

안내서 등록번호

안내서-1135-02



예방용 DNA 백신 평가 가이드라인 [민원인 안내서]

2026. 07.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

바이오생약심사부 생물제제과

지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭

예방용 DNA 백신 평가 가이드라인 (민원인 안내서)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	☐ 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	☐ 예 ☒ 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 :)	
	☐ 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 외국 규정을 단순 번역하거나 설명하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	☐ 예 ☒ 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	☐ 행정사무의 통일을 기하기 위하여 내부적으로 행정사무의 세부 기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	☐ 예(☞지침서) ☒ 아니오
	☐ 민원인들의 이해를 돕기 위하여 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 설명하거나 특정 민원업무에 대한 행정기관의 대외적인 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	☒ 예(☞안내서) ☐ 아니오
기타 확인 사항	☐ 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
상기 사항에 대하여 확인하였음. 2026년 07월 21일 담당자 확 인(부서장) 박은혜 김재옥		

이 안내서는 예방용 DNA 백신 평가 시 고려사항에 대하여 알기 쉽게 설명하거나 식품의약품안전처의 입장을 기술한 것입니다.

이 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술양식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 참고로만 활용하시기 바랍니다. 또한, 이 안내서는 2026년 7월 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

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

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 생물제제과에 문의하시기 바랍니다.

전화번호 : 043-719-3481

팩스번호 : 043-719-3450

제·개정 이력서

연번	제·개정번호	발행일자	주요내용
1	안내서-1135-01	2021.07.30.	제정
2	안내서-1135-02	2026.07.21.	개정 (품질관리 및 비임상시험 내용 중 3R원칙 반영)

목 차

용어설명	6
1. 서론	9
1.1. 배경	9
1.2. 목적 및 범위	15
1.3. 일반적 고려사항	16
2. 품질 평가	18
2.1. 정의	18
2.2. 제조의 일반적 사항	18
2.3. 원액의 제조 및 관리	20
2.4. 완제의약품의 제조 및 관리	28
3. 비임상 평가	34
4. 임상 평가	37
[참고문헌]	39

용어설명

- **면역증강제(adjuvant)** : 관련된 면역반응과 이후 백신의 임상적 유효성 강화를 목적으로 하는 물질(58).
- **유익성-위해성 평가(benefit-risk assessment)** : 해당 의약품의 유익성이 위해성을 상회하는가를 평가하기 위한 의사결정 과정. 유익성 및 위해성은 제출자료의 모든 부분, 즉 품질 및 비임상, 임상 자료에서 확인하여 전반적인 평가에 통합되어야 한다.
- **원액 정제 플라스미드(원액)(bulk purified plasmid(bulk))** : 최종 제형화 이전의 정제된 플라스미드. 1차레 또는 그 이상 횟수의 수확으로 획득하고 단일의 균일한 생산 배치로 지정되어 1개 또는 그 이상의 용기에 보관하며 최종 제형(dosage form)(최종 제형화된 백신(final formulated vaccine))의 준비에 사용된다.
- **후보 백신(candidate vaccine)** : 후보 백신이란 규정에서 다른 후보 백신 및 기허가 백신과는 별도의 독특한 제품으로 간주하는 백신이다.
- **세포은행(cell bank)** : 목적하는 면역원을 코딩하는 플라스미드를 사용하여 형질전환한(transformed) 단일 세균 세포에서 유래했으며, 직접적으로 또는 세포은행 시스템을 통해 백신 생산에 사용하는 균일한 조성의 세포 바이알의 모음. 본 가이드라인에서는 다음 용어를 사용하고 있다.
- **마스터 세포은행(MCB)** : 세포 기질(cell substrate)의 은행으로 백신 생산에 사용하는 이후의 모든 세포은행을 추출하게 되며, 단일 세포에서 유래한 특성이 잘 분석된 세포들의 모음을 대표함. 생산용 세포은행(WCB): 정의된 조건 하에 MCB의 세포를 증식하여 추출했으며, 로트 별 기반으로 배양세포 생산을 개시하기 위해 사용되는 세포은행임. 다른 문서에서는 “제조사의 생산용 세포은행(manufacturer’s working cell bank)”으로 칭하기도 함

- **예방용 DNA 백신** : 목적하는 면역원(들)을 위한 유전자를 삽입하여 체내에 투여할 정제 플라스미드 부유액으로 준비되는 DNA 플라스미드(들). 통상적으로, 이러한 플라스미드는 세균 안에서 선택 및 복제를 위해 필요한 DNA 서열을 지니고 있다. 또한, 플라스미드는 피접종자 체내에서 유전자 발현을 촉진하기 위한 진핵세포(eukaryotic) promoter 및 enhancer 그리고 전사 종결/폴리아데닐화(termination/polyadenylation) 서열을 지니고 있으며, 면역조절 요소를 포함하고 있을 수 있다.
- **최종 로트(final lot)** : 제품의 조성 및 충전 중 오염 방지와 관련하여 균일한, 밀봉된 최종 용기의 모음. 따라서 최종 로트는 반드시 단일 연속 작업 세션에서 제형화된 원액으로부터 충전해야 한다.
- **최종 제품(final product)** : 필수적이지는 않으나 일반적으로 비활성 성분(첨가제(excipient)) 또는 면역증강제와 함께, 활성 성분을 함유한 최종화된 제형(예: 현탁액 또는 동결건조 분말). 다른 문서에서는“최종화된 제품(finished product)” 또는 “완제의약품(drug product)”으로도 칭함
- **제형화된 원액(formulated bulk)** : 완제의약품 제조공정 중의 중간체(intermediate)로서, 일차 용기에 충전할 농도로 제형화된 항원 및 면역증강제, 첨가제로 구성됨
- **의약품 제조 및 품질 관리기준(GMP)** : 제품이 의도한 사용에 적합한 품질기준 및 품목허가 요건에 따라 일관적인 제품 생산 및 관리를 보장하는 시스템
- **이종 기초-추가접종(heterologous prime-boost)** : 예방용 DNA 백신은 이질적인 기초-추가접종으로 구성된 병용 접종계획을 통해 예를 들어 바이러스 벡터 백신이나 재조합 단백질 백신과 같이, 또 다른 백신과 함께 접종된다. 달리 말하면, 한 가지 백신을 기초접종(priming dose series)으로 투여하고 이와 다른 백신(또는 이 두 백신의 병용)이 추가접종(booster)으로 투여된다.
- **면역원성(immunogenicity)** : 백신이 측정 가능한 면역반응을 유도하는 능력

- **품목허가(marketing authorization)** : (백신을 포함한) 의약품의 시판을 위한 공식 허가. 식약처가 새로운 의약품의 품목허가 신청을 승인하면 이 의약품은 시판할 수 있으며 의사의 처방 및/또는 공중보건 사용을 위해 제공이 가능해진다(제품의 라이선스계약(licensing), 승인(authorization), 등록(registration)도 참조할 것)
- **플라스미드(plasmid)** : 세균 세포 내에서 자율적으로 복제하는 원형의 염색체와 분리된 세균 DNA의 요소. 일반적으로 몇 가지 유전자를 지니고 있으며, 이 중 일부는 다양한 항생제나 기타 선택 표지자(selection marker)에 내성을 유발하며 이러한 내성이나 선택 표지자는 플라스미드를 함유한 유기체와 그렇지 않은 유기체를 구분하는 데 사용된다.

예방용 DNA 백신 평가 가이드라인

1. 서론

1.1. 배경

백신 접종에서는 백신이 피접종자에게 부당한 피해나 질환을 유발하지 않도록 변형한 감염성 인자(infectious agent) 또는 감염성 인자의 구성성분을 이용하여 인체 면역체계를 자극하게 된다. 더 나아가 효과적인 백신 접종은 피접종자가 감염성 인자와 접촉하게 되는 경우 이 감염성 유기체가 명백한 질환을 유발하기 전에 피접종자의 면역체계가 이를 통제하기 위해 적절히 대응하도록 한다. 100여 년에 걸쳐 다음의 두 가지 중 한 가지 방식을 통해 백신 접종을 성공적으로 달성해왔다.

- 질환 유발 없이 피접종자 체내에서 복제하며, 이후 면역체계를 자극하는 적합한 면역원(immunogen)을 합성하는 약독화된 미생물을 투여하거나,
- 면역체계가 직접적으로 반응하게 되는 대상인 병원체-특이적(pathogen-specific) 항원을 투여

1990년대 이후 광범위한 표적 항원 및 질환에 대응하는 백신 접종에 대한 새로운 접근법이 개발되었다. 이러한 기술에서는 표적 면역원(들)의 *in situ* 생산을 위하여 면역반응을 모색하는 대상인 면역원을 코딩하는 유전자를 함유한 플라스미드 DNA를 직접적으로 피접종자에게 주입하게 된다. 이들을 예방용 DNA 백신이라 칭한다. 이러한 접근법은 B 세포와 T 세포 반응을 모두 유도하며, 넓은 범위의 온도에 걸친 백신의 안정성, 면역원 자체의 감염성 부재, 백신을 구축할 수 있는 속도(예: 지역 유행이나 대유행에 직면하여), 대규모 제조가 상대적으로 용이하며 특성이 일반적(generic nature)이라는 점을 포함하여, 여러 가지 잠재적인 이점을 제공한다. 정기 예방접종(routine schedule) 또는 질환 발생 상황 동안 백신의 접근성 및 가용성 증진을 위하여 다른 지역의 다른 시설에서 동일한 예방용 DNA 백신 생산이 가능하여 더욱 안정적인 백신 공급을 확보하게 된

다. 또한, 예방용 DNA는 다른 일반적인 백신보다 안정성이 높을 수 있으므로 제형화에 따라 콜드체인 없이 효율적인 저장 및 전달이 가능할 수 있다. 예방용 DNA 백신은 피접종자에게서 DNA에 대한 항-벡터 면역(anti-vector immunity)이나 오프타겟 획득 면역(off-target acquired immunity)을 유발하지 않는다. 예방용 DNA 백신은 전염성이 있도록 설계하지 않으며, 백신 구축이나 생산 시 표적이 되는 감염성 병원체를 사용하지 않는다. 그러나 세균을 사용하여 제조하는 경우, 해당 지역의 규정을 적용하여 적절한 생물안전성 차폐 시설이 필요할 수 있다. 플라스미드 DNA의 염색체 삽입(chromosomal integration)이 초기에는 주요한 이론적 우려였으나, 많은 자료에서는 이 우려가 사실로 입증되지 않았음을 뒷받침하고 있다. 따라서 예방용 DNA 백신은 반드시 결과적인 새로운 제품의 제조 또는 관리를 변경해야 할 필요 없이(확인 및 역가에 대한 면역원-특이적 시험은 제외) 삽입 유전자(gene insert)를 수월하게 변경할 수 있는 플랫폼 기술이라 할 수 있다. 많은 과학적 간행물에서 예방용 DNA 백신 접종의 잠재력에 대해 다루고 있다(1~10).

동물모델에서의 면역반응은, 독감 바이러스, B형 간염 바이러스, 인간 면역결핍 바이러스, 인간 유두종바이러스(HPV), 마르부르크(Marburg) 바이러스, 중동 호흡기증후군(MERS) 코로나바이러스, 광견병 바이러스, 중증 급성 호흡기증후군(SARS) 바이러스, 코로나바이러스-2(SARS-CoV-2), 웨스트나일 바이러스(WNV), 지카 바이러스, 말라리아 원충(plasmodia), 마이코플라즈마 및 기타 바이러스를 포함한 다양한 감염성 인자에서 추출한 유전자를 사용하여 획득하였다(10, 11, 12). 많은 경우 동물모델에서 역시 질환 방어가 증명되었다. 감염성 질환 외에도 플라스미드 DNA는 땅콩 알레르기과 같은 자가면역 및 알레르기질환뿐만 아니라 암에 대한 임상시험에서도 연구가 진행되었다(13-19). HPV 감염 치료제를 위한 플라스미드 개발은 인간을 대상으로 하는 임상 연구의 주제이며 이 기술 적용의 또 다른 예시이다. 플라스미드 DNA의 가치와 이점은 사례별로 평가해야 하며, 이들의 유용성(utility)은 백신 접종이 표적으로 하는 유기체의 특성이나 표적 질환, 면역원의 특성이나 삽입 유전자의 활성도, 유용성(effectiveness)을 위해 요구되는 면역반응의 종류, 전달 시스템, 투여경로에 따라 달라질 것이다.

백신의 관리는 생산 및 사용 경험이 증가하며 다른 구성성분이나 전달 시스템이 포함됨에 따라 추가적인 변경이 가능하도록 계속해서 유연한 방식으로 접근해야 한다. 이는

품목허가 후 지속해서 안전성과 유효성을 보장할 수 있도록 인간을 대상으로 하는 이러한 백신의 일관된 제조 및 관리를 위한 과학적으로 확고한 기반을 제공하기 위함이다. 공중보건 긴급상황과 관련된 우선적인 병원체를 해결하기 위한 플랫폼 기술로서 예방용 DNA 백신 접종의 잠재력을 고려할 때(21-26), 예방용 DNA 백신에 대한 국제적 규제 조화가 필요하다. 본 문서는 인간을 대상으로 하는 예방용 DNA 백신의 품질 및 안전성, 유효성 평가에 관한 최신 지도원칙을 제공하고 있다. 플라스미드 DNA가 유전자재조합 기술(rDNA technology)을 통해 생성되지만, 유전자재조합 제품 특이적인 가이드라인은 세포주에서 생성한 단백질의약품(biotherapeutic protein)의 제조를 다루는 것이 목적이므로 일반적으로 예방용 DNA 백신에는 적용되지 않는다.

