※本記載例は、レトロウイルス科ウイルス（ガンマレトロウイルス属及びレンチウイルス属）を宿主とする非増殖性遺伝子組換えウイルスを用いて製造されるCAR-T細胞又はそれに類する遺伝子導入細胞を想定している。

# 様式第一　（第７条関係）

第二種使用等拡散防止措置確認申請書

令和〇年〇月〇日

厚生労働大臣　殿

|  |  |
| --- | --- |
| 氏名 | 〇〇株式会社代表取締役社長　〇〇　〇〇 |
| 申請者 |
| 住所 | 東京都〇〇 |

遺伝子組換え生物等（遺伝子組換え微生物）の第二種使用等をする間に執る拡散防止措置の確認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第13条第１項の規定により、次のとおり申請します。

|  |  |
| --- | --- |
| 遺伝子組換え生物等の種類の名称 | 【記載例】〇〇キメラ抗原受容体導入遺伝子を有し、〇〇由来〇〇タンパク質をエンベロープに持つ非増殖性遺伝子組換え〇〇ウイルス（〇〇（株名））【チェックリストより引用】7. 当該遺伝子組換え生物等の第一種使用規程が承認されている場合は、名称を揃えること。 |
| 第二種使用等をしようとする場所 | 名称 | 【記載例】〇〇株式会社 〇〇工場 |
| 所在地 | 【記載例】郵便番号〇〇〇-〇〇〇〇東京都〇〇〇【留意事項】※製造施設が複数あり、住所が複数となる場合であっても、管理体制が同一の場合には1申請として差し支えない。 |
| 第二種使用等の目的及び概要 | 【記載例】（ベクター製造、CAR-T細胞製造の両方又はいずれかを参照のこと。以下、同じ。）1．CAR遺伝子導入用非増殖性遺伝子組換えウイルスの製造〇〇キメラ抗原受容体導入遺伝子を有し、〇〇由来〇〇タンパク質をエンベロープに持つ非増殖性遺伝子組換え〇〇ウイルス（〇〇（株名）。以下「本遺伝子組換え生物等」という。）は、再生医療等製品の製造のために使用される。本遺伝子組換え生物等を産生する〇〇細胞株を〇〇培養器を用いて培養し（約〇L）、本遺伝子組換え生物等を上清中に産生させる。得られた培養上清を〇〇精製し、〇〇容器に分注して〇℃以下で凍結保存する。また、本遺伝子組換え生物等について製造ロットごとに品質試験を行う。2．CAR-T細胞の製造患者から採取した末梢血由来T細胞に、本遺伝子組換え生物等を用いて、〇〇キメラ抗原受容体（以下「CAR」という。）導入遺伝子を導入し、拡大培養後に得られたT細胞を凍結保存する。拡大培養終了後の遺伝子導入T細胞では、本遺伝子組換え生物等の感染活性（プロウイルス導入活性）は検出限界未満/○○単位以下となる。遺伝子導入T細胞を遺伝子治療に使用する際に、当該作業区域の外に運搬される。本遺伝子組換え生物等について、容器等の蓋を開放して行うすべての作業は、安全キャビネット内にて行う。本遺伝子組換え生物等を含有する可能性のある廃液、使用済み容器・器具類は高圧蒸気滅菌（121℃、20分間）、○%以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液処理又は日本薬局方消毒用エタノールにより本遺伝子組換え生物等を不活化する。【チェックリストより引用】8. 医薬品（治験薬を含む）、再生医療等製品（治験製品を含む）若しくは体外診断用医薬品の原料の製造の手段として使用するのか、又は遺伝子組換え微生物自体が医薬品又は再生医療等製品の原薬等である場合はその旨が、明確に示されているか。9. 遺伝子組換え微生物の培養方法（液体培養等）及び培養のスケール（○○L等）が記載されているか。10.不活化処理工程は、処理名と具体的な条件（温度、処理時間、pH、薬剤の種類や濃度等）が記載されているか。11.どの工程の後に、生きた遺伝子組換え微生物が検出されなくなるかが明示されているか。 |
| 遺伝子組換え生物等の特性 | 宿主又は宿主の属する分類学上の種 | 分類学上の位置及び自然環境における分布状況 | 【記載例】本遺伝子組換え生物等の宿主は〇〇ウイルス（〇〇）である。〇〇は、レトロウイルス科レンチウイルス属に属する種である。〇〇は〇〇類を宿主とする（文献〇）。【留意事項】※「遺伝子組換え生物等の特性」の各項については、当該遺伝子組換え生物等の第一種使用規程が承認されている場合は、当該第一種使用規程とともに提出された生物多様性影響評価書に記載された内容を転記することで差し支えない。以下同じ。【チェックリストより引用】13.当該宿主に関する情報が記載されているか。申請する遺伝子組換え微生物そのものの説明が記載されていないか（記載されている場合は、遺伝子組換え微生物の「調製方法」等の適切な項目へ移動させること）。 |
| 使用等の歴史及び現状 | 【記載例】宿主である〇〇に由来する非増殖性の遺伝子組換えウイルスは、遺伝子治療用ベクター及び分子生物学の研究用試薬として広く用いられている（文献〇）。〇〇株式会社においては、本遺伝子組換え生物等の産業上の使用実績はない。 |
| 繁殖又は増殖の様式 | 【記載例】〇〇は宿主に感染した場合にのみ増殖が可能である。〇〇は、宿主の血液や体液中に存在し、他の個体が血液や体液を介して接触することで感染する。〇〇が細胞に感染し増殖する過程においては、〇〇受容体へ結合、脱殻、逆転写、DNAの核移行と組込み、転写、ウイルスRNAの核外移行、翻訳、タンパク質の集合、ウイルスRNAの取り込み、ウイルス粒子の遊離、成熟の段階を経る。 |
| 病原性 | 【記載例】野生型〇〇は〇〇及び〇〇に感染し、〇〇を発症することが報告されている（文献○）。 |
| その他の情報 | 【記載例】〇〇ウイルスの滅菌及び不活化条件として、WHOより、① 121℃、15分以上の高圧蒸気滅菌、② 170℃、2時間の乾熱滅菌、③ 20分間の煮沸消毒、④ 2%グルタルアルデヒド、⑤ 6%過酸化水素水、⑥ 有効塩素濃度0.05%以上の次亜塩素酸ナトリウム等が有効であると報告されている（文献○）。 |
| 供与核酸 | 構成及び構成要素の由来 | 【記載例】本遺伝子組換え生物等の構成要素は以下のとおりである。1．〇〇（〇～〇番、〇塩基）〇〇に由来するパッケージングシグナル領域2．発現カセット（〇～〇番、〇塩基）1）〇〇プロモーター（〇～〇番、〇塩基）2）〇〇遺伝子（CAR導入遺伝子）（〇～〇番、〇塩基）（1）抗〇〇抗体フラグメント（〇～〇番、〇塩基）（2）〇〇（〇～〇番、〇塩基）…別紙1にベクターの構造、供与核酸（由来含む）、及び塩基配列を示す。また、タンパク質コード領域についてはアミノ酸配列を示す。【チェックリストより引用】15.構成要素の全体が塩基対数等の情報と共に説明されているか（供与核酸を取得するための詳細な方法は求めていない）。 |
| 構成要素の機能 | 【記載例】発現カセットとして寄与する構成要素の機能を以下に示す。・〇〇プロモーターは〇〇として機能する。・CAR導入遺伝子によりコードされるタンパク質は、抗〇〇抗体〇〇フラグメント（抗〇〇）が標的認識部位、〇〇は〇〇、・・・として機能する（CARを構成する供与核酸全てについて機能を記載する。）。・〇〇は〇〇として機能する。詳細を別紙1に示す。【チェックリストより引用】16.供与核酸を構成するそれぞれの領域がどのような役割を果たすのか記載されているか。供与核酸からタンパク質が発現する場合、その分子的な特徴（生理活性物質であるか、酵素活性を有しているか等）に関する事項が記載されているか。 |
| ベクター | 名称及び由来 | 【記載例】―（該当せず） |
| 特性 | 【記載例】―（該当せず） |
| 遺伝子組換え微生物 | 調製方法 | 【記載例】本遺伝子組換え生物等の育成の経過・〇〇プラスミド p〇〇・・・・〇〇プラスミド p〇〇・・・・〇〇プラスミド p〇〇・・・・〇〇細胞〇〇セルバンク〇〇細胞を拡大培養後、〇〇に小分け分注し、セルバンクシステムを構築した。・本遺伝子組換え生物等の作製1. 凍結保存した〇〇細胞の〇〇セルバンク（〇CB）を拡大培養し、〇〇プラスミド、〇〇プラスミド、〇〇プラスミドをトランスフェクションする。
2. ・・・

