

感染症予防用ワクチンの製造に貢献する 生産用連続超高速遠心分離機

Hitachi's Continuous Flow Ultracentrifuge System Contributing to Production of Vaccine for Infection Prevention

相沢 正春 森田 正隆 戸井 寛厚
Aizawa Masaharu Morita Masataka Toi Hiroatsu

福原 栄一 橋本 和久
Fukuhara Eiichi Hashimoto Kazuhisa

2009年の新型インフルエンザの世界的大流行と同程度、あるいはそれよりも脅威と言われる鳥インフルエンザの流行が懸念されており、これら感染症への対応策の一つとしてワクチンへの期待が以前にも増して高まっている。

ワクチンや医薬品の原料となる病原ウイルスや抗原などを分離、精製する工程には超高速回転の遠心分離機が用いられており、日立工機株式会社は、20年以上にわたってこの生産用連続超高速遠心分離機を製造し、国内外の大手製薬・ワクチン製造会社に納入してきた。製薬・ワクチン製造各社からは、医薬品の製造における品質レベルの向上や製造の効率アップに対応できる製造設備の供給が望まれており、これに応える製品の供給を通じて、人々の健康や快適な社会の実現に向けて貢献していく。

1. はじめに

遠心分離機（以下、遠心機と記す。）自体の歴史は長く、19世紀後半には牛乳を分離してクリームを作る目的で使われていた。その後、大量分離用の遠心機が動植物油の分離、あるいは醸造などの分野で使用されるようになったが、これらの装置は高い遠心力を求められるものではなかった。

一方、生化学分野の進歩とともに、より高い遠心力が得られる遠心機、すなわち細胞膜やミトコンドリアなどの細胞内成分が分離できる高速遠心機が求められるようになり、1930年代には供給されるようになった。さらにウイルス研究用として、ウイルスの分離要求が高まり、1950年代には最高回転速度 $40,000 \text{ min}^{-1}$ 、 $100,000 \text{ G}$ （地球上の重力の10万倍）以上の遠心加速度が得られる超高速遠心機が開発されるに至った。また、大量分離用遠心機としては、1968年に米国でエアタービン駆動式、最高回転速度 $35,000 \text{ min}^{-1}$ の生産用連続超遠心機が開発された。

日立工機は、研究用超遠心機が国策で開発された際に日立製作所中央研究所が参画したプロジェクトの中で、



図1 | 日立卓上超高速遠心分離機「CS150NX」

最高回転速度 $150,000 \text{ min}^{-1}$ 、最大遠心加速度 $1,050,000 \text{ G}$ で、一度に 180 ml まで分離処理が可能であり、医学、生化学などの研究用として用いられる。

1952年に試作品製作に携わった。以来、遠心機の商用化に取り組み、1988年に高周波モータ駆動式、最高回転速度 $40,000 \text{ min}^{-1}$ の低騒音型生産用連続超遠心機を開発した。今日では、研究用に用いられている最高回転速度 $150,000 \text{ min}^{-1}$ 、最大遠心加速度 $1,050,000 \text{ G}$ の超遠心機（図1参照）や生産用連続超遠心機から、病院において血液検査や尿検査の前処理に用いられる $4,000 \text{ min}^{-1}$ 、 $2,000 \text{ G}$ 程度の卓上遠心機まで、豊富な品ぞろえを有する世界有数の総合遠心機メーカーに成長するまでに至っている。

ここでは、生産用連続超遠心機の概要と、2009年10月に発売した日立生産用連続超遠心機「CC40NX」の特徴や技術的ポイントについて述べる。

2. 生産用連続超遠心機の概要

2.1 生産用連続超遠心機の構成

生産用連続超遠心機は、主にウイルス感染症（インフルエンザ、日本脳炎など）を予防するワクチンの製造工程において、大量に培養された病原ウイルスや有用物質の培養液から目的物を分離し、回収する製造設備である。ワクチン製造過程における病原ウイルスや有用物質は大きさが $18 \sim 300 \text{ nm}^1$ 程度の非常に小さな粒子であり、これを分

