

제8장. 파라핀 침투(Paraffin infiltration)와 포매(Embedding)



조직내에 paraffin이 침투, 매몰되는 과정으로 tissue안에 air bubble이 생겼거나 dehydration이 uncomplete하거나, fixation이 잘못될 경우 모두 이 과정에서 차질이 생겨, 결국 section시 문제가 나타나게 된다.

투명하게 된 재료에 파라핀을 침투시키는 방법으로 파라핀이 녹지 않는 낮은 온도의 incubator (35°C) 내에서 행한다. 다음에 60°C incubator에 넣어서 완전히 파라핀이 침투하여 매몰되도록 한다



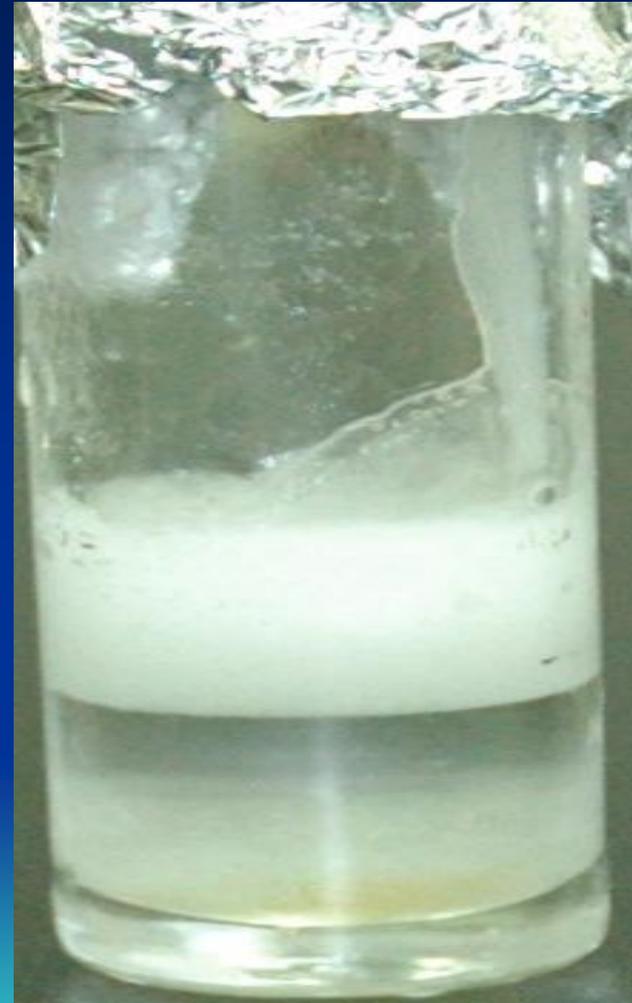
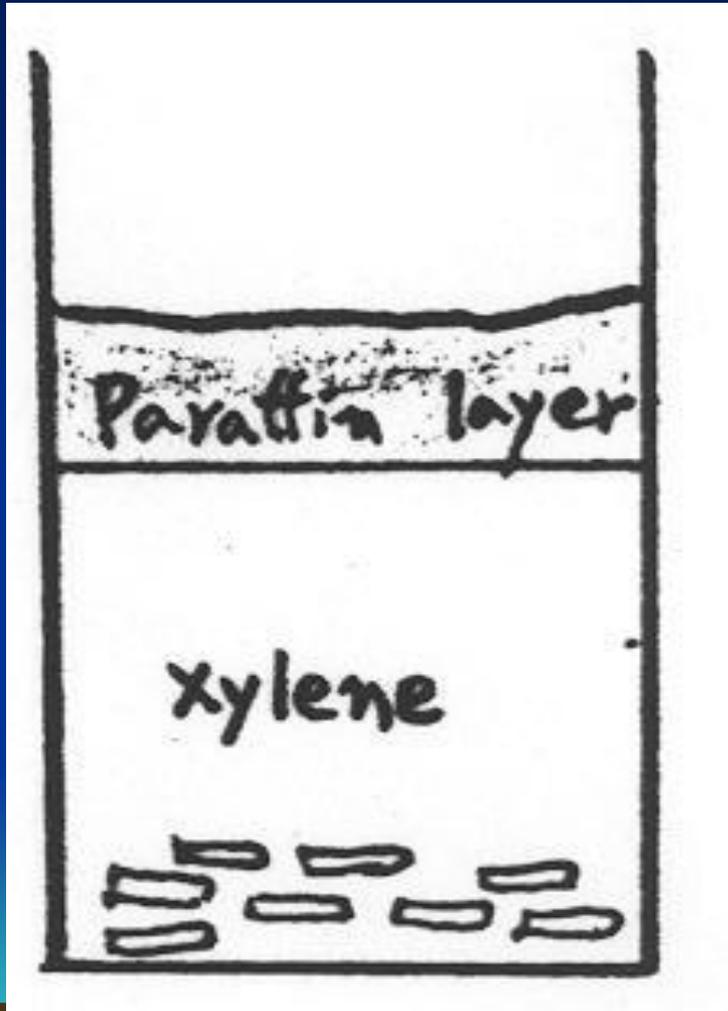
- Paraffin : Botanical work에는 50 ~58℃ 사이가 좋다. Paraffin은 온도에 민감함으로 room temperature에 특히 신경을 써야한다.
- Paraffin의 선택 ; Paraffin은 melting point가 52℃인 soft paraffin과 melting point가 58℃인 hard paraffin 두 종류가 있다. 따라서 oven내의 온도는 melting point 보다 1-2℃ 높은 온도를 유지해야만 재료에 충분하게 침투될 수 있다.



