

시킬 수 있는지 알아보고자 본 실험을 시행하였다.

Method: 암컷 ICR 생쥐를 과배란 유도하여 난관팽대부로부터 성숙난자를 회수하였다. 회수된 성숙난자는 연구의 목적에 따라 Taxol 처리군과 Taxol 비처리군으로 분류하여 유리화동결시켰다. 동결방법은 grid를 이용한 변형시킨 Martino 방법을 이용하였다. 용해 후 수정을 유도하였으며 수정란은 P-1 배양액에 배양하며 48, 72, 84, 96시간에 배발달률을 관찰하였다. 발달된 배반포는 자궁에 이식시키고 분만시까지 관리를 통해 산자 생산을 유도하였다.

Results: 배발달률은 Taxol 비첨가군의 경우 4세포기 44.7% (132/295), 8세포기 31.8% (94/295), 상실배 24.7% (73/295), 그리고 배반포 20.3% (60/295)였고, Taxol 첨가군은 4세포기 69.7% (191/274), 8세포기 64.2% (176/274), 상실배 54.3% (149/338), 그리고 배반포까지 발달률은 49.2% (135/274)로 모든 배발달 단계에서 두 군간의 유의성이 관찰되었다. 동결 용해한 난자를 체외수정 후 발달시켜 얻은 배반포를 대리모에 이식한 결과 Taxol 비처리군에서 56개의 배반포를 7마리의 대리모에 8개씩 이식한 결과 3마리의 대리모가 임신되어 21마리의 산자가 태어났으며, Taxol 처리군의 경우 72개의 배반포를 9마리의 대리모에 8개씩 이식한 결과 4마리의 대리모에서 26마리의 산자가 태어나 임신율과 착상률 모두 두 군간에 차이가 없었다.

Conclusions: 본 연구 결과 grid를 이용한 유리화 동결 시 마우스 성숙난자의 생존율을 증가시킬 수 있었으며, 항동해제에 Taxol을 첨가하여 동결 용해 후 수정시킨 난자들이 비처리군에 비해 배발달률이 증가되었고, 배반포를 대리모에 이식한 결과 건강한 산자가 분만되었다. 따라서 마우스를 이용한 이들 동결 방법을 임상적으로 이용한다면 난자 공여가 필요한 환자를 위한 난자은행의 설립에 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

Acknowledgement: 본 연구는 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원에 의하여 이루어진 것임 (과제고유번호: 01-PJ10-PG6-01GN13-0002).

P-18 Human Fetal Liver-Derived Stem Cells Support Culture of Human ES Cells In Vitro

Rhee YH, Park KH, Lee SH, Lee DR, Yoon TK, Cha KY, Chung HM

*Cell and Gene Therapy Research Institute, College of Medicine,
Pochon CHA University, Seoul, South Korea*

Background & Objectives: Embryonic stem (ES) cells are continuous proliferating stem cell lines of embryonic origin first isolated from the inner cell mass (ICM) of mouse blastocysts 20 years ago. The distinguishing features of these ES cells are their capacity to be maintained in an undifferentiated state infinitely in culture and their potential to develop into every cell of the body. Prolonged propagation of human embryonic stem (ES) cells is currently achieved by co-culture with primary or immortalized mouse embryonic fibroblast (MEF) cells. In order to replace the heterologous with homologous co-culture systems, an attempt was made using mononuclear cells derived from human fetal liver. Human Fetal Liver Derived Stem Cells can be maintained for the prolonged period of time. They showed the characteristics of mesen-

chymal stem cells in various aspects. They retained a normal diploid karyotype and growth characteristics over the successive culture. We have isolated hFLDSCs from low density mononuclear liver cells. To support the hypothesis that multipotent hFLDSC exist in most human tissues, we isolated and cultured a clonogenic and highly proliferative cell population from fetal liver and studies these cells biologic characteristics and differentiation potential. The results suggest that these cells, which we have termed hFLDSC, have all the properties of MSCs. Thus, our goal of the present study was to investigate whether hFLDSCs isolated 10-week old human abortus can support the growth of hES cells in a culture medium that is known to favor their proliferation while retaining the undifferentiated state.

Method: Human Fetal Liver Derived Stem Cells separated by Ficoll centrifugation were cultivated at 37°C with 5% CO₂ for 5 days in the medium made with Dulbecco's modified Eagle's medium 1,000 mg/L low glucose (DMEM-LG; GIBCO) and 10% fetal bovine serum and 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin for proliferation and expansion.

Results: We examined the effect of newly established hFLDSCs originated human abortus compared with conventional feeder cells, MEF or STO cells from mouse for maintaining human embryonic stem cells in vitro.

Conclusions: The established hFLDSCs were fully supported the growth and maintenance of characteristics of hES cell comparable to the mouse feeder system. Our hFLDSCs were maintained for upto 70 passages and have characteristics of mesenchymal stem cells. Also, these cells were maintain chromosomal stability. We are more detailed studies undertaken such as multicellular lineaged differentiation and capability of genetic modification.

Acknowledgement: This work was supported by a grant (SC11013) from Stem Cell Research Center of the 21C Frontier R&D Program funded by Ministry of Science and Technology, Korea.

P-19 Effective Endothelial Differentiation from Human Embryonic Stem Cells using Growth Factor

Park KH¹, Lee SH², Lee DR², Yoon TK², Cha KY², Chung HM^{1,2}

¹Cell and Gene Therapy Research Institute, Pochon CHA University,

²Infertility Medical Center, CHA General Hospital, Seoul 135-081, Korea

Background & Objectives: 전분화능을 가진 배아줄기세포는 3가지 germ layer lineage로 분화가 가능하며 무한대로의 증식이 가능하다. 이러한 배아줄기세포의 능력을 이용하여 세포치료, 독성연구, 발생학 연구 등에 널리 이용되고 있다. 본 연구에서는 이러한 인간 배아줄기세포를 이용하여 혈관생성 전구세포로의 효율적인 분화유도를 시도하였다.

Method: 인간배아줄기세포는 CHA-hES 3를 이용하였으며 배양액의 조성은 DMEM/12에 20% SR과 4 ng/ml의 bFGF를 첨가하여 배양하였다. 분화유도는 미분화된 인간배아줄기세포를 5일 동안 suspension culture하여 EB formation을 만든 후 VEGF, EGF, bFGF, EPO를 첨가한 분화유도 media를 이용하여 분