

公募型見積合わせ公告

国立大学法人大阪大学において、次のとおり公募型見積合わせ方式に付します。

1. 調達内容

- |              |  |
|--------------|--|
| (1) 調達番号     | 医経005  |
| (2) 調達件名及び数量 | 「CXCL2遺伝子とHVJ-Eの配合による癌免疫遺伝子治療剤の創出を目指した研究」に用いる治験用pVAX-1/CXCL2プラスミドDNAの製造 一式 |
| (3) 請負完了期限   | 2020年3月31日まで   |
| (4) 納入場所     | 大阪大学大学院医学系研究科  |

2. 見積参加資格

- (1) 国立大学法人大阪大学契約規則第7条及び第8条の規定に該当しない者であること。
- (2) 仕様書「受注者の資格及び条件」を満たす者であること。

3. 見積書の提出場所等

- (1) 見積書および受注者の資格及び条件を満たすことを証明する書類の提出場所、契約条項を示す場所、国立大学法人大阪大学公募型見積合わせ方式参加者心得の交付場所及び問合せ先  
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-2  
国立大学法人大阪大学大学院医学系研究科経理課外部資金第二係  
電話 06-6879-3045
- (2) 国立大学法人大阪大学公募型見積合わせ方式参加者心得の入手方法  
本公告の日から上記3(1)の交付場所にて交付します。また、インターネットにより本学ホームページにアクセスし、参加者心得を出力することもできます。
- (3) 見積書提出期限  
令和1年11月28日(木) 17時15分

4. その他

- (1) 契約保証金 免除
- (2) 契約書作成の要否 要
- (3) その他詳細は、国立大学法人大阪大学が定めた「国立大学法人大阪大学公募型見積合わせ方式参加者心得」および「製造請負契約基準」に定めています。

## 仕 様 書

### 【一般事項】

1. 請負の表示：「CXCL2 遺伝子と HVJ-E の配合による癌免疫遺伝子治療剤の創出を目指した研究」に用いる治験用 pVAX-1/CXCL2 プラスミド DNA の製造（150 本）
2. 請負完了期限：令和 2 年 3 月 31 日までとする。
3. 契約事項：国立大学法人大阪大学が定めた製造請負契約基準を準用するものとする。
4. 代金の支払：請負代金は、請負の完了確認後、当該月の翌々月末までに支払うものとする。

### 【特記事項】

#### 1. 業務内容

受注者は、本仕様書に基づき別紙「委託業務内容詳細一覧」のとおり請負業務を行うものとする。

#### 2. 受注者の資格及び条件

- ① 治験薬として pVAX-1/CXCL2 を製造するために、製造施設としてカルタヘナ法に基づく確認申請・承認の実績があること。

治験薬として pVAX-1/CXCL2 を製造するためには、製造施設としてカルタヘナ法（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）の第 13 条第 1 項の規定により、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に関して厚生労働省（医薬品医療機器総合機構）に確認申請を実施し、厚生労働大臣からの承認を受ける必要がある。

- ② pVAX-1/CXCL2 製造に必要な大腸菌のマスターセル・バンクを保有していること。

治験薬 GMP レベルの pVAX-1/CXCL2 の製造を行うには、製造用の大腸菌を実験レベルとは異なる特殊な方法（エレクトロポレーション法）で作成し、細胞バンクとして保管管理している必要がある。また、作成した細胞バンクに関してはガイドラインに従って適切に品質試験を実施し、適合の結果を得て記録として保管している必要がある。更に、作成した細胞バンクは治験薬 GMP 体制下で適切に保管管理している必要がある。

- ③ pVAX-1/CXCL2 の治験薬 GMP レベルでの大量製造が可能であること。

実施予定の治験については 150 本（150mg）の製造が必要であることから、これらの研究の実施に対応できるよう 100 本から 200 本の大量製造（150mg から 200mg、5 mg/L の収量で計算すると 20L から 40L 必要）が可能で 50L 以上の培養槽を含む製造設備を有している必要がある。