예방용 DNA 백신의 활성 성분은 목적으로 하는 면역원을 코딩하는 유전자를 삽입하고 체내 투여를 위해 정제된 플라스미드 준비액(purified plasmid preparation)으로 제작하는 DNA 플라스미드이다. 통상적으로, 이러한 플라스미드는 세균 안에서 선택 및 복제를 위해 필요한 DNA 서열을 지니고 있다. 또한 플라스미드는 피접종자 체내에서 유전자 발현을 촉진하기 위한 진핵세포(eukaryotic) promoter 및 enhancer 그리고 전사 종결/폴리아데닐화(termination/polyadenylation) 서열을 지니고 있으며, 면역조절 요소를 포함하고 있을 수 있다. 예방용 DNA 백신은 기능성 항체 그리고 CD4+ 및 CD8+ T-세포 반응 두 가지 모두를 생성할 수 있다. MHC-Class I에 제한적인 CD8+ T-세포(세포용해(cytolytic) T-림프구)를 생성하는 능력은 일반적으로 단백질이나 불활화 바이러스 투여 후 유도되지 않는데 이 능력은 많은 항체 반응이 균주 특이적인 경우 교차-균주 특이적(cross-strain specific) 반응을 가능하게 할 뿐 아니라 특정 병원체에 대한 핵심 반응을 위해서도 중요할 수 있다. 코딩된 단백질은 투여 후 피접종자에 의해 체내에서 합성되므로, 예방용 DNA 백신은, 단지 gp120 같은 용해성 버전 대신, 전장(full-length) HIV Env gp160과 같은 막-결합(membrane-bound) 단백질을 코딩할 수 있다(27). 이는 핵심 중화 항원결정기(key neutralizing epitope)(1가지 이상의 HIV 균주에 대하여 광범위하게 중화하는 항원 결정기 포함)가 제외될 단백질 부위에 위치하거나 절단된 수용성 단량체(monomeric truncated soluble) 버전에서는 형성되지 않기 때문에 중요하다. 특정한 다른 벡터와는 달리(예: 바이러스 벡터는 예방용 DNA 백신을 포함하는 이중 백신 기초-추가접종 계획(heterologous prime-boost regimen)에서 사용 가능함), 예방용

DNA 백신은 DNA 자체가 특정 선천 면역반응을 촉발할 수 있음에도 벡터(플라스미드 backbone)에 대해서는 적응면역반응(adaptive immune response)을 유발하지 않는다(28). 달리 말하면, 다회 투여 후 항원-특이적 반응을 둔화시킬 수도 있는 항-벡터 면역을 생성하지 않는다.

이론적으로 예방용 DNA 백신은 항-벡터 면역반응을 생성하지 않기 때문에 반복적으로(그리고 다른 목적으로) 사용할 수 있으므로 면역반응 증강(boosting)을 위해 사용하는 데에 이상적일 것이다. 그러나 기존 자료에서는 예방용 DNA 백신이 면역반응 준비(priming)에 탁월함을 증명하고 있다. 이렇게 준비된 면역반응은 단백질 항원이나 다른 유전자 기반 벡터와 같은 이중 백신을 투여함으로써 증강되어 결과적인 면역반응은 종종 이들 중 한 가지 방식(modality)만으로 기초와 추가접종 모두를 진행했거나 예방용 DNA 백신으로 2차 접종하는 역순으로 실시하는 경우보다 더욱 효능이 높았다(29-36). 일부 경우에는 예방용 DNA 백신을 통한 기초 면역반응은 이중 백신으로 추가 접종한 때에만 드러난다(37, 38). 이중 추가접종(heterologous boost)에 대한 반응은 동종(homologous) 추가접종과 비교하여 증폭될 수 있다(39-42). 예방용 DNA 백신 기초접종은 또한 추가접종 단독인 경우와 비교했을 때 이중 추가접종 이후 관찰되는 면역반응의 종류를 조절할 수 있다(35, 38, 42). 다른 경우에는 예방용 DNA 백신에 대한 완전한 반응만을 관찰할 수 있다(43). 확실히 면역반응의 특성은 발현된 면역원 그리고 전달 방법뿐 아니라 예방용 DNA 백신의 설계나 제형 상의 면역조절 요소에 따라 달라진다(44). 예방용 DNA 백신이 어떠한 백신 접종 계획의 면역원성에 기여하는 바에 대한 평가는 예방용 DNA 백신 접종을 포함하지 않은 접종계획과 비교하여 접종계획의 궁극적인 면역반응 전체를 통해 가장 잘 평가할 수 있다. 이는 예방용 DNA 기초접종에 대한 면역반응 역시 평가해서는 안 된다는 것이 아니라, 오히려 기초접종 반응(priming response)은 추가접종 반응의 맥락에서 가장 평가될 수 있음을 제안하려는 것이다.

예방용 DNA 백신은 2b상 파일럿 유효성 시험까지 진행되었다. 일부 후보 백신은 3상 임상시험에 진입할 것이다. 동물모델에서 관찰된 강력한 면역반응은 일부 예외는 있으나 일반적으로 사람에게서는 재현되지 않았다. 이러한 한 가지 예외는 WNV 백신으로 말에게 방어 효과가 있다고 알려진 역가로 인간에게서 중화항체를 생성하였다. 더 나아가 일반적으로 백신에 대해 최적 이하(suboptimal) 면역반응을 보이는 노인에게서 완전

한 역가가 생성되었다. 현시점에서 허가된 인간 대상의 WNV 백신은 없으나, 2005년에 말(馬)을 위한 WNV 예방용 DNA 백신이 허가되었다(45-47). 마찬가지로, 다른 유전자 기반 벡터는 단회 접종이지만 예방용 DNA 백신은 3회 투여가 필요하므로 유전자 기반 벡터 백신은 유효성 시험에 진입하긴 했으나 에볼라/마르부르크(Marburg)에 대한 예방용 DNA 백신의 임상시험에서는 완전한 면역반응이 관찰되었다(48-50).

사람에게서의 면역반응을 강화하기 위하여 많은 접근법을 시험해왔고 현재 평가가 진행 중이다. 이러한 접근법들은 예를 들어 세포 내 흡수(cellular uptake) 증강 또는 발현 강화, 더욱 긍정적인 프로파일을 위한 면역반응 조절, 면역증강제 효과의 최적화를 통해, 면역원성을 증가하고 유효성을 향상하는 서로 다른 목적의 기전을 지니고 있다. 아래에서 몇 가지 예를 제시한다.

벡터 자체의 최적화 :

- (발현 증가를 위해) 관심의 대상인 항원을 코딩하는 유전자의 코돈 사용 최적화
- 번역(translation)을 위해 발현된 리보핵산(RNA)을 최적화(예: 코딩된 스플라이스(cryptic splice) 부위나 폴리아데닐화 부위 제거, GC 또는 AT 염기의 함량이 높은 이차 구조나 연속부위를 방지하기 위한 염기서열 변경)
- 더욱 강력한 promoter/enhancer를 사용
- 제시(presentation)를 촉진하기 위해 신호 서열(signal sequence)을 단백질 항원에 통합
- (T-세포 자극을 목표로 설정함으로써 면역반응을 조절하기 위해) 전장 단백질 항원을 대신하거나 이에 추가하여 다양한 T-세포 항원 결정기를 코딩

제형화/전달의 최적화 :

- (흡수 증강을 위해, 투여와 흡수 후 안정성 향상을 위해) 폴리머를 사용하여 DNA 복합체 형성(complexing)
- (흡수, 제시, 및 투여와 흡수 후 안정성을 돕기 위해) 미세입자 표면에 또는 그 내부에 DNA를 캡슐화
- 투여 최적화(예: 입자-매개 전달(유전자 총), CO₂ 또는 공기 주입기(jet injector), 또는 (흡수를 증강하기 위한) 전기천공법)
- 투여경로 변경(예: (면역반응 조절을 위해) 점막 대 비경구)

- (면역반응 증강 및/또는 조절을 위해) 플라스미드 DNA로 최초 기초접종 후 바이러스 벡터나 단백질 항원으로 추가접종
- 면역 자극 분자(분자적 면역증강제)를 코딩하는 DNA를 병용 투여(예: (면역반응 강화를 위해, 면역반응 조절을 위한) 사이토카인)

현재까지 발표된 임상시험 자료는 허용 가능한 반응원성 프로파일을 제시하며 예방용 DNA 백신이 안전함을 시사하고 있다(11, 22, 32, 48, 51-53). 그러나 예방용 DNA 백신의 유효성을 강화하기 위한 접근법은 특정한 안전성 우려를 제기할 수 있으며, 이는 적절한 비임상 및 임상 안전성 연구에서 다루어야 한다. 발현을 증강하는 접근법이 반응원성(reactogenicity)을 높일 것인가는 아직 결론이 나지 않은 문제이다.

예방용 DNA 백신은 동물 사용을 위해 개발되어왔으며 일부 시험에서는 동물의 표적종에서 유효성이 관찰되었다. 어류, 반려동물, 가축을 대상으로 많은 감염성 인자에 대한 잠재적인 방어 면역반응이 관찰되었다. 동물 백신에 대한 품질 및 안전성 고려사항은 인간을 위한 백신과 다를 수 있으나, 동물 예방용 DNA 백신에 대한 경험은 인간 예방용 DNA 백신의 관리 및 품질에 대하여 값진 정보를 제공할 수 있다. 방어 항체 반응을 생성하는 말(馬)에 사용하는 WNV 예방용 DNA 백신이 미국에서 허가되었다. 송어와 연어 모두에게 영향을 주는 전염성 조혈 괴사 바이러스(infectious hematopoietic necrosis virus(IHNV))에 대한 백신은 연어에 사용하기 위해 2005년 캐나다에서 허가되었고, 더욱 근래에는 연어에게 사용하는 췌장 질환을 위한 예방용 DNA 백신이 2016년 몇몇 국가에서 허가되어 현재 양식 연어에게 사용되고 있다(54). 이 백신은 연어를 대상으로 삽입(integration) 및 장기적 잔존에 대해 평가하였으며, “최악의 시나리오의 맥락에서 산출한 상위 추정 삽입률보다 대단히(orders of magnitude) 낮은 것”으로 밝혀졌다(55, 56).

본 문서에서 지침은 인간에 대한 사용을 목적으로 생물학적으로 제조한 세균 플라스미드(bacterial plasmid) DNA 기반 백신의 품질 관리에 중점을 두고 있다. 다른 백신에 적용되는 일반 원칙이 예방용 DNA 백신에도 적용되므로 비임상 및 임상적 측면 역시 간략히 기술하였으며, 따라서 주목할 만한 차이점이나 추가적 사항만을 논하였다. 본 문서의 목적은 다음 사항에 대한 지침을 제공하는 것이다.

- 예방용 DNA 백신의 제조 관리 및 특성 분석을 위한 적절한 방법
- 예방용 DNA 백신의 비임상 및 임상시험을 위한 적절한 접근법

- 제조사가 임상시험 및 품목허가 승인 신청을 뒷받침하기 위해 국가 규제기관에 제출하는 자료에 포함할 것으로 예상할 수 있는 예방용 DNA 백신 특이적 정보

1.2. 목적 및 범위

본 문서는 감염성 질환 예방을 위해 인간에게 사용하고자 하는 예방용 DNA 백신의 품질 및 비임상, 임상 측면(해당 시 면역증강제를 코딩하는 플라스미드를 포함)에 관한 지침을 제공한다. 동물 사용을 목적으로 하는 예방용 DNA 백신은 본 가이드라인 범위에 해당하지 않는다.

예방용 DNA 백신의 활성 성분은 목적으로 하는 면역원을 코딩하는 유전자를 삽입하고 체내 투여를 위해 정제된 플라스미드 준비액(purified plasmid preparation)으로 제작되는 DNA 플라스미드이다. 통상적으로, 이러한 플라스미드는 세균 안에서 선택 및 복제를 위해 필요한 DNA 서열을 지니고 있다. 또한 플라스미드는 피접종자 체내에서 유전자 발현을 촉진하기 위한 진핵세포(eukaryotic) promoter 및 enhancer 그리고 전사 종결/폴리아데닐화(termination/polyadenylation) 서열을 지니고 있으며, 면역조절 요소를 포함하고 있을 수 있다. 본 가이드라인에서 백신이란 감염성 질환의 예방을 위한 생물의약품으로 정의한다.

암(이 경우 플라스미드가 바이러스 또는 종양 항원 그리고 면역조절 단백질을 코딩할 수 있음)이나 자가면역질환, 알레르기질환과 같은 질환에 대한 치료적 사용을 위해 개발한 치료용 DNA 백신은 본 가이드라인의 범위에 해당하지 않는다. 마찬가지로 예방이나 노출 후 아나필락시스, 치료적 목적으로 단클론항체를 발현하는 플라스미드의 사용은 본 가이드라인의 범위 밖이지만 품질 부분은 적용이 가능할 수 있다. 해당 비임상 및 임상시험의 세부 설계에서는 DNA 플라스미드에 대해 제안한 사용 및 관련된 위해성-유익성 상황을 고려해야 한다. 유전자치료제에 사용하기 위한 플라스미드 DNA 및 진핵생물 세포 유래 플라스미드 DNA, 바이러스 replicon, 해당 항원을 코딩하는 플라스미드 DNA를 위한 운반체(carrier) 역할을 하는 세균 세포, 전적으로 화학적 수단으로 제작한 핵산 백신은 모두 이러한 가이드라인의 범위 밖이다.

