세포외소포치료제 개발의 PIONEER

2025.01

R&D 현황

GNG CELL

COMPANION ANIMAL, HUMAN EXTRACELLULAR VESICLES

Copyright 2025 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

GNG CELL

▣ 세포 및 세포외소포치료제 적용 시 점검해야 할 사항들

⊙ 개 유래 중간엽줄기세포(canine Adipose Stem Cell / cASC) 및 세포외소포(cASC-Extracellular Vesicles)를 반려동물에 적용 시에는 반드시 안전성과 유효성에 대한 다음의 질문을 하여야 하며, 그 내용을 문서나 data로 확인해야합니다. (www.gcev.co.kr 참조)

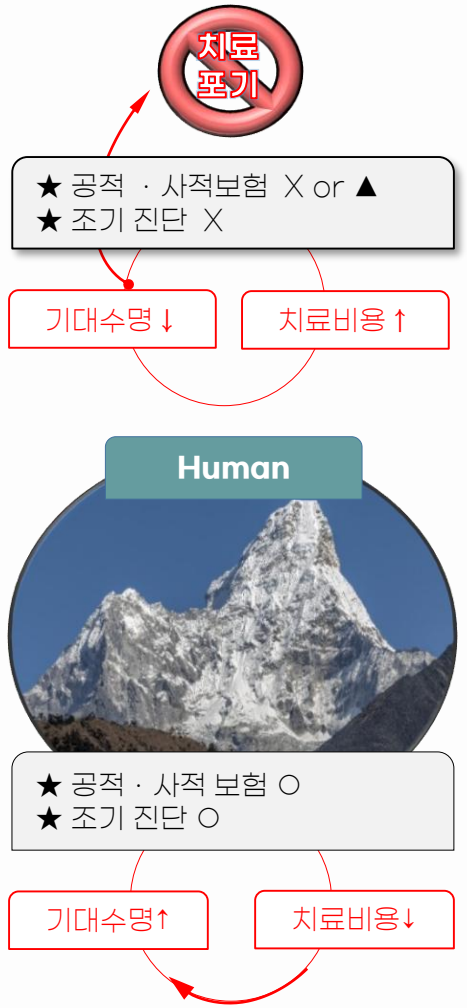
구 분	점 검 내 용	Reference check
1	원료(cASC)와 제품(cASC-EV)의 품질, 제조공정이 KVGMP 내에서 일관성있게 조절 관리됨을 문서로 입증할 수 있는가?	㈜ 녹십자수의약품 KVGMP
2	KVGMP에 개 유래 중간엽줄기세포 세포은행(cASC Master Cell Bank, Working Cell Bank)이 구축되어 있는가? 구축된 MCB, WCB의 ①무균시험-세균 ②무균시험-진균 ③엔도톡신측정시험 ④마이코플라즈마부정시험 ⑤외래성바이러스부정시험을 인증된 기관에 의뢰한 종합시험성적서가 있는가?	㈜ 녹십자수의약품 KVGMP ㈜ Tegoscience
3	세포실험 data로 적응증에 대한 세포외소포 작용기전(Mechanism Of Action)을 설명할 수 있는가?	㈜ GNG CELL 연구소
4	Mouse실험으로 독성과 용법 용량 그리고 유효성을 입증하고 논문으로 발표를 하였는가? http://www.mdpi.com/1422-0067/23/9/4868	㈜ Dt&CRO
5	세포외소포(EVs)의 miRNA 분석 data를 보유하고 있는가?	㈜ ebiogen
6	세포외소포(EVs)의 Proteomics(단백질체) 분석 data를 보유하고 있는가?	㈜ ebiogen
7	품질 및 정도관리(CMC)를 해외 학회(ISMV)와 식약처의 가이드라인에 맞추어 마련하였는가? ①cASC / cASC-EVs의 품질 ②cASC-EVs의 제조공정서(표준작업지침서(SOP)) ③cASC-EVs의 품질보증서 ④cASC-EVs의 주요성능지표	㈜ 녹십자수의약품 KVGMP ㈜ GNG CELL 연구소
8	세포외소포(cASC-EVs)를 형광물질로 표지한 뒤 피하 투여하여 체내 분포를 평가한 분포시험 data가 있는가?	㈜ Preclina
9	세포외소포의 개수 및 크기 분포, 균일성, 표면 마커의 존재 유무 등 특성을 경쟁기관에 분석 의뢰하여 cross check한 data가 있는가?	㈜ MDimune
10	세포외소포의 제원(Certificate of Analysis)과 안전성시험 data를 가지고 있는가?	㈜ Tegoscience
11	세포외소포(cASC-EVs)의 Mouse에서의 단회, 반복 독성시험을 한 data가 있는가?	㈜ Dt&CRO
12	세포외소포(cASC-EVs)의 임상1상 data가 있는가? (암수 비글견 각 9마리 총 18마리을 통하여 약물의 안전성을 확인)	㈜ Dt&CRO
13	세포외소포(cASC-EVs)의 임상2상 data가 있는가? (유도된 비글견(대조군 1, 시험군 1,2 총 12마리로 약물의 유효성 확인)	안전연 신약개발단
14	인간(이종) 유래 세포외소포를 반려동물에 적용하는데 있어 면역원성에 따른 안전성과 유효성에 대해 설명을 들은 적이 있는가?	㈜ GNG CELL

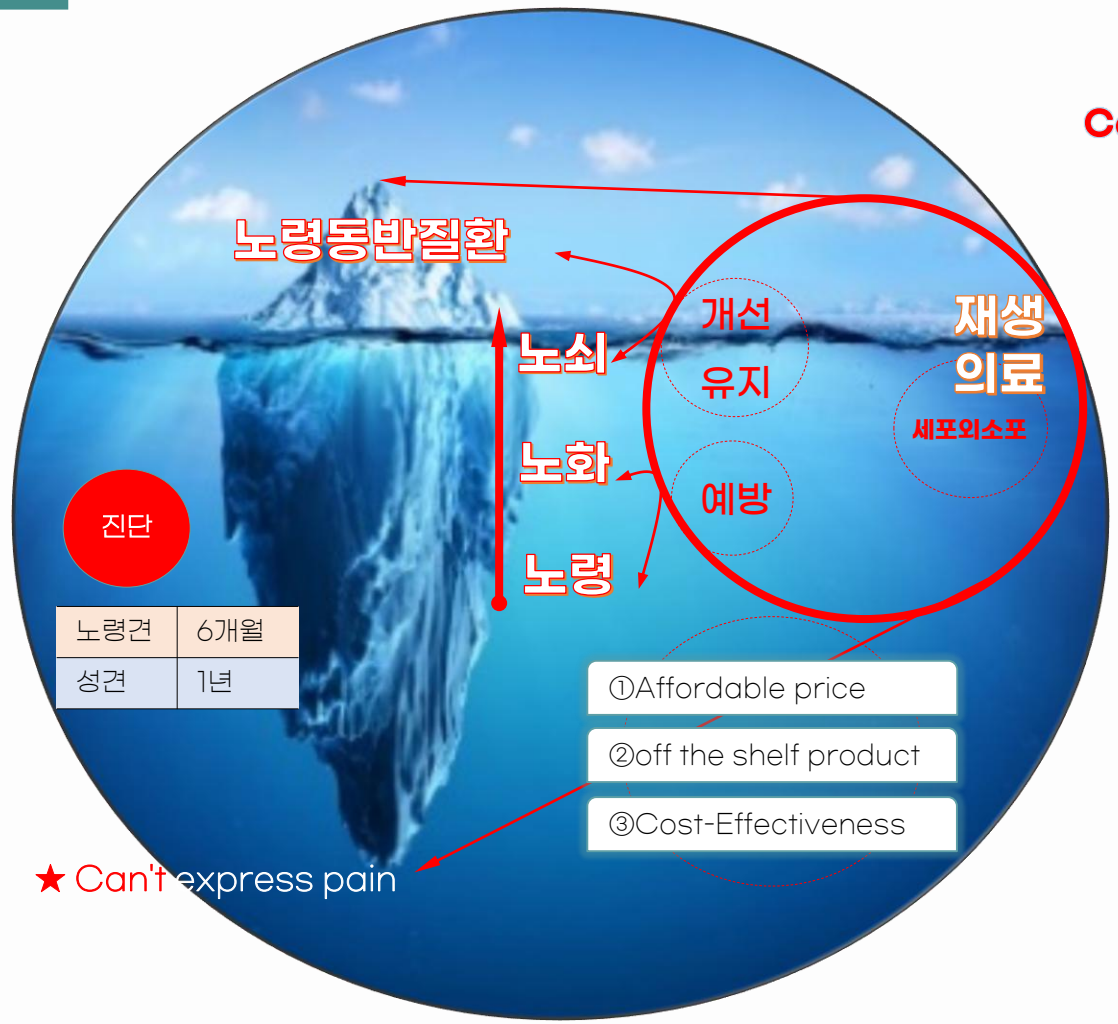
Copyright 2025 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 세포외소포치료제 Positioning Map

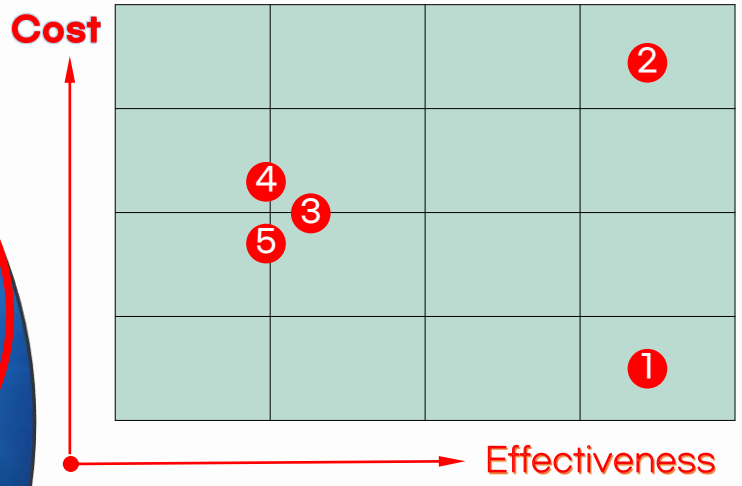
⦿노령증후군(노령, 노화, 노쇠, 노령동반질환)에서의 미충족 의학적 수요 해결 / 미충족 경제적 수요 해결
1. 재생의료 (세포외소포, Extracellular Vesicles) 2. 경쟁제품군 대비 Cost effectiveness 확보

1. 노령증후군에서의 Positioning





2. Cost effectiveness Positioning



1	Extracellular Vesicles
2	Stem cells
3	Microbiome
4	영양제
5	처방식 사료

Copyright 2025 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 기업부설연구소 (기술고도화 연구 및 임상연구)

⊙ 기업부설연구소에서는 가격 경쟁력을 확보하기 위한 대량생산 공정 개발과 세포실험과 분석을 통하여 기전연구를 하고 있습니다.

"Cost-Effectiveness"

Copyright 2024 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

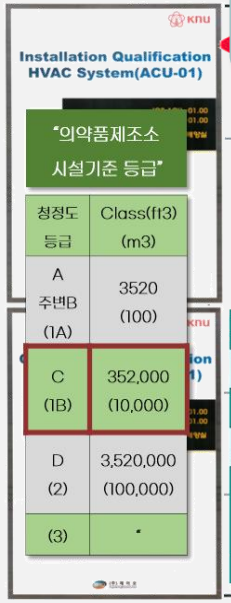
▣ 세포생물공학실 (중간엽줄기세포 은행 구축)

⦿ 제품화를 위한 임상연구의 시작. 회사는 2019.12월에 경북대학교 수의과대학에 GMP 2등급인 세포생물공학실을 건설하고, 2020.6월에 세포은행을 구축. 이 세포은행은 13계대까지 배양이 가능하여, 세포기준 30만, 세포외소포기준 150만마리 Capa.

1. 세포생물공학실 Canine 세포은행구축 (2020.06)

경북대학교 수의과대학 103호
GNG CELL
세포생물공학실 완공(2019.12)

- 경북대학교 동물실험윤리위원회 승인 (2020-0041)
- 오리엔트 바이오 인증서 (Health Certificate)
- 경북대학교 수의과대학 동물병원 혈액 검사지, 건강 확인서



Installation Qualification
HVAC System(ACU-01)

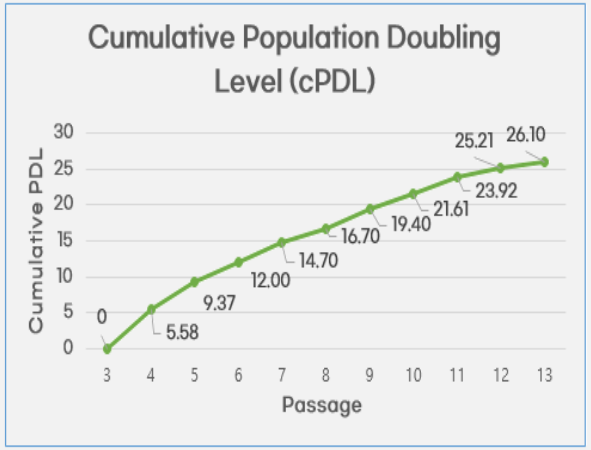
"의약품제조소 시설기준 등급"

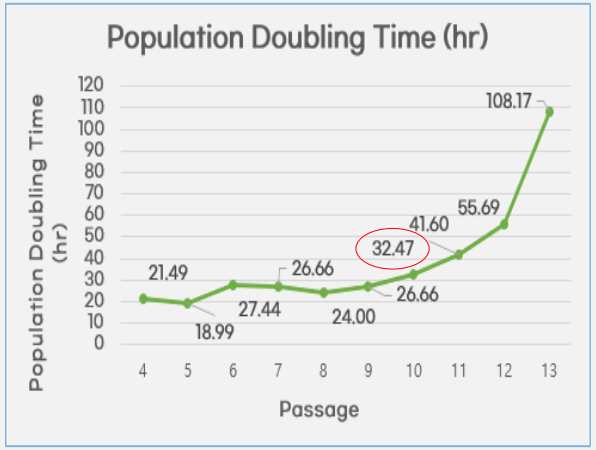
청정도 등급	Class(ft3) (m3)
A 주변B (1A)	3520 (100)
C (1B)	352,000 (10,000)
D (2)	3,520,000 (100,000)
(3)	-

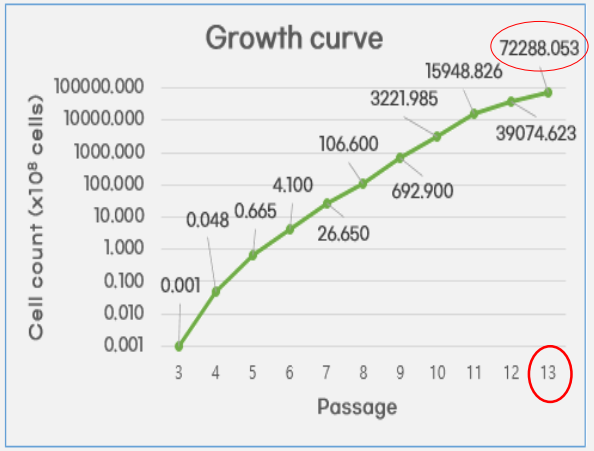
1차 세포 은행 구축 [2020년 6월 17일]

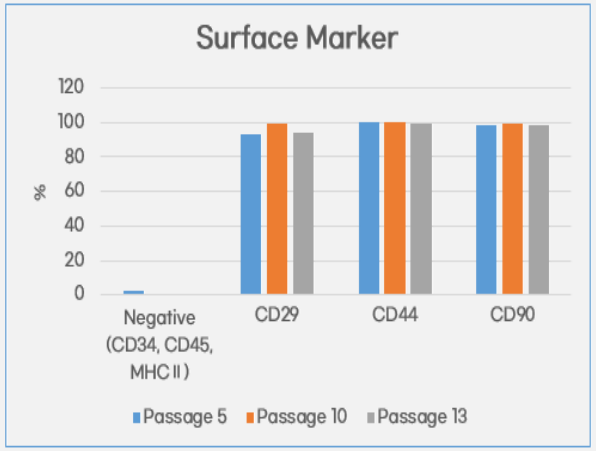
①구축일	• 2019년 12월
②장 소	• 경북대학교 수의과대학 103호
③시설규모	• 전용 15평 규모의 제조시설
④등 급	•의약품 제조 소 청정도 2등급 C[1B]
⑤용 도	• 줄기세포 분리, 배양, 세포 은행 구축 • 줄기세포 대량 배양과 세포 외 소포 수득과 정제 • 임상 시료 생산 및 공급 [GLP / 임상 승인, 품목허가 기관인 농축산검역본부 규정] • 연구용 매출

2. Canine 세포증식곡선









※ P3 ~ P10 : 320만배 증식 / P3~ P13 ; 7,200만배 증식
7.2×10^{12} Cells → 마리당 2.5×10^{7} Cells (약30만 마리 세포은행 구축 가능)

Copyright 2024 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ KVGMP (녹십자수의약품 CMO 계약. 2024.06.25)

⦿ 녹십자수의약품 KVGMP 시설 활용하여 임상 3상 진입 및 제품의 해외수출 생산기지 마련

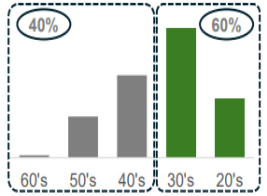
Full Headcounts: **132** FTEs (Budget 2024)

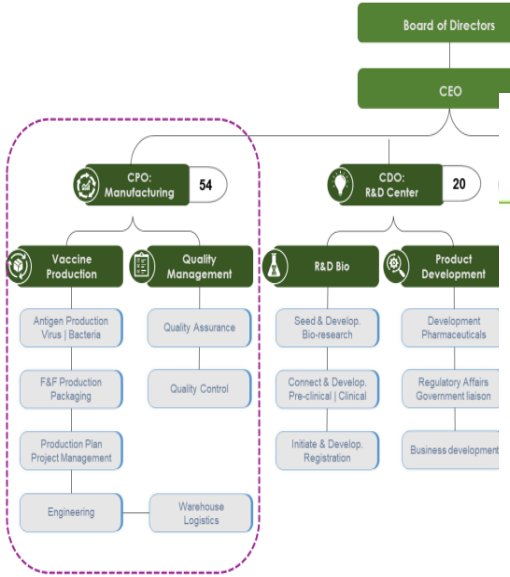
Present Org. (Feb. 2024)

122 FTEs (92.4%)

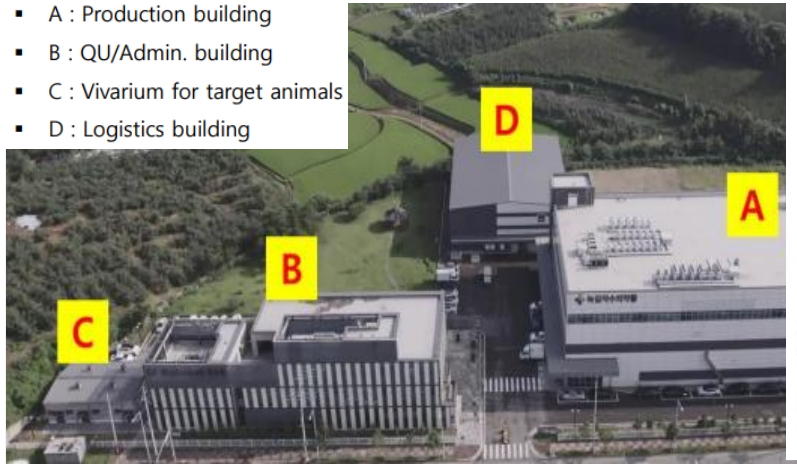
Gender Ratio

Age Group





- A : Production building
- B : QU/Admin. building
- C : Vivarium for target animals
- D : Logistics building



1

A Leading Animal Health Player In Korea

A Leading Pet Healthcare Player In Veterinary Channel

A Leading Vaccine Manufacturing Player In Korea

GMP Certificate

GCVP

CERTIFICATE No : M2115266

CERTIFICATE OF GOOD MANUFACTURING PRACTICE

Representative	Rha, Seung Shik	Name Of Manufacturer	Green Cross Veterinary Products Co.,Ltd.
Address(Factory)	110, Sandan 1-gil, Eunghong-myeon, Yesan-gun, Chungcheongnam-do, Republic of Korea, Republic of Korea		
Registered Production Manager	Kim, Young Eun	Registered Quality Control Manager	Kim, Ji Min
Approved Dosage Forms			Approval Date
Biologicals			21, November, 2018

It is hereby certified that the above manufacturing plant in which the products are produced is subject to inspections at suitable intervals and the manufacturer conforms to KVGMP(Korean Veterinary Good Manufacturing Practice).

ANIMAL AND PLANT QUARANTINE AGENCY OF THE MINISTRY FOR AGRICULTURE FOOD AND RURAL AFFAIRS OF THE REPUBLIC OF KOREA
ON 2021.11.04

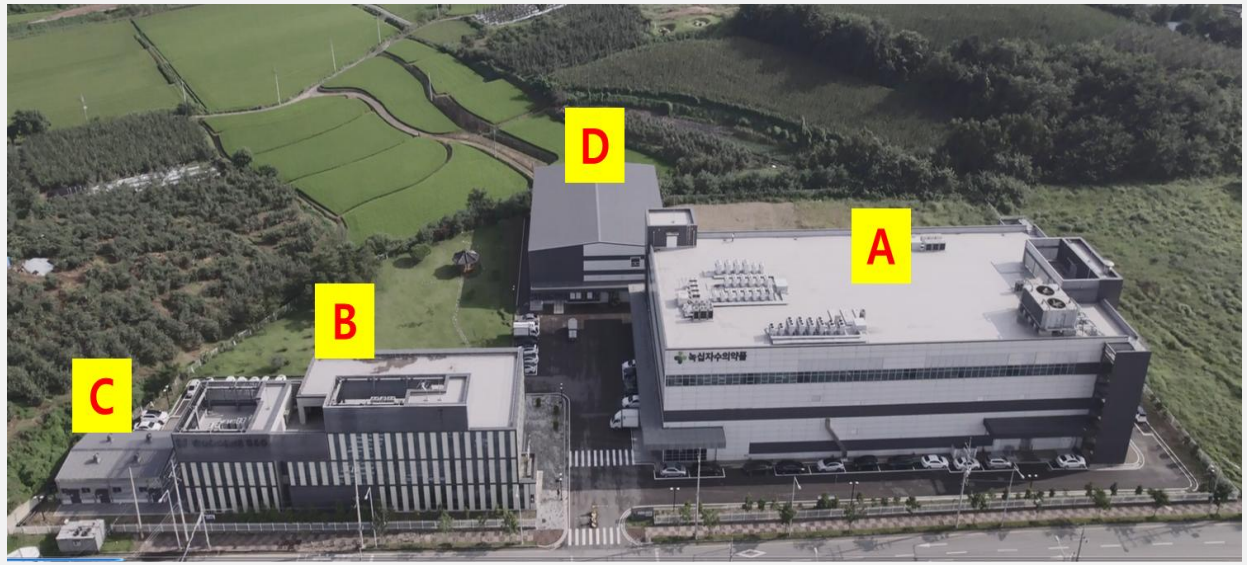
Verification Number : EP9RBBDULD

For online verification : https://medi.qia.go.kr/homep/cov

Copyright 2024 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

GCVP site Information

Bird eye view of site



- A : Production building
- B : QU/Admin. building
- C : Vivarium for target animals
- D : Logistics building

Location of site

Copyright 2024 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

Key functions of the production building

3rd Floor

1. Utilities zone for HVAC system, water system, compressed air system
2. GMP Warehouse for raw materials
3. BMS system (monitoring & recording, alarm SMS system)

2nd Floor

1. Clean room for Cell cultivation
2. Clean room for clarification & TFF
3. Clean room for media prep.
4. IPC room
5. GMP Warehouse for Bulk product
6. Cell bank storage

1st Floor

1. Fill & Finish lines for glass vials and plastic bottles.
2. GMP Warehouse for packing materials

Copyright 2024 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

Facilities ; 1 F EVs Packing Room

Packing Room

R-1103, 1105 Warehouse for carton box, label

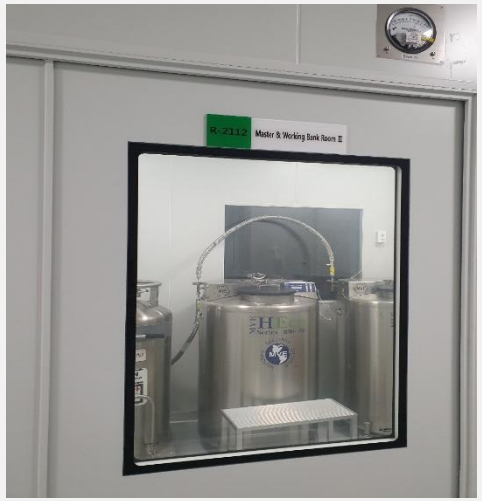
Copyright 2024 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

Facilities ; 2 F EVs Cultivation Room, Cell Bank Room

GCE-2135-17
Roller Bottle
incubator

GCE-2135-16
TFF M/C

R-2135 Cultivation room



R-2135, 2110 Cultivation room & media prep. room

R-2112 Cell bank room II

Copyright 2024 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

Facilities ; 3 F EVs Water treatment Room, HVAC Room & BMS Room

R-305 Water treatment room

R-304 HVAC room Ⅱ

R-318, 319 Material storage

R-320, BMS room

Copyright 2024 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

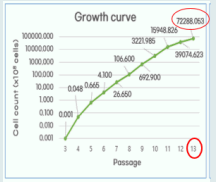
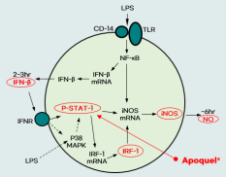
GNG CELL

▣ 반려견 세포외소포치료제 임상개발 로드맵

⊙ 회사는 세포은행 구축과 비임상시험을 완료 하였고, 다음의 연구기관을 통하여 임상3상을 수행하여 26년 하반기에 세계최초 세포외소포치료제를 출시할 예정입니다. 또한 매출을 거양하면서 연구자임상을 통하여 예방치료, 예방보험을 통한 비즈니스모델도 완성할 예정입니다.

