

<심포지움 I>

Protein A Gold를 이용한 면역전자현미경 기술 (-Postembedding Method-)

김수성, 노재요

서울대학교병원 병리과 전자현미경실

면역전자현미경 방법은 전자현미경 수준에 있어서 초미세구조를 관찰하는 것만이 아니라, 조직세포내에 존재하는 물질의 위치를 표현하여 관찰하는 방법의 하나이다. 이 방법 중에서는 미세구조내에 존재하는 물질을 증명하기 위하여 항원과 항체의 특이적으로 결합하는 반응을 이용해서 존재 물질을 전자현미경 아래서 관찰가능하도록 필요한 표식 물질 Ferritin, 중금속, 효소등을 이용하는 기법이다. 본 연자들은 Rat의 Pituitary gland를 재료로 해서 면역전자현미경 기술을 시도하여 보았다.

실험방법에 있어서는 Postembedding method로서 LR White를 포매제로 해서 thin section을 Nickel grid 부착하여 다음과 같은 방법으로 면역 반응실험을 하였다.

제 1차 항체로서는 Growth hormone(:GH), Prolactin(:PRL), Rabbit Whole Serum(NRS)을 선택하여 희석배율로서 GH는 X 200, X 400, X 800, PRL은 X 50, X 100, X 200, NRS는 X 100, X 200, X 400으로 희석하여 반응시켰다. 제 2차 항체로서는 Protein A Gold Particles을 10nm와 20nm의 2종류를 사용하였고, 희석배율은 처음에 X 50, X 100으로 희석하여 반응시켰으나, X 50은 반응량이 많아, X 100으로 희석량을 정하여 반응시켰다.

또 다른 방법으로는 제 1차 항체(GH: X 200)을 반응시키고, 제 2차 항체반응에 있어서 1차로 10nm 2차로 20nm을 반응하였고, 다시 제 1차로 20nm, 2차로 10nm을 반응시켜보았다. 대조군으로는 1차항체를 생략하고 제 2차 항체만을 반응시켰다.

최근 Protein A Gold를 이용한 면역전자현미경 기술이 많이 이용하고 있으나, 본 연자들은 일본 동해대학 의과대학 공리세포병리실의 도움으로 이 실험을 시행하고 결과를 보고하고자 한다.