

동결절편을 위해 붕산과 NaOH에 의해 가교된 폴리비닐알코올 포매용 레진

임진익[†] 

단국대학교 화학공학과

(2023년 2월 11일 접수, 2023년 3월 31일 수정, 2023년 4월 16일 채택)

Cross Linked Polyvinyl Alcohol Embedding Resin by Boric Acid and NaOH for Cryomicrotomy

Jin Ik Lim[†] 

Department of Chemical Engineering, College of Engineering, Dankook University, Jukjeon-dong, Yongin-si, Gyeonggi-do 16890, Korea

(Received February 11, 2023; Revised March 31, 2023; Accepted April 16, 2023)

초록: 폴리비닐알코올(PVA)계 수지는 수술장에서 신속한 조직 검사를 위한 동결 절편용 포매용 레진으로 널리 사용되어 왔다. 그러나 레진의 부족한 응집력과 침투력, 그리고 상대적으로 높은 어는점, 레진과 조직의 기계적 물성의 차이 때문에 만족스러운 절편을 얻는데 어려움이 있었다. 본 연구에서는 조직학적 분석 효율을 향상시킬 수 있는 PVA와 붕산, 그리고 가교 반응 촉매로써 NaOH로 구성된 변형 PVA 기반 포매용 레진을 연구하였다. 붕산 및 PVA와 NaOH의 함량이 증가함에 따라 응집력이 비례하게 증가하였으며, 10 wt% PVA 및 2 wt% 붕산, 그리고 0.3 wt% NaOH의 조성으로 제조된 레진을 이용한 절편 작업 시 손상없는 완전한 조직 절편을 얻을 수 있었고, 헤마톡실린 및 에오신 염색 테스트 결과 확실한 조직 영상을 확인할 수 있었다. 본 연구의 변형된 PVA 포매용 레진이 다양한 생체 조직의 신속한 조직학적 분석 효율을 향상시킬 수 있을 것으로 기대된다.

Abstract: Polyvinyl alcohol (PVA) resin has been generally used as a resin for embedding for cryomicrotomy for rapid histological analysis in the operating room. However, due to the lack of cohesion and penetration of resin, and the relatively high freezing point, and the difference in the mechanical properties of resin and tissue, there have been difficulties in obtaining satisfactory intercepts. In this study, a modified PVA-based embedding resin composed of PVA and boric acid, which can improve histological analysis efficiency, and NaOH as a crosslinking reaction catalyst was studied. It was confirmed that as the amount of PVA, boric acid, and NaOH increased, physical properties including cohesion were improved. And complete tissue cross-section could be obtained without damage using 10 wt% PVA, 2 wt% boric acid, and 0.3 wt% NaOH composition, and hematoxylin and eosin staining tests showed clear tissue images. The modified PVA-containing resin of this study is expected to improve the rapid histological analysis efficiency of various biological tissues.

Keywords: cryosection, embedding resin, boric acid, NaOH, histological analysis.

서 론

생체조직의 조직학적 분석을 위해서는 일반적으로 포매용 레진, 조직의 절편 제조 방법, 염색 방법의 세 가지 기본 요소가 필요하다. 따라서 광학 이미징, 염색 및 절편 제조 방법, 면역조직화학적 기법, 동결절편 기법, 고해상도 현미경법 등 고품질의 조직학적 분석 결과를 얻기 위한 많은 연구가 진행

되고 있다.¹⁻³

무엇보다도, 조직 검사 효율의 근본적인 향상을 위해서는 간단하면서도 재연성이 높은 실험방법을 통하여 다양한 유형과 크기의 생체 조직에 적용할 수 있는 개선된 포매용 레진이 기본적으로 요구된다.

파라핀은 생체 조직의 조직 검사를 위해 가장 일반적으로 사용되는 포매용 레진이다. 그런데도, 파라핀 레진은 몇 가지 문제점들이 있는 것으로 알려졌다. 파라핀을 적용 시 가능한 온전한 형태의 슬라이스(절편)의 수는 상대적으로 제한적이다. 파라핀의 기계적 물성이 낮기 때문에, 단면이 얇은 절편들이 쉽게 말려져 절편 시료가 왜곡되거나 찢어지는 경우

[†]To whom correspondence should be addressed.
limjinik@dankook.ac.kr, 0000-0003-4803-0455
©2023 The Polymer Society of Korea. All rights reserved.

