

# Application News

## No. Q115

粉粒体測定  
Powder Property Analysis

### Aggregates Sizer TC (温調機能付) を用いたタンパク質安定性の加速試験

The Accelerated Test of Protein Stability by Aggregates Sizer TC

バイオ医薬品は製造・保管・輸送中に金属・樹脂・ガラスなど様々な物質と接しますが、接液素材によってタンパク質の安定性は異なります。そのため、適切な接液素材を検討する必要がありますが、実際の工程において複数の接液素材を検討する場合には要するコストが増大し、また保管時の安定性評価に際しては数ヶ月以上の長期間評価を行う必要があります。したがって加速試験によりあらかじめ接液素材を検討することでバイオ医薬品の生産プロセス検討の効率化につながると考えられます。

本報では、バイオ医薬品凝集性評価システム「Aggregates Sizer TC (温調機能付)」(以下、Aggregates Sizer TC) 付属の3種類の材質の攪拌プレート(PEEK, ステンレス, ガラス)を用い、一定温度下で物理的ストレスを与えながら凝集体生成量をモニタリングすることで、タンパク質安定性の加速試験を行いました。その結果、材質の違いが凝集性に与える影響の差異や安定性評価時の温度コントロールの重要性を示唆する結果が得られたため、ここに報告します。

H. Maeda

### ■ サンプル・測定手法

#### Materials and Methods

サンプルには凍結乾燥品のウシ由来γ-グロブリンをPBS(pH 7.4)で1 mg/mLに調製した溶液を用いました。

回分セル(温調機能付, Fig. 1 (c))中で5 mLの試料溶液を190 ストローク/分で40分間攪拌を行いながら測定しました。攪拌棒の材質としてPEEK, ステンレス(SUS316), ガラスの3種類を実験に用いました。また加速試験中は循環恒温槽を用いて23 °C, 30 °C, 42 °Cのいずれかで温度を一定に保ち測定を行いました。

粒子径分布及び定量値の測定はAggregates Sizerを用いたqLD法(Quantitative Laser Diffraction Method, 定量化レーザ回折・散乱法)により行いました。また屈折率には1.46 - 0.10iを、密度には1.37 g/cm<sup>3</sup>を用いています。

### ■ 結果・考察

#### Results and Discussions

代表例として42 °CにおけるPEEKの攪拌プレートによる条件での粒子径分布の経時変化をFig. 2に示します。時間経過により凝集体が生成している事がわかります。凝集体評価基準として提唱されている0.2-2 μmと2-10 μmについて、23 °C, 40分経過時の凝集体生成量を示したのがFig. 3です。それぞれの区間で凝集体生成量を比較すると、2-10 μmの領域においてはPEEKが最も多い一方、0.2-2 μmの領域ではステンレスが最も多くなっていることがわかります。またいずれの領域についてもガラスの場合は最も凝集体が少ない結果となりました。次にPEEKの場合について温度ごとの凝集体生成量の比較を行ったのがFig. 4です。この結果から、加速試験時の温度に依存して凝集体生成量が増加していることがわかります。以上のことから、加速試験時の凝集体生成量を適切に評価するためには、温調機能が重要です。

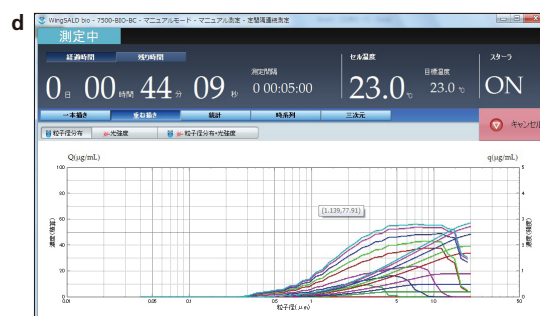


Fig. 1 バイオ医薬品凝集性評価システム「Aggregates Sizer TC (温調機能付)」  
Aggregation Analysis System for Biopharmaceuticals "Aggregates Sizer TC"  
(a) 本体 (b) 循環恒温槽 (c) 回分セル(温調機能付) (d) モニタリング画面