【임상시험을 진입을 위한 2등급 GMP건설, 세포은행 구축, 세포실험, 동물실험, 임상 1,2,3상 등의 세부내용은 '홈페이지 R&D현황' 참조】

1. 제품화마일스톤

기 간	2019.12	2020.06	2020.12	2021.08	2022.04	2024.10	2025.09	2026 ~
내 용	세포 생물 공학실 건설	세포 은행 구축	in-vitro 시험	In-vivo 유효성 시험	• 분포 • 독성 • 품질 시험	임상 시험	임상 3상	매출
수 행 기 관	GNG CELL 경북대학교 수의과대학 • GMP (2)등급 	GNG CELL 경북대학교 수의과대학 	GNG CELL • NO 억제능 • T세포 억제능 • 염증성 Cytokines 억제능 • 다중 염증억제 경로 	GNG CELL 중앙피부과학연구소 Central Dermatology Laboratory • 1차 • 2차 • 3차 Mouse시험 • 국제분자생물학회지 논문 게재 (22.04.27) • 2022년 최다 다운로드(1860)	Preclina • 분포시험 Dt&CRO • 단회 / • 급성 / • 반복 독성 ebiogen • 단백질체 분석 (1,119개) • miRNA(453종) TEGO SCIENCE • 무균시험 • 엔도톡신 • 마이코플라즈마 • 외래성바이러스	Dt&CRO • 임상 1상 18두 완료 KIT 안전성평가연구소 Korea Institute of Toxicology • 알러지피부염 치료제 • 임상 2상 12두 완료 • CMO 2년 (24.7~26.7) 녹십자수의약품 KVGMP ① 세포은행 구축 ② 대량배양공정 ③ 정제수득공정	서울대학교 수의과대학 College of Veterinary Medicine • 알러지피부염 임상 3상 30두 (E) 경북대학교 수의과대학 • 만성신부전 임상 3상 30두 (E) KU 건국대학교 KONKUK UNIV. • 노령증후군 연구자 임상100두 탐색연구 (E) • 예방치료 + 예방보험 비즈니스모델개발 • 품목허가 (2026)	세계 최초 세포외소포 제품 출시 년도 / 억원 26년 40 27년 100 28년 200 29년 300 30년 450 • post TIPs • 적응증확대 → 근감소증 → 면역증강제

2. TIPS

TIPs 수행 과제 (2023.04 ~ 2025.03) → post TIPs

세포은행 구축 → 대량배양 공정 → 정제수득 공정 → 근감소증 세포실험 → 근감소증 동물실험 → 근감소증 임상3상

3. 비즈니스 모델

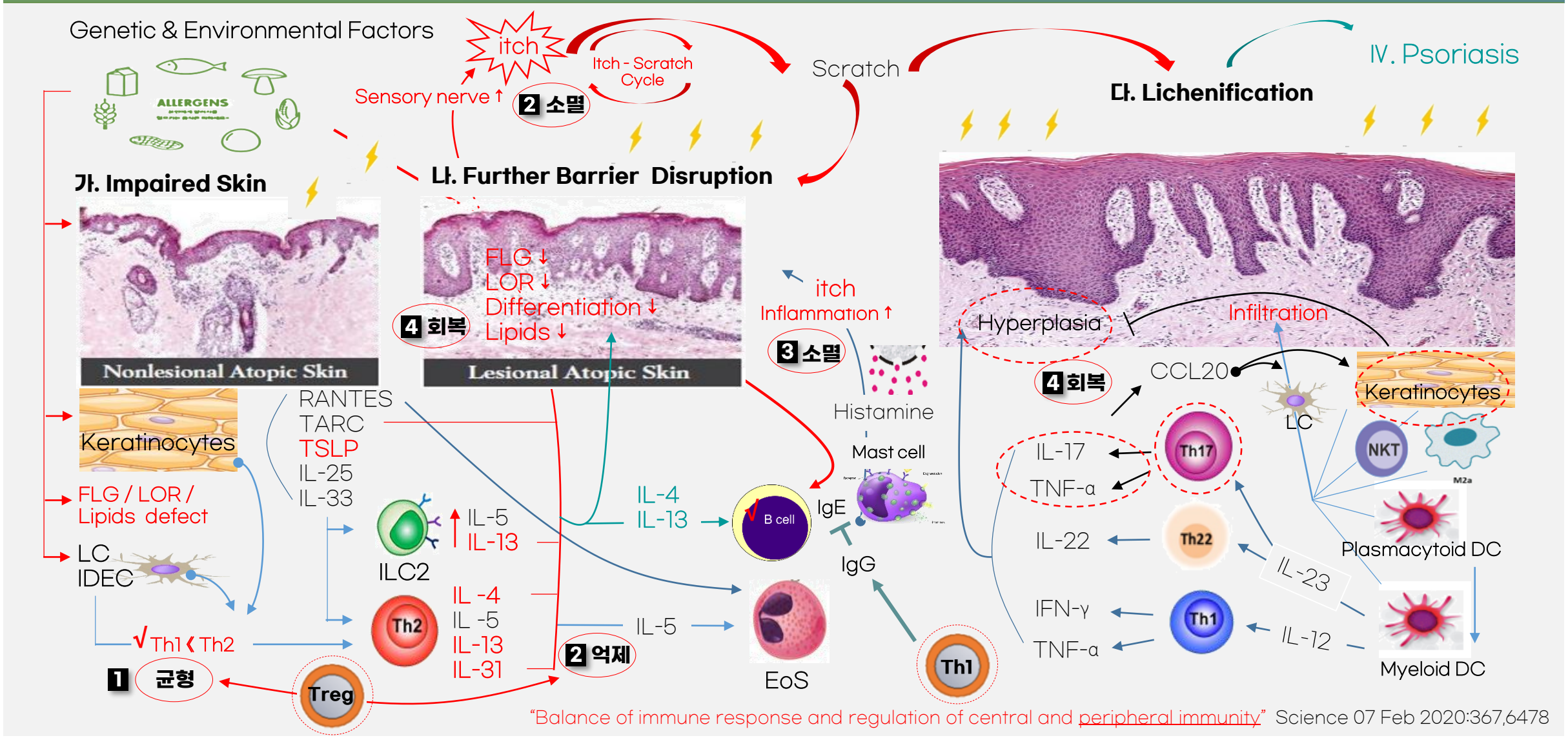
2026.12까지

예방보험 / 예방진단 / 예방치료 → 해외진출 → •Well-aging •Well-being 생 태 계 조 성

Copyright 2025 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 반려견 Allergic Dermatitis 세포외소포치료제의 작용 기전

⊙ 세포외소포의 기전을 증명하기 위한 수많은 세포실험과, 유효성 평가를 위한 3차례의 동물실험을 통해 얻어진 병리학적 수치를 근거로 세포외소포의 주요 작용 기전 (Multi Targeting)의 모식도를 추정하였습니다.



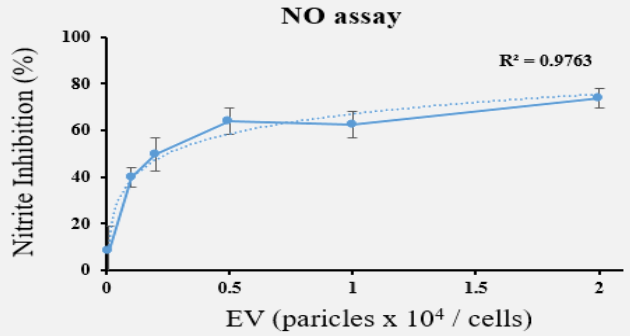
"Balance of immune response and regulation of central and peripheral immunity" Science 07 Feb 2020:367,6478

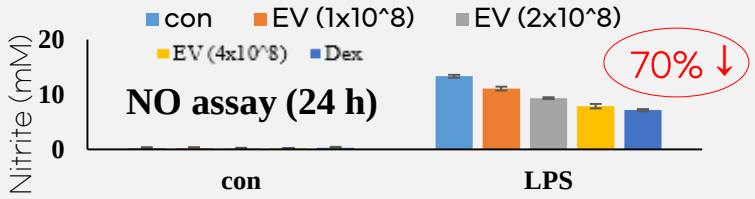
Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

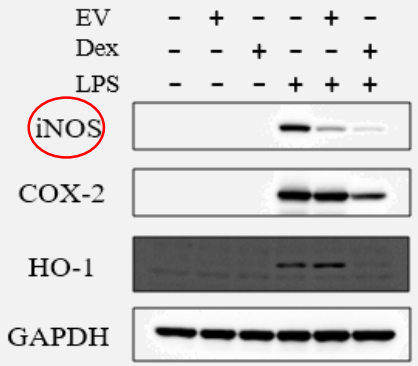
▣ 반려견 Allergic Dermatitis 세포외소포 전임상(세포실험)

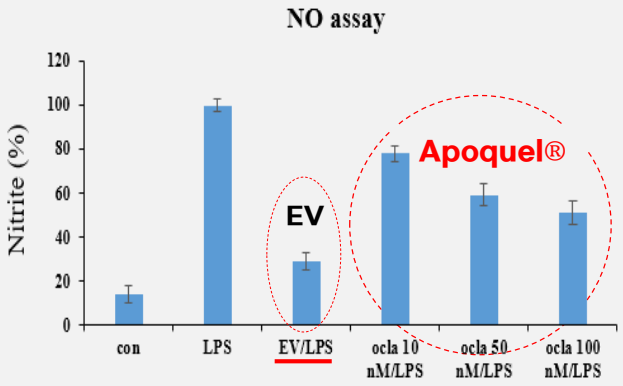
⦿ 세포실험에서 산화질소 억제능, T cell 증식 억제능, 각종 염증성 사이토카인 억제능을 확인하였고, 경쟁제품 아포퀠의 성분인 Oclacitinib과의 산화질소 억제능에서도 비교 우위를 확인하였습니다

1. NO 생성 억제능

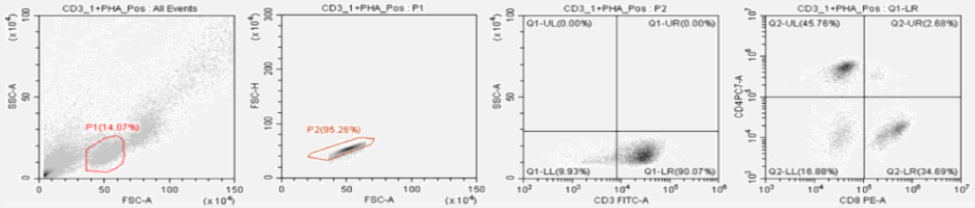


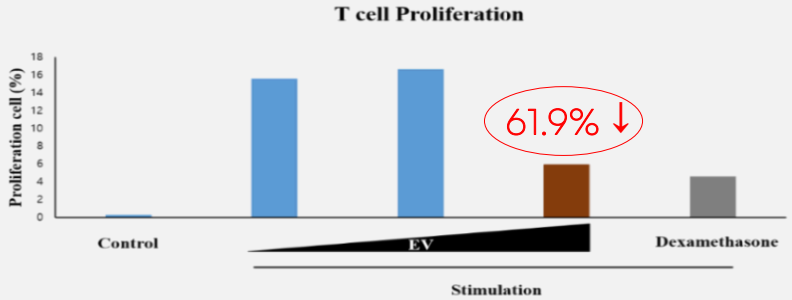




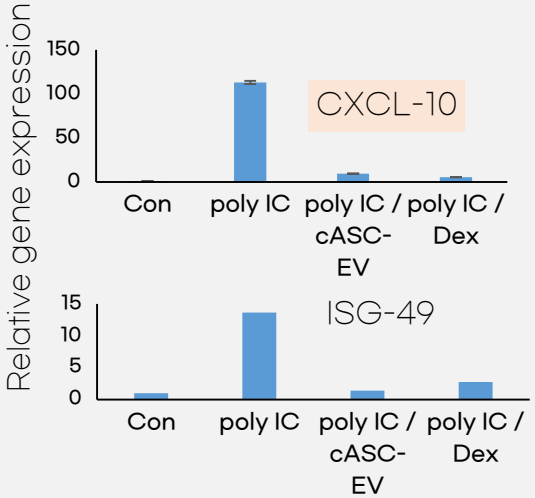


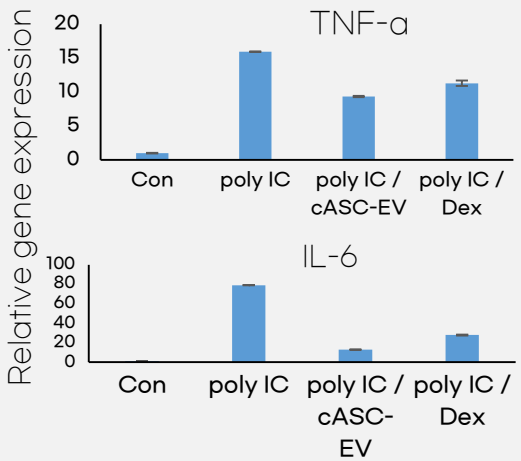
2. T cell 증식 억제능

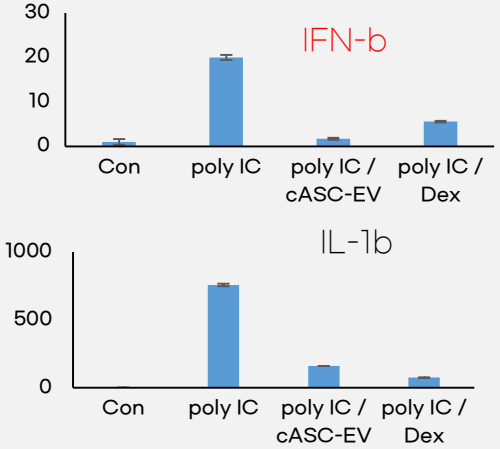




3. 염증성 Cytokines 억제능





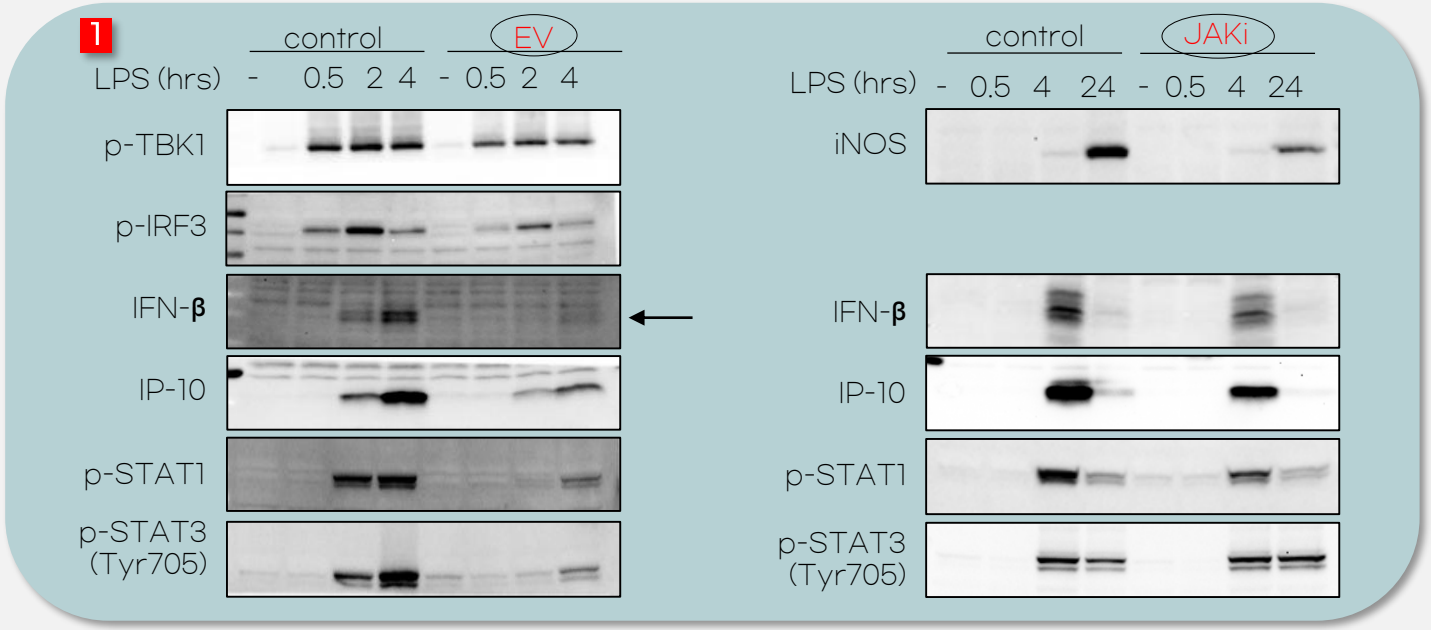


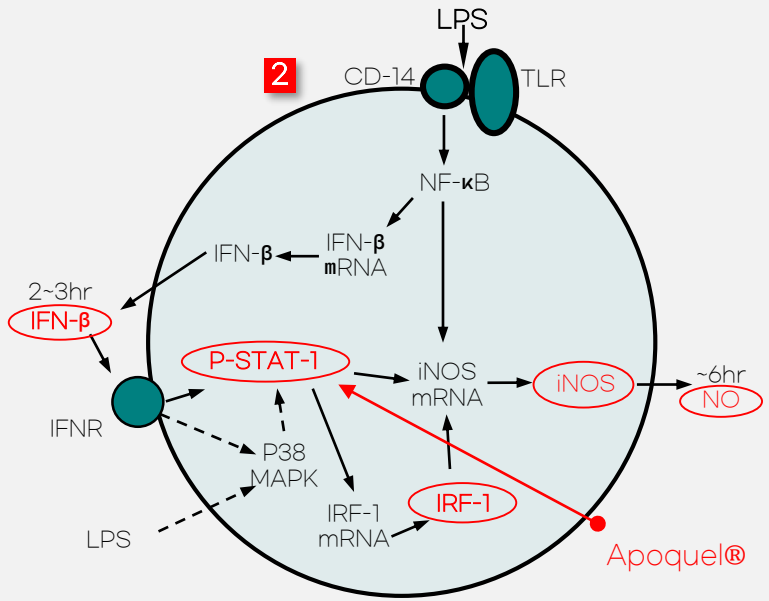
Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

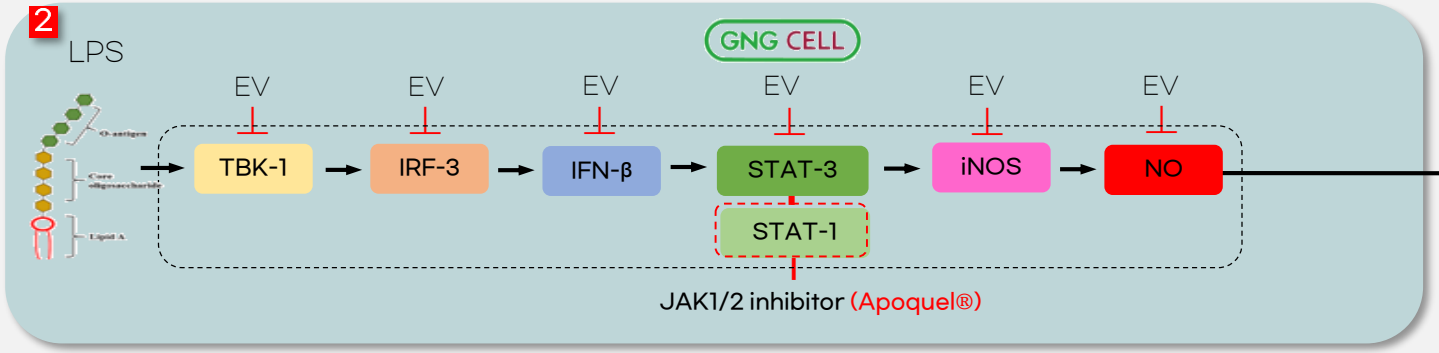
▣ 반려견 Allergic Dermatitis 세포외소포 전임상(세포실험)

⊙ GNG CELL의 세포외소포는 STAT-1을 포함한 6개의 다중 염증억제 경로를 가지고, 최종적으로 산화질소를 억제시킵니다. NO억제는 dysfuntion된 면역세포의 정상화에 영향을 끼치므로, 아토피, 근감소증, 알츠하이머에 대한 적응증 확대 rationale를 제공할 것입니다.

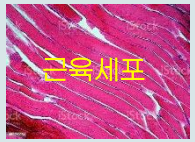
4. GNG CELL 세포외소포 염증억제 다중 경로







3

in-vitro 모델	적응증	Reference
· 랑게르한스 · 케라티노사이트 · 마크로파지	① Allergic dermatitis	① Nitric Oxide levels in Atopic dermatitis (The pain clinic2004)
	② Sarcopenia (근 감소증)	② Crytotanshinone prevents muscle wasting in CT26-induced cancer cachexia through inhibiting STAT-1, 3 signaling pathway (Journal of Ethnopharmacology (2020)
· 마이크로글리아	③ Alzheimer's Disease	③ K.I. Mosher, T. Wyss-Coray / Biochemical Pharmacology 88 (2014) 594-604 (Nitric Oxide → microglia cell degeneration dysfunction)

Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 반려견 Allergic Dermatitis 세포외소포 전임상 (1차)

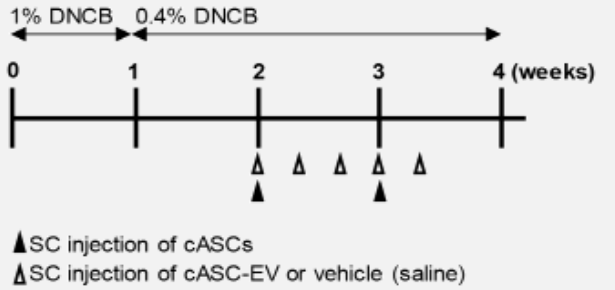
⦿ 1차 동물시험 : 구축한 세포은행의 ①줄기세포와 그 세포에서 릴리즈된 ②세포외소포와의 유효성 비교 시험에서 두 물질 공히 중증도를 50% 이상 개선시켰습니다. (DNCB 피부자극 Balb/c 총 36마리) → SCI 저널 개제

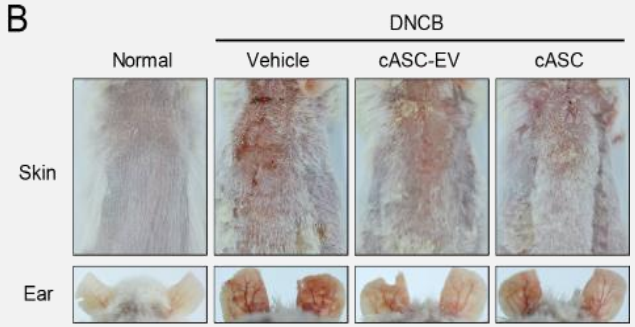
International Journal of *Molecular Sciences*

SCI 저널 개제

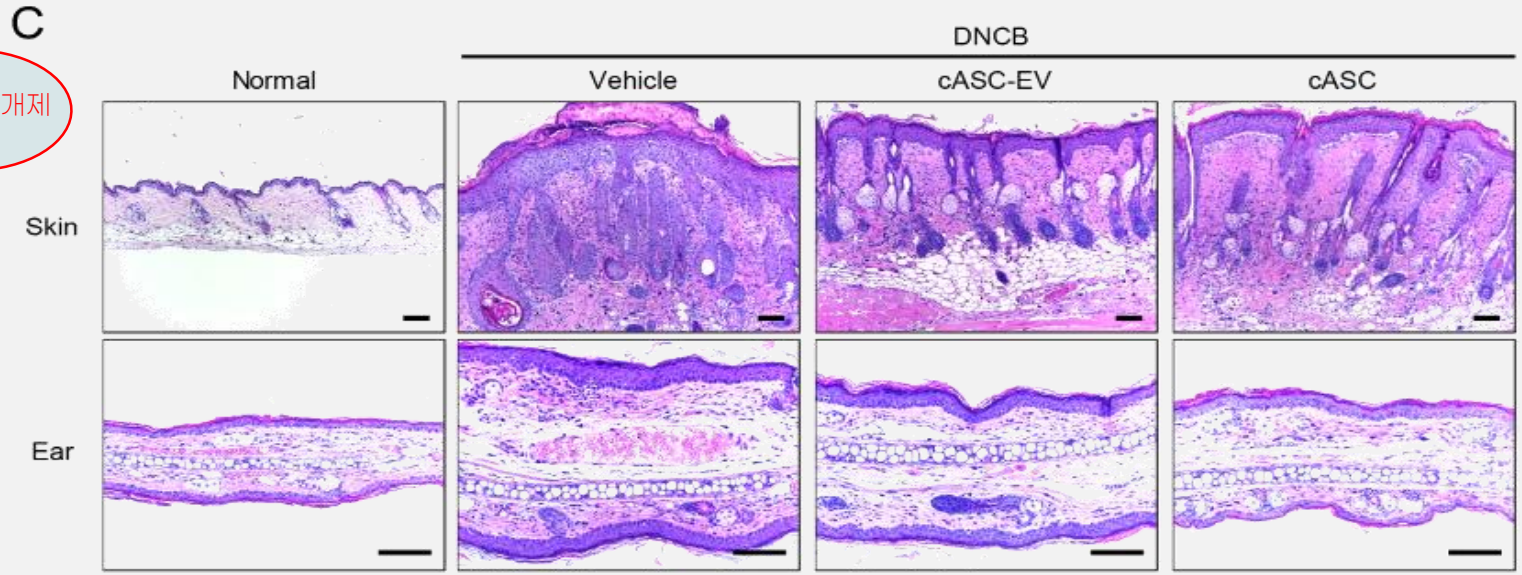
Mesenchymal stem cells and extracellular vesicles derived from canine adipose tissue ameliorates inflammation, skin barrier function and pruritus by reducing JAK/STAT signalling in atopic dermatitis

