

## 1 テセロイキン(遺伝子組換え)

2 **基原及び確認試験(2)の項を次のように改め、確認試験(3)の項**  
 3 **を分子量、確認試験(4)の項を等電点とし、純度試験の項を次のよ**  
 4 **うに改め、純度試験(6)の項を酢酸としエンドキシンの項の次に移**  
 5 **動する。**

6 本品の本質は、遺伝子組換えヒトインターロイキン-2で  
 7 あり、N末端にメチオニンが結合した134個のアミノ酸残基  
 8 かなるタンパク質である。本品は水溶液である。本品は、  
 9 T-リンパ球活性化作用を有する。

10 本品は定量するとき、1 mL当たり  $7.7 \times 10^6 \sim 1.54 \times$   
 11  $10^7$  単位を含み、タンパク質1 mg当たり  $7.7 \times 10^6$  単位以上  
 12 を含む。

### 13 確認試験

14 (2) タンパク質のアミノ酸分析法 (2.04) 「1.タンパク質  
 15 及びペプチドの加水分解」の方法2の変法及び方法4により  
 16 加水分解し、「2.アミノ酸分析法」の方法1により試験を行  
 17 うとき、アスパラギン酸は11.4~12.6、グルタミン酸は17.1  
 18 ~18.9、プロリンは4.5~5.5、グリシンは1.8~2.2、システ  
 19 インは2.7~3.3、メチオニンは4.5~5.5、ロイシンは20.9~  
 20 23.1、チロシンは2.7~3.3、フェニルアラニンは5.4~6.6、  
 21 リシンは10.5~11.6、ヒスチジンは2.7~3.3、トリプトファン  
 22 は0.7~1.2及びアルギニンは3.6~4.4である。また、試料  
 23 溶液(1)から得たクロマトグラムには、構成する18種のアミ  
 24 ノ酸のピークを認める。

### 25 操作法

26 (i) 加水分解 本品のタンパク質約50 µgに対応する容量  
 27 を、2本の加水分解用試験管にとり、それぞれ減圧で蒸発乾  
 28 固し、一方を試料(1)とする。もう一方に、室温で1時間放置  
 29 したギ酸/過酸化水素(30)混液(9:1) 50 µLを加え、4時間  
 30 氷冷した後、水0.5 mLを加えて減圧で蒸発乾固し、試料(2)  
 31 とする。メタンスルホン酸1.3 mLに水3.7 mLを加えてよく  
 32 混和した後、3-(2-アミノエチル)インドール10 mgを加え  
 33 て溶かし、4 mol/Lメタンスルホン酸溶液とする。クエン酸  
 34 三ナトリウム二水和物39.2 g、塩酸33 mL、チオジグリコー  
 35 ル40 mL及びラウロマクロゴール溶液(1→4) 4 mLを水700  
 36 mLに溶かし、pH2.2に調整した後、水を加えて1000 mLと  
 37 し、カプリル酸100 µLを加えて混和し、希釈用クエン酸ナ  
 38 トリウム溶液とする。試料(1)及び試料(2)に、用時製した4  
 39 mol/Lメタンスルホン酸溶液50 µLをそれぞれ加え、-70 °C  
 40 に冷却した後、減圧で脱気する。これらの試験管を減圧で融  
 41 封した後、115±2 °Cで24時間加熱する。冷後、開封し、4  
 42 mol/L水酸化ナトリウム試液50 µLを加えた後、希釈用ク  
 43 ン酸ナトリウム溶液0.4 mLを加え、試料溶液(1)及び試料溶  
 44 液(2)とする。別にL-アスパラギン酸、L-トレオニン、L-  
 45 セリン、L-グルタミン酸、L-プロリン、グリシン、L-ア  
 46 ラニン、L-バリン、L-メチオニン、L-イソロイシン、L-  
 47 ロイシン、L-チロシン、L-フェニルアラニン、L-リシ  
 48 ン塩酸塩、塩化アンモニウム、L-ヒスチジン塩酸塩一水和  
 49 物及びL-アルギニン塩酸塩をそれぞれ0.25 mmolに対応す  
 50 る量、並びにL-シスチン0.125 mmolに対応する量を精密に  
 51 量り、0.1 mol/L塩酸試液に溶かし、正確に100 mLとし、ア  
 52 ミノ酸標準原液とする。この液1 mLを正確に量り、希釈用