プラスミド及びセルバンクの構築過程の概要、本遺伝子組換え生物等のゲノム構造概略図及び全塩基配列を別紙〇に示す。【チェックリストより引用】22.（抜粋）プラスミド等の作製方法、パッケージング細胞等への遺伝子導入方法、バンクの構築方法、遺伝子組換え微生物の作製方法の概要が簡潔に記載されているか。 |
| 細胞内に移入した核酸の存在状態及び発現の安定性 | 【記載例】細胞内に侵入したレトロウイルスのRNAは細胞内で2本鎖DNAに変換された後、細胞染色体にプロウイルスとして組み込まれ、娘細胞に引き継がれる。したがって、本遺伝子組換え生物等により導入された核酸及び産生細胞に組み込まれた本遺伝子組換え生物等のプロウイルスは安定に保持される。【チェックリストより引用】23.細胞内におけるプラスミド等の局在性、ゲノムへの組込みの有無について記載されているか。 |
| 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違 | 【記載例】本遺伝子組換え生物等は〇遺伝子及び〇遺伝子を欠損しているため、本遺伝子組換え生物等が感染した通常の細胞はウイルス粒子形成に必要なタンパク質を合成できない。したがって、本遺伝子組換え生物は〇遺伝子及び〇遺伝子の発現を行う細胞においてのみ増殖できる。 本遺伝子組換え生物は○遺伝子、○、○を持つため、本遺伝子組換え生物が感染した細胞は〇、〇〇を発現する。 〇〇は〇〇、〇〇の細胞に感染するとの報告がある。本遺伝子組換え生物はウイルス粒子表面に〇〇エンベロープタンパク質を持つ。したがって、本遺伝子組換え生物は〇〇、〇〇等の細胞に本遺伝子組換え生物の核酸を伝達しうる。 |
| 拡散防止措置 | 使用区分 | 【記載例】＜カテゴリー1の場合＞カテゴリー1・宿主である〇〇ウイルスの病原性は知られていない。・供与核酸は全塩基配列が明らかにされており、既知の有害塩基配列は認められない（註：供与核酸の全塩基配列及び相同性検索結果をもとに記載する。）。・本遺伝子組換え生物等は宿主の増殖に必要な〇〇遺伝子及び〇〇遺伝子を欠失しており、宿主と比べてさらに増殖能力が低下している。よって、産業利用二種省令の別表に掲げるカテゴリー1区分の遺伝子組換え微生物に対応する拡散防止措置を満たす措置を執る。【チェックリストより引用】24.以下の記載となっているか。①使用区分：「GILSP」（大腸菌、アデノ随伴ウイルス等）、「カテゴリー1」（アデノウイルス、センダイウイルス等）又は「その他（GILSP 相当）」（バキュロウイルス）②当該区分と判断した理由（産業利用二種省令の様式第一の備考16への該当性③「産業利用二種省令の別表に掲げる GILSP（又はカテゴリー1）区分の遺伝子組換え微生物に対応する拡散防止措置を満たす措置を執る。」 |
| 作業区域の位置 | 【記載例】1．CAR遺伝子導入用非増殖性遺伝子組換えウイルスの製造〇〇株式会社〇〇工場、製造棟〇の〇〇室、〇〇室、〇〇室、製造棟〇の〇〇室を作業区域とする。2．CAR-T細胞の製造〇〇株式会社〇〇工場、製造棟〇の〇〇室、〇〇室、〇〇室、製造棟〇の〇〇室を作業区域とする。詳細を別紙〇に示す。 |
| 設備 | 配置 | 【記載例】作業区域内には安全キャビネット、インキュベーター、遠心分離機、冷凍庫、オートクレーブ等が設置されている。主要な設備の名称及び配置を別紙〇に示す。 |
| 構造 | 【記載例】・作業区域は、隔壁によりそれ以外の区域と物理的に隔離されている。・床及び壁面は防水性のエポキシ樹脂で覆われている。・運搬時には、本遺伝子組換え生物等が漏出しない容器を用いる。・作業区域の換気は、HEPAフィルターを通して給排気を行い、差圧を設定している。・排水設備は使用しない。 |
| 生産工程 | 【記載例】1．CAR遺伝子導入用非増殖性遺伝子組換えウイルスの製造1. 凍結保存した〇〇細胞の〇〇セルバンク（〇CB）を拡大培養し、〇〇プラスミド、〇〇プラスミド、〇〇プラスミドをトランスフェクションする。
2. 細胞培養後に培養上清及び培養細胞を回収し、バルクハーベストとする。
3. バルクハーベストを精製する。
4. 〇〇は製造ロット毎に増殖性レトロ／レンチウイルス（RCR／RCL）否定試験を含む品質試験を行う。

