

## 1년 내에 mRNA 백신 80억 도즈 만들기

- 퍼블릭시티즌 모델링 결과, 모더나 백신은 228억 달러, 화이자는 94억 달러 소요 -
- 새로운 기술 플랫폼(mRNA)에 대해 생산 가능 시설과 전문인력 신속한 확보 필요 -
- 생산 과정에서 mRNA 원료 53% 손실, 이를 감안해 충분한 양의 원료 확보 필요 -
- 오리지널 백신개발기업에서 노하우, 경험, 기술 이전을 통해 시행착오 줄여야 가능 -

한국바이오협회 산업정책부문

◇ 미국 소비자단체인 퍼블릭시티즌(Public Citizen)은 공개된 데이터를 기반으로 컴퓨터 공정 모델링을 통해 모더나, 화이자·바이오엔텍, 큐어백 mRNA 백신을 1년 내에 80억 도즈를 만들 수 있는 방법을 제시함(2021.5.26.)

- 이를 위해 필요한 시설 수, 생산라인 수, mRNA 양, 생산 배치 수, 시설 개조비, 원료 의약품 및 완제의약품 운전비용 등을 제시

◇ 모델링 결과, 모더나 백신 생산에는 228.3억 달러가, 화이자·바이오엔텍 백신 생산에는 94.3억 달러가, 큐어백 백신 생산에는 73.8억 달러가 필요할 것으로 예상됨.

- 3개 백신마다 비용 차이가 큰 이유는 1 dose 당 모더나는 100 $\mu$ g, 화이자는 30 $\mu$ g, 큐어백은 12 $\mu$ g의 mRNA가 사용되기 때문으로 mRNA 백신 생산에 있어 원료 값이 가장 큰 비중을 차지하기 때문임.
- 모더나 mRNA 백신의 경우 80억 도즈를 생산하는데 시설개조비 32억 달러, 원료의약품 생산비 175억 달러, 완제의약품 생산비 21억 달러 등 228억 달러가 소요됨. mRNA 842.1kg이 필요하며 이를 생산하기 위해 14개의 시설 내 55개 생산라인에서 4,620명의 직원이 필요함.

### 〈mRNA 백신 80억 도즈 생산을 위한 주요 필요자원 추정치〉

| 구 분          | 모더나<br>(80억 100 $\mu$ g 도즈) | 화이자·바이오엔텍<br>(80억 30 $\mu$ g 도즈) | 큐어백<br>(80억 12 $\mu$ g 도즈) |
|--------------|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------|
| 시설 수         | 14                          | 5                                | 2                          |
| 생산 라인 (30리터) | 55                          | 17                               | 7                          |
| mRNA (kg)    | 842.1                       | 252.6                            | 101.1                      |
| 생산 배치        | 10,175                      | 3,145                            | 1,295                      |
| 인원 (명)       | 4,620                       | 1,386                            | 554                        |
| 원료약 생산시설 개조비 | 31.9억 달러                    | 9.85억 달러                         | 4.56억 달러                   |
| 원료약(DS) 생산비  | 174.8억 달러                   | 54.4억 달러                         | 22.2억 달러                   |
| 완제약(DP) 생산비  | 21.6억 달러                    | 30.4억 달러                         | 21.6억 달러                   |
| <b>총 비용</b>  | <b>228.3억 달러</b>            | <b>94.3억 달러</b>                  | <b>43.8억 달러</b>            |

⇒ 3개 기업 중 어떤 기업도 생산 공정에 대한 전체 정보를 공개한 기업은 없으며, 이러한 모델링 결과는 공개된 정보를 기반으로 컴퓨터 모델링 한 결과라는 한계가 있음.

- ◇ mRNA 백신 생산에는 크게 원료의약품(Drug Substance) 생산과 완제의약품(Drug Product) 생산 단계로 구분됨. 각 단계는 보통 다른 장소에서 진행되고 서로 다른 장비, 시설, 품질 관리방법, 전문성이 필요하며, 엄격한 규제와 GMP 가이드라인을 따라야 함.
- ◇ mRNA 백신 스케일-업에 가장 큰 걸림돌은 경험을 가진 생산 및 품질 인력 부족이며, 생산에 필요한 양이온 지질과 같은 대량의 원료를 신속하게 확보하기 어렵다는 것임.
  - 이를 해결하기 위해, 모더나는 백신 생산 경험은 없지만 상업용 바이오의약품 생산에 경험을 가진 론자(Lonza)와 파트너십을 맺었고, 바이오엔텍은 노바티스의 항암 바이오의약품 생산시설을 인수하여 개조하고 6개월 이내에 현지 인력을 훈련시킴.
  - 또한, 사전에 철저한 원료 확보 계획을 세우고 생산과정에서 53%의 원료 손실을 감안하여 대량의 원료를 구매해야 함.
- ◇ 무엇보다, 1년 내에 80억 도즈의 mRNA 백신을 생산하기 위해서는 오리지널 백신 개발 기업으로부터 노하우, 경험 및 기술을 이전받아 생산과정에서의 시행 착오를 줄여야 함.

