

안내서 등록번호

안내서-0263-02



세포 유래 생명공학의약품의 바이러스 안전성 평가 가이드라인

VIRAL SAFETY EVALUATION OF BIOTECHNOLOGY PRODUCTS
DERIVED FROM CELL LINES OF HUMAN OR ANIMAL ORIGIN
(ICH Q5A(R2))

2024. 12.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

바이오생약심사부 생물제제과

지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭

세포 유래 생명공학의약품의 바이러스 안전성 평가 가이드라인(민원인 안내서)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

| | | |
|--|---|---|
| 등록대상 여부 | <input type="checkbox"/> 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까? | <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
| | ☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서·안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 :) | |
| | <input type="checkbox"/> 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까? | <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
| | <input type="checkbox"/> 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까? | <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
| | <input type="checkbox"/> 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까? | <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
| | <input type="checkbox"/> 외국 규정을 단순 번역하거나 설명하는 내용입니까? | <input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오 |
| 지침서·안내서 구분 | <input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까? | |
| | <input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까? | |
| 기타 확인 사항 | <input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까? | |
| | <input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까? | |
| ☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다. | | |
| 상기 사항에 대하여 확인하였음. | | |
| 2024 년 12월 17일 | | |
| 담당자 확 인(부서장) | | 이 은 조 김 재 옥 |

이 안내서는 세포 유래 생명공학의약품의 바이러스 안전성 평가 시 고려 사항에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

이 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술양식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 참고로만 활용하시기 바랍니다. 또한, 이 안내서는 2024년 12월 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ "민원인 안내서"란 민원인들의 이해를 돕기 위하여 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원 업무에 대한 행정기관의 대외적인 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 생물제제과/유전자재조합의약품과/세포유전자치료제과에 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-3453, 3510, 3538

팩스번호: 043-719-3450, 3500, 3530

제·개정 이력

| 연번 | 제·개정번호 | 발행일자 | 주요내용 |
|----|---------------|------------|---|
| 1 | B1-2010-3-020 | 2010.12.01 | 제정 |
| 2 | 안내서-0263-01 | 2017.06.01 | 「식품의약품안전처 지침서 등의 관리에 관한 규정」 개정에 따른 등록번호 일괄 정비 |
| 3 | 안내서-0263-02 | 2024.12.17 | ICH Q5A(R2)에 따른 개정 |

목 차

| 목 차 | |
|--|----|
| 1. 서론 | 1 |
| 2. 잠재적 바이러스 오염원 | 3 |
| 2.1 마스터 세포은행에서 발생 가능한 바이러스 | 4 |
| 2.2 생산 중 유입 가능한 외래성 바이러스 | 4 |
| 3. 세포주 적격성 평가: 바이러스 시험 | 5 |
| 3.1 마스터 세포은행(MCB), 제조용 세포은행(WCB), 생산용 체외 세포 한계 연령(LIVCA) 세포에 대한 바이러스 시험 | 5 |
| 3.2 권장되는 바이러스 검출 및 동정 분석 | 7 |
| 3.3 세포주 허용 가능성 | 15 |
| 4. 미처리 원액의 바이러스 시험 | 15 |
| 5. 정제 원액의 바이러스 제거 시험연구와 바이러스 시험의 타당성 및 실행 계획 | 17 |
| 6. 바이러스 제거 절차의 평가 및 특성분석 | 20 |
| 6.1 바이러스 제거의 평가 및 특성분석을 위한 바이러스의 선택 | 22 |
| 6.2 바이러스 제거 평가와 특성분석 시험연구를 위한 설계 및 고려사항 | 24 |
| 6.3 바이러스 제거 시험연구의 해석 | 30 |
| 6.4 바이러스 제거 시험연구의 한계점 | 32 |
| 6.5 통계 | 33 |
| 6.6 바이러스 제거 평가를 위한 사전 지식의 적용 | 33 |
| 6.7 바이러스 제거의 재평가 | 35 |

| | |
|---|-----------|
| 7. 연속 제조에 관한 고려사항 | 36 |
| 7.1 연속 제조 시 바이러스 안전성 | 37 |
| 7.2 연속 제조 시 바이러스 제거에 관한 일반 고려사항 | 37 |
| 7.3 연속 제조 시 바이러스 제거를 위한 특이적 고려사항 | 38 |
| 8. 요약 | 40 |
| 9. 용어 정의 | 41 |
| 10. 참고문헌 | 47 |
| < 부 록 > | |
| 1 : 바이러스 제거 시험연구를 위한 바이러스 선택 | 52 |
| 1.1 유용한 '모델'의 예시 | 52 |
| 1.2 바이러스 제거 시험연구에 사용된 바이러스의 예 | 52 |
| 2 : 바이러스 및 바이러스 감소계수 평가를 위한 통계적 고려사항 | 54 |
| 3 : 바이러스 제거 확인을 위한 시험연구 시 감소계수 산출 | 57 |
| 4 : 용량 당 입자 추정값 산출 | 58 |
| 5 : 제품 특이적 밸리데이션 업무 완화를 위한, 내부 경험 포함, 사전 지식의 예 | 59 |
| 5.1 도입 | 59 |
| 5.2 용매/계면활성제(SD) 또는 계면활성제 단독 불활화 | 60 |
| 5.3 낮은 pH에서의 배양 | 62 |
| 5.4 바이러스 여과 | 64 |
| 6 : 유전자 변형 바이러스 벡터 및 바이러스 벡터-유래 제품 | 67 |
| 6.1 서론 | 67 |
| 6.2 바이러스 시험 | 68 |
| 6.3 바이러스 제거 | 70 |

1. 서론

본 가이드라인은 바이러스 제거(clearance) 및 시험을 포함한 생명공학 제품의 바이러스 안전성 평가에 관해 기술하고 있으며, 이러한 제품의 품목허가 시 어떤 자료를 제출해야 하는가에 대한 개요를 제공하고 있다. 생명공학 제품에는 바이오 의약품 그리고 사람이나 동물 기원(예: 포유류, 조류 또는 곤충)의 세포주에서 유래한 특정 생물학적 제품이 포함된다. 본 문서에서, ‘바이러스’라는 용어는 포유류의 프리온(예: 소해면상뇌증(Bovine Spongiform Encephalopathy, BSE), 스크래피(scrapie))와 같이 통상적이지 않은 전염성 인자는 제외한다. 전염성해면상 뇌증과 관련된 문제는 본 가이드라인의 범위 밖이므로, 이 문제는 해당 규제기관과 논의하도록 권고한다.

본 가이드라인은 재조합 기술을 사용하여 시험관 내(*in vitro*) 세포배양을 통해 생산된 사이토카인, 단클론항체 및 유전자재조합 백신과 같은 제품을 포함하고 있다. 제품에 부정적인 영향 없이 바이러스를 제거할 수 있다면, 특정 유전자 변형 바이러스 벡터 및 바이러스 벡터 유래 제품도 포함될 수 있다(예: 바이러스 백신 및 유전자치료제). 예를 들어, 이러한 제품에는 일시적 또는 안정적으로 형질 주입된 세포주를 사용하거나 재조합 바이러스를 사용한 감염을 통해 생산된 아데노부속 바이러스(Adeno-associated Virus, AAV)가 포함될 수 있다. 여기에는 배큘로바이러스(baculovirus)-발현 바이러스 유사입자(Virus-like Particles, VLP)와 같은 바이러스 벡터 유래 제품, 서브유닛 단백질 및 나노입자 기반 단백질 백신과 치료제를 포함한다. AAV 유전자치료제 벡터는 생산을 위해 단순 포진 바이러스 또는 아데노바이러스와 같은 헬퍼 바이러스에 의존하는 경우도 포함한다. 유전적으로 변형된 바이러스 벡터 및 바이러스 벡터 유래 제품에 대한 특이적 지침은 부록 6에서 제공한다.

자가 복제 인자를 함유한 불활화 바이러스 백신 및 약독화 생바이러스 백신은 본 가이드라인의 범위에서 제외된다. 세포치료제는 본 가이드라인의 범위를 벗어나 있지만, 해당되는 사항에 대해서는 본 가이드라인의 원칙을 적용할 수 있다(예: 생물학적 출발물질(starting material) 또는 원료물질(raw material)).

원료 물질을 복수(ascities)와 같은 체내(*in vivo*)에서 성장한 하이브리도마 세포로부터 제조하는 것은 동물 사용의 대체, 감소 및 개선의 3R 원칙 준수뿐만 아니라 오염 위험으로 인하여 더 이상 권장하지 않는다. 이러한 상황에서는 체내(*in vivo*) 시험을 차세대 염기서열 분석(Next Generation Sequencing, NGS)으로 대체하는 등, 본 가이드 라인의 원칙을 따를 수 있다. 이와 관련한 상세 내용에 대해서는 규제기관과 상의 할 것을 권고한다.

바이러스 오염은 심각한 임상적 결과를 초래하기 때문에, 그 위해성을 세포주에서 유래한 모든 생명공학 제품에서 고려해야 하며 이를 감소시켜야 한다. 이러한 위해성은 기원 세포주 자체(세포기질)의 오염 또는 생산 중 외래성 바이러스의 외부 유입으로 발생할 수 있다. 그러나, 세포주 유래 생명공학 기술을 적용한 의약품이 바이러스 전파와 연관되었던 이력은 없었다. 이러한 제품의 바이러스 안전성은 아래에 기술하는 바와 같이, 포괄적인 바이러스 시험 프로그램을 적용하고 생산 공정을 통해 달성한 바이러스 제거 및 불활화를 평가함으로써 적절하게 보장할 수 있다. 생명공학 제품의 잠재적인 바이러스 오염을 통제하기 위하여 세 가지의 주요한 보완적 접근법을 적용한다.

- 바람직하지 않은 감염성 바이러스가 존재하지 않도록, 배지 성분을 포함하여 세포주 및 기타 원료물질을 선정하고 시험을 실시
- 생산 공정의 외래성 및 내인성 바이러스 제거 역량을 평가
- 감염성 바이러스의 오염이 없음을 증명하기 위하여, 적절한 제조 공정에서 제품을 시험

유전적으로 변형된 바이러스 벡터 및 바이러스 벡터 유래 제품의 생산 시 사용되는 일부 바이러스 제거 단계는 재조합 단백질에 사용되는 단계만큼 효과적이지 않을 수 있다. 따라서, 추가적 위해성 감소를 위한 고려 사항을 적용할 수 있다. (예: 원료물질 처리, 바이러스의 폭넓은 검출을 위한 광범위한 시험) (부록 6 참조)

바이러스 시험에는 내재적인 한계가 있다. 예를 들면 저농도 바이러스의 검출 정도는 통계적 이유로 검체 크기에 따라 달라진다. 그러므로 단일 접근 방식으로는 바이러스 안전성을 확립하기는 어렵다. 많은 경우 제품 내 감염성 바이러스의 부재를 확인하기 위해서는 감염성 바이러스의 존재를 확인하기 위한 직접적인 시험뿐만 아니라 정제공정에서 바이러스를 제거 및/또는 불활화할 수 있음을 증명해야 할 것이다.

서로 다른 생산 단계에서 실시되는 바이러스 시험과 바이러스 제거 시험연구의 유형 및 범위는 다양한 요인에 따라 달라지며, 사례별 그리고 단계별로 고려해야 한다. 고려해야 하는 요소로는 세포주의 기원, 세포은행 특성 분석과 시험의 범위, 검출된 바이러스의 특성, 배양 배지 구성성분, 배양법, 시설과 설비 설계, 세포배양 후 바이러스 시험 결과, 공정의 바이러스 제거 능력 그리고 제품 유형 및 임상적 사용 목적이 포함된다.

본 가이드라인에 제시된 권고사항은 특정 제품 및 생산 공정에 맞춰 조절해야 한다. 더 나아가 바이러스 안전성 확인에 사용된 접근법을 설명하고 타당성을 제시해야 한다. 상세한 시험 결과 및 자료 외에도, 바이러스 안전성 평가의 전반적인 요약본을 제공해야 한다. 이 요약본에는 바이러스 오염 방지를 위해 사용된 바이러스 안전성 시험연구 및 전략의 모든 측면에 대한 간략한 기술을 수록해야 한다.

2. 잠재적 바이러스 오염원

생명공학 제품의 바이러스 오염은 세포주의 기원에서 기인하거나, 생산 세포주 생성 및/또는 세포은행 구축 과정 혹은 생산 공정 동안 외래성 바이러스가 유입되어 발생할 수 있다. 충분히 특성이 분석된 세포은행 및 바이러스 시드를 사용하면 바이러스 오염의 위험을 줄일 수 있다. 마스터 바이러스 시드(Master Virus Seed, MVS) 또는 제조용 바이러스 시드(Working Virus Seed, WVS)로부터의 잠재적인 외래성 바이러스 유입 및 관리는 부록 6에 기술되어 있다. 부록 6에 기술

된 제품의 생산에 사용된 바이러스(생산 바이러스(production virus))는 공정 관련 불순물로 간주한다.

2.1 마스터 세포은행에서 발생 가능한 바이러스

외래성 바이러스 감염인자는 다음과 같은 몇몇 경로를 통해 마스터 세포은행(Master Cell Bank, MCB)에 유입될 수 있다. (1) 감염된 동물로부터 세포주를 수득; (2) 세포주 확립을 위해 바이러스 사용; (3) 오염된 생물학적 시약(예: 선별용 항체)이나 세포배양을 위한 원료물질(예: 동물이나 사람 혈청 및 돼지 트립신)의 사용; 또는 (4) 세포취급(cell handling) 및 세포은행(cell banking) 확립 과정 중 오염.

세포에는 한 세포 세대에서 다음 세대로 유지되는 내인성 레트로바이러스가 있다. 내인성 바이러스 염기서열은 항시적으로(constitutively) 발현되거나 감염성 또는 결함이 있는 바이러스 입자를 생성하도록 활성화될 수 있다. 세포 내에는 잠복성 또는 지속성 바이러스가 존재할 수 있다(예: 헤르페스바이러스).

2.2 생산 중 유입 가능한 외래성 바이러스

외래성 바이러스는 다음과 같은 여러 경로로 생산 공정을 오염시킬 수 있으며, 이 외의 다른 경로들도 가능하다. (1) 세포배양 동안 동물 혈청 성분과 같은 오염된 생물학적 원료물질이나 오염된 시약을 사용; (2) 오염된 바이러스 시드를 생산에 사용(부록 6 참조); (3) 제품 선택 또는 정제를 위해 사용된 포유류 유래 항체-결합 친화성 레진(antibody-coupled affinity resin)과 같이, 제조 공정의 하위 단계(downstream)인 정제 중 오염된 원료물질 또는 오염된 시약을 사용; (4) 제형화 중 오염된 첨가제를 사용; (5) 비생물학적 원료물질의 보관 동안 또는 작업자의 세포배양 및 배지 취급 과정을 포함한 환경으로부터 오염.

세포배양 매개변수(parameter)(예: 세포 성장 및 생존율)를 모니터링하면 잠재적인 외래성 바이러스 오염을 조기에 검출하는 데 도움이 될 수 있다. 제조사는 가능한

경우 제조 공정 중 사람 및 동물 유래 원료 물질(예: 사람 혈청, 소 혈청, 돼지 트립신)의 사용을 피해야 한다. 사람 및 동물 유래 원료물질의 사용이 불가피한 경우 이러한 물질의 위해성에 상응하는 관련 문서 또는 물질의 적격성 평가를 통해 사용을 뒷받침해야 한다. 원산지, 기원 조직, 이러한 물질의 제조공정 중 적용되는 바이러스 불활화 또는 제거 단계, 원료물질에 대해 수행된 바이러스 시험의 유형과 같은 정보를 제공해야 한다. 위해성 평가에 따라 이 시험이 필요하다면 가능한 경우 불활화 이전에 수행해야 한다.

가능한 경우 동물이나 사람 혈청 또는 돼지 트립신과 같이 외래성 바이러스의 유입 위험이 높은 생물학적 물질은 이온화 방사선조사(ionizing irradiation)와 같은 바이러스 불활화를 해야 한다. 추가적인 바이러스 위해성 경감 수단으로써 세포 배양 배지 또는 배지 보충제에 대한 처리(예: 바이러스 여과, 고온 단시간 처리 또는 자외선 C(UV-C) 조사)를 적절하게 사용할 수 있다.

3. 세포주 적격성 평가: 바이러스 시험

생명공학 제품 생산에 사용되는 세포주의 적격성 평가에서 중요한 부분은 바이러스의 존재 여부를 확인하는 적절한 시험이다.

3.1 마스터 세포은행(MCB), 제조용 세포은행(WCB), 생산용 체외 세포 한계연령(LIVCA) 세포에 대한 바이러스 시험

표 1은 MCB, WCB(Working Cell Bank) 및 생산용 LIVCA(Limit of *In Vitro* Cell Age) 세포의 특성 분석을 위해 한번은 실시하도록 권장되는 바이러스 시험을 보여준다.

3.1.1. 마스터 세포은행(MCB)

MCB에서 내인성 및 외래성 바이러스 오염 두 가지 모두에 대해 광범위한 선별

검사를 해야 한다. 예를 들어 하나 이상의 파트너 세포주가 사람 또는 비사람 영장류를 기원으로 하는 이종-하이브리드(hetero-hybrid) 세포주의 경우 이러한 세포에서 기인한 바이러스 오염은 특정한 위해성을 초래할 수 있으므로 사람이나 비사람 영장류 기원의 바이러스를 검출하기 위한 시험을 해야 한다.

외래성 바이러스 시험은 표 1에 기술된 바와 같이 광범위한 바이러스 검출 시험과 특정한 바이러스 검출 시험 두 가지 모두를 포함한다. NGS와 같이 광범위한 외래성 바이러스를 검출하는 새로운 방법을 도입하는 것도 고려할 수 있다. 오염원 바이러스를 확실히 검출하기 위하여 모세포주의 기원 및 이력 그리고 생산 세포주 생성 및 MCB banking 과정 동안 사람 또는 동물 기원 물질에 노출될 잠재적 가능성을 고려하여, 위해성 평가를 기반으로 시험에 접근해야 한다. 대체적인 접근법으로, MCB 대신 WCB에서 전체 시험을 실시할 수도 있다.

3.1.2. 제조용 세포은행(WCB)

표 1에 기술한 바와 같이 각 WCB에 대해 외래성 바이러스 시험을 실시해야 한다. 적절한 경우 MCB에 외래성 바이러스 시험을 수행했고 WCB에서 유래된 체외 세포 연령 한계 시점 또는 이를 초과해 배양한 세포에 대한 외래성 바이러스 시험이 수행 되었다면, 이 WCB에 대해서는 이와 유사한 시험을 생략할 수 있다.

3.1.3. 생산용 체외 세포 연령 한계(LIVCA) 시점의 세포

생산용 체외 세포 연령 한계(LIVCA) 세포는 대표적인 규모-축소(scale-down) 모델을 사용하여 소규모 및/또는 시험 생산(pilot scale) 규모 또는 상업적 규모 조건하에서 제안된 체외 세포 연령이나 그 너머까지 증식된 생산 세포에서 도출한 자료를 기반으로 수립해야 한다. LIVCA 세포는 WCB 또는 MCB의 확장을 통해 획득한다. LIVCA 세포는 MCB 및/또는 WCB에서 검출되지 않은 바이러스에 대해 한번은 평가를 해야 한다. 생산용 LIVCA 세포에 적합한 시험(표 1에서 제시하는 바와 같이)을 한번 실시한다면 생산 공정이 내인성 바이러스의 유도,

잠복성 바이러스의 재활성 또는 저성장이나 저속 성장 바이러스의 증폭을 유발하지 않음을 추가로 보장할 수 있다. 이 단계에서 외래성 바이러스가 검출되면 MCB 및 WCB를 포함하여 오염의 원인을 파악하기 위해 공정 과정을 면밀히 점검해야 한다. LIVCA 세포는 생산종결세포(EOPC)라고도 한다.

3.2 권장하는 바이러스 검출 및 동정 분석

내인성 및 외래성 바이러스 검출을 위하여 다양한 분석 시험이 활용된다. 표 2는 이러한 시험의 예시를 목록화한 것이다. 이러한 분석 시험이 권장되지만, 이 목록이 모든 방법을 제시하거나 확정적인 것은 아니다. 가장 적절한 방법은 과학적 진보에 따라 변할 수 있으며, 대체 기법 제안 시에는 적절한 근거자료가 함께 제시되어야 한다. 포괄적인 시험 전략은 세포주의 기원, 계대 이력 그리고 세포주 생성 및 세포은행 준비, 생산(예: 바이러스를 불활화하거나 제거할 수 있는 단계)을 위해 사용된 원료물질 및 시약을 포함한 철저한 바이러스 위해성 평가를 수행한 후 개발해야 한다. 이 전략에는 위해성 평가를 기반으로, 적절한 추가 시험을 포함해야 한다. 예를 들어, 특정 바이러스가 존재할 가능성이 상대적으로 높다면, 달리 타당한 사유를 제시하지 않는 경우, 해당 바이러스 검출을 위한 특정한 시험이나 다른 접근법을 전략에 포함해야 한다. 분석 민감도 및 특이성의 적절함을 증명할 수 있도록 적절한 대조군이 포함되어야 한다. 해당하면 잠재적인 기질 간섭(matrix interference)을 고려해야 한다.

다음은 제조사가 제품 및 제조공정에 특이적인(또는 적절한) 바이러스 시험 계획을 포괄적으로 개발하기 위해 사용해야 하는 일반적인 체계를 간략히 기술한 것이다. 시험 전략에는 해당 접근법에 대한 적절한 근거가 함께 제시되어야 한다.