가 많이 발생한다. 또한, 파라핀으로 절편을 준비하는 과정에서 조직의 고정, 고온에서 파라핀 침투, 절편 제조 및 파라핀 제거, 수화와 탈수 등과 같은 복잡한 절차 때문에 많은 시간이 소요된다는 점이다.^{4,5}

이러한 문제점을 해결하기 위하여, 메틸메타크릴레이트(MMA) 수지, 에폭시 수지, 젤라틴 블록, 및 다양한 동결절편 방법 등의 포매용 레진 및 절편 제조 방법에 관한 연구가 많이 진행되어 왔다.^{6,8} 그러나 메틸메타크릴레이트(MMA) 수지, 에폭시 수지 등의 레진의 경우, 일반적으로 레진의 고가화, 특수 장비의 요구, 복잡한 절차 및 범용으로 사용하기보다 빠와 같은 경조 직등 특수부위에 제한적으로 사용할 수 있다는 심각한 문제에 직면하고 있다.^{9,10}

그러나 앞서 나열한 포매용 레진과는 달리 동결절편 제조 방법은 면역학적, 형태학적, 생화학적 및 자동 방사선 분석 등을 위해 생체 조직에 고정화 반응을 하지 않고 조직 또는 세포를 분석하는데 광범위하게 사용되고 있으며 이 방법은 특히 신속한 병리학적 진단에 유용하게 적용되어오고 있다.^{11,12}

조직을 순간적으로 냉동시켜 신속하게 절편을 제조하고 정확한 분석 결과를 얻는 장점에도 불구하고 많은 문제들이 사용자들에 의해 지적되어 왔다. 이러한 문제점 중 첫 번째는 폴리비닐알코올(PVA)/폴리에틸렌글리콜(PEG)계 상용 레진의 기계적 물성이 좋지 않아 단면이 쉽게 깨지거나 말리게 되는 현상이다. 두 번째 문제는 수분 함량이 높은 조직이나 세포의 기질 단백질이 거의 또는 전혀 존재하지 않는 배양된 세포의 경우 제조된 절편은 깨지기 쉬우며 보통 슬라이스로 절단될 때 부서지게 된다.¹³ 이렇게 분명한 문제점이 존재하지만 이렇다 할 만한 대체할 수 있는 포매용 레진이 나오지 않은 상황이다. 따라서 본 연구에서는 이러한 문제점을 극복하기 위해 PVA에 이온성 가교제로서 붕산(boric acid)을 첨가하고 반응속도를 향상시켜주기 위해 소량의 NaOH를 적용하고자 하였다.

이번 연구의 컨셉은 Figure 1과 같다. PVA의 -OH작용기가 NaOH에 의해 -ONa의 형태로 활성화됨과 동시에 NaOH 수

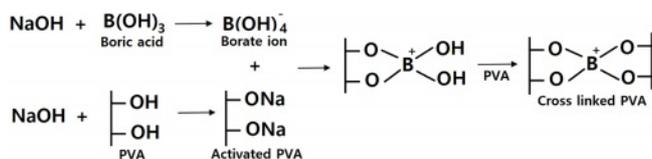


Figure 1. Crosslinking reaction of polyvinyl alcohol (PVA) by NaOH and boric acid.

용액 내의 붕산은 borate 이온 [B(OH)₄⁻]으로 더욱 신속하게 바뀌게 된다. 이들 간의 반응으로 인한 결과로 가교화된 PVA를 높은 효율과 빠른 속도로 얻고자 하였다.

따라서 본 연구의 목적은 (1) PVA/붕산 기반 포매용 레진의 장점과 단점을 파악하고, (2) PVA와 붕산의 조성에서 NaOH에 의한 영향과 절편 제조 효율에 미치는 영향을 파악하고, (3) 최적의 PVA와 붕산 그리고 NaOH의 조성을 결정하고 실제 조직의 절편에 적용해 보고자 하였다. 여기서, 우리는 생체 조직 및 다양한 생체 재료의 포매용 레진으로 사용될 수 있는 붕산과 NaOH를 포함하는 변형된 PVA 포매용 레진을 제안하고자 한다.

실 험

재료. 폴리비닐알코올-1500(PVA-1500)은 초순수 등급으로 덕산화학(경기도, 대한민국)에서 구매하였고, 순도 99.5% 이상의 붕산, NaOH, 포름알데히드, 헤마톡실린, 에오신, 합성 등급의 폴리에틸렌글리콜-400(PEG-400 for synthesis) 그리고 에탄올(99 wt%)은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)사에서 구매하였다. 이들 화학물질은 추가적인 정제과정 없이 본 연구에 사용되었다.

