발명의 설명

발명의 명칭: 세포 증식 활성이 우수한 식용 배지 조성물

기술분야

[1] 본 발명은 세포 증식 활성이 우수한 식용 배지 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[2] 국제연합식량농업기구(FAO)의 보고에 의하면 세계 인구는 2018년 기준 76억 명에서 2050년에는 95억명으로 증가할 것으로 전망하고 있다. 그러나 온난화와 같은 지구의 이상기후로 인해 작물의 수확량은 감소될 것으로 예상되는 반면, 사료용 곡물의 수요는 늘어 생산비가 오르고 생산면적이 줄어들게 되어 식량자원으로서 축산물은 고가의 먹거리가 될 것으로 보고 있다.

[3] 축산물과 같은 동물유래 식품은 에너지와 생산 측면에서는 고가이긴 하나, 인간의 정상적인 성장과 건강에 필수적인 양질의 단백질과 미량영양소의 최상 공급원이기 때문에 인간의 영양확보에 직접적인 공헌을 해왔다. 특히, 필수아미노산은 체내에서 합성되지 않거나 합성이 되어도 양이 매우 적어 반드시 음식으로 섭취해야만 하는 영양분으로서, 2050년 동물유래 식품의 수요는 5.5억톤으로 현재의 2배에 도달할 것이라는 예측을 볼 때, 필수아미노산을 공급하기 위하여 필요한 단백질을 전통적인 축산물 생산방식으로 감당하기에는 한계가 있다.

[4] 한편, 세포 배양 식품 제품은 동물 사육 및 농업과 관련된 공중 보건, 환경 및 동물 복지 문제를 해결하기 위한 수단으로 전 세계 수많은 회사에서 개발의 초점이 되어온 대체 식품의 일부이다.

[5] 현재 세포 배양 식품에 사용되는 배양배지는 식물 또는 동물 세포의 증식을 돕는 데 필요한 성분인 고도로 정제되거나 정제된 성장 배지를 사용하고 있으며, 현재 이 방법은 의약품 제조에 사용되는 생명공학과 유사하다.

[6] 즉 세포배양식품을 배양하기 위한 배지는 값비싸고 에너지 집약적인 제약 등급의 재료 및 공정을 사용하기 때문에 배지에 포함되는 구성성분을 정제하기 위하여 더 많은 자원을 사용하게 되고, 본질적으로는 세포배양식품이 환경에 더 좋지 않은 영향을 미칠 수 있다는 것을 시사한다.

[7] 따라서 미래에 환경에 미치는 영향을 줄일 수는 있지만 성능을 높이는 동시에 세포 배양 배지의 비용을 낮추기 위한 식용배지의 개발이 필요한 상황이다.

발명의 내용

기술적 과제

[8] 본 발명의 목적은 세포 증식 활성이 우수한 식용 배지 조성물을 제공하는 데 있다.

[9] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 식용 배지 조성물에서 배양된 세포 또는 이의 배양물을 포함하는 식품 조성물을 제공하는 데 있다.

[10] 또한, 본 발명의 다른 목적은 상기 식용 배지 조성물을 이용한 세포배양식품 제조방법을 제공하는 데 있다.

[11] 또한, 본 발명의 다른 목적은 세포의 증식 활성을 증가시키는 방법에 있다.

[12] 또한, 본 발명의 다른 목적은 세포의 노화를 억제시키는 방법에 있다.

과제 해결 수단

[13] 상기와 같은 목적을 달성하기 위해, 본 발명은 글리신(Glycine), 아르지닌(Arginine), 시스틴(Cysteine), 글루타민(Glutamine), 히스티딘(Histidine), 이소로이신(Isoleucine), 로이신(Leucine), 라이신염산염(Lysine Hydrochloride), 메티오닌(Methionine), 페닐알라닌(Phenylalanine), 세린(Serine), 트레오닌(Threonine), 트립토판(Tryptophan), 티로신(Tyrosine) 및 발린(Valine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산; 염화콜린(Choline Chloride), 펜토텐산칼슘(Calcium Pantothenate), 엽산(Folic Acid), 이노시톨(Inositol), 니코틴산아마이드(Nicotinamide), 비타민B6염산염(Pyridoxine Hydrochloride), 비타민B2(Riboflavin) 및 비타민B1염산염(Thiamine Hydrochloride)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 비타민; 및 염화칼슘(Calcium Chloride), 황산제일철(Ferrous Sulfate), 황산마그네슘(Magnesium Sulfate), 염화칼륨(Potassium Chloride), 탄산수소나트륨(Sodium Bicarbonate), 소금(Salt) 및 제일인산나트륨(Sodium Dihydrogen Phosphate)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 무기염류;를 포함하는, 세포 증식 활성이 우수한 식용 배지 조성물을 제공한다.

[14] 이어서, 본 발명은 상기 식용 배지 조성물에서 배양된 세포 또는 이의 배양물을 포함하는 식품 조성물을 제공한다.

[15] 이어서, 본 발명은 동물세포, 식물세포 또는 미생물세포를 본 발명에 따른 식용 배지 조성물에서 배양하는 단계; 및 배양된 세포 또는 이의 배양물을 회수하는 단계;를 포함하는 세포배양식품 제조방법을 제공한다.

[16] 이어서, 본 발명은 세포를 글리신(Glycine), 아르지닌(Arginine), 시스틴(Cysteine), 글루타민(Glutamine), 히스티딘(Histidine), 이소로이신(Isoleucine), 로이신(Leucine), 라이신염산염(Lysine Hydrochloride), 메티오닌(Methionine), 페닐알라닌(Phenylalanine), 세린(Serine), 트레오닌(Threonine), 트립토판(Tryptophan), 티로신(Tyrosine) 및 발린(Valine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산; 염화콜린(Choline Chloride), 펜토텐산칼슘(Calcium Pantothenate), 엽산(Folic Acid), 이노시톨(Inositol), 니코틴산아마이드(Nicotinamide), 비타민B6염산염(Pyridoxine Hydrochloride), 비타민B2(Riboflavin) 및 비타민B1염산염(Thiamine Hydrochloride)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 비타민; 및 염화칼슘(Calcium Chloride), 황산제일철(Ferrous Sulfate), 황산마그네슘(Magnesium Sulfate), 염화칼륨(Potassium Chloride), 탄산수소나트륨(Sodium Bicarbonate), 소금(Salt) 및 제일인산나트륨(Sodium Dihydrogen Phosphate)으로 이루어진 군에서 선택되는

어느 하나 이상의 무기염류;를 포함하는, 배지 조성물에서 배양하는 단계;를 포함하는, 세포의 증식 활성을 증가시키는 방법을 제공한다.

