

등록번호
안내서-1254-01



단클론항체의약품 개발 및 품질평가 가이드라인 (민원인 안내서)

Guideline For development and quality control for monoclonal antibodies

2022. 11.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

바이오생약심사부 유전자재조합의약품과

지침서 · 안내서 제 · 개정 점검표

명칭

단클론항체의약품 개발 및 품질평가 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
	<input type="checkbox"/> 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서 · 안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.		
지침서 · 안내서 구분	<input type="checkbox"/> 행정사무의 통일을 기하기 위하여 내부적으로 행정사무의 세부 기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	<input type="checkbox"/> 예(☞ 지침서) <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	<input type="checkbox"/> 민원인들의 이해를 돕기 위하여 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원업무에 대한 행정기관의 대외적인 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	<input checked="" type="checkbox"/> 예(☞ 안내서) <input type="checkbox"/> 아니오
기타 확인 사항	<input type="checkbox"/> 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설 · 강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	<input type="checkbox"/> 예 <input checked="" type="checkbox"/> 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서 · 안내서 제 · 개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	

상기 사항에 대하여 확인하였음.

2022 년 11 월 29일

담당자 김 효 진
 확 인(부서장) 오 우 용

이 안내서는 단클론항체의약품 개발 및 품질평가에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 참고로만 활용하시기 바랍니다. 또한, 본 안내서는 2022년 11월 29일 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 민원업무에 대한 행정기관의 대외적인 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 바이오 생약심사부 유전자재조합의약품과에 문의하시기 바랍니다.

전화번호 : 043-719-3510

팩스번호 : 043-719-3500

제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	안내서-1254-01	2022.11.	제정

목 차

1. 서론	4
2. 적용범위	5
3. 일반적 고려사항	5
4. 제조	13
4.1. 정의	13
4.2. 일반적인 권장사항	14
4.3. 표준품	14
4.4. 기원물질 관리	15
4.5. 단클론항체 생산 관리	21
4.6. 보관검체	33
4.7. 라벨링	33
4.8. 유통 및 운송	33
4.9. 안정성 시험, 보관 및 사용기한	33
5. 참고문헌	35

1. 서론

특정 질환과 연관된 단백질이나 체내 면역체계에서 중요한 기능을 담당하는 단백질 등을 항원으로 하는 단클론항체의약품들이 개발되고, 제조 및 품질보증에서 기술적 발전이 이루어졌으며, 특히 재조합 DNA와 복제 기술의 사용이 두드러지고 있다. 단클론항체의약품은 특정 목표부위에만 작용하여 부작용이 적은 장점이 있으나, 작용기 기능에 의한 치료 효과 뿐 아니라 이상반응도 발생할 수 있으므로 단클론항체의 품질에 대한 다각적인 평가가 필요하다.

단클론항체(Monoclonal antibody, mAb) 및 관련 항체 유사 단백질의 유형과 다양성은 많은 발전을 이루었으며, 다음과 같은 유형을 포함한다. 단클론 세포주에서 유래한 면역글로불린으로서, 변형되지 않은 면역글로불린(intact immunoglobulin), 면역접합체(immunoconjugation), 키메라(chimeric) 및 인간화(humanized) 면역글로불린, 완전한 인간 면역글로불린(fully human immunoglobulin), 단사슬 가변 절편(single-chain variable fragments(scFv' s), 항원-결합 절편(antigen-binding fragments(Fab), 결정화 절편(cristallizable fragments(Fc), 단일 도메인 항체(single domain antibodies), 이중특이적 또는 다중특이적 항체(bispecific or multipecific antibodies), Fc 융합 단백질(Fc-fusion proteins), 폴리에틸렌글리콜(PEG) 또는 활성 원료의약품과의 접합 등을 통해 화학적으로 변형된 단클론항체 또는 관련 항체 단백질 복합제(antibody cocktail) 등을 지칭한다.

이 가이드라인은 항체의약품의 개발, 제조, 품질관리에 대한 원칙과 일반적인 요건을 설명하고 있다. 이 가이드라인은 투여 후 생체 내에서 항체 생성을 위해 암호화되는 유전자 서열의 전달을 위해 벡터 또는 유사 기술을 사용하는 핵산 기반 제품에는 적용되지 않는다. 또한, 단클론항체 관련 동등생물의약품에 대한 특성분석 및 품질 평가에 대한 고려사항은 “동등생물의약품 평가 가이드라인”을 참조할 수 있다.

2. 적용범위

이 가이드라인은 단클론항체의약품의 품목허가를 위해 개발, 제조, 품질관리 시 고려사항에 대해 다루고 있다.

3. 일반적 고려사항

단클론항체는 단클론 세포주에서 유래하며 정의된 특이성을 가지는 면역글로불린이다. 단클론항체의 면역학적 활성은 리간드 또는 항원에 특이적으로 결합하는 것을 특징으로 하며 다른 작용기 기능에 의해 결정될 수 있다. 치료용 단클론항체의 성공은 주로 그 특이성과 단클론항체의 개발을 이끈 기술 발전 때문일 수 있다. 그러나 단일 분자 내에 다중 기능 도메인이 있는 단클론항체는 구조적으로나 기능적으로 복잡한 단백질이므로 단클론항체의 생산 및 품질관리에 영향을 미칠 수 있으므로 단백질의 특성과 대량 생산 능력 등을 충분히 고려하여야 한다.

항체 개발

단클론항체는 무린 하이브리도마 기술(murine hybridoma technology), 파지 디스플레이 기술(phage display techniques) 등을 통해 개발되어졌다. 사람 면역글로불린 유전자만을 발현하는 형질전환 마우스 또한 완전한 인간화 항체 확인을 위한 효과적인 대안을 제시하였다. 보다 최근에는 동일한 항체 분자 내에서 상이한 특성을 가지는 ScF_v 또는 Fab(Antibody binding fragment)와 같은 항원 결합 도메인을 연결함으로써 새로운 기능을 가진 이중특이적 항체, 단클론항체 또는 항체 절편을 저분자 약물과 접합시켜 특정 부위 또는 조직에 약물 표적화 등 지속적인 개발과 발전이 이루어지고 있다.

단클론항체(mAb) 구조는 제품의 면역학적, 작용기 기능이 중요하므로 특정 표적, 해당 표적에 대한 항체 친화도, 단클론항체(mAb) 반감기 및 작용기전을 포함하여 예상 적응증에 대한 단클론항체(mAb) 적합성 근거를 충분히 고려해야 한다. 이를 위해서는 질병 발생에 있어서 표적의 역할과 단클론항체(mAb)가 생물학적 활성을 나타내는 방식(예: 리간드 결합, 감염원의 수용체 결합 차단, Fc region을 통한 세포독성 매개)에 대한 충분한 정보가 있어야 한다. 의약품의 안전성 유효성을 보장하기 위해서는 단클론항체(mAb)의 구조 또는 번역 후 변형이 사람 면역글로불린과 다른 경우 환자의 항약물 항체반응을 유발할 위험성을 고려해야 한다.

세포기질 및 단클론항체(mAb) 생산

단클론항체(mAb) 생산을 위해 선택된 세포주는 배양 시 안정적이며 목표하는 품질의 생물학적 활성 단백질을 일관되게 생산하는 능력이 있어야 한다.

유전적으로 안정하고 무한증식하는 단클론 세포주를 얻기 위해서는 세포 융합이나 형질 전환을 통한 인간 혹은 인간 외 B-림프구의 불멸화 과정이 필요할 수 있으며, 이 방법을 선택할 경우 타당한 근거가 제시되어야 한다.

모세포주로서 인간 B-림프구를 사용하는 경우 기타 병원성 외래 인자에 의한 오염 가능성에 대하여 고려하여야 한다.

배양 배지와 성장 조건은 세포 성장, 생산된 단클론항체(mAb)의 품질 등에 직접적인 영향을 미친다. 포유류 세포의 배양 배지는 복잡하며 세포의 영양 공급을 위해 동물 혈청이 조성에 포함되어 있다. 전염성해면상뇌증(TSE)의 원인이 되는 외래인자(예: 프리온(prion), 동물 유래 바이러스) 위험성을 줄이기 위해 CHO 및 NS0 세포를 포함한 다양한 세포 기질에 적합한 동물성 성분이 없는 배지를 사용할 수 있다. 동물 세포 배양 조건은 명확하게 정의되어야 하며, 온도, pH, 용존 산소 및 이산화탄소가 식별된 다른 중요 매개변수와 함께 모니터링 되어야 한다. 다양한 세포 배양 시스템(예: 유가(fed-batch), 관류(perfusion), 연속(continuous))을 사용하여 세포 성장 또는 단클론항체(mAb) 생산을 촉진할 수 있다.

정제(다운스트림) 공정

세포 성장 및 생산 단계 이후에는 세포기질로부터 원하는 항체를 회수한다. 일반적으로 이 공정의 첫 번째 단계는 원심분리, 심층 여과 및 막 여과를 사용하여 세포와 세포 파편을 제거한다. 다음 정제공정에서는 항체를 포집하기 위해 단백질 A 또는 단백질 G 크로마토그래피를 사용하며, 다음 정제공정을 통해 불순물을 제거한다. 마지막으로 항체 물질을 농축 또는 완충액으로 정용 여과 후 충전 및 보관한다.

외래성 인자에 의한 오염 위험을 낮추기 위해 단백질 A(또는 단백질 G) 크로마토그래피 매질의 출처와 조제 방법을 고려해야 한다. 정제공정은 생산 시스템에 따라 바이러스 안전성에 대한 요건을 고려해야 하며 적절한 바이러스 제거 단계를 포함해야 한다.

항체의약품 간의 구조적 유사성을 갖는 물질이라 하더라도 품질 속성이 공정 및 제품에

따라 달라질 수 있으므로 품질관리 전략도 제품에 따라 달라져야 하며, 분석 방법의 적절성을 충분히 고려해야 한다.

설계 기반 품질(QbD)

설계 기반 품질(QbD)은 일관된 제품의 품질, 안전성 및 유효성을 보장하기 위해 의약품, 제조에 사용되는 공정 및 공정 관리 관련 정보를 활용하는 체계적인 의약품 개발 방식이다. 이 접근법의 기본 원칙은 ICH가이드라인 Q8 - Q11에 나와 있으며, 항체의약품의 전주기 관리 전반에 걸쳐 적용된다.

항체의약품의 품질관리 및 품질보증은 안정성, 약동학 및 약력학, 면역 반응원성, 안전성 및 유효성에 영향을 미칠 수 있는 번역 후 변형을 가진 매우 크고 복잡한 단백질의 특성으로 인해 어려움이 있으며, 단클론항체(mAb)는 품질에 영향을 미칠 수 있는 공정 및 제품 관련 불순물이 존재한다. 또한, 배양 조건은 단클론항체(mAb) 구조에 큰 영향을 미칠 수 있으며 정제공정과 모든 유전적, 번역 후 또는 화학적 변형은 모두 일관된 품질의 의약품 생산에 어려움을 가중시킬 수 있으므로 개발 초기 단계에서 항체 물질 및 의약품의 품질 속성을 파악하고 공정 매개변수가 제품 품질에 미치는 영향을 이해하는 것이 중요하다.