なお、上記の各プラスミドは国内で製造され、各プラスミドを形質転換された大腸菌について大臣確認を受けている（通知番号）。（註：プラスミドを大腸菌を用いて国内で製造する場合、別途第二種使用等拡散防止措置確認申請が必要。プラスミドが海外で製造される場合は、海外で製造される旨を記載する。）2．CAR-T細胞の製造1. 患者由来の末梢血単核球を洗浄後、〇〇（培養容器）において、○○を用いてTリンパ球を刺激し、培養を開始する。
2. 解凍した本遺伝子組換え生物等を〇〇（培養容器）に添加し、Tリンパ球に感染させる。培養を拡大、継続し、遺伝子導入Tリンパ球を得る。
3. 遺伝子導入Tリンパ球を〇〇、〇〇後、〇〇（容器）に小分け充填し、〇〇保存する。

上記製造により発生する本遺伝子組換え生物等を含有する可能性のあるすべての廃液は高圧蒸気滅菌又は0.2%以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液により不活化処理を行う。容器、器具類は使い捨てのものを使用し、使用後は洗浄せずに高圧蒸気滅菌を行う。使い捨てではない機器等に本遺伝子組換え生物等が付着した場合には、作業区域内に設置した日本薬局方消毒用エタノールを用いて本遺伝子組換え生物等を不活化する。生産工程の詳細を別紙〇に示す。 |
| その他 | 【記載例】1. 第二種使用等をしようとする場所における本遺伝子組換え生物等の第二種使用等の実績に関する情報：

20〇年より研究段階での第二種使用等の実績がある。本遺伝子組換え生物等を用いた産業上の第二種使用等の実績はない。1. 予定される遺伝子組換え生物等の年間製造量・使用量：

1．CAR導入用遺伝子組換えウイルス製造1回当たりの製造量：〇mL/回、年間製造予定回数：〇回2．CAR-T細胞製造1回当たりのCAR導入用遺伝子組換えウイルス使用量：〇mL/回、CAR-T細胞年間製造予定数：〇回1. 同一施設又は同一作業区域で取り扱う可能性のある（遺伝子組換え）生物等の名称及びクロスコンタミネーション防止策：

