

電子顯微鏡的 診斷技法의 수의학연구 및 臨床에의 응용

강 영 배*

머 리 말

〈電顯診斷研究室 設置와 目的〉

정부의 농업연구용 기자재 현대화 계획에 의하여 지난해(1986)부터 농촌진흥청 가축위생연구소에 최신 연구기자재가 도입 설치되고 있으며 관계 책임연구관에 대한 해외 현지기술훈련과 귀국보고 등을 통하여 최신기술의 전달과 국내 보급에 노력하고 있다.

본편에서는 일본정부의 해외경제협력기금(OECF; Overseas Economic Cooperation Fund)에 의하여 計劃된 家畜衛生分野 연구기자재설치 계획에 따라 가축위생연구소 기생충과에 설치된 走査型 電子顯微鏡을 중심으로하여 電子顯微鏡學的 診斷技法의 獸醫學研究 및 임상에의 응용과 동 電顯診斷研究室의 활용방안에 대하여 논술하여 보고자 한다.

가축위생연구소에 電顯診斷研究室을 설치한 목적은 일반적인 임상증상이나 소견, 육안적 또는 조직병리학적 관찰소견만으로는 식별이 곤란한 경우와 病因體 또는 매개체에 대한 미세구조 형태를 관찰하여 직접적인 확진을 얻고자 하는 것이며 종래에 가축위생연구소에 기존 설치되어 있는 透過型 電子顯微鏡의 활용도를 높이고 미비점을 보완함으로써 미세구조형태 관찰에 의한 형태학적 진단기술을 개발하는 데 있다.

이러한 임상적 진단에의 활용 이외에도 각종 약제의 작용기전이나 약제내성의 발현, 독극물의 추적 및 확인, 병인체의 동정 및 정밀한 생리생태학적 연구에 이용하고자 하는 것이며, 특히 最近에 關心度가 높아진 세포면역학 및 생물공학의 研究發展을 위한 基本技術을 확립하고 相互보완적으로 발전시켜 나가하고자 하는 데에 電顯診斷研究室의 설치목적들을 두고 있는 것이라 할 수 있다.

따라서 본편에서 논술하고자 하는 주요내용은 질병의 진단에 관련된 형태학적 관찰과 전자현미경의 기본원리와 응용에 관하여 기초부터 첨단사항까지 개략적으로 고찰하여 최신 수의기술의 발전방향의 일부를 소개하고자 하는 것이며 앞으로 수의사 보수교육이나 각종 직무교육(수의직공무원교육, 가축위생연구직교육, 검사원교육 등) 및 기타 전자현미경에 관계된 워크샵, 세미나 등을 위한 기본재료로 활용하고자 하는 것이다.

1. 질병의 진단과 형태학적 관찰

질병을 진단하는데 있어서는 대상이 되는 동물의 종류나 나이, 성별 등과 대상이 되는 질병의 발병요인이나 전파양상 또는 감염양상 등에 따라 진단기술의 적용 또는 응용이 달라지게 되며 진단결과의 정밀도 또한 막연한 추측으로부터 확진에 이르기까지 다양하다. 그러나 진단의 기본은 보고(임상소견 관찰, 병리학적소견 관찰,

*가축위생연구소

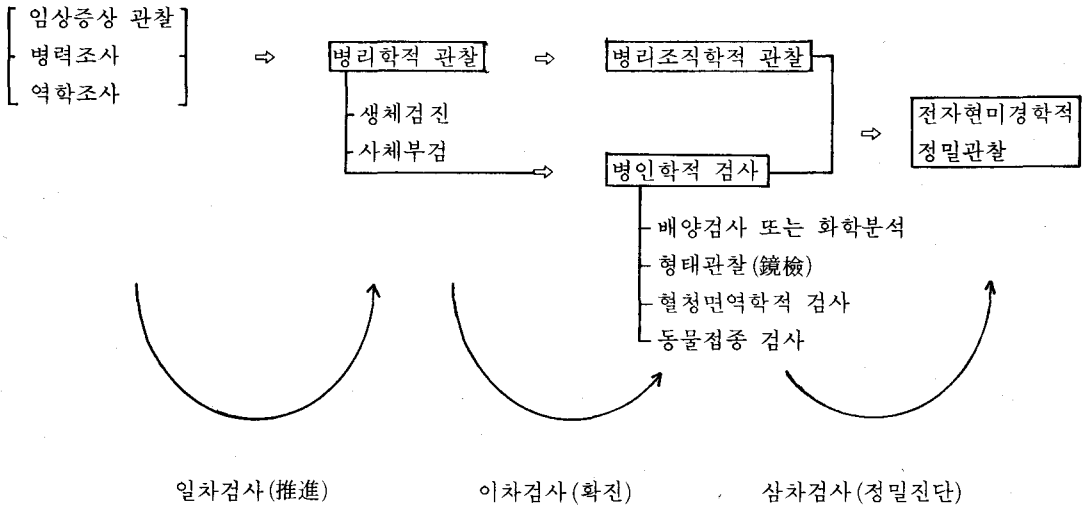


그림 1. 질병진단의 기본체계와 구분

각종 정밀검사 소견 관찰 등) 듣고(임상증상 청진, 병력청취조사, 역학조사자료 청취 등) 느끼는(과거의 경험 참고, 촉진, 판독기준설정 등) 것이며 그 중에서도 진단의 결정적인 요소가 되는 것은 관찰이며 여기에서 관찰(observation)이라 함은 검사소견까지를 포함하게 된다(그림 1참조).

그림 1에서 보이는 바와 같이 질병을 진단하는데 있어서는 먼저 일차검사로써 환축에 대한 임상증상의 관찰이 기본이 되며 과거의 병력이나 각종 요인에 대한 역학조사자료가 推診의 참고가 된다. 또한 생체검진이나 사체부검에 의한 병리학적 소견의 관찰은 일차검사 및 이차검사(확진)의 근거가 될 수도 있다.

그러나 보다 확실한 진단은 병리조직학적 관찰 또는 각종 병인학적 검사를 수행함으로써 결정적인 이차검사(확진) 결과를 얻을 수 있게 되는데 이때에는 일반 광학현미경에 의한 鏡檢이 기본이 되며 배양검사 또는 화학적 성분분석, 각종 혈청면역학적 검사와 실험동물에 대한 접종 시험이 이루어지게 되는데 때때로 이러한 성적은 삼차검사(정밀진단)의 근거자료로도 될 수 있다. 일반 광학현미경으로는 관찰이 되지 않는 미세구조라든가 각종 바이러스 그리고 여러가지 미세성분이나 물질은 전자현미경에 의한 관찰법

을 적용하게 된다.

질병의 진단을 위한 관찰에 있어서는 기본적으로는 실물크기 그대로의 육안적 관찰이 적용되지만 보조적으로 확대경(magnifying lens 또는 lupe)이 사용되기도 한다. 이때 쓰이는 렌즈는 볼록렌즈이며 물체의 像을 虛像으로 바꾸어 명시거리(약 25cm)에 놓아 육안만으로 보는 것보다 큰 시각으로 볼 수 있도록 하는 것인데 확대율은 약 $25/f$ 이며 이때 f 는 렌즈의 초점거리를 cm단위로 나타낸 수치이다. 단일 볼록렌즈로는 보통 5배 정도까지 확대관찰이 가능하다.

관찰의 범위를 넓히고 解像力(分解能)을 높이도록 고안된 것이 현미경 즉 광학현미경인데 크게 구분하여 해부용 입체현미경과 투과형 광학현미경 기타 여러가지 응용분야에 따른 위상차 현미경, 형광현미경, 편광현미경, 자외선현미경 등으로 나뉜다. 광학현미경의 배율은 대물렌즈의 배율(m_1)과 접안렌즈의 배율(m_2)의 곱으로 계산되는데 즉 $m=m_1 \times m_2$ 이며 또는 $m = \Delta / f_1 \times 250 / f_2$ 즉 $m = \Delta 250 / f_1 f_2$ 로 계산되는데 이때 Δ 는 경통의 길이를 나타낸다.

