

医薬品規制調和国際会議

ICH 調和ガイドライン

ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品等のウイルス安全性評価

**Q5A (R2)**

ドラフト版

承認日 2022年9月29日

現在、公開協議中

*ICH プロセスのステップ2では、該当するICH 専門家作業部会が合意した合意草案テキスト又はガイドラインを、国内又は地域の手順に従って、内部及び外部の協議のためにICH 総会からICH 地域の各規制当局宛てに送付する。*

Q5A (R2)  
制改訂履歴

Q5A

コード番号	制改訂履歴	日付
Q5A	ステップ2に基づく運営委員会による承認及び公開協議のための公開。	1995年12月1日
Q5A	ステップ4に基づく運営委員会による承認及び3つのICH規制機関への採択勧告。	1997年7月5日

Q5A の改訂

コード番号	制改訂履歴	日付
Q5A(R1)	ステップ4後の編集上の修正についての運営委員会による承認。	1999年9月23日

Q5A (R1) の改訂

コード番号	制改訂履歴	日付
Q5A(R2)	ステップ2に基づくICH総会のメンバーによる承認及び公開協議のための公開。	2022年9月22日

**法的通知：**本文書は著作権によって保護されており、ICH のロゴを除き、使用、複製、他の著作物への組み込み、改変、修正、翻訳、又は公的ライセンスに基づく配布を行うことができる。ただし、本文書の著作権は常に ICH が有することを条件とする。本文書の改変、修正又は翻訳を行う場合は、それが元の文書に対して行われた又は元の文書に基づいて行われた変更であることを明確に表示、区別、又は特定するために、合理的な措置を講じること。元の文書の改作、修正又は翻訳が ICH によって是認又は支持されているような印象を与えることは避けること。

本文書は、いかなる種類の保証もなく「現状のまま」提供される。ICH 又は原文書の著者は、いかなる場合も、原文書の使用から生じる請求、損害又はその他の責任について責任を負わないものとする。上記の許可は、第三者が提供するコンテンツには適用されない。したがって、著作権が第三者に帰属する文書については、この著作権保有者から複製の許可を得なければならない。

# ICH 調和ガイドライン

## ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品等のウイルス安全性評価

### Q5A(R2)

#### ICH合意ガイドライン

#### 目次

1. 緒言 .....	5
2. ウイルス汚染の可能性.....	6
2.1 マスター・セル・バンクにウイルスが存在する可能性.....	6
2.2 バイオテクノロジー応用医薬品等の製造過程で迷入する可能性.....	7
3. 細胞株適格性試験：ウイルス試験.....	7
3.1 マスター・セル・バンク (MCB)、ワーキング・セル・バンク (WCB)、又はバイオテクノロジー応用医薬品等の製造に用いられる <i>in vitro</i> 細胞齢の上限 (LIVCA) の段階にある細胞におけるウイルス試験.....	7
3.1.1 マスター・セル・バンク (MCB) .....	7
3.1.2 ワーキング・セル・バンク (WCB) .....	8
3.1.3 バイオテクノロジー応用医薬品等の製造に用いられる <i>in vitro</i> 細胞齢の上限 (LIVCA) の段階にある細胞.....	8
3.2 ウイルス検出及び確認のために推奨される試験.....	8
3.2.1 レトロウイルス試験.....	9
3.2.2 <i>In Vitro</i> 細胞培養感染性試験 .....	10
3.2.3 <i>In Vivo</i> 試験.....	10
3.2.4 抗体産生試験.....	10
3.2.5 分子生物学的手法.....	11
3.3 ウイルスが検出された細胞株の使用について.....	12
4. 未加工/未精製バルクにおけるウイルス試験 .....	12
5. ウイルスクリアランス試験と精製バルクにおけるウイルス試験の意義、考え方及び実施要領 .....	13
6. ウイルスクリアランスの工程評価及び工程特性解析.....	16
6.1 ウイルスクリアランスの工程評価及び工程特性解析のためのウイルスの選択.....	17
6.1.1 「関連ウイルス」と「モデルウイルス」 .....	17
6.1.2 その他の留意事項.....	18

<b>6.2</b>	<b>ウイルスクリアランスの工程評価試験及び工程特性解析試験のデザインと実施要領</b> .....	<b>18</b>
6.2.1	施設とスタッフ.....	18
6.2.2	製造システムのスケールダウン.....	18
6.2.3	ウイルス不活化/除去に関する製造段階毎の解析.....	19
6.2.4	不活化と物理的除去の区別.....	19
6.2.5	不活化に関する事前評価.....	19
6.2.6	カラムの機能と再利用.....	20
6.2.7	特別な留意事項.....	20
<b>6.3</b>	<b>ウイルスクリアランス試験の解釈</b> .....	<b>21</b>
6.4	ウイルスクリアランス試験の限界.....	23
6.5	統計.....	24
6.6	ウイルスクリアランスの評価に関する事前知識 (Prior Knowledge) の適用.....	24
6.7	ウイルスクリアランスの再評価が必要な場合.....	25
<b>7.</b>	<b>連続生産プロセスを行う場合に考慮すべき点</b> .....	<b>26</b>
7.1	CMプロセスにおけるウイルス安全性.....	26
7.2	CMにおけるウイルスクリアランスについての一般的な留意事項.....	26
7.2.1	細胞培養期間の延長に関連する潜在的リスク.....	27
7.2.2	ウイルスクリアランス試験へのアプローチ.....	27
<b>8.</b>	<b>まとめ</b> .....	<b>28</b>
<b>9.</b>	<b>用語解説</b> .....	<b>29</b>
付録1:	特性解析されたセル・バンクを <i>in vivo</i> で増殖することにより生産される製品.....	39
付録2:	ウイルスクリアランス試験のためのウイルスの選択.....	40
付録3:	ウイルス及びウイルスクリアランス指数の評価に関する統計学的考察.....	42
付録4:	ウイルスクリアランス試験でのクリアランス指数の計算方法.....	44
付録5:	投与量当たりの推定ウイルス粒子数の計算方法.....	45
付録6:	製品固有のバリデーションの削減における社内経験を含む事前知識適用の例.....	46
付録7:	遺伝子組換えウイルスベクター及びウイルスベクター由来製品.....	53

## 1 1. 緒言

2 本ガイドラインは、バイオテクノロジー応用医薬品及び遺伝子治療用製品（以下、バイオテクノ  
3 ロジー応用医薬品等と呼ぶ）のウイルス安全性にかかわる試験及び評価のあり方に関するもので  
4 あり、これらのバイオテクノロジー応用医薬品等の承認申請書に添付されるべきデータの概略を  
5 述べたものである。バイオテクノロジー応用医薬品等には、ヒト又は動物（ホ乳類、鳥類、昆虫  
6 類など）由来の特性解析されたセル・バンクを出発基材とした細胞培養により生産された生物学  
7 的製剤及び特定の生物由来製品が含まれる。本文書において、「ウイルス」という用語には、ホ  
8 乳類のプリオンに関連するような従来の範疇にはない伝播因子は含まないものとする（例：ウシ  
9 海綿状脳症（BSE）、スクレイピー）。ウシ海綿状脳症に関しては申請者が規制当局に個別に相  
10 談すること。

11 本文書は、インターフェロン、モノクローナル抗体及び組換えサブユニットワクチンを含む遺伝  
12 子組換え技術を用いた *in vitro* 細胞培養により製造される医薬品を対象とする。また、ハイブリド  
13 ーマを *in vivo* で増殖し、腹水から得られた医薬品なども含まれる。後者の場合、特別な考慮が必要  
14 であるため、細胞を *in vivo* で増殖して得た製品について検討する際の必要な情報は付録 1 に追  
15 加記載されている。本文書は、製品の品質に負の影響を及ぼすことなくウイルスクリアランスが  
16 可能な遺伝子組換えウイルスベクター及びウイルスベクター由来製品にも適用する。これらの製  
17 品には、一過性にトランスフェクションされた細胞又は形質転換した細胞株から産生されるウイ  
18 ルスベクターや、遺伝子組換えウイルスを用いた感染によって産生されるウイルスベクターが含  
19 まれる。また、バキュロウイルス発現ウイルス様粒子（VLPs）、タンパク質サブユニット及び  
20 ナノ粒子を用いたワクチンや治療薬など、ウイルスベクター由来の遺伝子組換えタンパク質も含  
21 まれる。さらに、バキュロウイルスや単純ヘルペスウイルス又はアデノウイルスなどをヘルパー  
22 ウイルス等として用いることにより製造されるアデノ随伴ウイルス（AAV）遺伝子治療用ベクタ  
23 ーも適用範囲とする。遺伝子組換えウイルスベクター及びウイルスベクター由来製品に関する具  
24 体的なガイダンスは付録 7 に記載されている。不活化ウイルスワクチンや自己複製因子を含む弱  
25 毒化ウイルス生ワクチンは本文書の適用範囲から除外する。

26 製品へのウイルス汚染のリスクは、細胞株由来のバイオテクノロジー応用医薬品等すべてに共通  
27 するものである。そのようなウイルス汚染が発生すれば、臨床的使用において深刻な事態を招く  
28 可能性がある。製品のウイルス汚染は、バイオテクノロジー応用医薬品等の生産基材としての細  
29 胞株自身のウイルス汚染、あるいは製造過程における外部からの外来性ウイルスの迷入によりも  
30 たらされる可能性があるが、今日まで、細胞株由来のバイオテクノロジー応用医薬品等によりウ  
31 ルス感染が発生したという事例はない。しかし、ウイルス汚染に関するこれらの製品の安全性  
32 は、しかるべき方策によって合理的に保証することができる。その方策とは、以下に述べるよう  
33 に、包括的なウイルス試験プログラムを適用すること、並びに製造工程におけるウイルス不活化  
34 及び除去に関する評価を行うことである。バイオテクノロジー応用医薬品等において発生する可  
35 能性があるウイルス汚染を防ぐためには、以下の 3 つの主要な相補的アプローチがある。

- 36 ● 不要な感染性ウイルスの存在を否定するために、細胞株、その他培地成分を含む原材料  
37 を選択し、試験すること。

38       • 製造工程の感染性ウイルス不活化/除去能力を評価すること。

39       • 製造工程の適切な段階において、製品の感染性ウイルス否定試験を行うこと。

40 遺伝子組換えウイルスベクターやウイルスベクター由来製品の製造の際に用いられる一部のウイ  
41 ルスクリアランス工程は、遺伝子組換えタンパク質に対し用いられる工程ほど効果的でない可能  
42 性がある。このような場合は、更なるリスク低減策を検討すべきである（例えば、原材料の処理、  
43 幅広いウイルス検出のための広範な試験）（付録7参照）。

44 統計学的理由により、低濃度のウイルスを検出するときの感度はサンプルサイズに依存する。し  
45 たがって、製品中に感染性ウイルス汚染物質が存在しないことを立証するためには、単に製品を  
46 直接試験して否定することのみではなく、製品の製造工程のウイルス除去又は不活化能力を併せ  
47 て示すことが必要である。

48 製造工程の各段階でどのようなウイルス試験及びウイルスクリアランス試験をどの程度実施すべ  
49 きかは様々な要素により異なるので、ケースバイケースかつステップバイステップの原則で考え  
50 る必要がある。考慮すべき要素としては、①セル・バンクの特性解析と適格性確認、②検出され  
51 たすべてのウイルスの種類・性質、③培地成分、④培養方法、⑤施設及び設備の仕様、⑥細胞培  
52 養後のウイルス試験の結果、⑦製造工程のウイルス不活化/除去能力、⑧製品のタイプや臨床  
53 の使用目的・用法等が含まれる。本文書の目的は、ウイルス試験及びウイルスクリアランスの評  
54 価に必要な試験並びにそれらをどのようにデザインすればよいかについての方策を関係付け、包  
55 括的に示すことである。

56 製造業者は、それぞれの製品や製造工程について、ウイルスに対する安全性を保証するための総  
57 合戦略の中で採用したアプローチを説明し、その妥当性を示す必要がある。その際、本文書で推  
58 奨されているアプローチを、合理性がある限り適用すべきである。承認審査を円滑に行うため  
59 詳細なデータに加えて、ウイルス安全性評価に関する総括を記載すること。この総括には、ウイ  
60 ルス汚染を防ぐための方策とウイルス安全性に関する試験すべてを網羅した見解を簡潔に記述す  
61 る必要がある。

## 62   **2.   ウイルス汚染の可能性**

63 バイオテクノロジー応用医薬品等のウイルス汚染は、細胞株に起因するものと、細胞株構築やセ  
64 ル・バンク作製など製造工程中におけるウイルスの迷入に起因するものがある。マスターウイル  
65 スシード（MVS）又はワーキングウイルスシード（WVS）からの外来性ウイルスの混入の可能  
66 性への対応については付録7で提示する。十分に特性解析されたセル・バンク及び MVS 又は  
67 WVS を使用することで、ウイルス汚染のリスクを低減することができる。また、組換えタンパ  
68 ク質、VLP 又はウイルスベクターの製造に用いられるヘルパーウイルス等も、製造工程由来不純  
69 物として管理すべきウイルスとみなされる（付録7参照）。

### 70   **2.1   マスター・セル・バンクにウイルスが存在する可能性**

71 細胞には、潜伏感染又は持続感染状態のウイルス（例えばヘルペスウイルス）、あるいは内在的  
72 なレトロウイルスが存在している可能性がある。例示したようなウイルスは1つの細胞世代から

73 次の世代に垂直伝播することができ、細胞内に構成的に発現している、あるいは感染性ウイルス  
74 として予期せぬ発現をしているものと考えられる。

75 ウイルスは次のような経路によりマスター・セル・バンク (MCB) に混入してくる可能性がある  
76 がある。1) 感染した動物を由来とする細胞株の使用、2) 細胞株を樹立するために使用したウイルス  
77 の残存、3) 汚染された生物を由来とする試薬 (例えば、選別用抗体) 又は細胞培養用原料 (例  
78 えば、動物又はヒト血清及びブタトリプシン) の使用、4) 細胞の取扱い中及びセル・バンク調  
79 製工程の操作に由来する汚染。

## 80 2.2 バイオテクノロジー応用医薬品等の製造過程で迷入する可能性

81 外来性ウイルスは、次のような経路で製造工程中に混入する可能性がある。ただし、これに限定  
82 されるものではない。1) 細胞培養中に使用する血清成分のような生物起源由来の原料又は試薬  
83 が汚染されている、2) 目的のタンパク質をコードする特定の遺伝子の発現を誘導するためのウ  
84 イルス又はウイルスベクター (その製造に使用するヘルパーウイルス等を含む) の使用 (付録 7  
85 参照)、3) 下流の精製工程で使用する精製もしくは選別用のモノクローナル抗体固定化担体な  
86 どの原料又は試薬が汚染されている、4) 製剤化に使用する添加剤が汚染されている、5) 環境か  
87 らの汚染 (例: 非生物由来原料の保管、細胞培養及び培地の取扱い中の汚染)。

88 なお、細胞培養パラメータをモニターすれば、外来性ウイルスの汚染の早期発見に役立つ。製造  
89 業者は、可能な限り製造工程におけるヒト及び動物由来原料 (ヒト血清、ウシ血清、ブタトリプ  
90 シンなど) の使用を避けるべきである。これが不可能な場合、ヒト及び動物由来原料の使用は、  
91 リスクに応じて、関連する文書又は材料の適格性評価により裏付けられるべきである。原産国、  
92 由来組織、当該原料の製造工程に適用されるウイルス不活化又は除去処理工程、原料について実  
93 施されたウイルス試験の種類等が提供されること。

94 また可能な場合は、追加的なウイルスリスク軽減策として、細胞培養培地又は培地添加剤のガン  
95 マ線照射、ウイルスろ過、高温短時間処理又は深紫外線照射などの処理を実施することもできる。

## 96 3. 細胞株適格性試験: ウイルス試験

97 バイオテクノロジー応用医薬品等の製造に用いる細胞株の適格性試験において、ウイルス試験は  
98 重要な項目の1つである。

### 99 3.1 マスター・セル・バンク (MCB)、ワーキング・セル・バンク (WCB)、又 100 はバイオテクノロジー応用医薬品等の製造に用いられる *in vitro* 細胞齢の上限 101 (LIVCA) の段階にある細胞におけるウイルス試験

102 表 1 に MCB、WCB 又は LIVCA の各細胞レベルで一度は実施すべきウイルス試験の例を示す。

#### 103 3.1.1 マスター・セル・バンク (MCB)

104 MCB においては、内在性及び外来性ウイルスによる汚染の有無を徹底的に検討する必要がある。  
105 ヒト又はヒト以外の霊長類細胞に由来するウイルス汚染は特に安全性上問題となる可能性がある

106 ので、これらの細胞をパートナーとするヘテロな融合細胞株については、ヒトを含む霊長類に特  
107 有のウイルスを検出するための試験を実施すること。

108 外来性ウイルスの存在の有無を検討するために、表1に示すように、広範囲のウイルス検出試験及  
109 び必要に応じた特異的ウイルス検出試験を含めること。広範のウイルス検出試験については動物  
110 を用いる以外の新たな分析手法の導入が推奨される。汚染ウイルスを確実に検出するために、細  
111 胞株の起源及び履歴、及び細胞株構築及び MCB の拡大培養中に曝露する可能性のあるヒト又は動  
112 物由来の原材料を考慮した試験法を用いること。

### 113 3.1.2 ワーキング・セル・バンク (WCB)

114 各 WCB については、表1に示す外来性ウイルス試験を実施すること。MCB に対して外来性ウイ  
115 ルス試験が実施されており、かつその WCB に由来する LIVCA、又は LIVCA を超えて培養され  
116 た細胞で外来性ウイルスの試験が実施されている場合は、当該 WCB では同様の試験を省略して  
117 もよい。抗体産生試験は、通常、WCB については推奨されない。もう1つのアプローチとして、  
118 各 WCB について、MCB において必要とされるすべての試験を実施し、MCB における試験の代  
119 わりとしてもよい。

### 120 3.1.3 バイオテクノロジー応用医薬品等の製造に用いられる *in vitro* 細胞齢の上限 121 (LIVCA) の段階にある細胞

122 バイオテクノロジー応用医薬品等の製造に用いる際の細胞の *in vitro* 細胞齢の上限 (LIVCA) は、  
123 バイオテクノロジー応用医薬品等の製造のために提案された *in vitro* 細胞齢又はそれを超えて、パ  
124 イロットプラントスケール又は実生産スケールの条件で培養された製造細胞のデータに基づいて  
125 設定すること。この場合、製造細胞は WCB から調製されるのが一般的であるが、MCB から調製  
126 してもよい。内在性ウイルスについては、MCB で検出されないものもありうるので、LIVCA の段  
127 階で必ず1度は、その存在の有無について試験を実施し、評価する必要がある。LIVCA の段階の  
128 細胞は製造終了時の細胞 (End of Production Cells: EOPC) とも呼ばれる。LIVCA の段階の細胞につ  
129 いて、適切なウイルス試験 (表1参照) を少なくとも1回は実施することによって、製造工程にお  
130 いて内在性ウイルスの活性化や、増殖の遅いウイルスを含む外来性ウイルスの増殖を引き起こさ  
131 ないことがより一層確実になる。この段階で外来性ウイルスが検出された場合、その汚染の原因  
132 を明らかにするために製造工程を厳密に調査する必要がある。

