

Chapter 5.

해부 및 관류 고정 Dissection & Perfusion fixation

바이오희식품과학부/영양생화학실험
이 혜 련

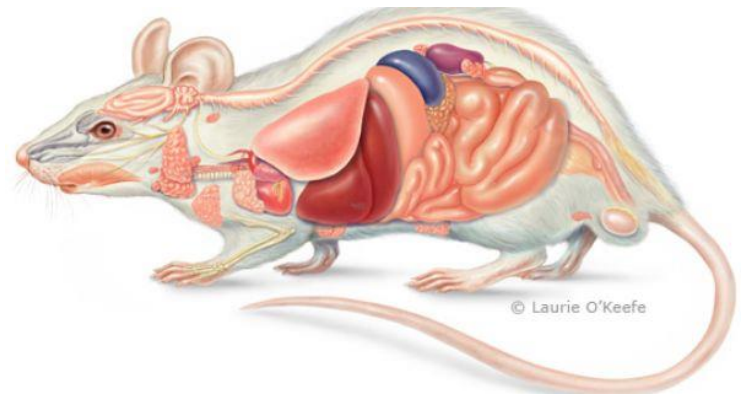


인제대학교
INJE UNIVERSITY

Introduction

I. 실험 개요

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



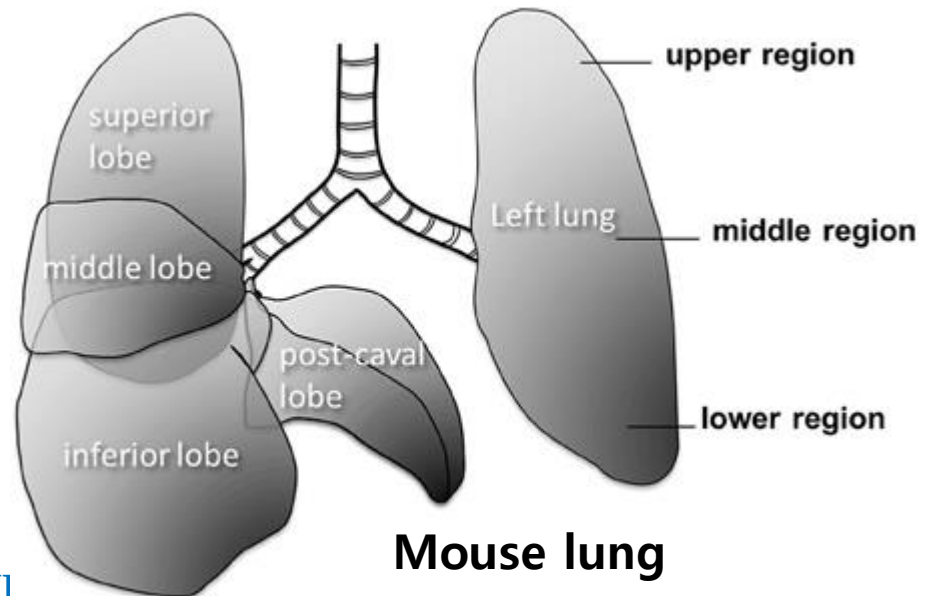
Introduction

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 UNI



Mouse lung

Introduction

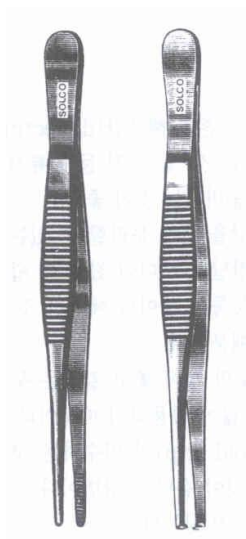
III, 기본적인 해부도구 사용법과 주의사항



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)



탐식자(probe)



해부핀
(dissecting pins)



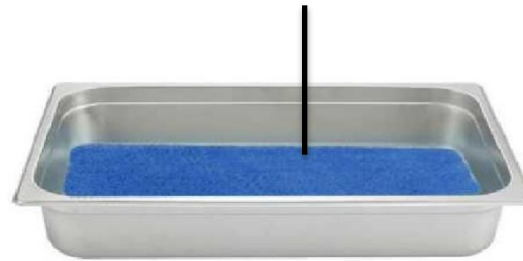
Introduction

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

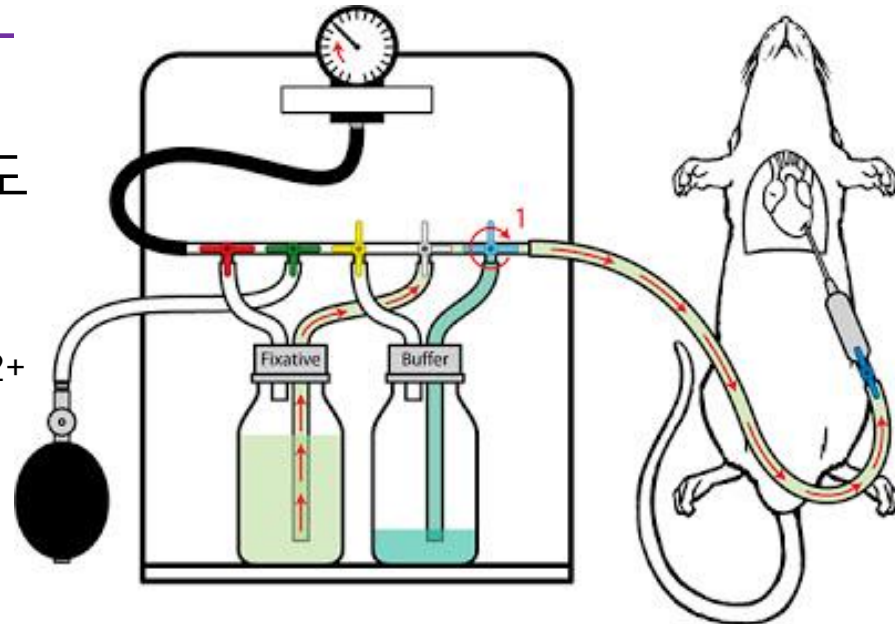
- **고정의 5대 목적**

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

Introduction

관류고정(Perfusion fixation)

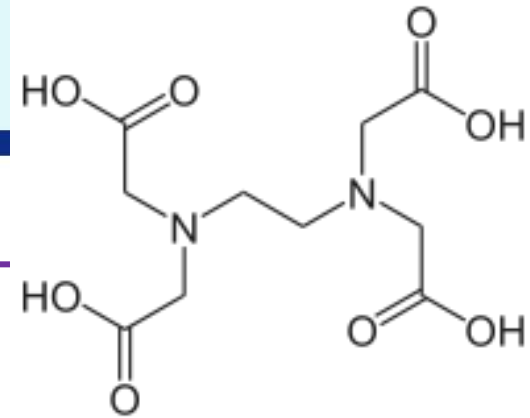
- 조직 내부를 균일하게 고정을 유도
- 뇌, 폐, 췌장 등 장기를 관류 고정
- 관류액(perfusate): Na^+ , K^+ , Ca^{2+} 조성의 염류용액 사용
4% PFA(paraformaldehyde) 이용
- 관류 시간은 5~20min(부위의 크기에 따라 다름)
 - (4) 25 G syringes
 - (3) 13 G needles
 - (2) 18 G needle catheters
 - (1) 23 G needle



