〈技術解說〉

세포 융합에 의한 조직 배양기술

On the technical of tissue cultivation by a cell fussion

李 聖 甲*
Lee, Seong-Kap

1. 머리말

인구의 증가는 식량 수요 증가와 에너지 고갈 및 각종 환경 파괴를 수반하게 되고 아울러 각종의 재해, 특히 질병이 만연하기에 이르렀다. 현재 이 시간 지구상 여러 곳에서 기아와 질병으로 많은 우리의 인간들이 고통 속에서 헤매이다 끝내는 죽음에까지 이르고 있다. 그리고 현대의 산업 기술개발로 많은 에너지를 쓰게 되어 지구상의 화석 원료들은 불원간 고갈되어 우리의 생활을 어렵게 할 것이다. 이같은 현대의 과제들은 우리들이 끊임없이 노력하여 해결해야 할 문제들이다.

이러한 측면에서 상온, 상압에서 에너지가 필요없는 생물공장 형태로 식량과 치료약품 그리고 일상 용품의 생산기술인 유전공학 기법은 우리가 현재 할 수 있는 최고의 기술개발 분야이다.

생물공장인 유전공학은 생명체의 기본이 되는 유전자의 조작으로 새로운 생명체를 개조하고 창조해 내는 기술로 이의 연구는 생명과학의 기초 연구와 학문 전반, 인간생활 등 여러 분야에 그 이용이 예상되고 있다. 제 2의 녹색혁명으로 현재 한창 진행시키고있는 유전공학 기술은 유전자 재조립, 세포융합, 핵치환의 3대 기본 기술로 나눌 수 있으며 이 기술은 위기에 당면한 인류를 구원하는데 큰 역할을 할 것으로 기대되고 있다.

유전자는 이 지구상에 존재하는 1천만 종에 달하는 생명체의 구성단위인 세포로 사령부인 세포핵을 가지고 있으며 그 속에는 생물의 특성과 모양 및 수명을 결정하고 그것을 자손만대에 전해주는 기본 설계도가 유전자이다. 생명체의 기본설계도인 유전자의 일부, 혹은 전부를 갈아 끼워 생물의 성질을 자유로이 변화시키는 고도의 1조분의 1그램을 다루는 초정밀 기술이다. 이같은 유전공학 기술의 개발 역사는 1974년 미국에서 제조한 DNA연구위 설치, 1976년 영국의 유전자 조작위, 1977년 프랑스, 1978년 독일, 1979년 일본, 우리 나라는 1982년 한국유전공학 연구조합이 설립되고 곧이어 한국유전공학 연구소, 각 대학부설 연구소, 그리고 각 대학에 유전공학과가 신설되었고 국책 사업으로 국회에서 이 문제를 다루기에 이르렀다.

이같은 유전공학의 역사적인 배경과 필요성이 대두되어 많은 연구성과가 결실을 맺어 식량작물품종 개발, 의약품, 식품성분제조, 우수품종의 가축 생산 등 많은 진전을 보이고 있으며 이는 인류의 당면 과제 해결에 실마리를 풀어 주고 있다.

인공씨 감자와 가지에는 토마토가 열리고 뿌리엔 감자가 달리는 "토감 pomato", 식량 자원의 다수성 품종 개량과 소의 증식 기술 개발, B형간염 백신과 인슐린, 인터페론 등의 대량 생산, 그리고 사람의 유전자를 가진 슈퍼 쥐와 돼지의 탄생 등등 우리가 최근 들어 자주 듣는 생명공학기술이 빚어낸 신비들이다.

생명공학은 각종 바이오의 식품에 의한 질병 퇴치와 농업 혁명을 일으킨 품종 개량, 각종 미생물을 이용한 환경 산업 등 모든 분야에서 인간의 삶은 풍요롭게 할 것으로 기대된다. 그래서 유전공학을

*식품기술사, 공학박사, 국립안성산업대학교 식품공학과 교수

"21세기 황금 산업", "미개척으로 남아있는 유일한 산업 분야", "미래 산업을 주도할 핵심 분야"라고 부르고 있다.

생명공학의 시초는 1953년 J. watson과 F. crick의 DNA의 이중나선 구조 발견이다. 이는 당시 베일에 싸여 있던 유전 현상이 "DNA가 알아낸 유전정보에 따라 여러 가지 단백질이 합성되는 과정"이라고 분자 level에서 이를 해명하게 되었고 또 단백질이나 효소의 구조를 밝혀낸 것이다.

DNA는 생명 활동의 각본이고 그 각본에 따라 살아가기 위한 여러 가지 역할은 연기하는 배우들이 단백질임을 알게 되었다. 미생물로부터 식물 동물에 이르는 모든 생물의 보편적인 생명 활동에 대해 이러한 기본적인 기구의 해명은 그 후 유전자 공학으로 연결되는 기술적 응용을 가능하게 하는 생명 조작에의 길을 활짝 열었다.