本遺伝子組換え生物等を取り扱う作業区域では、本遺伝子組換え生物等の他に複数の遺伝子組換え生物等を同一作業区域で取り扱う可能性があるが、本遺伝子組換え生物等と同一の期間に取り扱うことはない。また、本遺伝子組換え生物等の品質試験に使用した機器類は洗浄及び高圧蒸気滅菌による不活化が行われる。1. 事故等緊急時における対処方法及び管理体制：

作業区域は大量流出等を想定した床構造を備えており、緊急時に速やかに関係者（工場長、製造管理者、製造安全主任者、製造従業者）に連絡できる体制を構築している。1. 担当者連絡先：

〇〇【チェックリストより引用】25.複数の種類の遺伝子組換え微生物の交差汚染を防ぐための対応を実施する旨が説明されているか。26.製造所における本遺伝子組換え微生物の使用実績の有無が記載されているか。27.問合せ可能な担当者連絡先が記載されているか。緊急時にも連絡可能な連絡先であることが望ましい。 |

（以下の備考は、提出時に削除すること）

［備考］

１　申請者が法人の場合にあっては、「申請者の氏名」については、法人の名称及び代表者の氏名を記載し、「申請者の住所」については、主たる事務所の所在地を記載すること。

２　「遺伝子組換え生物等の種類の名称」については、当該遺伝子組換え生物等の宿主（法第２条第２項第１号に掲げる技術の利用により得られた核酸又はその複製物が移入される生物をいう。以下同じ。）の分類学上の種の名称及び遺伝子組換え生物等の特性等の情報を含め、他の遺伝子組換え生物等と明確に区別できる名称とすること。また、開発者が付した識別記号及び国際機関において統一的な識別記号が付されている場合にあっては、当該記号を記載すること。

３　「第二種使用等の目的及び概要」については、遺伝子組換え生物等が生産の手段として使用されるか、それ自体が製品として使用されるかについての別を記載するとともに、製品の種類及び利用形態を併せて記載すること。

４　「分類学上の位置及び自然環境における分布状況」については、

⑴　学名（属及び種）及び株名

⑵　公的な微生物保存機関から分与されたものである場合には、当該機関の名称と株番号

⑶　⑵でない場合には、同定の根拠となる事項（既に学名が公認されている種との同異点及びその根拠、株の分離源及びそれから作製した基準株の寄託場所及び保管番号等）

⑷　宿主を遺伝的改変を用いて得た場合にはその遺伝的改変の内容（野生株から宿主株までの遺伝的改変の経緯を示すとともに誘導するために用いた遺伝的改変の操作（例えば紫外線照射による突然変異の誘発、接合等））。ただし、宿主が既に主要な学術文献等に記載されている株である場合は、その株名を記載すること。

⑸　宿主として野生株を用いる場合には、自然環境における分布状況

を記載し、必要に応じ関連資料を添付すること。

５　「使用等の歴史及び現状」については、宿主として利用する株が産業利用された歴史を有する場合には、その内容及び期間を記載し、必要に応じ関連資料を添付すること。

６　「繁殖又は増殖の様式」については、宿主又は宿主の属する分類学上の種の有性又は無性生殖の周期、増殖温度域、増殖速度、栄養要求性、薬剤感受性等の特性について記載するとともに、必要に応じ、関連資料を添付すること。

７　「病原性」については、宿主又は宿主の属する分類学上の種の病原性の有無及びその根拠並びに病原性に関係あるウイルス及びプラスミドの有無を記載するとともに、病原性が知られている場合には、その内容並びに予防及び治療の方法を記載し、必要に応じ関連資料を添付すること。

８　「その他の情報」については、宿主又は宿主に属する分類学上の種の有害な影響を及ぼす生理活性物質等の産生性の有無を記載するとともに、該当する物質の存在が知られている場合は、その名称並びに活性及び毒性の強さについて記載し、必要に応じ関連資料を添付すること。また、抗生物質の産生性等の主要な生理学的性質について記載し、必要に応じ関連資料を添付すること。

９　「構成及び構成要素の由来」については、目的遺伝子、隣接領域及び調節系の構成並びにその由来について明らかな範囲で記載すること。また、構造について、制限酵素地図、塩基数及び塩基配列を必要に応じ記載すること。

10　「構成要素の機能」については、供与核酸（法第２条第２項第１号に規定する技術の利用により得られた核酸又はその複製物のうちベクター（法第２条第２項第１号に規定する技術の利用により得られた核酸又はその複製物を細胞内で複製させるために用いられる核酸をいう。以下同じ。）を除くものをいう。以下同じ。）が遺伝子として有する機能及び物質を生産又は処理する場合に推定される代謝経路について記載すること。

11　「名称及び由来」については、ベクターの名称及び由来する生物の分類学上の位置を記載すること。

12　「特性」については、ベクターの伝染性、病原性、伝達性、塩基数等について明らかな範囲で記載すること。なお、既知のベクターについて改造又は修飾を行い、新しいベクターを開発した場合は、改造又は修飾前のベクターに関する文献を添付し、改造又は修飾を行った部分について説明すること。また、ベクターの由来生物の特性についても必要に応じ記載すること。

