

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL
REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE

ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE

생명 공학/생물학적 제품 생산용 세포 기질 확립 및
특성 평가

**(Derivation and Characterization of Cell
Substrates Used For Production of
Biotechnological/Biological Products)
Q5D**

Current *Step 4* version
dated 16 July 1997

This Guideline has been developed by the appropriate ICH Expert Working Group and has been subject to consultation by the regulatory parties, in accordance with the ICH Process. At Step 4 of the Process the final draft is recommended for adoption to the regulatory bodies of the European Union, Japan and USA.

**Q5D
Document History**

First Codification	History	Date	New Codification November 2005
Q5D	Approval by the Steering Committee under Step 2 and release for public consultation	10 January 1997	Q5D

Current Step 4 version

Q5D	Approval by the Steering Committee under Step 4 and recommendation for adoption to the three ICH regulatory bodies.	16 July 1997	Q5D
-----	---	-----------------	-----

**DERIVATION AND CHARACTERIZATION OF CELL SUBSTRATES USED FOR
PRODUCTION OF BIOTECHNOLOGICAL/BIOLOGICAL PRODUCTS**

ICH Harmonised Tripartite Guideline

Having reached *Step 4* of the ICH Process at the ICH Steering Committee meeting on 16 July 1997, this guideline is recommended for adoption to the three regulatory parties to ICH.

목차

1. 서론(INTRODUCTION)

- 1.1 목적(Objective)
- 1.2 근거(Rationale)
- 1.3 적용 범위(Scope)

2. 가이드라인(GUIDELINES)

- 2.1 세포 기질의 출처, 이력, 생성(Source, History, and Generation of the Cell Substrate)
 - 2.1.1 서론(Introduction)
 - 2.1.2 세포의 기원, 출처, 이력(Origin, Source, and History of Cells)
 - 2.1.3 세포 기질의 생성(Generation of the Cell Substrate)
- 2.2 세포 बैं크(Cell Banking)
 - 2.2.1 세포 बैं크 시스템(Cell Banking System)
 - 2.2.2 세포 बैं크 절차(Cell Banking Procedures)
- 2.3 세포 बैं크 특성 평가 및 시험의 일반 원칙(General Principles of Characterisation and Testing of Cell Banks)
 - 2.3.1. 확인 시험(Tests of Identity)
 - 2.3.1.1 후생 동물 세포(Metazoan Cells)
 - 2.3.1.2 미생물 세포(Microbial Cells)
 - 2.3.2 순도 시험(Tests of Purity)
 - 2.3.2.1 후생 동물 세포(Metazoan Cells)
 - 2.3.2.2 미생물 세포(Microbial Cells)
 - 2.3.3 세포 기질 안정성(Cell Substrate Stability)
 - 2.3.4 핵학 및 종양 형성능 시험(Tests for Karyology and Tumorigenicity)

3. 용어 정의(GLOSSARY)

APPENDIX 1: 일차 세포 기질(PRIMARY CELL SUBSTRATES)

gmpeye

DERIVATION AND CHARACTERIZATION OF CELL SUBSTRATES USED FOR PRODUCTION OF BIOTECHNOLOGICAL/BIOLOGICAL PRODUCTS

1. 서론(INTRODUCTION)

1.1 목적(Objective)

The objective of this guideline is to provide broad guidance on appropriate standards for the derivation of human and animal cell lines and microbial cells to be used to prepare biotechnological/biological products defined in Section 1.3, Scope, and for the preparation and characterisation of cell banks to be used for production. The document, therefore, provides recommendations on the information in these areas that should be presented in market applications for these products.

이 가이드라인 문서의 목적은 섹션 1.3 "적용 범위"에 규정된 생명 공학/생물학적 제품 제조에 사용될 사람 및 동물 세포주와 미생물 세포 확립과 생산용 세포 은행 제조 및 특성 평가에 관한 전반적인 가이드라인을 제공하는데 있다. 그러므로 이들 제품의 판매 신청 문서에 포함시켜야 할 정보에 관한 권고 사항을 제시한다.

1.2 근거(Rationale)

Historically, some quality concerns for cell-derived biological products have originated from the presence of adventitious contaminants or from the properties of the cells used to prepare the product. Recombinant DNA (rDNA) - derived products also carry quality concerns regarding the expression construct contained in the cell substrate. Thus, it is well established that the properties of the cell substrate and events linked to the cell substrate can affect resultant product quality and safety and, further, that effective quality control of these products requires appropriate controls on all aspects of handling the cell substrate.

세포 유래 생물학적 제품의 일부 품질 문제는 외래성 오염 물질의 존재 또는 제품 제조에 사용된 세포의 특성과 관련된 것이다. 재조합 DNA(rDNA) 유래 제품도 세포 기질의 발현 구조물과 관련한 품질 문제를 갖고 있다. 그러므로 세포 기질의 특성 및 세포 기질과 연관된 문제가 제품 품질과 안전성에 영향을 줄 수 있으며, 이들 제품의 효과적인 품질 관리를 위해서는 세포 기질 취급과 관련된 모든 부분을 적절하게 관리할 필요가 있다.

This document complements other guidelines to provide a comprehensive approach

to quality issues arising from biological aspects of processing products from metazoan and microbial cell culture.

이 문서는 후생 동물 및 미생물 세포 배양 유래 제품 공정의 생물학적 측면과 관련된 품질 문제를 종합적으로 다룬 다른 가이드라인을 보충한다.

1.3 적용 범위(Scope)

This guideline covers cell substrates having a cell banking system. In this document, "cell substrate" refers to microbial cells or cell lines derived from human or animal sources that possess the full potential for generation of the desired biotechnological/biological products for human in vivo or ex vivo use. Reagents for in vitro diagnostic use are outside the scope of this document. Animal sources of cell lines include all those of metazoan origin. Both continuous cell lines of indefinite in vitro lifespan and diploid cells of finite in vitro lifespan are included. Microbial sources include bacteria, fungi, yeast, and other unicellular life forms.

이 가이드라인은 세포 बैं크 시스템의 세포 기질을 대상으로 한다. 여기서 "세포 기질"이란, 인체 체내 또는 탈체 용도의 바람직한 생명 공학/생물학적 제품을 생성할 수 있는, 사람 또는 동물 유래 세포주나 미생물 세포를 의미한다. 체외 진단 용도 시약은 이 문서의 범위가 아니다. 세포주 개발용 동물로는 후생 동물 기원의 모든 것이 포함된다. 정해지지 않은 체외 수명을 갖는 연속 세포주와 유한한 체외 수명을 갖는 이배체 세포 모두 포함된다. 미생물로는 세균, 진균, 효모, 기타 단세포 생명체가 있다.

"Biotechnological/biological products" refers to any products prepared from cells cultivated from cell banks with the exception of microbial metabolites such as, for example, antibiotics, amino acids, carbohydrates, and other low molecular weight substances. Cell banks used to prepare gene therapy products or vaccines should follow the recommendations presented in this document. Some biological products, such as certain viral vaccines, are prepared in primary cell cultures derived directly from animal tissues or organs. Primary cells are not banked and therefore are not addressed by this document. However, other considerations which may apply to primary cells are discussed further in Appendix 1 of this document.

"생명 공학/생물학적 제품"은 세포 बैं크를 배양한 세포에서 유래하는 제품을 의미하며, 미생물 대사 산물(예, 항생제, 아미노산, 탄수화물, 기타 저분자 성분)은 제외한다. 유전자 치료 제품이나 백신 제조용 세포 बैं크도 이 문서의 권고 사항을 따라야 한다. 특정 바이러스 백신 같은 일부 생물학적 제품은 동물 조직이나 기관에서 직접적으로 유래한 일차

세포 배양액으로 제조한다. 일차 세포는 बैं크 방식으로 관리하지 않으며, 그러므로 이 문서의 대상이 아니다. 하지만 일차 세포에 적용될 수 있는 기타 고려 사항을 이 문서의 부록 1에 정리했다.

2. 가이드라인(GUIDELINES)

2.1 세포 기질의 출처, 이력, 생성(Source, History, and Generation of the Cell Substrate)

2.1.1 서론(Introduction)

It is important to provide supportive documentation which describes the history of the cell substrate that is used in the manufacture of a biotechnological/biological product, as well as any parental cell line from which it was totally or partially derived. Events during the research and development phases of the cell substrate may contribute significantly to assessment of the risks associated with the use of that particular cell substrate for production. The information supplied in this regard is meant to facilitate an overall evaluation which will ensure the quality and safety of the product.

생명 공학/생물학적 제품 제조에 사용되는 세포 기질과 전체적으로 또는 부분적으로 그의 유래가 되는 모세포주의 이력을 기술한 근거 문서를 제공하는 것이 중요하다. 세포 기질의 연구 및 개발 단계에서 실시했던 활동은, 생산용 특정 세포 기질의 사용과 관련된 리스크를 평가하는데 중요한 역할을 할 수 있다. 이와 관련하여 제공된 정보는 제품 품질과 안전성을 확인하는 종합적인 평가에 필수적이다.