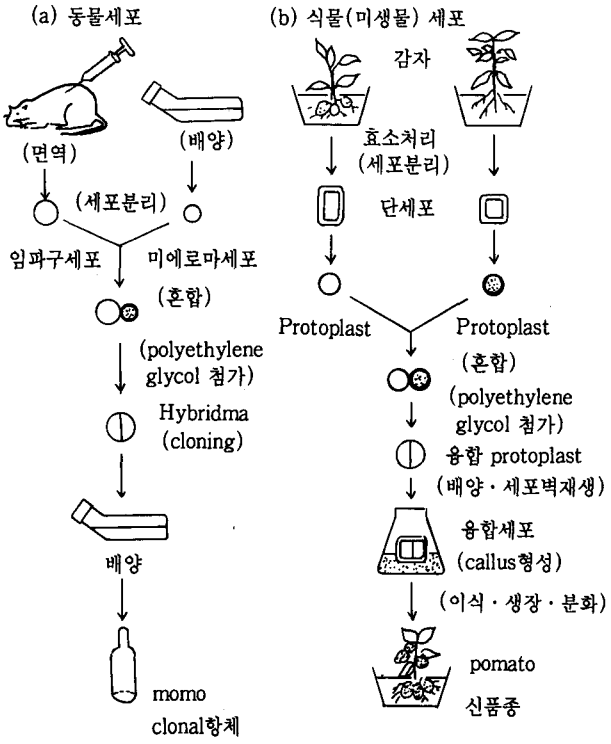
이렇게 살아있는 모든 생명체를 이용해 산업적으로 유용한 물질을 생산하는 생명공학의 발전을 더욱 재촉한 것은 사회적 요청의 결과이기도 했다. 이는 "보다 풍족한 생활"이라는 인류의 희망을 해결할 수 있는 핵심 기술로 떠올랐기 때문이다. '70년대 이후 세계 유전학자들의 연구열을 고조시킨 생명 과학 연구 계획은 게놈(Genom) 프로젝트였는데 이는 생물체가 갖고있는 유전자 서열을 밝혀내 치료 불가능한 각종 유전질환을 퇴치해 보자는 원대한 포부가 담겨 있었다. 이를 계기로 미국을 위시하여 일본 영국 프랑스 등 선진국들은 생명공학 연구에 막대한 투자를 하고 있다.

그러나 지나친 기술적 응용은 생명 윤리 문제가 우려된다. 우리 나라도 "바이오텍 2000"프로그램에 2007년까지 16조 원을 투입하기로 하여 생명공학의 도약을 추진하고 있다. 여기서는 세포핵융합에 의한 조직 배양 기술을 설명하고자 한다.

2. 세포융합 기술

2.1 원형질체(PROTO PLAST)

최근 수년래 BIOTECHNOLOGY의 하나로서 유전자 조작과 아울러 세포융합이란 단어를 사용하기 시작하였다. 새로운 재배 품종을 만드는 육종방법으로서 주로 채소에서 성공한 예는 신문지상을 통해 익히 알고 있다. 그러나 실제로 세포융합은 동물세포나 미생물도 각각 목적하는 바대로 세포융합할 수 있게 시험하는 기술의 하나이다.



〈그림 1〉 동물과 식물(미생물)의 세포융합

여기서 현재 사용되고있는 세포융합 법을 구체적으로 어떤 기술인가 또는 어떤 성과를 얻을 수 있는가에 대하여 기술한다.

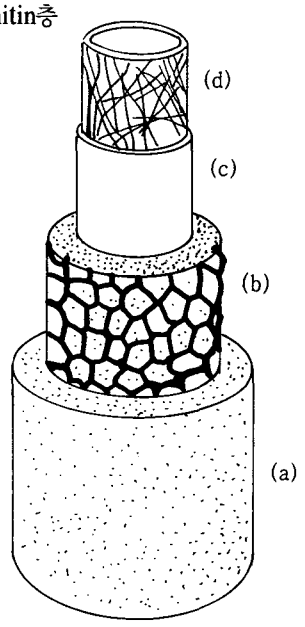
식물이나 미생물같이 세포가 세포벽이라는 견고한 껍질에 피복된 생물은 원래 세포벽을 갖지 않는 동물세포와는 세포융합 내용이 약간 다르다. 결국 식물세포나 미생물의 실제 세포융합은 PROTOPLAST융합하는 것을 의미하며 세포융합의 전 처리로서 우선 세포의 PROTOPLAST化가 필요하다. 원형질체(proto plast)란 세포벽을 둘러싸고 있는

것을 세포에서 세포벽을 완전히 제거시켜 얻은 세포막 가장 바깥 층에 존재하는 단세포라고 말할 수 있다.

