

## II. 실험동물조직의 표본제작

서울대학교 치과대학 구강해부학교실

백 기 석

### I. 서 론

연구를 위한 실험동물조직의 표본제작 방법은 연구의 목적이나 관찰하려는 사진의 종류에 따라 여러가지 상이한 방법이 사용되고 있다. 광학현미경을 사용하여 1000배 이하의 확대로 관찰이 가능할 때는 조직을 paraffin에 포매하여 4~6 $\mu$ 의 조직절편을 만들며 또는 epoxy resin을 사용하여 1 $\mu$ 의 조직절편을 만들어 관찰할수가 있다. 1930년대에 처음 만들어져 최근 이삼십년간 많은 연구에 사용되어 온 전자현미경연구에는 700 $\text{\AA}$ 의 아주 얇은 조직의 절단이 필요하며 또한 면역학적 연구를 위하여는 영하 20~30 $^{\circ}\text{C}$ 에서 6~8 $\mu$ 의 조직절단을 하든가 또는 냉동초박절단(frozen thin sectioning)을 하여 아주 얇은 조직절편을 만들기도 한다. 실험동물에 추적동위원소를 투여한 후 조직절편에 사진유제(photographic emulsion)를 접촉시켜 화학성분소재(chemical localization)를 찾아내어 생물학적변화연구에 사용되는 자기방사법(autoradiography) 시에도 1 $\mu$ 조직절단이나 또는 초박절편을 만들어 전자현미경적 자기방사법에 사용할수가 있다. 최근 주사형 전자현미경(scanning electron microscope)을 사용하지 않고도 투과형전자현미경(transmission electron microscope)을 사용하여 세포막등의 입체적구조를 관찰할 수 있는 동결할단(freeze fracture)방법이 있는데 이는 액체질소(liquid nitrogen)를 사용하여 영하 115 $^{\circ}\text{C}$  정도에서 조직을 깨뜨리는 방법이다. 이외에도 많은 연구방법이 있으며 그때마다 조직의 고정이나, 탈수, 염색등이 상이하게 되며 절단조직의 두께가 다르게 된다. 그중 가장 기본이 되는 전자현미경 표본제작법을 본문에서 다루려고 하며 전자현미경표본제작법도 각 이름있는 연구그룹마다 상이하나 본문에서는 미국 뉴욕주 Stony

Brook에 위치한 뉴욕주립대학 치과대학 세포생물학교실의 Dr. Garant's Laboratory에서 사용하고 있는 방법을 소개하고자 한다.

### II. 전자현미경 연구를 위한 실험동물 조직의 처리

조직의 처리과정은 en block staining을 하지 않는 방법과 en block staining을 하는 방법으로 크게 두 종류로 나눌 수 있다. en block staining은 조직처리과정중 maleate buffer (PH 6.0)에 녹인 uranyl acetate로 염색을 하여주는 방법인데 membrane 등의 구조를 뚜렷하게 하여준다. 그러나 동위원소를 이용하는 전자현미경용 자기방사법(EM radioautography)에서는 en block staining을 하지 않는데 그 이유는 contamination 때문이다.

#### 1) Without en block staining

도표 1에서 보는바와 같은 순서로 조직처리를 한다.

#### ① 혈관관류 고정(vascular perfusion)

전자현미경적 연구를 위하여 혈관관류 고정은 필수적이며, 이 고정법에 의한 전자현미경 사진의 혈관내에는 blood의 성분이 전혀 나타나지 않게 되며 혈관관류 고정을 하지않고 조직을 떼어 고정액에 넣기만 하는 방법에 의하여서는 좋은 사진을 얻기가 힘들다.

#### 가. 고정액

고정액은 Tyrode 용액에 2% glutaraldehyde 를 넣은 용액을 사용하는데 1병의 tyrode(Difco cat. #5555-72)를 증류수에 섞어 1 $\ell$ 를 만들며(stirrer를 이용하여 혼합) 다음 이 용액의 40ml를 버리고 50% glutaraldehyde 40ml를 첨가한후 NaOH를 이용하여 pH를 7.2에 맞추어 준다.

