

Chapter 5.

해부 및 관류 고정 Dissecting & Perfusion fixation

식품생명과학부/영양생화학실험
이 혜 련

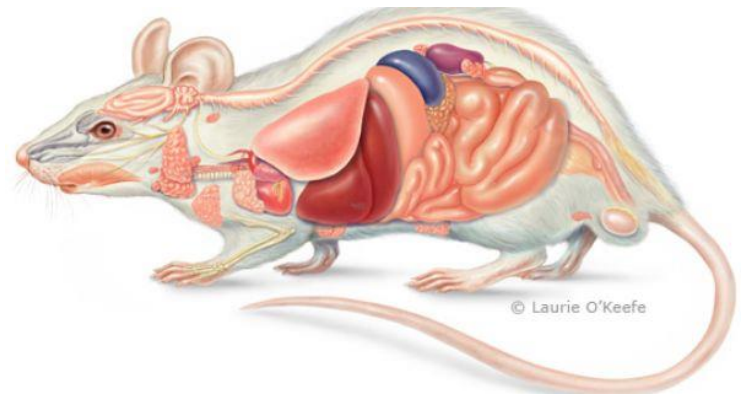


인제대학교
INJE UNIVERSITY

Introduction

I. 실험 개요

- 척추동물의 한 종류인 흰쥐의 내부구조를 관찰
- 여러 가지 해부 도구와 조작방법 익힘
- 장기를 적출하고 채혈방법 익힘
- 쥐는 구하기 쉽고 크기가 적당하여 실험용, 해부용으로 가장 많이 쓰이고 있다.



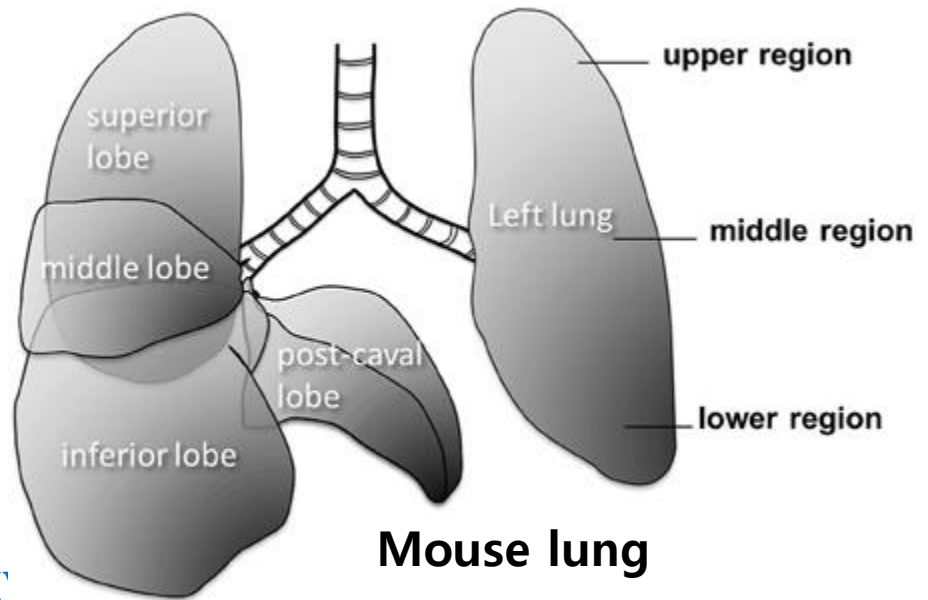
Introduction

II. 설치류(쥐)의 특징

- 인간과 유사한 구조를 가지고 있다.
- **공통점**: 생물학적으로 인간과 유사한 척추동물이며 포유류
- **차이점**: 인간 - 폐 좌 2엽 3엽 총 5엽, 담낭 있음, 맹장 퇴화
rat- 폐 좌 1엽 우 4엽 총 5엽, 담낭 없음, 맹장 발달



Human lung IN JE UNT



Mouse lung

Introduction

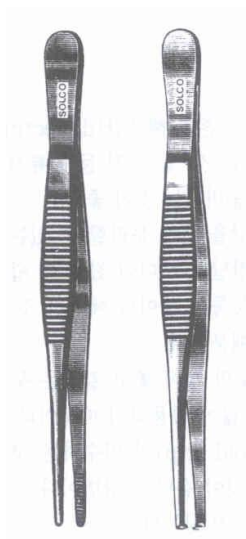
III, 기본적인 해부도구 사용법과 주의사항



메스



메스와 핀셋 쥐는 법-집필식과 악수식



핀셋 과 가위



배를 절개할 때에는
뭉뚝한 끝이 뱃속으
로 들어가도록 두고
절개한다.



Forcep(포셉)

Introduction

III, 기본적인 해부도구 사용법과 주의사항



해부침
(dissecting needle)



해부핀
(dissecting pins)



탐식자(probe)

:어떤 관상구조를 탐지할 때 그 관안에 직접 삽입하는 도구이다

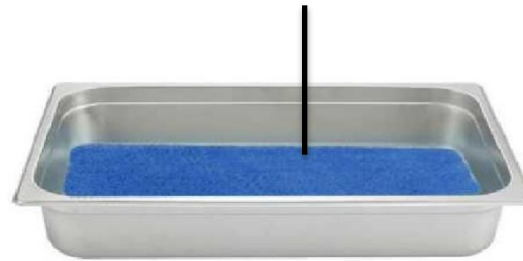
Introduction

III, 기본적인 해부도구 사용법과 주의사항



마취박스
(Anesthesia Box)

해부 비닐패드
Dissecting Vinyl pad



해부판(dissecting tray)

Introduction

IV. Fixation

- 간장, 신장, 심장, 등의 기관이나 조직을 외부에 노출한 상태에서 치료나 연구를 행할 때

- **고정의 5대 목적**

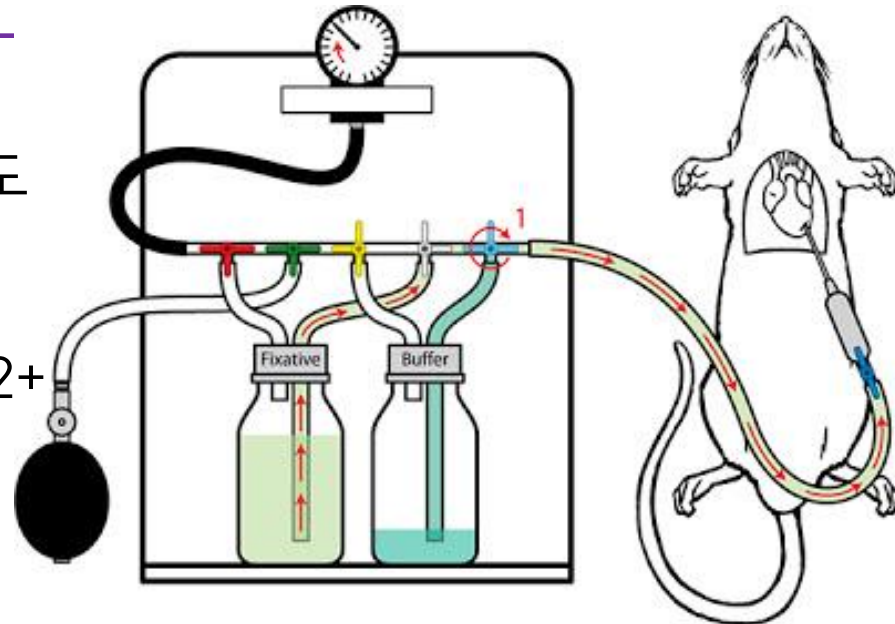
- ① **보존효과**(preservation : autolysis의 방지)
- ② **치사작용**(killing : 세포의 기능을 정지),
- ③ **침투작용**(penetration : 조직 내부로의 고정액 확산),
- ④ **경화작용**(hardening : 유동성인 원형질의 반고체화, sol → gel)
- ⑤ **매염작용**(mordanting action : 염색 작용)

Introduction

관류고정(perfusion fixation)

- 조직 내부를 균일하게 고정을 유도
- 뇌, 폐, 췌장 등 장기를 관류 고정
- 관류액(perfusate): Na^+ , K^+ , Ca^{2+} 조성의 염류용액 사용
4% PFA(paraformaldehyde) 이용
- 관류 시간은 5~20min(부위의 크기에 따라 다름)

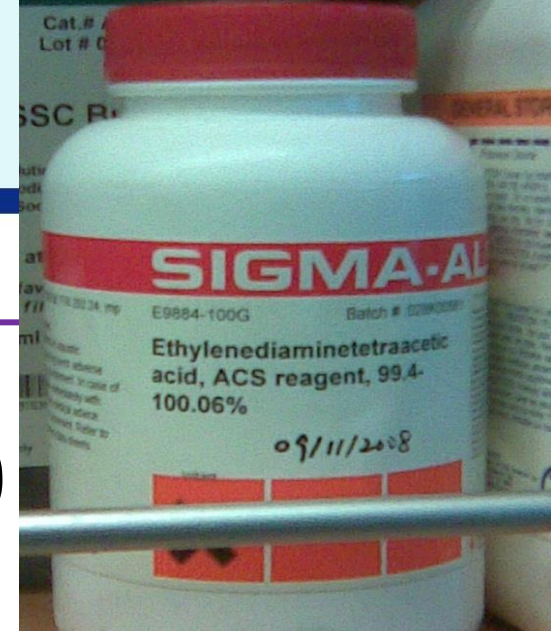
- (1) 18-23 G needle
- (2) 18 G needle catheters
- (3) 12-13 G needles
- (4) 25 G syringes



