

## 藥品查驗登記審查準則－基因工程藥品之查驗登記

(民國 91 年 1 月 3 日公布)

爲了加強基因工程藥品的管理，預防和避免經由基因工程原料及生產過程引進的病原，確保基因工程藥品的基因穩定表現、產品品質、安全及療效，爰依據藥事法第四十二條及七十四條，制定「藥品查驗登記審查準則－基因工程藥品之查驗登記」。本準則適用於基因工程藥品查驗登記時，對於基因工程製劑、原料、製程管理以及產品之品質、安全、療效的要求。

第一條 本準則所稱之「基因工程藥品」包括「基因重組蛋白質藥品」及「單株抗體藥品」等，以基因工程方法製造之生物藥品。「基因重組蛋白質藥品」，係指以基因工程方法，將產品之去氧核糖核酸 (DNA) 片段，藉由質體 (plasmid) 或病毒載體等，送入適當的微生物或細胞株內。藉此基因表現出蛋白質，再經由萃取及純化獲得所需之產品。本準則所稱之「單株抗體藥品」，係指經由純株融合瘤細胞 (hybridomas) 產生之完整免疫球蛋白及其衍生物。

第二條 基因工程藥品應檢附之資料：

- 一 基因工程原料藥
- 二 種批系統、細胞庫與原料之管制
- 三 基因工程原料藥的製程管制資料
- 四 對照標準品/血清組
- 五 基因工程原料藥的規格及分析方法
- 六 基因工程藥品的製造及規格
- 七 基因工程藥品試驗中的成品／劑型
- 八 安定性資料
- 九 藥理及毒性試驗資料
  - 一○ 藥物動力學資料
  - 一一 臨床使用文獻
  - 一二 其他

第三條 基因工程原料藥：

基因工程原料藥的定義爲尙未配方調製的活性基因工程重組原料藥成分。原料藥應檢附的資料如下：

- 一 原料藥的說明；應包括 (但不限於) 下列項目：化學構造，初級及次單元構造，分子量，分子式，法定名稱 (如：US Adopted Name USAN 等)，抗體類型／次類型等。
- 二 原料藥的特性及結構說明：應提供原料成分及標準品的物理化學特性以及批次管制資料 (詳見中華藥典附錄)。

(一) 原料藥的鑑別、純度、安定性和製程一致性的測試，以確保生產及純化過程之一致性。

(二) 化學特性試驗、製程管制以及最終產品試驗，例如：

1 胺基酸組成：

2 部份胺基酸序列分析：

3 胜 圖譜：

4 分子量之測定：

5 選殖基因之滯留 (cloned-gene retention)：

6 總蛋白質：

7 醣類之測定：

8 化學純度：

9 宿主細胞衍生性蛋白質、DNA 之分析：

10 免疫化學分析：

11 生物負荷量，內毒素之定量分析法：

三 對於出現轉譯後修飾的蛋白質成分 (如醣基化、硫酸化、磷酸化或甲醯化等)，則需要更多的物理化學特性資料。

四 與其他藥品 (如其他蛋白、毒素、核醫放射性藥品、核酸或化學品等) 結合的產物，需要更多的物理化學特性資料。應包括產品結合或共軛鍵結的程度，未修飾產物的量，游離物的移除 (例如毒素、核醫放射性藥品、連接物等)，及修飾後產物的安定性。應說明測試方法及試驗結果等資料，如清楚的色層分析圖片、SDS-PAGE 或洋菜膠電泳法圖片及光譜資料等。

五 生物活性：

應提出原料藥的效價 (potency) 和活性 (bioactivity)