이질성(Heterogeneity)

단클론항체(mAb)는 고유한 아미노산 서열을 특징으로 갖지만 생산 및 보관 중 물리 화학적 변형, 번역 후 변형 가능성도 있다. 실제로 원료의약품 및 완제의약품에는 일반적으로 전사 및 번역 과정에서 발생하는 낮은 수준의 서열 변이가 있다. 이질성(heterogeneity)은 제조공정에 따라 다르며, 배치 간 일관성을 보장하기 위해서는 항체의 활성, 유효성, 안전성 및 약동학 특성에 미칠 수 있는 영향을 파악해야 한다. 또한, 이질성(heterogeneity)은 치료용 항체의 장기 안정성과 면역원성 모두에 영향을 미칠 수 있지만, 일반적으로 사람의 자연 항체에서 발견되는 변형은 면역원성이 낮거나 안전성 위험을 초래할 가능성이 낮다. 일반적으로 치료용 항체와 관련된 변형 유형에는 N-말단 및 C-말단 변형, 당화, 무효소 당화, 이황화 결합 형성, 동형/변이체 및 다양한 기타 아미노산 관련 변형이 포함된다.

N-말단 피로글루타메이트(N-terminal pyroglutamate)는 자연 IgG(natural IgG)의 일반적인 변형이나, 제조 조건(예: 완충액 조성, pH, 온도)의 비교적 작은 변화로 치료용 항체의약품에서 다양한 수준의 N-말단 피로글루타메이트(N-terminal pyroglutamate)가 생성될

수 있다. 또 다른 N-말단 변형은 신호 펩티드의 불완전 제거로 인해 다양한 크기의 신호 펩티드가 포함된 항체가 생성되면서 이질성(heterogeneity)을 유발할 수 있다.

일반적으로 단클론항체(mAb)는 이후 동물 세포 배양 중에 기본 카르복시펩티드 분해효소 활성에 의해 제거되는 중쇄 상의 C-말단 라이신(lysine)에 의해 합성된다. C-말단 라이신(lysine)은 항체 구조, 안정성 또는 약동학적 특성에 영향을 미치지 않지만, Clq(Complement component 1q) 결합 및 보체 의존성 세포 독성(Complement-Dependent Cytotoxicity, CDC)을 방해하는 것으로 알려져 있다. 그러나 남아 있는 C-말단 라이신(lysine)은 투여 후 빠르게 제거된다. C-말단 라이신(lysine)에 의한 이질성(heterogeneity)은 질량과 전하 모두에 영향을 미치므로 질량 분석법, 등전점 전기영동 또는 이온교환 크로마토 그래피를 검출할 수 있다. 매우 낮은 수준을 보이는 사람 IgG와는 대조적으로 C-말단 아미드화 역시 CHO 세포에서 생산된 재조합 IgG 항체 변형으로 알려져 있다.

단클론항체(mAb)는 IgG의 Fc 영역에 N-당화 보존 부위를 가지고 있으며, 이 영역은 항체 형태에 큰 영향을 미치고 특정 글리칸 구조가 Fc γ 또는 고만노스 수용체(high mannose receptor) 결합에 영향을 미친다. 1차 구조에 따라 Fab 영역은 위치에 따라 항원 결합에 영향을 미칠 수 있는 N-결합 올리고당을 포함할 수 있다. 비당화 항체는 불안정해지고, 응집하는 경향이 있으며 수용체 결합 활성이 변하여 작용기 기능 및 면역원성에 잠재적인 영향을 미칠 수 있다.

단클론항체(mAb) 당화 관련 이질성(heterogeneity)은 주로 바이안테나리 복합 올리고당(biantennary complex oligosaccharides)의 갈락토실화(galactosylation), 푸코실화(fucosylation), 만노실화(mannosylation) 및 시알릴화(sialylation)와 관련있지만, 다른 저 과다 올리고당(low abundance oligosaccharides)도 이질성(heterogeneity)에 영향을 줄 수 있다. 이러한 변형은 결합 활성, 면역학적 기능(예: Fc γ 수용체 결합, Clq 결합 및/또는 ADCC(Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) 및 약동학에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 따라서 의약품 개발 중 당화 및 당형의 이질성(heterogeneity)에 대한 평가와 이해가 중요하다.

당화 패턴은 종마다 다르다는 점에 유의해야 한다. 사람에게 자연적으로 존재하지 않는 글리칸 종이 사람을 제외한 포유류 세포 시스템에서 생성되는 항체에서 발생할 수 있다. 예를 들어 Gal α 1-3Gal은 일부 포유류 종에서 생성되지만 사람 세포에서는 생성되지

않으며, 면역원성 반응을 유발할 위험이 있다. 또한, 세포 배양 조건은 당화 패턴에 큰 영향을 미칠 수 있으므로 배양 조건과 생산 시스템이 당화에 미치는 영향을 잘 이해하고 적절한 품질관리 전략을 선택하여 일관된 품질의 단클론항체(mAb)를 생산할 수 있도록 해야 한다.

당화반응(Glycation)은 환원당과 N-말단 또는 라이신(lysine) 측쇄에 있는 1차 아민 사이의 반응으로 세포 배양 배지에 존재하는 당으로 인해 항체 생산 중에 주로 발생하지만 보관 중 또는 당이 포함된 희석액 투입 시 발생한다. 당화반응은 분자량과 전하 모두에서 이질성(heterogeneity)이 나타날 수 있으며, 단클론항체(mAb)의 응집을 증가시킨다. 일반적으로 항체의 당화반응 수준은 낮고 생물학적 효과가 거의 없으나, 경우에 따라 상보적 결정 부위(complementary determining region, CDR)에서 라이신(lysine)의 당화반응이 항원 결합에 영향을 미칠 수 있으나, Fc 관련 작용기 기능에 거의 영향을 미치지 않는다.

IgG 시스테인 잔기 사이에 정립된 사슬 간 및 사슬 내 이황화 결합 배열은 항체 접힘 및 구조 안정성에 중요한 역할을 한다. 따라서 재조합 단클론항체(mAb)에서 이황화 결합 패턴 변화로 인해 발생하는 모든 이질성(heterogeneity)은 항체 구조, 안정성 및 생물학적 활성에 영향을 미칠 수 있다. Fab(antigen-binding fragments)와 힌지(hinge) 부위의 시스테인 사이에 형성된 서로 다른 사슬 간의 연결로 인해 발생하는 비전형적 이황화 결합을 가지는 변이체는 IgG2 및 IgG4에만 있으며, 재조합 단클론항체(mAb) 및 natural 항체(antibodies) 모두에서 불완전 형성 이황화 결합으로 인해 발생하거나, 항체가 CDR(Complementarity-determining regions)에 추가적인 시스테인 잔기를 포함하는 경우에 발생할 수 있다. 생물학적 활성 또는 안정성에 대한 유리 SH기(free SH-groups)의 영향은 제품마다 다르므로 각각의 특성에 맞게 평가해야 한다. 일부 생산 시스템에서 기존의 이황화 결합과 황화수소의 상호작용으로 인한 삼황화 결합의 형성이 보고된 바 있으나 삼황화 결합이 항원 결합이나 열안정성에 영향을 미친다는 증거는 없다. 이황화 결합이 디하이드로알라닌(dehydroalanine)과 시스테인의 가교 결합으로 인해 비환원성 티오에테르 결합(non-reducible thioether bond)이 형성되며, 이는 단클론항체와 사람 IgG 모두에 중쇄와 경쇄 간 이황화 결합에서 D-시스테인 잔기 발생을 나타낸다.

아미노산 곁사슬(amino acid side chains) 변형은 항체에서 관찰되는 이질성

(heterogeneity)의 주요 원인이다. 아스파라긴 및 글루타민 잔기의 탈아미드화는 단클론 항체(mAb) 미세환경(예: 완충액 조성, pH, 온도)에 따라 생산 및 보관 어느 단계에서든 발생할 수 있으며, CDR(Complementarity-determining regions) 잔기는 유연성과 배지 노출 때문에 탈아미드화에 취약하다. 아스파테이트의 이성질체화는 단클론항체(mAb)의 CDR에서도 나타나며 아스파라긴과 글루타민의 탈아미드화와 마찬가지로 항원 결합 및 역가에 영향을 미칠 수 있다. 아스파라긴 탈아미드화와 아스파테이트 이성질체화 반응 중간체인 숙신아미드는 CDR에서 주로 나타나며 역가를 감소시킨다. 재조합 단클론항체(mAb)에서는 메티오닌 산화가 자주 나타나며, Fc 부위(Fc region)의 잔기(conserved residues)에서 발생할 경우 안정성, 응집, 보체 의존성 세포독성, FcRn 수용체에 대한 결합 및 생체 내 반감기에 영향을 미치는 구조적 변화가 나타나며, CDR 트립토판 잔기는 산화에 민감하며 역가, 안정성 및 응집에 영향을 미칠 수 있다.

응집체(agggregates)와 절편(fragments) 모두 단클론항체(mAb) 생산물의 크기 이질성(size heterogeneity)에 영향을 주는 제품 유래 불순물로서 크기 이질성(size heterogeneity)은 품질, 안정성 및 유효성을 저하시킬 수 있다. 다양한 조건에서 발생하는 응집은 제조공정 또는 보관 중 발생할 수 있으며, 응집체의 크기와 성질은 일반적으로 응집체 형성 종류에 따라 달라진다. 응집에 의해 단클론항체(mAb)의 치료 특성이 저하되거나 응집체에 대한 의도치 않은 면역 또는 환자의 항약물 항체(Anti-drug antibodies, ADA) 생성을 유도할 수 있는 새로운 항원결정기가 나타날 수 있으므로 의약품의 생산 및 품질관리에서 응집에 대한 고려가 필요하다.

절편화(fragmentation)는 일반적인 분해 현상으로 자연히 발생하거나, 배양 중 세포에서 방출된 단백질 분해효소의 작용에 의해 발생될 수 있으며, 미량 원소 및 기타 배지 성분도 저분자량(low molecular weight species) 형성에 영향을 미칠 수 있다. 절편화 경향은 안정성, 제조 일관성 및 비교 동등성 평가 시 중요 요소로 적용될 수 있으므로 제조 과정에서 특성을 파악하고 관리해야 한다.

접합(Conjugation)

단클론항체에 저분자, 펩타이드 또는 기타 단백질 결합으로 원하는 조직을 표적화할 수 있고, 보다 개선된 약동학 및 약력학 프로파일을 위해 결합 기술을 사용할 수 있다. 세포독성 분자, 방사성 동위원소, 스테로이드, 사이토카인, mRNA 또는 폴리에틸렌

글리콜(PEG)의 반복 서열을 단클론항체 결합 물질(payload)로 사용할 수 있다.

단클론항체 중간체, 링커 및 페이로드는 결합 전에 일정한 품질 규격을 만족해야 하며, 단클론항체 중간체 규격은 비결합 단클론항체의 규격과 동일하지 않을 수 있지만 효율적인 결합이 가능해야 하며 원하는 구조, 순도, 불순물, 번역 후 변형, 결합 특성, 작용기 기능, 기타 생물학적 활성을 가지는 결합 물질을 생성할 수 있도록 갖추어야 한다.

특성분석(Characterisation)

제조한 제품의 일관된 품질을 위해서는 원료의약품 및 완제의약품에 대한 물리화학적 특성, 생물학적 활성, 순도, 불순물, 번역 후 변형에 대한 평가가 포함된 특성분석이 필요하며, 단클론항체 구조와 그 기능적 활성의 관계도 고려해야 한다.

