

源由来医薬品および医薬品は、公衆保健サーピス法 (PHS Act) (42 U.S.C.262 参照)、連邦食品医薬品化粧品法 (FD&C Act) (21 U.S.C.301 参照) の元、生物学的医薬品評価研究センター-CBER と CDER により規制される。FDA は、動物の診断、治療、鎮静、手当て、疾病予防、動物の骨格や機能を変えることを目的に、医薬品生産用組換え植物を用いて製造される動物薬についても規制を行う。新しい動物薬や新しい動物薬を含む飼料は、FDC 法の元、動物用医薬品センター (CVM) により規制される。FDA による規制は、米国連邦規則 21 条 (21CFR) に記載されている。

USDA は、ウイルス-血清-毒素法 (21.U.S.C.151 参照) の元、APHIS にある獣医生物学センター (CVB) を介して家畜用生物製品の規制を行う。USDA による規制は、米国連邦規則 9 条 (9CFR) Parts 101-124 に記載されている。

前述のように、APHIS/BRS は、植物保護法 (7U.S.C.7701-7772) のもと、全ての医薬品生産用組換え植物の輸入、州間の輸送、環境への放出 (例：圃場試験) について規制を行う。APHIS/BRS による規制は、米国連邦規則第 7 条 (7CFR)、特に、7CFR340 に記載されている。

Appendix A に関連機関の連絡先が記載されている。

重複を避けるため、医薬品生産用組換え植物の圃場栽培に伴って生じる国家環境政策法 (NEPA) アセスメントを含む環境面での安全性の問題の報告については、主として APHIS/BRS が対応する。医薬品生産用組換え植物は APHIS の許可を得て栽培され、圃場栽培の許可は製品の申請書を提出する前に得ることになるため、APHIS/BRS はそのような植

物の圃場栽培により生じる環境への影響を明らかにし、評価することになる。規制対象となる製品の使用により生じる環境面での問題は、製品の審査と認可を行う担当機関での NEPA 分析において取り扱われる。これらの機関による NEPA 分析では、APHIS/BRS の環境面での報告が考慮される。第 III 章 B の国家環境政策法も参照すること。

## II. 宿主および原材料植物の特性解析

### II-A. 一般的留意事項

開発段階では、目的物質の原料として用いる植物種について慎重に考慮する必要がある。考慮すべき事項としては、植物がアレルゲンや毒性物質を発現する可能性、植物の繁殖方法と封じ込めを確実にする方策、さらに、食用植物が非食用物質の生産に用いられる場合は、非食用 (非飼料用) 植物が食物や飼料に混入しないための方策等がある。食用あるいは飼料用植物への混入が認められた製品は、FDC 法のもと、製法が法定基準に合っていないと見なされる。

最新の規制に対応するための要件を知るためには、適切なガイダンス文書や法規を参照し、開発のできるだけ早い段階で関係機関に相談することが推奨される。

### II-B. 宿主植物

申請書には、可能な限り狭い細かい分類で植物を同定するために必要な情報 (例：属、種、亜種、変種または園芸品種、系統) を含む宿主植物の生物学的特性を全て記載すること。

目的物質の製造の一定性が選択された植物によって確保されるかを関係機関が評価するために、改変されていない宿主植物の繁殖特性と、生産の実施に関して以下の点を記載して提出すること。

- ・ 一年性、多年性、あるいは、二年性としての生育環境
- ・ 繁殖能力の獲得時期と開花期間
- ・ 種子の生産と収穫
- ・ 貯蔵される種子の純度を維持するための方法
- ・ 生育条件
- ・ 収穫時期
- ・ 収穫法
- ・ 収穫物の輸送、保存、分類法

さらに、その植物種において産生されることが知られている全ての毒物、栄養阻害物質、アレルギーの含有量、および、重金属の蓄積に関する知見について記載すること。その植物種が、生あるいは加工された形で、食物や飼料として利用される種であるかについても述べる。

## II-C. 遺伝子導入された原材料植物

### 1. 一般的留意事項

宿主植物は、内在性遺伝子産物の発現を上げるような改変、あるいは、異種の遺伝子産物を発現するような操作を受ける。改変のための遺伝子は一過性に植物に加えられるか、安定的に挿入される。遺伝子発現の方法によらず、植物株のバンク化およびベクターを含む製造工程における生育と発現の段階の履歴を保存していく必要がある。最も重要なことは、原材料植物により生産される製品の一定性を示すデータを申請書に記載することである。

医薬品生産用組換え植物が食料や飼料に用いられる種である場合、医薬品生産用組換え植物と食料あるいは飼料に利用される植物体との混入が起こらないための方策を講じる必要がある。食用あるいは飼料用植物への混入が認められた製品は、FDC 法 (21U.S.C.342)のもと、製法が法定基準に合っていないと見なさ

れる。生の農作物の状態で、導入遺伝子および生産されたタンパク質の存在を検出できる方法を整備しておくことが強く求められる。

### 2. 組換え DNA の特性解析

申請書では、以下の項目を含め、遺伝子導入に用いられる組換え DNA 構成体あるいはウイルスベクターの特性を全て明らかにする必要がある。

- ・ コーディング領域、抗生物質あるいは除草剤耐性遺伝子、複製起点、プロモーター、エンハンサーを含む遺伝子発現構成体全ての部分に関する起源と機能
- ・ それぞれの機能的要素の位置を示した遺伝子発現構成体のマップ
- ・ プラスミドの増幅方法
- ・ 菌体での発現に必要なプラスミド中の全ての配列
- ・ 5'および 3'境界領域を含む導入遺伝子の塩基配列
- ・ 植物のコドン使用頻度に合わせたコドンの変更

本文書では、コーディング領域とは、医薬品生産用組換え植物で発現することを設計あるいは期待されているか否かにかかわらず、全長あるいは一部削除されたセンス方向の遺伝子発現構成体、アンチセンス遺伝子発現構成体、リボザイムを含む遺伝子発現構成体、を指す。

ヒト用の生物製品のために構築される組換え DNA 構造体の分析の詳細については、日・米・EU 三極医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議 (ICH) ガイドライン Q5B: 組換え DNA 技術を応用したタンパク質生産に用いる細胞中の遺伝子発現構成体の分析を参照すること。

### 3. 安定発現系

マスター・シードあるいはマスター・シード・バンク (MSB) とワーキング・シードあるいはワーキング・シード・バンクを作製する前に、適切な組換え体を確立することが推奨される。安定遺伝子導入の系では、遺伝子導入法を詳細に記載し、適宜、対応する参考文献を引用すること。挿入された遺伝子のコピー数及び挿入部位数を決定し、植物ゲノムに挿入されたものが完全長であるか部分配列であるかを示すための解析を行うこと。挿入された DNA が完全で元のものと一致していることを確認するため、安定的に遺伝子導入された植物の DNA または mRNA から、挿入部分の塩基配列を決定すること。発現するようにデザインされたコーディング領域のフラグメントが検出されれば、融合タンパク質が産生される可能性と、その発現組織を明らかにすること。

遺伝子導入のために病原体あるいは病原体に由来する塩基配列を利用する場合は、病原体、その系統、含まれる遺伝子について記載する必要がある。遺伝子導入の前に病原性を規定する DNA 配列を除去あるいは改変した場合は、その改変について詳細に記載すること。遺伝子導入に用いられる全てのヘルパープラスミドあるいはそれに類似するプラスミドに関しても記載すること。例えば、アグロバクテリウムによる遺伝子導入では、遺伝子導入の際に用いたアグロバクテリウムの系統名、Ti プラスミド由来のベクターをどのように非病原性化したか、遺伝子導入された組織からアグロバクテリウムを除去したかを示すこと。

最終的な遺伝子導入体を得るための選別方法を含め、工程の全てを詳細に記載する必要がある。遺伝子導入される組織あるいは細胞の起源と調製法について、組織あるいは細胞を培養