53 クエン酸ナトリウム溶液を加えて正確に25 mLとし、A液と  
 54 する。L-トリプトファン約20 mgを精密に量り、水に溶か  
 55 し、正確に1000 mLとし、B液とする。A液及びB液をそれ  
 56 ぞれ10 mLずつ正確に量って合わせ、希釈用クエン酸ナトリ  
 57 ウム溶液を加えて正確に50 mLとし、アミノ酸標準溶液とす  
 58 る。別にL-システイン酸約17 mgを精密に量り、希釈用ク  
 59 ン酸ナトリウム溶液に溶かし、正確に50 mLとする。この  
 60 液1 mLを正確に量り、希釈用クエン酸ナトリウム溶液を加  
 61 えて正確に100 mLとし、システイン酸標準溶液とする。

62 (ii) アミノ酸分析 試料溶液(1)及び試料溶液(2)、アミノ  
 63 酸標準溶液及びシステイン酸標準溶液0.25 mLずつを正確に  
 64 とり、次の条件で液体クロマトグラフィー (2.01) により試  
 65 験を行い、試料溶液(1)から得られるアミノ酸のピークを確  
 66 認する。また、試料溶液(1)及びアミノ酸標準溶液の各アミ  
 67 ノ酸のピーク面積を測定し、試料溶液(1)のアラニンのモル  
 68 数を5.0としてアスパラギン酸、グルタミン酸、プロリン、  
 69 グリシン、メチオニン、ロイシン、チロシン、フェニルアラ  
 70 ニン、リシン、ヒスチジン、トリプトファン及びアルギニン  
 71 の濃度を求めて各アミノ酸のモル比を求める。更に、試料溶  
 72 液(2)及びシステイン酸標準溶液のシステイン酸のピーク面  
 73 積を測定し、システインの濃度を求め、試料溶液(2)のア  
 74 ラニンのモル数を5.0として、システインのモル比を求める。

### 75 試験条件

76 検出器：可視吸光度計[測定波長：440 nm (プロリン)  
 77 及び570 nm (プロリン以外のアミノ酸)]  
 78 カラム：内径4 mm、長さ25 cmのステンレス管に5 µm  
 79 のポリスチレンにスルホン酸基を結合した液体クロマ  
 80 トグラフィー用強酸性イオン交換樹脂を充填する。  
 81 カラム温度：試料注入時は50 °C付近の一定温度。一定  
 82 時間後に昇温し、62 °C付近の一定温度  
 83 反応槽温度：98 °C付近の一定温度  
 84 発色時間：約2分  
 85 移動相：移動相A、移動相B及び移動相Cを次の表に従  
 86 って調製後、それぞれにカプリル酸0.1 mLを加える。

	移動相 A	移動相 B	移動相 C
クエン酸一水和物	18.70 g	10.50 g	7.10 g
クエン酸三ナトリウ ム二水和物	7.74 g	14.71 g	26.67 g
塩化ナトリウム	7.07 g	2.92 g	54.35 g
エタノール(99.5)	60 mL	—	—
ベンジルアルコール	—	—	10 mL
チオジグリコール	5 mL	5 mL	—
ラウロマクロゴール 溶液(1→4)	4 mL	4 mL	4 mL
水	適量	適量	適量
pH	3.2	4.3	4.7
全量	1000 mL	1000 mL	1000 mL

87 移動相及びカラム温度の切換え：アミノ酸標準溶液0.25  
 88 mLにつき、上記の条件で操作するとき、アスパラギ  
 89 ン酸、トレオニン、セリン、グルタミン酸、プロリン、  
 90 グリシン、アラニン、シスチン、バリン、メチオニン、  
 91 イソロイシン、ロイシン、チロシン、フェニルアラニ  
 92 ン、リシン、アンモニア、ヒスチジン、トリプトファ  
 93 ン、アルギニンの順に溶出し、シスチンとバリンの分  
 94 離度が2.0以上、アンモニアとヒスチジンの分離度が

