

バイオ医薬品のコンパラビリティ - 事例報告 -

三菱ウェルファーマ(株)

蛋白医薬研究所

小林 薫

ヒト血清アルブミン

血漿たん白質の約4% 血漿たん白質の約4% 血漿たん白質の約4%

たん白質としての特徴

- ◆ 585個のアミノ酸
(66.5 kDa)
- ◆ **糖鎖付加なし**
- ◆ 主として肝臓で合成

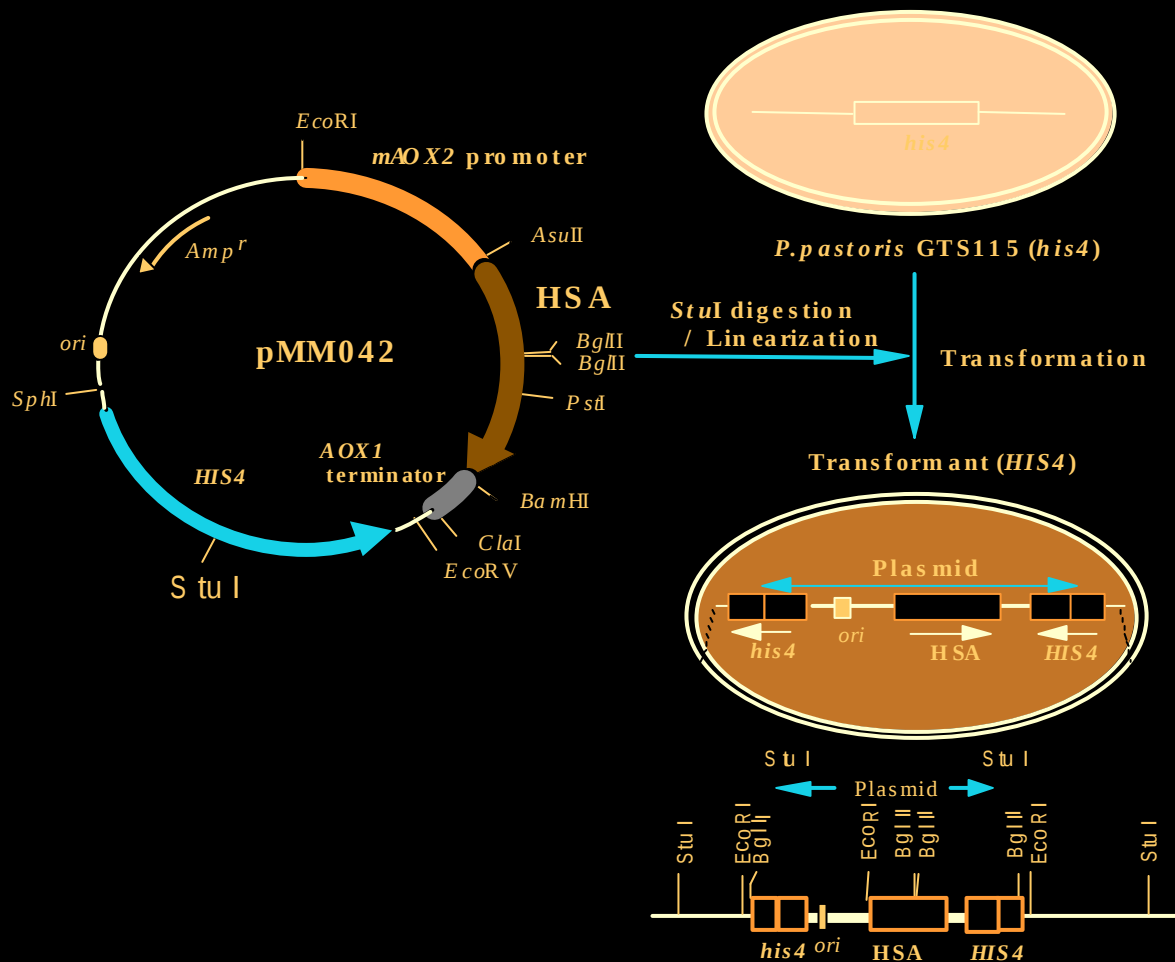
生体内での機能

- ◆ 膠質浸透圧の維持
- ◆ 循環血漿量の維持
- ◆ 脂肪酸等の輸送

医薬品としての適応

- ◆ 低アルブミン血症：熱傷、肝硬変症など
- ◆ 出血性ショック

rHSA発現システム



*rHSA*生産培養の概要

ーパイロットスケール

1 ml WCB



200 ml YPD medium (フラスコ培養)



