

Deviron™ C16 ウイルス不活化向け界面活性剤

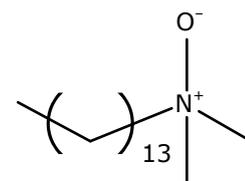
ウイルスクリアランスは、モノクローナル抗体 (mAb) の製造における重要な要素であり、要求される安全性補償レベルを達成するために原理の異なる複数の工程を含める必要があります。一般に、感染性ウイルスの対数減少率が4以上であれば、クリアランスまたは不活化工程は効果的もしくは頑健とみなされます。

ウイルスクリアランスの典型的なアプローチには、界面活性剤、ウイルス除去ろ過、低 pH 処理などがあります。長年にわたり、ウイルス不活化に非常に効果的な界面活性剤として Triton™ X-100 界面活性剤 (4-tert-オクチルフェノールポリエトキシレート) が一般的に使用されてきました。しかし 2017 年、オクチルフェノールエトキシレート (OPE) が欧州の承認リスト (REACH の付属書 XIV) に追加されました。REACH 規則は化学物質の登録、評価、認可および制限に関する規則で、ヒトの健康および環境に影響する可能性がある化学物質の製造、輸入および使用を規制するものです。

欧州の製造業者、輸入業者およびその下流の使用者が REACH の規制対象となります。REACH 付属書 XIV は 2021 年 1 月 4 日をもって施行されています。この日以降、Triton™ X-100 を含む OPE 製品は、欧州化学品庁 (ECHA) の認可を受けている場合が認可が免除されている用途での使用目的の場合を除き、当局によって EU 内での使用が禁止されます。

REACH 準拠のウイルス不活化用界面活性剤に対するご要望を受けて、当社では Deviron™ C16 界面活性剤 (N,N-ジメチルテトラデシルアミン N-オキシド、**図 1**) を選定しました。このアプリケーションノートには、清澄化された mAb 回収液中のエンベロープウイルスを迅速かつ確実に不活化するための Deviron™ C16 界面活性剤の使用例が記載されています。Deviron™ C16 界面活性剤は、検討したすべてのモデルウイルスを確実に不活化し、低濃度では Triton™ X-100 界面活性剤より効果的です。

化学名：	N,N-ジメチルテトラデシルアミン N-オキシド
別名：	ミリスチルジメチルアミン N-オキシド、TDAO
CAS 番号：	3332-27-2
分子量：	257.46 g/mol
CMC：	0.14 ~ 0.27 mM = 0.0036 ~ 0.007 wt%
安定性：	室温で 2 年間 (現時点の情報に基づく有効期間)
生分解性：	易生分解性 (OECD 301B 準拠の試験を実施)



TDAO

図 1. REACH 準拠、生分解性のウイルス不活化界面活性剤 Deviron™ C16 の化学構造および特性

界面活性剤によるエンベロープウイルス不活化試験方法

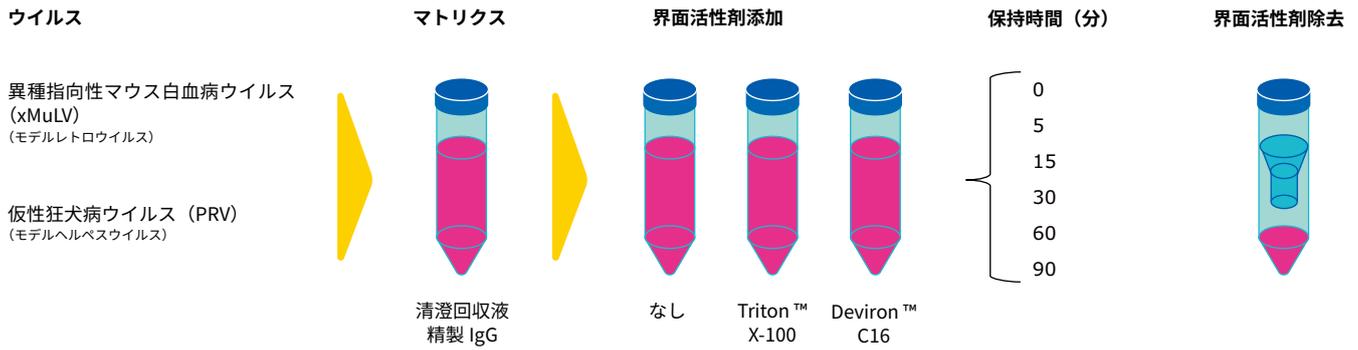


図 2. Deviron™ C16 界面活性剤によるウイルス不活化の試験方法

mAb 製造プロセスにおける 清澄回収液中のウイルス不活化

清澄回収液または精製 IgG 溶液中における 2 種類のエンベロープウイルス（異種指向性マウス白血病ウイルス (xMuLV) または仮性狂犬病ウイルス (PRV)）に対する Deviron™ C16 の不活化性能を評価しました。さらに、pH および温度が Deviron™ C16 の不活化活性に及ぼす影響も評価しました。試験方法の概要を図 2 に示します。この試験方法には ASTM E3042-16 (Triton™ X-100 処理によるげっ歯類レトロウイルス不活化工程の標準手順) に規定されるパラメータが含まれます。