동물세포같이 세포막만으로 포위된 세포는 이와 같은 초기부터 프로토 프라스트화되어 융합처리는 후술하는 불활성화된 Sendai Virus 또는 에틸렌 그리콜이 사용된다. 동물세포의 세포융합은 체세포 수준의 유전적 해석 등의 기초적인 연구 외에 공업적으로는 mono clonal항체생산에 응용된다.

여기서 세포벽을 구성하는 주성분으로서 간단한 것은 식물에서는 세루로즈, 헤미 세루로즈나 펙틴 등의 다당류, 균류 중 효모에는 구루칸 및 만난, 단백질 복합체나 키친이 있다. 사상균에는 키틴, 키토산, 구루칸, 만난, 세루로즈 등으로 구성되어 식물의 세포벽과 유사하게 다당류로 되고 여기에 소량의 단백질, 지질을 함유한다. 그림2에서 red bread 곰팡이의 세포벽의 모식도를 보여 주고 있다.

(a) 최외층α 및 β혼합 glucan
(b) 당단백질의 세망상 구조
(c) 주로 단백질
(d) 체내 chitin층



〈그림 2〉 Red bread mold인 Neurospora crassa의 세포벽 주요부분 모식도

세균은 다른 생물에서 볼 수 없는 독특한 세포벽 구조를 갖고있어 그 골격을 하고있는 물질은 펩티드와 아미노당 체인으로 구성된 펩티드 그리칸이다. 기타 성분으로 다당류, 단백질, 리포다당류 teichoic산이다.

PROTO PLAST는 이같은 모양으로 주로 다당류와 단백질로서 구성된 세포벽을 식물 사상균 효모 세균 각각에 적응된 세포벽 용해효소에 의하여 분해 제거하여 처리한다.

세포벽을 없애고 연약한 세포막으로 피복된 원형질체는 외액에 비하여 상당히 높은 세포내의 침투압에 의하여 간단히 파괴할 수 있다. 그리하여 보통 고농도의 당, 당알콜, 무기염 등의 높은 장력액중에 부유시켜 얻는다. 이와 같은 조건에서도 개개의 원형질체는 세포 원래 형상에 관계없이 아름다운 구형이 된다.

이전에는 달팽이의 소화액이나 세포벽 용해효소를 균체외로 추출한 미생물의 배양여액을 사용하여 프로토 푸라스트를 제조하였으나 현재는 프로토 푸라스트 조제를 위한 여러 가지 효소가 개발되어 시판되고 있다.(표1)

예를 들면 균류에는 시판의 TRICHODERMA VIRIDE유래의 세루라제나 HELIX POMATIA에서 얻은 β-GLUCONITASE, HELICASE, IRPEX LACTEUS에서 얻은 TRICELASE와 RHIZOPUS ARRHIZUS생산의 MACEROZYME 또는 STREPTOMYCES ANTIBIOTICUS생산의 KITINASE 등을 조합 사용함으로서 유효하다.

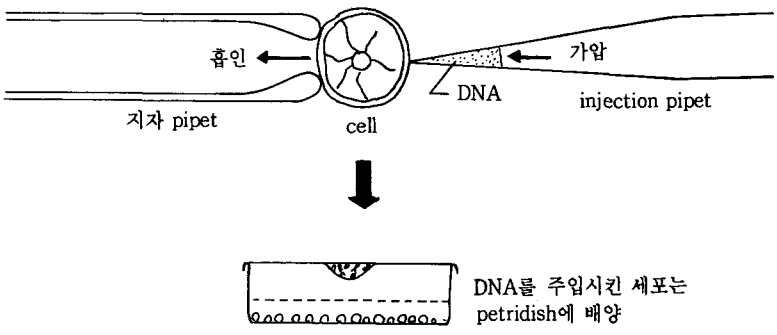
PROTO PLAST 실험재료로서 개발 역사를 보면 미생물 중에는 효모의 프로토 푸라스트를 처음 사용하였고 1922년 GIGAJA가 달팽이의 소화액을 사용하여 세포벽을 용해시켜 조제하였다. 다음으로 세포벽 용해효소를 이용하여 세균에서 대량의 PROTO PLAST가 1953년에 제조되었다. 사상균에는 붉은 빵 mold로서 효모와 같이 달팽이 소화액을 이용하여 1958년 EMERSON이 성공하였다. 식물세포로는 효소를 사용하여 1960년 COCKING이 토마토로 만든 것이 최초이다. 이때에는 나무 부식

〈표 1〉 Protoplast의 단리에 사용하는 시판효소

	효소명	주성분	기원
세포단리효소	Macerozyme	polygalaeturonase	Rhizopus arrlizus
	Pectolyase	pectinlyase 및 polygalaturonase	Aspergillus japonicus
	Pectinase	polygalacturonase	Aspergillus niger
	Coltonase	polygalacturonase	Rhizopus sp.
섬유소효소	Cellulase Onozuka	Cellualge	Trichoderma virids
	Driselase	cellulase 특히 Hemicellulase polygalacturonase	Irpex lacteus Trichoderma koningi
	Meicelase	Cellulase	
기타세포벽분해효소	Rhozyme	Hemicellulase	Arthrobacter luteus
	Zymolyase	Zymolyase	

균의 배양여액을 사용하였다.

