



実用化に向けた酵素反応

ロシュ・ダイアグノスティックス

酵素選択の注意点

使用酵素の確認

規制・法令

証明書

酵素保管・取り扱い

スケールアップの注意点

反応槽例

設備例概要

酵素反応(フロー合成)工業化例:水溶性基質

反応条件:反応前・終了操作

油溶性・固形基質の注意点

エステラーゼによる光学分割

まとめ

酵素選択の注意点

使用酵素の確認

規制・法令

証明書

酵素保管・取り扱い

スケールアップの注意点

反応槽例

設備例概要

酵素反応(フロー合成)工業化例:水溶性基質

反応条件:反応前・終了操作

油溶性・固形基質の注意点

エステラーゼによる光学分割

まとめ

酵素選択の注意点

使用酵素の確認 規制・法令

確認項目	遺伝子組換	Native	説明
カルタヘナ対応	✓		第2種拡散防止
GMP製造	✓	✓	GMPに順守して製造している
REACH規制	✓	✓	欧州化学品庁(輸出及び原料供給)
培養培地成分(TSE)	✓		動物由来原料使用有無
培養培地成分(抗生物質)	✓		抗生物質使用有無または残存確認
培養培地成分(宗教)	✓		イスラム教、ハラール対応、ユダヤ教 Kosher
遺伝子由来(宗教)	✓		一部イスラム教国 ブタ由来酵素
酵素残存性	✓	✓	API製造後の酵素残存確認(?)
宗教	(✓)	✓	動物由来酵素 製造時のDMFに掲載されるか(?)

カルタヘナ対応

Certificate

Roche LifeScience does not produce or place on the market any products that contain living modified organisms.

Roche LifeScience is operating in strict compliance with the Cartagena Protocol on Biosafety and EU Regulation 1830/2003.

Roche Diagnostics GmbH
i. V.



Dr. Klaus Riebel
Head of Quality Control
Operations Penzberg

i. V.



Dr. Bernhard Skrobranek
Head of Safety/Environmental Prot./QM
Site Management Penzberg

Liberase MNP-S non GMP 35 mg, Roche Applied Science ID 05578566001 is of microbial origin.

The only animal derived raw materials used in the manufacturing process of the products are:

- Fish gelatin derived from the skin of wild, deep-sea, cold water, kosher fish species
Steam injected prior to drying for a minimum of 10 seconds at 140+10°C, not autoclaved
- Casein obtained from bovine milk that has been autoclaved at 121°C for >20 min.
The country of origin is New Zealand.

Both raw materials are used in the fermentation process. No other raw materials of animal origin are used in the manufacturing process of these products.

The product is manufactured in Germany.

This certificate is valid until 30-Jun-2015.

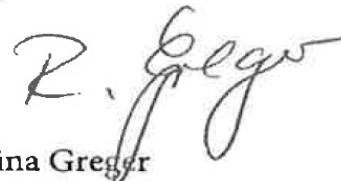
Roche Diagnostics GmbH

i. V.



Dr. Peter Thalhofer
Head of Microbial Fermentation / Enzymes
Divisional Quality Management

i. V.



Regina Gregor
Functional Lead Quality RAS
Divisional Quality Management

酵素選択の注意点

当局から指摘の特殊な例

酵素反応後、医薬品用途で使用了た製品の臨床試験申請前の事前相談にて

(質問)

製品使用時に利用した酵素の製造法(精製法)を開示してください。

(回答)

最終工程に“ヘパリン-セルロースカラム”を用いている。

(指摘)

ヘパリンは動物由来ですね。ヘパリンに混在する可能性のあるウイルスがないことを証明する文書を添付ください。

(回答)

使用しているヘパリンは医薬品用(注射で体内に投与)として認可されている製品です(書類添付)。

(指摘)

それでは不十分です。ウイルスなしの証明と、カラムのCIP(ウイルスをスパイクして不活化)のデータを示してください。

酵素選択の注意点

使用酵素の確認(自社製造品は除外)

供給安定性・製造法変更(契約締結)

- 将来的な使用を考えて供給量、供給安定性または将来の増量可否を確認
- 製造元の製造法変更に伴う事前サンプルの取得(3ロット)

