を微生物汚染から保護できるものでなければならない。特に無菌製剤に用いる容器に関しては、容器と栓の嵌合(かんごう)性試験などにより、一次包装の完全性を確認する必要がある。

滅菌を必要とする医薬品にあっては、製剤の滅菌後も、一次包装が上記の安全性、適合性及び保護の適格性を満している必要がある。滅菌後の製剤に、一定以上の毒性物質の残留や生成があってはならない。また、一次包装の構造及び材質は、滅菌後の保管・輸送時において医薬品の微生物汚染を防ぐものでなければならない。

1.1.5. 包装の機能

包装は、識別性、使用性及び廃棄についても配慮して設計されなければならない。

識別性としては、患者に医薬品が正しく確実に投与又は使用されるような表示、高齢者でも容易に識別できる表示などの配慮が必要である。タンパレジスタント包装、チャイルドレジスタント包装など誤飲誤用やいたづらを防ぐためにわかりやすい表示や容器を工夫することが望ましい。

使用性としては、調剤における取扱いの容易さ、投与量の少ない小児への調剤の容易さ、投与又は使用における容器からの

取出しやすさ、投与性、保管収納性、携帯性など投与製剤ごとに考慮することが望ましい。

包装関連の廃棄においては、資源の有効利用に留意し、容器包装リサイクル法や各地方公共団体のルールに従い、廃棄物の減量に努める必要があることから、容器の選択や検討においては廃棄への配慮が必要である。なお、一次包装においては、材料組成が保証されないリサイクル包材を使用してはならない。

1.1.6. 包装の要件

製剤の設計段階において包装適格性の検討に使用された試験法、評価手法に基づき、包装適格性を維持する上で必要かつ十分な品質管理の項目を設ける。一般に包装の要件は、資材の材質の管理、規格及び試験方法及び工程内試験等から構成される。

1.2. 医薬品包装の設計段階における適格性評価の具体例

設計段階における包装の適格性評価の具体例を以下に示す。

1.2.1. 経口固形製剤に用いる包装の適格性評価

経口固形製剤の包装を選択する時には、以下の試験を包装の適格性評価に含める。

- ・瓶等を用いる場合は、選択した栓との開栓トルクの測定により評価を行う。
- ・PTP包装、ストリップ包装等を用いる場合は、水蒸気透過性試験を行う。

1.2.2. 注射剤に用いる容器の適格性評価

注射剤に用いる容器を選択する時には、以下の試験を容器の適格性評価に含める。

- ・アンプルを用いた注射剤は、ピンホール試験を行い、完全性を確認する必要がある。
- ・アンプルを除くバイアル／ゴム栓、ガラス製充填済みシリンジなどを用いた注射剤は、嵌合性試験を行い、容器としての完全性を確認する必要がある。
- ・注射剤に用いるプラスチック製医薬品容器(充填済みシリンジ、プラスチックボトル、プラスチックバックなど)は、製剤の有効期間にわたって「微生物が混入しない気密容器」であることを確認する必要がある。

1.2.3. 容器栓システムの金属不純物に係る適格性評価

注射剤、液剤又は半固形剤において、用いる一次包材からの金属不純物の溶出が疑われる場合には、原子吸光光度法(2.23)、誘導結合プラズマ発光分光分析法及び誘導結合プラズマ質量分析法(2.63)などを用いて、製剤中に含まれる金属不純物の量が安全性の見地から十分に低いことを確認する必要がある。

1.2.4. キット製品の適格性評価

充填済みシリンジ剤、注射用カートリッジ剤、定量吸入式吸入粉末剤などの投与デバイスを用いる場合には、製品使用状況に可能な限り近い条件下において正確な用量が再現性をもって投与されることを検証する必要がある。

1.2.5. 遮光包装の適格性評価

有効成分が光の影響を受けやすく、処方設計で製剤の品質に与える光の影響を克服することが困難な製剤は、容器を含む遮光包装の検討を行う。苛酷試験としての光安定性試験等を用い、適切な遮光包装を選択したことを検証する必要がある。

1.3. 包装工程開発に伴う包材の選択、変更管理及び安定性モニタリング等

包装による医薬品の品質保証を適切に維持するためには、設計段階で実施した適格性評価に加えて、包装工程開発及びそれ

に続く生産段階において、適切な変更管理が行われ、安定性モニタリング等を通じて包装の要件の適切性を確認する必要がある。

一次包材の供給者等による材質変更等は適切に管理されるべきである。そのためにも、これらの包材の製造時に添加された物質に関する情報などを含む容器の製造過程に関する全ての情報を得ることが望ましい。

最終的に選択された医薬品の包装が設計通りに要件を満たしているかどうかについて評価を行い、満たしていない場合には変更管理を通じて包装形態又は包材の変更を行う必要がある。

1.3.1. 包装工程開発における包材の選択、変更

包装工程の開発時には、包装設計段階において定められた要件を満たすことに加え、生産適性、異物や昆虫などの付着しにくさも勘案して包材を選択する。最終的に選択された包装については、保管・輸送時の温度変化や、輸送時の衝撃等に耐えることを検証する。

包材については、一般試験法7. 容器・包装材料試験法の該当する試験法を行い、また、一般試験法に記載のない試験については適切に試験法を設定し、適否の判定を行う。

1.3.2. 安定性モニタリング等

安定性モニタリング又は保管された参考品を通じて、包装が製剤の安定性に悪影響を及ぼしていないことを確認しなければならない。包装が製剤の安定性等の品質に影響を及ぼす可能性が示された場合には、品質を確保可能な適切な包装、管理を選定し、それを用いたロットの品質をモニターし、必要に応じ変更管理を通じて包装を改善する。

1.4. 医薬品の包装工程における品質の維持管理の具体例

医薬品の包装の適格性を維持するためには、工程管理試験等を実施し、包装の要件が出荷時に満たされていることを確認する必要がある。

以下にその具体例を示す。

1.4.1. 経口固形製剤の具体例

PTP包装された錠剤は、設計通りにシールの完全性が確保されているかどうかについて、PTPシートの気密試験(例えば、水中減圧試験)等により確認する必要がある。

1.4.2. 注射剤の具体例

- ・アンプルを用いた水性注射剤は、ピンホールのないことを確認する必要がある。
- ・注射剤に用いるプラスチック製医薬品容器(充填済みシリンジ、プラスチックボトル、プラスチックバックなど)は、市場に出荷する際には、設計通りに微生物が混入しない気密容器として生産されていることを確認する必要がある。

2. 医薬品包装に関する用語

2.1. 基本的な用語

一次包装(primary packaging)：有効成分、添加剤又は製剤と直接接触する包装であり、内容物に対し、物理的又は化学的な変化を与えてはならない。一次包装は、医薬品の品質を保持すると共に利便性などの機能を付与することができる。

一次包装の例として、注射剤における「直接の容器」であるアンプル、錠剤又はカプセル剤における「内袋」であるPTP包装などがある。

外部の容器又は外部の被包(outside container or outside wrapper)：医薬品の直接の容器又は直接の被包が販売・授与のために更に包装され、かつ法令²⁾に規定された表示が付され

ているもの。

気密容器(tight container)：通常の取扱い，運搬又は保存状態において，固形又は液状の異物が混入せず，内容医薬品の損失，風解，潮解又は蒸発を防ぐことができる容器。気密容器の規定がある場合には，密封容器を用いることができる。（通則44）

気密容器として使用されることが多い容器，包装の例として，プラスチック樹脂を用いた容器(瓶，バイアル，シリンジ，プリスター包装(PTP包装など)，ストリップ包装など)などがある。**最終包装(final packaging or marketed packaging)**：医薬品の販売・授与のための包装であり，法令^{2,3)}に規定された表示等を施して市場出荷される製品としての形態。

放射線滅菌法を用いる場合に，最終包装で照射を行うことがある。

資材⁴⁾(labeling and packaging materials)：製品の容器，被包及び表示物(添付文書を含む)。

直接の被包(immediate wrapper)：医薬品がじかに収められた容れ物(紙，布，プラスチック，アルミ袋など)。法令³⁾に規定された表示等を施した上で，そのままの形態で販売・授与できる。そのままの形態では販売・授与されず，法令³⁾に規定された表示を付す必要のない直接の被包の例として内袋がある。

医薬品とじかに接触する直接の被包は一次包装ともいう。

直接の容器(immediate container)：医薬品がじかに収められた固形の容れ物(缶，瓶，アンプル，バイアル，チューブ，点眼剤用容器，箱など)。法令³⁾に規定された表示等を施した上で，そのままの形態で販売・授与できる。なお，錠剤のように内袋としてPTP包装品を更に紙箱に入れた場合には，紙箱が直接の容器となる。

医薬品とじかに接触する直接の容器は一次包装ともいう。

内袋(inner bag)：例えば防湿や遮光等を目的として被包の下に用いるプラスチックの袋，散剤を1回分の服用量ずつ収めた薬袋等である。ポリ袋，ストリップ包装，プリスター包装(PTP包装など)，坐剤プラスチックコンテナなどをいう。なお，医薬品とじかに接触する内袋は直接の被包に該当するが，そのままの形態で販売・授与されない場合は，法令³⁾に規定された表示を付す必要はない。

医薬品とじかに接触する内袋は一次包装ともいう。

二次包装(secondary packaging)：一次包装を補うための単一又は複数の包装であり，有効成分，添加剤又は製剤と直接接触しない。二次包装は，医薬品の品質を保持すると共に医薬品の使用時の過誤防止並びに利便性などの機能を付与することができる。

被包(wrapper)：紙，布，プラスチック，アルミ袋のような柔軟な材料による入れ物・包みを指す。医薬品の被包の例として，薬袋，ポリ袋，ストリップ包装，プリスター包装(PTP包装など)などがある。

表示物⁵⁾(labeling)：法令^{2,3)}により規定された表示等を施したもので，製品のラベル及び添付文書。

封(sealing)：法令⁶⁾により，封を開かねば医薬品を取り出すことができず，かつ，その封を開いた後は容易に原状に復することができないように施すもの。

包装⁷⁾(packaging)：医薬品の通常の取扱い，運搬，保存又は使用などに当たって，その品質を維持するための適切な材料，容器，被包。また，これらの材料，容器，被包に医薬品を収納すること及びそれらを施す技術，又は施した状態。

密封容器(hermetic container)：通常の取扱い，運搬又は保存状態において，気体の侵入しない容器。（通則45）

密封容器として，注射剤においては，アンプルのほか，容器栓システムであるバイアル／ゴム栓，ガラス製のプレフィルドシリンジなどが，その他剤形では，両面アルミ製のプリスター包装(PTP包装など)，金属製の押出しチューブなどが使用されることがある。

密閉容器(well-closed container)：通常の取扱い，運搬又は保存状態において，固形の異物が混入することを防ぎ，内容医薬品の損失を防ぐことができる容器。密閉容器の規定がある場合には，気密容器を用いることができる。（通則43）

密閉容器として使用されることが多い容器，包装の例として，柔軟な材料で作られた一つの開口部をもつ紙類又はプラスチックを用いた袋など，また，金属又はプラスチック樹脂を用いた缶などがある。

容器(container)：医薬品を入れるもので，栓，蓋なども容器の一部である。容器は内容医薬品に規定された性状及び品質に対して影響を与える物理的，化学的作用を及ぼさない。（通則42）

医薬品容器との例として，缶，瓶(ボトル)，チューブ，アンプル，バイアル，箱などがある。

容器栓システム(container closure system)：有効成分，添加剤又は製剤と直接接触する一次包装に用いる資材及びその他の構成材料からなる包装形態。容器栓システムは内容医薬品との組み合わせで考えるべきもので，一次包装のみで品質が保証できない場合には，二次包装に用いる資材も含まれる。

2.2. 個別の包装又は容器に関する用語

アンプル(ampule)：注射剤などの薬液又は凍結乾燥した内容医薬品などを封入する透明又は着色のガラス製又はプラスチック製の容器。通例，口部を熔閉又は熔着して封じる。

押出しチューブ⁷⁾(collapsible tube)：一方の端に，ノズルとキャップがあり，他方は閉じられており，軟膏等の内容物を押し出せる柔軟性を持つ容器。金属チューブ，プラスチックチューブ，ラミネートチューブなどがある。

シリンジ(syringe)：外筒(バレル)，ガスケット，押し子(プランジャー)，トップキャップからなる容器。注射針を含む場合もある。充填済みシリンジ剤に用いられる。

ストリップ包装⁷⁾(strip packaging)：錠剤，カプセル剤，散剤，顆粒剤などを2枚の材料の間にじかに挟み込み，その周囲を接着した包装。略してSP包装ともいう。医薬品がじかに収められているため，内袋，一次包装に該当する。

バイアル(vial)：注射剤などに用いる透明又は着色のガラス製又はプラスチック製の容器。瓶の一種である。ゴム栓及びアルミキャップを用い封をする。

PTP包装⁷⁾(press through packaging)：プリスター包装の一種で，プラスチック成形品の開口部をアルミ箔などの押し出し性の良い材料を用いた包装。カプセル剤，錠剤などがじかに収められているため，内袋，一次包装に該当する。

ピロータイプ包装⁷⁾(pillow type packaging)：袋状の包装の一種であり，例えば，材料の縦の中央部を貼り合わせ，上下の端をシールした包装。一次包装のみで品質確保が困難な場合に，水分や光からの保護のためアルミニウム箔などがラミネートされた複合フィルムを利用したものを二次包装として用いることが多い。

プラスチックバッグ(plastic bag)：ポリエチレン，ポリプロピレン等の樹脂を単独又は複合の材料として用い，一つ又は複数の開口部をもつ柔軟な容器。通例，栓体としてゴム栓を用いる。主として輸液剤のような容量の大きな注射剤の容器として用いる。

ブリスター包装⁷⁾(blister packaging)：プラスチック又はアルミ箔のシートを加熱成形して，1個又は複数個のくぼみを作り，その中に製剤を入れ，開口部をプラスチックフィルム又はシート，アルミ箔などで覆い，周辺部を基材に接着又は固定した包装。製剤を取り出すときには，フィルムや箔などを剝離して行う形態のものをいい，カプセル剤，錠剤，充填済みシリンジ剤，複数個のアンプルを入れたキット製品等で用いられる。

なお，錠剤等がじかに収められている場合は，内袋，一次包装に該当する。

分包品(single-dose packages)：1回使用量ずつ包装したもの。例えば，散剤又は顆粒剤を1回分の服用量ずつ収めたストリップ包装がこれに当たる。

2.3. 包装機能に関する用語

ガスバリア包装⁷⁾(gas barriered packaging)：目的とする気体の透過を抑制する機能をもたせた包装。低気体透過性の包装。

遮光容器／遮光包装(light resistant container and packaging)：通常の取扱い，運搬又は保存状態において，内容医薬品の品質に光が影響を与える場合に，光の透過を防ぎ保護するための容器又は包装。(通則46)

着色した容器を用いる場合のほか，シュリンクフィルムで容器を覆う場合もある。

タンパレジスタント包装⁷⁾(tamper-resistant packaging, tamper-proof packaging)：人が無意識に扱った場合，又は悪意をもって“いたずら”をした場合にも危険を生じないような工夫を施した包装。

チャイルドレジスタント包装⁷⁾(child-resistant packaging, child-proof packaging)：小児の誤飲事故防止を目的とし，誤って開封，開栓，開包等ができないようになっており，かつ成人が適正に使用することが可能な包装。

防湿包装⁷⁾(moisture-proof packaging)：医薬品を湿気の影響から保護する目的で防湿機能を有する材料を用い，必要に応じて乾燥剤を入れ，内部を乾燥状態に保つ包装。

3. 参考資料

- 1) FDA Guidance for Industry: Container Closure Systems for Packaging Human Drugs and Biologics, May 1999.
- 2) 平成26年11月25日施行「医薬品，医療機器等の品質，有効性及び安全性の確保等に関する法律」(以下「医薬品医療機器法」という)第51条。
- 3) 「医薬品医療機器法」第50条。
- 4) 平成16年12月24日厚生労働省令第179号「医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令」第二条第2項。
- 5) 平成25年8月30日付薬食監麻発0830第1号厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課長通知「医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令の取扱いについて」。
- 6) 「医薬品医療機器法」第58条。
- 7) JIS Z 0108：2012，包装—用語。

クオリティ・バイ・デザイン(QbD)，品質リスクマネジメント(QRM)及び医薬品品質システム(PQS)に関連する用語集〈G0-6-172〉

1. はじめに

本用語集の目的はICH Q8からQ11までの，いわゆるQカルテットと呼ばれる一連のガイドラインにおいて品質保証の概念の構築に用いられる用語について定義を示し，概念を説明することである。ここに示されている用語はICHの長年にわたる議論の結果定められた用語であり，ガイドラインの示す科学と品質リスクマネジメントに基づく体系的な品質保証の概念を理解する上で最も重要なものである。一般的な用法とは必ずしも一致していない場合もあるが，医薬品の薬事手続きという場においては以下の定義が用いられることを念頭に置く必要がある。以下，ICH Q8から順番にQ11に至るまでの用語を示す。なお，複数のICHガイドラインで説明されている用語については，該当の文末の括弧内に重複するガイドライン名を記した。

2. 用語集

【ICH Q8ガイドライン】

管理戦略(Control Strategy)：最新の製品及び製造工程の理解から導かれる，製造プロセスの稼動性能及び製品品質を保証する計画された管理の一式。管理は，原薬及び製剤の原材料及び構成資材に関連するパラメーター及び特性，設備及び装置の運転条件，工程管理，完成品規格及び関連するモニタリング並びに管理の方法及び頻度を含み得る(ICH Q10, Q11)。管理戦略は開発手法の違いによらず必要であるが，クオリティ・バイ・デザインの開発手法を用いることにより，試験，モニタリング，又は管理をより上流の工程で実施することが可能となる。

クオリティ・バイ・デザイン(QbD: Quality by Design)：事前の目標設定に始まり，製品及び工程の理解並びに工程管理に重点をおいた，立証された科学及び品質リスクマネジメントに基づく体系的な開発手法。

継続的工程確認(Continuous Process Verification)：製造工程の性能を継続的にモニタリングし評価する，プロセスバリデーションの代替法であり，初回及び継続的な商業生産のプロセスバリデーション実施計画に適用可能である(ICH Q11)。一般に，初回のプロセスバリデーションについては，継続的工程確認はQbDの手法が適用された場合においてより適しているが，工程に関する広範な知識が商業生産の実績を通じて得られた場合にも用いることができる。

工程の頑健性(Process Robustness)：ある工程が，材料の変動性や工程自体及び装置の変更に対して，品質にマイナスの影響を与えることなく耐えられることを示す(ICH Q11)。

重要工程パラメーター(CPP: Critical Process Parameter)：工程パラメーターのうち，その変動が重要品質特性に影響を及ぼすもの，したがって，その工程で要求される品質が得られることを保証するためにモニタリングや管理を要するもの。

重要品質特性(CQA: Critical Quality Attribute)：要求される製品品質を保証するため，適切な限度内，範囲内，分布内であるべき物理学的，化学的，生物学的，微生物学的特性又は性質(ICH Q11)。例えば，ICH Q8では，経口固形製剤の一般的なCQAとしては，製剤の純度，製剤含量，薬物放出性及び安定性に影響を及ぼす特性を例示しているが，純度や製剤含量，

薬物放出性それ自体もCQAに含めることが通常である。

正式な実験計画 (Formal Experimental Design) : 工程に影響する諸要因と、その工程のアウトプットとの関係を判断するための構造化・組織化された方法。「実験計画法(DoE : Design of Experiments)」としても知られる。検討すべき要因はリスクアセスメント作業や既に得られている知識から導かれる場合がある。

デザインスペース (DS : Design Space) : 品質を確保することが立証されている入力変数(原料の性質など)と工程パラメーターの多角的な組み合わせと相互作用。このデザインスペース内で運用することは変更とはみなされない。デザインスペース外への移動は変更とみなされ、通常は承認事項一部変更のための規制手続きが開始されることになる。デザインスペースは申請者が提案し、規制当局がその評価を行って承認する(ICH Q10, Q11)。デザインスペースは、ライフサイクルにわたって、新たな知識が得られるごとに更新することができる。一変量実験のみから得られる立証された許容範囲(PAR)では、工程パラメーター間、原料特性間、あるいは工程パラメーター／原料特性間の相互作用に関する理解が欠如している可能性があるため、PARをただ組み合わせてもデザインスペースとはならないことに留意すべきである。

品質 (Quality) : 製品、システム、又は工程に係る本質的性質の組み合わせが要求事項を満たす程度(ICH Q6A, Q8, Q10)。原薬あるいは製剤に適用した場合は、原薬や製剤の意図した用途への適切さのこと。同一性、含量、物質の純度のような特性を指すこともある(ICH Q6A, Q8, Q9, Q10)。

プロセス解析工学 (工程解析システム) (PAT : Process Analytical Technology) : 最終製品の品質保証を目標として原材料や中間製品／中間体の重要な品質や性能特性及び工程を適時に(すなわち製造中に)計測することによって、製造の設計、解析、管理を行うシステム。

目標製品品質プロファイル (QTPP : Quality Target Product Profile) : 製剤の安全性及び有効性を考慮した場合に要求される品質を保証するために達成されるべき、製剤の期待される品質特性の要約であり、当該製品の設計基準を記述したものと解釈される。製品開発の設計の基盤として用いられる(ICH Q8)。

ライフサイクル (Lifecycle) : 初期開発から市販を経て製造販売中止に至るまでの製品寿命の全過程(ICH Q11)。

リアルタイムリリース試験 (RTRT : Real Time Release Testing) : 工程内データに基づいて、工程内製品や最終製品の品質を評価し、その品質が許容されることを保証する試験。通常、あらかじめ評価されている物質(中間製品)特性と工程管理との妥当な組み合わせが含まれる(ICH Q11)。パラメトリックリリースもリアルタイムリリース試験の一種であるが、この場合には、特定の性質について、原料や検体の試験を行うより、むしろ工程データに基づいている。詳細については、参考情報「医薬品原薬及び製剤の品質確保の基本的考え方 (G0-1-172)」を参照されたい。

立証された許容範囲 (PAR : Proven Acceptable Range) : ある一つの工程パラメーターについて、他のパラメーターを一定とすると、その範囲内での操作であれば関連する品質基準を満たすものが得られるとして特定された範囲。

【ICH Q9ガイドライン】

意思決定者 (Decision Maker(s)) : 適切かつタイムリーな品質

リスクマネジメントに関する決定を行う能力及び権限を有する人又は人々。

危害 (Harm) : 健康への被害。製品品質の不良又は安定供給の欠如による被害を含む。

傾向 (Trend) : 変動の方向又は変化率を参照する統計用語。

検出性 (Detectability) : ハザードの存在、出現、事実を発見又は決定する能力。

重大性 (Severity) : ハザードから生じうる結果の大きさ。

製品ライフサイクル (Product Lifecycle) : 初期開発から市販を経て製造販売中止に至るまでの製品寿命の全過程。

ハザード (Hazard) : 危害の潜在的な原因(ISO/IEC Guide 51)。

品質システム (Quality System) : 品質方針を実行し、品質目標への適合を保証するシステムに係るあらゆる側面の総和。

要求事項 (Requirements) : 患者やその代弁者(医療従事者、規制当局、国会議員など)により明確化された又は暗黙のニーズ又は期待。ICH Q9においての要求事項とは、法令上、立法上、あるいは規制上の要求事項のみならず、上記のようなニーズ及び期待を含むものとされる。

利害関係者 (Stakeholder) : リスクに影響を与え、リスクの影響を受け、又はリスクの影響を受けると認識する個人、グループ又は組織。意思決定者もまた利害関係者である場合がある。本ガイドラインの目的においては、主要な利害関係者とは、患者、医療従事者、規制当局、企業を指す。

リスク (Risk) : 危害の発生の確率とそれが発生したときの重大性の組み合わせ(ISO/IEC Guide 51)。

リスクアセスメント (Risk Assessment) : リスクマネジメントプロセスの中で、リスクに係る決定を支持する情報を整理する系統だったプロセス。ハザードの特定、及びそれらハザードへの曝露に伴うリスクの分析と評価からなる。

リスクコミュニケーション (Risk Communication) : リスク及びリスクマネジメントの情報を意思決定者及び他の利害関係者の間で共有すること。

リスクコントロール (Risk Control) : リスクマネジメントの意思決定を実施する行動(ISO Guide 73)。

リスク受容 (Risk Acceptance) : リスクを受容する意思決定(ISO Guide 73)。

リスク低減 (Risk Reduction) : 危害の発生の確率及びその危害の重大性を低減するための行動。

リスク特定 (Risk Identification) : リスクへの質問又は問題の記述を参照して、危害の潜在的な原因(ハザード)を特定するための情報を系統立てて使用すること。

リスク評価 (Risk Evaluation) : リスクの重大性を決めるため、定量的又は定性的な尺度を使い、推定されたリスクを一定のリスク基準と比較すること。

リスク分析 (Risk Analysis) : 特定されたハザードに関連するリスクの推定。

リスクマネジメント (Risk Management) : リスクのアセスメント、コントロール、コミュニケーション、レビューの各作業に対し、品質マネジメントの方針、手順、実施を系統立てて適用すること。

リスクレビュー (Risk Review) : リスクに係る新しい知見や経験を(適切ならば)考慮して、リスクマネジメントプロセスのアウトプット／結果を見直し、監視すること。

【ICH Q10ガイドライン】

イノベーション(Innovation)：新規な技術又は方法論の導入。
 医薬品質システム(PQS：Pharmaceutical Quality System)：品質に関して製薬企業を指揮及び管理するマネジメントシステム(ISO 9000:2005に基づくICH Q10の定義)。

外部委託作業(Outsourced Activities)：委託者との文書化された合意事項の下で、受託者により実行される作業。

管理できた状態(State of Control)：管理の組合せが継続する製造プロセスの稼働性能及び製品品質について恒常的な保証を提供する状態。

業績評価指標(Performance Indicators)：組織、プロセス又はシステムの稼働性能を示すために、品質目標の定量化に用いられる測定可能な値で、ある地域では「性能測定基準(Performance Metrics)」と呼ばれる。

継続的改善(Continual Improvement)：要求事項を満たす能力を高めるために繰り返し行われる活動(ISO 9000:2005)。

上級経営陣(Senior Management)：企業又は製造サイトに対して、その企業又は製造サイトの資源を動員する責任と権限を持ち、最高レベルで指揮し、管理する人(ISO 9000:2005に部分的に基づくICH Q10定義)。

製造プロセスの能力(Capability of a Process)：当該製品の要求事項を満たす製品を実現する製造プロセスの能力。工程能力(Process Capability)の概念は、統計用語においても定義され得る(ISO 9000:2005)。

製品実現(Product Realisation)：患者及び医療従事者のニーズ並びに規制当局(承認事項の遵守を含む)及び内部顧客の要求事項を満たす適切な品質特性を有する製品の達成。

是正措置(Corrective Action)：検知された不適合又は他の望ましくない状況の原因を除去する措置。注：予防措置は発生を防止するために講じられるのに対し、是正措置は再発を防止するために講じられる(ISO9000:2005)。

達成のための手法(Enabler)：目標を達成するための手段を提供する手法又はプロセス。

知識管理(Knowledge Management)：製品、製造プロセス及び構成資材の情報を獲得し、分析し、保管し、及び伝播するための体系的取り組み。

品質計画(Quality Planning)：品質目標を設定すること並びにその品質目標を達成するために必要な、運用上のプロセス及び関連する資源を規定することに焦点を合わせた品質マネジメントの一部(ISO 9000:2005)。

品質方針(Quality Policy)：上級経営陣により正式に表明された、品質に関する組織の全体的な意図及び方向(ISO9000:2005)。

品質マニュアル(Quality Manual)：組織の品質マネジメントシステムを規定する文書(ISO 9000:2005)。

品質目標(Quality Objectives)：品質方針及び戦略を測定可能な活動に変換するための手段。

品質リスクマネジメント(QRM：Quality Risk Management)：製品ライフサイクルを通じて、医薬品の品質に係るリスクについてのアセスメント、コントロール、コミュニケーション、レビューからなる系統だったプロセス(ICH Q9, Q10)。詳細については、参考情報「品質リスクマネジメントの基本的考え方(G0-2-170)」を参照されたい。

フィードバック／フィードフォワード(Feedback/

Feedforward)：プロセス又はシステムを、その結果又は効果によって修正し、又は管理すること。フィードバック／フィードフォワードは、プロセスの管理戦略に対して技術的に、また、品質マネジメントに対して概念的に適用することができる。フィードバックは結果をさかのぼって前のプロセスに反映させ(例：前工程の原料の供給量の制御)、フィードフォワードは結果をそれよりも後の工程(例：後工程の乾燥時間の制御)に反映させることである。

変更マネジメント(Change Management)：変更を提案し、評価し、承認し、実施し、及びレビューする体系的取り組み。

予防措置(Preventive Action)：起こり得る不適合又は他の望ましくない起こり得る状況の原因を除去する措置。注：是正措置は再発を防止するために講じられるのに対し、予防措置は発生を防止するために講じられる(ISO 9000:2005)。

【ICH Q11ガイドライン】

化学変換工程(Chemical Transformation Step)：化学薬品において、前駆体の分子構造から原薬の化学構造の合成に関係するステップのことである。一般的に、これらはC-X又はC-C結合が形成されるか切断されることを含む。

混入汚染物質(Contaminants)：原薬及び製剤の製造工程には本来存在しないはずのもので、外来性の物質(例えば、化学物質、生化学的な物質、微生物など)すべてを指す(Q6B)。

3. 参考資料

- 1) ICH: Guideline for Q8(R2), Pharmaceutical Development.
- 2) ICH: Guideline for Q9, Quality Risk Management.
- 3) ICH: Guideline for Q10, Pharmaceutical Quality System.
- 4) ICH: Guideline for Q11, Development and Manufacture of Drug Substances (Chemical Entities and Biotechnological/Biological Entities).
- 5) ICH: Quality Implementation Working Group, Points to Consider (R2), ICH-Endorsed Guide for ICH Q8/Q9/Q10 Implementation.
- 6) ICH: Quality Implementation Working Group on Q8, Q9 and Q10 Questions & Answers (R4).

G1. 理化学試験関連

分析法バリデーション〈G1-I-130〉

分析法バリデーションとは、医薬品の試験法に用いる分析法が、分析法を使用する意図に合致していること、すなわち、分析法の誤差が原因で生じる試験の判定の誤りの確率が許容できる程度であることを科学的に立証することである。分析法の能力は種々の分析能パラメーターにより表される。提案する分析法の分析能パラメーターが、試験法の規格値などを基にして設定する基準を満たしていることを実証することにより、分析法の妥当性を示すことができる。

本文に基づく分析法バリデーションは、日本薬局方に新たに収載する試験法を設定するとき、日本薬局方に収載されている試験法の改正を行うとき及び通則の規定に基づき日本薬局方に収載されている試験法に代わる試験法を設定するとき、これら

の試験法で用いる分析法について行う。

1. 分析法を日本薬局方に収載するために必要な資料

1.1. 概要

分析法の原理の簡潔な説明、その分析法の必要性、他の分析法と比較したときの利点、バリデーションの要約などを記載する。分析法を改正する場合には、既存の分析法の限界及び新たに提案する分析法によりもたらされる利点も記載する。

1.2. 分析法

分析法を正しく評価できるように、また、必要ならば追試を行って評価できるように、分析法を詳細に記載する。分析法には、分析の手順、標準試料の調製法、試薬・試液の調製法、留意事項、分析システムが正しく作動していることを検証する方法(例えば、クロマトグラフィーにおける分離効率の検証)、分析結果を導くための式及び測定回数などが含まれる。また、日本薬局方に規定されていない装置又は器具を用いる場合には、それについても詳細に記載する。新たに標準品を規定する場合には、その物質の物理的、化学的又は生物学的な特性値を明らかにし、試験法を記載する。

1.3. 分析法の妥当性を示す資料

分析法が妥当なものであることを立証する資料を示す。本資料は、分析能パラメーターを求めるための実験計画、実験データ、計算結果及び検定結果を含む。

2. 分析能パラメーター(Validation characteristics)

分析法の妥当性を示すために評価が必要な典型的な分析能パラメーターの定義と評価方法の例を次に示す。

分析能パラメーターに関する用語と定義は、分析法を適用する分野により異なる。本文における用語と定義は、日本薬局方の目的に沿って一義的となるように定めたものである。評価方法の項では、分析能パラメーターを評価する方法の概略を示した。分析能パラメーターを決定する方法は、多数の方法が提唱されており、一般的に受け入れられている方法であれば、どのような方法を用いて分析能パラメーターを決定しても差し支えない。しかし、分析能パラメーターの値が決定方法に依存することもあるので、分析能パラメーターを求めるための実験方法、実験データ及び計算方法は、可能な限り詳しく記述することが必要である。

頑健性(Robustness)は、分析法バリデーションで検討する分析能パラメーターには含まれないが、分析法の開発段階で頑健性を検討することにより、分析法を改善し、検討結果を分析法の分析条件又は留意事項に反映させることができる。

2.1. 真度(Accuracy/Trueness)

2.1.1. 定義

真度とは、分析法で得られる測定値の偏りの程度のこと、真の値と測定値の総平均との差で表される。

2.1.2. 評価方法

分析法の真度の推定値は、室内再現精度又は室間再現精度を求めるときに得られる測定値の総平均と真の値との差として表される。標準品の認証値又は合意された値を真の値とする。製剤の分析法の場合には、標準溶液の測定値を合意された真の値とする。

また、特異性の高い分析法であることを示すことにより、分析法の偏りが小さいことを推論できる。

得られた真度の推定値と室間(内)再現精度から計算される標準誤差の値から、真度の95%信頼区間を計算する。この区間

が0を含んでいることを確認するか、又は同区間の上限値及び下限値が分析法に要求される真度の基準の値の範囲内であることを確認する。

2.2. 精度(Precision)

2.2.1. 定義

精度とは、均質な検体から採取した複数の試料を繰り返し分析して得られる一連の測定値が、互いに一致する程度のことであり、測定値の分散、標準偏差又は相対標準偏差で表される。

精度は、繰り返し条件が異なる三つのレベルで表され、それぞれ、併行精度、室内再現精度及び室間再現精度という。

(i) 併行精度(Repeatability/Intra-assay precision)：併行精度とは、試験室、試験者、装置、器具及び試薬のロットなどの分析条件を変えずに、均質な検体から採取した複数の試料を短時間内に繰り返し分析するとき(併行条件)の精度である。

(ii) 室内再現精度(Intermediate precision)：室内再現精度とは、同一試験室内で、試験者、試験日時、装置、器具及び試薬のロットなどの一部又は全ての分析条件を変えて、均質な検体から採取した複数の試料を繰り返し分析するとき(室内再現条件)の精度である。

(iii) 室間再現精度(Reproducibility)：室間再現精度とは、試験室を変えて、均質な検体から採取した複数の試料を繰り返し分析するとき(室間再現条件)の精度である。

2.2.2. 評価方法

はじめに、精度を検討するのに十分な量の均質な検体を確保する。溶液は均質な検体である。均質な検体を得られないときには、例えば、大量の製剤を均質とみなせるまで混合粉碎した検体、又は製剤の配合成分を均質とみなせるまで混合した検体を、均質な検体として用いる。

二つ以上のレベルの精度を同時に評価するためには、一元配置などのような適当な実験計画法の下に実験を行うとよい。このとき、分析法の精度を正しく推定するために、十分な数の繰り返し数、分析条件の水準数及び試験室数を揃える。バリデートしようとする分析法で、考えられる可能な限りの分析の変動要因について検討する。

各レベルの精度の分散、標準偏差、相対標準偏差、分散の90%信頼区間及びこれに対応する標準偏差の区間を示す。分析法に要求される精度の基準の値に照らし合わせ、分析法を採用してもよいことを示す。通例、室間(内)再現精度の値から分析法の採否を決定する。

2.3. 特異性(Specificity)

2.3.1. 定義

特異性とは、試料中に共存すると考えられる物質の存在下で、分析対象物を正確に測定する能力のこと、分析法の識別能力を表す。個々の分析法が特異性に欠ける場合には、別の試験法によりこれを補うこともできる。

2.3.2. 評価方法

分析法を適用する試験法の目的に応じて、分析法が確実に分析対象物を確認できること、又は分析対象物の量又は濃度を正確に測定できることを確認する。特異性は、例えば、分析対象物のみを含む試料、製剤の配合成分、類縁物質若しくは分解産物を含む検体に分析対象物を添加した試料及び分析対象物は含まず、製剤の配合成分、類縁物質若しくは分解産物のみを含む試料などの分析結果を比較することにより評価できる。不純物の標準品が得られない場合には、不純物を含有すると考えられ

る試料，例えば，経時変化した試料などを用いることもできる。

2.4. 検出限界(Detection limit)

2.4.1. 定義

検出限界とは，試料に含まれる分析対象物の検出可能な最低の量又は濃度のことである。検出限界では定量できるとは限らない。

2.4.2. 評価方法

通例，検出限界における消費者及び生産者の危険率が5%以下となるように検出限界を定める。検出限界は，ブランク試料又は検出限界付近の分析対象物を含む試料の測定値の標準偏差及び検出限界付近の検量線の傾きから算出される。例えば，検出限界は，測定値が正規分布し連続な場合には，検出限界付近の検量線の傾き及びブランク試料の測定値の標準偏差から，次式により求めることができる。

$$DL=3.3\sigma / slope$$

DL ：検出限界

σ ：ブランク試料の測定値の標準偏差

$slope$ ：検出限界付近の検量線の傾き

クロマトグラフィーの場合には，測定値の標準偏差の代わりにノイズ・レベルを用いることができる。

分析法の検出限界が試験の規格値よりも小さいことを確認する。

2.5. 定量限界(Quantitation limit)

2.5.1. 定義

定量限界とは，試料に含まれる分析対象物の定量が可能な最低の量又は濃度のことである。定量限界の分析対象物を含む試料の測定値の精度は，通例，相対標準偏差で表して10%である。

2.5.2. 評価方法

定量限界は，ブランク試料又は定量限界付近の分析対象物を含む試料の測定値の標準偏差及び定量限界付近の検量線の傾きから算出される。例えば，定量限界は，測定値が正規分布し連続な場合には，定量限界付近の検量線の傾き及びブランク試料の測定値の標準偏差から，次式により求めることができる。

$$QL=10\sigma / slope$$

QL ：定量限界

σ ：ブランク試料の測定値の標準偏差

$slope$ ：定量限界付近の検量線の傾き

クロマトグラフィーの場合には，測定値の標準偏差の代わりにノイズ・レベルを用いることができる。

分析法の定量限界が試験の規格値よりも小さいことを確認する。

2.6. 直線性(Linearity)

2.6.1. 定義

直線性とは，分析対象物の量又は濃度に対して直線関係にある測定値を与える分析法の能力のことである。このとき，必要があれば，分析対象物の量，濃度又は測定値を正確に定義された数式により変換した値を用いてもよい。

2.6.2. 評価方法

量(濃度)が異なる分析対象物を含有する試料を用意し，分析法に述べられている手順に従って各試料を繰り返し分析し，測定値を得る。回帰式及び相関係数から直線性を評価する。必要

ならば，測定値の回帰式からの残差を分析対象物の量又は濃度に対してプロットし，特定の傾向が観察されないことを確認する。通例，5種類の量(濃度)が異なる試料を用いる。

2.7. 範囲(Range)

2.7.1. 定義

分析法バリデーションにおける範囲とは，適切な精度及び真度を与える，分析対象物の下限及び上限の量又は濃度に挟まれた領域のことである。直線性のある分析法の場合には，適切な精度及び真度を与え，また，直線性が成り立つ分析対象物の下限及び上限の量又は濃度に挟まれた領域のことである。

2.7.2. 評価方法

通例，分析法バリデーションにおける範囲は，試験の規格値±20%程度でよい。範囲の上限値，下限値及び範囲の中央付近の値の試料について，精度，真度及び直線性を検討する。

3. 分析法を適用する試験法の分類

試験法は，その目的により以下に示すように大きく三つのタイプに分類することができる。各タイプの試験法に適用する分析法のバリデーションに，通例，要求される分析能パラメーターを表に示す。これは原則であり，評価が必要な分析能パラメーターは，分析法の特性や分析法を適用する試験法の目的に依存して変わる。

(i) タイプⅠ：確認試験法。医薬品中の主成分などをその特性に基づいて確認するための試験法。

(ii) タイプⅡ：純度試験法。医薬品中に存在する不純物の量を測定するための試験法。

(iii) タイプⅢ：医薬品中の成分の量を測定するための試験法。(成分には，安定剤及び保存剤などの添加剤なども含まれる。)溶出試験法のように，有効性を測定する試験法。

表 試験法のタイプと検討が必要な分析能パラメーター

タイプ 分析能 パラメーター	タイプⅠ	タイプⅡ		タイプⅢ
		定量試験	限度試験	
真度	—	+	—	+
精度	—	+	—	+
併行精度	—	—*	—	—*
室内再現精度	—	—*	—	—*
室間再現精度	—	—*	—	—*
特異性**	+	+	+	+
検出限界	—	—	+	—
定量限界	—	+	—	—
直線性	—	+	—	+
範囲	—	+	—	+

— 通例評価する必要がない。

+ 通例評価する必要がある。

* 分析法及び試験法が実施される状況に応じて，室内再現精度又は室間再現精度のうち一方の評価を行う。日本薬局方に採用される分析法のバリデーションでは，通例，後者を評価する。

** 特異性の低い分析法の場合には，関連する他の分析法により補うこともできる。

4. 分析法バリデーションで用いられる用語

(i) 頑健性(Robustness)：頑健性とは，分析条件を小さい範囲で故意に変化させるときに，測定値が影響されにくい能力のことである。反応液のpH，反応の温度，反応時間又は試薬の量などの分析条件を適当な範囲で変化させ，測定値の安定性を検討する。測定値が分析条件に対して不安定な場合には，安定な測定値が得られるように分析法に改良を加える。また，頑健性の結果は，最終的な分析法において分析条件を示す数値の有効数字又は留意事項として反映させる。

- (ii) 試験室：試験室とは、試験を行う部屋、施設を意味する。本分析法バリデーションでは、試験室を変えるということは、試験者、装置及び試薬ロットなどの分析条件が変化することを意味する。
- (iii) 試験法：試験法とは、一般試験法及び医薬品各条における試験方法、例えば、純度試験、定量法などを意味する。試験法には、試料の採取方法、規格値、分析法などが含まれる。
- (iv) 生産者危険：規格を満たしている製品が、試験を行うことにより、誤って不合格と判断される確率のこと。通例、 α で表す。第一種の過誤ともいい、限度試験の場合には偽陽性率に相当する。
- (v) 消費者危険：規格外の製品が、試験を行うことにより、誤って合格と判断される確率のこと。通例、 β で表す。第二種の過誤ともいい、限度試験の場合には偽陰性率に相当する。
- (vi) 測定回数：分析法の手順の中に含まれる回数。分析法の精度を上げるために、分析法の中であらかじめ測定回数を2回以上に指定することがある。分析法バリデーションでは、分析法の中で定められた測定回数も含めた分析法を評価する。
- 分析法の精度を評価するために繰り返し分析を行うときの繰り返し数とは別のものである。
- (vii) 測定値：1回の分析により得られる1個の値。
- (viii) 分析法：本文が対象としている分析法は、試料中に存在する分析対象物の量又は濃度に依存する測定値を与える分析法及び確認試験に用いられる分析法である。本文における分析法とは、試験法の分析過程を意味する。

システム適合性〈G1-2-181〉

試験結果の信頼性を確保するためには、日本薬局方などに収載されている試験法を含め、既存の試験法を医薬品の品質試験に適用する際に、試験を行う施設の分析システムを使って当該試験法が目的に適う試験結果を与えることをあらかじめ検証することが肝要であり、そうした検証を行った上で分析システムの稼働状態を日常的に確認する試験としてシステム適合性の試験を行う必要がある。

1. システム適合性の意義

「システム適合性」とは、試験法の適用時に目的に適う試験結果を与えることが検証された分析システムが、実際に品質試験を行う際にも適切な状態を維持していることを確認するための試験方法と適合要件について規定したものであり、通常、一連の品質試験ごとに適合性を確認するための試験が行われる。システム適合性の試験方法及び適合要件は、医薬品の品質規格に記載される試験方法の中で規定する。規定されたシステム適合性の適合要件が満たされない場合には、その分析システムを用いて行った品質試験の結果を採用してはならない。

システム適合性は、機器分析法による多くの規格試験法に不可欠な規定である。この規定は、装置、電子的情報処理系、分析操作及び分析試料、更には試験者から構成される分析システムが、全体として適切な状態にあることを確認するための試験方法と適合要件を当該試験法の中に規定することによって、システムとして完結するとの考え方に基づいている。

2. システム適合性設定時の留意事項

規格試験法中に設定すべきシステム適合性の項目は、試験の目的と用いられる分析法のタイプに依存している。また、システム適合性の試験は、日常的に行う試験であることから、使用する分析システムが目的とする品質試験を行うのに適切な状態を維持していることを確認するのに必要な項目を選び、迅速かつ簡便に行えるような試験として設定することが望ましい。

例えば、液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーを用いた定量的な純度試験の場合には、システムの性能(試験対象物質を特異的に分析し得ることの確認)、システムの再現性(繰返し注入におけるばらつきの程度の確認)、検出の確認(限度値レベルでのレスポンスの数値的信頼性の確認)などの項目について設定する。ただし、面積百分率法において、マトリックスの影響が評価され、分析対象物の性質を考慮して管理すべき最低濃度レベルの溶液を用いる等、適切な検出の確認が設定されている場合、システムの再現性の規定が不要な場合がある。

クロマトグラフィーにおけるシステム適合性の規定は、クロマトグラフィー総論〈2.00〉、又は、液体クロマトグラフィー〈2.01〉に従う。

日本薬局方一般試験法「液体クロマトグラフィー〈2.01〉」に記載されたシステム適合性の規定を補完する事項について以下に記載する。

2.1. 液体クロマトグラフィー及びガスクロマトグラフィーのシステムの再現性について

2.1.1. 許容限度値の設定

日本薬局方一般試験法「液体クロマトグラフィー〈2.01〉」のシステム適合性の項に「繰返し注入の回数は6回を原則とする」、また、「システムの再現性の許容限度値は、当該試験法の適用を検討した際のデータと試験に必要とされる精度を考慮して、適切なレベルに設定する。」と規定されていることから、6回繰返し注入における許容限度値を下記の記載を参考にして設定する。なお、日本薬局方収載の医薬品各条に規定された試験法により試験を行う場合には、当該各条に規定された許容限度値に従う。

(i) 原薬の定量法(原薬の含量がほぼ100%、あるいはそれに近い場合)：分析システムが、製品中の有効成分含量のばらつきの評価に適切な精度で稼働していることを確認できるレベルに設定する。例えば、含量規格の幅が、液体クロマトグラフィーを用いた定量法において含量規格として設定されることの多い98.0～102.0%の場合のように、5%以下の場合には「1.0%以下」を目安として適切に設定する。

(ii) 製剤の定量法：製剤の含量規格の幅、並びに原薬の定量法におけるシステム再現性の規定(原薬と製剤に同様の試験法が用いられている場合)を考慮に入れて、適切に設定する。

(iii) 類縁物質試験：標準溶液やシステム適合性試験用溶液など、システム再現性の試験に用いる溶液中の有効成分濃度を考慮して、適切に設定する。試料溶液を希釈し、0.5～1.0%の有効成分濃度の溶液を調製して、システム再現性の試験に用いる場合には、通例、「2.0%以下」を目安として適切に設定する。

なお、上記の目安は、ガスクロマトグラフィーの場合には適用しない。

2.1.2. システムの再現性の試験の質を落とさずに繰返し注入の回数を減らす方法

日本薬局方一般試験法「液体クロマトグラフィー〈2.01〉」

のシステム適合性の項に「繰返し注入の回数は6回を原則とするが、グラジエント法を用いる場合や試料中に溶出が遅い成分が混在する場合など、1回の分析に時間がかかる場合には、6回注入時とほぼ同等のシステムの再現性が担保されるように達成すべきばらつきの許容限度値を厳しく規定することにより、繰返し注入の回数を減らしてもよい。」と規定されている。これと関連して、システムの再現性の試験の質を落とさずに繰返し注入の回数を減らす方法を以下に示した。この方法により、必要な場合には、繰返し注入の回数を減らして設定することができ、また変更可能である。

システムの再現性の試験の質を繰返し注入の回数が6回($n=6$)の試験と同等に保つために、 $n=3 \sim 5$ の試験で達成すべきばらつきの許容限度値を下記の表に示した。

しかしながら、繰返し注入の回数を減らすということは、システムの再現性を確認する上での1回の試験の重みが増すということであり、装置が適切に維持管理されることがより重要となることに留意する必要がある。

表 システムの再現性の試験の質を $n=6$ の試験と同等に保つために $n=3 \sim 5$ の試験で達成すべきばらつきの許容限度値*

		許容限度値(RSD)					
$n=6$ の試験に規定されたばらつきの許容限度値		1.0%	2.0%	3.0%	4.0%	5.0%	10.0%
達成すべきばらつきの許容限度値	$n=5$	0.88%	1.76%	2.64%	3.52%	4.40%	8.81%
	$n=4$	0.72%	1.43%	2.15%	2.86%	3.58%	7.16%
	$n=3$	0.47%	0.95%	1.42%	1.89%	2.37%	4.73%

* 排除すべき性能の分析システムがシステム適合性の試験に合格する確率を5%とした。

液の色に関する機器測定法〈G1-4-181〉

本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

なお、三薬局方で調和されていない部分のうち、調和合意において、調和の対象とされた項中非調和となっている項の該当箇所は「[◆]」で、調和の対象とされた項以外に日本薬局方が独自に規定することとした項は「[◇]」で囲むことにより示す。

三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。

1. 原理

測定される物質の色は第一にその物質の吸収特性に依存する。しかし、光源の違い、光源のスペクトルのエネルギー、測定者の視感度、サイズの違い、背景の違い及び見る方向の違いのような種々の条件によっても色の見え方は異なる。色相、明度(又は輝度)及び彩度は色の三属性とされている。決められた条件のもとで機器分析を行えば色の数値化は可能である。どのような色の機器分析においても、ヒトの目が3タイプの受容体を通して色を見るということに基づいている。

色の測定において、機器分析法は目視による色の主観的な観察よりも客観的なデータを得ることができる。適切な保守管理及び校正を行うことで機器分析法により正確で、精度よく、更に経時的に変化しない一定の色の測定値を得ることができる。正常な色覚を持つヒト被験者による広範囲なカラーマッチング

実験を通して、分散係数(荷重係数)を可視スペクトル範囲のそれぞれの波長で求めて、その波長の光による各受容体の相対的な刺激量を求めた。国際照明委員会(CIE)は、測色標準観測者が対象(視野)を認識する光源及び光の角度を考慮したモデルを開発した。溶液の色の目視テストにおいては視角2°の視野及び散乱昼光を用いる必要がある。ヒトの目の平均的な感受性は $\bar{x}_\lambda$ 、 $\bar{y}_\lambda$ 及び $\bar{z}_\lambda$ の分散係数で表される(図1)。

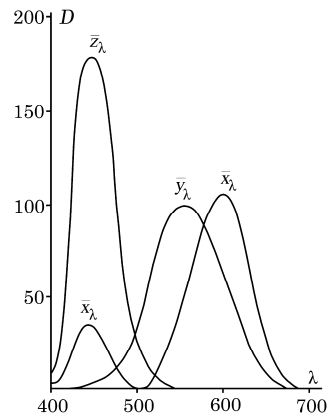


図1 CIE視角2°の視野でのヒトの目の平均的感受性(D : 分散係数; λ : 波長nm)

全ての色における各受容体タイプの刺激量は3刺激値(X 、 Y 及び Z)によって定義される。

分散係数と3刺激値(X 、 Y 及び Z)の関係は次の積分で表される。[◇]日本産業規格Z 8120の定義によると、一般に可視光の波長範囲の短波長限界は360 ~ 400 nm、長波長限界は760 ~ 830 nmにあると考えてよい。[◇]

$$X = k \int_0^{\infty} \bar{x}_\lambda S_\lambda d\lambda$$

$$Y = k \int_0^{\infty} \bar{y}_\lambda S_\lambda d\lambda$$

$$Z = k \int_0^{\infty} \bar{z}_\lambda S_\lambda d\lambda$$

$$k = 100 / \int_0^{\infty} \bar{y}_\lambda S_\lambda d\lambda$$

k : 一つの受容体タイプと使用した光源を特徴付ける基準化係数

S_λ : 光源の相対分光分布

$\bar{x}_\lambda$ 、 $\bar{y}_\lambda$ 及び $\bar{z}_\lambda$: CIE 視角2°の視野の測色標準観測者におけるカラーマッチング分散係数

ℓ_λ : 物質の分光透過率係数 T_λ

λ : 波長(nm)

実際の3刺激値の計算において、積分は次式に示すように近似的な和で求める。

$$X = k \sum_{\lambda} T_{\lambda} \bar{x}_{\lambda} S_{\lambda} \Delta \lambda$$

$$Y = k \sum_{\lambda} T_{\lambda} \bar{y}_{\lambda} S_{\lambda} \Delta \lambda$$

$$Z = k \sum_{\lambda} T_{\lambda} \bar{z}_{\lambda} S_{\lambda} \Delta \lambda$$

$$k = \frac{100}{\sum_{\lambda} S_{\lambda} \bar{y}_{\lambda} \Delta \lambda}$$

3刺激値を用いてCIEの*Lab*色空間座標： L^* (明度又は輝度)、 a^* (赤色－緑色)及び b^* (黄色－青色)を計算することができる。これらは次のように定義される。

$$L^* = 116f(Y/Y_n) - 16$$

$$a^* = 500[f(X/X_n) - f(Y/Y_n)]$$

$$b^* = 200[f(Y/Y_n) - f(Z/Z_n)]$$

ここで、

$$X/X_n > (6/29)^3 \text{ のとき } f(X/X_n) = (X/X_n)^{1/3}$$

それ以外の場合は

$$f(X/X_n) = 841/108(X/X_n) + 4/29$$

$$Y/Y_n > (6/29)^3 \text{ のとき } f(Y/Y_n) = (Y/Y_n)^{1/3}$$

それ以外の場合は

$$f(Y/Y_n) = 841/108(Y/Y_n) + 4/29$$

$$Z/Z_n > (6/29)^3 \text{ のとき } f(Z/Z_n) = (Z/Z_n)^{1/3}$$

それ以外の場合は

$$f(Z/Z_n) = 841/108(Z/Z_n) + 4/29$$

X_n 、 Y_n 及び Z_n は精製水の3刺激値である。

分光光度法において、透過率は、可視スペクトルの全範囲の異なる任意の波長で得られる。そしてそれらの値と視角2°の視野の測色標準観測者及びCIE標準光源Cの荷重係数 $\bar{x}_{\lambda}$ 、 $\bar{y}_{\lambda}$ 及び $\bar{z}_{\lambda}$ を使って3刺激値を計算する(CIEの刊行物参照)。

2. 分光光度法

装置に添付されている操作法に従い適切に分光光度計を操作し、10 nm以下の間隔で少なくとも400 nmから700 nmで透過率 T を求める。透過率は％で表わせる。3刺激値 X 、 Y 及び Z 並びに色空間座標 L^* 、 a^* 及び b^* を計算する。

3. 色調の測定

装置に添付されている操作法に従い装置の校正を行う。システムの性能試験は装置の使用状況によって各測定前又は決められた間隔ごとに行う。そのために測定範囲において適切な標準物質(装置の製造元が求める保証されたフィルター又は標準液)を用いる。

装置の操作法に従い操作し、同じ測定条件(例えば、セル長、温度など)で検液と標準液を測定する。

透過率の測定には、標準として精製水を用い、可視スペクトルの全ての波長で透過率を100.0％とする。

CIE標準光源Cの荷重係数 $\bar{x}_{\lambda}$ 、 $\bar{y}_{\lambda}$ 及び $\bar{z}_{\lambda}$ を使い、色空間座標 $L^* = 100$ 、 $a^* = 0$ 及び $b^* = 0$ に対する3刺激値を適切に計算する。

標準測定は、精製水又は新たに調製した色の比較液の色空間座標を用いて行われるか、若しくは同じ条件で測定された装置の製造元のデータベースにあるそれぞれの色空間座標を用いて行われる。

検液が濁っていたり、霞んでいたりしているときは、ろ過又は遠心分離する。ろ過又は遠心分離しない場合は、濁りや霞を結果として報告する。気泡が入らないようにし、入った場合は除去する。

色、色差又は決められた色との差に関して、機器分析法を用いて二つの溶液を比較する。検液 t と色の比較液 r の色差 ΔE^*_{tr} を次式で求める。

$$\Delta E^*_{tr} = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

ここで、 ΔL^* 、 Δa^* 及び Δb^* は色空間座標における差である。

CIE*Lab*色空間座標の代わりにCIE*LCh*色空間座標を用いることもできる。

4. $L^*a^*b^*$ 色空間内の位置の評価

測定機器から $L^*a^*b^*$ 色空間の範囲内で検液の実際の位置に関する情報が得られる。適切なアルゴリズムを用いることによって、対応する色の比較液との比較(「検液は色の比較液XYと同じ」又は「検液は色の比較液XYに近い」若しくは「検液は色の比較液XYとXZの間」など)ができる。

クロマトグラフィーのライフサイクル各ステージにおける管理戦略と変更管理の考え方 (クロマトグラフィーのライフサイクルにおける変更管理) 〈G1-5-I81〉

医薬品の分析法(分析手法)は、目的に適った試験結果を与えるよう設定されなければならない。このことは、分析法のデザインから、開発、適格性評価、そして継続的検証に至るまでの分析法ライフサイクル全体において考慮される必要がある。医薬品開発の特に製造管理及び品質管理の分野においては、品質リスクアセスメントによるライフサイクル全体にわたる系統立った品質確保の取り組みが実践されている(参考情報「品質リスクマネジメントの基本的考え方」〈G0-2-I70〉)。同様の取り組みを分析法のライフサイクル各ステージにおける管理戦略として適用する取り組みが示されている¹⁾⁴⁾。

医薬品やその構成成分、不純物の分析手法の中で各種クロマトグラフィーが汎用されている。このような中、クロマトグラフィーを用いた試験法に関する国際調和に伴い、分析条件の変更に関する手引きが示された(クロマトグラフィー総論〈2.00〉)。しかし、分析条件変更の要因やタイミングは様々であり、ライフサイクル全般における位置づけを考慮した変更管理が必要となる。そこで、本参考情報では、クロマトグラフィーのライフサイクル各ステージにおける管理戦略策定の方法論を段階ごとに概括し、分析法の変更を含む分析法の管理がより効率的に行われることを目的とする。下記に示す方法論は、新たな規制要件の追加や緩和を意図するものではなく、従来、試験室で行われてきた作業を系統的に文書化したものととらえることができる。また、公的試験検査機関での医薬品品質試験においても本文書に記載の変更管理の考え方が参考となる。

1. 試験の目的に適う試験結果を与える分析法

分析法をデザイン・開発する前に、まずは、分析法開発の目的・目標(目標プロファイル)が暫定的に設定され、開発後期にかけて最終化されていく。クロマトグラフィーを有効成分などの定量分析に用いる場合は、報告される結果が、不純物や添加剤などの存在下で、表示量を含む一定の範囲にわたり、ある真度と精度により分析対象物を定量できなければならない。また、不純物の定量試験では、報告の閾値⁹⁾から規格限度値の120%の範囲内で、試料中に存在する様々な成分の存在下で、ある真度と精度により不純物を定量できなければならない。5項で述べるように、例えば、不純物プロファイルの変化などにより、分析法を変更する、あるいは分析法自体が不要となることもあるが、この分析法の目標プロファイルはライフサイクル全般にわたり、分析性能特性が適切であるかどうかの指標となり得る¹⁾。ここで、分析性能特性とは、主として、参考情報「分析法バリデーション」〈G1-I-130〉の“分析能パラメーター”で評価される特性である。(日本薬局方に規定する試験法では、医薬品各条に示された規格値や判定基準が目標プロファイルとなり得る。)

2. クロマトグラフィー案の策定と開発

分析法の目標プロファイルが提案されると、これを基に分析法の案を策定し、分析法の確立を行う。確立の過程においては、リスクアセスメントを行うことで、分析システムを含む一連の分析操作における変動要因とそれらが報告値に与える影響の理解が深まる。特性要因図(石川ダイアグラム)などの手法により変動要因を探り、その原因を探り、排除していくことになる。その際、真度と精度だけでなく、それらに影響を与える特異性や直線性など、目標プロファイルで提案した関連する様々な分析能パラメーターの妥当性が確認される。一連の妥当性確認により、分析法の目標となるプロファイルはキーとなる分析性能特性に反映され¹⁾、同時にそれらの実験の結果から、変動要因を特定し、分析法を修正していくことが可能になる。また、実験計画法(DOE)などにより、変動要因間の関係性を明らかにすると共に、分析法が異なった状況で行われた場合に起こり得る変動の程度を調べることができる。そして、管理すべき変動要因とその許容可能な変動範囲が明確になり、分析法が最適化されていく。この分析法策定の過程で取得された適切な実験結果を、バリデーションデータに代わるものとして使用できる場合がある。

リスクアセスメントの結果から管理戦略を策定する。管理項目としては、例えば、温度、試料溶液の安定性、繰返し回数なども含まれるだろう。後述のようにシステム適合性の要件もあるだろう。

変数的な変動要因(例えば移動相pHやカラムサイズ)として管理できない、分析法に残されている変動要因の影響を評価するため、適切なチェック試験としてシステム適合性試験(System suitability test)が設定される(参考情報「システム適合性」〈G1-2-I81〉)。したがって、システム適合性試験は、以下に記す分析性能の適格性評価段階では、最小限の管理手法として考慮されるべきである。システム適合性試験は、影響され得る分析性能特性に焦点を当て、目標プロファイルの要件を満たすと考えられることが保証されるように設定される必要がある。システム適合性試験では、例えば、分離度やシンメトリ係数などが設定される。

3. 適格性評価の準備段階

変動要因の明確化、集積された知識により、分析法の管理戦略が提案され、分析能力が適格となる準備が整う。

すなわち、既に日本薬局方に規定する試験法が存在する場合は、当該試験法をベースとして、更に実際の分析を行う試験室でどの程度追加の変動要因があるか、どこまで事前の情報が得られているかをあらかじめ把握・検討する必要がある。追加の変動要因には、例えば、試料、試薬、施設、機器、更に、それらの変動に伴い生じ得る繰返しの回数が挙げられる。日本薬局方に規定する試験法を適用する際、多くの場合は試験者が当該分析法の開発の間に得られた知識や理解を有していないため、試験者はこの追加の変動要因に起因するリスクの可能性を認識し、分析性能の適格性評価などにより、上記リスクが適切に軽減されるように保証する必要がある。(独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトで公開されているカラム情報などは事前の情報として有用だろう。)

4. 分析性能の適格性評価

適格性評価の目的は、日常的に使用される試験室で分析法が目標プロファイルを常に満たすことを確認することである。適格性評価のための試験実施に当たっては、プロトコールが作成され、手順書と適切な管理に従って実行される。試験の結果、例えば、報告値のばらつきが目標プロファイルの要件を超える恐れがある場合には、当該試験室に対して管理戦略が最適化されているか検討し、変動要因を特定し、分析法の管理戦略が改善・改訂されることもある。日常的に使用される試験室で分析法開発がなされた場合、分析性能の適格性評価を省略できる場合がある。

日本薬局方に規定する試験法適用の際も、実験室や機器が異なれば、異なる管理戦略が必要になる。日本薬局方に規定する試験法を実施する試験室における適格性評価のために、医薬品各条中の規格値や判定基準の意図する目標プロファイルに合うように分析法の品質リスクマネジメントのプロセスが考慮されるべきである。

日本薬局方に規定する試験法適用時の適格性評価では、分析法を確立する際と同程度に分析能パラメーターの妥当性確認を再度行うことは必須ではないが、参考情報の「分析法バリデーション」〈G1-I-130〉にある分析能パラメーターのうち適切なものを用いて適格性を確認する必要がある。実施内容は、分析法のタイプ、関連する機器などを考慮する。さらに、試験試料に由来する要素に留意すべきである。例えば、日本薬局方に規定する試験法適用の際に、原薬及び製剤により異なる可能性のある不純物は、当該試験法の「特異性」に影響を与え得る。システム適合性試験で分離度が設定されている場合は、まずは、分離度で影響を確認し、特異性が低下している場合には、分析結果に与える影響を精査する。分析性能が低下している場合は、分析条件の検討が必要になるであろう。その他、特に製剤の添加剤が異なることにより、分析対象物質への妨害(特異性)、検出(検出限界)、添加回収率(真度)、定量値のばらつき(精度)に影響を与える可能性があるため、システム適合性試験や参考情報の「分析法バリデーション」〈G1-I-130〉にある分析能パラメーターのうち適切なものを用いて適格性評価を行う。

5. 分析法の継続的な検証

1) 日常的なモニタリング：この段階では、分析法の性能に関わるデータ、例えば、分析結果、システム適合性への適否、

規格値からのずれや特定の傾向などのデータを収集し、解析する。もし、システム適合性への不適合、規格値からのずれや特定の傾向が明らかになった場合には、その原因解明に向けて検討を行い、修正や予防対策が行われなければならない。

- 2) 分析法の変更：医薬品の製造と同様、分析法にも継続した改善活動や異なる環境での分析のために、変更を加えることもあるであろう。日本薬局方に規定する試験法を新たに適用する場合も、現在ある装置やカラムに合わせた変更が必要になる場合もあるであろう。さらに1)の日常的なモニタリングの結果、分析法の変更が必要となることも想定される。変更の程度に応じて、その変更が試験結果に及ぼす影響を評価するための作業内容や作業量は異なる。以下に想定される変更の事例を挙げる。
 - ①分析法開発時に評価した分析手法の許容可能な変動範囲内で変更する場合は、その変更の影響評価はケースバイケースで行い、変更後の分析手法が目標プロファイルを常に満たしていることを確認することが必要である(ただし、分析法開発時にこのような変動範囲について検討していない場合には当てはまらない。)。なお、個々の条件変更は許容可能な変動範囲内であっても、複数の条件を変更することにより、以下の②と同様の対応を必要とする場合もある。
 - ②分析法開発時に評価した分析手法の許容可能な変動範囲を超えて変更する場合は、リスクアセスメントを必要とするであろう。また、分析法開発時に品質リスクマネジメントにより変更許容範囲が検討されていない場合も、分析条件を変更する場合は、リスクアセスメントが必要となる。リスクアセスメントは、どの分析性能特性(分析能パラメーター)が変更により影響を受ける可能性があるかを考慮する。そして、変更により、分析性能が目標プロファイルを外れないことを確認するために適格性評価を行う(4.を参照)。具体的には、参考情報「分析法バリデーション」(G1-I-130)の分析能パラメーターのうち変更の影響を受ける可能性がある分析能パラメーターを用いて検証する。変更の影響を受ける可能性がある分析能パラメーターが、システム適合性試験の1項目として設定されている場合は、当該分析能パラメーターについてシステム適合性試験を用いて検証できる場合もある。さらにクロマトグラフィーにおけるカラムサイズや移動相組成などの変更においては、クロマトグラフィー総論(2.00)の「クロマトグラフィー条件の調整」を参考にし、変更の際に適切に分析性能の検証を行う。
 - ③試験室を変更する、あるいは日本薬局方に規定する試験法を新たに適用する場合は、分析装置、試験者、試薬などの変化に伴い分析性能特性が影響を受ける可能性があるため、リスクアセスメントを行い、適切な適格性評価を行う(3., 4.を参照)。一方、同じ試験室において分析装置やカラムの更新、試験者の交替などを行う場合には、変更した分析システムにより、少なくともシステム適合性の試験を行って、変更前後で同等の結果が得られることを確認する。
 - ④新しい分析法や技術へ変更する場合には、新しい手法が目標プロファイルに合致するか示すために、新しい分析法の開発時に適格性評価を行う必要がある(2., 3., 4.を参照)。
 - ⑤目標プロファイルに影響するような変更(例えば、規格値の変更、元の目標プロファイルで考慮していなかった不純

物などの新たな分析物量を測定するための手法への変更)の必要が出てきた場合は、目標プロファイルを更新し、分析法が新しい目標プロファイルの要求を満たすかどうか評価するために、現在の分析法と適格性評価の見直しが必要になるであろう(1., 2., 3., 4.を参照)。

分析法の変更が目的に合う試験結果を与えるかどうかを確認するための作業の程度は、①変更に伴うリスク、②当該分析法について得られている知識、③管理戦略、に依存する。どのような変更をしたとしても、程度の差はあれリスクアセスメントを行い、これにより変更された分析法が試験法の目的に合う(つまり、目標プロファイルで規定された範囲の)結果を与えることを確認する。

6. 参考資料

- 1) G.P. Martin, et al., Pharmacopeial Forum 39 (5), (2013).
- 2) Proposed New USP General Chapter: The Analytical Procedure life cycle<1220>, Pharmacopeial Forum 43 (1), (2017).
- 3) K.L. Barnett, et al., Pharmacopeial Forum 42 (5), (2016).
- 4) E. Kovacs, et al., Pharmacopeial Forum 42 (5), (2016).
- 5) ICH: Guideline for Q3A(R2), Impurities in New Drug Substances.

原子間力顕微鏡によるナノ粒子のサイズ及び形態解析法 (G1-9-182)

原子間力顕微鏡法(AFM: Atomic Force Microscopy)は、カンチレバーに装着されたナノメートルオーダーの曲率半径を持つ微小な探針(図1)と試料表面の原子間に働く力を検出することでナノ粒子の画像を取得し、そのサイズや形態、表面形状を解析する分析手法である。大気中及び液中で実施することが可能である。また、ナノ粒子の剛性などの力学的特性を測定することも可能である。AFMはナノテクノロジーを応用した医薬品の特性解析に利用されている。

1. 装置及び動作原理

1.1. AFM装置

AFMは、半導体レーザー、AFMヘッド(カンチレバーが装着される機器の構成部分)、探針の付いたカンチレバー、試料ステージ、分割フォトダイオード受光部などから構成され、カンチレバーに照射するレーザーのアラインメントを適切に実施できるよう、光学顕微鏡及び荷電結合素子(Charge Coupled Device: CCD)カメラを搭載したものをを用いる(図1)。このAFMシステムは除振台に設置し、測定に影響を及ぼす振動を防止する。

1.2. AFM動作原理

AFMの動作原理の一般的な概要は以下のとおりである(図1)。

- 1) 半導体レーザーがカンチレバーの背面に照射され、反射されたレーザー光は分割フォトダイオード受光部に常にモニターされている。
- 2) カンチレバーが試料の表面近傍に近づくと、表面間力(引力又は斥力)により生じる曲げモーメントに応じてカンチレバーがたわむ。このたわみは分割フォトダイオード受光部におけるレーザー検出位置の上下変位として計測される。

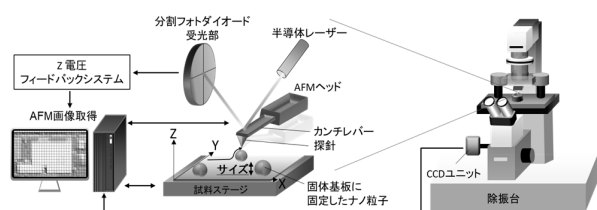


図1 代表的な原子間力顕微鏡システムと画像取得用PCの概略図¹⁾

- 3) カンチレバーのたわみが一定となるように、試料ステージ又はAFMヘッドに付随しているピエゾ駆動装置によってカンチレバー-試料表面間の z 軸方向での距離を制御しながら、試料の x, y 方向に対してカンチレバーが走査される。

以上の1)～3)の動作原理に基づき、ピクセルごとに高さ情報が保存されたAFM画像が得られる。実際の画像取得では、測定対象のナノ粒子は平らな固体基板上に固定されており、粒子の高さは基板表面から測定された値になる。ナノ粒子のサイズ測定において、対象粒子が球状であると仮定すると、AFMで測定される高さは、粒子の直径に相当することになる。さらに校正用標準試料を利用することにより、AFM画像における z 軸方向の高さ情報は高い真度と精度を有する。一方、AFM画像の側方次元(x, y)情報は、校正の困難さや探針の形状による影響を考慮する必要がある。

1.3. その他の装置

防音ボックス：外部音による振動の影響を避けるために、原子間力顕微鏡システムを収容する防音ボックスを利用する場合がある。

UV照射洗浄装置：カンチレバーを洗浄する場合に利用できる。

温度制御装置：温度を一定に保つ必要がある試料測定に利用できる。

2. 測定

AFMによるナノ粒子のサイズ測定は、一般に以下の手順で実施される。

2.1. 測定試料の調製

測定対象のナノ粒子を適当な溶媒に適切な濃度となるように分散させた試料を調製する。溶媒・濃度はナノ粒子が安定に分散状態を保持するよう設定する。

2.2. ナノ粒子を固定するための基板の準備

AFMにより画像を取得する上で、観察対象試料の固体基板への固定は必須である。観察対象試料の物理的・化学的特性により適切な基板を選択することは、観測粒子数や形態など、最適な条件を検討する際の重要な要素である。

高さ測定において安定したベースラインを確保するために、基板の表面粗さは測定対象の粒子に比較して十分に平らでなければならない。測定対象の粒子サイズの5%以下の表面粗さ(表面の凹凸について、中心線からの偏差の絶対値平均である算術平均粗さ)であることが望ましい。また、ナノ粒子を容易に固定するために基板表面の物性が比較的均一であることが重要である。

一般に、安定に分散しているナノ粒子の表面は正又は負に帯電しており、それら粒子の固体基板への固定は、静電的相互作用

によることが多い。例えば、負荷電のポリスチレン標準ナノ粒子は、正に帯電した固体基板表面へ容易に固定できる。粒子と基板間の表面間力がファンデルワールス相互作用や疎水性相互作用に依存する、固定する対象粒子が柔らかく基板との相互作用により変形・崩壊が生じるなど、特に相互作用が複雑になる場合には、固体基板の選択に多くの検討が必要になる。代表的な基板として、市販されているAFM測定用の高品質マイカ(muscovite mica)、金(111)蒸着マイカ、単結晶性シリコンなどが挙げられる。これらの基板は原子レベルで平坦であり、基板表面の荷電状態を制御するための表面処理が可能である。例えば、負に帯電したナノ粒子を固定する場合には、0.3 vol%の3-アミノプロピルトリエトキシシラン(3-aminopropyltriethoxysilane, APTES)水溶液で正に帯電するように表面処理を行うことが可能である。その他、表面粗さが約5 nm以下の比較的平坦なカバーガラスが市販されており、測定対象の粒子サイズが約100 nm以上の場合には基板として用いることができる。使用する基板の表面粗さを把握するために、あらかじめAFMにより画像を取得しておくことが望ましい。

2.3. ナノ粒子の固体基板への固定

適切な基板にナノ粒子の液体試料を滴下し、粒子が基板に固定されるのに十分な時間、インキュベーションを行う。空气中で画像の取得を行う場合には、インキュベーション後に基板を超純水でリンスして塩などの余分な成分を除き乾燥させる。

2.4. AFM画像の取得

2.4.1. 測定モードの選択

ナノ粒子は、静電的相互作用やファンデルワールス相互作用などの弱い分子間相互作用により基板に固定されている。そのため、AFMの測定モードによって側方次元にかかる力を最小限に抑えることが重要である。この要件に適した測定モードの一つに、インターミitttentコンタクトモード(ダイナミックモード、タッピングモード、ダイナミックフォースモード、振幅変調モードとも呼ばれる)が挙げられ、市販されているほとんどのAFMで利用可能である。一方、近年、カンチレバーを加振しない非共振の測定モード(フォースカーブマッピング)が、特に柔らかい試料の観察や力学的特性(硬さなど)の測定に用いられることもある。

インターミitttentコンタクトモードでは、カンチレバーホルダーに取り付けられた小さなピエゾ素子によってカンチレバーを共振周波数付近の振動数で上下に振動させる。振動振幅は、探針-試料間距離に極めて敏感であり、探針が試料表面に接触すると、カンチレバーの運動エネルギーは試料側に散逸し、急激に振動振幅が小さくなる。この振動振幅が一定になるように探針-試料間距離をフィードバック制御しながら絶えず上下振動させて試料中の粒子表面を走査するために、側方次元にかかる力がほとんど生じないという利点がある。そのため、動きやすい試料、凹凸のある試料、柔らかな試料、表面への吸着がある試料などにも有効な測定モードである。ナノ粒子のサイズ測定は、空气中及び液中のいずれの環境でもインターミitttentコンタクトモードによって可能である。以降は、インターミitttentコンタクトモードによる画像取得方法を述べる。

2.4.2. カンチレバーの選択

カンチレバー及びその先端に取り付けられている探針の特性及び形状は、AFMの感度と解像度を決定する重要な因子であ

る。留意すべき点を以下に挙げる。

AFMで得られる画像には、探針形状と試料粒子形状の両者に由来する要因が含まれる。つまり、探針の形状は高さ測定に影響を与えないが、 x 、 y 方向での形状表示に影響を与えるため、ナノ粒子の x 、 y 方向でのサイズ情報の扱いには注意が必要であり、探針形状によるアーチファクトを最小化するために、10 nm以下の先端半径をもった探針の使用が推奨される。

安定したカンチレバーの励起振動は、インターミッテントコンタクトモードによる試料表面の画像化に重要な要素であり、探針－試料粒子間の付着力(例えば、毛管力、ファンデルワールス力、静電力)を克服することができる大きな剛性(高いバネ定数)をもつカンチレバーの使用が望ましい。一方で、カンチレバーの接触による力で粒子が変形する可能性があるため、測定対象粒子の剛性に比較して小さい剛性(低いバネ定数)のカンチレバーを用いることが望ましい。共振周波数の高いカンチレバーを使用すると、走査の感度が良くなり測定時間を短縮できるが、通常その剛性(バネ定数)は大きいために測定対象粒子へのダメージに留意が必要である。また、大気中観察及び液中観察で、カンチレバー剛性の使い分けが必要なことがある。これらの点を考慮して、カンチレバーの選択を行い、必要に応じてカンチレバーの最適化を行う。

2.4.3. AFM画像の取得

調製した試料をAFMの試料ステージにセットし、AFM画像を取得する。AFM画像は x 、 y 平面座標と垂直 z 座標の情報を持つ。画像の取得及び解析の際には、 x 、 y 平面のデータポイント数、すなわちピクセル数を考慮する必要がある。例えば、一辺200ピクセルの10 μm $\times$ 10 μm 画像を得た場合、1ピクセル当たりのサイズは50 nm $\times$ 50 nmとなる。この設定条件では、50 nm以下の粒子を識別することができない。したがって、測定対象の物質のサイズを考慮してスキャンサイズを設定する。測定の際、一般的には1粒子当たり10ピクセル以上となるようにスキャンサイズを設定することが望ましい。AFMによる粒子の平均サイズと粒度分布の解析では、代表的な粒子を無作為に抽出していることを保証することが重要になる。一般的に、少なくとも100個程度のナノ粒子のサイズを測定することや、また、単一の視野での測定の作為性を避けるために、視野を変えて画像を取得することが推奨される。画像取得中に画像の質が突然悪くなった場合には、カンチレバーが汚染されたり磨耗したりしていることが原因であることが多いので、カンチレバーを洗浄又は交換することを検討する。

ナノ粒子を固定していない基板を用意し、同じ条件でAFM画像の取得を行う。これにより、測定対象とするナノ粒子と誤って判断してしまう可能性のあるアーチファクト又は異物が、計測作業や基板そのものから混入していないことを保証することができる。

3. 画像解析とナノ粒子のサイズ(高さ)計測

取得したAFM画像は、AFM機器メーカーにより提供されているソフトウェアを用いて、試料の設置や装置の熱ドリフトなどに由来する画像上の高さの傾きを補正した後、解析を行う(他の開発者によるAFM画像解析ソフトウェアも利用可能である)。ナノ粒子のサイズ測定において、必須となるデータ解析の操作について述べる。

3.1. 断面形状解析によるサイズ測定

ソフトウェアの断面形状解析ツールを用いると、画像中の任

意の部分に引いた線に沿った垂直方向の断面形状プロファイルを取得することができ、水平・垂直方向の距離の測定が可能である。断面形状プロファイルを取得すれば、ナノ粒子の高さだけでなく、ナノ粒子の凝集性も知ることができる。また、ナノ粒子周辺の基板部分における傾き補正の適切性に関する情報を得ることができる。画像中の各ナノ粒子について断面形状解析を行い、粒子の高さを測定する。高さ測定の基準点は、全データの最下点を基準に取る方法、走査方向に対して粒子形状の立ち上がりの際を基準点とする方法、測定者が任意に基準を設定する方法などがある。いずれを採用する場合でも同じ条件で一連の測定を行う。試料調製に伴うアーチファクトの影響を避けるために、明らかな異物粒子や粒子同士を区別できない大きな凝集物は粒子サイズの平均値を算出する際に除外する。

3.2. 自動粒子解析によるサイズ測定

ソフトウェアを用いて粒子を自動で認識し、粒子サイズ測定を一括して短時間で行うことが可能である。粒子の認識は、ユーザーが設定する高さの閾値に基づき行われる。すなわち、設定値以上の高さを持つ粒子は解析に含まれ、設定値以下の高さの粒子は解析から除外される。また、明らかな異物の粒子や粒子同士を区別できない大きな凝集物はソフトウェア上で選択し解析対象から除外できる。以上の操作後、基板の高さを基準とした個々の粒子における最大高さが自動的に測定される。自動粒子解析を行う際には、解析対象となる画像の傾き補正が適切に行われた状態でなければ、結果に人為的な影響が出てしまうので注意する。自動粒子解析を行う際、結果が正しく出力されているかを断面形状解析による結果と照らし合わせて妥当性を確認しておくようにする。自動解析ソフトによるナノ粒子の平均高さは、断面形状解析による平均高さよりも大きくなる傾向にある。なお、ソフトウェアには、画像中における粒子個々の占有面積から粒子サイズを解析するものもある。この場合、粒子サイズは面積相当直径として解析される。

3.3. 真球以外の形状を有するナノ粒子の解析

粒子サイズを評価するにあたり、粒子が基板に固定されたときに変形が起きる場合や、対象となる粒子の形状が球形でない場合には、高さとは別に、粒子解析ソフトを利用しながら他のパラメーターの追加解析を検討することも重要であろう。例えば、粒子が基板に固定されたときに変形が起きる場合には、基板への固定前後で体積が一定であると仮定し、体積相当直径がサイズ評価パラメーターとして利用できるであろう(図2A)。加えて、面積相当直径や、高さ/面積相当直径比によって対象粒子の変形した形状についての情報を得ることもできる(図2A)。また、対象粒子が楕円形状である場合には、粒子が楕円に相当すると仮定した場合の長径及び短径を測定することが可能であり、更に短径/長径比を用いることで粒子の扁平率から形状について評価することもできる(図2B)。側方(x 、 y)次元の情報が入り込む粒子が球形でない場合の解析においては、カンチレバーの先端曲率の影響を大きく受けるため、校正用格子を用いたカンチレバー先端形状の評価などを行い、十分注意する。

3.4. サイズデータの報告

測定されたナノ粒子のサイズ(高さ)分布と、その平均値及び標準偏差を報告する。測定に関わる因子はナノ粒子のサイズ測定結果に影響を与えるため、ナノ粒子の固定化方法、カンチレバー、測定モード、測定環境が空気中か液中か、測定したナノ粒子の個数及びサイズの解析方法に関する情報を記載すべきで

ある。

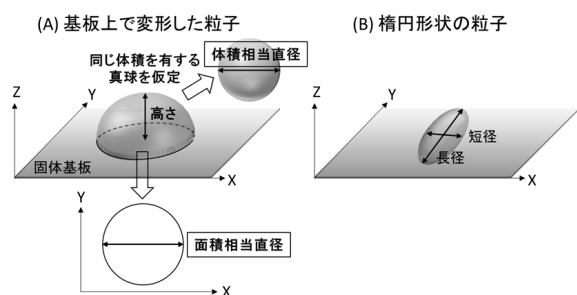


図2 基板上で変形した粒子(A)及び(B)における形状評価¹⁾

4. AFMの性能確認

AFMでは、カンチレバーの z 位置を、ピエゾ素子の伸縮によって距離制御している。その伸縮は印加した電圧に対して非線形性やヒステリシスなどの性質を有している。従来のAFMでは、ピエゾ素子に印加した電圧から高さ z を求めている。しかし、上記の性質のために、高さが保証された実際の試料を測って検量線などを作成し「高さ補正」をする必要がある。例えば、測定するナノ粒子の高さに近いステップ高さの校正用格子を選択し、鋭い探針を使って少なくとも三つの異なる場所で測定したステップ高さの平均値を、校正用格子で保証されている高さの値と比較する。

測定された平均値が保証された値と大きく異なる場合、製造業者などによるピエゾ駆動装置の z 変位の再校正について検討する必要がある。

一方、近年のAFMでピエゾ素子に測長センサーを付随させた装置では、ピエゾ素子がどれだけ伸縮したかを精密に測ることができるため、高さ z は常に測定されている。つまり、常に高さ補正・変位補正を続けている制御方法を有する装置も存在する。

参考資料

- 1) 加藤くみ子ら、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス、50, 634-640 (2019)。
- 2) ASTM E2859-11 : 2017, Standard Guide for Size Measurement of Nanoparticles using Atomic Force microscopy.

日本薬局方における秤量の考え方〈G1-6-182〉

日本薬局方一般試験法「計量器・用器〈9.62〉」のはかり(天秤)及び分銅の項において、日本薬局方におけるはかり(天秤)及び分銅は、国際単位系(SI)へのトレーサビリティが確保された校正を実施しておくことが要求されている。

計量計測におけるトレーサビリティとは、「個々の校正が、測定不確かさに寄与する、文書化された切れ目のない校正の連鎖を通して、測定結果を計量参照に関連付けることができる測定結果の性質」¹⁾と定義されている。計量計測トレーサビリティの源として最も上位のものは、メートル(長さ)、キログラム(質量)、秒(時間)、アンペア(電流)、ケルビン(熱力学的温度)、カンデラ(光度)、モル(物質質量)の国際単位系(SI)基本単位であ

るが、はかり(天秤)の場合、質量に関してトレーサビリティが保証される校正が実施されていることが基本となる。トレーサビリティの要素には、a)切れ目のない比較の連鎖、b)測定不確かさ、c)文書化、d)技術能力、e)国際単位系(SI)への参照、f)校正があるが、本項では、このf)を要求している。また、日本薬局方で使用されるはかり(天秤)には、繰返し性(併行精度)の要件、正確さ(真度)の要件とともに、国際単位系(SI)へのトレーサビリティが確保された校正の実施が規定されており、これらを満たすことで、秤量結果が、国際単位系(SI)トレーサブルな結果になり得る。

一方、日本薬局方における計量では、常に国際単位系(SI)トレーサブルな結果を求めているわけではない。これは、日本薬局方に使用する標準品、標準物質のほとんどが、国際単位系(SI)トレーサブルでないマスバランス法による計量により値付けされていることから明らかである。日本薬局方における分析は、決められた規則に従って実行し、規格(値)を満たすかどうか判断するために実施するものである。

すなわち、医薬品各条での定量規格が99.0%以上とされているれば、医薬品各条に定められた定量法に従って分析するとき、有効数字を考慮して、その分析値が98.95%以上であれば、日本薬局方に適合となることから、有効数字4桁目まで正確に秤量可能であることが重要となる。通常、10 μg の桁まで表示されるセミマイクロ化学はかり(セミマイクロ化学天秤)では、上記の規則に従って校正されていたとしても、読取限度桁では、130%以上の誤差($\pm 13 \mu\text{g}$ 以上の誤差)があることが知られている²⁾。したがって、そのセミマイクロ化学はかり(セミマイクロ化学天秤)が、例えば定量法の実施時に、試料や標準品などを約0.1 g秤量する際、風袋も合わせて50.65432 gと表示したとすると、100 μg の桁である3は、ほぼ正確であると考えられることから、十分に定量法に使用する試料や標準品などの秤量に使用可能となる。日本薬局方における多くの定量法では、必要とする有効数字は最大4桁であるが、例えば0.10%の水分含量や4.0%の乾燥減量であれば、算出に必要な有効数字は3桁、0.1%の強熱残分であれば2桁となる。そのため、分析を実施する際に使用するはかり(天秤)は、これらの有効数字を満たすものを使用することが必要となる。言い換えれば、日本薬局方においては、目的に応じた考え方(fit for purpose)に沿って計量を実施することが重要となる。したがって、確認試験や純度試験としての呈色反応に使用する0.2 gの医薬品を秤量する際には、使用するはかり(天秤)の有効数字は2桁あれば十分である。一方で、ウルトラマイクロ化学はかり(ウルトラマイクロ化学天秤)を使用して定量NMRで純度規定を行う試薬について5 mg程度秤量する場合、風袋も合わせて例えば25.2345 mgと表示したとすると、1 μg の桁である4は、ほぼ正確であると考えられる。純度の算出に使用する有効数字は3桁であることから、風袋の重さが20 mg程度であったとしても、試薬の秤量値としては4桁目がほぼ正確となり、十分使用可能となる。また、もし、マイクロ化学はかり(マイクロ化学天秤)しか保有していない場合でも、試薬を10 mg以上秤量すれば、有効数字4桁目までほぼ正確であると考えられる。

他方、秤量する際には、どのような誤差が生じているかの理解が重要となる。適切に校正されたはかり(天秤)では、秤量時の誤差を生じる要因として、感度変化、繰返し性、直線性、偏置などがある。感度変化は、その場所に加わる重力加速度の変

化や温度ドリフトなどにより生じる。はかり(天秤)を移設した場合には、その場所に加わる重力加速度が異なるため、感度調整が必要な場合がある。特に、電子式はかり(天秤)は、電磁力と自由落下の加速度(重力)との釣り合いで補正され、質量が表示されるため、移設する前の場所で感度調整されたはかり(天秤)は、移設先の環境が違っても、実際とは異なった質量を表示する。また、環境の変化によっても表示値は変化するため、はかり(天秤)の内部分銅や、外部分銅を用いて感度調整を行う必要がある。

繰返し性は、同一試料をはかり(天秤)の計量皿へ複数回はかり取った際の表示値のまとまり度合いで、10 µg以下の桁まで読み取れる高い表示分解能を有するはかり(天秤)の性能評価に必須な特性である。

日本薬局方一般試験法「計量器・用器 (9.62)」のはかり(天秤)及び分銅の項に示された繰返し性(併行精度)の要件により得られる結果から、そのはかり(天秤)のそのときの最小計量値が推定される。国際単位系(SI)トレーサブルな秤量とするためには、そのはかり(天秤)において、最小計量値より大きな質量のはかり取りを行うことが目安となる。

最小計量値は、そのはかり(天秤)の設置環境(設置場所の振動の有無など)、秤量時の温度変化などの影響を受けるため、定期的に最小計量値を記録しておくことは、正確な秤量にとって重要となる。なお、最小計量値とは、風袋を含めない、はかり(天秤)の精確さを確保するための秤量の下限を示す推定値であり、繰返し性(併行精度)の要件によって得られた標準偏差を用いて、最小はかり取り量の精密さを確保するために繰返し性(併行精度)が0.10%以下であることを要求している。すなわち、国際単位系(SI)トレーサブルな秤量を行う場合、最小計量値以上のはかり取りを行う必要がある。はかり(天秤)における繰返し性(併行精度)に影響を与える可能性のある要因は次のとおりである。

- 1) 最小計量値は、はかり(天秤)の性能であり、この値は環境の変化や時間の経過とともに変化する可能性がある。
- 2) 測定者が異なれば、はかり取りの方法も異なる場合がある。つまり、測定者ごとに決定される最小計量値が異なる場合がある。
- 3) 有限回数の繰返しの標準偏差は、真の標準偏差の推定値であり、現実には特定できないことに留意する。
- 4) 最小計量値の決定は、既定の試験法に完全には合致しない場合がある。
- 5) 使用する風袋容器が環境によって質量に影響を与える場合には、最小計量値に影響を与える可能性がある。

これらの要因から、多くの場合、最小計量値よりも大きな値ではかり取りを行う必要がある。つまり、はかり(天秤)を使用した現実的な最小はかり取り量は、最小計量値よりもある程度大きく設定すべきである。

直線性誤差は、ゼロ点から最大秤量点までをほぼ等しく分割した各点における理想直線からの偏りの程度である。感度誤差は、直線性誤差も考慮したゼロ点からの直線の傾きの度合いであり、一般にゼロ点から最大秤量点に近づくほど誤差は相対的に大きくなり、環境変化に連動して顕著である。したがって、正確さ(真度)の要件では、許容される感度誤差を確認するため、はかり取りを行う範囲の上限付近、あるいははかり(天秤)の最大秤量値を若干下回る程度の質量の分銅を

用いる。偏置誤差は、はかり(天秤)の中心から、離れた場所にはかりを加えた際の表示値の変化の程度であり、試料や採取容器が特殊な形状でなければ、配慮する必要性は低い。通常の環境における正確さ(真度)の評価には、感度、直線性及び偏置の三つの誤差が含まれるが、誤差の伝播則(二乗和の平方根)により合否基準0.10%は、次の式²⁾を満たすことになる。

$$0.10\% \approx$$

$$\sqrt{\text{感度誤差}0.05\%^2 + \text{直線性誤差}0.05\%^2 + \text{偏置誤差}0.05\%^2}$$

したがって、正確さ(真度)の要件では、1回の分銅ののせ降ろしにより得られたはかり(天秤)の表示値と分銅の質量値の差として0.05%以下を要求している。言い換えれば、感度誤差に0.05%、直線性誤差に0.05%を配分しているといえる。

上記の誤差を考慮すると、はかり(天秤)の点検としては、少なくとも、はかり(天秤)の最大秤量値の5%付近に対する精密さと、最大秤量値付近(又は使用範囲の最大値付近)に対する正確さ(真度)を確認する目的で、繰返し性(併行精度)の要件と、感度誤差(正確さ(真度))の要件を実施することが求められる。なお、繰返し性(併行精度)の確認には、質量変化のない分銅を使用し、正確さ(真度)の確認には国際単位系(SI)トレーサブルな校正証明書付きの分銅を使用する。正確さ(真度)の要件を満たさない場合には、そのはかり(天秤)について不確かさ³⁾の値が得られるトレーサビリティが確保された校正を行う必要性が生じる。

参考資料

- 1) ISO/IEC Guide 99: 2007, 国際計量計測用語－基本及び一般概念並びに関連用語(VIM).
- 2) Reichmuth, A and Fritsch, K, Pharmaceutical Engineering 29(6), 46-58 (2009).
- 3) ISO/IEC Guide 98-3: 2008, 測定の不確かさ－第3部:測定における不確かさの表現の手引(GUM:1995).

はかり(天秤)の校正、点検と分銅 (G1-7-182)

使用するはかり(天秤)が要求される性能を満たすことを評価するための定期的な(機器導入据付時を含む)校正では、国際単位系(SI)へのトレーサビリティを確保することを目的として、質量の標準として使用する分銅と測定機器として用いるはかり(天秤)について、不確かさが付随した校正結果の取得が必要となる。校正結果の妥当性の確保のためには、校正が国際的技術ガイドライン(ISO/IEC 17025など)に準じて行われていることが必要で、それに伴い適正に文書化された校正証明書を取得することまでが推奨される。

分銅は日本産業規格(JIS B 7609)¹⁾に準拠して、はかり(天秤)の要求を満たす公称値や精度等級を有するものを選択する。合否判定基準によっては、点検用分銅の公称値のみを使用すれば十分な場合があるが、点検用分銅の公称値のみを使用する場合、分銅の表示量と精度等級で決定される最大許容誤差がはかり(天秤)の正確さ(真度)の合否判定基準の3分の1を超えてはならない。又は点検用分銅の協定質量値(温度20℃における分銅の密度を8000 kg/m³、空気密度を1.2 kg/m³とみなした場合の質量値)を考慮する場合、その校正の拡張不確かさは合否判定

基準の3分の1を超えてはならない。点検に複数の分銅を使用する場合、分銅の校正の不確かさを総和する必要があり、その合計が合否判定基準の3分の1を超えてはならない。なお、偏置や繰返し性の点検では、校正された分銅の使用は任意であるが、点検中に分銅の質量が変化しないことを確実にすること。

外部分銅を使用した点検は、はかり(天秤)が要求仕様を満たしていることを確実にする。はかり(天秤)の点検は個々の標準操作手順に基づいて行われ、点検の頻度及び間隔は、試験法や秤量に伴うリスクによって異なる。内部分銅を使用した自動又は手動で操作される感度誤差の調整は、外部分銅を使用した点検を部分的に置き換えることができる。

以下の表にはかり(天秤)に関して、機器特性ごとの確認事項、求め方及び合否判定基準を示す。

特性	確認事項	求め方	合否判定基準
感度誤差	分銅の質量値と表示値の偏差	最大秤量値付近の分銅の質量値と表示値の差を分銅の質量値で除した値	0.05%以下
直線性誤差	仕様範囲全体における質量値と表示値の偏差	仕様範囲(ゼロ点から最大秤量点)の3 ～ 6点に分割された各点の分銅の質量値と表示値の偏差の最大値	0.05%以下
偏置誤差	計量皿の中心から偏心した位置で秤量した際の質量値と表示値の偏差	中心へ分銅を置いた際の表示値と計量皿の四方へ分銅を置いた際の分銅の表示値の偏差の最大値。その際、分銅は最大秤量値の30%以上の質量値であること。	0.05%以下
繰返し性	同じ条件(手順、測定者、場所など)及び短時間で同一試料を繰返しはかり取った際の、表示値のまとまり度合い	100 mg以上で、最大秤量値の5%程度の質量値である分銅を10回以上のせ降ろすことにより得られた表示値の標準偏差から計算する。	0.10%以下

なお、取引証明に使用するはかり(天秤)のうち特定計量器の検定及び検査に使用する基準銅は、基準銅の検査において、校正結果の値付け及び不確かさを含めた結果の評価を実施していない点で、国際単位系(SI)トレーサブルな銅ではなく、局方で使用するはかり(天秤)の正確さ(真度)の確認には使用できない。

參考資料

- 1) 國際勸告 OIML R111-1:2004; 日本規格協會, JIS B 7609:2008, 分銅

はかり(天秤)の設置環境, 基本的な取扱い方
法と秤量時の留意点 〈GI-8-182〉

はかり取る質量は通常、最小計量値より大きい質量を目安とし、はかり取りを行う前に、秤量に使用する器具類の準備及び整理整頓(清掃)を行い、はかり(天秤)の感度調整を行う。以下に、はかり(天秤)の設置環境、基本的な取扱い方法及び秤量時の留意点を記す。

1. はかり(天秤)の設置環境

はかり(天秤)は広すぎない部屋で、振動源、通風箇所、室内電灯の放射熱及び直射日光を受ける壁面を避けた、常時、周囲の環境が変化しない場所に設置することが望ましい。また、振

動の影響が小さいとされる部屋の隅又は大きな柱の傍で使用する事が理想的であり、はかり(天秤)が据付けされる計量台(除振台、防振台など)はそれ自身に十分な質量があり、計量台・重量物などの負荷を加えても上下のひずみがなく堅ろうで、磁性及び帯電性に配慮されていることが望ましい。特に、読取り限度桁が0.1 mg以下のはかり(天秤)は、ヒトの感覚では感じる事ができない微振動の試料自身への伝搬や、微振動にはかり(天秤)の計量センサーが反応することで、表示値に不安定性を起こすため、設置又は移設する際には注意を払うことが必要となる。保安全管理の面においても、はかり(天秤)の機器部品の劣化を避けるため、結露の要因となる急激な温度変化がない環境が必要となる。また、電子機器であるはかり(天秤)の設置環境は温度5 ~ 40℃、かつ相対湿度20 ~ 80%、静電気などの影響を考慮する場合は相対湿度45%以上が望ましい。

2. はかり(天秤)の使用前の動作確認

はかり(天秤)を使用する前には、次に示す事項について確認を行う。

2.1. 予熱待機時間の確保

電源供給後、検出器の内部温度を安定化させるために予熱待機時間を確保する。予熱待機時間は、読取り限度桁が10 mg以上の場合は30分間以上、1 mgの場合は1時間以上、0.1 mgの場合は2時間以上、0.01 mg以下の場合は半日以上を確保することが望ましい。

2.2. 据付状態の確認

はかり(天秤)に装備されている水平器の気泡が中心位置にあるなど、水平器にて水平であることを確認する。水平調整の際には、はかり(天秤)が不安定でないかの確認及び計量台と接しているはかり(天秤)の足と設置面に隙間がないか目視確認することが望ましい。

2.3. 感度調整の実施

感度調整機能を備えた(調整用内部分銅が装備された)はかり(天秤)の場合、表示器のゼロ点及び最大秤量値付近について周辺温度の状態に応じて適切な感度調整を行うことが可能である。分解能が高いほど感度変化の影響は大きくなり、感度変化による測定誤差は、一般的にゼロ点から秤量する質量付近まで相対的に大きくなる。感度調整機能を備えていない機器については、最大秤量値付近の分銅を用いて、感度調整を手動で実施することが望ましい。

3. 清掃

目的物以外のはかり取りを避けるため、清掃を定期的に行う。はかり(天秤)の構造を理解し、簡易的に分解して清掃が可能な場合は、ガラススクリーナー、毛羽立ちのない布などを用いて各部をこまめに清掃し、計量皿及び計量室内は清浄な状態を保つ。

4. 計量結果に影響する外的要因の排除

計量結果に影響を及ぼす外的要因は、可能な限り排除する。吸湿、吸着、揮発又は蒸発しやすい試料の場合は、秤量値に偏りが生じないように試料の特性に応じた対策をとる必要がある。例えば、吸湿性のある試料を秤量する場合には、はかり(天秤)を恒温恒湿ボックス内に設置し、事前に試料を一定の温湿度条件になじませた後に秤量すると、再現性の良い秤量が可能となる。試料そのものの性質以外に計量結果に影響を与える外的要因について以下に記す。

4.1. 計量皿周辺と試料(採取容器を含む)間の温度差

試料の冷蔵保管, 異なる温度の室外からの持ち込み, 熱処理,

体温による熱伝導などによって、計量皿周辺と試料間に温度差が生じる。試料及び採取容器が計量室内の温度よりも高い場合は、計量皿付近に上向きの微量な風(対流)が発生し、その現象が試料及び採取容器を押し上げる力となり表示値の減少又は不安定性を生じさせる。温度関係が逆の場合は、相対して逆の傾向が表れる。これらの現象は計量皿周辺に起こる物理的現象であるため、はかり(天秤)に風防が備えられていたとしても避けられない。したがって、はかり(天秤)の計量室内と試料、採取容器の温度が、可能な限り同等な条件ではかり取りを行う。

4.2. 空調などによる風

空調機から吹き出す風、計量室への人の出入り、及び測定者のはかり取り操作に伴って生じる空気の流れが計量皿に当たると、表示値が不安定になる。このような風の影響を抑えるには、風防を設けて、風が計量皿に直接当たらないようにする。あるいは、風が当たらないような場所に移設する。風が直接的にはかり(天秤)に吹き当たるような状態で開閉ドアを備えているはかり(天秤)を使用する際は、必要以上に開閉ドアを大きく開けないことが重要である。

4.3. 静電気

摩擦によって帯電しやすい粉体などの試料及び採取容器を用いる場合、又は計量室内が相対湿度40%以下の低湿度状態である場合では、はかり(天秤)との電荷の力の作用によって表示値が上方又は下方に変動するため計量結果に影響を与える。このような静電気への対策として、計量室の湿度を45%以上に保つ、蓄積された静電気の消散を待つ、採取容器を帯電防止加工に変更するなどが挙げられる。これらの対策が取れない場合には、イオナイザーなどの帯電した電荷を中和させる、又は消散を促進する器具を用いて可能な限り除電を行った後に、測定を行うことを推奨する。ただし、除電の際、表示値の不安定性を起こす風を計量皿に直接吹きかけるような器具の使用は避ける。

G2. 物性関連

固体又は粉体の密度〈G2-I-190〉

集合体としての固体又は粉体の密度は、粒子間及び粒子内部に存在する微細な空隙部分の体積の評価方法により、異なる定義がなされ、それぞれ異なる数値が与えられ、かつ実用上の意味も異なる。通常、固体又は粉体の密度は三つのレベルで定義される。

- (1) 結晶密度 空隙のない均一系とみなされ、真密度とも称される。
- (2) 粒子密度 開孔部のない空隙、又は気体により置換されない粒子内細孔も固体又は粉体の体積として評価される。
- (3) かさ密度 粉体層内に形成される空隙部分も固体又は粉体の体積として評価されることから、みかけ密度とも称される。通常、疎充填時の粉体の密度は疎充填かさ密度、タップ充填時の密度はタップ充填かさ密度と定義される。

一般に、液体や気体の密度は温度と圧力のみに依存するが、固体又は粉体の密度は分子又は粒子の集合状態に依存する。したがって、固体又は粉体の密度は、当該物質の結晶構造、結晶

化度によって変化することはもちろんであるが、試料が非晶質であるか、その一部が非晶質である場合、試料の調製法、処理法又は保存によって変化し得る。したがって、二つの固体又は粉体が化学的には同一物質であっても、それらの固体構造が違えば、異なる密度を与える。固体又は粉体粒子の密度は、粉末状医薬品及び医薬品原料の重要な物理的特性であることから、日本薬局方では、粒子密度は「粉体の粒子密度測定法〈3.03〉」、かさ密度は「かさ密度測定法〈3.01〉」として、それぞれの密度測定法を規定している。

固体又は粉体の密度は、単位体積当たりの質量(kg/m^3)であり、通例、 g/cm^3 で表す($1 \text{ g/cm}^3 = 1000 \text{ kg/m}^3$)。

結晶密度(Crystal Density)

ある物質の結晶密度とは、分子の充填配列の基本部分に属さない、全ての空隙を除いた単位体積当たりの平均質量である。これはその物質の特定の結晶構造に固有な特性であり、測定法に依存しない。結晶密度は、計算又は簡単な測定によって求めることができる。

- A. 計算による結晶密度は、例えば、単結晶のX線回折データ又は粉末X線回折データの指標化によって得られる結晶学的データ(単位格子の体積と組成)から与えられる。
- B. 測定による結晶密度は、単結晶の質量と体積の測定により、その比(質量/体積)として与えられる。

粒子密度(Particle Density)

粒子密度は、結晶密度に加えて粒子内の空隙(粒子内部の閉じた空隙及び開孔部はあるが気体が侵入できない空隙)も粒子体積の一部と評価して求められる密度である。すなわち、粒子密度は測定された体積に依存し、体積の評価は測定法に依存する。粒子密度の測定は、日本薬局方では「粉体の粒子密度測定法〈3.03〉」として、ピクノメーター法を規定している。

ピクノメーター法による密度は、気体置換型ピクノメーターを用いて、質量既知の固体又は粉体の体積を置換された気体の体積に等しいものと評価することにより求める。ピクノメーター法による密度の測定においては、気体の侵入が可能な開孔部のある空隙は粉体の体積とみなされないが、気体が侵入できない密閉状態にある空隙は粉体の体積の一部とみなされる。ヘリウムは分子サイズが小さく、開孔部のあるほとんどの空隙に侵入できるため、粒子密度測定用気体として推奨される。したがって、粉体のピクノメーター法による粒子密度は、一般には結晶密度とあまり変わらない。このため、この方法による粒子密度は、非晶質又は部分的に結晶性である試料の真密度の最良の推定値とみなされ、製造工程中にある医薬品粉末の製造管理に広く役立てることができる。しかし、この測定法は、測定中に昇華、脱溶媒和又は(吸着水などの)脱離に起因して気体を放出する固体には適さない。

かさ密度(Bulk Density)

粉体のかさ密度は、粒子間の空隙も粉体体積の一部と評価して求められる。したがって、かさ密度は粉体の粒子密度と粉体層中での粒子の空間配列と充填の度合いに依存する。

また、粉体のかさ密度は粉体層の僅かな揺動によっても、その空間配列が変化するため、再現性よくかさ密度を測定することは極めて難しい。したがって、かさ密度の測定値を示す場合、測定条件と共に、どのように測定したかを明記することが重要である。

- A. 疎充填かさ密度は、ふるいを通してメスシリンダー中へ注

入した質量既知の粉体の体積(疎充填体積)を測定することにより求められる(定質量法)。別に日本薬局方では、一定容量(疎充填体積)の粉体の質量を測定することにより、疎充填かさ密度を求める方法(定容量法)も規定している。

- B. タップ充填かさ密度は、粉体を入れたメスシリンダーを機械的にタップすることにより求められる。初期の疎充填体積を測定した後、メスシリンダーを一定の測定条件(タップ速度及び落下高さ)で機械的に規定の回数タップし、連続する2回の測定間で体積変化が許容範囲内となるまで測定を繰り返す(定質量法)。別に日本薬局方では、タップ充填された一定容量の粉体の質量を測定することにより、タップ充填かさ密度を求める方法(定容量法)も規定している。

粉体の細かさの表示法〈G2-2-171〉

本表示法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した表示法である。

三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。

粉体の細かさの表示法について規定する。ふるい分け法は粒子の大多数が75 μmより大きい場合に適しているが、より小さな粒子を含む試料であってもふるい分け法が検証されている場合には用いることができる。レーザー回折・散乱法も一般的に用いられる測定法であり、広い粒子径範囲に適用可能である。積算分布は分析用ふるい又は他の方法により測定され、粒子径については次のように表示される。

x_{90} ：積算ふるい下分布90%に相当する粒子径

x_{50} ：メジアン径(50%の粒子がこの値より小さく、50%の粒子がこの値より大きい。)

x_{10} ：積算ふるい下分布10%に相当する粒子径

d も粒子径を表すのに用いられ、 d_{90} 、 d_{50} 、 d_{10} を使用することもできる。

下付き添字 r が粒度分布の基準を表すとして、積算ふるい下分布を基に $Q_r(x)$ を定義する。

$Q_r(x)$ ：粒子径 x 以下の大きさを持つ粒子の積算分布割合

r	粒度分布の基準
0	個数
1	長さ
2	面積
3	体積

そこで、定義より： $x = x_{90}$ なら $Q_r(x) = 0.90$

$x = x_{50}$ なら $Q_r(x) = 0.50$

$x = x_{10}$ なら $Q_r(x) = 0.10$ となる。

次表の用語を用いることにより粉体の細かさを定性的に分類することもできる。

細かさによる粉体の分類

用語	x_{50} (μm)	体積基準積算分布割合 $Q_3(x)$
粗い	>355	$Q_3(355) < 0.50$
やや細かい	180 ~ 355	$Q_3(180) < 0.50$, $Q_3(355) \geq 0.50$
細かい	125 ~ 180	$Q_3(125) < 0.50$, $Q_3(180) \geq 0.50$
極めて細かい	≤125	$Q_3(125) \geq 0.50$

粉体の流動性〈G2-3-182〉

本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。

医薬品では幅広く粉体が利用されることから、粉体の流動性を評価するための種々の方法が考案されてきた。製剤に関する文献中には、粉体の流動性に関する種々の測定値を製造特性と関係づけようとする多数の論文が出されている。このような種々の試験法が開発されているのは当然である。なぜならば、粉体の挙動は多面的であるので、これが粉体の流動性を評価しようとする努力を面倒にしているからである。本項では、医薬品に最も多く用いられる粉体の流動性の評価法について記述する。医薬品粉体の流動性を適切に評価できる単純で簡便な測定法はないが、本項では、幾つかの試験法の標準化を提案している。粉体の流動性評価に広く用いられている四つの試験項目及び測定法、すなわち、「1.安息角」、「2.圧縮度又はHausner比」、「3.オリフィスからの流出」、及び「4.せん断セル法」である。実験的に考慮すべき重要な事項は同じであるので、測定法の標準化を推奨する。

一般に、いかなる粉体の流動性測定法であっても、実用的かつ有用であり、更に再現性があることが良く、意味のある結果が得られなければならない。これらいずれの手法を用いた測定でも、複数回の測定が望ましい。繰り返しになるが、ある一つの流動性測定法では、製薬用途で遭遇する広範囲な流動性を適切に又は完全に評価できない。製剤研究者や技術者の必要性に応じて、種々の見地から粉体の流動性を評価するために、多数の標準化された試験法をうまく利用することが適切な評価につながる。

1. 安息角

安息角は、粉体の流動性を評価するために幾つかの科学分野で用いられてきている。安息角は、粒子間摩擦、又は粒子間の運動に対する抵抗性に関係する特性値である。安息角の試験結果は、測定法に大きく依存する。本測定法では円錐形成時の粉体の分離・偏析や圧密又はエアレーションのために、実験上に困難を生じる。これらの難点があるにもかかわらず、本測定法は製薬工業において利用され続けており、製造面での諸問題を予測する際の価値を示す多数の例が文献中に見られる。

安息角は、次項で述べる方法のいかにかわからず、形成される堆積体が円錐状であると仮定した際の水平面に対する三次元的角度である。

1.1. 安息角測定法

多数の安息角測定法が提案されているが、静的安息角を測定するための最も一般的な方法は、二つの重要な実験の変数の扱いにより次のように分類される。

- 粉体を流下させる漏斗の高さを基底板に対して固定しておくか、又は堆積体が形成されるにつれて漏斗の高さを変える。
- 堆積体が形成される基底板の直径を一定とする(すなわち、堆積体の直径は既知である)か、又は堆積体の形成に応じて基底板の直径を変える。

上記の基本的な測定法に加えて、以下のような変法も用いられている。

(i) 排出安息角：一定の直径を持つ円板上にある過剰量の粉体を容器から排出させることによって測定する。円板上に形成された円錐から、排出安息角を測定する。

(ii) 動的安息角：片面が透明で平らな面を持つ円筒内に粉体を入れ、これを一定速度で回転させる。動的安息角は円筒内で流動している粉体層の斜面が水平面との間で形成する角度として測定される。内部運動摩擦角は粉体の最上層を流下する粒子と粗い表面仕上げとされている円筒と一緒に回転している粒子を分離している面によって定義される。

1.2. 安息角に関する流動性の程度

安息角を用いて粉体の流動性を定性的に説明する際に多少の違いはあるが、Carr¹⁾による分類(表1)は有用である。処方設計において40～50°の安息角を持つ試料であっても良好な結果が得られることもあるが、安息角が50°を超えると、製造に適さないことが多い。

表1 流動性の程度と対応する安息角¹⁾

流動性の程度	安息角(°)
極めて良好	25～30
良好	31～35
やや良好(架橋防止対策不要)	36～40
普通(架橋の限界点あり)	41～45
やや不良(攪拌や振とうが必要)	46～55
不良	56～65
極めて不良	>66

1.3. 測定に関して留意すべき点

安息角は個々の粉体に固有な物性値ではない。すなわち、粉体の円錐を形成させるために用いた方法に大きく依存する。この点に関して、次のような重要な点が挙げられている。

(i) 上方から落下してくる粉体の衝撃によって円錐の頂点がゆがむ。円錐を注意深く形成させることによって、衝撃によるゆがみは軽減される。

(ii) 円錐が形成される円板の性質が安息角に影響する。粉体層の上に円錐を形成させることができる“共通の基底部”を用いて円錐を形成させるとよい。これは、円錐を形成させる粉体層を保持するための外縁部を用いることによって可能となる。

1.4. 推奨される測定手順

粉体層を保持するための保持縁を持つ、固定された円板上に安息角を形成させる。円板は振動しないようにする。対称性のある円錐を注意深く形成させるために、円錐の高さに応じて漏斗の高さを変えるとよい。この場合、漏斗が動くので、振動しないように注意する。円錐の先端部に落下する粉体の衝撃を最小限にするために、漏斗脚部下端の高さは堆積体の頂点から約2～4 cmの位置に保つ。対称性のある円錐を首尾よく又は再現性よく形成させることができない場合には、本法は適切ではない。円錐の高さを測定することによって、次式から安息角 α を求める。

$$\tan \alpha = \text{高さ} / (0.5 \times \text{円板の直径})$$

2. 圧縮度及びHausner比

圧縮度とこれに密接に関係するHausner比は、粉体の粒子サイズや粒子形状、真密度、表面積、含水率、付着性などに影響されるため、粉体の流動特性を予測することができる。圧縮度及びHausner比は、粉体の疎充填体積とタップ充填体積から算出される。詳細はかさ密度測定法〈3.01〉を参照すること。

2.1. 圧縮度及びHausner比測定法

圧縮度とHausner比の測定法はやや異なるが、基本的な手順は、同一の粉体試料について疎充填体積 V_0 と、これ以上の体積変化が生じなくなるまで試料をタップした後の最終タップ充填体積 V_f を測定することである。次式により圧縮度とHausner比を計算する。

$$\text{圧縮度} = (V_0 - V_f) / V_0 \times 100$$

$$\text{Hausner比} = V_0 / V_f$$

圧縮度とHausner比は、疎充填かさ密度(ρ_{untapped})とタップ充填かさ密度(ρ_{tapped})の測定値を用いて、次式により求めることもできる。

$$\text{圧縮度} = (\rho_{\text{tapped}} - \rho_{\text{untapped}}) / \rho_{\text{tapped}} \times 100$$

$$\text{Hausner比} = \rho_{\text{tapped}} / \rho_{\text{untapped}}$$

これらの変法として、タップ中に生じるかさ体積変化に代わって、圧密率が測定されることもある。圧縮度とHausner比について、広く報告されている流動性の程度を表2に示す。

表2 流動性の程度と対応する圧縮度及びHausner比

圧縮度(%)	流動性の程度	Hausner比
1～10	極めて良好	1.00～1.11
11～15	良好	1.12～1.18
16～20	やや良好	1.19～1.25
21～25	普通	1.26～1.34
26～31	やや不良	1.35～1.45
32～37	不良	1.46～1.59
>38	極めて不良	>1.60

圧縮度とHausner比は粉体に固有な特性値ではなく、用いた測定法に依存する。疎充填体積 V_0 、最終タップ充填体積 V_f 、疎充填かさ密度 ρ_{untapped} 、及びタップ充填かさ密度 ρ_{tapped} の測定に影響するため考慮すべき重要な点は以下のとおりである。

- (i) 用いたメスシリンダーとホルダーの直径と質量
- (ii) タップ充填かさ密度を得るための粉体のタップ回数
- (iii) タップの高さ
- (iv) 試験に用いた粉体の質量
- (v) タップ中のメスシリンダー内における粉体試料の回転

3. オリフィスからの流出

粉体の流出は多くの因子に依存するが、そのうちの幾つかは粒子自体の特性に関係しており、また他の幾つかは測定法に関係する。粉体の流動度の測定には、(粉体がアーチングを生じ、それ以上流出することができなくなるオリフィス径である“アーチング径”を評価することにより)オリフィスからの粉体の流出性とその流出速度を観測する方法が使用されてきた。ここで特に重要なことは、自由流動性のある粉体であっても脈動型の流動パターンが観察されるので、流出を連続的にモニターすることが有用であるということである。また、容器が空になる際も流出速度の変化が見られる。これまでにオリフィス径、粒子径及び粒子密度に対する流出速度に関係する幾つかの実験式が提案されている。粉体のアーチング径の評価は、粉体が凝集性を有する場合も自由流動性を有する場合も適用できるが、オリフィスからの流出速度の測定は、自由流動性を有する粉体のみ適用可能である。

オリフィスからの流出速度は、一般には多種類の容器(円筒状容器、ファネル、ホッパー)のいずれにおいても、これらから

ら流出する試料の単位時間当たりの質量として測定される。流出速度の測定は間けつ的又は連続的に行うことができる。

3.1. オリフィスからの流出試験法

オリフィスからの流出速度を測定する際に最も共通する問題点は、三つの重要な実験的変数に基づいて次のように分類できる。

- (1) 粉体を入れた容器の種類 一般的な容器は円筒状容器、ファネル又はホッパーである。
- (2) 用いたオリフィスの大きさと形状 オリフィス径とその形状は、粉体の流出速度を測定する際の重要な因子である。
- (3) 流出速度の測定法 流出速度は、ある種の記録装置が付属した電子天秤を用いて連続的に測定することができる。また、流出速度は、不連続な試料についても個別的に測定することができる(例えば、100 gの粉体がオリフィスを通過するのに要する0.1秒単位までの時間、又は10秒間にオリフィスを通過する0.1 g単位までの粉体の質量)。

3.2. オリフィスからの流出試験法の変法

質量基準又はかさ体積基準のいずれの流出速度も測定することができる。質量基準速度の方が測定しやすいが、高密度の粉体では大きな測定値が得られる。錠剤機の臼中への粉体の充填はかさ体積基準であるので、この場合にはかさ体積基準の流出速度を測定することが望ましい。容器から粉体が流出しやすくするためにパイプレーターを取り付けることもあるが、これは結果の解析を複雑にする。ロータリー式錠剤機の運転条件をより精密に再現するための振動式オリフィス装置が提案されている。粉体が流出する最小オリフィス径も確認することができる。

流出速度は用いた測定法に極めて大きく依存するので、一般的な尺度はない。また文献の結果を比較することも困難である。

3.3. 測定に関して留意すべき点

オリフィスからの流出は、個々の粉体に固有な物性値ではない。これは用いた方法に極めて大きく依存する。これらの方法に影響する、次のような幾つかの重要な点が指摘されている。

- (i) オリフィス径と形状
- (ii) 容器の材質(金属、ガラス、プラスチック)
- (iii) 容器内での粉体層の直径と高さ

3.4. 推奨される測定手順

オリフィスからの流出速度測定は、ある程度の流動性を持つ粉体のみに用いることができる。したがって、付着性粉体には用いることができない。粉体層の高さがオリフィス径より十分に大きければ、流出速度は実質的には粉体層の高さには関係しない。円筒状容器は流出にほとんど影響しないので、容器としてこれを用いる。この形状では容器の壁面に沿った粉体ではなく、粉体層内での粉体の運動による流速を測定していることになる。粉体層の高さが円筒状容器の直径の2倍未満の場合には、粉体の流出速度はしばしば増加する。オリフィスの形状は円形とし、円筒状容器は防振状態とする。円筒状容器の寸法に関する一般的な指標は次のとおりである。

- (i) オリフィス径 > 粒子径の6倍
- (ii) 円筒状容器の直径 > オリフィス径の2倍

容器としてホッパーを用いるのは適切であり、製造に際しての流出をよく表している。また、ファネル、特に軸管を持つものについては、流出速度は軸管と粉体間の摩擦と同様に、軸管の直径と長さによって決まるので、これを用いるのは得策ではない。円錐の先端を切断したものも良いが、流出は粉体－壁面

間の摩擦係数に影響されるので、適切な材質を選択することが重要である。

円筒状容器内のオリフィスについては、粉体層内での流動パターンをより確実にするために、口径を変えられるような機能を持つ平面状の底板を用いる。流出速度は間けつ的又は連続的に測定できる。電子天秤を用いた連続測定は、瞬間的な流出速度の変動をより効果的に検出することができる。

4. セン断セル法

より基本的な原理に基づいた粉体の流動性研究やホッパーの設計を進めようとする際、粉体の流動性をより完全かつ正確に定義した評価ができる、種々の粉体せん断試験装置や方法が開発されている。せん断セル法は、医薬品粉体の研究において広範囲に用いられている。本法によれば、粉体層が横滑りし始める直前のせん断応力と垂直応力の関係を表す破壊包絡線、内部摩擦角、非限界降伏力、粉体の凝集、フローファンクションのような種々の関連するパラメーターを含む広範囲なパラメーターが得られる。また、本法では実験上のパラメーターをより正確に制御することができるので、流動特性は圧密荷重、時間、その他の環境条件の関数として測定することもできる。これらの方法を用いることにより、ホッパーや貯槽用容器の限界寸法を適切に求めることができる。

4.1. 測定法

せん断セルの第一のタイプは、上下に二分割できる固定セルと可動セルとの境にせん断面を形成させる並進せん断セルに相当する。この方法では、所定の手順に従ってせん断セル内の粉体層を圧密した後、粉体層をせん断するのに要する力を測定する。並進せん断セルは円筒型又は矩形状の箱型である。

第二のタイプのせん断セルは、回転せん断セルに相当する。これには、円筒型のもので環状型のものがある。これらは、試料量が少なく済むなど、並進せん断セルを上回る幾つかの利点がある。しかし、設計上、回転せん断セルの周囲に近い試料の方が、より内側にある試料より多くせん断されるので、粉体層が均一にせん断されないという欠点がある。

いずれのせん断セル法も利点と欠点を持っているが、詳細については本項では触れない。粉体の流動性を評価する他の方法については、文献中で多くの変法が述べられている。一般にせん断セル法の大きな利点は、実験的により制御しやすいことである。

4.2. 推奨される事項

多種類のせん断セル装置や試験法からは豊富なデータが得られ、粉体の流動性を評価するのに極めて効果的に利用することができる。これらはホッパーや貯槽用容器のような装置を設計する際にも有用である。本法では利用できる装置や実験操作は多種多様であるので、特に標準的な方法はない。せん断セル法を用いた流動性の評価の結果には、用いた装置と方法を全て記載しておく。

5. 参考資料

- 1) Carr, R.L., Chem. Eng. 72, 163-168 (1965).

せん断セル法による粉体の流動性測定法 (G2-5-181)

医薬品の製造においては、混合機への原料投入や打錠機への粉体充填など、粉体の搬送及び供給を伴う工程が多い。粉体の流動性は、質量や含量均一性などの製剤特性に関連することから、医薬品の品質に大きな影響を与える。製剤処方及び製造工程、並びに製造装置を適切に設計するためにも、粉体の流動性評価は重要である。せん断セル法は粉体の流動性評価に有用な試験法の一つで、幅広い応力条件下で測定が行えるため、粉体動摩擦角や単軸崩壊応力、フローファンクションなどの、医薬品の製造における様々な粉体挙動の予測に役立つパラメータを求めることができる。

1. 原理

ホッパーなどからの流出において粉体は、粒子同士の付着・凝集や複雑な表面形状による互いの動きへの干渉などのため、外から力が加えられても速やかに流れ出すとは限らず、加える力が十分に大きくなると急に流れ始めるようになる。また、容器中の準静的な条件下での粉体の流動性は、圧密応力に強く依存する。圧密とは、粉体層に荷重を加えて、そのかさ体積を減少させ、粉体層のかさ密度又は空間率を変化させる操作をいう。せん断セル法は、圧密した粉体に垂直応力を負荷しながら横滑りさせたとき、静止状態から流動状態に移行する過程の粉体の挙動、すなわち横滑りし始める直前の最大せん断応力や定常流動状態の動的摩擦力を測定する試験法である。

荷重下の粉体の流動性は、圧密の程度(かさ密度又は空間率, ε)、垂直応力(σ)及びせん断応力(τ)の三つの条件によって決まる。三条件の関係を三次元的に表した図をロスコー状態図(図1)といい、せん断セル法は、このロスコー状態図あるいはロスコー状態図を構成する破壊包絡線を得るための試験法である。

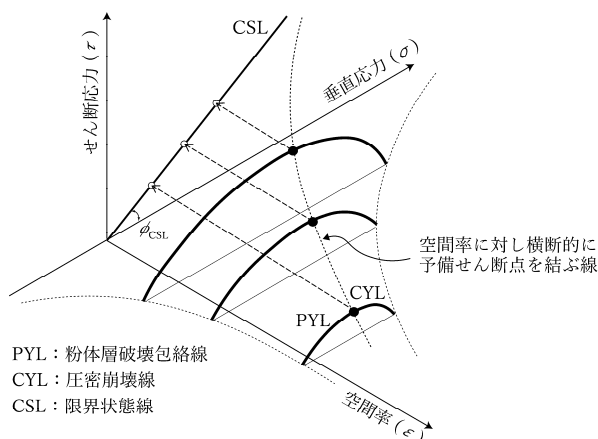


図1 ロスコー状態図

2. 装置

せん断セル法には、定荷重法と定容積法の二つの測定方法がある。どちらの方法でも、使用する装置は通例、せん断セル、試料に垂直応力を負荷するための分銅やプレス装置、試料をせん断するための機構、垂直応力及びせん断応力を計測するロードセルからなる。

2.1. せん断セル

せん断セルは、上下に二分割できる容器(セル)に充填した粉体を、垂直応力を負荷しながら横滑りさせ、粉体層の内部にせん断面を生じさせることのできる構造を持つものが多い。定荷重法の場合、上部セルに嵌合する蓋はせん断応力が負荷されると上下し、粉体の収容容積が変化する。定容積法では、蓋を押し込むプレス機などにより蓋の位置が固定される。

せん断セルは、せん断応力を与える運動が並進か回転かにより、2種類に分類される。

2.1.1. 並進せん断セル

並進せん断セルでは、上部あるいは下部セルの一方を固定し、他方を直線的に水平移動(並進)させて、二つのセルに充填した粉体層にせん断応力を負荷する。せん断面は、下部セル中の粉体とリング状の上部セル中の粉体の境界に生じる。並進せん断セルには、円筒型のもの(図2)と試料を上下2枚の平板ではさんだ側壁のないものがあり、前者の代表例としてジェニケセル、後者の代表例として平行平板セルが挙げられる。

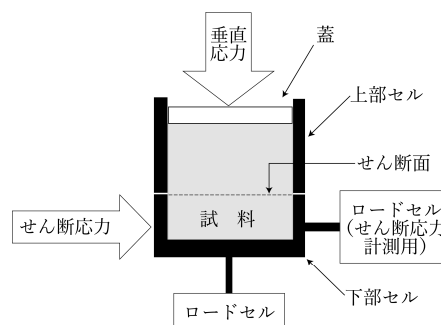


図2 並進せん断セルの例

2.1.2. 回転せん断セル

回転せん断セルでは、上下一対のセルの一方を固定し、他方を回転運動させて、二つのセルに充填した粉体層にせん断応力を負荷する。円筒型のものと環状型のもの(図3)がある。いずれの回転せん断セルでも、粉体がセル内壁との界面で滑らないよう、セルの内側に何らかの表面加工を施してある場合が多い。回転セルの試料に接する面には複数の刃を放射状に取り付けるなどして、粉体を噛み込む作りになっている。粉体を充填した固定セルに回転セルを押し入れて回転させることにより、回転セル直下の粉体層にせん断面が形成される。

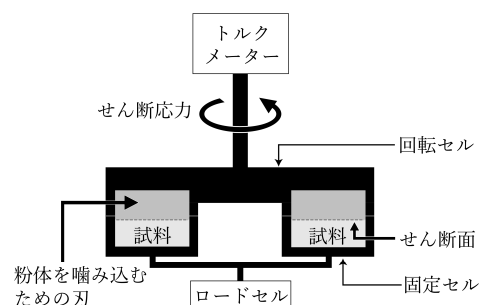


図3 回転せん断セルの例

2.2. その他の構成部分

ロードセルは、バネや圧電素子などを利用したセンサーで、荷重やトルクを検出し、加えられた力を電気信号に変換する装置である。ロードセル及び試料に垂直応力を負荷するための分

銅などは、計量トレーサビリティの保証された標準によって定期的に校正を行う。

3. 測定

測定環境は、温度 $20 \pm 5^\circ\text{C}$ 、相対湿度 $50 \pm 10\%$ が推奨される。試料は、測定ごとに新しいものを用いる。ただし、圧密履歴を経っていないことが明白な試料や希少な試料について、再使用した旨の記載を残す場合は、この限りではない。スパーテルや試料の最大粒子径より大きい目開きのふるいなどを用いて、静かにせん断セルに試料を充填する。このとき、粉体層内に空洞が生じないように注意する。充填した試料の表面は、スパーテルなどでならしておく。定荷重法では、1回の測定中は空間率を一定にして試験を行うため、初めに試料の圧密(予圧密)を行う。ジェニケセルなどを用いた定荷重法における測定の手順を、図4に模式図で示す。試験に先立ち、垂直方向の予圧密応力(σ_{pre})を負荷しながら、せん断応力が定常値(τ_{pre})になるまで予備せん断を行う(図4(a)A)。定荷重法では予備せん断中、粉体の容積が減少あるいは場合によっては増加し、定常状態に至ると一定になる。言い換えれば、ある垂直応力の条件下でせん断応力が定常値になった粉体層の空間率は、その粉体の流動特性から一つに決まる。以下の本試験では、この空間率を有する試料についての測定を行う。せん断応力をゼロとした後 σ_{pre} の垂直応力を取り除き、新たに垂直応力(σ_{sx} , $x = 1, 2, 3 \dots$)を負荷してせん断応力を測定する(図4(a)B)。せん断応力を徐々に増加させたとき、粉体層が横滑りし始める直前の最大せん断応力が τ_{sx} ($x = 1, 2, 3 \dots$)である。 σ_{pre} 以下の3~5点の σ_{sx} においてA~Bの操作を繰り返し、得られた結果から粉体層破壊包絡線(PYL: powder yield locus, 図4(b))を描くことができる。

一方、定容積法では、プレス機などで蓋の位置を制御して空間率を所定値に保ちながら、垂直応力を徐々に変化させて、せん断応力を連続的に測定する。常に一定の空間率で測定が可能のため、せん断により粉体層が圧密崩壊する垂直応力領域では、図1中の圧密崩壊線(CYL: consolidation yield locus)が得られる。PYLとCYLは予備せん断点を共有し、1本の破壊包絡線(YL: yield locus)としてつながる。

4. データ解析

せん断応力には、粉体が流動していない(静的)状態で測定される値と、流動している(動的)状態で測定される値がある。

前項の図4(b)で示した各(σ_{sx} , τ_{sx})を結ぶ近似線は、圧密した粉体層が横滑りし始める直前、つまり静的な状態での垂直応

力に対するせん断応力の関係を表し、PYLと呼ばれる。ここに、垂直応力 σ_{pre} を負荷して行った予備せん断により定常状態に至ったときのせん断応力 τ_{pre} をプロットする(図5)。この点は、動的な状態における測定値で、予備せん断点と呼ばれる。次に、垂直応力軸上に中心を持つ、予備せん断点を通りPYLに接する円(図5中の大きい方の半円)と原点を通りPYLに接する円(図5中の小さい方の半円)を描く。垂直応力軸上に中心を持ちPYLに接する円を、モール円と呼ぶ。

粉体の流動性を記述する各種パラメーターは、PYLとモール円から求められる。

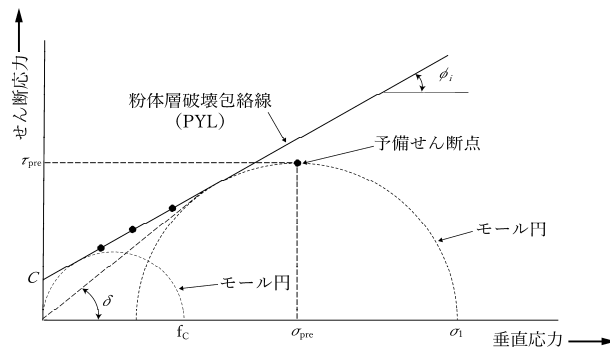


図5 粉体層破壊包絡線からの各種パラメーターの求め方

4.1. せん断付着力(C)

PYLと τ 軸の交点の値であり、垂直応力が負荷されていない状態でのせん断応力に相当する。

4.2. 内部摩擦角(ϕ_i)

PYLと σ 軸がなす角度。PYLの勾配($\tan \phi_i$)は、測定を行った圧密条件下での、粉体粒子同士の摩擦係数である。

4.3. 有効内部摩擦角(δ)

原点を通り、図5中の大きい方のモール円に接する直線が σ 軸となす角度。粉体の流動が定常状態にあるときの、内部摩擦力の相対的な指標として用いられることがある。

4.4. フローファンクション(FF)

図5中の大きい方のモール円の最大主応力(σ_1)と、小さい方のモール円の最大主応力(単軸崩壊応力: f_c)の比(σ_1/f_c : FF)は、粉体の流動性を定性的に分類する際の指標として用いられることがある(表1)。同一の試料について複数の圧密条件下で測定した σ_1 と f_c の関係から得られる線図、すなわちFFは、ホッパーを設計する際などの粉体の流動性解析に活用される。

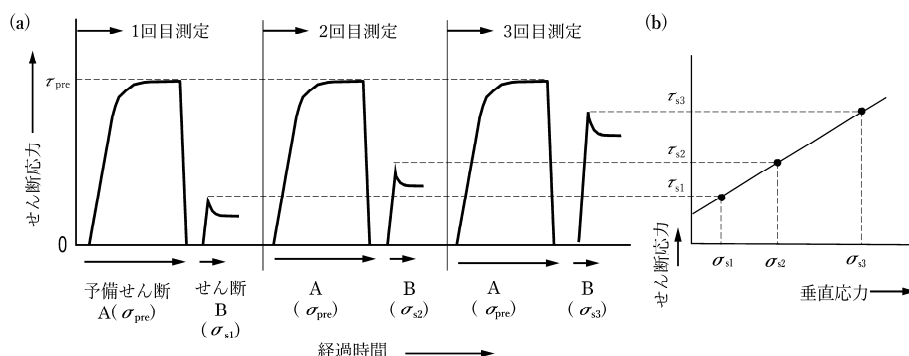


図4 測定中の垂直応力及びせん断応力の時間経過図(a)と粉体層破壊包絡線(b)の例

表1 流動性の一般的な分類

ff_c	流動性
<1	流動しない
1～2	付着性が高く、流動しにくい
2～4	付着性があり、やや流動しにくい
4～10	流動しやすい
10<	極めて流動しやすい

上記の各パラメーターは、所定の空間率を有する試料において測定された垂直応力とせん断応力の関係を表す図5から求められるため、同じ粉体でも、圧密の程度が異なれば、違う値になることに注意する必要がある。

一方、図1の限界状態線(CSL: critical state line)は、複数の空間率で得られた予備せん断点(図中の黒丸)を $\sigma - \tau$ 面上に投影して得られる線で、原点を通る直線になる。動的な状態における垂直応力とせん断応力の関係を示すCSLは、測定に用いる装置の種類に依存せず、粉体の流動特性を反映する。CSLと σ 軸のなす角度を粉体動摩擦角(ϕ_{CSL})といい、小さいほど流動性が高いことを示す。

5. 結果の報告

同一条件での測定は、得られる値のばらつきに応じた適当な回数繰り返し行い、その平均値を結果とする。測定結果は、表2に挙げる項目と共に報告する。

表2 結果報告に記載する項目例

項目	内容
一般的事項	測定日時、測定者名、試料名、使用した装置(機種、型式・製造会社)とセルの種類、測定法(定荷重法又は定容積法)など
試料関連事項	粒子径及び粒子径分布、粒子径測定法の種類、かさ密度、水分含量、乾燥処理条件など
測定条件	測定時の温度及び相対湿度、使用したセルのサイズ、試料量、予圧密条件、せん断速度など
測定結果	本試験における測定回ごとの垂直応力とせん断応力、破壊包絡線を描いた $\sigma - \tau$ 図、粉体動摩擦角などの解析で得られた各種パラメーターの値
その他の特記事項	予圧密応力や測定回数などを通常の設定から変更した場合、あるいは試料を再使用した場合には、その旨の記載

溶解度測定法〈G2-6-190〉

溶解度は、溶質が溶媒中に溶解可能な上限の濃度であり、添加物や薬物などの取扱いや特性を考慮する上で重要な情報を与える。本測定法は、固体の医薬品原薬の溶解度として一般に用いられる平衡溶解度について、その測定における主な留意点を示すと共に、Biopharmaceutics Classification System (BCS)に基づく分類などに用いる際の標準的な方法を示す。

固体の溶質が溶媒中に均一に混合され、溶液を形成している状態を溶解しているといい、特に過剰量の溶質の存在下で、溶解した溶質と溶解していない溶質が動的平衡にある溶液(飽和溶液)の濃度を平衡溶解度という。平衡溶解度に達するまでの一過性の過飽和や不完全溶解の状態における濃度(見かけの溶解度)は、平衡溶解度より高値又は低値を示すことがある。溶解度の単位は、モル濃度、モル分率、モル比、w/w, w/vなどが用いられる。なお、ナノ粒子や特殊な可溶化技術を用いた試料のほか、沈降やフィルターろ過による除去が困難な粒子を含む

試料、高分子化合物など、本測定法での評価が適切でない試料には本測定法を適用しない。

本測定法により得られる溶解度は、試料の物理化学的特性(例: 表面積、粒子径、結晶形、溶媒和化合物)や溶媒の特性(例: pH, 極性、表面張力、界面活性剤の有無、共溶媒、イオンの種類)及び測定法に係るパラメーター(例: 温度、時間、攪拌方法)の影響を受ける。そのため、溶解度の測定に当たっては、これらを十分に考慮し、溶解度評価の目的に応じて測定条件を設定する。

本測定法では、次に示すフラスコ振とう法を用いる。また、妥当性が示された他の方法も用いることができる。

1. 溶媒の選定

目的に応じて溶媒の種類やpH、組成(緩衝液や界面活性剤の種類と濃度など)を決定する。例えば、水やメタノールなどの溶媒は、薬物の一般的な特性評価を目的に用いられる。また、BCS分類など、薬物の消化管吸収やバイオアベイラビリティの予測を目的とする場合は、当該部位の環境を考慮した生理学的pH範囲(pH 1.2 ～ 6.8)の溶媒の使用が推奨される。目的に応じて規定された溶媒と異なる組成の溶媒を使用する場合は、その組成に加え、必要に応じてイオン強度を計算し、溶解度の結果と共に明記する。

2. 懸濁液の調製

栓付きフラスコ又はバイアルに溶媒及び試料を加え、懸濁液を調製する。少なくとも3回の溶解度の結果が得られるように、3検体以上の独立した試料を用いる。

溶媒及び試料の量を正確に量る必要はないが、試料は飽和溶液を得るのに十分な量とする。速やかに平衡溶解度に達するように試料の表面積をできるだけ大きくするため、溶媒への添加前に粉碎や篩過による粉末化を行う、若しくは溶媒への添加後に超音波処理を行うことができる。試料溶液調製の際には、溶媒や処理の影響による結晶形の変化に注意する。

3. 飽和溶液の調製

懸濁液中の試料の溶解が平衡に達するまで適切な方法で攪拌後、溶解していない試料を除去し、飽和溶液を得る。

試験時間は、平衡に達するのに十分な時間を考慮して設定し、溶解平衡を判断可能な間隔で複数回サンプリングする。複数の時点における濃度の変化が小さい場合(例: 24時間当たりの変化が5%未満、若しくは1時間当たりの変化が0.2%未満¹⁾)、平衡に達していると判断することができる。見かけの溶解度が平衡溶解度に達していることを確認するため、同じ懸濁液を同じ方法で更にかき混ぜ(例: 追加で24時間)、濃度を確認しておくことが推奨される。溶解度の高低と平衡に達するまでの時間に相関はないことに留意する。

溶解していない試料の除去は、静置若しくは遠心分離により沈降させた後、溶解していない試料を取り込まないように注意して上澄液を分取する。必要に応じて、適切なフィルターを用いて上澄液をろ過する。ピペットや容器などへの試料の吸着に留意する。攪拌中及び攪拌後の懸濁液の沈降操作中の温度は、目的に応じて設定し、必要な制御を行う(例: $\pm 0.5^\circ\text{C}$)。

試料添加前及び平衡化終了時の溶液のpHを測定しておく。試料の溶解に伴って溶液のpHが変化する場合は、溶媒の種類や評価の目的に応じてpHの調整が必要な場合がある。若しくは、より緩衝能が高い溶媒を用いることが望ましい。

4. 溶液中の薬物濃度測定と結晶形の確認

溶液中の溶質濃度を、液体クロマトグラフィー〈2.01〉、紫外可視吸光度測定法〈2.24〉、又は他の適切な方法により定量的に測定する。溶媒中で試料が分解する場合は、試料と分解物を区別して分析する必要がある。分析中の試料の沈殿や析出を避けるため、必要に応じて分析前に希釈する。

懸濁液中における試料の結晶形の変化の有無を、適切な方法（例：粉末X線回折測定法、ラマンスペクトル測定法、近赤外吸収スペクトル測定法、示差走査熱量測定法）により確認することが推奨される。結晶形の変化が見られた場合、データの解釈は目的に応じて判断する。

5. 参考資料

- 1) US Pharmacopeia (2024), <1236> Solubility Measurements.

G3. 生物薬品関連

バイオテクノロジー応用医薬品（バイオ医薬品）の品質確保の基本的考え方〈G3-1-180〉

はじめに

本参考情報は、ICH Q8からQ11までの、いわゆるQカルテットと呼ばれる一連のガイドライン並びにバイオテクノロジー応用医薬品（以下「バイオ医薬品」という。）の品質に関するQ5A～Q5E及びQ6Bガイドライン¹⁻⁶⁾における推奨事項に基づき、医薬品の品質確保の考え方のうち、特にバイオ医薬品に特有の要素を中心に、品質確保の基本的考え方を示すものである。医薬品原薬及び製剤の品質確保の方策に関する一般的な考え方は、参考情報「医薬品原薬及び製剤の品質確保の基本的考え方〈G0-1-172〉」に記載されている。

本参考情報の適用範囲は、遺伝子組換え技術や細胞培養技術などを用いて製造されるペプチド、タンパク質、それらの誘導体、及びそれらを構成成分とするバイオ医薬品とする。本参考情報に示す考え方は、その他の生物薬品の品質確保にも参考になる。

バイオ医薬品では、細胞による生合成過程を製造工程に利用していることから、分子構造上不均一なものが産生される可能性が本質的に存在する。また、糖鎖修飾などの翻訳後修飾のほか、酸化や脱アミド化など、製造工程や保存中に様々な修飾を受ける可能性がある。バイオ医薬品の原薬に残存する可能性のある不純物には、生産に用いた細胞に由来するタンパク質のように分子多様性を有するものが含まれるほか、ウイルスなどの汚染物質が混入するリスクがある。このような品質特性は、製造工程中の様々な要因によって変動し得る。

バイオ医薬品の品質を確保するには、上記の特性を考慮し、適切な品質管理戦略を構築する必要がある。その際、参考情報「品質リスクマネジメントの基本的考え方〈G0-2-170〉」が有用である。まずは、徹底的な特性解析により品質特性を明らかにする。次いで、目標とする製品品質プロファイルを検討した重要品質特性の特定と、重要品質特性を適切な範囲内、限度内、分布内に収めるための品質管理戦略を構築する。開発期間中や製造販売開始後に製造工程を変更する場合は、変更前後の製品

の同等性／同質性評価を実施し、変更が有効性・安全性に有害な影響を及ぼさないことを検証して、変更の妥当性を確認する。バイオ医薬品の製造や分析に関する技術は日々進歩しており、製品ライフサイクルを通じて製品品質を継続的に改善していくことが望ましい。

1. バイオ医薬品の品質評価・管理

1.1. 品質評価

1.1.1. 特性解析

医薬品の特性解析は、重要品質特性の特定と品質管理戦略の構築のために不可欠なステップである。バイオ医薬品の特性解析では、構造及び物理化学的性質、生物活性、目的物質の分子変化体、製造工程由来不純物等について、可能な限り詳細な解析を行う。目的物質とは、予期した構造を有するタンパク質であり、DNA配列から期待されるタンパク質、しかるべき翻訳後修飾から期待されるタンパク質、あるいは意図的な加工・修飾操作から期待されるタンパク質を指す。目的物質の分子変化体のうち、生物活性、有効性及び安全性の点で目的物質に匹敵する性質を持つものを目的物質関連物質、持たないものを目的物質由来不純物に分類できる。有効成分は目的物質と目的物質関連物質で構成され、一般に、バイオ医薬品の有効成分には不均一性がある（図1）。

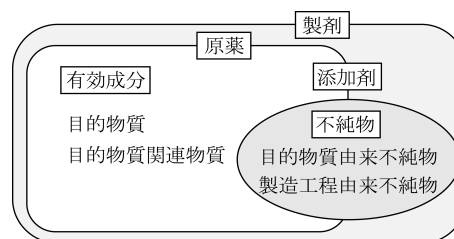


図1 バイオ医薬品の構成成分

* バイオ医薬品では、原薬中に、有効成分の安定化のための緩衝液成分等の添加剤が含まれる。

a. 構造及び物理化学的性質

アミノ酸配列及びアミノ酸組成、末端アミノ酸配列、スルフィド基及びジスルフィド結合、糖組成・糖鎖構造、糖化、酸化、脱アミド化等に関して解析を行う。糖タンパク質における糖鎖は、構造の安定化、生物活性、抗原性、体内動態等と関連があるとされ、そのプロファイルは製造工程の変動の影響を受けやすい。単糖分析、オリゴ糖分析／糖鎖プロファイリング、糖ペプチド分析、グリコフォーム分析等によって詳細に解析する必要がある。酸化や脱アミドなどにより生じる分子変化体は、ペプチドマップ法により分析できる。電荷プロファイルは、イオン交換クロマトグラフィーや等電電気泳動により評価できる。分子不均一性は、培養工程だけでなく、それ以降の原薬及び製剤の製造中や保存中にも生じるため、不均一性の程度及びプロファイルを特性解析し、工程パラメーターの変動が分子不均一性に及ぼす影響を評価するなど、製造工程の理解を深めることが品質管理戦略の構築に有用である。

物理化学的性質については、分子量や分子サイズ、モル吸光係数などに関して解析を行う。円偏光二色性、フーリエ変換赤外吸収スペクトルやNMRなどの分光学的手法、あるいは、示差走査熱量測定などの熱力学的手法によって、目的物質の二次構造や高次構造に関する情報が得られる。

b. 生物活性

生物活性は、有効成分が特定の生物学的効果を発揮するための特異的な機能やその程度を表す指標である。上述したように、バイオ医薬品は、有効成分の分子量が大きく構造が複雑で、多様な分子種の混合物であり、理化学分析により高次構造を確定することが困難であるため、通常、目的とする構造を形成していることの確証は生物活性で得られる。生物活性を測定するための生物学的試験には、生化学的試験(酵素活性の測定、結合活性の測定等)、細胞応答性試験のほか、動物を用いる試験などが挙げられ、有効成分の特性、対象疾患における作用機序や薬理作用を考慮して設定する。例えば、有効成分が酵素の場合は酵素活性、増殖因子の場合は細胞増殖促進作用、抗体の場合は、抗原との結合活性、抗原の中和活性、抗体依存性細胞傷害活性、補体依存性細胞傷害活性等を評価する。

生物学的試験では、標準物質と試料から得られた応答を比較して、力価を単位若しくは標準物質に対する相対的な活性(%)として表す。力価とは、当該医薬品の特性に基づく生物活性を定量的に表す尺度である。力価測定に用いられる生物活性は、原則として、臨床上期待される作用と同様あるいは類似のものが望ましい。臨床上期待される作用と生物学的試験における活性との相関は、薬力学試験又は臨床試験において確認しておく必要がある。

c. 目的物質の分子変化体(目的物質関連物質及び目的物質由来不純物)

原薬及び製剤の特性解析において、含まれる分子変化体の構造と生物活性・結合活性などを可能な限り解析する。分子量が大きく構造が複雑な製品においては、目的物質関連物質及び目的物質由来不純物を明確に分離することが難しく、原薬や製剤中に含まれる個々の分子変化体の割合を管理することが困難な場合、適切な分析法で得られるプロファイル(オリゴ糖プロファイルや電荷プロファイル)を明らかにする。目的物質由来不純物に分類される代表的な分子変化体は、凝集体(多量体)及び切断体である。その他に脱アミド体、異性体、酸化体、ジスルフィド結合ミスマッチ体や糖化体などが目的物質由来不純物とされることがある。凝集体及び切断体は、サイズ排除クロマトグラフィーやSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動、SDSキャピラリーゲル電気泳動などにより含まれる割合を評価する。

d. 製造工程由来不純物

製造工程由来不純物は、細胞基材に由来するもの(宿主細胞由来タンパク質や宿主細胞由来DNA)、細胞培養液に由来するもの(抗生物質やインスリンなど)、細胞培養以降の工程である目的物質の抽出、分離、加工、精製工程及び製剤化工程に由来するもの(プロテインA等のクロマトグラフィー用担体のリガンド、酵素、化学修飾試薬、溶媒等)に分類される。製造工程由来不純物については、工程パラメーターの管理により不純物が恒常的に除去されることを保証できる場合、あるいは、工程内試験が設定される場合は、原薬及び製剤に規格値を設定する必要がない場合もある。薬理作用を示す物質や免疫原性を有する可能性のある物質などは、特に注意が必要である。

1.1.2. 重要品質特性の特定

特性解析によって明らかにされた各品質特性について、その変動が、有効性・安全性に及ぼす影響と不確かさに関してリスクレベルを見積り、管理すべき重要品質特性を特定する。例えば、①生物活性又は有効性、②体内動態、③免疫原性、④安全

性の観点から、各品質特性の影響の大きさと不確かさのスコアの積を求め、一定のスコア以上の品質特性を重要品質特性とすることがよく行われる。リスクレベルは、有効性・安全性に及ぼす影響の重大性と起こりやすさから見積もることもできる。

1.2. 品質管理戦略の構築

品質管理戦略では、特定された重要品質特性を目標とする限度内、範囲内、分布内に収めるための管理の一式を規定する。品質管理戦略には、原材料の管理、製造工程の管理、規格及び試験方法並びに安定性試験などが含まれる。重要品質特性の許容範囲や目標とする管理基準は、特性解析結果、規格及び試験方法によるロット分析結果、安定性試験結果、並びに臨床試験の結果等に基づいて設定する。安定性試験のうち、苛酷試験及び加速試験において強制的に劣化した試料の品質特性(例えば、切断体、酸化体や脱アミド体といった分子変化体の含まれる割合など)と生物活性の解析結果は、各重要品質特性の許容範囲や管理基準の設定に有用である。バイオ医薬品の製法開発の過程では、重要品質特性に影響する原材料特性や工程パラメーターを特定し、それぞれについて、重要品質特性が目標とする範囲内となるよう、製造工程の管理手法を構築する。これらの結果に基づいて、原材料規格、工程パラメーター管理、工程内試験、原薬あるいは製剤の規格及び試験方法等からなる適切な品質管理戦略を構築する。

1.2.1. 原材料の管理

バイオ医薬品の原材料には、セル・バンク、培養工程に用いる培地、培地添加物、精製工程に用いる樹脂・クロマトグラフィー用担体、緩衝液、洗浄液やフィルター、修飾工程に用いるPEG化試薬、製剤化工程に用いる添加剤などが含まれる。

a. セル・バンクの評価と管理(遺伝子発現構成体の評価を含む)

細胞基材は、通例、マスター・セル・バンクからワーキング・セル・バンクという2段階方式のセル・バンクで管理し、特性解析試験及び純度試験を実施することで、その特性を明らかにすると共に、細胞基材が医薬品製造に適したものであることを確認する。また、生産に使用可能な*in vitro*細胞齢の上限においても同様の評価を行い、培養期間中の細胞基材の安定性を確認する。純度試験では、セル・バンクに外来性の微生物因子等の混入がないことを評価する(ウイルスについては1.2.3.参照)。特性解析試験では、細胞の形態や生細胞数、目的タンパク質の発現などのほか、遺伝子発現構成体を導入した細胞株の場合は、遺伝子発現構成体のコピー数や挿入・欠失、目的タンパク質をコードする塩基配列などを評価する。

b. その他の原材料の管理

製造工程で使用する原材料は、その使用目的にかなった基準を満たしていることを確認して用いる。血清や酵素など、ヒトあるいは動物に由来する原材料を用いる場合は、「生物由来原料基準」に適合していることを確認する。

1.2.2. 製造工程の管理

バイオ医薬品の製造工程は、主に培養工程と精製工程からなる原薬の製造工程と、製剤化工程で構成される。培養工程や精製工程の工程パラメーターが、不均一性プロファイル及び不純物プロファイル等に影響する可能性があるため、製造工程の十分な理解と適切な管理方法(工程パラメーターの設定と評価、工程内試験等)の構築が品質の恒常性維持に必須である。構築された製造工程は、プロセス・バリデーション/プロセス評価

によって適格性を確認する。通常、プロセス・バリデーションは実生産スケールで検討されるが、ウイルス除去／不活化能の評価や精製カラムの再使用回数の検討などにおいて、適格性が確認された小規模モデルで検討することができる。

a. 工程パラメーターの管理

各製造工程の管理すべき工程パラメーターとその管理範囲は、それまでの製造実績と一変量実験に基づいて設定するか、体系的な手法により明らかにされた工程パラメーターと重要品質特性との関係に基づいて設定する。後者の手法により製造工程を開発する際には、各工程パラメーターの各重要品質特性への影響に関するリスクレベルを見積り、各重要品質特性が許容範囲を超えないように、各工程パラメーターの管理範囲を設定する。品質管理戦略の構築に当たりリスクレベルを検討する際には、当該パラメーターの変動が重要品質特性に及ぼす影響の重大性、及び影響が生じる確率に加え、生じた影響の検出可能性についても考慮する。管理すべき工程パラメーターの例として、培養工程では温度、培地添加物濃度、溶存酸素濃度、溶存二酸化炭素濃度、pH、攪拌速度、培養時間など、精製工程では、カラムのサイズ、負荷量、緩衝液組成、流速などがあげられる。精製工程パラメーターの許容範囲は、不均一性プロファイルや不純物除去効率への影響を考慮して設定する。また、培養工程における細胞密度、生存率や、精製工程における回収率などの各工程の特性が一定の範囲内となるよう管理することも、品質確保のために必要と考えられる。品質への影響が特に大きい工程は重要工程と位置付けられる。重要工程の主な例としては、生産培養の工程、ウイルス不活化及び除去工程、アフィニティークロマトグラフィー工程などがあげられる。

b. 工程内試験

バイオ医薬品の品質管理において、製造工程由来不純物やウイルス、外来性の感染性因子などの汚染物質の混入に対し、工程内試験での管理が可能あるいは適切と考えられる。工程内試験の例として、生産培養後の外来性ウイルス試験、ウイルス除去フィルターや無菌ろ過フィルターの完全性試験、宿主細胞由来タンパク質や宿主細胞由来DNAなど製造工程由来不純物の試験、バイオバーデン試験などがあげられる。工程内試験も、分析法バリデーションなどの適切な方法で妥当性を評価する。

1.2.3. 混入汚染物質の評価と管理

混入汚染物質とは、製造工程には本来存在しないはずのもので、外来性の化学物質や生化学的な物質、あるいは微生物類のようなものを指す。安全性確保の観点から、汚染物質の混入は厳に避けるべきであり、適切な製造工程を構築した上で、上述したように、原材料管理、工程内試験あるいは規格及び試験方法により適正に管理する必要がある。

ウイルスは、製造過程から外来性因子として混入する可能性があるほか、用いる細胞基材に内在性因子として存在している可能性がある。生物由来原料を用いる製品に特有のウイルス汚染を防ぎ、安全性を確保するための合理的な方策として、以下の三つの主要な相補的アプローチを講じる。1) ヒトに対して感染性や病原性を示す可能性のあるウイルスの存在を否定するために、細胞株、その他培地成分を含む原材料を選択し、試験すること。2) 製造工程の感染性ウイルス不活化／除去能力を評価すること。3) 製造工程の適切な段階において、感染性ウイルス否定試験を行うこと。詳細は参考情報「日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件〈G3-13-190〉」に記載されている。

1.2.4. 規格及び試験方法

a. 規格及び試験方法の設定根拠

規格及び試験方法に採用する項目及び試験法は、構築された品質管理戦略に応じて異なる。規格値／適否の判定基準の設定根拠を明らかにする必要がある。規格値／適否の判定基準は、臨床試験に用いたロットから得られたデータ、製造の一定性を示すために用いたロットから得られたデータ、及び安定性試験データ、並びに製品の開発段階で得られた適切なデータに基づいて設定し、その根拠を示す必要がある。

b. 性状

原薬及び製剤の物理的状態(例えば、固体、液体)、色を定性的に規定する。製剤が溶液である場合は澄明度についても規定する。

c. 確認試験

有効成分の分子構造上の特徴や特有の性質に基づいて特異的な試験を設定する。同一性を確認するために、通例、原薬では2種類以上の試験(理化学的試験、生物学的試験、免疫化学的試験等)が設定される。製剤では1種類の試験で十分であると考えられるが、製品によっては2種類以上の試験が必要となる場合もある。

d. 示性値

示性値として設定する特性には、糖鎖、電荷、分子量・分子サイズなどがある。目的物質関連物質と目的物質由来不純物を分離するのが困難で、純度試験として設定できない場合など、不均一性プロファイルを示性値として規定する。代表的な例には、糖鎖プロファイルや電荷プロファイルなどが挙げられる。その他、原薬及び製剤の品質を確保する上で重要となる特性について試験を設定する。試験項目の例としては、pHや浸透圧などがある。

e. 純度試験

純度は、通常、複数の分析方法の組み合わせにより評価する。不純物に関する試験方法の選択及び最適化に際しては、目的物質及び目的物質関連物質を、不純物(目的物質由来不純物と製造工程由来不純物)から分離すること、あるいは識別できることに重点を置くべきである。

f. 生物活性

バイオ医薬品の規格及び試験方法には、通例、生物活性に関する試験が必要である。有効成分の作用機序を考慮し、特性解析に用いられた手法の中から適したものを、生物活性試験として設定する。規格値は、溶液中の力価を指標とする場合は、単位/mLで表し、タンパク質量当たりの力価を指標とする場合は、単位/mgで表す。タンパク質量当たりの力価は、比活性と呼ばれる。これらのほか、標準物質と比活性を比較し、これを百分率(%)で表示して、規格値とする場合もある。近年、単位を設定せず、標準物質との比活性の比(%)を規格値として設定する例が増えている。

g. 定量法

原薬や製剤に含まれる有効成分の含量は、タンパク質含量(質量)あるいは力価(単位)で表される。製品品質の重要な要素であるので、適切な定量法を用いて測定する。タンパク質含量を求める試験には、参考情報「タンパク質定量法〈G3-12-172〉」に掲載されている方法、HPLCを用いて標準物質とピーク面積を比較する方法等が用いられる。力価の測定には、生物学的試験が用いられる。

理化学的試験法により、高次構造に関する情報を含めて、当該製品に関する十分な物理的・化学的情報が得られ、かつ生物活性との適切な相関が証明されていること、更に十分に確立された製造実績がある場合には、力価を求める生物学的試験を理化学的試験法に置き換えることができる。インスリン類等では、HPLCを用いた定量法により、単位の表示された標準物質とピーク面積を比較することで、試料中の有効成分の含量(単位)を求めることとされている。

h. 製剤試験

剤形に応じた製剤試験を実施する。バイオ医薬品の多くは注射剤であるため、無菌試験、エンドトキシン試験、採取容量試験、不溶性微粒子試験及び不溶性異物検査などを実施する。

1.2.5. 安定性試験

a. 試験条件

バイオ医薬品の有効期間の設定は、通常、申請する製品の実保存期間、実保存温度における長期保存試験の成績に基づいて行う。加速試験及び苛酷試験により、有効期間設定の補足情報や品質変化の機構解明に有用な情報が得られるほか、分析法の妥当性や、輸送中などの条件の影響を評価できる。

b. 測定項目

バイオ医薬品の保存中には生物活性の低下や物理的・化学的性質の変化が生じる可能性があるため、安定性試験においては、様々な分析手法により総合的に品質特性を評価する必要がある。通常、特性解析において解析した項目や用いた分析方法などを用いて、生物活性や分子不均一性、目的物質由来不純物に関連した項目など、製品の特性に応じて、安定性の変化を評価できる適切な項目及び試験方法を実施する。

2. 製造工程の変更に伴う同等性／同質性評価

バイオ医薬品の製造工程を変更する際には、変更された製造工程で製造された最終製品の品質・有効性・安全性を確保するため、同等性／同質性の評価作業を実施する。同等性／同質性とは、必ずしも変更前後の品質特性が全く同じであることを意味するものではなく、変更前後の品質特性の類似性が高いこと、ならびに品質特性に何らかの差異があったとしても、既存の知識から最終製品の有効性・安全性には有害な影響を及ぼさないであろうことが十分に保証できることを意味する。品質特性の比較のみで同等性／同質性を判定できない場合には、非臨床試験や臨床試験を組み合わせて評価を実施する。

2.1. 同等性／同質性評価作業に関する留意事項

変更前後の同等性／同質性を立証する試験をどの程度まで実施すべきかは、変更した製造工程、製法変更が品質特性に及ぼす影響に関するリスクレベル、試験に用いる分析方法の適切さ、非臨床及び臨床上の経験に基づいた品質特性と安全性及び有効性との関係等を配慮して検討する。製品の同等性／同質性の判断は、特性解析データ、タンパク質の変化・分解状況により製品間の差異が生じている可能性を検証した安定性データ、製造の恒常性を証明するために用いたロットデータ、これまでに蓄積された製造工程変更による品質特性の変動と安全性及び有効性との関連に関するロットデータ、製品の非臨床あるいは臨床上の特徴及び臨床適応症などを配慮して行う。

2.2. 品質に関する留意事項

既に実施した特性解析の全てあるいはその一部(一部とした場合は、その妥当性を説明する必要がある)を再度実施することで、変更前後の品質特性を直接比較し、同等性／同質性を判

断するのに必要なデータを取得する。ただし、変更前後で不均一性や不純物プロファイルに差異が認められた場合など、追加的な特性解析によって差異の意味を評価する必要がある。同じ品質特性項目を評価する場合にも、複数の分析方法や測定原理の異なる分析方法を適用し、製造工程の変更により生じる可能性のある品質特性の変化を最大限検出できるよう、工夫する必要がある。また、製造工程の些細な変更でも、製品の安定性に影響する可能性があるため、品質特性に影響する可能性のある製造工程を変更する際は、製品の安定性に及ぼす影響も評価する。

2.3. 製造工程に関する留意事項

製造工程変更後の工程管理が、変更前と比較して、同等以上に効果的に製品の品質を保証できることを確認する。計画した製造工程変更がその下流工程へ与える影響、及びそれらの各工程に関連する品質特性へ与える影響について慎重に検討することが重要である。変更後の工程は、必要に応じて再度プロセス・バリデーション／プロセス評価を実施する。

3. 参考資料

- 1) ICH: Guideline for Q5A(R1), Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived from Cell Lines of Human or Animal Origin.
- 2) ICH: Guideline for Q5B, Quality of Biotechnological Products: Analysis of the Expression Construct in Cells Used for Production of R-DNA Derived Protein Products.
- 3) ICH: Guideline for Q5C, Quality of Biotechnological Products: Stability Testing of Biotechnological/Biological Products.
- 4) ICH: Guideline for Q5D, Derivation and Characterization of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products.
- 5) ICH: Guideline for Q5E, Comparability of Biotechnological/Biological Products Subject to Changes in Their Manufacturing Process.
- 6) ICH: Guideline for Q6B, Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products.