Introduction

EDTA

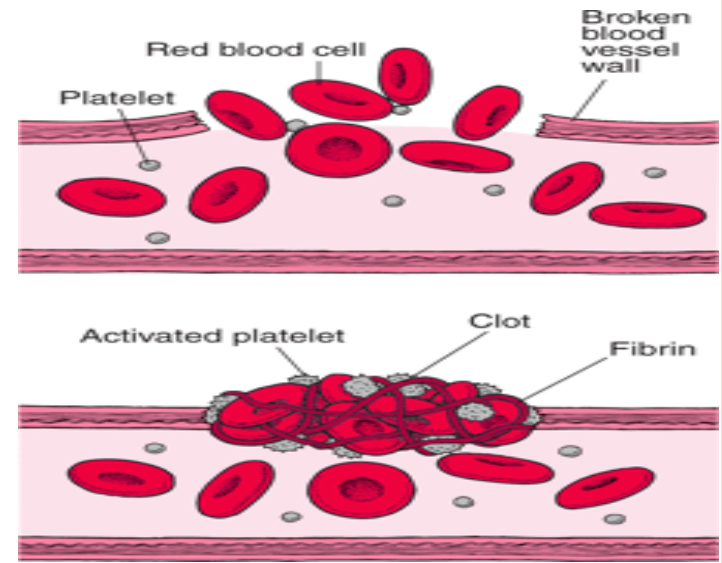
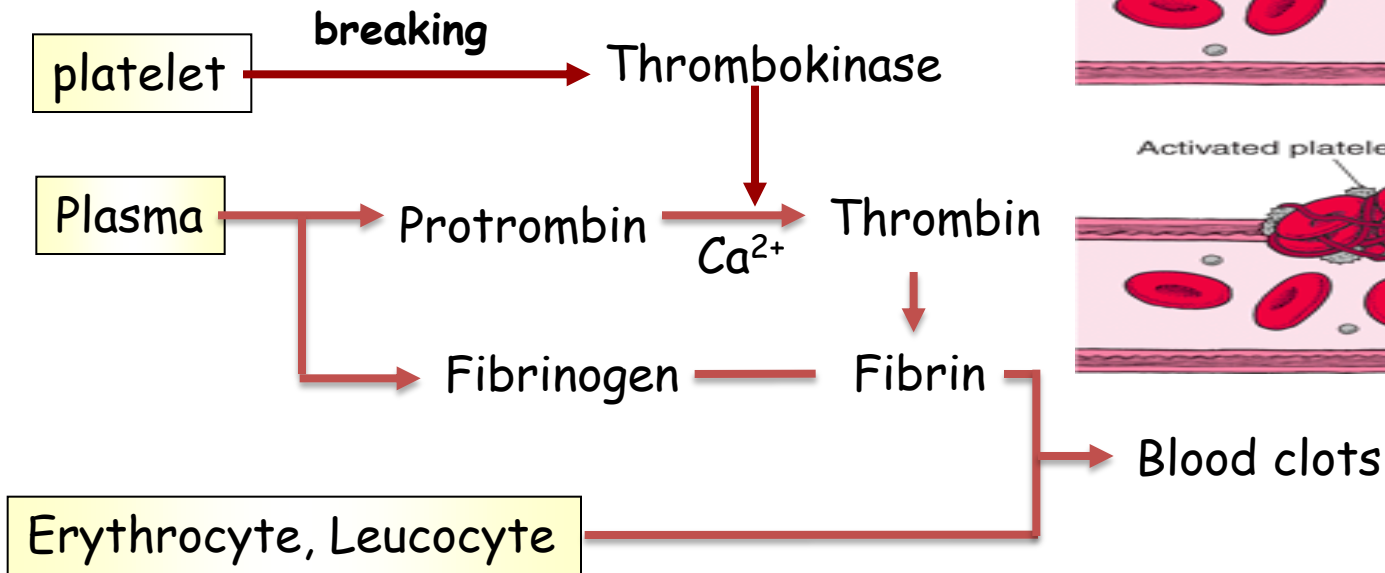
- EthyleneDiamineTetraaceticAcid
 - 항응고제 (anticoagulant)
 - 혈액응고에 필요한 Ca^{2+} 을 제거하는 역할
 - Ca^{2+} 이 Thrombokinese와 결합하여 반응하는 것을 저해
 - EDTA는 기타 혈구, 형태 및 혈소판에 변화 x
 - 혈액학적 검사에 많이 이용
- 



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

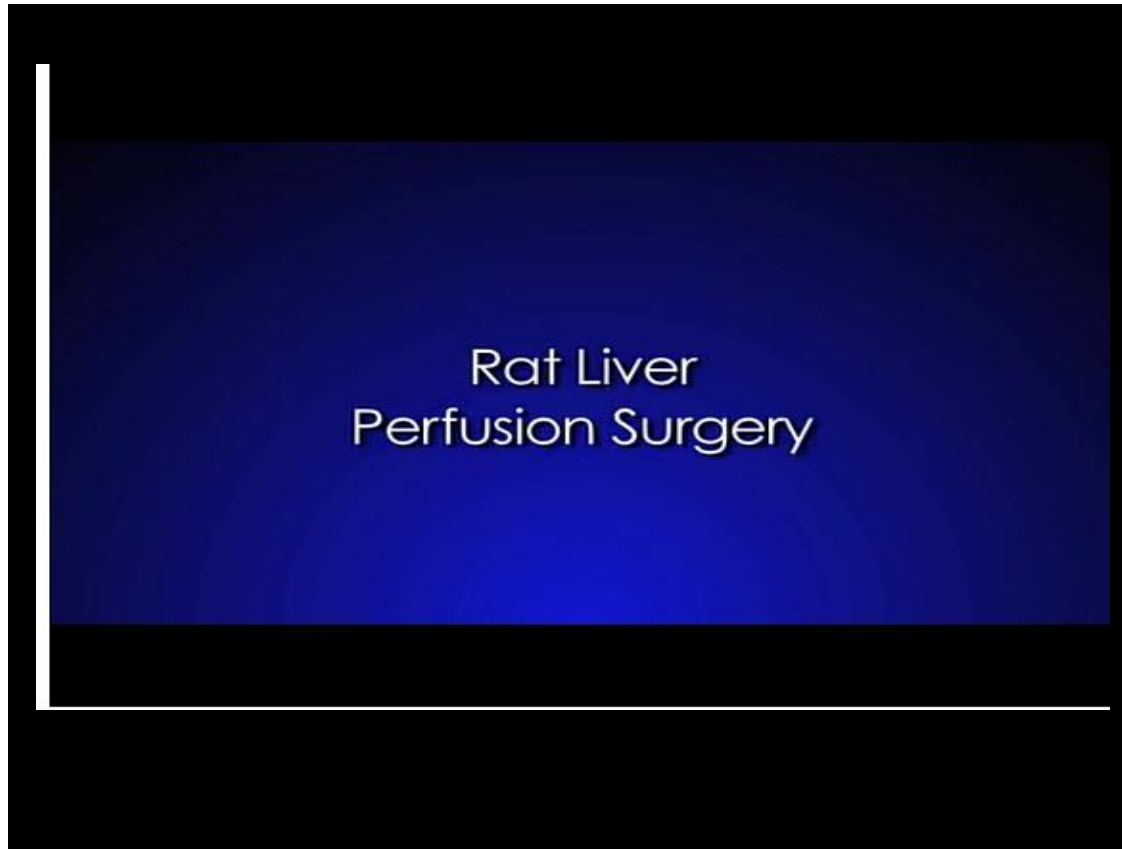
- 1) sodium oxalate, sodium citrate : Ca^{2+} 제거
- 2) EDTA: thrombokinase 작용 억제하여 thrombin 생성 억제

- 생물학적 방법

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

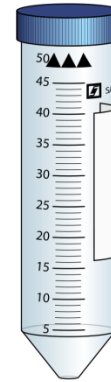
Introduction

Rat liver perfusion surgery



Material and Methods

- saline (0.9% NaCl)
- ethyl ether
- 비커
- 탈지면, 코니칼튜브(Conical tube)
- 핀셋, 가위
- 주사기(채혈용, 관류용)
- 나비바늘(Scalp needle , 관류용)
- E-tube
- 해부판, 해부핀
- 은박지
- 신문지 , 분무기
- 네임펜, 저울



Material and Methods

실험동물



고지방 식이

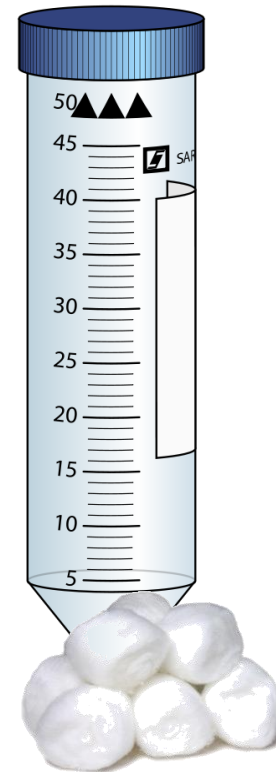
고지방 식이
+참죽

- Strain: C57BL/6종
- 연령: 10주령
- 체중: 20 g
- 성별: male
- 해부 일시 등 기록: 2018. 05. 25 /05.30