PVA/붕산과 PVA/붕산/NaOH 포매용 레진의 준비. Table 1에 나타낸 조성대로 10 wt%의 PVA와 붕산(0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 wt%)을 80 °C에서 증류수에 혼합하고, 각각의 혼합물을 동일한 온도에서 5시간 동안 강하게 교반하여 균질한 상태의 용액인 PVA/붕산 레진을 얻었다. 이렇게 얻어진 각각의 레진 용액에 NaOH가 0.3 wt%가 되도록 가해주고 상온에서 1시간 동안 교반하며, 균질한 상태의 용액인 PVA/붕산/NaOH 레진용액을 제조하였다. 각각의 균질한 용액을 몰드(직경 30 mm, 높이 30 mm)에 부은 후 -20 °C에서 2시간 동안 동결시켰다. 대조군으로 10.24 wt%의 PVA와 25 wt%의 PEG를 앞서 설명된 동일한 방법으로 혼합하고 균일용액으로 제조 후 동결하였다.^{14,15}

PVA/붕산 및 PVA/붕산/NaOH의 시간에 따른 접착각 측정. 다양한 붕산의 함량과 NaOH의 첨가 여부에 따라 레진 용액의 응집력에 미치는 영향을 평가하기 위해 접착각 측정기(Phoenix 150; Surface Electro Optics, Seoul, Korea)를 이용하여 앞서 준비된 Table 1에서와 같은 조성인 PVA/붕산 및 PVA/붕산/NaOH 등의 레진 용액의 접착각을 측정하였다. 상온에서 레진 구성 물질을 혼합한 후 동일하게 5분 동안 방치한 후 접

Table 1. Composition of Polyvinyl Alcohol (PVA)/Polyethylene Glycol (PEG)/NaOH

	Boric acid wt% / NaOH wt%						
	0/0	0.5/0	1/0	2/0	3/0	4/0	5/0
10 wt% PVA	0/0.3	0.5/0.3	1/0.3	2/0.3	3/0.3	4/0.3	5/0.3

촉각 측정에 사용하였다. 레진의 정적 접촉각을 측정하기 위해 각 레진 용액 50 μ L의 액체 방울을 유리 슬라이드에 부드럽게 증착하였다. 0, 5, 10, 15 및 20분 후에 각각의 퍼지는 변화를 접촉각의 측정을 통하여 용액의 응집력 정도를 측정 비교하였다.

동일한 압축 스트레스 하에서 저항값의 측정. PVA와 다양한 함량의 붕산 조건에서 NaOH 존재 여부에 따른 동일한 압축 스트레스 하에서 저항값의 차이는 대조군으로써 PVA/PEG 레진을 포함하여 비교되었다. 테스트는 50 kg 로드 셀, TA-51 니들 리그 및 소프트웨어(Texture Expert, Stable Micro Systems)가 포함된 텍스처 분석기(TA-HD, Stable Micro Systems, Surrey, UK)를 사용하여 수행되었다. 앞서 냉동시켜 놓았던 지름 30 mm, 높이 30 mm의 냉동 미디어 블록을 시편으로 사용하였으며, 크로스헤드 속도는 1 mm/min(내리는 속도)로 하고, 깊이 1 mm에서의 부하량을 구하였다.

연속적인 절편 제조에 따른 절편 효율의 관찰. 일정 크기의 마우스의 간 조직을 동결 조직 절편용 마이크로톰(CM 3050-S, Leica, Bensheim, Germany) 장비 위에 올리고 10 wt% PVA/2 wt% 붕산, 10 wt% PVA/2 wt% 붕산/0.3 wt% NaOH, 그리고 대조군으로써 PVA/PEG 포매용 레진을 뿌려주면서 -20 $^{\circ}$ C로 맞추어 10분 동안 동결시켰다. 그 후 마우스 간을 마이크로톰의 예리한 칼을 이용해 연속적으로 슬라이스하여 각각 두께가 5 μ m인 20개의 슬라이스를 연속적으로 얻었다. 간의 단면은 원형 샘플로 채취되었고, 크기는 약 10 mm \times 15 mm였다. 마지막으로, 20번 연속 칼질을 진행하여 손상되지 않고 연속 생산되는 절편의 수를 육안으로 관측하였다.

