

<자 료>

## 계절에 따른 Electron Microscopic Block 상태의 변화

손성향\* · 유창규 · 최입순

### The Changes of Electron Microscopic Block Condition According to Seasonal Status

Sohn, Seong Hyang\* · Chang Kyu Yoo and Rim Soon Choe  
(Received December 7, 1989)

#### Abstract

The specimens for electron microscopic observation made in different seasons have different qualities even though they are made by the same procedure.

We observed the various specimens made in each four season. As the results, we concluded that the different specimen conditions were caused by the humidity and penetrability of various solution into the block.

In spring, fall and winter, the quality of specimen is good and the difference with one another is not found. But in summer, the specimen have worse quality than in other seasons and not good for sectioning process and observation.

In summer with high humidity, we can gain better specimens by eliminating the humidity as much as possible in all processes, thus increasing penetration of various solutions into the specimen.

전자현미경 관찰을 위하여 조직을 채취하여 고정액에 담그어 고정하고 여러 단계의 전자현미경 표본제작과정을 거쳐 block을 만들어 절편을 제작, 염색하여 관찰하여 보면, 계절에 따라 모든 처리과정이 같은데도 불구하고 block상태나 조직의 상태가 다른 경우가 있다.

특히 장마철이 있는 여름 동안에 만들어진 block에서 문제점을 많이 발견할 수 있

는데, 여름철과 그 외의 계절에 만들어진 block을 서로 비교하여 원인이 되는 문제점을 찾아보고, 더 좋은 block을 만들기 위한 조건을 알아보하고자 하였다.

재료로는 4월, 6월, 7월, 8월 그리고 9월에 채취한 개의 횡장조직을 사용하였다. 조직을 Karnovsky 고정액(Karnovsky, 1965)으로 하루밤 동안 고정하여 통상적인 방법을 거쳐서 gelatin capsule 및 Beem capsule에

\*연세대학교 의과대학 전자현미경실 · 연세대학교 이과대학 생물학과

\*E.M. Lab., College of Medicine, Yonsei University

Dept. of Biology, College of Science, Yonsei University

이 논문은 연세대학교 의과대학 조교연구비의 지원으로 이루어졌음.

포매하였다. 포매후 35°C에서 6시간, 45°C에서 12시간, 60°C에서 24시간 이상 가온하여 block으로 만든 후 절편을 만들어 이중염색을 시행한 후 관찰하였다.

88년 6월(D군), 87년 7월(A군) 및 87년 9월(C군)에 채취한 조직은 Beem capsule에 비해 습기를 흡수하는 성질이 강한 것으로 알려진 gelatin capsule에 포매하였고 침투촉진기(penetrator)는 사용하지 않았으며 89년 4월(E군)과 88년 8월(B)군에 채취한 조직은 Beem capsule에 포매하였고 침투촉진기를 사용하였다.

87년 7월에 만든 block은(Figs. A1, A2, A3, A4) 심한 경우에는 후박 절편(0.5 $\mu$ m 두께)을 얻을 수 없는 경우도 있었다. 이 경우에 절단되어 나오는 조직편이 knife boat의 물위에 닿는 순간 마치 연기가 굴뚝에서 나와 사라지는 것처럼 흩어져 버렸으며, 이것은 조직이 Epon 혼합액에 의해 중합되지 않아서 모두 흩어져 버리는 것으로 사료되었다. 조금 덜 심한 경우에는 후박절편은 가능하지만 초박절편(0.05 $\mu$ m 두께)에서 같은 현상이 나타났다. 사다리꼴의 조직편 전체가 흩어져 버릴 때도 있었고 한쪽 귀퉁이만 흩어지는 경우도 있었다. 이런 현상을 보이는 초박절편을 mesh로 떠서 관찰해 보면 사진 A3에서와 같이 나타났다. 사진 A1은 조직이 잘 퍼지지 않아서 우글쭇한 모양을 보이고 있으며 분비과립과 인접한 조직의 고정상태가 좋지 않아 분비과립과 인접조직이 떨어져 있으며, 분리과립 속으로 Epon 혼합액이 침투하지 못해서 절편제작과정에서 밀려난 모습을 보이고 있다. 사진 A2는 전반적으로 조직의 고정이 좋지 않아 전체적으로 흐릿하게 보이며 침투 역시 나빠서 곳곳에 구멍이 뚫려 있다. 사진 A3는 분비과립과 그 바깥쪽이 분리되어 조직이 흩어지기 직전의 모습으로 분리과립 바깥쪽에 흰 여백이 많이 보인다. 사진 A4는 조직의 고정이 나쁘고 침투 상태도 좋지 않은 상황에서

염색 찌꺼기가 절편 표면 위에 더 많이 침착된 사진이다.

사진 B1과 B2는 88년 8월에 만든 block으로 사진 B1은 87년 7월의 것에 비하여 전체적으로 침투, 중합 등이 좋아 보인다. 이것은 Beem capsule을 사용하여 포매후 가온되는 사이에 습기의 영향을 덜 받도록 하였고, 알코올 탈수과정에서부터 침투촉진기를 사용하여 각 용액의 침투를 더 좋게 만든 조직이다. 침투가 특히 영향을 주는 과정은 propylene oxide와 Epon 혼합액을 1:1로 섞은 용액에 하룻밤동안 처리하는 과정이었는데, 침투촉진기를 사용한 경우와 사용하지 않은 경우에 있어서 용액처리 후 남은 용액의 점도의 차이를 눈으로 확인할 수 있을 정도로 확연히 달랐다. 절편제작시에 분비과립이 밀린 것은 고정과정에서의 영향으로 생각된다. 사진 B2는 사진 B1의 확대 사진으로 분비과립이 밀려진 모습을 잘 볼 수 있다.