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

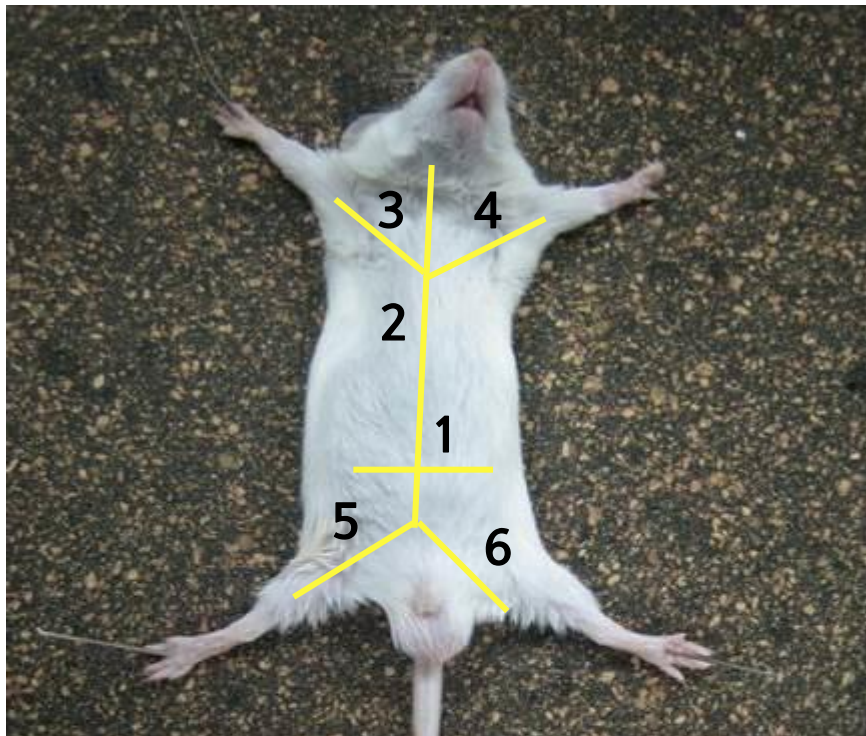
4) 마취 tube를 씹워 해부 중에 마취상태가 유지



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 핀으로 고정시킨다.



Material and Methods

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



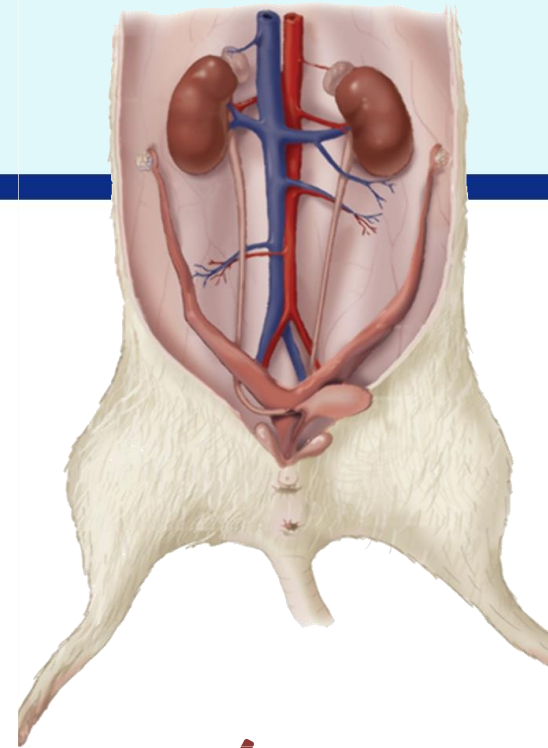


Material and Methods

채혈(blood collection)

10) 핀셋으로 장기를 넘기며 정·동맥을 확인한다. 확인한 정·동맥으로부터 채혈한다.

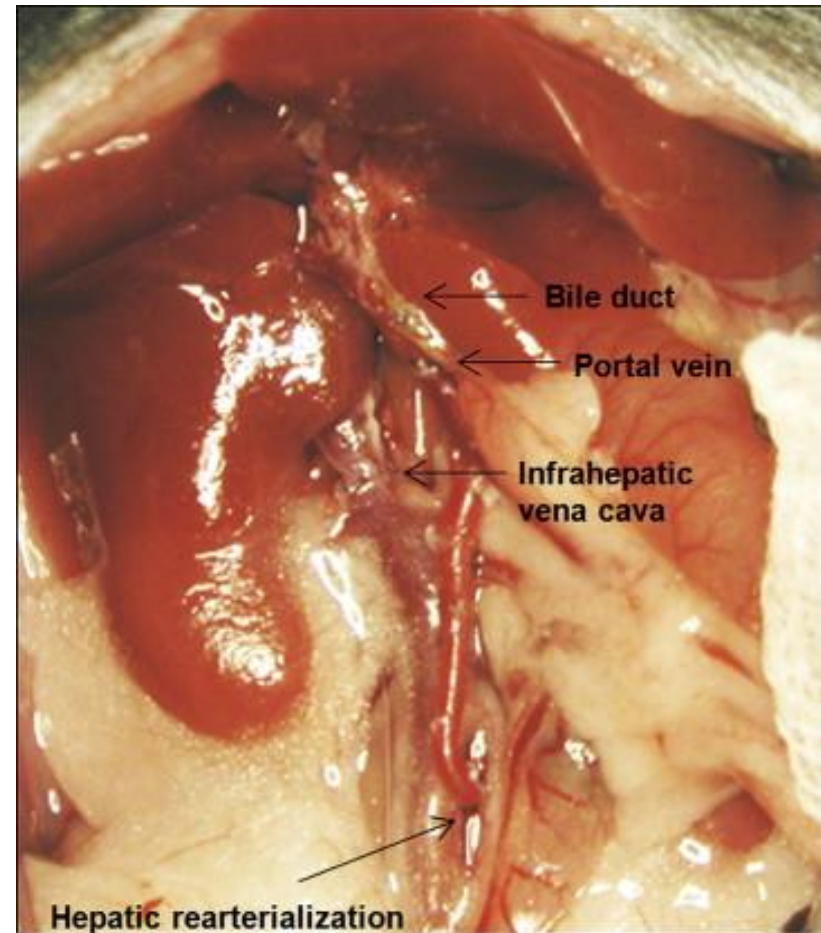
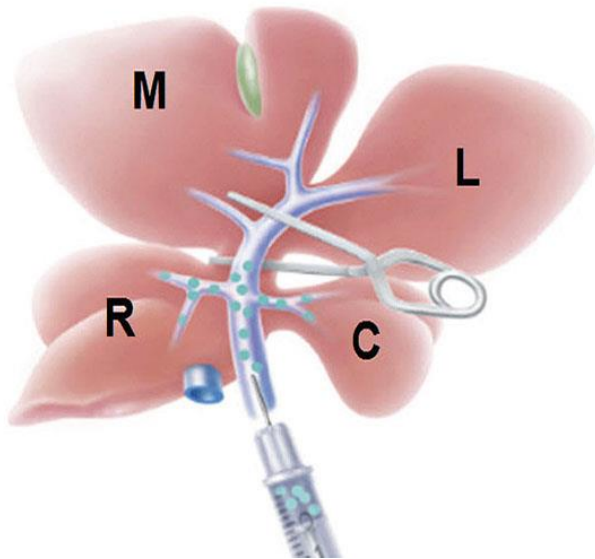
11) 채혈한 혈액을 1.5ml tube에 주입



Material and Methods

관류 고정 (Perfusion fixation)