Careful records of the manipulation of the cell substrate should be maintained throughout its development. Description of cell history is only one tool of many used for cell substrate characterisation. In general, deficiencies in documented history may not, by itself, be an impediment to product approval, but extensive deficiencies will result in increased reliance on other methods to characterise the cell substrate.

세포 기질의 개발 기간 전체에 걸쳐, 세포 기질의 취급에 관한 기록을 유지한다. 세포 이력의 기술은 세포 기질 특성 평가에 사용되는 많은 도구 가운데 하나이다. 일반적으로 이력 기록이 충분하지 않은 것 자체가 제품 승인에 장애가 되지 않을 수 있지만, 기록에 상당한 결함이 있는 경우에는 세포 기질의 특성 평가를 위해 다른 방법에 더 많이 의존해야

하는 상황이 발생할 수 있다.

2.1.2 세포의 기원, 출처, 이력(Origin, Source, and History of Cells)

The source of cells (laboratory or culture collection) from which the cell substrate was derived should be stated, and relevant references from the scientific literature should be cited. Information obtained directly from the source laboratory is preferred. When this is not available, literature references may be utilised.

세포 기질이 유래된 세포의 출처(실험실 또는 세포 분양 기관)를 명기하며, 관련 참고 문헌 정보를 제시한다. 공급 실험실에서 직접 확보한 정보가 바람직하다. 이것이 가능하지 않은 경우에는 참고 문헌을 활용할 수 있다.

For human cell lines, it is relevant to describe the following characteristics of the original donor: Tissue or organ of origin, ethnic and geographical origin, age, sex and general physiological condition. If known, the state of health or medical history of the donor should be reported along with the results of any tests of the donor for pathogenic agents. Specifically for human diploid fibroblasts, the age of the donor may influence the in vitro lifespan of the cell line and this information should be provided if available. For animal cell lines, relevant descriptions of the source include species, strains, breeding conditions, tissue or organ of origin, geographical origin, age and sex, the results of tests for pathogenic agents, and general physiological condition of the original donor.

사람 세포주인 경우에 기원 조직 또는 기관, 인종 및 지리적 기원, 연령, 성별, 일반 생리 상태 등 기증자 정보를 기술한다. 가능한 경우에는 기증자의 건강 상태나 병력, 그리고 병원체 검사 결과도 보고한다. 특히 사람 이배체 섬유아세포인 경우에는, 기증자의 연령이 세포주의 체외 수명에 영향을 줄 수 있으므로, 가능하면 이 정보도 제공한다. 동물 세포주인 경우에는 출처와 관련하여 종, 아종, 사육 조건, 기원 조직 또는 기관, 지리적 기원, 연령 및 성별, 병원체 검사 결과, 그리고 기증 동물의 일반 생리 상태 정보를 포함해 기술한다.

For microbes, manufacturers should describe the species, strain, and known genotypic and phenotypic characteristics of the organism from which the cell substrate was derived. Manufacturers should also describe the pathogenicity, toxin production, and other biohazard information, if any.

미생물인 경우에는 종, 균주, 그리고 세포 기질이 유래된 미생물의 기지 유전형 및 표현형

특성을 기술한다. 또한 해당되는 경우에는 병원성, 독소 생산, 기타 생물 위해 정보도 기술한다.

The cultivation history of the cells should be documented. The method originally used for the isolation of the cells should be described as well as the procedures used in the culturing of the cells in vitro and any procedures used to establish cell lines (for example, use of any physical, chemical, or biological procedure, or added nucleotide sequences). A description of any genetic manipulation or selection should be provided. All available information regarding the identification, characteristics, and results of testing of these cells for endogenous and adventitious agents should be provided.

세포의 배양 이력을 기록한다. 세포 분리를 위해 사용했던 방법, 그리고 체외 세포 배양 절차, 세포주 확립 절차(예, 물리적, 화학적, 생물학적 절차, 또는 추가된 뉴클레오티드 서열)를 기술한다. 또한 모든 유전자 조작이나 선정에 관한 정보도 기술한다. 이들 세포의 확인, 특성, 내인성 또는 외래성 인자 시험 관련 정보도 모두 제공한다.

For continuous cell lines of metazoan origin, it is usually adequate to quantitate culture duration by estimation of either number of population doublings, or number of subcultivations at defined dilution ratio, or time in days. For diploid cell lines possessing finite in vitro lifespan, accurate estimation of the number of population doublings during all stages of research, development, and manufacturing is important. For microbial cells, documentation of subcultivation frequency after cell substrate generation is considered adequate.

후생 동물 유래 연속 세포주인 경우에는, 집단 배증 횟수, 또는 지정 희석 비율에서 계대 배양 횟수, 또는 배양 일수로 배양 기간을 계량적으로 표현하는 것이 적절하다. 유한한 체외 수명을 갖는 이배체 세포주인 경우, 모든 연구, 개발, 제조 단계에서 집단 배증 횟수를 정확히 평가하는 것이 중요하다. 미생물 세포인 경우에 세포 기질 생성 이후 계대 배양 빈도를 기록하는 것이 적절하다.

Regarding the generation of cell substrates, applicants should provide a thorough discussion of procedures which would provide exposure to infectious agents. Constituents of the culture medium should be described, in particular, information regarding exposure of the cells to materials of human or animal origin such as serum, enzymes, hydrolysates, or other living cells. The description should include the source, method of preparation and control, test results, and quality assurance.

Relevant literature on these points may be referenced when available. This information will allow a detailed analysis of potential entry routes for adventitious agents from these sources, and will be part of the risk-benefit analysis of the product.

세포 기질 생성과 관련하여, 신청업체는 감염성 인자 노출이 발생할 수 있는 부분을 자세히 설명해야 한다. 배양 배지의 구성 성분도 기술하며, 특히 혈청, 효소, 가수분해물, 또는 다른 살아 있는 세포 등 사람이나 동물 유래 물질에 세포가 노출되는 것과 관련된 정보를 기술한다. 이때 출처, 조제와 관리 방법, 시험 결과 및 품질 보증 정보를 포함해 기술한다. 가능한 경우에는 관련 문헌을 참조할 수 있다. 이 정보는 상기 물질로부터 외래성 인자가 유입될 가능성이 있는 경로를 자세히 분석하는데 도움이 되며, 이는 제품 위험성-유익성 분석의 일부가 된다.

2.1.3 세포 기질의 생성(Generation of the Cell Substrate)

A crucial step is the choice of a suitable parental cell line. For recombinant products, a parental cell line is typically the untransfected recipient cell line. The use of characterised parental cell banks is suggested, but is not considered essential. A characterised parental cell bank may be of benefit, especially when multiple cell substrates are generated from the same parental cell type, by providing a set of information on which the quality assessment of the Master Cell Bank (MCB) can be based. For example, the myeloma cell line may be banked as a parental cell line for hybridomas.

적합한 모세포주의 선택이 가장 핵심적인 단계이다. 재조합 제품인 경우에 모세포주는 일반적으로 형질 주입이 되지 않은 수용 세포주이다. 특성 평가가 완료된 모세포 은행을 사용하는 것이 좋으나 필수적인 것은 아니다. 특성 평가가 완료된 모세포 은행은 여러 가지 장점이 있는데, 특히 여러 세포 기질이 동일한 종류의 모세포에서 유래한 경우에 마스터 세포 은행(MCB)의 품질 평가에 기본이 되는 정보를 제공할 수 있다. 예를 들어 골수종 세포주를 하이브리도마의 모세포주 은행으로 사용할 수 있다.

During the generation of the cell substrate, one or more specific procedures may be utilised in the ultimate development of the desired characteristics. These may include, for example, cell fusion, transfection, selection, colony isolation, cloning, gene amplification, and adaptation to specific culture conditions or media. Information regarding the methodologies utilised in developing the cell substrate can help to provide a clear understanding of the history of the cell substrate. Some

cell substrates such as human diploid fibroblasts may not need extensive manipulation or cloning prior to cell banking.

바람직한 특성의 개발을 위하여, 세포 기질 생성 시에 하나 이상의 특이적인 절차를 활용할 수 있다. 예를 들어 세포 융합, 형질 주입, 선정, 콜로니 분리, 클로닝, 유전자 증폭, 특정 배양 조건이나 배지 적응 같은 방법을 활용할 수 있다. 세포 기질 개발에 활용되는 방법에 관한 정보는, 세포 기질의 이력을 명확히 이해하는데 도움이 될 수 있다. 사람 이배체 섬유아세포 같은 일부 세포 기질은 세포 बैं크를 만들기 전에 광범위한 조작이나 클로닝이 필요하지 않을 수 있다.