または前処理した場合は、使用した全ての試薬、培地の組成について記載すること。直接遺伝子導入法では、導入される DNA の量および濃度、キャリア DNA の性質、起源、濃度、キャリア粒子の組成と起源、他の添加物の起源と濃度を含めた導入遺伝子の調製法を記載すること。さらに、遺伝子導入工程を評価するために用いた全ての試験法について詳細に記載し、結果を示すこと。

### 4. 一過性発現系

ウイルスを利用した一過性遺伝子導入系は、最も簡単な形としては、組換えウイルスベクターと宿主植物の 2 つ要素から構成される。宿主植物の特性については、前述の第 II 章 B に概説されている情報を含む必要がある。組換えウイルスベクターについて必要な情報は次のとおり。

- ・ ウイルスの分類学上の名前 (科、属、系統の名称。全ての別名を含む。)
- ・ ウイルスに含まれる核酸の種類 (DNA または RNA)
- ・ サテライトあるいはヘルパーウイルスを伴うか
- ・ ウイルスの自然宿主域
- ・ ウイルスの伝播形式
- ・ ウイルスがベクターによって伝播する場合は、伝播の形態 (例: 持続的あるいは非持続的) を含めたベクターの本質
- ・ ベクター伝播に含まれることが知られていれば、ウイルス遺伝子の本質
- ・ 圃場の条件下での他のウイルスとの相乗作用やトランスキャプシジョンが文献的に報告されているか
- ・ ウイルスの精製方法
- ・ 組換えウイルスのクローニング方法

- ・ マスター・プラスミド・バンク (MPB) を用いる場合は、その調製方法
- ・ 保存条件および MPB の安定性を示すデータ
- ・ プラスミドからの感染性核酸の調製法
- ・ 親株のゲノムとの同一性の点から感染性核酸の特性解析を行ったデータ

上記の情報に対して、適宜、対応する文献を引用すること。

## 5. 遺伝子安定性：シード・バンクと植物の繁殖

一過性発現系と安定発現系のいずれを用いる場合でも、植物の生育と製品の発現のロット間での一定性を確保するため、MSB と WSB を作製する必要がある。申請書における MSB に関する記載には、確認試験、製造方法、特性解析試験の結果、バンクのサイズ、保存条件、多様性を評価したデータ、生育微生物（混入汚染物質の種類を含む）、遺伝子含量の均一性、安定性を含むこと。

安定的形質転換により樹立された医薬品生産用組換え植物株において、表現型と遺伝子型の両方が安定であることを示すデータを提出する必要がある。遺伝子の安定性を示すためには、特性の分離解析、挿入遺伝子の分子生物学的解析（例：サザン解析）、目的産物の発現解析のデータを提示すること。

繁殖可能な植物の場合は、遺伝の形式と安定性、および、規制対象製品の製造に用いられる世代数を越えて安定性を確認するのに十分な世代数においても、導入した形質が発現していることを示すデータを提出する必要がある。

繁殖不可あるいは種子形成が困難な植物（無性繁殖する雄性不稔ジャガイモのようなもの）の場合は、作物にとって適切なサイクル数を越

えた無性繁殖の間に、形質が安定的に維持され、発現されることを示すデータを提出する必要がある。

## 6. 発現産物の組織分布

挿入された全てのコーディング領域について、発現を誘導する調節配列に従って期待される組織で意図されたようにタンパク質が発現されるか否かを示すデータ（試験方法と検出限界を示す）を提出する必要がある（例：遺伝子が誘導発現されるものであれば、誘導条件下で期待される組織で発現することを示す）。植物の主要な組織（例：葉、根、茎、種子）における生産物の分布を解析した定量的なデータを示すこと。

## III. 環境に関する留意事項

### III-A. 一般的留意事項

動物またはヒトに用いられる規制対象製品を生産する医薬品生産用組換え植物を用いる場合、医薬品生産用組換え植物の拡散を管理し、食料あるいは飼料供給から隔離するための封じ込め方法を含めて、環境面で配慮すべき多くの留意事項が生じる。最新の規制で必要とされる要件を知るために、開発段階のできるだけ早い時期に関係機関に相談することが推奨される。例えば、圃場栽培や輸送を行う場合は、規制に関する詳しい情報を求めて APHIS/BRS にコンタクトをとる必要がある。ガイダンス（7.CFR340）にあるように、植物の州間の移動、輸入、圃場栽培を行う場合は、APHIS/BRS の認可が必要となる。これらの植物の最初の実験と商業利用には、USDA/APHIS/BRS の認可が必要であろう。APHIS のホームページ <http://www.aphis.usda.gov/biotech> にある USDA 規制（7.CFR340）を参照すること。

温室のように閉鎖された建物内でのみ栽培される医薬品生産用組換え植物は一般的に、施設からの花粉や種子の拡散を防止する対策が講じられていれば、生育期間を通じて封じ込めされていると考えて差し支えないであろう。そのような閉鎖された施設で栽培されている場合は、USDA/APHIS/BRS の認可を必要としないが、医薬品生産用組換え植物の輸入や州間の移動には許可が必要となる（7CFR340.4）。

### III-B. 国家環境政策法（NEPA）

FDA（21CFR part25）および USDA（7CFR part 372）に対する NEPA の要求事項について承知しておく必要がある。種子や植物の輸送、植付け、栽培、収穫、加工、精製、梱包、保存、廃棄を含む全ての製造工程の局面で起こりうる環境への影響について配慮すること。申請者の活動が、環境アセスメントの提出を求めた 7CFR372.(C)、21CFR25.31、25.33 から除外されるものであると考える場合は、申請書にその旨を記載すること。利用可能なガイダンス文書を参照し、NEPA の要件について、USDA 及び FDA と直接相談することが推奨される。環境アセスメント（21CFR25.15、25.40）あるいは規制対象外（21CFR25.31、25.33、25CFR372.5(c)）であることの申し立てにより許可を得た APHIS/BRS からの文書のコピーを、規制対象製品の申請の際に提出すること。FDA と CVB における NEPA アセスメントでは、APHIS/BRS の評価と決定が考慮される。

### III-C. 封じ込め法

#### 1. 一般的留意事項

医薬品生産用組換え植物が申請者自身によって栽培および加工されるか、契約に基づき他者によって栽培および加工されるかによらず、

製造の管理は申請者の責任であり、適宜、標準業務手順書（SOP）、製造の概要、あるいは他の記録に明確に記載する必要がある（第 IV 章 C、FDA および USDA の関連法規を参照）。FDA の規制対象製品では、21CFR200.10、part 210、211、514.1、820.50、および、Draft Guidance for Industry: Cooperative Manufacturing Arrangement for Licensed Biologics を参照。

医薬品生産用組換え植物の開発では、植物株の利用目的が規制対象製品の原材料に限定されるよう、対策を講じる必要がある。7CFR340.4、340.7、340.8 に記載されているように、医薬品生産用組換え植物やその種子の州間の移動には USDA/APHIS/BRS の許可が必要であり、取り扱いと輸送の記録を保存しなければならない。家畜用生物製品用の医薬品生産用組換え植物の輸送には、USDA/APHIS/BRS の許可が必要である。家畜用生物製品を輸送する場合は、製造のどのような段階でも CVB の認可が必要であり、9CFR103.3 による規制対象となる。このように原材料の輸送を管理することで、組換え植物が意図しない用途に転用されることを防ぐ。

食料あるいは飼料に用いられる植物に遺伝子導入して規制対象製品を生産する場合は、医薬品生産用組換え植物と食料用あるいは飼料用の非組換え体を容易に見分けられる方法を考える必要がある。方法としては、植物の外観を変えるマーカー遺伝子の利用（例：新しい色や葉の形）や、植物が生育条件の改変（栄養要求性のマーカー遺伝子の利用）などがある。特異的な植物組織に産物の発現を限定する（例：組織特異的プロモーターの利用）、あるいは、産物が発現する条件を限定する（例：誘導発現型プロモーターの利用）などにより、意