원료의약품 및 완제의약품의 특성분석에는 일반적으로 1차 및 고차 구조를 확인한다. 단클론항체의 아미노산 서열은 뉴클레오티드 서열로부터 추론할 수 있고 펩타이드 맵핑과 질량 분석법으로 확인할 수 있다.

일반적으로 물리화학적 방법은 항체 이형 분석에 필요한 민감도를 제공하나, 특정 제조 방법으로 인해 발생하는 인공산물을 고려해야 한다. N- 및 C-말단 아미노산 잔기의 변이성은 전하와 질량에 미치는 영향을 검출하는 방법을 사용하여 평가할 수 있다. 시스테인 잔기 사이의 이황화 결합은 항체의 결합 및 구조적 안정성에 중요한 역할을 하므로 유리 설프하이드릴기(free sulphhydryl groups)의 존재와 이황화 결합 완전성을 고려해야 한다. 특히, 글리칸 구조와 만노실화, 갈락토실화, 푸코실화 및 시알릴화 수준을 고려해야 한다.

생물학적 활성의 특성분석에는 표적 항원결정기에 대한 특이성, 친화성 및 결합력을 파악하기 위한 결합 분석(binding assay)이 포함되어야 한다. 또한, Fc 작용기의 기능 분석(CDC, ADCC 및 ADCP(antibody-dependent cellular phagocytosis)), 바이러스 중화, 항증식, 세포독성 또는 기타 작용기전을 반영하는 세포 기반 분석 등의 적절한 분석법을 사용하여 평가해야 한다.

고려사항(Special considerations)

단클론항체 생산, 정제 및 기타 다운스트림 공정은 초기 임상 배치 생산 후 최적화를 위한 공정 변경이 발생할 수 있으므로 공정 및 제품 특성 분석은 개발 전 단계에 걸쳐

단클론항체 의약품의 비교동등성이 평가되어야 하며, 모든 변경은 임상 시험 또는 품목 허가 단계에서 확인되어야 하며 변경이 미치는 영향에 대한 고찰이 제출되어야 한다. 초기 임상 개발 중에는 생산된 배치에 대하여 공정 최적화가 진행중일 수 있으므로 공정 일관성을 입증하긴 어려우나, 제품에 오염물질이 없음을 입증해야 하며 후속 임상 물질 및 시판용 제품과 연결될 수 있도록 충분한 특성분석을 수행해야 한다. 이후 임상 단계 및 품목 허가 시점에서 제조 공정을 확립하고 연속적인 상용 배치(다른 정당한 사유가 없는 한 일반적으로 최소 3배치)에 대하여 공정 밸리데이션을 수행하여야 한다.

기준 및 시험방법(Specifications and analytical procedures)

단클론항체 물질 및 최종 의약품에 대한 시험과 공정 중 품질관리를 통해 초기 임상시험에서 사용된 배치의 안전성을 확인할 수 있다.

안전성, 함량, 역가, 확인 및 순도시험은 임상 개발 단계부터 필수적으로 설정해야 한다. 제품 및 공정 관련 불순물의 함량 상한값을 명확하게 설정해야 하며, 안정성 한계값 또는 임상시험 중 데이터 등의 근거자료가 뒷받침되어야 한다. 규격에 포함된 품질 속성과 순도, 제품 및 공정 관련 불순물, 함량, 역가 및 성능 등의 허용기준에 대한 타당성은 관련 개발 데이터, 비임상 및 임상 연구에 사용된 배치, 안정성 결과 등을 토대로 설정하고 근거자료로 제출되어야 한다.

초기 임상 개발 단계의 규격은 임상시험용 배치를 생산하는 동안 허용 가능 범위 설정을 위한 배치 수가 충분하지 않으므로 3상 연구 및 시판용 의약품의 규격보다 완화된 기준일 수 있다. 그러나 임상 연구가 진행됨에 따라 공정 성능 적격성 평가 전에는 적절한 규격 범위를 설정해야 한다. 이론적 계산을 통해 충분한 타당성을 입증할 수 있는 경우, 개발 초기 단계에서 공정 오염물의 잔류량(잔류 숙주세포 DNA 및 숙주세포 단백질 제외)을 측정하기 위한 시험은 설정하지 않을 수 있으나, 공정 관련 불순물의 제거율을 입증하는 데이터는 허가신청 시 제출되어야 한다.

후기 단계 임상시험에서는 모든 시험방법 및 설정한 규격의 타당성을 입증하여 품질, 안전성 및 유효성에 대하여 일관된 공정 능력 및 품질 일관성을 반영할 수 있어야 한다. 규격은 공정 및 시험방법 역량, 구조-기능 관계 연구, 제조 및 출하 이력, 안정성 배치 데이터, 공정서 수재 요건, 임상 적합성 등을 기반으로 설정할 수 있다.

표준품(International standards and reference materials)

생물학적 제제의 역가 또는 활성 균일성 보장을 위해 시험방법 적격성평가 또는 밸리데이션에 사용되며, 생산 로트 간 일관성을 보장하고 분석 편차 최소화를 위해 필요하다.

일부 단클론항체(mAb)에 대한 생물학적 정량(bioassay)을 위해 WHO 국제 참조품(WHO international reference preparations) 및 약전 표준품(pharmacopoeial standards)을 사용하여 임상 배치 성능에 대해 적절하게 검증되어야 한다.

4. 제조(Manufacturing recommendations)

4.1. 정의

4.1.1. 국제 명칭 및 고유 명칭(International name and proper name)

단클론항체의 mAb 절편(fragments)은 접두사(random prefix), 표적 분류와 종 또는 재조합 기원을 나타내는 삽입사(infixes), 뒤의 어미 “-mab” 으로 구성된 국제 일반 명칭이다. 변형된 mAb 및 mAb 유사 단백질(예: 접합mAb, mAb 절편, 다중특이적 mAb 등)의 개발이 증가함에 따라 2021년 10월 WHO 국제 일반 명칭(INN) mAb 명명 체계가 어미 “-mab” 대신 “-tug”, “-bart”, “-mig” 및 “-ment” 4가지로 변경되었다.

4.1.2. 기술적 정의(Descriptive definition)

mAb는 일반적으로 상수 도메인(constant domain, Fc), 항체 결합 절편(antibody binding fragment, Fab)과 가변 절편(variable fragment, Fv)을 포함하는 항원 결합 도메인으로 구성된 전장 면역글로불린(full-length immunoglobulin)이다. 단클론항체(mAb)는 유전자 변형, 키메라, 인간화 및/또는 완전 인간 항체일 수 있으며 정제 후 화학적으로 변형될 수 있다. 단클론항체(mAb) 절편은 일반적으로 Fab(antibody binding fragment) 또는 Fv(variable fragment)인 단클론항체(mAb) 단편 또는 단편 조합으로 구성되거나 단일 도메인 항체(VH 또는 VL 도메인)일 수 있다.

mAb는 CHO, SP2/0 또는 NS0 세포와 같은 배양된 포유류 세포, PER-C6 또는 HEK와 같은 인간 세포주, 세균 세포, 효모, 진균, 식물 또는 배양된 식물 세포로부터 생산될 수 있으며, 제제는 단클론항체(mAb) 절편 또는 유전자 변형 단클론항체(mAb)만을 생산하는 세포 또는 식물로부터 생성될 수 있다. 단클론항체(mAb) 또는 단클론항체 절편(mAb fragments)은 정제 후 약동학 및/또는 약리학 프로파일 변경을 위해 추가로 변형

될 수 있다. 제제는 서로 다른 항원결정기 또는 항원을 인식하는 2개 이상의 단클론항체 (mAb) 및/또는 단클론항체(mAb) 절편을 결합할 수 있으며 이를 항체 단백질 복합제 (co-formulated mAbs, antibody cocktail)라고 한다. 경구 투여를 목적으로 하지 않는 한 단클론항체(mAb) 제제는 멸균 수용액 또는 동결건조 물질로 제조되어야 하며 위에서 기술한 조건들을 만족해야 한다. 유사한 단클론항체(mAb) 또는 단클론항체 절편(mAb fragments) 간 차이가 있을 수 있으므로 모든 주성분 및 최종제품에 대한 명확한 설명과 특성 분석이 뒷받침되어야 한다.

4.2. 일반적인 권장사항(General manufacturing recommendations)

제조 공정에 관계없이 품목허가 전 상용 규모로 공정 성능 적격성평가(PPQ)를 수행해야 한다. 다른 정당한 사유가 없는 한 일반적으로 미리 정의된 수의 연속 배치(일반적 3배치)로 수행하며 모든 배치는 성분과 제품 모두에 대한 규격을 충족해야 한다. 모든 중간체, 성분 및 최종 제품의 품질관리에 사용되는 모든 분석 방법은 상용화 시점에서 검증하여야 한다. 검증된 기원물질, 제조공정, 표준품 또는 품질관리 시험방법에 대한 허가 후 변경에 대한 영향평가는 변경 실시 전에 평가해야 하며, 개발 진행 중 또는 품목허가 후 생산 공정이 변경되는 경우 변경 전·후 비교 동등성 평가를 수행해야 한다. 허가 후 변경 관련 PPQ 배치 수는 위험 기반 및 과학 기반 원칙에 근거하여 타당성이 입증되어야 하며, 주요 품질변화에는 최소 3개의 PPQ 배치가 필요하지만, 최소한의 품질변화가 예상되는 변경에는 더 적은 수의 배치가 허용될 수 있다.

4.3. 표준품(Reference preparations)

자사 및 2차 표준품은 관련 규정 및 가이드라인에 따라 설정 및 유지해야 하며, 동등 생물약품의 경우, 참조 물질의 적절한 선택 및 사용에 대하여 동등생물약품 평가에 관한 조건도 만족해야 한다. 국제 표준품 또는 참조 물질이 없는 경우에는 의약품 출시 당시 규격을 충족하는 로트의 의약품을 자체 참조 물질로 사용할 수 있으며, 참조 물질과 규격 설정은 승인받은 규격이어야 하며, 모든 표준품은 의도한 목적에 대한 적합성을 평가해야 한다. 정량적 방법(예: 역가)에 사용하는 표준품은 정확한 값 설정을 위해 엄격한 평가가 필요하며, 측정 횟수는 통계적으로 타당성이 입증되어야 하고, 평가 방법의 내재적인 분석 내 및 분석 간 변동성을 고려해야 한다. 모든 참조 물질의 평가에는 성상, pH, 단백질 농도, 확인, 순도, 활성 또는 역가를 평가하기 위한 시험이 포함

되어야 하며, 생물학적 참조 물질은 번역 후 변형과 화학적 변형뿐만 아니라 관련된 구조적 특성을 포함한 특성 분석을 수행해야 한다.

표준품은 1차 표준품과 상용 표준품으로 구성된 2단계 표준품 체계를 권장한다. 1차 표준품은 각 상용 표준품 배치의 적격성 평가와 향후 1차 표준품의 적격성 평가에 사용되어야 하므로 1차 표준품의 완전한 특성 분석이 필요하며 고차 구조, 단백질 농도, 순도, 품질 및 역가 등을 고려해야 한다. 이후의 표준품은 1차 표준품 설정 규격과 비교하여 역가를 설정해야 한다. 상용 표준품은 일차 표준품과 동일한 시험방법 및 관련 특성 분석 방법을 사용하여 평가하여야 한다. 추가적인 특성 분석에는 번역 후 변형, 열 안정성 및 등전점을 확인할 수 있다.