표면 형태 및 고분자 상태 관찰. 생체 조직이 없는 상태의 10 wt% PVA/2 wt% 붕산, 10 wt% PVA/2 wt% 붕산/0.3 wt% NaOH, 그리고 대조군으로써 PVA/PEG 포매용 레진만 이용하여 마이크로톰으로 5 μ m 두께로 슬라이스를 제조하였고, 유리 슬라이드에 올린 후 실온에서 30분 동안 건조시켰다. 건

조된 시료의 표면은 디지털 현미경(digital microscope: A-2111; Dino-Lite, Taiwan)을 이용하여 표면의 뭉침 및 상 분리 등의 상태를 관찰하였다.

절편 및 H&E 염색효과 비교. 마우스 간 조직은 포르말린에 고정되고 10 wt% PVA/2 wt% 붕산, 10 wt% PVA/2 wt% 붕산/0.3 wt% NaOH의 레진에 담겨졌다. 대조군으로써 PVA/PEG 레진이 동일하게 적용되었다. 포매용 레진에 담긴 조직은 마이크로톰 기기에서 -20 $^{\circ}$ C에서 10분간 동결된 후 5 μ m의 두께의 슬라이스를 얻을 수 있었다. 이렇게 얻어진 조직 슬라이스를 유리 슬라이드에 올린 후 30분간 건조해준 후 포매용 레진을 제거한 후 기존에 알려진 H&E 염색 방법에 의해 염색을 실시했다.^{16,17} 염색된 슬라이스는 광학현미경(Microphoto-FXA, Nikon, Tokyo, Japan)을 이용하여 세포핵과 세포질, 혈구 세포 등을 관찰하였다.

결과 및 토론

PVA계 포매용 레진들의 접촉각 측정 결과. 본 실험에서는 레진 방울의 시간별 퍼지는 정도를 이용하여 레진 용액의 상대적인 응집력을 비교 관찰하고자 접촉각 측정기를 이용하여 포매용 레진들을 유리 슬라이드에 방울을 떨어뜨린 후 시간에 따른 접촉각의 변화 정도를 측정하였다(Figure 2). 10 wt% PVA/2 wt% 붕산 혼합물의 경우 Figure 2(a)에서와 같이 대조군인 PVA/PEG 레진을 포함하여 붕산 3 wt%까지 유의미한 차이가 관찰되지 않았다. 다만 시간이 지남에 따라 4 wt%와 5 wt%의 붕산이 함유된 경우에서 붕산 농도에 비례하게 방울의 퍼짐 현상이 다소 지연되는 결과를 얻을 수 있었다. 반면 PVA/붕산/NaOH의 경우, NaOH가 있는 조건에서 가해진 붕산의 농도에 비례하게 방울의 퍼짐 정도의 변화를 관찰할 수 있었다(Figure 2(b)). 따라서 이번 실험에서 가해진 모든 붕산이 반응에 자발적이며, 고르게 참여하지 않는다는 것을 확인

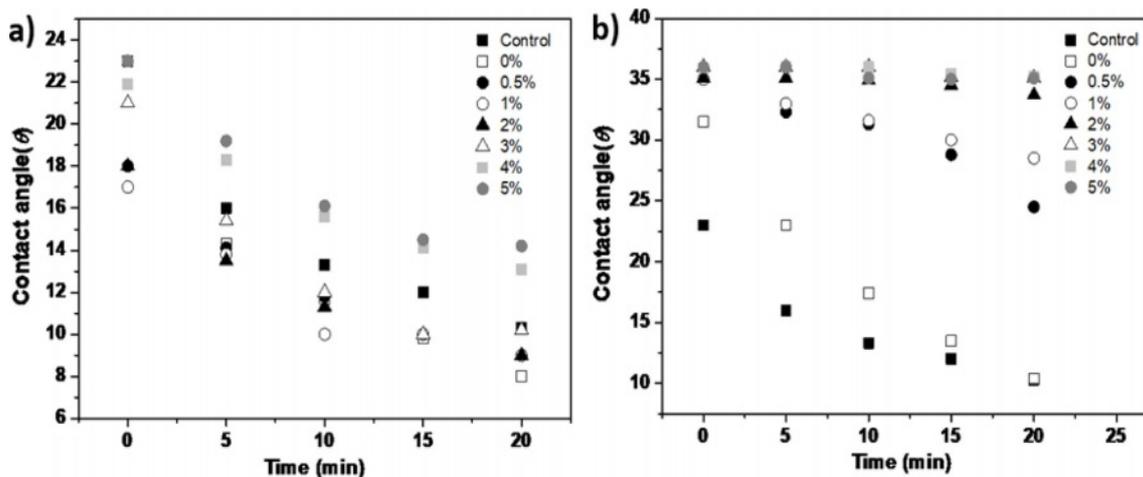


Figure 2. Contact angle of the mixtures by the (a) polyvinyl alcohol (PVA)/boric acid; (b) polyvinyl alcohol (PVA)/boric acid/NaOH.