〈 mRNA 백신 원료의약품 생산에 필요한 원료성분 〉

» 업스트림 : 시험관 내 전사 반응(in-vitro transcription reaction)

- ① 뉴클레오티드(adenosine-5' -triphosphate(ATP), 1-methylpseudouridine-5' -triphosphate(mod-UTP), cytidine-5' -triphosphate(CTP), guanosine-5' -triphosphate(GTP))
  - ☞ 원래 있었던 야생형 대신 변형 UTP(mod-UTP)가 사용되는 이유는 면역원성을 줄이고, mRNA 번역능력과 생물학적 안정성을 증가시키기 때문임. 모더나와 화이자-바이오엔텍이 변형 UTP를 사용하고 있음.
- ② 선형 템플릿 DNA
  - ☞ 대장균에서 대량 생산 및 제한 효소를 사용하여 선형화될 수 있음.
- ③ T7 RNA 폴리머라제 효소(대장균에서 생산) 및 RNase 효소 억제제
  - ☞ T7 RNA 폴리머라제 효소는 선형 템플릿 DNA(즉, SARS-CoV-2 바이러스의 스파이크 단백질을 만드는 유전자)에 의해 제공되는 서열에서 4개의 RNA 빌딩 블록(ATP, mod-UTP, CTP, GTP)을 함께 연결하는 기능
- ④ 5' 캡 아날로그(예 : CleanCap AG)
  - ☞ 5' 캡은 mRNA가 외래(예를 들어 바이러스성) RNA로 인식되지 않고 인체의 세포에서 작동하도록 하는데 필수적
- ⑤ spermidine, dithiothreitol(DTT), 염화마그네슘(MgCl<sub>2</sub>), 선택적으로 pyrophosphatase 효소, 뉴클레아제가 없는 정제수 및 pH를 유지하기 위한 버퍼용액(예: Tris-HCl)
  - ☞ pyrophosphate 부산물을 분해해 마그네슘의 cofactor 농도를 유지하기 위해 선택적으로 pyrophosphatase 효소 사용
- ⑥ Deoxyribonuclease I (DNase I), 염화칼슘(CaCl<sub>2</sub>)
  - ☞ mod-UTP를 포함하는 5' 캡 mRNA의 합성 이후, DNase I 효소를 사용하여 선형 템플릿 DNA를 분해하고, DNase I의 활성은 칼슘 이온의 존재에서 가장 높아 염화칼슘도 DNase I 효소와 함께 생물반응기에 첨가

» 다운스트림 정제(purification) 및 제형(formulation)

