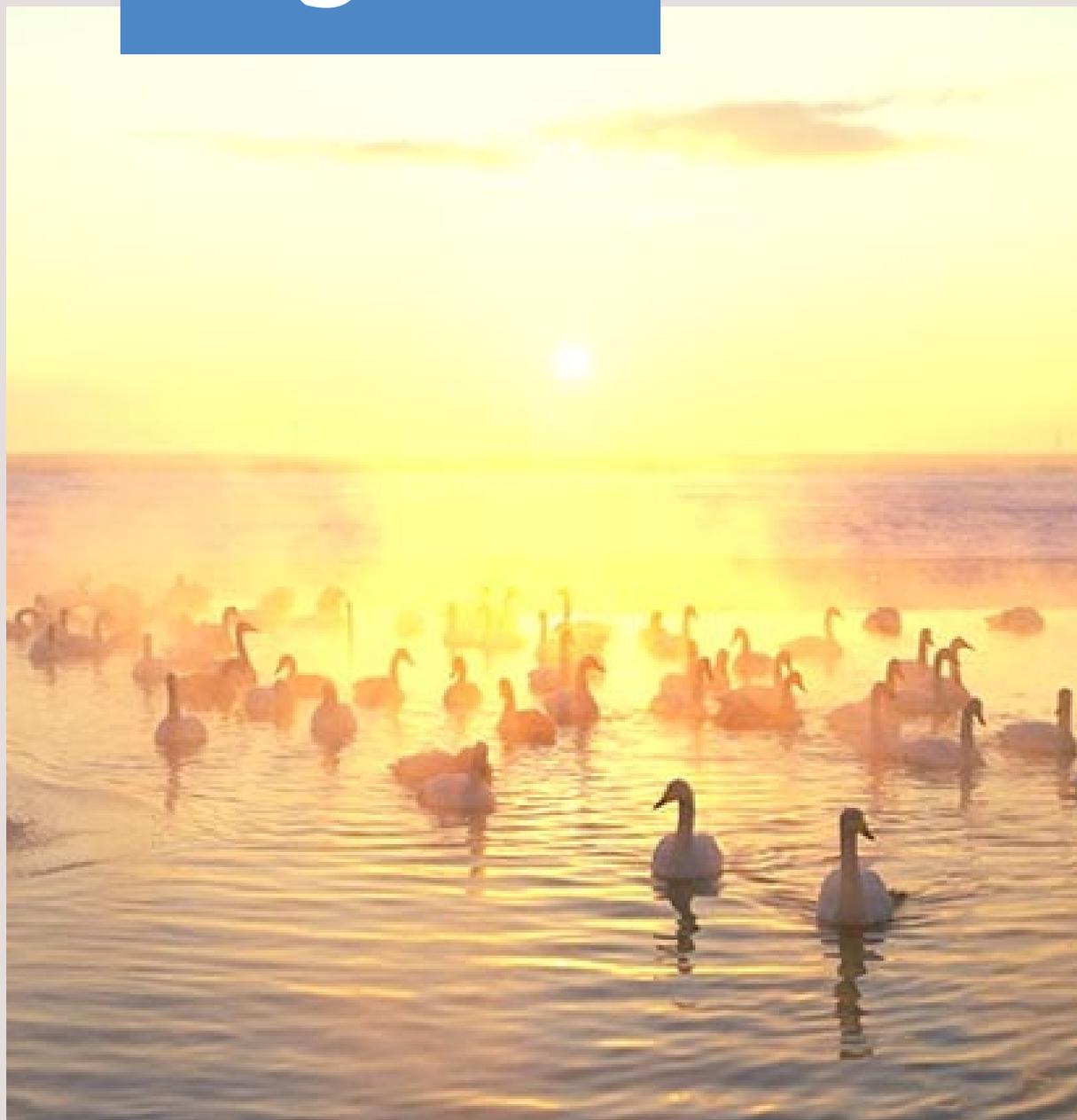




kju:

# SCAS NEWS

2000 -



---

提言：テクノロジーの流れと分析技術

---

TALK ABOUT 21：  
エレクトロスプレー質量分析による遺伝子診断

---

FRONTIER REPORT：医薬品の保存安定性試験

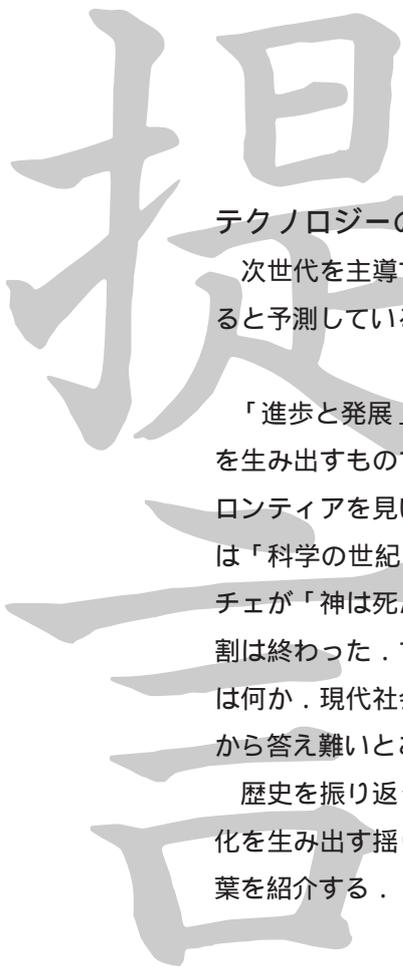
---

株式会社 住化分析センター

# テクノロジーの流れと分析技術

よつやな 隆夫  
四ツ柳

東北大学大学院工学研究科長 工学部長  
未来科学技術共同研究センター長



## テクノロジーの世紀に向けて

次世代を主導するキーテクノロジーの一つは、分析技術/計測技術であると予測している。先ず、パラダイムの流れを振り返っておきたい。

「進歩と発展」という概念は、無限の可能性に向けて、未来に夢と希望を生み出すものであった。しかし、地球の有限性が明確になり、明確なフロンティアを見出し難い時代を迎えて、このパラダイムともいえる概念は「科学の世紀」といわれた20世紀と共に終焉を迎えた。かつて、ニーチェが「神は死んだ」と言ったが、このパラダイムの古典的な意味での役割は終わった。では、この「進歩と発展」のパラダイムに代わるべきものは何か。現代社会の先の見えにくい混迷状況の大部分は、この問いに正面から答え難いところにあるのではなからうか。

歴史を振り返ってみると、混迷と渾沌の状況は、次の世代の学問や文化を生み出す揺りかごであったことが多い。座右の銘から先人の知恵の言葉を紹介する。

ゲーテ：

「輝ける麗しき星を生みえんためには、人は渾沌を愛さざるべからず」

詩人、ゲーテは、中世期から近代への黎明期における偉大な自由人であり、科学者でもあった。彼の色彩論は、人間の目の持つ色の識別の世界に関してユニークな研究である。この言葉は、大学時代の恩師、岡本 剛先生から頂いたものである。我々のグループは、人間の見る色彩の世界の活用を通して、桁の違う性能とコストを持つ計測体系の実現に、ブレークスルーの夢をかけている。

ヘーゲル：

「ミネルバの梟は、夕暮れを待って飛び立つ」

ミネルバはギリシャ神話の学問の神様で、梟は学問のことであり、夕暮れとは社会の行き詰まりの状況をいう。昨今の御時世のためか、この言葉をよく目にするようになった。この夕暮れと言うところが鍵で、行き詰まった学問体系や社会システムには、質量ともに膨大な要素情報が蓄積されている。加えて、情報技術の急速な進展がある。合成的、構築的に思考するテクノロジーにとって、まさに、機は熟している。

もう一つの座右の銘を紹介する。

「測定を通して真実に至る」

絶対零度に挑戦したオンネスのモットーである。分析/計測を業とする

者にとって、共鳴できるものであろう。前人未到の温度領域に入り込む時、温度を測る方法の開発こそが絶対的なキーテクノロジーであった。測定は解析的であるが測定手法の創造は合成的である。熱力学の概念である絶対零度への到達、物質にとって死の世界ではないかと予測された環境での物質の姿の探究という、当時のフロンティアが研究の推進力であった。そこには、予想もしなかった発見があって、極低温の物性の世界が開けた。超流動であり、超伝導である。

新たなパラダイムを生み出すためには、明確なフロンティアの着想と発見が必要であり、分析・計測からのアプローチがその鍵の一つを握っている。

### シンプルテクノロジーと分析システム

現実的な分析技術の世界では、対象の多様化と共に、「どんなに計測技術が進歩しても分析技術は未だに大きな問題を抱えている。マトリックス問題である。対象が環境/生体/先端技術領域のいかなるものであろうか」という状況がある。これは物質群の構成する複雑系システムが生み出した課題であり、構成要素の共存による新たな特性（シナジー効果）の発現に帰属される。

一方、分析技術についても、そのものがシステムである。このシステムは、化合物群からなる分子システムとハードシステムとが統合されたものである。システム論的な視点から分析技術とその対象を見るとき、構成要素の機能の和を超える機能が生まれる現象、“機能の創発”が鍵を握っている。この機能創発を目指すシステム構築こそ新たな可能性への道標である。

システム論的視点から対象に適合するテーラーメイドの分析技術を設計して問題を解決していく技法は、知識集約型の産業、頭脳産業を生み出す可能性を持つ。

工学の根源的な目的は「人類の福祉のために」であり、その中で次世代が最上位におくべき価値は、技術が人に「生き甲斐を与えること」であろう。可能な限り人間を利用する技法、人間の持つ機能を効果的に支援する技法がこれを実現する。1千万色以上を識別するという人間の目の色調判別能力を利用して、「いつでも、どこでも」利用できる手法を構築することもその一つである。

人類の生き残りをかけたテクノロジーの世紀と言われている次世代、知恵に価値をおく持続可能な社会を築かなければならない次世紀に、シンプルテクノロジー、キーテクノロジー、そして生き甲斐を生み出す頭脳産業の創造を通して、分析化学の大きな貢献を期待する。



#### 筆者略歴

1961年 北海道大学工学部応用化学科卒業  
1966年 同大学院工学研究科博士課程修了  
1968年 北海道大学 助教授  
1971年 文部省在外研究員：アメリカ合衆国  
アリゾナ大学化学教室研究員  
1978年 東北大学工学部応用化学科教授  
1997年 東北大学大学院工学研究科教授  
1997年 東北大学大学院工学研究科長・工学部長  
1998年 東北大学未来科学技術共同研究センター長  
主な要職、受賞歴  
1971年 日本分析化学会 奨励賞  
1991年 日本化学会 学術賞  
1992年 日本化学会 学術賞  
1996年 日本分析化学会 学会賞  
1996年 日本化学会副会長  
1996年 日本分析化学会副会長  
1997年 文部省中央教育審議会専門委員  
1998年 東北工学教育協会会長  
1999年 日本分析化学会次期会長