표준품은 주기적으로 적격성을 재평가해야 하며, 2단계 체계를 사용하는 경우 1차 표준품만 적격성 재평가를 수행할 수 있다. 1차 표준품 및 상용 표준품이 동일한 로트에서 생산된 경우 상용 표준품의 데이터를 사용할 수 있다. 적격성 재평가를 위해서는 의약품 품질에 영향을 미칠 수 있는 잠재적 변화를 평가할 수 있어야 한다. 모든 표준품은 후속 로트 분석에 사용하기 위해 안정성이 유지되는 조건에서 보관해야 하며, 사용기간 및 보관 방법은 안정성 데이터를 기반으로 설정하여 관리해야 한다.

4.4. 기원물질 관리(Control of source materials)

원료의약품 및 완제의약품 제조에 사용되는 모든 물질과 제조공정에서 사용하는 모든 물질(예: 배지 성분, 효소, 용매, 완충액, 정제 컬럼 수지 등)은 품목허가 시 제출자료에 포함되어야 한다. 가능한 공정서 수재 규격 물질을 사용하며 생물학적 기원의 원료에 대한 정보에는 기원, 규격, 품질관리 기준 및 시험이 포함되어야 한다. 공정서 미수재 수준의 원료를 사용할 경우 품질관리 시험 및 기준이 포함되어야 하며 용도에 적합한 표준을 충족해야 한다. 단클론항체(mAb) 결합체의 경우, 결합 과정 전에 단클론항체(mAb)에 결합할 링커 분자와 화합물의 품질관리 및 특성 분석을 고려해야 한다.

배양 배지 또는 다운스트림 공정 단계에 동물기원물질이 포함될 경우 생물학적 의약품과 관련된 전염성해면상뇌증(TSE) 관련 가이드라인을 준수해야 한다. 모든 동물기원물질은 외래성 인자 위험도를 평가해야 하며, 의약품 제조에 사용하는 배양 배지는 인체에 독성 또는 알레르기 반응을 일으키는 물질이 없어야 한다. 배양 배지에 이러한 물질이 포함되어 있는 경우 ICH Q9에 따라 적용 가능한 독성학적 평가와 허용 수준 미만의 제거율에 대한 증거가 뒷받침되어야 한다.

개발 후 단클론항체(mAb) 생산 세포주 또는 세포형을 변경하려면 변경 전·후를 적용하여 생산한 제품에 대한 비교동등성 평가를 수행해야 한다. 단클론항체(mAb) 특이성은 세포 또는 생산 개발 과정에서 검증해야 한다. 시험에는 표적 항원, 동종형 및 경쇄 조성과 반응하는 mAb에 대하여 웨스턴 블롯, 중합효소 연쇄반응(PCR)에 의한 mRNA, 당화 분석, 질량 분광분석법에 의한 아미노산 또는 펩타이드 맵핑 분석을 포함할 수 있다.

4.4.1. rDNA 기술을 사용한 단클론항체(mAb) 발현 시스템(Generation of mAb expression systems using rDNA technology)

rDNA(recombinant DNA) 기술을 통해 제조되는 단클론항체(mAb)는 신뢰할 수 있고 연속적인 숙주세포를 사용하여 생산해야 하며, 유래, 기원 및 이력을 포함한 숙주세포 정보가 확인되어야 하며, 숙주세포의 성장과 유지에 사용되는 모든 출발물질과 기원물질은 적절하게 관리되어야 한다.

단클론항체(mAb) 생산에는 다양한 원핵 및 진핵 발현 시스템을 사용할 수 있으며, 일반적으로 원핵 세포주(prokaryotic cell lines)는 무당화(non-glycosylated) 단클론항체(mAb) 및 단클론항체 절편(mAb fragment)에 주로 *E.coli*와 *Pseudomonas putida*가 사용된다.

진핵생물(eukaryotic system)은 주로 포유류(mammalian), 효모(yeast), 진균(fungal)과 곤충(insect) 세포주와 식물이 사용되며, murine SP2/0, NS0 및 human HEK293 세포도 많이 사용되지만 중국 햄스터 난소(Chinese hamster ovary cells)가 주로 사용되고 있다.

4.4.2. 발현벡터 및 숙주세포(Expression vector and host cell)

발현벡터를 유도하는 과정과 숙주세포를 선택하는 과정은 구체적으로 기술되어야 하며, 숙주세포의 기원 및 이력 그리고 숙주로 선정하기 위해 수행한 이전의 유전자 조작 또는 기술이 포함되어야 한다. 벡터 클로닝이 되는 유전자 확인, 벡터 구성요소의 유전적 요소 및 기능에 대한 세부 정보가 제출되어야 한다. 중요한 구성요소에는 복제 기점, 프로모터 및 항생 물질 마커, 벡터 개발에 사용된 부위를 나타내는 제한 효소 지도(resstriction enzyme map)를 포함하여 발현벡터의 암호화 서열을 파악하고 숙주세포에 제대로 발현됐는지 확인해야 한다. 숙주세포 변환에 대하여 생산에 사용되는 세포 클론 선택 근거, 잔여 벡터 여부, 복제수 모두를 기록해야 하며, 복제된 유전자(cloned gene)의 발현을 촉진하고 조절하는데 사용되는 모든 방식을 자세히 기술해야 한다.

4.4.3. 형질전환 식물(Transgenic plants)

선택된 기원식물은 제어된 환경에서 의도한 조건에서 재배하여 일관된 제품을 생산할 수 있어야 한다. 식물은 성장 환경, 스트레스 요인 또는 유전자 조작에 대한 반응으로 2차 대사산물(예. 독소 또는 기타 생리활성 물질)을 생산할 수 있으므로 적절한 다운스트림 시험(downstream testing) 및 정제공정의 구현을 보장하기 위해 식물이 생성할 수 있는 관련 2차 대사산물을 평가하는 것이 중요하다.

제조용 DNA 구조체 또는 바이러스 벡터의 특성 분석, 그리고 유전자를 식물에 도입하는 데 사용되는 기타 유전자 조작에 관한 세부 사항을 포함한 추적 가능하도록 자료로서 관리되어야 한다. 유전자 발현 시스템의 안정성과 종자 또는 식물 절단을 통한 지속성도 명확하게 증명되어야 한다.

식물에서 단클론항체(mAb)를 생산하는데 적절한 품질 속성을 가진 기원 물질을 사용해야 하며, 기원 물질 각 로트에 이물질이 있는지 평가해야 한다. 숙주를 원하지 않는 불순물에 의도치 않게 노출시키거나 제품 품질에 영향을 미칠 수 있으므로 오염 물질(예. 진균 및 기타 물질)을 최소화하기 위해 주의를 기울여야 한다.

4.4.4. 단클론항체 생산을 위한 하이브리도마의 생성(Generation of hybridomas for the production of mAbs)

림프구 분리, 림프구와 골수종 세포의 융합, 림프구 불멸화, 하이브리도마 선택 및 단클론항체(mAb) 스크리닝에 사용된 방법을 기록해야 한다.

4.4.4.1. 면역화 물질(Material used for immunization)

면역 림프구 생성에 사용되는 모든 면역보강제를 포함한 항원 물질을 정의해야 한다. 면역원이 사람에서 유래한 경우 공여자에 대한 관련 임상 데이터를 기록해야 한다.

4.4.4.2. 면역 모세포(Immune parental cells)

가능한 경우 면역 모세포의 기원을 문서화해야 하며 무린 단클론항체(mAb)의 경우 특정 병원체 부재(Specific-Pathogen-Free, SPF) 상태를 포함하여 동물 품종에 대한 정보를 제공해야 한다. 면역화에 사용되는 동물은 SPF(Specific-Pathogen-Free)여야 한다.

사람 면역 모세포의 경우 인간 공여자의 바이러스 감염 가능성과 관련된 모든 데이터가 제공되어야 하며, 공여된 면역 모세포의 검체는 바이러스 오염 가능성, 헌혈 및 혈액 제제 사용에 대한 국가 요건에 따라 선별되어야 한다.

4.4.4.3. 불멸화 방법(Immortalization procedures)

동물 세포 및 동물 유래 세포은행의 경우, 생물학적 의약품 제조를 위한 기질로서 동물 세포 배양물 평가 및 세포은행 특성분석 관련 가이드라인을 참고한다. 골수종 세포가 사용되는 경우, 그 기원, 유래, 이력, 명칭 및 특성에 대한 세부 사항과 융합 전 확장에 사용된 보관 배양 조건 등을 자세히 기술해야 하며, 면역 글로블린 자체를 합성하지 않는 불멸화 세포를 사용하는 것이 바람직하다.

사람 B 림프구는 일반적으로 Epstein-Barr Virus(EBV)로 감염시켜 불멸화되지만, 안정성이 보장되는 것은 아니며 이후 골수종과의 융합이 필요할 수 있다. EBV가 사람 B 림프구를 불멸화하는데 사용되는 경우 그 기원과 특성을 명확하게 명시해야 한다.

세포 배양에 대해서는 융합 또는 불멸화 전에 생물학적 물질의 무균성에 대하여 검증해야 하며, 모든 세포는 세균, 진균, 바이러스 및 마이코플라스마 오염에 음성이어야 하며, 확인된 모든 바이러스 오염은 기록하고 다운스트림 공정(downstream processing) 중 관리 및 제거 입증을 위해 위험 평가를 수행해야 한다.

4.4.5. 단클론항체 생산에 사용되는 동물

사람에게 사용하기 위한 단클론항체의 생산에 동물을 사용하지 않도록 권고하고 있으나, 동물 복수(ascites)에서 단클론항체(mAb)를 생산할 경우 단클론항체는 SPF (Specific-Pathogen-Free)에 모니터링된 집락에서 유래해야 하며 사람이나 영장류에 대한 감염 바이러스가 없어야 한다. 동물과 동물에 주입된 세포 모두 PCR 또는 기타 핵산 증폭 방법을 사용하여 해당 바이러스를 검사해야 한다. 동물이 사람이나 영장류에 대한 감염 위험 바이러스에 오염된 것으로 밝혀진 경우, 정제 공정에서 감염 바이러스 제거가 입증된 경우에만 최종 제품이 허용될 수 있다.

4.4.6. 세포 또는 종자은행 시스템(Cell or Seed Bank System)

단클론항체의 생산은 마스터 은행(master bank)과 제조용 은행(working bank)으로 구성

된 세포 또는 종자 로트 시스템을 기반으로 해야 한다. 제조용 은행(working bank)에서 유래한 세포 배양 또는 식물은 마스터 은행에서 유래한 세포 배양 또는 식물과 동일한 특성을 가져야 한다. 은행 생성에 사용된 원 세포주 또는 시드 라인 설정, 특성 분석 및 클로닝에 대한 정보가 기록되어야 한다.

순수 배양물이 생성되면 계대배양을 통해 마스터 세포은행(MCB)으로 생산해야 한다. 마스터 세포은행(MCB) 시스템을 사용하면 순수 배양물의 오염 또는 손실 위험을 줄일 수 있다. 마스터 세포은행(MCB)에서 유래한 제조용 세포은행(WCB)과 함께 2단계 세포 은행 시스템을 사용할 것을 권고한다. 마스터 세포은행(MCB)만 포함하는 1단계 시스템이 허용되지는 그 사용의 타당성을 입증해야 한다.

제품 개발 과정에서 생산 시스템이 일관된 품질의 단클론항체를 생산하는 것을 입증해야 하며, 생체 외 계대 한도 세포(end of production cells)는 이러한 일관성을 입증하기 위해 ICH 가이드라인 Q5B 및 Q5D에 따라 특성 분석을 수행해야 한다. 발현 구조체 암호화 서열의 일관성은 생산에 사용된 세포의 생체 외 세포 연령 한도나 그 이상으로 배양된 세포에서 검증되어야 한다.

