

事 務 連 絡
令和 7 年 4 月 9 日

各都道府県衛生主管部（局） 御中

厚生労働省医薬局医薬品審査管理課

バイオ医薬品の規格及び試験方法欄の記載の合理化について

医薬品の承認申請書等の「規格及び試験方法」の欄（「成分及び分量又は本質」の欄において、成分の規格として「別紙規格」がある場合は、当該「別紙規格」中の「規格及び試験方法」の欄を含む。以下同じ。）の記載については、「医薬品の品質に係る承認事項の変更に係る取扱い等について」（平成 30 年 3 月 9 日薬生薬審発 0309 第 1 号、薬生監麻発 0309 第 1 号）の第 2 規格及び試験方法の欄の記載の合理化について、により合理化を行って差し支えないこととされています。

今般、令和 6 年度 AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業「先進的手法を用いた医薬品の製造・管理及び評価手法におけるライフサイクルマネジメントに関する研究」分担研究開発課題「バイオ医薬品のライフサイクルマネジメントに関する研究」における検討を踏まえて、バイオ医薬品の規格及び試験方法のうち、確認試験 ペプチドマップ、純度試験 キャピラリー SDS 電気泳動法（非還元条件）及び純度試験 宿主細胞由来タンパク質の合理化記載例を、それぞれ別添 1～3 としてとりまとめました。今後は別添 1～3 を参考に記載の合理化を行って差し支えありませんので、貴管下関係業者に対し周知願います。

また、本事務連絡の写しについて、別記の関係団体等宛てに発出するので、念のため申し添えます。

(別記)

日本製薬団体連合会

日本製薬工業協会

米国研究製薬工業協会在日執行委員会

一般社団法人欧州製薬団体連合会

独立行政法人医薬品医療機器総合機構

確認試験 ペプチドマップにおける合理化記載例

【日本薬局方医薬品各条に準じた記載例】	【合理化記載例】
ペプチドマップ 本品及びジェーピーマブ標準物質につき、タンパク質として■ mg に対応する量を取り、XXX 緩衝液■ μL を加え、更に■ mmol/L ジチオスレイトール溶液■ μL を加えた後、■℃で■分間静置する。次に、■ mmol/L ヨードアセトアミド溶液■ μL を加え、暗所で■分間静置した後、■ mmol/L ジチオスレイトール溶液■ μL を加える。この液に■ mol/L トリス塩酸緩衝液■ μL 及びリシルエンドペプチダーゼ溶液■ μL を加え、37℃で■時間静置した後、トリフルオロ酢酸■ μL を加え、試料溶液及び標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 100 μL につき、次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行い、両者のクロマトグラムを比較するとき、同一の保持時間に同様のピークを認める。	ペプチドマップ 試験方法：還元アルキル化、酵素処理によるペプチド断片化、液体クロマトグラフィー 規格値／判定基準：標準溶液と同一の保持時間に同様のピークを認める 分析方法 試験試料の調製： 試料溶液： 1. 本品（タンパク質として■ mg）に、XXX 緩衝液■ μL 及び■ mmol/L ジチオスレイトール溶液■ μL を添加し、■℃で■分間静置 2. ■ mmol/L ヨードアセトアミド溶液■ μL を加え、暗所で■分間静置 3. ■ mmol/L ジチオスレイトール溶液■ μL、■ mol/L トリス塩酸緩衝液■ μL 及びリシルエンドペプチダーゼ溶液■ μL を加え、37℃で■時間静置 4. トリフルオロ酢酸■ μL を添加 標準溶液：ジェーピーマブ標準物質（タンパク質として■ mg）を用いて、試料溶液と同様に調製

試験条件

検出器：紫外吸光光度計（測定波長 210 nm）

カラム：内径 4.6 mm、長さ 20 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タデシルシリル化シリカゲルを充填する。（〇〇社製 XXXXX、又は同等品）

