

면역전자현미경에서 세포구조와 항원성의 보존 (Preservation of the Ultrastructure and Antigenicity for Immunocytochemistry)

권중균, 황세진, 백두진, 정호삼
한양대학교 의과대학 전자현미경실

면역세포화학은 세포내 항원성 물질의 소재를 아는 것에 유효한 수단으로 단순히 형태적 형상만으로는 판단할 수 없는 세포내 기능을 증명하는데 도움이 되므로 널리 연구되어지고 있다.

항원물질에는 각각 그 항원성이 강한 것과 약한 것이 있다. 또 시료처리 과정 중에서도 항원성은 소실될 수 있다. 특히 고정과 포매 등의 처리에 의해서 항원성을 잃어버리기 쉬운 물질이 있다.

항원성의 유지가 나쁘고 항원성이 약한 물질의 검출에는 포매 전에 면역반응을 행하는 Pre-embedding(전포매법)이 유효하고, 한편 비교적 항원성이 강하여 포매 후에도 항원성이 잘 존재하는 경우에는 초박절편에 의하여 Grid에 올려진 절편으로 면역반응을 행하는 Post-embedding (후포매법)을 이용하는 것이 좋다.

후포매 금 표지에 의한 면역세포화학법은 전포매방법에 비해 세포구조물을 보다 확실히 구분할 수 있고 구조물이 변형되지 않는 등의 장점이 있다. 또한 금 분자의 부착량을 측정할 수 있기 때문에 정량적 실험도 가능하다. 후포매 방법은 EM의 표준방법(glutaraldehyde 고정, OsO₄ 후고정, epoxy 포매)으로 처리 할 경우 amino acid 분석 연구에도 이용 가능하다. 그러나 거대분자가 면역반작용(immunoreactivity)에 의해 소실될 수도 있고 민감도(sensitivity)가 낮거나 배경이 과도하게 염색될 수 있는 단점도 있다. 이러한 단점을 최소화 하면서 면역원성을 극대화하는 새로운 방법이 개발되었다.

OsO₄는 불포화 지방산을 파괴하지 않아서 세포막을 변형시키지 않는 좋은 고정액이지만, OsO₄는 조직내에 존재하는 항원과 결합하기 때문에 면역세포화학법에서 이용하기에 적당하지 않은 고정제이다. 이런 문제점을 극복하기 위해서는 세포막을 변형시키지 않는 다른 재료(시약)를 찾아야 했다.

UAc(uranyl acetate)를 이용한 Enbloc방법이 (이것도 OsO₄사용시 배경을 뚜렷하게 나타내는데 이용) 세포구조를 보존하는데 좋은 재료가 될 수 있다. UAc는 높은 반응성은 없지만, uranyl 양이온이 조직 구성요소들과 이온반응을 일으켜서 조직세포에 정착되는 효과(fixative effect)가 있다. 이러한 반응 때문에 면역염색에 이용될 수 있다.

Tannic acid(TA, polyglycol 음이온 혼합물 -mixture-)가 결합체를 파괴하지 않고 조직을 보존시킬 수 있기 때문에 광학현미경과 전자현미경 고정 보조액으로 많이 사용되어 왔다.

아크릴 프라스틱에 포매 시킨 후 조직을 TA나 UAc으로 처리하면 OsO₄를 사용하지 않은 상태에서 구조를 파괴하지도 않고 면역원성을 보존할 수 있다고 알려져 있다. 여기에서 우리는 몇 단계 새로운 방법을 첨가해서 면역원성을 최대한 보존하고 조직 구조를 최적으로 유지하는 방법을 찾았다.

이 방법을 이용하면 중추신경조직처럼 쉽게 손상되는 민감한 조직도 변성되지 않고 여러 가지 항원도 잘 보존 할 수 있다. 이것은 PPD(*p*-phenylenediamine)이라고 하는 재료로서 지방(lipids)을 보존하는데 도움을 주는 것으로 알려져 있다. PPD로 시료를 처리하면 조직에서 금속이온(metalsalt)농도를 감소시키지만 myelin을 잘 보존시켰다. 또 면역원성도 증가시키는 것으로 나타났다.