13　「調製方法」については、

⑴　細胞内に移入する核酸の構成（目的遺伝子、プロモーター、マーカー等の配列）及びベクターへの目的遺伝子の挿入方法

⑵　宿主への核酸の移入方法

⑶　遺伝子組換え微生物の育成経過（遺伝子組換え微生物を選抜した方法及びその後の育成経過の概要）

を記載し、必要に応じ図示すること。

14　「細胞内に移入した核酸の存在状態及び発現の安定性」については、

⑴　移入した核酸が遺伝子組換え微生物の染色体に組み込まれているか細胞質内に存在するかの別

⑵　目的遺伝子の宿主内での発現の安定性

を記載すること。

15　「宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違」については、遺伝子組換え微生物の宿主又は宿主の属する分類学上の種との特性の違いに関し、繁殖又は増殖の様式、病原性、その他の情報について相違点を記載すること。なお、遺伝子組換え微生物の宿主又は宿主の属する分類学上の種からの識別を可能とする特徴があれば、それを併せて記載すること。

16　「使用区分」については、以下の区分に分類し、別表の上欄に掲げる遺伝子組換え生物等の区分に応じて、別表の下欄に定める拡散防止措置を実施する旨を記載すること。なお、以下の区分に該当しないものは「その他」と記載し、予定している拡散防止措置の内容を別紙に記載すること。

ａ．GILSP（宿主、供与核酸、ベクター及び遺伝子組換え微生物が次の基準を満たすもの）

⑴　宿主

（ア）　病原性がないこと

（イ）　病原性に関係のあるウイルス及びプラスミドを含まないこと

（ウ）　安全に長期間利用した歴史がある又は特殊な培養条件下では増殖するがそれ以外では増殖が制限されていること

⑵　供与核酸及びベクター

（ア）　性質が十分明らかにされており、有害と認められる塩基配列を含まないこと

（イ）　伝達性に乏しく、かつ、本来耐性を獲得することが知られていない生細胞に耐性マーカーを伝達しないこと

⑶　遺伝子組換え微生物

（ア）　病原性がないこと

（イ）　宿主と比べて増殖する能力が高くないこと

ｂ．カテゴリー１（遺伝子組換え微生物が病原性がある可能性が低く、かつGILSPに含まれないもの。）

17　「作業区域の位置」については、事業所内外の建屋の配置及び名称並びに作業区域を図示すること。

18　「配置」については、作業区域を含む平面図を示し、遺伝子組換え微生物を取り扱う主要な設備の位置及び名称を記載すること。

19　「構造」については、遺伝子組換え微生物の取扱いに係る設備又は装置に関し、

⑴　設備の仕様

⑵　排水系統

⑶　換気設備（「使用区分」を「カテゴリー１」と分類した場合であって、作業区域のうち強制換気を行っている建屋又は部屋の換気設備）

を記載し、必要に応じ図示すること。

20　「生産工程」については、遺伝子組換え微生物の生産又は遺伝子組換え微生物を使用して行う物質の生産の工程についてその概略を図示すること。図には、各種機器の名称、バルブの箇所等を記載し、必要に応じ各工程の名称及び内容を記載すること。

21　「その他」については、

⑴　上記以外の遺伝子組換え微生物の使用に関し得られている知見

⑵　事故時等緊急時における対処方法

⑶　事業者における管理体制

等について必要に応じ記載すること。

22　用紙の大きさは、日本産業規格Ａ４とすること。

# 別紙1

## 本遺伝子組換え生物等のゲノム構造

【記載例】

本遺伝子組換え生物等のゲノム構造を図〇に示す。

|  |
| --- |
|  |

図〇 本遺伝子組換え生物等のゲノム構造

## 本遺伝子組換え生物等の構成要素に関する情報

【記載例】

本遺伝子組換え生物等の構成要素のゲノム上の位置・機能・由来の一覧を表○に示す。

表○　本遺伝子組換え生物等の構成要素一覧

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 構成要素 | 位置 | 機能 | 由来生物 |
| 〇〇特異的抗体 |  | 〇〇特異的キメラ抗原受容体の特異性を担う部分として機能する。 |  |
| 〇〇領域 |  |  |  |
| 人工配列A |  | プラスミド構築過程で便宜的に挿入されたもので、これらにより本遺伝子組換え生物等が新たな生物学的機能を付与されることはないと考えられる。 |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

## 本遺伝子組換え生物等のゲノム、発現産物等に関する情報

【記載要領】

全塩基配列は供与核酸やそれ以外の構成要素を色分けして、各領域が明示されていることが望ましい。

【記載例】

本遺伝子組換え生物等のゲノム（又はプロウイルス）の全塩基配列を図〇、アミノ酸残基配列（CAR、エンベロープ等）を図〇、既知の有害配列との相同性検索結果を表○、ORF検索結果を表○に示す。

|  |
| --- |
|  |

図〇 本遺伝子組換え生物等の全塩基配列

|  |
| --- |
|  |

図〇 〇〇タンパク質のアミノ酸配列

**相同性検索結果**

【記載要領】

供与核酸について、当該供与核酸の挿入位置前後の宿主の塩基配列含め、データベースを用いて相同性検索・ORF検索を行い、その結果のまとめを記載する。（例：毒素、がん原性等の有害性を有する可能性のある塩基配列の有無。組換えにより目的外のオープンリーディングフレーム（ORF）が生じることで産生されるタンパク質が有害な機能や生理活性を有さないことの評価等）