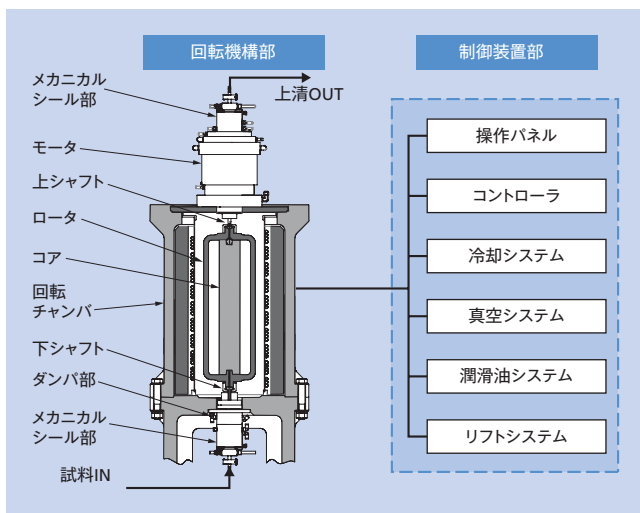


図2 | 回転機構部の構造と制御装置部の構成

高周波モータ駆動であり、試料は下部メカニカルシールから注入され、ロータ内で分離後、上清が上部メカニカルシールから排出される。

離・精製・濃縮するために、超遠心機による方法がきわめて有効であり、生産用連続超遠心機が重要な設備となる。

この装置は、円筒形のロータを高速回転し、ロータを支持する上下の中空シャフトを通じて試料を連続的に注入して、ロータ内で有用物質を分離・沈降させ、上清を機外に連続排出する方式の超遠心機であり、回転機構部と制御装置部から構成されている(図2参照)。

回転機構部は、中央部に円筒形ロータが位置し、その上下端部に駆動用のシャフトが連結されている。シャフトは中空構造で試料通路を兼ねており、上下軸受で支持され、上部シャフトは高周波モータに連結されている。また、上下シャフトの端部には、試料を静止部と回転部で出し入れするメカニカルシールを設けている。

ロータは、 $40,000 \text{ min}^{-1}$ まで回転でき、最大遠心加速度が $118,000 \text{ G}$ と強大な値に達するため、材料として比強度が高く耐食性に優れた高強度チタン合金を用いている。

制御装置部は、運転パラメータの設定と運転状態を表示する操作パネル、モータ/インバータを含む遠心機全体を電氣的に制御するコントローラ、回転中のロータ冷却とモータやメカニカルシール部を冷却する2系統の冷却システム、ロータが内部で回転するチャンバを真空にして高速回転するロータの発熱を防止する真空システム、回転機構部内のロータを上方に引き上げて着脱するためのリフトシステムなどから構成されている。

2.2 生産用連続超遠心機の用途と使用手順

用途としては、インフルエンザウイルス、日本脳炎ウイルスなどのワクチン用ウイルス分離、成人T細胞白血病、AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome: 後天性免疫不全症候群)などの診断用試薬に用いる有用物質の

表1 | 生産用連続超遠心機の用途例

ワクチンや各種診断試薬の製造に用いられる。

用途	目的	分離方法・回転速度
インフルエンザワクチン	病原ウイルス精製	連続式・ $35,000 \text{ min}^{-1}$
日本脳炎ワクチン	病原ウイルス精製	連続式・ $35,000 \text{ min}^{-1}$
B型肝炎ワクチン	有用物質精製	バッチ式・ $34,000 \text{ min}^{-1}$
狂犬病ワクチン	病原ウイルス精製	連続式・ $35,000 \text{ min}^{-1}$

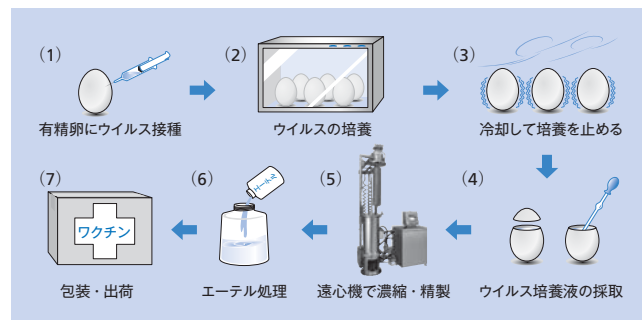


図3 | インフルエンザワクチンの製造工程例

国産のインフルエンザワクチンは有精卵を使用した製法によっている。

分離などがある(表1参照)。代表的例としてインフルエンザワクチンの製造工程例を示す(図3参照)。

現在、日本国内で製造されているインフルエンザワクチンは、管理された有精鶏卵に病原ウイルス由来の株を接種して培養後、ウイルス粒子をシヨ糖密度勾(こう)配遠心分離²⁾で精製し、エーテルで処理したものである。