5 L YPD medium (10L Fermentor)



250 L Glycerol medium (1200L Fermentor)

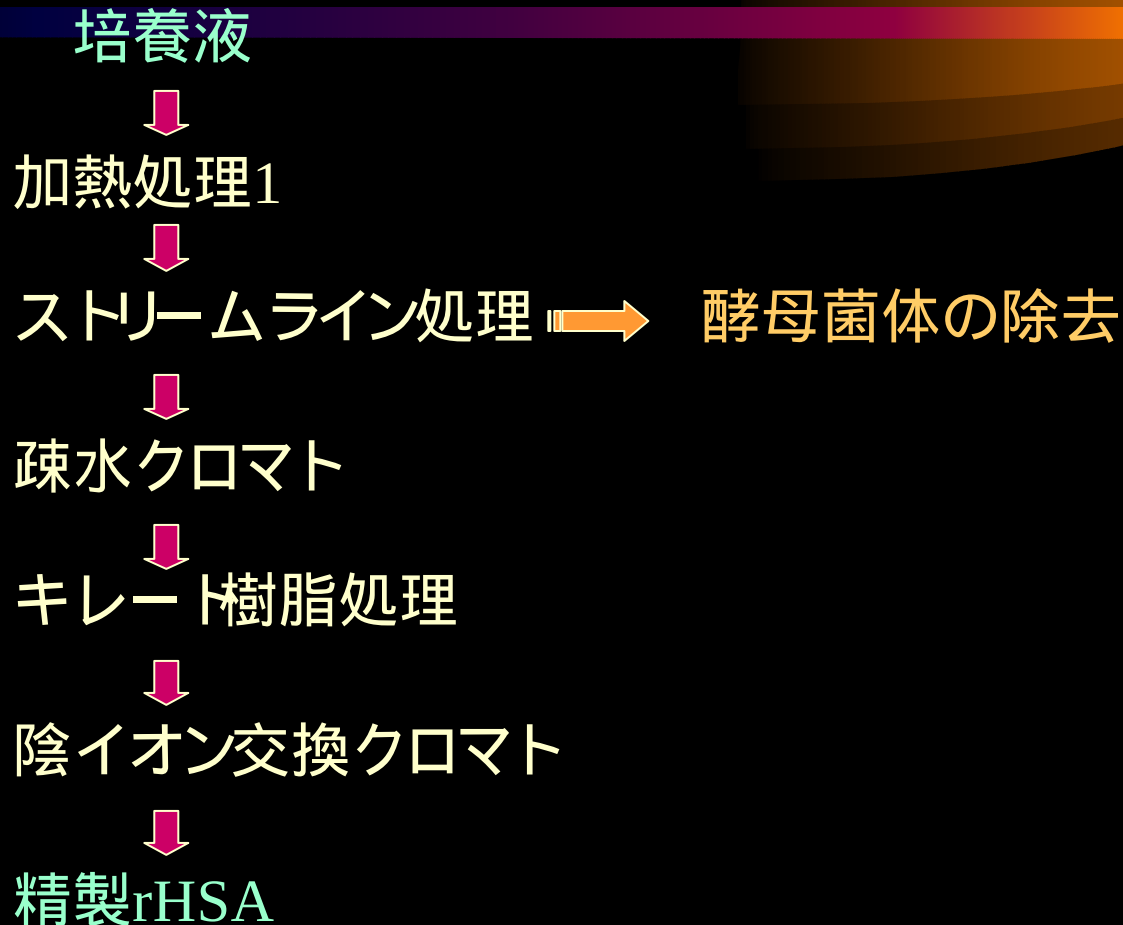


*rHSA*誘導/増殖用メタノール培地の供給

800 - 900 Lの培養液(2週間)