[17] 나아가, 본 발명은 세포를 글리신(Glycine), 아르지닌(Arginine), 시스틴(Cystine), 글루타민(Glutamine), 히스티딘(Histidine), 이소로이신(Isoleucine), 로이신(Leucine), 라이신염산염(Lysine Hydrochloride), 메티오닌(Methionine), 페닐알라닌(Phenylalanine), 세린(Serine), 트레오닌(Threonine), 트립토판(Tryptophan), 티로신(Tyrosine) 및 발린(Valine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산; 염화콜린(Choline Chloride), 펜토텐산칼슘(Calcium Pantothenate), 엽산(Folic Acid), 이노시톨(Inositol), 니코틴산아마이드(Nicotinamide), 비타민B6염산염(Pyridoxine Hydrochloride), 비타민B2(Riboflavin) 및 비타민B1염산염(Thiamine Hydrochloride)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 비타민; 및 염화칼슘(Calcium Chloride), 황산제일철(Ferrous Sulfate), 황산마그네슘(Magnesium Sulfate), 염화칼륨(Potassium Chloride), 탄산수소나트륨(Sodium Bicarbonate), 소금(Salt) 및 제일인산나트륨(Sodium Dihydrogen Phosphate)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 무기염류;를 포함하는, 배지 조성물에서 배양하는 단계;를 포함하는, 세포의 노화를 억제시키는 방법을 제공한다.

발명의 효과

[18] 본 발명에 따른 식용 배지 조성물은 세포 증식 활성을 향상시키고, 세포 노화를 억제하는 효과가 있다. 또한 본 발명의 식용 배지는 말 그대로 사람이 먹을 수 있는 원료로 이루어져 있기 때문에 세포배양식품용 배양배지로 유용하게 사용될 수 있으며, 본 발명의 식용 배지 조성물에서 배양된 세포의 경우 종래의 배양배지에서 배양된 세포보다 식품 안정성이 높으면서도 가격이 저렴하다는 장점이 있다.

도면의 간단한 설명

[19] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 있어서, 배양배지의 식용화 과정을 간단히 나타낸 도이다.

[20] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 있어서, 배양배지에 따른 소 유래 지방 줄기세포 모양 비교 결과를 나타낸 도이다.

[21] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 있어서, 배양배지에 따른 P3 지방 유래 줄기세포의 세포 증식능 비교 결과를 나타낸 도이다.

[22] 도 4는 본 발명의 일 실시예에 있어서, 배양배지에 따른 P4 지방 유래 줄기세포의 세포 증식능 비교 결과를 나타낸 도이다.

[23] 도 5는 본 발명의 일 실시예에 있어서, 배양배지에 따른 지방 유래 줄기세포 장기 배양 후 세포 노화 수준 비교 결과를 나타낸 도이다.

[24] 도 6은 본 발명의 일 실시예에 있어서, 배양배지에 따른 지방 유래 줄기세포의 중간엽 줄기세포 마커 발현 수준 비교 결과를 나타낸 도이다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[25] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 구현예로 본 발명을 상세히 설명하기로 한다. 다만, 하기 구현 예는 본 발명에 대한 예시로 제시되는 것으로, 당업자에게 주지 저명한 기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 수 있고, 이에 의해 본 발명이 제한되지는 않는다. 본 발명은 후술하는 특허 청구범위의 기재 및 그로부터 해석되는 균등 범주 내에서 다양한 변형 및 응용이 가능하다.

[26] 또한, 본 명세서에서 사용되는 용어(Terminology)들은 본 발명의 바람직한 실시 예를 적절히 표현하기 위해 사용된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 본 발명이 속하는 분야의 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 따라서 본 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다. 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 “포함”한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[27] 본 명세서 전체에 걸쳐, 특정 물질의 농도를 나타내기 위하여 사용되는 '%'는 별도의 언급이 없는 경우, 고체/고체는(w/w) %, 고체/액체는(w/v) %, 그리고 액체/액체는(v/v) %이다.

[28] 이하, 본 발명에 대하여 보다 상세하게 설명하도록 한다.

[29]

[30] 일 측면에서, 본 발명은 글리신(Glycine), 아르지닌(Arginine), 시스틴(Cysteine), 글루타민(Glutamine), 히스티딘(Histidine), 이소로이신(Isoleucine), 로이신(Leucine), 라이신염산염(Lysine Hydrochloride), 메티오닌(Methionine), 페닐알라닌(Phenylalanine), 세린(Serine), 트레오닌(Threonine), 트립토판(Tryptophan), 티로신(Tyrosine) 및 발린(Valine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산; 염화콜린(Choline Chloride), 펜토텐산칼슘(Calcium Pantothenate), 엽산(Folic Acid), 이노시톨(Inositol), 니코틴산아마이드(Nicotinamide), 비타민B6염산염(Pyridoxine Hydrochloride), 비타민B2(Riboflavin) 및 비타민B1염산염(Thiamine Hydrochloride)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 비타민; 및 염화칼슘(Calcium Chloride), 황산제일철(Ferrous Sulfate), 황산마그네슘(Magnesium Sulfate), 염화칼륨(Potassium Chloride), 탄산수소나트륨(Sodium Bicarbonate), 소금(Salt) 및 제일인산나트륨(Sodium Dihydrogen Phosphate)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 무기염류;를 포함하는, 세포 증식 활성이 우수한 식용 배지 조성물에 관한 것이다.

[31] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 아르지닌(Arginine)은 경구로 섭취 시 독성이 있는 아르지닌 모노수화염화물(Arginine monohydrochloride)을 대체하는 것일 수 있다.

[32] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 시스틴(Cystine)은 경구로 섭취 시 소화관 및 호흡기계에 화상을 일으킬 수 있는 시스틴이염산염(Cystine Dihydrochloride)를 대체하는 것일 수 있다.

[33] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 티로신(Tyrosine)은 경구로 섭취 시 독성이 있는 티로신 이나트륨염 이수화물(Tyrosine Disodium Salt Dihydrate)을 대체하는 것일 수 있다.