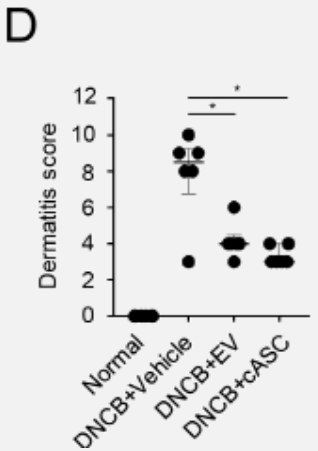
1. 아토피 중증도 감소

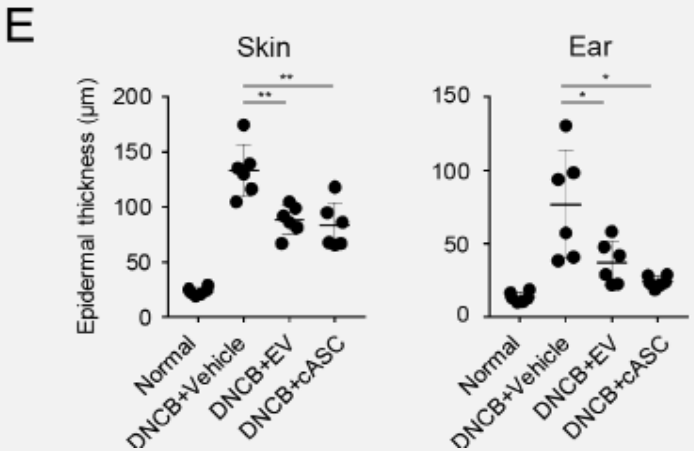


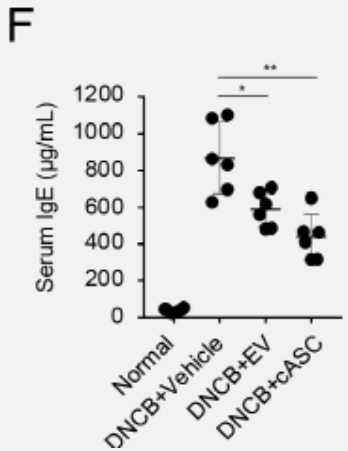


√ 아토피 피부염 중증도 50%이상 감소







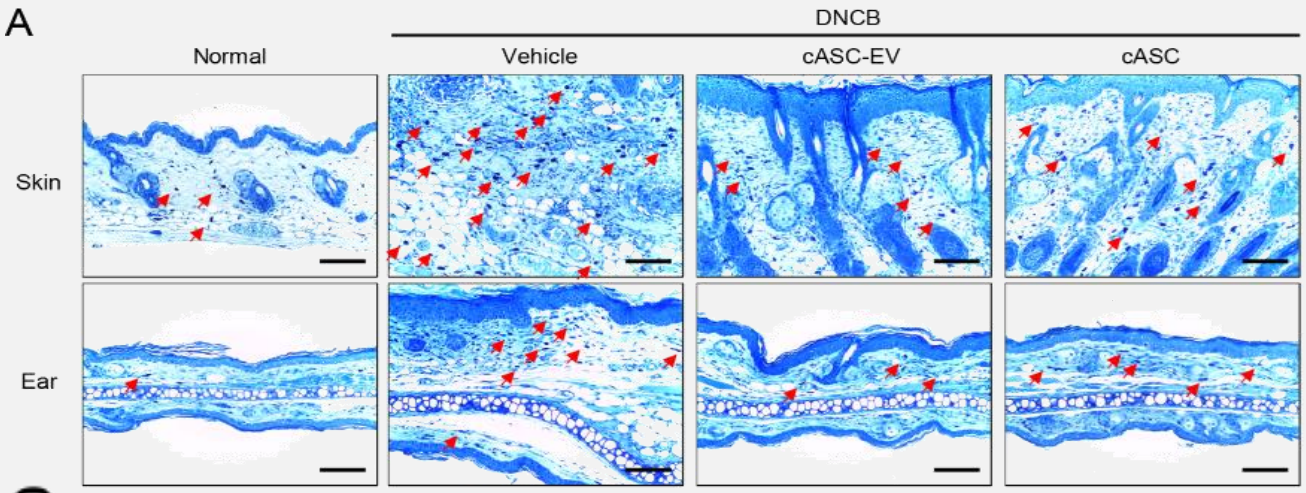


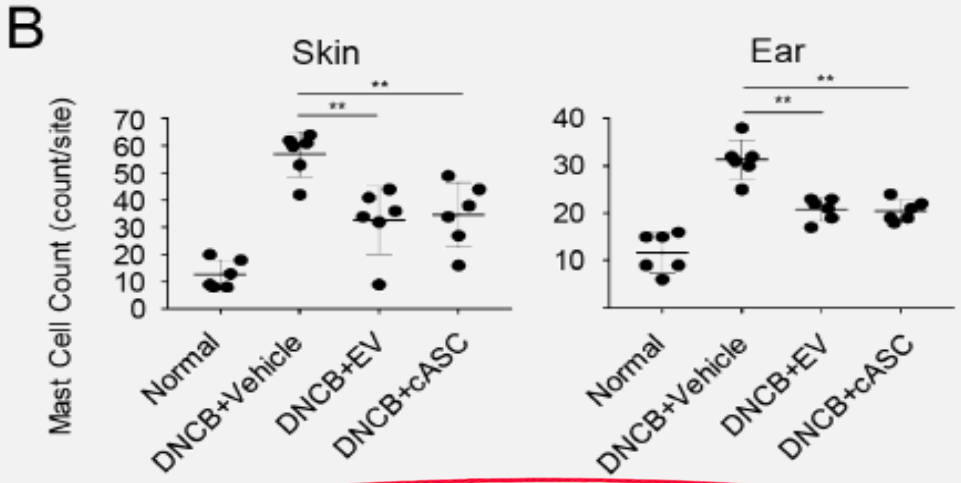
Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 반려견 Allergic Dermatitis 세포외소포 전임상(1차)

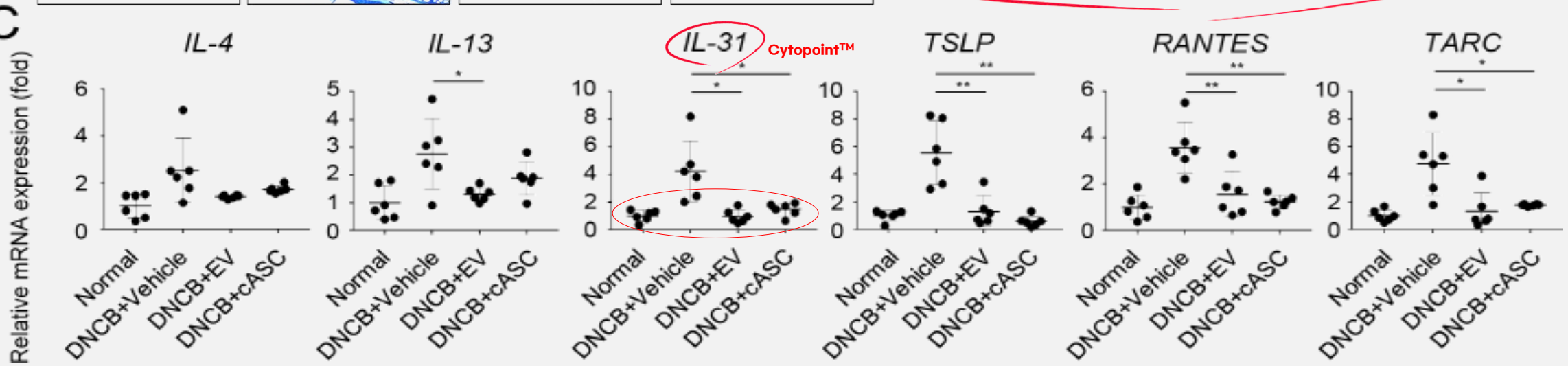
⦿ 1차 동물시험 : 다양한 염증성 Th2 cytokines을 80%정도 억제하였으며, 특히 경쟁제품인 조에티스의 싸이토포인트 소양감 억제 기전인 IL-31의 경우 정상수준으로 억제하였습니다. → SCI 저널 개제

2. 면역세포 침윤 및 Th2 Cytokine 감소





√ 면역세포 침윤 및 Th2 cytokine 79.9% 감소

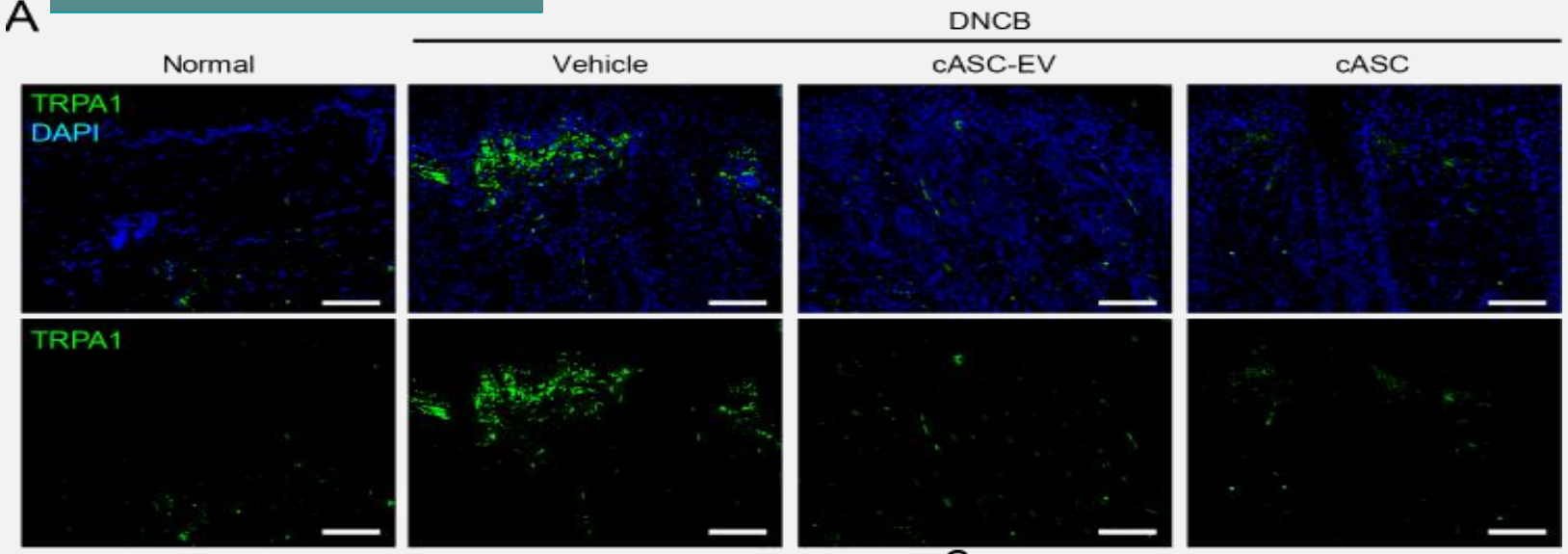


Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

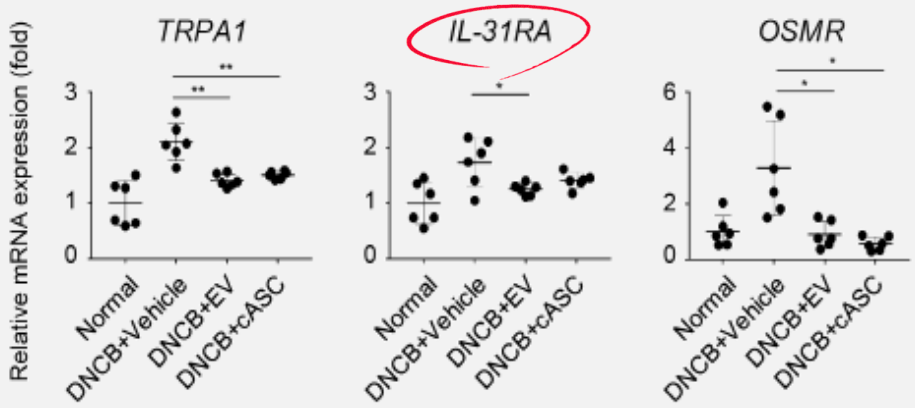
▣ 반려견 Allergic Dermatitis 세포외소포 전임상(1차)

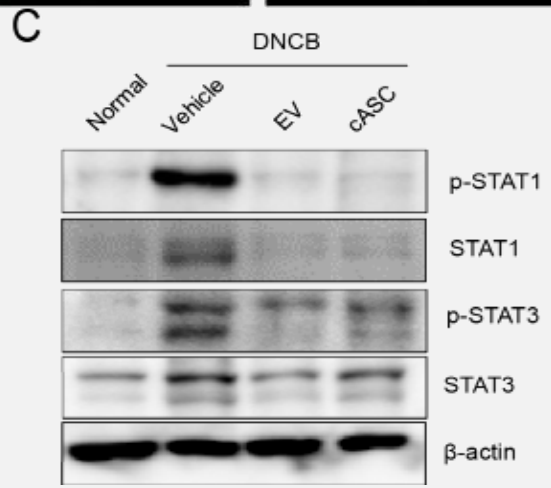
⦿ 1차 동물시험 : 소양감 수치도 대조군 수치로 억제를 하였으며, 경쟁제품인 조에티스 아포퀠의 염증경로인 STAT-1의 경우 정상수준으로 돌려 놓았습니다. → SCI 저널 개제

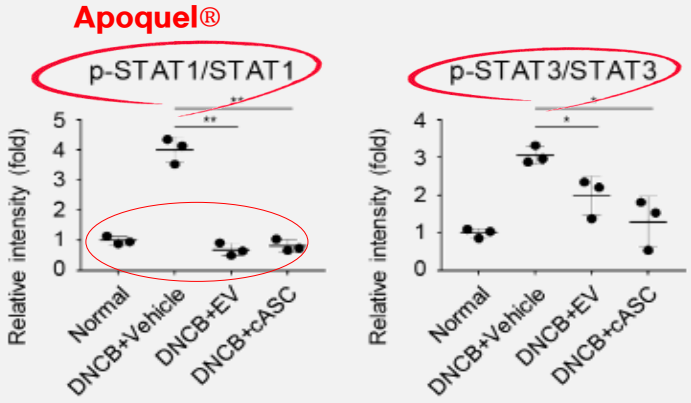
3. 소양감 개선



√ 소양감 수치 정상군 수준





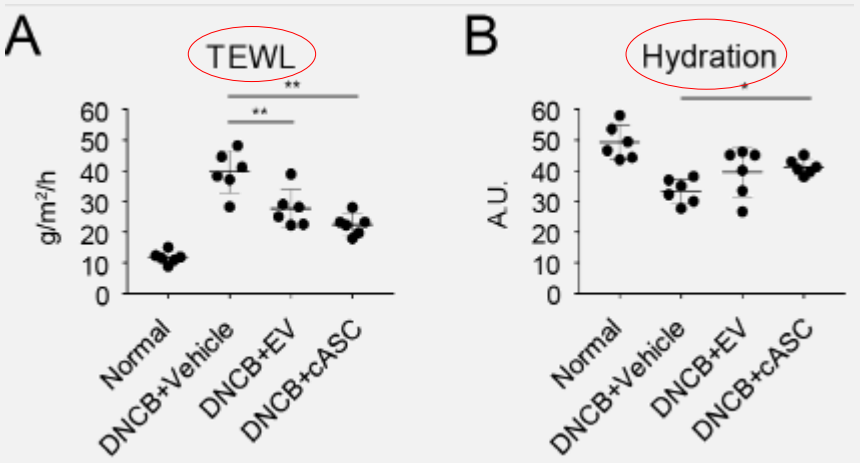


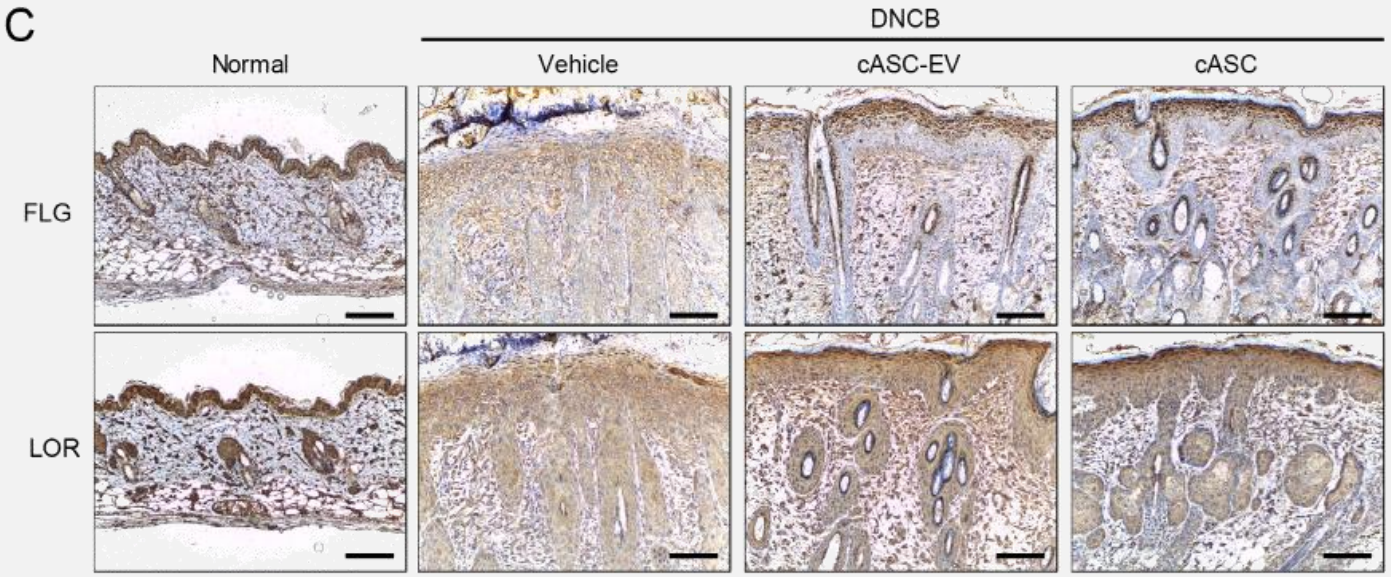
Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

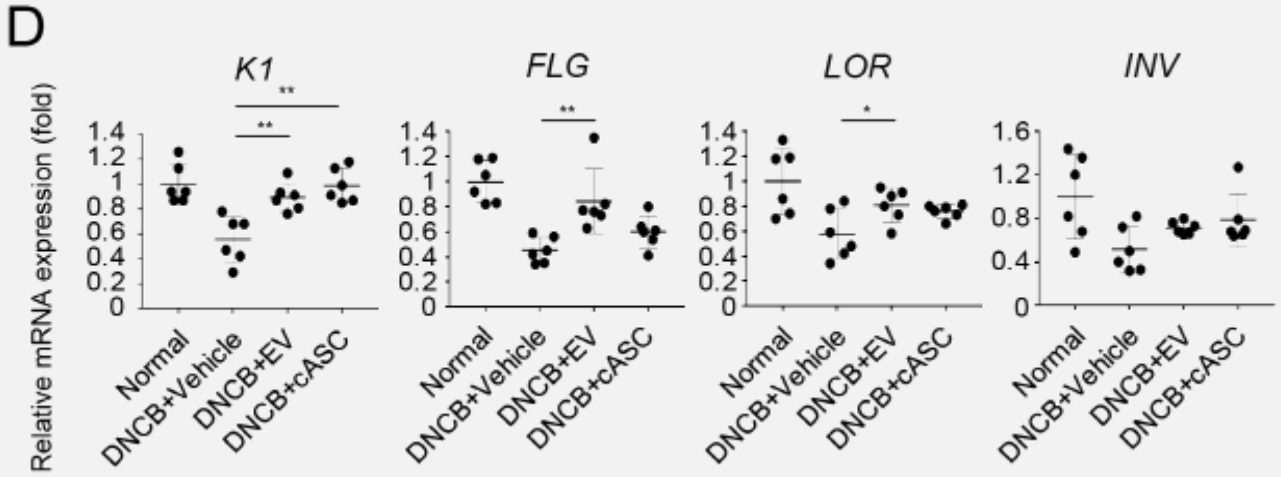
▣ 반려견 Allergic Dermatitis 세포외소포 전임상(1차)

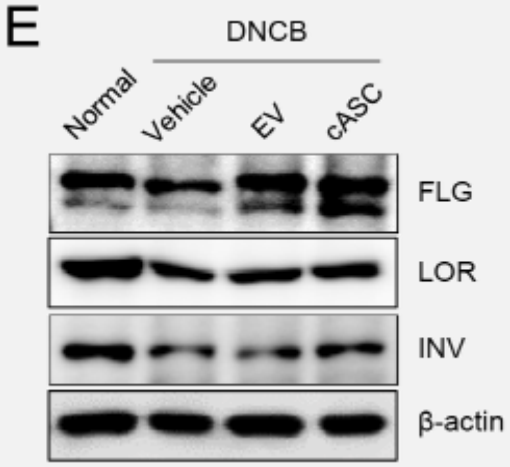
⦿ 1차 동물시험 : 피부장벽기능도 60%이상 개선시켰습니다. → SCI 저널 개제

4. 피부 장벽 기능 개선









√ 경피 수분 손실량 (TEWL) 회복

√ 피부표면 수분함량 (Hydration) 증가

√ 피부장벽 약 60% 개선

Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ Top Downloaded Papers in 2022 (GNG CELL 논문)

⦿ Mesenchymal Stem Cells and Extracellular Vesicles Derived from Canine Adipose Tissue Ameliorates Inflammation, Skin Barrier Function and Pruritus by Reducing JAK/STAT Signaling in Atopic Dermatitis
Link: http://www.mdpi.com/1422-0067/23/9/4868 TOP Downloads: 1860

International Journal of *Molecular Sciences*

an Open Access Journal by MDPI

IMPACT FACTOR 5.6 | Indexed in: PubMed | CITESCORE 7.8

CERTIFICATE OF PUBLICATION

Top Downloaded Papers of *IJMS*

This is to certify your publication has been selected as the Top Downloaded Papers of *IJMS*

MDPI Academic Open Access Publishing since 1996

Basel, July 2023

Shu-Kun Lin

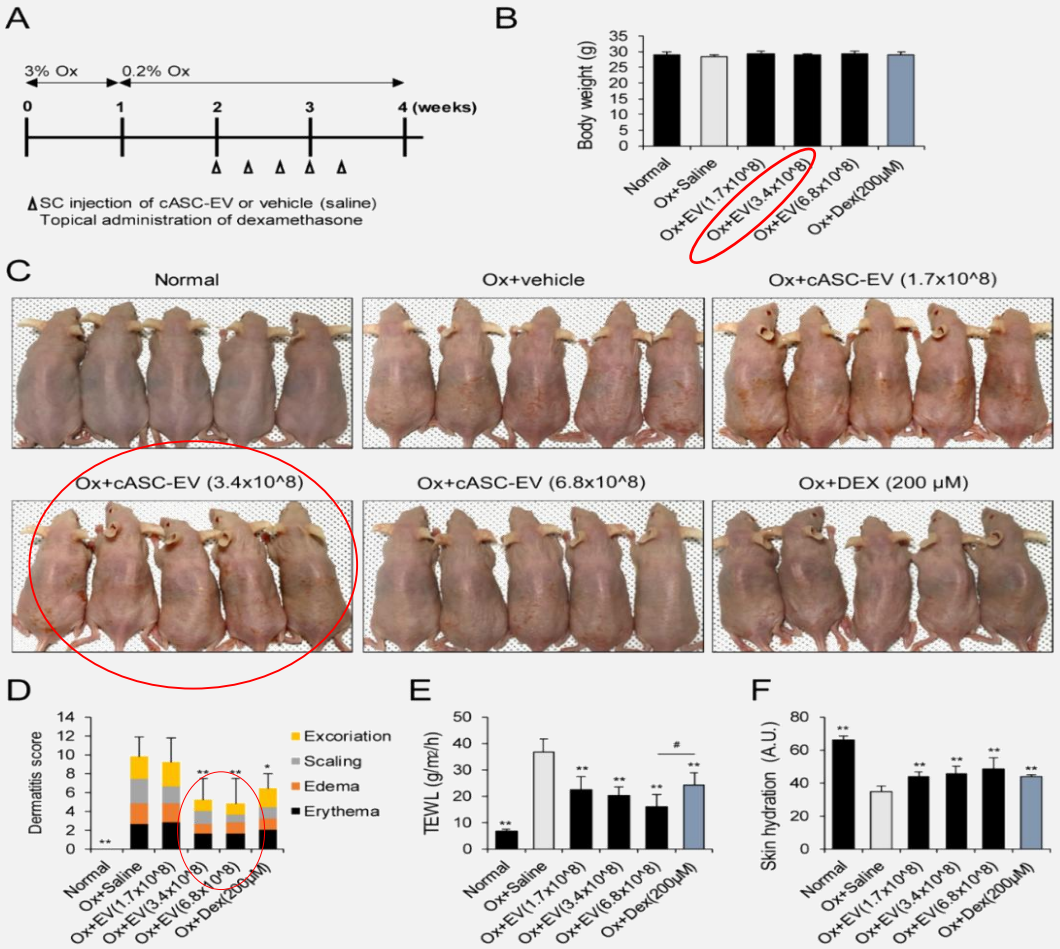
Dr. Shu-Kun Lin
Publisher & President

Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

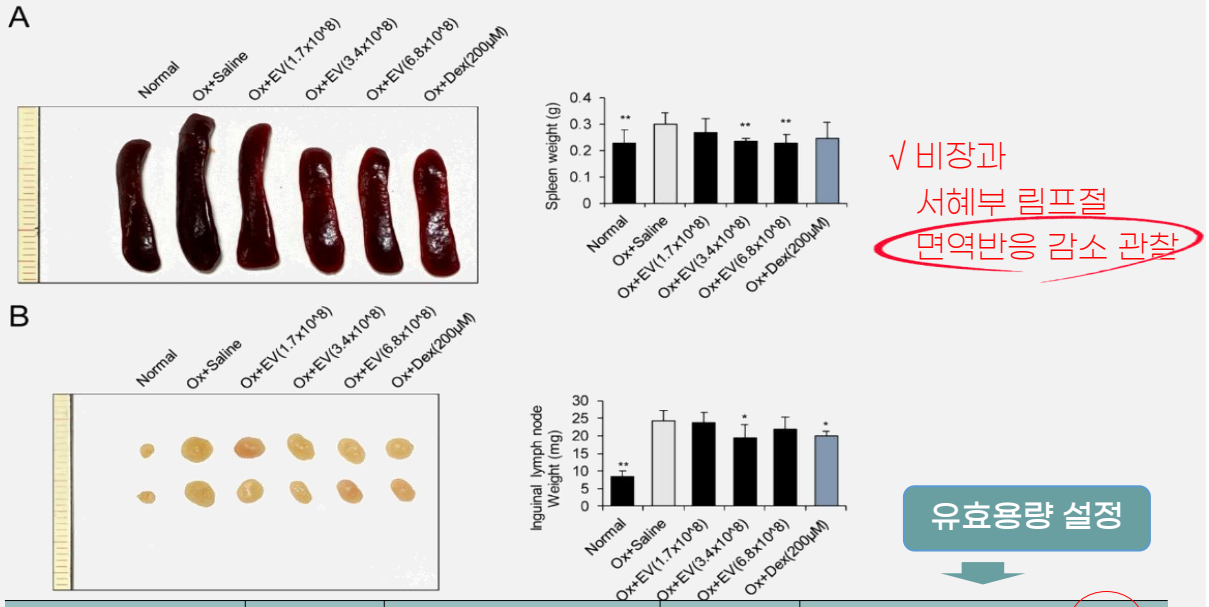
▣ 반려견 Allergic Dermatitis 세포외소포 전임상(2차)

⊙ 2차 동물시험은 세포외소포 유효용량설정 및 스테로이드 제제인 Dexamethasone과 비교 시험을 진행하였으며, 아토피피부염 개선지수가 덱사메타손보다 우세하게 도출되었습니다. 유효용량 설정은 마우스 대 개의 체표면적 등가용량 6.7배인 23억 파티클보다 4배 많은 100억 파티클로 설정하여 임상적 유효성을 확보하고자 하였습니다. (Oxazolone 피부자극 SKH-1. 총 30마리)

