

# 전자현미경을 이용한 자기방사술에 대하여

가톨릭대학 의학부 해부학교실

최 일 봉

## I. 머리말

전자현미경을 이용한 자기방사법적 술식(radioautographic technique)에 대하여서는 현재까지 여러 학자들에 의해 많은 보고가 있었지만 실험과정에서 상세한 기술을 필요로 하기 때문에 아직 만족스러운 결과를 얻지 못하고 있는 실정이다.

저자는 이와같은 고도의 기술을 요하는 전자현미경 자기방사법적 술식에 대하여 과거의 경험을 살려 그 과정을 가능한 쉽게 상세히 기술코자 한다.

본 방법은 광학현미경을 이용한 자기방사법 술식 중에서 Kopriwa(1962)의 "coating technique"을 기초로 한 것이다. 미립자의 높은 감광도를 갖고 있는 silver bromide crystal의 감광유체를 단층으로 입히는 것(coating)이 가장 난제였으나 Kopriwa(1967)가 semiautomatic coating device를 개발하므로써 쉽

게 해결할 수 있게 되었다. 또 전자현미경적 자기방사술 과정에서 절편의 지지막을 만드는 것이 문제였는데 다행히도 Salpeter(1964)가 slide glass에 celloidin을 얇게 입혀 사용하는 술식을 개발하므로써 더욱 용이하게 되었다.

저자는 광학현미경적 자기방사술식을 바탕으로 한 Kopriwa(1967)의 coating method와 Salpeter(1964)의 지지막을 만드는 과정, 현상 및 정착과정과 염색 및 표지에 대한 평가(evaluation)등을 기술하고자 한다.

## II. 방법 및 고찰

### 1. celloidin 지지막 제작과정

일반적으로 EM 과정에서는 조직의 초박절편을 grid 위에 놓기전에 지지막을 입힌 다음 조각이 끝나면 관찰을 하게 되는데, 이는 EM 자기방사술에서는 적합

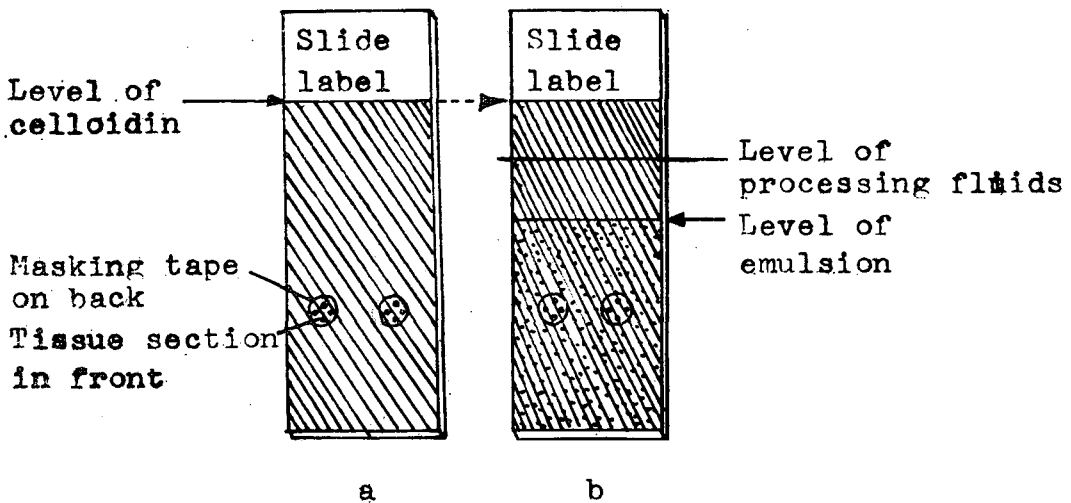


Fig. 1. a) Appearance of a microscope slide carrying EM sections, before emulsion coating, showing the height of the supporting celloidin film and the location of 2 groups of EM sections. b) The same slide after emulsion coating, showing the height of the emulsion coat and the level of the processing fluids.

치 못하다. 왜냐하면 지주막과 초박절편이 얇힌 grid에서는 감광유제의 silver bromide crystal이 grid위에 고루 분포되지 않기 때문이다. 그러므로 celloidin이 입혀진 slide glass 위에 초박절편을 놓고 감광유제를 입히면 균등하게 분포될 뿐만 아니라 노출, 현상, 정착 및 염색과정에서도 편리하게 조작할 수 있다.

celloidin 지주막 제작은 먼저 먼지가 없는 실험실에서 celloidin을 alcohol-ether(1:1) 30% 용액으로 만들고(시판된 것도 있음, Tissue embedding solution No. M4700, Randolph Products Company, Carlstad, New Jersey, U.S.A) 이 30% 용액을 isoamyl acetate에 0.8% 액으로 희석하여 사용한다. 깨끗이 닦은 slide glass를 celloidin액이 들어 있는 용기에 세워서 dipping한 후 여과지 위에 세워서 하루 저녁 건조시킨다. 특히 유의할 것은 dipping한 후 celloidin액이 slide glass 표면 전체에 잘 덮혀 있는지의 여부를 확인하고 만약 slide glass건면에 퍼져 있지 않은 경우는 slide glass를 다시 닦고 반복하여야 한다.