시판 효소로 프로토 프라스트를 얻은 것은 1968년 일본에서 담배로부터 조제하였다. 그러나 프로토 푸라스트에 의한 세포융합을 처음으로 육종에 응용한 것으로 생각되며 실제로 가장 집중적으로 연구 발전을 가져온 것이 식물의 분야이다. 종류에 따라서는 자실체(버섯)를 식용하는 담자균은 WESSELS와 DEVRIES에 의하여 1872년 버섯이 최초로 보고되었다. 그러나 프로토 푸라스트는 처음부터 오늘날까지 세포융합의 소재로 이용되고 있다. 한 예로 세균은 그램 음성균이, Ca2+의 존재하에서 DNA를 선택 취입현상이 알려졌고 그램 양성균도 리죠지움에 의하여 프로토 푸라스트를 만들어 같은 모양으로 DNA 취입이 가능하다. 이와 같이 세균의 프로토 푸라스트로는 세포융합보다 오히려 유전자 도입(TRANSFORMATION)이 연구의 대상이 되고 있다. 이 방법은 DNA 조합기술의 응용이다. 또 세포벽을 제거시킨 프로토 푸라스트외에 원래의 동물세포로 개발한 MICRO INJECTION법(그림3)으로 미소한 주사기를 사용하여 직접 DNA를 도입한 유전자의 조환체를 만드는 기술로 균류나 식물의 세포에도 응용이 가능하다.



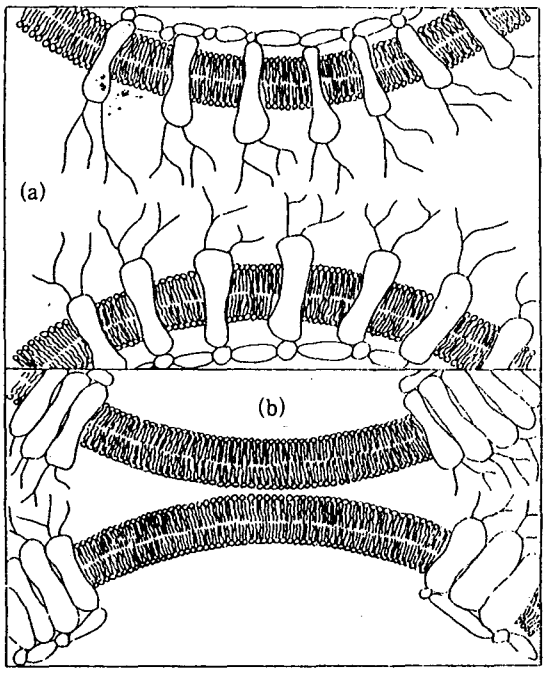
〈그림 3〉 Micro Injection법에 의한 동물세포나 원형질체에 DNA조작

PROTO PLAST화 기술을 도입하는 것은 효모나 식물로는 견고한 세포벽에 의하여 포위 되어있어 연구가 곤란한 것은 세포막이나 세포내의 organelle 분리가 가능하여야 한다. 또 균류로는 처음에는 세포벽의 생합성에 착안하여 PENICILLIUM GEOTRICHUM, TRICHODERMA FUSARIUM속 등으로 프로토 푸라스트의 재생에 관한 문헌은 많다. 지금까지는 프로토 푸라스트 융합을 이용하여 유성시대가 아닌 불완전균으로의 이핵공존체를 형성시켜 그후 1핵화로 조환체를 해석한 유전자 지도를 만드는 응용이 시도되고 있다.

2.2 세포막의 구조

생체막은 지질 2중막 기본 구조로서 곳곳에 단백질이 막안의 입자로서 존재하는 모양의 형상을 갖는다.

내재성 단백질의 표면은 동물세포로 어떠한 디아루산에 의하여 구성되고 식물세포는 표층에 약간의 인산기에 의하여 부(負)의 대전이 되어있다. 따라서 보통의 상태로된 것은 프로토 푸라스트같이 높은 음전화 (부)로 되어 단단히 융합되지 않는다. 어떠한 자극에 의하여 막안의 입자 분포가 편재되어 생긴 부분으로서 융합이 일어나게 된다.