# エレクトロスプレー質量分析 による遺伝子診断

関西大学工学部応用化学学科教授

荒川 隆一  
あらかわ りゅういち



## 1 はじめに

近年，遺伝性あるいは突発性のガン疾患等の原因となる様々な遺伝子変異が同定されるようになった．同定された遺伝子の塩基配列情報に基づく遺伝子診断の重要性は，疾患の発症機構の解明あるいは早期治療等のため今後高まっていくと考えられている．遺伝子診断においては高速・高精度な塩基配列判定法が要求され，遺伝子変異を検出するための方法が重要になる．染色体（ゲノム）DNAを直接に増幅するための強力な方法である Polymerase Chain Reaction（PCR）がMullisらによって開発された．PCR法は目的とするターゲットのDNA配列をコピーして $10^6$ 倍以上まで増幅することができる．そのために微量DNAの分析には必ずPCR法が利用される．この20年間で，PCRを利用した変異の検出方法が数多く開発された．そのほとんどの方法は，標的DNAの分子量を決定するためにドデシル硫酸ナトリウム・ポリアクリルアミド・ゲル電気泳動法（SDS-PAGE）を用いている．しかしながら，SDS-PAGEではDNA鎖の長さを決定することはできるが，DNAの塩基置換基の種類を区別することは出来ない．SDS-PAGEの分解能に限界があるためである．

従来，質量分析法（MS）をDNAの分析に適用することは困難であった．その理由は，DNAの負に荷電したリン酸骨格構造は強いエネルギーを用いる従来のイオン化法では壊れやすく容易にフラグメントイオンに分解するためである．ところが，新しいソフトなイ

オン化としてエレクトロスプレー・イオン化（ESI）やマトリックス支援レザ-脱離イオン化（MALDI）が開発されたことにより，タンパク質，糖，そして核酸などの生体高分子の正確な分子量の測定が可能になった．現在では塩基の数が100以上の合成オリゴヌクレオチド（ $>30000$  Da）でもその分子量の測定が可能になっている．

MSの遺伝子診断への応用を目指して，塩基欠失や塩基置換の検出法の研究が報告されている．MALDI-MSによるPCR産物の分析は試料調製がESI法に比べて容易なことから研究例が多く，例えばWadaは4塩基中の1塩基欠失，204塩基中の2塩基欠失をMALDI-MSによる正イオンモードで検出し，PCR産物の簡単な測定技術を開発した<sup>1)</sup>．一方，ESI-MSによる合成オリゴヌクレオチド及びPCR産物の測定は，質量範囲の制限があること，および負イオンモードではESI感度が減少するために一般的に困難であるとされてきた．しかし，我々は，PCR産物の試料調製を後述のように工夫すればESI法の長所である高分解能を生かして塩基の欠失だけでなく1塩基置換の検出も可能であることを示した．我々の報告以降，今日ではESI-MSを用いるDNA分析が盛んに行なわれるようになった．本稿では，ヒトDNAから増幅されたPCR産物のESI-MSによるDNA分子量の測定法について解説し，遺伝子診断への適用の可能性について述べる．遺伝子診断，PCRおよびMSそれぞれに関する一般的解説は成書に譲る．

## 2 PCR

通常のESI-MS測定には少なくとも200 pmol（数 $\mu$ g）の均一なDNA断

### 筆者略歴

理学博士  
1976年 大阪大学大学院理学研究科博士課程修了  
1979年 大阪大学教養部助手  
1980年 米国ワシントン州立大学在外研究（1年）  
1984年 イスラエル国ヘブライ大学在外研究（6カ月）  
1988年 大阪大学医療技術短期大学部助教授  
1993年 大阪大学教養部助教授  
1994年 大阪大学工学部助教授  
1997年 現職（専門 質量分析）

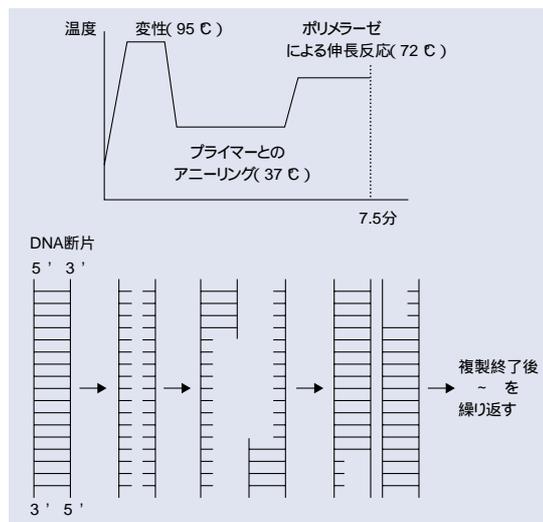


図1 PCRの概念図

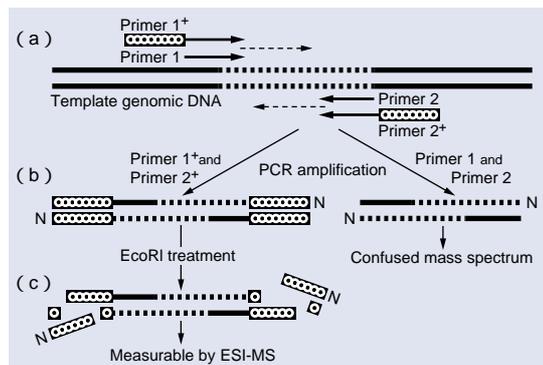


図2 PCRサンプル調製

片が必要である。直接ヒトからそのような大量のDNA試料を得るのは非現実的であるのでPCRによる増幅が不可欠となる。PCR法は少量のDNAを非常に効率よく増幅する方法であるために、100 ngのゲノムDNAがあれば十分である。100 ngのゲノムDNAを抽出するのに必要な人の血液量は1  $\mu$ L以下で良い。

PCRは大略次のように行われる(図1)。DNAは、アデニン(A)はチミン(T)と及びグアニン(G)はシトシン(C)と相補的に水素結合し2重鎖を形成しているが、加熱すると解けて(変性して)2本の1本鎖DNAになる。変性DNAを冷却すると再び元の2重鎖DNAが形成される(アニーリング)。このときDNAの5'末端の塩基

配列に相補的な合成DNA断片(プライマー-)、A、T、G、Cの4種類の塩基(正確にはデオキシヌクレオシド・三リン酸)および耐熱性のTaqポリマーゼを加えると、DNAは複製される。この加熱/冷却サイクルを繰り返すとDNAは指数関数的に増幅される。

しかし、このようにして得られたDNA断片は実際には不均一な分子量を持つ。その理由は、PCR法の中心的役割を果たすTaqポリマーゼが持つ非特異的な末端デオキシヌクレオチド転移酵素活性によってPCR産物のそれぞれ各1本鎖の3'末端に、非鋳型のヌクレオチドN(A、G、CまたはT)が付加するためである。そのために、PCR産物を直接に質量分析しても、予期せぬ

複雑な質量スペクトルが得られ解析できない(図2。プライマー1と2を用いたとき)。そこで、PCR産物の分子量を均一にするために、5'末端に制限酵素EcoRIの認識配列(GAATTC)を含む一対の合成オリゴヌクレオチドPCRプライマーを作成し、これによってPCR増幅を行う(図2。プライマー1+と2+を用いたとき)。その後、制限酵素EcoRIで消化することにより、PCR産物の非鋳型のヌクレオチド付加物Nを含んだ末端を切り取って分子量を均一化できる<sup>2)</sup>。

### 3 ESI-MSスペクトル

我々が用いた実験条件は以下の通りである。HX110/110A二重収束型タンデム質量分析計(日本電子)を用

い、PCR試料を流速2  $\mu$ L/minでイオン源に導入し、スプレーの針先には対極に対して-2.5kVの高電圧を印加してスプレーした。イオン源の温度は70である。加速電圧は7kV、負イオンモードでm/z=300から1600の範囲で質量スペクトルを得た。測定には信号感度を得るために、2048チャンネルのアレイ検出器を使用した。全スペクトルは22セグメントからなり、それぞれのセグメントは1~2秒間蓄積した。

PCR産物の分子量均一性の問題とともに、ヌクレオチドのESI-MS測定における重要な点是不揮発性カチオンの脱離を完全に行うことである。とくにNa<sup>+</sup>やK<sup>+</sup>などのカチオンは負に荷電したリン酸骨格構造に強く親和するため、多価イオンの生成が阻害され、質のよい多価イオンスペクトルが得られない。Na<sup>+</sup>やK<sup>+</sup>などのカチオンを除去するために、陽イオン交換カラムを使用する、またはトリメチルアミン、イミダゾールもしくはピピリジンを添加する方法により、50~100塩基の合成オリゴヌクレオチドのESI-MSによる測定が可能になった。我々は更にPCR産物からこれらのカチオンを取り除くために3回のエタノール沈殿による精製法も確立した。これらPCR産物の分子量を均一にするためのEcoRI消化、アンモニウムイオンとの交換によるアルカリ金属イオンの除去、トリエチルアミンの添加、エタノール沈殿などの処理を行うことによって、はじめてPCR産物のESI-MS測定が可能になったことを強調しておきたい<sup>2)</sup>。

後述のAPC遺伝子は癌抑制遺伝子の1つで、その変異は家族性大腸腺腫症(FAP)の原因となる。正常人から得

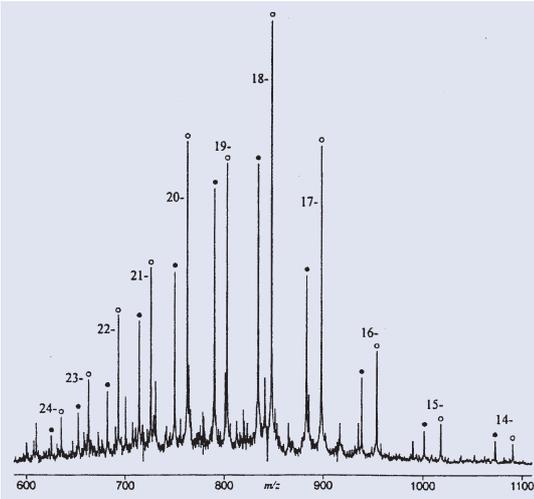


図3 PCR産物（正常人のAPC遺伝子）の負イオンESI質量スペクトル

たAPC遺伝子断片のPCR産物のESI-MSスペクトルを図3に示す<sup>2,3)</sup>。PCR産物の2本鎖DNAはESIによるイオン化状態では変性して1本鎖になる。したがって、印は1本鎖のセンス鎖配列、印はもう1つのアンチセンス鎖配列を表し、それぞれ負の多価イオンスペクトルを示す。n価イオンの見かけのm/z値 $M_{obs}$ と1本鎖の分子量Mの関係は、 $M_{obs} = (M - nH) / n$ で表される。ここで未知数はMとnであるから隣り合う2つのピークの $M_{obs}$ と電荷の違いから分子量Mが決定される（このようにMSスペクトルから分子量を計算することをデコンボリュートdeconvoluteと言う）。このPCR産物のもっとも強度の大きいピークは18価の負イオンであった。また、それぞれ1本鎖の測定値Mは $15275.2 \pm 1.3$ と $15029.0 \pm 1.3$  Daで、その計算値 $15275.8$ と $15029.8$  Daによく一致していた（表1）。このように、約50塩基からなるオリゴヌクレオチドに対して0.005%以下の正確さと0.02%以下の精度で分子量を決定することができる。個々のヌクレオチドA, G, C, T