1. 덱사메타손 비교 및 유효용량산정 실험



√ 아토피피부염 지수 Dexamethasone보다 우세



√ 비장과 서혜부 림프절 면역반응 감소 관찰

유효용량 설정

구 분	시험물질	투여용량 (mouse 20g)	투여횟수	체표면적 기준 등가용량 (6.7배) (Dog 10kg)
① 1차 전임상시험 (36마리)	줄기세포	2.0×10^{6} Cells	Q7D X 2	1.3×10^{7} Cells
	EV	2.0×10^{10} Particles	Q2D X 5	1.3×10^{11} Particles
② 2차 전임상시험 (30마리)	EV	1.7×10^{8} Particles	Q2D X 5	1.5×10^{9} Particles
		3.4×10^{8} Particles	**Q2D X 5**	**2.3×10^{9} Particles**
		6.8×10^{8} Particles	Q2D X 5	4.6×10^{9} Particles
③ 3차 전임상시험 (25마리)	EV	1.0×10^{9} Particles	Q2D X 5	6.7×10^{9} Particles

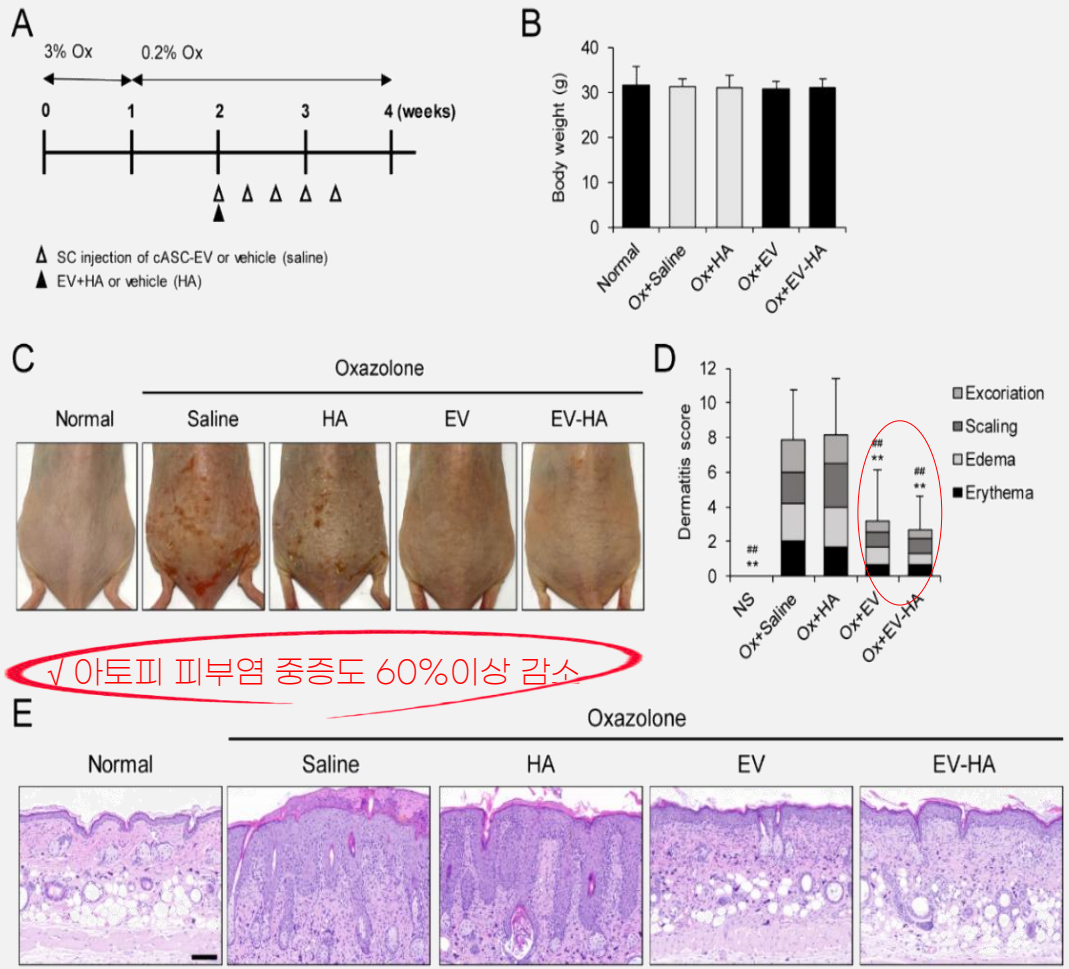
☞ 충분한 임상적 유효성을 확보하기 위하여 체표면적 기준 등가용량을 25배로 환산하여 1.0×10^{10} particles로 결정하였고, 현재 임상 현장에서 예비 연구를 진행하고 있음.

Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

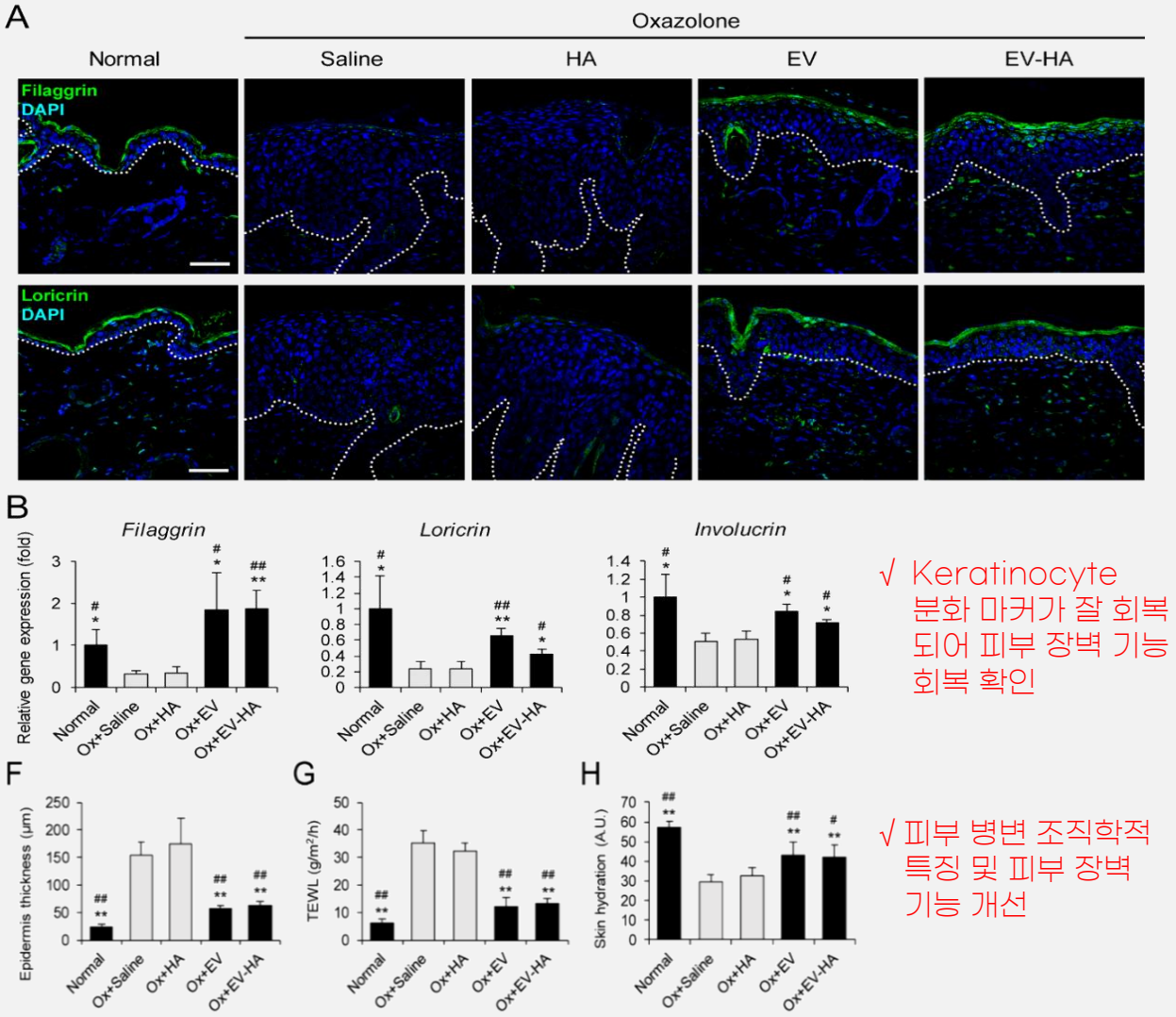
▣ 반려견 Allergic Dermatitis 세포외소포 전임상(3차)

⦿ 3차 동물시험 : 보호자의 방문 편의성을 고려한 투여 횟수 비교실험을 하였으며, 히알루론산 믹싱 주사 1회와 주사 5회 비교 시험에서 아토피피부염 중증도를 60%이상 감소시켰습니다. (Oxazolone 피부자극 SKH-1. 총 25마리)

1. 투여 횟수 비교실험



√ 아토피 피부염 중증도 60%이상 감소



√ Keratinocyte 분화 마커가 잘 회복되어 피부 장벽 기능 회복 확인

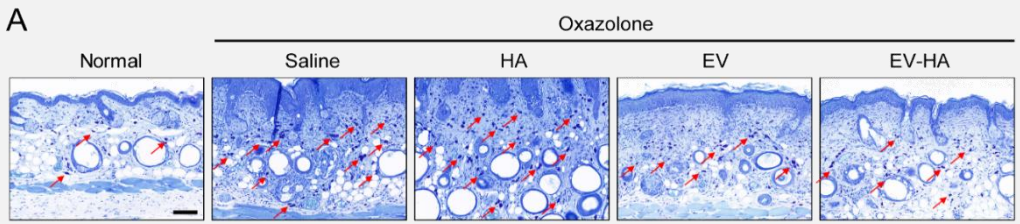
√ 피부 병변 조직학적 특징 및 피부 장벽 기능 개선

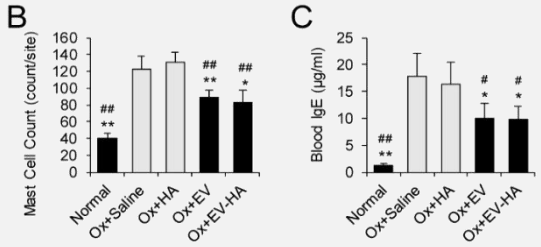
Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 반려견 Allergic Dermatitis 세포외소포 전임상(3차)

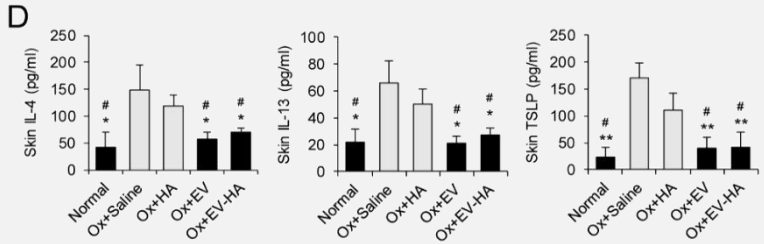
⊙ 3차 동물시험 : 보호자의 방문 편의성을 고려한 투여 횟수 비교실험에서 Th2 cytokines의 감소와 Th1 cytokines의 증가를 확인 하였습니다.
(Oxazolone 피부자극 SKH-1. 총 25마리)

1. 투여 횟수 비교실험

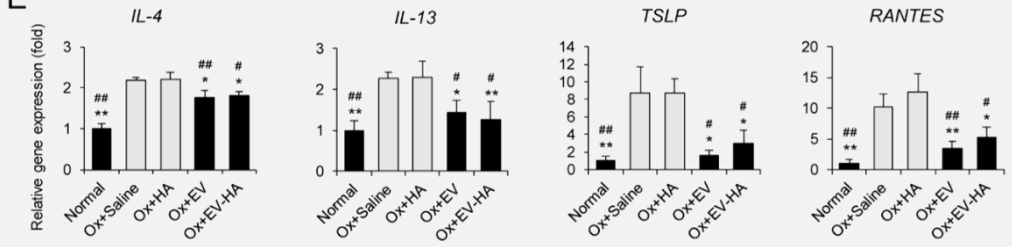


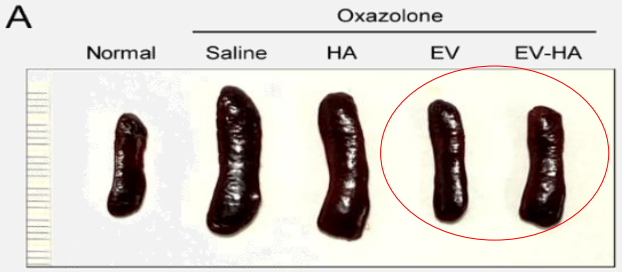


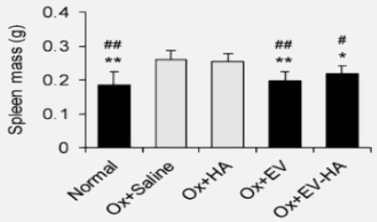
√ 면역세포 침윤 감소



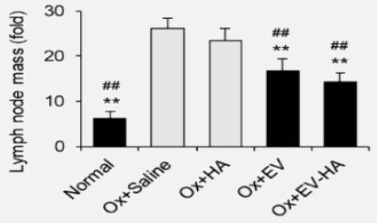
√ IgE 감소 확인
√ Th2 Cytokine 단백질 및 mRNA 감소

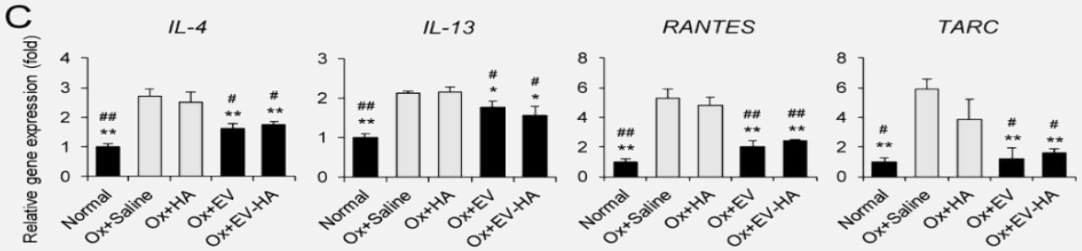


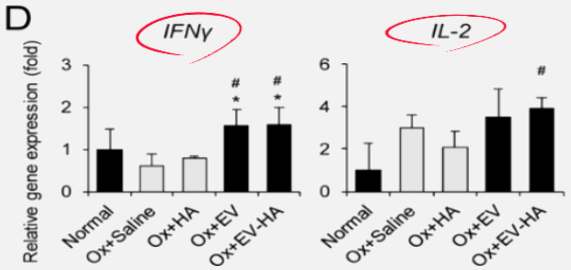




√ 비장, 림프기관 비대 감소







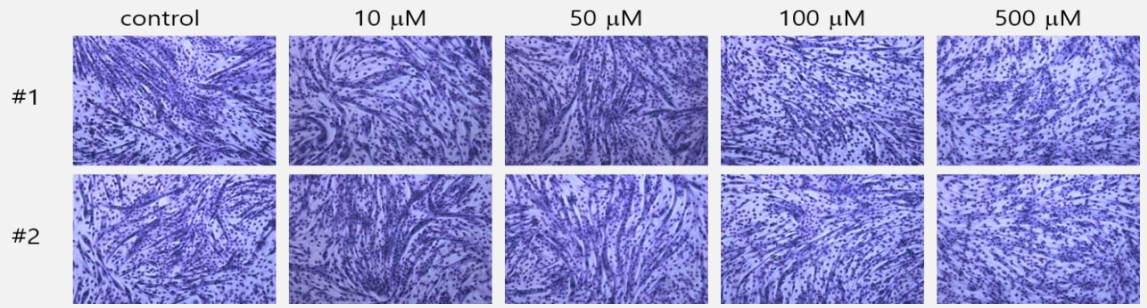
√ 피부 병변 및 림프기관 에서
Th2 Cytokine 감소
Th1 Cytokine 발현 증가
→ promote T-reg

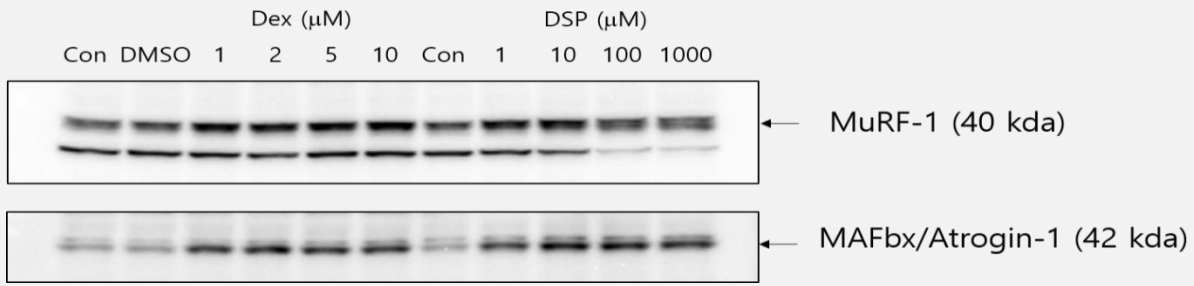
Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

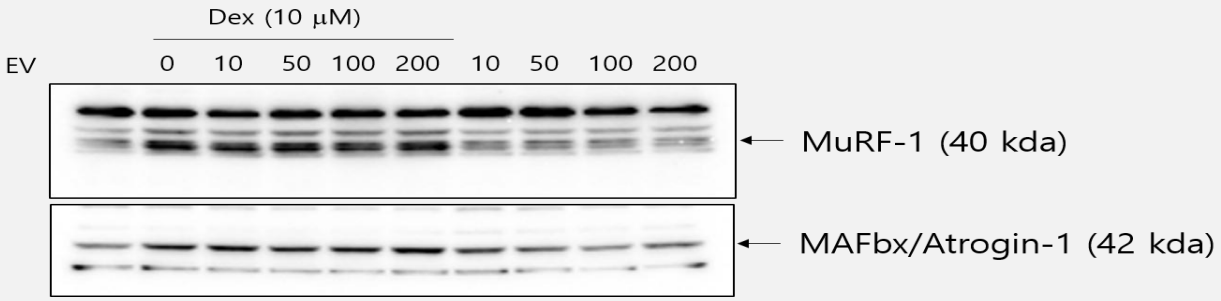
▣ 반려견 근감소증 세포외소포 전임상(세포실험)

⦿ 근아세포를 근관세포로 분화시킨 후, 근감소 유도제인 덱사메타손를 처리하여 근관세포의 폭과 길이가 줄어드는 현상을 측정하고, 이때, 근감소에서 유도되는 MuRF-1, Atrogin-1 단백질 증가가 억제되는 정도를 측정하여, **세포외소포의 용량을 결정하는 예비시험**을 수행하고 있습니다.

5) 근아세포 분화 및 EV 용량결정시험







Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ Cisplatin 유도 악액질 및 근감소 마우스 예비시험

⦿ Cisplatin으로 유도된 악액질 및 근감소 마우스 모델 유발 여부를 평가 (HLB바이오스텝)

1. 시험군 구성

군	성별	동물수 (마리)	동물번호	Cisplatin 투여	투여경로	Cisplatin 투여량 (mg/kg)	투여액량 (mL/kg)
G1	M	5	1-5	X	-	-	-
G2	M	5	6-10	O	IP	5	10
G3	M	5	11-15	O	IP	10	20
G4	M	5	16-20	O	IP	15	30

2. 결론 및 고찰

본 시험 조건하에서 투여개시 일자에 따른 사망 개체의 발생, 용량 상관성 있는 체중 수준의 감소, 근육량 측정결과 및 세뇨관 변성, 괴사 수준을 고려하여 종합하였을 때, Cisplatin을 이용한 악액질 및 근감소는 충분히 이루어진 것으로 사료

Figure 1. Body weights

BODY WEIGHTS

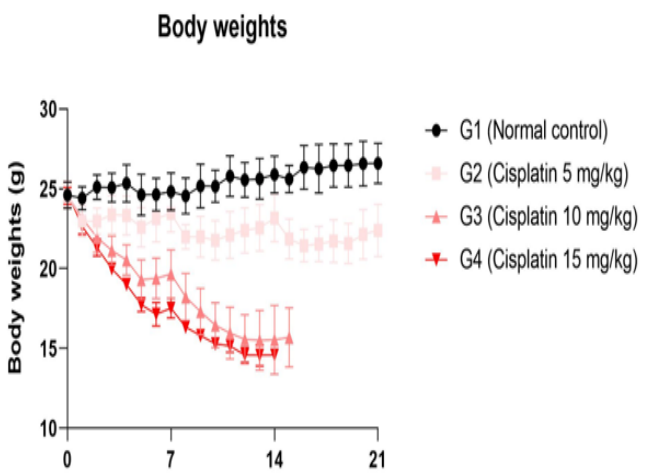


Figure 2. Food consumption

FOOD CONSUMPTION

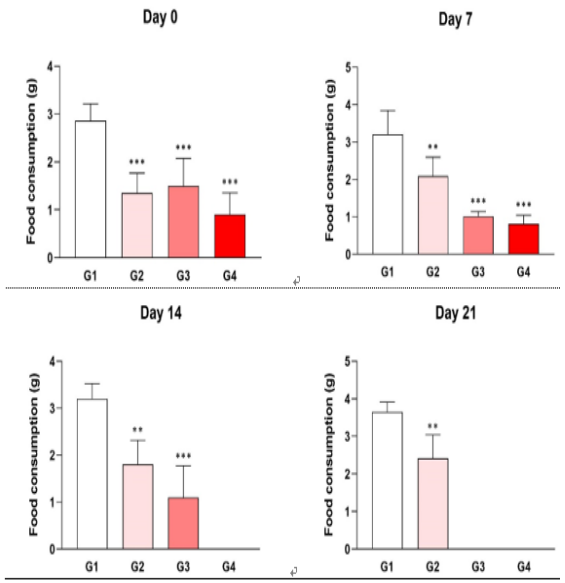


Figure 3. Organ weights

ORGAN WEIGHTS

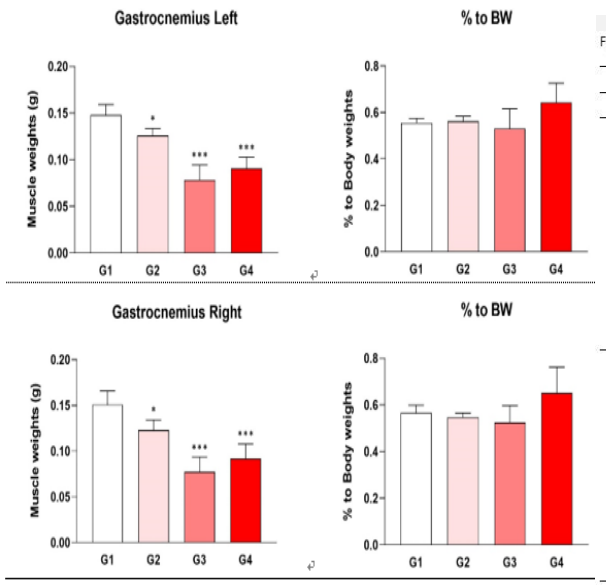


Figure 4. Histopathological examination

HISTOPATHOLOGICAL EXAMINATION

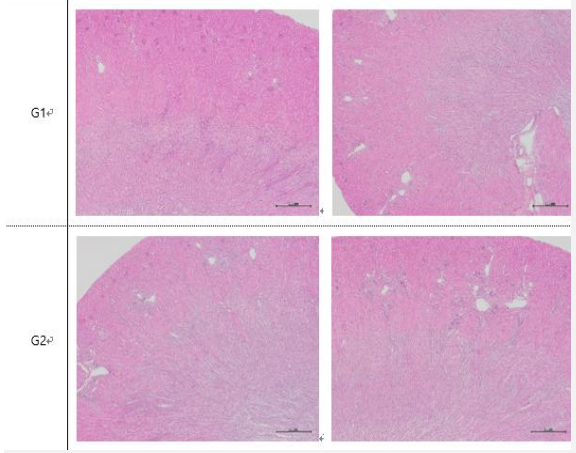
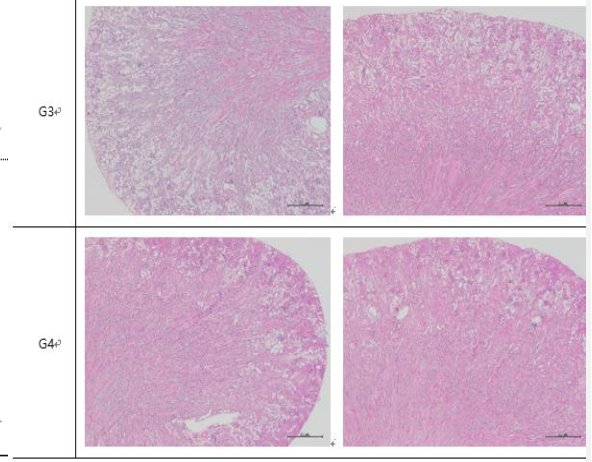


Figure 4. Histopathological examination

HISTOPATHOLOGICAL EXAMINATION



Copyright 2024 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 비임상 유효성 Mouse 실험(안)

CONFIDENTIAL

⦿ Cisplatin 유도 악액질 마우스모델에서 ①근감소와 ②급성 신손상에 대한 GCEV-001 유효성 평가

1. 용역 명

⦿ Cisplatin 유도 악액질 마우스모델에서 ①근감소와 ②급성 신손상에 대한 GCEV-001 유효성 평가

2. 용역 내용

구 분	내 용			
1. 실험동물	C57BL/6J 마우스, 수컷, 9주령			
2. 실험 종류	①근 감소증		②급성신손상	
3. 총 두수	25마리		25마리	
4. 악액질 유도 두수	악액질 유도 : 주 1회 Cisplatin 복강내 투여 20마리		악액질 유도주 1회 Cisplatin 복강내 투여 20마리	
5. 실험 두수	시험군 15마리	대조군 5마리	시험군 15마리	대조군 5마리
6. GCEV-001 유효성 평가	•근감소 억제율 평가 ①체중 측정 ②사료 섭취량 측정 ③Grip Strength 측정 ④Treadmill 측정 ⑤비복근 무게 측정	-	•급성 신손상 억제율 평가 ①Blood : creatinine, BUN 측정 ②Kidney : histopathology, immunohistochemistry	-

Copyright 2024 @ GNG Cell Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ cASC(canine Adipose Stem Cell) - EV 유래 miRNA 분석

⦿ Biomarker, 임상 진단 및 치료 표적 활용도 제고, 특허등록을 위하여 miRNA 분석을 진행하였습니다. ⇒ (miRNA 453종 확인)
Canine Mesenchymal-Stem-Cell-Derived Extracellular Vesicles Attenuate Atopic Dermatitis

ebiogen

RNA QC REPORT

| 보고날짜 : 2021년 06월 03일
| 서비스명 : exosomalNA-seq
| 고객정보 : 지앤지셀, 윤병분

1. RNA QC Result

No.	Sample	Nano-drop (ND 2000)				Bioanalyzer (pico)		Result
		ng/µl	Total (µg)	OD 260/280	OD 260/230	Ratio (28s/18s)	RIN	
1	cASCEV	91.9	1.102	1.85	1.65	0.0	2.8	상담후진행

■ **Guide line**

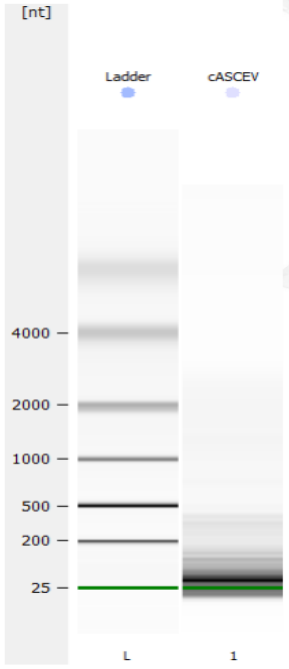
- **실험 가능** : 아래 모든 기준을 통과한 시료.
  (1) **Conc. : 1ng/ul**
  (2)-1 : 진핵생물의 경우, Ratio(28s/18s): >1.0, RIN value: >7.0
  (2)-2 : 원핵생물의 경우, migration pattern으로 degradation여부 평가
  (2)-3 : Exosomal RNA의 경우, migration pattern, peak pattern으로 평가

- **상담 후 진행** : 실험 가능 기준에 미치지 못하는 샘플은 실험 진행을 위하여 모두 상담 필요.