カラム温度：25℃付近の一定温度

移動相 A：水／トリフルオロ酢酸混液（1000:1）

移動相 B：アセトニトリル／トリフルオロ酢酸混液（1000:1）

移動相の送液：移動相 A 及び移動相 B の混合比を次のように変えて濃度勾配制御する。

注入後の時間（分）	移動相 A（vol%）	移動相 B（vol%）
0～■ （略）	■→■ （略）	■→■ （略）

流量：毎分 1.0 mL

測定範囲：溶媒のピークの後から注入後●分までの範囲

システム適合性

システムの性能：標準溶液 100 μ L につき、上記の条件で測定するとき、参照クロマトグラム（別紙図 1）と同一の保持時間に同様のピークを認め、ピーク A とピーク B の分離度は 1.5 以上である。

注入量：100 μ L

試験条件：

検出器：紫外吸光光度計（測定波長：210 nm）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル（5 μ m）、内径 4.6 mm、長さ 20 cm（〇〇社製 XXXX 又は同等品）^{<1>}

カラム温度：25℃付近

移動相 A：水／トリフルオロ酢酸混液（1000:1）

移動相 B：アセトニトリル／トリフルオロ酢酸混液（1000:1）

移動相の送液：移動相 A 及び移動相 B の混合比を次のように変えて濃度勾配制御

注入後の時間（分）	移動相 A（vol%）	移動相 B（vol%）
0～■ 略	■→■ 略	■→■ 略

流量：毎分 1.0 mL

測定範囲：溶媒のピークの後から注入後●分までの範囲

システム適合性

システムの性能：標準溶液で、参照クロマトグラムと同一の保持時間に同様のピークを認め、ピーク A とピーク B の分離度は 1.5 以上（別紙図 1）

試薬・試液

XXX 緩衝液：水 1 mL 中に塩酸グアニジン（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品）● g 及び成分 X（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品）■ g を含む溶液。●%塩酸又は水酸化ナトリウム溶液で pH ●～●に調整する。

■ mmol/L ジチオスレイトール溶液：水 1 mL 中にジチオスレイトール● g を含む溶液。

■ mmol/L ヨードアセトアミド溶液：水 1 mL 中にヨードアセトアミド（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品）● g を含む溶液。

■ mol/L トリス塩酸緩衝液：水 1 mL 中に 2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール● g 及び成分 X（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品）■ g を含む溶液。●%塩酸又は水酸化ナトリウム溶液で pH ●～●に調整する。

リシルエンドペプチダーゼ溶液：1 mL 中にリシルエンドペプチダーゼ● mg を含む溶液（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品）。

試薬・試液 <2>

XXX 緩衝液：水 1 mL 中に塩酸グアニジン（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品）● g 及び成分 X（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品）■ g を含む pH ●～●の溶液

■ mmol/L ジチオスレイトール溶液：水 1 mL 中にジチオスレイトール● g を含む溶液

■ mmol/L ヨードアセトアミド溶液：水 1 mL 中にヨードアセトアミド（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品）● g を含む溶液

■ mol/L トリス塩酸緩衝液：水 1 mL 中に 2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール● g 及び成分 X（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品）■ g を含む pH ●～●の溶液

リシルエンドペプチダーゼ溶液：1 mL 中にリシルエンドペプチダーゼ● mg を含む溶液（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品）

