

## Uranyl Acetate의 염색효과에 대한 비교

권 중 균  
한양대 의대 전자현미경실

### 1. 목적

전자현미경 염색방법중 Uranyl acetate[ $UO_2(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ]는 비중이 큰 금속으로 절편에 contrast를 향상시키기 위해 이용된다.

생물학적인 미세구조를 관찰하는데 질량이 가벼운 원소에 높은 contrast를 얻기 위하여 Watson과 Johannessen등 여러 연구자들이 중금속염류(heavy metal solts)을 사용했다.

사용자에 따르면 조직과 포매제의 종류에 따라 시간과 농도를 달리하여 사용되어 왔으며 물리화학적 조건에 대한 정확한 효과 및 염색의 결과가 체계적이지 못했다.

이에 전자염색에 대한 염색액의 PH, 용액의 농도에 따른 비교, 염색시간의 변화에 따른 염색성의 향상정도를 비교하였으며, 또한 염색온도 변화에 따른 염색도를 비교하여 보고한다.

### 2. 방법

가토의 신장을 보통 실험실에서 사용하는 방법대로 3% glutaraldehyde(인산완충액: pH 7.3)로 고정하고, 후고정, 탈수, 침투, 포매하고 약 50-80 nm의 초박절편을 얻었다.

1% uranyl acetate(UA), 3% UA, 8% UA 포화수용액과 20% Ethanol/4% UA, 50% Ethanol/4% UA, 100% Ethanol/4% UA 용액을 만들었으며 용액이 안정되도록 48시간 이후에 비교 실험에 들어갔다.

먼저 uranyl acetate 용액의 각 농도별로 pH 값을 검토했다. 또 각 용액을 사용하여 5분, 15분, 30분, 60분 간격을 두어 농도별 염색시간을 달리하여 염색을 실시하였다.

염색온도에 대해서는 실온(20℃), 4-8℃ 그리고 40℃를 비교했다. 수용액과 Ethanol의 비교, % 농도차이에 따른 염색정도, % 농도와 염색시간, 염색시 온도의 변화등을 여러 각도에서 비교하여 Hitachi H-600을 사용하여 가속전압 75KV로 관찰했다.

### 3. 결과

상의 선명도, contrast, grain의 미세성에 있어서 단연 우수하다고 알고있는 uranyl acetate 와 lead citrate의 이중 염색으로 동시에 많은 미세구조물을 관찰할 수 있다.

염색액의 pH는 4.0-5.0 의 사이에서 효과적인 염색성을 보인다고 하며 본 실험에서도 수용액 1% UA의 pH는 4.3, 3% UA는 pH 4.1, 8% UA는 pH 3.8 정도로 나타났으며, ethanol 에서는 20% ethanol/4% UA는 pH 4.0, 50% ethanol/4% UA는 pH 4.1, 100% Ethanol/4% UA는 pH 3.4로 염색성에 적당한 pH 범위를 보였다.

염색액의 % 농도의 차이에 따른 변화의 정도는 염색성에 현저한 차이는 인정하기 곤란하지만 수용액의 % 농도가 올라갈수록 전체적인 염색성이 짙어지는 현상이 있음을 알 수 있다. Ethanol을 이용한 경우와 수용액을 이용한 것의 비교에서는 Ethanol을 이용한 것이 염색력이 우수함을 보여준다.

Ethanol의 %농도가 올라감으로 인한 염색성의 증가도 보여준다. 그러나 100% Ethanol 용액에서는 glycogen 과립의 염색저하가 인정되며 Ethanol의 %농도가 증가할 수록 오염의 정도가 증가함을 보였다. 또한 Ethanol 염색시 입자들의 크기가 커져서 경색된 염색상을 보이기도 한다.

염색시간에 따른 염색성의 변화정도는 절편의 두께에 영향이 있으나 대체로 시간이 길어질수록 진해지고 시간이 짧을 수록 옅은 염색성을 보인다고 느껴지는 것이 상식이겠으나 시간이 짧으면 부드러운 느낌을 주는 염색성을 가지며 시간이 길어지면 염색력은 우수해지나 과염색이 되는 경향이 나타나며, 가장 적당한 contrast와 전체적으로 입자의 미세성이 잘 나타나는 시간은 15분에서 30분 정도임을 볼 수 있다. %농도는 낮추고 시간을 길게 가질때는 부분적인 염색의 차등화가 있음을 보였다.

염색시 온도의 변화에 대해서는 실온(20℃)에서와 냉장고에 보관했던 용액을 즉시 염색을 실시했을 경우인 4℃-8℃ 범위에서의 비교는 큰 차이는 없으나 온도가 실온인 경우에 조금 향상된 염색성을 보이며, 40℃에서는 전체적으로 염색성이 우수해지나 과염색으로 인한 현상을 가끔씩 발견할 수 있었다.