2. 초박절편 제작과정

조직을 일차 및 이차 고정된 후 Plastic Epon 및 Araldite 등에 포매된 block를 은색 혹은 담황색의 초박절편을 만들어 boat에 띄운 다음 직경 3mm의 가는 gold wire나 platinum wire의 loop를 만들어 boat에 떠 있는 작은 ribbon을 loop로 뜯 후 celloidin을 입힌 slide glass 위에 올려 놓는다. 이때 celloidin film에 손상이 가지 않도록 특별히 주의하여야 하며 film에 있는 물은 여과지를 사용하여 제거한다. 초박절편이 붙은 slide glass의 뒷면에 magic ink나 masking tape로써 표지해 둔다(그림 1).

3. 조직염색과 carbon coating

포매와 초박절편을 만들기 전에 먼저 조직을 block staining하는 것이 EM 자기방사술에서는 가장 간단하고 편리한 방법이다. 그러나 block staining만으로는 만족할 만한 contrast를 얻지 못하기 때문에 절편을 만든 후 감광유제를 덮기전이나 후에 염색하는 것이 상례이다. 전염색의 경우는 앞의 과정에서 시행했던 절편이 붙어있는 slide glass를 uranyl acetate에 20분, 그 후 lead citrate에 5분간씩 염색하면 좋은 contrast를 얻게 된다. 그러나 celloidin막에 손상이 오기 쉬우니 각별히 주의할 하지 않으면 안된다. 염색 후 조직이 붙어있는 slide glass면에 아주 얇게(약 50Å 정도) carbon을 고루 입힌다. carbon

층을 입히는 이유는 감광유제로 인해 전염색된 조직에 손상 또는 현상 및 정착과정에서의 탈색을 막아주기 때문이다.

4. 감광유제를 입히는 과정

a) 감광유제(Emulsion)

EM 방사술용 감광유제는 시판되고 있는것이 몇종 있는데 유제의 종류에 따라 silver bromide crystal의 크기 및 감광도의 차이가 있기 때문에 그 실험목적에 따라 감광유제를 선택하는 것이 가장 중요하며 그 종류와 silver bromide crystal의 크기를 보면 다음과 같다(팔호 속은 silver bromide의 크기). 즉 Ilford L4(0.14μ, 영국제), Sakura NR-2(0.08μ, 일본제), Geveaert NUC307(0.07μ, 벨지움제), Kodak NTE(0.05μ, 미국제) 등이 있다.

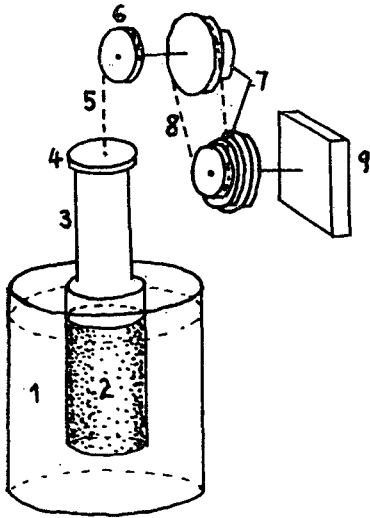
L4 감광유제는 가장 널리 이용되고 있는 것 중의 하나이며 비교적 crystal의 크기가 크고 높은 감광도를 갖고 있으며 항시 제조되고 있기 때문에 용이하게 구입할 수 있다. Sakura NR-2 감광유제는 비교적 작은 크기의 crystal을 갖고 있고 동시에 높은 감광도를 갖고 있다. 그러나 이 감광유제는 항시 제조되고 있지 않기 때문에 구입하기가 용이하지 못하다. Kodak NTE 감광유제는 다른 감광유제에 비해 감광도가 가장 낮기 때문에 장시간의 노출시간이 필요로 하는 실험이므로 특수한 목적으로 하는 실험에만 이용되고 있고, Geveaert NUC307 감광유제는 계속적으로 제조되지 않기 때문에 구입이 곤란하다.