の分子量はそれぞれ313.2, 329.2, 289.2, 304.2である。これら4つのヌクレオチド間における分子量の最小差は9.0 Daである（AとTの差）。したがって、ESI-MSによって1塩基置換したDNAの検出が十分可能である。

本筋からそれが、SDS-PAGEにはないESI-MSの特長について触れておく<sup>3)</sup>。図4はフェノール/クロロホルム抽出によるTaqポリメラーゼの除去をせず、エタノール沈殿による濃縮精製のみを行ったPCR産物をEcoRIで消化したときのESI-MSスペクトルである。主ピーク群からの、 $16508.4 \pm 3.5$  ( )と $16263.1 \pm 3.0$  Da ( )の測定質量は、予想した値、 $15275.8$ と $15029.8$ からかなりずれを示した。さらに残りのピーク群から、 $16841.7 \pm 2.0$  ( )の質量値を得た。前者二つの値はセンス鎖(16510.6)とアンチセンス鎖(16264.6)に対応し、残りの値はセンス鎖のグアニン付加体(16839.8)に相当する。この結果、Taqポリメラーゼはエタノール沈殿

の後でも、末端デオキシヌクレオチド転移酵素活性を持つことが示された。SDS-PAGEを分析に用いていたら、このような予想を超えた現象の解明はできなかったであろう。

## 4 FAP患者の血液DNAの5塩基欠損の検出<sup>3)</sup>

APC遺伝子のコドン1309に5塩基対の欠失(AAAGA)を持つFAP患者の血液から抽出したDNAについて実験を行った(表1)。この患者は、疾患を持った片方の親から変異を受け継いでいるため、遺伝子の一方が欠失を起し、他方の対立遺伝子は正常のままである。このようなヘテロ接合性をもつために、PCR産物のESI-MSスペクトルは4つの主イオンピークからなる(図5)。測定値の $13693.2 \pm 2.1$  ( ),  $13522.5 \pm 2.3$  ( ),  $15277.2 \pm 1.8$  ( )と $15028.5 \pm 4.4$  Da ( )は、それぞれ欠損した対立遺伝子のセンス鎖、アンチセンス鎖、正常な対立遺伝子のセンス鎖、アンチセンス鎖に

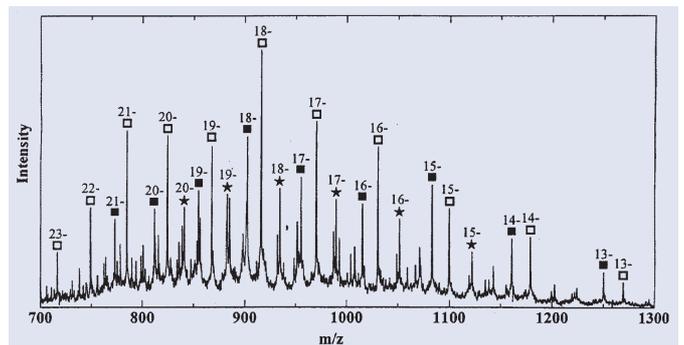


図4 Taqポリメラーゼを徹底的に除去しないでPCR産物をEcoRI消化したときの質量スペクトル

表1

Expected PCR products	Expected mass	Measured mass
(Normal sense strand)		
5'-AATTCCTGCAAATAGCAGAAATAAAAGATTGGAACTAGGTCAG-3'	15,275.8	15,275.2 ± 1.6
3'-GGGACGTTTATCGTCTTTATTTCTTTTCTAACCTTGATCCAGTCTTAA-5'	15,029.8	15,029.0 ± 1.3
(Normal antisense strand)		
(Deleted sense strand)		
5'-AATTCCTGCAAATAGCAGAAATAAAAGATTGGAACTAGGTCAG-3'	13,693.8	13,693.2 ± 2.1
3'-GGGACGTTTATCGTCTTTATTTCTAACCTTGATCCAGTCTTAA-5'	13,523.8	13,522.5 ± 2.3
(Deleted antisense strand)		

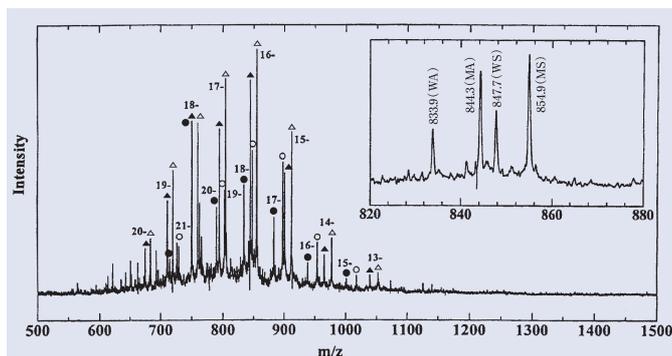


図5 FAP患者のPCR産物の質量スペクトル：挿入図は、18個のそれぞれ正常型のセンス (WS) とアンチセンス (WA) 由来のピーク、16個の変異型のセンス (MS) とアンチセンス (MA) のイオンピークを示す。

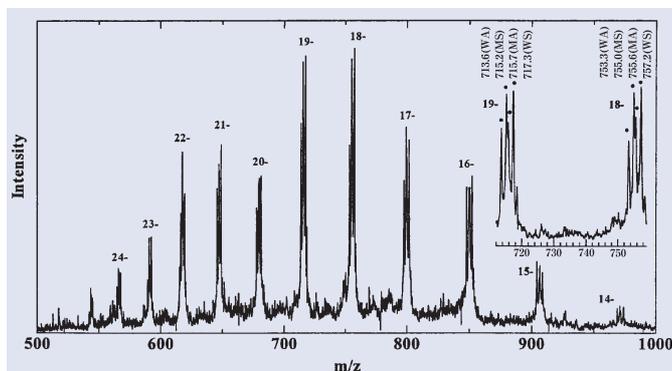


図6 骨形成不全患者血液DNAから増幅したPCR産物の負イオン質量スペクトル

対応しており、表1の計算値とほぼ一致している。一方、正常人から得られるスペクトルは図3のように正常な対立遺伝子のセンス鎖、アンチセンス鎖の2つの主イオンピーク群からなる。正常の遺伝子と欠失を持つ遺伝子の質量差  $1583.9 \pm 2.8$  (センス鎖)、 $1506.0 \pm 5.0$  Da (アンチセンス鎖) は、欠失した5塩基セグメントの質量  $1582.0$  (AAAGA) と  $1506.0$  Da (TTTCT) に対応している。

以上のようにESI-MSはFAPの遺伝子診断に有効であることが示されている。一般に、遺伝子診断において、欠失部分の塩基配列の決定よりも欠失の確認が重要とされている。

## 5 骨形成不全患者血液DNAの一塩基置換の検出<sup>4)</sup>

突然変異を起こしたゲノムDNAは、

骨形成不全 (osteogenesis imperfecta) の新生・女兒患者の皮膚の線維芽細胞から抽出された。従来法のSDS-PAGEおよびクローニングと直接シーケンシング法を用いて、一塩基置換 (つまり、GGTからCGT、コドン694グリシンからアルギニン) は患者の1型コラーゲンアルファ2遺伝子 (COL1A2) 中にすでに検出されて

いる。その患者のヘテロ接合体DNAの50塩基からなる断片から得られたESI-MSスペクトルは、予想通り4つの多価イオンピーク群を示した (図6)。デコンボリュートして得られる  $13647.5 \pm 1.9$  と  $13577.0 \pm 2.6$  Daの質量数は、それぞれ相補的な一本鎖DNAの予想質量数  $13645.8$  (正常型のセンス鎖, WS) と  $13575.8$  Da (同アンチセンス鎖, WA) に対応している。また、 $13607.6 \pm 4.2$  と  $13616.7 \pm 2.5$  Daは、それぞれ、 $13605.8$  (変異型のセンス鎖, MS) と  $13615.8$  Da (同アンチセンス鎖, MA) の予想値に対応している。正常型と変異型との間の質量数の実測値の差は、センス鎖で40、アンチセンス鎖で39であり、GとCの質量数の差 (40) に良く一致していた。このようにESI-MSスペク

トルの解析によりGとCの一塩基置換を検出できることが示されている。

## 6 おわりに

実用的な遺伝子診断を行う上で重要なことは、測定に要する時間が短いこと、およびルーチン測定のための自動化が容易であることが挙げられる。PCR-ESI-MS法による遺伝子診断の実現化は、PCR産物の分子量均一化の処理と揮発性のカチオン除去を如何に効率よくできるかに依存し、それが良質のスペクトルを得るための重要な点である。今回のESI-MS測定においてアレイ検出器の使用にもかかわらず、 $100$  pmol以上の多量のPCR産物を必要とした。しかし、最近の質量分析計の進歩はめざましく、たとえばナノスプレーESI法の飛行時間型質量分析計 (TOF-MS) の出現により感度、分解能および簡便性が飛躍的に増大したため、PCR産物の試料調製に多大の時間を費やす必要がなくなった。今後、遺伝子診断においてPCR-ESI-MS法が大きな役割を果たす可能性が高いと考えられる。

## 文献

- 1) Y. Wada, J. Mass Spectrom., 32, 124 (1997)
- 2) Y. Naito, K. Ishikawa, Y. Koga, T. Tsuneyoshi, H. Terunuma, and R. Arakawa, Rapid Comm. Mass Spectrom., 9, 1484 (1995).
- 3) Y. Naito, K. Ishikawa, Y. Koga, T. Tsuneyoshi, H. Terunuma, and R. Arakawa, J. Am. Soc. Mass Spectrom., 8, 737 (1997).
- 4) T. Tsuneyoshi, K. Ishikawa, Y. Koga, Y. Naito, S. Baba, H. Terunuma, R. Arakawa, and D. J. Prockop, Rapid Comm. Mass Spectrom., 11, 719 (1997).

