

## 전자현미경용 Epon 절편을 광학현미경염색을 위한 Epon 제거 방법의 비교관찰

김수성 · 노재요 · 이진숙 · 이재택 · 김영곤

서울대학교 병원 병리과 전자현미경실

전자현미경 실험실에서는 시료제작을 위해 Epon Resin을 시료포매제로서 사용하고 있다 그러나 본 연자의 경험에 따르면 환자의 신장검사시 광학현미경검사, 전자현미경검사, 면역병리검사 등을 종합하여 해부병리 진단에 이용하고 있으나, 광학현미경 시료에 신 사구체가 없을 경우 광학 현미경 검사가 불가능하여 rebiopsy가 불가피할 경우가 간혹 있게 된다. 이러한 경우 전자현미경 관찰을 위한 Epon block을 광학현미경 염색을 위해 시도방법의 이용을 고려해 왔었고 실제 염색 방법으로 시도되어 왔다. 본 연자가 1994년 춘계 전자현미경 학술대회에서 발표한 광학현미경용 Slide를 이용하여 전자현미경 관찰을 위한 방법을 통하여 광학현미경용 시료를 전자현미경 시료로 제작 후 관찰방법을 제시하였으나, 본 연제에서는 전자현미경 Block을 광학현미경 관찰이 가능한가에 대한 방법을 제시하고자 한다.

재료 및 방법 : 재료는 전자현미경 검사를 위해 제작된 환자의 신장(Kidney) Epon Block을 2μm 정도의 두께로 박절하여 Poly-L-Lysine solution(SIGMA사 제품)에 코팅된 Slide glass에 절편을 올려놓고 60℃에서 1시간 정도 방치하여 실험용 Slide를 제작하여 사용하였다. 본 실험에서는 비교하고자 하는 Epon 제거 시약으로는 Potassium Hydroxide(KOH), Sodium Hydroxide(NaOH) 그리고 Epoxy resin Removal Kit(Polyscience사 제품)를 이용하여 탈 Epon 정도와 염색정도를 비교하였다.

### 사용시약 제조 방법

#### 1. potassium Hydroxide 포화 용액

갈색병을 이용하여 Potassium Hydroxide(85%이상의 순도)를 Absolute Ethanol(99.9%순도)에 포화용액을 만들어 검정 비닐 봉지를 씌워 빛을 차단하고 가끔 흔들어 주면서 하룻밤을 방치하면 암황갈색의 용액이 되는 데 이 용액을 Epon resin 제거 용액으로 사용하였다.

#### 2. Sodium Hydroxide 포화 용액

Potassium Hydroxide으로 만든 포화 용액법과 동일하게 처리한다.

### 3. Epoxy Resin Removal Kit Working 용액

#### (1) Kit의 용액 내용

- 1) Solution A(Crown ether in dimethyl sulfoxide) ----- 100ml
- 2) Solution B(Methanolic potassium methoxide) ----- 3ml

#### (2) Working 용액 제조

- 1) Solution B 용액을 잘 흔들어서 0.3ml를 Solution A 용액 10ml에 희석하여 사용한다.
- 2) 사용직전에 신선한 상태로 유지하기 위해 Working 용액을 매일 사용직전에 희석하여 신선한 상태로 사용한다. 왜냐하면 Working 용액은 신속하게 성능이 감소하게 되기 때문이다.

#### (3) 실 제

- 1) KOH 포화용액, KOH 포화용액, Removal 용액을 각각 Coplin Jar에 일정한 양을 담는다.
- 2) 탈 Epon시간은 각각 15분씩을 하는데 가끔 흔들어 주면서 탈 Epon하면 더욱 촉진된다.  
그리고 조직의 두께에 따라 시간을 몇 분씩 가감하도록 한다.
- 3) Absolute Ethanol에 각각 5분씩 3회 정도 수세한다.
- 4) 95% alcohol → 85% alcohol → 60% alcohol → D.W.로 합수과정을 거친다.
- 5) 각각 H.E, PAS, PAP 등 기타 필요한 염색을 한다.

결 과 : Epon 절편의 두께에 따른 Epon의 제거 정도가 달랐으나 PAS 염색은 비교적 염색이 잘 되었고, H-E 염색은 KOH 포화용액이 좋았으며 Epoxy Resin Removal Kit 용액은 PAP 염색이 비교적 잘 되는 것 같았다.

#### 참고문헌

- 1. Imai, Y.A.Sue and A.Yamaguchi, : J. Electron Microscopy 17, 84-85(1985)
- 2. J.A.Litwin, et al., Histochemistry, 81, 51-52(1984)
- 3. Lane, B.P. and Europa, D.L. : J. Histochem. and cytochem., 13. 579(1965)
- 4. Mayor, H.D., Hampton, J.C. and Rosario, B. : J. biophys. and Biochem., 9, 909(1961)
- 5. Mikami, S. and I. Tanimura : J. Fac. Agr. Iwate Univ. 9, 77-85(1968)
- 6. T. Iwadare, et al., Stain Technology, 65, 205-209(1990)