

청구범위

- [청구항 1] i) 세포를 배양하는 단계;
 ii) 줄기세포 제조를 위해 하이드로젤이 포함되지 않은 3차원 세포배양 플레이트를 준비하는 단계;
 iii) 상기 배양된 세포를 상기 하이드로젤이 포함되지 않은 3차원 세포배양 플레이트에서 줄기세포로 리프로그래밍시키는 단계;
 iv) 상기 리프로그래밍된 줄기세포의 스페로이드(spheroid)를 형성하는 단계;
 v) 계대배양을 위해 하이드로젤이 포함되지 않은 3차원 세포배양 플레이트를 준비하는 단계; 및
 vi) 상기 스페로이드를 분리하여 하이드로젤이 포함되지 않은 3차원 세포배양 플레이트에서 1회 이상 계대배양하는 단계;를 포함하는 줄기세포 증식 방법으로,
 상기 3차원 세포배양 플레이트는,
 복수개의 메인 웰(main well)과, 메인 웰의 각각 하부에 형성되어 세포 배양액이 주입되며, 바닥면에 오목부를 포함하는 복수개의 서브 웰(sub well)을 포함하는 웰 플레이트(well plate); 및 웰 플레이트를 지지하는 대용량 고속 HCS(High contents screening)용 커넥터;를 포함하며,
 상기 대용량의 고속 HCS(High contents screening)용 커넥터는, 웰 플레이트의 하단과 서로 착탈 가능하도록 고정수단이 구비된 베이스와 웰 플레이트의 상부에 위치하여, 베이스와 결합되는 커버를 포함하고,
 상기 메인 웰은 소정부위 테이퍼지도록 단턱이 형성되며, 상기 단턱은 메인 웰의 벽을 기준으로 10 내지 60° 범위의 경사각(θ)을 갖는 세포배양 플레이트인,
 줄기세포 증식 방법.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
 상기 세포는 체세포 또는 줄기세포인, 증식방법.
- [청구항 3] 제2항에 있어서,
 상기 줄기세포는 성체줄기세포, 배아줄기세포, 중간엽줄기세포, 지방줄기세포, 조혈모세포, 제대혈줄기세포 및 유도만능줄기세포로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상인, 증식방법.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
 상기 하이드로젤은 세포외 기질 기반 하이드로젤인, 증식방법.
- [청구항 5] 제4항에 있어서,
 상기 세포외 기질 기반 하이드로젤은 매트릭젤인, 증식방법.
- [청구항 6] 제1항에 있어서,
 상기 계대배양은 1 내지 20세대까지의 계대배양인 증식방법.

- [청구항 7] 제1항에 있어서,
상기 vi) 단계에서, 상기 스페로이드를 단일세포로 분리하여 1회 이상
계대배양하는 것인, 증식방법.
- [청구항 8] 제1항에 있어서,
상기 서브 웰은 오목부를 향하여 테이퍼지도록 경사면이 형성되고,
상기 서브 웰(120)의 상단 직경은 3.0 내지 4.5 mm 범위이고,
상기 오목부(121) 상단의 직경은 0.45 내지 1.5 mm 범위이며,
상기 서브 웰과 오목부의 경사면(θ_2)은 40 내지 50° 범위이고,
상기 서브 웰의 직경과 오목부의 직경에 대한 길이 비가 1:0.1 내지 0.5
범위인 것을 특징으로 하는 증식방법.
- [청구항 9] 제1항에 있어서,
상기 메인 웰의 개별 부피는 100 내지 300 μl 범위이며,
상기 오목부의 개별 부피는 20 내지 50 μl 범위이고,
상기 메인 웰과 오목부의 개별 부피비는 평균 1:0.1 내지 0.5 인 것을
특징으로 하는 증식방법.
- [청구항 10] 제1항에 있어서,
상기 메인 웰은, 단턱과 서브 웰 사이에 공간부를 포함하고,
상기 공간부의 높이(a_h)는 평균 2.0 내지 3.0 mm 범위이며,
상기 서브 웰의 높이(b_h)는 평균 1.0 내지 2.0 mm 범위이고,
상기 공간부와 서브 웰의 높이비($a_h:b_h$)는 1:0.3 내지 1 범위인 것을
특징으로 하는 증식방법.
- [청구항 11] 제1항에 있어서,
상기 세포는 상기 세포배양 플레이트의 서브웰에 100 내지 1000
cells/well로 시딩되는 것인, 증식방법.