解説

● 試験条件

<1>：使用する分析カラムは、分析法の性能を保証する要素として、製品名の記載が求められる場合がある。

● 試薬・試液

<2>：試液は濃度記載とした。

純度試験 キャピラリーSDS 電気泳動法（非還元条件）における合理化記載例

【日本薬局方医薬品各条に準じた記載例】	【合理化記載例】
キャピラリーSDS 電気泳動法（非還元条件） 本品の適量を取り、1 mL 中にタンパク質■ mg を含む液となるよう水を加える。この液■ μL をとり、非還元試料緩衝液■ μL 及び■ mmol/L ヨードアセトアミド溶液■ μL を加えた後、■℃で■分間加温し、試料溶液とする。試料溶液につき、次の条件でキャピラリー電気泳動法により試験を行う。試料溶液の各々のピーク面積を自動積分法により測定し、各ピークの移動時間で除したピーク面積を用いて面積百分率法によりピークの量を求めるとき、主ピークは●%以上、高分子量体●%以下、低分子量体●%以下である。 試験条件 検出器：紫外吸光光度計（測定波長 210 nm） キャピラリー：内径 50 μm、全長 30.2 cm、有効長 20 cm のフューズドシリカ（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品） キャピラリー温度：25℃付近の一定温度	キャピラリーSDS 電気泳動法（非還元条件） 試験方法：キャピラリーSDS 電気泳動法、ピーク面積（面積百分率、各ピーク面積は移動時間で補正^{<3>}） 規格値／判定基準：主ピーク●%以上、高分子量体●%以下、低分子量体●%以下 分析方法 試験試料の調製： 試料溶液：水で希釈した本品（■ mg/mL）にタンパク質 1 mg あたり非還元試料緩衝液■ μL 及び■ mmol/L ヨードアセトアミド溶液■ μL を添加し、■℃で■分間加温 システム適合性試験用溶液：水で希釈したジェーピーマブ標準溶液（■ mg/mL）を用いて、試料溶液と同様に調製 検出の確認用溶液：システム適合性試験用溶液を水で■倍希釈 試験条件： 検出器：紫外吸光光度計（測定波長：210 nm） キャピラリー：フューズドシリカ、内径 50 μm、長さ 30.2 cm、有効長 20 cm（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品）^{<1>} キャピラリー温度：25℃付近

泳動液：SDS キャピラリー電気泳動緩衝液 試料導入法：電気的導入法（■ V で■秒） 泳動条件：－■ V、20 分間 面積測定範囲：●分から●分 システム適合性 検出の確認：システム適合性試験溶液に水を加え■倍希釈する。 この液につき、上記の条件で操作するとき、主ピークの SN 比は 10 以上である。 システムの性能：ジェーピーマブ標準物質の適量を取り、1 mL 中にタンパク質■ mg を含む液となるよう水を加える。この液■ μL をとり、非還元試料緩衝液■ μL 及び■ mmol/L ヨードアセトアミド溶液■ μL を加えた後、■℃で■分間加温し、システム適合性試験溶液とする。この液につき、上記の条件で操作するとき、参照エレクトロフェログラム（別紙図 2）と同様の泳動時間に同様のピークを認め、主ピークと高分子量体ピーク間の分離度が 1.5 以上であることを確認する。 試薬・試液 非還元試料緩衝液：水1 mL中にラウリル硫酸ナトリウム● g及び成分X（●●社製、製品番号XXXXXX、又は同等品）■ gを含むpH ●～●の溶液。	泳動液：SDS キャピラリー電気泳動緩衝液 試料導入法：電気的導入法（● V で●秒） 泳動条件：－■ V、20 分間 面積測定範囲：●分から●分 システム適合性 検出の確認：検出の確認用溶液で、主ピークの SN 比は 10 以上^{<4>} システムの性能：システム適合性試験用溶液で、泳動プロファイルは参照エレクトロフェログラムと同様で、主ピークと高分子量体ピーク間の分離度が 1.5 以上（別紙図 2） 試薬・試液^{<2>} 非還元試料緩衝液：水1 mL中にラウリル硫酸ナトリウム● g及び成分X（●●社製、製品番号XXXXXX、又は同等品）■ gを含むpH ●～●の溶液
--	---

■ mmol/Lヨードアセトアミド溶液:水1 mL中にヨードアセトアミド (●●社製、製品番号XXXXX、又は同等品) ● gを含む溶液。
 SDS キャピラリー電気泳動緩衝液:電気泳動緩衝液 (●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品)。

■ mmol/Lヨードアセトアミド溶液:水1 mL中にヨードアセトアミド (●●社製、製品番号XXXXX、又は同等品) ● gを含む溶液
 SDS キャピラリー電気泳動緩衝液:電気泳動緩衝液 (●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品)

解説

- 試験条件

<1>:使用する分析カラムは、分析法の性能を保証する要素として、製品名の記載が求められる場合がある。

- 試薬・試液

<2>:試液は濃度記載とした。

- キャピラリーSDS 電気泳動法 (非還元条件)