アミノ酸分析法〈G3-2-171〉

本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。

アミノ酸分析法は、タンパク質、ペプチド、その他の医薬品のアミノ酸組成やアミノ酸含量を測定する方法をいう。タンパク質及びペプチドはアミノ酸残基が共有結合で直鎖状に重合した高分子であり、そのアミノ酸配列はタンパク質やペプチドの特性を規定している。タンパク質は通常特定のコンフォメーションを持った折りたたみ構造をとる大きな分子と考えられる。一方、ペプチドは比較的小さな分子であり、2～3個のアミノ酸で構成されていることもある。アミノ酸分析法は、タンパク質やペプチドの定量、同定、構造解析に利用でき、ペプチドマップ法におけるペプチド断片の評価、タンパク質やペプチド

中の異常アミノ酸の検出などにも利用できる。分析する前にタンパク質又はペプチドを各構成アミノ酸に加水分解する必要があるが、加水分解の後に行うアミノ酸分析操作は他の医薬品中の遊離アミノ酸の分析で行われている方法と同じであり、加水分解試料中のアミノ酸は一般に誘導体化して分析する。

装置

アミノ酸分析に用いる方法論は通常、試料中のアミノ酸のクロマトグラフィーによる分離に基づいている。最近の技法は専らアミノ酸分析用に作られた自動クロマトグラフィー装置を利用している。アミノ酸分析装置は、基本的にはカラム上でアミノ酸を分離するための移動相勾配を作成できる低圧又は高圧液体クロマトグラフィー装置である。装置にはプレカラム誘導体化で分析する以外はポストカラム誘導体化機能を備えていなければならない。検出器は利用する誘導体化の方法によって異なるが、通常紫外可視検出器か蛍光検出器が用いられる。記録計(例えば、インテグレーター)は検出器からのシグナルをアナログ信号に変換し、定量できるものを用いる。使用する装置はアミノ酸分析専用のものが望ましい。

一般的注意

アミノ酸分析中、分析者は目立たないところでの汚染に常に注意を払う必要があり、高純度の試薬が必要となる(例えば、低純度の塩酸はグリシンの混入を招くことがある)。分析試薬類は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)用溶媒類のみを使用し、数週間ごとに定期的に交換すべきである。混入の可能性のある微生物や溶媒中に存在する異物は使用する前にろ過して除き、蓋をした容器に保存し、分析装置は直射日光の当たらない場所に設置する。

実験のやり方がアミノ酸分析の質を左右する。装置は実験室内の人通りの少ない場所に設置し、室内は清潔に保つこと。ピペット類は保守手順書に従って清潔にし、調整すること。ピペットチップは蓋のある箱に保管し、素手でチップをつまんだりしないこと。実験者はパウダーの付いていないラテックス製の手袋を着用すること。埃がグリシン、セリン及びアラニンの含量を増加させることがあるので、試料バイアルの開け閉めの回数は制限すること。

良好な分析結果を得るにはよく手入れされた装置が必要である。分析装置が日常的に使用されている場合には、漏れ、検出器・ランプの安定性、カラムの性能を毎日チェックする。装置の全てのフィルター及びその他の点検箇所は規定の保守管理表に従って清掃あるいは交換する。

標準物質

分析に用いるアミノ酸の標準物質としては市販品が入手可能であり、通常、アミノ酸の混合水溶液となっている。アミノ酸組成を測定する場合、全体の操作が完全であることを示すために、タンパク質又はペプチドの標準品/標準物質を対照として試料と共に分析する。この目的のためのタンパク質としては高純度のウシ血清アルブミンが用いられる。

装置の校正

アミノ酸分析装置の校正は通常、標準アミノ酸混液を分析して行い、各アミノ酸の感度係数や測定範囲を調べる。標準アミノ酸混液の各アミノ酸濃度は既知であるので、校正にあたっては、用いる分析方法で直線関係が得られると思われる濃度範囲内の幾つかの異なる濃度に標準アミノ酸混液を希釈し、これらについて試験を繰り返す。得られた各アミノ酸のピーク面積を

希釈液中の各アミノ酸の既知濃度に対してプロットする。この結果から、あるアミノ酸のピーク面積がアミノ酸濃度と直線関係にある濃度範囲を調べることができる。正確で再現性のある結果を得るには、使用する分析方法での分析限界以内(例えば、直線範囲内)にある濃度の試料を調製することが重要である。

各アミノ酸の感度係数を調べるには、4～6種の濃度の標準アミノ酸について分析する。感度係数は標準液中に存在するアミノ酸1 nmol当たりの平均ピーク面積又は平均ピーク高さとして算出する。各アミノ酸の感度係数を校正ファイルに記録しておき、試料中のアミノ酸の算出に利用する。この計算はアミノ酸のピーク面積をそのアミノ酸の感度係数で除し、そのアミノ酸のnmol数を求める。日常の分析では一点校正で十分である。しかしながら、校正ファイルは異常のないことを確認するために対照標準物質の分析によって十分に吟味され頻繁に更新されている必要がある。

再現性

一貫した良好な分析結果は試験の再現性に注意を払う実験室から得られるものである。HPLCによるアミノ酸又はその誘導体の分離では、各アミノ酸に対応する多数のピークがクロマトグラム上にみられる。ピークの数が多いため、保持時間でピークを同定したり、定量のためにピーク領域を積分したりすることのできる分析システムが必要となる。一般的な再現性の評価では、標準アミノ酸溶液を調製し、同一標準液を用いて多数回(例えば、6回以上)分析を繰り返し、各アミノ酸の保持時間及びピーク面積の相対標準偏差(RSD)を求める。更に、実験者を変えた数日間にわたる複数回の測定で再現性の評価を行う。この場合、試料の取扱いに起因する変動も調べるため、標準液の希釈操作も毎回行う。標準タンパク質(例えば、ウシ血清アルブミン)のアミノ酸組成の分析も再現性の評価の一部としてしばしば行われる。変動(すなわち、RSD)を評価することによって、その実験室から得られる分析値が管理されたものであることを確認するための限度値を設定することができる。最良の結果を得るためには、最も低い実際のな変動の限度値を設定することが望ましい。アミノ酸分析の変動を小さくするために注意すべき事柄には、試料の調製、試薬の品質や実験操作に起因するスペクトル妨害、装置の性能及び保守、データの解析とその解釈、実験者の技量や癖などがある。バリデーションは、関連する全てのパラメーターについて十分に検討する。

試料調製

アミノ酸分析の正確な結果を得るためには精製されたタンパク質又はペプチド試料が必要である。緩衝液組成(例えば、塩類、尿素、界面活性剤)は分析に影響を与えることがあるので、分析の前に試料から取り除く必要があるが、一般にポストカラム誘導体化法はプレカラム誘導体化法ほどにはこれらの物質の影響を受けない。汚染の可能性を減少させ、回収率を高め、労力を減少させるためには、試料の処理操作の回数を少なくするほうがよい。タンパク質試料から緩衝液成分を除去する一般的な方法には、1)逆相HPLC装置に試料を注入し、有機性の揮発性溶媒でタンパク質を溶出させ、これを真空遠心分離で乾燥させる；2)揮発性の緩衝液又は水に対して透析する；3)緩衝液を遠心限外ろ過で揮発性の緩衝液又は水に置き換える；4)有機溶媒(例えば、アセトン)でタンパク質を沈殿させる；5)ゲルろ過などがある。

内標準物質

アミノ酸分析中での物理的及び化学的損失及び変化をチェックするために、内標準物質を用いることが推奨される。加水分解の前にタンパク質溶液に正確な既知量の内標準物質を添加すると、タンパク質溶液からのアミノ酸の一般的な回収率が内標準物質の回収率から得られる。しかし、タンパク質中のアミノ酸の遊離又は分解の速度には違いがあるため、遊離アミノ酸の加水分解中の挙動はタンパク質に含まれるアミノ酸と同じではない。したがって、加水分解中に生じる損失を補正するために内標準物質を用いるとき、信頼できる結果が得られないことがある。結果を解釈するとき、この点を考慮に入れる必要がある。試料の分析ごとの差異及び試液の安定性や流量の変動を補正するために加水分解後のアミノ酸混液に内標準物質を添加することもできる。理想的には、内標準物質は市販品として入手可能で安価な自然界に存在しない α -アミノ酸がよい。しかも、加水分解に対して安定でなければならず、シグナル強度も濃度と直線関係にあり、他のアミノ酸と重ならない保持時間を持っていることが必要である。一般的に用いられる内標準物質にはノルロイシン、ニトロクロシン又は α -アミノ酪酸がある。

タンパク質の加水分解

タンパク質及びペプチドのアミノ酸分析にはこれら試料の加水分解が必要である。加水分解用のガラス器具には誤った結果を避けるために極力清浄にしたものを使用する必要がある。加水分解管壁面の指紋や手袋のパウダーは汚染の原因となる。ガラス製加水分解管は、1 mol/L塩酸中で1時間煮沸するか、硝酸又は塩酸/硝酸混液(1:1)に浸して洗浄する。洗浄した加水分解管は高純度の水で洗い、更にHPLC用メタノールで洗う。その後、乾燥器で一晩乾燥し、使用するまで覆いをして保存する。ガラス容器を500℃で4時間乾熱して汚染物を除去してもよい。適当な使い捨ての実験用器具を用いることもできる。

酸加水分解は、アミノ酸分析の前にタンパク質試料を加水分解する最も一般的な方法である。この加水分解方法は幾つかのアミノ酸を完全に又は部分的に破壊するため、分析結果に変動をもたらすことがある。トリプトファンは破壊され、セリンとトレオニンは一部破壊され、メチオニンは酸化され、システインは一般にシスチンとして回収される(ただし、シスチンの一部は破壊されたりシステインに還元されるため、通常その回収率は低い)。加水分解容器の内部を適切な真空度(0.0267 kPa以下)にするか不活性ガス(アルゴン)で置換すると酸化による破壊を抑えることができる。イソロイシンやバリンを含むペプチド結合のうち、Ile-Ile、Val-Val、Ile-Val及びVal-Ileのアミド結合は一部しか切断されず、アスパラギンとグルタミンは脱アミド化されてそれぞれアスパラギン酸とグルタミン酸になる。酸加水分解中にトリプトファン、アスパラギン及びグルタミンは消失するため、定量できるのは17種のアミノ酸に限られる。以下に述べる加水分解法の幾つかはこれらの問題に対処するために利用する。また、この加水分解法の幾つか(すなわち、方法4～11)はシステイン、メチオニン、アスパラギン、グルタミンを他のアミノ酸に変換させる方法である。したがって、酸加水分解以外の方法を用いる前に、その方法を用いることの利点と問題点をよく比較検討しておく。

一部が破壊されるアミノ酸やペプチド結合の開裂が遅いアミノ酸の濃度を分析するために、時間経過に沿った試験(すなわち、酸加水分解時間24、48及び72時間での分析)がしばしば行

われる。不安定なアミノ酸(すなわち、セリンとトレオニン)の測定濃度を加水分解時間に対してプロットし、得られた直線を時間ゼロに外挿することによりそれらの濃度を決定することができる。時間経過に沿った加水分解試験は開裂の遅いアミノ酸(例えば、イソロイシンやバリン)に対しても用いられ、これらのアミノ酸の濃度がプラトーに達した点を調べ、これをこれらのアミノ酸の濃度とする。加水分解時間が長くなりすぎるとこのアミノ酸の濃度は減少し始めるが、これはこの加水分解条件で分解することを示している。

時間経過に沿った試験方法に代わる方法として、標準アミノ酸を試料と同一条件で加水分解する方法がある。加水分解において、遊離アミノ酸はペプチド又はタンパク質中の不安定なアミノ酸の分解速度を完全には再現できない。このことは特に開裂の遅いペプチド結合(例えば、Ile-Val結合)についていえる。しかし、この方法によって破壊されるアミノ酸の量を測定することができる。マイクロ波による酸加水分解が利用されている。この方法は迅速ではあるが、特別な機器と注意が必要である。マイクロ波加水分解での至適条件はそれぞれの試料タンパク質又はペプチドについて調べる必要がある。一般にこの方法での処理時間は僅か数分間であるが、1分間の変動でも適切な結果をもたらさない(例えば、不安定なアミノ酸の不完全な加水分解や破壊)。数種のプロテアーゼを用いた完全タンパク質消化も利用されているが、これは処理が複雑で、厳密な調節が必要である。そのため、一般にはタンパク質よりもペプチドに適用される。

注：未知タンパク質を初めて分析するときには、異なる加水分解時間や温度条件で実験して至適条件を決定する。

方法 1

フェノールを含む塩酸を用いた酸加水分解がタンパク質又はペプチドの加水分解に用いられる最も一般的な方法である。フェノールの添加はチロシンのハロゲン化を防止する。

加水分解液 フェノールを0.1～1.0%含む6 mol/L塩酸。

操作法

液相加水分解 試料タンパク質又はペプチドを加水分解管に入れ、乾燥する。(注：試料中の水分で加水分解用の塩酸が希釈されないように、試料を乾燥する。)凍結乾燥タンパク質500 µg当たり加水分解液200 µLを加え、ドライアイス-アセトン浴中で凍結させた後、減圧下で管を熔封する。酸化を防ぐため、通常110℃で24時間、減圧下又は不活性ガス置換下で試料を加水分解する。タンパク質が完全に加水分解されない懸念がある場合は、長時間の加水分解(例えば、48、72時間)についても調べる。

気相加水分解 この方法は最も一般的な酸加水分解法の一つであり、試料が少量しか入手できない場合の微量分析に適している。塩酸からの試料の汚染も本法を用いることによって最小限に抑えられる。乾燥した試料の入ったバイアル瓶を適量の加水分解液を入れた容器の中に置く。このとき、加水分解液が試料の入ったバイアル瓶に入らないように注意する。容器の内部を不活性ガスで置換するか減圧(0.0267 kPa以下)にして、約110℃で24時間加熱する。気体状の酸が乾燥試料を加水分解する。試料バイアル瓶中での酸の凝結は最小限にする。加水分解後、試料を減圧乾燥して残留する酸を除く。

方法 2

加水分解によるトリプトファンの酸化は、メルカプトエタン

スルホン酸を酸に用いることで減少させることができる。

加水分解液 2.5 mol/Lメルカプトエタンスルホン酸溶液。

気相加水分解 試料タンパク質又はペプチド約1 ~ 100 µgを加水分解管に入れ、乾燥する。この加水分解管を加水分解液約200 µLを入れたより大きなガラス管の中に入れ、この管を減圧(約0.0067 kPa)下で熔封し、加水分解液を気化させる。これを170 ~ 185℃で約12.5分間加熱する。加水分解後、加水分解管を減圧下で15分間乾燥し、残留する酸を除く。

方法3

加水分解によるトリプトファンの酸化はチオグリコール酸を還元剤として用いることによって防げる。

加水分解液 10%トリフルオロ酢酸、20%チオグリコール酸及び1%フェノールを含む7 mol/L塩酸溶液。

気相加水分解 試料タンパク質又はペプチド約10 ~ 50 µgを試料管中で乾燥する。この試料管を加水分解液約200 µLを入れたより大きなガラス管の中に入れ、この管を減圧(約0.0067 kPa)下で密封してチオグリコール酸を気化させ、166℃で約15 ~ 30分間加熱する。加水分解後、試料管を減圧下で5分間乾燥し、残留する酸を除く。この方法によるトリプトファンの回収率は用いる試料の量に依存する。

方法4

タンパク質の加水分解に先立ち、過ギ酸を用いてシステイン/シスチン及びメチオニンを酸化する。

酸化液 ギ酸と30%過酸化水素を9:1で混ぜ、1時間室温に放置する。用時製する。

操作法 試料タンパク質又はペプチドをギ酸20 µLに溶かし、50℃で5分間加熱した後、酸化液100 µLを加え、10 ~ 30分間放置する。この反応で、システインはシステイン酸に、メチオニンはメチオニンスルホンに変換される。過剰の試薬は真空遠心分離して試料から除く。ハロゲン化合物が存在するとチロシンの修飾が起こる。過ギ酸酸化したタンパク質は方法1又は方法2で加水分解する。

方法5

システイン/シスチンの酸化はアジ化ナトリウムを用いた液相加水分解中に行われる。

加水分解液 0.2%のフェノールを含む6 mol/L塩酸にアジ化ナトリウムを最終濃度0.2 w/v%になるように加える。フェノールはチロシンのハロゲン化を防止する。

液相加水分解 試料タンパク質又はペプチドを約110℃で24時間加水分解する。この加水分解中に、試料中のシステイン/シスチンは加水分解液に含まれるアジ化ナトリウムによってシステイン酸に変換される。この方法は方法4よりもチロシンの回収率はよいが、メチオニンは定量的に回収されない。メチオニンは一部が酸化されて、メチオニンスルホキシド及びメチオニンスルホンに変わる。

方法6

システイン/シスチンの酸化はジメチルスルホキシドで行われる。

加水分解液 0.1 ~ 1.0%のフェノールを含む6 mol/L塩酸にジメチルスルホキシドを最終濃度2 vol%になるように加える。

気相加水分解 試料タンパク質又はペプチドを約110℃で24時間加水分解する。この加水分解中に、試料中のシステイン/シスチンは加水分解液に含まれるジメチルスルホキシドによってシステイン酸に変換される。ばらつきを少なくし、部分破壊

を補正する方法として、タンパク質1 mol当たり1 ~ 8 molのシステインを含む標準タンパク質を酸化的加水分解して得られるシステイン酸の回収率を調べるのが推奨される。タンパク質又はペプチドの加水分解物からの回収率は、加水分解していないシステイン酸標準品からの回収率より一般に約30%低い。ヒスチジン、メチオニン、チロシン及びトリプトファンも修飾されるので、本法では完全なアミノ酸組成分析は行えない。

方法7

システイン/シスチンの還元及びアルキル化は気相ピリジリエチル化反応で行われる。

還元液 ピリジン83.3 µL、4-ビニルピリジン16.7 µL、トリブチルホスフィン16.7 µL及び水83.3 µLを適当な容器にとり、混和する。

操作法 試料タンパク質又はペプチド(1 ~ 100 µg)を加水分解管にとり、この管をより大きなガラス管の中に入れる。大きいガラス管の中に還元液を入れ、減圧(約0.0067 kPa)下で密封し、約100℃で5分間放置する。次に、加水分解管を取り出し、減圧デシケーター中で15分間乾燥し、残留する試薬を除く。ピリジリエチル化したタンパク質又はペプチドは前記の方法で酸加水分解する。このピリジリエチル化反応をタンパク質1 mol当たり1 ~ 8 molのシステインを含む標準タンパク質について同時に行い、ピリジリエチル化システインの回収率を補正する。ピリジリエチル化反応を長時間行くと、タンパク質中の末端α-アミノ基及びリシンのε-アミノ基が修飾される可能性がある。

方法8

システイン/シスチンの還元及びアルキル化は液相ピリジリエチル化反応で行われる。

原液 次の3種類の原液を調製し、ろ過する。原液A: 4 mmol/Lエチレンジアミン四酢酸二ナトリウムを含むpH 8.5の1 mol/Lトリス緩衝液、原液B: 8 mol/L塩酸グアニジン溶液、原液C: 10% 2-メルカプトエタノール溶液。

還元液 原液B/原液A混液(3:1)を調製し、6 mol/L塩酸グアニジンを含む0.25 mol/Lトリス緩衝液とする。

操作法 試料約10 µgを還元液50 µLに溶かし、原液C約2.5 µLを加える。この液を窒素あるいはアルゴンの存在下で暗所に室温で2時間放置する。次に、この液に4-ビニルピリジン約2 µLを加え、更に2時間室温で暗所に放置してピリジリエチル化反応を行う。逆相HPLCを用いてタンパク質又はペプチド画分を集め、脱塩する。脱塩した試料は酸加水分解する前に、真空遠心分離で乾燥させる。

方法9

システイン/シスチンの還元及びアルキル化は液相カルボキシメチル化反応で行われる。

原液 方法8に従って調製する。

カルボキシメチル化溶液 エタノール(95) 1 mL当たりヨードアセタミド100 mgを含む液を調製する。

緩衝液 方法8で調製した還元液を用いる。

操作法 試料を緩衝液50 µLに溶かし、原液C約2.5 µLを加える。これを窒素又はアルゴンの存在下で暗所に室温で2時間放置する。次に、総チオール理論量の1.5倍量のカルボキシメチル化溶液を加え、暗所に室温で更に30分間放置する。(注: タンパク質のチオール含量が不明の場合には、タンパク質20 nmol当たり100 mmol/Lヨードアセタミド溶液5 µLを加

える。)反応は過剰の2-メルカプトエタノールを加えて停止させる。タンパク質又はペプチドの脱塩は逆相HPLCによる分離で行う。酸加水分解する前に、集めた試料は真空遠心分離で乾燥させる。生成したS-カルボキシアミドメチルシステインは酸加水分解の過程でS-カルボキシメチルシステインに変化する。

方法10

システイン/シスチンはジチオジグリコール酸又はジチオジプロピオン酸と反応して混合ジスルフィドを生成する。(注:ジチオジグリコール酸又はジチオジプロピオン酸のいずれを用いるかはアミノ酸分析からどのような結果を望むかによる。)

還元液 ジチオジグリコール酸(又はジチオジプロピオン酸)の0.2 mol/L水酸化ナトリウム溶液(1→100)を調製する。

操作法 試料約20 µgを加水分解管に入れ、還元液5 µLを加える。これに2-プロパノール10 µLを加え、真空遠心分離で水分を除去した後、方法1により加水分解する。この方法の利点は、他のアミノ酸残基が副反応によって誘導体化されず、また加水分解前の試料の脱塩が不必要な点である。

方法11

酸加水分解によってアスパラギンとグルタミンはそれぞれアスパラギン酸とグルタミン酸に変換され、アスパラギンとアスパラギン酸を合わせてAsxで表し、グルタミンとグルタミン酸を合わせてGlxで表す。タンパク質又はペプチドはビス(1,1-トリフルオロアセトキシ)ヨードベンゼン(BTI)と反応し、加水分解によってアスパラギン及びグルタミンはそれぞれジアミノプロピオン酸及びジアミノ酪酸に変化する。この変化によりアスパラギン酸及びグルタミン酸を含むタンパク質又はペプチド中のアスパラギン及びグルタミンの含量を測定することができる。

還元液 次の3種類の溶液を調製し、ろ過する。溶液A: 10 mmol/Lトリフルオロ酢酸溶液、溶液B: 5 mol/L塩酸グアニジン及び10 mmol/Lトリフルオロ酢酸を含む水溶液、溶液C: 用時調製したビス(1,1-トリフルオロアセトキシ)ヨードベンゼンのN,N-ジメチルホルムアミド溶液(9→250)。

操作法 洗浄した加水分解管に試料約200 µgをとり、溶液A又は溶液B 2 mL及び溶液C 2 mLを加え、減圧下で加水分解管を密封する。これを暗所で60℃、4時間加熱する。次にこの試料を水に対して透析し、過剰の試薬を除く。透析した試料を同量のn-ブチル酢酸で3回抽出した後、凍結乾燥する。このタンパク質試料を前述した方法で酸加水分解する。ジアミノプロピオン酸及びジアミノ酪酸はアミノ酸分析で用いるイオン交換クロマトグラフィーでは通常リシンとは分離しない。したがって、アミノ酸分離モードでイオン交換クロマトグラフィーを行ったときは、アスパラギン及びグルタミンの含有量は非誘導体化酸加水分解とBTI誘導体化酸加水分解で得られたアスパラギン酸及びグルタミン酸の量の差として求められる。(注:トレオニン、メチオニン、システイン、チロシン及びヒスチジンの測定値はBTI誘導体化によって変動することがある。したがって、これらのアミノ酸の組成を求める場合は、BTIを用いない加水分解法を行う必要がある。)

アミノ酸分析の方法論とその基本原理

アミノ酸の分析には多くの方法があり、どの方法を選ぶかは測定に要求される感度に依存する。一般に、用いられているほぼ半数の方法はイオン交換クロマトグラフィーで遊離アミノ酸

を分離した後に誘導体化(例えば、ニンヒドリンやo-フタルアルデヒドによる誘導体化)して検出するポストカラム法である。この方法は塩類や尿素などの少量の緩衝液成分を含む試料に利用することができ、1分析当たり通常5 ~ 10 µgのタンパク質試料を必要とする。その他の方法は一般に遊離アミノ酸を誘導体化(例えば、フェニルイソチオシアネート、6-アミノキノール-N-ヒドロキシスクシンイミジルカルバメイト、o-フタルアルデヒド、(ジメチルアミノ)アゾベンゼンスルホニルクロリド、9-フルオレニルメチルクロロギ酸、7-フルオロ-4-ニトロベンゾ-2-オキサー-1,3-ジアゾールなどによる誘導体化)した後に逆相HPLCで分離するプレカラム法である。この方法は感度が非常に高く、通常1分析当たり0.5 ~ 1.0 µgのタンパク質試料でよいが、試料中の塩類の影響を受けやすい。更に、複数のアミノ酸誘導体を生じ、結果の解釈を複雑にする可能性がある。操作上の変動に対して、一般にポストカラム法のほうがプレカラム法に比べて影響を受けにくい。

次に掲げる方法がアミノ酸の定量分析に利用できる。これらの方法に用いる装置及び試薬類は市販されている。これらの方法には、試液の調製法、反応の操作法、クロマトグラフィーのシステムなどが異なる多くの変法がある。特定のパラメーターは実際に使用する装置や操作によって変わってくる。多くの実験室では各方法の持つ利点を利用するために複数の分析方法を用いている。これらの各方法では、アナログ信号がデータ取り込み装置によって視覚化され、定量するためにピーク面積が計算される。

方法1 ニンヒドリンによるポストカラム検出法

ポストカラムでニンヒドリンにより検出するイオン交換クロマトグラフィーは定量的アミノ酸分析に利用される最も一般的な方法の一つである。通例、より複雑な生体試料の分析にはLi⁺を基本とした陽イオン交換系を利用し、Na⁺を基本とした陽イオン交換系はタンパク質の加水分解で得られる単純なアミノ酸混合物(通常17種のアミノ酸成分を含む)の分析に用いられる。イオン交換カラム上でのアミノ酸の分離はpH及びイオン強度の変化を組み合わせで行われる。分離を良くするために温度の勾配変化もしばしば使用される。

アミノ酸がニンヒドリンと反応すると、特徴的な紫色又は黄色を呈する。イミノ酸以外のアミノ酸は紫色を呈し、波長570 nmに吸収の極大を示す。プロリンのようなイミノ酸は黄色を呈し、波長440 nmに吸収の極大を示す。カラムから溶出したアミノ酸とニンヒドリンの反応は440 nmと570 nmの両波長で記録し、得られたクロマトグラムはアミノ酸組成の決定に利用される。

検出限界はほとんどのアミノ酸で約10 pmolであるが、プロリンでは約50 pmolである。20 pmolから500 pmolの範囲で相関係数0.999以上の良好な直線性が得られる。良好な組成値を求めるには、加水分解前の量として1 µg以上のタンパク質試料を用いるのがこの分析方法にとって最も適している。

方法2 OPAによるポストカラム蛍光検出法

o-フタルアルデヒド(OPA)はチオール化合物の存在下で一級アミンと反応し、強い蛍光を持つイソインドール化合物を生成する。この反応は、イオン交換クロマトグラフィーによるアミノ酸分析のポストカラム誘導体化法として利用される。アミノ酸の分離は方法1と同じ原理である。この方法を用いたアミノ酸分析装置とその試薬は市販されている。また、この方法に

は多くの変法がある。

OPAは二級アミン(プロリンなどのイミノ酸)とは反応しないので、OPAと反応するように二級アミンを次亜塩素酸ナトリウムで酸化し、蛍光誘導体を生成させる。強酸性陽イオン交換カラムを用いて遊離アミノ酸を分離し、続いて次亜塩素酸ナトリウムで酸化し、OPA及び*N*-アセチル-L-システインや2-メルカプトエタノールのようなチオール化合物を用いて誘導体化する。α-アミノ酸の誘導体化は次亜塩素酸ナトリウムの影響をほとんど受けない。

イオン交換カラムでのアミノ酸の分離はpH及びイオン強度の変化を組み合わせで行う。溶出したアミノ酸をOPAで誘導体化した後、反応物を蛍光検出器に通過させる。OPA-誘導体化アミノ酸の蛍光強度は励起波長348 nm、蛍光波長450 nmで測定する。

検出限界はほとんどのアミノ酸誘導体で数10 pmolのレベルである。数pmolから数10 nmolの範囲で直線性が得られる。良好な組成値を求めるには、加水分解前の量として500 ng以上の試料で分析を始めるのがこの方法にとって最も適している。

方法3 PITCプレカラム誘導体化法

フェニルイソチオシアネート(PITC)はアミノ酸と反応してフェニルチオカルバミル(PTC)誘導体を生成する。この誘導体は波長245 nmで高感度に検出することができる。そのため、アミノ酸をPITCで誘導体化し、逆相HPLCで分離した後に紫外吸光度計で検出し、アミノ酸組成を分析する。

誘導体化されたアミノ酸は、試薬を減圧下で除いた後、乾燥して凍結すれば数週間は安定に保存することができる。装置に注入するために溶解したものは、冷所に保存すれば、3日間はクロマトグラフ上での目立った変化は起こらない。

ODSカラムを用いた逆相HPLCでのPTC-アミノ酸の分離はアセトニトリル濃度と緩衝液のイオン強度の変化を組み合わせで行う。カラムから溶出したPTC-アミノ酸は波長254 nmで検出する。

検出限界はほとんどのアミノ酸誘導体で1 pmolである。20 pmolから500 pmolの範囲で相関係数0.999以上の良好な直線性が得られる。良好な組成値を求めるには、加水分解前の量として500 ng以上の試料を用いるのがこの分析方法にとって最も適している。

方法4 AQCプレカラム誘導体化法

カラムに導入する前にアミノ酸を6-アミノキノリル-*N*-ヒドロキシスクシンイミジルカルバメイト(AQC)で誘導体化し、逆相HPLCで分離した後に蛍光光度計で検出する方法である。

AQCはアミノ酸と反応して安定な蛍光性尿素誘導体(AQC-アミノ酸)を生成する。AQC-アミノ酸は逆相HPLCで容易に分析できる。したがって、AQCでアミノ酸を誘導体化し、逆相HPLCで分離することによって、アミノ酸組成を分析することができる。

ODSカラムでのAQC-アミノ酸の分離はアセトニトリル濃度と塩濃度の変化を組み合わせで行う。この誘導体の蛍光は励起波長250 nm、蛍光波長395 nmで選択的に検出できるので、反応液を直接カラムに注入しても蛍光試薬の主要な副生成物である6-アミノキノリンの妨害はほとんど受けない。過剰の試薬は直ちに6-アミノキノリン、*N*-ヒドロキシスクシンイミド及び二酸化炭素に加水分解されるので($t_{1/2} < 15$ 秒)、1分後にはもはや誘導体化反応は起こらない。

AQC-アミノ酸のピーク面積は反応液を室温で放置しても少なくとも1週間は変化しない。この誘導体は非常に安定であるので、自動分析装置で一晩中分析することができる。

検出限界はシステイン以外のアミノ酸で約40 ~ 320 fmolであり、システインの検出限界は約800 fmolである。2.5 ~ 200 μmol/Lの範囲で相関係数0.999以上の良好な直線性が得られる。良好なデータは、試料タンパク質又はペプチド30 ngに対応する加水分解物の分析で得られる。

方法5 OPAプレカラム誘導体化法

カラムに導入する前にアミノ酸を*o*-フタルアルデヒド(OPA)で誘導体化し、逆相HPLCで分離した後に蛍光光度計で検出する方法である。この方法では二級アミンのアミノ酸(例えば、プロリン)は検出しない。

OPAはチオール試薬の共存下で一級アミンと反応し、強い蛍光を持つイソインドール化合物を生成する。2-メルカプトエタノールや3-メルカプトプロピオン酸がチオール化合物として用いられる。OPAはそれ自身が蛍光を持たないので、妨害ピークは現れない。更に、速やかに反応することに加えて、水によく溶け、水溶液での安定性が高いことから、誘導体化と分析を自動化しやすい。この自動化には試料と試薬を混合するためのオートサンプラーを使用する。しかし、二級アミンと反応しないことが大きな欠点であり、この方法では二級アミンとして存在するアミノ酸(例えば、プロリン)が検出できない。この欠点を補うために、方法7又は方法8の分析法を組み合わせで行う。

OPAでプレカラム誘導体化したアミノ酸は逆相HPLCで分離する。OPA-アミノ酸誘導体は不安定であるので、HPLCでの分離と分析は誘導体化した後直ちに行う。HPLCにはアミノ酸誘導体を検出するために蛍光検出器を取り付ける。OPA-アミノ酸誘導体の蛍光強度は励起波長348 nm、蛍光波長450 nmで測定する。

検出限界は50 fmol以下といわれているが、実際の分析における限界は1 pmolである。

方法6 DABS-Clプレカラム誘導体化法

アミノ酸を(ジメチルアミノ)アゾベンゼンスルホンクロリド(DABS-Cl)で誘導体化し、逆相HPLCで分離して可視光で検出する方法である。

DABS-Clはアミノ酸の標識に用いる発色性試薬である。DABS-Clで標識したアミノ酸(DABS-アミノ酸)は非常に安定であり、波長436 nmに極大吸収を示す。

19種の天然にある全てのアミノ酸のDABS誘導体は、アセトニトリルと緩衝液からなるグラジエント溶出系を用いた逆相HPLCのODSカラムで分離することができる。カラムから分離して溶出したDABS-アミノ酸は可視領域の波長436 nmで検出する。

この方法はプロリンのようなイミノ酸も他のアミノ酸と同程度の感度で測定できる。また、「タンパク質の加水分解」の項の方法2に示した加水分解法、すなわちメルカプトエタンスルホン酸、*p*-トルエンスルホン酸又はメタンスルホン酸のようなスルホン酸類でタンパク質又はペプチドを加水分解することによって、DABS-Cl誘導体化法はトリプトファンも同時に定量できる。アスパラギンやグルタミンのような酸に不安定なアミノ酸も、「タンパク質の加水分解」の項の方法11に示したタンパク質又はペプチドのBTI処理でそれぞれをジアミノプロ

ピオン酸及びジアミノ酪酸に変換することによって分析することができる。

非タンパク質性アミノ酸であるノルロイシンは、 α -アミノ酸のピークと重なって溶出するので、本法の内標準物質としては使用できない。ニトロチロシンはいずれのアミノ酸ピークとも重ならないので、内標準物質に使用できる。

DABS-アミノ酸の検出限界は約1 pmolである。2 ~ 5 pmolの各DABS-アミノ酸が信頼性を持って定量的に測定でき、1分析当たりDABS化したタンパク質加水分解物10 ~ 30 ngが必要である。

方法7 FMOC-Clプレカラム誘導体化法

9-フルオレニルメチルクロロギ酸(FMOC-Cl)によりアミノ酸を誘導体化し、これを逆相HPLCで分離して蛍光で検出する方法である。

FMOC-Clは一級アミンと二級アミンの両方と反応し、強い蛍光を持つ物質を生成する。アミノ酸とFMOC-Clの反応は水溶液中、緩やかな条件下で進行し、30秒で反応は完了する。この誘導体は安定であるが、ただヒスチジン誘導体だけは分解していく。FMOC-Clはそれ自体が蛍光を持っているが、過剰のこの試薬と蛍光性副生成物はFMOC-アミノ酸を消失させることなく除くことができる。

FMOC-アミノ酸はODSカラムを用いた逆相HPLCで分離される。この分離は、酢酸塩緩衝液/メタノール/アセトニトリル混液(5:4:1)から酢酸塩緩衝液/アセトニトリル混液(1:1)に直線的に変化させるグラジエント溶出で行われ、20種のアミノ酸誘導体は20分で分離される。カラムから溶出した各誘導体は励起波長を260 nm、蛍光波長を313 nmに設定した蛍光光度計で検出される。

検出限界は数fmolである。0.1 ~ 50 μ mol/Lの範囲でほとんどのアミノ酸は直線性を示す。

方法8 NBD-Fプレカラム誘導体化法

7-フルオロ-4-ニトロベンゼン-2-オキサ-1,3-ジアゾール(NBD-F)によりアミノ酸を誘導体化し、これを逆相HPLCで分離して蛍光で検出する方法である。

NBD-Fは一級アミンと二級アミンの両方と反応し、強い蛍光を持つ物質を生成する。アミノ酸はNBD-Fと60℃で5分間加熱することによって誘導体化される。NBD-アミノ酸誘導体は、アセトニトリルと緩衝液の混液からなるグラジエント溶出系を用いることによって逆相HPLCのODSカラムで分離され、17種のアミノ酸誘導体は35分で分離される。 ϵ -アミノカプロン酸はクロマトグラム領域の平坦部に溶出するので、内標準物質として使用できる。カラムから溶出した各誘導体は励起波長を480 nm、蛍光波長を530 nmに設定した蛍光光度計で検出される。

この方法の感度は、OPAと反応しないプロリンを除いて、OPAプレカラム誘導体化法(方法5)の感度とほとんど同じであり、OPAと比べてNBD-Fのほうが都合がよいかもしれない。各アミノ酸の検出限界は約10 fmolである。最終の標識反応溶液中に約1.5 μ gのタンパク質加水分解物が含まれていれば、分析することができる。

データの計算と解析

タンパク質又はペプチドの加水分解物中のアミノ酸含量を測定するときには、酸加水分解の段階でトリプトファンとシステインが分解されていることに注意する必要がある。セリンとト

レオニンが酸加水分解により一部が分解され、イソロイシンとバリンは一部しか遊離されないことがある。メチオニンは酸加水分解中に酸化を受け、また、あるアミノ酸(例えば、グリシンやセリン)は外部から混入しやすい。気相加水分解で反応容器中を適切な真空度(0.0267 kPa以下)にするか、又は不活性ガス(アルゴン)で置換すると酸化による破壊の程度を低くすることができる。したがって、タンパク質又はペプチドの加水分解物中のシステイン、トリプトファン、トレオニン、イソロイシン、バリン、メチオニン、グリシン及びセリンの定量値は変動しやすく、その解析にはより一層の検討と考察が必要である。

計算

アミノ酸のモル% アミノ酸のモル%とは、タンパク質中の100アミノ酸残基当たりの特定アミノ酸残基数である。この値は試験するタンパク質の分子量が明らかでないときのアミノ酸分析データを評価するのに有用である。この情報はタンパク質又はペプチドの同定やその他の目的に利用できる。それぞれの分析方法に従って得られたピークを注意深く同定し、面積を測定する。試料中の各アミノ酸のモル%を次式により計算する。

$$100 r_U / r$$

r_U : 個々のアミノ酸のピーク面積から求めた量(nmol)

r : 試料中の全アミノ酸のピーク面積から求めた量(nmol)の合計

得られた各アミノ酸のモル%を既知タンパク質のそれと比較することにより試料タンパク質を同定することができる。

未知タンパク質試料 このデータ解析法は、アミノ酸分析データを用いて未知タンパク質試料のタンパク質濃度を推定するのに利用できる。次式により回収された各アミノ酸の質量(μ g)を計算する。

$$m M_W / 1000$$

m : 回収されたアミノ酸の量(nmol)

M_W : ペプチド結合で除かれた水分子の質量を補正したアミノ酸の平均分子量

回収されたアミノ酸の質量の総計は、部分的又は完全に破壊されたアミノ酸を適切に補正した後のタンパク質の総質量の推定値となる。未知タンパク質の分子量がSDS-PAGEや質量分析でわかれば、そのアミノ酸組成が予測できる。次式により各アミノ酸の残基数を計算する。

$$m / (1000 M / M_{WT})$$

m : 回収されたアミノ酸の量(nmol)

M : タンパク質の総質量(μ g)

M_{WT} : 未知タンパク質の分子量

既知タンパク質試料 このデータ解析法は、分子量とアミノ酸組成が既知のタンパク質試料のアミノ酸組成及びタンパク質濃度をアミノ酸分析データを用いて調べるのに利用できる。分析しようとするタンパク質のアミノ酸組成が明らかとなるときには、あるアミノ酸の回収率は良好であるが、他のアミノ酸の回収率が完全又は部分的な破壊(例えば、トリプトファン、システイン、トレオニン、セリン、メチオニン)やペプチド結合の不完全開裂(すなわち、イソロイシンとバリンの開裂)又は遊離アミ

ノ酸の外部からの混入(すなわち、グリシンやセリンの混入)のために必ずしも十分でない場合にこの解析法を活用することができる。

回収率の最も良いアミノ酸はそのタンパク質を代表しているため、そのアミノ酸がタンパク質を定量するのに利用される。一般に回収率の良いアミノ酸にはアスパラギン酸/アスパラギン、グルタミン酸/グルタミン、アラニン、ロイシン、フェニルアラニン、リシン、アルギニンがある。これら回収率の良いアミノ酸の種類は各自の分析装置での経験によって変わる。回収率の良い各アミノ酸の量(nmol数)をそのアミノ酸の理論量で除し、回収率の良い各アミノ酸に基づいたタンパク質量を求め、これらの値を平均する。回収率の良い各アミノ酸によって求めたタンパク質量は平均値に対して均等に分布していなければならない。平均値から大きくはずれた値は除外する。通常、平均値からの偏差が5%を超えるものは除外の対象と考えられる。残りの値から平均値を再計算して試料のタンパク質量を求める。各アミノ酸の含量を計算で求めた平均タンパク質含量で除して試料のアミノ酸組成を求める。

相対組成誤差(%)を次式により計算する。

100 m/m_s

m : アミノ酸の実測値(アミノ酸残基当たりのnmol)

m_s : 当該アミノ酸の理論量

平均相対組成誤差は各アミノ酸の相対組成誤差の絶対値の平均であり、通常、トリプトファン及びシステインはこの計算からは除かれる。この平均相対組成誤差はアミノ酸分析の全過程が適切に行われたかどうかについての重要な情報となる。タンパク質試料のアミノ酸組成と既知組成との一致性は試料中のタンパク質の同定と純度の保証に利用できる。

ペプチドマップ法〈G3-3-182〉

本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。

1. はじめに

タンパク質は、大きく複雑な構造を有しており、不適切な場合、分解又は翻訳後修飾により一次構造の不均一性を示す分子もある。タンパク質は分子量が大きく複雑であるため、一つの分析手法を用いてタンパク質のまま化学的に同定することは非常に困難である。試料タンパク質を、十分な質量分解能で同定可能なより小さな断片に切断することにより、タンパク質の一次構造を決定することが可能である。この手順は、ペプチドマップ法として一般に知られているタンパク質同定技術の原理である。ペプチドマップ技術には、タンパク質中の特定のアミノ酸残基間のアミド結合を選択的に切断し、一連の予測されたペプチドを得るための酵素消化ステップが含まれる。ペプチド混合物のクロマトグラフィー分析法による分離、検出及び同定により、タンパク質の一次構造に関する情報を明らかにし、タンパク質の同定が可能である。ペプチドマップ法は、相対比較の手法である。つまり試料タンパク質より得られた結果は、同様に処理した標準品/標準物質の結果と比較して、試料タンバ

ク質を同定する。この比較による同定では、試料タンパク質の一次構造が同様に処理した標準品/標準物質(参照タンパク質)の一次構造と一致することを確認する。

本参考情報では詳細に記載していないが、ペプチドマップ法は一次構造の全体的な変化を検出することが可能であり、タンパク質の品質の決定のために広く応用されている。アミノ酸の誤取込みやジスルフィド結合のかけ違い、翻訳後修飾及び分解などに起因する試料タンパク質の純度は、定量的なペプチドマップ法を用いて決定することができる。スケールアップや製造工程変更時のペプチドマップ法による比較は、プロセスの恒常性に関する検討を裏付けることができる。さらに、ペプチドマップ法は、糖鎖付加や意図的修飾(例: PEG化)のような修飾の程度と特定のアミノ酸修飾部位を決定するのに用いることができる。本参考情報は、タンパク質医薬品の化学的な同定におけるペプチドマップ法の使用に焦点を当てており、特異性が分析法の主要な特性である。

2. ペプチドマップ法を用いた確認試験の開発における留意事項

確認試験の手順を開発する前に、同一施設で製造される他のタンパク質医薬品と試料タンパク質を区別するために要求される適用方法や特異性のレベルについて理解することが重要である。場合により、構造的に関連するタンパク質試料を区別するために複数の異なる手法が必要となる。それぞれのタンパク質は固有の特徴を有しているため、それをよく理解し、科学的にアプローチすることにより、十分な特異性を有するバリデートされた分析手順の開発が可能となる。分析に適した長さのペプチドを得るための前処理及び切断条件を選択するためには、試料タンパク質のアミノ酸配列を評価すべきである。目的によるが、開発段階ではタンパク質の変化に関する予備的知識がほとんどないことから、配列カバー率を十分に確保することが重要である。ペプチドマップ法の分析技術の開発において、次の事項を考慮すべきである。また、これらの要素を図1に示す。

3. 前処理

原薬、製剤又は標準品/標準物質を分析する際、分析の妨害となる添加剤やキャリアタンパク質を含む場合は分離・精製が必要ことがある。残存する妨害物質は、酵素的切断の効率やペプチドマップの見た目に影響を与える場合がある。残存する物質や試料精製過程が最終的なペプチドマップに及ぼす影響は、開発過程において評価する必要がある。

タンパク質の三次構造により、切断酵素が全ての切断部位に完全に作用するのを妨げられることにより、配列カバー率が不十分となることがある。タンパク質のカオトロピック試薬(例: 塩化グアニジニウム、尿素)及び界面活性剤(例: ドデシル硫酸ナトリウム)による処理は消化前にタンパク質の折りたたみをほぐすために使用される。変性試薬は酵素活性に影響を及ぼしうするため、追加の精製(例: 透析ろ過)や希釈操作が消化前に必要になる場合がある。酵素が切断部位に完全に作用できるように、消化前にジスルフィド結合の還元及びアルキル化が必要となることもある。しかし、システイン-システイン結合の情報はその際に失われてしまう。ジスルフィド結合の還元に一般的に使用される試薬には、ジチオスレイトール及びトリス(2-カルボキシエチル)ホスフィンのようなトリアルキルホスフィン化合物がある。還元されたシステインをアルキル化する試薬には、ヨードアセトアミド、ヨード酢酸及び4-ビニルピリジン

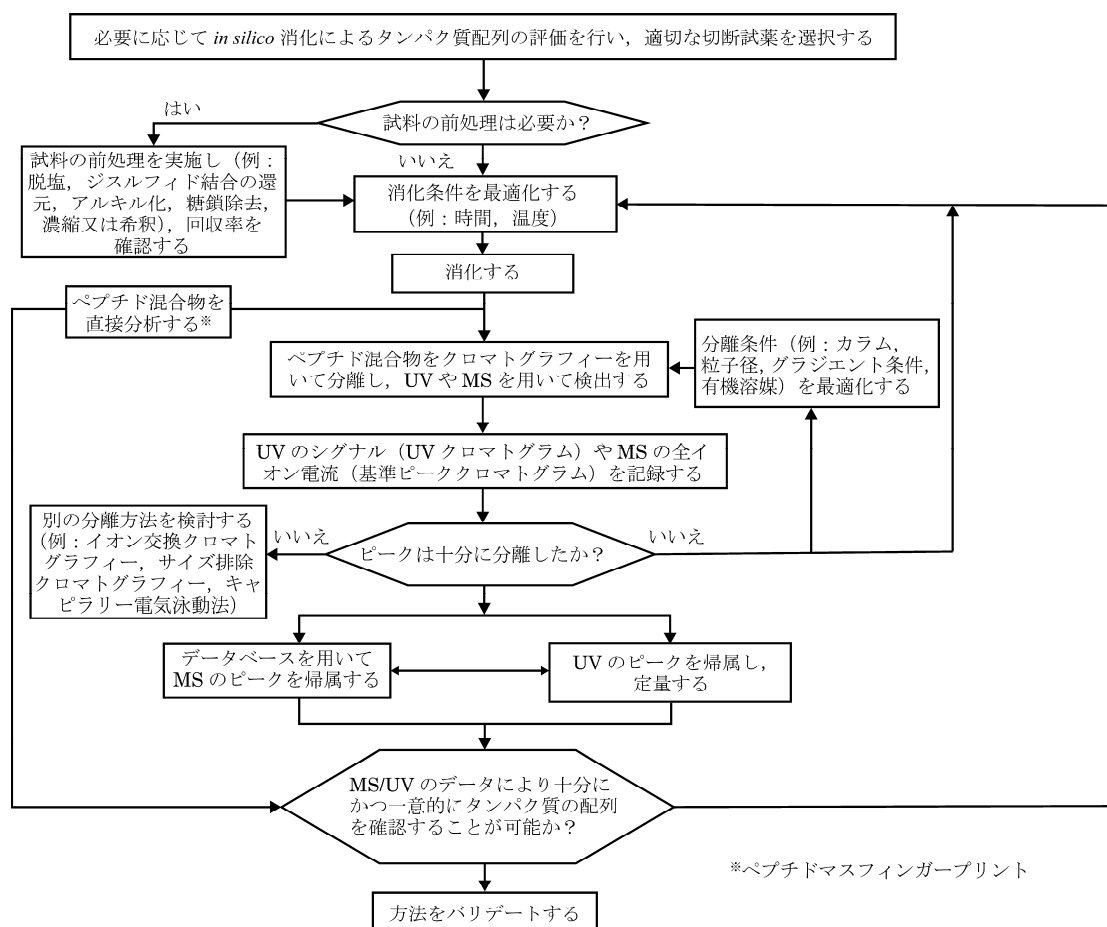


図1 ペプチドマップ法における分析手順と目標性能パラメーターの確定

がある。アルキル化試薬の使用によりペプチドへの付加体が生じる可能性があり、影響を受けたペプチドはクロマトグラフィーの分離に影響を与え、分子量が変化する。

ペプチドマップ法は相対比較の手法であるため、試料タンパク質に対して行われるいかなる精製や前処理ステップも、標準品／標準物質に対しても同様に実施する必要がある。残存する物質、精製手順、又はタンパク質の前処理が分析法の特異性及び精度に及ぼす影響は、開発段階で精査し、分析法バリデーションにおいて実施される頑健性の検討に組み入れることを考慮すべきである。

4. 消化

切断技術の選択は、タンパク質により異なる。酵素的及び化学的手法において汎用される切断試薬とその特異性を表1に示す。必要な場合には、他の切断試薬を使用することや方法を組み合わせることもある。

タンパク質消化の効率及び再現性に影響を与える因子には、pH、消化用緩衝液、温度、時間及びタンパク質に対する酵素／試薬の比率などが含まれる。

最適な消化混合液のpHは、一般に酵素又は試薬により決定される。選択されたpHでのアミノ酸の側鎖及びタンパク質の修飾を含むペプチドの化学的安定性を考慮しなければならない。例えば、臭化シアンを切断試薬として用いる場合は、強酸性条件(例: pH 2, ギ酸)が必要である。一方、トリプシンを切断試薬として用いる場合は、弱アルカリ性条件(pH 8)が適切である。

適切な温度は、切断試薬により異なる。例えば、ほとんどの酵素は25 ～ 37℃の範囲内に最適な活性を持つ。温度は、酵素の特異性のある程度決定することがある。このような場合、温度を調整することによりある種のタンパク質に対する消化条件を最適化することができる。理想的には、脱アミドのような試料に関連する化学的副反応やタンパク質凝集を最小化し、一方で、切断試薬の活性を維持しつつ試料タンパク質の消化に対する感受性を最大化するように消化温度を設定する。

消化の変動を避けるために、消化時間は意図した用途に十分であることを確認することが必要である。不完全な消化によるペプチド断片が最小限となるような十分な消化を確保するために、消化の経時変化に関する簡単な検討を実施すべきである。消化時間を分から日の単位で変化させ、単一反応溶液から一定量ずつとり適切に安定化し、分析を行うことで、タンパク質の完全な消化に必要な時間を決定する。

実用的な時間内(例: 2 ～ 20時間)で望ましいレベルの消化が得られるように十分な切断試薬を用いるべきであるが、試薬がペプチドマップに影響を与えることを避けるため切断試薬の量は最小限にする。酵素消化においては、タンパク質とプロテアーゼの質量比は20:1から200:1が一般的である。切断試薬が不安定な場合、複数回に分けて切断試薬を添加することにより切断効率が改善されるかもしれない。酵素は、固相支持体に結合させることで、相対的に多量のプロテアーゼを用いることができ、更に、酵素の自己消化物の混入及び酵素断片のペプチド

表1 切断試薬の例

種類	試薬	特異性
酵素的手法	トリプシン(EC 3.4.21.4)	アルギニン及びリシン残基のC末端側
	キモトリプシン(EC 3.4.21.1)	疎水性アミノ酸残基 (例: ロイシン, メチオニン, アラニン, 芳香族アミノ酸)のC末端側
	ペプシンA (ペプシン) (EC 3.4.23.1)	特異性の低い消化
	リシルエンドペプチダーゼ(Lys-Cエンドペプチダーゼ) (EC 3.4.21.50)	リシン残基のC末端側
	グルタミルエンドペプチダーゼ(Glu-CエンドプロテアーゼV8プロテアーゼ) (<i>S. aureus</i> V8株由来) (EC 3.4.21.19)	グルタミン酸及びアスパラギン酸残基のC末端側
	ペプチジル-Aspメタロエンドペプチダーゼ(Asp-Nエンドプロテアーゼ) (EC 3.4.24.33)	アスパラギン酸残基のN末端側
	クロストリパイン(Arg-Cエンドペプチダーゼ) (EC 3.4.22.8)	アルギニン残基のC末端側
	臭化シアン	メチオニン残基のC末端側
化学的手法	2-ニトロ-5-チオシアノ安息香酸	システイン残基のN末端側
	O-ヨードソ安息香酸	トリプトファン及びチロシン残基のC末端側
	希酸	アスパラギン酸及びプロリン残基
	3-ブロモ-3-メチル-2-(2-ニトロフェニルチオ)-3H-インドール(BNPS-スカーール)	トリプトファン残基

マップへの影響を避けることができる。化学的な切断試薬は、通常、大過剰で用いられ、消化終了時に除去する必要がある。

消化中の試料タンパク質の最適な濃度は、経験的に決定される。タンパク質及び部分消化されたタンパク質の凝集が起こらないよう濃度は低くすべきであるが、続くクロマトグラフィー分離及び選択した検出法において、十分な検出感度で検出されなければならない。試料の希釈又は遠心ろ過のような技術による試料の濃縮が必要な場合もある。試料タンパク質に行われる希釈又は濃縮ステップは、タンパク質医薬品の標準品/標準物質にも同様に実施しなければならない。タンパク質の回収率はどんな濃縮ステップにおいても評価する必要があり、希釈又は濃縮の分析法の特異性及び精度に及ぼす影響は、開発段階で精査し、分析法バリデーションにおいて実施される頑健性の検討に組み入れることを考慮すべきである。

消化ステップにおいて、非特異的切断、脱アミド化、ジスルフィド結合の異性化、メチオニン残基の酸化、リシン残基のカルバモイル化又はペプチドのN末端におけるグルタミンの脱アミド化により生じたピログルタミル基の形成のような副反応の結果、ペプチドマップが不明瞭になる可能性がある。自己消化は、タンパク質消化酵素が酵素自体を消化することにより生じた無関係なピークをもたらす。自己消化により生じたペプチドのピーク強度は、基質に対する酵素の比率及び使用した酵素の修飾と品質によって異なる。自己消化を避けるため、タンパク質消化酵素試液は、酵素活性を抑制するpHで調製するか、使用直前に調製する。自己消化を防ぐようにプロテアーゼを改変した修飾酵素が使用されることもある。酵素のリシン残基をメ

チル化又はアセチル化して自己消化部位の数を減少させた、市販のトリプシン試薬(しばしばプロテオミクスグレードと呼ばれる)も利用可能である。消化により生じたアーティファクトを同定するために、試料タンパク質以外の全ての試薬を用いたブランクの消化試料を用いて空試験を行う。

5. 分離

消化ステップにより得られたペプチド混合物のクロマトグラフィー分離は、その複雑さを解明し、データの適切な解釈が有意義で再現性のあるものとなるようにしなければならない。ペプチドマップの複雑さにより、最終的に、最適なクロマトグラフィー条件、カラム及び移動相の組み合わせが求められる。分析法の最適化実験は、最も質が高く再現性のあるクロマトグラムを得るために必要となる。試料タンパク質の分子量もまた、マップの複雑さと最適な分離に影響を及ぼす。

多くの技術(例: イオン交換高速液体クロマトグラフィー[HPLC], 疎水性相互作用HPLC, 及びキャピラリー電気泳動)はこれまでペプチドマップ分析におけるペプチド分離に用いられてきたが、本参考情報ではペプチドマップ法の分離ステップにおいて最も一般的に用いられている方法である逆相HPLC(RP-HPLC)に重点を置く。

クロマトグラフィーにおけるカラムは、それぞれのタンパク質に応じて経験的に選択される。シリカ、ポリマー又はハイブリッド担体を基にした種々の孔径(8 ~ 100 nm)又は無細孔のカラムは、十分な分離を与えることが示されてきた。粒子径が2 µm未満のカラムが利用でき、一般的に3 ~ 5 µmの粒子径のカラムよりも分離効率がよい。一般に、オクチル又はオクタデシルシリル基を結合させた固定相がペプチドには最適である。30 nm又はそれより小さな細孔を持つオクタデシルシラン(C18)がペプチドマップの分離ステップで最もよく利用される結合相である。

ペプチドのRP-HPLC分離に最も一般的な移動相は、有機溶媒としてアセトニトリルを含む水である。しかし、メタノール、2-プロパノール、又は1-プロパノールなどの他の有機溶媒も用いることができる。移動相にプロパノールなどの溶媒を用いることは、疎水性の高いペプチドを多く含む試料の分離に有用である。しかし、親水性又は短いペプチドはカラムのボイド容量を示す時間に溶出する可能性があることに留意する。酸、塩基、緩衝塩及びイオンペア試薬のような移動相の添加剤は、一般に、ペプチドの良好なクロマトグラフィー分離のために必要である。最も一般的な移動相の添加剤はトリフルオロ酢酸(TFA)であり、一般的には0.05 ~ 0.2%の濃度で用いられる。添加剤としてリン酸の使用はあまり一般的ではないが、紫外(UV)検出器を用いる場合に有用である。揮発性の酸や塩は、質量分析計による検出との親和性を改善するために移動相に用いることができる。TFAはペプチドの分離の質に非常に良い影響を及ぼすが、質量分析計による検出の感度は、イオンサプレッション効果により悪影響を受ける。ギ酸、酢酸又はこれらをTFAと共に用いると、イオンサプレッションを抑制することにより質量分析計の感度を向上することができる。クロマトグラフィーカラムの温度調節は、良好な再現性を得るために必要である。逆相カラムにおいて分離は一般に温度の上昇と共に向上するため、カラム温度は、ペプチド分離の最適化やある種のペプチドの保持や溶出を改善するために用いられることがある。

6. 検出

RP-HPLCは、確認試験としてのペプチドマップ法で用いられる最も一般的な分離方法であり、最も一般的な検出方法は、214 nmでのUV光吸収である。タンパク質の消化により生じたペプチドは、より長波長(例：280 nm)の光を吸収する芳香族側鎖を持つアミノ酸を含まない場合があるので、タンパク質の配列カバレッジを確保するには、移動相によるバックグラウンドを最小化するように注意し、214 nm(ペプチド結合が吸収する光の波長)での検出が不可欠である。また、その他の検出方法も適切である。

UV検出の限界は、ペプチドの構造に関する情報が得られないことである。質量分析は、ペプチドが同時に溶出した場合の選択性に加えて、ペプチドの同定に役立つ質量情報を提供する有用な検出方法である。ほとんどの分析目的において、RP-HPLCからの溶出液は、移動相が質量分析計に適している場合には、直接質量分析計に導入することができる。移動相に特有の留意事項は、選択したイオン化方法による。エレクトロスプレーイオン化法(ESI)は、タンパク質やペプチドを質量分析計に導入する最も一般的な方法であり、揮発性の水溶媒混合液を用いた際に最もよいイオン化効率が得られる。ESI-MSを用いたペプチドマップ法では、ポジティブイオンモードが用いられることが多い。pHを下げ、それによりペプチドのプロトン化を促進する目的で、一般にギ酸や酢酸が移動相に添加される。緩衝液や塩は、シグナルを減少させることに加え、不揮発性の塩がイオン源に付着するため、使用は最小限にすべきである。前述のように、TFAは、マトリックス干渉の一種であるイオンサプレッションを引き起こし、特にESIを用いた場合にペプチドのシグナルを抑制する可能性があるため、避けるべきである。また、イオンサプレッションは糖ペプチドのイオン化効率を抑制し、感度を低下させる。したがって、UVとMSの両方において最適な結果を得るためには、条件を最適化することが重要である。

7. データ解析

ペプチドマップ法は相対比較の手法である。試料タンパク質が意図するタンパク質であるかを確認するために、試料タンパク質のペプチドマップを標準品/標準物質を同様な前処理、分離及び検出方法を用いて得られたペプチドマップと比較しなければならない。保持時間、ピークレスポンス(ピーク面積又はピーク高さ)、ピーク数及び全体的な溶出パターンの視覚的な比較は、手順の最初のステップである。重要なピークのピークレスポンス比及びピークの保持時間について、更に客観的解析を行うことが最良の方法である。もし試料タンパク質消化物及び標準品/標準物質の消化物の全ての重要なピークが同じ保持時間及びピークレスポンス比を示したなら、試料タンパク質の同一性が確認される。例えば、モノクローナル抗体試料は、共通のFcペプチドを含んでおり、ペプチドマップ試験の際には参照ピークとして用いられている。参照ペプチドを試料消化物に添加し、重要なピークのピークレスポンス比と保持時間をあらかじめ設定された判定基準と比較することが可能である。選択される比較方法は、得られるペプチドマップの複雑さと個々の確認試験の目的(例：同一施設で製造される別のタンパク質医薬品との区別や同じタンパク質医薬品の変異体との区別)において求められる特異性によって異なる。

高い特異性が求められる場合、質量分析を日常的な分析にお

いて用いることで、ペプチドの修飾、切断、切断ミス、不純物及び分離されずに一つのピークとして共溶出したピークに関する知見を得ることができる。

8. バリデーション実施前の留意事項

ペプチドマップ法の手順の開発の間に、システム適合性の基準及び分析法バリデーションの判定基準の選択につながる知識や経験が得られる。バリデーション実施前の最終レビューにより、手順がバリデーションの準備ができていることを確認し、基準を満たさないリスクを減らすことができる。一般的な手順として、ペプチドマップ法は、広範囲な試験デザイン、試験目的及び性能に関する要求を含んでいる。したがって、一般的な文書にて、特定のシステム適合性やバリデーション基準を規定することは不可能である。バリデーション開始前に次の要素について評価することが推奨される。

ペプチドマップ法の日常的な測定における質量分析の利用は本参考情報には記載していないが、ペプチドマップ法の開発段階におけるペプチドの構造同定に質量分析を適用することは最良の方法である。質量分析による検出は、性能に関する以下のパラメーターを評価するために利用される。

8.1. 配列カバレッジ

配列カバレッジは、目的のタンパク質配列について、ペプチドマップ法を用いて同定されたアミノ酸配列の割合を指す。全ての分析目的に対応する特定の数値は存在しないが、多くの場合95%程度の配列カバレッジがペプチドマップ法において許容できる性能の目標である。

8.2. 特異的な結合切断

選択した酵素又は化学的消化手順により切断される特異的な結合は、同定し、記録する。

8.3. 主なピーク

特異的な結合の切断により回収された主なペプチドは、同定し、記録する。

8.4. 部分的切断

部分的又は不完全な切断を生じやすいペプチド結合及び関連するクロマトグラム上のピークやシグナルは同定する必要がある。

8.5. マイナー/非特異的切断

非特異的な結合の切断の程度は同定し、制限又は管理する必要がある。

8.6. プロテアーゼ由来のピーク

プロテアーゼが試料タンパク質の消化に用いられる場合は、バックグラウンドに認められるプロテアーゼ由来のピークを同定し、必要に応じて制限する必要がある。

8.7. 未消化の「コア」タンパク質

未消化又は部分的に消化されたタンパク質(しばしば「コア」と呼ばれる)は同定し、制限する必要がある。

8.8. 平均ペプチド長

選択したプロテアーゼ又は化学的切断試薬と試料タンパク質の組み合わせにより生成する一連のペプチドを記述する。小さなペプチドと大きなペプチドはトレードオフの関係にある。小さなペプチドは、ペプチドマップ法において高い構造選択性を示すが、多くのピークを示す複雑なマップとなる。一方で、長いペプチドは構造変異体を分離する能力は低くなるが単純なマップが得られる。全ての分析目的に適切な特定のペプチド長は存在しないが、一般的には平均ペプチド長は10～20残基が

適切と考えられる。

8.9. 分解能

分解能は、プロテアーゼ又は化学的切断試薬により生成した一連のペプチドを分離するシステムの能力のことをいう。例えば、消化により30種類のペプチドを生じるが共溶出又は非回収により20個のピークしか検出されないかもしれない。不十分な分離を同定し、適切なクロマトグラフィー手順により解決する必要がある。必要に応じて、ペプチド標準品／標準物質の使用や、若しくはシステム性能の基準により管理する。

8.10. システム適合性の基準の選択

システム適合性の基準は、試料タンパク質の消化、分離及び検出の手順が、分析目的に応じて求められるレベルの構造同定が可能な能力を有することを確認できるように設定すべきである。確認試験として日常的な分析で評価されるシステム適合性の基準については、一般的に参照タンパク質消化物のクロマトグラムの評価が実施されることに加え、次のような性能特性が評価されることもある。

- (1)参照クロマトグラムとの定性的な類似性
- (2)消化の程度
- (3)部分的な切断
- (4)非特異的な切断
- (5)ピーク高さ／シグナルノイズ比
- (6)ピーク形状
- (7)ピークの保持時間
- (8)特定のピークの分解能

試料の分離、精製又は濃縮を必要とする試験方法の手順に対しては、試料の回収率の基準を設定すべきであり、システム適合性の評価の一部として設定すべきである。消化により生じたアーティファクトが認められる場合には、妨害のないことを実証するためにブランク消化試料を評価することが必要となる。

9. バリデーション

ペプチドマップ法の手順のバリデーションを実施する前に、試験操作手順は最終化しシステム適合性の基準と一緒に文書化すべきである。試験を行うたびに、結果をシステム適合性の基準で評価し、過去の試験結果と一致する再現性のある結果が得られているかを判断する。最終化する前は、判定基準がシステム適合性の基準によってしばしば変化することがある。分析バリデーションにおけるプロトコルの要素は次のとおりである。

9.1. 特異性

分析性能の要件は、確認試験の目的により異なり、リスクアセスメントを行うことにより同一施設で製造されるタンパク質医薬品と試料タンパク質を区別するためにどの程度の特異性が必要かを理解する必要がある。ペプチドマップ法は、試料の一次構造が参照タンパク質と一致することを確認する相対比較の手法である。特異性は適切な標準品／標準物質と構造の類似したタンパク質試料のペプチドマップと比較することにより確認される。比較試料は、同一施設で製造される他のタンパク質医薬品に関するリスクアセスメントに基づき選択し、バリデーションのプロトコルとして文書化すべきである。試験の本質的なばらつきを最小化するために、試験時には標準品／標準物質及び試料タンパク質に対して試験操作を実施する。特異性のバリデーション試験として試料タンパク質消化物、標準品／標準物質の消化物及び検体並びに標準品／標準物質の消化物の1:1(v/v)混合液を分析することはペプチドマップ法の試験デ

ザインとして有用といえる。試料タンパク質のペプチドマップにおける試料タンパク質のピークと、標準品／標準物質の対応するピークの保持時間が僅かに異なることにより、分析者がピークは同一ではないと判断することがある。特異性のバリデーション試験において、混合物試料を試験しペプチドマップで共溶出することにより二つのピークが同一であることを実証できれば、同一性を確認することができる。化学的に修飾された標準品／標準物質は、pHや温度の条件や一次構造に変化を起こすことが知られる化学試薬への曝露により作成できる。これらの変化として、アスパラギン及びグルタミン残基の脱アミド化、メチオニン、ヒスチジン又はトリプトファン残基の酸化、並びに酸触媒によるペプチド結合の切断などが挙げられる。化学的に修飾された標準品／標準物質及び標準品／標準物質のペプチドマップをあらかじめ決めておいた判定基準に基づいて比較することにより、アミノ酸の側鎖の修飾がペプチドマップ法の特異性に影響を及ぼすか否かを示すことができる。

9.2. 精度

ペプチドマップ法の手順の精度(併行精度、室内再現精度)の測定を容易にするために、経験的に用いられているピークレスポンス(ピーク面積又はピーク高さ)及びピーク保持係数の数値化の方法を手順に含むべきである。一つのアプローチとしては、ピークレスポンス及びピーク保持時間を、同一のクロマトグラム内の再現性の高い参照ピークとの相対値として比較することが挙げられる。分析手順のバリデーションで得られた精度の結果は、報告の上、バリデーションの判定基準を満たすか確認を行う。精度の結果が判定基準を満たさなかった場合、分析者は手順中の消化や分離ステップの再評価を行う。

9.3. 頑健性

頑健性は分析手順の開発段階で評価する。繰り返して実施する必要はないが、バリデーション手順に組み込むこともある。移動相の組成、プロテアーゼの品質又は化学試薬の純度、カラムのばらつき及び劣化、消化温度並びに消化物の安定性は全体的な試験の性能と再現性に影響を及ぼしやすい。試験が日常的なロットリリースの目的に使用される場合は、それぞれの重要なパラメーターの許容範囲を評価し、基準値を定める。

タンパク質試料の精製、前処理、希釈又は濃縮手順の僅かな変動が回収率や試験システム及びクロマトグラムに影響を及ぼすため、その影響を試験法開発の時点で同定し管理する必要がある。試料調製後に残存する物質の分析法の特異性及び精度に及ぼす影響を考慮しなければならない。開発の際に特定された重要パラメーターは、分析法バリデーションにおいて実施される頑健性の検討に含めるべきである。

多くのタンパク質の断片化方法では、タンパク質切断酵素が用いられる。結果としてペプチドマップ法の操作における消化手順は本質的に試験パラメーターの僅かな変動に影響を受けやすい。これらのパラメーターとして、消化pH、緩衝液、緩衝液濃度、イオン強度、消化温度、消化の反応速度、試料タンパク質濃度、プロテアーゼの量、プロテアーゼの品質及び消化物の安定性が挙げられる。実験計画法アプローチを用いて同定された重要パラメーターは、その分析におけるばらつきに及ぼす影響を理解するために体系的に検討される。消化手順において、僅かな変動がペプチドマップ手順の精度に影響を与えることが示されたパラメーターは、これらの検討により確立されてバリデートされた操作範囲内で注意深く管理すべきである。

プロテアーゼの品質や化学試薬の純度を評価するため、標準品／標準物質の試料を準備し、異なるロットの切断試薬で消化する。それぞれの消化物に対するクロマトグラムは、ピーク面積、ピーク形状及びピーク数の観点から比較する。その他の重要な化学物質や、試料調製に用いられる還元剤及びS-カルボキシメチル化試薬などの前処理手順にも同様の手順を適用することができる。

分離ステップに進む前に消化物を保管する時間や消化物を分離前に保管する条件も評価する。単一の消化物を分注し異なる保存条件で保管した後にクロマトグラフィー法で分離する。これらのマップに有意な違いがないか評価する。

分離ステップにおいて、カラム間のばらつきは、単一のカラムロット内でさえもペプチドマップ法の手順の性能に影響を与えうる。カラムのロット差を評価するため、対象タンパク質の標準品／標準物質を消化し、消化物を単一製造業者からの異なるロットのカラムを用いて分析する。得られたペプチドマップは、全体的な溶出プロファイル、保持時間及び分離度の観点からあらかじめ決めておいた判定基準に従い評価する。

頑健性の観点からカラムの寿命を評価するため、標準品／標準物質の単一の消化物を注入回数(例：カラム当たり10～250注入)の異なるカラムを用い、ペプチドマップ法の手順に従い分析する。得られたペプチドマップについて、ピークの広がりや全体的な分離に有意な違いがないか比較する。カラムが劣化するにつれて背圧が増加し、ペプチドマップに影響を与える可能性がある。システム適合性や試験の妥当性の基準は、カラムの劣化やその他のペプチドマップ試験の結果に影響を与える事象の診断に用いられる。

10. まとめ

ペプチドマップの分析手順は、タンパク質の分離、変性、必要に応じて化学的修飾(例：スルフヒドリル基のブロッキング)、タンパク質消化、ペプチドの分離及び検出、並びにデータ解析を含む複数のステップからなる。それぞれのステップを開発段階で最適化することにより、ペプチドマップ法を用いた確認試験として適切な分析手順を開発することができる。システム適合性の基準は、適切な標準品／標準物質と組み合わせることにより手順中の全てのステップが適切に実施され、分析手順のバリデーションと一貫性のあるペプチドマップが得られるかを評価できるように選択すべきである。ペプチドマップの分析手順が適切に開発され、バリデーションされ、実施されていれば、タンパク質医薬品の重要品質特性である試料タンパク質の確認に用いることが可能である。

ペプチド及びタンパク質の質量分析 (G3-4-161)

質量分析(以下「MS」という)は、分子をイオン化させ、統一原子質量単位に対する比で表したイオンの相対質量(m)をイオンの電荷数(z)で割って得られる無次元量の m/z 値に応じてイオンを分離し、検出する方法である。統一原子質量単位は基底状態の ^{12}C の12分の1の質量であり、原子、分子及びイオンの質量を表す際に用いられる。測定結果は、イオンの m/z 値をx軸に、それに対する信号の相対強度をy軸に示したマススペク

トルとして示される。イオンの m/z 値と z より、分子の質量を求めることができる。タンデム質量分析(以下「MS/MS」という)は、一段階目の分析部で選択したプリカーサーイオンを解離させ、生じたプロダクトイオンを二段階目の分析部で分離し、検出する方法である。観測したプロダクトイオンの m/z 値により、構造の確認や推定を行うことができる。質量分析で得られる情報は定性的であるが、定量にも利用される。MS並びにMS/MSは、ペプチド及びタンパク質分子の質量の測定並びにアミノ酸配列の確認及び翻訳後修飾の確認などに利用することから、ペプチド及びタンパク質性医薬品の確認試験などに用いられる。

1. 装置

質量分析計は、イオン源、分析部、検出部及びデータ処理部からなる(図1)。イオン源は、導入された試料をイオン化する部位であり、ペプチド及びタンパク質のイオン化には主に、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI: Matrix-assisted laser desorption/ionization)及びエレクトロスプレーイオン化法(ESI: Electrospray ionization)が用いられる。分析部は、生成したイオンを m/z 値に応じて分離する部位であり、主に四重極型、飛行時間型、イオントラップ型及びフーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴型などが用いられる。検出部は、分離されたイオンを信号として検出する部位であり、検出された信号は、データ処理部で処理され、マススペクトルとして出力される。MS/MS又は多段階MSは、複数の分析部を連結した分析計並びにイオントラップ型及びフーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴型の分析計を用いて行われる。イオンの解離には、通例、衝突誘起解離(CID: Collision-induced dissociation)、ポストソース分解(PSD: Post-source decay)及び電子捕獲解離(ECD: Electron capture dissociation)などが利用される。

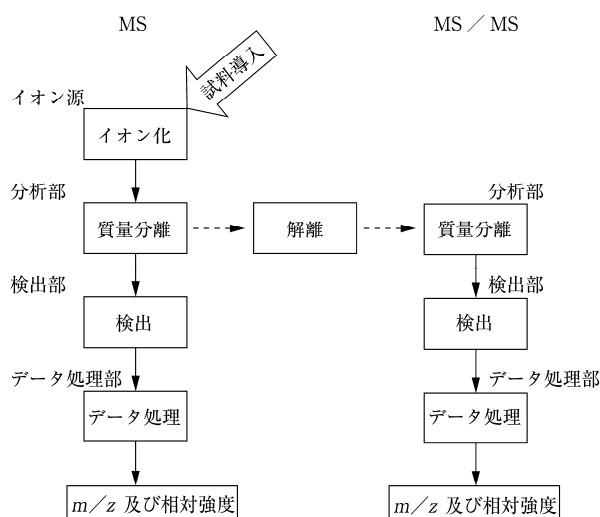


図1 MS及びMS/MSの概念図

2. 各種測定様式

2.1. MS

MSの測定法には次の方法がある。

(1) 全イオンモニタリング

選択した m/z 値の範囲のイオンを検出する方法であり、試料の質量及び同位体に関する情報を得ることができる。

(2) 選択イオンモニタリング

特定の m/z 値のイオンのみを検出する方法であり、試料の高感度な検出に利用される。

2.2. MS/MS

MS/MSの測定法には次の方法がある。

(1) プロダクトイオン分析

選択した m/z 値のプリカーサーイオンより生じたプロダクトイオンを検出する方法であり、試料や不純物の定性的な情報を得ることができる。

(2) プリカーサーイオンキャンモード

解離により特定の m/z 値のプロダクトイオンを生ずるプリカーサーイオンを走査する測定法であり、特定の部分構造を持つ試料の特異的検出に利用される。

(3) コンスタントニュートラルロスキャンモード

解離により特定の質量の減少(中性種の脱離)が起こるプリカーサーイオンを走査する測定法であり、特定の部分構造を持つ試料の特異的検出に利用される。

(4) 選択反応モニタリング

特定の m/z 値のプリカーサーイオンを解離させて生じる特定の m/z 値のプロダクトイオンを検出する方法であり、複雑なマトリックス中の低レベルの試料の定量的検出に利用される。

3. 操作法

3.1. MS

あらかじめ医薬品各条のシステム適合性で規定した試験溶液を用いて質量測定を行い、検出感度及び理論質量と測定質量の差などが医薬品各条に定める基準値に適合していることを確認する。基準値を満たしていない場合は、イオン源、分析部又は検出部の電圧などの調整や、適切な質量校正標準物質を用いた質量校正を行う。基準値を満たしていることを確認した後、医薬品各条に規定した方法で試料を調製し、試験条件に従い質量測定を行う。通例、イオン化法に応じて以下の方法で操作する。

(1) マトリックス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI)

脱塩した試料ペプチド及びタンパク質を適切な溶媒に溶解して試料溶液とする。通例、溶媒にはトリフルオロ酢酸を含む水溶液などを用いる。別に試料ペプチド及びタンパク質の構造特性に応じて適切なマトリックスを選び、トリフルオロ酢酸を含む水とアセトニトリルなどの混合液に溶かしてマトリックス溶液とする。通例、ペプチド及びタンパク質の測定には、 α -シアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸、2,5-ジヒドロキシ安息香酸又はシナベン酸などを用いる。試料溶液とマトリックス溶液を混合し、サンプルプレートに滴下し、乾燥させる。サンプルプレートをイオン源に設置し、適切な強度のレーザーを照射して試料をイオン化し、マスペクトルを得る。

(2) エレクトロスプレーイオン化法(ESI)

脱塩した試料ペプチド及びタンパク質を適切な溶媒に溶解して試料溶液とする。通例、溶媒には酢酸などを含む水及びメタノール又はアセトニトリルの混合液を用いる。シリンジ又は液体クロマトグラフィーなどにより、試料溶液をキャピラリーに導入する。キャピラリーに電圧をかけて試料をイオン化し、マスペクトルを得る。

3.2. MS/MS

あらかじめ医薬品各条のシステム適合性で規定した試験溶液を用いてMS/MSを行い、規定されたプロダクトイオンが検

出されることを確認する。MSと同様に試料ペプチドを適切な溶媒に溶解して試料溶液とし、イオン源に導入してイオン化する。医薬品各条で規定されたプリカーサーイオンを選択し、試験条件に従い適切な解離条件を設定して解離させ、マスペクトルを得る。分子内にジスルフィド結合を含むペプチドのMS/MSを行う場合は、通例、試料を還元アルキル化する。還元試薬として、通例、ジチオスレイトール、2-メルカプトエタノール及びトリス(2-カルボキシエチル)フォスフィンなどが用いられる。また、アルキル化試薬として、通例、ヨード酢酸、ヨードアセトアミド及び4-ビニルピリジンなどが用いられる。

4. 確認試験への応用例

4.1. 分子の質量の確認

MSにより試料ペプチド及びタンパク質分子の質量を測定する。モノアイソトピックピークが確認できる場合には、そのピークよりモノアイソトピック質量を求める。モノアイソトピックピークが確認できない場合は、ピークの頂点より平均質量を求める。試料タンパク質が多数の多価イオンとして観測される場合には、デコンボリューション処理により平均質量を求める。測定値が医薬品各条で規定した値の範囲内であることを確認する。

4.2. アミノ酸配列などの確認

試料ペプチド分子の質量を確認した後、MS/MSにより医薬品各条で規定したプリカーサーイオンを選択して解離させ、医薬品各条で規定したプロダクトイオンが検出されることを確認する。分子量が大きく有用なプロダクトイオンが観測できない場合、試料ペプチド及びタンパク質を酵素などにより断片化し、生じたペプチド断片のMS/MSによりアミノ酸配列などを確認できることがある。ペプチド及びタンパク質の断片化方法は、参考情報「ペプチドマップ法(G3-3-182)」におけるペプチド結合の選択的切断を参照する。

5. 用語解説

イオントラップ型(IT: Ion trap): 狭義には四重極イオントラップを指し、四重極型と同様の原理を利用して、高周波電圧によりイオンを閉じこめ、イオンを m/z 値別にセルから追い出すことによりイオンを分離する方法。特定の m/z 値のイオンをトラップし、解離及びイオン放出を繰り返すことにより、多段階MS(MSⁿ)を行うことができる。

エレクトロスプレーイオン化法(ESI: Electrospray ionization): 大気圧下、試料溶液を高電圧をかけたキャピラリーより噴霧し、帯電液滴を形成させ、試料イオンを生成する方法。ペプチド及びタンパク質などの高分子化合物では多価イオンが生成する。液体クロマトグラフィーと接続して用いることができる。

四重極型(Q: Quadrupole): 直流と高周波を重ね合わせた電圧を、双曲線又はそれに相当する断面を持つ平行な4本の電極柱に印加し、電圧を変化させることによって通過できるイオンの m/z 値を変化させて、イオンを分離する方法。

衝突誘起解離(CID: Collision-induced dissociation): 加速されたイオンと中性の衝突ガス(He, Ar, N₂など)との衝突によって衝突エネルギーの一部がイオンの内部エネルギーに変換され、イオンが励起し、解離すること。衝突ガスと衝突させる際のイオンの加速電圧により低エネルギーCID(約1000 V以下の電圧で加速されたイオンの衝突)と高エネルギーCID(1000

V以上の電圧で加速されたイオンの衝突)に分けられる。

電子捕獲解離(ECD: Electron capture dissociation): 多価のプロトン付加分子が、低エネルギーの電子と反応し、ラジカルイオンとなった後、解離すること。フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴質量分析計やイオントラップ型質量分析計でイオンの解離に利用される。

飛行時間型(TOF: Time-of-flight): イオン化した試料を高電圧で加速した後、一定距離を飛行するのに要した時間の違いによりイオンを分離する方法。イオン源から検出器までイオンを直線的に飛行させるリニア型と、静電界ミラー(リフレクトロン)を用いて反転させるリフレクトロン型がある。リフレクトロンを利用した場合、イオンの初期運動エネルギーのばらつきを補正することにより質量分解能が向上する。

フーリエ変換イオンサイクロトロン共鳴型(FT-ICR: Fourier transform ion cyclotron resonance): 一様な磁場中で、磁場に垂直な平面内で回転運動(サイクロトロン運動)するイオンの周期が m/z 値に反比例することを利用して、 m/z 値の異なるイオンを検出する方法。高周波電圧を印加してイオンを共鳴励起させた後、検出電極で検出した誘導電流信号をフーリエ変換により解析し、マススペクトルを得る。

ポストソース分解(PSD: Post-source decay): MALDIにおいて、イオン源で生じたイオンが加速場領域を出てから検出器に到達するまでに、イオン自身の過剰内部エネルギー又は残留ガスとの衝突によって解離すること。リフレクトロン飛行時間型質量分析計を用いたMS/MSに利用される。

マトリックス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI: Matrix-assisted laser desorption/ionization): 試料とマトリックスを混合し、ナノ秒オーダーの短時間のレーザー光を照射することにより試料イオンを生成する方法。タンパク質や糖質、オリゴヌクレオチド、脂質などの生体高分子をほとんど分解せずにイオン化することができる。主に一価イオンが生成する。

単糖分析及びオリゴ糖分析／糖鎖プロファイル法〈G3-5-170〉

糖鎖試験法は、糖タンパク質医薬品等に結合している糖鎖の恒常性を確認する方法である。糖タンパク質に結合した糖鎖が有効性及び安全性に影響を及ぼす場合や、その可能性を否定できない場合は、糖鎖を管理すべき重要な品質特性と位置づけ、恒常性を確認するための方策を講じる必要がある。その一つが糖鎖試験法であり、1)単糖に分解して分析する方法(単糖分析)、2)遊離糖鎖として分析する方法(オリゴ糖分析／糖鎖プロファイル法)、3)糖ペプチドとして分析する方法(糖ペプチド分析)、4)糖タンパク質として分析する方法(グリコフォーム分析)がある。それぞれ単糖の組成、タンパク質全体に結合している糖鎖の種類とその分布、特定の部位に結合した糖鎖の種類とその分布、及び糖タンパク質の糖鎖修飾の全体的な特徴とその分布を確認することができる。糖鎖試験策定に当たっては、糖鎖の構造と生物活性、薬理作用、体内動態、免疫原性、安定性及び溶解性等の関係を考慮し、適切な方法を選択、又は組み合わせて用いる。糖鎖の恒常性は、糖鎖試験法だけでなく、製造工程段階で管理されることもある。糖鎖試験法は工程内管理試験とし

て、また、工程開発過程における糖鎖の恒常性を確認する方法として利用可能である。以下に、単糖分析及びオリゴ糖分析／糖鎖プロファイル法について分析方法と一般的な要件を示す。糖ペプチド分析方法はペプチドマップ法及び質量分析法が、また、グリコフォーム分析法は等電点電気泳動、キャピラリー電気泳動及び質量分析法が参考になる。

1. 単糖分析

酸加水分解、酵素消化又はメタノリシスなどによりグリコシド結合を切断し、単糖を遊離する。遊離した単糖は、必要に応じて蒸発乾固、精製し、液体クロマトグラフィー、ガスクロマトグラフィー及びキャピラリー電気泳動などにより分析を行い、内標準法又は絶対検量線法により定量する。測定結果は、通例、タンパク質1モル当たりの各単糖のモル数として示す。

1.1. 糖タンパク質の分離及び精製

添加物や塩は、加水分解、単糖の誘導体化及び単糖のクロマトグラフィーによる分離に影響を及ぼすことがあるので、単糖分析は、一般に、適切な方法で糖タンパク質をあらかじめ分離・精製してから行われる。精製が必要な場合には、その方法を各条に規定する。

1.2. 単糖の遊離

1.2.1. 酸加水分解

酸加水分解は、中性糖及びアミノ糖の遊離に用いられる最も一般的な方法である。通例、2 ～ 7 mol/Lトリフルオロ酢酸に溶解し、100℃で加熱するなどによりグリコシド結合を加水分解し遊離する。タンパク質に直接結合したアミノ糖は遊離しにくいので、アミノ糖の正確な定量には、別途2 ～ 6 mol/L塩酸に溶解し、100℃で加熱するなどの条件で加水分解を行うことが望ましい。糖の種類及び結合様式により加水分解速度が異なることから、加水分解の経時変化をとり、単糖の生成と分解を確認することが推奨される。酸加水分解によりアミノ糖に結合したN-アセチル基が脱離するので、必要に応じて再N-アセチル化する。シアル酸は分解しやすいので、別途0.1 mol/L塩酸、0.1 mol/L硫酸又は2 mol/L酢酸中に溶解し、80℃で加熱するなどの条件にて酸加水分解を行い遊離する。

1.2.2. 酵素消化

シアル酸の遊離には、酵素消化も利用される。通常、*Arthrobacter ureafaciens*や*Clostridium perfringens*由来のシアリダーゼなど対象となる基質の範囲が広い酵素が使用される。試料に含まれるシアル酸の種類、結合様式及びO-アセチル化等を考慮して酵素消化の条件を最適化する。結合様式の異なるシアル酸を区別するために、特異性の高い酵素を用いる場合もある。

1.2.3. メタノリシス

十分に乾燥させた試料を塩酸を含むメタノール中で加熱することにより、単糖をメチル配糖体として遊離する。酸加水分解と比べ、遊離した単糖が分解されにくい。

1.3. 単糖の定量

1.3.1. 高pHイオン交換クロマトグラフィー／パルス式電気化学検出法

酸加水分解した試料から必要に応じて酸を除去する。単糖は誘導体化することなく高pHイオン交換クロマトグラフィー／パルス式電気化学検出により分離及び検出できる。単糖のpKaは12 ～ 14であり、強アルカリ条件(pH 12 ～ 13)下で水酸基が解離することを利用して、四級アミンを含むポリマー担体を充

填したカラムなどを用いた陰イオン交換クロマトグラフィーにより分離する。電気化学検出は、作用電極において物質が酸化還元されるときに電流を測定することにより電気化学的に活性な物質を検出する方法である。糖は強アルカリ条件下で陰イオンとなり、電気化学検出により検出することができる。糖の酸化物は電極の反応性を抑制するため、データ取込み後、電位を正及び負に変化させることにより電極表面の洗浄を行うパルス式電気化学検出が用いられる。アミノ酸も電気化学検出で検出されるため、糖含量の少ない糖タンパク質試料では妨害を受ける場合があることに留意する。本法は、中性糖、アミノ糖及びシアル酸などの単糖だけでなく、オリゴ糖の分析にも用いられる。

1.3.2. 誘導体化及び液体クロマトグラフィー

(1) 中性糖及びアミノ糖

酸加水分解により得た単糖は酸を除去し、必要ならばN-アセチル化した後、2-アミノ安息香酸、2-アミノピリジン又はエチル-4-アミノ安息香酸等を用いて還元的アミノ化、又は3-メチル-1-フェニル-5-ピラゾロンにより誘導体化を行う。試薬由来の不純物のピークにより分析が妨害されることがあるので、使用する試薬の純度に留意する必要がある。誘導体化に用いた過剰の試薬が試験結果に影響を及ぼさないように、必要に応じて誘導体化単糖の精製を行う。誘導体化単糖は、逆相クロマトグラフィーやホウ酸錯体の形成を利用した陰イオン交換クロマトグラフィーなどにより分離する。分離された単糖は蛍光光度計若しくは紫外吸光度計を用いて検出する。イオン交換クロマトグラフィーで単糖を分離した後、アルギニンなどで誘導体化して検出する方法もある。

(2) シアル酸

酸加水分解又はシアリダーゼで遊離したシアル酸を、 α -ケト酸と特異的に反応する1,2-ジアミノ-4,5-メチレンジオキシベンゼンや1,2-フェニレンジアミンにより誘導体化する。酸性条件下で誘導体化反応が進むので、酸加水分解した溶液をそのまま誘導体化に用いることができる。誘導体化したシアル酸は、逆相液体クロマトグラフィーにより分離し、蛍光光度計で検出する。

1.3.3. ガスクロマトグラフィー

メタノリシスで遊離した単糖をN-アセチル化及びトリメチルシリル化して分析する方法、酸加水分解により遊離した糖を還元及び全アセチル化して分析する方法等がある。前者はシアル酸も分解せずに定量することができるが、メタノリシスの際に α -及び β -のアノマー構造などに由来する複数のメチル配糖体が生成するのでクロマトグラムが複雑となる。

糖鎖の全ての遊離水酸基をメチル化後、酸加水分解し、得られた部分O-メチル化単糖を還元及び全アセチル化しガスクロマトグラフィーで分離し定量することにより、各単糖の糖結合部位推定することができ、糖鎖の構造情報を得ることができる。

1.4. 適否の判定基準

検体が規格に適合するかの評価は、通例、タンパク質当たりの各単糖の含量などが規定した範囲内であることを確認することなどにより行われる。規格を適切に設定するには、糖鎖修飾の特徴と有効性及び安全性との関連性を考慮する必要がある。

1.5. 単糖標準物質

標準物質として測定対象の単糖が用いられることが多く、この場合、各単糖を等量ずつ又は試料中の含量と類似した割合で混合して用いる。

1.6. システム適合性

システム適合性試験用溶液は、単糖標準物質を用いて適切に調製する。単糖は類似した性質を持つため各単糖ピークを完全に分離することが難しいこともある。適切に判定基準を設定する。

2. オリゴ糖分析／糖鎖プロファイル法

糖タンパク質から酵素的遊離法又は化学的遊離法により糖鎖を遊離し、液体クロマトグラフィー、キャピラリー電気泳動、質量分析法又はこれらの組み合わせにより分析する。結果は糖鎖の種類と分布を表す糖鎖プロファイルとして取得される。

2.1. 糖タンパク質の分離及び精製

必要に応じて、添加物、塩及び界面活性剤などを取り除く。精製が必要な場合には、その方法を各条に規定する。

2.2. 糖鎖の遊離及び精製

糖タンパク質からのN-結合型糖鎖(図1)の遊離は、酵素消化又はヒドラジン分解により行う。O-結合型糖鎖の遊離は、アルカリによる β 脱離、ヒドラジン分解又はO-グリカナーゼ消化により行う。結合位置やその構造によらずタンパク質に結合した全ての糖鎖を再現良く回収できるように糖鎖の遊離条件を最適化する。表1に糖鎖の酵素的遊離に一般的に用いられる試薬及びその特異性について示す。遊離した糖鎖は、必要に応じて適切な方法により精製する。

2.2.1. 酵素的遊離

N-結合型糖鎖の遊離には、*Flavobacterium meningosepticum*由来のペプチドN-グリコシダーゼF(PNGase F)又はアーモンド由来のペプチドN-グリコシダーゼA(PNGase A)などが用いられる。これらの酵素は、糖鎖の還元末端のN-アセチルグルコサミンとアスパラギン残基の間の結合を切断し、グリコシルアミン誘導体とアスパラギン酸残基にする。グリコシルアミン誘導体は弱酸性条件下で非酵素的に加水分解され、アンモニアと遊離糖鎖に分解する。O-結合型糖鎖を遊離できる酵素として*Diplococcus pneumoniae*由来のO-グリカナーゼがあるが、この酵素の基質特異性は限られている。

2.2.1.1. PNGase F消化

PNGase Fの至適pHは7～9であり、糖タンパク質をそのまま、又は還元剤、界面活性剤及び変性剤等の存在下で反応させる。還元アルキル化した後、又は糖ペプチドにした後、消化する場合もある。ある種の昆虫細胞や植物由来の糖タンパク質はキトビオースコアにフコースが α 1,3結合した構造を含む場合があり、この構造を持つN-結合型糖鎖は本酵素では遊離されない。

2.2.1.2. PNGase A消化

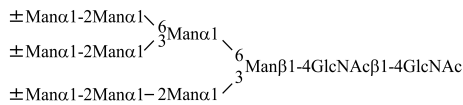
PNGase Aの至適pHは4～6である。本酵素は、糖タンパク質に直接作用して糖鎖を遊離させることが難しいので、糖タンパク質試料をエンドペプチダーゼなどにより糖ペプチドとした後、作用させ糖鎖を遊離させる。

2.2.2. 化学的遊離

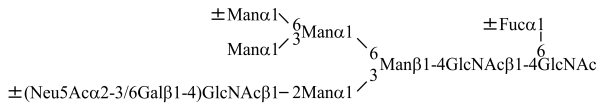
2.2.2.1. ヒドラジン分解法

よく乾燥させた糖タンパク質に無水ヒドラジンを加えて加熱する。ペプチド結合の切断と共に、糖鎖とペプチド間の結合も切断される。反応条件を調節することにより、N-結合型糖鎖及びO-結合型糖鎖を遊離させることができる。糖鎖中に含まれるアミノ糖やシアル酸の脱アシル化が起こるので、ヒドラジ

高マンノース型

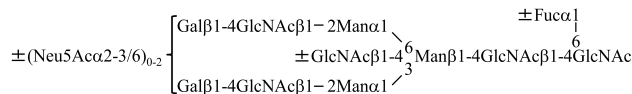


混成型

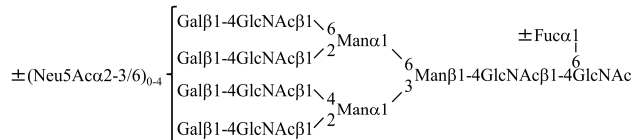


複合型

二本鎖



四本鎖



Fuc : L-フコース

Gal : D-ガラクトース

GalNAc : N-アセチル-D-ガラクトサミン

Glc : D-グルコース

GlcNAc : N-アセチル-D-グルコサミン

LacNAc : N-アセチルラクトサミン

Man : D-マンノース

Neu5Ac : N-アセチルノイラミン酸

図1 一般的なN-結合型糖鎖の構造

表1 糖鎖遊離酵素の例

酵素	特異性
N-結合型糖鎖の遊離	
ペプチド-N ⁴ -(N-アセチル-β-D-グルコサミニル)-アスパラギンアミダーゼ(EC 3.5.1.52)	ペプチド-N ⁴ -(N-アセチル-β-D-グルコサミニル)アスパラギン残基(グルコサミン残基は更に糖残基が付加されている)を加水分解し、(糖残基が付加された)N-アセチル-β-D-グルコサミニルアミンとアスパラギン酸残基を含むペプチドに加水分解する。
- ペプチドN-グリコシダーゼ F (PNGase F)	N-結合型糖鎖を遊離する。ただし、(α1,3)-結合したコアフコースを含むN-結合型糖鎖は遊離しない。
- ペプチドN-グリコシダーゼ A (PNGase A)	N-結合型糖鎖を遊離する。(α1,3)-結合したコアフコースを含むN-結合型糖鎖も遊離する。
マンノシルー糖タンパク質エンド-β-N-アセチルグルコサミニダーゼ(EC 3.2.1.96)	[Man(GlcNAc) ₂ Asn 構造を含む高マンノース型糖ペプチド/糖タンパク質の N,N'-ジアセチルキトビオースの間を加水分解する。N-アセチルグルコサミン残基がタンパク質に残る。残りの部分の糖鎖が遊離する。
- エンド-β-N-アセチルグルコサミニダーゼ F (endo F)	高マンノース型、ハイブリッド型及び複合型糖鎖を遊離する。
- エンド-β-N-アセチルグルコサミニダーゼ H (endo H)	高マンノース型及びハイブリッド型糖鎖を遊離する。
O-結合型糖鎖の遊離	
グリコペプチドα-N-アセチルガラクトサミニダーゼ(EC 3.2.1.97)*	セリン/トレオニン残基にα-結合したD-ガラクトース-(β1,3)-N-アセチルガラクトサミンを遊離させる。

* 本酵素は特異性が限られているため使用は限られる。

ンを除去した後、アミノ基をアセチル化する。シアル酸の脱離、及び遊離したO-結合型糖鎖の還元末端からの逐次分解(ピーリング反応)が起きる可能性があることに留意する。

2.2.2.2. アルカリによるβ脱離法

糖タンパク質をアルカリ条件下加熱すると、β脱離によりO-結合型糖鎖が遊離する。ピーリング反応を防ぐため、水素化ホウ素ナトリウムなどの還元剤存在下で行う。得られた糖鎖は

還元末端が還元されているので、還元末端の誘導体化は利用できないことに留意する。その他の方法として、遊離と同時に3-メチル-1-フェニル-5-ピラゾロンと反応させて誘導体化する方法もある。

2.3. 遊離糖鎖の分析

糖鎖は、直接、又は誘導体化した後分析される。表2に一般的な誘導体化剤及びこれに適した分析法を示す。糖鎖の分離に

用いる方法は、個々の糖鎖又は有効性及び安全性に大きな影響を与える構造を持つ糖鎖群を分離及び検出できる必要がある。

2.3.1. 液体クロマトグラフィー〈2.01〉

2.3.1.1. 誘導体化及び液体クロマトグラフィー／蛍光又は紫外吸収検出法

誘導体化糖鎖の液体クロマトグラフィーによるプロファイル法は最も一般的である。2-アミノベンズアミド、2-アミノ安息香酸、2-アミノピリジン等で誘導体化した糖鎖を、順相、逆相、イオン交換、又はこれらの混合モードのクロマトグラフィーにより分離し、蛍光光度計などを用いて検出する方法、3-メチル-1-フェニル-5-ピラゾロンで誘導体化した糖鎖を逆相クロマトグラフィーで分離し、紫外吸収検出する方法等がある。親水性相互作用クロマトグラフィーにおいては、糖鎖は親水性(糖鎖のサイズやシアル酸結合数など)に応じて分離される。逆相クロマトグラフィーでは、糖鎖は疎水性(糖鎖の種類、分岐、シアル酸結合数など)に応じて分離される。イオン交換クロマトグラフィーでは、電荷に応じて糖鎖が分離される。イオン交換と順相クロマトグラフィーの混合モードでは、糖鎖は電荷の違いだけでなく構造の違いに応じて分離される。

2.3.1.2. 高pH陰イオン交換クロマトグラフィー／パルス式電気化学検出法

遊離した糖鎖をそのまま、四級アミンを含むポリマー担体を充填したカラムなどを用いて陰イオン交換クロマトグラフィーにより分離し、パルス式電気化学検出器を用いて糖鎖を検出する。本方法は、シアル酸結合数の異なる糖鎖及び異性体を分離して検出することができる。誘導体化及び精製に伴うシアル酸の脱離や糖鎖の損失のリスクがないこと、並びにシアロ糖鎖の分離がよいことから、シアロ糖鎖の試験に用いられることが多い。個々の糖鎖の検出器に対する感度が異なることから、ピーク面積比は糖鎖のモル比と対応しないことに留意する。

2.3.2. キャピラリー電気泳動

誘導体化糖鎖を、適切な緩衝液を用いてキャピラリーゾーン電気泳動により分離し、レーザー誘起蛍光光度計などにより検出する。糖鎖は、電荷、サイズ、形状等に応じて分離される。一般に、電気浸透流を抑制するために、キャピラリーは内面を中性のポリマー等を用いて共有結合又は物理的吸着により修飾して用いられる。誘導体化剤の種類、並びに泳動液のpH及び成分は、良好な分離が得られるように選択する。ピークの分離能が高いこと及び一回の分析に必要な試料量が少ないことが特徴である。

2.3.3. 質量分析

質量分析は、誘導体化糖鎖だけでなく非誘導体化糖鎖の分析にも用いられる。得られた糖鎖の質量から単糖組成を推測することが可能である。イオン化には一般的に、ソフトイオン化法であるエレクトロスプレーイオン化法及びマトリックス支援レーザー脱離イオン化法が用いられる。シアル酸を含む糖鎖では、シアル酸の脱離が起こりやすいことに留意する。

2.4. ピークの帰属・同定

糖タンパク質に結合している糖鎖の同定は、試験方法の開発及び糖鎖プロファイルの評価のために重要である。通常、質量分析法を用いて決定した分子の質量、タンデム質量分析により得られたプロダクトイオンのパターン、各種のエキシグリコシダーゼ又はエンドグリコシダーゼ消化に対する感受性、構造が明らかな標準糖鎖とのクロマトグラム又は電気泳動図のパターンの一致、メチル化分析並びに用いた細胞種により生合成される糖鎖のパターンなどの情報を基に帰属する。表3に糖鎖の構造解析に利用されるエキソグリコシダーゼ及びエンドグリコシダーゼの例を示す。試験においては、標準物質より得られた糖鎖プロファイルとの比較によりピークを帰属する。

2.5. 適否の判定基準

適否の判定は、一般的に、検体に対する標準物質を用いて並

表2 誘導体化剤と適した分析法の例

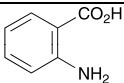
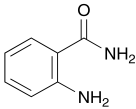
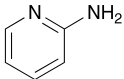
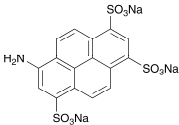
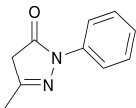
試薬名		頭文字	分析法	蛍光又はUV検出の条件
2-アミノ安息香酸		2-AA	LC, CE, MS	Ex : 360 nm, Em : 425 nm Ex : 325 nm, Em : 405 nm
2-アミノベンズアミド		2-AB	LC, MS	Ex : 330 nm, Em : 420 nm
2-アミノピリジン		2-AP	LC, MS	Ex : 310 nm, Em : 380 nm Ex : 320 nm, Em : 400 nm
8-アミノビレン-1,3,6-トリスルホン酸三ナトリウム塩		APTS	CE	Ex : 488 nm, Em : 520 nm
3-メチル-1-フェニル-5-ピラゾロン		PMP	LC, MS	UV 245 nm

表3 糖鎖構造解析に利用されるエキソグリコシダーゼ及びエンドグリコシダーゼの例

試薬名	由来	基質特異性
エキソ- α -シナリダーゼ (EC 3.2.1.18)	<i>Arthrobacter ureafaciens</i>	α 2-3,6,8,9
	<i>Vibrio cholerae</i>	α 2-3,6,8
	<i>Clostridium perfringens</i>	α 2-3,6,8
	Newcastle disease virus	α 2-3
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	α 2-3
β -ガラクトシダーゼ (EC 3.2.1.23)	Bovine testes	β 1-3,4
	<i>Streptomyces pneumoniae</i>	β 1-4
α -L-フコシダーゼ (EC 3.2.1.51)	Almond meal	α 1-3
	<i>Xanthomonas</i> sp.	α 1-3,4
	Bovine kidney	α 1-2,3,4,6
α -マンノシダーゼ (EC 3.5.1.24)	Jack Bean	α 1-2,3,6
α -ガラクトシダーゼ (EC 3.2.1.22)	Green coffee beans	α 1-3,4,6
ケラタン硫酸-エンド- β -ガラクトシダーゼ (EC 3.2.1.103)	<i>Bacteroides fragilis</i>	β 1-3,4/poly LacNAc

行して得られた糖鎖プロファイルと比較し、ピーク位置や面積の比率等が同等であること、又は、各糖鎖の全糖鎖のピーク面積の合計に対する百分率(面積百分率法)や相対ピーク面積比が、設定された範囲内であることを確認する。規格を適切に設定するには、糖鎖構造と有効性及び安全性の関連を考慮し、管理すべき糖鎖構造を明らかにすることが重要である。

2.6. 標準物質

標準物質は糖鎖分析法への使用の妥当性が検証されていることが重要である。

2.7. システム適合性

システム適合性は、試験の目的に応じて設定する。例えば、標準物質、又は、製品と同様な特性を持つ既知のよく特性解析された糖タンパク質を試料と同様に処理して得た糖鎖プロファイルに関して、特定のピークの存在、隣接するピークの分離度、検出されるべきピークの数、あらかじめ取得された参照プロファイルとの一致等を指標とした判定基準を設定する。若しくは、糖鎖標準物質、例えば、試験される製品からあらかじめ調製され、適格性が確認された標準糖鎖やシステム適合性糖鎖マーカー等を試料からの遊離糖鎖と同様に処理して得られた糖鎖プロファイルに関して、上記と同様の判定基準を設定する。

等電点電気泳動法〈G3-6-I42〉

本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

なお、三薬局方で調和されていない部分は「 $\blacklozenge$ 」で囲むことにより示す。

三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。

はじめに

等電点電気泳動法は等電点の違いを利用してタンパク質を分

離できる電気泳動法である。分離は両性電解質(アンフォライト)の混合物を含むポリアクリルアミド又はカンテン平板ゲルを用いて行う。このようなゲルに電圧をかけることによりアンフォライトがゲル内を移動し、pH勾配が形成される。ゲルの調製時にゲル自体に弱酸又は弱塩基の解離基を導入した固定化pH勾配を持ったゲルを用いる場合もある。添加したタンパク質がその等電点と同じpHのゲルの位置にまで泳動されると、タンパク質の相対電荷が中和されて移動が止まる。混合するアンフォライトを選択することにより、いろいろな範囲のpH勾配を作ることが可能である。

理論

タンパク質は電場がかけられたゲル内の等電点の位置では実効電荷が0となり移動度がゼロとなるが、拡散作用による移動は認められる。タンパク質は通電により形成されたpH勾配の各々の等電点位置で移動が停止し、そこに濃縮される。この濃縮効果を“フォーカシング(focusing)”とよぶ。電圧をかけることにより発生する熱を放散させなければならないため、かけられる電圧には制限があるが、試料量を少なくして高電圧で分析することにより、タンパク質の分離度を向上できる。薄いゲルや自動温度調節循環装置を利用した冷却板を用いることによりゲルの発熱を防ぎ、切れのよいフォーカシングが可能となる。分離度 R は隣り合う二つのバンドを分離するのに必要な最小pI差(ΔpI)を測定することで算出される。

$$R: \Delta pI = 3 \sqrt{\frac{D (dpH/dx)}{E (-d\mu/dpH)}}$$

式中、 D はタンパク質固有の拡散係数、 dpH/dx はpH勾配、 E は電界強度(V/cm)、 $-d\mu/dpH$ はタンパク質のpH移動度曲線上におけるpIに等しいpHでの傾きである。 D 及び $-d\mu/dpH$ はタンパク質固有の値であり変えることはできないが、より狭いpH範囲を用い、電界強度を大きくすることにより分離をよくすることができる。アンフォライト担体を用いて作製された等電点ゲルによるタンパク質の分離は非常に良好な結果が得られる。ゲル自体にアンフォライト担体と同様の解離基を導入した固定化pH勾配を用いることにより分離度を更に向上させることができる。アンフォライト担体を用いて作製した等電点ゲルでは、pH値0.02以上異なる等電点を持つタンパク質を分離できるが、固定化pH勾配を用いたゲルでは、pH値約0.001以上異なる等電点を持つタンパク質を分離できる。

操作

試料の特性並びにその調製には、特に注意を払う必要がある。必要に応じて透析又はゲルろ過法により、試料を脱イオン水ないしは2%アンフォライトを含む溶液に調製することが最も望ましい。

ポリアクリルアミド平板ゲルでフォーカシングが完了するのに要する時間は色素タンパク質(例えばヘモグロビン)をゲル表面の別々の位置に添加し、電圧をかけることによって確認できる。すなわち、異なる位置に添加した色素タンパク質のバンド位置が同一になった時点でフォーカシングが完了したことが確認できる。プロトコルによってはフォーカシングの完了を泳動開始後の経過時間で定めることができる。

適切に調製された標準品又は等電点電気泳動用マーカータンパク質と泳動パターンを比較することにより、等電点電気泳動

を目的タンパク質の確認試験に用いることができる。また、標準品の泳動バンドとの濃淡を比較することにより、限度試験として等電点電気泳動を用いることもできる。更には、デンストメーターを用いてバンドの濃淡を測定することにより定量法として用いることも可能であり、若しくは同様の操作により目的タンパク質のバンドに含まれるタンパク質の相対量を測定することも可能である。

装置

装置の構成は以下のとおりである。

定電圧定電流定電力電源装置。2500 Vの電圧を供給できるものが汎用されているが、このような電源装置が操作上、最適と考えられる。また30 W以上の出力を持つ装置が望ましい。

適当な材質でできたゲル支持用冷却板を含むプラスチック製等電点電気泳動装置。

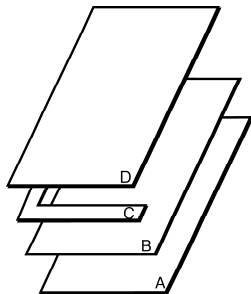
白金電極が付いたプラスチック製カバー。各電極はそれぞれ陽極液及び陰極液で浸された適当な幅、長さ及び厚さの紙芯でゲルと接続される。

ポリアクリルアミドゲル等電点電気泳動法：操作の詳細

以下はポリアクリルアミド平板ゲルを用いる等電点電気泳動操作法の詳細であり、医薬品各条に特に規定がない限り本法を用いる。

平板ゲルの調製法

型枠 型枠(図参照)はガラス板(A)、ゲルの取扱いを容易にするためのポリエステルフィルム(B)、一つ以上のスペーサー(C)、ガラス板(D)及びこれらを固定するためのクランプからなっている。



7.5%ポリアクリルアミドゲル アクリルアミド29.1 g及びN,N'-メチレンビスアクリルアミド0.9 gを水100 mLに溶かす。この液2.5容に医薬品各条に規定されたアンフォライト混液を加え、水で10容とする。この液を注意深く混和した後、脱気する。

型枠の組立て 一番下のガラス板にポリエステルフィルムをのせ、スペーサーを置き、2枚目のガラス板をその上に置き、それらをクランプで固定する。上記で用時調製した7.5%ポリアクリルアミドゲルをマグネチックスターラーでかき混ぜながら、10%ペルオキシ二硫酸アンモニウム溶液0.25容及びN,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン0.25容を加え、この液を直ちに型枠のガラス板間の隙間に流し込む。

方法

型枠を外し、冷却した支持板を適当な液体2～3 mLでぬらし、その上に気泡が生じないように注意しながらポリエステルフィルム上に重合させたゲルを移す。医薬品各条に規定されたように試料溶液及び標準溶液を調製する。約10 mm×5 mmの試

料添付用の紙片(複数)をゲル板上に置き、各紙片に試験する試料の規定量を浸み込ませる。また、等電点既知のタンパク質溶液の規定量をpHマーカーとしてゲルにのせる。プロトコールによっては紙片の代わりに試料液を添付する溝を持ったゲル板を使用する。ゲルの幅に届く長さに切った2枚のろ紙をそれぞれの電極液(陽極液は酸性、陰極液はアルカリ性)に浸す。陽極液及び陰極液のそれぞれの組成は医薬品各条に規定される。これらの紙芯をゲルの両端に端から数ミリメートル重なるように置く。両電極が各紙芯に接触するようにカバーをかける。医薬品各条に規定された電気泳動条件に従って泳動を開始する。標準タンパク質混合物の泳動が終了した時点で電流を止め、ピンセットで試料添加用紙片と両電極紙芯を取り除き、ゲル平板を“ポリアクリルアミドゲル等電点電気泳動用固定液”に浸す。室温で30分間穏やかに振とうした後、固定液を除き、“脱色液”200 mLを加えて1時間、振とうする。脱色液を捨て、“クーマシー染色試液”を加えて30分間放置する。次に“脱色液”に浸して透明な背景にバンドが見えるようになるまでゲルを脱色する。医薬品各条に記載されている染色パターンの中の位置及び濃度を調べる。

本試験法の細部の変更（検証の必要な項目）

本法を準用して、試験法又は操作法の変更を行う場合には適切な検証が必要である。変更には次のようなケースが含まれる。

- (1) 市販平板ゲル、染色及び脱色液のキットの使用
- (2) 固定pH勾配ゲルの使用
- (3) ディスクゲルの使用
- (4) 種々のサイズの超薄層(0.2 mm)平板ゲルカセットの使用
- (5) 異なるサンプル量若しくは紙以外のサンプル添加手段を含むサンプル添加操作法の変更
- (6) ゲルの寸法や装置に応じた電流、電圧等の変更や、バンドの移動度から判断するのではなく定められた泳動時間の分離等、種々の泳動条件の利用
- (7) プレフォーカシング段階の組入れ
- (8) 自動装置の使用
- (9) カンテンゲルの使用

等電点電気泳動操作法の検証

本法と異なる方法を採用する場合にはその検証を行う必要がある。次の判断基準により分離能を評価することができる。

- (1) 例えば等電点既知の着色pHマーカーを用いる場合は目的とする安定なpH勾配が形成されているかどうかの評価
- (2) 被験物質の標準物質の泳動パターンと被験物質の電気泳動パターンとの比較
- (3) 医薬品各条に記述された以外の評価基準

本法の規定の変更

特定の物質の分析に必要な本法の変更は各医薬品各条に詳細に規定することができる。これらには次のものが含まれる。

- (1) 泳動ゲル中への尿素の添加(3 mol/Lの濃度がタンパク質を可溶化しておくのに必要な量としてしばしば用いられるが、8 mol/Lまで用いることもできる)：等電点において沈殿を生じるタンパク質がある場合には、沈殿を起こさせないようにゲルの組成に尿素を加える。尿素を使う必要がある場合には、タンパク質のカルバミル化を防ぐために用時調製した溶液を用いるべきである。
- (2) 他の染色法の利用
- (3) タンパク質の凝集や沈殿を防ぐために非イオン性の界面

活性剤(例えばオクチルグルコシド)や両親媒性の界面活性剤(例えば3-[(3-Cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propanesulfonate(CHAPS)や3-[(3-Cholamidopropyl)dimethylammonio]-2-hydroxy-1-propanesulfonate(CHAPSO))を添加したゲルの使用や試料へのアンフォライトの添加

注意

試料はゲルのどの場所にも添加できるが、極端なpH環境に試料をさらすことのないように電極付近に試料を添加することは避けるべきである。試験法を開発する場合に、被験試料をゲルの三つのポイント(中心と両端)に添加することができるが、両端に添加したタンパク質の泳動パターンは同一にはならないことも起こりうる。

フォーカシングを長時間行くとpH勾配が崩れて「pHドリフト(陰極流)」とよばれる現象が起こる可能性がある。その機構は完全に解明されているわけではないが、電気的浸透圧と二酸化炭素の吸収が陰極流を引き起こす要因であると考えられている。pHドリフトはゲルの陰極側からフォーカスしたタンパク質が外へ泳動されてしまう現象である。固定化pH勾配を用いることによりこの問題を解決することができる。

泳動中はゲルを支えるゲル支持板を十分に冷却(約4℃)することが重要である。電気泳動中に高い電場をかけると発熱することがあり、ゲルのフォーカシングにも影響する。

試薬・試液

ポリアクリルアミドゲル等電点電気泳動用固定液 5-スルホサリチル酸二水和物35 g及びトリクロロ酢酸100 gに水を加えて溶かし、1000 mLとする。

◆クーマシー染色試液 クーマシーブリアントブルー R-250 125 mgを水/メタノール/酢酸(100)混液(5:4:1) 100 mLに溶かし、ろ過する。

脱色液 水/メタノール/酢酸(100)混液(5:4:1)◆

キャピラリー電気泳動法 (G3-7-180)

本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。

1. 基本原理

キャピラリー電気泳動法は、キャピラリー内の電解質液中に存在する荷電試料が直流電場の影響下で移動することに基づいた物理的な分析法である。

電場 E における移動速度は、試料の電気泳動移動度とキャピラリー内の緩衝液の電気浸透移動度により決まる。電気泳動移動度 μ_{ep} は試料の特性(電荷、分子の大きさや形)と緩衝液の特性(電解液の種類とイオン強度、pH、粘性及び添加剤)に依存する。球形を想定した物質の電気泳動速度 v_{ep} は、次式により与えられる。

$$v_{ep} = \mu_{ep} E = \left(\frac{q}{6\pi\eta r} \right) \left(\frac{V}{L} \right)$$

q : 粒子の有効電荷

η : 緩衝液の粘度

r : 溶質イオンのStokes半径

V : 電圧

L : キャピラリーの全長

緩衝液で満たされたキャピラリーに電圧を印加すると、電気浸透流と呼ばれる溶媒の流れがキャピラリー内に発生する。電気浸透流の速度はキャピラリー内壁の電荷密度及び緩衝液の特性に依存する電気浸透移動度 μ_{eo} により決まる。電気浸透速度 v_{eo} は次式により与えられる。

$$v_{eo} = \mu_{eo} E = \left(\frac{\epsilon \zeta}{\eta} \right) \left(\frac{V}{L} \right)$$

ϵ : 緩衝液の誘電率

ζ : キャピラリー内壁のゼータ電位

試料の移動速度(v)は次式により与えられる。

$$v = v_{ep} + v_{eo}$$

試料の電気泳動移動度と電気浸透移動度は試料の電荷により、同方向又は反対方向に働く。通常のキャピラリー電気泳動法では陰イオンは電気浸透流と逆方向に泳動され、移動速度は電気浸透流より遅い。陽イオンは電気浸透流と同方向に泳動され、移動速度は電気浸透流より速い。試料イオンの電気泳動速度と比べて速い電気浸透流が存在する条件下では、陽イオン、陰イオンの両者を一斉分析することが可能である。

キャピラリーの試料導入末端から検出部までの距離(有効長、 l)を試料が移動するのに要する時間(t)は、次式により与えられる。

$$t = \frac{l}{v_{ep} + v_{eo}} = \frac{l \times L}{(\mu_{ep} + \mu_{eo}) V}$$

通常、内面未処理のフューズドシリカキャピラリーは、pH 3以上で内壁に存在するシラノール基が解離することにより負電荷を帯びる。その結果、陽極側から陰極側へと向かう電気浸透流が発生する。試料の移動速度において高い再現性を得るために電気浸透流を一定に保つ必要がある。分析の目的によっては、キャピラリー内壁を修飾したり、緩衝液の濃度、組成及びpHを変えることにより電気浸透流を抑制することが必要な場合がある。

試料導入後、各試料成分イオンは、それぞれのゾーンとして電気泳動移動度に応じて電解質内を移動する。ゾーンの拡散、すなわちそれぞれの試料バンドの広がりはいろいろな現象によって起こる。理想的な条件では試料ゾーンの広がりに対する唯一の原因はキャピラリーに沿った方向への試料成分の分子拡散(軸方向拡散)である。理想の場合のゾーンの分離効率、理論段数(N)として次式により表される。

$$N = \frac{(\mu_{ep} + \mu_{eo}) \times V \times l}{2 \times D \times L}$$

D : 電解質中での試料の分子拡散係数

実際には、熱放散、キャピラリー内壁への試料成分の吸着、試料と緩衝液間の導電率の不均一性、試料プラグの長さ、検出セルのサイズ、泳動液槽の水位差なども、ゾーンの広がり原因となりうる。

二つのバンド間の分離(分離度 R_s として表される)は、試料の

電気泳動移動度，キャピラリー内に発生する電気浸透移動度を变化させて各試料イオンのゾーンの分離効率を向上することにより達成される。

$$R_S = \frac{\sqrt{N}(\mu_{epb} - \mu_{epa})}{4(\mu_{ep} + \mu_{eo})}$$

μ_{epa} 及び μ_{epb} ：分離した2種類の試料イオンの電気泳動移動度

μ_{ep} ：2種類の試料イオンの電気泳動移動度の平均

$$\mu_{ep} = \frac{1}{2}(\mu_{epa} + \mu_{epb})$$

2. 装置

キャピラリー電気泳動装置は下記のものから構成される。

- (1) 電圧可変高電圧電源
- (2) 規定の陽極液及び陰極液を入れ，同じ水位に保持された二つの泳動液槽
- (3) 泳動液槽に浸され，電源に接続した一対の電極(陽極と陰極)
- (4) 光学検出用ウインドウを設けた分離用キャピラリー(通常フューズドシリカ製)。キャピラリーの両端は泳動液槽中に置かれる。このキャピラリーは各条で規定する溶液で満たされる。
- (5) 適切な試料導入システム
- (6) 所定の時間にキャピラリーの検出部を通過する目的物質の量をモニターできる検出器。通常，紫外可視吸光度測定法あるいは蛍光光度法によるが，分離目的によっては導電率測定，電流測定又は質量分析による検出も有用である。紫外吸収や蛍光性を持たない化合物には間接的な検出法が用いられる。
- (7) 再現性のよい分離が得られるようにキャピラリー内の温度を一定に保つことのできる温度調節システムが勧められる。
- (8) レコーダー及び適切なインテグレーター又はコンピューター

試料導入操作とその自動化は正確な定量分析のために重要である。導入方法として，落差，加圧又は吸引法，及び電気的な導入法がある。電氣的に導入される各試料成分の量は，各々の電気泳動移動度に依存し，この試料導入法の採否を決定する要素となる。

各条に規定されたキャピラリー，泳動液，キャピラリーの分析前処理法，試料溶液及び分析条件を用いる。分析中に気泡が発生して通電が遮断されたり，検出が妨害を受けないように，泳動液はろ過及び脱気を行う。移動時間について，高い再現性を得るためには，各分析法において厳密なキャピラリーの洗浄手順を設定しておくべきである。

3. キャピラリーゾーン電気泳動法

3.1. 原理

キャピラリーゾーン電気泳動法では，対流を防ぐ支持体を含まない緩衝液のみを満たしたキャピラリー内で試料を分離する。この方法では，試料中のそれぞれの成分が，異なる速度で不連続のバンドとして移動することにより分離が起こる。各バンドの移動速度はキャピラリー内の溶質の電気泳動移動度と電気浸透流に依存する(1.基本原理参照)。キャピラリー内壁に吸着しやすい物質の分離能を高めるために内面修飾されたキャピラリーも使用できる。

本分離モードを用いて，低分子試料($M_r < 2000$)並びに高分

子試料($2000 < M_r < 100000$)を分析できる。キャピラリーゾーン電気泳動法の高い分離効率により，質量電荷比が僅かしか異なる分子間の分離も可能となる。この分離法ではキラルセクターを分離用緩衝液に加えることによってキラル化合物の分離も可能となる。

3.2. 分離の最適化

複数のパラメーターが分離に関与する場合には，分離条件の最適化が複雑になる。分離条件の設定では，装置及び電解質溶液が主要なパラメーターである。

3.2.1. 装置に関するパラメーター

(1) 電圧 印加電圧及びカラム温度の決定には，ジュール熱プロットが有用である。分離時間は印加電圧に反比例する。しかし，電圧を上げると過剰な熱が発生し，キャピラリー内部の緩衝液の温度が上昇して，粘度の勾配が生じる。結果としてバンドが広がり，分離度を低下させる。

(2) 極性 電極の極性については通常電圧印加(試料導入側が陽極，廃液側が陰極)で，電気浸透流は陰極側へ流れる。極性を逆にした場合には電気浸透流は廃液側から導入側へ向かって発生し，電気浸透流よりも速い電気泳動移動度を持つ試料のみが検出部を通過する。

(3) 温度 温度の影響は，主に泳動液の粘度や導電率に表れ，移動速度に影響を与える。場合によってはキャピラリー温度の上昇がタンパク質の立体構造を変化させ，それらの移動時間や分離効率も変化することもある。

(4) キャピラリー キャピラリーの寸法(長さ及び内径)は分析時間，分離効率及び試料の導入量に影響を与える。全長の増加は電場を減少(定電圧時)させ，有効長及び全長の増加により移動時間が長くなる。緩衝液と電場が一定ならば，熱放散効率はキャピラリー内径により異なる。したがって，それによって起こされる試料バンドの拡散はキャピラリーの内径によっても変化する。また，使用する検出法にもよるが，内径が変わると試料導入量も変化するため，検出限界にも影響を及ぼす。

キャピラリー内壁への試料成分の吸着が分離効率を低下させるため，分離法の設定で吸着を防ぐ方法を考慮する必要がある。特にタンパク質を試料とする場合，吸着を防ぐ幾つかの方法が工夫されている。その方法として緩衝液組成を工夫(pHの調節や陽イオン性添加剤を内壁へ吸着)するだけでタンパク質の吸着を防ぐ方法もある。その他，タンパク質と負電荷を帯びたシリカ表面との相互作用を防ぐために，キャピラリー内壁にポリマーを共有結合させて被覆する手法がある。この目的のために，親水性の中性ポリマーや陽イオン性又は陰イオン性ポリマーで化学修飾されたキャピラリーを入手することができる。

3.2.2 電解質溶液に関するパラメーター

(1) 緩衝液の種類と濃度 キャピラリー電気泳動法に適した緩衝液は，使用するpH範囲内で適当な緩衝能を持ち，また，電流発生を最少に抑えることができる移動度の低いものが良い。

緩衝液イオンの移動度を溶質の移動度に合わせることができると，ピーク形状のゆがみを最少にすることができる。分離効率を高め検出感度を向上するために，キャピラリー内において試料ゾーンの収束を図る上で，試料溶媒の種類も重要である。

一定のpHにおいて緩衝液濃度を高くすると電気浸透流及び試料の移動速度は減少する。

(2) 緩衝液のpH 緩衝液のpHは，試料や添加剤の電荷及び電気浸透流に影響するので，試料の分離に影響を及ぼす。タン

パク質及びペプチドの分離において、緩衝液のpHを試料の等電点より高いpHから等電点より低いpHに変えることにより、試料の正味の電荷が負から正に変化することになる。一般に、緩衝液のpHを高めると電気浸透流は速くなる。

(3) 有機溶媒 試料又は泳動液添加剤の溶解度を高めたり、試料成分のイオン化度を変えるために水性緩衝液に有機溶媒(メタノール、アセトニトリルなど)を添加する場合がある。一般に有機溶媒の緩衝液への添加は電気浸透流を低下させる。

(4) キラル分離のための添加物質 鏡像異性体を分離するためには、泳動液にキラルセクターを添加する。最も一般的に用いられるキラルセクターはシクロデキストリン類であるが、クラウンエーテル類、多糖類若しくはタンパク質が使用される場合もある。キラル認識はキラルセクターとそれぞれの鏡像異性体との相互作用が異なることによるため、その分離度是用いるキラルセクターの種類により著しく異なる。そのため、必要な分離を得るために、内腔の大きさの異なるシクロデキストリン類(α -, β -, γ -シクロデキストリン)、中性基(メチル, エチル, ヒドロキシアルキルなど)又は極性基(アミノメチル, カルボキシメチル, スルホブチルエーテルなど)を持つシクロデキストリン類を用いることができる。修飾シクロデキストリンを使用するとき、製品間で修飾率にばらつきがあるため、キラル分離に影響を及ぼすことがあるので、注意する必要がある。キラル分離で分離度に影響を与えるそのほかの因子として、キラルセクターの濃度、緩衝液の組成とpH、及び分析温度がある。メタノール又は尿素のような有機系添加剤の使用も分離度に影響を与える。

4. キャピラリーゲル電気泳動法

4.1. 原理

キャピラリーゲル電気泳動法は、分子ふるい効果を持つゲルを充填したキャピラリー内で分離が行われる。類似した質量電荷比を持つ分子のうち、分子サイズの小さい成分が大きい成分よりもゲルのネットワーク内を自由に移動できることから、小分子が大分子よりも速い速度で泳動されることで分離が達成される。キャピラリーゲル電気泳動法は類似した質量電荷比を持つ生体高分子(例えばタンパク質及びDNA断片)をそれらの分子量に従って分離できる。

4.2. ゲルの特徴

二種類のゲルが用いられる。固定型ゲルと流動型ゲルである。架橋されたポリアクリルアミドゲルのような固定型ゲルは、キャピラリー内でモノマーを重合させて調製する。通常ゲルはキャピラリー内壁と結合しているため、キャピラリーを破壊しない限り取り去ることはできない。ゲルを還元条件下でタンパク質の分析に使用するとき、泳動液は通常ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)を含み、分離前に試料を導入する前にSDSと2-メルカプトエタノール又はジチオスレイトールの混液とともに加熱して変性させる。非還元的条件の分析(例えば不変性の抗体)では、2-メルカプトエタノール及びジチオスレイトールを使用しない。架橋されたゲル中での分離において(「3.キャピラリーゾーン電気泳動法」で述べたように)、タンパク質の分離は泳動液の組成やゲル調製時のアクリルアミドの濃度や架橋剤の比率を変更してゲルのポアサイズを調節することによって最適化できる。一般に、ポアサイズが小さい場合は試料の移動度も小さくなる。ゲルは強固なため試料導入は電気的方法を利用する必要がある。

流動型ゲルとして、直鎖ポリアクリルアミド、セルロース誘導体、デキストランなどの水溶性ポリマーも分子ふるいの効果を有する。これらの分離媒体は、架橋されたポリマーと比べて調製が容易である。バイアル中で調製し、電気浸透流が発生しないように内壁が修飾されたキャピラリーに圧力によって充填することができる。一般に試料を導入する前にゲルを交換することにより分離の再現性は高くなる。高分子量のポリマー(一定の濃度で)を使うか、ポリマー濃度(一定の分子量で)を低くすることで、ゲルのポアサイズを大きくすることができる。ゲルのポアサイズを小さくすると同一緩衝液では試料の移動度は小さくなる。これらのポリマーは緩衝液に溶解しても粘性は低いので、試料の導入は圧力導入法及び電氣的導入法のいずれでも行える。

5. キャピラリー等電点電気泳動法

5.1. 原理

等電点電気泳動法では、分離緩衝液に溶解した広範囲の等電点(pI)を持つ両性電解質(ポリアミノカルボン酸)により形成されたpH勾配中で、試料分子はそのpI以外のところでは電荷を持つため電場の影響下で移動する。

等電点電気泳動法の三つの基本的なステップは、試料添加、収束及び移動である。

(1) 試料添加 二つの方法を利用できる。

(i) ワンステップ添加: 試料を両性電解質と混和し、加圧又は吸引によりキャピラリーに導入する。

(ii) 連続的な添加: リーディング緩衝液、両性電解質、両性電解質と混和した試料、両性電解質、最後にターミナル緩衝液の順にキャピラリーに導入する。試料の容量はpH勾配を乱さないように少量でなければならない。

(2) 収束 電圧を印加すると、両性電解質はそれぞれの電荷により陰極あるいは陽極へと移動し、陽極(低いpH)から陰極(高いpH)へpH勾配が形成される。同時に分離する成分は、それらの等電点(pI)に対応するpHのところに移動し、収束すると電流が著しく低下する。

(3) 移動 分離した成分のバンドを検出部まで移動させる。三種の方法を利用できる。

(i) 電気浸透流により収束中に成分移動が達成される。ただし、成分を収束させるために電気浸透流を小さくする必要がある。

(ii) 収束終了後に圧力を用いて移動させる。

(iii) 収束終了後に陰極又は陽極側の泳動液(移動させたい方向により選択)に塩類を加えて電圧を印加するとキャピラリー中のpHが変化し、成分が移動する。pHが変化するにつれてタンパク質と両性電解質は塩類を加えた液槽の方向へ移動し、検出器を通過する。

得られる分離はpH勾配(dpH/dx)、異なる等電点を持つ両性電解質の数、分子拡散係数 D 、電場の強さ E 及びそのpHにおける試料の電気泳動移動度の変化($-d\mu/dpH$)から ΔpI により表すことができる。

$$\Delta pI = 3 \sqrt{\frac{D (dpH/dx)}{E (-d\mu/dpH)}}$$

5.2. 最適化

分離条件を決定する主要なパラメーターを以下に示す。

(1) 電圧 キャピラリー等電点電気泳動法では収束時に300

～ 1000 V/cmの高電場を利用する。

(2) キャピラリー 試料を検出部まで移動させる方法(上記参照)によっては電気浸透流を消失若しくは最小限に抑えなければならない。内面修飾されたキャピラリーは電気浸透流を抑えるものが多い。

(3) 溶液類 陽極槽には等電点が最も酸性の両性電解質の等電点より低いpHの液を満たし、陰極槽には最も塩基性の両性電解質の等電点より高いpHの液を満たす。陽極側にはリン酸、陰極側には水酸化ナトリウムがしばしば使用される。

両性電解質液にメチルセルロースのようなポリマーを添加すると、粘性が増すことによって対流や電気浸透流が抑制される。市販の両性電解質にはいろいろなpH範囲のものがあり、広いpH範囲が必要なときには、混和して使用する。広いpH範囲は試料の等電点を推定するために用い、狭い範囲のものは測定精度を上げるために用いられる。標準タンパク質マーカーの等電点と移動時間の関係からpHを校正することができる。

必要ならば、グリセリン、界面活性剤、尿素、両性イオン緩衝剤などを緩衝液に添加することにより等電点でタンパク質が沈殿することを防ぐことができる。しかし、尿素は濃度によってはタンパク質を変性させてしまう。

6. ミセル動電クロマトグラフィー (MEKC)

6.1. 原理

ミセル動電クロマトグラフィー(MEKC)では、臨界ミセル濃度(cmc)以上の濃度で界面活性剤を含む電解質溶液中で分離が行われる。試料分子は水性緩衝液とミセルからなる疑似固定相へ、試料の分配係数に基づいて分配される。したがって、この方法は電気泳動とクロマトグラフィーの両者の特徴を有する。MEKCは、キャピラリー電気泳動の効率、スピード及び装置への適応性を兼ね備え、かつ中性及び荷電した試料の両者の分離に利用できる電気泳動法である。MEKCで最も広く用いられる界面活性剤は陰イオン性のSDSであるが、セチルトリメチルアンモニウム塩のような陽イオン性界面活性剤も用いられる。

MEKCにおける分離のメカニズムは以下のとおりである。中性及びアルカリ性pHにおいては、強い電気浸透流が発生し、泳動液は陰極方向に移動する。SDSを用いると負電荷を持つミセルは電気的に逆の陽極方向へ移動する。その結果、泳動液に比べてミセルの移動速度は遅くなる。中性物質の場合には、ミセルと水性緩衝液の間で分配が起こり、電気泳動されないため、その移動速度はミセルと水性緩衝液間の分配係数のみに依存する。電気泳動図において、中性物質由来のピークは常に電気浸透流マーカーのピークとミセルのピークの間に存在する(これらの二つのピーク間はseparation windowと呼ばれる)。電荷を持つ試料の場合、その移動速度はミセルと水性緩衝液間の分配係数とミセルが存在しない場合の電気泳動移動度との両者に依存する。

中性又は弱くイオン化した試料のMEKCにおける分離原理は本質的にはクロマトグラフィーであるので、試料の移動度と分離度は保持係数(k')、すなわちミセル中の溶質のモル数と移動相中のモル数の比である質量分布比(D_m)で一般化することができる。中性の場合の k' は次式のとおりである。

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0 \left(1 - \frac{t_R}{t_{mc}}\right)} = K \frac{V_S}{V_M}$$

t_R : 試料の移動時間

t_0 : 保持されない物質の移動時間(ミセルに取り込まれない電気浸透流マーカー、例えばメタノールの移動時間)

t_{mc} : ミセルの移動時間(ミセルに常時取り込まれて、ミセルと共に移動するズダンⅢ (Sudan Ⅲ)のようなミセルマーカーの移動時間)

K : 試料の分配係数

V_S : ミセル相の容積

V_M : 移動相の容積

同様に、2種類の隣接して移動する試料間の分離度(R_s)は次式で得られる。

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \times \frac{\alpha - 1}{\alpha} \times \frac{k'_b}{k'_b + 1} \times \frac{1 - \left(\frac{t_0}{t_{mc}}\right)}{1 + \left(\frac{t_0}{t_{mc}}\right) k'_a}$$

N : 一方の成分の理論段数

α : 選択性

k'_a, k'_b : 両成分の保持係数($k'_b > k'_a$)

同様の関係から、電気的に荷電した試料に対する k' 値及び R_s 値が得られる。

6.2. 最適化

MEKCにおける分析条件を決定する際に考えられる主なパラメーターとして以下に示すものがある。

6.2.1. 装置に関するパラメーター

(1) 電圧 分析時間は電圧に反比例する。しかし電圧を上げると熱を発生し、キャピラリーの断面で熱及び粘度の勾配が生じる。この効果はミセルを含むような高導電性の泳動液で起こりやすい。熱放散が不十分な場合にはゾーンの拡散を引き起こし、分離度が低下する。

(2) 温度 キャピラリーの温度の変動は試料の緩衝液とミセルへの分配係数、臨界ミセル濃度及び泳動液の粘度に影響を及ぼす。これらのパラメーターは試料の移動時間に影響する。適切な冷却システムを用いることで試料の移動時間の再現性が改善される。

(3) キャピラリー キャピラリーゾーン電気泳動法と同様に、キャピラリーの寸法(長さ及び内径)が分離時間及び分離効率に影響を与える。有効長及び全長を長くすると(定電圧下では)電場が低くなり、移動時間が長くなるため分離効率が向上する。内径は(同一泳動液及び同一電場下で)熱放散に関与し、結果として試料ゾーンの拡散にかかわる。

6.2.2. 電解質溶液に関するパラメーター

(1) 界面活性剤の種類と濃度 界面活性剤の種類はクロマトグラフィーの固定相と同様に分離の選択性を変えるので分離度に影響を与える。界面活性剤の濃度の増加に伴い、中性化合物の $\log k'$ 値は直線的に増加する。 k' が $\sqrt{t_m/t_0}$ 値に近づくとMEKCにおける分離度は最大に達するので、移動相中の界面活性剤の濃度が変わると分離度は変化する。

(2) 緩衝液のpH pHはイオン化していない試料の分配係数を変えないが、コーティングしていないキャピラリー中の電気

浸透流を変化させる。MEKCにおいて、pHが下がると電気浸透流が減少し、そのため分析時間が長くなり、中性試料の分離度が向上する。

(3) 有機溶媒類 疎水性化合物のMEKCにおける分離を改善するため、電解質溶液にメタノール、プロパノール、アセトニトリルなどを添加することができる。これらの溶媒の添加により一般に移動時間及び分離の選択性が減少する。有機溶媒の添加は臨界ミセル濃度に影響を与える。有機溶媒濃度を高くするとミセル形成が阻害されるので、MEKCの分配メカニズムが失われるような高濃度では使用できない。高濃度の有機溶媒の存在によるミセルの消失が必ずしも分離を不可能にするということではなく、イオン性の界面活性剤モノマーと中性の試料との疎水性相互作用により電気泳動的に分離可能な親溶媒性の複合体が形成される場合もある。

(4) キラル分離用添加物質 MEKCで鏡像異性体を分離するためにはキラルセクターを界面活性剤と共有結合させたり、泳動液に添加するなどしてミセル分離系に加える。キラル識別できる部位を持つミセルにはN-ドデカノイル-L-アミノ酸塩、胆汁酸塩などがある。キラル分離は、キラル認識能のない界面活性剤を含む電解質溶液にシクロデキストリン類のようなキラルセクターを添加することによっても達成される。

(5) その他の添加剤 泳動液に化学物質を添加して、選択性を変更させる方法が幾つかある。数種のシクロデキストリン類を添加してミセルと疎水性試料間の相互作用を競合させ、選択性を高めることもできる。

ミセルに吸着する化合物を加えて試料とミセル間の相互作用を調節し、MEKCにおける分離を改善できる。これらの添加剤にイオン性あるいは非イオン性の他種の界面活性剤を添加して混合ミセルを形成したり、ミセルに溶解する金属陽イオンを加えて試料と配位錯体を形成させることもできる。

7. 定量分析

ピーク面積としては、対応するピークの移動時間で除して得られる補正ピーク面積を次の目的に用いる。

(1) 分析ごとの移動時間の変動によるピークレスポンスの補正

(2) 異なる移動時間で観察される試料成分間のレスポンスの補正

内標準物質を使用する場合は、定量しようとする物質のピークが内標準物質のピークと重ならないことを確認する。

7.1. 計算

得られた値から目的成分の含量を算出する。処方されている試料の場合は、測定しようとする一成分又は複数成分の含量%を、溶媒や添加剤以外の全ピークの補正した総面積に対する目的ピークの面積%として求める。自動積分システム(インテグレーター又はデータ読み込み処理装置)の使用が推奨される。

8. システム適合性

キャピラリー電気泳動システムのチェックには適合性パラメーターを使用する。これらのパラメーターには用いるキャピラリー電気泳動法の分離モードにより選択する。パラメーターには保持係数(k' 、ミセル動電クロマトグラフィーの場合のみ)、理論段数(N)、シンメトリー係数(A_s)及び分離度(R_s)がある。 N 及び R_s に関する理論的説明は上述のとおりであるが、電気泳動図から次式によってこれらのパラメーターを算出することができる。

理論段数

理論段数(N)は次式により計算することができる。

$$N = 5.54 \left(\frac{t_R}{w_h} \right)^2$$

t_R : 目的成分のピークの移動時間又は試料導入点から目的成分のピークの頂点から垂直に下ろした点までのベースラインに沿った距離

w_h : ピークの半値幅

分離度

ほとんど同じピーク高さを持つ2種類の成分間の分離度(R_s)は次の式で表される。

$$R_s = \frac{1.18 (t_{R2} - t_{R1})}{w_{h1} + w_{h2}}$$

$t_{R2} > t_{R1}$

t_{R1} , t_{R2} : 移動時間又は試料導入点から隣り合う二つのピークのそれぞれの頂点から垂直に下した各線のベースラインに沿った各点までの距離

w_{h1} , w_{h2} : 各ピークの半値幅

一部分離しているピークの場合は二つのピーク間の谷の高さ(H_v)と小さい方のピークの高さ(H_p)を測定し、ピークバレー比(p/v)を計算して分離度を算出してもよい。

$$p/v = \frac{H_p}{H_v}$$

シンメトリー係数

ピークの対称性を示すシンメトリー係数(A_s)は次式により計算することができる。

$$A_s = \frac{w_{0.05}}{2d}$$

$w_{0.05}$: ピーク高さの1/20におけるピーク幅

d : ピーク頂点から垂直に下した点とピーク高さの1/20におけるピークの立上がり部分との距離

ピーク面積の再現性(面積又は面積と移動時間の比の標準偏差)及び移動時間の再現性(移動時間の標準偏差)の試験を適合性パラメーターに加えるべきである。移動時間の再現性は、キャピラリーの洗浄操作の適合性の試験になる。移動時間の再現性が低い場合には、内標準物質との相対移動時間を用いて再現性を補うことができる。

標準試料に対するシグナルノイズ比(SN比)を調べる(又は定量限界の測定)試験も有用である。

シグナルノイズ比(SN比)

検出限界値及び定量限界値はそれぞれSN比3以上及び10以上に相当する。SN比は次式を用いて計算する。

$$S/N = \frac{2H}{h}$$

H : 規定の標準試料溶液で得られた電気泳動図中の目的成分に相当するピークの高さ、ピークトップから半値幅の20倍に相当する範囲から推定できるベースラインまでの距離を測定する。

h : ブランクの導入後に得られた電気泳動図で、規定の標準

試料溶液から得られた泳動図中のピークの半値幅の20倍に相当する時間範囲で、かつこのピークが現れる位置の前後の範囲を観察したときの、バックグラウンドの幅。

SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法〈G3-8-170〉

本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。

ポリアクリルアミドゲル電気泳動法は、生物薬品中のタンパク質の特性解析、及び純度試験や定量試験に用いられる。

特に、生物薬品中のタンパク質の同定及び均一性の評価に適した分析方法である。また、タンパク質のサブユニットの分子量の推定並びに精製タンパク質のサブユニット組成の決定に日常的に用いられる。

既製のゲル(プレキャストゲル)及び試薬類が市販されているが、これらの市販品を用いた場合でも同等の結果が得られ、かつ、後述するバリデーションを行い、その基準に適合する限り、以下の方法に代えて利用して差し支えない。

1. ポリアクリルアミドゲルの特性

ポリアクリルアミドゲルの分子ふるい効果は、隣接するポリアクリルアミド鎖と交差結合するビスアクリルアミドによって形成される繊維と孔の三次元網目構造により得られる。通常、この重合反応は、過硫酸アンモニウム及び*N,N,N',N'*-テトラメチルエチレンジアミン(TEMED)によるフリーラジカル生成系により触媒される。

ゲルのアクリルアミド濃度が増加すると有効孔径は減少する。ゲルの有効孔径は分子ふるい効果によって実験的に求められる。すなわち、巨大分子の移動を妨げる程度によって決められる。利用できるアクリルアミドゲル濃度には限界がある。アクリルアミド濃度が高い場合、ゲルが壊れやすく、取扱いが難しい。ゲルの孔径が減少するに従い、タンパク質のゲル中の移動速度は減少する。アクリルアミドの濃度を調整して孔径を調節することによって、本法の解像度を目的タンパク質に対して最適化させることができる。このようにゲルの物理的な性質は、アクリルアミドとビスアクリルアミドの組成によって定まる。

ゲルの組成に加え、タンパク質の状態も電気泳動の移動度を決定する重要な要因となる。タンパク質の電気泳動の移動度は、荷電する基のp*K*値及びタンパク質分子のサイズに依存する。また、移動度は支持材料の性質と同様に、緩衝液の種類、濃度及びpH、又は温度及び電界強度などによっても影響を受ける。

2. 変性条件下ポリアクリルアミドゲル電気泳動

以下に例示する方法は、質量14000～100000ダルトンの単量体ポリペプチドの分析に適用するものである。いろいろな技術(例えば濃度勾配(グラジエント)ゲル、特殊な緩衝液系)によってこの質量範囲を広げることが可能である。例えば、電気泳動用緩衝液の後端イオンとして以下の方法で使用するグリシンの代わりにトリシンを用いるトリシンドデシル硫酸ナトリウム(トリシンSDS)ゲルは、10000～15000ダルトン以下の非常に小さなタンパク質及びペプチドを分離できる。

グリシンSDSを用いる変性条件下のポリアクリルアミドゲル電気泳動法(SDS-PAGE)は、タンパク質性生物薬品の品質評価に最も一般的に利用される電気泳動法であり、以下の方法もこれを中心に記述する。一般に、タンパク質を電気泳動により分析する際には、タンパク質をポリペプチドの各サブユニットに解離させ、また凝集を最小にするような条件にしたポリアクリルアミドゲル中で分析を行う。通常はタンパク質をゲルに添加する前に強陰イオン界面活性剤であるSDSと熱により解離させる。変性したポリペプチドはSDSと結合して負に荷電し、タンパク質の種類とは無関係に一定の電荷-質量比を示す。SDSの結合量は、ほとんどの場合ポリペプチドの分子量に比例しており、そのアミノ酸配列に依存しないため、SDS-ポリペプチド複合体はゲル中をポリペプチドの大きさに依存して移動する。

生じたSDS-ポリペプチド複合体の電気泳動による移動度は、全ての複合体分子について質量に対して同じ関数関係にあるとみなされる。SDS-複合体は低分子量複合体のほうが高分子量のものより速く陽極に向かって移動すると想定できる。したがって、SDS-PAGEでの相対移動度からタンパク質の分子量を推定することができ、またゲル中の他のバンドに対する強さで純度を測定できる。

N結合型糖鎖やO結合型糖鎖のようにポリペプチド骨格への修飾が生じるものについては、SDSが糖鎖に対してポリペプチドと同様に結合しないため、タンパク質の見かけの分子量に影響を与える。そのため、電荷-質量比は一定にならない。

糖鎖修飾や他の翻訳後修飾の程度により、タンパク質の見かけの分子量はポリペプチド鎖の真の質量を反映しない場合もある。

2.1. 還元条件

ポリペプチドのサブユニットと三次元構造は多くの場合S-S結合により保持されている。還元条件下でのSDS-PAGEの目的は、S-S結合を還元してこの構造を破壊したタンパク質を電気泳動することにある。2-メルカプトエタノール(2-ME)やジチオスレイトール(DTT)で処理してタンパク質を完全に変性、解離させるとポリペプチドの骨格がほどこけた状態でSDSとの複合化が起きる。このような条件下では、ポリペプチドのサブユニットの分子量は適当な分子量マーカーがあれば線形回帰(又はより厳密には非線形回帰)により求めることができる。

2.2. 非還元条件

試験目的によっては、タンパク質をサブユニットへ完全に解離させたくない場合がある。2-MEやDTTのような還元剤による処理をしなければ、S-S結合は完全に保持されたままとなり、タンパク質はオリゴマーとして保持される。SDS-タンパク質オリゴマー複合体はそれらのSDS-サブユニット複合体よりも移動速度は遅い。その上、非還元タンパク質はSDSによって完全には飽和されないため、SDSと一定の質量比では結合しない。さらに、鎖内S-S結合は通常ストークス径を低下させるようにタンパク質の形状を制約するため、見かけの分子量(*M_v*)が低下する。このため、完全に還元変性させたポリペプチドの分析に比べ、非還元条件下でのSDS-PAGEによる分子量の測定はより複雑である。なぜなら、分子量を正確に比較するには標準物質と試料の双方が類似した形状である必要があるからである。

3. 不連続緩衝液系ゲル電気泳動の特徴

タンパク質の混合物を分析するための最も一般的な電気泳動法は、二種類の異なるゲルを連結させる方法、すなわち、分離(下層)ゲルと濃縮(上層)ゲルからなる不連続な緩衝液系ゲルを用いる方法である。この二種類のゲルは、孔径、pH及びイオン強度において異なっている。さらに、ゲル中と電解緩衝液で異なる移動イオンが用いられる。緩衝液系の不連続性によって、大容量の試料溶液でも濃縮ゲル中で濃縮され、結果として分離度が高まる。電圧をかけると試料溶液が存在するところで電圧が低下し、これによってタンパク質が濃縮ゲルに導入される。電極緩衝液からグリシンイオンがタンパク質に続いて濃縮ゲル中に入る。移動の速い塩素イオンを先端に、これに比して移動が遅いグリシンイオンを後端とする移動界域が速やかに形成される。この先端イオンと後端イオンの境界面に高電圧が局所的に生じ、SDS-タンパク質複合体は濃縮層を形成し、塩素イオン層及びグリシンイオン層の間を泳動する。添加した試料の層高に関係なく、全てのSDS-タンパク質複合体はごく狭い範囲に濃縮され、極めて限定された高密度タンパク質の層として分離ゲル中に入る。孔径の大きな濃縮ゲルは、ほとんどのタンパク質の移動は妨げず、主として対流防止物質として働いている。濃縮ゲルと分離ゲルの境界面では、分離ゲルの孔径の制限と緩衝液の不連続性により、タンパク質の移動度が急速に減少し、これがタンパク質の濃縮に寄与する。分離ゲル中では、ゲルのマトリックスによる分子ふるい効果によってタンパク質の移動速度は低下し続ける。グリシンイオンはタンパク質を追い越し、2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオールとグリシンにより形成された均一なpH域に移動する。分子ふるい効果によりSDS-タンパク質複合体はそれぞれ分子量に従って分離される。

4. 垂直不連続緩衝液系SDS-ポリアクリルアミドゲルの調製

本項では特定の器具を用いたゲルの調製について述べる。本方法はプレキャストゲルには適用しない。プレキャストゲル又は市販の機材を用いる場合、製造業者の取扱説明書に従わなければならない。

溶液として精製された市販試薬の使用が推奨される。これ以外の場合及び試薬の純度が十分ではない場合は、前処理を行う。例えば、ろ過が必要な純度が低い溶液では混床(陰イオン/陽イオン交換)樹脂を用いて、アクリル酸や他の荷電した分解物を除かねばならない。アクリルアミド/ビスアクリルアミド溶液や固体の過硫酸塩は、推奨条件で保管すれば、長期間安定である。

4.1. ゲル形成カセットの組立て

ガラス板2枚(サイズ:例えば10 cm×8 cm)、ポリテトラフルオロエチレン製サンプルコーム、スぺーサー2個及びシリコーンゴム管(直径:例えば0.6 mm×35 cm)をマイルドな洗剤で洗い、水及び無水アルコールで十分にすすぎ、室温で乾燥させる。スぺーサー及びシリコーンゴム管に非シリコーン性グリースを塗布する。このスぺーサーをガラス板の両短端側に端から2 mm離し、更にゲルの底部に相当する長端側の端から2 mm離れた位置に取り付ける。次の片方のスぺーサーに沿ってガラス板にシリコーンゴム管を取り付ける。注意しながらスぺーサーの下部でシリコーンゴム管を曲げてガラス板の長端側に向ける。長端側のシリコーンゴム管を指で押さえながらもう片方の短端側へ曲げて、取り付ける。2枚目のガラス板を正確に置き、手

で押さえる。両短端側を2個ずつの留め金で固定する。注意しながらガラス板の長端側を4個の留め金で固定してゲル枠の底部を形成させる。シリコーンゴム管がガラス板の端に沿って取り付けられ、留め金で固定したときに押し出されていないことを確認する。これでゲル形成枠にゲルを注ぐことができる。

4.2. ゲルの調製

不連続緩衝液系SDS-ポリアクリルアミドゲルでは、両ゲルのアクリルアミド-ビスアクリルアミドの組成、緩衝液及びpHが異なるので、分離ゲルを注ぎ、ゲルを形成させた後に濃縮ゲルを注ぐ。

4.2.1. 分離ゲルの調製

表1に示した量に従って、目的に応じた濃度の分離ゲルを調製するのに必要なアクリルアミドを含む溶液適量を三角フラスコ中で調製する。表1に示した順序で組成成分を混和する。過硫酸アンモニウム溶液及びTEMEDを加える前に、混和した液を必要に応じてセルロースアセテート膜(孔径:0.45 µm)を用い吸引ろ過する。ろ過中に気泡が生じなくなるまでろ過装置を振りながら減圧する。表1に従って適量の過硫酸アンモニウム溶液及びTEMEDを加え、振り混ぜ、直ちにゲル形成枠の2枚のガラス板の間に注ぐ。濃縮ゲルのための十分なスペース(サンプルコームの歯の長さプラス1 cm)を残しておく。この液の上にピペットを用いてイソブタノール飽和水を注意して積層させる。これを室温で垂直に放置してゲルを重合させる。

4.2.2. 濃縮ゲルの調製

分離ゲルの重合が完了(約30分)した後、イソブタノール層を捨て、ゲル上部を水で数回洗浄し、イソブタノール及び非重合のアクリルアミドを取り除く。ゲルの上部からできる限り水を流し去り、更に残る水をペーパータオルの端で取り除く。

表2に示した量に従って、目的に応じた濃度のアクリルアミドを含む溶液適量を三角フラスコ中で調製する。表2に示した順序で組成成分を混和する。過硫酸アンモニウム溶液及びTEMEDを加える前に、混和した液を必要に応じてセルロースアセテート膜(孔径:0.45 µm)を用い吸引ろ過する。ろ過中に気泡が生じなくなるまでろ過装置を振りながら減圧する。表2に従って適量の過硫酸アンモニウム溶液及びTEMEDを加え、振り混ぜ、直ちにゲル形成枠の2枚のガラス板の間にある分離ゲルの上に直接注ぐ。直ちに気泡が入らぬように注意しながら清浄なサンプルコームを濃縮ゲル液中に差し込む。さらに濃縮ゲル液をサンプルコームのスペースが完全に満たされるよう加える。これを室温で垂直に放置してゲルを重合させる。

4.3. 試料の調製

医薬品各条で特に規定するもののほか、試料は次のように調製する。

試料溶液(非還元条件): 試料溶液又は標準溶液とSDS-PAGE試料緩衝液(高濃度)の等量混合液。

試料溶液(還元条件): 試料溶液又は標準溶液と還元剤として2-ME (又はDTT)を添加した還元条件用SDS-PAGE試料緩衝液(高濃度)の等量混合液。

各条においては、各タンパク質や染色方法に従って、タンパク質濃度を規定して良い。

試料処理: 沸騰水浴又は100℃に設定したブロックヒーターを用いて5分間加熱した後、冷却する(タンパク質の切断が熱処理の間に生じる可能性があるため、温度及び時間は各条で適宜設定しても良い)。

表1 分離ゲルの調製

溶液の組成		各溶液の容量(mL)/ゲル容量							
		5 mL	10 mL	15 mL	20 mL	25 mL	30 mL	40 mL	50 mL
6 % ア ク リ ル ア ミ ド	水	2.6	5.3	7.9	10.6	13.2	15.9	21.2	26.5
	アクリルアミド溶液 ^{*1}	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	8.0	10.0
	1.5 mol/L トリス溶液(pH 8.8) ^{*2}	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10.0	12.5
	100 g/L SDS ^{*3}	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
	100 g/L APS ^{*4}	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
	TEMED ^{*5}	0.004	0.008	0.012	0.016	0.02	0.024	0.032	0.04
8 % ア ク リ ル ア ミ ド	水	2.3	4.6	6.9	9.3	11.5	13.9	18.5	23.2
	アクリルアミド溶液 ^{*1}	1.3	2.7	4.0	5.3	6.7	8.0	10.7	13.3
	1.5 mol/L トリス溶液(pH 8.8) ^{*2}	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10.0	12.5
	100 g/L SDS ^{*3}	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
	100 g/L APS ^{*4}	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
	TEMED ^{*5}	0.003	0.006	0.009	0.012	0.015	0.018	0.024	0.03
10 % ア ク リ ル ア ミ ド	水	1.9	4.0	5.9	7.9	9.9	11.9	15.9	19.8
	アクリルアミド溶液 ^{*1}	1.7	3.3	5.0	6.7	8.3	10.0	13.3	16.7
	1.5 mol/L トリス溶液(pH 8.8) ^{*2}	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10.0	12.5
	100 g/L SDS ^{*3}	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
	100 g/L APS ^{*4}	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
	TEMED ^{*5}	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012	0.016	0.02
12 % ア ク リ ル ア ミ ド	水	1.6	3.3	4.9	6.6	8.2	9.9	13.2	16.5
	アクリルアミド溶液 ^{*1}	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0	12.0	16.0	20.0
	1.5 mol/L トリス溶液(pH 8.8) ^{*2}	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10.0	12.5
	100 g/L SDS ^{*3}	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
	100 g/L APS ^{*4}	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
	TEMED ^{*5}	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012	0.016	0.02
14 % ア ク リ ル ア ミ ド	水	1.4	2.7	3.9	5.3	6.6	8.0	10.6	13.8
	アクリルアミド溶液 ^{*1}	2.3	4.6	7.0	9.3	11.6	13.9	18.6	23.2
	1.5 mol/L トリス溶液(pH 8.8) ^{*2}	1.2	2.5	3.6	5.0	6.3	7.5	10.0	12.5
	100 g/L SDS ^{*3}	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
	100 g/L APS ^{*4}	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
	TEMED ^{*5}	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012	0.016	0.02
15 % ア ク リ ル ア ミ ド	水	1.1	2.3	3.4	4.6	5.7	6.9	9.2	11.5
	アクリルアミド溶液 ^{*1}	2.5	5.0	7.5	10.0	12.5	15.0	20.0	25.0
	1.5 mol/L トリス溶液(pH 8.8) ^{*2}	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3	7.5	10.0	12.5
	100 g/L SDS ^{*3}	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
	100 g/L APS ^{*4}	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	0.3	0.4	0.5
	TEMED ^{*5}	0.002	0.004	0.006	0.008	0.01	0.012	0.016	0.02

*1 アクリルアミド溶液：30%アクリルアミド/ビスアクリルアミド(29：1)試液

*2 1.5 mol/L トリス溶液(pH 8.8)：1.5 mol/L トリス塩酸塩試液，pH 8.8

*3 100 g/L SDS：100 g/L ドデシル硫酸ナトリウム溶液

*4 100 g/L APS：100 g/L 過硫酸アンモニウム溶液。過硫酸アンモニウムはフリーラジカルを生成してアクリルアミドとビスアクリルアミドの重合を促す。過硫酸アンモニウムは次第に分解するので，溶液は用時調製すること。

*5 TEMED：N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン

4.4. 電気泳動装置へのゲルの取付け及び泳動分離

ゲルの重合が完了した後(約30分)，サンプルコームを注意して取り除き，SDS-PAGE泳動緩衝液で溝をすすぎ，非重合アクリルアミドを除去する。必要ならば，先端を鈍化した皮下注射針で濃縮ゲルの溝をまっすぐに直す。片方の短端側の留め金をはずし，注意してシリコーンゴム管を取り除き，再び留め金を付ける。反対側についても同様に操作する。ゲル底部からシリコーンゴム管を取り除く。このゲルを泳動装置に取り付け，SDS-PAGE泳動緩衝液を上部及び下部の緩衝液槽に入れる。

ガラス板間のゲル底部の気泡を取り除く。この操作を行うには曲がった注射針を付けた注射筒を用いると良い。緩衝液系の不連続性が壊れるので，試料液などの液を添加する前に予備泳動を行ってはならない。試料などの液を添加する前にSDS-PAGE泳動緩衝液でゲルの溝を注意してすすぎ，適切な試料用緩衝液を用いて試料液及び標準液を調製し，各条の規定に従って処理する。各々の液の適量を濃縮ゲルの溝に添加する。各電気泳動装置に適した条件で泳動を開始する。各電気泳動装置に応じた表面積及び厚さの異なるゲルを市販品として入手するこ

表2 濃縮ゲルの調製

溶液の組成	各溶液の容量(mL)/ゲル容量							
	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL	5 mL	6 mL	8 mL	10 mL
水	0.68	1.4	2.1	2.7	3.4	4.1	5.5	6.8
アクリルアミド溶液 ^{*1}	0.17	0.33	0.5	0.67	0.83	1.0	1.3	1.7
1.0 mol/L トリス溶液(pH 6.8) ^{*2}	0.13	0.25	0.38	0.5	0.63	0.75	1.0	1.25
100 g/L SDS ^{*3}	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.08	0.1
100 g/L APS ^{*4}	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.08	0.1
TEMED ^{*5}	0.001	0.002	0.003	0.004	0.005	0.006	0.008	0.01

*1 アクリルアミド溶液：30%アクリルアミド/ビスアクリルアミド(29：1)試液

*2 1.0 mol/L トリス溶液(pH 6.8)：1 mol/L トリス塩酸塩試液，pH 6.8

*3 100 g/L SDS：100 g/L ドデシル硫酸ナトリウム溶液

*4 100 g/L APS：100 g/L 過硫酸アンモニウム溶液。過硫酸アンモニウムはフリーラジカルを生成してアクリルアミドとビスアクリルアミドの重合を促す。過硫酸アンモニウムは次第に分解するので、溶液は用時調製すること。

*5 TEMED：N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン

ともできる。最適な分離を得るためには泳動時間及び電流/電圧は泳動装置により変更する必要がある。分離ゲル中へ色素の先端が移動していることを確認する。色素がゲルの下部に到達したら、泳動を停止する。ゲル部を装置からはずし、注意しながらガラス板を取り除く。スぺーサーを取り除き、濃縮ゲルを除去した後、直ちに染色操作に入る。

4.5. SDS-PAGE-グラジエントゲル

グラジエントゲル(分離ゲル)は、先端から下端に向かって、アクリルアミドの濃度を増加して調製されたものである。グラジエントゲルの調製にはグラジエントを形成する装置が必要となる。市販されているプレキャストグラジエントゲルは各製品の推奨条件下で利用できる。グラジエントゲルは固定濃度ゲルと比べ、幾つかの長所がある。固定濃度ゲルと同様の移動度を示すタンパク質であっても、グラジエントゲルで分離できることがある。電気泳動の間、タンパク質は孔径による障害が生じ濃縮効果が起きるまで移動するため、シャープなバンドになる。以下の表に示すように、グラジエントゲルは固定した濃度ゲルよりも広い範囲の分子量のタンパク質も分離できる。

以下の表は、アクリルアミドの濃度範囲と分離に適したタンパク質の分子量の範囲について示している。特定の使用目的のためには、他のグラジエント形状(例えば、凹型勾配)も調製できる。

アクリルアミド(%)	タンパク質範囲(kDa)
5～15	20～250
5～20	10～200
10～20	10～150
8～20	8～150

グラジエントゲルは分子量及びタンパク質の純度の測定にも使用される。

4.6. ゲル中のタンパク質の検出

クーマシー染色と銀染色は最も一般的な染色方法であり、以下により詳細に述べる。それ以外にも様々な市販の染色、検出方法及び市販のキットが利用できる。例えば、蛍光染色は蛍光イメージャーを用いて可視化され、通常広い範囲のタンパク質濃度で直線的な反応を得ることができ、その範囲はタンパク質に依存しており、通常数桁である。

クーマシー染色は、バンド当たり約1～10 µgのタンパク質が検出できる。銀染色はゲル中の染色タンパク質の最も高感度な方法であり、バンド当たり10～100 ngのタンパク質を検出できる。これらの染色法では、概ねその程度の検出が可能であ

るが、一桁又は二桁感度を改善した事例も報告されている。

クーマシー染色は銀染色よりも直線性が高い。しかし、直線性が得られる範囲はタンパク質と染色時間に依存する。主観によって染色操作を停止した場合、クーマシー及び銀染色の感度の再現性が悪くなることがある。ダイナミックレンジが広い標準タンパク質を使用することは、同一実験内の感度及び直線性の評価に役立つため、非常に重要である。ゲル染色は全て手袋を着用し、適切な容器を用い、例えばオービタルシェーカーを用いて穏やかに振盪しながら室温で行う。

4.6.1. クーマシー染色

十分量のクーマシー染色試液中にゲルを浸し、少なくとも1時間染色する。染色試液を取り除く。

十分量の脱色試液でゲルを脱色する。染色されたタンパク質のバンドが透明な背景に明瞭に区別できるようになるまで脱色試液を数回交換する。ゲルの脱色が進めば進むほど、より少ないタンパク質量を検出できるようになる。2～3 gの陰イオン交換樹脂又は少量のスポンジ片を脱色試液に入れると脱色を早めることができる。

この操作で用いられる酸-アルコール液はゲル中のタンパク質を完全には固定しない。したがってゲルの染色及び脱色の操作中に分子量の低いタンパク質は多少とも失われることがある。クーマシー染色試液中に浸す前にゲルを水/メタノール/トリクロロ酢酸混液(5：4：1)に1時間浸すことにより耐久性の固定が得られる。

4.6.2. 銀染色

ゲルを十分量の固定試液に1時間浸漬する。固定試液を除去し、新しい固定試液を加え、少なくとも1時間又は一夜放置する。固定試液を捨て、十分量の水で1時間洗浄する。1 vol%のグルタルアルデヒド溶液に15分間浸漬し、十分量の水で15分間、2回洗浄する。暗所で新鮮な銀染色用硝酸銀試液に15分間浸漬し、十分量の水で5分間、3回洗浄する。約1分間、十分に染色されるまで現像試液に浸漬する。停止試液に15分間浸漬し、現像を停止させ、水で洗浄する。

4.7. 結果の記録

ゲルをぬれたまま又は適切な乾燥操作により乾燥後、写真を撮るかスキャンする。最近では、データ解析ソフトウェアを備えたゲルスキャンシステムが市販で入手でき、濡れたゲルの写真を直ちに撮影し解析することができる。

用いた染色方法に応じて、ゲルの処理方法は若干異なる。クーマシー染色の場合は、脱色後、少なくとも2時間100 g/Lのグ

リセリン溶液にゲルを浸漬する(一晚放置しても良い)。

銀染色の場合では、20 g/Lのグリセリン溶液中に5分間浸漬する。

染色したSDSポリアクリルアミドゲルの乾燥は、恒久的にゲルを保存する一つの方法である。この方法はセルロースフィルムの間で乾燥させる間にゲルに亀裂が生じる頻度が高い。

多孔性のセルロースフィルム2枚を水に浸し、5～10分間放置する。一方のシートを乾燥用枠にのせる。注意してゲルを取り上げ、そのフィルム上に置く。気泡を取り除き、ゲルの周囲に2～3 mLの水を注ぎ、その上にもう1枚のフィルムをのせ、気泡を取り除く。乾燥用枠を組み立て、オープン中又は室温で乾燥するまで放置する。

4.8. 分子量の測定

タンパク質の分子量はそれぞれの移動度を分子量既知の幾つかのマーカータンパク質のそれと比較して算出する。一様に染色されるように混和された分子量既知の既染色又は未染色タンパク質の混合液がゲルのキャリブレーション用に市販されている。各種の分子量範囲のものが入手できる。分子量既知のマーカータンパク質の高濃度ストック溶液を適切な試料緩衝液で希釈し、測定しようとするタンパク質試料と同一のゲルに添加する。

泳動の完了後、直ちに泳動イオンの先端を確認するためトラッキング色素であるブロモフェノールブルーの位置に印を付ける。これにはゲルの端に切り込みを入れる、又は墨汁に浸した針でゲルを刺すという方法がある。染色後、各タンパク質のバンド(マーカータンパク質及び試料)について分離ゲルの上端からの移動距離を測定する。各タンパク質の移動距離をトラッキング色素の移動距離で割る。このようにして得られた移動距離はタンパク質の(色素の先端に対する)相対移動度又は R_f と呼ばれる。マーカータンパク質の相対分子量(M_r)の対数を R_f 値に対してプロットする。未知のタンパク質の分子量は直線回帰分析(より正確には非直線回帰分析)によって、又は未知試料で得られた相対移動度がほぼグラフの直線部分に位置する場合には R_f に対する M_r の対数曲線に内挿することによって推定することができる。

4.9. 実施した試験の適合性(バリデーション)

目的とする分離範囲が適切な分子量マーカーの分布によって示される(例えば、分子量マーカーの分布が、ゲル長の80%にわたる)場合以外は、試験は無効である。予測されるタンパク質で得られた分離は、分子量の対数値と R_f 値をプロットするとき、直線関係を示す必要がある。プロットがシグモイド形状となる場合は、カーブの直線領域に含まれるデータのみ分子量の計算に用いることができる。試験試料について、追加のバリデーション要件は、各条で規定する。

感度についてもバリデーションを行う必要がある。試験試料と並行して泳動する望ましい濃度限界に相当する標準タンパク質コントロールは、システム適合性試験に用いることができる。

4.10. 不純物の定量

SDS-PAGEは、不純物の限度試験として良く用いられる。デンストメーター又は画像解析により主バンドに対する不純物の相対量を定量する場合、直線性に関するバリデーションが必要である。“ゲル中のタンパク質の検出”の項目の序文に記載したように、検出方法及びタンパク質に依存して、直線性のある範囲は変動するが、適切な範囲のタンパク質濃度を含む一つ

以上のコントロール試料を用いることで、各泳動ごとに評価できる。

各条に不純物の存在許容限度が規定されている場合は、試験溶液を希釈して不純物の限度規格値に相当する標準溶液を調製する。例えば、限度規格値が5%なら、標準溶液は試験溶液を20倍に希釈したものになる。試料溶液から得た不純物のバンドは標準溶液から得た主バンドより濃くない。

バリデートされた条件下では、デンストメーター又は画像解析により、主バンドに対して相対的な濃度を測定することにより不純物を定量できる。

5. 試薬・試液

(i) 30%アクリルアミド/ビスアクリルアミド(29:1)試液:アクリルアミド290 g及びメチレンビスアクリルアミド10 gを水に溶かし、1000 mLとし、ろ過する。

(ii) SDS-PAGE泳動緩衝液:2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール151.4 g, グリシン721.0 g及びドデシル硫酸ナトリウム50.0 gを水に溶かして5000 mLとする。使用直前に水を加えて10倍に希釈する。希釈溶液のpHを測定するときpHは8.1～8.8である。

(iii) SDS-PAGE試料緩衝液(高濃度):2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール1.89 g, ドデシル硫酸ナトリウム5.0 g及びブロモフェノールブルー50 mgを水に溶かす。グリセリン25.0 mLを加え、水を加えて100 mLとする。塩酸を加えてpH 6.8に調整した後、水を加えて125 mLとする。

(iv) SDS-PAGE試料緩衝液(高濃度), 還元条件用:2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール3.78 g, ドデシル硫酸ナトリウム10.0 g及びブロモフェノールブルー100 mgを水に溶かす。グリセリン50.0 mLを加え、水を加えて200 mLとする。この液に2-ME 25.0 mLを加え、塩酸を加えてpH 6.8に調整した後、水を加えて250 mLとする。又は2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール3.78 g, ドデシル硫酸ナトリウム10.0 g及びブロモフェノールブルー100 mgを水に溶かす。グリセリン50.0 mLを加え、水を加えて200 mLとする。塩酸を加えてpH 6.8に調整した後、水を加えて250 mLとする。使用する直前にDTTを最終濃度が100 mMになるよう加える。

(v) クーマシー染色試液:クーマシーブリリアントブルーR-250 1.25 gを水/メタノール/酢酸(100)混液(5:4:1) 1000 mLに溶かし、ろ過する。

(vi) 現像試液:クエン酸一水和物2 gを水に溶かし、100 mLとする。この液2.5 mLにホルムアルデヒド液0.27 mL及び水を加えて500 mLとする。

(vii) 固定試液:メタノール250 mLにホルムアルデヒド液0.27 mL及び水を加えて500 mLとする。

(viii) 硝酸銀試液, 銀染色用:水酸化ナトリウム試液40 mLにアンモニア水(28) 3 mLを加え、更にかき混ぜながら硝酸銀溶液(1→5) 8 mLを滴加する。次に水を加えて200 mLとする。

(ix) 脱色試液:水/メタノール/酢酸(100)混液(5:4:1)

(x) 1.5 mol/Lトリス塩酸試液, pH 8.8:2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール90.8 mgを水400 mLに溶かし、塩酸を加えてpH 8.8に調整した後、水を加えて500 mLとする。

(xi) 停止試液:水/酢酸(100)混液(9:1)

宿主細胞由来タンパク質試験法〈G3-9-172〉

宿主細胞由来タンパク質(HCP)は、医薬品製造に用いた宿主細胞に由来するタンパク質の総称である。本参考情報では、遺伝子組換え技術を用いて製造されたタンパク質医薬品(組換えタンパク質医薬品)に残留するHCPに関する試験について述べる。

組換えタンパク質医薬品に残留したHCPは、それ自身が抗原として免疫反応を引き起こす原因となる可能性があり、また、抗薬物抗体を誘導するアジュバントとなることが懸念される。したがって、組換えタンパク質医薬品の有効性と安全性を確保するために、製造工程の開発においては、HCPを安全性に影響のないレベルまで減少させる製法を確立することが必要である。また、工程内試験でHCPが恒常的に除去できていることの検証、あるいは、原薬の純度試験の設定により、HCP残留量を適切に管理しなければならない。

1. HCP試験法の選択

HCP試験法としては、通常、HCPを抗原とする抗体(抗HCP抗体)を用いたサンドイッチ免疫学的測定法が用いられ、検出系として酵素免疫測定法(ELISA)、電気化学発光免疫測定法(ECLIA)、時間分解蛍光免疫測定法(TRFIA)などが用いられる。本参考情報においては、サンドイッチ免疫学的測定法について扱うが、他の試験法を排除するものではない。

組換えタンパク質医薬品の製造で残留するHCPは、複数種類のタンパク質から構成される集団で、そのプロファイルは、宿主細胞の違いだけでなく、製造条件によっても異なると考えられている。HCP試験法は、使用目的や試験に用いる抗HCP抗体の調製方法に対する考え方の違いから、汎用試験法、製品特異的試験法、プラットフォーム試験法に分類される。汎用試験法は、同様の宿主細胞[例えば、CHO(チャイニーズハムスター卵巣)細胞に由来するCHO-K1細胞やCHO-DG44細胞]を用いて製造される医薬品に対し広く使用できることを目的とし、宿主細胞全体のタンパク質(細胞抽出液あるいは培養上清)を免疫原として作製された抗HCP抗体を用いて構築された試験法である。市販されているHCP測定用の試薬やキットは、通常、汎用試験法に該当し、使用する際には、その妥当性を確認する必要がある。製品特異的試験法は、特定の製品のHCPを管理することを目的として、当該製品の製造工程の特徴を考慮して開発されるものである。プラットフォーム試験法は、プラットフォーム化された製造方法で生産される組換えタンパク質医薬品(十分な経験のあるモノクローナル抗体など)に適用することを目的として開発されるものである。

汎用試験法は、宿主細胞全体のタンパク質を抗原とすることで、広範囲のHCPに対する抗体を網羅的に得ることを意図したものである。しかし、抗原として用いる個々のタンパク質の存在比率や免疫原性の違いにより、全てのHCPに対する抗体を得ることは困難であること、製造工程の違いによって残留するHCPのプロファイルが異なることがあるため、実際の製造工程で残存するHCPのカバー率が十分でない可能性に留意する必要がある。一方、製品特異的試験法では、残留する可能性の高いHCPを抗原とするため、汎用試験法よりも実際の製造工程において残留するHCPを検出可能な抗HCP抗体が調製できることが期待される。ただし、製造工程の変更によって残留

するHCPのプロファイルが変動する可能性に留意する必要がある。プラットフォーム試験法は、これらの試験法の中間的な考え方に位置するもので、プラットフォーム化された製造方法を用いて製造される様々な製品に適用可能であるという利点を有するが、抗HCP抗体の作製に用いる抗原の調製方法によって、汎用試験法あるいは製品特異的試験法と同様の課題を含む可能性がある。

製品によっては、目的物質に結合する特定のHCPが存在する可能性、あるいは、目的物質の発現に伴って産生量が著しく増加するHCPが生じる可能性等も考えられる。このようなHCPの残留が認められた場合は、当該HCPに対する他の試験法の設定の必要性を考慮する。

以上のような各HCP試験法の特徴を踏まえ、宿主細胞の性質、製造工程の特徴、HCPの免疫原性に関する知識、製品の開発段階等を考慮して、適切な試験法を選択する。

2. 試薬の調製と特性解析

2.1. HCP抗原／HCP標準物質

製品中のHCPを特異的に検出する抗体を産生させるための抗原として、目的物質を含まないHCPの調製が必要である。通常、ヌル細胞を用い、試験法の目的に応じたHCPが網羅的に含まれていることに留意して調製する。また、HCPは抗原として用いるだけでなく、定量用の標準物質としても用いるほか、抗HCP抗体のアフィニティークロマトグラフィーによる精製のリガンドとして用いる場合もある。

2.1.1. HCP抗原／HCP標準物質の調製

試験法の種類によって、HCP抗原／HCP標準物質の調製方法が大きく異なる。各試験法における抗HCP抗体作製用抗原あるいはHCP標準物質として用いるHCPの調製法と留意点について以下に示す。

汎用試験法に用いるHCPは、ヌル細胞を起源として、培養上清あるいは細胞を溶解又は破砕したものから、構成タンパク質種の保持に留意し、濃縮や透析等、最小限の操作に留めて調製する。実生産における培養工程と異なる条件で調製するため、製品に残留するHCPとは異なるプロファイルを示すことに注意が必要である。

製品特異的試験法に用いるHCPは、ヌル細胞を起源として、製品の製造工程を適用して調製する。通常、広範囲のHCPを確保するため、精製工程の適用は最小限に留める。ただし、測定すべきHCPに対する抗体が十分に得られない場合は、HCPの調製条件を検討する、あるいは、特定のHCPを排除したものを調製するなど、適切なHCP抗原の調製が必要になる場合がある。

プラットフォーム試験法に用いるHCPは、ヌル細胞を起源として、複数の製品で用いられているプラットフォーム化された製造方法を適用して調製する。通常、他の試験法と同様に、広範囲かつ十分量のHCPを確保するため、精製工程の適用は最小限に留める。また、製造条件の僅かな違いによるHCPスペクトルの差異をカバーするために、複数の条件で調製したHCPを混合したものをを用いることも可能である。

製品特異的試験法及びプラットフォーム試験法用のHCPの調製に用いるヌル細胞としてモック細胞を用いることは、選択マーカーとして発現されるタンパク質が抗原中に含まれること、実際の製造工程により類似した培養条件下で細胞が培養できることなどの利点を有している。一方、同一の細胞株であっても、

各クローンの細胞増殖速度等の性質が必ずしも一致しないこと、また、目的物質の産生の有無などの違いによって、異なるHCPプロファイルを示す可能性に留意する必要がある。

2.1.2. HCP抗原/HCP標準物質の特性解析

調製したHCPについて、以下の事項について解析する。

1) タンパク質濃度

HCPの調製方法によっては、宿主細胞由来の核酸や培養液成分が含まれることに留意して、適切な測定法でタンパク質濃度を求める。具体的な測定方法と留意点については、参考情報「タンパク質定量法〈G3-12-172〉」が参考になる。

2) HCPプロファイル

通常、一次元電気泳動法(SDS-PAGE)又は二次元電気泳動法を用い、調製したHCPに製造工程や原薬に残留すると予測されるHCP種が含まれることを確認する。質量分析法を用いたHCP種の同定も有用な手法である。

2.2. 抗HCP抗体

2.2.1. 抗HCP抗体の調製

HCPは、多種多様なタンパク質から構成されているため、試験に用いる抗HCP抗体として、それらを網羅的に検出できるポリクローナル抗体を取得する。免疫に用いる動物種は、ウサギ、ヤギ、ヒツジがよく用いられる。免疫の際は、アジュバントを用いて免疫応答を増強させることが有用である。HCPを構成する個々のタンパク質の免疫原性の程度は異なるため、抗原となるタンパク質の量に関わらず、抗体が誘導される時期や産生量は一定ではない。また、免疫に用いた動物の個体差によっても、誘導される抗体のプロファイルは同一とならない。通常、複数回の免疫が必要で、各段階の抗血清を用いたウエスタンブロット等で、誘導された抗体のHCPとの反応性を確認した後、全血清を回収する。複数の個体に由来する抗HCP抗体を混合することは、十分な抗体量を確保するためだけでなく、HCPプロファイルの偏りの解消に寄与することが期待できる。

得られた抗血清から、プロテインA又はプロテインGクロマトグラフィーを用いて抗HCP抗体を精製する。いずれの場合も、カラムから抗体を溶出させるために酸性条件を用いているため、一部の抗体から凝集体が生成されることがある。抗体の凝集体は、測定を妨げる原因となることが懸念されるため、適切な方法で除去することが有用である。

抗HCP抗体は、HCPをリガンドとしたアフィニティークロマトグラフィーで精製することもできる。この精製によって、HCPに特異的な抗体が濃縮されるため、非特異的な反応を排除することが期待できるが、低親和性の抗体が吸着されにくいことや極めて高親和性の抗体が溶出されにくいことで抗HCP抗体の多様性が低下する可能性に留意する必要がある。

2.2.2. 抗HCP抗体の適格性評価

抗HCP抗体は、製造工程や原薬に残留すると予測される広範囲の電荷及び分子量を持つHCPを網羅的に認識するものでなければならないが、各HCP種の免疫原性の違いにより、一部のHCPに対する抗体が誘導されにくい場合もあるため、得られた抗HCP抗体の適格性を確認しなければならない。通常、抗原カバー率で評価する。具合的な評価方法の一例を、以下に示す。HCPを二次元電気泳動法で分離後、ゲルの総タンパク質を染色する。同様に実施した二次元電気泳動について、抗HCP抗体を用いたウエスタンブロットを行う。各染色で得たスポットパターンを比較し、総タンパク質染色のスポット数に

対する、ウエスタンブロットで検出されたスポット数の割合を抗原カバー率とする。

2.3. 試薬類の保存

HCP標準物質や抗HCP抗体は、安定性に留意して保存する。これらの試薬の安定性は、標準物質の用量反応曲線のパラメーター等を継続的に観察することで確認できる。

3. HCP試験法のバリデーション

HCP試験法としてサンドイッチ免疫学的測定法を用いる場合、バリデーションの基本的な要件は、参考情報「分析法バリデーション〈G1-1-130〉」等が参考になる。ただし、HCP試験法は、単一の抗原を定量する一般的なサンドイッチ免疫学的測定法とは異なり、多様なHCP種の混合物を抗原として作製した抗体を用いることで、各HCP種を区別することなく同時に測定する手法であるため、HCP標準物質で直線性が確認された定量範囲であっても、精製が進んだ試料においては、試料の希釈率に応じた濃度変化(希釈直線性)を示さないことがある。この現象は、個々のHCPの精製工程での除去率の違いにより、測定試料中で一部のHCPの比率が高まるため、それらに対する抗体が不足することに起因すると考えられており、HCP濃度を実際よりも過少に評価してしまう可能性がある。

したがって、HCP試験法においては、真度、精度、特異性、検量線、定量範囲及び希釈直線性についてバリデーションを実施する。

(1) 真度及び精度

真度及び精度は、測定対象となる精製工程ブールあるいは原薬に対するHCP標準物質の添加回収試験を実施し、HCP標準物質の回収率及び定量値の変動係数によって示す。

(2) 特異性

HCP試験法においては、大量の目的物質を含む試料中に残留する微量のHCPを測定する必要があるため、目的物質や試料溶液中の成分による干渉がないことを確認する。

(3) 検量線及び定量範囲

段階希釈したHCP標準物質を用いて検量線を作成し、回帰式を求め、決定係数等で妥当性を示す。回帰式から各濃度の標準物質の定量値を求め、許容できる真度及び精度が得られた濃度域を定量範囲とし、その最少濃度を定量下限とする。

(4) 希釈直線性

測定対象となる精製工程ブールあるいは原薬等について、検量線の定量範囲内まで希釈した試料の定量値が直線性を示す試料の希釈倍数の範囲を確認する。

4. HCP試験法の設定

HCP試験法は、製造工程のHCP除去状況の確認あるいは原薬の純度試験として用いられる。HCP試験法の操作手順やデータ解析等の基本的な考え方については、参考情報「酵素免疫測定法〈G3-11-171〉」が参考になる。

HCP試験の結果は、通常、全タンパク質あるいは目的物質に対する含有率で評価する。別途、試料の全タンパク質濃度あるいは目的物質濃度を測定し、全タンパク質量あるいは目的物質質量当たりのHCP含量率を求める。例えば、全タンパク質濃度が2 mg/mL、HCP濃度が20 ng/mLであった場合、HCP含有率は10 ng/mgと記載する。

5. その他

5.1. 製法変更時の留意点

組換えタンパク質医薬品の製造工程を変更した場合、残留す

るHCPのプロファイルに影響を及ぼす可能性があるため、製法変更後においても適切にHCPが測定できていることを確認する必要がある。HCPプロファイルが変化し、製法変更前のHCP試験法を適用することが適切でないと考えられた場合は、改めてHCP試験法を構築しなければならない。HCPプロファイルの変化は、二次元電気泳動法、あるいは、質量分析法等の解析手法で確認することができる。

5.2. 試験用試薬等の変更時の留意点

重要試薬であるHCP抗原／HCP標準物質及び抗HCP抗体は、製品のライフサイクルを考慮し、可能な限り十分量を確保しておくことが望ましい。新たにHCP抗原／HCP標準物質や抗HCP抗体を調製した場合は、二次元電気泳動法、ウェスタンブロット法、質量分析法等の解析手法で、それらの特性について、更新前後での同等性を確認する。また、必要な項目について試験法のバリデーションを改めて実施し、更新前の試薬と試験法との一貫性を確認した上で使用する。

汎用試験法を採用する場合、適格性が確認された市販キット製品を用いることもできる。ただし、市販キット製品を用いた試験の一貫性と品質を確保するためには、試薬のロット更新などの情報が提供されていることが必要で、適宜、重要試薬の特性解析と試験法のバリデーションを実施する。

6. 用語

モック細胞：目的物質をコードする遺伝子を持たない発現ベクターを宿主細胞に導入して樹立された細胞。

ヌル細胞：目的物質を発現しない宿主細胞で、親細胞及びモック細胞を含む。

抗原カパー率：抗HCP抗体によるHCPを構成するタンパク質の検出率である。例えば、HCPを二次元電気泳動法で分離し、総タンパク質染色で得たスポット数と抗HCP抗体によるウェスタンブロット染色で得たスポット数から算出する。

バイオアッセイ〈G3-18-190〉

1. バイオ医薬品の品質確保における生物活性評価の役割

バイオ医薬品が意図した性質を有していることを確認するためには、構造・物理化学的性質の評価に加え、生物学的試験による生物活性の評価が必要である。これは、バイオ医薬品の有効成分の分子量が大きく、構造が複雑で、多様な分子種の混合物であり、理化学分析により高次構造を確定することが困難であるためである。生物活性を求めるには、生物学的な試験法を用いた生物活性試験(バイオアッセイ)を行う必要があり、評価対象となる医薬品の作用機序を考慮した試験法の設定が必要である。

バイオアッセイでは、通例、標準物質と試料について、用量と反応の関係に適切な解析モデルを当てはめ、得られた回帰式のパラメーターを比較することで相対的な活性(相対力価)を算出する。標準物質と試料に含まれる有効成分が同じであれば、同じ用量反応性を示す生物学的な反応が得られると考えられるため、相対力価の算出では、標準物質と試料の用量反応性が一致していることが前提となる。用量反応性の一致は、一般に、回帰直線あるいは回帰曲線の類似性(similarity)を統計的に評価することで、判断される。類似性(similarity)は、平行線モ

デルや非線形モデルの評価において、平行性(parallelism)と表現されることもある。

本参考情報では、バイオアッセイを適切に実施するために重要な、相対力価の算出方法などの解析方法、分析法バリデーションの実施、及び試験成立条件の設定に関する標準的な考え方、更にはバイオアッセイの開発とライフサイクルマネジメントにおける留意事項を示す。

2. 相対力価の算出

医薬品の生物学的性質(biological properties)に関連する特性に基づく生物活性(biological activity)を定量的に表す尺度は、通例、「力価(potency)」であり、「単位(unit)」で表すことができる。単位は、原則として、あらかじめ値付けされた標準品に対する相対的な値として定める。ただし、酵素活性における単位時間当たりの基質分解能のように、絶対的な基準に基づいて単位を定義する場合もある。得られた値は、容量当たりの力価(単位/mL)や、タンパク質量当たりの力価(単位/mg)として表記することができる。タンパク質量当たりの力価は、比活性と呼ばれる。単位が設定されない医薬品の場合は、標準品あるいは標準物質に対する相対的な活性として、相対力価(%)を求めることができる。以下、標準品を用いる場合も含め、標準物質と表記する。

標準物質との比較により相対力価を求めるためのバイオアッセイでは、通例、標準物質と試料について、用量と反応の関係に適切な解析モデルを当てはめ、得られた回帰式のパラメーターを比較することで相対力価を算出する。用いられる主な解析モデルとして、1)非線形モデル(Nonlinear model)、2)平行線モデル(parallel-line model)、3)勾配比モデル(Slope-ratio concentration-response model)が挙げられる。

図1に測定データの代表的な解析手順を示す。バイオアッセイのデータ解析においては、統計処理などにより解析に用いるデータを選択した後、標準物質と試料の回帰曲線に対して個別に解析モデルを当てはめ(非制限モデル)、モデルの適合性に関する指標や類似性の評価から試験成立の判定を行う(詳細は4.試験成立の判定を参照)。成立した場合は標準物質と試料の回帰曲線のパラメーターを一致させた解析モデル(制限モデル)を当てはめ、得られた回帰式を用いて相対力価を算出する。ばらつきの影響を軽減するために、必要に応じて複数分析単位で得られた相対力価を統合し、報告値として算出する。なお、バイオアッセイの分析単位は、相対力価を算出するための適切な反復測定を含む試料及び標準物質の段階希釈系列から構成される試料の1セットと考える。1枚のマイクロプレート(プレート)で完結する場合もあれば、複数枚のプレートが必要な場合もある。

相対力価の算出では、標準物質と試料の用量反応性が一致していることが前提となる(詳細は4.試験成立の判定を参照)。例えば、後述の4-パラメーターロジスティックモデルの場合、平行性が維持されている、すなわち標準物質と試料の用量曲線の上方、下方漸近線及び勾配パラメーターが一致していることを前提に、両者のEC₅₀値の比較により相対力価を算出することができる。標準物質と試料の回帰曲線の上方、下方漸近線及び勾配パラメーターを一致させる回帰式を用いるものを制限モデル(constrained model, reduced model, restricted model)という。一方で、標準物質と試料の回帰曲線の上方、下方漸近線及び勾配パラメーターを一致させないで個別に回帰式を用いる方法があり、非制限モデル(unconstrained model, full model)

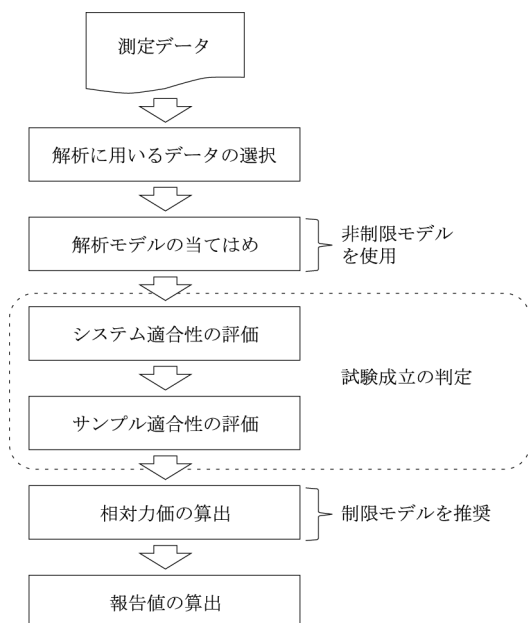


図1 非制限モデル(unconstrained model)及び制限モデル(constrained model)を用いた解析手順

という。前述の通り、相対力価算出には、平行性の前提があるので、一般には、共通する漸近線を持つ曲線を用いて相対力価を算出する制限モデルを用いることが推奨される。標準物質と試料の用量反応曲線の形状に類似性が十分に担保されていれば、非制限モデルを使用することも可能と考えられるが、どちらの手法を用いるかは、事前に定めておく必要がある。データによっては制限モデルと非制限モデルの解析結果(EC_{50} の比)の乖離が大きい場合もあるが、このような試験結果は、試験成立条件を適切に定めることで不成立とすることができる。

2.1. 非線形モデル(Nonlinear model)

非線形の用量－反応モデルは一般的にS字型関数となり、濃度範囲が十分に広く、反応が上方、下方漸近線に制限される場合に用いられる。このうち最も汎用されているモデルは、4パラメーターロジスティックモデル(Four-parameter logistic model)である。非線形曲線モデルの例を図2に示す。

観測された反応を y 、濃度を z 、誤差項を e とすると、4パラメーターロジスティックモデルは次式で表される。

$$y = D + \frac{A - D}{1 + \left(\frac{z}{C}\right)^B} + e$$

上方漸近線(Upper asymptote) : A

下方漸近線(Lower asymptote) : D

勾配パラメーター : B

50%有効濃度(EC_{50}) : C

B は EC_{50} における曲線の勾配を示す係数ではなく、 EC_{50} における曲線の勾配は以下の S で表される。ただし、 S は濃度に対する傾きであり、シグモイド曲線は濃度を対数変換しているために、見た目の傾きとは異なる値になることは留意が必要である。

$$S = -\frac{1}{4} \times \frac{A - D}{C} \times B$$

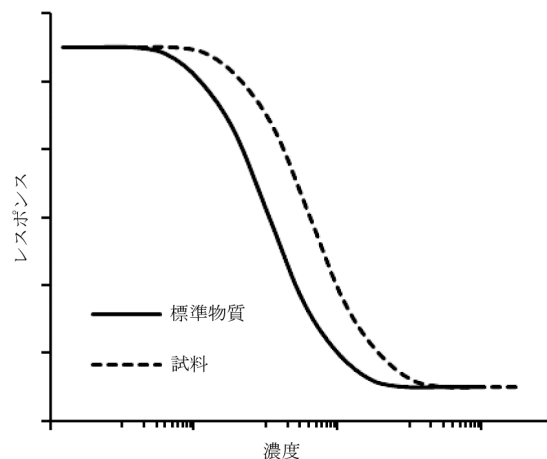


図2 非線形曲線モデルにより得られた平行曲線の例

上下漸近線の一致を含め、二つのグラフの形状が一致している場合に相対力価の算出が可能であり、相対力価は係数 C で表される EC_{50} の比(標準物質/試料)となる。

2.2. 平行線モデル(Parallel-line model)

用量－反応の関係が濃度 z の対数 x と反応 y との間で直線関数であるとき、平行線モデルが使用できる。平行線モデルの例を図3に示す。

一般的な濃度－反応モデルが $x = \log(z)$ で線形に変換できる場合、 y 切片 α 、傾き β として、次式のように表すことができる。

$$y = \alpha + \beta \log(z) + e = \alpha + \beta x + e$$

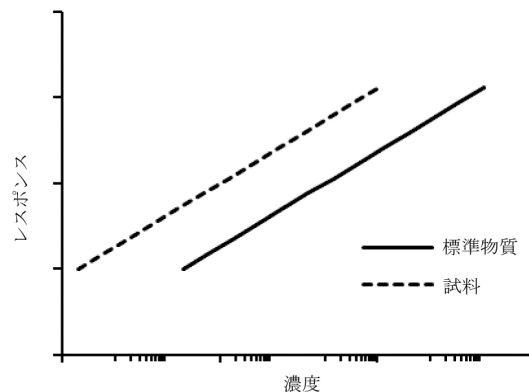


図3 平行線モデルの例

用量－反応直線が平行である場合には、水平方向の変化が測定対象の生物学的活性の差を示す。この水平方向での差が相対力価の対数 $\log(\rho)$ であり、試料及び標準物質の切片の差を傾き β で除したものととして算出される。したがって、相対力価は次式で表される(T は試料、 S は標準物質)。複数分析単位から得られた相対力価を統合して報告値が算出される場合がある。

$$\rho = \text{antilog} \left(\frac{\alpha_T - \alpha_S}{\beta} \right)$$

2.3. 勾配比モデル (Slope-ratio concentration-response model)

用量-反応データの関係が直線回帰によく適合する場合には、勾配比モデルを使用できる。勾配比モデルの例を図4に示す。

類似性を仮定した勾配比モデルは次式で表すことができる。

$$Y_S = \alpha + \beta_Z z + e = \alpha + \beta_{SZ} z + e$$

$$Y_T = \alpha + \beta(\rho z) + e = \alpha + \beta_S \rho z + e = \alpha + \beta_T z + e$$

勾配比モデルの特徴は、力価が異なる各線の切片は同じであるが、傾きが異なるということである。共通の切片が原点である必要はない。

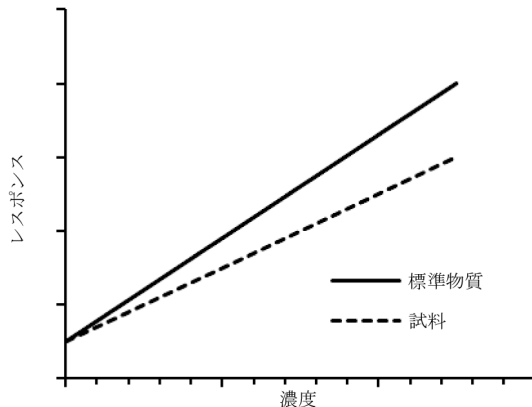


図4 勾配比モデルの例

勾配比モデルを用いる試験法では、最低限、標準物質及び試料をそれぞれ1濃度以上のポイントで測定した値と、ブランク試料の測定値を含む。濃度を対数変換しないため、一般的に、対数目盛ではなく線形目盛において濃度を均等間隔でとる。モデルは、1個の共通の切片、試料の結果に基づく傾き及び標準物質の結果に基づく傾きからなり、相対力価は以下のように傾きの比から算出する。複数分析単位から得られた相対力価を統合して報告値が算出される場合がある。

相対力価＝試料の傾き／標準物質の傾き＝ $\beta\rho/\beta=\rho$

3. 分析法バリデーション

バイオアッセイの分析法バリデーションを行う際に検討が必要な分析能パラメーターは、一般的に、真度、直線性、特異性、室内再現精度(併行精度を含む)及び範囲である。頑健性は分析法バリデーションにおける要件ではなく分析法開発時に評価されるが、細胞を用いたバイオアッセイにおける培養時間・温度、用いる細胞数や細胞継代数、血清成分や検出試薬のロットなど重要な要因は、特にこれらの要因が他の要因と関連する場合、バリデーションの計画に含めることが重要である。

3.1. 真度

バイオアッセイにおける真度は、測定した相対力価(実測値である力価測定値)と既知の相対力価(理論値である目標力価)の間の一致の程度を指す。バイオアッセイの真度を評価するための最も一般的な方法は、標準物質又は力価が既知である試料を希釈したサンプルを測定して得られた力価と、希釈倍数から理論的に算出した目標力価から相対バイアスを算出することである。各濃度における相対バイアスは、対数目標力価に対する対

数力価測定値の割合として以下の式で計算される。

相対バイアス＝ $100 \times (\text{力価測定値} / \text{目標力価} - 1) \%$

相対バイアスが、事前に定めた判定基準を満たしていることを確認する。適切な場合、相対バイアスの信頼区間(例えば両側90%)を判定基準と比較することが推奨される。各濃度の相対バイアスに一定の傾向がない場合、各濃度における相対バイアスの推定値を事前に指定した判定基準と比較することができる。

3.2. 直線性

バイオアッセイの直線性は、ある一定の濃度範囲内で目標力価と力価測定値が直線関係にあることを指す。直線性の程度は、目標力価に対して力価測定値をプロットし、統計学的手法を用いて評価することができる。例えば、最小二乗法による回帰直線の計算から求められる回帰直線の傾きや相関係数(r)、残差平方和を評価する。目標力価に対して残差をプロットした図を解析することも直線性を評価する上で有用である。

3.3. 特異性

バイオアッセイの特異性は、存在が予想されるマトリックス成分又は製品に関連する成分の存在下で、分析対象を明確に測定する能力を示す。特異性はまた、有効成分をそれとは異なる分子であるが関連性のある分子と区別する能力を示す場合もある。共存が予想されるマトリックス成分だけでなく、劣化した試料に含まれる目的物質由来不純物など、目的物質に関連する成分の干渉がないことを示すことも、特異性の評価において必要な場合がある。

3.4. 室内再現精度

室内再現精度は、同一の実験室内において、試験日、試験者、器具等の条件を変えて測定する場合の精度を指す。室内再現精度が、事前に定めた判定基準を満たしていることを確認する。適切な場合、室内再現精度の信頼区間(例えば両側90%)を判定基準と比較することが推奨される。室内再現精度はバイオアッセイの導入後に、経時的に変動する因子の影響を評価するためには有用である。これらの影響は一般に不可避であり、バイオアッセイのバリデーション計画には、試験への影響を考慮して、試験者の変更、異なる器具や装置、異なる試薬ロットなどの因子の評価を含めることが望ましい。アッセイ間とアッセイ内で分散成分を分離することで、室内再現精度と併行精度を同時に評価することが有用な場合がある。

3.5. 範囲

バイオアッセイの範囲は、その分析法が適切なレベルの真度、室内再現精度及び直線性を有していることが既に示されている相対力価の範囲と定義される。範囲は通常、力価に対する製品規格の範囲を最小限含んでいることが求められる。安定性試験のため、若しくは高力価又は低力価の試料をバイオアッセイの範囲に希釈又は濃縮する必要性を最小限にするために、より広い範囲にわたってバイオアッセイをバリデーションすることは有用である。

4. 試験成立の判定

相対力価を算出するための試験では、標準物質と試料が同じ用量反応性を示すことが重要であり、両者の用量反応曲線の形状が類似していることをあらかじめ定めた試験成立条件を満たすことにより確認する。相対力価は、事前に定めた試験方法の濃度の範囲内で、標準物質と試料から得られた曲線が類似性を

示し、かつ解析に必要なモデルへの適合度を満たす場合のみ、算出できる。

分析法開発時の検討と分析法バリデーションによる分析性能の確認に加え、日々の試験において、試験が適切に実施されていることを確認するため、規格及び試験方法を設定する際には、理化学試験におけるシステム適合性に相当するものとして、試験成立条件を設定する必要がある。

試験成立条件には、1)システム適合性の評価及び2)サンプル適合性(標準物質と試料の用量反応性の類似性)の評価が含まれる。試験成立条件として、目標とする分析性能を確保するための適切な指標を選択して、判定基準を設定することが重要である。試験成立条件は、バイオアッセイの開発中から検討し、バリデーション前までに確立しておく必要がある。

4.1. システム適合性

試験法が目的とする試験を行うのに適切な状態を維持していることを確認するために評価する。通常、標準物質やQC試料(生物活性を含め、十分に特性解析された試料)で得られた用量-反応曲線について、被験物質の生物活性に基づく意図した反応が得られたことを、いくつかのパラメーターがあらかじめ規定した範囲内にあることにより確認する。例えば、4パラメーターロジスティックモデルにおいては、決定係数、上方漸近線又は下方漸近線の値、上方漸近線と下方漸近線の差や比、観測された反応の最大値と最小値の比、勾配パラメーター、EC₅₀などを指標とし、複数の指標について適否を判定することで、一定の性能が維持されていることを確認できる。その他、QC試料の相対力価を指標として設定することもできる(この場合、標準物質とQC試料の用量反応曲線の類似性に関する評価も必要となる)。平行線モデルでは観測された反応の最大値と最小値の差や比、勾配比モデルでは切片及び高濃度標準物質の反応等の指標が、あらかじめ規定した範囲内にあることにより確認することができる。

4.2. サンプル適合性

標準物質と試料の用量反応性が類似していることを確認するために評価する。相対力価の測定は、標準物質と試料の用量反応曲線の形状が一致していることが前提条件であるため、標準物質と試料の用量反応曲線の類似性により、サンプル適合性評価を評価する。類似性(similarity)の評価の対象となる項目には、4パラメーターロジスティックモデルの場合、EC₅₀以外のパラメーター、すなわち、上方漸近線及び下方漸近線、勾配パラメーターが含まれ、平行線モデルでは回帰直線の傾き、勾配比モデルでは切片が含まれる。

類似性の評価の方法として、通例、標準物質と試料の用量反応性に差がないという帰無仮説を検定する差異の検定(Difference test)、あるいは、標準物質と試料の用量反応性が同等と判断される許容範囲を定めて評価する同等性の検定(Equivalence test)が用いられる。

4.2.1. 差異の検定 (Difference test)

差異の検定とは、分散分析を用いて「標準物質と試料の用量反応性に差がない」という帰無仮説を評価するものである。差異の検定は、個々の試験結果について判定が可能であり、許容範囲を定めるための事前のデータ蓄積が必要ないという利点がある一方で、データのばらつきが大きいほど残差分散が大きくなり、用量反応性に差がない、すなわち用量反応性が一致していると判定されやすく、ばらつきが小さいほど、用量反応性が

一致していないと判定されやすいという欠点があることに注意が必要である。

差異の検定の一つは、標準物質と試料の測定結果のばらつきをいくつかの要素に分け、それぞれに設定した帰無仮説に対する判定結果をもとに、両曲線の一致を評価する方法である。代表的な手法では、分散分析(Analysis of Variance)等により回帰性(regression: 回帰の成立を評価)、非平行性(non-parallelism: 非制限モデルと制限モデルの乖離を評価)、非線形性(non-linearity又はlack of fit: 非制限モデルからのデータの乖離を評価)に関して有意差検定により p 値を求め、試験の成立を判定する。差異の検定のもう一つの方法(Extra sum of square法)では、標準物質と試料の用量反応性をそれぞれ、モデルを当てはめて回帰した場合と、標準物質と試料の用量反応曲線の形状が等しいとしてパラメーターの一部を共通として回帰した場合の平均平方を比較し、モデル間でのあてはまりの違いに有意差があるかを p 値により判定して、平行性を判断する。

4.2.2. 同等性の検定 (Equivalence test)

同等性の検定は、標準物質と試料の用量反応曲線について、類似性の判定基準となる指標とその許容を定め、各試験で得られた指標が、許容範囲に含まれる時、両者は同等、すなわち類似していると判定する手法である。例えば、4パラメーターロジスティックモデルでは、標準物質と試料の用量反応曲線について、EC₅₀以外のパラメーター、すなわち上方漸近線、下方漸近線、及び勾配パラメーターを同等性の検定に用いることができる。試料と標準物質の上方漸近線の比又は差、試料と標準物質の下方漸近線の比又は差、試料と標準物質の勾配パラメーターの比等が判定に用いられる。分析法開発中に、どのパラメーターが重要であるか、また、同等性をどのように評価するかを決定する必要がある。

5. バイオアッセイの開発とライフサイクルマネジメントにおける留意事項

バイオアッセイの開発の際には、適切な試験方法を選択し、試験に用いる試薬や細胞株等の重要試薬について、適切なものを選択する。データ解析方法についても適切な方法を選択する。試験性能に影響する操作パラメーターを洗い出し、試験性能と種々の操作パラメーターの関連を理解した上で、目的とする分析性能が得られる試験条件を設定することが推奨される。試験性能が恒常的に維持されるよう、頑健性の評価を行っておく必要がある。

5.1. 試験方法の選択

規格及び試験方法に用いられるバイオアッセイは、品質管理戦略の一部を担うものとして設定される。一般には、有効成分の作用機序を反映した系が用いられるが、複数の作用機序を持つ製品では、その中から必要なものが選択される。細胞を用いるバイオアッセイでは有効成分の作用機序を反映する細胞増殖やサイトカインの分泌等が細胞応答の指標として用いられるほか、特定の細胞内シグナル伝達に応答するレポーター遺伝子を導入した細胞を用いたレポーターアッセイが実施されることもある。何れの場合でも臨床上期待する作用と選択したバイオアッセイにおいて測定される活性との関連について適切に説明できる必要がある。

5.2. 試験条件の設定

バイオアッセイの開発は、試験因子の条件や水準を変化させた一連の実験を通じて行われ、信頼性の高い頑健なバイオアッ

セイの試験条件を確立するため、試験因子の条件や水準を特定する。それらの実験は、各因子を個別に検討して理想的な条件を特定するか、多因子実験計画法を用いて行われる。細胞を用いたバイオアッセイの試験結果に影響を及ぼす可能性のある主な因子として、培養温度、培養時間、細胞密度、培地組成(血清成分を含む)、細胞継代数及び継代スケジュールなどが挙げられる。プレートを用いるバイオアッセイでは、プレート上の試料の配置が試験結果に影響を及ぼす場合があるため、注意が必要である。全てのウェルで実験処理(洗浄、培養、基質の添加など)が均一に施されていても、プレート上に実験処理とは関係のない系統的な偏りが認められることがある。これらの偏りが全ての行、列、プレートの端から中央にかけて発生する場合、プレート効果と呼ばれる。試験法の開発中には、プレートのレイアウト方法、ブロック化、無作為化、及び反復などの方法により、プレート効果を最小限にするための対処が必要である。プレート上の試料配置を含め、開発期間中に、当該試験法において重要な因子を特定し、許容可能な性能(真度や精度など)の範囲となるよう、因子の最適値や範囲を決定することが望ましい。

5.3. 試験法開発中のデータ解析

開発中に蓄積されたバイオアッセイデータを使って、統計解析方法や試験成立条件を決めることが有用である。具体的には、データに当てはめる解析モデル(非線形モデル、平行線モデル及び勾配比モデルなど)、必要な場合にはデータの変換や重み付けの方法を決める必要がある。モデルの適切性については、平行性の仮定を行わずにデータに解析モデルを当てはめ、試験の濃度範囲全体における正規性及び等分散性からの逸脱について、残差の分布を評価することも有用な場合がある。また、試験法の開発中に、必要な場合は、外れ値の原因調査や処理に関する方法を作成し、試験手順書と関連付けることが推奨される。

5.4. 標準物質の管理

バイオアッセイでは、試料の標準物質との相対的な活性を評価する。報告値の信頼性を確保するためには、標準物質の信頼性を確保する必要がある。標準物質は重要な試薬である。標準物質は評価対象となる試料を代表するものである必要があり、非臨床試験又は臨床試験で有効性・安全性が確認されたロット、あるいは、特性解析を実施したロットから調製する。標準物質は、使用される期間にわたり、力価を維持可能な条件下で保存する必要がある。標準物質が原薬や製剤とは異なる条件下(保存温度、保存容器、処方など)で保存されることもある。バイオ医薬品の標準物質においては、保存中の糖化や酸化など化学変化に起因して活性が低下し、類似性の喪失や力価の経時的な低下が生じる可能性があるため、標準物質の定期的な安定性評価の実施が推奨される。また、ロット更新時に力価の不連続性が生じる可能性があるため、標準物質のロット更新時の手順において、更新後のロットの値付けの方法が適切に定められ、実施される必要がある。標準物質の力価の経時的な低下やロット更新時の不連続性への対応策としては、上記の対策に加え、後々の標準物質との同等性や力価試験結果の変動を調査するため、各標準物質ロットの一部を保存しておくことが有用である。また、初期に確立した標準物質を一次標準物質とし、一次標準物質を基準に検定された標準物質を常用標準物質として商用生産の試験に用い、常用標準物質の更新時に一次標準物質を基に生物活性を評価する、標準物質の2段階設定も有用である。

5.5. 重要試薬の設定と管理

試験性能に重要な影響を及ぼす試薬は、重要試薬として管理する。例えば、中和活性を持つ抗体医薬品の細胞応答性試験において、中和される生理活性物質等が該当する。重要試薬については、あらかじめ品質特性や安定性を考慮して、品質確保のための評価項目と適否の判定基準、保存条件やロット更新の手順などを設定しておく必要がある。ロット更新の際には、実際にバイオアッセイに用いて、意図した結果が得られることを確認する。

細胞を用いるバイオアッセイでは、細胞の特性が試験性能に影響するため、細胞は重要試薬に含まれる。試験に適した特性を持つ細胞であることを確認するために特性解析を行い、細胞株を適切に管理することが、試験結果の信頼性確保に重要である。細胞の十分かつ安定した供給を確保するため、セルバンクを構築することが推奨される。セルバンクは、細胞の増殖特性、バイオアッセイに用いる細胞の継代数や細胞数、試験の実施頻度などを考慮して構築する。バイオアッセイに用いる細胞株の機能的及び遺伝的特性に関する情報は、その細胞株の起源からバンキングまでの履歴などを含めて、詳細に記録しておくことが望ましい。セルバンクから調製し、試験に用いる細胞については、あらかじめ定めた継代数の範囲で試験に用いる等、試験性能を確保するための条件を定めておく。

6. 用語解説

バイオアッセイ(生物活性試験)(Biological assays, Bioassays): 生物活性の測定に用いられる分析法。有効成分の特性に応じて、酵素反応、標的分子との結合、細胞応答性、動物個体での反応等を指標にした方法が用いられる。

相対力価(Relative potency): 標準物質と試料について、用量と反応の関係に適切な解析モデルを当てはめ、得られた回帰式のパラメーターを比較することで算出した相対的な活性。

試験成立条件(Suitability testing): 実施した試験が成立していることを判定するために、あらかじめ定めておく基準であり、通例、標準物質の反応性に関して規定するシステム適合性、及び、標準物質と試料の反応性の類似性の判定基準を規定するサンプル適合性から構成される。理化学試験におけるシステム適合性に相当するが、試験成立条件では、試料のデータを判定に用いる点が特徴である。

類似性(Similarity): ここでは、標準物質と試料の用量反応直線(曲線)の一致の程度のこと。相対力価の算出には、標準物質と試料の用量反応直線(曲線)の形状が類似していることが前提である。類似性(similarity)は、平行線モデルや非線形モデルの評価において、平行性(parallelism)と表現されることもある。

差異の検定(Difference test): 差異がない、という帰無仮説を設定して、試験成立の判定を行う方法。帰無仮説が棄却されない場合、すなわち差異があるとは言えない場合に、当該指標に関して、試験成立の要件を満たすと判定できる。通例、回帰、非平行性(モデル間の乖離)、及び、非直線性(回帰曲線上の点と実測地の乖離)の有意性を検定する。4-パラメーターロジスティックモデル回帰を用いる場合は、Extra sum of square法が用いられる場合もある。

Extra sum of square法: モデルの違い(制限モデルと非制限モデル)で生じる残差分散と、非制限モデルで回帰した場合の残差分散を比較し、分散分析により平行性を検定する方法。4-パラメーターロジスティックモデルを用いる場合に利用されるこ

とが多い、

同等性の検定(Equivalence test)：評価に用いる指標の差異が一定の範囲内に収まっていることで試験成立とする方法。差異が同等となる許容範囲に含まれる場合に、当該指標に関して、試験成立の要件を満たすと判定できる。試験で得られるレスポンスや回帰式の係数等に関して、判定の対象とする指標と、各指標に関する許容範囲をあらかじめ設定しておく。指標の差異そのものから判定する場合と、差異の信頼区間から判定する場合がある。

QC試料：代表的なロットから、適切な濃度に調製し、アッセイ系の評価に用いるもの。QC試料は、試験成立の判定に用いる他、レスポンスの長期的な変動のモニターにも用いることができる。QC試料の利用は、標準物質のロット更新の前後で、レスポンスに変化が生じていないことを確認する目的でも有用である。Product control,あるいは、Assay Controlと呼ばれる場合もある。

参考資料

- 1) US Pharmacopeia (2023), <111> Design and analysis of biological assays.
- 2) US Pharmacopeia (2023), <1032> Design and development of biological assays.
- 3) US Pharmacopeia (2023), <1033> Biological assay validation.
- 4) US Pharmacopeia (2023), <1034> Analysis of biological assays.
- 5) European Pharmacopoeia 11.0 (2022), 5.3 Statistical analysis of results of biological assays and tests.