- ④ 治験薬 GMP レベルでの製造実績があり、確実に製造を遂行することが可能であること。

大腸菌を用いたプラスミド製造は、生物製剤となるため、安定的に製造した実績があり、その製造結果に従って適切に規格設定を行う必要がある。安定的かつ均質の pVAX-1/CXCL2 製造を完遂するには実際の治験薬 GMP 製造に使用する細胞バンク（大腸菌のマスターセルバンク）を用いて、少なくとも複数バッチの製造実績がある必要がある。

- ⑤ pVAX-1/CXCL2 製造後、発注者と新たに契約を締結して治験薬 GMP で管理された保管庫で pVAX-1/CXCL2 を適切な保管が可能であること。

治験薬を医療機関へ送付するまで、製造したプラスミド DNA を医療機関への搬入まで治験薬 GMP 管理の下で適切に冷凍保存（-20℃以下）し、保存記録などを作成・保管管理する必要がある。

### 3. 想定されるスケジュール

令和 2 年 2 月 20 日：pVAX-1/CXCL2 製造完了

令和 2 年 3 月 31 日まで治験薬 GMP 管理下で保管

### 4. 費用負担

本業務にかかる消耗品費・印刷費・通信費及び交通費等は受注者が負担するものとする。

### 5. 秘密保持

受注者は業務履行上知り得た情報を発注者側の許可なく第三者に開示してはならない。

### 6. 個人情報の取扱い

受注者は、業務上知り得た個人情報については一切機密を保持するものとし、請負期間終了後についても同様のものとする。

### 7. 著作権

本請負の納品物の著作権は、全て発注者に帰属するものとする。受注者がこの納品物を発注者に無断で複製してはならない。

### 8. 権利義務譲渡の禁止について

受注者は発注者の書面による承諾なく業務の全部又は一部の権利や義務を第三者に譲渡し、承継させ、または担保の用に供してはならない。

9. その他

本仕様書に規定されない事項については、発注者・受注者間で協議のうえ処理するものとする。

以上

## 別紙

### 委託業務内容詳細一覧

pVAX1-hCXCL2 プラスミド DNA の治験薬 GMP 製造

## 目次

1. カルタヘナ法（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）に基づく確認申請 .....	6
2. プラスミド DNA の製造体制の構築.....	6
3. プラスミド DNA の製造.....	6
3-1. プラスミド DNA 製造の概略 .....	6
3-2. プラスミド DNA 製造の培養工程.....	7
3-3. プラスミド DNA 製造の原薬製造工程.....	8
3-4. プラスミド DNA 製造の製剤化工程 .....	8
4. プラスミド DNA 製造工程における生物由来原料に関する条件と書類整備.....	9
5. プラスミド DNA 製造用のバンクシステム作成（未作成の場合） .....	9
6. プラスミド DNA の治験薬 GMP 製造における工程管理 .....	9
7. プラスミド DNA の品質について .....	9
8. プラスミド DNA の保管・管理.....	10

## 1. カルタヘナ法（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）に基づく確認申請

プラスミド DNA を治験薬 GMP レベルで製造するには、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 項の規定に基づいて、医薬品医療機器総合機構（PMDA）に対して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申請を実施し、厚生労働大臣からの確認通知書を受領する必要がある。

そのため、確認申請に必要な書類を作成後、規制当局である医薬品医療機器総合機構（PMDA）に対して事前申請を行い、書類の内容に関して PMDA による事前確認を完了する。PMDA への事前確認を完了した後に、PMDA に本申請を行い、厚生労働大臣の確認通知書を受領する。

## 2. プラスミド DNA の製造体制の構築

本プラスミド DNA 製造については、治験薬 GMP 体制の下で製造を実施するため、受託者は自ら治験薬 GMP 製造に必要な組織を整備し、標準操作手順書を作成する。

