

Методические аспекты разработки нормативной документации на биомедицинский клеточный продукт

Е. В. Мельникова^{1,*}, О. А. Рачинская¹, О. В. Меркулова¹, И. С. Семенова¹, Е. О. Кожевникова¹, В. А. Меркулов^{1,2}

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

²Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

Составление нормативной документации (НД) на биомедицинский клеточный продукт (БМКП) — важный этап подготовки документов для его государственной регистрации. НД является основным документом регистрационного досье, в соответствии с которым проводится экспертиза качества БМКП. Требования к содержанию НД, в том числе спецификации, регламентируются соответствующими нормативно-правовыми актами, обеспечивающими действие Федерального закона от 23.06.2016 № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах». Однако, учитывая новизну правового поля в отношении БМКП как инновационных средств для медицинского применения в Российской Федерации, особенность их состава (наличие жизнеспособных клеток человека), отличного от традиционных лекарственных средств, отсутствие опыта их государственной регистрации, необходимо рассмотрение особенностей содержания НД на БМКП. Цель работы — определение методических подходов к разработке и формированию нормативной документации на БМКП в соответствии с национальным законодательством и с учетом опыта зарубежных регуляторных органов при рассмотрении материалов, подаваемых заявителем для осуществления государственной регистрации аналогов БМКП. В статье обобщены требования национального законодательства к описанию показателей качества, методов и методик контроля клеточной линии, входящей в состав БМКП. Данные сведения необходимы как для проведения оценки качества образцов БМКП в рамках экспертизы качества, так и для формирования заключения комиссии экспертов. В частности, в статье рассмотрена проблема содержания клеточных и технологических примесей в клеточной линии и готовом БМКП, а также аспекты описания стратегии вирусной безопасности для готового продукта и клеток из системы главного и рабочего банков. Представленные аспекты описания показателей качества и методов их контроля для готового БМКП, а также для клеточной линии, входящей в его состав, могут служить основой для формирования НД разработчиками БМКП.

Ключевые слова: биомедицинский клеточный продукт; клеточная линия; нормативная документация; спецификация; экспертиза качества; показатели качества; регистрационное досье; государственная регистрация

Для цитирования: Мельникова ЕВ, Рачинская ОА, Меркулова ОВ, Семенова ИС, Кожевникова ЕО, Меркулов ВА. Методические аспекты разработки нормативной документации на биомедицинский клеточный продукт. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2021;21(2):122–135. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-2-122-135>

* **Контактное лицо:** Мельникова Екатерина Валерьевна; melnikovaev@expmed.ru

Methodological aspects of the development of product files for biomedical cell products

E. V. Melnikova^{1,*}, O. A. Rachinskaya¹, O. V. Merkulova¹, I. S. Semenova¹, E. O. Kozhevnikova¹, V. A. Merkulov^{1,2}

¹Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

²I. M. Sechenov First Moscow State Medical University,
8/2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russian Federation

Preparation of a product file (PF) for a biomedical cell product (BCP) is an important stage in the preparation of documents for marketing authorisation. The PF is the main document of a regulatory submission and is used as the basis for BCP quality control. The requirements for the content of a PF, including appropriate specifications, are laid out in the relevant laws and regulations that support Federal Law No. 180-FZ “On Biomedical Cell Products” of 23.06.2016. However, given the novelty of the Russian legislative framework for innovative products for human use represented by BCPs, the specificity of their composition (i.e., components based on viable human cells) which differs significantly from conventional medicines, and lack of marketing authorisation experience—there is a need to examine specific aspects of a BCP PF. The aim of the study was to formulate methodological approaches to the development and preparation of a BCP PF in accordance with the national legislation and taking into account the experience of foreign regulatory authorities in evaluation of regulatory submissions for BCP analogues. The paper summarises the national regulatory requirements for the description of quality characteristics of cell lines used as components in BCPs, as well as test methods and test procedures used for cell line quality control. These data are required both for quality control of BCP samples, and for preparation of the Expert Commission Conclusion. The paper looks into the content of cellular and process-related impurities in

a cell line and a finished BCP, and presents considerations on the description of the viral safety strategy for the finished product and for the cells from the master and working cell banks. The approaches to the presentation of quality characteristics and quality control methods for a finished BCP and for the cell line used in its production could be used by BCP developers for preparation of a PF.

Key words: biomedical cell product; cell line; regulatory documentation; specification; quality control; quality characteristics; regulatory submission; marketing authorisation

For citation: Melnikova EV, Rachinskaya OA, Merkulova OV, Semenova IS, Kozhevnikova EO, Merkulov VA. Methodological aspects of the development of product files for biomedical cell products. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2021;21(2):122–135. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2021-21-2-122-135>

* **Corresponding author:** Ekaterina V. Melnikova; melnikovaev@expmed.ru

Биомедицинская экспертиза — подтверждение качества, эффективности и безопасности биомедицинского клеточного продукта (БМКП) экспертами экспертного учреждения в рамках его государственной регистрации с целью доступа на национальный фармацевтический рынок. Проведение биомедицинской экспертизы предполагает использование не только национальной нормативно-правовой базы в сфере БМКП, но и накопленных сведений и знаний в области медицины (в том числе в плане понимания молекулярных механизмов патогенеза заболевания, его диагностики и лечения) и фундаментальных наук (клеточной и молекулярной биологии, анатомии, иммунологии, физиологии, биохимии и др.). Кроме того, учитывая отсутствие в настоящее время в Российской Федерации зарегистрированных БМКП, в ходе биомедицинской экспертизы может быть принят во внимание опыт рассмотрения и регистрации аналогов БМКП (препаратов на основе клеток и тканей человека) зарубежными регуляторными органами в части, не противоречащей регуляторной базе России.

Экспертная оценка качества БМКП — подтверждение соответствия БМКП требованиям нормативной документации (НД) на БМКП, проводимое аттестованными экспертами с применением валидированных методик в соответствии с НД. Требования к качеству препарата в НД формирует производитель (заявитель) на основании экспериментальных данных, полученных в ходе разработки. Они должны гарантировать соответствие БМКП своему назначению и исключать риск, связанный с неудовлетворительным качеством БМКП. Результаты экспертизы качества образцов БМКП, методы их контроля, характеристика клеточной линии (КЛ), входящей в состав БМКП, являются объектами для внесения в заключение комиссии экспертов, форма которого регламентирована приказом Минздрава России от 31.01.2017 № 30н¹.

Цель работы — определение методических подходов к разработке и формированию нормативной документации на БМКП в соответствии с национальным законодательством и с учетом опыта зарубежных регуляторных органов при рассмотрении материалов, подаваемых заявителем для осуществления государственной регистрации аналогов БМКП.

Содержание нормативной документации

В соответствии с пп. 136, 137 приказа Минздрава России от 08.08.2018 № 512н² НД на БМКП должна содержать в том числе сведения о его составе, описание основного механизма действия, спецификацию на БМКП, показатели качества с критериями приемлемости и методы их определения. К критериям приемлемости относятся числовые пределы или диапазоны измеряемых величин или другие параметры, используемые в испытаниях.

Спецификация³ представляет собой документ, содержащий сведения о типе (аутологичный, аллогенный, комбинированный) БМКП, его качественном и количественном составе, биологических и иных характеристиках БМКП и клеточной линии (клеточных линий), входящей(их) в его состав. Спецификация составляется на каждый разработанный БМКП, прошедший доклиническое исследование. Таким образом, спецификация на БМКП должна включать сведения о качестве готового продукта, которое должно быть подтверждено в ходе проведения экспертизы качества при государственной регистрации. Характеристика БМКП должна охватывать все компоненты, присутствующие в готовом препарате, в том числе сведения о клеточной(ых) линии(ях) (наименование, происхождение, жизнеспособность, допустимое количественное содержание клеток, идентичность, активность, наличие генетической модификации) и сведения о лекарственных препаратах, фармацевтических субстанциях, медицинских изделиях, вспомогательных веществах (номер регистрационного удостоверения, производитель, номер НД, количественное содержание, обоснование включения в состав БМКП).

Спецификация на биомедицинский клеточный продукт: характеристика клеточной линии

Методические подходы к определению идентичности (подлинности) КЛ и перечень сведений, подлежащих включению в спецификацию по данному показателю, подробно нами описаны ранее [1], подходы к определению активности КЛ — в работе [2]. Контроль качества БМКП по показателю «Жизнеспособность КЛ» должен определять жизнеспособность клеток и ее нижнее пороговое значение. В спецификации должно быть указано количественное содержание обших и жизнеспособных клеток, входящих в состав БМКП. При наличии в составе БМКП медицинского устройства, геля или других носителей в НД должна быть описана методика отделения клеточного компонента от неклеточного для определения жизнеспособности. Определение жизнеспособности клеток возможно и перед объединением клеточного компонента с неклеточным.