할 수 있었으며, 촉매 역할을 하는 NaOH의 존재하에서 활성화되어 반응의 평형을 오른쪽으로 이동시킬 수 있다는 점을 확인할 수 있었다. 또한, NaOH가 있는 조건에서 붕산 2 wt% 이상은 큰 차이가 없는 것으로 나타났다. NaOH와 붕산에 의한 향상된 응집력은 생체 조직과 높은 친화력으로 이어진다고 추론할 수 있을 것이다.

동일 하중에 대한 저항력 측정 결과. 포매용 레진의 응집력이 낮을 경우, 동결된 레진 블록의 기계적 물성이 좋지 않아 생체 조직 내 침투가 불완전하거나 동결된 생체 조직과의 물성 차이가 크게 나는 문제로 인해 슬라이스(절편) 효율이 낮아 손상 없이 온전한 슬라이스를 연속적으로 얻기가 어려워진다. 따라서 실제로 슬라이스를 얻는 조건인 냉동 상태에서 응집력 비교 시험이라는 측면에서 액체 상태일 때의 응집력보다 중요한 테스트라 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 동일한 하중의 스트레스 하에서 침투 하중에 대한 저항값을 조사하였다. Figure 3의 결과와 같이 NaOH가 없는 경우, 대조군과 PVA/붕산 혼합물 중 붕산이 3 wt%까지 혼합된 경우 큰 차이가 발견되지 못했다. 다만 4 wt%와 5 wt%의 붕산이 함유된 경우 강도가 증가하는 경향을 나타내었다. 이 결과는 액체 상태일 때의 응집력 시험과 유사한 경향성을 나타내었다.

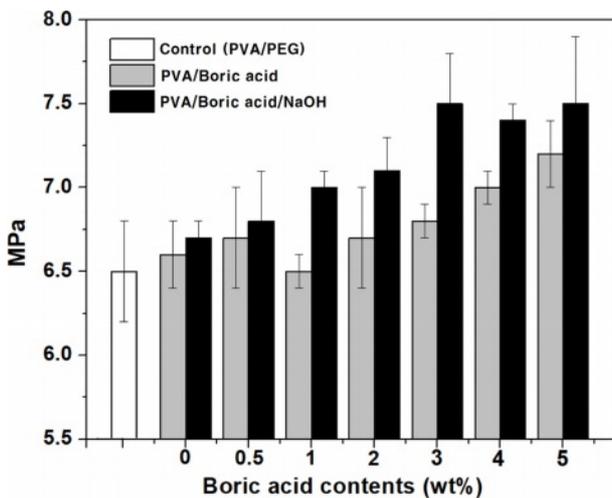


Figure 3. Differences in the amount of load under the same compressive displacement according to polyvinyl alcohol (PVA)/boric acid and polyvinyl alcohol (PVA)/boric acid/NaOH.

반면, PVA/붕산 혼합물에 NaOH가 함유된 경우, 2 wt%의 붕산이 함유된 경우를 포함하여 그 이상의 붕산이 함유된 경우 7 MPa이상의 강도를 나타내었다. 따라서 개량을 위한 최소한의 붕산의 양은 NaOH가 있는 조건에서 2 wt%로 결정할 수 있었다. NaOH 존재하에 동결 레진의 강도가 증가할 수 있는 최소붕산의 함유량을 확인할 수 있었다. 이러한 결론에 기초하여, 우리는 레진의 조성변화에 의해 슬라이스의 파손 또는 말리는 문제가 포매용 레진과 생체 조직 사이의 일체성 향상으로 해결될 수 있다고 판단했다. 따라서 실제 슬라이스 작업을 했을 때 연속 생산 가능 정도를 관찰하였다.