mAb の製造に多用されるチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞に内在するレトロウイルス様粒子のモデルとしてげっ歯類レトロウイルスの xMuLV を使用しました。ヘルペスウイルスのモデルには仮性狂犬病ウイルスを使用しました。

以下の試験では、0.2 μm フィルターを過して清澄化した CHO 回収液、あるいは精製 IgG 溶液に、各モデルウイルスを別々に添加しました。これらの液に、Deviron™ C16 または Triton™ X-100 を規定の最終濃度となるよう添加しました。ウイルスとマトリクスの複数の組合せを用いて、ウイルス不活化に対する pH および温度の影響を評価しました。クロマトグラフィー樹脂性の界面活性剤除去カラムを用いて界面活性剤を除去し、TCID50 (50% 組織培養感染量) アッセイにより残留感染性ウイルスを測定しました。

図 3 は、清澄回収液中の Triton™ X-100 および Deviron™ C16 による xMuLV の不活化活性の比較です。左のグラフがウイルス力価の経時変化、右のグラフが対数減少値 (LRV) の経時変化を示しています。Deviron™ C16 は保持時間 60 分以内に、ASTM E3042-16 の Triton™ X-100 処理で得られるげっ歯類レトロウイルス不活化の保証レベル (対数減少率 4 以上) を満たしました。Deviron™ C16 で 5 分間処理した試料中に、感染性ウイルスは検出されませんでした。

