

培地の製品化について —製造管理と品質管理を中心に—

田中憲志

日本製薬株式会社 ライフテック部 学術グループ 〒598-8558 大阪府泉佐野市住吉町 26 番

Production of culture medium — Mainly manufacturing control and quality control —

Kenji Tanaka

Nihon Pharmaceutical Co., Ltd., Life Tech Division, Technical Marketing Group
26 Sumiyoshi-cho, Izumisano, Osaka 598-8558, Japan

1. はじめに

微生物株の単離、培養、保存等、微生物を扱う際に培地は必須のファクターである。微生物を人工的な環境で増殖させる操作を培養といい、微生物の増殖に必要な栄養素を人工的に加えた環境を培地という。微生物の増殖に必要な環境条件は、主に、温度、酸素、pH、浸透圧、水分、酸化還元電位などがある。また微生物の増殖に必要な栄養素には、水、炭素源、窒素源、ビタミン類、無機塩類などがある。自然界には多種多様な微生物が存在し、全ての微生物を一つの培地で培養できる培地というものは存在しない。微生物の代謝は多様であるため、各々の微生物種に応じた環境条件、栄養素から成る培地が設計されている。

一方、設計された培地処方どおりに培地を調製しても、目的とする微生物の発育が生じない場合がある。このような場合、培地側の原因としては、培地原料そのものや、培地の保管状態に問題があることや、培地が正しく調製されていないなどのことが考えられる。

今回、日本製薬株式会社における培地の製品化について、その製造管理と品質管理を中心に述べる。

2. 日本製薬株式会社における培地の製品化

弊社は、アミノ酸専門メーカーとして1921年に創立し、1937年に微生物培養基材「ポリペプトン」を発売して以来、微生物培養基材、微生物試験検査用培地、細胞培養用培地等、培地分野の拡充を行っている。2007年7月現在、115品目、144容量の培地製品を取り扱っており、それらの内訳を図1に示す。弊社にお

ける一般的な培地の製品化までの流れは、処方化検討に始まり、中量試製、大量試製、本生産となる。処方化検討は、目的とする培地の規格に適合させるための段階、中量試製は、生産レベルでの条件決め段階、大量試製は、生産レベルでの確認の段階である。生産された製品は、製造管理及び品質管理の結果を適正に評価して出荷の可否を決定する。

一方、医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準をGMP (Good Manufacturing Practice) と称す。このGMPの要求事項の一つに、“バリデーション”と称する項目がある。バリデーションは、医薬品の製造や品質管理に必要な、設備や手順、工程が「期待される結果を検証」し、これを「文書化」することによって、目的とする品質に適合する製品を恒常的に製造できるようにすることを目的としている。培地は医薬品ではないが、弊社では、バリデーションに基づいた培地の製造管理及び品質管理を行っている。

3. 微生物培養基材と微生物試験検査用培地

微生物培養基材は、微生物の窒素源として利用されるものであり、ペプトンと酵母エキスに大別される。ペプトンは、様々なタンパク質素材を酵素によりペプチド、アミノ酸にまで分解し、精製したものである。また、酵母エキスは、酵母の抽出物であり、各種ビタミン、ミネラル、アミノ酸が極めて豊富に含まれている。一例として、弊社製品であるポリペプトンの製造工程概略を図2に示す。これら微生物培養基材は、弊社指定菌株による試験で一定以上の性能を示すことを確認している。

