

図9 植物由来N結合複合型糖鎖の特徴

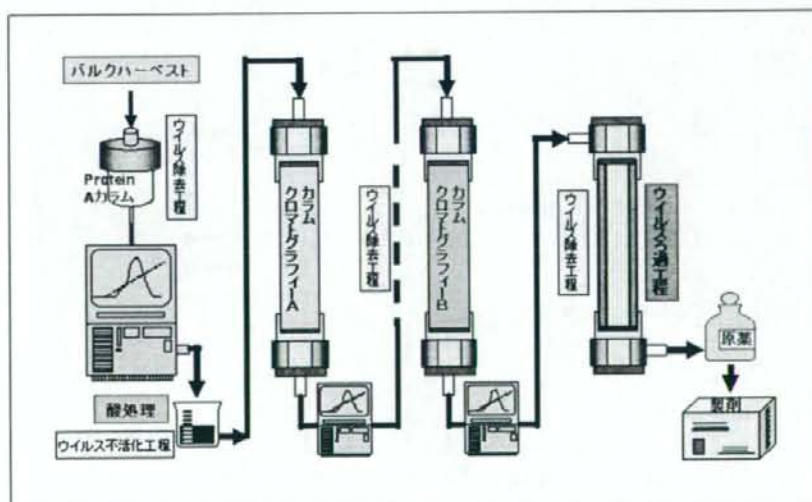


図10 代表的な抗体医薬品の精製工程とウイルスクリアランス

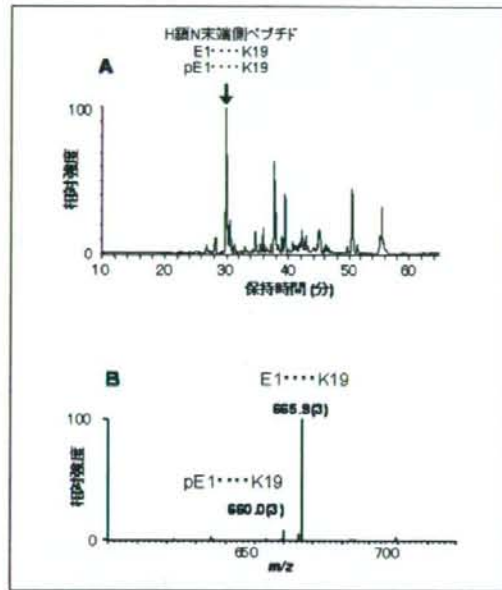


図11 N末端の不均一性

A ペプチドマップとH鎖N末端側ペプチドの保持時間

B N末端側ペプチドのマススペクトル

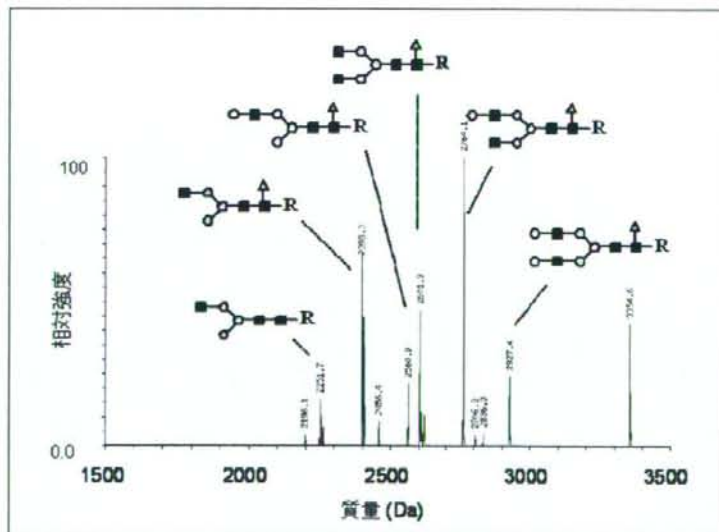


図12 糖鎖の不均一性 コンセンサス糖鎖結合ペプチドのマススペクトルと糖鎖推定構造 ■, GlcNAc; ○, Gal; ⊙, Man; △, Fuc

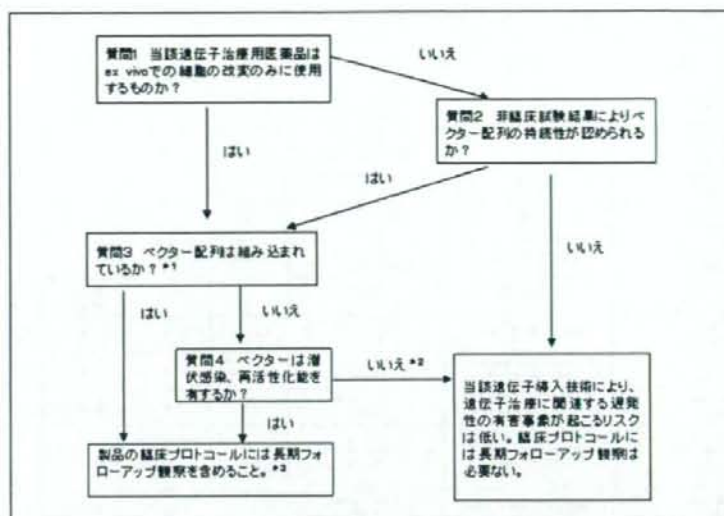


図 13 遺伝子治療による遺伝性の有害事象のリスク評価のためのフレームワーク
(参考資料1より)

×1ベクターの組み込みの可能性を示唆する証拠がある場合、あるいは組み込みを促進するように設計したベクターである場合(表1参照)、答
えは「はい」である。組み込みに関する証拠がない場合、製品の開発計画でこの質問に対応するための非臨床試験を実施することが望ましい。
×2プロトコルが承認された後で報告された情報に基づき、特異的な遺伝子発現あるいは当該製品の投与により遺伝性の有害事象のリスクの
上を見逃した場合は、ここでの質問の回答が「いいえ」であっても長期フォローアップ観察の実施を計画すべきである。
×3長期フォローアップ観察の実施方法については、本文書Vを参照すること。