図せずに規制対象製品に暴露される可能性を減らすための方策を考える必要がある。異系交配する植物では、その食用／飼料用のカウンターパートが非常に少ないか、ない地域で生育させることを考えるとよいであろう。

医薬品生産用組換え植物と食料あるいは飼料用植物との混同を防止するための（食料あるいは飼料用の種子との混同も含む）手段を講じる必要がある。農場から製品までの全て段階の製造方法を開発する際に、意図しない混同が起りうる工程を明らかにし、管理する方法を確立する必要がある。生の農作物の状態、導入遺伝子および発現されたタンパク質の存在を検出できる方法を整備しておくことが強く求められる。食用あるいは飼料用植物への混入が認められた組換え植物は、FDC法（21U.S.C.342）のもと、製法が法定基準に合っていないと見なされる。組換え体の食料あるいは飼料への混入に関する法的な対応について、FDAの食品安全性・栄養研究センター（CFSAN）あるいはCVMに相談するとよいであろう。

### 1. 保存種子の管理

組換え体の種子が食料あるいは飼料の生産に用いられることのないよう、生育可能な種子の在庫目録と廃棄の管理を徹底する必要がある。種子のストックを作製する際には、種子の総量（例：重さや容量）を計測しておくこと。種子のストックは、使用と廃棄を合理的に正しく計測できるように、小分けして保存すること。種子バンクから使用した量と廃棄について記録すること（7CFR340.4(b)(12)）。種子のストックには、組換え種子の圃場栽培や州間の輸送のためにAPHIS/BRSから発行された許可書のとおり、はっきりとラベルをつけること

（7CFR340.7）。

### 2. 圃場栽培される植物

医薬品生産用組換え植物を圃場で栽培するためには、APHIS/BRSから許可を得、種蒔きから収穫までの栽培工程、残った作物あるいは作物の残渣の廃棄の管理をしなければならず、使用した圃場が次の時期に食料あるいは飼料の栽培、あるいは、牧草地として利用される場合は、圃場の次の使用に関しても管理しなければならない。製品の圃場での栽培に関わる人員は全て、責任を持つべき義務を果たすように適切に訓練される必要がある。シード・バンクから種蒔きあるいは記録用に移した種子の数についても管理すること。医薬品生産用組換え植物が生育する全ての場所の広さと位置、花粉の拡散の管理、および、次期の圃場の使用と次の生育期に自生する植物の駆除に関する資料を保持し、適宜、FDAとCVBに提出すること。圃場の位置は、全地球航行測位衛星（GPS）マーカーなどを用いて、はっきりと示すこと。野生生物や逃げた家畜が侵入しないように、境界に囲いを設置することを推奨する。医薬品生産用組換え植物の栽培に用いられる圃場は、USDA（7CFR340.4;9CFR101-108）またはFDA（42U.S.C.262; 21U.S.C.374）の査察を受ける。

### 3. 収穫物の管理

APHISでは、原材料が圃場や温室から製造施設に輸送される場合に適切な封じ込め対策をとることを要求している（7CFR340.4(b)(10-12)）。輸送の間、収穫物の容器には、種子、葉、根、茎などの原料を食料や飼料として用いないこと、余ったものを食料や飼料として利用できるような目的（エタノ

ール生産など)に使わないことを明確に表示する必要がある。栽培施設に残る原料と加工施設に搬入される原料の量について、整合性がとれていること。規制対象製品の製造の際には、21CFR2 part11 subpart J, 21CFR part226 subpart E, 7CFR340.4, or 9CFR part116に従って収穫物の管理を記録文書として残し、FDAまたはCVBの査察の際に適宜、提示しなければならぬ。

#### 4. 製造施設の管理

第三章 C.1 で述べたように、医薬品生産用組換え植物あるいは植物原料が、他の植物製品、特に食料や飼料に混入しないことを保証するための適切な対策を講じる必要がある。原材料植物は、USDA/APHIS/BRS および FDA との事前の協議なしに穀物粉などの食料や飼料の製造に用いられている施設で加工しないこと。

#### 5. 廃棄物の管理

カラムの洗浄液、濾液などの工程中の廃棄物、使用されなかった工程中の物質、精製工程からの植物原材料の残りについては、廃棄前に適宜、規制対象物質の不活化処理を行う必要がある。廃棄物を食料あるいは飼料製品に用いることを FDA と特別に協議していない場合は、廃棄物がヒトあるいは動物の食物連鎖に入らない方法で廃棄すること。廃棄方法は、地域あるいは州の規制に従うこと。ヒトの医薬品や生物起源由来医薬品、あるいは動物薬の製造工程からの廃棄物は、安全かつ衛生的に処分する必要がある (21CFR211.50)。家畜用の生物学的原料は 9CFR114.15, Disposal of Unsatisfactory Products and By-Products, Veterinary Services Memorandum 800.56 に従って廃棄すること。残った原料を廃棄するのではなく、

食料や飼料製品以外の二次的な目的に用いる場合は、原料や副産物の廃棄を確認し、食料や飼料に用いられないことを証拠として示す明確な対策を講ずること。

### IV. 製法と工程に関連する留意事項

#### IV-A. 一般的留意事項

規制対象製品の製造に用いられる施設と方法は、原材料の収穫と加工の間に汚染物質の混入や混同を防ぐようにデザインされている必要がある。人、材料、製品および廃棄物の施設への出入りの流れは、製品の汚染を防ぐようにデザインされていること。確立された要件を超えて、製剤の安全性、特性、力価、品質、あるいは純度が変わってしまう可能性のある故障や汚染を防ぐため、設備や用具の適切な洗浄、維持、滅菌の方法を文書化しておくこと (2CFR211.67)。特定の空気清浄度で管理される領域では、関係する製造工程の重要度に応じて環境中の微生物と塵をモニターするプログラムを確立し、その製造工程に関するモニタリングも行うこと。FDA による規制を受ける製品に関しては、プロセスバリデーションを含む工程管理が、製品の種類と開発の段階に応じて適切であること。施設に必要なとされる要件に関する規制は、第 IV 章 C“FDA と USDA の関連法規”の項にリストされている。

微生物の混入は製品の安全性、品質、安定性に悪影響を及ぼすため、製造工程中にバイオバーデンの量を減らす工程を確立することが推奨される (21CFR211.80(b))。本章に記載されているバリデーション活動は、臨床試験が承認申請書の提出に向けて進むにしたがって、研究の期間中に段階的に実施する必要がある。しかしながら、最終製品とその使用目的によって

(例：非経口の場合、未加工の果物または野菜を用いる場合)、適宜、最終製品中の無菌性保証あるいはバイオバーデンの許容値のいずれかが必要とされることになる。(21CFR221.80, 211.100-103, 211.113; 21CFR parts 226, 514, 610, 820, 9CFR part 113.)