【記載例】

〇〇の配列を問い合わせ配列として、以下の相同性検索システム及び遺伝子データを用いて検索を行った。

方法

・システム：〇〇相同性検索システムver. x.x

・遺伝子データ：〇〇遺伝子データベース、〇〇遺伝子データベース

表○　相同性検索結果

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |
|  |  |  |

e-valueが〇〇以下を示す遺伝子の中に、現在までに知られている有害な遺伝子（トキシン遺伝子、がん遺伝子等）と相同性の高い配列は含まれていないことが確認された。

**ORF検索結果**

【記載要領】

相同性検索結果の記載要領参照

【記載例】

〇〇を用いてORF検索を行った結果、目的外のORFが生じることで産生されるタンパク質は特定されなかった。

## 調製方法

### 本遺伝子組換え生物等の作製に用いるプラスミドに関する情報

本遺伝子組換え生物等は、増殖性遺伝子組換えレトロウイルス（RCR）が容易に出現しないよう、4種類の独立したプラスミドにウイルス遺伝子及び導入遺伝子を分割させている。各プラスミドの情報を以下に示す。

* 1. **〇〇プラスミド（p〇〇）**

p〇〇は、導入遺伝子発現カセットを含むプラスミドである。〇〇により作製した〇〇遺伝子発現カセット配列をp〇〇に挿入し、p〇〇を作製した。p〇〇のプラスミドマップ及び構成要素を図〇及び表〇に示す。

|  |
| --- |
|  |

図〇 p〇〇のプラスミドマップ

表○　p〇〇プラスミドの構成要素

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 構成要素 | 領域 | 機能 | 由来生物 |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

ウイルス粒子形成に必要な遺伝子〇〇、〇〇及び〇〇はそれぞれ独立した3種類のプラスミドp〇〇、p〇〇及びp〇〇から発現される。

* 1. **〇〇プラスミド（p〇〇）**

同上

* 1. **〇〇プラスミド（p〇〇）**

同上

* 1. **〇〇プラスミド（p〇〇）**

同上

### 〇細胞セルバンク

〇〇細胞〇〇セルバンクの構築過程の概要を示す。

### 本遺伝子組換え生物等の作製

本遺伝子組換え生物等は、ウイルスゲノム配列を含むプラスミドp〇〇、ウイルス粒子形成に必要な〇〇、〇〇、〇〇をそれぞれ搭載するプラスミドp〇〇、p〇〇、p〇〇を〇〇に由来する〇〇細胞に導入することによって作製される。

# 別紙2

## 製造施設

### 製造所の位置

〇〇株式会社〇〇工場を含む〇〇周辺地図を以下に示す。

〇色で囲む区域が〇〇株式会社〇〇工場である。

|  |
| --- |
| 註：施設の周囲数百メートルの範囲がわかる程度の地図を添付すること。施設の特定が難しい場合などには必要に応じ縮尺の異なる地図を添付すること。  |

**図〇　〇〇株式会社**〇〇**工場周辺地図**

### 施設の配置

〇〇株式会社 〇〇工場内の施設配置図を示す。

〇色で示す〇〇研究所及び〇〇で遺伝子組換え生物等を使用する。

|  |
| --- |
|  |

**図**〇　〇〇**株式会社**〇〇**工場施設配置図**

製造棟〇：〇〇年建造

製造棟〇：〇〇年建造

## 作業区域及び設備

### 作業区域

・製造棟〇の〇〇室、〇〇室、〇〇室、製造棟〇の〇〇室を作業区域とする。製造棟〇の平面図を図〇に示す。

・作業区域と非作業区域とは、隔壁によって明確に隔てられている。

・作業区域は遺伝子組換え生物等管理区域として表示されている。

### 生産に使用する主要な設備・装置

・生産に使用する主要な設備及び装置を表〇に示す。

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **設置場所** | **設備・装置** | **用途** |
| 製造棟〇、〇〇室 | 冷凍庫 | 〇〇セルバンク保管用 |
| 製造棟〇、〇〇室 | 安全キャビネット | 〇〇細胞の培養及び遺伝子導入操作 |
| 製造棟〇、〇〇室 | インキュベーター | 〇〇細胞の培養 |
| 製造棟〇、〇〇室 | オートクレーブ | 本遺伝子組換え生物等の不活化 |
| 製造棟〇、〇〇室 |  |  |

・各装置の配置の概要を図〇、図〇に示す。

|  |
| --- |
|  |

図〇　製造棟〇、〇〇室の平面図

※〇色で示す区域で本遺伝子組換え生物等を扱う。

※遺伝子組換え生物等の動線及び作業動線を示す。

### 構造

#### 換気設備

【記載要領】

・工場全体の空調について、吸気系および排気系の概略、換気の方向（一方向か）、HEPAフィルターの性能（その定期点検等の実施頻度）、工場・作業区域での清浄度等について詳しく説明する。

・安全キャビネット等における、空気の流れも説明する。

・空気の流れについて（特に、培養室等への空気の供給・排気）図示する。気圧管理を行っている場合は、陰圧の区域に色をつける等の工夫をする。

#### 排水設備

【記載例】

・本遺伝子組換え生物等を含む廃液は、全て〇に回収し、高圧蒸気滅菌により不活化した後に産業廃棄物として廃棄される。したがって、本遺伝子組換え生物等を含む可能性のある廃液が作業区域から排水設備を経て廃棄されることはない。

