

생체내 진균의 주사전자현미경 시료 처리법

정 동 릉
연세의료원 전자현미경실

균 주 : *Microspoum gypseum*, *Trichophyton tonsurans*

배 지 : *Subouraud* 한천배지

배양한 균주의 전자현미경적 관찰

1. CPD(Critical Point Dryer)를 이용하여 건조하는 방법 :

2 ~ 3mm두께의 Subouraud 한천 평판 배지에 *M.gypseum*, *T.tonsurans*를 접종하여 적절하게 포자형성이 이루어진 균주가 있는 배지를 1cm² 이하의 크기로 잘라 절편을 만들어 가능한 손상이 없이 건조한 평판접시 뚜껑의 안쪽 면에 옮기고 평판접시 바닥 면에는 1% OsO₄를 넣고 평판접시의 뚜껑을 닫아 OsO₄증기를 실온에서 20부간 노출시키는 방법으로 고정하였으며 다음과정으로 40℃의 증류수가 들어있는 평판접시 위에 배지가 붙어있는 평판접시를 닫아 15분간 노출시킨 후 배지가 붙어있는 평판접시를 Acetone이 들어있는 Vacuum desiccator의 구멍이 뚫린 유리판 위에 올려놓고 20시간동안 음압을 가하면 시료가 Acetone에 잠기게 된다. 서서히 음압을 제거한 후 뚜껑을 열고 Acetone를 피펫으로 제거한 후 3 ~ 4회 Acetone으로 탈수를 반복한다. 수분을 완전히 제거한 후 시료를 평판접시에서 떼어 CPD에 넣고 건조시킨 후 Gold Coating을 하여 주사전자현미경(SEM Hitachi S-800형)으로 관찰하였다.

2. HMDS를 이용하여 건조하는 방법 :

HMDS 방법은 Vacuum desiccator를 이용한 건조방법과 수분제거 방법까지는 같고 CPD 대용으로 시료를 건조시켰다.

결 과 : CPD를 이용하여 시료를 건조시켜 관찰한 결과 시료상태가 육안으로 관찰해도 배지의 상태가 상당히 양호하고 전자현미경 관찰 시에도 진균의 줄기와 머리 부분이 통통하고 매끄러웠으나 HMDS를 이용한 건조방법은 배지의 상태가 육안으로 보기에 원래의 형태가 유지되지 않았으며 전자현미경 관찰 시에도 사진과 같이 진균의 머리와 줄기 부분이 아주 많이 손상되었음을 알 수 있었다. 따라서 시료에 따라 다르겠지만 적어도 진균류의 시료는 Critical Point Dryer를 이용하는 것이 매우 효과적일 것이라고 본다.