## 133 3.2 ウイルス検出及び確認のために推奨される試験

134 多くの試験法で内因性及び外来性ウイルスを検出することができる。試験法の例を表2に示す。  
135 これらは推奨される方法ではあるが、必ずしもすべての試験法が網羅されているわけではない。  
136 また、これらを用いなければならないと定めたものでもない。最も適切な技術は科学の進歩とと  
137 もに変わると考えられるので、適切な資料が提出されれば記載されたもの以外でもよい。製造業  
138 者は新たに提案する技術について、当局と協議することを勧める。ウイルス検出のための試験戦  
139 略は、細胞株の由来、継代培養の履歴、細胞株構築やセル・バンクの樹立及び製造に使用する原  
140 材料及び試薬などを包括的に考慮し決定すること。またその戦略には、使用する細胞基材、原材  
141 料及び試薬のリスクアセスメント結果に基づき、必要に応じて追加の分析法を含めること。例え  
142 ば、ある特定のウイルスが存在する可能性が比較的高い場合には、妥当な理由がない限り、その



143 ウイルスを検出するための特異的試験又は他のアプローチが必要であろう。試験法の十分な感度  
144 と特異性を確認するために適切なコントロールを置く必要がある。

145 次世代シーケンシング (NGS) は広範なウイルス検出に、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) など  
146 の核酸増幅法 (NAT) は特異的なウイルス検出にそれぞれ適切な方法である。これらの試験は、  
147 現在推奨されている *in vitro* 及び *in vivo* 試験との体系的な直接比較なしに導入することができる。  
148 特に、代替法の活用、動物使用数の削減及び苦痛の軽減という世界的な目標に対応するため、*in*  
149 *vivo* 試験との直接比較試験の実施は推奨されない。NGS は、その検出感度及びウイルス検出範囲  
150 の広さにより、細胞ベースの感染性試験が潜在的に有する試験の限界を克服するため、もしくは  
151 培養細胞では観察可能な表現型が無いウイルスを検出するために、細胞ベースの感染性試験の代  
152 替試験として使用することもできるかもしれない。陽性の結果については、検出された核酸が感  
153 染性を有するウイルスに関連しているか否かを判定するための追加の検討が必要である。

154 以下には、製品及び製造工程に特異的な (又は適切な)、包括的ウイルス試験の実施計画を製造  
155 業者が立案するために用いる一般的な枠組みについて概説する。試験の実施計画又は戦略につい  
156 ては、その妥当性に関する適切な説明が必要である。

### 157 3.2.1 レトロウイルス試験

158 レトロウイルス試験は、MCB 及び製造のために *in vitro* 細胞齢の上限 (LIVCA) まで培養され  
159 た細胞又は LIVCA を超えて培養された細胞について実施する。レトロウイルス試験には、直接  
160 法又は共培養法による感染性試験、逆転写酵素 (RT) 活性試験、及び透過型電子顕微鏡法観察  
161 (TEM) による粒子の評価が含まれる。

162 細胞株がレトロウイルス粒子を産生することが知られていない場合は、その細胞に対して TEM  
163 を実施し、PCR 法による RT 試験 (例えば、逆転写酵素試験 : Product-enhanced RT assay (PERT))  
164 を清澄化した上清について実施すること。PCR 法による RT 試験は、すべてのレトロウイルスの  
165 RT 活性を検出できるため特に有用であるが、RT 活性には感染性レトロウイルスや非感染性レト  
166 ロウイルスに関連するものがある。細胞内の DNA ポリメラーゼの中には交差反応を起こし RT 試  
167 験の結果が陽性となるものもあるため、RT 活性 (レトロウイルス汚染の結果として) を確認し  
168 た場合又は TEM の結果が陽性の場合、ヒト細胞株を含む感受性細胞を用いた感染性レトロウ  
169 イルスの検出試験、及びレトロウイルス検出のための高感度な読み出し試験を行うこと。

170 げっ歯類、昆虫及び鳥類由来の一部の細胞株で見られるような、細胞株がレトロウイルス粒子を  
171 恒常的に産生することが知られている場合、RT 活性が予想されるため、PCR 法による RT 試験は  
172 不要と考えられる。TEM を実施し、存在するレトロウイルス粒子の種類 (例 : A 型及び C 型) を  
173 調べる。内在性レトロウイルス粒子の感染性の有無を判定するために、関連する感受性細胞  
174 (例 : げっ歯類のレトロウイルスでは *Mus dunni* 細胞及び SC-1 細胞) を用いて高感度の読み出し  
175 試験も実施すること (例 : PERT 試験、S+L-焦点アッセイ、XC プラークアッセイ、又は広範な分  
176 子生物学的手法)。

177 レトロウイルス試験の結果は、入手可能なすべてのデータを考慮に入れ解釈すること。内在性レ  
178 トロウイルス粒子を発現している細胞株であっても、第 3.3 章及び第 5 章で説明されているリス  
179 クアセスメントを実施するのであれば、製造工程で使用での使用が否定されるものではない。

180 誘導試験 (Introduction) は、内因性レトロウイルスについて十分に特性解析されている細胞株  
181 (例えば、チャイニーズハムスター卵巣 [CHO] 細胞、NS0 細胞及び Sp2/0 細胞) には有用でな  
182 いことが示されている。しかし、誘導試験は、新規細胞基質における未知の内在性レトロウイル  
183 スの存在を評価する際に役立つことがある。また、潜在する DNA ウイルス (例えば、ヒト細胞  
184 中のヘルペスウイルス) 及び潜在する RNA ウイルス (例えば、昆虫細胞中のノダウイルス) に  
185 対する誘導試験も、リスクアセスメントの結果によっては実施することが適切かもしれない。こ  
186 れらの試験は、新規の細胞基材に由来する製品のウイルス試験及びクリアランス戦略に関する情  
187 報を得るのに役立つ場合がある。

### 188 3.2.2 *In Vitro* 細胞培養感染性試験

189 *In vitro* 試験は、広範囲のヒトウイルスやある種の動物ウイルスを検出することができる感受性を  
190 有する各種指示細胞に、被検試料 (表 3 参照) を接種することにより実施する。試験に用いる細  
191 胞の選択は、細胞基材の起源となる種を考慮したリスクアセスメントに基づいて行う。指示細胞  
192 には、細胞基材の起源となる種の細胞株、並びにヒトウイルスに感受性のあるヒト及びヒト以外  
193 の霊長類の細胞株を含めること。

194 どのような試験方法及び被検試料で感染性試験を実施するかは、細胞基材の由来やその調製過程  
195 からみて混入の可能性が考えられるウイルスの種類に応じて決定すること。細胞株の適格性確認  
196 では、14 日間の初回細胞培養とその後の 14 日間の継代培養を実施し、細胞変性ウイルス及び血  
197 球吸着/血球凝集ウイルスの両方について観察すること。

198 あるいは、ウイルスの検出のための分子生物学的手法は、細胞培養試験を補完する試験 (例えば、  
199 被験物質による干渉や毒性などの特定の制限に対処するために必要な場合) や代替試験として用  
200 いることもできる。

### 201 3.2.3 *In Vivo* 試験

202 NGS はウイルスの検出範囲が広く、また NGS の使用により動物試験の代替、削減及び苦痛軽減  
203 という世界的な目標が推進されるため、*in vivo* 試験の代替試験として用いることが期待される。  
204 バリデーション資料を提出することにより、*in vivo* 試験の代わりに NGS を使用することの妥当性  
205 を示すことが可能かもしれない。*In vivo* 試験では、リスクアセスメント及び全体的な試験戦略に  
206 基づき、乳飲みマウス、成熟マウス及び発育鶏卵への被験物質 (表 2 参照) の接種などが行われ  
207 る。細胞基材の特性や由来によっては、動物種を追加して試験を実施する場合もありうる。被検  
208 動物の健康状態を観察し、異常が認められた場合は、その原因を調査すること。

### 209 3.2.4 抗体産生試験

210 抗体産生試験は、特定の動物種に由来するウイルスが曝露する可能性がある場合に実施する。例  
211 えば、げっ歯類由来の細胞株、又はげっ歯類自体を使用して及びげっ歯類に由来する試薬を使用  
212 して樹立した可能性がある細胞株におけるげっ歯類ウイルスの存在は、検体 (表 2 参照) を特異

213 的病原体フリー（SPF）の動物（マウス、ラット、ハムスターなど）に接種した後、これらの特  
214 定のウイルスに対する抗体を測定することにより検出することができる。例としてマウス抗体産  
215 生（MAP）試験、ラット抗体産生（RAP）試験、ハムスター抗体産生（HAP）試験がある。現在、  
216 これら抗体産生試験によりスクリーニングされているウイルスを表3に示す。

217 ウイルス特異的 PCR 法又は標的分子法は、表3に記載した動物試験の代替試験法として使用する  
218 ことができる。

### 219 3.2.5 分子生物学的手法

220 分子生物学的手法は、細胞培養を用いた *in vitro* 試験及び *in vivo* 動物試験の補完試験又は代替試  
221 験として用いることができる。

#### 222 3.2.5.1 核酸増幅法

223 PCR 法のような核酸増幅法（NAT）は、一般に、既知のウイルス又は既知の近縁ウイルス科から  
224 ウイルスの遺伝子配列を検出するために、単独で又は複合的に用いられる。標的 NGS 法は、既  
225 知のウイルスの高感度検出にも適用できる。これらの分子生物学的手法は、細胞培養を伴う試験  
226 において干渉によって試験に制限がある場合に当該試験の補完試験として用いることができる。  
227 また、感染性試験での細胞培養でウイルスを容易に増殖できない場合に特異的ウイルスを検出す  
228 るための有効な手段である。NAT には、より広範囲のウイルス検出を行う方法もあるが  
229 （例:degenerate PCR 法）、その場合特異性が低下する可能性がある。NAT の特異性の高さから、  
230 一般的な生物学的試験で 1 試験において検出可能な範囲のウイルスを検出するためには、ウイル  
231 ス特異的 PCR 法の試験を複合的に実施する必要がある場合がある。NAT 分析は、その使用目的  
232 に応じて適切に適格性評価又はバリデーションを行うこと。

#### 233 3.2.5.2 次世代シーケンシング

234 次世代シーケンシング（NGS）（ハイスループットシーケンシングとも呼ばれる）など、幅広い  
235 ウイルスについて検出能力が実証されている新規の高度な分子生物学的手法が利用できるよう  
236 になった。NGS ではウイルス検出の感度及び範囲を明確に提示できるため、動物の使用を抑制し、  
237 試験時間を短縮することができる。使用する NGS 法については、承認申請の際に使用する妥当  
238 性を示すためにバリデーション資料を提出すること。またバリデーション資料には、適宜、分析  
239 法バリデーション及び定量法又はマトリックス固有の適格性評価を含めること。潜在的な安全性  
240 の懸念に基づき、生物情報学的（バイオインフォマティクス）評価は、特定のウイルスを標的と  
241 することも、または広範なウイルスを区別することなく検出することもできる。NGS では広範な  
242 未知又は予測できないウイルス種の検出ができるため、*in vivo* 試験の代わりとなり得る。また、  
243 NGS は既知及び未知のウイルス種又は予測できないウイルス種の検出のための *in vitro* 細胞培養  
244 試験を補完又は置き換えることもできる。さらに、NGS は既知のウイルスの検出にも使用するこ  
245 とができ、HAP 試験、MAP 試験、RAP 試験及びその他のウイルス特異的 PCR 法と置き換えるこ  
246 とができる。

247 特に、細胞基材及びセル・バンクの特性解析又は試験、既知及び未知のウイルスの検出、並びに  
248 ウイルスシード又はハーベストにおいて、ベクターウイルス（付録7参照）が効果的に中和され  
249 ず分析法が干渉される場合、または製品又は培地成分による毒性がある場合には、NGS の使用を

250 検討すべきである。このような場合、NGS は細胞 DNA 中に存在するウイルス配列 (genomics)  
251 又は細胞内で RNA として発現するウイルス配列 (transcriptomics) の検出に利用することができ、  
252 また NGS は粒子中に存在するウイルスゲノム (viromics) の検出にも利用することができる。こ  
253 れらの異なる戦略を選択した根拠を示すこと。

254 既知のウイルスの高感度検出及び/又は新規ウイルスの広範な検出に NGS を適用する場合、申請  
255 者は NGS ワークフローのいくつかの重要なステップを考慮に入れること。例えば、1) サンプル  
256 処理 (実施する場合) 及びサンプルの原料の種類に基づく処理、2) 効率的なウイルス核酸抽出  
257 (エンベロップ及び非エンベロップ粒子を含む) 及びライブラリー調製、3) 適切な配列決定プ  
258 ラットフォームの選択、及び 4) 異なるウイルス科の多様なウイルス配列表示を有するデータベ  
259 ースに対する包括的な生物情報学的 (バイオインフォマティクス) 評価などがある。ウイルス検  
260 出を最大化するために、サンプルの前処理を実施することもできる。

261 分析法の適格性評価及びバリデーションでは、試験法に含まれる様々な段階の性能を評価し、ウ  
262 イルス検出の感度、特異性及び範囲を証明するために、適切な標準品又は標準物質を使用するこ  
263 と。これには、NGS ワークフロー全体又は特定のステップの性能を評価するための、明確な物理  
264 的 (サイズ、エンベロップ及び非エンベロップ)、化学的 (低、中、高耐性)、及びゲノム  
265 (DNA、RNA、二本鎖及び一本鎖、直鎖、環状) 特性を有する現在利用可能な参照ウイルス試  
266 薬の使用が含まれる。広範なウイルス検出のために多様なウイルス配列を試験する際には、包括  
267 的なウイルスデータベースを使用すること。さらに、特定の技術的評価及び生物情報学的 (バイ  
268 オインフォマティクス) 評価のために、他の種類の標準品を使用することもできる。NGS は複雑  
269 なワークフローを有するため、製造業者は、分析法バリデーション及びデータ提出の見込みにつ  
270 いて管轄の規制当局と協議することが推奨される。

### 271 3.3 ウイルスが検出された細胞株の使用について

272 バイオテクノロジー応用医薬品等の製造に用いる細胞株には、感染性ウイルスとして再活性化す  
273 る可能性のある内在性レトロウイルス、その他のウイルス、あるいはウイルス由来の塩基配列を  
274 含むものがある。そのような場合に製造業者が行うべき対応策が本文書の第 5 章に記載されてい  
275 る。内在性のレトロウイルス以外のウイルスが存在する細胞株の使用の可否は、ケースバイケー  
276 スで管轄の規制当局が考慮することになるが、その際、製品のベネフィットや予定される臨床  
277 の用途、混入するウイルスの種類・性質、ヒトへの感染性又は病原性、製品の精製工程 (ウイル  
278 スクリアランスに関する評価データ等)、及び精製バルクにおいてどの程度のウイルス試験を実  
279 施したかなどに基づくリスク・ベネフィットのバランスを勘案し、判断することになる。

## 280 4. 未加工/未精製バルクにおけるウイルス試験

281 製造業者は生産バッチにおいて外来ウイルスを継続的に評価するプログラムを開発するべきであ  
282 る。この未加工/未精製バルクにおけるウイルス試験の範囲及び程度を決定するにあたっては、  
283 以下のような諸点を考慮する必要がある。例えば、目的産物を生産するために用いられる細胞株  
284 の種類・性質、細胞株の適格性試験のため実施されたウイルス試験の程度と試験結果、培養方法、  
285 原材料及び試薬の起源とウイルスクリアランス試験の結果などである。

286 未加工/未精製バルクは、培養後にハーベストされた細胞及び培養液の単一又は複数のプールから  
287 なる。未加工/未精製バルクとして典型的なサンプルは、培養槽から取り出されたのち処理を行っ  
288 ていないものである。これは、外来性ウイルス汚染の可能性を高確率で検出するのに最も効果的  
289 な段階の 1 つである。未加工/未精製バルクに対して適切なウイルス試験を実施すること。灌流又  
290 は連続生産工程では、細胞を容易に得られない場合がある（例えば、中空繊維又は類似の精密ろ  
291 過システムの使用により）。このような場合、未加工/未精製バルクはバイオリクターから回収  
292 される液体で構成されると考えられる。細胞分離技術及びフィルターの目詰まりの進行がこれら  
293 未加工/未精製バルクの試験サンプルの代表性に及ぼす潜在的な影響を考慮すること。未加工/未精  
294 製バルクが試験細胞培養液に毒性を示す場合、最初に一部の処理を実施すること（例えば、最小  
295 限のサンプル希釈又は代替試験法）を検討してもよい（第 3.2 章参照）。培養槽から取り出された  
296 そのままの細胞、破碎細胞及び培養上清からなる混合物を、処理を施すことなく試験することが、  
297 より適切な場合もある。連続的なハーベストを含む工程については、外来性ウイルスや内因性ウ  
298 イルス粒子が細胞培養期間に変動する可能性があるため、サンプリング戦略（サンプリング周期  
299 やサンプルの組成を含む）の妥当性を示す必要がある（第 7 章参照）。

300 外来性ウイルス試験は、各未加工/未精製バルクに対して実施すること。外来性ウイルス試験には複  
301 数の細胞株を用いる *in vitro* スクリーニング分析や NGS（第 3.2 章参照）などの広範なウイルスを  
302 検出する分子生物学的手法を含めてもよい。リスクアセスメント（細胞基材、動物由来原料又は  
303 試薬の使用、工程のウイルスクリアランスの程度を考慮する）に基づき、指標細胞の培養観察期  
304 間は 2 週間以上とすること。リスクアセスメントによっては、特定のウイルス又はウイルス科に対  
305 する検出法を含めることが適切な場合もある（マウス微小ウイルスなど）。迅速検査法によりリ  
306 アルタイムの意思決定が容易になるため、必要に応じて PCR 法又は他の分子生物学的手法を選択  
307 してもよい。

308 未加工/未精製バルクの段階で外来性ウイルスが検出された場合は、妥当な理由がない限り、ハー  
309 ベストを製品の製造に使用しないこと。（原料に外来性ウイルスが検出された場合の原料の使用  
310 に関するガイダンスについては、第 5 章を参照すること。）汚染の原因及び範囲を突きとめるた  
311 めに製造工程を注意深く点検し、適切な対応をとること。連続生産プロセスでは、最終サブロッ  
312 トの出荷時には、そのサブロットの製造工程で培養液を回収する期間中にウイルス汚染がなかつ  
313 たことを文書化する必要がある。外来性ウイルスが検出された場合には、広範囲の生産への影響  
314 を軽減するために、汚染されている可能性のある物質を隔離する手順を検討すること。

## 315 5. ウイルスクリアランス試験と精製バルクにおけるウイルス試験の意義、考え 316 方及び実施要領

317 MCB から医薬品等の製造の様々な段階を経て最終製品に至る間において、それぞれに最も適切  
318 で合理的なウイルス試験、及び未加工/未精製バルクからのウイルスクリアランスの評価試験・  
319 特性解析試験を実施するためのプロトコルを設定することは重要である。このうち、ウイルス  
320 クリアランス評価試験と特性解析試験は、特に中心的な役割を果たす。プロトコルの設定にあ  
321 たっては、製品がウイルスに汚染されていないことを最も確実に、かつ合理的に保証することを  
322 目標とするべきである。