- 10) 식염수를 준비한다.
- 11) 나비주사기를 이용해서 관류
- 12) 간 무게 측정 -> 얼음 보관

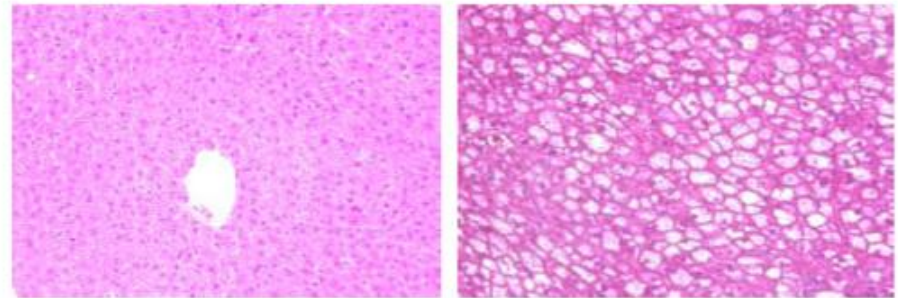


Results and discussion



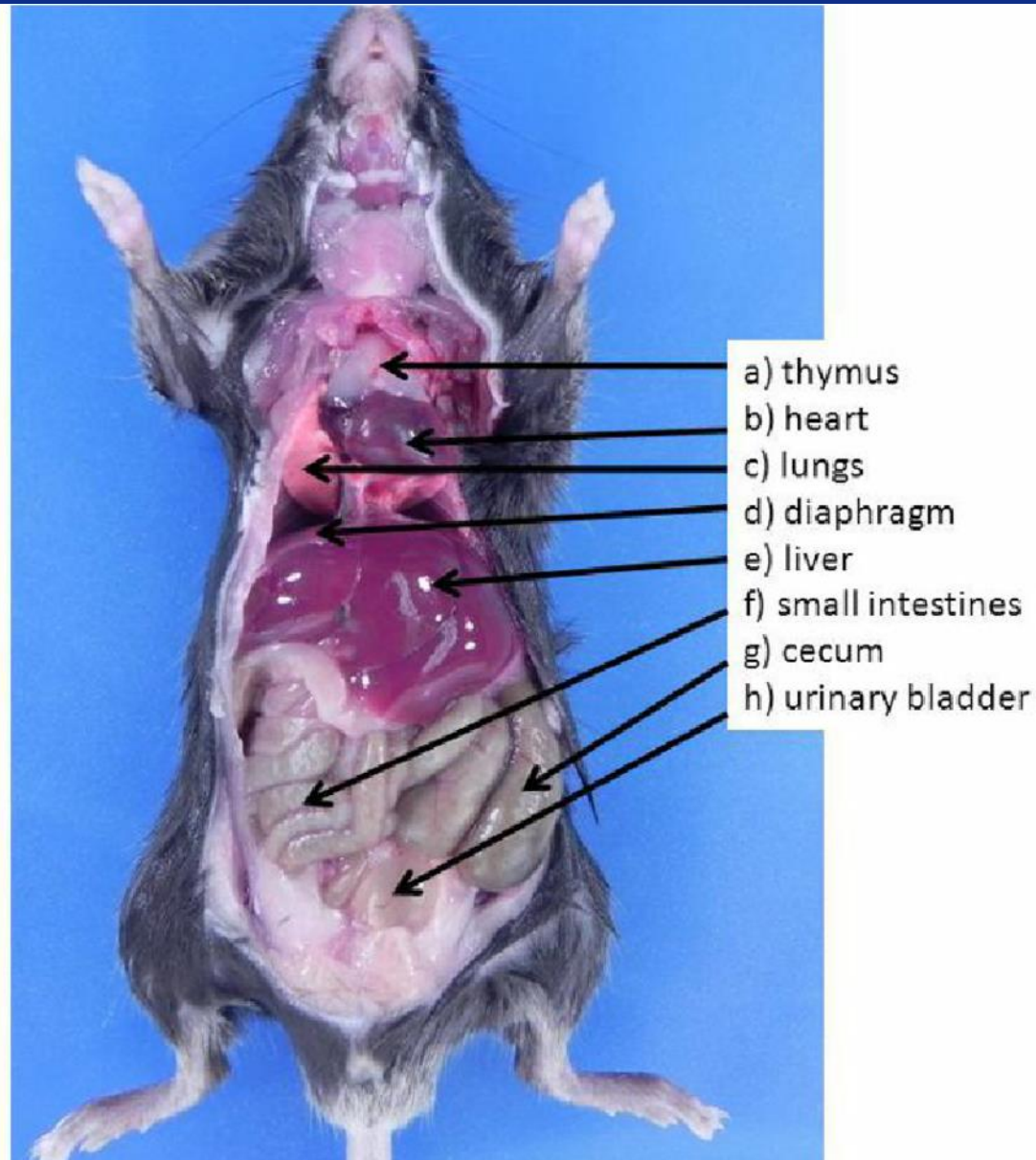
(A)

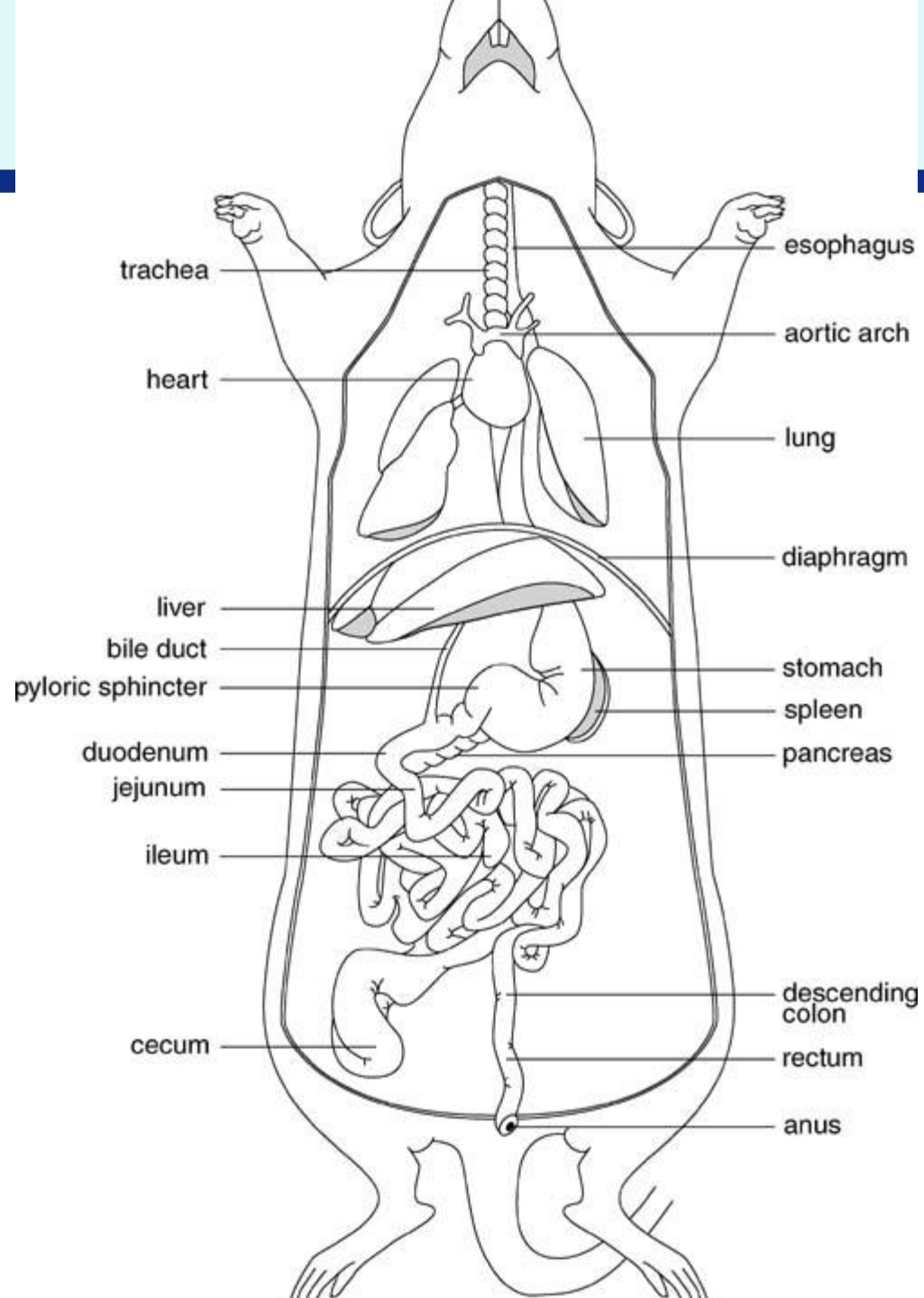
Fig. (A) Representative photographs of a lean (C57BL/6) and an ob/ob mouse, as well as (B) representative photomicrographs of liver sections stained with hematoxylin and eosin (200 $\times$).



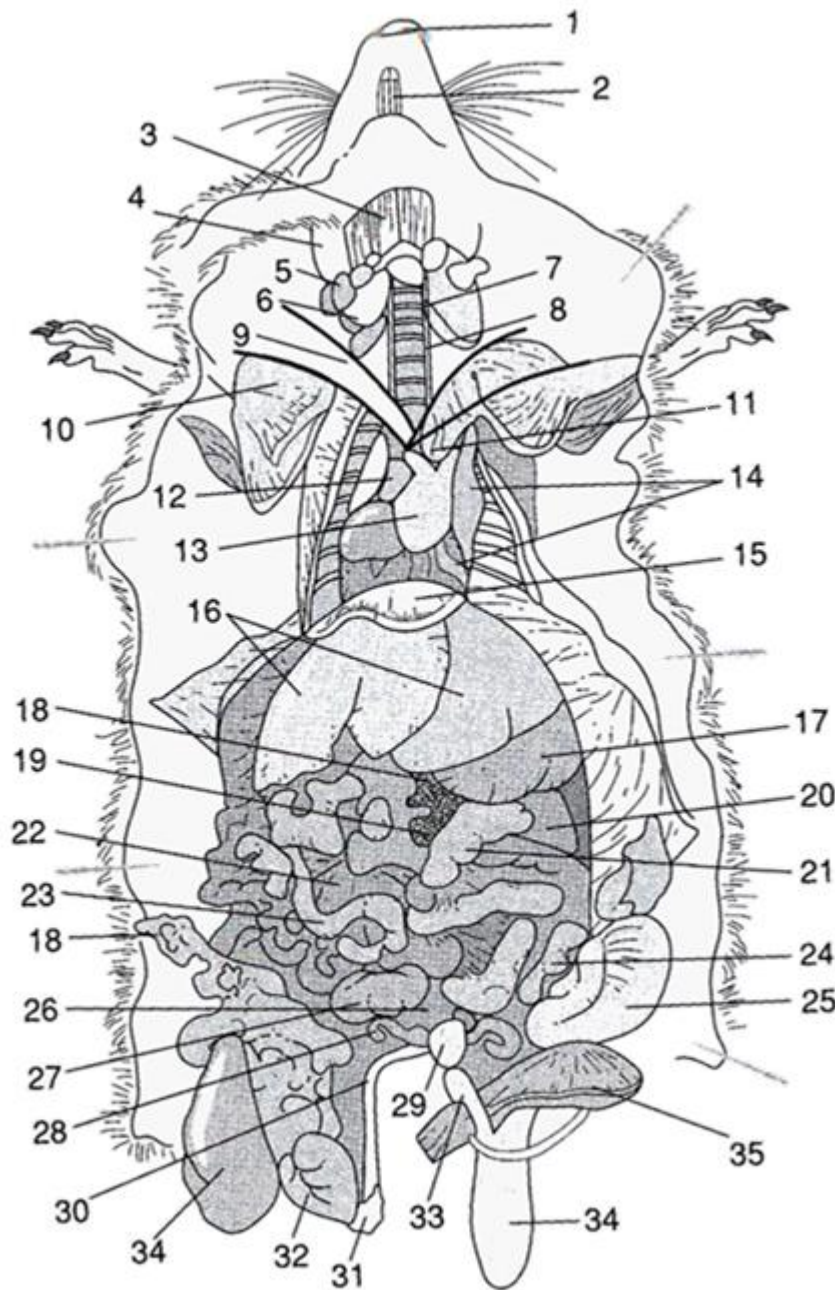
(B)