この工程中に用いられる超遠心分離法は、ロータの中に密度勾配液を形成し、試料を連続的に注入して密度勾配液層中に必要物質をとどめる「連続流れ式遠心法」と、同様に密度勾配液を用いて、あらかじめ試料を密度勾配液層内に混入して試料を流さずに密度勾配液層中に必要物質をとどめる「バッチ式遠心法」がある。これらの分離法は被分離物質の粒子径、溶液中の浮遊密度、不要物質との性質差などに応じて使い分けられる。ワクチンの有用物質分離に多用される連続流れ式遠心法は、ロータ容量が3~8 Lでありながら50~100 Lの試料を大量処理できるという特徴がある。

インフルエンザウイルスの分離には、シヨ糖密度勾配液を用いた連続流れ式遠心法が用いられている(図4参照)。運転手順の概要は以下のとおりである。

ステップ1: ロータを停止した状態で下部シャフトからロータ内へ緩衝液と60% (w/w) シヨ糖溶液をロータ容量の50%ずつ注入する。緩衝液は、水素イオン濃度に対する緩衝溶液で、生物試料が活性を失わないように調整された溶液である。

ステップ2: ロータを $4,000 \text{ min}^{-1}$ まで加速する。ステップ1で注入された2層の溶液は、ロータの回転に伴い、60%シヨ糖液がロータの内壁側に、緩衝液がその内側の回転中心側に垂直に配向する。やがて、その境界部分で拡

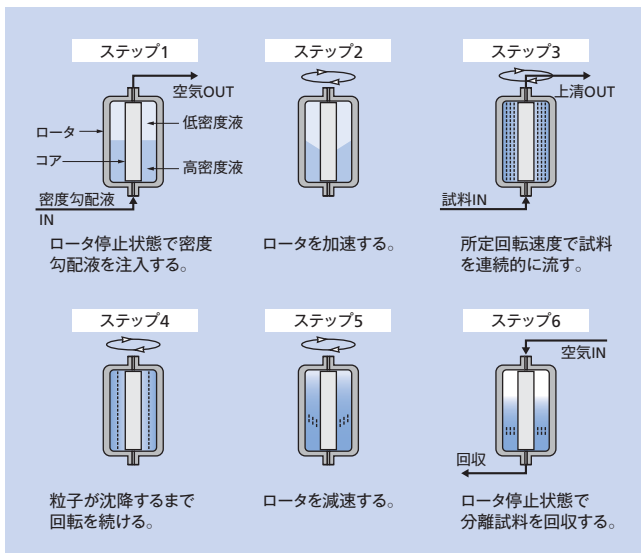


図4 | 連続流れ式遠心法の運転操作手順
連続流れ式遠心法は、ロータ内に密度勾配液を形成し、目的物質を密度勾配液層に沈降させて、その沈降液層から目的物質を回収する。

散し、0～60%までのショ糖密度勾配液層が形成される。
ステップ3: 所定の高速回転速度（一般に、 $35,000 \text{ min}^{-1}$ ）で試料を所定流量で連続的に注入する。所定流量とは、ウイルスがロータ内にとどまる流量（10～20 L/h）であり、ウイルスはロータ内で沈降してウイルス自体の浮遊密度と同じ密度位置（濃度約42%）に集まる。

ステップ4: 試料を流し終えた後、所定回転速度を維持してロータ内の粒子を所定位置へ完全に沈降させる。

ステップ5: 回転速度を $4,000 \text{ min}^{-1}$ まで減速後、密度勾配液層を乱さないようにゆっくりと停止させる。

ステップ6: 回転を停止させた後、下部からロータ内溶液を取り出し、必要な目的物質を回収する。

3. 生産用連続超遠心機の仕様と顧客ニーズ

生産用連続超遠心機の基本的仕様を表2に示す。
製薬・ワクチン製造会社からは、医薬製品の品質レベルの向上や製造の効率アップに対応した製造設備の供給が望まれており、そのポイントは以下のとおりである。