БМКП, наряду с целевыми клетками, может содержать клетки, не относящиеся к требуемой популяции, и (или) клетки, находящиеся на разных этапах дифференцировки, то есть являющиеся примесными. Если в соответствии с областью клинического применения БМКП необходим только определенный тип клеток, в спецификации указываются критерии приемлемости для допустимого количества примесных клеток и методы его определения. В случаях, когда для достижения желаемой биологической активности и эффективности БМКП необходима сложная комбинация клеток, эта комбинация должна быть охарактеризована в спецификации с указанием

¹ Приказ Минздрава России от 31.01.2017 № 30н «Об утверждении Правил проведения биомедицинской экспертизы биомедицинских клеточных продуктов и форм заключений комиссии экспертов федерального государственного бюджетного учреждения по проведению биомедицинской экспертизы биомедицинских клеточных продуктов».

² Приказ Минздрава России от 08.08.2018 № 512н «Об утверждении Правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами».

³ Приказ Минздрава России от 19.01.2017 № 14н «Об утверждении формы спецификации на биомедицинский клеточный продукт».

методов как внутрипроизводственного контроля, так и испытаний при выпуске готовой продукции. Допускается отсутствие данного показателя при незначительном их количестве и в случае наличия данных об отсутствии влияния примесных клеток на эффективность и безопасность продукта, определенных в ходе доклинических исследований (ДКИ), и данных валидации процесса производства, демонстрирующих стабильность процесса получения готового БМКП с содержанием примесных клеток в количестве, не превышающем допустимых пределов.

Например, для разрешенного к медицинскому применению в государствах Европейского союза (ЕС) препарата Spherox (Co.dop; EC)⁴, согласно опубликованной на сайте Европейского агентства по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) информации⁵, в спецификацию включен показатель «Содержание примесных клеток (синовиоцитов)», а также указано, что синовиоциты могут оказывать влияние на эффективность и безопасность препарата Spherox. Что касается препаратов на основе химерных антигенных рецепторов Kymriah (Novartis; США, ЕС)⁶, Yescarta (Kite Pharma, Gilead; США, ЕС)⁷ и Tecartus (Kite Pharma; США, ЕС)⁸, представляющих собой генетически-модифицированные Т-клетки, основными родственными примесями для них считают натуральные киллеры (НК-клетки), содержание которых контролируется в процессе производства, а все остальные популяции клеток (В-клетки, моноциты, гранулоциты, эритроциты из материала лейкафереза) находятся ниже предела обнаружения, что было доказано на этапах разработки и доклинических исследований. Нетрансдуцированные Т-клетки считаются частью продуктов. Для Alofisel (Tigenix; ЕС)⁹ влияние на качество препарата установленных родственных и технологических примесей было изучено на этапе ДКИ и клинических исследований (КИ), поэтому показатель не включен в спецификацию. Препарат Zynteglo (bluebird bio; ЕС)¹⁰ на основе генетически модифицированных CD34⁺ клеток по составу и количеству клеточных примесей был изучен на этапе разработки и валидации процесса производства: было показано, что процент клеточных примесей очень низкий. Важной особенностью препарата JACE (Tissue Engineering Co. (J-TEC); Япония)¹¹ на основе кератиноцитов, препаратов Nepic (Japan

Tissue Engineering Co., Ltd.; Япония)¹² и Holoclar (Holostem Terapie Avanzate S.R.L.; ЕС)¹³ на основе эпителиальных стволовых клеток роговицы является использование при их производстве фидерных клеток — фибробластов мыши (линия 3T3-J2), поэтому в спецификации данных препаратов включен показатель — остаточное содержание фидерных клеток. В препарате Holoclar, целевые клетки которого идентифицируются по наличию маркера р63⁺, другие примесные клетки человека не определялись, так как нестволовые клетки (в том числе терминально дифференцированные эпителиальные клетки роговицы), присутствующие в препарате, способствуют формированию эпителиоподобной структуры и служат своеобразной защитной структурой для целевых клеток¹². Препарат HeartSheet (Terumo Corporation; Япония)¹⁴ на основе миоцитов для лечения тяжелой сердечной недостаточности содержит небольшое количество фибробластов в качестве родственной примеси, определение которых не включено в тесты готового продукта.

Помимо примесей клеточного происхождения КЛ, входящая в состав БМКП, а в конечном итоге и готовый продукт могут содержать и остаточные количества веществ, используемых в процессе производства (культивирование, снятие клеток, криоконсервация), например антибиотика, бычий сывороточный альбумин, трипсин, папаин, диметилсульфоксид (ДМСО) и т. д. Так, для препарата Alofisel в качестве остаточных количеств веществ, которые потенциально могут присутствовать в конечном продукте (отнесены к важным потенциальным рискам), указаны: бензилпенициллин, стрептомицин сульфат, бычий сывороточный альбумин¹⁵. Для препарата Yescarta в спецификации показатель «Чистота» включает, в том числе, определение допустимых содержаний для гентамицина и еще двух веществ (названия веществ производителем не раскрываются). В целом же результаты оценки допустимых примесей в препарате Yescarta показали, что принятый производителем диапазон их содержания выше, чем предел идентификации для технологических примесей в конечном продукте¹⁶. Спецификация на готовые препараты Nepic (Japan Tissue Engineering Co., Ltd.; Япония) и JACC (Tissue Engineering Co. (J-TEC); Япония; аутологичные культивированные хондроциты, помещенные

⁴ В скобках после названия препарата дана информация о компании-производителе и регионе регистрации (здесь и далее).

⁵ Assessment report. Spherox (EMA/CHMP/349863/2017). EMA; 2017. https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/spherox-epar-public-assessment-report_en.pdf

⁶ Summary basis for regulatory action Template — Kymriah, DLBCL. FDA; 2018. <https://www.fda.gov/media/113215/download>
Assessment report. Kymriah (EMA/485563/2018). EMA; 2018. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/kymriah-epar-public-assessment-report_en.pdf

⁷ Summary basis for regulatory action — Yescarta. FDA; 2017. <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM584335.pdf>
Assessment report. Yescarta (EMA/CHMP/481168/2018). EMA; 2018. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/yescarta-epar-public-assessment-report_en.pdf

⁸ Summary Basis for Regulatory Action. Tecartus. <https://www.fda.gov/media/141093/download>

⁹ Assessment report. Alofisel (EMA/CHMP/64055/2018). EMA; 2018. https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/alofisel-epar-public-assessment-report_en.pdf

¹⁰ Assessment report. Zynteglo (EMA/CHMP/56140/2020). EMA; 2019. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/zynteglo-epar-public-assessment-report_en.pdf

¹¹ Review Report. JACE; 2007. <http://www.pmda.go.jp/files/000223079.pdf>

¹² Report on the Deliberation Results: Nepic. <https://www.pmda.go.jp/files/000237511.pdf>

¹³ Summary of product characteristics. Holoclar (EMA/6865/2015). EMA; 2015. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/holoclar-epar-product-information_en.pdf

¹⁴ Report on the Deliberation Results: HeartSheet. <https://www.pmda.go.jp/files/000215222.pdf>

¹⁵ Assessment report. Alofisel (EMA/CHMP/64055/2018). EMA; 2018. https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/alofisel-epar-public-assessment-report_en.pdf

¹⁶ Summary basis for regulatory action — Yescarta. FDA; 2017. <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM584335.pdf>

Assessment report. Yescarta (EMA/CHMP/481168/2018). EMA; 2018. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/yescarta-epar-public-assessment-report_en.pdf

в гель с ателоколлагеном), включает показатель «Количество остаточного бычьего сывороточного альбумина»¹⁷. Для препарата Spherex производитель идентифицировал соответствующие технологические примеси: ДМСО, папаин, гентамицин и амфотерицин и представил результаты по их содержанию в конечном продукте, полученные в процессе валидации производства. Был сделан вывод, что остаточные количества этих связанных с процессом производства примесей не оказывают влияния на токсикологические эффекты продукта¹⁸.