[34] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 황산제일철(Ferrous Sulfate)은 경구로 섭취 시 독성이 있는 질산철9수화물(Iron(III) nitrate nonahydrate)을 대체하는 것일 수 있다.

[35] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 식용 배지 조성물은 탄소원을 더 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[36] 또한 상기 탄소원은 글루코스(Glucose), 프럭토스(Fructose), 만노스(Mannose), 리보오스(Ribose), 자일로스(Xylose), 수크로스(Sucrose), 멜리비오스(Melibiose), 셀로비오스(Cellobiose), 락토오스(Lactose), 아밀로스(Amylose), 탄수화물(Carbohydrate), 라피노스(Raffinose), 소르비톨(Sorbitol), 만니톨(Mannitol), 글리세롤(Glycerol) 등이 사용 될 수 있으며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 배지에 포함되어 세포의 에너지원으로 사용되는 탄소원으로 알려진 물질이라면 제한 없이 사용할 수 있다.

[37] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 식용 배지 조성물은 글리신 0.0255 내지 0.0345 g/L, L-아르지닌 0.0589 내지 0.0798 g/L, L-시스틴 0.041 내지 0.0556 g/L, L-글루타민 0.4964 내지 0.6716 g/L, L-히스티딘 0.0263 내지 0.0357 g/L, L-이소로이신 0.0892 내지 0.1208 g/L, L-로이신 0.0892 내지 0.1208 g/L, L-라이신염산염 0.1241 내지 0.1679 g/L, L-메티오닌 0.0255 내지 0.0345 g/L, L-페닐알라닌 0.0561 내지 0.0759 g/L, L-세린 0.0357 내지 0.0483 g/L, L-트레오닌 0.0807 내지 0.1093 g/L, L-트립토판 0.0136 내지 0.0184 g/L, L-티로신 0.0612 내지 0.0829 g/L, L-발린 0.0799 내지 0.1081 g/L, 염화콜린 0.0034 내지 0.0046 g/L, 판토텐산칼슘 0.0034 내지 0.0046 g/L, 엽산 0.0034 내지 0.0046 g/L, 이노시톨 0.0061 내지 0.0083 g/L, 니코틴산아미드 0.0034 내지 0.0046 g/L, 비타민B6염산염 0.0034 내지 0.0046 g/L, 비타민B2 0.0003 내지 0.0005 g/L, 비타민B1염산염 0.0034 내지 0.0046 g/L, 염화칼슘 0.17 내지 0.23 g/L, 황산제일철 0.0003 내지 0.0005 g/L, 황산마그네슘 0.083 내지 0.1124 g/L, 염화칼륨 0.34 내지 0.46 g/L, 탄산수소나트륨 3.145 내지 4.255 g/L, 소금 5.44 내지 7.36 g/L, 제일인산나트륨 0.1062 내지 0.1438 g/L 및 무수결정포도당 3.825 내지 5.175 g/L를 포함하는 것일 수 있다.

[38] 보다 바람직하게는 상기 식용 배지 조성물은 글리신 0.026 내지 0.032 g/L, L-아르지닌 0.06 내지 0.07 g/L, L-시스틴 0.045 내지 0.05 g/L, L-글루타민 0.5 내지 0.6 g/L, L-히스티딘 0.027 내지 0.032 g/L, L-이소로이신 0.09 내지 0.110 g/L, L-로이신 0.09 내지 0.110 g/L, L-라이신염산염 0.14 내지 0.15 g/L, L-메티오닌 0.028 내지 0.032 g/L, L-페닐알라닌 0.06 내지 0.07 g/L, L-세린 0.035 내지 0.045 g/L, L-트레오닌 0.09 내지 0.1 g/L, L-트립토판 0.015 내지 0.017 g/L, L-티로신 0.07 내지 0.08 g/L, L-발린 0.085 내지 0.1 g/L, 염화콜린 0.0038 내지 0.0042 g/L, 판토텐산칼슘 0.0038 내지 0.0042 g/L, 엽산 0.0038 내지 0.0042 g/L, 이노시톨 0.0065 내지 0.007

5 g/L, 니코틴산아미드 0.0035 내지 0.0042 g/L, 비타민B6염산염 0.0038 내지 0.0045 g/L, 비타민B2 0.00038 내지 0.00042 g/L, 비타민B1염산염 0.0038 내지 0.0042 g/L, 염화칼슘 0.19 내지 0.22 g/L, 황산제일철 0.0004 내지 0.00043 g/L, 황산마그네슘 0.09 내지 0.1 g/L, 염화칼륨 0.38 내지 0.45 g/L, 탄산수소나트륨 3.5 내지 3.8 g/L, 소금 6 내지 6.6 g/L, 제일인산나트륨 0.11 내지 0.13 g/L 및 무수결정포도당 4 내지 4.6 g/L를 포함하는 것일 수 있다.

[39] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 식용 배지 조성물은 세포의 증식 활성을 향상시키고, 세포 노화를 억제하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[40] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 식용 배지 조성물은 세포배양식품 배양용일 수 있다.

[41] 본 발명에서 사용되는 용어, "세포배양식품"은 세포를 이용하여 생산되거나 배양된 식품을 의미하고, 세포배양식품의 예로는 세포 배양된 육류 대체품, 증식된 유산균, 세포 배양된 단백질 대체품 등이 있다.

[42] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 세포배양식품은 배양육, 균류 기반 대체육 또는 조류 기반 대체육일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[43] 본 발명에서 사용되는 용어, "배양육"은 세포배양 기술을 사용하여 생산된 육류 대체품으로서 동물 세포를 이용하여 조직이나 근육을 성장시키는 과정을 통해 제조된 것을 의미한다.

[44] 본 발명에서 사용되는 용어, "균류 기반 대체육"은 균류를 배양하여 생산되는 육류 대체품을 의미하며, 균류의 세포 또는 균사체를 이용하여 생산되며, 세포배양 기술이나 발효 과정을 통해 제조된다.

[45] 본 발명에서 사용되는 용어, "조류 기반 대체육"은 미세조류를 배양하여 생산되는 육류 대체품을 의미하며, 미세조류(예: 클로렐라 및 스피룰리나)는 식물성 단백질로 사용되는 육상 작물에 비해 성장률이 월등히 높고, 단백질 함량이 더 높으면서 영양소의 질도 더 우수한 것으로 알려져 있다.

