

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

(1) 동물세포를 배양하는 단계; (2) 상기 배양된 동물세포를 동결건조 보호제로 처리하는 단계; 및 (3) 상기 동결건조 보호제로 처리된 동물세포를 동결건조시키는 단계를 포함하며, 상기 동결건조 보호제는 동결건조 보호제 전체 조성물 중 0.1 내지 20 중량%의 당, 1 내지 15 중량%의 단백질 및 0.5 내지 5 중량%의 분자량 6,000~35,000인 폴리에틸렌글리콜을 포함하는 것을 특징으로 하는 동결건조된 세포를 상온에서 안정하게 보존하는 방법.

**청구항 2**

제1항에 있어서, 상기 동물세포는 인간 유래의 세포인 것을 특징으로 하는 동결건조된 세포를 상온에서 안정하게 보존하는 방법.

**청구항 3**

제2항에 있어서, 상기 세포는 케라티노사이트 또는 섬유아세포인 것을 특징으로 하는 동결건조된 세포를 상온에서 안정하게 보존하는 방법.

**청구항 4**

삭제

**청구항 5**

제1항에 있어서, 상기 당은 텍스트로스(dextrose), 말토스(maltose), 글루코스(glucose), 락토스(lactose), 수크로스(sucrose), 트레할로스(trehalose), 만노스(mannose), 라피노스(raffinose), 셀로비오스(cellobiose), 겐티오비오스(gentiobiose), 이소말토스(isomaltose), 아라비노스(arabinose), 과당(fructose), 멜레디토스(melezitose), 멜리비오스(melibiose), 소비톨(sorbitol), 트리오스(triose)에서 선택되는 것을 특징으로 동결건조된 세포를 상온에서 안정하게 보존하는 방법.

**청구항 6**

제1항에 있어서, 상기 단백질은 알부민 또는 혈청인 것을 특징으로 하는 동결건조된 세포를 상온에서 안정하게 보존하는 방법.

**청구항 7**

삭제

**청구항 8**

제1항 내지 제3항, 제5항 및 제6항 중 어느 한 항의 방법으로 제조된 안정한 동결건조 제제.

**명세서**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 세포를 동결건조시켜 세포 및 세포가 포함하고 있는 유용물질을 상온에서 안정하게 보존하는 방법에 관한 것이다.

**배경기술**

[0002] 동결건조는 용액상태 등에 있는 시료를 동결하여 그대로의 상태로 감압하에 방치함으로써 시료 중의 수분을 승화시켜 제거하는 건조법으로서, 생체 시료를 비롯하여 물을 포함하는 시료의 건조에 널리 쓰인다.

- [0003] 그러나, 세포와 같은 물을 포함하는 시료는 동결하면 동결 중에 물 분자끼리 용질이나 혼입물의 매질을 배제(排除)하면서 결정화하여 물 분자만으로 이루어진 얼음 결정을 형성하므로, 함수물 중에서 용질이나 혼입물의 매질이 불균일하게 확산되어, 동결 농축이 발생하는 것으로 알려져 있다.
- [0004] 또한, 세포의 손상은 실온의 건조 상태로도 이루어질 수 있다.
- [0005] 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해, 동결건조시 세포구조의 손상 없이 보존하기 위해서 동결보존 용액이 사용된다. 동결건조 전 세포보호를 위해 미리 사용하는 동결보존 용액은 용액의 이온 강도와 삼투압을 유지하는 완충용액과 동결 및 건조시킬 때 조직의 물리, 화학적 손상을 방지하고, 조직의 구조변화를 방지하는 동결건조 보호제로 구성된다. 이때, 동결건조 보호제는 유리전이온도를 높여 동결건조과정에서 얼음 입자의 재결정에 기인하는 조직 와해를 방지하며 조직의 안정성을 높인다. 즉, 건조 중 조직의 온도가 유리전이온도보다 높으면 얼음 입자의 재결정이 이루어지고, 재결정된 얼음 입자가 커져 조직이 손상되므로, 동결건조 보호제를 이용하여 유리전이온도를 높이면, 조직 내에 육각형 얼음보다 덜 안정하면서 얼음결정의 크기가 작은 유리질 얼음 또는 정방형 얼음의 비중이 높아지기 때문에, 조직을 덜 손상시키고 건조속도를 높일 수 있다.
- [0006] 현재, 일반적으로 사용되는 동결건조 보호제는 DMSO(dimethylsulfoxide), 텍스트란(dextran), 자당(sucrose), 글리세롤(glycerol), 만니톨(mannitol), 솔비톨(sorbitol), 과당(fructose), 트레할로스(trehalose), 라피노스(raffinose), 혈청알부민(serum albumin) 등을 목적에 따라 조합한 것인데, 이들의 생체 안전성은 이미 검증되어 있으나, 목적에 따른 혼합조건이 까다롭기 때문에, 제조방법이 복잡하고, 제조시 많은 비용이 소요된다는 단점이 있다.
- [0007] 상기 동결건조 보호제를 사용하여 세균, 바이러스, 혈청, 백신 등을 동결건조시키면 상온에서 장기간 보존할 수 있는 장점이 있다.
- [0008] 그러나, 진핵세포의 경우 상기 동결건조 보호제를 사용하여도 동결건조시 세포막 등의 세포 구조의 손상 없이 세포를 안정하게 보존하기 어려우며 그 결과, 세포 내 유용물질의 기능을 유지할 수 없는 문제점이 있다.
- [0009] 또한, 상기 동결건조 보호제를 사용하여도 동결건조된 세포를 냉동 및 저온에서 보관하여야 하며, 상온에서 세포 및 세포 내 함유된 유용물질을 안정하게 보존할 수 없다는 단점이 있다.