(1) 分離工程における滅菌性向上

医薬品製造設備は衛生管理上、異物や毒性、微生物的清浄状態の管理が徹底される。遠心機の試料が通過・接触する流路もこの管理対象であるが、従来装置では滅菌方法に

表2 | 生産用連続超遠心機の基本的仕様
微小粒子を遠心分離するための基本性能を備えている。

最高回転速度	$40,000 \text{ min}^{-1}$
最大遠心加速度	118,000 G
ロータ最大容量	8 L
駆動方式	高周波モータ直結方式
寸法	幅1,750×奥行1,150×高さ2,950 (mm)
質量	900 kg

制約があり、回転前に薬液を使用した浸漬滅菌に限られていた。医薬品製造設備として、より滅菌効果が高いSIP^{※1)}の適用可能化が求められる。

(2) 医薬品製造記録の電子データ管理

医薬品製造時は、製造設備の稼働状態や運転記録を詳細に記録、保管する必要があり、従来は紙への記録とその保管で行われてきた。この改良としてコンピュータを用いた記録、電子承認による品質記録の高品質化、記録の信頼性向上が求められる。

(3) 医薬品製造設備に対応したフレキシブルな製品

医薬品製造設備は、顧客サイトごとに大きく異なっており、それらの設備とこの装置の親和性は製造効率や製造品質に大きな影響を与えるため、それぞれの顧客サイトに適合する構成、仕様の製品を納入する必要がある。

4. 生産用連続超遠心機「CC40NX」の特徴と開発技術

4.1 SIPの可能化

2009年10月に発売した「CC40NX」(図5参照)の開発では、SIPの適用可能化実現に取り組み、(1)ロータ内に挿入するプラスチック製コアに代わる軽量設計のチタン合金製コア[図6(a)参照]、(2)試料流路構成部品の耐熱材料採用、および、(3)蒸気滅菌時の遠心機本体の制御方法を開発した。この開発により、この装置を医薬品製造ラインに接続した状態での高圧蒸気滅菌(121℃、20分間)を、業界で初めて可能にした。

※1) SIPは、Steam-In-Place、またはSterilization-In-Placeの略。定置蒸気滅菌とも言われ、機器が設置された状態で、試料流路に存在する雑菌を定められたレベル以下に滅菌、除去するプロセスである。

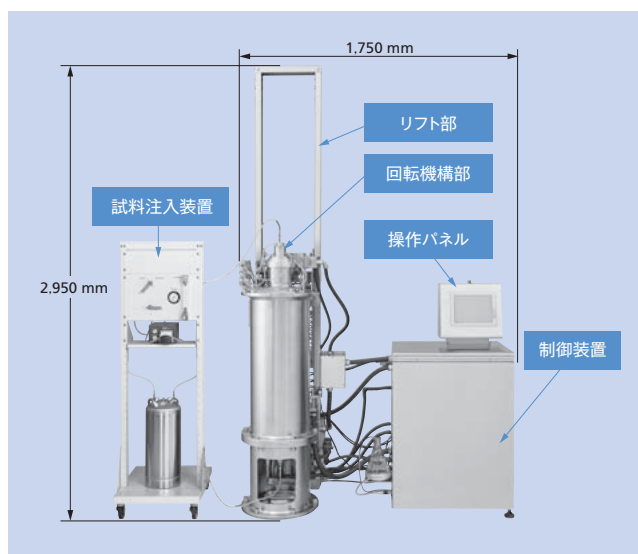


図5 | 日立生産用連続超遠心機「CC40NX」
最高回転速度 $40,000 \text{ min}^{-1}$ 、試料流路の蒸気滅菌可能化、運転データ電子記録対応など数々の特徴を有する(2009年10月発売)。

