

제6장. 수세(Washing) 및 탈수(Dehydration)

- Lipid-Solvent인 paraffin을 식물조직내에 embedding시키기 위해 세포내 있는 water를 완전히 제거하는 단계이다. 이 단계의 interval도 plant material에 따라 매우 다양하다.
- 고정액을 제거하기 위한 방법으로 거즈로 조직을 싸서 흐르는 물에서 수세하며, 고정시간과 같은 시간 동안 수세하는 것이 좋다. 고정액 속에 알코올이 들어 있으면 그 농도에 해당하는 알코올 농도에서 시작하여 차차 농도를 높여가며 탈수한 다음 파라핀 침투과정을 진행한다. 예를 들면 FAA 용액으로 고정하였을 경우 수세하지 않고 50% 알코올로 탈수를 시작해야 한다.

- 재료 속에 들어 있는 물을 제거시키는 방법으로서 저농도에서 고농도순으로 처리하는 것이 좋다. 갑자기 고농도의 알코올을 사용하면 조직이 수축되기 때문에 좋지 못하다. 또한 탈수가 불완전하게 되면 xylene 침투가 되지 않고 파라핀 침투도 잘 안된다.
- 탈수제로는 주로 Ethanol을 많이 사용하고 그 외에 Prophanol, Buthanol을 사용하는데 Buthanol의 경우 식물조직에서 매우 강한 탈수를 일으키게 한다.

- 가장 많이 사용하는 탈수제는 ethyl alcohol 이다.
- Dehydration의 시작은 fixing or storage fluid의 alcohol농도와 같은 농도에서 시작하는 것이 좋다. Isopropyl alcohol은 ethyl alcohol 같이 매우 많이 사용되는 dehydrate agent이다.
- Methyl alcohol은 dehydrating plant tissue로 광범위하게 사용되지 않는데 그 이유는 methyl alcohol이 "toxicity" 그리고 또 vigorous dehydrating action으로 delicate structure에 damage을 준다.
- Aceton은 excellent dehydrant.

- **The most commonly used dehydration agent; ethyl alcohol : 95% alcohol이나 absolute alcohol 중 어느 것을 사용해도 무방하다.**
- **Fixatives ⇒ 50% Alc.(1.5 hr) ⇒ 60% (1.5 hr) ⇒ 70% (overnight) ⇒ 80% (3 hr) ⇒ 90% (3 hr) ⇒ 100% I (3 hr) ⇒ 100% II (3 hr)**

- **1. Dehydration Series**

- **STEP I .**

- **FAA 용액 ⇒ 50% Alc. ⇒ 60% Alc. ⇒ 70% Alc.**

- **(여기서 overnight 하거나 또는 실험 schedule에 맞게 waiting함. 2-3일 까지 두어도 조직에 커다란 damage는 없을 듯!)**

- **FAA에서 고정시킨 material을 tap water 시킬 이유가 절대 없다. FAA을 구성하는 component는 dehydration하는 동안 용해되며, 만일 tap water 시키면 dehydration 과정을 연장해야 한다. 왜냐하면 water가 plant cells로 들어갈 수 있기 때문.**

- **STEP II.**
- **70% Alc. \Rightarrow 80% Alc. \Rightarrow 90% Alc.
 \Rightarrow 100% Alc. I \Rightarrow 100% Alc. II**
- **여기에서는 step I 에서의 interval의 2배로
진행시킨다. 예를 들어 양파 root tip을 탈수
할 때 50% \rightarrow 70%까지 30 min으로 진행했
으면 80% \rightarrow 100%까지 각 단계를 1 hr로
연장시킨다.**

Dehydration Series



- 2. 순차적인 탈수를 하는 이유
 - 1) alcohol의 침투력이 강하여 조직의 파괴를 방지함.
 - 2) alcohol이 단백질을 응고시키기 때문에 고농도에서의 탈수시간을 단축시킬 수 있다.
 - 3) 농도를 갑자기 변화 시키면 원형질의 수축, cell의 비틀림을 일으킴.
 - 4) 저농도에서 interval이 길거나 water에서 오래 washing하면 tissue가 soft해지고 고농도에서 오래 노출하면 tissue가 수축, 단단해짐.

- **3. 탈수시간**

- **각 solution의 interval은 아래의 factors에 의해 영향을 받는다.**
- **1) Size of the pieces.**
- **2) The nature of the material.**
- **3) The solubility of the residual reagents left in the tissue.**
- **Root tip ; 30 min.(70% 전을 기준)**
- **Small pieces of leaf ; 1 hr.(70% 전을 기준)**
- **Twig(Φ 0.5cm 정도) ; 4-8 hr.**
- **Large blocks of wood ; 12 hr.**

- **4. Alcohol 의 농도액 제작법.**
- **A% Alc. 을 가지고 B% Alc. V cc를 제작 하는 법 ;**
- **$B/A V \text{ (cc)} + \text{water} = V \text{ cc}$**