Introduction

EDTA

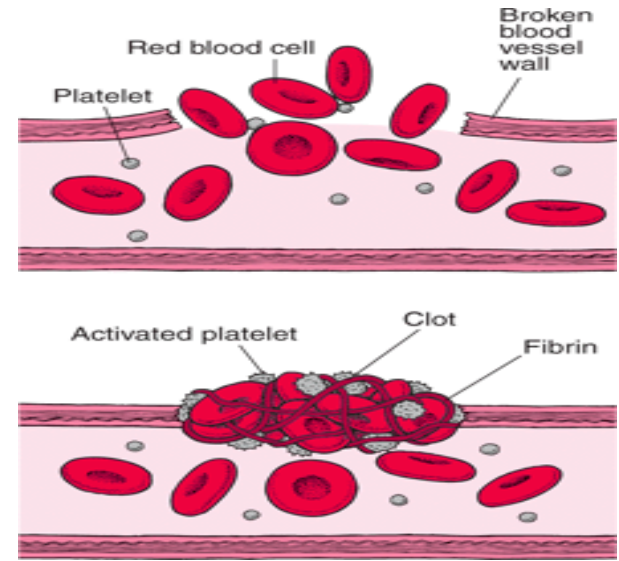
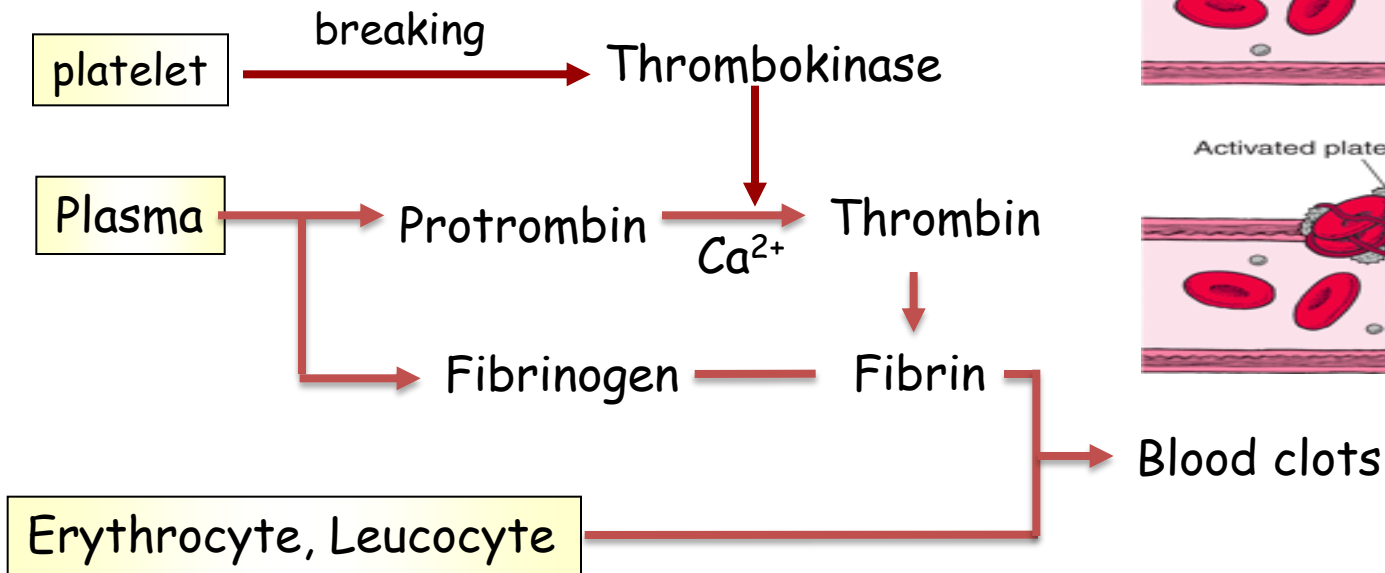
- EDTA(**E**thylene**D**iamine**T**etraacetic**A**cid)
- 항응고제 (anticoagulant)
- 혈액응고에 필요한 Ca^{2+} 을 제거하는 역할
- calcium ion이 Thrombokinese와 결합하여 반응하는 것을 저해
- EDTA는 기타 혈구, 형태 및 혈소판에 변화 x
- 혈액학적 검사에 많이 이용



Introduction

Moake, M.D et al. (2006) The Merck Manual of Medical Information Second Home Edition

Blood Clots: Plugging the Breaks



When an injury causes a blood vessel wall to break, platelets are activated. They change shape from round to spiny, stick to the broken vessel wall and each other, and begin to plug the break. They also interact with other blood proteins to form fibrin. Fibrin strands form a net that entraps more platelets and blood cells, producing a clot that plugs the break.

Introduction

혈액응고방지법

- 물리적 방법

- 1) 진공보관 : 혈소판 파괴 억제
- 2) 저온처리: thrombokinase 작용을 억제하여 thrombin 생성억제
- 3) 유리막대로 젓기: fibrin이 유리막대에 달라붙어 혈병 형성 억제

- 화학적 방법

- 1) sodium oxalate, sodium citrate : Ca^{2+} 제거
- 2) EDTA: thrombokinase 작용 억제하여 thrombin 생성 억제

- 생물학적 방법

- 1) 헤파린(heparin) - 간에서 생성, thrombokinase 작용을 억제

Introduction

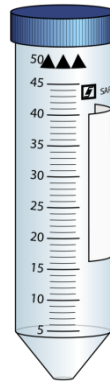
Rat liver perfusion surgery



Rat Liver
Perfusion Surgery

Material and Methods

- saline (0.9% NaCl)
- 마취제: ethyl ether
- EDTA
- 비커
- 탈지면
- **코니칼튜브(Conical tube)**
- 핀셋
- 가위
- 주사기(채혈용, 관류용)
- **나비바늘(Scalp vein set , 관류용)**
- E-tube, E-tube rack
- 해부판, 해부핀
- 은박지



Material and Methods

실험동물



고지방 식이



고지방 식이
+참죽

- 품종명: balb/C종
- 연령: 6주령
- 체중: 30 g
- 성별: male
- 해부 일시 등 기록: 2016. 11.11



Material and Methods

- 1) 쥐 무게 측정
- 2) Ethyl ether로 마취 (mouse가 죽지 않도록 관찰)



Material and Methods

3) 해부판에 쥐의 배가 위로 향하도록 하여 사지 고정

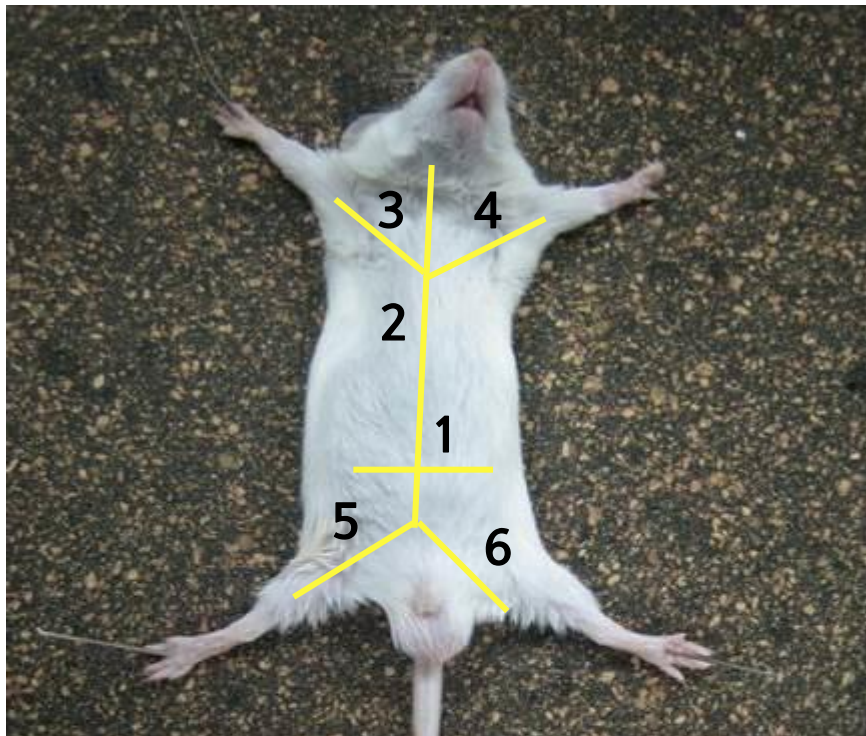
4) 마취 tube를 씌워 해부 중에 마취상태가 유지



Material and Methods

절개

- 5) 복부 가죽을 핀셋으로 잡아당긴 후
- 6) 배 아랫부분에 가위 집을 낸다
- 7) 해부용 가위로 갈비뼈까지 가른다 (Y자).



Material and Methods

8) 털가죽을 핀셋으로 잡아당기면서 해부칼로 떼어낸 다음 핀으로 고정시킨다.



Material and Methods

- 9) 배의 근막 절개한 다음 내장 전체가 드러나도록 젖힌다.
- 10) 가른 곳은 고정용 가위로 배가 벌려진 상태로 고정

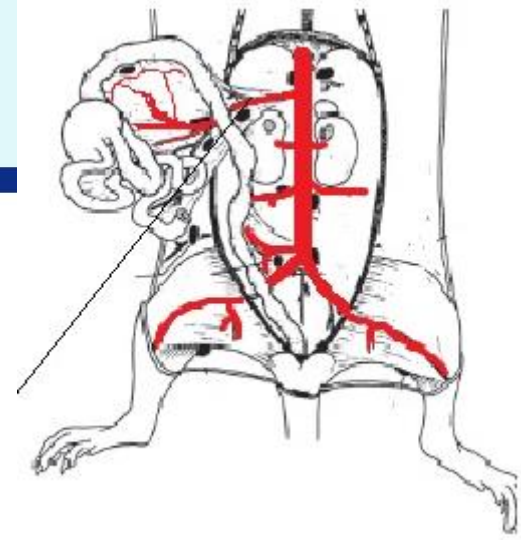




Material and Methods

채혈(bleeding)

- 10) 핀셋으로 장기를 넘기며 동맥을 확인한다.
· 확인한 동맥으로부터 채혈한다.
- 11) 채혈한 혈액을 1.5ml tube에 넣은 후 냉동 보관한다.