[46]

[47] 일 측면에서, 본 발명은 상기 식용 배지 조성물에서 배양된 세포 또는 이의 배양물을 포함하는 식품 조성물에 관한 것이다.

[48] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 세포는 동물세포, 식물세포 또는 미생물세포일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[49] 본 발명의 실시예에서는 본 발명에 따른 배지 조성물로 지방 유래 줄기세포를 배양하였을 때 DMEM보다 세포 증식 활성이 현저히 우수함을 확인하였다.

[50] 본 발명에서 사용되는 용어 "배양물"은 세포를 배양한 다음 수득한 산물을 의미하며, 배양된 세포를 포함하거나, 배양된 세포가 제거된 형태 모두 포함한다.

[51]

[52] 일 측면에서, 본 발명은 동물세포, 식물세포 또는 미생물세포를 제1항의 식용 배지 조성물에서 배양하는 단계; 및 배양된 세포 또는 이의 배양물을 회수하는 단계;를 포함하는 세포배양식품 제조방법에 관한 것이다.

[53] 본 명세서에서 사용되는 용어 "배양"은 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상적으로 사용되는 세포의 배양 방법에 따라 수행될 수 있다.

[54] 또한, 본 발명에서의 세포 배양은 산업적 생물공학에서 확립된 다양한 방법에 의해 사용될 수 있고, 예를 들어, 산업적 생물공학에서 확립된 다양한 발효 방법에 의해 사용될 수 있다. 본 발명에 따른 식용 배지 조성물을 사용하여 연속 및 불연속 세포 배양 방법을 이용할 수 있다. 기타 공지된 반응기 기술, 예를 들어, 관류 기술 등을 또한 이용할 수 있다. 회분식 방법이 한 바람직한 실시양태이다.

[55] 회분식 세포 배양은 유가식 배양 또는 단순 회분식 배양을 포함한다. 용어 "유가식 세포 배양"은 포유동물 세포 및 세포 배양 배지가 초기에 배양 용기에 공급되고, 배양 종결 전에 주기적으로 세포 및/또는 생성물을 수확하면서 또는 수확하지 않으면서 배양 공정 동안 추가적인 배양 영양소가 연속적으로 또는 불연속적인 증분으로 배양물에 공급되는 세포 배양을 지칭한다. 용어 "단순 회분식 배양"은 배양 공정을 시작할 때 포유동물 세포 및 세포 배양 배지가 포함되는 세포 배양을 위한 모든 성분이 배양 용기에 공급되는 절차에 관련된다.

[56] 본 발명의 한 바람직한 실시양태에 따르면, 배양물의 공급이 유가식 방법으로 행해진다. 이같은 공급은 세포가 배양 공정 동안 배지에서 고갈된 배지 성분 및 영양소를 교체하는데 이롭다. 전형적으로, 공급 용액은 아미노산, 에너지 공급원으로서의 하나 이상의 탄수화물, 미량 원소, 비타민, 또는 특정 이온을 포함한다. 공급 용액은 세포의 요구에 따라 첨가되고, 이러한 요구는 특정 세포주 또는 세포 클론 및 생성물에 대해 결정된 미리 정해진 일정을 기초로 하거나 또는 배양 공정 동안 측정된다. 큰 부피 증가 및 배지 희석을 방지하기 위해, 농축된 공급 용액을 사용하는 것이 특히 유리하다. 일부 실시양태에서, 2가지 이상의 상이한 공급 용액이 있는 것이 또한 유용할 수 있다. 이는 2가지 이상의 상이한 군의 영양소 및 성분을 세포에 독립적으로 투여하는 것을 허용하고, 따라서 특정 영양소의 최적의 공급에 관한 공급 조건의 더 양호한 조정을 허용한다.

[57]

[58] 일 측면에서, 본 발명은 세포를 글리신(Glycine), 아르지닌(Arginine), 시스틴(Cysteine), 글루타민(Glutamine), 히스티딘(Histidine), 이소로이신(Isoleucine), 로이신(Leucine), 라이신염산염(Lysine Hydrochloride), 메티오닌(Methionine), 페닐알라닌(Phenylalanine), 세린(Serine), 트레오닌(Threonine), 트립토판(Tryptophan), 티로신(Tyrosine) 및 발린(Valine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산; 염화콜린(Choline Chloride), 펜토텐산칼슘(Calcium Pantothenate), 엽산(Folic Acid), 이노시톨(Inositol), 니코틴산아마이드(Nicotinamide), 비타민B6염산염(Pyridoxine Hydrochloride), 비타민B2(Riboflavin) 및 비타민B1염산염(Thiamine Hydrochloride)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 비타민; 및 염화칼슘(Calcium Chloride), 황산제일철(Ferrous Sulfate), 황산마그네슘(Magnesium Sulfate), 염화칼륨(Potassium Chloride), 탄산수소나트륨(Sodium Bicarbonate), 소금(Salt) 및 제일인산나트륨(Sodium Dihydrogen Phosphate)으로 이루어진 군에서 선택

되는 어느 하나 이상의 무기염류;를 포함하는, 배지 조성물에서 배양하는 단계;를 포함하는, 세포의 증식 활성을 증가시키는 방법에 관한 것이다.

[59]

[60] 일 측면에서, 본 발명은 세포를 글리신(Glycine), 아르지닌(Arginine), 시스틴(Cysteine), 글루타민(Glutamine), 히스티딘(Histidine), 이소로이신(Isoleucine), 로이신(Leucine), 라이신염산염(Lysine Hydrochloride), 메티오닌(Methionine), 페닐알라닌(Phenylalanine), 세린(Serine), 트레오닌(Threonine), 트립토판(Tryptophan), 티로신(Tyrosine) 및 발린(Valine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산; 염화콜린(Choline Chloride), 펜토텐산칼슘(Calcium Pantothenate), 엽산(Folic Acid), 이노시톨(Inositol), 니코틴산아마이드(Nicotinamide), 비타민B6염산염(Pyridoxine Hydrochloride), 비타민B2(Riboflavin) 및 비타민B1염산염(Thiamine Hydrochloride)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 비타민; 및 염화칼슘(Calcium Chloride), 황산제일철(Ferrous Sulfate), 황산마그네슘(Magnesium Sulfate), 염화칼륨(Potassium Chloride), 탄산수소나트륨(Sodium Bicarbonate), 소금(Salt) 및 제일인산나트륨(Sodium Dihydrogen Phosphate)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 무기염류;를 포함하는, 배지 조성물에서 배양하는 단계;를 포함하는, 세포의 노화를 억제시키는 방법에 관한 것이다.