3.2.1. 레트로바이러스 시험

세포주는 레트로바이러스의 존재에 대한 특성 분석을 해야 한다. 레트로바이러스 시험은 MCB 그리고 LIVCA까지 또는 이를 초과해 배양된 세포에 실시해야

한다. 이러한 시험에는 세포 상층액(cell supernatant) 직접 접종이나 세포 동시 배양을 통한 감염도 분석, 무세포 상층액(cell-free supernatant)을 사용하는 역전사 효소(Reverse Transcriptase, RT) 활성 분석 그리고 투과전자현미경(Transmission Electron Microscopy, TEM)을 사용하는 입자에 대한 세포 평가가 포함된다. TEM은 다른 인자들도 검출할 수 있으므로 세포은행의 특성 분석에 일반적으로 권장된다.

세포주가 레트로바이러스 입자를 생성하고 있다면(설치류, 곤충류 및 조류 유래 일부 세포주에서 발생하는 바와 같이) RT 활성이 예상되며, 따라서 PCR-기반 RT 분석(예: 제품-강화 역전사효소(Product-Enhanced Reverse Transcriptase, PERT) 분석)은 필요하지 않을 수 있다. 존재하는 레트로바이러스 입자의 유형(예: A형, C형)을 조사하기 위해 TEM을 실시해야 한다. 내인성 레트로바이러스 입자의 감염성 여부를 확인하려면, 관련된 감수성이 있는(permissive) 세포(예: 일반적인 쥐 레트로바이러스 검출은 *Mus dunni*, 동종 지향성(ecotropic) 쥐 레트로바이러스 검출은 SC-1 세포)를 사용하여 레트로바이러스 검출 민감도가 높은 판독 분석법(예: PERT 분석, 육종-양성, 백혈병-음성(S⁺L⁻) 분석, 또는 XC 플라크 분석)을 실시해야 한다.

세포주가 레트로바이러스 입자를 생성하는지가 알려지지 않은 경우, 세포에 TEM을 실시하고 정화된 상층액(cell supernatant)에 RT 분석(예: PERT 분석)을 해야 한다. PCR-기반 RT 분석은 높은 민감도로 레트로바이러스의 RT 활성을 검출할 수 있기에 특히 유용하지만, RT 활성은 감염성 또는 비감염성 레트로바이러스 어느 쪽과도 연관이 있을 수 있다. 일부 세포 DNA 중합효소로 인해 양성 RT 결과가 나올 수 있으므로 (레트로바이러스 오염으로 인한) RT 활성 또는 양성 TEM 결과 확인 시에는 사람 세포주를 포함한 감수성이 있는(permissive) 세포에서 감염성 레트로바이러스 검출을 위한 시험과 민감도 높은 판독 분석을 해야 한다.

레트로바이러스 시험 결과는 이용할 수 있는 모든 자료를 고려하여 해석해야 한다. 내인성 레트로바이러스 입자를 발현하는 세포주는 3.3항 및 5항에서 논한 바와 같이 위해성 평가를 기반으로 제조에 사용하는 것을 배제하지 않는다.

내인성 레트로바이러스에 대해 특성 분석이 충실히 이루어진 세포주에 대해서는 화학적 유도 시험연구(chemical induction studies)가 필요하지 않다(예: Chinese Hamster Ovary(CHO), NS0, Sp2/0, Vero 및 사전 지식(prior knowledge)을 기반으로 하는 기타 세포주). 그러나 이러한 시험연구는 알려지지 않은 유도 가능한 내인성 레트로바이러스의 존재에 대해 새로운 세포주를 평가하는 데 도움을 줄 수 있다. 더 나아가, 위해성 평가를 기반으로 잠복 DNA 바이러스(예: 사람 세포 내 헤르페스 바이러스) 및 잠복 RNA 바이러스(예: 곤충 세포의 노다바이러스(nodavirus))에 대한 유도 시험연구도 적절할 수 있다. 이러한 시험연구는 새로운 세포기질 유래 제품에 대한 바이러스 시험 및 바이러스 제거 전략을 위한 정보를 제공하는 데 도움을 줄 수 있다.

3.2.2. 시험관 내(*in vitro*) 세포배양 감염성 분석

시험관 내(*in vitro*) 시험은 광범위한 사람 및 관련 동물 바이러스를 검출할 수 있는 다양한 지표 세포배양물에 시험 물질(표 2 참조)을 접종하여 실시한다. 지표 세포에는 기원 종의 세포주, 사람 이배체 세포(예: MRC-5) 및 원숭이 신장세포주(예: Vero)를 포함해야 한다. 세포주를 추가할 수 있으며 시험에 사용할 세포는 시험할 세포기질의 기원종을 고려하면서 위해성 평가를 기반으로 선정해야 한다.

감염성 분석의 특성 및 시험할 검체는 세포의 기원 또는 처리(handling) 방식을 토대로 존재할 가능성이 있는 바이러스 유형에 따라 결정한다. 지표 세포배양물은 규제기관의 현행 규정 및 지침에 따라 세포변성(cytopathic) 바이러스, 혈액흡착 및 혈구응집 바이러스에 대해 모니터해야 한다. MCB, WCB 및 LIVCA의 적격성 평가의 경우, 감수성이 있는(permissive) 세포에 대한 28일 시험을 2주 시점에서 최소 1회 하위 계대 배양하며 실시해야 한다.

이 시험을 보충하거나 대체하기 위해 NGS 또는 다른 분자적 방법을 사용할 수 있다. 이를 통해 시험관 내(*in vitro*) 세포배양 감염성 분석의 일반적 한계점(예: 세포주의 감염에 대한 감수성) 그리고 생산 시스템의 특정한 한계점(예: 시험 물질-매개 간접 또는 독성)을 해결할 수도 있다. 이와 관련한 상세 내용에 대해서는

규제기관과 상의할 것을 권고한다.

3.2.3. 체내(*in vivo*) 분석

체내 시험(*in vivo* testing)은 세포은행의 이력 및 제조 그리고 시험 전략을 고려한 위해성 평가를 기반으로 수행해야 한다. 제품 개발사의 사전 지식을 토대로 광범위하게 사용되고 특성이 충분히 분석된 세포주인 CHO, NS0 및 SP2/0에 대해서는 체내(*in vivo*) 시험이 필요하지 않을 수 있다. 위해성 평가 시 고려 사항에는 형질 주입되지 않은(untransfected) 모세포주에 대하여 이전에 수행된 체내(*in vivo*) 바이러스 시험 또는 NGS 시험 그리고 모세포 은행으로부터 유래된 마스터세포은행(MCB)의 관리가 포함된다. MCB 확립을 위해 사용된 방법을 포함하여 동일한 모세포 은행으로부터 유래된 다른 MCB에서 실시된 바이러스 안전성 시험에 관한 사전 지식도 고려해야 한다. WCB가 허가받은 통제된 조건하에 제조되었다면 WCB에 대해서는 일반적으로 체내(*in vivo*) 시험이 필요하지 않다. 최대세포연령(LIVCA)의 세포의 경우, 이 시험은 사전 지식 및 그 외 위해성 기반 고려사항에 따라 필요하지 않을 수 있다.

위해성이 잔존하고 있다면 MCB 수립 중 또는 세포를 LIVCA 단계까지 배양하는 동안 유입되었을 수 있는 바이러스를 검출하기 위해 이 체내(*in vivo*) 시험을 유지하거나 비표적(non-targeted) NGS로의 대체를 고려할 수 있다.

체내(*in vivo*) 시험에서는 젓먹이 마우스, 성체 마우스 및 닭 유정란에 시험 물질(표 2 참조)을 접종하는 방법을 포함할 수 있다. 동물의 건강 상태를 모니터링하고 이상이 있으면 원인 규명을 위해 조사해야 한다.

동물시험의 대체 감소 및 개선을 위한 3R 원칙이 국제적으로 추진되고 있고, 바이러스 검출 범위와 민감도 및 체내(*in vivo*) 시험의 한계로 인하여 비표적 NGS 분석 기법의 사용을 고려해 볼 수 있다. 이와 관련한 상세 내용에 대해서는 규제기관과 상의할 것을 권고한다.

3.2.4. 특정 바이러스에 대한 시험

시험 대상인 특정 바이러스의 목록은 바이러스 오염 위해성 평가를 기반으로 결정되며, 세포 기원 및 바이러스 오염의 잠재적 원천(예: 생물학적 원료물질, 특히 사람이나 동물 기원 물질) 등을 고려한다. 사람이나 동물 유래 원료물질(예: 소 혈청 또는 돼지 트립신)에 노출된 세포주의 경우, 사람 및 소, 돼지 바이러스에 대한 시험을 실시해야 한다. 설치류 기원의 또는 설치류 물질에 노출된 세포주의 경우, 종 특이적 바이러스 검출을 위해 마우스, 랫트 또는 햄스터를 사용하여 핵산증폭기법(Nucleic Acid Amplification Techniques, NAT) 또는 항체생성시험(antibody production test)을 실시한다. 이러한 시험은 특정 동물 종의 바이러스에 노출되었을 가능성이 존재할 때 수행해야 한다. 예를 들면, 설치류 기원 세포주, 또는 설치류를 통한 계대배양 및 설치류 물질에서 유래했을 수 있는 시약 사용을 통해 생성된 세포주 내에 설치류 바이러스가 존재 시, 마우스, 랫트, 햄스터와 같은 SPF (Specific Pathogen Free) 동물에 시험 물질(표 2 참조)을 접종하여 이를 검출할 수 있으며, 이어서 특정 인자에 대한 항체 시험을 할 수 있다.

이러한 시험으로는 마우스 항체 생성(Mouse Antibody Production, MAP) 시험, 랫트 항체 생성(Rat Antibody Production, RAP) 시험, 햄스터항체 생성(Hamster Antibody Production, HAP) 시험이 있다. 현재 항체 생성 시험에서 선별검사되는 바이러스는 표 3에서 제시하고 있다.

PCR 분석과 같은 NAT 또는 표적(targeted)이나 비표적(non-targeted) NGS, 아니면 그 외의 분자적 방법을 직접 비교 없이 표 3에서 기술하고 있는 동물시험을 대체하기 위해 사용할 수 있다. 이와 관련한 상세 내용에 대해서는 규제기관과 상의할 것을 권고한다.

3.2.5. 분자적 방법

NAT 및 NGS와 같은 분자적 방법을 바이러스 검출을 위해 사용할 수 있다.

NGS는 알려진 그리고 새로운 바이러스의 광범위한(비표적) 검출에 적합할 수 있다. NGS는 염기서열 분석 또는 생물정보학 분석을 통해 바이러스의 표적화 검출을 위해서도 사용할 수 있다. 비표적 NGS는 이 방법이 의도한 목적에 적절하다고 증명된다면, 직접 비교 없이 체내(*in vivo*) 분석을 대체하거나 시험관 내(*in vitro*) 세포배양 분석을 대체 또는 보충하기 위해 사용할 수 있다. 직접 비교는 분석 체계들의 상이한 평가변수 그리고 알려진 및 알려지지 않은 바이러스를 검출하는 NGS의 향상된 바이러스 검출력과 비교 시 시험관 내 및 체내시험법을 사용하는 바이러스 검출 범위의 한계점으로 인하여 권고하지 않는다. 검출 범위가 한정된 특정 표적 시스템을 사용하여 검출할 경우, 시험관 내(*in vitro*) 및 체내(*in vivo*) 분석의 결과는 바이러스 복제 및 생물학적 특성에 따라 달라진다. NGS를 사용하여 체내(*in vivo*) 분석을 대체한다면 시험 시 동물 사용의 대체, 감소 및 개선한다는 3R 원칙을 준수하는 것이다.

PCR 기반 방법과 같은 NAT를 바이러스 특이적 검출을 위해 사용할 수 있다. 표적 및 비표적 NGS는 직접 비교 없이 바이러스 특이적 검출을 위해 수많은 PCR 분석 시험을 대체하도록 사용할 수 있다. 이는 바이러스 변이주 검출의 한계를 극복하는 데 도움을 줄 수 있다. 결과가 양성이면, 검출된 핵산이 감염성 바이러스와 연관되었는지 판정하기 위해 결과를 조사해야 한다.

3.2.5.1 핵산증폭기법(Nucleic Acid Amplification Techniques)

알려진 바이러스 또는 밀접히 관련되었다고 알려진 바이러스 과(科)의 염기서열을 검출하기 위해, 일반적으로 PCR 기반 방법과 같은 NAT를 단독 또는 다중 형식(multiplex format)으로 사용한다. 이러한 분자적 방법은 세포배양 분석 시 분석 간섭(assay interference)으로 인해 한계가 있을 때 이를 보완할 수 있으며, 감염성 분석을 사용하는 검출을 위한 세포배양에서 특정 바이러스가 쉽게 증식할 수 없는 경우 이러한 바이러스 검출에 효과적인 도구이다. 또한 NAT는 더욱 광범위한 바이러스 검출을 위해 조정이 가능하나(예: 축퇴 PCR (degenerate PCR)), 특이성은 감소할 수 있다. 이러한 분석 특이성으로 인해, 다중 바이러스

특이적 PCR 분석법을 사용하여 보다 일반적인 단일한 생물학적 분석법으로 검출하게 될 바이러스들을 더욱 광범위하게 검출할 수 있다. NAT 분석은 사용 목적에 대해 적절히 검증해야 한다. 여기에는 해당되는 바에 따라 시험방법 밸리데이션 및 기질-특이적(matrix-specific) 확증이 포함된다.

3.2.5.2 차세대 염기서열 분석법

광범위한 바이러스 검출력이 입증된 NGS(고-수율 염기서열분석(high-throughput sequencing))를 사용할 수 있다. NGS는 바이러스 검출의 민감도 및 범위가 규명되어 있어 동물 사용 및 시험 시간을 줄일 수 있다. 비표적 NGS는 직접 비교 없이 알려지지 않거나 예상하지 못한 바이러스를 광범위하게 검출함으로써 체내(*in vivo*) 시험을 대체할 수 있다.

비표적 NGS는 직접 비교 없이 알려진 및 알려지지 않은 또는 예상하지 못한 바이러스의 검출을 위해 시험관 내(*in vitro*) 세포배양 분석을 보완하거나 대체하기 위해 사용할 수도 있다. 이를 통해 시험관 내 세포배양 민감성 분석(*in vitro* cell culture sensitivity assay)의 일반적인 한계점(예: 감염에 대한 세포주의 감수성) 및 생산 시스템의 특이적 한계점(예: 시험 물질-매개 간접 또는 독성)을 해결할 수도 있다.

NGS는 알려진 바이러스 서열 정보의 가용성을 기반으로 이 바이러스의 표적화 검출을 위해 사용할 수 있다. 다른 방법으로는, 특정 바이러스 검출을 목표로 NGS 생물정보학적 분석(NGS bioinformatic analysis)을 수행할 수 있다.

NGS(표적 또는 비표적)는 직접 비교 없이 바이러스-특이적 PCR 및 설치류 항체 생성 시험을 대체할 수 있다(3.2.4항 참조). NGS를 사용하여 체내(*in vivo*) 분석을 대체한다면, 시험 시 동물 사용의 대체, 감소 및 개선이라는 3R의 원칙과 목표를 준수하는 것이다.

NGS는 세포주 특성분석 또는 세포은행, 바이러스 시드, 미처리 원액 수확물 등의 시험을 위해 사용을 고려할 수 있다. 바이러스 벡터가 효과적으로 중화되지 않았거나(부록 6 참조) 제품 또는 배지 성분으로 유발된 독성으로 인해 분석 간섭이 발생한 경우 이 시험법이 특히 유용할 수 있다. 이렇게 적용하는 경우 NGS는 모든 바이러스 유전체 핵산(유전체학(genomics)), 바이러스 RNA(전사체학(transcriptomics)) 또는 캡슐화된 바이러스 유전체(바이러스체학(viromics))를 분석하기 위해 적용할 수 있다. 세포배양물 유래 물질 분석 시 유전체학 및 전사체학적 분석을 위해서는 세포에서 추출한 핵산을 사용하고 바이러스체학적 분석을 위해서는 세포배양물 상층액(cell supernatant) 또는 무세포(cell-free) 바이러스 조제액을 사용한다. 이런 서로 다른 전략의 선택에 대한 근거를 제공해야 한다.

알려져 있거나 새로운 바이러스의 민감하고 광범위한 검출을 위해 NGS를 적용 시에는 NGS 작업 흐름 중 고려해야 할 다음과 같은 몇 가지 단계가 있다. (1) 검체 전처리(실시하는 경우) 그리고 검체 물질 유형을 기반으로 바이러스 검출을 극대화할 때 필요할 수 있는 바이러스 농축 단계; (2) (외피 및 외피 미보유 입자로부터) 바이러스 핵산 추출의 효율성 및 라이브러리 준비(DNA 및 RNA 바이러스); (3) 민감한 바이러스 검출을 위한 적합한 서열분석 플랫폼 선택 그리고 (4) 폭넓은 바이러스 검출을 위한 전략을 사용하여 서로 다른 바이러스과의 바이러스 서열을 다양하게 대표하는 데이터베이스에 대한 생물정보학 분석. 데이터베이스에 존재할 수도 있는 비-바이러스 서열과 구별할 수 있도록 바이러스 특이적 신호의 검출을 확인하기 위한 후속 전략이 필요할 수 있다.

업무 흐름도에 포함된 서로 다른 단계의 성능을 평가하며 바이러스 검출의 민감도, 특이성 및 범위를 증명하기 위해, 시험법의 적격성 평가 및 밸리데이션에 적합한 표준물질을 사용해야 한다. 이때에는, 전체 NGS 작업 흐름 또는 특정 단계의 성능을 평가하기 위하여 물리적(크기, 외피 및 외피 미보유), 화학적(저, 중, 고 저항성) 그리고 유전체적(DNA, RNA, 이중 가닥 및 단일 가닥, 선형, 원형) 특성이 뚜렷한 바이러스를 포함하고 있는 현재 가용한 참조 시약/패널을 사용해야 한다. 광범위한 바이러스 검출을 위해 다양한 바이러스 서열과 함께 포괄적인

바이러스 데이터베이스를 사용해야 한다. 특정한 기술적 그리고 생물정보학적 단계를 평가하기 위하여 다른 유형의 표준물질을 사용할 수 있다.

사용된 모든 NGS 방법에 대해서는 그 활용 목적을 뒷받침하는 검증/적격성 평가 자료를 제공해야 한다. 대체 시험법으로 사용 시에는 시험방법 밸리데이션 및 기질-특이적(matrix-specific) 확증을 포함해야 한다. 보충 방법으로 사용 시에는 방법 적격성 평가 및 기질-특이적 확증이 포함된다. 시험방법 밸리데이션에는 사전 정의된 성능 기준이 요구되며, 시험방법 적격성 평가는 이 방법의 성능 특성만을 평가한다. NGS는 한계시험(limit test)으로 사용되기 때문에 시험방법 밸리데이션/적격성 평가를 위한 성능 특성(검출의 특이성/범위 그리고 민감도)은 ICH Q2의 원칙을 고려해야 한다.

NGS 시험 활용에 관한 상세 내용에 대해서는 규제기관과 상의할 것을 권고한다.

3.3. 세포주 허용 가능성

제품 생산에 사용되는 일부 세포주는 내인성 레트로바이러스, 기타 바이러스 또는 감염성 바이러스로 재활성화될 수 있는 바이러스 서열을 함유하고 있을 것이다. 이러한 상황에서는 제조를 위해 권장되는 실행 계획을 5. 항에 수록하고 있다. 내인성 레트로바이러스 이외의 바이러스가 존재하는 세포주의 허용 가능성은, 제품의 유익성 및 의도하는 임상 사용, 오염 바이러스의 특성, 사람 감염이나 사람 질환 유발 가능성, 제품을 위한 정제 공정(예: 바이러스 제거 평가 자료), 그리고 정제 원액에 실시한 바이러스 시험의 범위를 근거로 한 위해성-유익성 분석을 고려하여 해당 규제기관이 개별적으로 검토해야 한다.

4. 미처리 원액의 바이러스 시험

제조사는 생산 배치의 외래성 바이러스에 대해 주기적 시험을 시행하기 위한 프로그램을 개발할 것을 권고한다. 미처리 원액에 대한 바이러스 시험의 범위는

목표한 제품의 생산에 사용되는 세포주의 특성, 세포주의 적격성 평가 중 실시한 바이러스 시험의 결과 및 범위, 배양 방법, 원료물질 및 시약 기원 그리고 바이러스 제거 시험연구의 결과를 포함하여 여러 사항을 고려해야 한다.