Необходимо отметить, что в случае составления спецификаций на промежуточные продукты производства БМКП показатель допустимого содержания технологических примесей может быть включен в эти спецификации, а не в спецификацию на готовый БМКП. Спецификации на промежуточные продукты производства следует предоставлять в случае осуществления прерывного производственного процесса, например для векторной конструкции при генетической модификации клеток (как в случае с препаратами Kymriah¹⁹, Yescarta¹⁵, Zyn-teglo²⁰, Strimvelis²¹) или КЛ, подвергающейся криоконсервации, в том числе при создании главного и рабочего банков клеток (как в случае препарата Alofisel²²). В случае осуществления непрерывного производственного процесса предоставляется только спецификация на готовый продукт. Спецификации на промежуточные продукты производства БМКП включаются в технологический регламент производства²³.

В случае генетической модификации КЛ в спецификации необходимо привести описание характера модификации (вирусный вектор, плазмиды, дифференцировка с использованием факторов или др.) и используемые генетические конструкции (тип вектора, факторы дифференцировки и т. д.).

Спецификация на биомедицинский клеточный продукт: показатели и методы контроля качества биомедицинского клеточного продукта

Показатели качества БМКП должны соответствовать форме спецификации²⁴ и быть научно обоснованы (включая анализ рисков по запланированному качеству готового продукта), а методы их оценки должны быть валидированы и обеспечивать получение достоверных результатов. Оценка представленных заявителем в регистрационном досье материалов по валидации аналитических методов контроля качества БМКП должна быть проведена в ходе экспертизы качества и включена в заключение комиссии экспертов²⁵. При изменении метода или внесении нового метода анализа в НД необходима его вали-

дация (полная или сокращенная ревалидация в зависимости от конкретного случая), показывающая, что измененные методы анализа позволяют получать достоверные данные и пригодны для оценки качества БМКП, а также не уступают ранее использованным валидированным методам.

Характеризация БМКП может вызвать затруднение в случае с препаратами, содержащими клетки в сочетании с матрицами, каркасами и инновационными устройствами. Учитывая этот факт, данные о характеристиках БМКП могут включать информацию о его качестве, полученную на критических (контрольных) точках процесса производства. В случае изменений характеристик клеточного или неклеточного компонентов в результате их объединения спецификация должна содержать сведения об этом.

В случае невозможности применения необходимых методов контроля качества на готовом продукте (учитывая особенности хранения/применения, стабильности, объема серий БМКП) допускается использование отдельных методов внутрипроизводственного контроля. Обоснование такой возможности, материалы и данные (включая первичные) по валидации должны содержаться в регистрационном досье.

В НД рекомендуется представить примечание к спецификации, в котором приводятся следующие сведения: описание специфических маркеров, генов и белков, характерных для данной КЛ и подлежащих определению в ходе экспертизы качества (например, маркеров дифференцировки, маркеров принадлежности клеток к определенной популяции, белков, характерных для секрета данных клеток и т. д.); обоснование стратегии контроля качества и обоснование этапа определения того или иного показателя (в случае применения внутрипроизводственного контроля) или обоснование отсутствия контроля показателя «Примеси» (в случае наличия данных, полученных в процессе валидации процесса производства, о неизменности их значений и отсутствии влияния на эффективность и безопасность, определенное в ходе ДКИ).

В таблице 1 представлены сведения из публичного отчета Управления по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA) по содержанию спецификации на готовый препарат Kymriah, в которой указаны не только показатели, методы определения и требования к значениям показателей для готового продукта, но и этапы определения показателя (выпускающий или внутрипроизводственный контроль)²⁶.

Помимо сведений о показателях качества, методах и методах их оценки, спецификация должна содержать краткие

¹⁷ Human autologous tissue for transplantation JACC. <https://www.pmda.go.jp/files/000229937.pdf>

Report on the Deliberation Results: Nepic. <https://www.pmda.go.jp/files/000237511.pdf>

¹⁸ Assessment report. Spherex (EMA/CHMP/349863/2017). EMA; 2017. https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/spherex-epar-public-assessment-report_en.pdf

¹⁹ Summary basis for regulatory action — Kymriah, DLBCL. FDA; 2018. <https://www.fda.gov/media/113215/download>

²⁰ Assessment report. Zyn-teglo (EMA/CHMP/56140/2020). EMA; 2019. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/zyn-teglo-epar-public-assessment-report_en.pdf

²¹ Assessment report. Strimvelis (EMA/CHMP/272303/2016). EMA; 2016. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/strimvelis-epar-public-assessment-report_en.pdf

²² Assessment report. Alofisel (EMA/CHMP/64055/2018). EMA; 2018. https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/alofisel-epar-public-assessment-report_en.pdf

²³ Приказ Минздрава России от 08.08.2018 № 512н «Об утверждении Правил надлежащей практики по работе с биомедицинскими клеточными продуктами» (п. 134).

²⁴ Приказ Минздрава России от 19.01.2017 № 14н «Об утверждении формы спецификации на биомедицинский клеточный продукт».

²⁵ Приказ Минздрава России от 31.01.2017 № 30н «Об утверждении Правил проведения биомедицинской экспертизы биомедицинских клеточных продуктов и форм заключений комиссии экспертов федерального государственного бюджетного учреждения по проведению биомедицинской экспертизы биомедицинских клеточных продуктов» (Приложение 2, п. 3.1.19).

²⁶ Summary Basis for Regulatory Action: Kymriah, ALL. FDA; 2017. <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM577221.pdf>

Таблица 1. Спецификация на препарат Кумриah
Table 1. Specifications for Кумриah

Показатель/метод Characteristic/Test	Требование значения показателя готового продукта для коммерческого использования Requirements for the final commercial product	Продукт/этап для анализа Sample used for testing
Описание (внешний вид) Appearance	От бесцветного до слегка желтого цвета Colourless to slightly yellow	Готовый продукт перед добавлением криопротекторов Final product before adding cryoprotectants
Идентичность (наличие экспрессии CAR, определенное методом количественной ПЦР) Identity by CAR q-PCR	—	—
Эффективность трансдукции, количество трансдуцированных клеток (количественная ПЦР) Determination of transduction efficiency by CAR q-PCR	—	—
Определение остаточного содержания гранул, конъюгированных с антителами CD3/CD28, методом микроскопии ^a Determination of residual beads conjugated with CD3/CD28 antibodies by microscopy ^a	—	Перед составлением дозы Prior to dose formulation
Процент жизнеспособных Т-клеток Percentage of viable T-cells	—	Готовый продукт Final product
Жизнеспособность, % Cell viability, %	—	
Процент жизнеспособных CD19 ⁺ В-клеток Percentage of viable CD19 ⁺ B-cells	—	
Общее количество клеток ^b , кл/мл Total cell count ^b , cell/mL	—	
Количество жизнеспособных клеток (рассчитанное) ^b , кл/мл Number of viable cells (calculated) ^b , cell /mL	—	
Доза (рассчитанное значение) ^c , кл/кг массы тела: Dose (calculated) ^c , cells/kg body weight: CAR ⁺ жизнеспособных Т-клеток (масса тела ≤ 50 кг) CAR ⁺ viable T cells (body weight ≤50 kg) CAR ⁺ жизнеспособных Т-клеток, кл/кг массы тела (масса тела > 50 кг) CAR ⁺ viable T cells (body weight >50 kg)	(0,2–5,0)×10 ⁶ (0,1–2,5)×10 ⁸	Готовый продукт (после разморозки) Final product (after thawing)
Наличие экспрессии CAR, определенное методом проточной цитометрии Determination of CAR expression by flow cytometry	—	Готовый продукт Final product
Высвобождение ИФН γ при действии на CD19 ⁺ клетки-мишени Release of IFN γ in response to CD19 ⁺ target cells	—	
Стерильность Sterility	Стерильно Sterile	Готовый продукт перед добавлением криопротекторов Final product before adding cryoprotectants
Бактериальные эндотоксины, ЕЭ/мл Bacterial Endotoxins, UE/mL	—	Готовый продукт Final product
Микоплазма Mycoplasma	Отрицательно Negative	Образцы отбираются из супернатанта клеточной культуры в конце культивирования клеток непосредственно перед их сбором и упаковкой Pre-harvest samples are taken from the cell culture supernatant at the end of cell culture just prior to harvest processing steps and final formulation
Определение ДНК репликационно-компетентных ретровирусов (количественная ПЦР) Determination of replication-competent retrovirus DNA (q-PCR)	—	

Примечание. CAR — химерный антигенный рецептор.

«—» — значение показателя не представлено производителем.

^a Определение остаточного содержания гранул, использованных при производстве препарата, проводится с использованием образца препарата, собранного перед составлением дозы, чтобы обеспечить возможность точного измерения.