For recombinant products, the cell substrate is the transfected cell containing the desired sequences, which has been cloned from a single cell progenitor. For further information on generation of rDNA-modified cell substrates, consult other relevant (e.g., regional or international) guidelines. For non-recombinant products or non-recombinant vaccines, the cell substrate is the cell from the parental cell line chosen for preparation of the MCB without further modification. For products derived from hybridomas, the cell substrate is the hybridoma cell line derived by fusion of the parental myeloma cell line with other parental cells, e.g., immune spleen cells.

재조합 제품의 세포 기질은 바람직한 서열을 보유한 형질 주입 세포이며, 단일 전구 세포에서 클로닝한 것이다. rDNA 변형 세포 기질의 생성에 관한 자세한 사항은, 다른 관련(예, 지역 또는 국제) 가이드라인을 참조한다. 비-재조합 제품이나 비-재조합 백신의 세포 기질은 MCB를 만들기 위해 선택한 모세포주를 추가로 변형시키지 않고 얻은 세포이다. 하이브리도마 유래 제품의 세포 기질은 모 골수종 세포주와 다른 모세포(예, 면역 비장 세포)를 융합하여 얻은 하이브리도마 세포주이다.

2.2. 세포 बैं크(Cell Banking)

One of the most important advantages of using serially subcultivated cells to produce biotechnological/biological products is the ability to have a characterised common starting source for each production lot, i.e., the preserved bank of cells. Manufacturers may prepare their own cell banks, or may obtain them from external sources. Manufacturers are responsible for ensuring the quality of each cell bank and of the testing performed on each bank.

연속 계대 배양 세포를 이용해 생명 공학/생물학적 제품을 생산하는 방법의 가장 큰 장점 가운데 하나는, 특성 평가가 완료된 공통 출발 물질인 세포 बैं크로 각 로트를 생산할 수

있다는 점이다. 제조업체는 자신만의 고유한 세포 बैं크를 만들거나 외부에서 확보할 수 있다. 제조업체는 각 세포 बैं크의 품질과 각 세포 बैं크에 대하여 실시하는 시험의 품질을 확보할 책임이 있다.

2.2.1 세포 बैं크 시스템(Cell Banking System)

The concept of a two-tiered cell bank, in which the MCB which is used to generate Working Cell Banks (WCBs), is generally accepted as the most practical approach to providing a supply of cell substrate for continued manufacture of the product. Manufacturers should describe their strategy for providing a continued supply of cells from their cell bank(s), including the anticipated utilisation rate of the cell bank(s) for production, the expected intervals between generation of new cell bank(s), and the criteria for qualification of cell bank(s).

지속적인 제품 제조를 위해 세포 기질을 공급하는 가장 실용적인 방법이라고 인정되는 것이, MCB와 이를 활용해 만든 WCB로 구성되는 2단계 세포 बैं크 개념이다. 제조업체는 생산용 세포 बैं크의 예상 활용율, 예상 신규 세포 बैं크 생산 주기, 세포 बैं크 적격성평가 기준을 포함해 세포 बैं크로부터 세포를 지속적으로 공급하기 위한 전략을 수립해 기술해야 한다.

Generally, the MCB is made first, usually directly from an initial clone or from a preliminary cell bank derived from an initial clone. It is not considered necessary to prepare cell banks from clones for certain types of cells (e.g., diploid cells, where limited in vitro life span or other technical factors make cell cloning impractical) or where the uncloned cell population is already adequately homogeneous for the intended use.

일반적으로 MCB를 먼저 만드는데, MCB는 최초 클론이나 최초 클론에서 유래된 예비 세포 बैं크로 만든다. 특정 유형의 세포(예, 체외 수명이 제한적이거나 기타 기술적인 이유로 세포 클로닝이 현실적으로 가능하지 않은 이배체 세포) 또는 클로닝되지 않은 세포 집단이 이미 예정 용도에 적절한 균질성을 갖춘 경우에, 클론으로 세포 बैं크를 만들지 않아도 된다.

A WCB is derived from one or more containers of the MCB. It is the WCB which is typically used to directly provide cells for the manufacturing process. Additional WCBs are generated from the MCB as needed. A newly prepared WCB should be appropriately qualified by characterisation and testing.

WCB는 하나 이상의 MCB 용기로 만든다. 제조 공정용 세포를 직접 제공하는데 사용되는 것이 WCB이다. 필요에 따라 MCB로 WCB를 추가로 만든다. 새로 만들어진 WCB는 특성

평가와 시험을 통해 적격성평가를 적절하게 실시한다.

It should be noted that the MCB and WCB may differ from each other in certain respects, e.g., culture components and culture conditions. Similarly, the culture conditions used to prepare the MCB and WCB may differ from those used for the production process. If changes in cell culture process do not affect product quality, it is not considered necessary to reclone the cells or to rebank the MCB or WCB. It is important that a characterised bank provides a consistent product.

MCB와 WCB는 배양 성분, 배양 조건 등 여러 부분이 다를 수 있다. 마찬가지로 MCB와 WCB 제조를 위한 배양 조건도 생산 공정의 배양 조건과 다를 수 있다. 세포 배양 과정의 변화가 제품 품질에 영향을 미치지 않는다면, 세포를 다시 클로닝 하거나 MCB 또는 WCB를 다시 만들지 않아도 된다. 특성 평가가 완료된 बैं크로 제품을 일관되게 생산하는 것이 중요하다.

A single-tiered banking system consisting only of the MCB but no WCBs could be used in principle, for example, if relatively few containers were needed each year to produce the desired product.

목적 산물을 생산하는데 해마다 상대적으로 적은 양의 용기가 필요하다면, 원칙적으로 WCB 없이 MCB만으로 구성된 단일 세포 बैं크 시스템을 채택할 수도 있다.

In some microbial expression systems, a new transformation is performed for each new cell substrate container lot, based upon using aliquots of thoroughly tested host cell banks and plasmid banks for each new transformation and on testing of each transformed cell substrate bank. This transformed cell substrate bank is considered the MCB, and it is used as the source of cell substrate for production. Host cell banks, plasmid banks, and MCBs are maintained by appropriate preservation methods. This alternative system is considered adequate because the transformation of bacteria and yeast is generally a very reproducible and easily performed process, unlike the events needed for transfection of metazoan cells. Manufacturers should provide information on the host cells, rDNA molecules (such as plasmids), method of transformation and of cell banking, and the results of characterisation studies.

일부 미생물 발현 시스템에서는 새로운 세포 기질 로트마다 새로운 형질 전환을 실시하는데, 이때 각각의 새로운 형질 전환에는 충분히 시험하고 소분한 숙주 세포 बैं크와 플라스미드 बैं크를 사용하며, 각각의 형질 전환 세포 기질 बैं크를 시험한다. 이렇게 형질 전환된 세포

기질 बैं크를 MCB로 간주하며, 생산용 세포 기질을 만드는데 사용된다. 숙주 세포 बैं크, 플라스미드 बैं크, 그리고 MCB를 적절한 보존 방법으로 유지한다. 후생 동물 세포의 형질 주입과는 달리, 일반적으로 세균과 효모의 형질 전환은 재현성이 매우 높고 용이하게 수행할 수 있으므로, 이러한 대체 시스템도 적절하다고 볼 수 있다. 제조업체는 숙주 세포, rDNA 분자(예, 플라스미드), 형질 전환과 세포 बैं크 방법, 특성 평가 결과와 관련된 정보를 제공해야 한다.

2.2.2 세포 बैं크 절차(Cell Banking Procedures)

It is important to prevent a contaminated cell substrate (or bank) from being used in production and to avoid a loss of product availability or development time resulting from the need to recreate a cell bank found to be unusable due to contamination. It is recognised that no cell bank testing regimen is able to detect all potential contaminants; therefore, use of these preventive principles during cell banking is important to provide reasonable assurance of the absence of contamination and to provide a reliable source of the cell substrate.

오염된 세포 기질(또는 बैं크)이 생산에 사용되지 않도록 한다. 또한 오염 때문에 사용할 수 없는 세포 बैं크의 제조 필요성에 따른 제품 가용성 상실이나 개발 지연을 피하는 것이 중요하다. 어떠한 세포 बैं크 시험 방법도 모든 잠재 오염 물질을 검출할 수는 없으므로, 오염이 없음을 합리적인 수준에서 보증하고 신뢰성 있는 세포 기질을 제공하기 위해서는 세포 बैं크를 만드는 동안에 예방 원칙을 적용하는 것이 중요하다.

Manufacturers should describe the type of banking system used, the size of the cell bank(s), the container (vials, ampoules, or other appropriate vessels) and closure system used, the methods used for preparation of the cell bank(s) including the cryoprotectants and media used, and the conditions employed for cryopreservation and storage.