95	1.5以上になるように、移動相A, B, Cを順次切り換	149	1000 mLとする。
96	える。また、グルタミン酸とプロリンの分離度が2.0	150	ゲル支持板の冷却温度：15℃
97	以上になるように、一定時間後に昇温する。	151	通電条件
98	反応試薬：酢酸リチウム二水和物408 gを水に溶かし、	152	前泳動時及び本泳動時：電圧、電流及び電力は、それ
99	酢酸(100) 100 mL及び水を加えて1000 mLとする。	153	ぞれ250 V, 10 mA及び3 Wを超えない範囲。なお、
100	この液にジメチルスルホキシド1200 mL及び2-メト	154	電流及び電力は、ポリアクリルアミドゲルシートの
101	キシエタノール800 mLを加えて(Ⅰ)液とする。別に	155	枚数に比例させる。
102	ジメチルスルホキシド600 mL及び2-メトキシエタ	156	試料添加直後：電圧、電流及び電力は、それぞれ250
103	ノール400 mLを混和した後、ニンヒドリン80 g及び	157	V, 1 mA及び3 Wを超えない範囲。なお、電流及び
104	水素化ホウ素ナトリウム0.15 gを加えて(Ⅱ)液とする。	158	電力は、ポリアクリルアミドゲルシートの枚数に比
105	(Ⅰ)液3000 mLに、20分間窒素を通じた後、(Ⅱ)液	159	例させる。
106	1000 mLを速やかに加え、10分間窒素を通じ混和す	160	泳動時間
107	る。	161	試料添加前：負荷電圧を時間について積分した値が、
108	移動相流量：毎分約0.275 mL	162	60 V・hに達するまで。
109	反応試薬流量：毎分約0.3 mL	163	試料添加直後：負荷電圧を時間について積分した値が、
110	システム適合性	164	1 V・hに達するまで。
111	システムの性能：アミノ酸標準溶液0.25 mLにつき、上	165	本泳動：負荷電圧を時間について積分した値が、140
112	記の条件で操作するとき、トレオニンとセリンの分離	166	V・hに達するまで。
113	度は1.5以上である。	167	固定及び染色
114	分子量 2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジ	168	無水炭酸ナトリウム25 g及びホルムアルデヒド液
115	オール0.242 g, ラウリル硫酸ナトリウム5.0 g及びエチレン	169	0.8 mLを水に溶かし、1000 mLとし、現像液とする。
116	ジアミン四酢酸二水素二ナトリウム二水和物74 mgを水60	170	ポリアクリルアミドゲルシートをエタノール(99.5)/
117	mLに溶かす。1 mol/L塩酸試液を加えてpH 8.0とした後、	171	水/酢酸(100)混液(5:4:1)に2分間浸した後、水/
118	水を加えて100 mLとし、分子量測定用緩衝液とする。本品	172	エタノール(99.5)/酢酸(100)混液(17:2:1)に2分間
119	20 µLを正確に量り、分子量測定用緩衝液20 µL及び2-メル	173	浸す。液を交換し、更に4分間浸した後、水に2分間
120	カプトエタノール2 µLを正確に加え、水分を蒸発させない	174	浸してポリアクリルアミドゲルシートを洗い、液を交
121	ようにして90～100℃の水浴上で5分間加熱する。冷後、	175	換し、2分間浸す。以上の操作は50℃に加温して行う。
122	プロモフェノールブルー溶液(1→2000)1 µLを正確に加え、	176	次に40℃に加温しながら薄めた硝酸銀試液(1→7)に
123	振り混ぜ、試料溶液とする。別にテセロイキン用分子量マ	177	10～15分浸した後、30℃に加温してポリアクリル
124	ーカー5 µLを正確に量り、水50 µL, 分子量測定用緩衝液55	178	アミドゲルシートを軽く水洗する。30℃に加温しな
125	µL及び2-メルカプトエタノール5 µLをそれぞれ正確に加え、	179	がらポリアクリルアミドゲルシートを用時製した現像
126	水分を蒸発させないようにして90～100℃の水浴上で5分間	180	液に浸し、適当な発色を得た後、薄めた酢酸(100) (1
127	加熱する。冷後、プロモフェノールブルー溶液(1→2000) 1	181	→20)にポリアクリルアミドゲルシートを浸し、発色
128	µLを正確に加え、よく振り混ぜ、分子量標準溶液とする。	182	を停止させる。
129	試料溶液及び分子量標準溶液1 µLにつき、SDSポリアクリ	183	分子量の推定
130	ルアミドゲル電気泳動法により試験を行うとき、主バンドの	184	分子量標準溶液から得た各バンドの濃縮ゲルと分離
131	分子量は14000～16000である。	185	ゲルの境界からの距離と、各バンドのタンパク質の分
132	試験条件	186	子量の対数をグラフにプロットする。試料溶液から得
133	装置：冷却装置を備えた水平型電気泳動槽、負荷電圧を	187	た主バンドの位置をこのグラフに対応させ、分子量を
134	時間について積算する装置を備え、電流、電圧及び電	188	求める。
135	力の制御を行える直流電源装置。	189	等電点 本品3 µL及びテセロイキン用等電点マーカー8 µLに
136	溶液のスポット：ポリアクリルアミドゲルシートの濃縮	190	つき、ポリアクリルアミドゲル等電点電気泳動法により試験
137	ゲル上に溶液をスポットする。	191	を行うとき、泳動位置から求められる等電点は7.4～7.9で
138	泳動条件	192	ある。
139	ポリアクリルアミドゲルシート：幅約43 mm, 長さ	193	試験条件
140	約50 mm, 厚さ約0.5 mmのポリアクリルアミドゲ	194	装置：冷却装置を備えた水平型電気泳動槽及び定電力制
141	ルが密着したポリエステル・シート。ポリアクリル	195	御を行える直流電源装置。
142	アミドゲルは、ゲル担体濃度7.5%, 架橋度3%の	196	ポリアクリルアミドゲルの調製：アクリルアミド1.62 g
143	濃縮ゲルと、同様にそれぞれ20%, 2%の分離ゲ	197	及びN,N'-メチレンビスアクリルアミド50 mgを水
144	ルからなり、ゲル中にpH6.5トリス・酢酸緩衝液を	198	に溶かし、25 mLとする。この液7.5 mL及びグリセ
145	含む。	199	リン5 gに水を加えて10 mLとした液2 mL並びにpH3
146	電極用緩衝液：トリシン35.83 g, 2-アミノ-2-ヒ	200	～10用両性担体液0.64 mLをそれぞれ正確に量り、
147	ドロキシメチル-1,3-プロパンジオール24.23 g及	201	よくかき混ぜながら減圧下で脱気する。次に用時製し
148	びラウリル硫酸ナトリウム5.5 gを水に溶かし、	202	たペルオキシ二硫酸アンモニウム溶液(1→50)74 µL,

