

배양세포를 전자현미경으로 관찰하기 위한 방법

노재요 · 김수성 · 이재택 · 지제근

서울대학교병원 병리과 전자현미경실

일반적으로 배양세포의 전자현미경 관찰방법으로 이제까지는 원심법에 의하여 세포를 모아서 표본을 만드는 방법을 사용하여 왔으나 trypsin처리에 의한 화학적 장애나 원심조작하는 것에 의한 물리적 장애를 일으키는 단점이 있고 또 배양세포를 부유상태로 포매시키기 때문에 세포-세포 간의 원래의 형태상 파악을 할 수 없는 것등의 기술상의 문제점이 있었다.

그래서 그후 소개된 배양세포의 초미세형태학적 관찰을 위한 기본적이고 간편한 방법으로 slide glass제품의 tissue culture chamber slide를 이용하는 방법과 최근 많이 사용하는 plastic제품의 tissue culture chamber slide를 이용하는 방법으로 세포의 손상없이 여러가지 전자현미경 효소조직화학, 면역전자현미경 조직화학등의 응용에도 가능하고 앞으로의 전망도 대단히 높을 것이라고 생각되어진다.

이 방법의 특징으로는

1. Tissue culture chamber slide가 하나하나의 완전한 독립배양실이기 때문에 비교 배양 및 약제 등에 의한 내성등 및 효소 조직화학 염색의 저해실험과 대조군과의 비교관찰을 같은 slide상에서 각각 할수 있다는 점.
2. 전자현미경 block제작 후 slide로 부터 떼어내지 않으면 반영구적으로 보존이 가능한 점이다.

또 포매 완료후 epon block을 떼어내는 방법을 비교하였을 경우

1. Slide glass제품의 경우는 열판을 사용하여 고온가열 (150°C , 5-6초)에 의하여 박리가능하지만
2. Plastic제품의 경우는 slide만에 힘을 가하는 것만으로도 쉽게 박리 가능한데 그 이유는 slide glass보다 탄력성이 많다는 점과 plastic 표면에 세포의 부착율을 좋게 하기 위하여 coating을 입힌것에 기인한다고 생각된다.

그밖의 기본 소재가 slide glass가 아닌 plastic제품을 전자현미경에 이용할 때 여러가지 문제점이 예상되어 그에 따른 염색을 한 결과

1. 항온조 안에서 열중합(60°C)때 예측된 온도에 대하여도 충분한 내성을 나타냈으며
2. 포매제인 epon수지와 plastic slide와의 친화성에 대해서도 중합후 plastic slide로 부터 깨끗하게 떼어짐으로 증명되었다.

이상의 기술을 바탕으로 tissue culture chamber slide를 이용하여 배양세포를 전자현미경으로 관찰하는 방법을 소개하고자 한다.