# 医薬品の保存安定性試験

ファーマ事業部 安定性グループ 阪上 重幸  
川瀬 明人

## 1 はじめに

医薬品は、それが製造されてから患者が服用するまでの過程、たとえば倉庫内での保管、配送、病院や薬局あるいは家庭における保存などの過程において、その品質が保たれることが重要な条件となる。どんなに有効性や安全性の高い医薬品であっても、実際に流通した際にその途中で容易に変質したり分解するようであれば、医薬品としての存在価値はない。従って、医薬品の品質が、温度や湿度、光などの環境因子の影響を受けてどのように経時的変化するかを明らかにし、更にその結果に基づいて有効期間を設定することが必要であり、医薬品の製造承認申請の際には、その医薬品の安定性を科学的に評価した資料を当局へ提出しなければならない。

これらの安定性に関する評価資料を作成するための指針として、厚生省より「安定性試験ガイドライン」が提示されている<sup>1)2)</sup>。

## 2 ICHの活動とガイドライン

医薬品は全人類が必要としているものであるが、その8割が先進諸国であるヨーロッパ、米国及び日本で使用されている。しかし、これらの国際間でも、それぞれの国での独自の薬局方並びに新薬承認についての法規やガイドライン等が障壁となり、良い薬の自由な相互乗り入れは容易ではなかった。

そこで「日米EU三極の新医薬品の承認審査資料のハーモナイゼーション

を図ることにより、表1 分析法バリデーション（HPLC法での例）

データの国際的な相互受け入れを実現し、有効性や安全性の確保に妥協することなく、臨床試験や動物実験等の unnecessary 繰り返しを防ぎ、承認審査を迅速化するとともに、新医薬品の研究開発を促進し、もって、優れた新医薬品をより早く患者の手元に届けること」を目的とし、日米EU医薬品規制調和国際会議（International Conference on Harmonization of Technical Requirements for

Pharmaceuticals for Human Use, ICH）が開かれ、1991年より1997年までに第4回を重ねるに至り、第5回は2000年11月に予定されている<sup>3)</sup>。

品質分野、安全性分野、臨床分野等において審議が重ねられ、品質分野の項目として、安定性試験法、分析法バリデーション、不純物に関するガイドライン等がステップ5（国内、地域における法規制としてのガイドライン公

1. 特異性（Specificity）  
近接成分との分離の程度を示すデータ  
代表的なクロマトグラム  
ピークの単一性の証明（フォトダイオードアレイは有効）
2. 直線性（Linearity）  
5水準以上の濃度での、相関係数、y - 切片、回帰直線の傾き、残差平方和、データ及び残差をプロットした図
3. 範囲（Range）  
類縁物質の定量：定量限界または不純物の規格の50～120%  
原薬、製剤の定量：試験濃度の80～120%  
含量均一性：70～130%  
溶出試験：規格の範囲の±20%
4. 真度（Accuracy）  
定量及び不純物：添加回収実験  
必要データ：3濃度×3回繰り返し、回収率、信頼区間、平均値と真値との差
5. 精度（Precision）  
併行精度（Repeatability）：3濃度×3回繰り返し、100%濃度で6回以上  
室内再現精度（Intermediate precision）：代表的変動要因、試験日、試験者、装置等。実験計画法の利用  
室間再現精度（Reproducibility）：  
同方収載や方法移管時に必要 / 承認申請書には不要  
必要データ：標準偏差、相対標準偏差（変動係数）、標準偏差の信頼区間
6. 検出限界（Detection Limit）  
シグナル対ノイズに基づく方法（S/N=2～3）  
検量線を用いる方法  
（DL=3.3 / S, : プランクの標準偏差, S : 検量線の勾配）
7. 定量限界（Quantitation Limit）  
シグナル対ノイズに基づく方法（S/N=10）  
検量線を用いる方法（DL=10 / S, : プランクの標準偏差, S : 検量線の勾配）
8. 頑健性（Robustness）  
試料溶液の安定性（例：24時間）、カラムロット、温度の影響  
移動相のpH、組成、流量の影響  
（頑健性は分析法を開発する段階において検討しておくこと）

布）に至っている。

このICHの合意を受けて、1994年（平成6年）4月21日、薬新薬第30号として、厚生省薬務局新医薬品課（現審査課）より国内の「安定性試験ガイドライン」が告示された。これは1997年（平成9年）4月1日以降に開始された新有効成分含有医薬品（新薬）を対象とした安定性試験に適用されている。

以下に、安定性試験のために要求される、分析法バリデーション（HPLC法での例）、安定性試験の概要、光安定性試験の考え方、有効期間の推定等について順次述べる。

### 3 分析法バリデーション

「分析法バリデーションとは、医薬品の試験法に用いる分析法が、分析法を使用する意図に合致していること、すなわち、分析法の誤差が原因で生じる試験の誤りの確率が許容できる程度であることを科学的に立証することである。」と日本薬局方（13改正）に記載されている。医薬品の規格試験法および安定性試験法の設定にあつては、この分析法バリデーションのデータが必要である。

バリデーションについては、ICHの国際会議で既に合意が得られ、厚生省通知（平成7年7月20日、薬審第755号、及び平成9年10月28日、医薬審第338号）として「分析法バリデーションに関するテキスト」（実施項目、実施方法）が告示されている。平成10年4月1日以降に承認申請される新医薬品については、バリデーション資料の添付が義務付けられている。

表1にHPLC法で必要とされるバリデーション実施内容例の要約を示す。バリデーションは、チャンピオン・データを求めるものではなく、実験者の能力をデータで評価するものでもない。また好ましくないデータにこそ重要な問題（情報）を含んでいることを忘れてはならない。

### 4 安定性試験

ICH合意に基づく「安定性試験ガイドライン」をもとに、長期保存、加速及び苛酷試験の目的及び方法の要約を表2に示す<sup>4)</sup>。ただし、これらガイドラインはあくまで指針であつて規則ではなく、目的達成のためにより適切な方法がある場合には、ガイドラインの記載にとらわれず、他の方法を用いることができるということが原則となっている。

### 5 光安定性試験

苛酷試験の中に光安定性試験がある。これもICHで合意に至り、国内では「新原薬及び新製剤の光安定性ガイドライン」として、平成9年5月28日、薬審第422号として通知され、平成

表2 安定性試験ガイドライン（適用：新有効成分含有医薬品）

	長期保存試験	加速試験	苛酷試験
目的	申請する貯蔵方法において物理的・化学的、生物学的及び微生物学的性質が申請する有効期間を通じて適正に保持されることを評価するための試験。	申請する貯蔵方法で長期保存した場合の化学的変化を予測すると同時に流通期間中に起こり得る貯蔵方法からの短期的な逸脱の影響を評価するための試験。	流通の間に遭遇する可能性のある苛酷な条件における品質の安定性に関する情報を得るための試験であり加速試験よりも苛酷な保存条件を用いて行う。
検体	原薬：パイロットプラントスケール以上で製造された3ロット以上。 製剤：3ロットでその内2ロットはパイロットスケール以上とし他の1ロットは小規模で可。		1ロット。原則包装を除いた状態。必要に応じて包装をした状態。 製剤は、パイロットプラントスケール以上。
保存条件	温度：25 ± 2 湿度：60%RH ± 5% 根拠があれば他条件可	温度：40 ± 2 湿度：75%RH ± 5% 根拠があれば他条件可	原薬：特性に応じて設定。通常加速試験より苛酷な条件及び光安定性を検討。 製剤：光。極端な温度変動や湿度変動及び凍結によって品質の変化が予想される製剤についてはその影響を検出できる条件を設定する。
試験期間	最短保存期間12カ月で申請可（通常3年）	最短保存期間6カ月	試験目的に合うよう適宜設定。
測定時期	通常1年目は3カ月毎、2年目は6カ月毎、その後は1年毎とする。 製剤では、妥当であればマトリキシング法又はブラケット法を使用できる。	試験開始時を含めて適切に設定。 通常1,3,6又は2,4,6カ月目に測定。 製剤では、妥当であればマトリキシング法又はブラケット法を使用できる。	試験目的に合うよう適宜設定。 製剤では、ブラケット法が適用できる。
測定項目	申請書に記載する項目にとらわれず、保存により影響を受けやすい項目及び品質、安全性または有効性に影響を与えるような項目。 製剤の長期試験では、保存剤を含む場合、その量又は効力を測定する。		

10年4月1日以降に開始された試験はこれに従って行われている。

光安定性試験には、分解経路等解明のための「強制分解試験」と、標準化された条件下における光に対する特性を明らかにするために行われる「確証試験」がある。この確証試験は、原薬の製造や製剤化において必要な注意事項を確認し、また曝光の影響を軽減するために、遮光包装や特別な表示が必要かどうかを確認するために行われる。

規定の曝光量として総照度120万lx・h以上、及び総近紫外エネルギー200W・h/m<sup>2</sup>以上が定められている。光源としては2つのオプションが提示され、オプション1はISOで屋外昼光の標準とされているD65と、室内の間接昼光の標準とされているID65に相当する波長を示す光源が採用されている。これらは近紫外から可視領域までの波長分布を有するキセノンランプや昼白色蛍光ランプなどが該当する。

一方オプション2は、白色蛍光ランプ（可視光）と近紫外ランプの組み合わせで、総照度120万lx・hは前者で、総近紫外放射エネルギーは後者でそれぞれ規定値を達成することになる。両者は同時または時間をずらして照射してよいが、当然一つの試料に両方の照射が行われなければならない。

このオプション1は、ヨーロッパ等で窓際での保存等を考慮して、太陽光の影響を中心に評価すべきであるという考えに由来している。ただし、たとえばD65で120万lx・hを照射した時に、同時に総近紫外照射エネルギーの方は、200W・h/m<sup>2</sup>を若干越える傾向にある。

一方、オプション2は、日本で医薬品はむしろ室内光に曝されるとの考えから評価方法が提案されたものであり、たとえば白色蛍光ランプで120万lx・h（1000lxで約50日、2500lxなら約20日）、近紫外ランプで200W・h/m<sup>2</sup>（約3日）を別々に定量的に照射できることを特徴とする<sup>5)</sup>。

## 6 有効期間の推定

### 6.1 測定温度条件における有効期間の推定

医薬品の安定性試験を行う重要な目的の一つに、有効期間の推定、設定がある。医薬品の有効期間とは、医薬品がその品質の規格値を維持できる期間であり、その間の有効性および安全性は製造直後の水準が維持されていることを意味する。有効期間を直接的に推定するためには、医薬品を目的条件下で保存し、目的の期間安定であることを確認すればよいが、もし規格を逸脱した場合、あるいは経時変化が認められる場合は、品質変化曲線の95%信頼限界を統計的手法によって求め、その有効期間を推定する必要がある。通常以下の手順で推定することができる。

分解（品質変化）曲線の式<sup>6)</sup>を求める。一般には擬ゼロ次式～擬二次式にデータを代入し、得られた式より求めた計算値と実測値との誤差（平方和）が最も小さい式を採用する。