203	$N,N,N',N'$ -テトラメチルエチレンジアミン3 $\mu\text{L}$ 及	256	カラム温度：25 $^{\circ}\text{C}$ 付近の一定温度
204	び用時製したリン酸リボフラビンナトリウム溶液(1→	257	移動相A：ジエタノールアミン0.658 gを水400 mLに混
205	1000) 50 $\mu\text{L}$ をそれぞれ正確に量り、かき混ぜた後、	258	和し、1 mol/L塩酸試液を加えてpH9.0に調整した後、
206	直ちに幅10 cm、長さ11 cm、厚さ0.8 mmのゲル調製	259	水を加えて500 mLとする。
207	板に注ぎ、蛍光灯を照射して60分間放置し、ゲル化	260	移動相B：pH6~9用両性担体液2.6 mL及びpH8~10.5
208	させる。	261	用両性担体液0.5 mLに水300 mLを加えた後、薄めた
209	スポット	262	塩酸(9→100)を加えてpH7に調整した後、水を加えて
210	あらかじめ、ゲル調製板に幅3.5 mm、長さ3.5 mm、	263	400 mLとする。
211	厚さ0.4 mmのプラスチック製テープを貼り付け、ゲ	264	移動相の切換え及び試料注入方法：移動相Aを送液しな
212	ル化後形成されたこの大きさのウェルに、泳動開始か	265	ら試料溶液を注入する。試料溶液は0.11 mLずつ10
213	ら30分後に、本品又はテセロイキン用等電点マーカ	266	回繰り返し注入し、更に、100 $\mu\text{L}$ を1回注入する。全
214	ーを加える。	267	量注入後、60分間移動相Aを送液した後、移動相Bを
215	泳動条件	268	送液する。試料溶液を測定した後、カラムの後処理及
216	陰極用溶液：水酸化ナトリウム試液	269	び洗浄のために、1 mol/L塩化ナトリウム試液を10分
217	陽極用溶液：DL-アスパラギン酸溶液(133→25000)	270	間送液した後、移動相Aを送液しながら水酸化ナトリ
218	ゲル支持板の冷却温度： $\pm 2$ $^{\circ}\text{C}$	271	ウム試液100 $\mu\text{L}$ を注入し、55分間後に次の試料溶液
219	通電条件：泳動開始後20分間は10 W、以後20 Wの一	272	の注入を開始する。
220	定電力、ただし、電圧は3000V以下。	273	流量：テセロイキンの保持時間が45 ~ 65分になるよう
221	泳動時間：120 ~ 140分間。ただし、泳動槽内に窒素	274	に、移動相Bの流量を調整する。ただし、保持時間は、
222	を送風する。	275	移動相Bに切り換えた時点から測定する。
223	固定及び洗浄	276	システム適合性
224	トリクロロ酢酸28.75 g及び5-スルホサリチル酸二	277	システムの性能：ウマ心臓由来で等電点が6.76及び7.16
225	水和物8.65 gをメタノール75 mL及び水175 mLに溶	278	の2種ミオグロビンの混合物を水に溶かし、約0.5 mg/
226	かす。この液にゲルを60分間浸し、タンパク質をゲ	279	mLの濃度とする。この液50 $\mu\text{L}$ 、本品50 $\mu\text{L}$ 及び水
227	ルに固定する。固定した後、水/エタノール(99.5)/	280	1.47 mLを混和する。この液1.2 mLにつき、上記の
228	酢酸(100)混液(67 : 25 : 8)に10分間浸す。	281	条件で操作するとき、ミオグロビン、テセロイキンの
229	染色及び脱色	282	順に溶出し、それぞれのピークが完全に分離する。