RNA를 기반으로 하는 백신 및 면역 치료제의 품질 및 비임상, 임상시험에는 다른 요건이 적용될 것이기 때문에 이 가이드라인은 RNA 기반 백신에는 적용되지 않을 것이다.

일반적으로 이 가이드라인의 권고사항은 품목허가 제출 시점에서의 예방용 DNA 백신과 관련된 것이다. 그럼에도 본 가이드라인에서는 개발 중인 후보 백신 제품과 관련하여 일부 관련 정보를 제공하고 있다. 다른 경우에는 임상 개발에 앞서 사례별 기반으로 식약처와 상의해야 한다(57-58).

바이러스 벡터와 세포치료제, 핵산 백신의 경계를 넘나드는 제품이 출현할 수 있음을 인지하고 있으며(예: RNA replicon), 핵산 백신의 규제 평가에 복잡성을 더하는 다른 제품의 개발 역시 예상된다. 그러나 현재 이들은 본 가이드라인의 범위 밖에 있다.

1.3. 일반적 고려사항

본 가이드라인은 백신을 전달하는 방법이나 특정한 기기(예: 투여기(injector), 전기천공기(electroporator))가 유효성 달성에 필수적인 요소일 수 있다는 점에 주목하며 예방용 DNA 백신에 관해 서술하고 있다. 특정 기기가 있어야 하는 경우 근거를 제시하지 않는다면 다른 전달 방법으로 교체가 가능하지 않을 수 있다(59, 60). 백신에 대한 제품 라벨 정보에서는 이점을 고려해야 할 것이다. 전달 기기의 맥락에서 백신의 품목허가를 위한 규제 경로를 식약처와 조기에 논의하도록 조언한다. 품목허가에는 핵심 임상시험 중 후보 백신을 전달하기 위해 사용하는 기기(및 기기 파라미터)를 반영하고 이를 위해 충분히 큰 규모의 안전성 데이터베이스가 있어야 한다는 점을 인지하는 것이 중요하다. 더 나아가 투여계획의 백신이 한 개 제품 이상이며 이들을 서로 다른 제조사에서 제조했다면 현재 단일 백신에 각기 다른 제조사에서 생산한 항원을 함유하는 복합 백신(combination vaccine)의 경우와 같이 단일한 품목허가권자 또는 시판허가권자를 확인하는 것이 중요할 것이다. 각 백신이 개별적으로 품목허가를 받았을 수 있으나 처방 정보에는 이 백신들을 허가사항에 따라 투여계획에서 사용해야 함을 기술해야 한다.

제형화(formulation)는 백신의 안전성 및 유효성에 핵심적일 수 있으나, 예방용 DNA 백신의 경우, 형질주입체(transfectant)나 촉진제(facilitator), 면역증강제, 플라스미드로 코딩되는(plasmid-encoded) 면역증강제(예: 사이토카인 유전자)가 제형에 포함되었다면, 핵심 유효성 및/또는 대규모 안전성 시험에서 안전성과 유효성이 증명되는 제형화에 특별한 주의를 기울여야 한다.

세균으로부터 제작한 현세대 예방용 DNA 백신은 생물학적으로 생산되므로 생물의

약품으로 간주한다. 플라스미드를 유전자재조합 기술로 제작하는 반면, 예방용 DNA 백신은 유기체가 아님을 분명히 해야 하며, 따라서 그 자체로는 유전적으로 변형된 유기체(GMO)가 아니며 유전자 전달(gene-transfer) 또는 유전자치료제도 아니다. 현재까지 예방용 DNA 백신은 근육이나 피하조직, 다양한 피부층으로 비경구 전달 시 피접종자의 체내에서 남거나 심지어 분포조차 하지 않는다는 증거가 풍부하다(61-69). 체내에 지배적으로 분포하는 것은 플라스미드 DNA의 흡수 및 면역원의 *in situ* 발현 후, 근육아세포(myocyte)로부터 전문 항원제시세포로의 교차-자극(cross-priming)과 더불어 생성된 면역반응이다(70, 71). 플라스미드 DNA 접종에 대한 국소 반응은, 세포가 플라스미드를 흡수한 후 예방용 DNA 백신에 코딩된 면역원을 발현하는 것 그리고/또는 핵산이 정상적인 분자적 기전을 통해 분해되는 것이다. 그 결과 플라스미드 DNA는 시간이 경과에 따라 주사 부위에서 소거된다. 지속되는 것은 면역반응이다.

본 가이드라인의 품질 부분에서는 제조공정 및 출발물질의 관리 그리고 정제된 플라스미드의 특성 분석 및 관리를 포함한 원액 정제 플라스미드의 관리, 제형화와 제형화에 사용된 물질 관리를 포함한 최종 제형화 백신의 관리, 그리고 원액 정제 플라스미드와 최종 제형화 백신의 안정성에 대하여 다룬다. 참조물질(reference material)과 국제 표준품(international standard)의 적절한 사용에 관해서도 기술해야 한다. 제조공정에 대한 변경을 시행할 때마다, 특히 핵심 연구 및 상업적 공정에서 사용한 로트의 비교동등성을 입증해야 한다. 현재의 비임상 및 임상 데이터베이스를 전체적으로 보면, DNA 삽입(integration) 및 자가면역, 면역병리(immunopathology)에 대한 이전의 우려는 관찰되지 않았다는 결론을 뒷받침하고 있다(60-67). 오늘날까지, 임상 경험을 바탕으로, 관찰된 반응원성(reactogenicity)은 예방용 DNA 백신 자체보다 특히 전기천공법이나 입자-매개 충격(particle-mediated bombardment) 사용으로 전달 방법과의 관련성이 더 높다(1, 4, 21, 27-34, 73-75).

이때 백신 개발 및 품질관리 시험에서 동물의 윤리적 사용을 고려하여 “대체(Replacement), 축소(Reduction), 개선(Refinement)”의 3R 원칙 적용은 필수적인 과제로 인식되고 있다. 동물시험은 가능한 한 대체하거나 폐지하는 것을 목표로 하되, 불가피하게 동물시험이 필요한 경우에는 과학적으로 허용되는 범위 내에서 시험규모를 줄이고, 시험방법을 개선하려는 노력이 필요하다.

각 백신의 관리 및 비임상시험, 임상 개발을 개별적으로 고려해야 하며 후보 백신의 모든 독특한 특성을 고려해야 한다. 식약처와의 조기 논의는 후보 백신의 효율적인 개발 보장에 있어 유용하다.

2. 품질 평가

2.1. 정의

2.1.1. 국제명(international name) 및 고유명(proper name)

국제명은 'plasmid DNA vaccine'으로 한다. 고유명은 본국의 언어로 국제명과 동등해야 한다. 국제명 사용은 이하 서술하는 규격을 충족하는 백신으로 제한해야 한다. 백신의 활성 성분으로 사용되는 정의된 재조합 핵산은 그 기원이 생물학적이든 혹은 합성이든 요청 시 국제일반명(INN)을 부여할 수도 있다(75, 76).

2.1.2. 서술적 정의

예방용 DNA 백신은 한 가지 혹은 그 이상의 플라스미드 DNA를 함유한 무균 액상의 혹은 동결 건조한 백신 물질로서 제형에 포함된 각 플라스미드 양은 상대적인 발현이나 면역원성을 토대로 하여 다른 플라스미드와 차이가 있을 수 있다. 예방용 DNA 백신은 피접종자 체내에서 플라스미드 DNA의 활용을 강화할 수 있는 적합한 면역증강제나 기타 첨가제와 함께 제형화할 수 있다. 이 백신은 사람에게서의 감염병의 예방을 목적으로 한다.

2.2. 제조의 일반적 사항

「예방용 DNA 백신은 전통적인 방식으로 생산하는 세균 및 바이러스 백신과 유사한 것으로 간주하며 출발물질 및 제조공정이 완제의약품과 마찬가지로 중요하다. 따라서 본 가이드라인은 원액 및 백신 자체에 대한 광범위한 특성 분석, 출하,

백신 제조공정의 관리전략에 상당히 주안점을 두고 있다.

의약품 제조 및 품질관리기준(GMP) : ‘의약품 등의 안전에 관한 규칙(총리령) [별표 1] 의약품 제조 및 품질관리기준 및 [별표 3] 생물학적제제등 제조 및 품질관리기준’에 수록된 일반 제조 요건을 예방용 DNA 백신을 위한 제조시설의 설계 및 확립, 운영, 관리, 유지에 적용해야 한다. 이러한 요건은 최종 형태로 충전된 백신, 기록, 향후 연구와 수요를 위한 보관 검체, 라벨링, 유통 및 운송, 그리고 예방용 DNA 백신의 저장 및 유효 일자에도 적용해야 한다(78). 제조과정 중 품질 관리는 임상시험에서 안전하고 효과적임으로 증명된 로트와 유사한 제품 특성이 있는 일관된 상업적 로트의 생산을 보장하기 위해 GMP와 같은 품질 시스템의 시행을 통해 실시해야 한다. 전 공정을 통하여 생산 개시부터 종결까지 각 로트에 대해 품질을 모니터할 수 있도록(허용 가능 한도를 설정한) 다수의 공정 중 관리시험을 확립해야 한다. 출하 규격은 대부분 제품 특이적이지만, 예방용 DNA 백신은 공통의 특성이 있는 제품군으로서 다수의 출하 파라미터에 대해 제품군 특이적 규격을 충족하는 경향이 있음을 유념하는 것이 중요하다. 어떠한 경우이든, 출하 규격은 임상시험이나 품목허가 일부로서 국가 규제기관의 동의가 필요하다.

임상시험에서 사용할 DNA 백신 역시 임상 개발의 단계에 적합한 GMP 조건으로 준비해야 한다(예: 제조 및 관리 절차가 개발 중이며 아직 검증되지 않은 최초 혹은 초기 개발 시에는 전체 조건 준수가 불가능할 수 있으나 이 시설에서 제조하는 절차가 이미 검증된 더 앞선 개발 단계의 다른 DNA 백신과 절차가 공통된다면 초기 개발 시 이 검증된 절차의 사용을 기대할 것이다). 생산 배지를 포함하여 생산 시 사용하는 모든 시약의 품질에 적절한 주의가 필요하다. (인간을 포함한) 동물 유래 성분의 외부 조달에 특별한 주의를 기울여야 한다. 엔도톡신 및 안정성, 무균에 대한 시험과 같은 생물의약품의 품질 관리에 관한 일반 요건 중 다수가 예방용 DNA 백신에도 적용된다.

제품 개발이 진행됨에 따라 규제당국에서 요구하는 세부 사항의 수준은 상향된다. 임상 개발의 초기 단계에서는 임상시험 신청서에 포함된 정보가 제조공정에서 유래하는 안전성 위험을 평가할 수 있도록 적합해야 한다. 예를 들어 이러한 정보에는 세균 세포은행의 확인시험, 공정 중 사용한 모든 물질에 관한 확인(identification) 및

규격, 생물 유래 물질의 위해성 평가, 제조시설의 단계에 적합한 GMP 준수 혹은 증명서, 공정 및 시험에 대한 간략한 설명, 임상시험 물질의 시험 결과, 최종 제품의 예비 안정성이 포함된다. 모든 백신과 마찬가지로 후기 단계 임상시험에서는 기대하는 품질(제조 및 관리)에 관한 세부 정보 수준이 상향될 것이다.

임상시험 로트 개발 중 제품 조성(예 : 면역증강제나 보존제 추가) 혹은 제조(공정이나 장소, 규모) 변경에 관하여 적절히 기술해야 한다. 최종 제품의 조성이 어떻게 변경되었는가에 따라(예 : 새로운 첨가제 추가) 새로운 비임상 연구가 필요할 수도 있다. 제조 규모 증가나 정제 공정 변경과 같은 제조공정 변경 시에는, 임상시험 물질과 이전 공정에서 생산한 임상시험 물질 사이의 비교동등성을 평가해야 한다. 비교동등성 연구에는 동물모델에서 확보한 자료, 이화학적 분석의 결과, 공정 및 제품 관련 불순물 연구, 안정성 자료가 포함될 수 있다.

2.3. 원액의 제조 및 관리

2.3.1. 제조공정과 공정관리에 대한 일반 정보 및 설명

플라스미드의 개발 및 제조에 대한 개괄적 설명에는 관심의 대상인 유전자 및 플라스미드에 코딩된 기타 유전자(예: 태그(tag) 혹은 선택 표지자(selection marker), 항생제 내성 유전자), 사용한 조절 요소를 선정한 근거를 포함해야 한다. 유전자 발현 최적화 변경(gene expression optimization modification)에 관해 기술해야 한다. 전체 플라스미드의 서열 정보를 제공해야 한다.

2.3.2. 제조

2.3.2.1. 원료 관리

물품 관리 원액 플라스미드 DNA의 제조에 사용된 물품(예: 원료약품, 생물학적 출발물질, 칼럼 레진, 용매, 시약, 촉매제)을 목록화하고 공정 중 각 물품의 투입 시점에 대한 정보를 제공해야 한다.

국제적으로 확립된 약전 혹은 규격에 대한 세부 사항을 참고문헌 목록으로 제공해야 한다.

모든 생물학적 유래 물질 혹은 제조 중 생물학적 물질을 사용했을 수 있는 물품의 원천 및 제조, 특성 분석과 관련하여, 적합한 증명서를 포함한 정보를 제공해야 한다. 어느 단계에서든 소유래 물질을 사용했다면, 소해면상뇌증(BSE) 인자에 대한 위해성 평가 결과를 제공해야 한다.

