インターフェロン　アルファ（NAMALWA）注射液

Interferon Alfa (NAMALWA) Injection

本品は水性の注射剤である．

本品は定量するとき，表示量の70～150 %に対応するインターフェロン アルファ (NAMALWA)を含む．

製法　本品は「インターフェロン　アルファ（NAMALWA)」をとり，注射剤の製法により製する．

性状　本品は無色澄明の液である．

確認試験　本品にウシ血清加イーグル最小必須培地を加えて，1 mL中に5000単位を含むように薄め，試料原液とする．抗インターフェロンアルファ抗血清にウシ血清加イーグル最小必須培地を加えて，1 mL中にインターフェロンアルファ10000単位を中和する濃度の抗インターフェロンアルファ抗血清を含む溶液とする．この液に等容量の試料原液を加えて混合し，試料溶液とする．別に試料原液に等容量のウシ血清加イーグル最小必須培地を加えて混合し，対照液とする．試料溶液及び対照液を37±1 ℃で1時間放置した後，残存する力価を定量法により測定し，本品の抗ウイルス活性が抗インターフェロンアルファ抗血清によって中和されるとき，適合とする．ただし，中和の判定基準は試料溶液の残存する力価が検出されないときとする．

浸透圧比　別に規定する．

ｐＨ　別に規定する．

純度試験　多量体　本品適量を量り，1 mL中に300万単位を含む液となるようにpH 6.8のトリス・グリシン緩衝液を加え，試料溶液とする．試料溶液200 μLにつき，次の条件で液体クロマトグラフィー〈*2.01*〉により試験を行う．この液の各々のピーク面積を自動積分法により測定し，面積百分率法によりそれらの量を求めるとき，インターフェロンアルファの単量体ピークより保持時間の小さいピークの合計量は3.0 %以下である．

試験条件

検出器：紫外吸光光度計(測定波長：220 nm)

カラム：内径10 mm，長さ30 cmのガラス管に液体クロマトグラフィー用デキストラン－高度架橋アガロースゲルろ過担体を充填する．

カラム温度：25 ℃付近の一定温度

移動相：無水リン酸水素二ナトリウム1.15 g，リン酸二水素カリウム0.2 g，塩化ナトリウム8.0 g及び塩化カリウム0.2 gを水に溶かし，1000 mLとする．この液950 mLに，ラウリル硫酸ナトリウム10 gをとり，水100 mLを加えて溶かした液50 mLを加え、静かに混和する．

流量：毎分1 mL

面積測定範囲：インターフェロンアルファの単量体ピークの溶出終了までの範囲

システム適合性

検出の確認：試料溶液50 μLを正確に量り，pH 6.8のトリス・グリシン緩衝液を加えて正確に2 mLとする．この液200 μLから得た主ピーク面積が，試料溶液の主ピーク面積の2.0～3.0 %になることを確認する．

システムの性能：ゲルろ過分子量マーカー用卵白アルブミン15 mg及びゲルろ過分子量マーカー用リボヌクレアーゼA 15 mgをpH 6.8のトリス・グリシン緩衝液100 mLに溶かす。この液20 μLにつき，上記の条件で操作するとき，卵白アルブミン，リボヌクレアーゼAの順に溶出し，その分離度は2.0以上である．

