

## 동결센터와 생식의학의 응용

### Cryopreservation Center and Application of Reproductive Medicine

이호준, 김강주<sup>1</sup>

을지의과대학교 생리학교실, <sup>1</sup>원광대학교 치과대학 미생물학교실

#### I. 서론

저온생물학(Cryobiology)은 영하이하의 낮은 온도에서 생물이 생명을 유지하기 위해 세포 및 조직들에서 나타나는 현상들을 생물학적으로 관찰하는 것을 의미하며 또한 최근 들어 생명체의 장기적인 보존의 필요성에 의해 동결(banking) 및 해빙(thawing)을 통해 생명체에서 나타날 수 있는 현상들을 연구하고 생물을 필요한 목적에 의해 다시 활용할 수 있도록 일정기간 안전하게 동결 보존한 후 사용목적에 따라 이용하는 것을 의미한다. 최근 들어 생식의학의 발달에 의해 생명체에 대한 보존 기술 및 방법을 비롯하여 장비 등이 지속적으로 발전하였고 사용범위가 넓어지면서 대상 또한 다양해지고 있는데, 일정기간 보존한

후 미래에 사용하기 위해서는 더 많은 연구와 노력이 필요한 시점이다. 특히, 동물에서는 멸종위기에 있는 동물들의 종의 보존을 위한 노력과 더불어 인간에서는 불임시술을 포함한 생식의학의 분야에서 새로운 동결법을 이용하여 정자, 난자 및 배아를 비롯한 생식세포와 조직들에 대한 연구들이 끊임 없이 시행되고 있으며 인간질환의 치료를 목적으로 임상적인 적용을 위해서도 중요한 분야이다.

동결보존(Cryopreservation)을 위해서는 생명체들이 일정기간 보존된 후 다시 이용되었을 때 기능적 또는 발생학적으로 능력을 보존하여야 하며 기존의 생명체와 똑 같이 작용해야 하기 때문에 생존률을 향상시키기 위해서는 다양한 기술들이 요구되고 있다. 과거

에는 단순히 상온이나 빙점 이하의 저온에서 보관하는 자연적인 방법을 통해 세포 및 조직들을 단기간 보존하는 방법을 사용하였으나 20세기에 들어서면서부터 동결 억제제(cryoprotectant) 및 배양액 등 보존할 수 있는 물질의 개발과 동결보존을 위해 이용되는 기술과 방법, 장비의 개발을 통해서 많은 발전을 하였다. 이러한 기술들은 현재 농수산업, 의학 그리고 연구분야에서 인간을 포함하여 다양한 종에서 다양한 목적으로 이용되고 있으며 보다 나은 동결 보존을 위한 연구들이 진행되고 있다. 현재 응용되고 있는 분야를 살펴보면 혈액은행, 정자, 난자 및 배아은행, 골은행, 장기은행, 조직은행, 세포주은행 등 대상에 따라 다양하게 이용되고 있다.

과거에는 동결보존은 단순히 보관의 개념이었기 때문에 대상이 되는 생명체를 빙점 이하의 온도( $0^{\circ}\text{C} \sim -196^{\circ}\text{C}$ )에 일정기간 동안 보관하는 것이었지만 실제로 동결보존에서 가장 중요한 목적은 원하는 기간동안 동결보존한 생명체가 동결-해빙 후 상해를 입지 않고 해빙하였을 경우 생존률이 높아야 하며 또한 세포 및 조직들이 발생학적으로 이상이 없이 정상적인 기능을 할 수 있어야 한다. 동결 및 해빙을 통해서 나타나는 현상을 살펴보면 세포 및 조직의 구성성분 중 물( $\text{H}_2\text{O}$ )성분이 높은 비율로 차지하기 때문에 동결시 물이 얼음으로 결빙되면서 여러 가지 상해를 유발하게 된다. 즉, 완충작용을 해주는 전해물질들의 응고에 의한 완충역할의 상실과 이로 인한 급격한 pH의 변화, 동결을 통해 세포의 막 지질 및 골격의 변형과 이에 따른 효소체계의 혼란, 단백질 합성장애 및 세포막 기능장애가 유발되며 물의 결빙으로 인해 세포막과 세포골격, 세포내 소기관들의 상해와 함께 동결과정에서 동결억제제의 독성과 이동에 따른 삼투압 변화에 의한 세포의 물리화학적 손상이 일어난다. 그 후 해빙과정을

