

## HES-마트릭스에서 ethyleneoxide의 치환율이 얼음결정체 재결정화에 미치는 영향

최미정\*, 정희진, 이미연, 민상기\*\*

건국대학교 축산대학 동물생명과학부, 건국대학교 동물자원연구센터\*\*

동결과정이나 동결저장 중 얼음결정체의 성상을 통한 세포의 파괴를 방지하기 위해 첨가해 주는 물질을 동해방지제(cryoprotectant)라 한다. 이러한 동해방지제 중 HES(hydroxyethylstarch)는 biopolymer의 일종인 전분유도체로 혈액의 동결저장 중 사용하는 동해방지제로 각광받기 시작하였다.

따라서 본 실험의 목적은 HES의 물리적인 성질로서 HES-마트릭스에서 ethyleneoxide의 치환율이 얼음결정체 재결정화에 어떠한 영향을 미치는지 알아보는 데 있다. 본 실험에서는 ethyleneoxide 치환율이 50, 75, 100 %(v/w)로 실험실에서 직접 합성한 HES를 사용하였다. HES의 농도를 각각 10, 15, 20, 25, 30 %(w/w)로 한 후 약 8  $\mu$ l를 취해 slide glass에 고정(시료의 두께: 200  $\mu$ m)시켜 동결하였다(-196°C). HES-마트릭스를 cold chamber(자체제작)내에서 -8°C로 72 h 동안 저장 중 얼음 결정체 재결정화 과정을 현미경으로 관찰하였다. 일반적으로 얼음 결정체 재결정화에 따른 얼음 결정체 크기는 시간이 지남에 따라 증가하였고, 농도가 낮을수록 얼음 결정체 재결정화가 빠르게 진행됨을 알 수 있었다. 또한 초기 얼음결정체는 대체적으로 작은 원형의 모양을 형성하였고, 시간이 지남에 따라 다각형, 타원형으로 크게 성장하였다. 재결정화 과정은 저장초기 빠르게 진행되다가 약 40 h 이후 부터 완만하게 진행되었다. 농도에 따른 재결정화 과정은 10 %의 매트릭스에서 가장 빠른 재결정화 과정을 보였고, 25, 30 %에서는 느린 재결정화 과정을 보였다. 치환율에 따른 얼음 결정체 재결정화 속도를 보면 10 %의 농도인 경우 저장 초기에는 75 %의 치환율이 가장 큰 얼음 결정체를 형성하였으나, 시간이 지남에 따라 50, 75, 100 %의 순으로 나타났으며, 30 %의 농도인 경우 저장 초기에는 비슷한 크기를 형성하다가 시간이 지남에 따라 100, 75, 50 %의 순으로 나타났다.

본 실험의 결과 HES를 동해방지제로써 사용하는데 있어 ethyleneoxide의 치환율과 농도는 얼음 결정체 재결정화를 제어하는 중요한 역할을 하였다. 이는 적혈구 및 생물세포의 생존율과 활성도를 높이고자 사용되는 HES의 최적치환율과 농도를 산출하는데 중요한 자료로서 활용될 수 있다.