네덜란드의 박물학자이며 미생물학의 창시자로 알려진 안톤 반 레벤후크에 의하여 최초로 현미경이 발명된 이래 확대배율과 解像力 응용 범위 등에 있어서 많은 발전을 거듭하여 왔으나

해부현미경에서는 100배정도, 투과현미경에서는 2,000배 정도의 관찰배율과 0.4마이크론 정도의 解像力을 나타낸다. 이러한 일반광학현미경으로는 세포의 미세구조나 바이러스 등 미세한 병인체는 관찰이 불가능하다.

광학현미경의 매개적 구성원리를 圖解하여 보면 그림 2와 같다.

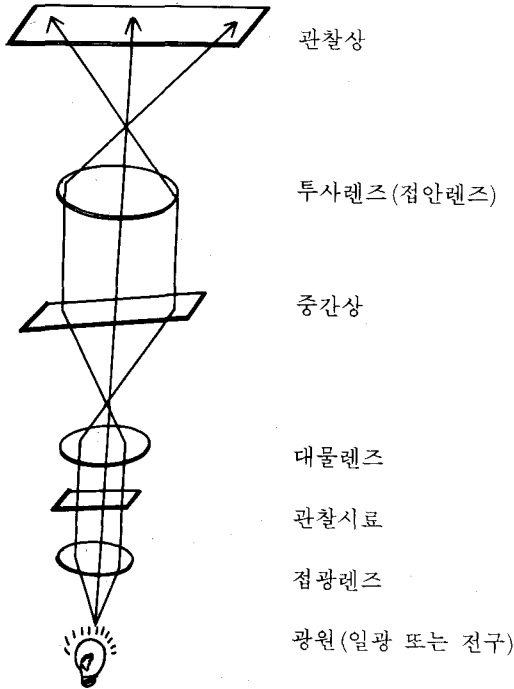


그림 2. 광학현미경의 기본구성원리도

2. 전자현미경의 기본원리와 종류

가. 전자현미경의 기본원리

전자현미경 (electron microscope)이란 전자의 기본성상을 이용하여 검사재료의 내부 또는 표면의 미세구조를 조사, 관찰하는 기기로서 형태학적 연구를 위한 필수장비이다.

1932년에 독일의 루스카에 의하여 최초로 고안된 바 있으며 1938년도에 독일의 시멘스사에서 최초로 제작한 바 있다.

전자현미경의 기본원리는 일반 광학현미경에서 광원으로 사용하는 일광이나 전구 대신에 텅스텐으로 구성된 음극(-)의 전자통으로부터 전자선(통상 전자빔이라 불리운다)을 방출시켜 전

자원으로 사용하게 되며 광학현미경의 유리렌즈 대신에 양극(+)의 전자렌즈를 사용하여 전자선을 집결 또는 확산시켜서 관찰하고자 하는 시료에 照射하여 형광면 위에 물체의 확대상을 結像시켜 관찰하거나 부속장비로 정착되어 있는 카메라에 연결하여 영상을 촬영할 수 있도록 만든 장치이다(그림 3 참조).

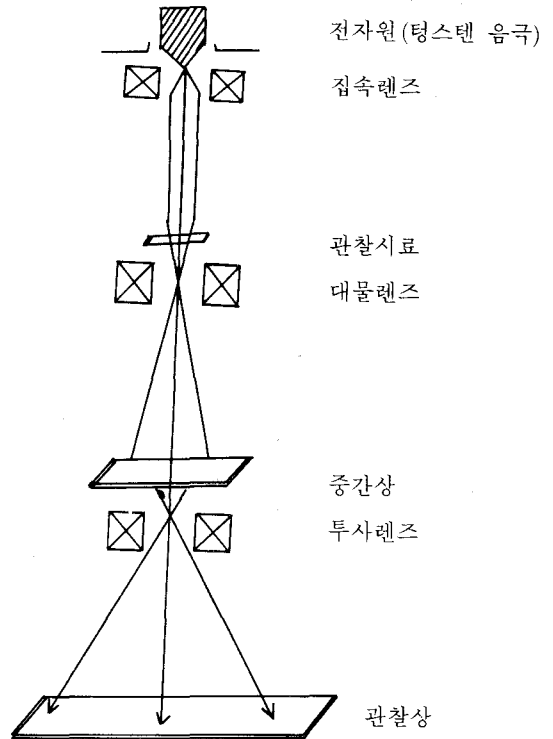


그림 3. 전자현미경의 기본구성원리도

전자현미경의 기본특징은 수만 볼트의 고전압 가속전자까지 사용할 수 있다는 점과 경통부 내부가 진공상태(통상 10^{-5} mmHg)로 유지되어야 하며 만일 진공상태가 적절히 유지되지 않으면 전자의 진행방향이 변하므로 정확한 結像이 되지 않을 뿐만 아니라 필라멘트의 소실이 우려되므로 자동적으로 작용이 차단제어 되도록 고안되어 있다.

또한 解像力(分解能)이 높고 확대배율에 있어서도 모델과 제작사 또는 기종에 따라 다르지만 최대 100만배까지 관찰이 가능한 등 거의 무제한이라고 말할 수 있을 정도까지 발달되어

있다.

나. 전자현미경의 종류

전자를 이용하여 CRT(Cathode Ray Tube) 화면에 영상을 結像시키는 원리는 같지만 전자현미경은 크게 3 종류로 구분되는데 투과형 전자현미경과 走査型 전자현미경 그리고 표면방출형 電子顯이 있다. 표면방출형 전자현미경은 재료공학 분야에서 금속 등의 표면미세구조를 관찰하는데 사용된 바 있으나 근래에는 走査型 전자현미경이 발전하게 됨에 따라 실제적으로는 투과형(TEM; Transmission Electron Microscope)과 走査型(SEM; Scanning Electron Microscope)로 구분하기도 한다.

투과형 전자현미경은 TEM이라 불리우며 일반적으로 전자현미경이라 하면 투과형을 의미하기도 한다. 그림 3에 나타난 전자현미경의 기본 구성원리도 역시 투과형 전자현미경이라 할 수 있다. 시료를 고정처리한 다음에 초박절편(ultrathin section)을 제작하게 되며 이러한 초박절편된 시료를 전자선이 투과하여 結像시키게 되

는 원리이다. 전자빔의 파장은 보통 0.05\AA 정도이며 分解能과 확대배율이 매우 높은 것이 특징이다. 현재 가축위생연구소에는 HITACH-8형이 병리과에 설치되어 운용되고 있으나 매우 구형이며 성능이 떨어지므로 앞으로 최신기종으로 대체되어야 할 것으로 기대된다.

한편, 走査型 전자현미경은 통상 SEM이라 부르는데 1935년에 독일의 크놀에 의하여 고안된 바 있으며 관찰시료의 표면 미세구조를 선명하게 관찰할 수 있으므로 재료공학 분야는 물론 응용생물학 분야와 의학분야에 활용범위가 확대됨에 따라 눈부신 발전을 보게 된 바 있다.