表1 糖鎖の違いによって異なるINNを持つ糖タンパク質性医薬品

基原	INN	細胞/組織
α-Galactosidase	<i>Agalidase Alfa</i>	Human cell line
	<i>Agalidase Beta</i>	CHO
Antithrombins	<i>Antithrombin III</i>	Human source
	<i>Antithrombin Alfa</i>	Goat
Erythropoetin	<i>Epoetin Alfa</i>	CHO
	<i>Epoetin Beta</i>	CHO
	<i>Epoetin Gamma</i>	
	<i>Epoetin Delta</i>	Human cell line
	<i>Epoetin Epsilon</i>	BHK
	<i>Epoetin Zeta</i>	
	<i>Epoetin Theta</i>	
	<i>Epoetin Iota</i>	
FSH	<i>Follitrophin Alfa</i>	CHO
	<i>Follitrophin Beta</i>	CHO
Prourokinase	<i>Nasaruplase</i>	Human cell line
	<i>Nasaruplase Beta</i>	Murine cell line
Urokinase	<i>Urokinase</i>	Human source
	<i>Urokinase Alfa</i>	Non-human mammalian cell line

表2 INN収載低分子量ヘパリン

INN	分解方法	平均分子量	硫酸基/二糖	生成物の構造	
				非還元末端	還元末端
Deltaparin Sodium	硫酸基	5,500 - 6,400 (6,000)	2.0 - 2.5	A	D
Minoteparin Sodium	硫酸基	1,700 - 3,200 (900は1,000 - 8,000)	2.1	A	D
Nadroparin Calcium	硫酸基	3,500 - 5,000 (4,300)	2.1	A	D
Reisiparin Sodium	硫酸基	7,150 - 13,500 (4,150)	2.1	A	D
Cariparin Sodium	硫酸基/アミル	5,000 - 7,000 (700は10,000以下)	2 - 2.5	A	D
Livonarin Calcium	硫酸基	3,000 - 5,000 (700は28,000以下)	2	A	6-sulfate-structure
Fantaparin Sodium	硫酸基/水素/第二級アミン	4,000 - 6,500 (6,000)	2.0 - 2.5	A	D
Tinzaparin Sodium	<i>Flavobacterium heparinum</i> 由来ヘパリン	5,500 - 7,500 (6,500)	1.8 - 2.5	B	D
Bimapanin Sodium	ベンジルエチル誘導体モアルカリ分解	3,500 - 5,500 (4,500)	約2	B	記載なし
Bemiparin Sodium	4級アンモニウム塩によるアルカリ分解	3,500 - 4,200 (3,800)	約2	2-O-sulfate-pyranosidonic acid	D
Deltaparin Sodium	金属イオン/硫酸基/水素	2,250 - 3,350 (3,300)	2.5	記載なし	記載なし
Andoparin Sodium	硫酸基/加熱	5,500 - 6,500 (900は2,000 - 15,000)	2.7	異なる構造を含まない	

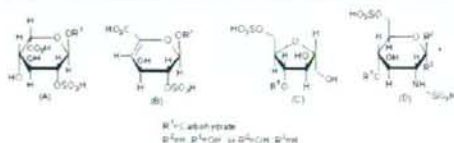


表3 各低分子量ヘパリンのHPAEC-PADプロファイル中に観測されたいくつかのピークのウロン酸1 mmol当たりのピーク面積(n = 3)

分子量 ヘパリン	パルサパリンA		パルサパリンB		タルサパリンA		タルサパリンB		レビパリン		エノサパリン		
	Peak Area (nC X min)												
	Average	N RSD	Average	N RSD	Average	N RSD	Average	N RSD	Average	N RSD	Average	N RSD	
Peak1												124	0.5
2,5-anH-ol					286	2.7	308	3.8	533	2.2			
GalH	55	1.8	192	0.3	34	2.9	47	5.1	14	9.5	5	44.5	
ManH	96	1.9	13	3.1					6	7.5	207	2.8	
GalN	308	3.8	2679	3.7	2152	4.9	2188	5.1	2187	3.5	2402	1.0	
Gal	21	2.8	40	3.8	27	3.2	35	5.0	32	7.5	92	8.7	
Peak2					114	5.0	117	5.2	208	1.7			
Peak3					110	2.3	96	3.5	197	1.3			
Peak4	277	5.1	179	4.5	161	5.1	164	7.2	145	5.7	144	3.8	
Peak5	200	5.3	204	2.7	148	4.2	155	5.4	189	5.0	258	1.0	
Peak6	303	3.4	281	3.1	212	4.8	213	5.4	205	2.9	402	0.8	
Peak7	2195	1.0	1931	0.4	2180	2.5	2188	4.0	2033	1.2	1547	0.3	
GalA	55	4.5	95	0.5	75	3.1	82	5.1	89	5.0	91	5.5	
IdoA	146	7.5	174	7.9	119	10.5	125	19.7	248	5.3	44	27.9	

a. 各ピークは図2を参照する。

表4 ①~⑤ 記入例

	分類	記入例
①製造方法	a. 抽出(天然由来/植物細胞由来)	・ヒトリン/糖類で産生される ・ヒトメラノーマ細胞で産生される ・ヒト胎由来
	b. 合成	合成
	c. 遺伝子組み換え	遺伝子組み換え
②由来及び型	a. 天然型	・ヒトエリスロポエチンで ・ロファゼの主要なバリエーションの一つで ・第VII因子の主要なアイソフォームで
	b. 糖鎖型	・ヒト成長ホルモンの糖鎖体で ・ヒト細胞プラスミノーゲンアクチベータの糖鎖体で
	c. 融合型等	・ヒトヒモグロビン様体で ・ヒト抗ヒトCD4モノクローナル抗体であるIgG2で ・融合タンパク質で
③糖鎖型の場合は天然型との違い、融合型の場合は糖鎖成分等	a. 産生型	・A鎖の5番目のAsnがSerに、B鎖の8番目のThrがProに置換されている
	b. 糖鎖型	・ヒト成長ホルモンの101-191番目のアミノ酸残基に相当する ・クリングルドドメイン及びセリンプロテアーゼドメインからなる
	c. 産生型	・平均分子量がポリエチレングリコール(平均分子量5,000)が共有結合している(主な結合部位: IgM, IgM15)
	d. 融合型	・マウス抗ヒトCD4抗体の相補性決定部、並びにヒトIgG1のフレームワーク部及び変異部からなる ・1-133番目はヒトCD28の細胞外領域、また134-356番目はヒトIgG1のFc領域からなる
④骨格付	a. ペプチド・タンパク質	糖鎖が結合していないペプチドやタンパク質の場合は原則不要
	b. 糖ペプチド・糖タンパク質	・チャイニースラムスター菌糖鎖により産生される ・△糖等により産生される ・マウスミエローマONRO細胞により産生される
⑤構造	a. 1本鎖	○骨のアミノ酸残基からなるタンパク質
	b. 2本鎖以上	○骨のアミノ酸残基からなるA鎖及びV骨のアミノ酸残基からなるB鎖から構成されるタンパク質
	c. 2重体以上(ホモ)	○骨のアミノ酸残基からなるサブユニット2分子から構成される糖タンパク質(分子量: 約xxx,xxx)
	d. 2重体以上(ヘテロ)	○骨のアミノ酸残基からなるAサブユニット2分子及びV骨のアミノ酸残基からなるBサブユニット2分子から構成される糖タンパク質(分子量: 約xxx,xxx)