세포 또는 종자은행 시스템에 대한 세부사항이 문서화되어야 하며, 여기에는 세포은행 계획, 크기, 용기 및 마개 시스템 유형, 세포은행 개발, 동결보호제, 사용된 배지, 배양 또는 재배 조건, 장기 보관 조건 및 이 조건하에서 발현 시스템의 안정성 증거에 관한 정보가 포함되어야 한다. 또한 세포 또는 종자은행에 대한 장기 안정성 모니터링 계획을 수립하여야 한다. 모든 세포 및 종자은행은 안정성을 입증하고 보장하기 위해 생존력과 원하는 제품을 생산할 수 있는 능력에 대해 모니터링되어야 한다.

4.4.7. 마스터 세포 또는 종자은행 관리(Control of master cell or seed banks)

모든 세포은행은 세포형에 관계없이 개발 초기에 확인, 순도, 적절한 제품별 암호화 서열 존재 여부를 확인하고 일관된 품질의 단클론항체 생산을 위한 세포 시스템 적합성 확립을 위한 시험을 수행해야 한다. 개발 공정 중 세포 특성 분석의 범위는 제조 확립 단계에서 필요한 일반적인 품질시험에 영향을 미칠 수 있다.

세포은행에는 ICH Q5A에 따라 검출 가능한 외래성 인자가 없어야 한다. 또한, 세균 세포 은행(bacterial cell banks)에는 박테리오파지(bacteriophage)가 없어야 하며, 마스터종자 은행(master seed bank)은 바이오버든(bioburden) 수준을 관리해야 한다.

4.4.7.1. 기질 확인시험(Identity tests for substrates)

모든 세포 및 종자은행은 확인시험을 실시해야 한다. 적절한 확인 시험방법은 세포 또는 종자 유형, 배양 또는 재배 조건, 가용 자원, 다른 세포 배양물 또는 식물이 동일한 시설에서 유지 여부에 영향을 받으며, 허용되는 방법 표현형(phenotyping), 동종효소 분석(isoenzyme analysis), 핵형(karyotyping), HLA 유형(Human leukocyte antigen typing), 유전자 염기서열 또는 차세대 염기서열(gene sequencing or next-generation sequencing, NGS), 단연쇄 반복(short-tandem repeat analysis)가 있다.

세포 또는 식물 형태 관찰 및 성장 곡선 분석과 같은 표현형 분석 방법은 세포 배양 성능에 대한 초기 피드백을 제공할 수 있으며 보관 중 세포 또는 종자은행의 안정성에 문제가 발생할 수 있는 시기를 파악할 수 있다. 동종효소 분석은 기원 종을 식별할 수 있지만 동일 종에서 다른 세포주와의 교차오염은 구별하지 못한다. 적절한 유전자 분석은 단클론항체 제조에 사용되는 세포 또는 식물 유형, 다른 세포와의 교차오염 위험, 보관 또는 재배 중 유전적 변화를 확인 확인할 수 있다. 유전자 염기서열 분석 또는 차세대 염기서열 분석은 단일 유전자 분석에서 전장 유전체 염기서열 분석에 이르기까지 다양하다.

4.4.7.2. 미생물 오염물질 시험(Tests for microbial contaminants)

모든 세포은행은 관련된 세균, 진균 및/또는 바이러스 오염 물질에 대한 시험을 수행해야 하며, 세포은행을 오염시킬 가능성이 있는 특정 바이러스와 바이러스군에 대한 평가를 수행해야 한다. 마이코플라즈마 오염에 대한 시험은 마스터 세포은행(MCB)에서 수행해야 한다. 세균 세포은행(bacterial cell banks)은 박테리오파지에 대한 시험을 실시해야 하며, 오염이 확인됐을 경우, 박테리오파지 오염 프로토콜이 마련되어 있어야 한다.

4.4.8. 제조은행 관리(Control of working cell or seed banks)

제품 수명주기 동안 WCB/WSB(Working Cell Bank/Working Seed Bank)가 고갈되어 교체가 필요할 수 있으며, WCB/WSB의 관리는 허가받은 프로토콜에 따라 이뤄져야 한다. 모든 새로운 WCB/WSB는 ICH 가이드라인 Q5B 및 Q5D 또는 관련 가이드라인에 따라 사용 전에 적절한 특성 분석을 수행하고 적격성 평가를 받아야 하며 순도 및 확인시험을 수행하여야 한다.

4.5. 단클론항체 생산 관리(Control of mAb substance production)

제조공정은 허가 전 적절한 품질의 성분과 제품을 일관되게 생산할 수 있도록 모든 공정 단계에 대하여 밸리데이션을 수행해야 한다. 단클론항체의 이질성(heterogeneity of mAbs)에 대한 이해와 공정 변경이 프로파일에 미치는 영향에 대한 이해는 제품 개발 중 확립해야 한다.

제조 세부 사항 및 안전성 문제는 다양한 발현 시스템에 따라 다를 수 있지만 일반적인 원칙은 적용할 수 있으며, 발현 시스템의 잠재적인 안전성 문제를 고려하여 적절한 공정 중 시험을 선택해야 한다.

바이오버든을 관리하고 바이러스, 세균, 진균, 마이코플라스마 및 전염성해면상뇌증(TSE)에 의한 오염을 방지하기 위한 제조 단계를 수행해야 한다.

생산 공정에서 내재된 불순물을 최소화하고 제조 공정 외부의 오염 물질이 유입되는 것을 방지하기 위해 입증된 생산 기술을 사용해야 한다. 공정 개발 및 검증 과정에서 불순물에 대한 적절한 위해성 평가를 수행해야 하며, 제품 유래 펩티드 및 단백질, 숙주세포 단백질(Host Cell Protein, HCP), 잔류 DNA(residual DNA), 엔도톡신, 비내독소 발열원(endotoxins and non-endotoxin pyrogens), 배양 배지 성분 및 첨가제, 생산 및 정제 단계 중 추출물 또는 침출물(예. 반응용기, 이송 튜브, 정제 컬럼, 보관 용기 등), 모든 접합 공정 중 시약 및 접합되지 않은 상태로 남아 있는 물질 등 잠재적 불순물과 오염물질을 관리해야 한다.

4.5.1. 단클론항체 생산(Production of mAb substance)

4.5.1.1. 세포 배양(Production from cell culture)

적격한 세포은행에서 유래한 배양물만 생산에 사용해야 하며, 동물 혈청을 포함하는 배지보다 무혈청 성장 배지 사용을 권장한다. 세포 배양에 사용하는 배지에 동물 혈청이 포함된 경우 세균, 효모, 진균, 바이러스 및 마이코플라스마가 없는지 확인해야 한다. 각 배치의 혈청은 기원이 인증된 것이어야 하며, 소의 경우 전염성해면상뇌증(TSE)이 없다는 해당국의 인증이 있어야 한다. 단클론항체 생산에 사용될 수 있는 모든 동물 유래 물질(예. 돼지 트립신)에 대해서도 유사한 관리 조치 및 시험 절차가 포함되어야 한다. 생산 세포주의 성장은 성장 속도, pH, O₂ 및 최종수율 모니터링 등 적절한 공정 중 관리를 통해 일관된 물질의 생산을 입증해야 한다.

생산 중 및/또는 생산 종료 시에는 바이러스 및 기타 잠재적인 외래성 인자에 대해 검사해야 한다. 세포가 정제 전에 불활화되거나 용해되어야 하는 경우에는 해당 단계 전에 검체를 채취해야 한다. 배양물의 순도는 적절한 배양 배지에 대한 접종 등 적절한 방법으로 확인해야 하며, 오염이 확인되면 배양물과 그로부터 유래한 모든 물질은 폐기해야 한다.

불활화 또는 세포 용해 방법을 사용하는 경우에는 그 완전성을 보장하기 위해 일반적인 제조 과정에서 검증된 시험을 통해 확인해야 한다. 세포 불활화 또는 용해에 화학 작용제를 사용하는 경우 검증된 검출 방법을 마련하고 잔류 수준을 관리해야 하며, 불활화 공정이 단클론항체 이질성(heterogeneity)에 미치는 영향도 평가해야 한다.

4.5.1.2. 결합(Conjugation)

단클론항체를 저분자 약물 또는 PEG에 결합하는 공정은 타당성이 증명되어야 하며 최종 제품의 목적과 기능을 고려해야 한다. 선택된 링커(linker)는 목표한 표적에 도달하기 전에 결합된 페이로드(payload)가 우발적으로 방출되지 않도록 순환 중 안정적으로 유지되어야 한다.

결합 공정에 사용되는 모든 구성요소에 대하여 확인, 순도 및 안정성을 관리해야 한다. 단클론항체의 역가와 약리학적 활성 페이로드의 함량도 결합 전에 확인해야 하며, PEG 분자 크기, 단일 기능성, 선형성, 브랜치 크기(branch size)를 확인해야 한다. 단클론항체 결합의 안전성 및 유효성에 영향을 미치는 특성은 개발 과정에서 결정되어야 하며, 이 특성에는 페이로드 mAb 비율, 잠재적인 결합 부위, 의도하지 않았거나 불완전한 결합, 항원 결합 부위의 mAb 인식과 친화성(affinity)에 미치는 영향, Fc 영역(Fc region), 크기 또는 전하 변이체의 변화가 포함하여 결합 단클론항체(conjugated mAbs) 작용 기전의 모든 측면이 적절하게 조절되도록 하기 위해서 여러 가지 분석이 필요하다.

반응의 재현성과 안정적이고 안전한 단클론항체(mAb) 결합체의 생산을 보장하기 위해 임상 평가 전 결합 방법과 조절 절차를 제대로 확립해야 하며, 결합 공정은 개발 프로그램 및 상용화 과정 전반에 걸쳐 유지되어야 한다. 생체 내(*in vivo*)에서 반응할 가능성이 있고 결합 공정 후 존재할 수 있는 미반응 잔류 작용기 또는 그 유도체와 같은 반응 부산물에 대해서도 확인하고 관리해야 한다.

4.5.1.3. 정제(Purification)

정제공정은 제품 및 공정 관련 불순물을 일관되게 제거하거나 허용 수준까지 충분히 감소시킬 수 있도록 밸리데이션 등을 통해 입증되어야 한다. 고려해야 할 불순물의 유형은 생산에 사용되는 물질(예. 세포형, 성장 배지, 첨가제 등)에 따라 달라지며, 허용 가능한 불순물의 수준과 유형은 적절한 위해성 평가를 기반으로 해야 한다. 정제공정의 밸리데이션과 용량 및 한도 확인을 위해서는 검출 및 정량화 방법 구현이 중요하다.

단클론항체 정제는 일반적으로 원심분리, 여과, 초미세 여과, 친화성 크로마토그래피(예. 단백질 A 또는 단백질 G), 이온 교환크로마토그래피 또는 기타 액체크로마토그래피법 등의 방법을 조합하여 여러 단계에 걸쳐 이루어진다. 각 정제 단계의 조건은 명확하게 정의되어야 하며 제품 및 공정 개발을 통해 생성된 지식을 기반으로 해야 한다.