[61] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 배지 조성물은 글리신 0.0255 내지 0.0345 g/L, L-아르지닌 0.0589 내지 0.0798 g/L, L-시스틴 0.041 내지 0.0556 g/L, L-글루타민 0.4964 내지 0.6716 g/L, L-히스티딘 0.0263 내지 0.0357 g/L, L-이소로이신 0.0892 내지 0.1208 g/L, L-로이신 0.0892 내지 0.1208 g/L, L-라이신염산염 0.1241 내지 0.1679 g/L, L-메티오닌 0.0255 내지 0.0345 g/L, L-페닐알라닌 0.0561 내지 0.0759 g/L, L-세린 0.0357 내지 0.0483 g/L, L-트레오닌 0.0807 내지 0.1093 g/L, L-트립토판 0.0136 내지 0.0184 g/L, L-티로신 0.0612 내지 0.0829 g/L, L-발린 0.0799 내지 0.1081 g/L, 염화콜린 0.0034 내지 0.0046 g/L, 판토텐산칼슘 0.0034 내지 0.0046 g/L, 엽산 0.0034 내지 0.0046 g/L, 이노시톨 0.0061 내지 0.0083 g/L, 니코틴산아미드 0.0034 내지 0.0046 g/L, 비타민B6염산염 0.0034 내지 0.0046 g/L, 비타민B2 0.0003 내지 0.0005 g/L, 비타민B1염산염 0.0034 내지 0.0046 g/L, 염화칼슘 0.17 내지 0.23 g/L, 황산제일철 0.0003 내지 0.0005 g/L, 황산마그네슘 0.083 내지 0.1124 g/L, 염화칼륨 0.34 내지 0.46 g/L, 탄산수소나트륨 3.145 내지 4.255 g/L, 소금 5.44 내지 7.36 g/L, 제일인산나트륨 0.1062 내지 0.1438 g/L 및 무수결정포도당 3.825 내지 5.175 g/L를 포함하는 것일 수 있다.

[62] 보다 바람직하게는 상기 배지 조성물은 글리신 0.026 내지 0.032 g/L, L-아르지닌 0.06 내지 0.07 g/L, L-시스틴 0.045 내지 0.05 g/L, L-글루타민 0.5 내지 0.6 g/L, L-히스티딘 0.027 내지 0.032 g/L, L-이소로이신 0.09 내지 0.110 g/L, L-로이신 0.09 내지 0.110 g/L, L-라이신염산염 0.14 내지 0.15 g/L, L-메티오닌 0.028 내지 0.032 g/L, L-페닐알라닌 0.06 내지 0.07 g/L, L-세린 0.035 내지 0.045 g/L, L-트레오닌 0.09 내지 0.1 g/L, L-트립토판 0.015 내지 0.017 g/L, L-티로신 0.07 내지 0.08 g/L, L

-발린 0.085 내지 0.1 g/L, 염화콜린 0.0038 내지 0.0042 g/L, 판토텐산칼슘 0.0038 내지 0.0042 g/L, 엽산 0.0038 내지 0.0042 g/L, 이노시톨 0.0065 내지 0.0075 g/L, 니코틴산아미드 0.0035 내지 0.0042 g/L, 비타민B6염산염 0.0038 내지 0.0045 g/L, 비타민B2 0.00038 내지 0.00042 g/L, 비타민B1염산염 0.0038 내지 0.0042 g/L, 염화칼슘 0.19 내지 0.22 g/L, 황산제일철 0.0004 내지 0.00043 g/L, 황산마그네슘 0.09 내지 0.1 g/L, 염화칼륨 0.38 내지 0.45 g/L, 탄산수소나트륨 3.5 내지 3.8 g/L, 소금 6 내지 6.6 g/L, 제일인산나트륨 0.11 내지 0.13 g/L 및 무수결정포도당 4 내지 4.6 g/L를 포함하는 것일 수 있다.

[63] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 배지 조성물은 탄소원을 더 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[64] 또한 상기 탄소원은 글루코스(Glucose), 프럭토스(Fructose), 만노스(Mannose), 리보오스(Ribose), 자일로스(Xylose), 수크로스(Sucrose), 멜리비오스(Melibiose), 셀로비오스(Cellobiose), 락토오스(Lactose), 아밀로스(Amylose), 탄수화물(Carbohydrate), 라피노스(Raffinose), 소르비톨(Sorbitol), 만니톨(Mannitol), 글리세롤(Glycerol) 등이 사용 될 수 있으며, 본 발명이 속하는 기술분야에서 배지에 포함되어 세포의 에너지원으로 사용되는 탄소원으로 알려진 물질이라면 제한 없이 사용할 수 있다.

[65] 본 발명의 일 실시예에 있어서, 상기 세포는 동물세포, 식물세포 또는 미생물세포일 수 있으나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[66]

[67] 이하, 본 발명의 실시예를 첨부된 도면을 참고하여 보다 상세하게 설명하도록 한다. 그러나, 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 구체화하기 위한 것일 뿐, 이에 의해 본 발명이 한정되는 것은 아닐 것이다.

[68]

[69] **<준비예> 지방 유래 중간엽 줄기세포의 분리**

[70] 소의 피하 지방 2.2g을 분리하여 DPBS (Gibco)로 충분히 워싱하여, 혈액을 제거하였다. 조직을 포셉/가위를 이용하여 잘게 chopping하고, 여기에 콜라게나아제(collagenase (sigma))를 넣고 37℃에서 shaking 해주었다. 조직이 모두 분해되고 single cell이 보이면, 동일 부피의 FBS를 넣어 효소 반응 중단시켰다. 일부 분해되지 못한 조직을 분리 하기 위해, 조직 분해물을 100μm nylon mesh에 걸러주고, 그 이후 70μm mesh로 한 번 더 걸러, 순수하게 단일 세포(single cell)만을 확보하였다. 원심 분리 (1500rpm, 5분)후 1xDPBS로 워싱 진행하여, 자가지방 줄기세포(Stromal Vascular Fraction, SVF)에 대한 세포 Pellet을 얻고 이를 Culture flask (FALCON)에서 배양하였다.