#### 天井面、壁面、床の構造

【記載要領】

・各部屋における仕様について、具体的な材質を挙げて説明する。

（参考）施設及び設備については、「遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について（平成16年2月19日付け薬食発第0219011号）」（以下「局長通知」という。）第2章の内容を満たしていることが読み取れるように記載する。

|  |
| --- |
| 遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について（平成16年2月19日薬食発第0219011号）（抄）第二章　拡散防止措置第一　GILSPの施設及び設備等 1．製造（1）施設及び設備1. 作業区域（遺伝子組換え微生物を使用等する区域であって、それ以外の区域と明確に区別できるもの。以下同じ）が設けられていること。
2. 作業区域内に、遺伝子組換え微生物を利用して医薬品等を製造するための培養又は発酵の用に供するよく整備された装置が設けられていること。
3. 作業区域内に、製造又は試験検査に使用する器具器械、容器等を洗浄し、又はそれらに付着した遺伝子組換え微生物を不活化するための設備が設けられていること。
4. 遺伝子組換え微生物の生物学的性状について試験検査をするための設備が設けられていること。
5. 遺伝子組換え微生物を他のものと区別して保管できる設備が設けられていること。
6. 培地等を調整するための設備が設けられていること。
7. 製造従事者の更衣設備が設けられていること。
8. 作業区域内を清潔に保ち、げっ歯類、昆虫類等の駆除に努めること。
9. 作業区域および遺伝子組換え微生物の保管設備には、その見やすいところに、遺伝子組換え微生物の作業レベルに関する必要な事項（例「GILSP取扱い中」）を表示すること。
10. 教育訓練を受けた製造従事者以外の者の作業区域への立入りを作業レベルに応じ制限することとし、仮に立ち入る場合は、製造従事者の指示に従わせること。

第二　カテゴリー１の施設及び設備等１．製造（2）施設及び設備1. 第二章 第一 １．（1）①から⑩に掲げる措置。
2. その外の大気、水又は土壌と遺伝子組換え微生物とを物理的に分離する施設等であること。
3. 作業区域内に、製造従事者が使用する洗浄又は消毒のための設備が設けられていること。
4. 必要に応じ、作業区域内に設置された室内における空気中の遺伝子組換え微生物の数を最小限にとどめるための換気設備（遺伝子組換え微生物を捕捉できるものに限る。）が設けられていること。
 |

## 生産工程

【記載要領】

・遺伝子組換え生物等、CAR-T細胞の製造工程の概要を製造フロー等を用いて簡潔に記載する。

・品質試験は製造施設内で実施する品質試験項目を記載する。

・製造工程における増殖性組換えウイルス（RCV）の発生リスク評価及び管理方法について記載する。

※遺伝子組換え生物等の取扱いの観点から記載するものであり、品質管理の観点での詳細な記載を求めるものではないことに留意すること。

【記載例】

### 本遺伝子組換え生物等の製造

#### 製造フロー図

（略）

#### 製造工程の概略

1. **本遺伝子組換え生物等の製造**

本遺伝子組換え生物等は、〇〇細胞に〇〇を〇〇して培養した後、回収したハーベストを精製して製造する。製造工程の概略図を図〇に示す。

1. **品質試験**

本遺伝子組換え生物等の品質試験項目及び規格を表〇に示す。

#### 本遺伝子組換え生物等の品質試験におけるRCV試験の概要

### CAR-T細胞の製造

#### 製造フロー図

（略）

#### 製造工程の概略

* 1. **CAR-T細胞の製造**

患者から採取した末梢血由来T細胞に、本遺伝子組換え生物等を用いて、〇〇キメラ抗原受容体導入遺伝子を導入し、拡大培養後に得られたT細胞を凍結保存する。製造工程の概略図を図○に示す。

1. **品質試験**

CAR-T細胞の品質試験項目及び規格を表〇に示す。

#### 最終製品における本遺伝子組換え生物等の残存試験及びRCV試験の概要

### その他

#### 遺伝子組換え生物等の不活化方法

【記載要領】

・製造に使用した遺伝子組換え生物等の不活化等の処理方法・処理条件を具体的に記載する。

# 別紙3

## 管理体制

【記載要領】

・組織図（製造管理者、製造安全主任者、製造従業者（局長通知第3章第2～4参照）を有することが分かるように記載する。）

・製造安全委員会の構成（局長通知第3章第5参照。人名は記載しないこと。）

・連絡・指示体制

## 教育訓練（局長通知第3章第6参照）

【記載例】

手順書中の教育訓練に係る内容を以下に示す。

製造管理者は、製造作業の開始前に製造従事者に対し、カルタヘナ法、拡散防止措置省令及び本通知を熟知させるとともに、次の事項に関する教育訓練を行う。

・遺伝子組換え微生物の安全性に関する知識

・製造に用いる遺伝子組換え微生物の安全な取扱いに関する技術

・設備・装置に関する知識及び技術

・製造工程の安全性に関する知識

・事故発生時の措置に関する知識

## 遺伝子組換え生物等の漏出等、緊急事態の対応

（参考）

|  |
| --- |
| 遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について（平成16年2月19日薬食発第0219011号）（抄）第三章　組織並びに運営上の遵守事項第一　製造業者医薬品等の製造工程において遺伝子組換え微生物を使用等する者（以下、製造業者という。）は、次の任務を果たすこと。* 1. 製造所ごとに製造管理者（医薬部外品、化粧品、医療用具の場合には、「責任技術者」と読み替える。以下同じ。）及び製造安全主任者を任命すること。
	2. 製造上の安全性を確保するため製造業者ごとに製造安全委員会を設置し、その委員を任命すること。また、製造安全委員会に、製造業務の安全確保について、調査審議を求めること。
	3. 製造管理者が業務を遂行するに当たって支障を生じることがないようにすること。