表面プラズモン共鳴法〈G3-10-170〉

表面プラズモン共鳴(Surface plasmon resonance : SPR)法は、センサーチップ上の質量の変化を、表面プラズモン共鳴により生じる反射光の消失角度の変化として検出する方法であり、物質間の結合特異性や結合親和性の解析、試料中の分析対象物質濃度の測定等に用いられる。

表面プラズモン共鳴を利用して物質間相互作用を測定する装置では、一般的に、プリズムを用いたKretschmann配置が採用されている(図1)。センサーチップの金属薄膜表面で全反射するように偏光を照射すると、反射光の一部に反射光強度が低下したSPRシグナルが観察される。SPRシグナルの生じる角度はセンサーチップ上の質量に依存して変化するため、センサーチップ上に固定した分子(リガンド)と添加した分子(アナライト)が結合又は解離することで、SPRシグナルの生じる角度が変化する(図1)。測定結果は、SPRシグナルの角度変化や、角度変化から換算されるレスポンスユニット(RU)を経時的に示したセンサーグラムとして取得される。取得された結合及び解離のセンサーグラムを理論曲線にフィッティングさせることで、リガンドとアナライトの結合速度定数(k_a)、解離速度定数(k_d)、解離定数($K_D = k_d / k_a$)を求めることができる。また、既知濃度のアナライトとレスポンスを比較することで、試料中のアナライト濃度を求めることができる。

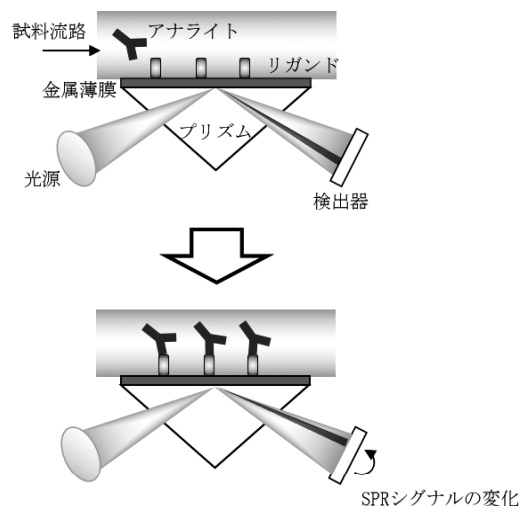


図1 SPR測定原理の概略図(Kretschmann配置)

1. 装置

一般的なSPR装置(連続フロー方式)は、光源、光学検出器、送液システム、センサーチップ挿入部、データ集積部からなる。センサーチップはカルボキシメチルデキストランを結合させたものが一般的である。固定化する分子の特性に応じて適切なものを選択する。センサーチップを装置にセットするとセンサーチップ表面に複数のフローセルが形成され、各フローセルにそれぞれリガンドを固定化することができる。

2. 測定

SPR法は、リガンドとアナライトの結合特異性の確認、結合親和性解析、又は、アナライトの濃度測定に使用される。通例、流路に測定用緩衝液を流しながら、アナライトを注入し、SPRシグナルを経時的に観察することで、センサーチップ上に固定化したリガンドとの結合のセンサーグラムを取得する。センサーグラムの形状から結合親和性を解析するカイネティクス解析では、アナライトの注入を終了した後、アナライトを含まない緩衝液を流して、解離のセンサーグラムも取得する。測定後、再生用緩衝液を流して、リガンドに結合しているアナライトを全て除去する(図2)。

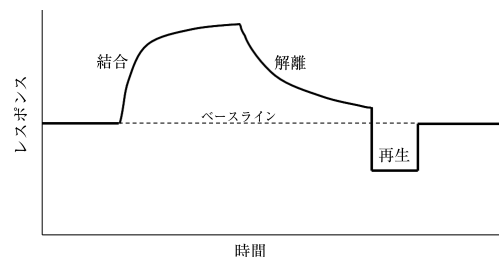


図2 SPRセンサーグラム 例示

2.1. 試料及び緩衝液

(1) アナライト溶液

分析目的や測定を行う分子間の親和性に応じて、測定用緩衝液を用いて試料を至適な濃度に希釈し、アナライト溶液とする。試料に不溶性の夾雑物が含まれる場合、遠心分離やタンパク質低吸着のフィルターなどで不溶物を除去する。

(2) 測定用緩衝液

測定対象に応じ緩衝液を選択する。緩衝液に塩や界面活性剤

を添加することでリガンドやアナライトを安定化できることがある。必要に応じ、緩衝液は使用前にフィルターを通し、脱気する。測定時、アナライトを注入した際に対照フローセルへの非特異的な結合が見られた場合は緩衝液のpHやイオン強度等の変更により、至適化する。

(3) 再生用緩衝液

再生用緩衝液には酸性溶液、アルカリ性溶液、塩溶液、界面活性剤、非極性溶液、キレート剤などが使用される。用いることのできる緩衝液は装置の流路系の材質により異なるため、装置の有機溶媒耐性を確認する。センサーチップ表面のリガンドの性質を変化させることなく、結合した全てのアナライトを解離させる条件が理想的である。再生用緩衝液が適切であれば、再生後のベースラインがアナライト添加前のベースラインまで戻り、繰り返し測定で結合レスポンスが低下しない。再生条件が適切でない場合は、測定サイクルを重ねるごとにリガンドへの結合量が低下するため、測定の再現性に影響が生じる。リガンドとアナライトの解離が十分速い場合には緩衝液を流すことで、リガンドに結合したアナライトが解離するため、再生用緩衝液を流す必要はない。

2.2. 測定用センサーチップの準備

センサーチップへのリガンドの結合の方法には、リガンドを直接固定化する直接法と、リガンド内の特異的認識配列に結合するタンパク質やリガンドに対する抗体などを固定化し、リガンドを捕捉する捕捉法がある。リガンドの生物活性を維持した状態で固定化し、アナライトとの結合への影響を小さくすることが重要である。また、センサーチップに固定化するリガンドは純度が高いものを使用する。

リガンド固定化量は、次式を参考にして設定する。

リガンドの固定化量

$$= \frac{\text{必要 } R_{\max}}{\text{リガンドの結合価数}} \times \frac{\text{リガンドの分子量}}{\text{アナライトの分子量}}$$

測定に必要な $R_{\max}$ (リガンドにアナライトが最大限に結合した場合のレスポンス)は使用する装置の感度に応じて定められる。結合親和性解析を行う場合は、立体障害や凝集、マスストランスポートリミテーション(リガンドが過剰でアナライトの供給が追いつかず、アナライトの供給量が結合量変化の律速になっている状態)を避けるために $R_{\max}$ は低く抑える。濃度測定を行う場合はマスストランスポートリミテーションが生じることで、アナライト結合量の濃度依存性が上がり、検量線の直線性が上昇するため、 $R_{\max}$ は高くすることが望ましい。

通例、センサーチップ上にリガンドを結合していない対照フローセルを用意し、非特異的なレスポンスの検出に使用する。未処理のフローセル、リガンドを固定化する際行った化学処理と同じ処理を行ったフローセル、又はアナライトと結合性を持たないリガンド様分子を固定化したフローセルが対照フローセルとなる。捕捉法でリガンドを捕捉した場合は、捕捉用分子を固定化したフローセルを対照とする。

固定化したリガンドが安定な場合は、センサーチップを装置から外して保存することが可能である。保存には乾燥状態又は緩衝液に浸した状態で冷所に保存する方法等がとられる。

リガンドの固定化法

(1) 直接法

リガンドのアミノ基、チオール基、カルボキシル基、アルデ

ヒド基、ヒドロキシル基や、リガンドの疎水性などを利用して、直接リガンドを固定化する。通例、センサーチップにはカルボキシル基のような固定化に利用できる基を持つ層があり、リガンドを共有結合により固定化する。直接固定化する場合にはリガンドの方向性が定まらないためにしばしば不均一な表面になる。

(2) 捕捉法

リガンドとの結合能を持つ捕捉用分子をセンサーチップに固定化し、捕捉用分子との結合によりリガンドをセンサーチップに捕捉する。捕捉用分子には、例えば、リガンドに対する抗体、リガンドに付与した特異的認識配列に対する抗体等が用いられるほか、リガンドが抗体医薬品の場合は、プロテインAやプロテインG、リガンドがビオチン化された分子である場合は、ストレプトアビジン等が使用される。捕捉法では、リガンドの方向性が均一になりやすい。捕捉用分子とリガンドは測定時に解離しないことが重要である。サイクルごとにリガンドを捕捉し直す場合は、リガンドごとに再生条件を設定する必要があるため、測定条件の設定が容易である。

2.3. 測定条件の設定

(1) ベースラインの確認

測定開始前に、ベースラインが安定していることを確認する。ベースラインが安定していない場合は、①緩衝液、高イオン強度の溶液、又は、界面活性剤を含む溶液を複数回注入する、②緩衝液を高流速で流す、③アナライトの結合と再生操作を繰り返す、等の操作で安定させる。

(2) 流速

結合親和性解析ではマスストランスポートリミテーションを抑制するために速く設定し、濃度測定ではマスストランスポートリミテーション条件とするために遅く設定する。

(3) 送液時間

結合や解離等の各領域の必要時間は、測定様式により異なる。特異的結合の確認では、結合領域の時間はレスポンスの変化が十分観察できる時間として設定する。カイネティクス解析を用いた結合親和性解析では、解離が遅い反応の場合、解離時間を十分にとる必要がある。平衡値解析によるアフィニティー解析では、結合が平衡に達するのに十分な時間を結合領域の時間として設定する。濃度測定では、適切な検量線が得られる測定ポイントが含まれていればよい。

(4) $R_{\max}$ の確認

測定された $R_{\max}$ が、リガンドとアナライトの分子量、リガンドの固定化量、リガンドの結合価数より算出された理論的 $R_{\max}$ を超えている場合は、結合価数が間違っている、アナライトが凝集している、非特異的結合が起こっている等の理由が考えられるため、測定又は解析条件を変更する。

(5) 測定の再現性の確認

測定条件が至適でない場合、又は、測定サイクルを重ねるごとにリガンドが失活する場合等は、測定の再現性に影響が生じることがある。また、センサーチップを保存していた場合、保存により再現性に影響が生じることもある。測定条件を設定する際には、再現性に特に留意する。必要に応じ、測定可能な回数や保存可能な期間をあらかじめ設定しておく。

2.4. 測定法

2.4.1. 結合特異性の解析

アナライトを添加し、結合レスポンスからリガンドとの結合

を確認する。固定化したリガンドに別のアナライトが結合しないことを示す等、適切な対照実験により、結合が特異的であることを確認する。

2.4.2. 結合親和性解析

(1) カイネティクス解析

アナライトを注入し、結合を測定した後、アナライトを含まない溶液を流して、アナライトの解離を測定する。その後、再生操作でアナライトを全て解離し、次のアナライト溶液を測定する。再生操作を行わずに、異なる濃度のアナライトを連続して注入することで結合親和性を解析する方法もある。通例、 K_D 値の1/10から10倍の間で5濃度以上のアナライト濃度について測定する。

(2) 平衡値解析

結合及び解離が速く、カイネティクス解析を行うことが難しい場合や、モデルへのフィッティングが難しい場合は、平衡値解析を行う。アナライトの結合が平衡に達するまでの時間、アナライトを注入し続け、平衡に達した状態でのレスポンスを記録する。結合したアナライトを再生操作により解離して、次のアナライト溶液を測定する。 K_D 値は $1/2R_{\max}$ を与えるアナライト濃度として算出されるため、最高濃度のアナライトで結合が飽和に近づくよう、アナライト濃度を設定する。

2.4.3. 濃度測定

マストランスポートリミテーション条件下で測定すると検量線の直線性が増し、広い範囲で測定精度を上げることができるため、リガンドをなるべく多く固定化したフローセルにアナライトを注入し、結合を測定する。その後、再生操作でアナライトを解離し、次のアナライト溶液を測定する。既知濃度のアナライトの測定結果から、検量線を作成し、アナライト濃度を計算する。アナライト濃度と拡散速度が比例することを利用し、検量線を用いずにアナライト濃度を計算する方法もある。

3. データ解析

解析を行う際にセンサーグラムの不必要な部分(捕捉用分子によるリガンドの捕捉や再生部分など)を除き、リガンドを結合したフローセルのレスポンスから対照フローセルのレスポンスを差し引く。また、センサーグラムのベースラインを0に合わせる。必要に応じ、測定用緩衝液のみを注入して得られたセンサーグラムを、アナライトを注入したセンサーグラムより差し引く。

3.1. 結合親和性解析

(1) カイネティクス解析

カイネティクス解析はリガンドとアナライトの結合様式から導かれる反応速度式を用い、測定されたセンサーグラムから近似式のパラメータ(k_a , k_d , K_D , $R_{\max}$ など)を算出する方法である。リガンドとアナライトが1:1で結合する場合、

結合領域の反応速度式は

$$dR/dt = k_a \times C \times (R_{\max} - R) - k_d \times R$$

解離領域の反応速度式は、

$$dR/dt = -k_d \times R$$

で表される(C : アナライト濃度, R : レスポンス)。

マストランスポートリミテーションや溶液効果を考慮した項を含む反応速度式が用いられる場合もある。

また、結合親和性の指標となる解離定数 K_D は、次式により

求められる。

$$K_D = k_d / k_a$$

結合親和性解析のための反応モデルとしては、①リガンドとアナライトが1:1で結合するモデル、②抗原に対する抗体の結合のように、リガンドとアナライトが2:1で結合するモデル、③2種のアナライトがリガンドに競合的に結合するモデル、④親和性の異なる二つの結合部位をもつリガンドに1種類のアナライトが結合するモデル、⑤1:1で複合体を形成した後、コンフォメーション変化を起こすモデル等が用いられる。他の生化学実験等の結果も考慮し、理論上、適切と考えられるモデルを用いる。

カイネティクス解析を行った場合は、測定されたセンサーグラムと理論曲線の残差プロットによる評価や、 χ^2 (平均平方残差で測定データと計算された理論曲線の差を示す値であり、フィッティングが良いと小さい値となる)等の統計的パラメータを指標にフィッティングが適切であるか評価する。

理論曲線とのフィッティングが不良の場合には、試薬の純度が低い、固定化の方法や固定化の密度が適切でない、アナライトの濃度が適切でない、非特異的な結合がある、リガンドの活性が落ちている、選択した反応モデルが適切でない、等の理由が考えられるため、測定条件や反応モデルの見直しを行う。また、結合・解離が速い反応で、データ解析時に、試料中の緩衝液成分によるレスポンスとして算出されるRI (refractive index)値が高くなり過ぎる場合は、RI値を0になるように固定し、フィッティングを行う。フィッティングが不良の場合に、予想される k_a , k_d に近い値を初期値に設定することでフィッティングが良好になることがある。

(2) 平衡値解析

平衡値解析では、例えば、アナライト濃度をX軸に、各アナライト濃度において平衡に達したレスポンスをY軸にプロットし、

$$\begin{aligned} \text{平衡反応式: アナライト濃度に対する平衡値} \\ = \text{アナライト濃度} \times R_{\max} / (\text{アナライト濃度} + K_D) \end{aligned}$$

より回帰を行い、 $1/2R_{\max}$ のレスポンスを示す濃度(K_D)を求める。本反応式により算出される K_D はリガンドとアナライトが1:1で結合すると仮定した場合の数値である。実測のレスポンスが $R_{\max}$ に収束している場合は良好な解析ができるが、 $R_{\max}$ よりも低い範囲である場合は解析値の信頼性が低いため、測定濃度範囲を高濃度側に広げて再度、測定を行う。

3.2. 濃度測定

既知濃度のアナライトを注入して得られたセンサーグラムより、注入開始時のレスポンスの傾き、又は、注入後一定時間経過した時のレスポンスを求め、アナライト濃度に対してプロットする。4-パラメーターロジスティック回帰あるいは直線回帰など、適切な近似式を用いて検量線を作成する。試料をアナライトとして測定したレスポンスの傾き又はレスポンスを求め、検量線より試料濃度を算出する。

4. 各種試験への適用

4.1. 確認試験への応用例

2.4.1.に記した特異的結合の確認を利用し、試料がリガンドに結合することを確認する。システムの性能として、標準物質及び陰性対照(リガンドとの結合性が識別されるべき任意の物

質)試料を測定し、結合の特異性を確認する。

4.2. 結合親和性試験への応用例

2.4.2.に記した結合親和性解析を利用して、標準物質及び試料について K_D を求める。結合親和性の規格値は、 K_D 又は K_D の相対値(試料の K_D /標準物質の K_D)について設定することができる。

システム適合性としてシステムの性能と再現性を設定する。例えば、システムの性能は、リガンドの固定化量が設定した範囲内であること、リガンドとの結合親和性が既知である複数の親和性確認用試料の K_D が親和性順どりに測定できること、 χ^2 があらかじめ設定した数値以下であること等により確認する。システムの再現性は、繰り返し測定時の K_D の相対標準偏差があらかじめ設定した数値以下であること等により確認する。

4.3. 結合量を指標とした比活性測定への応用例

標的分子との結合量を指標に比活性を算出する場合、2.4.3.に記した濃度測定法を利用して測定を行う。標準物質により作成した検量線をもとに、試料溶液のレスポンスから標準物質に対する相対力価を算出し、タンパク質濃度で除して比活性を求める。

システム適合性としてシステムの性能と再現性を設定する。例えば、システムの性能は、リガンド固定化量が設定した範囲内であること、検量線の相関係数又は決定係数が設定した数値以上であること等により確認する。システムの再現性は、繰り返し測定時のレスポンスの相対標準偏差が、あらかじめ設定した数値以下であること等により確認する。

酵素免疫測定法〈G3-11-171〉

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay : 酵素免疫測定法)は、抗原抗体反応により分析対象物を検出する免疫学的測定法の一つで、検出用試薬として酵素標識体を利用する方法である。通例、分析対象物に特異的に結合する捕捉用分子を固相化した96ウェル等のプレートに、試料、酵素標識体等を順次、添加、洗浄し、酵素標識体を固相に結合させる。さらに、標識酵素の基質を加えて反応させた後、酵素反応により生じるレスポンス(吸光度等)を測定し、試料中の分析対象物の濃度又は結合活性を求める。分析対象物と特定の分子との結合の有無を評価する定性的な試験として用いられることもある。

ELISAは生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)の試験において、主に二つの観点から使用される。一つは、目的物質や製造工程由来不純物等の定量を目的とするもので、通例、分析対象物に対して特異的に結合する抗体を用いて、分析対象物の物質量を測定する。もう一つは、抗体医薬品等の生物活性の評価を目的とするもので、目的物質と薬理作用に関わる分子との結合性や、目的物質を含む試料を添加した細胞から分泌される生理活性タンパク質の量を指標とした細胞応答性の評価等に用いられる。

1. 各種測定様式

ELISAは、非競合法と競合法に大別され、検出方法により、直接検出法及び間接検出法に分けられる(図1)。また、捕捉用分子等の固相化法として、直接固相化法と間接固相化法がある(図2)。

固相に結合した分析対象物は、分析対象物に対する抗体等により検出される(図1)。直接検出法では、分析対象物に対する抗体を酵素標識して用いる。間接検出法では、分析対象物に対する抗体(一次抗体)に対する抗体(二次抗体)等、分析対象物に間接的に結合する分子を用いる。直接検出法は、操作が簡便であるが、分析対象物ごとに酵素標識した抗体を準備する必要がある。間接検出法では、直接検出法と比較して操作が多くなるが、二次抗体は、抗IgG抗体のように、分析対象物が異なっても共通したものを用いることができる。

ELISAが物質量の定量に用いられる場合は、通例、捕捉用分子として、分析対象物に対する抗体が用いられる。結合性を指標とする生物活性の評価に用いられる場合は、捕捉用分子として、当該医薬品の薬理作用に関わる標的分子が用いられる。

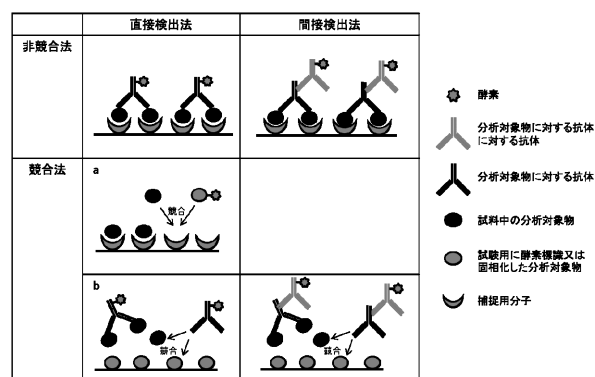


図1 ELISAの測定様式

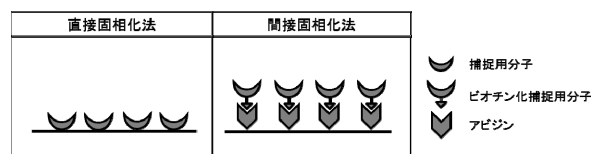


図2 直接固相化法と間接固相化法の例

1.1. 非競合法

非競合法は、捕捉用分子に対して、他の分子と競合することなく分析対象物を結合させる方法である(図1)。分析対象物の分子量が比較的大きく、捕捉用分子との結合部位のほか、検出に用いる分子との結合部位を持つ場合に用いられる。

1.2. 競合法

競合法では、捕捉用分子を固相化し、捕捉用分子への結合に関して、分析対象物とその酵素標識体を競合させる方法(図1a)、又は、プレートに試薬として調製された分析対象物を固相化し、酵素標識抗体への結合に関して、固相化した分析対象物と試料中の分析対象物を競合させる方法がある(図1b)。競合法は、分析対象物の分子量が比較的小さく、特異的に結合する分子を2種類用意することが難しい場合等に用いられる。

2. 操作法

2.1. 操作手順

非競合法、競合法の一般的な操作手順を示す。定量的な試験の場合には、いずれの方法においても、用量反応曲線又は検量線を作成するために、段階的に希釈した標準物質溶液を用意する。

2.1.1. 非競合法

1) 捕捉用分子を含む溶液をプレートに添加して、インキュベ

ーションし、捕捉用分子を固相に結合させる。洗浄により結合しなかった捕捉用分子を除去する。

- 2) ブロッキング試薬を添加し、捕捉用分子により占有されなかった固相表面にブロッキング試薬を結合させる。洗浄により結合しなかったブロッキング試薬を除去する。
- 3) プレーートの各ウェルに標準物質又は試料を添加し、分析対象物を固相に結合させる。洗浄により結合しなかった分析対象物を除去する。
- 4) 直接検出法では、酵素標識抗体を添加し、分析対象物に結合させる。間接検出法では、分析対象物に対する抗体を添加、洗浄後、更に分析対象物に対する抗体に結合する酵素標識抗体を添加し、固相に結合させる。洗浄により結合しなかった酵素標識抗体を除去する。
- 5) 基質溶液を添加してインキュベーションし、必要に応じて反応停止液を加えた後、酵素反応により変換された基質量を、吸光度、発光強度又は蛍光強度により測定する。
- 6) 標準物質の用量反応曲線(検量線)を参照し、分析対象物の結合活性又は濃度を求める。

2.1.2. 競合法

- 1) 競合法(a)：捕捉用分子を含む溶液をプレートに添加して、インキュベーションし、捕捉用分子を固相に結合させる。洗浄により、結合しなかった捕捉用分子を除去する。
競合法(b)：固相化用に調製した分析対象物をプレートに添加して、インキュベーションし、プレートに結合させる。洗浄により、結合しなかった分析対象物を除去する。
- 2) ブロッキング試薬を添加し、1)の操作により占有されなかった固相表面にブロッキング試薬を結合させる。洗浄により、結合しなかったブロッキング試薬を除去する。
- 3) 競合法(a)：プレートの各ウェルに標準物質と酵素標識した分析対象物、又は、試料と酵素標識した分析対象物を添加し、分析対象物及び酵素標識した分析対象物を固相に結合させる。洗浄し、結合しなかった分子を除去する。
競合法(b)：直接検出法では、標準物質と酵素標識抗体、又は、試料と酵素標識抗体を添加し、酵素標識抗体を固相に結合させる。洗浄し、結合しなかった分子を除去する。間接検出法では、標準物質と分析対象物に対する抗体、又は、試料と分析対象物に対する抗体を添加、洗浄後、分析対象物に対する抗体に結合する酵素標識抗体を添加する。洗浄し、結合しなかった酵素標識抗体を除去する。
- 4) 酵素の基質を添加してインキュベーションし、必要に応じて反応停止液を加えた後、酵素反応により変換された基質量を、吸光度、発光強度又は蛍光強度により測定する。
- 5) 標準物質の用量反応曲線(検量線)より分析対象物の結合活性又は濃度を求める。

2.2. データ解析

2.2.1. 定量

ELISAを物質量の定量に用いる場合は、適切な希釈倍数で調製した試料について測定を行い、標準物質の検量線より試料中の分析対象物の濃度を算出する。検量線は、通例、試料濃度の対数をx軸に、得られたレスポンスをy軸にプロットし、4パラメーターロジスティック回帰式等を用いて作成する。

4パラメーターロジスティック回帰式

$$y = D + \frac{A - D}{1 + \left(\frac{x}{C}\right)^B}$$

A：下方漸近線

B：EC50(IC50)における傾き

C：EC50(IC50)

D：上方漸近線

x：試料濃度

y：レスポンス

検量線が左右対称なシグモイド型曲線とならない場合には、5パラメーターロジスティック回帰式などを用いることで解析結果が改善される場合がある。非競合法では、分析対象物の濃度範囲を低濃度側に限定することにより、直線回帰により検量線を作成できることもある。

2.2.2. 生物活性

生物活性の測定では次の1)～3)の方法等が用いられる。

- 1) 適切な希釈倍数で調製した試料について、標準物質の用量反応曲線(検量線)をもとに、標準物質に対する相対的な濃度を算出し、標準物質に対する相対活性とする方法
- 2) 標準物質と試料それぞれについて用量反応曲線を取得し、最大レスポンスの50%に相当するレスポンスを与える用量(非競合法ではEC₅₀、競合法ではIC₅₀)の比から標準物質に対する相対活性を算出する方法
- 3) 用量反応曲線のうち直線で近似できる領域を用いて、同じレスポンスを生じる用量比をもとに標準物質に対する相対活性を算出する方法

1)については2.2.1.と同様の方法で、標準物質に対する相対濃度を算出する。2)については、2.2.1.と同様の方法で、標準物質及び試料について、回帰式を導く。また、各濃度のレスポンスの回帰式算出への寄与を均等にするため、重み付けを行うことで、良好な回帰が得られる場合がある。重み付けの方法としては、 $1/y^2$ 、 $1/y$ 、 $1/x$ などを用いる方法があり、試験法確立の際に、真度及び精度の評価をもとに、より良好な結果が得られる回帰方法を選択しておく。3)については、EC₅₀やIC₅₀付近の濃度範囲で直線に近似できる領域を用いて解析する。

2.3. 試薬・試液

2.3.1. 捕捉試薬

分析対象物に対して特異的結合能を持つ分子(抗原、抗体等)が用いられる。プレートへの結合は物理的な吸着による場合が多いが、アミノ基結合性又はスルフヒドリル基結合性の官能基を持つプレートを用い、共有結合により捕捉用分子を結合させることもできる。プレートへの結合により立体構造変化が起こり、分析対象物との結合性が変化する可能性があることに留意する。

捕捉試薬は試験の性能に影響する重要な試薬であるため、必要な規格を設定して管理する。また、ロット更新方法を定めておく。

2.3.2. ブロッキング試薬

アルブミン、ゼラチン、カゼイン等のタンパク質溶液に、必要に応じてポリソルベート20等の界面活性剤を添加した緩衝液が用いられる。

2.3.3. 検出用試薬

検出用試薬に用いる酵素には、ペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β-ガラクトシダーゼ等がある。酵素の標識

には、*N*-ヒドロキシコハク酸イミドエステル基を導入した酵素を被標識タンパク質のアミノ基に共有結合させる方法や、マレイミド基を導入した酵素を被標識タンパク質のスルフィドリル基に共有結合させる方法等がある。抗体の酵素標識には、マレイミド基を導入した酵素を抗体のスルフィドリル基に共有結合させる方法がよく用いられる。

検出用試薬は試験の性能に影響する重要な試薬であるため、必要な規格を設定して管理する。また、ロット更新方法を定めておく。間接検出法では、分析対象物に対する非標識抗体なども検出用試薬として使用するため、これらの試薬についても必要な規格を設定して管理する。

2.3.4. 基質

酵素に応じた基質を用いる。発色基質、化学発光基質、蛍光基質がある(表1)。高感度な測定系が必要な場合は、化学発光基質や蛍光基質が適している。

表1 基質例

酵素	発色基質	化学発光基質	蛍光基質
ペルオキシダーゼ	TMB	Luminol	
	OPD		
	ABTS		
アルカリホスファターゼ	pNPP		
β-ガラクトシダーゼ			MG
			NG

TMB : 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine

OPD : *o*-Phenylenediamine

ABTS : 2,2'-Azino-bis[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate]

pNPP : *p*-Nitrophenyl phosphate

MG : 4-Methylumbelliferyl galactoside

NG : Nitrophenyl galactoside

2.4. 留意事項

プレートの種類、捕捉用分子の固相化量、反応時間及び反応温度などが結果に影響を及ぼし得るため、使用するものや方法を定めておく。また、プレート上の試料配置(試験を行ったウェルの位置)が試験結果に影響を与えないよう、試験条件及び試料配置を設定する。

3. 規格及び試験方法への応用

3.1. 確認試験

ELISAは、種々の生物薬品の各条において、目的物質に特異的な抗体を用いて、抗体との結合性を指標とする確認試験として用いられるほか、抗体医薬品において、抗原との結合性を指標とする確認試験として用いられる。通例、定性的な試験として行うが、抗体医薬品と抗原の結合性を指標とする確認試験の場合は、適否の判定基準として、標準物質を対照とした結合活性の許容範囲を設定することもできる。

3.2. 純度試験

宿主細胞由来タンパク質、培地由来不純物、アフィニティーカラム担体から溶出したリガンドなど、主に製造工程由来不純物を対象とする純度試験に用いられる。不純物の定量値を求める試験の場合は、検量線より試料中の不純物量を算出する。限度試験の場合は、規格値に相当する量の不純物を含む対照試料と比較して、試料のレスポンスが高くないことを確認する。

一般に、試料中には、不純物に比較して目的物質が多量に含まれるため、目的物質による妨害が生じる場合がある。特に、アフィニティーカラム担体のリガンドを分析対象物とする場合は、目的物質がリガンドに結合するため、目的物質による妨害に注意する。試料の前処理を行う場合は、回収率を考慮する。

3.3. 生物活性試験

抗体医薬品等の目的物質とその標的分子との結合活性を測定する試験や、目的物質を含む試料を添加した細胞から分泌される生理活性タンパク質の量を指標とした細胞応答性試験等に用いられる。

2.2.2.の1)～3)で示した方法などにより、相対活性を求める。

3.4. 定量法

目的物質の定量法として用いられる。標準物質を用いて検量線を作成し、目的物質の濃度を算出する。

4. 試験成立条件

下記に一般的に使用される試験成立条件を示す。必要に応じて、これらを組み合わせて用いる。

4.1. 確認試験

標準物質及び陰性対照物質の測定結果が、医薬品各条に規定する基準値に適合することを確認する。

4.2. 純度試験

定量試験では、検量線の信頼性を確認する。信頼性の確認には、回帰式から求められた検量線用標準試料の各濃度の真度や精度、決定係数(R^2 値)などが利用できる。その他には、試料の定量値の精度や、標準物質から調製した既知濃度の対照試料(Quality Control試料: QC試料)の真度などを試験成立条件とすることもできる。限度試験では、規格値の濃度の分析対象物を含む試料のレスポンスが医薬品各条に定める基準値に適合することを確認する。

4.3. 生物活性試験

2.2.2.の1)の方法を用いて生物活性を測定する場合には、標準物質の用量反応曲線(検量線)の信頼性を確認する。用量反応曲線の信頼性の確認には、回帰式から求められた検量線用標準物質の各濃度の真度や精度、 R^2 値、標準物質の用量反応曲線から得られる回帰式の各パラメーターの数値等が利用できる。その他には、試料のレスポンスやレスポンスから算出された相対活性の精度や、QC試料の真度を試験成立条件とすることもできる。

2.2.2.の2)の方法で生物活性を測定する場合には、標準物質及び試料の測定結果から得られる二つの回帰曲線の平行性を確認する。平行性の確認には、標準物質と試料の用量反応曲線の、上方漸近線から下方漸近線を引いた値(2.2.1.の4-パラメーター回帰式の $D-A$)の比、変曲点での傾き(2.2.1.の4-パラメーター回帰式の B)の比等が、あらかじめ設定した範囲内であることを確認する同等性判定試験等がある。また、標準物質及び試料の用量反応曲線の R^2 値やQC試料の真度なども試験成立条件として利用できる。

2.2.2.の3)の方法で生物活性を測定する場合には、標準物質と試料それぞれの用量反応の直線性、及び、標準物質と試料の用量反応直線の平行性を確認する。

2.2.2.の2)及び3)では、平行性を確認するための方法として、標準物質と試料の形状を同一として回帰を行った場合とそれぞれを個別に回帰した場合の残差分散を比較し、分散分析により二つの回帰曲線の平行性を判定する方法もあるが、精度の低いデータでは判定が甘くなることに留意する必要がある。

4.4. 定量法

標準物質の用量反応曲線から作成した検量線の信頼性を確認する。検量線の信頼性の確認には、回帰式から求められた検量線用標準物質の各濃度の真度や精度、回帰式の各パラメーター

の数値、 R^2 値等が利用できる。その他には、試料の定量値の精度や、QC試料の真度を試験成立条件とすることもできる。

フローサイトメトリー〈G3-16-182〉

フローサイトメトリーは、液中に分散させた細胞や粒子を流路系によって整列させ、個々の光学的特性を分析する測定手法である。散乱光を用いた細胞の大きさや内部構造の複雑性に関する形態パラメーターのほか、蛍光標識した抗体や蛍光色素などを用いて細胞を染色することにより、細胞表面や細胞内のタンパク質発現、核酸量等に関する情報を、単一細胞レベルで定量的に取得することが可能である。また、異なる蛍光プローブを組み合わせることで同時に複数のパラメーターに関する情報を取得することができる。生物薬品(バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品)の特性解析や規格及び試験方法においては、目的物質の標的細胞への結合活性の評価や、細胞応答の評価、生物活性試験に用いる培養細胞の適格性評価等に用いられる。

1. 装置と測定の原理

フローサイトメトリーに使用される装置(フローサイトメーター)は一般に、流路系、光源、光学検出系、電子処理系(電気パルス処理系)、データ処理系からなる(図1)。

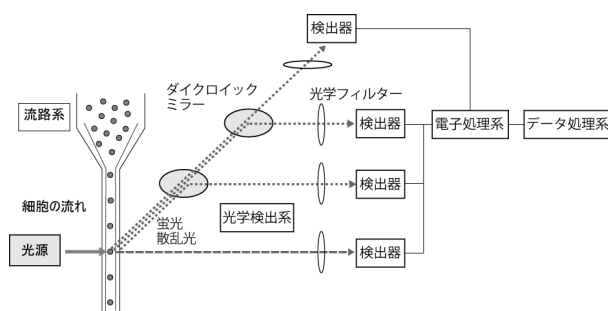


図1 フローサイトメーターの構成

多くのフローサイトメーターでは、細胞懸濁液は流路系によってフローセルまで運ばれ、シース液による流体力学的絞り込み(ハイドロダイナミックフォーカシング)によって細胞が一列に並んだ細い流束が形成され、細胞が1個ずつ観察ポイント(レーザー照射点)を通過する。光源としては、アルゴンレーザー(488 nm)、ヘリウムネオンレーザー(633 nm)のほか、種々の波長のダイオードレーザー等が複数組み合わせられて搭載されることが一般的であり、検出しようとする蛍光に適した光源が選択される。細胞がレーザー照射点を通過すると細胞の物理的構造によって様々な方向への散乱光が生じるほか、蛍光色素が励起されることで固有の蛍光が放出される。

レーザーの光軸の前方(通常は20°以内の角度)への散乱は前方散乱光(FSC: Forward Scatter)と呼ばれ、細胞が大きいかほど強くなるため、FSCを測定することにより細胞の相対的な大きさを推定することができる。レーザーの光軸に対して90°方向への散乱を側方散乱光(SSC: Side Scatter)と呼ぶ。SSCの強度は細胞内の顆粒の量や種類、核や細胞膜の形態等の影響を受けるため、細胞構造の複雑性の指標となる(細胞の内部構造の複雑性が高いほどSSC強度は高くなる)。

蛍光シグナルは光源の種類に依存して、細胞内に含まれる蛍

光物質や特定の解析を目的として使用した蛍光プローブ(蛍光色素、蛍光標識タンパク質、蛍光タンパク質等)から生じる。細胞から放出された蛍光は、光学系によって分離されて個別のチャンネルで検出される。光学フィルターには、特定の波長以上を通過させるロングパスフィルター、特定の波長以下を通過させるショートパスフィルター、特定の狭い波長範囲のみを通過させるバンドパスフィルターがあり、入射光に対して一定の角度で設置したダイクロイックミラーと組み合わせることで、特定の波長をもつ蛍光が目的のチャンネルに振り分けられる。検出の特異性は光学系の設定に依存するため、検出しようとする蛍光に適した組み合わせとすることが必要である。

光学フィルターによって振り分けられた散乱光及び蛍光は光電子増倍管(PMT: Photomultiplier Tube)やフォトダイオードによって検出され、電圧パルスに変換される。PMTで検出される電圧パルスは検出器に電圧を加えることで増幅することができる。増幅の方法には線形(Linear)と対数(Log)の2種類があり、一般に細胞の散乱光(FSC, SSC)には線形増幅が、蛍光の測定には対数増幅が使用されることが多い。試料に含まれる微粒子(細胞片等の夾雑物)に由来するシグナルなどの実験データとは無関係なデータの取得を防ぐため、通常はFSCに閾値を設定する。閾値を超えないシグナルは全ての検出器で無視される。電圧パルスはアナログ値であり、現在使用されるフローサイトメーターの多くでは、アナログデジタル変換によりコンピュータ上での処理が可能なデジタル値に変換される。

細胞の染色に2種類以上の蛍光色素を同時に使用する場合、各色素の蛍光スペクトルの一部が重なることがあり、この場合、各蛍光検出器は意図した蛍光色素に由来する特異的な蛍光に加えて他の色素が発した蛍光を検出する。このような蛍光の漏れ込みの問題を解決するため、蛍光補正(コンペンセーション)を実施する。試験に使用するそれぞれの蛍光色素について単独で染色した試料などを用いることで、各蛍光色素の他の検出器への漏れ込みを計算し、干渉するシグナルを選択的に差し引いたデータを取得することができる。上記のプロセスを経て個々の細胞について得られた増幅・補正済みの各パラメーター(FSC, SSC, 蛍光)に関するデータが解析に使用される。

2. データ解析

2.1. データの表示

フローサイトメトリーで得られたデータは様々な方法で表示・解析することができる(図2)。一般的な表示方法の一つがヒストグラムであり、X軸に一つの測定パラメーターのシグナル強度を、Y軸に細胞数を表示する。ヒストグラムは特定のマーカー分子の発現量や発現割合の評価に有用である。また、X軸とY軸にそれぞれ異なるパラメーターのシグナル強度をプロットしたドットプロットは2種類の細胞表面マーカーを組み合わせた細胞集団の特定や、その割合の評価等に用いられる。

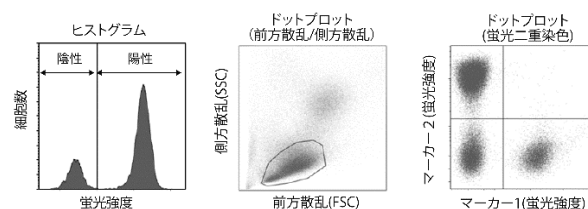


図2 データ表示の例

2.2. ゲーティング

取得したデータの中には解析に不要な死細胞や細胞片などの夾雑物、解析対象ではない細胞集団由来のシグナルが含まれることがあり、目的とする細胞集団に限定した解析を行うためにゲーティングを行う。通常、最初にFSCとSSCによる細胞の形態学的特性に基づいたゲーティングを実施する。例えば、生細胞よりもFSCが小さくSSCが大きい死細胞や細胞片は、FSC/SSCプロットにおけるゲーティングにより解析対象から除外することができる。また、血液サンプルの解析では、細胞の大きさと複雑性の違いに基づき、FSC/SSCプロットを用いてリンパ球と顆粒球を区別してゲーティングすることができる。細胞表面マーカーに対する蛍光標識抗体を用いた測定では、特定のマーカー分子(例えば、T細胞におけるCD3、B細胞におけるCD19など)を発現する細胞集団をゲーティングして解析することができる。解析ソフトウェアを用いて、段階的な複数のゲーティングを設定することが可能である。ゲーティングにより絞り込まれた解析対象とする細胞集団について、試験に用いた蛍光標識物質が結合する細胞の割合(例えば、蛍光標識抗体が認識するマーカー分子が発現する細胞の割合)、結合量の指標となる平均蛍光強度などを算出する。

3. 測定時の留意事項

3.1. 装置の校正

信頼性と再現性の高いデータ取得のため、定期的に装置の校正を実施する。多くのフローサイトメーターでは、装置の製造業者から機器校正用のソフトウェアと試薬(通常は蛍光ビーズ)が提供されており、これを用いて装置の校正を実施し、機器の性能のモニタリング状況(標準ビーズから得られる蛍光強度のばらつき、検出感度の設定など)を記録する。

3.2. コントロールサンプルの使用

バックグラウンドシグナルや非特異的なシグナルの特定と適切な測定条件の設定のためにコントロールサンプルを使用する。また、コントロールサンプルは日常的な試験の適格性評価(システム適合性の判定など)にも用いられる。

未染色コントロール：解析対象とする細胞集団のゲーティング、細胞の自家蛍光によるバックグラウンドを踏まえた検出器の調整と陰性領域の設定のため、未染色のサンプルを使用する。

アイソタイプコントロール：蛍光標識抗体を用いる場合、観察された染色が目的抗原への特異的な結合によるものであることを確認するため、使用する抗体と同一のイムノグロブリンサブクラスで、解析対象とする細胞には存在しない抗原に対する抗体で染色したコントロールを用いる。アイソタイプコントロールに用いる抗体は試験に用いる抗体と同じ蛍光色素が同程度の割合で標識されていることが求められる。アイソタイプコントロールは抗体や蛍光色素の細胞への非特異的結合や、単球やマクロファージ等の免疫細胞上に存在するFc受容体への抗体結合のようなバックグラウンドの評価に用いられる。

単一染色コントロール：複数種類の蛍光色素を用いた試験を実施する際には、異なる蛍光色素間の漏れ込みを評価して蛍光補正を行うため、試験に用いる各蛍光色素について、単独で染色したコントロールを使用する。

FMO (Fluorescence Minus One)コントロール：FMOコントロールは、染色に用いる全ての蛍光色素から一つの蛍光色素だけを除いたコントロールである。欠けている蛍光色素のチャンネルへの他の蛍光色素の漏れ込みから、蛍光補正が正しく行

われていることを確認する。陰性／陽性画分を判定するゲーティングの設定にも使用できる。

生物学的コントロール(アッセイコントロール)：上記の染色に関するコントロールとは別に、実施する試験に対応する陽性コントロール及び陰性コントロールとなる試料を調製する。例えば、細胞応答に伴うマーカー分子の発現量の変化を測定する試験では、未処理／未刺激のサンプルや確実に細胞応答が生じることが既知の処理を施したサンプルをコントロールとして使用する。これらのアッセイコントロールの測定データはシステム適合性の判定に用いることができる。

3.3. 測定条件の設定

試料測定の際には、検出しようとする蛍光に適した光学系を選択し、コントロールサンプルを用いて検出器の感度、ゲーティング、蛍光補正を設定する。通常、最初にFSC/SSCプロットにおいて解析対象とする細胞集団が適切に表示されるようにFSCとSSCの検出感度を調整し、解析対象の細胞集団をゲーティングする。次に検出しようとする蛍光パラメーターについてヒストグラムやドットプロットを展開し、未染色コントロールや陽性・陰性コントロールにおいて検出される蛍光が測定範囲内に含まれるように検出器の感度を調整する。検出される蛍光強度の値はレーザーの出力等によって変動する相対的な値であり、コントロールサンプルの蛍光強度があらかじめ定めた一定の範囲内になるように検出器の感度を設定することは、再現性を担保する上で有用である。複数の蛍光色素を用いた多重染色サンプルを分析する場合は、単一染色コントロールやFMOコントロールを用いてそれぞれの蛍光の他の検出器への漏れ込みを評価し、解析結果に影響しないように蛍光補正を設定する。陽性画分の割合(マーカー分子の発現割合等)を算出する場合には、コントロールサンプルの蛍光強度を指標として、陽性・陰性画分を区別できるようにゲーティングを設定する。アッセイコントロール等を用いたシステム適合性を設定し、日常的な試験における測定条件が適切であることを確認する。

3.4. 細胞と試薬の管理

使用する細胞や染色に用いる蛍光標識抗体などは試験の性能や結果に影響を及ぼす重要試薬であるため、適格性を評価するための項目と判定基準を定め、適切な方法で管理する。細胞は培養経過により形質の変化が生じる可能性があるため、セルバンクシステムを構築し、培養方法や継代回数の上限、試験時の細胞の状態に関する規定(細胞生存率など)を定めて使用する。特定の受容体等を標的とする試験に用いる場合には、標的受容体の発現量を規格として定めて管理する。試験実施時には、アッセイコントロールを用いて、使用した細胞が期待される細胞応答を示すことを試験ごとに確認することも重要である。染色に用いる蛍光標識抗体や細胞の刺激に用いるサイトカイン等は用途への適合性を確認した上で使用する。タンパク質試薬は市販品であってもロットごとに比活性が異なることがあるため、ロット更新時には新旧ロットの比較を行い、必要に応じて添加濃度を調整して試験に使用する。

4. 生物薬品の試験における使用例

4.1. 目的物質の標的細胞への結合活性の評価

目的物質が細胞表面に存在する標的タンパク質と結合して薬理作用を発揮する場合(細胞膜タンパク質を標的とする抗体、ホルモン・サイトカイン類など)、フローサイトメトリーにより標的分子を発現する細胞に対する目的物質の結合活性を評価

することができる。細胞を用いた結合試験は、より生理的な条件下で細胞膜上に存在する標的タンパク質に対する結合活性を評価できるという利点を有しており、組換えタンパク質の精製が困難な複数回膜貫通タンパク質に対する結合試験にも有用である。一方で、試験に用いた細胞に存在する本来の標的以外の分子への非特異的結合が生じる可能性もあり、検出される結合の特異性について留意する必要がある。

測定方法としては、他の原理の結合試験と同様に非競合法あるいは競合法が使用される。非競合法では、目的物質に対する蛍光標識抗体(例えば、抗体医薬品に対する蛍光標識抗ヒトIgG抗体)を用いて、標的細胞への目的物質の結合を検出する。競合法では、蛍光標識した標準物質等と試料を混合して標的細胞に添加し、蛍光標識体の標的細胞への結合に対する試料の阻害活性を測定する。適切な希釈倍数で調製した試料の希釈系列について試験を行って得られたシグナル(平均蛍光強度)から用量反応曲線を作成し、最大反応の50%に相当するシグナルを与える用量(非競合法では EC_{50} 、競合法では IC_{50})を算出する。標準物質に対する相対活性を求める場合には、標準物質と試料についてそれぞれ用量反応曲線を作成し、 EC_{50} あるいは IC_{50} の比を算出する。

4.2. 細胞応答の評価

細胞刺激に伴う細胞応答として細胞表面マーカー分子の発現量の増加や減少が認められる場合、フローサイトメトリーによって定量的に発現変動を解析することができる。受容体を介した細胞応答を誘導するホルモン・サイトカイン類のほか、細胞応答を促す液性因子やその受容体を標的とする中和抗体の生物活性評価にも使用される。試料を添加して一定時間培養する等の処理を施した細胞をマーカー分子に対する蛍光標識抗体を用いて染色し、マーカー分子の発現する細胞の割合や、発現量を測定する。

4.3. 生物活性試験に用いる培養細胞の適格性評価

フローサイトメトリーは、生物活性試験に用いる細胞における受容体などの標的タンパク質の発現確認のための有用な手法の一つである。培養細胞はクローン化された株化細胞であっても不均一な遺伝子発現パターンを示すことがあり、培養期間の経過により形質が変化する可能性がある。また、標的タンパク質を発現させるために遺伝子導入により作製した細胞株では、導入遺伝子の欠落やサイレンシングによる標的タンパク質の発現の消失や低下が生じる可能性について考慮する必要がある。標的タンパク質に対する蛍光標識抗体を用いた染色により、標的タンパク質の発現割合や発現量を測定し、あらかじめ定めた基準に適合することを確認する。

タンパク質定量法〈G3-I2-172〉

以下の方法は薬局方医薬品に含まれるタンパク質の定量法の例を示したものである。HPLCなどの他の方法であっても、全てのタンパク質が回収されることを示すことができれば利用して差し支えない。以下に記載したタンパク質定量法の多くは市販のキットを用いて測定することが可能である。

注：水を用いる際は精製水を用いること。

方法1(紫外吸収法)

溶液中のタンパク質は、芳香族アミノ酸、主としてチロシン及びトリプトファンにより、波長280 nmの紫外線を吸収する。この性質を利用したのが本法である。波長280 nmにおける吸光度を用いたタンパク質定量は主にタンパク質のチロシンとトリプトファン含量に依存する。タンパク質の溶解に用いる緩衝液が水よりも高い吸収を示す場合、緩衝液に妨害物質が存在していることを示している。この妨害は分光光度計で緩衝液の吸光度をゼロに調整することにより補正可能である。妨害物質による吸収が大きく、分光光度計の感度の限界に近づく場合、正確な結果が得られない可能性がある。更に、低濃度ではタンパク質はキューベットに吸着し、溶液中のタンパク質含量の低下を引き起こす可能性がある。これは高濃度の試料を調製するか、若しくは試料調製に非イオン性界面活性剤を用いることにより防止可能である。

注：試料溶液、標準溶液、緩衝液は試験中、同じ温度に置くこと。

標準溶液 医薬品各条に規定するもののほか、試料タンパク質の標準品又は標準物質を、試料溶液と同じ緩衝液に、試料溶液と同じ濃度で溶かした液を調製する。

試料溶液 試料タンパク質の適当量を適切な緩衝液に溶かし、1 mL当たり0.2 ～ 2 mgのタンパク質を含む液を調製する。

操作法 標準溶液及び試料溶液につき、緩衝液を対照とし、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、石英製のセルを用いて、波長280 nmにおける吸光度を測定する。正確な結果を得るには、試験するタンパク質の濃度が直線性の得られる範囲にある必要がある。

光散乱 タンパク質の紫外吸収測定の精度は試料による光散乱の影響で低下する可能性がある。溶液中のタンパク質が測定光の波長(250 ～ 300 nm)に匹敵するサイズである場合、光散乱により試料の吸光度は明らかな増加を示す。光散乱による波長280 nmの吸光度を算出するには、試料溶液につき、波長320 nm, 325 nm, 330 nm, 335 nm, 340 nm, 345 nm及び350 nmにおける吸光度を測定し、直線回帰法を用いて、測定したみかけの吸光度の対数を波長の対数に対してプロットし、各点に最も近似した標準曲線を求め、外挿により波長280 nmにおける光散乱による吸光度を求める。波長280 nmにおける総吸光度から光散乱による吸光度を差し引くことにより溶液中のタンパク質の吸光度が得られる。特に溶液が明らかに濁っている場合は、0.2 μmのメンブランフィルターを通すか、若しくは遠心分離することにより、光散乱の影響を減らすことが可能である。

計算法 次式により試料溶液中のタンパク質濃度 C_U を求める。

$$C_U = C_S \left(\frac{A_U}{A_S} \right)$$

C_S ：標準溶液のタンパク質濃度

A_U ：試料溶液の補正した吸光度

A_S ：標準溶液の補正した吸光度

方法2(Lowry法)

本法は一般にローリー(Lowry)法と呼ばれる方法で、Folin-Ciocalteuのフェノール試液(フォリン試液)に含まれるリンモリブデン酸・タングステン酸混合物の発色基がタンパク質によ

り還元されて、波長750 nmに吸収極大が得られることを利用した方法である。フォリン試液は主としてタンパク質のチロシン残基と反応するため、タンパク質の種類が異なると呈色度に差異を生じる場合がある。本法は妨害物質の影響を受けやすいため、試料からタンパク質を沈殿させる操作を入れることもできる。試料中のタンパク質から妨害物質を分離する必要がある場合には、試料溶液の調製に先立ち、後述する「妨害物質」の項に示す方法により操作する。妨害物質の影響は、試料タンパク質を正確に測定できる濃度範囲内で希釈することにより影響を減らせる可能性がある。公定書^{※1}に収載されているローリー法の変法は以下の方法に代えて用いることができる。

標準溶液 医薬品各条に規定するもののほか、試料タンパク質の標準品又は標準物質を、試料溶液の調製に用いた緩衝液に溶解する。この液の一部を同じ緩衝液で希釈して、1 mL当たり5～100 µgのタンパク質を含む、標準曲線上等間隔の5種類以上の濃度の標準溶液を調製する。

試料溶液 試料タンパク質の適当量を適切な緩衝液に溶かし、標準溶液の濃度範囲内の液を調製する。適切な緩衝液はpH 10～10.5の範囲である。

対照液 試料溶液及び標準溶液の調製に用いた緩衝液を用いる。

試薬・試液

硫酸銅試液 硫酸銅(Ⅱ)五水和物100 mg及び酒石酸ナトリウム二水和物200 mgを水に溶かして50 mLとし、A液とする。無水炭酸ナトリウム10 gを水に溶かして50 mLとし、B液とする。B液をゆっくりとA液に振り混ぜながら加える。この試液は毎日新たに調製する。

SDS試液、5% ドデシル硫酸ナトリウム5 gを水に溶かして100 mLとする。

アルカリ性銅試液 5%SDS試液、硫酸銅試液、水酸化ナトリウム溶液(4→125)の混液(2:1:1)を調製する。室温で2週間保存できる。

希フォリン試液 フォリン試液10 mLに水50 mLを加える。室温で遮光容器に保存する。

操作法 標準溶液、試料溶液及び対照液、各1 mLにアルカリ性銅試液1 mLを加えて混和し、室温で10分間放置する。各液に希フォリン試液0.5 mLを加えて直ちに振り混ぜた後、室温で30分間放置する。標準溶液及び試料溶液から得た液につき、対照液から得た液を対照とし、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、波長750 nmにおける吸光度を測定する。

計算法 吸光度とタンパク質濃度に直線関係が成立する濃度範囲の標準溶液を用いて、直線回帰法により標準溶液の吸光度をタンパク質濃度に対してプロットし、各点に最も近似した標準曲線を求める。得られた標準曲線と試料溶液の吸光度から、試料溶液中のタンパク質の濃度を求める。

妨害物質 以下の操作法では、試験に先立ち、デオキシコール酸・トリクロロ酢酸を試料に加えてタンパク質を沈殿させることにより妨害物質を除去する。この方法はタンパク質を希釈溶液から濃縮するためにも利用することができる。

デオキシコール酸ナトリウム試液 デオキシコール酸ナトリウム150 mgを水に溶かし、100 mLとする。

トリクロロ酢酸試液 トリクロロ酢酸72 gを水に溶かし、100 mLとする。

操作法 試料タンパク質溶液1 mLにデオキシコール酸ナトリウム試液0.1 mLを加え、攪拌機を用いて混和する。室温で10

分間放置した後、トリクロロ酢酸試液0.1 mLを加え、同様に混和する。次に3000×gで30分間遠心分離し、上澄液を捨て、更に残った水分をピペットで取り除く。タンパク質の沈殿をアルカリ性銅試液1 mLに溶解し、試料溶液の項に準じて操作する。[注：呈色は室温で放置する間、20～30分で最高となり、その後徐々に低下する。妨害物質のほとんどは呈色度を低下させるが、界面活性剤の中には呈色を僅かに強めるものがある。塩濃度が高いと沈殿を生じる場合がある。タンパク質の種類が異なると呈色強度が変わることもあるので、標準タンパク質と試料タンパク質は同じでなければならない。]

方法3 (Bradford法)

本法は一般にブラッドフォード(Bradford)法とよばれる方法で、クーマシーブリリアントブルーG-250色素の吸収極大波長が、タンパク質と結合することにより470 nmから595 nmにシフトすることを利用した方法である。クーマシーブリリアントブルーG-250は主にタンパク質のアルギニン残基及びリシン残基に結合するため、タンパク質の種類が異なると反応性が変わることもある。

標準溶液 医薬品各条に規定するもののほか、試料タンパク質の標準品又は標準物質を、試料溶液の調製に用いた緩衝液に溶解する。この液の一部を同じ緩衝液で希釈して、1 mL当たり100 µg～1 mgのタンパク質を含む、標準曲線上等間隔の5種類以上の濃度の標準溶液を調製する。

試料溶液 試料タンパク質の適当量を適切な緩衝液に溶かし、標準溶液の濃度範囲内の液を調製する。

対照液 試料溶液及び標準溶液の調製に用いた緩衝液を用いる。

クーマシー試液 クーマシーブリリアントブルーG-250^{※2} 100 mgをエタノール(95) 50 mLに溶かす。[注：色素の含有量は製品により異なるため、製品が違くと異なる結果が得られることがある。]この液にリン酸100 mLを加え、水を加えて1000 mLとする。この液をろ紙(ワットマンNo.1又は相当品)を用いてろ過し、室温で遮光容器に保存する。[注：試液の保存中に徐々に沈殿が生じる。用時ろ過する。]

操作法 標準溶液、試料溶液及び対照液、各100 µLにクーマシー試液5 mLを加え、転倒混和する。再現性に影響を与えるので泡立たせないようにする。標準溶液及び試料溶液から得た液につき、対照液を対照とし、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、波長595 nmにおける吸光度を測定する。[注：石英製のセルは色素を吸着するため用いてはならない。タンパク質の種類が異なると呈色強度が異なることもあるので、標準タンパク質と試料タンパク質は同じでなければならない。]妨害物質は比較的少ないが、界面活性剤やアンフォライト類を試料に共存させることは避けるべきである。塩基性の高い試料は酸性の試液を妨害することがある。

計算法 吸光度とタンパク質濃度に直線関係が成立する濃度範囲の標準溶液を用いて、直線回帰法により標準溶液の吸光度をタンパク質濃度に対してプロットし、各点に最も近似した標準曲線を求める。得られた標準曲線と試料溶液の吸光度から試料溶液中のタンパク質濃度を求める。

方法4 (ビシンコニン酸法)

本法は一般にビシンコニン酸(BCA)法とよばれる方法で、タンパク質が銅Ⅱ(Cu²⁺)イオンを銅Ⅰ(Cu⁺)イオンに還元することを利用した方法である。BCA試液は銅Ⅰ(Cu⁺)イオンの検出に用いられる。本法に対する妨害物質はほとんど存在しない。

妨害物質が共存するときは、試料タンパク質を正確に測定できる濃度範囲内で希釈することにより影響を減らせる可能性がある。

標準溶液 医薬品各条に規定するもののほか、試料タンパク質の標準品又は標準物質を、試料溶液の調製に用いた緩衝液に溶かす。この液の一部を同じ緩衝液で希釈して、1 mL当たり10～1200 µgのタンパク質を含む、標準曲線上等間隔の5種類以上の濃度の標準溶液を調製する。

試料溶液 試料タンパク質の適当量を適切な緩衝液に溶かし、標準溶液の濃度範囲内の液を調製する。

対照液 試料溶液及び標準溶液の調製に用いた緩衝液を用いる。

試薬・試液

BCA試液 ビンコニン酸10 g、炭酸ナトリウム一水和物20 g、酒石酸ナトリウム二水和物1.6 g、水酸化ナトリウム4 g及び炭酸水素ナトリウム9.5 gを水に溶かし、必要なら水酸化ナトリウム又は炭酸水素ナトリウムを加えてpH 11.25に調整した後、水を加えて1000 mLとする。

硫酸銅試液 硫酸銅(II)五水和物2 gを水に溶かし、50 mLとする。

銅・BCA試液 硫酸銅試液1 mLとBCA試液50 mLを混和する。

操作法 標準溶液、試料溶液及び対照液、各0.1 mLに銅・BCA試液2 mLを加え、混和する。これらの液を37℃で30分間放置した後、時刻を記録し、室温になるまで放置する。標準溶液及び試料溶液から得た液につき、記録した時刻より60分以内に、対照液を対照とし、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、石英製のセルを用いて波長562 nmにおける吸光度を測定する。これらの液の呈色強度は室温に戻った後も徐々に増加する。試験を妨害する物質が共存するときは、方法2の「妨害物質」の項を準用して処理する。タンパク質の種類が異なると呈色強度が異なることもあるので、標準タンパク質と試料タンパク質は同じでなければならない。

計算法 吸光度とタンパク質濃度に直線関係が成立する濃度範囲の標準溶液を用いて、直線回帰法により標準溶液の吸光度をタンパク質濃度に対してプロットし、各点に最も近似した標準曲線を求める。得られた標準曲線と試料溶液の吸光度から試料溶液中のタンパク質濃度を求める。

方法5 (Biuret法)

本法は一般にビウレット(Biuret)法とよばれる方法で、アルカリ性溶液中でタンパク質と銅II(Cu²⁺)イオンが反応し、波長545 nmの吸光度が生じることを利用した方法である。

標準溶液 医薬品各条に規定するもののほか、あらかじめ窒素分析によりタンパク質含量を測定したヒトアルブミン(窒素-タンパク質換算係数は6.25を用いる)、若しくは試料タンパク質の標準品又は標準物質を、塩化ナトリウム溶液(9→1000)に溶かす。この液の一部を塩化ナトリウム溶液(9→1000)で希釈し、1 mL当たり0.5～10 mgのタンパク質を含む、標準曲線上等間隔の3種類以上の濃度の標準溶液を調製する。[注：試料とヒトアルブミンでプロリン含量が大きく異なるとき、反応性が低い場合がある。その場合は別の標準タンパク質を用いること。]

試料溶液 試料タンパク質の適当量を塩化ナトリウム溶液(9→1000)に溶かし、標準溶液の濃度範囲内の液を調製する。

対照液 塩化ナトリウム溶液(9→1000)を用いる。

ビウレット試液 硫酸銅(II)五水和物3.46 gを水10 mLに溶かし、必要ならば加温して溶かした後、放置冷却する(A液)。クエン酸三ナトリウム二水和物34.6 g及び無水炭酸ナトリウム20.0 gを水80 mLに溶かし、必要ならば加温して溶かした後、放置冷却する(B液)。A液及びB液を混和し、水を加えて200 mLとする。ビウレット試液は室温で6箇月間安定であるが、濁りや沈殿を生じたものは使用しない。

操作法 標準溶液及び試料溶液の一定量に等量の水酸化ナトリウム溶液(6→100)を加え、混ぜる。直ちに試料溶液の0.4容量のビウレット試液を加えて振り混ぜた後、15～25℃で15分以上放置する。標準溶液及び試料溶液から得た液につき、ビウレット試液を加えてから90分以内に、対照液を対照とし、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、波長545 nmにおける吸光度を測定する。[注：濁りや沈殿を生じた溶液はタンパク質濃度の算出に用いてはならない。]

計算法 最小二乗直線回帰法を用いて、標準溶液のタンパク質濃度と吸光度をプロットし、最も近似する標準曲線を求め、この線の相関係数を計算する。[注：標準品の濃度範囲内ではタンパク質濃度と吸光度はほぼ直線関係が成立する。]相関係数が0.99以上の直線が得られるのが理想である。標準曲線と試料溶液の吸光度から、必要な補正を行い、試料中のタンパク質の濃度を求める。

妨害物質 妨害物質の影響を最小にするため、次のように試料からタンパク質を沈殿させることができる。試料の溶液1容量に50%トリクロロ酢酸0.1容量を加え、上清を捨てた後、沈殿物を0.5 mol/L水酸化ナトリウム試液少量に溶かし、これを試料溶液の調製に用いる。

解説 本試験では、等量のIgGとアルブミンでごく僅かな相違が見られる。水酸化ナトリウム溶液とビウレット試液と一緒に加えたり、水酸化ナトリウム溶液を加えた後の混和が不十分であったり、水酸化ナトリウム溶液を加えてからビウレット試液を加えるまでに時間をあけた場合などでは、アルブミンよりIgGのほうが大きな値が得られる。妨害物質の影響を減らすためにトリクロロ酢酸を用いる方法は、試料中のタンパク質の濃度が500 µg/mL以下の場合にも利用することができる。

方法6 (蛍光法)

本蛍光法は、タンパク質の第一級アミン(例えばN末端アミノ酸やリシン残基のε-アミノ基など)と反応するo-フタルアルデヒド(OPA)によるタンパク質の誘導体化を利用した方法である。試験に先立ち、タンパク質を加水分解することにより試験感度を増加させることができる。加水分解により、タンパク質を構成するアミノ酸のα-アミノ基がOPA試薬と反応できるようになる。本法は極微量のタンパク質でも測定可能である。

トリス緩衝液やアミノ酸緩衝液では、トリスヒドロキシメチルアミノメタンやアミノ酸のような第一級アミンがOPAと反応するため、使用を避けるか除去する必要がある。高濃度のアンモニアもOPAと反応する。アミンがOPAと反応して得られる蛍光は不安定である。標準的な操作を自動化することにより試験の正確さ、精度は改善される。

標準溶液 医薬品各条に規定するもののほか、試料タンパク質の標準品又は標準物質を、試料溶液の調製に用いた緩衝液に溶かす。この液の一部を同じ緩衝液で希釈して、1 mL当たり10～200 µgのタンパク質を含む、標準曲線上等間隔の5種類以上の濃度の標準溶液を調製する。

試料溶液 試料タンパク質の適量を適切な緩衝液に溶かし、標準溶液の濃度範囲内の液を調製する。

対照液 試料溶液及び標準溶液の調製に用いた緩衝液を用いる。

試薬・試液

ホウ酸緩衝液 ホウ酸61.83 gを水に溶かし、水酸化カリウムを加えてpH 10.4に調整した後、水を加えて1000 mLとする。

OPA試液原液 o-フタルアルデヒド120 mgをメタノール1.5 mLに溶かし、ホウ酸緩衝液100 mLを加えて混和する。これにポリオキシエチレン(23)ラウリルエーテル0.6 mLを加える。室温で3週間安定である。

OPA試液 OPA試液原液5 mLに2-メルカプトエタノール15 μ Lを加える。使用する30分以上前に調製しておく。この試液は1日は安定である。

操作法 試料溶液及び各標準溶液をpH 8.0 ~ 10.5に調整する。試料溶液及び各標準溶液10 μ LをOPA試液100 μ Lと混和し、室温で15分間放置した後、0.5 mol/L水酸化ナトリウム試液3 mLを加えて混和する。これらの液につき、蛍光光度法により試験を行い、励起波長340 nm、蛍光波長440 ~ 455 nmにおける蛍光強度を測定する。〔注：励起のための照射は蛍光強度を低下させるため、各測定は1回限りとすること。〕

計算法 タンパク質濃度と蛍光強度は直線関係が成立する。直線回帰法を用いて、標準溶液の蛍光強度をタンパク質濃度に対してプロットし、各点に最も近似した標準曲線を求める。得られた標準曲線と試料溶液の蛍光強度から、試料中のタンパク質濃度を求める。

方法7 (窒素測定法)

本法はタンパク質定量の手段として窒素定量を利用した方法である。試料タンパク質に他の窒素含有物質が共存すると本法を妨害することになる。窒素定量を行うと試料は破壊されるが、溶液中以外のタンパク質にも適用可能である。

操作法A 窒素定量法により試験を行い、試料タンパク質の窒素含量を測定する。ケルダール法用の市販の装置が利用できる。

操作法B 窒素分析用の市販の装置が利用できる。窒素分析装置のほとんどは熱分解(例えば1000℃近い温度で酸素中の試料を燃焼する)を利用し、試料タンパク質に含まれる窒素から一酸化窒素(NO)及び他の窒素酸化物(NO_x)を産生させる。装置によっては生じた酸化窒素を窒素ガスに変え、熱伝導度検出器で量を測定するものもある。その他、一酸化窒素(NO)をオゾン(O₃)と混和して二酸化窒素ラジカル(NO₂・)とし、それが減衰するときに発する光をケルミネッセンス検出器で測定する装置もある。装置への注入や熱分解条件を最適化し、分析の恒常性を評価するには、比較的純粋で試料タンパク質と同一組成のタンパク質標準品又は標準物質を用いる。

計算法 試料の窒素含量をそのタンパク質の既知の窒素含量で割ることにより、タンパク質の含量を算出する。タンパク質の既知の窒素含量はタンパク質の化学組成から求めるか、若しくは適切な標準品又は標準物質の窒素含量と比較することにより求めることができる。

※1 例：生物学的製剤基準及び薬局方医薬品各条

※2 試液の調製において色素の純度が重要である。

フローイメージング法によるバイオテクノロジー応用医薬品(バイオ医薬品)原薬／製剤中の不溶性微粒子の評価法〈G3-17-182〉

バイオテクノロジー応用医薬品(以下「バイオ医薬品」という。)には、外来性の物質、製造工程に由来する物質及び処方成分や一次容器からの溶出物に加えて、タンパク質それ自身が凝集してできたタンパク質凝集体などの不溶性微粒子が含まれる可能性がある。注射剤に含まれる微粒子を評価・管理することは、最終製品の品質を確保する上で重要であるが、タンパク質凝集体については、タンパク質製剤の免疫原性に影響する可能性が懸念されており、より厳密な評価・管理が求められる。

フローイメージング法は、試料溶液をフローセルに導入し、連続的に画像を撮影し、得られたデジタル画像を数値情報に変換して解析することにより、溶液に含まれる微粒子の計数、粒子径分布の測定、形状及び光学的特性の評価を行う手法である。光遮蔽粒子計数法では屈折率の高いポリスチレン標準粒子を用いて得られた粒径応答曲線により粒子径が算出されるため、水との屈折率の差が小さいタンパク質凝集体は検出されないか小さく検出される恐れがある。一方でフローイメージング法は光遮蔽粒子計数法と比較して、溶媒と粒子との屈折率差の影響を受けづらいことが示されている。また、形状及び光学的特性を評価することにより、タンパク質凝集体、シリコーン油、気泡及びその他の不溶性微粒子を区別できる場合もある。フローイメージング法による粒子数の定量的評価や含まれる粒子の特性解析は、タンパク質医薬品の不溶性微粒子の評価方法として有用と考えられる。本参考情報では主に、タンパク質医薬品注射剤などバイオ医薬品に含まれる不溶性微粒子の評価法について記載する。

1. 測定の原理

装置は、一般に、試料導入部、画像を取得する領域であるフローセル、各部位をつなぐ管路、ポンプ(チューブポンプやシリンジポンプ)、光源を含む光学系、撮像装置であるカメラ及び取得した画像を解析する画像解析装置などからなる。フローセルに流れてきた試料溶液に光源より光が照射され、撮像装置により画像が取得される。測定可能な粒子径はフローセルの厚さと対物レンズの倍率、カメラの性能などにより規定され、多くの場合、測定範囲は約2 ~ 100 μ m程度である。粒子画像データは画像解析装置によって処理され、例えば画像の背景部分と粒子部分の濃淡に基づいて画像中の粒子の境界が認識され、粒子個々の形状及び光学的特性の評価が行われる。微粒子の計数値を測定体積で除することで粒子濃度が求められる。

2. 測定

2.1. 装置

測定は、一般に次の手順で行われる。対物レンズの倍率は測定する粒子の大きさに応じたものを使用し、通常、4 ~ 20倍の対物レンズが使用される。測定前に、フローセルを洗浄し、フローセル内にとどまっている粒子がないことを確認する。なお、セルの洗浄には微粒子を含まない水の他、必要に応じて洗剤や薄めた水酸化ナトリウム溶液、エタノールなどを使用できる。その後、装置の使用手順に定められた方法にて焦点を適切に合わせる。装置ごとに必要な測定条件(流量、測定容量、画像取得頻度、背景から粒子を区別するための閾値など)を設定

する。フローセルに導入された溶液のうち実際に画像解析された割合を画像取得効率という。画像取得効率を設定できる装置の場合、画像取得効率は、測定容量、流量、画像取得頻度から算出され[画像取得効率＝画像取得頻度(frames/s)×画像一枚当たりの測定容量(mL/frame)／流量(mL/s)×100 (%)], 同じ粒子が複数回計数されないように、また、実際に測定される容量が十分となるよう、適切に設定する。測定領域を設定できる場合、計数の正確性は、計数標準粒子を測定することにより確認できる。さらに、測定の原理上、粒子の一部が測定領域に収まらず、一部が欠けた粒子画像が得られることが想定される。部分的に撮像された粒子の取扱いについては事前に設定しておく。

2.2. 操作法

試験は外部から微粒子が混入しない条件下、できれば層流等により清浄度の保たれたキャビネット中で行う。試料は、含まれる粒子が均一になるように、例えば容器をゆっくりと旋回させるなど、穏やかに十分に振り混ぜる。容器を開封する際には、必要に応じて容器開口部の外表面を微粒子試験用水で洗浄し、内部が汚染されないよう注意して栓を開ける。溶液中に存在する微粒子を測定するにあたり、操作中に気泡や新たな凝集を引き起こさないように注意が必要である。必要に応じて、気泡を除くために、容器を大気圧下にしばらく放置する、又は減圧して放置する。超音波処理はタンパク質を凝集、変性させるおそれがあることから、適切ではない。装置に導入する試料の液量は、測定容量と風袋容量を考慮して決定する。測定容量は、試料の特性、画像取得効率及び求める分析法の精度等を考慮して十分な容量とする。試料の粘度が高い、粒子数が多いなど、必要な場合は、希釈直線性を確認し、試料を希釈することも可能である。測定回数は装置の性能及び試料の特性を考慮し適切に設定する。

閾値は、分析結果に大きな影響を及ぼすので、閾値を個別に設定できる装置を使用する場合は、事前に粒子境界が適切に認識されていることを確認する。その際、実試料若しくは実試料を劣化させた試料、又はタンパク質凝集体を模して作製された標準粒子などを使って、粒子の形状が正しく評価されていること、ノイズを粒子として認識していないことも確認することが望ましい。なお、異なる閾値で取得したデータを比較する際は、閾値の差が測定結果に与える影響を十分に考慮する必要がある。

3. 画像解析

検出した粒子の粒子径は、円相当径(粒子の投影面積と等しい面積をもつ円の直径)にて示されることが多い。円相当径のほかに、球相当径やフェレー径などが使用できるため、粒子径の比較には注意する必要がある。

本参考情報はフローイメージング法による微粒子の計数を主な対象にしているが、粒子の画像から由来を推定することや、画像の特徴に応じて粒子を分類できる場合もある。画像解析の結果得られる、粒子の特性を表すパラメーターの主なものには、粒子径の他、面積、粒子周囲長、アスペクト比、円形度などの形状に関するパラメーターの他、明暗度や粒子内での明暗度の標準偏差といった光学的なパラメーターがある。これらのパラメーターを使って、例えば、試料に含まれる粒子を、容器に由来するシリコーン油滴など由来ごとに分類することも可能である。シリコーン油滴との区別には、アスペクト比、真円度、周囲長、長さ、明暗度の平均値や標準偏差などが用いられる。各パラメーターを組み合わせ、最適な閾値を設定し、段階的にふ

るい分ける。蓄積した十分な画像データを使って分類モデルを構築し、同じ装置で取得した画像データに適用することで、検出された粒子を由来ごとに分類することも可能と考えられる。ただし、これらのパラメーターは撮像装置や解析ソフトに組み込まれた定義式、画像解析装置のシステム及び測定条件に依存し、解像度や画素数、焦点の合わせ方によって測定値が異なる可能性のあること、由来の特定には顕微ラマン分光法など分子構造や組成情報の得られる適切な他の技術による分析が必要なおことに留意する。

4. 分析法バリデーション

分析法バリデーションでは一般に、真度、精度、特異性(選択性)などで表現される分析能パラメーターが、事前に定めた基準を満たしていることを実証することにより、分析法の妥当性が示される。評価すべき分析能パラメーターは、分析法が用いられる試験法の目的によって異なる。医薬品中の不溶性微粒子を計数する試験法の場合は、実試料を反映した真度既知の分析対象がなく、真度既知の分析法を使った評価が難しいこと、また製剤や原薬など実試料に含まれ得る微粒子は粒子径分布が広く均質ではないため、通常の定量試験と同様に分析法バリデーションを行うことは難しい。したがって、例えば、平均粒子径が値付けされたポリスチレン標準粒子や、粒子径と粒子濃度が値付けされたポリスチレン計数標準粒子を使って以下のバリデーション手順例に示す分析能パラメーターを評価することで妥当性が示される。用いる標準粒子及び計数標準粒子の粒子濃度や粒子径は、実試料に含まれる粒子濃度や粒子径分布、規格値などを考慮して適切に設定する。粒子径の異なる複数の標準粒子を使うことも、分析法の性能を評価するのに有効である。なお、適切な機関により認証され、粒子径分布若しくは粒子数が保証されている標準粒子を用いる。この他、屈折率が低いシリカ粒子やポリメチルメタクリレート粒子は、タンパク質凝集体のモデル粒子として適切な場合もあると考えられ、処方成分が試験対象試料と同様の溶液に添加した試料は、粒子と溶液の屈折率の差が小さいことで計測される粒子径が変動するか確認するのに有用と考えられる。

フローイメージング法により微粒子数を計数する場合のバリデーション手順例

真度：5、10及び25 µmポリスチレン計数標準粒子を測定し、認証された粒子径及び粒子濃度の範囲内であることを確認する。

精度：併行精度及び室内再現精度を評価する。併行精度は、微粒子を含まない水又は処方成分が試験対象試料と同様の溶液に、3水準の粒子濃度となるよう5、10及び25 µmの標準粒子を添加した試料について各々3回測定を繰り返すことにより求める。室内再現精度については、同様に調製した試料について、少なくとも試験日と試験者を変更した条件で測定を行って算出する。

直線性：微粒子を含まない水又は処方成分が試験対象試料と同様の溶液に5、10及び25 µmの標準粒子を添加し、例えば5水準の粒子濃度について直線性を評価する。

特異性：モデルを使って粒子を分類するなどが必要な場合、実試料を劣化させた試料及び目的とする分析対象物を実試料に添加し、適切に分類できていることを確認する。

5. 装置性能の管理

5.1. 校正

フローイメージング法で算出される粒子径や粒子数は、標準粒子の測定値から算出される相対的な値ではなく、測定の原理に基づいた絶対的な値であるが、計数標準粒子を使って装置が正しく稼働していることを確認し、必要に応じて装置側の設定を調節する必要がある。光学系の確認は必須であり、焦点が正しく合っていること、光源の明るさが適切であることなどを確認する。また、ポンプの性能も測定結果に影響し得るため、流量の調節と流量確認を実施する。なお、装置校正には、適切な機関により認証され、絶対的な方法により粒子径分布及び粒子数が保証されているポリスチレン計数標準粒子及びポリスチレン標準粒子を用いる。

5.2. システム適合性

測定実施前に装置の稼働状態が適切であること、適切に洗浄されていることを確認するため、以下のようなシステム適合性を設定することが推奨される。

適切な標準粒子の測定値(粒子径及び粒子数)があらかじめ定めた範囲内にあることを確認する。フィルターを通した水(用時調製)で、粒子数が規定した値以下であることを確認する。粒子径の範囲は、目的に応じて適切な範囲とする。粒子数が適切な範囲内でなかった場合は、使用する水の調製及び装置の洗浄を繰り返し、再測定する。

日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件〈G3-13-190〉

1. はじめに

日局に収載された医薬品の品質規格は、当該医薬品の品質管理や品質の恒常性確保はもとより、有効性、安全性を確保する上にも基本的な役割を果たすべきものと考えられている。一方、近年、医薬品の品質や安全性等の確保に関する時代の要請は極めて厳しいものとなってきた。生物起源由来の医薬品やバイオテクノロジー技術応用医薬品などの生物薬品に関しては、特に安全性確保の面での懸念が強くなってきていることに留意した対応が望まれている。生物薬品の場合、最終製品の品質規格のほかに、その起源の選択と適格性評価、製造工程の妥当性評価とその恒常性維持及び特異的な物性をいかにコントロールするかが品質、安全性確保上のキーポイントとなる。これらの点をふまえ、局方の枠組みの中でいかにその品質、安全性などを確保するかが改めて問われてきていると考えられる。そこで、本参考情報はこれらの課題を解決するためにどのようなアプローチがあるかについて述べている。

日局収載医薬品の品質・安全性などの確保は、科学の進歩、経験の蓄積を反映してその時代における最も先端的な方法、考え方でなされることが望ましい。本参考情報では、現時点における科学的考察の到達点を示すことを試みた。これにより、日局収載医薬品のみならず、生物薬品の品質・安全性確保が時代を反映したより科学的根拠に基づくものとなり、また、各条収載に関する効率的な審議の推進につながることが期待される。

1.1. 日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための基本方策

日本薬局方生物薬品には、哺乳類などの生体組織や体液(尿、血液など)に由来するものが含まれる。ヒト又は動物細胞株由来のタンパク質医薬品(組換え医薬品、細胞培養医薬品などのバイオ医薬品)も含まれる。これら日局生物薬品のウイルスに対する総合的な安全性確保を図るための必要な基本的方策には、次のようなものが挙げられる。1)ウイルス汚染の可能性(汚染源)について熟知すること、2)原材料及びその起源たるヒトや動物の適格性に関して慎重に吟味すること、及び医薬品の製造基材と定めた段階の試料(例えばプールした体液や細胞バンクなど)において徹底的な解析とスクリーニングを行い、ウイルスの存在の有無及び存在するウイルスの種類・性質について検討すること、3)ウイルスやウイルス様粒子が存在した場合、どの程度ヒトへの有害性が高いかを検討・確認すること、4)ヒトに感染性や病原性を示すウイルスが存在しないような製造関連物質(試薬、抗体カラムなど)を選択すること、5)必要に応じて最終製品を含む製造工程の適当な段階の製品のウイルス否定試験を実施すること、6)製造工程によるウイルスクリアランスを達成するために工程中にウイルスの除去・不活化に関する効果的な方法を用いること、各種の方法の組合せによるより高いウイルスクリアランスの達成に留意すること、7)周到なウイルスクリアランス試験計画を立てること、8)ウイルス不活化及び除去を評価する試験を実施し、評価すること。これらの方策を、段階的にかつ相互補完的に活用していくことによって、生物薬品のウイルス面での安全性を確保、向上させることが可能になるものと考えられる。

1.2. 各条及び参考情報におけるウイルス安全性確保策

1.1.で示した日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための方策は、本参考情報に一括して必要な留意事項、具体的情報を記載している。各条では、当該各条に特殊な留意事項がある場合は別にして、一般には、「健康な動物から製し、原材料又は医薬品の製造基材及び生物起源由来の製造関連物質にはヒトに感染性や病原性を示すウイルスの存在は否定されている」こと、又は「ウイルス安全性に関し適格性及び妥当性が評価された細胞株及び培養方法を用いて製し、生物起源由来の製造関連物質にはヒトに感染性や病原性を示すウイルスの存在は否定されている」こと、及び「感染性や病原性を示すウイルスを除去できるような製造工程で製造されている」などの趣旨を記載して、ウイルス安全性を考慮すべき製品との注意を喚起すると共に、安全性上懸念されるウイルスについての必要な試験や工程評価試験はなされていることを明らかにしておくべきと思われる。

1.3. 本参考情報において盛り込んだ事項と内容

ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品のウイルス安全性については、ICH国際合意文書を受けた国内版通知「「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品等のウイルス安全性評価に関するガイドライン」の一部改正について」(令和7年1月9日付医薬薬審発0109第3号厚生労働省医薬局医薬品審査管理課長通知)があり、また、血漿分画製剤については、「血漿分画製剤のウイルスに対する安全性確保に関するガイドラインの一部改正について」(令和6年3月29日付医薬発第0329第16号厚生労働省医薬局長通知)がある。日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための本参

考情報は、基本的にこれらのガイドラインに盛り込まれた事項を参考にしながら、日局に収載されている生物薬品はもとより、将来収載される可能性のある全ての生物薬品、すなわち生体組織や尿などの体液に由来する生物薬品、更にはヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品などのウイルス安全性確保に必要な一般的留意事項及び各論を盛り込んでいる(表1)。

表1 日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための参考情報に含まれる事項

1. はじめに
 - 1.1. 日局生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための基本方策
 - 1.2. 各条及び参考情報におけるウイルス安全性確保策
 - 1.3. 本参考情報において盛り込んだ事項と内容
2. 一般的事項
 - 2.1. 目的
 - 2.2. 背景
 - 2.3. ウイルス安全性確保策における未知のリスク問題
 - 2.4. 適用範囲
 - 2.5. 日局生物薬品がウイルスに汚染される可能性(ウイルスの汚染源)
 - 2.6. ウイルス安全性確保の基本
 - 2.7. ウイルス試験の限界
 - 2.8. ウイルスクリアランス試験の役割
3. 原材料・医薬品製造基材
 - 3.1. 原材料・医薬品製造基材の起源たる動物種と採取部位に依存した問題と対策
 - 3.2. 原材料・医薬品製造基材の供給源としてのヒトや動物の適格性評価試験
4. 製造及びウイルス試験にかかわる留意事項
 - 4.1. 精製工程前のウイルス試験
 - 4.2. 中間原料等の受入れ試験としてのウイルス検査
 - 4.3. 最終製品におけるウイルス試験
5. ウイルスクリアランスに関する工程評価
 - 5.1. ウイルスクリアランスの工程評価の意義、目的、一般的留意事項
 - 5.2. ウイルスの選択
 - 5.3. ウイルスクリアランス試験の設計
 - 5.4. ウイルスクリアランス試験結果の解釈
 - 5.4.1. ウイルスクリアランス指数の評価
 - 5.4.2. ウイルスクリアランス指数の計算法
 - 5.4.3. 結果の解釈及び評価上留意すべき事項
6. 統計
 - 6.1. ウイルス力価測定における統計学とその留意点
 - 6.2. ウイルスクリアランス試験の再現性、信頼限界
7. ウイルスクリアランスの再評価が必要な場合
8. ウイルスクリアランス試験にかかわる測定法
 - 8.1. ウイルス感染価の測定法
 - 8.2. 核酸増幅法(NAT)による検査
9. 記録と保存
10. その他
11. おわりに

2. 一般的事項

2.1. 目的

哺乳類などの生体組織や体液に由来する生物薬品及びヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品のウイルスに対する総合的な安全性確保策についての考え方について提示することを目的とする。すなわち、①ウイルス汚染源についての配慮、②原材料の選択及びその起源たるヒトや動物の適格性に関する適切な評価、③医薬品の製造基材段階におけるウイルス試験とその解析・評価、④生物起源の製造関連物質(試薬、抗体カラムなど)の選択に関する適切な評価、⑤製造工程の適当な段階の製品における必要に応じたウイルス否定試験の実施、⑥ウイ

ルスクリアランス試験計画の立案、⑦ウイルススクリアランス試験の実施と評価、などに関する方策や留意事項について記述し、これらの要素を相補的に適切に組み合わせることによって、生物薬品のウイルス面での安全性を確保、向上させることを包括的に示すことを目標とする。

2.2. 背景

ヒト又は動物を直接起源とする生物薬品や、ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品(組換え医薬品、細胞培養医薬品などのバイオ医薬品)において留意すべき安全性上の極めて重要な課題の一つにウイルス汚染の可能性がある。ウイルス汚染が発生すれば、臨床使用において深刻な事態を招く可能性がある。ウイルス汚染は、原材料・医薬品製造基材に由来して起きる可能性がある。また、製造工程中に外来性因子として混入した結果生じる可能性もある。

日局生物薬品や細胞株由来タンパク質バイオ医薬品は、従来から医療に多大の貢献を果たしてきており、また、過去にウイルスによる安全性上の問題が生じたことはない。しかし、より慎重なかつ科学的合理性に基づいた安全性確保措置をとることにより、不測の事態を未然に防ごうとすることは、健康被害の未然防止に関する社会の強い関心を考慮すると社会的要請として重要である。生物起源由来の医薬品のウイルス安全性をどのような視点でどこまで追求すべきかは、関係者にとって常に大きな関心事であり課題でもある。

この課題を論ずるに当たって、まず二つの基本的なことを再確認しておく必要がある。その一つは、医薬品が持つ科学的側面、医学的側面、社会的側面を考慮する必要があるということである。すなわち、「医薬品はリスクとベネフィットを科学的、社会的に勘案して医療のために活用するという特徴を持つ社会的資産である」ということである。社会的資産である医薬品を医療現場へいかに速やかに効率よく安定供給し、患者に福音をもたらすかが医薬品関係者の目標であり使命であるということである。

もう一つは、ウイルス安全性は個別医薬品の成分本体にかかわる安全性(狭義の安全性)とは独立した、いわばより一般的な医薬品安全性(広義の安全性)にかかわる課題であると整理して考える必要があるということである。日局医薬品のように当該医薬品が長期間にわたり臨床で使用されてきたものの場合、広義の安全性については疫学的に立証されているものと考えられるので、その実績は極めて重い意味を持つ。しかし、個別医薬品(成分)本体の安全性とは異なり、ウイルス汚染の可能性ということの本質を考えれば、実績のみで将来にわたる当該医薬品のウイルス安全性を必ずしも保証できないことも考慮しなければならない。実績を評価しつつ、適切な予防的措置についても配慮を尽くすという方策が、日局生物薬品のウイルス安全性という広義の医薬品安全性を確保する上での基本となるべきであると考えられる。

予防的措置に対する取組みとしては、とりあえず規制や試験実施を理論的に考えられる最大限行って安全性を保証するという方策もないわけではない。しかしそうした方策を科学的吟味や使用実績に対する評価を十分に行うことなく一般的に適用すると、必ずしも科学的合理性を持たない過度な規制や試験実施の要求となる。その結果、実績がある医療上重要な医薬品の医療現場への速やかで効率的な供給に支障をきたし、医薬品という社会的資産が必ずしも有効に活用されない結果になる可能性

がある。医薬品の最大の特徴は、有効性と安全性上の要件という両刃を持ちながら医療に活用しようとする剣である。有効性と安全性上の要件というのはその時点での科学の結晶として導き出され、有用性というバランスシートで相対的に評価されるべきものである。適正な科学的合理性に基づかない安全性上の過度な懸念にウエイトを置くあまり、有用性評価がバランスを欠くものになってはならない。バランスのとれた適切な科学的有用性評価に時の社会的関心、評価が加味され、当該医薬品は社会的資産として活かされることになる。言い換えれば、医薬品という社会的資産は、その時点での科学の結晶を社会が医療のために活用するという特徴を持つ共通の資産であり、活用にあたってのキーポイントは科学的、社会的評価に基づくリスクとベネフィットのバランスにある。生物起源由来の日局医薬品のウイルス安全性をどのような視点でどこまで追求すべきかは、これらの要素を勘案しながら検討する必要がある。

また、一般に医薬品のリスクとベネフィットは、当該医薬品が使用される分野における他の医薬品や治療法との相対的な比較において論じられるべきものであり、代替薬や類薬、代替治療法の有無とそれらとのリスクとベネフィットの比較評価によって当該医薬品の有用性が最終的に評価されることになる。

このような背景の下、本稿の目的は、科学的に合理性のある日局生物薬品のウイルス安全性に関する方策を論じることにある。科学的合理性のある方策とはあくまで現時点の科学的知識で想定できる問題に対して、現状の科学水準に基づき、適切かつ効果的に対応することである。言い換えれば、汚染の可能性を想定するウイルスは、種類、形態、粒子サイズ、物理的・化学的性質などにおいて既存のウイルス学の知見の範囲にあるものであり、また、当該生物薬品の起源であるヒト又は動物、組織や体液、製造過程に使用する試薬、資材、添加物などに存在が予測されるウイルスである。試験としては、これらのウイルスを対象とした検出法を適用し、ウイルスクリアランス試験を考慮することになる。

2.3. ウイルス安全性確保策における未知のリスク問題

リスクの問題には既知のリスクと未知のリスクがある。

医薬品(医薬品成分)が本質的に有しているか、品質上の限界から不可避的に存在するいわば既知のリスクに対しては、試験方法や評価基準を明確にしやすいし、リスクをいわば定量化することも可能である。すなわち、既知のリスクはベネフィットとの関係においてバランスシートにのせて評価しやすい。日局医薬品はこの点に関しては既に相応の評価が定まっているものと考えられる。

一方、ウイルス安全性確保上、不可避的に課題となる未知のリスクは対象も特定できず、量的な概念も適用しにくいので、対策や評価は必ずしも容易ではない。これは、医薬品関係者が英知を結集して対処しなければならない課題である。

未知のリスクについて考慮するとき、“未知であるから危険である”という視点と、“何が未知でそれに対していかに安全性確保を図るか”という視点がある。

“未知であるから危険である”というのは、それ自体既にある一つの評価であり、医薬品としての可否を決定付ける最終判断につながるものである。こうした評価・判断に至るときは、合理性のある科学的又は社会的な判断根拠に立脚しているべきである。

例えば、「医薬品生産のある工程にウイルス、ウイルス様粒

子又はレトロウイルス様粒子が検出されたが、同定確認ができず、したがって危険性も否定できない」というケースでは、“未知であるから危険である”という評価に科学的合理性、妥当性がある。しかし一方、「医薬品生産のある工程にウイルス、ウイルス様粒子又はレトロウイルス様粒子が検出されないが、未知の何かがあるかもしれない‘おそれ’がある」として“未知であるから危険である”とするような評価の仕方は、その限りでは合理性のある科学的又は社会的な判断根拠に立脚しているとはいえない。ウイルス安全性問題に関しては、慎重の上にも慎重であるべきことはいうまでもないが、少なくとも‘おそれ’の内容について明確に説明できるのでなければ、‘おそれ’は、社会的資産である医薬品を医療に活用しようとする意義ある使命との間で齟齬をきたす可能性がある。

科学的観点から英知を発揮すべきは、“未知の何かがあるかもしれない‘おそれ’がある”として、“危険である”とするのではなく、“何が未知でそれに対していかに安全性確保を図るか”という課題に取り組むことであろう。その際、現段階での科学的知識を基に、“何が未知であるか”という問題を立てられるもの、立てるべきものを明確にすることが重要である。それによって初めて“安全性確保を図る”ための方策を考えることが可能になるからである。

ウイルス安全性における未知のリスクの防止という概念を“何が未知であるか”という前提なしにつきつめていけば、理論的には「未知なるものは」どこまでも残るので際限のない問いかけになる。このようなアプローチをすると、「問題」と「対策」を科学的に関係付けることはできなくなり、結果的には過度な規制や試験実施の要求につながることになる。しかし、そうしてみても科学的に関係付けのない「対策」が「何が未知であるかわからないという問題」に有効である可能性は極めて少ないであろう。

例えば、「製造工程中にどのようなウイルスが迷入してきても、精製工程がウイルスをクリアランスできる十分な能力を有することを評価する」という場面における“何が未知であるか”は、「どのような既存ウイルスが迷入してくるかが未知」という問題設定であるべきである。「どのようなウイルスが世に存在しているかが未知」ということではない。前者の問題設定では、DNAウイルス又はRNAウイルス、エンベロープを有するウイルス又は有しないウイルス、粒子サイズ、物理的・化学的性質など、現在われわれが知り得るウイルスを前提とした上での問題設定となる。迷入してくるウイルスは未知でも、そのウイルスは種類、形状、諸性質などにおいて既存の学問、知識の範囲内にあるものという前提である。そうした前提をふまえ、既存の学問、知識の範囲内にあるウイルスのいずれかが迷入した場合の工程が持つクリアランス能力を評価するというのであれば、核酸の種類、エンベロープの有無、粒子サイズ、物性等の異なる3種類程度のモデルウイルスを適切に組み合わせ、精製工程のウイルスクリアランス特性解析試験を行えば、既存の全てのウイルスのクリアランス状況をシミュレートしたことになり、“安全性確保を図る”ための方策になる。

「どのようなウイルスが世に存在しているかが未知」という点に関しては、ウイルス学の将来の研究課題としてあり得るが、ウイルスクリアランス試験における問題設定としては適切とはいえない。また仮に、現在知られているいかなるウイルスよりも粒子サイズが小さい未知ウイルス、又はいかなるウイルスも

持たない物理的・化学的性質を持つ未知ウイルスが存在するかもしれないという問題設定が机上でできたとしても、そのようなウイルスモデルが現に存在しない以上、現在の科学水準では実験的には対応のしようがない。また、想定されるウイルス粒子サイズや性質が不明である以上、既存のいかなる方法や技術を駆使してウイルスクリアランス試験を行ってみても“安全性確保を図る”ための方策にはならない。同様に、現在のスクリーニング法では検出できない「未知」のウイルスが存在するかもしれないと問題設定してみても、対応のしようはなく、どのような段階で、どのようなウイルス検出試験を課してみても“安全性確保を図る”ための方策とはならない。

科学的合理性を過度に超えた規制や試験実施の要求は、医薬品供給側に人的、経済的、時間的負担の増大をもたらすことになるが、これはひいては医療現場への迅速、効果的、経済的な医薬品供給に影響を及ぼすことになる。医薬品が科学的に評価されるべきものであり、社会的資産であることを考慮すれば、いかに科学的に合理性のあるアプローチで人的、経済的、時間的負担を最小限にして最大限の安全性を確保するかが課題であると思われる。

ここで、これらの課題の達成は、医薬品供給側の適切な対応を全ての前提にしていることを改めて確認する必要がある。例えば、前述の「医薬品生産のある工程にウイルス、ウイルス様粒子又はレトロウイルス様粒子が検出されないが、未知の何かがあるかもしれない‘おそれ’がある」という問題設定では、「医薬品生産のある工程にウイルス、ウイルス様粒子又はレトロウイルス様粒子が検出されない」と判断した試験が、その時点の科学的水準から見て妥当なものであることを当然の前提条件としている。こうした前提の成立に疑問がある場合は、「未知の何かがあるかもしれない‘おそれ’がある」と問われるのは当然である。

2.4. 適用範囲

国内で使用される生体組織や体液に由来する日局生物薬品及びヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品を適用対象とする。一方、血液製剤に関しては、生物学的製剤基準に収載され、また「血漿分画製剤のウイルスに対する安全性確保に関するガイドライン」が適用されるので、日局参考情報の適用対象外とする。さらに生物起源由来物質でもアミノ酸、糖類、グリセリンなどのような比較的低分子の化合物や、感染性や病原性を示す高分子化合物でもゼラチンのようなものは、その製法や精製法からウイルスの迷入の可能性が考えられないケースが多く、また、タンパク質には適用できないような強力なウイルス不活化／除去操作を適用することも可能なので、これらについては、適用対象外とするのが合理的である。ただし、本情報に盛り込まれた事項のうち合理的に適用できる部分があれば、参考にすればよい。なお、日局には収載されていない生物薬品であっても、本文書の適用対象となる日局生物薬品と同様なものについては、本参考情報を参考にしてウイルスに対する総合的な安全確保対策をとることが推奨される。

2.5. 日局生物薬品がウイルスに汚染される可能性(ウイルスの汚染源)

日局生物薬品がウイルスに汚染される可能性(ウイルスの汚染源)について注意を喚起し、また対応策について言及しておくことは、ウイルス汚染の可能性をもとから絶ち、安全性確保の確率を高めるという意味において重要である。生物薬品の多

くはヒト又は動物の組織、体液等を起源・原材料とした「医薬品製造基材」から製造され、その精製過程や製剤化の過程においても生物起源由来の試薬、カラム材料又は医薬品添加剤として生物起源由来物質を用いる場合があることより、これらを汚染源として伝播するウイルスについて十分な安全対策を実施しなければならない。また、ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品についても医薬品製造基材である細胞株及びそれ以降の製造過程におけるウイルス汚染の可能性について配慮が必要であることは医薬審審発0109第3号通知に述べられているとおりである。

なお、ここで「医薬品製造基材」とは、原薬の品質・安全性を確保する上で決定的に重要な位置付けにあると定めた原薬製造のための出発素材と定義する。「医薬品製造基材」は、ヒト又は動物の組織、体液等そのものである場合もあり、尿等にあつてはブールしたものである場合もあり、また、一定の処理を経たものである場合もある。ウイルス汚染に関する本格的な試験、評価及び管理は「医薬品製造基材」を起点とする考え方で実施するのが合理的であることも多いと思われる。「医薬品製造基材」段階で試験、評価、又は品質管理の度を徹底化すればするほど、より上流段階の原材料や個体レベルでの評価や管理は合理化することができる。逆に、上流段階の原材料や個体レベルでの評価や管理の度を厳密にすることによって、「医薬品製造基材」段階での試験、評価、又は品質管理の度を合理化することもできる。

現在日局に収載されている生物薬品のウイルスに対する安全性確保のための方策は、個々の製剤に規定された製造方法や規格試験法にうかがわれるが、起源・原材料・医薬品製造基材から精製工程、最終製品に至る全体を俯瞰した、総合的かつ合理的なウイルス安全性確保対策についての統一された方針や情報については明確にされてこなかった。まず第一に重要な要素は、起源動物、原材料、医薬品製造基材のいずれかの段階でウイルス汚染の可能性を徹底的に排除する方策を講ずることである。生物薬品の例ではないが、原材料・医薬品製造基材からのウイルス汚染の例としては、古くは血液分画製剤においてA型肝炎ウイルス(HAV)やC型肝炎ウイルス(HCV)が混入したケースが知られている。また、1980年代の血漿分画製剤によるヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染も記憶に新しいところである。今回の参考情報ではこのような歴史的教訓に学びながら、日局生物薬品のウイルスに対する総合的な安全性を確保するための具体的な指針を示そうとするものである。ヒト由来で病原性を持つ感染性ウイルスで、医薬品原材料等に混入する可能性があり、注意すべきものとして現在までに明らかになっているものには、HIV、HAV、B型肝炎ウイルス(HBV)、HCV、ヒトT細胞白血病ウイルス(HTLV-I/II)、ヒトパルボウイルスB19、サイトメガロウイルス(CMV)などがある。ヒト又は動物由来の組織、体液などを原材料・医薬品製造基材とする生物薬品には、常にこのようなヒトに対して病原性が知られているウイルスによる汚染やその他のウイルス潜在の可能性があり、安全対策は徹底して実施する必要がある。また、原材料・医薬品製造基材とする生体成分以外の材料からのウイルス汚染の可能性、例えば、製造工程で酵素やモノクローナル抗体カラムを用いる場合又は安定化剤にアルブミンなどを用いる場合には、それぞれの起源動物あるいは細胞由来のウイルスなどによる汚染の可能性に対する注意も必要である。さらに、製造施設環境から汚染さ

れる可能性や製造従事者より汚染される場合、又は製品取扱い中におけるウイルス汚染の可能性も考えられないわけではないので、これらにも留意した対策が必要である。

ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品の場合、細胞には、潜伏感染又は持続感染状態のウイルス(例えば、ヘルペスウイルス)又は内在的なレトロウイルスが存在している可能性がある。また、1)感染した動物からの細胞株の入手、2)細胞株を樹立するためのウイルスの使用、3)汚染された生物起源由来の試薬(例：動物血清成分)の使用、4)細胞取扱い中における汚染などにより、外来性のウイルス汚染が発生する可能性がある。医薬品製造過程では、1)培養などに使用する血清成分のような生物起源由来の試薬の汚染、2)目的タンパク質をコードする特定の遺伝子の発現を誘導するためのウイルスの使用、3)精製等に使用するモノクローナル抗体アフィニティーカラムのような試薬の汚染、4)製剤化に使用する添加剤の汚染、5)細胞及び培養液の取扱い中における汚染などの原因により外来性ウイルスが最終製品に迷入する可能性がある。なお、細胞培養パラメーターをモニターすれば、外来性ウイルスの汚染の早期発見に役立つとされている。

2.6. ウイルス安全性確保の基本

ヒト又は動物由来の組織、体液、細胞株等を原材料・医薬品製造基材とする生物薬品のウイルスに対する安全対策は、次に示す複数の方法を適切かつ相補的に行うことにより達成される。

- (1) ウイルス汚染の可能性(汚染源)について熟知すること
- (2) 原材料及びその起源たるヒトや動物の適格性に関して慎重に吟味すること、及び医薬品の製造基材と定めた段階の試料において徹底的な解析とスクリーニングを行い、ウイルス存在の有無及び存在するウイルスの種類・性質について検討すること
- (3) ウイルスやウイルス様粒子が存在した場合、どの程度ヒトへの有害性が高いかを検討・確認すること
- (4) ヒトに感染性や病原性を示すウイルスが存在しないような生物起源製造関連物質(試薬、抗体カラムなど)を選択すること
- (5) 必要に応じて最終製品を含む製造工程の適当な段階の製品のウイルス否定試験を実施すること
- (6) 製造工程によるウイルスクリアランスを達成するために工程中にウイルスの除去・不活化に関する効果的な方法を用いること。各種の方法の組合せによるより高いウイルスクリアランスの達成に留意すること
- (7) 周到なウイルスクリアランス試験計画を立てること
- (8) ウイルス不活化及び除去を評価する試験を実施し、評価すること

製造業者は、それぞれの製品や製造工程について、ウイルスに対する安全性を保証するための総合戦略の中で採用したアプローチを説明し、その妥当性を示す必要がある。その際、参考情報で推奨されているアプローチを合理性がある限り適用すべきである。

2.7. ウイルス試験の限界

ウイルスの存在の有無を検出するにはウイルス試験を実施する。しかし、ウイルス試験には、それだけでウイルスが存在しないことを決定的に結論付けたり、製品の安全性を確立するのに十分であるというものはなく、限界があることを認識しておく必要がある。例えば、1)統計的理由により低濃度のウイルス

を検出するときの感度がサンプルサイズに依存するなど定量性の面で固有の限界がある。また、2)通常、いかなるウイルス試験法にも検出限界が存在するため、ウイルス試験の結果が陰性であってもウイルスの存在を完全に否定できないこともある。さらに、3)用いたウイルス試験法がヒト又は動物由来の組織、体液等に存在するウイルスの検出に特異性や感度において必ずしも適切ではなく、それらを検出できない場合もあり得る。

ウイルス試験の方法は学問や技術の進歩と共に向上するため、試験の実施に当たりその時点での科学的に最高水準の技術を取り入れ、適切に行うことでウイルス検出の確度を高める努力を前提とすることはいうまでもないが、それでも、上記の様々な限界を完全に乗り越えることはできない。また一方、生物薬品の製造過程では、ウイルスが混入してくる可能性を完全には否定できないので、これらを念頭に置いた上で安全対策を講ずる必要がある。

したがって、最終製品に感染性ウイルスが存在しないという、より確実な保証は、多くの場合、原材料・医薬品製造基材や製品を直接試験して否定することのみでは得られず、その精製法のウイルス不活化／除去能力を併せて示すことによって得られると考えるべきである。

2.8. ウイルスクリアランス試験の役割

前項で述べたウイルス試験の限界及びヒト・動物由来の生物薬品の原材料・医薬品製造基材にはウイルス潜在の可能性があること、又は製造過程での外来性ウイルス迷入の可能性を前提にすると、ウイルスに対する安全対策の上で重要なことの一つは、原材料などにおいて検出できなかったウイルス及びその後の不測の事態で迷入したウイルスを製造工程でいかに除去や不活化ができるかである。ウイルスクリアランス試験を実施する目的は、精製工程や、製造工程中に組み込まれたウイルス除去や不活化過程が、どのようなウイルス除去／不活化能力を有しているかを実験的に評価することである。このためにウイルス粒子のサイズ、形状、エンベロープの有無、核酸の種類(DNA型、RNA型)、耐熱性や化学的处理に対する抵抗性などの特性を考え、適切なウイルスを選択し、実験室規模での添加試験(スパイク試験)を実施することにより、原材料などにおいて検出できなかったウイルス及びその後の不測の事態で迷入したウイルスに対する除去及び不活化能力を検討・評価することが必要である。

このように、ウイルスクリアランス試験の役割は、製造工程が有するウイルス除去及び不活化能力をモデル試験により推測することであり、ヒト又は動物由来の個々の生物薬品がウイルス安全性に関して受け入れられるレベルに達しているという科学的根拠を得ることに寄与するものである。

ウイルスクリアランス試験の実施に際しては、個々の製品ごとにその起源、原材料・医薬品製造基材や製造方法の特徴を十分に考慮して、最終製品がウイルス安全性において問題がないことを最も確実にかつ合理的に保証できるよう適切なアプローチ法を採用する必要がある。

3. 原材料・医薬品製造基材

3.1. 原材料・医薬品製造基材の起源たる動物種と採取部位に依存した問題と対策

現在日局に収載されている生物薬品でウイルスに対する安全対策が必要なものの原材料・医薬品製造基材は、動物種としては主にヒト、ウシ、ブタ、ウマなどより得ている。いずれも健

健康な個体由来であるべきことは当然である。動物の場合、野生の動物は避け、可能な限り適切に規定された特定病原体感染防止条件(SPF: specific pathogen-free)に適合したコロニー由来で、適切な微生物汚染防止策や汚染監視システムを含む衛生管理の行き届いた環境下で飼育された動物個体を使用する。食肉基準がある動物種についてはこれを満たした動物個体を使用する。動物種に応じて考慮対象とすべきウイルスが異なってくるが、動物個体の衛生管理状況、食肉基準等への適合状況によっては、検討すべきウイルスを更に絞り込むことも可能であろう。一方、同一の動物種であっても、原材料・医薬品製造基材を採取した部位に応じて対策を講じる必要がある。例えば、血液やある特定の組織から原材料・医薬品製造基材を得る場合には、それぞれに特徴的に存在する可能性があるウイルスのリスク度やそのウイルスが増殖するリスクについて考慮する必要がある。その方策は、尿や乳汁などの体外排泄物や分泌物が原材料・医薬品製造基材である場合のそれとは異なるかもしれない。なお、下垂体などの原材料を用いる場合は伝達性海綿状脳症(TSEs)に対する考慮も必要となるであろうが、これらの病原体に対する方策は本参考情報では対象範囲外とする。基本は、当該動物にTSEsの汚染の報告がない国(地域)由来の原材料などやTSEsに感染していない動物あるいは感染の危険性が報告されていない動物種由来の原材料などを使用することである。使用する原材料などとTSEsに対する考慮事項について明確でない点がある場合にはあらかじめ規制当局と協議することが推奨される。

わが国における生物薬品の製造に用いられる原材料・医薬品製造基材としては以下のものがある。

(1) ヒト由来生物薬品

ヒト由来生物薬品の原材料を得るソースとしては、血漿、胎盤、尿などが用いられている。これらの原材料については、各々の原材料を得た個人ごとにその適格性を問診したり検査したりすることが可能なケースと原材料の種類によっては個人レベルでの十分な検査ができない場合がある。個体レベルで十分な検査が不可能な場合は、その後の製造工程における適切な段階、例えば医薬品製造基材と規定した段階でウイルス汚染を否定する検査を行う必要がある。

(2) ヒト以外の動物を用いて製造される生物薬品

動物由来の生物薬品としては、ウシ、ブタ、ウマなどの血漿や各種組織より、ヘパリンや性腺刺激ホルモンなどが製造されている。

(3) ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品

ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品の場合、ヒト又は動物起源細胞株が実質的な原材料であり、医薬品製造の直接の製造基材はクローン化された細胞株から調製された細胞バンク(マスター・セル・バンク、ワーキング・セル・バンク)である。ウイルス安全性面での適格性は、一般には細胞バンクレベルで十分に検討すればよいと考えられるが、起源たる動物のウイルス面に関しての情報やマスター・セル・バンクの基である細胞株樹立の経緯が詳細であればあるほど、マスター・セル・バンクの適格性評価試験をより適切かつ合理的に計画及び実践できることはいままでのない。

3.2. 原材料・医薬品製造基材の供給源としてのヒトや動物の適格性評価試験

(1) ヒト由来生物薬品

ヒト由来生物薬品にあつては、健康なヒトから得た体液など

を用いることが必須である。さらに、各々の原材料を得た個人ごとにその適格性を問診したり検査したりすることが可能でかつ必要なケースでは、適切なプロトコールに従って問診を行うと共に、特異性や感度、精度が十分に評価された試験法を用いて血清学的検査を行い、少なくともHBV、HCV及びHIVの存在が否定されたヒトより得た原材料を用いるべきである。また、特異性、感度及び精度が十分に評価された核酸増幅法(NAT)を用いてHBV、HCV及びHIVの遺伝子の検査を実施する必要がある。

一方、ヒト尿のように各々の個人レベルでは通常健康診断程度以上の十分な検査を行うことができないか又は個別検査することが合理的ではない原材料にあつては、プールした原材料を医薬品製造基材として、特異性、感度及び精度が十分に評価された抗原検査やNATなどを用いて少なくともHBV、HCV及びHIVの存在を否定しておくべきである。

(2) ヒト以外の動物を用いて製造される生物薬品

生物薬品の製造に用いられる動物は、適切な健康管理を行われており、様々な検査によりその動物が健康であることが明らかにされている必要がある。さらには、飼育されている群が適切に管理された飼育条件にあつて全く異常な個体が発生していないことも必要である。また、ヒトに感染症や疾病をもたらすことが知られている各々の動物特有のウイルスの存在については、否定できる情報や科学的根拠を示すか、血清学的又はNATなどを用いて否定しておくべきである。各々の動物に感染することが知られている人獣共通感染ウイルスの例を表2に暫定的に示した。表2は更に吟味して完成する必要があるが、これら全てについて、各動物個体、原材料となる組織、体液など、又はプールした原材料(医薬品製造のための直接の基材)のレベルなどで実際に試験を行って否定することが必須であるという意味では必ずしもない。表2は動物の由来、健康状態、健康管理や飼育状況、食肉基準に適合しているか否かなど、多くの関連情報を含め、ある特定の動物種を起源とした場合にどのようなウイルスに着目して試験を行うべきか、必ずしも行う必要がないかなどを総合的に考察するための参考資料の一つとして利用するためのものである。個々のケースについてはどのようなウイルスを対象にどのような検討を行えば現実問題として合理的なのかについて十分に吟味し、その根拠を明らかにすることが重要である。

(3) ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品

医薬品製造基材であるマスター・セル・バンク(MCB)において、医薬品審査0109第3号通知に記載された要領に沿って内在性及び非内在性のウイルスによる汚染の有無を徹底的に検討する必要がある。また、医薬品製造のためにイン・ビトロ細胞齢の上限にまで培養された細胞(CAL)についても、適切な外来性ウイルス試験(例えば*in vitro*及び*in vivo*試験)及び内在性ウイルスの存在の有無について試験を実施し、評価する必要がある。医薬品製造のための出発細胞基材としての各ワーキング・セル・バンク(WCB)については、それ自体を対象に又は各WCBを培養したCALの段階で、外来性ウイルスに関する試験を実施すること。適切な非内在性ウイルスの試験がWCBのもとであるMCBで実施され、かつ、そのWCBに由来するCALにおいて外来性ウイルスの試験が実施されている場合、同様の試験は当該WCBでは不要である。

表2 各々の動物に感染することが知られている人畜共通感染ウイルス

	ウシ	ブタ	ヒツジ	ヤギ	ウマ
牛痘ウイルス(Cowpox virus)	◎				
偽牛痘ウイルス(Paravaccinia virus)	◎	◎	◎	◎	
マレーバレー脳炎ウイルス(Murray valley encephalitis virus)	◎	◎			
羊跳躍病ウイルス(Loupingill virus)	◎	◎	◎	◎	
ウェッセルズブロンウイルス(Wesselsbron virus)			◎		
口蹄疫ウイルス(Foot-and-mouth disease virus)	◎	◎			
日本脳炎ウイルス(Japanese encephalitis virus)		◎			
水疱性口内炎ウイルス(Vesicular stomatitis virus)		◎			
ウシ丘疹性口内炎ウイルス(Bovine papular stomatitis virus)	◎				
オルフウイルス(Orf virus)			◎		
ボルナ病ウイルス(Borna disease virus)			◎		◎
狂犬病ウイルス(Rabies virus)	◎	◎	◎	◎	◎
インフルエンザウイルス(Influenza virus)		◎			
E型肝炎ウイルス(Hepatitis E virus)		◎			
脳心筋炎ウイルス(Encephalomyocarditis virus)	◎	◎			
ロタウイルス(Rotavirus)	◎				
東部ウマ脳炎ウイルス(Eastern equine encephalitis virus)					◎
西部ウマ脳炎ウイルス(Western equine encephalitis virus)					◎
ベネズエラウマ脳炎ウイルス(Venezuelan equine encephalitis virus)					◎
ウマモービリウイルス(Morbillivirus)					◎
ヘンドラウイルス(Hendra virus)					◎
ニパウイルス(Nipah virus)		◎			
伝染性胃腸炎ウイルス(Transmissible gastroenteritis virus)		◎			
ブタ呼吸器コロナウイルス(Porcine respiratory coronavirus)		◎			
ブタ流行性下痢症ウイルス(Porcine epidemic diarrhea virus)		◎			
血球凝集性脳髄膜炎ウイルス(Hemagglutinating encephalomyelitis virus)		◎			
ブタ繁殖呼吸器病候群ウイルス(Porcine respiratory and reproductive syndrome virus)		◎			
ブタコレラウイルス(Hog cholera virus)		◎			
パラインフルエンザ3型ウイルス(Parainfluenza virus Type 3)		◎			
エンテロウイルス1型(Talfan/Teschen disease virus)		◎			
レオウイルス(Reovirus)		◎			
内在性レトロウイルス(Endogenous retrovirus)		◎			
ブタアデノウイルス1～4型(Porcine adenovirus)		◎			
ブタサーコウイルス(Porcine circovirus)		◎			
ブタバルボウイルス(Porcine parvovirus)		◎			
ブタボックスウイルス(Porcine poxvirus)		◎			
ブタサイトメガロウイルス(Porcine cytomegalovirus)		◎			
仮性狂犬病ウイルス(Pseudorabies virus)		◎			
ロシア春夏脳炎ウイルス(Russian spring-summer encephalitis virus)			◎	◎	
リフトバレー熱ウイルス(Rift Valley fever virus)			◎	◎	
クリミア・コンゴ出血熱ウイルス(Crimean-Congo hemorrhagic fever virus)	◎		◎	◎	
(ナイロウイルス(Nairovirus))					
トロウイルス(Torovirus)	◎				

4. 製造及びウイルス試験にかかわる留意事項

ヒトあるいは動物由来の組織、体液などからウイルス面で安全性が高い生物薬品を製造するには、2.5.で述べたようなウイルスの汚染源に配慮しつつ、原材料となる組織や体液など又は医薬品製造基材からのウイルス汚染の可能性を排除すると共に、製造工程や製品取扱中の汚染、製造従事者や製造施設環境からのウイルスなど汚染の可能性を極力低減させるため、適切な製造条件及び技術の採用、製造環境の整備などを行う必要がある。

さらに、近年のめざましい技術進歩をふまえ、有用なウイルス検査技術やウイルス不活化／除去技術を積極的に導入する必要がある。ウイルス不活化／除去については、原理の異なる二つ以上の工程を採用することが望ましい。また、医薬品と同程度の品質を持つ試薬を用いることによりウイルスの迷入の可能性に対する安全性を高める必要がある。代表的な不活化／除去工程としては、①加熱(例えば、55 ～ 60℃、30分の加熱で肝

炎ウイルスのような一部の例外を除き大部分のウイルスが不活化するとされている。血液や尿由来の製品では液状60℃、10 ～ 24時間処理、乾燥加熱処理の例もある)、②有機溶媒・界面活性剤処理(S/D処理)、③膜ろ過(15 ～ 50 nm)処理、④酸性処理、⑤放射線処理(γ線照射など)、⑥カラムクロマトグラフィー処理(例えば、アフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー)、⑦分画処理(例えば有機溶媒分画、硫酸アンモニウム分画処理)、⑧抽出処理、などがある。

4.1. 精製工程前のウイルス試験

(1) ヒト由来生物薬品

精製工程前のウイルス試験の試験試料として想定されるのは、多くの場合、原材料として得られた個人の体液や組織、又はこれらをプールしたり、抽出物とした医薬品製造基材である。これらのケースでは、既に3.2.(1)で述べたように、特異性や感度、精度が十分に評価された試験法を用いて少なくともHBV、HCV及びHIVの存在を否定しておく必要がある。精製工程前

の未精製バルクが医薬品製造基材より下流にある場合でも、医薬品製造基材段階で適切なウイルス試験がなされ、ウイルスの存在が否定されていれば、製造基材段階から生物起源由来の試験などを用いて調製される特別なケースなどを除いて、精製工程前ウイルス試験を重複して実施する必要は必ずしもないと思われる。

(2) ヒト以外の動物を用いて製造される生物薬品

4.1.(1)と同様に、精製工程前のウイルス試験の試験試料として想定されるのは、多くの場合、原材料として得られた動物の体液や組織、又はこれらをブールしたり、抽出物とした医薬品製造基材である。これらのケースでは、生物薬品の製造に用いられる動物に存在することが知られており、ヒトに感染症や疾病をもたらすことが明らかな又はその可能性が高いウイルスについて、既に3.2.(2)で述べたように存在を否定できる情報を示すか、特異性や感度、精度が十分に評価された血清学的検査あるいはNATなどを用いてその存在を否定しておく必要がある。精製工程前の未精製バルクが医薬品製造基材より下流にある場合の考え方は、(1)の場合と同様である。

(3) ヒト又は動物起源細胞株由来のタンパク質医薬品

この場合は、一般に、医薬品製造基材は細胞バンクであり、細胞培養後ハーベストされた細胞及び培養液の単一又は複数のブールからなる未加工／未精製バルクが精製工程前の試験試料となる。未加工／未精製バルクが必ずしも細胞を含まず培養液からなる場合もある。MCBやWCBレベルでのウイルス試験によるウイルス存在の否定は、培養終了後の未加工／未精製バルクにおけるウイルス存在の否定を必ずしも意味するものではない。また、CALでの試験も通常一回行われるのみなので、バリデーションとしての意味合いは大きい。恒常的なウイルス否定を保証するものではない。培地に血清や生物起源由来の成分が使用されるときには、これらのロット更新という変動要因もあるので、CALでの試験をロット更新ごとに行わない限り未加工／未精製バルクレベルでの恒常的なウイルス否定を保証することはできない。

未加工／未精製バルクとして典型的なサンプルは培養槽から取り出された後、処理を行っていないものである。これは、細胞培養中に迷入した外来性ウイルス汚染の可能性を高確率で検出するのに最も効果的な段階の一つである。ウイルス試験はこの未加工／未精製バルクの段階で適切に実施されるべきである。ただし、ごく一部工程を進めることによってウイルス試験がより高感度に行える場合には、この限りではない(例：未加工／未精製バルクがウイルス試験に用いる培養細胞に毒性を示すが、部分的に処理したバルクにおいては毒性を示さないようなケース)。培養槽から取り出されたそのままの細胞、破碎細胞及び培養上清からなる混合物を処理を施すことなく試験することが適切な場合もある。

未加工／未精製バルクについては、パイロットプラントスケール又は実生産スケールから得た未加工／未精製バルクの少なくとも3ロットについてウイルス試験を行うことが最低限の要求として求められる。さらに、それ以降の各製造バッチについても何らかの外来性ウイルス試験を実施することを考慮して行うことが望まれている。この未加工／未精製バルクにおけるウイルス試験の範囲、程度及び頻度を決定するに当たっては、以下のような諸点を考慮する必要がある。例えば、目的産物を生産するために用いられる細胞株の種類・性質、細胞株の適格性

試験のため実施されたウイルス試験の程度と試験結果、培養方法、原材料の起源とウイルスクリアランス試験の結果などである。未加工／未精製バルクにおける試験として一般に用いられているのは、一種又は数種の細胞株を用いる*in vitro*スクリーニング試験である。なお適宜、NAT試験その他の適切な試験法を用いるとよい。

一般に、外来性ウイルスが検出されたハーベストは、医薬品などを製造するために用いるべきではない。もしこの段階で何らかの外来性ウイルスが検出されたならば、その汚染の原因を突きとめるために製造工程を注意深く点検し、適切な対応をとるべきである。

4.2. 中間原料などの受入れ試験としてのウイルス検査

ヒト又は動物由来の組織、体液などから生物薬品を製造する場合、原材料や医薬品製造基材として部分的に加工された中間原料を他の製造業者より購入し製造に用いる場合もある。この場合、原材料など製造者により既に本参考情報に沿った試験が行われている場合は、これらの中間原料を購入し、生物薬品を製造するメーカーにおいて、受入れ試験としてどのようなウイルス検査を実施すれば適切かについて検討し、検査の実施の有無、検査する試験の内容を含めてその合理的根拠を明らかにしておく必要がある。

一方、原材料など製造業者により本参考情報に沿った試験が行われていない場合は、本文書に沿い中間原料を直接の医薬品製造基材とみなし、必要な全てのウイルス否定試験を行う必要がある。

4.3. 最終製品におけるウイルス試験

最終製品(又はそれに至る製造段階のいずれかの製品)においてどの程度のウイルス試験を実施すべきかは、原材料や医薬品製造基材の種類、原材料や医薬品製造基材の各種ウイルス検査、製造工程におけるウイルス除去及び不活化工程の評価試験の結果、及び製造工程においてウイルスが迷入する可能性がどの程度あるかなどを勘案して総合的に決定する必要がある。原材料・医薬品製造基材の選択、原材料・医薬品製造基材又は中間原料に対するウイルス試験、製造工程中の適切な段階でのウイルス試験、ウイルスクリアランス試験を的確に実施することなどによりウイルス汚染に対する総合的な安全確保が図られるであろうことは当然期待される。しかし、原材料が例えば不特定多数のヒト由来のものであり、ウインドウ期のウイルスの存在の可能性があり、若しくはウイルス試験に固有の検出上の限界などがあるといった特殊な事情が背景にあった場合で、万一、製造プロセスに何らかの欠陥(例えば、ろ過膜が破損)や人為ミスによる原材料などの取違いなどが生じると、最終製品にウイルスが汚染してくる可能性もある。このような偶発性のウイルス汚染を防ぐために、最終製品において原材料などに存在する可能性があるものでも特に危険度の高いウイルスに着目したNATによる検査などを行うことが推奨される場合もあるかもしれない。

5. ウイルスクリアランスに関する工程評価

5.1. ウイルスクリアランスの工程評価の意義、目的、一般的留意事項

ウイルス不活化や除去に関する工程評価はヒト又は動物由来の組織、体液などに由来する生物薬品の安全性を確立するために重要である。このウイルスクリアランスに関する評価を行うことは、原材料などに存在する可能性がある、若しくは不測の

事態により迷入する可能性があるウイルスを除去できるということの一定限の保証となる。ウイルスクリアランス試験は、綿密な試験のデザインの下、適切な方法により実施し、合理的に評価される必要がある。

ウイルスクリアランス試験の目的は、ウイルスの不活化や除去に有効であると考えられる工程について評価すること、それらの各工程を合わせて全体としてウイルスがどの程度減少したかを定量的に評価することにある。この目的を達成するには、製造・精製工程における様々な段階にしかるべき量のウイルスを意図的に添加し、以降のそれぞれの工程を経る間に添加されたウイルスがどの程度除去又は不活化されるかを示す必要がある。その際、必ずしも製造工程の全ての工程について評価する必要はなく、十分なクリアランスが示される幾つかの工程について試験し、評価することにより、しかし、評価対象以外のステップがウイルスの不活化／除去に関する結果に間接的に影響を与える可能性についても留意しておくべきである。なお、ウイルスクリアランス試験に用いたアプローチについて説明し、その妥当性を明らかにできるようにしておく必要がある。

ウイルス量(感染性)は、ウイルス粒子の除去又はウイルス感染性の不活化により減少する。ウイルスクリアランスに関して評価の対象とした各製造工程については、ウイルス量の減少のメカニズムが不活化によるのか除去によるのかに関して推定しておく必要がある。不活化を評価しようとする工程における試験に際しては、検体を時間を変えてサンプリングし、不活化曲線が描けるように計画するべきである。

5.2. ウイルスの選択

ウイルスクリアランス試験に使用されるモデルウイルスとしては、広範囲にウイルス除去／不活化の情報を得るという観点から、DNAウイルス及びRNAウイルス、エンベロープの有無や粒子径の大小において差異があるもの、及びウイルスクリアランス能力を試験する目的に叶う物理的・化学的処理に対する抵抗性が高いものなどを含む広範な特性を持つウイルス類を選択することが望ましい。これらの特性を網羅するには3種類程度のモデルウイルスを組み合わせることが必要になる。

モデルウイルスを選択する際、原料に存在している可能性のあるウイルスに類似している、若しくは同じ特性を持っているなどの理由でウイルスを選択する場合もある。この際、2種類以上のウイルスが候補として選択可能な場合には、原則としてウイルス除去及び不活化処理に対して、より抵抗性の強いウイルスを選択する。また、高力価の材料が調製できるウイルスが望ましい(ただし、これがいつも可能であるとはいえない)。さらに、使用するそれぞれのウイルスの検出法に関しては、試験対象の各製造工程段階における試料の状態などによって検出感度が影響される可能性もあるので、それぞれの段階において効果的で信頼性の高いアッセイができるようなウイルスを選択する必要がある。なお、ウイルスの選択に当たっては、クリアランス試験従事者に健康被害をもたらす可能性も考慮するべきである。

その他ウイルスの選択に際しての留意事項は、医薬薬審発0109第3号通知を適宜参考にとよい。また、バイオ医薬品のウイルスクリアランス試験に用いられるウイルスを表3に示した。これは医薬薬審発0109第3号通知を参照したものである。ただし、医薬薬審発0109第3号通知はヒト又は動物細胞株由来の製品のウイルス安全性を対象としているので、生物薬品の起

源・原料によっては、より適切なモデルウイルスを選択する必要があると思われる。

5.3. ウイルスクリアランス試験の設計

ウイルスクリアランス試験は、目標とする特定の製造工程段階で意図的にウイルスを添加し、当該製造工程のウイルス除去や不活化能力を定量的に評価するものである。

ウイルスクリアランス試験の計画を立案する際、検討することが望ましい留意点を以下に示す。

(1) 高力価の材料が調製できるウイルスを選択することが望ましいが、その場合には凝集を避けるよう注意を払うべきである。凝集が起これば、物理的除去が過大に評価されたり、不活化が過小に評価され、実際の製造での状況を反映しなくなる可能性が生じる。

(2) 使用するそれぞれのウイルスの検出法は、ウイルスクリアランス指数の算定に大きく影響するので、可能な限り検出感度の高い方法を用い、事前に、用いる方法の検出感度を把握しておく必要がある。それぞれの製造工程段階において十分な感度と再現性を有し、有用で信頼性の高い結果が得られるアッセイ法である必要がある。結果に関して統計的に適切で妥当な処理が行えるよう、十分な測定サンプル数で実施する必要がある。感染性試験を行う際には、感度保証のために適切なウイルスコントロールを含むべきである。感染性を指標としない定量試験もその妥当性を明らかにした上で使用してもよい。また、低濃度のウイルス試料(例えばウイルス粒子数が1 L当たり1 ~ 1000)を取り扱う場合、ウイルス試料のサンプリングの仕方によって生じる統計学上の問題を考慮に入れるべきである。

(3) ウイルスクリアランス試験は、製造業者が当該生物薬品の製造工程の規模を縮小した試験系で実施する。GMP上、製造に用いないウイルスを製造施設に持ち込むことはできないので、ウイルスクリアランス試験は、製造設備とは別のウイルス試験設備で行わなければならない。このためウイルスクリアランス試験は、ウイルス学的研究を行う設備のある隔離された別の施設で、ウイルスの専門家と精製工程のスケールダウンを設計し、準備に関与した製造技術者が協同行う必要がある。その際のウイルスクリアランス試験はGLPの基本理念に基づき実施しなければならない。

(4) この製造規模の縮小版で行うウイルスクリアランス試験における工程の各要素は、実生産規模での製造工程のそれを可能な限り反映したものとし、その妥当性を明らかにする必要がある。クロマトグラフィー装置については、カラムベッド高、線流速、ベッド容量に対する流速の比率(すなわち接触時間)、緩衝液、カラム充填剤の種類、pH、温度、タンパク質濃度、塩濃度、目的物質濃度に関して、全て実生産スケールの製造に相応している必要がある。また、溶出のプロフィールも同様のものが得られなければならない。同様な考え方をその他の工程についても適用すること。やむを得ない事情により実際の製造工程を反映させることができない場合には、それが結果へどのような影響を及ぼすかを考察しておくべきである。

(5) 製造工程のうち、ウイルス不活化／除去に関して原理が異なると考えられる二つ以上の工程を選択し、検討することが望ましい。

(6) ウイルスを不活化／除去することが予想される工程について、そのクリアランス能力を個々に評価し、それぞれが不活化工程なのか、除去工程なのか、又は不活化／除去いずれにも

表3 ウイルスクリアランス試験に用いられたことのあるウイルスの例

ウイルス	科	属	宿主	ゲノム	エンベロープ	サイズ (nm)	形状	耐性
水疱性口内炎ウイルス (VSV)	ラブドウイルス科 (Rhabdo)	ベジクロウイルス属 (Vesiculovirus)	ウマウシ	RNA	有	70×150	弾丸形	低
パラインフルエンザウイルス (Parainfluenza Virus)	パラミクソウイルス科 (Paramyxo)	レスピロウイルス属 (Respirovirus)又はオルトルブラウイルス属 (Orthorubulavirus)	多種	RNA	有	100 ~ 200+	多様/球形	低
マウス白血病ウイルス (MLV)	レトロウイルス科 (Retro)	ガンマレトロウイルス属 (Gammaretrovirus)	マウス	RNA	有	80 ~ 110	球形	低
シンデビスウイルス (Sindbis Virus)	トガウイルス科 (Toga)	アルファウイルス属 (Alphavirus)	ヒト	RNA	有	60 ~ 70	球形	低
ウシウイルス性下痢ウイルス (BVDV)	ペスチウイルス科 (Pesti) ^注	ペスチウイルス属 (Pestivirus)	ウシ	RNA	有	50 ~ 70	多様/球形	低
仮性狂犬病ウイルス (Pseudorabies Virus)	ヘルペスウイルス科 (Herpes)	バリセロウイルス属 (Varicellovirus)	ブタ	DNA	有	120 ~ 200	球形	中
オートグラフ・カリフォルニカ核多角体病ウイルス (Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus)	バキュロウイルス科 (Baculo)	アルファバキュロウイルス属 (Alphabaculovirus)	昆虫	DNA	有	250~300	多面体	中
ベジウイルス2117 (Vesivirus 2117)	カリシウイルス科 (Calici)	ベジウイルス属 (Vesivirus)	不明	RNA	無	27 ~ 40	正20面体	中
脳筋炎ウイルス (EMCV)	ピコルナウイルス科 (Picorna)	カルジオウイルス属 (Cardiovirus)	マウス	RNA	無	25 ~ 30	正20面体	中
ウシエンテロウイルス (BEV)	ピコルナウイルス科 (Picorna)	エンテロウイルス属 (Enterovirus)	ウシ	RNA	無	25 ~ 30	正20面体	中
レオウイルス3型 (Reovirus 3)	レオウイルス科 (Reo)	オルトレオウイルス属 (Orthoreovirus)	多種	RNA	無	60 ~ 80	球形	中
シミアンウイルス40 (SV 40)	ポリオーマウイルス科 (Polyoma)	ベータポリオーマウイルス属 (Betapolyomavirus)	サル	DNA	無	40 ~ 50	正20面体	高
パルボウイルス(イヌ, マウス, ブタ) (Parvovirus : canine, mouse, porcine)	パルボウイルス科 (Parvo)	プロトパルボウイルス属 (Protoparvovirus)	イヌ マウス ブタ	DNA	無	18 ~ 24	正20面体	高

注：国際ウイルス分類委員会の分類では、フラビウイルス科(Flavi)ペスチウイルス属である。

関与するの慎重に検討し、試験を計画すべきである。一般にウイルススクリアランス試験では、試験対象となる各段階ごとにウイルスを添加し、当該工程を経た後の感染性の減少度を評価するが、ある工程段階に高力価のウイルスを添加し、工程間のウイルス濃度を試験することで十分である場合もある。ウイルス除去が分離・分画操作による場合、可能な範囲で、ウイルスがどのように分離・分画されたのか(マスバランス)を検討することが望ましい。

(7) ウイルスの不活化を評価するためには、試験対象とする工程前の試料に感染性のウイルスをスパイクし、工程を経る間における減少度を計算すべきである。その際、ウイルスの不活化は単純な一次反応でなく、通常、速い“第一相”と遅い“第二相”から構成される複雑な反応であることに留意すべきである。したがって試験に際しては、時間を変えて検体をサンプリングし、不活化曲線が描けるように計画すべきである。不活化試験においては、最短曝露時間でのポイントに加えて、曝露ゼロ時より長く、かつ最短曝露時間よりも短い時間でのポイントを少なくとも1点はとることが望ましい。少なくとも2回の独立した試験を実施して不活化において再現性があることを示す必要がある。ヒトへの病原性が知られているウイルスが迷入する可能性がある場合には、その不活化に効果的な工程をクリアランス試験に組み込むよう計画し、可能な範囲で当該ウイルス(若しくは同種又は密接に関連しているウイルス)を試験対象と

して更に詳しいデータ(より多数のポイント)をとることが、特に重要である。ウイルス負荷量は、スパイクした出発物質中のウイルス量の実測値に基づいて定めるべきであるが、實際上これが困難な場合には、スパイクに用いたウイルス溶液の力価からウイルス負荷量を算出することになる。試験対象の工程条件下では不活化があまりにも速く、不活化曲線を作成することができない場合、不活化により事実上感染性が失われていることを適切な試験系により示す必要がある。

(8) 工程前の試料中にウイルスに対する抗体が存在する場合には、ウイルス除去及び不活化工程におけるウイルスの挙動に影響を及ぼす可能性があるため、このことを考慮に入れた上でクリアランス試験を実施する必要がある。

(9) 工程前の試料中に添加するウイルス量は、その製造工程のウイルス除去及び不活化能力を評価するのに十分な量とする。ただし、添加するウイルスが製品の特性を変えたり希釈による製品中のタンパク質の挙動を変えたりすることがないよう、工程前の試料の容量に対してできるだけ少量とするのが望ましい。

(10) 被験試料中のウイルスは、可能な限り超遠心分離、透析、保存などの操作を行わずに定量することが望ましい。しかし、阻害物質や毒性物質の除去のための操作、又は全ての試料を同時に定量するために一定期間保存することなど、定量前に何らかの処理をすることが避けられない場合もある。希釈、濃縮、ろ過、透析、保存など、測定試料調製のための操作を伴う場合

は、それによるウイルス感染性における変化を評価するために、同様な調製手順を経るコントロール試験を並行して行う必要がある。

(11) 緩衝液又は製品(に含まれる目的タンパク質やその他の成分)が指示細胞に望ましくない影響を及ぼす可能性がある。したがって、これらのウイルス力価測定法に対する毒性作用又は干渉作用をそれぞれ個別に評価して、測定に支障のないような対策を講ずるべきである。仮に、緩衝液がウイルス試験に用いる指示細胞に対して毒性を有する場合は、希釈、pHの調整、又はスパイクウイルスを含む緩衝液の透析等を試みるとよい。製品(目的タンパク質など)が抗ウイルス活性を持っている場合、クリアランス試験を疑似工程(mock run)、すなわち目的タンパク質などそのものは含まない条件下でのクリアランス試験を実施する必要がある。しかし、製造工程によっては、目的タンパク質などを除くことや抗ウイルス活性を持たない類似タンパク質で代替することがウイルスの挙動に影響することもあり得る。

(12) 同様な緩衝液又はカラムを複数の精製工程で繰り返し使用するケースでは、データを解析する際に、この繰り返し使用の影響を考慮すべきである。ウイルス除去の効果は、その方法が製造工程のどの段階で使用されるかにより変化する可能性があることに留意する必要がある。

(13) 非常に強い殺ウイルス性を有している製造条件を用いている場合又は緩衝液などが指示細胞に対し非常に強い毒性や殺ウイルス性を有している場合には、総ウイルスクリアランス指数は過小評価される可能性があるため、ケース・バイ・ケースの考え方に立脚して考えるべきである。逆に総ウイルスクリアランス指数は、ウイルスクリアランス試験に固有の限界ないしは不適切な試験計画のために過大評価される場合もあることに留意する必要がある。

(14) ある特定のウイルス除去／不活化工程のクリアランス能はウイルスの種類によって異なることを考慮する必要がある。ウイルス除去／不活化工程のうち、特異的な作用原理・機構によりウイルスクリアランスを発揮する工程は、その作用機構に当てはまるウイルス類に対しては極めて有効であるが、それ以外のウイルスに対しては有効でない可能性がある。例えば、S/D(有機溶媒／界面活性剤)処理は、一般に脂質膜を有するウイルスに対しては有効であるが、脂質膜を有しないウイルスに対しては有効でない。また、ウイルスによっては通常の加熱工程(55～60℃, 30分)にも抵抗性を示すものもある。このようなウイルスに対してクリアランスを期待する場合は、条件を更に強くするか、作用原理・機構が異なる工程の導入を考慮する必要がある。S/D(有機溶媒／界面活性剤)処理や加熱処理とは原理が異なるウイルス除去膜処理工程は、膜の特性上、これを通過できないサイズを持つ広範囲のウイルスに対して有効である。一方、目的タンパク質を特異的に吸着させるアフィニティークロマトグラフィー工程は、目的タンパク質以外のウイルスなどを徹底して洗い流すことも可能なため、ウイルス除去に一般に有効である。イオン交換クロマトグラフィーやエタノール分画処理工程などにおいては、製品中の目的タンパク質と各種ウイルス類との分離・分画状況は様々な様相を呈するが、これらの工程が他の処理工程で十分に不活化・除去できないウイルスのクリアランスに有効であるケースも少なくない。

(15) ウイルスクリアランスは、例えば、不活化工程が2段階

以上ある場合、相互補完的分離工程が複数ある場合、又は不活化及び分離工程が複数組み合わせられたような場合に効果的に達成される。分離工程においては、個々のウイルスの物理的・化学的特性がゲル・マトリクスとの相互作用や沈降特性に大きく影響し、ウイルスごとに分離状況に違いが生じる可能性がある。しかし、こうした変動要因にもかかわらず、相互補完的分離工程の組合せや、又は不活化工程と分離工程との組合せにより、効果的なクリアランスが達成される。また、クロマトグラフィー工程、ろ過工程及び抽出工程などの分離工程で、目的ウイルスとモデルウイルスの分離に影響する項目などをふまえて十分に吟味してデザインしたものは、適切にコントロールされた条件下で操作を行った場合、効果的なウイルス除去工程となり得る。

(16) ウイルスクリアランス工程として有効であることを示すために、少なくとも2回以上の独立した試験により添加ウイルス量の低減に再現性があることを立証できるよう試験計画を立てる必要がある。

(17) クロマトグラフィー用カラムなどのウイルスを除去する能力が、繰り返し使用した後又は経時的に低下する可能性がある。カラムなどの繰り返し使用ができるかどうかはカラムを数回使用した後にウイルスクリアランスに関する性能を示す指標を測定することにより評価できる。

(18) その他、生物薬品のウイルスクリアランス試験の設計に関しては医薬審発0109第3号通知を適宜参考にすること。

5.4. ウイルスクリアランス試験結果の解釈

5.4.1. ウイルスクリアランス指数の評価

ウイルスクリアランス指数は、製造工程においてクリアランス試験の対象とした各製造段階を経る間のウイルス量(ウイルス感染性：力価)の減少度を対数で表したものである。製造工程全体における総ウイルスクリアランス指数は、これら各製造段階でのウイルスクリアランス指数のうち適切に評価できるものを加算することにより得られる。

得られた各ウイルスクリアランス指数及び総ウイルスクリアランス指数が受入れ可能かどうかについて、原材料及び製造過程に混入(迷入)する可能性が現実的に考えられる全てのウイルスを念頭において評価し、その妥当性を示すべきである。

齧歯類の細胞基材由来のバイオ医薬品のケースのように医薬品製造基材などに何らかのウイルス粒子の存在が認められる場合、当該ウイルスが排除又は不活化されたということのみでなく、ウイルスクリアランスに関して、必要な程度を上回る能力が精製工程に組み込まれていて、最終製品の安全性が適切なレベルに確保されていることを示すことが重要である。製造工程により除去され、又は不活化されたウイルスの量は、医薬品製造基材などに存在が推定されるウイルス量と比較されるべきである。比較をする上で、原材料・医薬品製造基材など中のウイルス量を測定することが重要である。この測定値は、感染性の測定又はその他の方法、例えば電子顕微鏡(TEM)により、得られるべきである。精製工程全体を通して評価した場合、1回の臨床投与量に相当する原材料・医薬品製造基材など中に存在すると推定されるウイルス量よりはるかに上回るウイルス量を排除することができなければならない。しかし、医薬品製造基材などにウイルスの存在が推定されるというケースは、齧歯類の細胞基材由来のバイオ医薬品を除いては極めてまれであろう。当該医薬品が他の製法では得られず、臨床上也に不可欠であり、

存在するウイルス粒子に関する感染性を含む情報が明らかであるなどの特別な場合を除いて、そのような原材料・医薬品製造基材などは、原則として医薬品生産には使用できない。

通常は、生物薬品の製造基材には、何らかの試験・検査によりウイルスの存在は否定されている。そのような場合、可能性が現実的に考えられる特定のウイルスをモデルとすることもあり得るが、一般的には、5.2.で述べたように、広範囲なウイルスに関する工程のクリアランス能を示すことができる適切なモデルウイルス類の組合せを選択し、クリアランス試験をすることになる。このような場合には、ウイルスクリアランスに関する一般的な数値目標は特に設定できない。工程のウイルスクリアランス指数の妥当性は、医薬品製造基材などのウイルス汚染の現実的可能性をめぐる各種の情報やウイルス否定試験の検出感度、その他文献的事例などを勘案しながら考察することになる。

5.4.2. ウィルスクリアランス指数の計算法

ウイルス除去及び不活化工程のウイルスクリアランス指数 R は、次式で示される。

$$R = \log [(V_1 \times T_1) / (V_2 \times T_2)]$$

ここで、 R =対数で表される減少度であり、 V_1 =工程処理前の試料の容量、 T_1 =工程処理前のウイルス量(力価)、 V_2 =工程処理後の試料の容量、 T_2 =工程処理後の試料のウイルス量(力価)である。

ウイルスクリアランス指数を算出する場合には可能な限り、試料に添加したウイルス力価でなく、添加後の工程処理前の試料中に検出されるウイルス力価に基づき算出する。これが不可能な場合、スパイクに用いられるウイルス溶液の力価からウイルス負荷量を算出することになる。

5.4.3. 結果の解釈及び評価上留意すべき事項

ウイルス不活化／除去工程の有効性に関するデータを解釈、評価する際には、①試験に使用されたウイルスの適切さ、②クリアランス試験のデザイン、③対数で表されるウイルス減少度、④不活化の時間依存性、⑤工程のウイルス不活化／除去に影響する要素・項目、⑥ウイルスアッセイ法の感度、⑦ある不活化／除去工程が特定種類のウイルスに特に有効である可能性など、様々な要因を組み合わせで考察する必要がある。さらに補足的事項を以下に示した。

これら様々な要因が結果に影響することをふまえて、適正な解釈、評価に導くようにする必要がある。

(1) 試験に使用したウイルスの挙動

ウイルスクリアランス試験の結果を解釈するに当たって、クリアランスの機構は試験に使用したウイルスの種類によって異なる可能性があることを認識しておく必要がある。また、使用されるウイルスは、通常組織培養で製造されるが、製造工程中において、組織培養ウイルスの挙動は自然界に存在するウイルスの挙動とは異なっている可能性がある。例えば、自然界に存在するウイルスと培養ウイルスとでは純度や凝集の程度が異なっている場合がある。また、分離工程の特性によっては、糖鎖付加のようなウイルスの表面特性の変化が、分離状況に影響する可能性がある。これらの点を念頭に置き、結果を解釈する必要がある場合も考えられる。

(2) 試験の設計

製造工程の変動要因、規模縮小における変動要因などを考慮

に入れてウィルスクリアランス試験は設定されているはずであるが、実生産スケールそのものではないのでやむを得ず差異が生じている可能性もある。データの解釈上、こうした差異を考慮したり、試験に限界があることに留意する必要がある場合も考えられる。

(3) ウィルス減少度データの取捨選択

総ウィルスクリアランス指数は、対数で表された各製造段階での減少度を加算することによって算出される。しかし、複数の工程、特にほとんど減少を伴わない工程(例えば $1 \log_{10}$ 以下の工程)の減少率を加算すると、工程全体を通してのウイルス除去／不活化能力を過大評価してしまう可能性がある。したがって、 $1 \log_{10}$ 以下のウイルス力価における除去／不活化は正当な理由がない限り通常計算に入れるべきではない。なお、同一又は近似した方法を繰り返して達成されたウィルスクリアランス指数は、合理的な理由がない限り加算するべきではない。

(4) 不活化の時間依存性

ウイルス感染性の不活化は、急速な初期相とそれに続く遅い相からなる2相性の曲線を示すことも多い。そのような不活化工程で不活化を免れたウイルスは次の不活化工程で抵抗力がより強くなる可能性がある。例えば、不活化を免れたウイルス(抵抗性画分)が凝集形態をとった場合、各種化学処理や熱処理に対しても抵抗性を示す可能性がある。

(5) 対数で表されるウィルス減少度の評価

ウイルス力価の減少度を対数で表してウィルスクリアランス指数とするため、残存感染性ウイルス量が著しく低減することは示せるが、力価は決してゼロにはならないという限界がある。例えば、mL当たり $8 \log_{10}$ 感染単位を含む標品から $8 \log_{10}$ のファクターで感染性の低減があっても、試験の検出限界をも考慮すれば、mL当たりゼロ $\log_{10}$ すなわち1感染単位を残していることになる。

(6) 製造工程の変動因子

スパイクされた試料と緩衝液やカラムとの接触時間などの製造工程の変動因子の僅かな変動に対しウイルスの除去及び不活化効果が影響を受けやすい場合も考えられる。このような場合には、これらの因子の変動が当該製造工程のウイルス不活化効果に対していかに影響していたかを考慮する必要があるかもしれない。

(7) 抗ウイルス抗体の存在

試料中に試験に用いるウイルスに対する抗体が存在すると、ウイルスの分配や不活化処理に対する感受性に影響を与える可能性がある。ウイルスの感染性を中和するのみでなく、試験結果の解釈を複雑化する。したがって、試料中のウイルスに対する抗体の存在は一つの重要な変動要素であると考えられる。

(8) 不活化／除去工程の新規導入

ウィルスクリアランスが製品の安全性確保にとって重要な因子と考えられるにもかかわらず、製造工程による感染性に関するクリアランスの達成度が不十分である場合には、目的に特に叶うと考えられる不活化／除去機構を特徴とする工程を新規に導入したり、既存の工程と相互補完できるような不活化／除去工程を追加導入すべきである。

(9) ウィルスクリアランス試験の限界

ウィルスクリアランス試験は、最終製品がウイルス安全面から見て受け入れられるレベルに達しているという確証を得るのに寄与はするが、それそのものが安全性を保証するわけではな

い。また、上述のようなウイルスクリアランス試験のデザインや実施にかかわる様々な要因や結果の解釈如何が製造工程のウイルス感染性除去能力について必ずしも適正ではない評価に導く可能性もあることに留意する必要がある。

6. 統計

ウイルスクリアランス試験における結果の評価に当たってはデータを統計学的手法を用いて解析する必要がある。また、得られた結論が支持されるためには、試験結果が統計学的に妥当性が検証されたものである必要がある。

6.1. ウィルス力価測定における統計学とその留意点

ウィルスの力価測定は他の生物活性の測定と同様、ばらつきが大きい。ウイルスクリアランス試験を信頼性のあるものとするため、ウィルス力価測定の正確さとその測定値から得られるクリアランス指数の正確さ並びに試験方法の妥当性を評価する必要がある。統計学的评价の目的は実施したウイルスクリアランス試験がウイルス学的に適切な水準で実施されていることを裏付けることである。

1. ウィルス力価測定法には半定量法(quantal method)と定量法(quantitative method)があるが、半定量法、定量法共に、統計学的评价の対象となる。

2. 試験の変動は、希釈誤差、統計的な要因、及び測定法に固有で不可避的なばらつきにより生じる。通常、独立して実施した試験間のばらつき(試験間変動)は、一試験内で得られた結果のばらつき(試験内変動)より大きい。

3. 試験内変動の95%信頼限界を求めるとき、通常、平均値 $\pm 0.5 \log$ のレベルに収まるようにするべきである。試験内変動は一般的な方法で計算する。試験間変動は試験にウィルス標準品を用いることでモニターできるが、この際のウィルス標準品の力価の実測値は、別途当該試験法を用いて研究室で測定、確立しておいた試験結果の平均値のおよそ $0.5 \log$ 以内であるべきである。より低い精度の試験を採用するにはそれなりの妥当な理由が必要である。

6.2. ウィルスクリアランス試験の再現性、信頼限界

ウィルス不活化／除去工程として有効であることを示すためには、少なくとも2回以上の独立した試験により添加ウィルス量の低減に再現性があることを立証する必要がある。

一方、クリアランス試験におけるクリアランス指数の95%信頼限界は、可能な範囲で算出することが望ましい。処理工程前の材料中のウィルス測定値の95%信頼限界が $\pm s$ で、工程処理後のウィルス測定値の95%信頼限界が $\pm a$ の場合、ウィルスクリアランス指数の95%信頼限界は

$$\pm \sqrt{(s^2 + a^2)}$$

である。

7. ウィルスクリアランスの再評価が必要な場合

生産工程又は精製工程を変更する場合には、その変更がウィルスクリアランス能力に関して、直接又は間接に影響しないかを考え、必要に応じて変更した工程を含む全体のウィルスクリアランス能力を再度検証する必要がある。精製工程を変更するとウィルスクリアランスの程度が変わる可能性がある。

8. ウィルスクリアランス試験にかかわる測定法

8.1. ウィルス感染価の測定法

ウィルス感染価の測定法には、半定量法と定量法がある。半定量法は動物を用いた感染性試験や、CCID法(Cultured cell

infectious dose : 培養細胞感染性価)で、動物や培養細胞の感染の有無をスコアする方法である。感染価は、感染した動物や培養細胞の割合で決められる。定量法においては、ウィルス量と測定される感染性は直線的な関係にある。定量法としてはブラーク法などがある。ブラーク法では1ブラークが1感染単位に相当する。測定法は、十分な感度と再現性を持つべきであり、コントロールを用いて統計学的に分析可能な結果が得られるようにする。半定量法、定量法共に、統計学的评价の対象となる。

8.2. 核酸増幅法(NAT)による検査

核酸増幅法(NAT)による検査は、各々のウィルスに対する血清学的検査が陰性であるときでも個別の検体やプールされた原材料・医薬品製造基材又は製品中のウィルスゲノムを高感度で検出できる方法である。培養系で測定できないHBVやHCV遺伝子などの検出にも応用できる。また、HBV、HCV及びHIVに関してはウインドウ期の大幅な短縮が可能になり、ウィルス安全性評価手段として寄与することが期待されている。しかし、用いるプライマーの選択によっては検出しようとする目的ウィルスの全てのサブタイプを検出できないこともある。したがって、NATの採用に当たっては、可能な限りの様々なサブタイプに対して検出可能かどうかをあらかじめ検討しておく必要がある。

NATは、ウィルスクリアランス工程評価においてウィルス除去工程の有効な評価法となり得るが、ウィルス不活化工程では、不活化されたウィルスが依然として核酸陽性の結果を示すことがあるために、ウィルス不活化の程度が過小評価される可能性がある。また、NATを導入する場合には、検出感度の妥当性、ランコントロールとして用いる標準品の選定、プライマーなど用いる試薬の品質の保証・維持及び陽性又は陰性の結果の解釈において十分な注意を払わなければならない。

9. 記録と保存

ウィルス試験及びウィルスクリアランス試験にかかわる項目については全て文書化し、保存しなければならない。

10. その他

ウィルス試験及びウィルスクリアランス試験について医薬品審発0109第3号通知が適切に適用できる場合にはこれを参考にすること。

11. おわりに

初めに述べたように、日局収載医薬品の品質・安全性などの確保は、科学の進歩、経験の蓄積を反映してその時代における最も先端的な方法、考え方でなされる必要がある。

日局生物薬品のウィルス安全性を確保するための基本要件を本参考情報に示したが、ここで述べられたことは新医薬品開発を行おうとする際の安全性確保策とほぼ同レベルの方策である。これは、新薬、既承認医薬品いずれもウィルス安全面では同等の関心を払うべきとの考えに基づいている。また、その時代における最も先端的な方法、考え方で日局収載医薬品の品質・安全性などの確保を図るべきとの考え方にも基づいている。さらに、考え得るあらゆるケースを考慮しながら、全ての生物薬品に対して適用できるよう、網羅的に記述されている。したがって、長年にわたり医薬品として安全に用いられてきたある個別の生物薬品の側から見れば、改めて、本参考情報に全て沿って、新薬に対すると同様のレベルのウィルス試験や工程のウィルスクリアランス試験を実施するのは必ずしも合理的ではない、というケースもあるかもしれない。個々の生物薬品については、

その起源，由来，種類，製造方法，特性，臨床上の用法，過去の実績等を勘案しながら，ケース・バイ・ケースの原則で最も合理的に対処していく必要があると考えられる。

バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験〈G3-14-170〉

本文書は，バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品の製造に使用する細胞基材で細胞バンクを基にするものに対し，現段階で実施すべきと考えられるマイコプラズマ否定試験について述べたものである。

試験方法としては，A. 培養法，B. 指標細胞を用いたDNA染色法，C. 核酸増幅法(Nucleic acid amplification test : NAT)による検出法が挙げられる。

本マイコプラズマ否定試験の対象は，マスター・セル・バンク(MCB)，ワーキング・セル・バンク(WCB)及び医薬品製造工程中の培養細胞である。これらに対して，A法とB法による試験を実施する。ただし，適切なバリデーションを実施することにより，C法をA法やB法の代替法として用いることができる。

A法，B法によりマイコプラズマ否定試験を実施する前には，検体がマイコプラズマ発育阻止因子を有するかどうか試験しておく必要がある。発育阻止因子が含まれる場合には，遠心分離，細胞の継代などの適切な方法により発育阻止因子を中和又は除去する。

検体を採取後24時間以内に試験するときは2～8℃で，24時間を超える場合は－60℃以下で保存する。

マイコプラズマが検出された場合，種を同定するための試験を行えば混入の原因を推定するのに役立つ可能性がある。

A. 培養法

1. 培地

培養法にはカンテン平板培地と液体培地の両方を使用する。両培地にはペニシリン以外の抗生物質を使用してはならない。使用する培地としては，生物学的製剤基準に記載されているものを参考にすること。ただし，2.の培地の性能試験に適合するものであればほかの培地でもよい。

2. 培地の性能試験

試験に用いる培地については，バッチごとにマイコプラズマの発育性能に関し，適性であるか否かの試験を実施する。そのためには，少なくとも2種類の既知の菌株，ブドウ糖分解マイコプラズマ(*Mycoplasma pneumoniae* ATCC 15531, NBRC 14401又は同等の種又は株)とアルギニン分解マイコプラズマ(*Mycoplasma orale* ATCC 23714, NBRC 14477又は同等の種又は株)を陽性対照として加えた培地での試験をその都度実施し，これらの既知のマイコプラズマが検出できることを確認しておく必要がある。陽性対照試験に使用するマイコプラズマ株は，公的又は適切と認められた機関より入手後，適切に管理された継代数の低いもので，100 CFU (コロニー形成単位)以下又は100 CCU (色調変化単位)以下で培地に接種する。

3. 培養及び観察

- 1) カンテン平板培地1枚当たり検体(細胞懸濁液) 0.2 mL以

上を，プレートに均等に広がるように接種する。カンテン平板培地は1検体当たり2枚以上とする。検体を接種した後，カンテン平板培地表面を乾燥し，5～10%の二酸化炭素を含む窒素ガス中で，適切な湿度のもと，35～37℃で14日間以上培養する。

- 2) 液体培地1本当たり検体(細胞懸濁液) 10 mL以上を，100 mLの液体培地を入れた容器に接種する。液体培地は1検体当たり1本以上とし，35～37℃で培養する。

被検細胞の培養液中に抗生物質などのマイコプラズマ発育阻止因子が含まれているような場合には発育阻止因子を除去する必要がある。マイコプラズマ発育阻止因子の測定は，生物学的製剤基準に記載されているマイコプラズマ発育阻止活性の試験を参考にできる。

- 3) 2)での培養開始後，2,3日ごとに観察し，液体培地の色調変化を観察した日，及び色調変化が無い場合においても，3日目，7日目及び14日目の計3回にわたり，それぞれ各液体培地より0.2 mLずつを採取し，カンテン平板培地各2枚以上に接種する。カンテン平板培地での培養は5～10%の二酸化炭素を含む窒素ガス中で，35～37℃で14日間以上培養する。

- 4) 全カンテン平板培地を対象に7日目と14日目に倍率100倍以上の顕微鏡でマイコプラズマの集落の有無を調べる。

B. 指標細胞を用いたDNA染色法

試験操作法の妥当性についてあらかじめ検討するため，培養Vero細胞に100 CFU以下又は100 CCU以下の*Mycoplasma Hyorhinis* (ATCC 29052, ATCC 17981, NBRC 14858又は同等の種又は株)及び*M. orale* (ATCC 23714, NBRC 14477又は同等の種又は株)を接種する。

マイコプラズマ汚染の検出に関して既知のものと同等以上の検出感度があることを示すデータがある場合は，Vero細胞以外の指標細胞やマイコプラズマ菌株を本試験に使用することもできる。マイコプラズマ菌株は，公的又は適当と認められた機関より入手後適切に管理された継代数の低いものにつき，接種単位をあらかじめ設定した上で使用しなければならない。細胞は適当と認められた細胞保存機関からマイコプラズマが検出されていないことを確認したデータと共に入手しなければならない。入手した細胞は，マイコプラズマの混入を避けて注意深く培養し，多数の種ストックを作製して，本文書で示すいずれか一つ以上の方法でマイコプラズマの混入を否定した後，凍結保存する。試験にはこのストックを解凍し，6継代以内のものを使用しなければならない。

カバーガラスを沈めた培養ディッシュ又は同等の容器に指標細胞を接種し，一日増殖させる。この培養ディッシュ2枚以上に試験検体(細胞培養上清) 1 mL以上を接種する。

試験には，陰性(非接種)対照及び2種類のマイコプラズマ陽性対照を置く。陽性対照には，例えば*M. hyorhinis* (ATCC 29052, ATCC 17981, NBRC 14858又は同等の種又は株)及び*M. orale* (ATCC 23714, NBRC 14477又は同等の種又は株) 100 CFU以下又は100 CCU以下を使用する。

細胞は5%二酸化炭素を含む空气中，35～38℃で3～6日間培養する。

カバーガラス上の培養細胞を固定後，ビスベンズイミド(bisbenzimidazole)又は同等の染色剤によりDNA蛍光染色し，蛍光顕微鏡(倍率400～600倍又はそれ以上)でマイコプラズマの存在を鏡検する。陰性対照及び陽性対照と検体を比較しマイコ

プラズマ汚染の有無を判定する。

方法

- 1) 細胞培養用ディッシュ(直径35 mm)に滅菌したカバーグラスを無菌的に置く。
- 2) 10%ウシ胎児血清(あらかじめマイコプラズマがないことを確認しておく)を含むイーグル最少必須培地中にVero細胞が1 mL当たり 1×10^4 細胞となるように細胞懸濁液を調製する。
- 3) Vero細胞懸濁液2 mLを各培養ディッシュに接種する。このときカバーグラスを培地中に完全に沈め、培地表面に浮かないように注意する。細胞がカバーグラスに接着するよう5%二酸化炭素を含む空气中、35～38℃で一日培養する。
- 4) 培地を新鮮な培地2 mLと交換した後、試験検体(細胞培養上清) 0.5 mLを培養ディッシュ2枚以上に添加する。陰性対照と陽性対照[*M. hyorhinis* (ATCC 29052, ATCC 17981, NBRC 14858又は同等の種又は株)及び*M. orale* (ATCC 23714, NBRC 14477又は同等の種又は株)等の2種類のマイコプラズマ]についても同じ操作を行う。
- 5) 培養液を5%二酸化炭素を含む空气中、35～38℃で3～6日間培養する。
- 6) 各ディッシュより培養液を除去し、メタノール/酢酸(100)混液(3:1) (固定液) 2 mLをそれぞれに加え、5分間放置する。
- 7) 各ディッシュより固定液を除去し、再度各ディッシュに同量の固定液を加え10分間放置する。
- 8) 固定液を除去し、全てのディッシュを完全に風乾する。
- 9) 各ディッシュにビスベンゾイミド蛍光染色液2 mLを加え、ディッシュに蓋をして室温で30分間静置する。
- 10) 各ディッシュより染色液を吸引除去し、ディッシュを蒸留水2 mLで3回洗浄する。カバーグラスを取り出し乾燥する。
- 11) カバーグラスに封入液を滴加して封入する。余分な封入液をカバーグラスの端より吸い取る。
- 12) 倍率400～600倍又はそれ以上の蛍光顕微鏡で観察する。
- 13) 検体と陰性対照及び陽性対照の顕微鏡像を比較する。
- 14) 細胞核を囲むように微小な核外蛍光斑点を持つ細胞が1000個のうち5個(0.5%)以上あれば陽性と判定する。

C. 核酸増幅法(NAT)

核酸増幅法(Nucleic acid amplification test : NAT)は、目的とする細胞やウイルス等の遺伝子や遺伝子発現により転写されたmRNA等をその塩基配列に特異的なプライマーを用いて酵素的に増幅し、増幅産物を種々の方法により検出する手法である。NATをマイコプラズマ検出に用いることにより、検体(細胞懸濁液又は細胞培養上清)から抽出した核酸をマイコプラズマに特異的なプライマーやプローブを用いて増幅し、マイコプラズマに由来する核酸の存在の有無を高感度に検出することが期待される。NATは目的とする塩基配列の存在を示すものであり、必ずしも生きたマイコプラズマの存在を意味するものではない。

NATとしては様々な手法が利用可能であり、本参考情報は特定のNATの手法を規定するものではない。使用するNATは、十分な感度と特異性が担保され、核酸抽出手技や反応液組成の僅かな差異により異なる結果が得られることのない頑健性のある手法を用いること。本項に示すバリデーション法により特異性と感度を評価し、その妥当性が立証されるのであれば、どの

ようなNATの手法を用いることも可能である。市販のキットを用いる場合、キットの製造業者によりバリデーションが実施され、そのデータが入手可能な場合もあるが、使用する機器や目的とする細胞によっては製造業者により実施されたバリデーション結果とは異なる結果が得られる可能性がある。必ず自施設で製造業者のバリデーションどおりの結果が得られることを確認する必要がある。特に検査対象となる細胞が異なる場合には、検出感度、再現性について確認しておく必要がある。また、核酸の抽出法や検出法等で製造業者の指定する機器と異なる機器を用いる場合には、採用する手法や当該機器の妥当性を検証する必要がある。

さらに、試薬の組成やプライマー・プローブ等に関する情報が製造業者から開示されない場合には、キットの内容が変更された際にも変更内容に関する情報が得られるような対策が求められる。キットの内容が変更された場合には、必要に応じ目的とするマイコプラズマの検出感度や精度に差異がないことを確認しておく必要がある。一方で、キットが製造中止になる場合もあり、適切な代替法に変更できるような対応も考えておくこと。

細胞を汚染するマイコプラズマは細胞に依存して増殖する場合が多いため、細胞培養上清ではなく細胞懸濁液を検体とすることが基本的に求められる。細胞培養上清を検体として用いる場合は、細胞を汚染するマイコプラズマを十分に検出できていることの妥当性を示す必要がある。

NATは、以下に示すバリデーションを適切に実施することにより、バリデーション法で例示した全てのマイコプラズマに対して十分な感度を持って検出できる場合には、A法やB法の代替法として用いることができる。

なお、Vero細胞を用いて検体中に存在する可能性があるマイコプラズマの増殖を図った後にNATを行い、感染性マイコプラズマ由来のDNAの検出精度を高める方法もある。この場合にもバリデーション法で例示した全てのマイコプラズマが高感度に検出できることが示されなければならない。

C-1 核酸増幅法によるマイコプラズマ否定試験の実施

試験は陽性対照(ランコントロール) [例えば100 CFU以下又は100 CCU以下の*M. hyorhinis* (ATCC 17981, NBRC 14858又は同等の種又は株)] と陰性対照を置き実施する。陽性対照試験に使用するマイコプラズマ株は、公的又は適切と認められた機関より入手後、適切に管理された継代数の低いものにつき、接種単位をあらかじめ設定したうえで使用しなければならない。細胞懸濁液を検体とする場合にはマイコプラズマ汚染のないことが確認された細胞を陰性対照とし、細胞由来の核酸の存在下での核酸増幅法への影響についてもあらかじめ試験を実施し陽性シグナルが出ないことを確認しておくこと。検体からマイコプラズマの遺伝子が増幅されないときは、この試験に適合とする。

C-2 試験における注意事項

NATは微量の核酸を増幅して検出するため、試験に用いた増幅産物により、施設や機器、試薬等が汚染され偽陽性の結果が得られることがある。このため、試薬の保管・調製、核酸の抽出、核酸の増幅、増幅産物の検出はそれぞれ可能な限り独立した施設ないし設備を用いて、細心の注意を払って実施する必要がある。増幅した核酸のキャリーオーバーによる偽陽性を防止する方法として、Uracil-N-glycosylase (UNG)を用いる

方法等が利用できる。また、核酸の抽出効率が低い場合や、NATの阻害物質が検体に含まれるための偽陰性でないことを確認するために、被験細胞のハウスキーピング遺伝子を内部対照として同時に測定することが望ましい。

一方、核酸の抽出から増幅まで自動化された機器を用いることにより交差汚染を防ぐための対策がとられている場合には、必ずしも独立した施設で実施することは不要であるが、増幅産物の廃棄等に際しては汚染の起こらないような対策をとる必要がある。