擬ゼロ次式.. $A = A_0 - kt$

擬一次式 .. $A = A_0 \exp(-kt)$

擬二次式 .. $A = A_0 / (1 + A_0 kt)$

ただし、

A : 時間t (月数)における値

A<sub>0</sub> : 試験開始時の値 (初期値)

k : 速度定数

あてはめた式について、その95% (下方) 信頼限界と規格値が交わる点が計算により推定有効期間として得られる。

実際には、その他の規格項目の安定性試験実測結果についても考察した上で、総合的に判断されなければならない。

### 6.2 長期保存安定性の予測

主に製剤化の初期検討において、苛酷温度条件下での短期試験結果より、長期保存安定性の挙動を予測する方法

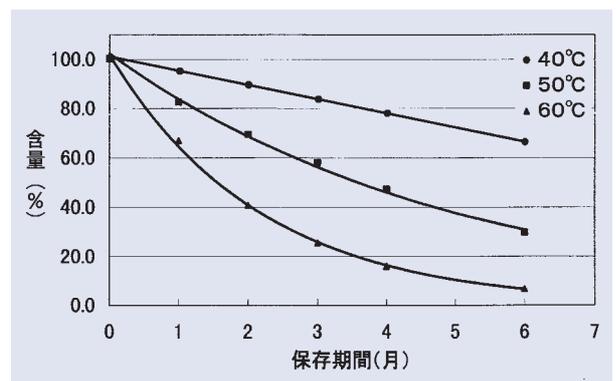


図1 製剤Bの安定性試験結果

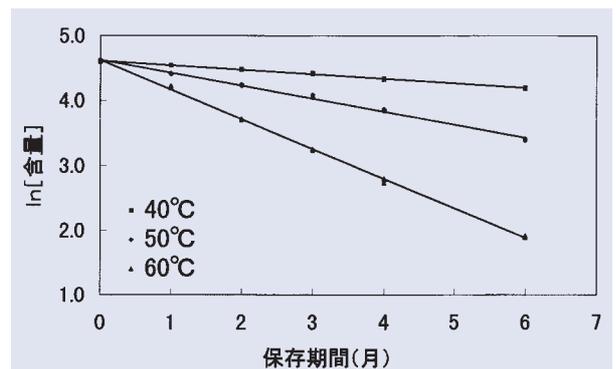


図2 製剤Bの含量 (対数) と保存期間との相関

が用いられる。これは、3点以上の温度条件下で試験を行い、前述の式を用いて速度定数を求め、更にアレニウスの式を用いて活性化エネルギーを求め、その結果から、目的の温度条件下での有効期間を外挿により推定する方法である。本稿では、アレニウス式による分解速度予測<sup>7)</sup>と、実測値との比較についての検討データを紹介する。

温度に特に不安定なβ-ラクタム系の製剤Bの、5、10及び25における安定性を予測すべく、まず40、50及び60における6カ月間の安定性試験を行った。その結果を図1に示す。

次に、含量の対数を縦軸に、保存期間を横軸にとってプロットしたものを図2に示す。回帰式は良好な直線性を示し、これより擬一次式の適用が示唆された。得られた回帰式の勾配より速度定数kを求め、相関係数と共にそれらの結果を表3に示す。

次にアレニウスの式より両辺の対数をとると、

$$k = Ze^{-E/RT} \dots\dots (\text{アレニウスの式})$$

$$\ln k = \ln Z - E/RT$$

ここで、Zは頻度因子、Tは絶対温度、Eは活性化エネルギー、Rは気体定数

各測定温度におけるlnkを縦軸に、各測定温度の絶対温度の逆数を横軸にプロットしたものが、一般にアレニウス・プロットと呼ばれており、図3に示すように良好な直線関係が得られた。この回帰式の勾配より活性化エネルギーが求まり、これを用いて5、10及び25における推定速度定数を求めた結果を表4に示す。また、別途比較検討のために行った25における製剤Bの安定性試験の実測値より求めた速度定数を同表に示す。25における推定値と実測値は0.0146と0.0162で、近似の値を示した。

更に、得られた速度定数から、擬一次式を用いて5、10及び25における開始時から36カ月までの含量を推定し、25での実測値を併記して図4に示す。25における推定値と実測値は、実測値がやや低めの傾向が得られたが、いずれも近似した値が得られ、本推定方法の有用性が確認された。

また、10保存では36カ月後でも90%以上、5では約95%の含量が

維持されることが推定された。

## 7 おわりに

医薬品の安定性試験は、申請資料に必要な資料「イ」～「ト」の中の「ハ」に位置付けられ、「ロ」の構造決定、物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法等と共に、信頼性基準(薬事法施行規則第18条の4の3)でデータを取得し、添付資料をまとめるべく要求されている。これは正確さ(生データと報告書)、完全性・網羅性(疑義データも網羅)、根拠資料の保存(承認の結論が出る時まで)について義務付けられている。またバリデーションデータについてもその統計的判断等、煩雑なプロセスが必要で、それらの専門的技術の必要性と共に、これらの業務の分析受託機関への委託が医薬業界の大きな流れとなっている。

表3 製剤Bの速度定数と相関係数の測定結果

保存温度	速度定数	相関係数
40	0.0691	- 0.9982
50	0.1998	- 0.9976
60	0.4563	- 0.9996

表4 製剤Bの速度定数の推定と実測値との比較

温度(絶対温度)	速度定数の推定値	速度定数の実測値
5 (278)	0.0014	
10 (283)	0.0025	
25 (298)	0.0146	0.0162

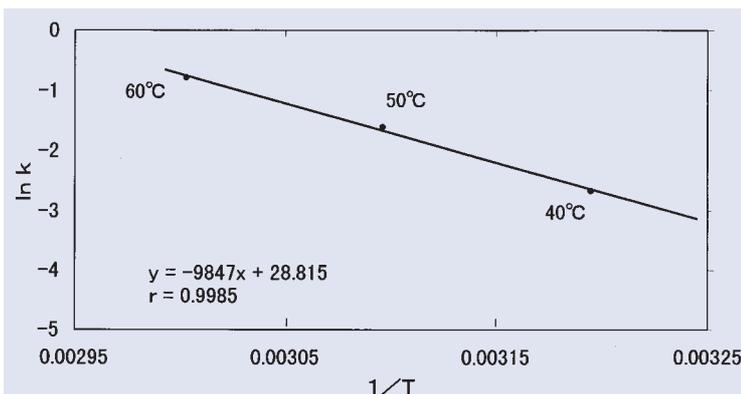


図3 製剤Bのアレニウスプロット

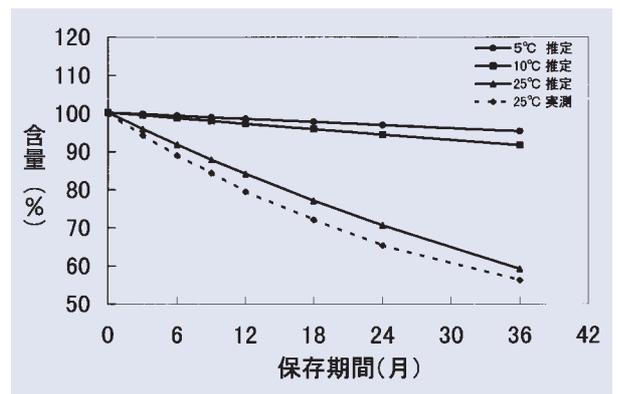


図4 製剤Bの5～25℃における安定性の推定結果

本稿では、ICHの経緯とガイドラインの関係、バリデーション及び安定性試験の内容の要約、光安定性試験の実状と問題、そして医薬品の有効期間の推定、アレニウスの式を用いる分解速度の推定等について、解説並びに実測例の紹介を行った。今後、医薬品の安定性試験に携わる人にとって、参考になれば幸いである。

文 献

- 1)「安定性試験実施方法のガイドライン」, 薬発第165号 (1991年2月)
- 2)「安定性試験ガイドライン」, 薬新薬第30号 (1994年4月)
- 3) 医薬品製造管理者講習会 (平成11年度) 資料, p.10, 厚生省医薬安全局, 日本製薬団体連合会主催 (1999年10月)
- 4) 社団法人東京医薬品工業協会編: 各種ガイドライン・ガイダンスの検討・安定性試験ガイドライン (1995年7月)
- 5) 吉岡澄江: PHARM TECH JAPAN, 13 (7) p.7 (1997)
- 6) 宮嶋孝一郎編集: “医薬品の開発 第15巻”, p.136 (1989), 廣川書店
- 7) 吉岡澄江: “医薬品の安定性”, p.95 (1995), 南江堂



坂上 重幸  
(さかうえ しげゆき)  
ファーマ事業部



川瀬 明人  
(かわせ あきと)  
ファーマ事業部

K E Y W O R D

最新分析用語解説

製剤の安定性試験省力化のための **ブラケット法とマトリキシング法**

1. ブラケット法

ブラケット (Bracketing) 法とは、「試験条件の省略」のための方法であり、製剤の一連の含量違いや容器の大きさ違いの両極端について試験する方法である。この手法は例えば含量違いの3種類以上の検体において、中間的な含量の検体の安定性は、両極端の検体の安定性により代表されるとの仮定に基づいている。また本法は全ての製剤の安定性試験を行う代替法であることから、中間処方製剤についても試験を実施したことになるため、中間処方の製剤のみの申請になっても問題はない。実施計画の例を表1に示す。

2. マトリキシング法

マトリキシング (Matrixing) 法とは、「試験頻度の省略」のための方法であり、含量違い、容器の大き

さ違い、ロット違いなどをすべて保存して試験を行うが、測定は測定時点ごとに、計画的に選択した検体についてのみ行う方法である。この手法は、全検体の安定性は一部分の検体の安定性で代表されるとの仮定に基づいている。なお長期保存試験においては、最初と最後には全検体を

試験する必要がある。実施計画例を表2に示す。

ただし、ガイドラインでは「製剤の安定性試験にマトリキシング法を適用する場合は、予備試験結果、試験計画書等をもって、実施前に当局の担当者と相談されたい」となっていることに注意。

表1 ブラケット法：製剤含量 / 錠剤の例

検 体	保存期間(月)							
	0	3	6	9	12	18	24	36
1mg錠								
2mg錠								
5mg錠								
10mg錠								

: 測定実施

表2 マトリキシング法：ロットの例

ロット	保存期間(月)							
	0	3	6	9	12	18	24	36
A								
B								
C								

: 測定実施

# ラボラトリー情報管理システム(LIMS)

ファーマ事業部 溝奥 康夫

## 1 はじめに

今日、医薬品の開発・研究に関わるデータは、量的に増大しているだけでなく、より高度な品質、信頼性が求められています。一方、コンピュータに目をむけるとハードウェア、ソフトウェアともに目覚ましい勢いでその技術が進歩し、コストパフォーマンスが向上していることから広く普及してきています。また、コンピュータネットワークも普及し、多くの情報を的確に処理しそして共有することが可能となっています。

分析ラボラトリーにおいてもコンピュータは従来から結果算出のツールとして使用されてきましたが、データプロセッシングを目的とした利用が進み、その中でもデータベース技術のアプリケーションが注目されています。

ここでは、これらを背景に急速に発展しているラボラトリー情報管理システム - LIMS (Laboratory Information Management system) を紹介いたします。

## 2 LIMSの機能

分析業務は、下のような流れで進んでいきますがLIMSはこのすべてのステージにおいて情報を管理します。



### 分析の依頼

通常サンプルをログインすることで依頼が発生します。サンプルの情報として試験の割り当て、納期などを入力します。入力が完了するとバーコードを利用したサンプルラベルや試験指示書などを自動出力することが可能となります。

### 結果の入力

分析機器からネットワークや電子媒体を介して直接入力し、コンピュータのキーボードから入力する方法はできるだけ避ける方向にあります。

### 結果の評価と承認

あらかじめ設定した規格に対して個々の結果を評価できます。また、過去のデータなども簡単に参照することが可能であらゆる角度から結果を評価することができます。結果の承認は権限に基づいて行われます。