**선행기술문헌**

**특허문헌**

- [0010] (특허문헌 0001) 한국 공개 특허 제 2004-0065208호

**발명의 내용**

**해결하려는 과제**

- [0011] 본 발명은 세포를 동결건조시켜 세포 및 세포가 포함하고 있는 유용물질을 상온에서 안정하게 보존하는 방법 및 상기 방법으로 제조된 안전한 동결건조 제제를 제공하고자 한다.

**과제의 해결 수단**

- [0012] 본 발명은 (1) 동물세포를 배양하는 단계; (2) 상기 배양된 동물세포를 동결건조 보호제로 처리하는 단계; 및 (3) 상기 동결건조 보호제로 처리된 동물세포를 동결건조시키는 단계를 포함하는 동결건조된 세포를 상온에서 안정하게 보존하는 방법을 제공한다.
- [0013] 또한, 본 발명은 상기 방법으로 제조된 안전한 동결건조 제제를 제공한다.

**발명의 효과**

- [0014] 본 발명의 동결건조 보호제를 사용하여 세포를 동결건조하면 동결시 발생할 수 있는 세포구조의 손상을 막을 수 있고, 상기 동결건조된 세포는 상온에서 1년 이상 보관할 수 있으며, 세포 내 포함되어 있는 유용물질들은 상온에서 그 기능을 유지할 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

- [0015] 도 1은 사람에서 유래된 케라틴 세포의 시트 형태를 위상차 도립현미경을 사용하여 관찰한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 2는 사람에서 유래된 케라틴 세포의 펠렛 형태를 위상차 도립현미경을 사용하여 관찰한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 3은 사람에서 유래된 섬유아세포의 형태를 위상차 도립현미경을 사용하여 관찰한 결과를 나타낸 것이다.
- 도 4는 시트 형태의 케라틴 세포를 PET 필름에 부착한 형태를 나타낸 것이다.
- 도 5는 Suspension 상태의 세포에서 상층액을 제거하고 남은 pellet 형태의 세포를 나타낸 것이다.
- 도 6은 시트 형태의 케라틴 세포에서 발현하는 단백질과 상처치유인자를 측정된 결과를 나타낸 것이다.
- 도 7은 펠렛 형태의 케라틴 세포에서 발현하는 단백질과 상처치유인자를 측정된 결과를 나타낸 것이다.
- 도 8은 펠렛 형태의 섬유아세포에서 발현하는 단백질과 상처치유인자를 측정된 결과를 나타낸 것이다.
- 도 9는 동결건조 전의 세포와 동결건조 후의 세포를 대조군과 비교하여 상처치유효과를 확인한 결과를 나타낸 것이다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