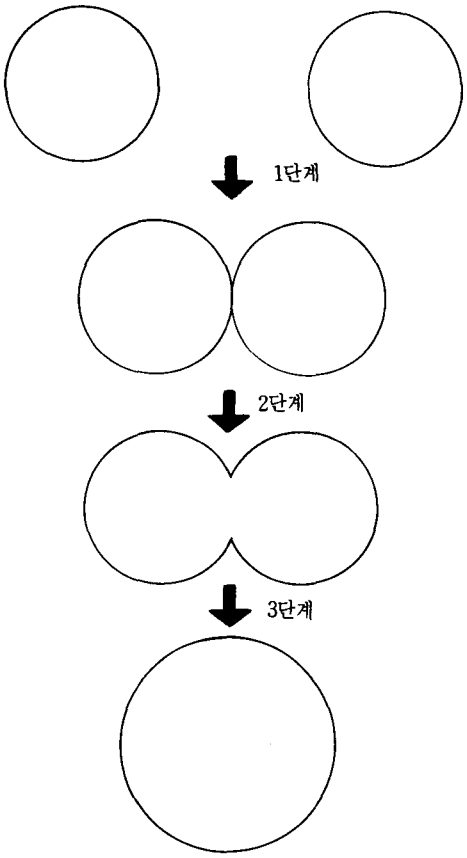


〈그림 4〉 생체막 융합의 1단계 model

2.3 세포융합의 MECHANISM

막융합은 3단계로 나누어 고찰되는데

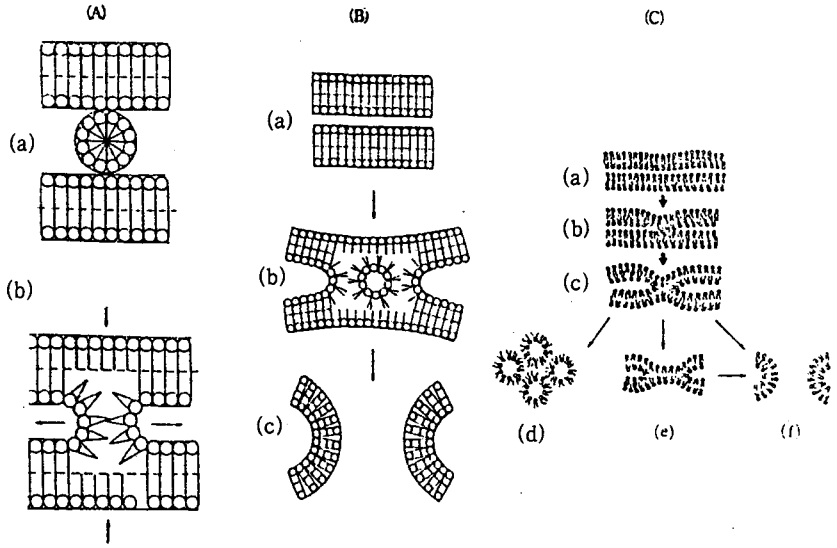
(가) 두 개의 막이 상당히 근거리까지 접근되어 접착된다.



〈그림 5〉 막융합의 3단계

(나) 접착된 두 개의 막이 좁은 영역으로 막융합이 일어난다.

(다) 좁은 영역에서의 막융합이 넓어져 두 개의 막이 한 개로 된다. 그리고 이것도 융합의 하나의 모델로서 막융합의 모델은 몇 개가 있으며 그 메커니즘은 완전하게 해명되지 않고 있다.

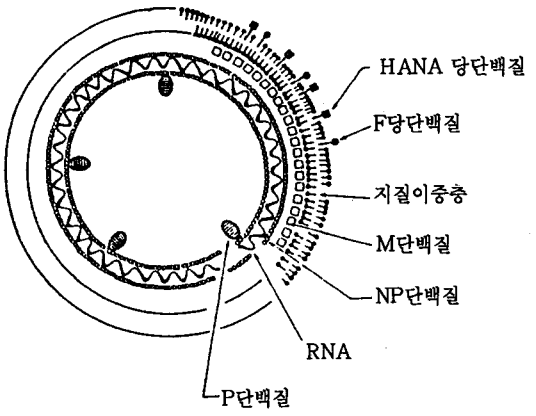


A (a) micelle 가교모델
B (b) 역 micelle모델
C (c) 부분결손모델

(a), (b)는 D. Gingell, L. Ginsberg(1978),
(c)는 S.W. Hui(1981)에 의함

〈그림 6〉 막융합 기구의 model

한편 생물계에서 자연적으로 일어나는 막융합은 잘 연구되어 SENDAI VIRUS에 의한 막융합이 이루어진다. 이 바이러스는 세포막과 구조가 유사한 지질이 이중막으로된 ENVELOP를 갖는다.



〈그림 7〉 Sendai Virus의 모식도

감염 시에는 VIRUS ENVELOPE와 동물세포의 세포막이 융합에 의해 VIRUS GENOM을 세포 내에 주입한다. 이때에 세포와 같은 막융합을 일으키게되고 불활성화시킨 SENDAI VIRUS는 동물세포의 세포융합에 이용되고 있다.

