

## SEM 전처리 과정에 따른 *Pseudomonas aeruginosa*의 편모 관찰

박용태    유영빈

고신대학교 복음병원 해부병리과

(목적)

본 연구의 목적은 고체 배지에서 배양된 *Pseudomonas aeruginosa*를 주사전 자현미경(SEM)으로 검경 하고자 전처리 검사과정의 일부를 각각 다르게 조작하여 편모의 보존 상태를 확인하고자 본 실험을 실시하였다.

(방법)

1. 순수 분리한 *Pseudomonas aeruginosa*를 고체 영양 배지에서 24시간 배양한 후 일반 종이(양장지), 알루미늄 호일, Microcore filter paper를 일정한 크기로 자른 후 소독용 면봉으로 배양된 균주 위에 가볍게 굴린 후에 준비된 일정 크기의 종이, 알루미늄 호일, Microcore filter paper위에서 가볍게 굴려서 균주를 묻히고 즉시 고정액(2.5% Glutaraldehyde in 0.1M Phosphate buffer, pH7.4)에 고정시켰다. 이때 강하게 문지르면 균체의 모양이 일그러지거나 깨어지기 쉬우므로 조심스럽고 가볍게 굴려서 시행하였다.
2. 아래 표와 같이 A,B,C방법으로 전과정을 시행하였다.

순서	방법		A	B	C
1	전고정(2.5%G.A)	1시간	+	+	+
2	세정(Phosphate buffer, pH7.4)	1시간	+	+	+
3	후고정(1%OsO4)	1시간	-	-	+
4	세정(Phosphate buffer, pH7.4)	1시간	-	-	+
5	전도성 염색(2%Tannic Acid)	2시간	-	+	-
6	세정(Phosphate buffer, pH7.4)	1시간	-	+	-
7	탈수(Graded Alcohol)	각 단계 20분씩	+	+	+
8	임계점건조(Critical Point Dryer)		+	+	+
9	코팅(금)(Ion Sputtering Method)		+	+	+

● + : 검사과정 실시한 부분, - : 검사과정을 생략한 부분

(고찰)

*Pseudomonas aeruginosa*를 주사전자현미경(SEM)으로 검경한 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 편모의 관찰은 모두 가능하였으나 가장 잘 보존되었다고 생각되는 방법은 B, C, A 순서이었다.
2. 알루미늄 호일을 이용한 균주의 도말 표본에서 편모의 보존 및 균체의 표면 관찰은 B, C 방법이 우수하였고 A 방법은 다소 해상력이 부족하였다.
3. 균주가 비교적 균등하게 도말되었던 재료는 알루미늄 호일이었고, 취급 또한 용이하였으나 Microcore filter paper는 Absolute alcohol 에서 변형되어 도말 재료로는 부적합하여 사용 할 수 없었다.