세균 숙주세포에 대하여 원천 및 표현형, 유전형을 포함한 정보를 제공해야 한다. 새로운 세균 균주이거나 종(種)인 숙주세포를 사용한다면, 이들이 발현할 수 있는 독소의 종류를 포함하여 각별한 주의를 기울여야 한다.

플라스미드 DNA 백신의 전체 뉴클레오타이드 서열을 promoter/enhancer, 종결 서열, 세균의 약물 내성이나 기타 선택 표지자(selection marker), 세균의 복제원점과 같은 중요 요소를 지시하는 적절한 주석과 함께, 제공해야 한다. 대부분은, 면역원에 관한 유전자는 플라스미드 DNA로의 재조합 이전에 발현을 위한 최적화 및 화학적 합성을 거치게 될 수 있다. 따라서 이 유전자에는 새로운 서열이 생성되며 이는 어떠한 데이터베이스에도 존재하지 않을 것이다. 대조적으로 PCR을 활용하여 자연적 요소로부터 증폭하는 경우처럼 유전자를 다른 원천에서 획득했다면, 이 물질의 원천을 제시해야 한다.

특성 분석의 하나로, 세포 성장인자를 코딩하는 서열과 같이 의도치 않은 생물학적으로 중요한 서열, 혹은 다른 면역원(immunogen)이나 바이러스 서열이 포함되었는가를 조사하기 위해 국제 데이터베이스(예: 미국 국립 생명공학 정보센터(National Center for Biotechnology Information), 미국 국립보건원(National Institutes of Health), 및/혹은 다른 국제 뉴클레오타이드 데이터베이스)와 대비하여 플라스미드의 DNA 서열 상동성(DNA sequence homology) 점검을 실시해야 한다.

생산에 사용하기 위해 세균 세포로의 형질전환(transformation) 실시 후 플라스미드의 확인(identity)에 대한 확증이 필요하다. 서열분석이 선호되지만, 대표성 있는 제한효소 지도 역시 도움이 될 수 있다. 임상 개발 및 품목허가를 목표로 추진하기 위해 선정한 후보 백신이 유전적으로 안정적임을 증명해야 한다. 교차오염을

유발하는 플라스미드의 부정에 대한 관리 및 확증이 필요하다.

플라스미드 DNA 백신의 생산은 이상적으로는 MCB 및 WCB를 포함하는 세포 은행 시스템을 기반으로 해야 한다.

초기 단계 임상시험의 경우, 비록 제조사가 이후 임상시험을 위해 WCB를 준비할 것으로 예상하지만 생산 개시를 위해서는 MCB 사용이 적절할 수 있다. 이상적으로는, 상업적 제조를 위해서는 충실히 특성을 분석한 WCB로부터 생산을 개시할 것을 기대한다.

MCB를 확립하기 위해서는 특성이 잘 분석된 플라스미드가 존재하는 세균 세포를 복제하여 사용해야 한다. 오염 예방을 위해 실시하는 적절한 예방책과 함께 GMP에 따라 MCB 및 WCB를 준비해야 한다. 기원, 형태 및 보관조건에 대한 정보를 제공해야 한다. 보관 및 회수 조건으로서의 MCB와 WCB의 생존 가능성에 대한 증거도 품목허가 신청 시까지 제공해야 한다. 새로운 WC의 완전한 특성 분석 및 확립된 허용기준 충족이 필요하다. 형질전환 세포의 동정을 위한 토대가 될 수 있는 특정한 표현형적 특성에 관해 기술해야 한다. 새로운 WCB의 사용에 앞서, 이러한 WCB 확립과 출하에 관한 계획서 혹은 새로운 각각의 WCB에 대한 정보를 규제 심사 및 동의를 위해 제공해야 한다.

백신 플라스미드 전체의 DNA 서열을 MCB 및 WCB 단계에서 확인해야 한다. 절단된 혹은 대체 단백질 산물의 부정 증명과 함께 플라스미드로부터의 전장 단백질 생산에 대한 특성을 분석해야 한다.

발효 공정을 통해 플라스미드의 크기 및 전체 서열의 특성을 분석하여 플라스미드의 유전적 안정성을 확증해야 한다.

2.3.2.2. 공정 개발 및 공정 중 관리

제조공정의 개발 이력을 제공해야 한다. 공정관리의 확실히 실시하도록 하며 공정관리에 대한 피드백을 제공하기 위하여 제조공정의 중요 단계에 관한 시험 및 허용기준을 개발해야 한다.

인체 투여를 의도한 제품에 대해 허용 가능한 수준까지 공정 및 제품 관련 오염물을 재현 가능하며 일관된 방식으로 제거하였음에 대한 증명을 포함하여, 제조공

정에 대한 검증을 통하여 사전정의한 품질특성을 일관되게 충족하는 제품을 생산함을 증명해야 한다.

임상 물질의 제조 개시 이전에 최종 제품의 무균 공정 및 멸균, 세척 공정(특히 다품목 생산시설 또는 전문 수탁제조업체)과 같은 중요 단계를 검증하거나 면밀하고 설득력 있는 방식으로 관리해야 한다. 그러나 일반적인 공정검증은 초기 단계 임상시험에서 사용되는 제품에 대해서는 요구하지 않는다.

2.3.3. 특성 분석

2.3.3.1. 원액 정제 플라스미드의 특성 분석

공정 중 시험 및 로트 출하 시험에 추가로 원액 정제 플라스미드의 특성 분석을 요약해서 제출해야 한다. 다양한 화학 및 물리, 생물학적 직교 접근법(orthogonal method)을 통한 철저한 특성 분석이 핵심이 될 것이다.

플라스미드 전체의 서열을 확인해야 한다. 절단된 혹은 대체 형태가 없는 전장 단백질의 발현을 증명해야 한다.

정제된 산물 내의 잠재적인 불순물에 관해 기술하고 조사해야 한다. 이러한 불순물에는 잔여 숙주세포 단백질, 엔도톡신, 잔여 숙주세포 RNA 및 염색체 DNA, 제조공정 중 사용한 물질, 배지 구성요소가 포함된다. 정제된 플라스미드에 존재하는 오염물질의 허용 가능한 최대 수준 혹은 달성 가능한 최저 수준의 추정치와 함께, 이러한 오염물질에 대한 자료를 제공해야 한다. 알려진 혹은 잠재적인 독성 효과가 있는 오염물질이나 잔여물의 경우, 독성학적 위해성 평가를 기대한다. 분해된 플라스미드 DNA는 폴리아크릴아마이드 겔 전기영동(polyacrylamide gel electrophoresis) 및/혹은 고성능액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography), 모세관 전기영동(capillary electrophoresis)과 같은 분석 절차의 일부로 평가할 수 있다. 확인해야 할 정제된 원액 플라스미드의 중요한 한 가지 특성은 플라스미드가 초나선(super coil) 형태로 남아있거나 부분적으로 느슨한 원형이나 선형으로 전환된 정도이다.

2.3.3.3. 제조의 일관성

품목허가를 모색하기에 앞서 다수의 연속 배치의 특성을 분석하고 제조의 일관성을 확인하기 위한 검증된 방법으로 분석을 수행해야 한다. 시험한 파라미터의 허용 범위를 벗어난 배치 간의 차이에 주목해야 한다. 다양한 로트로 실시한 임상 시험 결과뿐 아니라 이러한 연구에서 획득한 자료를 선택한 규격의 타당성을 입증할 토대로 사용해야 한다.

개발 초기 단계에는 제조되는 로트 수가 희소해 일관성 증명이 제한적일 수 있다. 일관성 증명은 제품 개발 중 제조 경험을 획득함에 따라 실시하게 될 것이다. 일반적으로 로트 일관성의 특성 분석은 제조공정의 규모를 상업적 제조를 확대하였으나 품목허가 제출 이전으로 제품 개발이 진전된 시기에 혹은 시판 허가 신청 중에 실시한다. 제조공정에 대한 변경을 시행할 때마다 특히 핵심 연구와 의도한 상업적 공정에 사용할 로트에 대하여 로트의 비교 동등성을 증명해야 한다. 비교 동등성 시험계획서 및 비교 동등성 증명을 위한 전략은 ‘생물의약품의 제조 방법 변경에 따른 비교 동등성 평가 가이드라인(식약처, 2019)’에서 논하고 있다.

2.3.4. 원액 정제 플라스미드 관리

원액 정제 플라스미드의 확인 및 순도, 품질, 안전성에 관한 중요 품질특성 규격을 확립하고 근거를 제시해야 한다. 사용한 분석법 그리고 분석시험 검증 정보를 포함하여 정의된 허용한계를 제시해야 한다. 상업적 규모로 생산한 모든 배치의 시험 결과를 요약해서 제출해야 한다.

개발 초기에는, GMP에 따라 생산한 배치의 시험 결과 그리고 가용한 경우 제조 절차 확립을 위해 실시한 시험생산용 가동(engineering run)을 요약하여 제출해야 한다.

원액 정제 플라스미드에 관한 규격에는 최소한 플라스미드의 확인 및 순도, 물리적 상태와 분량, 엔도톡신 함량, 멸균이나 미생물한도(bioburden)에 대한 평가를 포함하도록 권고한다. 저장 조건 하의 안정성에 대해서도 규격을 수립해야 한다.

개발 초기에는 규격이 제한적이며 허용기준이 다소 넓을 수 있다. 제품 특성 분

석 시 수행한 모든 시험을 각각의 백신 배치에 대하여 실시할 필요는 없다. 일부 시험은 절차의 타당성이나 수용가능성을 확립할 목적으로만 필요하며 반면 다른 시험은 생산의 일관성 확립을 위해 제한적인 일련의 배치에 대해 실시할 수도 있다. 따라서 확인 및 순도, 품질, 안전성, 안정성과 관련된 일관성을 확립하기 위하여 최초 상업적 생산 배치에 대해 광범위한 분석을 수행해야 하며 그 후에는 제한적인 일련의 시험이 적절할 수 있다.

2.3.4.1. 확인

각 원액 정제 플라스미드 배치를 PCR 분석, 서열분석, 제한효소 분석, 발현된 항원의 확인과 더불어 플라스미드 내 삽입 유전자의 *in vitro* 발현(mRNA 혹은 단백질)과 같은 적절한 방법으로 확인해야 한다.

2.3.4.2. 순도

검출된 모든 불순물에 대하여 공정능력(process capability) 및 규제 지침을 기반으로 한계를 설정해야 하며 필요하다면 이러한 불순물들에 관한 확인 및 특성 분석이 필요하다. 숙주세포 염색체 DNA, RNA 및 단백질에 의한 오염의 정도를 평가하고 한계를 설정해야 하며 허용기준을 확립하고 명시해야 한다. 260nm와 280nm에서의 흡광도(absorbance) 비교는 RNA 및 세포 단백질에 의해 유입된 오염의 범위와 같이 순도 평가에 유용할 수 있다. 그러나 다른 적합한 방법이 순도 평가에 적절할 수 있다. 배지 구성성분(해당한다면, 항생제 포함) 및 기타 공정 단계 유래 물질의 잔존 수준 역시 관리해야 한다. 이 분석에는 공정 및 제품 관련 오염물에 대한 민감하고 신뢰 가능한 분석시험을 포함해야 하며 원액 정제 플라스미드 내의 이러한 오염물의 함량에 대하여 엄격한 상한을 명시해야 한다. 최대 허용 가능한 한계를 확립하고 근거를 제시해야 한다. 순도를 증명하기 위해 사용하는 기술은 가능한 넓은 범위의 이화학적 특성을 기반으로 해야 한다. 공정관리의 일환으로서 공정 혹은 제품 관련 불순물의 잔여 수준 측정은 이러한 불순물의 적절한 제거를 위한 공정을 적합하게 검증한 후 중단할 수 있다. 검증 시까지는 국가 규제기관에서 수용할 수 있는 수의 로트에 대해 불순물 측정을 지속해야 한다. 제조에 주요

변경이 발생하는 경우 국가 규제기관이 동의한 수의 로트에 대하여 재검증 혹은 지속적인 측정을 예상할 것이다. 용기/마개 시스템의 적합성, 용출물 및 추출물(leachable and extractable)에 대해 평가하고 신청서에서 논해야 한다.

제조공정을 위해 다수품목 제조시설이나 위탁제조기관을 사용하는 경우, 다른 제품과의 오염(특히 동일 시설에서 제조된 DNA 플라스미드) 부정 시험에서 오염이 정의된 한계 이하임을 증명해야 한다.

2.3.4.3 플라스미드의 물리적 상태, 정량화

초나선(super coil) 플라스미드의 비율을 확인하고 규격을 설정해야 한다. 플라스미드 분량은 일반적으로 260nm에서 흡광도로 정량화한다. 원액 정제 플라스미드 단계에서 안정성 및 품질을 보장하기 위하여 원액 정제 플라스미드와 관련된 추가적인 품질 파라미터도 결정하고 규격을 설정해야 한다(예 : pH 혹은 점도는 특정 제품에 중요할 수도 있음).

2.3.4.4. 안전성

관련된 안전성 시험에 관해 기술해야 한다. 여기에는 엔도톡신 시험, 혹은 시험 물질의 세균이나 진균 활성 부재의 증명을 포함한 세균과 진균의 무균시험, 분량 및 동정, 원치 않는 특정 유기체의 부정을 포함한 미생물한도(bioburden) 시험이 포함될 수 있다. 발열성 시험은 단핵구 활성 시험(Monocyte Activation Test, MAT)이나 유전자재조합 시약을 이용한 엔도톡신시험으로도 대체될 수 있으며, 시험법에 대한 검증 자료를 제출하여야 한다. 윤리적인 이유로 동물 사용을 최소화하기 위한 “대체, 축소, 개선”의 3R 개념을 적용하는 것이 바람직하며, 안전성 평가를 위하여 적절한 *in vitro* 대체 방법 사용을 고려해야 한다. 특히 무독성(innocity), 이상 독성(abnormal toxicity) 혹은 일반 안전성 시험으로 알려진 시험을 요구하거나 의뢰해서는 안 된다.