통해서 생겨날 수 있는 이동성 재결빙 (recrystallization of ice)에 의한 손상이 나타날 수 있으며 미세 얼음 입자가 성장하여 얼음 결정체를 형성하면 동결과정에서와 마찬가지로 세포막, 세포 골격 및 소기관에 치명적인 손상을 주게 된다. 따라서, 동결법은 단순히 세포 및 조직을  $-196^{\circ}\text{C}$ 의 액화질소에 보관하는 것이 아니라 저온의 상태에서 나타날 수 있는 생명체들의 현상들을 연구하고 확인함으로써 생명을 정상적으로 유지하기 위해서 세포 및 조직에서 나타나는 생물학적인 기작들을 살펴 봄으로써 동결-해빙 후 생존을 위한 가장 알맞은 조건을 만드는 것이 중요하다.

동결보존에 영향을 주는 요인들로는 생명체의 대상 및 재료에 따라 조금씩 차이가 있으나 지속적으로 개발되는 동결장비인 세포동결기 (Cell Freezer)와 연구들을 통해서 향상되고 있는 동결-해빙 방법 그리고 세포 및 조직들을 보관하기 위해 처리하는 배양액 및 동결억제제 마지막으로 세포 및 조직들을 능숙하게 다룰 수 있는 전문인력 등을 들 수 있다. 세포동결기는 컴퓨터를 이용하여 일정한 속도로 조절이

가능하며 급속 및 완만한 속도로 온도를 낮출 수 있도록 프로그램 되어 있기 때문에 세포 및 조직에 따라 다양한 방법을 적용할 수 있다. 동결센터가 되기 위해서는 앞서 언급한 조건들을 갖추어져야 하며 조직적인 체계 속에서 지속적인 연구와 투자가 이루어져야 한다.

동결센터는 이미 농축산분야에서 생식세포의 보존을 위해서 19세기부터 활용되어 왔으며 사람에게서는 생식의학분야의 발달과 더불어 임상적으로 적용되고 있다. 특히, 1980년 이후 불임시술의 발달과 더불어 생식세포 및 조직들을 보관하는 연구들이 지속적으로 발전되어 많은 성과를 거두고 있으며 암환자의 경우 방사선 치료 등을 통한 손상을 피하기 위해 장기들을 동결보존하여 치료가 된 후 재이식을 통해 이용하는 방법들이 시행되고 있으나 아직은 미흡한 상태이다. 상업적으로는 이미 소를 비롯하여 가축에서 개량된 품종의 정자 및 수정란을 고가에 판매하고 있으며 새로운 질환모델 동물들을 개발하여 임상적인 연구에 적용함으로써 인간의 치료법개발에 이용하고 있으며 동물산업은 최고의 고부가 산업으로 각광 받고 있다. 따라

서, 동결보존이 임상의학 및 생식의학에 미치는 영향을 알아보기 위해서 동결법에 대한 전반적인 원리와 응용분야를 알아보고 또한 동결센터의 설립에 따른 경제적, 상업적인 측면을 살펴보자.

## II. 동결보존의 방법 (Method of Cryopreservation)

### 1. 동결보존법의 원리

세포와 조직을 빙점 이하로 낮추게 되면 생물학적 및 생화학적으로 많은 변화가 일어나게 된다. 이러한 변화들은 동시에 여러 양상으로 나타나기 때문에 분석하는데 많은 어려움이 있다. 동결보존을 통해서 세포에 상해를 입히는 원인은 다양하기 때문에 이러한 원인들을 미연에 방지하거나 가급적 변화를 줄임으로써 세포 및 조직의 생존률을 향상시킬 수 있다. 동결-해빙과정은 다섯 단계로 나누어 생각할 수 있다.