배치 공정의 경우, 미처리 원액은 단일 또는 다수의 세포 수확물의 혼합물 그리고 배양 배지로 구성된다. 세포배양액으로부터 연속적인 제품 회수가 이루어지는 공정의 경우, 공정 흐름에서 수확된 중간체 혹은 미처리 원액 검체는 풀링될 수 있다. 추가 공정 전에 바이오리액터(bioreactor)에서 채취한 미처리 원액의 대표 검체는 외래성 바이러스 오염의 가능성을 높은 검출 확률로 파악할 수 있는 가장 적합한 대표적 단계 중 하나이다. 따라서, 적절한 바이러스 시험을 미처리 원액에 실시할 수 있다. 세포 분리 기술이 바이오리액터(bioreactor) 안의 세포-연관 바이러스 검출에 미치는 영향을 고려해야 한다. 미처리 원액이 독성이 있거나 세포배양 시험 시 바이러스 검출에 간섭을 유발한다면, 최소한의 검체 희석 또는 대체 시험법(예: NGS)을 고려할 수 있다(3.2.항 참조). 세포-연관 바이러스 검출을 위해서는 바이오리액터(bioreactor)에서 확보한 손상되지 않은 원형 세포와 세포 분해물(예: 파쇄된 세포 및 세포배양 상층액(cell supernatant))의 혼합물을 시험해야 한다. 관류(perfusion) 또는 연속 생산(continuous manufacturing) 공정의 경우 세포에 쉽게 접근하지 못할 수 있다(예: 중공 섬유(hollow fiber) 또는 유사한 미세여과 시스템으로 인해). 이 경우 세포배양액에서 확보한 무세포 수확물(cell-free product)을 사용할 수 있다. 세포배양물에서 연속적인 산물 수확이 진행되는 공정의 경우, 세포배양 기간에 걸쳐 외래성 바이러스 및 내인성 바이러스 입자가 변할 수 있으므로, 검체 채취 전략(검체 채취 주기 및 조성 포함)에 대한 타당성이 있어야 한다(7.항 참조).

각 미처리 원액마다 외래성 바이러스 시험을 주기적으로 실시할 수 있다. 여기에는 몇 가지 지표 세포주를 사용하는 시험관 내 세포배양 또는 비표적 NGS가 포함될 수 있다(3.2.항 참조). 지표 세포배양물은 2주 시점에서 최소 1회 하위 계대 배양을 포함하여 28일 동안 관찰해야 한다. 시험 기간은 타당성에 따라 위해성 평가(세포기질, 생산을 위한 배양 기간, 동물 유래 원료 또는 시약의 사용, 공정의

바이러스 제거 수준을 고려)를 기반으로 세포주에 대해 14일로 단축할 수 있다. 추가적으로 NAT이나 표적 NGS와 같은 방법은 오염인자 유입 가능성에 대한 위해성 평가를 기반으로, 특정 바이러스(예: 마우스 미세 바이러스(minute virus)) 또는 바이러스 과(科)의 검출에도 적절할 수 있다. 이러한 신속한 시험법은 실시간 의사 결정을 촉진할 수 있다. 만약 미처리 원액에서 외래성 바이러스가 검출된다면, 타당한 근거가 없이는 세포배양액의 수확물을 제품 제조에 사용해서는 안 된다(수확 물질에서 외래성 바이러스가 검출된 물질 사용에 대한 지침은 5.항 참조). 오염의 근본 원인과 범위를 파악하기 위해 공정을 면밀히 확인하고, 적절한 조치를 취해야 한다. 연속 제조공정의 경우, 배치의 최종 출하를 위해서는 이 배치 제조를 위한 배양액 수확 기간 중 바이러스 오염이 없었다는 기록을 문서화해야 한다. 외래성 바이러스가 검출된다면, 생산에 미칠 광범위한 영향을 완화할 수 있도록 잠재적 오염 물질을 분리하는 절차를 수립해야 한다.

5. 정제 원액의 바이러스 제거 시험연구와 바이러스 시험의 타당성 및 실행 계획

MCB 수준부터 다양한 의약품 제조공정을 거쳐 최종 제품까지, 미처리 원액의 바이러스 제거에 대한 평가 및 특성분석을 포함하여 가장 적절하고 합리적인 바이러스 시험 계획을 설계하는 것이 중요하다. 이러한 계획에서 바이러스 제거에 대한 평가 및 특성분석은 핵심적인 역할을 한다. 제품이 바이러스에 오염되지 않았다는 사실을 확인하는 것을 목표로 해야 한다.

바이러스 제거 시험연구에 사용할 바이러스 선정 시에는, 오염 가능성이 있을 것으로 알려진 바이러스를 제거하는 공정 성능 평가의 목적인지 불특정 ‘모델’ 바이러스 제거를 특성화하여 제조공정의 견고함을 검증하기 위한 목적인지를 구분하는 것이 필요하다. ‘관련(relevant)’, 특정(specific) 그리고 불특정(non-specific) ‘모델(model)’ 바이러스의 정의는 용어 설명에 수록되어 있다. 바이러스 위해성 평가에서는 제품의 안전성을 평가하기 위하여 공정 중 얼마나 많은 바이러스(예를 들면 미처리 원액 안에)가 존재할 수 있는지, 그리고 얼마만큼 제거할 수 있는가

에 대한 지식이 포함되어야 한다. 시간에 따른 불활화 절차에 대한 지식은 불활화 공정의 효과 확보에 필요하다. 바이러스 제거 평가 시에는 상황에 적절하게, 시간에 따른 심층적인 불활화 시험연구, 불활화 또는 제거 공정의 재현성 입증, 그리고 파라미터의 평가가 필요하다. 불특정 모델 바이러스를 사용하여 바이러스 제거에 대한 제조공정 검증을 수행할 때는, 시험 설계 단계에서 외피 미보유 바이러스(non-enveloped virus)에 특히 주의하여야 한다(‘모델’ 바이러스에 대한 설명은 6.1.1.항 참조). 세포주 및 미처리 원액에 대한 시험 결과가 바이러스 제거 시험연구의 범위에 영향을 미칠 수 있다. 이러한 시험연구는 아래에 기술한 바와 같이 수행해야 한다(6.항 참조).

표 4에서는 세포 또는 미처리 원액 바이러스에 실시한 시험 결과에 대응하여 사용되는 실행 계획의 예시를 제공하고 있다. 이 계획에는 정제 원액의 바이러스 제거 및 바이러스 시험에 대한 공정 평가 및 특성 분석이 포함된다. 표 4에서는 다양한 사례를 제시하고 있으며, 아래에 기술되어 있다. 모든 경우, 불특정 ‘모델’ 바이러스를 사용하는 제거의 특성을 분석해야 한다. 가장 일반적인 상황은 사례 A, B 및 F이다. 설치류 레트로바이러스 이외의 바이러스에 오염된 생산 시스템은 일반적으로 사용하지 않는다. 의약품을 생산하는데 정당한 이유가 있어 사례 C, D 또는 E의 세포주를 사용 할 경우에는 해당 규제 당국과 논의해야 한다. 사례 C, D 및 E의 경우 제조공정부터 해당 바이러스를 불활화 및/또는 제거할 수 있도록 검증된 효과적인 단계를 갖추는 것이 중요하다.

사례 A: 세포 또는 미처리 원액에서, 원료물질(예: 바이러스 벡터 입자) 이외에 바이러스, 바이러스-유사입자(VLP) 또는 레트로바이러스-유사입자(retrovirus-like particle, RVLP)가 확인되지 않은 경우, 앞서 언급한 바와 같이, 불특정 ‘모델’ 바이러스로 바이러스 제거 및 불활화 시험연구를 해야 한다. RVLP가 검출되지 않았고 PERT 분석 결과가 음성이라면 용량 당 레트로바이러스 입자 추정치는 필요하지 않다.

사례 B: 설치류 세포주에서는, 설치류 레트로바이러스(예: 설치류 A-, C- 및 R-형

입자)만 존재한다면, 사례 A에서와 같이 불특정 바이러스 제거 평가 외에도 특정 ‘모델’ 바이러스(예: 쥐 백혈병 바이러스(murine leukemia virus, MLV))를 사용하는 공정 평가를 수행해야 한다. 정제 원액은 문제의 바이러스를 검출할 수 있는 높은 특이성과 민감도를 지닌 적합한 방법으로 시험해야 한다. 품목허가의 경우 일반적으로 시험 생산(pilot scale) 규모 또는 상업적 규모의 정제 원액 3개 배치 이상에서 얻은 RVLP 정량화 자료를 제공해야 한다. CHO, C127, BHK 및 설치류 하이브리도마(예: NS0 또는 SP2/0 세포) 세포주와 같이 특성 분석이 충실히 이루어진 세포주는 제품의 바이러스 오염과 관련된 안전성 문제가 보고된 바 없이 제품 생산용 기질로 빈번히 사용되어 왔다. 이러한 내인성 입자의 특성이 광범위하게 분석되고 제거가 입증된 세포주의 경우, 정제 원액 또는 원료물질 내에 존재하는 비감염성 입자의 존재 여부에 대한 시험은 일반적으로 권장하지 않는다. 이 사항은 특성이 광범위하게 분석된 내인성 레트로바이러스 유사 입자를 생성하는 곤충 세포주(예: Sf9 곤충 세포주)에도 적용할 수 있다.

사례 C: 세포 또는 미처리 원액이 사람에게 대한 감염성 증거가 없는 바이러스(설치류 레트로바이러스 제외)를 함유하고 있다고 알려졌다면(예: Sf9 랫도바이러스(rhabdovirus)), 바이러스 제거 및 불활화 평가 시험연구에는 확인된 바이러스를 사용해야 한다. 확인된 바이러스 사용이 불가능하다면, 적합한 수준으로 제거되었음을 증명하기 위해 ‘관련’ 바이러스 또는 특정 ‘모델’ 바이러스를 사용해야 한다. 이러한 바이러스에 대한 공정 평가의 일부로서, 핵심적인 불활화 단계에서 확인된(‘관련’ 또는 특정 ‘모델’) 바이러스의 시간 의존적 불활화에 대한 자료를 획득해야 한다. 정제 원액은 해당 바이러스의 검출에 대해 특이성 및 민감도가 높은 적절한 방법을 사용하여 시험해야 한다. 품목허가를 위해서는 일반적으로 시험 생산 규모 또는 상업적 규모에서 제조한 정제 원액의 3개 배치 이상에서 얻은 자료를 제공해야 한다.

사례 D: 사람에게 전염되는 바이러스(예를 들면, 표 3, 각주 a에 제시된 바이러스)가 확인된 경우, 해당 제품은 예외적인 상황에서만 허용될 수 있을 것이다. 이 경우, 바이러스 제거 및 불활화 평가 시험연구에는 확인된 바이러스를 사용해야 하며

해당 바이러스의 검출에 대한 특이성 및 민감도가 높은 방법을 사용해야 한다. 확인된 바이러스의 사용이 불가능한 경우 ‘관련’ 및/또는 해당 ‘모델’ 바이러스(이후 설명)를 사용해야 한다. 이 절차를 통해 제조공정의 하위 단계(downstream) 공정에서 선택된 바이러스가 제거되고 불활화됨을 확인해야 한다. 이러한 바이러스에 대한 공정 평가의 일부로서, 핵심적인 불활화 단계에서의 시간에 따른 불활화에 관한 자료를 획득해야 한다. 정제 원액은 해당 바이러스의 검출을 위한 높은 특이성 및 민감도를 지닌 적합한 방법으로 시험해야 한다. 품목허가를 목적으로 일반적으로 시험 생산 규모 또는 상업적 규모의 정제 원액 3개 배치 이상에서 얻은 자료를 제공해야 한다.

사례 E: 현재 사용 가능한 방법으로 분류할 수 없는 바이러스가 세포 또는 미처리 원액에서 검출된다면 병원성 바이러스일 수 있으므로 이 제품은 일반적으로 허용 불가하다. 드물게 이러한 세포주를 사용하여 제품을 생산하는 데에 충분히 타당한 이유가 있는 경우, 공정을 더 진행하기 전에 이 문제를 해당 규제기관과 논의해야 한다.

사례 F: 제품 제조 시 생산 바이러스(헬퍼 바이러스 또는 재조합 단백질 발현을 위한 바이러스 벡터 또는 VLP)를 사용한다면 이 바이러스가 제거됨을 생산 바이러스 또는 특정 ‘모델’ 바이러스(예: 배쿨로바이러스(baculovirus), 아데노바이러스(adenovirus), 헤르페스 바이러스(herpesvirus))를 사용하여 증명해야 한다. 완전한 과잉 제거(robust excess clearance)를 통해 타당성을 제시하지 않는다면 바이러스의 부재 시험을 각 정제 원액에 대해 실시해야 한다(6.3.항 참조). 이 경우, 잔류 생산 바이러스의 부재는 정제 원액의 최소 3개 배치를 시험하여 확인해야 한다.

6. 바이러스 제거 절차의 평가 및 특성 분석

바이러스 제거 또는 불활화 공정의 평가 및 특성 분석은 생명공학 제품의 안전성 확립에 중요하다. 과거의 오염 사례들은 알려지지 않았거나 의심조차 하지

않았던 인자로 인해 발생했었다. 이런 사례들이 완전하게 특성이 분석된 세포주 외의 다양한 원천 물질로 인해 발생하긴 하였으나, 바이러스 제거 평가는, 알려지지 않았고, 의심되지 않는, 유해한 바이러스가 제거될 수 있다는 상당 수준의 신뢰를 제공한다. 충분히 문서화되고 관리된 방식으로 시험연구를 해야 한다.

바이러스 제거의 공정 특성 분석/평가는 검출할 수 없거나 생산 공정에 유입되었을 수도 있는 외래성 바이러스가 제거됨을 보장하기 위해서뿐 아니라, 세포기질에 내인성으로 존재하거나 생산 바이러스 사용 결과로 존재한다고 알려진 바이러스가 제거됨을 증명하기 위해서 실시한다. 바이러스 제거 시험연구의 목표는 (1) 효과적으로 바이러스를 불활화 또는 제거하는 공정 단계를 평가하고, (2) 공정을 통해 달성한 종합적인 바이러스 감소 수준을 정량적으로 추정하는 것이다. 이러한 목표는 미처리 원액 또는 다양한 공정 단계에서 얻은 공정 중간체에 유의미한 양의 바이러스를 의도적으로 추가(즉, ‘스파이킹(spiking)’)하고, 후속 단계에서 이 바이러스가 제거 또는 불활화됨을 증명함으로써 달성하게 된다. 더 적은 수의 단계로도 적절한 제거가 입증된다면 제조공정의 모든 단계를 평가하거나 특성을 분석할 필요는 없다. 공정 중의 다른 단계가 이미 달성된 바이러스 불활화 또는 제거에 간접적인 영향을 미칠 수 있음을 고려해야 한다. 제조사는 바이러스 제거 평가를 위해 시험연구에서 사용된 접근법을 설명하고 타당성을 제시해야 한다. 적절한 경우, 정제 과정에 유입되는 바이러스 입자의 양을 확인하기 위하여, 세포배양액의 3개 배치에 대해 정량화를 수행해야 한다. 이 자료는 품목 허가 신청의 일부로 제출해야 한다.

바이러스 감염성은 바이러스 입자를 제거하거나 바이러스 감염성을 불활화하여 감소할 수 있다. 평가한 제조공정마다, 바이러스 감염성이 상실될 수 있는 기전이 불활화 또는 제거로 인한 것인가에 대하여 설명해야 한다. 불활화 단계의 경우, 시험연구는 검체를 다른 시점에서 채취하고 불활화 곡선으로 도식화하도록 설계해야 한다(6.2.5.항 참조).

존재한다고 알려진 바이러스의 제거 시험연구에 추가적으로, 다른 바이러스의

제거 또는 불활화 능력의 특성을 분석하는 시험연구를 해야 한다. 다양한 생화학 및 생물리학적 성질을 지닌 바이러스를 사용하는 시험연구의 목적은, 특정한 불활화 또는 제거 목표를 달성하는 것보다는, 알려지지 않았거나 예상되지 않는 바이러스를 제거하는 절차의 완전함(robustness)을 특성화하는 것이다. 바이러스를 불활화 또는 제거하는 생산 공정의 능력을 증명하는 것이 바람직하다(6.3.항 참조). 이러한 시험연구들은 특정한 안전성 위험을 평가할 목적으로 실시하는 것은 아니므로, 따라서 특정한 제거 값을 달성할 필요는 없다.

6.1. 바이러스 제거의 평가 및 특성 분석을 위한 바이러스의 선택

제거 평가 및 공정 특성 분석 시험연구를 위한 바이러스는 제품을 오염시킬 가능성이 있는 바이러스와 유사하면서 일반적으로 시스템의 바이러스 제거 능력을 시험할 수 있도록 광범위한 물리화학적 특성을 대표할 수 있는 것으로 선택해야 한다. 제조사는 본 가이드라인에서 제공하는 평가 및 특성 분석 시험연구의 목표에 따라 바이러스 선택의 타당성을 제시해야 한다.

6.1.1 관련(Relevant) 바이러스 및 모델(Model) 바이러스

바이러스 제거 시험연구 수행 시 중요한 문제는 어떤 바이러스를 사용해야 하는가를 결정하는 일이다. 이러한 바이러스는 (1) ‘관련’ 바이러스, (2) 특정 ‘모델’ 바이러스, 그리고 (3) 불특정 ‘모델’ 바이러스 세 가지 범주로 나뉜다. ‘관련’ 바이러스는 확인된 바이러스이거나 확인된 바이러스와 동일 종이거나 세포기질 또는 생산 공정 중 사용되는 기타 시약이나 물질들을 오염할 가능성이 있는 바이러스이다. 제조공정의 하위 단계(downstream process)에서 이러한 바이러스를 제거 및/또는 불활화하는 능력이 입증되어야 한다. ‘관련’ 바이러스를 사용할 수 없거나 바이러스 제거 시험연구의 공정 평가에 적절하게 잘 조절되지 못하는 경우(예: 충분하게 높은 역가로 체외 증식이 불가능한 경우) 특정 ‘모델’ 바이러스로 대체하여 사용한다. 적절한 특정 ‘모델’ 바이러스는 알려진 또는 의심되는 바이러스(동일 속(屬) 또는 과(科))와 밀접히 관련된 바이

러스로서, 관찰되거나 의심되는 바이러스와 유사한 물리 및 화학적 성질을 지녔다. 설치류 유래 세포주는 대체로 내인성 레트로바이러스 또는 RVLP를 함유하고 있으며, 감염성이 있거나(C-형 입자) 비감염성(세포질 A- 및 R-형 입자)일 수 있다. 이러한 세포에서 획득한 제품에서 설치류 레트로바이러스를 제거 및/또는 불활화하는 제조공정의 능력을 확인해야 한다. 이 부분은 쥐 백혈병 바이러스(설치류 기원 세포의 경우 특정 ‘모델’ 바이러스)를 사용하여 확인할 수 있다.

CHO 세포 유래 제품의 경우 CHO 유래 내인성 바이러스 입자도 바이러스 제거 시험에 사용할 수 있다. 이 입자에 대한 감염성 시험은 없으며 검출 시험(예: 분자적 또는 생화학적 시험)은 용도에 적격해야 한다. 사람 세포주를 Epstein-Barr 바이러스로 B 림프구를 불멸화하여 획득한 경우 제조공정에서 헤르페스 바이러스(herpesvirus)를 제거 및/또는 불활화할 수 있는지 확인해야 한다. 가성 광견병바이러스(pseudorabies)도 특정 ‘모델’ 바이러스로 사용할 수 있다.

일반적으로 바이러스를 제거 및/또는 불활화하는 제조공정의 능력을 특성 분석하는 경우(즉, 제거 공정의 완전성 특성 분석), 바이러스 제거 특성 분석 시험 연구는 다른 속성을 지닌 불특정 ‘모델’ 바이러스로 실시해야 한다. ‘관련’ 및/또는 특정 ‘모델’ 바이러스를 사용한 시험연구에서 확보한 자료도 이 평가에 도움이 될 수 있다. 모든 유형의 바이러스를 시험할 필요는 없다. 물리적 및/또는 화학적 처리에 유의한 저항성을 보이는 바이러스를 먼저 고려해야 한다. 이러한 바이러스에 대해 획득한 결과는 일반적으로 바이러스를 제거 및/또는 불활화하는 생산 공정의 능력에 대하여 유용한 정보를 제공한다. 사용하는 바이러스의 선택 및 수는 세포주와 생산 공정의 품질 및 특성 분석에 따라 영향을 받는다. 일반적으로 공정은 다른 특성이 있는 서로 다른 세 가지 바이러스를 제거하는 능력에 대해 평가해야 한다.

부록 1 및 표 A-1은 일련의 물리화학적 구조를 대표하는 유용한 ‘모델’ 바이러스의 예시 그리고 바이러스 제거 시험연구에서 사용되어 온 바이러스의 예시를 제공하고 있다.

6.1.2. 기타 고려사항

추가로 다음 사항을 고려해야 한다.

- 항상 가능하지는 않으나, 높은 역가로 증식할 수 있는 바이러스가 바람직하다.
- 평가 대상인 각 제조 단계에서 사용되는 각 바이러스를 검출하기 위한 효율적이고 신뢰할 수 있는 시험법이 있어야 한다.
- 특정 바이러스가 바이러스 제거 시험연구 수행자에게 미칠 수 있는 건강 위해요소를 고려해야 한다.

6.2 바이러스 제거 평가와 특성 분석 시험연구를 위한 설계 및 고려 사항

6.2.1. 시설 및 종사자

우수 의약품 제조 및 품질관리기준(Good Manufacturing Practice, GMP)상의 제약으로 인해 생산 시설에 의도하지 않은 바이러스가 유입되는 것은 적절치 못하다. 따라서, 바이러스 제거 시험연구는 바이러스학적 작업을 위한 설비를 갖춘 별도의 실험실에서 정제 공정의 규모-축소(scale-down) 모델의 설계 및 준비에 관련한 특정 공정 부문의 전문 지식을 갖춘 생산 담당자와 협업하여 바이러스 관련 전문성을 갖춘 종사자가 실시해야 한다.