G-3 マイコプラズマ検出のためのNATのバリデーション法

NATによる目的核酸の検出法としては、定性的試験と定量的試験がある。細胞基材へのマイコプラズマ汚染の検出には、定性的試験として限度試験が考慮される。ここにマイコプラズマ汚染を検出するための定性的NATの評価方法を示す。この評価方法は、適切なカットオフ値を設定した定量的NATにも適用できる。

NATによる分析の検証に最も重要な項目は特異性と検出感度である。また、分析法の頑健性も評価する必要がある。なお、NATによる分析の評価には、核酸の抽出から増幅産物の検出までの全工程が含まれる。

市販キットをNATによる試験の一部又は全部に用いる場合は、キットの製造業者により添付され文書化されたフルバリデーションデータがあれば、使用者のバリデーションの代替として用いることが可能であり、使用者が再度フルバリデーションを行う必要はない。しかし使用者は、キットの性能(特異性、検出感度等)について、使用目的に十分なっていること、使用者の試験系でも目的とした性能が得られることを確認する試験を必ず実施し、データを提示すべきである。

NATは以下の目的で用いることができる。

- ・工程内管理の目的として
- ・A法又はB法の代替法として

本項は、第一にNATそのもののバリデーション手順、第二にNATとA法又はB法との比較試験のバリデーションの二つの目的について書かれている。

なお、NATの特異性や検出感度のバリデーションにはCFU又はそれに相当するコピー数等が明らかにされたマイコプラズマ参照品が様々な段階で必要とされる。また通常の試験では、マイコプラズマ参照品、あるいは参照品を用いて適切に値付けされた検体が陽性対照として用いられる。試験では、陽性対照としてマイコプラズマの菌体の他に核酸(プラスミド等)が用いられることもあるが、抽出効率を含めたバリデーションの検討では菌体を用いる必要がある。

1) 評価項目

特異性、検出感度、頑健性の三つのパラメーターについて評価する必要がある。

2) 特異性

NATにおける特異性とは、存在が予想される検体中に含まれる標的核酸を確実に検出する能力である。NATの特異性はプライマーやプローブの選択、及び試験条件の厳密さ(増幅及び検出段階)に依存する。

マイコプラズマ(マイコプラズマ属、ウレアプラズマ属、スピロプラズマ属、アコレプラズマ属等のモリキューテス綱の細菌)に特異的で、かつ広範囲のマイコプラズマによく保存されている塩基配列に対するプライマーやプローブを用いることが

重要である。NATが幅広いマイコプラズマパネルを検出する能力は、プライマーとプローブのデータベースとの比較による理論的分析のみにより示すのではなく、3)に示された参照マイコプラズマを用いた実証評価により示されなければならない。

3) 検出感度

検出感度とは、試料中に含まれる検出可能な標的核酸の最低量であり、必ずしも定量する必要はない。検出感度を確立するには、NATの陽性カットオフ値を決定する必要がある。陽性カットオフ値は、試験において95%の確率で検出可能な試料の一定容量に含まれる標的配列の目的核酸量である。この陽性カットオフ値は試験を行う試料に含まれる目的マイコプラズマ遺伝子配列と酵素の活性などの要因に影響され、結果として各試験により異なる95%カットオフ値が得られることになる。陽性カットオフ値を決定するには、特性解析され菌濃度(CFU又はコピー数等)が明らかにされたマイコプラズマ参照品又は国際標準品の希釈系列について、試験ごとの変動を調べるために日を変えて試験を実施する。

検出感度のバリデーションには、以下の種について検討すること。選択されたこれらのマイコプラズマ種は、バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に使用される哺乳動物由来培養細胞への汚染の出現頻度や系統発生、更には培養等で用いられる動物由来原料を考慮して選択されたものである。なお、このリストはバリデーションのためのものであり、通常の試験でこれら全てを陽性対照として用いることを求めているわけではない。

- ・ *Acholeplasma laidlawii* (ATCC 23206, NBRC 14400又は同等の株)
- ・ *Mycoplasma arginini* (ATCC 23838又は同等の株)
- ・ *Mycoplasma fermentans* (ATCC 19989, NBRC 14854又は同等の株)
- ・ *Mycoplasma hyorhinis* (ATCC 17981, NBRC 14858又は同等の株)
- ・ *Mycoplasma orale* (ATCC 23714, NBRC 14477又は同等の株)
- ・ *Mycoplasma pneumoniae* (ATCC 15531, NBRC 14401又は同等の株)
- ・ *Mycoplasma salivarium* (ATCC 23064, NBRC 14478又は同等の株)

昆虫細胞や植物由来細胞を製造に用いる場合は、上記のマイコプラズマに加えて、昆虫や植物に由来するマイコプラズマ(*Spiroplasma citri*など)、鳥類に由来する細胞や試薬を製造に用いる場合は鳥類に由来するマイコプラズマ(*Mycoplasma synoviae*など)の検出が可能であることを評価する必要がある。

検出感度は、菌濃度(CFU等)を測定した原液から、適切な希釈系列(10倍希釈列ないしは $10^{0.5}$ 倍希釈列)の検体を作製し、各希釈に対してNATでの試験を実施する。検出限界となった希釈倍数をもとに検体中の標的配列に対応する最小の菌濃度(CFU等)を陽性カットオフ値として算出する。例えば、増幅産物を電気泳動で分離し、蛍光染色等で陽性バンドを検出する場合には、マイコプラズマを含まない細胞から得られた検体は陽性バンドが検出されないことを確認すること。また、定量的PCR法を用いて検出する場合には適切な増幅サイクル数をカットオフ値として設定すること。また、設定したカットオフ値の妥当性を証明すること。NATの検出には検体からの核酸

の抽出効率も影響するため、細胞懸濁液に含まれるマイコプラズマの検出感度を評価する。

上記マイコプラズマ参照品の各菌株について、最低三つの異なる10倍希釈列を作成し、統計解析を可能とするため各希釈列について合計24となるように十分な繰り返し数を試験する必要がある。例えば、三つの希釈列を異なる日に各希釈段階で8回繰り返し、四つの希釈列を異なる日に各希釈段階で6回繰り返し、あるいは六つの希釈列を異なる日に4回繰り返し実施してもよい。希釈列の数を扱いやすい量にするために、陽性カットオフ値(陽性シグナルが得られる最高希釈倍率)を求めるための予備試験を行うべきである。希釈の範囲は予備的に求められたカットオフ値の周辺で選ぶことができる。試験により95%の確率で検出されるマイコプラズマの濃度(CFU等)を適切な統計学的解析により算出する。これらの結果は分析法の変動を評価するために用いることもできる。

4) 頑健性

頑健性とは、パラメーターの小さな意図的変動で変化しない能力の指標であり、通常の使用での分析法の信頼性を示すものである。頑健性の評価は開発段階で検討すべきである。パラメーターを意図的に変動させることにより分析法の信頼性を示す必要がある。NATでは、パラメーターの小さな変動により結果に大きく影響する可能性がある。試薬濃度(MgCl₂、プライマー、デオキシリボヌクレオチド等)を小さく変動させた試験が開発段階で実施されていれば、方法の頑健性が示される。抽出キットや抽出法の変更、サーマルサイクラーの種類の違いも評価される。

5) NATをA法及びB法の代替法として用いる場合

NATはA法(培養法)、B法(指標細胞を用いたDNA染色法)の代替法として用いることができる。この場合、同定性試験を実施する必要がある。試験では主としてNATとA法又はB法との検出感度の比較を行うが、特異性(検出可能なマイコプラズマパネル、偽陽性の結果)についても考慮すべきである。

検出感度の判定基準は以下のとおりである。

- ・A法(培養法)の代替法とする場合、NATは3)に示すマイコプラズマ7種全てについて10 CFU/mLを検出可能なことを示す必要がある。
- ・B法(指標細胞を用いたDNA染色法)の代替法とする場合、NATは3)に示すマイコプラズマ7種全てについて100 CFU/mLを検出可能なことを示す必要がある。

どちらの場合も、判定基準に達することを示すにはCFUで適切に値付けされたマイコプラズマ参照品を用いる必要がある。以下の二つの方法のうち一つをこの同定性試験として用いることができる。

- ・CFUで値付けされたマイコプラズマ株を用いてNATをA法又はB法と並行して実施し、両者の検出限界を同時に評価する。
- ・NATによる試験結果をA法又はB法の評価で得られたデータと比較する。この場合、両者の評価に用いる参照品のCFUの値付け及び安定性について注意深く説明すること。

あるいは、試料に含まれるマイコプラズマ核酸のコピー数等で同等の検出感度を示すことでよい。この場合、1 CFUに相当するマイコプラズマのコピー数等を明らかにしておく必要がある。

6) 対照群

- ・内部対照：バリデーションにおいて内部対照を用いることにより、検体由来の阻害物質等による影響を受けず核酸増幅が適切に行われていることが確認できる。また日常の試験では、抽出操作に問題がなく、またNAT反応を阻害する物質がないことを示すために必要となる。内部対照はプライマー結合部位その他の適切な配列を用いる。検体から核酸を抽出する前に添加し、核酸の抽出、逆転写、増幅、検出の全体の対照となることが望ましい。検体となる細胞の遺伝子を内部対照として用いることもできる。
- ・外部対照：外部陽性対照は、試験条件のバリデーションに用いられるマイコプラズマ種のうち、一種類以上の適切なマイコプラズマ種について標的配列の一定のコピー数あるいは一定のCFUを含むものである。陽性対照の一つは期待される感度が達成できることを示す陽性カットオフ値近傍にセットする。陰性対照は、標的配列を含まないもので、必ずしも検体と同じマトリクスである必要はない。

7) 結果の解釈

用いたプライマーやプローブ等によってはマイコプラズマ以外の核酸を増幅し、偽陽性の結果を導くことがある。バリデーションでは必要に応じて、陽性の結果の確認のための方法確立しておくこと。

C-4 Vero細胞中でマイコプラズマを増殖させる方法

1) 試験検体、陽性対照及び陰性対照について、それぞれ2枚以上のディッシュを使用する。

2) 細胞培養用ディッシュ(直径35 mm)に、10%ウシ胎児血清(NATによりあらかじめマイコプラズマDNAが検出されないことを確認しておく)を含むイーグル最少必須培地を用いて調製したVero細胞懸濁液(1×10⁴細胞/mL)を2 mLずつ加え、5%二酸化炭素を含む空气中、35～38℃で1日培養する。

3) 古い培地を新鮮な培地と交換し、試験検体(細胞培養上清) 0.5 mLをVero細胞の培養ディッシュ2枚以上に接種する。陽性対照[例えば100 CFU以下又は100 CCU以下の*M. hyorhinis* (ATCC 17981, NBRC 14858又は同等の種又は株)]と陰性対照についても同じ操作を行う。

4) 試験検体、陽性対照及び陰性対照を接種したVero細胞の培養ディッシュをそれぞれ5%二酸化炭素を含む空气中、35～38℃で3～6日間培養する。

日本薬局方の通則等に規定する動物由来医薬品起源としての動物に求められる要件〈G3-15-141〉

はじめに

日本薬局方の通則等に、「医薬品又は当該医薬品の製造に用いる医薬品が動物に由来するものを原料として製造されるものであるときは、別に規定する場合を除き、当該動物は、原則として、健康なものでなければならない」旨の規定を追加することが平成14年3月29日付官報で告示された。

同日付、医薬発第0329001号通知では、「ここでの健康なものとは、各医薬品の適切な使用方法において、ヒトへの感染性を有する疾病又は感染を有さない動物をいうものであり、現

時点においては、例えば、経口・外用医薬品などについて、動物由来成分の原料となる動物が食用基準をみたしていることが確認できることをいうこと、なお、この健康なものの基準は人獣共通感染症等に関する新たな知見等を踏まえ、適宜見直されるべきものであること」と記載されている。

本参考情報では、医薬発第0329001号通知の趣旨をふまえ、動物に由来するものを原料として製造される医薬品における感染性面での安全性確保について述べる。

1. 基本的考え方

ヒトを含む動物に由来するものを原料として製造される医薬品を使用する上で、当該医薬品にウイルスなど感染性物質が混入し、それがヒトに感染して感染症を発症若しくは何らかの身体的異常を生じさせる可能性があることに関する配慮が必要になる。この際、医薬品原料の起源としてのヒトを含む動物や医薬品原料にウイルスなど感染性物質が存在しているかどうか、まず重要な留意点であることはいうまでもない。更に重要な点は、それを基に製造した医薬品にウイルスなど感染性物質が存在し、ヒトに投与した場合に、ヒトに感染する可能性があるかどうかということである。医薬品原料の起源としてのヒトを含む動物が、「各医薬品の使用方法において、ヒトへの感染性を有する疾病又は感染を有さないもの」として求められている要件は、「医薬品原料の起源としてのヒトを含む動物の適格性に関する評価、適切な医薬品製造過程の設定と管理及び最終製品の用法・用量の遵守という全体方策をとおして、ヒトに感染症を引き起こすことはないもの」である。

2. 医薬品原料起源としてのヒトを含む動物について

ヒトを含む動物由来の医薬品によるヒトへの感染を防止するには、使用する原料にウイルスなど感染性物質が存在していないことを保証すること、すなわち、「ヒトに病原性がある感染性物質に汚染されていないことが証明されたという意味での健康な動物由来の原料を使用するか、動物由来の原材料に適切な処理を施した後、ヒトに病原性がある感染性物質に汚染されていないことを立証したものを医薬品製造原料として使用すること」が最も明快で適切な対応である。

ヒト由来製品の原材料としては、細胞・組織、血液、胎盤、尿などが用いられている。これらの原材料の起源となるドナーについて、個人ごとに問診や検査を行うべき場合や行うことができる場合には、ウイルスなど安全性面での適格性をこの段階で試験すべきである。

例えば、平成12年12月に厚生省医薬安全局より公表された「細胞・組織利用医薬品等の取扱い及び使用に関する基本的考え方(医薬発第1314号 平成12年12月26日、別添1)」に基づき、ドナー(ヒト)より提供される細胞・組織が感染性物質に関する十分な不活化・除去工程を経ることなく患者に投与されるところから、ドナーについて、病歴、健康状態、採取細胞・組織を介して感染する可能性がある各種感染症に関する検査項目などを考慮して、選択基準、適格性基準を定め、その妥当性を明らかにすることを求めている。特にB型肝炎(HBV)、C型肝炎(HCV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症、成人T細胞白血病、パルボウイルスB19感染症については、問診及び検査(血清学的試験や核酸増幅法など)により否定することが求められている。また、サイトメガロウイルス感染及びEBウイルス感染については必要に応じて検査により否定することとされている。そのほか、「梅毒トレポネーマ、クラミジア、淋菌、結核

菌などの細菌による感染症」、「敗血症及びその疑い」、「悪性腫瘍」、「重篤な代謝、内分泌疾患」、「膠原病、血液疾患」、「肝疾患」、「認知症(伝達性海綿状脳症及びその疑いのあるもの)」については既往歴、問診などの診断を行うと共に、輸血、移植医療を受けた経験の有無などからドナーとしての適格性を判断することも求められている。検査項目及び検査方法については、その時点で最も適切とされる方法を採用することとするが、感染症などに関する新たな知見及び学問・技術の進歩に鑑み、随時見直しを行う必要があるとされている。また、ドナースクリーニングにあたっては、検査項目、検査方法などにより、ウインドウ期(感染初期に細菌、真菌、ウイルス等又は細菌、真菌、ウイルスなどに対する抗体が検出できない期間)を勘案し、可能な限り適切な時期に再検査を実施することとされている。

国内献血由来血漿分画製剤にあつては、献血者について問診、自己申告によりチェックし、献血血液段階で血清学的検査、HBV、HCV、HIVを対象としたミニプール核酸増幅試験(NAT)を実施している。また、分画用原料血漿は最低4箇月間貯留保管し、採血後情報/輸血後情報を反映する措置を講ずることによりヒトに何らかの感染症を引き起こす可能性のある原料の使用を排除しようとしている。

一方、尿由来製品などのように多数の不特定者から採取され、一定の処理が施された後原料とされるような場合、各個人ごとにウイルスなどの検査をすることは、現実的ではなくまた合理的でもない。この場合プールした原料についてウイルス試験など、適切な試験を行い確認すべきである。

ヒト以外の動物の場合、野生の動物は避け、適切な微生物汚染防止対策や汚染監視システムを含む衛生管理の行き届いた環境条件下で飼育された動物個体を使用すべきである。可能な限り適切に規定された特定病原体感染防止条件(specific pathogen-free: SPF)に適合したコロニー由来の動物を使用することが望ましい。また、食肉基準がある動物についてはこれを満たした動物個体を使用すべきである。必要に応じて適切な試験により病原体などの感染がないことを確認する必要がある。

伝達性海綿状脳症(Transmissible Spongiform Encephalopathies: TSEs)の病原体とされているプリオンによる伝播や汚染を極力回避するための具体的手段は、①ヒツジやヤギにおけるスクレイビー、ウシにおけるBSE、シカのChronic Wasting Disease (CWD)、ヒトにおける新型CJDなどのTSEs発生地域(国)やリスクの高い地域(国)の動物、長期(6箇月以上)滞在者由来の医薬品原料や関連物質の使用を避けること、②スクレイビー、BSE、CJDなどを発症している個体由来の物質の使用を避けること、③リスクの高い器官、臓器、細胞などに由来する物質の使用を避けること、④TSEsの発生状況、プリオンに関する疫学的調査結果、研究成果若しくは原料採取後のドナーの遅発性感染症の発症状況などに関する情報を収集して的確に対応することなどである。

3. 医薬品原料となるヒトや動物由来の細胞について

ヒトや動物由来の細胞基材を使用して、医薬品を製造することが行われているが、この場合、細胞基材の起源たるヒトや動物が健康なものであることが望ましいことはいうまでもない。しかし、一般には、細胞基材由来医薬品のウイルス安全性などの評価は、事実上の医薬品製造原料である細胞レベルで行われることが合理的であるとされている。この場合、可能な限り、

細胞バンクを作製して、徹底的なウイルスなどに関する試験と解析を実施することにより安全性を確認する必要がある。この際の試験項目や試験方法については、ICH国際合意文書を受けた国内版通知「ヒト又は動物細胞を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」（平成12年2月22日付医薬審第329号厚生省医薬安全局審査管理課長通知）に詳細に記載されており、これに従うべきである。ところで細胞レベルでの試験の結果、ウイルスが仮に検出された場合、その細胞をどのように取り扱うかが問題である。この問題の取扱いについては、同通知に次のように記載されている。「医薬品の製造に用いる細胞株には、内在性のレトロウイルス、その他のウイルス又はウイルス由来の塩基配列を含むことが知られているものがある。そのような場合に製造業者が行うべき対応策が同通知の第Ⅴ章(ウイルスクリアランス試験と精製バルクにおけるウイルス試験の意義、考え方及び実施要領)に記載されている。内在性のレトロウイルス以外のウイルスが存在する細胞株の使用の可否は、ケース・バイ・ケースで規制当局が考慮することになるが、その際、製品のベネフィットや予定される臨床上の用途、混入するウイルスの種類・性質、ヒトへの感染性又は病原性、製品の精製工程(ウイルスクリアランスに関する評価データ等)、及び精製バルクにおいてどの程度のウイルス試験を実施したかなどに基づくリスク／ベネフィットのバランスを勘案し、判断することになる」。例えば、最もよく用いられるげっ歯類細胞には、内在性のレトロウイルス様のA粒子、R粒子、C粒子などの存在が知られている。しかしそれはヒトに感染することではなく、危険性がないことが知られており、CHO細胞などは医薬品生産に汎用されている。また、担ガン患者からの株化細胞(例：NAMALWA細胞、BALL-1細胞など)を用いて製造を行う場合もあるが、この場合も徹底的なウイルスなどの試験を行うことによりその安全性が確認されている。ウイルス安全性面からみた場合、徹底的なウイルス検査が困難な初代培養細胞よりこのような株化細胞のほうが安全性が高いといえる。

4. 適切な医薬品製造工程の設定と管理及び最終製品の用法・用量の遵守が安全性確保に果たす役割

医薬品原料となる動物レベルのみにおいて感染性などに関し安全性を保証するにはおのずと限界がある。また、「動物の健康」とは一義的に定められるものではなく、様々な要件によって異なる。本課題の最終目標は、医薬品がヒトに感染症などを引き起こすことがないようにすることである。この目的を達成するために適切な医薬品製造工程の設定と管理及び最終製品の用法・用量の遵守が果たす役割は大きい。

前述のように、医薬品生産に汎用されているげっ歯類細胞には内在性のレトロウイルス様粒子の存在が知られているが、二重三重に安全性が確保されているのは精製段階などで適切な不活化・除去処理工程が取り入れられていることによる。極端な例としては、製造の手段として、意図的にウイルスや微生物などを使用する場合もある。これについても、製造工程や精製工程に当該ウイルスなどに適応した除去や不活化手段が適切に取り入れられており、医薬品として使用することにおいて、ヒトへの感染の危険性は十分に否定され、安全性が担保されるという対応策がとられている。更に、当該動物において、仮にヒトに対する感染性物質の有無に関して明らかにすることが困難である場合や、原料にウイルスなどが存在している場合があった

としても、製造段階や精製段階などで適切な不活化・除去処理工程が取り入れられ、その有効性が検証され、またGMPなどによる適切な工程管理がなされることにより、十分に安全性が確保されるならば、当該原料の使用が可能な場合もある。

5. まとめ

医薬品原料の起源としてのヒトを含む動物が、「各医薬品の使用方法において、ヒトへの感染性を有する疾病又は感染を有さないもの」として求められている要件は、「医薬品原料の起源としてのヒトを含む動物の適格性に関する評価、適切な医薬品製造過程の設定と管理及び最終製品の用法・用量の遵守という全体方策をとおして、ヒトに感染症を引き起こすことはないもの」である。

なお、本課題への対応は、その時点での科学的水準をふまえて行うこととするが、ヒトにおける感染症、動物由来感染症などに関する新たな知見及び学問・技術の進歩を随時反映した合理的根拠に基づくものとする必要がある。

G4. 微生物関連

日本薬局方収載微生物株の学名表記について〈G4-14-190〉

日本薬局方収載の微生物株の学名表記は、微生物データベースや微生物保存機関等において分類学的に用いられる学名表記と異なっている場合がある。これは、日局が学術書ではなく法令であるために生じる。加えて、微生物の分類法の発展により、微生物の分類及び学名がしばしば変更されていることによる。微生物関連試験に使用する微生物株の学名表記が日局における表記と不一致である場合は、必要に応じて微生物株の入手先などに対し、両者が同一の微生物株であることを確認するとよい。

非無菌医薬品の微生物学的品質特性〈G4-I-170〉

本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

なお、三薬局方で調和されていない部分は「◆」で囲むことにより示す。

三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。

非無菌製剤における、ある特定微生物の存在は、製品の薬効の減少あるいは失効につながる可能性があり、また、患者の健康を損なう可能性もある。したがって、医薬品の製造業者は、製造、貯蔵及び流通に際し、最新のガイドラインに従ってGMPを実施することにより、最終製品のバイオバーデンを確実に低くしなければならない。◆本指針は、非無菌医薬品(原料及び製剤)中に存在する増殖能力を有する微生物(細菌及び真菌)の限度の目安を基準値として示したものである。◆非無菌医薬品の微生物試験は、微生物限度試験法(4.05)の「Ⅰ.生菌数試験」及び「Ⅱ.特定微生物試験」に準拠して行う。◆非無菌医薬

品に対して生菌数試験及び特定微生物試験を実施するにあたっては、微生物管理計画を確立し、それを当該医薬品の品質保証システムの重要な一部として位置づけなければならない。また、試験実施者及び責任者は、微生物の取扱い技術、バイオセーフティ対策及びデータ解釈について専門知識を有していなければならない。◆

◆1. 定義

- (i) 非無菌医薬品：日本薬局方の医薬品各条に記載されているもので無菌でないもの及び最終製品で無菌でないもの。
- (ii) 医薬品原料：原薬、添加剤を含む医薬品製造に用いる全ての物質。ただし、医薬品製造用水及びガス類は除く。
- (iii) バイオバーデン：非無菌医薬品中に生存する微生物(細菌及び真菌)の数と種類。
- (iv) 処置基準値：直ちに調査を行い、必要に応じて是正措置をとらなければならないバイオバーデンに対して設定した基準値。
- (v) 警報基準値：予知される問題点を早急に警告するものとして、直ちに是正措置をとる必要はないが、調査は行う必要があるバイオバーデンに対して設定した基準値。
- (vi) 品質保証システム：品質管理を実施するために必要となる製造業者の組織構造(責任、権限及び相互関係)及び実施手順。

2. 試験の適用除外

生菌を有効成分とする非無菌医薬品には、通例、生菌数試験を適用しない。

3. 試料の採取方法及び試験の実施頻度

3.1. 試料の採取方法

一般に、非無菌医薬品や医薬品原料ロット中の微生物汚染は均一でない。偏りのある試料採取方法では、正確なバイオバーデン値を推測できない場合もある。したがって、回顧的又は同時的バリデーションで得られたバイオバーデンデータの解析に基づいて、非無菌医薬品又は医薬品原料ロットを代表できる採取方法を確立する必要がある。通例、同一製造番号の非無菌医薬品又は医薬品原料の任意に選択した異なる数箇所(少なくとも3箇所以上)から試料をほぼ同量ずつ採取し、それらを合わせたものを被験試料とする。

また、清浄度管理環境下での試料採取が困難な場合には、採取環境や採取器材に注意を払い、採取した試料のバイオバーデンが不注意による汚染によって影響されないようにしなければならない。乾燥又は非水性の非無菌医薬品や医薬品原料においては、採取試料中のバイオバーデンが変化しないことが確認されている場合、本試験を試料採取直後に行う必要はない。

3.2. 試験の実施頻度

試験の実施頻度は、別に規定されている場合を除き、種々の要因を考慮して設定しなければならない。これらの要因には次のものがある。

- (i) 非無菌医薬品の剤形(用法)
- (ii) 製造方法
- (iii) 製造頻度
- (iv) 医薬品原料の特性(天然物より製したもの、化学合成で製したもの等)
- (v) ロットサイズ
- (vi) バイオバーデン値のばらつき(ロット間、季節変動など)
- (vii) バイオバーデンに影響を及ぼす変更事項(製造工程の変更、医薬品原料の入手先の変更、医薬品原料ロットの変更など)

(viii) そのほか

医薬品の製造初期段階においては、医薬品原料や当該医薬品の微生物学的品質特性を把握するために、一般に高頻度に微生物限度試験を行う必要がある。しかし、回顧的又は同時的バリデーションなどのデータを蓄積することによって、例えば、季節ごと、一定期間ごと、数ロットごとなど、試験頻度を少なくすることができる。

4. 微生物管理計画書

非無菌医薬品に微生物限度試験法(4.05)を適用する場合には、当該医薬品からの微生物の回収法、培養法、計測法の妥当性を検証した上で、次の事項を定めた微生物管理計画書を作成しなければならない。

- (i) 試験対象医薬品名(品目名)
- (ii) 試料採取頻度及び試験実施頻度
- (iii) 試料の採取方法(採取者、採取量、採取環境などを含む)
- (iv) 採取試料の試験室への移動(試験実施までの保存条件を含む)
- (v) 試料の処理方法(微生物の回収方法)
- (vi) 生菌数の測定方法(供試量、培地の種類、培地の性能試験、培養方法などを含む)
- (vii) 特定微生物の検出方法(供試量、培地の種類、培地の性能試験、培養方法などを含む)
- (viii) 生菌数の算出方法及び検出菌の性状検査
- (ix) 微生物許容基準値(警報基準値、処置基準値)の設定
- (x) 微生物許容基準値を超えた場合の対処方法
- (xi) 試験実施者、試験責任者など
- (xii) そのほかの必要な事項◆

5. 非無菌医薬品の微生物許容基準値

総好気性微生物数(Total Aerobic Microbial Count : TAMC)及び総真菌数(Total Combined Yeasts / Moulds Count : TYMC)に対する微生物許容基準値を設定することにより、医薬品原料中の微生物学的品質が維持されているか又は悪化しているかを製造初期段階に判断することができる。また、必要に応じて適切な是正措置をとることも可能となり、医薬品原料の微生物学的品質の維持、改善に役立てることができる。◆

合成及び鉱物由来原料に対する微生物許容基準値は、別に規定するもののほか、表1に従う。◆化学合成で製する医薬品原料は製造工程において高温処理、有機溶媒処理などを行うことにより一般に低いバイオバーデン状態にあるが、植物や動物由来の医薬品原料は、一般に合成原料よりかなり高いバイオバーデン状態にある。

表1 非無菌医薬品原料の微生物学的品質に対する許容基準値

	総好気性微生物数 (CFU/g又はCFU/mL)	総真菌数 (CFU/g又はCFU/mL)
医薬品原料	10 ³	10 ²

非無菌医薬品の製造に用いる水の微生物学的特性は、最終製品の微生物学的品質に直接影響を及ぼすので、これらの微生物管理にも、細心の注意が必要である。◆

非無菌医薬品の最終製剤に対する微生物許容基準値の判定は、別に規定するもののほか、表2に従う。◆これらの基準値は、非無菌医薬品の適用法、水との親和性などに基づき規定されている。経口用の液状製剤や水との親和性の高い非無菌医薬品につ

表2 非無菌製剤の微生物学的品質に対する許容基準値

投与経路	総好気性微生物数 (CFU/g又は CFU/mL)	総真菌数 (CFU/g又は CFU/mL)	特定微生物
経口(非水性製剤)	10 ³	10 ²	大腸菌を認めない(1 g又は1 mL)
経口(水性製剤)	10 ²	10 ¹	大腸菌を認めない(1 g又は1 mL)
直腸	10 ³	10 ²	—
口腔粘膜 歯肉 皮膚 鼻 耳	10 ²	10 ¹	黄色ブドウ球菌を認めない(1 g又は1 mL) 緑膿菌を認めない(1 g又は1 mL)
腔	10 ²	10 ¹	緑膿菌を認めない(1 g又は1 mL) 黄色ブドウ球菌を認めない(1 g又は1 mL) カンジダ・アルビカンスを認めない(1 g又は1 mL)
経皮吸収パッチ (粘着層及び支持材を含む1パッチに限定)	10 ²	10 ¹	黄色ブドウ球菌を認めない(1パッチ) 緑膿菌を認めない(1パッチ)
吸入 (噴霧用の液状製剤にはより厳しい要件が適用される)	10 ²	10 ¹	黄色ブドウ球菌を認めない(1 g又は1 mL) 緑膿菌を認めない(1 g又は1 mL) 胆汁酸抵抗性グラム陰性菌を認めない(1 g又は1 mL)

◆表3 生薬及び生薬を配合した製剤の微生物学的品質に対する許容基準値

	総好気性微生物数 (CFU/g又はCFU/mL)	総真菌数 (CFU/g又はCFU/mL)	特定微生物
カテゴリー1	許容基準：10 ⁷ 最大許容値：50,000,000	許容基準：10 ⁵ 最大許容値：500,000	大腸菌の許容基準：10 ³ (1 g又は1 mL) サルモネラを認めない(10 g又は10 mL)
カテゴリー2	許容基準：10 ⁵ 最大許容値：500,000	許容基準：10 ⁴ 最大許容値：50,000	胆汁酸抵抗性グラム陰性菌の許容基準：10 ⁴ (1 g又は1 mL) 大腸菌を認めない(1 g又は1 mL) サルモネラを認めない(10 g又は10 mL)

◆

いては、一般に低い微生物許容基準値が設定されている。◆

表2には、微生物許容基準値が設定されている製剤において存在してはならない特定微生物も示している。ただし、これら検出されてはならない特定微生物を全て網羅しているわけではない。ある特定の製剤では原材料の特性や製造工程によっては、ほかの微生物に対する否定試験も必要である。

また、規定された試験では規定されたレベルでの有効な微生物測定ができない場合には、示された許容基準値に可能な限り近い検出限界を有することがバリデートされた試験方法を用いることができる。

表2に挙げた微生物に加えて、検出すべきほかの微生物の重要性は次のような見地によって評価される。

- (i) 製品の用途：危険要素は投与経路(眼球、鼻、呼吸器官)によって異なる
- (ii) 製品の性状：当該製品は微生物の発育を支持するのか、それとも十分な抗菌の活性を有するのか
- (iii) 使用方法
- (iv) 使用者：新生児、幼児、衰弱した人に対するリスクも異なる
- (v) 免疫反応抑制剤：皮質ステロイドの使用
- (vi) 疾患、外傷、臓器損傷の有無

必要に応じて、関連した要素のリスク評価は、微生物学を学び、微生物学的データの解釈について特別に訓練された職員によってなされる。

原料に対するリスク評価はその原料が供される工程、最新の試験技術、要望される品質規格の原料であることを考慮に入れ

る。微生物許容基準値が規定されているときは、以下のように判定する。なお、微生物許容基準値は、個々の試験成績、又は繰り返し測定を行う場合には繰り返し測定値の平均値とする。

10¹ CFU：最大許容値＝20

10² CFU：最大許容値＝200

10³ CFU：最大許容値＝2000、以下同様。

◆6. 生薬及び生薬を配合した製剤の微生物許容基準値

生薬及び生薬を配合した製剤の微生物限度の目安を基準値として表3に示す。カテゴリー1は、熱湯で処理して用いる生薬及びその製剤、カテゴリー2は、そのほかの生薬及びその製剤である。本指針では、生薬及び生薬を配合した製剤に対する特定微生物として、胆汁酸抵抗性グラム陰性菌、大腸菌及びサルモネラを掲げているが、生薬原料の由来や生薬を配合した製剤の製法によっては、これら以外の微生物(例えば *Bacillus cereus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus* 属や大腸菌群の一部の菌種)についても注意を払わなければならない場合がある。原料生薬に対する微生物限度はその原料が供される工程、要望される品質規格の原料であることを考慮に入れたリスク評価に基づき設定する。◆

微生物試験に用いる培地及び微生物株の管理 〈G4-2-I80〉

本参考情報は、微生物試験に用いる培地及び微生物株の試験室での管理における留意事項を示すものである。

なお、機器については、適切に保守・管理及び校正されたものを使用する。

1. 培地の調製及び品質管理

1.1. 培地の調製

培地を調製するときには、実施する微生物試験に適した培地及び培地成分を選択する。粉末培地には成分組成及び調製指示書が添付されている。培地ごとに、調製の要件(例えば、加熱、添加物、pH調整など)が異なる場合があるため、適正な品質の培地を調製するためには、それらの指示書に従うことが重要である。調製年月日、秤取した粉末培地又は培地成分の名称・ロット番号・質量、使用した水の容量、滅菌条件、滅菌後のpH、使用した機器などを記録しておく、問題発生時の原因調査などに役立つ。

粉末培地又は培地成分の秤取は適切に行う。また、調製時の異物の混入を防ぐために、清浄な容器及び器具を使用する。培地の調製に用いる水は、試験を行うのに適した水を使用するが、精製水が最もよく用いられる。

粉末培地は、滅菌する前に水に溶解させるか、又はよく振って混ぜて十分に分散させる。滅菌前に小分けする場合には、完全に水に溶解させる。培地を溶解するために加熱が必要な場合には、培地を熱し過ぎないように注意する。メイラード反応などによる培地の褐色化は、過熱の目安の一つとなる。培地の調製には、加熱、攪拌及び混合に適切な装置及び器具を使用する。加熱できない成分を添加する場合には、滅菌後に適切な温度まで冷却した培地に無菌的に添加し、十分に混合する。

洗浄が十分でない器具などを使用して培地を調製すると、微生物の発育を阻害する物質が培地に混入するおそれがある。阻害物質は、器具などの洗浄後の残留洗剤、その器具などを洗う前に使用した物質あるいは未使用の器具であっても製造時の残留物などに由来する。洗浄工程では、確実に残留物及び異物を除去し、最後に精製水などを用いて洗剤などを完全に洗い落とす。

培地の滅菌は、供給業者から提供されたパラメーター(温度、圧力、保持時間など)又はユーザーによって検証されたパラメーターの範囲内で実施する。熱に対して不安定な培地成分が含まれる場合を除き、高圧蒸気滅菌が望ましい。培地組成によっては、ろ過による滅菌が適切な場合もある。

高圧蒸気滅菌器を使用する場合には、積載物の載荷形態(ローディングパターン: 容器の形状、大きさ、数及び配置並びに被滅菌物の種類及び液量など)に応じて、全ての被滅菌物の品温(培地温度)が指定された温度及び保持時間を満たす滅菌サイクル(被滅菌物の品温が指定温度に上昇するまでの工程及び滅菌終了から被滅菌物を適切に取り出せる温度に下降するまでの工程を含む)で行う。温度の上昇が緩やかとなる滅菌サイクルは培地の過熱を招く場合もある。一般的に被滅菌物の液量が多くなると滅菌サイクルはより長くなるが、総量が同じであっても小分け容器の大きさ及び数にも影響されるので、適切な条件を選択する。滅菌サイクルの完了後は速やかに培地を取り出し、必要に応じて培地を冷却する。滅菌サイクルの影響を、培地の無菌性(微生物汚染がないこと)の確認と共に培地性能試験(微生物限度試験法(4.05)、無菌試験法(4.06)など参照)によって検証する。

不適切な調製を行うことにより、発育促進特性や選択特性が低下したり、色調、透明度、ゲル強度、pHなどの性状が許容範囲から逸脱する場合があるので留意する。

培地のpHは、滅菌バッチ(一度に滅菌する単位。以下「バッチ」という。)ごとに試験サンプルを無菌的に抜き取り、常温又は別に規定された温度まで冷却した後に確認する。規定された温度で測定できない場合には、規定された温度に補正したpHとする。カンテン培地表面に対しては先端が平らなpH電極が、液体に対しては浸漬型のpH電極が推奨される。培地のpHは、指定された範囲内とする。ただし、培地性能試験や適合性試験(微生物限度試験法(4.05)、無菌試験法(4.06)など参照)により、更に広い範囲が許容されることが確認された場合を除く。

調製した培地(カンテン平板培地や試験管などに分注した培地)は、名称、バッチ番号、調製日などで識別する。また、下記の事項に留意する。

- (i) 容器の破損
- (ii) 容器間の分注量の不均一
- (iii) 培地成分などの付着による容器の汚れ
- (iv) 褐色化又は変色
- (v) 気泡
- (vi) 酸化還元電位指示薬の状態(該当する場合)
- (vii) 溶血(該当する場合)
- (viii) 結晶などの形成
- (ix) 亀裂や窪みを生じるような乾燥
- (x) 微生物による汚染

1.2. 培地の保存

培地及び培地成分を保存する場合には、品質低下を防ぐために、入手するまでの輸送条件も含め、下記の事項に留意する。

- (i) 乾燥、蒸発、吸湿
- (ii) 温度
- (iii) 微生物汚染
- (iv) 異物の混入
- (v) 破損

また、培地又は培地成分には、名称、バッチ又はロット番号、保存条件、使用期限などを表示し、識別する。

調製後の培地の保存条件及び使用期限については、設定した条件で保存した場合に、使用期限の最後まで当該培地の性能が許容基準を満たしていることを、培地性能試験やその他の必要な品質試験により検証し、安定性を確認して設定する。

長期間保存する場合には、水分の蒸発を防ぐことができるような包装材、包装形態、容器及び栓を選択する。また、必要に応じて遮光する。カンテン培地は、凍結によりカンテンのゲル構造が破壊されるため、凍結を避けて保存する。

なお、保存後に再融解したカンテン培地については、性能試験を実施し、適合性を確認した上であれば、確認された使用期限内で使用することは差し支えない。また、カンテン培地の再融解は、過熱による品質低下や汚染の可能性を避けるため、1回までとするのが望ましい。再融解は、加熱した水浴中又は流通蒸気中で行うことを推奨する。培地の融解に電子レンジや加熱プレートを使用することは、培地全体に均一に熱がかからず過熱による培地の劣化や容器の破損などが発生する可能性があるため、留意する。

滅菌直後のカンテン培地又は再融解した培地は、45～50℃又は別に規定された温度で保持するが、品質低下や汚染のリスクを考慮して、長時間の保持は避ける。また、水浴で保持する場合は、ペトリ皿への分注時の水槽水由来の汚染に注意する。

使用した培地や期限切れの培地を廃棄する際は、必要に応じ

て滅菌し、汚染防止に配慮する。

1.3. 品質管理試験

調製された全ての培地について、バッチ又はロットごとに下記の品質管理試験を行う。調製された培地には、市販生培地及びキット化された培地(スワブ、ストリップなどとセットになったもの)も含まれる。

- (i) 培地性能(発育促進特性、必要に応じて選択特性や鑑別特性)
- (ii) pH(市販生培地は必要に応じて)
冷蔵状態で購入又は保存した培地は、常温又は別に規定された温度に戻して確認する。
- (iii) 無菌性(微生物汚染がないこと)

無菌医薬品製造区域のグレードA及びBの環境モニタリング用培地は、多重包装品を使用するか若しくは外装を消毒又は除染し、定められた手順で搬入する。包装後の滅菌処理がされていない培地は、制御された環境への外来汚染及び偽陽性結果を防ぐために、使用する前に全ての培地(全数)を培養することにより、微生物汚染がないことを確認する。

なお、市販生培地には試験成績書が添付されており、そこには培地性能試験に使用した標準微生物株と共に、保存条件及び使用期限が記載されている。受入時に供給業者から試験のデータ入手し、書面又は現地調査などによりそのデータが信頼できるものであり、培地性能試験結果及び使用期限の妥当性について確認できれば、バッチ又はロットごとではなく、定期的に品質管理試験を行うことでもよい。

培地と同様に品質管理試験が必要なものとして、グラム染色試薬やオキシダーゼ試薬などの微生物同定試験用試薬がある。これらは、受入時又は使用時に、適切な標準微生物株を選定して品質管理試験を行う。

2. 微生物株の維持管理

微生物試験の精度と結果の再現性を保つ上で、保存微生物株を適切に取り扱うことは非常に重要である。試験室での微生物株の保存及び取扱いは、汚染に注意し、当該微生物の増殖特性の変化を最小とするような方法で行う。公定法で使用する微生物株は、微生物保存機関又は適切な供給業者から、凍結品、凍結乾燥品、斜面培養品又は調製済みの形態で入手できる。入手した微生物株は、品質管理試験に使用する前又は使用時に、選択性のない平板培地に塗抹し、出現コロニーが単一であることなどで他の菌の混入がないことを確認する。また、必要に応じて、分与された菌種の確認を行う。

保存用微生物株は、微生物保存機関などから指定された方法で復元する。微生物株の保存の管理には、シードロット培養管理手法(シードロットシステム)の適用が推奨される。シードロットシステムとは、継代による性状変化を避けるために保存微生物株の継代回数を管理するシステムである。一継代は、新鮮培地への移植培養として定義する。どのような形態の移植培養でも、継代とみなす。管理に当たっては、少なくとも下記の事項に留意する。

- (i) 微生物保存機関などから入手した微生物株を復元(継代回数1回目)して得られた培養物を、1世代目として数える。
- (ii) 継代回数を管理する。
- (iii) 培地性能試験や適合性試験に用いる微生物株については、継代回数5回を超えて使用しない。

微生物株の保存には、凍結保存法、乾燥保存法、継代培養保存法などがあるが、凍結保存する場合の一例を示す。微生物保存機関などから入手した標準微生物株を適切な培地で復元培養し、生育させる。この培養菌(1世代目)の一部を凍結障害を防ぐ保護剤を含む溶液に懸濁してバイアルなどに移し、菌種に応じて適切な温度で凍結保存する。多くの微生物株は -70°C 以下に維持することにより長期間の保存が可能となる。2世代目以降を大量に作製しておけば、標準微生物株の入手及び調製の頻度を下げることができる。

一度開封した容器は、保存微生物株の生育能力の低下と汚染のリスクを避けるため、再凍結せずに廃棄する。

3. 参考資料

- 1) WHO: WHO Good Practices for Pharmaceutical Microbiology Laboratories (WHO Technical Report Series, No.961, Annex 2, 2011).
- 2) US Pharmacopeia 43 (2020), <1117> Microbiological Best Laboratory Practices.

微生物試験における微生物の取扱いのバイオリスク管理〈G4-11-181〉

本参考情報は、一般試験法の微生物学的試験法(4.02抗生物質の微生物学的力価試験法、4.05微生物限度試験法、4.06無菌試験法)、生薬試験法(5.02生薬及び生薬を主たる原料とする製剤の微生物限度試験法)、参考情報のG3.生物薬品関連(日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件〈G3-13-141〉、バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験〈G3-14-170〉)、G4.微生物関連(保存効力試験法〈G4-3-170〉、微生物迅速試験法〈G4-6-170〉、遺伝子解析による微生物の迅速同定法〈G4-7-160〉、蛍光染色による細菌数の迅速測定法〈G4-8-152〉、消毒法及び除染法〈G4-9-170〉)などの実施に際して考慮すべき微生物の安全な取扱いにおける基本要件を示すものである。

微生物を取り扱う作業に当たり、試験実施により生じるバイオリスクを的確に管理することが求められる。微生物を取り扱う際のリスクは、微生物の特性と取扱い作業内容により異なるため、そのリスクマネジメントにおいては、個々の作業ごとにリスクアセスメントを行ってリスクを特定、分析及び評価し、微生物取扱いを防護すると共に、実験室パイオセーフティ上及びパイオセキュリティ上のリスクを低減することが必要である。その実践に際しては、組織内にバイオリスク管理に関する責任者及び担当者を置き、運営のための規則と計画の策定に当たる。リスクを低減するために安全管理、個人用防護具、安全機器及び物理的封じ込め施設・設備の4要素を組み合わせる実験室パイオセーフティ対策を行う。構築したリスクマネジメント方法は、継続的なリスクレビューにより更新する¹⁾。

微生物の取扱いにおけるバイオリスク管理に必要な基本的な考え方を以下に示す。

1. 用語の定義

本参考情報で用いる用語の定義は、次のとおりである。

- 1.1. 実験室(Laboratory)：検査、試験、研究のための実験などを行う目的で微生物を取り扱う施設・設備。

1.2. **バイオハザード (Biohazard)** : 生物及び生物由来物質による災害。

1.3. **微生物リスクレベル分類** : 微生物取扱者及び関連者に対する微生物のリスクを分類したもの。

1.4. **実験室バイオセーフティ (Laboratory Biosafety)** : バイオハザードのリスクに応じたリスク低減対策をバイオセーフティと呼ぶ。病原体又は毒素の意図しない曝露や拡散及び偶発的漏洩を予防するのが目的である。その中でも、実験室バイオセーフティは、安全管理、個人用防護具、安全機器及び物理的封じ込め施設・設備の4要素を組み合わせて行う。

1.5. **実験室バイオセーフティレベル (Biosafety Level, BSL)** : 実験室バイオセーフティを実践する4要素の組合せによりBSL1からBSL4に分けられ、個々のBSLに応じたリスク低減対応策を構築する。

1.6. **バイオセキュリティ (Biosecurity)** : 防護・監視を必要とする重要な生物材料 (Valuable Biological Materials) への不正アクセス、紛失、盗難、濫用、悪用、流用又は意図的な放出を防止するための実験施設内における防御や制御を示す。

1.7. **バイオリスク (Biorisk)** : 実験室バイオセーフティ及びバイオセキュリティ上の両方を併合し、危害をもたらす有害な事象 (偶発的感染、不正アクセス、紛失、盗難、濫用、悪用、流用又は意図的な放出など) が起こる可能性や機会の全てを含む。

1.8. **バイオリスクマネジメント (Biorisk Management)** : リスクアセスメント (Assessment)、リスク低減 (Mitigation)、実施 (Performance) の3要素で構成されている。

1.9. **微生物取扱者** : 実験室において直接微生物を取り扱う者及び実験室施設の維持管理のために実験室へ入室する者。

1.10. **関連者** : 微生物取扱者と直接あるいは間接的に接触する実験室使用者、微生物取扱者の同僚あるいは同居人など感染の可能性がある者。

1.11. **標準微生物学実験手技 (Good Microbiological Technique, GMT)** : 微生物を安全に取り扱う標準的技術。技術取得のための教育プログラム、標準作業手順書、規則などの整備を含む。

1.12. **個人用防護具 (Personal Protective Equipment, PPE)** : 微生物取扱者をバイオハザードから防護するために個人で装着する用具一式。例えば、マスク、呼吸器保護具、ゴーグル、手袋、防護服、靴カバーなど。

1.13. **安全機器 (Safety Equipment)** : 微生物取扱者を生物学的危険物質曝露から防護する装置、機器、器材一式。例えば、電動ピペット、密閉容器、生物学用安全キャビネット (Biological Safety Cabinet) など。生物学用安全キャビネットは、機器内で発生したエアロゾルの機器外への漏出を防ぐことを目的とした装置のことで、開口部に気流によるエアバリアを形成して機器内外を隔絶する開放型と閉鎖されたグローブボックス型の装置がある。

1.14. **物理的封じ込め施設・設備 (Physical Containment)** : 微生物リスクレベル分類に応じて微生物の取扱いを安全上管理する施設・設備。物理的封じ込めレベルによりP1からP4までの4段階に分類される。

1.15. **管理区域** : バイオリスク管理が必要な区域。微生物取扱い実験室の他、バイオハザードのリスクがあると考えられる廃棄物処理施設・設備、排水処理施設・設備、空調機械室など

を含む。

2. 微生物取扱いにおけるリスクアセスメント

個々の試験の実施計画において微生物取扱い作業に伴う以下のリスクについて評価する。

2.1. 実験室バイオセーフティ上問題になるリスク

2.1.1. 微生物の特性によるリスク

(i) 微生物のリスクレベル分類によるリスク

微生物は、分類上の種や株ごとにヒトに危害を及ぼす程度が異なることから、微生物に感染した場合の微生物取扱者の症状や関連者への影響を考慮し、リスクが低いものから順に微生物リスクレベル1から4までに分類する (表1)。個々の微生物リスクレベルの分類は、国や地域、対象 (ヒトや家畜)、有効な治療法や予防法の有無、感染の成立に必要な最少感染量、感染経路、使用する量、作業内容などによって異なる。なお、国内に存在しない微生物は高いリスクレベルに分類する場合が多い。

表1 微生物リスクレベル分類

微生物リスクレベル	基準
1	微生物取扱者及び関連者に対するリスクが無いか低いリスク。ヒトあるいは動物に疾病を起こす見込みがないもの (健康人に病気を発生させることのないもの)。
2	微生物取扱者に対する中程度のリスク、関連者に対する低いリスク。ヒトあるいは動物に感染すると疾病を起こし得るが、微生物取扱者や関連者に対し、重大な健康被害を起こす可能性が低いもの。有効な治療法、予防法があり、関連者への伝播のリスクが低いもの、すでに多くの者が免疫をもっており感染を容易に予防できるもの。
3	微生物取扱者に対する高いリスク、関連者に対する低いリスク。ヒトあるいは動物に感染すると重篤な疾病を起こすが、通常、感染者から関連者への伝播の可能性が低いもの。有効な治療法、予防法があるもの。
4	微生物取扱者及び関連者に対する高いリスク。ヒトあるいは動物に感染すると重篤な疾病を起こし、感染者から関連者への伝播が直接又は間接に起こり得るもの。通常、有効な治療法、予防法がないもの。

(ii) 微生物の感染経路や曝露経路によるリスク

微生物取扱者に曝露が想定される微生物の感染経路を検討する。自然感染では口腔、鼻腔、眼の粘膜が感染経路になりやすく、粘膜への接触、経口感染、飛沫感染、空気感染、媒介昆虫の有無などを検討する。実験室内感染においては、針刺し感染、皮膚の傷からの感染、器具などの汚染物への接触による感染に留意する。

(iii) 宿主の感受性によるリスク

使用する微生物に対する微生物取扱者の感受性が異なるリスクについて検討する。ワクチンが存在する微生物の場合、適切なワクチン接種により微生物取扱者に抵抗性を付与し、当該感染症の発症などのリスクを減らすことができる。

(iv) 関連法規に定める微生物によるリスク

法律²⁻⁵⁾により定められている微生物種、株及び毒素は、それらの使用、所持、保管、移動などに当たり、関連する法律を遵守する。一般的事項については、それらを詳述した法令、通知、事務連絡などを参照する。

2.1.2. 取扱い作業によるリスク

(i) 取り扱う微生物の形状や量によるリスク

ビペット操作などは飛沫やエアロゾルを発生する場合が多く、微生物を含むエアロゾルは気流によって広範囲に拡散するリスクが大きい。取り扱う微生物種、株及び毒素の量が多くなるに従い、それらに付随するリスクが高くなることを考慮する。

(ii) 微生物取扱い者の技量によるリスク

取り扱う微生物に関する十分な知識を有しない者又は適切な微生物の取扱い方法について十分な教育・訓練を受けていない者の作業は、リスクが高くなることを考慮する。

(iii) 取り扱う器具の形状によるリスク

ガラス器具を作業に用いることは、破損によって微生物を含む内容物の汚染リスクが高くなるだけでなく、破損物で生ずる傷などを介して感染するリスクが高くなることを考慮し、ガラス器具を用いる際には、リスクを考慮して用途を検討する。

(iv) 作業内容に伴うリスク

液体又は粉体を含む容器の開封、ビペット又はピペッターを用いた液体の取扱い、ボルテックスミキサーによる液体の攪拌、遠心分離後の上清を他の容器に移し替える操作などは、エアロゾルを発生させるリスクが高くなることを考慮する。

(v) 作業工程ごとのリスク

作業工程が複数ある場合、各工程の作業内容によりリスクが異なることを考慮する。

(vi) 微生物の受入・分与のリスク

微生物、株及び毒素の受入・分与に伴い、新たなリスクが生じることを考慮する。

(vii) 微生物移動時のリスク

微生物を含む試料を移動する際には、管理区域内移動と管理区域外への移動の場合でリスク(外部への影響)が異なることを考慮する。

(viii) 感染性廃棄物のリスク

作業中に微生物で汚染した全ての器具や試料は、消毒、除染又は滅菌して微生物を不活化させるまでは感染のリスクがある感染性廃棄物として取り扱う。

(ix) 緊急時のリスク

微生物取扱い者の微生物曝露、施設・設備の汚染、微生物の管理区域外漏洩などが発生した時の緊急時対応を考慮する。

2.2. バイオセキュリティ上問題になるリスク

微生物を取り扱う施設への入室管理や微生物の保管管理方法が適切にとられていない状況は、微生物への不正アクセス、紛失、盗難、濫用、悪用、流用、意図的な放出などがバイオセキュリティ上のリスクになる。

3. 微生物取扱いにおけるリスク低減対策

評価により明らかになった各リスクに対しては、微生物取扱い者や関連者にリスクを及ぼさないように、必要な対策を講じてリスクを低減する。実施に当たっては、以下の内容を含む。

3.1. バイオリスクマネジメント体制の構築

微生物を保有し、取り扱う機関は、微生物取扱い者の人数に係わらず、バイオリスクマネジメントに関する管理組織の構築が求められる⁶⁻⁸⁾。

- ・管理組織における役割、権限、責任を明確にする。
- ・バイオリスクマネジメントに関する責任者を置く。
- ・バイオリスクマネジメントの担当者を置く。
- ・バイオリスクマネジメント運営のための規則並びに計画を策

定する。

実施する内容には、以下のものがある。

- ・実験室バイオセーフティ上問題になるリスクを低減する。
- ・バイオセキュリティ上問題になるリスクを低減する。
- ・バイオリスク教育・訓練を実施する。
- ・管理区域の施設・設備の維持管理計画を策定して実施する。
- ・関連法規を遵守する。

3.2. 実験室バイオセーフティ上問題になるリスクの低減

微生物取扱いにおけるリスク低減対策には、主なものとして安全管理、個人用防護具、安全機器・器材、物理的封じ込め施設・設備の4要素がある。バイオリスクに応じて4要素を組み合わせた実験室バイオセーフティ対策(表2)を行い、リスクを低減する⁹⁾。

表2 実験室バイオセーフティレベル(BSL)分類と対策

BSL分類	安全管理	個人用防護具	安全機器	施設・設備 (物理的封じ込めレベル)
BSL1	標準微生物学実験手技及び管理体制(管理組織、取扱い手順書、教育・訓練)	個人用防護具	安全機器	P1(基本実験室)
BSL2	BSL1の要求に加えて、微生物リスクレベル2に対応した標準微生物学実験手技	BSL1の要求に加えて、微生物リスクレベル2に対応した個人用防護具	BSL1の要求に加えて、微生物リスクレベル2に対応した安全機器	P2(微生物リスクレベル2に対応した基本実験室)
BSL3	BSL2の要求に加えて、微生物リスクレベル3に対応した専用標準微生物学実験手技	BSL2の要求に加えて、微生物リスクレベル3に対応した専用個人用防護具	BSL2の要求に加えて、微生物リスクレベル3に対応した専用安全機器	P3(物理的封じ込め実験室)
BSL4	BSL3の要求に加えて、微生物リスクレベル4に対応した専用標準微生物学実験手技	BSL3の要求に加えて、微生物リスクレベル4に対応した専用個人用防護具	BSL3の要求に加えて、微生物リスクレベル4に対応した専用安全機器	P4(高度物理的封じ込め実験室)

各微生物リスクレベルに応じた総合的なリスクマネジメント方法をBSL1からBSL4に分類し、BSLの数値が上がるにつれて、新たに発生、懸念されるリスクに応じて対応策を順次追加、強化する。特にBSL3及びBSL4では、専用の標準微生物学実験手技、個人用防護具及び安全機器を用いる必要がある。

(i) 安全管理(Safety Management)

安全管理には、関連する全ての事項を含み、以下のものが必要である。

- ・微生物の安全な取扱いに必要な諸項目に関する規則を策定する。
- ・標準微生物学実験手技(GMT)に基づく標準作業手順書を整備する。
- ・標準微生物学実験手技(GMT)を取得するため、継続的な教育・訓練を行う。
- ・微生物取扱い者の健康管理に関し、使用する微生物に対するワクチンなどの効果的な予防法がある場合には、微生物取扱

い者のワクチン接種歴を活用する仕組みを導入する。

- ・緊急時対策を整備する。
- ・バイオリスク教育・訓練を実施する。

(ii) 個人用防護具

作業時には、適切な個人用防護具(PPE)を用い、微生物曝露のリスクを低減する。個人用防護具(PPE)は、取り扱う微生物の特徴と感染経路及び作業内容によって適切なものを選択する。

(iii) 安全機器

電動ピペットなどを用い、微生物取扱いが直接微生物に接触することが無いようにする。器具・器材は破損しにくい材質の漏出しにくい容器を使用する。注射針などの鋭利な器具を廃棄する際は、鋭利な器具が貫通しない容器(注射針回収容器など)に廃棄する。

微生物を開放系で取り扱う作業は、生物学用安全キャビネットなどの中で行い、発生するエアロゾルに含まれる微生物の曝露や作業場所への拡散のリスクを低減する。エアロゾル感染のリスクが高い試料は、エアロゾルを封じ込める対策を施した遠心機を使用する。生物学用安全キャビネットなどの中で使用した安全機器などは、生物学用安全キャビネットなどの中で消毒後に持ち出す。

微生物(芽胞や孢子を含む)は、封じ込め性能が担保されていないクリーンベンチで取扱わない。

(iv) 物理的封じ込め施設・設備

微生物の特性及び作業内容をもとにリスクアセスメントでリスクレベルを設定し、必要な物理的封じ込め施設・設備を使用する。施設・設備には、封じ込めレベルごとに定められた要件があり^{10, 11)}、物理的封じ込めレベル3(P3)以上の施設・設備では、作業中に発生する微生物を含むエアロゾルによる微生物取扱いが者への曝露の防止と周辺への漏洩を防止する有効な対策が必要である。

(v) 微生物受入・分与時のリスク低減

受入及び分与に際しては、関連する法律²⁻⁵⁾を遵守する。機関内に新たに微生物を受け入れる際には、その機関において微生物リスクをアセスメントして実験室バイオセーフティレベル(BSL)を設定すると共に、緊急時や曝露時の対応策など必要事項を事前に決めておく。分与に際しては、事前に分与先の実験室バイオセーフティを確認する。一般的事項については、それらを詳述した法令、通知、事務連絡などを参照する。

(vi) 微生物移動時のリスク低減

微生物試料を移動する際は、管理区域内での移動においても適切な漏洩防止策をとる。管理区域外に移動する際には、試料が漏れない三重梱包を施すことが基本となる¹²⁾。施設外に移動する際には、法律²⁻⁵⁾を遵守する。

(vii) 感染性廃棄物のリスク低減

感染性廃棄物は、対象となる微生物に適切な薬剤又は高圧蒸気滅菌法などにより確実に不活化する。不活化処理は、管理区域内で完結する。

(viii) 緊急時のリスク低減

微生物の曝露、漏洩などの緊急事態が発生した場合に備えて、適切な対処方法を文書化する。対処方法には、連絡方法、連絡網の整備、具体的な対処方法、必要な器材・器具の備蓄、それらに対する教育・訓練を含む。それらを実施する組織体制を確立しておく。

3.3. バイオセキュリティ上問題になるリスクの低減

バイオセキュリティ上問題になるリスクの低減には、以下の内容を含む¹³⁾。

(i) 微生物取扱いが者のアクセスコントロール

- ・ID管理
- ・微生物取扱いが者の登録管理
- ・施錠
- ・入退室管理

(ii) 微生物のコントロール

- ・微生物の保管出納管理

3.4. バイオリスク教育及び訓練

微生物取扱いが者の技量の向上のため、微生物の取扱いに関するリスクの理解とその対策に関する教育訓練を行う。微生物の特性、作業によるリスク、標準微生物学実験手技(GMT)の取得と訓練、緊急時対応などが重要である。教育・訓練は、繰り返し行う。

3.5. 関連法規の遵守

法律²⁻⁵⁾で指定される特定微生物などの取扱いについては、微生物や毒素の所持、出納管理、移動などについて、関連する法律を遵守する。一般的事項については、それらを詳述した法令、通知、事務連絡などを参照する。

4. バイオリスクマネジメントのレビューと更新

バイオリスクマネジメントが有効に機能していることを評価するため、リスクアセスメント(Assessment)、リスク低減(Mitigation)、実施(Performance)が適切に行われていることを定期的にレビューし、マネジメント計画を更新する。適切に管理する手法として例えば計画Plan-実行Do-評価Check-改善Act (PDCAサイクル)などがある。

5. 参考資料

- 1) 日本薬局方、参考情報「品質リスクマネジメントの基本的考え方(G0-2-170)」。
- 2) 平成10年法律第114号「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」(平成11年4月1日施行)。
- 3) 昭和26年法律第166号「家畜伝染病予防法」(昭和26年6月1日施行)。
- 4) 昭和25年法律第151号「植物防疫法」(昭和25年5月4日施行)。
- 5) 平成15年法律第97号「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(カルタヘナ法)」(平成16年2月19日施行)。
- 6) CEN (European Committee for Standardization), CWA (CEN Workshop Agreement) 15793「Laboratory biorisk management」, 2011年9月。
- 7) ISO/DIS 35001: 2019, Biorisk management for laboratories and other related organisations.
- 8) CEN (European Committee for Standardization), CWA (CEN Workshop Agreement) 16393「Laboratory biorisk management-Guidelines for the implementation of CWA 15793: 2008」, 2012年1月。
- 9) WHO, Laboratory biosafety manual Third Edition, 2004. ISBN 92-4-154650-6.
- 10) 昭和36年2月1日厚生省令第2号「薬局等構造設備規則」第八条「特定生物由来医薬品の製造者等の製造所の構造設備」。

- 11) 平成16年12月24日厚生労働省令第179号「医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令」第二章第四節「生物由来医薬品の製造管理及び品質管理」。
- 12) WHO, Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014.
- 13) WHO, Biorisk management: Laboratory biosecurity guidance, 2006.

微生物学的試験法の適合性試験等における留意事項〈G4-12-190〉

本参考情報は、微生物限度試験法〈4.05〉、無菌試験法〈4.06〉、生薬及び生薬を主たる原料とする製剤の微生物限度試験法〈5.02〉及び参考情報「保存効力試験法〈G4-3-170〉」の適合性試験等における留意事項を示すものである。

1. 試験の実施

微生物学的試験法の適合性試験は、被験製品について微生物試験を初めて実施する際に、選択した試験法の微生物検出能力を確認するため、微生物試験の実施前又は同時に行うことが望ましい。試験結果に影響を及ぼすような試験法の変更や、製品の処方変更があった場合には、再度確認する。

2. 試験菌の選定及び調製

微生物には様々な性質を持つものが含まれ、その性質は抗菌活性に対する反応や回収に必要な中和法に影響を及ぼす。試験の目的に応じて、細菌、酵母及びかびの中から、代表する試験菌を選定する。

試験菌の発育状態や調製方法は、試験菌の細胞の生理活性に影響を及ぼす。試験菌は標準化された安定な懸濁液を使用するか、又は規定された液体培地若しくはカンテン培地を用いて調製された新鮮培養菌を使用することで、均質で変動の少ない調製又は再現性のある調製が可能となる。参考情報「保存効力試験法〈G4-3-170〉」においては、試験菌の生理活性が結果に影響を及ぼす可能性が高いため、新鮮培養菌を使用することが望ましい。

3. 試料調製

試料調製作業が被験製品に存在する微生物に影響を与える可能性がある場合には、その影響を確認する。試料液を供試するまで放置する場合には、菌数などに変化がないことを確認する。

4. 抗菌活性を有する試料に対する一般的な追加手順

被験製品に抗菌活性が認められ、その抗菌活性を除去するために試験法を変更する場合には、変更後の試験法で適合性試験を繰り返して結果の再現性を確認する。

4.1. 希釈

被験製品を希釈することで抗菌活性を中和する。有効な希釈倍率は、被験製品によって異なる。中和に必要な希釈倍率が大い場合には、他の方法によって中和する。

なお、希釈することにより、製品試験において規定された微生物許容基準値(参考情報「非無菌医薬品の微生物学的品質特性〈G4-1-170〉」参照)での判定が困難となる場合には、適宜平板の使用枚数や培地の本数を増やすとよい。

4.2. 中和剤の使用

中和剤の使用については、微生物限度試験法〈4.05〉「I. 非

無菌製品の微生物学的試験：生菌数試験」の3.4.3.を参照する。阻害物質に対する一般的な中和剤は、微生物限度試験法〈4.05〉表4.05－I－2を参照する。

被験製品が抗生物質の場合には、一般的な中和剤による影響を受けにくく、酵素処理(ペニシリナーゼ、β-ラクタマーゼなど)による影響を受けやすい。酵素処理を行う場合は、最小発育阻止濃度(Minimum Inhibitory Concentration : MIC)などの情報を参考とし、適切な濃度で使用するとよい。

4.3. 膜ろ過

一般的にメンブランフィルターを用いて行う。メンブランフィルターには様々な材質があるため、被験製品の性質や成分を考慮し、適切な材質を選択する。例えば、抗菌活性のない試料にはセルロース混合エステルなど、水溶性、油性又は低濃度のアルコール性溶液にはセルロースナイトレートなど、高濃度のアルコール性溶液にはセルロースアセテートなどの材質のフィルターが用いられる。また、フィルターへの抗菌物質の吸着を低減させるために、ポリビニリデンフロライド(PVDF)などの低吸着性フィルターが用いられることもある。

被験製品中の抗菌物質を除去するために、フィルターを適切な溶液で洗浄することができる。適合性が確認できれば、フィルター上に残留若しくは吸着した抗菌物質の中和又は試料の懸濁化などを目的として、例えばポリソルベート80(濃度：1 g/L)のような界面活性剤を洗浄液に添加しても差し支えない。

5. 試験菌の接種

微生物限度試験法〈4.05〉及び生薬及び生薬を主たる原料とする製剤の微生物限度試験法〈5.02〉の生菌数試験において、試料液を調製する場合には、抗菌活性の影響を確認するため、最初に調製した試料液(最も低い希釈率)に試験菌を接種する。調製した試料液を更に希釈して供試する場合も、最初に調製した試料液に試験菌を接種する。中和剤を加えた希釈液を使用する場合にも、最初に調製した試料液に試験菌を接種する。希釈、中和剤の使用、膜ろ過などの様々な手段を講じても抗菌活性を除去又は中和できない場合には、調製可能な範囲で最大限に希釈した試料液や膜ろ過後のフィルターの最終洗浄液に試験菌を加えてもよい。なお、被験製品をそのまま膜ろ過に供する場合には、膜ろ過後のフィルターの最終洗浄液に試験菌を接種する。

6. 培地の追加

原則として、微生物試験で規定された培地の種類を変更することはできないが、被験製品の性質や成分又は汚染微生物の種類によっては、規定外の培地を用いる方が適切な場合もある。やむを得ない事情により、規定された培地に追加する場合は、以下の事項に留意する。

6.1. 生菌数試験用又は無菌試験用などの非選択培地の場合

微生物限度試験法〈4.05〉や無菌試験法〈4.06〉などを参考として培地性能試験を実施し、微生物検出能力を確認する。

なお、微生物には発育するために特定の成分を必要とするものや、逆に、特定の成分の存在下では発育できないものがある。非選択培地であっても、培地成分の違いによって、検出される微生物の数や種類及び発育した集落の外観が異なる可能性があることに留意する。

6.2. 特定微生物試験用の選択培地の場合

微生物限度試験法〈4.05〉などを参考として培地性能試験を実施し、微生物検出能力を確認する。培地成分の違いにより、鑑別反応が異なることに留意する。

7. 培養時間

培地性能試験及び適合性試験の培養時間は、それぞれ規定されている時間とする。

ただし、試験菌の増殖確認及び菌数測定が可能であることが確認された適切な時間を採用する。

なお、適合性が確認された試験法で実施する製品試験において、規定されている培養時間の中で最短の培養時間を採用する場合には、その妥当性を確認する。

8. 製品試験における集落数の計測

カンテン平板法での集落数の計測は、適切な希釈倍数で行う。製品試験では一般的に、細菌及び酵母では1平板当たり250 CFU未満、かびでは50 CFU未満の集落数を目安として計測する。計測後、培地ごとに算術平均をとり、希釈倍率を乗じて生菌数を算出する。

保存効力試験法〈G4-3-170〉

保存効力試験法は、多回投与容器中に充填された製剤自体又は製剤に添加された保存剤の効力を微生物学的に評価する方法である^{1, 2)}。製剤に試験の対象となる菌種を強制的に接種、混合し、経時的に試験菌の消長を追跡することにより、保存効力を評価する。

汚染微生物の増殖には、製品中の水分活性が重要な役割を果たしている。多回使用される医薬品では、使用される間に微生物の二次汚染による変質・変敗を起こす可能性があり、微生物汚染した医薬品を使用した場合は、薬効の低下のみならず汚染微生物により感染症を引き起こす危険性も高くなる。これらのことから多回使用される医薬品には、日本薬局方製剤総則において保存剤の配合が認められている。

医薬品GMPに対応するために、又は単に生菌数(細菌数及び真菌数)を抑制する目的のためだけに、保存剤を使用してはならない。保存剤は量によっては毒性を示すことから、ヒトへの安全性に影響を及ぼすような量を製剤に添加してはならず、保存剤の添加量を可能な限り少なくする配慮が必要である。本試験は、一般に製剤の処方設計段階や定期的な保存効力の検証などに適用され、ロットの出荷判定試験としては行わないが、製剤自体の抗菌作用又は製剤に添加された保存剤の効果は、製剤の有効期間にわたって検証しなければならない。なお、抗菌性保存剤含量の試験は、通常、出荷時に行う必要があるが、場合によっては、出荷判定試験の代わりに製造工程管理試験として行うことも可能である。

1. 製剤とそのカテゴリー

本試験を行うために、製剤を二つのカテゴリーに分類する(表1)。カテゴリーⅠは水溶性の基剤又は溶剤を用いて作られたもので、水分活性0.6以上の製品と定義する。カテゴリーⅡは非水溶性の基剤又は溶剤を用いて作られたものである。なお、水中油型基剤を用いて作られたものはカテゴリーⅠに、油中水型基剤を用いて作られたものはカテゴリーⅡに含まれる。

2. 試験菌株、培地性能及び生菌数測定法の適合性

2.1. 試験菌の調製

試験菌は、最初のマスターシードロットからの継代数5回を超えないように、シードロット培養管理手法(シードロットシ

表1 製剤のカテゴリー

カテゴリー	製剤の種類
I A	・注射剤 ・水性溶剤に溶解又は分散させた無菌の製剤(点眼剤、点耳剤、点鼻剤等)
I B	・水性溶剤に溶解又は分散、若しくは水溶性の基剤に混和させた非無菌の局所投与製剤(点耳剤、点鼻剤、吸入剤、その他粘膜に使用される製剤等を含む)
I C	・水性溶剤に溶解又は分散、若しくは水溶性の基剤に混和させた制酸剤以外の経口投与する製剤及び口腔内に適用する製剤
I D	・水性溶剤又は水溶性の基剤で調製した制酸剤
Ⅱ	・非水溶性の基剤又は溶剤を用いて作られた製剤で、カテゴリーⅠに記載している全ての剤形を含む。

ステム)を用いて管理する。細菌及び真菌の各試験菌について、表2に示す菌株、若しくはこれらと同等と考えられる菌株を使用し、表2に示す条件でそれぞれ個別に培養する。

これらの指定菌株に加えて、製剤の性質により混入して増殖するおそれのある微生物を試験菌株として使用することが望ましい。例えば、シロップ剤等の高糖濃度製剤には *Zygosaccharomyces rouxii* (NCYC 381; IP 2021.92 ; NBRC1960)を用いて試験することが望ましい。試験菌の培養は、カンテン培養又は液体培養のいずれかを採用する。

カンテン培養：上記5種の菌株をそれぞれカンテン平板培地又はカンテン斜面培地の表面に接種して培養する。カンテン培地としては、細菌の場合はソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地を、真菌の場合はサブロー・ブドウ糖カンテン培地を使用する。細菌の場合は30 ～ 35℃で18 ～ 24時間、*Candida albicans*は20 ～ 25℃で44 ～ 52時間、*Aspergillus brasiliensis*は20 ～ 25℃で6 ～ 10日間又は十分な孢子が形成されるまで培養する。細菌及び *C. albicans*は培養菌体を無菌的に採取し、生理食塩液に浮遊させ、約10⁸ CFU/mLの生菌を含む浮遊液を調製する。*A. brasiliensis*の場合には、ポリソルベート80を0.05%の割合で添加した生理食塩液に浮遊させ、約10⁸ CFU/mLの孢子を含む浮遊液を調製する。必要に応じて孢子浮遊液を、滅菌ガーゼやガラスウールなどでろ過して菌糸を除く。全ての調製菌は必要に応じて遠心分離して培地成分を取り除くこと。これらの浮遊液を接種菌液として使用する。

液体培養：上記4種(*A. brasiliensis*は除く)の菌株をそれぞれソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地又はサブロー・ブドウ糖液体培地で培養後、遠心分離して培地を除く。菌体は生理食塩液で洗浄して、同じ溶液で約10⁸ CFU/mLの生菌を含む接種菌液を調製する。

上記5種以外の菌株を培養する場合は、当該菌株の生育に適した培地を選んで使用することができる。浮遊液の調製もその菌に適した方法を採用する。カンテン培養法と液体培養法のいずれにおいても、得られた接種菌液を2時間以内に被検製剤に接種できない場合には、2 ～ 8℃に保存し、24時間以内に使用する。*A. brasiliensis*の孢子は、通常、7日間までは2 ～ 8℃に保存できる。接種菌液中の生菌数を使用直前に計測し、得られた菌数値より接種直後における製剤1 mL又は1 g当たりの理論接種菌数を算出する。

2.2. 培地性能

保存効力試験用の培地は、ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地、サブロー・ブドウ糖カンテン培地の中から

表2 試験菌株と培養条件

試験菌	株名	培地	培養温度	試験菌の培養期間
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739 NBRC 3972	ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地	30～35℃	18～24時間
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027 NBRC 13275	ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地	30～35℃	18～24時間
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538 NBRC 13276	ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地 ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地	30～35℃	18～24時間
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231 NBRC 1594	サブロー・ブドウ糖液体培地 サブロー・ブドウ糖カンテン培地	20～25℃	44～52時間
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404 NBRC 9455	サブロー・ブドウ糖カンテン培地	20～25℃	6～10日間

適当なものを用いる。他の培地等でも類似の栄養成分を含み、かつ、試験対象となる微生物に対して類似の増殖性を持つものは使用して差し支えない。使用する培地は、表2に指定する菌株、若しくはこれらと同等と考えられる菌株を用いて培地性能試験を実施する。培養日数は、ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地の場合は3日以内、サブロー・ブドウ糖カンテン培地の場合は5日以内とする。

カンテン培地では、得られる集落数は標準化された菌数の計測値の50%以上でなければならない。新鮮培養菌を用いて試験する場合は、有効性が確認された培地パッチ以前に得られた発育と同等の発育が認められなければならない。

2.3. 生菌数測定法の適合性

試験製剤1 mL又は1 g以上をとり、9倍量の生理食塩液又は他の適切な中和液で希釈し(10^{-1} 希釈)、攪拌後、更に連続10倍希釈を行う(10^{-2} , 10^{-3} 希釈)。試験菌ごとに各試験製剤希釈液の適量を試験管にとり、適切な数の試験菌を接種し、一平板当たり細菌及び*C. albicans*は250 CFU以下(理想的には25～250 CFU)、*A. brasiliensis*の場合は、80 CFU以下(理想的には8～80 CFU)になるように、適切な量を少なくとも2枚(又は計測のパラツキを最小とするためにそれ以上)のペトリ皿に分注する。本手法の陽性対照として、同じ試験菌を同量、生理食塩液に接種し、同じようにペトリ皿に分注する。試験製剤の希釈液は、陽性対照菌数に比較し、50%以上の菌回収率を示すものとする。発育が阻害される場合は、試料液の調製に用いる緩衝液や液体培地並びにカンテン培地に効果的な不活化剤を添加することができる。ただし、不活化剤が微生物の増殖に影響を与えないことを確認する必要がある。保存剤や製剤そのものの存在が生菌数測定に影響し、かつ適当な不活化剤のない場合は、微生物限度試験法〈4.05〉に記載されているメンブランフィルター

法により生菌数を測定する。生菌数測定法の適合性は、試験材料や試験方法に変更があった場合、又は製剤に試験結果に影響を及ぼすような変更があった場合には再度確認すること。適合性の確認において、接種菌数に対する回収菌数が50%以上の場合には、0日目の混合試料中の生菌数は、接種菌数から換算した理論値としてもよい。カテゴリーⅡ製剤は、3.2項を参考に適切な方法で生菌数を測定する。

3. 試験手順

3.1. カテゴリーⅠ製剤

製剤を含む容器5個のそれぞれの中に接種菌液を無菌的に注入し、均一に混合する。なお、試験菌は混合せず、それぞれ単独に製剤に混入して試験する。製剤の容器中に菌液を無菌的に混合しにくいとき、又は製剤1容器当たりの量が少ない場合には、滅菌した別の容器に試験に必要な十分な量の製剤を無菌的に移して接種菌液を混合する。非無菌製剤の場合、これらに加えて菌を接種しない製剤を対照として保存し、生菌数を測定する。混合する接種菌液の量は製剤の0.5～1.0%とする。通常、製剤1 mL又は1 g当たり $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ CFUの生菌数になるように接種、混合する。カテゴリーⅠD製品(制酸剤)の場合は、製品1 mL当たり $1 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ CFUの生菌数となるように接種する。これらの容器を遮光下で20～25℃に保存し、0、7(カテゴリーⅠAのみ)、14及び28日目に混合試料中の生菌数を測定する。上記の期間中、混合試料に顕著な変化(例えば、色調の変化、異臭の発生、かびの発生等)が観察されたときは記録し、当該製剤の保存効力について評価検討する。生菌数の経時的な変化は、接種菌数(CFU/mL又はg)からの対数減少値で表される。生菌数測定は、原則として微生物限度試験法〈4.05〉に記載されているカンテン平板法(カンテン平板混釈法、カンテン平板表面塗抹法)、又はメンブランフィルター法による。本試験法との同等性が示されている場合は、カテゴリーⅠ及びⅡ製剤に自動化を含む別の微生物学的方法を用いてもよい³⁾。

3.2. カテゴリーⅡ製剤

カテゴリーⅠで示された手順と同様に行うが、試験菌を製剤と均一に混和する場合及び混合試料中の生菌数を測定する場合に、特別の手法と配慮が要求される。

半固形の軟膏基剤製品では、試料を45～50℃に加熱して油状とし、浮遊液を加えて滅菌ガラス棒又はスパーテルで接種菌を均一に分散させる。均一に混合されるように、界面活性剤を加えてもよいが、添加される界面活性剤が接種菌の生残性や増殖性に影響を与えず、かつ、製剤の保存効力を増強させないことを確認する必要がある。生菌数測定のために混合試料を緩衝液や液体培地に均一に混合するときも、界面活性剤や乳化剤を添加することが望ましいこともある。特に、半固形の軟膏剤や油性製剤などに接種された微生物を緩衝液や液体培地中に均一に分散させるには、ソルビタンモノオレイン酸エステル、ポリソルベート80、レシチンなどを使用するとよい。これらは汎用されている保存剤の多くを不活化、又は中和させる作用がある。

4. 判定

保存効力の判定は、表3に従う。表3に記されている試験結果が得られた場合、本試験に適合と判定する。なお、無菌製剤に接種菌以外の菌が発見されたときは、重大な微生物汚染が起こっている可能性が強く、試験操作上又は製造管理上の注意を要する。また、非無菌製剤中の汚染菌数が、参考情報「非無菌

医薬品の微生物学的品質特性〈G4-1-170〉」に定める菌数を超える場合にも、試験操作上又は製造管理上の注意を要する。
 “菌数から増加しないこと”とは、先の測定値からの増加が0.5 log10以下であることをいう。

表3 製剤区分別判定基準

カテゴリー	微生物	判定基準
I A	細菌	7日後：接種菌数に比べ1.0 log以上の減少 14日後：接種菌数に比べ3.0 log以上の減少 28日後：14日後の菌数から増加しないこと
	真菌	7日後、14日後、28日後：接種菌数から増加しないこと
I B	細菌	14日後：接種菌数に比べ2.0 log以上の減少 28日後：14日後の菌数から増加しないこと
	真菌	14日後、28日後：接種菌数から増加しないこと
I C	細菌	14日後：接種菌数に比べ1.0 log以上の減少 28日後：14日後の菌数から増加しないこと
	真菌	14日後、28日後：接種菌数から増加しないこと
I D	細菌	14日後、28日後：接種菌数から増加しないこと
	真菌	14日後、28日後：接種菌数から増加しないこと
II	細菌	14日後、28日後：接種菌数から増加しないこと
	真菌	14日後、28日後：接種菌数から増加しないこと

5. 培地等

保存効力試験用の培地を以下に掲げる。他の培地等でも類似の栄養成分を含み、かつ、試験対象となる微生物に対して類似の選択性や増殖性を持つものは使用して差し支えない。

(i) ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地

カゼイン製ペプトン	17.0 g
ダイズ製ペプトン	3.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
リン酸水素二カリウム	2.5 g
ブドウ糖一水和物	2.5 g
水	1000 mL

滅菌後のpHが25℃で7.1 ～ 7.5になるようにpHを調整する。
 確認されたサイクルで高圧蒸気滅菌する。

(ii) ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地

カゼイン製ペプトン	15.0 g
ダイズ製ペプトン	5.0 g
塩化ナトリウム	5.0 g
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

滅菌後のpHが25℃で7.1 ～ 7.5になるようにpHを調整する。
 確認されたサイクルで高圧蒸気滅菌する。

(iii) サブロー・ブドウ糖カンテン培地

ブドウ糖	40.0 g
ペプトン(肉製及びカゼイン製1：1)	10.0 g
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

滅菌後のpHが25℃で5.4 ～ 5.8になるようにpHを調整する。
 確認されたサイクルで高圧蒸気滅菌する。

(iv) サブロー・ブドウ糖液体培地

ブドウ糖	20.0 g
ペプトン(肉製及びカゼイン製1：1)	10.0 g
水	1000 mL

滅菌後のpHが25℃で5.4 ～ 5.8になるようにpHを調整する。
 確認されたサイクルで高圧蒸気滅菌する。

6. 参考資料

- European Pharmacopoeia 8.0 (2014), 5.1.3. Efficacy of Antimicrobial Preservation.
- US Pharmacopeia 38 (2015), <51> Antimicrobial Effectiveness Testing.
- 日本薬局方、参考情報「微生物迅速試験法〈G4-6-170〉」

エンドトキシン試験法と測定試薬に遺伝子組換えタンパク質を用いる代替法〈G4-4-180〉

エンドトキシンは、グラム陰性細菌の細胞壁外膜に存在するリポ多糖(Lipopolysaccharide)であり、様々な生物活性を示す。エンドトキシンは血中に入ると極微量で発熱を惹起し、大量ではエンドトキシンショックから死に至らしめるような強い毒性を発揮する。また、環境中に広く存在しているグラム陰性菌に由来すること、耐熱性を示し容易に失活しないことから、エンドトキシンは医薬品の製造工程などにおいて混入する可能性があり、更に混入の可能性がある発熱性物質の中で特に強力な作用を示すことから、医薬品などの安全性確保のために管理すべき物質として位置づけられている。エンドトキシン試験法〈4.01〉は、カプトガニの血球抽出成分より調製されたライセート試薬を用いて、エンドトキシンを高感度に検出できる*in vitro*試験法であり、注射剤などに適用される。一方、カプトガニの保護、試薬の安定供給、試薬ロット間差の低減及び試験の安定性の向上を目的に、ライセート試薬に代わるものとして遺伝子組換えタンパク質を用いたエンドトキシン測定試薬が開発された。

本参考情報では、エンドトキシン試験法〈4.01〉におけるライセート試薬及び測定方法に加え、遺伝子組換えタンパク質を利用したエンドトキシン測定試薬を用いて代替法とする際の測定及び測定上の留意点を示す。

1. エンドトキシン試験法の測定原理

エンドトキシン試験法〈4.01〉は、カプトガニ(*Limulus polyphemus*又は*Tachypleus tridentatus*)の血球抽出成分より調製されたライセート試薬を用いて、エンドトキシンを検出又は定量する方法である。これは、カプトガニの血球抽出成分がエンドトキシンにより凝固する反応を利用した試験法であり、その凝固反応はエンドトキシンにより引き起こされる複数のセリンプロテアーゼによる連鎖反応に基づいている(図1)。エンドトキシンがカプトガニの血球抽出成分に含まれるC因子を活性化して活性型セリンプロテアーゼに変換し、それが次のB因子、更に凝固酵素前駆体を連続的に活性化して、最後に凝固性タンパク質であるコアギュローゲンがコアギュリンに加水分解されると、不溶性のゲルが形成されて凝固する。また、カプトガニの血球抽出成分は、エンドトキシンだけでなく主に(1→3)－β－D－グルカンにも反応し、G因子から始まる連鎖反応に

より凝固する。

2. エンドトキシン試験法における測定方法

エンドトキシン試験法〈4.01〉には、ライセート試液のゲル形成を指標とするゲル化法及び光学的变化を指標とする光学の定量法がある(図1)。

ゲル化法は、ゲルの形成の有無を目視で確認する方法であり、判定には特別な機器を必要としない。ゲル化法には限度試験法及び定量試験法があり、前者は被検試料が各条に規定されたエンドトキシン規格を超えるエンドトキシンを含むか否かを、ライセート試薬の表示感度を指標として判定する方法で、後者は被検試料中のエンドトキシン量を、ゲル化反応を示した最大の試料希釈倍数(エンドポイント)を求めることにより定量する方法である。

光学の定量法には、比濁法及び比色法がある(図1)。いずれもライセート試液と試料溶液を混和し、一定時間後又は経時的に反応液を分光光度計で測定する。比濁法は、ライセート試液のゲル化に伴う濁度変化を吸光度又は透過率を用いて測定する方法で、比色法は、エンドトキシンとライセート試液との反応により、発色合成基質から遊離される発色基の量を吸光度又は透過率を用いて測定する方法である。

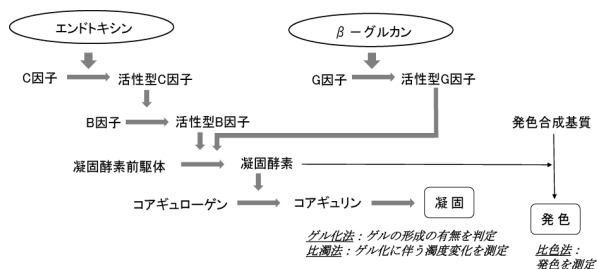


図1 エンドトキシン試験法〈4.01〉における測定原理及び測定法

3. エンドトキシン試験法に用いる試薬

エンドトキシン試験法〈4.01〉に用いるライセート試薬は、各測定法に対応した複数の試薬がある。エンドトキシン及びβ-グルカンに対する反応性から試薬を分類すると、C因子から始まる反応系及びG因子から始まる反応系の両方を含む試薬と、G因子を除去、又はG因子系の反応を抑制し、C因子から始まる反応系によりエンドトキシンのみを検出する試薬に分類され、被検試料や試験の目的に応じて選択する。

ゲル化法に用いるライセート試薬には、凝固(ゲルの形成)を呈する最小のエンドトキシン濃度が表示感度(エンドトキシン単位(EU)/mL)として試薬メーカーにより設定されている。その表示感度を指標として被検試料の適否が判定される。正確な試験結果を得るために、エンドトキシン試験法〈4.01〉の4.1.1.予備試験 4.1.1. ライセート試薬の表示感度確認試験により、表示感度が適切であることを確認する。幾何平均エンドポイント濃度が規定の範囲内でない場合は、試験条件を整備して再試験を行う。再試験においても幾何平均エンドポイント濃度が規定の範囲内でない場合は、そのライセート試薬は使用できない。

光学の定量法に用いるライセート試薬は、比濁法、比色法のいずれにおいても、定量可能な濃度範囲内で3濃度以上の標準溶液により検量線を作成するが、エンドトキシン試験法〈4.01〉の5.3.予備試験 5.3.1. 検量線の信頼性確認試験により、試験者の試験操作及び試験条件が適切であることを確認する。

光学の定量法に用いるライセート試薬には、表示感度は表示されていないが、検量線に用いた最小の標準溶液濃度が表示感度に相当する。

医薬品の多くは、エンドトキシン試験において、程度には差はあるが何らかの反応干渉作用を示す。一般に、試料溶液に存在する反応干渉因子の影響は希釈により回避できることが多いが、その場合、エンドトキシン試験用水などで最大有効希釈倍数を超えない範囲で希釈して測定する。最大有効希釈倍数は、許容される試料溶液の最大の有効希釈倍数であり、エンドトキシン試験法〈4.01〉の3. 最大有効希釈倍数の求め方に示されている通り、ゲル化法に用いるライセート試薬については表示感度、光学の定量法に用いるライセート試薬については検量線の最小濃度がλであり、λが小さいほど最大有効希釈倍数が大きくなる。光学の定量法に用いるライセート試薬のλは、ゲル化法に用いるライセート試薬のλより小さい試薬が多い。被検試料に含まれる反応干渉因子が明確な場合は、それを取り除く処理を行う。取り除くことができない、あるいは反応干渉因子が明確でなく、反応干渉作用が回避できない場合は、他のライセート試薬を用いるか、測定法を変更することを検討する。

4. 遺伝子組換えタンパク質を利用したエンドトキシン測定試薬を用いて代替法とする際の測定及び測定上の留意点

遺伝子組換えタンパク質を用いたエンドトキシン測定試薬は、カプトガニの血球抽出成分に含まれる因子の遺伝子情報を利用して作製したタンパク質を用いたものである。カプトガニ(例えば*Carcinoscorpius rotundicauda*, *T. tridentatus*)の血球抽出成分に含まれるC因子の遺伝子情報を用いて作製した遺伝子組換えタンパク質を用いる試薬、カプトガニ(例えば*T. tridentatus*)の血球抽出成分に含まれるC因子、B因子及び凝固酵素前駆体それぞれの遺伝子情報を利用して作製した遺伝子組換えタンパク質を用いる試薬などがある。前者のC因子(遺伝子組換え)を用いた試薬には、エンドトキシンがC因子(遺伝子組換え)を活性化し、活性型C因子(遺伝子組換え)が蛍光合成基質に作用することにより生じる蛍光量を測定するものがある。後者の三種類の遺伝子組換えタンパク質で構成される試薬には、比色法の測定法と同様に、エンドトキシンがC因子(遺伝子組換え)を活性化し、それがB因子(遺伝子組換え)、更に凝固酵素前駆体(遺伝子組換え)の連続的な活性化により、発色合成基質から遊離される発色基の量を測定するものがある。いずれの試薬も、試液と試料溶液を混和し、一定時間後又は経時的に反応液を光学的に測定する方法で、蛍光強度又は吸光度を測定する。

遺伝子組換えタンパク質を用いたエンドトキシン測定試薬は、エンドトキシン試験法〈4.01〉で規定されている「カプトガニの血球抽出成分より調製されたライセート試薬」には該当しない。エンドトキシン測定試薬を用いて代替法とする際は、ライセート試薬を用いたエンドトキシン試験法〈4.01〉と比較して、同等以上の真度、精度、感度、特異性などが得られることを確認する。遺伝子組換えタンパク質を用いたエンドトキシン測定試薬のうち、感度、特異性などがライセート試薬を用いた方法と同等以上であることが報告されているものがある。医薬品などのエンドトキシン試験法〈4.01〉を遺伝子組換えタンパク質試薬を用いて行う際は、エンドトキシン試験法〈4.01〉の光学の定量法と同様に、5.3. 予備試験 5.3.1. 検量線の信頼性確認試験も実施する必要があるが、その場合、検量線の最小濃度がλ(EU/mL)に相当する。また、反応干渉作用について留意する

必要があり、5.3.2. 反応干渉因子試験も実施する。蛍光量を測定するなど、エンドトキシン試験法〈4.01〉では用いられていない測定法を利用する場合、蛍光の発生を阻害するといった、ライセート試薬での測定では影響のなかった物質が干渉作用を示す可能性についても留意する必要がある。また、エンドトキシン試験法〈4.01〉で規定されているカプトガニ(*L. polyphemus*又は*T. tridentatus*)と異なるカプトガニのタンパク質の遺伝子情報を用いて作製した試薬については、そのタンパク質(遺伝子組換え)の違いがエンドトキシンに対する反応性に影響を及ぼす可能性について留意すべきである。

エンドトキシン規格値の設定〈G4-5-131〉

注射剤のエンドトキシン規格値は、下記の方法に従って設定される。

$$\text{エンドトキシン規格値} = \frac{K}{M}$$

ただし、 K は、発熱を誘起するといわれる体重1 kg当たりのエンドトキシンの量(EU/kg)であり、投与経路による区分に基づき、次の表のように設定される。

投与経路	K (EU/kg)
静脈内	5.0
静脈内：放射性医薬品	2.5
脊髄腔内	0.2

また、 M は体重1 kg当たり1回に投与される注射剤の最大量である。ただし、注射剤が頻回又は持続的に投与される場合は、 M は1時間以内に投与される注射剤の最大総量とする。 M の単位は、投与量が製剤の容量に基づく場合はmL/kg、主薬の質量に基づく場合はmg/kg又はmEq/kg、主薬の生物学的単位に基づく場合は単位/kgで表す。

備考

- 1) 質量又は単位に基づいて投与する製剤では、主薬の表示量を基準としてエンドトキシン規格値を設定する。
- 2) 成人の体重1 kg当たりの最大投与量を算出するとき、成人の平均体重として60 kgを用いる。
- 3) 体重1 kg当たりの小児投与量がその成人投与量よりも多いときは、小児投与量に基づいてエンドトキシン規格値を設定する。
- 4) 上記の表に示した投与経路区分以外の経路で投与される医薬品等の K 値は、静脈内投与の K 値を準用する。

単球活性化試験法〈G4-13-190〉

1. はじめに

発熱性物質試験法〈4.04〉は、発熱性物質の存在をウサギを用いて試験する方法であるが、動物福祉の観点から単球活性化試験(Monocyte Activation Test : MAT)が開発された。単球活性化試験はグラム陰性菌由来のエンドトキシンのほか、非エンドトキシン汚染因子として、グラム陽性菌、グラム陰性菌、ウイルス及び真菌に由来する病原体関連分子パターン

(Pathogen-Associated Molecular Patterns : PAMPs)並びに医薬品の製造過程に起因する生物学的及び化学的汚染因子を検出する。

本参考情報では、単球活性化試験を用いて発熱性物質を検出する際の留意点について述べる。

2. 単球活性化試験の概要

単球活性化試験は、ヒトの単球や単球系細胞を活性化して腫瘍壊死因子 α (TNF- α)やインターロイキン-1 β 、インターロイキン-6などの炎症性サイトカインなど内因性物質の産生を誘導する物質を検出又は定量する方法である。これらの物質が発熱機序に関与しているため、単球活性化試験は間接的に試料中の発熱性物質を検出することになる。

非エンドトキシン汚染因子は多様で、通常は試料溶液の汚染因子の同定は困難であるため、以下のいずれかの方法で試験する。

方法1：半定量試験

方法2：参照ロット比較試験

試料溶液中の発熱性物質のレベルは、エンドトキシン標準品に対する反応(方法1)又は試料溶液の参照ロット(方法2)と比較し、それぞれ等価エンドトキシン量(EE)又は参照ロットに対する相対値で表す。

発熱・炎症応答を惹起する非エンドトキシン汚染因子を含む医薬品は、エンドトキシンの用量反応曲線と比較して急勾配の用量反応曲線を示すことがある。そのため、非エンドトキシン汚染因子を含む又は含んでいる可能性のある医薬品は、最小希釈倍率を含む複数の希釈倍率で試験を行う必要がある。

3. 基本手法

ヒトの単球又は単球系細胞を含む材料(例えば末梢血単核細胞(Peripheral Blood Mononuclear Cells : PBMC)、単球系細胞株、又は同等性が示された細胞株)を試料溶液と共に培養する。選択した測定指標が適切に評価可能な期間を培養時間とする。試料溶液について選択した測定指標の試験結果を、エンドトキシン標準品又は試料溶液の参照ロットに関する測定指標の試験結果と比較する。

4. 器具

全てのガラス製品及びその他の耐熱性器具を、検証された方法を用いて乾熱処理を行い、発熱性物質を除去又は不活化する。マルチウエルプレートやマイクロピペット用チップなどのプラスチック製器具を使用する場合は、検出可能な発熱性物質による汚染がなく試験に干渉しないことが確認されたものを使用する。

5. 使用する細胞

本試験には、全血、PBMC又は単球系細胞株が使用可能であり、様々な細胞源の取扱いと細胞の適格性を以下に示す。

5.1. 全血

5.3., 5.4., 5.5.及び該当する場合は6.3.に記載する条件を満たす単一の提供者に由来する全血又は複数の提供者に由来する全血を使用する。

5.2. 末梢血単核細胞(PBMC)

PBMCは、5.3., 5.4., 5.5.及び該当する場合は6.3.に記載する条件を満たす単一の提供者又は複数の提供者に由来する全血から分離する。

5.3. 血液提供者の条件

血液提供者は健康、安全性、倫理的懸念に関連する条件を満たす。

たす者でなければならない。

5.4. 複数の提供者に由来する細胞の条件

複数の提供者に由来する全血又はPBMCを使用する場合は6.3.に記載するように非エンドトキシン汚染因子を検出することを確認する。

使用する全血は最低4人のドナーからの献血で構成され、各ドナーからほぼ同量の血液又はほぼ同数の細胞が試験に使用される。

5.5. 冷凍保存細胞の条件

単球活性化試験での使用を意図した細胞(ヒト全血, PBMCなどの血液分画物や単球系細胞株)を冷凍保存することも可能である。複数の提供者に由来する冷凍保存細胞は、冷凍前に調製するか、若しくは冷凍保存していた単一血液を解凍直後に混和するなどによって調製する。エンドトキシンに対する用量反応曲線を6.1.に従って確認する。また、非エンドトキシン汚染因子検出を目的とする場合には、6.3.に従って検証する。

5.6. 単球系細胞株

単球系細胞株は、以下の要件が確認されればエンドトキシン及び非エンドトキシン汚染因子の検出に適している。

単球活性化試験に十分供給できるだけのヒト単球系細胞株を培養する。供給手段を最適化するためにクローン化された細胞株を使用する場合もある。

細胞は無菌条件下で管理し、定期的にマイコプラズマなどの汚染の有無を確認する。さらに細胞の特性(倍加時間、形態、機能など)を定期的に確認する。細胞株の機能的安定性は継代数に応じて細胞の特性のモニタリングを行うことで評価する。機能的安定性の基準を確立する必要がある。これには増殖性や試験で得られる最大シグナル、背景ノイズ、受容体シグナル伝達が含まれる場合がある。受容体シグナル伝達は、パターン認識受容体(例えばToll様受容体)に対する特定のリガンド(特定の受容体と特異的に結合して生物学的応答を引き起こす物質)で試験することができる。

エンドトキシンに対する用量反応曲線を6.1.に従って確認する。また、非エンドトキシン汚染因子検出を目的とする場合には、6.3.に従って検証する。

なお、測定指標に炎症性サイトカインの発現に関わる転写因子などを用いる場合は、非エンドトキシン汚染因子検出の妥当性を示す必要がある。

6. 測定上の留意点

試験の妥当性を検証するため予備試験を実施する。この予備試験において、6.1.に記載するエンドトキシン標準曲線の条件が満たされており、試料溶液が試験に干渉せず、試験でエンドトキシン及び非エンドトキシン汚染因子が検出され、溶液が検出システムに干渉しないことを確認する。

試験結果に影響するおそれのある試験条件の変更がある場合はその都度予備試験が必要となる。

6.1. エンドトキシン標準曲線の保証

エンドトキシン標準溶液を用いて、標準曲線を作成するために少なくとも四つのエンドトキシン濃度を調製する。エンドトキシン標準溶液の各濃度を少なくとも $n=4$ で試験する。

ブランク(エンドトキシン標準溶液の添加がない条件)の測定値は可能な限り低くすることが望ましい。

標準曲線については統計的に適切な手法によって有効性を保証する。

6.2. 干渉因子の検証

予備試験において、試料溶液が試験に干渉しないことを確認する。適切な希釈溶媒を用いて試料溶液を適宜希釈するが、全ての希釈が最大有効希釈倍数(汚染因子の限界濃度を決定できる試料の最大許容希釈度)を超えないようにする。最大有効希釈倍数の計算はエンドトキシン標準品に基づいており、以下の式を用いて求める。

$$\text{最大有効希釈倍数} = CLC \times C / LOD$$

CLC: 汚染因子の限界濃度

C: 試料溶液の濃度

LOD: 検出限界

試料溶液及びエンドトキシン標準品を適切な濃度で添加した試料溶液を使用し、エンドトキシン標準曲線を用いて各溶液中のエンドトキシン濃度に相当する発熱性物質濃度を算出する。エンドトキシン添加試料溶液で検出された発熱性物質濃度から、エンドトキシン無添加試料溶液で検出された発熱性物質の平均濃度を減じて、エンドトキシン添加試料溶液中のエンドトキシン濃度を算出した後、添加したエンドトキシンの平均回収率を算出する。平均回収率が50 ~ 200%の場合、試料には干渉因子がないものとみなされる。

6.3. 非エンドトキシン汚染因子に関する検証

予備試験では選択した試験系がエンドトキシンの他に非エンドトキシン汚染因子を検出することを確認する。確認の際は、非エンドトキシン汚染因子によって汚染されており、発熱性物質試験法(4.04)にて陽性と判定された、あるいはヒトにおいて有害反応を生じさせたことが明らかになっている過去の参照ロットを用いて行うことが可能である。そのような参照ロットが入手不可能な場合、予備試験では、二つ以上のパターン認識受容体(例えばToll様受容体)に対する特定のリガンドを用いて試験系を検証する。添加した非エンドトキシン汚染因子の回収率が50 ~ 200%の場合、試料には干渉因子がないものとみなされる。ただし、回収率が200%を超えた場合であっても、試験条件の変更によって非エンドトキシンと試料の間の相乗効果の可能性を排除できない場合には、200%を超えることが許容される。検証に使用する非エンドトキシン発熱性物質の選択は、試料溶液に含まれている可能性の高い汚染因子を反映するものとする。試験系は少なくともToll様受容体4のリガンドであるエンドトキシンと他の二つのToll様受容体のリガンドが検出されることを確認する必要がある。

6.4. 検出システムにおける干渉

試料溶液の最適な希釈倍数を確認後、選択した測定指標の検出システム(酵素免疫測定法など)の干渉について検証する。

7. 試験法

以下に示す二つの方法がある。予備試験後に実施する。

方法1: 半定量試験

方法2: 参照ロット比較試験

方法1では、試験される試料溶液とエンドトキシン標準溶液の標準曲線との比較が行われる。予備試験と同様に、試験ごとにエンドトキシン標準曲線を作成し、反応干渉因子の影響を確認する。方法2では、試料溶液が最大有効希釈倍数を超えない範囲では反応干渉因子の影響を回避できない場合や、非エンドトキシン汚染因子が含まれていると考えられる場合に、試験さ

れる試料溶液と検証済み参照ロット(臨床試験などを通じて安全性及び有効性が検証済の製剤)との比較が行われる。いずれの方法も試験ごとにエンドトキシン標準品を用いた陽性対照と適切な陰性対照を置き、具体的な手順及び判定については妥当性が検証された単球活性化試験の方法に従う。

8. 参考資料

- 1) European Pharmacopoeia Supplement 11.5 (2024), 2.6.30 Monocyte-activation test.
- 2) European Pharmacopoeia Supplement 11.5 (2024), 2.6.40 Monocyte-activation test for vaccines containing inherently pyrogenic components.

微生物迅速試験法〈G4-6-190〉

従来の培養法を用いた微生物試験は、結果判定に数日間以上を要し、微生物用培養培地の選択種によっては10日間以上を要する場合もある。そこで近年の科学技術の進歩により、細菌の生理活性、菌体成分等を高精度に測定できる方法が数多く開発され、新たな細菌検出法、計数・計量法が登場している。また1980年代以降の環境微生物学分野における研究の進展により、環境中の細菌の多くは従来の培地ではコロニー形成能が低く、培養法のみではそのような細菌を検出、計数・計量、同定しがたいことが明らかとなってきた。細菌数・細菌量の測定に当たっては、得られる結果が利用する手法により異なり、最新の手法を用いても、真値を得ることは難しい点に留意すべきである。また、各手法のバリデーションのための標準菌株は存在するが、生理活性も含めて標準化することは容易ではない。

新手法は従来法と比較し、必ずしも全ての点において優れているわけではないが、迅速性及び精度においては優位であることが多く、真菌やウイルス等にも応用可能であることより、その積極的な活用は関連分野における微生物管理レベルの向上に大きく役立ち、微生物汚染に伴うリスクの低減等に貢献する。

培養を基本とする従来法ではコロニーや微生物増殖に伴う濁度の変化などを指標とするのに対し、新手法では測定対象及び測定原理が従来法とは大きく異なる。また、環境中に生息する微生物の解析に当たっては、特定の微生物に着目する方法と共に、微生物群集を網羅的に理解することの重要性が認識されつつある。本参考情報では微生物迅速試験法の原理及びバリデーションと応用分野を紹介し、また利用に当たっての考慮すべき点を述べる。

1. 測定対象及び測定原理

微生物迅速試験法には様々な測定原理と、用途に特化した測定装置が開発されている。各種測定原理、測定対象、特徴、測定装置の例、想定される用途例を表1に示す。ここに掲載するものは事例であり、具体的な用途や装置は個別の事例によって異なるため、この表によって制限や推奨をするものではない。

2. バリデーション

機器の適格性評価に当たっては、それぞれの測定法で測定対象とする標準試料を用いて実施する。すなわち、直接測定法においては標準菌株、間接測定法においては検出対象となる成分等とする。

試験方法のバリデーションに当たっては、測定対象が微生物

数・微生物量測定の指標となる科学的根拠を明らかにし、日局で定められている試験法と比較して優位な点と共に、利用に当たって考慮すべき点についても明らかとすることが望ましい。また、標準菌株を用いたバリデーションの結果は、日局で定められている試験法がある場合は日局で定められている試験法と比較し同等以上(非劣性)であるべきだが、測定原理が異なることより必ずしも相関関係を求める必要はない。環境中に生息する微生物の検出を目的とする場合、より合理的な結果を得るためには、試験に用いる標準菌株の生理活性を可能な限り環境中での状態に近似させること。また、試験法によっては、製造環境で検出された微生物を用いることが望まれる。

微生物迅速試験法のバリデーションには、試験法開発を目的とした検証と使用用途を想定した検証がある。微生物迅速試験法を提供する機器の製造業者は通常、前者の検証を行い、使用条件を想定した後者の検証は、使用者の責任のもとで検証する。使用者は、微生物迅速試験法を提供する機器の製造業者の試験法開発時におけるバリデーションの検証方法及び結果の妥当性を確認することで、バリデーションの一部としてその結果を採用することができる。

微生物迅速試験法のバリデーションにおける検証内容は、定性試験及び定量試験で異なる。定性試験とは、試験検体に混入した微生物の有無を判定する試験であり、例として無菌試験が挙げられる。定量試験とは、試験検体に混入した微生物数・微生物量を評価する試験であり、例として微生物限度試験の生菌数試験が挙げられる。各試験に要求されるバリデーションパラメーターを表2に示す。バリデーションパラメーターは、参考情報「分析法バリデーション〈G1-I-130〉」で要求される分析法バリデーションの分析能パラメーターに加えて、頑健性、適合性及び非劣性がある。

分析法バリデーションにおける分析能パラメーター及び頑健性については、参考情報「分析法バリデーション〈G1-I-130〉」に加えて、必要に応じて、医薬品規制調和国際会議ICHで合意されたガイドラインのうち「分析法バリデーションに関するテキスト(実施項目)(平成7年7月20日薬審第755号)」及び「分析法バリデーションに関するテキスト(実施方法)(平成9年10月28日薬審第338号)」を参照することができる。

適合性については、原材料又は製品試験に微生物迅速試験法を適用する場合に対象となり、原材料又は製品が微生物の検出に影響しないことを確認する。日局で定められている試験法(例えば、4.05 微生物限度試験法や4.06 無菌試験法等)を代替する場合は、それら試験法の記載内容を参照することができる。

非劣性については、日局で定められている試験法を微生物迅速試験法で代替する場合に実施する。一つの原材料又は製品において、微生物迅速試験法が日局で定められている試験法と非劣性であることが示された場合は、新しい原材料又は製品ごとに非劣性の評価を繰り返す必要はない。

バリデーションパラメーターの定義と評価方法の例を次に示す。

2.1. 真度

2.1.1. 定義

微生物迅速試験法によって得られた測定値の偏りの程度のこと、真の値と測定値の総平均との差で表される。日局で定められている試験法を微生物迅速試験法で代替する場合は、微生物迅速試験法の試験結果と、日局で定められている試験法によ

表1 測定対象及び測定原理

名称	測定対象	原理・特徴	測定装置の例	想定される用途例
1) 直接測定法				
固相サイトメトリー	菌体	フィルターなどの担体に捕捉した微生物が発するシグナルを直接的に検出する。染色剤を選択することにより、生理活性等にかかわるシグナルを得ることもできるほか、自家蛍光を利用することもある。また特定の微生物を選択的に検出するため、遺伝子プローブや抗体、また蛍光標識したファージなどを用いることがある。検出・測定装置として、蛍光顕微鏡やレーザー顕微鏡などを含む、種々の光学検出・測定装置を用いる。	蛍光顕微鏡 レーザースキャニングサイトメーター等	無菌試験 微生物限度試験 原材料受入試験 環境モニタリング 製薬用水の品質管理等
フローサイトメトリー	菌体	流路系を通過する微生物が発するシグナルを直接的に検出する。染色剤を選択することにより、生理活性等にかかわるシグナルを得ることもできるほか、自家蛍光を利用することもある。また特定の微生物を選択的に検出するため、遺伝子プローブや抗体、また蛍光標識したファージなどを用いることがある。検出・測定装置として、種々の光学検出・測定装置を用いる。	フローサイトメーター バイオパーティクルカウンター等	環境モニタリング 製薬用水の品質管理等
2) 間接測定法				
免疫学的方法	抗原	微生物がもつ抗原に特異的な抗体を反応させ、発色や蛍光を目視やマイクロプレートリーダーなどで測定する。簡便なものには免疫クロマトグラフィーがある。	免疫クロマトグラフィー マイクロプレートリーダー	菌体由来抗原による菌種同定
核酸増幅法(NAT)	核酸	微生物がもつ核酸を、対象とする微生物に特異的なプライマーを用いて増幅し、検出する。定量的PCR法を用いることにより、定量も可能である。	電気泳動装置 定量的PCR装置	環境モニタリング 製薬用水の品質管理
生物発光法・蛍光法	ATP等	菌体内のATP等を酵素反応による発光現象・蛍光現象をもとに測定する。	発光測定器 蛍光測定器	無菌試験 微生物限度試験 原材料の品質管理 製薬用水の品質管理 環境モニタリング等
マイクロコロニー法	増殖能 (マイクロコロニー)	コロニー形成初期のマイクロコロニーを検出・計数する。平板培養法と同じ培養条件(培地組成、温度等)を使用できる。	蛍光顕微鏡等	無菌試験 微生物限度試験 原材料の品質管理 製薬用水の品質管理 環境モニタリング等
インピーダンス法	増殖能 (電気特性)	微生物が増殖の際に培地成分を利用し産生する代謝産物の増加により生じる電気特性の変化を利用する。	電気計測器	保存効力試験等 消毒剤(評価法)
ガス測定法	増殖能 (ガス産生等)	微生物の増殖に伴う二酸化炭素の産生や酸素の消費等のガス量の変化を利用する。	ガス測定器 培地の呈色反応	無菌試験 原材料の品質管理 容器完全性試験等
脂肪酸分析法	菌体脂肪酸	微生物の種類によって菌体脂肪酸組成が異なることを利用する。	ガスクロマトグラフィー	菌体由来脂肪酸による菌種同定
赤外吸収スペクトル測定法	菌体成分	菌体に赤外線を照射し、その赤外吸収スペクトルパターンを利用する。	フーリエ変換赤外分光光度計	菌株識別
質量分析法	菌体成分	菌体成分を質量分析計により測定し、データベースと照合して解析する。	質量分析計	菌種同定
フィンガープリント法	DNA	試料から抽出したDNAを制限酵素で切断し、DNA断片の泳動パターンを利用する。データベースと照合することにより同定が可能である。またT-RFLP(Terminal Restriction Fragment Length Polymorphisms)法では群集構造解析が可能である。	電気泳動装置	菌種同定
ハイスルーブット・シーケンシング	核酸	試料中に存在する多種多様な微生物から抽出した核酸の配列を決定し、その情報をもとに群集構造を解析する。	シーケンサー等	細菌叢解析 真菌叢解析
比濁法	増殖能	特定の波長において、微生物の増殖による培地の濁度の変化を利用する。	分光光度計	保存効力試験等 消毒剤(評価法)

注) PCR：ポリメラーゼ連鎖反応 T-RFLP：末端標識制限断片長多型分析

表2 各試験と検証が必要なバリデーションパラメーター

バリデーションパラメーター		定性試験	定量試験
分析法バリデーションにおける分析能パラメーター	真度	—	+
	精度	—	+
	特異性	+	+
	検出限界	+	—*
	定量限界	—	+
	直線性	—	+
範囲		—	+
頑健性		+	+
適合性		+	+
非劣性		+	+

— 通例評価する必要がない。

＋ 通例評価する必要がある。

* 必要な場合がある。

って得られた試験結果との差である。

2.1.2. 評価方法

真度は、実際の試験で対象となる測定範囲を含んだ微生物濃度で検証する必要がある。例えば、測定範囲の上限で微生物の懸濁液を調製し、測定範囲の下限まで段階希釈することによって評価される。

また、日局で定められている試験法を微生物迅速試験法で代替する場合には、適切な統計分析を使用して、日局で定められている試験法より微生物迅速試験法が非劣性であることを示す必要がある。なお、直線性と合わせて、真度を確認することも可能である。

2.2. 精度

2.2.1. 定義

均質な微生物懸濁液から採取した複数の検体を繰り返し測定して得られる一連の測定値が、互いに一致する程度のことであり、測定値の分散、標準偏差又は相対標準偏差として表される。精度は、併行精度と室内再現精度の2種類に分類される。

(i) 併行精度とは、試験室、試験者、装置、器具及び試薬のロットなどの分析条件を変えずに、同一の微生物懸濁液から採取した複数の検体を短期間に繰り返し評価するときの精度である。

(ii) 室内再現精度とは、同一の試験室内で試験者、装置及び試薬のロットなどの一部又は全ての分析条件を変えて、均質な微生物懸濁液から採取した複数の検体を繰り返し評価するときの精度である。

2.2.2. 評価方法

併行精度を検討するために十分な微生物懸濁液を準備し、試験濃度範囲の中央にある少なくとも一つの微生物懸濁液を評価する。室内再現精度は、同一の試験室内で考えられる可能な変動要因について検討する。各検討で得られた結果の分散、標準偏差又は相対標準偏差を算出する。なお、日局で定められている試験法を微生物迅速試験法で代替する場合は、日局で定められている試験法より非劣性であることを示さなければならない。

2.3. 特異性

2.3.1. 定義

対象となる微生物のみを検出する能力のことである。対象となる微生物とは、製品へ混入するリスクの高い微生物、製造環境で検出された微生物、日局で定められている試験法を微生物迅速試験法で代替する場合はその有効性を測定するために適した微生物及び生理学的な属性で代表的な微生物等である。

2.3.2. 評価方法

接種する微生物数・微生物量は、検出限界又は定量限界を上回るが、試験法の有効性を評価することが可能なレベルとする。

培養を必要とする微生物迅速試験法においては、少数の微生物(100 CFU以下)を添加し、添加した微生物を検出できることを検証する。

培養を必要としない微生物迅速試験法においては、適切な陰性及び陽性対照を用いて、システム内に混入する可能性のある外来物質(例えば、細胞外ATP、DNA、阻害因子、又は促進因子)が、対象となる微生物の検出に影響しないことを検証する。

2.4. 検出限界

2.4.1. 定義

規定された実験条件下で、検出可能な試験検体中の微生物の最少数・最少量のことである。検出限界では、必ずしも定量できるとは限らない。

2.4.2. 評価方法

検出限界については、日局で定められている試験法を微生物迅速試験法で代替する場合には、「2.10.2 (3) 判定の非劣性」を参照し、日局で定められた試験法と代替法で評価する。

2.5. 定量限界

2.5.1. 定義

許容できる精度及び真度で定量的に評価可能な試験検体中の微生物の最少数・最少量である。

2.5.2. 評価方法

定量限界は、定量限界付近を含む複数の検体を用いて評価す

る。直線性及び真度の結果も使用できる。この場合、線形範囲の最低濃度が試験法の定量限界とみなすことができる。日局で定められている試験法を微生物迅速試験法で代替する場合は、日局で定められている試験法の定量限界よりも劣ってはいけない。

2.6. 直線性

2.6.1. 定義

実際の試験で対象となる測定範囲内で、試験検体中に存在する微生物の濃度に比例した結果を得られることである。

2.6.2. 評価方法

微生物迅速試験法の使用目的に対応するように、妥当な範囲(例えば、 $10^0 \sim 10^6$ CFU/mL)の試料を用意し、試験手順に従って各試料を繰り返し測定し、結果を得る。各濃度で得られた結果の回帰式及び相関関数から直線性を評価する。

2.7. 範囲

2.7.1. 定義

適切な精度、真度及び直線性を与える、下限及び上限の微生物数又は微生物量に挟まれた領域のことである。

2.7.2. 評価方法

適切な範囲の上限値、下限値及び範囲の中央付近の値の試験試料について精度、真度及び直線性を検討する。

2.8. 頑健性

2.8.1. 定義

試験条件を小さい範囲で意図的に変化させるときに、測定結果が影響を受けない能力の指標である。

通例、頑健性は、試験法開発者が試験法の開発段階で検討すべきである。ただし、試験法使用者が重要なパラメーターを変更する場合は、頑健性への影響を評価する必要がある。

2.8.2. 評価方法

試験条件(例えば、試薬量、培養時間、周囲温度等)を意図的に変動させることにより試験結果への影響を評価する。

2.9. 適合性

2.9.1. 定義

原材料又は製品が微生物の検出に影響しないことの確認である。

2.9.2. 評価方法

微生物迅速試験法を用いて試験される原材料又は製品について、原材料又は製品存在下及び非存在下で微生物を接種し、それらの結果を比較することによって原材料又は製品による偽陽性又は偽陰性が発生しないことを確認する。

2.10. 非劣性

2.10.1. 定義

非劣性は、日局で定められている試験法を微生物迅速試験法で代替する場合に対象となり、日局で定められている試験法に比べて代替法が劣っていないことを統計学的に判定することである(非劣性検定)。

2.10.2. 評価方法

実使用における試験条件を考慮し、ワーストケースを想定して行う。また、原材料又は製品試験に適用する場合は、原材料又は製品を用いて実施する。

非劣性には三つの異なる判定法がある。

(1)性能の非劣性

代替法と日局で定められている試験法の分析能パラメーターを比較し、比較結果に基づいて非劣性を判定する。

(2)結果の非劣性

代替法と日局で定められている試験法で得られた数値結果を比較し、比較結果に基づいて非劣性を判定する。

(3)判定の非劣性

代替法と日局で定められている試験法で陰性(適合)/陽性(不適合)を判定し、陽性率(不適合率)の比較結果に基づいて非劣性の判定を行う。

どの判定法で行うかは、測定原理及び測定対象により異なるため、装置の特性を把握し適切な判定法で行う必要がある。

(1)性能の非劣性

性能の非劣性は、代替法の単位が日局で定められている試験法と同一単位であるときに使用できる。分析法バリデーションの各パラメーターに対して、代替法が非劣性であることを示す。比較できない場合は、代替法自体の判定基準に対して適合することを示す。利用者は代替法と日局で定められている試験法を比較検討し、特定のパラメーターにおいて非劣性を示せない代替法を利用する必要がある場合には、代替法が対象物の品質の評価法として適切であることの妥当性を示さなければならない。

(2)結果の非劣性

結果の非劣性は、代替法の単位が日局で定められている試験法とは異なるが、得られた結果に定量性があり日局で定められている試験法との間に相関があると推定される場合に使用できる。精度において、代替法が数値的に非劣性であることを示す。次に、適切な製品又は試験試料の規格範囲内で、検量線を用いて二つの方法間の相関を示す。

微生物の代謝物や生理活性を指標とした測定原理の場合は、微生物の生理状態により測定値がCFUで評価する方法より著しく高い推定値となることがあるなど、測定原理の違いから相関が得られないことがある。その場合は、(3)判定の非劣性評価を行う。

(3) 判定の非劣性

判定の非劣性は、代替法及び日局で定められている試験法が同等の試料に対して、それぞれの基準で陰性(適合)/陽性(不適合)を判定する場合に使用できる。代替法の陽性率(不適合率)が日局で定められている試験法の陽性率より非劣性であることを示す。この陽性率に対する非劣性検定は、独立サンプルと対応のあるサンプルとで計算方法が異なるので適切な検定法を用いる。

判定の非劣性のもう一つの方法としては、最確数法を代替法と日局で定められている試験法で複数回実施し、各々の測定値を対数変換後、平均値の非劣性検定をする。

3. 応用分野と考慮すべき点

微生物迅速試験法は幅広い分野での応用が期待されるが、測定対象及び測定系が従来法とは異なるため、これまでに蓄積したデータとの相関を得られないことがある。従来法と同等以上の能力を有することを確認することが原則であるが、微生物迅速試験法により新たな管理方法が考案され、従来法がない場合には、その妥当性を検証して微生物迅速試験法を用いることができる。

微生物迅速試験法を当局に新たに製造販売承認申請(あるいは製造販売承認事項一部変更承認申請)し、承認された場合には、局方試験の代わりに微生物迅速試験法の結果に基づき出荷可否決定を行うことができる。

微生物迅速試験法は短時間のうちに結果を得ることができる

ので、製品の検査を早期に完了できる点、製造設備や製造用水、原材料等の早期の汚染検知や製造室等の清浄度の早期確認が可能な点など様々な利点が想定され、製品試験、環境モニタリング、バイオバーデン試験、原材料管理などをリアルタイムに実施でき、工程管理の新たな方法として活用が期待される。警報基準値(アラートレベル)、処置基準値(アクションレベル)などは得られたデータを元に傾向分析を通じて設定することができる。

応用分野の例を以下に示す。

- ・微生物限度試験(生菌数試験)
- ・保存効力試験
- ・消毒剤(評価法)
- ・原材料の品質管理
- ・製薬用水の品質管理
- ・環境モニタリング
- ・無菌試験
- ・容器完全性試験
- ・作業員の教育及び適格性評価など(更衣や無菌操作など)

4. 用語の定義又は説明

本参考情報で用いる用語の定義は、次のとおりである。

- ・培養法：微生物が必要とする栄養分で作られた微生物用培地で、適切な環境下(温度、湿度、浸透圧、pH等)で培養し、増殖に伴う濁度の変化を目視にて確認することやコロニー数を計数する手法。
- ・微生物：細菌、真菌、原虫、ウイルス等の総称であり、本参考情報では細菌及び真菌を指す。
- ・標準菌株：本参考情報では、公的な機関より管理・分譲される菌株。日局に収載された試験菌株を含む。
- ・従来法：日本薬局方収載微生物試験法(無菌試験法、微生物限度試験法、保存効力試験法、遺伝子解析による微生物の迅速同定法など)。
- ・微生物迅速試験法：微生物の代謝活性や生理活性又は菌体成分等(ATPや抗原、核酸など)でその存在を確認する手法で、その検出対象によって様々な手法があり、培養を基本とする従来法と比較して測定結果が早い手法。
- ・微生物数：細胞数として定量される微生物の数。
- ・微生物量：微生物の代謝物として定量される物理量。
- ・偽陽性：本参考情報では、微生物が存在しない陰性検体を誤って陽性と判定すること。
- ・偽陰性：本参考情報では、微生物が存在する陽性検体を誤って陰性と判定すること。
- ・直接測定法：微生物が発する自家蛍光などのシグナルを直接的に検出する試験法。
- ・間接測定法：特定の菌体成分、酵素反応や微生物代謝物などを間接的に検出する試験法。

遺伝子解析による微生物の迅速同定法〈G4-7-190〉

本法は、医薬品の製造工程管理試験や出荷判定試験において検出される微生物(細菌及び真菌)を遺伝子解析によって種又は属レベルで同定又は推定する手法を示す。無菌試験や無菌製造

工程で検出された汚染微生物の同定は、汚染原因の究明に役立つ。また、医薬品製造区域や医薬品原料等から検出される微生物の種類についての知見は、微生物学的に安全な医薬品を製造する上で重要である。微生物の同定には、微生物固有の形態や生理・生化学性状、菌体成分の解析等を組み合わせて、分類階級の上位から下位に進めていく表現形質解析法が広く用いられてきた。表現形質による微生物同定システムも数多く市販されているが、医薬品製造原料や環境から検出される微生物の中には、同定できないものも多い。また、表現形質による同定法は、一般に専門知識が必要な上、結果の判定が客観性に欠けるおそれがある。微生物の進化の歴史はリボソームRNA(rRNA)に記録されており、近年の微生物分類学ではこの記録をもとに、系統発生的に区分する手法が採用されている。本法は、細菌については、16S rRNAの高度可変領域の全部又は一部、真菌については18S rRNAと26S/28S rRNA間のスペーサー領域(ITS1-5.8S rRNA-ITS2)又は26S/28S rRNAのD1/D2領域の遺伝子配列を解析し、データベースと照合することによって微生物を迅速に同定又は推定する手法を示す。なお、本法は他の同定法に取って代わるものではなく、厳密な同定のためには他の手法も併せて考慮する必要がある。また、本法に示した方法は、用いる装置や材料、実施者の経験などによって変更可能である。また、本法に示した以外の遺伝子領域も合理性があれば使用可能である。

1. 装置

(i) DNA自動解析装置

DNAの塩基配列を読み取る(シーケンスする)装置で、キャピラリー法など、種々の機種がある。

(ii) DNA増幅装置

被検菌の標的DNAの増幅(PCR)に用いる。また、PCR産物をシーケンシング試薬で標識するためにも用いる。

2. 操作法

以下、操作法の一例を示す。

2.1. 鋳型DNAの調製

同定対象とする細菌又は真菌は純培養されていることが重要である。被検菌が集落の場合は、1.5 mLマイクロチューブに被検菌処理液を0.3 mL入れ、これに滅菌ループなどで集落の一部(かびの場合は、ごく少量)をとり懸濁させる。被検菌が液体培養物の場合は、1.5 mLマイクロチューブに培養物を適量(0.5 mL程度)とり、遠心分離(10000 ~ 15000×g, 2 ~ 3分)後、上清を除去し、残留物に被検菌処理液を0.3 mL入れて懸濁させる。ヒーターを用いて懸濁液を100℃で10分間加熱する。細菌、酵母類は一般に、加熱処理物でもPCRは進行するが、かびの中には集落を用いるとPCRを阻害するものもある。その場合には、液体培養物からDNA抽出を行った方がよい。また、市販のゲノムDNA抽出キットを用いてもよい。

2.2. PCR

加熱処理した菌液の上清又はDNA抽出物を2 µL程度用い、細菌の場合は10F(又は27F)/1492R(又は1525R)プライマーセット、真菌の場合はITS1F(又はITS5F)/NL4Rプライマーセットを添加して、用いるPCR酵素に最適な条件でPCRを行う。細菌の場合は約1200 bp、真菌の場合は菌種により、約1000 ~ 1400 bpのDNA断片が増幅生成する。PCRを行う際には、陰性対照(菌液の代わりに被検菌処理液)を置く。なお、PCRの代わりに他の核酸増幅法を用いてもよい。

また、合理性があれば他のプライマーセットも使用可能である。

2.3. PCR産物の精製

未反応物(dNTPやプライマーなど)を除去するため、市販のキット等を使用してPCR産物を精製する。なお、目的の塩基長と異なるPCR産物(非特異的増幅産物)の生成が疑われる場合は、アガロースゲル電気泳動等、適切な方法により、目的の塩基長のPCR産物を精製する。

2.4. 精製DNAの定量

必要に応じて、精製DNA量を適切な方法により測定する。分光光度計で測定する場合には、1 OD_{260nm} = 50 µg/mLで換算する。

2.5. 塩基配列の解析

用いるDNA解析装置に適したシーケンス試薬を使用し、適切なプライマーを用いて試料の塩基配列を読み取る。得られた確度の高い(Quality valueが20以上)塩基配列をBLAST[®]検索によりデータベース(rRNA/ITS databasesもしくはStandard databases)と照合する。なお、陰性対象では試料と同じ塩基配列が読み取れないことを確認する。また、非特異的増幅産物の混入が疑われる場合は、2.2で用いたプライマー以外のプライマーを用いてシーケンスすると正しく読める場合が多い。

3. 判定

一般に、得られた塩基配列とデータベース²⁻⁴⁾とが97%以上合致した場合、以下のように判定できる。なお、一致度が97%を下回る場合、又は複数の属が上位の一致率で検索された場合は他の同定法を考える。

(i) 細菌の場合は、16S rRNAの5'側500塩基程度、又は必要に応じて全長の塩基配列を適切なプライマーを用いて読み取り、得られた塩基配列をBLAST[®]を用いて検索し、上位にランクされた菌種を被検菌と同一種又は近縁種と判定する。

(ii) 真菌の場合は、rRNA遺伝子のスペーサー領域(ITS1-5.8S rRNA-ITS2)やD1/D2領域を適切なプライマー(スペーサー領域はITS5FやITS4R、D1/D2領域はNL1FやNL4Rなど、図1)で読み取った塩基配列をBLAST[®]を用いて検索し、上位にランクされた菌種を被検菌と同一種又は近縁種と判定する。

(iii) データベース検索の結果、ヒトの健康に影響を与える懸念のある微生物が上位に検索された際は、再試験や、PCR産物の全長を解析する、あるいは、本同定法とは原理の異なるマトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間質量分析法や微生物迅速試験法(G4-6-190)に示す方法等の他の同定法を試みるなどの対応が必要である。

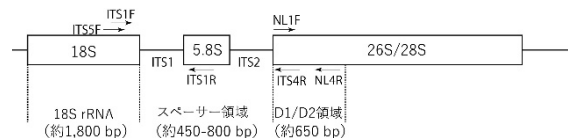


図1 真菌のスペーサー領域(ITS1-5.8S rRNA-ITS2)、D1/D2領域及びプライマーの位置

4. 試薬・試液

(i) エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム試液、0.5 mol/L: エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物18.6 gを水に溶かし、100 mLとする。

- (ii) トリス緩衝液, 1 mol/L, pH 8.0 : 2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール24.2 gを水に溶かし, 0.2 mol/L塩酸試液を加えてpH 8.0に調整した後, 水を加えて200 mLとする。
- (iii) TE緩衝液 : pH 8.0の1 mol/Lトリス緩衝液1.0 mLに0.5 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム試液0.2 mLを加えた後, 水を加えて100 mLとする。
- (iv) 被検菌処理液 : 適切な濃度の界面活性剤を含む溶液(例えばポリオキシエチレン(10)オクチルフェニルエーテルを1 vol%含むTE緩衝液)を小分けし, 凍結保存する。
- (v) PCR及びシーケンス用プライマー(例) :

微生物	プライマー	塩基配列
細菌	10F ⁵⁾	5'-GTTTGATCCTGGCTCA-3'
	27F ⁶⁾	5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'
	519R ⁶⁾	5'-GTATTACCGCGGCTGCTG-3'
	800R ⁵⁾	5'-TACCAGGGTATCTAATCC-3'
	800F ⁵⁾	5'-GGATTAGATACCTGGTA-3'
	1492R ⁷⁾	5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3'
	1525R ⁶⁾	5'-AAGGAGGTGATCCARCC-3'
真菌	ITS1F ⁵⁾	5'-GTAACAAGGTYTCCGT-3'
	ITS5F ⁸⁾	5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3'
	ITS4R ⁸⁾	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'
	NL1F ⁹⁾	5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAG-3'
	NL4R ⁹⁾	5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3'

R : A 又は G, Y : C 又は T

- (vi) ポリオキシエチレン(10)オクチルフェニルエーテル : 本品は微黄色の粘性の液体である。

5. 参考資料

- BLAST[®], Basic Local Alignment Search Tool, National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. (Accessed Nov 21, 2023)
- M. Kim, et al., Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 64, 346-351 (2014).
- S.W. Peterson and C.P. Kurtzman, System. Appl. Microbiol. 14, 124-129 (1991).
- H.A. Raja, et al., J. Nat. Prod. 80, 756-770 (2017).
- T. Sasaki, et al., PDA J. Pharm. Sci. Technol. 51, 242-247 (1997).
- D.J. Lane, Nucleic acid techniques in bacterial systematics. E. Stackebrandt, and M. Goodfellow, eds., John Wiley and Sons, New York, NY, pp. 115-175.
- S. Turner, et al., J. Euk. Microbiol. 46, 327-338 (1999).
- T.J. White, et al., "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications", M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White, eds., Academic Press, New York, 1990, pp. 315-322.
- K. O'Donell, In: "The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics", D.R. Reynolds, and J.W. Taylor, eds., CAB International, Wallingford, 1993, pp. 225-233.

蛍光染色による細菌数の迅速測定法 (G4-8-152)

本法は, 蛍光染色を基本として, 生理活性を持つ細菌を迅速に計数する手法を示す。生菌数の測定には, カンテン培地上で培養する方法が広く用いられている。しかし, 環境中には増殖能を有しながらも通常の手法では培養困難な細菌が多く存在することから, 蛍光又は発光などにより細菌を捉える新たな細菌検出法が開発されている。蛍光染色法では, 蛍光色素で染色した細菌を, 蛍光顕微鏡やフローサイトメーターなど, 蛍光シグナルを検出する種々の装置により計数する。また, 染色剤を選択することにより, 死菌を含めた全細菌から種々の生理活性を有する細菌まで, 計数することができる。DNAやRNAに結合する核酸染色剤を用いて細菌を計数する方法は, 蛍光染色法の中でも最も基本となるものであり, 細菌の生死にかかわらず核酸を持つ全ての細胞を対象とする。蛍光活性染色法は, 細菌の呼吸活性や細菌細胞内に普遍的に存在するエステラーゼの活性などを指標とする。マイクロコロニー法ではコロニー形成の初期段階であるマイクロコロニーを計数する。以下に, CFDA-DAPI二重染色法とマイクロコロニー法を示す。なおここに示した方法は, 迅速・高精度に生理活性を持つ細菌数を測定するための手法であり, 生菌とする基準がほかの方法と異なるため, 測定値はほかの生菌数測定法よりも高くなることが多い。本法に示した方法は, 実施者の経験などによって変更可能である。すなわち, 本法に示した以外の試薬, 器具, 装置も合理性があれば使用可能である。

1. CFDA-DAPI二重染色法

エステラーゼ活性を持つ細菌の検出には fluorescein diacetate (FDA)系試薬が一般的に用いられる。FDA系試薬は細胞内のエステラーゼによって加水分解され, 波長490 nm付近の青色励起光下で緑色蛍光を発する。なおFDAはグラム陰性菌に対する染色性が低いいため, その修飾体である carboxyfluorescein diacetate (CFDA)などが利用されている。核酸染色剤4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)を併用した CFDA-DAPI二重染色法の原理は以下のとおりである。無極性のCFDAは細胞内に浸透し, 細胞内のエステラーゼにより蛍光性の carboxyfluorescein に加水分解される。この carboxyfluoresceinは極性を持つために生細胞内に蓄積される。したがって, エステラーゼ活性を持つ細胞に青色励起光を照射した場合, carboxyfluorescein由来の緑色蛍光を発する。死細胞ではCFDAは加水分解されないために, 蛍光性の carboxyfluoresceinは生じない。一方DAPIは生菌・死菌の両細胞内に浸透し, DNAのアデニン及びチミンが豊富な部分に特異的に結合するために, DNAを持つ全ての細菌が染色され, 紫外線励起光下で青色蛍光を発する。したがって, 本二重染色法により, 青色励起光下ではエステラーゼ活性を持つ細菌のみを特異的に計数でき, また紫外線励起光下では全菌数(生菌数+死菌数)を測定できるので, エステラーゼ活性を持つ細菌及びDNAを持つ全ての細菌を計数することが可能となる。

1.1. 装置

1.1.1. 蛍光顕微鏡又はこれに準ずる蛍光観察装置

蛍光染色した細菌を計数するための装置で, 種々の機種がある。使用する蛍光染色剤に応じた適切なフィルター系を用意す

る。蛍光顕微鏡，レーザー顕微鏡，フローサイトメーターなど，各種の蛍光観察装置がある。

1.2. 器具

- (i) ろ過装置(ファンネル，吸引フラスコ，吸引ポンプ)
- (ii) ポリカーボネート製メンブランフィルター(孔径0.2 μm)：粒子を表面で捕集できるフィルターであればポリカーボネート製でなくても良い。
- (iii) スライドガラス
- (iv) カバーガラス
- (v) 計数用接眼マイクロメーター(10×10のマスを区切ったもの)

1.3. 操作法

以下に，蛍光顕微鏡による測定法の一例を示す。

1.3.1. 試料の調製

細菌が，液体(水又は緩衝液)に均一に分散した状態となるように試料を調製する。

1.3.2. ろ過

ろ過装置のファンネルにポリカーボネート製メンブランフィルター(孔径0.2 μm)をセットする。適当量の試料をろ過し，試料中の細菌をフィルター上に捕集する。

1.3.3. 染色

CFDAを終濃度150 $\mu\text{g/mL}$ 及びDAPIを終濃度1 $\mu\text{g/mL}$ となるように混合したCFDA染色用緩衝液適量を，ろ過装置のファンネルに注ぎ，約3分間，室温で染色した後，吸引ろ過する。ファンネルに無菌水を適量注ぎ，吸引ろ過し，フィルターに残った余分な蛍光染色剤を除く。フィルターを十分に乾燥させる。

1.3.4. プレパラートの作製

スライドガラスに蛍光顕微鏡用イメージンオイルを1滴落とす。その上に風乾したフィルターをろ過面を上にして置く。その上に蛍光顕微鏡用イメージンオイルを1滴滴下し，カバーガラスを被せてフィルターを封入する。油浸対物レンズを用いる場合は，カバーガラスの上に更に蛍光顕微鏡用イメージンオイルを1滴滴下する。

1.3.5. 計数

蛍光顕微鏡下で1000倍の倍率で観察・計数する。CFDA-DAPI二重染色の場合は，紫外線励起光による退色を防ぐために，まず青色励起光下で緑色蛍光を発する(エステラーゼ活性を持つ)細菌を計数した後，同一視野について紫外線励起光下で青色蛍光を発する(DNAを持つ)細菌を計数する。蛍光顕微鏡の接眼マイクロメーターの計100マス内に観察される蛍光染色剤由来の蛍光を発する細菌について，無作為に視野を選んで20視野以上計数し，以下の式に従って細菌数を算出する。なお，検鏡面積はあらかじめ接眼マイクロメーターと対物マイクロメーターで測定しておく。また，計数にあたっては1視野当たり10 ～ 100細胞程度になるようにろ過量を調節する。したがって，1視野当たりの細胞数が多すぎる，又は少なすぎる場合は試料の再調製を行う。(1視野当たりの平均細胞数が2個以下の場合，又は1視野当たりの細胞数が0個の視野が5視野以上ある場合は，検出限界以下とする。)

菌数(cells/mL)

$$= \{ (1 \text{視野当たりの細菌数の平均値}) \times (\text{ろ過面積}) \} / \{ (\text{ろ過量}) \times (\text{検鏡面積}) \}$$

1.4. 試薬・試液

- (i) 無菌水：水を孔径0.2 μm のメンブランフィルターでろ過した後，121℃で15分間高圧蒸気滅菌する。注射用水を用いても良い。
- (ii) CFDA溶液，10 mg/mL ：CFDA 50 mg をジメチルスルホキシドに溶かし，5 mL とする。遮光下， -20°C で保存する。
- (iii) CFDA染色用緩衝液：塩化ナトリウム5 g に0.1 mol/L エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム試液0.5 mL 及び薄めたリン酸二水素二ナトリウム試液(1→3)を加えて溶かし，100 mL とする。この液にリン酸二水素ナトリウム二水和物溶液(1→64)を加えてpH 8.5に調整する。孔径0.2 μm のメンブランフィルターでろ過する。
- (iv) DAPI溶液，10 $\mu\text{g/mL}$ ：DAPI 10 mg を無菌水100 mL に溶かす。無菌水で10倍希釈して，孔径0.2 μm のメンブランフィルターでろ過する。遮光下， 4°C で保存する。
- (v) 蛍光顕微鏡用イメージンオイル

2. マイクロコロニー法

コロニー形成の初期段階であるマイクロコロニーを蛍光染色し，蛍光顕微鏡などで観察・計数することにより，増殖能を持つ細菌数を短時間の培養で測定することができる。本法ではメンブランフィルター上に細菌を捕集し，そのメンブランフィルターを培地上に静置し短時間培養した後，マイクロコロニーを計数する。肉眼で確認できる前段階のコロニーを検出するため，増殖能力を持つ細菌を迅速かつ高精度に計数することができる。マイクロコロニーの染色には，種々の核酸染色剤を用いることができる。

2.1. 装置

2.1.1. 蛍光顕微鏡又はこれに準ずる蛍光観察装置

蛍光染色した細菌を計数するための装置で，種々の機種がある。使用する蛍光染色剤に応じた適切なフィルター系を用意する。蛍光顕微鏡，レーザー顕微鏡など，各種の蛍光観察装置がある。

2.2. 器具

- (i) ろ過装置(ファンネル，吸引フラスコ，吸引ポンプ)
- (ii) ポリカーボネート製メンブランフィルター(孔径0.2 μm 以下)：粒子を表面で捕集できるフィルターであればポリカーボネート製でなくても良い。
- (iii) スライドガラス
- (iv) カバーガラス
- (v) ろ紙(No.2)
- (vi) 計数用接眼マイクロメーター(10×10のマスを区切ったもの)

2.3. 操作法

以下に，蛍光顕微鏡による測定法の一例を示す。

2.3.1. 試料の調製

細菌が，液体(水又は緩衝液)に均一に分散した状態となるように試料を調製する。

2.3.2. ろ過

ろ過装置のファンネルにポリカーボネート製メンブランフィルター(孔径0.2 μm)をセットする。適当量の試料をろ過し，試料中の細菌をフィルター上に捕集する。

2.3.3. 培養

フィルターをろ過装置から外し，ろ過面を上にして培地上に静置し，適切な温度で適切な時間培養する。培地にフィルター

を静置する際、培地とフィルターの間に空気が入らないように注意する。なお、サンプルにより適切な培養条件(培地、培養温度、培養時間など)は異なるので注意する。

2.3.4. 固定

ろ紙に中性緩衝ホルムアルデヒド試液適量をしみ込ませ、培地から外したフィルターを、その上にろ過面を上にして室温で30分以上静置し、マイクロコロニーを固定する。

2.3.5. 染色

ろ紙に染色液(1 µg/mL DAPIなど、2% polyoxyethylene sorbitan monolaurate)適量をしみ込ませ、ろ過面を上にしてフィルターをその上に室温・遮光下で10分間静置し、マイクロコロニーを染色する。無菌水をしみ込ませたろ紙の上にろ過面を上にして1分間静置し、フィルターを洗浄する。フィルターを十分に風乾させる。

2.3.6. プレパラートの作製

スライドガラスに蛍光顕微鏡用イマージョンオイルを1滴滴下する。その上に風乾したフィルターをろ過面を上にして置く。その上に蛍光顕微鏡用イマージョンオイルを1滴滴下し、カバーガラスを被せてフィルターを封入する。

2.3.7. 計数

蛍光顕微鏡下で400倍又は200倍の倍率で観察・計数する。蛍光顕微鏡の接眼マイクロメーターの計100マス内に観察される蛍光染色剤由来の蛍光を発するマイクロコロニーについて、無作為に視野を選んで20視野以上計数し、以下の式に従ってマイクロコロニー数を算出する。なお、検鏡面積はあらかじめ接眼マイクロメーターと対物マイクロメーターで測定しておく。1視野当たりのマイクロコロニー数の平均値が2個以下の場合、又は1視野当たりのマイクロコロニー数が0個の視野が5視野以上ある場合は、検出限界以下とする。

マイクロコロニー数(cells/mL)

$$= \{ (1 \text{視野当たりのマイクロコロニー数の平均値}) \times (\text{ろ過面積}) \} / \{ (\text{ろ過量}) \times (\text{検鏡面積}) \}$$

2.4. 試薬・試液

(i) 無菌水：水を孔径0.2 µmのメンブランフィルターでろ過した後、121℃で15分間高圧蒸気滅菌する。注射用水を用いても良い。

(ii) 染色液：DAPI 10 mgを無菌水100 mLに溶かす。無菌水で10倍希釈して、孔径0.2 µmのメンブランフィルターでろ過する。遮光下、4℃で保存する。使用時にpolyoxyethylene sorbitan monolaurateを終濃度2%となるように溶解する。

(iii) 中性緩衝ホルムアルデヒド試液(4 w/v%ホルムアルデヒド溶液；中性緩衝化したもの)

(iv) 蛍光顕微鏡用イマージョンオイル

消毒法及び除染法〈G4-9-170〉

本参考情報は、医薬品の製造所において清浄度の管理が必要な清浄区域又は無菌操作区域における構造設備、及び同区域での製造管理及び製造作業に従事する職員(作業員)の衛生管理のうち、化学薬剤を用いて生存する微生物の数をあらかじめ設定したレベルまで減少させる処置法を示す。

なお、医薬品各条に規定された微生物関連試験法を実施する場合、医薬品の製造における製品等及び資材の微生物による汚染を防止するために必要な措置を講ずる場合、及び薬局において微生物管理が必要な場合等についても本参考情報を参考に適切な対応を図ること。

1. 用語の定義

本参考情報で用いる用語の定義は、次のとおりである。

- ・微生物：細菌、真菌、原虫、ウイルス等の総称であり、本参考情報では細菌及び真菌を指す。
- ・消毒：一般的には、病原菌など有害な微生物を除去、死滅、無害化することであり、本参考情報では対象物又は対象物の表面等の局所的な部位に生存する微生物を減少させることを指す。
- ・除染：空間や作業室を含む構造設備内に生存する微生物をあらかじめ指定された菌数レベルにまで減少させることを指す。
- ・対数減少量：処理前の微生物数と一定処理後の微生物数との対数値の差。
- ・消毒剤のローテーション：使用中の消毒剤に抵抗性を示す微生物が検出された場合に、有効性の異なる消毒剤を用い、その微生物が検出されなくなるまで使用する、又は一定期間ごとに作用機作の異なる消毒剤を交互に使用する消毒プログラムを指す。本法が有効かどうかについては、あらかじめ検証する必要がある。

2. 消毒法

本法には、化学薬剤を用いた清拭、噴霧、浸漬等の方法があり、設備、床、壁又は清浄区域や無菌操作区域に搬入する容器及び環境モニタリング用培地を梱包した資材の表面等の局所的な部位に生存する微生物を減少させるのに用いられる。本法を適用する表面の消毒剤に対する腐食性などの性質、及び汚染微生物の種類や数などの汚染状態を考慮し、通例、表1に示す消毒剤を単独又は併用して用いる。本法は、対象物又は局所的な部位に生存する微生物を全て死滅させたり、除去したりするものではないが、適用に当たっては有効性が確認された消毒剤を採用すること。また、消毒剤として使用する化学薬剤の微生物に対する効果は、使用濃度、作用温度、接触時間、表面の汚染状態等によって異なる。本法を適用するに当たっては、消毒剤の使用期限、消毒剤の汚染、残存した化学物質の医薬品品質に与える影響、及び対象となる資材の変色、変形、腐食などの劣化について注意を要する。

2.1. 消毒剤

汎用される消毒剤とその濃度、また各消毒剤の微生物に対する有効性の例を表1に示す。なお、ここに示した消毒剤以外、あるいは使用濃度以外でも、その有効性及び安全性が確認された消毒剤は使用することができる。

2.2. 評価法

清浄区域及び無菌操作区域等に消毒法を適用する場合は、消毒剤の濃度、作用時間、消毒対象となる表面の材質、その消毒剤で減少させたい微生物の種類等を考慮し、その条件の有効性を確認する。以下に評価法の例を示す。なお、科学的に正しいことが立証できれば、例示した評価法以外の方法を採用しても差し支えない。

表1 消毒剤の種類、使用濃度例、作用機作

分類	消毒剤	使用濃度例	作用機作
酸化剤	過酢酸	0.3 w/v%	酸化作用
	過酸化水素	3 w/v%	
	次亜塩素酸ナトリウム	0.02 ～ 0.05%	
アルコール系	イソプロパノール	50 ～ 70%	タンパク質や核酸の変性
	エタノール	76.9 ～ 81.4 vol%	
界面活性剤系	ベンザルコニウム塩化物	0.05 ～ 0.2%	タンパク質の変性
	ベンゼトニウム塩化物		
	アルキルジアミノエチルグリシン塩酸塩	0.05 ～ 0.5%	細胞膜機能の障害、タンパク質の凝固・変性
ビグアナイド系	クロルヘキシジングルコン酸塩	0.05 ～ 0.5%	細菌の酵素阻害や細胞質膜を変質・損傷

2.2.1. 試験菌懸濁法

実際に使用する希釈液(精製水、水道水、他)を用いて、実際に使用する濃度の消毒剤を調製する。調製した消毒剤1 mL当たり $10^5 \sim 10^6$ CFUの試験菌を接種する。規定時間(通例、5 ～ 15分間)作用させた後、消毒剤を希釈、又は除去(ろ過)する。希釈液又はろ過後の洗浄液には、必要に応じてレシチン、ポリソルベート80、チオ硫酸ナトリウムなどの不活化剤を含有する液を用いて消毒剤を中和¹⁾する。接種した菌数及び消毒後の菌数の計測は、微生物限度試験法(4.05) I. 3.4. 製品存在下での測定法の適合性の要件を満たす条件で実施する。消毒剤作用前後の試験菌数から対数減少量を算出し、細菌及び真菌では3 log以上、芽胞では2 log以上の減少を認めた場合、各々の対象微生物に対して有効であると判断する。有効性の評価に使用する試験菌は表2を参照し、必要な菌種を選定する。これらの試験菌は微生物限度試験法(4.05)に記載されている条件で培養及び希釈して評価に使用する。ただし、*Bacillus subtilis*については抗生物質の微生物学的力価試験法(4.02)を参考に芽胞懸濁液を調製して評価に使用する。なお、試験の目的にかなえばその菌種を使用することができる。

表2 試験菌

分類	試験菌
細菌	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739, NBRC 3972
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538, NBRC 13276
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027, NBRC 13275
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633, NBRC 3134
真菌	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231, NBRC 1594
	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404, NBRC 9455

2.2.2. 硬質表面キャリア法

約5 cm×5 cmの各種表面材質の担体(キャリア)を適切な精度が得られる数量準備する。試験菌をキャリア当たり $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ CFUになるように広範囲に接種する。接種菌が乾燥する前に実使用濃度の消毒剤を滴下する。接種菌を乾燥する際条件によっては接種菌数が減少し、消毒効果を適切に評価できない場合があるので注意する。規定時間(通例、5 ～ 15分間)作用させた後、回収液でキャリア上の試験菌を回収する。回収液には、必要に応じてレシチン、ポリソルベート80、チオ硫酸ナトリウムなどの不活化剤を含有する液を用いて消毒剤を中和¹⁾する。

回収方法はJIS T11737-1²⁾を参考にストマック法、振とう法、

スワブ法等を採用する。接種した試験菌数及び回収した試験菌数は、微生物限度試験法(4.05) I. 非無菌製品の微生物学的試験：生菌数試験3.4. 製品存在下での測定法の適合性の要件を満たす試験条件で計測する。消毒剤作用前後の試験菌数から対数減少量を算出し、2.2.1試験菌懸濁法に規定された減少量と同等の効果を認めた条件を各々の対象微生物に対して有効であると判断する。有効性の評価に使用する試験菌は表2を参照し、必要な菌種を選定するほか、環境モニタリングで検出頻度の高い代表菌1 ～ 2株を追加することが望ましい。なお、試験の目的にかなえばその菌種を使用することができる。試験菌の培養及び希釈等については2.2.1試験菌懸濁法の規定を参考にする。また、清浄区域又は無菌操作区域で使用される各種表面の材質の例を表3に示すが、評価においては実際に使用する状況を考慮の上、適宜追加する。

表3 消毒対象となる材質例

材質	適用例
ステンレス	作業台、タンク、機器類
ガラス	窓、遮蔽板
ポリカーボネート	遮蔽板、容器
化粧ケイ酸カルシウム	壁、天井
エポキシ樹脂コート	床
塩化ビニル	床、カーテン、ビニル袋
硬質ウレタンゴム	床
ニトリルゴム	手袋

3. 除染法

本法は、化学薬剤を気化又は噴霧させるなどで除染を行い、無菌医薬品の製造工程で用いるアイソレーター、RABS(Restricted Access Barrier System)や清浄区域又は無菌操作区域の空間や作業室を含む構造設備に生存する微生物をあらかじめ指定された菌数レベルまで減少させるのに用いられる。

本法を無菌医薬品の製造における構造設備に適用する場合は、除染剤及び除染条件の有効性に関するバリデーションを実施すると共に、作業者の安全性を確保すること。

3.1. 除染剤

汎用される除染剤を以下に示す。ここに示した除染剤以外にも、その有効性と安全性が確認された除染剤は使用することができる。

3.1.1. 過酸化水素

過酸化水素(30)を蒸発させ、拡散することで除染を行う。ヒーターで気化した過酸化水素をアイソレーター内部や作業室に拡散させ、過酸化水素が持つ酸化力により、微生物を死滅させる方法である。無菌操作用アイソレーター内部を除染する場合のように高度な微生物学的清浄度を達成することが必要な場合は、指標菌の芽胞を6 log以上、作業室を除染する場合は3 log以上減少させる条件で実施する。常温で実施することの可能な方法であるが、材質によっては過酸化水素の強い酸化力の影響で変色、変形、腐食などの劣化を生じたり、過酸化水素を分解したりすることがあるため、事前に適合性を検討する必要がある。なお、アイソレーター内部に、製品接触面が存在する場合は内部の除染と製品接触面の無菌性保証を同時に達成させる必要がある。このような場合は、参考情報「滅菌法及び滅菌指標体(44-10-162)」の項を参照し、滅菌前のバイオバーデン、パラメーター、ユーティリティなどについて、滅菌法としての管理を行う。

3.1.2. 過酢酸

例えば0.2%過酢酸水溶液をミスト状にして噴霧し、拡散することで除染を行う。作業室の清浄化に利用され、指標菌の芽胞を3 log以上減少させる条件で実施する。過酢酸の酸化力により微生物を死滅させる方法である。常温で実施することの可能な方法であるが、材質によっては過酢酸の強い酸化力の影響で変色、変形、腐食などの劣化を生じることがあるため、事前に材質適合性を検討する必要がある。

3.1.3. ホルムアルデヒド

ホルムアルデヒドを36.0 ～ 38.0%含む水溶液であるホルマリンを加熱により気化、若しくはパラホルムアルデヒドを加熱により昇華させ、拡散することで除染を行う。ホルムアルデヒド分子中のアルデヒド基(-CHO)がタンパク質を変性させることで微生物を死滅させる方法である。作業室の清浄化に利用され、指標菌の芽胞を3 log以上減少させる条件で実施する。ホルムアルデヒドは人体に有害であり、毒物及び劇物取締法で劇物に指定されているため、強制排気装置を備えた作業空間で取り扱う必要がある。また、薬剤の廃棄処理に際しても無害化が必要である。

3.2. 評価法

通例、バイオロジカルインジケーターを用いて、除染効果を評価する方法が採用される。除染剤に対して抵抗性を有するバイオロジカルインジケーターを、空間や作業室を含む構造設備の各所に配置し、除染を行う。除染後にバイオロジカルインジケーターを回収し、培養法により、生残菌の有無を確認する方法が一般的である。また、培養法以外にも、同等以上の方法であれば迅速法などを使用することができる。なお、過酸化水素によるアイソレーターの除染において、 10^6 CFUのバイオロジカルインジケーターを用いて指標菌の芽胞が6 log以上減少することを実証する場合、除染後のバイオロジカルインジケーターを全数死滅させることが要件ではない。バイオロジカルインジケーターを回収し、培養法により生残菌数を測定し、指標菌の対数減少量を算出することで効果を評価する方法や統計学的解析手法の活用により、芽胞の6 log減少に適切な除染条件を確立することも可能である。

上述した過酸化水素及びホルムアルデヒドについては *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953, 12980の芽胞は抵抗性が強いことが知られており、指標体として使用することが可能である。また作業室を対象とした除染については、環境微生物の代表として、*Bacillus atrophaeus* ATCC 9372の芽胞を指標菌として使用することも可能である。

4. 留意事項

4.1. 作業者の安全性

消毒剤及び除染剤は人体に少なからず影響を及ぼす、すなわち毒性を有する化学薬剤である。したがって、その使用においては、用法・用量を守り、必要に応じて保護具等を正しく使用すると共に適宜、残留量を確認する必要がある。

4.2. 医薬品製造環境に用いる消毒剤及び除染剤の選択

医薬品製造環境で使用する消毒剤及び除染剤を選択する際は、その使用目的によって以下に示すことを考慮し、適切なものを選択する。また、消毒剤及び除染剤をより安全かつ的確に使用するために、以下に示す(1)～(13)を考慮する必要がある。

- (1) 対象とする微生物の種類と数
- (2) 抗菌スペクトルの範囲

- (3) 化学薬剤の使用法、濃度、接触時間、使用期限
- (4) 無菌操作区域で使用する場合には無菌化を含めた消毒剤の調製方法
- (5) 消毒剤及び除染剤の対象物に対する材質適合性(劣化の程度等)
- (6) タンパク質等の有機物の存在下での効果
- (7) 作用の持続性
- (8) 人体に対する影響(安全性)
- (9) 洗浄剤等との適合性
- (10) 消毒剤のローテーションの要否及び必要な場合はその方法
- (11) 化学薬剤による医薬品の汚染を避けるために必要な手段(不活化の方法、残留量の確認等)
- (12) 廃棄処理方法の容易性(中和、不活化)
- (13) 廃棄に伴う環境への影響

5. 参考資料

- 1) US Pharmacopeia 38 (2015), <1072> Disinfectants and Antiseptics.
- 2) JIS T 11737-1 : 2013, 医療機器の滅菌－微生物学的方法－第1部：製品上の微生物群の測定方法 (ISO 11737-1 : 2006)

滅菌法及び滅菌指標体〈G4-10-162〉

滅菌とは、物質中の全ての微生物を殺滅又は除去することという。本参考情報は、無菌製品の製造のほか滅菌が必要な場合に適用する。滅菌法を適用する場合には、各滅菌法の長所・短所を十分理解した上で、包装を含む被滅菌物(製品又は滅菌が必要な設備、器具、材料など)の適合性に応じて、適切な滅菌法を選択する。

滅菌においては、滅菌装置据付け(滅菌工程の設計・開発を含む)後、その工程が科学的根拠や妥当性をもって設計どおりに正しく稼働していることを評価する適格性評価に基づき設備の保守点検プログラムを設定すること。また、無菌医薬品の製造所では、製造全般に関わる品質システムを確立すること。例えば、滅菌後の無菌性を含め品質に影響を及ぼし得る全ての作業を明確にし、製品の微生物汚染を回避するために必要な手順書等を設定し、適切に運用すること。

滅菌条件を設定し、滅菌後の無菌性を保証するためには、被滅菌物の滅菌前のバイオバーデンを定期的又は一定滅菌単位ごとに測定すること。測定方法は、4.05微生物限度試験法等を参照する。

本参考情報には代表的な滅菌法を示すが、これら以外にも

- ・滅菌機構が十分に解明されている
- ・滅菌工程の物理的な重要パラメーターが明確であり、それらの制御と測定が可能である
- ・滅菌操作を効果的かつ再現性よく実施できる

といった要件を満たし、かつ被滅菌物に悪影響を及ぼさない場合は、他の滅菌法を用いることができる。

1. 定義

本法で用いる用語の定義は、以下のとおりである。

- ・フィルターの完全性試験：フィルターの微生物捕捉性能デー

タとの相関性が実証された非破壊試験をいう。

- ・バイオバーデン：被滅菌物に生存する微生物群をいう。
- ・ D 値：微生物の死滅率を表す値で、供試微生物の90%を死滅させ、生存率を1/10に低下させるのに要する時間(Decimal Reduction Time)をいう。
- ・ F_H 値：乾熱滅菌におけるプロセスの微生物不活化能力の程度であり、20℃の z 値(D 値を10倍変化させる温度変化の度数)を持つ微生物について、160℃の温度に等価な時間(分)で表される値。
- ・ F_0 値：湿熱滅菌におけるプロセスの微生物不活化能力の程度であり、10℃の z 値(D 値を10倍変化させる温度変化の度数)を持つ微生物について、121.1℃の温度に等価な時間(分)で表される値。
- ・無菌性保証水準(SAL)：滅菌後に、生育可能な1個の微生物が製品中に存在する確率をいう。10⁻ⁿで表される。
- ・線量(吸収線量)：物質の単位質量当たり付与された吸収エネルギーの量。単位はグレイ(Gy)で表す。
- ・重要パラメーター：滅菌工程に本質的に必要であり、計測可能なパラメーター。
- ・載荷形態(ローディングパターン)：被滅菌物の滅菌装置又は照射容器内での数、方向、配置方法について規定した組み合わせ。

2. 滅菌法

2.1. 加熱法

加熱法は、熱によって微生物を殺滅する方法である。

2.1.1. 湿熱滅菌法

湿熱滅菌法には、一般的に広く用いられる飽和蒸気滅菌とその他の湿熱滅菌とがある。湿熱滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表1に示した。

飽和蒸気滅菌は、加圧飽和水蒸気中で微生物を殺滅する方法をいう。本法の重要パラメーターとしては、温度、圧力及び所定の温度における保持時間がある。したがって、通常の滅菌工程管理においては、温度、圧力及び保持時間を常時測定、監視すべきであり、そのための測定装置は滅菌設備の仕様として含まれていること。

また、その他の湿熱滅菌には、密封容器中の被滅菌物を滅菌する場合に用いる蒸気加圧運転サイクル、水散布サイクル、水浸漬サイクルなどがある。これらの方法の重要パラメーターとしては、容器内の温度、所定の温度における保持時間がある。

2.1.2. 乾熱滅菌法

乾熱滅菌法は、加熱乾燥空気中で微生物を殺滅する方法である。通例、バッチ式乾熱滅菌器又は連続式乾熱滅菌装置を用いる。いずれの場合においても滅菌装置に流入する空気の清浄度に留意する必要がある。乾熱滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表2に示した。本法はガラス製、磁製、金属製など耐熱性の高い材質のものや鉱油、脂肪油、固形の医薬品などで熱に安定なものが被滅菌物として適している。

本法の重要パラメーターとしては、温度及び所定の温度における保持時間(ベルト速度)がある。同じ加熱による滅菌でも、湿熱滅菌法より高い温度又は長い保持時間が必要となる。通常の滅菌工程管理においては、温度及び保持時間を常時測定、監視すべきであり、そのための測定装置は滅菌設備の仕様として含まれていること。

表1 湿熱滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

	飽和蒸気滅菌	その他の湿熱滅菌
管理項目	・熱履歴(通例F_0値で表記) ・温度(必要に応じてドレインなど) ・圧力(滅菌器内) ・所定の温度における保持時間 ・被滅菌物の載荷形態 ・蒸気品質(過熱度、乾燥度、非凝縮性ガス濃度、必要に応じて化学的純度) ・滅菌器の中に復圧などのため導入する空気の品質 ・冷却のために用いる水の品質 ・その他必要な事項	・熱履歴(通例F_0値で表記) ・温度(必要に応じてドレインなど) ・必要に応じて圧力(滅菌器内) ・所定の温度における保持時間 ・被滅菌物の載荷形態 ・滅菌器の中に復圧などのため導入する空気の品質 ・冷却のために用いる水の品質 ・その他必要な事項
管理するべきユーティリティ及び制御装置	・蒸気 ・滅菌器の中に復圧などのため導入する空気 ・冷却のために用いる水 ・温度制御装置 ・圧力制御装置 ・時間制御装置 ・その他	・蒸気 ・熱水 ・滅菌器の中に復圧などのため導入する空気 ・冷却のために用いる水 ・温度制御装置 ・圧力制御装置 ・時間制御装置 ・連続式滅菌装置の場合の搬送装置 ・その他

表2 乾熱滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

	バッチ式乾熱滅菌	連続式乾熱滅菌
管理項目	・熱履歴(通例F_0値で表記) ・温度 ・所定の温度における保持時間 ・器内外の差圧 ・被滅菌物の載荷形態 ・空気(加熱用、冷却用)の品質 ・その他必要事項	・熱履歴(通例F_0値で表記) ・温度 ・ベルト速度(保持時間) ・装置内外の差圧 ・載荷密度 ・空気(加熱用、冷却用)の品質 ・その他必要事項
管理するべきユーティリティ及び制御装置	・空気(加熱用、冷却用) ・温度制御装置 ・時間制御装置 ・器内の差圧計 ・HEPAフィルター ・その他	・空気(加熱用、冷却用) ・温度制御装置 ・時間制御装置 ・装置内の差圧計 ・HEPAフィルター ・冷却装置(必要な場合) ・その他

2.1.3. 高周波滅菌法

高周波(マイクロ波)を薬液などの被滅菌物に照射すると、吸収された高周波により、被滅菌物の極性分子が配向を変えようと振動し、分子同士の摩擦によりエネルギーを発生する。このとき生じる熱(マイクロ波加熱)によって微生物を殺滅する方法を高周波滅菌法という。高周波は、通例、2450±50 MHzのものを用いる。

高周波滅菌装置は、マグネトロンを用いて高周波照射を行い加熱する加熱照射部、赤外線ヒーターなどを用いて滅菌温度を保持するための保持部、被滅菌物を冷却する冷却部から構成され、常圧下で被滅菌物を連続的に滅菌する装置である。高周波

滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表3に示した。

本法は、密封容器等に充填された液状製品又は水分含量の多い製品に適用される。

本法の重要パラメーターとしては、被滅菌物の温度、処理時間がある。したがって、通常の滅菌工程管理においては、被滅菌物の温度、処理時間を常時測定、監視すべきであり、そのための測定装置は滅菌設備の仕様として含まれていること。

高周波による加熱は、熱効率及び応答性に優れ、高温短時間滅菌を連続処理できることが特徴である。ただし、被滅菌物の熱の伝わりやすさによって均一な加熱が難しい場合もある。さらに常圧環境下での加熱のため、内圧が高くなることから、使用する容器の耐圧性に注意する必要がある。

表3 高周波滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

管理項目	・熱履歴(通例 F_0 値で表記) ・温度 ・処理時間 ・被滅菌物の形状 ・その他必要事項
管理するべきユーティリティ及び制御装置	・高周波制御装置 ・外部加熱装置(必要な場合) ・冷却装置(必要な場合) ・温度監視装置 ・時間監視装置 ・その他

2.2. ガス法

ガス法は、滅菌ガスが微生物と接触することによって、微生物を殺滅する方法である。加熱法と比較して低い温度での滅菌が可能で、一般に被滅菌物の熱損傷が少ない方法である。そのため、熱抵抗性の低いプラスチック製容器などに適用される事例が多い。

一般的なガスを用いた滅菌法では、汚れや水分が滅菌効果を阻害するため、十分な洗浄、乾燥が重要となる。また、ガスが被滅菌物に吸着される場合では、滅菌効果が減少する。

2.2.1. 酸化エチレン(E0)ガス滅菌法

EOガス滅菌は、微生物が持つタンパク質、核酸を変性させることにより、微生物を殺滅する方法である。EOガスは、爆発性があるため、通例、二酸化炭素などで10～30%に希釈して用いる。EOガスは、反応性の強いアルキル化剤であるので、EOガスと反応する製品又はEOガスを吸収しやすい製品の滅菌には適用できない。

滅菌工程はプレコンディショニング、滅菌サイクル及びエアレーションからなる。EOガスは、変異原性などの毒性があるので、被滅菌物については、エアレーションにより残留EOガスや他の二次生成有毒ガス(エチレンクロロヒドリンなど)の濃度を安全レベル以下に下げることがある。ガスは、法規制に適合する処理を施して排気する。EOガス滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表4に示した。

本法の重要パラメーターとしては、温度、湿度、ガス濃度(圧力)及び時間がある。したがって、通常の滅菌工程管理においては、温度、湿度、ガス濃度(圧力)、及び時間を常時測定、監視すべきであり、そのための測定装置は滅菌設備の仕様として含まれていること。

表4 EOガス滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

管理項目	・滅菌ガス導入による圧力上昇、導入時間、最終圧力 ・温度(滅菌器内及び被滅菌物) ・湿度 ・EOガス濃度(滅菌器内ガス濃度の直接分析が望ましいが、困難な場合は以下の場合も許容される) i) 使用するガスの質量 ii) 使用するガスの容積 iii) 初期滅圧度とガス投入圧からの換算式採用 ・作用時間(暴露時間) ・被滅菌物の載荷形態 ・バイオロジカルインジケータの設置点及び培養結果 ・プレコンディショニング条件(温度、湿度、時間、その他) ・エアレーション条件(温度、時間、その他) ・その他必要事項
管理するべきユーティリティ及び制御装置	・EOガス ・注入する蒸気又は水 ・滅菌終了後、置換する空気 ・温度制御装置 ・湿度制御装置 ・圧力制御装置 ・時間制御装置 ・その他

2.2.2. 過酸化水素による滅菌法

過酸化水素による滅菌には、過酸化水素が持つ酸化力により微生物を殺滅する過酸化水素滅菌と、過酸化水素をブラズマ状態にすることにより発生するラジカルによる酸化反応によって微生物を殺滅する過酸化水素低温ガスブラズマ滅菌とがある。加熱法と比較して低い温度での滅菌が可能であるが、セルロースを材料として用いた使い捨ての作業衣、メンブランフィルターなど過酸化水素を吸着するような被滅菌物では、滅菌効果が減少するため、このような被滅菌物の滅菌法としては適していない。過酸化水素滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表5に示した。

表5 過酸化水素による滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

	過酸化水素滅菌	過酸化水素低温ガスブラズマ滅菌
管理項目	・濃度(滅菌器内濃度の直接分析が望ましいが、困難な場合庫内均一性も許容される) ・時間 ・温度 ・湿度 ・圧力 ・過酸化水素の品質 ・過酸化水素の消費量 ・被滅菌物の残存水分 ・被滅菌物の載荷形態 ・バイオロジカルインジケータの設置点及び培養結果 ・ケミカルインジケータの設置点及び結果 ・その他必要事項	・濃度(滅菌器内濃度の直接分析が望ましいが、困難な場合庫内均一性も許容される) ・時間 ・温度 ・湿度 ・圧力 ・過酸化水素の品質 ・過酸化水素の消費量 ・被滅菌物の残存水分 ・被滅菌物の載荷形態 ・バイオロジカルインジケータの設置点及び培養結果 ・ケミカルインジケータの設置点及び結果 ・その他必要事項
管理するべきユーティリティ及び制御装置	・過酸化水素 ・圧力計 ・過酸化水素注入装置 ・その他	・過酸化水素 ・圧力計 ・過酸化水素注入装置 ・高周波発生装置 ・その他

本法の重要パラメーターとしては、濃度、時間、温度がある。プラズマ状態にして滅菌する場合は、高周波装置の管理も重要である。被滅菌物の残存水分、滅菌環境中の湿度が滅菌効果に影響するので、必要な場合は管理すること。

2.3. 放射線法

2.3.1. 放射線滅菌法

放射線滅菌法には、 ^{60}Co を線源とした γ 線を被滅菌物に照射することで微生物を殺滅する γ 線照射滅菌と、電子線加速器から放出される電子線を照射することで微生物を殺滅する電子線照射滅菌とがある。滅菌方法の選択に当たっては、被滅菌物の品質劣化を含む適合性を事前に確認しておくこと。

γ 線照射滅菌では γ 線が二次的に発生する電子で微生物を殺滅し、電子線照射滅菌では電子が直接微生物を殺滅する。このような電子による直接作用がある一方で、 γ 線及び電子線がそれぞれ水分子と反応してラジカルなどを生成し、微生物のDNAに損傷を与えることによって殺滅する間接作用がある。

両法とも室温で滅菌が可能であるため、熱に不安定な物質適用でき、放射線が透過するためこん包状態での滅菌も可能である。 γ 線照射滅菌は、電子線に比べると透過力が高いため、主に金属、水、粉末などを含む高密度製品に適している。電子線照射滅菌は、 γ 線に比べて単位時間当たりの放射線の量(線量率)が高いため、処理時間が短くなる。放射線滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表6に示した。

2.4. ろ過法

ろ過法は、滅菌用フィルターによって液体又は気体中の微生物を物理的に除去する方法である。したがって、熱、放射線に対して不安定な被滅菌物にも適用できる。なお、ここに記載したろ過による被滅菌物は、 $0.2\ \mu\text{m}$ メンブランフィルターで除去できる微生物であり、細菌の中でもマイコプラズマやレプトスピラ、またウイルスは対象としない。ろ過法における管理項目、ユーティリティ及び制御装置を、参考として表7に示した。

液体ろ過滅菌では、ろ過時間、ろ過量、ろ過流速、ろ過差圧、温度などがフィルターの微生物除去に影響を及ぼす重要パラメーターとして挙げられる。気体ろ過滅菌では、ろ過差圧、温度などが影響を及ぼす重要パラメーターとして挙げられる。フィルターの微生物除去では、滅菌の対象が液体の場合には、ろ過を行う液体の物理化学的性質(粘度、pH、界面活性作用など)に影響される。一般に、適切な条件下で培養された指標菌 *Brevundimonas diminuta* (ATCC 19146, NBRC 14213)又はこれより小さな適切な菌を用いて、フィルターの有効ろ過単位面積(cm^2)当たり 10^7 CFU以上をチャレンジし、フィルターの二次側に無菌のろ液が得られることにより、滅菌用フィルターの微生物捕捉性能は検証される。

なお、ろ過前の液体中のバイオバーデンは、ろ過滅菌性能に影響を及ぼすため、その管理について考慮する。

3. 滅菌指標体(インジケーター)

3.1. バイオロジカルインジケーター(BI)

3.1.1. 概要

BIとは、ある滅菌法に対して強い抵抗性を示す微生物の芽胞を用いて作られた指標体であり、当該滅菌法の滅菌条件の決定及び滅菌工程の管理に使用される。

指標体は、その形状から、「ペーパーストリップタイプ」、「金属などの表面に接種するタイプ」、「液体タイプ」及び

「培地とペーパーストリップがあらかじめ封入された培地一体タイプ」などに分類される。また、担体から分類すると、ろ紙、ガラス、ステンレス又はプラスチックなどを担体として、指標菌の芽胞を接種して包装したものと、製品又は類似品を担体として指標菌の芽胞を接種したものがある。代表的な滅菌法別指標菌の例を表8に示した。

3.1.2. 市販BIの表示事項

ISO 11138-1に従って製造された市販BIの使用者は、BI製造者より使用者に対して提供された次のような情報を確認すること。

- ・製造トレーサビリティ(微生物、単体、包装材料など)
- ・菌種名
- ・公称菌数
- ・抵抗性
- ・使用方法
- ・保管条件(温度、使用期間など)
- ・培養条件(温度、期間、培地など)
- ・廃棄方法

BIの性能を決める項目としては、「菌種」、「抵抗性」、「菌数」などがある。抵抗性は、同じ菌種であっても担体又は包装材料の材質若しくは形状によっても変動するため、包装材料を含めた評価が必要である。

3.1.3. 市販BI使用時の管理

BIを使用する場合には、BI製造者が提示した保管条件、滅菌後から培養開始までの期間、培養条件、廃棄方法などに従い取り扱うこと。特に、保管条件はBIの性能に影響を及ぼすおそれがあるため、取り出してから使用するまでの期間についても長時間放置しないなどの留意をする必要がある。

BIは、被滅菌物全体を評価できるように設置する。また、加熱による滅菌におけるコールドスポットのような、それぞれの方法において、滅菌効果が低いと予測される場所にも設置する。回収する場合は、BIの包装材料や担体を破壊しないように留意する。また、包装材料を破壊してしまった場合は、指標菌が放出・拡散する可能性があるため、微生物汚染防止の観点から、手順をあらかじめ定めておくこと。

BIを購入して使用する場合、使用者は、必要に応じて受入時に芽胞菌数などの測定を行い、BI製造者の公称菌数との間に大きな差がないことを確認すること。

3.1.4. 使用者による滅菌指標体作製時の注意

購入したBIを使用せず、製造環境や被滅菌物から回収したバイオバーデンを利用して指標体を作製する場合は、使用前に少なくとも次のような事項を評価すること。

- ・菌種名
- ・菌数
- ・抵抗性(当該滅菌温度又は滅菌ガス濃度における D 値)
- ・保管条件(温度、使用期間など)
- ・培養条件(温度、期間、培地など)

なお、抵抗性についてはバイオバーデン中の最大の抵抗性菌であることを継続的に示すための評価プログラムを定めること。

3.1.5. 市販BIの使用者による改変時の注意

購入したBIを包装から取り出し、薬液や資材などの被滅菌物に接種して使用する場合は、菌数や抵抗性が変動するため、使用前にこれらの性能を評価すること。

評価を行う場合は、ISO 11138シリーズや米国薬局方〈55〉

表6 放射線滅菌における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

	γ線照射滅菌	電子線照射滅菌
管理項目	・吸収線量 ・被滅菌物の載荷形態(密度) ・照射時間(コンベア速度又はサイクルタイム) ・その他必要な事項	・吸収線量 ・被滅菌物の載荷形態(密度) ・電子ビーム特性(平均電子ビーム電流, 電子エネルギー, 走査幅) ・その他必要な事項
管理すべきユーティリティ及び制御装置	・ベルトコンベア ・線量測定システム ・その他	・電子ビーム測定装置 ・ベルトコンベア ・線量測定システム ・その他

表7 ろ過法における管理項目、ユーティリティ及び制御装置(参考)

	液体ろ過滅菌	気体ろ過滅菌
管理項目	・ろ過時間 ・ろ過量 ・ろ過流速 ・ろ過差圧 ・温度 ・フィルターの完全性 ・多回使用の場合は, 使用期間及びフィルターの滅菌回数 ・その他必要な事項	・ろ過差圧 ・必要に応じて温度 ・フィルターの完全性 ・使用期間 ・フィルターの滅菌回数 ・気体流れ方向(双方向に流す場合) ・その他必要な事項
管理すべきユーティリティ及び制御装置	・圧力計 ・流量計 ・完全性試験装置 ・その他	・圧力計 ・流量計 ・完全性試験装置 ・その他

表8 代表的な滅菌法別指標菌一覧

滅菌法	菌種	株名	D値等(参考)
湿熱滅菌法	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	ATCC 7953, NBRC 13737	1.5分間以上(121℃)
乾熱滅菌法	<i>Bacillus atrophaeus</i>	ATCC 9372, NBRC 13721	2.5分間以上(160℃)
EOガス滅菌法	<i>Bacillus atrophaeus</i>	ATCC 9372, NBRC 13721	2.5分間以上(54℃) 12.5分間以上(30℃) ガス濃度600±30 mg/L, 相対湿度60%RH
過酸化水素滅菌法	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	ATCC 12980, NBRC 12550 又は ATCC 7953, NBRC 13737	—

を参照することができる。抵抗性の評価には、生物指標抵抗性評価装置(BIER)又はオイルバスを用いたキャピラリー法がある。自社にて評価することが困難な場合は、外部試験検査機関を利用することもできる。

3.2. ケミカルインジケータ(CI)

CIとは、熱、ガス、又は放射線などの作用により化学的又は物理的に変化する指標体である。指標体の形状としては、それを塗布又は印刷した紙片などがある。滅菌方法に応じて変化する原理は異なるため、使用する滅菌方法に合ったCIを選ぶ必要がある。CIは、使用用途に基づいて以下の6クラスに分類される。ここに示すクラスは性能の優劣に関与するものではない。

なお、CIは滅菌工程の一つ又は複数の重要パラメータの達成を示す指標であるが、滅菌効果や無菌性の保証に用いる指標ではないため、BIの代わりとして用いることはできない。

クラス1：プロセス・インジケータ

被滅菌物が滅菌工程を経たかどうかを区別することを目的とする。重要パラメータの一つ又はそれ以上に反応する。

クラス2：特定試験用インジケータ

ISO 11140シリーズで規定される、真空型高圧蒸気滅菌装置の排気能力及び蒸気浸透の試験で使用される。Bowie-Dickタイプが該当する。

クラス3：単一変数インジケータ

重要パラメータの一つのみに反応する。指定されたパラ

メータの規定値で、滅菌工程に暴露されたことを示す。

クラス4：複数変数インジケータ

重要パラメータの二つ又はそれ以上に反応する。指定されたパラメータの規定値で、滅菌工程に暴露されたことを示す。

クラス5：インテグレーション・インジケータ

全ての重要パラメータに反応する。ISO 11138シリーズに規定されているBIの性能要求と同等又はそれ以上の規定値を持つ。

クラス6：エミュレーション・インジケータ

規定された滅菌サイクルの全ての重要パラメータに反応する。規定値は、指定した滅菌工程の重要パラメータである。

3.3. 線量計

3.3.1. 線量計の種類

放射線照射プロセスにおける線量計とは、放射線を吸収することによる変化から吸収線量を読み取る計器又はシステムであり、「再現性」と「放射線の測定が可能な応答性」を持つことが要求される。線量計の多くは、使用する照射施設における照射前後及び照射中の温度並びに線量率などの環境条件(工程パラメータ)によって影響を受ける場合があるため注意を要する。線量計の選定や使用については、放射線照射プロセスに対する線量計システムの選定及び校正指針(ISO/ASTM 51261)が規定されている。放射線の吸収線量を測定する線量計を表9に

表9 線量計の種類

放射線種類	線量計
γ線	着色ポリメチルメタクリレート線量計
	透明ポリメチルメタクリレート線量計
	セリックセラズ線量計
	アラニン線量計
γ線, 電子線	セルロースアセテート線量計
	ラジオクロミックフィルム線量計

示した。なお、γ線用線量計は、通例、エネルギー3 MeV未満の電子線を用いる滅菌の工程管理には適さない。

3.3.2. 線量計使用方法

線量計は、放射線の照射条件を決定するために実施する線量分布測定時に、また、通常の放射線滅菌における被滅菌物の吸収線量を評価するために使用する。前者では、あらかじめ被滅菌物内部に線量計を配置し、放射線照射後に回収して、測定システムで計測することにより、各部位の吸収線量を明確にする。このとき、放射線の透過性や線量のばらつきからこん包形態の妥当性を確認すると共に、最小及び最大線量と工程パラメーターとの関係を決定する必要があるため、線量計を垂直方向、水平方向の広い範囲に配置する。後者では、線量計を必ずしも被滅菌物内部の最小や最大線量部位に設置する必要はない。線量計の設置／回収が容易な管理点を選定し、管理点での吸収線量を基に被滅菌物の吸収線量を保証する。そのために線量分布測定において、この管理点と被滅菌物内の最大／最小線量部位との量的な関係を明確にすると共に、管理点における合格線量範囲も算出しておくこと。

なお、線量計は、新しく購入して使用する前に校正を行うほか、線量計のバッチ切り替え時、及び1年を超えないごとに1回、校正する。

4. 滅菌条件設計法

4.1. ハーフサイクル法

ハーフサイクル法は、被滅菌物上に存在するバイオバーデン数や検出菌の当該滅菌法に対する抵抗性とは関係なく、BIに含まれる 10^6 CFUの指標菌の全てが死滅する処理時間の2倍の滅菌時間を採用する方法である。本法は、主にEOなどガス滅菌法の滅菌条件の設定に使用される。

4.2. オーバーキル法

オーバーキル法は、被滅菌物上のバイオバーデン数や検出菌の当該滅菌法に対する抵抗性とは関係なく、 10^{-6} 以下のSALが得られる条件で滅菌を行う方法である。

蒸気滅菌の場合は $12D$ の滅菌条件をいう。ただし、 F_0 値12以上での滅菌条件もオーバーキル法と称している。

4.3. バイオバーデン／BI併用法

バイオバーデン／BI併用法は、広範なバイオバーデン調査結果から最大バイオバーデン数を決定し、目標とするSALを基に、最大バイオバーデン数以上の試験菌数を有する適当な市販BIを用いて滅菌時間(又は滅菌線量)を算出する方法である。

本法を用いる場合は、被滅菌物のバイオバーデン数を日常的に調査し、検出菌の当該滅菌法に対する抵抗性測定も定期的に実施する必要がある。

バイオバーデン調査において、BIの指標菌より抵抗性の強い菌が検出された場合には、それを用いて指標菌とする。また、必要に応じて滅菌条件の見直しを行う。

滅菌時間(又は滅菌線量) $=D \times \log(N_0/N)$

D : BIの D 値

N : 目的とする無菌性保証水準(SAL)

N_0 : 被滅菌物の最大バイオバーデン数

4.4. 絶対バイオバーデン法

絶対バイオバーデン法は、被滅菌物や製造環境から検出された菌について、当該滅菌法に対する抵抗性調査を行い、湿熱滅菌法の場合には、その中から最も抵抗性の強い菌を選び、その D 値を用い、被滅菌物のバイオバーデン数を基に滅菌条件を設定する方法である。

バイオバーデン数は、広範なバイオバーデン調査によって決定する。本法を用いる場合は、日常のバイオバーデン管理において、菌数計測及び検出菌の当該滅菌法に対する抵抗性測定を日常的に行う必要がある。

放射線滅菌法の場合は、ISO 11137-2の方法により実施する。

5. 参考資料

- 1) ISO 11138-1: 2006, Sterilization of health care products- Biological indicators-Part1: General requirements.
- 2) ISO 11137-2: 2013, Sterilization of health care products- Radiation-Part2: Establishing the sterilization dose.
- 3) ISO/ASTM 51261: 2013, Practice for calibration of routine dosimetry systems for radiation processing.
- 4) ISO 11140-1: 2014, Sterilization of health care products- Chemical indicators-Part1: General requirements.
- 5) US Pharmacopeia 38 (2015), <55> Biological Indicators- Resistance Performance Tests.