- [0016] 본 발명은 (1) 동물세포를 배양하는 단계; (2) 상기 배양된 동물세포를 동결건조 보호제로 처리하는 단계; 및 (3) 상기 동결건조 보호제로 처리된 동물세포를 동결건조시키는 단계를 포함하는 동결건조된 세포를 상온에서 안정하게 보존하는 방법을 제공한다.
- [0017] 본 발명에 사용된 용어 “안정하게”는 상온에서 세포의 기능이 유지되는 것을 의미한다. 상온의 온도는 15 내지 20℃의 온도를 의미하며, 이는 일반적으로 안정성을 유지하기 쉬운 냉장(0~10℃) 보관 조건을 포함할 수 있다.
- [0018] 본 발명의 동물세포는 포유동물 또는 사람에서 유래된 것을 사용할 수 있다.
- [0019] 상기 세포는 케라티노사이트 또는 섬유아세포일 수 있으며, 세포의 형태는 시트 형태 또는 펠렛 형태 일 수 있다. 상기 펠렛 형태의 세포는 suspension 세포를 원심분리하여 상층액을 제거한 후 남은 세포인 바, 펠렛 형태의 세포는 suspension 세포를 포함할 수 있다.
- [0020] 상기 케라티노사이트의 기원조직으로는 분화된 피부, 피부 부속기관 또는 배아 간세포(embryonic stem cell)가 적합하다. 기원조직이 피부인 경우에는 포피(foreskin), 겨드랑이, 엉덩이, 유방, 두피, 치골부 또는 음낭으로부터 유래된 것을 사용하는 것이 바람직하다. 기원조직이 피부 부속기관인 경우에는 모낭, 땀샘, 피지샘 또는 모세혈관에서 유래된 것을 사용하는 것이 적합하다. 모낭은 성숙기(anagen)의 모낭으로부터 유래되고 모낭의 케라티노사이트가 붙어있는 머리카락을 사용하는 것이 바람직하다.
- [0021] 상기 섬유아세포는 분화된 피부 조직을 분해(disaggregation)하거나 배아 간세포(embryonic stem cell)를 분해하여 수득할 수 있다. 분해는 당업계에 공지된 방법을 이용할 수 있는데, 그러한 방법에는 물리적 분해 및/또는 소화 효소 및/또는 이웃한 세포와의 연결을 약하게 하는 킬레이팅제의 처리 등이 포함된다. 이러한 방법을 이용하여 세포를 파괴하지 않고 조직을 단일 세포로 분산할 수 있다. 특히, 효소에 의한 분리는 먼저 조직을 분쇄(mincing)한 다음 다수의 소화 효소 중 어느 하나를 단독으로 또는 혼합하여 처리함으로써 용이하게 달성될 수 있다. 적합한 효소의 예에는 트립신, 키모트립신, 콜라게나제, 엘라스타제, 히알루로니다제, DNase, 프로나제 및 디스파제 등이 포함되지만 이에 제한되는 것은 아니다. 물리적인 분해 방법은 그라인더(grinder), 블렌더(blender), 체(sieve), 호모게나이저(homogenizer) 또는 소니케이터(sonicator)를 이용하는 방법이 있다.
- [0022] 본 발명의 세포는 통상적인 동물세포 배양용 배지에서 배양함으로써 증식할 수 있다. 그러한 배지는 당업계에 공지된 성분 및 조성에 따라 제조하거나 상업적으로 입수할 수 있다. 본 발명에서 이용될 수 있는 배지에는 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM); Minimal Essential Medium(MEM); M199; RPMI 1640; Iscove's Modified Dulbecco's Medium(EDMEM), MCDB, Ham's F-12, Ham's F-10, NCTC 109, NCTC 135, Keratinocyte-Serum Free Medium (keratinocyte-SFM), Keratinocyte Growth Medium (KGM) 등이 포함되지만, 이에 제한되는

것은 아니다.