## 3. プラスミド DNA の製造

### 3-1. プラスミド DNA 製造の概略

治験薬 GMP レベルのプラスミド DNA 製造工程の概略は下記の通りとする。

プラスミド増幅した大腸菌の菌体を破砕し、その上清を精製用原料として使用する。先ず、凍結保存している種菌を使用して恒温シェーカー内で三角フラスコを用いて前培養を実施する。前培養で製造した大腸菌を使用して必要な量を培養槽で本培養を行う。必要量は、製造工程における収量から算出される、適切なサイズのスケールとする。

本培養で製造した大腸菌体を含む培養液から、冷却高速遠心機で菌体を分離後、安全キャビネット内で菌体をバッファーで懸濁し、溶解液を添加して破砕（可溶化）する。可溶化後の溶液から、冷却高速遠心機による遠心等で菌体残渣を分離後、フィルターろ過により清浄化と調液で精製工程に用いる DNA 粗精製液を調製する。

このようにして調製したプラスミド DNA 粗精製液を、3 種類以上のクロマトグラフィーにより精製した後、フィルターで調液、濃縮した溶液を調製する。その後、規定の濃度に濃度調製を行った溶液をバイアル分注したものを調製し、ラベリングと包装後に  $-20^{\circ}\text{C}$  で凍結保存する。

## 3-2. プラスミド DNA 製造の培養工程

### (Step 0: MCB (Master Cell Bank)の作成)

MCB を保有していない場合には、新たに作成し、ガイドラインに従って設定した品質試験に適合することを予め確認しておく。

### Step 1: MCB (Master Cell Bank)の解凍

MCB を室温で解凍する。

### Step2: 種菌の植菌

三角フラスコに大腸菌用の培地を分注し、MCB を植菌する。

### Step 3: 種菌培養

恒温振盪培養器を用いて、植菌した大腸菌を三角フラスコで培養して種菌とする。増殖については OD などでモニタリングする。

### Step 4: 本培養の準備

本培養用添加用液が入った植菌容器に種菌の溶液をまとめて混合する。

### Step 5: 本培養

培養用機器を用いて、種菌を継代培養して本培養を実施する。増殖の状態については培養液の OD により測定する。

### Step 6: 遠心濃縮による菌体回収

培養液を遠心ボトルに分注後、冷却高速遠心機による遠心で菌体ペレットを回収する（菌体量は、重量法により測定する）。

### Step 7: 菌体の懸濁

安全キャビネット内にて菌体ペレットに懸濁用溶液を添加後、攪拌により再懸濁する。

### Step 8: 菌体の溶解

溶解用溶液を添加して菌体を溶解してプラスミド DNA を抽出する。

### Step 9: 上清の調製

冷却高速遠心機やフィルター等の処理により菌体の残渣を除去し、プラスミド DNA

上清を調製する。

Step 10: プラスミド DNA 溶液の清浄化

無菌用のフィルター濾過などで清浄化する。

Step 11: プラスミド DNA の粗精製液の調液

限外ろ過膜などを用いて、清浄化したプラスミド DNA 溶液からプラスミド DNA 粗精製液を精製用に調液する。

### 3-3. プラスミド DNA 製造の原薬製造工程

Step 12: 不純物の除去 (カラムクロマトによる精製)

3 種類以上のクロマトグラフィーでプラスミド DNA 粗精製液から不純物を除去し、プラスミド DNA を精製する。

Step 13: 製剤化用のプラスミド DNA 溶液の調液

精製したプラスミド DNA を、限外ろ過膜などを用いて調液 (バッファーを置換と濃度調整) を行って、製剤化用のプラスミド DNA 溶液とする。

### 3-4. プラスミド DNA 製造の製剤化工程

Step 14: 濃度調整

製剤化用のプラスミド DNA の溶液を無菌濾過用フィルターでろ過する。

Step 15: 分注

無菌ろ過後のプラスミド DN 溶液を、乾熱滅菌したガラスバイアル (委託者指定の茶バイアルを使用) に規定量分注 (1 mL/バイアル) する。

STEP 16: 打栓、巻き締め

滅菌済みゴム栓 (委託者指定のものを使用) を打栓後、アルミキャップでの巻き締めを行う。

STEP 21: ラベル貼付、包装

治験薬ラベルを貼付し、所定の紙箱に入れて製剤保存庫に凍結保存する (プラスミド DNA 製剤)。

#### 4. プラスミド DNA 製造工程における生物由来原料に関する条件と書類整備

プラスミド DNA を製造する際に使用する原材料、およびマスターセル・バンク作成の際に使用する原材料は動物由来成分を含有しないものを使用する。また、使用する原材料については生物由来原料基準に基づいて安全性について確認し、COA (Certificate of Analysis) を入手、保管する。