之敘述與結果，並與對照標準品比對。應說明分析方法及確效資料，包括使用的方法及標準品，製造批次間及同批次內分析結果的變異性，以及分析結果可接受的範圍。

第四條 種批系統、細胞庫與原料之管制：

一 原料及試劑

(一) 應表列所有使用於製造原料與半製品成份之名稱、測試方法與規格，或其參考文獻。對於購買之原料，應有供應商之分析證明與自家檢定結果。

(二) 應表列所有使用於製造原料與半製品之特殊試劑與材料，如培養基、緩衝液、血清、抗生素、單株抗體、防腐劑。在某些情形，如輔助性之生技產品使用於原料藥之製造過程 (例如單株抗體使用於親和性色層分析)，應詳述其製備過程及特性。

(三) 動物性原料、試劑及成分的管制：若於製造過程中有使用  
由動物來源取得之原料時，需證明其不含外來物質，如牛  
海綿狀腦病變 Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE  
) 物質，與其他動物病毒。

(四) 申請時應有不含有外來物之確效資料或證明。

二 流程圖：應有一份完整製造過程之流程圖及其說明。

三 製程：製程中，依其材料來源之不同，應有各相關之資料。

(一) 動物來源

對於在製造過程中所使用的動物，如用來製造腹水的老鼠  
、產生血清抗體的兔子、或是基因轉殖動物，應依實際需  
要載明：

- 1 所使用之動物來源和種類 (若為基因轉殖動物，則須包  
含其製備原理及基因穩定性)
- 2 基因重組體的製造方法及轉殖基因動物的基因穩定性
- 3 外來物質的篩選與檢疫過程
- 4 動物飼養之控管
- 5 獸醫監督
- 6 對於牛製品須註明其來源
- 7 其他相關資料 (可參考中華藥典及其他相關規範)。

(二) 細胞來源：

1 細胞受質、宿主細胞及載體表現系統。

(1) 基因重組蛋白質：

應詳細敘述宿主細胞和載體表現系統及細胞來源與種  
類。

(i) 宿主細胞

應提供用於生產製造的宿主細胞來源，相關的表現  
型和基因型之說明。宿主細胞特性應包括表現型和  
基因型標記的測定，以決定細胞安定性、純度和選  
擇性之監控。

(ii) 載入基因之來源與特性：

A 應詳細說明植入宿主細胞之載入基因的建構 (包  
括基因的來源)。

B 應說明載入基因的製備方法，並包括其限制 切  
割圖。

C 應提供載入基因的編碼區域及表現載體的外緣控  
制區域 (flanking control regions) 之核 酸  
序列分析。轉譯後之胺基酸序列，以及所有重要  
序列特性鑑定之說明。

(iii) 載體 (Vector) 的建構：

應說明載體的基因構造，應包括載體組成部份之來源和功能，如複製之起始點，抗生素耐受基因，啟動基因序列，增強基因序列。並應提供限制 切割圖。限制 切割圖至少應標示建構基因載體的限制 切割點。並應該指出生產細胞特性鑑定化之重要基因標記。

(iv) 基因最終載入體的建構：

應包括載入基因、載體或其他基因等，逐步製備成基因最終載入體的敘述及限制 切割圖。圖上應至少指出基因最終載入體之切割點。

(v) 重組細胞株之選殖及建立：

應該提供將基因最終載入體引進宿主的方法，傳送的機制，引進基因的數目 (copy numbers)，及基因最終載入體在宿主細胞內的位置 (如嵌入染色體或額外染色體的位置)。應說明基因最終載入體之增殖與表現的效率，重組細胞的選擇，及種細胞庫的建立。

(2) 單株抗體.

說明單株抗體的發展，包括母細胞的特性，人類細胞提供者的歷史，免疫原，無限增生化的過程，篩選，及細胞選殖的過程。

2 種批系統 (seed lot system)：

- (1) 基因工程藥品之原料管制應符合「種批系統」之要求，建立細胞庫，目的在確保生產中有足夠且同品質的生產株運用，及每一批 (Lot) 產品之品質相同。
- (2) 大部份的生產株都是經由人工篩檢或基因重組等技術所得到的成果。在預備細胞庫前必須確定此生產株有穩定的基因，使該株能夠穩定的製造所需的產品。也就是說在大量生產時或在多代的繁殖後，仍然能穩定製造所需的產品。
- (3) 通常一個種細胞庫保存有 100-300 個種源 (Seed Unit)，由最原始的細胞所繁殖而成。再由種細胞庫中的一個單位，經繁殖製成由 100-200 細胞源組成的工作細胞庫。每一個到兩個工作細胞庫將作為將來大量生產時的種源。申請者應依細胞培養的表現狀況來訂定生產時所能達到的最高細胞複製繼代數。
- (4) 製造時必需使用主管機關核准之宿主-載體複合體 (