연속 슬라이스 시험 결과. 각각의 레진들을 생체 조직이 없는 상태에서 동결시켜 마이크로톰을 이용하여 연속 슬라이스를 제작해 손상 없이 얻어지는 슬라이스의 수를 관찰해보았다. Table 2에서와 같이, PVA/붕산 혼합물의 경우(PVA/PEG:10±2, 0 wt% PVA:8±2, 0.5 wt%:11±3, 1 wt%:14±3, 2 wt%:12±3, 3 wt%:15±3, 4 wt%:15±1, 5 wt%:14±2) 붕산의 첨가량이 증가함에 따라 대조군에 비하여 다소 증가하는 경향을 나타내었고, 1 wt%이상의 붕산 함유량을 갖는 레진들에 있어 다소 개선된 상태에서 더 이상의 진전은 관찰되지 않았다. 반면, NaOH를 첨가한 경우, 2 wt%의 붕산이 함유된 경우를 포함하여 손실률이 전반적으로 10%이하로 낮아지는 경향을 나타냄을 확인하였다. 따라서 본 실험에서 10 wt% PVA와 2 wt% 붕산, 그리고 0.3 wt%의 NaOH가 가장 최적의 조성임을 확인하였다.

표면분석 결과. PVA/PEG와 10 wt% PVA/2 wt% 붕산, 10 wt% PVA/2 wt% 붕산/0.3 wt% NaOH 레진의 동결절편을 만든 후 유리 슬라이드에서 건조한 후 건조된 필름의 표면 상태를 디지털 현미경을 통해 관찰하였다. 건조된 표면이 중요한 이유는 생체 조직의 동결절편을 제작하는 과정에서 슬라이스를 만든 후 유리 슬라이드에 올릴 때 건조단계를 거치게 되는데 이때 건조된 포매용 레진 필름의 표면이 고르지 못하거나 저온에 따른 고분자와 용매 사이의 상 분리 현상에 의한 거친 표면이 형성될 경우 슬라이스된 조직 시편의 형태도 동일하게 형성되기 때문에 제대로 된 영상을 얻기 어려워진다. Figure 4에서와 같이 대조군으로 거친 표면이 전혀 없는 유리 슬라이드의 표면을 관찰하여 각각의 표면과 비교하였다. PVA/PEG 레진의 경우 동결되는 순간 저온에 의한 상 분리 현상으로

Table 2. Number of Unimpaired Sectioned Slice by a Simulated Test to Test Sectioning Efficiency

		10% PVA/Boric acid (wt%)						
PVA/PEG		0%	0.5%	1%	2%	3%	4%	5%
10 ± 2		8 ± 2	9 ± 2	11 ± 3	14 ± 3	15 ± 3	15 ± 1	14 ± 2
		10% PVA/Boric acid + NaOH (0.3 wt%)						
		8 ± 1	9 ± 3	14 ± 2	18 ± 2	18 ± 3	19 ± 3	18 ± 3

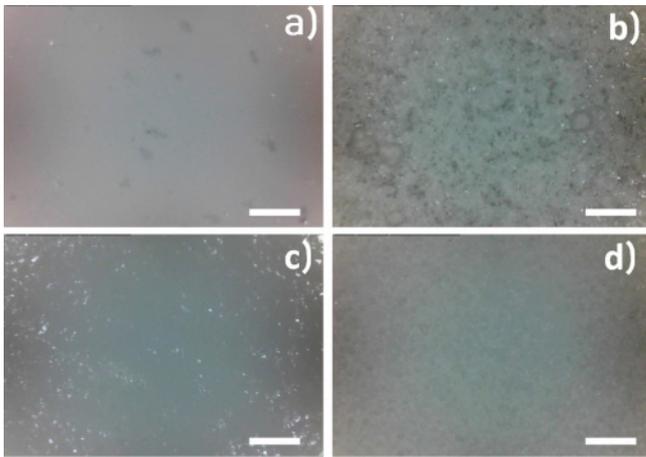


Figure 4. Surface morphological study and surface state of polyvinyl alcohol (PVA) mixtures according to boric acid and NaOH using a digital microscope: (a) Glass plate; (b) PVA/PEG; (c) PVA/boric acid; (d) PVA/boric acid/NaOH, $\times 250$, scale bar: 400 μm .

보이는 부분들(부분적으로 흰색 빛)이 관찰됨으로 인해 결과적으로 다소 거친 표면이 관찰되었다. PVA/붕산의 경우 PVA/PEG보다 거친 정도가 낮아지는 경향은 있었으나 상 분리 현상보다는 붕산과 PVA의 반응 정도가 불균일한 현상으로 인해 건조 시 표면으로부터 수분 증발 정도의 차이로 인한 굴곡이 형성되는 것으로 판단되었다. Figure 4(c)의 PVA/붕산/NaOH의 경우 균일한 반응성과 응집성이 향상됨에 따라 상 분리 없이 고르게 건조된 표면을 관찰할 수 있었다.