323 クリアランス試験に用いるウイルスを選定するにあたって、存在することが知られているウイルス  
324 を除去する能力について製造工程を評価する必要がある場合と、「非特異的モデルウイルス」  
325 (後述)を用い製造工程のウイルスクリアランスに関する特性を解析することにより工程のもつ  
326 クリアランス能力 (robustness) を評価したい場合とを区別して考えた方がよい。「関連  
327 (relevant) ウイルス」、「特異的 (specific) モデルウイルス」及び「非特異的 (non-specific)  
328 モデルウイルス」の定義については、用語解説を参照のこと。ウイルスクリアランスの工程評価  
329 にあたっては、①未加工/未精製バルク等の製造工程中にウイルスがどれだけの量存在するか、  
330 ②製造工程でウイルスがどの程度不活化/除去され、生産物の安全性を評価できるか、に関する  
331 知見が必要である。不活化工程の効果を保証するために、不活化の時間依存性を調べることは有  
332 用である。存在することが知られているウイルスのクリアランスを評価する場合には、不活化の  
333 時間依存性に関する詳細な検討、不活化又は除去の再現性の実証、及びプロセスパラメータの評  
334 価を実施すること。「非特異的モデルウイルス」を用いて製造工程のもつクリアランス能力の特  
335 性を解析する場合には、試験デザインの際に、非エンベロープ型ウイルスの使用を考慮すること  
336 が必要である。特性解析試験においてどの程度までウイルスクリアランスを行うかは、細胞株及  
337 び未加工/未精製バルクに関するウイルス試験結果により判断されなければならない。これらの  
338 試験は以下 (第6章を参照) の記載に従い実施すること。

339 細胞又は未加工/未精製バルクについてのウイルス試験の結果を受けて実施する対策の例を表4に  
340 示す。この対策には、工程評価、並びに精製バルクに対するウイルスクリアランス及びウイルス  
341 試験の特性解析が含まれる。表4に示した様々なケースについて詳細を以下に記載した。すべての  
342 ケースにおいて「非特異的モデルウイルス」を用いたウイルスクリアランス工程特性解析試験  
343 を実施すること。最も一般的なケースは、ケースAとケースBである。げっ歯類のレトロウイルス  
344 以外のウイルスに汚染されたケースは、通常、医薬品の製造方法としては使用しない。ケース  
345 C、D 又はEにあたる細胞株を用いて医薬品の製造を行おうとする場合で、使用理由を十分に説  
346 明できるという場合は、その使用について管轄の規制当局と協議すべきである。ケース C、D 及  
347 びEの場合、当該ウイルスを有効に不活化又は除去することが検証された工程を、製造工程中に  
348 有していることが重要である。

349 **ケース A**：細胞又は未加工/未精製バルク中にウイルス、ウイルス様粒子又はレトロウイルス様粒  
350 子のいずれの存在も認められないケースである。本ケースでは前述のごとく、ウイルスの不活化/  
351 除去の検討は「非特異的モデルウイルス」を用いて実施すること。

352 **ケース B**：げっ歯類由来細胞株で、げっ歯動物のレトロウイルス (又は、げっ歯動物の A 型粒子  
353 及び R 型粒子のような非病原性であるとされているレトロウイルス様粒子) のみが細胞又は未加  
354 工/未精製バルク中に存在するケースである。本ケースでは、マウス白血病ウイルス (Murine  
355 Leukemia Virus) 等の「特異的モデルウイルス」を用いた工程評価試験が実施されるべきである。  
356 精製バルクについては、当該ウイルスに対する高い特異性と感度を有する適切な検出方法を用い  
357 て試験すること。承認申請の際には、パイロットプラントスケール又は実生産スケールで製造さ  
358 れた少なくとも3ロットの精製バルクに関するウイルス試験データを提出すること。チャイニー  
359 ズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、C127 細胞、BHK 細胞等の細胞株、及びネズミのハイブリド  
360 マ細胞株は医薬品製造にしばしば用いられているが、ウイルス汚染に起因する安全上の問題は報  
361 告されていない。これらの細胞株の内在性レトロウイルス様粒子は十分に解析されており、クリ

362 アランスも示されていることから、精製バルク又は原薬についての内在性レトロウイルス様粒子  
363 の試験は、通常は推奨されない。ケース A に述べたような「非特異的モデルウイルス」を用いた  
364 検討は、実施する必要がある。同様のアプローチは、十分に特性解析された内因性レトロウイル  
365 ス様粒子を産生する昆虫細胞株 (Sf9 など) にも適用できる可能性がある。

366 **ケース C**：細胞又は未加工/未精製バルク中に、げっ歯類のレトロウイルス以外のウイルス (例：  
367 Sf9 ラブドウイルス) が存在しているが、ヒトへの感染性は知られていないケースである (表 3、  
368 脚注 2 で特定されているもの等で、げっ歯動物のレトロウイルス (ケース B) 以外のもの)。本ケ  
369 ースでウイルスの不活化/除去の工程評価試験を行う際には、存在しているウイルスそのものを用  
370 いること。そのウイルスを用いることが不可能な場合、「関連ウイルス」又は「特異的モデルウ  
371 イルス」を使用し、クリアランスの程度が受け入れられるに足るものであることを示すこと。工  
372 程評価試験には、これらのウイルスの不活化試験が含まれるべきであり、そのうちの特に重要な  
373 不活化工程においては、同定されたウイルス (又は「関連/特異的モデルウイルス」) の不活化の  
374 時間依存性に関してデータを得ること。精製バルクについては、当該ウイルスに対する高い特異  
375 性と感度を有する適切な検出方法を用いて試験すること。承認申請の際には、パイロットプラ  
376 トスケール又は実生産スケールで製造された少なくとも 3 ロットの精製バルクに関するウイルス試  
377 験データを提出すること。

378 **ケース D**：細胞又は未加工/未精製バルク中に既知のウイルスが検出され、ヒトへの感染性がある  
379 ことが確認された場合 (表 3、脚注 1 に示したウイルス等) は、それらの使用は例外的な状況にお  
380 いてのみ許容される。このような場合は、検出されたウイルスをウイルス不活化/除去の評価試験  
381 に用いること。また、当該ウイルスに対する高い特異性と感度を有する検出方法を使用すること。  
382 検出されたウイルスそのものを使用することができない場合は、「関連ウイルス」や「特異的モ  
383 デルウイルス」を使用すること。精製工程及び不活化工程において当該ウイルスが不活化及び除  
384 去されることを証明すること。工程評価試験には当該ウイルスの不活化工程を含み、そのうちの  
385 特に重要な不活化工程においては、不活化の時間依存性に関してデータを得ること。精製バルク  
386 については、当該ウイルスに対する高い特異性と感度を有する適切な検出方法を用いて試験する  
387 こと。承認申請の際には、パイロットプラントスケール又は実生産スケールで製造された少なく  
388 とも 3 ロットの精製バルクに関するウイルス試験データを提出すること。

389 **ケース E**：現在適用可能な方法によっては分類することができないウイルスが細胞又は未加工/未  
390 精製バルクに検出された場合、そのウイルスに病原性がある可能性があるため、その生産物は、  
391 通常、認められないと考えられる。希なケースとして、そのような細胞株を用いた医薬品製造を  
392 行おうとする場合で、使用理由を十分に説明できるという場合であっても、開発を進める前に管  
393 轄の規制当局と協議するべきである。

394 **ケース F**：ヘルパーウイルス等を使用し製造している場合は、ヘルパーウイルス等自体又は特異  
395 的モデルウイルス (例えばバキュロウイルス、アデノウイルス、ヘルペスウイルス) を用いてウ  
396 イルスクリアランスを実証すること。

## 397 6. ウイルスクリアランスの工程評価及び工程特性解析

398 ウイルス不活化又は除去に関する工程評価と工程特性解析は、バイオテクノロジー応用医薬品等  
399 の安全性を確立するために重要である。ウイルス汚染の過去の事例は、存在が知られていない、  
400 あるいは予測だにされていなかったウイルスにより引き起こされている。こうした過去の事例は、  
401 様々な起源に由来する生物起源由来製品で起こったことであって、十分に特性解析された細胞株  
402 での例ではない。しかし、十分に特性解析された細胞株由来の製品においても、ウイルスクリア  
403 ランスに関する評価を行っておくことにより、未知の、あるいは不測の有害ウイルスを除去でき  
404 ることへの一定限の保証が強化される。ウイルスクリアランス試験の実施にあたっては、試験の  
405 計画、経過、結果及び評価を文書化するとともに、試験の管理を十分に行う必要がある。

406 ウイルスクリアランス試験の目的は、1) ウイルス不活化や除去に有効であると考えられる工程  
407 について評価すること、2) それらの各工程を併せて、全体としてウイルスがどの程度減少した  
408 かを定量的に評価することにある。この目的を達成するには、未加工/未精製バルクや製造工程  
409 における様々な段階に、しかるべき量のウイルスを意図的に添加（すなわちスパイク）し、以降  
410 のそれぞれの工程を経る間に、添加されたウイルスがどの程度除去又は不活化されるかを示す必  
411 要がある。もし、いくつかのステップにより十分なクリアランスが示されるのであれば、必ずし  
412 も製造工程のすべての工程について工程評価又は工程特性解析する必要はない。しかし、評価対  
413 象以外のステップが、ウイルスの不活化又は除去に関する結果に、間接的に影響を与える可能性  
414 についても考慮しておくべきである。製造業者は、ウイルスクリアランス試験に用いたアプロー  
415 チについて説明し、その妥当性を明らかにする必要がある。一般に、精製工程に投入される内在  
416 性ウイルス粒子の量を測定するためには、3回の細胞培養作業、3ロット、又は3バッチについて  
417 定量試験を実施する必要がある。このデータは、製造販売承認申請及び登録資料の一部として提  
418 出すること。

419 ウイルス量（ウイルス感染性）は、ウイルス粒子の除去又はウイルス感染性の不活化により減少  
420 する。ウイルスクリアランスに関して評価の対象とした各製造工程については、ウイルス量減少  
421 のメカニズムが不活化によるのか除去によるのかに関して推定し、記載すること。不活化を評価  
422 しようとする工程における試験に際しては、時間を変えて検体をサンプリングし、不活化曲線が  
423 描けるように計画すべきである（第 6.2.5 章参照）。

424 ウイルスクリアランス工程評価試験は、1) MCB に存在することが知られているウイルスのクリ  
425 アランスを証明するため、2) 検出を免れた外来性ウイルス、又は製造工程中に迷入する可能性  
426 がある外来性ウイルスのクリアランスを保証するために実施される。クリアランス指数は、通常、  
427 残存するウイルス感染性がゼロになることはないものの数学的には極めて小さくなるということ  
428 を示すため、対数スケールで表される。

429 上記のような、細胞などに存在が知られたウイルスを対象とするウイルスクリアランス工程評価  
430 試験に加えて、それ以外のウイルスを除去又は不活化する能力に関する工程の特性を評価する試  
431 験を行うべきである。未知又は予測できない生化学的及び生物物理学的特性を有するウイルスを  
432 用いた試験の目的は、特定の不活化又は除去の目標を達成するためではなく、その手法の頑健性  
433 の特性解析をすることである。どの製造工程がどの程度のウイルス不活化/除去能力を有するの



434 かを明らかにすることが望ましい（第 6.3 章を参照）。これらの試験は、特定のウイルスによる  
435 リスクに対する安全性を評価するために行うわけではない。したがって、クリアランスに関して  
436 特定の数値目標が達成される必要はない。

## 437 6.1 ウイルスクリアランスの工程評価及び工程特性解析のためのウイルスの選択

438 クリアランス工程評価及び工程特性解析に使用されるウイルスとしては、製品を汚染する可能性  
439 のあるウイルスと同様とみなされるウイルス、及び一般的にウイルスを排除するためのシステム  
440 の能力をテストする目的に適う物理的・化学的に広範な特性を持ったウイルスを選択すべきであ  
441 る。製造業者は、工程評価試験及び工程特性解析試験の目的並びに本ガイドラインに従って、ウ  
442 イルスの選択の妥当性を説明する必要がある。

### 443 6.1.1 「関連ウイルス」と「モデルウイルス」

444 ウイルスクリアランス試験を実施する上での重要な点は、どのようなウイルスを使用するか決定  
445 することである。使用するウイルスは 1) 「関連ウイルス」、2) 「特異的モデルウイルス」及び  
446 3) 「非特異的モデルウイルス」の 3 つのカテゴリーに分けられる。

447 「関連ウイルス」とは、製造工程で使用される細胞基材、その他の試薬類や各種物質に混在する  
448 ことが知られているか、あるいは存在の可能性のあるウイルス類と同一又は同種のウイルスで、  
449 ウイルスクリアランスに関する工程評価試験に用いられるものである。精製工程や不活化工程が  
450 これら「関連ウイルス」を不活化/除去する能力があることを示す必要がある。この「関連ウイ  
451 ルス」の入手が困難であったり、ウイルススクリアランスに関する工程評価試験にうまく適用でき  
452 ない（例えば、*in vitro* で十分に高力価になるまで培養できない）場合には、代替として「特異的  
453 モデルウイルス」を用いることになる。適切な「特異的モデルウイルス」とは、存在が知られて  
454 いる、あるいは存在が疑われるウイルスに密接に関連しているウイルス、すなわち同一の属もし  
455 くは科のもので、検出されたウイルスあるいは存在が疑われるウイルスと類似した物理的・化学  
456 的性質を有するものである。

457 げっ歯類由来の細胞株には、通常、内在性レトロウイルス粒子又はレトロウイルス様粒子が存在  
458 しており、それらには感染性のもの（C 型粒子）又は非感染性のもの（細胞質 A 型又は R 型粒子）  
459 がある。それらの細胞由来の生産物については、その製造工程がげっ歯類レトロウイルスを不活  
460 化/除去する能力を有していることを明らかにしておく必要がある。このためには、ネズミ由来  
461 の細胞の場合、マウス白血病ウイルス（Murine Leukemia Virus）を「特異的モデルウイルス」と  
462 して用いるとよい。

463 CHO 細胞由来製品については、CHO 細胞由来の内因性ウイルス粒子もウイルススクリアランス試  
464 験に用いることができる。これらの粒子にに対して感染性試験は実施できないため、検出試験  
465 （例えば、分子生物学的手法や生化学手法）を使用する際は、その適格性を評価すること。エプ  
466 スタインバーウイルス（Epstein-Barr Virus）により B リンパ球を不死化することで得られたモノ  
467 クローナル抗体を分泌するヒト細胞株の場合は、その製造工程が（何らかの）ヘルペスウイル  
468 スを不活化/除去する能力を有することを明らかにしておくべきである。仮性狂犬病ウイルス  
469 （Pseudorabies Virus）も「特異的モデルウイルス」として使用できる。

470 ある工程がウイルスの除去や不活化に関して一般にどの程度の能力を有するかを解析することが  
471 目的である場合（すなわち当該工程が確実にウイルスクリアランス能力を発揮するという面での  
472 特性（robustness）を解析することが目的である場合）に実施するウイルスクリアランス特性解  
473 析試験では、異なる性質を持つ様々な「非特異的モデルウイルス」を用いる必要がある。「関連  
474 ウイルス」や「特異的モデルウイルス」を用いた試験により得られたデータが、こうした面での  
475 評価資料として利用できる場合もある。ウイルスタイプのすべてにわたって試験する必要はない。  
476 物理的処理や化学的処理に対して特に抵抗性を示すウイルスを優先して選択するべきである。そ  
477 れらのウイルスにより得られた結果は、製造工程のウイルス不活化/除去能力に関する一般的で  
478 有益な情報となる。どのようなウイルスを何種類選択するかは、細胞株の品質とこれをどう解析  
479 したかやどのような製造工程であるかに依存する。

480 広範囲な物理的・化学的構造を示す有用なモデルウイルスの例、及び過去にウイルスクリアラン  
481 ス試験に使用された実績のあるウイルスの例を付録2及び表A-1に示す。

#### 482 6.1.2 その他の留意事項

483 その他の留意点は以下のとおりである。

- 484 • 高力価の材料が調製できるウイルスが望ましい。ただし、これがいつも可能であるとは限  
485 らない。
- 486 • 使用するそれぞれのウイルスの検出に関して、試験対象の各製造工程において、効果的で  
487 信頼性の高いアッセイ法が確立されている必要がある。
- 488 • ウイルスの選択にあたっては、クリアランス試験従事者に健康被害をもたらす可能性を考  
489 慮するべきである。

### 490 6.2 ウイルスクリアランスの工程評価試験及び工程特性解析試験のデザインと実 491 施要領

#### 492 6.2.1 施設とスタッフ

493 製造施設に意図しないウイルスを持ち込むことは、GMP上からみて適切ではない。したがって、  
494 ウイルスクリアランス試験は、ウイルスを取り扱う上で適切な設備を備えた別の実験施設で行わ  
495 れるべきである。また、精製工程のスケールダウンを設計し、準備に関与した製造担当者とうい  
496 ルスの専門知識を有する者が共同して試験を実施するべきである。

#### 497 6.2.2 製造システムのスケールダウン

498 スケールダウンの妥当性を明らかにすること。スケールダウンした精製工程の各要素は、実際の  
499 製造工程をできるかぎり反映したものとすべきである。クロマトグラフ装置については、カラム  
500 ベッド高、線流速、ベッド容量に対する流速の比率（すなわち接触時間）、緩衝液やカラム充填  
501 材の種類、pH、温度、タンパク濃度、塩濃度及び目的物質濃度のすべてに関して、実生産スケ  
502 ールにおける製造のそれに相応していることを示す必要がある。また、溶出のプロフィールも同  
503 様のものが得られなければならない。同様な考え方をその他の工程についても適用すること。や

504 むを得ない事情により実際の製造工程を反映させることができない場合には、それが結果へどの  
505 ような影響を及ぼすかを考察しておくべきである。

### 506 6.2.3 ウイルス不活化/除去に関する製造段階毎の解析

507 ウイルスクリアランス試験を行う際、2 つ以上の製造工程ステップについて、それらがどのよう  
508 なウイルス不活化/除去能力を有するかの評価の実施を検討すること。ウイルスを不活化/除去す  
509 ることが予想される工程について、その能力を個々に評価し、それぞれが不活化工程なのか、除  
510 去工程なのか、あるいは不活化/除去いずれにも関与しているのかを検討する必要がある。各工  
511 程での効果を適切に評価するために、試験に供する各工程段階の試料には十分な量のウイルスを  
512 添加すべきである。通常は、試験対象となる各段階の出発物質（前段階から得られた工程内各  
513 中間製品）にウイルスを添加する。場合によっては、未加工/未精製バルクに高力価のウイルス  
514 を添加し、工程間のウイルス濃度を試験することで十分である。ウイルス除去が分離操作による  
515 場合で、適切かつ可能な場合には、ウイルスがどのように分離・分画されたのかを検討すること  
516 が望ましい。殺ウイルス能を有するような緩衝液を製造工程中で 2 つ以上の段階にわたって用い、  
517 スパイク試験を行うような場合、並行して殺ウイルス能の低い緩衝液を用いてスパイク試験を行  
518 うというような方策をとり、これを総合評価の一部に加えてもよい。評価対象である各工程段階  
519 を経る前と経た後で、ウイルスの力価を測定すること。感染性を定量するためのアッセイは十分  
520 な感度と再現性を有する必要がある。その結果に関して統計的に適切で妥当な処理が行えるよう、  
521 十分な測定サンプル数で実施すること。感染性を指標としない定量試験も、その妥当性を明らか  
522 にした上で使用してもよい。感染性試験を行う際には常に、感度を保証するために、適切なウイ  
523 ルスコントロールを含むべきである。また、低濃度のウイルス試料（例えば、ウイルス粒子数が  
524 1L 当たり 1~1000）を取り扱う場合、ウイルス試料のサンプリングの仕方によって生じる統計学  
525 上の問題を考慮に入れるべきである（付録 3 参照）。