host-vector combination) 且經確效之種批系統( seed lot system) 作為製造之基礎。該種批系統包含衍生自宿主－載體複合體之主種批 (master seed lot) 的種細胞庫 (master cell bank; MCB) 及工作細胞庫 (working cell bank; WCB)。其相關培養、萃取與純化之過程以及製造批次之界定應建立並詳述之。

(i) 種細胞庫 (Master Cell Bank; MCB)

種細胞庫指含有特定基因與表現載體轉殖的第一代細胞均質懸浮液，以等體積分裝至個別容器中保存 (如於液態氮中)。在某些情況下，得分別建立表現載體與宿主細胞的各自種細胞庫。

A 應詳述種細胞庫之製備及測試。

B 應詳述種細胞庫建立日期，細胞庫存量，管制方法及儲存條件。

C 應說明用於鑑定種細胞庫的適當表現型標記 (例如型態，同功 ) 等特性結果。

D 種細胞庫對於內生性及外來物 (例如 Murine retroviruses, Epstein-Barr virus, 黴漿菌, 細菌, 霉菌, 其他病毒和/或類似病毒顆粒) 的測試。

(ii) 工作細胞庫 (Manufacture Working Cell Bank;

MWCB 或 Working Cell Bank; WCB) 工作細胞庫指來自種細胞庫且在有限繼代數 (finite passage level) 培養下之均質懸浮液，以等量體積分裝至個別容器中保存 (如於液態氮中)。

A 應詳述工作細胞庫的製備及測試。

B 應詳述工作細胞庫的建立日期，細胞庫數量，由種細胞庫倍增的細胞代數及儲存條件。若沒有種細胞庫，應提出工作細胞庫的特性結果。

\* 上述二種細胞庫以相同方式保存，一旦將其自儲存處取出，即不再放回。

(iii) 最終生產細胞 (Maximum End-of-Production Cells, MEPC 或 End of Production Cell, EPC)

最終生產細胞係指於組織培養或醱酵採收或終止細胞培養時的細胞。

A 需說明最終生產細胞的特性，及其生長時能顯示安定性的生產系統。

B 需包括最終生產細胞之表現型或基因型標記以証實其特性和純度之分析結果。

C 應包含用以支持最終生產細胞沒有污染外來物的測試結果。

### 3 細胞的培養及採收 (harvest)

需說明細胞接種，培養及採收的過程，培養基的組成，準備的器材及滅菌方式，培養基的滅菌及防止外來物污染發酵的過程。

(1) 對於細胞培養應說明：接種及培養生產的條件及批次的大小，若有不同，則應說明。操作過程及製程管制應包括：適當的操作及管制參數 (如：醱酵時間，細胞倍增時間，細胞培養純度，細胞存活率，酸鹼度，二氧化碳等值) 的建立。若蛋白質生產需要誘發，也應提供誘發條件和使用的管制。

(2) 對於將生產原料藥之細胞釋放至環境時，所採取的細胞去活化過程亦應加以說明。

(3) 若細胞培養的上清液或細胞離心沈澱物在使用前經過儲存，須提出儲藏期的安定性資料。在單一區域內超過一種細胞株的操作或任何器材有超過一種以上的細胞株使用時須指出，並說明防止交叉污染的過程。