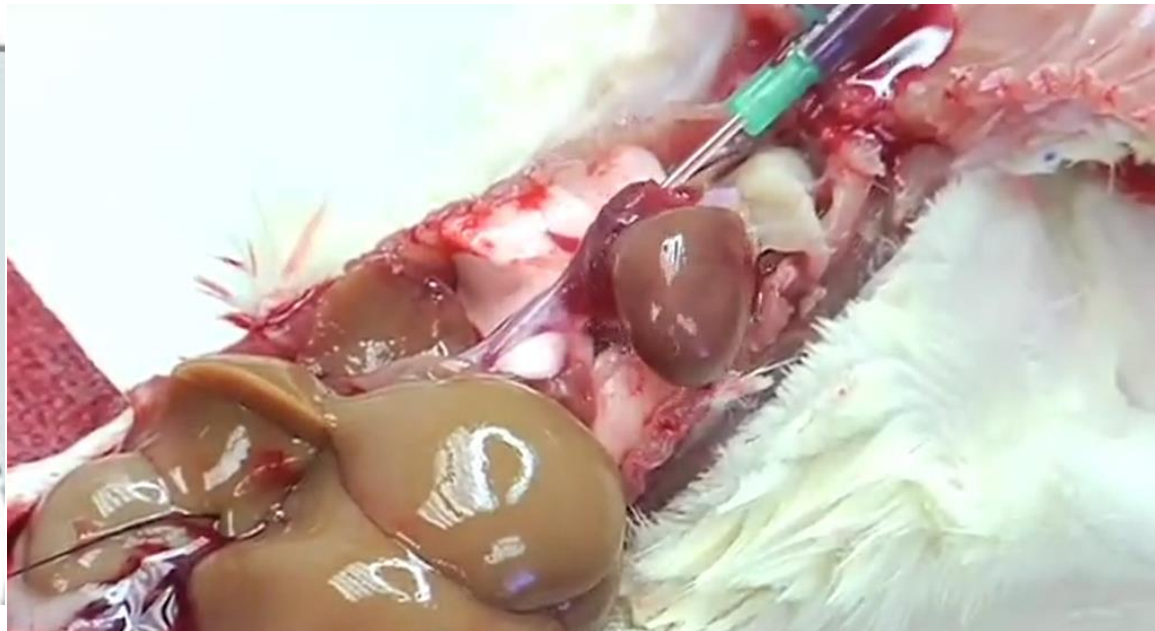
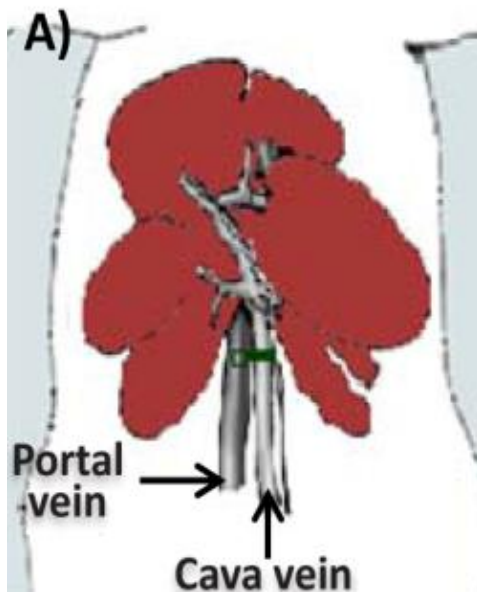


Material and Methods

관류(perfusion)

10) 식염수를 준비한다.