Tyrode's solution은(만들어 쓸 경우)

Table 1. Without on block staining Tissue processing for EM

|  | Solutions  | Time        |
|--|--|-------------|
| Perfusion  | 2% GA in Tyrode Sol  |             |
| Fixation   | Karnovsky's fixative   | 2½ - 3 hrs  |
| Wash   | 0.1 M cacodylate buffer  | 10 mins X 2 |
| Decalcification  | EDTA with 3 % GA   | 2 wks       |
| Wash   | 0.1 M cacodylate buffer  | 10 mins X 2 |
| Postfixation   | 1 % O <sub>8</sub> O <sub>4</sub> in collidine buffer            | 90 mins     |
| Wash   | 0.1 M cacodylate buffer  | 5 mins X 2  |
| dehydration  | 50% ethyl alcohol  | 10 mins     |
|  | 70%  | 10 mins     |
|  | 80%  | 10 mins     |
|  | 95%  | 10 mins     |
|  | 100%   | 10 mins     |
|  | 100%   | 10 mins     |
|  | Fresh 100%   | 15 mins     |
|  | 100% + propylene oxide   | 20 mins     |
|  | propylene oxide  | 15 mins     |
|  | propylene oxide  | 15 mins     |
|  | propylene oxide + Epon (1:1)                                     | overnight   |
|  | Fresh epon   |             |
|  | Vacuum oven  | 3 hrs       |
|  | embedding - in flat molds  |             |
| Polymerization   | at 60°C  | 2 dyas      |
| N <sub>a</sub> Cl 8.00gm   | 53.65g of N <sub>a</sub> 2HPO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O   | in 1000ml   |
| KCl 0.20gm   | or 71.7g of N <sub>a</sub> HPO <sub>4</sub> . 12H <sub>2</sub> O |             |
| CaCl <sub>2</sub> 0.20gm   | 0xml of A+yml of B   |             |
| MgCl <sub>2</sub> 6H <sub>2</sub> O 0.10gm   | 0diluted to a total of 2000ml                                    |             |
| N <sub>a</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> · H <sub>2</sub> O 0.05gm  | 이때 pH 7.4를 맞추기 위하여는 x=19.0, y=                                   |             |
| N <sub>a</sub> HCO <sub>3</sub> 1.00gm or 2.00gm   | 81.0의 비율을 사용하며 결과로 0.1M의 phosphate                               |             |
| Glucose 1.00gm   | buffer가 만들어 진다.  |             |
| 등을 증류수에 섞어 1ℓ 되게 만들며 (pH 7.4~7.8)  | 나. 고정방법  |             |
| 여과를 한후 냉장고에 보관한다.  | 혈관관류 고정방법은 Nembutal(Pentobarbital s-                             |             |
| Tyrode's solution을 사용하지 않을 때에는 phos-   | odium)등을 사용하여 전신마취를 하게 되는데 실험                                    |             |
| phate buffer를 주로 사용하는데 만드는 방법은   | 동물의 무게 100g당 5mg이 적당하며 용액 1ml에는                                  |             |
| Solutions  | 50mg이 용해되어 있으므로 실험동물의 무게 100g                                    |             |
| A : 0.2M solution of monobasic sodium phosphate(27.8g in 1000ml)N <sub>a</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> . H <sub>2</sub> O | 당 용액 0.1ml를 복강내 주사하여야 한다. 다음 실험                                  |             |
| B : 0.2M solution of dibasic sodium phosphate  | 동물의 전면 중앙부에서 피부를 절개하여 좌우로  |             |
|  | 제끼고 전흉곽벽을 좌우측에서 절개하여 머리쪽으로                                       |             |
|  | 제끼후 노출된 심장의 좌심실에 고정액을 주입   |             |

하는데 우심방 부위를 잘라서 온몸의 피가 밖으로 나오게 한다. mice나 rat 등 몸의 크기가 작은 실험 동물은 이 방법을 사용하는 것이 좋으나 개 등 몸이 큰 동물의 고정을 위하여는 두경부로 가는 양측 common carotid artery에 고정액을 주입하는 방법이 좋은데 jugular vein을 잘라 두경부의 피가 밖으로 나오게 한다.