### (三) 純化及後續的處理過程

1 需詳述純化及後續的處理過程，包括選用方法的合理性，及防止污染或阻絕交叉污染的措施。應說明製程中對生物負荷及內毒素限制的管制、方法確效及批次合格條件。

2 對於共同使用區域及設備應說明用來隔離或防止交叉污染的管制。

### 四 批次記錄：應提出一完整原料藥生產過程的代表性批次記錄

。

## 第五條 基因工程原料藥的製程管制資料：

一 製程管制的資料：應提供過程中管制方法的敘述，例如與醱酵培養，採收及加工的方法。

二 製程確效的資料：應提供確效資料。若因量產而改變製程 (如醱酵過程之改變)，則須提出再確效的資料及結果。

(一) 細胞培養及採收過程的確效研究：應說明製程管制之確效資料、重要參數及證明文件。

(二) 純化過程的確效研究：說明移除外來物 (如：管柱污染物，內毒素、抗生素、宿主蛋白質、DNA、及病毒等) 及純

化過程的確效及證明。

三 滅菌及無菌操作過程：應無微生物之污染

(一) 確保內容物不受污染或交叉污染的方法

(二) 製程中微生物負荷量與內毒素的限度

(三) 執行無菌分裝 (Sterilization Fill)

第六條 對照標準品血清組：

一 對照標準品：如使用國際對照標準品 (WHO, NIBSC) 或藥典對照標準品 (如中華藥典、USP 等)，須檢附該標準品之規格與分析成績書。若國際上尚無生物效價或化學對照標準品，申請者可自行建立廠內一級對照標準品。但須檢附該對照標準品之製備標準作業過程、特性、規格、分析成績書及安定性數據。並附上測試結果，例如標準品的物理化學、生物活性測定及分析證明書。若有使用合格的新對照標準品，則應提供該標準品之安定性資訊。

二 廠內工作標準品：廠內工作標準品須檢附其製備、特性、規格、試驗及結果。亦應檢附該廠內工作標準品以前述對照標準品所校正之數據。並應附上以主要標準品為對照之廠內工作標準品校正資料。

第七條 基因工程原料藥的規格及分析方法：

一 原料藥規格及測試

(一) 應敘述原料藥之放行測試、貯架期、規格及分析方法。應提出足以確定其原料藥鑑別，純度，效價及 (或) 力價之規格與測試法，以及每批產品間的一致性資料。對於非藥典之方法，應提供分析之確效，以顯示其可適用性。

(二) 分析證明書及分析結果

應附上至少連續三批品管的原料藥分析證明書及結果。

二 不純物之形式

應附上分析資料，包括蛋白質原料藥之變異體形式 (例如：切割、聚集、去胺、氧化等)，及非產品相關之不純物 (例如加工過程試劑及細胞培養組成)。

第八條 基因工程藥品的製造及規格：

應提出藥品之處方成分及組成、單位劑量和批次量，以及最終產品之規格。

一 藥品成份的規格及方法

(一) 包括所有活性成份和輔助成份之原料藥。應提供所有活性成分測試及規格的敘述，及輔助性產品的規格

(二) 賦形劑：所有賦形劑的資訊。

1 藥典的賦形劑：應列出賦形劑引用藥典的出處。

- 2 非藥典上的賦形劑：應說明測試方法及規格。對新賦形劑，應說明其製備，特性和管制。對於不具活性的人體或動物來源之成份，應提供測試結果或確效資料，以顯示沒有外來物之污染。
- 二 製造者：應提供所有製造商的名稱與地址。包括原料（委託）製造及檢驗等，並應敘述其責任歸屬。
- 三 製造及包裝方法  
應提供完整敘述原料藥配方和成品之量產製造過程流程圖。說明滅菌操作、無菌處理、冷凍乾燥及包裝過程。流程圖應指出生產過程、製程管制和測試結果，物流及人流方向與無菌操作等敘述。
- 四 藥品規格與測試方法
  - (一) 取樣過程：包括監控每批成品的採樣過程。
  - (二) 規格及測試方法：需提出特性鑑定、純度、效價和／或力價測試方法的敘述，以及每批成品間的一致性及成品使用規格。
    - 1 提供至少連續三批成品的分析證明書及分析結果。
    - 2 應提供非藥典測試法之確效資料。