1938년에 독일의 아르텐에 의하여 제작이 완성되었으며 영국 캠브리지의 맥물란에 의하여 1953년도부터 현대적 모델로 개량된 바 있다. 현재 가축위생연구소에는 지난해(1986)년에 HITACHI S-570형이 설치되어 가동중에 있으며 필자가 일본의 日立(HITACHI) 응용기술센터와 일본의과대학 중앙전자현미경연구소(WHO 지정 국제연구연수센터)에서 기술훈련을 받은 바

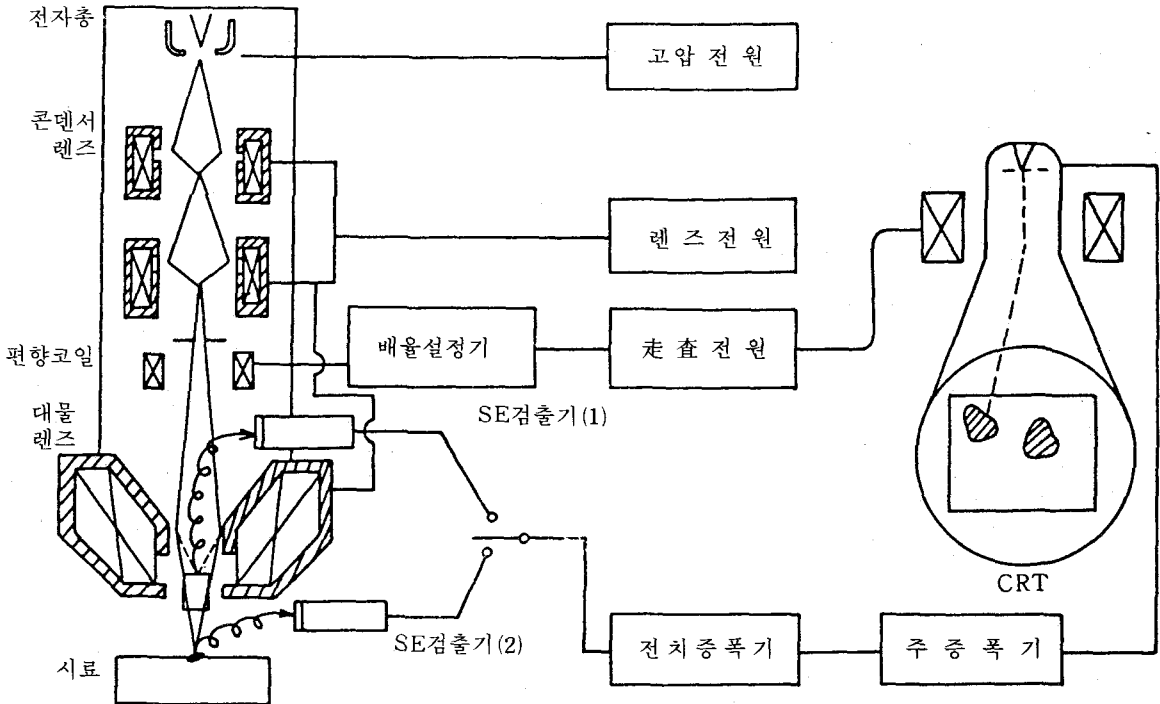


그림 4. 走査電子顯微鏡의 기본구성원리도

있다. 走査電子顯微鏡(S-570)의 기본 구성원리를 그림으로 표기하면 다음 그림 4와 같다.

현재까지 알려진 세계적인 전자현미경의 제작 회사들을 조사하여 보면 미국의 R.C.A.社; 네덜란드의 필립스社, 영국의 캠브리지 인스트루먼트社, 그리고 일본의 제올社, 도시바社, 히타치社, 시마즈社, 이시이社 등이 있으며, 국내에서는 마산에 한국 I.S.I社 등이 있는데 각 회사별로 모델과 성능에 경쟁적으로 발전하고 있으며 향후 더욱 발전될 것으로 전망된다.

3. 전자현미경의 설치와 기본조작 기술

가. 走査電顯機種 및 設置

가축위생연구소 전현진단연구실(기생충과)에 설치된 기종은 일본日立(HITACHI S-570) 제작품이며 총 중량 375kg(칼럼 230kg, 디스플레이 유닛 145kg)으로 폭 600×길이 775×높이 1,590(mm)의 칼럼부분과 폭 1,200×길이 775×높이 1,170(mm)의 디스플레이 유닛으로 구성되어 있다(그림 5 및 6 참조).

동 기종은 分解能 30 내지 35Å과 최대배율 200,000배까지 확대관찰이 가능하며 XYZ 3방향 및 TR축 가변형의 스페시멘 스테이지(그림 7 참조), 그리고 2배(A), 5배(B), 10배(C)까지 동시에 관찰할 수 있는 2중 확대장치

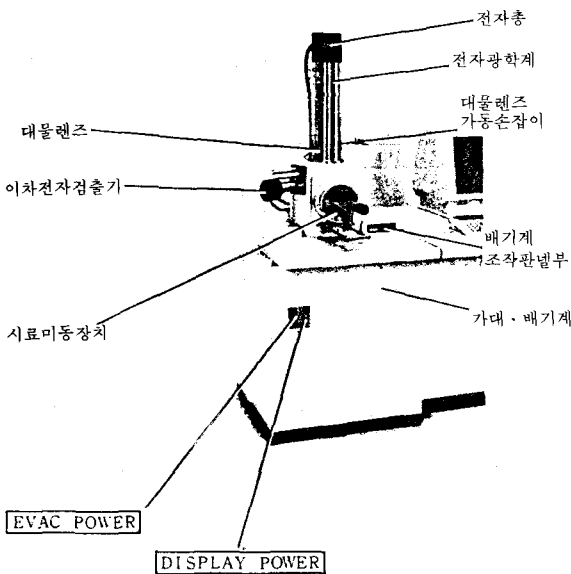


그림 5. 走査電子顯微鏡(S-570)의 칼럼(경통부)부분

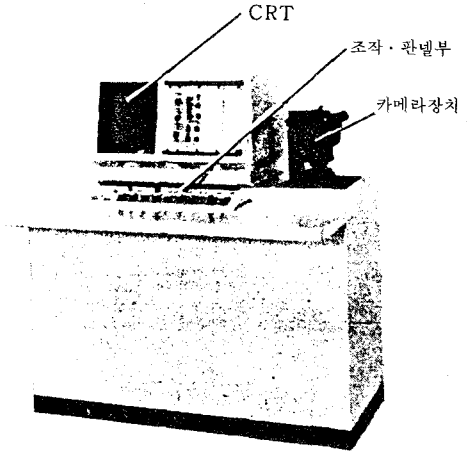


그림 6. 走査電子顯微鏡(S-570)의 디스플레이 유닛

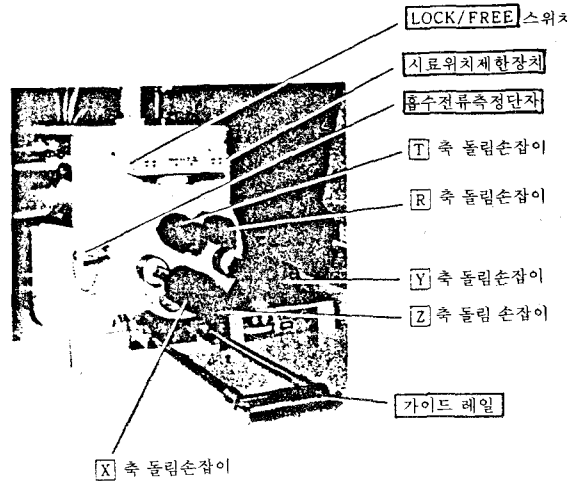


그림 7. 走査電子顯微鏡(S-570)의 축돌림 가변압 스페시멘 스테이지

(dual magnification), 12인치 CRT화면, 다이내믹 포커스 조절장치, 주사속도의 조절장치, 각종 데이터 기록장치, 자동 진공조절장치, 전력과 급수 및 진공에 대한 자동차단 안전장치, 폴라로이드 및 롤 필름 촬영용 카메라 장치 그리고 직경 50mm까지의 각 사이즈별 시료스터브를 장착할 수 있는 스테이지를 갖추고 있으며 대부분의 조작은 내장된 전산프로그램을 활용하여 자동화 시스템으로 운용할 수 있도록 설계되어 있는 것이 특징이다.

앞에 기술한 走査電子顯微鏡(S-570)본체 이외에도 시료의 기본적 처리를 위한 이온증착기

(EIKO IB-3) 및 임계점 건조기(크리티칼포인트 드라이어), 액상 시료를 처리 시찰할 수 있는 동결용 시료체계(크라이제닉 시스템) 등 각종 부대장비들과 부속품들이 도입 설비되어 있다.

동 기중을 설치하는데 있어서는 200 내지 240 볼트의 전원이 필요하므로 승압용 트랜스를 연결하였으며 3 KVA로 맞추어 놓고 접지 단자는 100옴 이하가 되도록 하였다.