이 경우 두경부 이하는 고정이 되지 않는다.

#### 다. 고정에 쓰이는 기기

고정액의 주입을 위하여는

○ syringe needle을 부착하여 주입하는 방법

○ 고정액이 담긴 용기를 높이두어 그 압력에 의하여 고정액이 needle을 통하여 주입되는 방법

○ flow meter를 사용하는 방법

○ Cole parmer회사의 master flex pump를 이용하여 주입하는 방법 등이 있다.

라. 흰쥐를 위하여는 200~300ml, 개를 위하여는 400ml 정도의 고정액을 서서히 주입하며 고정이 되면 실험동물은 아주 딱딱하여 진다.

#### ② 고정(Fixation)

혈관관류고정이 끝난 조직을 다시 고정하게 되는데 Ka novsky's fixative에 2½ ~3시간동안 고정한다.

Karnovsky's fixative는 20g의 paraform-aldehyde를 250ml의 증류수에 넣어 계속 stirring 하며 60°C 까지 가열하여 준후 1N NaOH를 방울방울(약 10~30 drops) 용액이 맑아질 때까지 떨어뜨려주고 실내온도까지 서서히 냉각시킨다. 다음 50% glutaraldehyde 50ml를 첨가하고 0.2M cacodylate buffer를 사용하여 500ml의 용액을 만들게 되는데 pH는 7.2에 맞추어 준다. 결과적으로 Karnovsky's fixative내의 glutaraldehyde는 5%로 (paraformaldehyde는 4%) 매우 강력한 고정액이 된다.

#### ③ 수세(Washing)

0.1M cacodylate buffer를 사용하여 10분씩 두번 하는데 0.1M cacodylate buffer는 cacodylic acid (sodium cacodylate trihydrate) 4.28gm을 증류수에 섞어 100ml가 되게하며 pH는 0.1N HCl(2~5ml)을 사용하여 7.4에 맞추어 준다.

#### ④ 탈회(Decalcification)

탈회는 하루건너 매번 탈회액을 갈아주어야 하며 조직의 크기에 따라서 두주 또는 그 이상 계속하여야 하는데 메스로 아무 저항없이 잘라질때까지 탈회

시킨다.

탈회액은 Disodium EDTA 41.3g과 NaOH 4.4g을 증류수에 섞어 1ℓ를 만드는데 약 30분 이상의 stirring이 필요하며 다음 이용액중 60ml를 버리고 50% glutaraldehyde 60ml를 첨가하고 pH는 7.2에 맞추어 준다. 결과적으로 탈회액 속의 glutaraldehyde는 3%가 되는데 탈회중 조직의 변화를 막기 위하여 glutaraldehyde를 꼭 첨가 시켜야 한다.

#### ⑤ 수세(Washing)

0.1M cacodylate buffer를 사용하여 10분씩 두번 수세한다.

#### ⑥ 재고정(Postfixation)

Collidine buffer에 섞은 1% O<sub>3</sub>O<sub>2</sub>를 사용하여 90분간 재고정한다.

1% O<sub>3</sub>O<sub>2</sub>는 미리 만들어준 2%의 stock solution을 사용하며 collidine buffer는 0.2M S-collidine buffer (pH 7.4)를 사용하는데 증류수 100ml에 S-collidine 5.34ml를 섞고 1N HCl 18ml를 첨가한 용액이다. 2% O<sub>3</sub>O<sub>2</sub>와 0.2M S-collidine을 반반씩 섞어 1% O<sub>3</sub>O<sub>2</sub> in 0.1M S-collidine 용액이 만들어 진다.