제품 관련 불순물(Product-related impurities)

정제 공정은 생산 공정 중 발생할 수 있는 제품 관련 불순물(예. 원하지 않는 이종 mAb, 응집체 및 절편)을 허용 가능 수준으로 일관되게 감소시킬 수 있는지 평가해야 하며, 각 정제 단계가 품질에 미치는 영향도 평가해야 한다.

- 숙주세포 단백질(Host Cell proteins, HCP)

숙주세포 단백질(HCP)는 원료의약품 생산에서 제거되어야 할 불순물 중 가능 높은 비율과 물리화학적으로 가장 다양한 범위를 차지할 가능성이 높으며, 다양성은 세포 또는 식물 유형, 성장 조건, 단클론항체가 분비되거나 용해된 세포 유래 여부, 정제 전 공정 단계에 따라 달라질 수 있다. 숙주세포 단백질(HCP)의 조절은 원하지 않는 면역학적 반응 유도 가능성을 피하고 품질에 대한 잠재적 영향(예. 효소 활성 HCP에 의한 분해) 방지를 위해 중요하므로 숙주세포 단백질 제거 확인을 위해 적격성 평가가 완료된 시험방법을 통해 관리되어야 한다.

- 잔류 숙주세포 DNA(Residual host cell DNA, hcDNA)

잔류 숙주세포 DNA(hcDNA) 허용한도는 DNA 절편 크기와 같은 추가적인 요소와 제조 공정에 포함될 수 있는 불활화 단계를 고려하여야 한다.

- 바이러스(Viruses)

정제 공정에서 바이러스를 제거하거나 불활화할 수 있는 공정이 포함되어야 한다. 바이러스 제거 연구는 ICH Q5A에 기술된 대로 바이러스와 바이러스 입자 제거 및/또는 불활화 공정 능력에 대해 평가해야 한다. 제거 연구에 사용되는 바이러스는 생산 세포,

기원물질 또는 생산 공정에 사용될 수 있는 기타 생성물을 오염시키는 것으로 알려져 있거나 오염시킬 가능성이 있는 바이러스와 유사해야 하며, 선택한 바이러스에 대해 타당성이 입증되어야 한다.

- 기타 불순물(Other impurities)

생산 공정 중에 발생할 수 있는 관련 불순물을 안전한 수준으로 일관되게 제거하기 위한 밸리데이션도 수행해야 한다. 기타 불순물에는 배양 배지 또는 바이오리액터에 남아 있을 수 있는 첨가제(예. 항생제, 인슐린, IPTG, DMSO, 소포제, 혈청 유래 항체 등), 분해 목적으로 사용될 수 있는 효소, 정제 공정 및 컬럼에 사용되는 제제(예. 단백질 A, 용출 완충액 등), 비결합 링커, 약물 또는 PEG 성분 등 결합 반응물, 생산 및 정제 공정 중 접촉면에서 추출 및 침출되는 물질 등이 있다.

4.5.1.4. 공정 중 보관 시간(In-process hold time)

공정 중 물질은 추가 정제 및 공정 단계 전에 적절한 조건에서 보관될 수 있으며, 보관 조건(온도 및 시간)은 소규모 연구, 임상시험 배치 제조 및 상업적 생산 규모에서의 안정성 자료를 근거로 설정해야 한다. 비무균 공정 중 물질은 잠재적 미생물 오염 물질 성장 조건에서 보관되어서는 안 되며 생산 규모에서 검증하는 것이 바람직하다.

비무균 공정 중 물질의 바이오버든(bioburden)을 관리 및 모니터링 하는 방법을 명확하게 정의하여야 한다.

4.5.1.5. 중간체(Intermediates)

단클론항체(mAb)가 정제 후 변형(예. Conjugation)이 되도록 의도하였다면, 변형 전 단클론항체(mAb)는 중간체로 간주한다. 일반적으로 중간체는 정제된 단클론항체(mAb)처럼 관리해야 하지만 일부 시험은 결합 또는 기타 변형 이후에서 수행할 수 있다.

4.5.1.6. 원료의약품 충전 및 보관(Drug substance filling and storage)

원료의약품의 충전 및 보관은 생물학적 제제 관련 제조 및 품질관리기준 관련 규정을 따라야 한다.

모든 용기와 용기 마개 시스템은 원료의약품과의 적합성 평가(생물학적 반응성, 침출물

및 추출물 등)를 수행해야 하며, 용기는 보관 중 원료의약품의 미생물 오염을 방지해야 한다. 보관 환경 및 조건은 품질에 영향을 미치지 않아야 하며, 고농도 단클론항체는 응집체를 형성하는 경향이 있으므로 응집 발생 위험이 증가는 동결 공정에 특히 주의해야 한다.

4.5.1.7. 품질관리(Control of mAb or mAb conjugate drug substance)

중요한 품질 속성을 설정하기 위해 개발 과정 동안 광범위한 특성 분석 연구를 수행해야 하며, 품질 및 안정성에 영향을 미칠 수 있는 단계를 식별하기 위한 공정 개발 연구를 수행해야 한다. 품질관리 전략은 특성 분석 연구, 제조공정 경험, 위해성 평가 등을 기반으로 해야 하며 과학적으로 타당성이 입증되어야 한다.

정제된 단클론항체(mAb)의 특성 분석에는 최소한 물리화학적 분석, 생물학적 활성, 순도, 불순물, 오염물질 및 정량화가 포함되어야 한다.

정제된 단클론항체 및 단클론항체 결합체의 품질관리를 위한 적절한 시험 조건과 규격은 특성 분석 과정에서 결정되어야 하며, 중요한 품질 속성, 생산 및 정제 공정, 변형 및 결합 반응을 반영해야 한다.

- **성상(Appearance)**

적절한 방법으로 검사해야 하며 물리적 상태(예. 고체, 액체) 및 색상에 대해 설정된 규격을 충족해야 한다. 건조 또는 동결건조 제제의 경우 적절한 희석제로 재구성 후에도 설정한 규격을 충족해야 한다.

- **pH**

제제 개발 시 확인된 목표 pH를 기반으로 설정한 범위 내에 있어야 하며 안정성 결과와도 일치해야 한다.

- **단백질 함량(Protein concentration)**

총 단백질 함량은 검증된 단백질 특이적 흡광도(280 nm) 또는 민감도를 사용하여 측정해야 한다.

- **역가(Potency)**

역가 시험은 작용기전과 관련하여 활성에 대한 정량적 측정을 해야 하며, 모든 관련 기능을 평가하려면 여러 가지 역가 시험이 필요할 수 있다(예. 표적 항원의 결합에 대한 분석, Fc 기능 평가). 이중특이적 또는 다중특이적 단클론항체의 경우 각각의 표적 항원에 대한 이중 또는 다중 결합력을 확인해야 한다.

제조 일관성의 중요한 척도이며, 결합 친화성 또는 ADCC와 같은 활성 및 기능에 영향을 미칠 수 있는 변화를 검출할 수 있을 만큼 충분히 민감해야 하며, 항원 인식 및 결합 외의 영향을 받는 경우 ADCC, CDC 또는 ADCP 작용기전과 같은 작용기 기능을 포함하는 역가 시험도 고려해야 한다.

단클론항체에 대한 역가 시험은 일반적으로 전임상 및 임상시험 중에 사용되는 배치에 대하여 적격성이 확인된 표준품 대비 활성을 백분율로 표시한다. 규격은 사용된 시험 방법의 분석 능력뿐만 아니라 과거 출하 및 안정성 배치 결과, 임상 경험, 제조 이력 등을 고려하여 설정하며, 이 범위를 벗어나는 허용기준은 분석 유형, 분석 변동성 및 과거 배치 결과를 기반으로 타당성을 입증해야 한다.

in vivo 방법을 사용하여 역가를 측정할 수 있지만, 제품 개발 단계에서 사용되며 품질 관리 및 출하 검사 목적으로는 부적절할 수 있다. 동물 기반 역가 시험은 훨씬 더 높은 변동성을 보이는 경향이 있으며 일관된 품질 보장을 위한 민감도가 부족할 수 있으므로, *in vivo* 방법을 사용할 경우 표적이 동물 내에서 발현되고 종 간 차이를 고려해야 한다. 출하 검사를 위한 동물 시험을 선택한 경우 3R(감소, 개선, 대체)원칙을 준수해야 한다.

- **이질성 프로파일(Heterogeneity profile)**

정제 후 정제된 단클론항체 및 단클론항체 결합체는 질량, 전하, 당화 및 기타 매개변수의 변이를 가진 분자 종의 이질성으로 존재한다. 발생하는 변이의 유형은 세포 또는 식물 기질, 배양 배지 및 성장 중 환경 조건, 정제과정, 추가적인 화학적 또는 효소적 변형과 같은 여러 요인의 영향을 받을 수 있다. 종합적으로 변이는 각 물질과 제조 공정에 고유한 이형 프로파일 또는 “fingerprint” 를 제공하며 그에 따라 규격이 설정된다. 의도된 제품과 유사한 생물학적 활성을 가진 이중 변이체는 제품 관련 물질로 간주한다.

정제된 물질은 각 배치에 대하여 질량(단량체 순도), 전하 및 당화 변이 등을 포함한 이질성 프로파일을 평가해야 하며, 정제된 단클론항체 접합체에 대해서는 접합체 변이 분포에 대한 평가도 실시해야 한다. 일반적으로 이형 프로파일 측정 시 다양한 HPLC (예. 음이온 교환, 양이온 교환, 크기 배제 및 역상 크로마토그래피), 모세관 전기영동 (CE) 및 등전점 전기영동(icIEF) 등의 분석법 등 허용한계(acceptance criteria)가 설정된 다양한 분석방법을 사용하여 평가해야 한다.

- **제품 관련 불순물(Substance-related impurities)**

제품 관련 불순물은 정제된 단클론항체 또는 단클론항체 접합체의 각 배치를 사용하여

평가해야하며, 평가 불순물은 중요한 품질 속성으로 확인된 불순물과 일치해야 한다. 여기에는 단편화된 물질, 응집체, 전하 변이체, 화학적 변이체, 번역 후 변형 또는 당사슬이 포함될 수 있다. 정제된 단클론항체 결합체의 경우 결합되지 않은 단클론항체, 유리 페이로드(free payload) 및 유리 링커-페이로드 결합체(free linker-payload conjugated)도 제품 관련 불순물로 간주한다.

- **공정 관련 불순물(Process-related impurities)**

공정 관련 불순물 검출을 위한 적절한 시험 선택은 WCB/WSB에서 시작하는 모든 제조 단계를 고려해야 한다. 시험방법은 임상적으로 유의미한 수준을 감지할 수 있는 충분한 민감도가 입증되어야 한다. 불순물에 대한 허용한도는 공정서 수재 요건, 임상 경험을 토대로 해야 하며 정제공정에서 달성할 수 있는 최소 수준에 의해 타당성이 증명되어야 한다. 또한 최종제품으로 희석한 후의 농도, 투여량, 해당 제품이 단위 투여용 인지 반복 투여용 인지 여부를 기반으로 한다. 공정 관련 불순물에 대한 시험은 달성된 수준이 허용한도보다 현저히 낮은 것으로 일관되게 입증되는 경우 생략할 수 있으며, 허가 시 불순물에 대한 규격은 위해성 평가에 기반한 허용한도와 함께 제출되어야 한다.

