

2장. 식물조직배양을 위한 시설과 장비

식물 조직배양은 식물의 기관, 조직 또는 세포 등을 이용하여 영양분이 들어있는 기내에서 배양하는 것으로 이를 위해서는 철저한 준비가 필요하다. 실험을 하기 전에 이용할 식물체, 사용할 부위, 얻고자 하는 목적 등 여러 사항을 고려해야 한다. 결정된 사항에 따라 실험자는 적합한 시설, 장비 그리고 배지를 설정해야 하는데 이는 각 연구실에 따라 약간의 차이가 있지만 기본적인 것은 다음과 같다.

1절. 시설

공간적인 배치를 잘 해야 하며 일어날 수 있는 모든 가능성의 contamination을 피하기 위한 시설을 설계해야 한다.

① 배양실

아무런 외부의 해를 받지 않고 성장하기 위한 공간이며 일정한 온도, 광도, 일장과 무균상태까지 고려해야 한다. 식물의 감염을 막기 위한 소독이 중요하다.

② 멸균실

배지나 기구를 멸균하는 공간으로 Autoclave, 대형 교반기 그리고 환기시설이 필요하다.

③ 무균실

따로 분리된 방을 사용해야 하며 Clean bench, 배양병 보관대, Air shower등과 환기시설이 필요하다.

④ 실험실

세포나 조직관찰, 인위적 조작 처리시설을 하기 위한 현미경, 분석기구가 있는 공간으로 넓은 실험대와 기구를 놓기 위한 책상이 필요하다. 실험대 사이의 공간은 최소 80cm 이상의 간격이 유지되어야 한다. 중앙시험대, 시약 및 장비, 소형 교반기, pH meter, 전자저울 등이 필요하다.

⑤ 검정실

바이러스 검사장비, 원심분리기, 각종 검사장비 등을 이용하여 바이러스를 검사한다.

⑥ 저장실

Fan Coil Uunit, 저장선반, Tray, 사다리 등을 이용하여 시료 등을 저장한다.

⑦ 천칭실

정확한 질량을 재는 곳으로 대부분 상업화 된 솔루션을 사용하지만 직접 만들 때는 천칭실에서 정확한 질량을 잰다.

⑧ 창고

실험실과 멀리된 곳에 있어야 하며 식물조직배양에 필요한 배양용기, 시약 및 배지 등을 저장하는 공간이다.

⑨ 세척실

싱크대, 증류수 채취기, 건조대, 초음파세척기, 피펫세척기 등이 있으며 물을 많이 사용하기 때문에 바닥은 내수성이 있고 깨끗한 소재를 사용하는 것이 좋다.

⑩ 온실

조직배양 후에 식물을 재배하기 위하여 필요한 장소로 대단위로 배양할 경우에는 순화용과 재배용 온실로 구분하여야 하며 세균의 감염을 피하기 위해 습도를 낮은 상태로 유지해야 한다.

2절. 장비

조직배양의 주요한 작업은 기구의 세척, 배지의 조제, 재료의 접종과 이식과정이다. 이러한 과정에서 무균상태를 유지하는 것이 굉장히 중요한 요소이며 이 작업과정에서 필요한 설비와 장비는 다음과 같으며 실험실 규모에 따라 적당한 전력, 가스, 물이 공급되어야 한다.

2-1. 세척장비

| | | |
|--|---|---|
| <p style="text-align: center;">싱크대</p>  | <p style="text-align: center;">증류수채취기</p>  | <p style="text-align: center;">건조기</p>  |
| <p style="text-align: center;">초음파세척기</p>  | <p style="text-align: center;">자동세척건조기</p>  | <p style="text-align: center;">피펫세척기</p>  |

2-2. 멸균장비

| | | |
|---|---|---|
| <p style="text-align: center;">고압멸균기 (Auto clamp)</p> | <p style="text-align: center;">전자레인지 (Micro wave oven)</p> | <p style="text-align: center;">여과멸균장치 (Filter sterilization)</p> |
|  |  |  |

- 고압멸균기 : 121℃, 15-20분간 멸균. 멸균시간이 길면 agar가 굳지 않는다. 또한 멸균 시 성분변화를 일으키는 것들로써 항생제, 효소, sucrose, colchicine, zeatin, 지베렐린산 등이 있다.
- 전자레인지 : 배지를 녹이거나 용액을 가열할 때 주로 사용되며 배지의 살균에도 이용될 수 있다.
- 여과멸균장치 : Milipore filter는 고온, 고압 멸균에 의해 분해되기 쉬운 물질 (지베렐린) 등을 filter에 통과시켜 멸균한다.

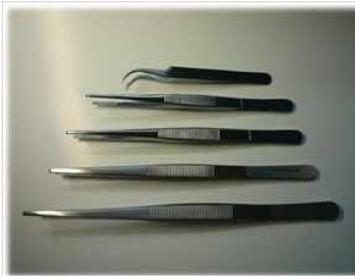
2-3. 배지 제조용 장비

| P.H. meter | 가열교반기 | 전자저울 | 시약병 |
|---|---|--|---|
|  |  |  |  |
| 비이커 | 삼각플라스크 | Para film | Aluminium foil |
|  |  |  |  |

- pH meter : KOH, NaOH, HCl을 첨가할 때마다 변화된 pH를 나타낸다.
- 가열교반기 (Hot plate & stirrer) : magnetic bar의 회전과 열을 이용하여 지속적인 교반
- 전자저울 : 0.01g 정량, 0.001mg 정량
- 시약병 : 배지의 stock 저장용으로 사용
- 비커 : 시약의 용해, 배지 조합에 사용
- 삼각 플라스크 : 배양용기
- 배양 용기 마개 : 알루미늄 호일, plug, 파라필름
- * 배지 제조에서 상위의 멸균 장비와 세척장비도 같이 필요 시 같이 이용된다.

2-4. 배양 재료의 분리와 접종용 장비

- 무균대 (laminar air flow cabinet, clean bench) : 감염의 기회를 줄이기 위해 사용. 외부로부터 흡입된 공기를 우선 거친 filter에서 먼지를 거르고 다음에 아주 섬세한 filter와 내장된 자외선등으로 미생물을 살균한 다음 작업대에 분출시킨다.
- 입체현미경 (Stereo microscope) : 60 ~ 70배 배율, 생장점배양, 캘러스 관찰
- 광학현미경 (Light microscope) : 100 ~ 1000배
- 형광현미경 (Fluorescence microscope) : 형광장치를 갖춘 현미경-> FDA, FITE, RITE같은 형광시약처리 → 세포나 조직을 뚜렷한 상태관찰
- 도립현미경 (Inverted microscope) : 페트리디쉬같은 부피가 있는 목적물 관찰
- 알코올램프 : 핀셋이나 쇠킴이 등의 소독에 사용
- 초고속원심분리기 (Ultracentrifuge) : 40,000rpm
- 고속원심분리기 (High Speed refrigerated centrifuge)
- Petri dish : 배양용기나 재료 절단 시 사용된다.
- 비커, 플라스크 등의 배양용기 : 사용 전 멸균이 필수적이다.
- 핀셋 : 재료의 조제나 이식에 사용
- 가위, 메스, 바늘 : 재료의 절단 용구
- 증류기 : 물을 가열하여 생긴 수증기를 냉각하여 응축하기 때문에 물의 비등 점 이상의 불순물만 제거 된다.
- 정량용 유리기구 : 피펫, 메스실린더, 메스플라스크

| 무균대 | 실체현미경 | 알코올램프 |
|---|---|---|
|  |  |  |
| 원심분리기 | 메스 홀더 | 핀 셋 |
|  |  |  |