システムの再現性：試料溶液200 μLにつき，上記の条件で試験を6回繰り返すとき，主ピーク面積の相対標準偏差は2.0 %以下である．

エンドトキシン〈*4.01*〉　60万単位当たり0.25EU未満．

採取容量〈*6.05*〉　試験を行うとき，適合する．

不溶性異物〈*6.06*〉　第1法により試験を行うとき，適合する．

不溶性微粒子〈*6.07*〉　試験を行うとき，適合する．

無菌〈*4.06*〉　メンブランフィルター法により試験を行うとき，適合する．

定量法　平底マイクロプレートの各穴にウシ血清加イーグル最小必須培地で調製した45000～60000個のFL細胞を接種し，5 %炭酸ガス培養器内で，37±1 ℃で18～22時間培養する．本品及びインターフェロンアルファ標準品にそれぞれ1 mL中にインターフェロンアルファ約30単位を含む液となるようにウシ血清加イーグル最小必須培地を加え，試料溶液(1)及び標準溶液(1)とする．これらの液200 μLにウシ血清加イーグル最小必須培地117 μLを加えて試料溶液(2)及び標準溶液(2)とする．これらの液200 μLにウシ血清加イーグル最小必須培地117 μLを加える．この操作を繰り返し，1段当たりの希釈率が0.2 $\log_{10}$倍である8段階の対数希釈した試料溶液及び標準溶液を調製する．ただし，試料溶液は繰り返し3回以上調製する．細胞培養の各穴に各試料溶液又は各標準溶液を加え，37±1 ℃で6時間培養する．培養液を捨て，1穴当たり1×10^5～1×10^6 PFUのシンドビスウイルスを加え，37±1 ℃で38～42時間培養する．培養液を捨て，ニュートラルレッド・ウシ血清加イーグル最小必須培地を加え，37±1 ℃で45～75分間培養する．培養液を捨て，0.01 mol/Lリン酸塩緩衝液を加える．この液を捨てる．この操作を繰り返す．細胞に取り込まれたニュートラルレッドをリン酸二水素ナトリウム・エタノール試液を加えて溶出させる．波長540 nmにおける吸光度を測定し，試料溶液及び標準溶液から得た吸光度から，縦軸を吸光度，横軸を希釈倍数の対数とする用量反応曲線をそれぞれ作成する．試料溶液及び標準溶液の用量反応曲線について，ウイルスを感染させていない細胞と感染させた細胞での吸光度の中間の吸光度となる点を比較して，独立して調製した試料溶液(n＝3以上)の標準溶液に対する相対力価を求め，その平均値を本品1 mL中の力価とする．

なお，次の条件をすべて満たすとき，試験は有効とする．

ウイルスを感染させていない細胞から得られる吸光度が0.8～1.2.

ウイルスを感染させた細胞から得られる吸光度が0.1以下.

繰り返し3回以上調製した試料溶液から得た本品1 mL中の力価(対数)の標準偏差が0.06以下.

貯法

保存条件　遮光して，凍結を避け，10 ℃以下で保存する．

容器　密封容器.

---

9. 01 標準品(2)の項に次を追加する.

インターフェロンアルファ標準品

9. 41 試薬・試液の項に次を追加する.

イーグル最小必須培地，ウシ血清加　イーグル最小必須培地に適当な量のウシ血清を加える.

FL細胞　正常ヒト羊膜由来の樹立細胞株で，ウシ血清加イーグル最小必須培地で継代する.

抗インターフェロンアルファ抗血清　インターフェロンアルファでウサギを免疫して作製した抗血清で，インターフェロンアルファと特異的に反応し，1 mLでインターフェロンアルファ10000単位以上を中和するもの.

シンドビスウイルス　トガウイルス科のRNAウイルスで，ニワトリ胚細胞初代培養で増殖させる．同細胞培養上でプラーク数を測定し，1×10^{8} PFU/mL以上のものを用いる.

トリス・グリシン緩衝液，pH 6.8　2－アミノ－2－ヒドロキシメチル－1,3－プロパンジオール1.22 g，グリシン0.76 g，塩化ナトリウム8.8 g及びポリソルベート80 0.1 gを水800 mLに溶かし，1 mol/L塩酸試液を加えてpH 6.8に調整し，水を加えて1000 mLとする.

ニュートラルレッド・ウシ血清加イーグル最小必須培地　*N*－2－ヒドロキシエチルピペラジン－*N*′－2－エタンスルホン酸を含み，炭酸水素ナトリウムを含まないウシ血清加イーグル最小必須培地にニュートラルレッド溶液(1→100)を加え，水酸化ナトリウム試液を加えてpH 6.7～6.8に調整する.

卵白アルブミン，ゲルろ過分子量マーカー用　ニワトリ卵白より得られたもの．ゲルろ過クロマトグラフィー用.

リボヌクレアーゼA，ゲルろ過分子量マーカー用　ウシの膵臓より得られたもの．ゲルろ過クロマトグラフィー用.

リン酸塩緩衝液，0.01 mol/L　無水リン酸水素二ナトリウム1.15 g，リン酸二水素カリウム0.2 g，塩化ナトリウム8.0 g及び塩化カリウム0.2 gを水に溶かし，1000 mLとする.

リン酸二水素ナトリウム・エタノール試液　リン酸二水素ナトリウム溶液(39→2500) 500 mLに水200 mLを加えた後，エタノール(99.5) 300 mLを加える.

9. 42 クロマトグラフィー用担体・充填剤の項に次を追加する.

デキストラン－高度架橋アガロースゲルろ過担体，液体クロマトグラフィー用　液体クロマトグラフィー用に製造されたもの.