10 g/L 以上の*rHSA*

rHSA精製工程の概要



構造分析

1次構造

アミノ酸組成
N-末端アミノ酸配列
C-末端アミノ酸
還元ペプチドマップ
全アミノ酸配列

2次構造

Free SH at Cys34
S-S結合の数と位置
by Gas Phase Protein Sequencer
非還元ペプチドマップ

高次構造

NMR Spectrum
X線結晶構造解析

物理的・化学的性質



Isoelectric Point

Molecular Weight

(SDS-PAGE & Size Exclusion HPLC)

Ion Exchange HPLC

RP HPLC

Capillary Electrophoresis

Antigenicity (Ouchterlony Method)

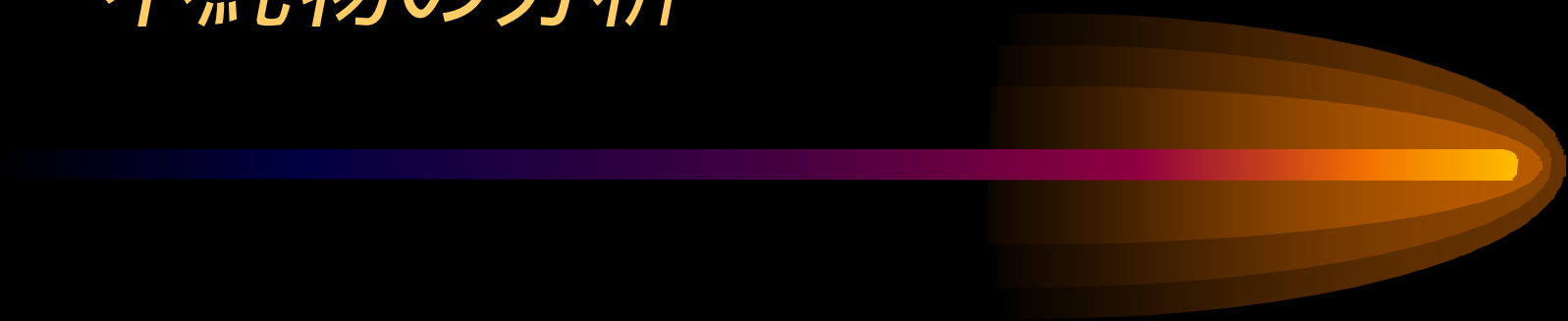
Colloid Osmotic Pressure

Viscosity

Ligand Binding Properties

Lipid Compositions

不純物の分析



工程由来

Boron
Calcium
Metals added to culture medium

宿主由来

Yeast Components
Endotoxin
DNA
Mannans (In-Process Testing)

*rHSA*の商業生産設備

Production Sites in Japan



BIPHA CORPORATION (Hokkaido)

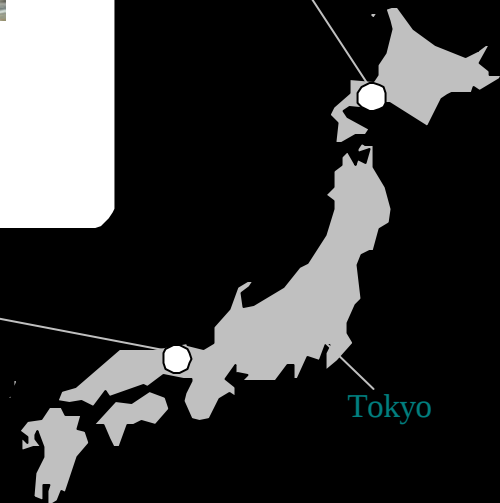
4 Fermenters (80 m³)

Completed in October 29, 1999

OSADANO PILOT PLANT (Kyoto)

2 Fermenters (1.2 m³)

Sample Supply for Preclinical &
Clinical Study in Japan



実製造規模の培養槽

実製造 内径 3.5 m
液深 6 m



4基設置 :100万バイアル/年

パイロット 内径 0.9 m
液深 1.6 m



バイオロジクスフォーラム
(2004/02/13)