G5. 生薬関連

日本薬局方収載生薬の学名表記について〈G5-1-182〉

日本薬局方収載生薬の基原植物、藻類、真菌類及び基原動物の学名表記法は、論文等で使用される分類学的に用いられる学名表記と若干異なっている。これは、日局が学術書ではなく法令であるために生じる問題である。日局での学名表記と、分類学的に通常使用される学名表記との不一致について、日局利用者の誤解を避けるため、本表に、日局で表記した学名と分類学的に通常使用される学名表記との関係を示す。また、日局に記載されている植物の科名は、新エングラの分類体系に基づくものが採用されている。1998年に、DNAの塩基配列情報に基づくAPGの分類体系が発表されて以降、数度の改訂を経て、植物分類学では現在、主にAPGの分類体系が用いられていることから、新エングラとAPGの分類体系における科名の関係を併記する。

なお、APGの分類体系の対象外である裸子植物、藻類、真菌類及び動物については、米倉¹⁾及びGBIF²⁾に従った。

日本薬局方の学名表記と分類学的に用いられる学名表記

生薬名	日本薬局方の学名表記 ＝分類学的に用いられている学名表記 ^{3,4)} 日本薬局方の学名表記とは異なるが分類学的に同一あるいは同一とみなされることがあるもの 及び収載種に含まれる代表的な下位分類群。*印のあるものは、日本薬局方で併記されている もの。	科名 日本薬局方の表記	科名 APG IV など ^{1,2,5,6)}
アカメガシワ	アカメガシワ <i>Mallotus japonicus</i> Müller Argoviensis ＝ <i>Mallotus japonicus</i> (Thunb.) Müll. Arg.	<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Euphorbiaceae</i>
アセンヤク	<i>Uncaria gambir</i> Roxburgh ＝ <i>Uncaria gambir</i> (Hunter) Roxb.	<i>Rubiaceae</i>	<i>Rubiaceae</i>
アヘン末	ケシ <i>Papaver somniferum</i> Linné ＝ <i>Papaver somniferum</i> L.	<i>Papaveraceae</i>	<i>Papaveraceae</i>
アマチャ	アマチャ <i>Hydrangea macrophylla</i> Seringe var. <i>thunbergii</i> Makino ＝ <i>Hydrangea macrophylla</i> (Thunb.) Ser. var. <i>thunbergii</i> (Siebold) Makino	<i>Saxifragaceae</i>	<i>Hydrangeaceae</i>
アラビアゴム	<i>Acacia senegal</i> Willdenow ＝ <i>Acacia senegal</i> (L.) Willd. その他同属植物	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
アロエ	<i>Aloe ferox</i> Miller ＝ <i>Aloe ferox</i> Mill. <i>Aloe ferox</i> Miller と <i>Aloe africana</i> Miller との種間雑種 <i>Aloe africana</i> Miller ＝ <i>Aloe africana</i> Mill. <i>Aloe ferox</i> Miller と <i>Aloe spicata</i> Baker との種間雑種	<i>Liliaceae</i>	<i>Asphodelaceae</i>
アンソッコウ	<i>Styrax benzoin</i> Dryander ＝ <i>Styrax benzoin</i> Dryand. その他同属植物	<i>Styracaceae</i>	<i>Styracaceae</i>
イレイセン	<i>Clematis mandshurica</i> Ruprecht ＝ <i>Clematis mandshurica</i> Rupr. サキシマボタンヅル <i>Clematis chinensis</i> Osbeck <i>Clematis hexapetala</i> Pallas ＝ <i>Clematis hexapetala</i> Pall.	<i>Ranunculaceae</i>	<i>Ranunculaceae</i>
インチンコウ	カワラヨモギ <i>Artemisia capillaris</i> Thunberg ＝ <i>Artemisia capillaris</i> Thunb.	<i>Compositae</i>	<i>Compositae</i> / <i>Asteraceae</i>
インヨウカク	キバナイカリソウ <i>Epimedium koreanum</i> Nakai イカリソウ <i>Epimedium grandiflorum</i> Morren var. <i>thunbergianum</i> Nakai ＝ <i>Epimedium grandiflorum</i> Morr. var. <i>thunbergianum</i> (Miq.) Nakai <i>Epimedium pubescens</i> Maximowicz ＝ <i>Epimedium pubescens</i> Maxim. <i>Epimedium brevicornu</i> Maximowicz ＝ <i>Epimedium brevicornu</i> Maxim. <i>Epimedium wushanense</i> T. S. Ying ホザキイカリソウ <i>Epimedium sagittatum</i> Maximowicz ＝ <i>Epimedium sagittatum</i> (Siebold & Zucc.) Maxim. トキワイカリソウ <i>Epimedium sempervirens</i> Nakai	<i>Berberidaceae</i>	<i>Berberidaceae</i>
ウイキョウ	ウイキョウ <i>Foeniculum vulgare</i> Miller ＝ <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	<i>Umbelliferae</i>	<i>Umbelliferae</i> / <i>Apiaceae</i>
ウイキョウ油	ウイキョウ <i>Foeniculum vulgare</i> Miller ＝ <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. <i>Illicium verum</i> Hooker filius ＝ <i>Illicium verum</i> Hook. f.	<i>Umbelliferae</i> <i>Illiciaceae</i>	<i>Umbelliferae</i> / <i>Apiaceae</i> <i>Schisandraceae</i>
ウコン	ウコン <i>Curcuma longa</i> Linné ＝ <i>Curcuma longa</i> L.	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Zingiberaceae</i>
ウヤク	テンダイウヤク <i>Lindera strychnifolia</i> Fernandez-Villar ＝ <i>Lindera strychnifolia</i> (Siebold & Zucc.) Fern.-Vill. <i>Lindera aggregata</i> (Sims) Kosterm.	<i>Lauraceae</i>	<i>Lauraceae</i>
ウウルシ	クマコケモモ <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> Sprengel ＝ <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> (L.) Spreng.	<i>Ericaceae</i>	<i>Ericaceae</i>
エイジツ	ノイバラ <i>Rosa multiflora</i> Thunberg ＝ <i>Rosa multiflora</i> Thunb.	<i>Rosaceae</i>	<i>Rosaceae</i>
エンゴサク	<i>Corydalis turtshaninovii</i> Besser forma <i>yanhusuo</i> Y. H. Chou et C. C. Hsu ＝ <i>Corydalis turtshaninovii</i> Besser f. <i>yanhusuo</i> (W. T. Wang) Y. H. Chou & C. C. Hsu <i>Corydalis yanhusuo</i> W. T. Wang	<i>Papaveraceae</i>	<i>Papaveraceae</i>
オウギ	<i>Astragalus mongholicus</i> Bunge <i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.) Bunge var. <i>mongholicus</i> (Bunge) Hsiao キバナオウギ <i>Astragalus membranaceus</i> Bunge ＝ <i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.) Bunge	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>

オウゴン	コガネバナ <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	<i>Labiatae</i>	<i>Labiatae/ Lamiaceae</i>
オウセイ	<i>Polygonatum kingianum</i> Collett et Hemsley = <i>Polygonatum kingianum</i> Collett & Hemsl.	<i>Liliaceae</i>	<i>Asparagaceae</i>
	カギクルマバナナルコユリ <i>Polygonatum sibiricum</i> Redouté		
	<i>Polygonatum cyrtoneura</i> Hua		
	ナルコユリ <i>Polygonatum falcatum</i> A. Gray		
オウバク	キハダ <i>Phellodendron amurense</i> Ruprecht = <i>Phellodendron amurense</i> Rupr.	<i>Rutaceae</i>	<i>Rutaceae</i>
	ヒロハキハダ <i>Phellodendron amurense</i> Rupr. var. <i>sachalinense</i> F. Schmidt		
	オオバノキハダ <i>Phellodendron amurense</i> Rupr. var. <i>japonicum</i> (Maxim.) Ohwi		
	ミヤマキハダ <i>Phellodendron amurense</i> Rupr. var. <i>lavalleyi</i> (Dode) Sprague		
オウヒ	<i>Phellodendron chinense</i> Schneider = <i>Phellodendron chinense</i> C. K. Schneid.	<i>Rosaceae</i>	<i>Rosaceae</i>
	ヤマザクラ <i>Prunus jamasakura</i> Siebold ex Koidzumi = <i>Prunus jamasakura</i> Siebold ex Koidz.		
	カスミザクラ <i>Prunus verecunda</i> Koehne = <i>Prunus verecunda</i> (Koidz.) Koehne		
オウレン	オウレン <i>Coptis japonica</i> Makino = <i>Coptis japonica</i> (Thunb.) Makino	<i>Ranunculaceae</i>	<i>Ranunculaceae</i>
	セリバオウレン <i>Coptis japonica</i> (Thunb.) Makino var. <i>dissecta</i> (Yatabe) Nakai		
	キクバオウレン <i>Coptis japonica</i> (Thunb.) Makino var. <i>japonica</i>		
	コセリバオウレン <i>Coptis japonica</i> (Thunb.) Makino var. <i>major</i> (Miq.) Satake		
	<i>Coptis chinensis</i> Franchet = <i>Coptis chinensis</i> Franch.		
	<i>Coptis deltoidea</i> C. Y. Cheng et Hsiao		
	<i>Coptis teeta</i> Wallich = <i>Coptis teeta</i> Wall.		
オリブ油	<i>Olea europaea</i> Linné = <i>Olea europaea</i> L.	<i>Oleaceae</i>	<i>Oleaceae</i>
オレンジ油	<i>Citrus</i> 属諸種植物	<i>Rutaceae</i>	<i>Rutaceae</i>
オンジ	イトヒメハギ <i>Polygala tenuifolia</i> Willdenow = <i>Polygala tenuifolia</i> Willd.	<i>Polygalaceae</i>	<i>Polygalaceae</i>
ガイヨウ	ヨモギ <i>Artemisia princeps</i> Pampanini = <i>Artemisia princeps</i> Pamp.	<i>Compositae</i>	<i>Compositae/ Asteraceae</i>
	オオヨモギ <i>Artemisia montana</i> Pampanini = <i>Artemisia montana</i> (Nakai) Pamp.		
カカオ脂	カカオ <i>Theobroma cacao</i> Linné = <i>Theobroma cacao</i> L.	<i>Sterculiaceae</i>	<i>Malvaceae</i>
カゴソウ	ウツボグサ <i>Prunella vulgaris</i> Linné var. <i>lilacina</i> Nakai = <i>Prunella vulgaris</i> L. var. <i>lilacina</i> Nakai	<i>Labiatae</i>	<i>Labiatae/ Lamiaceae</i>
カシュウ	ツルドクダミ <i>Polygonum multiflorum</i> Thunberg = <i>Polygonum multiflorum</i> Thunb.	<i>Polygonaceae</i>	<i>Polygonaceae</i>
ガジュツ	ガジュツ <i>Curcuma zedoaria</i> Roscoe	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Zingiberaceae</i>
	<i>Curcuma phaeocaulis</i> Veleton		
	<i>Curcuma kwangsiensis</i> S. G. Lee et C. F. Liang		
カッコウ	<i>Pogostemon cablin</i> Benth = <i>Pogostemon cablin</i> (Blanco) Benth.	<i>Labiatae</i>	<i>Labiatae/ Lamiaceae</i>
カッコン	クズ <i>Pueraria lobata</i> Ohwi = <i>Pueraria lobata</i> (Willd.) Ohwi	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae/ Fabaceae</i>
カノコソウ	カノコソウ <i>Valeriana fauriei</i> Briquet = <i>Valeriana fauriei</i> Briq.	<i>Valerianaceae</i>	<i>Caprifoliaceae</i>
	エゾカノコソウ <i>Valeriana fauriei</i> Briq. f. <i>yezoensis</i> Hara		
カルナウバロウ	カルナウバヤシ <i>Copernicia cerifera</i> Martius = <i>Copernicia cerifera</i> Mart.	<i>Palmae</i>	<i>Palmae/ Arecaeae</i>
カロコン	<i>Trichosanthes kirilowii</i> Maximowicz = <i>Trichosanthes kirilowii</i> Maxim.	<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Cucurbitaceae</i>
	キカラスウリ <i>Trichosanthes kirilowii</i> Maximowicz var. <i>japonica</i> Kitamura = <i>Trichosanthes kirilowii</i> Maxim. var. <i>japonica</i> (Miq.) Kitam.		
	オオカラスウリ <i>Trichosanthes bracteata</i> Voigt = <i>Trichosanthes bracteata</i> (Lam.) Voigt		
カンキョウ	ショウガ <i>Zingiber officinale</i> Roscoe	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Zingiberaceae</i>
カンゾウ	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer = <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae/ Fabaceae</i>
	<i>Glycyrrhiza glabra</i> Linné		
	= <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.		

カンテン	マクサ(テングサ) <i>Gelidium elegans</i> Kuetzing	<i>Gelidiaceae</i>	<i>Gelidiaceae</i> [#]
	その他同属植物		
	諸種紅藻類		
キキョウ	キキョウ <i>Platycodon grandiflorus</i> A. De Candolle = <i>Platycodon grandiflorus</i> (Jacq.) A. DC.	<i>Campanulaceae</i>	<i>Campanulaceae</i>
キクカ	シマカンギク <i>Chrysanthemum indicum</i> Linné = <i>Chrysanthemum indicum</i> L.	<i>Compositae</i>	<i>Compositae</i> / <i>Asteraceae</i>
	キク <i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramatuelle = <i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramat.		
	キササゲ <i>Catalpa ovata</i> G. Don		
キササゲ	<i>Catalpa bungei</i> C. A. Meyer = <i>Catalpa bungei</i> C. A. Mey.	<i>Bignoniaceae</i>	<i>Bignoniaceae</i>
	ダイダイ <i>Citrus aurantium</i> Linné var. <i>daidai</i> Makino = <i>Citrus aurantium</i> L. var. <i>daidai</i> Makino ----- <i>Citrus aurantium</i> L. <i>daidai</i>		
	ナツミカン <i>Citrus natsudaikai</i> Hayata <i>Citrus aurantium</i> Linné = <i>Citrus aurantium</i> L. ----- ハッサク <i>Citrus aurantium</i> L. subsp. <i>hassaku</i> (Tanaka) Hiroe <i>Citrus hassaku</i> hort. ex Tanaka		
牛脂	ウシ <i>Bos taurus</i> Linné var. <i>domesticus</i> Gmelin = <i>Bos taurus</i> L. var. <i>domesticus</i> Gmelin	<i>Bovidae</i>	<i>Bovidae</i> [#]
キョウカツ	<i>Notopterygium incisum</i> Ting ex H. T. Chang	<i>Umbelliferae</i>	<i>Umbelliferae</i> / <i>Apiaceae</i>
	<i>Notopterygium forbesii</i> Boissieu		
キョウニン	ホンアンズ <i>Prunus armeniaca</i> Linné = <i>Prunus armeniaca</i> L.	<i>Rosaceae</i>	<i>Rosaceae</i>
	アンズ <i>Prunus armeniaca</i> Linné var. <i>ansu</i> Maximowicz = <i>Prunus armeniaca</i> L. var. <i>ansu</i> Maxim.		
	<i>Prunus sibirica</i> Linné = <i>Prunus sibirica</i> L.		
	クコ <i>Lycium chinense</i> Miller = <i>Lycium chinense</i> Mill. <i>Lycium barbarum</i> Linné = <i>Lycium barbarum</i> L.		
クジン	クララ <i>Sophora flavescens</i> Aiton	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
木クレオソート	<i>Pinus</i> 属諸種植物	<i>Pinaceae</i>	<i>Pinaceae</i> [#]
	<i>Cryptomeria</i> 属諸種植物	<i>Taxodiaceae</i>	<i>Cupressaceae</i> [#]
	<i>Fagus</i> 属諸種植物	<i>Fagaceae</i>	<i>Fagaceae</i>
	<i>Azelia</i> 属植物(<i>Intsia</i> 属植物)	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
	<i>Shorea</i> 属植物	<i>Dipterocarpaceae</i>	<i>Dipterocarpaceae</i>
	<i>Tectona</i> 属植物	<i>Verbenaceae</i>	<i>Labiatae</i> / <i>Lamiaceae</i>
	ケイガイ <i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briquet = <i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briq.	<i>Labiatae</i>	<i>Labiatae</i> / <i>Lamiaceae</i>
ケイヒ	<i>Cinnamomum cassia</i> J. Presl = <i>Cinnamomum cassia</i> (L.) J. Presl	<i>Lauraceae</i>	<i>Lauraceae</i>
ケイヒ油	<i>Cinnamomum cassia</i> J. Presl	<i>Lauraceae</i>	<i>Lauraceae</i>
	= <i>Cinnamomum cassia</i> (L.) J. Presl		
	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Nees		
ケツメイシ	エビスグサ <i>Cassia obtusifolia</i> Linné = <i>Cassia obtusifolia</i> L.	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
	<i>Cassia tora</i> Linné = <i>Cassia tora</i> L.		
	アサガオ <i>Pharbitis nil</i> Choisy = <i>Pharbitis nil</i> (L.) Choisy		
ゲンチアナ	<i>Gentiana lutea</i> Linné = <i>Gentiana lutea</i> L.	<i>Gentianaceae</i>	<i>Gentianaceae</i>
ゲンノショウコ	ゲンノショウコ <i>Geranium thunbergii</i> Siebold et Zuccarini = <i>Geranium thunbergii</i> Siebold & Zucc.	<i>Geraniaceae</i>	<i>Geraniaceae</i>

コウイ	トウモロコシ <i>Zea mays</i> Linné = <i>Zea mays</i> L.	Gramineae	Gramineae ¹ Poaceae
	キャッサバ <i>Manihot esculenta</i> Crantz	Euphorbiaceae	Euphorbiaceae
	ジャガイモ <i>Solanum tuberosum</i> Linné = <i>Solanum tuberosum</i> L.	Solanaceae	Solanaceae
	サツマイモ <i>Ipomoea batatas</i> Poiret = <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Poir. ----- <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.	Convolvulaceae	Convolvulaceae
	イネ <i>Oryza sativa</i> Linné = <i>Oryza sativa</i> L.	Gramineae	Gramineae ¹ Poaceae
コウカ	ベニバナ <i>Carthamus tinctorius</i> Linné = <i>Carthamus tinctorius</i> L.	Compositae	Compositae ¹ Asteraceae
コウジン	オタネニンジン <i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer = <i>Panax ginseng</i> C. A. Mey. ----- * <i>Panax schinseng</i> Nees	Araliaceae	Araliaceae
コウブシ	ハマズグ <i>Cyperus rotundus</i> Linné = <i>Cyperus rotundus</i> L.	Cyperaceae	Cyperaceae
コウベイ	イネ <i>Oryza sativa</i> Linné = <i>Oryza sativa</i> L.	Gramineae	Gramineae ¹ Poaceae
コウボク	ホオノキ <i>Magnolia obovata</i> Thunberg = <i>Magnolia obovata</i> Thunb. ----- * <i>Magnolia hypoleuca</i> Siebold et Zuccarini = <i>Magnolia hypoleuca</i> Siebold & Zucc. ----- <i>Magnolia officinalis</i> Rehder et E. H. Wilson ----- <i>Magnolia officinalis</i> Rehder et E. H. Wilson var. <i>biloba</i> Rehder et E. H. Wilson	Magnoliaceae	Magnoliaceae
ゴオウ	ウシ <i>Bos taurus</i> Linné var. <i>domesticus</i> Gmelin = <i>Bos taurus</i> L. var. <i>domesticus</i> Gmelin	Bovidae	Bovidae [#]
ゴシツ	<i>Achyranthes bidentata</i> Blume	Amaranthaceae	Amaranthaceae
	ヒナタイノコズチ <i>Achyranthes fauriei</i> H. Léveillé et Vaniot = <i>Achyranthes fauriei</i> H. Lev. & Vaniot		
ゴシユコ	<i>Euodia officinalis</i> Dode ----- * <i>Evodia officinalis</i> Dode <i>Evodia rutaecarpa</i> (A. juss.) Benth. var. <i>officinalis</i> (Dode) Huang ----- <i>Euodia bodinieri</i> Dode ----- * <i>Evodia bodinieri</i> Dode <i>Evodia rutaecarpa</i> (A. Juss.) Benth. var. <i>bodinieri</i> (Dode) Huang ----- ゴシユコ <i>Euodia ruticarpa</i> Hooker filius et Thomson = <i>Euodia ruticarpa</i> (A. Juss.) Hook. f. & Thomson ----- * <i>Evodia rutaecarpa</i> Benth. = <i>Evodia rutaecarpa</i> (A. Juss.) Benth. <i>Tetradium ruticarpum</i> (A. Juss.) T.G. Hartley	Rutaceae	Rutaceae
ゴボウシ	ゴボウ <i>Arctium lappa</i> Linné = <i>Arctium lappa</i> L.	Compositae	Compositae ¹ Asteraceae
ゴマ	ゴマ <i>Sesamum indicum</i> Linné	Pedaliaceae	Pedaliaceae
ゴマ油	= <i>Sesamum indicum</i> L.		
ゴミシ	チョウセンゴミシ <i>Schisandra chinensis</i> Baillon = <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill.	Schisandraceae	Schisandraceae
コロンボ	<i>Jateorhiza columba</i> Miers	Menispermaceae	Menispermaceae
コンズランゴ	<i>Marsdenia cundurango</i> Reichenbach filius = <i>Marsdenia cundurango</i> Rehb. f.	Asclepiadaceae	Apocynaceae
サイコ	ミシマサイコ <i>Bupleurum falcatum</i> Linné = <i>Bupleurum falcatum</i> L. ----- <i>Bupleurum chinense</i> DC. ----- <i>Bupleurum scorzonerifolium</i> Willd.	Umbelliferae	Umbelliferae ¹ Apiaceae
サイシン	ケイリンサイシン <i>Asiasarum heterotropoides</i> F. Maekawa var. <i>mandshuricum</i> F. Maekawa = <i>Asiasarum heterotropoides</i> (F. Schmidt) F. Maek. var. <i>mandshuricum</i> (Maxim.) F. Maek. ----- <i>Asarum heterotropoides</i> F. Schmidt var. <i>mandshuricum</i> (Maxim.) Kitag. ----- ウスバサイシン <i>Asiasarum sieboldii</i> F. Maekawa = <i>Asiasarum sieboldii</i> (Miq.) F. Maek. ----- <i>Asarum sieboldii</i> Miq. ----- ウスゲサイシン <i>Asarum sieboldii</i> Miq. var. <i>seoulense</i> Nakai	Aristolochiaceae	Aristolochiaceae
サフラン	サフラン <i>Crocus sativus</i> Linné = <i>Crocus sativus</i> L.	Iridaceae	Iridaceae
サンキライ	<i>Smilax glabra</i> Roxburgh = <i>Smilax glabra</i> Roxb.	Liliaceae	Smilacaceae

サンザシ	サンザシ <i>Crataegus cuneata</i> Siebold et Zuccarini = <i>Crataegus cuneata</i> Siebold & Zucc.	Rosaceae	Rosaceae
	オオミサンザシ <i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge var. <i>major</i> N. E. Brown = <i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge var. <i>major</i> N. E. Br.		
サンシシ	クチナシ <i>Gardenia jasminoides</i> J. Ellis = <i>Gardenia jasminoides</i> J. Ellis f. <i>longicarpa</i> Z. W. Xie & M. Okada	Rubiaceae	Rubiaceae
サンシュユ	サンシュユ <i>Cornus officinalis</i> Siebold et Zuccarini = <i>Cornus officinalis</i> Siebold & Zucc.	Cornaceae	Cornaceae
サンショウ	サンショウ <i>Zanthoxylum piperitum</i> De Candolle = <i>Zanthoxylum piperitum</i> (L.) DC. アサクラザンショウ <i>Zanthoxylum piperitum</i> (L.) DC. f. <i>inerme</i> Makino	Rutaceae	Rutaceae
サンソウニン	サネブトナツメ <i>Ziziphus jujuba</i> Miller var. <i>spinosa</i> Hu ex H. F. Chow = <i>Ziziphus jujuba</i> Mill. var. <i>spinosa</i> (Bunge) Hu ex H. F. Chow	Rhamnaceae	Rhamnaceae
サンヤク	ヤマノイモ <i>Dioscorea japonica</i> Thunberg = <i>Dioscorea japonica</i> Thunb.	Dioscoreaceae	Dioscoreaceae
	ナガイモ <i>Dioscorea batatas</i> Decaisne = <i>Dioscorea batatas</i> Decne.		
	<i>Dioscorea opposita</i> Thunb.		
ジオウ	アカヤジオウ <i>Rehmannia glutinosa</i> Liboschitz var. <i>purpurea</i> Makino = <i>Rehmannia glutinosa</i> Libosch. var. <i>purpurea</i> Makino	Scrophulariaceae	Orobanchaceae
	<i>Rehmannia glutinosa</i> Liboschitz = <i>Rehmannia glutinosa</i> Libosch.		
シゴカ	エゾウコギ <i>Eleutherococcus senticosus</i> Maximowicz = <i>Eleutherococcus senticosus</i> (Rupr. & Maxim.) Maxim.	Araliaceae	Araliaceae
	* <i>Acanthopanax senticosus</i> Harms = <i>Acanthopanax senticosus</i> (Rupr. & Maxim.) Harms		
ジコッピ	クコ <i>Lycium chinense</i> Miller = <i>Lycium chinense</i> Mill.	Solanaceae	Solanaceae
	<i>Lycium barbarum</i> Linné = <i>Lycium barbarum</i> L.		
シコン	ムラサキ <i>Lithospermum erythrorhizon</i> Siebold et Zuccarini = <i>Lithospermum erythrorhizon</i> Siebold & Zucc.	Boraginaceae	Boraginaceae
シツリシ	ハマビシ <i>Tribulus terrestris</i> Linné = <i>Tribulus terrestris</i> L.	Zygophyllaceae	Zygophyllaceae
シャカンゾウ	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer = <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.	Leguminosae	Leguminosae/ Fabaceae
	<i>Glycyrrhiza glabra</i> Linné = <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.		
シャクヤク	シャクヤク <i>Paeonia lactiflora</i> Pallas = <i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	Paeoniaceae	Paeoniaceae
ジャシヨウシ	<i>Cnidium monnieri</i> Cusson = <i>Cnidium monnieri</i> (L.) Cusson	Umbelliferae	Umbelliferae/ Apiaceae
シャゼンシ	オオバコ <i>Plantago asiatica</i> Linné = <i>Plantago asiatica</i> L.	Plantaginaceae	Plantaginaceae
シャゼンソウ	オオバコ <i>Plantago asiatica</i> Linné = <i>Plantago asiatica</i> L.	Plantaginaceae	Plantaginaceae
ジュウヤク	ドクダミ <i>Houttuynia cordata</i> Thunberg = <i>Houttuynia cordata</i> Thunb.	Saururaceae	Saururaceae
シュクシヤ	<i>Amomum villosum</i> Loureiro var. <i>xanthioides</i> T. L. Wu et S. J. Chen = <i>Amomum villosum</i> Lour. var. <i>xanthioides</i> (Wall. ex Baker) T. L. Wu & S. J. Chen	Zingiberaceae	Zingiberaceae
	<i>Amomum xanthioides</i> Wallich = <i>Amomum xanthioides</i> Wall. ex Baker		
	<i>Amomum villosum</i> Lour. var. <i>nanum</i> H. T. Tsai & S. W. Zhao		
	<i>Amomum villosum</i> Loureiro var. <i>villosum</i> = <i>Amomum villosum</i> Lour. var. <i>villosum</i>		
	<i>Amomum villosum</i> Lour.		
	<i>Amomum longiligulare</i> T. L. Wu		
ショウキョウ	ショウガ <i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiberaceae	Zingiberaceae
ショウズク	<i>Elettaria cardamomum</i> Maton	Zingiberaceae	Zingiberaceae
ショウマ	<i>Cimicifuga dahurica</i> Maximowicz = <i>Cimicifuga dahurica</i> (Turcz.) Maxim.	Ranunculaceae	Ranunculaceae
	<i>Cimicifuga heracleifolia</i> Komarov = <i>Cimicifuga heracleifolia</i> Kom.		
	<i>Cimicifuga foetida</i> Linné = <i>Cimicifuga foetida</i> L.		
	サラシナショウマ <i>Cimicifuga simplex</i> Turczaninow = <i>Cimicifuga simplex</i> (DC.) Turcz.		

シンイ	<i>Magnolia biondii</i> Pampanini = <i>Magnolia biondii</i> Pamp.	Magnoliaceae	Magnoliaceae
	ハクモクレン <i>Magnolia heptapeta</i> Dandy = <i>Magnolia heptapeta</i> (Buchoz) Dandy		
	* <i>Magnolia denudata</i> Desrousseaux = <i>Magnolia denudata</i> Desr.		
	<i>Magnolia sprengeri</i> Pampanini = <i>Magnolia sprengeri</i> Pamp.		
	タムシバ <i>Magnolia salicifolia</i> Maximowicz = <i>Magnolia salicifolia</i> (Siebold & Zucc.) Maxim.		
	コブシ <i>Magnolia kobus</i> De Candolle = <i>Magnolia kobus</i> DC.		
シンギ	<i>Hedysarum polybotrys</i> Handel-Mazzetti = <i>Hedysarum polybotrys</i> Hand.-Mazz.	Leguminosae	Leguminosae/ Fabaceae
セネガ	セネガ <i>Polygala senega</i> Linné = <i>Polygala senega</i> L.	Polygalaceae	Polygalaceae
	ヒロハセネガ <i>Polygala senega</i> Linné var. <i>latifolia</i> Torrey et Gray = <i>Polygala senega</i> L. var. <i>latifolia</i> Torr. & A. Gray		
センキュウ	センキュウ <i>Cnidium officinale</i> Makino	Umbelliferae	Umbelliferae/ Apiaceae
ゼンコ	<i>Peucedanum praeruptorum</i> Dunn	Umbelliferae	Umbelliferae/ Apiaceae
	ノダケ <i>Angelica decursiva</i> Franchet et Savatier = <i>Angelica decursiva</i> (Miq.) Franch. & Sav.		
	* <i>Peucedanum decursivum</i> Maximowicz = <i>Peucedanum decursivum</i> (Miq.) Maxim.		
センコツ	コウホネ <i>Nuphar japonica</i> De Candolle = <i>Nuphar japonica</i> DC.	Nymphaeaceae	Nymphaeaceae
	ネムロコウホネ <i>Nuphar pumila</i> De Candolle = <i>Nuphar pumila</i> (Timm) DC.		
	上記種の種間雑種		
センソ	アジアヒキガエル <i>Bufo gargarizans</i> Cantor	Bufonidae	Bufonidae [#]
	= <i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor		
	<i>Bufo melanostictus</i> Schneider = <i>Duttaphrynus melanostictus</i> Schneider		
センナ	<i>Cassia angustifolia</i> Vahl	Leguminosae	Leguminosae/ Fabaceae
	<i>Cassia acutifolia</i> Delile		
センブリ	センブリ <i>Swertia japonica</i> Makino = <i>Swertia japonica</i> (Shult.) Makino	Gentianaceae	Gentianaceae
ソウジュツ	ホソバオケラ <i>Atractylodes lancea</i> De Candolle = <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC.	Compositae	Compositae/ Asteraceae
	シナオケラ <i>Atractylodes chinensis</i> Koidzumi = <i>Atractylodes chinensis</i> (Bunge) Koidz.		
	上記種の種間雑種		
ソウハクヒ	マグワ <i>Morus alba</i> Linné = <i>Morus alba</i> L.	Moraceae	Moraceae
ソボク	<i>Caesalpinia sappan</i> Linné = <i>Caesalpinia sappan</i> L.	Leguminosae	Leguminosae/ Fabaceae
ソヨウ	シソ <i>Perilla frutescens</i> Britton var. <i>crispa</i> W. Deane = <i>Perilla frutescens</i> (L.) Britton var. <i>crispa</i> (Thunb.) W. Deane	Labiatae	Labiatae/ Lamiaceae
ダイオウ	<i>Rheum palmatum</i> Linné = <i>Rheum palmatum</i> L.	Polygonaceae	Polygonaceae
	<i>Rheum tanguticum</i> Maximowicz = <i>Rheum tanguticum</i> Maxim.		
	<i>Rheum officinale</i> Baillon = <i>Rheum officinale</i> Baill.		
	<i>Rheum coreanum</i> Nakai		
	上記種の種間雑種		
ダイズ油	ダイズ <i>Glycine max</i> Merrill = <i>Glycine max</i> (L.) Merr.	Leguminosae	Leguminosae/ Fabaceae
タイソウ	ナツメ <i>Ziziphus jujuba</i> Miller var. <i>inermis</i> Rehder = <i>Ziziphus jujuba</i> Mill. var. <i>inermis</i> (Bunge) Rehder	Rhamnaceae	Rhamnaceae
タクシャ	サジオモダカ <i>Alisma orientale</i> Juzepczuk = <i>Alisma orientale</i> (Sam.) Juz.	Alismataceae	Alismataceae
	<i>Alisma plantago-aquatica</i> L. var. <i>orientale</i> Sam.		
タンジン	タンジン <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge	Labiatae	Labiatae/ Lamiaceae

チクセツニンジン	トチバニンジン <i>Panax japonicus</i> C. A. Meyer = <i>Panax japonicus</i> C. A. Mey.	<i>Araliaceae</i>	<i>Araliaceae</i>
チモ	ハナスゲ <i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge	<i>Liliaceae</i>	<i>Asparagaceae</i>
チョウジ チョウジ油	チョウジ <i>Syzygium aromaticum</i> Merrill et L. M. Perry = <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L. M. Perry * <i>Eugenia caryophyllata</i> Thunberg = <i>Eugenia caryophyllata</i> Thunb. <i>Eugenia caryophyllus</i> (Spreng.) Bullock & S. G. Harrison	<i>Myrtaceae</i>	<i>Myrtaceae</i>
チョウトウコウ	カギガズラ <i>Uncaria rhynchophylla</i> Miquel = <i>Uncaria rhynchophylla</i> (Miq.) Miq. <i>Uncaria sinensis</i> Haviland = <i>Uncaria sinensis</i> (Oliv.) Havil. <i>Uncaria macrophylla</i> Wallich = <i>Uncaria macrophylla</i> Wall.	<i>Rubiaceae</i>	<i>Rubiaceae</i>
チョレイ	チョレイマイタケ <i>Polyporus umbellatus</i> Fries = <i>Polyporus umbellatus</i> (Pers.) Fries	<i>Polyporaceae</i>	<i>Polyporaceae</i> #
チンピ	ウンシュウミカン <i>Citrus unshiu</i> Marcowicz = <i>Citrus unshiu</i> (Swingle) Marcow. <i>Citrus reticulata</i> Blanco Unshiu <i>Citrus reticulata</i> Blanco	<i>Rutaceae</i>	<i>Rutaceae</i>
ツバキ油	ヤブツバキ(ツバキ) <i>Camellia japonica</i> Linné = <i>Camellia japonica</i> L.	<i>Theaceae</i>	<i>Theaceae</i>
テレピン油	<i>Pinus</i> 属諸種植物	<i>Pinaceae</i>	<i>Pinaceae</i> #
テンマ	オニノヤガラ <i>Gastrodia elata</i> Blume	<i>Orchidaceae</i>	<i>Orchidaceae</i>
テンモンドウ	クサスギカズラ <i>Asparagus cochinchinensis</i> Merrill = <i>Asparagus cochinchinensis</i> (Lour.) Merr.	<i>Liliaceae</i>	<i>Asparagaceae</i>
トウガン	トウガン <i>Benincasa cerifera</i> Savi = <i>Benincasa hispida</i> (Thunb.) Cogn. <i>Benincasa cerifera</i> Savi forma <i>emarginata</i> K. Kimura et Sugiyama = <i>Benincasa cerifera</i> Savi f. <i>emarginata</i> K. Kimura & Sugiyama	<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Cucurbitaceae</i>
トウガラシ	トウガラシ <i>Capsicum annuum</i> Linné = <i>Capsicum annuum</i> L.	<i>Solanaceae</i>	<i>Solanaceae</i>
トウキ	トウキ <i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa = <i>Angelica acutiloba</i> (Siebold & Zucc.) Kitag. ホッカイトウキ <i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa var. <i>sugiyamae</i> Hikino = <i>Angelica acutiloba</i> (Siebold & Zucc.) Kitag. var. <i>sugiyamae</i> Hikino	<i>Umbelliferae</i>	<i>Umbelliferae</i> <i>Apiaceae</i>
トウジン	ヒカゲツルニンジン <i>Codonopsis pilosula</i> Nannfeldt = <i>Codonopsis pilosula</i> Nannf. <i>Codonopsis tangshen</i> Oliver = <i>Codonopsis tangshen</i> Oliv.	<i>Campanulaceae</i>	<i>Campanulaceae</i>
トウニン	モモ <i>Prunus persica</i> Batsch = <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch <i>Prunus persica</i> Batsch var. <i>davidiana</i> Maximowicz = <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch var. <i>davidiana</i> (Carrière) Maxim. <i>Prunus davidiana</i> (Carrière) Franch.	<i>Rosaceae</i>	<i>Rosaceae</i>
トウヒ	<i>Citrus aurantium</i> Linné = <i>Citrus aurantium</i> L. ダイダイ <i>Citrus aurantium</i> Linné var. <i>daidai</i> Makino = <i>Citrus aurantium</i> L. var. <i>daidai</i> Makino <i>Citrus aurantium</i> L. Daidai	<i>Rutaceae</i>	<i>Rutaceae</i>
トウモロコシ油	トウモロコシ <i>Zea mays</i> Linné = <i>Zea mays</i> L.	<i>Gramineae</i>	<i>Gramineae</i> <i>Poaceae</i>
ドクカツ	ウド <i>Aralia cordata</i> Thunberg = <i>Aralia cordata</i> Thunb.	<i>Araliaceae</i>	<i>Araliaceae</i>
トコン	<i>Cephaelis ipecacuanha</i> A. Richard = <i>Cephaelis ipecacuanha</i> (Brot.) A. Rich. <i>Cephaelis acuminata</i> Karsten = <i>Cephaelis acuminata</i> H. Karst.	<i>Rubiaceae</i>	<i>Rubiaceae</i>
トチュウ	トチュウ <i>Eucommia ulmoides</i> Oliver = <i>Eucommia ulmoides</i> Oliv.	<i>Eucommiaceae</i>	<i>Eucommiaceae</i>
トラガント	<i>Astragalus gummifer</i> Labillardière = <i>Astragalus gummifer</i> Labill.	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> <i>Fabaceae</i>
豚脂	ブタ <i>Sus scrofa</i> Linné var. <i>domesticus</i> Gray = <i>Sus scrofa</i> L. var. <i>domesticus</i> Gray	<i>Suidae</i>	<i>Suidae</i> #

ナタネ油	セイヨウアブラナ <i>Brassica napus</i> Linné = <i>Brassica napus</i> L.	Cruciferae	Cruciferae/ Brassicaceae
	アブラナ <i>Brassica rapa</i> Linné var. <i>oleifera</i> De Candolle = <i>Brassica rapa</i> L. var. <i>oleifera</i> DC.		
ニガキ	ニガキ <i>Picrasma quassioides</i> Bennet = <i>Picrasma quassioides</i> (D. Don) Benn.	Simaroubaceae	Simaroubaceae
ニクジュヨウ	<i>Cistanche salsa</i> G. Beck = <i>Cistanche salsa</i> (C. A. Mey.) Beck	Orobanchaceae	Orobanchaceae
	<i>Cistanche deserticola</i> Y. C. Ma = <i>Cistanche deserticola</i> Ma		
	<i>Cistanche tubulosa</i> Wight		
ニクズク	ニクズク <i>Myristica fragrans</i> Houttuyn = <i>Myristica fragrans</i> Houtt.	Myristicaceae	Myristicaceae
ニンジン	オタネニンジン <i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer = <i>Panax ginseng</i> C. A. Mey. * <i>Panax schinseng</i> Nees	Araliaceae	Araliaceae
ニンドウ	スイカズラ <i>Lonicera japonica</i> Thunberg = <i>Lonicera japonica</i> Thunb.	Caprifoliaceae	Caprifoliaceae
バイモ	アミガサユリ <i>Fritillaria verticillata</i> Willdenow var. <i>thunbergii</i> Baker = <i>Fritillaria verticillata</i> Willd. var. <i>thunbergii</i> (Miq.) Baker	Liliaceae	Liliaceae
	<i>Fritillaria thunbergii</i> Miq.		
バクガ	オオムギ <i>Hordeum vulgare</i> Linné = <i>Hordeum vulgare</i> L.	Gramineae	Gramineae/ Poaceae
バクモンドウ	ジャノヒゲ <i>Ophiopogon japonicus</i> Ker-Gawler = <i>Ophiopogon japonicus</i> (L. f.) Ker Gawl.	Liliaceae	Asparagaceae
ハチミツ	ヨーロッパミツバチ <i>Apis mellifera</i> Linné = <i>Apis mellifera</i> L.	Apidae	Apidae ^e
	トウヨウミツバチ <i>Apis cerana</i> Fabricius		
ハッカ ハッカ油	ハッカ <i>Mentha arvensis</i> Linné var. <i>piperascens</i> Malinvaud = <i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>piperascens</i> Malinv. ----- <i>Mentha haplocalyx</i> Briq. ----- ハッカ <i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>piperascens</i> Malinv. を母種とする交配種	Labiatae	Labiatae/ Lamiaceae
ハマボウフウ	ハマボウフウ <i>Glehnia littoralis</i> F. Schmidt ex Miquel = <i>Glehnia littoralis</i> F. Schmidt ex Miq.	Umbelliferae	Umbelliferae/ Apiaceae
ハンゲ	カラスビシャク <i>Pinellia ternata</i> Breitenbach = <i>Pinellia ternata</i> (Thunb.) Breitenb.	Araceae	Araceae
ヒマシ油	トウゴマ <i>Ricinus communis</i> Linné = <i>Ricinus communis</i> L.	Euphorbiaceae	Euphorbiaceae
ビャクゴウ	オニユリ <i>Lilium lancifolium</i> Thunberg = <i>Lilium lancifolium</i> Thunb.	Liliaceae	Liliaceae
	ハカタユリ <i>Lilium brownii</i> F. E. Brown var. <i>colchesteri</i> Wilson = <i>Lilium brownii</i> F. E. Br. var. <i>colchesteri</i> (Van Houtte) E. H. Wilson ex Elwes		
	<i>Lilium brownii</i> F. E. Brown var. <i>viridulum</i> Baker		
	<i>Lilium brownii</i> F. E. Brown = <i>Lilium brownii</i> F. E. Br.		
	<i>Lilium pumilum</i> De Candolle = <i>Lilium pumilum</i> DC.		
ビャクシ	ヨロイグサ <i>Angelica dahurica</i> Benth. et Hooker filius ex Franchet et Savatier = <i>Angelica dahurica</i> (Hoffm.) Benth. & Hook. f. ex Franch. & Sav.	Umbelliferae	Umbelliferae/ Apiaceae
ビャクジュツ	オケラ <i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi ex Kitamura = <i>Atractylodes japonica</i> Koidz. ex Kitam.	Compositae	Compositae/ Asteraceae
	オオバナオケラ <i>Atractylodes macrocephala</i> Koidzumi = <i>Atractylodes macrocephala</i> Koidz.		
	* <i>Atractylodes ovata</i> De Candolle = <i>Atractylodes ovata</i> (Thunb.) DC.		
ビワヨウ	ビワ <i>Eriobotrya japonica</i> Lindley = <i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	Rosaceae	Rosaceae
ビンロウジ	ビンロウ <i>Areca catechu</i> Linné = <i>Areca catechu</i> L.	Palmae	Palmae/ Arecaceae
ブクリョウ	マツホド <i>Wolfiporia cocos</i> Ryvarden et Gilbertson = <i>Wolfiporia cocos</i> (Schw.) Ryv. & Gilbn.	Polyporaceae	Polyporaceae [#]
	* <i>Poria cocos</i> Wolf = <i>Poria cocos</i> (Schw.) Wolf		
ブシ	ハナトリカブト <i>Aconitum carmichaeli</i> Debeaux	Ranunculaceae	Ranunculaceae
	オクトリカブト <i>Aconitum japonicum</i> Thunberg = <i>Aconitum japonicum</i> Thunb.		

ペラドンナコン	ペラドンナ <i>Atropa belladonna</i> Linné = <i>Atropa belladonna</i> L.	<i>Solanaceae</i>	<i>Solanaceae</i>
ヘンズ	フジマメ <i>Dolichos lablab</i> Linné = <i>Dolichos lablab</i> L.	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
ボウイ	オオツヅラフジ <i>Sinomenium acutum</i> Rehder et E. H. Wilson = <i>Sinomenium acutum</i> (Thunb.) Rehder & E. H. Wilson	<i>Menispermaceae</i>	<i>Menispermaceae</i>
ボウコン	チガヤ <i>Imperata cylindrica</i> Beauvois = <i>Imperata cylindrica</i> (L.) P. Beauv. ----- <i>Imperata cylindrica</i> (L.) P. Beauv. var. <i>major</i> (Nees) C. E. Hubb.	<i>Gramineae</i>	<i>Gramineae</i> / <i>Poaceae</i>
ボウフウ	<i>Saposhnikovia divaricata</i> Schischkin = <i>Saposhnikovia divaricata</i> (Turcz.) Schischk.	<i>Umbelliferae</i>	<i>Umbelliferae</i> / <i>Apiaceae</i>
ボクソク	クスギ <i>Quercus acutissima</i> Carruthers = <i>Quercus acutissima</i> Carruth.	<i>Fagaceae</i>	<i>Fagaceae</i>
	コナラ <i>Quercus serrata</i> Murray		
	ミズナラ <i>Quercus mongholica</i> Fischer ex Ledebour var. <i>crispula</i> Ohashi = <i>Quercus mongholica</i> Fisch. ex Ledeb. var. <i>crispula</i> (Blume) Ohashi		
	アベマキ <i>Quercus variabilis</i> Blume		
ボタンビ	ボタン <i>Paeonia suffruticosa</i> Andrews * <i>Paeonia moutan</i> Sims	<i>Paeoniaceae</i>	<i>Paeoniaceae</i>
ホミカ	<i>Strychnos nux-vomica</i> Linné = <i>Strychnos nux-vomica</i> L.	<i>Loganiaceae</i>	<i>Loganiaceae</i>
ボレイ	カキ <i>Ostrea gigas</i> Thunberg = <i>Ostrea gigas</i> Thunb.	<i>Ostreidae</i>	<i>Ostreidae</i> #
マオウ	<i>Ephedra sinica</i> Stapf	<i>Ephedraceae</i>	<i>Ephedraceae</i> #
	<i>Ephedra intermedia</i> Schrenk et C. A. Meyer = <i>Ephedra intermedia</i> Schrenk & C. A. Mey.		
	<i>Ephedra equisetina</i> Bunge		
マクリ	マクリ <i>Digenea simplex</i> C. Agardh = <i>Digenea simplex</i> (Wulfen) C. Agardh	<i>Rhodomelaceae</i>	<i>Rhodomelaceae</i> #
マシニン	アサ <i>Cannabis sativa</i> Linné = <i>Cannabis sativa</i> L.	<i>Moraceae</i>	<i>Cannabaceae</i>
ミツロウ	ヨーロッパミツバチ <i>Apis mellifera</i> Linné = <i>Apis mellifera</i> L.	<i>Apidae</i>	<i>Apidae</i> #
	トウヨウミツバチ <i>Apis cerana</i> Fabricius		
モクツウ	アケビ <i>Akebia quinata</i> Decaisne = <i>Akebia quinata</i> (Thunb. ex Houtt.) Decne.	<i>Lardizabalaceae</i>	<i>Lardizabalaceae</i>
	ミツバアケビ <i>Akebia trifoliata</i> Koidzumi = <i>Akebia trifoliata</i> (Thunb.) Koidz.		
	上記種の種間雑種		
モッコウ	<i>Saussurea lappa</i> Clarke = <i>Saussurea lappa</i> (Decne.) C. B. Clarke ----- <i>Aucklandia lappa</i> Decne.	<i>Compositae</i>	<i>Compositae</i> / <i>Asteraceae</i>
ヤクチ	<i>Alpinia oxyphylla</i> Miquel = <i>Alpinia oxyphylla</i> Miq.	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Zingiberaceae</i>
ヤクモソウ	メハジキ <i>Leonurus japonicus</i> Houttuyn = <i>Leonurus japonicus</i> Houtt.	<i>Labiatae</i>	<i>Labiatae</i> / <i>Lamiaceae</i>
	<i>Leonurus sibiricus</i> Linné = <i>Leonurus sibiricus</i> L.		
ヤシ油	ココヤシ <i>Cocos nucifera</i> Linné = <i>Cocos nucifera</i> L.	<i>Palmae</i>	<i>Palmae</i> / <i>Arecaceae</i>
ユウタン	<i>Ursus arctos</i> Linné = <i>Ursus arctos</i> L.	<i>Ursidae</i>	<i>Ursidae</i> #
	その他近縁動物		
ユーカリ油	ユーカリノキ <i>Eucalyptus globulus</i> Labillardiere = <i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	<i>Myrtaceae</i>	<i>Myrtaceae</i>
	近縁植物		
ヨクイニン	ハトムギ <i>Coix lacryma jobi</i> Linné var. <i>mayuen</i> Stapf = <i>Coix lacryma jobi</i> L. var. <i>mayuen</i> (Rom. Caill.) Stapf	<i>Gramineae</i>	<i>Gramineae</i> / <i>Poaceae</i>
ラッカセイ油	ラッカセイ <i>Arachis hypogaea</i> Linné = <i>Arachis hypogaea</i> L.	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
精製ラノリン	ヒツジ <i>Ovis aries</i> Linné = <i>Ovis aries</i> L.	<i>Bovidae</i>	<i>Bovidae</i> #
リュウガンニク	リュウガン <i>Euphoria longana</i> Lamarck = <i>Euphoria longana</i> Lam. ----- <i>Dimocarpus longan</i> Lour.	<i>Sapindaceae</i>	<i>Sapindaceae</i>

リュウタン	トウリンドウ <i>Gentiana scabra</i> Bunge	<i>Gentianaceae</i>	<i>Gentianaceae</i>
	リンドウ <i>Gentiana scabra</i> Bunge var. <i>buergeri</i> (Miq.) Maxim.		
	<i>Gentiana manshurica</i> Kitagawa = <i>Gentiana manshurica</i> Kitag.		
	<i>Gentiana triflora</i> Pallas = <i>Gentiana triflora</i> Pall.		
	エゾリンドウ <i>Gentiana triflora</i> Pall. var. <i>japonica</i> Hara		
リョウキョウ	<i>Alpinia officinarum</i> Hance	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Zingiberaceae</i>
レンギョウ	レンギョウ <i>Forsythia suspensa</i> Vahl = <i>Forsythia suspensa</i> (Thunb.) Vahl	<i>Oleaceae</i>	<i>Oleaceae</i>
レンニク	ハス <i>Nelumbo nucifera</i> Gaertner = <i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.	<i>Nymphaeaceae</i>	<i>Nelumbonaceae</i>
ロジン	<i>Pinus</i> 属諸種植物	<i>Pinaceae</i>	<i>Pinaceae</i> ⁶
ロートコン	ハシリドコロ <i>Scopolia japonica</i> Maximowicz = <i>Scopolia japonica</i> Maxim.	<i>Solanaceae</i>	<i>Solanaceae</i>
	<i>Scopolia carniolica</i> Jacquini = <i>Scopolia carniolica</i> Jacq.		
	<i>Scopolia parviflora</i> Nakai = <i>Scopolia parviflora</i> (Dunn) Nakai		
	ヨーロッパミツバチ <i>Apis mellifera</i> Linné = <i>Apis mellifera</i> L.		
ローヤルゼリー	トウヨウミツバチ <i>Apis cerana</i> Fabricius	<i>Apidae</i>	<i>Apidae</i> ⁶

- 1) 米倉浩司, 新維管束植物分類表, 北隆館, 東京, 2019, ISBN 978-4-8326-1008-8.
- 2) Global Biodiversity Information Facility, <https://www.gbif.org>. (Accessed April 15, 2022).
- 3) 寺林進ら, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 41, 407-418 (2010).
- 4) 基原植物に「その他同属植物」などが含まれる場合は, 学名の表記はないが本表に記載している。
- 5) 高野昭人ら, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 52, 291-302 (2021).
- 6) APG IV の対象外である裸子植物, 藻類, 真菌類及び動物には, #印を付している。

生薬等の定量指標成分について〈G5-2-170〉

医薬品としての生薬及び生薬を主たる原料とする製剤(生薬製剤)の最大の特徴は, 非常に多くの成分からなる多成分系であることである。世界的に見て最も重要な生薬の一つであるカンゾウを例にとると, これまでに同植物での存在が確認された二次代謝成分は少なくとも100以上存在し, 生合成を考慮すれば, 低分子だけで1000以上の物質が含まれていると考えてもおかしくない。カンゾウの薬効には, これらの成分全体が複合的に関与しているものと考えられる。

植物を原材料とする医薬品の構成成分の多様性は, 基本的に植物の二次代謝の多様性に由来するが, それだけではない。医薬品の原材料である植物は, その承認書において種が規定されるが, 同一種でも様々な遺伝的多様性があるために, 遺伝的な要因に伴って成分の多様性が生じる。さらに, 植物の生育地の土壌条件(土質, 保水性, pH等)及び気象条件(降水量, 気温, 湿度等)といった環境要因に従って二次代謝産物の種類と量は変化し, さらに, 野生・栽培の別や, 栽培方法, 採取時期が異なれば成分組成は変化することになる。また, 生薬の場合には, 最終的に, 周皮を除く, 蒸す, 煎る等, 様々な加工方法があることから, この加工方法の違いによっても, 構成成分は異なることになる。

生薬や生薬製剤における成分の含量(定量値)の規定は, 天然物医薬品の品質を規格化する上で, 非常に重要な意味を持つ。生薬の場合, これらの規定は, 通常最低限度値規定となっている。例えば, 日局「カンゾウ」では, グリチルリチン酸含量の規定が2.0%以上となっている。生薬の場合, 植物体一個体ご

とに比較すると, 前述した様々な要因から, 二次代謝産物の含量は, 大きく異なることが知られている。例えば, カンゾウのグリチルリチン酸含量を比較した場合, 同一圃場で同一時期に収穫したものであったとしても10倍程度変化することが報告されている。したがって, 生薬資源の有効利用を考えたとき, 生薬段階で成分の規格値の幅を記載することは困難となる。一方で, 最終製品である製剤の段階では, 有効成分は一定量含まれていることが医療の再現性の面から重要である。したがって, ほとんどの場合, 生薬利用の最終形態と考えられる漢方処方エキス製剤や生薬エキス製剤では, 成分規格は含量の幅を記載することとなり, 様々な含量の生薬の組み合わせにより一定の成分含量の製剤が調製されるように規定されている。

生薬における成分の含量規定で注意しておかななくてはならないこととして, 含量が規定されている成分には様々なタイプが存在する点が挙げられる。例えば, センナにおけるセンノシドは, センナの薬効である瀉下作用をある程度説明できる明らかな有効成分である。センナに含まれるレインやアロエモジンといった他のアントラキノン類も同様の作用を持つとはいえ, 量的な面を考えても, 本化合物の含量をコントロールすることで, センナの薬効をかなり規格化できるものと考えられる。ただし加熱等によりセンノシドはアントラキノン類に一部分解されるので, センノシド含有生薬であるダイオウを構成生薬に持つ漢方処方エキスでは, センノシドだけでなく増加したレインも含めて規格化される場合もある。一方, 前述したグリチルリチン酸は, 非常に著名な生理活性成分であり, 生薬カンゾウの一部の薬効を説明できる有効成分であるが, カンゾウの薬効にはそれ以外の多数の成分も関与していることが知られている。

したがって、グリチルリチン酸は有効成分の一つとして含量規定がなされていると考えるべきである。さらに、ローヤルゼリーにおける10-ヒドロキシデセン酸や、漢方処方エキスにおける(*E*)-ケイ皮酸のように、強い生理活性があるとは考えられないが、それぞれの医薬品における特徴的な成分として規格値が定められているものもある。天然物の生合成を考えると、これらの成分だけが突出して含量が変化するということは考えにくい。したがって、これらの成分について含量がコントロールされることで、生薬や生薬製剤全体がある程度規格化されることを念頭に、製造工程管理のために規格値が定められている。

生薬と生薬を原材料とする天然物医薬品の世界では、センナのような事例は例外であり、ほとんどのものは多様性のある成分全体が相まって、その薬効を示している。このような医薬品では、多成分系を構成する全ての成分の規格化が不可能であることを前提として、一部の成分を定量の指標成分(定量指標成分)に指定し、その含量を規定することで規格化を行っている。したがって、化学薬品のように、定量成分が直ちにその製品の薬効の全てを説明する有効成分ではないことに注意が必要である。

生薬及び生薬製剤の薄層クロマトグラフィー〈G5-3-182〉

生薬及び生薬を主たる原料とする製剤(生薬製剤)の薄層クロマトグラフィーは、生薬及び漢方処方エキスに配合される生薬の特徴的な成分又は成分群の含有の有無を確認することなどに用いられる。本参考情報では、生薬及び生薬製剤について薄層クロマトグラフィーの試験を実施する際に、薄層クロマトグラフィー〈2.03〉を補完する事項を以下に記載する。

1. 器具及び装置

薄層クロマトグラフィー〈2.03〉を準用する。ただし、薄層板については、多成分系である生薬及び生薬製剤においては、より精密な成分分離を要求されることがあるため、一般試験法〈9.42〉に規定される薄層クロマトグラフィー用担体のシリカゲルより粒径が小さいクロマトグラフィー用シリカゲル(5～7 µm)を塗布した高性能薄層板(HPTLC板)を用いることもできる。なお、検出装置の光源の適合性の確認は、ランプ、照射システムの仕様を変更した場合、又は、各条に規定される線光源の波長の照射により、規定されるスポットが認められない場合等に行う。

2. 操作方法

薄層クロマトグラフィー〈2.03〉を準用する。

3. 確認及び純度の試験

薄層クロマトグラフィー〈2.03〉を準用する。薄層クロマトグラフィーによる生薬及び生薬製剤の確認及び純度試験には、一般的に標準品、被検成分の試薬、試薬としての生薬又は各条品を標準物質として使用するが、多成分系の試料溶液においては、被検成分が単一のスポットとして認められ、特徴的な蛍光や発色などを示し、明瞭に確認することが可能な場合は、標準物質を使用せず、スポットの色調及び R_f 値で判定する試験法を設定することもできる。また、生薬及び生薬製剤は天産物由

来であるため、成分パターンが複雑であることから、薄層クロマトグラフィー〈2.03〉に分光学的測定法(紫外可視吸光度測定法〈2.24〉、核磁気共鳴スペクトル測定法〈2.21〉など)や質量分析法〈2.62〉を組み合わせることで、確認又は純度試験の更なる信頼性向上が期待できる。

4. 確認試験の試験条件の変更に関する留意事項

薄層クロマトグラフィー〈2.03〉を準用する。また、標準物質を規定しない試験法が設定されている場合であっても、標準物質を用いて色調及び R_f 値の一致により確認する方法へ変更することができる。

5. 用語

クロマトグラフィー総論〈2.00〉の定義を準用する。

6. その他

薄層クロマトグラフィーで定量を行う際は、自動化された試料のスポット装置及びデンシトメトリーなどを用いることにより定量的に測定することが可能となる。それらの薄層クロマトグラフィー用走査装置を用いる際のシステム適合性については、必要に応じ、液体クロマトグラフィー〈2.01〉のシステム適合性の規定を準用する。

アリストロキア酸について〈G5-4-141〉

アリストロキア酸は、ウマノスズクサ科の植物に含有されている成分で、腎障害を引き起こすことが疑われている。また、発がん性があるとの報告もある(参考参照)。

日本薬局方に定められた基原及び部位の生薬を使用していれば問題はないが、国によっては異なる植物を類似した生薬名で呼称している場合などもあり、また、諸外国においては日本薬局方に適合しない製品が流通していることから、生薬・漢方薬の使用にあたっては、アリストロキア酸を含む植物の混入がないように原料の確認などに留意する必要がある。第十四改正日本薬局方第一追補以降、使用部位として植物の根及び根茎が規定されているサイシンに、アリストロキア酸を含む可能性のある地上部が混入する場合を考慮し、純度試験にアリストロキア酸Iの分析法が規定された。ボウイ、モクツウ、モッコウでは、規定された基原植物を用いていれば、アリストロキア酸の混入は考えられないが、上述した理由から、アリストロキア酸Iを含む生薬が流通する可能性がある。その場合、サイシンの純度試験を準用することで、アリストロキア酸の混入の有無について試験を行うことが可能となる。

1. 参考資料

- 1) 医薬品・医療用具等安全性情報, No.161, 2000年7月, <https://www.pmda.go.jp/safety/info-services/drugs/calling-attention/safety-info/0092.html#10>(参照 2019-7-18).
- 2) J.L. Nortier, et al., N. Engl. J. Med., 342, 1686-1692 (2000).
- 3) A. Kohara, et al., Mutation Research, 515, 63-72 (2002).

核磁気共鳴(NMR)法を利用した定量技術と日本薬局方試薬への応用 (G5-5-190)

1. 日本薬局方における生薬中の定量指標成分と定量分析用標品の設定

日本薬局方における生薬、漢方処方エキスにおいて、定量値を規定する場合、定量指標成分が天然物であるため、多くの化学医薬品と同様に日本薬局方標準品を設定し用意するには、以下のような課題がある。

化学医薬品と異なり、生薬・漢方処方エキスは非常に多くの化合物の混合物であり、医薬品(生薬・漢方処方エキス)中の0.1～数%程度の含量の化合物を定量指標成分として設定する必要があるが、多くの場合これらの化合物の合成は容易ではない。したがって、天然物より、十分な純度を持つ化合物を精製、単離することになる。この場合、多大な労力が必要となり、標準品を準備する経済的コストが多くなる。また、原料の差、抽出、精製、単離工程の差により、不純物の構成が異なることになり、ロット間格差が合成品と比較して大きく、公的な標準品として純度コントロールが難しい。また天然物の場合、最大の不純物は水である場合が多いが、厳密に水分含量を測定しようとする、カールフィッシャー法を利用することになり、水分含量規定のために貴重な化合物を多量に消費することになる。

このような隘路があるため、日局の生薬、漢方処方エキス各条規格では、多くの場合、日本薬局方標準品の設定が難しく、便宜上その時点で市販されている試薬、又は市販可能な試薬について規格を日局の試薬・試液の項で定め、その物質を分析用標品と規定し、定量法と定量規格を規定している。ところが、このような試薬を定量分析用標品とした場合、得られた定量値は計量学的に値付けが行われていないものであるため、厳密に議論すると、使用した場合の分析値の信頼性が問題となる。

2. 生薬・漢方処方エキスの分析に用いる定量分析用標品への定量NMRの応用

このような天然物に由来する試薬の純度の問題は、定量NMRを用いることで解決することが可能である。日本薬局方生薬試験法10.1.核磁気共鳴(NMR)法を利用した定量技術の原理で示された考え方に基づき、これらの試薬に対して定量NMRを用いて正しい含量を値付けすることができれば、試薬を計量トレーサビリティが保証された分析用標品として利用することが可能となる。

現在、このような試薬に対する定量NMRは、順次実施されており、試薬の定量値付けの際、考慮すべき点を考察した論文が公表¹⁾されている。また、HPLCによる定量分析用標品として使用される可能性の高い物質を使用して、定量NMRのパリデーション実験も行われており、分子量300程度の測定対象化合物の場合、測定に10 mg程度使用すれば、使用機器間誤差を含めても通常の実験室レベルで、有効数字2桁を保証しながら値付けが可能であることが示されている²⁾。通常、生薬中の定量指標成分の含量は最大でも数%であり、規制値も0.1%が最小単位であることから、天然物である生薬ごとのばらつきを考慮すれば、定量分析用標品の含量精度は有効数字2桁の保証で十分と考えられる。

これらのことを考慮すると、試薬を定量分析用標品として使

用して得られた分析値の曖昧さは、定量NMRによって値付けされた試薬をHPLC等の定量分析用標品として使用し、値付けされた試薬の純度を定量値の算出に組み込むことで、現実的に回避することができる。例えば、日局17までは、日局「サンシシ」のゲニポシド含量をHPLC分析に基づき3.0%以上と規定していた。しかし、前述した論文¹⁾では、定量分析用標品となる定量用ゲニポシドとして使用可能な試薬について定量NMRを実施し、その純度が92%程度であることが示されている。したがって、この試薬の純度を100%と仮定して定量分析用標品としたときのHPLCによる定量値が3.0%と導かれる場合、定量NMRによる純度を考慮した定量値は、2.8%であることになる。

定量用ゲニポシドの試薬規格には、日局16第二追補より定量NMRによる純度規定が(定量用2)として導入され、日局18からは、このものに一本化されている。そこで日局18への改正時に、日局「サンシシ」中のゲニポシド含量について、従来の試薬を用いて算出した定量値と定量NMRで値付けされた試薬を用いて算出した定量値を比較した結果、前述の論文¹⁾同様、定量NMRによる純度を考慮するか否かで定量値には約10%の差が見られた。以上のことから、定量NMRによる純度規定への一本化に伴い、その純度差を考慮して、日局18より「サンシシ」のゲニポシド含量を2.7%以上と規定している。

3. 定量NMRで値付けされた試薬の供給

現在、独立行政法人製品評価技術基盤機構認定センター(IAJapan)の認定プログラム(ASNITE)において、校正されたNMR装置を用いて試薬の値付けを行う機関に対する認定をどのように行うか検討が開始されている。さらにIAJapanでは、試験方法区分への「定量NMR分析」の追加を予定している。したがって、近い将来、試薬会社はこの認定を受けて試薬の値付けを行うことが可能となる。この場合、SIトレーサブルな値を得るために、試薬ユーザーが個々に定量NMRを実施する必要がなくなる。さらに、機関間誤差(機器間誤差を含む)は無視できることになり、試薬に表示された値を指標成分の定量値の算出の際に組み込むことで、より精度の高い値付けを行えることになる。

なお、内部基準物質のSIトレーサブルな値付けに用いる認証標準物質(NMIJ CRM)は、国立研究開発法人産業技術総合研究所計量標準総合センター(AIST NMIJ)より供給されている。

4. 定量NMRに使用する機器の性能の管理

日本薬局方試薬の純度決定に使用される定量NMRは、SIトレーサブルな内標準物質を基準として同一試料管内の測定対象物を同時に測定する内標準法である³⁾。この方法は、NMR現象を利用して原子核の数を観測していることから、試料溶液中の測定対象物のモル数を標準物質で直接的に校正している状態といえる。

このような定量NMR条件における測定機器の性能の管理では、測定対象シグナルの積分値が、シグナルが観測されるスペクトル幅内(通常0～10 ppmの範囲)において正確に定量できることを確認する。その際、定量積分では、不純物に由来するシグナルを定量範囲に含めないことが最も重要である。したがって、機器の性能の管理を行う際には、純度が高い純度既知の化合物(定量NMRで規定された純度が99.0%以上のものが望ましい)を用いる。このとき、なるべく単純なスピン系由来の複数

のシグナルについて定量積分を行い、複数のシグナルから得られる理論上の原子核数の比が正確(どちらも1 H分のシグナルであれば、0.995 ~ 1.005)であることを確認する。

なお、NMRの励起波長を考えると、800 MHzの共鳴周波数の機器を使用した時、観測中心が5 ppm付近、観測スペクトル幅20 ppm (定量NMR純度規定のある試薬の項で規定された条件)とすると、通常、測定対象物のシグナルが観測される0 ~ 10 ppmにおける励起効率は、90度パルス幅が10 μ 秒であるとき99.95%以上であることから、プローブのチューニングとシムの調整が行われた機器であれば、通常の測定レベルで有効数字2桁の精度が全く問題なく保証できる。さらに400 MHzの共鳴周波数の機器であれば、同様の励起効率は、90度パルス幅20 μ 秒まで得られるので、特に特別なプローブを使用しなくても十分に定量NMRが測定可能である。

5. 参考資料

- 1) 細江潤子ら, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 41, 960-970 (2010).
- 2) 細江潤子ら, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 43, 182-193 (2012).
- 3) 細江潤子ら, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 45, 243-250 (2014).

¹Hスピン情報に基づいた参照NMRスペクトルと日本薬局方試薬への応用〈G5-9-190〉

医薬品等の定量又は定性試験においては、当該試験の用途に相応しい品質を有する日本薬局方標準品が設定されている。生薬等においては、生薬等に含有する指標成分を対象とした各種理化学試験が設定されており、これらの試験のために指標成分について日本薬局方標準品を設定することが望まれる。しかしながら、参考情報「核磁気共鳴(NMR)法を利用した定量技術と日本薬局方試薬への応用〈G5-5-190〉」に記載されているとおり、生薬等の指標成分は天然物であり、標準品の設定には様々な課題がある。

日本薬局方では多くの場合、その時点で試薬として入手可能な指標成分の規格を試薬・試液(9.41)の項で定め、分析用の標準物質として規定している。しかしながら、これらの試薬には、指標成分の類縁物質が含まれている場合がある。このためこれらの試薬の規格では、確認試験に加えて不純物を確認する純度試験が設定される。純度試験は、多くの場合、クロマトグラフィーが設定されているが、ジアステレオマーなどの不純物は、同法で指標成分との分離が難しい場合がある。一方、この種の識別に有用な分光学的手法として核磁気共鳴スペクトル測定法(2.21)がある。ジアステレオマーなどの非常に構造が類似した不純物を含む場合においても、現在一般的に利用されている超電導磁場を用いた¹H NMR測定では、試薬に含まれる指標成分と不純物の構造が異なる部分を中心として、¹H核に由来するシグナルが測定スペクトル上に明確に異なって観察される。したがって、確認試験に¹H NMRが設定されていれば、得られたスペクトルから容易に試薬中の不純物の存在を確認することができる。

本来、¹H NMRスペクトルから観測される化学シフト及び

スピンスピン結合定数のような¹Hスピン情報は、NMR装置の磁場の大きさに依存しない化合物に固有の情報である。加えて、測定された¹H NMRスペクトルから正確な¹Hスピン情報を得るための反復計算ソフトウェアが利用可能なため、純度の非常に高い試薬の¹H NMRスペクトルから、その試薬に含まれる指標成分の正確な¹Hスピン情報を得ることが可能である。さらに、その¹Hスピン情報から求める磁場サイズにあったスペクトルを表示させるソフトウェアも存在しているため、あらゆる磁場強度に合った参照NMRスペクトルを容易に作成することができる。したがって、日本薬局方に正確な¹Hスピン情報を規定すれば、参照紫外可視吸収スペクトルや参照赤外吸収スペクトルと同様に、スペクトルの直接比較による確認試験の実施が可能となる。さらに、スペクトルの比較から、構造類似不純物が存在することによるスペクトルの歪みや不要なシグナルを確認することで、純度試験としても利用可能となる。以下に、¹Hスピン情報の詳細と参照NMRスペクトルを用いた確認試験の留意点について説明する。

1. ¹Hスピン情報

¹Hスピン情報は、一般に、スペクトルから直接得られるシグナルの位置及び多重度(ピークパターン)を測定し、それぞれを化学シフト及びスピンスピン結合定数として明示することができる。¹Hスピン情報は、当該物質に含まれる全てのプロトンのシグナルについて明らかにしておくことが望ましい。しかしながら、純度が非常に高い物質の場合でも、限られた観測範囲ではシグナルが重なり合い、極めて複雑なピークパターンとなることがある。そのため、視覚的なスペクトル解析では、これらのシグナルについて多重線(マルチプレット)のシグナルと表現するに留まり、正確な¹Hスピン情報を得ることが難しく、また正確な参照NMRスペクトルを作成することができない。

このような複雑なピークパターンを示すスペクトルから正確な¹Hスピン情報を得るためには反復計算を用いた方法が有効である。既に¹Hスピン情報に基づいてスペクトルを表示させるソフトウェアが存在し、それに加えて反復計算機能を搭載したものが簡便に利用できるようになった。この方法では、当該物質の実測スペクトルから計算スペクトルの¹Hスピン情報(化学シフトとスピンスピン結合定数)の値を得るために線形フィッティングを行いながら反復的に調整する。反復計算が収束し、計算スペクトルが実測スペクトルに一致すると、この際に得られる¹Hスピン情報は正確な解に限りなく近づいたものと見なすことができる。この¹Hスピン情報を規定することにより、参照NMRスペクトルを用いた試験が可能となる。

2. 参照NMRスペクトルを用いた確認試験

試料について規定の条件で¹H NMR測定を行い、得られたスペクトルを試料のNMRスペクトルとする。試験対象の成分については、その正確な¹Hスピン情報が明らかとなるとき、ソフトウェアを介して上記測定と同じ磁場の参照NMRスペクトルを作成することができる。このとき、試料のNMRスペクトルと確認しようとする物質の参照NMRスペクトルを比較し、両者のスペクトルが同一化学シフトのところに同様の多重度及び面積強度比のシグナルを与えるとき、試料と確認しようとする物質の同一性が確認され、確認試験に適合すると判断される。なお、この同一性の確認においては以下について留意する必要がある。

2.1. シグナルの半値幅について

^1H 共鳴周波数が60, 400, 600, 800 MHzの条件下でのヘスペリジンの参照NMRスペクトルの一部を図1に示す。磁場の大きさの違いにより、スペクトルのピークパターンが異なることが分かる。これらのピークパターンは、それぞれの磁場におけるヘスペリジンに固有であるが、ピークが近接している観測領域においては、シグナルの半値幅が変わることによりピークパターンが変化することに留意する必要がある。なお、図1の参照NMRスペクトルの作成に際して、シグナルの半値幅は1 Hzに統一されている。

試料のスペクトルにおいては、装置のシム調整又は分解能調整により試料のシグナルの半値幅が変わる。そのため、試料のNMRスペクトルと確認しようとする物質の参照NMRスペクトルの同一性を確認する際は、参照NMRスペクトルのシグナル半値幅を試料のそれらに合わせるか、又は両スペクトルに対して2 Hz程度のブロードニングファクターを適用することが望ましい。

2.2. 重水素化溶媒及び水に由来するシグナルについて

試料のNMRスペクトル上には、試料を溶解させるために用いた重水素化溶媒の残留プロトン及び残存した水に由来するシグナル、また化学シフト基準物質を用いた際には、化学シフト基準物質由来のシグナルが観察される。これらのシグナルが試料中の指標成分のシグナルと重なる場合は、この領域を参照NMRスペクトルとの同一性を確認するための判定に使用してはならないことに留意する。また、重水素化溶媒中の僅かな不純物のシグナルが観察されることもあるため、事前に重水素化溶媒のみのブランクを測定し、不純物のシグナルが観察される範囲や強度について確認しておくことが望ましい。また、容器を開封してからしばらく経過した吸湿性の高い重水素化溶媒については、水に由来するシグナルが大きくなる傾向がある。したがって、開封して間もない重水素化溶媒又はアンプルタイプの水素化溶媒を使用することが望ましい。

3. 参考資料

- 1) P.S. Achanta, et al., J. Pharm. Biomed. Anal., 192, 113601 (2021).

遺伝子情報を利用する生薬の純度試験〈G5-6-172〉

天然物の品質確保の第一歩は、基原の正しい原材料を使用することである。したがって、生薬の基原は、適否の判定基準であることが、生薬総則4に明示されている。生薬の基原を鑑別する方法には、形態学的方法や、官能試験、化学的方法があり、それぞれ各条に適切な方法が明示されている。形態学的方法や、官能試験、化学的方法は、生薬の表現形質に基づく種の鑑別方法である。他方、近年分子生物学的な技術の進歩と植物の遺伝子情報の蓄積に伴い、それぞれの生薬の遺伝子型を確認することで、種を鑑別する手法が確立されつつある。このような方法は、形態学的方法などによる植物の表現型に基づく鑑別法とは異なり、環境による影響を受けない。また、鑑別のための専門知識と熟練を必要とせず、客観的な結果が得られやすい等の利点がある。

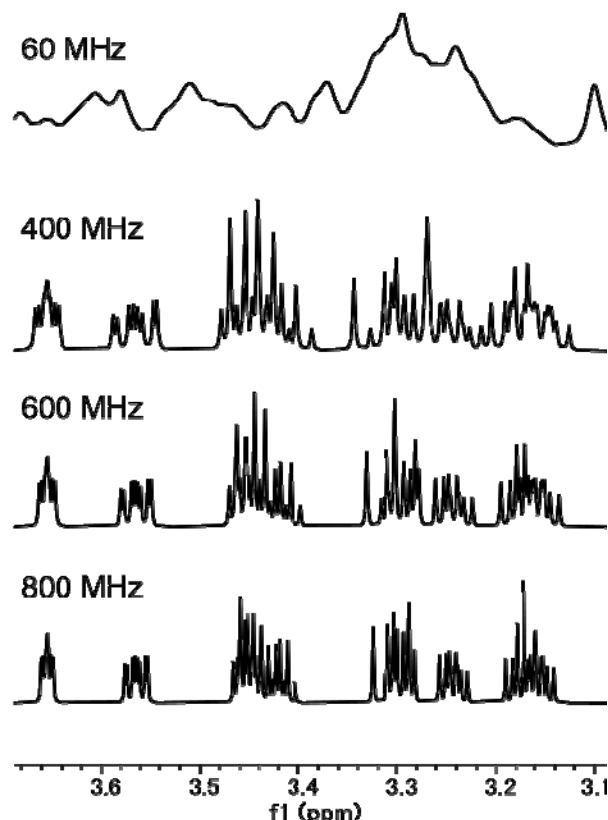


図1 ^1H 共鳴周波数が60, 400, 600, 800 MHzの条件下でのヘスペリジンの参照NMRスペクトル(重水素化ジメチルスルホキシド中)

生物の進化は、遺伝子の突然変異により担われており、近縁種間における遺伝子の塩基配列の違いは、種の系統関係を反映している。この理論に基づき、近年微生物の鑑別では、核ゲノム上のリボゾームRNA (rRNA)をコードする遺伝子領域(rDNA)の塩基配列を利用し、系統発生的に種を区分する方法が採用されている。同様に遺伝子型を用いた高等植物の鑑別にも、このrDNAの塩基配列が最もよく用いられている。特にrDNAのITS (Internal Transcribed Spacer)領域では、コード遺伝子領域と比較して塩基置換が起こりやすいため、近縁種を区別しやすいことになる。また、核ゲノム上の遺伝子は、両親に由来するため、種間雑種を確認できる利点がある。高等植物には、更にミトコンドリアゲノム上の遺伝子と葉緑体ゲノム上の遺伝子がある。これらのゲノム上の遺伝子も鑑別のためよく用いられるが、通常単性遺伝であるため、種間雑種の確認はできない。

ここに示した三つの方法は、近年、論文報告¹⁻⁴⁾されたrDNAのITS領域の遺伝子配列の違いに基づき開発された、1)ビャクジュツ中のソウジュツに関する純度試験法及び2)ボウフウ中のベウケダヌム・レデボウリエルロイデスに関する純度試験法で、バリデーションのための共同試験が終了したものである。

各条では、ソウジュツの基原植物は、*Atractylodes lancea* De Candolle又は*A. chinensis* Koidzumi (*Compositae*)、ビャクジュツの基原植物は、*A. japonica* Koidzumi ex Kitamura 又は*A. macrocephala* Koidzumi (*Compositae*)と規定されている。また、両者の基原の適否は、基本的に鏡検を含む生薬の性

状と確認試験の薄層クロマトグラフィーで規定されている。上記の論文では、これらの四種の植物について、前述した ITS 領域の塩基配列を比較することで、明確に区別できること、更に種特異的なプライマー対を用いた遺伝子の増幅(PCR)、又は、種特異的配列を認識する制限酵素の利用により、塩基配列の解析を行わずに種の鑑別が簡便に行えることが示されている。

同じく、ボウフウの基原植物は、*Saposhnikovia divaricata* Schischkin (*Umbelliferae*)と規定されており、基原の適否は、生薬の性状と確認試験の薄層クロマトグラフィーで規定されている。論文⁴⁾では、陝西省や山西省でボウフウとして扱われている生薬の中には、ペウケダヌム・レデボウリエルロイデスを基原とするものが、高い頻度で含まれており、両者は、rDNA の ITS 領域の塩基配列により区別可能であることが示されている。

遺伝子情報を利用する生薬の純度試験では、試験の簡便さを最大限考慮し、塩基配列の解析を行わず、種特異的なプライマー対を利用し、PCR増幅バンドを観察する方法(Mutant Allele Specific Amplification法：方法1)及び各基原植物に共通のプライマー対により調製したPCR産物に対して種特異的配列を認識する制限酵素で処理し、生成する DNA 断片を観察する方法(PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism法：方法2)を設定した。このような、PCR法を利用する試験法では、微量の鋳型DNAが理論的には、数十億～数千億倍に増幅される。したがって、粉末生薬の確認試験として用いる場合、分析する生薬のほとんどが不適なもので僅かに適合植物由来の生薬の粉末が存在していても、検出対象のDNA断片が観察されることになる。このため、確認試験法として利用するには、他生薬由来の粉末の混入に注意しながら切断生薬、全形生薬の単一個体に対して利用することになる。他方、純度試験として用いる場合、どのような形態の生薬であったとしても、対象遺伝子に多型が存在せず正しく遺伝子増幅が行われる限り、純度試験で対象とする不適な植物由来のDNA断片が確認されれば、生薬の形態にかかわらず、対象とする不適な生薬が混入していることが明らかとなる。

なお、ここで示した方法は参考情報であり、現段階で本法を用いて得られた結果がそのまま各条の生薬の適否を左右するものではない。また、単一個体からなる生薬試料に対して、論文で示されたシーケンスを行うことで、基原種についてより正確な判定が行えることはいうまでもない。

1. DNA増幅装置

生薬より抽出精製して得られたDNAの増幅に用いる。機器により、温度調節方法等が微妙に異なるため、指定された条件でPCRを行っても、PCR増幅バンドの強度等が異なることがある。したがって、方法1のようにPCRの増幅バンドの有無のみで、結果を判定する場合、JAS分析試験ハンドブック、遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル⁵⁾に記載の装置を用いることが推奨される。他の装置を使用する場合、事前にあらかじめ基原種が判明している試料を用い、得られたDNAを用いてPCRを行い、適切な増幅バンドのみが得られることを確認し、得られない場合には、PCRの温度条件を微調整することが必要となる。同装置は、方法2における制限酵素処理にも転用することができる。

2. 一般的注意

生薬は、新鮮な植物体とは異なり乾燥物で、採取されてから

ある程度の時間を経たものである。したがって、DNAが断片化を起こしている場合が多く、また植物中には様々なPCRの反応阻害物が存在している可能性があり、鋳型DNAの抽出精製は、最も注意を要する過程である。ジュツ類生薬の場合、生薬の周皮に阻害物が存在している場合が多いため、周皮を清潔なメスなどで剥ぎ落として除いた試料を使用する。

また、本試験で使用されるPCRは、検出対象のDNAを数億倍以上に増幅する技術であり、僅かなコンタミネーションがあっても、誤った結果を導いてしまう。このため、コンタミネーションの防止には、細心の注意が必要である。コンタミネーションの防止処置については、上記のマニュアルのコンタミネーション防止編⁶⁾を参照されたい。

3. バックジュツのソウジュツに関する純度試験

3.1. 方法1 (Mutant Allele Specific Amplification 法)

本法は、一般に Mutant Allele Specific Amplification (MASA) 法又は Amplification Refractory Mutation System (ARMS) 法と呼ばれる方法で、種特異的プライマー対によるPCRにおけるDNA増幅の有無により、検体由来の鋳型DNAの塩基配列情報を得る方法である。

3.1.1. 操作法

以下、操作法の一例を示す。

3.1.1.1. 鋳型DNAの調製

試料からのDNAの抽出精製法には様々な方法があるが、有害試薬を用いず、煩雑な精製操作が不要である利点を考慮すれば、市販のDNA抽出キットを用いることが推奨される。その場合、最終的に得られるDNA量(濃度)に注意して、最初の試料量とDNAを溶出させる液量を調整する必要がある。組換えDNA技術応用食品の検査方法に関する通知⁷⁾で使用されているシリカゲル膜タイプのキットを用い、同法に準拠して抽出精製を行う場合、試料採取量は200 mgとし、AP1緩衝液1 mL、RNase Aを2 µL、AP2緩衝液325 µLを用いるのが適当である。また、第一カラムに負荷する上清は、清澄であることが最も重要で、無理に1 mLを負荷する必要はない。また、最終的にDNAを溶出させる液量は、50 µLが適当であり、通常1回目の溶出液をDNA試料原液として用いる。

3.1.1.2. DNA試料原液中のDNAの純度の確認及びDNAの定量

原液中のDNAの純度は、分光光度計を用いOD_{260nm}/OD_{280nm}の比で確認することができる。同比が1.5になれば、DNAが十分に精製されていることを示す。DNA量は、1 OD_{260nm}=50 µg/mLで換算する。上記の測定は、適当に希釈したDNA試料原液を用いて行い、得られた結果を基に、以後PCRの反応に必要な濃度に水で希釈し、DNA試料液として、マイクロ試料管に分注し、必要な場合は-20℃以下で冷凍保存する。分注したDNA試料液は、融解後直ちに使用し、残った溶液は再度保存せず廃棄する。なお、DNA試料原液の濃度がPCRで規定された濃度に達しないときは、そのままDNA試料液として用いる。

3.1.1.3. PCR

上記の通知で例示された定性PCR法⁸⁾で用いる市販の酵素を用いた場合、酵素に添付されたマグネシウム入りPCR緩衝液2.5 µL、酵素に添付されたdNTP (0.2 mmol/L)、5'及び3'プライマー(0.4 µmol/L)及びTaq DNAポリメラーゼ(1.25 units)を含む液に、10 ng/µLに調製したDNA試料液5 µL (DNAとして50 ng)を水中に加え、全量が25 µLで反応を行うのが適当であ

る。なお、ピャクジュツ中のソウジュツに関する純度試験を実施する場合、プライマー対は、前述の論文¹⁾で示されたC, D (Cは、*A. lancea*で陽性、Dは、*A. chinensis*で陽性)を使用するが、プライマー対A, Bを組み合わせて使用すると、それぞれの検体の基原種を確認することができる。また、DNAが正しく抽出されていることを確認するため、以下の陽性対照プライマー対を用いた反応液を調製すると共に、陰性対照として、調製したDNA試料液を加えないもの、それぞれのプライマー対を加えないものも調製し、同時にPCRを行う必要がある。

Pf : 5'-CAT TGT CGA AGC CTG CAC AGC A-3'

Pr : 5'-CGA TGC GTG AGC CGA GAT ATC C-3'

PCR反応は、以下の条件で行う。95℃に10分間保ち反応を開始させた後、95℃で0.5分間、68℃(プライマー対Cを用いる場合のみ69℃)で0.75分間を1サイクルとして、30サイクルのPCR増幅、次に終了反応として72℃で7分間保った後、4℃で保存し、得られた反応液をPCR増幅反応液とする。

3.1.1.4. アガロースゲル電気泳動とPCR産物の検出

反応終了後、PCR増幅反応液5 µLを、適量のゲルローディング緩衝液と混合し、2 w/v%アガロースゲルのウェルに添加し、1倍TAE緩衝液(参考情報「遺伝子解析による微生物の迅速同定法 (G4-7-160)」参照)を用いて電気泳動を行う。この際、適当なDNA分子量標準も並行して泳動する。ゲルローディング緩衝液に含まれるプロモフェノールブルー色素がゲルの1/2から2/3まで進んだところで電気泳動を終了する。

泳動後、事前にエチジウムブロミドにより染色されているゲルを用いていない場合、ゲルを後染色する。ゲルイメージ解析装置に、電気泳動と染色が終了したゲルをのせ、紫外線(312 nm)を照射し、電気泳動パターンを確認する。DNA分子量標準と比較して、目的の増幅バンドの有無を判定する。

3.1.2. 結果の判定

まず陽性対照プライマー対を加えた反応液で305 bpのバンドが確認され、プライマー対を加えないもの、DNA試料液を加えないものでバンドが確認されないことを確かめる。次に、Cプライマー対を加えたもので226 bpのバンド、あるいはDプライマー対を加えたもので200 bpのバンドが確認された場合、試料はソウジュツと判定され(刻み生薬の場合は、ソウジュツの混入が認められ)、不合格となる。陽性対照プライマー対を加えたもので305 bpのバンドが確認され、プライマー対を加えないもの、DNA試料液を加えないものでバンドが確認されず、Cプライマー対で226 bpのバンド、Dプライマー対で200 bpのバンドが確認されない場合、試料はソウジュツではない(刻み生薬の場合は、ソウジュツの混入がない)と判定され、純度試験は合格となる。また、陽性対照プライマー対でバンドが確認されない場合は、DNAの抽出が失敗したものと考えられるので、DNAの抽出からやり直すことが求められる。また、プライマー対を加えないもの、DNA試料液を加えないものでバンドが確認された場合は、PCR操作に間違いがあったものとして、3.1.1.3.のPCRから実験をやり直すことになる。

3.2. 方法2 (PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism 法)

本法は、一般にPCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)法と呼ばれる方法であり、対象植物のDNA配列に共通のプライマー対を用いて増幅したPCR産物に対して、種特異的な配列を認識する制限酵素による消化反応を

行い、生成するDNA断片のパターンを観察することにより、検体由来の鋳型DNAの塩基配列情報を得る方法である。

試験は、各ロット、25個体に番号を付し、各個体別にPCR-RFLPによる基原種鑑別を行い、若い番号から順に、鑑別可能な20個体中に不適合試料が幾つ存在するかで、純度試験の可否判定を行う。

3.2.1. 操作法

以下に操作の一例を示す。

3.2.1.1. 鋳型DNAの調製

試料からのDNAの抽出精製法には様々な方法があるが、有害試薬を用いず、煩雑な精製操作が不要である利点を考慮すれば、市販のDNA抽出キットを用いることが推奨される。近年では、検体由来のPCR酵素阻害物質の作用を抑える働きを有するPCR試薬が市販されており、このような試薬を利用する場合、検体からの鋳型DNAの調製は、DNA抽出試薬によるインキュベーション操作のみで良い。試験実施者の利便性を考え、ここでは、このようなPCR試薬を用いる場合のDNA調製法を示す。

検体20 mgを清潔なナイフで刻み、細片化し、DNA抽出用試薬400 µLを加え、55℃で一晩(16 ~ 18時間)インキュベーションする。終了後、95℃、5分間加熱し、試薬中の酵素を失活させる。検体が沈殿するまで、遠心分離を行い、上清50 µLを分取し、鋳型DNA溶液とする。なお、この方法で調製したDNA溶液は、検体由来の多くの夾雑物を含んでおり、OD_{260nm}に基づく濃度測定は、適用できない。

DNA抽出用試薬の組成は、下記のとおりである。

2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール・塩酸(pH 8.0)	20 mmol/L
エチレンジアミン四酢酸	5 mmol/L
塩化ナトリウム	400 mmol/L
ドデシル硫酸ナトリウム	0.3%
プロテイナーゼK	200 µg/mL

3.2.1.2. PCR

論文³⁾で示されたPCR酵素及びPCR試薬を用いた場合、2倍濃縮PCR試薬10.0 µL、5'及び3'プライマー(0.5 µmol/L)及びTaq DNAポリメラーゼ(0.5 units)を含む液に、鋳型DNA溶液0.5 µLを水中に加え、全量が20 µLで反応を行うのが適当である。

PCR反応は、以下の条件で行う。95℃に10分間保ち反応を開始させた後、95℃で0.5分間、65℃で0.25分間、72℃で0.25分間を1サイクルとして、40サイクルのPCR増幅、次に終了反応として72℃で7分間保った後、4℃で保存し、得られた反応液をPCR増幅反応液とする。PCR反応の際には、陰性対照(鋳型DNA溶液の代わりに水)を必ず置く。各プライマーの配列は下記のとおりである。

5'-プライマー : 5'-GGC ACA ACA CGT GCC AAG GAA AA-3'

3'-プライマー : 5'-CGA TGC GTG AGC CGA GAT ATC C-3'

3.2.1.3. 制限酵素処理

2種の制限酵素、*FauI*及び*MspI*を用い、それぞれ、個別に処理する。*FauI*については、酵素に添付の反応緩衝液及び1.0

unitの酵素からなる反応液にPCR産物3.0 µLを氷中で加え、全量を15.0 µLとする。同様に、*MspI*では、反応緩衝液及び20.0 unitsの酵素からなる反応液にPCR産物3.0 µLを加え、全量を15.0 µLとする。これらの反応液をメーカー推奨の温度条件で、2時間インキュベーションし、終了後、72℃で10分間加温し、酵素を失活させる。PCR反応における陰性対照試料についても、制限酵素処理を行う。

3.2.1.4. アガロースゲル電気泳動とDNA断片の検出

制限酵素反応終了後、反応液全量を、適当量のゲルローディング緩衝液と混合し、4 w/v%アガロースゲルのウェルに添加し、1倍TAE緩衝液(参考情報「遺伝子解析による微生物の迅速同定法〈G4-7-160〉」参照)を用いて電気泳動を行う。この際、適当なDNA分子量標準も並行して泳動する。ゲルローディング緩衝液に含まれるプロモフェノールブルー色素がウェルより2 cm程度進んだところで電気泳動を終了する。4 w/v%アガロースゲルは、粘度が高く、調製、取扱いが難しいことから、市販のプレキャスト型ゲルを使用した方がよい。

泳動後、事前にエチジウムブロミドにより染色されているゲルを用いていない場合、ゲルを後染色する。ゲルイメージ解析装置に、電気泳動と染色が終了したゲルをのせ、紫外線(312 nm)を照射し、電気泳動パターンを確認する。

3.2.2. 結果の判定

3.2.2.1. 各個体の判定

PCR反応の際の陰性対照試料にプライマーダイマー(約40 bp)を除くバンドが検出されないことを確認する。次に、*FauI*処理した各検体において、約80 bp及び60 bpのバンドが検出される場合、あるいは、*MspI*処理した各検体において、約90 bp及び50 bpのバンドが検出される場合、このものは、ソウジュツと判断する。いずれの酵素処理においても、約140 bpのバンド及びプライマーダイマーの他にバンドを認めない場合、このものは、ビャクジュツと判断する。いずれの反応液においても、プライマーダイマーの他にバンドを認めない場合、その検体からは、PCR産物が得られていないと判断し、判定不能とする。

3.2.2.2. 純度試験の判定

各個体の判定結果を用いて、純度試験の判定を行う。判定不能と判断された個体を除き、若い番号順に20個体の結果を用いる。20個体中、ソウジュツと判断される個体がなければ、純度試験合格とする。20個体中、ソウジュツと判断される個体が1個体存在する場合、新たに25個体を選び、同様の試験を行い、ソウジュツと判断される個体がなければ、合格とする。2度目の試験においてもソウジュツと判断される個体が見出される場合及び1度目の試験において、ソウジュツと判断される個体が二つ以上見出される場合は、純度試験不合格とする。

4. ボウフウのペウケダヌム・レデボウリエルロイデスに対する純度試験

4.1. 方法1

3.1.と同様に、種特異的プライマー対によるPCRにおけるDNA増幅の有無により、検体由来の鋳型DNAの塩基配列情報を得る方法である。

4.1.1. 操作法

以下、操作法の一例を示す。

4.1.1.1. 鋳型DNAの調製

ジュツ類生薬の際には、シリカゲル膜タイプのキットによる

調製法を採用したが、ボウフウ及びペウケダヌム・レデボウリエルロイデスでは、3.2.1.1で示した簡易的な調製法によるDNA試料溶液を鋳型に用いた場合においても、安定したPCRが可能であることが確認できたことから、試験実施者の利便性を考え、以下に示す簡易調製法を採用した。

検体10 mgを清潔なナイフで刻み、細片化し、DNA抽出用試薬400 µLを加え、55℃で一晩(16～18時間)インキュベーションする。終了後、95℃で5分間加温し、試薬中の酵素を失活させる。検体が沈殿するまで、遠心分離し、上清50 µLを分取し、鋳型DNA溶液とする。なお、この方法で調製したDNA溶液は、検体由来の多くの夾雑物を含んでおり、OD_{260nm}に基づく濃度測定は、適用できない。

DNA抽出用試薬の組成は、下記のとおりである。

2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール・塩酸(pH 8.0)	20 mmol/L
エチレンジアミン四酢酸	5 mmol/L
塩化ナトリウム	400 mmol/L
ドデシル硫酸ナトリウム	0.3%
プロテインナーゼK	200 µg/mL

4.1.1.2. PCR

論文³⁾で示されたPCR酵素及びPCR試薬を用いた場合、2倍濃縮PCR試薬10.0 µL、5'及び3'プライマー(0.5 µmol/L)及びTaq DNAポリメラーゼ(0.5 units)を含む液に、鋳型DNA溶液0.5 µLを氷中で加え、全量が20 µLで反応を行うのが適当である。

ボウフウのペウケダヌム・レデボウリエルロイデスに関する純度試験を実施する場合、種特異的プライマー対を用いた反応液のほかに、DNAが正しく抽出されていることを確認するため、以下の陽性対照プライマー対を用いた反応液を調製するとともに、陰性対照として、調製したDNA試料液を加えないものも調製し、同時にPCRを行う必要がある。

PCR反応は、以下の条件で行う。95℃に10分間保ち反応を開始させた後、95℃で0.5分間、62℃で0.5分間、72℃で0.75分間を1サイクルとして、45サイクルのPCR増幅、次に終了反応として72℃で7分間保った後、4℃で保存し、得られた反応液をPCR増幅反応液とする。各プライマーの配列は、下記のとおりである。なお、陽性対照PCR用3'-プライマーと種特異的PCR用3'-プライマーは同一のものである。

陽性対照PCR用5'-プライマー：5'-GCC TGG GTG TCA CGC ATC G-3'

陽性対照PCR用3'-プライマー：5'-GTA GTC CCG CCT GAC CTG-3'

種特異的PCR用5'-プライマー：5'-CTG AGA AGT TGT GCC CGG-3'

種特異的PCR用3'-プライマー：5'-GTA GTC CCG CCT GAC CTG-3'

4.1.1.3. アガロースゲル電気泳動とPCR産物の検出

反応終了後、PCR増幅反応液5 µLを、適当量のゲルローディング緩衝液と混合し、2 w/v%アガロースゲルのウェルに添加し、1倍TAE緩衝液(参考情報「遺伝子解析による微生物の迅速同定法〈G4-7-160〉」参照)を用いて電気泳動を行う。この際、適当なDNA分子量標準も並行して泳動する。ゲルローディング

グ緩衝液に含まれるプロモフェノールブルー色素がウェルより2 cm程度進んだところで電気泳動を終了する。

泳動後、事前にエチジウムブロミドにより染色されているゲルを用いていない場合、ゲルを後染色する。ゲルイメージ解析装置に、電気泳動と染色が終了したゲルをのせ、紫外線(312 nm)を照射し、電気泳動パターンを確認する。DNA分子量標準と比較して、目的の増幅バンドの有無を判定する。

4.2. 結果の判定

まず陽性対照プライマー対を加えた反応液で250 bpのバンドが確認され、DNA試料液を加えないものでは、プライマーダイマー(約40 bp)を除くバンドが確認されないことを確かめる。次に、種特異的プライマー対を加えたもので200 bpのバンドが確認された場合、試料はペウケダヌム・レデボウリエルロイデスが混入していると判定され、不合格となる。陽性対照プライマー対を加えたもので250 bpのバンドが確認され、DNA試料液を加えないものでバンドが確認されず、種特異的プライマー対で200 bpのバンドが確認されない場合、試料はペウケダヌム・レデボウリエルロイデスの混入がないと判定され、純度試験は合格となる。また、陽性対照プライマー対でバンドが確認されない場合は、DNAの抽出が失敗したものと考えられるので、DNAの抽出からやり直すことが求められる。また、DNA試料液を加えないものでバンドが確認された場合は、PCR操作に間違いがあったものとして、4.1.1.2.のPCRから実験をやり直すことになる。

5. 参考資料

- 1) Y. Guo, et al., J. Nat. Med., 60, 149-156 (2006).
- 2) K. Kondo, et al., J. Jpn. Bot., 84, 356-359 (2009).
- 3) 丸山卓郎ら, 生薬学雑誌, 64, 96-101 (2010).
- 4) T. Maruyama, et al., J. Nat. Med., 72, 267-273 (2018).
- 5) (独)農林水産消費安全技術センター編, JAS分析試験ハンドブック「遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル」第3版, I基本操作編, 4.4.1 PCR, 平成24年9月24日, p.10.
- 6) (独)農林水産消費安全技術センター編, JAS分析試験ハンドブック「遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル」第3版, VIコンタミネーション防止編, 平成24年9月24日, p.61-64.
- 7) 平成13年3月27日付食発第110号厚生労働省医薬局食品保健部長通知「組換えDNA技術応用食品の検査方法について」(平成18年6月29日付食安発第0629002号により一部改正)2.2.1.2.
- 8) 平成13年3月27日付食発第110号厚生労働省医薬局食品保健部長通知「組換えDNA技術応用食品の検査方法について」(平成18年6月29日付食安発第0629002号により一部改正)2.1.3.1.1.

生薬及び生薬製剤のアフラトキシン試験法 (G5-7-170)

アフラトキシンは、一部の真菌が産生する二次代謝産物であり、ヒトに対する発がん性が認められる物質と評価されている¹⁾。アフラトキシンは、ナッツ類、香辛料、穀類など農産物での汚染が確認されており、食品中のアフラトキシンは日本をはじめ世界各国で規制対象となっている^{2, 3)}。一方、生薬においても

農産物と同様にアフラトキシンによる汚染の可能性は否定できず、実際、諸外国では植物薬原料よりアフラトキシンの検出例が報告されている^{4, 6)}。そのため、生薬及び生薬を主たる原料とする製剤(生薬製剤)では、リスクに応じてアフラトキシンの試験検査を実施することが求められる。なお、アフラトキシン汚染のリスクについては、産生菌の存在、加工調製や製造の過程における汚染の可能性を考慮することが必要である。

参考となる基準の例として、日本では、総アフラトキシン(アフラトキシンB₁, B₂, G₁及びG₂の総和)を10 µg/kgを超えて検出する食品は、食品衛生法第6条第2号に違反するものとして取り扱うこととしている³⁾。

1. 試験の概要

アフラトキシンの分析法としては、蛍光検出液体クロマトグラフィー(蛍光検出HPLC法)、液体クロマトグラフィー/質量分析法(LC/MS)等による機器分析が用いられている⁷⁻¹⁰⁾。機器分析において定量の指標として用いるアフラトキシンは強い毒性を有することから、取扱いに際しては安全性に配慮する必要がある(4.注意事項を参照)。また、アフラトキシン溶液を用いることなく簡便にアフラトキシンを分析する方法として、簡易測定装置や定性用検査キットも一般的に用いられている。

試料の調製には、精製を目的としてカートリッジ型の精製用カラムが広く用いられる。カートリッジ型の精製用カラムには、アフラトキシン抗体が吸着した樹脂を充填したカラム(イムノアフィニティカラム)や複数の担体混合物を充填したカラムが存在するが、生薬製剤等の精製が困難な試料の前処理にはイムノアフィニティカラムの使用が効果的である。また、試料の性質によっては、複数の担体混合物を充填したカラムを使用して試料を調製することもできる。

本参考情報では、アフラトキシン溶液を用いることなく簡易的に一定濃度以上のアフラトキシンの有無を確認できるスクリーニング法として、定性用検査キットを用いた方法について記載する。併せて、一般的に用いられる機器分析法として蛍光検出HPLC法による試験法についても記載する。試験法は適用するものの性質及び汚染程度に応じて適切に選択し、単独又は併用して行う。必要に応じて操作及び条件の適正化を検討し、分析法バリデーションの実施、システム適合性等を設定する。なお、アフラトキシン試験は日本国内において食品での試験実績があることから、厚生労働省医薬食品局食品安全部通知^{7, 11)}を参考にすることも可能である。また、欧州薬局方⁸⁾及び米国薬局方⁹⁾に記載されている試験法の記載及びWHOガイドライン¹⁰⁾も参考にできる。

2. 試験法

2.1. 定性用検査キットを用いた試験法

キットに固定したアフラトキシン抗体とアフラトキシンの抗原抗体反応を利用することにより、試料中の一定濃度以上存在するアフラトキシンの有無を判定する試験である。定性試験においては総アフラトキシンの確認が可能なものを適用する。以下の試験法は、日本薬局方に収載されている一部のエキス剤(黄連解毒湯エキス、葛根湯エキス、小青竜湯エキス、八味地黄丸エキス、牛車腎気丸エキス、大黃甘草湯エキス、無コウイ大建中湯エキス)において4 ppb以上のアフラトキシンの有無を判断できると示された方法である¹²⁾。アフラトキシン陽性と判断されるもので定量値を求める必要がある場合には、機器分析による試験法を実施する。

(i) 試料溶液の調製

均一に粉碎した試料約1 gを精密に量り、アセトニトリル／水／メタノール混液(6:4:1) 4 mLを正確に加え、試料が分散するまで振り混ぜた後、30分間振り混ぜ、遠心分離し、上澄液を分取する。この液2 mLを正確に量り、ポリソルベート20 (4%)リン酸塩緩衝塩化ナトリウム溶液を加えて50 mLとする。この液をイムノアフィニティカラム(使用直前にリン酸塩緩衝塩化ナトリウム試液を流して調整したもの)に入れる。ポリソルベート20 (0.01%)リン酸塩緩衝塩化ナトリウム溶液10 mL、水10 mLの順にカラムを洗い、次にアセトニトリル1 mLを注入して5分間静置した後、アセトニトリル2 mLで溶出させる。溶出液は窒素気流下で溶媒を留去し、残留物に薄めたメタノール(7→10) 0.5 mLを正確に加えて溶かし、試料溶液とする。このとき試料溶液0.5 mL中の試料量は0.5 g相当である。

(ii) 測定方法及び評価方法

キットによる測定は、試験紙、内部底面を金コロイドで覆ったウェル及び専用の希釈液を用いる。ウェル中に希釈液50 μ Lを正確に添加し、ピペettingにて金コロイドを剥がして混合する。試料溶液50 μ Lを正確に加えて混合したのち、試験紙をウェル中の溶液に浸し、5分間静置して吸収、反応させる。試験紙を取り出し、コントロールラインとテストラインを判別することにより結果を読み取る。テストラインが目視にて判別できるものを4 ppb未満と判断する。

2.2. 機器分析による試験法

アフラトキシンは蛍光物質であるため蛍光検出器にて測定できるが、アフラトキシンB₁及びG₁は極性溶媒中での蛍光強度が得にくい物質であるため、アフラトキシンB₁及びG₁の蛍光強度を増加させる誘導体化操作が必要となる。誘導体化の方法として、フォトケミカルリアクターによる誘導体化法、トリフルオロ酢酸による誘導体化法、電気化学的誘導体化法等が用いられる。なお、いずれの誘導体化法操作でもアフラトキシンB₂及びG₂は誘導体化されない。以下に示す試験法は、日本薬局方に記載されている一部のエキス剤において適用できると確認された方法である¹²⁾。本法はあくまで例示であり、その他の適切な条件の適用を妨げるものではない。

(i) 試料溶液の調製

均一に粉碎した試料約1 gを精密に量り、アセトニトリル／水／メタノール混液(6:4:1) 4 mLを正確に加え、試料が分散するまで振り混ぜた後、30分間振り混ぜ、遠心分離し、上澄液を分取する。この液2 mLを正確に量り、ポリソルベート20 (4%)リン酸塩緩衝塩化ナトリウム溶液を加えて50 mLとする。この液をイムノアフィニティカラム(使用直前にリン酸塩緩衝塩化ナトリウム試液を流して調整したもの)に入れる。ポリソルベート20 (0.01%)リン酸塩緩衝塩化ナトリウム溶液10 mL、水10 mLの順にカラムを洗い、次にアセトニトリル1 mLを注入して5分間静置した後、アセトニトリル2 mLで溶出させる。溶出液は窒素気流下で溶媒を留去し、残留物に薄めたメタノール(7→10) 0.5 mLを正確に加えて溶かし、試料溶液とする。このとき試料溶液0.5 mL中の試料量は0.5 g相当である。

(ii) 測定方法及び評価方法

分離にはODSカラムを用いる。アフラトキシンの蛍光は励起波長365 nm、蛍光波長450 nmで検出できるため、蛍光検出HPLC法を用いる。アフラトキシンB₁及びG₁の誘導体化にはトリフルオロ酢酸を用いる。移動相として水／メタノール／ア

セトニトリル混液(6:3:1)を用いた場合、アフラトキシンG₁誘導体、B₁誘導体、G₂、B₂の順に検出する。継続的にアフラトキシン試験を実施する際は、トリフルオロ酢酸による誘導体化ではなく、カラムと蛍光検出器の間にフォトケミカルリアクターを連結したポストカラム誘導体化が便利である。この場合の検出順は、アフラトキシンG₂、G₁誘導体、B₂、B₁誘導体となる。本法によりアフラトキシンを定量するとき、各アフラトキシンの濃度が0.5 ~ 20 μ g/Lのアフラトキシン溶液を試料溶液と同様の溶解溶媒にて数点調製し、必要範囲の直線性を検証することが必要である。

3. 標準溶液及び試薬・試液

本試験には、日本薬局方に規定するもののほか、以下の標準溶液及び試薬・試液を用いる。

(i) ポリソルベート20 (4%)リン酸塩緩衝塩化ナトリウム溶液 塩化ナトリウム8.0 g、塩化カリウム0.2 g、リン酸水素二ナトリウム十二水和物2.9 g、リン酸二水素カリウム0.2 g及びポリソルベート20 40 gを水900 mLに溶かした後、必要ならば0.1 mol/L塩酸試液又は希水酸化ナトリウム試液でpH 7.4に調整後、水を加えて1000 mLとする。2 ~ 8℃で保存する。

(ii) ポリソルベート20 (0.01%)リン酸塩緩衝塩化ナトリウム溶液 塩化ナトリウム8.0 g、塩化カリウム0.2 g、リン酸水素二ナトリウム十二水和物2.9 g、リン酸二水素カリウム0.2 g及びポリソルベート20 0.1 gを水900 mLに溶かした後、必要ならば0.1 mol/L塩酸試液又は希水酸化ナトリウム試液でpH 7.4に調整後、水を加えて1000 mLとする。2 ~ 8℃で保存する。

(iii) アフラトキシン溶液 アフラトキシン標準原液の一定量を取り、アセトニトリル又はメタノールを用いて希釈したもの。アフラトキシン標準原液は、正確に濃度調整された市販標準原液を使用する。

4. 注意事項

(i) アフラトキシンは強い発がん物質であるため、取扱いに注意する必要がある。特に高濃度のアフラトキシンを扱うときは、最大限の注意を払う。操作時には、実験衣、手袋、眼鏡、マスク等の保護具を着用すること。また、アフラトキシン溶液を取扱う際には局所排気装置を用いることが望ましい。

(ii) 使用した器具は廃棄、洗浄する前に次亜塩素酸ナトリウム溶液に2時間以上浸漬すること。次亜塩素酸ナトリウム溶液は次亜塩素酸ナトリウム(NaClO)を水に溶かし0.5 ~ 1.0%に調製したものである。市販の消毒用又は食品添加物規格の次亜塩素酸ナトリウム溶液を濃度調整した後、利用することもできる。

(iii) アフラトキシン溶液は、遮光して保冷庫内で保管する。市販のアフラトキシン標準原液は定められた保管条件にて保管すること。

(iv) ガラス等の容器にアフラトキシンが吸着する場合がある。この場合、シラン処理した容器(使用前に薄めたアセトニトリル(1→5)等で洗浄し、乾燥させたもの)を用いることが望ましい。

(v) イムノアフィニティカラムは、使用前にカラム中のゲルに気泡や亀裂が生じていないことを確認し、気泡や亀裂が生じている場合には、カラム上部から加圧し除去すること。

(vi) イムノアフィニティカラムを使用する際、必要に応じて添加回収試験などにより性能を確認すること。

(vii) 試料溶液の調製において、イムノアフィニティカラムで

はなく、複数の担体混合物を充填したカラムを使用する場合、イムノアフィニティカラムと同等の試験結果が得られることをあらかじめ添加回収試験などにより検証しておくことが必要である。

5. 参考資料

- 1) IARC, "IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans", Vol. 82 (2002).
- 2) FAO, "FAO Food and Nutrition Paper 81, Worldwide Regulations for Mycotoxins in Food and Feed in 2003" (2004).
- 3) 平成23年3月31日付食安発0331第5号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知「アフラトキシンを含有する食品の取扱いについて」。
- 4) M. Trucksess, et al., J. AOAC Int., 89 (3), 624-630 (2006).
- 5) C. Bircan, Int. J. Food Science and Technology, 40, 929-934 (2005).
- 6) H. Tosun and R. Arslan, The Scientific World Journal, 2013, Article ID 874093 (2013).
- 7) 平成23年8月16日付食安発0816第1号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知「総アフラトキシンの試験法について」。
- 8) European Pharmacopoeia 8.0 (2013), 2.8.18. Determination of aflatoxin B₁ in herbal drugs.
- 9) US Pharmacopeia 37 (2014), <561> Articles of Botanical Origin.
- 10) WHO: WHO Guidelines for Assessing Quality of Herbal Medicines with Reference to Contaminants and Residues.
- 11) 平成23年8月16日付食安監発0816第7号厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知「トウモロコシ中の総アフラトキシンの試験法について」。
- 12) 佐久間久子ら, 生薬学雑誌, 68 (2), 53-57 (2014).

生薬の放射能測定法 (G5-8-180)

生薬は栽培品を収穫あるいは野生品を採取し、水洗、乾燥などの加工調製を経て製せられるいわゆる天産品である。本参考情報は、天然由来を超える一定レベル以上の放射性物質を含むことが懸念される場合に適用可能な、生薬の放射能測定法を示すものである。

本測定法は、 γ 線スペクトロメトリーによる放射能を測定する方法であり、放射性物質である¹³¹I, ¹³⁴Cs及び¹³⁷Csが対象である。

1. 原理¹⁾

試料中の放射性核種の放射能を測定するには、放射性核種が崩壊したときに放出されるヘリウムの原子核の α 線、電子の β 線、光子の γ 線を測定して、放射線のエネルギーから放射性物質を決定し、単位時間あたりに計数した放射線の数から放射能を決定する。放射線はその種類、エネルギーによって透過力が異なる。一般に α 線は最も透過力が弱く、紙で遮蔽できる。 β 線は α 線より透過力があるが、数mm程度の軽金属板で遮蔽でき、弱透過性放射線に分類される。一方、 γ 線は透過力があ

り、遮蔽するには原子番号が高く、密度の大きな数cm ～ 10 cm程度の鉛などの物質が必要となる。

放射線の透過力の違いは、放射線・放射能測定において重要な要素となる。放射性核種の決定には、一般に γ 線が用いられる。 α 線や β 線は弱透過性放射線のため自己遮蔽(吸収)されやすく、表面汚染の測定などには適しているが、スペクトロメトリーによる放射性核種の同定は、試料調製など専門的な技術が必要で、容易ではない。一方、 γ 線は物質内部からの放出でも物質透過に際して大部分の γ 線はエネルギーを失うことなく、放射性核種から放出された γ 線エネルギーの情報が測定スペクトルから得られる。放射性核種が放出する γ 線のエネルギーは放射性核種ごとに決まっているため、得られたエネルギースペクトルから放射性核種の同定が比較的容易にできる。生薬中の放射能濃度を測定するには、含まれる放射性核種の同定と、その放射性核種の濃度を測定する必要があるため、 γ 線スペクトロメトリーによる放射能測定法が推奨される。

γ 線スペクトロメトリーによる放射能測定法に用いられる γ 線の検出器としては、放射線の入射で電子-正孔対をつくる半導体検出器と、光を出すシンチレータが知られている。シンチレータとはシンチレーション(閃光や蛍光)を出すもので、その光は非常に弱く、光による電子信号を増幅する光電子増倍管(Photo-Multiplier Tube)などと組み合わせて用いられる。生薬の放射性核種を測定できる検出器としては、半導体検出器の一つであるゲルマニウム半導体検出器(以下「Ge検出器」という。)が最も高性能である。また、取扱いが簡便な検出器として、タリウム活性化ヨウ化ナトリウムシンチレーション検出器(以下「NaI(Tl)検出器」という。)があり、生薬の放射能を測定することが可能である。

1.1. 測定対象核種

測定の対象となる核種は¹³¹I, ¹³⁴Cs及び¹³⁷Csの3核種である。

1.1.1. Ge検出器

Ge検出器を用いた γ 線スペクトロメトリーによる放射能測定法の解析に必要な放射線のデータを表1に示す。

表1 Ge検出器の測定対象核種放射線データ¹⁾

核種	半減期	エネルギー	γ 線放出割合	サム効果の補正が必要な γ 線()内は γ 線放出割合
¹³¹ I	8.021 日	364.5keV	0.817	284.3keV(0.061), 637.0keV(0.072), 他
¹³⁴ Cs	2.065 年	604.7keV	0.976	569.3keV(0.154),
		795.9keV	0.855	801.9keV(0.087) *, 他
¹³⁷ Cs	30.17 年	661.7keV	0.851	ない(単一 γ 線)

* 分解能があまりよくない場合には、795.9keVと 801.9keVを一つのピーク(0.942)として扱ってもよい。

1.1.2. NaI (Tl) 検出器

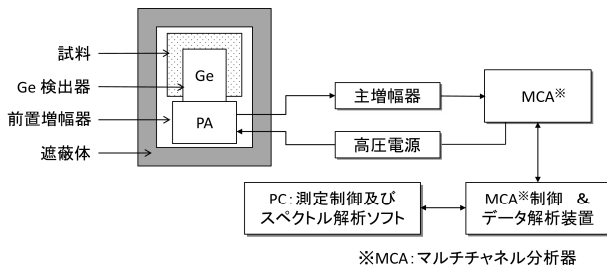
NaI(Tl)検出器を用いた γ 線スペクトロメトリーによる放射能測定法の解析に必要な放射線のデータを表2に示す。なお、NaI(Tl)スペクトロメーターを用いた測定では、核種を精密に弁別して定量することが困難な装置を用いるため、放射性セシウムは¹³⁴Cs及び¹³⁷Csの合計として扱う。

2. 装置

γ 線スペクトロメーターの構成を図1に示す。装置は一般に、検出器、増幅器などの計測回路部及び解析部(パーソナルコンピュータ: PC)により構成される(図1)。市販の装置には、高圧電源、増幅器、多重波高分析器(マルチチャネル分析器)などの

表2 NaI (Tl) 検出器の測定対象核種放射線データ¹⁾

核種	半減期	エネルギー	γ 線 放出割合	サム効果の補正が必要な γ 線 ()内は γ 線放出割合
^{131}I	8.021 日	364.5keV	0.817	284.3keV(0.061), 637.0keV(0.072), 他
^{134}Cs	2.065 年	604.7keV 795.9keV 801.9keV	0.976 0.855 0.087	795.9keV は 801.9keV と一つ のピーク(0.942)として扱う
^{137}Cs	30.17 年	661.7keV	0.851	ない(単一 γ 線)

図1 γ 線スペクトロメーターの構成²⁾

計測回路部が検出器と一体化し、遮蔽体を含む検出部と解析用PCにより構成されているような装置もある。詳細は、後述する。

なお、Ge検出器には液体窒素を用いる冷却装置が付属されている。

3. 試料の採取、調製、保存及び運搬

3.1. 試料の採取

3.1.1. 採取容器、器具及び表示

採取容器は、未使用のポリエチレン袋を用いる。

試料採取のための補助器具は、ステンレス、ポリエチレン、又はそれと同等の材質を用いる。試料と接する部位は、汚染されないように、運搬時にはポリエチレン袋などで保護するとよい。試料採取の現場で使用するので、複数の地点で試料採取を行う場合には、これら補助器具からの汚染に注意する。

採取容器には、試料の採取前、又は採取後、以下の事項を速やかに記入する。

①試料番号(ロット)

(同一試料を複数容器に分けて採取する場合にはそれぞれが区別できるようにする)

②品名

③産地名

④採取年月日

⑤採取者名

⑥特記事項

⑦その他評価に必要な事項

3.1.2. サンプルング及び試料の取扱い

測定対象単位を代表する試料を採取するためにランダムサンプリングを行い、採取した試料はよく混合して均一化する。原則として1測定対象単位当たり1サンプルとする。

直接の採取が困難な状況では、採取用スcoopなどで試料を採取し、必要に応じて漏斗などを用いて、採取容器に移す。

3.1.3. 採取量

試験に必要な量の2倍程度が望ましい。

3.2. 試料の調製

必要に応じて個々の測定装置に適した大きさに調製する。生薬は、植物、鉱物、動物などの様々な部位を使用するため、種々の大きさ、形状、固さがあり、その特性に応じた切裁や破

砕などをする。なお、試料を採取した後に洗浄など検査結果に影響を与える処置をしてはならない。

3.3. 試料の保存及び運搬

採取後、速やかに試験する。試料の運搬時に、採取容器が破損し、採取容器から試料が漏れないようにする。速やかに試験できない場合は、湿気及び虫害などを避けて保存する。

4. 試料の測定

γ 線スペクトロメーターによる分析フローの例を図2に示す。

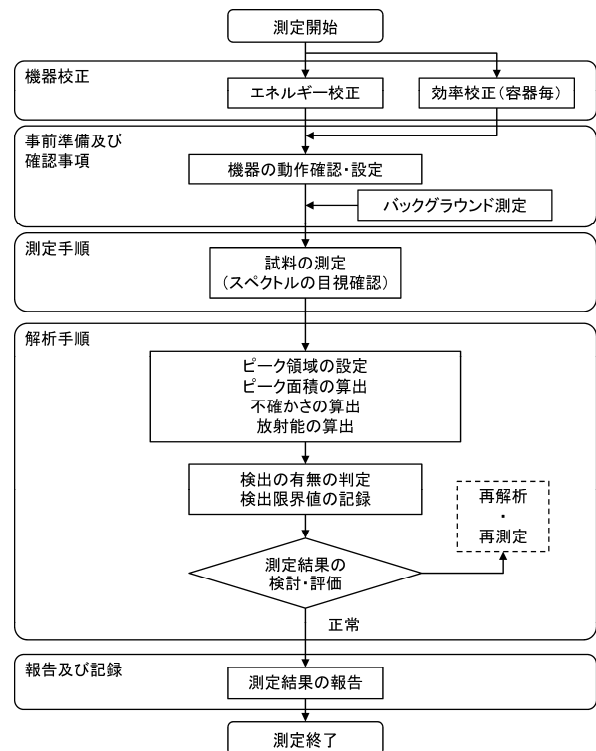


図2 分析フローの例

4.1. Geスペクトロメーターによる測定

4.1.1. 測定法の特徴

Ge検出器を用いる γ 線スペクトロメトリーによる放射能測定法は、エネルギー分解能が非常に高いためエネルギー決定の精度が高く核種の同定が容易かつ確実であり、接近したエネルギーの他の γ 線と明確に分別して解析することができる。また、 γ 線ピークの広がり狭いため、ピーク計数値に対するバックグラウンド計数値の比率が低いので低レベル放射能の分析に適している。

4.1.2. 機器・器具など

4.1.2.1. 機器の構成

(1) Ge検出器

検出器の相対効率20%程度以上とする。

エネルギー分解能は半値幅で1.8 ~ 2.0 keVが一般的である。

(2) 遮蔽体

低レベル放射能測定では検出器の遮蔽は大変重要である。天然核種(^{40}K , ウラン及びトリウム系列核種)などによる γ 線が十分遮蔽されている必要がある。

検出器周りの遮蔽体としては、厚さ10 ~ 15 cmの鉛遮蔽体が一般的に使われている。

遮蔽体内部空間のサイズは測定に使用する試料容器が納まる

大きさでなければならない。

検出器の形状には、縦型(ディップスティック)、L型(液体室素素容の側面にクライオスタットが付いている)などがあり、遮蔽体の構造は検出器の形状や検出器と液体室素素容器との接続関係によって異なる。

4.1.2.2. 器具など

(1) 試料容器

試料容器は、密封性がよく、機械的強度が高く、酸や熱などに強く、内部の試料が見える必要がある。試料容器として、内容積1～2 Lのマリネリ容器、内容積100～500 mLの円筒形容器などが使われている。試料容器は試料量を参考に決定すること。

(2) エネルギー校正用線源

エネルギー校正用の線源としては ^{22}Na (511 keV, 1275 keV), ^{54}Mn (835 keV), ^{60}Co (1173 keV, 1332 keV), ^{88}Y (898 keV, 1836 keV), ^{137}Cs (662 keV), ^{139}Ce (166 keV)のように100 keVから2000 keVまでをカバーするようにいくつか選んで用いる。それぞれの放射能は1000～3000 ベクレル(Bq)とする。

(3) 効率校正用線源

^{137}Cs などを含む市販の標準試料で、容器と媒体の容積は試料と同じもの。それぞれの放射能は1000～3000 Bqとする。

(4) スペクトル解析ソフトウェア

ピーク探索、核種の同定、ピーク面積の算出、計数の統計による不確かさの算出などが行えるもの。さらに、自己吸収の補正やサム効果の補正が行えるものであることが望ましい。

4.1.3. 機器校正

4.1.3.1. エネルギー校正

エネルギー校正用線源を対象にして、次の手順により γ 線エネルギーとピーク中心チャンネルとの対応関係を一次式で求める。

(1) エネルギー校正用の線源を検出器の定まった位置に取り付け、主要な γ 線のピーク面積が数千カウント以上になるまでスペクトルを測定する。

(2) γ 線エネルギー(E)とピーク中心チャンネル(p)が直線関係にあるとして、スペクトル解析ソフトを用いて次の関係を求める。

$$E = a + b \times p$$

なお、 γ 線のエネルギー範囲を0～2000 keV、マルチチャンネル分析器のチャンネルフルスケールを4000 chとすることによって、計数値が低いときにもピーク領域を簡単に設定でき、この場合、上式の a は0に近い値、 b はできるだけ0.500に近い値となる。

(3) 以上のデータを記録・保存する。

4.1.3.2. 効率校正

測定した γ 線スペクトルから放射能を決定するには、ピークに対する計数効率(以下「ピーク効率」という。)が必要であり、放射能分析にはピーク効率の校正が正しく行われていることが前提である。

効率校正には、濃度が分かっている効率校正用線源を用いる。通常はおよそ50～2000 keVのエネルギー範囲に適用できるように、いろいろな核種を含む標準線源を測定して、エネルギーを変数とするピーク効率関数を求める。なお、ピーク効率は試料容器によって異なるため、複数の試料容器を使用する場合に

は、試料容器ごとに効率校正を行う必要がある。

4.1.4. 測定操作

4.1.4.1. 事前準備及び確認事項

(1) 機器の動作確認と設定

試料を測定する前に、スペクトル解析ソフトを用いて、エネルギー校正用線源のスペクトルを解析し、主要な γ 線について、ピーク中心チャンネル、半値幅及びピーク計数率が正常な値であることを確認する。

(2) バックグラウンド測定

設定した測定条件におけるバックグラウンドの測定を行う。

試料と同一の条件を持つバックグラウンド測定用試料(同一試料容器に対象とする放射能が含まれていない同一量の測定対象核種を含まない水を封入)を置いて測定することが原則である。

試料の放射能分析には最近測定したバックグラウンドスペクトルの解析結果を用いるので、測定に備えて、表1に示す測定対象核種の主要 γ 線エネルギーに相当するピークが認められた場合には計数率と計数の統計による不確かさを算出し、結果を保存する。なお、バックグラウンドスペクトルにはウラン系列の ^{214}Bi から放出される609.3 keV (0.426)があり、このスペクトルは ^{134}Cs の604.7 keVに近いので注意する。

4.1.4.2. 測定手順

試料容器へ試料を充填する際は、できる限り空隙を少なくし、均一になるよう留意する。そのため、測定する生薬の特質に合わせ、必要に応じ、切裁や破砕などの方法で、前処理する。

効率校正に用いた標準試料と同じ容器に同一量の試料を充填したものを検出器の中心に合わせて取り付ける。その際、中心からのずれは、マリネリ容器では1 cm程度以内、円筒形容器では2 mm程度以内にする。

ピーク効率及びバックグラウンド測定の結果などから目標とする検出限界値が得られるよう試料の測定時間を設定して測定を開始する。なお、計数率が非常に高いときには、ピーク形状が劣化することがあるので注意する。

測定終了後、スペクトルデータを保存する。

4.1.4.3. 解析手順

(1) ピーク領域の設定

測定が終了後、スペクトル解析ソフトにより測定対象核種の γ 線に対してピーク領域(ROD)を設定する。その際、計数が不足している場合にはスムージング処理によって、チャンネルごとの計数のばらつきを平準化することもできる。

ピーク中心チャンネル(p)と半値幅(FWHM)から、測定したスペクトルが正常であることを確認できるが、微弱なピークについてはその値が変動することがある。

(2) ピーク面積の算出

ピーク面積(N_s)は、解析ソフトによるROIの自動設定ではピーク探索に基づいて計算されるが、特に微弱なピークについては、ROIの位置と幅が適切であるか否かを確認する。

(3) バックグラウンド計数率の差引きと計数の統計による不確かさの算出

通常の γ 線スペクトロメトリーではバックグラウンド計数率 m_{BG} (以下「BG計数率」という。)の差引きは必ずしも必要ではないが、検出器と遮蔽体内部の汚染がある場合には、BG計数率の差引きを行う必要がある。正味の計数率 $n(s^{-1})$ を、試料の計数率($m_s = N_s / t_s$)から同一のピーク領域におけるBG計数率を差し引いた値として求める。

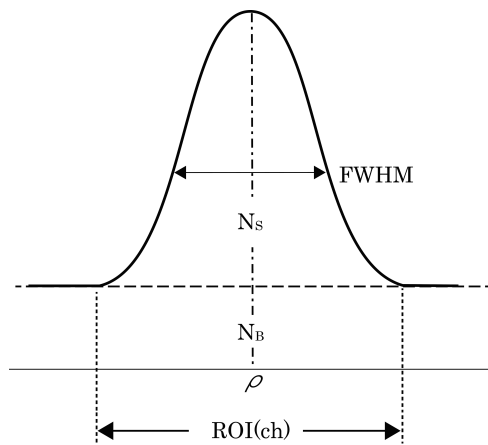


図3 ピーク領域(ROI)の設定とピーク面積(N_s)及びバックグラウンド面積(N_B)の算出

$$n = n_s - n_{BG}$$

計数誤差である σ_n と計数率(n)の関係は以下の式で表される。

$$n \pm \sigma_n = n \pm (n/t)^{1/2}$$

正味計数率に対する計数の統計による不確かさ $\sigma_n(s^{-1})$ はそれぞれの計数率の統計による不確かさ(σ_s 及び σ_{BG})の合成として次のように表される。

$$\sigma_n = (\sigma_s^2 + \sigma_{BG}^2)^{1/2}$$

(4) 放射能の算出

試料の放射能 A (Bq)と放射能濃度 C (Bq/kg)は次式で求められる。

$$A = \frac{n}{a \varepsilon f_{SUM}} \quad C = \frac{A}{M}$$

上式において、

n : 計数率

a : 表1に示される γ 線放出割合(Bq $^{-1}$)

ε : ピーク効率

f_{SUM} : サム効果補正係数

M : 試料容器中の試料の質量(kg)

ただし、標準試料との比較測定の場合は、 a , ε , f_{SUM} は同一であるから考慮する必要はない。すなわち、標準試料の放射能を A_{STD} , 計数率を n_{STD} とすると、 $A = (n/n_{STD}) A_{STD}$ で求められる。

(5) 検出に関する不確かさ

試料容器中の試料の質量の不確かさの考慮が必要でない場合、試料の放射能の計数の統計による不確かさ δ_A (Bq)と放射能濃度の計数の統計による不確かさ δ_C (Bq/kg)は次の関係で求められる。

$$\delta_A = \frac{\sigma_n}{n} A \quad \delta_C = \frac{\delta_A}{M}$$

測定された放射能濃度 C が $3\delta_C$ を超えた場合、統計的に有意であると考えられる。

(6) 検出限界値の記録

不検出となった場合にはその分析を行った際に検出されるであろう放射能値における $3\delta_C$ を検出限界値として記録する。

検出限界値は、BG計数率、試料の測定時間、試料の質量の影響を受ける。放射能測定では、測定対象ピークのバックグラウンド部分の計数率(通常ピーク脇のベースライン領域から算出)、BG計数率、試料の測定時間及びバックグラウンド測定時間、試料の質量などから算出する方法が広く用いられている。

(7) 測定結果の検討・評価

測定対象核種ごとの測定結果を整理し、計数の統計による不確かさ、ピーク中心チャンネル、半値幅などにより正常であることを確認する。確認結果に何らかの疑義がある場合は、必要に応じて再測定を行う。

4.1.5. 測定実施の注意点

4.1.5.1. バックグラウンドの管理

定量目的核種と同じ核種がバックグラウンドから検出される場合には、その原因を確認し、可能な限りバックグラウンドの影響を抑えることが必要である。室内の汚染による場合には、機器周りの遮蔽装置を清掃・確認し、適切な遮蔽を行うことで影響を抑えることができる。遮蔽体内や検出器そのものが汚染した場合には、除染に努めることが原則であるが、万一、除染できない場合には、放射能計算の際にバックグラウンドからの寄与を差し引く必要がある。

4.1.5.2. 機器、器具などの汚染防止

検出器はポリエチレンなどで覆い、汚染を防ぐようにする。万一汚染した場合もポリエチレンの包装を交換することで対処できる。検出器表面が汚染した場合には、中性洗剤やエタノールをしみ込ませたガーゼなどでふき取る。遮蔽体を開ける場合に、粉塵などの汚染物が入らないように注意する。

試料容器は簡単な洗浄を行ったうえで使用する。試料を試料容器に入れる際に試料容器の周りに試料が付着しないようにすることも重要である。

高濃度の試料を測定する場合や除染が困難な場合には使い捨て容器を使用する。試料容器を繰り返して使用する場合は、フッ素コーティングなどを施すとよい。試料容器内にプラスチック袋を用いることも有効である。

4.1.5.3. 機器の日常管理

測定システム全体の定期的な性能テストを行うことは機器の管理として大変重要である。性能テストでは、チェック用 γ 線源を検出器上の一定の位置に置いて測定し、低・中・高エネルギーの γ 線についてピーク中心チャンネル、半値幅、ピーク計数率を求め、それらを時系列データとして保存する。性能テストはできれば毎日、少なくとも一連の試料測定に先立って行うことによって常に正確なエネルギー校正を用いることができる。

また、定期的に試料がない状態又は空容器を設置して測定を行うことにより、検出器周辺部や試料容器の汚染がないことを確認する。

検出器トラブルの一つとしてクライオスタット内の真空度劣化がある。これは、液体窒素の消耗量、エネルギー分解能の低下、目視検査(クライオスタットのネック部分における結露の有無)などから判断することもできる。

4.2. NaI(Tl)スペクトロメーターによる測定

4.2.1. 測定法の特徴

シンチレーション検出器は、シンチレータと呼ばれる固体の結晶に放射線が入射した際に生じる微弱な発光を光電子倍增管で電気信号に変えて放射線のエネルギーや数を求めるものである。Ge検出器に比べて比較的安価であり、常温で使えること

が利点としてあげられる。また、市販されている固体結晶はサイズが規格化されていることから、結晶の大きさで検出効率が決まる点も特徴である。固体結晶の中には、NaIやLaBr₃などがある³⁾。

4.2.2. 機器・器具など

4.2.2.1. 機器の構成

シンチレーションスペクトロメーターは、一般的に、シンチレーション検出器、高圧電源、増幅器、マルチチャンネル分析器、解析用PCから構成される。シンチレーションスペクトロメーターはγ線スペクトル解析機能を有し、放射能測定から定量計算までを実施できるものとする。

(1) 検出器

エネルギー分解能は8%以下とする。

(2) 遮蔽体

環境放射線(バックグラウンド)の影響を低減するため、検出器の周りを鉛で遮蔽した構造のものが望ましい。検出器の側面のみでの遮蔽では、低減効果は低いことから全面を囲むことがより望ましい。

(3) 試料台

遮蔽体の中に収め、検出器と試料が常に一定の空間的位置関係(ジオメトリ)で固定できる試料台を設置すること。その際には、検出効率や測定時の安定性の点から、検出器と垂直にピーカー試料容器を直上に置くことが望ましい。また、角形の試料容器の場合は、検出器と水平に容器側面と試料台を密着させることも可能である。

4.2.2.2. 器具など

(1) 試料容器

試料容器には、マリネリ容器、プラスチック瓶、ポリタンクなどが用いられる。緊急時の場合には、試料を入れたバケツに検出器を差し込むことでも定量が可能である。ただし、それぞれの測定容器に対して、あらかじめ検出効率を算出しておくことが必要となる。

(2) エネルギー校正用線源

エネルギー校正用の線源としては²²Na (511 keV, 1275 keV), ⁵⁴Mn (835 keV), ⁶⁰Co (1173 keV, 1332 keV), ⁸⁸Y (898 keV, 1836 keV), ¹³⁷Cs (662 keV), ¹³⁹Ce (166 keV) のように100 keVから2000 keVまでをカバーするようにいくつか選んで用いる。γ線エネルギーとピーク中心チャンネルの関係を1次式で求める。

Ge検出器とは異なり、エネルギー分解能が低いため、γ線のエネルギーが接近した核種を混合した線源は用いない。

(3) 効率校正用線源

効率校正には、放射能が分かっている効率校正用線源を用いる。ピーク効率は試料容器によって異なるため、複数の試料容器を使用する場合には、試料容器ごとに効率校正を行う必要がある。スペクトロメーターのエネルギー分解能を考慮して、1, 2本のγ線を放出する核種を用いることが望ましい。測定対象核種の¹³⁴Csと¹³⁷Csが含まれていることが望ましい。

(4) スペクトル解析ソフトウェア

多核種によるピークの重なりがあってもピーク関数フィッティングなどにより着目するピークを分離して面積を求めることができること。「放射能測定法シリーズNo.7 ゲルマニウム半導体検出器によるγ線スペクトロメトリ」⁴⁾に準拠したピーク分析ができることが望ましい。また、定量する核種の放射線

データ(半減期、γ線放出割合)、検出効率から、放射能濃度を計算することができることが望ましい。

4.2.3. 機器校正

4.2.3.1. エネルギー校正

マルチチャンネル分析器のチャンネル幅は1000 ch程度とし、2000 keVまでのγ線が測定できるように調整した上で、幾つかのエネルギー校正用線源を用いて、エネルギー校正式を求める。

γ線エネルギー(E)とピーク中心チャンネル(p)には以下の関係がある。

$$E = a + b \times p$$

上式のaはできるだけ0に近い値、bはチャンネル数にもよるができるだけ2.0に近い値であることが望ましい。

4.2.3.2. 効率校正

γ線のエネルギーによってそれぞれの計数効率が異なることから、幾つかの核種を既知量含む効率校正用線源を使用して、検出効率(ϵ)をγ線エネルギー(E)の関数として求める。数100 keV ~ 2000 keVの領域では、以下の関係がある。

$$\log(\epsilon) = a + b \times \log(E)$$

定量を目的とする¹³⁴Cs及び¹³⁷Csを含む校正用線源があれば、目的とするγ線ピークに対する計数効率を直接求めることができる。

4.2.4. 測定操作

4.2.4.1. 事前準備及び確認事項

(1) 機器の動作確認と設定

光電子増倍管にメーカーが規定する極性と電圧を印加する。線源を検出器に近づけた場合に、プリアンプからの出力波形が仕様にあっていることをオシロスコープで確認することが望ましいが、使用する機種取扱説明書を参考にしても良い。又は、マルチチャンネル分析器に接続して、通常見られないノイズ信号が出ていないことと、デッドタイムメータが振り切れていないことを確認する。なお、マルチチャンネル分析器は1000 ch程度までとする。測定エネルギー範囲は100 keVから2000 keV程度とする。

エネルギー校正は電源投入時及び毎日確認し、基準となるγ線(例えば¹³⁷Csや⁴⁰K)があらかじめ設定しているチャンネルにおいて検出できることを確認する。設定しているチャンネルと大幅なずれが生じている場合には増幅器のGAIN(ゲイン)を調整する。

(2) バックグラウンド測定

バックグラウンド測定について試料がない状態又は、空容器を設置して週1回程度測定を行い、検出器周辺部や測定容器の汚染がないことを確認する。また、定量するγ線と同じチャンネルにピークが認められる場合で、除染できない場合には、その計数率を求めて記録する。

4.2.4.2. 測定手順

基本的にはGe検出器による方法とほぼ同じであることから、Ge検出器を用いたγ線スペクトロメーターの操作に従う。

(1) 測定時間の設定：目的とする検出限界値、試料の量によって測定時間を決定する。検出限界値をより低くするためには、バックグラウンドの低減が最も有効である。

(2) 測定の開始、終了操作とその時間の記録

(3) スペクトルデータの保存：ファイル名は試料が分かるよ

うな名称や日時などが分かる名称にしておく。

4.2.4.3. 解析手順

基本的にはGe検出器による方法とほぼ同じであることから、Ge検出器を用いたγ線スペクトロメーターの操作に従うこと。なお、この解析における留意点は以下のとおり。

(1) ピーク領域の設定

定量に利用するγ線ピークとしてバックグラウンドに対して有意な計数が得られている領域を設定する。その際、計数が不足してばらつきが大きく、領域の設定が難しい場合にはスムージング処理によって、チャンネルごとの計数を平滑化してからピーク領域を設定する。

(2) 核種同定

エネルギー校正曲線から、定量する核種のγ線がどのチャンネルに対応するかを換算できるようにしておく。核データブックや環境放射線のスペクトルを備えておき、未知のピークが検出された場合には、γ線のエネルギーを調べ、核種の同定を行い、定量に利用するγ線の妨害の可能性を検討する。

(3) ピーク面積の算出

ピーク部分の全計数からピーク下のバックグラウンド部分の計数を差し引く方法を行う。その方法で定量することが困難なほど多重ピークとなっている場合は、ピーク関数フィッティング法でピーク分離を行ったうえでピーク面積の計算を行う。

(4) 放射能の算出

放射能の算出に当たって、試料やバックグラウンドに含まれる天然の放射性同位元素を考慮して、放射能の計算結果を評価する必要がある。その場合、定量に利用する核種のγ線ピークに相当する領域における計数を求めて差し引き、正味の計数(n)を求める。

測定時間で割った計数率(n)から以下の式によって試料の放射能 A (Bq)及び放射能濃度 C (Bq/kg)を求める。

$$A = \frac{n}{\epsilon \cdot f_{\text{SUM}}} \quad C = \frac{A}{M}$$

上式において、

n : 計数率

ϵ : 表2に示されるγ線放出割合(Bq⁻¹)

ϵ : ピーク効率

f_{SUM} : サム効果補正係数、ただし、サム効果の補正は¹³⁴Csについて行う必要があるが、補正を行わない場合にはその旨記載する。

M : 試料容器中の試料の質量(kg)

(5) 検出限界値の算出

検出限界値はバックグラウンドスペクトルのチャンネルを対象とする核種のγ線が存在したと仮定した場合に算出される。ピーク領域のバックグラウンド計数を加算し、その計数誤差の3倍を検出限界値として表す。市販されている遮蔽体付きのスペクトロメーターでは、¹³¹I及び¹³⁷Csで30Bq/kg程度であるが、検出器の大きさ、遮蔽体の厚み、試料量で大きく異なる。

実際の試料におけるピークの検出限界値は、試料のスペクトルにも大きく依存する。試料中に他の核種が共存する場合には、その核種によるコンプトンバックグラウンドも影響することになり、検出限界値が大きくなる場合がある。

(6) 測定結果の検討・評価

測定対象核種ごとの測定結果を整理し、計数の統計による不確かさ、ピーク中心チャンネル、半値幅などにより正常であることを確認し、確認結果に何らかの疑義がある場合は、必要に応じて再測定を行う。

4.2.5. 測定実施の注意点

4.2.5.1. 温度の影響

NaI (Tl)スペクトロメーターでは、検出器周辺温度の変動があると、ピーク中心チャンネルが変動することがある。特に、夜間や冬期などは測定室の温度が変動しやすいことから、温度を一定に保つようにする。試料が測定室の温度より低温で保存されているような場合には、測定に先立って測定室の温度付近に戻しておく。

4.2.5.2. バックグラウンドの管理

4.1.5.1.を準用する。

4.2.5.3. 測定器の汚染防止

検出器はポリエチレンなどで覆い、汚染を防ぐようにする。万一汚染した場合もポリエチレンの包装を交換することで対処できる。検出器表面が汚染した場合には、中性洗剤やエタノールをしみ込ませたガーゼなどでふき取る。遮蔽体を開ける場合に、粉塵などの汚染が入らないように注意する。

試料容器は必要な場合、簡単な洗浄を行ったうえで使用する。容器内にポリエチレン袋を用いることもできる。試料溶液を容器に入れる際に測定容器の周りに汚染が付着しないようにする。

5. 報告及び記録

記載事項の例は次のとおりである。

- ① 使用機器情報：機器名(検出器サイズ、分解能)、測定チャンネル数、解析ソフトウェアの種類、処理方法
- ② 試料情報：試料名(番号)、採取場所、採取日時、採取量、採取容器の種類、採取担当者氏名
- ③ 測定条件：試料容器の種類、試料量、ジオメトリ
- ④ 測定記録：測定開始日時、測定時間(Live Time, Real Time)
- ⑤ 解析記録：ピーク中心チャンネル、半値幅、ピーク面積とその計数の統計による不確かさ、試料計数率とその計数の統計による不確かさ、BG計数率とその計数の統計による不確かさ、ピーク効率、減衰補正係数、放射能及び放射能濃度とそれぞれの計数の統計による不確かさ、検出限界放射能又は検出限界放射能濃度、測定・解析担当者氏名

なお、解析記録については、転記ミス为了避免するため使用する解析ソフトの報告書をそのまま用いてもよい。数値については、計数の統計による不確かさの有効桁数を基にして放射能又は放射能濃度の有効桁数の「丸め」を行う。

⑥ 測定結果：核種名、放射能濃度(Bq/kg)、検出限界値

なお、測定業務を受託する場合には、原則として、測定業務の委託者が定める書式に測定結果を記載し報告するとともに、元データとともに保存する。

6. 参考資料

- 1) 日本アイソトープ協会編、アイソトープ手帳第11版、丸善出版、東京、2011、ISBN 978-4-89073-211-1.
- 2) 平成23年10月12日付厚生労働省健康局水道課事務連絡「水道水等の放射能測定マニュアルの送付について」、別添「水道水等の放射能測定マニュアル」。

- 3) 昭和49年1月制定, 文部科学省科学技術・学術政策局「放射能測定法シリーズNo.6 NaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータ機器分析法」.
- 4) 平成4年8月第3改訂, 文部科学省科学技術・学術政策局「放射能測定法シリーズNo.7 ゲルマニウム半導体検出器によるガンマ線スペクトロメトリー」.

G6. 製剤関連

プロセス解析工学によるリアルタイムリリース試験における含量均一性評価のための判定基準〈G6-I-171〉

1. はじめに

近年, プロセス解析工学(Process Analytical Technology; PAT)の発展に伴い, リアルタイムリリース試験(Real Time Release Testing; RTRT)における含量均一性評価のための試料数と判定基準が必要となってきた。PATによるRTRTでは近赤外吸収スペクトル測定法(NIR)のような非破壊的測定法により工程内で多量のサンプルをリアルタイムで測定することができ, 結果として大量のデータが短時間で生成される。これにより工程管理及び工程能力を向上させることが可能となるが, このような, 試験するサンプル量(サンプルサイズ)が100を超えるシステムでは, 日本薬局方一般試験法の製剤均一性試験法の判定基準, すなわちサンプルサイズとして1段階目10個, 2段階目30個を用いた2段階試験のための判定基準では適切な判定ができない可能性がある。例えば, 現行の判定基準では30個の試料を用いて試験した場合, 表示量から25.0%を超える偏差を示した製剤がサンプル中に1個でもあると不適となるが, サンプルサイズが100を越すようなPATでは, 1回の試験で外れ値を示す製剤(outlier)が出現する確率は, サンプルサイズが大きくなるほど無視できない頻度となる。この参考情報ではサンプルサイズが100を超えるRTRTに適用可能な判定基準の考え方を示す。

2. 判定基準の理論的背景

日本薬局方の含量均一性試験は出荷のための最終試験であるが, いわゆる抜き取り試験の一種である。抜き取り試験とは大量の母集団, すなわちロット又はパッチから一部を抜き取って試験することであり, 抜き取ったサンプルの量すなわちサンプルサイズによって元の母集団ロットに対する推定の良さが異なる。一般にはサンプルサイズが大きければ大きいほど推定が良くなり, ロットの品質を確実に見極めることが可能になると考えられている。一方, 多すぎるサンプルを抜き取ることは経済的, 労力的な負担になることから, 日本薬局方のような公定法では, 最小限のサンプルサイズを採用している。したがって, 規格値は最小限のサンプルサイズでも品質の悪い製品が世に出ないように厳しく定められている。しかし, 上述したように分析技術の発展により非破壊で多量のサンプル(Large-N)が試験に用いられるようになった現在, Large-Nに見合った規格値の設定が求められている。

規格値の設定に際しては, 担保可能な品質の限度(許容限度)と, 現実的に対応可能な試験の厳しさとの兼ね合いで決められ

る。試験は厳しいほど許容品質は良くなるが, 厳しすぎると実際の製品が合格せず欠品になったり, コストが異常に高くなったりする。許容品質を保持するためには, 消費者危険(悪い品質のものが合格するリスク)と生産者危険(良い品質のものが不合格になるリスク)を比較し, 最適な試験の厳しさを決めることが最も合理的である。検査特性(operating characteristic; OC)曲線におけるこれらの関係を, 図1に模式図として示した。

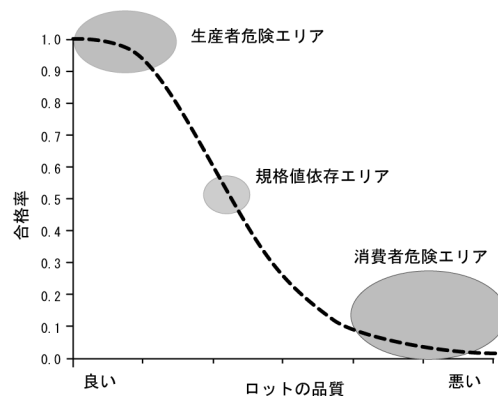


図1 OC曲線における消費者危険と生産者危険

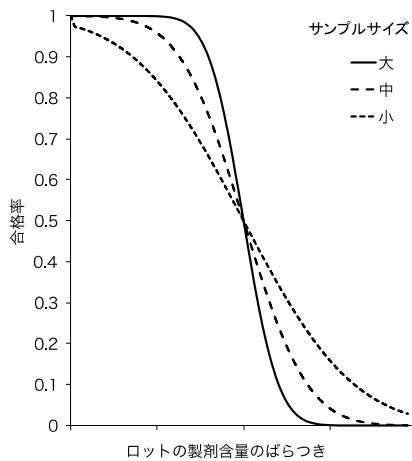
試験に合格して出荷される製品の品質を最終的に担保するのは, 合格率が5%の消費者危険レベルに相当する許容品質である。すなわち許容品質より悪い製品が試験に合格して出荷される可能性は低い(5%以下)と考えられる。一方, 生産者にとって重要なのは, どの程度良い品質の製品を生産したら十分合格できるのかといった問題であり, 特に合格率の高い(通常90 ~ 95%)品質レベルの製品の合否が生産者危険として重要視される。そして, 規格値とほぼ同じレベルの品質に関してはサンプルサイズに関わらずほぼ50%合格となる。したがって, 規格値を変えずにサンプルサイズだけを大きくすると図2のAのようになる。

すなわちOC曲線の50%合格レベルの品質(RSD)は変わらないが, OC曲線の傾きはサンプルサイズが大きいくほどきつくなる。対照的にサンプルサイズを変えずに規格値を変えるとOC曲線は, 傾きは一定で規格が厳しいほど左に移行する(図2のB)。サンプルサイズが変わっても消費者危険レベルを一致させるためには, 図3のAのようにサンプルサイズの変化に応じた規格値の設定が必要になる。一般に, サンプルサイズが大きくなると規格値が緩くなっても同じ消費者危険レベルを保つことができる。

しかし, PATにより大きなサンプルサイズで試験して出荷された場合, 出荷後に安定性試験や収去試験などで通常の小さいサンプルサイズで試験を行うケースが出てくる。この場合, 出荷後はサンプルサイズの小さい精度の悪い試験を行うことになり, 図3のAのように消費者危険は一定でも生産者危険が増大する。出荷後の生産者危険を増大させないためには, PATの試験規格と通常の試験規格で生産者危険が大きく異ならないよう試験規格を設定する必要がある。この場合, 図3のBで示されているように大きなサンプルサイズになるほど規格値を厳しくする必要がある。

この参考情報で提案されている試験規格はこのような点に配慮して決められた¹⁾。なお, この試験規格は, 多数の試料測定の際に計算が簡易で, かつ含量の分布に依存しないノンパラメ

A. サンプルサイズの影響



B. 試験規格の影響

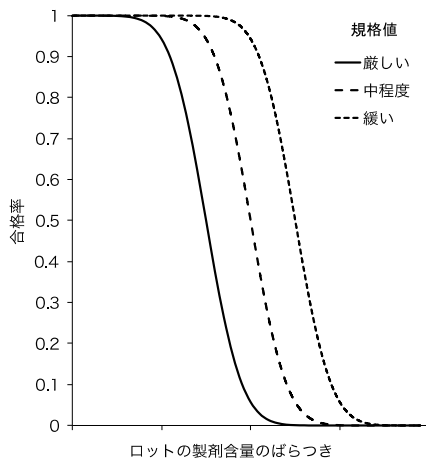


図2 含量均一性試験のOC曲線－サンプルサイズと試験規格の影響

トリックな判定基準であり、既出のLarge-Nに対応した基準であるEuropean Pharmacopoeia (EP)のAlternate 2²⁾ の考え方と同様である。なお、同じくEPのAlternate 1を判定基準として用いた場合についても、品質保証の観点からは問題がないと考えられる。

3. サンプルサイズが100以上の場合の含量均一性の判定基準

ここで提案するのは限度値の異なる2種の計数試験(C1の規定, C2の規定)の組合せによる判定基準である。サンプルサイズと合格判定個数を表1に示す。

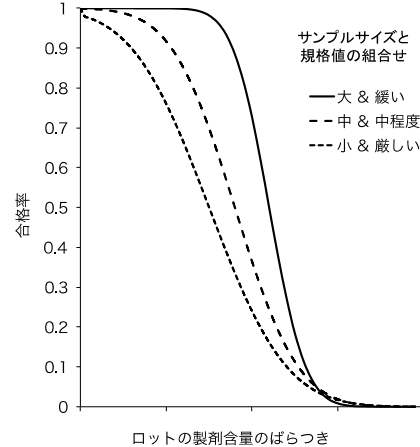
判定基準

ロットを代表する n 個の試料について適切な方法により測定し、有効成分の含量を表示量に対する%として求める。個々の製剤の含量の偏差が、15.0%を超えるものがC1個以下で、かつ25.0%を超えるものがC2個以下のときは適合とする。なお、品質管理上必要な場合には、偏差の基準点を表示量から含量目標値等の適当な値に変更することができる。

4. 参考資料

- 1) 香取典子ら, 厚生労働科学研究費補助金「医薬品のライフサイクルを通じた品質確保と改善に関する研究－製剤のライフサイクルにわたる品質保証に関する研究－」平成26年度

A. 消費者危険レベル一定の場合



B. 生産者危険レベル一定の場合

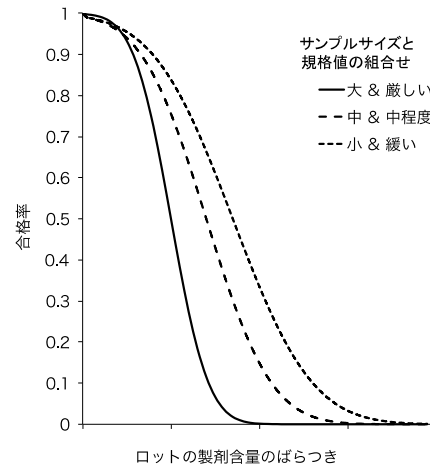


図3 含量均一性試験のOC曲線－消費者及び生産者危険が一定の場合

表1 含量均一性判定基準

サンプルサイズ (n)	合格判定個数*	
	C1** ($\pm 15.0\%$)	C2** ($\pm 25.0\%$)
100 未満	6.02 製剤均一性試験法の判定基準	
100 以上 150 未満	3	0
150 以上 200 未満	4	0
200 以上 300 未満	6	1
300 以上 500 未満	8	2
500 以上 1000 未満	13	4
1000 以上 2000 未満	25	8
2000 以上 5000 未満	47	18
5000 以上 10000 未満	112	47
10000 以上	217	94

* outlierがこの個数以下の場合に適合となる

** Critical Acceptance Number

分担研究報告書(研究代表者：奥田晴宏「医薬品のライフサイクルに通じた品質保証に関する研究」), 2015.3.

- 2) European Pharmacopoeia 7.7 (2012), 2.9.47. Demonstration of Uniformity of Dosage Units Using Large Sample Sizes.

溶出試験装置の機械的校正の標準的方法〈G6-2-170〉

本参考情報は、溶出試験の装置1（回転バスケット法）と装置2（パドル法）に関し、試験結果に影響を及ぼすと考えられる装置の機械的な変動要因を減らし、試験結果の再現性を確保することを目的として、溶出試験装置の機械的校正の標準的な方法と推奨される規定を示すものである。溶出試験の適格性の確認には、機械的校正が有効であることが、溶出試験に関わる薬局方の国際調和の場で確認されており、その後、米国では溶出試験装置の適格性評価の標準的方法¹⁾が示され、機械的校正のガイドダンス²⁾が出されるに至った。

溶出試験装置の備えるべき基本的な材質やサイズ等の要件、装置の適合性に関しては、溶出試験法〈6.10〉の記載に従う。本参考情報に収載する機械的校正のためのパラメーターの幾つかは、溶出試験法〈6.10〉で規定された装置の許容幅に比べ、より厳しく設定されている場合がある。下表に、各校正パラメーターの規定値を比較した。機械的校正により試験結果の変動をより少なくすることを目指すためには、本参考情報を適用することが推奨される。

なお、我が国では、USPのブレドニゾン標準錠剤を用いた溶出試験結果の妥当性の検証が推奨されてきた経緯があるが、標準錠剤による試験結果は、必ずしも装置の機械的な変動要因を検出できないことから、基本的に機械的校正の実施が望ましい。ただし、装置の校正のみでは捉えられない試験液の脱気状

表 溶出試験法〈6.10〉と本参考情報の機械的校正パラメーターの規定値

校正パラメーター	溶出試験法〈6.10〉	本参考情報
回転軸の振れ	結果に影響する揺動、振動がなく、滑らかに回転	≤1.0 mm全振れ
回転軸の垂直度	—	≤0.5°（垂直からのずれ：気泡は水準器の線内に入る）
バスケットの振れ	—	≤1.0 mm全振れ
容器の中心度	≤2.0 mm垂直方向からの隔たり	≤1.0 mm（上部と下部で中心線からの隔たり）
容器の垂直度	—	≤1.0°（垂直からのずれ）
バスケット及びパドルの深さ	25±2 mm	25±2 mm
回転速度	±4%（規定回転数からのずれ）	±2%又は±2 rpm（規定回転数からのずれ）

態や装置の振動などを含む総合的な要因の把握のためには、ブレドニゾン標準錠剤を用いる試験を適宜実施することも有効と考えられる。その他、試験液の脱気状態の確認には、溶存酸素計によるモニターも有効であることが知られている。

1. 溶出試験装置の受入れと定期的な管理

機械的校正は、溶出試験装置の購入又は受入れ時、装置の移設後、試験結果に影響を及ぼすような装置の修理後に行うと共に、また、通常は、一年ごとに実行することが望ましい。もし、装置が日常的に使用されていない場合には、機械的校正は、一年以上間隔を空けても、最初の溶出試験を行う前に実施することの良い。

2. 機械的校正の方法

2.1. 使用器具

機械的校正に使用する器具には、汎用的なものとして、ダイ

ヤルゲージ、水準器、中心度計、タコメーター等があるが、可能な限りJIS（日本産業規格）等のトレーサビリティの下に校正されたものを使用することが望ましい。また、溶出試験装置の機械的校正のための特別な器具として、芯出し治具、デブスゲージ、プラスチックボール等がある。さらに、溶出試験装置によっては、測定を実施するために、装置メーカーの供給する特別な器具を必要とする場合や、自動の校正装置を組み込んでいる場合もある。原則的に以下の方法に従うのであれば、これらの器具や装置を使用することができる。

2.2. 実施方法

溶出試験装置の機械的校正は以下の定められた手順に従って実施する。それぞれの測定値が規定に適合しない場合には、調整と測定を繰り返すことが必要となる場合もある。

なお、あらかじめ装置が水平であることを確認する。また、容器を固定している板（容器固定板）の水平度は、あらかじめ気泡水準器を容器固定板に置いて、気泡が水準器の基準線内に入ることを確認しておく。

2.2.1. 回転軸の振れ

容器固定板の上にダイヤルゲージを置き、ダイヤルゲージの測定子がパドルの攪拌翼又はバスケットの上端から約2 cm上の部分で回転軸に触れるようにダイヤルゲージを設置する。測定値の最大値と最小値の差の絶対値が振れである。全振れの値は1.0 mmを超えてはならない。

2.2.2. 回転軸の垂直度

回転軸を動かす駆動部を実際の溶出試験時と同じ位置へ下げる。必要ならば、回転軸の垂直度は、駆動部を上げて回転軸をチェックしてもよい。正確な気泡水準器を回転軸の上部の端に側面に接するように当てる。気泡は水準器の基準線内に入らなければならない。水準器を回転軸の側面に接するようにほぼ90°回転して回転軸側部に当てる。このときも、気泡は水準器の基準線内に入らなければならない。

回転軸の垂直度の測定では、デジタル水準器を使用しても良い。

回転軸の垂直度は0.5°以下でなければならない。

2.2.3. バスケットの振れ

容器固定板の上にダイヤルゲージを置き、ダイヤルゲージの測定子がバスケット底部の端に触れるように駆動部を設置する。ダイヤルゲージを、測定子が回転する回転軸に軽く押し付けるように設置する。全振れの値は1.0 mmを超えてはならない。

2.2.4. 容器の中心度

容器内の中心度は、溶出試験装置用の芯出し治具を使用して測定するか、又は代替法により測定する。

芯出し治具を用いる場合には、二つの芯出し治具を使用し、パドル又はバスケット回転軸が容器の中心に位置するようにし、側面が垂直となるように容器を調整する。

測定方法の例として、パドル法では、一つの芯出し治具の底部をパドルの回転翼の上部から上へ2 mm付近に取り付け、他方の芯出し治具はその底部を回転翼の上部80 mm付近にクランプで留め、両方の測定子が容器の壁に対して同一方向となるようにする。回転バスケット法では、一つの芯出し治具の底部を、バスケットの上部から上へ2 mm付近に取り付け、他方の芯出し治具の底部をバスケット上端から上に60 mm付近に取り付け、測定子を容器の壁に対して同一方向となるようにする。パドルの回転翼やバスケットの底部が容器の底より約2.5 cm

上になるように、注意深く回転軸と芯出し治具を容器の中へ下げる。回転軸をゆっくり手で回し、両方の中心度をチェックする。もし、容器がいずれかの高さで中心からずれている場合には、容器を中心となるように調整する。

代替法として、一般的なメカニカル中心度計又はデジタル中心度計を用いて、回転軸又は代用回転軸の周りの容器内壁で、容器の中心度を合わせることができる。中心度は円筒形部分の中の容器の内側の適切な2点で測定する。2点とは、容器の縁のすぐ下及び容器底部のバスケット又はパドルのすぐ上に当たる位置である。

回転軸は中心線から1.0 mm以内になければならない。

2.2.5. 容器の垂直度

容器の垂直度は、2.2.4の容器の中心度の2点での測定値と、2点間の高さの差を用い、2点と垂線からなる三角形の頂点の角度を計算することができる。又は、容器の内側の壁にデジタル水準器を当てて測定することもできるが、垂直度は90°ずらした2点で測定する。

容器の垂直度は1.0°以下でなければならない。

容器の中心度と垂直度が得られたら、それぞれの容器は、必ず容器固定板開口部の同じ位置に同じ向きとなるように設置する。

2.2.6. バスケット及びパドルの深さ

容器の内底とバスケット又はパドルの下端部までの実際の距離を測定する。もしバスケット又はパドルの高さが調節できるのであれば、まずデプスゲージを用いてパドル攪拌翼又はバスケットの底部と容器の内底の距離を測定する。デプスゲージを25 mmに設定し、容器の底に置く。各回転軸を装置の駆動部に一旦上げた後、運転位置に下ろし、パドル又はバスケットが、デプスゲージに触れるところで止める。デプスゲージの代わりに、直径25±2 mmのプラスチックボールを底部に沈め、パドル又はバスケットが、ボールに触れるところで止めることでも良い。回転軸はこの高さで固定する。バスケット及びパドルの深さは、通例25±2 mmとする。

2.2.7. 回転速度

パドルやバスケットの回転速度を測定するためにはタコメーターを使用する。規定速度の±2%又は±2 rpmのいずれか大きい方の値以内の回転速度で、滑らかに回転しなければならない。

3. 参考資料

- 1) ASTM E2503-13: 2013, Standard Practice for Qualification of Basket and Paddle Dissolution Apparatus.
- 2) FDA Guidance for Industry : The Use of Mechanical Calibration of Dissolution Apparatus 1 and 2 - Current Good Manufacturing Practice (CGMP), U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER), January 2010.

ガラスインピンジャーによる吸入剤の空気力学的粒度測定法〈G6-3-171〉

本測定法は吸入剤から生成するエアゾールの微粒子特性を評価するもので、以下の装置や測定手順に従って行われる。もし正当な理由があれば、修正された装置又は測定手順を使用することができる。

1. 分級ステージの測定

各々の分級ステージの分級特性の最も信頼のおけるキャリブレーションは、エアゾールとしてインパクターを通過する粒子や液滴の空気力学的粒子径と、分級ステージの捕集効率の関係に基づいて行われる。

通常のキャリブレーションは、ジェットの寸法、ジェットとその捕集部分の空間的配置及びインパクターを流れる空気流量といった特性を調べることにより行う。

ジェットは時間と共に腐食又はすり減りがあるので、分級ステージの限界寸法が規定内にあることを定期的に確認する必要がある。

規格に適合した分級ステージを装着した測定装置のみがガラスインピンジャーによる吸入剤の空気力学的粒度測定法に使用できる。その他のキャリブレーション方法も正当にバリデーションされれば使用できる。

2. 分級ステージ間の薬物損失(ウォールロス)

測定方法の設定やバリデーションではウォールロスを考慮すべきである。ウォールロスが薬物の回収率(マスバランス)に影響を与える量であれば、コントロールしなければならない。ウォールロスには、インパクターの種類、測定条件、製剤のタイプ、インパクターへの噴射量などの多くの要因が影響する。空気力学的粒子径の計算にウォールロスをどのように反映させるかは、ウォールロスの程度と変動に基づいて判断すべきである。例えば、ウォールロスが少ない、又は変動が小さい場合は、捕集板から回収された薬物量の定量結果から、空気力学的粒子径を算出することができる。ウォールロスが多い、又は変動が大きい場合は、ウォールロスを別途回収し、空気力学的粒子径を算出する際に考慮する必要がある。

3. 薬物の回収率(マスバランス)

粒度分布に加え、良好な分析が行われたことを示すためには、吸入器から噴射された量、すなわちマウスピースアダプターと測定装置で回収された薬物量が期待値に対して許容範囲内であることを確認するため、マスバランスをとることが必要である。マウスピースアダプター及び測定装置の全ての構成部分から回収された総薬物量を、用法・用量に記載された最小用量当りに換算した値が、吸入剤の送達量均一性試験法〈6.14〉で測定された平均送達量の75%以上、かつ125%以下でなければならない。このマスバランスは、吸入剤の粒度分布の測定結果の妥当性を保証するために必要である。

4. ガラスインピンジャー法

ガラスインピンジャー法に用いる測定装置を図1に示す。本装置は、スロート(B)から下部衝突チャンバー(H)までのガラス製パーツ及びそれらを保持するためのプラスチック製クリップにより構成されている。

本装置は、液体面への衝突を基に操作し、吸入器から放出された薬剤を吸入部分と非吸入部分に分離する。吸入時に口腔や

咽頭部に衝突して、結果的には飲み込まれる非吸入部分の薬剤は、スロートの後方面及び上部衝突チャンバー(合わせてステージ1)に回収される。肺へ到達する吸入部分の薬剤は下部衝突チャンバー(ステージ2)に回収される。上部衝突チャンバーは、吸入流量が毎分60 Lのときカットオフ径が6.4 μm になるように設計されており、6.4 μm 以下の粒子は下部衝突チャンバーへ流下する。

4.1. ネブライザの測定手順

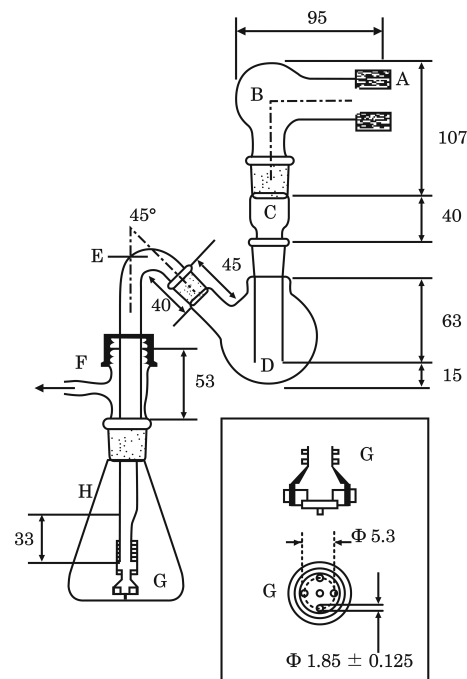
上部と下部の衝突チャンバーに、それぞれ7 mLと30 mLの適切な溶媒を入れる。

全ての部品を接続した後、装置が垂直で、しっかり保持されていること、下部ジェットアセンブリーのジェットスパーペグが下部衝突チャンバーの底に触れていることを確認する。フィルター(適切な孔径を有する)を装着した適切な吸引ポンプを装置の出口に接続する。スロートの入口で測定した吸入流量が毎分 60 ± 5 Lとなるように調節する。

ネブライザのリザーバーに吸入液剤を入れ、これにマウスピースを装着し、適切なマウスピースアダプターを用いて装置に接続する。

吸引ポンプのスイッチを入れ、10秒後にネブライザのスイッチを入れる。

特に正当な理由がなければ、60秒後にネブライザのスイッチ



アルファベット大文字は表1を参照。数字はmmを示す。（他に記載がない場合には許容範囲は ± 1 mmである。）

図1 ガラスインピンジャー測定装置

表1 図1に示した装置の構成部品の規格

コード	部品	詳細	寸法*
A	マウスピースアダプター	吸入器のマウスピースに接続するゴム製のアダプター	
B	スロート	改良した丸型フラスコ —磨りガラス製インレットソケット —磨りガラス製アウトレットコーン	50 mL 29/32 24/29
C	ネック	改良したガラス製アダプター —磨りガラス製インレットソケット —磨りガラス製アウトレットコーン 下部アウトレット用高精度ガラス管 —内径 決められた口径と薄い肉厚のガラス管 —外径	24/29 24/29 14 14 17
D	上部衝突チャンバー	改良した丸型フラスコ —磨りガラス製インレットソケット —磨りガラス製アウトレットコーン	100 mL 24/29 14/23
E	カップリングチューブ	通常肉厚のガラス管 —磨りガラス製コーン 屈曲部と上部直立部 —外径 下部直立部 —外径	14/23 13 8
F	ねじ山付サイドアームアダプター	プラスチック製スクリューキャップ シリコンゴム製リング ポリテトラフルオロエチレン(PTFE)製ワッシャー ガラス製ねじ山 —ねじ山サイズ 吸入ポンプに接続するためのサイドアーム —最小内径	28/13 28/11 28/11 28 5
G	下部ジェットアセンブリー	PTFE製チューブによりカップリング チューブの下部直立部と接続している改良したポリプロピレン製フィルターホルダー 直径5.3 mmの円周上の決められた位置に四つのジェットの中心を配置した、ジェットスパーペグ付きアセタール樹脂製円盤 ペグ径 ペグの突出部	図1参照 10 2 2
H	下部衝突チャンバー	三角フラスコ —磨りガラス製インレットソケット	250 mL 24/29

*他に記載がない場合には寸法はmmを示す。

を切り、5秒間待ってから、吸引ポンプのスイッチを切る。

装置を分解し、上部衝突チャンバーの内壁面を洗浄し、洗浄液をメスフラスコに回収する。下部衝突チャンバーの内壁面を洗浄し、洗浄液を別のメスフラスコに回収する。最後に、吸引ポンプの前に装着したフィルターと下部衝突チャンバーとの接合部を洗浄し、下部衝突チャンバーから得られた洗浄液と合わせる。二つのフラスコに回収された有効成分をそれぞれ定量し、それぞれ装置の二つの部分の結果を有効成分の総量に対するパーセントとして表す。

4.2. 吸入エアゾール剤の測定手順

適切なマウスピースアダプターをスロートの端に取り付ける。マウスピースアダプターに吸入器のマウスピースの端を深さ10 mm程度挿入するとき、吸入器のマウスピースの端はスロートの水平軸に並ばなければならない。加圧容器を装着する吸入器の開口部が最も上にあり、装置の他の部分と同一垂直面でなければならない。

上部と下部の衝突チャンバーに、それぞれ7 mLと30 mLの適切な溶媒を入れる。

全ての部品を接続した後、装置が垂直で、しっかり保持されていること、下部ジェットアッセンブリーのジェットスプレーベグが下部衝突チャンバーの底に触れていることを確認する。適切な吸引ポンプを装置の出口に接続する。スロートの入り口で測定した吸入流量が毎分 60 ± 5 Lとなるように調節する。

吸入剤の使用法に特に記載がなければ、5秒間吸入器を振り混ぜた後、1回捨て噴霧を行う。噴霧後5秒間以上待ち、再度振り混ぜた後、捨て噴霧を行う。この操作手順を更に3回繰り返す。

約5秒間吸入器を振り混ぜた後、吸引ポンプのスイッチを入れ、吸入器のマウスピースの端をアダプターに接続し、直ちに装置内に1回噴霧する。取り付けられている吸入器をアダプターから取り外す。5秒間以上吸入器を振り混ぜた後、吸入器のマウスピースの端をアダプターに再び挿入し、再び噴霧する。この手順を繰り返し行う。噴霧回数はできる限り少なく、通例、10回を超えない回数とする。最後の噴霧を終了した後、5秒間以上待ち、吸引ポンプのスイッチを切る。

装置を分解する。下部衝突チャンバーに接続されたカップリングチューブの内壁面とチャンバー内に突き出している部分のチューブの外壁面を適切な溶媒で洗浄し、下部衝突チャンバー内に洗浄液を回収する。この溶液中の有効成分を定量する。噴霧当たりの下部衝突チャンバーに捕集された有効成分量を計算し、表示有効成分量に対するパーセントとして表す。

4.3. 吸入粉末剤の測定手順

上部と下部の衝突チャンバーに、それぞれ7 mLと30 mLの適切な溶媒を入れる。

全ての部品を接続した後、装置が垂直で、しっかり保持されていること、下部ジェットアッセンブリーのジェットスプレーベグが下部衝突チャンバーの底に触れていることを確認する。適切な吸引ポンプを装置の出口に接続する。スロートの入り口で測定した吸入流量が毎分 60 ± 5 Lとなるように調節する。

吸入器を準備し、適切なアダプターを用いて吸入器をスロートに取り付ける。吸引ポンプのスイッチを入れ、5秒間吸引した後、吸引ポンプのスイッチを切り、放出手順を繰り返し行う。放出回数はできる限り少なくし、通例、10回を超えない回数とする。

装置を分解する。下部衝突チャンバーに接続されたカップリングチューブの内壁面とチャンバー内に突き出している部分のチューブの外壁面を適切な溶媒で洗浄し、下部衝突チャンバー内に洗浄液を回収する。この溶液中の有効成分を定量する。放出当たりの下部衝突チャンバーに捕集された有効成分量を計算し、表示有効成分量に対するパーセントとして表す。

吸入液剤の空気力学的粒度測定法〈G6-8-190〉

本測定法は吸入液剤からネブライザを用いて生成されるエアゾールの微粒子特性を評価するものである^{1,2)}。

1. 装置

試験には、通常、毎分15 Lの流量で校正された吸入剤の空気力学的粒度測定法〈6.15〉の装置3を用いる。限界寸法と装置のバリデーション(分級ステージの測定)についても吸入剤の空気力学的粒度測定法〈6.15〉を参照する。吸入液剤は、吸入粉末剤や吸入エアゾール剤で一般的に使用される範囲よりも低い流量で評価する必要があり、毎分15 Lの流量が推奨される。これは、成人の一般的な換気量(500 mL)に基づいている。毎分15 Lで噴霧された液滴を定量的に回収するために、マイクロオリフィスコレクター(MOC)に加えてバックアップフィルターを使用する。バックアップフィルターは、MOCの下(内部フィルターオプション)又は外部フィルターホルダーを使用して設置し、最終ステージ(MOC)を通過する微細な液滴を捕集する。ネブライザで生成される液滴の評価に、プレセパレーターは使用しない。

2. 試験に関する留意事項

2.1. 蒸発の防止

ネブライザで生成された液滴の蒸発を制御することは、液滴サイズの評価過程におけるバイアスを回避するために重要である。蒸発は装置を約5℃まで冷却することで最小限に抑えることができるため、あらかじめ装置を冷蔵庫(約5℃)で約90分間冷却しておく³⁾。

2.2. 装置への過量噴霧

試験法の開発及びバリデーションでは、ネブライザから噴霧される液量が装置に対して過量とならないことを確認する。過量噴霧が発生した場合、捕集ステージ表面に筋状模様の発生を目視で確認できる。この現象は通常、最終ステージとバックアップフィルターに回収される薬物量の増加とも関連している。過量噴霧を回避し、分析感度とのバランスをとるためには、サンプリング時間(T_0)を短くすることが最も効果的である。

2.3. マスバランス(薬物の回収率)

吸入液剤では薬物が連続して放出されるため、吸入粉末剤や吸入エアゾール剤と同じ方法でマスバランスを評価することは容易ではない。回収実験は、試験法の開発及びバリデーションの一環として実施する必要がある。

2.4. 再飛散

ネブライザより噴霧される液滴は、固体の吸入粒子よりも跳ね返りや再飛散が起りにくいため、通常、捕集カップの表面のコーティングは必要としない。

2.5. 装置の洗浄

通常、少なくとも使用した日には、ステージ間流路を含めて

装置を完全に洗浄する必要がある。これは、装置を冷却した際に生じる塩を含む液滴の凝縮／蓄積によるステージ間の金属部品の腐食を防ぐためである。装置の全ての表面は、洗浄後に適切な方法(例えば圧縮空気)で乾燥させる必要がある。ただし、MOCは圧縮空気乾燥させてはならない。

3. 測定手順

3.1. 準備

あらかじめ装置とインダクションポートを冷蔵庫(約5℃)で90分以上冷却しておく。粒度分布の結果に差がないことがバリデートされているならば、装置を一定温度で冷却しながら測定できる他の方法(例えば、冷却キャビネットの使用)を用いることができる。

ネブライザを使用手順に従い準備する。測定対象の吸入液剤の用法・用量に従い、1回投与あたりの薬液をネブライザに充填する。

冷蔵庫から装置を取り出す。装置にインダクションポートを取り付け、図1のように、装置内を毎分15 Lで吸引できる吸引ポンプに、装置／外部フィルターの出口を接続する。流出する体積流量について校正されている流量計をインダクションポートに接続する。吸引ポンプを作動させ、装置と吸引ポンプの間にある流量調節バルブにより、毎分15 L (±5%)の安定した流量に調節する。その後、装置から流量計を取り外す。

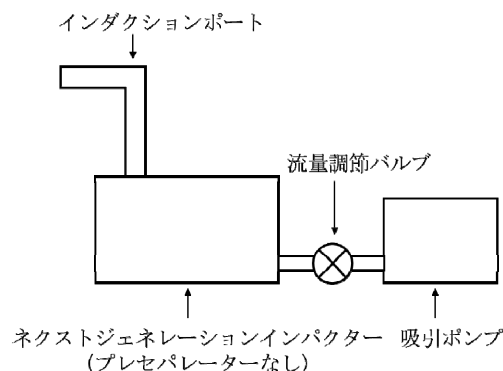


図1 吸入液剤の空気力学的粒度測定のためのネクストジェネレーションインパクターの構成

3.2. 測定

測定は冷蔵庫から取り出した後、5分以内を目安に開始する。使用時と同じ向きでネブライザのマウスピースをインダクションポートに接続する。必要に応じてマウスピースアダプターを用いる。ネブライザのスイッチを入れる。質量分率を算出できるように、あらかじめ規定したサンプリング時間(T_0)だけ薬物を回収したのちに、ネブライザのスイッチを切る。ネブライザをインダクションポートから取り外し、吸引ポンプのスイッチを切る。装置を分解し、吸入剤の空気力学的粒度測定法〈6.15〉を準用して、インダクションポート、各ステージ及びバックアップフィルターに回収された有効成分の量を適切な分析方法で測定する。MOC及びバックアップフィルター／外部フィルターに回収された薬物は、合算して一つの試料として扱う。

4. 計算

規定されたサンプリング時間(T_0)あたりの微粒子量を計算する。インダクションポートから順に装置内の各ステージに回収された有効成分の質量分率($F_{m,comp}$)を、以下の式で算出する。

$$F_{m,comp} = m_{comp} / M$$

m_{comp} = 各ステージに回収された有効成分の量

M = 装置から回収された総有効成分の量

$F_{m,comp}$ を、インダクションポートからバックアップフィルターまで、装置内の位置順に並べる(図2)。グループ分けにより複数のステージを単一の値として報告する場合には、隣接するステージの $F_{m,comp}$ 値を合算してもよい。

吸入剤の空気力学的粒度測定法〈6.15〉を準用し、装置により分級された液滴の積算有効成分量割合を算出する。フィルターから始めて、各ステージのカットオフ径に対する積算有効成分量を算出する(毎分15 Lにおける適切な装置3のカットオフ径は表1を参照)。カットオフ径に対する有効成分の積算割合を、適切なグラフ、例えば対数グラフ又は対数確率グラフでプロットする。必要であれば、このプロットを用いて、所定のサイズ未満又はサイズの上限と下限の間の割合を内挿法で求めることができる。

また、このプロットを使用して、空気力学的質量中位径(MMAD)と幾何標準偏差(GSD)を求めることもできる。

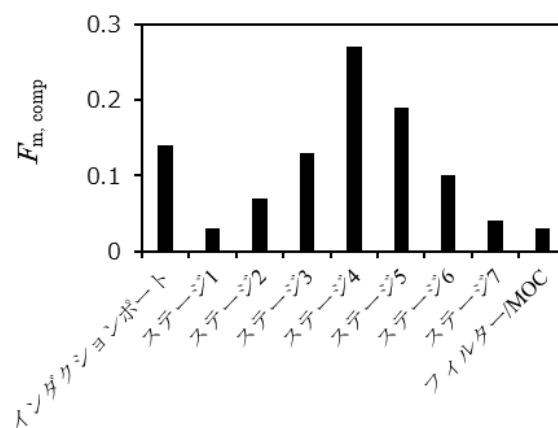


図2 各ステージに回収された有効成分の質量分率の表示例

表1 流量毎分15 Lを用いた場合の装置3のカットオフ径

ステージ	カットオフ径(μm)
1	14.1
2	8.61
3	5.39
4	3.30
5	2.08
6	1.36
7	0.98

5. 参考資料

- European Pharmacopoeia 11.0 (2022), 2.9.44. Preparations for Nebulisation: Characterisation.
- US Pharmacopeia (2023), <1601> Products for Nebulization - Characterization Tests.
- E. Berg, et al., J. Aerosol Med., 20, 97-104 (2007).
- V.A. Marple, et al., J. Aerosol Med., 17, 335-343 (2004).