酵素選択の注意点

酵素保管・取り扱い(全量使用・一部使用)
 安全キャビネット、手袋、ゴーグルは最低限使用
 ボトル全量使用推奨

酵素形状	使用時の注意	特記事項
凍結乾燥	飛散注意・吸湿注意 使用時温度調整	アレルギー惹起可能性
造粒(賦形材)	飛散注意・吸湿注意使用 時温度調整	アレルギー惹起可能性
液状(高濃度塩)	一部使用の際の採取量	酵素が不溶化しているため正確量の採取困難
液状(高濃度ポリオール)	一部使用の際の採取量	酵素が不溶化しているため正確量の採取困難
液状(凍結)	融解法および凍結法	凍結・融解サイクルの安定性確認必要

酵素選択の注意点

使用酵素の確認

規制・法令

証明書

酵素保管・取り扱い

スケールアップの注意点

反応槽例

設備例概要

酵素反応(フロー合成)工業化例:水溶性基質

反応条件:反応前・終了操作

油溶性・固形基質の注意点

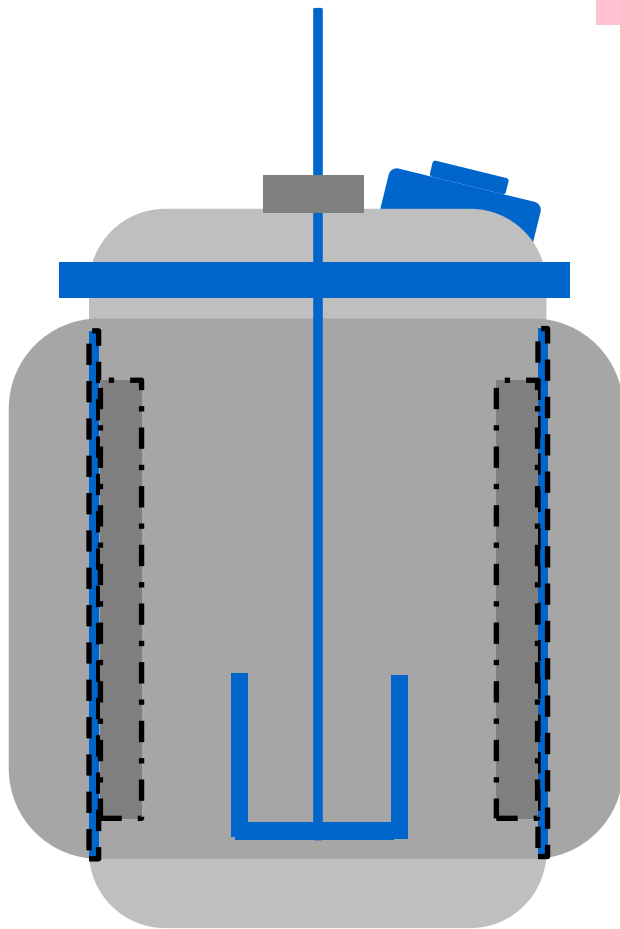
エステラーゼによる光学分割

まとめ

スケールアップの注意点

反応装置例

既存設備の簡単な改良で使用できる



設備注意点

材質

耐圧

攪拌翼

ジャケット

pH調整

スケールアップの注意点

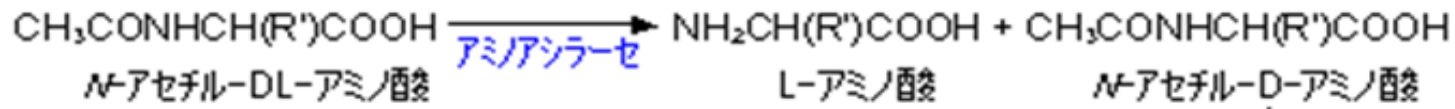
設備例概要

設備	選択	特記事項
材質	SUS 304, 316L, Glass Lying	事前に材質チェック必要
耐圧	耐圧なし 陰圧の操作	常温での反応 エステル合成(生成した水除去)
攪拌翼	反応液の粘度を最優先	小スケールでの反応確認(反応液の様子) のぞき窓から反応液確認後、攪拌力調整
ジャケット	2-60°C	固定化酵素保存、反応、CIP
pH調整	エステル加水分解反応 pH統制が必要な反応	アルカリ濃度と添加速度確認