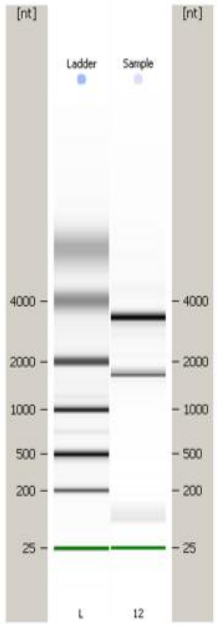
2-1. Bioanalyzer QC Data (Peak pattern)

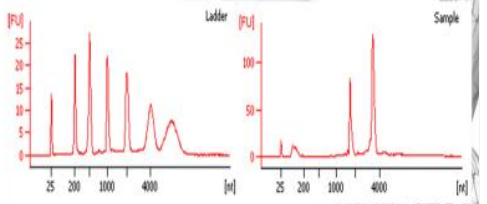
2.Bioanalyzer QC Data (Migration pattern)

Lane	Sample Name
1	cASCEV



Test case & standard ladder





	Ratio (28s / 18s)	RIN
Sample	2.1	10.0

- RIN (RNA Integrity Number) :

Agilent 2100 Bioanalyzer를 이용하여 total RNA의 quality를 측정함.

본 장비에서 제시하는 RIN 값은 migration 및 peak pattern, 28s/18s ribosomal RNA의 비율을 근거로 한 통계적인 수치로서 1 ~ 10의 범위를 가지며, 진핵생물 total RNA samples의 quality 지표로 사용되고 있음.

High quality 시료를 요하는 DNA microarray analysis를 위한 권장 값은 7.0 이상임.

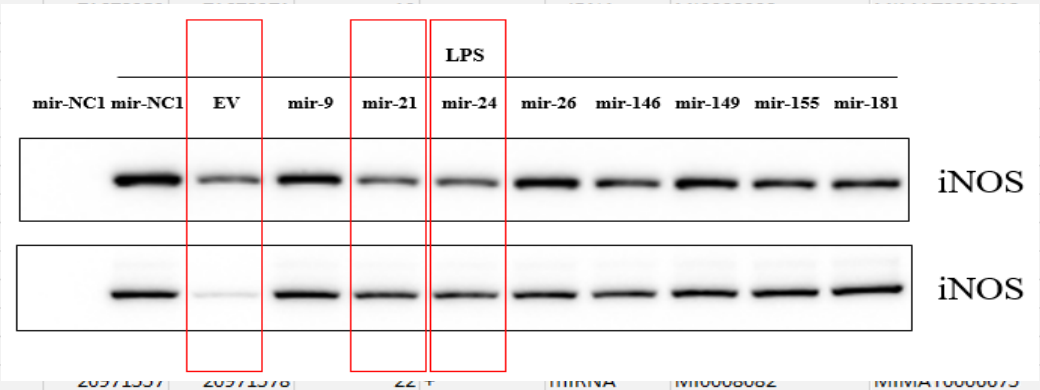
Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ cASC-EV 유래 miRNA 분석(miRNA 453종 확인)

⦿ Biomarker, 임상 진단 및 치료 표적 활용도 제고, 특허등록을 위하여 miRNA 분석을 진행하였습니다.
Canine Mesenchymal-Stem-Cell-Derived Extracellular Vesicles Attenuate Atopic Dermatitis

miR-21 has emerged as a key mediator of anti-inflammatory responses in macrophages

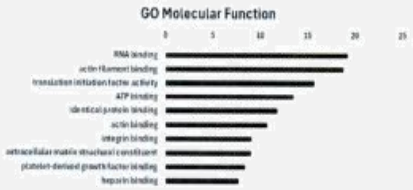
		Raw data	Annotation										Target predicition
ID	Gene symbol	read count	matual_id	seqnames	start	end	width	strand	type	Derives_from	Alias	Sequence	miRBase search
157	cfa-miR-21	16445	cfa-miR-21	chr9	34340550	34340571	22	+	miRNA	MI0008165	MIMAT0006741	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA	cfa-miR-21
37	cfa-miR-148a	4974	cfa-miR-148a	chr14	39301847	39301868	22	-	miRNA	MI0008018	MIMAT0006622	UCAGUGCACUACAGAACUUUGU	cfa-miR-148a
58	cfa-miR-199	4654	cfa-miR-199	chr20	50410964	50410984	21	+	miRNA	MI0008042	MIMAT0006642	ACAGUAGUCUGCACAUUGGUU	cfa-miR-199
25	cfa-let-7f	2754	cfa-let-7f	chr1	97903987	97904008	22	-	miRNA	MI0008006	MIMAT0006610	UGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUU	cfa-let-7f
28	cfa-miR-27b	2267	cfa-miR-27b	chr1	71678117	71678137	21	-	miRNA	MI0008009	MIMAT0006613	UUCACAGUGGCUAAGUUCUGC	cfa-miR-27b
84	cfa-miR-99a	1978	cfa-miR-99a	chr31	13258782	13258802	21	+	miRNA	MI0008075	MIMAT0006668	AACCCGUAGAUCCGAUCUUGU	cfa-miR-99a
41	cfa-miR-29a	1752	cfa-miR-29a	chr14	6184882	6184903	22	+	miRNA	MI0008022	MIMAT0006626	UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA	cfa-miR-29a
53	cfa-let-7g	1623	cfa-let-7g	chr20	37501074	37501095	22	+	miRNA	MI0008036	MIMAT0006637	UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU	cfa-let-7g
98	cfa-miR-143	1521	cfa-miR-143	chr4	59534535	59534555	21	-	miRNA	MI0008092	MIMAT0006682	UGAGAUGAAGCACUGUAGCUC	cfa-miR-143
367	cfa-miR-8859a	1277	cfa-miR-8859a	chr18	46690410	46690431	22	-	miRNA	MI0027950	MIMAT0034354	UGGAUCGGAGCCGGGGUCCGGA	cfa-miR-8859a
29	cfa-miR-24	1247	cfa-miR-24	chr1	71677608	71677630	23	-	miRNA	MI0008010	MIMAT0006614	UGGCUCAGUUCAGCAGGAACAGG	cfa-miR-24
9	cfa-miR-26a	1221	cfa-miR-26a	chr10	1880551	1880572	22	-	miRNA	MI0007990	MIMAT0006595	UUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCU	cfa-miR-26a
8	cfa-let-7a	1007	cfa-let-7a	chr10	20034366	20034387	22	-	miRNA	MI0007989	MIMAT0006594	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	cfa-let-7a
186	cfa-let-7b	751	cfa-let-7b	chr10	20033446	20033467	22	-	miRNA	MI0010329	MIMAT0009836	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUU	cfa-let-7b
57	cfa-miR-27a	642	cfa-miR-27a	chr20	48620596	48620615	20	+	miRNA	MI0008040	MIMAT0006641	UUCACAGUGGCUAAGUUCCG	cfa-miR-27a
124	cfa-miR-181a	592	cfa-miR-181a	chr7	4055465	4055486	22	+	miRNA	MI0008126	MIMAT0006707	AACAUUCAACGCUGUCGGUGAG	cfa-miR-181a
31	cfa-miR-30d	494	cfa-miR-30d	chr13	30910342	30910365	24	-	miRNA	MI0008012	MIMAT0006616	UGUAAACAUCCCCGACUGGAAGCU	cfa-miR-30d
86	cfa-miR-125b	429	cfa-miR-125b	chr31	13304980	13305001	22	+	miRNA	MI0008077	MIMAT0006670	UCCCUGAGACCCUAACUUGUGA	cfa-miR-125b
27	cfa-miR-23b	423	cfa-miR-23b	chr1								AUCACAUUGCCAGGGAUUA	cfa-miR-23b
173	cfa-miR-221	404	cfa-miR-221	chrX								AGCUACAUUGUCUGCUGGGUUU	cfa-miR-221
56	cfa-miR-23a	374	cfa-miR-23a	chr20								AUCACAUUGCCAGGGAUUU	cfa-miR-23a
99	cfa-miR-378	320	cfa-miR-378	chr4								ACUGGACUUGGAGUCAGAAGGC	cfa-miR-378
20	cfa-miR-30c	310	cfa-miR-30c	chr12								UGUAAACAUCCUACACUCUCAGCU	cfa-miR-30c
94	cfa-miR-26b	280	cfa-miR-26b	chr37								UUCAAGUAAUUCAGGAUAGGUU	cfa-miR-26b
22	cfa-miR-99b	268	cfa-miR-99b	chr1								CACCCGUAGAACCGACCUUGCG	cfa-miR-99b
153	cfa-miR-10a	265	cfa-miR-10a	chr9								UACCCUGUAGAUCCGAAUUUGU	cfa-miR-10a
149	cfa-miR-22	259	cfa-miR-22	chr9								AAGCUGCCAGUUGAAGAACUGU	cfa-miR-22
154	cfa-miR-152	240	cfa-miR-152	chr9								UCAGUGCAUGACAGAACUUGG	cfa-miR-152
74	cfa-miR-320	207	cfa-miR-320	chr25								AAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGA	cfa-miR-320
69	cfa-miR-92a	194	cfa-miR-92a	chr22								UAUUGCACUUGUCCCGGCCUGU	cfa-miR-92a
213	cfa-miR-145	188	cfa-miR-145	chr4								GUCCAGUUUUCCCAGGAAUCCCU	cfa-miR-145
91	cfa-miR-28	184	cfa-miR-28	chr34								CACUAGAUUGUGAGCUCCUGGA	cfa-miR-28



Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

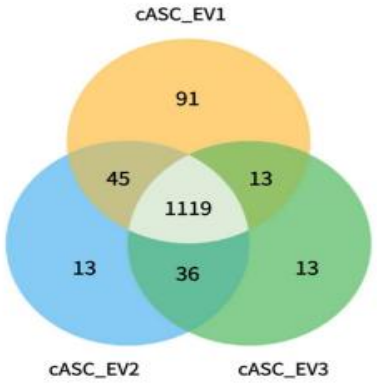
▣ cASC-EV 유래 단백질체 분석(총 1,119개 확인)

⦿Canine Exosome 시료의 프로테오믹스 분석 : (이바이오젠 24.04.11)

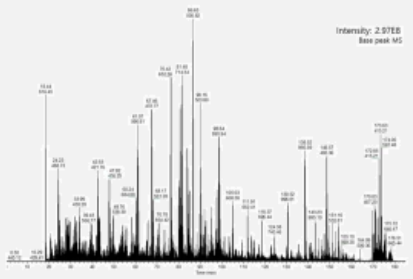
	프로그램 계획서 내용	계획대비 결과
	▪ 세포외소포치료제의 단백질체 분석 ▪ 실증검증기관 : ㈜이바이오젠	▪ 세포외소포치료제의 단백질체 분석 - 총 1,119 개의 단백질 동정 - 단백질 주요 기능 • RNA binding • cytoskeleton binding • translation initiation • ATP binding • ECM binding  ▪ 실증검증기관 : ㈜이바이오젠

6.1. Venn Diagram

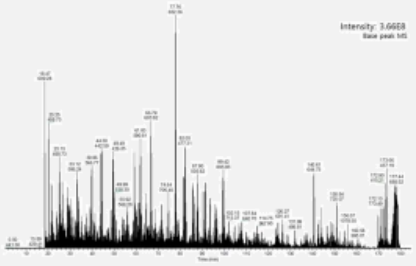
기준: Normalized data (log2) 의 Average 값



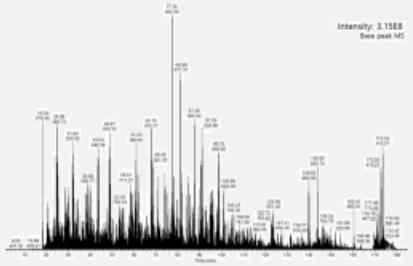
※Canine Exosome 시료의 프로테오믹스 분석을 위해, nano-LC / Exploris 480 장비를 이용하여 3 개의 시료를 총 3 번 run의 분석을 진행함



cASC_EV1



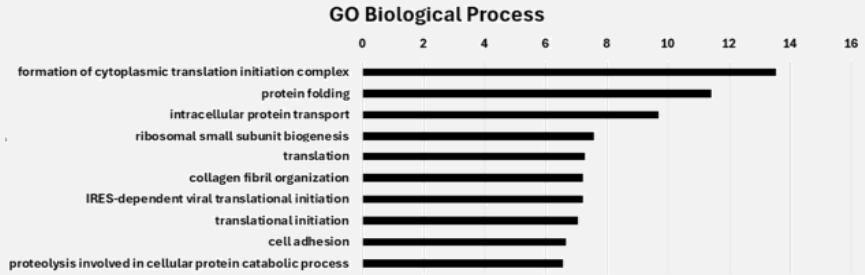
cASC_EV2



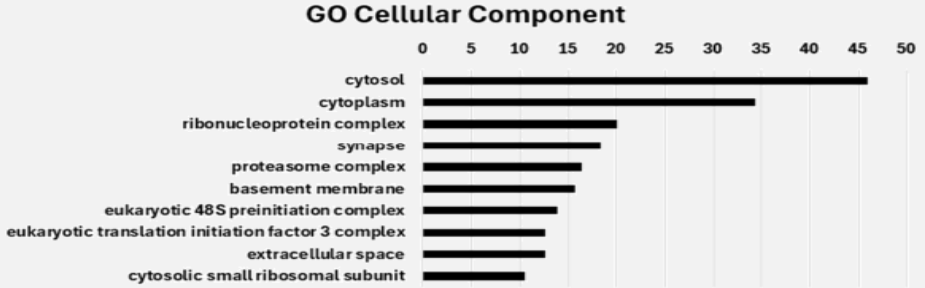
cASC_EV3

6.2. Enrichment Gene Ontology Top10 (using DAVID tools)

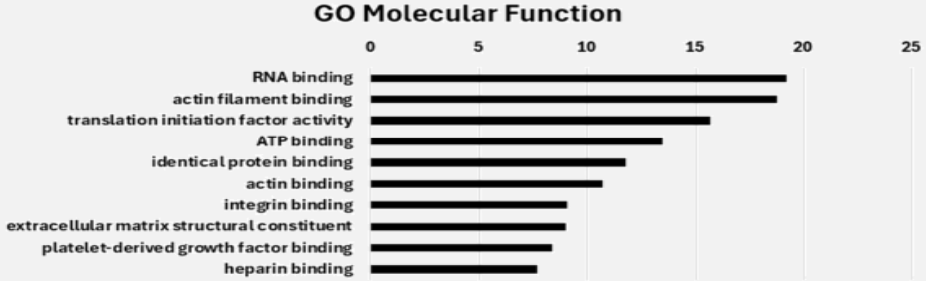
-GO Biological Process



-GO Cellular Component



-GO Molecular Function



Copyright 2024 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 세포외소포치료제 생산 CMC (품질 및 정도관리) 확립

⦿ 검역본부의 임상승인과 품목허가에 대비하기 위한 품질 및 정도관리(CMC)를 해외 학회와 정부의 가이드라인에 맞추어 마련하였습니다.
CMC (Chemistry, Manufacturing and Control) → 원료와 제품의 품질, 제조공정이 일관성있게 조절 관리됨을 문서로 입증

⦿ 세포외소포치료제 제조 및 품질시험 가이드라인

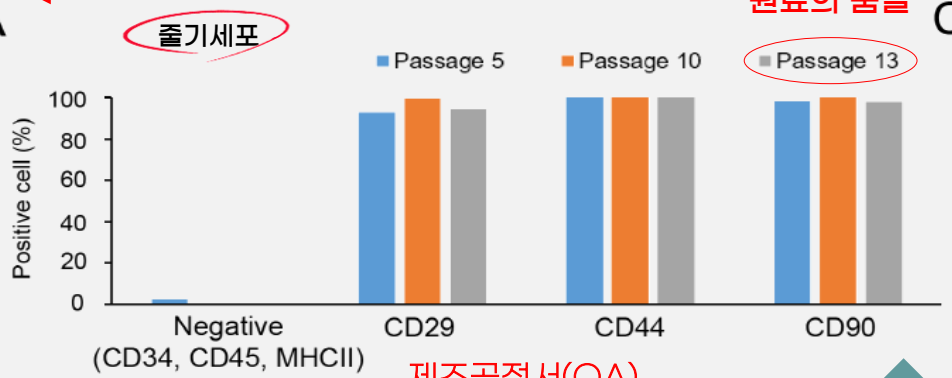
- Minimal Information for Studies of Extracellular Vesicles (2018)
- The Korea Ministry of Food and Drug Safety EV Guideline (식약처 2018)

세포외소포치료제 품질, 비임상 및 임상 평가 가이드라인
[민원인 안내서]
(Guideline on Quality, Non-clinical and Clinical Assessment of Extracellular Vesicles Therapy Products)

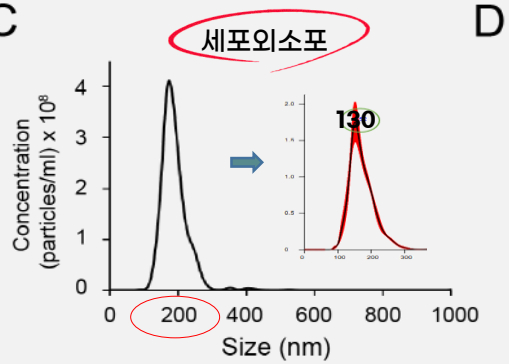
- 줄기세포 유래 세포외소포 치료제 품질· 비임상 평가 정보집 (식약처 2021.12)

원료의 품질

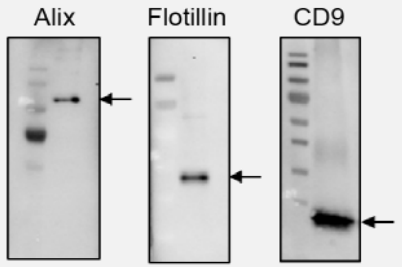
A



C



D



제조공정서(QA)

항목	시험 내용
GNG-QC-SOP-001	Canine stem cell 분리, 배양, 동결 및 해동
GNG-QC-SOP-002	Flow cytometry analysis
GNG-QC-SOP-003	세포증식 (CCK-method)
GNG-QC-SOP-004	NTA (Nanoparticle Tacking Analysis)
GNG-QC-SOP-005	ELISA
GNG-QC-SOP-006	NO assay
GNG-QC-SOP-007	qPCR
GNG-QC-SOP-008	Western Blot

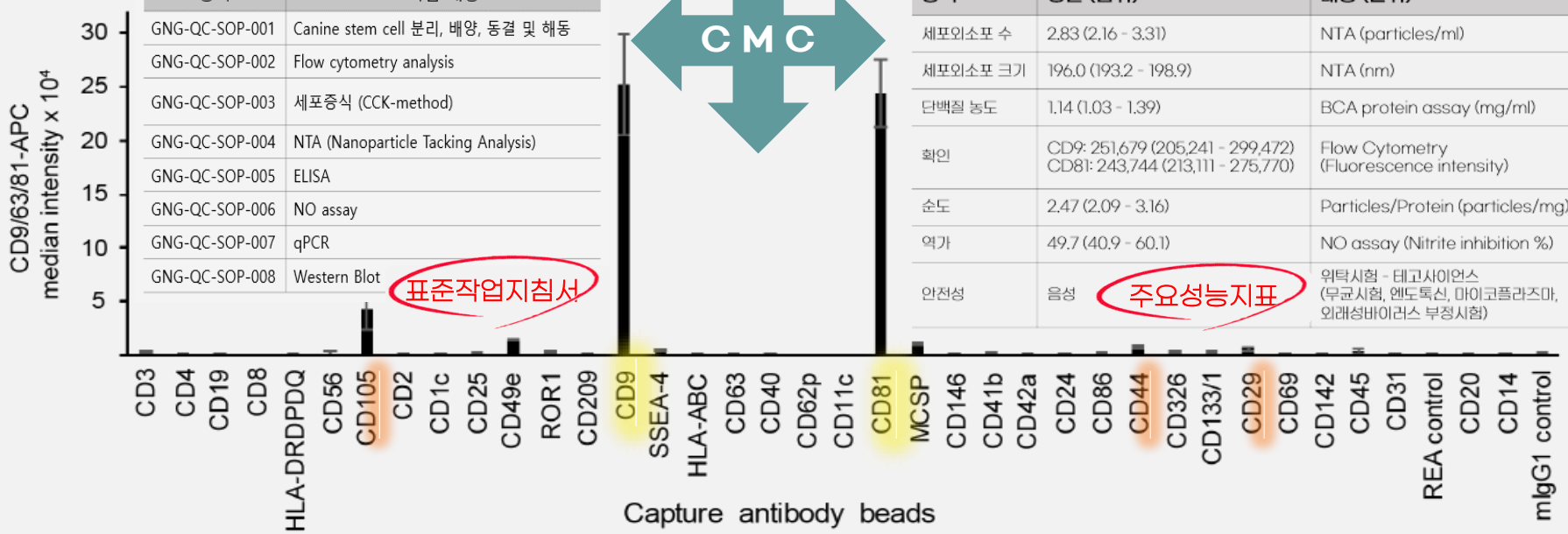
표준작업지침서

CMC

제품의 품질(QC) → COA

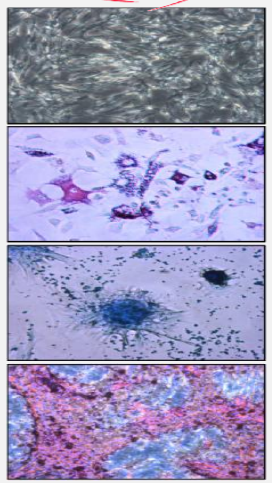
항목	평균 (범위)	내용 (단위)
세포외소포 수	2.83 (2.16 - 3.31)	NTA (particles/ml)
세포외소포 크기	196.0 (193.2 - 198.9)	NTA (nm)
단백질 농도	1.14 (1.03 - 1.39)	BCA protein assay (mg/ml)
확인	CD9: 251,679 (205,241 - 299,472) CD81: 243,744 (213,111 - 275,770)	Flow Cytometry (Fluorescence intensity)
순도	2.47 (2.09 - 3.16)	Particles/Protein (particles/mg)
역가	49.7 (40.9 - 60.1)	NO assay (Nitrite inhibition %)
안전성	음성	위탁시험 - 테고사이언스 (무균시험, 엔도톡신, 마이코플라즈마, 외래성바이러스 부정시험)

주요성능지표



B

줄기세포



Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ cASC(canine Adipose Stem Cell)-EV 성능지표 및 측정방법 (TIPS 제출)

⊙ 2023년 TIPS과제에 제출한 ① 반려견 세포외소포치료제의 KVGMPLH 대량생산 시, 성능지표 및 측정 방법과 ② 반려견 근감소증 치료제 개발을 위한 동물모델에서의 비임상 유효성 평가 항목 및 평가방법에 대한 기준과 설명입니다.