第二　製造管理者製造管理者は、カルタヘナ法、拡散防止措置省令及び本通知を熟知し、次の任務を果たすこと。* 1. 製造計画の立案及びその実施に際し、カルタヘナ法、拡散防止措置省令及び本通知を十分に遵守し、製造安全主任者との緊密な連絡の下に製造作業全体の適切な管理・監督に当たること。
	2. 製造従事者に対して教育訓練を行うこと。
	3. 製造安全委員会と十分連絡を取るとともに、必要な事項について製造安全委員会に報告すること。
	4. その他製造上の安全性の確保に必要な事項を実施すること。

第三　製造安全主任者* 1. 製造安全主任者は、遺伝子組換え微生物の使用等に関し、製造管理者を補佐するものであり、製造上の安全性を確保するための知識及び技術に高度に習熟した者であること。
	2. 製造安全主任者は、カルタヘナ法、拡散防止措置省令及び本通知を熟知し、次の任務を果たすこと。
	3. 製造がカルタヘナ法、拡散防止措置省令及び本通知に従って適正に遂行されていることを確認すること。
	4. 製造管理者に対し助言、報告を行うこと。
	5. その他製造上の安全性の確保に関し、必要な事項の処理に当たること。

第四　製造従事者* 1. 製造従事者は、製造管理者の行う教育訓練をあらかじめ受けた者であること。
	2. 製造従事者は、次の事項を遵守すること。
1. 製造作業を行うに当たって製造上の安全確保について十分に自覚し必要な配慮をすること。
2. 作業区域内では、作業レベルに応じた作業衣を着用すること。

第五　製造安全委員会* 1. 製造安全委員会は、高度に専門的な知識及び技術並びに広い視野に立った判断が要求されることを十分に考慮し、適切な分野の者により構成されること。
	2. 製造安全委員会は、製造業者の求めに応じて次の事項について調査審議し、製造業者に報告すること。

（1）製造作業標準のカルタヘナ法、拡散防止措置省令及び本通知に対する適合性（2）製造従事者に対する安全教育訓練及び健康管理の状況（3）事故発生の際の必要な処置及び改善策（4）その他製造上の安全性の確保に関する必要な事項* 1. 製造安全委員会は、必要に応じて製造管理者又は製造安全主任者から報告を求めることができる。

第六　教育訓練製造管理者は、製造作業の開始前に製造従事者に対し、カルタヘナ法、拡散防止措置省令及び本通知を熟知させるとともに、次の事項に関する教育訓練を行うこと。* 1. 遺伝子組換え微生物の安全性に関する知識
	2. 製造に用いる遺伝子組換え微生物の安全な取扱いに関する技術
	3. 設備・装置に関する知識及び技術
	4. 製造工程の安全性に関する知識
	5. 事故発生時の措置に関する知識

第七　健康管理* 1. 製造業者は、製造従事者に対し、定期健康診断を行うとともに、医薬品等を取扱うのに不適当な者を製造作業に従事させないこと。
	2. 製造業者は、製造従事者がカテゴリー2及び3の製造作業に従事する場合は、あらかじめ予防及び治療の方策について検討しておくこと。
	3. 製造業者は、カテゴリー2及び3の製造作業において作業区域内感染のおそれがある場合は、直ちに製造従事者に対し健康診断を行い、適切な措置を採ること。なお、カテゴリー3の製造従事者については、製造従事前に血清をあらかじめ採取し、当該製造従事者が製造に従事することを終えた日から2年間はこれを保存すること。

第八　記録及びその保存1. 製造管理者は、帳簿を備え、次の事項を記載すること。
2. 遺伝子組換え微生物の名称及びその容器に付された番号
3. 遺伝子組換え微生物の保管及び継代の状況
4. 遺伝子組換え微生物の生物学的性状及びその試験検査の年月日
5. 遺伝子組換え微生物の譲受けの相手方の氏名及び住所
6. 製造従事者の氏名、所属機関、職名、製造業務に従事している期間（カテゴリー1、2及び3の場合に限る）
7. 健康診断の結果
8. 製造安全委員会の審議記録（製造作業標準がカルタヘナ法、拡散防止措置省令及び本通知に適合していることを確認する根拠となった資料を含む。）
9. 設備・装置の定期点検記録及び製造記録
10. 前項の帳簿は、当該医薬品等の製造終了の日から5年間保存すること。

第九　報告製造業者は、製造に用いる遺伝子組換え微生物に関する情報を収集するとともに、当該遺伝子組換え微生物の評価に影響を及ぼす知見を発見した場合には、速やかに厚生労働大臣に報告すること。 |