- 5' 캡 mRNA 만을 얻기 위해 기타 다른 불순물을 걸러내야 함. mRNA를 얻기 위한 분리 및 정제는 크기, 전기전하, 소수성, 특정 리간드에 대한 결합 친화도 등의 차이로 가능함.
    - 분자량에 있어 가장 큰 것은 2.5 MDa의 mRNA이며, 크기가 작은 효소 예를 들어 T7 RNA 폴리머라제는  $\approx 0.1$  MDa(100 kDa)인 반면 DNase I은  $\approx 0.03$  MDa(30 kDa)임. 따라서 여과(filtration)와 같은 크기 기반 분리방법을 사용할 수 있음.
  - mRNA 코로나19 백신 생산 회사가 사용하는 정확한 정제 방법은 공개되지 않았으나, 가능한 정제 방법은 다음과 같음.
    - tangential flow filtration(TFF), ion exchange chromatography, core bead chromatography (예 : Capto Core 700), oligo dT affinity chromatography, size exclusion chromatography, hydroxyapatite chromatography 등임.
    - 이들 중, TFF, 이온 교환 크로마토그래피, 코어 비드 크로마토그래피(예: Capto Core 700) 및 올리고 dT 친화성 크로마토그래피가 사용될 가능성이 있음.
  - 불순물 제거 이외에도 추가로 TFF 단계에서는 코어 비드형 크로마토그래피인 Capto Core 700 크로마토그래피 유닛으로 진행하여 분자의 크기와 소수성 및 양전하를 띤 octylamine 리간드와의 결합능에 의해 mRNA가 분리될 수 있음.
    - 이후 한번 더 TFF를 통해 mRNA를 농축하고, 버퍼용액을 구연산나트륨으로 교체하고 나면 그 다음 단계인 Lipid NanoParticles(LNPs)와의 제형 단계로 넘어감.
    - Capto Core 700 크로마토그래피 접근법을 사용하는 장점은 더 적은 양의 크로마토그래피 배지/레진이 사용될 수 있어 더 효율적으로 mRNA를 정제할 수 있기 때문임.
  - LNP 제형 단계는, 4개의 지질 성분을 포함한 에탄올 용액과 물 기반의 구연산나트륨 용액에 있는 mRNA를 혼합하는 과정임.
    - 4개의 지질은 이온성 지질(ionizable lipid), 인지질(phospholipid), 콜레스테롤(cholesterol) 및 폴리에틸렌글리콜-지질 컨쥬게이트(polyethylene glycol(PEG)-lipid conjugate)임.
    - LNP 제형 단계는 microfluidics mixers, jet-impingement mixers (T-junction mixers로도 알려짐), 또는 pressurized tanks를 사용하여 수행될 수 있음.
- ⇒ 4개의 지질 각각 얼마의 양이 사용되는지는 공개되지 않았으며, 이 LNP제형 단위 작동시간에 대해 공개된 정보도 없음. 이 단계는 mRNA 원료의약품 생산 공정에서의 바틀넥(병목현상)으로 간주되며, 이 단계의 시간은 비용 및 연간 생산량 등 공정의 생산성에 영향을 미칠 수 있음.

» 완제(fill and finish) 및 품질 관리

- 이 단계에서 LNP-mRNA 입자는 선택적으로 더 정제 및 멸균 여과과정을 거칠 수 있으며, 원료의약품과 멸균된 바이알의 품질관리 테스트도 수행될 수 있음.
  - 다음 단계로 LNP-mRNA 용액은 유리 바이알에 필요한 농도로 희석될 수 있음. 모더나 백신은 10회 도즈 바이알에 채워지는 반면 화이자바이오엔텍 백신은 6회 도즈 바이알에 채워짐.
    - 이를 위해 유리 바이알은 컨베이어를 따라 이동되고 액체 디스펜싱 바늘은 멸균 환경에서 상단에서 LNP-mRNA를 바이알에 채움.
  - 이후, 바이알 뚜껑을 닫고 밀봉하고 비주얼 결함은 없는지 검사를 하며, 결함이 없을 경우 라벨링 및 추가 패키징 과정을 거침.
- ⇒ 원료의약품 및 완제의약품의 제조 공정은 모두 GMP를 준수하기 때문에 원료, 공정에 사용되는 재료 및 완제품의 품질은 엄격하게 모니터링 됨. 품질 관리 및 배치 릴리스를 완료하는데 몇 주가 걸릴 수 있음.

〈 80억 도즈 mRNA 백신 생산에 필요한 리소스 〉

» mRNA 백신 원료의약품 생산에 필요한 시설 요구사항

- 시설 관련 운영 비용은 전체 생산 비용의 약 1%를 차지함.
- mRNA 백신 생산 능력을 빠르게 증가시키는 두 가지 주요 방법이 있으며, 두 방법 모두 mRNA 생산공정은 주로 일회용 장비(single-use equipment)를 기반으로 설립됨.
  - ▶ 다른 백신, 단일 클론 항체, 인슐린, 동물 백신 및 기타 생물학적제제 및 주사용 생산에 사용되는 기존 cGMP 준수 시설에 백신 생산 공정을 설정하는 방법  
(예: 바이오엔텍이 노바티스의 항암 바이오의약품 시설을 인수해 개조)
  - ▶ 사전 조립된 모듈을 사용하여 신속하게 조립하는 방법  
(화이자의 경우 텍사스에서 사전 조립된 모듈 단위들을 칼라마주도로 옮겨 조립)

» mRNA 백신 원료의약품 생산에 필요한 원료 ※ 원료의 양과 비용은 <붙임> 참조

- 원료는 mRNA 백신 원료의약품 생산 비용의 약 73%를 차지하는 등 가장 큰 비중을 차지함.
  - 다운스트림 정제에서 30%, 제형 및 후속 정제 단계에서 20%, 완제의약품 현장에서 발생하는 최대 5%를 포함하여 전체 생산 공정에서 53%의 mRNA 손실이 있다고 추정됨.
- ⇒ 따라서 이러한 손실을 고려하여 생산 공정에 사용되는 원료보다 더 많은 양의 원료를 확보해야 함.