- **숙주세포 단백질(Host cell protein)**

HCP는 일반적으로 폴리클로날 항-HCP 항혈청(polyclonal anti-HCP antiserum)이 있는 ELISA를 사용하여 측정한다. 분석 성능은 항혈청의 품질과 특이성에 의해 제한되므로 항혈청 ELISA가 검출할 HCP의 예상 범위 백분율에 대한 특성분석과 이해가 중요하며 품목허가 시 이를 제출해야 한다. 이를 위해 겔 전기영동법을 사용할 수 있지만 충분한 정보를 얻을 수 있으므로 개별 단백질을 식별하고 더 풍부한 단백질을 정량화하여 위해성 평가를 지원하기 위한 HCP 질량 분광광도법을 권장한다.

안전하거나 허용 가능 수준이 명확하게 정립되어 있지 않지만 일반적으로 100 ppm(<100 ng/mg mAb 단백질) 미만이면 허용 가능한 것으로 보고 있다. 그러나 모든 제품에 대한 허용 수준은 위해성 평가를 기반으로 해야 하며 투여량 및 투여 빈도에 따라 달라질 수 있다.

- **기타 공정 관련 불순물(Other process-related impurities)**

세포 배양에서 고려해야 할 다른 잠재적인 공정 관련 불순물에는 잔류 숙주유래 DNA, 세포 대사산물 및 세포 배양 배지 성분 등이 있다. 잔류 숙주유래 DNA 수준 검출 및 정량화에는 qPCR 같은 핵산 증폭 기술이 적합할 수 있다. 특히 숙주세포가 올리고당을 생성하는 것으로 알려져 있거나 셀룰로오스 필터가 다운스트림에 사용되는 경우 베타

글루칸(β -글루칸)에 대한 시험도 고려해야 한다.

- 무균 또는 바이오버든(Sterility or bioburden testing)

생산된 단클론항체에 대하여 세균 및 진균 미생물 또는 무균성에 대한 시험이 수행되어야 하며, 오염된 제품은 폐기하고, 재정제 또는 여과해서는 안된다. 최종산물에 보존제 또는 기타 제제가 첨가된 경우 분석에 방해가 되지 않도록 적절한 조치를 취해야 한다.

- 엔도톡신(Endotoxin)

생산된 단클론항체 각 로트에 대하여 엔도톡신 함량을 측정하여 기준 내에 있음을 확인해야 하며, 설정한 시험은 의도한 목적에 맞게 검증되어야 한다.

4.5.2. 벌크제품 조제 및 관리(Preparation and control of the final bulk)

첨가제가 포함된 경우 설정한 품질 규격을 충족해야 하며, 이 조합은 의도된 용량에서 사람에게 투여하기에 안전해야 한다. 선택된 첨가제와 반제품 내에서의 농도는 제품 개발 과정에서 평가되어야 하며 기능, 구조 또는 안정성에 유해한 영향을 미치지 않고 응집을 촉진하지 않음을 확인해야 한다.

4.5.2.1. 조제(preparation)

벌크제품(final bulk)은 정제된 단클론항체를 완충제, 안정화제, 증량제, 보존제 등과 혼합하여 상업적 규모로 검증된 공정에서 제조해야 하며, 임상시험에서 확인된 품질 속성에 기반한 규격을 충족해야 한다. 충전 전 제품의 최대 보관 시간 및 조건은 안정성이 확보된 범위 내에서 설정해야 한다.

4.5.2.2. 바이오버든(bioburden)

여과 전 바이오버든을 관리해야 하며, 관리 기준 및 방법은 명확하게 정의되어야 한다.

4.5.3. 충전 및 용기(Filling and containers)

모든 용기와 용기 마개 시스템은 최종제품과의 적합성에 대해 시험을 거쳐야 하며 생물학적 반응성, 침출물 및 추출물 등이 평가되어야 한다. 동물 유래 물질이 용기 또는 마개 제조에 사용되는 경우, TSE가 없음을 증명해야 한다. 용기 및 마개의 무결성 검사를 수행하여 의약품 유효기간 동안 내용물의 안정성과 무균성을 유지할 수 있는지 확인해야 한다.

용기 및 마개의 재료가 의약품의 품질에 영향을 미치지 않도록 해야 하며, 고농도의 단클론항체는 응집체를 형성할 수 있으므로 용기와 마개는 응집을 유도하거나 그 밖의 방법으로 촉진해서는 안된다. 이를 위해 용기의 적격성 평가 시 최종 용기 마개 시스템에 대한 용기 폐쇄 무결성 검사와 침출물, 추출물 평가가 수행되어야 한다.

다회용 용기를 사용하고, 보존제가 포함되어 있지 않을 경우, 첫 번째 사용 후 사용 시간을 제한해야 하며, 개봉 후 내용물의 미생물 오염을 방지해야 한다.

4.5.4. 최종제품 관리(Control of the final product)

4.5.4.1. 최종 용기 검사(Inspection of the final containers)

충전된 모든 최종 용기는 일반적인 제조 공정의 일부로 검사해야 한다. 이상(예. 결함 또는 밀봉 불량)이 있는 용기는 폐기해야 한다. 검사는 검은색 및 흰색 배경 또는 적격한 자동 검사기를 사용하여 수행해야 한다.

4.5.4.2. 품질검사(Control tests on the final lot)

완제의약품의 각 로트에 대하여 성상, 확인, pH 및 삼투압, 수분 함량(해당하는 경우), 단백질 함량, 역가, 결합 mAb 비율(해당하는 경우), 이형 프로파일, 제품 관련 불순물, 공정 관련 불순물, 첨가제, 무균성, 엔도톡신 또는 발열성, 재구성 시간(해당하는 경우), 실용량 등 품질검사를 수행해야 하며, 설정한 시험 및 기준은 허가 시 검증 및 승인을 받아야 한다. 일부 최종 용기 및 마개 시스템(예. 프리필드시린지 또는 펜)의 복잡성으로 인해 동등성이 확보된 상태에서 조립 전 품질관리를 수행할 수 있다. 또한, 시험방법 밸리데이션에서 최종 제품에 포함된 모든 첨가제가 분석을 방해하지 않음을 입증해야 한다.

• 성상(Appearance)

적절한 방법으로 검사해야 하며 물리적 상태(예. 고체 또는 액체) 및 색상에 대하여 설정된 규격을 충족해야 하며, 용기 마개 시스템의 특성(예: 짙은 갈색 용기)을 고려해야 한다. 동결건조 제품의 경우 정해진 희석제로 재구성 전·후에 성상을 확인해야 하며 정해진 기준을 충족해야 한다. 특히, 고농도 단백질에서 불용성 이물을 형성하기 쉬우므로 제제 개발을 통해 최종제품에서 이 현상이 발생하지 않도록 해야 하지만 불용성 이물을 완전히 없앨 수는 없다. 따라서 성상에 관한 규격은 제품마다 다르며, 의도한 투여 경로에 따라 달라질 수 있다. 그러나 불용성 이물 및 불용성 미립자에 대한 관련 공정서 및 고시에 따라 설정해야 한다.

- **확인**

최종 로트마다 확인시험을 수행해야 한다. 확인시험은 특이적이어야 하며, 단클론항체 (mAb) 또는 단클론항체(mAb) 접합체의 항원 표적 특이적, 분자 구조, 동종형, 경쇄 조성 및 기타 특정 특성을 기반으로 설정할 수 있으며, 두 가지 이상의 확인시험이 필요할 수 있다. 단클론항체 접합의 경우, 접합 페이로드의 존재를 확인하여야 하며, 출하 시험 방법에 개별 항체의 존재를 증명하는 확인 방법과 그 비율을 확인하는 정량적 방법이 포함되어야 한다.

- **pH 및 삼투압**

액상 제제인 경우, 각 로트의 pH는 허가 기준 이내에서 관리되어야 한다. 동결건조 제제의 경우, 임상 사용 중 권장되는 것과 동일한 희석제를 사용하여 재구성한 후 pH를 측정해야 한다.

삼투압은 최종제품에서 측정하여 사람에게 대한 비경구 투여에 안전한 수준으로 허가 범위 내에서 관리되어야 한다.

- **수분 함량(해당하는 경우)**

동결건조 제제인 경우 잔류 수분을 측정해야 하며, 허가 범위 이내의 결과를 확인해야 한다.

- **단백질 함량**

단백질 농도는 단백질 특이적 흡광도를 사용하여 적절한 민감도와 280 nm에서 흡광도를 측정하는 것과 같이 특이성을 가진 검증된 방법을 사용해야 한다. 최종 제품의 단백질 농도는 라벨 정보표시의 $\pm 10\%$ 이내여야 하며, 복합체의 경우 개별 단클론항체(mAb)의 단백질 함량을 측정해야 한다.

- **역가(Potency)**

역가 시험은 로트마다 실시해야 하며, 사용하는 시험방법은 원료의약품에서 기술한 바와 같이 단클론항체(mAb) 또는 단클론항체(mAb) 접합체의 활성을 반영해야 한다. 역가는 참조 물질에 대한 상대값으로 표시되어야 하며, 분석 민감도는 제품의 기능적 차이를 검출하기에 충분해야 한다. 허가 받은 분석방법과 참조 물질을 사용해야 하며, 의약품에 포함될 수 있는 첨가제가 역가 시험에 미치는 영향을 고려해야 한다.

항체 단백질 복합체의 경우, 역가 시험방법은 최종제품에 존재하는 모든 단클론항체 (mAb)를 설명할 수 있어야 한다.

드물게 특정 단클론항체(mAb)의 역가 평가를 위해 동물 기반 시험이 필요할 수 있다. 그러나 이러한 분석은 매우 가변적이고 검증이 어렵기 때문에 생체 외 대안이 있는 경우에는 사용해서는 안 된다. 역가 시험에서 동물 사용을 최소화하기 위해 3R 접근법을 채택해야 한다.

- 단클론항체 결합 비율 시험(Test for ratio of combined mAbs, 해당할 경우)

최종제품에 2개 이상의 단클론항체(mAb) 또는 단클론항체(mAb) 접합체가 포함되는 경우, 각 단클론항체(mAb) 또는 단클론항체(mAb) 접합물질의 적절한 비율을 확인하기 위한 시험을 실시해야 한다.

- 이질성 프로파일

최종제품의 이질성 프로파일은 원료의약품(정제된 단클론항체(mAb) 물질)과 유사한 것으로 확인되어야 한다. 보관조건 및 최종제품 제조 중 이질성 프로파일 차이가 발생(예, 응집체 형성)할 경우 타당성이 입증되어야 한다.

- 제품 관련 불순물

최종제품에서 제품 관련 불순물로 확인된 단백질 이성질체를 측정해야 한다. 다운스트림 의약품 제조공정이 해당 불순물에 영향을 미치지 않는 것으로 입증된 경우, 일부 제품 관련 불순물은 원료의약품에서만 관리할 수 있다. HPLC(단클론항체(mAb) 및 단클론항체(mAb) 접합체의 경우)와 모세관 전기영동 또는 SDS-PAGE(mAb 절편의 경우)가 이들 불순물을 정량화하기 위한 일반적인 방법이지만, 다른 방법을 사용할 수 있다.

단클론항체(mAb)는 응집되기 쉬우므로 최종제품의 각 로트에 대하여 출하 시와 유효기간 만료 시 미립자 물질과 응집물 함량을 시험해야 한다. 또한, 출하 시와 유효기간 만료 시 절편화 패턴도 평가해야 하며 동일한 의약품의 과거 데이터와 비교해야 한다.