2.3.5. 참조 물질(reference material)

분석시험 표준화에 사용할 내부 참조물질을 확립해야 한다. 원액 정제 플라스미드의 시험에 사용하는 표준품 혹은 참조물질에 대한 정보를 품목허가 신청 시에 제공해야 한다.

적합한 배치(예 : 임상적으로 평가한 배치)를 화학적 조성, 순도, 생물학적 활성, 전체 서열과 관련하여 완전히 특성 분석하고, 화학 및 생물학적 물질로 사용하기 위해 보관해야 한다. 최초 표준물질 소진 시 이를 대체하기 위한 계획은 식약처의 동의를 필요하다.

초기 개발 시 시험생산용 가동 배치 혹은 핵심 비임상 연구 시 사용하는 DNA 백신 로트를 생산하기 위해 사용한 배치는 개발 후기 및 상업적 제조 시 사용에 적합한 임상시험 로트를 확인하고 특성을 분석할 때까지 사용할 수 있다.

향후 WHO 협력센터에서 국제단위(IU)로 표현한 국제표준(IS)을 준비할 수 있다. 이러한 국제표준을 사용할 수 있게 되면, 내부 표준물질을 국제표준과 비교하여 국제단위가 할당되고 품질 관리 시험이나 분석법을 완전히 검증할 수 있게 된다는 점이 중요할 것이다. 이러한 방식으로, 새로운 표준물질을 준비해야 할 때마다 더욱 신뢰 가능하며 변동성이 적은 방법으로 비교를 실시할 수 있다.

2.3.6. 안정성

안정성 평가는 ‘생물의약품 안정성시험 가이드라인(식약처)’를 준수해야 한다. 수행한 연구의 종류 및 사용한 연구계획서, 연구 결과를 도표나 그래프, 구연식 문서와 같은 적절한 서식으로 요약해야 한다. 요약에는 적절한 보관조건이나 유효기간에 관한 결론뿐 아니라 결과도 포함해야 한다. 원액의 유효기간 및 향후 기간 연장을 뒷받침하기 위한 안정성 자료는 실제 조건 하의 장기적인 실시간 안정성 연구를 기반으로 해야 한다.

최초 임상 개발 중에는 안정성 자료가 제한적일 것이다. 이때는 안정성 기간과 라벨 표기 사항에 대해 식약처와 상의해야 한다.

2.4. 완제의약품의 제조 및 관리

2.4.1. 조성(composition)

백신의 최종 조성에 관해 기술해야 한다. 확립된 안전성 및 유효성을 이유로 백신을 특정 방식이나 기기로 전달해야 한다면, 이사하여 역시 기술해야 한다.

2.4.2. 제조

원액 정제 플라스미드에서 최종 제형화 백신까지의 제조 단계를 도식화한 흐름도를 제공해야 한다. 이 흐름도에는 모든 단계(예: 단위 공정), 물질의 동정 그리고 공정 중 및 품질 관리 시험을 포함해야 한다. 일부 경우에는 정제 원액의 단순 희석이 포함될 수 있다. 다른 경우에는 플라스미드가 한 가지 이상인 정제 원액들의 결합을 포함하여 더 복잡한 제형화를 구상할 수 있다.

흐름도에서 각 공정 단계를 서술해야 한다. 정보에는, 예를 들어, 규모, 완충액 및 기타 첨가제, 주요 장비, 그리고 허용기준을 설정한 공정 중 시험과 중요 공정 운영 파라미터를 포함하는 공정관리를 수록해야 한다. 단순 희석의 경우 혹은 최종 제형화 백신을 위한 최종 용기 충전 외에 원액 정제 플라스미드의 추가적 제형화가 없는 경우 원액 정제 플라스미드에 대해 실시하는 일부 품질 관리 시험이면 최종 제형화 백신에 관한 관리로서 충분할 수 있다.

2.4.3. 물질 관리

면역원을 구성하는 플라스미드 외에도 면역증강제를 포함한 첨가제 혹은 백신의 용기/마개 시스템의 다른 구성요소에 대한 세부 사항을 이들의 원료 및 규격, 백신 내의 최종 농도를 포함하여 제공해야 한다.

2.4.4. 최종 제형화 백신의 관리

백신에 대한 규격을 수립하고 근거를 제시해야 한다. 분석시험 검증에 관한 정보를 포함하여, 백신에 대한 분석법 및 허용한계에 관해 설명해야 한다. 규격에는

플라스미드의 확인 및 순도, 물리적 상태, 분량, 그리고 다른 관련 품질 파라미터, 역가, 엔도톡신 함량, 멸균에 대한 평가를 포함하도록 권고한다. 규격에 대한 근거를 제시해야 한다.

개발 초기에는 규격은 넓은 허용기준과 함께 제한적일 수 있다. 상업적 규모로 생산한 모든 로트의 시험 결과를 요약해야 한다. 개발 초기에는 GMP에 따라 제조한 로트의 시험 결과 그리고 가용한 경우 제조 절차 수립을 위해 실시한 생산시험용 가동의 결과를 요약해서 제출해야 한다.

원액 정제 플라스미드 대비 제형화한 백신에 대한 시험 수행의 적절성을 사례별 기반으로 고려하고 근거를 제시해야 한다.

최종 제형에 한 가지 이상의 플라스미드를 포함한다면 한 가지 플라스미드의 역가를 다른 플라스미드와 구분하는 것이 간단하지 않을 수 있다. 이러한 경우 최종 제형의 역가를 확립하기 위하여 각각의 원액 정제 플라스미드에 대해 *in vitro* 평가를 실시할 수 있다. 달리 말하면, 최종 제품에서 각 플라스미드의 역가를 서로 구분할 수 없다면 최종 제품의 역가를 함유된 각 플라스미드의 역가로부터 유추하여 산출할 수 있다. 그러나 최종 제형에 개별 플라스미드의 역가를 변경할 수 있는 면역증강제나 촉진제가 포함되어 있다면, 이것은 신뢰할 수 없는 접근법일 수 있다.

최종 제형인 백신의 몇몇 연속 로트의 특성을 분석하고 검증된 방법으로 분석을 실시하여 제조 일관성을 파악해야 한다. 한 로트와 다른 로트 간의 차이에 주목해야 한다. 다양한 로트로 실시한 임상시험 결과뿐 아니라 이러한 연구에서 획득한 자료는 일상적인 로트 출하를 위해 사용하게 될 백신 규격 및 허용기준을 정의하는 기반으로 사용해야 한다.

상업적 규모로 생산하는 각각의 백신 배치에 대하여 제품 개발 중 수행한 모든 시험을 실시할 필요는 없다. 일부 시험은 절차의 타당성이나 수용가능성을 확립할 목적으로만 필요하며 반면 다른 시험은 생산의 일관성 확립을 위해 제한적인 일련의 배치에 대해 실시할 수도 있다. 따라서 확인 및 순도, 품질, 안전성, 안정성과 관련된 일관성 확립을 위하여 최초 상업적 생산 배치에 대한 광범위한 분석을 수행해야 하며 그 후에는 제한적인 일련의 시험이 적절할 수 있다.

2.4.4.1. 확인

각 백신 로트는 최종 제품 플라스미드의 확인에 사용하기 위해 선별한 적절한 시험을 거쳐야 한다. 동정 시험의 범위에 따라, 제한효소 지도 작성 및/혹은 염기 서열분석, PCR을 통한 확인시험을 고려해야 한다.

2.4.4.2. 순도

각 백신 로트의 순도를 확인하고 명시된 한도 내에 해당함을 증명해야 한다. 최종 제품 플라스미드의 형태를 확인해야 하며 예를 들어 백신이 분해되지 않았음을 증명하기 위해 겔 전기영동이나 다른 시험법으로 수행해야 한다. 용기-마개 시스템의 적합성, 용출물 및 추출물(leachable and extractable)을 평가하고 논해야 한다.

제조공정을 위해 다수품목 제조시설 혹은 위탁제조기관을 사용하는 경우 다른 제품과의 오염이 확립된 검출 한계 이하임을 증명해야 한다.

2.4.4.3. 함량, 농도, 분량

무게를 기준으로 한 플라스미드 분량을 기반으로 DNA 백신의 용량을 설정한다. 일반적으로, 260nm에서의 흡광도로 확립된다(순도 평가 시 260nm 및 280nm에서의 흡광도 비교가 유용할 수 있음).

2.4.4.4. 기타 품질 파라미터

품질 파라미터를 확립하고 관리해야 한다. 중요 품질 파라미터에는 정상 및 pH가 포함된다. 다른 중요 품질 파라미터로는 (틈이 존재하는(nicked) 원형 혹은 선형과 같은 다른 형태로 존재할 수 있는) 전체 플라스미드 양에 대한 초나선형(supercoil) 플라스미드의 비율이 포함된다. 제품 특성에 따라서, 삼투질 농도 혹은 점도와 같은 기타 파라미터 관리가 중요할 수 있다. 추가로, 제한효소 지도작성 겔이나 미세관 전기영동, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)와 같은 순도 혹은 확인 평가를 위해 사용하는 방법은, 정제 원액 플라스미드에 대해 실시한다면 최

적일 수 있으나, 이러한 방법들로 품질로 평가할 수 있다. 백신을 동결건조하는 경우 잔여 습기에 대한 시험과 같은 기타 시험은 제품의 제형화뿐 아니라 물리적 특성을 확인하는 데 필요할 수 있다.

2.4.4.5. 역가

적절하게 정량적인, 검증된 분석시험을 통해 각 백신 로트의 역가를 결정해야 한다. 적절한 내부 참조물질과 비교하여 역가를 확립해야 한다. 확립된 임상적 성능을 갖춘 로트의 일관성을 보장할 수 있는 역가 분석시험을 확립하는 것이 이상적일 것이다. 이때에는 종종 *in vitro* 발현 시스템의 형태를 취한다. 면역원(immunogen)은 적합한 세포주와, 예를 들어 정량 RT-PCR(mRNA의 경우) 혹은 면역형광법이나 웨스턴블롯(단백질의 경우)으로 확인되는 발현된 mRNA 혹은 발현된 단백질의 형질주입(transfection)을 통해 *in vitro*에서 발현된다. 적절히 근거를 제시한 대체 실험실 방법(예: 비생물학적 검정(non-bioassay))을 기반으로 역가를 확립하는 것이 적절할 수 있다. 제안한 방법의 적절성에 대한 동의를 구하기 위해 식약처와 사전에 논의를 진행해야 한다. 백신 로트 출하를 위한 역가 관리와 관련하여 플라스미드의 함량과 초나선형(supercoil) 플라스미드의 함량((용량 설정에 사용된 플라스미드 DNA 분량)과 초나선형(supercoiled) 플라스미드 비율의 복합 측정 결과(composite measure) 사용에 대하여 동의를 구해야 한다. 특성 분석을 위하여 역가 관리 대신 발현을 증명하는 *in vitro* 방법을 사용할 수 있다.

최종 제형에 다수의 플라스미드를 함유하고 있다면 코딩된 각 면역원(immunogen)의 역가를 평가해야 한다. 그러나 최종 제형화 단계에서 이를 결정할 수 없다면 최종 제형에 포함하기 전 개별 플라스미드 단계에서 역가를 평가하는 것이 필요할 수 있다(2.4.4 및 2.4.4.7을 참조할 것).

세포 기반 역가 시험을 사용한다면, 사용되는 세포는 시험에 일관된 세포 공급을 보장하기 위하여 बैं킹을 통해 관리하는 것이 중요하다. 더 나아가, 세포를 외래성 인자 및 마이코플라스마/스피로플라스마(해당하는 경우, 후자만), 세균/진균, 마이코박테리아(해당하는 경우) 부정에 대해 평가하며, 적합하게 관리한 세포만을 사용해야 한다.

2.4.4.6. 무균을 포함한 안전성 및 엔도톡신 시험

각 백신 로트에 대해 무균 시험을 실시해야 한다. 백신을 비경구가 아닌 (non-parenteral) 경로로 투여하게 된다면 무균시험 생략과 적절한 대체 미생물부하 시험 실시에 대하여 적절한 근거를 제시해야 한다. 추가로, 각 로트를 엔도톡신에 대해 시험해야 하며, 적절한 규격을 정의해야 한다. 발열원성 시험은 단핵구 활성화 시험(Monocyte Activation Test, MAT)이나 유전자재조합 시약을 이용한 엔도톡신 시험으로도 대체될 수 있으며, 시험법에 대한 검증 자료를 제출하여야 한다. 윤리적인 이유로, 동물 사용을 최소화하기 위한 “대체, 축소, 개선”의 3R 개념을 적용하는 것이 바람직하며, 안전성 평가를 위하여 적절한 *in vitro* 대체 방법 사용을 고려해야 한다. 특히, 무독성(innocuity), 이상독성(abnormal toxicity) 혹은 일반 안전성 시험으로 알려진 시험을 요구하거나 의뢰해서는 안 된다.