1. 세포외소포의 성능지표

평가항목 (주요성능)	단위	전체항목에서 차지하는 비중(%)	세계 최고 수준 보유국/보유기관	연구개발 전 국내수준	목표 설정 근거	연구개발 목표치
			성능수준	성능수준		목표치 (23-25)
줄기세포배양규모 / Lot	L	10	미국/FDA	1	예비 연구	20 이상
			0.15	1		
세포외소포 수득률	%	20	스위스/Istituto Cardiocentro Ticino	10	예비 연구	20 이상
			30	10		
세포외소포 생산량	particle	10	스위스/Istituto Cardiocentro Ticino	5X10^11	성능 지표	1X10^13 이상
			1X10^13	5X10^11		
NO 억제능 / EV 10^9 particle	%	10	자료 없음	50	예비 연구	60 이상
			자료 없음	50		
근아세포증식능 / EV 10^9 particle	%	10	차의과대학	10	SCI 논문	30 이상
			30	10		
근육분해 경로 단백질 감소능 / EV 10^9 particle	%	10	중국	10	SCI 논문	30 이상
			50	10		
근관세포 직경 증가율 / EV 10^9 particles	%	10	중국	10	SCI 논문	30 이상
			50	10		
마우스 근육량 증가율 / EV 10^10 particle	%	20	중국	10	SCI 논문	30 이상
			50	10		

2. 세포외소포의 평가방법 및 평가환경

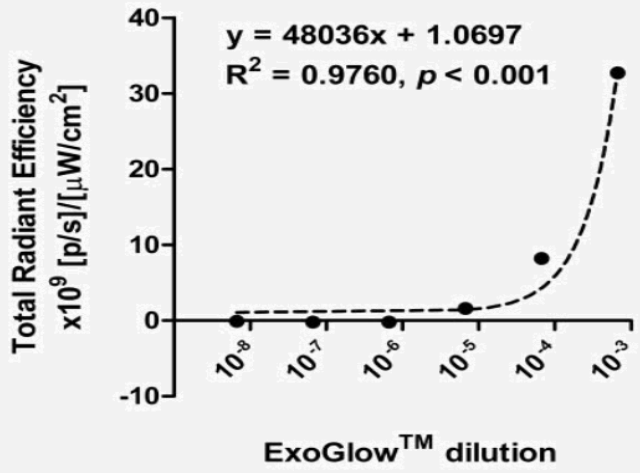
순번	평가항목 (성능지표)	평가방법	평가환경	
			자체	공인기관
1	줄기세포 배양 규모/LOT	줄기세포 배양 Scale	자체 생산 개발	KVGMP 위탁생산
2	세포외소포 수득률	최종 제품 총 EV particle / 배양액 EV 총 particle		
3	세포외소포 생산량	배치 당 총 EV particle		
4	NO 억제능 / EV 10^9 particle	마우스 대식세포에 LPS처리에 의한 세포외소포의 NO생성 억제율 측정	자체 실험 평가	SCI 논문 심사
5	근아세포증식능 / EV 10^9 particle	세포외소포에 의한 근아세포에 증식율 CCK-8 측정		
6	근육분해 경로 단백질 감소능 /EV 10^9 particle	세포외소포에 의한 근육분해 단백질 (MuRF-1, Atrogin-1) 감소율 측정		
7	근관세포 직경 증가율 / EV 10^9 particles	세포외소포에 의한 근관세포 직경 증가율 측정		
8	마우스 근육량 증가율 / EV 10^10 particle	세포외소포에 의한 마우스 근육량 증가율 측정	동물의약품 비임상시험 지정기관	

Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

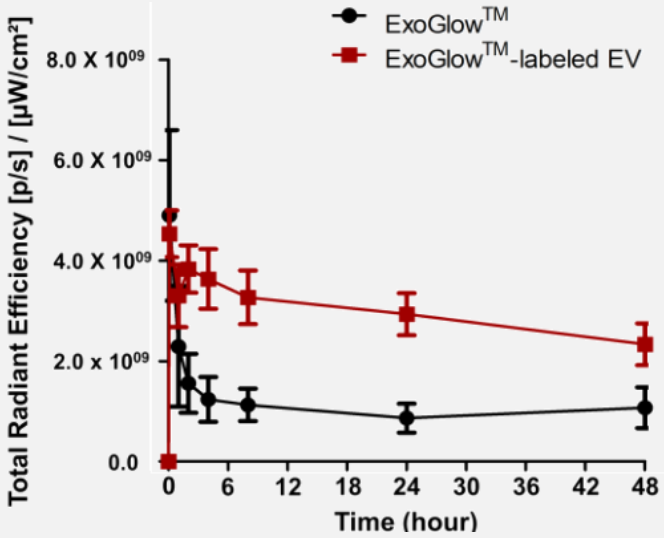
▣ cASC-EV 분포 평가

⦿ 세포외소포를 형광물질로 표지한 뒤 피하 투여하여 체내 분포를 평가. 투여 부위를 시간별로 측정하였을 때 표지 물질 단독군에 비해 체내 잔류시간이 증가함을 확인할 수 있었고, 장기 내 분포는 간>폐>비장>피부>신장 순으로 확인됩니다.

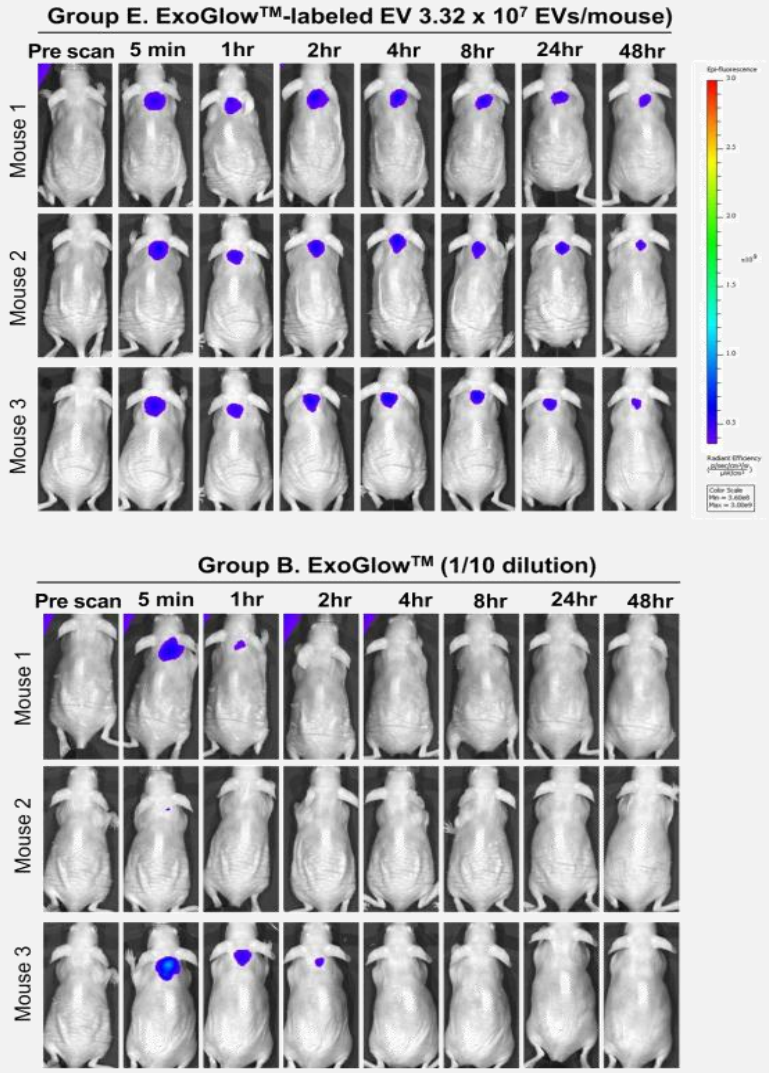
A.



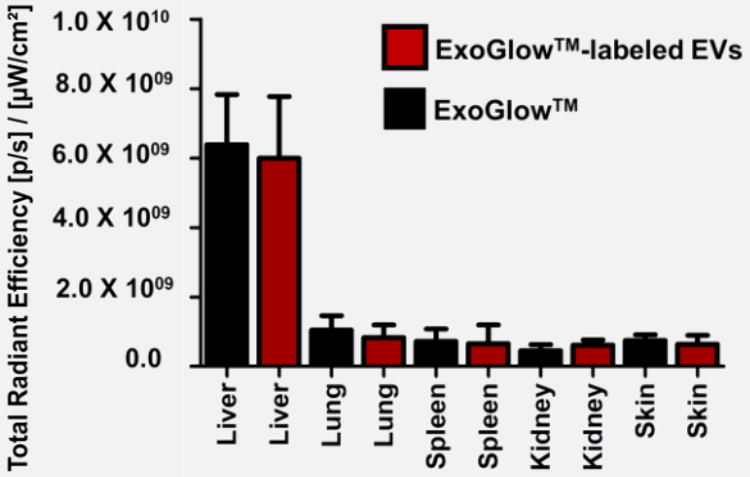
B.



C.



D.



Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

GNG CELL

▣ 검역본부 동물용 세포외소포치료제 가이드라인 과제 논문 요약

CONFIDENTIAL

⦿ Canine Mesenchymal-Stem-Cell-Derived Extracellular Vesicles Attenuate Atopic Dermatitis

(Mesenchymal-Stem-Cell-Derived Extracellular Vesicles Attenuate Atopic Dermatitis. Animals 2023, 13, 2215. https://doi.org/10.3390/ ani13132215)

1. ExoCoBio 엑소좀 연구소(EEI) 2. 한국건설생활환경시험연구원 3. 에이치엘비바이오스텝(주) 연구센터 4. 충남대학교 수의과대학 수의의료영상학과 5. 한국마사회 제주지방본부 승마클리닉

Canine Mesenchymal-Stem-Cell-Derived Extracellular Vesicles Attenuate Atopic Dermatitis

1. 아토피 피부염, 중간엽 줄기세포, 개 지방줄기세포 유래 세포외소포 정의 및 소개	2-11-5 조직병리학적 평가 (비만세포의 침윤)
2. 연구재료 및 방법	2-11-6 면역조직화학 (TSLP, CD86)
2-1 개 ASC(cASC)의 분리 및 배양	2-12 생체 내 독성 연구
2-2 유세포 분석기(FACs)를 활용한 cASC 표현형 특성 분석	2-12-1 단일 용량 독성 (4개 그룹, n=10)
2-3 RT- PCR을 활용한 cASC 표현형 특성 분석	2-12-2 반복 투여 독성 연구 (28일, 4개 그룹, n=20)
2-4 골형성 분화	2-13 마이크로 RNA 프로파일링
2-5 연골 분화	2-14 통계분석
2-6 지방 분화	3. 결과
2-7 RT- qPCR을 활용한 총 RNA 추출	3-1 개 지방조직 유래 중간엽 줄기세포(cASC)의 특성 분석
2-8 cASC - EV의 분리 (접선유동여과, TFF)	3-2 cASC의 분화 표현형 (골형성, 지방형성, 연골형성)
2-9 cASC - EV 정량화 (NTA : 크기, 수) (Micro BCA : 단백질 정량)	3-3 cASC 유래 세포외소포체의 분리 및 특성 규명
2-10 엑소좀 표면 마커의 비드 기반 유세포 분석	3-4 아토피 유발 마우스의 피부병변 개선에 따른 EV의 효과
2-11 생체 내 효능 연구	3-5 생체 내 AD증상 개선 효과 (TSLP, CD86 감소)
2-11-1 동물 및 연구 설계 동물관리 및 실험 (6개 그룹, n=8)	3-6 생체 내 독성 연구
2-11-2 AD의 임상적 관찰	3-6-1 단일 요량 독성
2-11-3 총 혈청 IgE 측정	3-6-2 반복 투여 독성 연구 (28일)
2-11-4 정량적 실시간 PCR 분석 (염증성 사이토카인의 mRNA)	3-7 cASC유래 EV의 MicroRNA 프로파일링 (798개 miRNA분석)

※ 가이드라인 과제 논문보다 GNG CELL 논문(2022.04)이 먼저 발간되었으며, "생산되는 배지의 일관성(consistency)과 동등성(comparability) 유지 필수 요건인 세포은행 구축" 과 세포외소포의 생체내 분포평가 시험이 추가되어 있음.

Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 세포외소포 분석 서비스 의뢰

⦿ 바이오드론(BioDrone™) 플랫폼 개발 기업인 엠디뮨의 '단일 나노 입자 분석(single nanoparticle analysis)' 서비스 의뢰 → 세포외소포의 개수 및 크기 분포, 균일성, 표면 마커의 존재 유무 등 특성 파악 (경쟁기관을 통한 cross check)

MDimune | Result of Analysis (ROA-23-012) | Page: 1 / 1

Result of Analysis

1. General Information

- Product Name: GNG Cell EVs
- Storage Condition: Dried ice
- Manufacturing Date: N/A
- Expiry Date: N/A

2. Sample Information

Batch No.	Sample Description
GNG Cell EVs	Samples were shipped on dried ice

3. Test Items and Results

Test Items	Result	SOP
Particle Concentration with Zetaview	1.1E+10 Particles/mL	EMS-A001-V02
Particle Size with Zetaview	154 nm	EMS-A001-V02
PDI with DLS	0.25	EMS-A003-V02
Particle Size with DLS	118 nm	
RNA with Qubit 4	<LLOQ* (0.420 μg/mL)	QCS-3012
DNA with Qubit 4	<LLOQ* (0.0468 μg/mL)	EMS-A010-V01
Protein with Qubit 4	57 μg/mL	EMS-A006-V02
Percentage of CD63(+) with nanoFCM	0 %	QCS-3020
Percentage of CD81(+) with nanoFCM	11.5 %	
Percentage of CD9(+) with nanoFCM	0 %	

* Low limit of quantification

4. Comments

The above information is authentic and accurate.

5. Signatures

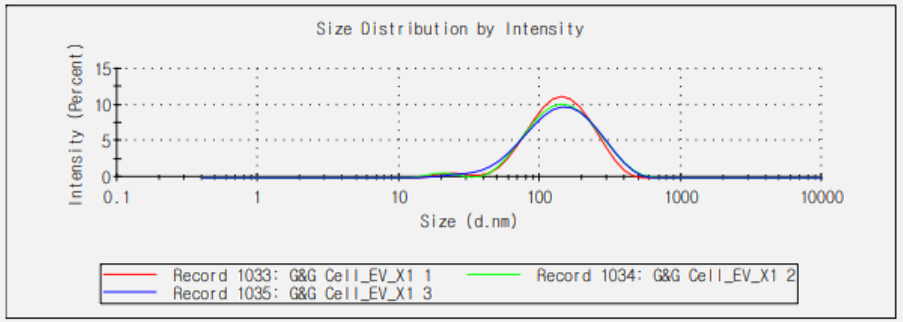
Prepared By: 김 민 철 Date: 2023. 06. 08

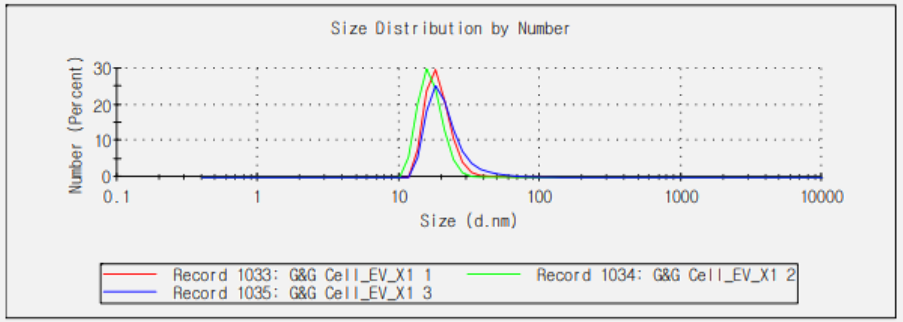
Reviewed By: 서 [illegible] Date: 2023. 06. 08

※ PDI(poly dispersity index) with DLS : 0.25
PDI 값 : 0에 가까울수록 단분산(균일), 1에 가까울수록 다분산(비균일)

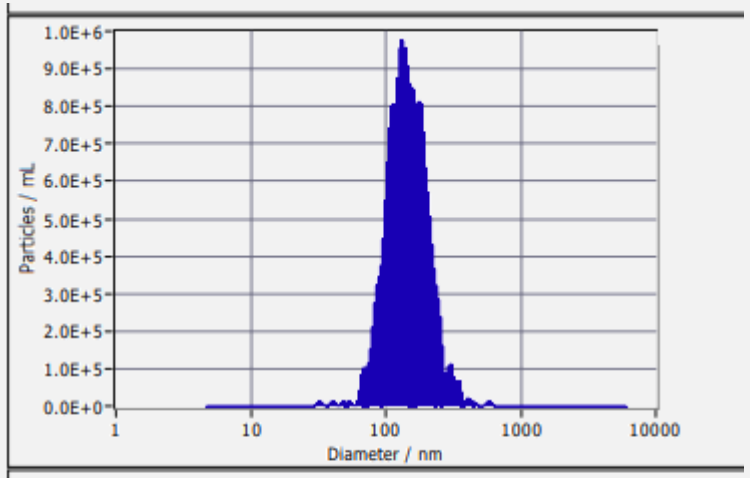
▶ Dynamic Light Scattering vs Nano particle Tracking Analysis

DLS의 입도 분석 결과는 Intensity%, NTA의 입도 분석 결과는 Number%를 신뢰





PARTICLE METRIX ZETAVIEW® www.particle-metrix.com



Peak Analysis (Concentration)

Diameter / nm	Particles/mL	FWHM / nm	Percentage
133.8	9.7E+5	116.4	96.8
300.6	1.1E+5	73.0	3.2

※ 세포외소포 평균 size 133.8nm, 96.8%

Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

GNG CELL

▣ 세포외소포 분석 서비스 의뢰

MDimune

CONFIDENTIAL

⦿ 바이오드론(BioDrone™) 플랫폼 개발 기업인 엠디뮨의 '단일 나노 입자 분석(single nanoparticle analysis)' 서비스 의뢰 → 세포외소포의 개수 및 크기 분포, 균일성, 표면 마커의 존재 유무 등 특성 파악 (경쟁기관을 통한 cross check)

엠디뮨은 Nano-Flow Cytometry Analysis를 포함하여 아래와 같은 분석 서비스를 제공합니다

기본 분석항목		분석방법	장비	서비스 소개
표면 마커 패턴		Nano-flow cytometry	Flow Nano-Analyzer	▪ 단일 나노입자 표면 단백질을 분석하기 위해 사용됩니다. ▪ Immunoassay를 활용하여 nano-flow cytometry 분석 시, antibody 확인을 위해 bead fluorescence-activated cell sorting (FACS) 분석이
입자 크기/농도 직경 크기 분포		Nanoparticle Tracking Analysis (NTA)	Zetaview	▪ 용매에서 브라운 운동을 하고 있는 나노입자를 추적하여 입자의 직경 크기 ▪ 측정 입자 크기 범위: 10~1000 nm ▪ 측정 농도 범위: $1x10^8$ particles/mL 이상
입자 크기 입자 전하(제타 전위) 다분산지수(PDI)		Dynamic Light Scattering (DLS)	Zetasizer	▪ 용매에서 광원을 조사하여 브라운 운동 하고 있는 나노입자의 크기, 전하, ▪ 측정 입자 크기 범위: 10~1000 nm ▪ 측정 농도 범위: $5x10^9$ particles/mL 이상
함량 분석	총 RNA량	RNA Quantitation	Qubit 4 Fluorometer	▪ 샘플 내 총 RNA 함량 측정을 위한 분석법입니다. ▪ 측정 농도 범위: 0.5~10 μg/mL **0.420 μg/mℓ**
	총 DNA량	DNA Quantitation	Qubit 4 Fluorometer	▪ 샘플 내 총 DNA 함량 측정을 위한 분석법입니다. ▪ 측정 농도 범위: 0.1~10 μg/mL **0.0468 μg/mℓ**
	총 Protein량	Protein Quantitation	Qubit 4 Fluorometer	▪ 샘플 내 총 단백질 함량 측정을 위한 분석법입니다. ▪ 측정 농도 범위: 50~300 μg/mL **57 μg/mℓ**

MDimune | Result of Analysis (ROA-23-012) | Page: 1 / 1

Result of Analysis

1. General Information

- Product Name: GNG Cell EVs
- Storage Condition: Dried ice
- Manufacturing Date: N/A
- Expiry Date: N/A

2. Sample Information

Batch No.	Sample Description
GNG Cell EVs	Samples were shipped on dried ice

3. Test Items and Results

Test Items	Result	SOP
Particle Concentration with Zetaview	1.1E+10 Particles/mL	EMS-A001-V02
Particle Size with Zetaview	154 nm	EMS-A001-V02
PDI with DLS Particle Size with DLS	0.25 118 nm	EMS-A003-V02
RNA with Qubit 4	<LLOQ* (0.420 μg/mL)	QCS-3012
DNA with Qubit 4	<LLOQ* (0.0468 μg/mL)	EMS-A010-V01
Protein with Qubit 4	57 μg/mL	EMS-A006-V02
Percentage of CD63(+) with nanoFCM	0 %	QCS-3020
Percentage of CD81(+) with nanoFCM	11.5 %	
Percentage of CD9(+) with nanoFCM	0 %	

* Low limit of quantification

4. Comments

The above information is authentic and accurate.

5. Signatures

Prepared By: 정 민 철 Date: 2023. 06. 08

Reviewed By: 서 [illegible] Date: 2023. 06. 08

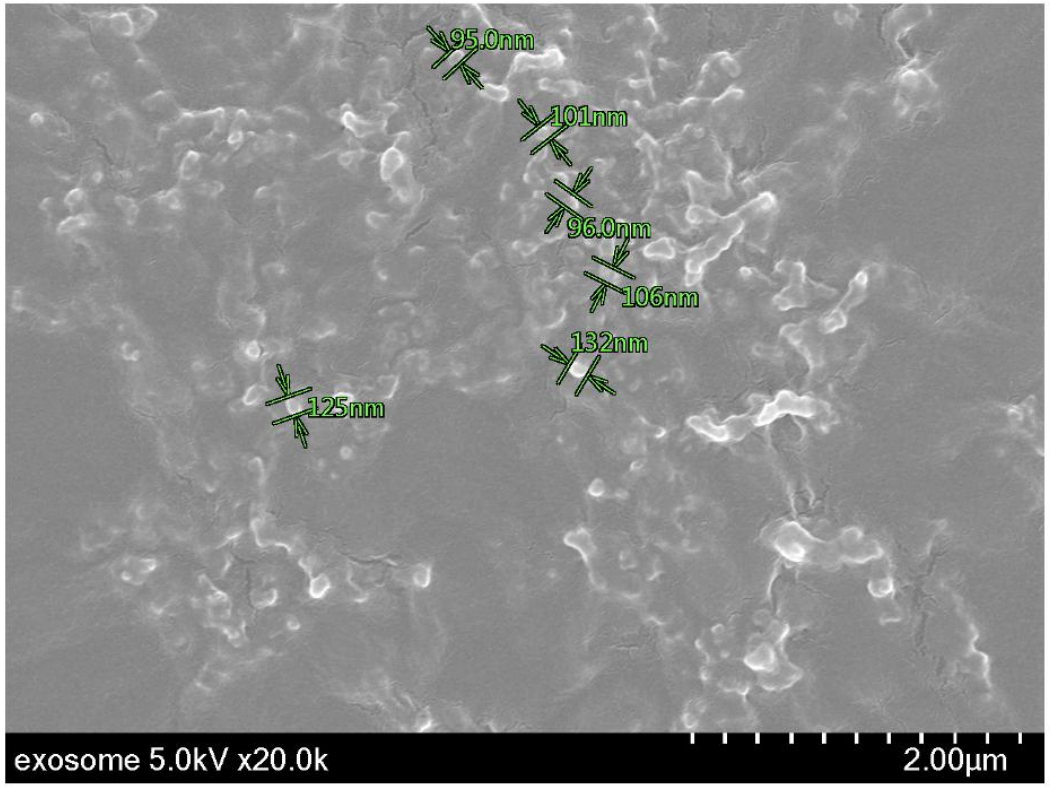
Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

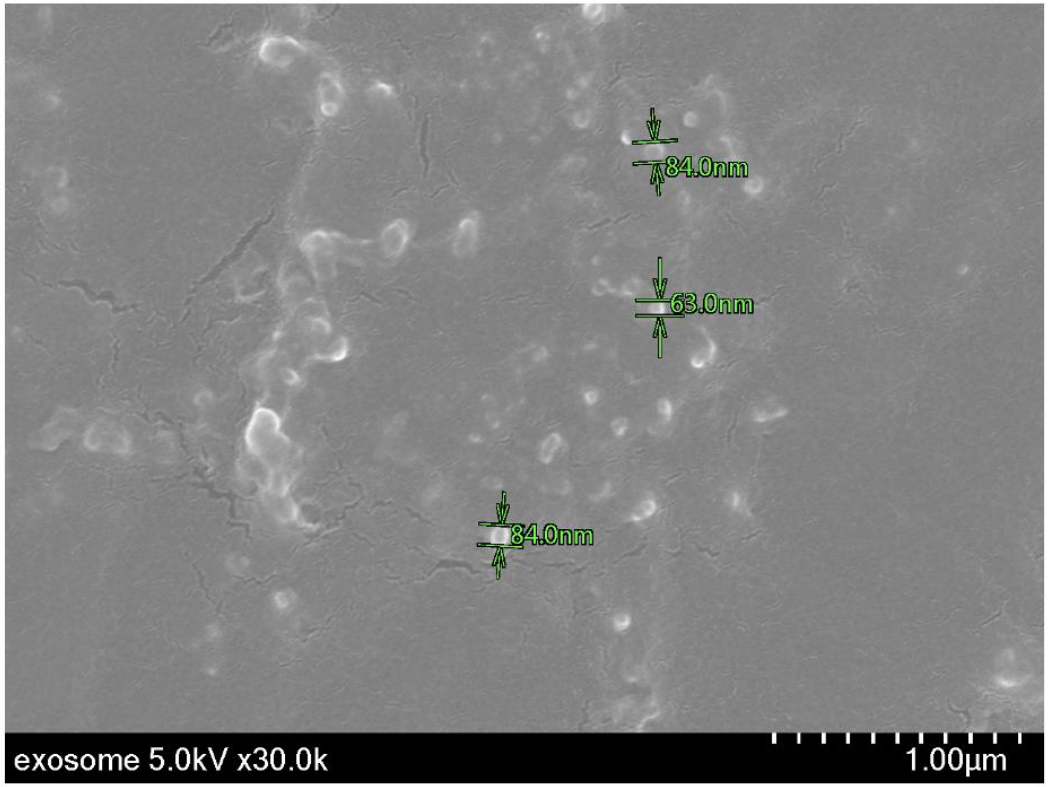
▣ 세포외소포 전자현미경

CONFIDENTIAL

⦿ 전자현미경 (경북대학교)