여기서 보면 동물세포에 있어서도 균류나 식물의 PROTO PLAST에서도 세포융합이란 결국 세포막의 융합에 의하여 2개 또는 2개이상의 세포가 1개로 되는 현상이다. 바꾸어 말하면 세포융합의 기술은 세포막융합의 기술이라고 말할 수 있다. 이와 같이 막의 융합현상이 생물종을 초월하여 공통현상을 얻는 일로 주목되어 자연의 상태로는 교배 불가능한 생물의 세포 같은 것을 융합시켜 각각의 세포특질을 합한 것을 갖는 생물을 만드는 것에서 출발하였다.

2.4 세포융합의 방법

실제로 세포융합에 사용하는 방법으로서 화학약품에 의한 막표면에 변화를 주어 융합시키는 수법과 물리적인 자극(전기 자극)에 의하여 막을 융합시키는 방법 등 두 종류가 있다.

가) 화학적 수법

화학적 수법은 과학약품에 의하여 2.3에서 설명한 세포막융합을 일으키는 수법으로 크게 두 가지로 나누는데 (1) 고 pH · 고 Ca법 과 (2) PEG(포리에티렌 그리콜)법이 있다.

(1) 고 pH. 고 Ca법 : 재현성이 있는 최초의 세포융합법으로서 KELLER와 MELCHERS에 의하여 1973년에 처음 시작되었다. PROTO PLAST를 고 pH(pH 10), 고 Ca^{2+}(50mM)존재하 37℃에서 30분 처리하는 방법이다.

여기서는 Ca^{2+}가 필수가 되고 37℃이하에서는 반응을 일으키지 않는다. 세포막의 유동성은 온도의존성에 지배받는 것으로 된다.

(2) PEG법 1974년에 KAO와 MICHAYLUK에 의하여 발견한 방법으로 분자량 1540－6000의 PEG 고농도 용액에서 식물 PROTO PLAST를 처리하여 PROTO PLAST의 접착이 일어나 PEG를 제거하는 과정에서 융합이 일어난다. 또 PEG만으로 융합을 일으키려면 Ca^{2+}을 가하여 처음으로 세포융합을 이르는 것을 확인하였다. 더욱이 최근의 연구에 의하면 시판의 ETHYLENE GLYCOL을 재결정으로 정재하면 세포융합 활성을 잃는 것을 해결하였다. PEG법은 그후 동물세포나 미생물 PROTO PLAST융합에도 응용되고 역시 세포 동질의 융합뿐만 아니라 PROTO PLAST에 DNA나 핵을 취입시킬 때에도 사용하는 방법이다.

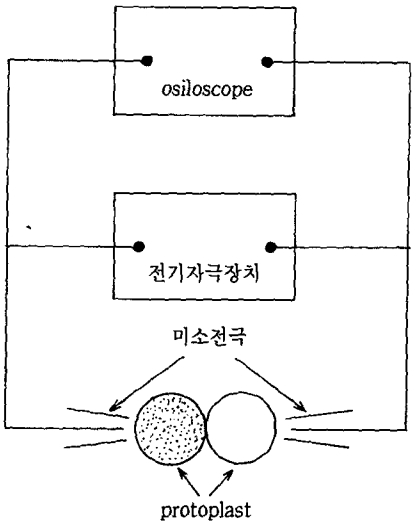
세포에 있어서는 핵작용이 있고 융합률이 일반적으로 그렇게 높지 않고(5%) 융합처리 후에 PEG를 제거시키는 것이 번잡한 것 등의 문제가 있으나 현재 가장 광범위하게 이용되는 세포융합 기술이다. 구체적인 성과로서는 감자와 토마토의 체세포잡종의 POMATO(그림1) 오렌지와 탱자의 체세포잡종의 ORETACHI, 식물체의 융합주에 의한 자실체 형성, 세포융합으로 육종시킨 냉동생지발효용 빵효모, 청주용 황곡균(ASPERGILLUS ORYZAE) 과 소주용 백곡균(ASPERGILLUS AWAMORI VAR. KAWACHI)의 PROTO PLAST융합균에 의하여 양조시킨 소주 등의 예가 있다.

PEG법의 변법으로서 POLY VINYL ALCHOL법, DEXTRINE법 등이 있다.

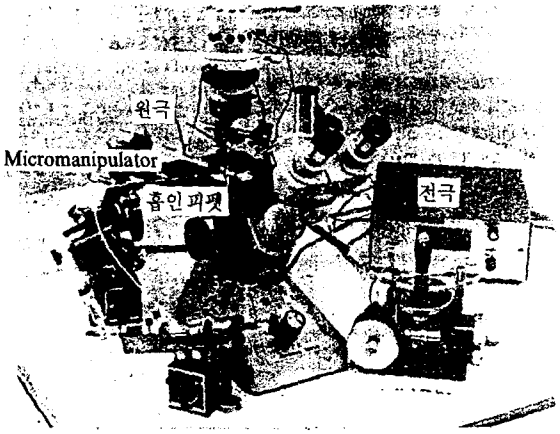
물리적 방법으로 사용되는 것은 전기에 의한 융합법이 있는데 처음에 전기 충격파에 의한 식물 프로토 푸라스트 융합이 논문으로 보고된 것은 1979년 일본에서였다. 한편 오늘날 국내외를 통하여 많은 회사에서 시판되고 있는 전기융합장치의 원리는 1981년에 ZIMMERMANN에 의한 보고가 기초가 되고 있다. 전기융합법은 처음에는 주로 식물 프로토 푸라스트를 시료로 하였으나 최근에는 동물세포도 세포융합을 응용하여 종래의 PEG + Ca^{2+} 법 MICRO INJECTION법이 발전되어 유전자도입으로서 가장 왕성하게 응용되고 있다.