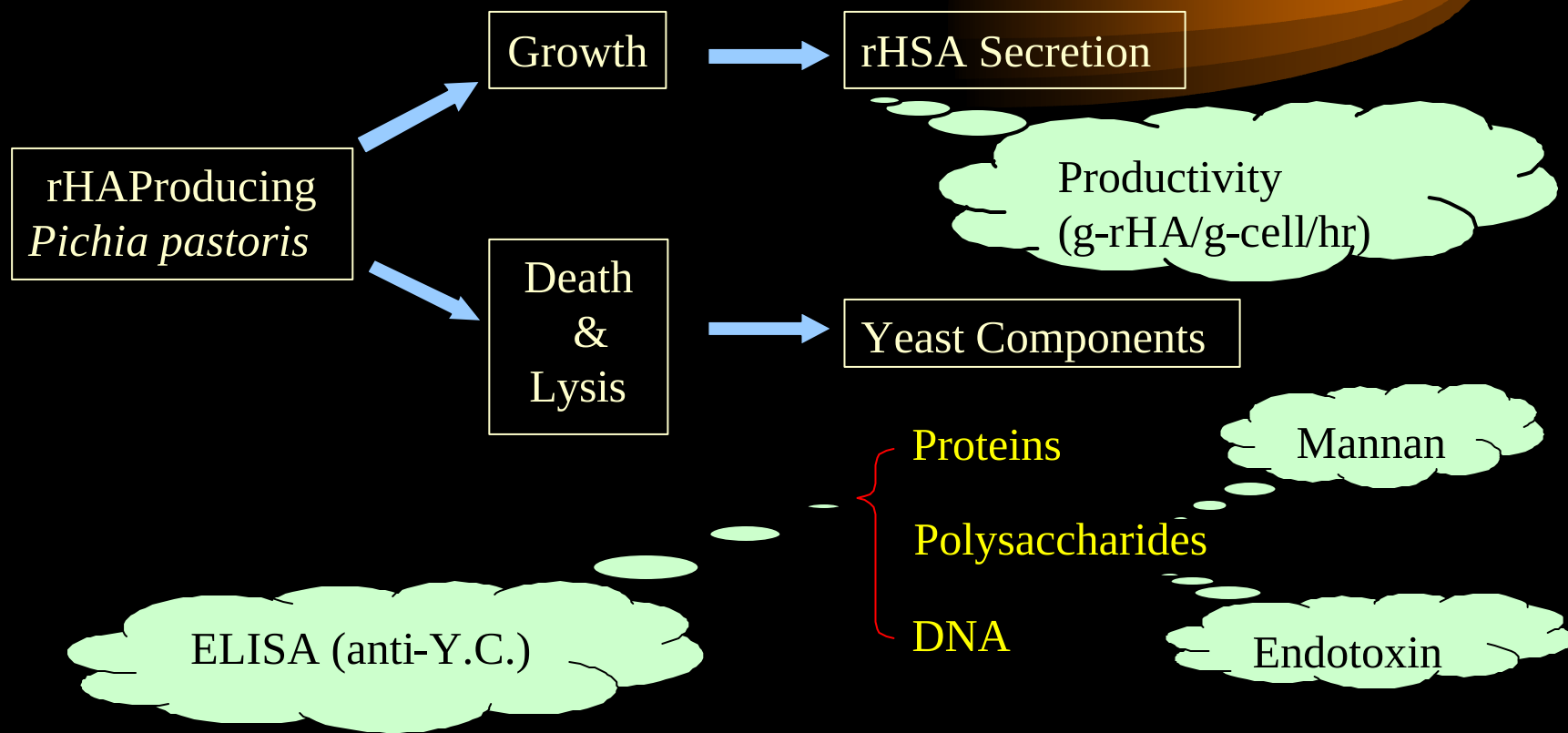
大規模精製法構築のコンセプト

- 自動化が容易である
- スケールアップが容易である
- カラムクロマトによる精製
ベット高 & 移動相の線速が支配的
- 特殊な担体は使用しない
- 複雑な方法は使用しない



バイオロジクスフォーラム
(2004/02/13)

恒常性確認のコンセプト



同等性試験の概念

rHSAは単純タンパク質であることから、既存の『規格』や『工程管理』に加え、

構造

物理的・化学的性質

不純物プロファイル

を徹底的に比較・把握することが最低限必要となろう。

特に、不純物については細心に実施すべき。