点鼻剤の噴霧量均一性試験法〈G6-9-190〉

本参考情報は、一定量の有効成分を鼻腔内に噴霧する定量噴霧式の点鼻剤に適用される。本参考情報では、点鼻用の噴霧容器を容器と呼ぶ。

複数回噴霧用の点鼻剤は、容器内及び容器間の噴霧量均一性が確保されなければならない。単回噴霧用の点鼻剤では、容器間試験を実施する。

正当な理由があれば、容器内及び容器間の噴霧量均一性を同時又は別々に評価できる試験やサンプリング手順も設定可能である。容器内及び容器間を同時に評価できる試験を行う場合、容器内と容器間について別々に試験する必要はない。正当な理由があれば、以下に示す容器内及び容器間の噴霧量均一性を同時又は別々に評価する試験の他、独自の試験を設定することも可能である。

容器内及び容器間の噴霧量均一性を同時に評価できる試験におけるサンプリング手順の例としては、10個の容器をとり、3個の容器から使用開始時の用量を、4個の容器から中間期の用量を、3個の容器から使用終了時の用量を捕集し、噴霧量を決定する方法がある。

全ての試験で、容器を使用する方法に従って準備して使用する。必要に応じて捕集前や捕集間に静置又は他の適切な方法により容器から静電気を放電する。

2種類以上の有効成分を含む製剤では、各有効成分について噴霧量の均一性試験を行う。

1. 容器内の噴霧量の均一性の評価

1.1. 定量噴霧式点鼻液剤

1.1.1. 装置

薬物捕集装置は噴霧する薬物を定量的に捕集可能な装置を用いる。噴霧方向(垂直か傾いているか)、容器と装置の接続、サンプリング効率、空気流路システムの必要性、捕集装置の通気口及び噴霧方法は最低限考慮すべき事項である。

1.1.2. 手順

別に規定するもののほか、以下の手順により容器1個に対して、使用開始時の3回、中間期の4回、使用終了時の3回、合計10回の噴霧量測定を実施する。

点鼻剤の使用方に特に記載がなければ、最初の1回空噴霧を行う。その後、容器を装置に取り付ける。最小の1回用量に対応する噴霧回数に達するまで装置内に噴霧する。装置への捕集物を回収し、有効成分を定量し、噴霧量とする。

この手順で同じ容器を用いて更に噴霧量測定を2回繰り返す。

残り $(n/2)+1$ の噴霧回数になるまで、容器の捨て噴霧を行う。 n は表示されている噴霧可能回数である。上記と同様の手順で噴霧量測定を4回繰り返す。

残り3回用量の噴霧回数になるまで容器の捨て噴霧を行う。上記と同様の手順で噴霧量測定を残り3回繰り返す。

溶液の定量噴霧式点鼻液剤は、適当であれば、すなわち、噴霧された有効成分量と容器の質量の変化に相関があれば、噴霧量の均一性の試験を質量の均一性の試験で置き換えることができる。上記の手順の噴霧において、各ステップで噴霧前と噴霧後に容器の質量を測定しその差を計算することにより、噴霧量を求める。

1.1.3. 判定

噴霧量の均一性は、噴霧量10個の平均値と個々の噴霧量を用いて判定する。点鼻剤に求められる噴霧量均一性の許容幅は、有効成分や含量、噴霧量、剤形などにより異なるため、製剤ごとに適切な範囲を設定する。

1.2 定量噴霧式点鼻粉末剤

1.2.1. 装置

薬物捕集装置は噴霧する薬物を定量的に捕集可能な装置を用いる。噴霧方向(垂直か傾いているか)、容器と装置の接続、サンプリング効率、空気流路システムの必要性、捕集装置の通気口及び噴霧方法は最低限考慮すべき事項である。

1.2.2. 手順

別に規定するもののほか、以下の手順により容器1個に対して、使用開始時の3回、中間期の4回、使用終了時の3回、合計10回の噴霧量測定を実施する。

点鼻剤の使用方に特に記載がなければ、最初の1回空噴霧を行う。その後、容器を装置に取り付ける。最小の1回用量に対応する噴霧回数に達するまで装置内に噴霧する。装置への捕集物を回収し、有効成分を定量し、噴霧量とする。

この手順で同じ容器を用いて更に噴霧量測定を2回繰り返す。

残り $(n/2)+1$ の噴霧回数になるまで、容器の捨て噴霧を行う。 n は表示されている噴霧可能回数である。上記と同様の手順で噴霧量測定を4回繰り返す。

残り3回用量の噴霧回数になるまで容器の捨て噴霧を行う。上記と同様の手順で噴霧量測定を残り3回繰り返す。

1.2.3. 判定

噴霧量の均一性は、噴霧量10個の平均値と個々の噴霧量を用いて判定する。点鼻剤に求められる噴霧量均一性の許容幅は、有効成分や含量、噴霧量、剤形などにより異なるため、製剤ごとに適切な範囲を設定する。

2. 容器間の噴霧量の均一性の評価

容器間試験は、単回投与及び複数回投与の点鼻剤の容器に適用される。適切な装置、試験方法及び判定方法は、1.容器内の噴霧量の均一性の評価の項に示す。

適切なサンプリング手順の例として、10個の容器をとり、各容器から最初の用量を捕集し、噴霧量を得る方法がある。

正当な理由があれば、容器内及び容器間の均一性を同時に評価するサンプリング手順又はその他の試験を設定することも可能である。

溶液の定量噴霧式点鼻液剤は、適当であれば、すなわち、噴霧された有効成分量と容器の質量の変化に相関があれば、噴霧量の均一性の試験を質量の均一性の試験で置き換えることができる。

錠剤硬度測定法〈G6-4-180〉

本参考情報は、錠剤硬度測定の原理・種類・装置構成や考慮すべき点をまとめたものである。結果は摩損度など錠剤の強度に関する他の情報と併せて、製造工程から使用までの衝撃や圧迫などのストレスに対する錠剤の機械的強度の確保などに用いられる。

測定は通例、錠剤を2枚の加圧板に挟み、一方の加圧板を一

定速度で動かして錠剤が破壊される直前の力(N)を得る。錠剤硬度の値は、用いる装置により、圧縮負荷で錠剤断面中に破断が起こる破断強度(breaking strength)、実質的な破壊により構造を失う破壊強度(crushing strength)のいずれかあるいは両方を反映する。破断を経て外観上の破壊を起こす場合もある。なお、本測定により得られる錠剤硬度は、材料科学などの分野で一般に用いられる硬度の定義(小さなプローブによる貫通や押込みに対する表面の抵抗)とは合致しない。

測定には、錠剤を保持する部分の構造、加圧板の移動機構、力の測定方法などが異なる複数の硬度計が用いられる。手動式又は比較的単純な構造の硬度計として、ばねとねじにより圧子で錠剤を圧縮するMonsanto (Stokes)型錠剤硬度計、プライヤー(plier)で錠剤に圧力をかけるPfizer型錠剤硬度計、圧搾空気錠剤に荷重を負荷するStrong Cobb型硬度計、電動錘荷重により圧子で錠剤に荷重を負荷するErweka型錠剤硬度計がある。また硬度を測定する過程を自動化し、多様な測定方法への対応と、データ補正機能などを持つ測定装置も用いられる。

錠剤硬度の測定には、試料となる錠剤の形状や大きさ、向きと共に機器の構造と測定条件が影響を与える。そのため結果と共に測定機器や条件の記録が重要となる。データの直接比較には、同じ条件での測定が必要となる。測定の際には、下記の点についても考慮する。

- (i) 加圧板：錠剤への接触面が滑らかで実際に錠剤が接触する面積より大きい2枚の加圧板を平行にして用いる。加圧板の移動により負荷をかける間、錠剤が曲げやねじれによる変位を受けないようにする。
- (ii) 荷重負荷速度：測定は加圧板による圧縮力の負荷速度(荷重負荷速度)を一定に保持する機構を有する装置を用いる。若しくは加圧板の移動速度を一定に保持する装置を用い、錠剤との接触直前より低速で移動させることにより荷重負荷速度の変動を抑制して測定する。加圧板の高速移動は短時間の測定を可能とする一方で、荷重負荷速度の変動による制御不能な破砕や急激な圧縮荷重の蓄積の原因となる。
- (iii) 装置の測定単位と校正：測定には測定単位が1N以下で精度を校正した装置を一貫して用いる。
- (iv) 測定装置の変更：装置により圧縮力の負荷方法や力の測定方法などの機構が異なるため、類似の機構を持つ装置への変更が望ましい。変更時には装置の機構について考察すると共に、同ロットの錠剤などを試料としたデータを荷重負荷速度や加圧板移動速度など測定パラメーターと合わせて比較し、変更によるリスクを管理する。
- (v) 錠剤の向き：割線のない円形の錠剤は通例、錠剤の直径に対しての圧縮が可能となるよう2枚の加圧板間に置き測定する。割線入り錠剤の場合、割線が加圧板と垂直あるいは平行になるように錠剤を置き測定する。異形錠や複雑な形状の錠剤では容易に再現性のとれる向きでの測定が望ましく、直径あるいは長径に並行に荷重をかける場合が多い。
- (vi) 単位：錠剤硬度の単位として、Nと共に、kgf、kpあるいはStrong Cobb Unit (SCU)などが用いられる。
- (vii) 試料数：工程管理では錠剤硬度の平均値と共に、測定値のばらつきが重要な情報となる。そのため試料数は測定目的に応じた統計的に適切な数とする。通例6試料以上について測定するが、10試料を用いることが多い。

錠剤の摩損度試験法〈G6-5-181〉

本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。

錠剤の摩損度試験法は、剤皮を施していない圧縮成型錠の摩損度を測定する方法である。ここに記載した試験手順はほとんどの圧縮成型錠に適用できる。摩損度の測定は、錠剤の硬度など他の物理的強度の試験を補足するものである。

装置

内径283.0 ~ 291.0 mm、深さ36.0 ~ 40.0 mmの内面が滑らかな透明な合成樹脂製で、静電気をおびにくいドラムを用いる(典型的な装置については図1参照)。ドラムの一方の側面は取り外しができる。錠剤はドラムの中央から外壁まで伸びている内側半径75.5 ~ 85.5 mmの湾曲した仕切り板に沿ってドラムの回転ごとに転がり落ちる。中心軸リング部の外径は24.5 ~ 25.5 mmとする。ドラムは、24 ~ 26 rpmで回転する装置の水平軸に取り付けられる。したがって、錠剤は各回転ごとに転がり若しくは滑ってドラム壁に又は他の錠剤の上に落ちる。

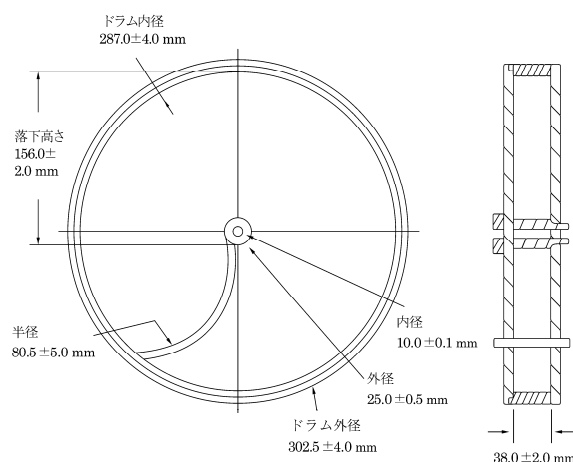


図1 錠剤の摩損度試験装置

操作法

1錠の質量が650 mg以下のときは、6.5 gにできるだけ近い量に相当する n 錠を試料とする。1錠の質量が650 mgを超えるときは10錠を試料とする。試験前に注意深く錠剤に付着している粉末を取り除く。錠剤試料の質量を精密に量り、ドラムに入れる。ドラムを24 ~ 26 rpmで100回転させた後、錠剤を取り出す。試験開始前と同様に錠剤に付着した粉末を取り除いた後、質量を精密に量る。

通常、試験は一回行う。試験後の錠剤試料に明らかにひび、割れ、あるいは欠けの見られる錠剤があるとき、その試料は不適合である。もし結果が判断しにくいとき、あるいは質量減少が目標値より大きいときは、更に試験を二回繰り返し、三回の試験結果の平均値を求める。多くの製品において、一回の試験又は三回の試験の平均として得られる質量減少は、1.0%以下であることが望ましい。発泡錠やチュアブル錠の摩損度規格はこの範囲を超えることがある。

もし錠剤の大きさや形によって回転落下が不規則になるなら、錠剤が密集状態にあっても錠剤同士が付着して錠剤の自由落下

を妨げることはないよう、水平面とドラムの装置下台との角度が約10°になるよう装置を調整する。

吸湿性の錠剤の場合の試験は、適切な湿度の雰囲気下で行う必要がある。

多くの試料を同時に試験できるよう設計された、仕切り板を二つ持ったドラムや二つ以上のドラムを備えた装置を利用してよい。

胃腸薬のpH試験法〈G6-6-131〉

胃腸薬のpH試験法は、制酸の効果を標榜する胃腸薬を0.1 mol/L塩酸の一定量中で一定時間かき混ぜ、この液のpHを求める試験法である。胃腸薬のpHは、製剤の用法及び用量の1回服用量(1回服用量に幅がある場合には、最小の1回服用量をいう)に対応する量を取り、次の方法により試験を行うとき得られるpH値で示す。

1. 試料の調製

固体製剤で製剤総則散剤の規定に適合するものは、そのまま試料とする。ただし、分包されているものは、その20包以上を取り、その内容物の質量を精密に量り、1回服用量当たりの内容物の平均質量を算出し、均一に混合して試料とする。固体製剤で製剤総則散剤の規定に適合しないもので、分包されている顆粒剤などは、その20包以上を取り、その内容物の質量を精密に量り、1回服用量当たりの内容物の平均質量を算出した後、粉末とし、試料とする。固体製剤で製剤総則散剤の規定に適合しないもので、分包されていない顆粒剤などは、その20回服用量以上を取り、粉末とし、試料とする。カプセル剤、錠剤などは、その20回服用量以上を取り、その質量を精密に量り1回服用量当たりの内容物の平均質量、又は平均質量を算出した後、粉末とし、試料とする。

液体製剤は、よく振り混ぜ、試料とする。

2. 操作法

ファクターを1.000に調整した0.1 mol/L塩酸50 mL又はこれに対応する0.1 mol/L塩酸の容量を正確に量り、100 mLのビーカーに入れ、マグネチックスターラー及びマグネチックスターラー回転子(長さ35 mm、径8 mm)を用い、1分間に約300回転の割合でかき混ぜながら、これに試料の1回服用量を正確に量って加え、10分後のpHをpH測定法により測定する。ただし、操作中、液温を37±2℃に保つ。

中心静脈栄養剤中の微量アルミニウム試験法〈G6-7-160〉

中心静脈栄養剤(TPN)は、静脈注射用の栄養剤である。一方、外国において、腎障害を有する患者等におけるアルミニウムの毒性(中枢神経系や骨)発現の問題が指摘されていることから、これらTPN製剤中に混在するアルミニウムに対する微量測定が必要とされるようになってきている。微量アルミニウムの分析法としては、蛍光検出液体クロマトグラフィー(蛍光検出HPLC法)、誘導結合プラズマ発光分析法(ICP-AES法)及び誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS法)が利用できる。蛍光

検出HPLC法の検出感度は、約1 µg/L (ppb)であるが、特別な付属装置を用いたICP-AES法及びICP-MS法を用いる場合、更に高い検出感度を得ることができる。

TPNは栄養剤であることから、糖類、アミノ酸類、電解質など、多数の栄養成分を複雑な組成で含有しており、これらの共存成分の測定への影響が無視できないため、それぞれの分析法の採用にあたっては、特別な注意が必要となる。

本参考情報では、分離分析法として液体クロマトグラフィーが広く普及している現状を考慮し、TPN中の微量アルミニウム分析法として二種の蛍光性キレート試薬を用いる蛍光検出HPLC法(キノリノール錯体法及びルモガリオン錯体法)について記載する。

1. キノリノール錯体法

試料中のアルミニウムイオンのキノリノール錯体を形成させ、液体クロマトグラフィーの蛍光誘導体化法により試験を行う。

1.1. 試料溶液の調製

試料(TPN製剤) 1 mLを正確に量り、水10 µLを加えた後、移動相を加えて正確に10 mLとし、試料溶液とする。

1.2. 検量線作成用標準溶液系列の調製

アルミニウム試験用水1 mLずつを正確に量り、それぞれにアルミニウム標準溶液(1)～(5)の各標準溶液10 µLを正確に加えた後、移動相を加えて正確に10 mLとし、検量線作成用標準溶液系列(アルミニウム濃度: 0, 1.25, 2.5, 5.0及び10.0 ppb)を調製する。

1.3. 標準的試験法

試料溶液及び検量線作成用標準溶液0.1 mLずつを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行い、検量線法により、試料溶液中のアルミニウム濃度を求める。

試験条件

検出器: 蛍光光度計(励起波長: 380 nm, 蛍光波長: 520 nm)

カラム: 内径4.6 mm、長さ15 cmのステンレス管に5 µmの液体クロマトグラフィー用フェニルシリル化シリカゲルを充填する。

カラム温度: 40℃付近の一定温度

移動相: 8-キノリノールのアセトニトリル溶液(3→100)／薄めた0.5 mol/L酢酸アンモニウム試液(2→5)混液(1:1)

流量: アルミニウム／キノリノール錯体のピークの保持時間が約9分になるように調整する。

システム適合性

検量線作成用標準溶液系列を用いて作成された検量線の相関係数は0.99以上である。

また、上記の変法として移動相中に8-キノリノールを加えない方法もある。

この場合にも、試料溶液の調製の段階で8-キノリノールを加えてアルミニウム／キノリノール錯体を生成させた後、蛍光検出液体クロマトグラフィーを行うが、移動相中にキレート試薬を含まないため、より安定なアルミニウム／キノリノール錯体を生成させておく必要がある。また、蛍光検出のための分析波長が異なることから(励起波長: 370 nm, 蛍光波長: 504 nm)測定感度にも差異がみられ、検量線の作成は0～25 ppbの範囲が適当とされている。その他、カラムサイズ、カラム温度及び移動相も異なるが、試料中の微量アルミニウムの分析が正確かつ再現性よく行えるよう、適切な試験条件を設定する必

要がある。

2. ルモガリオン錯体法

試料中のアルミニウムイオンのルモガリオン錯体を形成させ、液体クロマトグラフィーの蛍光誘導体化法により試験を行う。

2.1. 試料溶液の調製

試料(TPN製剤) 70 μ Lを正確に量り、ルモガリオン塩酸溶液 0.15 mLを正確に加えた後、アルミニウム試験用pH緩衝液0.6 mLを正確に加えて混合する。この液を40℃で4時間放置した後、試料溶液とする。

2.2. 検量線作成用標準溶液系列の調製

アルミニウム標準溶液(1)～(5)の各標準溶液1 mLずつを正確に量り、それぞれ薄めたアルミニウム試験用硝酸(1→100)を加えて正確に100 mLとする。これらの液70 μ Lずつを正確に量り、それぞれルモガリオン塩酸溶液0.15 mL及びpH 7.2のアルミニウム試験用緩衝液0.6 mLを正確に加えて混合した後、40℃で4時間放置し、検量線作成用標準溶液系列(アルミニウム濃度：0, 1.07, 2.13, 4.27及び8.54 ppb)を調製する。

2.3. 標準的試験法

試料溶液及び検量線作成用標準溶液0.1 mLずつを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行い、検量線法により、試料溶液中のアルミニウム濃度を求める。

試験条件

検出器：蛍光光度計(励起波長：505 nm, 蛍光波長：574 nm)

カラム：内径6.0 mm, 長さ10 cmのステンレス管に5 μ mの液体クロマトグラフィー用オクチルシリル化シリカゲルを充填する。

カラム温度：40℃付近の一定温度

移動相：2-プロパノール100 mLに薄めたpH 5.0の1 mol/L酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液(1→10)を加えて1000 mLとする。

流量：アルミニウム／ルモガリオン錯体のピークの保持時間が約5分になるように調整する。

システム適合性

検量線作成用標準溶液系列を用いて作成された検量線の相関係数は0.99以上である。

3. 注意事項

(i) 試験で使用する水及びその他の試験用溶媒、試薬、器具などにつき、アルミニウム汚染のできるだけ少ないものを選択するほか、試験室環境の塵埃又はアルミニウム汚染にも注意する。

(ii) 試料の特性が錯体形成に影響を与えないことを確認しておく必要がある。

(iii) 日本分析化学会より、アルミニウム濃度既知の金属成分分析用河川水標準物質が有償配布されており、試験法及び試験結果の妥当性を評価するためにこれらの標準物質を用いることができる。

4. 標準溶液及び試薬・試液

本試験には、日本薬局方に規定するもののほか、以下の標準溶液及び試薬・試液を用いる。

(i) アルミニウム標準溶液 アルミニウム試験用水又はアルミニウム標準原液の一定量を取り、薄めたアルミニウム試験用硝酸(1→100)を用いて希釈し、アルミニウム濃度0, 1.25, 2.5, 5.0及び10 ppmのアルミニウム標準溶液(1)～(5)を調製する。

(ii) アルミニウム試験用水 アルミニウム濃度1 ppb以下の水を用いる。

(iii) アルミニウム試験用硝酸：硝酸。ただし、アルミニウム濃度1 ppb以下のものを用いる。

(iv) アルミニウム試験用緩衝液, pH 7.2 : *N,N*-ビス(2-ヒドロキシエチル)-2-アミノエタンスルホン酸106.6 gをアルミニウム試験用水800 mLに溶かした後、アルミニウム試験用テトラメチルアンモニウムヒドロキシドを加えてpHを7.2に調整し、アルミニウム試験用水を加えて1000 mLとする。

(v) *N,N*-ビス(2-ヒドロキシエチル)-2-アミノエタンスルホン酸： $C_6H_{15}NO_5S$ 白色の結晶又は粉末である。

(vi) アルミニウム試験用テトラメチルアンモニウムヒドロキシド溶液： $(CH_3)_4NOH$ アルミニウム試験用に製した約25%水溶液。ただし、アルミニウム濃度10 ppb以下のものを用いる。

(vii) ルモガリオン塩酸溶液：ルモガリオン0.86 gを2-プロパノール300 mLに溶かし、薄めたアルミニウム試験用塩酸(9→50) 350 mL及びアルミニウム試験用水を加えて正確に1000 mLとする。

(viii) ルモガリオン： $C_{12}H_9ClN_2O_6S$ 赤褐色～暗褐色の粉末である。ただし、アルミニウム濃度1 ppm以下のものを用いる。

(ix) アルミニウム試験用塩酸：塩酸。ただし、アルミニウム濃度1 ppb以下のものを用いる。

G7. 容器・包装関連

ガラス製医薬品容器〈G7-1-171〉

ガラス製医薬品容器は、錠剤、カプセル剤等の経口固形剤においてはバラ包装に使用する気密容器又は密閉容器としてガラス瓶が、注射剤等の密封容器としてアンプル、バイアル若しくはガラス製シリンジが汎用されている。

医薬品の一次包装として使用するガラス製医薬品容器は、強度があり、透明性が高く、通気性又は透湿性がないことに加え、化学的耐久性が高いなどの特徴を持つ。一方、質量が重くかさばることに加え、脆く製造時又は輸送時の物理的な衝撃により破損しやすいことなど取扱いに注意を要する面もある。

本参考情報は、ガラス製医薬品容器に関する基本情報、製剤の設計段階におけるガラス製医薬品容器の選択とそれに伴う品質評価を的確に実施するために確認すべき事項、及び製剤の製造段階における品質管理に関する情報を提供するものである。

1. ガラス製医薬品容器に関する基本情報

ガラス製医薬品容器は、物理的又は化学的に作用して内容医薬品の性状又は品質に影響を与えないものであり、特に注射剤用ガラス製医薬品容器は、完全に融封できるか、又は他の適切な方法によって微生物が侵入しないようにし、内容医薬品を保護できるものである。

有効期間にわたって内容医薬品の品質を保証するためには、適切なガラス製医薬品容器を選択する必要がある。容器を選択するに当たっては、内容医薬品が固体であるか液体であるかなど物理化学的な状態を考慮すること、内容医薬品の化学的安定性を確保するために、密閉容器、気密容器、密封容器若しくは

着色容器などの選択を考慮すること、更に、製剤処方との相互作用により異物の発生が想定される場合は、容器内表面に表面処理を施すことなどを考慮する必要がある。

1.1. ガラス組成と成形

医薬品の一次包装に使われるガラス製医薬品容器のガラス組成は、ほうけい酸塩ガラス(Borosilicate glass)又はソーダ石灰ガラス(Sodalime glass)である。

ほうけい酸塩ガラスは、二酸化ケイ素(シリカ: SiO_2)、無水ホウ酸(B_2O_3)によって網目状構造が形成されているガラスである。ほうけい酸塩ガラスは熱膨張率が小さく比較的硬く耐水性が高い¹⁾。なお、本組成の容器は、米国薬局方及び欧州薬局方においては、Type I glass に分類される。

ほうけい酸塩ガラスを用いたガラス製医薬品容器は、円筒状の長い生地管を切断し、二次加工することによりアンプル、管瓶(バイアル)若しくはシリンジとして成形され、小容量の注射液又は凍結乾燥製剤の容器として用いられることが多い。

ソーダ石灰ガラスは、二酸化ケイ素(シリカ: SiO_2)、酸化ナトリウム(Na_2O)、酸化カルシウム(CaO)を主成分とするガラスである。耐水性が低いとの欠点があるが製造及び加工が容易である¹⁾。なお、本組成の容器は、米国薬局方及び欧州薬局方においては、Type II 及び III glass に分類される。

ソーダ石灰ガラスを用いたガラス製医薬品容器は、熔融させたガラスを型に流し空気を吹き込むことにより成形するため吹製瓶といわれるが、型瓶と称することもあり、また、安価に大量生産されるため規格瓶又は自動瓶と称することもある。経口固形剤用のガラス瓶等に広く用いられるほか、注射剤の容器としては輸液剤等に用いる大容量バイアル若しくは抗生物質等の粉末注射剤用のバイアルとして用いられる。

1.2. ガラス製医薬品容器内表面の表面処理

ガラス製医薬品容器の内表面の性質を改質するために表面処理が行われる。これらには、脱アルカリ処理、コーティングなどがある。

脱アルカリ処理とは、例えば、ガラス転移点付近の温度において、硫黄化合物をガラス表面で反応させ、表面層のアルカリ成分を中和、選択的に抽出除去して、シリカに富む表面を露出させる方法をいう。この処理により、アルカリ成分の溶出を減少させる効果がある。コーティングには、シリカ(SiO_2)、シリコーン樹脂、フッ素樹脂などを用いた方法がある。

シリカ加工とは、ガラス内表面にシリカ(SiO_2)を高温で熔融コーティングし、内表面にシリカの薄膜を形成させる方法をいう。この薄膜は高純度のシリカであり、アルカリなどの水溶性成分を含まず、ガラス容器の内表面と溶着しており、薬液がガラス内表面に直接接触しなくなるため、ガラス成分の溶出を抑制し、かつフレックスの発生の抑制が期待できる。

シリコーン加工とは、通常ジメチルポリシロキサン溶液に浸漬、焼付け処理を行うことによりガラス表面にシリコーン樹脂の薄膜を形成させる方法をいう。この処理によりはっ水性を高め、ガラス内表面への薬液の残留を防ぐ、また、薬液がガラス内表面に直接接触しなくなるため、ガラス成分の溶出を抑制し、かつフレックスの発生の抑制が期待できる。

フッ素樹脂加工とは、カップリング剤を用いてフッ素樹脂を塗布、焼付け処理を行い、内表面にフッ素樹脂の薄膜を形成させる方法をいう。この処理により、はっ水性を高め、ガラス内表面への薬液の残留を防ぐ、また、薬液がガラス内表面に直接

接触しなくなるため、ガラス成分の溶出を抑制し、かつフレックスの発生の抑制が期待できる。

2. 製剤の設計段階におけるガラス製医薬品容器の品質評価

製剤の設計段階において、使用するガラス製医薬品容器及びガラス製医薬品容器と内容医薬品の適合性について、品質評価を実施する必要がある。

個々のガラス製医薬品容器はその特有の性質を持ち、ガラス製医薬品容器に充填される医薬品の性質も様々であるので、ガラス製医薬品容器の適合性は両者の組合せの中で判断されるべきである。

評価に当たっては、製剤総則[2]製剤包装通則、参考情報「医薬品包装における基本的要件と用語〈G0-5-170〉」、「プラスチック製医薬品容器及び輸液用ゴム栓の容器設計における一般的な考え方と求められる要件〈G7-2-162〉」を参照し、製剤に用いるガラス製医薬品容器が基本的要件、すなわち、設計仕様に適合するか否かを試験や学術文献などに基づいて検証すべきである^{2,3)}。また、その適合性は適切な品質保証計画に基づいて維持されなければならない。

2.1. 栓体付きガラス製医薬品容器

栓体付きガラス製医薬品容器とは、例えば、経口固形剤の場合は、ガラス瓶とパッキン付き樹脂キャップやコンパウンド付き金属キャップの組み合わせであり、凍結乾燥注射剤の場合は、バイアルとゴム栓である。また、シリンジ製剤の場合は、ガラス製外筒(パレル、一部は針付き)とガスケット及びトップキャップの組合せとなる。

酸化されやすい医薬品の場合には、酸素を透過しやすい栓体材料を選択することは不適切であり、また、水溶液医薬品や吸湿性がある医薬品の場合には、水蒸気が透過しやすい栓体材料を選択することは不適切である。栓体は、内容医薬品によって変形したり、劣化したり、変質したりしてはならない。また、貯蔵・運搬時に考えられる高温又は低温、若しくはその繰り返し、また、運搬時の振動により、許容できないような容器の機能の低下をきたしてはならない。分割使用する栓体付きガラス製医薬品容器は、開封後の適切な安定性を保持することが求められる。

栓体とガラス製医薬品容器等との適合性(嵌合性)は適切な品質保証計画に基づいて維持されなければならない。

2.2. ガラス製医薬品容器の透明性とガラス製着色容器

異物や濁りの有無を目視によって検査する必要がある注射剤等の医薬品の場合は、ガラス製医薬品容器には検査可能なレベルの透明性が必要である。

一方、ガラス製医薬品容器は透明性が高いため、光に不安定な医薬品の場合は、保存中に内容医薬品の品質が低下してはならない。光安定性確保のためには一定の遮光性が必要であり、ガラス製着色容器を選択することも考慮しなければならない。

注射剤において、ガラス製着色容器を使用する際は、注射剤用ガラス容器試験法(7.01)の着色容器の遮光性試験に適合する必要がある。

2.3. 無菌を要求される医薬品のガラス製医薬品容器

注射剤の一次包装としてガラス製医薬品容器(アンプル)又は栓体付きガラス製医薬品容器(バイアル、シリンジ)を選択するに当たっては、添加された物質などを含めてガラス製医薬品容器の製造過程に関する情報を得ることが望ましい。

最終滅菌を必要とする医薬品にあつては、ガラス製医薬品容

器の基本的要件は滅菌後にも満たされる必要がある。滅菌後に、一定以上の新たな毒性物質の残留や生成があってはならない。また、ガラス製医薬品容器の構造及び材質は、滅菌後の貯蔵・運搬時にあって内容医薬品の微生物汚染を招くものであってはならない。

2.4. 注射剤のガラス製医薬品容器由来の異物

注射剤に使用するガラス製医薬品容器では、アンプルカット時に発生混入するガラス片、ガラス内表面が剥離して発生するフレークス、ガラス成分の溶出又はガラス内表面の汚れにより発生する不溶性異物についても検討すべきである。

ガラス製医薬品容器からの溶出物又はフレークス等は安全性の見地から十分に低くなければならない。またそれらが内容医薬品の有効性と安定性を損なってはならない。

ガラス製医薬品容器由来の異物については、製剤の設計段階で十分に評価する必要がある。ガラス製医薬品容器の成形工程や購入先を変更した場合も同様である。

ガラス製医薬品容器由来のフレークス、反応生成物である煙霧状異物等の無機異物の解析には、走査型電子顕微鏡・エネルギー分散型X線分光法(SEM・EDX)が有用である。

3. 管理単位ごとに保存する試験成績

ガラス製医薬品容器の製造段階においては、少なくとも以下の試験項目について規格値を設定し、ガラス製医薬品容器の管理単位ごとに試験成績を保管すべきである。

- 1) 経口固形剤等に用いるガラス瓶：
 - (i) 外観⁴⁾：形状及び寸法が正しく、使用上支障となる肉回り不良、色調不良、割れ、かけ、ひび、びり、きず、気泡、異物、脈理、すじ、形はだ、ばり、汚れ及び不溶解物があってはならない。
 - (ii) 品質試験⁴⁾：アルカリ溶出試験、耐熱度、ひずみ
 - (iii) その他：必要な事項
- 2) 注射剤等に用いるアンプル又はバイアル：
 - (i) 外観：形状及び寸法が正しく、使用上支障となる肉回り不良、色調不良、割れ、かけ、ひび、びり、きず、異物、脈理、すじ、汚れ及び不溶解物があってはならない。
 - (ii) 品質試験：注射剤用ガラス容器試験法〈7.01〉に規定する試験の他、耐熱度(ソーダ石灰ガラス製のみ)、ひずみ
 - (iii) その他：必要な事項

4. 参考資料

- 1) JIS R 1600：2011, ファインセラミックス関連用語。
- 2) US Pharmacopeia 40 (2017), <660> Containers-Glass.
- 3) US Pharmacopeia 40 (2017), <1660> Evaluation of the Inner Surface Durability of Glass Containers.
- 4) JIS R 3522：1995, ガラス製薬品びん。

プラスチック製医薬品容器及び輸液用ゴム栓の容器設計における一般的な考え方と求められる要件〈G7-2-162〉

本参考情報では、プラスチック製医薬品容器及び輸液用ゴム栓において求められる基本要件、設計段階における毒性評価の方法について記載する。

医薬品に用いられる容器は、医薬品の有効性と安全性、安定

性を損なうものであってはならない。

容器の適合性は個別の材質と医薬品の組合せの中で判断されるべきである。この判断は、試作した容器が基本要件、すなわち、設計仕様に適合するか否かを試験及び／又は学術文献などに基づいて検証して行うべきである。また、その適合性は適切な品質保証計画に基づいて維持されなければならない。容器の選択に当たっては、製造時に添加された物質に関する情報などを含む容器の製造過程に関する全ての情報を得ることが望ましい。

1. 設計における一般的要件

容器は、保存中に医薬品の品質を低下させてはならない。医薬品が容器の表面に吸着したり、容器材料内部に移行したりして、医薬品濃度が一定以上変動してはならない。また、容器材料との相互作用によって医薬品が変質してはならない。

容器は、医薬品によって変形したり、劣化したり、変質したりしてはならない。また、貯蔵・運搬時の温度変化により、許容できないような容器の変形等により、本来の機能の低下をきたしてはならない。

容器からの溶出物又は移行物が医薬品の有効性と安定性を損なってはならない。また、容器から医薬品へのモノマーや添加剤などの化学物質の溶出量又は移行量は安全性の見地から十分に低くなければならない。

滅菌を必要とする医薬品にあっては、容器の品質が滅菌前後に変化する可能性があれば、上記の容器の基本要件は滅菌後に満たされる必要がある。滅菌後に、一定以上の新たな毒性物質の残留や生成があってはならない。また、容器の構造及び材質は、滅菌後の貯蔵・運搬時にあって医薬品の微生物汚染を防ぐものでなければならない。

1.1. プラスチック製医薬品容器

プラスチック製容器の材料プラスチックは一定水準以上の品質を有するものでなければならない。材料組成を保証できないようなりサイクル・プラスチックは使用してはならない。

光に不安定な医薬品の場合には、保存中に医薬品の品質が低下しないように、必要に応じて容器に一定の遮光性が必要である。また、酸化されやすい医薬品の場合には、酸素を透過しやすい容器材料は不適切である。水溶液医薬品や乾燥を必要とする医薬品の場合には、水蒸気を透過しやすい容器材料は不適切である。また、水以外の溶液の場合でも当該溶媒の透過性に同様の注意が必要である。

また、材料プラスチックは、容器の用途に見合ったレベルの硬さや柔軟性、耐衝撃性、引っ張り強度、引き裂き強度、曲げ強度、耐熱性などの物理的性質を備える必要がある。さらに、異物や濁りの有無を目視によって検査する必要がある医薬品の場合には、プラスチック製容器においても必要なレベルの透明性が必要である。

また、プラスチック製容器の導入に当たっては、適切な廃棄処理を考慮することが望ましい。

1.2. 輸液用ゴム栓

ゴム栓には、アレルギーを惹起する恐れのある天然ゴムや材料組成を保証できないようなりサイクル材料を使用してはならない。また、容器の栓として、必要に応じて、酸素、水蒸気、溶媒を通さない適切な材料を使用する。

さらに、ゴム栓は、その用途に見合ったレベルの密閉・密封性、針刺し針抜け性、強度(耐コアリリング性)など、また、針刺

し後の自己密閉性などの物理的機能を備える必要がある。

2. 容器の設計段階における毒性評価

設計段階において、容器について毒性評価を実施する必要がある。その際、各種毒性試験の試験方法とそれに基づいた評価基準を設定する。また、その根拠を明らかにすることが望ましい。試験は試作された容器又はその部分を試料として行うものとする。容器が複数の部分からなり、これらが別の材料からできている場合には、それぞれの材料部分について試験を行う。複合材料(ラミネート、コンポジットなど)の場合は1種類の材料とみなすが、できるだけ医薬品が接する面が抽出液などによく接するように工夫して試験することが望ましい。

医薬品の適用部位による容器の毒性評価に必要な試験項目及び試験方法は、「医療機器の製造販売承認申請等に必要な生物学的安全性評価の基本的考え方について」(平成24年3月1日付け薬食機発0301第20号厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室長通知)に従って設定すること。

3. プラスチック製医薬品容器及び輸液用ゴム栓において管理単位ごとに保管する試験成績

3.1. プラスチック製医薬品容器

製造段階においては、少なくとも以下の試験項目について規格値を設定し、プラスチック製医薬品容器の管理単位ごとに試験成績を保管する。また、規格値の設定の根拠を示すことが望ましい。ただし、液状以外の内用剤には適用しない。

- (i) 灰化試験：強熱残分、重金属。必要がある場合は特定の金属含量(鉛、カドミウムなど)
- (ii) 溶出物試験：pH、紫外吸収スペクトル、過マンガン酸カリウム還元性物質、泡立ち、蒸発残留物
- (iii) 細胞毒性試験
- (iv) その他：必要な事項

3.2. 輸液用ゴム栓

ゴム栓の製造においては、少なくとも輸液用ゴム栓試験法〈7.03〉の試験項目のほか、管理すべき試験項目について規格値を設定し、輸液用ゴム栓の管理単位ごとに試験成績を保管する。また、規格値の設定の根拠を示すことが望ましい。

固形製剤のブリスター包装の水蒸気透過性試験法〈G7-3-171〉

本試験法は、PTP包装に代表されるブリスター包装の水分透過速度を測定する方法であり、製剤の包装を通した吸湿性の評価を目的に、次のような検討を行う際に利用できる。

- (i) 開発段階において、プラスチックシートの材質、厚さ、ポケット成形条件、ポケットの大きさなどをスクリーニングする。
- (ii) 開発段階及び生産段階において、プラスチックシートの材質、厚さ、ポケット成形条件、ポケットの大きさなどを変更する際に、変更前後の水分透過速度を比較する。

ただし、ポケットが微小で吸湿剤の充填量が微量となる場合には、信頼性のある結果が得られないことがあるため注意を要する。また、本試験法は、正常に作製されたブリスター包装の水分透過速度を求める方法であり、ピンホールなどによる漏れを検出する方法ではない。

1. 用語

- (i) 成形材：ポケット及びシール面を形成する材料。通常、単層、複層又はアルミ箔をラミネートした複層のプラスチックシートが使用される。
- (ii) 蓋材：製剤収容後のポケットを密閉するためにシールされる材料。通常、アルミ箔が使用される。
- (iii) ポケット：製剤を収容するために成形材を凸状に膨らませた部分。
- (iv) 水分透過速度：ブリスター包装のポケット内に単位時間当たりに侵入する水分の量(mg/日/ポケット)。

2. 装置

- (i) 恒温恒湿装置：保存条件の温度及び湿度を保持できる装置。
- (ii) 天秤：化学はかり。

3. 吸湿剤

吸湿剤は、次の中から選択する。

- (i) 塩化カルシウム、水分測定用

使用時の前処理：微粉を入れないように注意しながら、本品を浅い容器にとり、110℃で1時間乾燥後、デシケーター[酸化リン(V)]中で放冷する。

- (ii) 合成ゼオライト、乾燥用

水分吸着能：15%以上。本品約10 gを精密に量り、40℃、相対湿度75%RHで24時間放置した後、質量を量り、試料に対する増量を求める。

使用時の前処理：本品を浅い容器にとり、350 ～ 600℃で2時間乾燥後、デシケーター[酸化リン(V)]中で放冷する。

4. 試料

4.1. 試料の作製

吸湿剤の充填量は、ポケットの形状や大きさによって適宜決定するものとするが、蓋材を変形、損傷させない範囲でポケット容量の8割程度の量とする。試料作製に当たっては、吸湿剤の吸湿に十分留意する。全ポケットに吸湿剤をできるだけ均等に充填し、蓋材をシールした後、適当な大きさに裁断する。別に同程度の質量のガラスビーズを充填した対照を同様に作製する。可能な限り、試料と対照は同一の形状及び大きさとする。

作製した試料及び対照の外観を肉眼、実体顕微鏡などで検査する。ポケットは所定の形状を保持しており、成形不良、蓋材の異常なしわ、ピンホール、シール不良などが無いものを使用する。

4.2. 試料数

試料数は、シート当たりのポケット数が10以上のものにあつては5 ～ 10シートとし、シート当たりのポケット数が10未満のものにあつては、シート当たりのポケット数を勘案し20 ～ 100ポケットに相当するシート(ただし、10シートを下回らない)とする。対照は試料と同数が望ましく、少なくとも2シートとする。

5. 方法

5.1. 保存条件

保存条件は、次の中から選択することが望ましいが、他の保存条件で試験を行うこともできる。

- (i) 25±2℃／60±5%RH
- (ii) 40±2℃／75±5%RH

5.2. 保存

試料及び対照を恒温恒湿装置内に入れる。このとき、試料及

び対照を重ねたり立てたりせず、ポケット面を上面とし、空気が循環できるように遮蔽物が無いとともに、吹出し口からの気流が直接当たらないように注意する。

5.3. 質量測定

恒温恒湿装置から試料及び対照を取り出して室温まで戻し、速やかに各シートの質量を測定して恒温恒湿装置に戻す。0.1 mgの桁まで正確に量る。

5.4. 測定間隔

測定間隔は、水分透過速度の大小により適宜調整するとともに、恒温恒湿装置内の環境維持を考慮して設定する(例えば、開始時、1日後、3日後、7日後、14日後、21日後及び28日後)。

5.5. 測定の終了

各測定時点で、試料及び対照の各シートの質量を測定し、各測定時点での試料と対照の平均値の差(試料の質量の増加量)を求める。縦軸に試料の質量の増加量(mg)、横軸に時間(日)をとり、最小二乗法により直線回帰式を求める。少なくとも連続する3時点(開始時を除く)の増加量が直線性を示し、かつ、充填した吸湿剤の質量に対して10%吸湿するまでに測定を終了する。なお、直線性は相関係数が0.98以上あることが望ましい。

5.6. その他

質量測定の結果、他の試料と比較して極端に大きな質量増加を示す試料があった場合は、ピンホールなどに由来しているおそれがあるので、その試料は試験から除外する。必要に応じて、適切な統計的検定を実施する。

6. 水分透過速度の算出

最小二乗法により求めた勾配すなわち質量増加量(mg/日)をシート当たりのポケット数で除し、得られた値を水分透過速度(mg/日/ポケット)とする。水分透過速度は、保存条件及び使用した吸湿剤の名称とともに記録する。

7. 参考

7.1. ポケットの水分透過速度に影響を及ぼす要因

次のようなものが挙げられる。

- (i) 成形材の材質(分子構造、密度、結晶化度など)、材質構成、厚さ
- (ii) ポケット成形条件、成形方法
- (iii) ポケットの大きさ、肉厚の均一性
- (iv) 保存条件、ポケット内水分活性

7.2. ポケットの肉厚測定

必要に応じて、精度1 μm 以上のマイクロメーター若しくはダイヤルゲージ又は同等の精度を有する測定器を使用し、別途採取した成形シートの10ポケット以上について天面、側面、R部のうち少なくとも1点の肉厚を1 μm 単位まで測定する。ポケット成形条件の検討時にあらかじめ複数の部位を測定して肉厚が最も薄くなりやすい部位を特定しておき、測定時の加圧に留意しつつその部位の肉厚を測定することが望ましいが、ポケット形状や測定の難易度を考慮して測定部位を選定する。

8. 参考資料

- 1) 大久保恒夫ら、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス、45, 155-165 (2014)。

無菌医薬品の包装完全性の評価〈G7-4-190〉

1. まえがき

無菌医薬品の包装完全性は、無菌製剤の包装が製剤品質を維持するのに必要な微生物の侵入及び物質の出入りを防止する能力である。

本参考情報は、製剤の保護の観点から、品質に影響を及ぼす微生物、反応性ガス及び他の物質からのバリア機能を有することが求められる無菌医薬品の一次包装又は場合によって二次包装について、包装完全性を評価するために用いられる。不適切な設計によって、又は製剤の製造工程若しくは有効期間までの保存中における何らかの異常によって生じた予期しない漏れにより、この包装の目的としているバリア性を保てず、その結果、製剤の無菌性を始めとした品質を維持できない場合、それは包装欠陥となる。

包装完全性試験の適用は、製剤の開発から始まり、上市後の製品安定性プログラムを通して、その製品ライフサイクル中、継続するものである。

2. 包装完全性と試験

2.1. 包装完全性の考え方

無菌医薬品の包装完全性は、製品の品質を使用時まで保証するために必要である。無菌医薬品の一次包装は、外部からの微生物の侵入がないことを保証する必要がある。加えて、水蒸気や酸素などのガスが一次包装内外を移動することにより製剤品質に影響を及ぼす場合、一次包装でガスの移動量を管理するか、又は二次包装も含めた複数の包材の組み合わせにより、品質を維持する必要がある。

この際、ほとんどの包装は、その種類によりガスの漏れと透過が存在することに留意する必要がある。多くの場合、適格な包装に対して漏れと透過とを区別することは困難である。そのため、完全な包装とは、個々の製剤包装の最大許容漏れ限度に適合することで微生物の侵入を防ぐと共に、ガス／その他の物質の侵入／移動による製剤の品質不良を防ぐものであり、その製剤が物理化学的及び微生物学的な規格に適合することをデータで結び付けて保証するべきものである。包装完全性試験には、物理化学的手法にてリークを見つける方法(漏れ試験)、包装のシール部分の適格性を確認することで、漏れが発生しないことを保証する方法(シール試験)、及び微生物学的手法にて微生物に対するバリア性を確認する方法(微生物チャレンジ試験)がある。無菌医薬品の包装完全性は、これらのいずれか又は複数の試験によって、保証される。

定量的漏れ試験の適用に当たっては、個々の製剤の包装が持つ特性に合わせた最適化が必要である。また設定する試験法の検出限界、正確性及び精度を把握しておくことが求められる。

2.1.1. 漏れ試験

物理化学的な手法により、漏れの生じるその孔若しくは経路を定性的に検出又は定量的に測定することによって、その包装の完全性を維持する能力を保証する試験である。漏れ試験は定性的漏れ試験及び定量的漏れ試験からなる。

定性的漏れ試験の結果は不確実性を伴っており、信頼できる結果を得るためには、大きなサンプルサイズと厳しい試験条件管理を必要とする。定性的漏れ試験法は、有用なリークの検出手段であるが、決定的な包装完全性の検証として適していない。

一方で、リーク箇所を正確に位置づけするためには有効な試験である。

定量的漏れ試験は、漏れに伴って生じる物理化学的な変化を定量的に評価する試験であり、最大許容漏れ限度を設定し管理するための客観的なデータが得られるものである。

主な定性的及び定量的漏れ試験法の例を下記に挙げる。目的によりその他の方法も用いられる。

〈定性的漏れ試験法〉

液没試験法

液体漏れ試験法

トレーサ液体試験法(染料浸透試験法)

スニッフ法(ヘリウム漏れ試験法1)

〈定量的漏れ試験法〉

密封チャンバー法(圧力変化漏れ試験法1)

真空度低下法(圧力変化漏れ試験法2)

加圧積分法(ヘリウム漏れ試験法2)

真空チャンバー法(ヘリウム漏れ試験法3)

浸漬法(ヘリウム漏れ試験法4)

高電圧リーク試験法(ピンホール試験法)

ヘッドスペースガス・レーザー分析法

2.1.2. シール試験

容器シール又は嵌合に関するパラメーターが妥当であることを確認し、包装の完全性を維持する能力を間接的に保証するための試験である。根拠に基づいて設定したシール試験の実施は、閉塞に必要な特性を継続的に把握し、包装完全性を保証するために有用である。シール試験法として示した例(表1)の他、各種の方法が用いられる。

2.1.3. 微生物チャレンジ試験

本試験は微生物(又は微生物孢子)を用いて包装の完全性を定性的に評価する微生物学的試験であり、微生物侵入阻止の直接証拠を求める場合に有用である。試験で評価される微生物侵入には、微生物の増殖又は運動による経路の通過と、液体を介する微生物の受動的輸送が含まれる。

本試験は、微生物侵入阻止の証拠となり得る適切な物理化学的漏れ試験法が確立されていない場合、又は最大許容漏れ限度が微生物の侵入の可否に依存している場合に効果的である。

本試験の一般的な実施事項は以下のとおりである。試験には

適切に維持管理された微生物株を用いる。科学的に妥当な他の方法も用いることができる。

対象となる製剤の滅菌した一次包装内に無菌的に液体培地を入れたものを検体とする。容器の形態や製造方法により、無菌的に液体培地を入れることが難しい場合、包装欠陥の閉塞リスク及び滅菌作業時の汚染リスクに対する妥当な説明が可能であれば、液体培地を入れた後に検体の滅菌を行うことも可能である。この検体を適切な条件で培養した菌液に浸漬した後、適切な方法で培養し、培地の混濁の有無を適切な方法で確認する。推奨される試験条件を以下に記載する。試験菌の調製方法、使用する培地に関しては、微生物限度試験法(4.05)、無菌試験法(4.06)などを参照されたい。菌種に関してはリスクに応じて必要な菌種を選択する。

菌種：

Escherichia coli 例えば、ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126, NBRC 3972

Serratia marcescens 例えば、ATCC 13880, NBRC 102204
又はATCC 14756, NBRC 12648

Clostridium sporogenes 例えば、ATCC 11437, NBRC 14293, NCIMB 12343, CIP 100651又はATCC 19404, NCTC 532, CIP 79.3

Pseudomonas aeruginosa 例えば、ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118, NBRC 13275

Staphylococcus epidermidis 例えば、ATCC 12228, NBRC12993

Brevundimonas diminuta 例えば、ATCC 19146, NBRC 14213

菌数：1 mL当たり 10^5 CFU以上

浸漬時間：30分以上

適切な包装欠陥を持つ陽性対照の使用により試験結果の妥当性を確認する。

使用菌種に対して十分な培地性能を有する液体培地を用いる。

培養時間：7～14日

その他、以下の試験条件は試験結果に影響を与える可能性があるため、試験実施時に考慮する。

液体培地組成と液体培地の表面張力

浸漬時の差圧の設定

表1 シール試験の例

シール試験名称	適用する包装	試験内容
引張強度試験	バッグ製剤、プリスターバックなど	二枚の結合面を剥ぎ離すのに必要な力を測定する。
栓(開栓、閉栓)トルク試験	ねじにより施栓する包装	開栓又は閉栓に必要なトルクを測定する。
破裂試験	バッグ製剤、プリスターバックなど	包装シールが破裂して開くまで圧力を与えて破裂時の圧力又は力を測定する。
残留シール力試験	バイアル製剤など	バイアル上部からキャップを下方に一定速度で押し下げていき、移動距離・反発力のプロットが変曲点に達した時点の反発力を測定する。非破壊での試験が可能。
ゴム栓陥没試験	バイアル製剤など	バイアル上部からゴム栓を下方に一定速度で押し下げていき、陥没に至るまでの強度を測定する。
巻締めキャップの回転抵抗試験	バイアル製剤など	キャップを空回りさせるときの初期抵抗値を測定する。残留シール力試験と同様に、ゴム栓の弾力によるシール性を評価できる。
空中超音波法	熔着/圧着により接合する包装	超音波信号を包装又は物品のシール区域に通し信号強度の測定により、シール品質を検査する。適切な包装シールと比べ、シールの悪い区域の超音波エネルギーは少なくなる。非破壊での試験が可能。

2.2. 製剤の開発と製造における包装完全性とその試験

無菌医薬品の包装完全性を確保するには、製品ライフサイクルのステージに応じた試験法の選択が重要となる。

2.2.1. 包装の設計

製剤の開発段階における包装設計では、微生物の侵入による無菌性の破綻に加えて、一次包装を通過する各種のガスが品質に及ぼす影響を評価し、その知見に基づいて最大許容漏れ限度を設定することが求められる。評価に当たっては、製品の品質に影響を与える漏れを検出できることが検証された定量的漏れ試験法を用いることが望ましい。評価に用いるサンプルは、設計におけるワーストケースを想定し作製すること。

微生物以外の影響が無視できるものであれば、管理すべき許容漏れ限度は微生物侵入リスクを考慮し設定されることになる。これは微生物チャレンジ試験によって検証するか、又は漏れ試験により論理的に微生物の侵入なきことを証明することにより、設定が可能である。一方で製剤品質の維持にヘッドスペース内の酸素濃度を低値に維持する必要がある場合など、微生物侵入の防止だけでなく物質の通過を管理できる許容漏れ限度の設定が必要な場合、定性的な微生物チャレンジ試験の検証のみでは不十分となる。その他の定性的試験も目的に応じた情報を得るために有意義である。

2.2.2. 製剤の製造

内容物を充填した製剤の製造において包装完全性試験は、不完全な包装の医薬品の出荷を防止するために重要である。試験は開発段階での包装の設計及び初期の工程バリデーションで認められた包装欠陥に基づいて、漏れ試験及びシール試験と共に、補助的な情報を得るための製造中の目視検査の適切な組合せにより設定される。

製剤の製造工程において包装完全性評価に用いられる漏れ試験の例には、液没試験法、液体漏れ試験法、トレーサ液体試験法(染料浸透試験法)、密封チャンバー法(圧力変化漏れ試験法1)、真空度低下法(圧力変化漏れ試験法2)、高電圧リーク試験法(ピンホール試験法)、ヘッドスペースガス・レーザー分析法が含まれる。またシール試験の例には、表1に示した方法が挙げられる。

工程中に製造ロットの一部をサンプルとして用いる抜き取り試験は、工程がバリデートされている状態に維持できていることを通して、ロットの包装完全性を確認する手段となる。抜き取りの頻度とサンプル数は、工程バリデーション段階で得られた統計的工程管理結果及び製造開始後の製品品質の傾向分析に基づいて、必要な検体数を設定し、その妥当性を示すことが求められる。これに対し製造ロット全数の非破壊漏れ試験は、包装完全性の連続的かつ全数の保証となる。

シール試験の結果と包装完全性との関連性があらかじめ検証されている場合は、シール試験の実施により包装完全性を間接的に保証することができる。口部を熔閉又は熔着して封じるガラス製又はプラスチック製アンプルには、通例、全数非破壊漏れ試験が実施される。

工程バリデーションにおける包装完全性試験の主目的は、設定された操作パラメーター内で問題なく運転した工程で高品質の製剤包装を得ると共に、重大な包装欠陥の発生率を十分に低くすることである。工程内及び最終製品の包装完全性試験は、実施した場合でも、完全な包装設計を補完するものであり、初期の設計時の確認に代わるものではない。

2.2.3. 安定性試験及び安定性モニタリングでの包装完全性の評価

医薬品の保存中における新たな漏れの発生リスクを評価するため、製剤の開発段階で、安定性試験の一部として包装完全性を評価する必要がある。上市後の安定性モニタリングにおいても、包装完全性を評価することが望ましい。試験はその機構と非汚染を保証する論拠を理解した上で、最大許容漏れ限度に可能な限り近接した検出能力をもつ方法を用いることが推奨される。

安定性試験における包装完全性試験に必要な試料の量は過去の開発及びバリデーション試験を考慮し、その試験目的を達成できる量とする。非破壊試験である場合は製剤の安定性を試験するサンプルについて、試験前に包装完全性を点検できる。

物理化学的漏れ試験法又は微生物の侵入可否を適切に評価できる試験で、一定の水準が確保されている場合には、安定性試験における無菌試験を代替することができる。反対に、品質に対する微生物以外の影響が無視できる製剤では、微生物侵入の可能性を考慮することにより、無菌試験の実施をもって安定性モニタリングにおける製剤の包装完全性評価に代えることができる。

2.3. 試験法の選択基準

個々の漏れ試験又はシール試験の方法は、全ての製剤の包装に適用できるものではない。製剤包装によっては、製品のライフサイクル中に、複数の試験法が必要となることがある。そのため包装完全性の保証には適切な試験法の選択やパラメーターの設定と、選択した試験法がその製剤に適用できるかの検証が必要である。試験法の選択に関して、下記の製剤特性が考慮される。

包装の内容物：物理状態(液体、固体)、液体の電気伝導度、ヘッドスペースの気体の有無とその種類、試験材料/試験条件との適合性。

包装の構造と物理化学的特性：包装の硬度、可動性の有無、重合体に添加する揮発性物質の影響、材質の電気伝導度及び静電容量、漏れではない通過するガス量。

包装と内容物への影響(破壊試験と非破壊試験)：例えば、アンプルなどの全数検査を必要とする包装完全性試験は、包装と内容物に対して品質影響を与えない非破壊試験でなくてはならない。

2.4. 試験方法の設定と検証

漏れ試験又はシール試験の適用対象となる個々の製剤包装系に対して高感度かつ正確で頑健な、再現性の高い漏れの検出を保証するために、試験条件の最適化が必要となる。試験方法の設計と検証には、包装栓システムの設計、構成する物質、予測される漏れの性質、及び製剤内容物が試験結果に及ぼす影響を適切に考慮して、陽性対照(意図的又は既知の漏れを有した包装)及び陰性対照(既知の漏れを有しない包装)が用いられる。定量的な評価には包装を構成する物質の種類や構造を考慮し、一定の径を持つ開口部を作る必要がある。

3. 用語

本参考情報で用いる用語の定義は、次のとおりである。

包装完全性：包装が、製剤の損失を防ぎ、微生物の侵入を阻止し、有害なガスや他物質の侵入を防ぐ能力であり、このことにより、その製剤が、全ての必要な安全性及び品質基準に適合することを保証している。「容器栓システムの完全性」及び「容

器の完全性」は「包装完全性」を意味する。

定量的漏れ試験法：定量的漏れ試験法では、検出又は測定する漏れが、予測できる一連の事象による現象に基づいている。さらに、漏れ検出の手段は、容易に管理・モニターでき、具体的な数量データが得られる物理化学的技術に基づいている。

定性的漏れ試験法：定性的漏れ試験法は、本質的に確率的である。定性的試験は、一連の連続的又は同時的な事象で、それぞれ確率分布で表されるランダムな結果を伴う事象に依存している。したがって、その結果は不確実性を伴っており、有意な結果を得るためには、大きなサンプルサイズと厳しい試験条件管理を必要とする。

漏れ：包材の破損又は包材の間隙を通して、液体又はガスが移動することで、特定の温度・圧力条件下で漏れ経路を通過するガス流速の尺度(質量又は容量単位)で表される。漏れ速度は、圧力に容量を乗じ、時間で除した次元を有している。例えば、国際標準のSI名称は、毎秒パスカル立方メートル($\text{Pa} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$)である。

リーク：漏れ、又は漏れの生じるその孔若しくは経路のことをいう。

透過：包材を通して、物質が通過することである。無菌医薬品の包装において水蒸気を含めたガスの透過は通常起こりえる。プラスチック製医薬品容器(主に水性注射剤容器)における水蒸気の透過については「水蒸気透過試験」が適用される。

最大許容漏れ限度：製品安全性へのリスクがなく、製品安定性への影響がないか無視できる、ある製剤包装に許容できる最大の漏れ速度(又は孔若しくは経路のサイズ)である。

陽性及び陰性対照：陽性対照として欠陥の種類とサイズが異なる包装が用いられる。試験法の開発時には大きな欠陥を、試験法の開発及びバリデーションには小さな欠陥を持つ包装が主に陽性対照となる。

無菌医薬品包装の漏れ試験法〈G7-5-180〉

本参考情報は、無菌医薬品の包装と容器における気体(ガス)及び液体の流入又は流出を測定し、漏れによる意図しない移動を把握するための試験法であり、測定値は漏れの生じる孔若しくは経路の有無、部位、大きさ又は度合いを示す。

漏れ試験法は、定性的漏れ試験法と定量的漏れ試験法に分類される。本参考情報では、定性的漏れ試験法として、液没試験法、液体漏れ試験法、トレーサ液体試験法(染料浸透試験法)及びスニッフ法(ヘリウム漏れ試験法1)を、また、定量的漏れ試験法として、密封チャンパー法(圧力変化漏れ試験法1)、真空度低下法(圧力変化漏れ試験法2)、加圧積分法(ヘリウム漏れ試験法2)、真空チャンパー法(ヘリウム漏れ試験法3)、浸漬法(ヘリウム漏れ試験法4)、高電圧リーク試験法(ピンホール試験法)及びヘッドスペースガス・レーザー分析法を示す。妥当性が確認された他の方法も用いることができる。

試験法は検体の特性と試験の目的に応じて選択される¹⁻⁶⁾。検体及び装置の構造、温度、圧力、測定時間などの条件は、結果の妥当性と操作の安全性に影響を与えるため、各種の技術資料を参考に適切に設定する。装置は必要に応じて国家計量標準にトレーサブルな標準器を用いて校正されたものを用いること

が望ましい。漏れ試験は空の状態又は溶液若しくは固体の無菌医薬品などを入れて施栓した剛体又は柔軟な包装と容器の試験に用いられ、具体的にはアンプル、バイアル、シリンジ、点眼剤容器及びプラスチックバッグなどが対象となる。

1. 定性的漏れ試験法

定性的漏れ試験は漏れ現象を直接的に観察又は測定する方法であり、漏れの有無や漏れの部位、漏れ方などを確認することができる。

1.1. 液没試験法

内部に気体を含む検体を液体に沈め、液槽のヘッドスペースを減圧することにより欠陥部位から泡として出る気体を観察し、漏れの有無や漏れ部位を検出する試験法である。液体として水を用いる場合が多く、その場合は水没試験とも呼ばれる。減圧が完了してから規定の時間まで気泡の発生を観察し、漏れ部位及び気泡の大きさや発生頻度などを評価する。気体を加圧充填した検体を用い、液槽内で発泡を観察する場合もある。発生した気泡を液槽内でメスシリンダーなどにより一定時間採取し、その量を測定することで漏れ量を定量化できる。漏れ量は気泡採取時間と大気圧下に置き換えた採取量の関数で表すことができる。試験は必要に応じて規定した温度で行い、液槽ヘッドスペースの減圧値及び測定時間は、検体の耐圧性や想定される欠陥などにより設定する。剛体又は柔軟な包装と容器に適用される。

1.2. 液体漏れ試験法

漏れによる液体の移動を添加剤又は現像剤を用いて可視化して観察する試験法である。本試験法は、検体内に蛍光染料を添加した液体を入れ、漏れ出た液体を紫外線照射により検出する方法と、液体が入った検体の表面に現像剤を塗布し、漏れ出た液体が現像剤と化学反応を起こすことにより生じる指示模様を観察する方法がある(表1)。

表1 液体漏れ試験法の種類

	試験方法	液体への添加剤	現像剤	観察	指示模様
添加剤使用	蛍光染料添加法	蛍光染料	なし	紫外線下(暗所)	蛍光
現像剤使用	白色現像法	なし	白色現像剤	白色光下	灰色
	発色現像法	なし	発色現像剤	白色光下	赤色
	蛍光現像法	なし	蛍光現像剤	紫外線下(暗所)	蛍光

蛍光染料添加法は、蛍光染料を添加した液体を検体内部に注入、又は検体内部の液体に溶解させ、暗所での紫外線照射により漏れを検出する。必要に応じて、検体内を加圧して漏れによる変化を観察する。現像剤を使用する試験法は、十分にかき混ぜた現像剤をスプレーや刷毛などで検体面に均一に塗布し、現像塗膜の乾燥後、白色現像法と発色現像法では白色光下で漏れによる指示模様を観察する。蛍光現像法では、漏れによる指示模様を暗所での紫外線照射により観察する。漏れによる指示模様は位置、大きさや数などの記述、又は画像として記録する。剛体又は柔軟な包装と容器に適用される。

1.3. トレーサ液体試験法(染料浸透試験法)

液体浸漬による検体へのトレーサ液の流入又は流出を観察する方法である。本試験法は、非多孔質の剛体又は柔軟な容器における漏れ箇所を検出や相対的漏れ量の評価に用いられる。トレーサ液として染色液、又は金属イオンを含む液体が使用される。色素の移動は目視により観察、又は機器を用いて測定され

る。本試験法は空又は内容物(液体又は固形)を含む、透明で加圧又は減圧可能な施栓された剛体又は柔軟な包装と容器に適用される。

a) トレーサ液を流入させる試験法は、トレーサ液を入れたチャンパーに、トレーサ液を含まない検体を沈めた後、チャンパーに蓋をし、ヘッドスペース部分が規定圧力になるよう加圧又は減圧し、保持する。規定時間経過後、ヘッドスペース部分を大気開放して規定時間放置した後に、検体を取り出して表面を洗浄し、検体内部に侵入したトレーサ液を目視により観察又は化学分析的手法により測定する。

b) トレーサ液を流出させる試験法は、トレーサを含まない溶液を入れたチャンパーに、トレーサ液を含む検体を沈めた後、チャンパーに蓋をし、ヘッドスペース部分が規定圧力になるよう加圧又は減圧し、保持する。規定時間経過後、トレーサ液を流出させる。ヘッドスペース部分を大気圧で規定時間放置した後に検体を取り出し、チャンパー内部の液の観察又は化学分析的手法によりトレーサ液の移動を測定する。剛体容器に適用される。

1.4. スニッフ法(ヘリウム漏れ試験法1)⁷⁾

スニッフ法によるヘリウム漏れ試験法は吸込み法ともいう。本試験法は、検体にヘリウムガスを常圧又は加圧充填し、外部へ漏れ出すヘリウムガスを吸引プローブで吸引し、漏れを検出する方法である。また、吸引プローブを測定部位にあて、又は走査して漏れの有無や位置を評価する方法も用いられる。剛体又は柔軟な包装と容器に適用される。

2. 定量的漏れ試験法

定量的漏れ試験法は漏れ量を物理量に変換し、数値として表現する測定方式である。測定値は試験法と試験条件(検体温度、試験時間など)及び環境条件(気温、湿度、気圧など)の影響を受けるため、その特性を十分考慮して使用する必要がある。

2.1. 密封チャンパー法(圧力変化漏れ試験法1)⁸⁾

密封チャンパー法による圧力変化漏れ試験法は、施栓された検体の漏れを、検体とマスタ容器(検体と同様の構造を持つ漏れない容器)を入れたチャンパーを加圧又は減圧した後の圧力変化から測定する方法である。本試験法は、検体の耐圧特性及びチャンパーの圧力設定により破壊又は非破壊での試験が可能となる。剛体又は柔軟な包装と容器に適用される。

本試験法は図1の装置を用い、検体とマスタ容器をそれぞれチャンパーに入れ、加圧又は減圧して弁を閉止し、チャンパー間の圧力差を規定時間保持後に測定する。大きな漏れの検出には、両チャンパー内の圧力を放出容器に開放した後に圧力差を測定する。漏れ量は、チャンパー間の差圧値と検体とチャンパーの空間容積及びチャンパーと放出容器の容積比率などの関数により表される。

2.2. 真空度低下法(圧力変化漏れ試験法2)

真空度低下法による圧力変化漏れ試験法は、液体が封入された検体の漏れ試験に適用され、バキュームディケイ法ともいう。試験には密封チャンパー法と類似の装置を用いる。操作は検体とマスタ容器をそれぞれチャンパー内に入れ、チャンパー内を液体の蒸気圧以下に減圧し、漏出した液体が蒸発することによる圧力上昇を真空計又は差圧センサーにて測定する。圧力上昇の度合いは、検体とチャンパーとの隙間容積と測定時間の関数によって表され、漏出した液体の量及び液体の蒸気圧、真空度、温度などの影響を受ける。液体を含みヘッドスペースがない剛体又は柔軟な包装と容器に適用される。

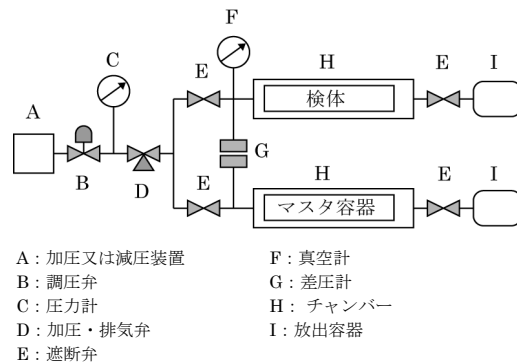


図1 密封チャンパー法の装置構成例(加圧法)

2.3. 加圧積分法(ヘリウム漏れ試験法2)

加圧積分法によるヘリウム漏れ試験法は、内部にヘリウムガスを常圧又は加圧充填した検体をフード(被覆材料)で覆い、フードと検体の間の空間に漏れ出したヘリウムガスを一定時間溜めた後に吸引プローブで吸引し、漏れを測定する試験法である。

本試験法は図2の装置を用い、漏れ量はヘリウムガス濃度、フードと検体の隙間容積、ヘリウムガスの溜込み時間、吸引プローブの吸引量などの関数によって表される。検体全体からの漏れを測定でき、周囲のヘリウム濃度の影響を受けにくいなどの特徴がある。内容物がなく栓がされていない剛体容器に適用される。

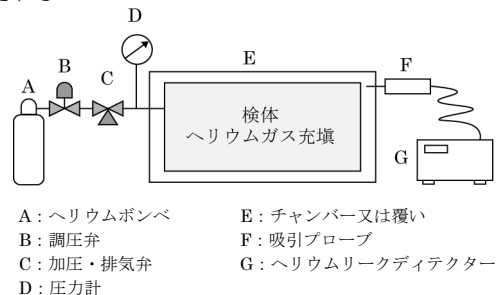


図2 加圧積分法の装置構成例

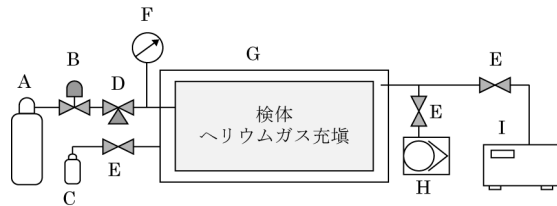
2.4. 真空チャンパー法(ヘリウム漏れ試験法3)

真空チャンパー法によるヘリウム漏れ試験法は真空容器法ともいう。本試験法は、ヘリウムガスを加圧充填した検体を真空チャンパーの中に入れ、チャンパー内を排気することにより高い真空度を保ち、真空チャンパー内に漏れ出すヘリウムガスを測定する方法である。加圧積分法に比べ高い検出感度を得ることができる。内容物がなく栓がされていない剛体容器に適用される。

本試験法は図3の装置を用い、検体にヘリウムガスを加圧充填して真空チャンパーにセットし、チャンパーを閉じて減圧し、チャンパー内が所定の真空度まで達した時点でのヘリウムリークディテクターの測定値と、真空チャンパーに検体を入れない状態の測定値の差が漏れの値となる。

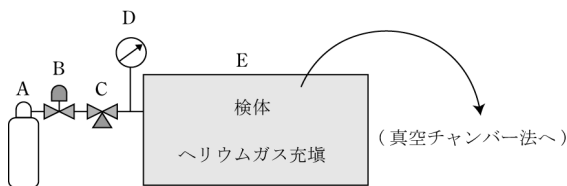
2.5. 浸漬法(ヘリウム漏れ試験法4)

浸漬法によるヘリウム漏れ試験法はボンピング法ともいう。本試験法は図4の装置を用い、ヘリウムガスを充填したチャンパー内で検体内部の空間に欠陥部分からヘリウムガスを流入させた後に検体を取り出して、漏れによる流出を真空チャンパー法により測定する方法である。内部に空間が存在する検体を、ヘリウムガスを加圧した容器に入れ、漏れ孔を通して外部から



A : ヘリウムボンベ F : 圧力計
B : 調圧弁 G : 真空チャンパー
C : 校正リーク H : 補助排気装置
D : 加圧・排気弁 I : ヘリウムリークディテクター
E : 遮断弁

図3 真空チャンパー法の装置構成例



A : ヘリウムボンベ D : 圧力計
B : 調圧弁 E : ヘリウムガス充填チャンパー
C : 加圧・排気弁

図4 浸漬法の装置構成例

ヘリウムガスを浸漬させ内部のヘリウム濃度を上昇させる。その後、検体の漏れを真空チャンパー法にて測定する。大きな漏れがある検体には適用できない。漏れの度合いは、放置時間、検体内容積、充填時間、充填圧などの関数で表される。検体内部に空間を持つ施栓された剛体容器に適用される。

2.6. 高電圧リーク試験法（ピンホール試験法）

検体に高電圧を加えた際に流れる電流値の測定により、電極をあてた部位間に存在し漏れの原因となるピンホールを検出する方法である。測定条件により短時間で非破壊の試験が可能である。絶縁包装材料で覆われ、内容物に導電性があり、印加電圧の影響を受けない剛体又は柔軟な包装と容器に適用される。

2.7. ヘッドスペースガス・レーザー分析法

漏れによる検体のヘッドスペースガスの変化をレーザー光の透過による特定周波数帯の吸収又は周波数変調から得る方法である。光源と検出器の間に保持した検体に測定目的のガスに合わせた波長の光を照射することにより、酸素、二酸化炭素又は水蒸気の濃度及び内圧などの情報が得られる。測定値を基準となる欠陥検体で得られた値と比較することによりリークの可能性が判断される。測定条件により短時間で非破壊の試験が可能であるが、温度や湿度が結果に影響を与えるため、目的に応じた環境下で行う必要がある。ガス部分を有し、光を透過する剛体容器、ヘッドスペース部分を有する製剤に適用される。

3. 参考資料

- 1) JIS Z 2330 : 2012, 非破壊試験—漏れ試験方法の種類及びその選択。
- 2) 一般社団法人日本非破壊検査協会編, 漏れ試験 I, 2012.
- 3) 一般社団法人日本非破壊検査協会編, 漏れ試験 II, 2012.
- 4) 一般社団法人日本非破壊検査協会編, 漏れ試験 III, 2016.
- 5) US Pharmacopeia 40 (2017), <1207.1> Package Integrity Testing in The Product Life Cycle—Test Method Selection and Validation.
- 6) US Pharmacopeia 40 (2017), <1207.2> Package

Integrity Leak Test Technologies.

- 7) JIS Z 2331 : 2006, ヘリウム漏れ試験方法。
- 8) JIS Z 2332 : 2012, 圧力変化による漏れ試験方法。

G8. 標準品関連

日本薬局方における標準品及び標準物質〈G8-1-190〉

医薬品等の定量的又は定性的計測、測定装置の校正や正確さの確認、分析システムの適合性試験などにおいて基準として用いる物質を標準物質といい、日本薬局方における標準品とは、標準品〈9.01〉の項に規定されているように、医薬品の品質評価における試験等に用いるために一定の品質に調製され、特定の用途に相応しい品質を有することが公的に保証され、供給される標準物質をいう。

本参考情報では、一般的な標準品に関連する基本用語の定義と解説、及び日本薬局方標準品の、用途による分類、設定に関する要件、求められる品質評価項目、頒布及び使用上の注意などについて記載する。なお、これらの記載は原則的な考え方を示したものであり、実際の適用に際しては当面柔軟な運用が必要である。

1. 標準品関連の基本用語

- ・標準物質 一つ以上の規定特性について、十分均質かつ安定であり、測定プロセスでの使用目的に適するよう作製された物質(JIS Q 0035 : 2022)。医薬品等の標準物質は、定量的又は定性的計測、測定装置の校正や正確さの確認などにおいて基準となる物質で、その使用目的に適するよう調製されたものである。
- ・標準品 医薬品の品質評価における試験等に用いるために一定の品質に調製され、特定の用途に相応しい品質を有することが公的に保証され、供給される標準物質。
- ・日本薬局方標準品 日本薬局方の医薬品各条又は一般試験法において規定された標準品。
- ・認証標準物質 一つ以上の規定特性について、計量学的に妥当な手順によって値付けされ、規定特性の値及びそれに付随する不確かさ、並びに計量トレーサビリティを記載した標準物質認証書が付いている標準物質(JIS Q 0035 : 2022)。

2. 日本薬局方標準品の用途による分類

日本薬局方標準品には、定量、確認試験、純度試験、生物活性試験、測定装置の校正、分析システムの適合性試験などに用いられる種々のものがあり、その用途により定量的試験用、定性的試験用、装置校正用などに大別される。これらの標準品は更に有効成分又は指標成分の定量、類縁物質の定量、スペクトル測定やクロマトグラフィーによる確認試験、又は一般試験法に規定された試験法、測定法及び分析法で用いられる装置の校正、分析システムの適合性試験などの具体的な用途によって細分類される。

2.1. 定量的試験に用いる標準品

- 2.1.1. 有効成分等の定量用標準品 医薬品各条に規定された化学薬品、抗生物質、添加剤及び生物薬品の定量に用いる標準品。

2.1.2. 指標成分の定量用標準品 医薬品各条に規定された生薬等の指標成分の定量に用いる標準品。

2.1.3. 類縁物質の定量用標準品 医薬品各条に規定された化学薬品、抗生物質、添加剤及び生物薬品の純度試験における特定の類縁物質の定量又は不純物の限度試験に用いる標準品。

2.1.4. その他の定量用標準品 一般試験法あるいは医薬品各条に規定された定量的試験の実施に必要な標準品。

2.2. 定性的試験に用いる標準品

2.2.1. 確認試験用標準品 医薬品各条に規定された化学薬品、抗生物質、添加剤、生物薬品及び生薬等の紫外可視吸収スペクトル、赤外吸収スペクトル、核磁気共鳴スペクトル、クロマトグラフィーでの保持時間や R_f 値、ペプチドマップ、電気泳動法での移動度などの比較による確認試験に用いる標準品。

2.2.2. 類縁物質の同定用標準品 医薬品各条に規定された化学薬品、抗生物質、添加剤、生物薬品及び生薬等の純度試験における類縁物質のピーク又はスポット等の同定に用いる標準品。

2.3. 生物活性試験に用いる標準品

生物薬品の力価や比活性を求める試験に用いる標準品。

2.4. 装置の校正等に用いる標準品

2.4.1. 装置校正用標準品 一般試験法に規定された装置の二次校正に用いる標準品。

2.4.2. 装置適合性確認用標準品 一般試験法に規定された装置により得られる測定値が定められた範囲内であることを確認するための標準品。

2.5. システム適合性試験に用いる標準品

2.5.1. システム適合性試験用標準品 医薬品各条に規定された化学薬品、抗生物質、添加剤、生物薬品及び生薬等のシステム適合性試験に用いる標準品。

3. 日本薬局方標準品の名称と用途

日本薬局方標準品は医薬品各条及び一般試験法に規定された定量法、確認試験、純度試験、生物活性試験、装置の校正、分析システムの適合性試験などで使用されるが、これら標準品には特定の用途のみを有するものと複数の用途に使用できるものとがある。日本薬局方標準品の名称は、定量法並びに製剤均一性試験及び溶出試験での有効成分の定量に用いるものは原則として物質名に“標準品”の用語を付して命名する。有効成分等の定量に用いる標準品は、可能な場合は確認試験などの他の試験の標準品として用いることができる。有効成分等の定量以外の用途のみを有する標準品は必要に応じその用途を付して命名する。この命名に用いる用途名には次のようなものが考えられ、括弧内に例を示した。

- ・確認試験用(確認試験用モンテルカストナトリウム標準品)
- ・純度試験用(純度試験用ギトキシン標準品)
- ・システム適合性試験用(システム適合性試験用モンテルカスト標準品)
- ・装置校正用(装置校正用シュウ酸カルシウム一水和物標準品)
- ・装置適合性確認用(装置適合性確認用カフェイン標準品)

4. 日本薬局方標準品を設定するための要件

従来、日本薬局方においては有効成分等の定量における基準物質としての使用が標準品の主たる用途であった。しかし、欧州薬局方や米国薬局方などでは純度試験における類縁物質標準

品、分析システムの適合性試験用標準品、確認試験用標準品など、有効成分等の定量以外の特定の用途を有する標準品又は基準物質が積極的に設定されてきている。このような現状を踏まえ、日本薬局方においてもこの国際的な動向に沿った対応が求められるようになったが、日本薬局方に標準品を新規に設定するには、次の点を考慮し、慎重に検討する必要がある。

(i) 定量的試験にクロマトグラフィーなどの相対的分析法を採用するときは、原則として定量用標準品を設定する。その場合、通例、マスバランス法によって値付けされた物質を標準品として設定する。なお、計量学的トレーサビリティのある純度表示のなされた物質を標準品として設定することができる。

(ii) 確認試験において、紫外可視吸収スペクトル、赤外吸収スペクトル又は核磁気共鳴スペクトルの比較による方法、クロマトグラフィーでの保持時間や R_f 値の比較による方法、ペプチドマップの比較による方法又は電気泳動での移動度の比較による方法などを規定するときは、定量用標準品の利用が可能な場合を除き、原則として確認試験用標準品を設定する。

(iii) 純度試験において、特定の類縁物質の定量又は不純物の限度の規定に際し、クロマトグラフィーなどの相対的分析法を採用する場合は、原則として定量的試験に用いる純度試験用標準品を設定する。特定の類縁物質をクロマトグラフィーでの相対保持時間などで同定することが困難な場合には、定性的試験に用いる標準品として、類縁物質のピーク又はスポット等の同定に用いる純度試験用標準品を設定する。

(iv) 分析システムの適合性試験用の標準品は、システム適合性が従前の方法(理論段数やシンメトリー係数等の規定)で十分に評価できない場合に設定する。

(v) 純度試験における類縁物質の標準品及びシステム適合性試験用の標準品は、標準品原料が継続的に入手できない可能性がある場合には設定しない。

(vi) 基準として用いる物質の用途が有効成分等の定量以外であるときで、当該物質が認証標準物質又は他の標準物質として入手できる場合は、これらの認証標準物質等を試薬・試液(9.41)の項に規定し、日本薬局方標準品としては設定しない。

(vii) 基準として用いる物質の用途が有効成分等の定量以外であるときで、当該物質が試薬として入手できる場合は、用途に応じた規格及び試験方法を設定した当該試薬を試薬・試液(9.41)の項に規定することができる。

5. 日本薬局方標準品に求められる品質評価項目

日本薬局方標準品を設定するとき、その用途に相応しい品質を有することを保証するために必要な品質評価項目を規定する。基本的な品質評価項目は、次のとおりである。

5.1. 定量的試験に用いる標準品の品質評価項目

通例用いられるマスバランス法により純度を規定する場合、又は定量NMR法により純度を規定する場合に検討すべき品質評価項目の例を以下に示す。また、定量NMR法で純度を規定する場合は、⑧定量法に定量NMR法を設定し、他の品質評価項目については、標準品の用途等を勘案して設定する。

- ① 性状：色及び形状
- ② 確認試験：化学構造を同定又は支持する試験法を設定する。

- i) 紫外可視吸収スペクトル
- ii) 赤外吸収スペクトル
- iii) 核磁気共鳴スペクトル
- iv) マススペクトル(高分解能マススペクトルを含む)
- v) 粉末X線回折像(結晶形が規定されている場合)
- vi) 対イオン
- ③ 純度試験
 - i) 類縁物質(総量)
 - ii) 残留溶媒
 - iii) 無機不純物
- ④ 示性値
 - i) 旋光度
 - ii) 融点
- ⑤ 乾燥減量又は水分
- ⑥ 強熱残分
- ⑦ マスバランス純度：マスバランス法での純度評価は、原則として類縁物質、強熱残分、残留溶媒を控除項目とし、乾燥物又は脱水物としての純度(%)を求める。
- ⑧ 定量法(設定可能な場合に滴定法等の絶対定量法を設定、定量NMR法で純度を規定する場合は定量NMR法を設定)

5.2. 定性的試験に用いる標準品、装置の校正等に用いる標準品、システム適合性試験に用いる標準品の品質評価項目

標準品としての用途等を勘案して、必要に応じて検討すべき品質評価項目の例を以下に示す。

- ① 性状：色及び形状
- ② 確認試験：化学構造を同定又は支持する試験法を設定する。
 - i) 紫外可視吸収スペクトル
 - ii) 赤外吸収スペクトル
 - iii) 核磁気共鳴スペクトル
 - iv) マススペクトル(高分解能マススペクトルを含む)
 - v) 粉末X線回折像(結晶形が規定されている場合)
 - vi) クロマトグラフィーにおける保持時間又は R_f 値
- ③ 純度試験
 - i) 類縁物質(総量)
 - ii) 残留溶媒
 - iii) 無機不純物
- ④ 乾燥減量又は水分
- ⑤ マスバランス純度
- ⑥ 用途に関わる試験
 - i) 類縁物質のピーク又はスポット等の同定に用いる純度試験用標準品及びシステム適合性試験用標準品では、標準品を使用する医薬品各条の試験法と同じ条件でのピークの相対保持時間を確認する。
 - ii) システム適合性試験用標準品では、標準品を使用する医薬品各条の試験法と同じ条件での分離度を確認する。

5.3. 生物薬品の試験に用いる標準品の品質評価項目

生物薬品の標準品は、定量法、確認試験、示性値、純度試験、生物活性試験等に用いられる。含量が単位で表示される製品の場合、定量法として、力価を測定する生物活性試験、あるいは、力価との相関が明らかにされた物質量を測定する理化学的試験が設定される。標準品としての用途等を勘案して、必要に応じて検討すべき品質評価項目の例を以下に示す。

- ① 本質、由来

- ② 性状：色及び形状
- ③ 確認試験：構造を同定又は支持する試験法を設定する。
 - i) 液体クロマトグラフィー／質量分析法(LC/MS)を用いたペプチドマップ法
 - ii) 等電点電気泳動法
- ④ 純度試験
 - i) 類縁物質(総量)
 - ii) その他の不純物
- ⑤ 示性値
 - i) 分子量
 - ii) 等電点
 - iii) 電荷プロファイル
 - iv) 糖鎖プロファイル
- ⑥ 乾燥減量又は水分
- ⑦ マスバランス純度
- ⑧ 定量法

物質量を定めた経緯を明確にしておく。また、力価を表示する場合、単位の値付けの方法(単位の定義設定の経緯も含む)を明確にしておく。適切な国際標準品がある場合、国際標準品を基準にする。
- ⑨ 用途に関わる試験

6. 日本薬局方における標準物質

日本薬局方には、標準物質に相当する物質が試薬・試液〈9.4I〉の項に試薬として記載されており、次のものがそれに該当する。

- ・定量用として記載された物質
- ・薄層クロマトグラフィー用として記載された確認試験に用いる物質(一部該当しないものがある)
- ・純度試験用として記載された物質
- ・医薬品各条の純度試験の類縁物質の項で特定類縁物質として記載されている物質
- ・JISに規定された標準物質

日本薬局方では、製剤中の有効成分の定量のための標準物質として定量用試薬が規定され、製剤中の有効成分の薄層クロマトグラフィーによる確認のための標準物質として一定の品質を有する当該有効成分物質が試薬として規定されているものがある。しかし、試薬として規定されたこれらの標準物質が公的に供給されることはない。

相対的定量法による定量は、標準品を基準として行われるべきであるが、やむなく定量用の試薬を基準物質として使用する場合には、なるべく計量学的トレーサビリティのある純度表示のなされた標準物質を定量用試薬として設定することが望ましい。

試薬・試液〈9.4I〉の項に試薬として記載された定量用試薬は「生薬等」に使用されるものを除き原則として、順次、標準品として設定する。新規に収載される医薬品各条においては、定量用の標準物質は定量用試薬としてではなく、原則として標準品として設定する。

一方で、「生薬等」では、指標成分の標準品を設定することは困難であることから、指標成分の定量用標準物質を試薬として規定し、試薬の規格には、可能なものについては計量学的トレーサビリティのある定量NMRを組み込んだ定量規格を順次設定している。

7. 日本薬局方標準品の使用上の留意点

- (i) 日本薬局方標準品は、日本薬局方の医薬品各条及び一般試験法において使用することが定められている標準品である。それらの具体的な用途及び使用方法は、医薬品各条又は一般試験法に規定されており、それらの用途に用いる場合において、標準品として適切な品質を有することが保証されている。したがって、それら以外の用途に用いる場合の品質は保証されない。
- (ii) 日本薬局方標準品を医薬品各条に規定された定量的な用途に用いる場合、標準品の添付文書等に純度の補正係数が表示されている場合は、その補正係数を乗じて標準品の秤取量を補正する。補正係数が表示されていない場合は、純度を100.0%とみなして使用する。
- (iii) 医薬品各条の定量法において「乾燥物に換算した標準品の秤取量」又は「脱水物に換算した標準品の秤取量」が計算式に記載されている場合、標準品の乾燥減量又は水分を別途測定しなければならない。ただし、標準品の添付文書に乾燥減量値又は水分値が表示されている場合には、その表示値を用いることができる。
- (iv) 日本薬局方標準品には有効期限は設定されていない。そのため、必要時に必要量を入手し、入手後は指定された条件で保管し、速やかに使用する。
- (v) 開封後に保存した標準品の品質は保証されない。
- (vi) 標準品1包装単位には、通常、複数回の繰り返し試験が可能なが充填されている。しかし、標準品原料の供給量が少ないため、1回試験分しか充填されていないものもある。
- (vii) 日本薬局方標準品を医薬品各条又は一般試験法に規定された用途に用いる際に必要な情報は、標準品の添付文書等に記載されている。ただし、試験成績は非開示であり、試験成績書は発行されない。

G9. 医薬品添加剤関連

製剤に関連する添加剤の機能性関連特性について〈G9-1-181〉

添加剤の機能性関連特性 (Functionality Related Characteristics, FRC) とは、製剤の製造工程・保管・使用において、有効成分及び製剤の有用性の向上に密接に関連する添加剤の物理的・化学的特性である。

添加剤は製剤総則[1]製剤通則(6)に記載されるように、「その製剤の投与量において薬理作用を示さず、無害」でなくてはならず、「有効成分及び製剤の有用性を高める、製剤化を容易にする、品質の安定化を図る、又は使用性を向上させる」などの役割も担う。添加剤各条では、物質の確認と品質の確保を主な目的として、規格と試験法が規定されている。

FRCは、添加剤が上記の役割を果たすための有効な指標となるが、添加剤に求められるFRCの特性値は、使用目的や製剤処方に依存し、添加剤の安全性や安定性に直接関わる品質特性とは異なることから、試験法には規格を設定しない。また、本参考情報に記載されたFRCの試験法は、他の適切な試験法の適用を制限するものではない。

黄色ワセリン及び白色ワセリンに関して、FRCとなる項目とその試験法の例を以下に示す。

黄色ワセリン、白色ワセリン：稠度に関する試験法

黄色ワセリン及び白色ワセリンは石油から得た炭化水素類の混合物を精製したものであり、通常、軟膏剤などの半固形製剤の基剤として使用される。軟膏剤は製剤総則[3]製剤各条11.4.軟膏剤(3)において「本剤は、皮膚に適用する上で適切な粘性を有する。」とされており、当該剤形の流動学的性質の一つである硬さ・軟らかさは、特性値として稠度を測定することにより示すことができる。一般試験法「半固形製剤の流動学的測定法」の2.稠度試験法(penetrometry)を用いて本品の稠度を評価する場合の試験法を記載する。

- (i) 器具 標準円錐又はオプション円錐により試験を行う。なお、試料容器は直径 100 ± 6 mm、深さ65 mm以上の金属製の平底円筒形のものを用いる。
- (ii) 操作法 オープンに必要な数の空の試料容器を入れ、それらの容器と共に容器に入れた一定量の本品を $82 \pm 2.5^\circ\text{C}$ に加温する。融解した本品を1個以上の試料容器に注ぎ込み、試料容器の縁から6 mm以内まで満たす。通風を避けて $25 \pm 2.5^\circ\text{C}$ で16時間以上冷やす。試験開始2時間前に、試料容器を $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ の水浴中に入れる。室温が 23.5°C 未満又は 26.5°C を超える場合には円錐を水浴中に入れて円錐の温度を $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に調整する。試料の表面を乱さないように、試料容器をペネトrometerの試料台に乗せ、円錐を、先端が試料容器の縁から25 ~ 38 mm離れた位置で試料の表面に接触するように下げる。ゼロ点を調整し、直ちに留金具を離し、5秒間放置する。留金具を固定し、目盛りから進入の深さを読む。進入した部位が重ならないよう間隔を空けて3回以上測定する。進入の深さが20 mmを超える場合には、別の試料容器を使用して各測定を行う。進入の深さは最短0.1 mmまで読みとる。3回以上の測定値の平均値を求める。

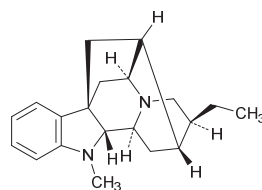
G10. 名称関連

化学名参考事項〈G10-1-190〉

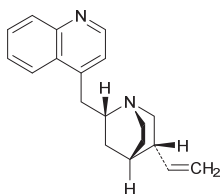
日局においては、化学名はIUPACが定める体系的命名法により命名されているが、天然物及びその関連化合物については、類似性を示すために慣用名を基本母体構造名として半体系的に命名する場合があります。以下の母体構造を有する化合物については、慣用名を基に命名している医薬品各条がある。

1. アルカロイド

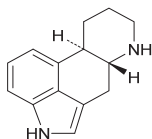
ajmalan



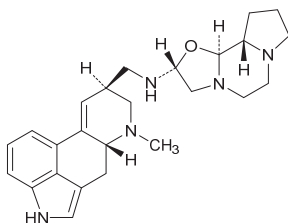
cinchonan



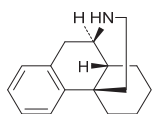
ergoline



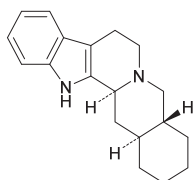
ergotaman



morphinan

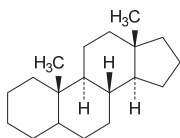


yohimban

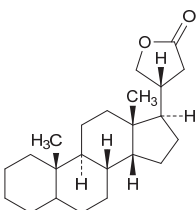


2. ステロイド*

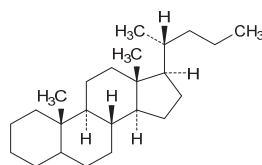
androstane



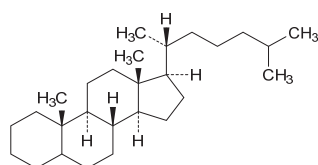
cardanolide



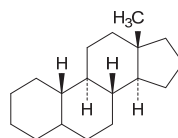
cholane



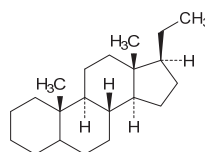
cholestane



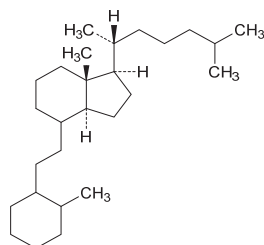
estrane



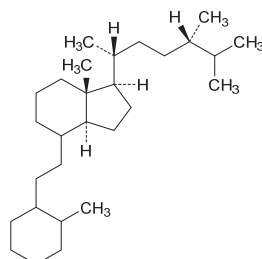
pregnane



9,10-secocholestane

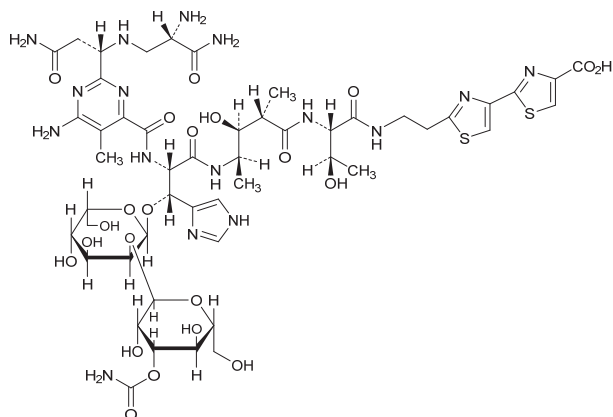


9,10-secoergostane

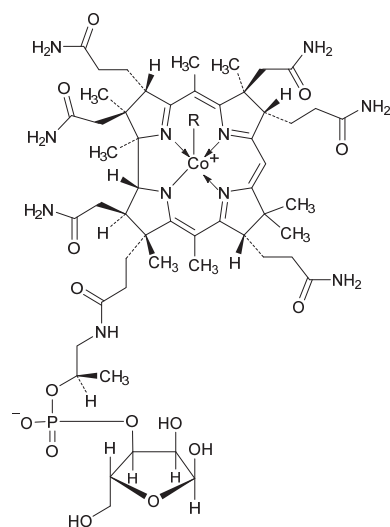


3. その他

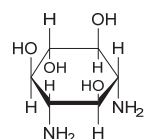
bleomycinic acid



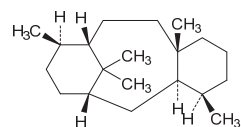
cobamide



D-streptamine



taxane



GZ. その他

医薬品等の試験に用いる水〈GZ-1-161〉

医薬品等の試験に用いる水については、日本薬局方の通則21に「試験を行うのに適した水とする。」とされているように、当該試験の目的にかなう水であることを確認した上で用い

る必要がある。

この医薬品等の試験に用いる水としては、試験方法中において別に規定される場合を除いて、「精製水」，「精製水(容器入り)」又はイオン交換，超ろ過など適切な方法により試験用に製した水を用いればよい。また，ほかの施設などで試験用に製造された水を手入して用いてもよい。

日本薬局方の一般試験法中で規定されている試験用の水としては，例えば，以下のものがある。

- ・アンモニウム試験用水：〈1.02〉アンモニウム試験法(アンモニウム標準液)
- ・有機体炭素の測定に用いる水(測定用水)：〈2.59〉有機体炭素試験法
- ・ICP分析用水：〈2.63〉誘導結合プラズマ発光分光分析法及び誘導結合プラズマ質量分析法
- ・エンドトキシン試験用水：〈4.01〉エンドトキシン試験法
- ・微粒子試験用水(注射剤試験用)：〈6.07〉注射剤の不溶性微粒子試験法
- ・微粒子試験用水(点眼剤試験用)：〈6.08〉点眼剤の不溶性微粒子試験法
- ・微粒子試験用水(プラスチック製医薬品容器試験用)：〈7.02〉プラスチック製医薬品容器試験法の微粒子試験

日本薬局方の参考情報中で規定されている試験用の水としては，以下のものがある。

- ・アルミニウム試験用水：中心静脈栄養剤中の微量アルミニウム試験法

日本薬局方の試験に関する記載において単に“水”と記載される場合は，通則21に規定された「医薬品等の試験に用いる水」を指す。

製薬用水の品質管理〈GZ-2-181〉

医薬品の製造，容器や設備等の洗浄などに使用される水を製薬用水と称する。製薬用水の品質を恒常的に確保するためには，要求される品質の水が供給されることを適切なバリデーションにより検証するとともに，日常的な水質管理によりそれを保証し続けることが重要である。

1. 製薬用水の種類

1.1. 常水

「常水」の規格及び試験方法は，日本薬局方の医薬品各条で規定されており，水道法第4条に基づく水質基準に適合することが求められている。「常水」を井水又は工業用水などから各施設において製造する場合は，適切な処理と管理を行うことにより，上記の基準と併せてアンモニウム「0.05 mg/L以下」の規格に適合することが求められる。また，一定期間保存して用いる場合は，微生物の増殖抑制を図る必要がある。

「常水」は，「精製水」や「注射用水」製造用の原水として用いられるほか，原薬中間体の製造や医薬品の製造設備の予備洗浄にも用いられる。

1.2. 精製水

「精製水」及び「精製水(容器入り)」の規格及び試験方法は，日本薬局方の医薬品各条で規定されている。

「精製水」は，原水として「常水」を用い，必要な前処理を

経て、イオン交換、蒸留、逆浸透(RO : Reverse Osmosis)又は微生物及び分子量約6000以上の物質を除去できる限外ろ過(UF : Ultrafiltration)などを単独であるいは組み合わせて用いたシステムにより製造する。「精製水」の製造に当たっては、適切な微生物管理が必要である。特に、イオン交換、逆浸透又は限外ろ過により製造するときは、それぞれに対応した微生物の増殖抑制を図るか又は定期的な殺菌処理を行う。

殺菌処理、薬剤による微生物の増殖抑制又はエンドトキシン含有量を適切な管理基準内に維持するための処理を行った精製水については、目的に応じた規格を別途定め、その規格に適合した水質を維持するための適切な管理を行う。

「精製水(容器入り)」は、「精製水」を気密容器に入れたものである。

1.3. 滅菌精製水

「滅菌精製水(容器入り)」(別名：滅菌精製水)の規格及び試験方法は、日本薬局方の医薬品各条で規定されている。

「滅菌精製水(容器入り)」は、「精製水」を密封容器に入れて、滅菌したもの、又はあらかじめ滅菌した「精製水」を無菌的な手法により無菌の容器に入れた後、密封したものである。なお、密封容器の代わりにプラスチック製水性注射剤容器を用いてもよいこととされている。

1.4. 注射用水

「注射用水」及び「注射用水(容器入り)」の規格及び試験方法は、日本薬局方医薬品各条で規定されている。

「注射用水」は、「常水」にイオン交換、逆浸透等による適切な前処理を行った水又は「精製水」の、蒸留又は超ろ過(RO/UF : Reverse Osmosis and/or Ultrafiltration)により製造する。蒸留法により製造する場合、飛沫同伴による汚染が起らないように留意する。超ろ過法により製造する場合、長期間にわたるバリデーションと綿密な日常管理により、蒸留法により製造した水と同等の品質の水が恒常的に製造されることが保証される必要がある。逆浸透膜又は限外ろ過膜を単独であるいは組み合わせて用いた注射用水製造システムのいずれにおいても、注射用水に適した水が安定して製造されることが、前処理装置を含む製造システム全体によって保証されることが肝要である。製造システムに供給される水に関しては、適切なバリデーションと日常管理により、原水として適切な水質が維持されていることを担保する。超ろ過法による製造システムに関しては、水質分析、計器によるモニタリング及び透過水量監視等の日常管理を行うとともに、定期的な膜の外観検査及びエアリーク試験を実施し、併せて使用済みの膜の引張り強度、リークの有無や程度について試験を行って膜の劣化の度合いを診断し、膜交換の指標あるいは膜の破断の予知方法とするなど、膜の管理手法を確立しておくことが望ましい。また、これらに加えて、膜の使用条件に見合った適切な交換頻度を定めておくことが望ましい。

なお、「注射用水」を製造システム中で一時的に保存する場合、微生物及びエンドトキシンに関する厳密な管理が必要である。エンドトキシンについては、規格値として0.25 EU/mL未満であることが要求される。

「注射用水(容器入り)」は、「注射用水」を密封容器に入れて滅菌したもの、又はあらかじめ滅菌した「注射用水」を無菌的な手法により無菌の容器に入れた後、密封したものである。なお、密封容器の代わりにプラスチック製水性注射剤容器を用

いてもよいこととされている。

2. 超ろ過法

超ろ過法は、「精製水」又は「注射用水」の製造において、逆浸透膜又は限外ろ過膜を単独であるいは組み合わせて用いた製造システムにより水を精製する方法であり、蒸留法に替わり得る製造方法として用いられる。

超ろ過法により「注射用水」を製造するときは、通例、前処理設備、注射用水製造設備及び注射用水供給設備を備えた製造システムを用いる。前処理設備は、原水から固形物、溶存塩類及びコロイド状物質などを除去し、注射用水製造設備の負荷を軽減させるために、注射用水製造設備の前に設置する。本設備は、凝集装置、沈降分離装置、ろ過装置、塩素殺菌装置、酸化・還元装置、残留塩素除去装置、精密ろ過装置、逆浸透装置、限外ろ過装置及びイオン交換装置などを原水の水質に応じて適切に組み合わせて構成される。注射用水製造設備は、前処理水供給装置、紫外線殺菌装置、熱交換装置、膜モジュール、洗浄・殺菌用装置などから構成される。注射用水供給設備は、「注射用水」を一時的に保存するための貯水タンク、配管系、熱交換装置、循環ポンプ、調圧装置などから構成される。なお、超ろ過法により「精製水」を製造する場合においても、製造システムの基本的構成は「注射用水」の場合と同様である。

超ろ過法により製造した「注射用水」をシステム内に一時的に保存する場合には、通例、80℃以上の高温で熱循環させることにより微生物の増殖を阻止する。

超ろ過法においては、原水の水質及び目標とする水質を考慮して、膜の最適な組み合わせを選択する。限外ろ過膜を「精製水」及び「注射用水」の製造に用いるときは、微生物及び分子量約6000以上の物質を除去できる膜モジュールを用いる。

3. 製薬用水の選択

医薬品製造用の水としては、日本薬局方に定める上記1.1 ～ 1.4の範疇の製薬用水の中から使用目的に応じて、最終製品の品質が保証され、製造過程で支障をきたさないものを選択する。表1に原薬及び製剤の仕込み水を選択する場合の基準を例示する。

なお、「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)に代えて「滅菌精製水(容器入り)」又は「注射用水」(又は「注射用水(容器入り)」)を用いることができる。

3.1. 製剤

微生物に併せてエンドトキシンを厳しく管理する必要のある注射剤等の無菌製剤の製造には、「注射用水」(又は「注射用水(容器入り)」)を用いる。微生物による汚染に注意が必要な点眼剤や眼軟膏剤などの無菌製剤の製造には、生菌数を低く抑えた「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)を用いることができる。

非無菌製剤の製造には、「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)以上の品質の水を用いる。吸入剤、点耳剤及び点鼻剤の製造には、生菌数を適切な水準に管理した「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)を用いるが、吸入剤のうち、噴霧用の液状製剤には、生菌数を厳しく抑えた「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)を用いる。微生物汚染に注意を払わなければならない経口液剤、シロップ剤、腔用坐剤、軟膏剤、クリーム剤などには、製剤中の保存剤などの影響を加味しながら、微生物学的に適切に管理された「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)を用いる。

生薬を含有する製剤については、生薬中の生菌数及び製剤に

表1 製薬用水(仕込み水)の選択基準

区分	製薬用水区分	適用区分	備考
製剤	「注射用水」 (又は「注射用水(容器入り)」)	注射剤, 透析剤(腹膜透析剤, 血液透析剤)	血液透析剤には, 別に規定するもののほか, 「注射用水」, 「注射用水(容器入り)」又は透析に適した水を用いる。
	「精製水」 (又は「精製水(容器入り)」)	点眼剤, 眼軟膏剤, 吸入剤, 点耳剤, 点鼻剤	微生物による汚染に注意が必要な点眼剤, 眼軟膏剤などの無菌製剤には, 生菌数を低く抑えた「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)を用いることができる。 吸入剤, 点耳剤及び点鼻剤の製剤には, 生菌数を適切な水準に管理した「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)を用いる。ただし, 吸入剤のうち, 噴霧用の液状製剤には, 生菌数を厳しく抑えた「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)を用いる。
		経口投与する製剤, 口腔内に適用する製剤, 直腸に適用する製剤, 腔に適用する製剤, 皮膚などに適用する製剤, (生薬関連製剤のうちの)チンキ剤, 芳香水剤	微生物汚染に注意を払わなければならない経口液剤, シロップ剤, 腔用坐剤, 軟膏剤, クリーム剤などには, 製剤中の保存剤などの影響を加味しながら, 微生物学的に適切な管理を行った「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)を用いる。
	「常水」	(生薬関連製剤のうちの)エキス剤, 丸剤, 酒精剤, 浸剤・煎剤, 茶剤, 流エキス剤	生薬中の生菌数及び製剤において達成すべき微生物限度を考慮して製薬用水を選択する。
原薬	「注射用水」 (又は「注射用水(容器入り)」)	無菌原薬	
	「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)	一般原薬	製剤工程で無菌化する製剤の製造に用いられる原薬の製造において, 後工程で脱エンドトキシン処理がない場合は, エンドトキシンが適切な水準に管理された「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)を用いる。
	「常水」	原薬中間体	

において達成すべき微生物限度を考慮した製薬用水の選択が求められる。

また, 製品に直接触れる設備表面や容器などの予備洗浄水は, 「常水」以上の品質の水とするが, 最終リンス水は仕込み水と同等の品質の水とする。

3.2. 原薬

原薬用の製薬用水の選択に際しては, その原薬が用いられる製剤の特性, 製剤工程を考慮し, 最終製剤の品質が確保されるように選択しなければならない。

原薬の製造に用いる水及び原料や原薬中間体に直接触れる設備表面や容器の洗浄水は, 合成や抽出プロセスの初期の段階であっても, 理化学的及び微生物学的に管理された「常水」以上の品質の水を用いる。ただし, 最終の精製工程では, 「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)以上の品質の水を用いる。最終原薬に直接触れる設備表面や容器などの最終リンス水は仕込み水と同等の品質の水とする。

無菌原薬の製造には, 「滅菌精製水(容器入り)」又は「注射用水」(又は「注射用水(容器入り)」)を用いる。また, エンドトキシン管理が必要な製剤に使用する原薬で, 後の工程にエンドトキシンの除去工程がない場合は, 「注射用水」(又は「注射用水(容器入り)」)又はエンドトキシンが適切な水準に管理された「精製水」(又は「精製水(容器入り)」)を用いる。

4. 製薬用水の品質管理

4.1. 概要

製薬用水の日常的管理及び定期的管理を実施する上では, 初期に製薬用水の製造システム(製薬用水システム)のバリデーションで要求される品質の水が製造されることが十分に実証されていることが前提となる。この前提が満たされている場合には, 以下の管理手法に従って製薬用水の品質管理を行うことができる。

日常的な管理項目としては, 導電率及び有機体炭素(TOC)による品質管理が有効であり, 定期的管理項目としては, その使用目的によって, 上記に加えて幾つかの特定不純物, 生菌数,

エンドトキシン及び不溶性微粒子などを選択し, 管理項目とする。これらの測定頻度は, 水質の安定性を考慮して決定する。

以下, 特に留意すべき微生物学的管理事項並びに理化学的管理事項(導電率及び有機体炭素(TOC))について記載する。なお, その他の管理項目についても必要に応じて試験を行い, それぞれの品質規格に適合することを確認する必要がある。

4.2. サンプルング

製薬用水システムが良好な管理下にあり, 要求される品質の製薬用水が連続的に製造できていることを保証するためには, 適切な頻度でモニタリングを行う必要がある。試験用サンプルは, 製造工程及び供給システム内の適切な場所より採取するが, 製薬用水システムの稼働状況が反映されるようなサンプリングポイントを選択する必要がある。なお, サンプリングポイント付近における微生物学的管理の方策は, それぞれの周辺状況に応じて適切に定める。

サンプリングの頻度は, 製薬用水システムのバリデーションデータに基づいて適切に定める。なお, 微生物モニタリングのために採取した水は, 採水後2時間以内に試験に供することが望ましい。2時間以内に試験を行うことができない場合には, 2～8℃に保存し, 12時間以内に試験を行う。

4.3. 警報基準値(アラートレベル)と処置基準値(アクションレベル)

製薬用水システムにおいては, その設計仕様内で運転を行うとき, 要求される品質の水が連続的に製造されていることを確認するために, 微生物学的及び理化学的モニタリングを行う。得られたモニタリングデータを, 警報基準値, 処置基準値, その他のプロセスの管理値及び目的とする製薬用水の規格限度値と比較すること, 並びに管理図に時系列的にプロットして傾向分析を行うことなどにより, システムの運転状況を把握することができる。

このように, 警報基準値及び処置基準値は, 適否の判定基準を示すものではなく, 製造システムのプロセス制御のために使

用されるものである。

4.3.1. 警報基準値(アラートレベル)の定義

製造システムの運転中、設定された警報基準値を超えるモニタリングデータが得られたときは、プロセスがその正常な運転状態から逸脱するおそれがあることを示している。警報基準値は、要注意の警告を与えるものであり、その値を超えたとしても、是正措置は必ずしも必要としない。なお、警報基準値の設定は、過去の傾向分析による実測値の「平均値+2 σ 」又は「処置基準値の70%(生菌数は50%)」のうち、通例、低い方の値を採用する。

4.3.2. 処置基準値(アクションレベル)の定義

製造システムの運転中、設定された処置基準値を超えるモニタリングデータが得られたときは、プロセスがその正常な運転範囲内から逸脱したことを示している。この場合、製造システムの運転管理者は、システムを正常な運転範囲内へ復帰させるための是正措置を講じなければならない。

警報基準値及び処置基準値は、プロセス及び製品の品質規格の範囲内で、技術的観点及び要求される製品の品質などを総合的に考慮して設定する。したがって、警報基準値及び処置基準値を超えても、必ずしも製品の品質が損なわれるものではない。

4.4. 微生物モニタリング

製薬用水システムの微生物モニタリングプログラムの主目的は、製造した水の微生物学的品質劣化を事前に予知し、製品の品質に悪影響を及ぼすことを防ぐことである。したがって、存在する微生物の全てを検出する必要はないが、成長の遅い微生物を含めできるだけ広範囲の菌を検出できるようなモニタリング手法を採用する必要がある。

以下に、培養法による製薬用水システムの微生物モニタリング手法を示す。迅速微生物検出法を採用する場合は、得られる生菌数が培養法と同等以上であることをあらかじめ確認しておく必要がある。

4.4.1. 培地及び培養条件

水中には、栄養源の乏しい環境にも適応している多数の従属栄養型の中温性細菌が存在する。従属栄養型の細菌は、製薬用水システムにおいてバイオフィルムの形成による水質劣化をもたらすことが多いため、貧栄養菌の増殖に優れたR2Aカンテン培地を用いて水質をモニターすることが有用である。

表2に生菌数の評価に用いる計測方法、最少試料量、培地、培養条件の一例を示す。

表2に示された培地を以下に掲げる。

(i) 標準カンテン培地

カゼイン製ペプトン	5.0 g
酵母エキス	2.5 g
ブドウ糖	1.0 g
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後のpHは6.9～7.1とする。

(ii) R2Aカンテン培地

ペプトン(カゼイン製及び肉製)	0.5 g
カザミノ酸	0.5 g
酵母エキス	0.5 g
ピルビン酸ナトリウム	0.3 g
ブドウ糖	0.5 g
硫酸マグネシウム七水和物	50 mg
溶性デンプン	0.5 g
リン酸水素二カリウム	0.3 g
カンテン	15.0 g
水	1000 mL

全成分を混和し、121℃で15～20分間高圧蒸気滅菌する。滅菌後のpHは7.1～7.3とする。

培地成分には、日本薬局方に規定するもののほか、以下の試薬を用いる。

(i) カザミノ酸 カゼインを酸により加水分解し、微生物試験用に製造したもの。

乾燥減量 (2.41) 8%以下(0.5 g, 105℃, 恒量)。

強熱残分 (2.44) 55%以下(0.5 g)。

窒素含量 (1.08) 7%以上(105℃, 恒量, 乾燥後)。

4.4.2. 培地性能試験

R2Aカンテン培地の性能試験には、次に示す試験菌株又はこれらと同等と考えられる試験菌株を使用する。

Methylobacterium extorquens : NBRC 15911

Pseudomonas fluorescens : NBRC 15842, ATCC 17386など培地性能試験前にこれらの試験菌を滅菌精製水中に接種し、20～25℃に3日間おき、飢餓状態にする。飢餓状態にした試験菌を更に滅菌精製水で希釈し、試験菌懸濁液を調製する。使用するR2Aカンテン培地に試験菌($5 \times 10^1 \sim 2 \times 10^2$ CFU)を接種し、20～25℃で4～7日間培養するとき、十分な接種菌の増殖が認められなければならない。

標準カンテン培地の性能試験には、次に示す試験菌株又はこれらと同等と考えられる試験菌株を使用する。

表2 製薬用水の生菌数評価法

方法	製薬用水		
	「常水」	「精製水」	「注射用水」
計測方法	平板混釈法又はメンブランフィルター法	平板混釈法又はメンブランフィルター法	メンブランフィルター法
最少試料量	1.0 mL	1.0 mL	100 mL
培地	R2Aカンテン培地 標準カンテン培地	R2Aカンテン培地	R2Aカンテン培地
培養期間	R2Aカンテン培地：4～7日間(又はそれ以上) 標準カンテン培地：48～72時間(又はそれ以上)	4～7日間(又はそれ以上)	4～7日間(又はそれ以上)
培養温度	R2Aカンテン培地：20～25℃又は30～35℃ 標準カンテン培地：30～35℃	20～25℃又は30～35℃	20～25℃又は30～35℃

黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*) : ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83又はNBRC 13276

緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*) : ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118又はNBRC 13275

大腸菌(*Escherichia coli*) : ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126又はNBRC 3972

微生物限度試験法〈4.05〉に従って試験菌懸濁液を調製する。使用する標準カンテン培地に少数の試験菌(100 CFU以下)を接種し、30～35℃で48時間培養するとき、十分な接種菌の増殖が認められなければならない。

4.4.3. 製薬用水システムの微生物に対する処置基準値

製薬用水システムに対して一般的に適正と考えられる微生物に対する処置基準値は下記のとおりである。

各種製薬用水に対する生菌数の処置基準値

「常水」 : 10^2 CFU/mL* (水道法第4条に基づく水質基準に規定されている規格値)

「精製水」 : 10^2 CFU/mL**

「注射用水」 : 10^1 CFU/100mL**

(*標準カンテン培地を用いての値, **R2Aカンテン培地を用いての値)

「精製水」に対する処置基準値は、「常水」と同一の値とされているが、各製造施設において、別途、独自の処置基準値を定め、より高いレベルでの微生物管理を行うことが望まれる。

また、バリデーション及び日常的な管理においてこれらの処置基準値を超えた場合には、検出された分離菌の性状検査を行い、システムの殺菌・消毒を施す必要がある。

4.5. 理化学的モニタリング

製薬用水システムの理化学的モニタリングは、通例、導電率及び有機体炭素(TOC)を指標として行われる。導電率を指標とするモニタリングによれば、混在する無機塩類の総量の概略を知ることができ、TOCを指標とするモニタリング(TOCモニタリング)によれば、混在する有機物の総量を評価することができる。これらの理化学的モニタリングは、基本的に日本薬局方一般試験法に規定される導電率測定法〈2.51〉及び有機体炭素試験法〈2.59〉を準用して行われるが、モニタリングのための試験には、医薬品各条の試験とは異なる側面があることから、以下にはそれぞれの一般試験法で対応できない部分に対する補完的事項を記載する。

なお、各製造施設において、導電率及びTOCを指標とするモニタリングを行う場合、それぞれの指標について適切な警報基準値及び処置基準値を設定し、不測の事態に対する対応手順を定めておく必要がある。

4.5.1. 導電率を指標とするモニタリング

モニタリング用の導電率測定は、通例、流液型セル又は配管挿入型セルを用いてインラインで連続的に行われるが、製薬用水システムの適切な場所よりサンプリングし、浸漬型セルを用いてオフラインのバッチ試験として行うこともできる。

(1) オンライン又はインラインでの測定

インラインでの導電率モニタリングでは、通常、測定温度の制御は困難である。したがって、任意の温度でモニタリングしようとする場合には、下記の方法を適用する。

- (i) 温度非補償方式により試料水の温度及び導電率を測定する。
- (ii) 表3から、測定された温度における許容導電率を求める。

測定された温度が表3に記載されている温度の間にある場合は、測定された温度よりも低い方の温度における値を許容導電率とする。

(iii) 測定された導電率が、許容導電率以下であれば、導電率試験適合とする。許容導電率を超える場合には、オフラインでの測定を行う。

表3 異なる測定温度における許容導電率*

温度(℃)	許容導電率 ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	温度(℃)	許容導電率 ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)
0	0.6		
5	0.8	55	2.1
10	0.9	60	2.2
15	1.0	65	2.4
20	1.1	70	2.5
25	1.3	75	2.7
30	1.4	80	2.7
35	1.5	85	2.7
40	1.7	90	2.7
45	1.8	95	2.9
50	1.9	100	3.1

* 温度非補償方式での導電率測定に対してのみ適用する。

(2) オフラインでの測定

(i) 下記の方法により、容器に採水後、強くかき混ぜることによって、大気中から二酸化炭素を平衡状態になるまで吸収させ、大気と平衡状態になった試料の導電率を測定する。

(ii) 十分な量の試料を適当な容器にとり、かき混ぜる。温度を $25\pm 1^\circ\text{C}$ に調節し、強くかき混ぜながら、一定時間ごとにこの液の導電率の測定を行う。5分当たりの導電率変化が $0.1\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 以下となったときの導電率を本品の導電率(25℃)とする。

(iii) 前項で得られた導電率(25℃)が $2.1\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 以下であれば、導電率試験適合とし、それを超える場合は不適合と判定する。

4.5.2. TOCモニタリング

「精製水」及び「注射用水」のTOCの規格限度値はいずれも「0.50 mg/L以下」(500 ppb以下)とされているが、製薬用水の各製造施設は、製薬用水システムの運転管理にあたり、別途警報基準値と処置基準値を定めてTOCモニタリングを行うことが望ましい。

推奨されるTOCの処置基準値は、下記のとおりである。

処置基準値 : ≤ 300 ppb (インライン)

≤ 400 ppb (オフライン)

水道水(「常水」)のTOCの許容基準値は「3 mg/L以下」(3 ppm以下)(水道法第4条に基づく水質基準)であるが、上記の管理基準を考慮し、製薬用水製造の原水として使われる水についても、各製造施設において適切な警報基準値及び処置基準値を設けてTOCモニタリングによる水質管理を実施することが望ましい。

なお、日本薬局方では有機体炭素試験法〈2.59〉を定めており、通例、これに適合する装置を用いてTOCの測定を行うが、高純度の水(イオン性の有機物や分子中に窒素、硫黄、リン又はハロゲン原子を含む有機物が含まれていない純度の高い水)を原水として用いる場合に限り、米国薬局方の General Chapter <643> TOTAL ORGANIC CARBON又は欧州薬局方の Methods of Analysis 2.2.44. TOTAL ORGANIC CARBON IN WATER FOR PHARMACEUTICAL USEに定める装置適合性試験に適合する装置を製薬用水システムの

TOCモニタリングに用いることができる。

ただし、二酸化炭素を試料水から分離せずに測定した有機物の分解前後の導電率の差からTOC量を求める方式の装置は、試料水中にイオン性の有機物が含まれている場合、若しくは分子中に窒素、硫黄、リン又はハロゲン原子を含む有機物が含まれている場合には、マイナス又はプラスの影響を受けることがあるので、測定対象の水の純度や装置の不具合発生時の汚染リスクを考慮して適切な装置を選択する。

4.6. 注射用水の一時的保存

注射用水の一時的な保存については、微生物の増殖を厳しく抑制するために高温で循環するなどの方策をとると共に、汚染並びに品質劣化のリスクを考慮し、バリデーションの結果に基づいて適切な保存時間を設定する。

5. 容器入りの水の品質管理に関する留意事項

製品として流通する容器入りの水(「精製水(容器入り)」, 「滅菌精製水(容器入り)」及び「注射用水(容器入り)」)の品質管理に関しては、別途、留意すべき事項が幾つかある。

5.1. 滅菌した容器入りの水の製法について

「滅菌精製水(容器入り)」及び「注射用水(容器入り)」の製法としては、次の二つの異なる方法がある。

(i) 「精製水」又は「注射用水」を密封容器に入れた後、滅菌する。

(ii) あらかじめ滅菌した「精製水」又は「注射用水」を無菌的な手法により無菌の容器に入れた後、密封する。

製造された容器入りの水の無菌性を保証するには、(i)の製法では、最終の滅菌工程についてバリデーションを行えば良いのに対して、(ii)の製法では、全ての工程についてバリデーションを行う必要がある。これは、(ii)の製法があらかじめ過滅菌などの方法によって滅菌したものを“無菌的に”容器に入れて密封することにより、無菌性を保証しようとするものであるためである。

5.2. 容器中での保存に伴う水質変化

5.2.1. 無機性不純物(導電率を指標として管理)

バルクの精製水又は注射用水の導電率が $1.3 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 以下(25℃)で管理されている場合であっても、それを容器に入れたときには、容器への充填時の空気との接触や保存中におけるプラスチック膜透過に伴う空気中の二酸化炭素の溶け込み及び保存中における容器からのイオン性物質の溶出が原因となって、導電率が上昇する。特に、小容量のガラス容器を用いる場合には、保存中における導電率の変化に注意する必要がある。

5.2.2. 有機性不純物(過マンガン酸カリウム還元性物質又はTOCを指標として管理)

日本薬局方では、容器入りの水(「精製水(容器入り)」, 「滅菌精製水(容器入り)」及び「注射用水(容器入り)」)中の有機性不純物に対しては、古典的な過マンガン酸カリウム還元性物質による管理を求めている。容器入りの水に対するこの規定は、バルクの水において、TOCによる管理(限度値「0.50 mg/L以下」(500 ppb以下))を規定していることと対照的である。これは、容器中での保存により、TOC量が著しく増加する事例があり、バルクの水に整合させてTOCにより規格を設定することが困難と判断されたことによるものである。特に、小容量のプラスチック製容器入りの水については、保存中における容器からの溶出物の増加に十分注意する必要がある。

容器入りの水において、過マンガン酸カリウム還元性物質に

よる有機性不純物の管理を求めているのは、容器の材質(ガラス、ポリエチレン、ポリプロピレンなど)やサイズ(0.5 ~ 2000 mL)及び保存期間の如何によらず、同一の試験法を用いて試験できるようにするための止むを得ない措置としてとられたものであり、溶存する有機性不純物の限度試験として最適なものとして規定されているわけではない。医薬品の製造業者の責任において、過マンガン酸カリウム還元性物質の代わりにTOCにより品質管理を行うことが望ましい。TOCにより品質管理を行う場合、下記のような目標値により管理することが望ましい。

内容量が10 mL以下のもの：TOC 1500 ppb以下

内容量が10 mLを超えるもの：TOC 1000 ppb以下

ポリエチレン、ポリプロピレンなどのプラスチック製医薬品容器入りの水については、容器からのモノマー、オリゴマー、可塑剤などの溶出がまず懸念されるが、プラスチックにはガス透過性や水分透過性もあることから、アルコールなどの低分子の揮発性有機物や窒素酸化物などの低分子の大気汚染物質の透過による汚染が起こり得るので、保存場所・保存環境にも留意する必要がある。

5.2.3. 微生物限度(総好気性微生物数)

「精製水(容器入り)」には無菌性が求められているわけではないが、保存期間中を通して総好気性微生物数の許容基準「1 mL当たり 10^2 CFU」に適合するためには、衛生的あるいは無菌的に製造する必要がある。また、流通上、微生物汚染には特段の注意が必要である。加えて、開封後はできるだけ短期間に使いきるように努めることが望ましい。

総好気性微生物数の許容基準「1 mL当たり 10^2 CFU」は、「精製水」(バルク)の生菌数の処置基準値と同じであるが、精製水製造システムにおける微生物モニタリングとは違い、主に保存期間中に起こる可能性のある環境由来の微生物による汚染を検出するために、ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地を用いて試験を行う。

5.3. 容器入りの水を入手して医薬品の製造や試験に用いる場合の注意事項

市販の「精製水(容器入り)」, 「滅菌精製水(容器入り)」又は「注射用水(容器入り)」を入手して、医薬品又は治験薬の製造用水、医薬品試験用の水として利用することができるが、下記の事項に留意する必要がある。

(i) 製品の受入試験又は製造業者から提供された当該製品の試験成績書により日局各条への適合を確認した後、速やかに使用すること。

(ii) 医薬品の製造に使用する場合は、当該医薬品の製造工程の一環としてプロセスバリデーションを実施しておくこと、また、治験薬の製造に使用する場合には、その品質に影響がないことを確認しておくこと。

(iii) 滅菌した容器入りの水については、一回使いきりを原則とし、保存後の再使用はしないこと。

(iv) 開封直後からヒト及び試験室環境など等による汚染又は水質変化が急速に進むことを前提として、使用目的に合わせた標準操作手順書を作成しておくこと。

第十九改正日本薬局方における国際調和 〈GZ-3-190〉

日本薬局方、欧州薬局方(The European Pharmacopoeia)及び米国薬局方(The United States Pharmacopeia)での調和合意に基づき規定した試験法及び医薬品各条に関する情報は、以下の独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。

試験法：

<https://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/standards-development/jp/0021.html>

医薬品各条：

<https://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/standards-development/jp/0020.html>

目的に応じた日本薬局方の適用方法 〈GZ-4-190〉

日本薬局方は、わが国の医薬品の品質を適正に確保するために必要な規格・基準及び標準の試験法を示す公的な規範書である。また、医薬品開発時、承認申請時、製薬企業や薬局といった品質管理の現場、公的試験機関、薬学教育等で活用される試験法や国際的に推進される品質管理の考え方を公的に公開する書であり、科学の書といえる。さらに、保健医療上重要な医薬品を全面的に取り込むことを目指しており、医薬品のライフサイクルにおける時期が様々に異なる医薬品が収載された書でもある。

日本薬局方は、公的な規範書であるので、規格・基準及びその確保のための標準の試験法が記載されている。また日本薬局方医薬品各条には、原薬だけでなく製剤も収載されているが、収載時期は様々であり、収載時の品質確保の考えに基づいた規格・基準及びそのための試験法が規定されている。例えば、ある原薬では、性状、確認試験、純度試験、水分、強熱残分、定量法、貯法等の規格・基準と試験法が規定され、その製剤では、製法、確認試験、製剤均一性、溶出性、定量法、貯法等の規格・基準と試験法が規定されている。原薬に日本薬局方標準品が定められていない場合、製剤では、原薬を用いて定量的試験を実施するよう規定される場合がある。このような場合、製剤の定量試験では、通常、試薬・試液〈9.41〉の条に定量用〇〇として原薬が規定され、原薬の定量規格が一定以上のものを使用することになる。これは、主な試験の実施場所が、日本薬局方規格の原薬を容易に入手できる製薬企業であることを前提に規定されたものであるが、公的試験機関で製剤を試験する場合には、日本薬局方規格の原薬の入手が難しい場合がある。その場合、市販の試薬を原薬の代用とし、改めて日本薬局方に定められた試験を行い、この試薬が原薬の規格を満たすことを確認することになる。

このような場合、原薬の代用とする試薬についてどこまでの試験を実施する必要があるのだろうか。日本薬局方では、目的に応じた考え方(fit for purpose)に沿って試験を行うことが重要となる。したがって、例えば製剤の確認試験において、原

薬が標準物質として指定され、その代わりとして試薬を利用する場合、その試薬が間違いなく原薬と同じ構造を持つことを、原薬の確認試験を実施することで確認する。このものを用いて、例えば薄層クロマトグラフィーや液体クロマトグラフィーで製剤の確認試験が規定されているのであれば、原薬で定められている純度試験や強熱残分試験、定量試験等を行う必要はないことになる。

それでは、製剤の定量的試験を行う際に必要な定量用原薬の代わりに試薬を利用する場合はどうだろうか。その試薬が間違いなく原薬と同じ構造を持つものであることを、まずなんらかの方法で確認し、ついで定量用〇〇として必要な規格、即ち原薬の定量試験を行って、その規格を満たすものであることを確認する必要がある。その場合、脱水物換算が必要であれば、水分含量も確認する必要がある。言い換えれば、もし製剤の定量的試験を行うために原薬でなく試薬で代用する場合、原薬の規格のうち、純度試験や強熱残分等の試験は、製剤の定量値に影響を与えない場合がほとんどであり、このことが明確であれば、目的に応じた考え方に従い、行う必要がないことになる。同様に、原薬が液体クロマトグラフィーを利用した定量試験においてシステムの性能の確認に使用されているときに、試薬で代用する場合、その目的性を考慮すれば、その試薬が原薬と同じ構造を持つことの確認のみが求められることになる。

このように、日本薬局方の試験では、試験の本質をよく考えて実施することが重要で、必要な試験に関して目的に応じた適用を行うことが可能と考えられる。また、試験の本質をよく考えた結果として、日本薬局方の適用方法を変更した場合には、その変更の妥当性について論理的に説明できる必要がある。さらに、医薬品の製造においては、医薬品の品質を担保できる範囲内において、変更が行われるべきである。

「原子量表(2024)」について

日本化学会 原子量専門委員会

元素の原子量は1961年、「質量数12の炭素(^{12}C)の質量を12(端数無し)としたときの相対質量とする」と決められた。以来、質量分析法等の物理的手法による各元素の核種の質量と同位体組成の測定データは質、量ともに格段に向上した。国際純正・応用化学連合(IUPAC)の、原子量および同位体存在度委員会(CIAAW)では、新しく測定されたデータの収集と検討をもとに、2年ごと(奇数年)に原子量表の改定を行っている。これを受けて、日本化学会原子量専門委員会では、毎年4月にその年の原子量表を発表している。以下に示す2024年版の原子量表の数値はIUPACにおいて2021年に承認された原子量の改定^{*1}に基づいている。さらに詳しいことはIUPACのCIAAWの報告書^{*2}および総説^{*3}を参照していただきたい。なお、2019年5月になされた単位の定義改定により、モルの定義はアボガドロ定数に基づく定義へと改定された。これに伴い、従来の $M(^{12}\text{C})=12\text{ g/mol}$ は、不確かさを持つ量となった。ただし、その相対不確かさは 10^{-9} 未満であり、ほとんどの計測において無視できる。

原子量表に記載されている各元素の原子量の値は、単核種元素(一つの安定核種からなる元素)以外の元素では、その元素を含む物質の起源や処理の仕方などによって変わりうる。これは原子量がそれぞれの元素を構成している安定核種の相対存在度(元素の同位体比)に依存するからである。測定技術の進歩によって、各元素の同位体存在度はかならずしも一定ではなく、地球上で起こる様々な過程のために変動し、それが原子量に反映されることがわかってきた。そうした背景から、2009年IUPACは10の元素については原子量を単一の数値ではなく、変動範囲で示すことを決定した^{*4}。日本化学会原子量専門委員会ではこの変更について検討し、「原子量表(2011)」以降、IUPACの方針を反映し、このような元素の原子量を変動範囲で、それ以外の元素については従来通り不確かさを伴う単一の数値で示すことにした。

変動範囲による原子量の表記について

現在、水素、リチウム、ホウ素、炭素、窒素、酸素、マグネシウム、ケイ素、硫黄、塩素、アルゴン、臭素、タリウム、鉛の14元素の原子量に変動範囲で示されている。これらの元素は地球上で採取された試料や試薬中の同位体組成の変動が大きいことが知られている。以前は変動範囲が概ね含まれるように原子量の値とその不確かさが定められ、その範囲に含まれない地質学的試料がある場合には“g”、人為的な同位体分別を受けた試薬が一般的に利用されている可能性がある場合には“m”の注が記された。また、このように変動範囲が大きい測定技術が進歩しても精度のよい原子量を与えることができない元素には“r”という注が記された。例えば水素について様々な試料の同位体組成とそれに対応する原子量を下図に示す。最上段に原子量の変動範囲1.00784~1.00811、次に「原子量表(2010)」の値 1.00794 ± 0.00007 が示されており、その下に様々な試料で測定された値が示されている。黒丸で示された点は代表的な同位体標準物質の値で、水素の同位体組成の測定精度は“best measurement”^{*5}で $\pm 0.000\ 000\ 05$ であり、「原子量表(2010)」までの値に付けられていた不確かさに比べて1/1000以下である。このような状況において不確かさを伴った単一の数値で表記すると、次のような問題点があった：

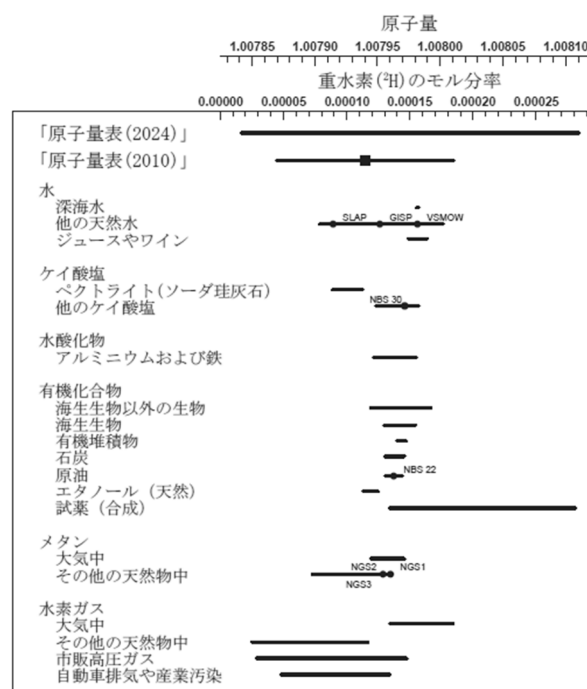
- ・原子量の不確かさを測定精度と誤解される恐れがある。
- ・原子量の値の分布は元素によって様々であり、ガウス分布をするとは限らない。
- ・新しい測定がそれまでの原子量の範囲を超えた場合、その値を含むように不確かさだけでなく原子量の値も変更しなければならない可能性がある。
- ・定められた原子量の値を持つ実際の物質を見つけることはしばしば難しく、場合によっては不可能である。

この改定でこのような元素の原子量は1つの値ではなく、知られているすべての試料の原子量が含まれるように変動範囲で表され、原子量は一定ではないことを明確に示した。また、この変動範囲の中での分布は原子量表には示されておらず、元素によって様々な分布を持っている^{*4,*6}。したがって、下記の点に注意してこの変動範囲を使用する必要がある：

- ・変動範囲の中間点を原子量の値、変動幅の半分を不確かさとして表記しないこと。
- ・上限、下限の値は地球上の通常物質の測定値に測定誤差を加味して定められているが、それ自体の値は不確かさを持っていない。
- ・原子量の値として可能な限りの桁数を与えているので、場合によっては最後の桁がゼロである場合も表記する。

具体的な計算を行う際は下記の例を参考のこと^{*7}：

- ・対象とする元素について由来等の情報がなく原子量表の値



のみから計算する場合は、不確かさや変動範囲で示されている範囲に真の原子量が同じ確率で存在すると考える(長方形分布)。この場合、計算で用いる原子量の値は変動範囲 $[a, b]$ とすると $(a+b)/2$ であり、標準不確かさは $(b-a)/(2\sqrt{3})$ となる。同様に、原子量が $A \pm u$ で表されている元素においても、正規分布ではなく長方形分布であるとする、標準不確かさは $u\sqrt{3}$ となる。

(例) 炭素とモリブデンの原子量

元素	原子量	不確かさの分布	値	標準不確かさ
C	[12.0096, 12.0116]	長方形分布	12.0106	0.0006
Mo	95.95 $\pm$ 0.01	長方形分布	95.95	0.006

- 分子量などを計算する場合は上記の値と標準不確かさを入れ、誤差伝播の式を用いて求める。

$$u^2(M_r) = \sum_E v_E^2 u^2(A_r(E))$$

ここで $u(M_r)$ は分子量の標準不確かさ、 $u(A_r(E))$ は元素 E の標準不確かさ、 v_E は元素 E の係数である。

(例) エタノール(C_2H_6O)の分子量

元素/分子	原子量	不確かさの分布	値	標準不確かさ	係数	不確かさの寄与
C	[12.0096, 12.0116]	長方形分布	12.010 60	0.000 58	2	0.001 15
H	[1.007 84, 1.008 11]	長方形分布	1.007 975	0.000 078	6	0.000 47
O	[15.999 03, 15.999 77]	長方形分布	15.999 40	0.000 22	1	0.000 22
C_2H_6O			46.068 45			0.001 26

※ 炭素の変動範囲が大きいため、エタノールの分子量の標準不確かさの 8 割以上が炭素の寄与である。より精密な分子量が必要な場合は、炭素などの由来を明らかにして文献(例えば^{*6})や実測により変動範囲を絞って計算する必要がある。

- より複雑な計算を行う場合、モンテカルロ法による不確かさの解析も行われる。

- *1. IUPAC Inorganic Chemistry Division, CIAAW: STANDARD ATOMIC WEIGHT OF LEAD REVISED (<https://iupac.org/standard-atomic-weight-of-lead-revised/>) (<https://www.ciaaw.org/atomic-weights.htm>)
- *2. T. Prohaska *et al.*: Standard Atomic Weights of the Elements 2021 (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.*, **94**, 573 (2022). J. Meija *et al.*: Atomic Weights of the Elements 2013 (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.*, **88**, 265 (2016).
- *3. J. R. De Laeter *et al.*: Atomic Weights of the Elements: Review 2000 (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.*, **75**, 683 (2003).
- *4. M. E. Wieser and T. B. Coplen: Atomic Weights of the Elements 2009 (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.*, **83**, 359 (2011).
- *5. M. Berglund and M. E. Wieser: Isotopic Compositions of the Elements 2009 (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.*, **83**, 397 (2011).
- *6. T. B. Coplen and Y. Shrestha: Isotope-abundance variations and atomic weights of selected elements: 2016 (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.*, **88**, 1203 (2016). (Erratum, *Pure Appl. Chem.*, **91**, 173 (2019))
- *7. A. M. H. van der Veen *et al.*: Interpretation and use of standard atomic weights (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.*, **93**, 629 (2021). A. Possolo *et al.*: Interpreting and propagating the uncertainty of the standard atomic weights (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.*, **90**, 395 (2018)

原子量表 (2024)

原子量 $A_r(E)$ を原子番号順に元素名および元素記号と共に示した。元素の英語名のうちよく使われるaluminium(アルミニウム)とcaesium(セシウム)は、aluminumやcesiumと表記される場合もある。原子量は、元素により不確かさ付きの単一の値あるいは範囲で示されている。原子量は、統一原子質量単位に対するその原子の平均質量の比として表される。ここで示した不確かさは、通常の物質に対する不確かさであり、測定の不確かさと天然での変動を考慮して示している。この表の備考は、表中の値を超える変動が認められる元素について、その変動の要因(脚注の対応する記号に記載)を示している。14の元素について、通常の物質中の原子量の変動範囲を4列目に $[a, b]$ で示す。この場合、元素Eの原子量 $A_r(E)$ は $a \leq A_r(E) \leq b$ の範囲にある。ある特定の物質に対してより正確な原子量が知りたい場合には、別途求める必要がある。その他の70元素については、原子量 $A_r(E)$ とその不確かさを示す。

Table 1. Standard atomic weights of the elements (Table of Standard Atomic Weights 2024).

Standard atomic weights, $A_r(E)$, are listed in increasing atomic number (column 1) with the element name (column 2) and element symbol (column 3). Commonly used alternative spellings for aluminium and caesium are aluminum and cesium. Standard atomic weights are given as single values (column 4) with uncertainties (column 5) or as intervals (column 4). Standard atomic weights are expressed as the ratio of the average mass of the atom to the unified atomic mass unit. The stated uncertainties (column 5) are uncertainties for normal materials and include evaluations of measurement uncertainty and natural variability. The footnotes (column 6) to this table elaborate the types of variations that may occur for individual elements and that may lie outside the values listed. Standard atomic weight intervals are given in column 4 with the symbol $[a, b]$ to denote the set of atomic weight values in normal materials for 14 elements($a \leq A_r(E) \leq b$ for element E).

1	2	3	4	5	6
原子量 Atomic number	元素 Element	元素記号 Symbol	原子量 Standard atomic weight	不確かさ Uncertainty‡	備考 Footnote
1	水素	hydrogen	H	[1.007 84, 1.008 11]	m
2	ヘリウム	helium	He	4.002 602	g r
3	リチウム	lithium	Li	[6.938, 6.997]	
4	ベリリウム	beryllium	Be	9.012 1831	m
5	ホウ素	boron	B	[10.806, 10.821]	m
6	炭素	carbon	C	[12.0096, 12.0116]	
7	窒素	nitrogen	N	[14.006 43, 14.007 28]	m
8	酸素	oxygen	O	[15.999 03, 15.999 77]	m
9	フッ素	fluorine	F	18.998 403 162	0.000 000 005
10	ネオン	neon	Ne	20.1797	0.0006
11	ナトリウム	sodium	Na	22.989 769 28	0.000 000 02
12	マグネシウム	magnesium	Mg	[24.304, 24.307]	
13	アルミニウム	aluminium	Al	26.981 5384	0.000 0003
14	ケイ素	silicon	Si	[28.084, 28.086]	
15	リン	phosphorus	P	30.973 761 998	0.000 000 005
16	硫黄	sulfur	S	[32.059, 32.076]	
17	塩素	chlorine	Cl	[35.446, 35.457]	m
18	アルゴン	argon	Ar	[39.792, 39.963]	
19	カリウム	potassium	K	39.0983	0.0001
20	カルシウム	calcium	Ca	40.078	0.004
21	スカンジウム	scandium	Sc	44.955 907	0.000 004
22	チタン	titanium	Ti	47.867	0.001
23	バナジウム	vanadium	V	50.9415	0.0001
24	クロム	chromium	Cr	51.9961	0.0006
25	マンガン	manganese	Mn	54.938 043	0.000 002
26	鉄	iron	Fe	55.845	0.002
27	コバルト	cobalt	Co	58.933 194	0.000 003
28	ニッケル	nickel	Ni	58.6934	0.0004
29	銅	copper	Cu	63.546	0.003
30	亜鉛	zinc	Zn	65.38	0.02
31	ガリウム	gallium	Ga	69.723	0.001
32	ゲルマニウム	germanium	Ge	72.630	0.008
33	ヒ素	arsenic	As	74.921 595	0.000 006
34	セレン	selenium	Se	78.971	0.008
35	臭素	bromine	Br	[79.901, 79.907]	
36	クリプトン	krypton	Kr	83.798	0.002
37	ルビジウム	rubidium	Rb	85.4678	0.0003
38	ストロンチウム	strontium	Sr	87.62	0.01
39	イットリウム	yttrium	Y	88.905 838	0.000 002
40	ジルコニウム	zirconium	Zr	91.224	0.002

41	ニオブ	niobium	Nb	92.906 37	0.000 01	
42	モリブデン	molybdenum	Mo	95.95	0.01	g
43	テクネチウム	technetium*	Tc			
44	ルテニウム	ruthenium	Ru	101.07	0.02	g
45	ロジウム	rhodium	Rh	102.905 49	0.000 02	
46	パラジウム	palladium	Pd	106.42	0.01	g
47	銀	silver	Ag	107.8682	0.0002	g
48	カドミウム	cadmium	Cd	112.414	0.004	g
49	インジウム	indium	In	114.818	0.001	
50	スズ	tin	Sn	118.710	0.007	g
51	アンチモン	antimony	Sb	121.760	0.001	g
52	テルル	tellurium	Te	127.60	0.03	g
53	ヨウ素	iodine	I	126.904 47	0.000 03	
54	キセノン	xenon	Xe	131.293	0.006	g m
55	セシウム	caesium	Cs	132.905 451 96	0.000 000 06	
56	バリウム	barium	Ba	137.327	0.007	
57	ランタン	lanthanum	La	138.905 47	0.000 07	g
58	セリウム	cerium	Ce	140.116	0.001	g
59	プラセオジウム	praseodymium	Pr	140.907 66	0.000 01	
60	ネオジウム	neodymium	Nd	144.242	0.003	g
61	プロメチウム	promethium*	Pm			
62	サマリウム	samarium	Sm	150.36	0.02	g
63	ユウロピウム	europium	Eu	151.964	0.001	g
64	ガドリニウム	gadolinium	Gd	157.25	0.03	g
65	テルビウム	terbium	Tb	158.925 354	0.000 007	
66	ジスプロシウム	dysprosium	Dy	162.500	0.001	g
67	ホルミウム	holmium	Ho	164.930 329	0.000 005	
68	エルビウム	erbium	Er	167.259	0.003	g
69	ツリウム	thulium	Tm	168.934 219	0.000 005	
70	イッテルビウム	ytterbium	Yb	173.045	0.010	g
71	ルテチウム	lutetium	Lu	174.9668	0.0001	g
72	ハフニウム	hafnium	Hf	178.486	0.006	g
73	タンタル	tantalum	Ta	180.947 88	0.000 02	
74	タングステン	tungsten	W	183.84	0.01	
75	レニウム	rhenium	Re	186.207	0.001	
76	オスミウム	osmium	Os	190.23	0.03	g
77	イリジウム	iridium	Ir	192.217	0.002	
78	白金	platinum	Pt	195.084	0.009	
79	金	gold	Au	196.966 570	0.000 004	
80	水銀	mercury	Hg	200.592	0.003	
81	タリウム	thallium	Tl	[204.382, 204.385]		
82	鉛	lead	Pb	[206.14, 207.94]		
83	ビスマス	bismuth*	Bi	208.980 40	0.000 01	
84	ポロニウム	polonium*	Po			
85	アスタチン	astatine*	At			
86	ラドン	radon*	Rn			
87	フランシウム	francium*	Fr			
88	ラジウム	radium*	Ra			
89	アクチニウム	actinium*	Ac			
90	トリウム	thorium*	Th	232.0377	0.0004	g
91	プロトアクチウム	protactinium*	Pa	231.035 88	0.000 01	
92	ウラン	uranium*	U	238.028 91	0.000 03	g m
93	ネプツニウム	neptunium*	Np			
94	プルトニウム	plutonium*	Pu			
95	アメリシウム	americium*	Am			
96	キュリウム	curium*	Cm			
97	バーケリウム	berkelium*	Bk			
98	カリホルニウム	californium*	Cf			
99	アインスタイニウム	einsteinium*	Es			
100	フェルミウム	fermium*	Fm			
101	メンデレビウム	mendelevium*	Md			
102	ノーベリウム	nobelium*	No			
103	ローレンシウム	lawrencium*	Lr			
104	ラザホージウム	rutherfordium*	Rf			
105	ドブニウム	dubnium*	Db			
106	シーボーギウム	seaborgium*	Sg			
107	ボーリウム	bohrium*	Bh			
108	ハッシウム	hassium*	Hs			
109	マイトネリウム	meitnerium*	Mt			
110	ダームスタチウム	darmstadtium*	Ds			

111	レントゲニウム	roentgenium*	Rg
112	コペルニシウム	copernicium*	Cn
113	ニホニウム	nihonium*	Nh
114	フレロビウム	flerovium*	Fl
115	モスコビウム	moscovium*	Mc
116	リバモリウム	livermorium*	Lv
117	テネシン	tennessine*	Ts
118	オガネソン	oganesson*	Og

* : 安定同位体がなく放射性同位体だけがある元素。ただし、Bi, Th, Pa, Uの4元素は例外で、これらの元素は地球上で固有の同位体組成を示すので、原子量が与えられている。

‡ : $A_r(E)$ とその不確かさは、通常物質に与えられたもので、測定の不確かさや原子量が適用可能な天然での変動から評価されている。通常物質中の原子量は、本表で示された最小値と最大値の範囲に高い確度で収まっている。もし $A_r(E)$ の不確かさが、測定可能な原子量の変動を示す目的には大きすぎる場合、個々の試料の測定によって得られる $A_r(E)$ の不確かさはより小さくなることもある。

g : 当該元素の同位体組成が通常物質が示す変動幅を越えるような地質学的なあるいは生物学的な試料が知られている。そのような試料中では当該元素の原子量とこの表の値との差が、表記の不確かさを越えることがある。

m : 不詳な、あるいは不適切な同位体分別を受けたために同位体組成が変動した物質が市販品中に見いだされることがある。そのため、当該元素の原子量が表記の値とかなり異なることがある。

r : 通常の地球上の物質の同位体組成に変動があるために表記の原子量より精度の良い値を与えることができない。表中の原子量および不確かさは通常物質に適用されるものとする。

* : Element has no stable isotope, only radioactive isotopes. For four elements (Bi, Th, Pa, and U) a standard atomic weight is tabulated because these elements have a characteristic terrestrial isotopic composition; for the other 34 elements a standard atomic weight cannot be determined.

‡ : $A_r(E)$ values and their uncertainties are given for normal materials and include evaluations of measurement uncertainty as well as natural variations in atomic weight where applicable. The atomic weight of a normal material is expected to lie within the lower and upper endpoints of the standard atomic weight with great certitude. If the uncertainty in $A_r(E)$ is considered too large for a user's purpose for an element with measurable variations in atomic weight, a value of $A_r(E)$ with a lower uncertainty might be obtained by measurement of an individual specimen.

g : Geological and biological materials are known in which the element has an isotopic composition outside the limits for normal material. The difference between the atomic weight of the element in such materials and that given in the table may exceed the stated uncertainty.

m : Modified isotopic compositions may be found in commercially available material because the material has been subjected to some undisclosed or inadvertent isotopic fractionation. Substantial deviations in atomic weight of the element from that given in the table can occur.

r : Range in isotopic composition of normal terrestrial material prevents a more precise standard atomic weight being given; the tabulated value and uncertainty should be applicable to normal material.

原子量表(2010)

(元素の原子量は、質量数12の炭素 (^{12}C) を12とし、これに対する相対値とする、ただし、 ^{12}C は核及び電子が基底状態にある中性原子である。)

多くの元素の原子量は一定ではなく、物質の起源や処理の仕方に依存する。原子量とその不確かさ[#]は地球上に起源をもち、天然に存在する物質中の元素に適用される。この表の脚注には、個々の元素に起こりうるもので、原子量に付随する不確かさを越える可能性のある変動の様式が示されている。原子番号112から118までの元素名は暫定的なものである。

元素名	元素記号	原子番号	原子量	脚注
アインスタイニウム [*]	Es	99		
亜鉛	Zn	30	65.38(2)	r
アクチニウム [*]	Ac	89		
アスタチン [*]	At	85		
アメリシウム [*]	Am	95		
アルゴン	Ar	18	39.948(1)	g r
アルミニウム	Al	13	26.9815386(8)	
アンチモン	Sb	51	121.760(1)	g
硫黄	S	16	32.065(5)	g r
イッテルビウム	Yb	70	173.054(5)	g
イットリウム	Y	39	88.90585(2)	
イリジウム	Ir	77	192.217(3)	
インジウム	In	49	114.818(3)	
ウラン [*]	U	92	238.02891(3)	g m
ウンウンオクチウム [*]	Uuo	118		
ウンウンクアジウム [*]	Uuq	114		
ウンウントリウム [*]	Uut	113		
ウンウンヘキシウム [*]	Uuh	116		
ウンウンペンチウム [*]	Uup	115		
エルビウム	Er	68	167.259(3)	g
塩素	Cl	17	35.453(2)	g m r
オスミウム	Os	76	190.23(3)	g
カドミウム	Cd	48	112.411(8)	g
ガドリニウム	Gd	64	157.25(3)	g
カリウム	K	19	39.0983(1)	
ガリウム	Ga	31	69.723(1)	
カリホルニウム [*]	Cf	98		
カルシウム	Ca	20	40.078(4)	g
キセノン	Xe	54	131.293(6)	g m
キュリウム [*]	Cm	96		
金	Au	79	196.966569(4)	
銀	Ag	47	107.8682(2)	g
クリプトン	Kr	36	83.798(2)	g m
クロム	Cr	24	51.9961(6)	
ケイ素	Si	14	28.0855(3)	r
ゲルマニウム	Ge	32	72.64(1)	
コバルト	Co	27	58.933195(5)	
コペルニシウム [*]	Cn	112		
サマリウム	Sm	62	150.36(3)	g
酸素	O	8	15.9994(3)	g r
ジスプロシウム	Dy	66	162.500(1)	g
シーボーギウム [*]	Sg	106		
臭素	Br	35	79.904(1)	
ジルコニウム	Zr	40	91.224(2)	g
水銀	Hg	80	200.59(2)	
水素	H	1	1.00794(7)	g m r
スカンジウム	Sc	21	44.955912(6)	
スズ	Sn	50	118.710(7)	g
ストロンチウム	Sr	38	87.62(1)	g r
セシウム	Cs	55	132.9054519(2)	
セリウム	Ce	58	140.116(1)	g
セレン	Se	34	78.96(3)	r

元素名	元素記号	原子番号	原子量	脚注
ダームスタチウム [*]	Ds	110		
タリウム	Tl	81	204.3833(2)	
タングステン	W	74	183.84(1)	
炭素	C	6	12.0107(8)	g r
タンタル	Ta	73	180.94788(2)	
チタン	Ti	22	47.867(1)	
窒素	N	7	14.0067(2)	g r
ツリウム	Tm	69	168.93421(2)	
テクネチウム [*]	Tc	43		
鉄	Fe	26	55.845(2)	
テルビウム	Tb	65	158.92535(2)	
テルル	Te	52	127.60(3)	g
銅	Cu	29	63.546(3)	r
ドブニウム [*]	Db	105		
トリウム [*]	Th	90	232.03806(2)	g
ナトリウム	Na	11	22.98976928(2)	
鉛	Pb	82	207.2(1)	g r
ニオブ	Nb	41	92.90638(2)	
ニッケル	Ni	28	58.6934(4)	r
ネオジム	Nd	60	144.242(3)	g
ネオン	Ne	10	20.1797(6)	g m
ネプツニウム [*]	Np	93		
ノーベリウム [*]	No	102		
バークリウム [*]	Bk	97		
白金	Pt	78	195.084(9)	
ハッシウム [*]	Hs	108		
バナジウム	V	23	50.9415(1)	
ハフニウム	Hf	72	178.49(2)	
パラジウム	Pd	46	106.42(1)	g
バリウム	Ba	56	137.327(7)	
ビスマス [*]	Bi	83	208.98040(1)	
ヒ素	As	33	74.92160(2)	
フェルミウム [*]	Fm	100		
フッ素	F	9	18.9984032(5)	
プラセオジム	Pr	59	140.90765(2)	
フランシウム [*]	Fr	87		
プルトニウム [*]	Pu	94		
プロトアクチニウム [*]	Pa	91	231.03588(2)	
プロメチウム [*]	Pm	61		
ヘリウム	He	2	4.002602(2)	g r
ベリリウム	Be	4	9.012182(3)	
ホウ素	B	5	10.811(7)	g m r
ボーリウム [*]	Bh	107		
ホルミウム	Ho	67	164.93032(2)	
ポロニウム [*]	Po	84		
マイトネリウム [*]	Mt	109		
マグネシウム	Mg	12	24.3050(6)	
マンガン	Mn	25	54.938045(5)	
メンデレビウム [*]	Md	101		
モリブデン	Mo	42	95.96(2)	g r
ユウロピウム	Eu	63	151.964(1)	g
ヨウ素	I	53	126.90447(3)	
ラザホージウム [*]	Rf	104		
ラジウム [*]	Ra	88		
ラドン [*]	Rn	86		
ランタン	La	57	138.90547(7)	g
リチウム	Li	3	[6.941(2)] [†]	g m r
リン	P	15	30.973762(2)	
ルテチウム	Lu	71	174.9668(1)	g
ルテニウム	Ru	44	101.07(2)	g
ルビジウム	Rb	37	85.4678(3)	g
レニウム	Re	75	186.207(1)	
レントゲニウム [*]	Rg	111		
ロジウム	Rh	45	102.90550(2)	
ローレンシウム [*]	Lr	103		

: 不確かさは()内の数字で表され、有効数字の最後の桁に対応する。例えば、亜鉛の場合の65.38(2)は65.38±0.02を意味する。

*：安定同位体のない元素。これらの元素については原子量が示されていないが、プロトアクチニウム、トリウム、ウランは例外で、これらの元素は地球上で固有の同位体組成を示すので原子量が与えられている。

†：市販品中のリチウム化合物中のリチウムの原子量は6.939から6.996の幅をもつ(「元素の同位体組成表2010」の注bを参照)。より正確な原子量が必要な場合は、個々の物質について測定する必要がある。

g：当該元素の同位体組成が正常な物質が示す変動幅を越えるような地質学的試料が知られている。そのような試料中では当該元素の原子量とこの表の値との差が、表記の不確かさを越えることがある。

m：不詳な、あるいは不適切な同位体分別を受けたために同位体組成が変動した物質が市販品中に見いだされることがある。そのため、当該元素の原子量が表記の値とかなり異なることがある。

r：通常の地球上の物質の同位体組成に変動があるために表記の原子量より精度の良い値を与えることができない。表中の原子量は通常の物質すべてに適用されるものとする。

©2010 日本化学会 原子量委員会

Standard Atomic Weights 2010

(Scaled to $A_r(^{12}\text{C})=12$, where ^{12}C is a neutral atom in its nuclear and electronic ground state)

The atomic weights of many elements are not invariant but depend on the origin and treatment of the material. The standard values of $A_r(\text{E})$ and the uncertainties (in parentheses, following the last significant figure to which they are attributed) apply to elements of natural terrestrial origin. The footnotes to this table elaborate the types of variation which may occur for individual elements and which may be larger than the listed uncertainties of values of $A_r(\text{E})$. Names of elements with atomic number 112 to 118 are provisional.

Name	Symbol	Atomic Number	Atomic Weight	Footnotes
Hydrogen	H	1	1.00794 (7)	g m r
Helium	He	2	4.002602 (2)	g r
Lithium	Li	3	[6.941 (2)] [†]	g m r
Beryllium	Be	4	9.012182 (3)	
Boron	B	5	10.811 (7)	g m r
Carbon	C	6	12.0107 (8)	g r
Nitrogen	N	7	14.0067 (2)	g r
Oxygen	O	8	15.9994 (3)	g r
Fluorine	F	9	18.9984032 (5)	
Neon	Ne	10	20.1797 (6)	g m
Sodium	Na	11	22.98976928 (2)	
Magnesium	Mg	12	24.3050 (6)	
Aluminium	Al	13	26.9815386 (8)	
Silicon	Si	14	28.0855 (3)	r
Phosphorus	P	15	30.973762 (2)	
Sulfur	S	16	32.065 (5)	g r
Chlorine	Cl	17	35.453 (2)	g m r
Argon	Ar	18	39.948 (1)	g r
Potassium	K	19	39.0983 (1)	
Calcium	Ca	20	40.078 (4)	g
Scandium	Sc	21	44.955912 (6)	
Titanium	Ti	22	47.867 (1)	
Vanadium	V	23	50.9415 (1)	
Chromium	Cr	24	51.9961 (6)	
Manganese	Mn	25	54.938045 (5)	
Iron	Fe	26	55.845 (2)	
Cobalt	Co	27	58.933195 (5)	
Nickel	Ni	28	58.6934 (4)	r
Copper	Cu	29	63.546 (3)	r
Zinc	Zn	30	65.38 (2)	r
Gallium	Ga	31	69.723 (1)	
Germanium	Ge	32	72.64 (1)	
Arsenic	As	33	74.92160 (2)	
Selenium	Se	34	78.96 (3)	r
Bromine	Br	35	79.904 (1)	
Krypton	Kr	36	83.798 (2)	g m
Rubidium	Rb	37	85.4678 (3)	g
Strontium	Sr	38	87.62 (1)	g r
Yttrium	Y	39	88.90585 (2)	
Zirconium	Zr	40	91.224 (2)	g
Niobium	Nb	41	92.90638 (2)	
Molybdenum	Mo	42	95.96 (2)	g r
Technetium*	Tc	43		
Ruthenium	Ru	44	101.07 (2)	g
Rhodium	Rh	45	102.90550 (2)	
Palladium	Pd	46	106.42 (1)	g
Silver	Ag	47	107.8682 (2)	g

Name	Symbol	Atomic Number	Atomic Weight	Footnotes
Cadmium	Cd	48	112.411 (8)	g
Indium	In	49	114.818 (3)	
Tin	Sn	50	118.710 (7)	g
Antimony	Sb	51	121.760 (1)	g
Tellurium	Te	52	127.60 (3)	g
Iodine	I	53	126.90447 (3)	
Xenon	Xe	54	131.293 (6)	g m
Caesium (Cesium)	Cs	55	132.9054519 (2)	
Barium	Ba	56	137.327 (7)	
Lanthanum	La	57	138.90547 (7)	g
Cerium	Ce	58	140.116 (1)	g
Praseodymium	Pr	59	140.90765 (2)	
Neodymium	Nd	60	144.242 (3)	g
Promethium*	Pm	61		
Samarium	Sm	62	150.36 (2)	g
Europium	Eu	63	151.964 (1)	g
Gadolinium	Gd	64	157.25 (3)	g
Terbium	Tb	65	158.92535 (2)	
Dysprosium	Dy	66	162.500 (1)	g
Holmium	Ho	67	164.93032 (2)	
Erbium	Er	68	167.259 (3)	g
Thulium	Tm	69	168.93421 (2)	
Ytterbium	Yb	70	173.054 (5)	g
Lutetium	Lu	71	174.9668 (1)	g
Hafnium	Hf	72	178.49 (2)	
Tantalum	Ta	73	180.94788 (2)	
Tungsten	W	74	183.84 (1)	
Rhenium	Re	75	186.207 (1)	
Osmium	Os	76	190.23 (3)	g
Iridium	Ir	77	192.217 (3)	
Platinum	Pt	78	195.084 (9)	
Gold	Au	79	196.966569 (4)	
Mercury	Hg	80	200.59 (2)	
Thallium	Tl	81	204.3833 (2)	
Lead	Pb	82	207.2 (1)	g r
Bismuth*	Bi	83	208.98040 (1)	
Polonium*	Po	84		
Astatine*	At	85		
Radon*	Rn	86		
Francium*	Fr	87		
Radium*	Ra	88		
Actinium*	Ac	89		
Thorium*	Th	90	232.03806 (2)	g
Protactinium*	Pa	91	231.03588 (2)	
Uranium*	U	92	238.02891 (3)	g m
Neptunium*	Np	93		
Plutonium*	Pu	94		
Americium*	Am	95		
Curium*	Cm	96		
Berkelium*	Bk	97		
Californium*	Cf	98		
Einsteinium*	Es	99		
Fermium*	Fm	100		
Mendelevium*	Md	101		
Nobelium*	No	102		
Lawrencium*	Lr	103		
Rutherfordium*	Rf	104		
Dubnium*	Db	105		
Seaborgium*	Sg	106		
Bohrium*	Bh	107		
Hassium*	Hs	108		
Meitnerium*	Mt	109		
Darmstadtium*	Ds	110		
Roentgenium	Rg	111		
Copernicium*	Cn	112		
Ununtrium*	Uut	113		
Ununquadium*	Uuq	114		

Name	Symbol	Atomic Number	Atomic Weight	Footnotes
Ununpentium*	Uup	115		
Ununhexium*	Uuh	116		
Ununoctium*	Uuo	118		

* : Element has no stable isotopes.

† : Commercially available Li materials have atomic weights that range between 6.939 and 6.996 ; if a more accurate value is required, it must be determined for the specific material.

g : Geological specimens are known in which the element has an isotopic composition outside the limits for normal material. The difference between the atomic weight of the element in such specimens and that given in the table may exceed the stated uncertainty.

m : Modified isotopic compositions may be found in commercially available material because it has been subjected to an undisclosed or inadvertent isotopic fractionation. Substantial deviations in atomic weight of the element from that given in the table can occur.

r : Range in isotopic composition of normal terrestrial material prevents a more precise $A_r(E)$ being given ; the tabulated $A_r(E)$ value should be applicable to any normal material.