原材料は、製品の製造のために適切な品質特性を持ったもののみを使用すること。原材料のそれぞれのロットについて、外来の物質が存在しないかを検証する必要がある。規制対象製品を投与される患者を望まない不純物に暴露したり、製品の品質に影響する微生物由来プロテアーゼのような汚染物質の混入を最小限にするよう(例：原材料中に存在し得るカビや他の試薬)、注意を払う必要がある。

家畜用の生物製品については、9CFR114.8と114.9で求められているように、CVBに提出する製造の概要に従って製造が行われなければならない。その他の全ての規制対象製品については、製造方法とロットごとのデータを文書として示さなければならない(21CFR part211 subpart F, 226.102, part 514, 820.184)。植物由来原料が適切に加工されることを保証する標準操作手順書にしたがって、原材料が繁殖、収穫、加工されることを保証し、存在する可能性がある混入汚染物質の許容量と種類を特定する必要がある。ウイルス感染と収穫時の植物の健康状態に関する規格および試験方法を設定すること。

#### IV-B. 未加工の果物あるいは野菜からなる製品に関する特別な留意事項

未加工の野菜あるいは果物を可食性の生物製品の送達システムとして用いるための課題の一つは、バッチ間の均質性と用量の一定性を

示すことである。ピューレ、ジュース、あるいは、挽いて粉にするなどのホモジナイズ(均質化)の工程が均質な原薬バルクを製造するために必要であろう。力価を評価するための試験は、ホモジナイズされた製品について行われることになる。さらに、製造に用いられた植物株がアレルギーを起こすことが知られている場合は、安全性と規制上の問題について議論するため、適宜、FDAあるいはCVBに相談すること。

- ・規制対象となる製品の容器は、適用される規制に従う必要がある。FDAによる規制を受ける製品では、容器は21CFR parts 210, 211, 226, 314, 514, 600, 610, 820に対応していること。APHIS/CVBの規制を受ける製品の容器は、9CFR 112に従うこと。未加工の果物や野菜からなるワクチンのようにヒトに対する医薬品として用いられる可食性の製品は、食物としてではなく生物製品としての規制を受けるが、一般的には、食物の容器に関する規制(21CFR 174.5)に対応したものに梱包することが推奨される。植物原材料は、ヒト(21CFR 610.61(p))あるいは動物(9CFR 112)用の生物製品であることが、表示または容器で明確に同定されなければならない。経口あるいは非経口処方の医薬品いずれについても、植物由来であることを明確に表示する必要がある(21CFR 201.57(a)(2), 21CFR 201.100(b)(4)(5))。生きた種子を含む製品については、適宜FDAまたはCVBに相談すること。

#### IV-C. FDA および USDA の関連法規

医薬品生産用組換え植物に由来する規制対象製品の製造に適用される規制は、製品が用いられる対象(ヒトまたは動物)、製品の使用目



的（生物製品、医薬品、医療機器）、投与経路（非経口あるいは経口）に基づいて分類される。下記の表は、ヒトまたは動物に使用される規制対象製品に対して適用される規制の例である。

用途	関連する規制
非経口投与されるヒト用の医薬品または生物製品	7CFR part 340, 21 CFR parts 210, 211, 312, 314, 600, 601, 610
経口投与されるヒト用の医薬品または生物製品	7 CFR part 340, 21 CFR 174.5, parts 210, 211, 312, 314, 600, 601, 610
ヒトに用いられる生物学的医療用具	7 CFR part 340, 21 CFR parts 600, 601, 610, 812, 814, 820
動物薬： Type A medicated articles and Type B and C medicated feed	7 CFR part 340, 21 CFR parts 225, 226, 500, 510, 511, 514, 515, 558
動物薬	7 CFR part 340, 21 CFR parts 210, 211, 500, 510, 511, 514
家畜用生物製品	7 CFR part 340, 9 CFR parts 101-118

さらなる情報と製品の分類に特異的な推奨事項については、FDA および CVB のガイダンス文書を参照すること。規制には規制要件からの例外が生じるものである。例えば、21 CFR 610.11-12, 610.30（ヒト用の生物製品）、9 CFR 113.26-28（家畜用の生物学的製剤）に記載されている一般的な安全性、無菌性、および、マイコプラズマ試験は、経口投与される可食性の植物由来物質のようないくつかの製品にはおそらく適切ではなく、製品の安全性と無菌性を

示すための改訂あるいは変更した別法が 21 CFR 610.9 に従って認められるか、9 CFR 113.4（上の表を参照）に従って、その製品は免除されることになるであろう。

#### IV-D. 製造方法

##### 1. 一般的留意事項

申請書には、本質、純度、濃度、目的物質関連および関連しない不純物を評価する分析法を含む精製の各工程に関する記載が必要である。不純物が毒物、アレルゲン、催奇形性物質、あるいは、発癌性物質であることが認められた場合は、このことが特に重要である。無菌でない工程については、外部からのバイオバーデンを管理するためにその後に行われる処理と、バイオバーデンの量をモニターするのに用いられる工程内試験について記載する必要がある（21CFR211.113, 226.102, 312.23, 314.50(d), 514.1(b), 820.70, 820.181, 820.184 参照）。原材料の繁殖を含めた製造工程の要約を、製造が行われた場所で閲覧可能にしておくこと（21 CFR 211 subpart J）。これらの留意事項の医療用具への応用については、対応する機関に相談すること。

##### 2. 生育条件

化学、製造および品質管理(CMC)の項、あるいは、製造の概要の項に、原材料植物の繁殖場所に関する情報を記載する必要がある。温室で栽培されるものについては、温室の種類、土の組成と品質、温室での栽培条件に関して記載すること。圃場栽培されるものについては、土地がその前にどのように利用されていたか（例：農場または工業用）についても記載すること。土の組成、原材料に影響を及ぼす可能性のある土の汚染について、規格及び試験方法と

規格値／適否の判定基準の適合範囲を確立しておくことが望ましい。さらに、化学物質の利用、特定の農業行為の限度（例：特定の肥料、殺虫剤、除草剤の利用、特定の収穫時期に関連した灌漑）に関する規格及び試験方法を含めて、作物の生育の間に用いられる農業的な方法を記載する必要がある。医薬品生産用組換え植物の生育の間に管理が必要であると予想される害虫のリストを申請書に記載すること。害虫管理のための対策は、合衆国における食用作物の生育のための農業行動規範に従うこと。Pesticide Product Information System には、合衆国で登録されている全ての除草剤に関する情報が記載されている。製品の純度を評価するため、害虫管理の作業は全て、適切な SOP に記載され、Batch Record (FDA の規制対象製品) または Outline of Production (家畜用生物製品) に文書化される必要がある。現在の農業行動規範に従うことが推奨される。産物の発現が化学的あるいは物理的に誘導される場合は、バッチ間で誘導が一定に行われたことを確認する基準を確立しておくこと。(一般的には、21 CFR parts 210, 211, 226, 312, 314, 514, 601, 610, 820 を参照；例として、21 CFR 211.84, 211.816, 312.23 (a)(7), 314.50(d), 514.1, 820.50, 9 CFR parts 101-118 を参照。)

### 3. 収穫

原材料の収穫方法を文書化し、製造工程の記録の中に収穫工程を記録する必要がある。原材料のロット間の均質性を確保するため、収穫時期を決定するための方法が必要である。有効成分の含量、製造工程由来汚染物質、内在性の不純物、感染性物質について、収穫物の規格及び試験方法を確立しておくこと。例えば、植物原材料の品質（例：手で収穫を行う場合の植物

の疾病状況の評価など）に関して、収穫を行う人員の農作業と訓練について記載すること (21 CFR part 211 subpart B)。収穫物の品質を確保するため、植物の収穫にかかわる人員に必須の訓練を文書化しておくこと (21 CFR 211.25)。専用の機器を利用することが推奨される。機器の洗浄方法を開発し、収穫用機器の洗浄に用いられた試薬について記載すること (21 CFR 211.67)。さらに、収穫された原材料が、機器の潤滑油によって加工中に汚染されるのを防ぐ手法を考慮すること (21 CFR part 211 subparts F, J; 21 CFR part 226; 21 CFR 314.50(d)(1), 514.(b)(5); 21 CFR part 814 subpart B; 21 CFR 820.70, 820.75, 820.181, 820.250; 9 CFR parts 101-118)。

CMC の項、あるいは製造の概要中の収穫工程には、許容される植物の状態に関する規格および試験方法、ならびに、動力付きの機器、手動の機器、輸送機器を含めて、原材料の収穫に用いられる機器のリストを記載すること (適用できる規制については前述の表を参考にし、FDA および CVB ガイダンス文書を参照)。機器の使用が原材料の収穫に限定されていない場合は、他の用途を記載すること。