### 526 6.2.4 不活化と物理的除去の区別

527 ウイルスの感染性はウイルスの不活化又は除去によって低減する。ウイルスクリアランスに関し  
528 て評価の対象とした各製造工程については、ウイルス量減少のメカニズムが不活化によるのか除  
529 去によるのかを推定し、記載すること。もし、ウイルスクリアランスが製品の安全性確保にとっ  
530 て重要な因子と考えられるにもかかわらず、（既存の）製造工程では感染性に関するクリアラン  
531 スが少ししか達成されない場合には、状況に応じて特別な不活化/除去工程あるいは付加的な不  
532 活化/除去工程を導入するべきである。特定の工程に関して、除去と不活化を区別する必要があ  
533 る場合もある。例として、複数のクリアランス工程で使用される緩衝液が、各工程の不活化に寄  
534 与する可能性が挙げられる。この場合、これらのクロマトグラフィー工程において共通に使用さ  
535 れる緩衝液による不活化への寄与分と、クロマトグラフィー工程の各々によって達成される除去  
536 とは区別されるべきである。

### 537 6.2.5 不活化に関する事前評価

538 ウイルスの不活化を評価するためには、未加工/未精製の原材料（未加工/未精製バルク）あるい  
539 は中間製品に感染性のウイルスをスパイクし、減少度を計算すべきである。ウイルスの不活化は  
540 単純な 1 次反応でなく、通常、速い「第 1 相」と遅い「第 2 相」から構成される複雑な反応であ  
541 ることに留意すべきである。それゆえ、試験に際しては、時間を変えて検体をサンプリングし、

542 不活化曲線が描けるように計画すべきである。不活化試験においては、最短曝露時間でのポイント  
543 トに加えて、曝露ゼロ時より長く、かつ最短曝露時間よりも短い時間でポイントを少なくとも  
544 1点はとることを勧める。試験対象としているウイルスが、ヒトへの病原性が知られている「関  
545 連ウイルス」である場合には、その不活化に効果的な工程をクリアランス試験に組み込むよう計  
546 画し、さらに詳しいデータ（より多数のポイント）をとることが、特に重要である。一方、「非  
547 特異的モデルウイルス」を用いた不活化試験、あるいは「特異的モデルウイルス」を使用する不  
548 活化試験でも、CHO 細胞の細胞質に存在するレトロウイルス様粒子のようなウイルス粒子に対  
549 する代替ウイルスを用いるという場合には、少なくとも 2 回の独立した試験を実施して、クリア  
550 ランスにおいて再現性があることが示されればよい。ウイルス負荷量は、可能な限り、スパイク  
551 した出発物質中のウイルス量の実測値に基づいて定めるべきである。これが不可能な場合、スパ  
552 イクに用いられるウイルス溶液の力価からウイルス負荷量を算出することになる。試験対象の工  
553 程条件下では不活化があまりにも速く、不活化曲線を作成することができない場合、実際に不活  
554 化により感染性が失われていることを、適切な試験系により示す必要がある。

#### 555 6.2.6 カラムの機能と再利用

556 精製工程に使用するクロマトグラフ用カラムとその他の装置のウイルスを除去する能力は、経時  
557 的に、あるいは繰り返し使用した後に変化する可能性がある。クロマトグラフ用培地/樹脂の耐用  
558 期間を示し、ウイルスクリアランスに影響する重要工程パラメータを規定すること。

559 プロテイン A アフィニティーキャプチャークロマトグラフィーについては、事前知識（prior  
560 knowledge）によると、ウイルス除去効果はクロマトグラフィー担体/樹脂が使用済み（使用終了  
561 時等）であっても影響を受けない、又はウイルス除去効果がわずかに増加することが確認されて  
562 いる。そのため、使用済み樹脂を用いて製品に固有の試験を実施する必要はない。事前知識は、  
563 ウイルスクリアランスに関わる他の種類のクロマトグラフィー（例えば、陰イオン交換又は陽イ  
564 オン交換クロマトグラフィー）にも適用できる。したがって、他のクロマトグラフィータイプで  
565 の繰り返しの樹脂の使用を裏付けるためには、耐用期間終了時点の樹脂を用いた製品固有のウイ  
566 ルスクリアランス試験を行う代わりに、社内経験を含む同等の事前知識及び詳細な妥当性の説明  
567 を提出すること。

568 これらの再利用にあたっては、保持される可能性のあるウイルスは、すべて適切に破壊あるいは  
569 除去されていることを保証しておくべきである。例えば、洗浄手順や再生手順でウイルスが不活  
570 化/除去されることを証明することによって、そのような保証としてよい。

#### 571 6.2.7 特別な留意事項

572 以下の具体的な留意事項を考慮に入れること。

- 573 ● 高力価のウイルスを調製する場合には、凝集を避けるよう注意を払うべきである。さもな  
574 くば、物理的除去が過大に評価されたり、不活化が過小に評価され、実際の製造での状況  
575 を反映しなくなる可能性が生ずる。
- 576 ● 評価に値するウイルスアッセイ結果が得られるような最小ウイルス量に留意すべきである。

- 577 ● 力価を測定するにあたっては、測定に至るまでの試料の希釈、濃縮、濾過あるいは保管などによりウイルス感染性が減少するかどうかを評価するため、並行したコントロール実験を含むべきである。
- 578
- 579
- 580 ● 添加（スパイク）するウイルスは、製品の特性を変えたり希釈することがないような少ない容量で製品に添加されるべきである。希釈された試験試料中のタンパク質は、実生産スケールで得られる製品中のそれと全く同一とはいえないからである。
- 581
- 582
- 583 ● 例えば、緩衝液、培地あるいは試薬類におけるわずかな相違が、ウイルスクリアランスに大きな影響を及ぼす可能性についても留意すべきである。
- 584
- 585 ● ウイルスの不活化は時間に依存するので、スパイクされた試料が特定の緩衝液あるいは特定のクロマトグラフ用カラム内に存在する時間の長さは、商業生産スケールの工程条件を反映したものであるべきである。
- 586
- 587
- 588 ● 緩衝液や製品は指示細胞に望ましくない影響を及ぼす可能性がある。したがって、これらのウイルス力価測定法に対する毒性作用又は干渉作用をそれぞれ個別に評価して、測定に支障のないような対策を講ずるべきである。緩衝液が指示細胞に対して毒性を有する場合は、希釈、pHの調整、あるいはスパイクウイルスを含む緩衝液の透析等を試みるとよい。製品そのものが抗ウイルス活性を持っている場合、疑似的なアプローチ（mock run）、すなわち製品そのものは含まない条件下でのクリアランス試験を実施する必要がある。しかし、製造工程によっては、製品を除去すること又は抗ウイルス活性を持たない類似タンパク質で代替することがウイルスの挙動に影響することもありうる。また、例えば、透析、保存など、測定試料調製の手順による影響をみるために、同様な調製手順を経るコントロール試験も実施する必要がある。
- 589
- 590
- 591
- 592
- 593
- 594
- 595
- 596
- 597
- 598 ● 同様な緩衝液又はカラムを複数の精製工程で繰り返し使用するケースでは、データを解析する際に、この繰り返し使用の影響を考慮すべきである。ウイルス除去の効果は、その方法が使用される製造工程の段階により変化する可能性があることに留意する必要がある。
- 599
- 600
- 601 ● 総ウイルスクリアランス指数は、製造条件が非常に強い殺ウイルス性を有している場合、あるいは緩衝液などが指示細胞に対し非常に強い毒性や殺ウイルス性を有している場合には過小評価される可能性があるため、ケースバイケースの考え方に立脚して議論されるべきである。逆に、総ウイルスクリアランス指数は、ウイルスクリアランス試験に固有の限界ないしは不適当な試験計画のために過大評価される場合もあることに留意する必要がある。
- 602
- 603
- 604
- 605
- 606

### 607 6.3 ウウイルスクリアランス試験の解釈

608 ウイルスの不活化/除去に関する評価の目的は、ウイルス不活化や除去に有効であると考えられる工程について工程評価及び工程特性解析すること、並びにそれらの各工程を併せて、全体としてウイルスがどの程度減少したかを定量的に評価することにある。ケース B から E のようにウイルス汚染がみられる場合、当該ウイルスが排除あるいは不活化されたということのみでなく、ウ

609

610

611

612 イルスクリアランスに関して必要な程度を上まわる能力が精製工程に組み込まれていて、最終製  
613 品の安全性が適切なレベルに確保されていることを示すことが重要である。製造工程により除去  
614 され、あるいは不活化されたウイルスの量は、未加工/未精製バルク中に存在が推定されるウイ  
615 ルス量と比較されるべきである。

616 比較をする上で、未加工/未精製バルク中のウイルス量を測定することが重要である。この測定値  
617 は、感染性の測定あるいはその他の方法、例えば電子顕微鏡観察 (TEM) や定量的な核酸増幅法  
618 (NAT) により、得られるべきである。精製工程全体を通して評価した場合、1 回の臨床投与量に  
619 相当する未加工/未精製バルク中に存在すると推定されるウイルス量をはるかに上まわる量のウイ  
620 ルスを、排除することができなければならない。イルスクリアランス指数の計算に関しては付  
621 録 4 を参照すること。また、投与量当たりの推定粒子数の計算に関しては付録 5 を参照すること。  
622 クリアランスの機構はウイルスの種類によって異なる可能性があることを認識する必要がある。  
623 ウイルス不活化/除去工程の有効性に関するデータを評価する際には、以下のような様々な要因を  
624 組み合わせて考察する必要がある。

- 625 • 試験に使用されたウイルスの適切さ。
- 626 • クリアランス試験のデザイン。
- 627 • 対数で表されるウイルス減少度。
- 628 • 不活化の時間依存性。
- 629 • ウイルス不活化/除去に関するプロセスパラメータのばらつきによる影響。
- 630 • ウイルスアッセイ法の感度。
- 631 • ある不活化/除去工程が特定種類のウイルスに特に有効である可能性。

632 潜在的なウイルス汚染物質を幅広く除去する下流工程を設計することが推奨される。またその際  
633 は、実施が可能であり製品に負の影響を及ぼさない限りは、それぞれの作用機序を補完する 2 つ  
634 の異なる有効な工程ステップを設定することが望ましい。製造工程の 1 つの工程ステップでは、  
635 非エンベロープウイルスを効果的に除去する必要がある。通常、イルスクリアランス工程とし  
636 て有効であることを示すためには、少なくとも 2 回以上の独立した試験により添加ウイルス量の  
637 4 log 以上の低減に再現性があることを立証する必要がある。しかし、1~3 log の低減を達成する  
638 再現性のある工程は、ウイルス安全性に寄与しているため、全体的なイルスクリアランスの評  
639 価において考慮に入れてもよい。有機溶媒/界面活性剤処理、界面活性剤単独による処理、ウイ  
640 ルスろ過 (ナノろ過) 又は低 pH 条件下での培養といった、ウイルス不活化/除去に特化した工程  
641 ステップは、広範囲のウイルスの除去に非常に有効である。小型パルボウイルス又はポリオーマ  
642 ウイルスについては、小型ウイルスの除去用に設計されたウイルスフィルターによるろ過も有効  
643 なイルスクリアランス工程ステップである。最後に、モノクローナル抗体を精製するためのプ  
644 ロテイン A キャプチャー工程後に低 pH 条件下で保持することにより、異種指向性マウス白血病  
645 ウイルス (XMuLV) 及び仮性狂犬病ウイルスが効率的に不活化されることがこれまでの経験か  
646 ら示されている。

647 許容可能な全体的なウイルスクリアランスは、例えば、不活化工程が2段階以上ある場合、相互補  
648 完的分離工程が複数ある場合、あるいは不活化及び分離工程が複数組み合わせられたような場合に、  
649 達成される。分離工程においては、個々のウイルスが持つ際だって特異的な物理的・化学的特性  
650 がクロマトグラフィーの固定相（樹脂やクロマトグラフィー用ろ過膜など）との相互作用や沈降  
651 特性にどのように影響するのかに大きく依存する場合がある。そのため、モデルウイルスが目的  
652 ウイルスとは異なる機序により分離される可能性がある。分離に影響するパラメータにはどのよ  
653 うなものがあるかを明らかにして、これらを適切に管理する必要がある。糖鎖付加のようなウイル  
654 スの表面特性の変化によって、分離状況に違いが生ずる可能性がある。しかしながら、こうし  
655 た変動要因にもかかわらず、相互補完的分離工程の組み合わせ、あるいは不活化工程と分離工程  
656 との組み合わせにより、効果的なクリアランスが達成される。したがって、クロマトグラフィー  
657 工程、濾過工程及び抽出工程等のような分離工程で、十分に吟味してデザインしたものは、適切  
658 にコントロールされた条件下で操作を行った場合、効果的なウイルス除去工程となりうる。

659 総クリアランス指数は、通常、個々のクリアランス指数の総和として示される。しかし、ウイル  
660 ス力価の除去が  $1 \log_{10}$  以下の場合には、合理的な理由がない限り加算しない。

661 ウイルスクリアランスが製品の安全性確保にとって重要な因子と考えられるにもかかわらず、製  
662 造工程による感染性に関するクリアランスの達成度が不十分である場合には、1つ又は複数の特  
663 別な不活化/除去工程あるいは追加的な不活化/除去工程を新たに導入すべきである。製造業者は、  
664 得られたクリアランス指数が受け入れ可能かどうかについて、関係するすべてのウイルスを念頭  
665 において評価し、その妥当性を示すべきである。結果を評価する際には、上記の要因を考慮する  
666 こと。

#### 667 6.4 ウイルスクリアランス試験の限界

668 ウイルスクリアランス試験は、最終製品がウイルス安全面からみて受け入れられるレベルに達し  
669 ているという確証を得るのに寄与はするが、それそのものが安全性を保証するわけではない。ま  
670 た、ウイルスクリアランス試験のデザインや実施にかかわる様々な要因が、製造工程のウイルス  
671 感染性除去能力について誤った評価に導くおそれもある。このような要因には以下のものがある。

- 672 ● 製造工程のクリアランス試験に使用されるウイルス標品は、通常、特定の細胞を培養する  
673 ことにより製造される。製造工程におけるこのようなスパイクされたウイルスの挙動は、  
674 細胞培養培地中の生物原料由来のウイルス汚染物質の挙動や製造細胞中での複製における  
675 本来のウイルスの挙動とは異なる可能性がある。例えば、スパイクするウイルス粒子や、  
676 各製造中間体の本来の (native) ウイルスの純度や凝集の程度が異なる場合などが考えら  
677 れる。
- 678 ● ウイルス感染性の不活化は、しばしば急速な初期相とそれに続く遅い相からなる 2 相性の  
679 曲線を示す。そのような工程で不活化を免れたウイルスは、次の不活化工程でより強い抵  
680 抗力を示す可能性がある。例えば、抵抗性画分が凝集形態をとるとすれば、各種化学的処  
681 理や熱処理に対しても抵抗性を示す可能性がある。

- 682 ● ウイルスの除去又は不活化を示す総クリアランス指数は、対数で表された各精製段階での  
683 減少度を加算することにより算出される。しかし複数の工程、特にほとんど減少を伴わない  
684 工程（例えば  $1 \log_{10}$  以下の工程）の減少度を加算すると、工程全体を通してのウイルス  
685 除去能力を過大評価してしまう可能性がある。また、製造工程中の類似の不活化機構で得  
686 られた各ウイルスクリアランス指数を加算することにより総クリアランス能を過大評価す  
687 る可能性がある。なお、同一又は近似した方法を繰り返して達成されたクリアランス指数  
688 を加算する場合は、合理的な理由を示すこと。
- 689 ● ウイルス力価の減少度を対数で表してクリアランス指数とするため、残存感染性ウイルス  
690 量が著しく低減することは示されるが、力価は決してゼロにはならないという限界がある。  
691 例えば、1 mL 当たり  $8 \log_{10}$  感染単位を含む標品から感染性が  $8 \log_{10}$  低減したとしても、試  
692 験の検出限界をも考慮すれば、1 mL 当たりゼロ  $\log_{10}$ 、すなわち 1 感染単位を残しているこ  
693 となる。
- 694 ● スケールダウンした工程のデザインに万全を期したとしても、実生産スケールとスケール  
695 ダウン工程に違いが生じる可能性がある。

## 696 6.5 統計

697 ウイルスクリアランス試験における結果の評価にあたっては統計学的手法を活用してデータを解  
698 析する必要がある。また、得られた結論が支持されるためには、試験結果の妥当性が統計学的に  
699 検証されたものである必要がある（付録3参照）。

## 700 6.6 ウィルスクリアランスの評価に関する事前知識 (Prior Knowledge) の適用

701 一般的な原則として、ウィルスクリアランスは、各製品の各工程段階から得られた工程中間体に  
702 ウィルスをスパイクする試験によって評価する。製造業者が、確立され、十分に特性解析された  
703 工程により（すなわち、同一のプラットフォーム技術を用いて）類似の製品を開発している場合  
704 は、他の製品から得られたウィルスクリアランスデータを、同一の工程ステップを用いた新規製  
705 品の製造に適用できる場合がある。しかし、他製品の工程ステップのデータを利用するためには、  
706 その工程ステップについて十分に理解していなければならない。そのため、その工程ステップに  
707 ついての事前知識を他製品の製造に適用することの妥当性を明確に示す必要がある。社外及び社  
708 内での経験に基づく事前知識を適用する際は、以下に概説する要件を全て満たすこと。

- 709 ● ウィルスクリアランスの機序を理解していること。
- 710 ● ウィルスクリアランスに影響を及ぼす可能性のあるすべての工程パラメータを理解して  
711 いること。
- 712 ● ウィルスと製品との相互作用がウィルスクリアランスに影響を及ぼさないことを明確に  
713 すること。
- 714 ● 特定の工程中間体の組成は、ウィルスクリアランスに影響を及ぼす可能性がある。工程  
715 ステップによっては、例えば緩衝液、培地、試薬、濃度及び不純物プロファイルなどの



716 わずかな差異であっても、ウイルスクリアランスに大きな影響を及ぼす場合がある。そ  
717 のため、工程中間体の組成について、事前知識を他製品の製造に適用することの妥当性  
718 を明確に示すこと。また、新規及び確立された製品についての特定の段階の前の工程処  
719 理は、工程中間体の組成に関してウイルスクリアランスの頑健性を示す事前知識がない  
720 限り、同様の戦略に従うこと。

721 ● 特定の製品に事前知識を適用する場合には、第 6.4 章に概説するウイルスクリアランス試  
722 験についての一般的な制限事項を考慮に入れること。

723 また社外の事前知識（公表データを含む）から、ウイルスの不活化/除去工程の工程能力の裏付  
724 けや、関連する機序についての知見が得られる場合がある。このようなデータは、重要工程パラ  
725 メータを規定する際、また特定のウイルスクリアランス工程の試験でのワーストケースの限度値  
726 を設定する際にも用いることができる。ワーストケース条件下でウイルスクリアランス試験を実  
727 施することは、製品固有の試験の数を減らすことに繋がる。しかし、公表されているウイルスク  
728 リアランス指数を特定の製品に適用する場合には、関与する異なる製品の製造について工程の同  
729 等性/同質性、製品中間体の同等性/同質性、及び製品固有の特性がウイルス低減に影響を及ぼさ  
730 ないことの保証を実証することによって妥当性を説明する必要がある。したがって、公表されて  
731 いるデータについては、慎重に評価し、所定のプラットフォーム技術に関する社内経験（社内の  
732 事前知識）で補完すること。