230	クーマシーブリリアントブルーG-250 0.11 gをエ	283	(2) 二量体 本品20 $\mu\text{L}$ に0.2 %ラウリル硫酸ナトリウム
231	タノール(99.5) 25 mLに溶かし、酢酸(100) 8 mL及び	284	試液20 $\mu\text{L}$ を加え、試料溶液とする。この液20 $\mu\text{L}$ につき、
232	水を加えて100 mLとし、染色液とする。用時ろ過し	285	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
233	した染色液に60 $^{\circ}\text{C}$ に加温しながらゲルを10分間浸し、	286	う。テセロイキンのピーク面積 $A_2$ 及びテセロイキンに対す
234	染色した後、水/エタノール(99.5)/酢酸(100)混液	287	る相対保持時間0.8~0.9の二量体のピーク面積 $A_1$ を自動積分
235	(67 : 25 : 8)に浸し、脱色する。	288	法により測定し、次式により二量体の量を求めるとき、
236	等電点の決定	289	1.0 %以下である。
237	テセロイキン用等電点マーカーから得た各バンドの	290	二量体の量(%)= $A_1/(A_1 + A_2) \times 100$
238	陰極からの距離と各タンパク質の等電点をプロットす	291	試験条件
239	る。試料溶液から得た主バンドの位置をこのグラフに	292	検出器：紫外吸光度計(測定波長：220 nm)
240	対応させ、等電点を求める。	293	カラム：内径7.5 mm、長さ60 cmのステンレス管に粒
241	純度試験	294	径10 $\mu\text{m}$ の液体クロマトグラフィー用グリコールエー
242	(1) デスマチオニル体 本品1 mLにタンパク質約0.17	295	テル化シリカゲルを充填する。
243	mgを含む液となるように水を加え、試料溶液とする。この	296	カラム温度：25 $^{\circ}\text{C}$ 付近の一定温度
244	液1.2 mLにつき、次の条件で液体クロマトグラフィー	297	移動相：ラウリル硫酸ナトリウム1.0 gをpH 7.0の0.1
245	(2.01) により試験を行う。テセロイキンのピーク面積 $A_2$ 及び	298	mol/Lリン酸ナトリウム緩衝液に溶かし、1000 mLと
246	テセロイキンに対する相対保持時間約0.8のデスマチオニル	299	とする。
247	体のピーク面積 $A_1$ を自動積分法により測定し、次式により	300	流量：テセロイキンの保持時間が30 ~ 40分になるよう
248	デスマチオニル体の量を求めるとき、1.0 %以下である。	301	に調整する。
249	デスマチオニル体の量(%)= $A_1/(A_1 + A_2) \times 100$	302	システム適合性
250	試験条件	303	システムの性能：炭酸脱水酵素5 mg及び $\alpha$ -ラクトアル
251	検出器：紫外吸光度計(測定波長：280 nm)	304	ブミン5 mgを水100 mLに溶かした液20 $\mu\text{L}$ に、
252	カラム：内径7.5 mm、長さ7.5 cmのステンレス管に10	305	0.2 %ラウリル硫酸ナトリウム試液20 $\mu\text{L}$ を加える。
253	$\mu\text{m}$ の液体クロマトグラフィー用ジエチルアミノエチ	306	この液20 $\mu\text{L}$ につき、上記の条件で操作するとき、炭
254	ル基を結合した合成高分子を充填し、そのカラム2本	307	酸脱水酵素、 $\alpha$ -ラクトアルブミンの順に溶出し、
255	を直列に接続する。	308	その分離度は1.5以上である。