6.2.2. 생산 공정의 규모-축소 모델

규모-축소 모델의 대표성을 입증해야 하며, 생산 공정을 최대한 대표해야 한다. 규모-축소 모델은 또한 바이러스 제거의 완전성(공정 또는 공정 단계가 물질의 변동성 및 공정의 변경을 부정적인 영향 없이 견디는 능력)을 고려해야 한다. 따라서 바이러스 제거 시험연구는 관련 파라미터에 대해 최악의 조건으로 수행하도록 권할 수 있다. 이때의 조건은 바이러스 제거의 완전성을 증명하고 잠재적인 제조 방법 변경에 대비하기 위해 작업 범위(operating range)를 벗어나는

것도 허용할 수 있다. 규모-축소 모델의 성능이 생산 공정을 대표함을 증명해야 한다(예: 동등한 수율 및 순도). 크로마토그래피 단계의 경우, 예를 들면, 컬럼 베드-높이, 선형 유속, 유속 대(對) 베드 용적 비율(즉, 접촉 시간), 완충액 및 레진(resin) 유형, pH, 온도, 제품의 전도도 및 제품의 농도는 상업적 규모의 제조를 대표함을 증명해야 하며, 크로마토그램이 유사해야 한다. 다른 절차의 경우, 유사한 고려 사항이 적용된다. 불가피한 이탈은 이것이 결과에 미치는 영향과 관련하여 논의가 필요하다.

6.2.3. 단계별 바이러스 제거 분석

바이러스 제거 시험연구를 수행할 때, 한 가지 이상의 공정에서 바이러스 제거 기여도를 평가하는 것이 바람직하다. 바이러스 제거 가능성이 있는 단계는 바이러스 제거 및 불활화 능력을 개별적으로 평가해야 하며, 개별 단계의 정확한 정의에 대해 고려해야 한다. 각 단계에는 시험할 물질에 바이러스가 충분히 존재함으로써, 각 단계의 효과를 적절히 평가할 수 있어야 한다. 일반적으로 바이러스는 시험할 단계마다 공정 중간체에 추가해야 한다. 일부 경우에는 초기 중간체에 높은 역가의 바이러스를 추가하고, 후속 단계들 사이의 바이러스 농도를 시험하는 것이 타당할 수 있다. 바이러스가 분리 절차로 인해 제거된 경우, 적절하고 가능하다면 다양한 분획물에서 바이러스 부하의 분포에 대해 조사를 권고한다. 바이러스를 불활화하는 완충액을 제조공정 중 사용했을 때는 바이러스 불활화 정도가 더 낮은 완충액(예: pH 조절 완충액)을 사용하는 병행 스파이킹(parallel spiking)과 같은 대체 전략을 전체적 공정 평가의 일부로 실시할 수 있다. 완충액 자체에 의한 불활화를 별도의 스파이킹 실험을 통해 시험할 수도 있다. 감염성과 관련 없는 정량적 분석을 바이러스 입자의 분할(partitioning)을 확인하기 위해 적용할 수 있다. 평가 중인 각 단계를 시행하기 이전 및 이후의 바이러스 역가를 확인해야 한다. 정량적 감염성 분석은 적절한 민감도 및 재현성을 확보해야 하며, 결과가 적절한 통계적 타당성을 지니도록 충분한 반복시료를 사용해 실시해야 한다. 감염성과 무관한 정량적 분석은 타당성을 제시한다면 실시할 수 있다. 분석 방법의 민감도를 보장하기 위하여 모든 감염성 분석에는

적절한 대조 바이러스가 포함되어야 한다. 또한, 저농도 시 바이러스 검체 채취의 통계적 측면도 고려해야 한다(부록 2 참조).

일반적인 원칙으로서, 시험연구 축소의 타당성을 사전 지식을 통해 입증하지 못한다면 재현성 있는 바이러스 제거를 최소 2건의 독립적 실험에서 확인해야 한다(6.6.항 참조). 2건의 독립적 실험을 동일하게 수행하기 어려울 경우, 실험은 동일 배치의 공정 중 물질 및 동일한 실험조건을 사용하여 동일한 장소에서 실시할 수 있다.

6.2.4. 물리적 제거와 불활화 사이의 결정

감염성 바이러스는 바이러스의 제거 또는 불활화로 감소 될 수 있다. 평가되는 각 생산 단계별로 바이러스 감염성 소실의 가능한 기전을 불활화 또는 제거와 관련하여 기술해야 한다. 특정 단계에서는 제거와 불활화 사이의 구별이 필요할 수 있다. 예를 들면, 하나 이상의 제거 단계에 사용된 완충액이 각 단계에서 불활화에 기여할 가능성이 있을 때는(즉, 크로마토그래피의 몇몇 단계에서 공유되는 완충액이 불활화에 기여), 크로마토그래피 각 단계에서 달성된 제거 효율을 구분해야 한다.

6.2.5. 불활화 평가

바이러스 불활화 평가는 공정 중간체에 감염성 바이러스를 스파이크하고 감소계수(reduction factor)를 산출해야 한다. 바이러스 불활화는 단순한 일차반응(first order reaction)이 아니라 최초의 빠른 단계와 이후 느린 단계로 구성된 더 복잡한 과정임을 인식해야 한다. 따라서, 불활화에 관한 시험연구는 서로 다른 시점에서 검체를 채취하고 불활화 곡선을 그리는 방식으로 시험을 계획해야 한다. 불활화 시험연구는 최소 노출 시간 외에도 최소 노출 시간보다 작고 0보다 큰 시점을 최소 한번은 포함해야 한다. 바이러스가 사람 병원체로 알려진 ‘관련’ 바이러스이고, 효과적인 불활화 공정이 설계되는 중이라면, 추가 자료가 특히 중요하다. 그러나

불특정 ‘모델’ 바이러스를 사용하는 불활화 시험연구 또는 특정 ‘모델’ 바이러스를 CHO RVLPs와 같은 바이러스 입자를 대체하여 사용하는 경우, 재현성 있는 제거를 일반적으로 2건의 독립적인 시험연구를 통해 증명해야 한다. 가능한 모든 경우, 최초 바이러스 입자수는 스파이킹을 실시한 출발물질(spiked starting material)에서 검출될 수 있는 바이러스로 확인해야 한다. 이것이 가능하지 않다면 최초 바이러스 입자수는 스파이킹 바이러스 조제물(spiking virus preparation)의 역가로부터 산출해야 한다. 불활화가 매우 빠르게 진행되어 공정 조건에 따른 불활화 곡선을 작성할 수 없다면, 적절한 대조군(예: 불활화 인자의 농도가 더 낮은 검체)을 사용하여 불활화로 감염성이 실제로 손실되었음을 증명해야 한다.

6.2.6. 칼럼의 기능 및 재생

시간 경과 및 반복 사용 후, 정제 공정에 사용되는 크로마토그래피 레진 및 멤브레인의 바이러스 제거력이 변화할 수 있다. 크로마토그래피 배지/레진의 사용 수명(lifetime use)을 표시해야 하며 바이러스 제거에 영향을 줄 수 있는 핵심 파라미터를 정의해야 한다. 배지/레진 재사용을 뒷받침하기 위해 바이러스 제거 시험연구를 수행해야 한다.

사전 지식에 따르면, 단백질 A 친화 크로마토그래피(Protein A affinity capture chromatography)의 경우, 바이러스 제거능은 사용된 크로마토그래피의 배지/레진의 수명(예: 사용주기 (end of life))에 영향을 받지 않거나 약간 증가한다. 그러므로 사용된 레진을 사용하는 제품 특이적인 시험연구를 기대하지 않는다. 사전 지식은 바이러스 제거에 활용되는 다른 유형의 크로마토그래피(예: 음이온 교환 또는 양이온 교환)에도 적용할 수 있을 것이다. 따라서, 다른 크로마토그래피 유형에 대한 레진의 반복 사용을 뒷받침하기 위해 사용주기가 경과된 레진(end of lifetime resin)으로 실시하는 제품 특이적인 시험연구가 필요하지 않다고 판단되는 경우, 내부 경험을 포함한 동등한 사전 지식 그리고 상세한 근거를 제공해야 한다(6.6.항 참조).

시스템 재사용에 앞서, 생산 시스템에 잔류할 가능성이 있는 모든 바이러스가 적절히 불활화 또는 제거됨을 보장해야 한다. 예를 들면 세척 및 재생 절차에서 바이러스 제거 평가 중, 바이러스를 불활화 또는 제거함을 증명하는 증거를 제공할 수 있으며, 이를 사전 지식을 통해 뒷받침할 수 있다.

6.2.7. 특이적 주의사항

다음과 같은 주요 주의사항을 고려해야 한다.

- 스파이킹을 위해 높은 순도의 농축 바이러스 저장액(stock)을 사용하면 공정 성능에 영향을 줄 수 있는 비대표성 불순물의 유입을 줄일 뿐 아니라 제품 중간체의 회석을 최소화하는 데 도움이 될 수 있다. 그러나 높은 역가의 바이러스 준비 시에는 응집을 피하도록 주의해야 하는데, 이는 물리적 제거를 강화하고 불활화를 감소시켜 실제 생산과의 상관관계를 왜곡할 수 있기 때문이다.
- 분석을 신뢰할 수 있는 바이러스의 최소량을 고려해야 한다.
- 적정(titration) 이전 시료의 회석, 농축, 여과 또는 보관과 같은 사유로 인한 바이러스 감염성 손실을 평가하기 위해 병행 대조 분석(parallel control assay)을 실시해야 한다.
- 바이러스 ‘스파이크’는 제품의 특성을 회석 또는 변경하지 않도록 제품에 소량으로 투입해야 한다.
- 완충액, 배지 또는 시약(예를 들면)의 작은 차이가 바이러스 제거에 영향을 미칠 수 있다.
- 바이러스 불활화는 시간 의존적이다. 따라서, 스파이크 된 제품이 특정 완충액 또는 특정 크로마토그래피 컬럼에 잔존하는 시간은 상업적 규모의

공정 조건을 반영해야 한다.

- 완충액 등의 요소는 지표 세포에 부정적인 영향을 미칠 수 있으므로 분석 시 완충액과 제품은 독성 및 간섭에 대하여 별도로 평가해야 한다. 용액이 지표 세포에 독성이 있다면, 스파이킹 한 바이러스를 함유한 완충액을 희석, pH 조정 또는 투석해야 할 수도 있다. 제품 자체에 항바이러스 활성이 있다면, 제거 시험연구는 '모의' 실험('mock' run)으로 제품 없이 수행될 수 있으며, 또는 6.6.항에 기술된 바와 같이 사전 지식을 적용할 수 있다. 그러나 제품을 생략하거나 항바이러스 활성이 없는 유사한 단백질로 대체하면 일부 생산 단계에서 바이러스에 영향을 미칠 수도 있다. 스파이킹 바이러스의 제거/불활화에 대한 분석용 검체(예: 투석, 보관)를 준비하는 데에만 사용되는 절차의 효과를 입증할 수 있는 충분한 관리가 포함되어야 한다.
- 바이러스 유전체의 정량화를 위해 분자생물학 시험을 실시하는 경우, 비캡슐화 바이러스 핵산(non-encapsulated viral nucleic acids)은 특정 공정 단계에서 본래의 바이러스 입자를 대표하지 않을 수 있으므로 비캡슐화 핵산의 영향을 특별히 고려해야 한다.
- 많은 정제 공정은 하나 이상의 정제 단계에서 같거나 유사한 완충액과 컬럼을 사용한다. 전체 생산 공정에 대한 종합적인 바이러스 감소계수가 이러한 정제 공정들의 감소계수의 총합을 기반으로 한다면, 이러한 접근법에 대한 타당성을 제시해야 한다. 예를 들면, 특정 공정의 바이러스 제거 효과는 이 공정이 실시되는 제조 단계나 바이러스 감소 역량에 명백히 영향을 미치는 단백질 및 기타 불순물이 있는지에 따라 달라질 수 있다.
- 종합적인 감소계수는 생산 조건 또는 완충액의 세포 독성이나 바이러스 사멸능(virucidal)이 너무 클 때는 과대 평가되거나 과소 평가될 수 있으므로 사례별로 논의해야 한다. 종합적인 감소계수는 바이러스 제거 시험연구의 내재적 한계 또는 부적합한 설계로 인해 과대 평가될 수도 있다.

6.3 바이러스 제거 시험연구의 해석

바이러스 불활화/제거 평가의 목적은 바이러스 불활화/제거에 효과적이라고 간주하는 공정 단계를 평가하고 특성을 분석하며 제조공정을 통해 달성되는 바이러스의 전반적인 감소 수준을 정량적으로 추정하는 것이다. 바이러스의 경우, 사례 B~F에서와 같이 바이러스가 제거 또는 불활화되었을 뿐만 아니라 최종 제품에서 적절한 수준의 안전성을 보장할 수 있도록 제조공정의 하위 단계(downstream process)에 바이러스 제거 초과 역량(excess capacity)이 구현되었음을 증명하는 것이 중요하다. 생산 공정에서 제거되거나 불활화된 바이러스의 양을 제조공정의 하위 단계(downstream process)에 유입될 수 있는 바이러스의 양과 비교해야 한다.

이러한 비교를 수행하기 위해서는 미처리 원액 내 바이러스의 양을 추정하는 것이 중요하다. 이 추정치는 감염성 분석, 또는 투과전자현미경(TEM) 기법이나 정량적 핵산증폭기법(NAT)과 같은 그 외의 방법을 사용해 획득해야 한다. 전체 정제 공정은 일회 용량에 상응하는 미처리 원액의 분량에 존재한다고 추정되는 것보다 충분히 더 많은 바이러스를 제거할 수 있어야 한다. 바이러스 감소계수 산출은 부록 3을 참조하고, 용량 당 바이러스 입자 추정치 산출은 부록 4를 참조한다. 제조사는 제거 기전이 바이러스군 간에 차이가 있을 수 있음을 주지하고 있어야 한다. 바이러스 불활화/제거 공정의 효과를 뒷받침하는 자료를 평가할 때는 여러 요소를 조합하여 고려해야 하며 다음 사항이 포함된다.

- 평가된 바이러스의 적절성
- 제거 시험연구의 설계
- 확립된 바이러스 감소계수
- 바이러스 불활화의 시간 의존성
- 공정 파라미터 변동이 바이러스 불활화/제거에 미칠 수 있는 잠재적 영향
- 분석 민감도
- 특정 바이러스군에 대한 불활화/제거 절차의 선택성(selectivity)

광범위한 잠재적 바이러스(잠재적인 외래성 바이러스 오염물, 내인성 및/또는 공정 바이러스)를 제거하는 제조공정의 하위 단계(downstream process)를 설계 하도록 권고한다. 이러한 맥락에서는 타당하며 제품에 부정적인 영향을 미치지 않는다면, 두 가지 별개의 바이러스 제거 단계를 실시하며 이 중 한 단계는 외피 미보유 바이러스(non-enveloped virus)를 효과적으로 제거하도록 하고 두 단계가 작용기전에서 있어서 상호보완 되도록 설정할 것을 권고한다. 효과적인 바이러스 제거 과정은 일반적으로 최소 두 건의 독립적인 시험연구를 통해 바이러스 입자수 (virus load)를 약 $4 \log_{10}$ 이상으로 재현성 있게 감소시킨다. 그러나 $1\sim3 \log_{10}$ 으로 재현성 있게 감소하는 개별 단계가 바이러스 안전성에 기여하며 전반적인 바이러스 감소를 평가하기 위해 고려할 수 있으며, 제제 특성을 반영할 수 있다. 용매/계면 활성제 처리, 계면활성제 단독 처리 또는 낮은 pH 배양과 같은, 바이러스 불활화/제거 전용 공정 단계는 광범위한 외피형 바이러스 제거에 매우 효과적이었으며, 바이러스 필터는 바이러스 크기를 기반으로 바이러스를 제거한다. 작은 바이러스 제거를 위해 설계된 바이러스 필터를 사용하는 것도 파보바이러스나 폴리오마바이러스와 같이 크기가 더 작은 바이러스에 대해 효과적인 바이러스 제거 단계다. 마지막으로, 단클론항체 정제를 위하여 단백질 A 포획 단계 후 낮은 pH에서 배양함으로써 MLV 및 가성광견병 바이러스(pseudorabies virus)를 효율적으로 불활화한 경우도 있다.

허용할 수 있는 전반적인 제거는 다중 보완적 불활화 단계, 다중 보완적 제거 (분리) 단계 또는 불활화와 제거 단계의 조합 중 어느 것을 통해서도 달성할 수 있다. 바이러스 제거 방법은 바이러스와 크로마토그래피의 정지상(stationary phase)(예: 레진 또는 크로마토그래피 멤브레인)과의 상호작용에 영향을 주는 바이러스의 극도로 특이적인 물리화학적 특성 그리고 바이러스의 침전 특성에 따라 달라질 수 있다. 따라서, ‘모델’ 바이러스는 ‘관련’ 바이러스와 다른 방식으로 분리할 수 있다. 제거에 영향을 주는 제조 파라미터를 적절히 정의 하고 관리해야 한다. 이러한 잠재적인 변수에도 불구하고 바이러스 제거는 보완적 제거 단계들의 조합 또는 불활화 및 제거 단계의 조합을 통해 효과적일 수 있다. 따라서 크로마토그래피 절차, 여과 단계 및 추출과 같이 잘 설계된 제거 단계는 적절하게 제어된 조건에서 수행된다면, 효과적인 바이러스 제거 단계가 될 수 있다.

전체 감소율은 일반적으로 개별 감소율의 합으로 표현된다. 그러나 $1 \log_{10}$ 미만의 바이러스 입자수 감소는 무시할 수 있다고 보며, 타당성을 제시하지 않는다면 무시되어야 한다.

제조공정을 통해 감염성이 거의 감소하지 않고 바이러스 제거가 제품 안전성에 매우 중요한 요소로 판단된다면 특이적인 추가 불활화/제거 단계를 도입해야 한다. 모든 바이러스에 대해 제조사는 획득한 감소율이 허용할 수 있음에 대한 근거를 제시해야 한다. 결과 평가 시에는 상기 요소들을 고려해야 한다.

6.4 바이러스 제거 시험연구의 한계점

바이러스 제거 시험연구는 최종 제품이 허용할 수 있는 수준의 안전성에 도달하도록 보장하는 데에는 유용하지만, 시험연구 그 자체로 안전성을 확립해 주지는 않는다. 바이러스 제거 시험연구의 설계 및 실행에 있어서 다수의 요소가 공정의 바이러스 감염성 제거 능력을 부정확하게 추정하도록 이끌 수 있다. 이러한 요소에는 다음이 포함된다.

- 생산 공정을 위한 제거 시험연구에 사용되는 바이러스 조제물은 일반적으로 특정 세포배양물에서 획득한다. 생산 단계에서 이러한 바이러스 스파이크는 세포배양 배지의 생물학적 원료 또는 제조 세포에서 복제되는 네이티브(native) 바이러스 오염물의 양상과 다를 수 있다. 예를 들면, 스파이킹에 사용되는 바이러스 입자와 각 생산 중간체에서 유래한 네이티브(native) 바이러스는 순도 또는 응집 정도가 다를 수도 있다.
- 바이러스 감염성의 불활화는 종종 급속한 초기 단계(phase) 이후 느려진 단계가 이어지는 이상성 곡선(biphasic curve)을 따른다. 첫 번째 불활화 단계에서 탈출한 바이러스는 후속 단계에서는 더 큰 저항성을 보일 수 있다. 예를 들어, 저항성 분획물이 바이러스 응집물의 형태를 띠다면 감염성은 다양한 서로 다른 화학적 처리 그리고 가열에 저항성을 떨 수 있다.

- 전체 공정의 바이러스 제거 또는 불활화 능력은 각 단계의 로그 감소 값의 총합으로 표현된다. 감소 값이 유의하지 않은(예: 1 \log_{10} 미만) 단계의 감소 계수들의 합계는 실제 바이러스 제거 잠재력을 과대평가할 수 있으므로 이를 합산해서는 안 된다. 제조공정 중에 유사한 불활화 기전에서 얻은 개별 바이러스 감소계수를 추가하는 것 역시 전반적인 바이러스 제거를 과대평가할 수 있다. 더 나아가, 동일한 또는 거의 동일한 공정을 반복하여 달성한 감소 값을 포함한다면 이 값에 대한 타당성을 제시해야 한다.
- 감소계수를 역가의 로그 감소로 표현하는 것은 잔류 바이러스의 감염성이 크게 감소할 수 있을지라도 절대로 0으로는 감소하지 않는다는 것을 의미한다. 예를 들어, mL당 8 \log_{10} 감염 단위를 함유한 조제물에서 감염성이 8 \log_{10} 배 감소 시에는 분석법의 검출 한계를 고려하여, mL당 0 \log_{10} 또는 mL당 1 감염 단위가 남는다.
- 바이러스 제거를 위한 검증 시험연구 중 소규모로 수행한 공정은 규모-축소 공정(scale-down process) 설계 시 주의를 기울여도 상업적 규모의 공정과는 다를 수 있다.

6.5 통계

바이러스 제거 시험연구에 결과를 평가하기 위하여 자료의 통계적 분석을 포함해야 한다. 시험연구 결과는 도달한 결론을 뒷받침할 수 있도록 통계적으로 타당해야 한다(부록 2 참조).