<3>:ピーク面積の求め方は、規格値／判定基準に記載することも可能。

<4>:試料溶液と同濃度に調製した標準溶液から得られるサブピークが、予め規定する範囲内であることを確認する方法も可能。

純度試験 宿主細胞由来タンパク質における合理化記載例

【日本薬局方医薬品各条に準じた記載例】	【合理化記載例】
宿主細胞由来タンパク質 本品の適量を取り、■倍量のブロッキング溶液を加え、試料溶液とする。別に、HCP標準物質適量を量り、ブロッキング溶液で2倍段階希釈を行い、●、●、●、●、●、●、●、●、●、及び● ng/mLの標準溶液とする。抗原抗体反応試験用プレートの各ウェルにヤギ抗HCP抗体溶液100 μLを加え、2～8℃で■時間以上静置した後、液を除き、洗浄溶液■ μLを用いて■回洗浄操作を行う。次にブロッキング溶液200 μLを各ウェルに加え、室温で■時間静置する。この液を除き、洗浄溶液■ μLを用いて■回洗浄操作を行う。試料溶液及び各濃度の標準溶液を各ウェル100 μLずつ3ウェルに加え、室温で■時間振とうする。液を除いた後、洗浄溶液■ μLを用いて■回洗浄操作を行う。次にウサギ抗HCP抗体溶液100 μLを各ウェルに加え、室温で■時間振とうし、液を除いた後、洗浄溶液■ μLを用いて■回洗浄操作を行う。次にペルオキシダーゼ標識抗ウサギ抗体溶液100 μLを各ウェルに加え、室温で■分間振とうする。液を除いた後、洗浄溶液■ μLを用いて■回洗浄操作を行う。各ウェルに3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン基質液100 μLを加え、室温で■分間静置した後、●●硫酸試液100 μLを加えて反応を停止する。マイクロプレートリーダーにより波長450 nmにおける吸光度を測定し、標準溶液の各タンパク質濃度に対する吸光度の平均値を用い、4パラメーターロジスティック (4-PL)	宿主細胞由来タンパク質 試験方法：酵素免疫測定法 (ELISA)、プレートリーダーによる吸光度測定、4パラメーターロジスティック (4-PL) 回帰 規格値／判定基準：● ng/mg 未満 HCP 含量 (ng/mg) = (試料溶液中の HCP 含量 (ng/mL) (3 ウェルの平均値) × 希釈係数) / 本品のタンパク質濃度 (mg/mL) 試料溶液中の HCP 含量: 各標準溶液から得た吸光度 (平均値) を以下の4-PL回帰式に導入して作成した検量線を用いて算出 $y = D + (A - D) / \{1 + (x/C)^B\}$ A：下側漸近線 B：勾配パラメータ C：変曲点における HCP の濃度 (ng/mL) D：上側漸近線 x：HCP の濃度 (ng/mL) y：吸光度 分析方法 試験試料の調製： 試料溶液：本品 1 容量にブロッキング溶液■容量を添加 <sup>5>

回帰により検量線を作成する。検量線を用いて求めた試料溶液のHCP濃度の平均値から本品1 mgタンパク質当たりのHCP量を求めるとき、● ng/mg未満である。

HCP量は次式を用いて算出する。

HCP含量 (ng/mg) = (試料溶液中のHCP含量 (ng/mL) (3ウェルの平均値) × 希釈係数) / 本品のタンパク質濃度 (mg/mL)

試料溶液中のHCP含量 (ng/mL) : 各標準溶液から得た吸光度 (平均値) を以下の4-PL回帰式に導入して作成した検量線を用いて算出する。

$$y = D + (A - D) / \{1 + (x/C)^B\}$$

A : 下側漸近線

B : 勾配パラメータ

C : 変曲点におけるHCPの濃度 (ng/mL)

D : 上側漸近線

x : HCPの濃度 (ng/mL)

y : 吸光度

各濃度の標準溶液 : HCP 標準物質をブロッキング溶液で希釈した希釈系列 (■ ng/mL ~ ■ ng/mL の範囲で 10 段階の 2 倍希釈)

操作方法 :