表5 トランスジェニック植物を用いて生産された組換えタンパク質性医薬品の開発動向

組換えタンパク質	適応症	生産方法	収穫性	臨床試験	投与方法
抗 <i>S.mutans</i> 抗体(分泌型 α A/G: Cerofu™)	虫歯	組換えタニコ	精製	Phase II	口腔内
インターフェロン アルファ2b(複製性製剤Locteron™)	C型肝炎	組換えウキクサ	精製	Phase II	皮下**
莫リノゼ(Moripose®)	機能的線維症、肺炎	組換えウモロゴン	精製	Phase II*	経口
インスリン(SBS-1000)	糖尿病	組換えベニコナ種子	精製	Phase I/II	皮下
インターフェロン アルファ2b (BLX-833)	Locteronの有効成分	組換えウキクサ	精製	Phase I	筋内注射**
抗doxorubicin抗体(Doxofu™)	抗癌剤副作用低減	組換えタニコ	精製	Phase I	局所
ラクトフェリン	ドライアイ	組換えウモロゴン	精製	Phase I*	点眼
大腸菌 易熱性腸管毒素B様 ワクチン	下痢	組換えウモロゴン	未精製	Phase I	経口
大腸菌 易熱性腸管毒素B様 ワクチン	下痢	組換えジャガイモ	未精製	Phase I	経口
HBV表面抗原 ワクチン	慢性肝炎	組換えジャガイモ	未精製	Phase I	経口
HBV表面抗原 ワクチン	慢性肝炎	組換えトウモロコシ	未精製	Phase I	経口
ノーワークウイルスカプシド ワクチン	ノーワークウイルス感染	組換えジャガイモ	未精製	Phase I	経口
狂犬病ウイルス ワクチン	狂犬病	ホウレンソウ(一過性発現)	未精製	Phase I	経口
scFv (ワクチン)	非ホジキンリンパ腫	タバコ(一過性発現)	精製	Phase I*	皮下
グルコセリブリンダーゼ(GrGD)	ゴーシェ病	組換えエンジン細胞	精製	Phase III	点滴静注

* 開発企業の実験等により、開発が中止された可能性がある。
**投与方法が明らかでないため、対照薬の投与方法を記載した。

Spook A. et al. Trends in Biotech 25, 506, 2007 をもとに作成

表6 ガイドライン案でコメントが求められていた点に対して寄せられた意見と、それに対する回答

	寄せられた案	回答
4.1: 遺伝子編集体系の構築 植物の遺伝子に関する用語について	TD…最初の形質転換体 T1, T2, T3…TDに改変世代 Tr…主産に用いられる形質転換体 Elite line: 生産性向上のために形質転換体との交配に用いられる優れた特長を継いだ植物体	表記法として、寄せられた案を採用する。 寄せられたユース名を考慮して、必要に応じて修正して用いる。
4.1.5: 遺伝子編集体系のパンキングシステムについて	パンキングに関する記述は一貫的であることが望ましいが、植物は非常に多様である。種子の保存についても、各所に可能なものから採集に用いられるものがある。また、植物体での品質評価可能なものもあり、そのような場合は植物体での評価が必要となる。医薬品生産に用いられる植物が新たに出現すれば、それに対応したガイドラインが必要となる。 農作物の品種改良においてはパンキングシステムが既に確立されているため、それを応用するのがよい。	遺伝子編集するものだけでなく、植物体で構築する植物についても同様にパンキングシステムを構築できると考えられる。ガイドライン本文では、トランスジェニック植物による生産の多様性を述べた上で、詳細であれば、パッチワークの一定性を確保するための戦略にパンキングシステムを含むこと、を記載する。 本ガイドラインは農作物に関するものではない。
4.2.1: 一般的な収集方法 GMCPが適用できない施設工種を重点的に収集について	ガイドライン案で、GMCP (Good Agricultural Collection System) を考慮することとされているのはよい記述である。 GMCPは、GMP対応施設としての適合性が示されるの上向き、実用や適合性確認についても含むと考えられる。 品質原料が特製工程に入った段階から速やかにGMCPによる品質管理を実施する。	GMCPは遺伝子編集体系の運用植物の収集に関するものでありトランスジェニック植物の管理にそれだけでは十分ではない。 GMPとGMCPの両者の区別についてはガイドライン案でも言及しているが、より明確にするため、パッチワーク加工、下流の加工工程、に関する品質および製造管理システムの記載を添付する。
4.2.2: 熟練、経験、初級加工 適切な工程管理の方法について	GMCPの適用が望ましい。	品質システムの構築の過程でGMCPを参照することはできるが、医薬品生産の場合はGMCPに準拠するとすべきではない。 植物由来や栽培法が多様性を考慮し、個別のケースに応じて高品質システムを構築するべきである。