마우스 간의 절편 및 조직염색 결과. NaOH가 있는 조건에서 실제 생체 조직의 염색에 주는 영향 즉, 레진 및 화학물질에 대한 비특이적 염색반응의 여부와 슬라이스의 부피 변화 등을 염색 상태와 선명도 등을 통해 확인하고자 하였다. Figure 5는 마우스 간 조직에 대한 동결절편 작업 후 H&E 염색을 진행한 결과이다. 사진에서와 같이 모든 염색 사진에서 분홍색 세포질과 보라색 핵, 그리고 혈관 내 적혈구들이 관찰되었다. 그러나 PVA/PEG의 경우와 PVA/붕산의 경우, 다소 불분명한 세포질과 핵의 경계면과 과도하게 강하게 염색되는 경향을 확인할 수 있었다(Figure 4(a)와 4(b)). 더불어 시편의 균데균데 미세하게 쪼개지는 부분들이 발생하는 것을 관찰할 수 있었다. PVA/붕산/NaOH 레진에 의한 시편의 경우(Figure 4(c)), 고르게 염색이 되며 세포질과 핵, 그리고 혈관의 혈구들까지 구분이 상대적으로 명확하게 나타남을 확인하였다. 따라서, 유리 슬라이드 상의 슬라이스 크기 변화, 또는 유리 슬라이드로부터의 슬라이스 분리 등 잔존하는 화학 반응물 또는 레진에 의한 부반응은 발생하지 않는 것으로 결론 내렸다. 따라서, PVA/붕산/NaOH 포매용 레진은 뇌와 간과 같은 다양한 연조직에 대한 보다 정확한 조직학적 분석에 효과적으로 적용할 수 있을 것으로 판단된다.

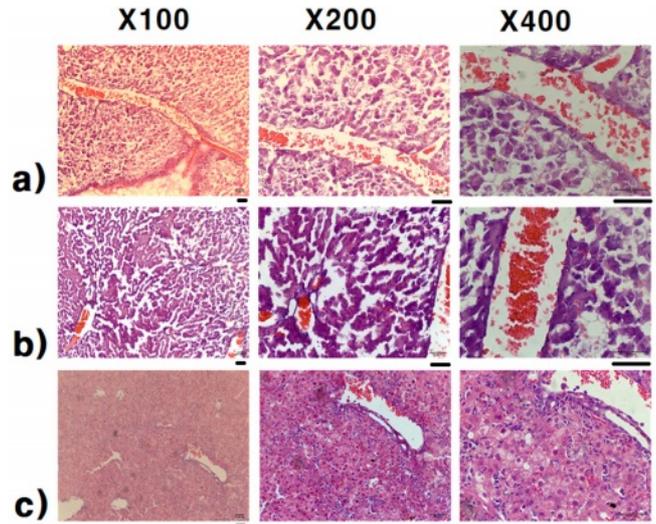


Figure 5. H&E stained slice microphotography of mouse liver: (a) polyvinyl alcohol (PVA)/polyethylene glycol (PEG) resin as a commercial resin; (b) PVA/boric acid resin; (c) PVA/boric acid/NaOH resin, scale bar: 50 μm .

결론

생체 조직의 동결절편 및 염색 효율의 향상을 위해 PVA와 붕산, 그리고 NaOH의 혼합물을 이용하여 포매용 레진의 조성을 최적화하는 방안을 연구하였다. NaOH 존재하에 PVA에 붕산의 함량에 따른 응집력, 동일한 압축 스트레스에 대한 저항값, 표면 관찰을 통하여 레진의 최적 조성을 구하였다. 또한 마우스 간을 적용한 조직학적 분석을 통해 PVA/붕산/NaOH 혼합 레진의 절편 슬라이스 효과와 염색 효과를 대조군과 비교해 보았다. 다양한 실험 결과, 10 wt% PVA와 2 wt%의 붕산, 0.3 wt% NaOH가 동결 절편용 포매용 레진용으로 적절한 최적 특성을 나타냈으며, 또한 개선된 절편 및 염색 효율을 보였다. 따라서 이 새로운 포매용 레진 조성물은 생체 재료를 포함한 다양한 조직 검사에 광범위하게 적용될 수 있을 것이다.

감사의 글: 본 연구는 2021년도 단국대학교 대학 연구비 지원으로 연구되었음.

이해상충: 저자는 이해상충이 없음을 선언합니다.