사진 C1은 87년 9월에 만든 block으로 A군보다 분비과립의 고정상태가 좋다. 7,8월에 비해 9월에 습도가 낮은 시기이므로, 습도가 고정과정에서 영향을 주는 것으로 판단된다.

사진 D1, D2, D3는 88년 6월에 만든 block으로 사진 D1에서는 전체적으로 탁한 소견을 보이지만 고정과정에서 영향을 받았을 것으로 생각되고, 사진 D2에서 분비과립이 약간 밀려져 있는 것이 보인다. D군의 경우도 A군과 마찬가지로 gelatin capsule에 포매하였고, 침투촉진기를 사용하지 않았는데 가끔 상태가 좋지 않아 절편제작시에 조직이 퍼지는 현상을 볼 수 있었고, 부분적으로 퍼지는 조직편을 grid에 얹어 관찰하여 보면 사진 D3와 같은 사진을 볼 수 있다.

E군은 89년 4월에 Beem capsule을 이용해 만든 block으로 분비과립의 보존 상태, 분비과립과 그 인접한 조직의 고정 상태, 과립성내형질세망의 보존 상태 등이 모두 좋으므로 고정과정과 이후의 조직처리과정에서 각종 용액의 침투가 확실했던 것으로 사료되며, 이런

조직을 절편제작하여 염색하면 염색 상태도 좋다. 사진 E2는 사진 E1의 확대 사진으로 분비과립이 잘 보존된 것을 볼 수 있다.

전자현미경 관찰을 위하여 조직을 처리할 때 7·8월에 고정된 조직에서 상태가 좋지 않은 것을 많이 발견할 수 있는데 그 원인으로서는 조직을 채취한 후 고정액에 들어가기까지의 지연시간 사이에 조직이 손상받는 것으로 생각된다. 전자현미경실의 온도는 22°C~24°C로 거의 항온이 유지되고, 습도는 봄, 가을, 겨울철에는 35~45% 정도이고 여름철에는 60~70% 정도로, 조직이 고정액에 들어가기까지 지연되는 경우가 계절에 관계없이 생기지만 여름철에 더 많이 손상받는 것으로 나타났다.

고정상태는 같고 capsule과 침투촉진기 사용이 다른 A군과 B군을 비교해 보면, A군에 비해 B군의 상태가 좋은 것을 알 수 있는데, 습기와 침투를 조절하면 어느 정도는 좋은 block을 얻을 수는 있으나 고정 과정에서의 영향을 완전히 벗어날 수는 없다는 것을 알 수 있었다. C군과 E군

은 각각 9월과 4월에 채취하였으므로 고정상태는 양호하다고 하고, capsule과 침투촉진기의 사용을 다르게 하니 사진에서 볼 수 있는 것처럼 상태 차이가 났다. 따라서 고정이 잘 되었다 하더라도 침투가 확실하지 않고 중합반응 때에 습기의 영향을 받으면 좋은 block을 얻을 수 없다는 것을 알 수 있었다. 침투과정에서의 중요성을 재확인하기 위하여 본 실험실에서 실시한 수치를 정리해 보면, gelatin capsule을 쓰고 침투촉진기를 쓰지 않은 87년 7월, 8월에는 조직이 완전히 흩어져서 관찰이 불가능하게 된 경우가 125건 중에서 10건 발생하였으나, Beem capsule을 쓰고 침투촉진기를 사용한 88년 7월, 8월에는 293건 중에서 단 한 건도 발생하지 않았다.

Reference

Karnovsky, M.J. 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in E.M. J. Cell Biol. 27, 137-138.

Figure Legends

Fig. A. Transmission electron microscopic photographs of pancreatic tissue made in '87. 7., embedded in gelatin capsule.

- A1. The section slice is shrunken and pancreatic granules are not well fixed, therefore separated from the surrounding tissue.(×8,000)
- A2. The tissue is not well fixed and seen vaguely. The pancreatic granule is separated from the surrounding tissue.(×8,000)
- A3. The tissue is going to disappear because Epon mixture polymerization is so bad. The white space can be seen between the granule and the surrounding tissue.(×8,000)
- A4. Not good tissue section slice is tender to obtain stain dot.(×8,000)

Fig. B. Transmission electron microscopic photographs of pancreatic tissue made in '88. 8., embedded in Beem capsule and using penetrator.

- B1. The tissue is relatively good preserved but a few granules are separated from the surrounding tissue.(×5,600)
- B2. Enlargement of Fig. B1. We can more obviously see the separating mode. (×12,800)

- Fig. C. Transmission electron microscopic photographs of pancreatic tissue made in '87. 9., embedded in gelatin capsule.
- C1. The tissue is comparatively well preserved but polymerizational condition is a little bad.( $\times 4,000$ )
- Fig. D. Transmission electron microscopic photographs made in '88. 6., embedded in gelatin capsule.
- D1. The tissue is rather turbid and the fixative process is a little bad.( $\times 8,000$ )
  - D2. A few granule is separated from the surrounding tissue.( $\times 8,000$ )
  - D3. The preservation of the tissue is very bad. The granule is separated from the surrounding tissue and the section slice is shrunken and the contrast is very vague.( $\times 9,600$ )
- Fig. E. Transmission electron microscopic photographs made in '89.4, embedded in Beem capsule, using penetrator.
- E1. The tissue is well preserved. The pancreatic granules, nuclear and rough endoplasmic reticulum are clearly seen.( $\times 4,800$ )
  - E2. The granules are more clearly seen. The granules are well preserved and the surrounding tissue is intact with granule. RER and golgi apparatus are well preserved and the contrast is good.( $\times 12,800$ )