309 システムの再現性：試料溶液1 mLを正確に量り、移動  
 310 相を加えて正確に20 mLとした液1 mLを正確に量り、  
 311 移動相を加えて正確に10 mLとする。この液20  $\mu$ Lに  
 312 つき、上記の条件で試験を3回繰り返すとき、テセロ  
 313 イキンのピーク面積の相対標準偏差は7 %以下である。  
 314 (3) テトラサイクリン塩酸塩 試験菌 *Micrococcus luteus*  
 315 ATCC 9341をテセロイキン用試験菌移植培地斜面に、2回連  
 316 続して35~37 °Cで継代培養したものを、滅菌精製水を加え  
 317 て100倍に薄め、試験菌液とする。試験菌液は5 °C以下に保  
 318 存し、5日以内に使用する。試験菌液に滅菌精製水を加えて  
 319 段階的に希釈し、その適量をテセロイキン用普通カンテン培  
 320 地100 mLに加えて予備試験を行い、1 mL中にテトラサイク  
 321 リン塩酸塩( $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ )0.5  $\mu$ g (力価)含む標準溶液に  
 322 対し阻止円を示す量を定めておき、この量を、一度溶かして  
 323 45~50 °Cに冷却したテセロイキン用普通カンテン培地100  
 324 mLに加えて混合する。この液25 mLを、135 × 95 mmの角  
 325 形ペトリ皿に分注し、水平に広げて固化する。このカンテン  
 326 培地に、直径6 mmのウェルを適當数作り、試験用平板とす  
 327 る。テセロイキン用普通カンテン培地100 mLに加える試験  
 328 菌液の量は、0.25 ~ 1.0 mLとする。テトラサイクリン塩酸  
 329 塩標準品適量を正確に量り、1 mL中に正確にテトラサイク  
 330 リン塩酸塩( $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ ) 1 mg (力価)を含む液となる  
 331 ように水を加える。この液適量を正確に量り、水で正確に薄  
 332 め、4, 2, 1及び0.5  $\mu$ g (力価)/mLの濃度の標準溶液とする。  
 333 別に本品を、必要ならば薄めた酢酸(100) (3→1000)で希釈、  
 334 又は減圧濃縮し、タンパク質濃度0.8~1.2 mg/mLとし、試  
 335 料溶液とする。試料溶液及び各標準溶液25  $\mu$ Lずつを正確に  
 336 量り、同一の試験用平板のウェルにそれぞれ加える。3枚以  
 337 上の試験用平板について同様に操作する。各試験用平板を室  
 338 温で30~60分間放置した後、35~37 °Cで16~18時間培養し、  
 339 各阻止円の直径を0.25 mmまで測定する。それぞれの液に  
 340 ついて、試験用平板間の平均値を求める。  
 341 横軸に各標準溶液の濃度を対数目盛でとり、縦軸に阻止円  
 342 の直径をとったグラフにプロットし、標準曲線を作成する。  
 343 本品の阻止円の直径を標準曲線に対応させて、本品中のテト  
 344 ラサイクリン塩酸塩の濃度Aを求める。次式により本品中の  
 345 タンパク質1 mg当たりのテトラサイクリン塩酸塩の量を求  
 346 めるとき、0.7  $\mu$ g (力価)以下である。ただし、阻止円を認め  
 347 ないか、認めてもその直径が0.5  $\mu$ g (力価)/mLの標準溶液の  
 348 もより小さい場合、Aを0.5  $\mu$ g (力価)/ mL以下とする。  
 349 タンパク質1 mg当たりのテトラサイクリン塩酸塩  
 350 ( $C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl$ )の量[ $\mu$ g (力価)]  
 351  $= A/P$   
 352 P: 試料溶液のタンパク質濃度(mg/mL)  
 353 (4) その他の異種タンパク質 本品5  $\mu$ Lにつき、次の条  
 354 件で液体クロマトグラフィー (2.01) により試験を行い、  
 355 各々のピーク面積を自動積分法により測定する。面積百分率  
 356 法によりそれらの量を求めるとき、テセロイキン及び溶媒以  
 357 外のピークの合計量は1.0 %以下である。  
 358 試験条件  
 359 検出器：紫外吸光度計(測定波長：220 nm)  
 360 カラム：内径4.6 mm、長さ15 cmのステンレス管に5  
 361  $\mu$ mの液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル

