

日本製薬工業協会会員会社 各位

2021年3月29日

遺伝子組換えバキュロウイルスをカイコ又は昆虫細胞に感染・増殖させ、
アフィニティ精製したタンパク質に関するカルタヘナ法規制上の取扱いについて

日本製薬工業協会研究開発委員会
委員長 林 義治

バキュロウイルスを用いた昆虫細胞での組換えタンパク質の作製は、大腸菌によるタンパク質発現系とともに広く用いられている。昆虫細胞でのタンパク質発現系では組換えバキュロウイルスをベクターに用いており、精製した目的タンパク質への感染性バキュロウイルスの残存についての確認手法が容易ではなく、カルタヘナ法の拡散防止措置の観点で、規制対象としてこれまで扱ってきた。

各研究機関で一般的に行うことのできる PCR 法によるバキュロウイルスの残存チェックでは、非感染性のウイルス遺伝子断片も検知されるため、正確な感染性ウイルスの検出を反映できない。そのため、ほとんどの場合、バキュロウイルスが残存するとの結果が得られてしまい、感染性のウイルスが残存している懸念を払拭することができなかった。

大阪大学微生物病研究所分子ウイルス分野・松浦善治教授の研究室において、感染性バキュロウイルスを高感度に検出できる新たな組換えバキュロウイルスが作製され、この系を用いて組換えタンパク質精製過程における感染性バキュロウイルスの除去効果が検討された。その結果、組換えバキュロウイルスを感染させた細胞上清からアフィニティ精製した試料においても感染性バキュロウイルスの残存が検出感度以下であったことから、これらの精製法によって感染性バキュロウイルスを除去できることが報告された¹⁾。

この研究結果を踏まえ、経済産業省産業構造審議会商務流通情報分科会バイオ小委員会第11回バイオ利用評価ワーキンググループ(2020年9月28日開催)において、バキュロウイルス生産系を用いて生産された試薬のうち、アフィニティ精製を経ているものについての遺伝子組換えバキュロウイルスの残存如何の判断について審議された。その結果、遺伝子組換えバキュロウイルスを用いて生産された試薬の取扱いについて、製造過程で特定の精製法(アフィニティ精製)を用いることや、特定のタンパク質生産については一定の条件を満たすことでカルタヘナ法規制非該当扱いとすることについて、ワーキンググループとして妥当性が確認された²⁾。これを受けて、バキュロウイルス生産系を用いて生産された試薬の取扱い見直しがなされ、本年1月、経済産業省より「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(カルタヘナ法)の解説～経済産業省所管事業分野産業二種使用申請マニュアル～(第4版)」が発行された³⁾。

以上の知見ならびに検討から、本委員会ではポリヘドリンの発現を欠損させた遺伝子組換えバキュロウイルスをカイコ又は昆虫細胞に感染・増殖させ、アフィニティ精製したタンパク質について、下記の記載に基づく適切な方法で精製したものに限り、カルタヘナ法非対象として取り扱えるものとする。なお、経済産業省のマニュアル³⁾にもあるように、膜タンパク質については、タンパク質精製時にウイルス粒子を取り除く工程を含めるようにし、感染性試

験の実施等により当該工程によって実際にウイルス粒子が除去されることを確認すること。また、粗抽出画分についてはウイルス粒子の除去が困難であり、この場合はこれまで同様、カルタヘナ法の規制対象として取り扱うものとする。

バキュロウイルス除去方法について

アフィニティ樹脂を用いたアフィニティ精製^(注)を含む複数種のカラムクロマトグラフィー操作による精製を行う。この操作を行うことにより、感染性バキュロウイルスを検出感度以下までに除去できる。

(注)ターゲット分子と特異的かつ可逆的に結合する分子の反応を利用して、ターゲット・タンパク質あるいはその複合体を分離・精製する手法で、ターゲット・タンパク質を特異的に吸着する樹脂に結合させ、その洗浄工程含め、適切に精製が行われているものに限る

本文書活用にあたっての留意事項

本文書は感染性バキュロウイルスを用いて作製した組換えタンパク質がカルタヘナ法の対象であるか否かについて各社が判断するにあたり、業界共通の参考資料として示すものであり、以下の点に留意すること。

- ① 各社において、追加で、若しくは独自の基準に基づいて、上記以外の手順(例;再感染による確認操作等)を定めることを妨げるものではない。
- ② 本文書の内容が正しく反映されるように、各操作条件を各社の安全主任者(委員会)にて確認すること。
- ③ 本文書を基に、各社の責任の下、研究に使用していくものとし、ここに記した工程を実施した根拠として、証跡を保管するものとする。
- ④ 機関外に試料を提供する場合、この文書に基づいて試料の法対象外としている旨、各社の責任の下、提供先に情報提供などを行うこととする。

(参考文献)

- 1) Ono C, Hirano J, Okamoto T, Matsuura Y. (2018) Evaluation of viral contamination in a baculovirus expression system, *Microbiol. Immunol.*, **62** (3), 200-204.
<https://doi.org/10.1111/1348-0421.12572>
- 2) 産業構造審議会 商務流通情報分科会 バイオ小委員会 第11回バイオ利用評価ワーキンググループ議事録
https://www.meti.go.jp/shingikai/sankoshin/shomu_ryutsu/bio/bio_riyohyoka/pdf/011_gijiroku.pdf
- 3) 経済産業省商務・情報サービスグループ 生物化学産業課. (2021年1月) 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(カルタヘナ法)の解説～経済産業省所管事業分野産業二種使用申請マニュアル～(第4版)
https://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/mono/bio/cartagena/manual.pdf

以上