1. 파라핀 침투 및포매 방법

- 1) 거즈에 쌓여 있는 material을 G4에서 꺼내어 vial에 넣고, 냉장고에 저장된($4-6^{\circ}\text{C}$) cold xylene(약 10 ml) 약간을 넣는다. 그 다음 xylene 양의 10%-25%(재료에 따라 다름) 가량의 chloroform을 넣는다.
- 2) 녹아있는 파라핀을 vial 벽면을 따라 조심스럽게 부어서 층이 생기도록 한다
- 3) 35°C incubator에 옮긴다. 35°C 에서는 paraffin이 온도에 의해서 melt되지 않으며, xylene의 작용에 의해서 solid layer가 서서히 녹는다.

파라핀 침투





- Cold xylene을 사용하는 이유 :
A teaspoonful of paraffin을 넣었을 때 온도 차에 의해 layer를 형성하기 위함.
- Chloroform을 넣는 이유 :
 - ① paraffin의 비중(specific gravity)을 올려, 용해 표면에 고체 paraffin 층이 형성될 수 있도록 유도하며
 - ② paraffin solvent이다.



4) 몇 시간 마다 계속 check하여 solid layer가 없어지거나(5-7 hours) 가운데 구멍이 생길 정도이면, 계속 a teaspoonful of paraffin을 공급하여 solid layer을 형성시킨다.

5) 이 상태로 paraffin 포화상태까지 반복한다.

* 조직의 특이성에 따라 포화되는데 걸리는 시간이 틀리며 보통 7-10일 정도 걸린다. Vial 안에 결정체 (crystalline layer)가 생기면 이때가 포화된 상태이며, 보통 이 상태에서 하루 정도 두는데, 2-3일 두어도 무방함.



6) 포화상태에 도달하면 vial을 60°C oven 에 옮긴다. Paraffin-layer가 완전히 녹으면 1-4 hours 사이의 간격으로 paraffin + xylene을 약간 버리고 같은 양의 순수 paraffin을 채워준다. 이 과정을 1일 2-3회, 7일정도 반복한다.

* Bottom-test ; Vial 안에 완전히 paraffin으로 되었는지의 여부는 paraffin bottom test로 결정한다. Cold plate에 순수한 paraffin 한 방울을 떨어뜨리면 bottom 모양이 나타나지만 xylene이 섞여 있으면, bottom이 퍼지게 나타난다. 완전한 bottom이 되면 paraffin mold로 제작한다.