### 4. 輸送および貯蔵条件

特に留意すべきは、原材料の圃場あるいは温室から製造施設への輸送である (第三章 C.1 封じ込め法; 植物原料の移動を考えている関係機関向け)。農場あるいは温室の環境から運ばれる原材料は、昆虫や害虫の混入、あるいは、表面の汚染がおこらないような方法で輸送され、輸送中は容器の中に封じ込められている必要がある。輸送中、規制対象の原料の容器には、食料あるいは飼料でないことを明記すること。

収穫物が次の加工まで保存される場合は、保

存条件（例：温度、湿度、量、密度、保存期間など）を申請書に詳細に記載すること。保存される原料については、特性解析を行い、製品の品質に影響し得ると予想される全ての項目を明らかにし（例：製品の安定性、微生物の生育支持能、残存する土の量、外から持ち込まれるもの、昆虫、害虫）、適切な管理法を設定すること。原材料は、劣化の過程で汚染物質の含量が規格値以上に増えないこと、および、有効成分に有害な影響のないことを保証する適切な条件で保存される必要がある。（21 CFR parts 211, 226, 314, 601, 810, 9 CFR parts 101-118）。

#### 5. 原材料の初期加工

収穫物の加工に用いられる方法については、バリデーションが行われている必要がある。収穫物は、バイオバーデンまたは生育力を低下させ、取り扱いやすさ、バルクの均一性、抽出しやすさを改善するために、洗浄、消毒、製粉、葉の裁断、原材料、果実、あるいは、野菜のホモジナイズを含む様々な方法により加工される。これらの工程により製造されたものは、さらなる加工を受けるか、最終製品となる（例：経口ワクチン）。（21 CFR 211.110, 211.186, 226.40, 820.75, 9 CFR parts 101-118）。

#### 6. 抽出

抽出工程は、有効成分を効率よく濃縮あるいは植物原材料から分離するようにデザインされる必要がある。どのような精製方法に関しても、抽出過程で製造中間体に汚染物質を混入させてはならない。ロット間の均一性を確かめるため、関連する項目（例：製品の濃度、総タンパク濃度）について許容範囲を決めておくこと。医薬品あるいは生物製品が可溶性の状態では

出される場合は、工程の早い段階でろ過滅菌をすることが推奨される。（一般的には、21 CFR 226.40, 312.23(a)(7), 314.50, 514.1(b)(5)(iv), 820.75, 9 CFR parts 101-118 を参照）

#### 7. 滅菌工程

無菌性が要求される場合は、通常、適切に検証されたるろ過工程の利用によりタンパク質性製品の無菌性を確保する。しかしながら、ろ過滅菌が可能でない製品については、個別に検証した滅菌工程を利用することが推奨される。FDA による規制を受ける製品では、21 CFR 211.113, 610.12(g)(4), 820.75 および、Guideline on Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing、あるいは、Guidance for Industry: For the Submission of Documentation for Sterilization Process Validation in Applications for Human and Veterinary Drug Products 等の現在のガイドラインを参照すること。家畜用の生物製品に関するこの他の情報については、9CFR 113.26, 113.28 を参照すること。

#### 8. 切り換え工程

切り換えの工程では、原材料の収穫物間での混入を防止するための手法が講じられ、文書化される必要がある（21 CFR 211.67, 226.30, 820.75）。その方策には、受け入れエリアと植物原料の加工器具から全ての原料と廃棄物を排除し、表面を洗浄/消毒することが含まれる。収穫（例：大鎌、収穫物を輸送する乗り物）や初期加工に用いられた機器（例：浸出液調製のための機器）の部品は、クロスコンタミネーションに関して特に注意する。一度に原材料の一つのロットだけを加工することを推奨する。原材料の複数のロットを一度に加工する場合は、

隔離する対策を立てて実施する必要がある。加工に使われる機器が完全な状態であることを示し、可能であれば閉鎖系を採用すること。製品が接触する機器は、キャリーオーバーによる次のロットの汚染がないように、それぞれのロットごとに十分に洗浄すること。

## 9. 工程評価

規制対象製品の製造に用いられる全ての工程は、製品の市販前にバリデーションされている必要がある。適切な操作と工程管理項目を設定し、正式なバリデーション試験をサポートするために、実験室での研究が有用であると思われる。申請書には、バリデーションプロトコルおよび実施したバリデーション試験に関する情報とデータを記載すること。(21 CFR 211.110, 211.165, 211.194 (a) (2), and 226.40)

### IV-E. 製品の特性解析

規制対象製品については、完全な特性解析が行われる必要がある。精製された原薬と製剤については、本質、力価、品質、純度を確認するのに十分な特性解析を行うこと(21 CFR 211.160-165, 211.186, 226.58, 312.23(a)(7), 314.50(d)(1)(i), 610.2(a), 820.60, 820.70, 820.75, 820.80-86, 820.181)。物理化学的および機能的な解析の両方を行う必要がある。精製されたタンパク質性の製品については、物理化学的な性質として、分子量、サブユニット組成、等電点、翻訳後修飾、不純物プロファイル、他の関連する項目についても試験すること。機能解析は、製品の臨床効果に関連した活性を評価すること。有効成分の力価の測定法を記載すること。アッセイの許容範囲の設定に用いられた臨床/前臨床のロットおよび承認前のシリー

ズ作製に用いられたものに関するデータを含め、全ての測定法について、感度、特異性、変動要因に関する情報を提出すること。

申請書では、製品の本質、純度、力価、物理化学的性質の測定、安定性の測定を含む、規格および試験方法を記載する必要がある(21 CFR 211.160(b) or 9 CFR 114.9)。試験結果が最終段階の製品のために報告される場合は、それぞれの規格および試験方法について変動要因と上限下限の予測を確立すること。次の工程の前に精製された原薬が保存される場合は、保存条件とその条件下での安定性の確認について記載すること(第V章参照)。FDAの規制を受ける生物起源由来医薬品に関しては、製品の特性解析に関する一般的なガイダンスとして、関連するガイダンス文書を参照することが推奨される。動物用新薬についてはCVMに、家畜用の生物製品についてはCVBに相談すること。

前述のように(第IV章B)、可食性植物の生物製品の特性解析には、特に、製品の確認試験、バイオバーデンの許容範囲、用量設定、製品の最終的な形態(例:ジュース、ピューレ、未加工果実等)の点で、特別な配慮が必要である。

### IV-F. 製品の安定性

申請書には、以下の試験項目を含む安定性評価法を記載すること。

- ・ 力価
- ・ 安定性の指標となる物理化学的性質
- ・ 湿度(凍結乾燥の場合)
- ・ pH(必要な場合)
- ・ 無菌性またはバイオバーデンの管理
- ・ 発熱性物質(可能であれば)
- ・ 一般的安全性(可能であれば)

ヒトに用いられる製品、あるいは、動物用の新薬の場合は、最終製品と操作が停止されるそれぞれの段階の工程中間体について、安定性に関わる情報を提出する必要がある (21 CFR 211.166, 226.58(d), 312.23(a)(7)(iv), 314.50(d)(1), 610.2(a), 820.75)。より詳しい情報は、ヒト用の医薬品および生物製品に関しては ICH および FDA のガイダンス文書、21 CFR part 514、動物用新薬に関しては CVM のガイダンス文書から得ることができる。FDA はヒト用の医薬品および生物製品の安定性に関して、パブリックコメントを求めてドラフトガイダンスを発行し、ICH 文書を発行している。家畜用生物製品に関しては、認可を得る前に安定性を確立する必要がある。

最終製品の有効期限を設定し、推奨される保存条件を提示する必要がある。また、有効期間が始まる日付を決める方法を明確にすること。

申請書には、用いられるプロトコール、毎年安定性評価試験に入る最終ロット/シリーズの数とそのロット/シリーズの選択方法を含め、進行中の安定性評価試験の計画を記載すること。