**첫째**, 동결전기(prefreezer phase)로써 실온에서 대상이 되는 세포 및 조직을 동결억제제를 포함한 배양액에 넣기 시작하는 과정에서부터 식빙(seeding)을 시키는 전까지의 과정을 말한다. 이 시기에는 조

직 속에 포함된 수분을 탈수하는 과정을 거치게 되며 물을 대신하여 동결억제제가 세포로 들어가서 세포내외와 평형을 이루어 농도의 평형을 유지하게 된다. 이런 후 조직 및 세포들은 용기(ampule)에 넣고 세포동결기를 이용하여 원하는 프로그램에 의해 동결을 시행하게 된다. **둘째**, 동결기(freezing phase)로써 세포 및 조직을 식빙에서부터 -196℃의 액화질소에 저장하는 과정까지를 의미한다. 식빙이라는 뜻은 세포 및 조직내에서 미세한 얼음조각을 인위적으로 만드는 과정을 말하는 것으로 과냉각 상태(supercooled state)에 의해 배양액이 빙점 이하로 과도하게 냉각되면 일정온도에서 갑자기 전체 배양액과 더불어 세포 및 조직들이 결빙되어 물리적인 손상을 주게 되는 것을 미연에 방지하기 위해서 시행된다. **셋째**, 저장기(storage phase)이다. 저장기는 세포동결기로부터 액화질소통에 옮겨진 후 저장하는 기간으로써 액화질소통은 -196℃이므로 모든 분자운동이 정지되는 절대온도(-210℃)에 가까워서 동결기로부터 액화질소통으로 빨리 옮기면 세포 및 조직은 급격히 동결

되며 분자운동이 거의 정지된 채로 보관된다. 즉, 액화질소통에 담그는 급속 동결시에는 세포내외에 결빙이 없이 유리화(vitrification)가 일어나게 되는데 이는 급격한 동결에 의해 미처 고체 상태의 분자배열로 변화하지 못하고 액체의 분자 배열상태에서 분자운동이 멈추어서 고체화된 현상을 말한다. 따라서, 유리화 현상은 결빙이 아니기 때문에 세포와 조직에 물리적인 손상을 입히지 않게 되며 급속 동결보존시에 유리화 현상이 많이 나타날수록 세포의 손상은 덜 입게 된다. **넷째**, 해동기(thawing phase). 해동기는 -196℃의 액화질소통으로부터 세포 및 조직을 꺼내어서 실온이 될 때까지 녹이는 과정이다. 해동시에도 컴퓨터 세포동결기를 이용하거나 물을 이용하여 해빙하게 된다. **다섯 번째**는 해동후기(postthaw phase)이다. 동결전기와 반대로 실온으로 녹인 세포로부터 동결억제제를 제거하는 과정으로 저농도의 동결억제제가 담긴 배양액에서 처리하게 되면 세포 밖의 물이 세포내로 삼투하여 세포의 팽창이 일어난 후 평형을 이루게 됨에 따라 점차 원래의 세포의 모양을 회복하게 된다. 따라서,

고농도로부터 저농도로 점차적으로 옮겨가면서 세포내에 있는 동결억제제를 제거하는 탈수되었던 물의 성분이 세포내로 재흡수되어서 세포가 원상대로 회복하게 된다. 이때 삼투압의 작용에 의해 세포막에 상해가 생길 수 있으므로 항상 주의를 요한다.

## 2. 동결억제제의 선택

동결억제제는 탈수과정에서 꼭 필요한 요소로서 과거에는 이 과정을 거치지 않고 직접 결빙을 시킴으로써 물분자에 의해 결빙된 얼음조각들이 세포

의 소기관들을 파괴하여 대부분의 조직들이 생존하지 못하였다. 동결억제제는 고삼투압으로써 세포내에 존재하는 수분을 탈수시키는 역할을 하는데 수분이 차지하는 비율을 생명을 유지할 수 있는 최소한 만큼만 남겨두고 탈수하여 결빙시에 얼음을 최소화 할 수 있도록 함으로써 생존률을 높일 수 있도록 한다. 동결억제제로 이용되는 물질을 살펴보면 크게 투과성과 비투과성물질로 나눌 수 있다. 투과성 동결억제제로는 1) glycerol 2) dimethyl sulfoxide (DMSO) 3)

1,2-propanediol (PROH) 4) ethylene glycol (EG) 등이 있으며 비투과성 동결억제제로는 1) sucrose 2) polyvinyl pyrrolidone 3) dextran 4) albumin 등을 이용하고 있다. 현재 동결억제제의 선택은 세포의 크기와 종류 그리고 방법에 따라 선택적으로 사용하고 있으며 예를 들어 인간의 배아를 동결할 경우에는 DMSO와 PROH를 주로 사용하고 있으며 이 용액에 비투과성물질이 sucrose를 첨가하여 동결과정을 거치게 된다.