참고 문헌

1. Lee, K. J. D.; Knox, P. J. Resin Embedding, Sectioning, and Immunocytochemical Analyses of Plant Cell Walls in Hard Tissues. *Methods Mol. Biol.* **2014**, 1080, 41-52.

2. Yahiro, J.; Nagato, T. Application of Ion Etching to Immunoscanning Electron Microscopy. *Microsc. Res. Tech.* **2005**, *67*, 240-247.
3. Murray, G. I.; Burke, M. D.; Ewen, S. W. Enzyme Histochemistry on Freeze-dried, Resin-embedded Tissue. *J. Histochem. Cytochem.* **1989**, *37*, 643-652.
4. Britten, K. M.; Howarth, P. H.; Roche, W. R. Immunohistochemistry on Resin Sections: a Comparison of Resin Embedding Techniques for Small Mucosal Biopsies. *Biotech. Histochem.* **1993**, *68*, 271-280.
5. Mondon, J. A.; Howitt, J.; Tosiano, M.; Kwok, K. W. H.; Hinton, D. E. A Simple Osmium Post-fixation Paraffin-embedment Technique to Identify Lipid Accumulation in Fish Liver Using Medaka (*Oryziaslatipes*) Eggs and Eleutheroembryos as Lipid Rich Models. *Mar. Pollut. Bull.* **2011**, *63*, 86-90.
6. Schneider, G.; Voigt, S.; Alde, A.; Berg, A.; Linde, D.; Otto, K.; Enkelmann, A.; Schnabelrauch, M. Iodine Doping of a Photocuring, One-component Embedding Medium for μ CT and Histology. *Br. J. Radiol.* **2021**, *94*, 20210129.
7. Nolta, N. F.; Liberti, A.; Makol, R.; Han, M. Gelatin Embedding and LED Autofluorescence Reduction for Rodent Spinal Cord Histology. *J. Neurosci. Methods* **2020**, *1*, 108924.
8. McDonald, K. L. Rapid Embedding Methods Into Epoxy and LR White Resins for Morphological and Immunological Analysis of Cryofixed Biological Specimens. *Microsc. Microanal.* **2014**, *20*, 152-163.
9. Erben, R. G. Embedding of Bone Samples in Methylmethacrylate: An Improved Method Suitable for Bone Histomorphometry, Histochemistry, and Immunohistochemistry. *J. Histochem. Cytochem.* **1997**, *45*, 307-313.
10. Nagashima, K.; Zheng, J.; Parmiter, D.; Patri, A. K. Biological Tissue and Cell Culture Specimen Preparation for TEM Nanoparticle Characterization. *Methods Mol. Biol.* **2011**, *697*, 83-91.
11. Ticha, P.; Pilawski, I.; Yuan, X.; Pan, J.; Tulu, U. S.; Coyac, B. R.; Hoffmann, W.; Helms, J. A. A Novel Cryo-embedding Method for In-depth Analysis of Craniofacial Mini Pig Bone Specimens. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 19510.
12. Cohen, M.; Varki, N. M.; Jankowski, M. D.; Gagneux, P. Using Unfixed, Frozen Tissues to Study Natural Mucin Distribution. *J. Vis. Exp.* **2012**, *21*, e3928.
13. Bronson, D. D.; Bidmon, H. J.; Iomaschko, K. H.; Stumpf, W. E. Novel Applications of Acrylamide for Cryosectioning of Isolated Cells, Tissues, and Arthropods. *J. Histochem. Cytochem.* **1991**, *39*, 1289-1293.
14. Gavin, T.; Loryn, S. The Use of Optimal Cutting Temperature Compound Can Inhibit Amplification by Polymerase Chain Reaction. *Diagn. Mol. Pathol.* **1997**, *6*, 298-303.
15. Lim, J. I.; Park, H. K. Boric Acid-enhanced Embedding Medium for Cryomicrotomy. *Acta Histochem.* **2012**, *114*, 296-299.
16. Clark, H.; Gorlin, R. J. On the Use of a Modified Fifteen-minute Hematoxylin and Eosin Tissue Stain. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* **1985**, *11*, 431-432.
17. Jakubovský, J.; Guller, L.; Černá, M.; Balážová, K.; Polák, S.; Jakubovská, V.; Babál, P. Fluorescence of Hemaotoxylin and Eosin-stained Histological Sections of the Human Spleen. *Acta Histochemica* **2002**, *10*, 353-356.

출판자 공지사항: 한국고분자화학회는 게재된 논문 및 기관 소속의 관할권 주장과 관련하여 중립을 유지합니다.