^b Для общего количества клеток не задаются пределы спецификации, так как это некритический показатель качества; общее количество клеток используется для расчета количества жизнеспособных клеток, необходимых для расчета дозы.

^c Расчет дозы проводили по формуле (1):

$$D = (N_{CAR} \times N \times V) / 100 \text{ (для пациентов массой тела менее 50 кг делить на массу тела в кг)}, \quad (1)$$

где D — доза, кл/кг массы тела; N_{CAR} — количество CAR⁺ клеток, кл/мл; N — концентрация жизнеспособных клеток, кл/мл; V — объем дозы, мл.

Note. CAR—chimeric antigen receptor.

— no data provided by the manufacturer.

^a Testing for residual beads used in the production is performed using a sample collected prior to dose formulation, to allow for accurate measurement.

^b No specification limits are set for Total cell count since it is not a critical quality attribute; result from Total cell count is used to calculate the Number of viable cells, essential for the Dose calculation.

^c The Dose was calculated using the following formula (1):

$$D = (N_{CAR} \times N \times V) / 100 \text{ (for patients } \leq 50 \text{ kg this number is divided per kg body weight)}, \quad (1)$$

where D —the dose, cell /kg body weight; N_{CAR} —number of CAR⁺ cells, cells/mL; N —viable cell concentration, cells/mL; V —volume per dose, mL.

сведения о результатах доклинических исследований: используемые схожие модели, модели заболевания и результаты, полученные с их применением, исследования специфического действия, токсикологические исследования, исследования туморогенности и онкогенности.

Описание состава биомедицинского клеточного продукта

При описании состава БМКП для КЛ в НД должны быть указаны следующие характеристики, которые подлежат оценке в ходе экспертизы качества и внесению в заключение комиссии экспертов (табл. 2).

Методики определения показателей качества биомедицинского клеточного продукта

При описании в НД методик определения показателей качества для всех разделов по определению показателей качества БМКП должны быть приведены подразделы «Приборы и оборудование», «Реактивы», «Материалы». Описание методики определения показателей качества БМКП должно включать методики, для которых разработчиком/производителем была проведена валидация/ревалидация/верификация и для которых предоставлены отчеты по валидации в составе регистрационного досье. В случае использования в методике расчетных формул они должны быть приведены в НД. При использовании альтернативных методов оценки качества БМКП (например, для определения специфической активности, стерильности, бактериальных эндотоксинов и других показателей), не описанных в настоящее время в Государственной фармакопее Российской Федерации XIV изд. (ГФ XIV), валидация таких методик должна быть проведена в соответствии с ГФ XIV²⁷. Перечень общих фармакопейных статей (ОФС) ГФ XIV, а также требования зарубежных фармакопей к качеству КЛ, в том числе входящих в состав препаратов на основе жизнеспособных клеток человека, и которые могут быть использованы для оценки качества БМКП, нами были подробно представлены ранее [3].

Учитывая особенности состава БМКП, сырья и материалов для производства, технологического процесса и условий произ-

водства, срок годности БМКП, отдельно стоит остановиться на описании в НД такого показателя, как «Вирусная безопасность».

Вирусная безопасность готового биомедицинского клеточного продукта

Обоснование оценки вирусной безопасности БМКП должно быть представлено и обосновано производителем в НД на БМКП.

Оценка вирусной нагрузки готового продукта в общем случае (за исключением аутологичных БМКП, предназначенных для инфицированных ВИЧ-1, -2, гепатитами В, С или другими вирусными инфекциями людей) не входит в число обязательных испытаний (согласно фармакопеем ЕС и США, а также руководящим документам ICH²⁸). Преимущественно обеспечение отсутствия передачи вирусных инфекций при применении аналогов БМКП гарантируется тщательным обследованием донора клеточного материала и контролем на производстве (табл. 3). Таким образом, сведения о результатах исследования донора, входном контроле сырья и материалов животного происхождения для производства БМКП, внутрипроизводственном контроле на вирусную безопасность должны содержаться в НД на БМКП, представленной в составе регистрационного досье.

Порядок медицинского обследования донора биологического материала при прижизненном донорстве для производства БМКП (в том числе в целях проведения доклинических и (или) клинических исследований) определен Приказом Минздрава России от 27.03.2018 № 125н²⁹, согласно которому всех доноров следует тестировать на ВИЧ-1, ВИЧ-2, вирусы гепатита В, С, на наличие возбудителя сифилиса. Помимо данных инфекций в спецификации должны содержаться сведения об отсутствии / наличии / допустимом содержании иных инфекционных агентов, определенных с учетом анамнеза пациента и вида биологического материала.

Таким образом, исключение определения показателя «Вирусная безопасность» для готового БМКП должно быть обосновано контролем вирусной контаминации в контрольных точках производства и (или) тестированием самих доноров или донорского банка клеток, а также минимизацией риска заражения на последующих этапах клинического применения.

²⁷ Общая фармакопейная статья 1.1.0012.15 Валидация аналитических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

Общая фармакопейная статья 1.1.0021.18 Валидация микробиологических методик. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 1; 2018.

²⁸ General chapters. Chart 8. Cell, Gene, and Tissue Based Products. USP42–NF37; 2019.

5.2.3 Cell substrates for the production of vaccines for human use; 5.1.7 Viral safety. European Pharmacopoeia, 10th ed.; 2020.

ICH Q5D Quality of biotechnological products: Derivation and characterization of cell substrates used for production of biotechnological/biological products; 1998. https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/ich-q-5-d-derivation-characterisation-cell-substrates-used-production-biotechnological/biological-products-step-5_en.pdf

²⁹ Приказ Минздрава России от 27.03.2018 № 125н «Об утверждении порядка медицинского обследования донора биологического материала и перечня противопоказаний (абсолютных и относительных) для получения биологического материала».

Таблица 2. Перечень характеристик клеточной(ых) линии(й), входящей(их) в состав биомедицинского клеточного продукта, необходимых для указания в нормативной документации

Table 2. List of characteristics of the cell line(s) used as component(s) in a biomedical cell product, which have to be included in a product file

Характеристика клеточной линии Cell line characteristic	Описание характеристики клеточной линии Description of the cell line characteristic	Требование в соответствии с пунктом приказа ³⁰ Requirement as stipulated by paragraphs of the Order ³⁰
Целевое предназначение КЛ Cell line intended use	Обоснование КЛ как основного активного (действующего) компонента БМКП Justification for using the cell line as the main active ingredient in a BCP	п. 3.1.9 p. 3.1.9
Данные о степени дифференцировки клеток Data on the degree of cellular differentiation	С указанием: - маркера(ов), определяемого(ых) в ходе экспертизы качества; - исследований (при их наличии) на других этапах (в ходе валидации процесса производства, ДКИ и т. д.) With an indication of: - marker(s) determined during quality control; - studies (if any) at other stages (during validation of the production process, non-clinical studies, etc.)	п. 3.1.3 p. 3.1.3
Данные о пролиферативной активности КЛ Data on the cell line proliferative activity	С указанием результатов анализа и этапа его проведения (внутрипроизводственный контроль или выпускающий контроль, и его продолжительность) With an indication of the test results and the stage of testing (in-process control or release testing), and its duration	п. 3.1.5 p. 3.1.5
Данные о стабильности КЛ: поддержание необходимого уровня дифференцировки, характеристика кариотипа клеток (число, размеры, структура хромосом) в процессе культивирования клеток Data on the cell line stability: maintenance of the required degree of differentiation, characterisation of the cell karyotype (number, size, structure of chromosomes) during cell cultivation	С указанием: - этапа проведения анализа (внутрипроизводственный контроль, ДКИ, валидация процесса производства); - пассажей КЛ, для которых проведены исследования уровня дифференцировки и кариотипа и результатов этих исследований; - используемого(ых) пассажа(ей) КЛ для производства БМКП With an indication of: - stage of testing (in-process control, non-clinical studies, validation of the production process); - passage numbers for which differentiation and karyotype studies were performed, and the results of these studies; - passage number(s) used for BCP production	п. 3.1.6 p. 3.1.6
Данные о генетической модификации КЛ Data on the genetic modification of the cell line	С указанием: цели, способа получения экспрессирующей конструкции (использованные генетические конструкции, особенности их строения, описание целевого гена, стабильность конструкции и методы ее оценки) и линии клеток, отсутствия/наличия неконтролируемой биологической активности вносимого в клетки генетического материала (трансгена), а также изменений экспрессии генов и возникновения мутаций в геноме клеток КЛ под влиянием трансгена With an indication of the intended use and the assembly of the expression construct (genetic constructs used (including their structural features), description of the target gene, stability of the construct, and methods used for its assessment), the derivation of the cell line, the absence/presence of uncontrolled biological activity of the genetic material (transgene) inserted into the cells, as well as transgene-induced changes in gene expression or mutations in the cell genome	п. 3.1.7 p. 3.1.7
Описание параметров жизнеспособности КЛ, условий и времени сохранения ее жизнеспособности (в том числе при хранении и транспортировке) Description of the cell line viability characteristics, conditions and period of cell viability (including during storage and transportation)	С указанием: - результатов анализа и этапа его проведения (внутрипроизводственный контроль, выпускающий контроль, ДКИ, валидация процесса производства); - данных по стабильности: изменение жизнеспособности при хранении и транспортировании With an indication of: - test results and the stage of testing (in-process control, release testing, non-clinical studies, validation of the production process); - stability data: changes in viability during storage and transportation	п. 3.1.10 p. 3.1.10