スケールアップの注意点

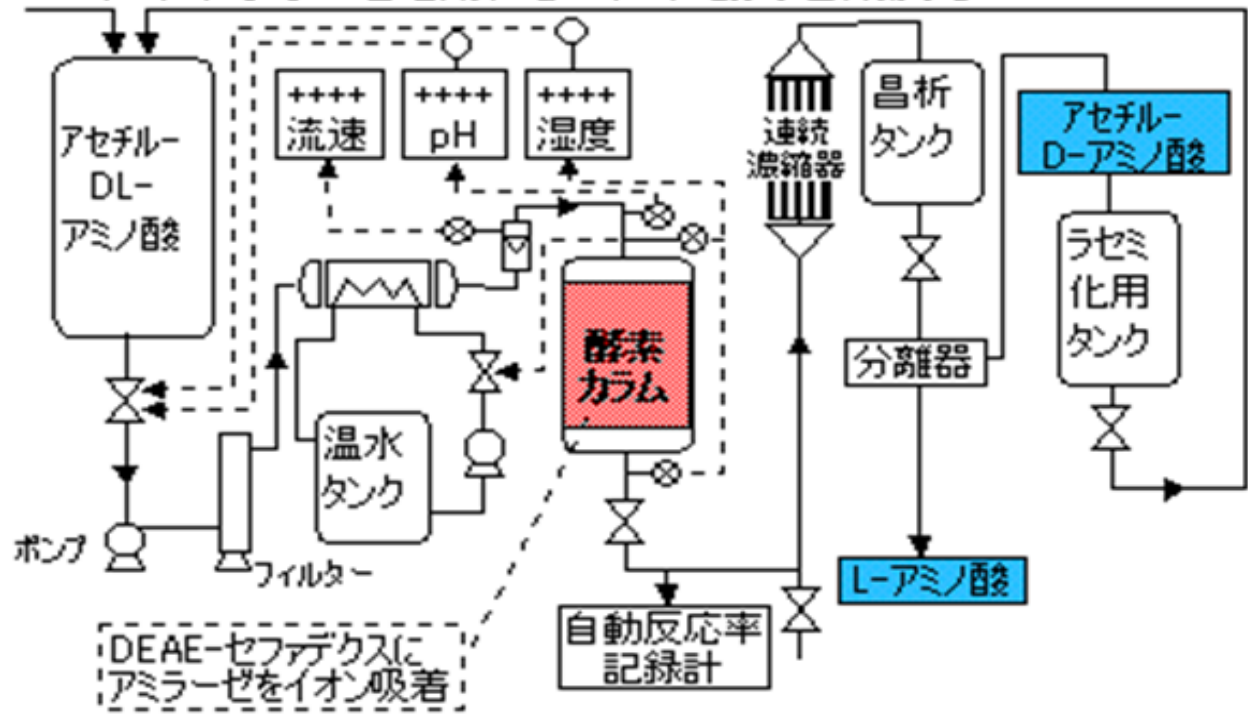
酵素反応(フロー合成)工業化例:水溶性基質

田辺製薬：現田辺三菱製薬研究報

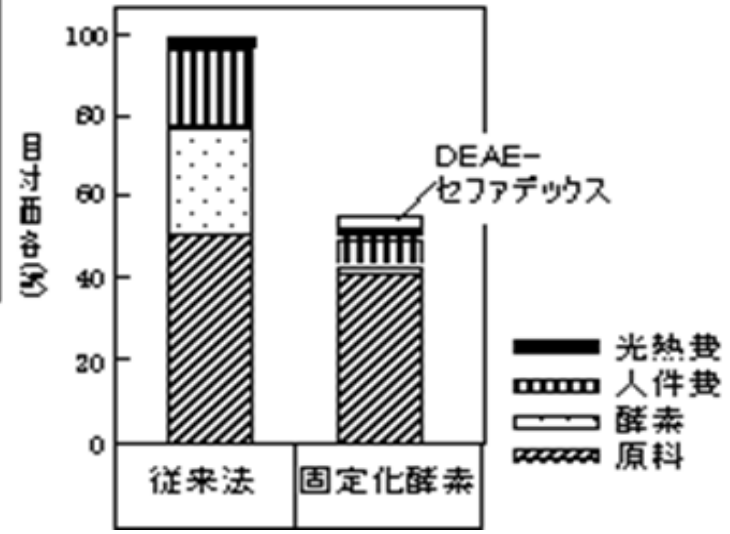


ラセミ化

アミノシラーゼを用いるL-アミノ酸の合成反応



DEAE-セファデックスにアミラーゼをイオン吸着



スケールアップの注意点

反応条件: 反応前・終了操作

検討項目	水溶性基質	油溶性基質
基質溶液	緩衝液に溶解	有機溶媒溶解 基質分散(攪拌分散・乳化分散)
生成物採取	限外濾過膜分離 ゲル濾過カラム分離	有機溶媒抽出
生成物濃縮	限外濾過膜分離 ゲル濾過カラム分離	減圧濃縮
最終製品	スプレイドライ 凍結乾燥 加熱乾燥	減圧濃縮

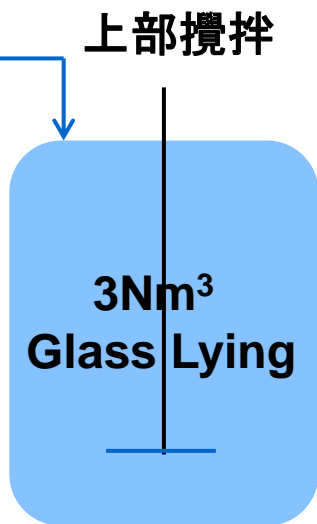
スケールアップの注意点

油溶性・固形基質の注意点

項目	方法	注意点
基質調製	油状基質: <ul style="list-style-type: none"> ● 緩衝液に基質を添加 ● 基質を高分子で乳化し添加 ● 攪拌法 	● 小スケールとスケールアップの攪拌力
	固形基質: <ul style="list-style-type: none"> ● 有機溶媒溶解後緩衝液に添加 ● 2相系反応 ● 乳化系反応 	● 反応液の均一性確認