제조업체는 세포 बैं크 시스템의 유형, 세포 बैं크의 규모, 용기(바이알, 앰플 또는 기타 적절한 용기)와 마개 시스템, 동결보호제 및 배지를 포함한 세포 बैं크 제조 방법, 냉동 보존과 보관 조건을 기술해야 한다.

Manufacturers should describe the procedures used to avoid microbial contamination and cross-contamination by other cell types present in the laboratory, and the procedures that allow the cell bank containers to be traced. This should include a description of the documentation system as well as that of a labelling

system which can withstand the process of preservation, storage, and recovery from storage without loss of labelling information on the container.

제조업체는 미생물 오염이나 시험실에 존재하는 다른 유형의 세포에 의한 교차 오염을 방지하기 위한 방법과 세포 은행 용기의 추적 관리 절차를 기술해야 한다. 이때 용기에 부착된 표시 정보의 손실 없이, 보존, 보관, 그리고 보관 상태의 용기 회수를 할 수 있는 라벨링 시스템과 문서화 시스템도 기술한다.

Manufacturers should describe their cell banking procedures. Cells are generally prepared for banking by expanding cultures in a progressively greater number or larger size of vessel until a pool of cells can be obtained which is sufficient to generate enough containers for the bank. To ensure the uniform composition of the contents of each container, a single pool of cells for banking should be prepared by combining the cells from all of the culture vessels, if more than one vessel is used.

제조업체는 세포 은행 절차를 기술해야 한다. 일반적으로 세포 은행을 위해 충분한 용기를 생산하는데 필요한 세포를 확보할 때까지, 점진적으로 배양 용기 수나 배양 용기 크기를 늘려가며 배양하여 세포 은행을 제조한다. 각 용기 내용물의 균일한 조성을 확보하기 위하여, 하나 이상의 배양 용기를 사용하는 경우에 모든 배양 용기의 세포를 모아서 세포 은행을 만들기 위한 단일 세포 풀을 만든다.

Cells suspended in preservation medium are aliquoted from the single pool into sterilised containers which are then sealed and stored under appropriate conditions. For example, animal cells in media containing a cryoprotectant are frozen in the sealed containers under defined and controlled conditions, and then transferred to storage in the vapor or liquid phase of liquid nitrogen or at equivalent ultra low temperatures. Other methods of preservation and storage may be adequate depending on the organism used, but they should be capable of maintaining a level of cell viability upon reconstitution which is both consistent and adequate for production use.

보존 배지에 현탁시킨 단일 풀의 세포를 멸균한 용기에 소분하여 밀봉하고 적절한 조건에서 보관한다. 예를 들어 동결보호제가 함유된 배지의 동물 세포를 밀봉 용기에 소분하여 지정 관리 조건에서 냉동시키고, 증기 또는 액체 상태의 액체 질소나 동등한 초저온 상태로 옮겨 보관한다. 생물체에 따라 보존 및 보관 방법이 다를 수 있으나, 복원 시에 세포 활성 수준을 유지하여 생산용으로 적절하고 일관된 상태에 있도록 하는 방법이어야 한다.

To ensure continuous, uninterrupted production of pharmaceuticals, manufacturers

should carefully consider the steps that can be taken to provide for protection from catastrophic events that could render the cell bank unusable. Examples of these events include fires, power outages and human error. Manufacturers should describe their plans for such precautions; for example, these may include redundancy in the storage of bank containers in multiple freezers, use of back-up power, use of automatic liquid nitrogen fill systems for storage units, storage of a portion of the MCB and WCB at remote sites, or regeneration of the MCB.

의약품의 지속적이고 중단 없는 생산을 위하여, 제조업체는 세포 बैं크를 사용할 수 없게 만들 가능성이 있는 재난으로부터 보호하기 위한 대책을 신중하게 검토해야 한다. 이러한 재난의 예로는 화재, 정전, 사람의 실수 등이 있다. 제조업체는 그와 같은 상황에 대비한 계획을 마련해야 한다. 예를 들면, 세포 बैं크 용기를 여러 냉동고에 나누어 보관하거나, 비상 발전기를 갖추거나, 보관 장치에 자동 액체 질소 충전 시스템을 구비하거나, MCB와 WCB의 일부를 멀리 떨어진 곳에 나누어 보관하거나, MCB를 다시 생산하는 방법 등이 있다.

The starting point of reference for estimates of in vitro cell age during manufacturing should be the thawing of one or more containers of the MCB. For diploid cell lines, in vitro lifespan should be estimated in terms of population doubling levels. The population doubling level at which senescence occurs should be determined for diploid cells.

제품 제조 시의 체외 세포 연령 추정을 위한 기준 시점은, 하나 이상의 MCB 용기를 해동하는 순간으로 한다. 이배체 세포주인 경우에 체외 수명은 세포 집단 배증 수준으로 정한다. 이배체 세포에 대하여 노화가 일어나는 집단 배증 수준을 정해야 한다.

2.3. 세포 बैं크 특성 평가 및 시험의 일반 원칙(General Principles of Characterisation and Testing of Cell Banks)

The characterisation and testing of banked cell substrates is a critical component of the control of biotechnological and biological products. Characterisation of the MCB allows the manufacturer to assess this source with regard to presence of cells from other lines, adventitious agents, endogenous agents and molecular contaminants (e.g., toxins or antibiotics from the host organism). The objective of this testing is to confirm the identity, purity, and suitability of the cell substrate for manufacturing use. In some cases, additional testing such as tumorigenicity or karyology may be useful. The testing program chosen for a given cell substrate will vary according to

the biological properties of the cells (for example, growth requirements), its cultivation history (including use of human-derived and animal-derived biological reagents) and available testing procedures. The extent of characterisation of a cell substrate may influence the type or level of routine testing needed at later stages of manufacturing. Manufacturers should perform tests for identity and purity once for each MCB, and tests of stability during cell cultivation once for each product to be registered. In addition, tests of purity and limited tests of identity should be performed once on each WCB. Also, applicants should consult the ICH guideline on viral safety. Relevant tests among those described below should be performed and described in the market application, along with the results of the testing.

세포 बैं크로 만들어진 세포 기질의 특성 평가와 시험은 생명 공학/생물학적 제품의 관리에 있어서 핵심적인 요소이다. 제조업체는 MCB의 특성 평가를 통해 다른 세포주에서 혼입된 세포, 외래성 인자, 내인성 인자 및 분자 오염 물질(예, 숙주 생물체 유래 독소 또는 항생제)의 존재를 파악할 수 있다. 이러한 시험의 목적은 세포 기질의 확인, 순도, 제조 적합성을 평가하는 것이다. 종양 형성능 또는 핵산 분석 등 추가 시험이 필요한 경우도 있다. 세포 기질의 시험 프로그램은 세포의 생물학적 특징(예, 성장 요구 조건), 배양 이력(사람 및 동물 유래 생물학적 시약 사용 포함), 활용 가능한 시험 절차에 따라 다양하다. 세포 기질의 특성 평가 정도는 제조 후기 단계에 실시하는 일상 시험의 종류나 수준에 영향을 미칠 수 있다. 제조업체는 각 MCB에 대하여 확인 시험과 순도 시험을 실시하고, 등록 대상 제품 각각에 대하여 세포 배양 동안의 안정성 시험을 해야 한다. 이외에도 각 WCB에 대하여 순도 시험과 제한적인 확인 시험을 실시한다. 또한 신청업체는 바이러스 안전성에 대한 ICH 가이드라인을 참고해야 한다. 아래 항목 중에서 관련 시험을 실시하고, 판매 신청 문서에 그 결과와 함께 기술한다.

For cell lines containing exogenously assembled expression constructs, the relevant ICH guideline on rDNA expression constructs should be consulted for guidance on the characterisation of nucleotide and amino acid sequences. It may also be useful to examine, by similar methods, the coding sequences in some non-recombinant DNA-derived cell lines where the gene sequences have been characterised and are well understood. However, it is not considered necessary to carry out investigations of the sequences encoding complex natural products, for example, families of related gene products, microbial vaccine antigens, or monoclonal antibodies from hybridomas.

외래 조합 발현 구조물을 함유하는 세포주인 경우, rDNA 발현 구조물 관련 ICH 가이드라인을 참고하여 뉴클레오타이드와 아미노산 서열의 특성 평가를 실시한다. 또한

유전자 서열의 특성이 분석되어 있고 잘 알려져 있는 일부 비-재조합 DNA 유래 세포주의 코딩 서열을 유사한 방법으로 검사하는 것도 유용할 수 있다. 그러나 유연 유전자 산물 집단, 미생물 백신 항원 또는 하이브리도마 유래 단일 클론 항체 같은 복잡한 천연 산물을 인코딩하는 서열을 조사할 필요는 없을 것이다.

Manufacturers are also encouraged to employ “state-of-the-art” methods and technological improvements in cell substrate characterisation and testing as they become available, as long as the specificity, sensitivity, and precision of the newer methods are at least equivalent to those of existing methods.