[71]

[72] **<실시예 1> 식용 배지의 개발**

[73] 도 1을 참조하여, 시중에 세포배양배지로 판매되고 있는 Basal media (Gibco)를 기반으로 식용으로 사용할 수 없는 성분을 식용 가능한 성분으로 대체하여 식용 배지를 개발하였다.

[74] 기존 세포 배양용 basal media는 성분이 모두 공개되어 있다. 하지만 각각의 성분은 연구용으로 개발된 시약의 조합으로 만들어져 있어 해당 배지에서 배양된 세포를 식품에 바로 적용할 수 없는 문제점이 있다. 따라서 식용배지 제조를 위해 상기 basal media의 배지 조성을 기반으로 식용이 불가능한 성분을 식용 가능한 성분으로 대체하고자 하였으며, 일부 성분은 식용 자체로 개발되지 않아서 사용이 불가하였다. 이러한 성분은 식용 가능한 유사 성분을 찾아 배지를 제조하였고 세포 증식 활성을 테스트하였다,

[75] 최종적으로 본 발명에서 개발된 식용 배지는 SPEM(Simple planet Edible Medium)으로 명명하였으며, 식용 배지의 조성은 표 1에 나타내었다.

[76]

[77] [표1]

유형	성분명	함량(g/L)
아미노산	글리신	0.03
	L-아르지닌	0.06938
	L-시스틴	0.048329
	L-글루타민	0.584
	L-히스티딘	0.031
	L-이소로이신	0.105
	L-로이신	0.105
	L-라이신염산염	0.146
	L-메티오닌	0.03
	L-페닐알라닌	0.066
	L-세린	0.042
	L-트레오닌	0.095
	L-트립토판	0.016
	L-티로신	0.07207
	L-발린	0.094
비타민	염화콜린	0.004
	판토텐산칼슘	0.004
	엽산	0.004
	이노시톨	0.0072
	니코틴산아미드	0.004
	비타민B6염산염	0.004
	비타민B2	0.0004
	비타민B1염산염	0.004
무기염류	염화칼슘	0.2
	황산제일철	0.000417
	황산마그네슘	0.09767
	염화칼륨	0.4
	탄산수소나트륨	3.7
	정제소금	6.4

	제일인산나트륨	0.125
기타	무수결정포도당	4.5
	정제수	up to 1L

[78]

[79] **<실험예 1> P2 소 유래 지방 줄기세포 모양 비교**

[80] 상기 실시예 1에서 제조된 식용 배지의 세포 성장 양상을 확인하기 위하여, 계대 2(passages 2(P2)) 소 지방 유래 줄기세포를 실시예 1의 식용 배지(SPEM) 또는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium, Gibco)에 시딩(seeding)하여 세포 부착, 증식 속도, 모양을 육안으로 관찰하였다. 각 배지는 DMEM or Edible media에 FBS (10%, Gibco)+ 항생제 항진균제 용액(Antibiotic Antimycotic solution (1%, Sigma))을 추가하여 제조하였다. 부착을 위해 시딩 후 day 1(1일차)에서 두 조건을 비교하고 3-4일간 증식속도를 비교하였다. 시딩 후 day1에는 RUO 정도의 부착을 보였고, 증식 속도는 비슷하게 나타냈다. 세포가 90% Confluent 할때 Trypsin EDTA(Welgene)을 처리하여 2분만 37℃에서 incubation하고 FBS를 추가하여 효소반응을 억제하였다. Detached cell을 15ml 튜브에 모으고 원심 분리(1500rpm, 5분)하여 세포를 확보하고 DPBS로 1회 워싱하였다. 세포 Pellet 확보 후 Trypan blue 염색을 통해 viable cell만 카운팅하여 총 세포수 확인하였다.

[81] 그 결과, 도 2에 나타낸 바와 같이 지방 유래 중간엽 줄기세포 배양 시 기존 DMEM과 실시예 1의 식용 배지의 세포 부착, 증식, 모양을 비교하였을 때 세포 초기 부착 및 증식에서 기존 배지와 비슷한 양상을 보였으나, 실시예 1의 식용 배지에서 배양된 세포의 크기가 DMEM에서 배양된 세포보다 작게 유지되는 것을 확인하였다.

[82]

[83] **<실험예 2> P3 소 유래 지방 줄기세포 증식능 비교**

[84] 상기 실시예 1에서 제조된 식용 배지의 세포 증식능을 확인하기 위하여, 계대 3(passages 3(P3)) 소 지방 유래 줄기세포를 계대 배양하여 100mm dish (falcon)에 3×10^5씩 시딩하고 실시예 1의 식용 배지(SPEM) 또는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium, Gibco)에서 배양하여 세포의 모양, 크기를 육안으로 관찰하였으며, 상기 실험예 1과 동일한 방법으로 세포 수를 카운팅하고, PDT(Population doubling time)을 측정하였다.

[85] P3 지방 유래 줄기세포를 배양한 결과, 도 3에 나타낸 바와 같이 배양 동안 DMEM의 경우 세포의 크기가 길고 노화된 세포가 일부 보이는 반면, 실시예 1의 식용 배지(SPEM)의 경우, 세포의 크기가 작고 빠른 증식능을 보이는 것을 확인하였다. 또한 세포 수 카운팅 결과 DMEM은 9.9×10^5, 실시예 1의 식용 배지(SPEM)는 1.26×10^6로, DMEM 기준 약 27% 많은 세포수가 SPEM에서 관찰되었고 PDT도 SPEM에서 낮게 측정되었다.

[86] 줄기세포 특성상 크기가 작고, 증식이 빠른 것을 높은 활성으로 평가한다. 이를 통해 본 발명에서 개발된 식용배지에서 배양된 줄기세포가 높은 활성을 유지하는 것을 확인하였다.

[87]

[88] **<실험예 3> P4 소 유래 지방 줄기세포 증식능 비교**

[89] 상기 실시예 1에서 제조된 식용 배지의 세포 증식능을 확인하기 위하여, 계대 4 (passages 4(P4)) 소 지방 유래 줄기세포를 2×10^5/100mm plate로 시딩하고 실시예 1의 식용 배지(SPEM) 또는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium, Gibco)에서 배양하였다. 이후 세포의 모양, 크기를 육안으로 관찰하였으며, 실험예 1에 동일한 방법으로 세포 수를 카운팅하고, PDT(Population doubling time)을 측정하였다.