감광유제의 수송은 항공편으로 가능한 빠른 시일 내에 수송되어야 하며 수송도중 손상이 없도록 각별히 주의하여야 한다. 감광유제가 도착하면 즉시 본 실험에 사용하기 전에 예비실험을 시행하여야 하며 본 실험과 같은 술식으로 전자현미경하에서 20,000배의 배율하에 감광 여부와 background의 크기와 다파를 확인한 다음 본 실험에 사용하여야 한다. 감광유제는 4°C 냉장고에 항시 보관해 두어야 한다.

b) 감광유제를 입히는 과정

감광유제를 입히기 전에 조직이 붙어 있는 slide glass를 노출시간별로 정리해 두어야 한다. 한편 깨끗한 흑색 plastic 상자를 준비해 두고 감광유제를 입힌 후 한 상자속에 slide glass 20매 이상을 넣지 않아야 하며 계층제를 주머니에 싸서 한쪽 빈곳에 넣어 두어야 한다. 또 slide 상자 바깥면에는 감광유제의 종류, 유제를 입혔던 일자 및 노출시간등을 기록해 두는 것이 편리하다.

감광유제를 입히는 작업은 광선이 차단된 암실속에서 하되 암실속의 온도는 22°C, 습도는 50%가 가



**Fig. 2.** Schematic representation of the semi-automatic coating instrument. 1. Water bath, 2. Emulsion jar, 3. Section bearing slide, 4. Slide holder, 5. Flexible cable, 6, 7. Pulley connecting the slide to the withdrawal mechanism. 8. Belt. 9. Synchronous motor to withdraw the slide with slow and constant speed from the emulsion.

장 적당하며 안전등(safe light)의 filter 는 Wratten series No.2를 사용하여야 한다(Kopriwa, 1963).

감광유제는 gelatin 을 함유하고 있기 때문에 감광유제를 초박절편이 붙어있는 slide glass 에 아주 얇게 입힐려면 감광유제를 증류수에 적당히 희석해서 사용하여야 한다. 희석하는 방법은 먼저 감광유제를 증류수에 희석시키며, 희석액이 비이커에 40mm 높이에 이르도록하고 40°C water bath 에 20분간 넣어두는 동안 유리막대로 서서히 젓는다. 이때 거품이 나지 않도록 주의하여야 하며 안전등을 소등하는 것이 좋다. 완전히 희석된 감광유제를 semiautomatic coating instrument(그림 2, Kopriwa 1967)에 있는 water bath 로 옮기는데 이때 물의 온도는 32°C 이며 20분간 방치한 다음 입히는 작업을 시작한다.

slide glass 에 감광유제를 입히는 작업은 semiautomatic coating instrument 를 사용하는데 이 장치에는 2~5매의 slide 를 holder 에 물려서 동시에 dipping 할 수도 있고 slide 를 서서히 일정한 속도로 넣었다가 빼낼 수도 있다. 감광유제의 희석 및 온도에 따라 또는 dipping 하는 속도에 따라 입혀진 감광유제의 두께에 차이가 있다.

은입자(silver bromide crystal)가 단층으로 뿔뿔히 고르게 입혀지는 것이 가장 중요하며 이때 온도

는 어떠한 종류의 감광유제라 할지라도 항상 32°C로 해주는 것이 좋다. 또 각종 감광유제에 있어서 가장 좋은 조건은 Ilford L4 에서는 1 : 3(감광유제 : 증류수)으로 희석하고 withdrawal speed 는 64mm/min 이고, Sakura NR-2 에서 희석은 2 : 3 으로부터 withdrawal speed 는 48mm/min 으로, Kodak NTE 에서는 희석은 1 : 1 로 하며 withdrawal speed 는 48 mm/min 로 하는 것이다.

감광유제를 입힌 후 slide glass 를 약 15분간 세워서 건조시킨다. 이때 안전등을 소등하는 것이 좋다. slide glass 에 입힌 감광유제가 건조되면 plastic 상자속에 넣어 광선이 들어가지 못하게 완전히 포장한 후 4°C 냉장고속에 보관한다.

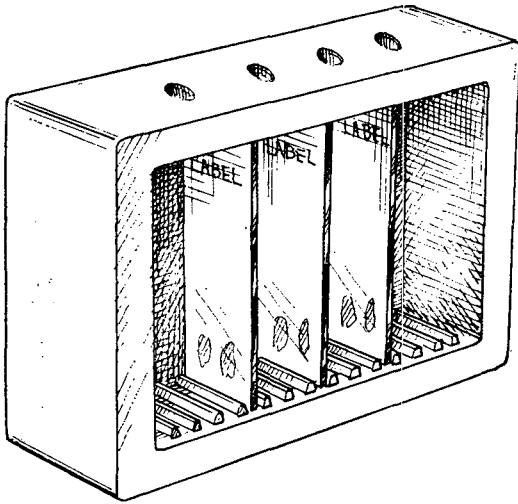
### 5. 노출

4°C 냉장고에 보관된 plastic slide box 는 한달에 한번씩 상자속에 들어있는 제습제 주머니를 바꿔 주어야 하며 보관하는 동안 방사선 동위원소 특히 <sup>125</sup>I, <sup>59</sup>Fe 가 들어있는 용기와 함께 두지 않도록 하여야 한다.