기본적으로 전자현미경을 설치하기 위한 조건은 진동 및 소음이 없어야 하며 인근에 고전압의 전력선이 통과되어서는 아니된다. 외계의 환경조건은 기온은 15 내지 30도 이내이면 되고 습도는 70% R.H. 이하이면 적당하다.

전자현미경은 수냉식으로 냉각되므로 급수장치는 필수적인데 유량은 분당 2 내지 3리터, 유압은 1 평방 센티미터당 0.5 내지 1kg, 수온은 10내지 25도, 급수관의 직경은 10mm면 적당하며 배수는 자연배수면 되는데 만일의 경우 작동 중에 단수가 되게 되면 가속전압이 차단되어 자동적으로 작동이 중지되게 되므로 급수는 매우 중요한 요인 중의 하나로 인정된다.

나. 走査電顯 基本操作 技術

走査電子顯微鏡(S-570)의 조작을 위하여는 먼저 각 부품별 사용방법을 숙지한 다음 설치된

상태에서 각 부품에 대한 작동상태를 점검하여야 하는데 실제적으로는 정상적 가동이 이루어진 후에야 각 부품의 점검이 가능하다. 정상적인 가동을 시작하기 전에는 냉각수의 순환장치, 전원공급 및 가압장치, 진공조절장치, 전자추적장치의 선택, 필라멘트의 조절, 시료의 作製와 적절한 장착여부, 스페시멘 스테이지의 위치와 선택, 아스티그마티즘의 보정을 위한 예비점검, 초점조절을 위한 예비점검, 촬영용 카메라의 선택 및 노출계 선택, 필름의 장착 등을 점검하면 된다.

예비점검이 끝나면 정상가동을 할 수 있게 되는데 기본적 조작순서는 다음과 같다.

- ① 수도꼭지를 열어 냉각수의 순환장치를 가동시켜 놓는다.
- ② 벽면 스위치 보드에 설비되어 있는 전원공급 나이프 스위치를 넣는다.
- ③ 경통부 아랫부분의 왼쪽에 설비되어 있는 진공조절용 전원 스위치를 위로 올려 EVAC POWER (그림 5 참조)를 작동시킨다. 이때부터 오일 로타리 펌프가 작동되기 시작하며 배기계 조작 판넬(그림 8 참조)의 HIGH 에 있던 지시침이 WAIT 를 가리키며 적색등이 점등된다.

만일 냉각수가 순환되지 않거나 에어 컴프레

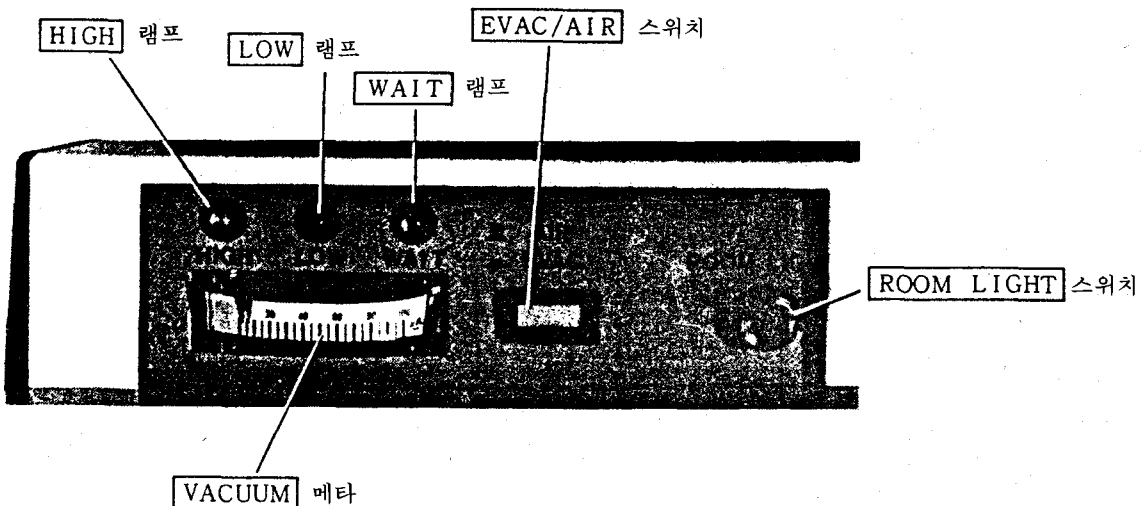


그림 8. 배기계 조작 판넬부

서의 압력이 적합하지 않을 때에는 부저가 <삐익- > 하고 울리게 된다. 이때에는 냉각수의 순환장치 특히 수압상태를 점검해 보도록 한다.

④ 전원 스위치 옆에 설비되어 있는 디스플레이 스위치를 위로 올려 놓는다. 이때에는 디스플레이 유닛 각부에 작동이 준비되어 전류가 흐르게 된다.

⑤ 배기계 조작 판넬부(그림 8 참조) 중앙에 있는 EVAC/AIR 스위치를 눌러서 EVAC 상태가 되도록 해 놓는다. 그러나 통상 사용시 또는 사용후에는 EVAC 상태로 유지되어 있게 되므로 다시 누를 필요가 없는 경우가 대부분이다.

⑥ 진공상태는 자동적으로 조작되며 진공이 고압상태로 완료되면 배기계 조작 판넬부(그림 8 참조)의 HIGH 램프에 초록색으로 점등된다. 이때까지는 통상 20분 정도가 소요하게 된다.

⑦ 위와 같은 예비 시동조작이 끝나게 되면 본 작동에 들어갈 수 있는데 그림 9에 표시된 READY 램프에 점등이 된 다음 가압 전압의 스위치 보드의 ON 을 누르면 전압이 가압될 준비가 되며 ON 램프에 점등이 된다. 이때 필라멘트의 손잡이를 돌려서 적합한 상태까지 전원을 흐르게 하면 되는데 그 표시는 EMISSION 메타에 나타나게 된다. 이때 전류가 과다하게 가속 또는 가압되는 경우에는 필라멘트가 타게 될 우려가 많으므로 세심한 주의가 요구된다.

⑧ 走査電子顯微鏡(S-570)의 본 조작은 전산화 프로그램으로 내장되어 있는 키보드(그림 9 참조)의 조작에 달려있다. 기본적인 프로그램은 9가지 기능으로 구성되어 있으며 CALL 키를 눌러서 디스플레이를 작동시키면 CRT 화면에 데이터 리스트가 나열된다. KEY IN보드

