

1 インスリン ヒト(遺伝子組換え)

2 **基原, 確認試験, 純度試験(3)及び貯法の項を次のように改め,**
3 **亜鉛含量の項をエンドトキシンの後に移動する.**

4 本品は, 遺伝子組換えヒトインスリンであり, 21個のア
5 ミノ酸残基からなるA鎖1分子, 及び30個のアミノ酸残基か
6 らなるB鎖1分子から構成されるペプチドである. 本品は,
7 血糖を低下させる作用がある.

8 本品は定量するとき, 換算した乾燥物に対し, 1 mg当た
9 り27.5インスリン単位以上を含む.

10 **確認試験** 本品適量を精密に量り, 0.01 mol/L塩酸試液に溶か
11 し, 1 mL中に2.0 mgを含むように調製する. この液500 µL
12 を清浄な試験管にとり, pH 7.5のヘブス緩衝液2.0 mL及び
13 V8プロテアーゼ酵素試液400 µLを加え, 25 °Cで6時間反応
14 した後, 硫酸アンモニウム緩衝液2.9 mLを加えて反応を停
15 止し, 試料溶液とする. 別にヒトインスリン標準品を同様の
16 方法で操作し, 標準溶液とする. 試料溶液及び標準溶液50
17 µLにつき, 次の条件で液体クロマトグラフィー (2.01) によ
18 り試験を行い, 両者のクロマトグラムを比較するとき, 同一
19 の保持時間のところに同様のピークを認める.

20 試験条件

21 検出器: 紫外吸光度計(測定波長: 214 nm)

22 カラム: 内径4.6 mm, 長さ10 cmのステンレス管に3
23 µmの液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル
24 化シリカゲルを充填する.

25 カラム温度: 40 °C付近の一定温度

26 移動相: A液-水/硫酸アンモニウム緩衝液/アセトニ
27 トリル混液(7:2:1)

28 B液-水/アセトニトリル/硫酸アンモニウム緩衝
29 液混液(2:2:1)

30 試料注入後60分間にA液/B液混液(9:1)からA液
31 /B液混液(3:7)となるように直線的勾配で移動相B
32 液の割合を増加させながら送液し, 次の5分間でB液
33 100 %となるように直線的勾配でB液の割合を増加さ
34 せ, 更にその後5分間はB液を送液する.

35 流量: 毎分1.0 mL

36 システム適合性

37 システムの性能: 標準溶液50 µLにつき, 上記の条件で
38 操作するとき, 溶媒ピーク直後に溶出するピークの後
39 に溶出する, これより大きな最初の二つのピークのシ
40 ンメトリー係数はそれぞれ1.5以下であり, その分離
41 度は3.4以上である.

42 純度試験

43 (3) その他の目的物質由来不純物 別に規定する.

44 乾燥減量 (2.41) 10.0 %以下(0.2 g, 105 °C, 24時間).

45 エンドトキシン (4.01) 10 EU/mg未満.

46 **亜鉛含量** 本品約50 mgを精密に量り, 0.01 mol/L塩酸試液に
47 溶かし, 正確に25 mLとし, 必要ならば, 更に0.01 mol/L塩
48 酸試液を加えて, 1 mL中に亜鉛(Zn: 65.38) 0.4 ~ 1.6 µgを
49 含むように薄め, 試料溶液とする. 別に原子吸光度用亜鉛
50 標準液適量を正確に量り, 0.01 mol/L塩酸試液を加えて1
51 mL中に亜鉛(Zn: 65.38) 0.40 µg, 0.80 µg, 1.20 µg及び

52 1.60 µgを含むように薄め, 標準溶液とする. 試料溶液及び
53 標準溶液につき, 次の条件で原子吸光度法 (2.23) により
54 試験を行い, 標準溶液の吸光度から得た検量線を用いて試料
55 溶液の亜鉛(Zn: 65.38)を定量するとき, 換算した乾燥物に
56 対し1.0 %以下である.

57 使用ガス:

58 可燃性ガス アセチレン

59 支燃性ガス 空気

60 ランプ: 亜鉛中空陰極ランプ

61 波長: 213.9 nm

62 貯法

63 保存条件 -20 °C以下で保存する.

64 容器 気密容器.

65