³⁰ Приказ Минздрава России от 31.01.2017 № 30н «Об утверждении Правил проведения биомедицинской экспертизы биомедицинских клеточных продуктов и форм заключений комиссии экспертов федерального государственного бюджетного учреждения по проведению биомедицинской экспертизы биомедицинских клеточных продуктов» (Приложение 2).

Характеристика клеточной линии Cell line characteristic	Описание характеристики клеточной линии Description of the cell line characteristic	Требование в соответствии с пунктом приказа ³⁰ Requirement as stipulated by paragraphs of the Order ³⁰
<p>Материалы по банкам клеток (если применимо) Data on the cell banks (if applicable)</p>	<p>С указанием: а) происхождения и истории КЛ; б) процедур замораживания и восстановления клеток с указанием используемых компонентов, а также количеством емкостей (ампул, флаконов), сохраняемых в одной партии, и условия их хранения; в) методов контроля подлинности клеток (специфические генотипические, биохимические и (или) фенотипические маркеры) и периодичности контроля; г) процедур испытаний, методов контроля на отсутствие контаминирующих агентов (грибы, бактерии, вирусы, микоплазмы) и их периодичности; д) данных, подтверждающих срок годности и условия хранения клеток в замороженном состоянии с сохранением приемлемого уровня жизнеспособности после размораживания; е) испытаний на жизнеспособность, подлинность клеток и их функции после размораживания; ж) в случае генетически модифицированных клеток также необходимо предоставление материалов по банкам клеток для векторов (если применимо) With an indication of: a) the origin and history of the cell line; b) procedures for freezing and thawing cells, the agents used, the number of containers (ampoules, vials) in one batch, and storage conditions; c) cell authentication procedures (specific genotypic, biochemical, and/or phenotypic markers), and the frequency of testing; d) quality control methods and test procedures for detection of contaminating agents (fungi, bacteria, viruses, mycoplasma), and the frequency of testing; e) data supporting the shelf life and storage conditions of frozen cells allowing to maintain acceptable viability after thawing; f) cell viability, authentication, and functional testing after thawing; g) in the case of genetically modified cells—data on the cell banks used for the vectors (if applicable)</p>	<p>п. 3.1.12 р. 3.1.12</p>

Примечание. БМКП — биомедицинский клеточный продукт, КЛ — клеточная линия, ДКИ — доклинические исследования.
Note. BCP—biomedical cell product.

Например, для аллогенного препарата Temcell (Mesoblast; Япония)³¹ был создан донорский банк клеток, который в отличие от главного банка клеток не является постоянным источником материала для производства готового препарата, а периодически генерируется из аспирата костного мозга доноров с последующим культивированием клеток. Характеризация донорского банка включает: подлинность (видовая принадлежность, определенная с помощью изоферментного анализа; фенотипический профиль на основе метода проточной цитометрии, потенциал дифференцировки, морфологический анализ), жизнеспособность и пролиферативная активность, специфическая активность (экспрессия фактора некроза опухолей α и простагландина E₂), кариотипирование (G-окраска, FISH), анализ колониеобразования в мягком агаре, бактериальные эндотоксины, стерильность, микоплазмы, вирусная безопасность, концентрация клеток. Данные из спецификации на клетки из донорского банка по определению вирусной безопасности свидетельствуют о том, что исследования проводятся по следующим направлениям:

- трансмиссионная электронная микроскопия;

- анализ *in vitro* на клетках Vero, MRC5, Hs68 для определения цитопатического эффекта, гемадсорбции и гемаагглютинации;
- анализ *in vivo* на взрослых и новорожденных мышах и развивающихся куриных эмбрионах;

- анализ методом ПЦР на вирусы: ВИЧ-1, -2, вирусы Т-клеточной лейкемии 1-го и 2-го типов, вирусы герпеса 6 и 8 типов, вирус гепатита В, вирус гепатита С, парвовирус В19, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр, вирус папилломы человека.

В случае аутологичного БМКП, предназначенного для инфицированных ВИЧ-1, -2, вирусами гепатита В, С или другими вирусными инфекциями людей, производителем должна быть указана допустимая вирусная нагрузка и методы ее определения в конечном продукте.

Учитывая требования приказа Минздрава России от 27.03.2018 № 125н³² и п. 13 приказа Минздрава России от 19.01.2017 № 14н³³, спецификация на БМКП, произведенный в ходе непрерывного технологического процесса, должна устанавливать требования при обследовании донора на вирусные инфекции как на обнаружение возбудителя, так и на обнаружение

³¹ Report on the deliberation results. Temcell HS Inj. <https://www.pmda.go.jp/files/000215658.pdf>

³² Приказ Минздрава России от 27.03.2018 № 125н «Об утверждении порядка медицинского обследования донора биологического материала и перечня противопоказаний (абсолютных и относительных) для получения биологического материала».

³³ Приказ Минздрава России от 19.01.2017 № 14н «Об утверждении формы спецификации на биомедицинский клеточный продукт».

Таблица 3. Формулировки в документации зарубежных аналогов биомедицинских клеточных продуктов, касающиеся вирусной безопасности (примеры)
 Table 3. Viral safety statements in the documentation of foreign analogues of biomedical cell products (examples)

Препарат, тип препарата Product, type of product	Тип клеток в составе препарата Type of cells used in the product	Формулировка в спецификации Specification statement	Источник Reference
Strimvelis (GSK), аутологичный autologous	Генетически модифицированные гематопозитивские клетки Genetically modified hematopoietic stem cells	Strimvelis не тестируется на наличие занесенных инфекционных агентов. Медицинский персонал должен принимать соответствующие меры предосторожности, чтобы избежать потенциальной передачи инфекционных заболеваний Strimvelis is not tested for transmissible infectious agents. Healthcare professionals handling Strimvelis should therefore take appropriate precautions to avoid potential transmission of infectious diseases	Сноска ^a Footnote ^a
Zynteglo (bluebird bio), аутологичный autologous		Вирусная безопасность зависит от адекватного контроля исходных материалов и сырья. Испытания на занесенные агенты проводятся для исходных материалов, при производстве и на самом конечном продукте лентивирусного вектора, а также для конечного препарата Zynteglo (данные о перечне испытаний в открытом доступе отсутствуют). Для всех материалов человеческого или животного происхождения проводится оценка риска случайной передачи вируса Virus safety relies on the adequate control of starting materials and raw materials. Tests for adventitious agents are carried out for the starting materials, during production, and on the final product of the lentiviral vector itself, as well as for the final product (the list of tests is not publicly available). For all materials of human or animal origin assessments of the risk for adventitious virus transmission are performed	Сноска ^b Footnote ^b
Holoclar (Chiesi Farmaceutici), аутологичный autologous	Эпителиальные стволовые клетки роговицы Corneal epithelial stem cells	Контроль занесенных агентов для Holoclar основан на подходе к управлению рисками и смягчению их последствий. Для минимизации риска применялись различные профилактические меры. Был представлен обзор исследований по изучению эффективности этих мер по минимизации рисков The control of adventitious agents for Holoclar is based on a risk management and mitigation approach. Various preventative actions have been applied for risk minimisation. An overview of the studies to investigate effectiveness of these risk minimisation measures was presented	Сноска ^c Footnote ^c
Alofisel (Tigenix), аутологичный autologous	Мезенхимальные стволовые клетки жировой ткани Adipose tissue mesenchymal stem cells	Безопасность конечного продукта в отношении занесенных агентов в значительной степени зависит от оценки риска и ряда мер, предпринимаемых при сборе исходного материала и на протяжении всего производственного процесса, а именно от отбора доноров и серологического тестирования, отбора сырья и вспомогательных веществ, поддержания асептических условий процесса производства, тестирования вспомогательных веществ на соответствующих стадиях производства. Отмечается, что оценка безопасности в отношении занесенных агентов и контроль, осуществляемые на уровне донорского материала, а также при производстве и контроле Alofisel, считаются приемлемыми The safety of the final product with respect to adventitious agents relies strongly on a risk assessment and a number of measures undertaken from the collection of the starting material and throughout the manufacturing processes, namely donor selection and serology testing, selection of raw materials and excipients, maintenance of aseptic environment conditions during manufacturing, testing of adventitious agents at appropriate stages of production. In conclusion the adventitious agent safety evaluation and controls implemented at the level of the donor material and during manufacture and control of Alofisel are considered acceptable	Сноска ^d Footnote ^d
Provenge (Dendreon Pharmaceuticals, LLC), аутологичный autologous	Активированные CD54 ⁺ -клетки Activated CD54 ⁺ cells	Provenge не тестируется на наличие трансмиссивных инфекционных агентов и потенциально может послужить источником заражения медицинского персонала при работе с препаратом. Следует соблюдать универсальные меры предосторожности Provenge is not routinely tested for transmissible infectious diseases and may transmit diseases to health care professionals handling the product. Universal precautions should be followed	Сноска ^e Footnote ^e