#### 5. プラスミド DNA 製造用のバンクシステム作成（未作成の場合）

プラスミド DNA の製造には大腸菌を使用するため、「生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）製造用細胞基材の由来、調製および特性解析」（平成12年7月14日付、医薬審発第873号、以下「ICH Q5D」という）の「2.2 細胞のバンク化」に従ってセル・バンクシステムを作成し、「2.3 セル・バンクの特性解析及び品質評価に際しての一般的留意事項」を参考とし、必要な試験項目について品質試験を実施し、全ての試験項目で適合の判定結果を得た後に、製造用細胞として使用する必要がある。

#### 6. プラスミド DNA の治験薬 GMP 製造における工程管理

プラスミド DNA の製造工程においては、重要工程で管理項目を設定して製造を実施する。

培養工程においては、大腸菌の増殖をモニタリングするための項目について管理値を設定する。細胞破碎工程と、ろ過工程後の粗精製の段階では、製造用細胞である大腸菌由来の不純物を含有しているため、不純物の確認を行なうこととする。精製工程では、それぞれの工程で除去される不純物の除去についてモニタリングを行なう。

最終工程では、スーパーコイル状のプラスミド DNA の純度確認、目標濃度であるかどうかを確認するための定量、目的とするプラスミド DNA を分離したことの確認、工程由来不純物で安全性に関わるエンドトキシン試験を実施する。

#### 7. プラスミド DNA の品質について

プラスミド DNA の品質については、「生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）の規格及び試験方法の設定について」（平成13年5月1日付、医薬審発第571号、以下「ICH Q6B」という）の「4. 規格及び試験方法」内容に従って設定した試験に適合するものとする。規格項目としては、ICH Q6B の「4.2 製剤の規格及び試験方法」に記載された「4.2.1 外観・性状」（試験項目①）、「4.2.2 確認試験」（試験項目②と③）、「4.2.3 純度と不純物」（試験項目④から⑧）、「4.2.4 力価」（試験項目⑨）、「4.2.5 物質質量」（試験項目⑩）、「4.2.6 その他の一般的試験項目」（試験項目⑪から⑬）を参考にして設定した計 16 項目の試験に適合する品質のプラスミド DNA を製造する必要がある（表1）。なお、プラスミド DNA に品質試験は、委託者側で実施する。

表 1. プラスミド DNA の暫定規格設定項目一覧

(規格値については、日本薬局方で規定された注射剤としての規格に準ずる。日本薬局方の規定以外の規格値については受託決定後に委託者からの指示に従って設定する)

試験内容	試験項目	試験方法
性状	①性状試験	目視
確認試験	②塩基配列	2本鎖の配列解析
	③制限酵素地図試験	電気泳動法
純度試験	④純度試験*	HPLC 法
製造工程由来不純物試験	⑤吸光度比 (A260/A280)	吸光度 (A260/A280)
	⑥宿主 DNA	PCR 法
	⑦宿主 RNA	ゲル電気泳動法
	⑧宿主たん白質試験	ELISA 法
特性試験	⑨遺伝子産物産生	ELISA 法
定量試験	⑩DNA 濃度 (A260) **	吸光度 (A260)
不溶性微粒子	⑪不溶性微粒子試験	日局
不溶性微異物	⑫不溶性微異物試験	日局
pH	⑬pH 試験	日局
浸透圧	⑭浸透圧試験	日局
無菌性	⑮無菌試験	日局
エンドトキシン	⑯エンドトキシン試験	日局