Table 1. Freezing and Thawing Procedure with DMSO for Human Embryo  
(Freezing) (Thawing procedure)

Process	Time or Warming	Process	Time or Warming
<b>Additional of cryoprotectant (DMSO)</b>		<b>Slow thawing</b>	
PBS+10%FCS	10 min	Warming rate from -80°C to +4°C+8°C/min	
0.25 M	10 min	Standing at room temp.	2 min
0.5 M	10 min	Removal of cryoprotectant (DMSO)	
1.0 M	5	1.5 M	10 min
		1.25 M	10 min
		1.0 M	10 min
		0.75 M	10 min
		0.5 M	10 min
		0.25 M	10 min
<b>Plunging in liquid nitrogen - 196°C</b>		PBS+10% FCS	3 min

**Table 2. Freezing and Thawing Procedure with PROH for Human Embryo**  
(Freezing) (Thawing procedure)

Process	Time or Warming	Process	Time or Warming
<b>Additional of cryoprotectant (PROH)</b>		<b>Rapid thawing water bath + 300°C/min</b>	
PBS+20% Serum wash embryos		Removal of cryoprotectant (PROH)	
1.5M PROH	15 min	1.0M PROH+0.2M Sucrose	5 min
1.5M PROH+0.1M Sucrose	15 min	0.5M PROH+0.2M Sucrose	5 min
		PBS+20% Serum+0.2M Sucrose	5 min
		PBS+20% Serum	5 min
<b>Dehydration in freeze phase</b>		Wash twice with HTF media then culture in incubator	
Cooling to -7 °C	-2.0 °C/min		
Seeding at -7°C	hold		
Cooling to -40°C	-0.3 °C/min		
Cooling to -140°C	-140 °C/min		
<b>Plunging in liquid nitrogen - 196°C</b>			

### 3. 동결-해빙방법

동결-해빙을 위해서 사용되는 방법으로는 동결과 해빙의 속도에 의해 나누게 되는데 1) 완만 동결-완만 해빙 (slow cooling-slow thawing) 2) 완만 동결-급속 해빙 (slow cooling-rapid thawing) 3) 급속 동결-급속 해빙 (rapid cooling-rapid thawing) 4) 유리화 과정 (vitrification) 을 들 수 있다. 동결보존법을 선택하기 위해서는 대부분 세포와 조직의 종류에 따라 다르

며 동결억제제에 따라서도 방법이 다양하기 때문에 세포와 조직의 높은 생존률을 위해서는 많은 연구를 통해서 가장 적합한 방법을 개발하는 것이 중요하다. 현재 생식세포의 경우 정자의 경우는 급속동결-급속해빙의 방법을 이용하여도 생존률이 60 % 이상 높게 나타나지만 수정란을 비롯한 난소조직은 완만동결-완만해빙이 더 좋은 결과를 얻고 있으며 포배기의 배아는 유리화 과정이 훨씬 높은 생존률을 나타내기 때문에 동결보존법에 미

치는 요인들은 다양하므로 세포와 조직들의 생존률의 향상을 위해서 더 많은 연구들이 필요하다.

### III. 생식의학분야의 임상적 응용

#### 1. 정자은행

정자의 동결보존은 1776년 Spellazani가 눈(snow)에서의 인간 정자의 생존을 관찰한 이후, 1886년 Mategazza가 소의 동결정자은행의 가능성을

시사함으로써 대두되었으나 초기 정자의 동결-해빙 후 생존률은 10% 정도로 저조하였다. 그 후 동물 및 축산학 분야는 인공수정 (artificial insemination: AI) 육종 프로그램에서 정자의 동결보존을 요구하게 되고 효율적인 동결보존을 위해 1949년 Polge 등이 동결억제제로써 glycerol을 사용하여 동결-해빙에 의한 정자의 상해를 최소화하여 생존률을 향상시키게 되었다. 1952년 Polge와 Lovelock은 소의 정자를  $-79^{\circ}\text{C}$ 에서 동결보존하였고 해빙한 결과 생존한 정자를 획득하여 이식한 결과 임신에 성공하였고 마침내, 1953년 인간의 경우 동결정자를 이용하여 이식한 결과 임신에 성공하였다. 그 후 동결억제제는 앞서 언급한 것과 같이 다양한 물질을 이용하게 되었으며, 정자에서는 특이하게도 egg yolk를 이용하여 동결하는 방법도 시도되어 좋은 결과를 얻었다. 가축 및 인간의 경우 정자의 동결보존 프로그램은 다른 생식세포들에 비해 단순하다.

