

R-11. 사람 Mesenchymal stromal cell(hMSC) 분리를 위한 간소화된 방법에 대한 연구

박정현, 정종평, 이용무, 구 영, 류인철, 한수부

서울대학교 치과대학 치주과학교실

연구배경

hMSC를 얻기위해 centrifugation, fluorescence activated cell sorter(FACS), magnetic activated cell sorter(MACS)가 이용되어져 왔다. 그러나 centrifugation만을 이용한 경우 순도가 떨어지며 FACS나 MACS의 경우에는 비용, 시간이 많이 드는 단점이 있다. 따라서 이 연구에서는 antibody cocktail을 이용하여 hMSC를 좀더 쉽게 얻어내는 방법에 대해 알아보도록 하겠다.

연구방법 및 재료

1) 골수의 획득

사람의 골반에서 12G의 바늘을 이용하여 골수를 흡입한 후 heparin이 들어있는 시험관에 넣고 처리 과정을시행하기 전에 냉장고에 보관하며 가능한 한 빨리 처리과정을 실시한다.

2) hMSC의 분리

얻은 골수에 적당량의 RosetteSep(Stemcell Technologies)을 첨가한 후 실온에서 20분간 반응시킨다. 그 후 적당량의 Ficoll-paque위에 골수와 RosetteSep의 혼합물을 섞이지 않게 올리고 원심분리를 이용하여 원하는 세포층을 얻어낸다. 이 세포층을 따로 분리한 뒤 배양한다. 배양 시 세포가 80%이상 차기 전에 계속 passage를 시행하며 배양한다. 이는 세포가 밀도가 높아져 원치 않는 세포로 분화되는 것을 막기 위함이다.

3) 분화 유도

배양된 세포가 다양한 분화능력을 가지고 있는지 알아보기 위해 세 가지로 분화를 유도하였다. 적절한 배지와 적절한 환경에서 배양함으로써 얻어진 세포를 osteoblast, chondroblast, adipocyte로 분화를 유도하였다.

4) 염색

분화된 세포가 원하는 형질의 세포로 분화되었는지를 확인하기 위하여 osteoblast의 경우 von Kossa staining, alkaline phosphatase activity, chondroblast의 경우 Safranin-O staining과 type II collagen immunostaining, adipocyte의 경우 Oil-Red-O staining으로 염색하여 분화를 확인하였다.

연구결과 및 결론

분리해낸 세포는 각각 세가지 세포로 분화가 되었으며 이는 RosetteSep이 hMSC를 성공적으로 분리해냈다는 것을 보여준다. 그러나 모든 세포가 분화를 보이지는 않았으며 따라서 hMSC의 순도를 높이기 위한 연구가 더 필요하다. RosetteSep을 이용하면 다른 방법들 보다 쉽게 hMSC를 얻을 수 있으나 기존의 방법과 순도의 측면에서 더 비교할 필요가 있다.