

ケーススタディ

インタビュー：オリゴヌクレオチドの革新的な分析同定試験手法の評価

Vetter について聞かせてください。

Vetter は、ドイツのラーベンスブルクに本社を置く家族経営の受託開発製造機関（CDMO）であり、ドイツ、オーストリア、米国に製造拠点ががあります。現在世界中で 5,700 名を超える従業員が勤務しており、幅広い構成（シリンジ、カートリッジ、バイアル、二室式システム）の無菌注射剤を専門とする企業です。主要なサービスとして、臨床および商業生産、二次包装、および非経口薬物用の装置組み立てがあります。

Vetter は、納入品、工程内および充填医薬品の品質管理（QC）試験、安定性に関する研究、開発上の分析などの分析サービスを通じた、バイオテクノロジーおよび医薬品分野のお客様の製造プロセスの支援の経験が豊富です。

Vetter の詳細については、vetter-pharma.com をご覧ください。

ラボではどのような種類の作業を実施していますか。

Vetter Development Service（VDS）内の Analytical Science Laboratory（ASL）は、cGMP の要件に従った開発およびプロセス特性解析を目的とする分析を専門にしています。VDS は、お客様の製品の開発、特に製造またはパッケージングのプロセスを支援しています。

ASL は、製造および充填プロセスの開発と実装を分析面で支援しています。例えば、開発上の凍結乾燥に関する研究での残留水分の測定、開発上の混合または排気に関する研究でのタンパク質の濃度と安定性の測定、または ASL「Center of Excellence」での H₂O₂ の測定を使用したクリーンルームのクリーニングのプロセス開発の支援などがあります。



Alexandra Heussner 博士

ラボマネージャ
Analytical Science Laboratory（ASL）、
Development Service、
Vetter Pharma-Fertigung GmbH & Co. KG、
ラーベンスブルク、ドイツ



Melanie Zerulla-Wernitz 博士

Analytical Science Laboratory（ASL）長、
Development Service、
Vetter Pharma-Fertigung GmbH & Co. KG、
ラーベンスブルク、ドイツ

Vetter は、眼科用製品を含む、非経口医薬品の充填に関する分野のリーディングカンパニーのうちの 1 社です。そのため、ASL「Center of Excellence の粒状物質」中の肉眼では見えない粒子の分析が、ラボ機能のかなりの部分を占めています。

さらに、実行可能性に関する研究およびラボの適格性評価または手順のバリデーションを通して、お客様から Vetter へのおよび Vetter 社内での分析メソッドの移管を支援しています。

最後に、新しい分析手順と技術の全社的な実装を支援することにより、分析システムを絶えず最新の状態にしてアップグレードし、新製品に対して最先端の技術を提供しています。

直面した課題について聞かせてください。

オリゴヌクレオチドは、分析手法に関する製品の承認において、最先端の充填手法を使用せずに製造されている新たなクラスのバイオ医薬品です。Vetter は CDMO として、多くの異なる製品を持つ多数のお客様のニーズに対応するためのスマートな分析ソリューションを必要としています。Vetter は、開発および商業生産におけるお客様の将来のニーズに対応するために、成功する見込みの高いシステムまたは手順の候補を予測する必要があります。これにより、患者の安全を保証するとともに無理のない時間と作業において規制項目に適合するのに不可欠な分析データを提供できます。

別の課題は、cGMP 環境では、分析システムまたは手順の技術革新またはシステムのアップグレードが規制上厳しく要求され、多くの場合で技術的に複雑であるということです。分析技術の専門家、品質保証の専門家、および IT の専門家を含む統合的なアプローチが必要になります。データインテグリティの要件を満たすソリューションを探し出すと同時に、必要な機能を維持したまま使いやすい分析システムを実現することは、特に困難な場合があります。Vetter は、特にコンプライアンスの順守に関して、お客様および Vetter の将来的なニーズを可能な限り早く予測するように取り組んでいます。

これらの課題を克服するために、Agilent Cary 3500 UV-Vis 分光光度計はどのような点で役に立ちましたか。

現在のプロジェクトの 1 つにおいて、オリゴヌクレオチドベースの医薬品の分析を最適化することを目指しています。例えば、HPLC または UPLC ベースの手順のような標準の同定 (ID) 確認試験では通常、このような製品の同定の確認に失敗します。