세포 기질 특성 평가와 시험에 “첨단” 방법과 새로운 기술을 적용하는 것이 권장되며, 이때 새로운 방법의 특이성, 민감성, 정밀성은 적어도 기존 방법과 동등해야 한다.

The manufacturer may choose to characterise the WCB instead of the MCB, if justified.

제조업체는 타당성이 있는 경우에, MCB 대신 WCB의 특성 평가를 선택할 수 있다.

2.3.1. 확인 시험(Tests of Identity)

Appropriate tests should be performed to determine that the banked cell is what it is represented to be. Either phenotypic or genotypic characteristics may be used in identity testing. It is not considered necessary to do all the possible tests. Tests of identity are generally performed on the MCB. In addition, limited identity testing is generally performed on each WCB.

적절한 시험을 실시하여 세포 बैं크의 세포가 동일한 것인지 확인한다. 표현형 또는 유전형 특성을 확인 시험에 활용할 수 있다. 모든 가능한 시험을 다 할 필요는 없다. 일반적으로 확인 시험을 MCB에 대하여 실시한다. 또한 각 WCB에 대해서는 제한적인 확인 시험을 실시한다.

2.3.1.1 후생 동물 세포(Metazoan Cells)

For human or animal cells which grow attached to a substratum, morphological analysis may be a useful tool in conjunction with other tests. In most cases, isoenzyme analysis is sufficient to confirm the species of origin for cell lines derived from human or animal sources; other tests may be appropriate depending on the history of the cell line. Other technologies may be substituted to confirm species of

origin, including, for example, banding cytogenetics or use of species-specific antisera. An alternative strategy would be to demonstrate the presence of unique markers, for example, by using banding cytogenetics to detect a unique marker chromosome, or DNA analysis to detect a genomic polymorphism pattern (for example, restriction fragment length polymorphism, variable number of tandem repeats, or genomic dinucleotide repeats). Either confirmation of species of origin or presence of known unique cell line markers is considered an adequate test of identity. Expression of the desired product may represent a complementary approach to confirmation of identity.

기층에 붙어 증식하는 사람 또는 동물 세포인 경우, 다른 시험과 연계하여 형태학적 분석이 유용할 수 있다. 대개는 사람 또는 동물 유래 세포주의 기원 종 확인에 동위 효소 분석이면 충분하다. 세포주의 이력에 따라 다른 시험도 적절할 수 있다. 분염 세포 유전학적 방법이나 종 특이적 항혈청 사용을 포함하여 다른 기술을 기원 종 확인에 사용할 수 있다. 고유 마커의 존재를 증명하는 방법도 있는데, 예를 들면 고유 마커 염색체 검출을 위한 분염 세포 유전학적 방법이나 유전체 다형성 패턴(예, 제한 효소 절편 길이 다형성, VNTR(variable number of tandem repeats), 또는 유전체 디뉴클레오티드 반복) 검출을 위한 DNA 분석 등이 있다. 기원 종 확인이나 기지의 고유한 세포주 마커의 존재 확인은 적절한 확인 시험 방법으로 간주된다. 목적 산물의 발현 또한 보완적인 확인 시험 방법이 될 수 있다.

2.3.1.2 미생물 세포(Microbial Cells)

For most microbial cells, analysis of growth on selective media is usually adequate to confirm host cell identity at the species level for the host cell bank and the transformed cell bank. For *E. coli*, where a variety of strains may be used, biological characterisation methods such as phage typing should be considered as supplementary tests of identity. For plasmid banks, identity assessment can be accomplished as described by the ICH document on analysis of the expression construct. Expression of the desired product is also considered adequate to confirm the identity of the microbial expression system.

대다수 미생물 세포의 숙주 세포 बैं크와 형질 전환 세포 बैं크인 경우에, 선택 배지를 이용한 성장 분석이 숙주 세포를 종 수준까지 확인하는데 적절하다. 다양한 균주가 사용될 수 있는 *E. coli*인 경우에는 파지 형별 분석 같은 생물학적 특성 평가 방법을 보완적인 확인 시험 방법으로 고려한다. 플라스미드 बैं크인 경우에 확인 평가는 발현 구조물의 분석에 관한 ICH 문서를 참고한다. 목적 산물의 발현 또한 미생물 발현 시스템의 확인 방법으로

적절하다.

2.3.2 순도 시험(Tests of Purity)

A critical aspect of cell development and banking is the assessment that the MCB and WCB are biologically pure, i.e., are free from adventitious microbial agents and adventitious cellular contaminants. The impact of selective agents and antibiotics on the detection of adventitious microbial contaminants should be considered when planning and performing these tests.

세포 개발과 세포 은행 제조의 핵심은 MCB와 WCB의 생물학적 순도, 즉 외래성 미생물과 외래성 세포 오염 물질이 없음을 평가하는 것이다. 이와 같은 시험을 계획하고 실시할 때는, 선별 인자와 항생제가 외래성 오염 미생물 검출에 미치는 영향을 고려해야 한다.

2.3.2.1 후생 동물 세포(Metazoan Cells)

Tests for the presence of bioburden (bacteria and fungi) should be performed on individual containers (1% of the total number but not less than two containers) of the MCB and WCB. In all other aspects, the current methodologies described in either the European Pharmacopoeia (Ph. Eur.), the Japanese Pharmacopoeia (JP) or the U.S. Pharmacopoeia (U.S.P.) for testing microbial limits or microbial sterility may be considered adequate.

MCB 및 WCB 용기(총 용기 수의 1% 또는 2개 이상)에 대하여 바이오버든(세균과 진균) 시험을 실시한다. 유럽 약전, 일본 약전, 미국 약전의 미생물 한도 시험이나 무균 시험 같은 시험 방법이 적절할 수 있다.

Tests for the presence of mycoplasma should be performed on the MCB and WCB. Current procedures considered adequate include both the agar and broth media procedures as well as the indicator cell culture procedure. Current methods for mycoplasma testing are described in Ph. Eur., JP, and "Points to Consider in the Characterisation of Cell Lines Used to Produce Biologicals" (FDA, CBER, 1993). Testing cells derived from a single container is generally considered adequate. For non-mammalian animal cell lines, alternative controls and/or assay conditions may be appropriate; manufacturers should consult with the national/regional regulatory authority for appropriate methodology.

MCB 및 WCB에 대하여 마이코플라스마 부정 시험을 실시한다. 현재 적절한 것으로

간주되는 방법으로는 아가 및 브로스 배지 방법과 지표 세포 배양 방법이 있다. 마이코플라스마 시험 방법은 유럽 약전, 일본 약전, 그리고 "생물학적제제 생산용 세포주 특성 평가 시의 고려 사항"(FDA, CBER, 1993년)을 참조한다. 일반적으로 단일 용기에서 유래한 세포를 시험하는 것이 적절하다. 비-포유동물 세포주인 경우에 다른 관리 및/또는 분석 조건이 적절할 수 있다. 제조업체는 적절한 방법을 국가/지역 규제 기관과 협의한다.

If future efforts to harmonize bioburden and mycoplasma assays are fruitful, then the scientifically appropriate harmonized assay should be used.

바이오버든 시험과 마이코플라스마 시험의 조화 작업이 결실을 맺으면, 과학적으로 적절하며 조화된 분석 방법을 사용해야 한다.

Virus testing of cell substrates should be designed to detect a wide spectrum of viruses by using appropriate screening tests and relevant specific tests, based on the cultivation history of the cell line, to detect possible contaminating viruses. Applicants should consult the ICH guideline on viral safety. For product classes not covered by the viral safety guideline, the current World Health Organization (WHO) documents for use of animal cells may be consulted.

적절한 스크리닝 시험과 세포주의 배양 이력에 근거하여 오염 가능성이 있는 바이러스를 검출하기 위한 특이적 시험 방법을 활용해 다양한 바이러스를 검출할 수 있게 세포 기질의 바이러스 시험을 설계한다. 바이러스 안전성에 관한 ICH 가이드라인을 참조한다. 바이러스 안전성 가이드라인의 적용 대상이 아닌 제품 클래스인 경우, 동물 세포 사용에 관한 현행 WHO 문서를 참조할 수 있다.

The purity of cell substrates can be compromised through contamination by cell lines of the same or different species of origin. The choice of tests to be performed depends upon whether opportunities have existed for cross-contamination by other cell lines. In some cases, it may be necessary to maintain growing cultures of different cell lines in the same laboratory. During procedures in cell banking where open manipulations are performed, care should be taken to ensure that simultaneous open manipulations of other cell lines are avoided to prevent cross-contamination. Whenever another cell line was present in the cell banking room at the same time that open cell banking procedures were being performed (such as cell expansion, pooling, or aliquoting of the chosen cell line), the cell banks should be tested for the presence of cells from (or products derived from) the second cell line. In general, the methods described in Section 2.3.1 to assess cell identity are

also considered adequate tests to detect cross-contamination by other cell lines. Additional assurance of lack of cross-contamination can be provided by successful preparation of the intended product from the cell substrate.