### 報告書の発行

結果承認後に自動的に発行することも可能です。また出力先をプリンターや電子メールなどにも設定することもできます。同時に履歴の管理も行なっています。

### 進捗管理

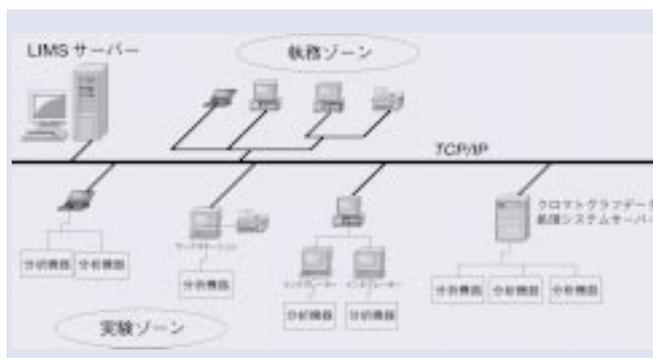
サンプルのステータスによりオンラインで依頼されたサンプルの進捗状況を確認でき、それをレポートとして出力することも可能です。

### セキュリティと監査履歴

OS (Operating System) のレベルとLIMSアプリケーションのレベルでそれぞれ固有の識別名とパスワードによってアクセス及びLIMS上で使用できる機能が限定されます。また、LIMSへのアクセス及びデータの修正を監視し、履歴を残しています。これは規制当局への対応には欠かすことができない機能といえます。

## 3 LIMSを中心としたネットワークシステム例

下図に分析ラボラトリーでのLIMSを中心としたネットワークシステム例を示します。それぞれの端末からデータの収集、LIMSサーバへのアクセスができ、多くのデータの迅速な処理と共有化が可能となっています。



## 4 おわりに

ファーマ事業部では、分析ラボラトリーとしてより良い品質と信頼性の高いデータを提供できるように、コンピュータ・バリデーションを進めながら2000年の稼働を目指して各種規制 (GLP 規制等) による査察要求にも対応可能なLIMS環境を現在構築中です。



溝奥 康夫  
(みぞおく やすお)  
ファーマ事業部

S C A S

新分析技術  
新分析装置紹介

N O W

## Equation of My Life in Japan: SCAS + Me = Fun + Learning + Adventure

Brenda Yun Chen



The 11-month internship program is just too short to experience everything at SCAS, let alone everything in Japan! Nevertheless, I have managed to make the best of my time here by making Japanese friends and travelling on the weekends or on my holidays. So far I have enjoyed myself immensely! For this I have to thank the opportunity given to me by SCAS and every effort made by SCAS members.

I first learned about this Co-op Japan opportunity through the Co-operative education office at University of British Columbia, Vancouver, Canada, where I am currently enrolled in the Chemical Engineering Combined Chemistry Honours program. After submitting my application, I was offered internship placement by two companies; SCAS was one of them. After reviewing the detailed and organized company profile and work term related information sent by SCAS, I decided to spend my last Co-op work term from June to December 1999 with SCAS members.

Trace Analysis Group at the Chiba branch has welcomed me, a foreigner who spoke practically no Japanese, with open minds and kindness upon



my arrival in Japan. Their patience and willingness to communicate with me has made the cultural transition much easier than I anticipated. Moreover, I am given challenging projects that offer me solid working experiences: currently I am involved in the analytical research for contamination control in cleanroom air; this research is a frontier study of its kind and is very interesting to me. After spending 3 months here, my experience proved that it was a wise decision to join SCAS for my Co-op work term. Also, as I take great pleasure in working at SCAS and realize it definitely takes more than 7 months to have better understanding of Japanese culture, I have decided to extend my internship with SCAS until April, year 2000. I look forward to any new challenges and rewarding experiences I will encounter, either at work or besides work, in the additional 4 months I will spend here.



From what I have perceived from the Trace Analysis Group in Chiba Laboratory, I daresay that SCAS is not the typical, traditional Japanese company that has been stereotyped in North America. Although in the beginning a few company policies as well as some Japanese customs puzzled me, I was able to quickly adjust to it. Of course trying new and unfamiliar things is not always comfortable, but most the time I

gladly face the challenges encountered. No matter how embarrassing or frustrating the situation might be, at the end of the day I always find my heart filled with the joy brought forth by new experiences. On one hand, this international working experience has offered me precious and unforgettable memories; on the other hand, I hope my being here as an intern has made an impact on SCAS and its members. This is not just about working abroad, but about exchanging ideas and getting a grasp of what other cultures are. As a Chinese-Canadian, I have learned about multiculturalism from personal experience, and I also know, to work with people with different backgrounds (no matter if it's cultural, social, or educational), an open mind and the will to communicate are the crucial elements to

establish a successful working relationship and to create a pleasant working environment.

A final remark. In return for all the friendship and support SCAS members have given me, I would like to give my utmost, sincere appreciation by saying “ どうも、ありがとうございます!!! ”



## インターン生受入

千葉事業所 望月 あい

米国、カナダとのインターン生受入プログラムは1991年に開始され、すでに200人以上の学生が日本企業で学んでいます。この制度はインターン生受入れによって国際交流を図るとともに、日本の生産管理工学や研究開発を実際に体験することで若い技術者や科学者を養成することを目的としています。住化分析センターでは今年からこのプログラムに参加し、カナダのプリティッシュ・コロンビア大学からブレンダさんをインターン生として受け入れました。配属先は千葉事業所の微量科学グループで、微量汚染成分分析に関する研究活動を中心に技術や実務について学んでいます。

カナダやアメリカでは高校を卒業すると親から自立するのが普通です。学生は4カ月という長い夏休みのほとんどを学費のために働きます。そのため学生のための職業斡旋機関があり、学生は収入と実務経験を得るために一般企業に短期就職します。大学で専攻して

いる分野に関係する企業での実務経験は就職時に高く評価されます。大多数の学生は国内での研修を行います。中にはブレンダさんのように海外で研修する学生もいます。日本へのインターンシップは3～12カ月の研修期間で、来日前には1カ月の日本語・日本文化の集中授業を受けます。

ブレンダさんは微量科学グループに配属された当初、挨拶程度の日本語しか分からず、常に通訳が必要な状態でした。しかしそれから1カ月ほどで彼女は簡単な日本語は分かるようになり、同僚も片言の英語とジェスチャーで会話するようになり、彼女はすっかり職場にとけ込みました。共通の言語がないとき、大切なのは意志を伝えたいという気持ちであり、話しかけるという最初の一步だと彼女は教えてくれました。今では専門的な話も図と日本語と英語の資料などを見ながら話し合い、主に分析法開発などの検討課題を中心に業務を進めています。

ブレンダさんは好奇心旺盛で、新しいことにはどんどん挑戦していきます。このことは仕事以外でもいえます。特に週末は挑戦の連続で、すでに富士登山、相撲観戦、関西旅行と休む暇を惜しんで挑戦しています。とてもエネルギーな彼女のそのエネルギーは周りの人にも伝わるようで、彼女がいると活気ある雰囲気になり、彼女は職場でもレジャーでも活躍しています。

研修期間は当初予定していた7カ月から、ブレンダさんの強い希望により11カ月に延長されました。日本での研修は得るものが多いといえます。私たちも彼女から得られるものは多く、残り少なくなった研修期間ではありますが、お互い有意義に過ごしたいと思



# E H I M E L A B .

愛媛事業所 環境グループ ダイオキシンチーム



愛媛事業所の環境グループは、“大気チーム”、“水質チーム”、“ダイオキシンチーム”の3つのセクションから構成されています。

今回は、その中のダイオキシンチームについての紹介をいたします。

## 【ダイオキシンチーム】

ダイオキシンチームは、名前が示すとおりダイオキシン類およびコプラナーPCBの測定を実施しているセクションです。

測定対象試料としては、大気、作業環境、排ガス（一般焼却炉・廃棄物焼却炉）、焼却灰、土壌、底質、排水、環境水、生体試料（魚介類）等の環境関連試料はもちろんのこと、工業製品、中間体、産業廃棄物等、高度な前処理技術を必要とする試料も対象としています。チーム員は総勢10数名の20代を中心にした若手集団で、時には2交替体制で対応するなど、パワー溢れるメンバー構成となっています。

## 【最近の動き】

97年に廃掃法が改正され、それに伴う焼却場の排出ガス及び焼却灰試料

等の測定が大半でありましたが、本年「ダイオキシン類特別対策措置法」が施行され、環境基準、排出基準が設定されようとしています。これにより今まで以上にダイオキシン類に対する関心も高まり環境試料全般（土壌・



底質・水・大気など）の測定依頼が急速に増加しています。

## 【測定の特徴】

ダイオキシン類測定は ppq（千兆分の1）オーダーの極微領域での定量分析であること、人の健康に影響を及ぼすということから、測定値に対する精度・正確度が要求されること、

試料から対象成分を抽出し、ガスクロマトグラフ高分解能質量分析計（HR-GC/MS）で測定するまでの工程が、非常に煩雑で長い日数を要すること、

と非常に高度な技術が要

求され、また時間のかかるのが特徴です。お客様により安価で短かい納期でデータを提供できるよう技術の改良が求められています。

## 【取り組み】

信頼のおける測定値をお客様にお届けできるよう、97年のISO 9001取得に続き、事業所認定制度：ISO/IEC Guide25の認定を受けるべく準備を進めています。また、最新技術の導入にも積極的に取り組み、高速溶媒抽出装置（ASE）やHPLCなどを用いて、品質の向上、迅速化、コスト削減を進めています。

## 【当チームのモットー】

私どもダイオキシンチームのモットーとして、「いかなる状況においても、持ち前の若さでもって屈しない。」ということをお心がけ、一致団結してお客様からのご要望にお応え出来るよう日々仕事にとりくんでいます。

今後更に難易度の高い試料に対しましても、積極的に取り組ませていただきますので、お客様からのご要望をお待ちしています。



後列左より 菊池、星加、野口、横堀、中列左より 村谷GL、三島、佐伯、岡本  
前列左より 渡部、杉本、山下、徳永、塩崎、千羽

SCAS

施設

技術

# 主な投稿論文・口頭発表等

1999.6 1999.11

## 投稿論文

Determination of ultra-trace impurities in semiconductor-grade water and chemicals by inductively coupled plasma mass spectrometry following a concentration step by boiling with mannitol

ANALYTICA CHIMICA ACTA, 377, 47-52 (1998)  
竹田菊男, 渡邊信, 中日出夫, 奥崎純一, 藤本武利\* (千葉事業所, \*エグゼクティブコンサルタント)  
超純水中のpptレベルの金属元素不純物のICP-MS定量法を開発した。超微量濃度領域では分析前処理操作の加熱濃縮段階で、目的成分の回収率の著しい低下が起こり、定量の際に無視できなくなってくる。この回収率の悪化を改善する方法を新たに検討し、高精度で定量できる方法を提案した。更に本法を電子工業薬品中のpptレベルの金属元素定量に応用することができた。