## V. ヒトに用いられる医薬品生産用組換え植物由来製品の臨床段階での留意事項

### V-A. 一般的留意事項

この項は、特定の技術や特定の種類の製品について許容される実験や試験を規定しようとするものではなく、ヒトに用いられる組換え植物由来製品の臨床試験のための一般的な方策を提示するものである。特定の製品群についての臨床段階での必要要件については、適切な担当機関の適切な審査部門と協議すること。

前臨床試験の範囲については、既に明らかな製品の特性、遺伝子供与体、宿主植物、構造あ

るいは薬理的性質が類似した製品でそれまでに臨床で用いられたことのある製品の有無、などによって決められる。種々の生物起源由来医薬品の臨床試験に関するガイダンスが利用可能である。それに加えて、医薬品生産用組換え植物原材料の臨床試験で考慮すべき事項として、毒物、病原体、農薬、除草剤、抗カビ剤、重金属、栄養阻害物質、アレルゲン、などの有害な可能性がある成分について、存在の有無の確認とその同定を行うことがある。これらの特性解析には、*in vitro* と *in vivo* の解析が有効であろう。

毒物や栄養阻害物質あるいはアレルゲンを有する可能性が知られている宿主植物あるいは関連する種に由来する植物株については、開発の初期段階で、組換え植物においてそれら有害物質の量が変化しているか否かについて、高感度な試験を行う必要がある。DNA 供与体がアレルゲンや毒物の産生源であることが知られている場合は、適切なアレルゲン性試験あるいは毒性試験を行うこと。

### V-B. 不純物の評価

不純物および混入汚染物質には、原材料植物由来不純物、殺虫剤、除草剤、抗カビ剤、細菌あるいは真菌由来不純物、下流工程由来不純物が含まれる。目的物質関連不純物には、製品の分解物、重合体、目的物質の変化体(例: 脱アミノ、アイソマー、S-S 結合のミスマッチ、酸化、結合変化体)が含まれる。例えば糖タンパク質におけるキシロースの存在のように、植物の発現系に特有の翻訳後修飾については特に注意を払う必要がある。

この課題に関する詳細な情報は、ICH ガイドライン Q6B“生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品) の規格及び

試験方法の設定について”に記載されている。

### 1. 毒物

宿主植物が毒物(例:プロテアーゼ阻害物質、溶血性物質、神経毒)を含むことが知られている場合は、分析学的試験、動物による試験、あるいは、除去法のバリデーションにより、最終製品中で毒物の量が安全域にあることを確認できると思われる。詳しいガイダンスについては、FDAに相談すること。

### 2. 殺虫剤、除草剤、防カビ剤の量の評価

殺虫剤、除草剤、あるいは、防カビ剤は、申請者が用いている作物に使うことが環境庁(EPA)に登録されているもののみを使用すること。最終的な医薬品製品に関しては、全ての殺虫剤、除草剤、あるいは、防カビ剤について存在すると予想される最大量を特定し、医薬品が使用される条件でその量の安全性を検証し、最終製品が許容値を超えないことを示す必要がある。組換え生物学的製品と組換え殺虫剤の両方を発現する新しい植物を開発する場合は、殺虫剤の安全性についてEPAに相談すること。場合によっては、サンプルからの殺虫剤の除去のバリデーションが、最終製品の安全性試験の代替として許容されることもあろう。本文書は、FDAおよびUSDAのガイダンスを取り扱っているだけであるので、殺虫剤の使用または安全性に関する質問がある場合は、EPAに相談すること。

### 3. 金属性毒物の評価

毒性のある重金属については、存在と量の両方を評価する必要がある。宿主植物が毒性のある金属を貯蔵または蓄積するか否かについて留意すること。

### V-C. アレルゲン性

前臨床試験の一部として、開発しようとする生物起源由来医薬品あるいは医薬品のアレルゲン性あるいは免疫原性を考慮する必要がある。適切な試験方法は、製品の効能、使用方法(製品の投与経路)、製品の純度によって異なる。個々の製品についてアレルゲン性試験の必要性を検証し、医薬品生産用組換え植物自身がアレルゲン性を持つ可能性に加えて、最終製品にアレルゲンが導入される可能性のある工程(例:カビ、動物のふけ、動物の排泄物、圃場あるいは保存条件によるほこりダニなどの混入)を説明すること。詳細についてはFDAに相談すること。

製造に用いる原材料植物がアレルゲン性あるいは免疫原性をもつ場合、製品中のそれらの物質について試験を行うこと。糖鎖(例:キシロース)のような植物特異的な修飾が製品の免疫原性あるいはアレルゲン性に影響する可能性について考慮すること。

最終製品について、N型糖鎖のようなアレルゲン性を決定するものを評価すること。原材料に対してアレルギーを持つ患者の血清を用いて特異的血清による発現タンパク質のスクリーニングができる。特異的血清を用いて陽性の結果が得られた場合は、製品がアレルゲン性を持つことが示唆される。

### V-D. 免疫原性

意図しない免疫原性の原因となる植物特異的な修飾について評価すること。製品の免疫原性に関する標準的な試験を、既存のガイダンス(ICHガイドラインS5B, S6)およびFDAとの協議にしたがって実施すること。

## VI. FDA 規制対象製品の臨床試験、および、 USDA 規制対象製品の承認前試験

ヒト用の医薬品または生物製品の臨床試験の実施に関する既存のガイダンスを参照し、さらに質問がある場合は、CDER または CBER に問い合わせをすることが推奨される。食用となる動物の組織に残存している可能性のある動物薬（医薬品生産用組換え植物由来）に関しては懸念事項となると思われるので、対応を協議するため CVM に直接相談すること。動物薬あるいは家畜用生物製品の試験を実験用でない動物で試験をする場合は、事前に CVM または CVB に相談すること。

以下に、EMEA ガイドラインの概要を示す。

### Guideline on the quality of biological active substances produced by stable transgene expression in higher plants (EMEA / CHMP / BWP / 48316 / 2006) 24 July, 2008

安定的に遺伝子導入された高等植物を用いて製造される生物学的有効成分の品質に関するガイドライン

#### 目次

1. 緒言
2. 適用対象
3. 関連法規と留意事項
4. ガイドライン
  - 4.1 遺伝子組換え体の作製
    - 4.1.1 宿主植物
    - 4.1.2 導入遺伝子および遺伝子発現構成体
    - 4.1.3 最初の形質転換体の作出
    - 4.1.4 最終的な形質転換体の樹立
    - 4.1.5 遺伝子組換え体のバンキングシステム
    - 4.1.6 遺伝的安定性

## 4.2 製造工程関連事項

### 4.2.1 一般的な製造方法

### 4.2.2 製造の第1フェーズ

### 4.2.3 製造の第2フェーズ（下流加工）

## 4.3 有効成分の品質管理

### 4.3.1 特性解析

### 4.3.2 規格及び試験方法

## 4.4 感染性物質による汚染の防止

### 4.4.1 非ウイルス性感染性物質

### 4.4.2 ウイルスおよびウイロイド性感染性物質

### 4.4.3 伝達性海綿状脳症（TSE）関連事項

## 概要

組換えタンパク質の製造方法として長年にわたって確立されてきた原核生物、酵母、動物細胞培養を補完し得る方法として、トランスジェニック植物を用いる技術が台頭してきた。本文書では、この新しい技術を用いて生産される有効成分の品質確保に必要な方策に関するガイダンスを提示する。

## 1. 緒言

本ガイドラインの主な目的は、既存の他の生産システムにおける品質ガイダンスの内容を、トランスジェニック高等植物を用いたシステムに特有の課題に適合させることである。

バイオテクノロジーを応用して生産された他の有効成分の場合と同様、製造工程とその管理は、トランスジェニック植物により生産された有効成分の品質プロファイルに大きく影響する。さらに、トランスジェニック植物を用いた生産の経験は限られているため、開発研究の実施にあたって慎重な対応が求められる。