6.6 바이러스 제거 평가를 위한 사전 지식의 적용

일반적 원칙으로서, 바이러스 제거는 조사하려는 각 단계의 제품 특이적 공정 중간체에 바이러스를 첨가하는 실험으로 평가한다. 제조사가 확립되고 특성이 잘 분석된 공정으로 유사한 제품을 개발한다면(즉, 동일한 플랫폼 기술을 사용),

다른 제품을 위해 생성된 바이러스 제거 자료를 동일한 공정 단계에 대해 새로운 제품에도 적용할 수 있다. 그러나 이런 단계에서 얻은 자료를 활용하려면 공정 단계를 잘 이해하고 있어야 한다. 특정 공정 단계에 관한 사전 지식의 대표성에 대하여 타당성이 명확히 제시되어야 한다. 외부 및 내부 경험을 포함한 사전 지식은 아래에 서술된 측면을 다루어야 한다.

- 바이러스 제거의 기저 기전을 이해해야 한다.
- 바이러스 제거에 영향을 미칠 수 있는 공정 파라미터에 대한 전반적인 이해가 있어야 한다.
- 바이러스와 제품 간의 상호작용이 바이러스 제거에 영향을 미치지 않는다는 것이 명확해야 한다. 바이러스-제품 상호작용이 바이러스 제거에 영향을 줄 수 있다는 잠재적 위해성이 있다면 다른 제품의 제조에서 얻은 사전 지식 적용에 대한 타당성을 제시해야 한다. 특정 단계에 대하여 한 가지 이상의 제품으로부터 도출된 자료가 있다면 바이러스 감소의 효과가 각 사례에서 동등해야 한다.
- 특정 공정 중간체의 조성이 바이러스 제거에 영향을 미칠 수 있다. 일부 공정 단계의 경우, 완충액, 배지, 시약 및 불순물 프로파일(예를 들면)의 사소한 차이조차 바이러스 제거에 상당한 영향 줄 수 있다. 따라서, 다른 제품의 공정 중간체 조성의 대표성에 대한 타당성을 제시해야 한다. 사전 지식이 공정 중간체의 조성과 관련하여 바이러스 제거의 완전성을 시사하지 않는다면 신규 제품 및 확립된 제품을 위한 특정 단계 이전의 공정은 유사한 전략을 따라야 한다.
- 사전 지식을 특정 제품에 적용할 때는 6.4.항에 설명한 바이러스 제거 시험 연구의 일반적인 한계점을 고려해야 한다.

외부 사전 지식(공개된 자료 포함)은 바이러스 불활화/제거 단계의 잠재력을 제시하는 데 도움이 될 수 있으며, 관련 기전에 대한 통찰을 제공할 수 있다. 이러한

자료는 바이러스 제거에 핵심적인 공정 파라미터를 정의하기 위해 그리고 특정 바이러스 제거 단계의 시험에서 최악의 경우에 해당하는 한계를 설정할 때도 사용할 수 있다. 최악의 조건에서 바이러스 제거 시험연구를 시행하면, 제품 특이적 시험의 횟수를 줄이는 데 도움이 될 수 있다. 그러나 공개된 자료의 감소계수를 특정 제품에 적용할 때는 여러 관련 제품 제조 전반에 걸친 공정의 유사성, 제품 중간체의 유사성 그리고 제품 특이적 속성이 바이러스 감소에 영향을 주지 않음을 증명함으로써 그 적용을 뒷받침해야 한다. 그러므로 공개된 자료를 면밀하게 평가하고 해당 플랫폼에 대한 내부 경험(내부 사전 지식)으로 보완해야 한다.

제품 특이적 실험 없이 바이러스 제거 자료가 허용 가능한가에 대한 결정은 세포기질과 원료물질의 성질 및 특성 분석을 포함한 의약품에 대한 전체 바이러스 안전성 전략 그리고 전반적인 바이러스 제거 전략을 고려하면서 사례별로 결정해야 한다. 자료(data package)로써 사전 지식의 사용을 충분히 뒷받침하지 못한다면 제품 특이적 바이러스 제거 시험연구를 해야 한다.

사전 지식을 활용하여 감소계수를 도출할 때, 관련 플랫폼 자료로부터의 모든 감소계수를 고려하여 그 타당성을 입증해야 한다. 감소계수 내용 설정은 공정 단계의 감소 능력을 과대평가할 위험을 방지하기 위해 보수적으로 설정할 것을 권장한다.

부록 5에서는 동일 제조 플랫폼에서 신규 제품의 바이러스 감소계수를 설정하기 위해 현재의 지식에 따라 다른 제품에서 얻은 바이러스 감소 자료와 더불어 내부 경험을 포함한 사전 지식을 활용할 수도 있는 사례를 제공하고 있다.

6.7 바이러스 제거의 재평가

제조공정의 상위 단계(upstream process) 또는 하위 단계(downstream process)에 중대한 변경이 발생할 때마다 변경이 바이러스 제거에 미치는 직접 또는

간접적 영향을 고려하고 필요에 따라 시스템을 재평가해야 한다. 예를 들면, 제조공정의 상위 단계(upstream process) 변경은 세포주를 사용해 생산되는 바이러스의 양에 상당한 변화를 유발할 수 있으며, 공정 단계의 변경은 바이러스 제거의 범위를 변화시킬 수 있다.

전주기 관리(life-cycle management) 중 바이러스 제거의 유효성에 영향을 줄 수 있는 제조공정의 변경은 내부 지식 및 플랫폼 개념을 활용해 평가할 수도 있다. 다른 제품에 대한 내부 지식(내부 경험)을 특정 제품에는 외삽할 수 없거나 플랫폼 개념을 더 이상 적용할 수 없다면, 제품 특이적인 바이러스 제거 시험연구를 해야 한다.

7. 연속 제조에 관한 고려 사항

연속 제조는 투입 물질을 변형하여 연속적으로 산출 물질(즉, 제품)을 생성하는 일련의 연결된 단위 작업(unit operation)들로 구성되는 제조공정으로서, 연속적인 물질의 투입이 포함될 수 있다. 연속 제조는 제조공정의 일부 또는 전체 단위 작업에 적용할 수 있다. 바이러스 안전성에 대한 위해성을 식별하고 완화하기 위해서는, 각 단위 작업 외에도, 통합된 공정 및 그 역학(dynamics)에 대한 이해가 핵심적이다. 치료용 단백질을 제조하기 위한 연속 제조공정 방식은 ICH Q13 (부록 3)에서 설명한다.

바이러스 안전성 측면에서는 연속 제조의 기술적 측면이 바이러스 검출 및 제거 접근법, 물질 추적 가능성, 공정 역학 그리고 모니터링 빈도 시작/종료를 포함하여 배치 공정에서 마주하게 되는 기술적 측면과 다를 수 있다.

그러나 공정의 이해를 바탕으로 하는 기본 원칙 및 기대 사항(예: 과학 및 위해성 기반 접근법 그리고 바이러스 오염 위험을 관리하기 위한 이러한 접근법의 시행)은 배치 제조와 동일하다. 여기에는 오염 방지 전략도 포함된다(2.2.항 참조). 예를 들면, 배치 생산 경험 또는 사전 지식에 기반한, 바이러스 불활화 또는 제거를

위한 물리적 및 화학적 조건 또한 연속 제조공정에 적용할 수 있다(6.6.항 참조).

7.1 연속 제조 시 바이러스 안전성

연속 제조공정 시 바이러스 안전성 전략은 잠재적인 오염원(예: 출발 물질 및 원료물질, 연장된 세포배양 기간)에 대한 위해성 평가, 바이러스를 제거하는 공정의 능력 및 바이러스 부재를 보장하는 시험 능력을 기반으로 해야 한다. 3.항 및 4.항에서 제공하는 시험에 대한 지침도 연속 제조에 적용을 고려할 수 있다. 이 평가를 토대로 제조 중 공정상에 오염이 없음을 증명하기 위해 수행하는 외래성 바이러스 시험의 유형 및 빈도가 포함되도록 전략을 개발해야 한다.

7.2 연속 제조 시 바이러스 제거에 관한 일반 고려 사항

제조공정 및 바이러스 제거 시험연구 설계 시에는, 다음 사항을 고려해야 한다.

- 제조공정은 통합된 또는 연속적인 작업 방식으로 부분적으로 운영할 수 있으며, 적합하다면 단위 작업의 평가를 위해 배치 공정을 기반으로 하는 바이러스 제거 성능에 관한 과학적 이해를 활용할 수 있다(7.3.2.항 참조).
- 각 단위 작업의 잠재적 위해성 그리고 설비 간의 연결(예: 질량 유량 또는 비균질한 투입 물질들 사이의 차이를 완화하기 위해 단위 작업 사이에 서지 탱크(surge tank) 또는 혼합 탱크(mixing tank)를 사용)을 평가하여 바이러스 감소 능력에 미치는 영향을 다루어야 한다.
- (a) 공정 교란(예: 바이러스 제거에 영향을 주는 압력/흐름 차단) 그리고 (b) 외래성 바이러스 오염을 검출하기 위해 적절한 공정 모니터링을 실시해야 한다. 공정 교란의 최종적 영향은 발생 사례의 종류에 따라 다를 수 있으며 사례별로 다루어야 한다.

- 의사 결정이 실시간 이루어진다면, 여기에는 (a) 공정 교란이 바이러스 제거에 미치는 영향 또는 (b) 오염이 산출 물질의 품질 및 제품에 미치는 영향을 확인할 수 있는 절차가 포함되어야 한다. 이러한 고려 사항을 기반으로, 제품 흐름에서 도출된 잠재적인 기준 부적합 물질의 전환(diversion)이나 생산된 물질의 처분을 고려해야 한다(4.항 참조).
- 바이러스 제거 시험연구는 해당하면, 다음 사항에 따른 잠재적 영향을 고려해 설계해야 한다.
 - 투입 물질 특성의 변동(예: 단백질 또는 불순물의 농도 및 균질성, 응집 수준)
 - 체류 시간 분포(residence time distribution)
 - 예정된 상황(예: 공정 시작, 종료 및 정지) 및 예정되지 않은 일시적 상황(예: 교란)
 - 작동 주입 용량(operational loading capacity)
 - 대체 주입 전략(예: 다중칼럼 순환(multi-column cycling) 및 연속 주입(serial loading))
 - 바이러스 관리 전략

7.3 연속 제조 시 바이러스 제거를 위한 특이적 고려 사항

연속 제조에는 아래에 기술하는 바와 같이 바이러스 안전성에 대해 고려해야 할 특이적 측면도 제시된다.

7.3.1. 생산 배양 기간 연장과 관련된 잠재적 위해성

생산 배양 시간의 경과에 따라 내인성 바이러스 수준이 변동할 수 있으므로, 완제 의약품의 용량 위해성 요소(dose risk factor) 산출에 영향을 미치지 않도록 적절한 검체 채취 전략에 대한 평가가 필요하다(세포주 적격성 평가는 4.항 및 3.항의 고려사항 참조).

7.3.2. 바이러스 제거 시험연구에 대한 접근법

연속 제조의 관리 상태가 유지될 것으로 예상되긴 하지만, 제조공정에는 공정 산물이 공정 시작, 종료 및 일시적 공정 교란(예: 바이러스 오염 시 짧은 시간 동안 바이러스 입자 수가 높을 가능성) 중 변동을 보일 수 있는 기간이 포함될 수 있다. 이러한 기간 중 발생하는 위해성은 본 가이드라인의 다른 부분에서 다루고 있다(6.2.항).

더 나아가, 장비 설계 및 시스템 통합에 따라, 두 가지 이상의 연결된 단위 작업을 동시에 검증하도록 선택할 수도 있다.

연속 제조에 특이적인 고려 사항에는 다음이 포함된다.

- 크로마토그래피
 - 반복 순환하는 경우(예: 다중칼럼 공정), 배치 공정은 타당성이 잘 입증된 목표 공정 조건(예: 유속, 레진 주입(load) 대(對) 칼럼 과주입(overload), 레진 세척성)을 갖춘 규모-축소 모델의 역할을 할 수 있다.
 - 두 가지 이상의 연결된 크로마토그래피 단계 검증을 고려할 수 있다(예: 양이온 교환 크로마토그래피의 결합(bind) 및 용출(elute) 모드 그리고 음이온 교환 크로마토그래피의 흐름 통과(flow through) 모드). 연결된 단위 작업의 경우, 주입(load) 물질과 관련하여 제조 중 작업 조건이 적절히 반영되었다면 기존 배치 규모-축소 모델을 사용해 바이러스 제거를 평가하는 것을 선택할 수 있다.
- 바이러스 불활화
 - 타당성이 잘 입증된 목표 공정 조건을 설정하여 배치 공정으로서 검증하는 것이 적절할 수도 있다.
 - 바이러스 불활화(예: pH 및 용매/계면활성제)의 경우, 관련된 동적 공정 파라미터(dynamic process parameter)가 확실히 관리되도록 해야 한다(예: pH, 용매/계면활성제 농도, 균질성 및 혼합, 온도, 체류 시간 분포).

- 동적 공정에서 불활화를 위해 규모-축소 모델이 적용될 때 공정 역학 (예: 체류 시간 분포) 및 관리 전략에 대한 규모의 영향을 평가하고 타당성을 제시하는 데 주의를 기울여야 한다.
- 바이러스 여과
 - 바이러스 제거에 영향을 미치는 파라미터 설정이 바이러스 제거 시험 연구에서 시험하는 범위를 벗어나지 않는다면(예: 최악 경우의 설정값) 배치 공정으로 검증하는 것이 적절할 수 있다.
 - 공정 관리는 바이러스 제거 능력을 유지하면서 필터 교체 및 사용 후 완전성 시험(integrity testing)이 가능하도록 정의해야 한다.

8. 요약

본 가이드라인은 바이러스의 잠재적 원천을 통제하면서 제품의 바이러스 오염 리스크를 평가하고 바이러스 제거를 위한 제조공정의 적격성을 평가하기 위한 접근법을 권고함으로써, 동물 또는 사람 세포주에서 유래한 안전한 생명공학 제품의 생산에 기여하고자 한다. 이러한 관리와 제거 접근법에는 다음이 포함된다.

- 바이러스 오염물의 존재 여부를 확인하기 위한 세포기질 출발 물질에 대한 철저한 특성 분석/시험
- 사람 세포 친화성을 결정하거나 사람 감염에 대한 지식을 통해 바이러스 오염에서 기인하는 잠재적 위해성을 평가
- 미처리 원액 중의 외래성 바이러스를 검사하기 위한 적절한 시험 프로그램을 확립
- 적절한 바이러스 제거를 위한 프로그램을 확립
- 동일 생산 공정 중 바이러스를 불활화 또는 제거하는 서로 다른 방법들에 대한 바이러스 제거 시험연구를 면밀히 설계 및 수행

9. 용어 정의

외래성 바이러스(Adventitious Virus)

비의도적으로 유입된 오염성 바이러스. 바이러스(Virus) 참조

세포기질(Cell Substrate)

제품 제조에 사용되는 세포

대조 세포(Control Cells)

바이러스/바이러스 벡터 시드를 접종하지 않고, 바이러스 또는 바이러스 벡터의 생산과 동시에 배양된 세포. 대조 세포는 동일한 배치의 표본배지 사용 및 표본배지 교체를 포함하여 생산 세포배양에 사용된 조건과 본질적으로 동일한 조건에서 유지된다.

생산 종결 세포(End of Production Cells (EOPC))

마스터 세포은행(MCB) 또는 제조용 세포은행(WCB)으로부터 (생산 시와 유사한 조건하에서) 생산 시 도달되는 최대 계대 수준과 유사하거나 이를 초과하는 계대 수준 또는 PDL (population doubling level)까지 배양한 세포로 특정 상황에서는 배양 순서별(chronological) 소요된 시간을 측정할 수 있다. EOPC는 확장된 세포은행(Extended Cell Banks (ECB))으로 명명하기도 하며, 이 용어들은 LIVCA 세포와 서로 대체 사용이 가능하다.

내인성 바이러스(Endogenous Virus)

그 유전체가 세포주 기원 종의 생식세포 계통의 일부이며, 모세포주가 유래한 숙주 종의 유전체 안으로 안정적으로 삽입되는 레트로바이러스. 본 가이드라인에서는, 세포기질의 불멸화를 위해 사용되는 엡스타인바 바이러스(Epstein-Barr virus) 또는 소 유두종 바이러스(bovine papilloma virus)와 같이 의도적으로 도입된 비삽입성 바이러스도 포함된다.

확장된 세포은행(Extended Cell Bank(ECB))

마스터 세포은행 또는 제조용 세포은행으로부터 배양하며 생산 시 사용하도록 제안된 체외 세포연령 또는 그 이상으로 증식된 세포로 EOPC로 명명할 수도 있다.

체외 세포연령(*In Vitro* Cell Age)

마스터 세포은행 바이알 해동과 생산 용기 수확 사이 기간의 측정치로서 배양액 희석을 위해 지정된 절차에 따라 하위 배양할 때, 배양 시 소요된 물리적 시간, PDL (population doubling level) 또는 세포의 계대 수준을 기준으로 측정한다.

체외 세포연령 한계(Limit of *In Vitro* Cell Age (LIVCA) Cells)

LIVCA 세포는 마스터 세포은행(MCB) 또는 제조용 세포은행(WCB)을 증식하여 체외 세포연령 또는 그 이후까지 확장 배양된 생산 세포를 말한다. LIVCA 세포는 생산종결세포(EOPC) 또는 확장된 세포은행(ECB)으로 부르기도 하며, 이 용어들은 서로 대체 사용이 가능하다.

불활화(Inactivation)

화학적 또는 물리적 처리로 유발된 바이러스 감염성의 감소

마스터 세포은행(Master Cell Bank (MCB))

정해진 조건에서 세포기질 또는 선별된 세포 클론을 사용해 제작된 세포의 단일 혼합물(single pool)을 소분한 것으로, 이를 여러 개의 용기에 소분하여 정해진 조건에서 보관한다.

마스터 바이러스 시드(Master Virus Seed (MVS))

마스터 바이러스 시드(저장액(stock), 배치 또는 은행)는 벡터 바이러스, 바이러스 벡터 또는 생산 바이러스(즉, 헬퍼 바이러스 또는 바이러스 단백질 발현 벡터)의 조제용 물질이며, 모든 향후 생산은 직접 또는 제조용 바이러스 시드를 통해 유래된다. 이는 단일 배양 공정에서 유래된 균일한 구성(반드시 클론일 필요는 없음)의 생바이러스 조제물이며 적절한 보관 용기에 소분한 후 적절한 조건하에 보관한다.

최소 노출 시간(Minimum Exposure Time)

처리 단계가 유지되는 최소 기간

차세대 염기서열 분석법(Next Generation Sequencing (NGS))

고처리량 염기서열 분석법(High Throughput Sequencing) 또는 대규모 병렬 시퀀싱(massive parallel sequencing) 또는 딥 시퀀싱(Deep sequencing)이라 부르기도 하며, 대상과 무관하게 알려진 또는 알려지지 않은 외래성 바이러스의 비표적 검출을 위한 광범위한 기능을 갖춘 다단계 핵산-기반 기술이다. 어떤 경우에는 NGS는 염기서열 분석 전략 또는 생물정보학 분석을 통해 알려진 바이러스의 표적 검출에 사용할 수 있다.

플랫폼 제조(Platform Manufacturing)(ICH Q11)

동일한 신청자가 동일한 유형의 다른 약물을 제조하는 데 사용하는 것과 유사한 제조공정에서 시작하여 새로운 약물에 대한 생산 전략을 개발하는 접근 방식(예: 사전 정의된 숙주세포, 세포배양 및 정제 공정을 사용하여 단클론항체를 제조하는 경우와 같이 상당한 경험이 이미 존재함)

플랫폼 밸리데이션(Platform Validation)

본 가이드라인 전체에서 이 용어는 바이러스 제거와 관련된 공정 플랫폼의 밸리데이션만을 의미한다. 이러한 맥락에서 플랫폼 밸리데이션은 최근에 파악된 사항에 따라 새로운 유사 제품에 대한 감소율을 주장하기 위해, 다른 제품에서 얻은 바이러스 감소 자료와 더불어 자체적 경험을 포함한 사전 지식을 사용하는 것으로 정의한다.

사전 지식(Prior Knowledge)

사전 지식은 기존의 지식을 말하며 내부 지식(예: 개발 및 제조 경험), 외부 지식(예: 공급업체의 자료 및 문헌, 상호 검토 간행물을 포함한 과학 기술 간행물) 또는 확립된 과학적 원리(예: 화학, 물리학 및 공학 원리)의 적용을 포함한다.

바이러스 제거의 공정 특성 분석(Process Characterisation of Viral Clearance)

제조공정의 바이러스 제거 및/또는 불활화의 완전성(robustness)을 평가하기 위해 불특정 ‘모델’ 바이러스를 활용하는 바이러스 제거 시험연구

바이러스 제거의 공정 평가 시험연구(Process Evaluation Studies of Viral Clearance)

제조공정의 바이러스를 제거 및/또는 불활화하는 능력을 판단하기 위해 ‘관련’ 및/또는 특정 ‘모델’ 바이러스를 활용하는 바이러스 제거 시험연구

바이러스 제거의 공정 완전성(Process Robustness of Viral Clearance)

완전성이라는 용어는 서로 다른 특성 중 한 가지 또는 두 가지 모두를 설명하기 위해 사용한다. 한 가지 특성은 바이러스 제거에 대한 부정적 영향 없이 물질의 변동성 및 공정 변경을 견디는 공정 또는 공정 단계의 능력이다. 다른 한 가지는 광범위한 특정 및 불특정 ‘모델’ 바이러스를 제거하는 능력이다.