노출시간은 Ilford L4의 경우는 약 6개월 또는 그 이상 두면 만족스러운 결과물을 얻을 수 있으며 Geveaert NUC307이나 Kodak NTE 의 경우는 6개월 이상이면 미세한 과립상을 볼 수 있다. 그러나 확실한 노출시간은 종종 slide 를 꺼내어 현상하므로써 결정할 수 있다. 예상적인 노출시간을 알기 위해서는 전자현미경 자기방사술에 사용하였던 같은 조건하에서의 Epon block 를 1μm 두께의 초박절편을 만들어 광학현미경 자기방사술을 이용해 보면 된다. 이때 은입자가 가장 많이 나타났을 때를 기준으로 하여 그 노출시간에 약 8배를 노출시키는 것이 상례이다. 그러나 노출시간은 조직에 있는 동위원소의 반감기의 3배 이상을 노출시키면 안된다.

### 6. 정착 및 현상과정

노출시간이 끝나면 현상과 고정을 암실에서 하게 된다. 그림에서 보는바와 같이 plastic slide box 측벽은 구멍을 뚫고 뚜껑과 바닥은 용액이 순환할 수 있도록 잘라낸다. 이러한 plastic box 속에 감광유제가 덮힌 slide glass 를 넣어 감광유제가 덮힌 쪽을 아래로 향하도록 하여 세운다. 그후 현상액, 고정액 및 물의 높이는 감광유제가 덮힌 높이보다 약간 높게 하되 celloidin 이 입혀진 높이보다 낮아야 한다(그림 3). 한편 현상액의 종류, 시간 및 온도의 차이에 따라 은과립(입자)의 수, 크기 및 형태가 결정된다(Kopriwa, 1967). 강한 자기방사 반응을 얻으려면 Ilford L4



**Fig. 3.** The racks is made of a plastic box by cutting out most of the top and bottom of the box. Additional holes are provided to drain the solution completely from rack. Processing rack with 3 emulsion coated slides.

Sakura NR-2, Geveaert NUC307 감광유제등은 실온 20°C 하에서 회색하지 않은 D196액에 1분간 현상하면 되는데(Hornsby, 1958), 이때 현상된 입자는 감광유제에 있는 원래의 silver bromide crystal 보다 훨씬 크게 나타나며 coiled silver filament 로 나타난다. 그러나 이러한 조건하에서는 Ilford L4와 Sakura NR-2 감광유제의 경우는 filament 상이 너무 두껍고 크게 나타난다. 그러기 때문에 L4와 NR-2 감광유제의 경우는 일반적으로 D196을 1 : 10(감광유제 : 증류수)로 희석하여 1분간 현상하면 얇은 filament 상이 다수 나타난다.

전자현미경 자기방사 사진에서 좋은 해상을 얻는 데는 각 조직상에 섬세한 filament 와 입자가 명확하게 나타나야 하지만 이런 경우는 은입자의 수가 소수 나타나기 때문에 강한 반응을 얻으려면 gold thiocyanate(gold latensification)로서 처리하게 되면 잠재하고 있는 상(latent image)까지 나타나 좋은 결과를 얻을 수 있다고 Salpeter 및 Bachmann(1964)은 보고한 바 있다. Kopriwa 는 물리적 현상액(solution physical development)을 바탕으로 하여 섬세하고 치밀한 과립을 현상할 수 있는 방법을 다음과 같이 소개한 바 있다. 이러한 물리적 현상액은 Agfa-Geveaert 의 formula 를 따른 것인데 Mentol 7.5gm, anhydrous sodium sulfate 5.0gm, potassium thiocyanate 2.0gm 을 1,000ml 의 증류수에 용해시킨다.

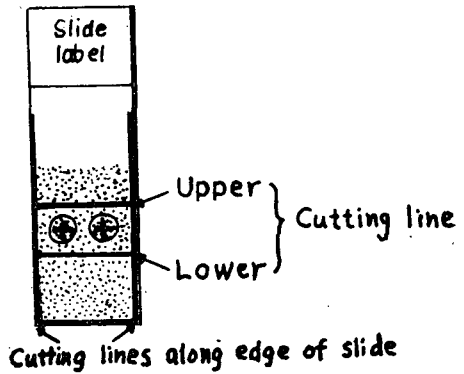
우선 감광유제가 덮힌 slide glass 를 증류수 속에 1분간, 다음 gold thiocyanate(1 : 10으로 다시 희석)에 1분간 넣어둔 후 증류수에 수세를 하고 희석한 현상액에 Ilford L4의 경우는 7분간, Sakura NR-2의 경우는 5분간, Geveaert NUC307의 경우는 10분간씩 각각 현상한다. 이상과 같은 모든 용액은 20°C로 해서 사용하여야 한다.