- [0023] 상기 배지는 소 태아 혈청(fetal bovine serum), 소 혈청(bovine serum), 트리요오도타이로닌(triiodothyronine, T3), 인슐린(insulin), 하이드로코르티손(hydrocortisone), 글루타민(glutamine), 아데닌(adenin), 트랜스페린(transferrin), 겐타마이신(Gentamycin) 및 페니실린-스트렙토마이신(penicillin-streptomycin)과 같은 항생제 등을 추가로 포함할 수 있지만, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0024] 본 발명의 동물세포는 동결건조되기 전에 동결건조 보호제로 처리된다.
- [0025] 본 발명의 동결건조 보호제는 당, 단백질, 수용성 고분자 물질을 포함하여 제조될 수 있다.
- [0026] 본 발명에 사용되는 당은 단당류, 이당류, 다당류를 모두 포함하며 덱스트로스(dextrose), 말토스(maltose), 글루코스(glucose), 락토스(lactose), 수크로스(sucrose), 트레할로스(trehalose), 만노스(mannose), 라피노스(raffinose), 셀로비오스(cellobiose), 겐티오비오스(gentiobiose), 이소말토스(isomaltose), 아라비노스(arabinose), 과당(fructose), 멜레디토스(melezitose), 멜리비오스(melibiose), 소비톨(sorbitol), 트리오스(triose)일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0027] 본 발명의 당은 세포막과 세포막 단백질을 동결 시 나타나는 얼음결정으로부터 보호하고 안정화시키는 역할을 한다. 따라서 본 발명에 따라 제조된 동결건조 제제의 안전성이 향상될 수 있고 세포구조가 손상 없이 유지될 수 있다.
- [0028] 본 발명에서 사용되는 당은 세포의 종류 등에 따라 임의로 적합하게 선택될 수 있으며, 동결건조 보호제 전체 조성물 중 0.1 내지 20%로 포함될 수 있다. 당이 0.1% 미만이면 동결건조시 효과가 저하되고 20%를 초과하게 되면 동결건조 보호제의 점성이 높아 다루기 좋지 않게 된다.
- [0029] 또한, 본 발명의 동결건조 보호제는 단백질을 포함할 수 있다. 본 발명의 단백질은 세포가 동결로부터 파손되는 것을 막는다. 적절한 단백질은 알부민, 혈청 등이 포함되나, 이들에 제한되지 않는다. 첨가되는 단백질은 세포의 종류 등에 따라 임의로 적합하게 선택될 수 있으며, 동결건조 보호제 전체 조성물 중 1 내지 15 %로 포함될 수 있다. 단백질이 1% 미만이면 동결건조시 효과가 저하되고, 15%를 초과하게 되면 세포가 포함하는 유용물질의 측정 실험에 영향을 미칠 수 있다.
- [0030] 또한, 본 발명의 동결건조 보호제는 수용성 고분자 물질을 포함한다. 본 발명의 고분자 물질은 세포를 보호하여 그 크기 및 형태가 건조과정 동안 일정하게 유지되도록 해주며 건조 및 저장에 견디는 능력을 향상시키므로, 보호제로 기능할 수 있다. 적절한 고분자 물질은 폴리에틸렌 글리콜 또는 프로필렌글리콜, HES(hydroxyethyl starch), 폴리비닐피롤리돈, 폴리아크릴아마이드, 폴리에틸렌아민, 폴리에틸렌옥사이드(polyethylene oxide), 피콜(Ficoll) 등이 포함되나, 이들에 제한되지 않는다. 첨가되는 고분자 물질의 농도는 동결건조 보호제 전체 조성물 중 0.5 내지 5%로 포함될 수 있다. 수용성 고분자 물질이 0.5% 미만이면 동결건조시 효과가 저하되고 5%를 초과하게 되면 동결건조 보호제의 점성이 높아 다루기 좋지 않게 된다.
- [0031] 본 발명에서 세포에 동결건조 보호제를 처리하는 것은 당업계에 공지된 다양한 방법에 따라 이루어질 수 있다. 처리 시간은 세포의 종류 등에 따라 다양할 수 있고, 예를 들면 상온(15℃~25℃)에서 5분 내지 10분 동안 처리할 수 있다.
- [0032] 본 발명에서 동결건조 보호제가 처리된 세포는 상업적으로 입수할 수 있는 동결건조기를 이용하여 당업계에 공지된 동결건조 방법에 따라 동결건조할 수 있다. 이러한 방법은 예를 들면 Janoff 등의 미국특허 제4,880,835호에 개시되어 있다.
- [0033] 본 발명의 한 구체예에서, 본 발명 세포의 동결건조 방법은 다음의 순서와 같다:
- [0034] (1) 적합한 용기에 세포를 넣고 완충용액으로 부유한 후 초저온 냉동고에 넣어 -15℃ 이하에서 약 12시간 이상 동결시킨다; (2) 동결건조기의 샘플 챔버를 -15℃까지 내린 후 (1)의 동결한 샘플을 넣고 30분 이상 안정화시킨다; (3) 동결건조기 수분 트랩(trap) 온도는 -70℃ 내지 -80℃를 유지하며 진공 압력을 10 내지 100mtorr로 조절한 후, 동결건조기 챔버 온도를 상온 25℃까지 상승시키면서 건조를 완료한다; (4) 동결건조기에서 용기를 꺼낸 다음 마개로 밀봉하여 상온에서 저장한다.
- [0035] 이하, 제조에 및 실험예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로서, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지