Results and discussion





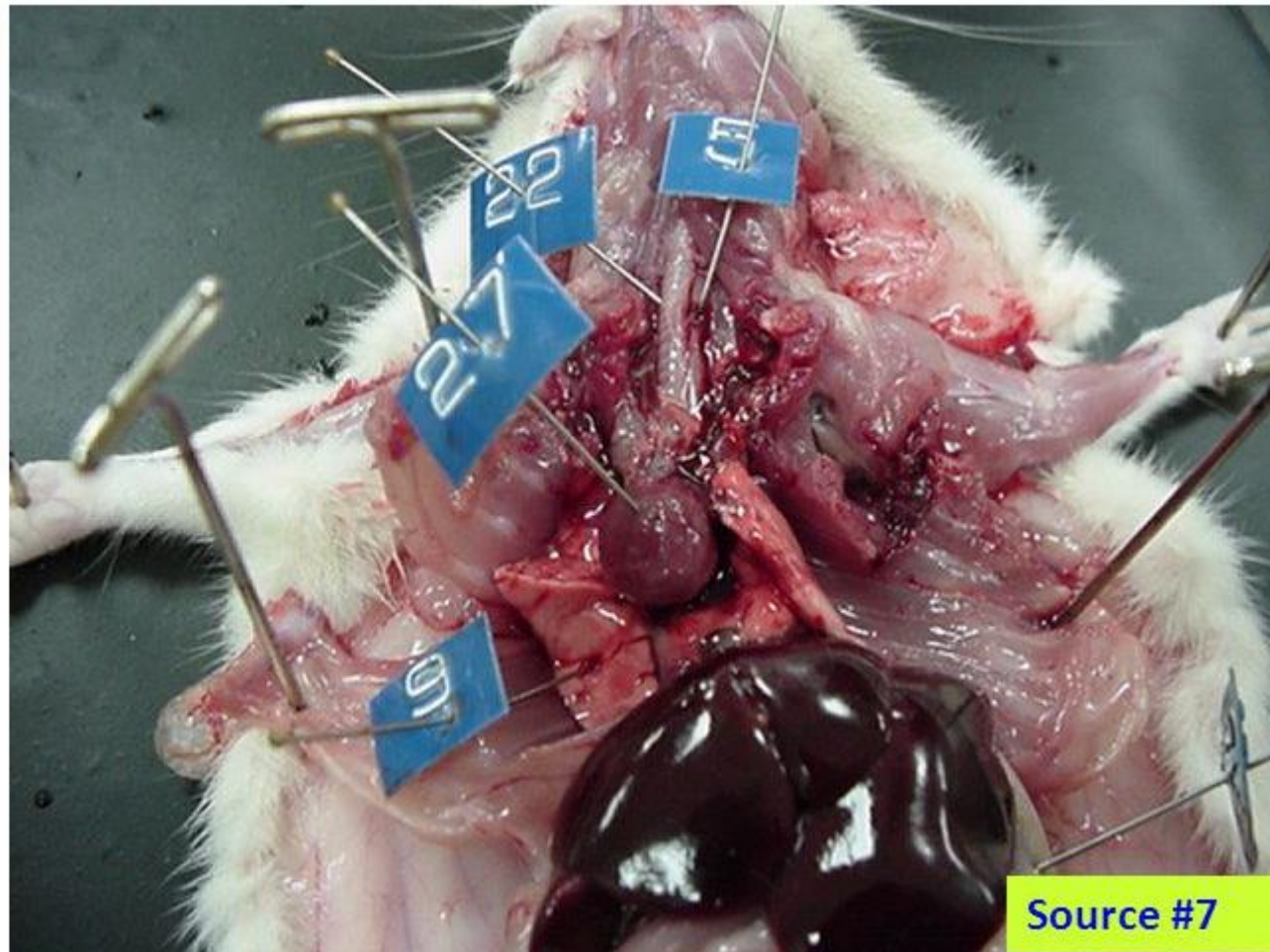
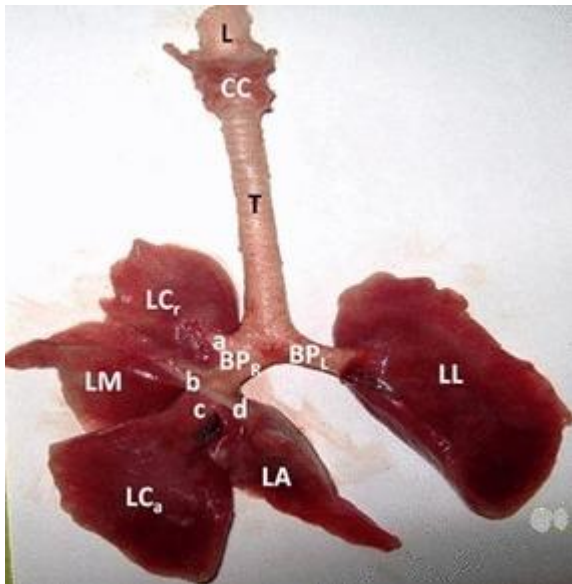
Mouse Anatomy