11) 나비주사기를 이용해서 관류를 한다

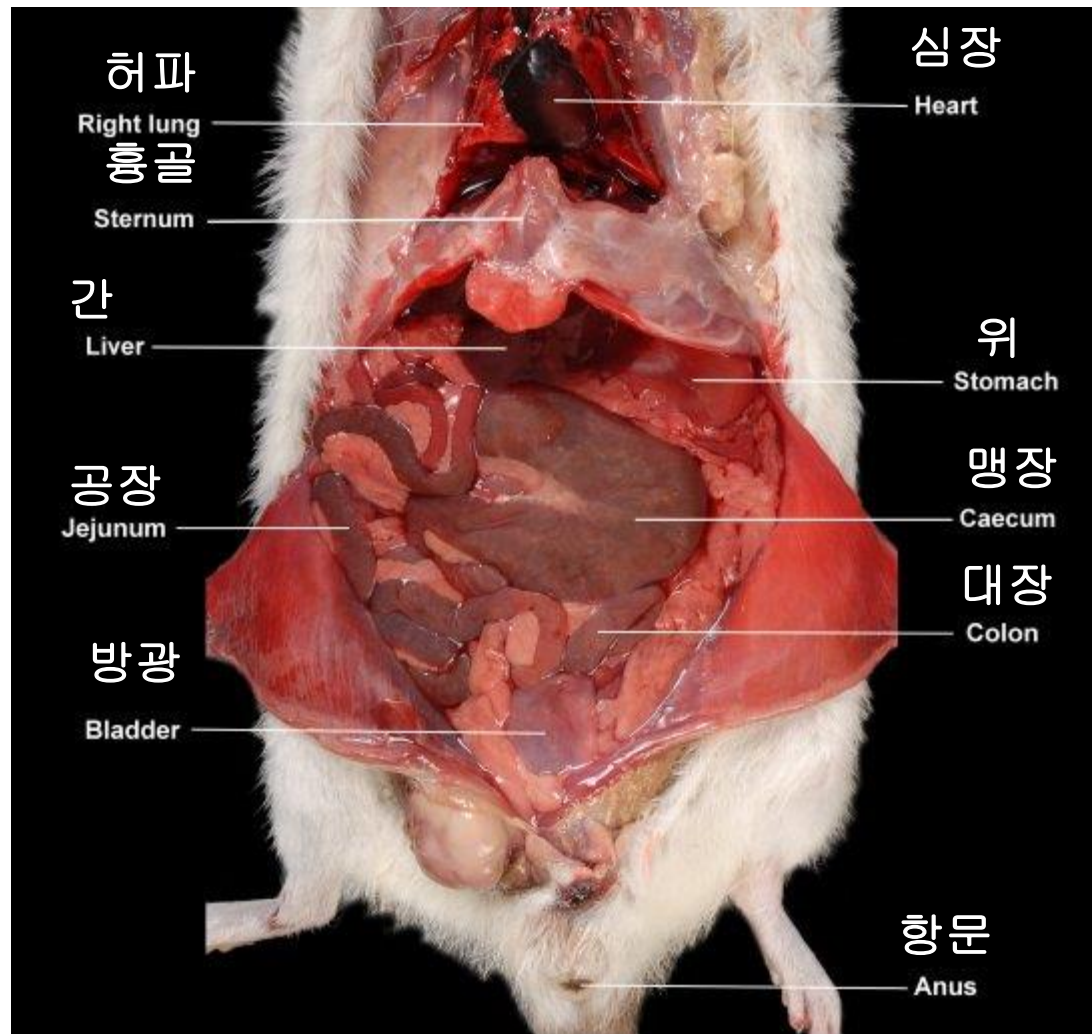


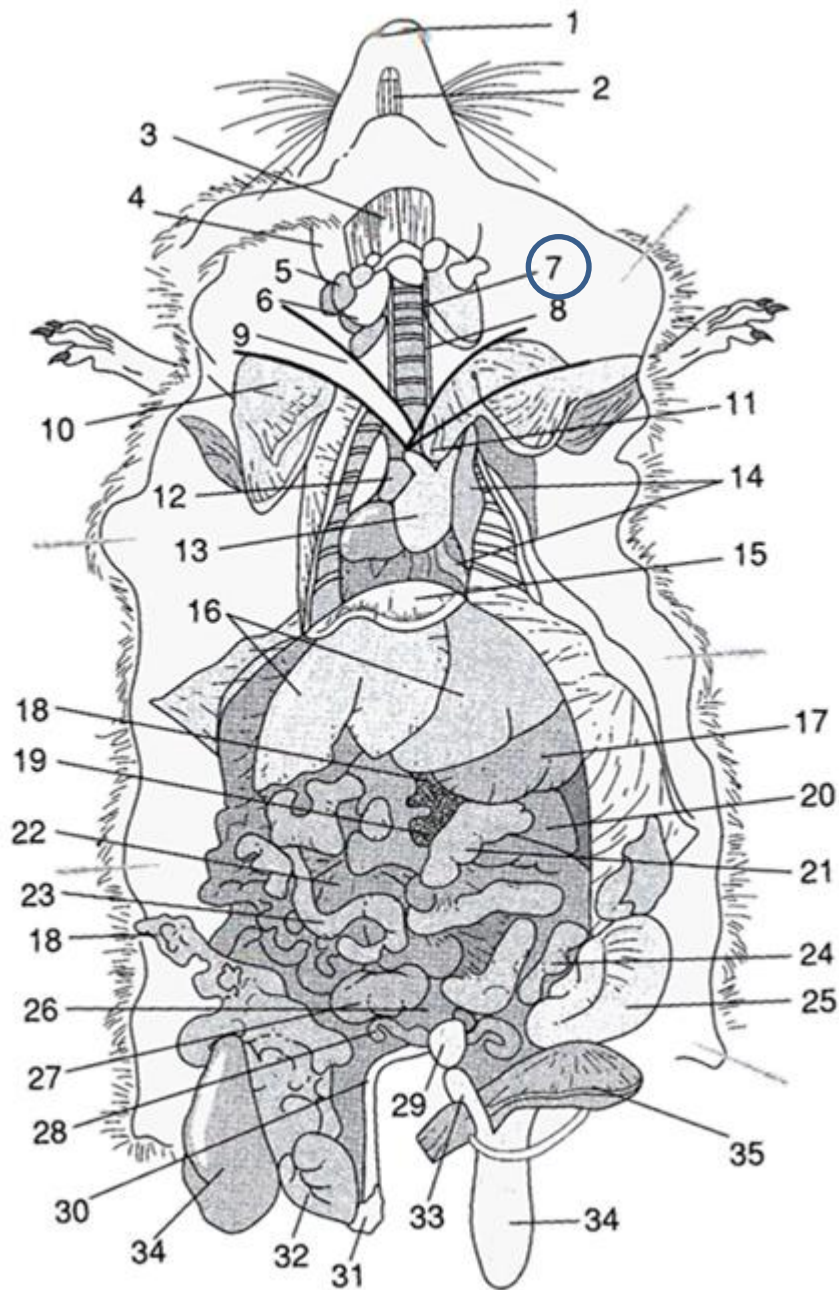
Results and discussion



Results and discussion

Rat의 주요 장기 명칭





1. 외비공 : External nare
2. 절치 : Incisor tooth
3. 악이복근 : Digastric muscle
4. 교근 : Masseter
5. 이하선 : Parotid gland
6. 악하선 : Submandibular gland
7. 갑상선 : Thyroid gland
8. 기관 : Trachea
9. 총경동맥 : Common carotid artery
10. 쇄골하동맥 : Subclavian artery

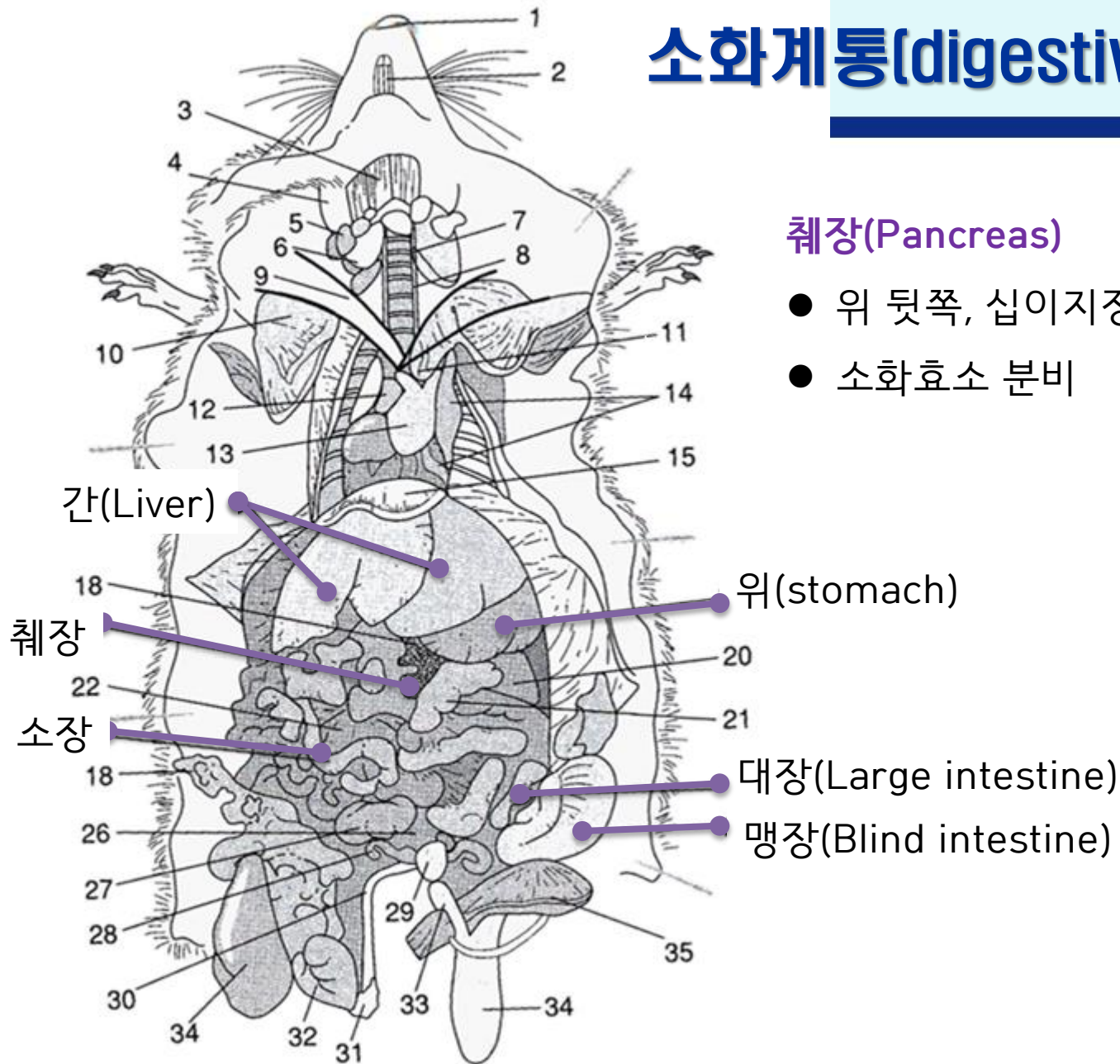
11. 흉선 : Thymus
12. 심방 : Atrium
13. 심장 : Heart
14. 폐 : Lung
15. 횡격막 : Diaphragm
16. 간장 : Liver
17. 위 : Stomach
18. 지방체 : Fat body
19. 췌장(이자) : Pancreas
20. 신장 : Kidney
21. 비장 : Spleen
22. 장간막 : Mesentery
23. 소장 : Small intestine

24. 대장 : Large intestine
25. 맹장 : Blind intestine (cecum)
26. 직장 : Rectum
27. 요관 : Ureter
28. 정낭 : Seminal vesicle
29. 방광 : Urinary bladder
30. 정삭 : Spermatocord
31. 부고환 : Epididymis
32. 고환, 정소 : Testis
33. 음경 : Penis
34. 음낭 : Scrotum
35. 복근 : Abdominal

소화계통(digestive system)

췌장(Pancreas)

- 위 뒷쪽, 십이지장에 접하여 존재
- 소화효소 분비

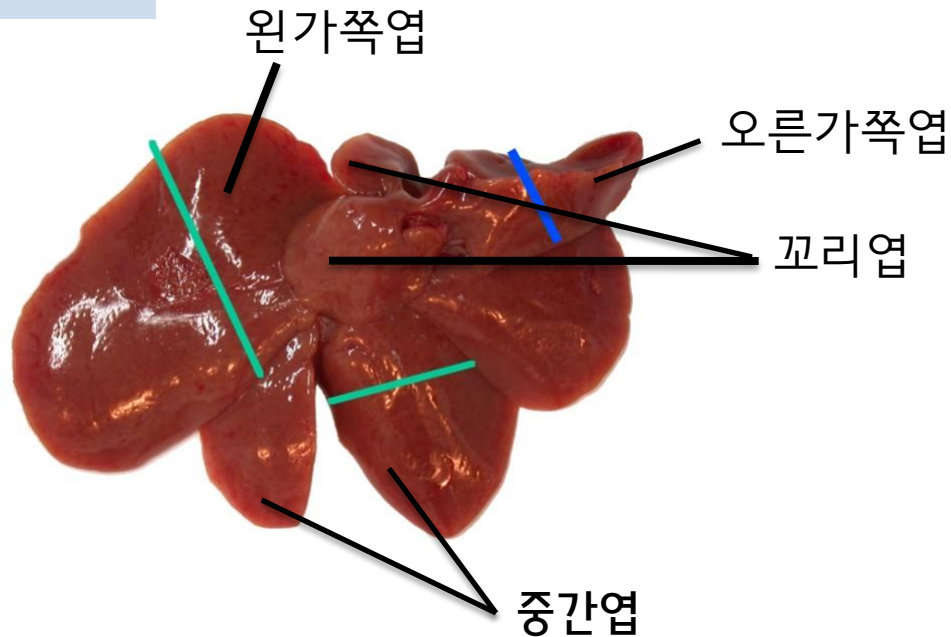


소화계통(digestive system)

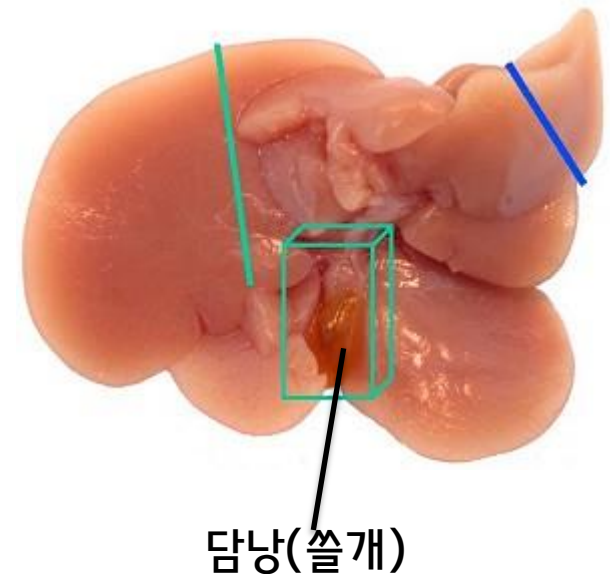
간(liver)