©2010日本化学会 原子量小委員会

日 本 名 索 引

*イタリック体は製剤総則，一般試験法及び参考情報の頁，ボールドイタリック体は医薬品各条の頁を示す。

ア

ICP分析用水 219
 ICP分析用パラジウム標準液 216
 アウリントリカルボン酸アンモニウム 219
 亜鉛 219
 亜鉛(標準試薬) 219
 亜鉛，ヒ素分析用 219
 亜鉛，無ヒ素 219
 0.1 mol/L亜鉛液 205
 亜鉛華 899
 亜鉛華デンプン 411
 亜鉛華軟膏 411
 亜鉛標準液 216
 亜鉛標準液，原子吸光度用 216
 亜鉛標準原液 216
 亜鉛粉末 219
 亜鉛末 219
 アカメガシワ 1895
 アクチノマイシンD 411
 アクテオシド，薄層クロマトグラフィー用 219
 アクラルピシン塩酸塩 412
 アクリノール 219
 アクリノール・亜鉛華軟膏 414
 アクリノール・チンク油 414
 アクリノール酸化亜鉛軟膏 414
 アクリノール水和物 219, 413
 アクリルアミド 219
 アコニチン，純度試験用 219
 アザチオプリン 415
 アザチオプリン錠 416
 アサリニン，薄層クロマトグラフィー用 220
 (E)-アサロン 220
 亜酸化窒素 220, 417
 アジ化ナトリウム 220
 アジ化ナトリウム・リン酸塩緩衝塩化ナトリウム試液 220
 アシクロビル 418
 アシクロビル顆粒 420
 アシクロビル眼軟膏 423
 アシクロビル錠 419
 アシクロビルシロップ 420
 アシクロビル注射液 422
 アシクロビル軟膏 423
 アジスロマイシン水和物 424

亜ジチオン酸ナトリウム 220
 2,2'-アジノビス(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸)二アンモニウム 220
 2,2'-アジノビス(3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸)二アンモニウム試液 220
 アジピン酸 220
 アジマリン 424
 アジマリン，定量用 220
 アジマリン錠 425
 亜硝酸アミル 425
 亜硝酸カリウム 220
 亜硝酸ナトリウム 221
 0.1 mol/L亜硝酸ナトリウム液 206
 亜硝酸ナトリウム試液 221
 アスコルビン酸 221, 426
 L-アスコルビン酸 221
 アスコルビン酸，鉄試験用 221
 アスコルビン酸・塩酸試液，0.012 g/dL 221
 L-アスコルビン酸・塩酸試液，0.012 g/dL 221
 アスコルビン酸・塩酸試液，0.02 g/dL 221
 L-アスコルビン酸・塩酸試液，0.02 g/dL 221
 アスコルビン酸・塩酸試液，0.05 g/dL 221
 L-アスコルビン酸・塩酸試液，0.05 g/dL 221
 アスコルビン酸・パントテン酸カルシウム錠 428
 アスコルビン酸散 426
 アスコルビン酸注射液 427
 アストラガロシドIV，薄層クロマトグラフィー用 221
 アズトレオナム 429
 L-アスパラギン-水和物 221
 アスパラギン酸 221
 DL-アスパラギン酸 221
 L-アスパラギン酸 221, 431
 アスピリン 221, 431
 アスピリンアルミニウム 433
 アスピリン錠 432
 アスピリン腸溶錠 432
 アスポキシシリン水和物 434
 アセタゾラミド 435
 アセタール 221
 アセチルアセトン 221
 アセチルアセトン試液 221
 N-アセチルガラクトサミン 221
 アセチルサリチル酸 431
 アセチルサリチル酸アルミニウム 433
 アセチルサリチル酸錠 432

アセチルシステイン 437
N-アセチルノイラミン酸 221
N-アセチルノイラミン酸, エポエチンアルファ用 221
N-アセチルノイラミン酸試液, 0.4 mmol/L 221
 アセチレン 221
o-アセトアニシジド 221
p-アセトアニシジド 221
 アセトアニリド 222
 アセトアミノフェン 222, 437
 アセトアルデヒド 222
 アセトアルデヒド, ガスクロマトグラフィー用 222
 アセトアルデヒド, 定量用 222
 アセトアルデヒドアンモニアトリマー三水和物 222
 アセトニトリル 222
 アセトニトリル, 液体クロマトグラフィー用 222
 アセトヘキサミド 438
 アセトリゾン酸 222
 アセトン 222
 アセトン, 生薬純度試験用 222
 アセトン, 非水滴定用 222
 アセナフテン 222
 アセプトロール塩酸塩 440
 アセメタシン 223, 440
 アセメタシン, 定量用 223
 アセメタシンカプセル 442
 アセメタシン錠 441
 アゼラスチン塩酸塩 443
 アゼラスチン塩酸塩, 定量用 223
 アゼラスチン塩酸塩顆粒 443
 アゼルニジピン 444
 アゼルニジピン, 定量用 223
 アゼルニジピン錠 445
 亜セレン酸 223
 亜セレン酸・硫酸試液 223
 亜セレン酸ナトリウム 223
 アセンヤク 1895
 阿仙薬 1895
 アセンヤク末 1895
 阿仙薬末 1895
 アゾセミド 446
 アゾセミド, 定量用 223
 アゾセミド錠 447
 アテノロール 448
 亜テルル酸カリウム 223
 アトラクチレノリドⅢ, 定量用 223
 アトラクチレノリドⅢ, 薄層クロマトグラフィー用 224
 アトラクチロジン, 定量用 224
 アトラクチロジン試液, 定量用 226
 アトルバスタチンカルシウム錠 450
 アトルバスタチンカルシウム水和物 449
 アドレナリン 451
 アドレナリン液 452
 アドレナリン注射液 452
 アトロピン硫酸塩水和物 226, 453

アトロピン硫酸塩水和物, 定量用 226
 アトロピン硫酸塩水和物, 薄層クロマトグラフィー用 226
 アトロピン硫酸塩注射液 453
 アナストロゾール 454
 アナストロゾール錠 455
p-アニスアルデヒド 226
p-アニスアルデヒド・酢酸試液 226
p-アニスアルデヒド・硫酸試液 226
 14-アニソイルアコニン塩酸塩 226
 14-アニソイルアコニン塩酸塩, 定量用 226
 アニソール 226
 アニリン 226
 アニリン硫酸塩 226
 アネスタミン 472
 亜ヒ酸 pasta 457
 アビジン・ビオチン試液 226
 アプリンジン塩酸塩 457
 アプリンジン塩酸塩, 定量用 226
 アプリンジン塩酸塩カプセル 458
 アフロキサロン 459
 アプロチニン 227
 アプロチニン試液 227
 アヘン・トコン散 1897
 アヘンアルカロイド・アトロピン注射液 461
 アヘンアルカロイド・スコボラミン注射液 462
 アヘンアルカロイド塩酸塩 460
 アヘンアルカロイド塩酸塩注射液 461
 アヘン散 1896
 アヘンチンキ 1896
 アヘン末 1895
 α-アポオキシテトラサイクリン 227
 β-アポオキシテトラサイクリン 227
 アマチャ 1897
 甘茶 1897
 アマチャジヒドロイソクマリン,
 薄層クロマトグラフィー用 227
 アマチャ末 1897
 甘茶末 1897
 アマンタジン塩酸塩 465
 アミオダロン塩酸塩 466
 アミオダロン塩酸塩, 定量用 227
 アミオダロン塩酸塩錠 467
 アミカシン硫酸塩 468
 アミカシン硫酸塩注射液 469
 アミグダリン, 成分含量測定用 227
 アミグダリン, 定量用 227
 アミグダリン, 薄層クロマトグラフィー用 228
 6-アミジノー-2-ナフトールメタンスルホン酸塩 228
 アミドトリゾ酸 470
 アミドトリゾ酸, 定量用 228
 アミドトリゾ酸ナトリウムメグルミン注射液 470
 アミトリプチリン塩酸塩 471
 アミトリプチリン塩酸塩錠 472
 アミド硫酸(標準試薬) 228

アミド硫酸アンモニウム	229	N-アミノヘキサメチレンイミン	230
アミド硫酸アンモニウム試液	229	2-アミノベンズイミダゾール	230
4-アミノアセトフェノン	229	4-アミノメチル安息香酸	230
p-アミノアセトフェノン	229	1-アミノ-2-メチルナフタレン	230
4-アミノアセトフェノン試液	229	2-アミノメチルピペリジン	230
p-アミノアセトフェノン試液	229	4-アミノ酪酸	231
3-アミノ安息香酸	229	n-アミルアルコール	231
4-アミノ安息香酸	229	t-アミルアルコール	231
p-アミノ安息香酸	229	アミルアルコール, イソ	231
4-アミノ安息香酸イソプロピル	229	アミルアルコール, 第三	231
p-アミノ安息香酸イソプロピル	229	アミローストリス-(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)	
アミノ安息香酸エチル	229, 472	被覆シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	401
4-アミノ安息香酸メチル	229	アムホテリシンB	474
アミノ安息香酸誘導体化試液	229	アムホテリシンB錠	475
4-アミノアンチピリン	229	アムホテリシンBシロップ	475
4-アミノアンチピリン塩酸塩	229	アムロジピンベシル酸塩	476
4-アミノアンチピリン塩酸塩試液	229	アムロジピンベシル酸塩口腔内崩壊錠	478
4-アミノアンチピリン試液	229	アムロジピンベシル酸塩錠	477
2-アミノエタノール	229	アモキサピン	479
2-アミノエタンチオール塩酸塩	229	アモキシシリン	231
3-(2-アミノエチル)インドール	229	アモキシシリンカプセル	481
アミノエチルスルホン酸	1110	アモキシシリン水和物	231, 480
ε-アミノカプロン酸	229	アモスラロール塩酸塩	482
6-アミノキノリル-N-ヒドロキシスクシンイミジル		アモスラロール塩酸塩, 定量用	231
カルバメート	229	アモスラロール塩酸塩錠	483
4-アミノ-6-クロロベンゼン-1,3-		アモバルビタール	484
ジスルホンアミド	229	アラキジン酸メチル, ガスクロマトグラフィー用	231
2-アミノ-5-クロロベンゾフェノン,		アラセブリン	231, 485
薄層クロマトグラフィー用	229	アラセブリン, 定量用	231
アミノ酸自動分析用6 mol/L塩酸試液	229	アラセブリン錠	486
アミノ酸分析法〈G3-2-171〉	2591	β-アラニン	231
アミノ酸分析用無水ヒドラジン	229	L-アラニン	231, 487
4-アミノ-N,N-ジエチルアニリン硫酸塩一水和物	229	アラビアゴム	1898
4-アミノ-N,N-ジエチルアニリン硫酸塩試液	229	アラビアゴム末	1898
L-2-アミノスベリン酸	229	L-アラビノース	231
1-アミノ-2-ナフトール-4-スルホン酸	229	アラントイン, 薄層クロマトグラフィー用	231
1-アミノ-2-ナフトール-4-スルホン酸試液	229	アリザリンS	231
2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-		アリザリンS試液	231
プロパンジオール	229	アリザリンエローGG	231
2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-		アリザリンエローGG・チモールフタレイン試液	231
プロパンジオール塩酸塩	229	アリザリンエローGG試液	231
2-アミノピリジン	230	アリザリンコンプレキソン	231
アミノピリン	230	アリザリンコンプレキソン試液	231
アミノフィリン水和物	473	アリザリンレッドS	231
アミノフィリン注射液	473	アリザリンレッドS試液	231
2-アミノフェノール	230	アリストロキア酸 I, 生薬純度試験用	231
3-アミノフェノール	230	アリストロキア酸について〈G5-4-141〉	2699
4-アミノフェノール	230	アリソールA, 薄層クロマトグラフィー用	232
m-アミノフェノール	230	アリソールB	232
4-アミノフェノール塩酸塩	230	アリソールBモノアセテート	232
2-アミノ-1-ブタノール	230	アリピブラゾール	488
アミノプロピルシリル化シリカゲル,		アリピブラゾール錠	489
液体クロマトグラフィー用	401	アリメマジン酒石酸塩	491
アミノプロピルシリル化シリカゲル, 前処理用	230	亜硫酸塩標準液	216

亜硫酸オキシダーゼ	232	アルブチン, 薄層クロマトグラフィー用	235
亜硫酸オキシダーゼ試液	232	アルブミン試液	235
亜硫酸水	232	アルブラゾラム	497
亜硫酸水素ナトリウム	232, 492	アルブレノロール塩酸塩	498
亜硫酸水素ナトリウム試液	232	アルブロスタジル	498
亜硫酸ナトリウム	232	アルブロスタジル アルファデクス	501
亜硫酸ナトリウム, 無水	232	アルブロスタジル注射液	499
亜硫酸ナトリウム・リン酸二水素ナトリウム試液	232	アルベカシン硫酸塩	502
亜硫酸ナトリウム試液, 1 mol/L	232	アルベカシン硫酸塩注射液	504
亜硫酸ナトリウム七水和物	232	α -アルミナ, 比表面積測定用	407
亜硫酸ビスマス・インジケーター	232	アルミニウム	235
アルガトロバン水和物	492	アルミニウム標準液, 原子吸光光度用	217
アルカリ性1.6%過ヨウ素酸カリウム・		アルミニウム標準原液	217
0.2%過マンガン酸カリウム試液	232	アルミノプロフェン	504
アルカリ性1,3-ジニトロベンゼン試液	232	アルミノプロフェン, 定量用	235
アルカリ性 <i>m</i> -ジニトロベンゼン試液	232	アルミノプロフェン錠	505
アルカリ性銅試液	232	アルミノン	235
アルカリ性銅試液(2)	232	アルミノン試液	235
アルカリ性銅溶液	232	アレコリン臭化水素酸塩, 薄層クロマトグラフィー用	235
アルカリ性2,4,6-トリニトロフェノール試液	232	アレンドロン酸ナトリウム錠	507
アルカリ性ピクリン酸試液	232	アレンドロン酸ナトリウム水和物	235, 506
アルカリ性ヒドロキシルアミン試液	232	アレンドロン酸ナトリウム注射液	508
アルカリ性フェノールフタレイン試液	233	アロエ	1899
アルカリ性フェリシアン化カリウム試液	233	アロエ末	1900
アルカリ性ブルーテトラゾリウム試液	233	アロチノロール塩酸塩	509
アルカリ性ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム試液	233	アロプリノール	235, 509
アルカリ性ホスファターゼ	233	アロプリノール, 定量用	235
アルカリ性ホスファターゼ試液	233	アロプリノール錠	510
アルカリ性硫酸銅試液	233	安息香酸	235, 511
アルカリ銅試液	233	安息香酸, 定量用	235
L-アルギニン	233, 494	安息香酸イソアミル	236
L-アルギニン塩酸塩	233, 494	安息香酸イソプロピル	236
L-アルギニン塩酸塩注射液	495	安息香酸エチル	236
アルキレングリコールフタル酸エステル,		安息香酸コレステロール	236
ガスクロマトグラフィー用	233	安息香酸ナトリウム	236, 511
アルコール	615	安息香酸ナトリウムカフェイン	512
アルコール数測定法	23	安息香酸フェニル	236
アルコール数測定用エタノール	233	安息香酸ブチル	236
アルゴン	233	安息香酸プロピル	236
アルシアンブルー-8GX	233	安息香酸ベンジル	236, 513
アルシアンブルー染色液	233	安息香酸メチル	236
アルジオキサ	495	安息香酸メチル, エストリオール試験用	236
アルジオキサ, 定量用	233	アンソッコウ	1900
アルジオキサ顆粒	496	安息香	1900
アルジオキサ錠	496	アンチトロピンⅢ	236
アルセナゾⅢ	233	アンチトロピンⅢ試液	236
アルセナゾⅢ試液	233	アンチピリン	236, 513
アルデヒドデヒドロゲナーゼ	233	アントロン	236
アルデヒドデヒドロゲナーゼ試液	233	アントロン試液	236
アルテミシア・アルギイ, 純度試験用	233	アンピシリン	514
RPMI-1640粉末培地	233	アンピシリン水和物	515
アルビフロリン	233	アンピシリンナトリウム	516
アルブチン, 成分含量測定用	234	アンピロキシカム	519
アルブチン, 定量用	234	アンピロキシカム, 定量用	236

アンピロキシカムカプセル	520
アンペニウム塩化物	520
アンミントリクロロ白金酸アンモニウム, 液体クロマトグラフィー用	236
アンモニア・ウイキョウ精	1901
アンモニア・エタノール試液	237
アンモニア・塩化アンモニウム緩衝液, pH 8.0	237
アンモニア・塩化アンモニウム緩衝液, pH 10.0	237
アンモニア・塩化アンモニウム緩衝液, pH 10.7	237
アンモニア・塩化アンモニウム緩衝液, pH 11.0	237
アンモニア・酢酸アンモニウム緩衝液, pH 8.0	237
アンモニア・酢酸アンモニウム緩衝液, pH 8.5	237
アンモニアガス	237
アンモニア試液	237
アンモニア試液, 1 mol/L	237
アンモニア試液, 13.5 mol/L	237
アンモニア水	237, 521
アンモニア水(25)	237
アンモニア水(28)	237
アンモニア水, 1 mol/L	237
アンモニア水, 13.5 mol/L	237
アンモニア水, 強	237
アンモニア銅試液	237
アンモニア飽和1-ブタノール試液	237
アンモニウム試験法	24
アンモニウム試験用次亜塩素酸ナトリウム試液	237
アンモニウム試験用水	237
アンモニウム試験用精製水	237
アンモニウム標準液	217

イ

EMB平板培地	237
イオウ	237, 521
硫黄	237
イオウ・カンフルローション	522
イオウ・サリチル酸・チアントール軟膏	522
イオタラム酸	523
イオタラム酸, 定量用	237
イオタラム酸ナトリウム注射液	523
イオタラム酸メグルミン注射液	524
イオトロクス酸	525
イオパミドール	526
イオパミドール, 定量用	237
イオパミドール注射液	527
イオヘキソール	528
イオヘキソール注射液	530
イカリイン, 薄層クロマトグラフィー用	237
イクタモール	530
イーグル最少必須培地	237
イーグル最小必須培地, ウシ血清加	238
イコサペント酸エチル	531
イコサペント酸エチルカプセル	532
イサチン	238

イスコフ改変ダルベッコ液体培地, フィルグラスチム用	238
イスコフ改変ダルベッコ粉末培地	238
イセパマイシン硫酸塩	533
イセパマイシン硫酸塩注射液	534
イソamilアルコール	238
イソオクタン	238
イソクスプリン塩酸塩	535
イソクスプリン塩酸塩, 定量用	238
イソクスプリン塩酸塩錠	535
(S)-イソシアン酸1-フェニルエチルエステル	238
イソソルビド	536
イソニアジド	238, 537
イソニアジド, 定量用	238
イソニアジド試液	238
イソニアジド錠	537
イソニアジド注射液	538
イソニコチン酸	238
イソニコチン酸アミド	238
(E)-イソフェルラ酸	238
(E)-イソフェルラ酸・(E)-フェルラ酸混合試液, 薄層クロマトグラフィー用	238
イソフェンインスリン ヒト(遺伝子組換え) 水性懸濁注射液	578
イソブタノール	239
イソフルラン	539
1-イソプレナリン塩酸塩	540
イソプロパノール	239, 541
イソプロパノール, 液体クロマトグラフィー用	239
イソプロピルアミン	239
イソプロピルアミン・エタノール試液	239
イソプロピルアルコール	541
イソプロピルアンチピリン	541
イソプロピルエーテル	239
4-イソプロピルフェノール	239
イソプロメタジン塩酸塩, 薄層クロマトグラフィー用	239
イソマル	542
イソマル水和物	542
イソマルト	239
L-イソロイシン	239, 543
L-イソロイシン, 定量用	239
イソロイシン・ロイシン・バリン顆粒	544
イダルビシン塩酸塩	545
一次抗体試液	239
一硝酸イソソルビド, 定量用	239
一硝酸イソソルビド錠	549
70%-一硝酸イソソルビド乳糖末	547
胃腸薬のpH試験法 (G6-6-131)	2723
一酸化炭素	239
一酸化炭素, 空気-ヘリウム標準混合ガス	239
一酸化炭素測定用検知管	407
一酸化窒素	239
一酸化鉛	239
一臭化ヨウ素	239
一般試験法	23

遺伝子解析による微生物の迅速同定法 (G4-7-190)	2677
遺伝子情報を利用する生薬の純度試験 (G5-6-172)	2702
イドクスウリジン	550
イドクスウリジン点眼液	550
イトラコナゾール	551
イフェンプロジル酒石酸塩	552
イフェンプロジル酒石酸塩, 定量用	239
イフェンプロジル酒石酸塩細粒	553
イフェンプロジル酒石酸塩錠	553
イブジラスト	554
イブシロン-アミノカブロン酸	240
イブプロフェン	240, 555
イブプロフェンピコノール	240, 555
イブプロフェンピコノール, 定量用	240
イブプロフェンピコノールクリーム	557
イブプロフェンピコノール軟膏	556
イブラトロピウム臭化物水和物	557
イブリフラボン	558
イブリフラボン錠	559
イミダゾール	240
イミダゾール, 水分測定用	240
イミダゾール, 薄層クロマトグラフィー用	240
イミダゾール試液	240
イミダゾール臭化水素塩	240
イミダプリル塩酸塩	240, 559
イミダプリル塩酸塩, 定量用	241
イミダプリル塩酸塩錠	560
2,2'-イミノジエタノール塩酸塩	241
イミノジベンジル	241
イミプラミン塩酸塩	241, 562
イミプラミン塩酸塩錠	562
イミペネム水和物	563
医薬品原薬及び製剤の品質確保の基本的 考え方 (G0-1-172)	2554
医薬品等の試験に用いる水 (GZ-1-161)	2738
医薬品の安定性試験の実施方法 (G0-4-171)	2560
医薬品包装における基本的要件と用語 (G0-5-170)	2563
イリノテカン塩酸塩水和物	565
イリノテカン塩酸塩水和物, 定量用	241
イリノテカン塩酸塩注射液	566
イルソグラジンマレイン酸塩	241, 568
イルソグラジンマレイン酸塩, 定量用	241
イルソグラジンマレイン酸塩細粒	570
イルソグラジンマレイン酸塩錠	569
イルベサルタン	571
イルベサルタン, 定量用	241
イルベサルタン・アムロジピンベシル酸塩錠	572
イルベサルタン錠	571
イレイセン	1901
威霊仙	1901
色の比較液	219
色の比較試験法	102
インジウム, 熱分析用	407
インジゴカルミン	241, 575

インジゴカルミン試液	241
インジゴカルミン注射液	575
インスリン アスパルト(遺伝子組換え)	581
インスリン グラルギン(遺伝子組換え)	583
インスリン グラルギン(遺伝子組換え)注射液	584
インスリン グラルギン用V8プロテアーゼ	241
インスリン ヒト(遺伝子組換え)	576
インスリン ヒト(遺伝子組換え)注射液	577
インダパミド	585
インダパミド錠	586
インターフェロン アルファ(NAMALWA)	587
インターフェロン アルファ(NAMALWA)注射液	590
インターフェロンアルファ確認用基質試液	241
インターフェロンアルファ(NAMALWA)用 DNA標準原液	241
インターフェロンアルファ用 クーマシーブリリアントブルー試液	241
インターフェロンアルファ用分子量マーカー	241
インターロイキン-2依存性マウスナチュラルキラー 細胞NKC3	241
インチンコウ	1901
茵陳蒿	1901
茵陳蒿	1901
インデノロール塩酸塩	591
インドシアニングリーン	592
インドメタシン	241, 593
インドメタシンカプセル	593
インドメタシン坐剤	594
2,3-インドリンジオン	241
インフルエンザHAワクチン	595
インヨウカク	1902
淫羊藿	1902

ウ

ウィイス試液	241
ウイキョウ	1902
茴香	1902
ウイキョウ末	1902
茴香末	1902
ウイキョウ油	1903
ウコン	1903
鬱金	1903
ウコン末	1904
鬱金末	1904
ウサギ脱繊維血	241
ウシ血清	241
ウシ血清アルブミン	241
ウシ血清アルブミン, ウリナスタチン試験用	241
ウシ血清アルブミン, ゲルろ過分子量マーカー用	241
ウシ血清アルブミン, 定量用	241
ウシ血清アルブミン・塩化ナトリウム・ リン酸塩緩衝液, 0.1 w/v%	241

ウシ血清アルブミン・塩化ナトリウム・ リン酸塩緩衝液, pH 7.2	241
ウシ血清アルブミン・生理食塩液	241
1 w/v%ウシ血清アルブミン・リン酸塩緩衝液・ 塩化ナトリウム試液	241
0.1%ウシ血清アルブミン含有酢酸緩衝液	242
ウシ血清アルブミン試液, セクレチン標準品用	241
ウシ血清アルブミン試液, セクレチン用	241
ウシ血清加イーグル最小必須培地	242
ウシ胎児血清	242
ウシ由来活性化血液凝固X因子	242
薄めたエタノール	242
ウベニメクス	595
ウベニメクス, 定量用	242
ウベニメクスカプセル	596
埋め込み注射剤	15
ウヤク	1905
烏薬	1905
ウラシル	242
ウラピジル	597
ウリナスタチン	598
ウリナスタチン試験用ウシ血清アルブミン	242
ウリナスタチン試験用トリプシン試液	242
ウリナスタチン定量用結晶トリプシン	242
ウルソデオキシコール酸	242, 600
ウルソデオキシコール酸, 定量用	242
ウルソデオキシコール酸顆粒	602
ウルソデオキシコール酸錠	600
ウレタン	242
ウロキナーゼ	602
ウワウルシ	1905
ウワウルシ流エキス	1906
温清飲エキス	1906
ウンベリフェロン, 薄層クロマトグラフィー用	242

エ

エイコセン酸メチル, ガスクロマトグラフィー用	242
エイジツ	1908
営実	1908
エイジツ末	1909
営実末	1909
エオシン	242
エオシンY	242
エオシンメチレンブルーカンテン培地	242
A型赤血球浮遊液	243
エカベトナトリウム顆粒	604
エカベトナトリウム水和物	604
エカベトナトリウム水和物, 定量用	243
液状チオグリコール酸培地	243
液状フェノール	1470
エキス剤	20
液体クロマトグラフィー	46
液体クロマトグラフィー用アセトニトリル	243

液体クロマトグラフィー用アミノプロピル シリル化シリカゲル	401
液体クロマトグラフィー用アミローストリス-(3,5- ジメチルフェニルカルバメート)被覆シリカゲル	401
液体クロマトグラフィー用アンミニトリクロロ白金酸 アンモニウム	243
液体クロマトグラフィー用イソプロパノール	243
液体クロマトグラフィー用エタノール(99.5)	243
液体クロマトグラフィー用エレウテロシドB	243
液体クロマトグラフィー用オクタデシル- 強アニオン交換基シリル化シリカゲル	401
液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化 シリカゲル	401
液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化 シリコンポリマー被覆シリカゲル	401
液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化 多孔質ガラス	401
液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化 ポリビニルアルコールゲルポリマー	401
液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化 モノリス型シリカ	402
液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル基 及びオクチルシリル基を結合した多孔質シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用オクチルシリル化 シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用オボムコイド化学結合 アミノシリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用カルバモイル基結合型 シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用強塩基性イオン交換樹脂	402
液体クロマトグラフィー用強酸性イオン交換樹脂	402
液体クロマトグラフィー用強酸性イオン交換シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用18-クラウンエーテル 固定化シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用グラファイトカーボン	402
液体クロマトグラフィー用グリコールエーテル化 シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用3'-クロロ-3'- デオキシチミジン	243
液体クロマトグラフィー用ゲル型強塩基性 イオン交換樹脂	402
液体クロマトグラフィー用ゲル型強酸性 イオン交換樹脂(架橋度6%)	402
液体クロマトグラフィー用ゲル型強酸性 イオン交換樹脂(架橋度8%)	402
液体クロマトグラフィー用 α_1 -酸性 糖タンパク質結合シリカゲル	401
液体クロマトグラフィー用シアノプロピルシリル化 シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用ジエチルアミノエチル基を 結合した合成高分子	402
液体クロマトグラフィー用ジオールシリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用 β -シクロデキストリン 結合シリカゲル	402

液体クロマトグラフィー用ジビニルベンゼンー メタクリレート共重合体	402
液体クロマトグラフィー用ジメチルアミノプロピル シリル化シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用 <i>N,N</i> -ジメチルホルムアミド	243
液体クロマトグラフィー用弱酸性イオン交換樹脂	402
液体クロマトグラフィー用弱酸性イオン交換シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用親水性シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用スチレンー ジビニルベンゼン共重合体	402
液体クロマトグラフィー用スルホンアミド基を 結合したヘキサデシルシリル化シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用セルモロイキン	243
液体クロマトグラフィー用セルローストリス(3,5- ジメチルフェニルカルバメート)被覆シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用セルローストリス(4- メチルベンゾエート)被覆シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用セルロース誘導体 被覆シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用第四級アンモニウム基を 結合した親水性ビニルポリマーゲル	402
液体クロマトグラフィー用多孔質シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用多孔性スチレンー ジビニルベンゼン共重合体	402
液体クロマトグラフィー用多孔性ポリメタクリレート	402
液体クロマトグラフィー用チミン	243
液体クロマトグラフィー用2'-デオキシウリジン	243
液体クロマトグラフィー用デキストランー 高度架橋アガロースゲルろ過担体	402
液体クロマトグラフィー用テトラヒドロフラン	243
液体クロマトグラフィー用トリアコンチルシリル化 シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用トリプシン	243
液体クロマトグラフィー用トリメチルシリル化 シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用パーフルオロヘキシル プロピルシリル化シリカゲル	402
液体クロマトグラフィー用パルミトアミドプロピル シリル化シリカゲル	403
液体クロマトグラフィー用非多孔性強酸性 イオン交換樹脂	403
液体クロマトグラフィー用ヒトアルブミン化学結合 シリカゲル	403
液体クロマトグラフィー用2-ヒドロキシプロピルー β -シクロデキストリル化シリカゲル	403
液体クロマトグラフィー用ヒドロキシプロピル シリル化シリカゲル	403
液体クロマトグラフィー用フェニル化シリカゲル	403
液体クロマトグラフィー用フェニルカルバモイル化 セルロースで被覆したシリカゲル	403
液体クロマトグラフィー用フェニルシリル化シリカゲル	403
液体クロマトグラフィー用フェニルヘキシル シリル化シリカゲル	403

液体クロマトグラフィー用ブチルシリル化シリカゲル	403
液体クロマトグラフィー用フルオロシリル化シリカゲル	403
液体クロマトグラフィー用2-プロパノール	243
液体クロマトグラフィー用ヘキサシリル化シリカゲル	403
液体クロマトグラフィー用ヘキサン	243
液体クロマトグラフィー用 <i>n</i> -ヘキサン	243
液体クロマトグラフィー用ヘプタン	243
液体クロマトグラフィー用ペンタエチレンヘキサアミノ化 ポリビニルアルコールポリマービーズ	403
液体クロマトグラフィー用ポリアミンシリカゲル	403
液体クロマトグラフィー用メタノール	243
液体クロマトグラフィー用1-メチルー1 <i>H</i> - テトラゾール-5-チオール	243
液体クロマトグラフィー用5-ヨードウラシル	243
液体クロマトグラフィー用4級アルキルアミノ化 スチレンージビニルベンゼン共重合体	401
液の色に関する機器測定法 (G1-4-181)	2572
エコチオパートヨウ化物	605
エスタゾラム	606
SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (G3-8-170)	2616
SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動用緩衝液	243
エストラジオール安息香酸エステル	607
エストラジオール安息香酸エステル水性懸濁注射液	607
エストリオール	608
エストリオール試験用安息香酸メチル	243
エストリオール錠	609
エストリオール水性懸濁注射液	609
エソメブラゾールマグネシウム水和物	610
エソメブラゾールマグネシウム腸溶カプセル	612
エタクリン酸	614
エタクリン酸, 定量用	243
エタクリン酸錠	615
エタノール	243, 615
エタノール(95)	243
エタノール(95), メタノール不含	243
エタノール(99.5)	243
エタノール(99.5), 液体クロマトグラフィー用	243
エタノール, 薄めた	243
エタノール, ガスクロマトグラフィー用	243
エタノール, 希	243
エタノール, 消毒用	243
エタノール, 中和	243
エタノール, 無アルデヒド	243
エタノール, 無水	243
エタノール, メタノール不含	243
エタノール・生理食塩液	243
エタノール不含クロロホルム	243
エダラボン	618
エダラボン, 定量用	243
エダラボン注射液	618
エタンブトール塩酸塩	620
エチオナミド	621
エチゾラム	622
エチゾラム, 定量用	243

エチゾラム細粒 623
 エチゾラム錠 622
 エチドロン酸二ナトリウム 625
 エチドロン酸二ナトリウム, 定量用 243
 エチドロン酸二ナトリウム錠 625
 エチニルエストラジオール 244, 626
 エチニルエストラジオール錠 626
 エチルアミン塩酸塩 244
 L-エチルシステイン塩酸塩 627
 エチルシリル化シリカゲル,
 カラムクロマトグラフィー用 403
 エチルセルロース 628
 2-エチル-2-フェニルマロンジアミド 244
 エチルベンゼン 244
 N-エチルマレイミド 244
 エチルモルヒネ塩酸塩水和物 629
 N-エチルモルホリン 244
 エチレフリン塩酸塩 244, 630
 エチレフリン塩酸塩, 定量用 244
 エチレフリン塩酸塩錠 630
 エチレンオキシド 244
 エチレングリコール 244
 エチレングリコール, 水分測定用 244
 エチレンジアミン 244, 631
 エチレンジアミン試液 244
 0.001 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二水素
 二ナトリウム液 206
 0.01 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二水素
 二ナトリウム液 206
 0.02 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二水素
 二ナトリウム液 206
 0.05 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二水素
 二ナトリウム液 206
 0.1 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二水素
 二ナトリウム液 206
 エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム試液,
 0.04 mol/L 244
 エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム試液,
 0.1 mol/L 244
 エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム試液,
 0.4 mol/L, pH 8.5 244
 エチレンジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物 244
 エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム 244
 エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム亜鉛 244
 エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム亜鉛四水和物 244
 0.001 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム液 207
 0.01 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム液 206
 0.02 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム液 206
 0.05 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム液 206
 0.1 mol/Lエチレンジアミン四酢酸二ナトリウム液 206
 エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム試液, 0.1 mol/L 244
 エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム銅 244
 エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム銅四水和物 244
 エデト酸カルシウムナトリウム水和物 632

エデト酸ナトリウム水和物 633
 エーテル 244, 633
 エーテル, 生薬純度試験用 244
 エーテル, 麻酔用 245
 エーテル, 無水 245
 エテンザミド 245, 634
 4'-エトキシアセトフェノン 245
 3-エトキシ-4-ヒドロキシベンズアルデヒド 245
 4-エトキシフェノール 245
 p-エトキシフェノール 245
 エトスクシミド 635
 エトドラク 635
 エトボシド 636
 エドロホニウム塩化物 637
 エドロホニウム塩化物注射液 638
 エナラプリルマレイン酸塩 245, 638
 エナラプリルマレイン酸塩錠 639
 エナント酸メテノロン 245
 エナント酸メテノロン, 定量用 245
 NADHペルオキシダーゼ 245
 NADHペルオキシダーゼ試液 245
 NN指示薬 245
 NFS-60細胞 245
 NK-7細胞 245
 エノキサシン水和物 641
 エバスチン 641
 エバスチン, 定量用 245
 エバスチン口腔内崩壊錠 643
 エバスチン錠 642
 エパルレストアット 644
 エパルレストアット錠 645
 4-エピオキシテトラサイクリン 245
 6-エピドキシサイクリン塩酸塩 245
 エピネフリン 451
 エピネフリン液 452
 エピネフリン注射液 452
 エピリゾール 646
 エピルピシン塩酸塩 647
 エフェドリン塩酸塩 245, 648
 エフェドリン塩酸塩, 生薬定量用 245
 エフェドリン塩酸塩, 定量用 245
 エフェドリン塩酸塩散10% 650
 エフェドリン塩酸塩錠 649
 エフェドリン塩酸塩注射液 650
 FL細胞 246
 FBS・IMDM 246
 エブレネノン 651
 エブレネノン錠 652
 エベリゾン塩酸塩 653
 エポエチン アルファ(遺伝子組換え) 654
 エポエチンアルファ液体クロマトグラフィー用
 トリプシン 246
 エポエチンアルファ用N-アセチルノイラミン酸 246
 エポエチンアルファ用基質試液 246

エポエチンアルファ用試料緩衝液	246	塩化インジウム(¹¹¹ In)注射液	676
エポエチンアルファ用トリプシン試液	246	塩化カリウム	248, 676
エポエチンアルファ用ブロッキング試液	246	塩化カリウム, 赤外吸収スペクトル用	248
エポエチンアルファ用分子量マーカー	246	塩化カリウム, 定量用	248
エポエチンアルファ用ポリアクリルアミドゲル	246	塩化カリウム, 導電率測定用	248
エポエチンアルファ用リン酸塩緩衝液	246	塩化カリウム・塩酸緩衝液	248
エポエチン ペータ(遺伝子組換え)	657	塩化カリウム試液, 0.2 mol/L	248
エポエチンペータ用トリエチルアミン	246	塩化カリウム試液, 酸性	248
エポエチンペータ用トリフルオロ酢酸	246	塩化カルシウム	248
エポエチンペータ用ポリソルベート20	246	塩化カルシウム, 乾燥用	248
エポエチンペータ用2-メルカプトエタノール	246	塩化カルシウム, 水分測定用	248
エボジアミン, 定量用	246	塩化カルシウム試液	248
MTT試液	247	塩化カルシウム水和物	677
エメダスチンフマル酸塩	659	塩化カルシウム水和物, 定量用	248
エメダスチンフマル酸塩, 定量用	247	塩化カルシウム注射液	677
エメダスチンフマル酸塩徐放カプセル	660	塩化カルシウム二水和物	248
エメチン塩酸塩, 定量用	247	塩化カルシウム二水和物, 定量用	248
エモルファゾン	661	塩化金酸	248
エモルファゾン, 定量用	247	塩化金酸試液	248
エモルファゾン錠	661	塩化コバルト	248
エリオクロムブラックT	247	塩化コバルト・エタノール試液	248
エリオクロムブラックT・塩化ナトリウム指示薬	247	塩化コバルト(II)・エタノール試液	248
エリオクロムブラックT試液	247	塩化コバルト試液	248
エリキシル剤	11	塩化コバルト(II)試液	248
エリスロマイシン	662	塩化コバルト(II)六水和物	248
エリスロマイシンB	247	塩化コリン	248
エリスロマイシンC	247	塩化水銀(II)	248
エリスロマイシンエチルコハク酸エステル	664	塩化水素・エタノール試液	248
エリスロマイシンステアリン酸塩	665	塩化スキサメトニウム, 薄層クロマトグラフィー用	248
エリスロマイシン腸溶錠	664	塩化スズ(II)・塩酸試液	248
エリスロマイシンラクトビオン酸塩	665	塩化スズ(II)・硫酸試液	248
エリブリンメシル酸塩	666	塩化スズ(II)試液	248
エルカトニン	670	塩化スズ(II)試液, 酸性	248
エルカトニン試験用トリプシン試液	247	塩化スズ(II)二水和物	248
エルゴカルシフェロール	672	塩化ストロンチウム	249
エルゴタミン酒石酸塩	673	塩化ストロンチウム六水和物	249
エルゴメトリンマレイン酸塩	674	塩化セシウム	249
エルゴメトリンマレイン酸塩錠	675	塩化セシウム試液	249
エルゴメトリンマレイン酸塩注射液	675	塩化第一スズ	249
エレウテロシドB, 液体クロマトグラフィー用	247	塩化第一スズ・硫酸試液	249
塩化亜鉛	248, 676	塩化第一スズ試液	249
塩化亜鉛試液	248	塩化第一スズ試液, 酸性	249
塩化亜鉛試液, 0.04 mol/L	248	塩化第二水銀	249
塩化アセチル	248	塩化第二鉄	249
塩化アルミニウム	248	塩化第二鉄・酢酸試液	249
塩化アルミニウム試液	248	塩化第二鉄・ピリジン試液, 無水	249
塩化アルミニウム(III)試液	248	塩化第二鉄・メタノール試液	249
塩化アルミニウム(III)六水和物	248	塩化第二鉄・ヨウ素試液	249
塩化アンチモン(III)	248	塩化第二鉄試液	249
塩化アンチモン(III)試液	248	塩化第二鉄試液, 希	249
塩化アンモニウム	248	塩化第二鉄試液, 酸性	249
塩化アンモニウム・アンモニア試液	248	塩化第二銅	249
塩化アンモニウム緩衝液, pH 10	248	塩化第二銅・アセトン試液	249
塩化アンモニウム試液	248	塩化タリウム(²⁰¹ Tl)注射液	677

塩化チオニル	249
塩化チタン(Ⅲ) (20)	249
塩化チタン(Ⅲ)・硫酸試液	249
0.1 mol/L塩化チタン(Ⅲ)液	207
塩化チタン(Ⅲ)試液	249
塩化鉄(Ⅲ)・アミド硫酸試液	249
塩化鉄(Ⅲ)・酢酸試液	249
塩化鉄(Ⅲ)・ピリジン試液, 無水	249
塩化鉄(Ⅲ)・ヘキサシアノ鉄(Ⅲ)酸カリウム試液	249
塩化鉄(Ⅲ)・メタノール試液	249
塩化鉄(Ⅲ)・ヨウ素試液	249
塩化鉄(Ⅲ)試液	249
塩化鉄(Ⅲ)試液, 希	249
塩化鉄(Ⅲ)試液, 酸性	249
塩化鉄(Ⅲ)六水和物	249
塩化テトラ n -ブチルアンモニウム	249
塩化銅(Ⅱ)・アセトン試液	249
塩化銅(Ⅱ)二水和物	249
塩化トリフェニルテトラゾリウム	249
塩化2,3,5-トリフェニル-2 <i>H</i> -テトラゾリウム	249
塩化2,3,5-トリフェニル-2 <i>H</i> -テトラゾリウム・ メタノール試液, 噴霧用	249
塩化トリフェニルテトラゾリウム試液	249
塩化2,3,5-トリフェニル-2 <i>H</i> -テトラゾリウム試液	249
塩化ナトリウム	249, 677
塩化ナトリウム(標準試薬)	249
塩化ナトリウム, 定量用	250
塩化ナトリウム試液	250
塩化ナトリウム試液, 0.1 mol/L	250
塩化ナトリウム試液, 0.2 mol/L	250
塩化ナトリウム試液, 1 mol/L	250
0.9%塩化ナトリウム注射液	1014
10%塩化ナトリウム注射液	678
塩化 p -ニトロベンゼンジアゾニウム試液	250
塩化 p -ニトロベンゼンジアゾニウム試液, 噴霧用	250
塩化白金酸	250
塩化白金酸・ヨウ化カリウム試液	250
塩化白金酸試液	250
塩化パラジウム	250
塩化パラジウム(Ⅱ)	250
塩化パラジウム試液	250
塩化パラジウム(Ⅱ)試液	250
塩化バリウム	250
0.01 mol/L塩化バリウム液	207
0.02 mol/L塩化バリウム液	207
0.1 mol/L塩化バリウム液	207
塩化バリウム試液	250
塩化バリウム二水和物	250
塩化パルマチン	250
塩化ヒドロキシルアンモニウム	250
塩化ヒドロキシルアンモニウム・エタノール試液	250
塩化ヒドロキシルアンモニウム・塩化鉄(Ⅲ)試液	250
塩化ヒドロキシルアンモニウム試液	250
塩化ヒドロキシルアンモニウム試液, pH 3.1	250

塩化ビニル	250
塩化ビニル標準液	217
塩化1,10-フェナントロリニウム-水和物	250
塩化フェニルヒドラジニウム	250
塩化フェニルヒドラジニウム試液	250
塩化 n -ブチル	250
塩化物試験法	25
塩化物標準液	217
塩化物標準原液	217
塩化ベルベリン	250
塩化ベルベリン, 薄層クロマトグラフィー用	250
塩化ベンザルコニウム	250
塩化ベンゼトニウム, 定量用	250
塩化ベンゾイル	250
塩化マグネシウム	250
0.01 mol/L塩化マグネシウム液	207
0.05 mol/L塩化マグネシウム液	207
塩化マグネシウム六水和物	250
塩化メチルロザニリン	250
塩化メチルロザニリン試液	250
塩化ランタン試液	250
塩化リゾチーム用基質試液	250
塩化リチウム	250
塩化ルビジウム	250
エンゴサク	1909
延胡索	1909
エンゴサク末	1910
延胡索末	1910
塩酸	250, 679
0.001 mol/L塩酸	208
0.01 mol/L塩酸	208
0.02 mol/L塩酸	208
0.05 mol/L塩酸	208
0.1 mol/L塩酸	208
0.2 mol/L塩酸	208
0.5 mol/L塩酸	207
1 mol/L塩酸	207
2 mol/L塩酸	207
塩酸, 希	250
塩酸, 精製	250
塩酸・エタノール試液	251
塩酸・塩化カリウム緩衝液, pH 2.0	251
塩酸・酢酸アンモニウム緩衝液, pH 3.5	251
塩酸・2-プロパノール試液	251
塩酸・メタノール試液, 0.01 mol/L	251
塩酸・メタノール試液, 0.05 mol/L	251
塩酸アゼラスチン, 定量用	251
塩酸14-アニソイルアコニン, 成分含量測定用	251
塩酸アブリンジン, 定量用	251
塩酸アミオダロン, 定量用	251
塩酸4-アミノアンチピリン	251
塩酸4-アミノアンチピリン試液	251
塩酸4-アミノフェノール	251
塩酸 p -アミノフェノール	251

塩酸アモスラロール, 定量用 251
 塩酸L-アルギニン 251
 塩酸イソクスブリン, 定量用 251
 塩酸イソプロメタジン, 薄層クロマトグラフィー用 251
 塩酸イミダプリル 251
 塩酸イミダプリル, 定量用 251
 塩酸イミプラミン 251
 塩酸エチレフリン 251
 塩酸エチレフリン, 定量用 251
 塩酸6-エピドキシサイクリン 251
 塩酸エフェドリン 251
 塩酸エフェドリン, 定量用 251
 塩酸エメチン, 成分含量測定用 251
 塩酸オキシコドン, 定量用 251
 塩酸クロルプロマジン, 定量用 251
 塩酸クロルヘキシジン 251
 塩酸(2-クロロエチル)ジエチルアミン 251
 塩酸2,4-ジアミノフェノール 251
 塩酸2,4-ジアミノフェノール試液 251
 塩酸試液, 0.001 mol/L 250
 塩酸試液, 0.01 mol/L 250
 塩酸試液, 0.02 mol/L 250
 塩酸試液, 0.05 mol/L 250
 塩酸試液, 0.1 mol/L 251
 塩酸試液, 0.2 mol/L 251
 塩酸試液, 0.5 mol/L 251
 塩酸試液, 1 mol/L 251
 塩酸試液, 2 mol/L 251
 塩酸試液, 3 mol/L 251
 塩酸試液, 5 mol/L 251
 塩酸試液, 6 mol/L 251
 塩酸試液, 7.5 mol/L 251
 塩酸試液, 10 mol/L 251
 塩酸試液, アミノ酸自動分析用6 mol/L 251
 塩酸ジエタノールアミン 251
 L-塩酸システイン 251
 塩酸ジフェニドール 251
 塩酸1,1-ジフェニル-4-ピペリジノ-1-ブテン,
 薄層クロマトグラフィー用 251
 塩酸ジブカイン 251
 塩酸ジルチアゼム 251
 塩酸シンコカイン 943
 塩酸スレオプロカテロール 251
 塩酸セチリジン, 定量用 251
 塩酸セフカペンピボキシル 251
 塩酸セミカルバジド 251
 塩酸タムスロシン 251
 塩酸チアブリド, 定量用 251
 塩酸チアラミド, 定量用 251
 塩酸テトラサイクリン 251
 塩酸ドパミン, 定量用 251
 塩酸トリメタジジン, 定量用 251
 塩酸ニカルジピン, 定量用 251
 塩酸パパベリン 252

塩酸パパベリン, 定量用 252
 塩酸パラアミノフェノール 252
 L-塩酸ヒスチジン 252
 塩酸ヒドララジン 252
 塩酸ヒドララジン, 定量用 252
 塩酸ヒドロキシアニモニウム 252
 塩酸ヒドロキシアニモニウム・エタノール試液 252
 塩酸ヒドロキシアニモニウム・塩化鉄(III)試液 252
 塩酸ヒドロキシアニモニウム試液 252
 塩酸ヒドロキシアニモニウム試液, pH 3.1 252
 塩酸ヒドロキシルアミン 252
 塩酸ヒドロキシルアミン・塩化第二鉄試液 252
 塩酸ヒドロキシルアミン試液 252
 塩酸ヒドロキシルアミン試液, pH 3.1 252
 塩酸ヒドロコタルニン, 定量用 252
 塩酸ピペリジン 252
 塩酸1-(4-ピリジル)ピリジニウムクロリド 252
 塩酸ピリドキシ 252
 塩酸1,10-フェナントロリニウム-水和物 252
 塩酸o-フェナントロリン 252
 塩酸フェニルヒドラジニウム 252
 塩酸フェニルヒドラジニウム試液 252
 塩酸フェニルヒドラジン 252
 塩酸フェニルヒドラジン試液 252
 塩酸フェニルピペラジン 252
 塩酸フェネチルアミン 252
 塩酸プソイドエフェドリン 252
 塩酸ブホルミン, 定量用 252
 塩酸プロカイン 252
 塩酸プロカイン, 定量用 252
 塩酸プロカインアミド 252
 塩酸プロカインアミド, 定量用 252
 塩酸プロカテロール 252
 塩酸プロパフェノン, 定量用 252
 塩酸プロプラノロール, 定量用 252
 塩酸ペチジン, 定量用 252
 塩酸ベニジピン 252
 塩酸ベニジピン, 定量用 252
 塩酸ベノキネート 698
 塩酸ベラパミル, 定量用 252
 塩酸ベンゾイルヒパコニン, 成分含量測定用 252
 塩酸ベンゾイルメサコニン, 成分含量測定用 252
 塩酸ベンゾイルメサコニン, 薄層クロマトグラフィー用 252
 塩酸ミノサイクリン 252
 塩酸メタサイクリン 252
 dl-塩酸メチルエフェドリン 252
 dl-塩酸メチルエフェドリン, 定量用 252
 塩酸メトホルミン, 定量用 252
 塩酸メビバカイン, 定量用 252
 塩酸メフロキン 252
 塩酸モルヒネ 252
 塩酸モルヒネ, 定量用 252
 塩酸ラベタロール 252
 塩酸ラベタロール, 定量用 252

塩酸L-リジン	252
塩酸リトドリン	252
塩酸リモナーデ	679
塩酸ロキサチジンアセタート	252
炎色反応試験法	25
塩素	252
塩素酸カリウム	252
塩素試液	252
エンタカボン	680
エンタカボン錠	681
遠藤培地	252
遠藤平板培地	253
エンドトキシン規格値の設定 (G4-5-131)	2672
エンドトキシン試験法	126
エンドトキシン試験法と測定試薬に遺伝子組換え タンパク質を用いる代替法 (G4-4-180)	2670
エンドトキシン試験用水	253
エンドトキシン試験用トリス緩衝液	253
エンビオマイシン硫酸塩	682
エンフルラン	253, 683
円偏光二色性測定法	61

オ

オイゲノール, 薄層クロマトグラフィー用	253
オウギ	1910
黄耆	1910
オウゴン, 薄層クロマトグラフィー用	253
オウゴン	1911
黄芩	1911
オウゴン末	1912
黄芩末	1912
黄色ワセリン	1889
王水	253
オウセイ	1912
黄精	1912
オウバク	1913
黄柏	1913
オウバク・タンナルビン・ビスマス散	1915
オウバク末	1914
黄柏末	1914
オウヒ	1915
桜皮	1915
オウレン	1916
黄連	1916
黄連解毒湯エキス	1918
オウレン末	1917
黄連末	1917
黄蠟	2105
オキサゾラム	684
オキサピウムヨウ化物	685
オキサプロジン	685
オキサリプラチン	253, 686
オキサリプラチン注射液	688

p-オキシ安息香酸	253
p-オキシ安息香酸イソプロピル	253
p-オキシ安息香酸ベンジル	253
2-オキシ-1-(2'-オキシ-4'-スルホ-1'- ナフチルアゾ)-3-ナフトエ酸	253
8-オキシキノリン	253
オキシドン塩酸塩水和物	690
オキシドン塩酸塩水和物, 定量用	253
オキシテトラサイクリン塩酸塩	692
オキシトシン	253, 694
オキシトシン注射液	696
オキシドール	697
オキシブチニン塩酸塩	697
オキシブプロカイン塩酸塩	698
オキシメトロン	699
オキセサゼイン	699
オキセタカイン	699
オクスプレノロール塩酸塩	700
n-オクタデカン	253
オクタデシル-強アニオン交換基シリル化シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	403
オクタデシルシリル化シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	403
オクタデシルシリル化シリカゲル, 薄層クロマトグラフィー用	403
オクタデシルシリル化シリカゲル(蛍光剤入り), 薄層クロマトグラフィー用	403
オクタデシルシリル化シリカゲル, 前処理用	253
オクタデシルシリル化シリコンポリマー被覆シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	403
オクタデシルシリル化シリコンポリマー被覆シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	403
オクタデシルシリル化多孔質ガラス, 液体クロマトグラフィー用	403
オクタデシルシリル化ポリビニルアルコールゲルポリマー, 液体クロマトグラフィー用	403
オクタデシルシリル化モノリス型シリカ, 液体クロマトグラフィー用	403
オクタデシルシリル基及びオクチルシリル基を結合した 多孔質シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	403
1-オクタノール	253
n-オクタン	253
オクタン, イソ	253
1-オクタンスルホン酸ナトリウム	253
オクチルアルコール	253
オクチルシリル化シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	403
n-オクチルベンゼン	253
オザグレルナトリウム	701
オザグレルナトリウム注射液	702
オストール, 薄層クロマトグラフィー用	253
乙字湯エキス	1920
オピアル	460
オピアル注射液	461
オブロキサシン	253, 703

オフロキサシン脱メチル体	253
オボムコイド化学結合アミノシリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	403
オメプラゾール	704
オメプラゾール, 定量用	253
オメプラゾールスルホン	253
オメプラゾール腸溶錠	704
オーラノフィン	705
オーラノフィン錠	706
オリブ油	254, 1923
オルシプレナリン硫酸塩	707
オルシン	254
オルシン・塩化第二鉄試液	254
オルシン・塩化鉄(III)試液	254
オルトキシレン	254
オルトトルエンスルホンアミド	254
オルメサルタン メドキシミル	708
オルメサルタン メドキシミル錠	709
オレイン酸	254
オレイン酸メチル, ガスクロマトグラフィー用	254
オレンジ油	1923
オロパタジン塩酸塩	710
オロパタジン塩酸塩, 定量用	254
オロパタジン塩酸塩錠	711
オンジ	254, 1923
遠志	1923
オンジ末	1924
遠志末	1924
温度計	410

カ

海砂	254
カイニン酸	254
カイニン酸, 定量用	254
カイニン酸・サントニン散	713
カイニン酸水和物	254, 712
カイニン酸水和物, 定量用	254
海人草	2103
ガイヨウ	1924
艾葉	1924
外用エアゾール剤	19
外用液剤	19
外用固形剤	19
外用散剤	19
過塩素酸	254
0.02 mol/L過塩素酸	208
0.05 mol/L過塩素酸	208
0.1 mol/L過塩素酸	208
過塩素酸・エタノール試液	254
0.004 mol/L過塩素酸・ジオキサン液	208
0.004 mol/L過塩素酸・1,4-ジオキサン液	208
0.05 mol/L過塩素酸・ジオキサン液	208
0.05 mol/L過塩素酸・1,4-ジオキサン液	208

0.1 mol/L過塩素酸・ジオキサン液	208
0.1 mol/L過塩素酸・1,4-ジオキサン液	208
過塩素酸・無水エタノール試液	254
過塩素酸第二鉄	254
過塩素酸第二鉄・無水エタノール試液	254
過塩素酸鉄(III)・エタノール試液	254
過塩素酸鉄(III)六水和物	254
過塩素酸ナトリウム	254
過塩素酸ナトリウム一水和物	254
過塩素酸バリウム	254
0.005 mol/L過塩素酸バリウム液	208
過塩素酸ヒドロキシルアミン	254
過塩素酸ヒドロキシルアミン・エタノール試液	254
過塩素酸ヒドロキシルアミン・無水エタノール試液	254
過塩素酸ヒドロキシルアミン試液	254
過塩素酸リチウム	254
カオリン	713
カカオ脂	1925
化学合成される医薬品原薬及びその製剤の 不純物に関する考え方 (G0-3-181)	2558
化学名参考事項 (G10-1-190)	2736
化学用体積計	407
過ギ酸	254
核酸分解酵素不含水	254
核磁気共鳴(NMR)法を利用した定量技術と 日本薬局方試薬への応用 (G5-5-190)	2700
核磁気共鳴スペクトル測定法	52
核磁気共鳴スペクトル測定用DSS- d_6	255
核磁気共鳴スペクトル測定用重塩酸	254
核磁気共鳴スペクトル測定用重水	254
核磁気共鳴スペクトル測定用重水素化アセトン	255
核磁気共鳴スペクトル測定用重水素化ギ酸	255
核磁気共鳴スペクトル測定用重水素化クロロホルム	255
核磁気共鳴スペクトル測定用重水素化酢酸	255
核磁気共鳴スペクトル測定用重水素化 ジメチルスルホキシド	255
核磁気共鳴スペクトル測定用重水素化ピリジン	255
核磁気共鳴スペクトル測定用重水素化メタノール	255
核磁気共鳴スペクトル測定用重水素化溶媒	255
核磁気共鳴スペクトル測定用テトラメチルシラン	255
核磁気共鳴スペクトル測定用トリフルオロ酢酸	255
核磁気共鳴スペクトル測定用3-トリメチルシリル プロパンスルホン酸ナトリウム	255
核磁気共鳴スペクトル測定用3-トリメチルシリル プロピオン酸ナトリウム- d_4	255
核磁気共鳴スペクトル測定用1,4- ビス(トリメチルシリル)ベンゼン- d_4	255
核磁気共鳴スペクトル測定用1,4-BTMSB- d_4	255
確認試験用タクシャトリテルペン混合試液	255
確認試験用テセロイキン	255
加香ヒマシ油	2072
加工ブシ	2078
加工ブシ末	2079
カゴソウ	1925

夏枯草	1925
かさ密度測定法	110
過酸化水素(30)	255
過酸化水素・水酸化ナトリウム試液	255
過酸化水素試液	255
過酸化水素試液, 希	255
過酸化水素水, 強	255
過酸化水素濃度試験紙	406
過酸化水素標準液	217
過酸化水素標準原液	217
過酸化ナトリウム	255
過酸化ベンゾイル, 25%含水	255
カシアフラスコ	407
カシュウ	1925
何首烏	1925
ガジュツ	1926
菰迷	1926
菰朮	1926
加水ラノリン	2116
ガスクロマトグラフィー	48
ガスクロマトグラフィー用アセトアルデヒド	255
ガスクロマトグラフィー用アラキジン酸メチル	255
ガスクロマトグラフィー用アルキレングリコール	
フタル酸エステル	255
ガスクロマトグラフィー用エイコセン酸メチル	255
ガスクロマトグラフィー用エタノール	255
ガスクロマトグラフィー用オレイン酸メチル	255
ガスクロマトグラフィー用グラファイトカーボン	403
ガスクロマトグラフィー用グリセリン	255
ガスクロマトグラフィー用ケイソウ土	403
ガスクロマトグラフィー用コハク酸ジエチレン	
グリコールポリエステル	255
ガスクロマトグラフィー用6%シアノプロピル	
フェニル-94%ジメチルシリコーンポリマー	255
ガスクロマトグラフィー用14%シアノプロピル	
フェニル-86%ジメチルシリコーンポリマー	403
ガスクロマトグラフィー用6%シアノプロピル	
6%フェニル-メチルシリコーンポリマー	255
ガスクロマトグラフィー用7%シアノプロピル	
7%フェニル-メチルシリコーンポリマー	255
ガスクロマトグラフィー用シアノプロピルメチル	
フェニルシリコーン	255
ガスクロマトグラフィー用ジエチレングリコール	
アジピン酸エステル	255
ガスクロマトグラフィー用ジエチレングリコール	
コハク酸エステル	255
ガスクロマトグラフィー用5%ジフェニル・	
95%ジメチルポリシロキサン	255
ガスクロマトグラフィー用ジメチルポリシロキサン	255
ガスクロマトグラフィー用シリカゲル	403
ガスクロマトグラフィー用ステアリン酸	255
ガスクロマトグラフィー用ステアリン酸メチル	255
ガスクロマトグラフィー用ゼオライト(孔径0.5 nm)	403

ガスクロマトグラフィー用石油系ヘキサメチル	
テトラコサン類分枝炭化水素混合物(L)	255
ガスクロマトグラフィー用D-ソルビトール	255
ガスクロマトグラフィー用多孔質シリカゲル	403
ガスクロマトグラフィー用多孔性アクリロニトリル	
ジビニルベンゼン共重合体	
(孔径0.06 ~ 0.08 μm , 100 ~ 200 m^2/g)	403
ガスクロマトグラフィー用多孔性エチルビニルベンゼン	
ジビニルベンゼン共重合体	403
ガスクロマトグラフィー用多孔性エチルビニルベンゼン	
ジビニルベンゼン共重合体	
(平均孔径0.0075 μm , 500 ~ 600 m^2/g)	403
ガスクロマトグラフィー用多孔性スチレン	
ジビニルベンゼン共重合体	
(平均孔径0.0085 μm , 300 ~ 400 m^2/g)	403
ガスクロマトグラフィー用多孔性スチレン	
ジビニルベンゼン共重合体	
(平均孔径0.3 ~ 0.4 μm , 50 m^2/g 以下)	404
ガスクロマトグラフィー用多孔性ポリマービーズ	404
ガスクロマトグラフィー用テトラキスヒドロキシ	
プロピルエチレンジアミン	256
ガスクロマトグラフィー用テトラヒドロフラン	256
ガスクロマトグラフィー用テレフタル酸	404
ガスクロマトグラフィー用ノニルフェノキシ	
ポリ(エチレンオキシ)エタノール	256
ガスクロマトグラフィー用パルミチン酸	256
ガスクロマトグラフィー用パルミチン酸メチル	256
ガスクロマトグラフィー用パルミトレイン酸メチル	256
ガスクロマトグラフィー用25%フェニル	
25%シアノプロピル-メチルシリコーンポリマー	256
ガスクロマトグラフィー用5%フェニル	
メチルシリコーンポリマー	256
ガスクロマトグラフィー用35%フェニル	
メチルシリコーンポリマー	256
ガスクロマトグラフィー用50%フェニル	
メチルシリコーンポリマー	256
ガスクロマトグラフィー用65%フェニル	
メチルシリコーンポリマー	256
ガスクロマトグラフィー用50%フェニル	
50%メチルポリシロキサン	256
ガスクロマトグラフィー用プロピレングリコール	256
ガスクロマトグラフィー用ポリアクリル酸メチル	256
ガスクロマトグラフィー用ポリアルキレングリコール	256
ガスクロマトグラフィー用ポリアルキレングリコール	
モノエーテル	256
ガスクロマトグラフィー用ポリエチレングリコール	
20 M	256
ガスクロマトグラフィー用ポリエチレングリコール	
400	256
ガスクロマトグラフィー用ポリエチレングリコール	
600	256
ガスクロマトグラフィー用ポリエチレングリコール	
1500	256

ガスクロマトグラフィー用ポリエチレングリコール 6000	256
ガスクロマトグラフィー用ポリエチレングリコール 15000—ジエポキシド	256
ガスクロマトグラフィー用ポリエチレングリコール エステル化物	256
ガスクロマトグラフィー用ポリエチレングリコール 2—ニトロテレフタレート	256
ガスクロマトグラフィー用ポリテトラフルオロエチレン	404
ガスクロマトグラフィー用ポリメチルシロキサン	256
ガスクロマトグラフィー用ミリスチン酸メチル	256
ガスクロマトグラフィー用無水トリフルオロ酢酸	256
ガスクロマトグラフィー用メチルシリコンポリマー	256
ガスクロマトグラフィー用四フッ化エチレンポリマー	404
ガスクロマトグラフィー用ラウリン酸メチル	256
ガスクロマトグラフィー用リグノセリン酸メチル	256
ガスクロマトグラフィー用リノール酸メチル	256
ガスクロマトグラフィー用リノレン酸メチル	256
カゼイン(乳製)	256
カゼイン, 乳製	256
カゼイン製ペプトン	256
ガチフロキサシン水和物	714
ガチフロキサシン点眼液	715
カッコウ	1926
藿香	1926
カッコン	1927
葛根	1927
葛根湯エキス	1927
葛根湯加川芎辛夷エキス	1930
活性アルミナ	256
活性炭	256
活性部分トロンボプラスチン時間測定用試液	256
活性部分トロンボプラスチン時間測定用試薬	256
カッセキ	1934
滑石	1934
過テクネチウム酸ナトリウム(^{99m} Tc)注射液	717
カテコール	256
果糖	256, 717
果糖, 薄層クロマトグラフィー用	256
果糖注射液	717
カドミウム・ニンヒドリン試液	257
カドミウム地金	257
カドミウム標準液	217
カドミウム標準原液	217
カドララジン	718
カドララジン, 定量用	257
カドララジン錠	718
カナマイシン—硫酸塩	719
カナマイシン硫酸塩	257, 720
カノコソウ	1934
カノコソウ末	1934
カフェイン	257, 721
カフェイン水和物	257, 722
カプサイシン, 成分含量測定用	257

(<i>E</i>)—カプサイシン, 成分含量測定用	257
(<i>E</i>)—カプサイシン, 定量用	257
カプサイシン, 薄層クロマトグラフィー用	257
(<i>E</i>)—カプサイシン, 薄層クロマトグラフィー用	257
カプセル	722
カプセル剤	10
カプトプリル	723
カプリル酸	257
<i>n</i> —カプリル酸エチル	257
ガベキサートメシル酸塩	724
カベルゴリン	725
火麻仁	2103
過マンガン酸カリウム	257, 726
0.002 mol/L過マンガン酸カリウム液	209
0.02 mol/L過マンガン酸カリウム液	209
過マンガン酸カリウム試液	257
過マンガン酸カリウム試液, 0.3 mol/L	257
過マンガン酸カリウム試液, 酸性	257
加味帰脾湯エキス	1935
加味逍遙散エキス	1938
ガム剤	13
カモスタットメシル酸塩	726
カモスタットメシル酸塩錠	727
過ヨウ素酸カリウム	257
1.6%過ヨウ素酸カリウム・0.2%過マンガン酸 カリウム試液, アルカリ性	258
過ヨウ素酸カリウム試液	257
過ヨウ素酸ナトリウム	258
過ヨウ素酸ナトリウム試液	258
D—ガラクトサミン塩酸塩	258
β—ガラクトシダーゼ(アスペルギルス)	728
β—ガラクトシダーゼ(ペニシリウム)	729
ガラクトース	258
D—ガラクトース	258
ガラスインピンジャーによる吸入剤の空気力学的粒度 測定法 (G6-3-171)	2717
ガラスウール	406
ガラス製医薬品容器 (G7-1-171)	2724
ガラス繊維	406
ガラスろ過器	406
ガラスろ過器, 酸化銅ろ過用	406
カラムクロマトグラフィー用エチルシリル化シリカゲル	404
カラムクロマトグラフィー用強塩基性イオン交換樹脂	404
カラムクロマトグラフィー用強酸性イオン交換樹脂	404
カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム	404
カラムクロマトグラフィー用ジエチルアミノエチル セルロース	404
カラムクロマトグラフィー用ジビニルベンゼン— <i>N</i> — ビニルピロリドン共重合体	404
カラムクロマトグラフィー用中性アルミナ	404
カラムクロマトグラフィー用ポリアミド	404
カリウム標準原液	217
カリジノゲナーゼ	730
カリジノゲナーゼ測定用基質試液(1)	258

カリジノゲナーゼ測定用基質試液(2)	258	緩衝液, テセロイキン試料用	258
カリジノゲナーゼ測定用基質試液(3)	258	緩衝液, フィルグラスチム試料用	259
カリジノゲナーゼ測定用基質試液(4)	258	緩衝液用1 mol/Lクエン酸試液	259
カリ石ケン	732	緩衝液用0.2 mol/Lフタル酸水素カリウム試液	259
顆粒剤	11	緩衝液用0.2 mol/Lホウ酸・0.2 mol/L塩化カリウム試液	259
過硫酸アンモニウム	258	緩衝液用1 mol/Lリン酸一水素カリウム試液	259
過硫酸カリウム	258	緩衝液用1 mol/Lリン酸水素二カリウム試液	259
カルシウム標準液	217	緩衝液用0.2 mol/Lリン酸二水素カリウム試液	259
カルシウム標準液, 原子吸光度用	217	乾生姜	2001
カルシトニン サケ	732	乾生姜末	2002
カルテオロール塩酸塩	735	25%含水過酸化ベンゾイル	259
カルナウバロウ	1941	4%含水中性アルミナ	259
カルバヅクロム	258	カンゾウ	1942
カルバヅクロムスルホン酸ナトリウム, 成分含量測定用	258	甘草	1942
カルバヅクロムスルホン酸ナトリウム三水合物	258	乾燥亜硫酸ナトリウム	492
カルバヅクロムスルホン酸ナトリウム水合物	735	カンゾウエキス	1944
カルバゾール	258	甘草エキス	1944
カルバゾール試液	258	乾燥減量試験法	63
カルバマゼピン	736	甘草羔	1944
カルバミン酸エチル	258	乾燥甲状腺	866
カルバミン酸クロルフェネシン, 定量用	258	乾燥酵母	867
カルバモイル基結合型シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	404	含嗽剤	13
カルビドバ水和物	737	乾燥細胞培養痘そうワクチン	1208
カルベジロール	738	乾燥ジフテリアウマ抗毒素	944
カルベジロール, 定量用	258	乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン	703
カルベジロール錠	738	乾燥弱毒生風しんワクチン	1458
カルボキシメチルセルロース	745	乾燥弱毒生麻しんワクチン	1685
カルボキシメチルセルロースカルシウム	746	乾燥水酸化アルミニウムゲル	984
カルボキシメチルセルロースナトリウム	746	乾燥水酸化アルミニウムゲル細粒	985
L-カルボシステイン	258, 740	カンゾウ粗エキス	1944
L-カルボシステイン, 定量用	258	乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン	773
L-カルボシステイン錠	741	乾燥炭酸ナトリウム	259, 1133
L-カルボシステインドライシロップ	741	乾燥はぶウマ抗毒素	1340
カルボプラチン	258, 743	乾燥BCGワクチン	1390
カルボプラチン注射液	744	乾燥ボウショウ	2086
カルメロース	745	乾燥ボツリヌスウマ抗毒素	1662
カルメロースカルシウム	746	カンゾウ末	1943
カルメロースナトリウム	746	甘草末	1943
カルモナムナトリウム	748	乾燥まむしウマ抗毒素	1688
カルモフル	750	乾燥用塩化カルシウム	259
カロコン	1941	乾燥用合成ゼオライト	259
栝楼根	1941	乾燥硫酸アルミニウムカリウム	1830
カンキョウ	1941	乾燥硫酸ナトリウム	2086
乾姜	1941	カンデサルタン シレキセチル	751
還元液, 分子量試験用	258	カンデサルタン シレキセチル・ アムロジピンベシル酸塩錠	753
還元試液	258	カンデサルタン シレキセチル・ ヒドロクロロチアジド錠	756
還元鉄	258	カンデサルタン シレキセチル錠	751
丸剤	21	カンデサルタンシレキセチル	259
緩衝液, SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動用	258	カンデサルタンシレキセチル, 定量用	259
緩衝液, 酵素消化用	258	カンテン	259, 1945
緩衝液, セルモロイキン用	258	寒天	1945
緩衝液, テセロイキンSDSポリアクリルアミドゲル 電気泳動用	258	カンテン斜面培地	259

カンテン培地, 普通	259
カンテン末	1945
寒天末	1945
含糖ペプシン	259, 760
眼軟膏剤	17
眼軟膏剤の金属性異物試験法	161
ガンビール	1895
ガンビール末	1895
d-カンファスルホン酸	259
カンフル	259
d-カンフル	760
dl-カンフル	761
肝油	761
カンレノ酸カリウム	762

キ

希エタノール	259	基質試液(2), カリジノゲナーゼ測定用	260
希塩化第二鉄試液	259	基質試液(3), カリジノゲナーゼ測定用	260
希塩化鉄(III)試液	259	基質試液(4), カリジノゲナーゼ測定用	260
希塩酸	259, 679	希2,6-ジプロモ-N-クロロ-1,4-ベンゾキノ	
希過酸化水素試液	259	モノイミン試液	260
気管支・肺に適用する製剤	16	希p-ジメチルアミノベンズアルデヒド・	
希ギムザ試液	259	塩化第二鉄試液	260
キキョウ	259, 1946	希4-ジメチルアミノベンズアルデヒド・	
桔梗根	1946	塩化鉄(III)試液	260
桔梗根末	1946	希釈液, 粒子計数装置用	260
キキョウ末	1946	希硝酸	260
キキョウ流エキス	1947	キシリット	762
キクカ	1947	キシリット注射液	763
菊花	1947	キシリトール	260, 762
希五酸化バナジウム試液	259	キシリトール注射液	763
希酢酸	259	キシレノールオレンジ	260
キササゲ	1948	キシレノールオレンジ試液	260
ギ酸	259	キシレン	260
ギ酸アンモニウム	259	o-キシレン	260
ギ酸アンモニウム緩衝液, 0.05 mol/L, pH 4.0	259	キシレンシアノールFF	260
ギ酸エチル	259	キシロース	260
希酸化バナジウム(V)試液	259	D-キシロース	260
キサンテン	259	希水酸化カリウム・エタノール試液	260
キサンテン-9-カルボン酸	260	希水酸化ナトリウム試液	260
キサントヒドロール	260	キササマイシン	764
キサントン	260	キササマイシン酢酸エステル	765
ギ酸n-ブチル	260	キササマイシン酒石酸塩	766
希次酢酸鉛試液	260	希チモールブルー試液	260
希次硝酸ビスマス・ヨウ化カリウム試液, 噴霧用	260	キッカ	1947
キジツ	260, 1948	吉草根	1934
枳実	1948	吉草根末	1934
基質緩衝液, セルモロイキン用	260	n-吉草酸	260
基質試液, インターフェロンアルファ確認用	260	希鉄・フェノール試液	260
基質試液, エボエチンアルファ用	260	キナプリル塩酸塩	768
基質試液, 塩化リゾチーム用	260	キナプリル塩酸塩, 定量用	260
基質試液, リゾチーム塩酸塩用	260	キナプリル塩酸塩錠	769
基質試液(1), カリジノゲナーゼ測定用	260	キノジン硫酸塩水和物	261, 770
		キニーネエチル炭酸エステル	771
		キニーネ塩酸塩水和物	772
		キニーネ硫酸塩水和物	261, 773
		キノノーゲン	261
		キノノーゲン試液	261
		8-キノリノール	261
		キノリン	261
		キノリン試液	261
		希フェノールフタレイン試液	261
		希フェノールレッド試液	261
		希フォリン試液	261
		希ブロモフェノールブルー試液	261
		希ペンタシアノニトロシル鉄(III)酸ナトリウム・	
		ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム試液	261
		希ホルムアルデヒド試液	261
		ギムザ試液	261
		ギムザ試液, 希	261

希メチルレッド試液 261
 キモトリブシノーゲン, ゲルろ過分子量マーカー用 261
 α-キモトリブシン 261
 キャピラリー電気泳動法 (G3-7-180) 2611
 牛脂 1948
 吸収スペクトル用ジメチルスルホキシド 261
 吸収スペクトル用ヘキサン 261
 吸収スペクトル用*n*-ヘキサン 261
 吸水クリーム 793
 吸水軟膏 793
 吸入エアゾール剤 16
 吸入液剤 16
 吸入液剤の空気力学的粒度測定法 (G6-8-190) 2719
 吸入剤 16
 吸入剤の空気力学的粒度測定法 180
 吸入剤の送達量均一性試験法 177
 吸入粉末剤 16
 強アンモニア水 261
 強塩基性イオン交換樹脂 261
 強塩基性イオン交換樹脂, 液体クロマトグラフィー用 404
 強塩基性イオン交換樹脂, カラムクロマトグラフィー用 404
 強過酸化水素水 261
 キョウカツ 1948
 羌活 1948
 凝固点測定法 63
 強酢酸第二銅試液 261
 強酢酸銅(II)試液 261
 強酸性イオン交換樹脂 261
 強酸性イオン交換樹脂, 液体クロマトグラフィー用 404
 強酸性イオン交換樹脂, カラムクロマトグラフィー用 404
 強酸性イオン交換シリカゲル,
 液体クロマトグラフィー用 404
 希ヨウ素試液 261
 キョウニン 1949
 杏仁 1949
 キョウニン水 1950
 杏仁水 1950
 強熱減量試験法 63
 強熱残分試験法 64
 希ヨードチンキ 1782
 希硫酸 261
 希硫酸アンモニウム鉄(III)試液 261
 希硫酸第二鉄アンモニウム試液 261
 [6]-ギンゲロール, 成分含量測定用 261
 [6]-ギンゲロール, 定量用 261
 [6]-ギンゲロール, 薄層クロマトグラフィー用 262
 近赤外吸収スペクトル測定法 59
 ギンセノシドRb₁, 薄層クロマトグラフィー用 262
 ギンセノシドRc 262
 ギンセノシドRe 262
 ギンセノシドRg₁, 薄層クロマトグラフィー用 262
 金属ナトリウム 263
 金チオリンゴ酸ナトリウム 774
 キンヒドロン 263

金標準液, 原子吸光光度用 217
 銀標準液, 原子吸光光度用 217
 金標準原液 217
 銀標準原液 217

ク

グアイフェネシン 263, 774
 グアナベンズ酢酸塩 775
 グアニン 263
 グアネチジン硫酸塩 776
 グアヤコール 263
 グアヤコール, 定量用 263
 グアヤコールスルホン酸カリウム 263, 776
 クエチアピンフマル酸塩 777
 クエチアピンフマル酸塩細粒 780
 クエチアピンフマル酸塩錠 779
 クエン酸・酢酸試液 263
 クエン酸・無水酢酸試液 263
 クエン酸・リン酸塩・アセトニトリル試液 263
 クエン酸アンモニウム 263
 クエン酸アンモニウム鉄(III) 263
 クエン酸一水和物 263
 クエン酸ガリウム(⁶⁷Ga)注射液 782
 クエン酸緩衝液, 0.05 mol/L, pH 6.6 263
 クエン酸三カリウム一水和物 263
 クエン酸三ナトリウム試液, 0.1 mol/L 264
 クエン酸三ナトリウム二水和物 264
 クエン酸試液, 0.01 mol/L 263
 クエン酸試液, 0.1 mol/L 263
 クエン酸試液, 1 mol/L, 緩衝液用 263
 クエン酸水素二アンモニウム 264
 クエン酸水合物 782
 クエン酸第二鉄アンモニウム 264
 クエン酸銅(II)試液 264
 クエン酸ナトリウム 264
 クエン酸ナトリウム試液, 0.1 mol/L 264
 クエン酸ナトリウム水合物 264, 782
 クエン酸モサブリド, 定量用 264
 クオリティ・バイ・デザイン(QbD), 品質リスク
 マネジメント(QRM)及び医薬品質システム(PQS)
 に関連する用語集 (G0-6-172) 2566
 クコシ 1950
 枸杞子 1950
 クジン 1951
 苦参 1951
 クジン末 1951
 苦参末 1951
 屈折率測定法 64
 クペロン 264
 クペロン試液 264
 クーマシー染色試液 264
 クーマシーブリリアントブルー-G-250 264
 クーマシーブリリアントブルー-R-250 264

クーマシーブリリアントブルー試液, インターフェロンアルファ用	264
苦味重曹水	2000
苦味チンキ	1951
18-クラウンエーテル固定化シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	404
グラファイトカーボン, 液体クロマトグラフィー用	404
グラファイトカーボン, ガスクロマトグラフィー用	404
クラブラン酸カリウム	784
クラリスロマイシン	785
クラリスロマイシン錠	786
40%グリオキサール試液	264
グリオキサール標準液	217
グリオキサール標準原液	217
グリクラジド	788
グリコール酸ナトリウム, 薄層クロマトグラフィー用	264
N-グリコリルノイラミン酸	264
N-グリコリルノイラミン酸試液, 0.1 mmol/L	264
グリコールエーテル化シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	404
グリコール酸	264
グリシン	264, 789
グリース・ロメン亜硝酸試薬	264
グリース・ロメン硝酸試薬	264
クリスタルバイオレット	264
クリスタルバイオレット試液	264
グリセリン	264, 789
85%グリセリン	264
グリセリン, ガスクロマトグラフィー用	264
グリセリン塩基性試液	264
グリセリンカリ液	792
グリセロール	789
グリチルリチン酸, 薄層クロマトグラフィー用	264
グリチルリチン酸-アンモニウム, 分離確認用	265
クリノフィブラート	792
グリベンクラミド	793
クリーム剤	19
グリメピリド	794
グリメピリド錠	795
クリンダマイシン塩酸塩	797
クリンダマイシン塩酸塩カプセル	798
クリンダマイシンリン酸エステル	799
クリンダマイシンリン酸エステル注射液	800
グルカゴン(遺伝子組換え)	800
グルカゴン用酵素試液	265
クルクマ紙	406
クルクミン	265
クルクミン, 成分含量測定用	265
クルクミン, 定量用	265
クルクミン試液	265
D-グルコサミン塩酸塩	265
4'-O-グルコシル-5-O-メチルピサミノール, 薄層クロマトグラフィー用	265
グルコースオキシダーゼ	265
グルコース検出用試液	265
グルコース検出用試液, ペニシリウム由来β-ガラクトシダーゼ用	265
グルコン酸カルシウム, 薄層クロマトグラフィー用	266
グルコン酸カルシウム水和物	801
グルコン酸カルシウム水和物, 薄層クロマトグラフィー用	266
グルコン酸ナトリウム	266
グルタチオン	266, 802
L-グルタミン	266, 803
L-グルタミン酸	266, 803
グルタミン試液	266
7-(グルタリルグリシル-L-アルギニルアミノ)- 4-メチルクマリン	266
7-(グルタリルグリシル-L-アルギニルアミノ)- 4-メチルクマリン試液	266
クレオソート	2106
クレゾール	266, 805
m-クレゾール	266
p-クレゾール	266
クレゾール水	805
クレゾール石ケン液	805
クレゾールレッド	266
クレゾールレッド試液	266
クレボブリドリンゴ酸塩	805
クレマスチンフマル酸塩	807
クロカブラミン塩酸塩水和物	807
クロキサシリンナトリウム水和物	808
クロキサゾラム	266, 809
クロコナゾール塩酸塩	810
クロスカルメロースナトリウム	747
クロスボビドン	811
クロチアゼパム	812
クロチアゼパム, 定量用	266
クロチアゼパム錠	812
クロトリマゾール	266, 813
クロナゼパム	814
クロナゼパム, 定量用	266
クロナゼパム細粒	815
クロナゼパム錠	814
クロニジン塩酸塩	816
クロピドグレル硫酸塩	817
クロピドグレル硫酸塩錠	818
クロフィブラート	266, 820
クロフィブラートカプセル	820
クロフェダノール塩酸塩	821
γ-グロブリン	266
クロバタゾールプロピオン酸エステル	822
クロペラスチン塩酸塩	823
クロペラスチンフェンジゾ酸塩	824
クロペラスチンフェンジゾ酸塩, 定量用	266
クロペラスチンフェンジゾ酸塩錠	824
クロマトグラフィー総論	37

クロマトグラフィーのライフサイクル各ステージにおける
管理戦略と変更管理の考え方（クロマトグラフィーの
ライフサイクルにおける変更管理）〈G1-5-181〉……2573

クロマトグラフィー用ケイソウ土……404

クロマトグラフィー用担体／充填剤……401

クロマトグラフィー用中性アルミナ……404

クロミフェンクエン酸塩……826

クロミフェンクエン酸塩錠……826

クロミブラミン塩酸塩……827

クロミブラミン塩酸塩，定量用……266

クロミブラミン塩酸塩錠……828

クロム酸・硫酸試液……266

クロム酸カリウム……266

クロム酸カリウム試液……266

クロム酸銀飽和クロム酸カリウム試液……266

クロム酸ナトリウム(⁵¹Cr)注射液……829

クロム標準液，原子吸光光度用……217

クロモグリク酸ナトリウム……829

クロモトロブ酸……266

クロモトロブ酸試液……266

クロモトロブ酸試液……266

クロモトロブ酸試液，濃……266

クロモトロブ酸試液，濃……266

クロモトロブ酸二ナトリウム二水和物……266

クロラゼブ酸二カリウム……830

クロラゼブ酸二カリウム，定量用……266

クロラゼブ酸二カリウムカプセル……831

クロラミン……266

クロラミン試液……266

クロラムフェニコール……266, 831

クロラムフェニコール・コリスチンメタンスルホン酸
ナトリウム点眼液……833

クロラムフェニコールコハク酸エステルナトリウム……832

クロラムフェニコールパルミチン酸エステル……834

p-クロロアニリン……266

p-クロロ安息香酸……266

クロルジアゼボキシド……266, 835

クロルジアゼボキシド，定量用……266

クロルジアゼボキシド散……837

クロルジアゼボキシド錠……835

クロルフェニラミンマレイン酸塩……266, 838

d-クロルフェニラミンマレイン酸塩……841

クロルフェニラミンマレイン酸塩散……840

クロルフェニラミンマレイン酸塩錠……838

クロルフェニラミンマレイン酸塩注射液……841

クロルフェネシンカルバミン酸エステル……842

クロルフェネシンカルバミン酸エステル，定量用……267

クロルフェネシンカルバミン酸エステル錠……843

p-クロルフェノール……267

クロルプロパミド……844

クロルプロパミド，定量用……267

クロルプロパミド錠……845

クロルプロマジン塩酸塩……846

クロルプロマジン塩酸塩，定量用……267

クロルプロマジン塩酸塩錠……846

クロルプロマジン塩酸塩注射液……847

クロルヘキシジン塩酸塩……267, 848

クロルヘキシジングルコン酸塩液……848

p-クロルベンゼンスルホンアミド……267

クロルマジノン酢酸エステル……849

4-クロロアニリン……267

4-クロロ安息香酸……267

2-クロロエチルジエチルアミン塩酸塩……267

クロロギ酸9-フルオレニルメチル……267

クロロゲン酸，薄層クロマトグラフィー用……267

(E)-クロロゲン酸，薄層クロマトグラフィー用……267

クロロ酢酸……267

1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン……267

3'-クロロ-3'-デオキシチミジン，
液体クロマトグラフィー用……267

クロロトリメチルシラン……267

(2-クロロフェニル)-ジフェニルメタノール，
薄層クロマトグラフィー用……267

4-クロロフェノール……267

クロロブタノール……267, 850

1-クロロブタン……267

3-クロロ-1,2-プロパンジオール……268

4-クロロベンゼンジアゾニウム塩試液……268

4-クロロベンゼンスルホンアミド……268

4-クロロベンゾフェノン……268

クロロホルム……268

クロロホルム，エタノール不含……268

クロロホルム，水分測定用……268

ケ

ケイガイ……1952

荊芥穂……1952

経口液剤……11

蛍光基質試液……268

蛍光光度法……54

蛍光試液……268

経口ゼリー剤……12

蛍光染色による細菌数の迅速測定法〈G4-8-152〉……2679

経口投与する製剤……10

経口フィルム剤……12

ケイ酸アルミン酸マグネシウム……852

ケイ酸マグネシウム……854

軽質無水ケイ酸……850

軽質流動パラフィン……1350

桂枝茯苓丸エキス……1952

ケイソウ土……268

ケイソウ土，ガスクロマトグラフィー用……404

ケイソウ土，クロマトグラフィー用……404

ケイタングステン酸二十六水和物……268

ケイヒ……1954

桂皮……1954

ケイ皮酸……268

(E)ーケイ皮酸, 成分含量測定用	268
(E)ーケイ皮酸, 定量用	268
(E)ーケイ皮酸, 薄層クロマトグラフィー用	269
ケイヒ末	1954
桂皮末	1954
ケイヒ油	1954
桂皮油	1954
計量器・用器	407
ケタミン塩酸塩	855
血液カンテン培地	269
血液透析用剤	15
1%血液浮遊液	269
結晶セルロース	1096
結晶トリプシン	269
結晶トリプシン, ウリナスタチン定量用	270
ケツメイシ	1955
決明子	1955
ケトコナゾール	270, 856
ケトコナゾール, 定量用	270
ケトコナゾール液	856
ケトコナゾールクリーム	858
ケトコナゾールローション	857
ケトチフェンフマル酸塩	858
ケトプロフェン	859
ゲニポンド, 成分含量測定用	270
ゲニポンド, 定量用	270
ゲニポンド, 薄層クロマトグラフィー用	271
ケノデオキシコール酸	860
ケノデオキシコール酸, 薄層クロマトグラフィー用	271
ゲファルナート	860
ゲフィチニブ	862
ゲフィチニブ錠	863
ゲル型強塩基性イオン交換樹脂, 液体クロマトグラフィー用	404
ゲル型強酸性イオン交換樹脂(架橋度6%), 液体クロマトグラフィー用	404
ゲル型強酸性イオン交換樹脂(架橋度8%), 液体クロマトグラフィー用	404
ゲル剤	20
ゲルろ過分子量マーカー用ウシ血清アルブミン	271
ゲルろ過分子量マーカー用キモトリブシノーゲン	271
ゲルろ過分子量マーカー用卵白アルブミン	271
ゲルろ過分子量マーカー用リボヌクレアーゼA	271
ケロシン	271
ケンゴシ	1955
牽牛子	1955
原子間力顕微鏡によるナノ粒子のサイズ 及び形態解析法 (GI-9-182)	2575
原子吸光光度法	54
原子吸光光度用亜鉛標準液	217
原子吸光光度用アルミニウム標準液	217
原子吸光光度用カルシウム標準液	217
原子吸光光度用金標準液	217
原子吸光光度用銀標準液	217

原子吸光光度用クロム標準液	217
原子吸光光度用鉄標準液	218
原子吸光光度用鉄標準液(2)	218
原子吸光光度用鉛標準液	218
原子吸光光度用ニッケル標準液	218
原子吸光光度用マグネシウム標準液	218
元素不純物	103
懸濁剤	11
ゲンタマイシンB	271
ゲンタマイシン硫酸塩	864
ゲンタマイシン硫酸塩注射液	865
ゲンタマイシン硫酸塩点眼液	865
ゲンタマイシン硫酸塩軟膏	866
ゲンチアナ	1955
ゲンチアナ・重曹散	1956
ゲンチアナ末	1956
ゲンチオピクロシド, 薄層クロマトグラフィー用	271
ゲンチジン酸	271
ゲンノショウコ	1956
ゲンノショウコ末	1957

コ

コウイ	1957
膠飴	1957
抗インターフェロンアルファ抗血清	271
抗ウリナスタチンウサギ血清	272
抗ウロキナーゼ血清	272
抗A血液型判定用抗体	272
コウカ	1957
紅花	1957
広藿香	1926
硬化油	866
紅耆	2011
口腔内に適用する製剤	12
口腔内崩壊錠	10
口腔内崩壊フィルム剤	12
口腔用液剤	13
口腔用錠剤	12
口腔用スプレー剤	13
口腔用半固形剤	13
光遮蔽型自動微粒子測定器校正用標準粒子	407
コウジン	1958
紅参	1958
校正球, 粒子密度測定用	407
合成ケイ酸アルミニウム	851
合成ケイ酸マグネシウム, カラムクロマトグラフィー用	404
合成ゼオライト, 乾燥用	272
抗生物質の微生物学的力価試験法	130
抗生物質用リン酸塩緩衝液, 0.1 mol/L, pH 8.0	272
抗生物質用リン酸塩緩衝液, pH 6.5	272
酵素試液	272
酵素試液, グルカゴン用	272
酵素消化用緩衝液	272

酵素免疫測定法〈G3-11-171〉……………2631
 抗B血液型判定用抗体……………272
 コウブシ……………1959
 香附子……………1959
 コウブシ末……………1959
 香附子末……………1959
 抗ブラジキニン抗体……………272
 抗ブラジキニン抗体試液……………272
 コウベイ……………1960
 粳米……………1960
 酵母エキス……………272
 コウボク……………1960
 厚朴……………1960
 コウボク末……………1961
 厚朴末……………1961
 高密度ポリエチレンフィルム……………272
 鉱油試験法……………25
 ゴオウ……………1961
 牛黄……………1961
 コカイン塩酸塩……………868
 固形製剤のプリスター包装の水蒸気透過性試験法
 〈G7-3-171〉……………2727
 五酸化バナジウム……………272
 五酸化バナジウム試液……………272
 五酸化バナジウム試液，希……………272
 五酸化リン……………272
 ゴシツ……………1962
 牛膝……………1962
 ゴシツ，薄層クロマトグラフィー用……………272
 牛車腎気丸エキス……………1963
 ゴシユ……………273, 1966
 呉茱萸……………1966
 呉茱萸湯エキス……………1966
 ゴセリン酢酸塩……………868
 固体又は粉体の密度〈G2-1-190〉……………2581
 コデインリン酸塩散1%……………872
 コデインリン酸塩散10%……………872
 コデインリン酸塩錠……………870
 コデインリン酸塩水和物……………870
 コデインリン酸塩水和物，定量用……………273
 ゴナドレリン酢酸塩……………873
 コハク酸……………273
 コハク酸ジエチレングリコールポリエステル，
 ガスクロマトグラフィー用……………273
 コハク酸シベンゾリン，定量用……………273
 コハク酸トコフェロール……………273
 コハク酸トコフェロールカルシウム……………273
 コバルチ亜硝酸ナトリウム……………273
 コバルチ亜硝酸ナトリウム試液……………273
 コブチシン塩化物，薄層クロマトグラフィー用……………273
 ゴボウシ……………1968
 牛蒡子……………1968
 コポピドン……………875
 ゴマ……………1968

胡麻……………1968
 ゴマ油……………273, 1968
 ゴミシ……………1969
 五味子……………1969
 コムギデンプン……………1202
 コメデンプン……………1204
 コリスチンメタンスルホン酸ナトリウム……………877
 コリスチン硫酸塩……………878
 コリン塩化物……………273
 コール酸，薄層クロマトグラフィー用……………273
 コール酸ナトリウム水和物……………273
 コルチゾン酢酸エステル……………273, 879
 コルヒチン……………880
 五苓散エキス……………1969
 コレカルシフェロール……………881
 コレスチミド……………882
 コレスチミド顆粒……………883
 コレスチミド錠……………883
 コレステロール……………273, 884
 コロジオン……………273
 コロホニウム……………2124
 コロンボ……………1970
 コロンボ末……………1971
 コンゴーレッド……………274
 コンゴーレッド紙……………406
 コンゴーレッド試液……………274
 コンズランゴ……………1971
 コンズランゴ流エキス……………1971

サ

サイクロセリン……………884
 サイコ……………1971
 柴胡……………1971
 柴胡桂枝乾姜湯エキス……………1975
 柴胡桂枝湯エキス……………1972
 サイコサポニンa，d混合標準試液，定量用……………274
 サイコサポニンa，成分含量測定用……………274
 サイコサポニンa，定量用……………274
 サイコサポニンa，薄層クロマトグラフィー用……………274
 サイコサポニンb₂，成分含量測定用……………274
 サイコサポニンb₂，定量用……………274
 サイコサポニンb₂，薄層クロマトグラフィー用……………275
 サイコサポニンb₂標準試液，定量用……………275
 サイコサポニンd，成分含量測定用……………275
 サイコサポニンd，定量用……………275
 サイコ成分含量測定用リン酸塩緩衝液……………276
 サイコ定量用リン酸塩緩衝液……………276
 サイシン……………1978
 細辛……………1978
 サイズ排除クロマトグラフィー……………51
 SYBR Green含有PCR 2倍反応液……………276
 細胞懸濁液，テセロイキン用……………276
 細胞毒性試験用リン酸塩緩衝液……………276

柴朴湯エキス	1979	酢酸試液, 6 mol/L	276
柴苓湯エキス	1981	酢酸水銀(II)	277
酢酸	276, 885	酢酸水銀(II)試液, 非水滴定用	277
酢酸(31)	276	酢酸セミカルバジド試液	277
酢酸(100)	276	酢酸第二水銀	277
酢酸, 希	276	酢酸第二水銀試液, 非水滴定用	277
酢酸, 非水滴定用	276	酢酸第二銅	277
酢酸, 氷	276	酢酸第二銅試液, 強	277
酢酸・酢酸アンモニウム緩衝液, pH 3.0	276	酢酸銅(II)一水和物	277
酢酸・酢酸アンモニウム緩衝液, pH 4.5	276	酢酸銅(II)試液, 強	278
酢酸・酢酸アンモニウム緩衝液, pH 4.8	276	酢酸トコフェロール	278
酢酸・酢酸カリウム緩衝液, pH 4.3	276	酢酸ナトリウム	278
酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, 0.05 mol/L, pH 4.0	276	酢酸ナトリウム, 無水	278
酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, 0.05 mol/L, pH 4.6	276	酢酸ナトリウム・アセトン試液	278
酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, 0.1 mol/L, pH 4.0	276	0.1 mol/L酢酸ナトリウム液	209
酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, 1 mol/L, pH 5.0	276	酢酸ナトリウム三水和物	278
酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, 1 mol/L, pH 6.0	276	酢酸ナトリウム試液	278
酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, pH 4.0	277	酢酸ナトリウム水和物	885
酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, pH 4.5	277	酢酸鉛	278
酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, pH 4.5, 鉄試験用	277	酢酸鉛(II)三水和物	278
酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, pH 4.7	277	酢酸鉛紙	406
酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, pH 5.0	277	酢酸鉛(II)紙	406
酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, pH 5.5	277	酢酸鉛試液	278
酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, pH 5.6	277	酢酸鉛(II)試液	278
酢酸・酢酸ナトリウム試液	277	酢酸ヒドロキソコバラミン	278
酢酸・酢酸ナトリウム試液, 0.02 mol/L	277	酢酸ヒドロコルチゾン	278
酢酸・酢酸ナトリウム試液, pH 7.0	277	酢酸ビニル	278
酢酸・硫酸試液	277	酢酸フタル酸セルロース	1087
酢酸亜鉛	277	酢酸ブチル	278
0.02 mol/L酢酸亜鉛液	209	酢酸 <i>n</i> -ブチル	278
0.05 mol/L酢酸亜鉛液	209	酢酸ブレドニゾロン	278
酢酸亜鉛緩衝液, 0.25 mol/L, pH 6.4	277	酢酸メチル	278
酢酸亜鉛二水和物	277	酢酸3-メチルブチル	278
酢酸アンモニウム	277	酢酸リチウム二水和物	278
酢酸アンモニウム試液	277	サケ精子DNA	278
酢酸アンモニウム試液, 0.5 mol/L	277	坐剤	18
酢酸アンモニウム試液, 40 mmol/L	277	サッカリン	886
酢酸イソアミル	277	サッカリンナトリウム水和物	887
酢酸エチル	277	サフラン	1984
酢酸塩緩衝液, 0.01 mol/L, pH 5.0	277	サーモリシン	278
酢酸塩緩衝液, 0.02 mol/L, pH 6.0	277	サラシ粉	278, 888
酢酸塩緩衝液, pH 3.5	277	サラシ粉試液	278
酢酸塩緩衝液, pH 4.0, 0.05 mol/L	277	サラシミツロウ	2106
酢酸塩緩衝液, pH 4.5	277	サラゾスルファピリジン	889
酢酸塩緩衝液, pH 5.4	277	サリチル・ミョウバン散	892
酢酸塩緩衝液, pH 5.5	277	サリチルアミド	278
酢酸カドミウム	277	サリチルアルダジン	278
酢酸カドミウム二水和物	277	サリチルアルデヒド	278
酢酸カリウム	277	サリチル酸	278, 890
酢酸カリウム試液	277	サリチル酸, 定量用	278
酢酸カルシウム一水和物	277	サリチル酸イソブチル	278
酢酸コルチゾン	277	サリチル酸試液	278
酢酸試液, 0.25 mol/L	276	サリチル酸精	890
酢酸試液, 2 mol/L	276	サリチル酸鉄試液	279

サリチル酸ナトリウム 279, **892**
 サリチル酸ナトリウム・水酸化ナトリウム試液 279
 サリチル酸絆創膏**892**
 サリチル酸メチル 279, **893**
 サルササボゲニン, 薄層クロマトグラフィー用 279
 ザルトプロフェン 279, **893**
 ザルトプロフェン, 定量用 279
 ザルトプロフェン錠**894**
 サルブタモール硫酸塩**895**
 サルボグレラート塩酸塩 279, **896**
 サルボグレラート塩酸塩細粒**898**
 サルボグレラート塩酸塩錠**897**
 三塩化アンチモン 279
 三塩化アンチモン試液 279
 三塩化チタン 279
 三塩化チタン・硫酸試液 279
 0.1 mol/L三塩化チタン液 209
 三塩化チタン試液 279
 三塩化ヨウ素 279
 酸化亜鉛**899**
 酸化亜鉛デンプン**411**
 酸化亜鉛軟膏**411**
 酸化アルミニウム 279
 酸化カルシウム 279, **900**
 酸化クロム(VI) 279
 酸化クロム(VI)試液 279
 酸化チタン**900**
 酸化チタン(IV) 279
 酸化チタン(IV)試液 279
 酸化銅ろ過用ガラスろ過器 406
 酸化鉛(II) 279
 酸化鉛(IV) 279
 酸化バナジウム(V) 279
 酸化バナジウム(V)試液 279
 酸化バナジウム(V)試液, 希 279
 酸化バリウム 279
 酸化マグネシウム 279, **901**
 酸化メシチル 279
 酸化モリブデン(VI) 279
 酸化モリブデン(VI)・クエン酸試液 279
 酸化ランタン(III) 279
 酸化リン(V) 280
 サンキライ**1984**
 山帰来**1984**
 サンキライ末**1985**
 山帰来末**1985**
 散剤 11
 サンザシ**1985**
 山査子**1985**
 三酸化クロム 280
 三酸化クロム試液 280
 三酸化ナトリウムビスマス 280
 三酸化ニヒ素 280, **902**
 三酸化ニヒ素試液 280

三酸化ヒ素 280
 三酸化ヒ素試液 280
 三酸化モリブデン 280
 三酸化モリブデン・クエン酸試液 280
 サンシシ**1986**
 山梔子**1986**
 サンシシ末**1986**
 山梔子末**1986**
 32D clone3細胞 280
 サンシュユ**1987**
 山茱萸**1987**
 サンショウ 280, **1988**
 山椒**1988**
 参照抗インターロイキン-2抗血清試液 280
 参照抗インターロイキン-2抗体, テセロイキン用 280
 サンショウ末**1988**
 山椒末**1988**
 酸処理ゼラチン 280
 酸性塩化カリウム試液 280
 酸性塩化スズ(II)試液 280
 酸性塩化第一スズ試液 280
 酸性塩化第二鉄試液 280
 酸性塩化鉄(III)試液 280
 酸性過マンガン酸カリウム試液 280
 α_1 -酸性糖タンパク質結合シリカゲル,
 液体クロマトグラフィー用 401
 酸性白土 280
 酸性硫酸アンモニウム鉄(III)試液 280
 酸素 280, **902**
 サンソウニン**1989**
 酸棗仁**1989**
 酸素スパンガス, 定量用 280
 酸素ゼロガス, 定量用 280
 酸素-窒素標準混合ガス 280
 酸素比較ガス, 定量用 280
 酸素フラスコ燃焼法 26
 酸素-ヘリウム標準混合ガス 280
 サントニン 280, **903**
 サントニン, 定量用 280
 三ナトリウム五シアノアミン第一鉄試液 280
 三ナトリウム五シアノアミン鉄(II)試液 280
 3倍濃厚乳糖ブイヨン 280
 三フッ化ホウ素 280
 三フッ化ホウ素・メタノール試液 280
 酸又はアルカリ試験用メチルレッド試液 280
 サンヤク**1989**
 山薬**1989**
 サンヤク末**1989**
 山薬末**1989**
 残留溶媒 64

シ

次亜塩素酸ナトリウム・水酸化ナトリウム試液 280

- 次亜塩素酸ナトリウム試液……………280
 次亜塩素酸ナトリウム試液, 10% ……280
 次亜塩素酸ナトリウム試液, アンモニウム試験用 ……280
 次亜臭素酸ナトリウム試液……………281
 ジアスターゼ……………904
 ジアスターゼ・重曹散……………904
 ジアセチル……………281
 ジアセチル試液……………281
 ジアゼパム……………904
 ジアゼパム, 定量用……………281
 ジアゼパム錠……………905
 ジアゾ化滴定用スルファニルアミド……………281
 ジアゾ試液……………281
 ジアゾベンゼンスルホン酸試液……………281
 ジアゾベンゼンスルホン酸試液, 濃……………281
 シアナミド……………906
 1-シアノグアニジン……………281
 シアノコバラミン……………281, 906
 シアノコバラミン注射液……………907
 シアノプロピルシリル化シリカゲル,
 液体クロマトグラフィー用……………404
 6%シアノプロピルフェニル-94%ジメチル
 シリコーンポリマー, ガスクロマトグラフィー用……………281
 14%シアノプロピルフェニル-86%ジメチル
 シリコーンポリマー, ガスクロマトグラフィー用……………404
 6%シアノプロピル-6%フェニル-メチル
 シリコーンポリマー, ガスクロマトグラフィー用……………281
 7%シアノプロピル-7%フェニル-メチル
 シリコーンポリマー, ガスクロマトグラフィー用……………281
 シアノプロピルメチルフェニルシリコーン,
 ガスクロマトグラフィー用……………281
 2,3-ジアミノナフタリン……………281
 2,4-ジアミノフェノール二塩酸塩……………282
 2,4-ジアミノフェノール二塩酸塩試液……………282
 1,4-ジアミノブタン……………282
 3,3'-ジアミノベンジジン四塩酸塩……………282
 次亜リン酸……………282
 シアン化カリウム……………282
 シアン化カリウム試液……………282
 シアン酢酸……………282
 シアン酢酸エチル……………282
 シアン標準液……………218
 シアン標準原液……………218
 ジイソプロピルアミン……………282
 ジェサコニチン, 純度試験用……………282
 ジエタノールアミン……………282
 ジエチルアミノエチル基を結合した合成高分子,
 液体クロマトグラフィー用……………404
 ジエチルアミノエチルセルロース,
 カラムクロマトグラフィー用……………404
 ジエチルアミン……………282
 ジエチルエーテル……………283
 ジエチルエーテル, 生薬純度試験用……………283
 ジエチルエーテル, 無水……………283
 ジエチルカルバマジンクエン酸塩……………908
 ジエチルカルバマジンクエン酸塩錠……………908
N,N-ジエチルジチオカルバミド酸銀……………283
N,N-ジエチルジチオカルバミド酸ナトリウム三水和物……………283
 ジエチルジチオカルバミン酸亜鉛……………283
 ジエチルジチオカルバミン酸銀……………283
 ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム……………283
N,N-ジエチルジチオカルバミン酸ナトリウム三水和物……………283
N,N-ジエチル-*N'*-1-ナフチルエチレンジアミン
 シュウ酸塩……………283
N,N-ジエチル-*N'*-1-ナフチルエチレンジアミン
 シュウ酸塩・アセトン試液……………283
N,N-ジエチル-*N'*-1-ナフチルエチレンジアミン
 シュウ酸塩試液……………283
 ジエチレングリコール……………283
 ジエチレングリコールアジピン酸エステル,
 ガスクロマトグラフィー用……………283
 ジエチレングリコールコハク酸エステル,
 ガスクロマトグラフィー用……………283
 ジエチレングリコールジメチルエーテル……………283
 ジエチレングリコールモノエチルエーテル……………283
 ジエチレングリコールモノエチルエーテル, 水分測定用……………283
 四塩化炭素……………283
 ジオウ……………1990
 地黄……………1990
 ジオキサン……………283
 1,4-ジオキサン……………283
 ジオールシリカゲル, 液体クロマトグラフィー用……………404
 紫外可視吸光度測定法……………55
 歯科用アンチホルミン……………514
 歯科用次亜塩素酸ナトリウム液……………514
 歯科用トリオジンクパスタ……………1246
 歯科用パラホルムパスタ……………1351
 歯科用フェノール・カンフル……………1472
 歯科用ヨード・グリセリン……………1782
 ジギトニン……………283
 シクラシリン……………909
 ジクロキサシリンナトリウム水和物……………910
 シクロスポリン……………911
 シクロスポリンU……………284
 β -シクロデキストリン結合シリカゲル,
 液体クロマトグラフィー用……………404
 ジクロフェナクナトリウム……………284, 912
 ジクロフェナクナトリウム, 定量用……………284
 ジクロフェナクナトリウム坐剤……………912
 シクロブタンカルボン酸……………284
 1,1-シクロブタンジカルボン酸……………284
 シクロヘキサン……………284
 シクロヘキシルアミン……………284
 シクロヘキシルメタノール……………284
 シクロペントラート塩酸塩……………913
 シクロホスファミド錠……………914
 シクロホスファミド水和物……………914
 シクロホスファミド水和物, 定量用……………284

1,2-ジクロロエタン 284
 2,6-ジクロロフェノールインドフェノールナトリウム 284
 2,6-ジクロロフェノールインドフェノール
 ナトリウム試液 284
 2,6-ジクロロフェノールインドフェノール
 ナトリウム試液, 滴定用 284
 ジクロロフルオレセイン 284
 ジクロロフルオレセイン試液 284
 ジクロロメタン 284
 3,4-ジクロロアニリン 284
 2,6-ジクロロインドフェノールナトリウム・
 酢酸ナトリウム試液 284
 2,6-ジクロロインドフェノールナトリウム試液 284
 2,6-ジクロロインドフェノールナトリウム試液,
 滴定用 284
 2,6-ジクロロインドフェノールナトリウム二水和物 284
 1,2-ジクロロエタン 284
 2,6-ジクロロフェノール 284
 ジクロロフルオレセイン 284
 ジクロロフルオレセイン試液 284
 1,2-ジクロロベンゼン 284
 ジクロロメタン 284
 試験菌移植培地, テセロイキン用 284
 試験菌移植培地斜面, テセロイキン用 284
 シゴカ 1991
 刺五加 1991
 ジゴキシン 284, 915
 ジゴキシン錠 916
 ジゴキシン注射液 918
 ジコッピ 1991
 地骨皮 1991
 シコン 1991
 紫根 1991
 次酢酸鉛試液 284
 次酢酸鉛試液, 希 285
 シザンドリン, 薄層クロマトグラフィー用 285
 ジシクロヘキシル 285
 ジシクロヘキシルウレア 285
N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド 285
N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド・
 エタノール試液 285
N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド・
 無水エタノール試液 285
 次硝酸ビスマス 285, 919
 次硝酸ビスマス試液 285
 ジスチグミン臭化物 919
 ジスチグミン臭化物, 定量用 285
 ジスチグミン臭化物錠 920
 L-シスチン 285, 921
 L-システイン 921
 L-システイン塩酸塩一水和物 285
 L-システイン塩酸塩水和物 922
 L-システイン酸 285
 システム適合性 (G1-2-I&I) 2571

システム適合性試験用試液, フィルグラスチム用 285
 シスプラチン 285, 923
 ジスルフィラム 924
 磁製るつぼ 406
 持続性注射剤 15
 ジソピラミド 924
 紫蘇葉 2023
 2,6-ジ-第三ブチル-*p*-クレゾール 285
 2,6-ジ-第三ブチル-*p*-クレゾール試液 285
 シタグリブチンリン酸塩錠 926
 シタグリブチンリン酸塩水和物 925
 シタラビン 928
 ジチオジグリコール酸 285
 ジチオジプロピオン酸 285
 ジチオスレイトール 285
 1,1'-[3,3'-ジチオビス(2-メチル-1-
 オキソプロピル)]-L-ジプロリン 285
 1,3-ジチオラン-2-イリデンマロン酸ジイソプロピル 285
 シチコリン 928
 ジチゾン 286
 ジチゾン液, 抽出用 286
 ジチゾン試液 286
 シツリシ 1992
 蒺藜子 1992
 質量分析法 93
 シトシン 285
 ジドブジン 930
 ジドロゲステロン 931
 ジドロゲステロン, 定量用 286
 ジドロゲステロン錠 932
 2,2'-ジナフチルエーテル 286
 2,4-ジニトロクロロベンゼン 286
 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン 286
 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン・エタノール試液 286
 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン・
 ジエチレングリコールジメチルエーテル試液 286
 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン試液 286
 2,4-ジニトロフェノール 286
 2,4-ジニトロフェノール試液 286
 2,4-ジニトロフルオルベンゼン 286
 1,2-ジニトロベンゼン 286
 1,3-ジニトロベンゼン 286
m-ジニトロベンゼン 286
 1,3-ジニトロベンゼン試液 286
 1,3-ジニトロベンゼン試液, アルカリ性 286
m-ジニトロベンゼン試液 286
m-ジニトロベンゼン試液, アルカリ性 286
 シネオール, 定量用 286
 シノキサシン 933
 シノキサシン, 定量用 286
 シノキサシンカプセル 933
 シノブファギン, 成分含量測定用 286
 シノブファギン, 定量用 286
 ジノプロスト 934

シノメニン, 定量用	287	2,6-ジ- <i>t</i> -ブチルクレゾール試液	290
シノメニン, 薄層クロマトグラフィー用	287	ジブチルジチオカルバミン酸亜鉛	290
ジビコリン酸	287	ジフテリアトキシイド	944
ジヒドロエルゴクリスチンメシル酸塩, 薄層クロマトグラフィー用	288	4,4'-ジフルオロベンゾフェノン	290
ジヒドロエルゴタミンメシル酸塩	935	ジフルコルトロン吉草酸エステル	944
ジヒドロエルゴトキシンメシル酸塩	936	ジプロフィリン	290
2,4-ジヒドロキシ安息香酸	288	シプロフロキサシン	945
1,3-ジヒドロキシナフタレン	288	シプロフロキサシン塩酸塩水和物	947
2,7-ジヒドロキシナフタレン	288	シプロヘプタジン塩酸塩水和物	948
2,7-ジヒドロキシナフタレン試液	288	2,6-ジプロムキノククロイミド	290
ジヒドロコデインリン酸塩	937	2,6-ジプロムキノククロイミド試液	290
ジヒドロコデインリン酸塩, 定量用	288	2,6-ジプロモ- <i>N</i> -クロロ-1,4-ベンゾキノ モノイミン	290
ジヒドロコデインリン酸塩散1%	938	2,6-ジプロモ- <i>N</i> -クロロ- <i>p</i> -ベンゾキノ モノイミン	290
ジヒドロコデインリン酸塩散10%	939	2,6-ジプロモ- <i>N</i> -クロロ-1,4-ベンゾキノ モノイミン試液	290
3,4-ジヒドロ-6-ヒドロキシ-2(1 <i>H</i>)-キノリノン	288	2,6-ジプロモ- <i>N</i> -クロロ- <i>p</i> -ベンゾキノ モノイミン試液	290
1-[(2 <i>R</i> ,5 <i>S</i>)-2,5-ジヒドロ-5-(ヒドロキシメチル)- 2-フリル]チミン, 薄層クロマトグラフィー用	288	2,6-ジプロモ- <i>N</i> -クロロ-1,4-ベンゾキノ モノイミン試液, 希	290
ジビニルベンゼン- <i>N</i> -ビニルピロリドン共重合体, カラムクロマトグラフィー用	404	2,6-ジプロモ- <i>N</i> -クロロ- <i>p</i> -ベンゾキノ モノイミン試液, 希	290
ジビニルベンゼン-メタクリラート共重合体, 液体クロマトグラフィー用	404	ジフロラゾン酢酸エステル	948
α, α' -ジピリジル	288	ジベカシン硫酸塩	290, 949
1,3-ジ- (4-ピリジル)プロパン	288	ジベカシン硫酸塩点眼液	950
ジピリダモール	940	シベレスタットナトリウム水和物	290, 950
ジフェニドール塩酸塩	288, 940	ジベンジル	290
ジフェニル	288	<i>N,N'</i> -ジベンジルエチレンジアミン二酢酸塩	290
5%ジフェニル・95%ジメチルポリシロキサン, ガスクロマトグラフィー用	289	ジベンズ[<i>a,h</i>]アントラセン	291
ジフェニルアミン	288	シベンゾリンコハク酸塩	952
ジフェニルアミン・酢酸試液	288	シベンゾリンコハク酸塩, 定量用	291
ジフェニルアミン・氷酢酸試液	288	シベンゾリンコハク酸塩錠	953
ジフェニルアミン試液	288	脂肪酸メチルエステル混合試液	291
9,10-ジフェニルアントラセン	288	脂肪油	291
ジフェニルイミダゾール	288	シメチジン	954
ジフェニルエーテル	288	<i>N,N</i> -ジメチルアセトアミド	291
ジフェニルカルバジド	288	ジメチルアニリン	292
ジフェニルカルバジド試液	289	2,6-ジメチルアニリン	292
ジフェニルカルバゾン	289	<i>N,N</i> -ジメチルアニリン	292
ジフェニルカルバゾン試液	289	(ジメチルアミノ)アゾベンゼンスルホニルクロリド	292
1,5-ジフェニルカルボノヒドラジド	289	4-ジメチルアミノアンチピリン	292
1,5-ジフェニルカルボノヒドラジド試液	289	4-ジメチルアミノシナナムアルデヒド	292
ジフェニルスルホン, 定量用	289	<i>p</i> -ジメチルアミノシナナムアルデヒド	292
1,1-ジフェニル-4-ピペリジノ-1-ブテン塩酸塩, 薄層クロマトグラフィー用	289	4-ジメチルアミノシナナムアルデヒド試液	292
1,4-ジフェニルベンゼン	290	<i>p</i> -ジメチルアミノシナナムアルデヒド試液	292
ジフェニヒドラミン	290, 941	ジメチルアミノフェノール	292
ジフェニヒドラミン・バレリル尿素散	942	ジメチルアミノプロピルシリル化シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	404
ジフェニヒドラミン・フェノール・亜鉛華リニメント	943	4-ジメチルアミノベンジリデンロダニン	292
ジフェニヒドラミン塩酸塩	942	<i>p</i> -ジメチルアミノベンジリデンロダニン	292
ジブカイン塩酸塩	290, 943	4-ジメチルアミノベンジリデンロダニン試液	292
ジブチルアミン	290	<i>p</i> -ジメチルアミノベンジリデンロダニン試液	292
ジ- <i>n</i> -ブチルエーテル	290	4-ジメチルアミノベンズアルデヒド	292
2,6-ジ- <i>t</i> -ブチルクレゾール	290		

p-ジメチルアミノベンズアルデヒド……………292
p-ジメチルアミノベンズアルデヒド・塩化第二鉄試液 ……292
p-ジメチルアミノベンズアルデヒド・塩化第二鉄試液,
 希……………292
 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド・塩化鉄(III)試液……………292
p-ジメチルアミノベンズアルデヒド・塩化鉄(III)試液……………292
 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド・塩化鉄(III)試液,
 希……………292
 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド・塩酸・酢酸試液……………292
 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド・塩酸試液……………292
p-ジメチルアミノベンズアルデヒド・塩酸試液……………292
 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド試液……………292
p-ジメチルアミノベンズアルデヒド試液……………292
 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド試液, 噴霧用……………292
p-ジメチルアミノベンズアルデヒド試液, 噴霧用……………292
 ジメチルアミン……………293
N,N-ジメチル-*n*-オクチルアミン……………293
 ジメチルグリオキシム……………293
 ジメチルグリオキシム・チオセミカルバジド試液……………293
 ジメチルグリオキシム試液……………293
 ジメチルシリル化シリカゲル(蛍光剤入り),
 薄層クロマトグラフィー用……………404
 ジメチルスルホキシド……………293
 ジメチルスルホキシド, 吸収スペクトル用……………293
 3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-
 ジフェニル-2*H*-テトラゾリウム臭化物……………293
 3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-
 ジフェニル-2*H*-テトラゾリウム臭化物試液……………293
 2,6-ジメチル-4-(2-ニトロソフェニル)-3,5-
 ピリジンジカルボン酸ジメチルエステル,
 薄層クロマトグラフィー用……………293
 ジメチルポリシロキサン, ガスクロマトグラフィー用……………293
 ジメチルホルムアミド……………293
N,N-ジメチルホルムアミド……………293
N,N-ジメチルホルムアミド,
 液体クロマトグラフィー用……………293
 ジメトキシメタン……………293
 ジメドン……………293
 ジメモルファンリン酸塩……………954
 ジメルカプロール……………955
 ジメルカプロール注射液……………955
 ジメンヒドリナート……………956
 ジメンヒドリナート, 定量用……………293
 ジメンヒドリナート錠……………956
 次没食子酸ビスマス……………957
 ジモルホラミン……………958
 ジモルホラミン, 定量用……………293
 ジモルホラミン注射液……………958
 シャカンゾウ……………1992
 炙甘草……………1992
 試薬・試液……………219
 弱アヘンアルカロイド・スコポラミン注射液……………464
 弱塩基性DEAE-架橋デキストラン
 陰イオン交換体(CI型)……………404

弱酸性イオン交換樹脂, 液体クロマトグラフィー用……………404
 弱酸性イオン交換シリカゲル,
 液体クロマトグラフィー用……………404
 弱酸性CM-架橋セルロース陽イオン交換体(H型)……………404
 シャクヤク……………1993
 芍薬……………1993
 芍薬甘草湯エキス……………1995
 シャクヤク末……………1994
 芍薬末……………1994
 ジャショウシ……………1996
 蛇床子……………1996
 シャゼンシ……………1996
 車前子……………1996
 シャゼンシ, 薄層クロマトグラフィー用……………293
 シャゼンソウ……………1996
 車前草……………1996
 重塩酸, 核磁気共鳴スペクトル測定用……………294
 臭化カリウム……………294, 959
 臭化カリウム, 赤外吸収スペクトル用……………294
 臭化シアン試液……………294
 臭化ジスチグミン, 定量用……………294
 臭化ジミジウム……………294
 臭化ジミジウム-パテントブルー混合試液……………294
 臭化3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-
 ジフェニル-2*H*-テトラゾリウム……………294
 臭化3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-
 ジフェニル-2*H*-テトラゾリウム試液……………294
 臭化水素酸……………294
 臭化水素酸アレコリン, 薄層クロマトグラフィー用……………294
 臭化水素酸スコポラミン……………294
 臭化水素酸スコポラミン, 薄層クロマトグラフィー用……………294
 臭化水素酸セファエリン……………294
 臭化水素酸ホマトロピン……………294
 臭化ダクロニウム, 薄層クロマトグラフィー用……………294
 臭化*n*-デシルトリメチルアンモニウム……………294
 臭化*n*-デシルトリメチルアンモニウム試液,
 0.005 mol/L……………294
 臭化テトラ-*n*-ブチルアンモニウム……………294
 臭化テトラ-*n*-プロピルアンモニウム……………294
 臭化テトラ-*n*-ヘプチルアンモニウム……………294
 臭化テトラ-*n*-ペンチルアンモニウム……………294
 臭化ナトリウム……………294, 959
 臭化プロパンテリン……………294
 臭化ヨウ素(II)……………294
 臭化ヨウ素(II)試液……………294
 臭化リチウム……………295
 重金属試験法……………27
 重クロム酸カリウム……………294
 重クロム酸カリウム(標準試薬)……………294
 重クロム酸カリウム・硫酸試液……………294
 1/60 mol/L重クロム酸カリウム液……………209
 重クロム酸カリウム試液……………294
 シュウ酸……………294
 シュウ酸アンモニウム……………294

シュウ酸アンモニウム一水和物	294
シュウ酸アンモニウム試液	294
0.005 mol/Lシュウ酸液	209
0.05 mol/Lシュウ酸液	209
シュウ酸塩pH標準液	218, 295
シュウ酸試液	294
シュウ酸ナトリウム(標準試薬)	295
0.005 mol/Lシュウ酸ナトリウム液	209
シュウ酸 <i>N</i> -(1-ナフチル)- <i>N'</i> -ジエチルエチレン ジアミン	295
シュウ酸 <i>N</i> -(1-ナフチル)- <i>N'</i> -ジエチルエチレン ジアミン・アセトン試液	295
シュウ酸 <i>N</i> -(1-ナフチル)- <i>N'</i> -ジエチルエチレン ジアミン試液	295
シュウ酸二水和物	294
重水, 核磁気共鳴スペクトル測定用	295
重水素化アセトン, 核磁気共鳴スペクトル測定用	295
重水素化ギ酸, 核磁気共鳴スペクトル測定用	295
重水素化クロロホルム, 核磁気共鳴スペクトル測定用	295
重水素化酢酸, 核磁気共鳴スペクトル測定用	295
重水素化ジメチルスルホキシド, 核磁気共鳴スペクトル測定用	295
重水素化ビリジン, 核磁気共鳴スペクトル測定用	295
重水素化メタノール, 核磁気共鳴スペクトル測定用	295
重水素化溶媒, 核磁気共鳴スペクトル測定用	295
十全大補湯エキス	1997
臭素	295
臭素・酢酸試液	295
臭素・シクロヘキサン試液	295
臭素・水酸化ナトリウム試液	295
臭素・四塩化炭素試液	295
重曹	1132
0.05 mol/L臭素液	209
臭素酸カリウム	295
1/60 mol/L臭素酸カリウム液	210
臭素試液	295
重炭酸ナトリウム	1132
重炭酸ナトリウム注射液	1133
収着-脱着等温線測定法及び水分活性測定法	119
ジュウヤク	2000
十葉	2000
シュクシャ	2000
縮砂	2000
シュクシャ末	2001
縮砂末	2001
宿主細胞由来タンパク質試験法 (G3-9-172)	2621
酒精剤	21
酒石酸	295, 960
L-酒石酸	295
酒石酸アンモニウム	295
L-酒石酸アンモニウム	295
酒石酸カリウム	295
酒石酸カリウムナトリウム	295
酒石酸緩衝液, pH 3.0	295

酒石酸水素ナトリウム	295
酒石酸水素ナトリウム一水和物	295
酒石酸水素ナトリウム試液	295
酒石酸第一鉄試液	295
酒石酸鉄(II)試液	295
酒石酸ナトリウム	295
酒石酸ナトリウムカリウム四水和物	295
酒石酸ナトリウム二水和物	295
酒石酸メトプロロール, 定量用	295
酒石酸レバロルフアン, 定量用	295
純度試験用アコニチン	295
純度試験用アルテミシア・アルギイ	295
純度試験用ジュサコニチン	295
純度試験用ヒパコニチン	295
純度試験用ブシジエステルアルカロイド混合標準溶液	295
純度試験用ペウケダヌム・レデボウリエルロイデス	295
純度試験用メサコニチン	295
純度試験用ラボンチシン	295
消化力試験法	133
ショウキョウ	2001
生姜	2001
ショウキョウ末	2002
生姜末	2002
錠剤	10
錠剤硬度測定法 (G6-4-180)	2721
小柴胡湯エキス	2003
錠剤の摩損度試験法 (G6-5-181)	2722
硝酸	295
硝酸, 希	295
硝酸, 発煙	295
硝酸アンモニウム	295
硝酸イソソルビド	961
硝酸イソソルビド, 定量用	295
硝酸イソソルビド錠	961
硝酸カリウム	296
硝酸カルシウム	296
硝酸カルシウム四水和物	296
硝酸銀	296, 960
硝酸銀・アンモニア試液	296
0.001 mol/L硝酸銀液	210
0.005 mol/L硝酸銀液	210
0.01 mol/L硝酸銀液	210
0.02 mol/L硝酸銀液	210
0.1 mol/L硝酸銀液	210
硝酸銀試液	296
硝酸銀点眼液	960
硝酸コバルト	296
硝酸コバルト(II)六水和物	296
硝酸試液, 2 mol/L	295
硝酸ジルコニル	296
硝酸ジルコニル二水和物	296
硝酸ストリキニーネ, 定量用	296
硝酸セリウム(III)試液	296
硝酸セリウム(III)六水和物	296

硝酸第一セリウム	296	生薬純度試験用アセトン	297
硝酸第一セリウム試液	296	生薬純度試験用アリストロキア酸 I	297
硝酸第二鉄	296	生薬純度試験用エーテル	297
硝酸第二鉄試液	296	生薬純度試験用ジエチルエーテル	297
硝酸チアミン	296	生薬純度試験用ヘキササン	297
硝酸鉄(Ⅲ)九水和物	296	生薬総則	7
硝酸鉄(Ⅲ)試液	296	生薬定量用エフェドリン塩酸塩	297
硝酸デヒドロコリダリン, 成分含量測定用	296	生薬等の定量指標成分について〈G5-2-170〉	2698
0.1 mol/L硝酸銅(Ⅱ)液	210	生薬の放射能測定法〈G5-8-180〉	2708
硝酸銅(Ⅱ)三水和物	296	蒸留水, 注射用	297
硝酸ナトリウム	297	[6]ーショーガオール, 定量用	297
硝酸ナファゾリン	297	[6]ーショーガオール, 薄層クロマトグラフィー用	298
硝酸ナファゾリン, 定量用	297	食塩	677
硝酸鉛	297	触媒用ラニーニッケル	298
硝酸鉛(Ⅱ)	297	植物油	298
硝酸二アンモニウムセリウム(Ⅳ)	297	ジョサマイシン	298, 962
硝酸二アンモニウムセリウム(Ⅳ)試液	297	ジョサマイシン錠	963
硝酸バリウム	297	ジョサマイシンプロピオン酸エステル	298, 964
硝酸バリウム試液	297	シラザブリン	298
硝酸ビスマス	297	シラザブリン, 定量用	298
硝酸ビスマス・ヨウ化カリウム試液	297	シラザブリン錠	965
0.01 mol/L硝酸ビスマス液	210	シラザブリン水合物	298, 965
硝酸ビスマス五水和物	297	シラザブリン水合物, 定量用	298
硝酸ビスマス試液	297	シラスタチンアンモニウム, 定量用	298
硝酸標準液	218	シラスタチンナトリウム	967
硝酸マグネシウム	297	ジラゼブ塩酸塩水合物	968
硝酸マグネシウム六水和物	297	シリカゲル	299
硝酸マンガン(Ⅱ)六水和物	297	シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	404
硝酸ミコナゾール	297	シリカゲル, ガスクロマトグラフィー用	404
常水	983	シリカゲル, 薄層クロマトグラフィー用	405
ショウズク	2005	シリカゲル(蛍光剤入り), 薄層クロマトグラフィー用	405
小豆蔻	2005	シリカゲル(混合蛍光剤入り), 薄層クロマトグラフィー用	405
小豆蔻	2005	シリカゲル(粒径5 ~ 7 μm, 蛍光剤入り), 薄層クロマトグラフィー用	405
焦性ブドウ酸ナトリウム	297	シリコーン樹脂	299
小青竜湯エキス	2005	シリコン樹脂	299
焼セッコウ	2014	シリコン油	299
焼石膏	2014	シリコン油	299
消毒法及び除染法〈G4-9-170〉	2681	試料緩衝液, エポエチンアルファ用	299
消毒用アルコール	617	ジルコニル・アリザリンS試液	299
消毒用エタノール	297, 617	ジルコニル・アリザリンレッドS試液	299
消毒用フェノール	1471	ジルチアゼム塩酸塩	299, 969
消毒用フェノール水	1472	ジルチアゼム塩酸塩, 定量用	299
樟脳	760	ジルチアゼム塩酸塩徐放カプセル	970
ショウマ	2008	シルニジピン	971
升麻	2008	シルニジピン錠	972
焼ミョウバン	1830	シロスタゾール	973
生薬及び生薬製剤のアフラトキシン試験法〈G5-7-170〉	2706	シロスタゾール錠	974
生薬及び生薬製剤の薄層クロマトグラフィー 〈G5-3-182〉	2699	シロップ剤	12
生薬及び生薬を主たる原料とする製剤の 微生物限度試験法	152	シロップ用アシクロビル	421
生薬関連製剤	20	シロップ用L-カルボシステイン	741
生薬関連製剤各条	20	シロップ用クラリスロマイシン	787
生薬試験法	148	シロップ用剤	12

シロップ用セファトリジンプロピレングリコール	1028
シロップ用セファレキシム	1032
シロップ用セフボドキシム プロキセチル	1078
シロップ用セフロキサジン	1084
シロップ用トラニラスト	1236
シロップ用ファロペナムナトリウム	1453
シロップ用プラナルカスト	1520
シロップ用ペミロラストカリウム	1630
シロップ用ホスホマイシンカルシウム	1660
シロドシン	300, 975
シロドシン口腔内崩壊錠	979
シロドシン錠	977
シンイ	300, 2009
辛夷	2009
辛夷清肺湯エキス	2009
シンギ	2011
晋耆	2011
シンコニジン	300
シンコニン	300
ジンコン	300
ジンコン試液	300
浸剤・煎剤	21
親水クリーム	794
親水性シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	405
親水軟膏	794
親水ワセリン	1891
診断用クエン酸ナトリウム液	783
浸透圧測定法(オスモル濃度測定法)	71
シンドビスウイルス	300
シンナムアルデヒド, 薄層クロマトグラフィー用	300
(E)-シンナムアルデヒド, 薄層クロマトグラフィー用	300
シンバスタチン	980
シンバスタチン錠	981
真武湯エキス	2011

ス

水, 核酸分解酵素不含	300
水銀	300
水銀標準液	218
水酸化カリウム	300, 985
0.1 mol/L水酸化カリウム・エタノール液	211
0.5 mol/L水酸化カリウム・エタノール液	211
水酸化カリウム・エタノール試液	300
水酸化カリウム・エタノール試液, 0.1 mol/L	300
水酸化カリウム・エタノール試液, 希	300
0.1 mol/L水酸化カリウム液	211
0.5 mol/L水酸化カリウム液	210
1 mol/L水酸化カリウム液	210
水酸化カリウム試液	300
水酸化カリウム試液, 0.02 mol/L	300
水酸化カリウム試液, 0.05 mol/L	300
水酸化カリウム試液, 8 mol/L	300
水酸化カルシウム	300, 985
水酸化カルシウム, pH測定用	300
水酸化カルシウムpH標準液	218, 300
水酸化カルシウム試液	300
水酸化第二銅	300
水酸化銅(II)	300
水酸化ナトリウム	300, 986
0.025 mol/L水酸化ナトリウム・エタノール(99.5)液	211
水酸化ナトリウム・ジオキサン試液	301
水酸化ナトリウム・メタノール試液	301
0.01 mol/L水酸化ナトリウム液	211
0.02 mol/L水酸化ナトリウム液	211
0.05 mol/L水酸化ナトリウム液	211
0.1 mol/L水酸化ナトリウム液	211
0.2 mol/L水酸化ナトリウム液	211
0.5 mol/L水酸化ナトリウム液	211
1 mol/L水酸化ナトリウム液	211
水酸化ナトリウム試液	300
水酸化ナトリウム試液, 0.01 mol/L	300
水酸化ナトリウム試液, 0.02 mol/L	300
水酸化ナトリウム試液, 0.05 mol/L	300
水酸化ナトリウム試液, 0.2 mol/L	300
水酸化ナトリウム試液, 0.25 mol/L	300
水酸化ナトリウム試液, 0.5 mol/L	300
水酸化ナトリウム試液, 2 mol/L	301
水酸化ナトリウム試液, 4 mol/L	301
水酸化ナトリウム試液, 5 mol/L	301
水酸化ナトリウム試液, 6 mol/L	301
水酸化ナトリウム試液, 8 mol/L	301
水酸化ナトリウム試液, 希	301
水酸化バリウム	301
水酸化バリウム試液	301
水酸化バリウム八水和物	301
水酸化リチウム一水和物	301
水素	301
水素化ホウ素ナトリウム	301
水分測定法(カールフィッシャー法)	72
水分測定用イミダゾール	301
水分測定用エチレングリコール	301
水分測定用塩化カルシウム	301
水分測定用クロロホルム	301
水分測定用試液	301
水分測定用ジエチレングリコールモノエチルエーテル	301
水分測定用炭酸プロピレン	301
水分測定用ピリジン	301
水分測定用ホルムアミド	301
水分測定用メタノール	301
水分測定用2-メチルアミノピリジン	301
水分測定用陽極液A	301
スウェルチアマリン, 薄層クロマトグラフィー用	301
スキサメトニウム塩化物水和物	986
スキサメトニウム塩化物水和物, 薄層クロマトグラフィー用	301
スキサメトニウム塩化物注射液	987
スクラルファート水和物	988

スクロース 301
 スクロース, 旋光度測定用 301
 スコボラミン臭化水素酸塩水和物 301, 989
 スコボラミン臭化水素酸塩水和物,
 薄層クロマトグラフィー用 301
 スコボレチン, 薄層クロマトグラフィー用 301
 スズ 302
 スズ, 熱分析用 407
 スズ標準液 218
 スタキオース, 薄層クロマトグラフィー用 302
 スダンⅢ 302
 ズダンⅢ 302
 スダンⅢ試液 302
 ズダンⅢ試液 302
 スチレン 302
 スチレン-ジビニルベンゼン共重合体,
 液体クロマトグラフィー用 405
p-スチレンスルホン酸ナトリウム 302
 スチレン-マレイン酸交互共重合体
 部分ブチルエステル 302
 ステアリルアルコール 303, 990
 ステアリルナトリウムフマル酸塩 303
 ステアリン酸 990
 ステアリン酸, ガスクロマトグラフィー用 303
 ステアリン酸カルシウム 991
 ステアリン酸ポリオキシシロ 40 992
 ステアリン酸マグネシウム 992
 ステアリン酸メチル, ガスクロマトグラフィー用 303
 ストリキニーネ硝酸塩, 定量用 303
 ストレプトマイシン硫酸塩 993
 ストロニチウム試液 303
 スピラマイシン酢酸エステル 995
 スピロノラクトン 996
 スピロノラクトン錠 996
 スプレー剤 19
 スペクチノマイシン塩酸塩水和物 997
 スリンダク 998
 スルタミシリントシル酸塩錠 1001
 スルタミシリントシル酸塩水和物 999
 スルチアム 1002
 スルバクタムナトリウム 1003
 スルバクタムナトリウム, スルバクタムペニシラミン用 303
 スルバクタムペニシラミン用スルバクタムナトリウム 304
 スルピリド 1004
 スルピリド, 定量用 304
 スルピリドカプセル 1005
 スルピリド錠 1004
 スルピリン 304
 スルピリン, 定量用 304
 スルピリン水和物 304, 1005
 スルピリン水和物, 定量用 304
 スルピリン注射液 1006
 スルファサラジン 889
 スルファジアジン銀 1006

スルファチアゾール 304
 スルファニルアミド 304
 スルファニルアミド, ジアゾ化滴定用 304
 スルファニル酸 304
 スルファフラゾール 1009
 スルファミン酸(標準試薬) 304
 スルファミン酸アンモニウム 304
 スルファミン酸アンモニウム試液 304
 スルファメチゾール 1007
 スルファメトキサゾール 1008
 スルファモノメトキシシン水和物 1008
 スルファイソキサゾール 1009
 スルベニシリンナトリウム 1009
 スルホコハク酸ジ-2-エチルヘキシルナトリウム 304
 スルホサリチル酸 304
 スルホサリチル酸試液 304
 5-スルホサリチル酸二水和物 304
 スルホプロモフタレインナトリウム 1010
 スルホプロモフタレインナトリウム注射液 1011
 スルホンアミド基を結合したヘキサデシルシリル化
 シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用 405
 スレオプロカテロール塩酸塩 304

セ

製剤各条 10
 製剤均一性試験法 161
 製剤総則 9
 製剤通則 9
 製剤に関連する添加剤の機能性関連特性について
 〈G9-I-181〉 2736
 製剤の粒度の試験法 163
 製剤包装通則 9
 制酸力試験法 163
 青色リトマス紙 406
 成人用沈降ジフテリアトキシイド 944
 精製塩酸 304
 精製水 304, 983
 精製水(容器入り) 983
 精製水, アンモニウム試験用 304
 精製水, 滅菌 305
 精製ゼラチン 1090
 精製セラック 1092
 精製デヒドロコール酸 1181
 精製白糖 1329
 精製ヒアルロン酸ナトリウム 304, 1375
 精製ヒアルロン酸ナトリウム注射液 1376
 精製ヒアルロン酸ナトリウム点眼液 1377
 精製ブドウ糖 1495
 精製メタノール 304
 精製ラノリン 2117
 精製硫酸 304
 性腺刺激ホルモン試液, ヒト絨毛性 304
 成分含量測定用アミグダリン 304

成分含量測定用アルブチン	304
成分含量測定用塩酸14-アニソイルアコニン	304
成分含量測定用塩酸エメチン	304
成分含量測定用塩酸ベンゾイルヒパコニン	304
成分含量測定用塩酸ベンゾイルメサコニン	304
成分含量測定用カプサイシン	304
成分含量測定用(E)-カプサイシン	305
成分含量測定用カルバゾクロムスルホン酸ナトリウム	305
成分含量測定用[6]-ギンゲロール	305
成分含量測定用クルクミン	305
成分含量測定用(E)-ケイ皮酸	305
成分含量測定用ゲニポシド	305
成分含量測定用サイコサポニンa	305
成分含量測定用サイコサポニンb ₂	305
成分含量測定用サイコサポニンd	305
成分含量測定用シノブファギン	305
成分含量測定用硝酸デヒドロコリダリン	305
成分含量測定用バルパロイン	305
成分含量測定用10-ヒドロキシ-2-(E)-デセン酸	305
成分含量測定用ブシモノエステルアルカロイド混合 標準試液	305
成分含量測定用ブファリン	305
成分含量測定用ベオノール	305
成分含量測定用ヘスペリジン	305
成分含量測定用ペリルアルデヒド	305
成分含量測定用マグノロール	305
成分含量測定用リンコフィリン	305
成分含量測定用レジブフォゲニン	305
成分含量測定用ログニン	305
成分含量測定用ロスマリン酸	305
製薬用水の品質管理 (GZ-2-181)	2738
精油	305
西洋ワサビペルオキシダーゼ	305
生理食塩液	305, 1014
ゼオライト(孔径0.5 nm), ガスクロマトグラフィー用	405
赤外吸収スペクトル測定法	56
赤外吸収スペクトル用塩化カリウム	305
赤外吸収スペクトル用臭化カリウム	305
赤色リトマス紙	406
石油エーテル	305
石油系ヘキサメチルテトラコサン類分枝炭化水素 混合物(L), ガスクロマトグラフィー用	305
石油ベンジン	305, 1014
赤リン	305
セクレチン標準品用ウシ血清アルブミン試液	305
セクレチン用ウシ血清アルブミン試液	305
セサミン, 薄層クロマトグラフィー用	305
セスキオレイン酸ソルピタン	305
セタノール	305, 1015
セチリジン塩酸塩	1015
セチリジン塩酸塩, 定量用	305
セチリジン塩酸塩錠	1016
セチルピリジニウム塩化物一水和物	305
石灰乳	305

舌下錠	13
赤血球浮遊液, A型	305
赤血球浮遊液, B型	305
セッコウ	2014
石膏	2014
セトチアミン塩酸塩水和物	1017
セトラキサート塩酸塩	1018
セトリミド	306
セネガ	2014
セネガシロップ	2015
セネガ末	2015
セファエリン臭化水素酸塩	306
セファクロル	1019
セファクロルカプセル	1020
セファクロル細粒	1023
セファクロル複合顆粒	1021
セファゾリンナトリウム	1024
セファゾリンナトリウム水和物	1025
セファトリジンプロピレングリコール	306, 1027
セファレキシン	1029
セファレキシнкаプセル	1036
セファレキシン複合顆粒	1031
セファロチンナトリウム	1033
セフィキシムカプセル	1036
セフィキシム細粒	1037
セフィキシム水和物	1035
セフェピム塩酸塩水和物	1038
セフォジジムナトリウム	1041
セフォゾブラン塩酸塩	1042
セフォタキシムナトリウム	1044
セフォチアム塩酸塩	1045
セフォチアム ヘキセチル塩酸塩	1046
セフォテタン	1048
セフォペラゾンナトリウム	1050
セフカペン ビボキシル塩酸塩細粒	1055
セフカペン ビボキシル塩酸塩錠	1054
セフカペン ビボキシル塩酸塩水和物	1053
セフカペンビボキシル塩酸塩水和物	306
セフジトレン ビボキシル	1056
セフジトレン ビボキシル細粒	1058
セフジトレン ビボキシル錠	1057
セフジニル	1059
セフジニルカプセル	1060
セフジニル細粒	1061
セフジニルラクタム環開裂ラクトン	306
セフスロジンナトリウム	1061
セフタジジム水和物	1063
セフチゾキシムナトリウム	1065
セフチブテン水和物	1066
セフテラム ビボキシル	1067
セフテラム ビボキシル細粒	1069
セフテラム ビボキシル錠	1068
セフトリアキソンナトリウム水和物	1070
セフピラミドナトリウム	1072

セフピロム硫酸塩……………1073
 セフブペラゾンナトリウム……………1074
 セフボドキシム プロキセチル……………1076
 セフボドキシム プロキセチル錠……………1077
 セフミノクスナトリウム水和物……………1079
 セフメタゾールナトリウム……………1080
 セフメノキシム塩酸塩……………1081
 セフロキサジン水和物……………1083
 セフロキシム アキセチル……………1085
 セボフルラン……………1086
 セミカルバジド塩酸塩……………306
 セラセフェート……………1087
 ゼラチン……………306, 1088
 ゼラチン, 酸処理……………306
 ゼラチン・トリス緩衝液……………306
 ゼラチン・トリス緩衝液, pH 8.0……………306
 ゼラチン・リン酸塩緩衝液……………306
 ゼラチン・リン酸塩緩衝液, pH 7.0……………306
 ゼラチン・リン酸塩緩衝液, pH 7.4……………306
 ゼラチン試液……………306
 ゼラチン製ペプトン……………306
 L-セリン……………306, 1093
 セルモロイキン(遺伝子組換え)……………1093
 セルモロイキン, 液体クロマトグラフィー用……………306
 セルモロイキン分子量測定用マーカートンパク質……………307
 セルモロイキン用緩衝液……………307
 セルモロイキン用基質緩衝液……………307
 セルモロイキン用濃縮ゲル……………307
 セルモロイキン用培養液……………307
 セルモロイキン用分離ゲル……………307
 セルロース, 薄層クロマトグラフィー用……………405
 セルロース(蛍光剤入り), 薄層クロマトグラフィー用……………405
 セルローストリス(3,5-ジメチルフェニルカルバメート)被覆
 シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用……………405
 セルローストリス(4-メチルベンゾエート)被覆
 シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用……………405
 セルロース誘導体被覆シリカゲル,
 液体クロマトグラフィー用……………405
 セレコキシブ……………1100
 セレコキシブ錠……………1101
 セレン……………307
 セレン標準液……………218
 セレン標準原液……………218
 センキュウ……………2015
 川芎……………2015
 センキュウ末……………2016
 川芎末……………2016
 ゼンコ……………2016
 前胡……………2016
 旋光度測定法……………74
 旋光度測定用スクロース……………307
 センコツ……………2017
 川骨……………2017
 センソ……………2017

蟾酥……………2017
 センダイウイルス……………307
 せん断セル法による粉体の流動性測定法〈G2-5-181〉……………2585
 センナ……………2018
 センナ末……………2019
 センノシドA, 薄層クロマトグラフィー用……………307
 センブリ……………307, 2020
 センブリ・重曹散……………2021
 センブリ末……………2021

ソ

ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地……………307
 ソウジュツ……………2022
 蒼朮……………2022
 ソウジュツ末……………2022
 蒼朮末……………2022
 ソウハクヒ……………2022
 桑白皮……………2022
 ソーダ石灰……………307
 ゾニサミド……………1102
 ゾニサミド錠……………1103
 ゾピクロン……………1103
 ゾピクロン, 定量用……………307
 ゾピクロン錠……………1104
 ソボク……………2023
 蘇木……………2023
 ソヨウ……………2023
 蘇葉……………2023
 ソルビタンセスキオレイン酸エステル……………307, 1105
 ゾルピデム酒石酸塩……………1106
 ゾルピデム酒石酸塩, 定量用……………307
 ゾルピデム酒石酸塩錠……………1106
 D-ソルビトール……………307, 1107
 D-ソルビトール, ガスクロマトグラフィー用……………307
 D-ソルビトール液……………1108

タ

ダイオウ……………2024
 大黃……………2024
 大黃甘草湯エキス……………2026
 ダイオウ末……………2025
 大黃末……………2025
 大柴胡湯エキス……………2028
 第三アミルアルコール……………307
 第三ブタノール……………307
 第Xa因子……………307
 第Xa因子試液……………307
 第十九改正日本薬局方における国際調和〈GZ-3-190〉……………2744
 ダイズ製ペプトン……………307
 ダイズ油……………307, 2031
 タイソウ……………2031
 大棗……………2031

大腸菌由来タンパク質	307	タモキシフェンクエン酸塩	1124
大腸菌由来タンパク質原液	307	タランビシリン塩酸塩	1125
第IIa因子	307	多硫化アンモニウム試液	308
第二ブタノール	307	タルク	308, 1126
胎盤性性腺刺激ホルモン	1013	タルチレリン口腔内崩壊錠	1129
第四級アンモニウム基を結合した親水性ビニル ポリマーゲル, 液体クロマトグラフィー用	405	タルチレリン錠	1128
ダウノルビシン塩酸塩	1109	タルチレリン水和物	1127
タウリン	307, 1110	タルチレリン水和物, 定量用	308
タウロウルソデオキシコール酸ナトリウム, 薄層クロマトグラフィー用	308	単球活性化試験法 (G4-13-190)	2672
タカルシトール水和物	1111	タングステン酸ナトリウム	308
タカルシトール軟膏	1112	タングステン(VI)酸ナトリウム二水和物	308
タカルシトールローション	1112	炭酸アンモニウム	308
タクシャ	2031	炭酸アンモニウム試液	308
沢瀉	2031	炭酸塩緩衝液, 0.1 mol/L, pH 9.6	308
タクシャトリテルペン混合試液, 確認試験用	308	炭酸塩pH標準液	218
タクシャ末	2031	炭酸カリウム	308, 1130
沢瀉末	2031	炭酸カリウム, 無水	308
ダクチノマイシン	411	炭酸カリウム・炭酸ナトリウム試液	308
濁度試験法	92	炭酸カルシウム	308
ダクロニウム臭化物, 薄層クロマトグラフィー用	308	炭酸カルシウム, 定量用	308
タクロリムスカブセル	1114	炭酸水素アンモニウム	308
タクロリムス水和物	1114	炭酸水素アンモニウム試液, 0.1 mol/L	308
多孔質シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	405	炭酸水素カリウム	308
多孔質シリカゲル, ガスクロマトグラフィー用	405	炭酸水素ナトリウム	308, 1132
多孔性アクリロニトリル-ジビニルベンゼン共重合体 (孔径0.06 ~ 0.08 μm , 100 ~ 200 m^2/g), ガスクロマトグラフィー用	405	炭酸水素ナトリウム, pH測定用	308
多孔性エチルビニルベンゼン-ジビニルベンゼン共重合体, ガスクロマトグラフィー用	405	炭酸水素ナトリウム試液	308
多孔性エチルビニルベンゼン-ジビニルベンゼン共重合体 (平均孔径0.0075 μm , 500 ~ 600 m^2/g), ガスクロマトグラフィー用	405	炭酸水素ナトリウム試液, 10%	308
多孔性スチレン-ジビニルベンゼン共重合体, 液体クロマトグラフィー用	405	炭酸水素ナトリウム注射液	1133
多孔性スチレン-ジビニルベンゼン共重合体 (平均孔径0.0085 μm , 300 ~ 400 m^2/g), ガスクロマトグラフィー用	405	炭酸水素ナトリウム注射液, 7%	308
多孔性スチレン-ジビニルベンゼン共重合体 (平均孔径0.3 ~ 0.4 μm , 50 m^2/g 以下), ガスクロマトグラフィー用	405	炭酸脱水酵素	308
多孔性ポリマービーズ, ガスクロマトグラフィー用	405	炭酸銅	308
多孔性ポリメタクリレート, 液体クロマトグラフィー用	405	炭酸銅一水和物	308
タゾバクタム	1115	炭酸ナトリウム	309
脱色フクシン試液	308	炭酸ナトリウム(標準試薬)	309
ダナゾール	1118	炭酸ナトリウム, pH測定用	309
ダバグリフロジンプロピレングリコール錠	1120	炭酸ナトリウム, 無水	309
ダバグリフロジンプロピレングリコール水和物	1119	炭酸ナトリウム試液	309
ダバグリフロジンプロピレングリコール用トリフルオロ酢酸	308	炭酸ナトリウム試液, 0.55 mol/L	309
タムスロシン塩酸塩	308, 1122	炭酸ナトリウム十水和物	309
タムスロシン塩酸塩, 定量用	308	炭酸ナトリウム水和物	1133
タムスロシン塩酸塩徐放錠	1123	炭酸プロピレン	309
		炭酸プロピレン, 水分測定用	309
		炭酸マグネシウム	1134
		炭酸リチウム	1134
		炭酸リチウム, 定量用	309
		炭酸リチウム錠	1135
		胆汁酸塩	309
		単シロップ	1136
		タンジン	2032
		丹参	2032
		単糖分析及びオリゴ糖分析/ 糖鎖プロファイル法 (G3-5-170)	2605
		ダントロレンナトリウム水和物	1137
		タンナルビン	1138

単軟膏	2032
タンニン酸	309, 1137
タンニン酸アルブミン	1138
タンニン酸試液	309
タンニン酸ジフェンヒドラミン	309, 1138
タンニン酸ベルベリン	1138
タンパク質含量試験用アルカリ性銅試液	309
タンパク質消化酵素試液	309
タンパク質定量法 (G3-12-172)	2636
タンパク質のアミノ酸分析法	50

チ

チアプリド塩酸塩	1139
チアプリド塩酸塩, 定量用	309
チアプリド塩酸塩錠	1140
チアマゾール	1141
チアマゾール錠	1141
チアミラルナトリウム	1141
チアミン塩化物塩酸塩	1143
チアミン塩化物塩酸塩散	1144
チアミン塩化物塩酸塩注射液	1144
チアミン硝化物	309, 1145
チアラミド塩酸塩	1146
チアラミド塩酸塩, 定量用	309
チアラミド塩酸塩錠	1146
チアントール	309, 1147
3-チエニルエチルペニシリンナトリウム	309
チオアセトアミド	309
チオアセトアミド・グリセリン塩基性試液	309
チオアセトアミド試液	309
チオグリコール酸	309
チオグリコール酸ナトリウム	309
チオグリコール酸培地 I, 無菌試験用	309
チオグリコール酸培地 II, 無菌試験用	309
チオシアン酸アンモニウム	309
チオシアン酸アンモニウム・硝酸コバルト試液	309
チオシアン酸アンモニウム・硝酸コバルト(II)試液	309
0.02 mol/Lチオシアン酸アンモニウム液	212
0.1 mol/Lチオシアン酸アンモニウム液	212
チオシアン酸アンモニウム試液	309
チオシアン酸カリウム	309
チオシアン酸カリウム試液	309
チオシアン酸第一鉄試液	310
チオシアン酸鉄(II)試液	310
チオジグリコール	310
チオセミカルバジド	310
チオ尿素	310
チオ尿素試液	310
チオペンタール, 定量用	310
チオペンタールナトリウム	310, 1148
チオリダジン塩酸塩	1150
チオ硫酸ナトリウム	310
0.002 mol/Lチオ硫酸ナトリウム液	212
0.005 mol/Lチオ硫酸ナトリウム液	212
0.01 mol/Lチオ硫酸ナトリウム液	212
0.02 mol/Lチオ硫酸ナトリウム液	212
0.05 mol/Lチオ硫酸ナトリウム液	212
0.1 mol/Lチオ硫酸ナトリウム液	212
チオ硫酸ナトリウム五水和物	310
チオ硫酸ナトリウム試液	310
チオ硫酸ナトリウム水和物	1150
チオ硫酸ナトリウム注射液	1150
チクセツサポニンIV, 薄層クロマトグラフィー用	310
チクセツニンジン	2032
竹節人參	2032
チクセツニンジン末	2033
竹節人參末	2033
チクロビジン塩酸塩	1151
チクロビジン塩酸塩, 定量用	310
チクロビジン塩酸塩錠	1151
チザニンジン塩酸塩	1152
チタンエロー	310
腔錠	18
窒素	311, 1153
窒素-亜酸化窒素標準混合ガス	311
窒素-酸素標準混合ガス	311
窒素定量法(セミマイクロケルダール法)	27
窒素-ヘリウム標準混合ガス, 0.5%	311
窒素-ヘリウム標準混合ガス, 3.0%	311
腔に適用する製剤	18
腔用坐剤	18
チトクロムc	311
チニダゾール	1154
チペピジンヒベンズ酸塩	1154
チペピジンヒベンズ酸塩, 定量用	311
チペピジンヒベンズ酸塩錠	1155
チミン, 液体クロマトグラフィー用	311
チメピジウム臭化物水和物	1157
チモ	311, 2033
知母	2033
チモール	311, 1157
チモール, 定量用	311
チモール, 噴霧試液用	311
チモール・硫酸・メタノール試液, 噴霧用	311
チモールフタレイン	311
チモールフタレイン試液	311
チモールブルー	311
チモールブルー・ジオキサン試液	311
チモールブルー・1,4-ジオキサン試液	311
チモールブルー・ジメチルホルムアミド試液	311
チモールブルー・N,N-ジメチルホルムアミド試液	311
チモールブルー試液	311
チモールブルー試液, 希	311
チモロールマレイン酸塩	1158
茶剤	21
チュアブル錠	10
注射剤	13

注射剤の採取容量試験法	164
注射剤の不溶性異物検査法	164
注射剤の不溶性微粒子試験法	165
注射剤用ガラス容器試験法	192
注射により投与する製剤	13
注射用アシクロビル	422
注射用アズトレオナム	430
注射用アセチルコリン塩化物	436
注射用アミカシン硫酸塩	469
注射用アムホテリシンB	476
注射用アンピシリンナトリウム	517
注射用アンピシリンナトリウム・ スルバクタムナトリウム	518
注射用イダルビシン塩酸塩	546
注射用イミペネム・シラスタチンナトリウム	564
注射用オザグレナトリウム	702
注射用シベレスタットナトリウム	951
注射用蒸留水	311
注射用水	311, 984
注射用水(容器入り)	984
注射用スキサメトニウム塩化物	987
注射用ストレプトマイシン硫酸塩	994
注射用スペクチノマイシン塩酸塩	998
注射用セファゾリンナトリウム	1027
注射用セファロチンナトリウム	1034
注射用セフェピム塩酸塩	1040
注射用セフォゾラン塩酸塩	1043
注射用セフォチアム塩酸塩	1046
注射用セフォペラゾンナトリウム	1051
注射用セフォペラゾンナトリウム・ スルバクタムナトリウム	1051
注射用セフトジジム	1064
注射用セフメタゾールナトリウム	1081
注射用胎盤性性腺刺激ホルモン	1014
注射用タゾバクタム・ピペラシリン	1116
注射用チアミラルナトリウム	1142
注射用チオペンタールナトリウム	1149
注射用テセロイキン(遺伝子組換え)	1179
注射用テモゾロミド	1191
注射用ドキシソルピシン塩酸塩	1215
注射用ドセタキセル	1224
注射用ドリベネム	1257
注射用パニペネム・ベタミブロン	1337
注射用バンコマイシン塩酸塩	1373
注射用ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン	1014
注射用ヒドララジン塩酸塩	1401
注射用ビペラシリンナトリウム	1424
注射用ビンブラスチン硫酸塩	1446
注射用ファモチジン	1450
注射用フェニトインナトリウム	1462
注射用プレドニゾンコハク酸エステルナトリウム	1552
注射用フロモキシセフナトリウム	1593
注射用ペニシリンGカリウム	1646
注射用ペプロマイシン硫酸塩	1625

注射用ベンジルペニシリンカリウム	1646
注射用ホスホマイシンナトリウム	1662
注射用ポリコナゾール	1671
注射用マイトマイシンC	1682
注射用ミノサイクリン塩酸塩	1710
注射用メトトレキサート	1743
注射用メロペネム	1758
注射用ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩	1869
抽出用ジチゾン液	311
中心静脈栄養剤中の微量アルミニウム試験法 (G6-7-160)	2723
中性アルミナ, カラムクロマトグラフィー用	405
中性アルミナ, 4%含水	311
中性アルミナ, クロマトグラフィー用	405
中性洗剤	311
注腸剤	18
中和エタノール	311
丁香	2034
丁香末	2034
チョウジ	2034
丁子	2034
チョウジ末	2034
丁子末	2034
チョウジ油	2034
丁子油	2034
チョウトウコウ	2035
釣藤鈎	2035
釣藤鈎	2035
釣藤散エキス	2036
貼付剤	20
直腸に適用する製剤	18
直腸用半固形剤	18
チョレイ	2038
猪苓	2038
チョレイ末	2038
猪苓末	2038
L-チロシン	311, 1159
L-チロジン	311
チンキ剤	21
チンク油	1159
沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド	944
沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン	1429
沈降精製百日せきワクチン	1429
沈降炭酸カルシウム	1131
沈降炭酸カルシウム細粒	1132
沈降炭酸カルシウム錠	1131
沈降破傷風トキソイド	1333
沈降B型肝炎ワクチン	1385
チンピ	2039
陳皮	2039

ツ

通則	3
----	---

ツバキ油	2039
椿油	2039
ツロブテロール	1160
ツロブテロール, 定量用	311
ツロブテロール塩酸塩	1161
ツロブテロール経皮吸収型テープ	1160

テ

DEAE-架橋デキストラン陰イオン交換体(CI型), 弱塩基性	405
DSS- d_6 , 核磁気共鳴スペクトル測定用	311
DNA標準原液, インターフェロンアルファ (NAMALWA)用	311
テイコプラニン	1162
定性反応	28
低置換度ヒドロキシプロピルセルロース	1405
p,p' -DDD(2,2-ビス(4-クロロフェニル)-1,1- ジクロロエタン)	312
p,p' -DDE(2,2-ビス(4-クロロフェニル)-1,1- ジクロロエチレン)	312
o,p' -DDT(1,1,1-トリクロロ-2-(2-クロロフェニル)- 2-(4-クロロフェニル)エタン)	312
p,p' -DDT(1,1,1-トリクロロ-2,2- ビス(4-クロロフェニル)エタン)	312
低分子量ヘパリン, 分子量測定用	312
定量分析用ろ紙	406
定量用アジマリン	312
定量用アセトアルデヒド	312
定量用アセメタシン	312
定量用アゼラスチン塩酸塩	312
定量用アゼルニジピン	312
定量用アゾセミド	312
定量用アトラクチレノリドⅢ	312
定量用アトラクチロジン	312
定量用アトラクチロジン試液	312
定量用アトロピン硫酸塩水和物	312
定量用14-アニソイルアコニン塩酸塩	312
定量用アブリンジン塩酸塩	312
定量用アミオダロン塩酸塩	313
定量用アミグダリン	313
定量用アミドトリゾ酸	313
定量用アモスラロール塩酸塩	313
定量用アラセプリル	313
定量用アルジオキサ	313
定量用アルブチン	313
定量用アルミノプロフェン	313
定量用アロプリノール	313
定量用安息香酸	312
定量用アンピロキシカム	312
定量用イオタラム酸	312
定量用イオパミドール	312
定量用イソクスブリン塩酸塩	312
定量用イソニアジド	312

定量用L-イソロイシン	312
定量用一硝酸イソソルビド	313
定量用イフェンプロジル酒石酸塩	313
定量用イブプロフェンピコノール	313
定量用イミダプリル塩酸塩	313
定量用イリノテカン塩酸塩水和物	313
定量用イルソグラジンマレイン酸塩	313
定量用イルベサルタン	313
定量用ウシ血清アルブミン	313
定量用ウベニメクス	313
定量用ウルソデオキシコール酸	313
定量用エカベトナトリウム水和物	313
定量用エタクリン酸	313
定量用エダラボン	313
定量用エチグラム	313
定量用エチドロン酸二ナトリウム	313
定量用エチレフリン塩酸塩	313
定量用エナント酸メテノロン	313
定量用エバスチン	313
定量用エフェドリン塩酸塩	313
定量用エボジアミン	313
定量用エメダスチンフマル酸塩	313
定量用エメチン塩酸塩	313
定量用エモルファゼン	313
定量用塩化カリウム	313
定量用塩化カルシウム水和物	313
定量用塩化カルシウム二水和物	313
定量用塩化ナトリウム	313
定量用塩化ベンゼトニウム	313
定量用塩酸アゼラスチン	313
定量用塩酸アブリンジン	313
定量用塩酸アミオダロン	313
定量用塩酸アモスラロール	313
定量用塩酸イソクスブリン	313
定量用塩酸イミダプリル	313
定量用塩酸エチレフリン	313
定量用塩酸エフェドリン	313
定量用塩酸オキシコドン	313
定量用塩酸クロルプロマジン	313
定量用塩酸セチリジン	313
定量用塩酸チアブライド	313
定量用塩酸チアラミド	313
定量用塩酸ドバミン	313
定量用塩酸トリメタジジン	313
定量用塩酸ニカルジピン	313
定量用塩酸パパベリン	313
定量用塩酸ヒドララジン	313
定量用塩酸ヒドロコタルニン	313
定量用塩酸ブホルミン	313
定量用塩酸プロカイン	313
定量用塩酸プロカインアミド	313
定量用塩酸プロパフェノン	313
定量用塩酸プロプラノロール	313
定量用塩酸ペチジン	313

定量用塩酸ベニジピン 313
 定量用塩酸ベラパミル 313
 定量用dl-塩酸メチルエフェドリン 313
 定量用塩酸メトホルミン 313
 定量用塩酸メピバカイン 313
 定量用塩酸モルヒネ 313
 定量用塩酸ラベタロール 313
 定量用オキシコドン塩酸塩水和物 313
 定量用オメプラゾール 313
 定量用オロパタジン塩酸塩 313
 定量用カイニン酸 313
 定量用カイニン酸水和物 313
 定量用カドララジン 313
 定量用(E)-カプサイシン 313
 定量用カルバミン酸クロルフェネシン 313
 定量用カルベジロール 314
 定量用L-カルボシステイン 314
 定量用カンデサルタンシレキセチル 314
 定量用キナプリル塩酸塩 314
 定量用[6]-ギングロール 314
 定量用グアヤコール 314
 定量用クエン酸モサブリド 314
 定量用クルクミン 314
 定量用クロチアゼパム 314
 定量用クロナゼパム 314
 定量用クロペラスチンフェンジゾ酸塩 314
 定量用クロミプラミン塩酸塩 314
 定量用クロラゼブ酸二カリウム 314
 定量用クロルジアゼボキシド 314
 定量用クロルフェネシンカルバミン酸エステル 314
 定量用クロルプロパミド 314
 定量用クロルプロマジン塩酸塩 314
 定量用(E)-ケイ皮酸 314
 定量用ケトコナゾール 314
 定量用ゲニポシド 314
 定量用コデインリン酸塩水和物 314
 定量用コハク酸シベンゾリン 314
 定量用サイコサポニンa 314
 定量用サイコサポニンa, d混合標準試液 314
 定量用サイコサポニンb₂ 314
 定量用サイコサポニンb₂標準試液 314
 定量用サイコサポニンd 314
 定量用サリチル酸 314
 定量用ザルトプロフェン 314
 定量用酸素スパンガス 314
 定量用酸素ゼロガス 314
 定量用酸素比較ガス 314
 定量用サントニン 314
 定量用ジアゼパム 314
 定量用ジクロフェナクナトリウム 314
 定量用シクロホスファミド水和物 314
 定量用ジスチグミン臭化物 314
 定量用ジドロゲステロン 314
 定量用シネオール 314

定量用シノキサシン 314
 定量用シノブファギン 314
 定量用シノメニン 314
 定量用ジヒドロコデインリン酸塩 314
 定量用ジフェニルスルホン 314
 定量用シベンゾリンコハク酸塩 314
 定量用ジメンヒドリナート 314
 定量用ジモルホラミン 314
 定量用臭化ジスチグミン 314
 定量用酒石酸メトプロロール 314
 定量用酒石酸レバロルファン 314
 定量用硝酸イソソルビド 314
 定量用硝酸ストリキニーネ 314
 定量用硝酸ナファゾリン 314
 定量用[6]-ショーガオール 314
 定量用シラザプリル 314
 定量用シラザプリル水和物 314
 定量用シラスタチンアンモニウム 314
 定量用ジルチアゼム塩酸塩 314
 定量用ストリキニーネ硝酸塩 314
 定量用スルピリド 314
 定量用スルピリン 314
 定量用スルピリン水和物 314
 定量用セチリジン塩酸塩 314
 定量用ゾピクロン 314
 定量用ゾルピデム酒石酸塩 314
 定量用タムスロシン塩酸塩 314
 定量用タルチレリン水和物 314
 定量用炭酸カルシウム 314
 定量用炭酸リチウム 314
 定量用チアプリド塩酸塩 314
 定量用チアラミド塩酸塩 314
 定量用チオペンタール 314
 定量用チクロピジン塩酸塩 314
 定量用チペジンヒベンズ酸塩 315
 定量用チモール 315
 定量用ツロブテロール 315
 定量用テオフィリン 315
 定量用デヒドロコリダリン硝化物 315
 定量用テモカプリル塩酸塩 315
 定量用テルビナフィン塩酸塩 315
 定量用テルミサルタン 315
 定量用ドキシフルリジン 315
 定量用ドパミン塩酸塩 315
 定量用トラニラスト 315
 定量用トリエンチン塩酸塩 315
 定量用トリメタジジン塩酸塩 315
 定量用ドロキシドパ 315
 定量用ナファゾリン硝酸塩 315
 定量用ナフトビジル 315
 定量用ニカルジピン塩酸塩 315
 定量用ニコモール 315
 定量用ニセルゴリン 315
 定量用ニトレンジピン 315

定量用ニフェジピン 315
 定量用L-乳酸ナトリウム液 315
 定量用ノルトリブチリン塩酸塩 315
 定量用パバベリン塩酸塩 315
 定量用パラアミノサリチル酸カルシウム水和物 315
 定量用L-バリン 315
 定量用バルパロイン 315
 定量用バルプロ酸ナトリウム 315
 定量用ハロペリドール 315
 定量用ヒアルロン酸ナトリウム 315
 定量用ビソプロロールフマル酸塩 315
 定量用ヒト血清アルブミン 315
 定量用ヒドララジン塩酸塩 315
 定量用10-ヒドロキシ-2-(*E*)-デセン酸 315
 定量用ヒドロコタルニン塩酸塩水和物 315
 定量用ヒベンズ酸チペビジン 315
 定量用ビリルビン 315
 定量用ピルシカイニド塩酸塩水和物 315
 定量用ヒルスチン 315
 定量用ピロカルピン塩酸塩 315
 定量用ファモチジン 315
 定量用フェニトイン 315
 定量用フェノバルビタール 315
 定量用フェノール 315
 定量用フェノールスルホンフタレイン 315
 定量用フェルビナク 315
 定量用(*E*)-フェルラ酸 315
 定量用フェロジピン 315
 定量用ブシモノエステルアルカロイド混合標準試液 315
 定量用ブシラミン 315
 定量用ブテナフィン塩酸塩 315
 定量用フドステイン 315
 定量用ブファリン 315
 定量用ブホルミン塩酸塩 315
 定量用フマル酸ビソプロロール 315
 定量用プラゼパム 315
 定量用フルコナゾール 315
 定量用フルジアゼパム 315
 定量用フルラゼパム 315
 定量用フレカイニド酢酸塩 315
 定量用プロカインアミド塩酸塩 315
 定量用プロカイン塩酸塩 315
 定量用プロチゾラム 315
 定量用プロパフェノン塩酸塩 315
 定量用プロピルチオウラシル 315
 定量用プロプラノロール塩酸塩 315
 定量用フロプロピオン 315
 定量用ペオノール 315
 定量用ベザフィブラート 315
 定量用ヘスペリジン 315
 定量用ベタヒスチンメシル酸塩 315
 定量用ベタミプロン 315
 定量用ペチジン塩酸塩 315
 定量用ベニジピン塩酸塩 315

定量用ベポタスチンベシル酸塩 315
 定量用ベラパミル塩酸塩 316
 定量用ベラプロストナトリウム 316
 定量用ベリルアルデヒド 316
 定量用ベルフェナジンマレイン酸塩 316
 定量用ベンゼトニウム塩化物 316
 定量用ベンゾイルヒパコニン塩酸塩 316
 定量用ベンゾイルメサコニン塩酸塩 316
 定量用ボグリボース 316
 定量用マグノフロリンヨウ化物 316
 定量用マグノロール 316
 定量用マレイン酸イルソグラジン 316
 定量用マレイン酸ペルフェナジン 316
 定量用マレイン酸メチルエルゴメトリン 316
 定量用マンギフェリン 316
 定量用メキタジン 316
 定量用メサラジン 316
 定量用メシル酸ベタヒスチン 316
 定量用*dl*-メチルエフェドリン塩酸塩 316
 定量用メチルエルゴメトリンマレイン酸塩 316
 定量用メチルドパ 316
 定量用メチルドパ水和物 316
 定量用メテノロンエナント酸エステル 316
 定量用メトクロプラミド 316
 定量用メトプロロール酒石酸塩 316
 定量用メトホルミン塩酸塩 316
 定量用メトロニダゾール 316
 定量用メピバカイン塩酸塩 316
 定量用メフルシド 316
 定量用*l*-メントール 316
 定量用モサプリドクエン酸塩水和物 316
 定量用モルヒネ塩酸塩水和物 316
 定量用ヨウ化イソプロピル 316
 定量用ヨウ化カリウム 316
 定量用ヨウ化メチル 316
 定量用ヨウ素 316
 定量用ヨードエタン 316
 定量用ヨードメタン 316
 定量用ラフチジン 316
 定量用ラベタロール塩酸塩 316
 定量用リシノブリン 316
 定量用リシノブリン水和物 316
 定量用リスペリドン 316
 定量用リドカイン 316
 定量用硫酸アトロピン 316
 定量用リンコフィリン 316
 定量用リン酸コデイン 316
 定量用リン酸ジヒドロコデイン 316
 定量用レイン 316
 定量用レジブフォゲニン 316
 定量用レバミビド 316
 定量用レバロルファン酒石酸塩 316
 定量用レボフロキサシン水和物 316
 定量用L-ロイシン 316

定量用ログニン 316
 定量用ロスマリン酸 316
 定量用ワルファリンカリウム 316
 2'-デオキシウリジン, 液体クロマトグラフィー用 316
 デオキシコール酸, 薄層クロマトグラフィー用 316
 テオフィリン 317, 1165
 テオフィリン, 定量用 317
 テガフル 1165
 1-デカンスルホン酸ナトリウム 317
 1-デカンスルホン酸ナトリウム試液, 0.0375 mol/L 317
 デキサメサゾン 1166
 デキサメタゾン 1166
 デキストラン-高度架橋アガロースゲルろ過担体,
 液体クロマトグラフィー用 405
 デキストラン40 1167
 デキストラン40注射液 1168
 デキストラン70 1168
 デキストラン硫酸エステルナトリウム イオウ5 1169
 デキストラン硫酸エステルナトリウム イオウ18 1170
 デキストリン 1170
 デキストロメトルファン臭化水素酸塩水和物 1171
 滴定終点検出法 75
 滴定用2,6-ジクロロインドフェノールナトリウム試液 317
n-デシルトリメチルアンモニウム臭化物 317
n-デシルトリメチルアンモニウム臭化物試液,
 0.005 mol/L 317
 テストステロン 317
 テストステロンエナント酸エステル 1172
 テストステロンエナント酸エステル注射液 1172
 テストステロンプロピオン酸エステル 317, 1173
 テストステロンプロピオン酸エステル注射液 1173
 デスラノシド 1174
 デスラノシド注射液 1175
 テセロイキン(遺伝子組換え) 1175
 テセロイキン, 確認試験用 317
 テセロイキンSDSポリアクリルアミドゲル
 電気泳動用緩衝液 317
 テセロイキン試料用緩衝液 317
 テセロイキン用細胞懸濁液 318
 テセロイキン用参照抗インターロイキン-2抗体 318
 テセロイキン用試験菌移植培地 318
 テセロイキン用試験菌移植培地斜面 318
 テセロイキン用等電点マーカー 318
 テセロイキン用発色試液 318
 テセロイキン用普通カンテン培地 318
 テセロイキン用分子量マーカー 318
 テセロイキン用ポリアクリルアミドゲル 318
 テセロイキン用力価測定用培地 318
 テセロイキン用リシルエンドペプチダーゼ 318
 デソキシコール酸ナトリウム 318
 鉄 318
 鉄・フェノール試液 318
 鉄・フェノール試液, 希 318
 鉄試験法 33

鉄試験用アスコルビン酸 318
 鉄試験用酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, pH 4.5 318
 鉄標準液 218
 鉄標準液, 原子吸光度用 218
 鉄標準液(2), 原子吸光度用 218
 鉄標準原液 218
 鉄粉 318
 テトラエチルアンモニウムヒドロキシド試液 318
 テトラカイン塩酸塩 1179
 テトラキスヒドロキシプロピルエチレンジアミン,
 ガスクロマトグラフィー用 318
 テトラクロロ金(III)酸試液 318
 テトラクロロ金(III)酸四水和物 318
 テトラクロロ金試液 318
 テトラサイクリン 318
 テトラサイクリン塩酸塩 318, 1180
 テトラデシルトリメチルアンモニウム臭化物 318
 テトラヒドロキシキノ 319
 テトラヒドロキシキノ指示薬 319
 テトラヒドロフラン 319
 テトラヒドロフラン, 液体クロマトグラフィー用 319
 テトラヒドロフラン, ガスクロマトグラフィー用 319
 テトラフェニルホウ酸ナトリウム 319
 0.02 mol/Lテトラフェニルホウ酸ナトリウム液 212
 テトラフェニルボロンカリウム試液 319
 テトラフェニルボロンナトリウム 319
 0.02 mol/Lテトラフェニルボロンナトリウム液 212
 テトラ-*n*-ブチルアンモニウム塩化物 319
 テトラ-*n*-ブチルアンモニウム臭化物 319
 テトラブチルアンモニウムヒドロキシド・
 メタノール試液 319
 10%テトラブチルアンモニウムヒドロキシド・
 メタノール試液 319
 0.1 mol/Lテトラブチルアンモニウムヒドロキシド液 212
 テトラブチルアンモニウムヒドロキシド試液 319
 テトラブチルアンモニウムヒドロキシド試液,
 0.005 mol/L 319
 テトラブチルアンモニウムヒドロキシド試液, 40% 319
 テトラブチルアンモニウム硫酸水素塩 319
 テトラブチルアンモニウムリン酸二水素塩 319
 テトラ-*n*-プロピルアンモニウム臭化物 320
 テトラブromフェノールフタレインエチル
 エステルカリウム塩 320
 テトラブromフェノールフタレインエチル
 エステル試液 320
 テトラブromフェノールフタレインエチル
 エステルカリウム 320
 テトラブromフェノールフタレインエチル
 エステル試液 320
 テトラ-*n*-ヘプチルアンモニウム臭化物 320
 テトラ-*n*-ペンチルアンモニウム臭化物 320
 テトラメチルアンモニウムヒドロキシド 320
 0.1 mol/Lテトラメチルアンモニウムヒドロキシド・
 メタノール液 213

テトラメチルアンモニウムヒドロキシド・
メタノール試液……………320
0.02 mol/Lテトラメチルアンモニウムヒドロキシド液……………213
0.1 mol/Lテトラメチルアンモニウムヒドロキシド液……………213
0.2 mol/Lテトラメチルアンモニウムヒドロキシド液……………213
テトラメチルアンモニウムヒドロキシド試液……………320
テトラメチルアンモニウムヒドロキシド試液, pH 5.5……………320
N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン……………320
テトラメチルシラン, 核磁気共鳴スペクトル測定用……………320
テトラメチルベンジジン……………320
テトラメチルベンジジン試液……………320
3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン二塩酸塩二水和物……………320
デバルダ合金……………320
デヒドロコリダリン硝化物, 定量用……………320
デヒドロコリダリン硝化物, 薄層クロマトグラフィー用
……………321
デヒドロコール酸……………1181
デヒドロコール酸注射液……………1182
デフェロキサミンメシル酸塩……………1182
テープ剤……………20
テブレノン……………1183
テブレノンカプセル……………1184
N-デメチルエリスロマイシン……………321
デメチルクロルテトラサイクリン塩酸塩……………1185
N-デメチルロキシスロマイシン……………321
デメトキシクルクミン……………322
テモカブリル塩酸塩……………1187
テモカブリル塩酸塩, 定量用……………322
テモカブリル塩酸塩錠……………1187
テモゾロミド……………322, 1189
テモゾロミドカプセル……………1190
テルビナフィン塩酸塩……………1192
テルビナフィン塩酸塩, 定量用……………322
テルビナフィン塩酸塩液……………1194
テルビナフィン塩酸塩クリーム……………1195
テルビナフィン塩酸塩錠……………1193
テルビナフィン塩酸塩スプレー……………1194
テルフェニル……………322
p-テルフェニル……………322
テルブタリン硫酸塩……………1195
デルマトン硫酸エステル……………322
テルミサルタン……………1196
テルミサルタン, 定量用……………322
テルミサルタン・アムロジピンベシル酸塩錠……………1198
テルミサルタン・ヒドロクロロチアジド錠……………1200
テルミサルタン錠……………1197
テレピン油……………322, 2040
テレフタル酸……………322
テレフタル酸, ガスクロマトグラフィー用……………405
テレフタル酸ジエチル……………322
点眼剤……………16
点眼剤の不溶性異物検査法……………173
点眼剤の不溶性微粒子試験法……………167
点耳剤……………17

天台烏薬……………1905
天然ケイ酸アルミニウム……………851
点鼻液剤……………17
点鼻剤……………17
点鼻剤の噴霧量均一性試験法 (G6-9-190)……………2721
点鼻粉末剤……………17
デンブン……………322
デンブン, 溶性……………322
デンブン・塩化ナトリウム試液……………322
デンブングリコール酸ナトリウム……………1207
デンブン試液……………322
でんぷん消化力試験用バレイショデンブン試液……………323
でんぷん消化力試験用フェーリング試液……………323
テンマ……………2040
天麻……………2040
テンモンドウ……………2040
天門冬……………2040

ト

銅……………323
銅(標準試薬)……………323
銅エチレンジアミン試液, 1 mol/L……………323
桃核承気湯エキス……………2041
トウガシ……………2043
冬瓜子……………2043
トウガラシ……………2044
トウガラシ・サリチル酸精……………2046
トウガラシチンキ……………2045
トウガラシ末……………2044
透過率校正用光学フィルター……………407
トウキ……………2046
当帰……………2046
当帰芍薬散エキス……………2047
トウキ末……………2047
当帰末……………2047
糖鎖試験法……………100
銅試液, アルカリ性……………323
銅試液, タンパク質含量試験用アルカリ性……………323
銅試液(2), アルカリ性……………323
トウジン……………2049
党参……………2049
透析に用いる製剤……………15
透析用剤……………15
透析用ヘパリンナトリウム液……………1623
動的光散乱法による液体中の粒子径測定法……………125
等電点電気泳動法 (G3-6-142)……………2609
等電点マーカー, テセロイキン用……………323
導電率測定法……………76
導電率測定用塩化カリウム……………323
トウニン……………2050
桃仁……………2050
トウニン末……………2050
桃仁末……………2050

トウヒ	323, 2051	ドパミン塩酸塩注射液	1229
橙皮	2051	トフィソパム	1230
Cu-PAN	323	ドブタミン塩酸塩	1231
Cu-PAN試液	323	トブラマイシン	1232
トウヒシロップ	2051	トブラマイシン注射液	1232
橙皮シロップ	2051	ドーフル散	1897
トウヒチンキ	2052	トラガント	2055
橙皮チンキ	2052	トラガント末	324, 2055
銅標準液	218	ドラーゲンドルフ試液	324
銅標準原液	218	ドラーゲンドルフ試液, 噴霧用	324
トウモロコシデンプン	1205	トラニラスト	1233
トウモロコシ油	323, 2052	トラニラスト, 定量用	324
当薬	2020	トラニラストカプセル	1234
当薬末	2021	トラニラスト細粒	1235
銅溶液, アルカリ性	323	トラニラスト点眼液	1237
ドキサゾシンメシル酸塩	1208	トラネキサム酸	1237
ドキサゾシンメシル酸塩錠	1208	トラネキサム酸カプセル	1239
ドキサプラム塩酸塩水和物	1209	トラネキサム酸錠	1238
ドキシサイクリン塩酸塩錠	1212	トラネキサム酸注射液	1240
ドキシサイクリン塩酸塩水和物	1210	トラビジル	1240
ドキシフルリジン	323, 1213	トラマドール塩酸塩	1241
ドキシフルリジン, 定量用	323	トリアコンチルシリル化シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	405
ドキシフルリジンカプセル	1213	トリアゾラム	1242
ドキセピン塩酸塩	323	トリアムシノロン	1243
ドキソルピシン塩酸塩	323, 1214	トリアムシノロンアセトニド	324, 1244
ドクカツ	2052	トリアムテレン	1245
独活	2052	トリエタノールアミン	324
ドコサン酸メチル	323	トリエチルアミン	324
トコフェロール	323, 1216	トリエチルアミン, エポエチンベータ用	324
トコフェロールコハク酸エステル	324	1%トリエチルアミン・リン酸緩衝液, pH 3.0	324
トコフェロールコハク酸エステルカルシウム	324, 1217	トリエチルアミン・リン酸緩衝液, pH 5.0	324
トコフェロール酢酸エステル	324, 1218	トリエチルアミン緩衝液, pH 3.2	324
トコフェロールニコチン酸エステル	1219	トリエンチン塩酸塩	1245
トコン	2053	トリエンチン塩酸塩, 定量用	324
吐根	2053	トリエンチン塩酸塩カプセル	1246
トコンシロップ	2054	トリクロホスナトリウム	1247
吐根シロップ	2054	トリクロホスナトリウムシロップ	1248
トコン末	2053	トリクロロ酢酸	324
吐根末	2053	トリクロルメチアジド	1248
トスフロキサシントシル酸塩錠	1221	トリクロルメチアジド錠	1249
トスフロキサシントシル酸塩水和物	1220	トリクロロエチレン	324
ドセタキセル水和物	324, 1222	トリクロロ酢酸	324
ドセタキセル注射液	1223	トリクロロ酢酸・ゼラチン・トリス緩衝液	324
トチュウ	2055	トリクロロ酢酸試液	324
杜仲	2055	1,1,2-トリクロロ-1,2,2-トリフルオロエタン	324
ドッカツ	2052	トリクロロフルオロメタン	325
ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム	324	トリコマイシン	1251
ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム標準液	218	トリシン	325
トドララジン塩酸塩水和物	1225	トリス・塩化カルシウム緩衝液, pH 6.5	325
ドネペジル塩酸塩	1226	トリス・塩化ナトリウム緩衝液, pH 8.0	325
ドネペジル塩酸塩細粒	1228	トリス・塩酸塩緩衝液, 0.05 mol/L, pH 7.5	325
ドネペジル塩酸塩錠	1227	トリス・塩酸塩緩衝液, 0.2 mol/L, pH 7.4	325
ドパミン塩酸塩	1229	トリス・グリシン緩衝液, pH 6.8	326
ドパミン塩酸塩, 定量用	324		

トリス・酢酸緩衝液, pH 6.5	326	トリフルオロ酢酸, エポエチンベータ用	327
トリス・酢酸緩衝液, pH 8.0	326	トリフルオロ酢酸, 核磁気共鳴スペクトル測定用	327
トリス塩緩衝液, 0.02 mol/L, pH 7.5	325	トリフルオロ酢酸, ダバグリフロジンプロピレングリコール用	327
トリス緩衝液, 0.02 mol/L, pH 7.4	325	トリフルオロ酢酸試液	327
トリス緩衝液, 0.05 mol/L, pH 7.0	325	トリフルオロメタンスルホン酸アンモニウム	327
トリス緩衝液, 0.05 mol/L, pH 8.6	325	トリヘキシフェニジル塩酸塩	1253
トリス緩衝液, 0.1 mol/L, pH 7.3	325	トリヘキシフェニジル塩酸塩錠	1253
トリス緩衝液, 0.1 mol/L, pH 8.0	325	ドリペネム水和物	1254
トリス緩衝液, 0.2 mol/L, pH 8.1	325	トリメタジオン	1258
トリス緩衝液, 0.5 mol/L, pH 6.8	325	トリメタジジン塩酸塩	1258
トリス緩衝液, 0.5 mol/L, pH 8.1	325	トリメタジジン塩酸塩, 定量用	327
トリス緩衝液, 1 mol/L, pH 7.5	325	トリメタジジン塩酸塩錠	1259
トリス緩衝液, 1 mol/L, pH 8.0	325	トリメチルシリルイミダゾール	327
トリス緩衝液, 1 mol/L, pH 9.0	325	トリメチルシリル化シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	405
トリス緩衝液, 1.5 mol/L, pH 8.8	325	3-トリメチルシリルプロパンスルホン酸ナトリウム, 核磁気共鳴スペクトル測定用	327
トリス緩衝液, pH 6.8	325	3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム- d_4 , 核磁気共鳴スペクトル測定用	327
トリス緩衝液, pH 7.0	325	トリメトキノール塩酸塩水和物	1260
トリス緩衝液, pH 8.2	325	トリメブチンマレイン酸塩	1261
トリス緩衝液, pH 8.3	325	トルイジンブルー	327
トリス緩衝液, pH 8.4	325	トルイジンブルーO	327
トリス緩衝液, pH 8.8	325	<i>o</i> -トルイル酸	327
トリス緩衝液, pH 9.5	325	トルエン	327
トリス緩衝液, エンドトキシン試験用	325	<i>o</i> -トルエンスルホンアミド	328
トリス緩衝液・塩化ナトリウム試液, 0.01 mol/L, pH 7.4	325	<i>p</i> -トルエンスルホンアミド	328
トリスヒドロキシメチルアミノメタン	326	トルエンスルホンクロロアミドナトリウム三水和物	328
トリデカンスルホン酸ナトリウム	326	トルエンスルホンクロロアミドナトリウム試液	328
2,4,6-トリニトロフェノール	326	<i>p</i> -トルエンスルホン酸	328
2,4,6-トリニトロフェノール・エタノール試液	326	<i>p</i> -トルエンスルホン酸一水和物	328
2,4,6-トリニトロフェノール試液	326	ドルゾラミド塩酸塩	1262
2,4,6-トリニトロフェノール試液, アルカリ性	326	ドルゾラミド塩酸塩・チモロールマレイン酸塩点眼液	1264
2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸	326	ドルゾラミド塩酸塩点眼液	1263
2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸ナトリウム 二水和物	326	トルナフタート	1266
2,4,6-トリニトロベンゼンスルホン酸二水和物	326	トルナフタート液	1266
トリフェニルアンチモン	326	トルバブタン	1267
トリフェニルクロルメタン	326	トルバブタン錠	1268
トリフェニルクロロメタン	326	トルブタミド	328
2,3,5-トリフェニル-2 <i>H</i> -テトラゾリウム塩酸塩	326	トルペリゾン塩酸塩	1269
2,3,5-トリフェニル-2 <i>H</i> -テトラゾリウム塩酸塩試液	326	L-トレオニン	328, 1270
トリフェニルメタノール, 薄層クロマトグラフィー用	326	トレハロース水和物	1270
トリフェニルメタン	326	トレピプトン	1271
トリプシン	326	ドロキシドパ	1272
トリプシン, 液体クロマトグラフィー用	327	ドロキシドパ, 定量用	328
トリプシン, エポエチンアルファ 液体クロマトグラフィー用	327	ドロキシドパカプセル	1273
トリプシンインヒビター	327	ドロキシドパ細粒	1273
トリプシンインヒビター試液	327	トロキシピド	1274
トリプシン試液	327	トロキシピド細粒	1275
トリプシン試液, ウリナスタチン試験用	327	トロキシピド錠	1275
トリプシン試液, エポエチンアルファ用	327	トローチ剤	13
トリプシン試液, エルカトニン試験用	327	トロピカミド	1276
L-トリプトファン	327, 1252	ドロペリドール	1277
トリフルオロ酢酸	327		

トロンピン	328, 1278
豚脂	2055
ドンペリドン	1278

ナ

ナイスタチン	1279
ナイルブルー	328
ナタネ油	2056
菜種油	2056
ナタマイシン	1427
ナテグリニド	1280
ナテグリニド錠	1280
ナトリウム	328
ナトリウム, 金属	328
ナトリウム標準原液	218
ナトリウムペンタシアノアンミンフェロエート	328
0.1 mol/Lナトリウムメトキシド・ジオキサン液	213
0.1 mol/Lナトリウムメトキシド・1,4-ジオキサン液	213
0.1 mol/Lナトリウムメトキシド液	213
ナドロール	1282
七モリブデン酸六アンモニウム・硫酸試液	328
七モリブデン酸六アンモニウム試液	328
七モリブデン酸六アンモニウム四水和物	328
七モリブデン酸六アンモニウム四水和物・硫酸セリウム(IV)試液	328
七モリブデン酸六アンモニウム四水和物・硫酸第二セリウム試液	328
ナファゾリン・クロルフェニラミン液	1283
ナファゾリン塩酸塩	328, 1283
ナファゾリン硝酸塩	328, 1283
ナファゾリン硝酸塩, 定量用	328
ナファモスタットメシル酸塩	1284
ナフタレン	328
1,3-ナフタレンジオール	328
1,3-ナフタレンジオール試液	328
2-ナフタレンスルホン酸	328
2-ナフタレンスルホン酸一水和物	328
2-ナフタレンスルホン酸ナトリウム	328
α -ナフチルアミン	328
1-ナフチルアミン	328
ナフチルエチレンジアミン試液	328
N-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩	328
ナフトキノンスルホン酸カリウム	329
1,2-ナフトキノン-4-スルホン酸カリウム	329
ナフトキノンスルホン酸カリウム試液	328
1,2-ナフトキノン-4-スルホン酸カリウム試液	329
β -ナフトキノンスルホン酸ナトリウム	329
ナフトキノンスルホン酸ナトリウム試液	329
ナフトピジル	1285
ナフトピジル, 定量用	329
ナフトピジル口腔内崩壊錠	1287
ナフトピジル錠	1286
α -ナフトール	329

β -ナフトール	329
1-ナフトール	329
2-ナフトール	329
1-ナフトール・硫酸試液	329
α -ナフトール試液	329
β -ナフトール試液	329
1-ナフトール試液	329
2-ナフトール試液	329
α -ナフトールベンゼイン	329
p-ナフトールベンゼイン	329
α -ナフトールベンゼイン試液	329
p-ナフトールベンゼイン試液	329
ナフトレゾルシン・リン酸試液	329
ナブメトン	1288
ナブメトン錠	1289
ナブロキセン	1290
鉛標準液	218
鉛標準液, 原子吸光度用	218
鉛標準原液	218
ナマルバ細胞	329
ナリジクス酸	329, 1290
ナリンギン, 薄層クロマトグラフィー用	329
ナロキソン塩酸塩	1291
軟滑石	1934
軟膏剤	19

ニ

二亜硫酸ナトリウム	329
二亜硫酸ナトリウム試液	329
ニガキ	2056
苦木	2056
ニガキ末	2056
苦木末	2056
ニカルジピン塩酸塩	1292
ニカルジピン塩酸塩, 定量用	329
ニカルジピン塩酸塩注射液	1293
肉エキス	329
ニクジュウヨウ	2057
ニクジュヨウ	2057
肉菰蓉	2057
肉菰蓉	2057
ニクヅク	2057
肉豆蔻	2057
肉豆蔻	2057
肉製ペプトン	329
ニクロム酸カリウム	329
ニクロム酸カリウム(標準試薬)	329
ニクロム酸カリウム・硫酸試液	329
1/60 mol/Lニクロム酸カリウム液	213
ニクロム酸カリウム試液	329
β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(β -NAD)	329
β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド還元型(β -NADH)	329

β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド還元型試液	330
β -ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド試液	329
ニコチン酸	330, 1294
ニコチン酸アミド	330, 1295
ニコチン酸注射液	1294
ニコモール	1296
ニコモール, 定量用	330
ニコモール錠	1296
ニコランジル	1297
二酢酸 N,N' -ジベンジルエチレンジアミン	330
ニザチジン	1298
ニザチジンカプセル	1299
二酸化イオウ	330
二酸化硫黄	330
二酸化セレン	330
二酸化炭素	330, 1299
二酸化炭素測定用検知管	407
二酸化チタン	330
二酸化チタン試液	330
二酸化鉛	330
二酸化マンガン	330
二次抗体試液	330
ニシュウ酸三水素カリウム二水和物, pH測定用	330
ニセリトロール	1300
ニセルゴリン	1301
ニセルゴリン, 定量用	330
ニセルゴリン散	1303
ニセルゴリン錠	1302
二相性イソフェンインスリン ヒト(遺伝子組換え)	
水性懸濁注射液	579
日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件	
(G3-13-190)	2641
ニッケル標準液	218
ニッケル標準液, 原子吸光度用	218
ニッケル標準原液	218
ニトラゼパム	1304
ニトリロ三酢酸	330
2,2',2''-ニトリロトリエタノール	330
2,2',2''-ニトリロトリエタノール塩酸塩	330
2,2',2''-ニトリロトリエタノール塩酸塩緩衝液,	
0.6 mol/L, pH 8.0	330
2,2',2''-ニトリロトリエタノール緩衝液, pH 7.8	330
ニトレンジピン	1304
ニトレンジピン, 定量用	330
ニトレンジピン錠	1305
3-ニトロアニリン	331
4-ニトロアニリン	331
p -ニトロアニリン	331
4-ニトロアニリン・亜硝酸ナトリウム試液	331
p -ニトロアニリン・亜硝酸ナトリウム試液	331
ニトロエタン	331
4-ニトロ塩化ベンジル	331
p -ニトロ塩化ベンジル	331
4-ニトロ塩化ベンゾイル	331

p -ニトロ塩化ベンゾイル	331
ニトログリセリン錠	1306
α -ニトロソ- β -ナフトール	331
1-ニトロソ-2-ナフトール	331
α -ニトロソ- β -ナフトール試液	331
1-ニトロソ-2-ナフトール試液	331
1-ニトロソ-2-ナフトール-3,6-	
ジスルホン酸二ナトリウム	331
2-ニトロフェニル- β -D-ガラクトピラノシド	331
o -ニトロフェニル- β -D-ガラクトピラノシド	331
2-ニトロフェノール	331
3-ニトロフェノール	331
4-ニトロフェノール	331
ニトロプルシドナトリウム	331
ニトロプルシドナトリウム試液	331
4-(4-ニトロベンジル)ピリジン	331
2-ニトロベンズアルデヒド	331
o -ニトロベンズアルデヒド	331
ニトロベンゼン	331
4-ニトロベンゼンジアゾニウム塩酸塩試液	331
p -ニトロベンゼンジアゾニウム塩酸塩試液	332
4-ニトロベンゼンジアゾニウム塩酸塩試液, 噴霧用	331
p -ニトロベンゼンジアゾニウム塩酸塩試液, 噴霧用	332
4-ニトロベンゼンジアゾニウムフルオロボレート	332
p -ニトロベンゼンジアゾニウムフルオロボレート	332
ニトロメタン	332
2倍濃厚乳糖ブイヨン	332
ニフェジピン	332, 1307
ニフェジピン, 定量用	332
ニフェジピン細粒	1309
ニフェジピン徐放カプセル	1308
ニフェジピン腸溶細粒	1310
日本薬局方収載生薬の学名表記について	
(G5-1-182)	2688
日本薬局方収載微生物株の学名表記について	
(G4-14-190)	2659
日本薬局方における標準品及び標準物質 (G8-1-190)	2733
日本薬局方における秤量の考え方 (G1-6-182)	2578
日本薬局方の通則等に規定する動物由来医薬品起源	
としての動物に求められる要件 (G3-15-141)	2657
乳剤	12
乳酸	332, 1311
L-乳酸	1311
乳酸エタクリジン	413
乳酸カルシウム水和物	1312
乳酸試液	332
L-乳酸ナトリウム液	1312
L-乳酸ナトリウム液, 定量用	332
L-乳酸ナトリウムリンゲル液	1313
乳製カゼイン	332
乳糖	332, 1315
α -乳糖・ β -乳糖混合物(1:1)	332
乳糖一水和物	332
乳糖基質試液	332