Exosomes from Canine Adipose-derived stem cell



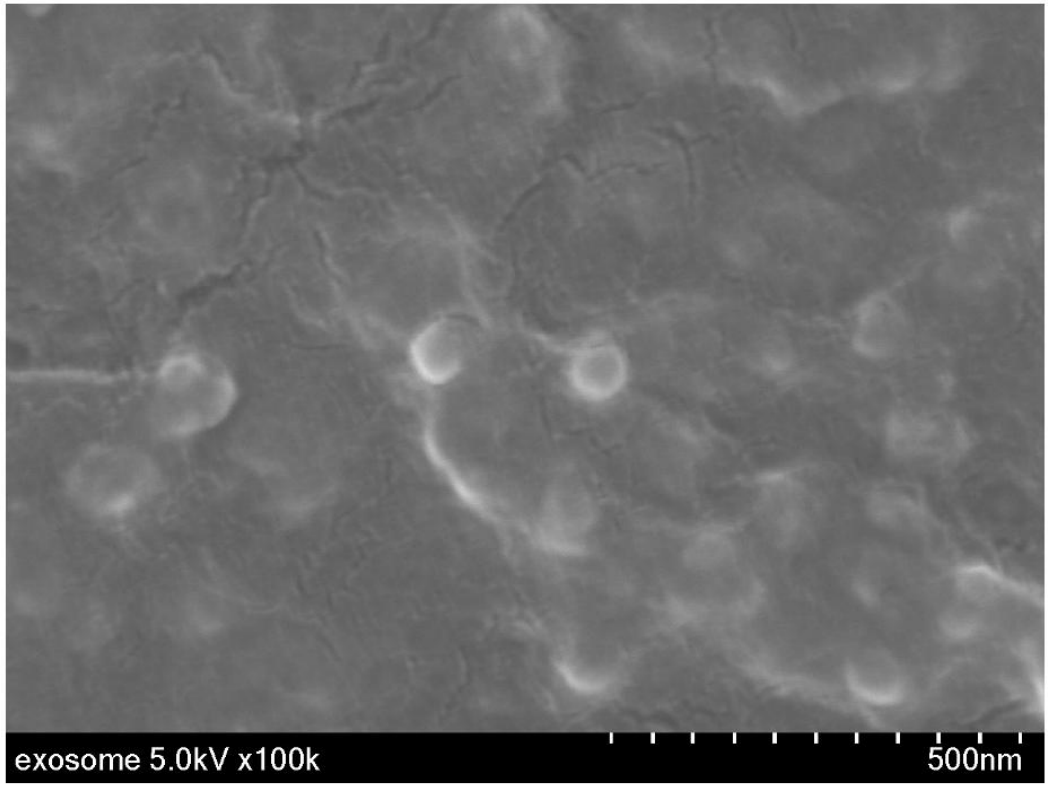


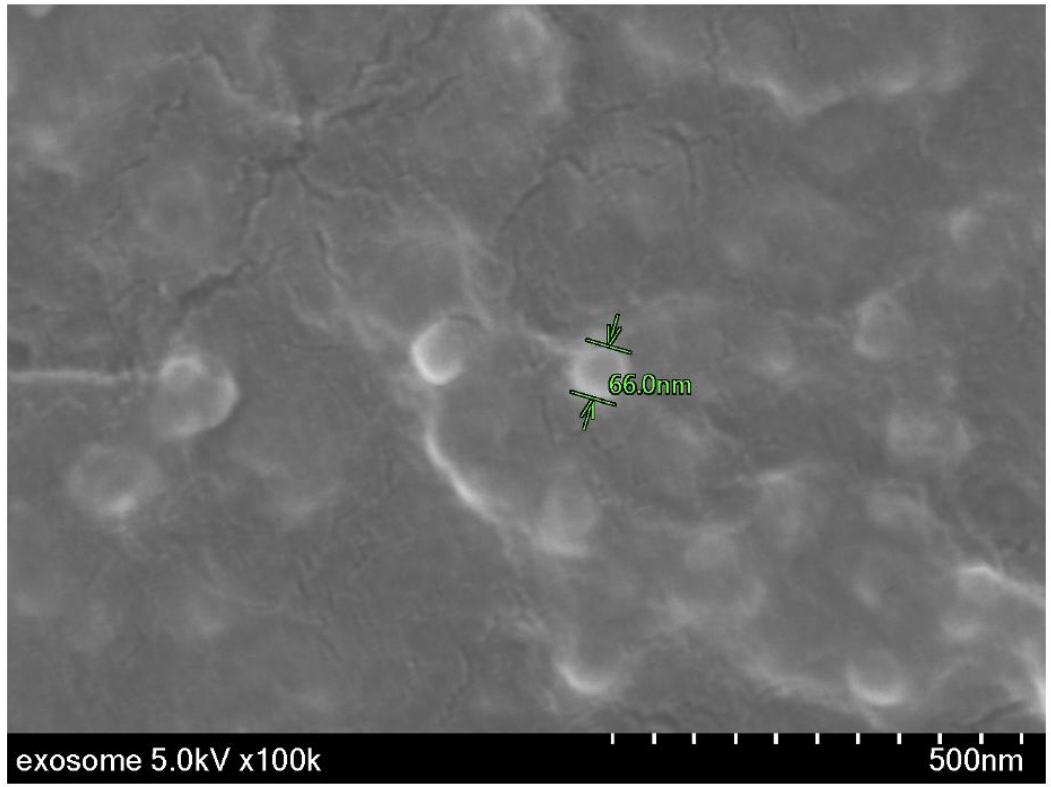
Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 세포외소포 전자현미경

⦿ 전자현미경 (경북대학교)

Exosomes from Canine Adipose-derived stem cell





Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 제품 CoA 및 안전성 시험 Data

CONFIDENTIAL

⦿ 세포외소포 제원(Certificate of Analysis)과 안전성시험 자료 (테고사이언스)

GNG CELL

Certificate of Analysis (COA-23-004)

Certificate of Analysis

Product Name : GCEV-001
Batch Number : GCEV-230331
Storage Temperature : -80℃
Manufacturing Date : 2023. 03. 31
Expiry Date : 2024. 03. 31

Test	Result	SOP
Particle concentration	1.17e+10 particles/ml	GNG-Q005
Particle size	169.8 nm	GNG-Q005
Protein concentration	523 μg/ml	GNG-Q003
CD9 intensity	282,389	GNG-Q011
CD81 intensity	151,305	GNG-Q011
HS DNA	0.18 μg/ml	GNG-Q009
Potency	52%	GNG-Q008

시험책임자 김성열 (날짜 2023. 8. 9)
김성열
㈜지앤지셀 기업부설연구소

CONFIDENTIAL INFORMATION

Page 1/1

종합시험성적서

시험물질	GCEV-001-0
제조번호	GCEV-230331
제조일	2023.03.31
관리번호	2308E-001
위탁자	(주)지앤지셀
시험의뢰일	2023.08.18
검체수령일	2023.08.28
시험일(기간)	2023.08.28~2023.09.14

시험항목	시험방법	기준	시험결과	판정
무균시험(직접법)	R003	균의 성장이 관찰되지 않는 음성이어야 한다.	음성	적합
엔도톡신측정시험 (겔화법)	CR006	엔도톡신 표시감도가 0.25EU/mL인 시험방법에서, 겔이 형성되지 않는 음성이어야 한다.	음성	적합
마이코플라스마부정시험 (PCR법)	CR007	마이코플라스마 DNA가 검출되지 않는 음성이어야 한다.	음성	적합
외래성바이러스부정시험 (*in vitro*)	CR008	세포병변효과, 혈구흡착 및 혈구응집이 확인되지 않는 음성이어야 한다.	음성	적합

종합판정 PASS

2023. 09. 15 (판정일) 조동주 (판정자)

테고사이언스㈜
서울시 강서구 마곡중앙8로 93
Tel: 02-818-2900, www.tegoscience.com

TEGO SCIENCE

Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 비임상시험 단회, 반복 독성시험

CONFIDENTIAL

⊙ Dt&CRO 비임상시험 결과보고서 / 단회(2021.10.21), 반복(2022.04.19) 독성시험)

Dt&CRO

최종보고서

GCEV-001의 BALB/c Nude 마우스를 이용한 단회 피하투여 독성시험

GLP적합진술서

시험제목 GCEV-001의 BALB/c Nude 마우스를 이용한 단회 피하투여 독성시험

시험번호 DTN210541

본 시험은 다음의 Good Laboratory Practice Regulation을 준수하였다.

- "동물용의약품등 비임상시험 실시기관 지정에 관한 규정" 농림축산검역본부 고시 제2019-65호(2019년 10월 10일)

시험책임자 박주현 ㈜디티앤씨알오 비임상센터 — 날짜 2021. 10. 21

운영책임자 김윤정 ㈜디티앤씨알오 비임상센터 — 날짜 2021. 10. 21

요약

본 시험은 시험물질인 GCEV-001을 암수 6주령 BALB/c Nude 마우스에 단회 피하투여 시 나타나는 독성반응을 관찰하고, 개략의 치사량을 구하기 위하여 실시하였다.

군구성은 시험물질 1×10^8, 1×10^9 및 5×10^9 particle/animal 투여군과 대조군(PBS)으로 구성하였고, 군당 암수 각 5마리에 단회 피하투여 하였다. 투여 후 15일 동안 일반증상 관찰 및 체중측정을 실시하였고, 관찰기간 종료 후 안락사시켜 부검하였다.

관찰기간 동안, 암수 대조군, 1×10^8, 1×10^9 및 5×10^9 particle/animal 투여군에서 사망례는 관찰되지 않았다. 또한, 일반증상 관찰, 체중측정 및 부검 결과, 암수 1×10^8, 1×10^9 및 5×10^9 particle/animal 투여군에서 시험물질에 의한 영향으로 판단되는 결과는 없었다.

본 시험 조건하에서, GCEV-001을 암수 마우스에 단회 피하투여 한 결과, 개략의 치사량은 암수 모두 5×10^9 particle/animal을 상회하는 것으로 판단된다.

Dt&CRO

최종보고서

GCEV-001의 BALB/c Nude 마우스를 이용한 5주 반복(1회/주, 총 5회) 피하투여 후 8주 관찰 독성시험

GLP진술서

시험제목 GCEV-001의 BALB/c Nude 마우스를 이용한 5주 반복(1회/주, 총 5회) 피하투여 후 8주 관찰 독성시험

시험번호 DTN210542

본 시험은 다음의 Good Laboratory Practice Regulation을 준수하였다.

- "동물용의약품등 비임상시험 실시기관 지정에 관한 규정" 농림축산검역본부 고시 제2019-65호(2019년 10월 10일)

시험책임자 박주현 ㈜디티앤씨알오 비임상센터 — 날짜 2022. 04. 19

운영책임자 김윤정 ㈜디티앤씨알오 비임상센터 — 날짜 2022. 04. 19

요약

본 시험은 시험물질인 GCEV-001을 암수 BALB/c Nude 마우스에 5주 반복(1회/주, 총 5회) 피하투여 후 8주 관찰 시 나타나는 독성반응과 그 안전성을 평가하기 위하여 수행하였다.

군구성은 시험물질 1×10^8, 1×10^9 및 5×10^9 particles/animal 용량의 3개 투여군과 대조군(PBS)으로 구성하였고, 군당 암수 각 10마리에 5주간 1회/주, 총 5회 피하투여하였다.

관찰기간 동안, 일반증상 관찰, 체중 및 사료섭취량 측정, 안과학적 검사, 요검사를 실시하였고, 관찰기간 종료 후, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기의 중량 측정, 부검 및 병리조직학적 검사를 실시하였다.

관찰기간 동안, 암수 1×10^8, 1×10^9 및 5×10^9 particles/animal 투여군에서 시험물질에 의한 사망례는 관찰되지 않았다. 5×10^9 particles/animal 투여군의 수컷 1마리가 84일에 사망하였으나, 시험물질과는 무관한 우발적인 사망으로 판단하였다.

일반증상, 체중, 사료섭취량, 안과학적 검사, 요검사, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량 및 부검 결과, 암수 1×10^8, 1×10^9 및 5×10^9 particles/animal 투여군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았다.

병리조직학적 검사 결과, 암수 5×10^9 particles/animal 투여군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았다.

국소내성 검사 결과, 암수 1×10^8, 1×10^9 및 5×10^9 particles/animal 투여군에서 시험물질에 의한 영향은 관찰되지 않았다.

이상으로, 본 시험 조건하에서 GCEV-001을 암수 BALB/c Nude 마우스에 5주 반복(1회/주, 총 5회) 피하투여 후 8주 관찰한 결과, 무독성량(NOAEL)은 암수 모두 5×10^9 particles/animal을 상회하는 것으로 판단된다.

Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

GNG CELL

▣ 안정성(Stability) Data 관련 자료

CONFIDENTIAL

⦿ 독성시험, 분포시험, 임상1상, 임상2상 시험 시 제공된 시료의 생산과 투여 일자 ⇒ Stability 유지 192일

시험명	투여군	제작 방법	세포외소포 생산량	제조일자	투여일자	Stability
①독성시험 (단회 투여)	Mouse 30마리	10 Layer flask	19.30×10^{11}	2021.08.09.	2021.09.10.	32일
②독성시험 (반복 투여)	Mouse 60마리	10 Layer flask	19.30×10^{11}	2021.08.09.	2021.10.14.~11.11. (수컷) 2021.10.15.~11.12. (암컷)	65일 ~ 94일
③분포시험	Mouse 18마리	10 Layer flask	6.07×10^{11}	2021.04.22.	2021.06.29.	67일
④임상 1상 (대상동물 안전성 시험)	비글견 19마리	10 Layer flask	1.94×10^{11}	2022.10.07.	2022.11.16.-12.14.	39일 ~ 67일
④임상 2상 (알러지 피부염 유도 비글견)	비글견 12마리	Roller bottle	7.02×10^{11}	2023.03.31.	2023.10.10.	192일

Copyright 2024 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 임상 1상(대상동물 안전성시험) → 비글견 18마리

⊙ 암수 비글견(각 9마리 총 18마리)에 회사의 세포외소포(GCEV-001)를 5주간 1회/주, 총 5회 피하투여 후 나타나는 독성반응을 8주 관찰하고, 대상동물에서 약물의 안전성을 평가하였습니다. (2022.10.20 ~ 2023.02.17)

1. 군 구성 및 투여 용량 (5주 반복/주1회)

군	투여용량 (Particle/head)	투여액량 (mL/head)	동물 수 (개체번호)		비고
			수컷	암컷	
G 1 대조군	0	1	3 (1101 -1103)	3 (2101- 2103)	경배부 피하에 주1회 5주간 총5회 투여
G2 저용량군	$1X10^{10}$	1	3 (1201-1203)	3 (2201-2203)	
G3 고용량군	$3X10^{10}$	1	3 (1301-1303)	3 (2301-2303)	

2. 관찰 및 검사 (8주)

항 목	항 목	항 목
1. 일반증상 관찰 2. 빈사 및 사망동물의 처리 3. 체중 측정 4. 사료섭취량 측정 5. 안과학족 검사 6. 심전도 검사	7. 임상병리 7-1. 요 검사 7-2. 채혈 7-3. 혈액학적 검사 7-4. 혈액응고 섬사 7-5. 혈액생화학적 검사	8. 장기중량 측정 9. 부검 10. 병리조직 10-1. 장기 및 조직의 고정 10-2. 병리조직학적 검사

3. 결 론

"실험기간 중, 암수 모두에서 사망동물은 발생하지 않았으며, 일반증상, 체중, 사료섭취량, 심전도, 임상병리 및 부검 등 모든 검사에서 시험물질의 투여에 의한 영향은 관찰되지 않았다. 따라서 시험물질인 GCEV-001의 대상동물인 암수 비글견에 대한 무독성(NOAEL)은 $3X10^{10}$ Partcles/head으로 판단된다"

시험제목 GCEV-001 의 비글견을 이용한 5 주 반복(1 회/주, 총 5 회) 피하투여 대상동물 안전성시험

Dt&CRO
Study No.: DTN220354
Final Report

시험번호 DTN220354

본 시험은 다음의 Good Laboratory Practice Regulation 을 준수하여 실시하였다.

- "동물용의약품등 비임상시험 실시기관 지정에 관한 규정" 농림축산검역본부 고시 제 2019-65 호(2019 년 10 월 10 일)

본 시험은 시험계획서 및 표준작업지침서에 따라 수행하였으며, 시험의 신뢰성을 저해하는 일탈은 발생하지 않았다. 본 보고서는 시험의 기초자료를 바탕으로 정확하게 작성되었다.

시험책임자 _____ 2023. 02. 17
황재식 날짜
㈜디티앤씨알오 비임상센터

운영책임자 _____ 2023.02.17
김윤정 날짜
㈜디티앤씨알오 비임상센터

Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 임상 2상(유도 비글 모델 효능시험) → 비글견 12마리

⦿ 안전연 반려동물신약개발사업단 : 비글견(대조군, 시험2군(각 4마리 총 12마리)에 회사의 세포외소포(GCEV-001)를 피하투여.
시험2군은 용법을 결정하고자, ①1회/1week, 총 5회/5Week와 ②1회/2day, 총 10day를 계획하였습니다.

▣ GCEV-001: 아토피 및 알레르기성 피부염이 유발된 비글(Beagle dog)을 이용한 유효성평가

1. 시험물질
- ○ 명칭: GCEV-001
- ○ 일반명: 반려견 줄기세포 유래 세포외소포치료제
- ○ 제조번호(Batch/Lot No.) : GCEV-2023xxxx
- ○ 성분: Extracellular Vesicles
- ○ 성상: 무색 투명한 액체
- ○ 함량: 1×10^{10} particles/mL
- ○ pH: 7.3
- ○ 친화성: Hydrophilic
- ○ 제조일: 2023년 x월 xx일
- ○ 유효기간: 2024년 x월 xx일 (1년)
- ○ 보관조건: 냉동
- ○ 취급 시 주의사항: 실온에서 해동 후 투여하며 잔여 시험물질은 폐기
- ○ 제공자: ㈜지앤지셀 우13466 경기도 성남시 분당구 운중로 122, 701호

2. 대조물질
- ○ 명칭: PBS

3. 시험계 : 종 및 계통 (비글견)

4. 군구성

군		투여용량 (particle/head)	투여액량 (mL/head)	투여간격	동물 수
대조군		—	-	-	2
시험군	G1 (PBS)	—	1	1일, 총 5회	4
	G2 (EV1)	1×10^{10}	1	1일, 총 5회	4
	G3 (EV2)	1×10^{10}	1	1주, 총 5회	4

5. 투여경로
- ○ 경배부 피하 투여

6. 유효성 평가
- ○ 아토피 피부염 중증도 (CADESI-04)
- ○ 소양감 (VAS)
- ○ 기타 Th2 cytokine 등

7. 시험일정
- ○ 실험개시일(동물입수) 2023년 09월 01일
- ○ 1차 감작 시작일 2023년 09월 04일
- ○ 2차 감작 시작일 2023년 10월 10일
- ○ 투여 종료일 2023년 11월 07일
- ○ 실험종료일 2023년 11월 08일

8. KIT 시험번호 : B223068

9. 시험계획서 승인일 : 2023년 08월 18일

10. 시험기관
- ○ 한국화학연구원 부설 안전성평가연구소
전북분소 시 백학1길 30
http://www.kitox.re.kr

Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 임상 2상(유도 비글 모델 효능시험) → 비글견 12마리

⦿ 결과적으로 등배부의 Ovalbumin 투여 후 아토피 및 알레르기성 피부염 모델을 제작 한 후, 시험물질 [GCEV-001]을 비글(Beagle dog)에 투여한 후 약 65일간 아토피 피부염 중증도 평가 및 샘플링 조직과 혈액을 통해 분석을 실시한 결과, 시험물질은 아토피 및 알레르기성 피부염 개선에 효능이 있다고 사료되어진다.

▣ GCEV-001: 아토피 및 알레르기성 피부염이 유발된 비글(Beagle dog)을 이용한 유효성평가

2.8.1. 군 구성 및 투여용량 • OVA 투여 : 1일 1회, 등배부 피하투여, 1 mg/mL/head
• 1차 감작 2주간 → 2주간의 잠복기 → 2차 감작 2주간

Group	Sex	No. of Animals	Animal No.	Vol. (mL/head)	투여간격
CON(대조군)	Male Female	1 1	1 2	-	해당없음
G1	Male Female	2 2	1M0001 – 1M0002 1F0001 – 1F0002	1	1일 1회 총 5회
G2	Male Female	2 2	2M0001 – 2M0002 2F0001 – 2F0002	1	1일 1회 총 5회
G3	Male Female	2 2	3M0001 – 3M0002 3F0001 – 3F0002	1	7일 1회 총 5회

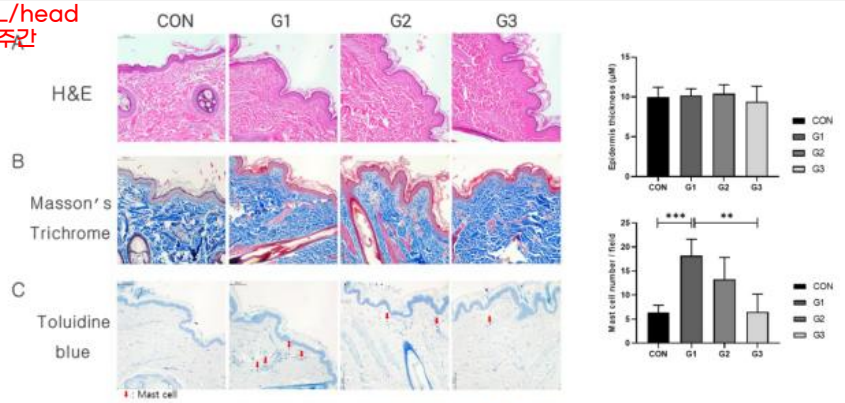


Figure 4. 병리조직학적 분석

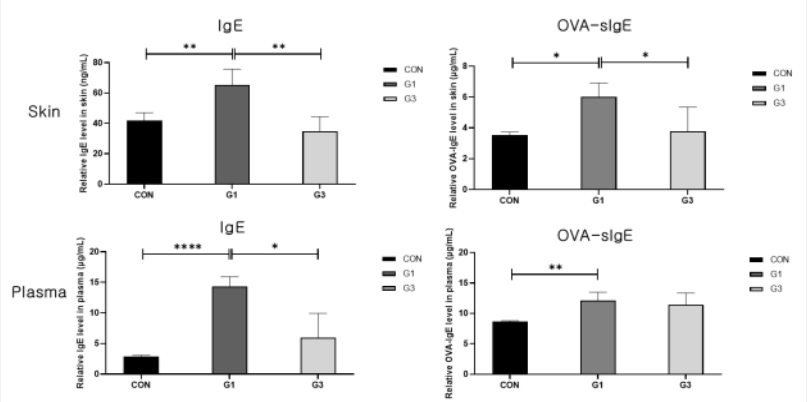


Figure 6. Allergy related marker (G1 vs G3)

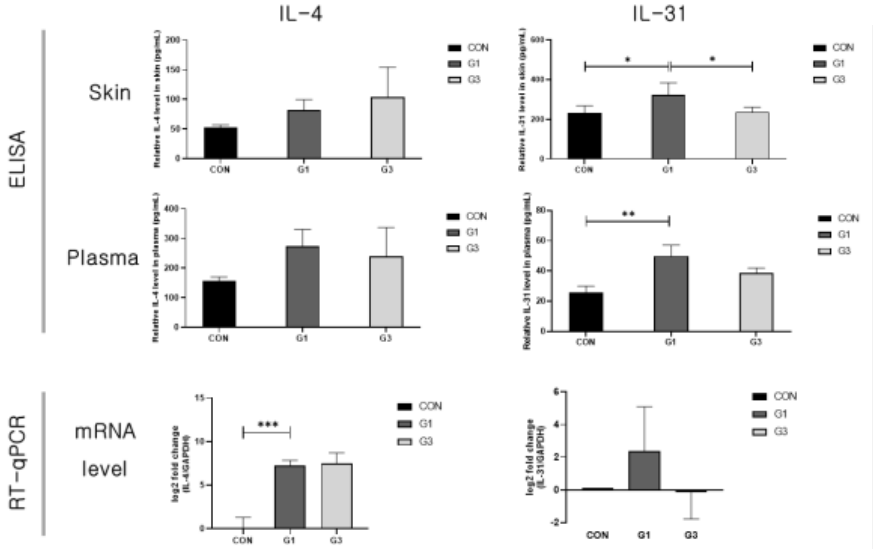
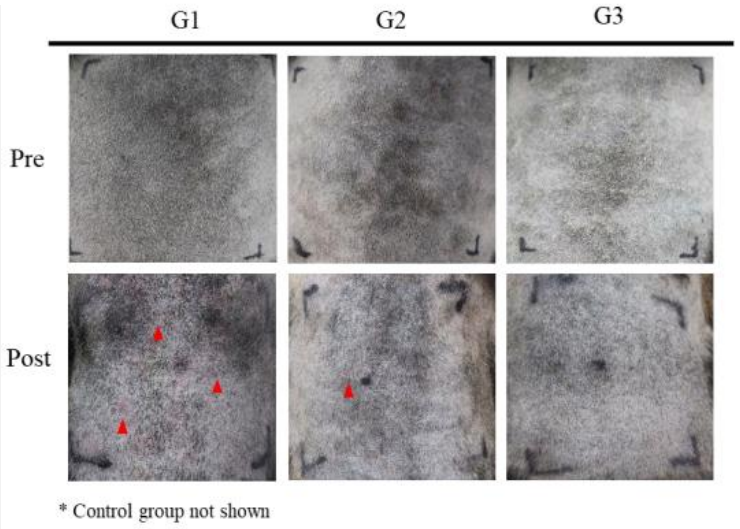


Figure 8. Th2 related cytokine (G1 vs G3)



* Control group not shown

Figure 1. Gross observation (사진촬영)

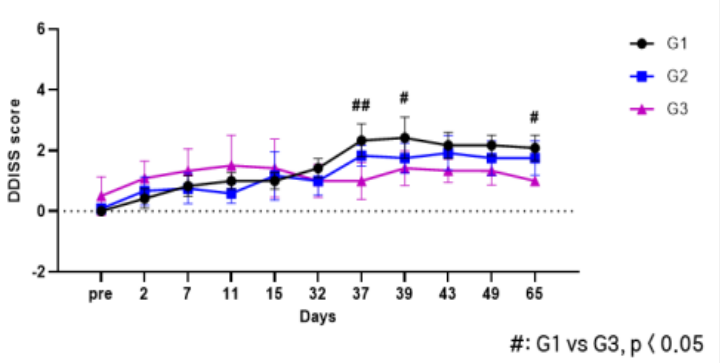


Figure 1. 아토피 피부염 중증도 평가 (DDISS)

Text-table 1. DDISS scoring

Group | Day	pre	2	7	11	15	32	37	39	43	49	65
G1	0.0	0.5	1.0	1.1	1.4	1.9	3.0	3.1	2.8	2.9	2.6
G2	0.1	0.8	1.0	0.8	1.8	1.4	2.4	2.1	2.4	2.4	2.4
G3	0.8	1.5	1.8	1.9	1.8	1.4	1.3	1.8	1.6	1.5	1.1

Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 임상 2상(유도 비글 모델 효능시험) → 비글견 12마리

⦿ 결과적으로 등배부의 Ovalbumin 투여 후 아토피 및 알레르기성 피부염 모델을 제작 한 후, 시험물질 [GCEV-001]을 비글(Beagle dog)에 투여한 후 약 65일간 아토피 피부 염 중증도 평가 및 샘플링한 조직과 혈액을 통해 분석을 실시한 결과, 시험물질은 아토피 및 알레르기성 피부염 개선에 효능이 있다고 사료되어진다.