Продолжение таблицы 3
Table 3 (continued)

Препарат, тип препарата Product, type of product	Тип клеток в составе препарата Type of cells used in the product	Формулировка в спецификации Specification statement	Источник Reference
Gintuit (Organogenesis), аллогенный allogeneic	Кератиноциты и фибробласты Keratinocytes and fibroblasts	Передача инфекционных заболеваний, вызываемых известными или неизвестными инфекционными агентами, является возможной. Доноры тестируются на наличие антител к ВИЧ-1, -2, Т-лимфотропному вирусу 1-го и 2-го типа (HTLV-1 и HTLV-2), вирусам гепатитов А (HAV), В (HBV), поверхностному антигену вируса гепатита В (HBsAg), вирусу гепатита С (HCV), вирусу лихорадки Западного Нила, вирусу Эпштейна-Барр, цитомегаловирусу и сифилису. Клетки, входящие в состав Gintuit (банки), тестируются на наличие вирусов человека и животных, ретровирусов, бактерий, грибов, дрожжей и микоплазм. Все материалы животного происхождения, которые используются при производстве, тестируются на наличие вирусов, ретровирусов, бактерий, грибов, дрожжей и микоплазм. Transmission of infectious diseases by known or unknown infectious agents may occur with Gintuit. Donors are tested for antibodies to human immunodeficiency virus types 1 and 2 (HIV-1 and HIV-2), human T-lymphotropic virus types 1 and 2 (HTLV-1 and HTLV-2), hepatitis A virus (HAV), hepatitis B virus (HBV), hepatitis B surface antigen (HBsAg), hepatitis C virus (HCV), West Nile virus (WNV), Epstein-Barr virus (EBV), cytomegalovirus (CMV), and syphilis. Gintuit cells (cell banks) are tested for human and animal viruses, retroviruses, bacteria, fungi, yeast, and mycoplasma. All animal-derived reagents are tested for viruses, retroviruses, bacteria, fungi, yeast, and mycoplasma before use	Сноска ¹ Footnote ¹
Yescarta (Kite Pharma, Gilead), Kymriah (Novartis), Tecartus (Kite Pharma), аутологичные autologous	Генетически модифицированные Т-клетки Genetically modified T-cells	Потенциальные риски, связанные с занесенными вирусами и агентами, вызывающими губчатые энцефалопатии, контролируются путем оценки исходных материалов и соответствующего тестирования во время производства векторов и препаратов. Сырье животного, человеческого или рекомбинантного происхождения контролируется для снижения риска потенциального заражения возбудителями губчатой энцефалопатии. Все сырье квалифицируется и проверяется на пригодность. Таким образом, при введении препарата существует низкий риск заражения пациентов занесенными агентами Potential risks from adventitious viruses and spongiform encephalopathy agents are managed through assessment of source materials and appropriate testing during vectors' and products' manufacture. Raw materials of animal, human, or recombinant origin are sourced to minimise risk of potential contamination with spongiform encephalopathy agents. All raw materials are qualified and tested to ensure suitability. Infusion of products therefore presents a low risk for infecting patients with adventitious agents	Сноска ^{2,3,4} Footnotes ^{2,3,4}
Stemirac (Nipro Corporation) для лечения травм спинного мозга, аутологичный for spinal cord injury, autologous	Мезенхимальные стволовые клетки костного мозга Bone marrow mesenchymal stem cells	Кровь и костный мозг донора тестируются на вирусы: HBV, HCV, HIV-1, HIV-2, HTLV-1, парвовирус В19. Готовый препарат не тестируется на вирусы The donor's blood and bone marrow are tested for the following viruses: HBV, HCV, HIV-1, HIV-2, HTLV-1, parvovirus B19. The final product is not tested for viruses	Сноска ⁵ Footnote ⁵
HeartSheet (Terumo Corporation), аутологичный autologous	Миобласты (клетки скелетных мышц) Myoblasts (skeletal muscle cells)	Доноры тестируются на вирусы HBV, HCV, HIV и HTLV-1. Готовый препарат не тестируется на вирусы The donor's material is tested for the following viruses: HBV, HCV, HIV and HTLV-1. The final product is not tested for viruses	Сноска ⁶ Footnote ⁶

^a Summary of product characteristics. Strimvelis (EMA/CHMP/24903/1/2016). EMA: 2016. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003854/WC50208199.pdf

^b Assessment report. Zynteglo (EMA/CHMP/226273/2019). EMA: 2019. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/zynteglo-epar-public-assessment-report_en.pdf

^c Assessment report. Holoclar (EMA/25273/2015). EMA: 2015. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/holoclar-epar-public-assessment-report_en.pdf

^d Assessment report. Atofisel (EMA/CHMP/64055/2018). EMA: 2018. https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/atofisel-epar-public-assessment-report_en.pdf

^e Provenge[®]. Highlights of prescribing information. <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM210031.pdf>

^f Gintuit[®]. Highlights of prescribing information. <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM295525.pdf>

^g Summary Basis for Regulatory Action. Tecartus. <https://www.fda.gov/media/141093/download>

^h Summary basis for regulatory action — Kymriah, ALL. FDA: 2017. <https://www.fda.gov/media/107962/download>

ⁱ Summary basis for regulatory action — Yescarta. FDA: 2017. <https://www.fda.gov/media/108788/download>

^j Report on the Deliberation Results: Stemirac. <https://www.pmda.go.jp/files/000231946.pdf>

^k Report on the Deliberation Results: HeartSheet. <https://www.pmda.go.jp/files/000215222.pdf>

Таблица 4. Пример описания показателя «Наличие инфекционных агентов в биомедицинском клеточном продукте (вирусная безопасность)» при возможности использования сырья для его производства только от человека, не инфицированного и не имеющего антител к ВИЧ-1, -2, вирусам гепатита В, С

Table 4. An example of the quality attribute description for the “Presence of infectious agents in a biomedical cell product (viral safety)”, if the product can be produced using the raw materials obtained only from an individual who is not infected by and does not have antibodies to HIV-1, -2, Hepatitis B, C

Наличие инфекционных агентов в биомедицинском клеточном продукте (вирусная безопасность) Presence of infectious agents in a biomedical cell product (viral safety)	Значение показателя Specification requirements
Антитела к вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-1 и ВИЧ-2, антиген р24 ВИЧ-1 Antibodies to human immunodeficiency virus HIV-1 and HIV-2, HIV-1 p24 antigen	Не обнаружены Not detected
Антитела к поверхностному антигену вируса гепатита В (HBsAg Hepatitis B virus) Antibodies to hepatitis B surface antigen (HBsAg Hepatitis B virus)	Не обнаружены / обнаружены ^a Not detected / detected ^a
Антитела классов М, G (IgM, IgG) к коровому антигену вируса гепатита В (HBcAg Hepatitis B virus) IgM, IgG antibodies to hepatitis B core antigen (HBcAg Hepatitis B virus)	Не обнаружены Not detected
Антитела к вирусу гепатита С (Hepatitis C virus) Antibodies to hepatitis C virus (Hepatitis C virus)	Не обнаружены Not detected
Поверхностный антиген вируса гепатита В (HBsAg) Hepatitis B surface antigen (HBsAg)	Не обнаружены Not detected
РНК вируса гепатита С Hepatitis C virus RNA	Не обнаружены Not detected

^a Наличие антител к поверхностному антигену вируса гепатита В (HBsAg) в крови донора допускается при отрицательном результате анализа на выявление антител классов М, G (IgM, IgG) к коровому антигену вируса гепатита В (HBcAg Hepatitis B virus) и отрицательном результате анализа на выявление поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg).