[90] P4 지방 유래 줄기세포를 배양한 결과, 도 4에 나타낸 바와 같이 배양 동안 DMEM의 경우 세포의 크기가 길고 노화된 세포가 일부 보이는 반면, 실시예 1의 식용 배지(SPEM)의 경우, 세포의 크기가 작고 빠른 증식능을 보이는 것을 확인하였다. 특히 동일 배양기간 동안 세포 수득율 측면에서 실시예 1의 식용 배지(SPEM)가 44% 증가된 세포수 확보가 가능하였으며, 이는 노화 세포가 적고 낮은 PDT를 가지기 때문으로 예상된다.

[91]

[92] **<실험예 4> 소 유래 지방 줄기세포 노화 비교**

[93] DMEM에서 배양한 세포의 경우 계대가 넘어감에 따라 세포사이즈가 커지는 현상이 관찰되었으나 Edible media의 경우, 그 증상이 거의 나타나지 않았다. 이러한 차이가 세포 노화 속도의 차이로 인해 발생하는지 확인하기 위해 세포 노화 마커 염색을 진행하였다.

[94] 상기 실시예 1에서 제조된 식용 배지에서 배양된 세포의 노화 정도를 확인하기 위하여, 소 지방 유래 줄기세포를 실시예 1의 식용 배지(SPEM) 또는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium, Gibco)에서 장기 배양한 후 Beta-galactosidase assay을 이용하여 노화 세포를 확인하였다.

[95] 염색을 위해 세포를 6 well plate에 1×10^5 시딩 후 각 배지에서 배양하여 90% 이상 confluent할 때 배양액을 버린 후 DPBS 2 ml을 넣어 세척하였다. 1X Fixing Buffer (diluted the 10X Fixing buffer with deionized H_2O, 1:10) 2 ml를 넣고 상온에서 10분간 세포를 고정한 후 DPBS 2 ml로 2회 세척하였다. X-gal staining mix 2 ml을 넣고 37℃에서 12시간 incubation한 후 광학현미경을 이용해 염색된 세포의 수를 측정하였다.

[96] 그 결과, 도 5에 나타낸 바와 같이 실시예 1의 식용 배지에서 배양된 세포는 GM에서 배양된 세포의 노화 수준보다 약 50% 감소된 노화 수준을 나타내는 것을 확인하였다.

[97]

[98] **<실험예 5> 중간엽 줄기세포 마커 발현 비교**

[99] 소 유래 지방 줄기세포는 중간엽 줄기세포의 종류로, ISCT는 3가지 마커 (CD73, CD90, CD105)를 필수 발현 마커로 지정하고 있다.

[100] 상기 실시예 1에서 제조된 식용 배지에서 배양된 지방 유래 줄기세포가 줄기세포 특성을 유지하는지 확인하기 위하여, P4 소 유래 지방 줄기세포를 실시예 1의 식용 배지(SPEM) 또는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium, Gibco)에서 배양하고, 각 세포(GM, SPEM)의 mRNA를 주형으로 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cells) 마커로 알려진 CD73, CD90, CD105를 타겟으로 하는 프라이머 세트를 이용하여 RT-PCR을 수행함으로써 상기 마커들의 mRNA 발현 수준을 측정하였다.

[101] 구체적으로, 세포 시딩 후 confluent 한 상태의 세포를 수확하여 세포수 5-10 $\times 10^6$에 Trizol(15596026, TRIzol™ Reagent, invitrogen) 1 ml을 더해 5분간 상온에서 incubation하였다. Chloroform 0.2 ml를 첨가하고 위아래로 뒤집어 섞은 후 5분간 상온에 incubation하고, 그 후 14,000xg, 4℃에서 20분간 원심분리하였다. 무색투명한 상층액을 새로운 튜브에 옮겨 담은 후 isopropanol 0.5 ml를 첨가하여 상온에서 10분간 incubation하고, 그 후 14,000xg, 4℃에서 10분간 원심분리하였다. 상층액은 버린 후 75% 에탄올 1 ml을 더한 후, 14,000xg, 4℃에서 5분간 원심분리하여 상층액을 버리고 튜브 뚜껑을 열어 둔 채로 5-10분간 건조하였다. RNA 펠렛에 RNase-free water 20 μl을 넣어 용해시킨 후 미량 분광광도계 (ND-ONEC, NanoDrop™ One/OneC Microvolume UV/VIS Spectrophotometer, Thermo Fisher Scientific)를 이용해 260nm 흡광도를 측정해 RNA 농도를 산출하였다. RNA 1 μg을 cDNA 합성 kit(18080051, SuperScript™ III First-Strand Synthesis System, Invitrogen)를 사용하여 합성하였다. 합성된 cDNA 1 μl를 CD90 (Forward: TTGTAGCAGGTGTGGTTGCT(서열번호 1), Reverse: TTTCACCCGTGTCCCATTTG(서열번호 2)), CD73(Forward: AAGGTTCCTGTGGTCCAGGCCT(서열번호 3), Reverse: TGCATTCTCGAAAGCGGCAGGA(서열번호 4)), CD105(Forward: GAGCCTTCGTCTAGACTGCC(서열번호 5), Reverse: CTGGCCTAGTGACCCCATTG(서열번호 6)) primer들과 SYBR Green Master mix (A25918, PowerUp™ SYBR™ Green MasterMix, Applied Biosystems™)를 섞어 PCR 기기 (A28572, QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System, Applied Biosystems™)를 사용하여 mRNA 발현 수준을 확인하였다.

[102] 그 결과, 도 6에 나타낸 바와 같이 실시예 1의 식용 배지에서 배양된 세포는 GM에서 배양된 세포와 비교하여 CD73, CD90 및 CD105의 mRNA 발현 수준이 현저히 높은 것을 확인하였다.

[103]

[104] 이러한 결과를 통해, 본 발명에서 개발된 식용 배지에서 세포를 배양하는 경우 일반적으로 사용되는 배지와 비교하여 세포 증식 활성을 향상시키고, 세포 노화를 억제하는 것을 확인하였으며, 또한 본 발명의 식용 배지는 식용 가능한 성분

으로만 구성되어 있기 때문에 세포배양식품용 배양배지로서 유용하게 활용될 수 있다.