전기융합법은 현재 크게 나누어 미소전극법, 평행전극법, DIELECTROPHORESIS CHAMBER법 등 3가지가 있다.

(1) 미소전극법(그림8) 두 개의 프로토 푸라스트를 MICRO MANIPULATOR에서 서로 접근시켜 순식간에 미소 가라스 전극을 갖는 전류 충격파를 흘려 융합을 일으키고(그림9) 이는 일본에서 개발한 현미경하에서 1:1의 융합을 관찰 확인한 후에 세포를 Pick Up하는 이점이 있고 프로토 푸라스트의 크기에 따라 큰 유리전극에 대하여 충분히 큰 것이어야 하고 크기가 적은 미생물 프로토 프라스트에의 응용에는 연구 할 여지가 많다. 그러나 영양요구성이나 약제내성 등의 유전적인 메카가 도입하지 않는 세포, 예를 들면 실용효모 등을 융합하기 위해서는 각각의 세포를 마이크로 마니퓨일레터로써 현미경 시야에 넣고 그대로 융합처리를 행할 수 있는 좋은 방법이다. 보다 다수의 세포를 크기에 관하여 전기로써 융합 처리하는 방법으로 다음과 같은 평행전극법이 있다.



〈그림 8〉 미소전극법

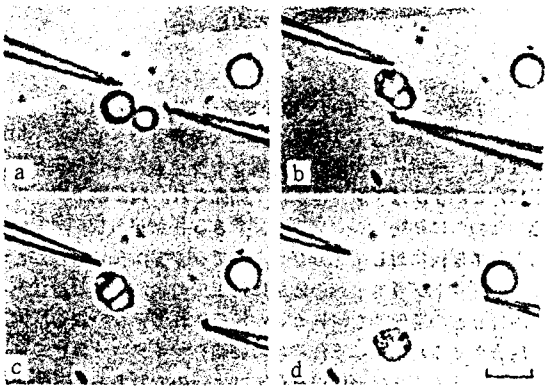


〈그림 9〉 미소전극 융합장치

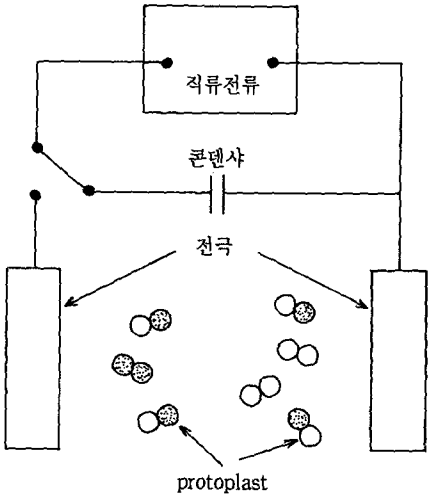
(2) 평행전극법 두 매의 금속전극(보통 백금 사용)사이에 프로토 푸라스트 현탄액을 적하하여 양 전극을 통하여 전류 충격파를 흘리는 방법으로 한 번에 다수의 프로토 푸라스트 융합을 일으키게 하는데 편리하다.(그림11)

이때 원형질체(PROTO PLAST)현탄액은 서로 접촉시킬 수 있을 정도의 농도가 필요하다.

(3) DIELECTROPHORESIS CHAMBER법

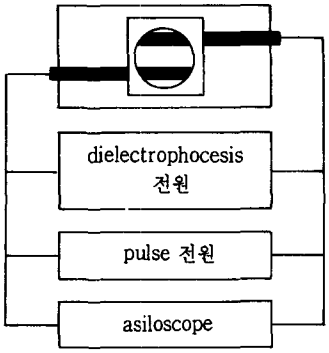


〈그림 10〉 미소전극법에 의해 융합시킨 프로토푸라스트

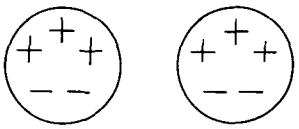


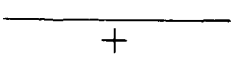
〈그림 11〉 평행전극법

POHL(1966)의 DIELECTROPHORESIS 법과 평행전극법을 조합시킨 현재 가장 많이 사용하는 전극융해법(DIELECRTOPHORESIS CHAMBER 법)(그림12)을 개발시킨 사람은 ZIMMERMANN (1981)이다. 이 방법은 우선 원형질체가 부유 시킬 수 있는 곳에 교류의 전기장을 띠게 함으로 보통 단계는 상호간에 표면이 부(−)의 대전을 시키기 위하여 접촉하지 않는 원형질체상이 쌍극 분리를 일으키는 (그림13) 세포동질의 유인을, 유발을 일으킨다.