동일 또는 다른 기원종의 세포주에 의한 오염으로 세포 기질의 순도가 훼손될 수 있다. 다른 세포주의 교차 오염 가능성을 고려하여 시험 방법을 선택한다. 동일 시험실에서 서로 다른 세포주를 배양해야 하는 경우도 있다. 세포 은행 제조 중에 노출 상태의 조작 행위가 있다면, 교차 오염 방지를 위해 다른 세포주를 동시에 노출 상태에서 조작하는 일이 없도록 주의해야 한다. 노출 상태의 세포 은행 작업이 실시되는 동안(예, 세포 증식, 폴링, 또는 세포주 소분) 세포 은행 작업실에 다른 세포주가 있었다면, 세포 은행에 대하여 그 세포주 유래 세포(또는 유래 산물)의 존재 여부를 시험해야 한다. 일반적으로 섹션 2.3.1의 세포 확인 방법이, 다른 세포주의 교차 오염을 파악하는 적절한 시험 방법이라 할 수 있다. 세포 기질로부터 목적 제품을 성공적으로 생산하여, 교차 오염의 부재를 추가로 보증할 수 있다.

2.3.2.2 미생물 세포(Microbial Cells)

The design and performance of specific tests for adventitious microbial agents and adventitious cellular contaminants in microbial cell banks should take into account the properties of the banked cell, the likely contaminants based upon scientific literature, source, methods and materials used for cultivation, and other organisms present in the banking laboratory. For example, visual examination of the characteristics of well-isolated colonies is suggested, using several microbiological media, of which some do and some do not support growth of the cell substrate. However, it is not intended that manufacturers necessarily characterise resistant mutants of the cell substrate arising from such studies, or other artifacts of such assays. Rather, the purpose of such assays is to detect existing contaminants.

미생물 세포 은행의 외래성 미생물과 외래성 세포 오염 물질을 검출하기 위한 특이적인 시험 방법의 디자인 및 수행 시에는, 세포의 특성, 과학 문헌에 근거하여 가능성이 있다고 판단되는 오염 물질, 출처, 배양 방법과 배양 재료, 세포 은행을 만든 시험실에 있는 기타 생물을 고려해야 한다. 예를 들어 세포 기질의 성장을 지원하는 배지와 그렇지 않은 배지 등 여러 종류의 미생물 배지를 이용해, 분리된 콜로니의 특성을 육안으로 검사할 수 있다. 하지만 제조업체가 상기 실험에서 발생한 세포 기질의 내성 돌연변이체나 분석 시의 기타 아티팩트도 반드시 특성 분석을 해야 하는 것은 아니다. 분석의 목적은 오염 물질을 검출하는 것이다.

2.3.3 세포 기질 안정성(Cell Substrate Stability)

Another dimension to cell characterisation is appropriateness for intended use in production. There are two concerns for cell substrate stability: Consistent production of the intended product and retention of production capacity during storage under defined conditions.

세포 특성 평가에 있어서 또 다른 중요한 부분은 생산 용도 적절성이다. 세포 기질의 안정성과 관련된 두 가지 문제점은, 목적 제품의 일관된 생산과 지정 조건에서 보관하는 동안 생산 능력 유지이다.

For the evaluation of stability during cultivation for production, at least two time points should be examined, one using cells which have received a minimal number of subcultivations, and another using cells at or beyond the limit of in vitro cell age for production use described in the marketing application. The limit of in vitro cell age for production use should be based on data derived from production cells expanded under pilot plant scale or commercial scale conditions to the proposed limit of in vitro cell age for production use or beyond. Generally, the production cells are obtained by expansion of cells from the WCB; cells from the MCB could be used with appropriate justification. This demonstration of cell substrate stability is commonly performed once for each product marketing application.

생산을 위한 배양 동안의 안정성 평가 시에 최소 2개 시점에서 검사해야 하는데, 하나는 최소 횟수로 계대배양한 세포이고 다른 하나는 판매 신청 문서에 기술된 생산용 체외 세포 연령 한도 또는 그 이상의 세포이다. 생산용 체외 세포 연령 한도는, 파일럿 플랜트 스케일이나 상업적 스케일 조건에서 생산용 체외 세포 연령 한도나 그 이상으로 배양하여 얻은 생산 세포의 데이터에 근거하여 결정한다. 일반적으로 생산 세포는 WCB 세포를 증식시켜 확보하며, 타당성이 증명되는 경우에는 MCB 세포를 사용할 수도 있다. 세포 기질 안정성의 증명은, 일반적으로 제품 판매 신청 시에 실시한다.

Evaluation of the cell substrate with respect to the consistent production of the intended product of interest should be the primary subject of concern. The type of testing and test article(s) used for such assessments will depend on the nature of the cell substrate, the cultivation methods, and the product. For cell lines containing recombinant DNA expression constructs, consistency of the coding sequence of the expression construct should be verified in cells cultivated to the limit of in vitro cell age for production use or beyond by either nucleic acid testing or product analysis, as described in the relevant ICH guideline. For non-recombinant cell lines in which

the coding sequence for the desired product has already been analyzed at the MCB or WCB level, invariability of the protein coding sequence during production should be verified in the production cells cultivated to the proposed limit of in vitro cell age for production use or beyond by either nucleic acid testing or analysis of the purified protein product.

세포 기질 평가에 있어서 가장 중요한 부분은, 목적 제품의 일관된 생산과 관련된 것이다. 이 평가에 사용되는 검체와 시험 종류는 세포 기질의 특성, 배양 방법, 제품에 따라 다르다. 재조합 DNA 발현 구조물을 포함하는 세포주인 경우, 관련 ICH 가이드라인에 기술된 바에 따라, 생산용 체외 세포 연령 한도나 그 이상으로 배양한 세포를 상대로, 핵산 시험이나 제품 분석을 실시해 발현 구조물 코딩 서열의 일관성을 확인한다. 목적 산물의 코딩 서열을 이미 MCB나 WCB 단계에서 분석한 비-재조합 세포주인 경우, 생산용 체외 세포 연령 한도나 그 이상으로 배양한 생산 세포를 상대로, 핵산 시험이나 정제 단백질 제품 분석을 실시해 생산 시 단백질 코딩 서열의 불변성을 확인한다.

Where the product cannot be analyzed as described above, other specific traits which may include, for example, morphological characteristics, growth characteristics, biochemical markers, immunological markers, productivity of the desired product, or other relevant genotypic or phenotypic markers may be useful for the assessment of cell substrate stability. In some cases, where direct comparison of the characteristics of the MCB with those of the production cells at or beyond the limit of in vitro cell age is difficult or impossible, one may compare the characteristics of cells at the initial stages of cultivation or production to those of cells at or beyond the limit of in vitro cell age for production use in order to assess cell stability during production. Indices such as, for example, oxygen or glucose consumption rates, ammonia or lactate production rates may be useful for such testing. Increases in the defined limit of in vitro cell age for production use should be supported by data from cells which have been expanded to the proposed new limit of in vitro cell age. For diploid cell lines, data should be presented that establish the finite in vitro lifespan of the cells from the WCB under conditions representative of those employed for manufacturing use.

제품을 위에서 기술한 바와 같이 분석할 수 없는 경우, 다른 특이적인 특성, 예를 들어 형태학적 특성, 증식 특성, 생화학적 지표, 면역학적 지표, 목적 산물의 생산성 또는 기타 관련 유전형이나 표현형 마커 등이 세포 기질 안정성 평가에 유용할 수 있다. MCB의 특성과 체외 세포 연령 한도나 그 이상으로 배양된 생산 세포의 특성을 직접 비교하기가 어렵거나 불가능한 경우, 배양 또는 생산 초기 단계의 세포 특성과 생산용 체외 세포 연령

한도 또는 그 이상으로 배양된 세포의 특성을 비교하여 생산 시 세포 안정성을 평가할 수도 있다. 예를 들어 산소 또는 글루코오스 소비율, 암모니아 또는 젖산염 생성을 같은 지표가 이 시험에 유용할 수 있다. 생산용 체외 세포 연령의 지정 한도를 늘리려면, 새로운 체외 세포 연령 한도까지 증식시킨 세포의 데이터로 뒷받침한다. 이배체 세포주인 경우에는, 제조 상황을 대표하는 조건에서 WCB 세포의 유한한 체외 수명 설정과 관련된 데이터를 제출한다.