表7 トランスジェニック植物を用いた組換えタンパク質生産系における遺伝子発現構成体に関連する評価

試験試料	解析事項
遺伝子発現構成体 (遺伝子導入ベクター)	<ul style="list-style-type: none"> 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 プラスミドの全塩基配列情報 (構成要素の詳細なマップと注釈を付ける) 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解析結果 (ベクターとの境界部位より上流を含む) プラスミドにコードされる他の発現タンパク質に関する情報 宿主植物の特性を制御あるいは改良するために導入あるいは改良される目的遺伝子以外の遺伝子 (例: 遺伝子発現の発現や阻害に影響する因子、挿入部位に影響する因子) 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、利用したシステムの起源、履歴、生物学的特性を詳細に記載する。
最初の形質転換体 Primary transformant (*)	<ul style="list-style-type: none"> 目的の配列、挿入された部位および鎖、単反復配列、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検存物に関する情報 (例: アグロバクテリウムの感染種の運命)
マスター・トランスジェニック パンク作製に用いられる植物材料 Final transformant	<ul style="list-style-type: none"> 挿入遺伝子 (例: 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 信頼性 株型
規定された生産用の栽培期間を経た世代	<ul style="list-style-type: none"> 遺伝子発現 (目的タンパク質発現の確認) 挿入遺伝子の保持

(*) 最初の形質転換体における遺伝子発現構成体の解析は、挙げられた項目を参考にし、形質転換体の選択に役立つ項目の解析を必要に応じて実施することでよいと考えられる。

表8 治験製品でのウイルス安全性試験で考慮すべき事項

製造細胞の特性
製造細胞の履歴や使用実績
どの程度製造細胞の特性解析ができていますか
製造時に使用しているヒトや動物由来原材料とその量
ウイルス迷入の可能性
製品の開発ステージ
製造メーカーの持つ製造細胞の経験の程度
製造メーカーが採用している各製造工程の経験の程度

表9 開発段階のバイオ医薬品のウイルス安全性確保

治験開始前までにマスターセルバンク(MCB)のウイルス検査を実施することが必要
臨床開発段階では未加工/未精製バルクのウイルス試験のバッチ数を削減できることもある
ウイルス不活化/除去能の評価: ウイルスクリアランスに容与する工程を明らかにすること
臨床開発段階でのウイルススクリアランス評価において社内データの活用

表10 一般的考慮事項

主として用いられているのはCHO、NS0、SF2/O細胞などの内在性レトロウイルスを持つ細胞

レトロウイルスの存在を前提としたウイルス安全性確保対策

代替法の活用: PCRや細胞アッセイ法

MAP/HAP/RAP試験等の代替法として 採用するには当該製品に十分適応出来ることのバリデーションが必要

表11 抗体医薬品の生物活性や免疫学的特性

抗体が認識するエピトープの特性解析を含む抗原特異性

親和性に関する解離常数(Kd)

補体結合活性や補体活性化能 他のeffector活性の有無

細胞傷害活性や抗体依存性細胞傷害活性(ADCC)の有無

パラトープ(paratope) (抗原結合領域; エピトープを認識し、結合するモノ クローナル抗体の領域)の同定

抗体の免疫反応性: 比活性(unit活性単位/質量)

表12 治療に現在一般的に用いられている遺伝子治療用ベクターの組み込み特性
(参考資料1より)

ベクターの種類	組み込みの傾向 ¹	長期フォローアップ観察の必要性 ²
プラスミド	なし	なし
ポックスウイルス	なし	なし
アデノウイルス	なし	なし
アデノ随伴ウイルス ³	なし	なし
ヘルペスウイルス	なし 潜伏感染/再活性化の可能性	あり
ガンマレトロウイルス	あり	あり
レンチウイルス	あり	あり

¹ベクターの設計(すなわち、組み込みを促進するような機構を持たない)及び非臨床、臨床での証拠の蓄積に基づく、ベクターは組み込みがあらゆる場合、おこっても極めて低頻度である。

²組み込みがなくても導入遺伝子の持続発現が認められる特殊な条件では、ベクターを投与された被験者の長期リスクを軽減するために長期フォローアップ観察が必要との結論になる可能性がある。これは発現する導入遺伝子や臨床適応など、本文に記載されている追加の基準に依存する。

³Rep欠損ベクターに限る

表13 遺伝子治療臨床試験においてウイルス排出分析に用いられたアッセイの種類と数
(参考資料19より)

アッセイ法	非増殖性 レトロウイルスベクター (n=27)	非増殖性 アデノウイルスベクター (n=52)	制限増殖性 アデノウイルス (n=11)	AAV (n=7)	ポックスウイルスベクター (n=5)
アッセイの種類					
PCR法	23 (85%)	31 (60%)	11 (100%)	5	3
・定量PCR	3	6	5	0	0
・非定量PCR	14	13	5	5	0
・詳細不明	6	12	1	0	3
生物学的試験	7 (26%)*	35 (67%)	5 (31%)	5	5
ELISA	0 (0%)	9 (17%)	0 (0%)	0	0
詳細不明	2 (7%)	2 (4%)	0 (0%)	0	0
使用アッセイ数					
・1アッセイ	18 (74%)	28 (54%)	6 (55%)	4	2
・2アッセイ	5 (19%)	21 (40%)	5 (45%)	3	3
・2アッセイ以上	0 (0%)	1 (2%)	0 (0%)	0	0
・不明	2 (7%)	2 (4%)	0 (0%)	0	0

数字は論文数(カッコ内はベクターの種類別の比率)を示す

*PCR測定のみ使用

表14 遺伝子治療臨床試験においてウイルス排出分析に用いられた生体試料
(参考資料19より)

ベクター	投与経路	生体試料の種類
トロウイルスベクター (n=27) In vivo (n=16) Ex vivo (n=11)	ip (2), it (13), iv (1)	血液関連試料(16), 糞便(1), 唾液(1), 精液(1), 皮膚(1), 尿(2)
非増殖性アデノウイルスベクター (n=50)	ic (2), im (2), inh/in (9), ip (3), it (26), iv (2), その他* (6)	血液関連試料(35), 糞便(23), 鼻咽頭液(26), 唾液(15), 精液(2), 皮膚(1), 尿(44)
制限増殖性アデノウイルス (n=11)	ip (1), it (8), it+iv (1), it/ip (1)	血液関連試料(9), 皮膚(1), 尿(3)
AAV (n=7)	ia (1), im (1), inh/in (5)	血液関連試料(5), 糞便(4), 鼻咽頭液(3), 唾液(4), 精液(2), 尿(3)
ポックスウイルスベクター (n=5)	id (2), im (2), it (1)	血液関連試料(3), 糞便(1), 鼻咽頭液(2), 唾液(1), 皮膚(2), 尿(3)