^a There may be antibodies to hepatitis B surface antigen (HBsAg) in the donor's blood if the results of the test for IgM, IgG antibodies to hepatitis B core antigen (HBcAg Hepatitis B virus), and the test for hepatitis B surface antigen (HBsAg) are both negative.

антител к нему (табл. 4). В случае наличия в производственном процессе промежуточных продуктов отсутствие вирусов и антител к ним в сырье (биоматериал, кровь донора) должны быть указаны в спецификации на соответствующее сырье, а спецификация на готовый БМКП должна содержать информацию о наличии или отсутствии антигенов вирусов в готовом БМКП, например определенных с помощью ПЦР-анализа.

Кроме того, в случае использования в производстве БМКП сыворотки крови человека приведенные данные в таблице 4 позволяют учесть и требования приказа Минздрава России от 14.09.2001 № 364³⁴.

Наиболее распространенными векторами, использующимися для генетической модификации клеток, являются векторы на основе гамма-ретровирусов или лентивирусов семейства *Retroviridae*. БМКП на их основе должны быть подвергнуты анализу на присутствие репликационно-компетентных ретровирусов/лентивирусов (РКР/Л), появление которых возможно на любом этапе производства, в том числе накопление *ex vivo* трансдуцированных вирусными векторами клеток в культуре обеспечивает возможность увеличения количества РКР/Л. Каждая серия *ex vivo* трансдуцированных клеток и супернатанта культуры должна быть испытана на РКР/Л. Примерами методов исследования на присутствии РКР/Л могут служить посев на чувствительные клеточные культуры, а также ПЦР на наличие специфических генов *psi-gag* или G белка вируса вези-

кулярного стоматита (vesicular stomatitis virus G protein, VSV-G) и иммуноферментный анализ на наличие белка p24.

Сведения об отсутствии РКР/Л и методы анализа в готовом БМКП должны содержаться в НД и спецификации на БМКП.

Вирусная безопасность главного и рабочего банков клеток

Ключевой этап контроля на вирусную безопасность КЛ, входящих в состав БМКП, — оценка вирусной контаминации КЛ из главного и рабочего банков клеток³⁵, сведения о которой должны содержаться в нормативной документации на БМКП, представленной в составе регистрационного досье.

На данном этапе целесообразно использование методов, позволяющих оценить общую вирусную нагрузку (неспецифические вирусы). Примерами испытаний могут служить: образование антител (реакции преципитации и агглютинации и подобные) для выявления специфических вирусных антигенов, трансмиссионная электронная микроскопия позволяет обнаружить вирусы и вирусоподобные частицы, обратная транскрипция для выявления ретровирусов, полимеразная цепная реакция способна выявить специфичные последовательности генома вирусов и др. Тестирование клеток главного банка на наличие ретровирусов также может быть осуществлено путем оценки инфицирующей способности на чувствительных клеточных культурах и электронной микроскопией.

³⁴ Приказ Минздрава России от 14.09.2001 № 364 «Об утверждении порядка медицинского обследования донора крови и ее компонентов» (п. 3.3.4).

³⁵ Code of Federal Regulations Title 21. Part 1271. Human cells, tissues, and cellular and tissue-based products. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=1271&showFR=1>

Guideline on Human Cell-Based Medicinal Products (EMA/CHMP/410869/2006). EMA; 2007. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003898.pdf

Guidance for Industry. Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Gene Therapy Investigational New Drug Applications (INDs). FDA; 2020. <https://www.fda.gov/media/113760/download>

General chapters. Chart 8. Cell, Gene, and Tissue Based Products. USP42–NF37; 2019.

5.2.3 Cell substrates for the production of vaccines for human use; 5.1.7 Viral safety. European Pharmacopoeia, 10th ed.; 2020.

ICH Q5D Quality of biotechnological products: Derivation and characterization of cell substrates used for production of biotechnological/biological products; 1998. https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/ich-q-5-d-derivation-characterisation-cell-substrates-used-production-biotechnological/biological-products-step-5_en.pdf

Таблица 5. Перечень проводимых тестов для главного и рабочего банков клеток (препараты Apligraf и Gintuit)
Table 5. List of tests performed for the master and working cell banks (Apligraf and Gintuit products)

Характеристика Characteristics	Рабочий банк клеток Working cell bank	Главный банк клеток Master cell bank
Подлинность Identity	- инволюкрин (для эпидермальных прогениторных клеток человека); - биосинтез коллагена (для дермальных фибробластов человека) - involucrin (for human epidermal progenitor cells); - collagen biosynthesis (for human dermal fibroblasts)	Не проводится Test not performed
Функциональные характеристики Functional characteristics	- жизнеспособность; - пролиферативная активность; - гистология/морфология - viability; - proliferative activity; - histology/morphology	<i>In vitro</i> : подкожная абсорбция, цитокиновый профиль, окраска митохондрий, чистота, гистология/морфология; <i>In vivo</i> : иммуногистохимия, инвазивная активность трансплантата, приживление трансплантата, морфология трансплантата <i>In vitro</i> : subcutaneous absorption, cytokine profile, mitochondrial staining, purity, histology/morphology; <i>In vivo</i> : immunohistochemistry, invasive graft activity, graft engraftment, graft morphology
Стерильность Sterility	Проводится Test performed	Проводится Test performed
Микоплазма Mycoplasma	Проводится Test performed	Проводится Test performed
Вирусная безопасность Viral safety	- анализ <i>in vitro</i> (трансмиссионная электронная микроскопия, обратная транскрипция); - анализ <i>in vivo</i> - <i>in vitro</i> analysis (transmission electron microscopy, reverse transcription); - <i>in vivo</i> analysis	- анализ <i>in vitro</i> (трансмиссионная электронная микроскопия, обратная транскрипция); - анализ <i>in vivo</i> ; - специфическое тестирование на вирусы человека (N = 14); - тестирование на вирусы свиней; - тестирование на вирусы крупного рогатого скота - <i>in vitro</i> analysis (transmission electron microscopy, reverse transcription); - <i>in vivo</i> analysis; - specific testing for human viruses (N=14); - testing for porcine viruses; - testing for bovine viruses
Неопластическая безопасность Neoplastic safety	Не проводится Test not performed	- кариология и изоферментный анализ; - туморогенность <i>in vivo</i> ; - клеточное старение (MTT-тест) - karyotyping and isoenzyme analysis; - tumorigenicity <i>in vivo</i> ; - cellular senescence (MTT test)

Кроме того, общим подходом, позволяющим определить многие вирусы человека и животных в клетках, является проведение исследований *in vitro*, при которых исследуемый материал инокулируется в индикаторные клеточные культуры. Необходимо проводить выявление как цитопатических, так и гемадсорбирующих вирусов. Исследования *in vivo* на новорожденных и взрослых мышах, куриных развивающихся эмбрионах используют для выявления некультивируемых вирусов (не растущих в клеточных культурах).

В качестве основных вирусных контаминантов банкируемых КЛ в фармакопеях ЕС и США, а также руководящих документах ИЧН указываются инфекционные ретровирусы, цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр, вирус герпеса 6-го типа, вирус папилломы человека, а также вирус плазмодитоза³⁶. Перечисленные типы вирусов могут длительное время выживать в материалах и реагентах, используемых при культивировании

КЛ, а также обладают сродством (тропностью) к типам клеток, наиболее часто используемым в БМКП.

Примером описания стратегии тестирования двухуровневой системы банков клеток является открытая документация на препараты (аналоги БМКП) Apligraf и Gintuit (Organogenesis)³⁷, представляющие собой кератиноциты человека (верхний слой) и дермальные фибробласты (нижний слой) в матриксе из бычьего коллагена на пористой (поликарбонатной) мембране. Препараты Apligraf и Gintuit предназначены для регенерации кератинизированной ткани при синдроме диабетической стопы, варикозной язвы и устранения дефектов десен соответственно. Главный банк содержит клетки первого пассажа кератиноцитов и второго пассажа фибробластов. Тестирование и главного, и рабочего банков клеток на вирусную безопасность включает обширные исследования как *in vitro*, так и *in vivo*; обнаружение 14 вирусов человека, свиней, крупного рогатого скота (табл. 5).