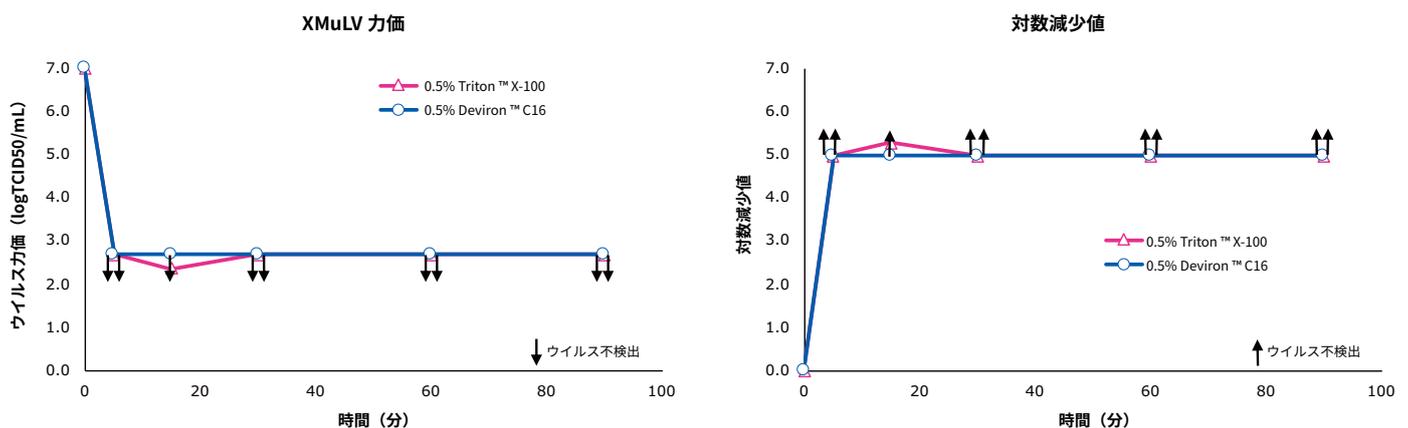


図 3. 清澄回収液中の Triton™ X-100 および Deviron™ C16 による xMuLV 不活化活性の比較

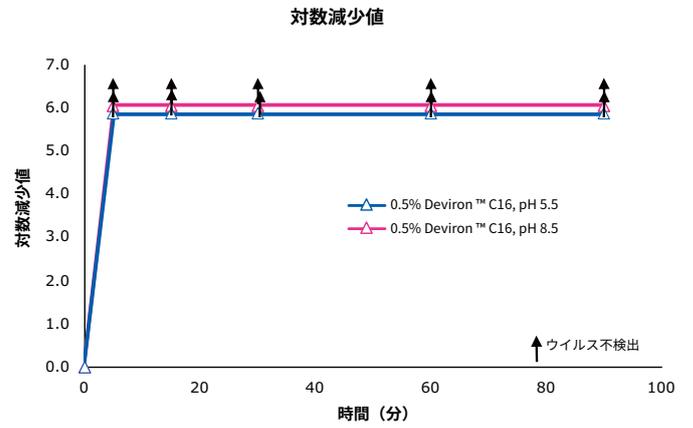
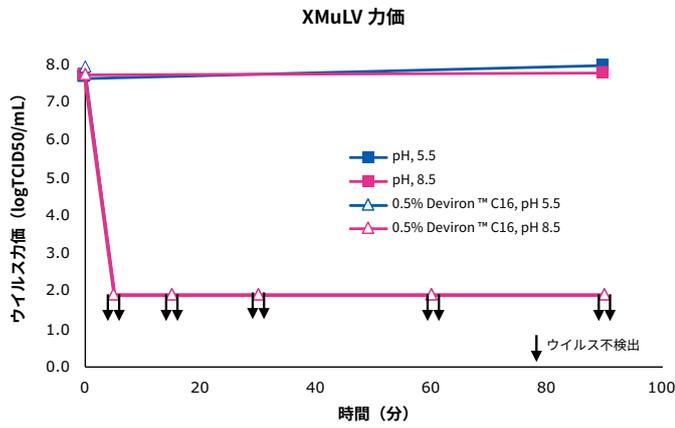


図4. pH5.5～8.5での Deviron™ C16による清澄回収液中のxMuLV不活化活性

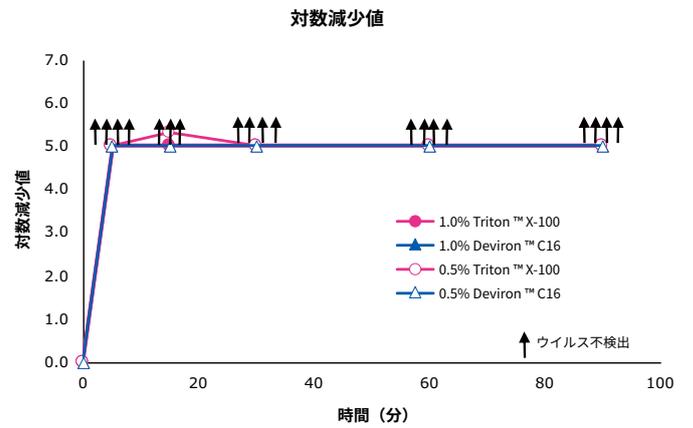
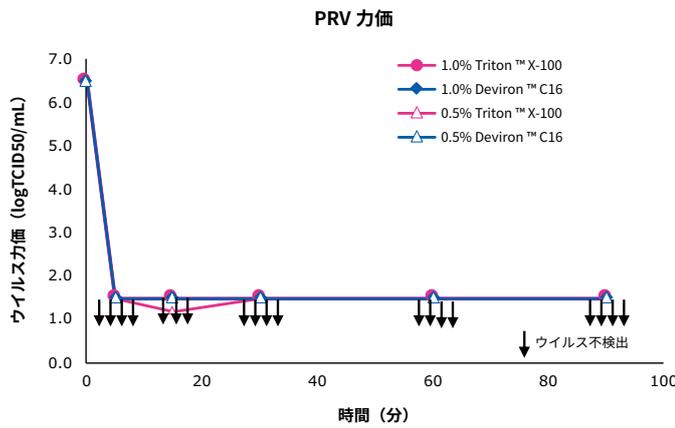


図5. 清澄回収液中の Deviron™ C16によるPRV不活化活性

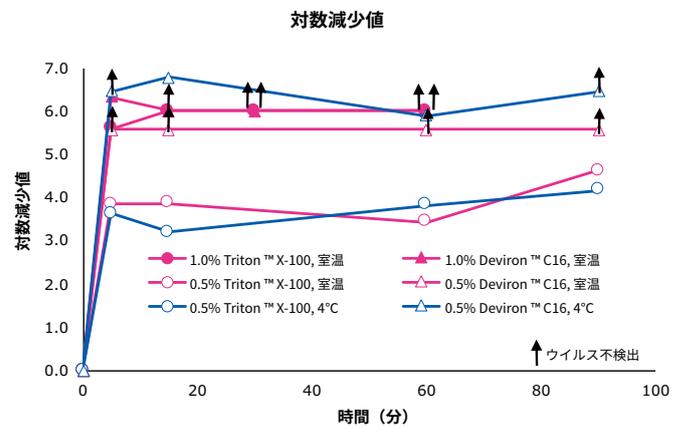
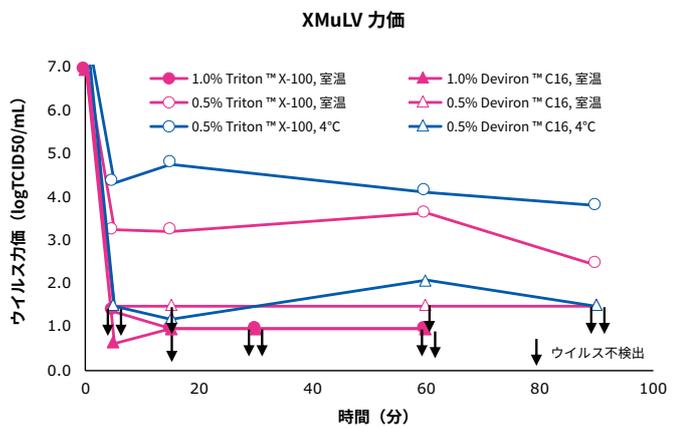