733 製品固有の試験を行わずにウイルスクリアランスデータが許容できるかどうかの判断は、細胞基  
734 材及び原料の性質及び特性を含む医薬品等の全体的なウイルス安全性コンセプト並びに全体的な  
735 ウイルスクリアランス戦略を考慮しながら、ケースバイケースで行う。データパッケージにより  
736 事前知識の妥当性が十分に裏付けられない場合は、製品固有のウイルスクリアランス試験を実施  
737 すること。

738 事前知識を使用して総クリアランス指数（LRV）を想定する場合は、関連するプラットフォーム  
739 データから得られたすべての LRV を考慮して、主張の妥当性を示す必要がある。工程ステップ  
740 のウイルスクリアランス能を過大評価するリスクを避けるために、保守的な LRV を主張するこ  
741 とを推奨する。

742 付録 6 は、現行の工程知識に従い、他製品からのウイルス減少データなど社内経験を含む事前知  
743 識を、同一の製造プラットフォームで製造する新製品の LRV を主張するために使用できる場合  
744 を示す。

## 745 6.7 ウイルスクリアランスの再評価が必要な場合

746 生産工程又は精製工程を変更する場合には、必ず、その変更がウイルスクリアランス能力に関し  
747 て、直接又は間接に影響しないかを考慮し、必要に応じてシステムを再度検証する必要がある。  
748 例えば、生産工程を変更すると、細胞株によって生み出されるウイルス量に重大な変化を引き起  
749 こす可能性がある。また、工程ステップを変更すると、ウイルスクリアランスの程度が変わる可  
750 能性がある。

751 ライフサイクルマネジメントにおける製造工程の変更で、ウイルスクリアランスの有効性に影響  
752 を与える可能性のある変更は、社内知識及びプラットフォーム概念を用いて評価することができる  
753 である。他製品についての社内知識（社内での経験）を特定の製品に外挿できない場合や、プラット  
754 フォーム概念をそれ以上適用できない場合は、製品固有のウイルスクリアランス試験を実施しな  
755 ければならない。

## 756 7. 連続生産プロセスを行う場合に考慮すべき点

757 連続生産（CM）プロセスは、原材料、工程中間体、出発物質が連続的に製造工程に投入され、  
758 製品が製造工程を通じて排出され続けるといった、複数の単位操作が統合された動的システムで  
759 ある。CM は一部又はすべての単位操作に適用できる。各単位操作に加え、統合された工程及び  
760 その動的関係（dynamics）を理解することは、ウイルス安全性に対するリスクを特定し、軽減す  
761 るために不可欠である。治療用タンパク質の製造のための CM 工程の種類の説明は、ICH Q13  
762 （付録3）に示されている。

763 ウイルス安全性に関して、連続生産（CM）の技術的側面は、例えばウイルスの検出及び除去の  
764 概念、原料のトレーサビリティ、システム力学、起動/停止時のモニタリング頻度、先進的な工  
765 程管理、プロセスバリデーション、プロセスモデル、及び継続的工程確認（ベリフィケーション）  
766 などの点で、バッチ製造で遭遇する技術的側面とは異なる可能性がある。

767 しかし、工程理解に基づく基本原則及び期待事項（科学及びリスクに基づくアプローチ並びにウ  
768 イルスリスクを管理するためのそれらの実施など）は、バッチ製造の場合と同じである。これに  
769 は汚染防止戦略も含まれる（第 2.2 章参照）。例えば、バッチ製造の経験又は事前知識（Prior  
770 Knowledge）に基づくウイルスを不活化又は除去する物理的、化学的条件は、動的な製造工程に  
771 おいてもウイルスクリアランスに関する工程パラメータについて目標とする管理状態が確保され  
772 ている場合には適用できる（第 6.6 章参照）。

### 773 7.1 CM プロセスにおけるウイルス安全性

774 CM 工程におけるウイルスの管理は、潜在的な汚染源（出発物質、原材料及び長期間の細胞培養  
775 など）、製造工程のウイルス除去能及びウイルスの不存在を保証できる試験能力についてのリス  
776 クアセスメントに基づき実施すること。第 3 章及び第 4 章に記載された試験に関するガイダンス  
777 も CM に適用されると考えられる。リスクアセスメントに基づき、細胞培養及びその他の下流工  
778 程中に汚染がないことを示すために実施する外来性ウイルス試験の種類及び頻度を含めた戦略を  
779 策定すること

### 780 7.2 CM におけるウイルスクリアランスについての一般的な留意事項

781 製造工程及びウイルスクリアランス試験の設計の際には、以下の点を考慮に入れること。

- 782 • 製造工程は部分的に連続運転又は連結操作モードで行う場合があり、適切な場合は、バ  
783 ッチ製造工程から得られたウイルスクリアランス試験の設計に関する知識/経験を単位操  
784 作の評価に使用することができる。

- 785       • ウイルスクリアランス能への影響を網羅するために、各单位操作及び装置間の接続  
786       （例：流量の差異や投入材料の不均一性を低減するための、単位操作間でのサージタン  
787       クや混合タンクの使用）の潜在的リスクを評価すること。
- 788       • 意図しない外乱又は外来性のウイルス汚染を検出するために適切な工程モニタリング及  
789       びサンプリング戦略を整備すること。リアルタイムの意思決定を実施する場合は、外乱  
790       又は汚染が排出された物質の品質及び製品に及ぼす影響を判断する手順を含める必要が  
791       ある。影響に応じて、生産物の流れから不適合の恐れのある物質のダイバート又は処分  
792       を考慮することが望ましい。
- 793       • ウイルスクリアランス試験を設計する際は、該当する場合、以下の潜在的影響を考慮に  
794       入れること。
- 795           ○ 投入する物質の特性の変動（例：ウイルス量、タンパク質又は不純物の濃度及び  
796           均一性、凝集の程度）
  - 797           ○ 流量、一時的な外乱又は停止
  - 798           ○ 試料負荷能力
  - 799           ○ マルチカラムのサイクル
- 800       CMには、ウイルス安全性に関して考慮すべき特有の側面もある。

#### 801   7.2.1   細胞培養期間の延長に関連する潜在的リスク

802       内因性レトロウイルス濃度は生産培養で経時的に変動する可能性があるため、製剤の用量リスク  
803       因子の算出に影響を及ぼさないように適切なサンプリング時点を設定して評価すべきである（細  
804       胞株の適格性については第4項及び第3項の検討事項を参照）。

#### 805   7.2.2   ウイルススクリアランス試験へのアプローチ

806       連続生産（CM）プロセスでは管理できた状態を維持することが期待されるが、製造工程には、  
807       開始時、終了時及び一時的な工程外乱の際に工程出力が変動する可能性がある期間が含まれる  
808       （例：ウイルス汚染の場合の短時間の高ウイルス負荷の可能性）。このような期間のリスクは、  
809       本ガイドラインの他の箇所では取り上げられているクリアランス試験のベストプラクティスを行う  
810       ことで対処することができる。以下にCM特有の留意事項を示す。

- 811       • クロマトグラフィー
  - 812           ○ サブバッチを繰り返す（例えば、マルチカラム）製造工程では、十分に妥当性  
813           が示された目標工程条件（例えば、流速、樹脂負荷対カラム過負荷、樹脂洗浄  
814           性）においてバッチプロセスをスケールダウンモデルとして使用することがで  
815           きる。
  - 816           ○ 装置設計及びシステム統合（例えば、陽イオン交換クロマトグラフィー  
817           （CIEX）の結合及び溶出モードと陰イオン交換クロマトグラフィー（AEX）  
818           のフロースルーモード）によっては、接続された2つ以上の単位操作について  
819           同時にバリデーションを実施することは選択肢の一つとしてもよい。ただし、

820 すべての単位操作がウイルスクリアランスにおいて評価される場合に限る。接  
 821 続した単位操作において、チャレンジ物質の負荷量がバッチ操作と変わらない  
 822 場合は、従来のスケールダウンモデルでの評価が可能である。

823 • 低 pH 処理や有機溶媒/界面活性剤による不活化

824 ○ 妥当性が十分に説明された目標工程条件においては、バッチ工程としてのバ  
 825 リデーションを行うことができる。

826 ○ ウイルス不活化（例：pH 処理及び溶媒/界面活性剤による処理）については、  
 827 関連する動的工程パラメータの管理を確実に行う必要があります（例：pH、  
 828 溶媒/界面活性剤濃度、均質性及び混合、温度、滞留時間）。

829 ○ スケールダウンモデルを動的工程における不活化に適用する場合は、スケ  
 830 ールの影響（例：滞留時間分布）の評価/妥当性の立証は慎重に行うこと。

831 • ウイルスろ過

832 ○ ウイルスクリアランスに影響を及ぼすパラメータの設定がウイルスクリアラ  
 833 ンス試験で試験された範囲を超える変動を示さない場合（例：ワーストケース  
 834 の設定値）、バッチ製造工程のバリデーションデータの利用が適切である場  
 835 合がある。

836 ○ ウイルスクリアランス能を維持しながら、フィルターの交換やフィルター使  
 837 用後の完全性試験ができるように工程管理を規定する必要がある。工程管理  
 838 には、継続的なプロセスを中断しないこと、及びフィルターの不具合の際に  
 839 原料のダイバージョンを可能にすることが含まれる。

840 **8. まとめ**

841 このガイドラインは、ウイルス汚染の危険性を評価し、製品からウイルスを排除し、もってヒト  
 842 又は動物細胞由来の安全なバイオテクノロジー応用医薬品等を製造するためにどのようなアプロ  
 843 ーチをすればよいかを示唆している。また、そのうち特に重要な方策を以下に示す。

844 • 出発素材である細胞基材につき徹底的な解析とスクリーニングを行い、どのような  
 845 ウイルス混入があるかを確認すること。

846 • ヒト細胞指向性の判定又はヒト感染についての知見により潜在的リスクを評価する  
 847 こと。

848 • 未加工/未精製バルクにおいて外来性ウイルスを検出するための適切な試験計画を設  
 849 定すること。

850 • 周到なウイルスクリアランス試験計画を立てること。ウイルスクリアランスを最大  
 851 限達成するために、製造工程中にウイルスの除去/不活化に関する各種の方法を用い  
 852 ること。

853 • ウイルス不活化及び除去を評価する試験を実施すること。

854 **9. 用語解説**855 **外来性ウイルス (Adventitious Virus)**

856 「ウイルス」を参照すること。

857 **細胞基材 (Cell Substrate)**

858 医薬品等の製造のために用いられる細胞。

859 **製造終了時の細胞 (EOPC) (End of Production Cells)**

860 MCB 又は WCB から (製造で使用するものと同等の条件で) ハーベストした細胞を、製造終了時  
861 の継代レベル又は細胞数倍加レベルと同等又はそれを超えるレベルまで培養したもの。つまり、  
862 製造終了時の細胞 (EPOC) とは *in vitro* 細胞齢の上限 (LIVCA) まで又は LIVCA を超えて培養  
863 された細胞 (CAL) のことを指す。

864 **内在性ウイルス (Endogenous Virus)**

865 「ウイルス」を参照すること。

866 ***In Vitro* 細胞齢 (In Vitro Cell Age)**

867 マスター・セル・バンク (MCB) の融解時より、製造容器から培養細胞 (又は培養液) をハー  
868 ベストするときまでの時間的尺度で、培養期間、細胞数倍加レベル (PDL)、又は培養細胞液を  
869 一定の倍数で希釈して継代する場合の細胞継代数で示される。

870 **不活化 (Inactivation)**

871 化学的又は物理的处理によって引き起こされるウイルス感染性の減少。

872 **マスター・セル・バンク (MCB) (Master Cell Bank)**

873 単一の細胞プールからの分注液で、一般的には、選択されたクローン細胞株から一定の方法で調  
874 製され、複数の容器 (アンプルやバイアル) に分注され、一定の条件下で保存される。MCB は  
875 WCB を調製するのに用いられる。

876 **マスターウイルスシード (MVS) (Master Virus Seed)**

877 マスターウイルスシード (ストック、ロット又はバンク) は、将来の製造の全ての起源となるワ  
878 クチンウイルス、ヘルパーウイルス等又はウイルスベクターのウイルス株である。

879 **最短曝露時間 (Minimum Exposure Time)**

880 不活化処理段階における時間設定の根拠となった最大限の不活化に必要な最短時間。実際の製造  
881 工程における曝露時間は、最短曝露時間を十分超えた時間として設定される。

882 **次世代シーケンシング (NGS) (Next Generation Sequencing)**

883 ハイスループットシーケンシング (HTS)、大規模並列シーケンシング (MPS)、又はディープ  
884 シーケンシングとも呼ばれる、既知及び未知の外來性感染性物質を区別することなく検出するた  
885 めの広範な能力を有する複数の段階からなる核酸解析技術。場合によっては、既知のウイルスの  
886 標的検出に NGS を使用することができる。

887 **プラットフォーム製造 (Platform Manufacturing) (ICH Q11 に従う)**

888 同一の申請者が同じタイプの他の医薬品を製造するために使用したことがある、同様の製造工程  
889 からなる新医薬品の製造戦略に関する開発の方法論 (例えば、あらかじめ確立されている宿主細  
890 胞、細胞培養、及び精製工程を利用した、すでに十分な経験のあるモノクローナル抗体の製造)。

891 **プラットフォームバリデーション (Platform Validation)**

892 本ガイドラインでは、ウイルスクリアランスについて実施するプラットフォームバリデーション  
893 のことを指す。

894 また本文書ではプラットフォームバリデーションとは、現行の工程知識に従い、他製品から得ら  
895 れたウイルス減少データなど社内経験を含む事前知識を使用して新規の類似製品のウイルスクリ  
896 アランスを主張することと定義される。

897 **事前知識 (Prior Knowledge)**

898 事前知識とは、これまでに得られた既存の知識を指し、社内知識 (例えば、開発や製造の経験)、  
899 社外知識 (例えば、ベンダーのデータ、文献、ピアレビューされた出版物を含む科学技術論文)  
900 又は確立された科学的原則 (例えば、化学、物理学、工学原理) の適用などが含まれる。

901 **ウイルスクリアランス工程特性解析試験 (Process Characterization of Viral Clearance)**

902 製造工程がウイルスの不活化/除去能力を確実に発揮するという面での特性 (robustness) を解析  
903 することを目的に、「非特異的モデルウイルス」を用いて行われるウイルスクリアランス試験。

904 **ウイルスクリアランス工程評価試験 (Process Evaluation Studies of Viral Clearance)**

905 存在が知られているか予測されるウイルスに関して製造工程が有する不活化/除去能力を解析す  
906 ることを目的に、「関連ウイルス」や「特異的モデルウイルス」を用いて行われるウイルスクリ  
907 アランス試験。

908 **ウイルスクリアランス工程の頑健性 (Process Robustness of Viral Clearance)**

909 「頑健性」という用語は、ウイルスクリアランス工程の 2 つの異なる特性の内の 1 つの特性を説  
910 明するために用いられる。1 つ目の特性である、ウイルスの除去に負の影響を及ぼすことなく、  
911 材料の変動や工程の変更に耐える工程又は工程ステップの能力を頑健性という。ウイルスクリア

912 ランス工程の 2 つ目の特性は、広範囲の特異的及び非特異的モデルウイルスを除去する能力である。  
913

914 **製造用細胞 (Production Cells)**

915 医薬品等を製造するために用いられている細胞基材。

916 **補完試験法 (Supplementary Test Method)**

917 従来の試験法を改良する目的でデータを提供するために用いる試験方法。被験物質の干渉や毒性  
918 など、既存の試験方法の限界を克服するために用いる試験方法を指す。

919 **未加工/未精製バルク (Unprocessed Bulk)**

920 生産培養後にハーベストされた細胞及び培養液の単一又は複数のプール。未加工/未精製バルクは、  
921 必ずしも細胞を含むとは限らず、培養液のみからなる場合もある。

922 **ウイルス (Virus)**

923 病原性を示す可能性があり、単一のタイプの核酸 (RNA もしくは DNA のいずれか) を有し、成長  
924 も 2 分裂もせず、それらの遺伝物質が細胞内で複製する感染単位。

925 **外来性ウイルス (Adventitious Virus)**

926 意図に反して迷入したウイルス。

927 **内在性ウイルス (Endogenous Virus)**

928 本来は、ゲノムが細胞株と同一の生物種のジャームライン (生殖系列の遺伝子) の一部で  
929 あり、親細胞株の起源動物のゲノム中に共有結合的に組み込まれたウイルス。本ガイドラ  
930 インでは、細胞基材を不死化するために用いられたエプスタイン-バーウイルス (Epstein-  
931 Barr Virus, EBV) またはウシパピローマウイルス (Bovine Papilloma Virus) など、意図的  
932 に導入され、宿主ゲノムには組み込まれていないウイルスを指す。

933 **ヘルパーウイルス等 (Helper Virus)**

934 本ガイドラインにおいてヘルパーウイルス等とは、製品の発現又は複製を可能にする機能  
935 を提供するウイルス又はウイルスベクターを指す。

936 **非特異的モデルウイルス (Non-Specific Model Virus)**

937 製造工程がウイルスの除去や不活化に関して一般にどの程度の能力を有するかを解析する  
938 目的 (すなわち工程が確実にウイルスクリアランス能力を発揮するという面での特性  
939 (robustness) を解析する目的) で行うウイルスクリアランス工程特性解析試験に使用され  
940 るウイルス。

941 **関連ウイルス (Relevant Virus)**

942 製造工程で使用される細胞基材、その他の試薬類や各種物質に混在することが知られてい  
943 るか、あるいは存在の可能性があるウイルス類と同一又は同種のウイルスで、ウイルスク  
944 リアランス工程評価試験に用いられるもの。

945 **特異的モデルウイルス (Specific Model Virus)**

946 存在が知られている、あるいは存在が疑われるウイルスに、密接に関連しているウイルス。  
947 すなわち、同一の属もしくは科のもので、検出されたウイルスあるいは存在が疑われるウ  
948 イルスと類似した物理的・化学的性質を有するもの。

949 **ウイルスクリアランス (Viral Clearance)**

950 対象ウイルスを、ウイルス粒子の除去又はウイルス感染性の不活化により排除すること。

951 **ウイルス様粒子 (Virus-Like Particles)**

952 電子顕微鏡下で形態的に既知ウイルスとの関連性がうかがわれる構造体。

953 **ウイルス除去 (Virus Removal)**

954 目的とする製品からのウイルス粒子の物理的分離。

955 **ウイルスベクター (Viral Vector)**

956 遺伝子治療用製品又はウイルスベクターワクチンとして *in vivo* で使用される、又はその他の高度  
957 な治療用途のために *ex vivo* で使用される遺伝子組換えウイルス。遺伝子組換えウイルスベクター  
958 の製造にはヘルパーウイルス等が必要となる場合がある。