#### ⑦ 수세(Washing)

0.1M cacodylate buffer를 사용하여 5분씩 두번 수세한다.

#### ⑧ 탈수(Dehydration)

50%, 70%, 80%, 95% ethyl alcohol에 10분씩 탈수하며 100% ethyl alcohol에 10분씩 두번 탈수하고 fresh 100% ethyl alcohol에 15분간 탈수하는데 fresh 100%란 새로 마개를 열은 100% ethyl alcohol을 뜻한다.

다음 100% ethyl alcohol과 propyleneoxide를 반반씩 섞은 용액에 20분간 탈수하고 propylene oxide를 사용하여 15분간씩 두번 명화한다.

⑨ propylene oxide와 epon을 반반씩 섞은 액에서 overnight시킨다. hood에서 overnight하는 동안 propylene oxide는 점점 휘발하게 되며 Epon이 조직 내로 침투하게 된다. Epon 812가 발암물질이라고 전하여 지며 DMP-30도 발암물질로 생각되어 직접 피부에 닿지않게 하는등의 취급주의를 요한다. 현재 polisciencess회사의 poly Bed 812가 가장 많이 사용된다.

**Epon을 만드는 방법**

- 가) mixture A  $\left\langle \begin{matrix} \text{Epon 812} \\ \text{DDSA} \end{matrix} \right\rangle$  mix for 20-30mins(15mins)
- 나) mixture B  $\left\langle \begin{matrix} \text{Epon 812} \\ \text{NMA} \end{matrix} \right\rangle$  mix for 20-30mins(15mins)
- 다) mix "A" mixture and "B" mixture for 30mins(15mins) (1 : 1)
- 라) add 1.8% DMP-30 to mixture A+B
- 마) mix for 20-30mins

|         |                      |       |      |      |      |
|---------|----------------------|-------|------|------|------|
| Mixture | Epon 812             | 16    | 31   | 62   | 8    |
| A       | DDSA                 | 25    | 50   | 100  | 12.5 |
|         | A의 총량                | 41    | 81   | 162  | 20.5 |
| Mixture | Epon 812             | 25    | 50   | 100  | 12.5 |
| B       | NMA                  | 22    | 45   | 89   | 11   |
|         | B의 총량                | 47    | 95   | 189  | 23.5 |
|         | A + B                | 88    | 176  | 351  | 44   |
|         | 1.8% DMP - 30 of A+B | 11.58 | 3.17 | 6.32 | 0.79 |

⑩ overnight 시킨후 fresh epon을 만들어 조직을 옮긴후 vacuum oven에 넣고 3시간후 포매(embedding)를 하게 되는데 조직의 orientation이 필요할 때에는 beam capsule 대신 flat embedding mold를 사용하여야 한다.

⑪ 포매후 60°C에 고정시킨 oven에서 이틀간 중합(polymerization)시킨다.

Epon block의 hardness를 보아 조금 더 polymerization 시키기도 한다.

⑫ Epon이 굳어지면 mold에서 꺼내게 되는데 epon block에 적어넣은 조직번호를 실험장부에 기입해 두는것이 좋다.

**Tissue process information**

Block No. No. of experiment

1. Title of experiment
2. Name
3. Date
4. Tissue / Animal
5. Fixatives
  - a) prefixation
  - b) postfixation
  - c) prestaining
6. Decalcification
7. Embedding media
8. Ref. - treatment

**2) With en block staining**

전자현미경용 자기방사법을 제외한 조직의 미세

구조 연구를 위하여는 en block staining을 하여야 하며 그 순서는 도표 2와 같다.

도표 2에서 보는바와 같이 with en block staining 방법이 without en block staining 방법과 다른점은 1%  $O_3O_4$ 로 후고정후 1% uranyl acetate로 염색을 하여 주는데 있다.

**① 수세(Washing)**

1%  $O_3O_4$  in collidine buffer로 postfixation을 한 후 pH 5.15의 maleate buffer로 5분간씩 두번 수세한다.

