

동결할단 장치 제작

박창현, 정혜선, 이상훈[#], 한가형[#], 엄창섭^{*}

고려대학교 의과대학 전자현미경실, ^{*}해부학교실, [#]BK21 의과학사업단

주사전자현미경으로 세포소기관 등 세포나 조직의 내부구조를 관찰하기 위하여 흔히 사용되는 방법은 동결할단(freeze fracture) 후 chemical etching을 시행하는 것이다. 그러나, 동결할단 장치는 구매시 경제적인 부담이 될 뿐만 아니라 특정 목적에 따라서는 실험 목적과 정확히 일치하지 않는 경우가 있다. 이에 본 실험실에서 이미 Epon 혼합기를 자체 제작한 바 있고, 폐기된 sliding microtome을 다용도 공작용 vise 로 활용하거나, evaporator의 구조를 실험실 실정에 맞도록 변형시켜 활용한 경험 등을 바탕으로 본 실험실의 연구실험에 적당하게 동결할단 장치를 제작하여 활용하고자 하였다. 이러한 과정에서 또한, 기기 제작을 통한 만족감도 얻고자 하였다.

제작의 일반적인 과정은 다음과 같다.

1. 동결할단장치의 제작에 있어서 본 실험실에서 자체로 제작하기 어려운 부품은 위탁 제작 혹은 구매하여 활용하고 나머지 부품은 실험실의 여러 노후 기계들로부터 분리한 부품 등을 재활용하거나 줄칼 및 쇠톱작업을 직접 수행하여 제작하였다. 일반 조직할단용 동결할단장치에 사용된 시료고정대는 고려대학교 의료원 의공실에 위탁 제작하였고, 세포 동결할단장치에 사용된 double specimen holder는 Bal-Tec사로부터 구입하였다.

2. 조직할단용 동결할단장치는 Hitachi사의 evaporator에서 replica를 제작할 때 사용되는 할단장치에서 idea를 얻어 고안하였고, 세포 동결할단장치는 Bal-Tec사의 freeze fracture replica 제작 과정에 사용되는 double replica specimen talbe를 활용할 수 있도록 고안하였다. 시료의 급속 동결 장치는 기존의 cryofixation system 중 plunger device의 개념을 활용하여 고안하였다.

3. 시료의 급속동결장치의 제작에 있어서 액체질소통 속에 cryogen으로 Freon22 또는 propane을 사용할 수 있는 작은 chamber를 구리 pipe 속에 구리 cap을 부착하여 제작하였고, 조직의 급속 동결을 위하여는 나무로 거치대를 만들고 전자기판에서 납을 제거하기 위하여 사용되는 납제거기를 거꾸로 부착한 후 그 끝에 forcep을 고정시켜 조직이 일정한 속도로 Freon22 속으로 들어가도록 하였다.

4. 조직할단용 동결할단장치는 2가지 모델로 제작하였다. 첫째는 액체질소통 바닥에 고정된 시료고정대 위로 칼날이 11° 각도의 수평 방향으로 통과시킴으로써 조직을 할단하도록 제작하였다. 둘째는 빠른 속도의 할단을 위하여 L자의 황동 쇠톱치를 가공하

여 시료고정대를 설치한 후 거꾸로 부착한 납제거기 끝에 고정시킨 칼날이 수직으로 통과하여 조직을 할단하도록 제작하였다.

5. 세포할단장치는 구입한 double specimen table를 고정하기 위하여 황동으로 된 L자형의 쇠못치를 가공하여 고정대를 제작하였다. 세포 동결할단시에는 납제거기가 double specimen holder의 table을 쳐서 세포를 두 부분으로 할단하도록 하였다. 이때 균일한 힘과 동일한 속도를 확보하기 위하여 조직의 급속동결에 사용한 plunger용 납제거기와 별도로 끝에 직경 10mm인 aluminium pipe를 고정한 전용 납제거기를 맞은 편에 설치하였다.

연구자들은 조직과 배양된 세포의 동결할단을 위한 장치를 여러 부품을 가능한 재 활용하여 경제적으로 자체 제작하였고, 현재 성능 검사 중에 있으며, 앞으로 여러 실험에 활용될 계획이다.

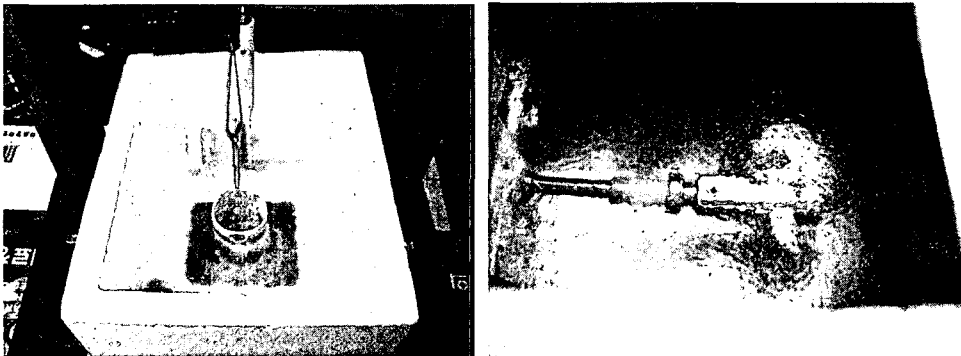


Fig. 1. Plunger freezing device (left, KMEM No. 1-K4) and freeze fracture device (right, KMEM No. 1-K2)

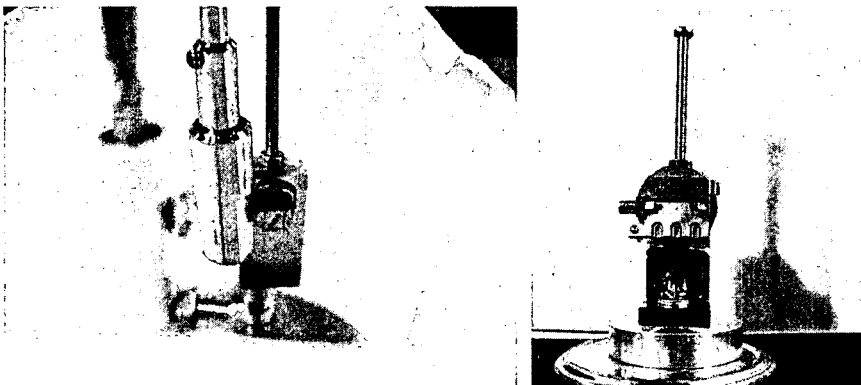


Fig. 2. Freeze fracture device (left, KMEM No. 1-K4a) and cell freeze fracture device (right, KMEM No. 1-K3).