\* SC 体 : Supercoil 体 (スーパーコイル状のプラスミド DNA)、OC 体 : Open circular 体 (開環状のプラスミド DNA)、LN 体 : Linear 体 (直鎖状のプラスミド DNA) の含量に基づく純度試験

\*\* プラスミド DNA の目標濃度は 1mg/mL

## 8. プラスミド DNA の保管・管理

製造したプラスミド DNA については、治験薬として保管・管理する必要があるため、受託者は治験薬 GMP レベルで管理された $-20^{\circ}\text{C}$ 以下に温度設定された冷凍庫に、製造したプラスミド DNA を治験薬として搬出するまで、治験薬 GMP 下で保管・管理する。

以上

第2号様式

見 積 書

調達番号：医経005

調達件名：「CXCL2遺伝子とHVJ-Eの配合による癌免疫遺伝子治療剤の創出を目指した研究」に  
用いる治験用pVAX-1/CXCL2プラスミドDNAの製造 一式

見 積 金 額

金

円也

国立大学法人大阪大学が定めた製造請負契約基準を熟知し、公募型見積合わせ方式参加者心得を  
承諾の上、上記の金額によって見積します。

令和 年 月 日

国立大学法人大阪大学 殿

住 所

会 社 名

氏 名

電話番号

[印]

※ 見積金額は、消費税額及び地方消費税額を除いた金額を記載してください。

※ 見積書の日付は、提出日を記載してください。

※ 本学が見積公告【2. 見積参加資格（1）（2）】以外に見積参加資格を示した場合、それを有  
しているかどうか証明するための書類を見積書に添付してください。

## 製造請負契約書(案)

製造請負の表示 「CXCL2 遺伝子と HVJ-E の配合による癌免疫遺伝子治療剤の創出を目指した研究」に用いる pVAX-1/CXCL2 プラスミド DNA の製造 一式

請負代金額 金 円也 (うち消費税額及び地方消費税額 円)

上記の消費税額は、消費税法第28条第1項及び第29条並びに地方税法第72条の82及び第72条の83の規定に基づき、請負代金額に110分の10を乗じて得た額である。

発注者国立大学法人大阪大学大学院医学系研究科 研究科長 森井 英一と受注者 との間において、上記の製造(以下「製造」という。)について、上記の請負代金額で次の条項によって請負契約を結ぶものとする。

- 第1条 受注者は、別紙の仕様書に基づいて、製造をするものとする。
- 第2条 GMP 基準に基づく契約が必要な場合は、別途契約するものとする。
- 第3条 製造は、受注者の保有する施設において、これをするものとする。
- 第4条 受注者は、製造物及び製造に必要な物品等の運送にあたっては、大阪府生活環境の保全等に関する条例第40条の15に規定する車種規制適合車等の使用義務を遵守すること。
- 第5条 業務の完了期限は、令和1年3月31日とする。
- 第6条 受注者は発注者に対し、製造完成通知書を国立大学法人大阪大学大学院医学系研究科経理課外部資金第二係に送付する方法で交付するものとする。
- 第7条 請負代金は1回に支払うものとする。
- 第8条 請負代金は、製造物の完成及び検収・引渡し後、当該月の翌々月末までに支払うものとする。
- 第9条 契約保証金は免除する。
- 第10条 この契約についての必要な細目は、別冊の国立大学法人大阪大学が定めた製造請負契約基準によるものとする。
- 第11条 この契約について、発注者と受注者との間に紛争を生じたときは、発注者所在地の所轄裁判所の裁決により、これを解決するものとする。
- 第12条 この契約に定めのない事項について、これを定める必要がある場合は、発注者と受注者とが協議して定めるものとする。

上記契約の成立を証するため発注者及び受注者は、次に記名し、印を押すものとする。  
この契約書は2通作成し、双方で各1通を所持するものとする。

令和1年 月 日

発注者

吹田市山田丘2番2号  
国立大学法人大阪大学大学院医学系研究科  
研究科長 森井 英一

印

受注者

[住 所]  
[法人の名称又は商号及び代表者氏名]

印