

TEM의 고정과 염색에서 Microwave를 이용한 효과
(Effect of Microwave Irradiation on Staining and Fixation for
Transmission Electron Microscopy)

정 호삼, 권 중균

한양대 의대 해부학교실, 전자현미경실

전자파(電磁波)라고 하는 것은 전기(電界)와 자기(磁界)의 파, 혹은 전기력선의 파를 이르는 호칭이고, 극히 가까운 태양광, X-선, T.V., 라디오, Micro wave(MW), Ultrasound, 레이저의 파도 모두 電波의 일종이다. 그중 MW가 특히 전자렌지에 이용되고 있는것은 이 전자파가 물의 분자에 가장 흡수가 쉽게 이루어 진다는 사실이다.

또한 저분자의 당류, Amino acid등도 잘 전파를 흡수하고 분자운동을 행한다. 한편 고분자(다당류, 지질, 단백질)은 그 고분자구조 때문에 분자전체를 회전시킬수는 없지만, 가지처럼 퍼진 side chain만이 심하게 진동하고 그 열이 나머지부분에 전하게 된다.

MW가 생물시료 고정에 관여하는 기전은 2가지로 생각할 수 있는데, 첫째는 MW에 의한 열고정효과이고, 둘째는 MW에 의한 고정제의 조직내로의 신속침투효과라고 여겨진다. 국내에서 생산되고있는 가정용 전자렌지(삼성 RE-600T모델)을 이용하여 전압 220V, 고주파출력 700W, 발진주파수 2450MHz를 갖춘 전자렌지를 이용하였다.

MW조사가 균등하게 이루어지도록 전자파스타터에서 전자파가 산란되어 조사되고 시료에 균등하게 작용되도록 턴테이블(30rpm정도 좌우회전가능)이 있는것과 온도계측이 가능한 상기 전자렌지를 선택하였다.

예비실험으로 고정액과 염색액의 조사시간에 따른 용액의 온도변화를 조사했으며 온도에 따른 고정정도를 관찰하였다.

본 실험으로 체중 260gm정도의 건강한 Wistar계 흰쥐의 신장과 간조직을 직경 1mm와 3mm크기로 자른 후 신속히 3% Glutaraldehyde 고정액에 담근 후 즉시 MW에 조사시켰다. 조사시간은 온도의 급상승을 줄이기 위해 간헐조사와 연속조사를 실시하였고, 조사 후 얼마간 실온에 방치 후 통상적인 방법으로 탈수, 칩투, 포매하였으며 초박절기로 세절한 후 이중염색하여 통상의 방법으로 제조된 절편과 그 염색도를 비교하였다.

그 결과 짧은 시간에 고정이 이루어지며 30초 조사고정과 조직의 표면부분에는 고정효과가 높은 편이지만 큰조직은 심층부까지 골고루 고정되지 않아 미세구조 관찰이 어려웠으며, 오래된 경우 심층부 조직에 부분적인 손상이 있었다. 또한 MW염색에서는 짧은 시간(20초)에 염색을 완료하여 관찰한 결과 막계에서는 두드러진 염색상으로 미세구조는 뚜렷하였고 핵은 contrast가 좋지 않았다. MW조사 시간에 따른 염색온도의 상승으로 인한 많은 오염물질이 존재하는 부분이 있어 신뢰도 있는 결과를 얻기 위해 좀더 많은 비교분석실험이 필요하다. 본 실험의 결론은 조직이 작고 적절한 고정시간을 잘 선택하면 신속한 절편을 얻는데 이용가능 할 것으로 생각된다.