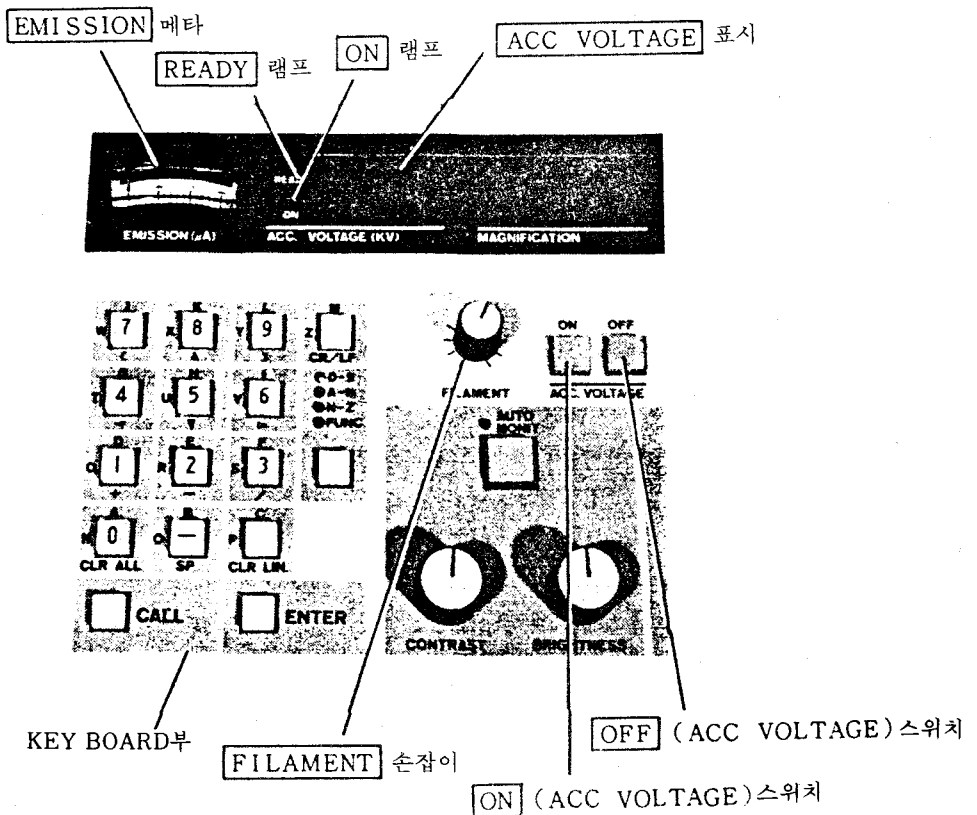


그림 9. 가압전압표시판넬 및 키보드부

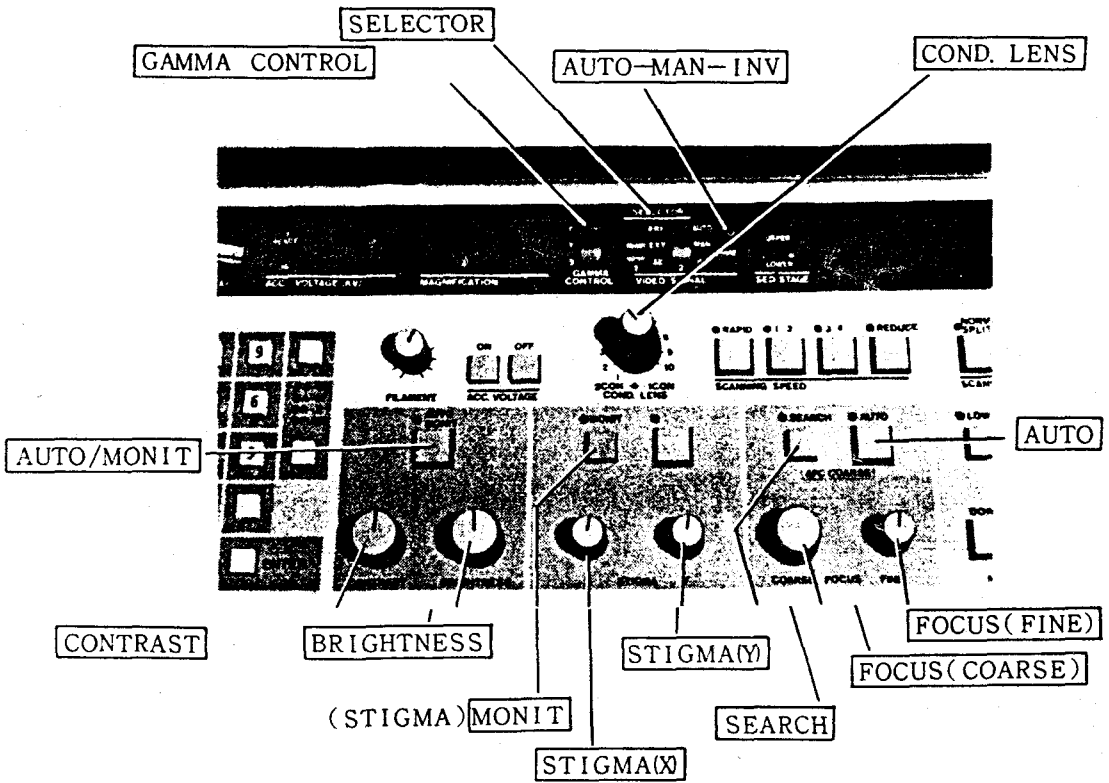


그림 10. 영상조작을 위한 손잡이와 키보드 스위치

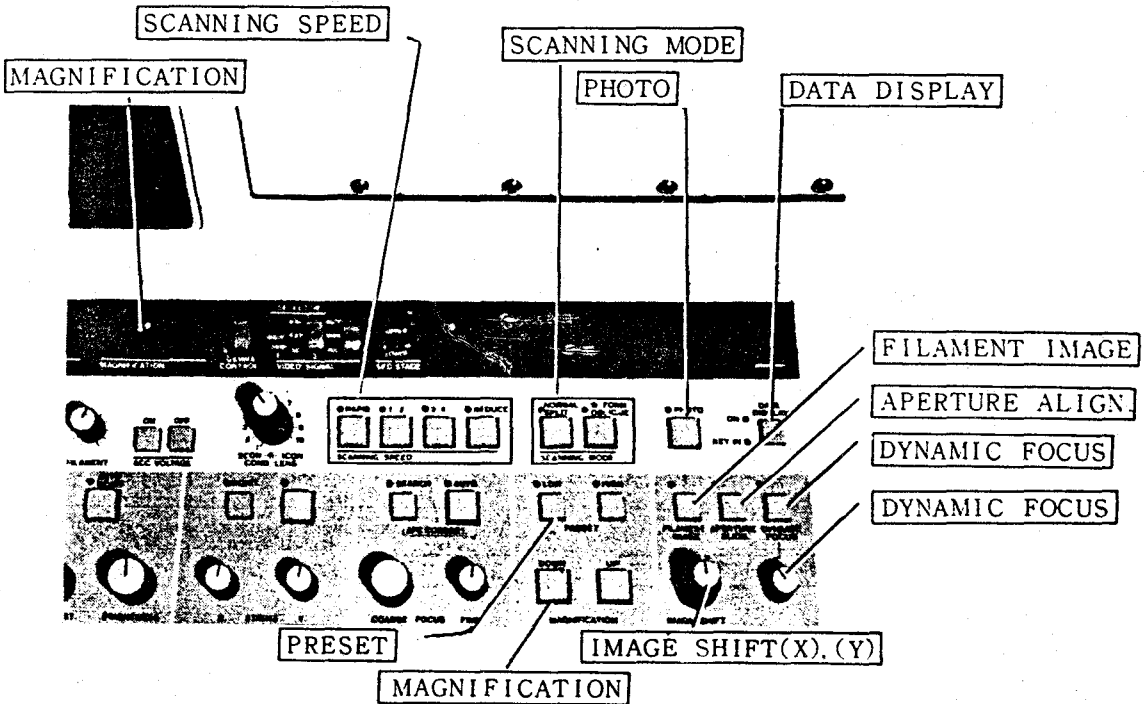


그림 11. 배율 및 주사속도, 초점조정 및 사진촬영을 위한 손잡이와 키보드 스위치

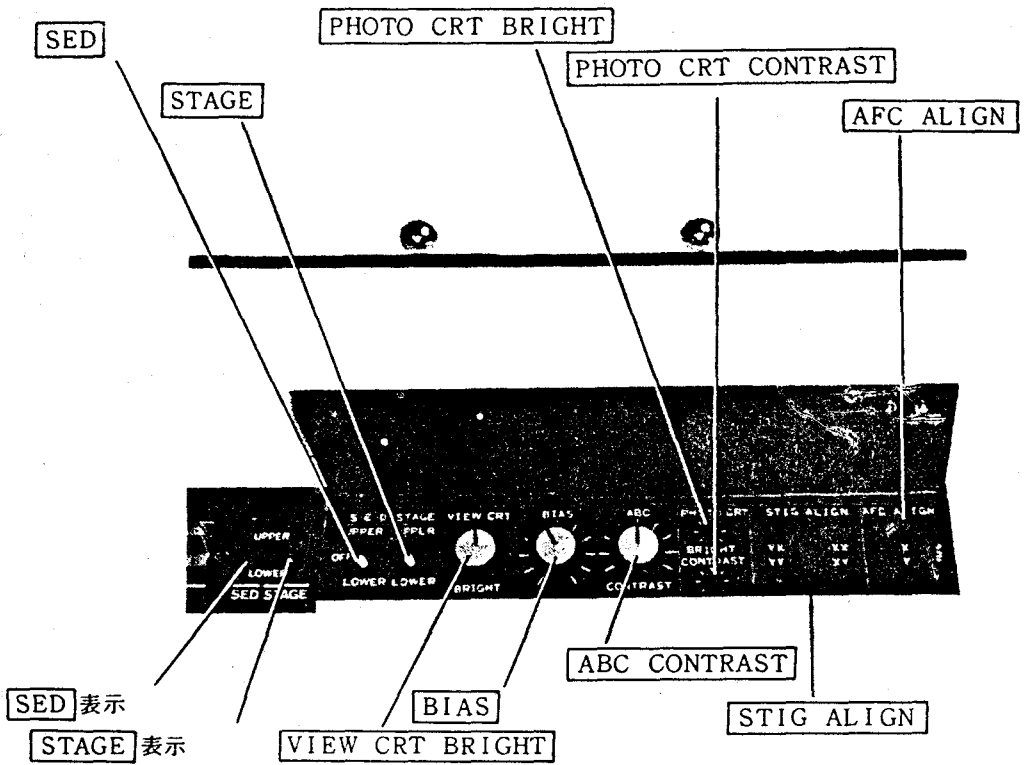


그림 12. 2차전자추적장치 및 영상조작을 위한 전문조절장치 (덮개내부)