[105]

[106] 이상에서 살펴본 바와 같이, 본 발명의 구체적인 실시예를 상세하게 설명되었으나, 본 발명의 사상을 이해하는 당업자는 동일한 사상의 범위 내에서 다른 구성요소를 추가, 변경, 삭제 등을 통하여, 퇴보적인 다른 발명이나 본 발명 사상의 범위 내에 포함되는 다른 실시예를 용이하게 제안할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상술한 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구의 범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구의 범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

청구범위

[청구항 1] 글리신(Glycine), 아르지닌(Arginine), 시스틴(Cysteine), 글루타민(Glutamine), 히스티딘(Histidine), 이소로이신(Isoleucine), 로이신(Leucine), 라이신염산염(Lysine Hydrochloride), 메티오닌(Methionine), 페닐알라닌(Phenylalanine), 세린(Serine), 트레오닌(Threonine), 트립토판(Tryptophan), 티로신(Tyrosine) 및 발린(Valine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산; 염화콜린(Choline Chloride), 펜토텐산칼슘(Calcium Pantothenate), 엽산(Folic Acid), 이노시톨(Inositol), 니코틴산아마이드(Nicotinamide), 비타민B6염산염(Pyridoxine Hydrochloride), 비타민B2(Riboflavin) 및 비타민B1염산염(Thiamine Hydrochloride)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 비타민; 및 염화칼슘(Calcium Chloride), 황산제일철(Ferrous Sulfate), 황산마그네슘(Magnesium Sulfate), 염화칼륨(Potassium Chloride), 탄산수소나트륨(Sodium Bicarbonate), 소금(Salt) 및 제일인산나트륨(Sodium Dihydrogen Phosphate)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 무기염류;를 포함하는, 세포 증식 활성이 우수한 식용 배지 조성물.

[청구항 2] 제1항에 있어서,
상기 식용 배지 조성물은 탄소원을 더 포함하는 것을 특징으로 하는, 세포 증식 활성이 우수한 식용 배지 조성물.

[청구항 3] 제2항에 있어서,
상기 탄소원은 글루코스(Glucose), 프럭토스(Fructose), 만노스(Mannose), 리보오스(Ribose), 자일로스(Xylose), 수크로스(Sucrose), 멜리비오스(Melibiose), 셀로비오스(Cellobiose), 락토오스(Lactose), 아밀로스(Amylose), 탄수화물(Carbohydrate), 라피노스(Raffinose), 소르비톨(Sorbitol), 만니톨(Mannitol) 및 글리세롤(Glycerol)로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상인 것을 특징으로 하는, 세포 증식 활성이 우수한 식용 배지 조성물.

[청구항 4] 제1항에 있어서,
상기 식용 배지 조성물은 세포의 증식 활성을 향상시키고, 세포 노화를 억제하는 것인, 세포 증식 활성이 우수한 식용 배지 조성물.

[청구항 5] 제1항에 있어서,
상기 식용 배지 조성물은 세포배양식품 배양용인 것을 특징으로 하는, 세포 증식 활성이 우수한 식용 배지 조성물.

[청구항 6] 제5항에 있어서,
상기 세포배양식품은 배양육, 균류 기반 대체육 또는 조류 기반 대체육인 것을 특징으로 하는, 세포 증식 활성이 우수한 식용 배지 조성물.

[청구항 7] 제1항의 식용 배지 조성물에서 배양된 세포 또는 이의 배양물을 포함하는, 식품 조성물.

[청구항 8] 제7항에 있어서,

상기 세포는 동물세포, 식물세포 또는 미생물세포인 것을 특징으로 하는, 식품 조성물.

[청구항 9] 동물세포, 식물세포 또는 미생물세포를 제1항의 식용 배지 조성물에서 배양하는 단계; 및

배양된 세포 또는 이의 배양물을 회수하는 단계;를 포함하는 세포배양식품 제조방법.

[청구항 10] 세포를 글리신(Glycine), 아르지닌(Arginine), 시스틴(Cysteine), 글루타민(Glutamine), 히스티딘(Histidine), 이소로이신(Isoleucine), 로이신(Leucine), 라이신염산염(Lysine Hydrochloride), 메티오닌(Methionine), 페닐알라닌(Phenylalanine), 세린(Serine), 트레오닌(Threonine), 트립토판(Tryptophan), 티로신(Tyrosine) 및 발린(Valine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산; 염화콜린(Choline Chloride), 펜토텐산칼슘(Calcium Pantothenate), 엽산(Folic Acid), 이노시톨(Inositol), 니코틴산아마이드(Nicotinamide), 비타민B6염산염(Pyridoxine Hydrochloride), 비타민B2(Riboflavin) 및 비타민B1염산염(Thiamine Hydrochloride)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 비타민; 및 염화칼슘(Calcium Chloride), 황산제일철(Ferrous Sulfate), 황산마그네슘(Magnesium Sulfate), 염화칼륨(Potassium Chloride), 탄산수소나트륨(Sodium Bicarbonate), 소금(Salt) 및 제일인산나트륨(Sodium Dihydrogen Phosphate)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 무기염류;를 포함하는, 배지 조성물에서 배양하는 단계;를 포함하는, 세포의 증식 활성을 증가시키는 방법.

[청구항 11] 세포를 글리신(Glycine), 아르지닌(Arginine), 시스틴(Cysteine), 글루타민(Glutamine), 히스티딘(Histidine), 이소로이신(Isoleucine), 로이신(Leucine), 라이신염산염(Lysine Hydrochloride), 메티오닌(Methionine), 페닐알라닌(Phenylalanine), 세린(Serine), 트레오닌(Threonine), 트립토판(Tryptophan), 티로신(Tyrosine) 및 발린(Valine)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 아미노산; 염화콜린(Choline Chloride), 펜토텐산칼슘(Calcium Pantothenate), 엽산(Folic Acid), 이노시톨(Inositol), 니코틴산아마이드(Nicotinamide), 비타민B6염산염(Pyridoxine Hydrochloride), 비타민B2(Riboflavin) 및 비타민B1염산염(Thiamine Hydrochloride)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 비타민; 및 염화칼슘(Calcium Chloride), 황산제일철(Ferrous Sulfate), 황산마그네슘(Magnesium Sulfate), 염화칼륨(Potassium Chloride), 탄산수소나트륨(Sodium Bicarbonate), 소금(Salt) 및 제일인산나트륨(Sodium Dihydrogen Phosphate)으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나 이상의 무기염류;를 포함하는, 배지 조성물에서 배양하는 단계;를 포함하는, 세포의 노화를 억제시키는 방법.