

청구범위

- [청구항 1] 다음 단계를 포함하는 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법:
- (a) 인간 만능줄기세포를 이중 영양세포 (xeno feeder cell) 없이 무혈청 만능줄기세포 배양 배지에서 배양하여 인간 만능줄기세포의 콜로니를 얻고, 상기 콜로니로부터 인간 만능줄기세포를 단리(isolation)하는 단계,
 - (b) 단리(isolation)된 만능줄기세포를 배아체 형성 배지에 현탁한 후 만능줄기세포가 응집되도록 배양하여 단일의 구상체 형태의 배아체를 형성시키는 단계;
 - (c) 상기 배아체를 배아체 성숙 배지에서 부유배양하여 성숙 배아체를 형성시키는 단계;
 - (d) 상기 배아체를 무이종 (xeno-free), 무혈청의 중간엽 줄기세포 배양 배지에서 부착 배양시켜 중간엽 줄기세포로 분화를 유도하는 단계; 및
 - (e) 상기 분화된 중간엽 줄기세포를 무이종 (xeno-free), 무혈청의 중간엽 줄기세포 배양 배지에서 중간엽 줄기세포의 동일성을 유지하면서 증식 및 배양하는 단계.
- [청구항 2] 제1항에 있어서, 상기 인간 만능줄기세포는 배아줄기세포 또는 유도만능줄기세포인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 3] 제1항에 있어서, 상기 인간 만능줄기세포는 미분화 상태인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 4] 제1항에 있어서, 상기 (a) 단계의 인간 만능줄기세포는 비트로넥틴 (vitronectin), 콜라겐 (collagen), 라미닌 (laminin), 마트리젤 (matrigel) 및 헤파란 황산 프로테오글리칸 (Heparan sulfate proteoglycan)으로 구성된 군에서 선택되는 물질을 코팅한 배양용기에서 배양되는 것인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 5] 제1항에 있어서, 상기 (a) 단계의 인간 만능줄기세포를 배양하는 무혈청 배지는 TeSR-E8 (essential 8 media), TeSR-2 또는 StemMACS iPS-Brew XF, Human 배지인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 6] 제1항에 있어서, 상기 (b) 단계의 배아체는 현적 배양, 또는 V-형태 튜브 (V-shape tube), 둥근 형태 96웰 플레이트 (round shape 96 well plate) 또는 코니칼 튜브(conical tube)를 이용한 배양을 통해 형성되는 것인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 7] 제1항에 있어서, 상기 (b) 단계의 배아체 형성 배지는 Aggrewell EB formation medium, Gibco Essential 6 Medium, CTS Essential 6 Medium, 또는 TeSR-E6 인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.

- [청구항 8] 제1항에 있어서, 상기 (b) 단계의 배양은 18 시간 내지 30 시간 동안 수행되는 것인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 9] 제1항에 있어서, 상기 (c) 단계의 배아체 성숙 배지는 KSR (Knock out serum replacement), NEAA (non-essential amino acid) 및 베타-머캅토에탄올 (β -mercaptoethanol)을 포함하는 기본배지인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 10] 제9항에 있어서, 상기 (c) 단계의 기본배지는 DMEM/F12, alpha MEM, Ham's F12 media 또는 DMEM인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 11] 제1항에 있어서, 상기 (c) 단계의 부유배양은 10 ~ 18일간 수행하는 것인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 12] 제1항에 있어서, 상기 (c) 단계에서 얻어진 성숙 배아체의 평균 크기는 350 내지 450 μ m인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 13] 제1항에 있어서, 상기 (d) 단계 및 (e)단계의 중간엽 줄기세포 배양배지는 L-글루타민 (L-glutamine)이 포함된 무이종 (xeno-free), 무혈청 배지인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 14] 제13항에 있어서, 상기 무이종 (xeno-free), 무혈청 배지는 Stempro SFM Xeno-free 배지, PRIME-XV MSC Expansion XSFM 배지, Human Mesenchymal-XF Expansion 배지, MSC Nutristem XF 배지, StemMACS MSC expansion media kit XF, human 배지인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 15] 제1항에 있어서, 상기 (d) 단계의 중간엽 줄기세포로 분화 유도는 12 ~ 20일간 수행하는 것인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 16] 제1항에 있어서, 상기 (e) 단계에서 얻어진 중간엽 줄기세포는 지방세포, 골세포, 연골세포, 근육세포, 신경세포 및 심근세포로 구성된 군에서 선택된 세포로 분화할 수 있는 다능성(multipotency)을 보유한 중간엽 줄기세포인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 17] 제1항에 있어서, 상기 (e) 단계에서 얻어진 중간엽 줄기세포는 CD29(+), CD44(+), CD73(+) 및 CD105(+)의 세포표면 마커를 발현하는 중간엽 줄기세포인 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 18] 제17항에 있어서, 상기 세포표면 마커 발현은 20 세대 이상의 중간엽 줄기세포에서 90% 이상 유지되는 것을 특징으로 하는 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 19] 제1항에 있어서, 상기 (e) 단계에서 얻어진 중간엽 줄기세포는 CD34(-), CD45(-), HLA-DR(-), TRA-1-60(-), 및 TRA-1-81(-)의 중간엽 줄기세포인

- 인간 만능줄기세포로부터 중간엽 줄기세포를 제조하는 방법.
- [청구항 20] 제1항의 방법에 의해 제조된 인간 만능줄기세포로부터 분화 유도된 중간엽 줄기세포.
- [청구항 21] 제20항에 있어서, 지방세포, 골세포, 연골세포, 근육세포, 신경세포 및 심근세포로 구성된 군에서 선택된 세포로 분화할 수 있는 다능성(multipotency)을 보유한 것인 중간엽 줄기세포.
- [청구항 22] 제20항에 있어서, CD29(+), CD44(+), CD73(+), 및 CD105(+),의 세포표면 마커를 발현하는 것인 중간엽 줄기세포.
- [청구항 23] 제20항에 있어서, 상기 세포표면 마커 발현은 20 계대 이상의 중간엽 줄기세포에서 90% 이상 유지되는 것인 중간엽 줄기세포.
- [청구항 24] 제20항에 있어서, CD34(-), CD45(-), HLA-DR(-), TRA-1-60(-), 및 TRA-1-81(-)인 것인 중간엽 줄기세포.
- [청구항 25] 제20항의 중간엽 줄기세포를 유효성분으로 포함하는 세포치료제.
- [청구항 26] 제25항에 있어서, 상기 세포치료제는 COVID-19 감염 또는 중증급성췌장염(Severe acute pancreatitis, SAP)의 예방 또는 치료를 위한 것인 세포치료제.