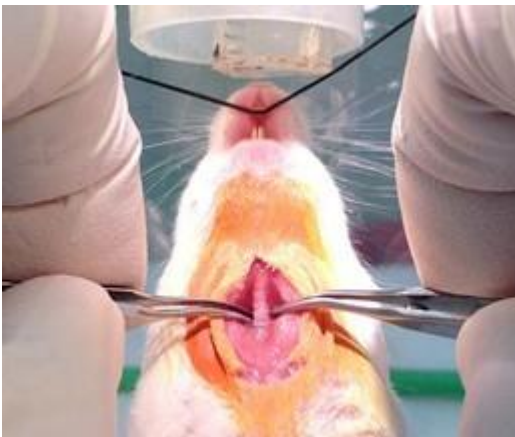
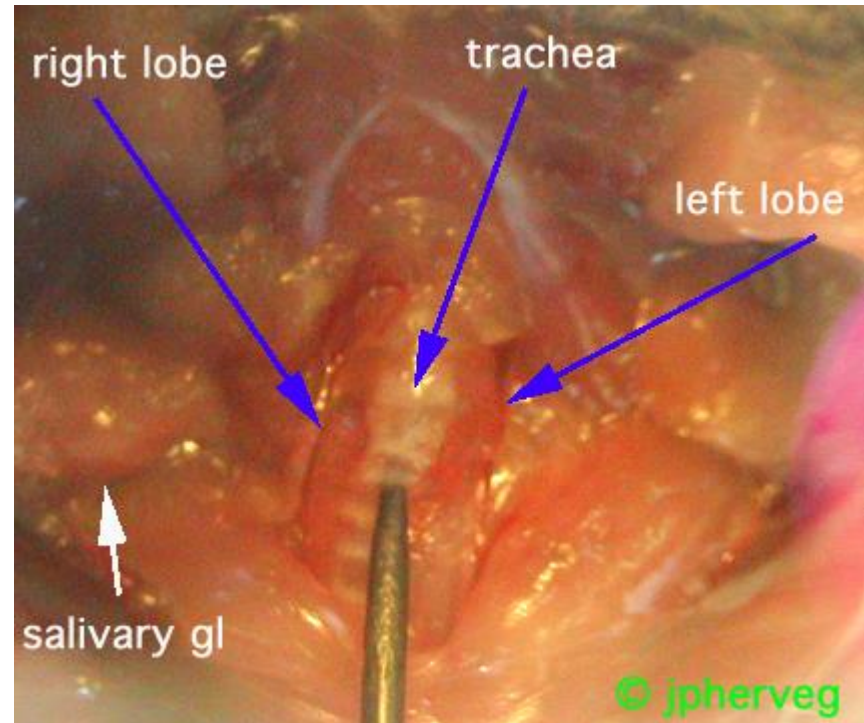
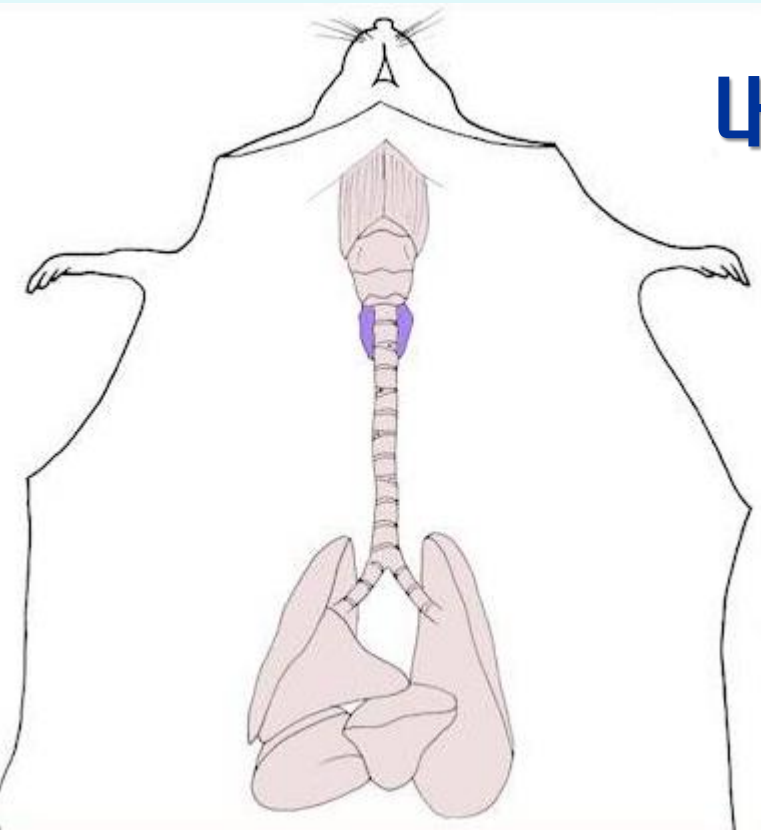
- | | | |
|---------------------------------|--------------------------|----------------------------------|
| 1. 외비공 : External nares | 11. 흉선 : Thymus | 24. 대장 : Large intestine |
| 2. 절치 : Incisor tooth | 12. 심방 : Atrium | 25. 맹장 : Blind intestine (cecum) |
| 3. 악이복근 : Digastric muscle | 13. 심장 : Heart | 26. 직장 : Rectum |
| 4. 교근 : Masseter | 14. 폐 : Lung | 27. 요관 : Ureter |
| 5. 이하선 : Parotid gland | 15. 횡격막 : Diaphragm | 28. 정낭 : Seminal vesicle |
| 6. 악하선 : Submandibular gland | 16. 간장 : Liver | 29. 방광 : Urinary bladder |
| 7. 갑상선 : Thyroid gland | 17. 위 : Stomach | 30. 정삭 : Spermatic cord |
| 8. 기관 : Trachea | 18. 지방체 : Fat body | 31. 부고환 : Epididymis |
| 9. 총경동맥 : Common carotid artery | 19. 췌장(이자) : Pancreas | 32. 고환, 정소 : Testis |
| 10. 쇄골하동맥 : Subclavian artery | 20. 신장 : Kidney | 33. 음경 : Penis |
| | 21. 비장 : Spleen | 34. 음낭 : Scrotum |
| | 22. 장간막 : Mesentery | 35. 복근 : Abdominal |
| | 23. 소장 : Small intestine | |

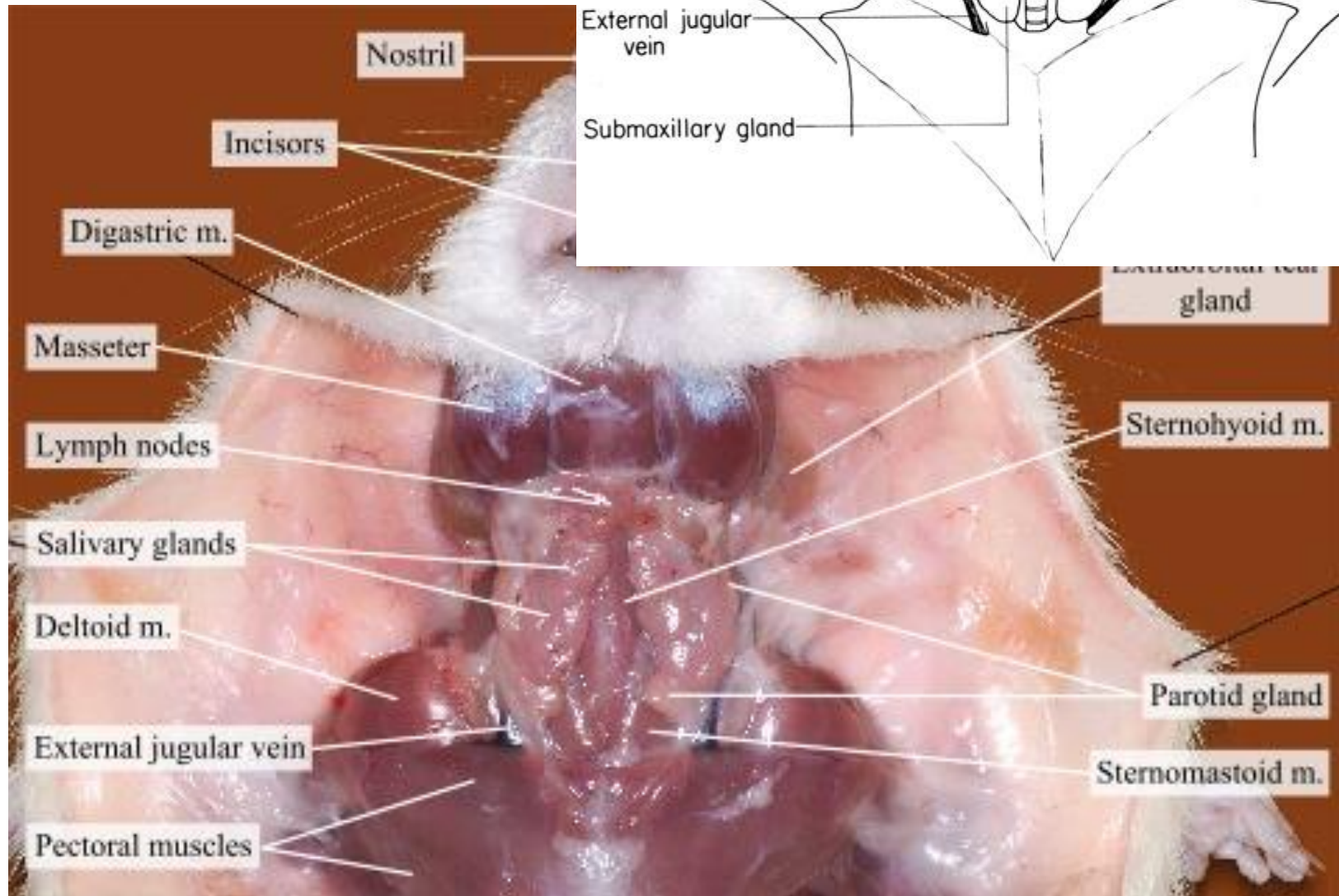
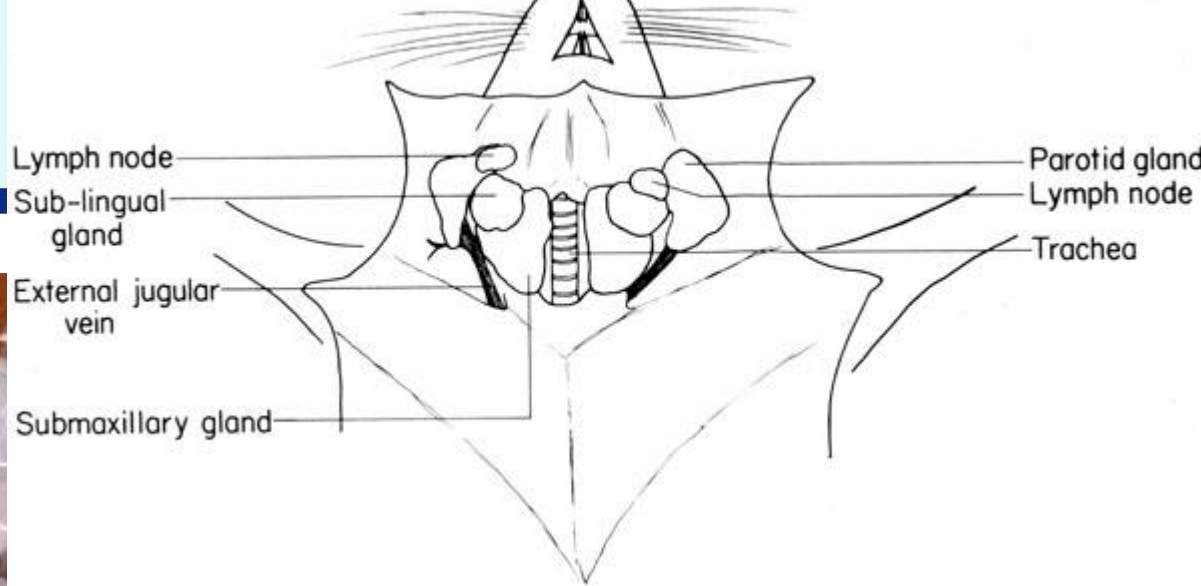
호흡계통(respiratory system)