959 **ウイルスベクター由来製品 (Viral Vector-Derived Product)**

960 遺伝子組換えウイルスによってコードされ、発現される製品。遺伝子組換えウイルスベクターの  
961 製造にはヘルパーウイルス等が必要となる場合がある。

962 **ワーキング・セル・バンク (WCB) (Working Cell Bank)**

963 WCB は、MCB から一定の条件で培養して得られる均一な細胞懸濁液を分注して調製される。

964 **ワーキングウイルスシード (WVS) (Working Virus Seed)**

965 ワーキングウイルスシード (ストック、ロット又はバンク) は MVS から作製する。



966 表 1. 各細胞レベルで1度は実施することが推奨されるウイルス試験

	MCB	WCB <sup>a</sup>	LIVCA 段階の細胞 <sup>b</sup>
レトロウイルス及び内在性ウイルス試験			
感染性試験	+	-	+
電子顕微鏡観察 <sup>c</sup>	+ <sup>c</sup>	-	+ <sup>c</sup>
逆転写酵素活性 <sup>d</sup>	+ <sup>d</sup>	-	+ <sup>d</sup>
その他細胞種特異ウイルス試験 <sup>e</sup>	適宜実施 <sup>e</sup>	-	適宜実施 <sup>e</sup>
非内在性ウイルス又は外来性ウイルス試験			
<i>In vitro</i> 試験又は NGS <sup>i</sup>	+ <sup>f</sup>	+ <sup>f</sup>	+ <sup>f</sup>
<i>In vivo</i> 試験又は NGS <sup>i</sup>	+ <sup>g</sup>	- <sup>g</sup>	+ <sup>g</sup>
抗体産生試験又は特異的分子生物学的手法 <sup>h,j</sup>	+ <sup>h</sup>	-	-
その他細胞種特異ウイルス試験 <sup>i</sup>	+ <sup>i</sup>	-	-

967 a. 第 3.1.2 章

968 b. バイオテクノロジー応用医薬品等の製造に用いられる *in vitro* 細胞齢の上限 (LIVCA) の段階にある細胞 (第 3.1.3 章参照)。

970 c. 他の因子も検出可能。

971 d. 細胞株が恒常的にレトロウイルス粒子を産生することが知られている場合、この試験は不要と考えられる。

973 e. 細胞株個々の起源・由来から存在が予測されるウイルスを検出するために適した試験。

974 f. *In vitro* ウイルス試験は、WCB を直接用いて、または WCB から直接作製された LIVCA の細胞を用いて実施する。広範な分子生物学的手法 (NGS) によるウイルス試験は、リスクアセスメントに基づき、*in vitro* 試験 (細胞培養及び PCR) の補完試験又は代替試験として用いることができる。

977 g. *In vivo* 試験はリスクアセスメントに基づいて実施される場合がある。ただし、CHO 細胞、NS0 細胞及び SP2/0 細胞等、特性が十分に明らかになっている細胞株については、細胞株の履歴、事前知識、またリスクに基づく検討事項に基づき判断できるため、*in vivo* 試験は不要である。これには、親細胞にトランスフェクトしていない細胞株の過去の *in vivo* ウイルス試験又は NGS 試験、並びに親細胞バンクから MCB への分化誘導管理などが含まれる。同一の親細胞セル・バンクから作製した他の MCB のウイルス安全性試験については、MCB の樹立に使用した方法も含めて事前知識を考慮に入れる必要がある。初回に製造する WCB 又はその後製造する WCB については、承認された管理条件下で作製する場合、通常、試験は不要である。LIVCA まで培養された細胞については、事前知識及びその他のリスクに基づく考察に基づき、試験が不要である場合もある。

986 残存リスクが存在する場合には、MCB 樹立時や LIVCA 段階の細胞培養時に混入した可能性のあるウイルスを検出するために、検査の継続や広範なウイルス検出のための分子生物学的手法 (NGS や PCR など) への変更を検討することもできる。

989 h. げっ歯類由来細胞株に対する試験の例として、マウス抗体産生 (MAP) 試験、ラット抗体産生 (RAP) 試験、ハムスター抗体産生 (HAP) 試験がある。ウイルス特異的 PCR 法又は標的分子法は、例えば、関連する原材料及び試薬を含む細胞株の起源及び履歴に基づき、動物試験の代替試験として使用することができる。

993 i. 例えば、関連する原材料及び試薬を含む細胞株の起源及び履歴に基づく。

- 994 j 該当する場合は、*in vivo* 試験の代わりに広範な NGS の実施を検討すべきである。試験の適合性及  
995 びリスクアセスメントに基づき、NGS を *in vitro* 試験や他のウイルス特異的試験の補完試験又は代  
996 替試験として使用することもできる。

997 表 2. ウイルス試験に用いられる試験法の例とその限界

試験方法	試験検体	検出可能な対象	試験方法としての限界
抗体産生試験	溶解処理後の細胞/培養液	特異的ウイルス抗原	動物に感染性を示さないウイルスの抗原は検出できない
<i>In vivo</i> 試験	溶解処理後の細胞/培養液	広範なウイルス	当該試験系で複製しない又は病原性を示さないウイルスは検出できない
<i>In vitro</i> 試験適用： 1. セル・バンクの解析 2. 製造工程中での検査	1. 溶解処理後の細胞/培養液（混合培養の場合、試験検体として細胞そのものを用いること） 2. 未加工/未精製バルク又は製造用培養器から採取した培養液/溶解処理後の細胞	広範なウイルス	当該試験系で複製しない又は病原性を示さないウイルスは検出できない
電子顕微鏡観察 1. 細胞基材 2. 細胞培養液上清	1. 生細胞 2. 細胞フリー培養上清	ウイルス及びウイルス様粒子	同定評価法であり定性的である
逆転写酵素活性 (RT)	細胞フリー培養上清	レトロウイルス及び発現されたレトロウイルスの RT	適切な条件下で活性を最大限に発現した酵素のみを検出。細胞由来酵素の活性の存在、また一部の濃縮試料のバックグラウンドにより評価が困難な場合がある。
レトロウイルス (RV) 感染性試験	細胞フリー培養上清	感染性レトロウイルス	当該試験系で複製しない又はフォーカスやプラークを形成しないレトロウイルスは検出できない
混合培養 1. 感染性による場合 2. TEM による場合 3. RT による場合	生細胞	感染性レトロウイルス	当該試験系で複製しないレトロウイルスは検出できない 1. 「レトロウイルス (RV) 感染性試験」を参照 2. 「電子顕微鏡観察」を参照 <sup>a</sup> 3. 「逆転写酵素活性 (RT)」を参照
NAT 法 (核酸増幅法)	細胞、培養液及びその他の材料	特異ウイルス塩基配列	プライマーの配列と呼応する配列の存在が必要である。ウイルスの感染性の有無は示されない
NGS	細胞、培養液及びその他の材料	広範なウイルス	結果が陽性であってもウイルスの感染性の有無を示すものではないため、さらなる調査が必要となる可能性がある

998 a. 加えて、指標細胞から試験検体を識別することが困難な場合がある。

999

1000 表 3. 抗体産生試験において検出されるウイルス

<i>MAP</i> <sup>d</sup>	<i>HAP</i> <sup>d</sup>	<i>RAP</i> <sup>d</sup>
エクトメリアウイルス (Ectromelia Virus) <sup>2,3</sup>	リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (Lymphocytic Choriomeningitis Virus, LCM) <sup>1,3-</sup>	ハンタンウイルス (Hantaan Virus) <sup>1,3</sup>
ハンタンウイルス (Hantaan Virus) <sup>1,3</sup>	マウス肺炎ウイルス (Pneumonia Virus of Mice, PVM) <sup>2,3</sup>	キルハムラットウイルス (Kilham Rat Virus, KRV) <sup>2,3</sup>
K ウイルス (K Virus) <sup>2</sup>	レオウイルス 3 型 (Reovirus Type 3, Reo3) <sup>1,3</sup>	マウス脳脊髄炎ウイルス (Mouse Encephalomyelitis Virus) (Theiler's, GDVII) <sup>2</sup>
乳酸脱水素酵素ウイルス (Lactic Dehydrogenase Virus, LDH) <sup>1,3</sup>	センダイウイルス (Sendai Virus) <sup>1,3</sup>	マウス肺炎ウイルス (Pneumonia Virus of Mice, PVM) <sup>2,3</sup>
リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (Lymphocytic Choriomeningitis Virus, LCM) <sup>1,3,</sup>	SV5	ラットコロナウイルス (Rat Coronavirus, RCV) <sup>2</sup>
マウスマイニユートウイルス (Minute Virus of Mice) <sup>2,3</sup>		レオウイルス 3 型 (Reovirus Type 3, Reo3) <sup>1,3</sup>
マウスアデノウイルス (Mouse Adenovirus, MAV) <sup>2,3</sup>		センダイウイルス (Sendai Virus) <sup>1,3</sup>
マウスサイトメガロウイルス (Mouse Cytomegalovirus, MCMV) <sup>2,3</sup>		唾液腺涙腺炎ウイルス (Sialodacryoadenitis Virus, SDAV) <sup>2</sup>
マウス脳脊髄炎ウイルス (Mouse Encephalomyelitis Virus) (Theiler's, GDVII) <sup>2</sup>		トーラン H-1 ウイルス (Toolan's H-1 Virus) <sup>2,3</sup>
マウス肝炎ウイルス (Mouse Hepatitis Virus, MHV) <sup>2</sup>		
マウスロタウイルス (Mouse Rotavirus) (EDIM) <sup>2,3</sup>		
マウス肺炎ウイルス (Pneumonia Virus of Mice, PVM) <sup>2,3</sup>		
ポリオーマウイルス (Polyoma Virus) <sup>2</sup>		
レオウイルス 3 型 (Reovirus Type 3, Reo3) <sup>1,3</sup>		
センダイウイルス (Sendai Virus) <sup>1,3</sup>		
胸腺ウイルス (Thymic Virus) <sup>2</sup>		

- 1001  
1002 1. ヒト又は霊長類への感染性が知られているウイルス。
- 1003 2. ヒトへの感染性が知られていないウイルス。
- 1004 3. ヒト又は霊長類由来の細胞において *in vitro* で複製できるウイルス。
- 1005 4. PCR 法や他の標的分子法などの核酸増幅法 (NAT) は、特定のげっ歯類ウイルス試験の代わりに用  
1006 いることができる。

1008 表4. ウイルスクリアランス工程評価と精製バルクにおけるウイルス試験につ  
1009 いて推奨される実施要領

	ケース A	ケース B	ケース C <sup>2</sup>	ケース D <sup>2</sup>	ケース E <sup>2</sup>	ケース F
[細胞や未精製バルクでのウイルス試験結果]						
ウイルスの存在 <sup>1</sup>	-	-	+	+	(+) <sup>3</sup>	-
ウイルス様粒子の存在 <sup>1</sup>	-	-	-	-	(+) <sup>3</sup>	-
レトロウイルス様粒子の存在 <sup>1</sup>	-	+	-	-	(+) <sup>3</sup>	-
ウイルスの分離同定の否定	適用外	+	+	+	-	+
ヒト感染性ウイルス	適用外	- <sup>4</sup>	- <sup>4</sup>	+	未知	(+) <sup>9</sup>
ヘルパーウイルス等の存在	-	-	-	-	-	+
[必要とする対応]						
「非特異的モデルウイルス」を用いたウイルススクリアランス工程特性解析試験	必要 <sup>5</sup>	必要 <sup>5</sup>	必要 <sup>5</sup>	必要 <sup>5</sup>	必要 <sup>7</sup>	必要 <sup>5</sup>
「関連ウイルス」又は「特異的モデルウイルス」を用いたウイルススクリアランス工程評価試験	不要	必要 <sup>6</sup>	必要 <sup>6</sup>	必要 <sup>6</sup>	必要 <sup>7</sup>	必要 <sup>9</sup>
精製目的産物でのウイルス否定試験	適用外	不要	必要 <sup>8</sup>	必要 <sup>8</sup>	必要 <sup>8</sup>	必要 <sup>9</sup>

- 1010 1. 細胞及び未加工/未精製バルクについてのウイルス試験の結果。通常、製造に用いる細胞培養物がウイルスに  
1011 汚染されている場合は、特異的なウイルススクリアランス及びリスクアセスメントにより妥当性が示されない  
1012 限り、使用すべきではない。ただし、MCBの構成要素の一部となっているレトロウイルス等の内在性ウイル  
1013 ス又はウイルス類が存在する細胞については、適切なウイルススクリアランス評価試験を行いさえすれば、そ  
1014 の限りではない。
- 1015 2. ウイルスに汚染された原料物質は、ヒトへの感染性や病原性を示すことが知られているか否かにかかわらず、  
1016 特定のウイルススクリアランス及びリスクアセスメントを実施した上で、例外的な状況でのみ使用するべきで  
1017 ある。
- 1018 3. 未知のウイルス、ウイルス様粒子又はレトロウイルス様粒子を、直接法あるいは間接法で検出。
- 1019 4. 非病原性とされているケース。
- 1020 5. 「非特異的モデルウイルス」を用いたウイルススクリアランス工程特性解析試験を実施すること。
- 1021 6. 「関連ウイルス」又は「特異的モデルウイルス」を用いたウイルススクリアランス工程評価試験を実施するこ  
1022 と。
- 1023 7. 本文中のケースEの項を参照すること。
- 1024 8. 精製バルクについては、当該ウイルスに対する高い特異性と感度を有する検出方法を用いてウイルスの存在  
1025 を否定すること。承認申請の際には、パイロットプラントスケール又は実生産スケールで製造された少なく  
1026 とも3ロットまたは3バッチの精製バルクに関するウイルス試験データを提出すること。
- 1027 9. ウイルスはヒトに感染する場合と感染しない場合がある。そのため、ヘルパーウイルス等（遺伝子組換え又  
1028 は野生型）についての工程評価を実施すること。ヘルパーウイルス等の使用が不可能な場合は、特定のモデ  
1029 ルウイルスを使用すること。製造に使用する場合は、3回以上の細胞培養作業を行い、未加工/未精製バルク  
1030 の段階でヘルパーウイルス等を定量し、ウイルススクリアランスの目標値を決定すること。精製後、検出可能  
1031 なヘルパーウイルス等が存在しないことを、高感度ウイルス検出に適した許容細胞株を用いた感染性試験に

- 1032 より確認する。あるいは、分子生物学的手法を用いてもよい。各精製バルクについて、ヘルパーウイルス等  
1033 の残存がないことを確認する。

1034 付録 1： 特性解析されたセル・バンクを *in vivo* で増殖することにより生産される  
1035 製品

1036 特性解析されたセル・バンク由来の細胞を接種した動物から採取した液体原料由来の製品について、動物に関する追加情報を提供する必要がある。

1038 バイオテクノロジー応用医薬品等/生物起源由来製品の製造に使用する動物は、可能な限り、適切に規定された特定病原体感染防止条件（SPF：Specific Pathogen-Free）に適合したコロニーから入手する必要がある。これらに対して、表 3 に挙げたようなウイルスのうち適当と考えられるものについて、適切な試験を実施するべきである。新しく入荷した動物や病的状態を示す動物に対する検疫方法についての情報を提供する必要がある。また、施設内で行われているすべての封じ込め、洗浄及び除染方法が、迷入因子の伝播の封じ込めに適切であると保証されている必要がある。この目的を達成するには、しかるべき監視プログラムを利用するとよい。プログラムには試験の実施対象とする迷入因子をリストアップしておくことも必要である。施設内で直接獣医学的な対応が可能かあるいは容易に対応できる状態にしておく必要がある。他の製造施設エリアから動物舎までどの程度隔離されているかについても示されるべきである。職員の業務内容は安全性保証面から適切なものでなければならない。

1049 動物の飼育維持の方法についての詳細な情報を提供する必要がある。これには次のような事項が含まれる。1) 食餌、清掃及び給餌スケジュール、2) 定期的な獣医学的なケアを計画している場合には、その内容、3) ハイブリドーマ等を移植された動物の取扱いにあたって特別なことを必要とする場合には、その内容の詳細。また、動物の前処理法、移植用細胞の調製方法、移植部位及び移植経路も明らかにする必要がある。

1054 動物から直接採取した物は、バイオリクターから採取した未加工/未精製バルクに相応する製造段階のものであると考えられる。したがって、この文書の第 4 章に記述してある試験についての考え方がそのまま適用されるべきである。加えて、製造業者は動物から採取した未加工/未精製バルクの細菌・真菌汚染について評価し、またマイコプラズマに汚染されていないことを確認し、さらに成熟マウス及び乳飲みマウスを用いた *in vivo* 試験及び種特異的ウイルス試験を実施すべきである。

## 1060 付録 2 : ウイルスクリアランス試験のためのウイルスの選択

## 1061 A. 有用なモデルウイルスの例

1062 a. 「非特異的モデルウイルス」 : 物理的・化学的構造の異なる様々なウイルスの代表例

1063 – SV40 (Macaca mulatta polyomavirus) 、動物パルボウイルス又はその他の小型の非エン  
1064 ベロープウイルス1065 – パラインフルエンザウイルス (Parainfluenza Virus) 、インフルエンザウイルス  
1066 (Influenza Virus) 、シンドビスウイルス (Sindbis Virus) 、その他の中～大型・エン  
1067 ベロープ型・RNA ウイルス1068 – ヘルペスウイルス (例 : HSV-1、仮性狂犬病ウイルス (Pseudorabies Virus) ) 、その  
1069 他の中～大型・DNA ウイルス1070 なお、ここに掲げたウイルスは単なる例示であり、これらの使用を強制するものではな  
1071 い。1072 b. レトロウイルス様粒子を産生する細胞基材の場合には、ネズミ科レトロウイルス類が  
1073 「特異的モデルウイルス」として、通常、使用されている。また、マウス又はその他の  
1074 げっ歯類の内在性レトロウイルス粒子を使用することもできる。

## 1075 B. ウイルスクリアランス試験に用いられるウイルスの例

1076 ウイルスクリアランス試験において使用されてきたウイルスを表 A-1 に示している。しかし、  
1077 これらは単なる例であり、使用を強制するものではない。製造業者は、その他のウイルスの使用  
1078 を考慮してもよい。特に、個々の製品の製造工程を評価するのに、より適切なウイルスを使用す  
1079 るよう考慮すること。通常、異なる性質を持つ、少なくとも 3 種の異なるウイルスをクリアラン  
1080 スする能力について、製造工程を評価するべきである。

1081



1082 表 A-1. ウイルスクリアランス試験に用いられたことのあるウイルスの例

ウイルス (Virus)	科	属	宿主	ゲノム	外被	サイズ (nm)	形状	抵抗性 <sup>a</sup>
水疱性口内炎ウイルス (Vesicular Stomatitis Virus) b	ラブドウイルス科 (Rhabdo)	ベジクロウイルス属 (Vesiculovirus)	ウマウシ	RNA	有	70x150	弾丸形	低
パラインフルエンザウイルス (Parainfluenza Virus)	パラミクソウイルス科 (Paramyxo)	パラミクソウイルス属 (Paramyxovirus)	多種	RNA	有	100-200+	多様/球形	低
マウス白血病ウイルス (MuLV)	レトロウイルス科 (Retro)	ガンマレトロウイルス属 (Gammaretrovirus)	マウス	RNA	有	80-110	球形	低
シンドビスウイルス (Sindbis Virus)	トガウイルス科 (Toga)	アルファウイルス属 (Alphavirus)	ヒト	RNA	有	60-70	球形	低
ウシ下痢症ウイルス (BVDV)	フラビウイルス科 (Flavi)	ペスチウイルス属 (Pestivirus)	ウシ	RNA	有	50-70	多様/球形	低
仮性狂犬病ウイルス (Pseudorabies Virus) b,c	ヘルペスウイルス科 (Herpes)	バリセロウイルス属 (Varicellovirus)	ブタ	DNA	有	120-200	球形	中
核多角体病ウイルス (Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus) c	バキュロウイルス科 (Baculo)	アルファバキュロウイルス属 (Alphabaculovirus)	虫類	DNA	有	250-300	多面体	中
アデノウイルス 2 型又は 5 型 c	アデノウイルス科 (Adeno)	マストアデノウイルス属 (Adenovirus)	ヒト	DNA	無	70-90	正 20 面体	中
ベジウイルス 2711	カリシウイルス科 (Calici)	ベジウイルス属 (Vesivirus)		RNA	無	27-40	正 20 面体	中
脳心筋炎ウイルス (Encephalomyocarditis Virus、EMCV)	ピコルナウイルス科 (Picorna)	カルジオウイルス属 (Cardiovirus)	マウス	RNA	無	25-30	正 20 面体	中
レオウイルス 3 型 (Reovirus 3)	レオウイルス科 (Reo)	オルトレオウイルス属 (Orthoreovirus)	多種	RNA	無	60-80	球形	中
シミアンウイルス 40 (SV40)	パポーバウイルス科 (Papova)	ポリオーマウイルス属 (Polyomavirus)	サル	DNA	無	40-50	正 20 面体	高 (非常に高い)
パルボウイルス (Parvoviruses) (イヌ、マウス、ブタ) d	パルボウイルス科 (Parvo)	パルボウイルス属 (Parvovirus)	イヌ、マウス、ブタ	DNA	無	18-24	正 20 面体	高 (非常に高い)