- 마우스는 담낭(쓸개)이 있지만,
- 랫드는 담낭이 없어 간에서 생산된 담즙은 십이지장으로 분비된다

Rat liver



Mouse liver



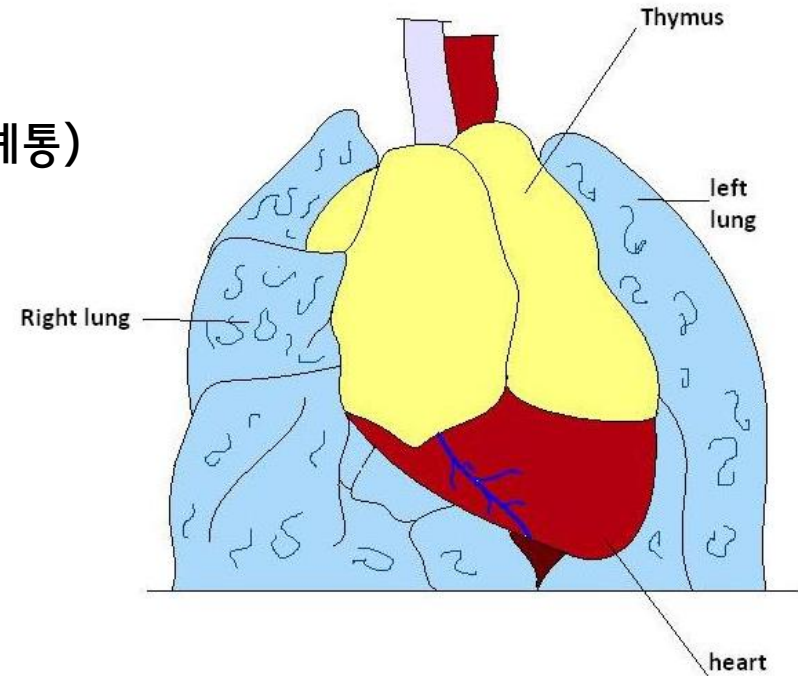
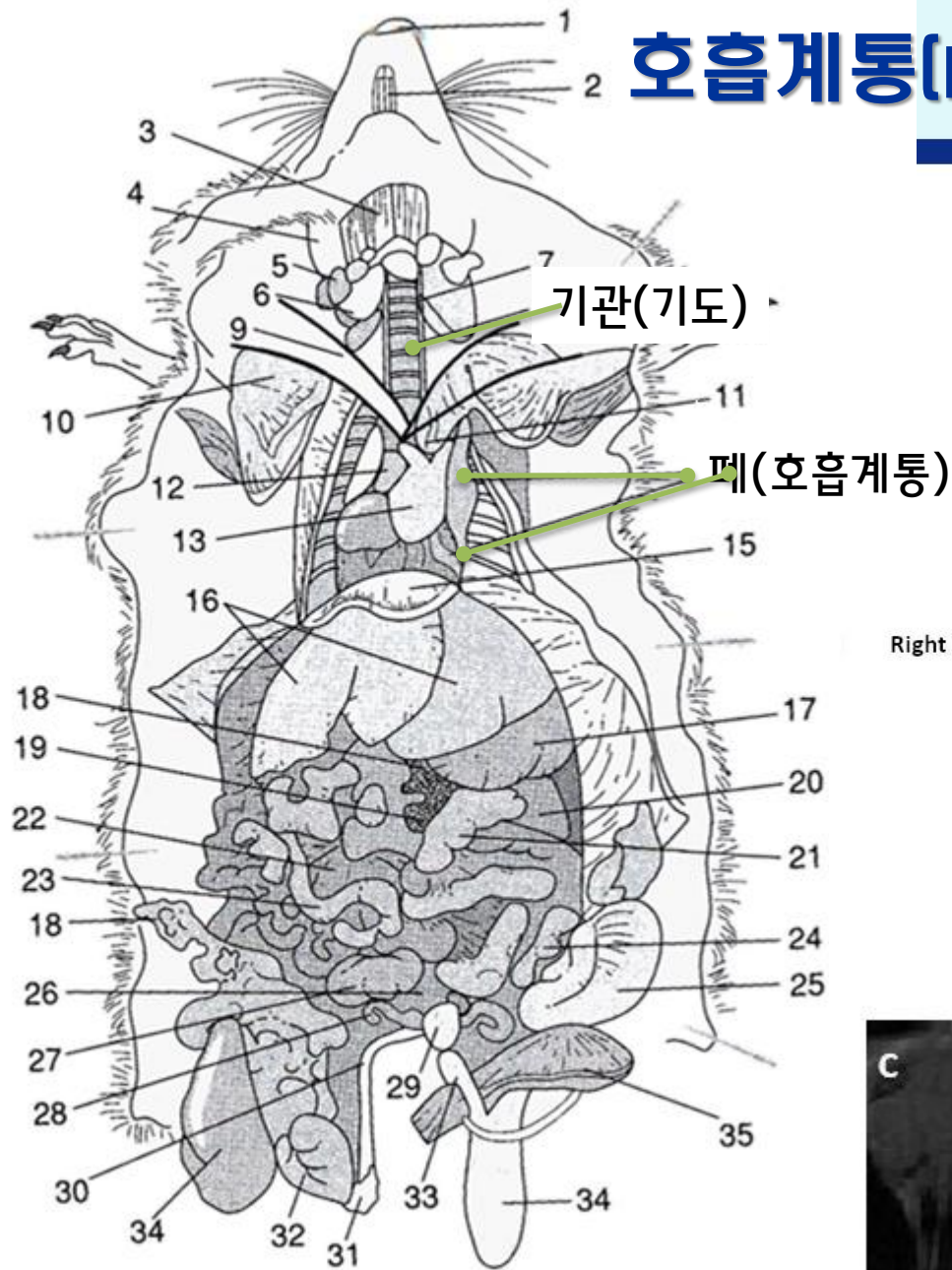
소화계통(digestive system)

장(intestine) of Rabbit

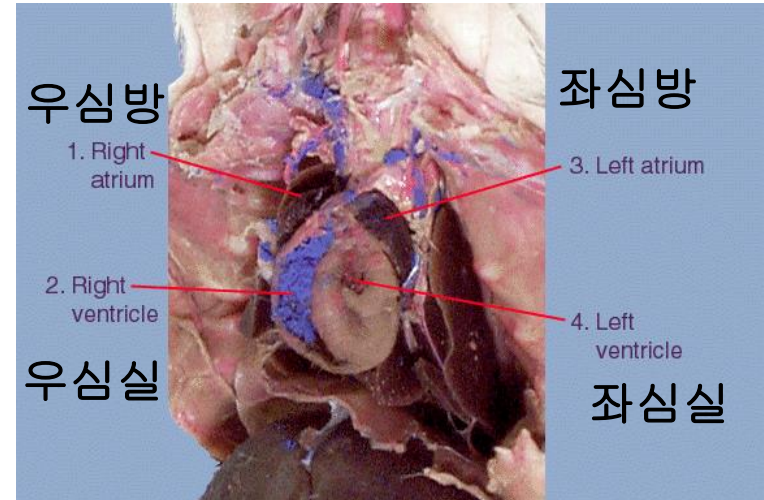
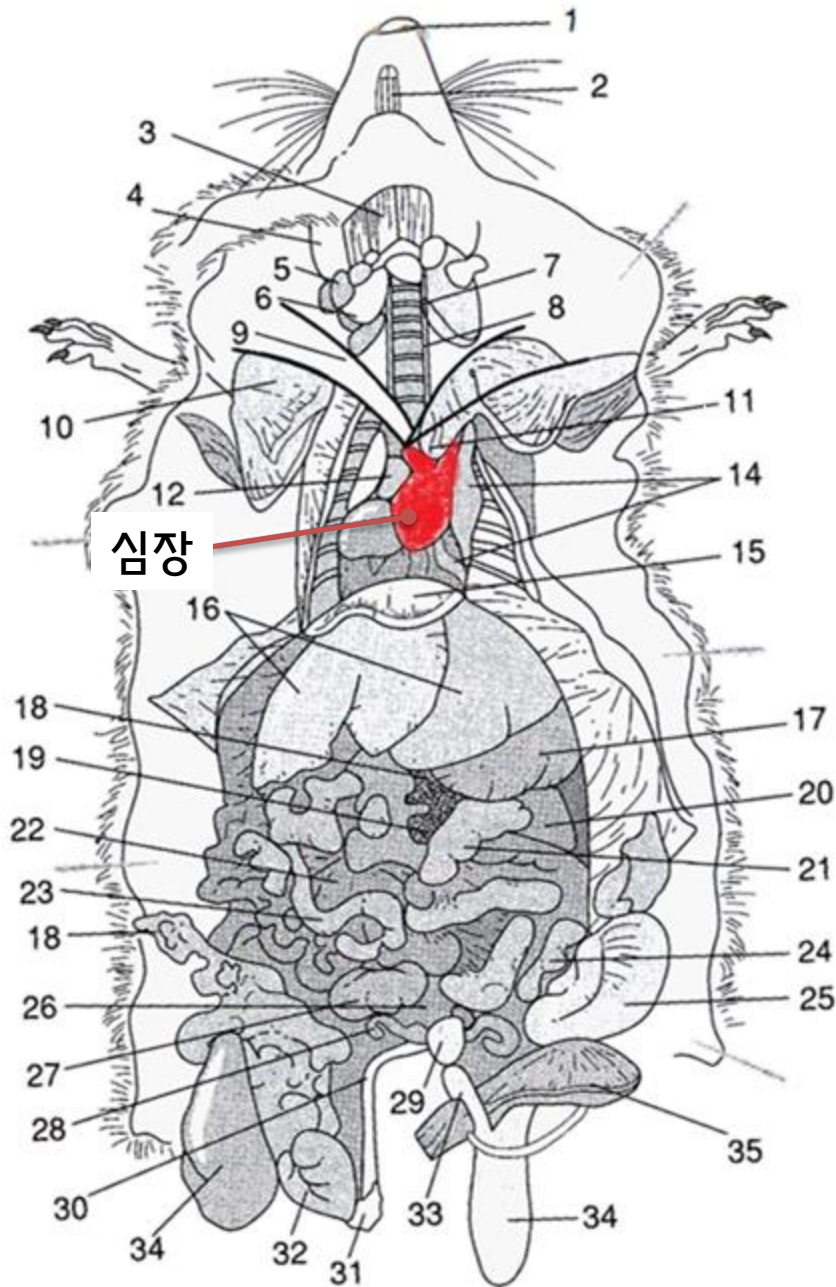
※ 참고