カッコ内は論文数を示す

血液関連試料は血清、血漿、末梢血単核球を、鼻咽頭液は鼻腔スワブ、咽頭スワブ、気管支肺洗浄液を含む

ic: 鼻腔内; im: 筋内; ip: 皮下; inh/in: 吸入/鼻腔内; iv: 静脈内; it: 皮下内

*その他: 動脈内(1), 皮膚内(1), 心筋内(1), 胸膜内(1), 静脈内(1)を含む

表15 日本の遺伝子治療臨床研究におけるウイルス排出試験の現状
(参考資料生物多様性影響評価書より)

実施機関	ベクター・ 搭載遺伝子 (名称)	投与部位	検診者の 国籍	試験試料・ 対象・ アッセイ法	結果データ
北海道大学 病院	非増殖性 HSV-1/SLV 3+ ADA (GCM4M-ADA)	遺伝子導入 ODJ(腸性細胞) の輸注	投与後3日 間	末梢血単核球、血 漿・ ROR・ PCR法	患者に遺伝子導入 ODM 腸性細胞を移植後、7ヵ月、8ヵ月後に PCR の存在は認められず、第3者への感染も確認されていない。海外でも感染が確認された期間中、患者4名の末梢血単核球及び血清で PCR は認められなかった。
癌研 総合がん センター 病院	非増殖性 HSV-1/SLV 3+ MCR1 (HMDR)	遺伝子導入 ODJ(腸性細胞) の輸注	投与後14日 間	末梢血、骨髄・ ROR・ PCR法(腸性の場合 5-L-試験)	遺伝子治療を受けた患者に対して入院中は口頭、経腸後は2から4ヵ月以内に末梢血の PCR が検出しているが、ROR は検出していない。ウイルスベクターは遺伝子導入後に洗浄除去され、洗浄後の細胞からベクターが検出されなかった。
放送大学附属 病院	非増殖性 HSV-1/SLV 3+ HSV-TK, Δ LINGP (SFDM-3)	遺伝子導入 F-12(心臓)の 輸注	投与後30日 間	末梢血単核球、血 漿・ ROR・ PCR法、5-L-試験	海外で真紅白血病に対する遺伝子治療5例、14人半一時的に遺伝子治療移植に対する遺伝子治療7例に、真一の SFDM-3 を用いて遺伝子導入した F-12/心臓を用いた F-12/心臓輸注が行われて投与後、患者は、患者は、ならびに血清を用いた検出する検査 (5-L-アッセイ、5-L-PCR) において ROR は検出されず、治療を受けた患者において SFDM-3 の活性を認めない症例もない。
岡山大学医学 部・倉本附属 病院	非増殖性 HSV-1/SLV 3+ HSV-TK (AdvRSV-TK)	対立細胞内 投与	投与後24日 間	血液、尿・ ベクター、ROA・ PCR法	*患者7例に投与後、血液、尿及び唾液中のベクターは投与後24日間に消失した。医療従事者や家族への感染、環境中への放出は認められなかった。
北里大学病院	非増殖性 HSV-1/SLV 3+ HSV-TK (AdvRSV-TK)	対立細胞内 投与	投与後24日 間	血液、尿・ ベクター、ROA・ PCR法	*マウスモデルに投与後一週間では尿、唾液、糞、尿中にベクターは検出されず、血中では40%の割合で検出された。ベクターの分布は対立細胞、脾臓、腎臓、骨髄、骨髄リンパ節、消化管、肝臓で一過性に観察された。 *海外では、18名の患者に投与後、症例により投与があるが尿中に 20~30日 (平均 4.8日) 検出された (PCR法)。
神戸大学医学 部附属 病院	非増殖性 HSV-1/SLV 3+ HSV-TK (Ad-DO-TK)	対立細胞の骨 髄移植又は 胚系細胞内投 与	投与後3日 間	血液、尿・ ベクター、ROA 29) 細胞感受性試験	*マウス対立細胞モデルに移植投与した場合、7時間以内に動物体内及び排泄物中から消失した。 *4例の患者に投与後27日間の血液、尿及び唾液中にベクター、ROA は検出されなかった。検診者からの排水を PCR 法で検出した結果及び医療従事者や家族への感染は認められなかった。環境中への放出、第3者への感染は認められなかった。
岡山大学医学 部・倉本附属 病院	非増殖性 HSV-1/SLV 3+ IL-12 (Adv/IL-12)	対立細胞内 、胚系細胞 又は造血幹 細胞内投与	投与後24日 間	血液、尿・ ベクター、ROA PCR法	*マウスモデルで同一ベクター、同一投与経路の検出はしていない。AdvRSV-TK の両者を比較。 *AdvRSV-TK を患者が対立細胞移植後に投与後、血漿中への移行は他剤治療では認められず、中間治療で投与後30分以内に消失した。尿中への移行は投与後24日に認められず多くは2日に消失した。
九州大学病院	非増殖性 HSV-1/SLV 3+ FGF2 (Adv/FGF2)	下肢骨髄内 投与	投与後1週間 間	血液、尿・ ベクター・ PCR法及びトリ 重縮合反応	*マウス、ラット、サルに Adv/FGF2 を投与した場合、尿中、尿中の検出は一過性であり、投与後には数日で消失した。 *カニオザルに増殖性腺癌センタウイルスを接種しても同一ゲージ内の水平感染は認められなかった。
自治医科大学 附属病院	非増殖性 HSV-1/SLV 3+ AAO2 (AAV-AAO2-E)	脳内投与	投与後72日 間	血液、尿・ ベクター・ PCR法	ラット及びサルのパーキンソン病モデルに対して脳内 AAV-AAO2-E の注入を行った動物試験で、血漿中で AAV-AAO2-E は検出されていない。

表16 「ICH見解:腫瘍溶解性ウイルス」の構成

-
1. 緒言
 2. 腫瘍溶解性ウイルスの特性解析
 - 2.1 選択性
 - 2.2 分子実体
 - 2.3 外来性病原体試験
 3. 非臨床試験
 - 3.1 選択性の評価
 - 3.2 動物モデルの選択とその限界
 - 3.3 薬理学/POC
 - 3.4 生体内分布
 - 3.5 ウイルス排出に関する考慮事項
 - 3.6 毒性試験及び安全性試験
 - 3.7 医薬品安全性試験実施基準(GLP)試験
 4. 臨床試験
 - 4.1 薬物動態、薬力学及び生物活性
 - 4.2 免疫及び免疫反応
 - 4.3 バイオセーフティー
-

Guidance for Industry

Drugs, Biologics, and Medical Devices Derived from Bioengineered Plants for Use in Humans and Animals

DRAFT GUIDANCE

This guidance document is being distributed for comment purposes only.