安定的に遺伝子導入する方法としては、パーティクルガン法、マイクロインジェクション、

アグロバクテリウム法(核内遺伝子への遺伝子導入)、および、クラミドモナス法(葉緑体遺伝子への遺伝子導入)等がある。土壌や水生環境で生育すること、強固な細胞壁が存在すること、翻訳後修飾パターン(糖鎖修飾を含む)が他の真核生物と異なること等が、植物の特徴である。これらの特徴が有効成分の品質・安全性・有効性プロファイルに影響することは明らかである。

## 2. 適用対象

本ガイドラインの適用対象は、高等植物の核または色素体ゲノムに安定的に導入された1つあるいは複数の遺伝子から発現される生物学的有効成分の品質(感染性物質の安全性評価を含む)に関する事項である。本文書では、高等植物とは、種子植物(裸子植物および被子植物)に属するものを指す。一過性に遺伝子が導入された植物を用いた生産や植物細胞の培養による生産は、本ガイドラインの適用対象外とする。

本ガイドラインは主として、トランスジェニック植物を用いて生産され、非経口投与されるものに適用する。経口的に投与されるものについては、本ガイドラインの全てが当てはまる訳ではないが、同様の基本的な原則は適用される。

## 3. 関連法規と留意事項

本ガイドラインは、理事会指令 Directive 2001/83/EC の緒言と一般的原則(4)、補足 I の第 1 部第 3 節、さらに該当する EMEA CHMP ガイドラインを参考にして読むこと。EMEA Herbal Medicinal Products Committee (HMPC)のガイドラインは、本ガイドラインとは異なる形で植物の利用に言及したものであるが、参考にできるところもある。

遺伝子導入された高等植物を用いて製造された生物学的有効成分を含む医薬品は、Regulation (EC) No 726/2004 の補遺の適用対象に入り、その規制に定められたような中央認可方式によって市販許可が与えられている場合は、EU 域内でのみ市販されることになる。

トランスジェニック植物を用いた製造システムで用いられる封じ込め方法は、環境からトランスジェニック植物を守ることに由来する医薬品の品質確保と、トランスジェニック植物から環境を守ることに由来する環境保護のそれぞれの領域において機能すると考えられる。EU 内で導入遺伝子を持つ植物組織の栽培あるいは加工に責任を持つ製造業者は、地域の GMO と他の環境規制、特に Directive 2001/18/EC に従わなければならない。封じ込めのための方策は、トランスジェニック植物の直接の消費あるいは食物連鎖への意図しない放出により、ヒトや動物が意図的にあるいは事故によりトランスジェニック植物を摂取することを防ぐものでなければならない。

## 4. ガイドライン

### 4.1 遺伝子組換え体の作製

#### 4.1.1 宿主植物

申請者は、宿主植物の表現型/遺伝子型の種類と安定性、管理可能な環境下での日常的な栽培への適合性、外来因子(例:植物ウイルス/ウイロイド、カビ)の感染に対する感受性/耐性、タンパク質の翻訳後修飾パターン等の事項を考慮して、遺伝子導入に用いた宿主植物の選択に関してその妥当性を記載する必要がある。

選択した植物については、分類学に関する文献を引用して、科、属、種、亜種、栽培品種、一般的な名称を明示する。植物の糖鎖修飾パターンや成長特性、耐性の改変のように、宿主植



物自身の特性が改変されることもある。そのような場合は、改変された宿主植物の樹立について詳細に記載し、用いられた方法も説明すること。

宿主植物が、二次代謝産物（例えば、薬理活性を持つアルカロイドや配糖体）のようにヒトに有害な可能性のある成分を産生することが知られている場合は、適切な精製法を開発し、リスクアセスメントを提示すること。

#### 4.1.2 導入遺伝子および遺伝子発現構成体

製造業者は、タンパク質をコードする塩基配列の起源を記載する必要がある。DNA 配列の改変は全て明らかにして記載すること。

最初の形質転換体を得るために用いられた遺伝子導入法が適切であることを示し、遺伝子発現構成体の構築についても詳細に記載すること。アグロバクテリウムのような微生物による遺伝子導入法を用いた場合は、用いたシステムの起源、履歴、生物学的特性に関する完全な文書を提示すること。遺伝子発現構成体に関しては、複製起点、選択マーカー、レポーター遺伝子、プロモーター、エンハンサー、リーダー／ターゲット配列などの各要素の起源と機能を記載すること。プラスミドの構成要素の詳細なマップと注釈付きの全長配列を、構築の段階で配列を解析した領域と文献から引用した領域が分かるような形で示すこと。目的遺伝子のコーディング領域とベクターに挿入されているコーディング領域近傍の塩基配列について、ベクターとの境界部位より上流を含めて決定すること。プラスミドにコードされる他の発現タンパク質についても記載すること。宿主植物の特性を制御あるいは改変するために導入あるいは改変される目的遺伝子以外の遺伝子（例えば、糖転移酵素の発現や阻害に影響する因子、

播種性に影響する因子）について、情報を記載し、説明すること。

#### 4.1.3 最初の形質転換体の作出

形質転換の方法と用いた試薬・機器を記載すること。最初の、あるいは、最終的に得られた形質転換体について、導入または修飾された遺伝子の状態を適切に記載すること。これには、少なくとも、目的の配列、挿入された部位および数、単純反復配列、逆方向反復配列、インサート配列、インサート近傍領域、挿入の連結部位、形質転換の工程での残存物に関する情報（例：アグロバクテリウムの感染後の運命）を含むこと。

#### 4.1.4 最終的な形質転換体の樹立

形質転換により作出された最初の形質転換体は通常、最終的なあるいは生産用の形質転換体を得るために何世代かにわたって栽培される。販売承認申請においてこれらは、最初の形質転換体を T0、続く世代については T1、T2、T3 等、製造用の形質転換体を T<sub>p</sub> とするが、適宜、他の命名法も使用可能であろう。これらの工程については、全ての操作、用いた試薬と培地に関する情報を含めて、詳細に記載すること。

形質の優れた植物株 (elite line) を製造工程で用いる場合は、その正当性を示し、主な組換え株に関して詳細に記載すること。交配操作に関して詳細に記載すると共に、作出した植物株の性質に交配操作が与える影響を明らかにして記載すること。

#### 4.1.5 遺伝子組換え体のバンキングシステム

他に正当と判断されるものがなく、可能であれば、バッチ間の一定性を確保するための戦略

にバンキングシステムを含むこと。製造の戦略に応じて、生産株と elite line の双方のバンクが必要であろう。医薬品製造基材のバンキングシステムやバイオ医薬品の生産に用いられる材料に関する基本原則は CHMP ガイドラインに記載されているので、トランスジェニック植物由来有効成分の生産システムを考える際に考慮すること。

したがって製造業者は、長期の保管が可能で、多くの回数の製造に対して一定の品質を保った十分量の出発原料を供給可能なマスターおよびワーキング・トランスジェニック・バンクを、最終的な形質転換体から作製する必要がある。これらのバンクは、長期にわたる供給を確保するために十分な規模で作製すること。

マスターおよびワーキング・トランスジェニック・バンクを作製・樹立・維持した過程は、明確に記載すること。マスター・トランスジェニック・バンクおよびワーキング・トランスジェニック・バンクの特性解析と品質試験に適用される方法には、評価対象となっている特定のトランスジェニック植物の事情に応じ、CHMP が採用したガイドラインに定められた原則を考慮すること。マスター・トランスジェニック・バンク作製に用いられる植物材料は、遺伝子型と表現型が十分に解析されている必要がある。導入遺伝子に起因するジーンサイレンシング活性や多形質発現効果のように、生産用作物に影響し、結果として有効成分の品質や安全性に影響するような全ての特性を明らかにするために、マスター・トランスジェニック・バンク作製に用いられる材料の特性解析は、植物学、園芸学、農学、および、植物化学的な性質に関する非形質転換体との比較を含めて実施される必要がある。