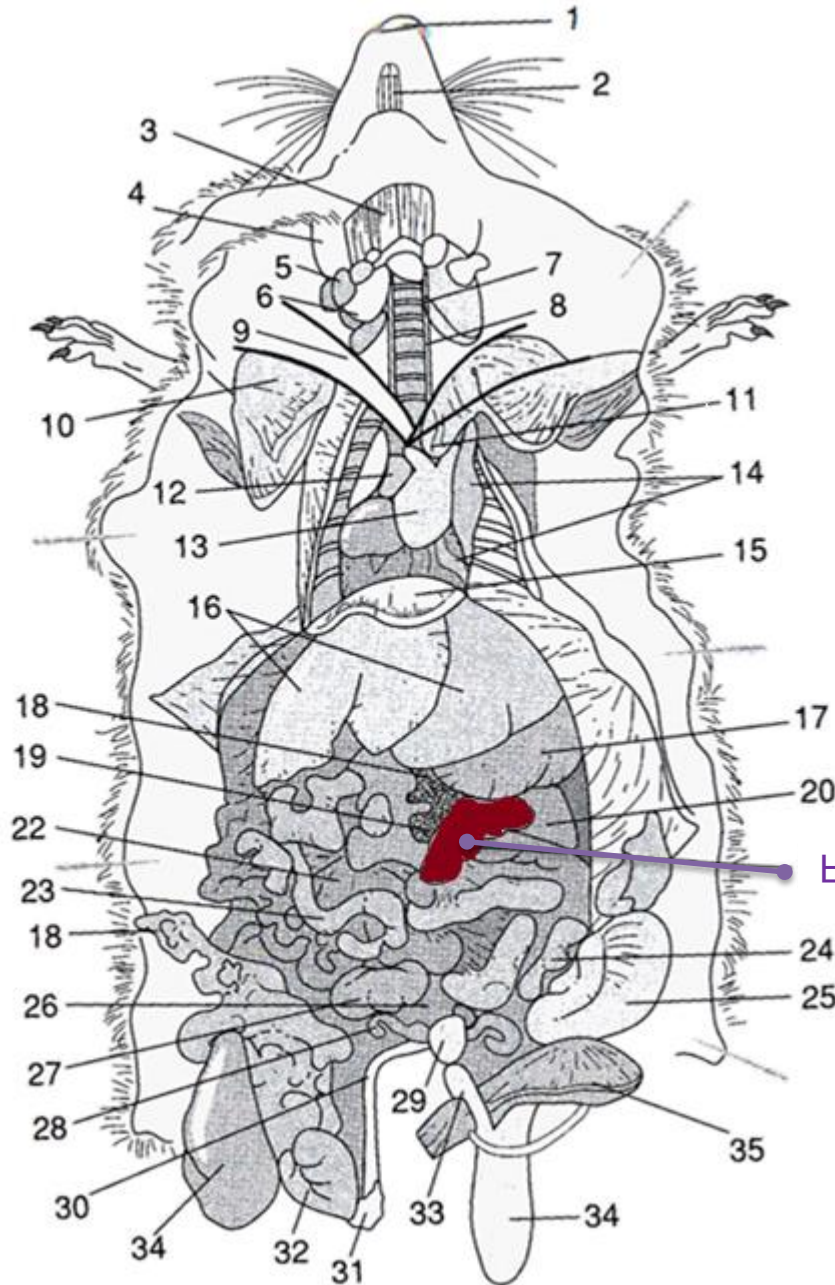
호흡계통(respiratory system)



심장혈관계통 (Cardiovascular system)



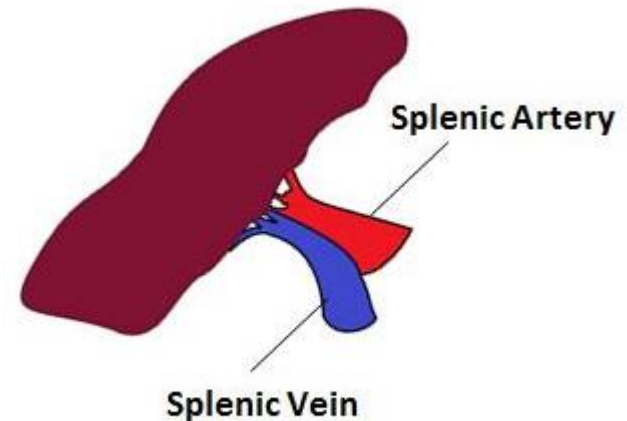
면역계통(immune system)



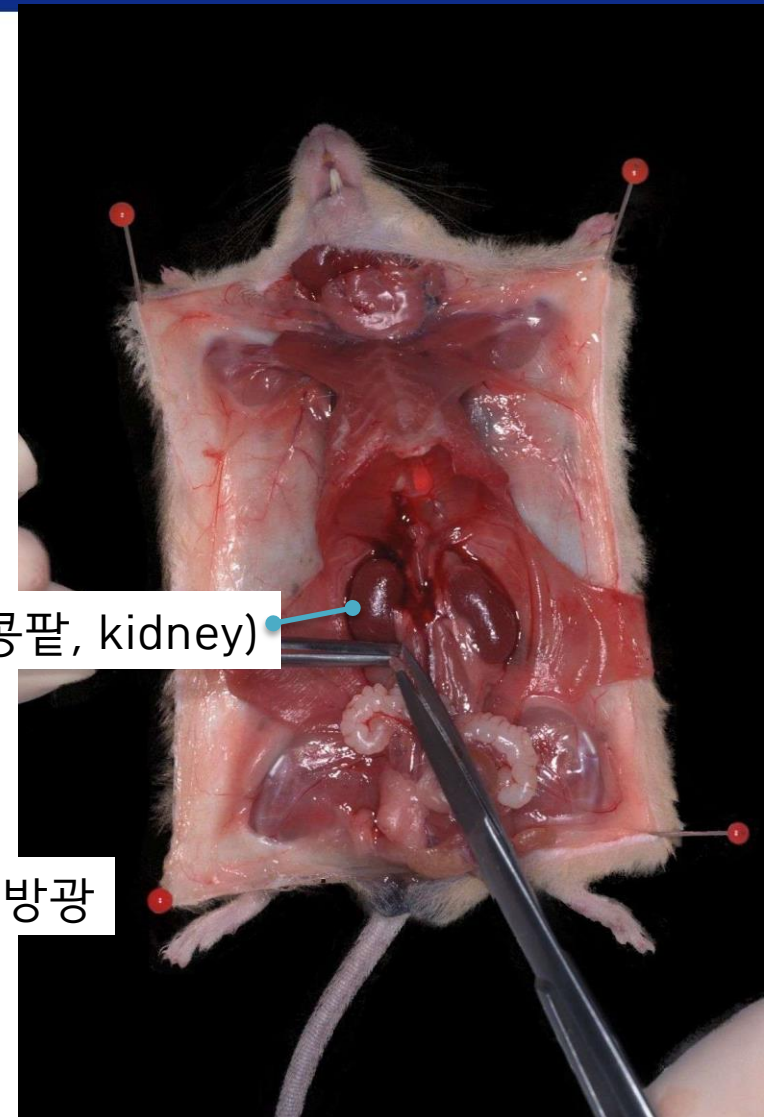
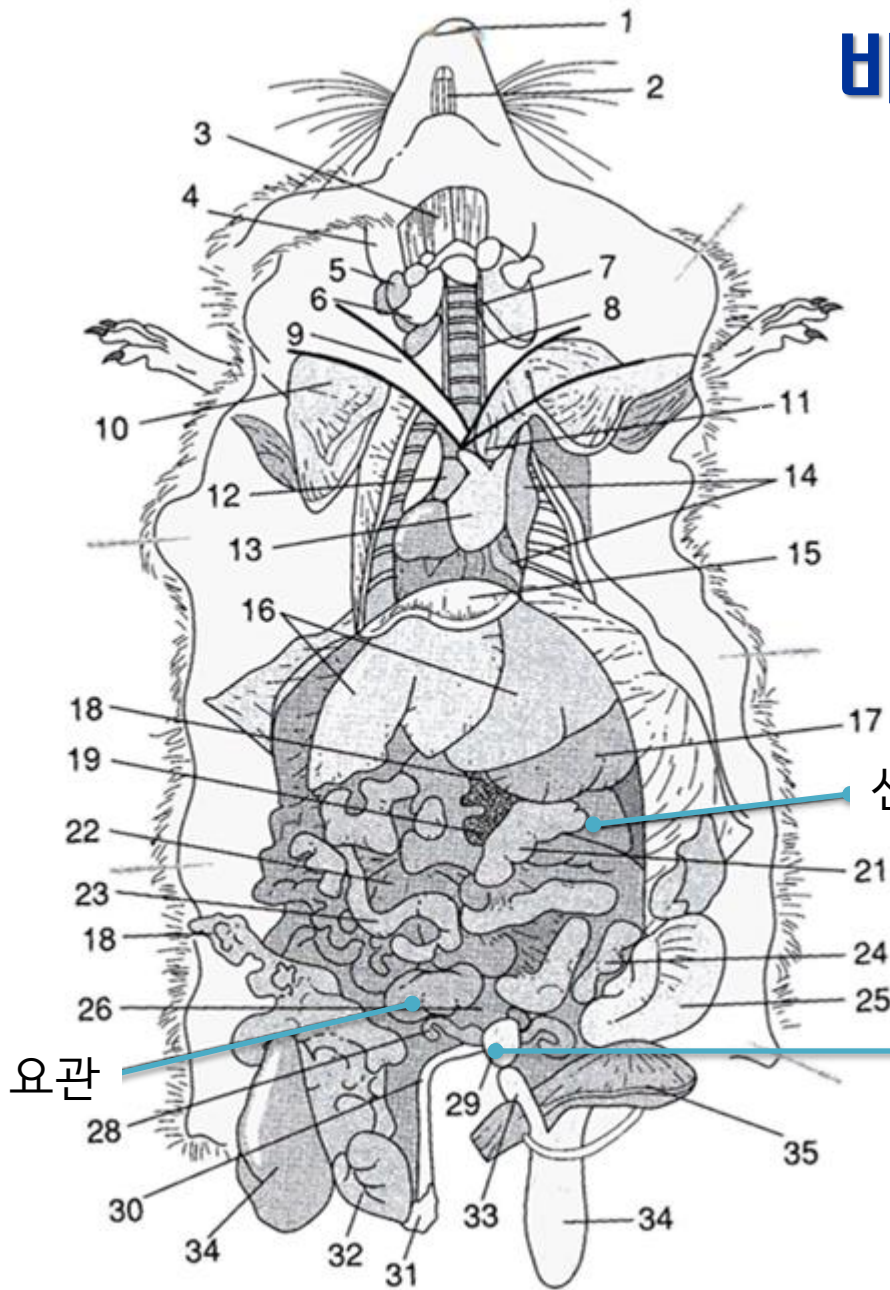
비장 (spleen)