**② En block staining**

pH 6.0의 maleate buffer에 용해한 1% uranyl acetate 용액으로 90분간 염색한다.

Maleate buffer는 우선 다음 두가지 stock solution을 만들어야 한다.

Soln. 1. NaH maleate : maleic acid 23.2gm과 1N  $NaOH$  200ml에 증류수를 섞어 1000ml가 되게 한다.

Soln. 2. 0.2N  $NaOH$  사용시에는, pH 5.15 maleate buffer를 만들기 위하여는 0.2N  $NaOH$  7.2ml과 0.2N  $NaH$  maleate 50ml에 증류수를 첨가하여 200ml가 되게 한다.

pH 6.0 maleate buffer를 만들기 위하여는 0.2N  $NaOH$  26.9ml과 0.2N  $NaH$  maleate 50ml에 증류수를 첨가하여 200ml가 되게 한다.

pH 6.0 maleate buffer에 1gm의 uranyl acetate

Table 2. With en block staining  
Tissue processing for EM

|                   | Solutions                                  | Time        |
|-------------------|--|-------------|
| Perfusion         | 2 % GA in Tyrode Sol.                      |             |
| Fixation          | Karnovsky's fixative                       | 2 1/2-3 hrs |
| Wash              | 0.1 M cacodylate buffer                    | 10 mins X 2 |
| Decalcification   | EDTA with 3 % GA                           | 2 wks       |
| Wash              | 0.1 M cacodylate buffer                    | 10 mins X 2 |
| Postfixation      | 1% OsO <sub>4</sub> in collidine buffer    | 90 mins     |
| Wash              | Maleate buffer pH 5.15                     | 5 mins X 2  |
| En block staining | 1% uranyl acetate in maleate buffer pH 6.0 | 90 mins     |
| Wash              | Maleate buffer pH 5.15                     | 10 mins     |
| Dehydration       | 50% ethyl alcohol                          | 10 mins     |
|                   | 70%  | 10 mins     |
|                   | 80%  | 10 mins     |
|                   | 95%  | 10 mins     |
|                   | 100%                                       | 10 mins     |
|                   | 100%                                       | 10 mins     |
|                   | Fresh 100%                                 | 15 mins     |
|                   | 100% + propylene oxide                     | 20 mins     |
|                   | propylene oxide                            | 5 mins      |
|                   | propylene oxide                            | 15 mins     |
|                   | Propylene oxide + Epon (1:1)               | overnight   |
|                   | Fresh Epon                                 |             |
|                   | Vacuum oven                                | 3 hrs       |
| Polymerization    | Embedding-in flat molds                    |             |
|                   | at 60°C                                    | 2 days      |

를 용해하여 1% 염색약을 만드는데 uranyl acetate는 빛에 불안정하므로 용해시나 염색시에는 반드시 검정색의 상자로 씌워야만 한다.

### ③ 수세(Washing)

염색이 끝난후 pH 5.15의 maleate buffer로 10분간 수세한다.

### ④ 탈수과정부터는 Without en block staining 방법과 동일하다.

## 3) 조직처리중의 기타 문제점

### ① 조직의 overnight

실험동물을 희생하여 고정, 수세, 재고정, 탈수를 거쳐 포매까지 또는 탈회후에 포매과정까지 이

르는데에는 많은 시간이 소요되므로 어느 과정에서 overnight시키느냐 하는 문제가 야기된다.

조직을 overnight시켜도 가장 안전하다고 생각되는 순서는 다음과 같다.

가. epon 속에서 overnight시키는 것이 가장 안전하다.

나. epon과 propylene oxide를 반반씩 섞은 용액에서 overnight시키는 것이 다음으로 안전하다.

다. 고정시의 buffer용액이나 또는 재고정후의 washing buffer에서 overnight시킬 수 있다.

라. 부득이한 경우 탈수과정 중 70% alcohol에서 overnight시킬 수도 있다.