#### (방법)

정자동결을 위해 사용되는 동결억제제는 glycerol을 이

용하고 있으며 10%의 농도로 배양액에 첨가하게 된다. 동결과정은 정자와 동결배양액을 혼합한 후 용기(ampule)에 3-5 ml 용량으로 분주한 후 세포동결기를 이용하여 동결하게 된다. 동결전기는 상온에서  $4^{\circ}\text{C}$ 까지 분당  $0.5^{\circ}\text{C}$ 속도로 동결하며 ( $-0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ), 동결기는 분당  $10^{\circ}\text{C}$ 속도( $-10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ )로 동결하여  $-90^{\circ}\text{C}$ 까지 내려서 액화질소통으로 옮겨서 저장기에 들어가게 된다. 해빙시에는 급속해빙을 이용하게 되는데 액화질소통으로부터 용기를 꺼내어 직접 물에 넣어서 해빙을 하게 된다. 현재 이러한 방법으로 정자를 동결하였을 경우 정상적인 정자의 소견을 가지고 있는 가축 및 사람의 정자인 경우는 70-80% 정도의 생존률을 보여준다.

#### (대상 및 적용)

가축의 경우는 멸종 및 희귀종의 동물을 비롯하여 품종이 개량된 우랑가축의 정자들을 대상으로 정자동결이 이루어진다. 사람의 경우는 정자소견이 정상적인 경우에도 동결을 시키고 있지만 비정상적인 정자소견을 보이는 환자일 경우에도 몇 번 반복적으로 정자를 보관하여 시술시에는 한꺼번에

해빙하여 사용하는 방법을 적용할 수 있다. 또한 청소년과 청년기에 정소암이나 전립선암 등 정자형성과정에 이상을 줄 수 있는 치료를 받을 경우 방사선 치료전 많은 정자를 동결보존함으로써 치료가 된 후 정상적인 결혼을 통해 임신을 원할 경우 정자를 해빙하여 사용할 수 있다. 불임환자 중 무정자증 소견을 보이는 경우는 정자공여자의 정자를 이용하게 되는데 정자공여자의 정자는 6개월 전에 미리 동결보존을 시켜두게 되며 감염의 위험을 방지하기 위해서 여러 가지 임상질환에 대한 사전 검사를 실시하게 되며 최근에는 HIV에 대한 감염여부가 중요하기 때문에 동결보존 후 6개월이 지난 시점에서 다시 한번 검사를 실시해서 감염여부를 확인한 후 안전하다고 결과가 나왔을 경우에만 공여자의 정자를 이용하게 된다.

#### 2. 난자 및 배아은행

난자와 배아의 동결보존은 1947년 처음으로 토끼의 배아를 이용하여 상온에서  $10^{\circ}\text{C}$ 까지 냉각한 후 144 시간 정도 보관한 후 생존을 한다는 것을 확인한 후 1971년 Whittingham에 의해 생쥐 배아에서 처

음으로 동결보존 후 해빙하여 배아가 생존한다는 사실을 보고하였다. 이년 뒤 1973년 Wilmut 와 Rowson 이 동결-해빙된 소의 배아를 이식하여 임신에 성공하였고 그 후 다양한 종의 배아를 동결-해빙하여 임신을 시켰다. 난자는 한 개의 세포로 이루어져 있기 때문에 동결 후 생존률이 무척 낮게 나타나는데 일반적으로 수정란의 생존률이 훨씬 높게 나타난다. 사람의 경우 난자를 이용한 동결보존법은 1986년 Chen 에 의해서 처음 시도되었으며 임신에도 성공하였다. 그 후 많은 연구자들에 의해 확인되었으며 1998년도에는 차등에 의해서 미성숙 난자를 이용한 동결법이 성공하여 보다 많은 난자를 확보할 수 있게 되었다. 사람의 배아의 경우는 조금 더 일찍 성공하였는데 1983년 Trounson과 Mohr에 의해 처음으로 임신하였으며 지금까지 세계적으로 널리 사용되고 있다.