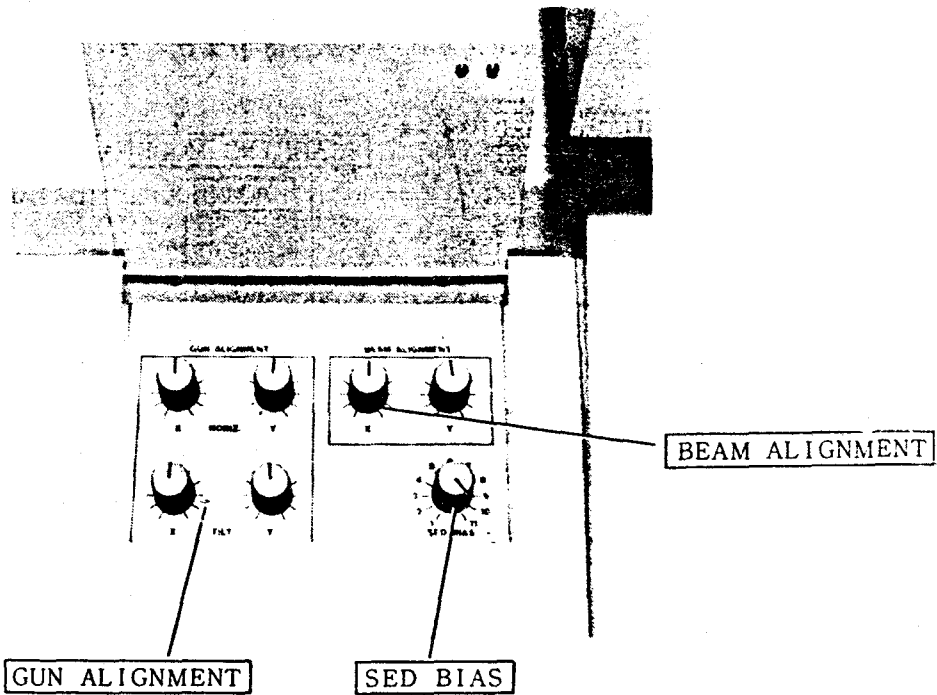


그림 13. 전자총 및 전자빔, 2차전자추적장치 전문조절장치 (덮개내부)

를 누르면 자기가 원하는 기록을 넣을 수 있다.

⑨ 전산화 프로그램으로 설정된 상태에서 또는 작동자가 원하는대로 프로그램을 선택 또는 변형시켜 놓은 상태에서 그림 10과 그림 11에 표시된 각종 조작용 자동 또는 수동식 손잡이 또는 스위치 보드 등을 사용하여 조작하게 되며, 보다 전문적인 문제는 그림 12와 그림 13에 표시된 덮개내의 조작장치를 사용하면 해결할 수 있다(단, 전문기술을 요하므로 함부로 손대서는 아니된다).

⑩ 각종 조작 및 관찰 또는 사진촬영 등이 끝나게 되면 시동조작과 반대의 순서로 완료조작을 하여 정지시켜야 되는데 우선 가압전압 스위치 보드의 OFF 를 눌러서 전류를 차단시키고 필라멘트 스위치를 시계바늘 반대방향으로 완전히 돌려 놓은 다음, 경통부의 디스 플레이 스위치와 전원공급 스위치를 내려서 경통부 내부에 진공상태가 유지된 상태로 정지시키면 된다. 경통부의 전원공급 스위치를 내린 다음에도 현미경 내부 및 각종 장치내에 여열이 남아 있을 수 있으므로 모든 작동이 끝난 후에도 냉각수 순환장치를 20분 정도 순환시킨 다음에 벽면 스위치 보드의 전원공급용 나이프 스위치와 냉각수 순환장치를 잠그도록 하는 것이 좋다.

본 조작과정은 기본적인 사항만 소개한 것이므로 세부사항은 직접 실습을 통하여 익히도록 하여야 한다.

4. 전자현미경의 시료작제와 판독

가. 走査電顯 시료의 선택과 작제

走査電子顯微鏡으로 관찰할 수 있는 시료의 선택범위는 다양하며 광석, 시멘트, 마그네틱 테이프 등 각종 광물질로부터 식물체, 동물체, 각종 가공식품은 물론 곤충, 기생충, 각종 세포, 미생물(세균, 곰팡이, 리케치아, 바이러스) 화학물질 및 병리조직과 면역학적 반응물질에 이르기까지 가능하다.

시료의 製作기술에 있어서도 시료의 종류와 성상에 따라 여러가지 광범위 또는 다양한 기술이 개발 응용되고 있으며 관찰목적에 따라 시료

처리기술의 변형이 가능하다.

일반적으로 투과형 전자현미경(TEM)에서 사용되는 기법이 그대로 적용될 수 있으며 그 기본 절차를 설명하면 다음과 같다.

① 고정처리: 전자현미경 시료를 위한 고정처리의 과정은 일반적으로 전고정처리와 후고정처리의 두 단계를 거치게 되는데 통상 글루타알데하이드, 태닉애시드, 오스미움 애시드 등이 사용된다. 시료의 종류와 성상에 따라 고정처리를 생략하는 수도 있다.

② 割斷處理: 走査電子顯微鏡의 시료 처리에 있어서는 일반적으로 割斷의 과정을 거치지 않지만 필요한 경우에는 후레온이나 액체질소 등 냉각제로서 동결시킨 다음 특수절단기로 할단 또는 파쇄시키는 방법을 응용할 수 있다.

③ 건조처리: 시료의 종류와 성상에 따라 특수한 건조처리를 하지 않고도 자연건조성상 그대로를 이용하거나 비교적 간단한 데시케이터내에 보관처리하므로써도 충분한 경우가 있다. 그러나 수분을 많이 함유하고 있는 시료에 있어서는 본래의 미세한 구조의 변형이 없이 완전히 탈수 건조되도록 처리하여야 하는데 이때에는 70%로부터 무수알코올까지의 알코올 탈수계를 이용하고 아세톤처리를 하는 방법과 이소아밀아세테이트에 예비건조를 냉각상태에서 시킨 다음 액체탄산가스를 이용하는 크리티컬 포인트 드라이어(臨界點 乾燥器)에 처리하는 방법 등이 응용되기도 한다.

④ 載物版 裝着: 고정 割斷 및 건조처리가 완료된 시료는 이온증착을 위하여 재물판에 裝着을 시켜야 하는데 이때에 사용되는 재물판의 종류와 크기가 여러가지 있으므로 적절한 것을 선택하여 사용하면 된다. 시료를 재물판 위에 裝着시키는 데에는 전도성이 있는 은분경고(실버 페이스트) 또는 양면테이프 등을 사용하면 된다.