- 복장의 왼쪽에서 위의 근처에서 있는 암적색의 기관
- 림프구의 생산, 이물질의 여과와 파괴
- 혈액을 저장하여 혈액량 조절작용

비장

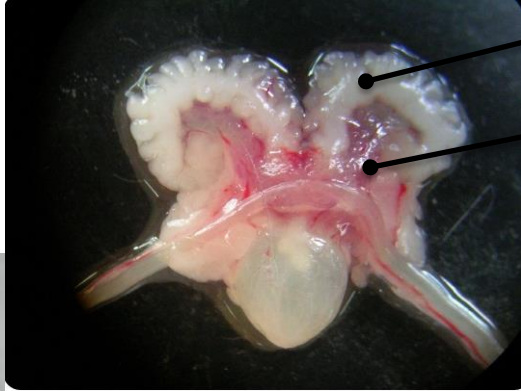


비뇨계통(Urinary system)



생식계통(reproductive system)

수컷생식기관



1) 정낭샘(seminal vesicle)

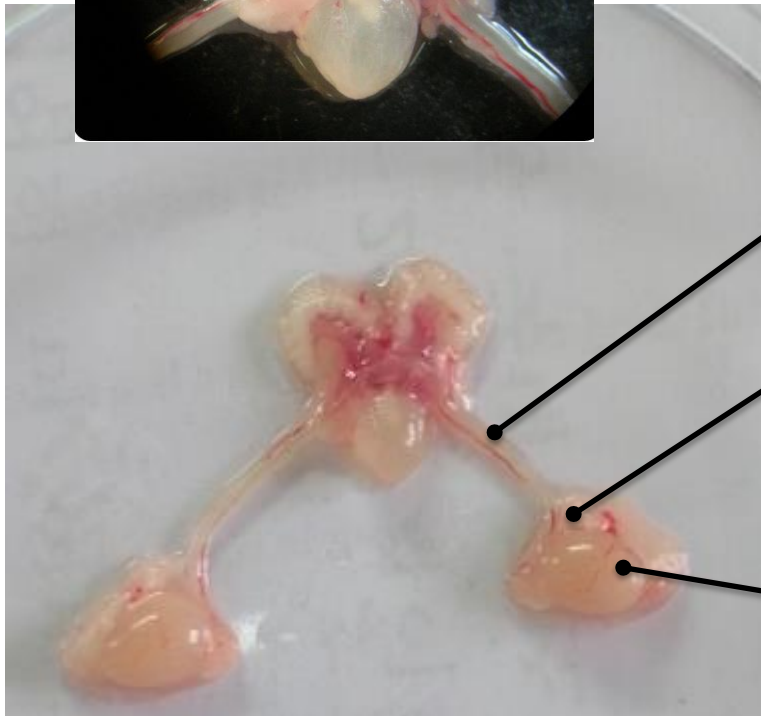
2) 응고샘(coagulating gland)

3) 음낭(scrotum): 고환과 부고환을 수용하는 피부 주머니로 항문의 바로 배쪽에 있다.

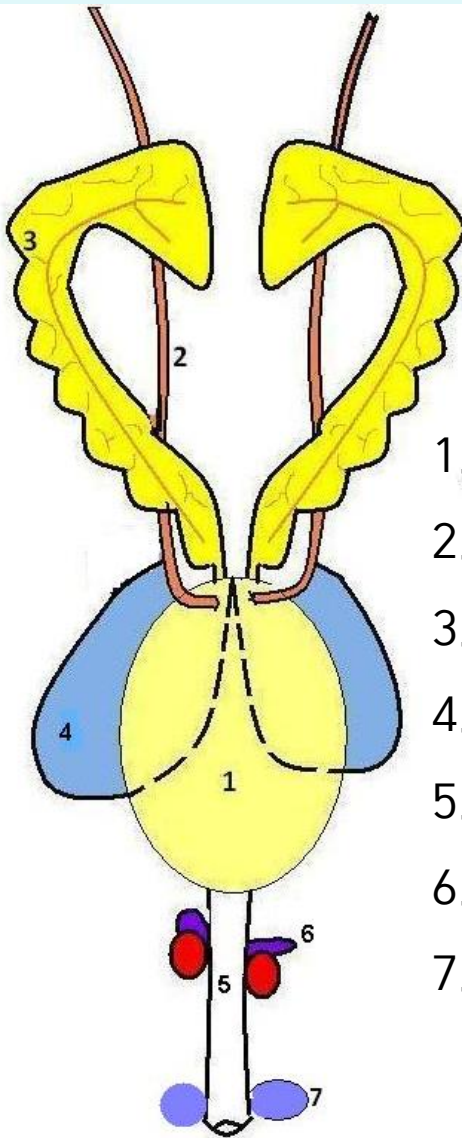
4) 정관(vas deferens): 부고환 꼬리 부분과 요도 사이에 있는 정관은 정자를 수송한다.

5) 부고환(epididymis): 고환의 측면에 위치한 장기로 꾸불꾸불하게 엉킨 관상구조이다.

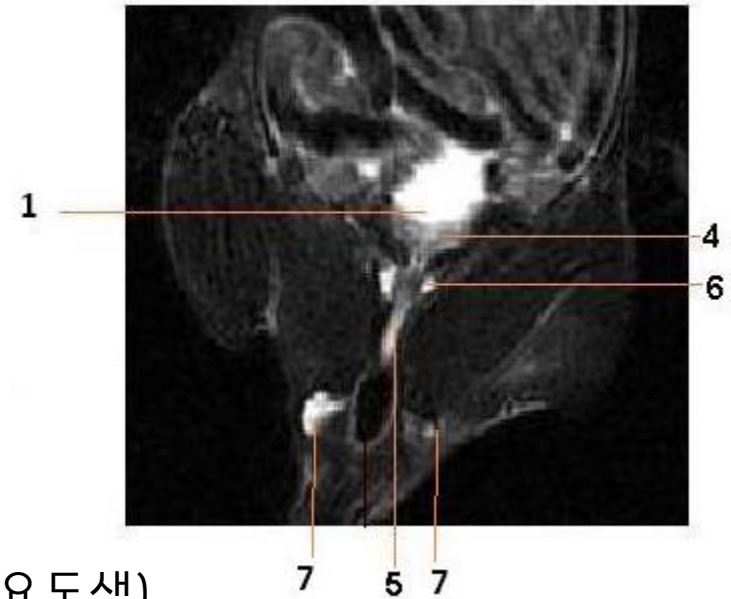
6) 고환(testis): 질긴 섬유 결합조직 피막인 백색막에 싸여 있다.



생식계통(reproductive system)



1. Vescica urinaria(방광)
2. Ureter(요관)
3. Seminal vescical(정낭샘)
4. Prostata(전립선)
5. Corpus penis(음경체)
6. Bulbourethral gland(망울요도샘)
7. Preputial glands(음경꺼풀샘)

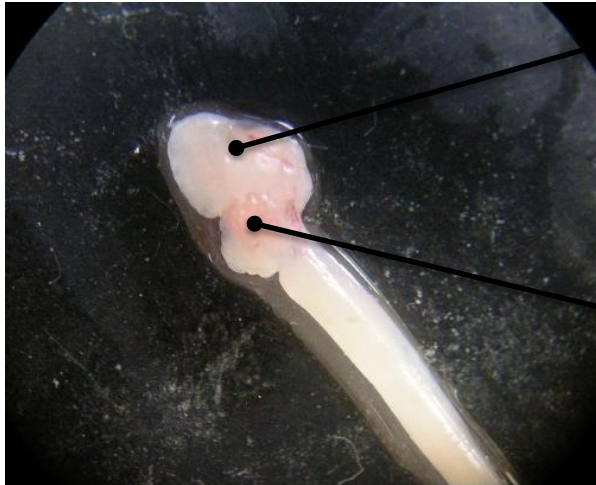


This figure shows the MRI images of anesthetized mouse and its male mouse reproductive system and urinary system

References: Department of Radiology,
IRCCS AOU San Martino - IST - Genoa/IT

생식계통(reproductive system)

암컷생식기관



1) 난소(ovary): 임신이 안된 성숙한 암컷 쥐는 보통 난소 속에 많은 성숙된 난포(follicle)가 들어있다.