**(방법)**

난자 및 배아의 동결을 위해 사용되는 동결억제제는 DMSO, PROH 그리고 glycerol 을 이용하고 있으며 다양한 농도로 배양액에 첨가하여 탈수 및 재

흡수 과정에 사용한다. 동결과정은 난자 및 배아를 저농도의 동결억제제가 첨가된 동결배양액으로부터 고농도까지 시간별로 완만하게 처리하여 탈수를 시행한 후 용기(straw)에 잘 넣은 후 세포동결기를 이용하여 동결하게 된다. 동결전기는 상온에서 -6℃까지 분당 2.0℃속도로 동결하며 (-2.0℃/min) -6℃에서 식빙(seeding)과정을 통해 얼음미세입자를 만들어준다. 동결기는 분당 0.3℃속도(-0.3℃/min) 로 동결하여 -40℃까지 내린 후 -50℃속도로 -140℃에서 액화질소통 (-196℃)으로 옮겨서 저장기에 들어가게 된다. 해빙시에는 급속해빙을 이용하게 되는데 액화질소통으로부터 용기를 꺼내어 직접 물에 넣어서 해빙을 하게 된다. 현재 이러한 방법으로 난자와 배아를 동결하였을 경우 70-80 % 정도의 생존률을 보여준다(Table 1, Table 2).

**(대상)**

가축 및 동물에서도 정자와 마찬가지로 멸종위기 또는 희귀한 동물의 난자 및 수정란을 비롯하여 품종이 우수한 가축의 수정란을 동결보존함으로써

지속적으로 종을 유지할 수 있도록 한다. 최근 들어 이미 많은 연구들이 이루어지고 있지만 멸종위기에 있는 백두산 호랑이의 경우와 같이 난자를 이용하여 정상적인 종의 유지를 위해 이용하는 사례들이 있다. 사람의 난자 및 배아의 경우에는 대부분 시험관아기 기술을 통해서 과다하게 채취되었을 경우 일부의 난자 및 배아를 모체에 이식을 하고 남은 잉여의 난자 및 배아는 다음 시기를 위해서 동결보존하게 된다. 그리고 정자와 마찬가지로 가임여성의 경우 자궁암이나 유방암 등의 치료를 위해 방사선을 조사하기 이전에 미리 난자를 채취하여 동결보존을 하면 치료 후 정상적으로 시험관아기 기술을 통해 아기를 가질 수 있게 된다.

**3. 조직은행**

일반적으로 알려져 있는 장기은행의 경우는 대부분 다른 사람의 장기를 수술을 통해 공여 받는 프로그램으로써 질환으로 고생하는 환자에 비해 장기를 제공할 수 있는 경우가 부족하기 때문에 장기은행에서 공여자와 수혜자를 선택적으로 확인한 후 수술을 통해서 치료를 하게 되며 국립보건원의 장

기은행센터 등을 통한 국가기관에서 철저한 관리와 통제 아래 이루어지고 있다. 그러나 이러한 장기 등은 동결보존을 통해서 오랫동안 보관할 수 없기 때문에 뇌사자 또는 공여자의 동의를 얻어서 동일한 시간에 수술을 해야하는 어려움이 있다. 따라서, 이러한 장기들에 대한 동결보존을 위한 연구들이 진행되고 있으나 아직은 미흡한 상태이다. 생식의학분야에서의 조직은행은 생식조직인 정소와 난소의 조직을 장기 보관하고 필요한 시기에 적절하게 이용할 수 있는 경우를 말한다. 1980년대 후반부터 이러한 방법들이 제시되었으며 정소조직을 채취한 후 조직을 보관하고 일부의 정소조직을 해빙한 후 정자를 회수하여 임신에 성공하였으며 난소의 경우는 1994년 Gosden 등에 의해 소의 난소의 일부의 조직을 채취하여 다른 소에 이식하는 기술을 시행하여 성공(xenograft) 하였고 자신의 난소조직을 동결보존 한 후 일정기간이 지난 후 해빙하여 난소에 이식(transplantation; autograft)하거나 또는 난소로부터 획득된 미성숙 난자를 이용하여 임신에 성공하는 사례가 보고 되었다. 사람의 경우