현상된 은입자들은 원래의 silver bromide crystal 처럼 치밀하고 구형으로서 작게 나타난다(Ilford L4, Sakura NR-2, Geveaert NUC307). 그러나 Kodak NTE 감광유제는 다른 것보다 감광도가 낮기 때문에 gold thiocyanate 로서 처리하므로써 좋은 결과를 얻을 수 있다고 본다.

현상된 표본은 증류수에서 30초간 수세하고 24% sodium thiosulfate 에 2분간 고정시킨 후 증류수에 1분씩 5번 수세하는데 모든 용액은 20°C에서 시행한다.

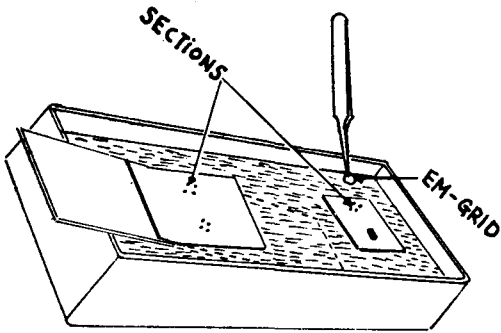
**7. 자기방사표본을 EM grid 로 옮기는 과정**

수세한 slide 를 세워서 약 3분간 실온에서 건조시킨다. 건조시킨 즉시 지지막이 붙어있는 slide 로부터 EM grid 로 옮긴다. 그림 4에서 보는 바와 같이 celloidin 과 감광유제가 입혀진 film 을 면도칼로 잘라 증류수 표면에 띄운다(그림 5). 그러나 3분이상 경과하면 film 이 slide glass 에서부터 잘 떨어져 나



**Fig. 4.** A diagram illustrating the position of the cutting lines when the celloidin-emulsion complex is cut with the corner of a razor blade to detach the radioautographs from the supporting glass slide after photographic processing. In addition, cuts are made by passing the razor blade at a 45 angle to release the entire celloidin film.

오지 않기 때문에 한번에 slide glass 15매 이상을 현

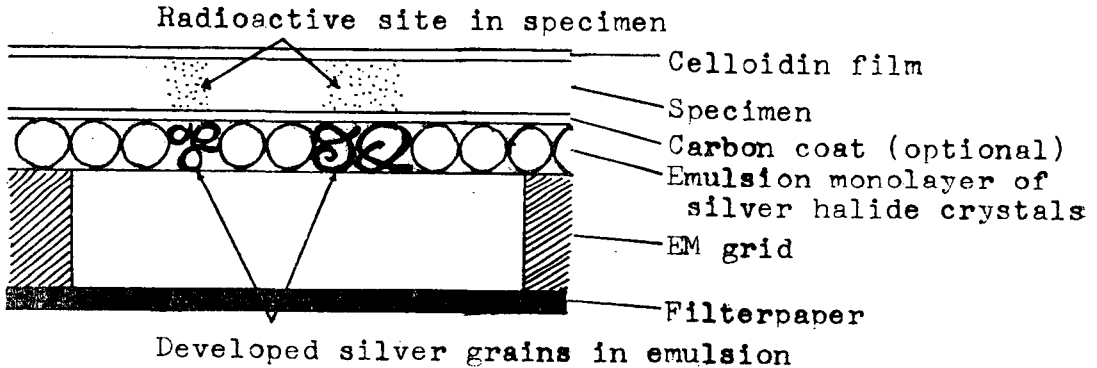


**Fig. 5** Detachment of the EM radioautograph by floating the cut celloidin-emulsion complex on the surface of distilled water. Placement of EM grids over the sections on the floating film.

상하는 것은 피해야 한다. film 을 증류수 표면에 띄울 때는 slide glass 의 한 끝을 증류수 속에 서서히 넣으면서 film 이 떨어져 나오는지 관찰하여야 한다. film 이 물에 띄워지면 200내지 300 hole 의 깨끗한 EM grid 를 초박절편이 있는 곳에 얹어 놓고 그 표면에 여과지(4.25cm 직경)를 띄워 증류수에 젖게 한 후 vacuum pump(Fisher Airjector pump No. 9-956)을 사용하여 흡착시키고 이를 다시 건조시킨 후 핀셋으로 여과지로부터 grid 를 떼어 낸다. 이때 grid 표면의 얇은 film 에 조직편이 붙어 있는지를 확대경 하에서 확인한다.