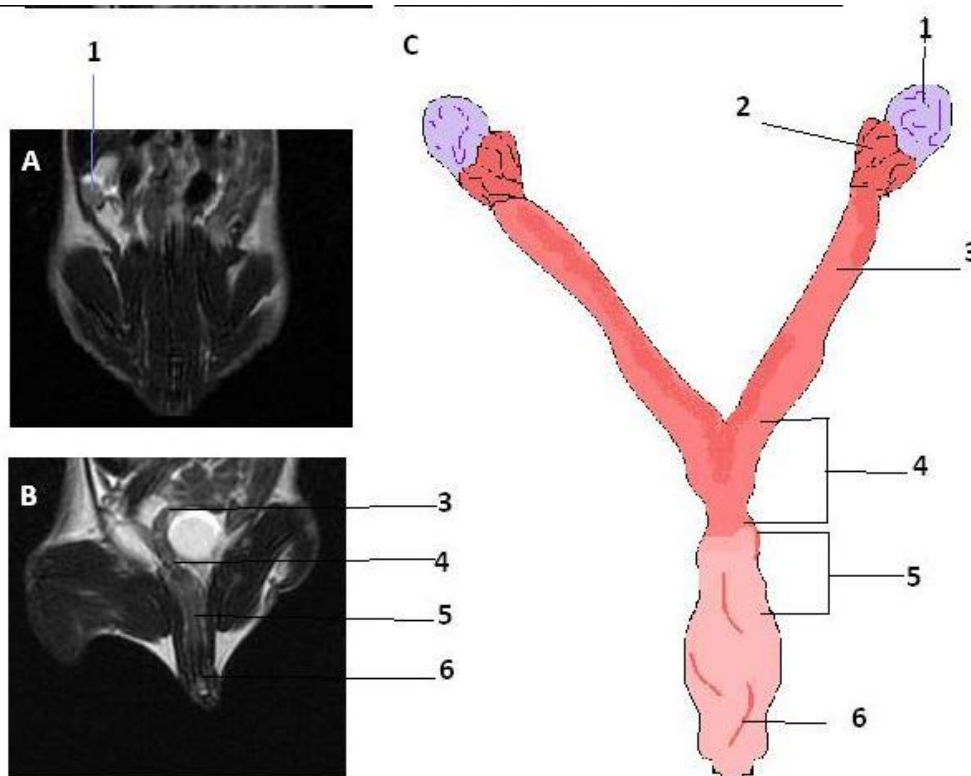
2) 난관(oviduct): 난소와 자궁을 연결하는 심히 꼬불꼬불하게 꼬인 아주 작은 관이다.



3) 자궁(uterus): 두개의 완전한 자궁으로 나뉘어지는 중복자궁으로 각각 질에 개구한다.

4) 질(vagina): 자궁의 개구부로부터 바깥 질구멍을 통해 외부로 개구하는 통로이다.

생식계통(reproductive system)

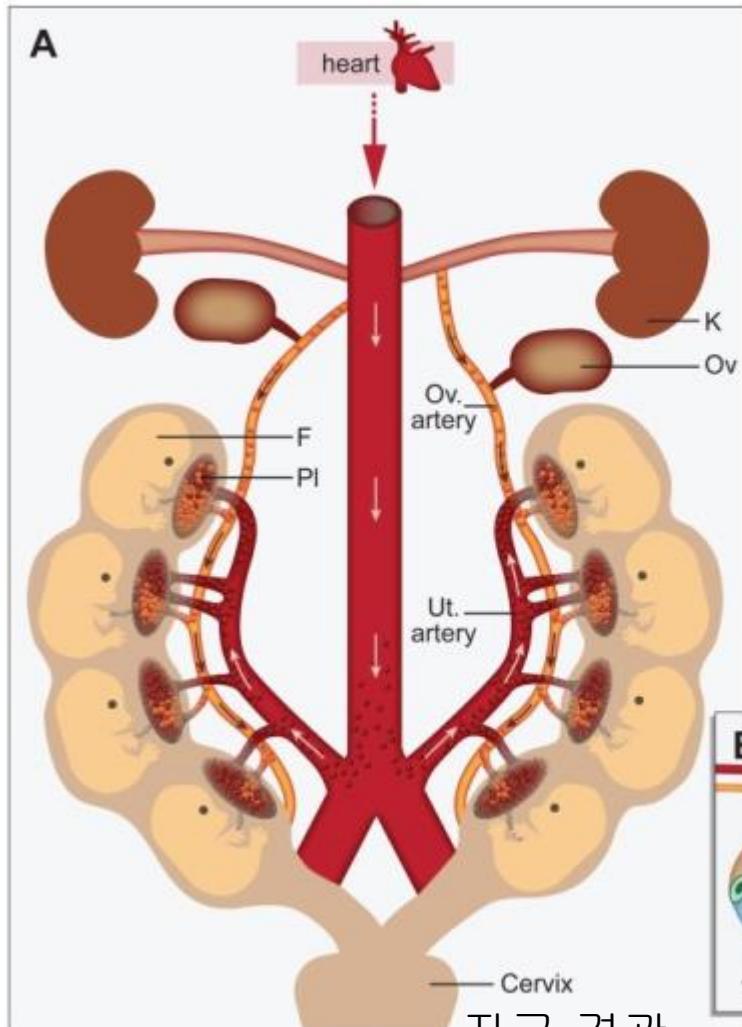


Female Mouse reproductive anatomy:

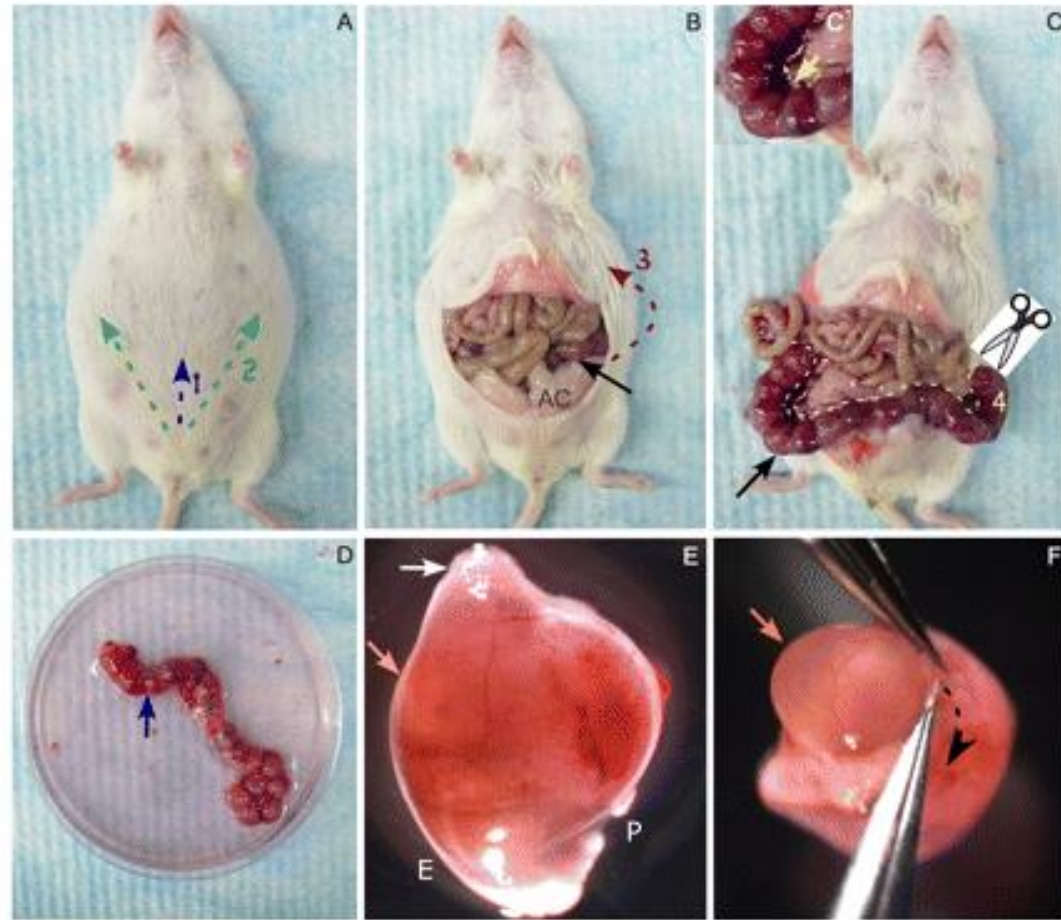
1. Ovary (난소)
2. Oviduct(난관)
3. Uterine horn,(자궁각)
4. Uterin fundus, (자궁 기저부)
5. Cervical region,(자궁경부)
6. Vaginal vault (질구개)

References: Department of Radiology,
IRCCS AOU San Martino - IST - Genoa/IT

생식계통(reproductive system)



자궁 경관



설치류를 이용한 기본실험기법