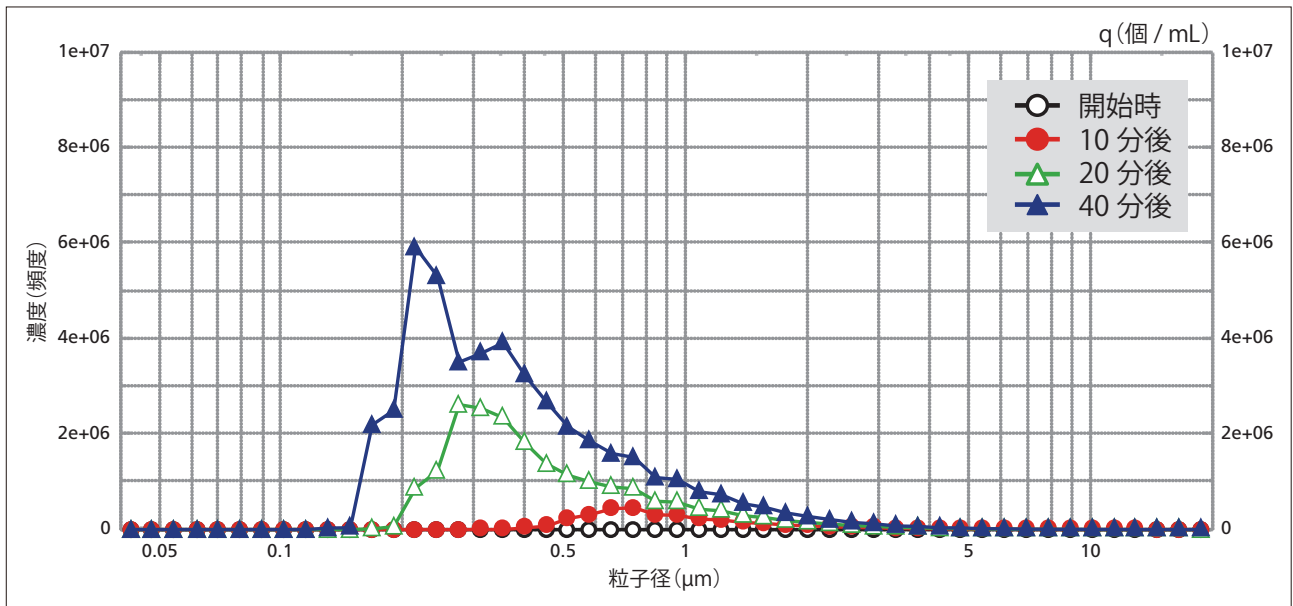


Fig. 2 加速試験時の凝集体生成過程 (PEEK, 42 °C の場合)  
Process of Aggregation in Accelerated Test (PEEK, 42 degree)

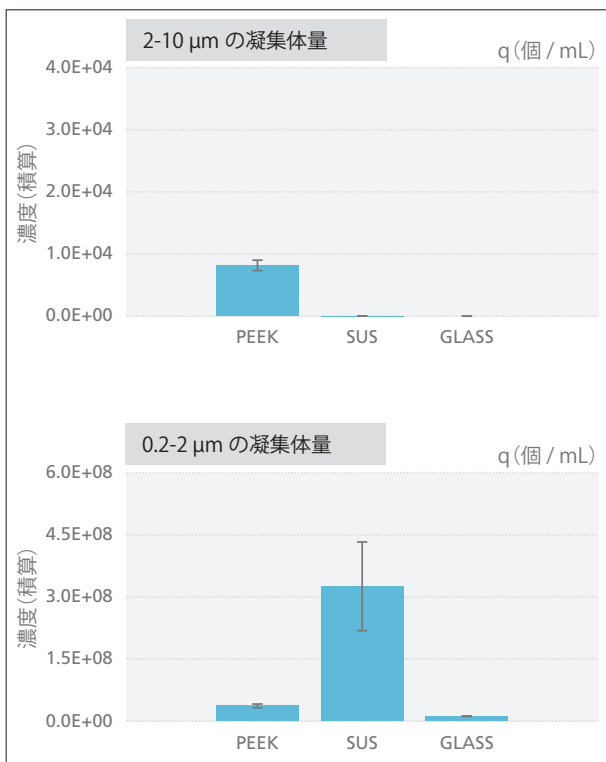


Fig. 3 各スターラー材質における区間ごとの凝集体生成量の比較  
(23 °C, 40 分経過後)  
Comparison of Amounts of Aggregates between  
Stirrer Materials in Different Diameter Ranges  
(23 degree, in 40 minutes)

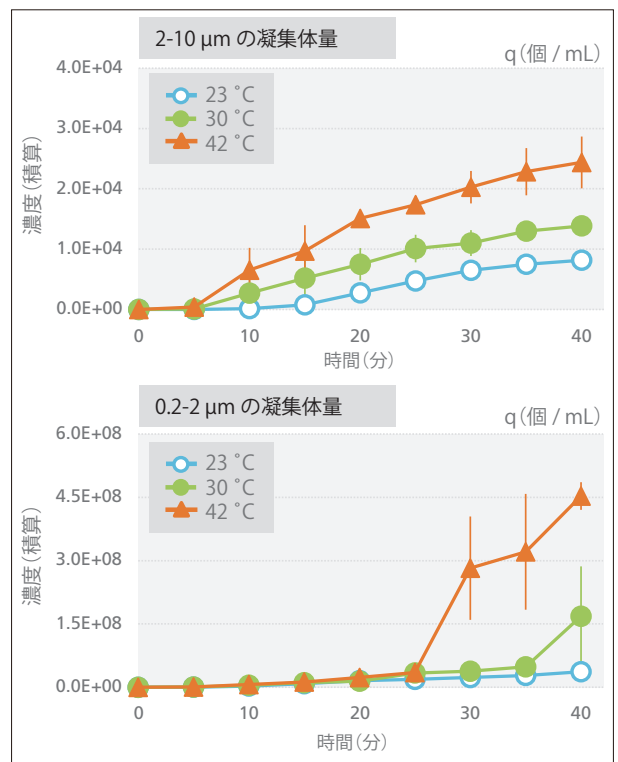


Fig. 4 温度ごとの凝集体生成過程の比較 (PEEK の場合)  
Comparison of Process of Aggregation between  
Different Temperatures (PEEK, 0.2-10 μm)