⑤ 이온증착처리: 재물판에 裝着된 시료는 전도성이 있는 특수금속의 이온으로 표면을 증착(이바포레이션)시켜 주어야 하는데 이때에는 진공상태하에서 이온증착기(이온코터)를 사용하

여 금이나 백금, 탄소 또는 이러한 재료들의 혼합물질을 이온 발생재료로 이용하게 된다. 시료에 이온을 증착시키는데 있어서 중요한 사항은 시료의 표면에 이온이 균질하게 코팅되도록 하여야 하는 것이며 일반적으로 코트의 두께는 200\AA 이하가 적합한 것으로 알려져 있다.

한편, 부스러지기 쉬운 시료 또는 건조나 이온증착이 불가능한 시료(특히 생물학적 시료 또는 액상시료 등)는 ①~⑤의 금속이온 코팅과정 대신에 생체시료 그대로를 동결시켜 관찰하는 방법이 응용되는데 이때에는 크라이오제닉 시스템이라는 특수 스테이지를 사용하게 되며 냉각제로는 액체질소를 이용한다.

이밖에도 시료의 성상에 따라 표식항체 기법 등 여러가지 조직면역화학적 특수기법이 개발 활용되기도 한다.

나. 관찰 및 사진기록 판독

이러한 여러가지 특수한 시료작제과정을 거쳐 완성된 電顯用 시료는 일단 경통부의 진공상태를 깨고 스페시멘 스테이지상에 裝着시키게 되는데 시료대를 시료홀더에 돌려 넣어서 시료의 높이를 조절해 주어야 하는데 그림 14에서 보이는 바와 같이 높이를 재는 게이지에 따라 맞추어 주면 된다.

裝着된 시료는 XYZ 3방향에서 입체적 관찰이 가능하여 표준형 스페시멘 스테이지상에서 20배 내지 200,000배까지 확대 관찰이 가능하다. 모든 조작은 전산화 프로그램 또는 작동자의 의도에 따라 자동조절되거나 매뉴얼 방식으로 작동이 가능하도록 되어 있으며 TTL 듀얼 SE

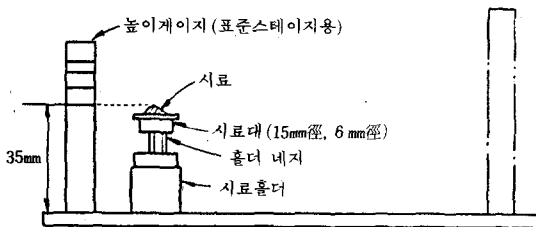


그림 14. 시료높이의 표준설정 (표준스테이지용)

디텍션 시스템으로 일차 전자상 또는 이차 전자상의 관찰이 선택적으로 가능하도록 되어 있다.

사진촬영을 위하여는 롤필름용 카메라와 폴라로이드용 카메라의 두 종류를 선택해서 사용할 수 있도록 되어 있는데 폴라로이드는 즉석에서 현상 및 인화가 가능하기 때문에 편리한 반면에 경제적으로 비용이 많이 드는 편이다.

현재 가속위생연구소 전현진단연구실에는 $4" \times 5"$ 폴라로이드 카메라 및 6×7 마미야 롤필름 카메라가 설치되어 있는데 사진촬영 역시 자동과 수동이 가능하도록 되어 있다.

CRT화면에서 관찰되는 영상과 카메라에 기록되는 배율은 폴라로이드에 있어서는 1:1이며 마미야 롤필름에 있어서는 1:0.6으로 되어 있다. 사진촬영에 있어서 중요한 사항은 필름의 종류에 따라 감도가 다르기 때문에 카메라 레바와 셔타 속도를 조절해야 하는 것인데 그림 15에서 보이는 바와 같이 ASA감도에 따라 f 를 조절해 주면 된다.

필름의 종류에 따른 ASA감도는 표 1에 나타난 바와 같으며 ASA 50로부터 ASA 3,000까지 여러가지 종류가 있다.

ASA 50	$f = 8$
ASA 100	$f = 8$
ASA 400	$f = 16$
ASA 3000	$f = 22$

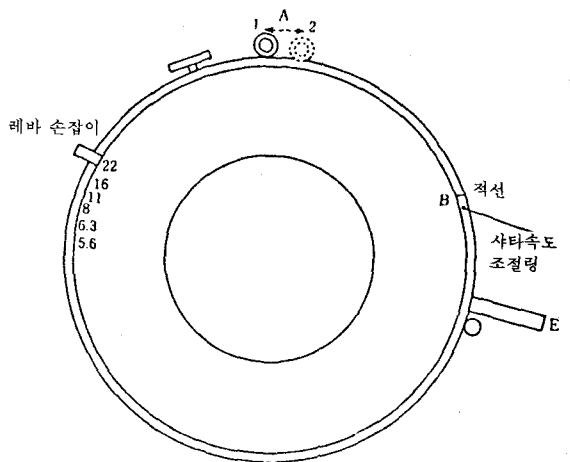


그림 15. 필름감도와 레바의 위치 및 셔타속도 조절링

표 1. 필름의 종류와 감도

필름의 종류			감도(ASA)	
롤 필름	SS	NEGATIVE	100	
	SSS	"	400	
	TRI-X	"	400	
폴리로이드	수찰판	105	POSITIVE NEGATIVE	75
		107	POSITIVE	3,000
	4"×5"	P/N55	POSITIVE NEGATIVE	50
		52	POSITIVE	400

표 2. 필름의 電顯寫眞處理

과정	처 리 액	처 리 시 간(분)
현 상	D-76	7~9 (20℃)
	Polydol	8 (")
	Microdol-x	10~12(")
정 지	D-76:물(1:1)	7~9 (23℃)
	초산 15cc/1ℓ물	0.5
정 착	보통타입	5~10
	신속타입	3~5
수 세	물	15~30

한편, 필름의 電顯寫眞處理를 위하여는 각 과정별로 현상, 정지, 정착, 수세의 과정을 거치게 되는데 각 처리액별로 처리시간을 맞추어 주어야 한다(표 2 참조).

폴라로이드 필름도 사용설명서에 있는대로 필름을 제작하여 복제할 수 있다.

電顯映象의 관찰과 電顯寫眞의 관독을 위하여는 한마디로 쉽게 설명할 수 있는 사항이 아니므로 많은 경험과 참고문헌을 비교하여 연구하도록 하여야 한다.

시료의 미세구조를 잡자기 높은 배율로서 관찰하는 것은 바람직하지 못하므로 우선은 낮은 배율부터 시작하여 최종적으로 높은 배율을 관찰해 보는 것도 좋은 방법이라고 사료된다.

5. 電顯診斷法의 임상수의학에의 응용

가. 병인 진단학적 응용

가축위생연구소에 전현진단연구실을 설치한 이래, 관행적으로 개체별 임상소견이나 병력,

역학적 참고사항 등에 비중을 크게 두고 질병 진단의 기본을 삼거나 병인체의 분리 및 배양을 통한 일반 광학현미경학적 진단 또는 혈청면역학적 반응에 의한 간접적 진단에 의존하던 것을 병인체나 병리병변 조직 세포의 미세구조에 대한 높은 解像力과 막대한 확대 관찰로서 직접적인 형태학적 정밀진단이 가능하게 된 바 있으며, 앞으로 특히 바이러스를 포함한 각종 병원 미생물 및 기생충 원충 등 식별이 곤란한 병인체에 대한 확인과 동정 등에 있어서 진단을 위한 직접적인 확진자료를 확보할 수 있도록 될 것으로 전망된다.

지금까지는 기생충학적 연구분야중 진드기와 응애류, 이와 벼룩 등 각종 외부기생충 및 위생해충류에 대한 분류동정을 위한 미세구조 형태 비교와 원충성 질병 특히 타일레리아병, 바베시아병, 아나플라즈마병(리케치아) 등 진드기 매개성 질병의 병인체에 대한 동정 및 생활지, 구멍에 관심을 가지고 연구접근하고 있으며 몇 가지 조충류와 흡충류(간질, 쌍구흡충, 疥蛭 등) 선충류에 대한 정밀진단 및 미세구조 형태를 관찰해 오고 있다.