Submit comments and suggestions regarding this draft document by the date provided in the *Federal Register* notice announcing the availability of the draft guidance. Submit comments to Dockets Management Branch (HFA-305), Food and Drug Administration, 5600 Fishers Lane, rm. 1061, Rockville, MD 20852. You should identify all comments with the docket number listed in the notice of availability that publishes in the *Federal Register*.

For questions on the content of this draft document as it relates to FDA-regulated products, contact Keith Webber, Ph.D., at 301-827-0850 (CBER), Yuan Yuan Chiu, Ph.D., at 301-827-5918 (CDER), Wendelyn Jones Warren, Ph.D., at 301-827-6978 (CVM). For questions regarding veterinary biological products, contact Patricia L. Foley, D.V.M., Ph.D., at 515-232-5785 (USDA/APHIS/CVB).

U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)
Center for Drug Evaluation and Research (CDER)
Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN)
Center for Devices and Radiological Health (CDRH)
Center for Veterinary Medicine (CVM)
U.S. Department of Agriculture
Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS)
Center for Veterinary Biologics (CVB)
Biotechnology Regulatory Services (BRS)
September 2002

Guidance for Industry

Drugs, Biologics, and Medical Devices Derived from Bioengineered Plants for Use in Humans and Animals

Additional copies of this guidance are available from:
Office of Communication, Training, and Manufacturers Assistance, HFM-40
Center for Biologics Evaluation and Research
Food and Drug Administration
1401 Rockville Pike, Rockville, MD 20852-1448
Phone: 301-827-4573
Internet: <http://www.fda.gov/cber/guidelines.htm>
Mail: The Voice Information System at 800-835-4709 or 301-827-1800

or

Office of Training and Communication
Division of Communications Management Drug Information Branch, HFD-210
Center for Drug Evaluation and Research
Food and Drug Administration
5600 Fishers Lane, Rockville, MD 20857
Phone: 301-827-4573
Internet: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>

or

Division of Small Manufacturers, International, and Consumer Assistance (DSMICA), HFZ-220
Center for Devices and Radiological Health
Food and Drug Administration
1350 Piccard Drive, Rockville, MD 20850
800-638-2041 or 301-443-6597
Internet: <http://www.fda.gov/cdrh>
Email: DSMICA@cdrh.fda.gov
Facts-On-Demand (faxback): 301-827-0111

or

Communications Staff, HFV-12
Center for Veterinary Medicine (CVM)
Food and Drug Administration
7500 Standish Place
Rockville, MD 20855
Phone: 301-594-1755
Internet: <http://www.fda.gov/cvm>

Table of Contents

77			
78			
79	I.	INTRODUCTION.....	1
80		A. Purpose and Scope	1
81		B. Regulatory Responsibility	2
82	II.	HOST AND SOURCE PLANT CHARACTERIZATION	3
83		A. General Considerations	3
84		B. Host Plants	3
85		C. Bioengineered Source Plants.....	4
86	III.	ENVIRONMENTAL CONSIDERATIONS.....	7
87		A. General Considerations	7
88		B. National Environmental Policy Act (NEPA)	8
89		C. Confinement Measures.....	8
90	IV.	MANUFACTURING AND PROCESS-RELATED CONSIDERATIONS.....	11
91		A. General Considerations	11
92		B. Special Considerations for Whole Fruit or Vegetable Products	12
93		C. Applicable FDA and USDA Regulations	12
94		D. Product Manufacturing Procedures	13
95		E. Characterization of the Product	17
96		F. Product Stability	17
97	V.	PRE-CLINICAL CONSIDERATIONS FOR BIOENGINEERED PHARMACEUTICAL PLANT-DERIVED PRODUCTS FOR USE IN HUMANS	18
98		A. General Considerations	18
99		B. Evaluation of Impurities.....	19
100		C. Allergenicity.....	20
101		D. Immunogenicity.....	20
102			
103	VI.	CLINICAL TESTING FOR FDA-REGULATED PRODUCTS AND PRE- LICENSE TESTING FOR USDA-REGULATED PRODUCTS	20
104			
105	VII.	DEFINITIONS	21
106	VIII.	REFERENCES.....	24
107		APPENDIX A	26
108			

Guidance for Industry

Drugs, Biologics, and Medical Devices Derived from Bioengineered Plants for Use in Humans and Animals

This guidance document represents the agencies' current thinking on this topic. It does not create or confer any rights for or on any person and does not operate to bind FDA, USDA, or the public. An alternative approach may be used if such approach satisfies the requirements of applicable statutes and regulations.

I. INTRODUCTION

A. Purpose and Scope

This document is the result of a combined effort by the U.S. Food and Drug Administration (FDA) and the U.S. Department of Agriculture (USDA) to provide guidance with regard to the use of bioengineered plants or plant materials to produce biological products, including intermediates, protein drugs, medical devices, new animal drugs, and veterinary biologics regulated by FDA or USDA (hereafter referred to as "regulated products"). This document does not address non-protein drugs, botanicals, or allergenic products (21 CFR 680.1) for human use. It should be noted, however, that if a bioengineered pharmaceutical plant is used to produce a non-protein drug product, the principles described in this document regarding the host and source plant characterization and the environmental considerations would be applicable. If you are planning to produce a non-protein drug product for human use in a bioengineered pharmaceutical plant, consultation with FDA's Center for Drug Evaluation and Research (CDER) early in the drug development process is encouraged. For the purposes of this document, the term "bioengineered pharmaceutical plant" means any plant manipulated by recombinant DNA technology to express a gene encoding a biological or drug product.

Within this document, "you" refers collectively to sponsors, manufacturers, licensees, and applicants; "we" refers to FDA and/or USDA/Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS)/Center for Veterinary Biologics (CVB).