- 5. Esophagus
- 9. Lung
- 22. Trachea
- 27. Heart

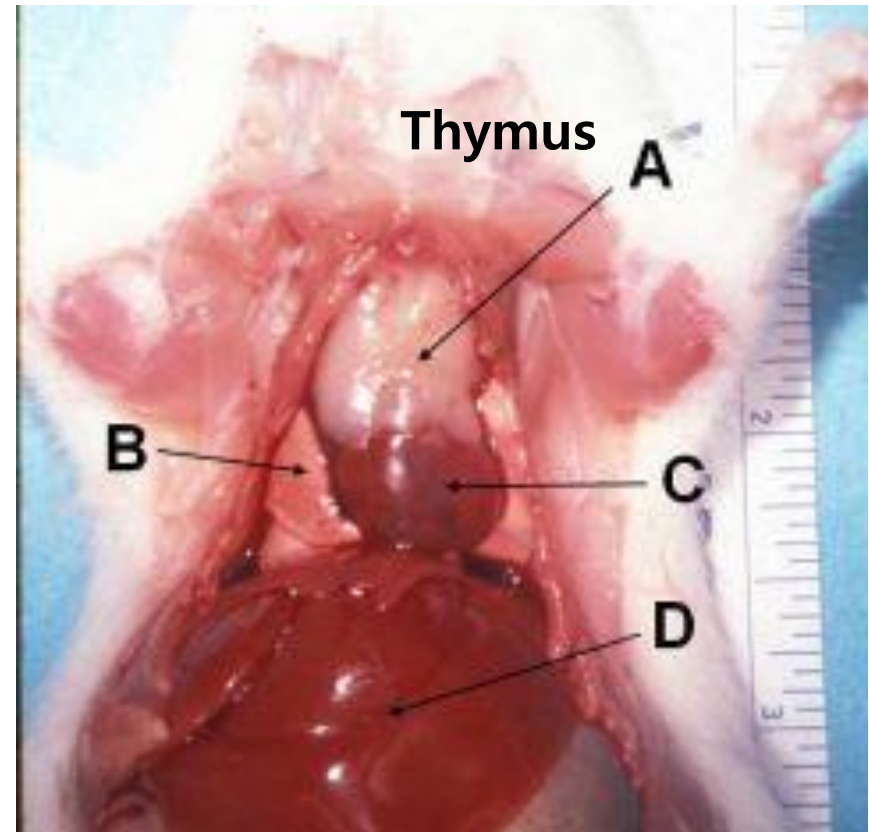
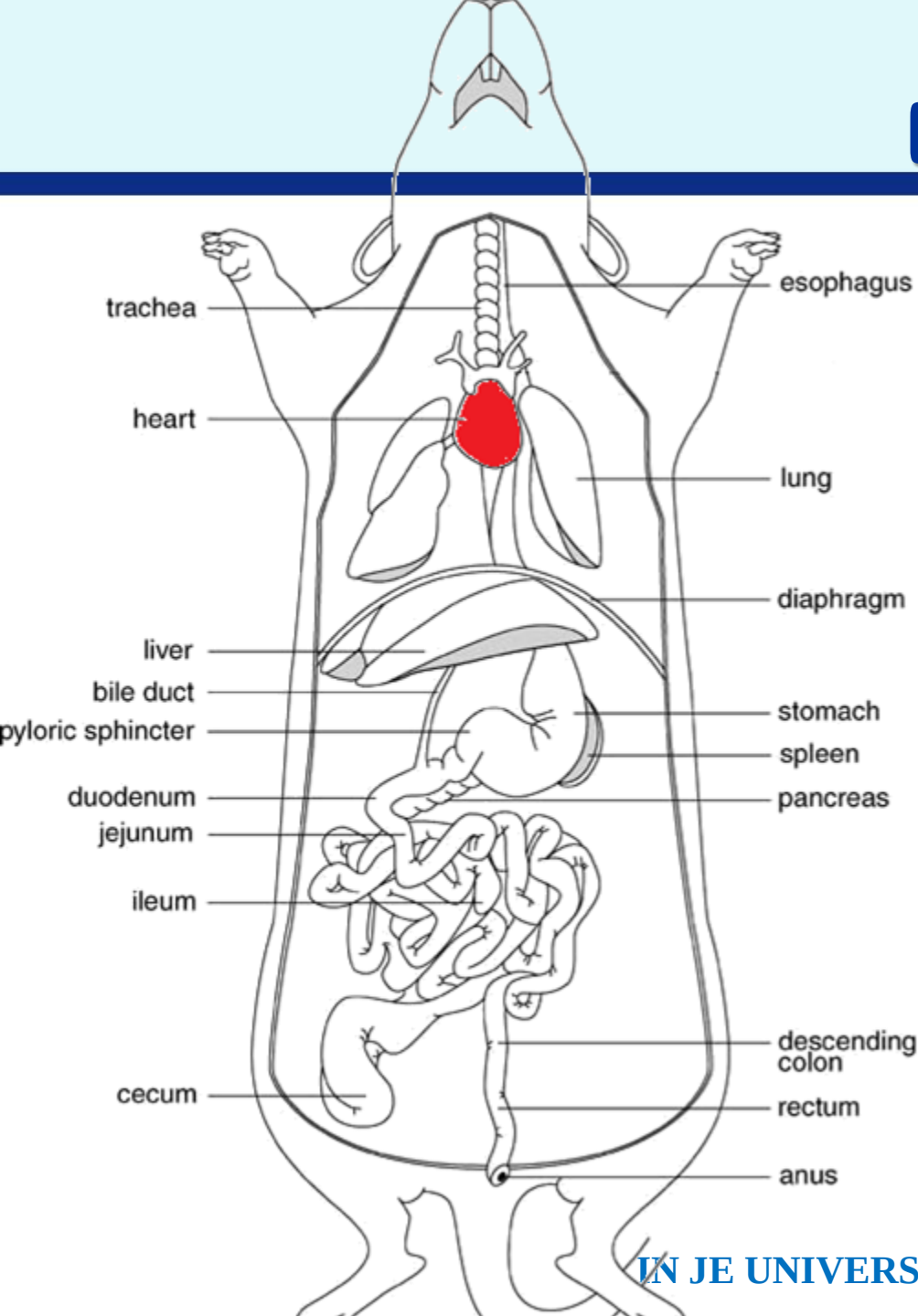


내분비기관(endocrine system)





심장혈관계통 (Cardiovascular system)