도 최근 들어 난소조직을 추출한 후 동결보존하여 일부의 조직만을 추출하여 다른 종에 이식하는 기술이 보고되었으며 자신의 난소에 이식하는 연구들이 진행되고 있다. 따라서, 조직이식이 보다 발전하거나 성공하게 된다면 이러한 기술을 기반으로 보다 복잡한 장기들에 대한 동결보존방법들이 개발될 것으로 사료되면 또한 일부 연구가 진행되고 있기 때문에 좋은 결과를 기대한다.

#### (방법)

정소조직의 동결을 위해 사용되는 동결억제제는 glycerol을 이용하고 있으며 10%의 농도로 배양액에 첨가하게 된다. 동결과정은 정소조직과 동결배양액을 혼합한 후 용기(ampule)에 분주한 후 세포동결기를 이용하여 동결하게 된다. 동결전기는 상온에서 4℃까지 분당 0.5℃속도로 동결하며 (-0.5℃/min), 동결기는 분당 10℃속도(-10℃/min)로 동결하여 -135℃까지 내려서 액화질소통으로 옮겨서 저장기에 들어가게 된다. 해빙시에는 급속해빙을 이용하게 되는데 액화질소통으로부터 용기를 꺼내어 직접 물에 넣어서 해빙을 하게 된다. 현재 이

러한 방법으로 정자를 동결하였을 경우 정상적인 정자의 소견을 가지고 있는 가축 및 사람의 정자인 경우는 70-80% 정도의 생존률을 보여준다. 사람의 난소조직의 경우는 구조상으로 난포를 둘러싼 조직들이 동결배양액을 투과할 수 없기 때문에 조직을 얇게 몇조각으로 나누어서 동결과정을 거치게 된다. 대부분 완만동결-완만해빙 또는 유리화 과정을 통해 동결을 하게 되는데 두 방법간에 생존률에 차이는 없는 것으로 보고되고 있다. 난소조직의 동결보존을 위해 사용되는 동결억제제는 PROH를 주로 이용하고 있다. 난소조직을 해빙한 후 생존률은 60% 정도를 나타내고 있으며 난소조직 전체를 동결시킬 수 있는 방법 등의 연구가 지속된다면 난소 이식 수술 등도 곧 가능해 질 것으로 사료된다.

#### (대상)

사람의 경우 전립선암 또는 정소암을 앓고 있는 남성의 경우는 정자뿐만 아니라 정소조직의 일부를 채취하여 생식기능을 보존할 수 있도록 동결보존을 시키게 된다. 여성의 경우는 난자 및 배아의 경우와 마찬가지로 가임여성의 경우



자궁암이나 유방암 등의 치료를 위해 방사선을 조사하기 이전에 미리 난소의 조직을 일부 채취하여 동결보존을 하면 치료 후 정상적으로 시험관아기 시술을 통해 아기를 가질 수 있게 된다. 그리고 장기적으로는 난소 전체를 동결보존하여 보관하고 후에 난소를 이식한다면 여성으로써 정상적인 생리적인 현상을 유지할 수 있기 때문에 조기폐경을 방지할 수 있고 정상적인 여성으로써 삶을 영위할 수 있을 것으로 사료된다.

#### IV. 질환동물모델의 동결센터와 산업화

인류의 건강과 복지를 위한 과학자들의 꾸준한 노력으로 인체질환들의 원인을 규명하고 치료를 가능하게 하였으나 아직까지 많은 질환들에 대한 원인을 규명하기 위해 노력하고 있으며 치료법의 개발을 위한 연구를 진행하고 있다. 현재까지 인간에서 발병되는 질환에 대한 치료를 위해서 이용되는 동물모델들은 대부분 형질질환을 이용하거나 유전자표적기술을 이용한 모델을 개발하여 인체질환과 같은 조건으로 치료

법을 개발하고 있다. 최근 들어 사람과 쥐의 genome project가 완성단계에 이르러서 유전자의 서열은 밝혀지고 있으나 앞으로 이들에 대한 기능에 대한 연구는 21세기 최고의 과제로서 대두되고 있는 실정이다. 따라서, 이러한 질환모델의 개발과 보존은 앞으로 국가적인 차원에서 지속적으로 관심을 가져야 하는 분야로써 생명과학분야에서 가장 중요한 분야로써 부각되고 있다. 정보통신(IT)산업에 이어 생명과학(BT)분야는 인체질환을 원인 유전자를 규명하고 이들에 대한 치료를 위한 신약을 개발하고 또한 치료법을 제시함으로써 국가 경쟁력을 확보할 수 있는 분야인 것은 분명한 사실이지만 그러나 아직 국내의 실정은 외국에 비해 낮은 수준에 머무르고 있다.