微生物試験検査用培地は、ペプトンのような窒素源



図1 日本製薬株式会社の培地製品群

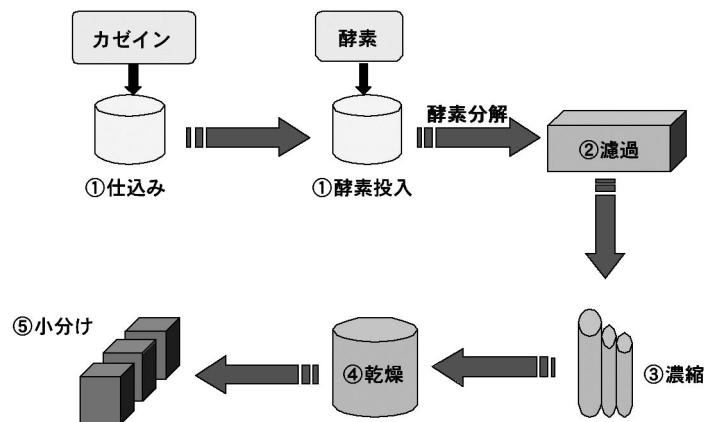


図2 ポリペプトンの製造工程

の他、炭素源、塩類等を混合し、調製したもので、微生物の試験検査に用いられる。微生物試験検査用培地は、日本薬局方（日局）や、食品衛生検査指針、衛生試験法、上水試験方法などの公定書に記載されており、弊社では日局記載培地を中心に製品化に取り組んでいる。2006年4月1日に施行された第15改正日本薬局方（日局15）において、微生物試験関係が記載されている項目を表1に示す。一般試験法は、共通な試験法、医薬品の品質評価に有用な試験法及びこれに関連する事項をまとめたものであり、参考情報は、日局の

附録と位置づけられているものである。

前述のバリデーシヨンの考え方を日局の微生物試験法に適用すると、その一つに“培地性能試験”がある。すなわち培地性能試験とは、調製した培地に既知の代表菌を接種し、一定量以上の回収率を示すことをデータで示すことにより、使用する培地の妥当性を確認することである。弊社の微生物試験検査用培地は、各々の培地の試験菌株による培地性能を確認しており、それぞれの規格に適合していることを確認しており、日局試験用培地には、培地性能試験記録が添付されてい

表1 第15改正日本薬局方

一般試験法

4. 生物学的試験法/生化学的試験法/微生物学的試験法
4.05 微生物限度試験法
1. 生菌数試験 細菌/真菌
2. 特定微生物試験 大腸菌/サルモネラ/緑膿菌/黄色ブドウ球菌
4.06 無菌試験法
5. 生薬試験法
5.02 生薬の微生物限度試験法
1. 生菌数試験法 細菌/真菌
2. 特定微生物試験 腸内細菌とその他グラム陰性菌/大腸菌/ サルモネラ/黄色ブドウ球菌
8. その他
8.01 滅菌法及び無菌操作法並びに超ろ過法

参考情報

4. 遺伝子解析による微生物の迅速同定方法
10. 最終滅菌医薬品の無菌性保証
11. 最終滅菌法及び滅菌指標
13. 製薬用水の品質管理 微生物モニタリング
20. バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験
21. 培地充てん試験法
22. 微生物殺滅法
23. 非無菌医薬品の微生物学的品質特性
28. 保存効力試験法
29. 無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法

る。

4. R2A 培地の製品化

R2A 培地は、1985年に処理された飲用水中の細菌数測定を目的に考案された培地であり、欧州薬局方 (European Pharmacopoeia) や米国水質標準試験方法 (Standard Method for the Examination of Water and Wastewater 20th ed.) などの公定書に記載されており、日本においても上水試験方法の従属栄養細菌測定用培地として記載されている。この R2A 培地が、日局 15 の参考情報に記載されるにあたり、弊社では、国内の研究機関や大学とともに、これまで記載されていた公定書では記載が無かった培地性能試験方法に関する共同研究を行った。ここでは、その研究内容から培地部分を中心として、以下に簡単に述べる。R2A 培地の培地成分について、異なるグレードやロットを用いたとき、検討に用いた細菌株の発育への影響を調べた。R2A 培地の培地組成及び検討した培地原料組成を表 2 に示す。検討に用いた細菌株の大抵が、図 3 に示したように培地原料によって発育に差が生じないのに対し、一部の細菌株において、培地原料によって発育に大きく差が生じるものがあった (図 4)。このように、同じ培地原料名であっても、そのグレードやロットによって微生物の発育に影響を及ぼすことがあるため、注意が必要である。

ペプトンなどの微生物培養基材や、一般的な微生物試験検査用培地は、吸湿性が高いものが多く、培地原料の保管から製造、培地製品の保存には、温度や湿度管理が重要である。

表2 R2A 培地の培地原料検討 (医薬品研究, 35: 638-652, 2004 より抜粋)