³⁶ General chapters. Chart 8. Cell, Gene, and Tissue Based Products. USP42–NF37; 2019.

5.2.3 Cell substrates for the production of vaccines for human use; 5.1.7 Viral safety. European Pharmacopoeia, 10th ed.; 2020.

ICH Q5D Quality of biotechnological products: Derivation and characterization of cell substrates used for production of biotechnological/biological products; 1998. https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/ich-q-5-d-derivation-characterisation-cell-substrates-used-production-biotechnological/biological-products-step-5_en.pdf

³⁷ Summary Basis for Regulatory Action. Gintuit. <http://wayback.archive-it.org/7993/20170723023240/https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM297753.pdf>

Заключение

Нормативная документация является основным документом регистрационного досье, в соответствии с которым проводится экспертиза качества БМКП. В настоящее время отсутствует опыт составления нормативной документации разработчиками БМКП вследствие новизны нормативно-правовой базы, а также не представлены на рынке БМКП, имеющие государственную регистрацию в Российской Федерации. На основании национальной регуляторной базы, а также учитывая зарубежный опыт регистрации аналогов БМКП, рассмотрены особенности содержания нормативной документации на разрабатываемые в России БМКП. В статье обобщены требования национального законодательства к описанию показателей качества, методов и методик контроля клеточной линии, входящей в состав БМКП, сведения о которых необходимы как для проведения оценки качества образцов БМКП в рамках экспертизы качества, так и для формирования заключения комиссии экспертов. При формировании нормативной документации на БМКП разработчикам следует особое внимание уделить соответствию состава его документов и их содержания нормативно-правовым актам, в том числе рассмотрению сведений в нормативной документации по содержанию клеточных и технологических примесей в готовом БМКП / клеточной линии, описанию стратегии вирусной безопасности готового продукта и клеток из главного и рабочего банков, а также на включение в нормативную документацию методик оценки качества, для которых была проведена валидация/ревалидация/верификация. При составлении спецификации на готовый продукт (является частью нормативной документации) необходимо привести характеристики по пролиферативной активности, степени дифференцировки, стабильности, жизнеспособности, генетической модификации (если применимо) клеточной(ых) линии(й), входящей(их) в состав БМКП, а также материалы по банкам клеток (если применимо).

Вклад авторов. *Е. В. Мельникова* — идея, концепция и дизайн исследования, формирование национальных требований к составлению нормативной документации в соответствии с нормативно-правовой базой; *О. А. Рачинская* — обобщение данных, изложенных в нормативных документах, написание текста; *О. В. Меркулова* — анализ и обобщение данных, изложенных в нормативных документах, доработка текста; *И. С. Семенова* — анализ национальных требований к составлению нормативной документации в соответствии с нормативно-правовой базой; *Е. О. Кожевникова* — сбор и систематизация данных; *В. А. Меркулов* — окончательное утверждение версии рукописи для публикации.

Authors' contributions. *Ekaterina V. Melnikova*—elaboration of the idea, concept, and design of the study, elaboration of national requirements for regulatory submission preparation in accordance with the legal and regulatory setting; *Olga A. Rachinskaya*—consolidation of data from regulatory docu-

ments, writing of the text; *Olga V. Merkulova*—analysis and consolidation of data from regulatory documents, finalisation of the text; *Irina S. Semenova*—analysis of national requirements for regulatory submission preparation in accordance with the legal and regulatory setting; *Ekaterina O. Kozhevnikova*—collection and systematisation of data; *Vadim A. Merkulov*—final approval of the paper for publication.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00005-21-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00005-21-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121021800098-4).

Конфликт интересов. В. А. Меркулов является главным редактором журнала «БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение».

Conflict of interest. Vadim A. Merkulov is the Editor-in-chief of the *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*.

Литература/References

1. Мельникова ЕВ, Рачинская ОА, Трусов ГА, Хорольский МД, Семенова ИС, Терешкина НВ, Меркулов ВА. Обоснование методических подходов к экспертной оценке подлинности биомедицинских клеточных продуктов. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(1):28–38. [Melnikova EV, Rachinskaya OA, Trusov GA, Khorolsky MD, Semenova IS, Tereshkina NV, Merkulov VA. Justification of methodological approaches to the expert evaluation of the authenticity of biomedical cell products. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019;19(1):28–38 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2019-19-1-28-38>
2. Чапленко АА, Мельникова ЕВ, Рачинская ОА, Олефир ЮВ. Оценка активности препаратов, содержащих клеточные линии человека: перспективные подходы и требования регуляторных органов. *Антибиотики и химиотерапия*. 2018;63(9–10):53–60. [Chaplenko AA, Melnikova EV, Rachinskaya OA, Olefir YuV. Evaluation of the activity of drugs containing human cell lines: promising approaches and requirements of regulatory bodies. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*. 2018;63(9–10):53–60 (In Russ.)]
3. Водякова МА, Сайфутдинова АО, Мельникова ЕВ, Олефир ЮВ. Сравнение требований фармакопей мира к качеству клеточных линий. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2020;20(3):174–88. [Vodyakova MA, Sayfutdinova AR, Melnikova EV, Olefir YuV. Comparison of the requirements of the Pharmacopoeias of the world for the quality of cell lines. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2020;20(3):174–88 (In Russ.)] <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2020-20-3-159-173>

Об авторах / Authors

Мельникова Екатерина Валерьевна, канд. биол. наук. *Ekaterina V. Melnikova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-9585-3545>

Рачинская Ольга Анатольевна, канд. биол. наук. *Olga A. Rachinskaya*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-8377-9205>

Меркулова Ольга Владимировна, канд. мед. наук. *Olga V. Merkulova*, Cand. Sci. (Med.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-7013-0394>

Семенова Ирина Семеновна, канд. биол. наук. *Irina S. Semenova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9026-0508>

Кожевникова Екатерина Олеговна, канд. биол. наук. *Ekaterina O. Kozhevnikova*, Cand. Sci. (Biol.). **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9835-694X>

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, проф. *Vadim A. Merkulov*, Dr. Sci. (Med.), Professor. **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Поступила 02.02.2021

После доработки 29.03.2021

Принята к публикации 10.06.2021

Received 2 February 2021

Revised 29 March 2021

Accepted 10 June 2021

Актуальная информация

Журнал «**БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение**» включен в базу данных **Russian Science Citation Index (RSCI)** на платформе Web of Science (пресс-релиз Рабочей группы по оценке качества и отбору журналов в RSCI на платформе Web of Science представлен на сайте eLIBRARY.RU¹).

Решение о включении журнала в RSCI принималось Рабочей группой на основании анализа формальных и библиометрических показателей журнала, оценки общественной экспертизы и оценки журнала экспертами по тематическому направлению. Основными критериями оценки являлись:

- научный уровень (оценка среднего научного уровня статей на основе их содержательного анализа);
- актуальность (оценка актуальности тематики журнала и его востребованности в научном сообществе);
- стабильность (оценка стабильности и однородности качества статей в выпусках журнала);
- редколлегия (оценка научного уровня ученых, входящих в состав редколлегии журнала);
- этика (оценка соблюдения журналом издательской и научной этики, в том числе уровня рецензирования, самоцитирования, наличия неправомерных заимствований, политики ретракции статей и т. д.);
- оформление (комплексная оценка качества оформления журнала — наличие полной информации в РИНЦ, DOI, аннотаций и ключевых слов на английском языке, оформление ссылок в списках цитируемой литературы).

RSCI — это совместный проект Российской академии наук, международной информационно-аналитической компании «Clarivate Analytics» и российской информационной компании Научная электронная библиотека (eLIBRARY.RU).

RSCI — мультидисциплинарная база данных авторитетных российских журналов на платформе Web of Science; является составной частью ядра РИНЦ. RSCI обеспечивает глобальную видимость результатов российских научных исследований, поскольку информация о публикациях представлена на двух языках (русском и английском) и доступна пользователям платформы Web of Science по всему миру; позволяет оценивать влияние российских публикаций и их цитируемость; дает возможность непосредственной оценки российских научных публикаций при помощи используемых во всем мире аналитических метрик и индикаторов Web of Science².

¹ https://elibrary.ru/projects/rsci/rsci_2021.pdf

² <https://clarivate.ru/products/web-of-science-rsci>