This document outlines important scientific questions and information that you should address during the investigation of a new animal drug and preparation of an Investigational New Drug (IND) application, Investigational Device Exemptions (IDE), Biologic License Application (BLA), New Drug Application (NDA), New Animal Drug Application (NADA), Premarket Approval (PMA), or 510(k) to the FDA, or a United States Veterinary Biological Product License Application (VBPLA) to the USDA (hereafter referred to as "your application"). This document presents points that you should consider to demonstrate the safety and effectiveness of products from bioengineered pharmaceutical plants for use in

152 humans or animals or as components in clinical diagnostic systems.

153

154 In addition, this document presents points you should consider in addressing environmental
155 issues as well as confinement measures that should be an integral part of the manufacturing
156 process for all pharmaceutical products produced in bioengineered pharmaceutical plants or
157 plants infected with engineered vectors containing genetic material for the expression of
158 regulated products.

159

160 This document is directed at the issues unique to the use of bioengineered pharmaceutical
161 plants as source material for the production of FDA and/or USDA regulated products.
162 Therefore, it does not focus on many aspects of regulated products that are shared with other
163 expression systems. Given the complexity and variety of products, no single document can
164 anticipate and address all issues. You are encouraged to consult other FDA and USDA
165 documents for guidance on other specific topics relevant to your product.

166

167 You should be aware that the Biotechnology Regulatory Services Division (BRS) within
168 APHIS oversees the importation and interstate movement of bioengineered pharmaceutical
169 plants and infectious plant vectors as well as the release of these entities into the
170 environment (i.e., outside of a contained facility, such as a greenhouse, laboratory, or
171 fermentor). You must receive a permit from APHIS/BRS prior to engaging in these
172 activities (7 CFR 340). You may obtain guidance on applying for a permit at the
173 USDA/APHIS website <http://www.aphis.usda.gov/biotech> or by writing to
174 USDA/APHIS/BRS (see addresses in Appendix A). This document will not describe the
175 plant permitting process.

176

177 **B. Regulatory Responsibility**

178

179 The FDA regulates human biologics, and human and animal drugs derived from
180 bioengineered pharmaceutical plants, intended for therapeutic, preventative, or diagnostic
181 purposes. Biological products and drugs for use in humans are regulated by the Center for
182 Biologics Evaluation and Research (CBER) and CDER under authority of the Public Health
183 Service Act (PHS Act) (42 U.S.C. 262 *et seq.*) and the Federal Food, Drug, and Cosmetic
184 Act (FD&C Act) (21 U.S.C. 301 *et seq.*). FDA also regulates animal drugs derived from
185 bioengineered pharmaceutical plants, intended for use in the diagnosis, cure, mitigation,
186 treatment, or prevention of disease in animals or to alter the structure or function of the
187 animal. New animal drugs and animal feeds containing new animal drugs are regulated by
188 the Center for Veterinary Medicine (CVM) under authority of the FD&C Act. The FDA
189 regulations are found at Title 21 of the Code of Federal Regulations (21 CFR).

190

191 The USDA regulates veterinary biologics through the Center for Veterinary Biologics
192 (CVB) within Veterinary Services in APHIS under the authority of the Virus, Serum, and
193 Toxins Act (21 U.S.C. 151 *et seq.*). The USDA regulations are found at Title 9 of the Code
194 of Federal Regulations (9 CFR) Parts 101-124.

195

196 As mentioned above, APHIS/BRS regulates the importation, interstate movement, and
197 release into the environment (e.g., field testing) of all such bioengineered pharmaceutical

198 plants, under the Plant Protection Act (7 U.S.C. 7701-7772). The APHIS/BRS regulations
199 are found at Title 7 of the Code of Federal Regulations (7 CFR), in particular 7 CFR 340.
200

201 Appendix A provides a listing of the points of contact at the agencies.
202

203 To minimize duplication, review of environmental safety issues posed by field growth of the
204 bioengineered pharmaceutical plants, including National Environmental Policy Act (NEPA)
205 assessments, will be addressed primarily by APHIS/BRS. Because bioengineered
206 pharmaceutical plants will be grown under APHIS permit, and because permits enabling
207 field trials will be obtained prior to submission of a product application, APHIS/BRS will
208 identify and evaluate the potential environmental effects posed by field growth of such
209 plants. Environmental concerns posed by use of the regulated product will be addressed in
210 the NEPA analysis conducted by the regulatory agency responsible for review and/or
211 approval of the product. These agencies' NEPA analyses will take into account
212 APHIS/BRS's environmental reviews. Also refer to section III.B. National Environmental
213 Policy Act.
214

215

216 **II. HOST AND SOURCE PLANT CHARACTERIZATION**

217

218 **A. General Considerations**

219

220 In the development stage, you should give careful consideration to choosing the plant
221 species that will be used as the source of the desired regulated product. Concerns to be
222 addressed include: the potential for the plant to express an allergenic or toxic compound; the
223 method of plant propagation and the measures to ensure confinement; and, if it is a food
224 crop species engineered to produce non-food material, the measures to ensure that non-food
225 (or non-feed) material will not get into food or feed. The presence of any such material in
226 food or feed could render such products adulterated under the FD&C Act (21 U.S.C. 342).
227

228 You are encouraged to refer to pertinent guidance documents and regulations, and to consult
229 with the regulatory agencies as early as possible in the development process to ensure that
230 you are aware of the most current regulatory requirements.
231

232

233 **B. Host Plants**

234

235 You should provide in your application a thorough description of the host plant biology that
236 includes information necessary to identify it in the narrowest taxonomic grouping applicable
(e.g., genus, species, subspecies, variety or cultivar, line designation).
237

238 In order for the agencies to assess the ability of the chosen plant to consistently manufacture
239 your intended product, you should submit a description of the reproductive biology of the
240 unmodified plant and production practices with regard to:

241

242

243

- growth habitat as an annual, perennial, or biennial;
- timing of sexual maturity and duration of flowering;
- seed production and harvesting;

- 244
- 245
- 246
- 247
- 248
- 249
- recognized practices for maintaining seed stock purity;
 - conditions of growth;
 - timing of harvest;
 - method of harvesting; and
 - transporting, storage and sorting of harvested materials.

250 In addition, you should provide a description of the host plant including levels of any toxins,
251 anti-nutrients, and allergens known to be produced by the plant species and whether it is
252 known to accumulate heavy metals. Please state if the plant is of a species used for food or
253 feed in a raw or processed form.