#### 4) 조직의 절단

epon block의 절단을 위하여는 ultramicrotome 을 사용하여야 한다. ultramicrotome에 장착하여 사용하는 knife에는 glass knife와 diamond knife가 있는데 보통  $1\mu$ 절단을 위하여는 glass knife를 사용하고 초박절단( $700\sim 800\text{\AA}$ )을 위하여는 diamond knife를 사용한다. 조직이 작을 경우에는 glass knife로 초박절단을 하나 조직이 클 때에는 diamond knife를 사용하는 것이 용이하다. 조직의 절단을 위하여는 우선 epon block의 trimming이 필요한데 보통 사다리꼴 모양으로 trimming을 하나 사각형, 특히 정사각형이나 직사각형으로 trimming을 하면 knife에 접근할 수 있는 방향이 네군데가 되므로 아주 편리하다.

조직의 절단에 영향을 미칠 수 있는 사항은 다음과 같다.

- ① epon block의 trimming이 아주 clear해야 한다.
- ② knife가 일직선으로 아주 예리하고 흠이 없어야 한다.

- ③ 절단된 조직이 뜨게되는 보트속의 수면의 높이가 문제가 되는데  $1\mu$ 절단시에는 수면의 높이가 낮은 것이 편리하며 초박절단시에는 칼의 높이와 수면의 높이가 일정하여야 한다.

- ④ 바람의 영향을 고려하여야 한다. 초박절편 시에는 아주 적은 바람이라도 조직의 연속절단을 불가능하게 한다. 그러므로 보트가 있는 stage 또는 ultramicrotome 전체를 투명한 plastic cover로 씌우고 절단하는 것이 좋다.

절단된 조직의 두께는 color로 구별되는데 silver color 보다는 dark silver color의 조직에서 전자현미경적 여러가지 구조물의 상을 뚜렷하게 구별할 수 있다.

그 이유는 전달된 조직이 아주 얇으면 electron beam이 잘 통과하여 초점을 맞추기는 쉬우나 구조물이 별로 없고 또한 염색도 잘 되지 않는다. 그러나 절단된 조직이 너무 두터우면 구조물의 상이 검게되고 관찰이 어려우며 초점 맞추기도 힘들어진다.

#### 5) 조직의 염색

$1\mu$  조직의 염색을 위하여는 보통 toluidine blue O를 사용한다. toluidine blue 용액을 만드는 데는 다음의 두가지 방법이 있다.

- ① 우선 sodium acetate 1.94gm을 물 50cc에 녹이고 sodium veronal(barbital sodium C-1V or so-

dium diethyl barbituate) 2.94gm을 물 50cc에 녹여 buffer solution을 만든다.

다음 sodium acetate 5cc와 sodium veronal 5cc를 증류수 90cc와 합친후 이 용액에 toluidine blue O 1gm을 녹이게 되는데 spinbar를 사용하여 2~3시간 이상 stirring을 하여야 하며 사용할때 마다 filtration을 하여야 한다.

- ② 증류수 100cc에 sodium borate tetra lgm과 toluidine blue O 1gm을 혼합하여 pH 7.2에 맞추어 준후 filtration을 한다. 염색시에는 다시 filtration하는 것이 좋으며 filter paper가 손상되어 filtration이 잘되지 않았을 경우에는 현미경하에서 조직 위에 무수한 점들이 나타나게 된다.

$700\sim 800\text{\AA}$ 의 조직의 염색을 위하여는 uranyl acetate와 lead citrate를 사용하여 이중염색을 하여 준다.

#### ① Uranyl acetate염색

50% ethyl alcohol에 uranyl acetate를 용해하여 노란색으로 포화가 되었을때 사용한다. 포화가 되는 시간을 보통 10~15분이 소요된다. uranyl acetate는 광선에 아주 예민하므로 용해시나 또는 염색시에 항상 검은상자를 쥘위 광선을 차단하여야 하며 염색할 때마다 새로운 용액을 만들어야 한다. 염색에 소요되는 시간은 약 30분이 걸린다.

