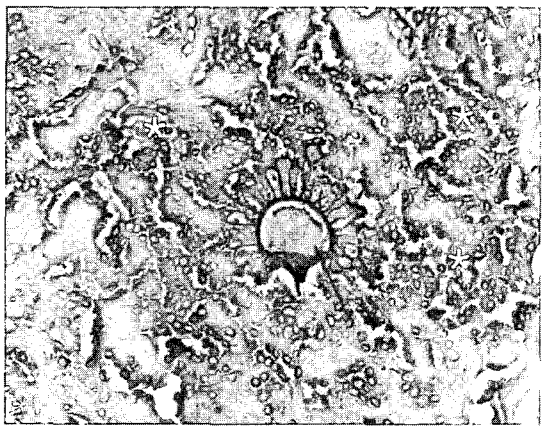
진균증 광학현미경용 슬라이드의 주사전자현미경적 관찰방법

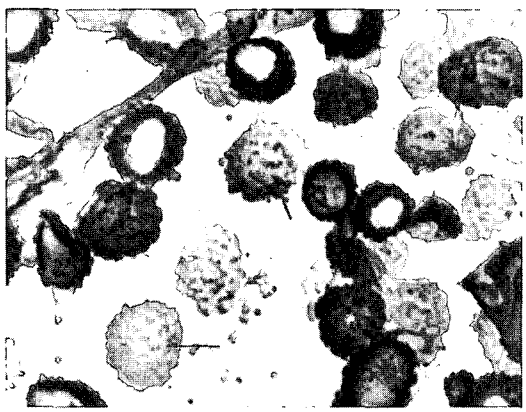
윤철종, 박민철
가톨릭대학교 생명과학과

광학현미경용 슬라이드에서 발견되는 진균을 주사전자현미경으로 관찰하기 위한 방법으로 xylene에 담아 커버 슬라이드를 제거하고 잔여분의 봉입 재료를 제거한다. 30초에서 1분 간격으로 95% 에탄올 시작으로 60% 에탄올 과정을 통한 함수후 인산 완충액에서 생성될 수 있는 인공산물인 인산염을 없애기 위해서 증류수에 용해된 2% 사산화 오스미움을 5분처리 후 다시 고농도 순으로 탈수를 시행하고 자연상태에서 건조된 슬라이드를 다이아몬드 펜으로 표본이 존재하는 부위에 표기한 후 표본이 있는 부위만 남기고 유리 슬라이드를 제거하였다. 본 실험에서는 임계점 건조과정을 생략하였다. 알루미늄 재료대(stub)에 부착하여 접지가 잘 되도록 처리하고 이온스퍼터링피막기(IB3, Eiko)에서 30-40nm 두께로 피막을 입힌 후 주사전자현미경(S-520, Hitachi)으로 관찰하였다. 주사전자현미경으로 관찰하는 것은 진균류 동정에 도움이 되는 것으로 본 실험에서 사용된 캔디다증과 아스페르길루스증 각각의 조직 슬라이드를 주사전자현미경적 방법을 통하여 관찰하였다. 그 결과 미세구조의 세포벽을 통하여 미세형태학적 동정에 큰 도움이 되었으며 이는 동정이 어려운 진균중일 때 주사전자현미경이 유용할 것으로 기대되며 얇은 절편으로 주사전자현미경 표본을 만들기 위하여 적은 양의 시약과 시간절약을 할 수 있었다. 단지 세포질을 포함한 내부구조물은 변성이 심한 것으로 보존상태는 좋지 않았지만 진균들의 세포벽의 보존 상태는 잘 유지되어 있었다.



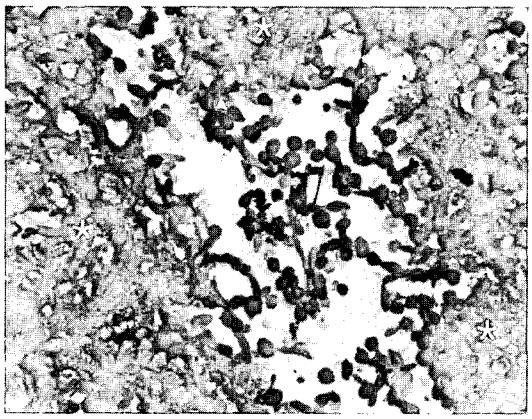
50㎛

Fig. 1. Scanning Electron micrograph of the deparaffined 4㎛ section for light microscopy. Arrow; Conidiophore, *; spores in the tissure.



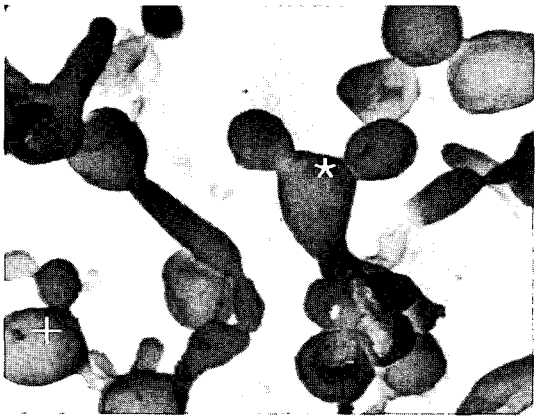
10㎛

Fig. 2. Scanning Electron micrograph of high magnification of the free spores. Arrows; spore of aspergillosis.



60㎛

Fig. 3. Scanning Electron micrograph of the deparaffined 4㎛ section of candiasis. Arrows; budding pathogenic yeast, *; colonized yeast in the nasal tissure.



10㎛

Fig. 4. Scanning Electron micrograph of budding yeast - shaped Candida spp. +; budding feature, *; double budding feature.