돼지 단일 간세포와 간세포 구상체의 동결보존에 관한 연구

성균관대학교 의과대학 외과학교실, [1]삼성생명과학연구소, [2]동국대학교 생명화학공학과

이광웅·이지현[1]·정두희[2]·이환효
박진완·김성주·이석구·조재원

배경 및 목적 인공간이나 간세포이식에서 높은 간 기능 활성을 가지는 간세포를 필요한 시기에 적절히 공급을 하기 위해서는 높은 수준의 동결보존법이 개발되어야 한다. 본 연구에서는 단일 간세포와 간세포 구상체에서 동결보존 조건에 따른 생존율 및 간 기능의 차이를 알아보고, 적절한 동결보존 조건을 찾아보고자 하였다.

대상 및 방법 약 10 kg 돼지에서 간세포를 분리하여 단일 간세포를 동결보존하고, 남은 간세포는 하루 동안 부유배양해서 간세포 구상체를 만들어서 동결보존 하였다. 동결보존액은 hormonal defined medium(HDM), University of Wisconsin 용액(UW), DMSO, FBS, 20% 알부민을 각각 일정비율로 하여 만들었다. 간세포의 생존율 측정은 MTT 분석법과 Trypan blue 염색법을 이용하였다.

결과 단일 간세포 및 간세포 구상체를 다양한 농도의 DMSO를 첨가한 용액으로 동결보존 후 해동하였을 때 10, 15, 20 및 30%의 DMSO 농도에서 단일 간세포는 각각 40.5, 43, 29.5, 20.5%의 생존율을 나타내었으며 간세포 구상체는 각각 61, 82, 79, 68%의 생존율을 나타내었다. 단일 간세포 및 간세포 구상체를 15% DMSO를 기본으로 하여 HDM, UW, FBS, HES, 알부민 등 다양한 용액을 첨가하여 동결보존 후 해동하였을 때 단일 간세포에서는 UW+15% DMSO의 조성(57.8%)과 HDM+UW+15% DMSO의 조성(45.6%)에서 높은 생존율을 나타내었고, 간세포 구상체에서는 FBS 또는 HES를 첨가한 조성에서 가장 높은 생존율(96, 94%)을 나타내었다.

결론 단일 간세포에 비해 간세포 구상체의 해동 후 생존율이 높았으며 부착율 또한 높았다. 그리고 단일 간세포의 경우 동결보존액의 종류에 따라 생존율에 많은 차이를 보인 반면, 간세포 구상체는 크게 차이를 보이지 않았다.