Evidence for banked cell stability under defined storage conditions will usually be generated during production of clinical trial material from the banked cells. Data from the determination of cell viability when the preserved cells are reconstituted for production of clinical trial supplies will verify that the revived cells have survived the preservation process. Data from the preparation of clinical materials will demonstrate that the revived cells can be used to prepare the desired product. Available data should be clearly documented in the application dossiers, plus a proposal for monitoring of banked cell stability should be provided. The proposed monitoring can be performed at the time that one or more containers of the cryopreserved bank is thawed for production use, when the product or production consistency is monitored in a relevant way, or when one or more containers of the cryopreserved MCB is thawed for preparation of a new WCB (and the new WCB is properly qualified), as appropriate. In the case when production does not take place for a long period of time, viability testing on the cell bank used as a source of the production substrate should be performed at an interval described in the marketing application. If the viability of the cell substrate is not significantly decreased, generally no further testing of the MCB or WCB is considered necessary.

세포 बैं크로 임상 시험 제품을 생산할 때, 지정 보관 조건에서 세포 बैं크의 안정성에 관한 증거를 확보한다. 임상 시험 제품 생산을 위해 보존 세포를 복원할 때 세포 활성을 시험하여, 세포가 보존 과정을 견뎌 냈음을 보여주는 데이터를 확보한다. 임상 물품을 만드는 동안 확보한 데이터를 통해, 복원 세포를 목적 산물의 생산에 사용할 수 있음을 증명한다. 활용 가능한 데이터를 신청 문서에 명확하게 기술하며, 세포 बैं크 안정성의 모니터링 방안도 제출한다. 하나 이상의 냉동 보존 세포 बैं크 용기를 생산 용도로 해동할 때, 제품 또는 생산 일관성을 적절한 방법으로 모니터링할 때, 또는 냉동 보존된 MB 용기 하나 이상을 해동하여 새로운 WCB 제조에 사용할 때(그리고 새로운 WCB에 대하여 적절하게 적격성평가를 실시할 때), 안정성 모니터링을 수행할 수 있다. 장기간 생산하지 않을 때는, 생산 기질로 사용되는 세포 बैं크의 활성 시험을 판매 신청 문서에 기술한 주기로 실시한다. 세포 기질의 활성이 크게 감소하지 않으면, 일반적으로 MCB 또는

WCB의 추가 시험이 필요하지 않다.

2.3.4 핵학 및 종양 형성능 시험(Tests for Karyology and Tumorigenicity)

Utilisation of karyology and tumorigenicity testing for evaluating the safety of a diploid cell line or characterizing a new cell line may be useful depending on the cells, the nature of the product and the manufacturing process. Extensive analysis to determine the relative abundance of aneuploid cells has not been found to be useful. Karyology need not be determined for rodent cell lines or new cell lines known to be non-diploid. However, cytogenetic analysis may be an adequate method to assess cell substrate identity or purity as described in Sections 2.3.1 and 2.3.2. Repetition of tumorigenicity testing for cells with already documented evidence of tumorigenicity is not considered necessary.

이배체 세포주의 안전성 평가 또는 새로운 세포주의 특성 평가를 위한 핵학 및 종양 형성능 시험은 세포, 제품 특성, 제조 공정에 따라 유용할 수 있다. 이수체 세포의 상대 빈도 파악을 위한 광범위한 분석은 유용하지 않은 것으로 밝혀졌다. 이배체가 아닌 것으로 알려진 새로운 세포주나 설치류 세포주인 경우에는 핵학 분석이 필요하지 않다. 그러나 세포 유전학적 분석은 섹션 2.3.1과 2.3.2에 기술된 바에 따른 세포 기질 확인과 순도 평가에 적절한 방법이 될 수 있다. 이미 종양 형성능이 증명된 세포는 종양 형성능 시험을 다시 반복할 필요가 없다.

For products that are highly purified and that contain no cells, karyology and tumorigenicity testing are generally not considered necessary, provided that appropriate limits for residual host cell DNA are shown to be consistently met by either process validation studies or by lot release testing.

고도로 정제된 제품과 세포가 포함되지 않은 제품인 경우, 공정 밸리데이션 또는 로트 출하 승인 시험을 통해 잔류 숙주 세포 DNA 수준이 일관되게 기준을 충족하는 것으로 밝혀지면, 일반적으로 핵학 및 종양 형성능 시험이 필요하지 않다.

In general, products for which the presence of live cells cannot be excluded or which have little downstream purification (for example, some conventional live virus vaccines) will need such characterization of the cell substrate. The utility of tumorigenicity testing and chromosomal analysis for new cell substrates for unpurified products should be evaluated on a case-by-case basis. Use of cell lines known to be tumorigenic or to possess abnormal karyology should be evaluated in

terms of risk-benefit for each product application when the product contains cells or when not highly purified.

일반적으로 살아 있는 세포의 존재를 배제할 수 없거나 다운스트림 정제 공정이 거의 없는 제품인 경우(예, 일부 전통적인 생바이러스 백신), 세포 기질에 대한 그와 같은 특성 평가가 필요하다. 미정제 제품을 위한 새로운 세포 기질의 종양 형성능 시험과 염색체 분석의 유용성을 상황별로 평가한다. 제품이 세포를 포함하거나 고도로 정제되지 않은 경우, 종양을 유발하거나 비정상 핵형을 갖는 세포주 사용의 타당성을 제품별로 위험성-유익성 측면에서 평가한다.

Products that are manufactured in genetically unmodified MRC-5 or WI-38 cells do not need characterization of these cell substrates by karyology or tumorigenicity since extensive characterization has already been performed and published for these cell lines. However, for each MRC-5 and WI-38 WCB generated, manufacturers should confirm, once, that the cells grown in the manner to be used in production are diploid and have the expected lifespan.

유전적으로 변형되지 않은 MRC-5나 WI-38 세포를 이용해 제조하는 제품인 경우, 이들 세포주에 대하여 광범위한 특성 평가가 이미 실시되어 발표되었으므로, 핵학 또는 종양 형성능 시험에 의한 세포 기질 특성 평가는 필요하지 않다. 그러나 각 MRC-5나 WI-38 WCB에 대하여, 제조업체는 생산에 사용되는 방식으로 증식한 세포가 이배체이며 예상 수명을 갖는지 확인해야 한다.

For new or previously uncharacterized diploid cell substrates, confirmation of diploid karyology should be presented and tumorigenic potential should be established, using cells from the MCB. Methods for karyological and tumorigenicity analysis may be found in the WHO document "WHO Requirements for Use of Animal Cells as in vitro Substrates for the Production of Biologicals" in WHO Expert Committee on Biological Standardization, 47th Report, Geneva, World Health Organization (WHO Technical Report Series, in press).

새로운 이배체 세포 기질이나 특성 평가를 하지 않은 이배체 세포 기질인 경우, MCB에서 얻은 세포를 이용해 이배체 핵형을 확인하고 종양 형성능을 평가한다. 핵학 및 종양 형성능 분석 방법은 WHO 문서 "생물학적제제 생산용 체외 기질로 동물 세포 사용에 관한 WHO 기준"(WHO Expert Committee on Biological Standardization, 47th Report, Geneva, World Health Organization (WHO Technical Report Series))을 참조한다.

3. 용어 정의(GLOSSARY)

세포 बैं크(Cell bank)

A cell bank is a collection of appropriate containers, whose contents are of uniform composition, stored under defined conditions. Each container represents an aliquot of a single pool of cells.

세포 बैं크는 내용물의 조성이 균일하고 지정 조건에서 보관하는 적절한 용기의 집합체이다. 각 용기는 단일 세포 풀을 소분한 것이다.

세포주(Cell line)

Type of cell population which originates by serial subculture of a primary cell population, which can be banked.

일차 세포 집단을 연속으로 계대 배양하여 획득하며 세포 बैं크를 만드는데 사용할 수 있는 세포 집단.

연속 세포주(Continuous cell line)

A cell line having an infinite capacity for growth. Often referred to as "immortal" and previously referred to as "established".

무한한 증식 능력을 가진 세포주. "불멸" 세포주라고도 부르며, 예전에는 "확립된" 세포주로 표현했다.

이배체 세포주(Diploid cell line)

A cell line having a finite in vitro lifespan in which the chromosomes are paired (euploid) and are structurally identical to those of the species from which they were derived.

체외 수명이 유한한 세포주로, 염색체가 쌍을 이루며(정배수체) 기원 종과 구조적으로 동일하다.

숙주 세포(Host cells)

See Parental cells.

모세포 참조.

체외 세포 연령(In vitro cell age)

Measure of time between thaw of the MCB vial(s) to harvest of the production vessel measured by elapsed chronological time, by population doubling level of the

cells, or by passage level of the cells when subcultivated by a defined procedure for dilution of the culture.

MCB 바이알 해동부터 생산 용기의 수득까지 걸린 시간을 배양 경과 시간, 세포 집단 배증 시간, 배양액 희석을 위한 지정 절차로 계대 배양한 경우에 세포 계대 횟수로 표시하는 시간 단위.