1. 抗原抗体反応試験用プレートの各ウェルにヤギ抗HCP抗体溶液 100 μL を加え、2~8℃で■時間以上静置
2. 液を除いた後、十分に洗浄溶液で洗浄 ^{<6>}
3. ブロッキング溶液 200 μL を各ウェルに加え、室温で■時間静置
4. 液を除いた後、洗浄溶液で十分に洗浄 ^{<6>}
5. 試料溶液及び各濃度の標準溶液 100 μL を各 3 ウェルずつ分注し、室温で■時間振とう
6. 液を除いた後、洗浄溶液で十分に洗浄 ^{<6>}
7. ウサギ抗 HCP 抗体溶液 100 μL を各ウェルに加え、室温で■時間振とう
8. 液を除いた後、洗浄溶液で十分に洗浄 ^{<6>}
9. ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ抗体溶液 100 μL を各ウェルに加え、室温で■分間振とう
10. 液を除いた後、洗浄溶液で十分に洗浄 ^{<6>}
11. 3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン基質液 100 μL を各ウェルに加え、室温で■分間静置
12. 各ウェルに●●硫酸試液 100 μL 添加 (反応停止)

試験成立条件 検量線の決定係数 (R^2 値) は●以上である。 各々の濃度の標準溶液におけるHCP濃度の相対標準偏差は●%以下である。 試料溶液の吸光度が検量線の範囲内にあり、試料溶液の HCP 量の相対標準偏差が●%以下である。 試薬・試液 ブロッキング溶液：リン酸緩衝塩化ナトリウム試液 1000 mL 中にウシ血清アルブミン (●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品) ● g を含む溶液。 リン酸緩衝塩化ナトリウム試液：リン酸緩衝液 (●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品) に塩化ナトリウム● mol/L を含む pH ●～●の溶液。 洗浄溶液：リン酸緩衝塩化ナトリウム試液2000 mLにポリソルベート20 (●●社製、製品番号XXXXX、又は同等品) 1 mLを含む溶液。 HCP標準物質：CHO細胞にジェーピーマブのL鎖遺伝子及びH鎖遺伝子を除いた発現プラスミドを導入した細胞の培養液からアフィニティークロマトグラフィーにて精製したタンパク質溶液。本品は	13. マイクロプレートリーダーにより波長 450 nm における吸光度を測定 試験成立条件 検量線の決定係数 (R^2 値)：●以上 各々の濃度の標準溶液における HCP 濃度の相対標準偏差：●%以下 試料溶液の吸光度：検量線の範囲内 試料溶液の HCP 量の相対標準偏差：●%以下 試薬・試液 <◇> ブロッキング溶液：リン酸緩衝塩化ナトリウム試液 1000 mL 中にウシ血清アルブミン (●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品) ● g を含む溶液 リン酸緩衝塩化ナトリウム試液：リン酸緩衝液 (●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品) に塩化ナトリウム● mol/L を含む pH ●～●の溶液 洗浄溶液：リン酸緩衝塩化ナトリウム試液2000 mLにポリソルベート20 (●●社製、製品番号XXXXX、又は同等品) 1 mLを含む溶液 HCP標準物質：CHO細胞にジェーピーマブのL鎖遺伝子及びH鎖遺伝子を除いた発現プラスミドを導入した細胞の培養液からアフィニティークロマトグラフィーにて精製したタンパク質溶液。本品は
---	--

小分けして－60℃以下で保存する。

ヤギ抗 HCP 抗体溶液：HCP 標準物質でヤギを免疫し、アフィニティークロマトグラフィーにて精製した抗体を、使用時にリン酸緩衝塩化ナトリウム試液で希釈し、● μg/mL にする。抗体は小分けして－60℃以下で保存する。

ウサギ抗HCP抗体溶液：HCP標準物質でウサギを免疫し、アフィニティークロマトグラフィーにて精製した抗体を、使用時にリン酸緩衝塩化ナトリウム試液で希釈し、● μg/mLにする。抗体は小分けして－60℃以下で保存する。

ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ抗体溶液：ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ抗体溶液（●●社製、製品番号XXXXX、又は同等品）を、使用時にリン酸緩衝塩化ナトリウム試液で希釈し、● μg/mLにする。

●●硫酸試液：●●試液 1000 mL 中に硫酸 0.5 mol を含む溶液。

●●試液：水 1000 mL に成分 X（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品）● g を含む溶液。

3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン基質液：0.2 mmol/L 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン二塩酸塩二水和物を含む pH 3.8 の 0.2 mol/L クエン酸緩衝液 10 mL に、薄めた過酸化水素(30) (1→20) 0.1 mL を混和し、直ちに用いる。