생산 세포(Production Cells)

제품 제조를 위해 사용되는 세포기질

정제 원액(Purified Bulk)

이 용어는 정제 공정 종결 시점에서의 물질을 지칭한다. 대부분은 원료의약품을 대표하지만, 시험 분석에 미치는 영향을 줄이기 위해 첨가제가 추가되지 않은 정제 물질을 대신 사용할 수 있다.

생산 바이러스(Production Virus)

생산 바이러스는 바이러스 관련 공정이며 헬퍼 바이러스 또는 단백질 발현을 위한 바이러스 벡터를 포함할 수 있다.

헬퍼 바이러스(Helper Virus)

복제 불가능한 동시 감염 바이러스의 복제를 허용하도록 하는 보조 기능을 제공하는 바이러스

단백질 발현을 위한 바이러스 벡터(Viral vector for protein expression)

배큘로바이러스(baculovirus)와 같은 재조합 바이러스로 재조합 단백질 또는 바이러스 유사 입자를 발현하거나 바이러스 벡터를 생산하기 위해 사용되는 바이러스

보충적 시험방법(Supplementary Test Method)

통상적 시험을 뒷받침하기 위해 추가 자료 제공을 목적으로 사용되는 시험방법

미처리 원액(Unprocessed Bulk)

한 개 이상의 세포 수확물 및 배양 배지의 혼합물(pool). 세포 수확이 용이하지 않을 때, 미처리 원액은 바이오리액터(bioreactor)에서 수확한 액체로 구성되어 있을 것이다.

바이러스 제거(Viral Clearance)

바이러스 입자의 제거 또는 바이러스 감염성의 불활화

바이러스 벡터(Viral Vector)

의약품으로서 체내(*in vivo*) 방식으로 적용하거나, 다른 침단 치료제로 활용하기 위해 체외(*ex vivo*) 방식으로 적용하는 재조합 바이러스

바이러스 벡터 유래 제품(Viral Vector Derived Product)

바이러스 벡터에 의해 암호화되고 발현되는 제품으로서, 이때 재조합 바이러스는 배큘로바이러스(baculovirus)와 같이 생산을 위한 바이러스 벡터라고 지칭한다.

바이러스(Virus)

잠재적으로 병원성이 있고, 한 종류의 핵산(RNA 또는 DNA)만 보유하며, 증식 및 이분법으로 분열하지 않고, 유전 물질 형태로 증식하는, 세포 내에서 복제되는 감염체

불특정 모델 바이러스(Non-Specific Model Virus)

일반적으로 제조공정의 바이러스 제거 및/또는 불활화하는 제조공정의 능력을 특성 분석하는 것이 목적일 경우(즉, 제조공정의 하위 단계(downstream process)의 완전성에 대한 특성 분석), 공정의 바이러스 제거에 대한 특성 분석에 사용되는 바이러스

관련 바이러스(Relevant Virus)

확인된 바이러스이거나, 알려진 바이러스와 동일한 종이거나, 생산 공정에 사용되는 세포기질 또는 기타 시약이나 물질을 오염시킬 가능성이 있는 바이러스로서 공정 평가 시험연구에 사용되는 바이러스

복제 가능 바이러스(Replication Competent Virus (RCV))

바이러스 벡터와 트랜스 상보성(trans-complementing) 바이러스 염기서열의 재조합으로 생성된 복제 가능 바이러스

특정 모델 바이러스(Specific Model Virus)

알려진 또는 의심되는 바이러스(동일 종(種) 또는 과(科))와 밀접하게 연관된 바이러스로서, 관찰된 또는 의심되는 바이러스와 물리 및 화학적 특성이 유사하다.

바이러스 유사 입자(Virus-Like Particles)

알려진 바이러스와 형태학적으로 관련이 있어 보이는 구조물로 바이러스 유전체를 포함하거나 포함하지 않을 수 있다.

제조용 세포은행(Working Cell Bank (WCB))

제조용 세포은행은 지정된 배양 조건에서 마스터 세포은행(MCB)을 배양하여 획득한 균질한 세포 현탁액의 분주물로부터 제작된다.

제조용 바이러스 시드(Working Virus Seed (WVS))

마스터 바이러스 시드(MVS)로부터 생산된 제조용 바이러스 시드(저장액(stock), 배치 또는 은행)

10. 참고문헌

ICH Q5A(R2) Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived From Cell Lines of Cell Lines of Human or Animal Origin

ICH Q2(R2)/Q14: Analytical Procedure Development and Revision of Q2(R1) Analytical Validation

ICH Q11: Development and Manufacture of Drug Substances

ICH Q13: Continuous Manufacturing of Drug Substances and Drug Products

표 1. 세포기질의 특성 분석을 위해 권고하는 바이러스 시험

| | MCB | WCB | LIVCA 세포 |
|--|----------------------|----------------|----------------------|
| 레트로바이러스 및 기타 내인성 바이러스 시험 | | | |
| 레트로바이러스 시험 ^a | + | - | + |
| 기타 내인성 바이러스 시험 ^b | 해당하는 경우 ^b | - | 해당하는 경우 ^b |
| 외래성 바이러스 시험 | | | |
| <i>In vitro</i> 분석 또는 NGS ^e | + | + ^c | + ^c |
| <i>In vivo</i> 분석 또는 NGS ^e | + ^d | - | + ^d |
| 특이적 바이러스를 위한 시험 ^f | 해당하는 경우 ^f | - | - |

- a. 추가적 세부 사항은 3.2.1.항을 참조할 것
- b. 이러한 인자를 함유하고 있다고 알려진 세포주에 대해 적절히 적용할 것
- c. *In vitro* 바이러스 시험은 WCB 또는 WCB에서 직접 수득한 LIVCA 세포에 직접 실시한다.
- d. *In vivo* 분석은 위해성 평가를 기반으로 실시할 수 있다. 잔존 위험이 있다면 MCB 확립 중 또는 LIVCA 단계에서 세포배양 중 유입되었을 수 있는 바이러스 검출을 위해 *in vivo* 분석을 유지하거나 비표적 NGS로 대체하도록 고려할 수 있다. 단, 대체 시험법 사용 시에는 규제기관과 사전에 상의할 것을 권고한다.
- e. 비표적 NGS는 *in vivo* 분석을 대체할 수 있으며(3.2.3.항 참조), *in vitro* 분석을 보충하거나 대체할 수 있다(3.2.2.항 참조) 단, 규제기관과 사전에 상의할 것을 권고한다.
- f. 시험은 세포기질의 기원 및 이력 그리고 사람 또는 동물 유래 원료물질에 대한 잠재적 노출을 포함하는 위해성 평가를 기반으로 한다. 세포배양 기반 감염성 시험, 항체 생성 시험(MAP, HAP, RAP), 바이러스 특이적 NAT 또는 기타 분자적 방법(예: NGS)과 같은 방법을 사용할 수 있다. (자세한 사항은 3.2.4.항을 참조). 여기에는, 종-특이적 바이러스(예: 곤충 세포의 아르보바이러스, 혈청 또는 트립신을 사용한다면, 각각 소 또는 돼지 바이러스)에 대한 시험을 포함할 수 있다. 생산에 사용한 세포기질 내의 바이러스 검출을 위해 취한 조치 단계와 관련해서는 표 4(사례 B, C 및 E)를 참조한다.

표 2. 바이러스 시험에 사용할 수 있는 분석의 활용 및 한계의 예시

| 시험 | 시험 물질 | 검출력 | 시험법 한계 |
|------------------------------|---|-------------------------------------|---|
| 항체생성시험 | 세포 용해물 및 배양 배지 | 특정 바이러스 항원 | 동물에서 복제되지 않거나 항체를 생성하지 않는 바이러스. 모든 바이러스 감염이 측정할 수 있는 항체반응을 유발하지는 않음 |
| <i>In vivo</i> 바이러스 분석 | 세포 용해물 및 배양 배지 | 제한된 범위의 바이러스 | 시험 시스템에서 복제되지 않거나 또는 질병을 유발하지 않는 바이러스. 시험 간접 |
| <i>In vitro</i> 바이러스 분석 | | 광범위한 바이러스 | 시험 시스템에서 복제 또는 질병을 유발하지 않는 바이러스. 시험 간접 |
| 1. 세포은행 시험 | 1. 세포 용해물 및 배양배지(혼합배양(co-cultivation)의 경우, 시험 물질 내에 원형(intact) 세포가 있어야 함) | | |
| 2. 생산 시험 | 1. 미처리 원액 수확물 또는 바이오리액터로부터 얻은 세포 용해물 및 배양 배지 | | |
| 투과전자현미경(TEM): | | | 낮은 민감도. 바이러스의 감염성 여부를 제시하지 않음 |
| 1. 세포은행 시험 | 1. 살아있는 세포 | 내인성 레트로바이러스를 포함한, 바이러스 및 바이러스-유사 입자 | 1. 바이러스 입자의 정성적 평가 |
| 2. 생산 시험 | 2. 무세포 물질 | | 2. (바이러스 제거 평가를 위한) 정량적 분석 |
| 역전사효소(RT) 분석 (예: PERT 분석) | 무세포배양 상층액 | 레트로바이러스 입자 및 RT 활성도 | 레트로바이러스 RT를 세포의 중합효소(cellular polymerase)와 구분해야 할 수 있음 |
| 1. 세포은행 시험 | | | |
| 2. 생산 시험 | | | |
| 레트로바이러스(RV) 감염성 | 무세포배양 상층액 | 감염성 레트로바이러스 | 선택한 시험 시스템에서 복제되지 않거나 또는 뚜렷한 병소(foci) 또는 플라크를 형성하지 못하는 RV |
| 혼합배양 (Cocultivation) | 생존 가능 세포 | 감염성 레트로바이러스 | 복제하지 못하는 RV |
| 1. 감염성 endpoint | | | 1. 위의 RV 감염성 참조 |
| 2. TEM endpoint | | | 2. 위의 TEM 참조 ^a |
| 3. RT endpoint | | | 3. 위의 RT 참조 |
| PCR(중합효소 연쇄반응) | 세포, 배양액 및 기타 물질 | 특이적 바이러스 서열 | 프라이머 서열이 있어야 함 바이러스 감염성 여부는 알 수 없음 |
| 1. 세포은행 시험 | | | |
| 2. 생산 시험 | | | |
| NGS | 세포, 배양액 및 기타 물질 | 광범위한 바이러스 서열 | 양성 결과가 바이러스의 감염성 여부를 제시하지 않으며, 결과에 대한 조사가 필요함 |

a. 시험 물질을 지표 세포로부터 구분하기가 어려울 수 있다.

표 3. 항체 생성 시험에서 검출되는 바이러스^d

| MAP | HAP | RAP |
|--|---|--|
| Ectromelia Virus ^{b,c} | Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCM) ^{a,c} | Hantaan Virus ^{a,c} |
| Hantaan Virus ^{a,c} | Pneumonia Virus of Mice (PVM) ^{b,c} | Kilham Rat Virus (KRV) ^{b,c} |
| K Virus ^b | Reovirus Type 3 (Reo3) ^{a,c} | Mouse Encephalomyelitis Virus (Theilers, GDVII) ^b |
| Lactic Dehydrogenase Virus (LDM) ^{a,c} | Sendai Virus (SV) ^{a,c} | Pneumonia Virus of Mice (PVM) ^{b,c} |
| Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCM) ^{a,c} | SV5 ^{a,c} | Rat Coronavirus ^b |
| Minute Virus of Mice ^{b,c} | | Reovirus Type 3 (Reo3) ^{a,c} |
| Mouse Adenovirus (MAV) ^{b,c} | | Sendai Virus ^{a,c} |
| Mouse Cytomegalovirus (MCMV) ^{b,c} | | Sialodacryoadenitis Virus (SDAV) ^b |
| Mouse Encephalomyelitis Virus (Theilers, GDVII) ^b | | Toolan's H-1 Virus ^{b,c} |
| Mouse Hepatitis Virus (MHV) ^b | | |
| Mouse Rotavirus (EDIM) ^{b,c} | | |
| Pneumonia Virus of Mice (PVM) ^{b,c} | | |
| Polyoma Virus ^b | | |
| Reovirus Type 3 (Reo3) ^{a,c} | | |
| Sendai Virus ^{a,c} | | |
| Thymic Virus ^{b,e} | | |

a. 사람 또는 영장류 감염력이 있다고 밝혀진 바이러스.

b. 사람 감염력이 없다고 밝혀진 바이러스.

c. 사람 또는 영장류 유래 세포에서 *in vitro* 복제 능력이 있는 바이러스.

d. PCR 분석과 같은 NAT, 또는 표적이나 비표적 NGS, 또는 기타 분자적 방법을 대체 사용할 수 있음.

단, 규제기관과 사전에 상의할 것을 권고한다.

e. Murid herpesvirus 3이라고 부르기도 함.

표 4. 세포 또는 미처리 원액의 바이러스 시험 결과에 대응하는 활동 계획 권고

| | 사례 A | 사례 B | 사례 C ^b | 사례 D ^b | 사례 E ^b | 사례 F |
|---|-----------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| 상태 | | | | | | |
| 외래성 바이러스 유무 ^a | - | - | + | + | + ^c | - |
| 바이러스 유사 입자 ^a | - | - | - | - | + ^c | - |
| 레트로바이러스 유사 입자 ^a | - | + | - | - | + ^c | - |
| 확인된 바이러스 | 비해당 | + | + | + | - | + |
| 사람 감염 바이러스 | 비해당 | - ^d | - ^d | + | 알려지지 않음 | + ⁱ |
| 생산 바이러스 유무 | - | - | - | - | - | + |
| 대응 활동 | | | | | | |
| 불특정 “모델” 바이러스를 사용한, 바이러스 제거의 공정 특성 분석 | 실시 ^e | 실시 ^e | 실시 ^e | 실시 ^e | 실시 ^e | 실시 ^e |
| “관련” 또는 특정 “모델” 바이러스를 사용한, 바이러스 제거의 공정 평가 | 미실시 | 실시 ^f | 실시 ^f | 실시 ^f | 실시 ^g | 실시 ⁱ |
| 정제 원액의 바이러스 시험 | 비해당 | 미실시 ^j | 실시 ^h | 실시 ^h | 실시 ^h | 실시 ⁱ |

- 세포기질 및/또는 미처리 원액 수준에서 실시한 바이러스 시험 결과. 바이러스에 오염된 생산용 세포배양액은 특이적 바이러스 제거 및 위해성 평가로 그 타당성을 입증하지 않는다면, 일반적으로 사용해서는 안 된다. 내인성 바이러스(예: 레트로바이러스) 또는 MCB의 필수 부분을 구성하는 바이러스는 적절한 바이러스 제거 평가 절차를 따른다면 허용할 수 있다.
- 바이러스에 오염된 원료물질은, 사람에게 감염성 및/또는 병원성이 있는 것으로 알려진 경우, 특이적 바이러스 제거 및 위해성 평가에 따른 검증을 통해 예외적인 상황에서만 사용해야 한다.
- 바이러스가 직접 또는 간접적인 방법으로 관찰되었다.
- 비병원성으로 판단됨
- 불특정 “모델” 바이러스를 사용하여 제거에 대한 특성 분석을 해야 한다.
- “관련” 바이러스 또는 특정 “모델” 바이러스에 대한 공정 평가를 해야 한다.
- 사례 E 본문 참조
- 정제 원액에서 검출할 수 있는 바이러스의 부재를 해당 바이러스 검출에 특이성 및 민감도가 높은 적합한 방법을 사용해 확인해야 한다. 품목허가의 경우, 파일럿 또는 상업용 규모로 제조된 정제 원액의 최소 3개 배치에서 도출한 자료를 제공해야 한다.
- 바이러스는 사람에게 전염성이 있거나 없을 수도 있다. 생산 바이러스에 대한 공정 평가를 실시해야 한다. 이것이 불가능하다면, 특정 모델 바이러스를 사용해야 한다. 생산 바이러스가 생산에 사용될 때는, 바이러스 제거 목표를 결정하기 위해 미처리 원액 단계에서 최소 3개의 세포배양액 배치를 사용해 생산 바이러스를 정량한다. 정제 원액에서는 생산 바이러스의 부재를 ‘관련’ 감수성이 있는 세포주(‘relevant’ permissive cell line)를 사용한 감염성 분석을 통해 확인한다. 다른 방식으로는 분자적 방법을 사용할 수도 있다. 바이러스 제거의 완전성(robustness) (6.3 항 참조)을 통해 타당성을 입증하지 않는다면, 잔류 생산 바이러스의 부정 시험은 각각의 정제 원액에서 수행해야 한다.
- 사례 B에 대한 설명은 5.항을 참조할 것

부록 1: 바이러스 제거 시험연구를 위한 바이러스 선택

1.1 유용한 ‘모델’의 예시

1. 다양한 물리화학적 구조를 대표하는 불특정 ‘모델’ 바이러스

- 폴리오마바이러스(polyomavirus)(예: SV40), 동물 파보바이러스 또는 일부 다른 이화학적 내성을 지닌 소형 외피미보유(non-enveloped virus) 바이러스
- 파라인플루엔자 바이러스(parainfluenza virus) 또는 인플루엔자 바이러스(influenza virus), 신드비스바이러스(Sindbis virus) 또는 일부 기타 중형이나 대형 외피성 RNA 바이러스. 그렇지 않으면, 다른 외피 미보유(non-enveloped virus) 바이러스(예: 레오바이러스(Reovirus), SV40 또는 피코르나바이러스(picornavirus))를 사용해 외피 미보유(non-enveloped virus) 바이러스의 범위를 확대할 수 있다.
- 헤르페스 바이러스(herpes virus)(예: 단순포진바이러스(Herpes Simplex Virus, HSV)-1형 또는 가성광견병 바이러스(pseudorabies virus)) 또는 기타 중형이나 대형 DNA 바이러스

이러한 바이러스들은 예시일 뿐이며, 반드시 사용해야 하는 것은 아니다.

2. 레트로바이러스 유사 입자를 생성하는 세포기질의 경우, 쥐 레트로바이러스를 일반적으로 특정 ‘모델’ 바이러스로 사용한다. 쥐 또는 기타 설치류의 내인성 레트로바이러스 입자를 사용할 수도 있다.

1.2 바이러스 제거 시험연구에 사용된 바이러스의 예

바이러스 제거 시험연구에 사용된 몇 가지 바이러스가 표 A-1에 정리되어 있다. 그러나 이들은 단지 예시일 뿐이며, 표에 수록된 바이러스를 반드시 사용해야 하는 것은 아니며, 제조사는 각 회사의 생산 공정에 더욱 적합한 다른 바이러스들을 고려해 볼 수 있다. 일반적으로, 공정은 상이한 특성을 가진 최소 세 가지 이상의 서로 다른 바이러스를 제거하는 능력에 대해 평가해야 한다.

표 A-1: 바이러스 제거 시험연구에 사용된 바이러스의 예시

| 바이러스 | 과(科) | 속(屬) | 자연숙주 | 유전체 | 외피 | 크기(nm) | 형태 | 내성 ^a |
|--|----------|-----------------------------------|------------|-----|----|----------|-------|-----------------|
| Vesicular Stomatitis Virus(VSV) ^b | Rhabdo | Vesiculovirus | 말소 | RNA | 있음 | 70x150 | 총알 | 낮음 |
| Parainfluenza Virus | Paramyxo | Respirovirus 또는 Orthorubula virus | 다양함 | RNA | 있음 | 100-200+ | 격자/구형 | 낮음 |
| Murine Leukaemia Virus (MLV) | Retro | Gammaretrovirus | 마우스 | RNA | 있음 | 80-110 | 구형 | 낮음 |
| Sindbis Virus | Toga | Alphavirus | 사람 | RNA | 있음 | 60-70 | 구형 | 낮음 |
| Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) | Pesti | Pestivirus | 소 | RNA | 있음 | 50-70 | 격자/구형 | 낮음 |
| Pseudorabies Virus ^c | Herpes | Varicellovirus | 집돼지 | DNA | 있음 | 120-200 | 구형 | 중간 |
| Autographa californica multiple nucleopolyhedro virus ^c | Baculo | Alphabaculovirus | 곤충 | DNA | 있음 | 250-300 | 다각체 | 중간 |
| Adenovirus Type 2 또는 Type 5 ^c | Adeno | Mastadenovirus | 사람 | DNA | 없음 | 70-90 | 정십이면체 | 중간 |
| Vesivirus 2117 | Calici | Vesivirus | 알려지지 않음 | RNA | 없음 | 27-40 | 정십이면체 | 중간 |
| Encephalo myocarditis Virus (EMCV) | Picorna | Cardiovirus | 마우스 | RNA | 없음 | 25-30 | 정십이면체 | 중간 |
| Bovine Enterovirus (BEV) | Picorna | Enterovirus | 소 | RNA | 없음 | 25-30 | 정십이면체 | 중간 |
| Reovirus 3 | Reo | Orthoreovirus | 다양함 | RNA | 없음 | 60-80 | 구형 | 중간 |
| SV40 | Polyoma | Betapolyomavirus | 원숭이 | DNA | 없음 | 40-50 | 정십이면체 | 매우 높음 |
| Parvoviruses (canine, murine, porcine) ^d | Parvo | Protoparvovirus | 개, 마우스, 돼지 | DNA | 없음 | 18-24 | 정십이면체 | 매우 높음 |

- a. 생산 공정 시험연구에 근거한 이화학적 처리에 대한 내성(resistance). 내성은 특정 처리와 관련이 있으며, 이러한 처리는 바이러스의 생물학적 그리고 제조공정의 특성을 이해한 상황에 맞추어 사용된다. 실제 결과는 처리 방법에 따라 달라진다.
- b. 곤충 세포에서 발견된 랩도바이러스에 관련된 특정 ‘모델’ 바이러스.
- c. 바이러스 벡터 생산을 위해 사용되는 헬퍼 바이러스 또는 바이러스 단백질 발현 벡터를 위한 특정 ‘모델’ 바이러스 또는 ‘관련’ 바이러스.
- d. 바이러스 여과 밸리데이션 시, 더 큰 구형/정십이면체 바이러스 및 외피 바이러스에 대한 단일 최악 사례의 ‘모델’ 바이러스로 사용할 수 있다.
- 이러한 바이러스들은 예시일 뿐이며, 반드시 사용해야 하는 것은 아니다.