組成値	培地 No.	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
ペプトン	0.5 g	a	b	c	c	c	c	c	c	b	c	c
酵母エキス	0.5 g	a	b	c1	c1	d	d	c1	c2	b	c1	d
カザミノ酸	0.5 g	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
ブドウ糖	0.5 g	a	b	b	b	b	b	c	c	c	c	c
溶性デンプン	0.5 g	a	b	b	b	b	b	c	c	c	c	c
リン酸一水素カリウム	0.3 g	a	b	b	b	b	b	c	c	c	c	c
硫酸マグネシウム (7 水塩)	0.05 g	a	b	b	b	b	b	b	b	b	b	b
ピルビン酸ナトリウム	0.3 g	a	b	b	b	b	b	c	c	c	c	c
寒天	15 g	a	b	b	c1	b	c1	c2	c2	×	×	×

- ・各成分の a ~ d は、各成分のグレードが異なることを示す。
- ・c1, c2 は、グレード c の Lot. 1, 2 を示す。
- ・各培地とも pH は 7.2 ± 0.2。

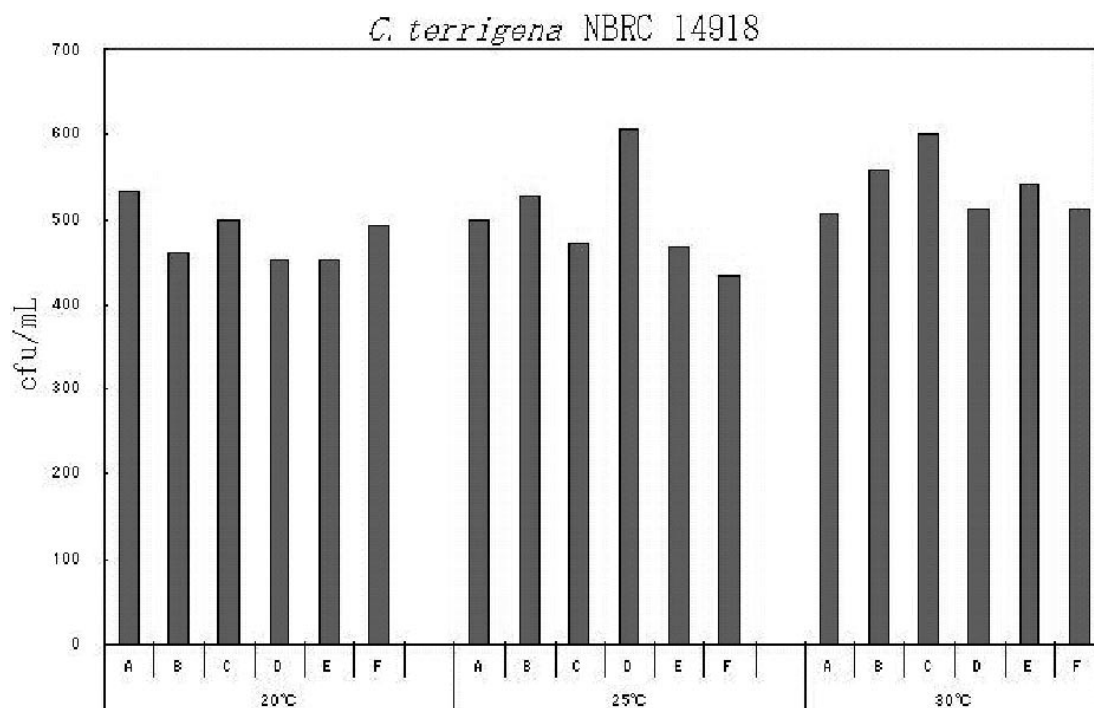


図3 *C. terrigena* NBRC 14918 の発育 (医薬品研究, 35 : 638-652, 2004 より抜粋)