NMRスペクトルによるスチレン三量体立体異性体の構造解析

森口宏一, 鎌田 健, 播本孝史, 松本米蔵\*, 中島久子\* (大阪事業所, \*科学機器事業部)  
分析化学, 48 (6) 623-629 (1999)  
1,4-PPET及び1,3,5-TPCHの立体異性体解析について報告した。前者ではテトラリン環に対する置換基の配座に対応して、(1-eq, 4-eq), (1-ax, 4-eq), (1-ax, 4-ax), (1-eq, 4-ax)の4種の立体異性体が存在すること、また後者では2種の立体異性体が存在し、それぞれの配座は(1-ax, 3-eq, 5-eq), (1-eq, 3-eq, 5-eq)であると結論した。

クリーンルーム構成材料等のアウトガス分析  
野中辰夫, 竹田菊男, 藤本武利\* (千葉事業所, \*エグゼクティブコンサルタント)

クリーンテクノロジー, 9 (2) 13-17 (1999)  
クリーンルーム空気の有機汚染の重要な発生原因の1つとして各種部材からのアウトガス(脱ガス)が知られている。その為有機汚染低減対策には部材の正しいアウトガス評価が必要になる。そこで現在使用されている数種のアウトガス評価法を紹介するとともにこれらの特徴を比較し、実際の各種部材のアウトガス評価についても示した。

強吸収帯における分光反射特性と濃色化

鈴鹿正和 (カラーシステム事業部)  
染色工業, 47 (6) 262-278 (1999)  
繊維表面の強吸収帯における選択表面反射の挙動について解説した。さらに、コンピューターカラーマッチング(CCM)の精度は選択表面反射をKubelka-Munk関数に導入することによって著しく向上させることができる。これらの反射光は、スパッタエッチング処理や樹脂コーティング処理を行うことによってコントロールできる。これらの処理によって濃色化が得られることも併せて説明した。

ウェーハ不良解析に用いる分析機器と手法

- 微小領域・薄膜分析評価技術 -  
馬田洋一, 中津和弘, 三木 武, 真家 信, 佐渡 学 (筑波事業所)

クリーンテクノロジー, 9 (9) 13-19 (1999)  
微細加工技術の発達により、半導体デバイスでは微細化、多層膜化、薄膜化が著しく進んでいる。分析技術に対しても、微小領域の表面及び界面成分を、高い空間分解能で高感度に検出できることが、要求されるようになってきている。このような、ウェーハの不良解析・プロセス管理に用いられる分析装置及び手法について紹介した。

化学汚染の評価分析技術

表面技術, 50 (10) 887-893 (1999)  
竹田菊男 (千葉事業所)  
半導体製造用クリーンルーム環境において、製品の収率と信頼性に悪影響を及ぼす分子状汚染物質につき整理分類して、クリーンルーム空気の測定法、汚染源であるクリーンルーム構成部材からのアウトガス評価法、及びシリコンウェーハ表面上の汚染成分測定法について解説した。

半導体製造プロセスにおける分析・評価技術

- CMPプロセスのケミカル汚染の分析・評価技術を中心に -  
トライボロジ, 13 (11) 36-37 (1999)  
竹田菊男 (千葉事業所)  
半導体製造プロセスに注目されてきているCMP (化学機械研磨) 技術において、ケミカル汚染の評価技術も重要な課題になっている。そこでケミカル汚染の分析・評価法に焦点をあてて、どのような分析技術があるかを整理して簡単に紹介した。

## 口頭発表等

添加剤分析の基礎

松岡康子 (大阪事業所)  
第19回高分子の劣化と安定化 基礎と応用講座 (大阪科学技術センター)  
1999年7月1日

環境大気中のフタル酸ジ - 2 - エチルヘキシル濃度の測定

平敏和, 松尾博和, 古澤由紀, 望月あい, 坂本保子, 竹田菊男, 藤本武利\* (千葉事業所, \*エグゼクティブコンサルタント)  
第8回環境化学討論会 (北九州国際会議場)  
1999年7月7日

新規なアルデヒド捕集用カートリッジ/GC-MS法による室内空気中のアルデヒド類の定量

播本孝史, 広瀬紳二, 森 康明\* (大阪事業所, \*神奈川県衛生研究所)  
第8回環境化学討論会 [ポスターセッション] (北九州国際会議場)  
1999年7月8日

環境大気中の微量酸化エチレン測定法の検討 (キャニスター採取 GC / MS法の応用)

坂田潔治, 川元しのぶ (大阪事業所)  
第8回環境化学討論会 (北九州国際会議場)  
1999年7月8日

精度管理の向上と環境ホルモンの

山内成樹 (大阪事業所)  
平成11年度一水会合同例会 (住友商事 東京)  
1999年7月21日

工業標準化法に基づく試験所認定制度 (ガイド25) の取得

加藤元彦 (千葉事業所)  
平成11年度一水会合同例会 (住友商事 東京)  
1999年7月21日

稼働クリーンルーム構成材からの揮発性有機化合物の評価と雰囲気汚染の影響

伊藤隆夫\*1, 吉田一也\*1, 野中辰夫\*2, 竹田菊男\*2, 藤本武利\*3 (\*1ダイダイン(株), \*2千葉事業所, \*3エグゼクティブコンサルタント)  
第16回エアロゾル科学・技術研究討論会 [ポスターセッション] (ルプラ王山 名古屋)  
1999年7月27日

Evaluation of outgassing compounds from cleanroom construction materials

竹田菊男, 野中辰夫, 松本郁子, 藤本武利\* (千葉事業所, \*エグゼクティブコンサルタント)  
第16回エアロゾル科学・技術研究討論会 (ルプラ王山 名古屋)  
1999年7月27日

Determination of di-2-ethylhexylphthalate in ambient air

松尾博和, 平 敏和, 坂本保子, 望月あい, 古澤由紀, 竹田菊男, 藤本武利\* (千葉事業所, \*エグゼクティブコンサルタント)  
第16回エアロゾル科学・技術研究討論会 [ポスターセッション] (ルプラ王山 名古屋)  
1999年7月27日

多孔質ガラス分離膜を用いた海洋中の炭素の分離と分析 - その2 -

伊藤 博\*1, 中村勝雄\*1, 鈴木 款\*2, 王 莉紅\*2, 長沢 浩\*3 (\*1科学機器事業部, \*2静岡大学, \*3大阪市立大学)  
日本分析化学会第48年会 (甲南大学)  
1999年9月8日

有機多層膜の断面構造解析

末広省吾 (大阪事業所)  
表面分析・EPMA合同研究懇談会 (安保ホール 名古屋)  
1999年9月9日

精度管理と内分泌攪乱化学物質の測定

山内成樹 (大阪事業所)  
平成11年度一水会分析管理研究会幹事会 (住友ビル 大阪本社)  
1999年9月27日

環境試料中のフタル酸エステル類の測定

木村義孝 (千葉事業所)  
千葉県環境計量協会ワーキンググループ成果発表会 / 技術事例発表会 (プラザ菜の花 千葉)  
1999年10月13日

環境試料中のフタル酸エステル類の測定

木村義孝 (千葉事業所)  
第11回日環協関東支部環境セミナー西関東大会 (メルパルク YOKOHAMA)  
1999年10月22日

LC-ECD法による環境水中の - エストラジオールの定量

田中昭好, 伊藤準一 (大阪事業所)  
第16回環境測定技術事例発表会 (労働会館 大阪)  
1999年10月29日

超臨界流体を用いたアクリレートポリマーの分析法の検討

森川正弘 (大阪事業所)  
第4回高分子分析討論会 (名古屋工業研究所)  
1999年11月11日

試験所認定を取得して

加藤元彦 (千葉事業所)  
ISO/IEC Guide 25取得準備講習会 (食糧会館 東京)  
1999年11月16日

各種カラープリンタ用紙・フィルム等における分析評価技術

- インクジェット・熱転写記録紙, その他フィルム類の構造・欠陥解析事例 -  
末広省吾 (大阪事業所)  
技術情報協会主催セミナー (きゅりあん 東京)  
1999年11月26日



## 日本分析化学会から 「1999年度有功賞」を 受賞しました

渡部 忠広  
(愛媛事業所)  
は、1999年  
9月9日、社  
団法人日本分  
析化学会より  
「1999年度  
有功賞」を受  
賞しました。



同氏は住友化学に入社以来40年間  
にわたり、湿式化学分析を担当し、  
アルミニウム等の組成分析および不  
純物分析を行ってきました。この間  
アルミニウム分析法標準化、海外で  
の分析技術の現地指導など軽金属産  
業の発展に、分析の分野から貢献し  
ました。さらに1994年当社入社後  
も分析技術の確立、技術継承面で大  
きな実績をあげています。

このたびの受賞はその功績が認めら  
れたものです。

## 環境分析分野でも ISO/IEC Guide 25 試験所認定取得

千葉事業所が1999年7月30日に  
日本化学工業協会(日化協)の日本化学  
試験所認定機構(JCLA)から環境分析  
分野での試験所認定を取得しました。

これは1999年2月、通商産業省  
工業技術院標準部(JNLA)から工業標  
準化法に基づく化学分野での試験所  
認定を民間で初めて取得したものに  
続くもので、JCLAとしても試験所  
認定事業を開始して以来、第一号の  
認定が当社ということになります。

今回JCLAから認定された試験項目  
の範囲は 排ガス中のダイオキシン  
類 排水中の鉛 用水中の塩化物  
土壌中の十一項目の揮発性有機化合  
物(VOC) 廃棄物中の水銀でありま  
すが、さらに今後必要に応じて認定範  
囲を広げていく予定です。

ISO/IEC Guide 25の認定取得  
は、品質管理システムが整備され、  
認定対象項目に関する分析データの  
技術的信頼性が確保されていること  
をJCLAのような第三者が保証出来  
ることを意味し、関連する分析結果  
報告書にその旨を表するロゴマーク  
がつけられるようになります。

上記ダイオ  
キシン類測定  
のような環境  
分析値は社会  
に与える影響  
が大きいので、  
環境分野で認  
定を取得した



ことは大きな意味を持つことになり  
ます。

## 大分事業所がISO 9001 の認証を取得しました

大分事業所が1999年9月にISO  
9001の認証を取得いたしました。  
これで当社6事業所全てが認証取得し  
たこととなります。大分事業所は環  
境分析、化学、電子分野の工業支援  
分析、局法医薬品試験等を主業務に  
しています。

## 品質保証部が発足

このたび1999年10月15日付け  
で品質保証部を新設しました。品質保  
証業務を全社総合的に推進し、顧客の  
信頼と満足及び販売の維持向上をはか  
ることを目的とし、当社全般の品質保  
証に関する調査、企画、調整、推進及  
び教育等に関する業務を担当します。

お知らせ

## SCASシンガポール・TOWN OFFICEが 移転しました

現地法人 SCAS  
SINGAPORE PTE LTD  
(略称SCASS)が1999年  
9月24日に、World Trade  
Centre(WTC)から  
Jurong East地区へ移転し  
ました。今後とも一層のご  
愛顧をお願い申し上げます。

[新住所]

21 Jurong East Street 13, #03-02 CPF Jurong Building,  
Singapore 609646

[TEL] 65-425-4477

[FAX] 65-425-3577



# 技術 ウォッチャー

46年前、1953年にワトソンとクリックによってDNAの二重らせん構造が発見されたが、1962年に彼らがノーベル賞を受賞したのを契機に“生命活動はすべてDNAで語らねばならない”というある種の信念が広がっていった。

