

생물재료를 전자현미경(TEM)으로 관찰하기 위한
준비과정중에 나타날 수 있는 인공산물들

윤철중, 연미정, 지제근

서울대학교병원 소아진료부 병리과

전자현미경(TEM)으로 생물재료를 제작하여 관찰할 때 나타나는 여러가지 인공산물은 본래 세포의 상태라고 볼 수 없고 다른 미세구조로 혼동하는 등 어려움에 처할때가 있으며 좋은 사진을 얻는데 불리하다. 이러한 인공산물은 다음과 같은 과정중에 발생할 수 있다.

1. 고정문제: 알데하이드 계통의 고정액은 산성이므로 중성의 완충액으로 만든 후 사용한다. 그러나 고정시간이 오래되면 세포내의 성분이 추출되기 때문에 세포내의 기질(MATRIX)등은 투명하게 보이고 단지 막구조나 염색질 등과 같은 치밀한 세포구조물만이 비교적 장시간 보존이 된다.

2. 고정이나 탈수시 사용되는 용액의 부적합한 삼투압유지는 세포내의 미세구조의 변형을 초래하여 위축되거나 부푼 모습으로 나타난다. 적혈구나 세포내의 미세구조중 사립체가 좋은 표적이 될 수 있다.

3. 장시간 탈수시에 세포의 구조물이 탈수액에 추출되어 형태의 변화가 생길 수 있다. 지용성 과립은 에탄올에서 추출이 잘되어 탈수시간을 지나치게 오래하므로 인공산물을 만들 수 있다.

4. 에폭시 수지의 불완전한 중합반응은 초박절편을 만들때 밀리거나 구멍이 생길 수 있고 해상력이 저하되고 염색효과도 잘 나타나지 않는다.

5. 초박절편시 외부진동과 칼의 문제로 생기는 절편상의 문제점은 절편의 일정한 간격의 두께가 차이가 있으며 칼이 무뎠 때는 절편이 부분적으로 밀리고 따라서 해상력이 떨어진다.

6. 초박절편을 물위에 띄울때 절편 파편이 나 있을 수 있다. 절편 부유액인 증류수에 미생물 오염은 여러종의 미생물군락을 관찰할 수 있다.

7. 초박절편의 두께에 따른 해상력은 절편이 얇을수록 높일 수 있으나 필요이상 얇은 절편은 염색후에도 대조가 낮고 전자선(electron beam)에 약하다.

8. 염색에 따른 오염문제등이 있을 수 있다. Uranyl acetate의 오염은 사각형의 전자밀도 높은 침전물을 관찰할 수 있으며 lead citrate염색시간이 오래될수록 절편위에 침착물 입자가 커진다.

9. 투과형 전자현미경의 가속전압선택에 따른 해상력과 대조가 달라진다. 저배율에서는 낮은 가속전압을 선택하고 고배율에서는 높은 가속전압에서 관찰하도록 한다.

10. 사진촬영할 때 초박절편이 grid위에 불완전한 부착이나 에폭시 수지의 중합반응의 불충분으로 전자광선에 절편이 움직이므로 초점을 맞추어 촬영해도 좋은 사진을 얻을 수 없다.

위와 같은 여러 문제등을 충분히 고려하지 못하면 준비작업을 처음부터 혹은 부분적으로 문제점이 있는 과정부터 다시 시도해야 하므로 시간적으로 불필요한 손실을 초래하는 결과를 낳을 수 있다. 또한 이외에도 여러원인에 따라 인공산물이 생길 수 있으며 전자현미경 사진 촬영후 암실작업에서도 부분적으로 문제가 생길 수 있다.

Legends

- Fig.1. A: Central empty area in lipid droplets in the liver made by prolonged dehydration process. Bar represents $4\mu\text{m}$.
B: Preservation of lipid droplets without artifact, in the same liver cell.
- Fig.2. Ultrathin section is disclosed scratches made by damaged knife edge, chattered by vibrations and poor epoxy resin infiltration. Bar represents $10\mu\text{m}$.
- Fig.3. A: Dust particles caused from no fine trimming of block for ultrathin sectioning. Bar represents $5\mu\text{m}$.
B: Using the contaminated distilled water is seen colonized bacteria. Bar represents $2\mu\text{m}$.
- Fig.4. Artifacts made by precipitation of uranyl acetate(A) and coarse granules(B) of lead citrate on an ultrathin section. A: Bar represents $2\mu\text{m}$. B: Bar represents $1\mu\text{m}$.