- 공정 관련 불순물(Process-related impurities)

원소 및 니트로사민 불순물, 부형제 또는 증량제, 용기 마개 시스템에서 발생하는 불순물 또는 벌크 제품 조제 중 기타 잠재적 원인으로 발생하는 불순물 및 충전 공정에서 발생하는 불순물 등 공정 관련 불순물의 측정을 고려해야 한다. 최종제품에서 측정되지 않은 경우, 공정 관련 불순물에서 관리를 입증해야 한다. 공정 관련 불순물에서 제거가 입증되었거나 불순물이 공정 중 관리로 관리되거나 벌크제품에서 시험되는 경우, 최종제품의 출하시험에서 설정하지 않을 수 있다.

단클론항체 접합체 함유 의약품의 경우, 허용 가능한 비결합 페이로드(unbound (free)

payload)의 양에 대한 한도를 설정해야 한다. 허용 가능한 값은 임상시험에 사용된 충분한 활성이 입증된 배치에서 나온 값과 일치하도록 설정해야 한다.

- **첨가제**

계면활성제 또는 보존제와 같이 제품의 안정성 및 무균성에 중요한 첨가제의 존재 및 농도를 관리해야 한다. 공정서 수재 첨가제를 제외한 모든 첨가제에 대한 시험방법은 위해성 평가를 기반으로 설정하며 허가 시 제출되어야 한다.

- **무균(Sterility)**

완제의약품은 생물학적 물질의 무균성에 대하여 허가 받은 시험방법으로 세균 및 진균에 대한 무균시험을 수행해야 한다. 최종제품에 보존제가 포함된 경우, 시험에 방해가 되지 않도록 적절한 조치를 취해야 한다.

- **엔도톡신 또는 발열성(Endotoxin or pyrogen content)**

각 로트의 엔도톡신은 임상시험 시 사용된 제품 로트에서 허용되는 수준과 일치해야 한다. 적합한 생체 외 방법에는 재조합 인자 C(recombinant factor C)를 사용한 세균 내독소 또는 LAL 시험 등이 있다. 엔도톡신 시험은 의도한 목적에 맞게 검증되어야 한다. 비경구 투여된 완제의약품의 경우 5 EU/kg/h 이하, 또는 척수강내 투여 의약품의 경우 0.2 EU/kg/h 이하의 엔도톡신을 가질 것으로 예상된다. 따라서 재구성 완충액, 희석액 또는 기타 병용투여 의약품의 엔도톡신 영향도 고려해야 한다.

발열성 시험의 필요성은 적절한 위해성 평가를 토대로 제조 개발 과정에서 결정해야 한다. 이는 생산 공정의 변경 후 또는 발열원성과 관련하여 제품의 품질에 영향을 미칠 수 있는 유의미한 생산 비밀관성이 보고된 경우 재평가가 필요할 수 있다. 제품별 검증 후 최종제품의 잠재적 발열원성 활성을 모니터링 하기 위해 단핵구 활성화 시험(Monocyte Activation Test, MAT)을 사용할 수 있다. 토끼 발열성 시험을 설정할 수 있지만, 사람과 비교하여 가변성, 높은 재시험률 및 발열원성 반응의 중간 차이로 인해 사용을 권장하지 않는다.

- **재구성 시간(해당되는 경우)**

최종제품이 동결건조 제형인 경우, 재구성 시간은 규격을 준수해야 한다.

- **실용량**

라벨에 표시된 용량이 단회 투여 또는 다회 투여에 관계없이 용기에 일관되게 충전되었음을 입증해야 한다.

4.6. 보관검체(Retained samples)

향후 연구 및 필요에 따라 각 제품 로트에서 충분한 수의 검체를 보관해야 한다. 임상 시험에 사용될 원료의약품 및 완제의약품은 향후 참조물질(표준품)로 사용될 수 있으며, 이를 위해 충분한 수의 최종 용기를 해당 목적에 맞게 확보하여 보관해야 한다.

4.7. 라벨링(Labeling)

시판 제품의 경우 로트별로 출하 기준을 충족해야 하며, 상자의 라벨, 용기 및 설명서에는 의약품 명칭, 로트번호, 권장 1회 인체 투여량, 권장 투여 일정 및 투여 경로, 1회 인체 투여량 내 주성분 함량, 다회 투여 용기에 담긴 경우 투여 횟수, 개봉 후 보관 방법 및 사용기간, 추가된 항생제, 보존제 및 부형제의 명칭 및 농도, 보관 및 운송 시 권장 온도, 사용기한, 금기사항, 경구 및 주의사항, 병용 의약품 사용 시 권고사항 및 잠재적인 이상 반응이 포함되어야 한다. 해당되는 경우, 분말 또는 동결건조 의약품을 재구성하기 위해 첨가할 희석액의 부피 및 특성에 대한 정보, 동결건조 형태의 의약품은 재구성 직후 또는 재구성된 의약품의 승인된 보관기간 내에 사용해야 함을 포함해야 한다.

여러 주성분으로 이루어진 의약품의 경우, 의약품의 총용량과 해당 용량 내 개별 성분의 양을 표시해야 한다.

4.8. 유통 및 운송(Distribution and transport)

원료의약품에서 완제의약품 제조소(다른 위치에 있는 경우)로의 운송 시험 및 국내 유통사로의 출하 경로 및 운송 조건에 대하여 검증하여 관리해야 한다.

운송은 지정된 온도 범위 내에서 유지되어야 하며, 온도 관리에 필요한 경우 패키지에는 콜드 체인 모니터가 포함되어야 한다. 콜드 체인이 필요하지 않다고 표시된 경우, 안정성이 확립된 조건(예/ 최대 온도 및 해당 온도에서의 최대 보관 시간)을 기술하고 이를 뒷받침하는 근거자료를 구비하고 있어야 한다.

4.9. 안정성 시험, 보관 및 사용기한(Stability testing, storage and expiry date)

4.9.1. 안정성 시험(Stability testing)

중간체, 원료의약품 및 완제의약품에 대한 안정성 시험은 개발 과정 초기에 시작해야

한다. 필요한 경우 사용 중 안정성 연구를 수행하여 용기를 개봉한 후 허용 가능한 품질 규격을 유지하면서 완제의약품을 사용할 수 있는 기간을 설정해야 한다.

원료 및 완제의약품의 보관조건은 안정성 결과를 기반으로 해야 하며, 동결 건조 제품에 대한 안정성은 제품에 사용하는 희석액으로 재구성한 후 수행해야 한다. 또한, 사용 가능 기간 동안 의약품 품질의 유지와 미생물 관리를 입증하기 위해 다회 투여 용기에 대한 적절한 연구를 고려해야 한다.

의약품의 안정성에 영향을 미칠 수 있는 생산 공정의 변경이 있는 경우, 변경된 제품의 안정성 확인 및 새로운 제품의 유효기간을 확인하기 위해 추가 안정성 연구를 수행해야 할 수 있다.

최종제품에 대한 장기 안정성 및 가속, 가혹 조건에서의 안정성 연구는 수행해야 하며, 이 결과를 통해 원료의약품 및 완제의약품에 대한 전반적인 특성에 대한 정보를 확인할 수 있으며, 진행 중인 안정성 연구에 적합한 안정성 표시 방법을 확인하는데 도움이 된다. 또한, 이 안정성 결과는 향후 제조공정 변경 시 비교동등성 평가에 활용할 수 있다.

권장 보관 온도로 유지되는 최종 용기에 든 의약품의 안정성과 사용기한은 서로 다른 원료의약품으로 만든 최소 3배치를 사용하여 안정성 시험을 수행해야 한다. 복합 장치에 충전된 의약품의 경우, 최종 용기 마개를 닫은 후 용기가 아닌 폐쇄 부품을 추가하기 전에 안정성 시험을 고려할 수 있다. 임상시험 중에는 사용할 수 있는 데이터가 적을 수 있지만, 최소한 예상되는 임상시험 기간 동안 제안된 보관 조건하에서 안정성이 입증되어야 한다.

4.9.2. 보관조건(Storage conditions)

보관조건은 잘 정의하고 완벽하게 검증해야 하며, 출하일부터 사용기한까지 역가가 유지됨을 입증하여야 한다.

4.9.3. 사용기한(Expiry date)

사용기한은 유효기간을 기준으로 해야 하며, 제출한 안정성 자료를 근거로 승인받아야 한다.

5. 참고문헌

- 1) 생물학적제제 등의 품목허가·심사 규정
- 2) 생물학적제제 기준 및 시험방법
- 3) 생물 의약품 생산에 사용되는 세포기질 관리 가이드라인
- 4) 유전자재조합의약품의 품질, 안전성 및 유효성 평가 가이드라인
- 5) 생물 의약품 안정성시험 가이드라인
- 6) 동등생물 의약품 평가 가이드라인
- 7) 동등생물 의약품 허가 및 심사를 위한 질의응답집
- 8) WHO Guideline for the production and quality control of monoclonal antibodies and related products for medicinal use(Annex 3 of WHO Technical Report Series, No.822)
- 9) Guideline for assuring the quality of monoclonal antibodies for use in human. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization
- 10) Guidelines on evaluation of monoclonal antibodies as similar biotherapeutic products. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization
- 11) Pharmaceutical Development Q8(R2). ICH Harmonised Tripartite Guideline
- 12) Quality Risk Management Q9. ICH Harmonised Tripartite Guideline
- 13) Pharmaceutical Quality System Q10. ICH Harmonised Tripartite Guideline
- 14) Development and manufacture of Drug Substances(chemical entities and biotechnological/biological entities). Q11. ICH Harmonised Tripartite Guideline
- 15) Comparability of biotechnological/biological products subject to changes in their manufacturing process. Q5E. ICH Harmonised Tripartite Guideline
- 16) Derivation and characterisation of cell substrates used for production of biotechnological/biological products. Q5D. ICH Harmonised Tripartite Guideline
- 17) Specifications: test procedures and acceptance criteria for biotechnological/biological products. Q6B. ICH Harmonised Tripartite Guideline
- 18) International Nonproprietary Names(INN) for biological and biotechnological substances(a review)

단클론항체의약품 개발 및 품질평가 가이드라인

발 행 일 2022년 11월 29일

발 행 인 서 경 원

편집위원장 박 인 숙

편 집 위 원 오우용, 도희정, 진미령, 최민정, 최예진, 김효진, 강소영, 최경민,
신준현, 김지원

발 행 부 서 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 유전자재조합의약품과

연 락 처 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 유전자재조합의약품과

전 화 번 호 043-719-3510

팩 스 번 호 043-719-3500

공익신고자 보호법이 항상 당신의 양심을 지켜드립니다.

식약처의 공무원이나 관계자가 부조리한 행위를 하거나 부당하게 처리한 경우가 있을 때는 다음으로 신고하여 주시기 바랍니다. 신고자의 신원은 절대보장 하겠으며 향후 민원처리에 있어 추호의 불편함이 없도록 최선을 다하여 도와드릴 것을 약속드립니다.

공익신고자 보호제도란?

공익신고자 등(친족 또는 동거인 포함)이 공익신고 등으로 인하여 피해를 받지 않도록 비밀보장, 불이익보호조치, 신분보호조치 등을 통하여 보호하는 제도

※보호조치요구방법

전화 전국 어디서나 국번없이 110번 또는 1398번 / 팩스 044-200-7949

우편(30102) 세종특별자치시 도움5로 20 정부세종청사 7동, 국민권익위원회

식약처 홈페이지(www.mfds.go.kr) > 국민소통 > 국민신문고 > 부패·공익 신고



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원