#### 第九條 基因工程藥品試驗中的成品／劑型

應提出藥品配方，製造過程，不同點的臨床試驗所使用的物質和商業化量產的原料藥和藥品批次之間的差異性。如有差異性，應完整的敘述這些差異性。如果試驗中的藥物劑型是不同於即將上市的成品，如適當的話，應該提供用以支持二種劑型的生物相等性和／或藥物動力相等性的比較資料。如果製造過程和／或地點是不同，應提出以適切的測試，來評估比較試驗中和商業化的產品資料。

第一〇條 基因工程產品的安定性試驗資料：應敘述該產品之安定性以訂定其儲藏條件與有效期限，必要時應有原料藥、半製品或調配原液在製造、特定儲存或運送條件下之安定性及其確效資料。安定性試驗報告應依行政院衛生署公告之「藥品安定性試驗準則」內容確實執行，並檢附實驗方法、統計分析及定量分析方法的確效等資料。應包括監控生物活性及分解產物如切割，聚集，去胺，氧化形式的測試結果及中間產品儲存的資料。

#### 第一一條 藥理及毒性試驗資料

- 一 基因工程產品的氨基酸序列、及結構等的些微差異，可能對產品的藥理及毒理等作用產生重大影響，因此需藉適當的動物模式，觀察產品在活體中產生任何非預期的藥理作用，並在毒性試驗或臨床試驗時觀察此藥理作用。藥品之

藥理及毒性試驗應符合行政院衛生署制定之「藥品非臨床試驗安全性規範」的內容。

- 二 由於生物技術及分子生物學的突飛猛進，國科會已修訂「基因重組實驗準則」。將實驗室防護分為 P1、P2、P3、P4 四個等級，並要求成立生物實驗安全委員會。P1 級是危險性低的基因重組實驗，與一般微生物實驗室相同等級；P2 則是較危險性的基因重組實驗，其病原微生物如沙門氏菌等。至於 P3 級指把危險性高病毒當載體，如狂犬病毒等 21 種；P4 級指危險性最高的病毒如伊波拉病毒等 14 種。爲了落實基因重組實驗準則，相關團體應設置生物實驗安全委員會，定期監督查核。

#### 第一二條 藥物動力學資料

基因重組蛋白質產品之蛋白質修飾作用，對藥品之吸收、代謝及療效有重要之影響。因此在查驗登記申請時，仍需提供以該申請之產品執行之藥動學、藥效學等人體及動物資料以供審核。

#### 第一三條 臨床使用文獻：

基因重組蛋白質產品查驗登記時，除應檢附國外臨床使用文獻等資料外，另應再依據本署「藥品臨床試驗申請須知」及相關規定申請國內供查驗登記用藥品臨床試驗（得檢附國內臨床試驗報告資料，或同時檢送國內臨床試驗計畫書，以供審查）。惟如欲免除國內臨床試驗，則可依本署歷次免除國內臨床試驗品項之公告，正式向本署申請免除國內臨床試驗。

#### 第一四條 其他

- 一 提供專利證明文件供參：爲專重智慧財產及專利權人之權益，申請時應對智慧財產及專利權保護自行了解與遵守。
- 二 申請者應提供原開發廠證明文件供參
- 三 容器／封蓋系統  
應說明容器及封閉系統，和藥品之相容性。對於滅菌產品，應提供在建議保存期間容器及封閉完整的證據。

#### 參考文獻：

- 1 中華藥典第五版，附錄肆、製劑通則及一般規定卅三、基因工程製劑以及 卅一、單株抗體製劑
- 2 Guidance for Industry for the Submission of Chemistry, Manufacturing, and Controls Information for a Therapeutic Recombinant DNA-Derived Product or a Monoclonal Antibody Product for In Vivo Use - FDA 8/1996