2.4.4.7 다수 구성성분(multi-component) 백신

최종 제형에 한 가지 이상의 플라스미드를 함유하고 있다면 반드시 추가적 요소를 고려해야 한다. 다수 성분 백신에 포함된 플라스미드는 추가적인 항원이나 사이토카인, 혹은 백신의 유효성을 향상하거나 안전성에 영향을 주는 기타 생물학적으로 활성화된 물질을 코딩할 수 있다. 각 플라스미드에 대하여 개발 개요 및 생산 관리, 원액 정제 플라스미드의 특성 분석을 반드시 위와 같이 기술해야 한다. 마찬가지로, 플라스미드 외의 추가 구성요소(예 : 면역조절 분자 혹은 사이토카인 단백질)를 함유한 다수 성분 DNA 백신의 경우, 추가 성분의 역할에 대해 다루어야 한다. 최종 제형화한 백신의 관리에 주의 깊은 고려가 필요하다. 예를 들어 역가는 플라스미드들의 조합 및 이들의 상호작용에 따른 것이며 다수 요소 백신 중 어느 단일 플라스미드가 결정하는 것이 아닐 수 있다.

반면에, 역가를 밀접하게 관련된 항원들의 혼합물의 맥락에서 측정하는 것은 개연성이 없을 수 있으며 개별 플라스미드의 역가를 개별 정제 원액 플라스미드 내의 발현으로 측정해야 할 수 있다. 선택한 접근법에 대한 명확성과 이에 대한 근거를 기술해야 한다.

2.4.5 참조 물질(reference materials)

임상적으로 평가한 최종 제형 백신의 적절한 로트 혹은 원액 정제 플라스미드의 적절한 배치를 전체 염기서열 분석을 포함하여 화학적 조성 및 순도, 생물학적 활성의 측면에서 완전히 특성을 분석하고, 화학 및 생물학적 참조물질로 사용하기 위해 보관해야 한다. 이 물질은 상업적 생산 로트에 대한 제품 품질 평가의 기반으로 사용해야 한다.

향후 WHO 협력센터에서 국제단위(IU)로 표현한 국제표준(IS)을 준비할 수 있다. 이러한 국제표준을 사용할 수 있게 되면 내부 표준물질을 국제표준과 비교하여 국제단위가 할당되고 품질관리 시험이나 분석법을 완전히 검증할 수 있게 된다는 점이 중요할 것이다. 이러한 방식으로, 새로운 표준물질을 준비해야 할 때마다 더욱 신뢰 가능하며 변동성이 적은 방법으로 비교를 실시할 수 있다.

마찬가지로 IS는 개발 중이거나 품목허가를 위해 평가 중인 DNA 백신과 관련된 면역반응이나 기타 바이오마커의 비임상 및 임상 분석시험을 해석하는 데 유용할 수 있다.

2.4.6 안정성

적절한 안정성 연구는 백신 개발의 핵심적 부분을 구성한다. 따라서 사용을 제한한 용기에 담긴 최종 제품의 안전성을 확인하고 그 결과를 적절한 보관 조건 하에서의 유효기간 설정에 사용해야 한다. 안정성을 지시해 줄 수 있는 파라미터를 측정해야 한다. 여기에는 초나선형(supercoil) 플라스미드의 성상 및 분량, 비율과 같은 파라미터가 포함될 수 있다. 측정할 파라미터에 관해 기술하고 규격을 정의해야 한다. 이를 위해서는 실시간 안정성 연구를 수행해야 하지만 상향된 온도에서의 가속(accelerated) 안정성 연구는 제품 안정성을 보완하는 보조 자료를 제공하며 안정성 결정을 위해 사용한 분석시험의 안정성 지시(stability-indicating) 특성을 확인해 줄 수 있다. 용출물 및 추출물(leachable and extractable)을 포함하여 보관 시 안정성(storage stability)을 위한 용기-마개 시스템의 적합성을 평가하고 논해야 한다.

3. 비임상 평가

후보 백신의 비임상 평가는 제품의 임상적 사용 의도를 염두에 두고 제품 특이적 기반으로 고려해야 한다. 제품의 독성 및 약리학(개념 증명)과 관련된 적합한 연구 선택 시에는 다음의 WHO 가이드라인 중 한 가지 또는 두 가지 모두를 기반으로 결정해야 한다.

- WHO Guidelines on the Nonclinical Evaluation of Vaccines(57)
- WHO Guidelines on the Nonclinical Evaluation of Vaccine Adjuvants and Adjuvanted Vaccines(58)

플라스미드 구성 성분이 사이토카인이나 다른 면역조절 단백질을 코딩하는 경우, DNA 백신에 대한 적절성 문제가 있을 수 있다. 이 경우 비임상 평가를 위해 선정한 동물모델 선택은 제품의 생물학적 활성의 종 특이도(species specificity)를 고려해야 할 수 있다. 개발할 인체-특이적(human-specific) 제품에 대하여 종-적절성이 있는 유사체(species-relevant analogue)를 사용하여 개념 증명 연구를 수행해야 할 수 있다. 면역독성을 포함한 독성학 평가를 인체-특이적 제품 그리고/또는 그 유사체로 실시할 수 있으며, 이 문제에 대하여 국가 규제기관의 동의를 구해야 한다.

DNA 백신과 관련이 가능한 다른 문제로는 이종 기초-추가 접종계획(heterologous prime-boost regimens) 하의 DNA 백신 사용이 있을 것이다. 접종계획의 개별 백신(또는 최소한 접종계획의 DNA 백신 성분)에 대하여 기존의 비임상 또는 임상 자료가 없는 경우에는 비임상 프로그램이 현행 가이드라인과 같거나 유사할 수 있다. 그러나 같거나 유사한 면역원(예 : 기타 바이러스 외투 단백질, 기타 독감 헤마글루티닌, 새로운 후보 백신과 이전에 시험한 후보 백신 사이에 아미노산 서열의 제한적인 변경)을 발현하는 접종계획 내의 각 백신에 대해 상당한 임상 경험이 있는 경우 비임상시험을 단축할 수도 있을 것으로 예상된다. 현재의 임상 경험은 혼합 접종계획(combined regime)의 백신 성분의 안전성 및 성능에 대하여 동물 자료보다 더 유용한 정보를 제공할 것이다. 관련된 면역원(immunogen)을 발현하는 DNA 백신 플라스미드 백본(backbone)에 대해 실시한 이전의 연구와 동물

에서 안전성 프로파일이 유사한가를 판단하기 위해서 새로운 백신 접종계획에 관한 면역원성(또는 공격-방어) 연구에서 특정 안전성 파라미터를 평가하는 것이 적합할 수도 있다. 이러한 접근법은 적절한 대체 방법을 사용할 수 있는 모든 경우 제품 안전성 시험에서 동물 사용 개선 및 축소, 대체(refine, reduce, replace)의 3R 원칙과 일관된 것이다.

마찬가지로 이미 상당한 비임상(그리고 어쩌면 임상적) 경험이 있는 기존 플라스미드 백본(backbone)을 기반으로 하는 DNA 백신의 경우 단축된 비임상 프로그램을 고려해야 한다(21, 22, 69, 70). 새로운 삽입 유전자가 비임상 또는 임상적으로 이미 연구된 다른 항원과 연관되어 있다면 추가적인 독성 연구 없이도 기존의 비임상과 임상 자료를 기반으로 새로운 백신을 위한 안전한 출발 용량 및 접종계획을 뒷받침하는 주장을 전개할 수 있다.

공중보건 긴급상황을 유발하는 우선순위 병원체에 대하여 백신을 신속히 개발하는 상황에서는 다음과 같이 단축된 비임상 프로그램을 고려할 수 있다. 플라스미드를 이미 관련된 항원으로 임상시험을 실시한 백본(backbone)으로부터 구축할 때에는(예: 계절성 또는 기타 잠재적인 대유행 균주 항원에 대해 시험을 한 대유행 독감 균주의 경우), 비임상 프로그램은 면역원성 연구로 제한할 수도 있다. 그러나 많은 면역원성 연구가 우수 실험실 운영기준(GLP)을 완전히 준수하지 않고 실시된다는 점을 고려하여, 이 연구에서는 가능한 많은 안전성 자료를 수집해야 한다. 사용한 동물 종에 따라 면역원성뿐 아니라 혈액학 및 화학 평가를 위해 혈액을 채취하는 것이 가능하다면 이와 같은 분석을 실시해야 한다. 추가로 사용한 동물 종에 따라 동물을 면역원성 연구 마무리 시점에서 희생한다면 육안 병리학 및 표적 조직병리학 분석을 실시해야 한다. 또한 검진이나 임상적 발견사항에 대한 정보를 포착하여 식약처에 보고해야 한다. 사용한 동물 종이 개별적인 임상병리학 분석을 실시하기에는 너무 작거나(예: 마우스), 또는 희생하지 않은 동물 종을 면역원성 연구 수행 후에 다른 연구에서 사용한다면(예 : 비인간 영장류) 수집할 수 있는 어떠한 안전성 자료이든 식약처에 보고해야 한다. 관련된 항원을 발현하는 동물 백신에 대한 안전성정보가 있다, 이 정보를 식약처에 제공하는 것이 유용할 수도 있다.

공중보건 긴급상황 유발 우선순위 병원체에 대한 백신을 신속하게 개발하는 경우, 플라스미드 백본(backbone)은 임상적으로 시험했으나 항원이 신물질이라면(임상적으로 시험한 다른 항원과 관련이 없음) 이러한 접근법은 충분하지 않을 수도 있다. 필요한 비임상 안전성/독성학 정보의 유형에 관한 결정은 병리학, 특히 면역독성과 관련하여 자연 질환(natural disease)에 대해 무엇이 얼마만큼 알려져 있는가를 지침으로 삼을 수도 있다. 자연 질환이 교차 반응성(cross-reactivity)이나 자가면역, 면역-연관 질환 강화(disease enhancement)와 연관되어 있다면 새로운 항원이 이러한 결과들과는 관련이 없음을 확인하기 위해 독성학 연구가 필요할 것이다. 자연 질환이 면역병리와 연관이 없거나 자연 질환에 대해 거의 알려진 바가 없는 경우 식약처와 논의가 필요하다. 마지막으로, 플라스미드 백본(backbone)이 또는 플라스미드 백본과 항원 모두가 신물질이라면 이 역시 식약처와의 논의가 필요하다.

본래 DNA 백신에 대해서 생체 분포(Biodistribution) 연구를 제안했음에도 현재까지 획득한 자료에서는 이러한 평가를 지속해야 할 이유를 제시하지 못하였다. 플라스미드 DNA는 대체로 주사 부위에 머무르며 임상적으로 의미 있는 수준이나 전신에 걸쳐 광범위하게 분포하지 않는다. 더욱이 플라스미드 DNA는 난소나 고환을 표적으로 하지 않으며 분해되어 체외로 배출된다(69, 70, 79). 그러나 이러한 자료 대부분은 성체에서 수집한 것이다. 동물의 모체나 태아를 사용한 발달 독성 또는 생체 분포 연구를 통해 획득한 정보의 양은 제한적이다(79).

4. 임상 평가

임상시험 승인이나 품목허가를 위한 임상 평가 기대사항은 DNA 백신의 개발 대상인 질환 및 이 질환을 예방하기 위한 백신의 작용기전을 기반으로 하게 된다. 임상 연구는 ‘의약품 임상시험 관리기준’ 및 ‘백신 임상 평가 가이드라인(식약처, 2017)’을 준수해야 한다. 마찬가지로, 시판 후 약물 감시는 후자에서 논하고 있다.

DNA 백신과 관련된 문제는 이중 기초-추가 접종계획(heterologous prime-boost regimens)에서의 DNA 백신 사용이다. 이 문제에 대한 일부 지침은 위에 열거한 가이드라인에서 제공하고 있다. 이러한 유형의 이중 기초-추가 접종계획이 현시점에서는 아직 새로운 것이며 보건의료 담당자와 공중보건 시스템이 이러한 접근법에 대해 반드시 준비된 것은 아니기 때문에 품목허가 시 도전과제는 최종적으로 유효성을 증명하게 되는 접종계획에 포함된 각 백신의 라벨 표기가 될 것이다. 제품 혼동 및 투약 오류를 방지하기 위한 라벨 표기는 성공적인 공중보건 접종사업이나 정기예방접종에 매우 중요할 것이다. 주목이 필요할 수 있는 다른 문제는 면역접종 후 관찰되는 안전성 사례의 기원 규명과 이 사례가 뒤늦게 발생할지라도 (예 : 추가접종 후) 기초 또는 추가 백신 중 어디에서 기인했는가를 어떻게 명확히 확립하는가이다.

DNA 백신의 잠재적 이점은 임신 중 사용될 수 있다. 도움이 될 수 있는 추가 정보는 지역 또는 국가 규제기관 특이적 가이드라인에서 얻을 수 있을 것이다. 이러한 추가적인 가이드라인은 DNA 백신 특이적은 아니며 다양한 종류의 제품에 적용이 가능할 수 있으나, 임신 중 면역접종과 관련된 임상시험 설계 및 라벨 표기 문제에 지침을 제공해준다. 다른 경우와 마찬가지로, 이러한 취약한 인구를 대상으로 한 주의 깊은 안전성 및 유효성 평가가 중요하다.