1083 a. 物理的・化学的処理に対する抵抗性 (過去の製造工程試験の経験に基づいた目安である)。こうした抵抗性は、  
 1084 特定の処理毎に相対的に変わりうるものである。内容的には、製造工程の種類・特性とウイルスの生物学とを勘  
 1085 案して、抵抗性の目安としている。実際の結果は処理毎に変わりうるものである。  
 1086 b. 昆虫細胞で検出されるラブドウイルスの関連モデル  
 1087 c. ウイルスベクターの製造においてヘルパーウイルス等として用いられる特異的モデルウイルス又は関連ウイルス  
 1088 d. ウイルスフィルターのパリテーションでは、大型の球形/正 20 面体ウイルス及びエンベロープウイルスの単一の  
 1089 ワーストケースのモデルウイルスとして使用することができる。  
 1090 なお、ここに掲げたウイルスは単なる例示であり、これらの使用を強制するものではない。

## 1091 付録3：ウイルス及びウイルスクリアランス指数の評価に関する統計学的考察

1092 ウイルスの力価測定は、他の生物活性の測定と同様、ばらつきが大きい。ウイルスクリアランス  
 1093 試験を信頼性のあるものとするため、ウイルス力価測定の正確さとその測定値から得られるクリ  
 1094 アランス指数の正確さ、並びに試験方法の妥当性を評価する必要がある。統計学的評価の目的は、  
 1095 実施したウイルスクリアランス試験がウイルス学的に適切な水準で実施されていることを裏付け  
 1096 ることである。

1097 1. 試験方法は半定量法 (quantal method) の場合と定量法 (quantitative method) の場合がある。  
 1098 半定量法は、動物を用いた感染性試験や TCID 法 (組織培養感染性試験:Tissue-Culture-  
 1099 Infectious-Dose assays) で、動物や培養細胞の感染の有無をスコアする方法である。感染価  
 1100 は、感染した動物や培養細胞の割合で決められる。定量法においては、ウイルス量と測定  
 1101 される感染性は直線的な関係にある。定量法としてはプラーク法などがある。定量法には  
 1102 分子生物学的手法やプラーク法などが含まれる。プラーク法では 1 プラークが 1 感染単位  
 1103 に相当する。半定量法、定量法ともに、統計学的評価の対象となる。

1104 2. 試験の変動は、希釈誤差、統計的な要因、及び測定法に固有な未知又は制御不能な要因に  
 1105 由来するばらつきにより生じる。通常、独立して実施した試験間のばらつき (試験間変動)  
 1106 は、1 試験内で得られた結果のばらつき (試験内変動) より大きい。

1107 3. 試験内変動の 95%信頼限界を求めるとき、通常、平均値  $\pm 0.5 \log_{10}$  のレベルに収まるように  
 1108 すること。試験内変動は一般教科書的な方法で計算する。試験間変動は試験にウイルス標  
 1109 品を用いることでモニターできるが、この際のウイルス標品の力価の実測値は、別途、当  
 1110 該試験法を用いて研究室で測定・確立しておいた試験結果の平均値の、およそ  $0.5 \log_{10}$  以  
 1111 内であるべきである。妥当な理由があれば、より低い精度の試験も採用できる場合がある。

1112 4. 「関連ウイルス」や「特異的モデルウイルス」を用いたクリアランス試験におけるクリア  
 1113 ランス指数の 95%信頼限界も、可能な限り、算出する必要がある。出発材料中のウイルス  
 1114 測定値の 95%信頼限界が  $\pm s$  で、工程後のウイルス測定値の 95%信頼限界が  $\pm a$  の場合、ク  
 1115 リアランス指数の 95%信頼限界は

$$1116 \quad \pm \sqrt{(s^2 + a^2)}$$

1117 である。

## 1118 低濃度ウイルス液の検出確率

1119 低いウイルス濃度の場合 (例えば、1L 当たりの感染性粒子が 10~1000 の範囲の場合)、数 mL の  
 1120 サンプルでは感染性粒子が含まれない可能性があることは明らかである。このサンプルが感染性  
 1121 粒子を含まない可能性  $p$  は

$$1122 \quad p = ((V-v)/V)^n$$

1123 ここで  $V(L)$  は試験対象液の全容量、 $v(L)$  はサンプルの容量、 $n$  は  $V$  の中に統計的に分布する感染性  
 1124 粒子の総数とする。

1125  $V \gg v$  の場合、この式はポアソン分布により近似される。

1126  $p = e^{-cv}$

1127 ここで  $c$  は 1L 当たりの感染性粒子数とする。

1128 又は、 $c = \ln p / -v$

1129 例えば、1 mL のサンプルを試験する場合、ウイルス濃度が 1L 当たり 10 から 1000 感染性粒子のと  
 1130 きの  $p$  値は、以下ようになる。

1131

$c$	10	100	1000
-----	----	-----	------

1132

$p$	0.99	0.90	0.37
-----	------	------	------

1133 このことは、1L 当たりウイルス粒子が 1000 の場合、1 mL ずつサンプリングしたうち 37%

1134 ではウイルス粒子が存在しないことを示している。サンプルの一部について試験を行い、ウイル  
 1135 スが検出されないときは、サンプル中にどの程度のウイルス量が存在していればポジティブな結  
 1136 果が得られるかについて計算しておくべきである。その値は、クリアランス指数を計算するとき  
 1137 に考慮に入れるべきである。信頼限界は 95% であることが望ましい。しかし、これは、サンプル  
 1138 における様々な制限のため、実際的とはいえない場合もある。

1139 付録4：ウイルスクリアランス試験でのクリアランス指数の計算方法

1140 各精製段階あるいは不活化段階のウイルスクリアランス指数は次のように定義される。精製前の

1141 試料のウイルス負荷量と次の工程段階に供される精製後の試料のウイルス含有量との比率の常用

1142 対数 ( $\log_{10}$ )。以下の略号を使用した場合

1143 出発物質:

1144 体積  $v'$ ; 力価  $10^{a'}$ ;

1145 ウイルス含有量:  $(V') \times (10^{a'})$

1146 最終物質:

1147 体積  $v''$ ; 力価  $10^{a''}$ ;

1148 ウイルス含有量:  $(V'') \times (10^{a''})$

1149 各々のクリアランス指数  $R_i$  は次式によって計算される。

1150 
$$10^{R_i} = (v')(10^{a'}) / (v'')(10^{a''})$$

1151 この計算式には、精製工程の開始時及び終了後のタイターと容量が考慮されている。

1152 ウイルスの力価測定は元来、精度が低いため、総クリアランス指数を計算する際には1より大きい

1153 個々のクリアランス指数を用いるべきである。

1154 製造工程全体にわたる指数としての総クリアランス指数は、個々の製造段階のクリアランス指数

1155 の合計である。これは、クリアランス工程の開始段階に負荷されたウイルスと工程クリアランス

1156 最終段階におけるウイルス量との比率の常用対数に相当する。クリアランス指数は、通常、対数

1157 スケールで表される。この意味するところは、残存するウイルス感染性がゼロになることはない

1158 もの、数学的には極めて小さくなるということである。

1159 付録 5：投与量当たりの推定ウイルス粒子数の計算方法

1160 本計算方法は、出発材料に存在するウイルス量を推定できる場合、例えば内在性レトロウイルスに応  
1161 用できる。

1162 例：

1163 I. 仮説

1164 細胞培養ハーベスト液中のウイルス濃度の測定値又は推定値 =  $10^6$ /mL

1165 算出されたウイルスクリアランス指数 =  $>10^{15}$

1166 1 投与量の目的産物を得るために必要な培養ハーベスト液の量 = 1 L ( $10^3$  mL)

1167 II. 1 投与量当たりの推定ウイルス粒子の計算方法

1168 
$$\frac{(10^6 \text{ ウイルス粒子/mL}) \times (10^3 \text{ mL/投与量})}{\text{クリアランス指数 } (>10^{15})}$$

1169 クリアランス指数 ( $>10^{15}$ )

1170 =  $10^9$  粒子/投与量

1171 
$$\frac{\text{クリアランス指数 } (>10^{15})}{\text{クリアランス指数 } (>10^{15})}$$

1172 =  $<10^{-6}$  粒子/投与量 1

1173 したがって、 $10^6$  投与量当たり 1 ウイルス粒子未満と予想される。

1174 上記のケースは、げっ歯類細胞からのモノクローナル抗体を製造する際に内在性レトロウイルスが減  
1175 少する典型例である（ケース B）。特定のウイルスに対する包括的なリスクアセスメントでは、ウイル  
1176 スの宿主域、ウイルスの病原性、汚染防止措置、試験方法、投与経路及びヒトへの感染量などの追加  
1177 要因を考慮すべきである。

1178 チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞についてのケース B のシナリオでは、*in vitro* 試験で感  
1179 染性レトロウイルスの存在が確認されなかった場合、遺伝子組換えタンパク質のレトロウイルス  
1180 様粒子（RVLP）について、1 回の投与あたり  $10^4$  個未満の安全域は許容可能と考えられる。

1181 **付録 6：製品固有のバリデーションの削減における社内経験を含む事前知識適用の**  
1182 **例**

1183 プラットフォームバリデーションアプローチの一般原則に従い、同一プラットフォームから製造  
1184 した製品全体について頑健なウイルスクリアランス工程が実施されていることを実証すること。  
1185 また、ウイルスクリアランス工程は確立され十分に特性解析された条件下で実施すること。また、  
1186 製品中間体の組成については、事前知識により製品中間体の組成に関するウイルスクリアランス  
1187 工程の頑健性が示されない限り、ウイルスクリアランス試験で用いられる中間体と同等/同質で  
1188 あることを示す必要がある。

1189 また本文書ではプラットフォームバリデーションとは、他製品から得られたウイルス除去データ  
1190 など社内経験（申請者が所有するデータ）を含む事前知識を使用して新規の類似製品のウイルス  
1191 クリアランスを主張することと定義される。一般に、社内経験を包含する事前知識に基づき新製品の  
1192 ウイルスクリアランスを主張する場合は、利用可能なすべてのデータの考察及びプラットフォーム  
1193 バリデーションアプローチを適用する根拠を示す必要がある（第 6.6 章参照）。製品固有のバ  
1194 リデーションを低減するために用いた事前知識及び社内データの一部は、新製品及びその製造工  
1195 程と、その他の社内製品、関連する工程条件及び製品中間体との比較データとして提出すること  
1196 ができる。

1197 ウイルスクリアランスに特化した工程ステップ（例えば、界面活性剤による不活化、低 pH 処理  
1198 及びウイルスろ過による除去）は、プラットフォームバリデーションアプローチに適している。

1199 そのため、界面活性剤による XMuLV 不活化/除去、低 pH 条件下での培養、並びにウイルスろ過  
1200 のための事前知識の適用例を以下に示す。

1201 これらの模擬例は説明を目的として提示したものであり、プラットフォームバリデーションアプ  
1202 ローチをどのように適用できるかを示すものに過ぎず、テンプレートとして使用したり、規制当  
1203 局への提出の唯一の根拠として使用してはならない。

1204 表 A-2～A-4 に、製薬業界全体に適用可能な広範な工程条件についての現行の工程知識に基づい  
1205 た、個々の工程ステップの工程パラメータ及びそれらの潜在的な重要性についての要旨を示した。  
1206 工程パラメータ及び中間体が XMuLV のクリアランスに及ぼす実際の影響は、事前知識及び社内  
1207 経験により評価すること。

1208 今後工程知識が深まれば、更なる工程ステップを含めたプラットフォームバリデーションが推奨  
1209 される可能性もある。

1210 **有機溶媒/界面活性剤（SD）又は界面活性剤単独による不活化**

1211 作用機序の観点から、有機溶媒/界面活性剤（SD）又は界面活性剤単独による不活化の際の界面  
1212 活性剤濃度は重要な工程パラメータであると考えられる。

1213 また、脂質、細胞残屑などの疎水性不純物、あるいは消泡剤などの細胞培養培地の成分は、ウイル  
 1214 ス脂質エンベロープを可溶化するために界面活性剤や SD 混合物を添加することにより、ウイル  
 1215 ス不活化に影響を及ぼす可能性があるため、評価すべきである。

1216 現在のところ、ウイルスと特定の治療用タンパク質との相互作用が界面活性剤による不活化に影響  
 1217 を及ぼすことは示唆されていない。凝集体（細胞破片や凝集ウイルス粒子など）は、ウイルス  
 1218 粒子を捉え、界面活性剤から保護する可能性がある。そのため、製造時には界面活性剤による不  
 1219 活化の前に、公称孔径が 0.2 µm 以下のフィルターを用いたろ過ステップなどを行い、製品中間体  
 1220 （例：ハーベストした細胞培養液（HCCF））から細胞/細胞の破片を取り除くこと。

1221 以下の段落では、例として、SD 又はトリトン X-100 を用いた XMuLV の不活化についてのプラッ  
 1222 トフォームバリデーションアプローチの適用方法を説明する。このアプローチは、頑健で効率的  
 1223 な XMuLV の不活化をもたらすことが示されている代替界面活性剤にも適用可能である。

1224 トリトン X-100 は、膜研究において脂質二重層を可溶化するために一般的に使用されている非イ  
 1225 オン界面活性剤である。この界面活性剤は脂質エンベロープを可溶化することによってエンベロ  
 1226 ープウイルスを不活化するため、ウイルスは非感染性となる。トリトン X-100 は、血漿由来製品  
 1227 の製造工程でのウイルス不活化の際に長年広く使用され、また HCCF に付加するモノクローナル  
 1228 抗体（MAb）のプラットフォーム精製工程においても広く使用されている。

1229 欧州化学物質庁（ECHA）は、環境中でホルモン様活性を有する分解化合物として、承認リスト  
 1230 （付属書 XIV）にトリトン X-100 を記載した。そのため、トリトン X-100 は広く使用されている  
 1231 もの、製薬業界は代替洗剤の使用を検討している。同様の物理化学的特性を有する他の界面活  
 1232 性剤が市販されており、効率的な XMuLV の不活化が達成されている。

1233 トリトン X-100 は非イオン性であるため、その有効性は pH、イオン強度、あるいは HCCF 中の  
 1234 対イオンの性質に影響されない。過去の経験から、HCCF 中の通常の脂質及び総タンパク質含量  
 1235 の範囲を網羅するプラットフォーム工程で複数の製品をまたがって、0.2%トリトン X-100 濃度で、  
 1236 15°C で 60 分間培養すると、HCCF 中の XMuLV を効果的に不活化できることが示されている。し  
 1237 かし、以下に示すように、製品固有の試験を省略する場合は、有効かつ信頼性の高い不活化を保  
 1238 証するために、0.5%のトリトン濃度を適用することが推奨される。

1239 表 A-2 に、脂質エンベロープウイルスの界面活性剤による不活化工程の工程パラメータとその潜  
 1240 在的重要性について要約を記載した。

1241 表 A-2：界面活性剤による不活性化工程の工程パラメータ及び潜在的影響の要約

工程パラメータ	潜在的影響	評価理由
SD 又はトリトン X-100 の濃度	高	不活性化剤であるため
培養時間	高	不活性化の機序は時間が関係するため
温度	高	不活性化動態へ影響するため
0.2 µm 孔径フィルターによる前処理	高	ウイルス粒子を捕捉し界面活性剤から保護する可能性のある凝集体を出発中間体から除去することは重要であるため
HCCF 中の総脂質含量又は代替パラメータ	低	ワーストケース条件下の HCCF において認められる影響は小さいため
製品の種類	低	MAb、半抗体、融合タンパク質又は組換えタンパク質について、不活性化に対する影響は認められないため
HCCF 中の総タンパク質含量	低	ワーストケース条件下の HCCF において認められる影響は小さいため
pH 値	低	トリトン X-100 は非イオン界面活性剤であるため
イオン強度	低	上記を参照
HCCF 中の緩衝塩	低	上記を参照
ウイルス粒子と製剤の相互作用の可能性	低	不活性化に対する影響は認められず、脂質エンベロープの破壊により、製品との相互作用の可能性が低下するため

1242 つまり現行の工程知識の通り、ろ過した HCCF を 15°C 以上で 60 分間以上、濃度 0.5% 以上のトリ  
 1243 トン X-100 を用いて処理することにより、複数の細胞培養由来製品中の XMuLV は効果的に不活  
 1244 化される。1% トリトン X-100 及び 0.3% トリ-n-ブチルホスフェート (TNPB) で 30 分以上処理す  
 1245 るか、1% ポリソルベート 80 及び 0.3% TNBP で 23°C 以上で 6 時間以上処理すると、レトロウイ  
 1246 ルスが効果的に不活性化される。現行の工程知識に従い、SD 処理又はトリトン X-100 の単独処理  
 1247 により XMuLV を不活性化するには、プラットフォームバリデーションアプローチを適用しても  
 1248 よい。

#### 1249 低 pH 条件下でのインキュベーション

1250 低 pH 処理では、ウイルスエンベロープに存在するタンパク質を変性させることによってエンベ  
 1251 ロープウイルスを不活性化し、脂質エンベロープを破壊する。キャプチャークロマトグラフィー生  
 1252 成物プールによる低 pH 処理は、モノクローナル抗体 (MAb) 等の細胞培養由来製品の製造工程  
 1253 におけるレトロウイルスの不活性化に広く使用されている。



- 1254 不活化効率は、pH として測定される不活化剤としての水素イオン濃度、培養時間及び温度、ま  
1255 た緩衝剤マトリックスによって変動する。イオン強度が極めて高い場合は、不活化効率にも影響  
1256 する可能性がある。
- 1257 XMuLV を用いた低 pH 処理による不活化工程の工程パラメータ及び潜在的影響の要約を表 A-3 に  
1258 示す。

1259 表 A-3 : XMuLV についての不活性化工程の工程パラメータ及び潜在的影響の要約

工程パラメータ	潜在的影響	評価理由
pH 値	高	不活化剤であるため
培養時間	高	不活化の機序は時間が関係するため
温度	高	不活化動態へ影響するため
緩衝液マトリックス	高	利用可能なデータから、不活化の頑健性が緩衝液マトリックスに依存することが示されているため
製品濃度	低	不活化に対する影響は認められないため
製品の種類	低	MAb、半抗体、二重特異抗体、融合タンパク質又は組換えタンパク質について、不活化に対する影響は認められないため
塩化ナトリウムの濃度 (a)	低	塩化ナトリウムの濃度が ≤ 500 mmol/L の場合は影響は認められないため
ウイルス粒子と製剤の相互作用の可能性	低	不活化への影響は認められないため