#### ② Lead citrate염색

중동이 입구가 좁은 flask에  $\text{PbNO}_3$  1.33gm과 Na citrate 1.76gm을 넣은후 끓였거나 여과를 한 증류수 30ml을 넣고 입구를 은박지 또는 parafilm으로 막은후 혼합한다. 처음 1분간은 아주 심하게 흔들어서 주고 그다음부터는 일정하게 흔들어 혼합시킨다. 30분후 fresh 한 1N  $\text{Na}_2\text{OH}$  8ml을 넣어 섞어 주고 증류수를 첨가하여 50ml의 용액을 만든다. fresh한  $\text{Na}_2\text{OH}$ 를 사용하지 않으면 crystal이 생기며 한번 사용한 flask 용기는 염산등의 acid로 수세하여야 한다.

염색에 소요되는 시간은 7분을 초과하면 안되며 염색하는 용기속에  $\text{Na}_2\text{OH}$ 를 넣어 공기중의 수분을 흡수하여야 한다. 한번 만든 lead citrate는 여러번 사용할 수 있으나 용기입구를 밀폐시켜야 하며 용액을 파이펫으로 꺼낼때도 입구를 조금만 열고 빨리 꺼낸후 다시 막아야 하는데 그 이유는 공기중의 수분때문이다. 검은상자로 빛을 차단할 필요는 없다.

#### 6) 전자현미경에서의 관찰 및 사진촬영

조직이 담긴 grid를 전자현미경에 넣어 관찰하게 되는데 우선 6000배 정도의 저배율로 관찰, 촬영하는 것이 좋은데 그 이유는 초점을 맞추기가 쉽고 조직의 여러가지 구조나 또는 변화를 전체적으로 파악, 강조하기가 용이하기 때문이며, 다음 15,000 내지 20,000배 정도로 배율을 높여 미세구조를 보는 것이 좋다. 이러한 과정이 전자현미경 관찰의 시간을 절약해 주며 또한 저배율의 film을 인화시에 다시 확대하여 여러종류의 사진을 얻을 수 있고 부수적으로 film의 절약도 가져오게 된다.

7) Film의 현상 및 인화

① Film의 현상

film을 현상액 D-19 developer에 4분간 넣었다가 washing후 rapid fixer에 3분간 고정하고 흐르는 물탱크에서 충분히 수세한다. 증류수로 한번더 수세한 후 건조시킨다.

② Film의 인화

가. 우선 인화지 한장에 film 6장 정도를 올려놓고 광선에 노출시키는 contact print를 한다.

나. contact print상에서 필요한 사진이나 또는 일정부위를 다시 확대시켜 인화한다. 인화지는 F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub>의 다섯종류가 있는데 배경이 중요한 사진은 적은번호 쪽을 택하고 배경보다는 일부 구조물이 중요시 될때는 큰 번호쪽의 인화지를 사용하는 것이 좋다. 보통으로 현상된 film의 contact print시에는 F<sub>3</sub>의 인화지가 적당하며 논문사진을 위한 인화시에는 F<sub>1</sub>를 사용하는 경우가 많다. 인화시에는 Dektol developer와 rapid fixer를 사용하게 되는데 물을 동량 섞어 사용하며 보통 고정시간은 5분간이다. 인화시에 광선은 약하게 시간을 길게 주는 것이 좋다. 또한 한사진 내에서 일부 검게 인화되는 부위가 있으면 그 부분만 광선을 적게 노출시켜 한사진내 구조물의 밝기를 균일하게 하여주는 것이 좋다.

社団法人 韓國矯正研究所 出帆

第1回 定期總會에서 金一奉博士를 會長으로 選任

金一奉 교정연구회가 발족한지 7년만에 사단법인 한국교정연구회로 법인체 인가를 받아 지난 4월15일 첫 정기총회를 열어 초대회장에 金一奉박사(전 경희대 치대교수·김일봉교정연구회 회장)를 만장일치로 선임하였다.