DNA 백신의 유효성 증명을 위해 특정한 전달 기기를 사용했다면 라벨 표기에는 핵심(pivotal) 임상시험 계획서에서와같이 이 시험에서 사용한 기기 파라미터(device parameter)를 반영해야 한다. 라벨 표기에는 허가된 기기를 반드시 사용해야 함을 사용자에게 명확히 해야 한다. 주사침과 주사기 전달을 포함하여 대체 기

기의 허가 외(off-label) 사용을 포착하기 위해 약물 감시 계획을 고려하는 것이 중요할 것이다. 대체 기기 사용이 안전성 및 유효성 소실이나 부족에 미치는 영향을 평가해야 한다. 대조군(들)에서 위약 또는 다른 종류의 대조약(예 : 다른 백신)을 전달하기 위해 같은 기기를 사용할 것인가와 관련하여 핵심 유효성 시험을 위한 임상시험 설계가 중요할 것이다. 유효성 자료를 얻기 위해 가능하다면 언제나 이중 눈가림, 무작위배정, 대조군 시험 설계를 유지하는 것이 중요하다. 그러나 의도한 후보 백신 외의 물질과 이 전달 기기 사용의 적절성을 윤리 및 위해성/유익성 고려사항 측면에서 고려해야 한다. 라벨 표기는 식약처의 요건과 일치해야 한다.

[참고문헌]

1. Suschak JJ, Williams JA, Schmaljohn CS. Advancement in DNA vaccines vectors, novel mechanical delivery methods, and molecular adjuvants to increase immunogenicity. *Hum Vaccin Immunother.* 2017;13(12):2837-48 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5718814/>, accessed 30 April 2020).
2. Manickan E, Karem KL, Rouse BT. DNA Vaccines - A Modern Gimmick or a Boon to Vaccinology? *Crit Rev Immunol.* 2017;37(2-6):483-98 (abstract : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29773031/>, accessed 30 April 2020).
3. Porter KR, Raviprakash K. DNA Vaccine Delivery and Improved Immunogenicity. *Curr Issues Mol Biol.* 2017;22:129-38 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27831541/> accessed 30 April 2020).
4. Li L, Petrovsky N. Molecular mechanism for enhanced DNA vaccine immunogenicity. *Expert Rev Vaccine.* 2016;15(3): 312-29 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4955855/>, accessed 30 April 2020).
5. Maré MA, Domínguez-Álvarez E, Gamazo C. Nucleic acid vaccination strategies against infectious diseases. *Expert Opin Drug Deliv.* 2015;12(12):1851-65 (<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/17425247.2015.1077559>, accessed 30 April 2020).
6. Grunwald T, Ulbert S. Improvement of DNA vaccination by adjuvants and sophisticated delivery devices: vaccine-platforms for the battle against infectious diseases. *Clin Exp Vaccine Res.* 2015;4(1):1-10 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4313101/> accessed 30 April 2020).
7. Tregoning JS, Kinnear E. Using Plasmids as DNA Vaccines for Infectious Diseases. *Microbiol Spectr.* 2014 Dec;2(6) (<https://www.asmscience.org/content/journal/microbiolspec/10.1128/microbiolspec.PLAS.25-0028-2014>, accessed 30 April 2020).
8. Williams JA. Improving DNA vaccine performance through vector design. *Curr Gene Ther.* 2014;14(3):170-89 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25142448/> accessed April 2020).
9. Wahren B, Liu MA. DNA Vaccines: Recent Developments and the Future. *Vaccines* 2014;2(4):785-96 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4494247/>, accessed April 2020).
10. Liu MA. DNA Vaccines: an historical perspective and view to the future. *Immunological Reviews.* 2011;239:62-84 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21198665/> accessed 30 April 2020).
11. Ledgerwood JE, Graham BS. DNA vaccines: a safe and efficient platform technology for responding to emerging infectious diseases. *Hum Vaccin.* 2009 Sep;5(9):623-6 (<https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.4161/hv.8627>, accessed 30 April 2020).
12. Smith TR, Patel A, Ramos S, Elwood D, Zhu X, Yan J, et al. Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19. *Nature Communications* 2020; 11:2601. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16505-0> (<https://www.nature.com/articles/s41467-020-16505-0>, accessed 16 July 2020).

13. Pierini S, Perales-Linares R, Uribe-Herranz M, Pol JG, Zitvogel L, Kroemer G et al. Trial watch: DNA-based vaccines for oncological indications. *Oncoimmunology*. 2017 Nov 20;6(12): e1398878 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5706602/> accessed 30 April 2020).
14. Gottlieb P, Utz PJ, Robinson W, Steinman L. Clinical optimization of antigen specific modulation of type 1 diabetes with the plasmid DNA platform. *Clin Immunol*. 2013 Dec;149(3):297-306 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4800754/>, accessed April 2020).
15. Garren H, Robinson WH, Krasulová E, Havrdová E, Nadj C, Selmaj K et al. Phase 2 trial of a DNA vaccine encoding myelin basic protein for multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2008 May;63(5):611-20 (<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ana.21370>, accessed April 2020).
16. Zhu Z, Yu J, Niu Y, Sun S, Liu Y, Saxon A et al. Enhanced Prophylactic and Therapeutic Effects of Polylysine-Modified Ara h 2 DNA Vaccine in a Mouse Model of Peanut Allergy. *Int Arch Allergy Immunol*. 2016;171(3-4):241-50 (<https://www.karger.com/Article/FullText/453264>, accessed 30 April 2020).
17. Trimble CL, Morrow MP, Kranyak KA, Shen X, Dallas M, Yan J et al. Safety, efficacy, and immunogenicity of VGX-3100, a therapeutic synthetic DNA vaccine targeting human papillomavirus 16 and 18 E6 and E7 proteins for cervical intraepithelial neoplasia 2/3: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2b trial. *Lancet*. 2015 Nov 21;386(10008):2078-88 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4888059/>, accessed 30 April 2020).
18. Maldonado L, Teague JE, Morrow MP, Jotova I, Wu TC, Wang C et al. Intramuscular Therapeutic Vaccination Targeting HPV16 Induces T Cell Responses That Localize in Mucosal Lesions. *Sci Transl Med*. 2014 Jan 29;6(221):221ra13 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4086631/>, accessed 30 April 2020).
19. Tebas P, Kranyak KA, Patel A, Maslow JN, Morrow MP, Sylvester AJ et al. Intradermal SynCon® Ebola GP DNA Vaccine is Temperature Stable and Safely Demonstrates Cellular and Humoral Immunogenicity Advantages in Healthy Volunteers, *JID*. 2019;220(3):400-10 (<https://academic.oup.com/jid/article/220/3/400/5395966>, accessed April 2020).
20. Guidelines for assuring the quality and nonclinical safety evaluation of DNA vaccines. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fifty-sixth report. Geneva: World Health Organization; 2007: Annex 1 (WHO Technical Report Series, No. 941; https://www.who.int/biologicals/publications/trs/areas/vaccines/dna/Annex%201_DNA%vaccines.pdf?ua=1, accessed 30 April 2020).
21. International Health Regulations (2005). Second edition. Geneva: World Health Organization; 2008 (http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241580410_eng.pdf, accessed 26 April 2019).
22. Tebas P, Roberts CC, Muthumani K, Reuschel EL, Kudchodkar SB, Zaidi FI et al. Safety and Immunogenicity of an Anti - Zika Virus DNA Vaccine – Preliminary Report. *N Eng J Med*. 2017 (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28976850/>, accessed 30 April 2020).
23. Gaudinski MR, Houser KV, Morabito KM, Hu Z, Yamshchikov G, Rothwell RS et al. Safety, Tolerability, and Immunogenicity of Two Zika Virus DNA Vaccine Candidates in Healthy Adults: Randomised, Open-Label, Phase 1 Clinical Trials. *Lancet*. 2018;391(10120):552-62

- ([https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(17\)33105-7/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(17)33105-7/fulltext), accessed 30 April 2020).
24. Paules CI, Marston HD, Fauci AS. Coronavirus Infections - More than Just the Common Cold. *JAMA*. 2020;323:707-8 (<https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2759815>, accessed 30 April 2020).
 25. Beasley DWC. New international guidance on quality, safety and efficacy of DNA vaccines. *npj Vaccines* 2020; 5:53 ; <https://doi.org/10.1038/s41541-020-0199-0> (<https://www.nature.com/articles/s41541-020-0199-0> , accessed 16 July 2020).
 26. Sheets RL, Kang H, Meyer H, Knezevic I. WHO informal consultation on the guidelines for evaluation of the quality, safety, and efficacy of DNA vaccines, Geneva, Switzerland, December 2019. *npj Vaccines* 2020;) 5:52 ; <https://doi.org/10.1038/s41541-020-0197-2>. (<https://www.nature.com/articles/s41541-020-0197-2> , accessed 16 July 2020).
 27. Keefer MC, Graham BS, Belshe RB, Schwartz D, Corey L, Bolognesi DP et al. Studies of high doses of a human immunodeficiency virus type 1 recombinant glycoprotein 160 candidate vaccine in HIV type 1-seronegative humans. The AIDS Vaccine Clinical Trials Network. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 1994 Dec;10(12):1713-23 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7888231/>, accessed 30 April 2020).
 28. Martin JE, Sullivan NJ, Enama ME, Gordon IJ, Roederer M, Koup RA et al. A DNA vaccine for Ebola virus is safe and immunogenic in a phase I clinical trial. *Clin Vaccine Immunol*. 2006 Nov;13(11):1267-77 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1656552/>, accessed 30 April 2020).
 29. Liu MA. Immunologic Basis of Vaccine Vectors. *Immunity*. 2010;33(4):504-15 ([https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613\(10\)00364-X?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS107476131000364X%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613(10)00364-X?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS107476131000364X%3Fshowall%3Dtrue), accessed 30 April 2020).
 30. Nabel GJ, Kaslow DC, Ulmer JB, Liu MA. DNA vaccines. In: *New Generation Vaccines*. New York, NY, USA: Marcel Dekker; 2010:386-95.
 31. Liu MA. Gene-Based Vaccines: Recent Developments. *Curr Opin Mol Ther*. 2010;12(1):86-93 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20140820/>, accessed 8 May 2020).
 32. Enama ME, Ledgerwood JE, Novik L, Nason MC, Gordon IJ, Holman L et al. Phase I randomized clinical trial of VRC DNA and rAd5 HIV-1 vaccine delivery by intramuscular (i.m.), subcutaneous (s.c.) and intradermal (i.d.) administration (VRC 011). *PLoS One*. 2014 Mar 12;9(3):e91366 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3951381/>, accessed 30 April 2020).
 33. Hammer SM, Sobieszczyk ME, Janes H, Karuna ST, Mulligan MJ, Grove D et al. Efficacy trial of a DNA/rAd5 HIV-1 preventive vaccine. *N Engl J Med*. 2013 Nov 28;369(22):2083-92 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4030634/>, accessed April 2020).
 34. Churchyard GJ, Morgan C, Adams E, Hural J, Graham BS, Moodie Z et al. A phase IIA randomized clinical trial of a multiclade HIV-1 DNA prime followed by a multiclade rAd5 HIV-1 vaccine boost in healthy adults (HVTN204). *PLoS One*. 2011;6(8):e21225 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3152265/>, accessed 30 April 2020).
 35. Leifert JA and Whitton JL. Immune response to DNA vaccines: Induction of CD8 T cells. *Landes*

- Bioscience. 2013 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6523/>, accessed 30 April 2020).
36. Kardani K, Bolhassani A, Shahbazi S. Prime-boost vaccine strategy against viral infections: Mechanisms and benefits. *Vaccine*. 2016 Jan 20;34(4):413-23 (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X15017430?via%3Dihub>, accessed 30 April 2020).
 37. De Rosa SC, Thomas EP, Bui J, Huang Y, deCamp A, Morgan C et al. HIV-DNA priming alters T cell responses to HIV-adenovirus vaccine even when responses to DNA are undetectable. *J Immunol*. 2011 Sep 15;187(6):3391-401 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3180898/>, accessed 30 April 2020).
 38. Mulligan MJ, Russell ND, Celum C, Kahn J, Noonan E, Montefiori DC et al. Excellent safety and tolerability of the human immunodeficiency virus type 1 pGA2/JS2 plasmid DNA priming vector vaccine in HIV type 1 uninfected adults. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2006 Jul;22(7):678-83 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16831092/>, accessed 30 April 2020).
 39. Jaoko W, Karita E, Kayitenkore K, Omosa-Manyonyi G, Allen S, Than S et al. Safety and immunogenicity study of Multiclade HIV-1 adenoviral vector vaccine alone or as boost following a multiclade HIV-1 DNA vaccine in Africa. *PLoS One*. 2010;5(9):e12873 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2943475/>, accessed 30 April 2020).
 40. Koup RA, Roederer M, Lamoreaux L, Fischer J, Novik L, Nason MC et al. Priming immunization with DNA augments immunogenicity of recombinant adenoviral vectors for both HIV-1 specific antibody and T-cell responses. *PLoS One*. 2010;5(2): e9015 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2814848/>, accessed 30 April 2020).
 41. Liu J, Hellerstein M, McDonnell M, Amara RR, Wyatt LS, Moss B et al. Dose-response studies for the elicitation of CD8 T cells by a DNA vaccine, used alone or as the prime for a modified vaccinia Ankara boost. *Vaccine*. 2007 Apr 12;25(15):2951-8 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17360078/>, accessed 30 April 2020).
 42. Viegas EO, Kroidl A, Munseri PJ, Missanga M, Nilsson C, Tembe N, et al. Optimizing the immunogenicity of HIV primeboost DNA-MVA-rgp140/GLA vaccines in a phase II Page 39 randomized factorial trial design. *PLoS One*. 2018;13(11): e0206838 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6264478/>, accessed 30 April 2020).
 43. Flatz L, Roychoudhuri R, Honda M, Filali-Mouhim A, Goulet JP, Kettaf N et al. Single-cell gene-expression profiling reveals qualitatively distinct CD8 T cells elicited by different gene-based vaccines. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Apr 5;108(14):5724-9 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3078363/>, accessed 30 April 2020).
 44. Honda M, Wang R, Kong WP, Kanekiyo M, Akahata W, Xu L et al. Different vaccine vectors delivering the same antigen elicit CD8⁺ T cell responses with distinct clonotype and epitope specificity. *J Immunol*. 2009 Aug 15;183(4):2425-34 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2858449/>, accessed 30 April 2020).
 45. Barouch DH, McKay PF, Sumida SM, Santra S, Jackson SS, Gorgone DA et al. Plasmid chemokines and colony-stimulating factors enhance the immunogenicity of DNA priming-viral vector boosting human immunodeficiency virus type 1 vaccines. *J Virol*. 2003 Aug;77(16):8729-35