この解析には、導入遺伝子（例えば、配列、

完全性、挿入部位、コピー数、マーカー配列の運命）、遺伝子発現（組織／器官特異性、調節、発現量）、植物のジーンサイレンシング効果、他のタンパク質の過剰発現、倍数性、核型の分析を含むこと。

バンク化されたものの安定性を検証し、結果に基づいて以下のことを明らかにすること。

- ・ 容器と包装の規格および試験方法
- ・ 貯法
- ・ 有効期限

#### 4.1.6 遺伝的安定性

最初の形質転換体の段階から収穫時点まで、生産システムの遺伝的安定性を明らかにすること。安定性は、継代された作物のデータを含めて決定すること。定められた栽培条件での植物齢の限界を規定すること。遺伝的安定性試験は、栽培期間中の工程管理から得られる補足的なデータと、有効成分のバッチの品質試験結果によって補完する必要がある。販売承認申請書の中でこれらの事項を相互に関連付けることが重要である。

## 4.2 製造工程関連事項

### 4.2.1 一般的な製造方法

全て生物学的有効成分において、生産システムとその管理は、生産の一定性と生産される製品の品質を決める要因の一つである。遺伝子組換え高等植物を用いた有効成分の生産において、この原則を実行するための明確な方策を提示し、流れ図を用いて図示すること。

#### Good production practice

マスター・トランスジェニック・バンクとワーキング・トランスジェニック・バンクは通常、GMP 環境下で樹立し、維持されるべきである。有効成分の各バッチの製造工程とは、ワーキ

ング・トランスジェニック・バンクの一部を取り出したところから、バッチの試験および出荷までとすること。

トランスジェニック植物を用いた製造工程は二つの異なるフェーズに分けられる。

製造の第一フェーズは、トランスジェニック植物を用いる生産技術に特異的であり、栽培、収穫、収穫物の一次加工（例えば、スクリーニング、洗浄、選別、膨潤、輸送、貯蔵）がこれに含まれる。このフェーズの要素に従来のGMPの原理を適用するのが現実的でない場合、適切な品質システムを開発して実施すること。

品質システムの記載に用いられる項目には、少なくとも、人材（適格性とトレーニングを含む）、トレーサビリティを含む記録作成、監査と視察の手はず、そのシステムがいずれかの公的機関で承認されているかどうかの情報を含むこと。システムの開発においては、HMPCの“植物由来出発原料の Good Agricultural and Collection Practice (GACP) に関するガイドライン”に書かれている基本原理が出発点として用いられるであろう。ただし、GACPガイドラインは、別の用途での植物の利用を目的としたものであるため、その順守の確認のみではトランスジェニック植物を用いた生産の管理が適切だと見なされない。

すなわち、GMPあるいは決定された品質システムのいずれに準じて作業がなされる場合でも、製造工程の初期のステップが適切な工程内管理の適用によって十分に管理されると共に、GMP条件下での次の工程に適した十分に特性解析された出発原料が供給され、さらに、工程が十分に記録される必要がある。査察の際には、操作手順と記録を閲覧できるようにしておくこと。

一次加工の下流（製造の第2フェーズ）にお

ける有効成分の製造操作は通常、GMPに従って実施される。製品の分離、精製、製剤化などを含む第2フェーズは、全てのバイオテクノロジー応用医薬品に共通であり、一般的な要件は該当するCHMPやGMPガイドラインに記載されている。

#### 4.2.2 製造の第1フェーズ

##### 製造場所の記載

- ・ 明確な境界線を設けた地理的な位置
- ・ 生育支持体（典型的には土、水溶液、水性懸濁液）の品質と性質、水の供給、その他の原料（肥料や殺虫剤を含む）を規定し、適宜、規格および試験方法を設定すること。
- ・ 季節性や通常起こり得る変化を含め、主な気象条件について記載すること。その場所での最も極端な条件についても言及すること。
- ・ 栽培場所の監視
- ・ 地域の植物相および動物相
- ・ 周辺地域での他の遺伝子改変植物の栽培
- ・ 製造場所での作業に関する品質管理システム

##### 栽培方法

- ・ 繁殖の手順と技術。栽培方法に応じて、製造工程での遺伝的安定性の資料を参照しながら、各段階での世代数を明らかにすること。
- ・ 目的外の植物や花粉などの外来の遺伝的物質の侵入を検出し、除去するための方法
- ・ 害虫を検出し、除去する方法
- ・ 植物の健康状態をモニタリングする方法、および病害への対策
- ・ 生産の一定性に関する工程内モニタリング。以下の例のように、栽培に関する重要な指標を決め、その指標が正当であることを示す：

- ・季節性や近隣の植物相の性質を含む環境条件を考慮した栽培技術および場所
- ・土壌の性質（放射活性がある可能性を含む）
- ・植物ホルモンおよび肥料の使用
- ・化学的あるいは生物学的な試薬を用いた殺虫剤
- ・交配による遺伝型の多様化の可能性

#### 収穫および収穫後の初期加工

- ・ 収穫開始の基準
  - ・ げっ歯類、鳥、死骸の混入を防ぐ技術を含む収穫方法
  - ・ 輸送や貯蔵の方法を含む収穫直後の産物の取り扱い方法とその妥当性、および、施される機械的、物理的、化学的、あるいは生物学的な処理
  - ・ 分離された一次加工品の貯蔵条件と期間
- 収穫物、有効成分、最終製品のバッチの定義を明確にし、各バッチについて、ワーキング・トランスジェニック・バンクまで遡ることのできるトレーサビリティの確保について記載すること。収穫物あるいは他の中間体をプールする計画を明確にし、適宜、規格および試験方法を設定すること。

#### 4.2.3 製造の第2フェーズ（下流加工）

一般のバイオテクノロジー応用医薬品の場合と同様に、製品の精製に用いられる方法とその工程内管理について規格および試験方法を含めて詳細に記載し、その正当性を検証すること。植物栽培に固有の特殊性を考慮し、工程の頑健性を示すことに特に注意を払うこと。

植物や製造工程に由来する不純物や混入汚染物質となり得るもの（例えば、宿主細胞由来タンパク質、DNA、植物代謝産物、除草剤、肥料、カビ毒）について評価すること。目的物

質と類似した宿主由来タンパク質、目的物質と共に精製されてくる汚染物質、過敏反応など安全性上の懸念となる可能性のある全ての要素について、記録を取るよう留意すること。

不純物や汚染物質に関する精製工程の除去能力について示し、精製の各段階での不純物除去率と全体での除去率を明らかにすること。必要であれば、不純物/混入汚染物質の濃度を通常の製造工程で予想されるよりも高く（スパイク）して、その除去工程の頑健性を示すこと。さらに、現実的な条件と最悪の条件を想定して、投与量あたりの不純物/混入汚染物質の残存量の定量的評価を行うこと。

### 4.3 有効成分の品質管理

#### 4.3.1 特性解析

トランスジェニック植物由来の有効成分の特性解析は、関連するガイドライン（特に、規格および試験方法に関するICH Q6Bガイドライン）、薬局方、その他の要件を考慮して、適切な方法により実施すること。可能かつ妥当であれば、特性解析において、有効成分と天然に存在するカウンターパートとの比較も行うこと。見出された違いの影響について注意深く考察し、安全性と有効性の観点からよく議論すること。

物理的・化学的性質、生物学的性質、免疫化学的性質、純度、不純物を含む有効成分の詳細な品質プロファイルを、適切な分析技術を用いて明らかにすること。翻訳後修飾等により構造上の不均一性がある場合は、不均一性のパターンを明らかにすること。さらに、バッチ間での一定性を確保するための適切な工程管理と規格および試験方法を確立する基礎として、栽培、収穫、収穫後の加工、貯蔵が有効成分の多様性のパターンに与える影響を適切に明らかにす