» mRNA 백신 원료의약품 생산에 사용되는 소모품 및 장비

- mRNA 백신 원료의약품 생산 공정에서 두 번째로 높은 비용은 소모품의 비용이며, 전체 생산 비용의 약 24%를 차지
- mRNA 백신 생산 공정은 일회용 장비 및 소모품을 기반으로 하며, 사전 주문이 진행되어야 시간을 절약할 수 있음.
  - ▶ 일회용 플라스틱 바이오리액터 라이닝 백
  - ▶ 일회용 플라스틱 저장 백
  - ▶ 플라스틱(예 : 실리콘) 튜브, 일회용 무균 커넥터, 클램프
  - ▶ 일회용 필터 멤브레인, 일회용 필터 어셈블리 및 크로마토그래피 컬럼
- ⇒ 일회용 장비를 사용하는 장점은 스테인리스 스틸 장비 설정에 비해 운영비는 증가될 수 있으나, 선행 자본투자 비용이 낮고 공정을 훨씬 빠르게 조립할 수 있다는 점임. 또한, 세척을 적게 하기 때문에 인건비 뿐만 아니라 물 및 세척제 요구사항을 줄이고 세척 검증을 최소화 하며 생산 속도를 높일 수 있음.
- » 이외에 인건비(전체 생산비의 3% 미만), 실험실/품질관리/품질보증 등의 비용과 바이알 충전 등의 완제의약품 생산에 비용이 소요됨.

출처 : How to make enough vaccine for the world in one year, Public Citizen, 2021.5.26

〈붙임〉 30리터 바이옱어액터 생산라인에서 연간 사용되는 용액 및 원료의 양과 비용(모델링 추정치)

| Name of solution or material          | Material amounts per year per production line* [kg/year] | Annual material cost per production line* [USD/year] |
|---------------------------------------|--|--|
| 0.1 M CaCl <sub>2</sub> solution      | 23   | 133  |
| 0.1 M Spermidine solution             | 221  | 27,112   |
| 1 M DTT solution                      | 126  | 109,170  |
| 1 M MgCl <sub>2</sub> solution        | 66   | 204  |
| 1 M NaOH solution                     | 13,616   | 1,571  |
| 1 M Tris HCl solution                 | 961  | 98,887   |
| 1 mg/ml DNA template solution         | 552  | 61,050,086   |
| 100 mM ATP solution                   | 442  | 5,549,985  |
| 100 mM CleanCap AG solution           | 449  | 203,887,446  |
| 100 mM CTP solution                   | 442  | 5,538,693  |
| 100 mM GTP solution                   | 442  | 5,549,984  |
| 100 mM mod-UTP solution               | 442  | 101,528,497  |
| 250 mM KCl solution                   | 1,621,076  | 551,973  |
| Cholesterol                           | 188  | 4,691,877  |
| DNase I                               | 11   | 14,764   |
| Ethyl Alcohol                         | 93,049   | 744,395  |
| Ionizable lipid                       | 434  | 21,719,000   |
| Sodium Citrate buffer                 | 405,377  | 200,225  |
| PBS solution                          | 15,573,214   | 1,877,842  |
| PEG lipid                             | 54   | 1,071,520  |
| Phospholipid                          | 94   | 1,412,086  |
| Pyrophosphatase solution              | 468  | 14,714,660   |
| RNase enzyme inhibitor solution       | 276  | 118,137  |
| Sodium acetate                        | 330,888  | 766,536  |
| Sucrose                               | 762  | 3,809  |
| T7 RNA polymerase solution            | 184  | 25,216,706   |
| Tris-HCl 1x buffer                    | 102,680  | 162,239  |
| Water for injection (WFI), RNase free | 6,178  | 741  |
| TOTAL                                 | 18,152,715   | 456,608,278  |

\* Production line at 30L bioreactor working volume scale, producing 29162 grams of mRNA per year.

출처 : How to make enough vaccine for the world in one year, Public Citizen, 2021.5.26