小分けして－60℃以下で保存する <7>。

ヤギ抗 HCP 抗体溶液：HCP 標準物質でヤギを免疫し、アフィニティークロマトグラフィーにて精製した抗体を、使用時にリン酸緩衝塩化ナトリウム試液で希釈し、● μg/mL にする。抗体は小分けして－60℃以下で保存する <7>。

ウサギ抗HCP抗体溶液：HCP標準物質でウサギを免疫し、アフィニティークロマトグラフィーにて精製した抗体を、使用時にリン酸緩衝塩化ナトリウム試液で希釈し、● μg/mLにする。抗体は小分けして－60℃以下で保存する <7>。

ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ抗体溶液：ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ抗体溶液（●●社製、製品番号XXXXX、又は同等品）を、使用時にリン酸緩衝塩化ナトリウム試液で希釈し、● μg/mLにする。

●●硫酸試液：●●試液 1000 mL 中に硫酸 0.5 mol を含む溶液

●●試液：水 1000 mL に成分 X（●●社製、製品番号 XXXXX、又は同等品）● g を含む溶液

3, 3', 5, 5'-テトラメチルベンジジン基質液：0.2 mmol/L 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン二塩酸塩二水和物を含む pH 3.8 の 0.2 mol/L クエン酸緩衝液に、使用時に過酸化水素を 0.015%となるよう添加する。

	解説 ● 試験条件 <1>：使用する分析カラムは、分析法の性能を保証する要素として、製品名の記載が求められる場合がある。 ● 試薬・試液 <2>：試液は濃度記載とした。 ● キャピラリーSDS 電気泳動法（非還元条件） <3>：ピーク面積の求め方は、規格値／判定基準に記載することも可能。 <4>：試料溶液と同濃度に調製した標準溶液から得られるサブピークが、予め規定する範囲内であることを確認する方法も可能。 ● 宿主細胞由来タンパク質 <5>：試験試料のタンパク質濃度で規定しても良い（“本品のタンパク質濃度が●● mg/mLになるようにブロッキング溶液を加える”等）。 <6>：洗浄回数を厳密に規定する必要がある場合は、洗浄回数を記載する。 <7>：更新する予定がある場合は、更新時の適格性評価の内容を記載する。
--	---

規格及び試験方法別紙

図1 ペプチドマップの参照クロマトグラム

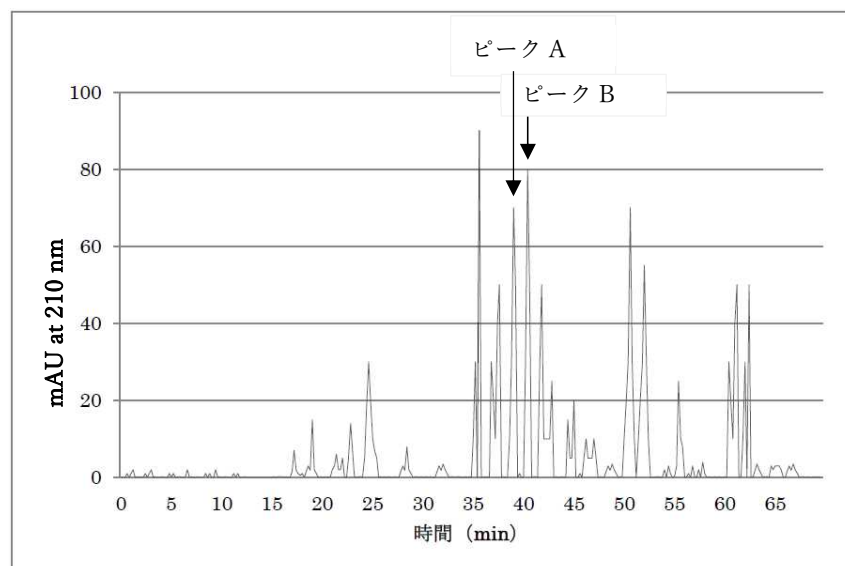


図2 キャピラリーSDS 電気泳動法 (非還元条件) 参照エレクトロフォログラム