マクスム、ギルバートやサンガーによってDNAの塩基配列構造解析技術が1977年に確立されてから、1967年当時に発表されていたデータがわずか121塩基であったものが、その後の30年間で23億にまでなった。そして今、30億塩基対といわれるヒトゲノムの解析が官民の共同あるいは競争によって2001~2003年までにすべてが解読されようとしている。生命現象の謎の解明が単に人類の福祉に貢献するだけではなく、膨大なビジネスチャンスが医薬・医療や農業分野を中心に確約されているからに他ならない。

一方、解析された個々の遺伝子の機能を探ろうとなるとやはり生体内で実際に機能しているタンパク質の解析が必要となる。このためにプロテオーム(proteome)という用語が1995年に生まれた。これはタンパク質(protein)とゲノム(genome)の合成語でゲノムの各遺伝子に対応するすべてのタンパク質をさすが、この言葉はさらにその分野を研究する学問としてのゲノミクス(genomics)に対応してプロテオ

## タンパク質解析のロマン

住友化学工業(株)生命工学研究所長 中澤 宏

ミクス(proteomics)となった。

プロテオミクスはタンパク質の細胞内での発現量や翻訳後修飾、タンパク質相互作用などの動きを研究し、ヒトでいえば健康および発病状態において発現タンパク質のレベルで何が起きているのか、要するに一つの細胞内ですべてのタンパク質がどう動いているのかを解析しようとする学問である。

このような研究が可能となってきた背景には超高感度質量分析技術とゲノミクスから日々蓄積されるゲノム・データベースを含む遺伝情報解析システム技術(バイオインフォマティクス)との2つの技術の融合がある。

るが、これらは残念ながら欧米からのコンセプトや技術を導入せざるを得ない状況である。

しかし、こうした中で日本人が得意とする分野の一つとしてプロテオミクス実験技術が挙げられると思う。ゲノムプロジェクトから流れ出る膨大なビジネスチャンスの一つとして捉えていくべきであろう。

ヒト遺伝子の数は10~12万と言われているが、その中で疾患の対象となる遺伝子は数千に過ぎないとされる。この少ない遺伝子の探索をめぐって欧米のビッグサイエンスは医薬・医療分野で怒涛のように力づくで突き進んでいる。我々は自分達の領域を見極め、力づくに対しては

アイデアで勝負するしかない。この激しい競争の世界に何とか楔を打ち込みたいと日々努力している。

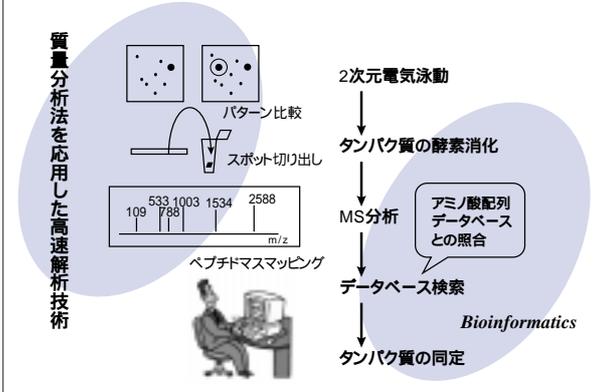
会社生活のほとんどを分析の仕事に携わってきたが、その時代に出会ったクロマトグラフィーの創始者とさ

れるM. Tswettの一つの言葉：“Every scientific advance is an advance in method”

新しい分析方法の開発は新しい分野の開拓に必ずつながるということは生命工学研究においてもまさしく当てはまる言葉である。分析には夢とロマンがある。分析分野の方達の今後の益々の発展を期待したい。



### プロテオーム解析の概略



このプロテオミクスの実験技術としての要素技術はタンパク質を網羅的に分離できる2次元電気泳動技術と分離されてきた超微量タンパク質の質量分析技術に代表される。これらの技術は手先が器用で緻密な日本人の得意とする分野である。生命現象の解析から創薬に向けての様々な要素技術として、DNA配列解析、DNAチップ、電気泳動、質量分析装置、ハイスループットスクリーニング、コンビナトリアルケミストリー、遺伝情報解析システムなどがあ

# 真実の瞬間

理事・科学機器事業部長 市川 修



「成田 発 JL6便のゲートに来て、背広の左胸に手をやった時いつもの感覚が得られず、続いてチケットが無い現実に

直面した。どうしよう、これから2週間に亘る海外出張に出発出来ないではないか。今朝ホテルの部屋で確認した時には、チケットは確かアタッシュケースの上にあった。どうしよう、引き返して間に合うか。だめだ、時間が無い。どうしよう。そこへ、宿泊していたホテルの職員が、なんと自分のチケットを持って駆けつけてくれた。担当のメイドが床に落ちていたチケットを見つけ、フロントに届けてきたのだ。」こんな状況の記述が営業時代に読んだ本に有った記憶がある。これこそが顧客満足の極致かなと思った。著者はこれを「真実の瞬間」というていた。(ヤン・カールソン「真実の瞬間」ダイヤモンド社刊)

当社は研究支援産業であり、分析サービスを主な業とする。顧客満足を経営方針の第一番目においているが、本当にこのような「真実の瞬間」が有るのだろうか。100%お客様の立場に立って、お客様の問題を処理してくれるという信頼感があるのだろうか。筆者の営業時代8年間に「真実の瞬間」はあっただろうか。

## <ねずみの餌作り>

アメリカの本社で画期的な新製品が開発され好調な売れ行きを示していた。日本でも年間10億円の販売を期待し、一年の準備期間で販売開始する事に成った。マーケティング調査も済み、価格設定、カタログ、代理店の選定も終わったが、一つだけ日本の化審法登録にてこずってし

まい、この新製品を発売する事が出来ない。サンプル販売の反応も良く、アメリカ本社の期待も大きく、開発担当者は大いに焦った末、当社が化審法対応試験をやっている事を知り電話してきた。すぐお客様を訪ね知ったのは、対象試料は合成ゴムで、既に日本の高名な受託試験機関に、かなり前からラットを用いる毒性試験を頼んでいたが、まだ試験はスタートさえ出来ていないのが現実であった。それをなじると、ラットに与える餌が出来ないので、餌を作ってくれたら試験するとの返事であった。アメリカでは、このような毒性試験は要求されなかったため、本国の研究所でもどうすべきか適切な指示が出せずにいた。

事情を聞き、とにかくサンプルの塊を持ち帰りラボと相談する事にした。問題は「生のゴムの塊をいかにしてラットに食べてもらえるか。」であった。化審法では新規化学物質を製造発売する前に「高分子化合物といえども場合によっては、ラットによる28日間の反復投与毒性試験を実施し、毒性の無い事を証明すること。」を求めている。ゴムの固まりは美しい琥珀色で弾力性が有りナイフで切れはするが、到底餌に混ぜラットが知らずに食べるほど細かにする事は出来ない事がすぐに分かった。お客さまのラボでも検討され、少量を取り、液体窒素で冷却し粉碎しても、出来た微粉末は常温に戻すとまた固まってしまったと云う。

こんな試料に対しても、ねずみに食べさせる方法を見つけ、きちんと試験計画書を作り、試験を実施し、通産省も厚生省も納得する報告書を出す事ができ、化審法をパスできた。途中で「ラットに食べさせる事など不可能」と考えていた本国の研究所長が見学に来るといっておまけもあり、お客様からは丁重な礼状と報告書英訳の仕事の良い対価で追加受注した。

## <ヘッドクラッシュ>

10年ほど前、銀行などでコンピュータが故障し、お金の出し入れが一時不能になるといった事故が相次いだ時期があった事をご記憶の読者もいると思う。筆者も大学の同窓会に出席しようと、まずは軍資金をと銀行に立ち寄ったが、入り口では係員が何かぶつぶつ言いながら頭を下げていただけで中に入れない。事情を聞くと、ATMが機能せずお金の出し入れが出来ないということで、現金を持たずに会に出席する羽目になってしまった。

コンピュータの記録媒体の一つであるHDDのディスク表面は、特殊な潤滑剤で保護されており、その中をヘッドがマイクロン以下のクリアランスで浮上し、高速で情報を読み取っているが、状況が悪いと、ヘッドクラッシュといってヘッドとディスクが接触してしまい、貯えてあった情報を壊してしまうという事故が起っていた。この問題を解決するため2年以上に亘ってありとあらゆる試験・測定を繰り返した中に、印象的な問題があった。

先の、ディスク上の潤滑剤には、NASAが開発され宇宙空間で使う高品位のフッ素オイルを輸入して使っていたが、当時その受入検査方法が無く「問題を起こしやすいオイルと問題を起こさないものを識別する方法を見つけたい」というのがお客様の要望であった。ところがこの両者、沸点、各種スペクトル(IR, UV, プロトンNMR)その他考えられるありとあらゆる物性が似通っており、お客様はディスクに潤滑剤を塗布し、製品を組み立て実際に使ってみて、トラブルが起きて初めて良否が判別出来るという厄介なものであった。

この問題を一回10分程の比較的容易な試験で、使用前に良否を判別する方法を見つけ出すことができた。お客様は、自分達のユーザーに、操業一時停止という大きなリスクを負わせるかもしれない製品を販売しなくても良くなった。

## 編 集 後 記

本誌は毎号、テーマを決めて関連する記事を集め編集していますが、ご多分にもれず、テーマが自分の業務に関連しない場合は勿論のこと、関連する場合でも科学技術の高度化と細分化のために、内容が理解しにくくなっています。高度な内容を専門外の人にも理解し

て頂けるように心がけていきたいと思っています。と志は高いのですが、私共T.S.とM.K.は今号から編集を担当することになりました新米です。内容、出来映え等、皆様のご叱正をお願いいたします。

### ISO 9001 認証登録

JQA-1105 JQA-1814  
JCQA-0253 JQA-QM3707

### ISOガイド25 認定試験所

LJP1-Z90117JP JCLA 1

はインシュタインの疑問符で、彼のあくなき好奇心と探求心こそが、  
宇宙真理発見の原動力だったのかも知れません。

**SCAS** Sumika Chemical  
Analysis Service

編集・発行 株式会社住化分析センター 発行日 2000.1.18 2000- (通巻11号)  
〒541-0043 大阪市中央区高麗橋4-6-17 TEL06-6202-1807 FAX06-6202-0116  
ホームページ <http://www.scas.co.jp>

東京営業所	TEL 03-3257-7201	千葉営業所	TEL 0438-64-2281
大阪営業所	TEL 06-6202-1000	千葉営業所	TEL 0438-64-2284
愛媛営業部・愛媛事業所	TEL 0897-32-3411	大阪事業所	TEL 06-6466-5247
岡山営業部・岡山事業所	TEL 086-477-8103	大分営業部・大分事業所	TEL 0975-23-1181
カラーステム事業部	TEL 06-6202-0016	筑波事業所	TEL 0298-64-4741
ファーマ事業部	TEL 06-6466-5246	科学機器事業部	TEL 06-6466-5243/5249

本誌は再生紙を使用しています。