부록 2: 바이러스 및 바이러스 감소계수(reduction factors) 평가를 위한 통계적 고려 사항

바이러스 적정(titration)에는 모든 생물학적 분석 시스템에 공통적인 변동성(variation)이라는 문제가 뒤따른다. 시험연구의 신뢰성을 파악하기 위해서 바이러스 적정 및 이를 기반으로 도출된 감소계수의 정확성 그리고 분석의 타당성에 대한 평가를 수행해야 한다. 통계적 평가의 목적은 시험연구가 허용할 수 있는 수준의 바이러스학적 적용 방법으로 수행되었음을 입증하는 것이다.

1. 분석 방법은 정성적 또는 정량적일 수 있다. 정성적 방법에는 동물의 감염성 분석 또는 조직 배양 감염용량(Tissue-Culture-Infectious-Dose, TCID) 분석이 포함되며, 이는 동물 또는 세포배양물의 감염 또는 비감염으로 점수가 매겨진다. 이때 감염 역가는 감염된 동물 또는 배양물의 비율로 측정한다. 정량적 방법은 측정된 감염성이 바이러스 투입에 따라 계속 달라진다. 정량적 방법에는 분자-기반 방법 또는 계산된 각 플라크가 단일 감염 단위에 해당하는 플라크 분석법이 포함된다. 정성적 그리고 정량적 분석법 모두 통계적 평가가 가능하다.
 2. 희석 오류, 통계적 효과 및 알려지지 않았거나 제어하기 어려운 분석 시스템 내의 차이에 따른 결과로써 분석 내에서 변동성(variation)이 발생할 수 있다. 이러한 영향은 단일 분석 작업 내 결과를 비교할 때보다(분석 내 변동성(variation)) 서로 다른 분석 작업 결과를 비교할 때(분석 간 변동성(variation)) 더 클 가능성이 높다.
1. 일반적으로 분석 내 변동성(within-assay variation)의 95% 신뢰한계는 평균값의 $\pm 0.5 \log_{10}$ 범위 내에 있어야 한다. 분석 내 변동성은 표준적인 방법으로 평가할 수 있다. 분석 간 변동성(between-assay variation)은 표준물질을 포함해 모니터링 할 수 있으며, 표준물질의 역가 추정치는 실험실에서 설정된 평균 추정치의 $\pm 0.5 \log_{10}$ 범위 내에 있어야 한다. 적절한 타당성이 있다면 정밀도가 더 낮은 분석도 허용될 수 있다.

2. 관찰된 감소계수에 대한 95% 신뢰한계는 가능한 모든 경우 ‘관련’ 및 특징 ‘모델’ 바이러스 제거 시험연구에서 산출해야 한다. 출발 물질의 바이러스 분석에 대한 95% 신뢰한계가 +s이고, 이 단계 이후 물질의 바이러스 분석에 대한 신뢰한계가 +a라면, 감소계수에 대한 95% 신뢰한계는 다음과 같다.

$$\pm \sqrt{s^2 + a^2}$$

저농도 바이러스의 검출 확률

낮은 바이러스 농도에서는(예: 리터당 10~1,000개 범위의 감염성 입자), 몇 밀리리터의 검체는 감염성 입자를 함유하거나 그렇지 않을 수도 있다. 이 검체에 감염성 바이러스를 함유하고 있지 않을 확률 p 는 다음과 같다.

$$p = ((V-v)/V)^n$$

V (리터)는 시험할 물질의 총량이며, v (리터)는 검체의 용량, n 은 V 안에 통계적으로 분포된 감염성 입자의 절댓값이다.

$V \gg v$ 라면, 이 방정식은 포아송 분포(Poisson distribution)를 사용하여 근사치로 구할 수 있다.

$$p = e^{-cv}$$

여기에서 c 는 리터당 감염성 입자의 농도이다.

$$\text{또는, } c = \ln p / -v$$

예를 들어, 검체량 1mL를 시험한다면 리터 당 감염성 입자가 10~1,000개 범위인 바이러스 농도에서 확률 p 는 다음과 같다.

| c | 10 | 100 | 1000 |
|-----|------|------|------|
| p | 0.99 | 0.90 | 0.37 |

이는 리터당 1,000개의 바이러스 농도인 경우, 검체의 37%에서, 1mL 중 바이러스 입자가 포함되지 않을 것이라는 의미이다.

검체 중 일부만 바이러스 시험을 하고 시험 결과가 음성이라면, 양성 결과를 얻기 위해서 전체 검체에 존재해야 하는 바이러스의 양을 계산해야 하며, 감소계수 산출 시 이 값을 고려해야 한다. 95%의 신뢰한계가 바람직하다. 그러나, 일부 경우에는, 물질 자체의 한계로 인해 가능하지 않을 수 있다.

부록 3: 바이러스 제거 확인을 위한 시험연구 시 감소계수(reduction factors) 산출

개별 제거 또는 불활화 단계의 바이러스 감소계수는 정제 공정 전 물질의 바이러스 수치와 공정의 다음 단계에서 사용할 준비가 된 공정 후 물질의 바이러스 부하 간 비율의 \log_{10} 로 정의한다. 다음의 약어를 사용하면, 아래와 같다.

출발 물질:

Vol v' ; 역가 $10^{a'}$;

바이러스 수치(Virus load): $(v')(10^{a'})$,

최종 물질:

Vol v'' ; 역가 $10^{a''}$;

바이러스 수치(Virus load): $(v'')(10^{a''})$,

개별 감소계수 R_i 는 다음에 따라 산출된다.

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

이 공식에서는 공정 단계 전후 물질의 역가와 용량을 모두 고려하고 있다.

일부 바이러스 적정에 내재된 비정밀성(imprecision)으로 인해, 종합적인 감소계수를 계산할 때 사용하는 개별 감소계수는 1보다 커야 한다.

전체 생산 공정에 대한 종합적인 감소계수는 개별 단계 감소계수들의 로그 합이다. 이것은 첫 번째 공정 제거 단계 시작 시의 바이러스 수치와 마지막 공정 제거 단계 종료 시의 바이러스 수치 비율의 로그를 나타낸다. 감소계수는 일반적으로 로그 단위로 표현하며, 이는 잔여 바이러스 감염성이 결코 0으로 감소하지는 않지만, 수학적으로는 대단히 감소할 수 있다는 의미이다.

부록 4: 용량 당 입자 추정값 산출

본 부록의 내용은 내인성 레트로바이러스와 같이 출발 수치(starting number)를 추정할 수 있는 바이러스에 적용할 수 있다.

예시:

1. 가정

정제 공정에 투입되는 바이러스의 농도 측정값 또는 추정값 = $10^6/\text{mL}$

산출된 바이러스 제거 인자 = $>10^{15}$

제품 일회 용량 제조에 사용되는 배양 수확물의 양 = 1L (10^3mL)

2. 용량 당 입자의 추정값 산출

$$\frac{(10^6 \text{ 바이러스단위/mL}) \times (10^3 \text{ mL/용량})}{\text{제거인자} > 10^{15}}$$

$$= \frac{10^9 \text{ 입자/용량}}{\text{제거인자} > 10^{15}}$$

$$= < 10^{-6} \text{ 입자/용량}$$

그러므로, 100만 용량당 1개 미만의 입자가 예상될 수 있다.

위의 사례는 설치류 세포에서 단클론항체 또는 다른 재조합 단백질 제조 시 내인성 레트로바이러스의 감소에 관한 전형적인 사례이다(사례 B). 특정 바이러스에 대한 포괄적인 위해성 평가에서는, 바이러스의 숙주 범위, 바이러스의 감염성 및 병원성, 오염 방지 조치, 시험, 투여 경로, 그리고 인체 감염용량과 같은 추가 요소를 고려해야 한다.

CHO 세포에 관한 사례 B 시나리오에서는, 내인성 레트로바이러스가 감염성이 없음이 광범위하게 특성 분석되었기 때문에, 시험에서 감염성 레트로바이러스의 존재가 확인되지 않는 경우, 단클론항체 또는 기타 재조합 단백질의 경우 레트로바이러스 유사 입자에 대해 $\leq 10^{-4}$ 입자/용량 값이 허용되는 것으로 간주한다.

부록 5: 제품 특이적 밸리데이션 업무 완화를 위한, 내부 경험 포함, 사전 지식의 예

5.1 도입

플랫폼 밸리데이션 접근법의 일반 원칙에 따라 동일 플랫폼에서 생산되는 제품 전체에 걸쳐 완전한 바이러스 제거 성능이 입증되어야 하며, 바이러스 제거 공정은 확립되었으며 특성이 잘 규명된 조건을 따라야 한다. 또한, 사전 지식에서 공정 중간체 조성과 관련하여 바이러스 제거의 완전성을 제시하고 있지 않다면, 제품 중간체의 조성이 바이러스 제거 시험연구에 사용된 중간체와 유사함을 증명해야 한다.

이러한 맥락에서, 제품 특이적 공정 밸리데이션과 대조적으로, 플랫폼 밸리데이션이란 새로운 유사 제품에 대한 감소계수가 타당함을 주장하기 위해 다른 제품에서 얻은 내부(신청인 소유 자료) 경험을 포함한 사전 지식을 사용하는 것으로 정의한다. 일반적으로, 내부 경험을 포함한 사전 지식이 기반이 된 신제품에 대한 바이러스 제거 주장에는 가용한 모든 자료에 대한 논의 그리고 플랫폼 밸리데이션 접근법을 뒷받침하는 근거가 포함되어야 한다(6.6.항 참조). 제품 특이적 밸리데이션을 줄이는 데 사용되는 사전 지식 및 내부 자료 중 일부는 신제품 및 그 제조공정을 다른 내부 제품, 관련 공정 조건 및 제품 중간체와 비교하는 용도로 제공할 수 있다.

바이러스 제거 전담 공정 단계(예: 계면활성제에 의한 불활화, 낮은 pH 및 바이러스 여과에 의한 제거)는 플랫폼 밸리데이션 접근법에 적합하다.

따라서 바이러스 여과를 통한 바이러스 제거뿐 아니라, 계면활성제 및 낮은 pH 배양을 통한 바이러스의 불활화/제거를 활용한 이종친화성 쥐 백혈병 바이러스(Xenotropic Murine Leukaemia Virus, XMLV) 관련 사전 지식의 적용 사례를 아래에 설명하고 있다.

이런 예시는 설명 목적으로 제공하는 것으로, 플랫폼 밸리데이션 접근 방식을 어떻게 적용할 수 있는가를 제안하고 있을 뿐이며, 규제 제출을 위한 양식이나 유일한 근거로 사용해서는 안 된다.

표 A-2~A-4에서는 산업 전반에 적용되는 광범위한 공정 조건에 대한 현시점의 이해를 기반으로, 개별 공정 단계의 공정 파라미터 및 이들의 잠재적 중요도를 요약하고 있다. 공정 파라미터 및 중간체가 바이러스 제거에 실제 미치는 영향은 사전 지식 및 내부 경험을 통해 평가해야 한다.

변화 발전하는 공정에 대한 이해를 바탕으로, 향후 플랫폼 밸리데이션을 위해 추가적인 공정 단계를 고려할 수 있다.

5.2 용매/계면활성제(SD) 또는 계면활성제 단독 불활화

작용기전을 기반으로, 용매/계면활성제(Solvent/Detergent, SD) 시약 또는 계면활성제 단독의 계면활성제 농도가 중요한 공정 파라미터가 된다.

추가로, 지질, 세포 잔해, 또는 소포체와 같은 세포배양 배지의 성분과 같이 소수성 불순물은 바이러스 지질 외피 용해 시 계면활성제 또는 SD 혼합물에 저항하여 바이러스 불활화에 영향을 미칠 수 있으므로 이를 평가해야 한다.

지금까지는, 바이러스와 특정 치료용 단백질 간의 상호 작용이 계면활성제를 사용한 불활화에 영향을 미친다는 결과는 없었다. 응집물(예: 세포잔해 또는 응집된 바이러스 입자)은 바이러스 입자를 포획하여 계면활성제의 접근으로부터 보호할 수 있다. 따라서, 제조 시 제품 중간체(예: 수확한 세포배양액(Harvested Cell Culture Fluid, HCCF))는 계면활성제 불활화 전에 공칭공경(nominal pore size)이 $\leq 0.2 \mu\text{m}$ 인 여과 단계를 포함하여 세포/세포 잔해를 정화해야 한다.

다음 단락에서는 SD 또는 Triton X-100을 예로 들어 플랫폼 밸리데이션 접근법을 XMLV 불활화에 적용하는 방법을 기술하고 있다. 이 접근법은 완전하고 효율적으로 XMLV를 불활화함이 증명된 대체 계면활성제에도 적용할 수 있다.

Triton X-100은 멤브레인 시험연구에서 지질 이중층을 용해하기 위해 일반적으로 사용되는 비이온성 계면활성제이다. 이 물질은 바이러스 지질 외피를 용해함으로써 바이러스를 비감염성으로 만들어 외피 바이러스를 불활화한다. Triton X-100은 HCCF에 첨가함으로써 단클론항체의 플랫폼 정제 공정뿐 아니라 오랜 기간 혈장 유래 제품의 제조공정에서 바이러스 불활화를 위해 널리 사용해 왔다.

유럽화학물질관리청(European Chemicals Agency)은 Triton X-100의 분해 화합물이 호르몬과 유사한 활성을 보인다는 이유로, Triton X-100을 승인 목록(Authorization List)(부록 14, REACH(Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals) 화학물질의 등록, 평가, 허가, 제한에 관한 제도)에 포함하였다. 따라서, 널리 사용되고는 있음에도 제약 업계에서는 이를 대체할 계면활성제를 탐색하고 있다. 물리화학적 성질이 유사한 다른 계면활성제들이 상용화되어 있으며 XMLV 불활화에 효율적이다. Triton X-100에 의한 불활화가 본 가이드라인에 예시로서 수록되었는데, 이 물질의 특성이 잘 분석되어 있으며 그 효과와 관련하여 충분한 양의 지식이 존재하기 때문이다.

Triton X-100의 비이온성 때문에 그 효과는 HCCF의 pH, 이온 강도, 또는 반대이온(counter ion)의 특성에 민감하지 않다. 사전 경험에 따르면, HCCF 내 다양한 종류의 일반적인 지질 및 총 단백질 함량을 다루는 플랫폼 공정을 거친 다수의 제품에서, Triton X-100 농도 0.2%, 15°C 및 60분 배양 조건으로 XMLV를 효과적으로 불활화한 것으로 나타났다. 그러나, 아래에 제시된 바와 같이, 제품별 실험 생략 시에는, 효과적이면서도 신뢰할 수 있는 불활화를 보장하기 위해서는 Triton X-100 농도 0.5%를 권장한다.

표 A-2에는 Triton X-100이나 SD-시약 그리고 MLV를 사용하는 지질 외피 바이러스의 계면활성제 기반 불활화에 관한 공정 파라미터 및 그 잠재적 중요도를 요약하고 있다.

표 A-2: 계면활성제 불활화 또는 SD-처리에 관한 공정 매개변수 및 잠재적 영향 요약

| 공정 매개변수 | 잠재적 영향 | 근거 |
|-------------------------------|--------|---|
| SD 또는 Triton X-100 농도 | 높음 | 불활화제 |
| 배양 시간 | 높음 | 불활화 기전은 시간 의존적 |
| 온도 | 높음 | 불활화 동역학에 미치는 영향 |
| $\leq 0.2 \mu\text{m}$ 여과 전처리 | 높음 | 바이러스 입자를 포획하여 계면활성제 접근으로부터 보호할 가능성이 있는 응집물을 출발 중간체에서 제거함 |
| HCCF 내 총 지질 함량 또는 대리 파라미터 | 낮음 | 최악의 경우인 HCCF에서 관찰된 낮은 영향 |
| 제품 유형 | 낮음 | 단클론항체, 반항체(half antibody), 융합 단백질 또는 재조합 단백질에서는 불활화에 대한 영향이 관찰되지 않음 |
| 총 단백질 함량 | 낮음 | 낮은 영향이 관찰됨 |
| pH | 낮음 | Triton X-100은 비이온성 계면활성제 |
| 이온 농도 | 낮음 | Triton X-100은 비이온성 계면활성제 |
| HCCF 내의 완충염 | 낮음 | Triton X-100은 비이온성 계면활성제 |
| 바이러스 입자와 제품 간의 잠재적인 상호 작용 | 낮음 | 불활화에 미치는 영향은 관찰되지 않았으며, 지질 외피의 파괴로 제품과의 상호 작용 가능성이 낮아짐 |

따라서, Triton X-100 사용과 관련하여 공정에 대한 현시점의 이해와 일관되게 정화된 HCCF를 $\geq 15^\circ\text{C}$, ≥ 60 분, $\geq 0.5\%$ 의 Triton X-100으로 처리하면, 다수의 세포배양 유래 제품에서 XMLV가 효과적으로 불활화된다. SD-시약을 사용 시에는 ≥ 30 분, 1% Triton X-100 및 0.3% TNBP (Tri-N-Butylphosphate)로 처리하거나, $\geq 23^\circ\text{C}$, ≥ 6 시간, 1% 폴리소르베이트 80 및 0.3% TNBP로 처리하면 레트로바이러스가 효과적으로 불활화된다. 현재 공정에 대한 이해에 따르면, 플랫폼 밸리데이션 접근법을 SD 처리 또는 Triton X-100 단독 처리를 통한 XMLV 불활화에 적용할 수 있다.

5.3 낮은 pH에서의 배양

낮은 pH 처리는 바이러스 외피 내 위치한 단백질을 변성시켜 외피 바이러스를 불활화하여 결과적으로 세포 내로의 흡입 및 감염을 방지한다. 낮은 pH 조건의 포획 크로마토그래피 제품 풀(capture chromatography product pool) 처리법은 단클론항체와 같은 세포배양 유래 제품의 제조 공정 중 레트로바이러스를 불활화하는 데 널리 사용 되어왔다.

불활화 효율은 pH로 측정되는 수소 이온(불활화제) 농도, 배양 시간 및 온도, 완충액 매트릭스에 따라 달라진다. 극도로 높은 이온 강도 역시 불활화 효율에도 영향을 미칠 수 있다.

표 A-3에서는 공정 파라미터와 이들이 낮은 pH 조건의 XMLV 불활화에 미칠 수 있는 잠재적 영향을 요약하고 있다.

표 A-3: 낮은 pH 불활화 및 XMLV에 대한 영향과 관련된 공정 매개변수 및 잠재적 영향 요약

| 공정 매개변수 | 잠재적 영향 | 근거 |
|--------------------------|--------|---|
| pH | 높음 | 불활화제 |
| 배양 시간 | 높음 | 불활화 기전은 시간 의존적 |
| 온도 | 높음 | 불활화 동역학에 미치는 영향 |
| 완충액 매트릭스 | 높음 | 가용한 자료에 따르면, 불활화의 완전성은 완충액 매트릭스에 의존적임 |
| 제품 농도 | 낮음 | 아래 기술된 조건에서, 불활화에 미치는 영향은 관찰되지 않음 |
| 단백질 응집체 형성 | 낮음 | 아래 기술된 조건에서, 불활화에 미치는 영향은 관찰되지 않음 |
| 제품 유형 | 낮음 | 단클론항체, 반항체(half antibody), 이중항체(bispecific antibody), 융합 단백질 또는 재조합 단백질에서는 불활화에 미치는 영향은 관찰되지 않음 |
| NaCl 농도 ^a | 낮음 | 염화나트륨 ≤ 500 mmol/L인 경우, 영향 없음 |
| 바이러스 입자와 제품 간의 잠재적인 상호작용 | 낮음 | 불활화에 미치는 영향은 관찰되지 않음 |

a. 현재까지 다른 완충액들의 이온 강도에 따른 영향에 대한 자료는 제한적임.

현재 공정에 대한 이해와 일관되게, 염화나트륨 농도 ≤500mmol/L, ≥30분, ≥15℃, ≤pH 3.6의 낮은 pH 처리는 XMLV를 효과적으로 불활화한다. 아세트산 및 구연산 완충액이 가장 일반적으로 사용되며, 완전한 XMLV 불활화를 가능하게 해준다.

현재 공정에 대한 이해에 따르면, 플랫폼 밸리데이션 접근법을 낮은 pH 처리에 의한 XMLV 불활화에 적용할 수 있다.

5.4 바이러스 여과

바이러스 여과의 일차적인 작용기전은 크기를 기반으로 입자를 제거하는 것이다. 일반적으로, 필터 세정에 사용되는 완충액의 체적 처리량(volumetric throughput) 뿐만 아니라 제품 중간체의 체적 처리량 그리고 압력/흐름 차단을 포함한 압력은 바이러스 여과에서 잠재적으로 핵심적인 파라미터들이다.