않는다는 것은 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0036] **실시예 1: 사람 유래의 케라티노사이트 및 섬유아세포의 배양**

[0037] **a) 시트 형태의 케라틴세포 배양**

[0038] 사람유래의 케라틴세포는 감마선 조사된 3T3 피더(feeder)와 Dulbecco's modified Eagle medium과 Ham-F12를 3:1로 혼합하여 만든 배지를 사용하여 37℃, 10% CO<sub>2</sub>의 조건에서 컨플루언트(confluent)하게 배양하였다. 세포의 형태를 위상차 도립현미경을 사용하여 100배의 배율로 관찰한 결과 도 1에 나타난 것과 같이 시트(Sheet) 형태를 확인하였다(도 1 참조).

[0039] **b) 펠렛 형태의 케라틴세포 배양**

[0040] 사람유래의 케라틴세포를 Keratinocyte-Serum Free Medium을 바탕으로 하는 배양액을 사용하여 37℃, 10% CO<sub>2</sub>의 조건에서 프리컨플루언트(Pre-confluent)하게 배양하였다. 세포의 형태를 위상차 도립현미경을 사용하여 100배의 배율로 관찰하였다(도 2참조).

[0041] **c) 펠렛 형태의 섬유아세포 배양**

[0042] 사람유래의 섬유아세포(fibroblast)를 Ham-F12를 바탕으로 하는 배양액을 사용하여, 37℃, 10% CO<sub>2</sub>의 조건에서 프리컨플루언트(Pre-confluent)하게 배양하였다. 세포의 형태를 위상차 도립현미경을 사용하여 100배의 배율로 관찰하였다(도 3참조).

[0043] **d) 케라틴 세포가 도포된 페트필름 제작**

[0044] a)에서 배양된 시트 형태를 이룬 케라틴세포는 페트필름(PET film, Polyethylene terephthalate film)에 부착하여 지지하였다(도 4참조).

[0045] **e) 상층액이 제거된 펠렛 형태 세포 제작**

[0046] b) 및 c)에서 배양된 케라틴 세포 및 섬유아세포를 프리컨플루언트한배양상태에서 세포의 펠렛만 남기고 상층액을 제거하였다(도 5 참조).

[0047] **실시예 2: 동결건조 보호제의 제조 및 처리 방법**

[0048] DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)배지에 glucose 0.1~5%, sucrose 0.1~5%, dextran 0.1~ 5%, raffinose 0.1~ 5% 등의 당류와 알부민 0.1~ 5%, 혈청 1~10%를 첨가한 동결보존액에 고분자물질인 폴리에틸렌글리콜(Polyethylene glycol, PEG, 분자량 6,000~35,000)을 0.5%~5% 사이의 농도로 첨가하여 동결건조 보존액을 제조하였다.

[0049] 시트 형태의 세포는 배양액을 제거한 후 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium)을 잠길 정도로 첨가하여 남아있는 배양액을 세척(washing)하여 버린 후 동결건조 보존액이 잠기도록 첨가하여 5분~10분 처리하였다. 펠렛 형태의 세포는 50mL tube에 담긴 펠렛에 PBS 40mL을 첨가하여 파이펫팅(pipetting) 후 원심분리하여 남아있는 배양액을 세척(washing)하였다. 총 3회 반복하고 50mL tube에 남은 펠렛에 동결건조 보존액을 잠길 정도로 첨가하여 파이펫팅(pipetting)하여 5~10분간 처리 후 원심분리하고 상층액을 제거하였다.

[0050] **실시예 3: 케라티노사이트 및 섬유아세포의 동결건조**

[0051] 실시예 2에서 동결건조 보존액이 처리된 세포를 -15℃ 이하에 12hr시간 이상 동결하였다. 시트 형태 세포의 건조는 온도를 -15℃에서부터 상온 25℃까지 상승시키면서 30분~90분 동안 실시하였다. 수분 트랩(trap) 온도는 -70℃~ -80℃, 진공 압력은 10~100mtorr를 유지하였다. 건조 후에는 밀봉하여 상온에서 보관하였다. 펠렛 형태 세포의 건조는 온도를 상온 25℃까지 상승시키면서 6시간 이상 실시하였다. 수분 트랩(trap) 온도는 -70℃~ -80℃, 진공 압력은 10~100mtorr를 유지하였다. 건조가 완료된 세포는 밀봉하여 상온에서 보관하였다.