現在、融解温度 (Tm) をインタクト質量測定と組み合わせて使用し、シーケンスと質量を組み合わせて確実な同定を実現する傾向があります。さまざまな分析手法についてこれまで十分に調査されていますが、この Tm ベースの手法については専門家会議で議論されており、多数のオリゴヌクレオチドの開発および製造の医薬品企業により支持されています。

このアプローチでは、Agilent Cary 3500 UV-Vis により最先端の技術が確立されています。温度は、組み込み型ペルチェ素子で正確に設定して、キュベット内プローブで制御できます。4 つのキュベットペアを備えたマルチゾーン機器を設計することにより、最大 4 つの異なる温度ゾーンにおいて、サンプルと参照物質を並行して測定できます。

オリゴヌクレオチドの同定試験に UV-Vis を使用するのなぜですか。

医薬品の製造プロセスの主な目的は、医薬品のすべてのユニットに適正な量と品質の指定医薬品が含まれていることを確認することです。これを達成するのは、高品質の製造プロセスと QC 試験です。

同定試験における現在の QC 手法の中には、MS/MS シーケンシングまたは不完全配列分析による新たなシーケンス確認のような非常に高度な技術があります。特に一本鎖オリゴヌクレオチドの場合は、インタクト質量測定を、MS フラグメンテーションパターン、Tm、または NMR 分析のようなシーケンスに左右される 2 番目の技術と組み合わせて、完全に特性解析された参照標準と比較することができます。二本鎖オリゴヌクレオチドの場合は、アニール処理の前に個々の一本鎖のインタクト質量も測定する際には、同定試験を、インタクト質量測定と形成済み二本鎖の確認の組み合わせにまで減らすこともできます。¹

その他の可能性も存在しますが、Tm と質量の測定を組み合わせることが、将来の QC 同定試験における標準的な分析手法になると確信しています。これは、科学的な観点および規制とビジネスの観点の両方から見て妥当な手法です。QC ラボに UV ベースの Tm システムと手順を実装することは比較的簡単であり、所有コストも低く抑えられます。メソッドでは、MS/MS シーケンシングや NMR のようなその他のアプローチよりも複雑さが低減し、多くの場合、高度にトレーニングされた専門家を採用する代わりに、新しい機器と手順に関して即座にトレーニングできる経験豊富なスタッフを活用できます。

これらの機器では標準の UV-Vis メソッドも実行できるため、既存の機器プールに統合して、最初から高い設備稼働率を実現することができます。Vetter では、ASL および QC ラボにこの機器を適切に実装しています。

オリゴヌクレオチドの同定試験において、Agilent Cary 3500 UV-Vis をどのように使用しましたか。

機器と Tm アプリケーションに関する詳細な知識を得るために、いくつかの実験を実施しました。異なるパラメータ設定値を使用した機器性能の調査では、非常に堅牢な性能が得られました。この実験については専門家による議論が実施されており、最近の白書に詳細が記載されています。^{2~4}

同定試験における Tm 測定の感度を測定することを目的とした別の実験では、さまざまなオリゴヌクレオチドシーケンスに対する手順の特異性について調査しました。モデルのオリゴヌクレオチドシーケンスおよび変異体を設計、合成、および分析しました。これにより、一塩基の交換または一塩基の欠失または挿入の場合でも、オリゴヌクレオチド二本鎖で測定した Tm が大幅に変化することがわかりました。オリゴヌクレオチドシーケンスでの微妙な変化に対するメソッドの一般的に高い特異性により、医薬品の QC 環境でのオリゴヌクレオチドの同定試験における適合性を確認しました。この手順は、社内の要件および Vetter のお客様と規制機関が要求する要件に適合するのに十分に堅牢で高感度です。⁵

以上およびその他の進行中の実験により、オリゴヌクレオチドおよび特別な分析の分野における Vetter の専門知識が深まりました。

1 回の測定にどれくらいの時間を要していますか。それは困難なことですか。

選択したパラメータに応じて異なりますが、GMP 環境で 1 つのサンプルの 1 回の分析に要する時間は、1 時間未満です。必要な時間を実現するためには、昇温速度が非常に重要になります。推奨オプションに含まれる 10 °C/min の昇温速度により、測定時間は 10 分です。

Agilent Cary 3500 UV-Vis システム自体は簡単に使用できます。経験豊富なラボの技術者または研究者であれば、短期間のトレーニングでシステムと手順を使用できるようになります。