- (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC167238/>, accessed 30 April 2020).
46. Martin JE, Pierson TC, Hubka S, Rucker S, Gordon IJ, Enama ME et al. West Nile virus DNA vaccine induces neutralizing antibody in healthy adults during a phase 1 clinical trial. *J Infect Dis.* 2007 Dec 15;196(12):1732-40 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2714735/>, accessed 30 April 2020).
 47. Ledgerwood JE, Pierson TC, Hubka SA, Desai N, Rucker S, Gordon IJ et al. A West Nile virus DNA vaccine utilizing a modified promoter induces neutralizing antibody in younger and older healthy adults in a phase I clinical trial. *J Infect Dis.* 2011 May 15;203(10):1396-404 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3080891/>, accessed 30 April 2020).
 48. West Nile shot for horses is first licensed DNA vaccine. Center for Infectious Disease Research & Policy; July 21, 2005 (<http://www.cidrap.umn.edu/news/perspective/2005/07/west-nile-shot-horses-first-licensed-dna-vaccine>, accessed 30 April 2020).
 49. Martin JE, Sullivan NJ, Enama ME, Gordon IJ, Roederer M, Koup RA et al. A DNA vaccine for Ebola virus is safe and immunogenic in a phase I clinical trial. *Clin Vaccine Immunol.* 2006 Nov;13(11):1267-77 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1656552/>, accessed 30 April 2020).
 50. Sarwar UN, Costner P, Enama ME, Berkowitz N, Hu Z, Hendel CS et al. Safety and immunogenicity of DNA vaccines encoding Ebolavirus and Marburgvirus wild-type glycoproteins in a phase I clinical trial. *J Infect Dis.* 2015 Feb 15;211(4):549-57 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4318920/>, accessed 30 April 2020).
 51. Kibuuka H, Berkowitz NM, Millard M, Enama ME, Tindikahwa A, Sekiziyivu AB et al. Safety and immunogenicity of Ebola virus and Marburg virus glycoprotein DNA vaccines assessed separately and concomitantly in healthy Ugandan adults: a phase 1b, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Lancet.* 2015 Apr 18;385(9977):1545-54 (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25540891/>, accessed 30 April 2020).
 52. Buchbinder SP, Grunenberg NA, Sanchez BJ, Seaton KE, Ferrari G, Moody MA et al. Immunogenicity of a novel Clade B HIV-1 vaccine combination: Results of phase 1 randomized placebo controlled trial of an HIV-1 GM-CSF-expressing DNA prime with a modified vaccinia Ankara vaccine boost in healthy HIV-1 uninfected adults. *PLoS One.* 2017 Jul 20;12(7):e0179597 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5519050/>, accessed 8 May 2020).
 53. Mori T, Kanda Y, Takenaka K, Okamoto S, Kato J, Kanda J et al. Safety of ASP0113, a cytomegalovirus DNA vaccine, in recipients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation: an open-label phase 2 trial. *Int J Hematol.* 2017 Feb;105(2):206-12 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27796740/>, accessed 30 April 2020).
 54. Stenler S, Blomberg P, Smith CI. Safety and efficacy of DNA vaccine: Plasmid vs. Minicircles. *Hum Vaccin Immunother.* 2014;10(5):1306-8 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24553064/>, accessed 30 April 2020).
 55. Dalmo RA. DNA vaccines for fish: Review and perspectives on correlates of protection. *J Fish Dis.* 2018 Jan;41(1):1-9 (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29064091/>, accessed 30 April 2020).
 56. Houston R, Moxon S, Nogue F, Papadopoulou N, Ramon M, et al. Assessment of the potential

- integration of the DNA plasmid vaccine CLYNAV into the salmon genome. *EFSA Journal*. 2017;15(1) (<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2017.4689>, accessed 30 April 2020).
57. Guidelines on nonclinical evaluation of vaccines. In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fifty-fourth Report. Geneva, World Health Organization, 2005, Annex 1 (WHO Technical Report Series, No. 927; http://www.who.int/biologicals/publications/trs/areas/vaccines/nonclinical_evaluation/ANNEX%201Nonclinical.P31-63.pdf?ua=1, accessed 40 April 2020).
 58. Guidelines on the Nonclinical Evaluation of Vaccine Adjuvants and Adjuvanted Vaccines, In: WHO Expert Committee on Biological Standardization. Sixty-Fourth Report. Geneva, World Health Organization, 2014, Annex 2 (WHO Technical Report Series, No. 987; http://www.who.int/biologicals/areas/vaccines/TRS_987_Annex2.pdf?ua=1, accessed April 2020)
 59. Weniger BG, Anglin IE, Tong T, Pensiero M, Pullen JK; Nucleic Acid Delivery Devices for HIV Vaccines Workshop Group. Workshop report: Nucleic acid delivery devices for HIV vaccines: Workshop proceedings, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Bethesda, Maryland, USA, May 21, 2015. *Vaccine*. 2018 Jan 25;36(4):427-37 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29174315/>, accessed 30 April 2020).
 60. Ake JA, Schuetz A, Pegu P, Wicczorek L, Eller M, Kibuuka H et al. Safety and Immunogenicity of PENNVAX-G DNA Prime Administered by Biojector 2000 or CELLECTRA Electroporation Device With Modified Vaccinia Ankara-CMDR Boost. *J Infect Dis*. 2017;216(9):1080 - 90 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5853809/>, accessed 30 April 2020).
 61. Ledwith BJ, Manam S, Troilo PJ, Barnum AB, Pauley CJ, Griffiths 2nd 11 TG et al. Plasmid DNA vaccines: assay for integration into host genomic DNA. *Dev Biol*. 2000;104:33 - 43 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11713822/>, accessed 30 April 2020).
 62. Ledwith BJ, Manam S, Troilo PJ, Barnum AB, Pauley CJ, Griffiths 2nd 14 TG et al. Plasmid DNA vaccines: investigation of integration into host cellular DNA following intramuscular injection in mice. *Intervirology*, 2000;43(4-6):258 - 72 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11251381/>, accessed 30 April 2020).
 63. Kim BM, Lee DS, Choi JH, Kim CY, Son M, Suh YS et al. In vivo kinetics and biodistribution of a HIV-1 DNA vaccine after administration in mice. *Arch Pharm Res*. 2003;26(6):493 - 8 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12877561/>, accessed 30 April 2020).
 64. Pilling AM, Marman RM, Jones SA, McCormack NAM, Lavender D, Haworth R. The assessment of local tolerance, acute toxicity, and DNA biodistribution following particle-mediated delivery of a DNA vaccine to minipigs. *Toxicol Pathol*. 2002;30(3):298 - 305 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12051546/>, accessed 30 April 2020).
 65. Bureau MF, Naimi S, Torero Ibad R, Seguin J, Georger C, Arnould E et al. Intramuscular plasmid DNA electrotransfer: biodistribution and degradation. *Biochim Biophys Acta*. 2004;1676(2):138 - 48 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14746908/>, accessed 30 April 2020).
 66. Wang Z, Troilo PJ, Wang X, Griffiths II TG, Pacchione SJ, Barnum AB et al. Detection of integration of plasmid DNA into host genomic DNA following intramuscular injection and

- electroporation. *Gene Therapy*. 2004;11:711 - 21 (<https://www.nature.com/articles/3302213>, accessed 30 April 2020).
67. Manam S, Ledwith BJ, Barnum AB, Troilo PJ, Pauley CJ, Harper LB et al. Plasmid DNA vaccines: Tissue distribution and effects of DNA sequence, adjuvants, and delivery method on integration into host DNA. *Intervirology*. 2000;43(4-6):273-81 (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11251382/>, accessed 30 April 2020).
 68. Sheets RL, Stein J, Manetz TS, Duffy C, Nason M, Andrews C et al. Biodistribution of DNA Plasmid Vaccines against HIV-1, Ebola, Severe Acute Respiratory Syndrome, or West Nile Virus is Similar, without Integration, despite Differing Plasmid Backbones or Gene Inserts. *Toxicol Sci*. 2006;91(2):610-9 (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16569729/>, accessed 30 April 2020).
 69. Sheets RL, Stein J, Manetz TS, Andrews A, Bailer R, Rathmann J et al. Toxicological Safety Evaluation of DNA Plasmid Vaccines against HIV-1, Ebola, Severe Acute Respiratory Syndrome, or West Nile Virus is Similar despite Differing Plasmid Backbones or Gene Inserts. *Toxicol Sci*. 2006;91(2):620-30 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2366098/>, accessed 30 April 2020).
 70. Ulmer JB, Deck RR, DeWitt CM, Donnelly JJ, Liu MA. Generation of MHC class I₉ restricted cytotoxic T lymphocytes by expression of a viral protein in muscle cells: Antigen presentation by non-muscle cells. *Immunology*. 1996;89(1):59-67 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1456656/>, accessed 30 April 2020).
 71. Fu TM, Ulmer JB, Caulfield MJ, Deck RR, Friedman A, Wang S et al. Priming of cytotoxic T lymphocytes by DNA vaccines: requirement for professional antigen presenting cells and evidence for antigen transfer from myocytes. *Mol Med*. 1997 Jun;3(6):362-71 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2230213/>, accessed 30 April 2020).
 72. Morrow MP, Tebas P, Yan J, Ramirez L, Slager A, Kraynyak K et al. Synthetic consensus HIV-1 DNA induces potent cellular immune responses and synthesis of granzyme B, perforin in HIV infected individuals. *Mol Ther*. 2015 Mar;23(3):591-601 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4351468/>, accessed 30 April 2020).
 73. Roy MJ, Wu MS, Barr LJ, Fuller JT, Tussey LG, Speller S et al. Induction of antigen₂₂ specific CD8⁺ T cells, T helper cells, and protective levels of antibody in humans by particle-mediated administration of a hepatitis B virus DNA vaccine. *Vaccine*. 2000 Nov 22;19(7-8):764-78 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11115698/>, accessed April 2020).
 74. Gorse G, Newman MJ, deCamp A, Hay CM, DeRosa SC, Noonan E et al. DNA and Modified vaccinia virus Ankara vaccines encoding multiple cytotoxic and helper T₁28 lymphocytes epitopes of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) are safe but weakly immunogenic in HIV -1-Uninfected, Vaccinia Virus Naïve adult. *Clin Vaccine Immunol*. 2012;19(5):649-58 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3346329/>, accessed 30 April 2020).
 75. Guidance on the use of international non-proprietary names (INNs) for pharmaceutical substances. Geneva, World Health Organization, 2017 (www.who.int/medicines/services/inn/FINAL_WHO_PHARM_S_NOM_1570_web.pdf?ua=1, accessed 30 April 2020).

76. Roberson JS, Chui W-K, Genazzani AA, Malan SF, de la Rica Manjavacas AL, Mignot G, Thorpe R, Balocco R, Rizzi M. The INN global nomenclature of biological medicines: A continuous challenge. *Biologicals*. 2019;6:15-23
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S104510561930048X?via%3Dihub>, accessed 30 April 2020).
77. Sheets RL, Stein J, Bailer RT, Koup RA, Andrews C, Nason M et al. Biodistribution and Toxicological Safety of Adenovirus Type 5 and Type 35 Vectored Vaccines Against Human Immunodeficiency Virus-1 (HIV-1), Ebola, or Marburg Are Similar Despite Differing Adenovirus Serotype Vector, Manufacturer's Construct, or Gene Inserts. *J Immunotoxicol*. 2008;5(3):315-35
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2777703/>, accessed 30 April 2020).
78. Tuomela M, Malm M, Wallen M, Stanescu I, Krohn K, Peterson P. Biodistribution and General Safety of a Naked DNA Plasmid, GTU-MultiHIV, in a Rat, Using a Quantitative PCR Method. *Vaccine*. 2005;23(7):890-6 (abstract: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15603889/>, accessed 30 April 2020).
79. Sheng-Fowler L, Tu W, Fu H, Murata H, Lanning L, Foseh G et al. A Mouse Strain Defective in Both T Cells and NK Cells Has Enhanced Sensitivity to Tumor Induction by Plasmid DNA Expressing Both Activated H-Ras and c-Myc. *PLoS One*. 2014;9(10):e108926
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4193875/>, accessed April 2020).

예방용 DNA 백신 평가 가이드라인 [민원인 안내서]

발행일 2026년 07월 21일

발행인 강석연

편집위원장 최영주

편집위원 (바이오생약심사부 생물제제과)

김재욱 김지현 박상미 양미숙 이내리 이연희 강호진 김규리 김성민
김하은 박소영 박우정 박은혜 박혜원 방서영 송주경 신숙진 신진영
윤희성 이경윤 이유진 이은조 이진무 이 현 정성훈 천수정 홍세향
황이랑

도움주신분 -

발행부서 식품의약품안전평가원 바이오생약심사부 생물제제과

[공직자 부조리 및 공익신고안내]

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



공익신고자 보호제도란?

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

♣ 보호조치 요구 방법

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

“청렴한 식약처 국민 안심의 시작”