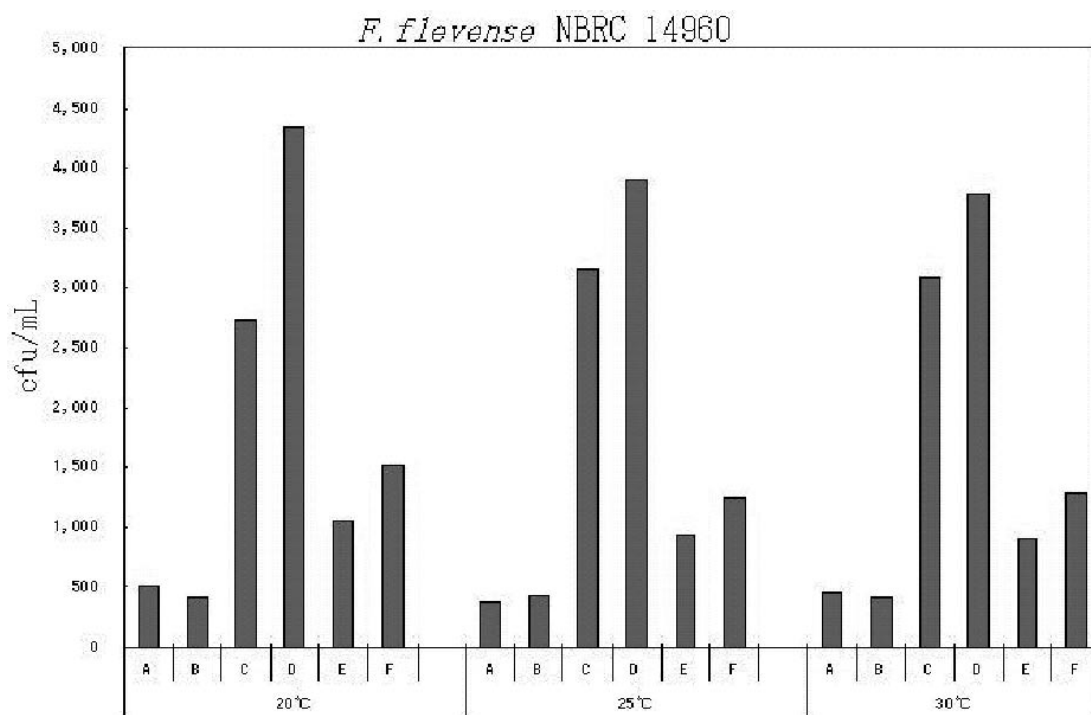


図4 *F. flevensis* NBRC 14960 の発育 (医薬品研究, 35 : 638-652, 2004 より抜粋)

5. おわりに

微生物を、学術的及び産業的生物遺伝資源として、それらを集集、保存するために最適な培地の準備及び利用は不可欠である。微生物培養基材のペプトンや酵母エキスは、その原料が天然物由来であるため、使用原料や、製造工程によって、微生物の発育に影響を及ぼす場合がある。弊社における培地の製造及び品質は、GMPのバリデーションの考えを取り入れ、環境マネジメントシステムであるISO14001及び品質マネジメントシステムであるISO9001の認証のもとに管理している。

<演題に対する質疑>

Q：培地のロットによっても微生物株の生育がかなり異なるという話があったが、その原因究明は行っているのか？

A：ロットによって微生物株の生育に影響があるのは、培地原料のペプトンや酵母エキスなどが天然物である影響が強く、そのため原因までつかめないものもある。通常は、小規模の培養検討で生育を確認した後、大量製造するということで対応している。

Q：培地中に酵母エキスを入れるがメーカーにより生育の仕方に大きな差がある。ものによっては酵母エキスが明らかに菌の発育に影響を及ぼしていると思えないようなことがあるのだが？

A：原料酵母や抽出法がメーカーにより異なっているためと思われる。日本薬局方の微生物試験用の培地は指定菌株で確認するので管理しやすいが、ペプトンや酵母エキスでは共通の指定菌株が無いた

めに、ある意味、管理が難しい。

Q：酵母エキスなどで例えばビタミン類が少ないから足しているというようなことはルール違反なのか？ 他にはなにも加えないで調整しないといけないのか？

A：日本薬局方（日局）には「適当な条件下で…」という記載のみで、製造工程まで規定していない。したがって、製造段階でビタミン類を添加することには問題は無いのではないかと思う。ただ、「本品には特別に炭水化物を加えない」という記載はある。

Q：培地用の酵母エキスは、食品に使われるものとは別の次元で管理されるものなのか？

A：食品グレードは、食品に関する法律に従って管理されなければならないが、培地グレードは、そういった管理は無い。したがって食品グレードを培地に使用することは可能だが、培地グレードを食品に使用することはできない。

Q：培地の製品化を考えるとときに商売上その培地の組成を明かさないとすることがあると思うが、論文を書いたり研究したりする場合に組成がわからないと困る。経済上のことと研究上の問題がなかなかかみ合わないことが危惧されるのだが？

A：研究と商売との絡みは難しい問題である。

<回答に対する質問者からの意見>

同じ組成のものを作って売ってはいけないという特許法のようなものが無いのであれば、新たな制度作り等が必要のように思う。