특히 국내에서 구명되지 못했던 쌍구흡충증의 병인체 8종을 확실히 분류동정한 것과 진드기의 살충제에 대한 내성 문제와 관련하여 화학수용기(Haller's organ)에 대한 기능을 구명연구하는 등 좋은 연구결과를 얻어내고 있으며, 병리과에서 의뢰된 돼지의 신장염 병변조직과 마이크로플라즈마 폐염의 병변조직 그리고 폐사된 군견의 장염에 대한 병변조직에 대한 미세구조 관찰 및 정밀진단에 자료를 제공한 바도 있다.

현재는 기생충성 질병의 정확한 진단을 위한 병인체 및 병변조직에 대한 레퍼런스 아틀라스(표준 참고도) 작성을 위하여 노력하고 있으며 생리생태 연구를 위한 기본자료와 구충제 및 살충제 그리고 항원충성 제제의 작용기전을 구명하기 위하여 몇가지 연구과제를 수행중에 있다.

최근에는 제주도 가축위생연구소로부터 송부된 흰꼬리수리의 외부 기생충 2종(진드기 1종

이 1종)에 대하여 분류동정을 위한 시료를 준비한 바 있다.

지금까지 병리과에 설치되어 있는 투과형 전자현미경(TEM)을 좀 더 신형으로 교체하고, 현재 새로 도입된 走査型 전자현미경에 EDX 또는 WDX 등 X-선 에미션에 의한 화학성분 미세 분석 장치를 부가적으로 장착 설비하게 될 경우에는 각종 전염성 병변 및 기생충성 병변에 대한 병인 진단학적 활용이외에도 미량원소 분석을 통한 약리학적, 독성학적 진단 및 연구에 커다란 발전을 이루게 될 것으로 확신된다.

나. 면역조직화학적 진단에의 응용

종래의 일반적인 혈청면역학적 연구는 이제는 세포면역학적 연구로 많은 방향전환을 하고 있으며, 특히 최근에 이르러 첨단과학기술 분야의 하나로 대두된 유전공학 또는 생물공학의 연구는 세포의 미세구조 형태와 기능에 관련된 연구를 기본으로 하고 있으며 이미 우리 수의학 연구분야에도 연계되어 있음을 알 수 있다.

이러한 세포의 미세구조 형태 및 기능에 관한 연구는 전자현미경이라는 도구가 없이는 사실상 관찰이나 확인이 곤란한 것이며, 그러한 이유로서 세포관련 학문과 전자현미경학은 상호보완적으로 발전에 발전을 거듭하고 있는 것으로 사료된다.

응용생물학 특히 의학과 수의학 연구분야에 있어서 임상 및 면역조직화학적 연구에 응용되고 있는 내용과 동향을 요약하여 소개하면 다음과 같다.

① 電顯 오토래디오그래피

분자생물학 및 세포생물학 분야에서 널리 응용되는 방법으로 방사성 동위원소를 이용하여 생유체를 조제하여 시료를 처리하는 것이며, 이때 처리방법으로는 루우프법과 살페터법이 흔히 사용되는데 결과적으로는 전자현미경상에서 자동현상된 입자를 관찰하는 원리이다. 이러한 방법은 최근에 면역학적 진단학 분야에 많이 활용되고 있는 방사능 면역진단법(RIA) 등과 기술적으로 연계하여 발전될 것으로 사료된다.

② 電顯 酵素標識抗體法

질병의 진단을 위한 면역학적 기법중 근래에 많이 활용되고 있는 酵素標識抗體法(일명 엘라이자 진단법)에 오스믹 애시드로 전자현미경적 시료처리를 하여 그 반응결과를 전자현미경으로 관찰 판독하는 원리인데, 이러한 전현 엘라이자 진단기법으로는 나까네법, PAP법, ABC법 등이 알려져 있다.

③ 電顯 重金屬標識抗體法

리틴 항체법과 프로틴-A-골드 콤플렉스법 등이 알려져 있으며 면역학적 연구에 응용되고 있다.

④ 전현 單클론성 항체 진단법

종래에 혈청면역학에 사용되어 오던 複클론성 항체(폴리클로날 앤티세라)와는 성상이 다른 즉 단일한 항원결정기를 갖는 單클론성 항체(모노클로날 앤티세라)의 생산 검정 및 동 항체를 이용하는 여러가지 면역조직화학적 연구분야에 전자현미경이 활용되고 있는데 이때의 시료처리를 위하여는 PLP(페리오데이트 라이신 파라포르말데히드)가 사용된다.

맺는 말 <電顯診斷研究室 活用方案>

시간의 흐름에 따라 자연과학과 기술은 눈부시게 발달하고 있다. 매일 매일 쏟아져 나오는 새로운 이론과 학술보고자료, 새로운 기자재와 기술자료 등, 자칫하면 옛사람으로 밀려나기 십상이다.

본편에서는 최신 수의기술 종설로서 전자현미경학적 진단기법의 수의학 연구 및 임상에의 응용에 관하여 논술하여 보았다.

사실상 이러한 최신 기자재들은 가격이 상당히 고가이므로 각 기관마다 가지고 있을 수도 없을 것이며 또 그렇게 할 필요도 없을 것이다.

필자가 알기로는 국내의 의과대학계에는 여러 곳에 설치되어 있으며, 수의학계에는 가축위생연구소와 서울대학교 수의과대학에 설치되어 있는 것으로 알고 있다.

가축위생연구소에 설치된 電顯診斷研究室은

동소의 민원창구를 통하여 소장의 승인을 받으면 언제라도 활용이 가능하며, 병리과나 계역과의 병성감정실에 의뢰된 재료는 所内部적으로 협조가 가능하므로 의뢰자가 별도로 사용승인을 받지 않더라도 전원진단의 결과를 얻게 될 수도 있게 되어 있다.

물론 전자현미경학적 진단에 관심을 가지고 수의학 분야의 연구 또는 임상에 응용하여 보고 싶은 사람에게는 언제라도 문헌이나 기술자료의 제공, 견학이나 상담이 가능하도록 준비되어 있으니 많이 활용하도록 권장한다.

본편에서는 가장 기본적 사항을 중심으로 소개하였으므로 상세한 사항은 참고문헌 등을 통

하여 이해를 넓히도록 하여야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. 강영배 : 走査電子顯微鏡 S-570형. 기자재훈련 보고서, 농촌진흥청 가축위생연구소(1986).
2. 姜英培 : 走査電子顯微鏡의 조작기술과 전자현미경적 진단학에의 응용. 해외연수 귀국보고서, 농촌진흥청 가축위생연구소(1986).
3. 東 昇 : 의학 생물학용 전자현미경학. 문광당, 동경.
4. 卒後教育學術情報센터 : 전자현미경 연구법의 기본적 실기. 최신의학 교육강좌 No. 921. 동경.
5. 전자현미경학회 관동지부 : 의학 생물학 전자현미경학 관찰법, 환신, 동경.
6. Trump, B.F., Jones, R.J. : Diagnostic Electron Microscopy. Vol. 1-4. New York.
7. Glauert, A.M. : Practical Methods in Electron Microscopy. Vol. 1-9. Amsterdam.

수의사를 위한

도몬·L

바이러스성질환 치료제

○작용기전 :

- 1) 인터페론 유도작용
- 2) 중화항체생성 촉진작용
- 3) 강한 소염작용
- 4) 면역 촉진작용

○임상적 응용 예 :

- 1) 개의 디스토펙 증후군, 파보 바이러스 감염증, 전염성기관 기관지염 (Kennel Cough).
- 2) 고양이의 전염성 비기관염 (FVR) 범백혈구 감소증, 전염성 출혈성 장염.
- 3) 소, 송아지, 돼지의 바이러스에 의한 각종 호흡기 및 소화기질병(송아지 감기, 폐렴, 하리, 자돈 하리, TGE 등)에 특효가 있음(일본 수의축산신보 게재)
- 4) 가축의 각종 바이러스성 또는 복합 감염 질병의 치료시 보조치료제로 사용



수입·판매원 :



한국동물약품주식회사



제조원

NICHIBIO LABORATORIES LTD.

※ 기타 제품에 대한 문의사항은 본사 학술부로 연락해 주시기 바랍니다.