[0052] **실험예 1: 동결건조세포의 수분 제거율**

[0053] 동결건조 전과 동결건조 후의 세포의 무게를 측정하여 동결건조 후 제거된 수분의 비율을 계산하였다. Sheet 형태의 세포와 펠렛 형태의 세포 모두 '실시에 3'의 방법으로 동결건조 시 98% 이상의 수분 제거율을 보였다.

[0054] **실험예 2: 동결건조 전과 동결건조 후의 세포의 안정성 측정**

[0055] 펠렛 형태와 sheet 형태의 세포를 동결건조하여 주요 인자들의 안정성을 측정하였다. 상온에서 보관하여 0주(건조 후 즉시), 1주, 2주, 3주, 1 내지 5개월, 12개월째 측정하였으며, 케라틴세포는총단백질양과 IL- $\alpha$ , b-FGF, TGF- $\beta$ , PDGF의 함유량을 측정, 섬유아세포는 b-FGF, TGF- $\beta$ , PDGF의 함유량을 아래의 방법으로 측정하였다.

[0056] PBS 4ml을 sheet 형태의 동결건조 세포에는 sheet가 잠기도록 첨가하고, 펠렛 형태의 동결건조 세포에는 첨가 후 pipetting하여 수화시킨 후 총 단백질은 염색시약(dye)를 처리 후 ELISA를 이용하여 흡광도를 측정하였고, IL- $\alpha$ , b-FGF, TGF- $\beta$ , PDBF는 R&D System의 QuantikineImmunoassay Kit를 이용하여 측정하였다.

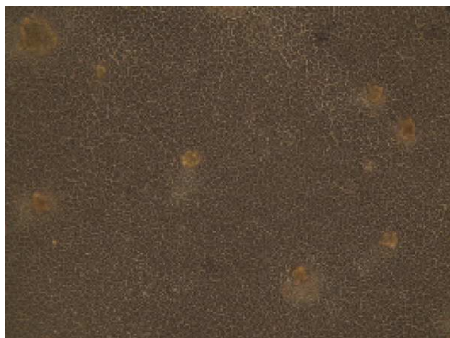
[0057] 측정결과 각 인자는 세포의 종류와 형태에 관계 없이 안정하게 유지되었다(도 6, 7, 8 참조).

[0058] **실험예 3: 동결건조 세포의 상처 치유 효과 측정**

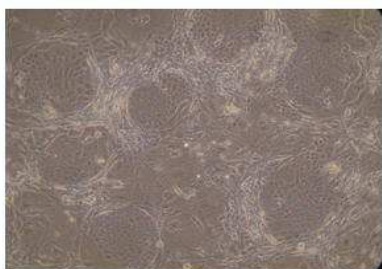
[0059] Mouse(Balb/c)의 등에 직경 1.5cm 크기의 상처를 4개 부위에 낸 후 실험군으로 1)동결보존액을 처리 후 바세린 거즈에 지지한 동결건조 전의 세포와 2)동결건조보존액을 처리 후 페트필름에 지지한 동결건조 후의 세포를 적용하고, 대조군으로 1)바세린거즈와 2)페트필름을 적용하여 각각 7일, 10일, 14일, 21일 후 상처의 치유 정도를 측정하였다. 측정결과 도 9에 나타난 바와 같이 동결건조 전의 세포와 동결건조 후의 세포군 모두 대조군에 비해 상처치유가 빠르게 진전되었다.