한국교정연구회에 설립목적은

- ① 특수장애자(언청이)의 무료진료
- ② 치과교정학의 연구
- ③ 국제학술교류
- ④ 치과교정학의 계몽
- ⑤ 기관지 발행 및 치과교정홍보

등을 사업목표로 설정하고 정식 사단법인체로 발족한 것이다.

한국교정연구회의 회원은 현재 178명의 회원과 운영기금으로 2억 2천여만원울 확보하고 있으며 임원진은 다음과 같다.

- |            |            |
|------------|------------|
| 회 장 : 金一奉  | 사업이사 : 李善國 |
| 사무총장 : 姜九漢 | 공보이사 : 柳泰英 |
| 총무이사 : 金鍾喆 | 이 사 : 朴鏞愛  |
| 재무이사 : 朱寬哲 | 감 사 : 李章勳  |
| 학술이사 : 禹亨植 | 감 사 : 金正均  |

이날 정기총회에는 金東順 대치협회장을 비롯한 관계인사와 150여 회원이 참석, 대성황을 이루었으며, 외국교정학자를 초청, 강연회, 토순 및 구개과열 역할조사, 교정책자 발간, Typodont course, 메네지먼트 교육 등을 실시할 예정이며, 이에대한 예산은 2,812만원을 책정 했다고 한다.



(제 1회 정기총회 광경)

## 1984 LECTURE SCHEDULE (YEARROUND FIXTURE)

Postgraduate Clinical Dental Refresh Course  
Dept. of Dentistry, In je Medical College Paik Hospital  
1984. 5. 10~1984. 12. 14 (Total 36 Lectures)

Time : 08 : 30~09 : 30 Morning, Every Friday (Except, Jan., July, Aug.)

| Month | Date | Subject  | Lecturer |
|-------|------|--|----------|
| May   | 4    | 치주질환의 진단, 치료계획 및 분류의 최신지견<br>(Diagnosis, Tx planning, Newer concept of periodontal disease classification) | 손 성 희    |
|       | 11   | Root Planing and closed Subgingival Curettage  | "        |
|       | 18   | ENAP, MNAP, Modified Widman's Flap Op., and Unrepositioned Flap  | "        |
|       | 25   | Free gingival graft, Osseous surgery, Hemisection  | "        |
| June  | 1    | 보철물과 치주조직 (periodontal prosthetics)  | 정 진 구    |
|       | 8    | Alumino Porcelain Jacket Crown, and colorless Metal ceramic crown  | "        |
|       | 15   | Pre-solder and Post-solder framework of P. F. M crown  | "        |
|       | 22   | Staining and Glazing   | "        |
|       | 29   | 계속 가공의치의 일반적 고찰  | "        |
| Sep.  | 7    | 치과임상에서 구내필름의 촬영 및 판독법 I  | 박 태 원    |
|       | 14   | " II   | "        |
|       | 21   | 치아우식의 주발병균 및 그 세균의 감염도와 우식과의 관계  | 최 선 진    |
|       | 28   | 치아우식 백식의 전망  | "        |
| Oct.  | 5    | 총의치 제작에 관한 문제점 (Review of complete denture) I  | 성 녕 환    |
|       | 12   | " II   | "        |
|       | 19   | " III  | "        |
|       | 26   | 의료보험에 대하여 I  | 김 규 문    |
| Nov.  | 2    | 의료보험에 대하여 II   | 김 규 문    |
|       | 9    | " III  | "        |
|       | 16   | 치과임상에서의 치아우식증의 예방  | 김 주 환    |
|       | 23   | 주조수복의 활용 (Preparation for cast gold restoration) I   | 이 정 석    |
|       | 30   | " II   | "        |
| Dec.  | 7    | 주조수복의 활용 (Preparation for cast gold restoration) III   | 이 정 석    |
|       | 14   | 치과치료시 유의해야할 전신질환   | 강 효 식    |