**8. Slide glass 에서 celloidin film 을 떼어내지 못하였을 경우 재분리 시키는 방법**

몇몇 사람들은 사진술 과정 후에 지주막이 덮힌



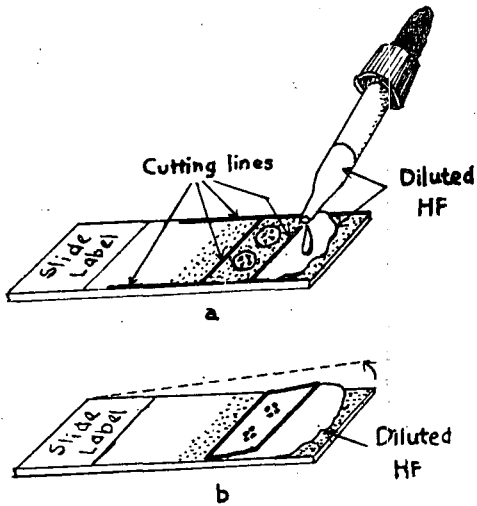
**Fig. 6.** Schematic representation showing the sequence of layers in an electron microscope radioautograph.

slide glass로부터 celloidin film 을 분리하는 것이 가장 어려운 과제라고 생각하고 있다. 그러나 나의 경험으로는 앞서 기술된 모든 주의를 준수한다면 celloidin film 을 분리하는 것은 그리 어려운 과제는 아니라고 생각한다. 2년간이란 장시간을 노출시킨 후에도 film 은 쉽게 분리된다.

그러나 film 이 분리될 수 없는 조건이라면 다음과 같은 경우를 생각할 수 있다. 즉 celloidin film 에 손상을 입힌 경우, 사진술과정과 필름분리 사이에 지나친 시간을 경과했거나, 특별한 염색을 하거나 또는 비정상적인 진행과정에서 재료를 사용했다든지 혹은 특별한 실험적 이유로 인해 준비물을 예외로 처리하는 것, 특히 Kodak NTE 감광유제를 사용했을 때 라던지, 방사선 사진의 긴 노출시간, 현상 및 정착 과정등에서 야기되는 과오라고 생각할 수 있기 때문에 각 실험과정에서 각별한 주의를 요한다. 만약 slide glass로부터 celloidin film 이 떨어지지 않을경

우 물에 젖은 slide glass 를 물기가 없을 때까지 세워 건조시킨다.

polyethylene 병에 40ml 의 증류수를 넣고 hydrofluoric acid(HF) 용액을 8방울 넣어 희석용액을 만든다. 그림 7에서 보는 바와 같이 희석된 HF 용액을 slide glass 하부 절단선에 1~3방울 떨어뜨리면 celloidin film 은 절단선을 따라 서서히 분리되기 시작한다. 이때 HF 용액이 slide glass 와 celloidin film 사이에 투과하도록 slide glass 를 천천히 약간씩 기울여 주면 celloidin film 전체가 뜨는데, HF 용액이 상부의 절단선을 통과할 때까지 slide glass 를 수직으로 세워야 하며 film 이 완전히 뜨게 되면 여과지를 사용하여 HF 용액을 흡수시킨다. 다음 앞서 기술된 같은 방법으로 slide glass 를 증류수에 담그면 느슨해진 celloidin film 조각이 slide glass로부터 분리되어 쉽게 뜬다.



**Fig. 7.** a and b. Detachment of the celloidin-section-emulsion complex from the supporting slide glass with diluted hydrofluoric acid. a) The diluted HF is applied with a dropper below the lower cutting line. The acid spreads over the bottom part of the slide and makes contact with the glass surface along the lower cutting line. b) As the slide is tilted slightly in the direction of the arrow, the penetrating HF solution raises the celloidin film bearing the radioautographs.

**9. 후염색**

후염색은 alkaline lead citrate 에 오랫동안 염색할 경우 감광유제에 염색(특히 uranyl acetate 로 오래 염색할 경우)되거나 현상된 은입자의 변질 및 소실되는 등 오염의 위험이 있다. 염색하기 위해서 film 이 입혀진 grid 가 마른 다음 여과지로부터 grid 를 forceps 로 들어 올린 후 감광유제가 있는 쪽이 염색액 표면에 닿도록 띄워 염색하는데 이는 절편이 감광유제를 통해서 한쪽만이 염색되며, 각 grid 를 하나씩 증류수로 수세한다. 다른 염색방법으로는 grid 를 염색액 속에 담그는 방법이 있는데 이 법은 보다 균일한 염색과 짧은 염색시간을 요할 때 사용하며 많은 grid 를 거의 비슷하게 염색할 때 이용한다(Fisher, 1972; Hiraoka Jun-Ichi, 1972; Sjötaöm, 1973).