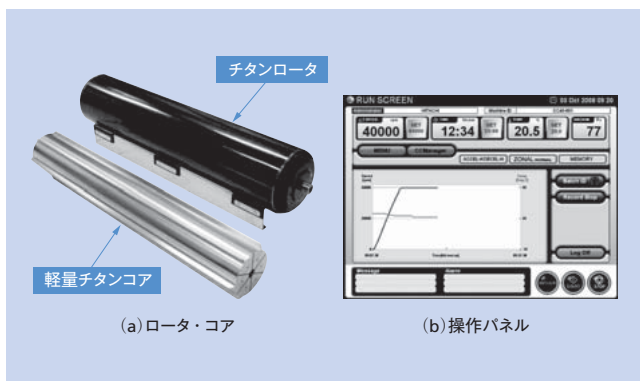


図6 | ロータ・チタン製コアと操作パネルの外観
軽量チタンコアはロータ内に挿入されてロータとの間に分離層を形成する。
操作パネルは運転状態をグラフィック表示する。

4.2 運転データ電子記録とタッチ式カラー操作パネル

この装置は、装置制御用内蔵コンピュータを用いて、医薬品製造の運転データを自動記録できる。また、記録されたデータは、FDA (Food and Drug Administration: 米国食品医薬品局) の品質管理基準に対応するとともに、FDA 21 CFR Part 11 と称する米国連邦令の食品と医薬品に関する品質記録の「電子記録・電子署名」に対応している。さらに、ユーザーIDとパスワードによるログイン機能、運転状態の記録、「Audit Trail (監査証跡)」機能、セキュリティ機能が搭載されている。

また、操作パネルに、画面をタッチして簡単に操作できるカラー液晶パネルを採用しており、設定値と運転状態の同時表示や運転状態のグラフィック表示、マルチリング表示機能がある [図6 (b) 参照]。

4.3 顧客ニーズに対応できるフレキシブルシステム

医薬品製造設備が顧客サイトごとに異なるため、それぞれの顧客サイトにフレキシブルに適合できる機器構成とした。

(1) 自動化ラインへの適合改造

試料の自動供給や自動排出装置へのハードウェア的接続対応、および顧客側通信ネットワークに対応する通信手段の搭載が可能である。

(2) バイオハザード・クリーンルームへの対応

この装置で扱われる試料の性状に対応して、さまざまな要求に対応できる。例えば、チャンバからの真空排気ラインへのHEPA (High Efficiency Particulate Air) フィルタの装着、あるいはこの装置が設置された部屋全体の滅菌に使用される薬品への耐食性の向上、さらには回転装置部を隔離された部屋に設置し、制御装置部を一般ルームに設置する分割設置時の遠隔操作を可能にすることなどである。

また、クリーンルームへの設置対応として、この装置からの排出粒子低減も可能である。

5. おわりに

ここではワクチンや医薬品の製造設備として用いられている生産用連続超遠心機の概要と、日立生産用連続超遠心機「CC40NX」の特徴や技術的ポイントについて述べた。

インフルエンザワクチンの製法は製造期間の短縮と卵由来のタンパク質に起因する副反応を避けるために、サル、イヌなど動物の細胞由来の培養細胞を用いた方法に変わりつつある。しかし、有用物質の分離・精製は、超遠心機による方法が有効であり、これまでと同様に生産用連続超遠心機が継続的に使用されていくものと考えられる。

日立工機は、今後も顧客ニーズに応える製品供給を通じて、人々の健康や快適な社会の実現に向けて貢献していく。

参考文献

- 1) 国立予防衛生研究所学会編：ウイルス実験学 (各論)、丸善 (1982)
- 2) D. Rickwood：Preparative Centrifugation, IRL Press Ltd, Oxford (1992)

執筆者紹介



相沢 正春
1968年日立工機株式会社入社、元ライフサイエンス機器事業部設計部 所属



森田 正隆
1980年日立工機株式会社入社、ライフサイエンス機器事業部企画部 所属
現在、遠心機のアプリケーション開発、営業支援業務に従事
日本生化学会会員、日本ワクチン学会会員



戸井 寛厚
1996年日立工機株式会社入社、ライフサイエンス機器事業部設計部 所属
現在、生産用連続超遠心機の開発業務に従事



福原 栄一
2008年日立工機株式会社入社、ライフサイエンス機器事業部設計部 所属
現在、生産用連続超遠心機の開発業務に従事



橋本 和久
1985年日立工機株式会社入社、ライフサイエンス機器事業部企画部 所属
現在、遠心機の営業企画業務に従事