새롭게 확인되는 유전정보에 대한 보존과 인체질환에 대한 새로운 질환모델을 지속적으로 보존하고 관리하는 것은 대단히 중요한 과제이다. 이미 알려져 있듯이 형질질환모델 동물은 종에 따라서는 고부가의 사업성을 가지고 있으며 특히 전세계적으로 경쟁력을 가질 수 있기 때문에 질환모델의 개발 및 보존은 상업적으로도

매우 중요하다. 따라서, 국내의 발달된 생식의학분야의 기술을 이용하여 생식세포 및 조직에 대한 동결법을 개발하고 안정된 방법을 제시하여 질환동물모델을 비롯한 새로운 품종의 동물을 보존하고 육종하게 된다면 세계적인 경쟁력을 가지게 되며 이미 국내에서도 많은 비용을 들여 외국으로부터 많은 종류의 질환모델과 순종 동물을 수입하고 있는 실정에 수입대처의 효과를 가질 수 있다.

새로운 질환모델의 개발과 동결센터의 설립 및 유지에 인체 질환연구에 새로운 가능성을 제시할 뿐만 아니라 신약이나 치료법을 개발할 수 있는 기반을 제공하게 되며 또한 안정적으로 생식세포 및 조직들을 보존함으로써 고부가의 상품으로 상업화를 시킬 수 있는 장점을 가지게 된다. 따라서, 국내에서 호발하는 암, 뇌질환, 면역질환 등의 인체질환모델동물을 생산하고 순종의 동물을 유지관리할 수 있도록 하며, 이들에 대한 조직 특이적 유전정보를 보관 관리하는 시스템을 구축하고 동결보존법을 이용하여 생식세포 및 조직을 안정적으로 보관한다면 경쟁력을 유지하고 상업적으로 이용할 수

있을 것으로 사료된다.

이와 같이 질환동물모델의 동결센터와 산업화가 이루어질 경우의 기대효과와 활용분야를 정리하면 우선 기술적인 측면의 기대효과는 첫째, 인간의 질병치료를 위한 동물모델을 제시하고 이 동물을 이용한 치료법의 개발과 조기 진단시스템의 구축, 둘째, 특정유용유전자의 동결보존으로 Gene Bank System의 기술적 기초를 구축, 셋째, 유전자의 돌연변이와 질병간의 상호관계의 정립과 유전자치료법의 개발가능, 넷째, 체계적인 유전자의 기능분석 시스템을 확보, 다섯째, 동결법에 대한 새로운 기술의 개발과 안정적인 육종시스템의 구축을 들 수 있다. 활용분야는 첫째, 질환모델동물의 유지, 생산, 개발로 인해 유용생물자원의 탐색, 약리성 및 신기능성 식품개발, 유전자치료연구 가능, 둘째, 난치병관련 형질의 발현과 제어 및 관련 유전자의 기능해석과 기전연구를 통한 치료기술의 응용, 셋째, 다양한 형질질환 모델동물을 안정적으로 공급하여 국제경쟁력을 확보하고 수입대체효과 및 수출가능, 넷째, 동결법의 개발로 안정적인 동결센터로써 산업시스템 구축가능, 다섯째, 질환모

델동물과 순종동물의 수정란의 보존 및 육종, 여섯째, 동결보존법의 개발로 생식조직의 이식을 통한 질환치료의 효과를 기대, 마지막으로 다양한 형질질환 모델동물의 국내생산과 안정적인 공급시스템을 구축하고 고부가의 상품으로써의 가치를 부각하여 산업화 시스템을 유지함으로써 생명과학분야에서 21세기 중심이 되는 과제으로써 수입대체 및 수출효과를 기대할 수 있다.