염색시간은 조직 절편에 따라 예비실험을 통하여 쉽게 추정할 수 있다. 한편 lead citrate 만으로 염색할 경우는 15~40분이면 좋은 음영을 나타낸다(Reynolds, 1963; Venable & Coggeshall, 1965).

간혹 현상된 감광유제가 grid 로부터 분리되어 소실되는 경우도 있으니 특히 주의하여야 한다. 이러한 원인은 감광유제가 alkaline lead citrate 와 접촉됨으로써 분리되는 것 같으며, 이때는 먼저 uranyl acetate 에 짧게(1~3분) 염색한 후 lead citrate 에 염색하면 방지할 수 있다. 즉 가장 좋은 자기방사선 사진을 얻을 수 있는 안전한 염색방법은 암실에서 실온하에 2.5% aqueous uranyl acetate 로 1~3분간 염색한 후 증류수로 수세하고 lead citrate 로 15~40분간 염색한 다음 증류수로 다시 수세한다. 상기 방법에 의해 염색된 자기방사술 표본을 염색하지 않은 것과 비교하면 은입자가 변하지 않음을 알 수 있다.

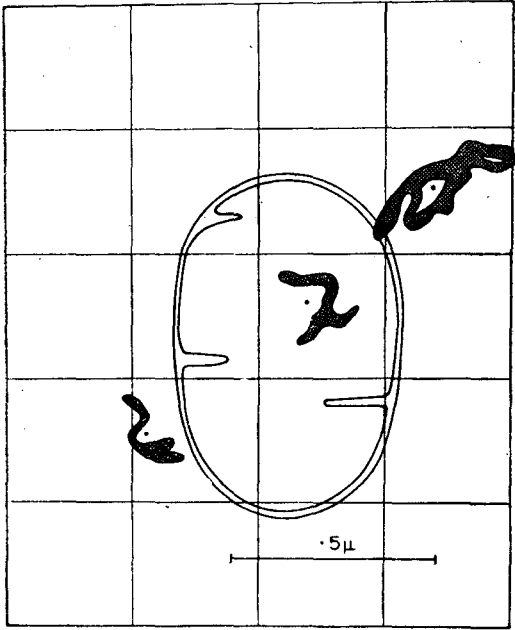
**10. 전자현미경적 자기방사술의 평가**

전자현미경적 자기방사술은 전자현미경하에서 또는 전자현미경 사진상에서 초미세구조에 현상된 은입자의 분포를 분석하므로써 평가된다. 이러한 분석에 있어서 한가지 문제점은 은입자로 인해 구조물이 감추어질 수 있다는 것이다. 이것은 부분적으로 은입자를 소수 산재성으로 또는 파립상으로 나타내게

**Table 1.** Autoradiographic data by "percent" analysis method

Tissue Compartments	Time after Injection(min)	Grains Number	% of Total
Rough ER	5	800	80
	30	560	56
Golgi	5	30	3
	30	270	27
Other	5	170	17
	30	170	17
Total of all	5	1000	100
Compartments	30	1000	100

하므로써 해결할 수 있다고 본다. 이보다 더욱 심각한 문제는 어떤 특정한 은입자의 경우 방사능의 근원 바로 위에도 나타나지만, 어느정도 근원에서 떨어져 나타날 수도 있다. 그래서 전자현미경적 자기방사술의 분석은 은입자의 위치와 방사능의 근원(source)과의 관계를 바탕으로 하여 여러가지로 고려되고 있는데 이들 방법으로는 percent analysis, simple grain density analysis 및 probability circle analysis 등이 있다. percent analysis 는 시간에 따른 은입자 수의 변동을 백분비로 환산하여 서로 비교 관찰하는 것이 고(표 1) simple grain density analysis(그림 8)나 probability circle analysis(그림 9)는 실제적으로 작



**Fig. 8.** Schematic of mitochondrion in an autoradiogram at 60,000 $\times$ . A grid (calibrated to 1 intersection point/ $1\mu^2$ ) is placed over the autoradiogram. If the simple density analysis is used for assessing mitochondrial label, all grain centers and grid intersections lying over a mitochondrion are collected.