化シリカゲルを充填する。

カラム温度：30 °C付近の一定温度

移動相A：トリフルオロ酢酸の水/アセトニトリル混液  
(19 : 1)溶液(1→1000)

移動相B：トリフルオロ酢酸のアセトニトリル溶液(7→  
10000)

移動相の送液：移動相A及び移動相Bの混合比を次のよ  
うに変えて濃度勾配制御する。

注入後の時間 (分)	移動相A (vol%)	移動相B (vol%)
0 ~ 12	60 → 50	40 → 50
12 ~ 25	50	50
25 ~ 45	50 → 0	50 → 100
45 ~ 50	0	100

流量：1.0 mL/分

面積測定範囲：テセロイキンの保持時間の約1.2倍の範  
圍

システム適合性

システムの性能：本品83.6  $\mu$ Lに水3.8  $\mu$ L及びポリソル  
ベート80溶液(1→100) 16.6  $\mu$ Lを加え、1時間以上静  
置する。この液5  $\mu$ Lにつき、上記の条件で操作する  
とき、テセロイキンに対する相対保持時間約0.98のピー  
クとテセロイキンのピークは完全に分離する。

(5) 宿主由来タンパク質 別に規定する。

(6) DNA 別に規定する。

381 エンドトキシン (4.01) タンパク質1 mg当たり5 EU未満。

382 酢酸 本品0.25 mLを正確に量り、内標準溶液0.25 mLを正確  
 383 に加え、試料溶液とする。別に酢酸(100) 3 mLを正確に量  
 384 り、水を加えて正確に100 mLとする。この液10 mLを正確  
 385 に量り、水を加えて正確に100 mLとする。この液2 mLを正  
 386 確に量り、内標準溶液2 mLを正確に加えて標準溶液とする。  
 387 試料溶液及び標準溶液1  $\mu$ Lにつき、次の条件でガスクロマ  
 388 トグラフィー (2.02) により試験を行い、内標準物質のピー  
 389 ク面積に対する酢酸のピーク面積の比  $Q_1$ 及び  $Q_2$ を求め、次  
 390 式により本品1 mL中の酢酸( $C_2H_4O_2$ )の量を求めるとき、  
 391 2.85 ~ 3.15 mgである。

本品1 mL中の酢酸( $C_2H_4O_2$ )の量(mg)

$$= Q_1/Q_2 \times 1.5 \times 1.049 \times 2$$

1.5 : 標準溶液の酢酸(100)濃度( $\mu$ L/ mL)

1.049 : 25 °Cにおける酢酸(100)の密度(mg/ $\mu$ L)

2 : 希釈倍率

内標準溶液 薄めたプロピオン酸(1→500)

試験条件

検出器：水素炎イオン化検出器

カラム：内径1.2 mm、長さ40 mのガラス管の内面に、  
ガスクロマトグラフィー用ポリエチレングリコールを  
化学結合させて被覆し、厚さ1.0  $\mu$ mとしたもの。

カラム温度：110 °C付近の一定温度

キャリアーガス：ヘリウム

流量：酢酸の保持時間が約8分となるように調整する。

システム適合性

システムの性能：標準溶液1  $\mu$ Lにつき、上記の条件で

408 操作するとき、酢酸、内標準物質の順に流出し、その  
409 分離度は3以上である。  
410 システムの再現性：標準溶液1  $\mu\text{L}$ につき、上記の条件  
411 で試験を6回繰り返すとき、内標準物質のピーク面積  
412 に対する酢酸のピーク面積の比の相対標準偏差は5 %  
413 以下である。  
414