1. 일반증상관찰결과, 시험물질 투여 후 2M0001 동물에 대하여 시험물질 투여 2일차(Day 37)부터 Day 65까지, 2M0002 동물에 대하여 시험물질 투여 4일차(Day 39)부터 Day 65까지, 2F0001, 2F0002 동물에 대하여 시험물질 투여 4일차(Day 39)부터 Day 49까지 모델링 부위인 등배부에 대하여 임상증상인 홍반이 관찰되었다. 3M0001 동물에 대하여 시험물질 투여 다음날(Day 37)부터 시험물질 5차 투여 이후(Day 65)까지, 3F0001 동물에 대하여 시험물질 2차 투여 이후(Day 49)부터 시험물질 3차 투여 이후(D56)까지, 3F0002 동물에 대하여 시험물질 1차 투여 이후(Day 42)부터 시험물질 2차 투여 이후(Day 48)까지 모델링 부위인 등배부 피부에 임상증상인 홍반(raised red spot)이 관찰되었다.
3M0002의 경우 OVA 1차 감작이 끝난 직후인 Day 14부터 Day 65까지 홍반이 관찰되었으나, G1 그룹과 비교하여 증상이 개선되는 것을 관찰하였다.
2. 체중측정결과, 투여와 관련된 변화는 관찰되지 않았다.
3. 임상증상(사진촬영)결과, 시험물질 투여 전 및 마지막 투여 후 대조군을 제외한 G1, G2 및 G3에서 아토피 및 알레르기성 피부염의 임상증상을 확인하였다.
4. 아토피 피부염 중증도 평가 결과, OVA 2차 감작 및 시험물질 투여가 끝난 직후(G2: Day 49, G3: Day 65) G1 평균 2.6점, G2 평균 2.4점, G3 평균 1.1점으로 관찰되었다.
Day37(OVA 2차 감작 시작일 및 시험물질 첫 투여일), Day39(OVA 2차 감작 다음날) 및 Day 65(시험물질 마지막 투여일)에 G1 그룹과 비교하여 G3 그룹에서 아토피 및 알레르기성 피부염의 중증도의 통계적으로 유의미한 감소를 관찰하였다.
5. 혈액학적 검사결과, 투여와 관련된 변화는 관찰되지 않았다.
6. 혈액생화학적 검사결과, 투여와 관련된 변화는 관찰되지 않았다.
7. 병리조직학적 검사결과(Toluidine blue staining), 모든 그룹에서 탈과립화 된 비만세포의 수는 각각 대조군: 6.4±1.5, G1: 18.2±3.4 G2: 13.25±4.6, G3: 6.5±3.7로 관찰되었으며, 이는 G1 그룹에 비하여 시험물질 투여군인 G3 그룹에서 통계적으로 유의미하게 감소하였다.
8. 아토피 및 알레르기 피부염 관련 마커 분석 결과, 등배부 피부조직 Total IgE ELISA 분석결과는 대조군: 42.0±5.0, G1: 65.3±10.4, G2: 34.7±17.3, G3: 34.9±9.5 ng/mL로 관찰되었으며 G1 그룹과 비교하여 G2, G3 그룹에서 통계적으로 유의미한 감소를 확인하였다. 등배부 피부조직 OVA-특이적 IgE ELISA 분석 결과는 대조군: 3.5±0.2, G1: 6.0±0.9, G2: 5.1±0.6, G3: 3.8±1.6 ng/mL로 관찰되었다. G1 그룹과 비교하여 G3 그룹의 OVA-특이적 IgE 발현량이 유의미하게 감소하는 것을 관찰하였다. 또한, 대조군 그룹에 비하여 G1 그룹에서 통계적으로 유의미한 증가를 관찰하였으나, 이는 OVA 유도 아토피 및 알레르기성 피부염 유도로 인한 변화로 사료된다.
9. Th2 관련 사이토카인 발현 분석결과, 등배부 피부조직의 IL-31 ELISA 결과는 대조군 230.6±37.3, G1 322.0±61.6, G2 324.2±153.2, G3 237.1±24.2 pg/mL로 관찰되었다. 시험물질 피하투여와 관련되어 피부조직 ELISA 결과에서 G1 그룹과 비교하여 시험물질 투여군인 G3 그룹에서 통계적으로 유의미한 IL-31 발현 감소를 관찰하였다.

▣ 결과적으로 등배부의 Ovalbumin 투여 후 아토피 및 알레르기성 피부염 모델을 제작한 후, 시험물질 [GCEV-001]을 비글(Beagle dog)에 투여한 후 약 65일간 아토피 피부염 중증도 평가 및 샘플링한 조직과 혈액을 통해 분석을 실시한 결과, **시험물질은 아토피 및 알레르기성 피부염 개선에 효능**이 있다고 사료되어진다.

Copyright 2023 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ KVGMP내 구축된 MCB 종합시험 성적서

CONFIDENTIAL

⊙ MCB 001, MCB 002의 ①무균시험-세균 ②무균시험-진균 ③엔도톡신측정시험 ④마이코플라즈마부정시험 ⑤외래성바이러스부정시험의 종합시험성적서

종합시험성적서

관리번호	2410E-003	위탁자	㈜지엔지셀
시험물질	cASC-MCB001	제조번호	cASC241018-1
제조일	2024.10.07	시험의뢰일	2024.10.18
검체수령일	2024.11.04	시험기간	2024.11.04~2024.11.21

시험항목	기준	시험결과	판정
무균시험-세균 (Sterility-Aerobic, Anaerobic)	균의 성장이 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합
무균시험-진균 (Sterility-Fungal)	균의 성장이 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합
엔도톡신측정시험 (Endotoxin)	엔도톡신 표시감도가 0.25EU/mL인 시험 방법에서, 겔이 형성되지 않는 음성이어야 한다.	음성	적합
마이코플라스마부정시험 (Mycoplasma)	마이코플라스마 DNA band가 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합
외래성바이러스부정시험 (*In vitro* adventitious agent)	세포병변, 혈구흡착 및 혈구응집반응이 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합

종합판정 PASS

2024. 11. 22 (판정일) 조형수 (판정자)

테고사이언스㈜
서울시 강서구 마곡중앙8로 93
Tel: 02-818-2900, www.tegoscience.com
TEGO SCIENCE

종합시험성적서

관리번호	2410E-004	위탁자	㈜지엔지셀
시험물질	cASC-MCB002	제조번호	cASC241018-2
제조일	2024.10.07	시험의뢰일	2024.10.18
검체수령일	2024.11.04	시험기간	2024.11.04~2024.11.21

시험항목	기준	시험결과	판정
무균시험-세균 (Sterility-Aerobic, Anaerobic)	균의 성장이 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합
무균시험-진균 (Sterility-Fungal)	균의 성장이 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합
엔도톡신측정시험 (Endotoxin)	엔도톡신 표시감도가 0.25EU/mL인 시험 방법에서, 겔이 형성되지 않는 음성이어야 한다.	음성	적합
마이코플라스마부정시험 (Mycoplasma)	마이코플라스마 DNA band가 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합
외래성바이러스부정시험 (*In vitro* adventitious agent)	세포병변, 혈구흡착 및 혈구응집반응이 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합

종합판정 PASS

2024. 11. 22 (판정일) 조형수 (판정자)

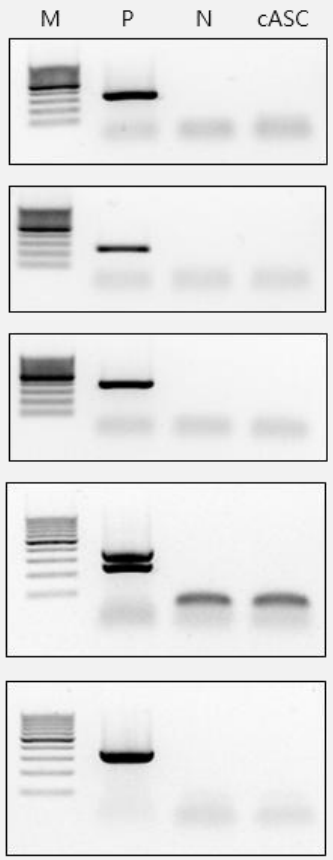
테고사이언스㈜
서울시 강서구 마곡중앙8로 93
Tel: 02-818-2900, www.tegoscience.com
TEGO SCIENCE

Copyright 2024 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ KVGMP내 구축된 MCB Virus test

⦿ cASC MCB의 Virus test (GNG CELL 연구소)

Canine maser cell bank virus test



Canine Para-influenza Virus(CPIV)

Canine Coronavirus (CCoV)

Canine Distempervirus (CDV)

Canine Pavovirus (CPV)

Canine Herpes virus (CHV)

Copyright 2025 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ KVGMP내 구축된 WCB 종합시험 성적서

CONFIDENTIAL

⊙ WCB 001, WCB 002의 ①무균시험-세균 ②무균시험-진균 ③엔도톡신측정시험 ④마이코플라즈마부정시험 ⑤외래성바이러스부정시험의 종합시험성적서

CT101-04(R0)

종합시험성적서

관리번호	2412E-001	위탁자	㈜지엔지셀
시험물질	cASC-WCB001	제조번호	cASC241203-1
제조일	2024.12.03	시험의뢰일	2024.12.04
검체수령일	2024.12.17	시험기간	2024.12.17~2025.01.09

시험항목	기준	시험결과	판정
무균시험-세균 (Sterility-Aerobic, Anaerobic)	균의 성장이 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합
무균시험-진균 (Sterility-Fungal)	균의 성장이 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합
엔도톡신측정시험 (Endotoxin)	엔도톡신 표시감도가 0.25EU/mL인 시험 방법에서, 겔이 형성되지 않는 음성이어야 한다.	음성	적합
마이코플라스마부정시험 (Mycoplasma)	마이코플라스마 DNA band가 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합
외래성바이러스부정시험 (*In vitro* adventitious agent)	세포병변, 혈구흡착 및 혈구응집반응이 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합

종합판정

COPY
TEGOSCIENCE Inc.

2025. 01. 10 (판정일)

조용수 (판정자)

테고사이언스㈜
서울시 강서구 마곡중앙8로 93
Tel: 02-818-2900, www.tegoscience.com

TEGO SCIENCE

CT101-04(R0)

종합시험성적서

관리번호	2412E-002	위탁자	㈜지엔지셀
시험물질	cASC-WCB002	제조번호	cASC241203-2
제조일	2024.12.03	시험의뢰일	2024.12.04
검체수령일	2024.12.17	시험기간	2024.12.17~2025.01.09

시험항목	기준	시험결과	판정
무균시험-세균 (Sterility-Aerobic, Anaerobic)	균의 성장이 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합
무균시험-진균 (Sterility-Fungal)	균의 성장이 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합
엔도톡신측정시험 (Endotoxin)	엔도톡신 표시감도가 0.25EU/mL인 시험 방법에서, 겔이 형성되지 않는 음성이어야 한다.	음성	적합
마이코플라스마부정시험 (Mycoplasma)	마이코플라스마 DNA band가 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합
외래성바이러스부정시험 (*In vitro* adventitious agent)	세포병변, 혈구흡착 및 혈구응집반응이 관찰되지 않아야 한다.	음성	적합

종합판정

COPY
TEGOSCIENCE Inc.

2025. 01. 10 (판정일)

조용수 (판정자)

테고사이언스㈜
서울시 강서구 마곡중앙8로 93
Tel: 02-818-2900, www.tegoscience.com

TEGO SCIENCE

Copyright 2025 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 세포외소포치료제 개념증명(Proof of Concept) 임상 평가

⦿ 회사는 임상시험을 수행하면서, 임상1상(안전성) data와 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 다음과 같은 개념증명 연구자임상을 시행

1. 세포외소포치료제 PoC 연구자 임상 요약

구 분	투여 개체(마리)	투여 횟수(회)
반려견	66	250
반려묘	9	29
토끼	12	31
특수동물	4	19
계	91	329

※ 특수동물 : (고슴도치, 설치류, 라쿤)

구 분		질 환	마리
2. 질환 분류	중추신경계	① IVDD (Intervertebral disc disease) ② MUE, 경련, 발작 등 CNS 이상	18
	내과질환	① 간질환 ② 신질환 ③ 면역증진, 활력증진 등 ④ 심질환	49
	호스피스	① 종양	3
	관 절	① 퇴행성 관절염 ② 인대 파열 등의 외상성 보행 이상	13
	피 부	① 아토피성 피부염 ② 발적, 소양증을 동반한 피부 증상	8
	계	-	91

3. 주요 평가 항목

※ 자료 출처 : 대웅펫 1차 집계(23.09.30 현재)

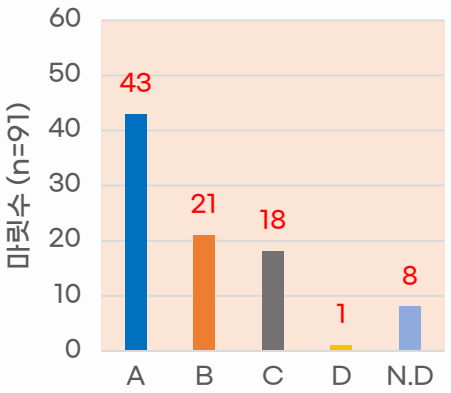
주요 증상 개선 정도 평가	
A	75% 이상 개선됨
B	50-75% 개선됨
C	50% 미만
D	악화
*N.D.	관찰 중

식욕 평가	
증가	평소보다 식사량 증가
동일	식사량 변화 보이지 않음
감소	평소 섭식의 3/4 이하
*N.D.	관찰 중

활력 평가	
증가	활력 증가
동일	정상 활력
감소	기력 저하
*N.D.	관찰 중

4. 전체 개체의 증상, 식욕, 활력 개선 정도 요약

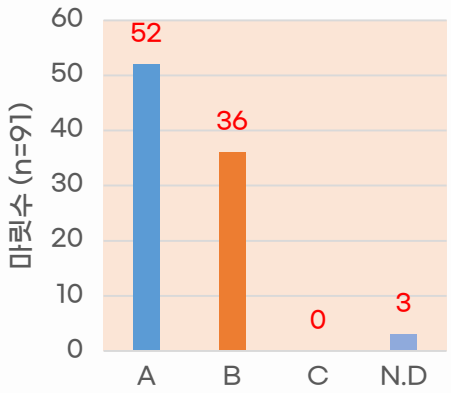
증상 개선



주요 증상 50% 이상 개선 개체

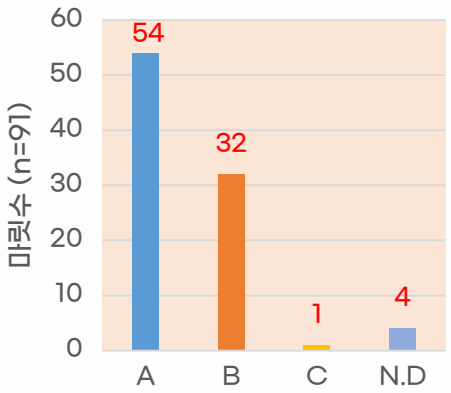
70.33%

식욕 개선 | 노령/노화 Well-aging 시장 | 활력 개선



식사량 증가 개체

57.14%



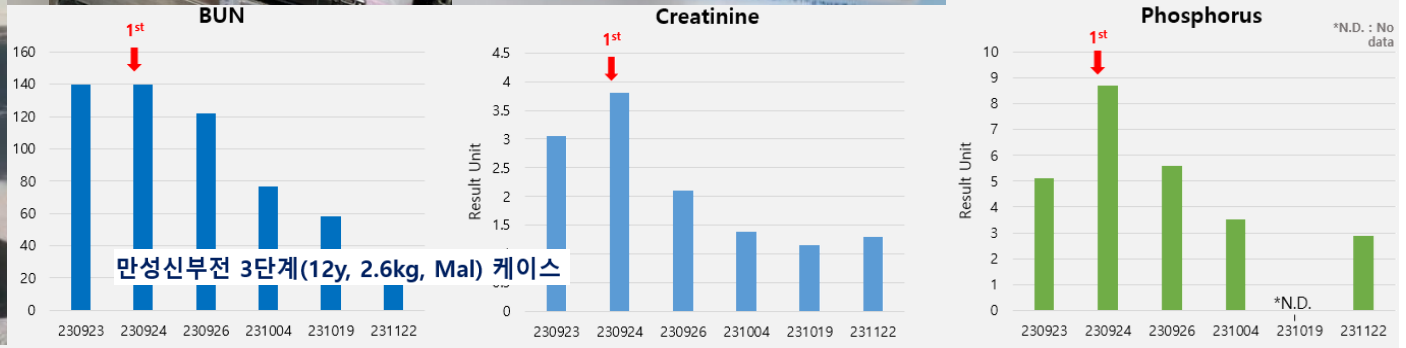
활력 증가 개체

59.34%

Copyright 2025 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ 개념증명(Proof of Concept) 임상 평가 case

⦿ 회사는 임상시험을 수행하면서, 임상1상(안전성) data와 대웅펫의 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 다음과 같은 개념증명 연구자임상을 시행하고 있습니다. (동영상 자료는 발표 시 제공 예정)



Copyright 2025 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

▣ ALI 마우스 모델에서 SC유래 Exosome의 투여 경로에 따른 효과 연구

⊙ Canine Stem Cell-derived Exosomes for Lung Inflammation: Efficacy of Intratracheal Versus Intravenous Administration in an Acute Lung Injury Mouse Model (in vivo 39: 228-235 (2025) doi:10.21873/invivo.13821)

Materials and Methods

Caine stem cell-derived exosomes. Canine CS-Exos (cST-Exos) used in this study were supplied by GNG CELL Co., Ltd. (Seongnam, Republic of Korea). The stem cells and cST-Exos used in this study were characterized, as previously described (5)..

5 Kim SY, Yoon TH, Na J, Yi SJ, Jin Y, Kim M, Oh TH, Chung TW: Mesenchymal stem cells and extracellular vesicles derived from canine adipose tissue ameliorates inflammation, skin barrier function and pruritus by reducing JAK/STAT signaling in atopic dermatitis. Int J Mol Sci 23(9): 4868, 2022. DOI: 10.3390/ijms23094868

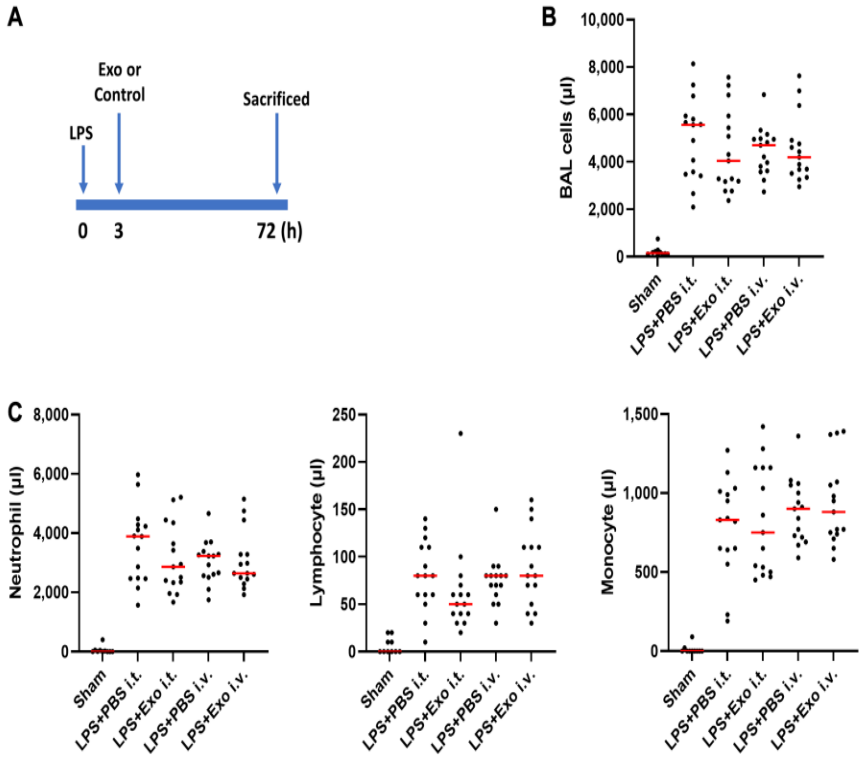
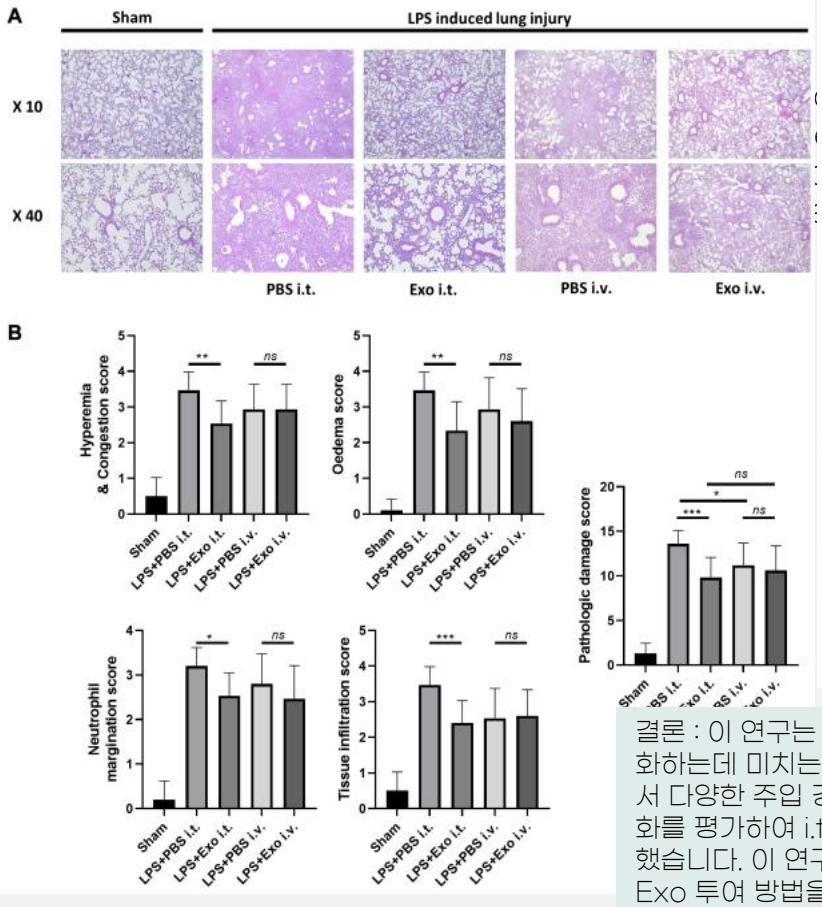


Figure 1. *Mesenchymal stem cell-derived exosome (Exo) administration resulted in a reduction in total cells present in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in a mouse model of lung injury induced by lipopolysaccharide (LPS). (A) Experimental setup. The mice were subjected to intratracheal (i.t.) administration of LPS, followed by treatment with either Exo or vehicle (Dulbecco's phosphate-buffered saline) via i.t. and intravenous routes, 3 h post-LPS exposure. (B) BALF cell counts. Total cell count was determined 72 h after injury. (C) Counts of neutrophils, lymphocytes, and monocytes in BALF were assessed 72 h after injury. n=10-15 mice per group. Results are presented as means±standard deviations.*



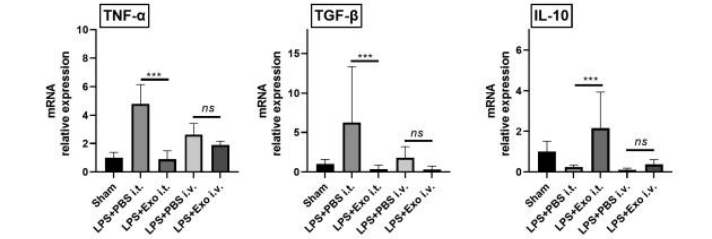
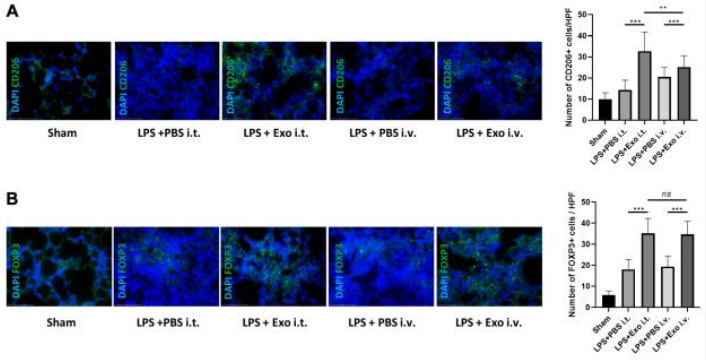


Figure 3. *Changes in inflammatory cytokine expression according to exosome administration route. n=10-15 mice per group. ***p<0.001; ns: not significant. Results are presented as means±standard deviations.*



결론 : 이 연구는 ALI 마우스 모델에서 줄기 세포 유래 엑소좀이 폐 염증을 완화하는데 미치는 효과를 주입 경로에 따라 비교했습니다. ALI 마우스 모델에서 다양한 주입 경로에 따른 폐 염증, 염증성 사이토카인,면역 세포 변화의 완화를 평가하여 i.t.투여가 i.v. 투여보다 ALI 치료에 더 효과적이라는 것을 확인했습니다. 이 연구는 자연적으로 발생하는 개 ALI 환자에게 적절한 cST-Exo 투여 방법을 알려줄 수 있는 기초 정보를 제공합니다.

Copyright 2024 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.

GNG CELL

▣ The potential efficacy of exosomes in the treatment of renal failure.

1. 일본수의재생의료학회 제 20회 기념대회 발표 예정(요코하마 5월10일~11일)
2. 한국조직공학 · 재생의학회 발표 예정(5월 2일 ~ 3일)
3. 2025 세계소동물학회(FASABA) 발표 예정 (10월 31일 ~11월 2일)

Abstract

Canine renal failure, or renal insufficiency, has long posed a significant challenge in veterinary medicine, with conventional treatments primarily aiming to alleviate symptoms and slow disease progression. Over the past decade, novel treatments and management strategies using allogeneic stem cells, including exosomes, have shown therapeutic efficacy. Exosomes, vesicles secreted by cells, play a crucial role in intercellular signaling and metabolic regulation, representing an innovative form of stem cell therapy with potential benefits in tissue regeneration and inflammation suppression.

This case series includes four dogs diagnosed with various stages of renal failure, including conditions associated with diabetes and heart disease. In Case 1, a dog with diabetic pancreatitis and renal failure showed improvement in appetite and renal function following exosome treatment, despite worsening conditions with conventional treatments. In Case 2, a dog with pancreatitis and chronic kidney disease (CKD) stage 4 responded positively to exosome therapy, leading to improved renal function, with the improvement in renal values being consistent and not a one-time occurrence. In Case 3, a dog with cardiorenal syndrome experienced rapid recovery of appetite and vitality following exosome treatment. In Case 4, another dog with long-term heart failure management demonstrated stable renal values despite increased diuretic dosage when treated with exosome therapy, and no issues were observed with multiple exosome doses.

These findings highlight the importance of early application and frequency of exosome treatments in managing renal failure, particularly in cases where other conditions, such as pancreatitis, diabetes and heart failure. This research proposes a more effective and innovative therapeutic approach, contributing to improving the quality of life for dogs suffering from renal failure. Further research is warranted to explore the efficacy and potential applications of exosome therapy in similar clinical scenarios.

Copyright 2025 @ GNG CELL Co., Ltd. All Rights Reserved.