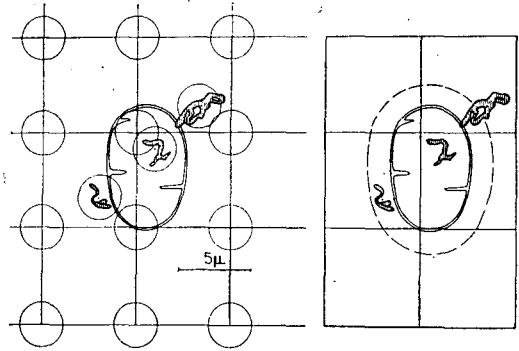
각의 은입자 주위에 하나의 원을 그려서 이러한 범위의 radioautographic print가 방사선의 근원이나 방사선 활동범위를 예측하는 것이다(Nadler, 1971; Salpeter et al, 1969; Williams, 1969). 만일 한가지 이상의 구조물이 이 원 안에서 보인다면 어느 구조가 가장 가능성있는 방사선의 출처인가를 결정하는 것이 필요하다. 이 목적을 위해 결과를 분석하고, 보이는 구조물 중에서 방사능 표지의 가능한 분포를 추론하기 위해서 통계적 방법들이 이용되고 있다(Williams, 1969; Nadler, 1971).

### III. 맺음말

저자는 섬세한 기술과 복잡한 과정을 필요로 하는 전자현미경을 이용한 자기방사술중 dipping 방법을 택하여 다음과 같은 방법으로 기술하였다.

1. celloidin film을 slide glass에 입히고 초박절편을 옮긴 후 전염색을 한 다음 carbon을 coating하는 과정.

2. 감광유제를 단층으로 얇게 입히는 과정.



**Fig. 9.** Schematic of same mitochondrion as in Fig. 8 but at 30,000 $\times$  to be analyzed by the probability circle method. The overlying grid has a larger spacing of 1 grid point/ $0.3\mu^2$ . In (a) circles of IHD radius are drawn around each developed grain and each grid intersection point. By the probability circle method, there are 2 grains and 2 points whose circle/overlap the mitochondrion. In (b) an annulus equal in width to the radius of the probability circle is drawn around the mitochondrion. Essentially an identical result is obtained whether one counts all grains and points whose probability circles overlap the mitochondrion, or whether one counts all grains and points lying within the mitochondrion plus its annulus (i.e. 2 grains and 2 points; density = 1 grain/ $0.3\mu^2$ ).

3. 노출시간
4. 현상 및 정착과정
5. 감광유제가 입혀진 초박절편을 grid에 옮기는 과정.
6. 평가와 고찰

### 참고 문헌

Bennet, G. (1970). Migration of glycoprotein from Golgi apparatus to cell coat in the columnar cells. *J. Cell Biol.* 45, 668-678.

Fisher, H.A., Werner, G. (1972). Ein Beitrag zur Technik der Autoradiographie elektronmikroskopischer Präparate. *Histochemie* 29, 44-53.

Hiraoka, Jun-Ichi (1972). A holder for mass treatment of grids, adapted especially to electron staining and autoradiography. *Stain Technol.* 47, 297-301.

Hornsby, K.M. (1958). Basic photographic chem-

- istry. The Fountain Press in conjunction with the British Journal of Photography. p.58.
- Kopriwa, B.M. (1963). A model dark room unit for radioautography. *J. Histochem. Cytochem.* 11, 553-555.
- Kopriwa, B.M. (1967). A semiautomatic instrument for the radioautographic coating technique. *J. Histochem. Cytochem.* 14, 923-928.
- Kopriwa, B.M. (1967). The influence of development on the number and appearance of silver grains in electron microscope radioautography. *J. Histochem. Cytochem.* 15, 501-515.
- Kopriwa, B.M., Leblond, C.P. (1962). Improvements in the coating technique of radioautography. *J. Histochem. Cytochem.* 10, 269-284.
- Leblond, C.P. (1965). The time dimension in histology (Presidential address). *Amer. J. Anat.* 116, 1-27.
- Nadler, N.J. (1971). The interpretation of grain counts in electron microscope radioautography in the Appendix of Haddad, A. et al. Radioautographic study of in vivo and in vitro incorporation of H-fucose into thyroglobulin by rat thyroid follicular cells. *J. Cell Biol.* 49, 856-882.
- Reynolds, E.S. (1963). The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17, 208-212.
- Salpeter, M.M., Bachmann, L. (1964). Autoradiography with the electron microscope. *J. Cell Biol.* 22, 496-477.
- Salpeter, M.M., Bachmann, L., Salpeter, E.E. (1969). Resolution in electron microscope radioautography. *J. Cell Biol.* 41, 1-20.
- Sjöström, M. (1973). An efficient standardized method of staining thin sections for electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* 42, 180-185.
- Venable, J.H., Coggeshall, R. (1965) A simplified lead citrate stain for use in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 25, 407-408.
- Williams, M.A. (1969). The assessment of electron microscopical autoradiographs. In: Advances in optical and electron microscopy. vol. 3, pp. 219-272. New York: Academic Press.