바이러스 입자 크기가 필터의 공극 크기 분포보다 훨씬 클 때는 제품과 바이러스 입자 간 잠재적인 상호작용은 핵심 사항이 아니다. 그러나 바이러스 입자 크기와 공극 크기가 비슷한 경우, 잠재적인 상호 작용이 바이러스 체류(virus retention)에 미치는 영향은 완전히 파악된 것은 아니다.

이 항의 나머지 부분에서는 소형 및 대형 바이러스 체류 필터(virus-retentive filters)로 대규모 바이러스 제거의 타당성을 주장하기 위하여, 다른 제품의 바이러스 여과에 대한 사전 지식과 내부 경험을 활용하는 데 중점을 두고 있다.

소형 바이러스 체류 필터를 사용한 효율적인 레트로바이러스 제거에 영향을 주는 요인은, 필터 유형(모델 및 특성), 흐름- 또는 압력-제어형 여과 방식, 접선(tangential) 또는 전량(dead-end) 유동 여과(flow filtration), 그리고 압력 중단과 같은 공정 파라미터의 변동과 관련하여 충분히 이해되어 있다. 바이러스 제거의 예측성 및 완전성을 기반으로, 이러한 공정 단계는 플랫폼 밸리데이션 접근법에 적합하다고 간주한다.

소형 바이러스 체류 필터를 사용하는 바이러스 제거의 경우, 한 가지 선택 사항은 파보바이러스 감소계수를 더 큰 구형/정십이면체 바이러스 및 외피 바이러스에 적용하는 것이다. 이로써, 더 큰 바이러스를 사용하는 밸리데이션 시험연구를 수행하지 않을 수 있다. 그러나, 때때로 이 방법은 파보바이러스가 필터를 통과한 결과 바이러스 제거 능력(예: 대형 바이러스 제거 능력)을 과소평가하게 될 수도 있다. 크기 기반의 작용기전 그리고 소형 바이러스-체류 필터를

사용하여 완전하고 완전하게 레트로바이러스 제거한 업계의 경험을 고려할 때, 업체들은 일반적으로 사용되는 소형 바이러스-체류 필터에 대해 플랫폼 방식의 대형 바이러스 제거를 주장하기 위해 파보바이러스 및 레트로바이러스 제거에 대한 내부 자료를 활용할 수도 있을 것이다.

크기 기반 제거 기전에 따르면, 바이러스가 소형 바이러스-체류 필터를 통과할 이론적인 위험성은 대형 바이러스보다 소형 바이러스가 더 높다.

제조 조건을 반영하는 용적 처리량(volume throughput) 및 여과 후 플러시 용적(flush volume)뿐 아니라 압력/흐름 중단이 미치는 영향에 대해 철저한 이해가 필요하다. 낮은 압력/흐름 또는 압력/흐름 중단이 특정 바이러스 필터 유형에 미치는 부정적 영향은 제한적일 수 있다고 본다.

파보바이러스 제거를 주장하기 위해 다른 제품에서 획득한 사전 지식 및 내부 경험을 사용한다면, 파보바이러스를 사용하는 제품 특이적인 확증 밸리데이션 시험을 최악의 조건을 고려하여 최소 1회 수행해야 한다(표 A-4 참조). 바이러스-체류 필터의 상표/모델은 공정 파라미터의 영향과 관련하여 바이러스 감소 및 그 완전성에 중요하며, 플랫폼 자료 설계 시 고려해야 한다.

표 A-4에서는 공정 파라미터 및 이들이 소형 바이러스-체류 필터 사용 시 파보바이러스 체류에 미치는 잠재적 영향을 요약하고 있다.

표 A-4. 소형 바이러스-체류 필터를 사용한 파보바이러스 제거에 관한 공정 매개 변수 및 잠재적 영향 요약

| 공정 매개변수 | 잠재적 영향 | 근거 |
|-------------------------------------|--------|--|
| 바이러스 필터에 주입된(loaded) 제품 중간체의 체적 처리량 | 높음 | 높은 체적/단백질 처리량은 특정 멤브레인 유형에 상이한 영향이 발생하면서 최악의 경우로 간주함 |
| 필터 플러싱을 위해 사용된 완충액의 체적 처리량 | 높음 | 높은 체적/단백질 처리량은 특정 멤브레인 유형에 상이한 영향이 발생하면서 최악의 경우로 간주함 |
| 압력/흐름 | 높음 | 압력/흐름은 필터 운용 상한을 초과해서는 안 됨. 낮은 압력/흐름은 특정 멤브레인 유형에서는 더 나쁜 사례가 될 수 있음. 압력/흐름 중단(여과 중에 또는 제품 중간체 여과로부터 필터 플러시로 전환 시에 발생한다면)을 고려해야 함 |
| 제품 유형 | 낮음 | 단클론항체, 반항체(half antibody), 이중항체(bispecific antibody), 융합 단백질 또는 재조합 단백질에서는 바이러스 제거에 대한 영향이 관찰되지 않음 |
| 제품 농도 | 낮음 | 바이러스 제거에 부정적 영향이 관찰되지 않음 |
| pH | 낮음 | 크기 기반 제거로 바이러스 제거에 부정적인 영향이 유발되지 않음. 더 낮은 pH값(< pH5)에서는 특정 멤브레인 유형에 상이한 영향이 발생하면서 제한적으로 부정적 영향이 있을 수 있음. |
| 이온 농도 | 낮음 | 바이러스 제거에 제한적 영향이 관찰됨 |
| 완충액 매트릭스 | 낮음 | 바이러스 제거에 제한적 영향이 관찰됨 |
| 바이러스 입자와 제품 간의 잠재적인 상호작용 | 낮음 | 바이러스와 항체 간의 특이적 상호작용은 바이러스 체류를 증강할 수 있음 |

부록 6: 유전자 변형 바이러스 벡터 및 바이러스 벡터-유래 제품

6.1 서론

생명공학기술의 진보는 특성이 분석된 사람 또는 동물 기원(즉, 조류, 포유류 또는 곤충)의 세포은행을 사용해 제조된 새로운 유형의 제품을 발현하는 새롭고 진보된 생산 플랫폼의 등장으로 이어졌다. 부록 6에는 단백질 발현을 위해 헬퍼 바이러스 및 바이러스 벡터를 사용하거나(이 경우, 생산 바이러스로 총칭함) 또는 안정적으로 또는 일시적으로 형질주입된 세포주에서 생산할 수 있는 유전자 변형 바이러스 벡터 및 바이러스 벡터 유래 제품을 다룬다. 여기에 수록된 제품들은 제품의 물리화학적 특성을 기반으로 바이러스 제거가 가능한 것들이다. 이러한 제품에는 배쿨로바이러스(baculovirus)/곤충 세포를 사용해 생산된 단백질 서브유닛 및 바이러스 유사입자(VLPs), 나노입자-기반 백신 그리고 AAV와 같은 바이러스 벡터 제품이 포함된다. 이러한 벡터들은 *in vivo* 또는 *ex vivo*에 적용할 수 있다.

헬퍼 바이러스 독립형 제품(Helper virus independent product)은 안정적 또는 일시적 형질주입 세포주를 사용하거나 또는 재조합 단백질 발현을 위한 바이러스 벡터 또는 바이러스 유사입자(예: 재조합 배쿨로바이러스)로 감염하여 제조할 수 있다. 헬퍼 바이러스 의존형 제품(Helper virus dependent product)은 제품의 발현 또는 바이러스 벡터의 복제를 위해 헬퍼 바이러스가 필요하다(예: 단순포진바이러스 또는 아데노바이러스와 같이 바이러스가 필요한 아데노부속바이러스(AAV)).

생물의약품을 위한 바이러스 오염의 잠재적 오염원은 가이드라인 본문의 2.항에서 기술하고 있다. 발현시스템을 통해 도입된 것과 같은 추가적인 바이러스 오염 위험 그리고 복제 가능 바이러스에 의한 오염 가능성을 고려해야 한다. 제품 제조 중 외래성 오염 가능성을 평가할 때는, 세포기질의 외래성 바이러스에 대한 감수성(susceptibility)을 고려해야 한다. 특성이 잘 분석된 세포은행 및 바이러스 시드의 사용으로 바이러스 오염 위험을 줄일 수 있다. 생산 바이러스는 공정-관련 불순물로 간주된다.

물질 구매, 제조공정 중 적절한 단계에서 바이러스 시험 그리고 제조공정을 통한 외래성 바이러스 및 생산 바이러스의 제거 및/또는 불활화에 대한 포괄적인 프로그램을 적용하여, 새로운 제품 유형에 대한 바이러스 안전성 및 오염 관리를 보장해야 한다. 바이러스 제거에 한계가 있다면, 바이러스 안전성은 원료물질 및 시약에 대한 시험 및 관리 그리고 제조공정에 중점을 두어야 한다.

이에 따라서 제품의 바이러스 안전성을 증명하기 위하여 위해성 기반 접근법을 적용해야 한다.

6.2 바이러스 시험

내인성 및 외래성 바이러스 두 가지 모두에 대한 광범위한 시험 및 특성 분석을 제품의 전반적인 안전성을 뒷받침하기 위해 적절한 제조 단계에서 수행해야 한다. 제품 유형 및 관련 위해 요소를 기반으로 시험 계획을 제품 생애 주기 전반에 걸쳐 적용해야 한다. 아래의 표 A-5에서는 생산 중 여러 단계에서 실시하게 되는 시험의 개요를 제시하고 있다. 바이러스 시드, 미처리 원액(수득물) 및 정제 원액/원료의약품에 적용되는 시험이 기술되어 있다. 바이러스 벡터 생산에 사용되는 세포기질을 위한 시험 및 특성 분석 계획은 가이드라인 본문의 표 1을 참조하도록 한다. 이러한 제품 유형에 적용할 수 있는 추가 고려 사항 또한 표 A-5에 기재되어 있다. 생산 세포(producer cell)가 생산 공정을 거치며 생존할 수 없다면, LIVCA는 비형질주입 세포에 적용된다.

시험의 유형 및 범위는 세포기질 및 제조공정과 관련된 특이적 위해 요소를 고려면서 위해성 평가를 기반으로 달라진다. 고려해야 할 요소에는 세포기질 및 바이러스 시드/벡터의 기원, 계대 이력 및 특성, 사용된 원료물질 및 시약의 기원 및 생산, 사용된 세포배양 절차, 생산 바이러스의 사용, 그리고 제조공정의 바이러스 불활화 및 /또는 제거 능력이 포함된다.

표 A-5: 해당 제조 단계에서 실시해야 하는 시험

| 시험 | MCB, WCB, LIVCA 세포 | 바이러스 시드 ⁱ | 비처리 원액 (수득물) | 원료의약품 (정제 원액) |
|---|------------------------|----------------------|------------------|------------------|
| 외래성 바이러스 시험 | | | | |
| [<i>In vitro</i> 시험 또는 NGS ^b] ^a , | 가이드라인 본문의 표 1 참조 | + ^g | + ^g | - |
| <i>In vivo</i> 시험 또는 NGS ^b | | + ^g | - ^{g,j} | - |
| 특이적 바이러스에 대한 시험 ^c | | + ^h | + | - |
| 레트로바이러스, 및 내인성 바이러스, 생산 바이러스 및 복제 가능 바이러스에 대한 시험(해당하는경우) | | | | |
| 레트로바이러스 및 내인성 바이러스 | 가이드라인 본문의 표 1 참조 | + | - ^{d,j} | - |
| 생산 바이러스 | - | - | + ^e | + ^e |
| 복제 가능 바이러스 | - | + ^f | + ^f | + ^f |

- a. MCB, WCB, LIVCA, MVS 및 WVS를 위한 감수성이 있는(permissive) 세포에 대한 28일 시험을 2주 시점에서 최소 1회 하위 배양하며 수행해야 한다. 미처리 원액의 경우, 이 시험은 위해성 평가(세포기질, 생산을 위한 배양 기간, 동물 유래 원료물질 또는 시약 사용, 그리고 공정의 바이러스 제거 수준을 고려 하여)를 기반으로 타당성을 제시한다면 제품에 대해 14일로 축소할 수 있다. 지표 세포배양물은, 지역 내의 현행 규정 및 지침에 따라, 세포변성(cytopathic) 바이러스, 혈구 흡착 및 혈구응집 바이러스에 대해 모니터해야 한다. 곤충 세포주에서 생산된 제품의 경우, 시험에는 아르보바이러스 감수성이 있는(permissive) 세포주(예: BHK 세포)에 대한 시험이 포함되어야 한다. NGS는 대체 시험법으로 사용할 수 있는데, 바이러스 벡터 또는 바이러스 벡터 유래 산물을 증화할 수 없다면 특히 유용할 수 있다. 바이러스 시드 및 미처리 원액 수득물에 시험을 해야 한다. 일부 경우에는, 미처리 원액 수득물은 원료의약품과 동일할 수 있다. 단, 규제기관과 사전에 상의할 것을 권고한다.
- b. 비표적 NGS는 *in vivo* 분석을 대체할 수 있고(3.2.3.항) *in vitro* 분석을 보충하거나 대체할 수 있다(3.2.2.항). 단, 규제기관과 사전에 상의할 것을 권고한다.
- c. 시험은 세포기질의 기원 및 이력, 바이러스 시드의 유래, 그리고 사람 또는 동물 유래 원료물질에 대한 잠재적 노출을 포함하는 위해성 평가를 기반으로 한다. 세포배양-기반 감염성 분석, 항체 생성 시험(MAP, HAP, RAP), 바이러스 특이적 NAT 또는 기타 분자적 방법(예: NGS)과 같은 방법을 사용할 수 있다. 세부 내용은 3.2.4항을 참고한다. 여기에는 중-특이적 바이러스에 대한 시험을 포함할 수 있다. (예: 곤충세포의 아르보바이러스 그리고 혈청이나 트립신을 사용한다면, 각각 소 또는 돼지 바이러스) 단, 규제기관과 사전에 상의할 것을 권고한다.
- d. MCB 또는 바이러스 시드가 레트로바이러스에 대해 양성이라면, 후속 조치에는 바이러스 제거 목표 수준을 결정하기 위해 최소 3개 배치에서 미처리 원액 수득물 내에 존재하는 잠재적인 레트로바이러스 입자의 정량화가 포함되어야 한다. MVS의 경우, 위해성이 잔존 한다면 미처리 원액 수득물에 대한 시험을 고려할 수 있다.

- e. 바이러스 제거 목표 수준을 결정하기 위해 최소 3개 배치를 사용하여 미처리 원액 단계에서 생산 바이러스의 정량화를 실시해야 한다. 민감한 바이러스 검출을 위하여 ‘관련’ 감수성이 있는 (permissive) 세포주를 사용하는 감염성 분석을 통해 원료의약품(정제 원액)에서 생산 바이러스가 존재하지 않음을 증명해야 한다. 다른 방법으로는 분자적 방법을 시험에 활용할 수 있다. 잔류 생산 바이러스의 부정 시험은, 완전성 있는 과잉 제거(robust excess clearance)를 통해 타당성을 입증하지 못한다면, 각각의 정제 원액에서 수행해야 한다. (사례 F, 표 4).
- f. 복제 가능 바이러스(RCV)는 제조 중 모든 단계에서 형성될 수 있다. 권고사항에는 제조의 다수 단계에서 RCV에 대한 시험이 포함되어 있다. RCV 시험은 최대 검출을 위해 상황에 적절하게 바이러스 시드/은행 그리고 각각의 미처리 원액 수득물 또는 각 원료의약품이나 완제의약품에 실시한다.
- g. *in vitro* 또는 *in vivo* 분석 시 간섭이 발생할 수 있을 때는 병행하여 배양된 대조세포를 바이러스 시드 및/또는 미처리 원액 수득물 단계에서 시험한다. 바이러스 시드 및 미처리 원액에 NGS를 사용한다면 대조 배양물의 시험은 필요하지 않다. 단, 규제기관과 사전에 상의할 것을 권고한다.
- h. 세포은행을 시험하지 않았다면 시험을 해야 한다.
- i. 시험을 바이러스 시드에 적용해야 한다. 제품 유형에 따라 바이러스 시드를 백신 바이러스, 바이러스 벡터 또는 헬퍼 바이러스를 제조하기 위해 사용할 수 있다. 바이러스 시드는 확립된 세포주에서 생성된다. 위해성 기반 접근법과 일관되게, 바이러스 시험에서는 외래성 바이러스의 부재 및 복제 가능 바이러스의 부재를 확인하기 위해, 바이러스 시드 조제에 사용된 세포주 그리고 원료물질 및 시약의 기원을 고려해야 한다. WVS는 MVS에서 직접 유래한 것이므로, 위해성 평가를 기반으로 외래성 인자 시험 중 일부 시험이 적용된다. 전체 시험을 MVS에서 실시하는 것보다 각각의 WVS에서 실시하는 대체 접근법 역시 허용할 수 있다.
- j. 위해성 평가를 기반으로 한 시험

6.3 바이러스 제거

외래성 바이러스, 내인성 바이러스 그리고 잔류 생산 바이러스의 오염 위험은 본 가이드라인의 일반 원칙에 따라 가능한 최대 범위까지 완화해야 한다. AAV와 같은 일부 바이러스 벡터 제품은 바이러스 제거 단계 실시가 가능하므로, 외래성 및 생산 바이러스 제거(불활화 또는 제거)를 보장할 수 있다.

바이러스 제거는 대표성이 있고 적격한 규모-축소 모델을 이용해 평가해야 한다. 바이러스 벡터 및 바이러스 벡터 유래 제품의 물리화학적 특성에 따라, 바이러스

제거가 제조공정의 하위 단계(downstream process) 내에 적용되는 방식이 결정될 것이다. 바이러스 제거 시험연구에는 생산 바이러스 자체 또는 특정 ‘모델’ 바이러스(예: 배쿨로바이러스(baculovirus), 아데노바이러스(adenovirus), 헤르페스바이러스(herpesvirus)), 및 외래성 및 내인성 바이러스를 대표하는 ‘모델’ 바이러스를 포함해야 한다(표 A-1 참조). 표 4에 기술된 특이적 및 불특정 ‘모델’ 바이러스의 선택을 위한 행동 계획과 관련해서는 5.항 및 6.항을 참조하도록 한다. 제조공정에서는 단백질 발현을 위한 바이러스 벡터 또는 헬퍼 바이러스를 완전하게 제거해야 한다. 외피 미보유 바이러스 벡터와 같이 제품이 적합하다면 계면활성제 또는 용매/계면활성제 처리와 같은 일반적인 바이러스 불활화 단계가 적절할 수 있다. 다른 방법으로, 바이러스 제거를 크기배제(size exclusion) 기반으로 할 수 있는 경우 AAV 또는 나노입자 기반 백신과 같은 소형 바이러스 벡터에는 바이러스 여과가 더 적합할 수 있다. 크로마토그래피 단계는 바이러스 벡터와 표면 성질이 다른 바이러스를 제거할 수 있다. 적절한 경우, 바이러스 제거 시험연구는 생산 공정의 해당 단계에 대한 바이러스 감소 인자(risk factors)를 결정하기 위해 실시해야 한다. 예시로는 배쿨로바이러스(baculovirus)/곤충 세포를 사용해 생산되었고, 정제가 가능하며, 제조공정을 통해 바이러스 제거를 달성할 수 있는 서브유닛 단백질 및 VLP가 있다.

이러한 제품의 바이러스 안전성을 위해서는 밀폐형 공정, 시험 및 기타 예방 관리도 활용할 수 있다(2.2.항, 3.항 및 4.항 참조). 생산 중 바이러스 제거 공정은 재조합 단백질의 경우 동일한 완전성을 달성하지 못할 수 있으므로, 따라서 제품의 바이러스 안전성은 위해성 평가로 뒷받침해야 한다.

세포 유래 생명공학 의약품의 바이러스 안전성 평가 가이드라인 [민원인 안내서]

발행일 2024년 12월

발행인 식품의약품안전처 식품의약품안전평가원장 강 석 연

편집위원장 식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부장 최 영 주

편집위원 (바이오생약심사부 생물제제과)

김재욱, 심영훈, 김연희, 이연희, 장석기, 박상미, 양미숙, 송주정, 이은경,
박소영, 신진영, 이현, 이은조

(바이오생약심사부 유전자재조합의약품과)

김호정, 진미령, 배창준, 김영은, 전설희, 박혜원, 김효진, 강소영, 민아름,
임형섭

(바이오생약심사부 세포유전자치료제과)

왕소영, 백대현, 강진욱, 백정희, 이가영, 박동현, 유혜선, 이재린, 문명숙,
허혜련, 최진실, 안난영

(바이오생약심사부 백신검정과) 김지현

도움주신분 (다이나믹바이오 관련 분과)

생물학적제제분과, 유전자재조합의약품분과, 첨단바이오의약품분과

발행부서 식품의약품안전처 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부

[공직자 부조리 및 공익신고안내]

▶ 부패·공익 신고 : 식약처 홈페이지 “국민소통 > 국민신문고·제안 > 부패·공익신고” 또는
국민권익위원회 청렴포털 부패공익신고(www.clean.go.kr) > 신고하기



공익신고자 보호제도란?

-공익신고자등(친족 또는 동거인 포함)이 공익신고등으로 인하여 피해를 받지 않도록
비밀보장, 불이익보호조치, 신분보호조치 등을 통하여 보호하는 제도

♣ 보호조치 요구 방법

우편(30102) 세종특별자치시 도움5로 20 정부세종청사 7동, 국민권익위원회 공익보호지원과
전화 044-200-7770, 7772~8 / 팩스 044-200-7949

“청렴한 식약처 국민 안심의 시작”