**도면**

**도면1**



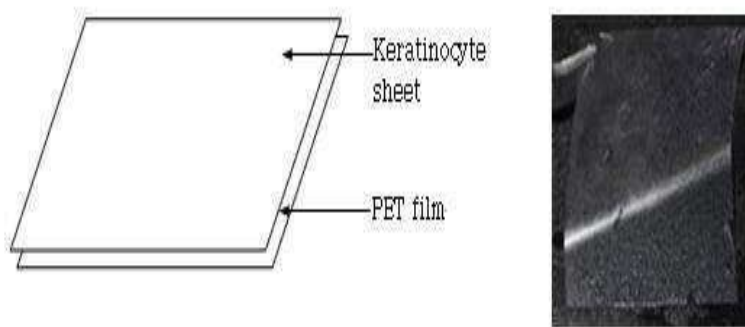
**도면2**



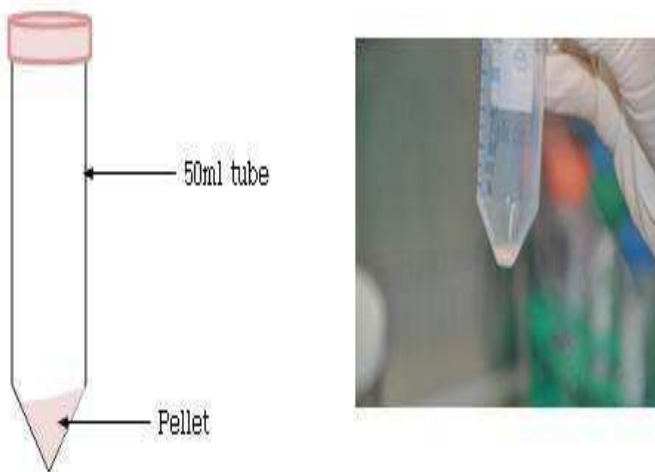
도면3



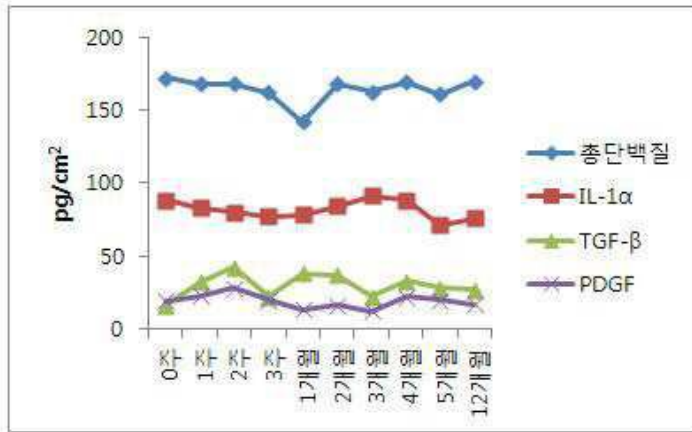
도면4



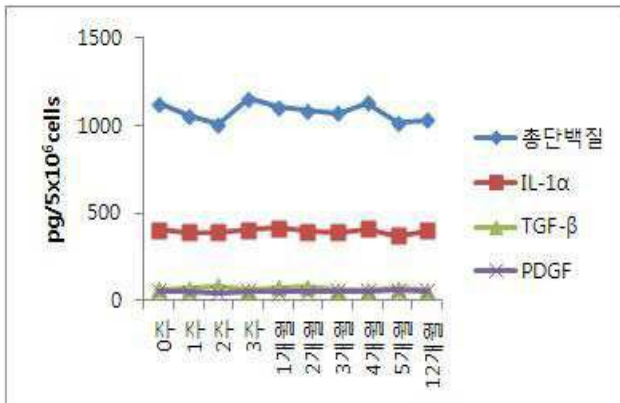
도면5



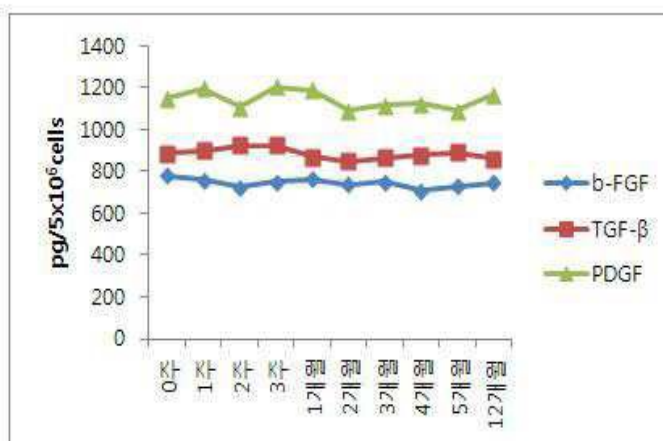
도면6



도면7












도면8





도면9

	7일	14일	21일
동결건조 전 세포 (동결보존액 처리/ 지지체바세린거즈)			
바세린거즈			
페트필름			
동결건조 후 세포 (동결건조보존액 처리/ 지지체페트필름)	