乳糖基質試液, ペニンシウム由来

β-ガラクトシダーゼ用	332
乳糖水和物	1316
乳糖ブイオン	332
乳糖ブイオン, 2倍濃厚	332
乳糖ブイオン, 3倍濃厚	332
ニュートラルレッド	332
ニュートラルレッド・ウシ血清加イーグル最小必須培地	332
ニュートラルレッド試液	332
尿素	332, 1317
尿素・EDTA試液	332
二硫化炭素	332
二硫酸カリウム	332
ニルバジピン	1317
ニルバジピン錠	1318
ニワトコレクチン	333
ニワトコレクチン試液	333
ニワトリ赤血球浮遊液, 0.5 vol%	333
認証ヒ素標準液	218
ニンジン	2058
人参	2058
ニンジン末	2059
人参末	2059
ニンドウ	2060
忍冬	2060
ニンヒドリン	333
ニンヒドリン・アスコルビン酸試液	333
ニンヒドリン・L-アスコルビン酸試液	333
ニンヒドリン・エタノール試液, 噴霧用	333
ニンヒドリン・塩化スズ(II)試液	333
ニンヒドリン・塩化第一スズ試液	333
ニンヒドリン・クエン酸・酢酸試液	333
ニンヒドリン・酢酸試液	333
0.2%ニンヒドリン・水飽和1-ブタノール試液	333
ニンヒドリン・ブタノール試液	333
ニンヒドリン・硫酸試液	333
ニンヒドリン試液	333

ネ

ネオカルチノスタチン	333
ネオカルチノスタチン・スチレン-マレイン酸	
交互共重合体部分ブチルエステル2対3縮合物	333
ネオスチグミンメチル硫酸塩	1319
ネオスチグミンメチル硫酸塩注射液	1320
ネオマイシン硫酸塩	1507
ネスラー管	407
熱分析法	78
熱分析用インジウム	407
熱分析用スズ	407
粘着力試験法	173
粘度計校正用標準液	218
粘度測定法	80

ノ

濃グリセリン	791
濃グリセロール	791
濃クロモトローブ酸試液	334
濃クロモトロブ酸試液	334
濃厚乳糖ブイオン, 2倍	334
濃厚乳糖ブイオン, 3倍	334
濃ジアゾベンゼンスルホン酸試液	334
濃縮ゲル, セルモロイキン用	334
濃ベンザルコニウム塩化物液50	1642
濃ヨウ化カリウム試液	334
ノオトカトン, 薄層クロマトグラフィー用	334
ノスカピン	1321
ノスカピン塩酸塩水和物	1321
ノダケニン, 薄層クロマトグラフィー用	334
1-ノナンスルホン酸ナトリウム	334
ノニル酸バニルアミド	334
ノニル酸ワニルアミド	334
ノニルフェノキシボリ(エチレンオキシ)エタノール, ガスクロマトグラフィー用	334
ノルアドレナリン	1322
ノルアドレナリン注射液	1322
ノルエチステロン	1323
ノルエビネフリン	1322
ノルエビネフリン注射液	1322
ノルゲストレル	1324
ノルゲストレル・エチニルエストラジオール錠	1324
ノルトリプチリン塩酸塩	335, 1326
ノルトリプチリン塩酸塩, 定量用	335
ノルトリプチリン塩酸塩錠	1326
ノルフロキサシン	1327
L-ノルロイシン	335

ハ

バイオアッセイ (G3-18-190)	2623
バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の 製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ 否定試験 (G3-14-170)	2654
バイオテクノロジー応用医薬品(バイオ医薬品)の品質確保の 基本的考え方 (G3-1-180)	2588
バイカリン, 薄層クロマトグラフィー用	335
バイカリン-水和物, 薄層クロマトグラフィー用	335
バイカレイン, 分離確認用	335
ハイドロサルファイトナトリウム	335
バイモ	2060
貝母	2060
培養液, セルモロイキン用	335
はかり及び分銅	407
はかり(天秤)の校正, 点検と分銅 (G1-7-182)	2579
はかり(天秤)の設置環境, 基本的な取扱い方法と秤量時の 留意点 (G1-8-182)	2580

パカンピシリン塩酸塩	1328
バクガ	2061
麦芽	2061
白色セラック	1092
白色軟膏	1292
白色ワセリン	1890
薄層クロマトグラフィー	49
薄層クロマトグラフィー用アクテオシド	335
薄層クロマトグラフィー用アサリニン	335
薄層クロマトグラフィー用アストラガロシドⅣ	335
薄層クロマトグラフィー用アトラクチレノリドⅢ	335
薄層クロマトグラフィー用アトロピン硫酸塩水和物	335
薄層クロマトグラフィー用アマチャジヒドロ イソクマリン	335
薄層クロマトグラフィー用アミグダリン	335
薄層クロマトグラフィー用2-アミノ-5- クロロベンゾフェノン	335
薄層クロマトグラフィー用アラントイン	335
薄層クロマトグラフィー用アリソールA	335
薄層クロマトグラフィー用アルブチン	335
薄層クロマトグラフィー用アレコリン臭化水素酸塩	335
薄層クロマトグラフィー用イカリイン	335
薄層クロマトグラフィー用(E)-イソフェルラ酸・ (E)-フェルラ酸混合試液	335
薄層クロマトグラフィー用イソプロメタジン塩酸塩	335
薄層クロマトグラフィー用イミダゾール	335
薄層クロマトグラフィー用ウンベリフェロン	335
薄層クロマトグラフィー用塩化スキサメトニウム	335
薄層クロマトグラフィー用塩化ベルベリン	335
薄層クロマトグラフィー用塩酸イソプロメタジン	335
薄層クロマトグラフィー用塩酸1,1-ジフェニル-4- ピペリジノ-1-ブテン	335
薄層クロマトグラフィー用塩酸ベンゾイルメサコニン	335
薄層クロマトグラフィー用オイゲノール	335
薄層クロマトグラフィー用オウゴン	335
薄層クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化 シリカゲル	405
薄層クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化 シリカゲル(蛍光剤入り)	405
薄層クロマトグラフィー用オストール	335
薄層クロマトグラフィー用果糖	336
薄層クロマトグラフィー用カブサイシン	336
薄層クロマトグラフィー用(E)-カブサイシン	336
薄層クロマトグラフィー用[6]-ギンゲロール	336
薄層クロマトグラフィー用ギンセンノシドRb ₁	336
薄層クロマトグラフィー用ギンセンノシドRg ₁	336
薄層クロマトグラフィー用グリココール酸ナトリウム	336
薄層クロマトグラフィー用グリチルリチン酸	336
薄層クロマトグラフィー用4'-O-グルコシル-5-O- メチルピサミノール	336
薄層クロマトグラフィー用グルコン酸カルシウム	336
薄層クロマトグラフィー用グルコン酸カルシウム水和物	336
薄層クロマトグラフィー用クロロゲン酸	336
薄層クロマトグラフィー用(E)-クロロゲン酸	336

薄層クロマトグラフィー用(2-クロロフェニル)- ジフェニルメタノール	336
薄層クロマトグラフィー用(E)-ケイ皮酸	336
薄層クロマトグラフィー用ゲニポシド	336
薄層クロマトグラフィー用ケノデオキシコール酸	336
薄層クロマトグラフィー用ゲンチオピクロシド	336
薄層クロマトグラフィー用ゴシツ	336
薄層クロマトグラフィー用コプチシン塩化物	336
薄層クロマトグラフィー用コール酸	336
薄層クロマトグラフィー用サイコサポニンa	336
薄層クロマトグラフィー用サイコサポニンb ₂	336
薄層クロマトグラフィー用サルササポゲニン	336
薄層クロマトグラフィー用シザンドリン	336
薄層クロマトグラフィー用シノメニン	336
薄層クロマトグラフィー用ジヒドロエルゴクリスチン メシル酸塩	336
薄層クロマトグラフィー用1-[(2R,5S)-2,5-ジヒドロ- 5-(ヒドロキシメチル)-2-フリル]チミン	336
薄層クロマトグラフィー用1,1-ジフェニル-4- ピペリジノ-1-ブテン塩酸塩	336
薄層クロマトグラフィー用ジメチルシリル化シリカゲル (蛍光剤入り)	405
薄層クロマトグラフィー用2,6-ジメチル-4-(2- ニトロソフェニル)-3,5-ピリジンジカルボン酸 ジメチルエステル	336
薄層クロマトグラフィー用シャゼンシ	336
薄層クロマトグラフィー用臭化水素酸アレコリン	336
薄層クロマトグラフィー用臭化水素酸スコボラミン	336
薄層クロマトグラフィー用臭化ダクロニウム	336
薄層クロマトグラフィー用[6]-ショーガオール	336
薄層クロマトグラフィー用シリカゲル	405
薄層クロマトグラフィー用シリカゲル(蛍光剤入り)	405
薄層クロマトグラフィー用シリカゲル(混合蛍光剤入り)	405
薄層クロマトグラフィー用シリカゲル (粒径5 ~ 7 μm, 蛍光剤入り)	405
薄層クロマトグラフィー用シンナムアルデヒド	336
薄層クロマトグラフィー用(E)-シンナムアルデヒド	336
薄層クロマトグラフィー用スウェルチアマリン	336
薄層クロマトグラフィー用スキサメトニウム塩化物 水和物	336
薄層クロマトグラフィー用スコボラミン臭化水素酸塩 水和物	336
薄層クロマトグラフィー用スコボレチン	336
薄層クロマトグラフィー用スタキオース	336
薄層クロマトグラフィー用セサミン	336
薄層クロマトグラフィー用セルロース	405
薄層クロマトグラフィー用セルロース(蛍光剤入り)	405
薄層クロマトグラフィー用センノシドA	336
薄層クロマトグラフィー用タウロウルソデオキシコール酸 ナトリウム	336
薄層クロマトグラフィー用ダクロニウム臭化物	336
薄層クロマトグラフィー用チクセツサポニンⅣ	336
薄層クロマトグラフィー用デオキシコール酸	337
薄層クロマトグラフィー用デヒドロコリダリン硝化物	337

- 薄層クロマトグラフィー用トリフェニルメタノール ……337
 薄層クロマトグラフィー用ナリンギン ……337
 薄層クロマトグラフィー用ノオトカトン ……337
 薄層クロマトグラフィー用ノダケニン ……337
 薄層クロマトグラフィー用パイカリン ……337
 薄層クロマトグラフィー用パイカリン-水和物 ……337
 薄層クロマトグラフィー用バルパロイン ……337
 薄層クロマトグラフィー用ヒオデオキシコール酸 ……337
 薄層クロマトグラフィー用10-ヒドロキシ-2-(*E*)-
 デセン酸 ……337
 薄層クロマトグラフィー用3-(3-ヒドロキシ-4-
 メトキシフェニル)-2-(*E*)-プロペン酸・
 (*E*)-フェルラ酸混合試液 ……337
 薄層クロマトグラフィー用ヒペロシド ……337
 薄層クロマトグラフィー用ヒルスチン ……337
 薄層クロマトグラフィー用ブエラリン ……337
 薄層クロマトグラフィー用フェルラ酸シクロアルテニル ……337
 薄層クロマトグラフィー用ブタ胆汁末 ……337
 薄層クロマトグラフィー用フマル酸 ……337
 薄層クロマトグラフィー用(土)-プラエルプトリンA ……337
 薄層クロマトグラフィー用ブラチコジンD ……337
 薄層クロマトグラフィー用フルオロキノロン酸 ……337
 薄層クロマトグラフィー用ペオニフロリン ……337
 薄層クロマトグラフィー用ペオノール ……337
 薄層クロマトグラフィー用ヘスペリジン ……337
 薄層クロマトグラフィー用ペリルアルデヒド ……337
 薄層クロマトグラフィー用ベルゲニン ……337
 薄層クロマトグラフィー用ベルバスコシド ……337
 薄層クロマトグラフィー用ベルベリン塩化物水和物 ……337
 薄層クロマトグラフィー用ベンゾイルメサコニン塩酸塩 ……337
 薄層クロマトグラフィー用ポリアミド ……405
 薄層クロマトグラフィー用ポリアミド(蛍光剤入り) ……405
 薄層クロマトグラフィー用マグノロール ……337
 薄層クロマトグラフィー用マンニトリオース ……337
 薄層クロマトグラフィー用ミリスチシン ……337
 薄層クロマトグラフィー用メシル酸
 ジヒドロエルゴクリスチン ……337
 薄層クロマトグラフィー用メチルオフィオポゴナノンA ……337
 薄層クロマトグラフィー用2-メチル-5-
 ニトロイミダゾール ……337
 薄層クロマトグラフィー用3-*O*-メチルメチルドパ ……337
 薄層クロマトグラフィー用(*E*)-2-メトキシシンナム
 アルデヒド ……337
 薄層クロマトグラフィー用リオチロニンナトリウム ……337
 薄層クロマトグラフィー用リクイリチン ……337
 薄層クロマトグラフィー用(*Z*)-リグスチリド ……337
 薄層クロマトグラフィー用(*Z*)-リグスチリド試液 ……337
 薄層クロマトグラフィー用リトコール酸 ……337
 薄層クロマトグラフィー用リモニン ……337
 薄層クロマトグラフィー用硫酸アトロピン ……337
 薄層クロマトグラフィー用リンコフィリン ……337
 薄層クロマトグラフィー用ルチン ……337
 薄層クロマトグラフィー用ルテオリン ……337
 薄層クロマトグラフィー用レイン ……337
 薄層クロマトグラフィー用レジブフォゲニン ……337
 薄層クロマトグラフィー用レボチロキシナトリウム ……338
 薄層クロマトグラフィー用レボチロキシナトリウム
 水和物 ……338
 薄層クロマトグラフィー用ロガニン ……338
 薄層クロマトグラフィー用ロスマリン酸 ……338
 白糖 ……338, 1329
 バクモンドウ ……338, 2061
 麦門冬 ……2061
 麦門冬湯エキス ……2062
 白蠟 ……2106
 バクロフェン ……1330
 バクロフェン錠 ……1331
 馬血清 ……338
 バシトラシン ……1332
 バシトラシンA ……1332
 バスカルシウム顆粒 ……1341
 バスカルシウム水和物 ……1340
 パズフロキサシンメシル酸塩 ……1333
 パズフロキサシンメシル酸塩注射液 ……1334
 バソプレシン ……338
 バソプレシン注射液 ……1334
 八味地黄丸エキス ……2063
 ハチミツ ……2066
 蜂蜜 ……2066
 波長及び透過率校正用光学フィルター ……407
 波長校正用光学フィルター ……407
 発煙硝酸 ……338
 発煙硫酸 ……338
 ハッカ ……338, 2066
 薄荷 ……2066
 ハッカ水 ……2067
 ハッカ油 ……338, 2067
 薄荷油 ……2067
 バッカル錠 ……13
 発色試液, テセロイキン用 ……338
 発色性合成基質 ……338
 発熱性物質試験法 ……136
 パップ剤 ……20
 パップ用複方オウバク散 ……1915
 発泡顆粒剤 ……11
 発泡錠 ……10
 パテントブルー ……338
 ハートインフュージョンカンテン培地 ……338
 パナジン酸アンモニウム ……338
 パナジン(V)酸アンモニウム ……338
 鼻に適用する製剤 ……17
 パニペナム ……1336
 パニリン ……338
 パニリン・塩酸試液 ……338
 パニリン・硫酸・エタノール試液 ……338
 パニリン・硫酸・エタノール試液, 噴霧用 ……338
 パニリン・硫酸試液 ……338
 ハヌス試液 ……338

パパベリン塩酸塩 338, **1339**
 パパベリン塩酸塩, 定量用 338
 パパベリン塩酸塩注射液 **1339**
 パーフルオロヘキシルプロピルシリル化シリカゲル,
 液体クロマトグラフィー用 405
 ハマボウフウ **2068**
 浜防風 **2068**
 パメタン硫酸塩 338, **1340**
 パラアミノサリチル酸カルシウム顆粒 **1341**
 パラアミノサリチル酸カルシウム水和物 **1340**
 パラアミノサリチル酸カルシウム水和物, 定量用 338
 パラオキシ安息香酸 338
 パラオキシ安息香酸イソamil 338
 パラオキシ安息香酸イソブチル 338
 パラオキシ安息香酸イソプロピル 339
 パラオキシ安息香酸エチル 339, **1342**
 パラオキシ安息香酸-2-エチルヘキシル 339
 パラオキシ安息香酸ブチル 339, **1343**
 パラオキシ安息香酸ブチル, 分離確認用 339
 パラオキシ安息香酸プロピル 339, **1344**
 パラオキシ安息香酸プロピル, 分離確認用 339
 パラオキシ安息香酸ヘキシル 340
 パラオキシ安息香酸ヘブチル 340
 パラオキシ安息香酸ベンジル 340
 パラオキシ安息香酸メチル 340, **1345**
 パラオキシ安息香酸メチル, 分離確認用 340
 パラジウム標準液, ICP分析用 218
 バラシクロビル塩酸塩 **1346**
 バラシクロビル塩酸塩錠 **1348**
 パラセタモール **437**
 パラフィン 340, **1349**
 パラフィン, 流動 340
 パラホルムアルデヒド **1350**
H-D-バリル-L-ロイシル-L-アルギニン-4-
 ニトロアニリド二塩酸塩 340
 L-バリン 340, **1351**
 L-バリン, 定量用 340
 バルサム 340
 バルサルタン 340, **1352**
 バルサルタン・ヒドロクロロチアジド錠 **1354**
 バルサルタン錠 **1353**
 バルナバリンナトリウム **1356**
 バルバロイン, 成分含量測定用 340
 バルバロイン, 定量用 340
 バルバロイン, 薄層クロマトグラフィー用 341
 バルビタール 341, **1358**
 バルビタール緩衝液 341
 バルビタールナトリウム 341
 バルプロ酸ナトリウム **1359**
 バルプロ酸ナトリウム, 定量用 341
 バルプロ酸ナトリウム錠 **1359**
 バルプロ酸ナトリウム徐放錠A **1360**
 バルプロ酸ナトリウム徐放錠B **1361**
 バルプロ酸ナトリウムシロップ **1362**

パルマチン塩化物 341
 パルマチン酸, ガスクロマトグラフィー用 341
 パルマチン酸メチル, ガスクロマトグラフィー用 341
 パルミトアミドプロピルシリル化シリカゲル,
 液体クロマトグラフィー用 405
 パルミトレイン酸メチル, ガスクロマトグラフィー用 341
 バレイショデンプン 341, **1206**
 バレイショデンプン試液 341
 バレイショデンプン試液, でんぷん消化力試験用 341
 ハロキサゾラム **1363**
 パロキセチン塩酸塩錠 **1365**
 パロキセチン塩酸塩水和物 **1364**
 ハロタン **1366**
 ハロペリドール **1367**
 ハロペリドール, 定量用 341
 ハロペリドール細粒 **1369**
 ハロペリドール錠 **1368**
 ハロペリドール注射液 **1370**
 パンクレアチン **1370**
 パンクレアチン用リン酸塩緩衝液 341
 パンクロニウム臭化物 **1371**
 ハング **2068**
 半夏 **2068**
 半夏厚朴湯エキス **2068**
 半夏瀉心湯エキス **2070**
 半固形製剤の流動学的測定法 189
 バンコマイシン塩酸塩 **1372**
 蕃椒 **2044**
 蕃椒末 **2044**
 バンテチン **1373**
 バントテン酸カルシウム 341, **1374**

ヒ

ヒアルロニダーゼ 341
 ヒアルロン酸 342
 ヒアルロン酸ナトリウム, 精製 342
 ヒアルロン酸ナトリウム, 定量用 342
 α -BHC(α -ヘキサクロロシクロヘキサン) 342
 β -BHC(β -ヘキサクロロシクロヘキサン) 342
 γ -BHC(γ -ヘキサクロロシクロヘキサン) 342
 δ -BHC(δ -ヘキサクロロシクロヘキサン) 342
 pH測定法 82
 pH測定用水酸化カルシウム 342
 pH測定用炭酸水素ナトリウム 342
 pH測定用炭酸ナトリウム 342
 pH測定用二シュウ酸三水素カリウム二水和物 342
 pH測定用フタル酸水素カリウム 342
 pH測定用ホウ酸ナトリウム 342
 pH測定用無水リン酸一水素ナトリウム 342
 pH測定用四シュウ酸カリウム 342
 pH測定用四ホウ酸ナトリウム十水和物 342
 pH測定用リン酸水素二ナトリウム 342
 pH測定用リン酸二水素カリウム 342

ピオグリタゾン塩酸塩	1378
ピオグリタゾン塩酸塩・グリメピリド錠	1380
ピオグリタゾン塩酸塩・メトホルミン塩酸塩錠	1383
ピオグリタゾン塩酸塩錠	1379
ピオチン	1385
ピオチン標識ニワトコレクチン	342
ヒオデオキシコール酸, 薄層クロマトグラフィー用	342
比較乳濁液 I	342
B型赤血球浮遊液	342
ビカルタミド	1386
ビカルタミド錠	1387
ピクリン酸	343
ピクリン酸・エタノール試液	343
ピクリン酸試液	343
ピクリン酸試液, アルカリ性	343
ピコスルファートナトリウム水和物	1388
ビスコジル	1389
ビスコジル坐剤	1390
PCR 2倍反応液, SYBR Green含有	343
BGLB	343
比重及び密度測定法	84
非水滴定用アセトン	343
非水滴定用酢酸	343
非水滴定用酢酸水銀(II)試液	343
非水滴定用酢酸第二水銀試液	343
非水滴定用氷酢酸	343
4,4'-ビス(ジエチルアミノ)ベンゾフェノン	343
L-ヒスチジン	343, 1391
L-ヒスチジン塩酸塩一水和物	343
L-ヒスチジン塩酸塩水和物	1391
ビスデメトキシシクロクミン	343
ビス(1,1-トリフルオロアセトキシ)ヨードベンゼン	343
ビストリメチルシリルアセトアミド	343
1,4-ビス(トリメチルシリル)ベンゼン- d_4 , 核磁気共鳴スペクトル測定用	343
N,N' -ビス[2-ヒドロキシ-1-(ヒドロキシメチル) エチル]-5-ヒドロキシアセチルアミノ-2,4,6- トリヨードイソフタルアミド	343
ビス-(1-フェニル-3-メチル-5-ピラゾロン)	344
ビスマス酸ナトリウム	344
微生物学的試験法の適合性試験等における留意事項 (G4-12-190)	2667
微生物限度試験法	136
微生物試験における微生物の取扱いの バイオリスク管理 (G4-11-181)	2663
微生物試験に用いる培地及び微生物株の管理 (G4-2-180)	2661
微生物迅速試験法 (G4-6-190)	2674
ヒ素試験法	33
ヒ素標準液	218
ヒ素標準原液	218
ビスプロロールフマル酸塩	1392
ビスプロロールフマル酸塩, 定量用	344
ビスプロロールフマル酸塩錠	1393

ヒ素分析用亜鉛	344
非多孔性強酸性イオン交換樹脂, 液体クロマトグラフィー用	405
ビタバスタチンカルシウム口腔内崩壊錠	1397
ビタバスタチンカルシウム錠	1395
ビタバスタチンカルシウム水和物	1394
ビタミンA酢酸エステル	1844
ビタミンA定量法	83
ビタミンA定量用2-プロパノール	344
ビタミンAパルミチン酸エステル	1844
ビタミンA油	1399
ビタミンB ₁ 塩酸塩	1143
ビタミンB ₁ 塩酸塩散	1144
ビタミンB ₁ 塩酸塩注射液	1144
ビタミンB ₁ 硝酸塩	1145
ビタミンB ₂	1823
ビタミンB ₂ 散	1824
ビタミンB ₂ 酪酸エステル	1824
ビタミンB ₂ リン酸エステル	1825
ビタミンB ₂ リン酸エステル注射液	1826
ビタミンB ₆	1433
ビタミンB ₆ 注射液	1434
ビタミンB ₁₂	906
ビタミンB ₁₂ 注射液	907
ビタミンC	426
ビタミンC散	426
ビタミンC注射液	427
ビタミンD ₂	672
ビタミンD ₃	881
ビタミンE	1216
ビタミンEコハク酸エステルカルシウム	1217
ビタミンE酢酸エステル	1218
ビタミンEニコチン酸エステル	1219
ビタミンH	1385
ビタミンK ₁	1454
1,4-BTMSB- d_4 , 核磁気共鳴スペクトル測定用	344
ヒトアルブミン化学結合シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	406
ヒトインスリン	344
ヒトインスリンデスアミド体含有試液	344
ヒトインスリン二量体含有試液	344
ヒト下垂体性腺刺激ホルモン	1011
ヒト血清アルブミン, 定量用	344
ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン	1013
ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン試液	344
ヒト正常血漿	344
ヒト正常血漿乾燥粉末	344
人全血液	1399
人免疫グロブリン	1399
ヒト由来アンチトロンビン	344
ヒト由来アンチトロンビンⅢ	344
ヒドラジン一水和物	344
ヒドララジン塩酸塩	344, 1399
ヒドララジン塩酸塩, 定量用	344

ヒドララジン塩酸塩散……………1400
 ヒドララジン塩酸塩錠……………1400
m-ヒドロキシアセトフェノン……………344
p-ヒドロキシアセトフェノン……………344
 3-ヒドロキシ安息香酸……………344
 4-ヒドロキシイソフタル酸……………344
N-(2-ヒドロキシエチル)イソニコチン酸アミド
 硝酸エステル……………345
 ヒドロキシエチルセルロース……………1401
 1-(2-ヒドロキシエチル)-1*H*-テトラゾール-5-
 チオール……………345
N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-*N'*-2-
 エタンスルホン酸……………345
d-3-ヒドロキシ-*cis*-2,3-ジヒドロ-5-[2-
 (ジメチルアミノ)エチル]-2-(4-メトキシフェニル)-
 1,5-ベンゾチアゼピン-4(5*H*)-オン塩酸塩……………345
d-3-ヒドロキシ-*cis*-2,3-ジヒドロ-5-[2-
 (ジメチルアミノ)エチル]-2-(*p*-メトキシフェニル)-
 1,5-ベンゾチアゼピン-4(5*H*)-オン塩酸塩……………345
 ヒドロキシジン塩酸塩……………1403
 ヒドロキシジンパモ酸塩……………1403
 10-ヒドロキシ-2-(*E*)-デセン酸,
 成分含量測定用……………345
 10-ヒドロキシ-2-(*E*)-デセン酸, 定量用……………345
 10-ヒドロキシ-2-(*E*)-デセン酸,
 薄層クロマトグラフィー用……………346
 2-ヒドロキシ-1-(2-ヒドロキシ-4-スルホ-1-
 ナフチルアゾ)-3-ナフトエ酸……………346
N-(3-ヒドロキシフェニル)アセトアミド……………346
 3-(*p*-ヒドロキシフェニル)プロピオン酸……………346
 2-ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリル化
 シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用……………406
 ヒドロキシプロピルシリル化シリカゲル,
 液体クロマトグラフィー用……………406
 ヒドロキシプロピルセルロース……………1404
 2-[4-(2-ヒドロキシメチル)-1-ピペラジニル]
 プロパンスルホン酸……………346
 3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)-2-(*E*)-
 プロペン酸……………346
 3-(3-ヒドロキシ-4-メトキシフェニル)-2-(*E*)-
 プロペン酸・(*E*)-フェルラ酸混合試液,
 薄層クロマトグラフィー用……………346
 ヒドロキシルアミン過塩素酸塩……………346
 ヒドロキシルアミン過塩素酸塩・エタノール試液……………346
 ヒドロキシルアミン過塩素酸塩・無水エタノール試液……………346
 ヒドロキシルアミン過塩素酸塩試液……………346
 ヒドロキシルアミン試液……………346
 ヒドロキシルアミン試液, アルカリ性……………346
 ヒドロキシコバラミン酢酸塩……………346, 1406
 ヒドロキノン……………347
 ヒドロクロロチアジド……………347, 1407
 ヒドロタルニン塩酸塩水和物……………1408
 ヒドロタルニン塩酸塩水和物, 定量用……………347
 ヒドロコルチゾン……………347, 1409

ヒドロコルチゾン・ジフェンヒドラミン軟膏……………1412
 ヒドロコルチゾンコハク酸エステル……………1410
 ヒドロコルチゾンコハク酸エステルナトリウム……………1411
 ヒドロコルチゾン酢酸エステル……………347, 1412
 ヒドロコルチゾン酪酸エステル……………1413
 ヒドロコルチゾンリン酸エステルナトリウム……………1414
 2-ビニルピリジン……………347
 4-ビニルピリジン……………347
 1-ビニル-2-ピロリドン……………347
 ヒパコニチン, 純度試験用……………347
 非必須アミノ酸試液……………347
 比表面積測定法……………112
 比表面積測定用α-アルミナ……………407
 2,2'-ビビリジル……………347
 2-(4-ビフェニル)プロピオン酸……………348
 皮膚などに適用する製剤……………18
 皮膚に適用する製剤の放出試験法……………176
 ビブメシリナム塩酸塩……………1415
 ビブメシリナム塩酸塩錠……………1416
 ヒプロメロース……………1416
 ヒプロメロースカプセル……………723
 ヒプロメロース酢酸エステルコハク酸エステル……………1418
 ヒプロメロースフタル酸エステル……………1419
 ビペミド酸水和物……………1420
 ビペラシリン水和物……………348, 1421
 ビペラシリンナトリウム……………1423
 ビペラジンアジピン酸塩……………1424
 ビペラジンリン酸塩錠……………1425
 ビペラジンリン酸塩水和物……………1425
 ビペリジン塩酸塩……………348
 ビペリデン塩酸塩……………1426
 ヒペロシド, 薄層クロマトグラフィー用……………348
 ヒベンズ酸チペピジン, 定量用……………348
 ヒポキサンチン……………348
 ビホナゾール……………348, 1426
 ヒマシ油……………348, 2072
 ビマリシン……………1427
 非無菌医薬品の微生物学的品質特性 (G4-I-170)……………2659
 ヒメクロモン……………1428
 ビモジド……………1429
 バックゴウ……………2073
 百合……………2073
 バクシ……………2073
 白芷……………2073
 バクジュツ……………2073
 白朮……………2073
 バクジュツ末……………2074
 白朮末……………2074
 白虎加人參湯エキス……………2074
 氷酢酸……………348, 885
 氷酢酸, 非水滴定用……………348
 氷酢酸・硫酸試液……………348
 標準液……………216
 pH標準液, シュウ酸塩……………218

pH標準液, 水酸化カルシウム 218
 pH標準液, 炭酸塩 218
 pH標準液, フタル酸塩 218
 pH標準液, ホウ酸塩 218
 pH標準液, リン酸塩 218
 標準品 200
 標準粒子, 光遮蔽型自動微粒子測定器校正用 407
 標準粒子等 407
 表面プラズモン共鳴法 (G3-10-170) 2628
 プラジナミド 1430
 プラゾール 348
 プラルビシン 1430
 プランテルパモ酸塩 1431
 1-(2-ピリジルアゾ)-2-ナフトール 348
 1-(4-ピリジル)ピリジニウム塩化物塩酸塩 348
 ピリジン 348
 ピリジン, 水分測定用 348
 ピリジン, 無水 348
 ピリジン・ギ酸緩衝液, 0.2 mol/L, pH 3.0 348
 ピリジン・酢酸試液 348
 ピリジン・ピラゾロン試液 348
 プリドキサールリン酸エステル水和物 1432
 プリドキシリン酸塩 349, 1433
 プリドキシリン酸塩注射液 1434
 プリドスチグミン臭化物 1434
 ビリルビン, 定量用 349
 ビルシカイニド塩酸塩カプセル 1436
 ビルシカイニド塩酸塩水和物 1435
 ビルシカイニド塩酸塩水和物, 定量用 349
 ヒルスチン 349
 ヒルスチン, 定量用 349
 ヒルスチン, 薄層クロマトグラフィー用 350
 ビルビン酸ナトリウム 350
 ビルビン酸ナトリウム試液, 100 mmol/L 350
 ビレノキシシン 1437
 ビレンゼピン塩酸塩水和物 1437
 ピロ亜硫酸ナトリウム 1438
 ピロアンチモン酸カリウム 350
 ピロアンチモン酸カリウム試液 350
 ピロカルピン塩酸塩 1439
 ピロカルピン塩酸塩, 定量用 350
 ピロカルピン塩酸塩錠 1439
 ピロガロール 350
 ピロキシカム 1441
 ピロキシリン 1442
 L-ピログルタミルグリシル-L-アルギニン-p-
 ニトロアニリン塩酸塩 350
 L-ピログルタミルグリシル-L-アルギニン-p-
 ニトロアニリン塩酸塩試液 351
 ピロリジンジチオカルバミン酸アンモニウム 351
 2-ピロリドン 351
 ピロ硫酸カリウム 351
 ピロリン酸塩緩衝液, 0.05 mol/L, pH 9.0 351
 ピロリン酸塩緩衝液, pH 9.0 351

ピロリン酸カリウム 351
 ピロール 351
 ピロールニトリン 1442
 ビワヨウ 2076
 枇杷葉 2076
 ビンクリスチン硫酸塩 351, 1443
 品質リスクマネジメントの基本的考え方 (G0-2-170) 2555
 ビンドロール 1444
 ビンブラスチン硫酸塩 351, 1445
 ビンロウジ 2077
 檳榔子 2077

フ

ファモチジン 1447
 ファモチジン, 定量用 351
 ファモチジン散 1448
 ファモチジン錠 1447
 ファモチジン注射液 1449
 ファロペネムナトリウム錠 1452
 ファロペネムナトリウム水和物 1451
 フィトナジオン 351, 1454
 フィブリノーゲン 351
 ブイオン, 普通 351
 フィルグラスチム(遺伝子組換え) 1455
 フィルグラスチム(遺伝子組換え)注射液 1457
 フィルグラスチム試料用緩衝液 351
 フィルグラスチム用イスコフ改変ダルベッコ液体培地 351
 フィルグラスチム用システム適合性試験用試液 351
 フィルグラスチム用ポリアクリルアミドゲル 351
 フェキソフェナジン塩酸塩 1458
 フェキソフェナジン塩酸塩錠 1459
 フェナセチン 351
 フェナゾン 513
 o-フェナントロリン 351
 1,10-フェナントロリン-水和水 351
 1,10-フェナントロリン試液 351
 o-フェナントロリン試液 351
 フェントイン 1460
 フェントイン, 定量用 351
 フェントイン散 1462
 フェントイン錠 1461
 H-D-フェニルアラニル-L-ピペコリル-L-
 アルギニル-p-ニトロアニリド二塩酸塩 352
 フェニルアラニン 352
 L-フェニルアラニン 352, 1463
 フェニルイソチオシアネート 352
 フェニル化シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用 406
 フェニルカルバモイル化セルロースで被覆した
 シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用 406
 D-フェニルグリシン 352
 25%フェニル-25%シアノプロピル-メチルシリコーン
 ポリマー, ガスクロマトグラフィー用 352

フェニルシリル化シリカゲル,
液体クロマトグラフィー用……………406
フェニルヒドラジン……………352
1-フェニルピペラジーン塩酸塩……………352
フェニルブタゾン……………1463
フェニルフルオロン……………352
フェニルフルオロン・エタノール試液……………352
フェニルヘキシルシリル化シリカゲル,
液体クロマトグラフィー用……………406
5%フェニル-メチルシリコーンポリマー,
ガスクロマトグラフィー用……………352
35%フェニル-メチルシリコーンポリマー,
ガスクロマトグラフィー用……………352
50%フェニル-メチルシリコーンポリマー,
ガスクロマトグラフィー用……………352
65%フェニル-メチルシリコーンポリマー,
ガスクロマトグラフィー用……………352
1-フェニル-3-メチル-5-ピラゾロン……………352
50%フェニル-50%メチルポリシロキサン,
ガスクロマトグラフィー用……………352
フェニレフリン塩酸塩……………1464
o-フェニレンジアミン……………352
1,3-フェニレンジアミン塩酸塩……………352
o-フェニレンジアミン二塩酸塩……………352
フェネチリンカリウム……………1464
フェネチルアミン塩酸塩……………352
フェノバルビタール……………1465
フェノバルビタール, 定量用……………352
フェノバルビタール散10%……………1467
フェノバルビタール錠……………1466
フェノフィブラート……………1468
フェノフィブラート錠……………1469
フェノール……………352, 1470
フェノール, 定量用……………352
フェノール・亜鉛華リニメント……………1472
フェノール・ニトロプルシドナトリウム試液……………353
フェノール・ペンタシアノニトロシル鉄(III)酸
ナトリウム試液……………353
フェノール塩酸試液……………352
フェノール水……………1471
p-フェノールスルホン酸ナトリウム……………353
p-フェノールスルホン酸ナトリウム二水和物……………353
フェノールスルホンフタレイン……………1472
フェノールスルホンフタレイン, 定量用……………353
フェノールスルホンフタレイン注射液……………1473
フェノールフタレイン……………353
フェノールフタレイン・チモールブルー試液……………353
フェノールフタレイン試液……………353
フェノールフタレイン試液, 希……………353
フェノールレッド……………353
フェノールレッド試液……………353
フェノールレッド試液, 希……………353
フェブキソスタット……………1474
フェブキソスタット錠……………1475

ブエラリン, 薄層クロマトグラフィー用……………353
フェリシアン化カリウム……………353
0.05 mol/Lフェリシアン化カリウム液……………214
0.1 mol/Lフェリシアン化カリウム液……………214
フェリシアン化カリウム試液……………353
フェリシアン化カリウム試液, アルカリ性……………353
フェーリング試液……………353
フェーリング試液, でんぷん消化力試験用……………353
フェルビナク……………1477
フェルビナク, 定量用……………353
フェルビナクテープ……………1478
フェルビナクパップ……………1478
(E)-フェルラ酸……………353
(E)-フェルラ酸, 定量用……………354
フェルラ酸シクロアルテニル,
薄層クロマトグラフィー用……………354
フェロシアン化カリウム……………354
フェロシアン化カリウム試液……………354
フェロジピン……………1479
フェロジピン, 定量用……………354
フェロジピン錠……………1480
フェンタニルクエン酸塩……………1481
フェネル油……………1903
フェンブフェン……………1481
フォリン試液……………354
フォリン試液, 希……………354
フクシン……………355
フクシン・エタノール試液……………355
フクシン亜硫酸試液……………355
フクシン試液, 脱色……………355
複方アクリノール・チンク油……………415
複方オキシコドン・アトロピン注射液……………691
複方オキシコドン注射液……………690
複方サリチル酸精……………891
複方サリチル酸メチル精……………893
複方ジアスターゼ・重曹散……………904
複方ダイオウ・センナ散……………2026
複方チアントール・サリチル酸液……………1147
複方ヨード・グリセリン……………1783
複方ロートエキス・ジアスターゼ散……………2128
腹膜透析用剤……………15
ブクモロール塩酸塩……………1482
ブクリョウ……………2077
茯苓……………2077
ブクリョウ末……………2077
茯苓末……………2077
ブシ……………2078
ブシジエステルアルカロイド混合標準溶液, 純度試験用……………355
フシジン酸ナトリウム……………1483
ブシ末……………2079
ブシモノエステルアルカロイド混合標準試液,
成分含量測定用……………355
ブシモノエステルアルカロイド混合標準試液, 定量用……………355

ブシモノエステルアルカロイド混合標準試液, 分離確認用	355	フッ化ナトリウム試液	357
ブシ用リン酸塩緩衝液	355	フッ素標準液	218
ブシラミン	355, 1485	沸点測定法及び蒸留試験法	86
ブシラミン, 定量用	355	ブデソニド	1488
ブシラミン錠	1486	ブテナフィン塩酸塩	1490
ブスルファン	1487	ブテナフィン塩酸塩, 定量用	357
ブソイドエフェドリン塩酸塩	355	ブテナフィン塩酸塩液	1490
ブタ胆汁末, 薄層クロマトグラフィー用	355	ブテナフィン塩酸塩クリーム	1491
1-ブタノール	356	ブテナフィン塩酸塩スプレー	1491
1-ブタノール, アンモニア飽和	355	ブドウ酒	1492
2-ブタノール	356	ブドウ糖	357, 1494
<i>n</i> -ブタノール	356	ブドウ糖試液	357
ブタノール, イソ	356	ブドウ糖水合物	1496
ブタノール, 第二	356	ブドウ糖注射液	1497
ブタノール, 第三	356	<i>N</i> - <i>t</i> -ブトキシカルボニル-L-グルタミン酸- α - フェニルエステル	357
1-ブタノール試液, アンモニア飽和	356	フドステイン	1497
2-ブタノン	356	フドステイン, 定量用	357
<i>o</i> -フタルアルデヒド	356	フドステイン錠	1498
フタルイミド	356	ブトロピウム臭化物	1499
フタル酸	356	ブナゾシン塩酸塩	1500
フタル酸塩pH標準液	218	ブピバカイン塩酸塩水和物	1501
フタル酸緩衝液, pH 5.8	356	ブファリン, 成分含量測定用	357
フタル酸ジエチル	356	ブファリン, 定量用	357
フタル酸ジシクロヘキシル	356	ブフェトロール塩酸塩	1502
フタル酸ジノニル	356	ブプラノロール塩酸塩	1502
フタル酸ジフェニル	356	ブプレノルフィン塩酸塩	1503
フタル酸ジ- <i>n</i> -ブチル	356	ブホルミン塩酸塩	1504
フタル酸ジメチル	356	ブホルミン塩酸塩, 定量用	358
フタル酸水素カリウム	356	ブホルミン塩酸塩錠	1504
フタル酸水素カリウム(標準試薬)	356	ブホルミン塩酸塩腸溶錠	1505
フタル酸水素カリウム, pH測定用	356	フマル酸, 薄層クロマトグラフィー用	358
フタル酸水素カリウム緩衝液, 0.3 mol/L, pH 4.6	356	フマル酸ビスプロロール, 定量用	358
フタル酸水素カリウム緩衝液, pH 3.5	357	ブメタニド	1506
フタル酸水素カリウム緩衝液, pH 4.6	357	浮遊培養用培地	358
フタル酸水素カリウム緩衝液, pH 5.6	357	Primer F	358
フタル酸水素カリウム試液, 0.2 mol/L, 緩衝液用	357	Primer F試液	358
フタル酸ビス(シス-3,3,5-トリメチルシクロヘキシル)	357	Primer R	358
フタレインパープル	357	Primer R試液	358
付着錠	13	(±)-プラエルブトリンA, 薄層クロマトグラフィー用	358
<i>n</i> -ブチルアミン	357	フラジオマイシン硫酸塩	1507
<i>t</i> -ブチルアルコール	357	ブラジキニン	358
ブチルシリル化シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	406	プラスチック製医薬品容器及び輸液用ゴム栓の 容器設計における一般的な考え方と求められる要件 (G7-2-162)	2726
ブチルスコポラミン臭化物	1487	プラスチック製医薬品容器試験法	194
<i>n</i> -ブチルボロン酸	357	プラステロン硫酸エステルナトリウム水和物	1508
<i>tert</i> -ブチルメチルエーテル	357	ブラゼバム	1509
ブチロラクトン	357	ブラゼバム, 定量用	359
普通カンテン培地	357	ブラゼバム錠	1509
普通カンテン培地, テセロイキン用	357	ブラゾシン塩酸塩	1510
普通ブイオン	357	ブラチコジンD, 薄層クロマトグラフィー用	359
フッ化水素酸	357	プラノプロフェン	1511
フッ化ナトリウム	357	ブラパスタチンナトリウム	359, 1512
フッ化ナトリウム(標準試薬)	357		
フッ化ナトリウム・塩酸試液	357		

プラバスタチンナトリウム液	1516	ブルランカプセル	723
プラバスタチンナトリウム細粒	1514	フルルビプロフェン	1539
プラバスタチンナトリウム錠	1513	ブレオマイシン塩酸塩	1540
フラビンアデニンジヌクレオチドナトリウム	1517	ブレオマイシン硫酸塩	1542
フラボキサート塩酸塩	1518	フレカイニド酢酸塩	360, 1543
プラシルカストカプセル	1520	フレカイニド酢酸塩, 定量用	360
プラシルカスト水和物	1519	フレカイニド酢酸塩錠	1544
プリミドン	1521	ブレガバリン	1545
プリリアントグリン	359	ブレガバリンカプセル	1548
ふるい	408	ブレガバリン口腔内崩壊錠	1547
フルオシノニド	1522	ブレドニゾロン	360, 1550
フルオシノロンアセトニド	359, 1523	ブレドニゾロンコハク酸エステル	1551
フルオレスカミン	359	ブレドニゾロン酢酸エステル	360, 1553
フルオレセイン	359	ブレドニゾロン錠	1550
フルオレセインナトリウム	359, 1524	ブレドニゾロンリン酸エステルナトリウム	1554
フルオレセインナトリウム試液	359	ブレドニゾン	360
9-フルオレニルメチルクロロギ酸	359	フローイメージング法によるバイオテクノロジー	
4-フルオロ安息香酸	359	応用医薬品(バイオ医薬品)原薬/製剤中の	
フルオロウラシル	1525	不溶性微粒子の評価法〈G3-17-182〉	2639
フルオロキノロン酸, 薄層クロマトグラフィー用	359	プロカインアミド塩酸塩	360, 1556
1-フルオロ-2,4-ジニトロフェニル-5-L-		プロカインアミド塩酸塩, 定量用	360
アラニンアミド	359	プロカインアミド塩酸塩錠	1557
1-フルオロ-2,4-ジニトロベンゼン	360	プロカインアミド塩酸塩注射液	1558
フルオロシリ化シリカゲル,		プロカイン塩酸塩	360, 1555
液体クロマトグラフィー用	406	プロカイン塩酸塩, 定量用	360
7-フルオロ-4-ニトロベンゾ-2-オキサ-1,3-		プロカイン塩酸塩注射液	1555
ジアゾール	360	プロカテロール塩酸塩水和物	360, 1558
フルオロメトロン	1526	プロカルバジン塩酸塩	1559
フルコナゾール	1526	プログルミド	1560
フルコナゾール, 定量用	360	プロクロルペラジンマレイン酸塩	1560
フルコナゾールカプセル	1527	プロクロルペラジンマレイン酸塩錠	1561
フルコナゾール注射液	1528	プロゲステロン	360, 1562
フルジアゼパム	1529	プロゲステロン注射液	1562
フルジアゼパム, 定量用	360	フローサイトメトリー〈G3-16-182〉	2634
フルジアゼパム錠	1529	プロスタグランジンA ₁	360
フルシトシン	1530	プロセス解析工学によるリアルタイムリリース試験における	
ブルシン	360	含量均一性評価のための判定基準〈G6-1-171〉	2714
ブルシン n 水和物	360	フロセミド	1563
ブルシン二水和物	360	フロセミド錠	1564
フルスルチアミン塩酸塩	1531	フロセミド注射液	1565
フルタミド	1532	プロタミン硫酸塩	1566
ブルーテトラゾリウム	360	プロタミン硫酸塩注射液	1566
ブルーテトラゾリウム試液, アルカリ性	360	プロチオナミド	1567
フルドロコルチゾン酢酸エステル	1533	プロチゾラム	1567
フルニトラゼパム	1534	プロチゾラム, 定量用	361
フルフェナジンエナント酸エステル	1535	プロチゾラム錠	1568
フルフラール	360	プロチレリン	1569
フルボキサミンマレイン酸塩	1535	プロチレリン酒石酸塩水和物	1570
フルボキサミンマレイン酸塩錠	1536	ブロッキング剤	361
フルラゼパム, 定量用	360	ブロッキング試液, エポエチンアルファ用	361
フルラゼパム塩酸塩	1537	ブロック緩衝液	361
プルラナーゼ	360	ブロッキング試液	361
プルラナーゼ試液	360	V8プロテアーゼ	361
プルラン	1538	V8プロテアーゼ, インスリングルルギン用	361

V8プロテアーゼ酵素試液	361
プロテイン銀	1571
プロテイン銀液	1571
¹ Hスピン情報に基づいた参照NMRスペクトルと 日本薬局方試薬への応用〈G5-9-190〉	2701
プロナンセリン	1572
プロナンセリン散	1574
プロナンセリン錠	1573
1-プロパノール	361
2-プロパノール	361
2-プロパノール, 液体クロマトグラフィー用	361
2-プロパノール, ビタミンA定量用	361
n-プロパノール	361
プロパノール, イソ	361
プロパフェノン塩酸塩	1574
プロパフェノン塩酸塩, 定量用	361
プロパフェノン塩酸塩錠	1575
プロパンテリン臭化物	361, 1576
プロピオン酸	361
プロピオン酸エチル	361
プロピオン酸ジョサマイシン	361
プロピオン酸テストステロン	361
プロピオン酸ベクロメタゾン	361
プロピフェナゾン	541
プロピバリン塩酸塩	1577
プロピバリン塩酸塩錠	1578
プロピルアミン, イソ	361
プロピルエーテル, イソ	361
プロピルチオウラシル	1579
プロピルチオウラシル, 定量用	361
プロピルチオウラシル錠	1579
プロピレングリコール	361, 1580
プロピレングリコール, ガスクロマトグラフィー用	361
プロブコール	1581
プロブコール細粒	1583
プロブコール錠	1582
プロプラノロール塩酸塩	1583
プロプラノロール塩酸塩, 定量用	362
プロプラノロール塩酸塩錠	1584
フロプロピオン	362, 1585
フロプロピオン, 定量用	362
フロプロピオンカプセル	1586
プロベネシド	362, 1587
プロベネシド錠	1587
プロマゼパム	1588
ブロムクレゾールグリーン	362
ブロムクレゾールグリーン・塩化メチルロザニリン試液	362
ブロムクレゾールグリーン・水酸化ナトリウム・酢酸・ 酢酸ナトリウム試液	362
ブロムクレゾールグリーン・水酸化ナトリウム試液	362
ブロムクレゾールグリーン・メチルレッド試液	362
ブロムクレゾールグリーン試液	362
ブロムクレゾールパープル	362
ブロムクレゾールパープル・水酸化ナトリウム試液	362

ブロムクレゾールパープル・リン酸一水素カリウム・ クエン酸試液	362
ブロムクレゾールパープル試液	362
N-ブロムサクシンイミド	362
N-ブロムサクシンイミド試液	362
ブロムチモールブルー	362
ブロムチモールブルー・水酸化ナトリウム試液	362
ブロムチモールブルー試液	362
ブロムフェナクナトリウム水和物	1588
ブロムフェナクナトリウム点眼液	1589
ブロムフェノールブルー	362
ブロムフェノールブルー・フタル酸水素カリウム試液	362
ブロムフェノールブルー試液	362
ブロムフェノールブルー試液, pH 7.0	362
ブロムフェノールブルー試液, 希	362
ブロムヘキシシン塩酸塩	1590
ブロムワレリル尿素	362, 1594
ブロメタジン塩酸塩	1591
フロモキセフナトリウム	1592
ブロモクリプチンメシル酸塩	1594
ブロモクレゾールグリーン	362
ブロモクレゾールグリーン・クリスタルバイオレット試液	362
ブロモクレゾールグリーン・水酸化ナトリウム・ エタノール試液	362
ブロモクレゾールグリーン・水酸化ナトリウム・ 酢酸・酢酸ナトリウム試液	362
ブロモクレゾールグリーン・水酸化ナトリウム試液	362
ブロモクレゾールグリーン・メチルレッド試液	362
ブロモクレゾールグリーン試液	362
ブロモクレゾールグリーン	362
ブロモクレゾールグリーン・ クリスタルバイオレット試液	362
ブロモクレゾールグリーン・水酸化ナトリウム・ エタノール試液	362
ブロモクレゾールグリーン・水酸化ナトリウム・ 酢酸・酢酸ナトリウム試液	362
ブロモクレゾールグリーン・水酸化ナトリウム試液	362
ブロモクレゾールグリーン・メチルレッド試液	362
ブロモクレゾールグリーン試液	362
ブロモクレゾールパープル	362
ブロモクレゾールパープル・水酸化ナトリウム試液	362
ブロモクレゾールパープル・リン酸水素二カリウム・ クエン酸試液	362
ブロモクレゾールパープル試液	362
N-ブロモスクシンイミド	363
N-ブロモスクシンイミド試液	363
ブロモチモールブルー	363
ブロモチモールブルー・エタノール性 水酸化ナトリウム試液	363
ブロモチモールブルー・水酸化ナトリウム試液	363
ブロモチモールブルー試液	363
ブロモバレリル尿素	363, 1594
ブロモフェノールブルー	363
ブロモフェノールブルー・フタル酸水素カリウム試液	363

ブロモフェノールブルー試液	363
ブロモフェノールブルー試液, 0.05%	363
ブロモフェノールブルー試液, pH 7.0	363
ブロモフェノールブルー試液, 希	363
L-ブロリン	363, 1595
フロログシノール二水和物	363
フロログシ	363
フロログシ二水和物	363
分散錠	10
分子量試験用還元液	363
分子量測定用低分子量ヘパリン	363
分子量測定用マーカートンパク質	363
分子量標準原液	363
分子量マーカー, インターフェロンアルファ用	363
分子量マーカー, エボエチンアルファ用	363
分子量マーカー, テセロイキン用	363
分析法バリデーション (G1-1-130)	2568
粉体の細かさの表示法 (G2-2-171)	2582
粉体の粒子密度測定法	114
粉体の流動性 (G2-3-182)	2582
分銅	407
粉末飴	1957
粉末X線回折測定法	86
粉末セルロース	1099
噴霧試液用チモール	363
噴霧用塩化2,3,5-トリフェニル-2H-テトラゾリウム・ メタノール試液	363
噴霧用塩化p-ニトロベンゼンジアゾニウム試液	363
噴霧用希次硝酸ビスマス・ヨウ化カリウム試液	363
噴霧用4-ジメチルアミノベンズアルデヒド試液	363
噴霧用p-ジメチルアミノベンズアルデヒド試液	363
噴霧用チモール・硫酸・メタノール試液	363
噴霧用ドラージェンドルフ試液	363
噴霧用4-ニトロベンゼンジアゾニウム塩酸塩試液	363
噴霧用p-ニトロベンゼンジアゾニウム塩酸塩試液	363
噴霧用ニンヒドリン・エタノール試液	363
噴霧用バニリン・硫酸・エタノール試液	363
噴霧用4-メトキシベンズアルデヒド・硫酸・酢酸・ エタノール試液	363
分離確認用グリチルリチン酸-アーンモニウム	364
分離確認用パイクアレン	364
分離確認用パラオキシ安息香酸ブチル	364
分離確認用パラオキシ安息香酸プロピル	364
分離確認用パラオキシ安息香酸メチル	364
分離確認用プシモノエステルアルカロイド混合標準試液	364
分離ゲル, セルモロイキン用	364

へ

ペウケダヌム・レデボウリエルロイデス, 純度試験用	364
ペオニフロリン, 薄層クロマトグラフィー用	364
ペオノール, 成分含量測定用	364
ペオノール, 定量用	364
ペオノール, 薄層クロマトグラフィー用	365

ベカナマイシン硫酸塩	365, 1596
ヘキサクロロ白金(IV)酸試液	365
ヘキサクロロ白金(IV)酸六水和物	365
ヘキサクロロ白金(IV)酸・ヨウ化カリウム試液	365
ヘキサシアノ鉄(II)酸カリウム三水和物	365
ヘキサシアノ鉄(II)酸カリウム試液	365
ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム	365
0.05 mol/Lヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム液	214
0.1 mol/Lヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム液	214
ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム試液	365
ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム試液, アルカリ性	365
ヘキサシリル化シリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	406
ヘキサニトロコバルト(III)酸ナトリウム	365
ヘキサニトロコバルト(III)酸ナトリウム試液	365
1-ヘキサノール	365
ヘキサヒドロキソアンチモン(V)酸カリウム	365
ヘキサヒドロキソアンチモン(V)酸カリウム試液	365
ヘキサミン	365
1,1,1,3,3,3-ヘキサメチルジシラザン	365
ヘキサメチレンテトラミン	365
ヘキサメチレンテトラミン試液	365
ヘキサン	365
n-ヘキサン, 液体クロマトグラフィー用	365
n-ヘキサン, 吸収スペクトル用	365
ヘキサン, 液体クロマトグラフィー用	365
ヘキサン, 吸収スペクトル用	365
ヘキサン, 生薬純度試験用	365
1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム	365
ベクロメタゾンプロピオン酸エステル	366, 1597
ベザフィブラート	1598
ベザフィブラート, 定量用	366
ベザフィブラート徐放錠	1599
ヘスペリジン, 成分含量測定用	366
ヘスペリジン, 定量用	366
ヘスペリジン, 薄層クロマトグラフィー用	367
ベタキシロール塩酸塩	1600
ベタネコール塩化物	1601
ベタヒスチンメシル酸塩	367, 1601
ベタヒスチンメシル酸塩, 定量用	367
ベタヒスチンメシル酸塩錠	1602
ベタミプロン	367, 1603
ベタミプロン, 定量用	367
ベタメタゾン	1604
ベタメタゾン吉草酸エステル	1606
ベタメタゾン吉草酸エステル・ゲンタマイシン 硫酸塩クリーム	1608
ベタメタゾン吉草酸エステル・ゲンタマイシン 硫酸塩軟膏	1607
ベタメタゾンジプロピオン酸エステル	1609
ベタメタゾン錠	1605
ベタメタゾンリン酸エステルナトリウム	1610
ペチジン塩酸塩	1611
ペチジン塩酸塩, 定量用	367
ペチジン塩酸塩注射液	1612

ペニジピン塩酸塩 367, **1613**
 ペニジピン塩酸塩, 定量用 367
 ペニジピン塩酸塩錠 **1613**
 ペニシリウム由来 β -ガラクトシダーゼ用
 グルコース検出用試液 367
 ペニシリウム由来 β -ガラクトシダーゼ用
 乳糖基質試液 367
 ペニシリウム由来 β -ガラクトシダーゼ用
 リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 4.5 367
 ペニシリンGカリウム **1645**
 ペニバナ **1957**
 ヘパリンカルシウム **1615**
 ヘパリンナトリウム 367, **1618**
 ヘパリンナトリウム注射液 **1622**
 ペプシン, 含糖 367
 ヘプタフルオロ酪酸 367
 ヘプタン 368
 ヘプタン, 液体クロマトグラフィー用 368
 1-ヘプタンスルホン酸ナトリウム 368
 ペプチド及びタンパク質の質量分析 (G3-4-161) 2603
 ペプチドマップ法 (G3-3-182) 2598
 ペプトン 368
 ペプトン, カゼイン製 368
 ペプトン, ゼラチン製 368
 ペプトン, ダイズ製 368
 ペプトン, 肉製 368
 ペプロマイシン硫酸塩 **1624**
 ヘペス緩衝液, pH 7.5 368
 ベヘン酸メチル 368
 ベポタスチンベシル酸塩 **1626**
 ベポタスチンベシル酸塩, 定量用 368
 ベポタスチンベシル酸塩錠 **1627**
 ヘマトキシリン 368
 ヘマトキシリン試液 368
 ペミロラストカリウム 368, **1628**
 ペミロラストカリウム錠 **1629**
 ペミロラストカリウム点眼液 **1630**
 ベラドンナエキス **2081**
 ベラドンナコン **2081**
 ベラドンナ根 **2081**
 ベラドンナ総アルカロイド **2082**
 ベラパミル塩酸塩 **1631**
 ベラパミル塩酸塩, 定量用 368
 ベラパミル塩酸塩錠 **1632**
 ベラパミル塩酸塩注射液 **1632**
 ベラプロストナトリウム 368, **1633**
 ベラプロストナトリウム, 定量用 368
 ベラプロストナトリウム錠 **1634**
 ヘリウム 368
 ペリルアルデヒド, 成分含量測定用 368
 ペリルアルデヒド, 定量用 368
 ペリルアルデヒド, 薄層クロマトグラフィー用 369
 ペルオキシダーゼ 369
 ペルオキシダーゼ測定用基質液 369

ペルオキシダーゼ標識アビジン 369
 ペルオキシダーゼ標識アビジン試液 369
 ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ抗体 369
 ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ抗体試液 369
 ペルオキシダーゼ標識ブラジキニン 369
 ペルオキシダーゼ標識ブラジキニン試液 369
 ペルオキシ二硫酸アンモニウム 369
 ペルオキシ二硫酸アンモニウム試液, 10% 369
 ペルオキシ二硫酸カリウム 369
 ベルゲニン, 薄層クロマトグラフィー用 369
 ベルバスコシド, 薄層クロマトグラフィー用 369
 ペルフェナジン **1635**
 ペルフェナジン錠 **1636**
 ペルフェナジンマレイン酸塩 **1637**
 ペルフェナジンマレイン酸塩, 定量用 369
 ペルフェナジンマレイン酸塩錠 **1637**
 ベルベリン塩化物水和物 369, **1638**
 ベルベリン塩化物水和物, 薄層クロマトグラフィー用 369
 ペロスピロン塩酸塩錠 **1640**
 ペロスピロン塩酸塩水和物 **1639**
 ベンザルコニウム塩化物 369, **1642**
 ベンザルコニウム塩化物液 **1642**
 ベンザルフタリド 369
 ベンジルアルコール 369, **1643**
p-ベンジルフェノール 370
 ベンジルペニシリンカリウム 370, **1645**
 ベンジルペニシリンベンザチン 370
 ベンジルペニシリンベンザチン水和物 370, **1646**
 ヘンズ **2083**
 扁豆 **2083**
 ベンズアルデヒド 370
 ベンズ[a]アントラセン 370
 ベンズプロマロン **1648**
 ベンゼトニウム塩化物 **1648**
 ベンゼトニウム塩化物, 定量用 370
 ベンゼトニウム塩化物液 **1649**
 0.004 mol/Lベンゼトニウム塩化物液 214
 ベンセラジド塩酸塩 **1649**
 ベンゼン 370
N- α -ベンゾイル-L-アルギニンエチル塩酸塩 370
N- α -ベンゾイル-L-アルギニンエチル試液 370
N- α -ベンゾイル-L-アルギニン-4-
 ニトロアニリド塩酸塩 370
N- α -ベンゾイル-L-アルギニン-4-
 ニトロアニリド試液 370
N-ベンゾイル-L-イソロイシル-L-グルタミル
 (γ -OR)-グリシル-L-アルギニン-*p*-
 ニトロアニリド塩酸塩 370
 ベンゾイルヒバコニン塩酸塩 370
 ベンゾイルヒバコニン塩酸塩, 定量用 370
 ベンゾイルメサコニン塩酸塩, 定量用 371
 ベンゾイルメサコニン塩酸塩,
 薄層クロマトグラフィー用 371
 ベンゾイン 371

ベンゾカイン	472
<i>p</i> -ベンゾキノ	371
<i>p</i> -ベンゾキノ試液	371
ベンゾ[a]ピレン	371
ベンゾフェノン	372
ペンタエチレンヘキサアミノ化ポリビニルアルコール	
ポリマービーズ, 液体クロマトグラフィー用	406
ペンタシアノアンミン鉄(II)酸ナトリウム n 水和物	372
ペンタシアノニトロシル鉄(III)酸ナトリウム・	
ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム試液	372
ペンタシアノニトロシル鉄(III)酸ナトリウム・	
ヘキサシアノ鉄(III)酸カリウム試液, 希	372
ペンタシアノニトロシル鉄(III)酸ナトリウム試液	372
ペンタシアノニトロシル鉄(III)酸ナトリウム二水和物	372
ペンタジシン	1650
ペンタン	372
1-ペンタンスルホン酸ナトリウム	372
ペントキシベリンクエン酸塩	1651
ペントナイト	1651
ペントバルビタールカルシウム	1652
ペントバルビタールカルシウム錠	1653
ペンブトロール硫酸塩	1654
変法チオグリコール酸培地	372

ホ

ボウイ	2083
防已	2083
防已黄耆湯エキス	2083
崩壊試験第1液	372
崩壊試験第2液	372
崩壊試験法	168
芳香水剤	21
ボウコン	2086
茅根	2086
ホウ酸	372, 1654
ホウ酸・塩化カリウム・水酸化ナトリウム緩衝液,	
pH 9.0	372
ホウ酸・塩化カリウム・水酸化ナトリウム緩衝液,	
pH 9.2	372
ホウ酸・塩化カリウム・水酸化ナトリウム緩衝液,	
pH 9.6	372
ホウ酸・塩化カリウム・水酸化ナトリウム緩衝液,	
pH 10.0	372
0.2 mol/Lホウ酸・0.2 mol/L塩化カリウム試液,	
緩衝液用	372
ホウ酸・塩化マグネシウム緩衝液, pH 9.0	372
ホウ酸・水酸化ナトリウム緩衝液, pH 8.4	373
ホウ酸・メタノール緩衝液	373
ホウ酸塩・塩酸緩衝液, pH 9.0	373
ホウ酸塩pH標準液	218
ホウ酸ナトリウム	373
ホウ酸ナトリウム, pH測定用	373
ホウ砂	372, 1655

ボウショウ	2086
芒硝	2086
抱水クロラル	373, 1655
抱水クロラル試液	373
抱水ヒドラジン	373
ホウ素標準液	218
ボウフウ	2087
防風	2087
防風通聖散エキス	2087
飽和ヨウ化カリウム試液	373
ボクソク	2092
樸椒	2092
ボグリボース	1655
ボグリボース, 定量用	373
ボグリボース口腔内崩壊錠	1658
ボグリボース錠	1656
ホスゲン紙	406
ホスファターゼ, アルカリ性	373
ホスファターゼ試液, アルカリ性	373
ホスフィン酸	373
ホスホマイシンカルシウム水和物	1659
ホスホマイシンナトリウム	1661
保存効力試験法 (G4-3-170)	2668
ボタンビ	2092
牡丹皮	2092
ボタンビ末	2093
牡丹皮末	2093
補中益気湯エキス	2094
ポテトエキス	373
ホノキオール	373
ポビドン	1662
ポビドンヨード	1665
ホマトロピン臭化水素酸塩	373, 1665
ホミカ	2097
ホミカエキス	2097
ホミカエキス散	2098
ホミカチンキ	2098
ホモクロルシクリジン塩酸塩	1666
ポラプレジック	1667
ポラプレジック顆粒	1668
ポランーピリジン錯体	373
ポリアクリルアミドゲル, エポエチンアルファ用	373
ポリアクリルアミドゲル, テセロイキン用	373
ポリアクリルアミドゲル, フィルグラスチム用	373
ポリアクリル酸メチル, ガスクロマトグラフィー用	373
ポリアミド, カラムクロマトグラフィー用	406
ポリアミド, 薄層クロマトグラフィー用	406
ポリアミド(蛍光剤入り), 薄層クロマトグラフィー用	406
ポリアミンシリカゲル, 液体クロマトグラフィー用	406
ポリアルキレングリコール, ガスクロマトグラフィー用	373
ポリアルキレングリコールモノエーテル,	
ガスクロマトグラフィー用	373
ポリエチレングリコール20 M,	
ガスクロマトグラフィー用	373

ポリエチレングリコール400 1682
 ポリエチレングリコール400,
 ガスクロマトグラフィー用 373
 ポリエチレングリコール600,
 ガスクロマトグラフィー用 373
 ポリエチレングリコール1500 1683
 ポリエチレングリコール1500,
 ガスクロマトグラフィー用 373
 ポリエチレングリコール4000 1684
 ポリエチレングリコール6000 1684
 ポリエチレングリコール6000,
 ガスクロマトグラフィー用 373
 ポリエチレングリコール15000—ジエポキシド,
 ガスクロマトグラフィー用 373
 ポリエチレングリコール20000 1685
 ポリエチレングリコールエステル化物,
 ガスクロマトグラフィー用 373
 ポリエチレングリコール軟膏 1685
 ポリエチレングリコール2—ニトロテレフタレート,
 ガスクロマトグラフィー用 373
 ポリオキシエチレン(23)ラウリルエーテル 373
 ポリオキシエチレン(40)オクチルフェニルエーテル 373
 ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60 374
 ポリコナゾール 374, 1669
 ポリコナゾール錠 1670
 ポリスチレンスルホン酸カルシウム 1672
 ポリスチレンスルホン酸ナトリウム 1673
 ポリソルベート20 374
 ポリソルベート20, エポエチンベータ用 374
 ポリソルベート80 374, 1674
 ポリテトラフルオロエチレン,
 ガスクロマトグラフィー用 406
 ホリナートカルシウム 1676
 ホリナートカルシウム水和物 1676
 ポリビニリデンフロライド膜 374
 ポリビニルアルコール 374
 ポリビニルアルコール I 374
 ポリビニルアルコール II 375
 ポリビニルアルコール試液 375
 ポリミキシンB硫酸塩 1677
 ポリメチルシロキサン, ガスクロマトグラフィー用 375
 ボルネオール酢酸エステル 375
 ホルマジン乳濁原液 218
 ホルマジン標準乳濁液 375
 ホルマリン 375, 1678
 ホルマリン・硫酸試液 375
 ホルマリン試液 375
 ホルマリン水 1679
 2—ホルミル安息香酸 375
 ホルムアミド 375
 ホルムアミド, 水分測定用 375
 ホルムアルデヒド液 375
 ホルムアルデヒド液・硫酸試液 375
 ホルムアルデヒド液試液 375

ホルムアルデヒド試液, 希 375
 ホルモテロールフマル酸塩水和物 1679
 ボレイ 2099
 牡蛎 2099
 ボレイ末 2099
 牡蛎末 2099
 ポンプスプレー剤 19

マ

マイクロプレート 375
 マイクロプレート洗浄用リン酸塩緩衝液 376
 マイトマイシンC 1681
 マウス抗エポエチンアルファモノクローナル抗体 376
 前処理用アミノプロピルシリル化シリカゲル 376
 前処理用オクタデシルシリル化シリカゲル 376
 マオウ 2099
 麻黄 2099
 麻黄湯エキス 2100
 マーカートンパク質, セルモロイキン分子量測定用 376
 マグネシア試液 376
 マグネシウム 376
 マグネシウム標準液, 原子吸光度用 219
 マグネシウム標準原液 219
 マグネシウム粉末 376
 マグネシウム末 376
 マグノフロリンヨウ化物, 定量用 376
 マグノロール, 成分含量測定用 377
 マグノロール, 定量用 377
 マグノロール, 薄層クロマトグラフィー用 377
 マクリ 2103
 マクロゴール400 1682
 マクロゴール600 378
 マクロゴール1500 1683
 マクロゴール4000 1684
 マクロゴール6000 1684
 マクロゴール20000 1685
 マクロゴール軟膏 1685
 マシニン 2103
 麻子仁 2103
 麻子仁丸エキス 2103
 麻酔用エーテル 378, 634
 マニジピン塩酸塩 1686
 マニジピン塩酸塩錠 1687
 マプロチリン塩酸塩 1688
 マラカイトグリーン 378
 マラカイトグリーンシュウ酸塩 378
 マルチオール 378
 マルトース 378
 マルトース水和物 378, 1688
 マルトトリオース 378
 4—(マレイミドメチル)シクロヘキシルカルボン酸—N—
 ヒドロキシコハク酸イミドエステル 378
 マレイン酸 378

マレイン酸イルソグラジン	378
マレイン酸イルソグラジン, 定量用	378
マレイン酸エナラプリル	378
マレイン酸クロルフェニラミン	378
マレイン酸ペルフェナジン, 定量用	378
マレイン酸メチルエルゴメトリン, 定量用	378
マロン酸ジメチル	378
マンギフェリン, 定量用	378
D-マンニトール	379, 1689
D-マンニトール注射液	1691
マンニトリオース, 薄層クロマトグラフィー用	379
D-マンノサミン塩酸塩	379
D-マンノース	379

ミ

ミオイノシトール	379
ミオグロビン	379
ミグリトール	379, 1691
ミグリトール錠	1692
ミグレン	1693
ミクロノマイシン硫酸塩	1694
ミコナゾール	1695
ミコナゾール硝酸塩	379, 1696
水・メタノール標準液	219
ミゾリピン	1696
ミゾリピン錠	1697
ミチグリニドカルシウム錠	1699
ミチグリニドカルシウム水和物	379, 1698
ミツロウ	379, 2105
ミデカマイシン	1701
ミデカマイシン酢酸エステル	1702
ミドドリン塩酸塩	1702
ミドドリン塩酸塩口腔内崩壊錠	1705
ミドドリン塩酸塩錠	1703
ミノサイクリン塩酸塩	379, 1707
ミノサイクリン塩酸塩顆粒	1709
ミノサイクリン塩酸塩錠	1708
耳に投与する製剤	17
ミョウバン	1830
ミョウバン水	1710
ミリスチン, 薄層クロマトグラフィー用	379
ミリスチン酸イソプロピル	379
ミリスチン酸イソプロピル, 無菌試験用	379
ミリスチン酸メチル, ガスクロマトグラフィー用	379

ム

無アルデヒドエタノール	379
無菌医薬品の包装完全性の評価〈G7-4-190〉	2728
無菌医薬品包装の漏れ試験法〈G7-5-180〉	2731
無菌試験法	145
無菌試験用チオグリコール酸培地Ⅰ	379
無菌試験用チオグリコール酸培地Ⅱ	379

無菌試験用ミリスチン酸イソプロピル	379
無コウイ大建中湯エキス	2027
無水亜硫酸ナトリウム	379
無水アルコール	616
無水アンピシリン	514
無水エタノール	379, 616
無水エーテル	379
無水塩化第二鉄・ピリジン試液	379
無水塩化鉄(Ⅲ)・ピリジン試液	379
無水カフェイン	721
無水クエン酸	781
無水コハク酸	379
無水酢酸	380
無水酢酸・ピリジン試液	380
無水酢酸ナトリウム	380
無水ジエチルエーテル	380
無水炭酸カリウム	380
無水炭酸ナトリウム	380
無水トリフルオロ酢酸, ガスクロマトグラフィー用	380
無水乳糖	1315
無水ヒドラジン, アミノ酸分析用	380
無水ピリジン	380
無水フタル酸	380
無水ボウショウ	2086
無水芒硝	2086
無水メタノール	380
無水硫酸銅	380
無水硫酸ナトリウム	2086
無水リン酸一水素ナトリウム	380
無水リン酸一水素ナトリウム, pH測定用	380
無水リン酸水素カルシウム	1839
無水リン酸水素二ナトリウム	380
無水リン酸二水素ナトリウム	380
無ヒ素亜鉛	380
ムピロシンカルシウム水和物	1711
ムピロシンカルシウム軟膏	1712
ムレキシド	380
ムレキシド・塩化ナトリウム指示薬	380

メ

メキシレチン塩酸塩	1713
メキタジン	1714
メキタジン, 定量用	380
メキタジン錠	1714
メグルミン	380, 1715
メクロフェノキサート塩酸塩	1715
メコバラミン	1716
メコバラミン錠	1717
メサコニチン, 純度試験用	380
メサラジン	1718
メサラジン, 定量用	381
メサラジン徐放錠	1720

メシル酸ジヒドロエルゴクリスチン,
薄層クロマトグラフィー用……………381
メシル酸ベタヒスチン……………381
メシル酸ベタヒスチン, 定量用……………381
メストラノール……………1721
メタクレゾールパープル……………381
メタクレゾールパープル試液……………381
メタケイ酸アルミン酸マグネシウム……………853
メタサイクリン塩酸塩……………381
メタ重亜硫酸ナトリウム……………381, 1438
メタ重亜硫酸ナトリウム試液……………381
メダゼパム……………1722
メタニルイエロー……………381
メタニルイエロー試液……………381
メタノール……………381
メタノール, 液体クロマトグラフィー用……………381
メタノール, 水分測定用……………381
メタノール, 精製……………381
メタノール, 無水……………381
メタノール試験法……………35
メタノール標準液……………219
メタノール不含エタノール……………381
メタノール不含エタノール(95)……………381
メタリン酸……………381
メタリン酸・酢酸試液……………381
メタンスルホン酸……………381
メタンスルホン酸カリウム……………381
メタンスルホン酸試液……………381
メタンスルホン酸試液, 0.1 mol/L……………381
メタンフェタミン塩酸塩……………1723
メチオニン……………381
L-メチオニン……………381, 1723
メチ克蘭……………1724
メチラボン……………1725
2-メチルアミノピリジン……………381
2-メチルアミノピリジン, 水分測定用……………381
4-メチルアミノフェノール硫酸塩……………381
4-メチルアミノフェノール硫酸塩試液……………381
メチルイエロー……………381
メチルイエロー試液……………381
メチルイソブチルケトン……………381
メチルエチルケトン……………382
dl-メチルエフェドリン塩酸塩……………382, 1725
dl-メチルエフェドリン塩酸塩, 定量用……………382
dl-メチルエフェドリン塩酸塩散10%……………1726
メチルエルゴメトリンマレイン酸塩……………1727
メチルエルゴメトリンマレイン酸塩, 定量用……………382
メチルエルゴメトリンマレイン酸塩錠……………1727
メチルエロー……………382
メチルエロー試液……………382
メチルオフィオポゴナンA,
薄層クロマトグラフィー用……………382
メチルオレンジ……………382
メチルオレンジ・キシレンシアノールFF試液……………382

メチルオレンジ・ホウ酸試液……………382
メチルオレンジ試液……………382
メチルシクロヘキサン……………382
メチルジゴキシン……………1729
メチルシリコーンポリマー, ガスクロマトグラフィー用……………382
メチルセルロース……………1730
メチルセロソルブ……………382
メチルチモールブルー……………382
メチルチモールブルー・塩化ナトリウム指示薬……………382
メチルチモールブルー・硝酸カリウム指示薬……………382
メチルテストステロン……………382, 1731
メチルテストステロン錠……………1732
1-メチル-1H-テトラゾール-5-
チオラートナトリウム……………382
1-メチル-1H-テトラゾール-5-
チオラートナトリウム二水和物……………382
1-メチル-1H-テトラゾール-5-チオール……………382
1-メチル-1H-テトラゾール-5-チオール,
液体クロマトグラフィー用……………382
メチルドパ……………383
メチルドパ, 定量用……………383
メチルドパ錠……………1733
メチルドパ水和物……………383, 1733
メチルドパ水和物, 定量用……………383
2-メチル-5-ニトロイミダゾール,
薄層クロマトグラフィー用……………383
N-メチルピロリジン……………383
3-メチル-1-フェニル-5-ピラズロン……………383
3-メチル-1-ブタノール……………383
メチルプレドニゾロン……………383, 1734
メチルプレドニゾロンコハク酸エステル……………1735
2-メチル-1-プロパノール……………383
メチルベナクチジウム臭化物……………1736
D-(+)- α -メチルベンジルアミン……………383
3-メチル-2-ベンゾチアゾロンヒドラゾン塩酸塩
一水和物……………383
4-メチルベンゾフェノン……………383
4-メチル-2-ペンタノン……………383
4-メチルペンタン-2-オール……………383
3-O-メチルメチルドパ, 薄層クロマトグラフィー用……………383
メチルレッド……………383
メチルレッド・水酸化ナトリウム試液……………383
メチルレッド・メチレンブルー試液……………383
メチルレッド試液……………383
メチルレッド試液, 希……………383
メチルレッド試液, 酸又はアルカリ試験用……………383
N,N'-メチレンビスアクリルアミド……………383
メチレンブルー……………383
メチレンブルー・硫酸・リン酸二水素ナトリウム試液……………383
メチレンブルー試液……………383
滅菌精製水……………384, 983
滅菌精製水(容器入り)……………983
滅菌法及び滅菌指標体 (G4-10-162)……………2683
メテノロンエナント酸エステル……………384, 1736

メテノロンエナント酸エステル, 定量用 384
 メテノロンエナント酸エステル注射液 1737
 メテノロン酢酸エステル 1738
 メトキサレン 1738
 4'-メトキシアセトフェノン 384
 2-メトキシエタノール 384
 (E)-2-メトキシシナナムアルデヒド,
 薄層クロマトグラフィー用 384
 1-メトキシ-2-プロパノール 384
 4-メトキシベンズアルデヒド 384
 4-メトキシベンズアルデヒド・酢酸試液 384
 4-メトキシベンズアルデヒド・硫酸・酢酸・
 エタノール試液, 噴霧用 384
 4-メトキシベンズアルデヒド・硫酸・酢酸試液 384
 4-メトキシベンズアルデヒド・硫酸試液 384
 2-メトキシ-4-メチルフェノール 384
 メトクロブラミド 1739
 メトクロブラミド, 定量用 385
 メトクロブラミド錠 1739
 メトトレキサート 385, 1740
 メトトレキサートカプセル 1742
 メトトレキサート錠 1741
 メトプロロール酒石酸塩 1743
 メトプロロール酒石酸塩, 定量用 385
 メトプロロール酒石酸塩錠 1744
 メトホルミン塩酸塩 1745
 メトホルミン塩酸塩, 定量用 385
 メトホルミン塩酸塩錠 1746
 メドロキシプロゲステロン酢酸エステル 1746
 メトロニダゾール 385, 1747
 メトロニダゾール, 定量用 385
 メトロニダゾール錠 1748
 メナテトレノン 1749
 目に投与する製剤 16
 メビチオスタン 1750
 メビバカイン塩酸塩 1751
 メビバカイン塩酸塩, 定量用 385
 メビバカイン塩酸塩注射液 1751
 メフェナム酸 1752
 メフルンド 1753
 メフルンド, 定量用 385
 メフルンド錠 1753
 メフロキン塩酸塩 385, 1754
 メベンゾラート臭化物 1755
 メベンダゾール 385
 2-メルカプトエタノール 385
 2-メルカプトエタノール, エポエチンベータ用 385
 メルカプトエタンスルホン酸 385
 メルカプト酢酸 385
 メルカプトプリン 385
 メルカプトプリン水和物 385, 1755
 メルファラン 1756
 メロペネム水和物 1757
 綿実油 385

メントール 385
 dl-メントール 1759
 l-メントール 1759
 l-メントール, 定量用 386

七

木クレオソート 2106
 モクツウ 2107
 木通 2107
 目的に応じた日本薬局方の適用方法〈GZ-4-190〉 2744
 モサプリドクエン酸塩散 1762
 モサプリドクエン酸塩錠 1760
 モサプリドクエン酸塩水和物 1760
 モサプリドクエン酸塩水和物, 定量用 386
 モッコウ 386, 2108
 木香 2108
 没食子酸 386
 没食子酸一水和物 386
 モノエタノールアミン 386
 モノステアリン酸アルミニウム 1763
 モノステアリン酸グリセリン 1763
 モリブデン酸アンモニウム 386
 モリブデン酸アンモニウム・硫酸試液 386
 モリブデン酸アンモニウム試液 386
 モリブデン酸ナトリウム 386
 モリブデン(VI)酸二ナトリウム二水和物 386
 モリブデン硫酸試液 386
 モルヒネ・アトロピン注射液 1766
 モルヒネ塩酸塩錠 1764
 モルヒネ塩酸塩水和物 386, 1764
 モルヒネ塩酸塩水和物, 定量用 386
 モルヒネ塩酸塩注射液 1765
 モルヒネ硫酸塩水和物 1767
 2-(N-モルホリノ)エタンスルホン酸 386
 3-(N-モルホリノ)プロパンスルホン酸 386
 3-(N-モルホリノ)プロパンスルホン酸緩衝液,
 0.02 mol/L, pH 7.0 386
 3-(N-モルホリノ)プロパンスルホン酸緩衝液,
 0.02 mol/L, pH 8.0 386
 3-(N-モルホリノ)プロパンスルホン酸緩衝液,
 0.1 mol/L, pH 7.0 386
 モンテルカストナトリウム 1768
 モンテルカストナトリウム顆粒 1774
 モンテルカストナトリウム錠 1770
 モンテルカストナトリウムチュアブル錠 1772

ヤ

ヤギ抗大腸菌由来タンパク質抗体 386
 ヤギ抗大腸菌由来タンパク質抗体試液 386
 ヤクチ 2108
 益智 2108
 ヤクモソウ 2108

益母草	2108
薬用石ケン	1775
薬用炭	1776
ヤシ油	2109
椰子油	2109

ユ

有機体炭素試験法	90
ユウタン	2109
熊胆	2109
融点測定法	91
誘導結合プラズマ発光分光分析法及び 誘導結合プラズマ質量分析法	97
輸液剤	15
輸液用ゴム栓試験法	198
ユーカリ油	2109
輸血用クエン酸ナトリウム注射液	783
油脂試験法	35
ユビキノール-9	386
ユビデカレノン	1776

ヨ

ヨウ化亜鉛デンプン紙	406
ヨウ化亜鉛デンプン試液	386
溶解アセチレン	386
溶解錠	10
溶解度測定法 (G2-6-190)	2587
ヨウ化イソプロピル, 定量用	387
ヨウ化エチル	387
ヨウ化カリウム	387, 1777
ヨウ化カリウム, 定量用	387
ヨウ化カリウム・硫酸亜鉛試液	387
ヨウ化カリウム試液	387
ヨウ化カリウム試液, 濃	387
ヨウ化カリウム試液, 飽和	387
ヨウ化カリウムデンプン紙	406
ヨウ化カリウムデンプン試液	387
ヨウ化水素酸	387
ヨウ化ナトリウム	1778
ヨウ化ナトリウム(¹²³ I)カプセル	1778
ヨウ化ナトリウム(¹³¹ I)液	1778
ヨウ化ナトリウム(¹³¹ I)カプセル	1778
ヨウ化ビスマスカリウム試液	387
ヨウ化人血清アルブミン(¹³¹ I)注射液	1778
ヨウ化ヒポ酸ナトリウム(¹³¹ I)注射液	1778
ヨウ化メチル	387
ヨウ化メチル, 定量用	387
陽極液A, 水分測定用	387
葉酸	387, 1779
葉酸錠	1779
葉酸注射液	1780
溶出試験装置の機械的校正の標準的方法 (G6-2-170)	2716

溶出試験第1液	387
溶出試験第2液	387
溶出試験法	169
溶性デンプン	387
溶性デンプン試液	387
ヨウ素	387, 1781
ヨウ素, 定量用	387
ヨウ素・デンプン試液	387
0.002 mol/Lヨウ素液	214
0.005 mol/Lヨウ素液	214
0.01 mol/Lヨウ素液	214
0.025 mol/Lヨウ素液	214
0.05 mol/Lヨウ素液	214
ヨウ素酸カリウム	387
ヨウ素酸カリウム(標準試薬)	387
0.05 mol/Lヨウ素酸カリウム液	214
1/60 mol/Lヨウ素酸カリウム液	214
1/1200 mol/Lヨウ素酸カリウム液	214
ヨウ素酸カリウムデンプン紙	406
ヨウ素試液	387
ヨウ素試液, 0.0002 mol/L	387
ヨウ素試液, 0.5 mol/L	387
ヨウ素試液, 希	387
容量分析用標準液	205
容量分析用硫酸亜鉛	387
ヨクイニン	2110
薏苡仁	2110
ヨクイニン末	2110
薏苡仁末	2110
抑肝散エキス	2110
抑肝散加陳皮半夏エキス	2113
ヨード・サリチル酸・フェノール精	1784
5-ヨードウラシル, 液体クロマトグラフィー用	387
ヨードエタン	387
ヨードエタン, 定量用	387
ヨード酢酸	388
ヨードチンキ	1781
ヨードホルム	1785
ヨードメタン	388
ヨードメタン, 定量用	388
四塩化炭素	283
4級アルキルアミノ化スチレンージビニルベンゼン 共重合体, 液体クロマトグラフィー用	401
四酢酸鉛	388
四酢酸鉛・フルオレセインナトリウム試液	388
四シウ酸カリウム, pH測定用	388
四フッ化エチレンポリマー, ガスクロマトグラフィー用	406
四ホウ酸ナトリウム・塩化カルシウム緩衝液, pH 8.0	388
四ホウ酸ナトリウム・硫酸試液	388
四ホウ酸ナトリウム十水和物	388
四ホウ酸ナトリウム十水和物, pH測定用	388
四ホウ酸二カリウム四水和物	388

ラ

ライセート試液	388
ライセート試薬	388
ライネッケ塩	388
ライネッケ塩一水和物	388
ライネッケ塩試液	388
ラウリル硫酸ナトリウム	388, 1786
0.01 mol/Lラウリル硫酸ナトリウム液	214
ラウリル硫酸ナトリウム試液	388
ラウリル硫酸ナトリウム試液, 0.2%	388
ラウリル硫酸リチウム	388
ラウリン酸メチル, ガスクロマトグラフィー用	388
ラウロクロゴール	388, 1787
ラクツロース	1787
α -ラクトアルブミン	388
β -ラクトグロブリン	388
ラクトビオン酸	388
ラタモキシフナトリウム	1788
ラッカセイ油	388, 2116
落花生油	2116
ラニチジン塩酸塩	1789
ラニチジンジアミン	388
ラニーニッケル, 触媒用	389
ラノコナゾール	389, 1790
ラノコナゾール外用液	1791
ラノコナゾールクリーム	1792
ラノコナゾール軟膏	1792
ラフチジン	1793
ラフチジン, 定量用	389
ラフチジン錠	1793
ラベタロール塩酸塩	389, 1795
ラベタロール塩酸塩, 定量用	389
ラベタロール塩酸塩錠	1796
ラベプラゾールナトリウム	1796
ラボンチシン, 純度試験用	389
ラマンスペクトル測定法	58
L-ラムノース一水和物	389
LAL試液	389
LAL試薬	389
ランソプラゾール	1798
ランソプラゾール腸溶カプセル	1800
ランソプラゾール腸溶性口腔内崩壊錠	1799
ランタン-アリザリンコンプレキソン試液	389
卵白アルブミン, ゲルろ過分子量マーカー用	389

リ

リオチロニンナトリウム	389, 1801
リオチロニンナトリウム, 薄層クロマトグラフィー用	389
リオチロニンナトリウム錠	1802
力価測定用培地, テセロイキン用	389
リクイリチン, 薄層クロマトグラフィー用	389

(Z)-リグスチリド, 薄層クロマトグラフィー用	389
(Z)-リグスチリド試液, 薄層クロマトグラフィー用	389
リグノセリン酸メチル, ガスクロマトグラフィー用	389
リシノブリン	389
リシノブリン, 定量用	389
リシノブリン錠	1803
リシノブリン水和物	389, 1803
リシノブリン水和物, 定量用	389
リシルエンドペプチダーゼ	389
リジルエンドペプチダーゼ	389
リシルエンドペプチダーゼ, テセロイキン用	389
L-リシン塩酸塩	389, 1805
L-リジン塩酸塩	390
L-リシン酢酸塩	1805
リスペリドン	1806
リスペリドン, 定量用	390
リスペリドン細粒	1808
リスペリドン錠	1807
リスペリドン内服液	1810
リセドロン酸ナトリウム錠	1812
リセドロン酸ナトリウム水和物	1811
リゾチーム塩酸塩	1813
リゾチーム塩酸塩用基質試液	390
六君子湯エキス	2117
リドカイン	1814
リドカイン, 定量用	390
リドカイン注射液	1814
リトコール酸, 薄層クロマトグラフィー用	390
リトドリン塩酸塩	390, 1815
リトドリン塩酸塩錠	1816
リトドリン塩酸塩注射液	1817
リトマス紙, 青色	406
リトマス紙, 赤色	406
リニメント剤	19
リノール酸メチル, ガスクロマトグラフィー用	390
リノレン酸メチル, ガスクロマトグラフィー用	390
リバビリン	390, 1818
リバビリンカプセル	1819
リファンピシン	1820
リファンピシンカプセル	1821
リボスタマイシン硫酸塩	1822
リボソーム注射剤	15
リボスクレアーゼA, ゲルろ過分子量マーカー用	390
リボフラビン	390, 1823
リボフラビン散	1824
リボフラビン酪酸エステル	1824
リボフラビンリン酸エステルナトリウム	390, 1825
リボフラビンリン酸エステルナトリウム注射液	1826
リマプロスト アルファデクス	390, 1827
リマプロスト アルファデクス錠	1828
リモナーデ剤	12
リモニン, 薄層クロマトグラフィー用	390
リモネン	390
流エキス剤	22

硫化アンモニウム試液 390
 硫化水素 390
 硫化水素試液 390
 硫化鉄 390
 硫化鉄(II) 390
 硫化ナトリウム 390
 硫化ナトリウム九水和物 390
 硫化ナトリウム試液 390
 リュウガンニク 2120
 竜眼肉 2120
 リュウコツ 2120
 竜骨 2120
 リュウコツ末 2120
 竜骨末 2120
 硫酸 390
 0.0005 mol/L硫酸 215
 0.005 mol/L硫酸 215
 0.01 mol/L硫酸 215
 0.02 mol/L硫酸 215
 0.025 mol/L硫酸 215
 0.05 mol/L硫酸 215
 0.1 mol/L硫酸 215
 0.25 mol/L硫酸 215
 0.5 mol/L硫酸 215
 硫酸, 希 390
 硫酸, 精製 390
 硫酸, 発煙 390
 硫酸, 硫酸呈色物用 390
 硫酸・エタノール試液 391
 硫酸・水酸化ナトリウム試液 391
 硫酸・ヘキサン・メタノール試液 391
 硫酸・メタノール試液 391
 硫酸・メタノール試液, 0.05 mol/L 391
 硫酸・リン酸二水素ナトリウム試液 391
 硫酸亜鉛 391
 硫酸亜鉛, 容量分析用 391
 0.02 mol/L硫酸亜鉛液 215
 0.05 mol/L硫酸亜鉛液 215
 0.1 mol/L硫酸亜鉛液 215
 硫酸亜鉛試液 391
 硫酸亜鉛水和物 1829
 硫酸亜鉛点眼液 1830
 硫酸亜鉛七水和物 391
 硫酸アトロピン 391
 硫酸アトロピン, 定量用 391
 硫酸アトロピン, 薄層クロマトグラフィー用 391
 硫酸4-アミノ-N,N-ジエチルアニリン 391
 硫酸4-アミノ-N,N-ジエチルアニリン試液 391
 硫酸アルミニウムカリウム 391
 硫酸アルミニウムカリウム水和物 1830
 硫酸アンモニウム 391
 硫酸アンモニウム緩衝液 391
 硫酸アンモニウム試液 391
 0.02 mol/L硫酸アンモニウム鉄(II)液 216

0.1 mol/L硫酸アンモニウム鉄(II)液 216
 硫酸アンモニウム鉄(II)六水和物 391
 0.1 mol/L硫酸アンモニウム鉄(III)液 216
 硫酸アンモニウム鉄(III)試液 391
 硫酸アンモニウム鉄(III)試液, 希 391
 硫酸アンモニウム鉄(III)試液, 酸性 391
 硫酸アンモニウム鉄(III)十二水和物 391
 硫酸塩試験法 37
 硫酸カナマイシン 391
 硫酸カリウム 391, 1831
 硫酸カリウムアルミニウム十二水和物 391
 硫酸カリウム試液 391
 硫酸キニジン 391
 硫酸キニーネ 391
 硫酸試液 390
 硫酸試液, 0.05 mol/L 391
 硫酸試液, 0.25 mol/L 391
 硫酸試液, 0.5 mol/L 391
 硫酸試液, 1 mol/L 391
 硫酸試液, 2 mol/L 391
 硫酸試液, 5 mol/L 391
 硫酸ジベカシン 391
 硫酸水素カリウム 391
 硫酸水素テトラブチルアンモニウム 391
 0.1 mol/L硫酸セリウム(IV)液 216
 硫酸セリウム(IV)四水和物 391
 硫酸第一鉄 391
 硫酸第一鉄アンモニウム 391
 0.02 mol/L硫酸第一鉄アンモニウム液 216
 0.1 mol/L硫酸第一鉄アンモニウム液 216
 硫酸第一鉄試液 391
 硫酸第二セリウムアンモニウム 391
 硫酸第二セリウムアンモニウム・リン酸試液 391
 0.01 mol/L硫酸第二セリウムアンモニウム液 216
 0.1 mol/L硫酸第二セリウムアンモニウム液 216
 硫酸第二セリウムアンモニウム試液 391
 硫酸第二鉄 391
 硫酸第二鉄アンモニウム 391
 0.1 mol/L硫酸第二鉄アンモニウム液 216
 硫酸第二鉄アンモニウム試液 391
 硫酸第二鉄アンモニウム試液, 希 391
 硫酸第二鉄試液 391
 硫酸呈色物試験法 37
 硫酸呈色物用硫酸 391
 硫酸鉄(II)試液 391
 硫酸鉄(II)七水和物 391
 硫酸鉄(III)試液 391
 硫酸鉄(III) *n*水和物 391
 硫酸鉄水和物 1831
 硫酸銅 391
 硫酸銅(II) 392
 硫酸銅, 無水 391
 硫酸銅・ピリジン試液 392
 硫酸銅(II)・ピリジン試液 392

硫酸銅(Ⅱ)五水和物	392	リルマザホン塩酸塩錠	1836
硫酸銅試液	391	リルマザホン塩酸塩水和物	392, 1835
硫酸銅試液, アルカリ性	391	リングル液	1837
硫酸銅(Ⅱ)試液	392	リンコフィリン, 成分含量測定用	392
硫酸銅(Ⅱ)試液, アルカリ性	392	リンコフィリン, 定量用	392
硫酸ナトリウム	392, 2086	リンコフィリン, 薄層クロマトグラフィー用	393
硫酸ナトリウム, 無水	392	リンコマイシン塩酸塩水和物	1838
硫酸ナトリウム十水塩	2086	リンコマイシン塩酸塩注射液	1838
硫酸ナトリウム十水和物	392	リン酸	394
硫酸ニッケルアンモニウム	392	リン酸・酢酸・ホウ酸緩衝液, pH 2.0	394
硫酸ニッケル(Ⅱ)アンモニウム六水和物	392	リン酸・硫酸ナトリウム緩衝液, pH 2.3	394
硫酸ニッケル(Ⅱ)六水和物	392	リン酸一水素カリウム	394
硫酸バメタン	392	リン酸一水素カリウム・クエン酸緩衝液, pH 5.3	394
硫酸バリウム	1831	リン酸一水素カリウム試液, 1 mol/L, 緩衝液用	394
硫酸ヒドラジニウム	392	リン酸一水素ナトリウム	394
硫酸ヒドラジニウム試液	392	リン酸一水素ナトリウム, 無水	394
硫酸ヒドラジン	392	リン酸一水素ナトリウム, 無水, pH測定用	394
硫酸ピンクリスチン	392	リン酸一水素ナトリウム・クエン酸塩緩衝液, pH 5.4	394
硫酸ピンブラスチン	392	リン酸一水素ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 4.5	394
硫酸ベカナマイシン	392	リン酸一水素ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 6.0	394
硫酸マグネシウム	392	リン酸一水素ナトリウム試液	394
硫酸マグネシウム試液	392	リン酸一水素ナトリウム試液, 0.05 mol/L	394
硫酸マグネシウム水	1832	リン酸一水素ナトリウム試液, 0.5 mol/L	394
硫酸マグネシウム水和物	1832	リン酸塩pH標準液	219
硫酸マグネシウム注射液	1832	リン酸塩緩衝液, 0.01 mol/L	394
硫酸マグネシウム七水和物	392	リン酸塩緩衝液, 0.01 mol/L, pH 6.8	394
硫酸4-メチルアミノフェノール	392	リン酸塩緩衝液, 0.02 mol/L, pH 3.0	394
硫酸p-メチルアミノフェノール	392	リン酸塩緩衝液, 0.02 mol/L, pH 3.5	394
硫酸4-メチルアミノフェノール試液	392	リン酸塩緩衝液, 0.02 mol/L, pH 7.5	394
硫酸p-メチルアミノフェノール試液	392	リン酸塩緩衝液, 0.02 mol/L, pH 8.0	394
硫酸四アンモニウムセリウム(Ⅳ)・リン酸試液	392	リン酸塩緩衝液, 0.03 mol/L, pH 7.5	394
0.01 mol/L硫酸四アンモニウムセリウム(Ⅳ)液	216	リン酸塩緩衝液, 0.05 mol/L, pH 3.5	394
0.1 mol/L硫酸四アンモニウムセリウム(Ⅳ)液	216	リン酸塩緩衝液, 0.05 mol/L, pH 6.0	394
硫酸四アンモニウムセリウム(Ⅳ)試液	392	リン酸塩緩衝液, 0.05 mol/L, pH 7.0	394
硫酸四アンモニウムセリウム(Ⅳ)二水和物	392	リン酸塩緩衝液, 0.1 mol/L, pH 4.5	394
硫酸リチウム	392	リン酸塩緩衝液, 0.1 mol/L, pH 5.3	394
硫酸リチウム一水和物	392	リン酸塩緩衝液, 0.1 mol/L, pH 6.8	394
粒子計数装置	392	リン酸塩緩衝液, 0.1 mol/L, pH 7.0	394
粒子計数装置用希釈液	392	リン酸塩緩衝液, 0.1 mol/L, pH 8.0	395
粒子密度測定用校正球	407	リン酸塩緩衝液, 0.1 mol/L, pH 8.0, 抗生物質用	395
リュウタン	2121	リン酸塩緩衝液, 0.2 mol/L, pH 10.5	395
竜胆	2121	リン酸塩緩衝液, 1/15 mol/L, pH 5.6	395
リュウタン末	2121	リン酸塩緩衝液, pH 3.0	395
竜胆末	2121	リン酸塩緩衝液, pH 3.1	395
流動パラフィン	392, 1349	リン酸塩緩衝液, pH 3.2	395
粒度測定法	115	リン酸塩緩衝液, pH 4.0	395
リュープロレリン酢酸塩	1833	リン酸塩緩衝液, pH 5.9	395
リョウキョウ	2122	リン酸塩緩衝液, pH 6.0	395
良姜	2122	リン酸塩緩衝液, pH 6.2	395
苓桂朮甘湯エキス	2122	リン酸塩緩衝液, pH 6.5	395
両性担体液, pH 3 ~ 10用	392	リン酸塩緩衝液, pH 6.5, 抗生物質用	395
両性担体液, pH 6 ~ 9用	392	リン酸塩緩衝液, pH 6.8	395
両性担体液, pH 7 ~ 9用	392	リン酸塩緩衝液, pH 7.0	395
両性担体液, pH 8 ~ 10.5用	392	リン酸塩緩衝液, pH 7.2	395

リン酸塩緩衝液, pH 7.4	395
リン酸塩緩衝液, pH 8.0	395
リン酸塩緩衝液, pH 12	395
リン酸塩緩衝液, エポエチンアルファ用	394
リン酸塩緩衝液, サイコ成分含量測定用	394
リン酸塩緩衝液, サイコ定量用	394
リン酸塩緩衝液, 細胞毒性試験用	394
リン酸塩緩衝液, パンクレアチン用	394
リン酸塩緩衝液, プシ用	394
リン酸塩緩衝液, マイクロプレート洗浄用	394
リン酸塩緩衝液・塩化ナトリウム試液, 0.01 mol/L, pH 7.4	395
リン酸塩緩衝液塩化ナトリウム試液	395
リン酸塩試液	395
リン酸カリウム緩衝液, 0.05 mol/L, pH 11	395
リン酸カリウム三水合物	395
リン酸緩衝液, 0.1 mol/L, pH 7	395
リン酸コデイン, 定量用	395
リン酸三ナトリウム十二水和物	395
リン酸ジヒドロコデイン, 定量用	395
リン酸水素アンモニウムナトリウム	395
リン酸水素アンモニウムナトリウム四水和物	395
リン酸水素カルシウム	1839
リン酸水素カルシウム水和物	1840
リン酸水素ナトリウム水和物	1840
リン酸水素二アンモニウム	395
リン酸水素二カリウム	395
リン酸水素二カリウム・クエン酸緩衝液, pH 5.3	395
リン酸水素二カリウム試液, 1 mol/L, 緩衝液用	395
リン酸水素二ナトリウム, pH測定用	396
リン酸水素二ナトリウム, 無水	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸塩緩衝液, pH 3.0	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸塩緩衝液, pH 5.4	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, 0.05 mol/L, pH 6.0	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 3.0	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 4.5	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 5.0	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 5.4	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 5.5	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 6.0	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 6.8	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 7.2	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 7.5	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 8.2	396
リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, ペニシリウム由来β-ガラクトシダーゼ用, pH 4.5	396
リン酸水素二ナトリウム試液	396
リン酸水素二ナトリウム試液, 0.05 mol/L	396
リン酸水素二ナトリウム試液, 0.5 mol/L	396
リン酸水素二ナトリウム十二水和物	396
リン酸水素二ナトリウム二水和物	396
リン酸テトラブチルアンモニウム	396
リン酸トリス(4- <i>t</i> -ブチルフェニル)	396

リン酸ナトリウム	396
リン酸ナトリウム緩衝液, 0.1 mol/L, pH 7.0	396
リン酸ナトリウム試液	396
リン酸二水素アンモニウム	396
リン酸二水素アンモニウム試液, 0.02 mol/L	396
リン酸二水素カリウム	396
リン酸二水素カリウム, pH測定用	396
リン酸二水素カリウム試液, 0.01 mol/L, pH 4.0	396
リン酸二水素カリウム試液, 0.02 mol/L	396
リン酸二水素カリウム試液, 0.05 mol/L	396
リン酸二水素カリウム試液, 0.05 mol/L, pH 3.0	396
リン酸二水素カリウム試液, 0.05 mol/L, pH 4.7	396
リン酸二水素カリウム試液, 0.1 mol/L	396
リン酸二水素カリウム試液, 0.1 mol/L, pH 2.0	397
リン酸二水素カリウム試液, 0.2 mol/L	397
リン酸二水素カリウム試液, 0.2 mol/L, 緩衝液用	397
リン酸二水素カリウム試液, 0.25 mol/L, pH 3.5	397
リン酸二水素カリウム試液, 0.33 mol/L	397
リン酸二水素カルシウム水和物	1841
リン酸二水素ナトリウム	397
リン酸二水素ナトリウム, 無水	397
リン酸二水素ナトリウム・エタノール試液	397
リン酸二水素ナトリウム一水和物	397
リン酸二水素ナトリウム試液, 0.01 mol/L, pH 7.5	397
リン酸二水素ナトリウム試液, 0.05 mol/L	397
リン酸二水素ナトリウム試液, 0.05 mol/L, pH 2.6	397
リン酸二水素ナトリウム試液, 0.05 mol/L, pH 3.0	397
リン酸二水素ナトリウム試液, 0.05 mol/L, pH 5.5	397
リン酸二水素ナトリウム試液, 0.1 mol/L	397
リン酸二水素ナトリウム試液, 0.1 mol/L, pH 3.0	397
リン酸二水素ナトリウム試液, 2 mol/L	397
リン酸二水素ナトリウム試液, pH 2.2	397
リン酸二水素ナトリウム試液, pH 2.5	397
リン酸二水素ナトリウム二水和物	397
リン酸標準液	219
リン酸リボフラビンナトリウム	397
リタングステン酸	397
リタングステン酸試液	397
リタングステン酸 n 水和物	397
リンモリブデン酸	397
リンモリブデン酸 n 水和物	397

ル

ルチン, 薄層クロマトグラフィー用	397
ルテオリン, 薄層クロマトグラフィー用	397

レ

レイン, 定量用	398
レイン, 薄層クロマトグラフィー用	398
レーザー回折・散乱法による粒子径測定法	121
レザズリン	398
レザズリン液	398

レシチン 398
 レジブフォゲニン, 成分含量測定用 398
 レジブフォゲニン, 定量用 398
 レジブフォゲニン, 薄層クロマトグラフィー用 399
 レセルピン 1841
 レセルピン散0.1% 1843
 レセルピン錠 1842
 レセルピン注射液 1843
 レソルシノール 399
 レソルシノール・硫酸試液 399
 レソルシノール・硫酸銅(Ⅱ)試液 399
 レソルシノール試液 399
 レゾルシン 399
 レゾルシン試液 399
 レゾルシン硫酸試液 399
 レチノール酢酸エステル 1844
 レチノールパルミチン酸エステル 1844
 レナンピシリン塩酸塩 1845
 レノグラスチム(遺伝子組換え) 1847
 レバミピド 1849
 レバミピド, 定量用 399
 レバミピド錠 1851
 レバロルフアン酒石酸塩 1852
 レバロルフアン酒石酸塩, 定量用 399
 レバロルフアン酒石酸塩注射液 1852
 レベチラセタム 1853
 レベチラセタム錠 1854
 レボチロキシナトリウム 399
 レボチロキシナトリウム, 薄層クロマトグラフィー用 399
 レボチロキシナトリウム錠 1857
 レボチロキシナトリウム水和物 399, 1856
 レボチロキシナトリウム水和物,
 薄層クロマトグラフィー用 399
 レボドパ 1858
 レボフロキサシン細粒 1861
 レボフロキサシン錠 1859
 レボフロキサシン水和物 1859
 レボフロキサシン水和物, 定量用 399
 レボフロキサシン注射液 1862
 レボフロキサシン点眼液 1862
 レボホリナートカルシウム水和物 1863
 レボメプロマジンマレイン酸塩 1865
 レンギョウ 399, 2124
 連翹 2124
 レンニク 2124
 蓮肉 2124

ロ

ロイコボリンカルシウム 1676
 L-ロイシン 399, 1865
 L-ロイシン, 定量用 399
 ロカイ 1899
 ロカイ末 1900

ロガニン, 成分含量測定用 399
 ロガニン, 定量用 399
 ロガニン, 薄層クロマトグラフィー用 400
 ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩 400, 1866
 ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩徐放カプセル 1867
 ロキサチジン酢酸エステル塩酸塩徐放錠 1867
 ロキシスロマイシン 1869
 ロキシスロマイシン錠 1870
 ロキソプロフェンナトリウム錠 1872
 ロキソプロフェンナトリウム水和物 1871
 ロサルタンカリウム 400, 1873
 ロサルタンカリウム・ヒドロクロロチアジド錠 1875
 ロサルタンカリウム錠 1874
 ろ紙 406
 ろ紙, 定量分析用 406
 ろ紙, ろ過フィルター, 試験紙, るつぼ等 406
 ローション剤 19
 ロジン 2124
 ロスバスタチンカルシウム 400, 1878
 ロスバスタチンカルシウム鏡像異性体 400
 ロスバスタチンカルシウム錠 1880
 ローズベンガル 400
 ロスマリン酸, 成分含量測定用 400
 ロスマリン酸, 定量用 400
 ロスマリン酸, 薄層クロマトグラフィー用 401
 ロック・リングル試液 401
 ロック用ヘパリンナトリウム液 1623
 ロートエキス 2126
 ロートエキス・アネスタミン散 2127
 ロートエキス・カーボン散 2128
 ロートエキス・タンニン坐剤 2128
 ロートエキス散 2126
 ロートコン 2125
 ロバスタチン 401
 ロフラゼブ酸エチル 1882
 ロフラゼブ酸エチル錠 1883
 ロベンザリットナトリウム 1884
 ローヤルゼリー 2128
 ロラゼパム 1885
 ロルノキシカム 1886
 ロルノキシカム錠 1887

ワ

ワセリン 401
 ワルファリンカリウム 1891
 ワルファリンカリウム, 定量用 401
 ワルファリンカリウム錠 1892

INDEX

A

- Absorptive Cream 793
 Acacia 1898
 Acebutolol Hydrochloride 440
 Acemetacin 440
 Capsules 442
 Tablets 441
 Acetaminophen 437
 Acetazolamide 435
 Acetic Acid 885
 Acetohexamide 438
 Acetylcholine Chloride for Injection 436
 Acetylcysteine 437
 Achyranthes Root 1962
 Aciclovir 418
 for Injection 422
 for Syrup 421
 Granules 420
 Injection 422
 Ointment 423
 Ophthalmic Ointment 423
 Syrup 420
 Tablets 419
 Aclarubicin Hydrochloride 412
 Acrinol and Zinc Oxide Oil 414
 and Zinc Oxide Ointment 414
 Hydrate 413
 Actinomycin D 411
 Adrenaline 451
 Injection 452
 Solution 452
 Adsorbed Diphtheria Toxoid for Adult Use 944
 Diphtheria·Purified Pertussis·Tetanus
 Combined Vaccine 1429
 Diphtheria·Tetanus Combined Toxoid 944
 Hepatitis B Vaccine 1385
 Purified Pertussis Vaccine 1429
 Tetanus Toxoid 1333
 Aerosols for Cutaneous Application 19
 Afloqualone 459
 Agar 1945
 Ajmaline 424
 Tablets 425
 Akebia Stem 2107
 Alacepril 485
 Tablets 486
 L-Alanine 487
 Albumin Tannate 1138
 Aldioxa 495
 Granules 496
 Tablets 496
 Alendronate Sodium Hydrate 506
 Sodium Injection 508
 Sodium Tablets 507
 Alimemazine Tartrate 491
 Alisma Tuber 2031
 Allopurinol 509
 Tablets 510
 Alminoprofen 504
 Tablets 505
 Aloe 1899
 Alpinia Officinarum Rhizome 2122
 Alprazolam 497
 Alprenolol Hydrochloride 498
 Alprostadil 498
 Alfadex 501
 Injection 499
 Alum Solution 1710
 Aluminum Monostearate 1763
 Potassium Sulfate Hydrate 1830
 Silicate Hydrate with Silicon Dioxide 1934
 Amantadine Hydrochloride 465
 Ambenonium Chloride 520
 Amidotrizoic Acid 470
 Amikacin Sulfate 468
 Sulfate for Injection 469
 Sulfate Injection 469
 Aminophylline Hydrate 473
 Injection 473
 Amiodarone Hydrochloride 466
 Hydrochloride Tablets 467
 Amitriptyline Hydrochloride 471
 Hydrochloride Tablets 472
 Amlodipine Besilate 476
 Besilate Orally Disintegrating Tablets 478
 Besilate Tablets 477
 Ammonia Water 521
 Amobarbital 484
 Amomum Seed 2000
 Amosulalol Hydrochloride 482
 Hydrochloride Tablets 483
 Amoxapine 479

Amoxicillin Capsules	481
Hydrate	480
Amphotericin B	474
B for Injection	476
B Syrup	475
B Tablets	475
Ampicillin	514
Hydrate	515
Sodium	516
Sodium and Sulbactam Sodium for Injection	518
Sodium for Injection	517
Ampiroxicam	519
Capsules	520
Amyl Nitrite	425
Anastrozole	454
Tablets	455
Anemarrhena Rhizome	2033
Anesthetic Ether	634
Angelica Dahurica Root	2073
Anhydrous Ethanol	616
Sodium Sulfate	2086
Antipyrine	513
Apricot Kernel	1949
Kernel Water	1950
Aprindine Hydrochloride	457
Hydrochloride Capsules	458
Aralia Rhizome	2052
Arbekacin Sulfate	502
Sulfate Injection	504
Areca	2077
Argatroban Hydrate	492
L-Arginine	494
Hydrochloride	494
Hydrochloride Injection	495
Aripiprazole	488
Tablets	489
Aromatic Castor Oil	2072
Waters	21
Arotinolol Hydrochloride	509
Arsenic Trioxide	902
Arsenical Paste	457
Artemisia Capillaris Flower	1901
Leaf	1924
Ascorbic Acid	426
Acid and Calcium Pantothenate Tablets	428
Acid Injection	427
Acid Powder	426
Asiasarum Root	1978
Asparagus Root	2040
L-Aspartic Acid	431
Aspirin	431
Aluminum	433
Delayed-release Tablets	432
Tablets	432

Aspoxicillin Hydrate	434
Astragalus Root	1910
Atenolol	448
Atorvastatin Calcium Hydrate	449
Calcium Tablets	450
Atractylodes Lancea Rhizome	2022
Rhizome	2073
Atropine Sulfate Hydrate	453
Sulfate Injection	453
Auranofin	705
Tablets	706
Azathioprine	415
Tablets	416
Azelastine Hydrochloride	443
Hydrochloride Granules	443
Azelnidipine	444
Tablets	445
Azithromycin Hydrate	424
Azosemide	446
Tablets	447
Aztreonam	429
for Injection	430

B

Bacampicillin Hydrochloride	1328
Bacitracin	1332
Baclofen	1330
Tablets	1331
Bakumondoto Extract	2062
Bamethan Sulfate	1340
Barbital	1358
Barium Sulfate	1831
Bear Bile	2109
Bearberry Leaf	1905
Beclometasone Dipropionate	1597
Beef Tallow	1948
Bekanamycin Sulfate	1596
Belladonna Extract	2081
Root	2081
Total Alkaloids	2082
Benidipine Hydrochloride	1613
Hydrochloride Tablets	1613
Benincasa Seed	2043
Benserazide Hydrochloride	1649
Bentonite	1651
Benzalkonium Chloride	1642
Chloride Concentrated Solution 50	1642
Chloride Solution	1642
Benzbromarone	1648
Benzethonium Chloride	1648
Chloride Solution	1649
Benzoic Acid	511
Benzoin	1900

Benzyl Alcohol	1643
Benzoate	513
Benzylpenicillin Benzathine Hydrate	1646
Potassium	1645
Potassium for Injection	1646
Bepotastine Besilate	1626
Besilate Tablets	1627
Beraprost Sodium	1633
Sodium Tablets	1634
Berberine Chloride Hydrate	1638
Tannate	1138
Bethahistine Mesilate	1601
Mesilate Tablets	1602
Betamethasone	1604
Dipropionate	1609
Sodium Phosphate	1610
Tablets	1605
Valerate	1606
Valerate and Gentamicin Sulfate Cream	1608
Valerate and Gentamicin Sulfate Ointment	1607
Betamipron	1603
Betaxolol Hydrochloride	1600
Bethanechol Chloride	1601
Bezafibrate	1598
Extended-release Tablets	1599
Bicalutamide	1386
Tablets	1387
Bifonazole	1426
Biotin	1385
Biperiden Hydrochloride	1426
Biphasic Isophane Insulin Human (Genetical Recombination) Injectable Aqueous Suspension	579
Bisacodyl	1389
Suppositories	1390
Bismuth Subgallate	957
Subnitrate	919
Bisoprolol Fumarate	1392
Fumarate Tablets	1393
Bitter Cardamon	2108
Orange Peel	2051
Tincture	1951
Bleomycin Hydrochloride	1540
Sulfate	1542
Blonanserin	1572
Powder	1574
Tablets	1573
Bofutsushosan Extract	2087
Boiogito Extract	2083
Boric Acid	1654
Bromazepam	1588
Bromfenac Sodium Hydrate	1588
Sodium Ophthalmic Solution	1589
Bromhexine Hydrochloride	1590

Bromocriptine Mesilate	1594
Bromovalerylurea	1594
Brotizolam	1567
Tablets	1568
Brown Rice	1960
Buccal Tablets	13
Bucillamine	1485
Tablets	1486
Bucumolol Hydrochloride	1482
Budesonide	1488
Bufetolol Hydrochloride	1502
Buformin Hydrochloride	1504
Hydrochloride Delayed-release Tablets	1505
Hydrochloride Tablets	1504
Bumetanide	1506
Bunazosin Hydrochloride	1500
Bupivacaine Hydrochloride Hydrate	1501
Bupleurum Root	1971
Bupranolol Hydrochloride	1502
Buprenorphine Hydrochloride	1503
Burdock Fruit	1968
Busulfan	1487
Butenafine Hydrochloride	1490
Hydrochloride Cream	1491
Hydrochloride Solution	1490
Hydrochloride Spray	1491
Butropium Bromide	1499
Butyl Parahydroxybenzoate	1343
Byakkokaninjinto Extract	2074

C

Cabergoline	725
Cacao Butter	1925
Cadralazine	718
Tablets	718
Caffeine	721
and Sodium Benzoate	512
Hydrate	722
Calcitonin Salmon	732
Calcium Chloride Hydrate	677
Chloride Injection	677
Folinate Hydrate	1676
Gluconate Hydrate	801
Hydroxide	985
Lactate Hydrate	1312
Levofolinate Hydrate	1863
Oxide	900
Pantothenate	1374
Paraaminosalicylate Granules	1341
Paraaminosalicylate Hydrate	1340
Polystyrene Sulfonate	1672
Sodium Edetate Hydrate	632
Stearate	991

- Calumba 1970
 Camellia Oil 2039
 Camostat Mesilate 726
 Mesilate Tablets 727
d-Camphor 760
dl-Camphor 761
 Candesartan Cilexetil 751
 Cilexetil and Amlodipine Besilate Tablets 753
 Cilexetil and Hydrochlorothiazide Tablets 756
 Cilexetil Tablets 751
 Capsicum 2044
 and Salicylic Acid Spirit 2046
 Tincture 2045
 Capsules 10, 722
 Captopril 723
 Carbamazepine 736
 Carbazochrome Sodium Sulfonate Hydrate 735
 Carbidopa Hydrate 737
 L-Carbocysteine 740
 for Syrup 741
 Tablets 741
 Carbon Dioxide 1299
 Carboplatin 743
 Injection 744
 Cardamon 2005
 Carmellose 745
 Calcium 746
 Sodium 746
 Carmofur 750
 Carnauba Wax 1941
 Carteolol Hydrochloride 735
 Carumonam Sodium 748
 Carvedilol 738
 Tablets 738
 Cassia Seed 1955
 Castor Oil 2072
 Catalpa Fruit 1948
 Cataplasms 20
 Cefaclor 1019
 Capsules 1020
 Combination Granules 1021
 Fine Granules 1023
 Cefalexin 1029
 Capsules 1030
 Combination Granules 1031
 for Syrup 1032
 Cefalotin Sodium 1033
 Sodium for Injection 1034
 Cefatrizine Propylene Glycolate 1027
 Propylene Glycolate for Syrup 1028
 Cefazolin Sodium 1024
 Sodium for Injection 1027
 Sodium Hydrate 1025
 Cefbuperazone Sodium 1074
 Cefcapene Pivoxil Hydrochloride Fine Granules 1055
 Pivoxil Hydrochloride Hydrate 1053
 Pivoxil Hydrochloride Tablets 1054
 Cefdinir 1059
 Capsules 1060
 Fine Granules 1061
 Cefditoren Pivoxil 1056
 Pivoxil Fine Granules 1058
 Pivoxil Tablets 1057
 Cefepime Dihydrochloride for Injection 1040
 Dihydrochloride Hydrate 1038
 Cefixime Capsules 1036
 Fine Granules 1037
 Hydrate 1035
 Cefmenoxime Hydrochloride 1081
 Cefmetazole Sodium 1080
 Sodium for Injection 1081
 Cefminox Sodium Hydrate 1079
 Cefodizime Sodium 1041
 Cefoperazone Sodium 1050
 Sodium and Sulbactam Sodium for Injection 1051
 Sodium for Injection 1051
 Cefotaxime Sodium 1044
 Cefotetan 1048
 Cefotiam Hexetil Hydrochloride 1046
 Hydrochloride 1045
 Hydrochloride for Injection 1046
 Cefozopran Hydrochloride 1042
 Hydrochloride for Injection 1043
 Cefpiramide Sodium 1072
 Cefpirome Sulfate 1073
 Cefpodoxime Proxetil 1076
 Proxetil for Syrup 1078
 Proxetil Tablets 1077
 Cefroxadine for Syrup 1084
 Hydrate 1083
 Cefsulodin Sodium 1061
 Ceftazidime for Injection 1054
 Hydrate 1063
 Cefteram Pivoxil 1067
 Pivoxil Fine Granules 1069
 Pivoxil Tablets 1068
 Ceftibuten Hydrate 1066
 Ceftizoxime Sodium 1065
 Ceftriaxone Sodium Hydrate 1070
 Cefuroxime Axetil 1085
 Celecoxib 1100
 Tablets 1101
 Cellacefate 1087
 Celmoleukin (Genetical Recombination) 1093
 Cetanol 1015
 Cetirizine Hydrochloride 1015
 Hydrochloride Tablets 1016
 Cetotiamine Hydrochloride Hydrate 1017

- Cetraxate Hydrochloride 1018
 Chenodeoxycholic Acid 860
 Cherry Bark 1915
 Chewable Tablets 10
 Chloral Hydrate 1655
 Chloramphenicol 831
 and Colistin Sodium Methanesulfonate Ophthalmic
 Solution 833
 Palmitate 834
 Sodium Succinate 832
 Chlordiazepoxide 835
 Powder 837
 Tablets 835
 Chlorhexidine Gluconate Solution 848
 Hydrochloride 848
 Chlorinated Lime 888
 Chlormadinone Acetate 849
 Chlorobutanol 850
 Chlorphenesin Carbamate 842
 Carbamate Tablets 843
 Chlorpheniramine Maleate 838
 Maleate Injection 841
 Maleate Powder 840
 Maleate Tablets 838
d-Chlorpheniramine Maleate 841
 Chlorpromazine Hydrochloride 846
 Hydrochloride Injection 847
 Hydrochloride Tablets 846
 Chlorpropamide 844
 Tablets 845
 Cholecalciferol 881
 Cholesterol 884
 Chotosan Extract 2036
 Chrysanthemum Flower 1947
 Cibenzoline Succinate 952
 Succinate Tablets 953
 Ciclacillin 909
 Ciclosporin 911
 Cilastatin Sodium 967
 Cilazapril Hydrate 965
 Tablets 965
 Cilnidipine 971
 Tablets 972
 Cilostazol 973
 Tablets 974
 Cimetidine 954
 Cimicifuga Rhizome 2008
 Cinnamon Bark 1954
 Oil 1954
 Cinoxacin 933
 Capsules 933
 Ciprofloxacin 945
 Hydrochloride Hydrate 947
 Cisplatin 923
 Cistanche Herb 2057
 Citicoline 928
 Citric Acid 781
 Acid Hydrate 782
 Citrus Unshiu Peel 2039
 Clarithromycin 785
 for Syrup 787
 Tablets 786
 Clebopride Malate 806
 Clemastine Fumarate 807
 Clematis Root 1901
 Clindamycin Hydrochloride 797
 Hydrochloride Capsules 798
 Phosphate 799
 Phosphate Injection 800
 Clinofibrate 792
 Clobetasol Propionate 822
 Clozapramine Hydrochloride Hydrate 807
 Clofedanol Hydrochloride 821
 Clofibrate 820
 Capsules 820
 Clomifene Citrate 826
 Citrate Tablets 826
 Clomipramine Hydrochloride 827
 Hydrochloride Tablets 828
 Clonazepam 814
 Fine Granules 815
 Tablets 814
 Clonidine Hydrochloride 816
 Cloperastine Fendizoate 824
 Fendizoate Tablets 824
 Hydrochloride 823
 Clopidogrel Sulfate 817
 Sulfate Tablets 818
 Clorazepate Dipotassium 830
 Dipotassium Capsules 831
 Clotiazepam 812
 Tablets 812
 Clotrimazole 813
 Clove 2034
 Oil 2034
 Cloxacillin Sodium Hydrate 808
 Cloxazolam 809
 Cnidium Monnieri Fruit 1996
 Rhizome 2015
 Cocaine Hydrochloride 868
 Coconut Oil 2109
 Cod Liver Oil 761
 Codeine Phosphate Hydrate 870
 Phosphate Powder, 1% 872
 Phosphate Powder, 10% 872
 Phosphate Tablets 870
 Codonopsis Root 2049
 Coix Seed 2110

Colchicine	880
Colestimide	882
Granules	883
Tablets	883
Colistin Sodium Methanesulfonate	877
Sulfate	878
Compound Acrinol and Zinc Oxide Oil	415
Diastase and Sodium Bicarbonate Powder	904
Iodine Glycerin	1783
Methyl Salicylate Spirit	893
Oxycodone and Atropine Injection	691
Oxycodone Injection	690
Phellodendron Powder for Cataplasma	1915
Rhubarb and Senna Powder	2026
Salicylic Acid Spirit	891
Scopolia Extract and Diastase Powder	2128
Thianthol and Salicylic Acid Solution	1147
Concentrated Glycerin	791
Condurango	1971
Fluidextract	1971
Copovidone	875
Coptis Rhizome	1916
Corn Oil	2052
Starch	1205
Cornus Fruit	1987
Cortisone Acetate	879
Corydalis Tuber	1909
Crataegus Fruit	1985
Creams	19
Cresol	805
Solution	805
Croconazole Hydrochloride	810
Croscarmellose Sodium	747
Crospovidone	811
Crude Glycyrrhiza Extract	1944
Curcuma Rhizome	1926
Cyanamide	906
Cyanocobalamin	906
Injection	907
Cyclopentolate Hydrochloride	913
Cyclophosphamide Hydrate	914
Tablets	914
Cycloserine	884
Cyperus Rhizome	1959
Cyproheptadine Hydrochloride Hydrate	948
L-Cysteine	921
Hydrochloride Hydrate	922
L-Cystine	921
Cytarabine	928

D

Daiokanzoto Extract	2026
Daisaikoto Extract	2028

Danazol	1118
Dantrolene Sodium Hydrate	1137
Dapagliflozin Propylene Glycolate Hydrate	1119
Propylene Glycolate Tablets	1120
Daunorubicin Hydrochloride	1109
Deferoxamine Mesilate	1182
Dehydrocholic Acid	1181
Acid Injection	1182
Demethylchlortetracycline Hydrochloride	1185
Dental Antiformin	514
Iodine Glycerin	1782
Paraformaldehyde Paste	1351
Phenol with Camphor	1472
Triozinc Paste	1246
Deslanoside	1174
Injection	1175
Dexamethasone	1166
Dextran 40	1167
40 Injection	1168
70	1168
Sulfate Sodium Sulfur 5	1169
Sulfate Sodium Sulfur 18	1170
Dextrin	1170
Dextromethorphan Hydrobromide Hydrate	1171
Diagnostic Sodium Citrate Solution	783
Dialysis Agents	15
Diastase	904
and Sodium Bicarbonate Powder	904
Diazepam	904
Tablets	905
Dibasic Calcium Phosphate	1839
Calcium Phosphate Hydrate	1840
Sodium Phosphate Hydrate	1840
Dibekacin Sulfate	949
Sulfate Ophthalmic Solution	950
Dibucaine Hydrochloride	943
Diclofenac Sodium	912
Sodium Suppositories	912
Dicloxacillin Sodium Hydrate	910
Diethylcarbamazine Citrate	908
Citrate Tablets	908
Difenidol Hydrochloride	940
Diflorasone Diacetate	948
Diflucortolone Valerate	944
Digenea	2103
Digoxin	915
Injection	918
Tablets	916
Dihydrocodeine Phosphate	937
Phosphate Powder, 1%	938
Phosphate Powder, 10%	939
Dihydroergotamine Mesilate	935
Dihydroergotamine Mesilate	936
Dilazep Hydrochloride Hydrate	968

Diltiazem Hydrochloride	969
Hydrochloride Extended-release Capsules	970
Dilute Hydrochloric Acid	679
Iodine Tincture	1782
Diluted Opium Powder	1896
Dimemorfan Phosphate	954
Dimenhydrinate	956
Tablets	956
Dimercaprol	955
Injection	955
Dimorpholamine	958
Injection	958
Dinoprost	934
Dioscorea Rhizome	1989
Diphenhydramine	941
, Phenol and Zinc Oxide Liniment	943
and Bromovalerylurea Powder	942
Hydrochloride	942
Tannate	1138
Diphtheria Toxoid	944
Dipyridamole	940
Disodium Edetate Hydrate	633
Disopyramide	924
Dispersible Tablets	10
Distigmine Bromide	919
Bromide Tablets	920
Disulfiram	924
Dobutamine Hydrochloride	1231
Docetaxel for Injection	1224
Hydrate	1222
Injection	1223
Dolichos Seed	2083
Domperidone	1278
Donepezil Hydrochloride	1226
Hydrochloride Fine Granules	1228
Hydrochloride Tablets	1227
Dopamine Hydrochloride	1229
Hydrochloride Injection	1229
Doripenem for Injection	1257
Hydrate	1254
Dorzolamide Hydrochloride	1262
Hydrochloride and Timolol Maleate Ophthalmic Solution	1264
Hydrochloride Ophthalmic Solution	1263
Doxapram Hydrochloride Hydrate	1209
Doxazosin Mesilate	1208
Mesilate Tablets	1208
Doxifluridine	1213
Capsules	1213
Doxorubicin Hydrochloride	1214
Hydrochloride for Injection	1215
Doxycycline Hydrochloride Hydrate	1210
Hydrochloride Tablets	1212
Dried Aluminum Hydroxide Gel	984

Aluminum Hydroxide Gel Fine Granules	985
Aluminum Potassium Sulfate	1830
Sodium Carbonate	1133
Sodium Sulfite	492
Thyroid	866
Yeast	867
Droperidol	1277
Droxidopa	1272
Capsules	1273
Fine Granules	1273
Dry Powder Inhalers	16
Dydrogesterone	931
Tablets	932

E

Ear Preparations	17
Ebastine	641
Orally Disintegrating Tablets	643
Tablets	642
Ecabet Sodium Granules	604
Sodium Hydrate	604
Ecothiopate Iodide	605
Edaravone	618
Injection	618
Edrophonium Chloride	637
Chloride Injection	638
Effervescent Granules	11
Tablets	10
Elcatonin	670
Eleutherococcus Senticosus Rhizome	1991
Elixirs	11
Emedastine Fumarate	659
Fumarate Extended-release Capsules	660
Emorfazone	661
Tablets	661
Emulsions	12
Enalapril Maleate	638
Maleate Tablets	639
Enemas for Rectal Application	18
Enflurane	683
Enoxacin Hydrate	641
Entacapone	680
Tablets	681
Enviomycin Sulfate	682
Epalrestat	644
Tablets	645
Eperisone Hydrochloride	653
Ephedra Herb	2099
Ephedrine Hydrochloride	648
Hydrochloride Injection	650
Hydrochloride Powder, 10%	650
Hydrochloride Tablets	649
Epimedium Herb	1902

Epirizole	646
Epirubicin Hydrochloride	647
Eplerenone	651
Tablets	652
Epoetin Alfa (Genetical Recombination)	654
Beta (Genetical Recombination)	657
Ergocalciferol	672
Ergometrine Maleate	674
Maleate Injection	675
Maleate Tablets	675
Ergotamine Tartrate	673
Eribulin Mesilate	666
Erythromycin	662
Delayed-release Tablets	664
Ethylsuccinate	664
Lactobionate	665
Stearate	665
Esomeprazole Magnesium Delayed-release Capsules	612
Magnesium Hydrate	610
Estazolam	606
Estradiol Benzoate	607
Benzoate Injection (Aqueous Suspension)	607
Estriol	608
Injection (Aqueous Suspension)	609
Tablets	609
Etacrynic Acid	614
Acid Tablets	615
Ethambutol Hydrochloride	620
Ethanol	615
for Disinfection	617
Ethenzamide	634
Ether	633
Ethinylestradiol	626
Tablets	626
Ethionamide	621
Ethosuximide	635
Ethyl Aminobenzoate	472
L-Cysteine Hydrochloride	627
Icosapentate	531
Icosapentate Capsules	532
Loflazepate	1882
Loflazepate Tablets	1883
Parahydroxybenzoate	1342
Ethylcellulose	628
Ethylenediamine	631
Ethylmorphine Hydrochloride Hydrate	629
Etidronate Disodium	625
Disodium Tablets	625
Etilefrine Hydrochloride	630
Hydrochloride Tablets	630
Etizolam	622
Fine Granules	623
Tablets	622
Etodolac	635

Etoposide	636
Eucalyptus Oil	2109
Eucommia Bark	2055
Euodia Fruit	1966
Exsiccated Gypsum	2014
Extracts	20

F

Famotidine	1447
for Injection	1450
Injection	1449
Powder	1448
Tablets	1447
Faropenem Sodium for Syrup	1453
Sodium Hydrate	1451
Sodium Tablets	1452
Febuxostat	1474
Tablets	1475
Felbinac	1477
Cataplasm	1478
Tape	1478
Felodipine	1479
Tablets	1480
Fenbufen	1481
Fennel	1902
Oil	1903
Fenofibrate	1468
Tablets	1469
Fentanyl Citrate	1481
Ferrous Sulfate Hydrate	1831
Fexofenadine Hydrochloride	1458
Hydrochloride Tablets	1459
Filgrastim (Genetical Recombination)	1455
(Genetical Recombination) Injection	1457
Films for Oral Administration	12
Flavin Adenine Dinucleotide Sodium	1517
Flavoxate Hydrochloride	1518
Flecainide Acetate	1543
Acetate Tablets	1544
Flomoxef Sodium	1592
Sodium for Injection	1593
Flopropione	1585
Capsules	1586
Fluconazole	1526
Capsules	1527
Injection	1528
Flucytosine	1530
Fludiazepam	1529
Tablets	1529
Fludrocortisone Acetate	1533
Fluidextracts	22
Flunitrazepam	1534
Fluocinolone Acetonide	1523

Fluocinonide	1522
Fluorescein Sodium	1524
Fluorometholone	1526
Fluorouracil	1525
Fluphenazine Enanthate	1535
Flurazepam Hydrochloride	1537
Flurbiprofen	1539
Flutamide	1532
Fluvoxamine Maleate	1535
Maleate Tablets	1536
Foeniculated Ammonia Spirit	1901
Folic Acid	1779
Acid Injection	1780
Acid Tablets	1779
Formalin	1678
Water	1679
Formoterol Fumarate Hydrate	1679
Forsythia Fruit	2124
Fosfomycin Calcium for Syrup	1660
Calcium Hydrate	1659
Sodium	1661
Sodium for Injection	1662
Fradiomycin Sulfate	1507
Freeze-dried BCG Vaccine (for Percutaneous Use)	1390
Botulism Antitoxin, Equine	1662
Diphtheria Antitoxin, Equine	944
Habu Antivenom, Equine	1340
Inactivated Tissue Culture Rabies Vaccine	773
Live Attenuated Measles Vaccine	1685
Live Attenuated Mumps Vaccine	703
Live Attenuated Rubella Vaccine	1458
Mamushi Antivenom, Equine	1688
Smallpox Vaccine Prepared in Cell Culture	1208
Fritillaria Bulb	2060
Fructose	717
Injection	717
Fudosteine	1497
Tablets	1498
Furosemide	1563
Injection	1565
Tablets	1564
Fursultiamine Hydrochloride	1531

G

Gabexate Mesilate	724
β -Galactosidase (Aspergillus)	728
(Penicillium)	729
Gallium (^{67}Ga) Citrate Injection	782
Gambir	1895
Gardenia Fruit	1986
Gastrodia Tuber	2040
Gatifloxacin Hydrate	714
Ophthalmic Solution	715

Gefarnate	860
Gefitinib	862
Tablets	863
Gelatin	1088
Gel Patches	20
Gels	20
Gentamicin Sulfate	864
Sulfate Injection	865
Sulfate Ointment	866
Sulfate Ophthalmic Solution	865
Gentian	1955
and Sodium Bicarbonate Powder	1956
Geranium Herb	1956
Ginger	2001
Ginseng	2058
Glacial Acetic Acid	885
Glehnia Root and Rhizome	2068
Glibenclamide	793
Gliclazide	788
Glimepiride	794
Tablets	795
Glucagon(Genetical Recombination)	800
Glucose	1494
Hydrate	1496
Injection	1497
L-Glutamic Acid	803
L-Glutamine	803
Glutathione	802
Glycerin	789
and Potash Solution	792
Glyceryl Monostearate	1763
Glycine	789
Glycyrrhiza	1942
Extract	1944
Gonadorelin Acetate	873
Goreisan Extract	1969
Goserelin Acetate	868
Goshajinkigan Extract	1963
Goshuyuto Extract	1966
Granules	11
Guaifenesin	774
Guanabenz Acetate	775
Guanethidine Sulfate	776
Gypsum	2014

H

Hachimijiogan Extract	2063
Haloperidol	1367
Fine Granules	1369
Injection	1370
Tablets	1368
Halothane	1366
Haloxazolam	1363

Hangekobokuto Extract 2068
 Hangeshashinto Extract 2070
 Hedysarum Root 2011
 Hemodialysis Agents 15
 Hemp Fruit 2103
 Heparin Calcium 1615
 Sodium 1618
 Sodium Injection 1622
 Sodium Lock Solution 1623
 Sodium Solution for Dialysis 1623
 L-Histidine 1391
 Hydrochloride Hydrate 1391
 Hochuekkito Extract 2094
 Homatropine Hydrobromide 1665
 Homochlorcyclizine Hydrochloride 1666
 Honey 2066
 Houttuynia Herb 2000
 Human Chorionic Gonadotrophin 1013
 Chorionic Gonadotrophin for Injection 1014
 Menopausal Gonadotrophin 1011
 Normal Immunoglobulin 1399
 Hydralazine Hydrochloride 1399
 Hydrochloride for Injection 1401
 Hydrochloride Powder 1400
 Hydrochloride Tablets 1400
 Hydrochloric Acid 679
 Acid Lemonade 679
 Hydrochlorothiazide 1407
 Hydrocortisone 1409
 Acetate 1412
 and Diphenhydramine Ointment 1412
 Butyrate 1413
 Sodium Phosphate 1414
 Sodium Succinate 1411
 Succinate 1410
 Hydrocotarnine Hydrochloride Hydrate 1408
 Hydrogenated Oil 866
 Hydrophilic Cream 794
 Petrolatum 1891
 Hydrous Lanolin 2116
 Hydroxocobalamin Acetate 1406
 Hydroxyethylcellulose 1401
 Hydroxypropylcellulose 1404
 Hydroxyzine Hydrochloride 1403
 Pamoate 1403
 Hymecromone 1428
 Hypromellose 1416
 Acetate Succinate 1418
 Capsules 723
 Phthalate 1419

I

Ibudilast 554

Ibuprofen 555
 Piconol 555
 Piconol Cream 557
 Piconol Ointment 556
 Ichthammol 530
 Idarubicin Hydrochloride 545
 Hydrochloride for Injection 546
 Idoxuridine 550
 Ophthalmic Solution 550
 Ifenprodil Tartrate 552
 Tartrate Fine Granules 553
 Tartrate Tablets 553
 Imidapril Hydrochloride 559
 Hydrochloride Tablets 560
 Imipenem and Cilastatin Sodium for Injection 564
 Hydrate 563
 Imipramine Hydrochloride 562
 Hydrochloride Tablets 562
 Immature Orange 1948
 Imperata Rhizome 2086
 Implants 15
 Indapamide 585
 Tablets 586
 Indenolol Hydrochloride 591
 Indigocarmine 575
 Injection 575
 Indium (¹¹¹In) Chloride Injection 676
 Indocyanine Green 592
 Indometacin 593
 Capsules 593
 Suppositories 594
 Influenza HA Vaccine 595
 Infusions and Decoctions 21
 Inhalation Liquids and Solutions 16
 Inhalations 16
 Injections 13
 Insulin Aspart(Genetical Recombination) 581
 Glargine (Genetical Recombination) 583
 Glargine (Genetical Recombination) Injection 584
 Human (Genetical Recombination) 576
 Human (Genetical Recombination) Injection 577
 Interferon Alfa (NAMALWA) 587
 Alfa (NAMALWA) Injection 590
 Iodinated (¹³¹I) Human Serum Albumin Injection 1778
 Iodine 1781
 , Salicylic Acid and Phenol Spirit 1784
 Tincture 1781
 Iodoform 1785
 Iohexol 528
 Injection 530
 Iopamidol 526
 Injection 527
 Iotalamic Acid 523
 Iotroxic Acid 525

Ipecac	2053
Syrup	2054
Ipratropium Bromide Hydrate	557
Ipriflavone	558
Tablets	559
Irbesartan	571
and Amlodipine Besilate Tablets	572
Tablets	571
Irinotecan Hydrochloride Hydrate	565
Hydrochloride Injection	566
Irsogladine Maleate	568
Maleate Fine Granules	570
Maleate Tablets	569
Isepamicin Sulfate	533
Sulfate Injection	534
Isoflurane	539
L-Isoleucine	543
, L-Leucine and L-Valine Granules	544
Isomalt Hydrate	542
Isoniazid	537
Injection	538
Tablets	537
Isophane Insulin Human (Genetical Recombination)	
Injectable Aqueous Suspension	578
/-Isoprenaline Hydrochloride	540
Isopropanol	541
Isopropylantipyrine	541
Isosorbide	536
Dinitrate	961
Dinitrate Tablets	961
Mononitrate 70%/Lactose 30%	547
Mononitrate Tablets	549
Isotonic Sodium Chloride Solution	1014
Isoxsuprine Hydrochloride	535
Hydrochloride Tablets	535
Itraconazole	551

J

Japanese Angelica Root	2046
Gentian	2121
Valerian	1934
Zanthoxylum Peel	1988
Jellies for Oral Administration	12
Josamycin	962
Propionate	964
Tablets	963
Jujube	2031
Seed	1989
Juzentaihoto Extract	1997

K

Kainic Acid and Santonin Powder	713
---------------------------------------	-----

Acid Hydrate	712
Kakkonto Extract	1927
Kakkontokasenkyushin'i Extract	1930
Kallidinogenase	730
Kamikihito Extract	1935
Kamishoyosan Extract	1938
Kanamycin Monosulfate	719
Sulfate	720
Kaolin	713
Keishibukuryogan Extract	1952
Ketamine Hydrochloride	855
Ketoconazole	856
Cream	858
Lotion	857
Solution	856
Ketoprofen	859
Ketotifen Fumarate	858
Kitasamycin	764
Acetate	765
Tartrate	766
Koi	1957

L

Labetalol Hydrochloride	1795
Hydrochloride Tablets	1796
Lactic Acid	1311
L-Lactic Acid	1311
Lactose	1315
Hydrate	1316
Lactulose	1787
Lafutidine	1793
Tablets	1793
Lanoconazole	1790
Cream	1792
Cutaneous Solution	1791
Ointment	1792
Lansoprazole	1798
Delayed-release Capsules	1800
Delayed-release Orally Disintegrating Tablets	1799
Lard	2055
Latamoxef Sodium	1788
Lauromacrogol	1787
Lemonades	12
Lenampicillin Hydrochloride	1845
Lenograstim (Genetical Recombination)	1847
Leonurus Herb	2108
L-Leucine	1865
Leuprorelin Acetate	1833
Levallorphan Tartrate	1852
Tartrate Injection	1852
Levetiracetam	1853
Tablets	1854
Levodopa	1858

Levofloxacin Fine Granules	1861
Hydrate	1859
Injection	1862
Ophthalmic Solution	1862
Tablets	1859
Levomepromazine Maleate	1865
Levothyroxine Sodium Hydrate	1856
Sodium Tablets	1857
Lidocaine	1814
Injection	1814
Light Anhydrous Silicic Acid	850
Liquid Paraffin	1350
Lilium Bulb	2073
Limaprost Alfadex	1827
Alfadex Tablets	1828
Lincomycin Hydrochloride Hydrate	1838
Hydrochloride Injection	1838
Lindera Root	1905
Liniments	19
Liothyronine Sodium	1801
Sodium Tablets	1802
Liposome Injections	15
Liquefied Phenol	1470
Liquid Paraffin	1349
Liquids and Solutions for Cutaneous Application	19
and Solutions for Oral Administration	11
and Solutions for Oro-mucosal Application	13
Lisinopril Hydrate	1803
Tablets	1803
Lithium Carbonate	1134
Carbonate Tablets	1135
Lithospermum Root	1991
Lobenzarit Sodium	1884
Longan Aril	2120
Longgu	2120
Lonicera Leaf and Stem	2060
Loquat Leaf	2076
Lorazepam	1885
Lornoxicam	1886
Tablets	1887
Losartan Potassium	1873
Potassium and Hydrochlorothiazide Tablets	1875
Potassium Tablets	1874
Lotions	19
Low Substituted Hydroxypropylcellulose	1405
Loxoprofen Sodium Hydrate	1871
Sodium Tablets	1872
Lozenges	13
Lycium Bark	1991
Fruit	1950
L-Lysine Acetate	1805
Hydrochloride	1805
Lysozyme Hydrochloride	1813

M

Macroglol 400	1682
1500	1683
4000	1684
6000	1684
20000	1685
Ointment	1685
Magnesium Aluminometasilicate	853
Aluminosilicate	852
Carbonate	1134
Oxide	901
Silicate	854
Stearate	992
Sulfate Hydrate	1832
Sulfate Injection	1832
Sulfate Mixture	1832
Magnolia Bark	1960
Flower	2009
Mallotus Bark	1895
Malt	2061
Maltose Hydrate	1688
Manidipine Hydrochloride	1686
Hydrochloride Tablets	1687
D-Mannitol	1689
Injection	1691
Maoto Extract	2100
Maprotiline Hydrochloride	1688
Mashiningan Extract	2103
Meclofenoxate Hydrochloride	1715
Mecobalamin	1716
Tablets	1717
Medazepam	1722
Medicated Chewing Gums	13
Medicinal Carbon	1776
Soap	1775
Medroxyprogesterone Acetate	1746
Mefenamic Acid	1752
Mefloquine Hydrochloride	1754
Mefruside	1753
Tablets	1753
Meglumine	1715
Iotalamate Injection	524
Sodium Amidotrizoate Injection	470
Melphalan	1756
Menatetrenone	1749
Mentha Herb	2066
Oil	2067
Water	2067
<i>dl</i> -Menthol	1759
<i>l</i> -Menthol	1759
Mepenzolate Bromide	1755
Mepitiostane	1750
Mepivacaine Hydrochloride	1751

Hydrochloride Injection 1751
 Mequitazine 1714
 Tablets 1714
 Mercaptopurine Hydrate 1755
 Meropenem for Injection 1758
 Hydrate 1757
 Mesalazine 1718
 Extended-release Tablets 1720
 Mestranol 1721
 Metenolone Acetate 1738
 Enanthate 1736
 Enanthate Injection 1737
 Metered-Dose Inhalers 16
 Metformin Hydrochloride 1745
 Hydrochloride Tablets 1746
 Methamphetamine Hydrochloride 1723
 L-Methionine 1723
 Methotrexate 1740
 Capsules 1742
 for Injection 1743
 Tablets 1741
 Methoxsalen 1738
 Methyl Parahydroxybenzoate 1345
 Salicylate 893
 Methylbenactyzium Bromide 1736
 Methylcellulose 1730
 Methyldopa Hydrate 1733
 Tablets 1733
d,l-Methylephedrine Hydrochloride 1725
 Hydrochloride Powder, 10% 1726
 Methylergometrine Maleate 1727
 Maleate Tablets 1727
 Methylprednisolone 1734
 Succinate 1735
 Methyltestosterone 1731
 Tablets 1732
 Meticrane 1724
 Metildigoxin 1729
 Metoclopramide 1739
 Tablets 1739
 Metoprolol Tartrate 1743
 Tartrate Tablets 1744
 Metronidazole 1747
 Tablets 1748
 Metyrapone 1725
 Mexiletine Hydrochloride 1713
 Miconazole 1695
 Nitrate 1696
 Microcrystalline Cellulose 1096
 Micronomicin Sulfate 1694
 Midecamycin 1701
 Acetate 1702
 Midodrine Hydrochloride 1702
 Hydrochloride Orally Disintegrating Tablets 1705

Hydrochloride Tablets 1703
 Miglitol 1691
 Tablets 1692
 Migrenin 1693
 Minocycline Hydrochloride 1707
 Hydrochloride for Injection 1710
 Hydrochloride Granules 1709
 Hydrochloride Tablets 1708
 Mitiglinide Calcium Hydrate 1698
 Calcium Tablets 1699
 Mitomycin C 1681
 C for Injection 1682
 Mizoribine 1696
 Tablets 1697
 Monobasic Calcium Phosphate Hydrate 1841
 Montelukast Sodium 1768
 Sodium Chewable Tablets 1772
 Sodium Granules 1774
 Sodium Tablets 1770
 Morphine and Atropine Injection 1766
 Hydrochloride Hydrate 1764
 Hydrochloride Injection 1765
 Hydrochloride Tablets 1764
 Sulfate Hydrate 1767
 Mosapride Citrate Hydrate 1760
 Citrate Powder 1762
 Citrate Tablets 1760
 Moutan Bark 2092
 Mucoadhesive Tablets 13
 Mukoi-Daikenchuto Extract 2027
 Mulberry Bark 2022
 Mupirocin Calcium Hydrate 1711
 Calcium Ointment 1712

N

Nabumetone 1288
 Tablets 1289
 Nadolol 1282
 Nafamostat Mesilate 1284
 Naftopidil 1285
 Orally Disintegrating Tablets 1287
 Tablets 1286
 Nalidixic Acid 1290
 Naloxone Hydrochloride 1291
 Naphazoline and Chlorpheniramine Solution 1283
 Hydrochloride 1283
 Nitrate 1283
 Naproxen 1290
 Nasal Dry Powder Inhalers 17
 Liquids and Solutions 17
 Preparations 17
 Nateglinide 1280
 Tablets 1280

Natural Aluminum Silicate	851
Nelumbo Seed	2124
Neostigmine Methylsulfate	1319
Methylsulfate Injection	1320
Nicardipine Hydrochloride	1292
Hydrochloride Injection	1293
Nicergoline	1301
Powder	1303
Tablets	1302
Niceritrol	1300
Nicomol	1296
Tablets	1296
Nicorandil	1297
Nicotinamide	1295
Nicotinic Acid	1294
Acid Injection	1294
Nifedipine	1307
Delayed-release Fine Granules	1310
Extended-release Capsules	1308
Fine Granules	1309
Nilvadipine	1317
Tablets	1318
Nitrazepam	1304
Nitrendipine	1304
Tablets	1305
Nitrogen	1153
Nitroglycerin Tablets	1306
Nitrous Oxide	417
Nizatidine	1298
Capsules	1299
Noradrenaline	1322
Injection	1322
Norethisterone	1323
Norfloxacin	1327
Norgestrel	1324
and Ethinylestradiol Tablets	1324
Nortriptyline Hydrochloride	1326
Hydrochloride Tablets	1326
Noscapine	1321
Hydrochloride Hydrate	1321
Notopterygium	1948
Nuphar Rhizome	2017
Nutmeg	2057
Nux Vomica	2097
Vomica Extract	2097
Vomica Extract Powder	2098
Vomica Tincture	2098
Nystatin	1279

O

Ofloxacin	703
Ointments	19
Olive Oil	1923

Olmesartan Medoxomil	708
Medoxomil Tablets	709
Olopatadine Hydrochloride	710
Hydrochloride Tablets	711
Omeprazole	704
Delayed-release Tablets	704
Ophiopogon Root	2061
Ophthalmic Liquids and Solutions	16
Ointments	17
Opium Alkaloids and Atropine Injection	461
Alkaloids and Scopolamine Injection	462
Alkaloids Hydrochlorides	460
Alkaloids Hydrochlorides Injection	461
Ipecac Powder	1897
Tincture	1896
Orally Disintegrating Films	12
Disintegrating Tablets	10
Orange Oil	1923
Peel Syrup	2051
Peel Tincture	2052
Orciprenaline Sulfate	707
Orengedokuto Extract	1918
Oriental Bezoar	1961
Orodispersible Tablets	10
Otsujito Extract	1920
Oxaliplatin	686
Injection	688
Oxapium Iodide	685
Oxaprozin	685
Oxazolam	684
Oxethazaine	699
Oxprenolol Hydrochloride	700
Oxybuprocaine Hydrochloride	698
Oxybutynin Hydrochloride	697
Oxycodone Hydrochloride Hydrate	690
Oxydol	697
Oxygen	902
Oxymetholone	699
Oxytetracycline Hydrochloride	692
Oxytocin	694
Injection	696
Oyster Shell	2099
Ozagrel Sodium	701
Sodium for Injection	702
Sodium Injection	702

P

Panax Japonicus Rhizome	2032
Pancreatin	1370
Pancuronium Bromide	1371
Panipenem	1336
and Betamipron for Injection	1337
Pantethine	1373

- Papaverine Hydrochloride 1339
 Hydrochloride Injection 1339
 Paraffin 1349
 Paraformaldehyde 1350
 Parenteral Infusions 15
 Parnaparin Sodium 1356
 Paroxetine Hydrochloride Hydrate 1364
 Hydrochloride Tablets 1365
 Patches 20
 Pazufloxacin Mesilate 1333
 Mesilate Injection 1334
 Peach Kernel 2050
 Peanut Oil 2116
 Pellets 15
 Pemirolast Potassium 1628
 Potassium for Syrup 1630
 Potassium Ophthalmic Solution 1630
 Potassium Tablets 1629
 Penbutolol Sulfate 1654
 Pentazocine 1650
 Pentobarbital Calcium 1652
 Calcium Tablets 1653
 Pentoxyverine Citrate 1651
 Peony Root 1993
 Peplomycin Sulfate 1624
 Sulfate for Injection 1625
 Perilla Herb 2023
 Peritoneal Dialysis Agents 15
 Perospirone Hydrochloride Hydrate 1639
 Hydrochloride Tablets 1640
 Perphenazine 1635
 Maleate 1637
 Maleate Tablets 1637
 Tablets 1636
 Pethidine Hydrochloride 1611
 Hydrochloride Injection 1612
 Petroleum Benzin 1014
 Peucedanum Root 2016
 Pharbitis Seed 1955
 Phellodendron Bark 1913
 , Albumin Tannate and Bismuth Subnitrate
 Powder 1915
 Phenethicillin Potassium 1464
 Phenobarbital 1465
 Powder, 10% 1467
 Tablets 1466
 Phenol 1470
 and Zinc Oxide Liniment 1472
 for Disinfection 1471
 Phenolated Water 1471
 Water for Disinfection 1472
 Phenolsulfonphthalein 1472
 Injection 1473
 L-Phenylalanine 1463
 Phenylbutazone 1463
 Phenylephrine Hydrochloride 1464
 Phenytoin 1460
 Powder 1462
 Sodium for Injection 1462
 Tablets 1461
 Phytonadione 1454
 Picrasma Wood 2056
 Pills 21
 Pilocarpine Hydrochloride 1439
 Hydrochloride Tablets 1439
 Pilsicainide Hydrochloride Capsules 1436
 Hydrochloride Hydrate 1435
 Pimaricin 1427
 Pimozide 1429
 Pindolol 1444
 Pinellia Tuber 2068
 Pioglitazone Hydrochloride 1378
 Hydrochloride and Glimepiride Tablets 1380
 Hydrochloride and Metformin Hydrochloride
 Tablets 1383
 Hydrochloride Tablets 1379
 Pipemidic Acid Hydrate 1420
 Piperacillin Hydrate 1421
 Sodium 1423
 Sodium for Injection 1424
 Piperazine Adipate 1424
 Phosphate Hydrate 1425
 Phosphate Tablets 1425
 Pirarubicin 1430
 Pirenoxine 1437
 Pirenzepine Hydrochloride Hydrate 1437
 Piroxicam 1441
 Pitavastatin Calcium Hydrate 1394
 Calcium Orally Disintegrating Tablets 1397
 Calcium Tablets 1395
 Pivmecillinam Hydrochloride 1415
 Hydrochloride Tablets 1416
 Plantago Herb 1996
 Seed 1996
 Platycodon Fluidextract 1947
 Root 1946
 Pogostemon Herb 1926
 Polaprezinc 1667
 Granules 1668
 Polygala Root 1923
 Polygonatum Rhizome 1912
 Polygonum Root 1925
 Polymixin B Sulfate 1677
 Polyoxyl 40 Stearate 992
 Polyporus Sclerotium 2038
 Polysorbate 80 1674
 Poria Sclerotium 2077
 Potash Soap 732

- Potassium Bromide 959
- Canrenoate 762
- Carbonate 1130
- Chloride 676
- Clavulanate 784
- Guaiacolsulfonate 776
- Hydroxide 985
- Iodide 1777
- Permanganate 726
- Sulfate 1831
- Potato Starch 1206
- Povidone 1662
- Povidone-Iodine 1665
- Powdered Acacia 1898
- Agar 1945
- Alisma Tuber 2031
- Aloe 1900
- Amomum Seed 2001
- Atractylodes Lancea Rhizome 2022
- Atractylodes Rhizome 2074
- Calumba 1971
- Capsicum 2044
- Cellulose 1099
- Cinnamon Bark 1954
- Clove 2034
- Cnidium Rhizome 2016
- Coix Seed 2110
- Coptis Rhizome 1917
- Corydalis Tuber 1910
- Cyperus Rhizome 1959
- Dioscorea Rhizome 1989
- Fennel 1902
- Gambir 1895
- Gardenia Fruit 1986
- Gentian 1956
- Geranium Herb 1957
- Ginger 2002
- Ginseng 2059
- Glycyrrhiza 1943
- Ipecac 2053
- Japanese Angelica Root 2047
- Japanese Gentian 2121
- Japanese Valerian 1934
- Japanese Zanthoxylum Peel 1988
- Longgu 2120
- Magnolia Bark 1961
- Moutan Bark 2093
- Opium 1895
- Oyster Shell 2099
- Panax Japonicus Rhizome 2033
- Peach Kernel 2050
- Peony Root 1994
- Phellodendron Bark 1914
- Picrasma Wood 2056
- Platycodon Root 1946
- Polygala Root 1924
- Polyporus Sclerotium 2038
- Poria Sclerotium 2077
- Processed Aconite Root 2079
- Rhubarb 2025
- Rose Fruit 1909
- Scutellaria Root 1912
- Senega 2015
- Senna Leaf 2019
- Smilax Rhizome 1985
- Sophora Root 1951
- Sweet Hydrangea Leaf 1897
- Swertia Herb 2021
- Tragacanth 2055
- Turmeric 1904
- Powders 11
- for Cutaneous Application 19
- Pranlukast Capsules 1520
- for Syrup 1520
- Hydrate 1519
- Pranoprofen 1511
- Prasterone Sodium Sulfate Hydrate 1508
- Pravastatin Sodium 1512
- Sodium Fine Granules 1514
- Sodium Solution 1516
- Sodium Tablets 1513
- Prazepam 1509
- Tablets 1509
- Prazosin Hydrochloride 1510
- Precipitated Calcium Carbonate 1131
- Calcium Carbonate Fine Granules 1132
- Calcium Carbonate Tablets 1131
- Prednisolone 1550
- Acetate 1553
- Sodium Phosphate 1554
- Sodium Succinate for Injection 1552
- Succinate 1551
- Tablets 1550
- Pregabalin 1545
- Capsules 1548
- Orally Disintegrating Tablets 1547
- Preparations for Cutaneous Application 18
- for Dialysis 15
- for Gargles 13
- for Inhalation 16
- for Injection 13
- for Nasal Application 17
- for Ophthalmic Application 16
- for Oral Administration 10
- for Oro-mucosal Application 12
- for Otic Application 17
- for Rectal Application 18
- for Syrups 12

for Vaginal Application	18
Related to Crude Drugs	20
Prepared Glycyrrhiza	1992
Primidone	1521
Probenecid	1587
Tablets	1587
Probucol	1581
Fine Granules	1583
Tablets	1582
Procainamide Hydrochloride	1556
Hydrochloride Injection	1558
Hydrochloride Tablets	1557
Procaine Hydrochloride	1555
Hydrochloride Injection	1555
Procarbazine Hydrochloride	1559
Procaterol Hydrochloride Hydrate	1558
Processed Aconite Root	2078
Ginger	1941
Prochlorperazine Maleate	1560
Maleate Tablets	1561
Progesterone	1562
Injection	1562
Proglumide	1560
L-Proline	1595
Prolonged Release Injections	15
Promethazine Hydrochloride	1591
Propafenone Hydrochloride	1574
Hydrochloride Tablets	1575
Propantheline Bromide	1576
Propiverine Hydrochloride	1577
Hydrochloride Tablets	1578
Propranolol Hydrochloride	1583
Hydrochloride Tablets	1584
Propyl Parahydroxybenzoate	1344
Propylene Glycol	1580
Propylthiouracil	1579
Tablets	1579
Protamine Sulfate	1566
Sulfate Injection	1566
Prothionamide	1567
Protirelin	1569
Tartrate Hydrate	1570
Prunella Spike	1925
Pueraria Root	1927
Pullulan	1538
Capsules	723
Pump Sprays for Cutaneous Application	19
Purified Dehydrocholic Acid	1181
Gelatin	1090
Glucose	1495
Lanolin	2117
Shellac	1092
Sodium Hyaluronate	1375
Sodium Hyaluronate Injection	1376

Sodium Hyaluronate Ophthalmic Solution	1377
Water	983
Water in Containers	983
Pyrantel Pamoate	1431
Pyrazinamide	1430
Pyridostigmine Bromide	1434
Pyridoxal Phosphate Hydrate	1432
Pyridoxine Hydrochloride	1433
Hydrochloride Injection	1434
Pyroxylin	1442
Pyrrolnitrin	1442

Q

Quercus Bark	2092
Quetiapine Fumarate	777
Fumarate Fine Granules	780
Fumarate Tablets	779
Quinapril Hydrochloride	768
Hydrochloride Tablets	769
Quinidine Sulfate Hydrate	770
Quinine Ethyl Carbonate	771
Hydrochloride Hydrate	772
Sulfate Hydrate	773

R

Rabeprazole Sodium	1796
Ranitidine Hydrochloride	1789
Rape Seed Oil	2056
Rebamipide	1849
Tablets	1851
Red Ginseng	1958
Rehmannia Root	1990
Reserpine	1841
Injection	1843
Powder, 0.1%	1843
Tablets	1842
Retinol Acetate	1844
Palmitate	1844
Rhubarb	2024
Ribavirin	1818
Capsules	1819
Riboflavin	1823
Butyrate	1824
Powder	1824
Sodium Phosphate	1825
Sodium Phosphate Injection	1826
Ribostamycin Sulfate	1822
Rice Starch	1204
Rifampicin	1820
Capsules	1821
Rikkunshito Extract	2117
Rilmazafone Hydrochloride Hydrate	1835

Hydrochloride Tablets	1836
Ringer's Solution	1837
Risperidone	1806
Fine Granules	1808
Oral Solution	1810
Tablets	1807
Ritodrine Hydrochloride	1815
Hydrochloride Injection	1817
Hydrochloride Tablets	1816
Rose Fruit	1908
Rosin	2124
Rosuvastatin Calcium	1878
Calcium Tablets	1880
Roxatidine Acetate Hydrochloride	1866
Acetate Hydrochloride Extended-release Capsules	1867
Acetate Hydrochloride Extended-release Tablets	1867
Acetate Hydrochloride for Injection	1869
Roxithromycin	1869
Tablets	1870
Royal Jelly	2128
Ryokeijutsukanto Extract	2122

S

Saccharated Pepsin	760
Saccharin	886
Sodium Hydrate	887
Safflower	1957
Saffron	1984
Saibokuto Extract	1979
Saikokeishikankyoto Extract	1975
Saikokeishito Extract	1972
Saireito Extract	1981
Salazosulfapyridine	889
Salbutamol Sulfate	895
Salicylated Alum Powder	892
Salicylic Acid	890
Acid Adhesive Plaster	892
Acid Spirit	890
Salvia Miltiorrhiza Root	2032
Santonin	903
Saponated Cresol Solution	805
Saposhnikovia Root and Rhizome	2087
Sappan Wood	2023
Sarpogrelate Hydrochloride	896
Hydrochloride Fine Granules	898
Hydrochloride Tablets	897
Saussurea Root	2108
Schisandra Fruit	1969
Schizonepeta Spike	1952
Scopolamine Butylbromide	1487
Hydrobromide Hydrate	989
Scopolia Extract	2126
Extract and Carbon Powder	2128

Extract and Ethyl Aminobenzoate Powder	2127
Extract and Tannic Acid Suppositories	2128
Extract Powder	2126
Rhizome	2125
Scutellaria Root	1911
Semi-solid Preparations for Oro-mucosal Application	13
Preparations for Rectal Application	18
Senega	2014
Syrup	2015
Senna Leaf	2018
L-Serine	1093
Sesame	1968
Oil	1968
Sevoflurane	1086
Shakuyakukanzoto Extract	1995
Shimbuto Extract	2011
Shin'iseihaito Extract	2009
Shosaikoto Extract	2003
Shoseiryuto Extract	2005
Silodosin	975
Orally Disintegrating Tablets	979
Tablets	977
Silver Nitrate	960
Nitrate Ophthalmic Solution	960
Protein	1571
Protein Solution	1571
Simple Ointment	2032
Syrup	1136
Simvastatin	980
Tablets	981
Sinomenium Stem and Rhizome	2083
Sitagliptin Phosphate Hydrate	925
Phosphate Tablets	926
Sivelestat Sodium for Injection	951
Sodium Hydrate	950
Smilax Rhizome	1984
Sodium Acetate Hydrate	885
Aurothiomalate	774
Benzoate	511
Bicarbonate	1132
Bicarbonate and Bitter Tincture Mixture	2000
Bicarbonate Injection	1133
Bisulfite	492
Borate	1655
Bromide	959
Carbonate Hydrate	1133
Chloride	677
Chloride Injection, 10%	678
Chromate (⁵¹ Cr) Injection	829
Citrate Hydrate	782
Citrate Injection for Transfusion	783
Cromoglicate	829
Fusidate	1483
Hydroxide	986

Iodide	1778
Iodide (¹²³ I) Capsules	1778
Iodide (¹³¹ I) Capsules	1778
Iodide (¹³¹ I) Solution	1778
Iodhippurate (¹³¹ I) Injection	1778
Iotalamate Injection	523
L-Lactate Ringer's Solution	1313
L-Lactate Solution	1312
Lauryl Sulfate	1786
Pertechnetate (^{99m} Tc) Injection	717
Picosulfate Hydrate	1388
Polystyrene Sulfonate	1673
Pyrosulfite	1438
Risedronate Hydrate	1811
Risedronate Tablets	1812
Salicylate	892
Starch Glycolate	1207
Sulfate Hydrate	2086
Thiosulfate Hydrate	1150
Thiosulfate Injection	1150
Valproate	1359
Valproate Extended-release Tablets A	1360
Valproate Extended-release Tablets B	1361
Valproate Syrup	1362
Valproate Tablets	1359
Solid Dosage Forms for Cutaneous Application	19
Soluble Tablets	10
Sophora Root	1951
Sorbitan Sesquileate	1105
D-Sorbitol	1107
Solution	1108
Soybean Oil	2031
Spectinomycin Hydrochloride for Injection	998
Hydrochloride Hydrate	997
Spiramycin Acetate	995
Spirits	21
Spirolactone	996
Tablets	996
Sprays for Cutaneous Application	19
for Oro-mucosal Application	13
Stearic Acid	990
Stearyl Alcohol	990
Sterile Purified Water in Containers	983
Water for Injection in Containers	984
Streptomycin Sulfate	993
Sulfate for Injection	994
Sublingual Tablets	13
Sucalfate Hydrate	988
Sucrose	1329
Sulbactam Sodium	1003
Sulbenicillin Sodium	1009
Sulfadiazine Silver	1006
Sulfamethizole	1007
Sulfamethoxazole	1008

Sulfamonomethoxine Hydrate	1008
Sulfisoxazole	1009
Sulfobromophthalein Sodium	1010
Sodium Injection	1011
Sulfur	521
and Camphor Lotion	522
, Salicylic Acid and Thianthol Ointment	522
Sulindac	998
Sulpiride	1004
Capsules	1005
Tablets	1004
Sulpyrine Hydrate	1005
Injection	1006
Sultamicillin Tosilate Hydrate	999
Tosilate Tablets	1001
Sultiam	1002
Suppositories for Rectal Application	18
for Vaginal Use	18
Suspensions	11
Suxamethonium Chloride for Injection	987
Chloride Hydrate	986
Chloride Injection	987
Sweet Hydrangea Leaf	1897
Swertia and Sodium Bicarbonate Powder	2021
Herb	1920
Synthetic Aluminum Silicate	851
Syrups	12

T

Tablets	10
for Oro-mucosal Application	12
for Vaginal Use	18
Tacalcitol Hydrate	1111
Lotion	1112
Ointment	1112
Tacrolimus Capsules	1114
Hydrate	1114
Talampicillin Hydrochloride	1125
Talc	1126
Taltirelin Hydrate	1127
Orally Disintegrating Tablets	1129
Tablets	1128
Tamoxifen Citrate	1124
Tamsulosin Hydrochloride	1122
Hydrochloride Extended-release Tablets	1123
Tannic Acid	1137
Tapes	20
Tartaric Acid	960
Taurine	1110
Tazobactam	1115
and Piperacillin for Injection	1116
Teabags	21
Teceleukin (Genetical Recombination)	1175

for Injection (Genetical Recombination)	1179	Hibenzate Tablets	1155
Tegafur	1165	Titanium Oxide	900
Teicoplanin	1162	Tizanidine Hydrochloride	1152
Telmisartan	1196	Toad Cake	2017
and Amlodipine Besilate Tablets	1198	Tobramycin	1232
and Hydrochlorothiazide Tablets	1200	Injection	1232
Tablets	1197	Tocopherol	1216
Temocapril Hydrochloride	1187	Acetate	1218
Hydrochloride Tablets	1187	Calcium Succinate	1217
Temozolomide	1189	Nicotinate	1219
Capsules	1190	Todralazine Hydrochloride Hydrate	1225
for Injection	1191	Tofisopam	1230
Teprenone	1183	Tokakujokito Extract	2041
Capsules	1184	Tokishakuyakusan Extract	2047
Terbinafine Hydrochloride	1192	Tolnaftate	1266
Hydrochloride Cream	1195	Solution	1266
Hydrochloride Solution	1194	Tolperisone Hydrochloride	1269
Hydrochloride Spray	1194	Tolvaptan	1267
Hydrochloride Tablets	1193	Tablets	1268
Terbutaline Sulfate	1195	Tosufloxacin Tosilate Hydrate	1220
Testosterone Enanthate	1172	Tosilate Tablets	1221
Enanthate Injection	1172	Tragacanth	2055
Propionate	1173	Tramadol Hydrochloride	1241
Propionate Injection	1173	Tranexamic Acid	1237
Tetracaine Hydrochloride	1179	Acid Capsules	1239
Tetracycline Hydrochloride	1180	Acid Injection	1240
Thallium (²⁰¹ Tl) Chloride Injection	677	Acid Tablets	1238
Theophylline	1165	Tranilast	1233
Thiamazole	1141	Capsules	1234
Tablets	1141	Fine Granules	1235
Thiamine Chloride Hydrochloride	1143	for Syrup	1236
Chloride Hydrochloride Injection	1144	Ophthalmic Solution	1237
Chloride Hydrochloride Powder	1144	Trapidil	1240
Nitrate	1145	Trehalose Hydrate	1270
Thiamylal Sodium	1141	Trepibutone	1271
Sodium for Injection	1142	Triamcinolone	1243
Thianthol	1147	Acetonide	1244
Thiopental Sodium	1148	Triamterene	1245
Sodium for Injection	1149	Triazolam	1242
Thioridazine Hydrochloride	1150	Tribulus Fruit	1992
L-Threonine	1270	Trichlormethiazide	1248
Thrombin	1278	Tablets	1249
Thymol	1157	Trichomycin	1251
Tiapride Hydrochloride	1139	Trichosanthes Root	1941
Hydrochloride Tablets	1140	Triclofos Sodium	1247
Tiaramide Hydrochloride	1146	Sodium Syrup	1248
Hydrochloride Tablets	1146	Trientine Hydrochloride	1245
Ticlopidine Hydrochloride	1151	Hydrochloride Capsules	1246
Hydrochloride Tablets	1151	Trihexyphenidyl Hydrochloride	1253
Timepidium Bromide Hydrate	1157	Hydrochloride Tablets	1253
Timolol Maleate	1158	Trimebutine Maleate	1261
Tinctures	21	Trimetazidine Hydrochloride	1258
Tinidazole	1154	Hydrochloride Tablets	1259
Tipepidine Hibenzate	1154	Trimethadione	1258

Trimetoquinol Hydrochloride Hydrate	1260
Troches	13
Tropicamide	1276
Troxipide	1274
Fine Granules	1275
Tablets	1275
L-Tryptophan	1252
Tulobuterol	1160
Hydrochloride	1161
Transdermal Tapes	1160
Turmeric	1903
Turpentine Oil	2040
L-Tyrosine	1159

U

Ubenimex	595
Capsules	596
Ubidecarenone	1776
Ulinastatin	598
Uncaria Hook	2035
Unseini Extract	1906
Urapidil	597
Urea	1317
Urokinase	602
Ursodeoxycholic Acid	600
Acid Granules	602
Acid Tablets	600
Uva Ursi Fluidextract	1906

V

Valaciclovir Hydrochloride	1346
Hydrochloride Tablets	1348
L-Valine	1351
Valsartan	1352
and Hydrochlorothiazide Tablets	1354
Tablets	1353
Vancomycin Hydrochloride	1372
Hydrochloride for Injection	1373
Vasopressin Injection	1334
Verapamil Hydrochloride	1631
Hydrochloride Injection	1632
Hydrochloride Tablets	1632
Vinblastine Sulfate	1445
Sulfate for Injection	1446
Vincristine Sulfate	1443
Vitamin A Oil	1399
Voglibose	1655
Orally Disintegrating Tablets	1658
Tablets	1656
Voriconazole	1669
for Injection	1671
Tablets	1670

W

Warfarin Potassium	1891
Potassium Tablets	1892
Water	983
for Injection	984
Weak Opium Alkaloids and Scopolamine Injection	464
Wheat Starch	1202
White Beeswax	2106
Ointment	1292
Petrolatum	1890
Shellac	1092
Soft Sugar	1329
Whole Human Blood	1399
Wine	1492
Wood Creosote	2106

X

Xylitol	762
Injection	763

Y

Yellow Beeswax	2105
Petrolatum	1889
Yokukansan Extract	2110
Yokukansankachimpihange Extract	2113

Z

Zaltoprofen	893
Tablets	894
Zidovudine	930
Zinc Chloride	676
Oxide	899
Oxide Oil	1159
Oxide Ointment	411
Oxide Starch Powder	411
Sulfate Hydrate	1829
Sulfate Ophthalmic Solution	1830
Zolpidem Tartrate	1106
Tartrate Tablets	1106
Zonisamide	1102
Tablets	1103
Zopiclone	1103
Tablets	1104

INDEX NOMINUM

A

Achyranthis Radix	1962
Aconiti Radix Processa	2078
Radix Processa Et Pulverata	2079
Adeps Lanae Purificatus	2117
Suillus	2055
Agar	1945
Pulveratum	1945
Akebiae Caulis	2107
Alismatis Tuber	2031
Tuber Pulveratum	2031
Aloe	1899
Pulverata	1900
Alpiniae Fructus	2108
Officinarum Rhizoma	2122
Amomi Semen	2000
Semen Pulveratum	2001
Anemarrhenae Rhizoma	2033
Angelicae Acutilobae Radix	2046
Acutilobae Radix Pulverata	2047
Dahuricae Radix	2073
Apilac	2128
Araliae Cordatae Rhizoma	2052
Arctii Fructus	1968
Arecae Semen	2077
Armeniacae Semen	1949
Artemisiae Capillaris Flos	1901
Folium	1924
Asiasari Radix	1978
Asparagi Radix	2040
Astragali Radix	1910
Atractylodis Lanceae Rhizoma	2022
Lanceae Rhizoma Pulveratum	2022
Rhizoma	2073
Rhizoma Pulveratum	2074
Aurantii Fructus Immaturus	1948
Pericarpium	2051

B

Belladonnae Radix	2081
Benincasae Semen	2043
Benzoinum	1900
Bezoar Bovis	1961
Bufonis Crustum	2017

Bupleuri Radix	1971
----------------	------

C

Calumbae Radix	1970
Radix Pulverata	1971
Cannabis Fructus	2103
Capsici Fructus	2044
Fructus Pulveratus	2044
Cardamomi Fructus	2005
Carthami Flos	1957
Caryophylli Flos	2034
Flos Pulveratus	2034
Cassiae Semen	1955
Catalpae Fructus	1948
Cera Alba	2106
Carnauba	1941
Flava	2105
Chrysanthemi Flos	1947
Cimicifugae Rhizoma	2008
Cinnamomi Cortex	1954
Cortex Pulveratus	1954
Cistanchis Herba	2057
Citri Unshiu Pericarpium	2039
Clematidis Radix	1901
Cnidii Monnieris Fructus	1996
Rhizoma	2015
Rhizoma Pulveratum	2016
Codonopsis Radix	2049
Coicis Semen	2110
Semen Pulveratum	2110
Condurango Cortex	1971
Coptidis Rhizoma	1916
Rhizoma Pulveratum	1917
Corni Fructus	1987
Corydalis Tuber	1909
Tuber Pulveratum	1910
Crataegi Fructus	1985
Creosotum Ligni	2106
Crocus	1984
Curcumae Longae Rhizoma	1903
Longae Rhizoma Pulveratum	1904
Rhizoma	1926
Cyperii Rhizoma	1959
Rhizoma Pulveratum	1959

D

Digenea	2103
Dioscoreae Rhizoma	1989
Rhizoma Pulveratum	1989
Dolichi Semen	2083

E

Eleutherococci Senticosi Rhizoma	1991
Ephedrae Herba	2099
Epimedii Herba	1902
Eriobotryae Folium	2076
Eucommiae Cortex	2055
Euodiae Fructus	1966

F

Fel Ursi	2109
Foeniculi Fructus	1902
Fructus Pulveratus	1902
Forsythiae Fructus	2124
Fossilia Ossis Mastodi	2120
Ossis Mastodi Pulveratum	2120
Fritillariae Bulbus	2060
Fructus Hordei Germinatus	2061

G

Gambir	1895
Pulveratum	1895
Gardeniae Fructus	1986
Fructus Pulveratus	1986
Gastrodiae Tuber	2040
Gentianae Radix	1955
Radix Pulverata	1956
Scabrae Radix	2121
Scabrae Radix Pulverata	2121
Geranii Herba	1956
Herba Pulverata	1957
Ginseng Radix	2058
Radix Pulverata	2059
Radix Rubra	1958
Glehniae Radix Cum Rhizoma	2068
Glycyrrhizae Radix	1942
Radix Praeparata	1992
Radix Pulverata	1943
Gummi Arabicum	1898
Arabicum Pulveratum	1898
Gypsum Exsiccatum	2014
Fibrosum	2014

H

Hedysari Radix	2011
Houttuyniae Herba	2000
Hydrangeae Dulcis Folium	1897
Dulcis Folium Pulveratum	1897

I

Imperatae Rhizoma	2086
Ipecacuanhae Radix	2053
Radix Pulverata	2053

K

Kasseki	1934
Koi	1957

L

Leonuri Herba	2108
Lilii Bulbus	2073
Linderae Radix	1905
Lithospermi Radix	1991
Longan Arillus	2120
Lonicerae Folium Cum Caulis	2060
Lycii Cortex	1991
Fructus	1950

M

Magnoliae Cortex	1960
Cortex Pulveratus	1961
Flos	2009
Malloti Cortex	1895
Mel	2066
Menthae Herba	2066
Mori Cortex	2022
Moutan Cortex	2092
Cortex Pulveratus	2093
Myristicae Semen	2057

N

Nelumbinis Semen	2124
Notopterygii Rhizoma	1948
Nupharis Rhizoma	2017

O

Oleum Arachidis	2116
Aurantii	1923
Cacao	1925

Camelliae	2039
Caryophylli	2034
Cinnamomi	1954
Cocois	2109
Eucalypti	2109
Foeniculi	1903
Maydis	2052
Menthae Japonicae	2067
Olivae	1923
Rapae	2056
Ricini	2072
Sesami	1968
Sojae	2031
Terebinthinae	2040
Ophiopogonis Radix	2061
Opium Pulveratum	1895
Oryzae Fructus	1960
Ostreae Testa	2099
Testa Pulverata	2099

P

Paeoniae Radix	1993
Radix Pulverata	1994
Panacis Japonici Rhizoma	2032
Japonici Rhizoma Pulveratum	2033
Perillae Herba	2023
Persicae Semen	2050
Semen Pulveratum	2050
Peucedani Radix	2016
Pharbitidis Semen	1955
Phellodendri Cortex	1913
Cortex Pulveratus	1914
Picrasmae Lignum	2056
Lignum Pulveratum	2056
Pinelliae Tuber	2068
Plantaginis Herba	1996
Semen	1996
Platycodi Radix	1946
Radix Pulverata	1946
Pogostemi Herba	1926
Polygalae Radix	1923
Radix Pulverata	1924
Polygonati Rhizoma	1912
Polygoni Multiflori Radix	1925
Polyporus	2038
Pulveratus	2038
Poria	2077
Pulveratum	2077
Prunellae Spica	1925
Pruni Cortex	1915
Puerariae Radix	1927

Q

Quercus Cortex	2092
----------------	------

R

Rehmanniae Radix	1990
Resina Pini	2124
Rhei Rhizoma	2024
Rhizoma Pulveratum	2025
Rosae Fructus	1908
Fructus Pulveratus	1909

S

Sal Mirabilis	2086
Mirabilis Anhydricus	2086
Salviae Miltiorrhizae Radix	2032
Saposhnikoviae Radix	2087
Sappan Lignum	2023
Saussureae Radix	2108
Schisandrae Fructus	1969
Schizonepetae Spica	1952
Scopoliae Rhizoma	2125
Scutellariae Radix	1911
Radix Pulverata	1912
Senegae Radix	2014
Radix Pulverata	2015
Sennae Folium	2018
Folium Pulveratum	2019
Sesami Semen	1968
Sevum Bovinum	1948
Sinomeni Caulis Et Rhizoma	2083
Smilacis Rhizoma	1984
Rhizoma Pulveratum	1985
Sophorae Radix	1951
Radix Pulverata	1951
Strychni Semen	2097
Swertiae Herba	2020
Herba Pulverata	2021

T

Tinctura Amara	1951
Tragacantha	2055
Pulverata	2055
Tribuli Fructus	1992
Trichosanthis Radix	1941

U

Uncariae Uncis Cum Ramulus	2035
Uvae Ursi Folium	1905

V

Valerianae Fauriei Radix	1934
Fauriei Radix Pulverata	1934

Z

Zanthoxyli Piperiti Pericarpium	1988
---------------------------------------	------

Piperiti Pericarpium Pulveratum	1988
Zingiberis Rhizoma	2001
Rhizoma Processum	1941
Rhizoma Pulveratum	2002
Ziziphi Fructus	2031
Semen	1989