アジレントとの協力における経験を聞かせてください。

ASL および QC における Tm 分析で使用する機器を選択する際にアジレントを採用しました。Vetter は Agilent Cary 3500 UV-Vis を最初に使用したユーザーのうちの 1 社でした。また知る限りでは、FDA 21 CFR Part 11 のコンプライアンスガイドラインに従った規制環境における、ソフトウェアを使用した最初のユーザーでもありました。

長期間にわたるアジレントとの協力において有益な経験が得られました。QC では、Agilent HPLC システムを含む、さまざまなアジレントの機器を使用していると同時に、ASL では、Agilent 7800 ICP-MS を使用しています。アジレントは、サービスおよび疑問解決の点において信頼できるプロフェッショナルなパートナーです。複雑な問題に関しても、アジレントの技術者は短期間のうちに包括的な支援を提供してくれました。

この技術の将来についてどのようにお考えですか。

新たなチャンスが発生した際に、引き続きこの同定試験の性能について調査する予定です。また、特にメソッド移管に適した分析手順が存在しない新製品またはクライアントに対しては、同定測定の迅速な実装を可能にするために現在保有している知識に基づいて、分析プラットフォーム手順を確立して検証することを目指しています。

この目標には機器のシステムアップグレードが含まれており、これによりデータ解析の精度をさらに向上させます。2019 年後期に市場に導入した直後にシステムを実装して適格性評価していますが、依然として規制環境での 21 CFR Part 11 に必要な機能を備えたソフトウェアの最初のバージョンを使用しています。現在ではソフトウェアをアップデートすると、平滑化機能などデータ解析用の新しい標準搭載の計算機能および導関数の拡張機能が提供されます。これらの機能はメソッド内に保存でき、データ採取の最後に自動的に適用できます。現在はアジレントと協力して、製品固有の手順のバリデーションではなく、システムレベルでどのようにしてこれらの機能を適格性評価するかについて評価しています。

著者について

Alexandra Heussner 博士は、ドイツのラーベンスブルクに拠点を置く Vetter Development Service 内の経験豊富な学際的科学者でラボのマネージャーです。Heussner 博士は、Vetter が天然の毒物および医薬品薬物に関する毒物学を理解するのに貢献しており、生物科学、情報技術、および統計学を統合することにより、メソッドの開発と実装を支援しています。彼女は、英国のサンダーランド大学で応用科学の博士号を取得しており、長年にわたり学術研究に従事した後、2016 年に Vetter に入社しました。現在彼女は、Analytical Science Laboratory のチームとともに分析手順の実装、開発、バリデーションに取り組んでいます。彼女は、Parenteral Drug Association (PDA) のメンバーです。

Melanie Zerulla-Wernitz 博士は、Analytical Science Laboratory の長であり、ここで彼女は自然科学と応用科学を組み合わせた多様性に富んだ科学者のチームを率いています。彼女は、ドイツのコンスタンツ大学で自然科学の博士号を取得しています。長年にわたり前臨床開発に従事した後、2004 年に Vetter に入社しました。彼女の経歴は品質管理部門から始まり、次に Development Service に異動しました。彼女はシカゴの Vetter Development Service に 1 年間にわたり勤務していますが、引き続き Analytical Science Laboratory を率いており、サービスと分析ポートフォリオの拡大に取り組んでいます。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

RA44813.3348032407

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2022

Printed in Japan, September 30, 2022

5994-5144JAJP

参考文献

1. Capaldi, D. et al. Strategies for Identity Testing of Therapeutic Oligonucleotide Drug Substances and Drug Products. *Nucleic Acid Therapeutics* **2020**, 30(5), 249–264. doi: 10.1089/nat.2020.0878.
2. Schuler, S. et al. Challenging Oligonucleotide ID Testing. 8th Annual Oligo Networking Event, 23–25 Mar **2021**.
3. Schuler, S. et al. Emerging Therapeutic Oligonucleotides – ID Testing. PDA UPS Conference, 05–06 Oct **2021**.
4. Heussner A. H. Emerging Therapeutic Oligonucleotides – Analytical Challenges Accepted. PDA UPS Conference 05–06 Oct **2021**.
5. Heussner, A. H. et al. Investigating Tm Method Specificity Using Oligonucleotide Sequence Variants. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology* **2022**, (submitted).