有機溶媒抽出	● 有機溶媒添加により攪拌後静置	<ul style="list-style-type: none"> ● 酵素タンパクによる界面乳化により収率低下 ● 1昼夜静置・反応液簡易遠心分離・繰返有機溶媒抽出操作
廃液	<ul style="list-style-type: none"> ● 有機溶媒酵素変成後業者廃棄 ● 活性汚泥による中和処理 	● 河川排水時は各自治体の条例に従う

スケールアップ例 エステラーゼによる光学分割

新設
pH電極
pH制御
ポンプ連動

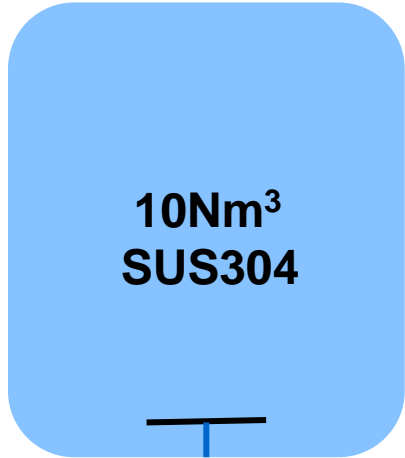


仕込: 1,000L
最終液量: 1,500L
有機溶媒抽出

両設備ともGMP認証

- ・基準書
- ・SOP・製造指図書作成
- ・Verification
- ・Validation

pH中和槽
新設設備なし



下部攪拌

仕込: 4,000L
最終液量: 6,000L
有機溶媒抽出

酵素選択の注意点

使用酵素の確認

規制・法令

証明書

酵素保管・取り扱い

スケールアップの注意点

反応槽例

設備例概要

酵素反応(フロー合成)工業化例:水溶性基質

反応条件:反応前・終了操作

油溶性・固形基質の注意点

エステラーゼによる光学分割

まとめ

まとめ

- 酵素を触媒として用いる場合は、法的要件の確認、将来的な供給安定性の確認
- 酵素取扱いは、作業者の安全に十分配慮が必要
- スケールアップは、ポイントを押さえたデータ取得が必要

CustomBiotech from Roche
Thank you for your attention