1260 (a) : 現在のところ、他の緩衝液のイオン強度の影響に関するデータは限られている。

1261 現行の工程知識の通り、pH 3.6 以下、15°C 以上で 30 分以上、塩化ナトリウム濃度 500 mmol/L 以下で低 pH 処理を行う場合、XMuLV は効果的に不活化される。酢酸塩及びクエン酸緩衝液が最も一般的に使用されており、頑健な XMuLV の不活化が可能である。

1264 現行の工程知識に従い、低 pH 処理による XMuLV の不活化の際にプラットフォームバリデーションアプローチを適用することができる。

#### 1266 ウイルスろ過

1267 ウイルスろ過の作用機序は、サイズに基づく粒子の除去である。一般に、製品中間体の容積処理量やフィルターをフラッシングする際の容積処理量、また圧力遮断を含む圧力は、ウイルスろ過工程における潜在的に重要なパラメータであると考えられる。

1270 ウイルス粒子径がフィルター孔径の分布よりもはるかに大きい場合は、ウイルス粒子と製品との潜在的相互作用は重要ではない。しかし、ウイルス粒子径とフィルター孔径が同様の大きさである場合は、ウイルスろ過動態とウイルス除去との潜在的相互作用による影響は完全には解明されていない。

- 1274 本項では、他製品のウイルスろ過工程から得られた事前知識及び社内経験を活用することにより、  
1275 小型及び大型ウイルス用除去フィルターを用いてレトロウイルスの除去を行うことの妥当性を検  
1276 討する。
- 1277 小型ウイルス用フィルターによる効率的なレトロウイルス除去に影響を及ぼすことがよく知られ  
1278 ている因子としては、例えば膜の種類、流量又は圧力制御ろ過モード、及び圧力遮断などの工程  
1279 パラメータの変動が挙げられる。ウイルス除去の予測性及び頑健性に基つき、この工程ステップ  
1280 はプラットフォームバリデーションアプローチに適していると考えられる。
- 1281 小型ウイルスフィルターを用いたウイルス除去のためのオプションの1つは、より大型の球状/正  
1282 20 面体ウイルス及びエンベロープウイルスにパルボウイルスの LRV を適用することである。た  
1283 だし、パルボウイルスが通過することにより、ウイルスクリアランス能（レトロウイルスクリア  
1284 ランス能など）が過小評価される場合がある。ウイルス除去の機序がサイズに基づく除去である  
1285 こと、小型ウイルス用フィルターを用いた頑健かつ完全なレトロウイルス除去に関する業界の経  
1286 験を考慮すると、製薬企業はパルボウイルス及びレトロウイルス除去に関する社内データに基づ  
1287 き、一般的に使用される小型ウイルス用フィルターを用いてプラットフォームのレトロウイルス  
1288 のクリアランスを行うと主張することができる。
- 1289 機序がサイズに基づく除去であるため、レトロウイルスよりも小型ウイルスの方が、小型ウイル  
1290 ス用除去フィルターを通過する理論的リスクは高い。
- 1291 圧力遮断の影響、並びにバイオテクノロジー応用医薬品等の製造管理及び品質管理に関する基準  
1292 の条件を反映した容積処理量及びフィルター洗浄容量を完全に理解する必要がある。
- 1293 他の製品から得られた事前知識及び社内経験によりパルボウイルスの除去を主張する場合は、パ  
1294 ルボウイルスを用いて少なくとも1回は確認のために開発製品を用いたバリデーションを実施す  
1295 ること。
- 1296 ウイルスフィルターの種類は、ウイルスクリアランス能及びウイルスクリアランス工程の頑健性  
1297 に影響を及ぼす工程パラメータであるため重要であり、プラットフォームデータを設計する際に  
1298 考慮すべきである。

1299 表 A-4. 小型ウイルス除去フィルターを用いたパルボウイルスのクリアランスについての工程パラ  
 1300 メータ及びその潜在的影響の要約

工程パラメータ	潜在的影響	評価理由
ウイルスフィルターに製品中間体を負荷する際の容積処理量	高	フィルターの種類によっては少量のパルボウイルスの通過が確認されているため
フィルターを緩衝液でフラッシングする際の容積処理量	高	少量のパルボウイルスの通過が確認されているため
圧力	高	圧力はフィルター操作の上限圧力を超えないこと。ただし、フィルター膜の種類によっては、圧力が低いとクリアランスの結果が悪化する場合がある。圧力遮断（ろ過中又は製品中間体のろ過からフィルターフラッシュへの切り替え時に発生する場合）を考慮すること。
製品の種類	低	MAb、半抗体、二重特異性抗体、融合タンパク質又は組換えタンパク質について、ウイルスクリアランスに対する影響は認められないため
製品濃度	低	ウイルスクリアランスに対する負の影響は認められないため
pH 値	低	サイズに基づく除去によるウイルスクリアランスに対する負の影響は認められないため
イオン強度	低	ウイルスクリアランスに対する影響は限定的であるため
緩衝液マトリックス	低	ウイルスクリアランスに対する影響は限定的であるため
ウイルス粒子と製剤の相互作用の可能性	低	ウイルスと抗体の特異的相互作用により、ウイルス保持が強化される可能性があるため

1301

**1302 付録 7：遺伝子組換えウイルスベクター及びウイルスベクター由来製品****1303 7.1 緒言**

1304 バイオテクノロジーの進歩により、ヒト又は動物（トリ、ホ乳類又は昆虫）由来の特性が明らか  
1305 にされたセル・バンクを用いて新たなタイプの製品を製造するための新しい高度な生産プラット  
1306 フォームが出現した。付録 7 の適用範囲には、製剤の物理化学的性質を考慮したウイルスクリア  
1307 ランスが適用可能な、ヘルパーウイルス等依存性及びヘルパーウイルス等非依存性の遺伝子組換  
1308 えウイルスベクター並びにウイルスベクター由来の製品が含まれる。これらの製品の例として、  
1309 バキュロウイルス/昆虫細胞、ナノ粒子ベースのワクチン及び AAV などのウイルスベクター製品  
1310 を用いて製造するウイルス様粒子（VLP）及びタンパク質サブユニットが挙げられる。これらの  
1311 バイオテクノロジー応用医薬品等は、*in vivo* 又は *ex vivo* で適用することができる。

1312 ヘルパーウイルス等非依存性製品の製造には、安定的に形質転換した又は一時的に形質転換した  
1313 細胞株、あるいはタンパク質発現ウイルスベクター（組換えバキュロウイルス等）を用いて感染  
1314 させた細胞株が用いられる。また、ヘルパーウイルス等依存性製品の製造には、製品の発現又は  
1315 ウイルスベクターの複製を可能にするヘルパーウイルス等（例：アデノ随伴ウイルス又は単純ヘ  
1316 ルペスウイルス又はアデノウイルス等のヘルパーウイルス等を用いて発現される組換えタンパク  
1317 質）が用いられる。

1318 バイオテクノロジー応用医薬品等におけるウイルス汚染の潜在的原因は、ガイドライン本文の第  
1319 2 章に記載されている。発現系による汚染や、複製可能ウイルスによる汚染の可能性など、追加  
1320 の汚染リスクについても考慮する必要がある。製品製造中の外因性ウイルスによる汚染の可能  
1321 性を評価する際には、細胞基材の外來性ウイルスに対する感受性を慎重に検討すべきである。十  
1322 分に特性解析がなされたセル・バンク及びウイルスシードを用いることにより、ウイルス汚染の  
1323 リスクを低減することができる。さらに、製造に使用するヘルパーウイルス等は、製造工程由来  
1324 ウイルス汚染物質とみなされる。

1325 新規のタイプのウイルス安全性及び迷入管理は、原料の調達から適切な製造段階におけるウイル  
1326 ス試験、製造工程による外來性ウイルス及びヘルパーウイルス等の除去/不活化を含む包括的な  
1327 プログラムを適用することによって担保すること。ウイルスクリアランスが限定的である場合、  
1328 原料及び試薬の試験及び管理、また製造工程に重点を置いてウイルス安全性を担保するべきであ  
1329 る。

1330 したがって、製品のウイルス安全性を実証するために、リスクに基づくアプローチを適用する必  
1331 要がある。

**1332 7.2 ウイルス試験**

1333 製品の全体的な安全性を裏付けるために、内在性ウイルス汚染及び外來性ウイルス汚染の両方につ  
1334 いて広範な試験及び特性解析を適切な製造段階で実施すること。製品の種類及び関連するリス  
1335 ク因子に基づき、試験計画は製品ライフサイクル全体に適用することが望ましい。製造工程の  
1336 様々な段階において実施する試験の概要を以下の表 A-5 に示す。表にはウイルスシード、ベクタ

1337 ーハーベスト、及び原薬について実施する試験を記載している。ウイルスベクターの製造に用い  
 1338 る細胞基材に対して提案されている試験及び特性解析の手法は、本ガイダンス文書の表 1 に概ね  
 1339 整合しているが、これらの製品タイプには追加的な留意事項が適用される場合があるため、念の  
 1340 ため以下の表 A-5 に規定する。

1341 試験の種類及び範囲は、細胞基材及び製造工程に関連する特定の危険因子を考慮したリスクアセ  
 1342 スメントに基づき決定する。考慮することが望ましい因子には、細胞基材又はウイルスベクター  
 1343 の起源、継代歴及び特性、使用した原材料、試薬及び培養方法、ヘルパーウイルス等への依存性、  
 1344 製造工程がウイルスを不活化又は除去する能力などがある。

1345 表 A-5 : 該当する製造段階で実施すべき試験

試験方法	MCB、WCB、 LIVCA 段階の細胞	ウイルスシード <sup>k</sup>	未加工/未精製バルク (ハーベスト)	原薬
外来性又は内在性ウイルスに関する試験				
<sup>a, b</sup> <i>In vitro</i> 試験又は NGS	<sup>i</sup> ガイドライン本 文の表 1 を参照	+ <sup>h</sup>	+ <sup>h</sup>	-
<sup>b</sup> <i>In vivo</i> 試験又は NGS		+ <sup>h</sup>	- <sup>h, l</sup>	-
<sup>c</sup> その他細胞種特異 ウイルス試験		l	l	-
<sup>d</sup> 抗体産生試験又は 特異的分子生物学的 手法		+ <sup>j, l</sup>	-	-
内在性ウイルス、ヘルパーウイルス等及び複製可能ウイルスの試験 (該当する場合)				
<sup>e</sup> 外来性ウイルス	<sup>i</sup> ガイドライン本 文の表 1 を参照	+	+ <sup>l</sup>	-
<sup>f</sup> 残存ヘルパーウイ ルス等	NA	-	+	+ <sup>l</sup>
<sup>g</sup> 複製可能ウイルス	+	+	(+)	(+)

1346 <sup>a</sup> 試験は、リスクアセスメントに基づいて感受性細胞株について実施する。指標細胞の培養は2週間以上観察し、  
 1347 さらに2週間の継代培養を行い観察すること。試験には、血球吸着ウイルス及び血球凝集ウイルスの試験を含め  
 1348 ること。昆虫細胞株を用いて製造される製品については、試験にはアロウイルスに対する感受性細胞株 (例えば、  
 1349 BHK 細胞) を含めること。ウイルスベクター及びウイルスベクター由来製品を中和できない場合は、検証済みの  
 1350 代替法を使用してもよい。試験は、ウイルスシード及び未加工/未精製バルクについて、下流工程に進む前に実施  
 1351 すること。場合によっては、未加工/未精製バルクのハーベストが原薬と同一であることもある。

1352 <sup>b</sup> 該当する場合は、*in vivo* の外来性ウイルス試験の代わりに広範な NGS の実施を検討すべきである。試験の適合  
 1353 性及びリスクアセスメントに基づき、NGS を *in vitro* 試験の補完試験又は代替試験として使用することもできる。

1354 <sup>c</sup> 種特異的ウイルス検出 (NAT、細胞培養、ターゲット NGS など) は、細胞基材、原材料や試薬、及び製造工程  
 1355 のリスクアセスメントによって決定される。種特異的ウイルスには、ヒト又はげっ歯類の種特異ウイルス、昆虫  
 1356 細胞のアルボウイルス、血清成分又はトリブシンを使用する場合はウシ又はブタウイルスが含まれる。

1357 <sup>d</sup> 細胞基質、原材料、又は試薬及び製造工程のリスクアセスメントに基づき、抗体産生試験 (MAP 試験、HAP 試  
 1358 験、RAP 試験) 又はウイルス特異的 NAT 又は標的 NGS を実施してもよい。

1359 <sup>e</sup> レトロウイルスの存在を確認するため、MCB 及びウイルスシードの段階での逆転写酵素活性試験の実施を考慮  
 1360 すること。MCB 又はウイルスシードの逆転写酵素活性 (RT 活性) が陽性の場合、ウイルスクリアランスの目

1361 標レベルを決定するために、追跡調査として 3 回以上の細胞培養キャンペーンから得た未加工/未精製バルクハー  
 1362 ベスト中の潜在的レトロウイルス粒子について定量試験を実施すること。また、未加工バルク（ハーベスト）に  
 1363 ついて、例えば生成物増強逆転写酵素試験（PERT）など PCR 法による RT 試験（PBRT）を、リスクアセスメン  
 1364 トに基づき実施すること。

1365 <sup>f</sup> 製造に使用する場合は、3 回以上の細胞培養キャンペーンを用いて未加工/未精製バルクの段階でヘルパーウイル  
 1366 ス等を定量し、ウイルスクリアランスの目標値を決定すること。精製後、検出可能なヘルパーウイルス等が存在  
 1367 しないことを、高感度ウイルス検出に適した感受性細胞株を用いた感染性試験により確認する。あるいは、分子  
 1368 生物学的手法を用いてもよい。各精製バルクについて、ヘルパーウイルス等の残存がないことを確認する（ケ  
 1369 ス F、表 4）。

1370 <sup>g</sup> 複製可能ウイルス（RCV）は、製造工程のあらゆる段階（例えば、最初のトランスフェクション又は形質導入  
 1371 段階、または製造全体を通じて）において発現する可能性がある。そのため現在では、遺伝子組換えを検出する  
 1372 ため、また親細胞型又は野生型の表現型に復帰するベクターウイルスを検出するために、製造工程の複数の段階  
 1373 で RCV の試験を実施することが推奨されている。製造段階及び試験方法は、必要に応じて製品の状況に従い実施  
 1374 すること。例えば、RCV 試験は、ウイルスシード又はセル・バンクの適格性評価時に、安定的にトランスフェク  
 1375 トしたベクター産生細胞又はパッケージング用細胞の MCB 及び LIVCA 段階にあるものに由来する細胞及び上清  
 1376 について実施する。RCV の試験は製造時に適用され、各未加工バルクハーベスト又は各原薬/最終ロット（該当  
 1377 する場合）のベクター産生細胞及び上清に対して実施される。例えば、複製可能ウイルスの試験は、表中に (+)  
 1378 と示したアデノ随伴ウイルス（AAV）を使用した製品に対する検出性あるいは原薬ステップを保証するために、  
 1379 通常、未加工/未精製バルクのハーベストの段階で実施される。

1380 <sup>h</sup> 干渉により試験結果に影響が生じる可能性がある場合、ウイルスシード及び未加工/未精製バルクのハーベスト  
 1381 の段階で同時に培養した対照細胞の試験を行う。

1382 <sup>i</sup> 昆虫由来の細胞株については、種特異的ウイルス及びアルボウイルスの試験を実施すること。製造用細胞基材中  
 1383 のウイルスの検出手順については、表 4（ケース B、C、E）を参照すること。

1384 <sup>j</sup> 細胞基材/セル・バンクについて試験していない場合は、試験を実施すること。

1385 <sup>k</sup> ウイルスシードは、製品の種類に応じて、ワクチンウイルス、ウイルスベクター及びヘルパーウイルス等の製  
 1386 造に使用される。ウイルスシードは確立された細胞株から作成する。リスクに基づくアプローチと同様、ウイル  
 1387 ス試験では、細胞基材に由来する外来性ウイルスが存在しないこと及び複製可能なウイルスが存在しないことを  
 1388 保証するために、細胞株の起源並びにウイルスシードの調製に使用される原材料及び試薬を考慮に入れること。  
 1389 試験は、処理前のウイルスシードを用いて実施すること。ワーキングウイルスシード（WVS）は MVS に直接由  
 1390 来するため、一部の外来性感染性物質試験はリスクアセスメントに基づいて適用される。もう 1 つのアプローチ  
 1391 として、WVS について、MVS において必要とされるすべての試験を実施し、MVS における試験の代わりとして  
 1392 もよい。

1393 <sup>l</sup> リスクアセスメントに基づく試験

1394 (+) : 代替試験段階

1395 NA : 適用外

### 1396 7.3 ウイルスクリアランス (Virus Clearance)

1397 外来性ウイルスによる汚染リスク、またヘルパーウイルス等やタンパク質発現ベクターなど製造  
 1398 に使用するウイルスの残存リスクは、本ガイドラインの一般原則に従い可能な限り軽減すること。

1399 ウイルスクリアランス工程のバリデーションは、代表的な適格性確認済みのスケールダウンモデ  
 1400 ルを用いて実施すること。

1401 精製工程内でどのようにウイルススクリアランスを行うかは、ウイルスベクター及びウイルスベク  
 1402 ター由来製品の物理化学的特性によって決まる。ウイルススクリアランス工程のバリデーションで  
 1403 は、外来性ウイルス、内因性ウイルス及び可能であれば関連するヘルパーウイルス等について、

1404 それぞれを代表するモデルウイルスを使用すること。したがって、表 4 に記載した特異的及び非  
 1405 特異的モデルウイルスの選択に関する行動計画を用いて、第 5 章及び第 6 章の記載内容（事前知  
 1406 識の適用を含む）を適用すること。脂質膜（エンベロップ）を持たないウイルスベクターなど、  
 1407 製品の特性によっては、界面活性剤単独又は有機溶媒/界面活性剤による処理など、一般的なウ  
 1408 イルス不活化工程が利用可能な場合がある。あるいは、サイズに基づいてウイルスを除去できる  
 1409 のであれば、AAV やナノ粒子ベースのワクチンのような小型のウイルスベクターの場合は、ウ  
 1410 イルスろ過がより適している場合もある。必要に応じて、ウイルスクリアランス試験を実施し、  
 1411 関連する製造工程ステップのウイルスクリアランス指数を求めること。

1412 以下に例を示す。

1413           • バキュロウイルス/昆虫細胞を用いて製造したサブユニットのタンパク質及び VLP を  
 1414           精製することができ、製造工程を通じて高レベルのウイルスクリアランス指数を達成  
 1415           することができることが、ウイルスクリアランス試験によってバリデートされている  
 1416           場合。

1417           • AAV のような一部のウイルスベクター製品は、クリアランス工程において外来性ウ  
 1418           イルス及びヘルパーウイルス等が確実に不活化又は除去される頑健なウイルスクリア  
 1419           ランス工程が適しているものもある。

1420 ヘルパーウイルス等は、製造工程由来ウイルス汚染物質とみなされる。そのため、製造工程では  
 1421 ヘルパーウイルス等を確実に除去する必要がある。対数減少係数の許容値はリスクアセスメント  
 1422 結果に基づき設定してもよい。

1423 製造工程のウイルスクリアランス工程では、遺伝子組換えタンパク質と同様の頑健性を達成でき  
 1424 ない可能性があるため、これらの製剤のウイルス安全性を担保するため、クローズドプロセッシ  
 1425 ング、試験及びその他の予防管理も実施する（第 2.2 章、第 3 章及び第 4 章を参照）。