図6. 精製IgG溶液中の Deviron™ C16によるxMuLV不活化活性

同様の試験において、0.5%(w/v)の Deviron™ C16 で処理したとき、pH 5.5 および pH 8.5 の清澄回収液中で xMuLV の対数減少率は4以上でした。以上のデータから、ASTM E3042-16 で規定される6.0～8.0のpH範囲で Deviron™ C16 はげっ歯類レトロウイルスを不活化することが示されました (図4)。

Deviron™ C16 は Triton™ X-100 と同様の PRV 不活化効果を示しました (図5)。いずれの界面活性剤も0.5%または1.0%の濃度で30分処理後に感染性ウイルスは検出されませんでした。

図6は、劣悪条件とみなされる4°Cでも Deviron™ C16 が xMuLV を不活化することを示しています。精製IgG溶液中での Deviron™ C16 の xMuLV 不活化活性は、各インキュベーション温度における同濃度の Triton™ X-100 と同等またはそれ以上であることが示されました。

以上の結果から、Deviron™ C16 は各種モデルウイルスに対する不活化性能が Triton™ X-100 と同等であり、低濃度では Triton™ X-100 より優れていることが示されました。

まとめ

2021年1月4日以降、Triton™ X-100 は、欧州化学品庁 (ECHA) の認可を受けている場合か認可が免除されている用途での使用目的の場合を除き、当局によってEU内での使用が禁止されています。Triton™ X-100 界面活性剤の代替品として、Deviron™ C16 は REACH 準拠の生分解性界面活性剤であり、0.5%の濃度でも非常に効果的で、通常わずか5分の処理で感染性ウイルスは検出限界以下まで低下します。

ASTM E3042-16 に規定される条件下で実施されたウイルス不活化試験において、Deviron™ C16 を0.5%の濃度で使用したとき xMuLV の対数減少率は5～6であり、室温 (19～22°C) または低温 (4°C) で、pH5.5～8.5で5分間処理後にウイルスは検出されませんでした。検討したすべての条件で、Deviron™ C16 のウイルス不活化性能は Triton™ X-100 と同等以上でした。

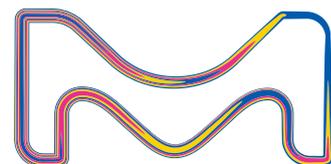
Emprove® Evolve プログラムは、Deviron™ C16 界面活性剤など、医薬品および生物医薬品製造の初期段階で使用される目的に合った高品質の原材料に関する包括的な文書を提供します。

Emprove® Evolve 製品ラインは、変化する情勢に対応し、実験室グレードとGMP準拠の原材料や出発物質の間のギャップを埋めることができます。Emprove® 製品ラインは、詳細な文書やサプライチェーンの透明性と管理によりお客様の品質リスクアセスメントと重要原材料の開発規制要件の遵守をサポートします。

Facebookもチェック 

最新の技術情報やWebinar・イベント情報を配信!

メルク プロセスソリューションズ 



本紙記載の製品構成は諸般の事情により予告なく変更となる場合がありますのでご了承ください。本文中のすべてのブランド名または製品名は特記なき場合、Merck KGaAの登録商標もしくは商標です。本紙記載の内容は2022年12月時点の情報です。Merck, the vibrant M, and Millipore are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. ©2021 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved. Original is Lit. No. MK_WP6805EN Ver 1.0

メルク株式会社

ライフサイエンス プロセスソリューションズ事業本部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら www.merckmillipore.jp

製品・技術に関するお問合せ : PStechservice_JP@merckgroup.com

注文に関するお問合せ : PScommercialservice_JP@merckgroup.com

Tel: 03-4531-1143

PSM299-2212-PDF-MA