후생 동물(Metazoan)

Organism of multicellular animal nature.

다세포 동물 특성을 갖는 생물.

MCB(Master Cell Bank)

An aliquot of a single pool of cells which generally has been prepared from the selected cell clone under defined conditions, dispensed into multiple containers and stored under defined conditions. The MCB is used to derive all working cell banks. The testing performed on a new MCB (from a previous initial cell clone, MCB or WCB) should be the same as for the MCB unless justified.

선정된 세포 클론을 이용해 지정 조건에서 제조하여 여러 용기에 분주하고 지정 조건에서 보관하는 단일 세포 풀의 분주물. MCB을 이용하여 상용 세포 बैं크를 제조한다. 달리 타당성을 증명할 수 없으면, 새로운 MCB(예전 최초 세포 클론, MCB 또는 WCB 유래)를 해당 MCB와 동일하게 시험한다.

모세포(Parental cells)

Cell to be manipulated to give rise to a cell substrate or an intermediate cell line. For microbial expression systems, it is typical to also describe the parental cells as the host cell. For hybridomas, it is typical to also describe the parental cells as the cells to be fused.

세포 기질이나 중간 세포주를 만드는데 사용되는 세포. 미생물 발현 시스템인 경우에 일반적으로 모세포를 숙주 세포라 한다. 하이브리도마인 경우에는 모세포를 융합 대상 세포로 부른다.

WCB(Working Cell Bank)

The Working Cell Bank is prepared from aliquots of a homogeneous suspension of cells obtained from culturing the MCB under defined culture conditions.

WCB는 지정 배양 조건에서 MCB를 배양하여 확보한 균질한 세포 현탁액 분주물로 만든다.

APPENDIX 1: 일차 세포 기질 (PRIMARY CELL SUBSTRATES)

I. 서론(Introduction)

The principles contained in this document apply in general to biotechnological/biological products prepared from characterized banked cells. However, a number of biological products, in particular certain viral vaccines, are prepared using primary cells.

이 문서에 기술된 원칙은 일반적으로 특성 평가가 완료된 세포 बैं크로 만든 생명공학/생물학적 제품에 적용된다. 하지만 많은 생물학적 제품, 특히 일부 바이러스 백신은 일차 세포를 이용하여 제조된다.

Because primary cell cultures are used within the first passage after establishment from the tissue of origin, it is not possible to carry out extensive characterization of the cells prior to their use as is done for banked cell substrates. In addition, biological products produced using primary cell substrates often do not undergo extensive processing (e.g., purification). Despite these differences, the approach taken to assure the suitability and safety of primary cell substrates for production of biologicals is analogous, in many respects, to that outlined in this document and in other guidelines.

일차 배양 세포는 기원 조직으로부터 확립한 이후 첫 번째 계대에서 사용되므로, 세포 기질 बैं크처럼 사용 전에 광범위한 세포 특성 평가를 할 수 없다. 이외에도 일차 세포 기질을 이용하여 생산되는 생물학적 제품은 광범위한 공정(예, 정제)을 거치지 않기도 한다. 이러한 차이에도 불구하고, 생물학적 제품 생산용 일차 세포 기질의 적합성과 안전성을 보증하기 위한 방법은, 많은 점에서 이 문서와 다른 가이드라인에 기술된 것과 유사하다.

This Annex outlines cell substrate-related information that should be included in marketing applications for biological products prepared using primary cells. This information falls into three general categories: (1) Information concerning the source tissue (or organ) and other animal-derived raw materials used for the establishment of primary cell substrates, (2) information concerning the preparation of primary cell substrates, and (3) testing performed on primary cell substrates to ensure the safety of the product.

이 부록은 일차 세포를 이용하여 생산된 생물학적 제품의 판매 신청 문서에 포함시켜야 하는 세포 기질 관련 정보를 제시한다. 이 정보는 다음과 같이 세 가지 카테고리로 나눌 수

있다. (1) 일차 세포 기질 확립에 사용된 기원 조직(또는 기관) 및 기타 동물 유래 원료에 관한 정보, (2) 일차 세포 기질 제조와 관련된 정보, (3) 제품 안전성 보증을 위해 일차 세포 기질에 대해 실시하는 시험에 관한 정보.

II. 기원 조직 및 기타 원료(Source Tissue and Other Raw Materials)

Information should be provided about the animals used as a source of tissue for the preparation of primary cell substrates. Tissue should be derived from healthy animals subjected to veterinary and laboratory monitoring to certify the absence of pathogenic agents. Whenever possible, donor animals should be obtained from closed, specific pathogen-free (when available) colonies or flocks. Animals used as tissue donors should not have been used previously for experimental studies. Animals should be adequately quarantined for an appropriate period of time prior to use for the preparation of cells. In some countries, animals may need to be quarantined in the country where the primary cells are prepared. Manufacturers should consult with national/regional authorities for specific requirements.

일차 세포 기질 제조용 조직의 유래가 되는 동물에 관한 정보를 제공한다. 병원체가 없음을 확인하기 위해 수의학적/실험실적 모니터링을 거친 건강한 동물에서 조직을 확보한다. 가능하면 폐쇄형 SPF(가능한 경우) 집단에서 기증 동물을 확보한다. 조직 기증 동물은 다른 실험에 사용된 적이 없어야 한다. 동물을 일정 기간 동안 적절하게 격리한 다음에 세포 제조에 사용한다. 일차 세포가 만들어지는 나라에서 동물을 격리 관리하도록 요구하는 경우도 있다. 구체적인 사항은 국가/지역 규제 기관에 문의한다.

Information on materials and components used for the preparation of primary cell substrates should be provided, including the identity and source of all reagents of human or animal origin. A description of testing performed on components of animal origin to certify the absence of detectable contaminants and adventitious agents should be included.

모든 사람 또는 동물 유래 시약의 출처와 확인을 포함하여, 일차 세포 기질 제조에 사용된 물질과 성분에 관한 정보를 제공한다. 검출 가능한 오염 물질과 외래성 인자가 없음을 확인하기 위하여 동물 유래 성분에 대해 실시한 시험 관련 정보도 기술한다.

III. 일차 세포 기질의 제조(Preparation of Primary Cell Substrates)

Methods used for isolation of cells from tissue, establishment of primary cell

cultures and maintenance of cultures should be described.

조직으로부터 세포 분리, 일차 세포 배양액 확립, 배양액 유지 방법을 기술한다.

IV. 일차 세포 기질의 시험(Testing of Primary Cell Substrates)

Tests performed on primary cell substrates to qualify them for use in production should be described. As noted, the nature of primary cell substrates precludes extensive testing and characterization prior to use. Testing to demonstrate the absence of adventitious agents in these substrates is therefore conducted concurrently and may include: Observation of production or uninfected control cultures before, during, and beyond the period of production; inoculation of culture fluids from production and uninfected control cultures into various susceptible indicator cell cultures capable of detecting a wide range of relevant viruses, followed by examination for cytopathic changes and testing for the presence of hemadsorbing viruses; and other tests for specific agents (such as relevant retroviruses) as necessary. Additional information concerning specific viral tests may be found in the relevant national/regional/international guidelines.

일차 세포 기질이 생산용으로 적합한지 평가하기 위해 실시한 시험에 관한 정보를 기술한다. 앞서 언급한 바와 같이, 일차 세포 기질의 특성 때문에, 사용에 앞서 광범위한 시험과 특성 평가가 어렵다. 그러므로 이 세포 기질에 외래성 인자가 없음을 증명하기 위한 시험을 동시에 실시하며, 이때 생산 배양액 관찰 또는 생산 이전, 도중, 이후 감염되지 않은 대조 배양액 관찰, 다양한 관련 바이러스 검출 능력이 있는 여러 가지 민감성 지표 세포에 생산 배양액과 미감염 대조 배양액의 일부를 접종한 다음에 세포 병변 관찰 및 혈구 흡착 바이러스 존재 여부 시험, 필요에 따라 특정 인자(예, 관련 레트로바이러스) 시험 등을 할 수 있다. 특정 바이러스 시험 관련 추가 정보는 해당 국가/지역/국제 가이드라인을 참조한다.

Appropriate testing regimens and test methods for cells used in the production of specific products will vary depending on the donor species used as a source of tissue, adventitious agents potentially present, the nature of the product, its intended clinical use, aspects of the manufacturing process, and the extent of testing performed on the final product. Applicants should explain and justify the approach taken with respect to their specific product.

특정 제품 생산에 사용되는 세포에 적절한 시험 항목과 시험 방법은, 조직의 유래가 되는 종, 존재 가능성이 있는 외래성 인자, 제품 특성, 예정 임상 용도, 제조 공정, 최종 제품의

시험 수준에 따라 달라진다. 신청업체는 특정 제품과 관련하여 채택한 것을 설명하고 그 타당성을 제시해야 한다.

gmpeye