254

255 **C. Bioengineered Source Plants**

256

257 *1. General Considerations*

258

259 The host plant may be bioengineered to increase the expression of an endogenous
260 gene product or to manipulate the plant to produce a heterologous gene product.
261 The modifying gene may be transiently added to the plant or it may be inserted in a
262 stable manner. Regardless of the method of gene expression used, traceable
263 documentation of the growth and expression phase of the manufacturing process,
264 including banking of the plant lines and/or vectors should be maintained. Most
265 importantly, you should include data in your application to demonstrate that the
266 source plant produces a consistent product.

267

268 When the bioengineered pharmaceutical plant is from a species that is used for food
269 or feed, measures should be in place to ensure that there is no inadvertent mixing of
270 the bioengineered plant material with plant material intended for food or feed use.
271 The presence of any such material in food or feed could render such products
272 adulterated under the FD&C Act (21 U.S.C. 342). We strongly recommend that you
273 have tests available that can detect the presence of the target gene and the protein
274 product in the raw agricultural commodity.

275

276 *2. Characterization of the Recombinant DNA*

277

278 In your application, you should provide a full characterization of the recombinant
279 DNA constructs or viral vectors used to transfer genes, including:

- 280
- 281
- 282
- 283
- 284
- 285
- 286
- 287
- 288
- 289
- the origin and function of all component parts of the construct, including coding regions, antibiotic- or herbicide-resistance genes, origins of replication, promoters, and enhancers;
 - physical map of the construct(s) illustrating the position of each functional component;
 - method used for plasmid propagation;
 - any sequences required for bacterial expression of plasmid constructs;
 - the nucleotide sequence of the intended insert up to and including the junctions at the 5'- and 3'- ends; and
 - any changes in codons to reflect more acceptable codon usage in plants.

290
291
292
293
294
295
296
297
298
299
300
301
302
303
304
305
306
307
308
309
310
311
312
313
314
315
316
317
318
319
320
321
322
323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335

For the purposes of this document, coding regions include full-length and truncated sense constructs, antisense constructs, and constructs containing ribozymes, regardless of whether or not the coding region is designed or expected to be expressed in the bioengineered pharmaceutical plant.

For additional details regarding analysis of r-DNA constructs for human biologics, please refer to the International Conference on Harmonisation (ICH); Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use – Guideline Q5B: Quality of Biotechnological Products: Analysis of the Expression Construct in Cells Used for Production of r-DNA Derived Protein Products (Ref. 1).

3. *Stable Transformation Systems*

Before preparing Master Seeds or Master Seed Banks (MSB) and Working Seeds or Working Seed Banks (WSB), we recommend that you establish a suitable transformant. For stable transformation systems, you should describe the gene transfer method in detail and provide relevant references, as appropriate. An analysis should be performed to determine the number of copies of the gene inserted, the number of integration sites, and to demonstrate if complete or partial copies are inserted into the plant's genome. You should determine the nucleotide sequence of the insert from DNA or mRNA retrieved from the stably-transformed plants in order to confirm the integrity and fidelity of the DNA insert. When a fragment of a coding region designed to be expressed in a plant is detected, you should determine whether a fusion protein could be produced and in which host tissues it may be located.

If the transformation system utilizes a pathogenic organism or nucleic acid sequences from a pathogen, you should provide a description of the pathogen, the strain, and the gene(s) involved. If any such pathogenesis-related DNA sequences were removed or altered prior to transformation, you should describe these changes in detail. Any helper plasmids or analogous DNA fragments used in the transformation process should also be described. For example, for *Agrobacterium*-mediated transformation, provide the strain designation of the *Agrobacterium* used during the transformation process, indicate how the Ti plasmid-based vector was disarmed, and indicate whether *Agrobacterium* was cleared from the transformed tissue.

You should submit a complete description of the process, including selection methods for the final transformant. You should include the source of and the methods used to prepare the recipient tissue or cells and, if the tissues or cells are cultured or pre-treated in any way, you should provide a complete description of the reagents used and composition of the culture medium. For direct transformation methods, you also should provide a thorough description of the transforming DNA preparation: including amount and concentration of transgenic

336 DNA; the nature, source, and concentration of any carrier DNA; the composition
337 and source of carrier particles; and the source and concentration of any other
338 excipients. In addition, you should describe in detail any tests used to evaluate
339 the transformations process and provide the results.

340
341
342 4. *Transient Transfection Systems:*

343 Virus-mediated transient transfection systems, in their simplest form, employ two
344 components: a recombinant virus vector and a host plant. Characterization of the
345 host plant should include the information outlined in section II. B., above. The
346 information you provide regarding the recombinant virus vector should include
347 the following:

- 348 • the taxonomic name of the virus, including family, genus, and strain
349 designation, including any synonyms;
- 350 • the type of nucleic acid contained in the virus (DNA or RNA);
- 351 • whether the virus is associated with any satellite or helper viruses;
- 352 • the natural host range of the virus;
- 353 • how the virus is transmitted;
- 354 • if the virus is transmitted by a vector, the identity of the vector including
355 mode of transmission (e.g., persistent or non-persistent);
- 356 • the identity of the viral gene(s) (if known) involved in vector transmission;
- 357 • whether any synergistic or transcapsidation interactions with other viruses
358 under field situations have been reported in the literature;
- 359 • the protocol for purification of the virus;
- 360 • the protocol for cloning of recombinant virus;
- 361 • a description of the preparation of the Master Plasmid Bank (MPB), if one is
362 used;
- 363 • the storage conditions and data demonstrating stability of the MPB;
- 364 • the protocol for the preparation of infectious nucleic acid from plasmid; and
365 • data characterizing the infectious nucleic acid with respect to its identity with
366 the parental genome.

367 You should include relevant literature citations to any of the above information,
368 as appropriate.

369
370
371 5. *Genetic Stability: Seed Banks and Vegetative Propagation*

372 Regardless of whether a transient-transfection system or a stable transformation
373 system is used, you should prepare a MSB and a WSB to ensure consistent lot-to-
374 lot growth of the plant and expression of the regulated product. The description
375 of the MSB in your application should include the identification, the method of
376 production, the results of analytical tests used to characterize it, the size of the
377 bank, the storage conditions, and data demonstrating its viability, bioburden
378 (including speciation of contaminants), uniformity of gene content, and stability.
379
380