〈그림 12〉 Dielectrophoresis chamber법





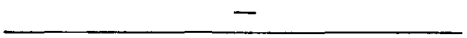
〈그림 13〉 외부전장에 의한 원형질체 세포막의 분극

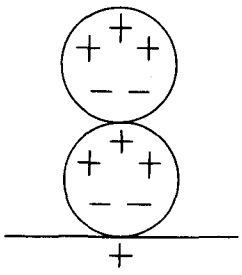
이리하여 원형질체의 접착 수를 자연히 빈번하게 단계적으로 증가시키게 된다. 그래도 세포자신은 양극 측에 유인 기착한다.

이렇게 하여 다시 양극 측에 가까워지면 세포는 상호간에 PEARL CHAIN 이라는 2개 이상의 세포의 연속물을 형성한다. (그림14) 여기서 이번은 직류의 전기 충격파를 부여하여 일시적으로 막을 파괴(DIELECTRIC BREAKDOWN)하면 막에 작은 구멍의 공간(ELECTROPORATION)이 된다. 여기에 상호 세포의 세포질을 유입시켜 전기장을 취하여 제거하면 막의 복원이 일어나고 여기서 막은 하나로 묶여 세포융합이 일어나게 된다.

도중의 과정에서 일어나는 ELECTROPORATION이라는 현상은 그만큼 세포에 DNA나 핵을 도입하는 방법으로 널리 사용된다. 이 방법도 처음에는 식물의 원형질체 사용을 보고하였으나 1983년 자연계에 교잡이 일어나지 않는 동일한 접합형의 효모동질의 세포융합을 시도한 실험의 보고수를 볼 때 동물 30, 식물 20, 효모 5, 세균, 섬게알 등 이 각각 1의 논문이 있다.

그러나 1985년까지도 한결같이 새로운 융합법 시도에 주안점을 두어 장치의 개량 연구, 어떻게 융합률을 향상시키는가, 즉 2가 양이온의 유무, 전압, 전류의 크기, Pulse 방전시간의 길이 등 파라메타의 검토연구가 주로 되고 융합 처리시킨 세포 바로 그것으로는 헤테로가리온(이핵공존체)의 형성까지는 확인되지 않았다. 환언하면 전기로써 융합 처리시킨 후의 세포의 추적 조사가 없는 것이다. 그러나 1985년 담배배양세포에서 얻은 원형질동질체를 DIELECTROPHORESIS CHAMBER법으로 융화시켜 잡종세포에서 코로니나 경엽을 분화시킨 보고가 있다.





〈그림 14〉 양극측에서 Pearl chain을 형성시킨 Proto plast

그것은 PEG법 보다 융합빈도가 높은 성과를 얻을 수 있다. 또한 평행전극법에도 담배과 식물의 종간잡종이 현성된 식물체로 재생산된다는 보고가 1986년에 제출되었으나 전기융합법도 실용적 기술로서 확립되었다고는 볼 수 없다.

지금까지의 성과를 총합하면 ELECTROFUSI-

ON의 이점으로는 융합빈도가 높고 조작이 간단, PEG에 의해 해작용을 받은 재료에도 사용하여 순간적으로 처리함으로 세포에 비교적 무해, 현미경에서 볼 때 눈으로 정확히 융합조건을 결정하는 등의 문제가 거론되고 있다.

이상 현재 사용되고 있는 세포융합의 방법을 설명하였고 어떤 조작에도 Ca2+가 중요한 역할을 한다는 것은 흥미롭다. 막에 의한 Ca2+의 작용은 다른 2가 양이온의 대용에는 얻을 수 없다.

PROTO PLAST의 분리와 그 후의 융합법은 기술로서 확립되었다. 한편으로 불확정한 요소를 될 수 있는 한 줄여야 하며 융합 그것을 추적할 수 없고 일부의 프로토 푸라스트가 다른 세포융합의 DNA 혹은 세포융합 Organelle만을 도입하는 방법(비 대상체 세포잡종의 제조)이 간단하게 할 수 있는 기술이 나타날 것이다.

최후에 세포융합이 막의 융합현상이 되는 일이 주목되며 새로운 융합법의 개발의 여지가 아직 많다고 생각된다.

•참고문헌

1. 유태종 외. 식품미생물학, 문운당 1990
2. 정동효. 발효와 미생물공학, 선진문화사 1992
3. 七字三郎. 미생물공업의 응용, 공립출판(일본) 1972
4. 馬替由美. 식량, 일본총합식량연구소 1988
5. 강국희. 낙농미생물학, 선진문화사 1993