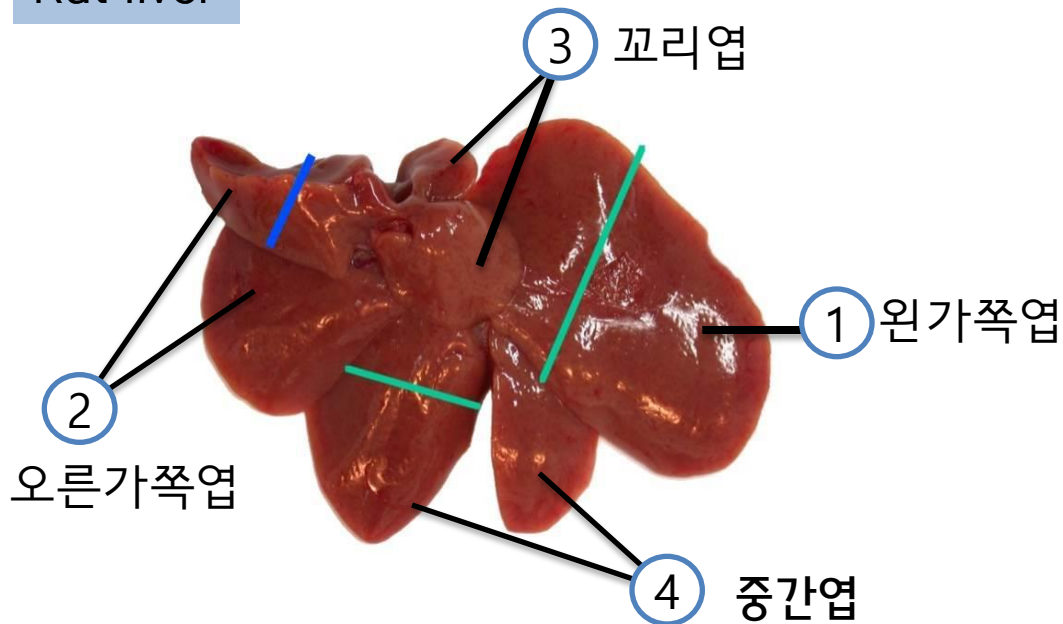


소화계통(digestive system)

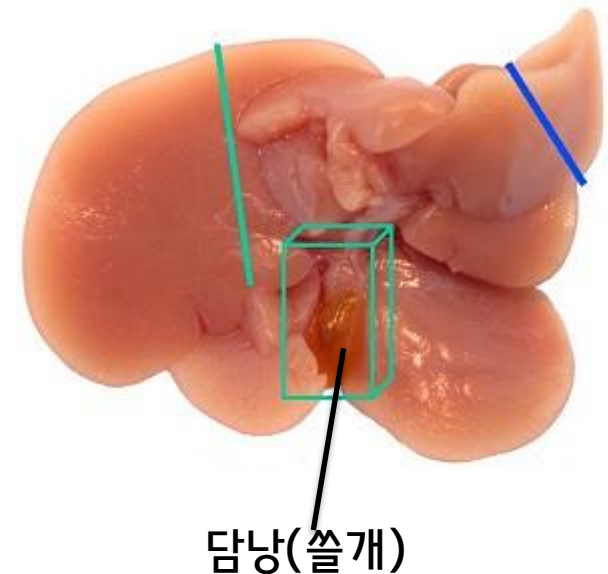
간(liver)

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

Rat liver



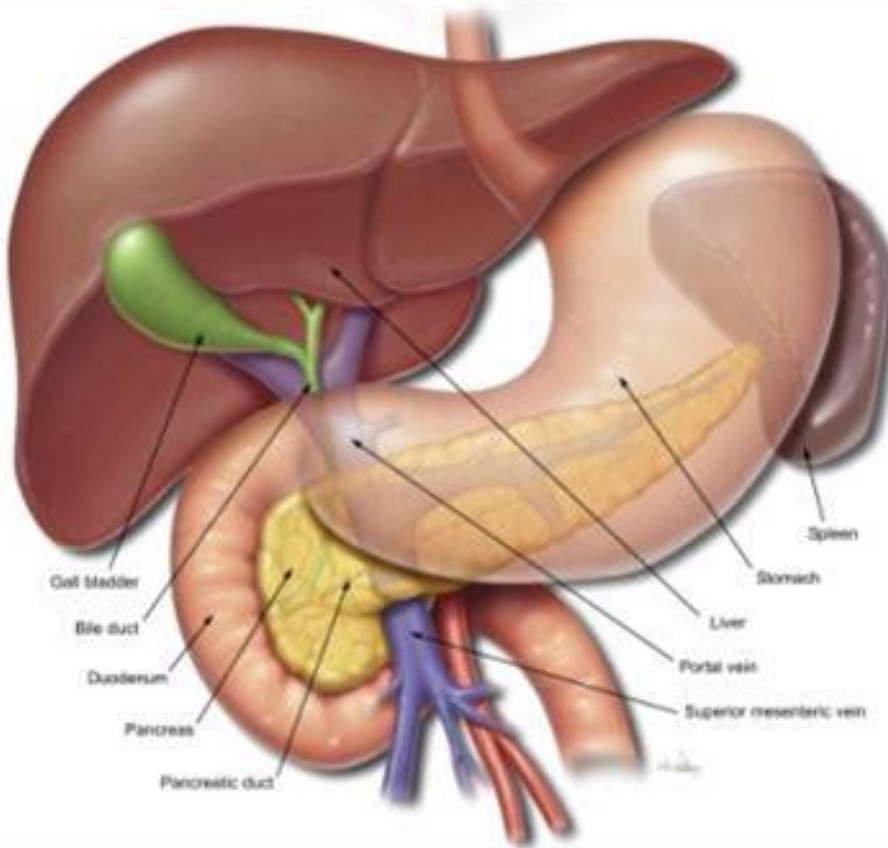
Mouse liver



소화계통(digestive system)

췌장(이자, Pancreas)

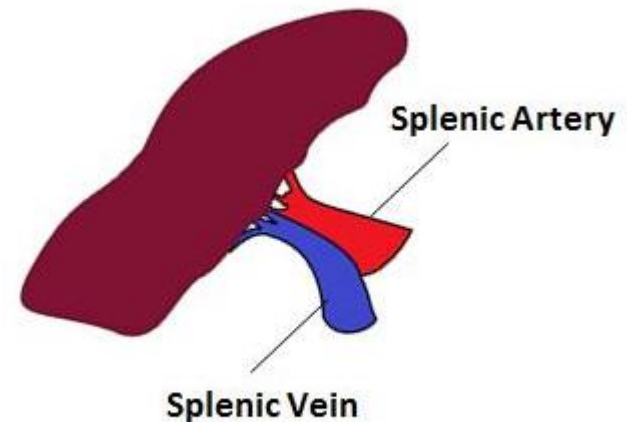
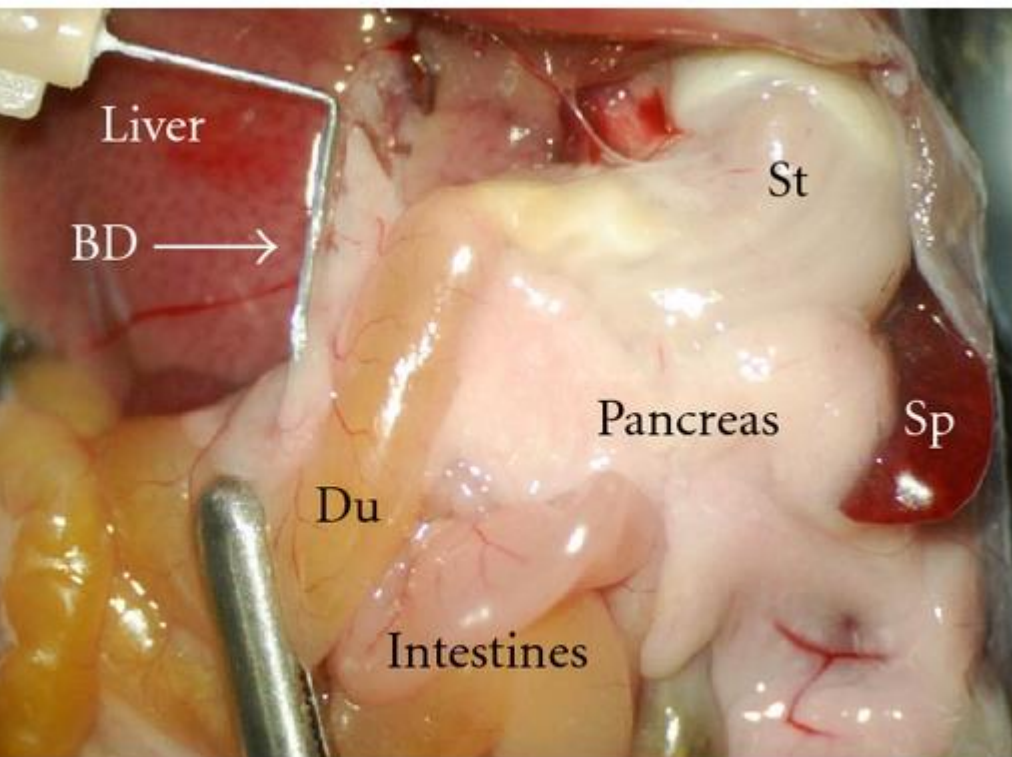
- 위 뒷쪽, 십이지장에 접하여 존재
- 소화효소 분비
- 인슐린 분비

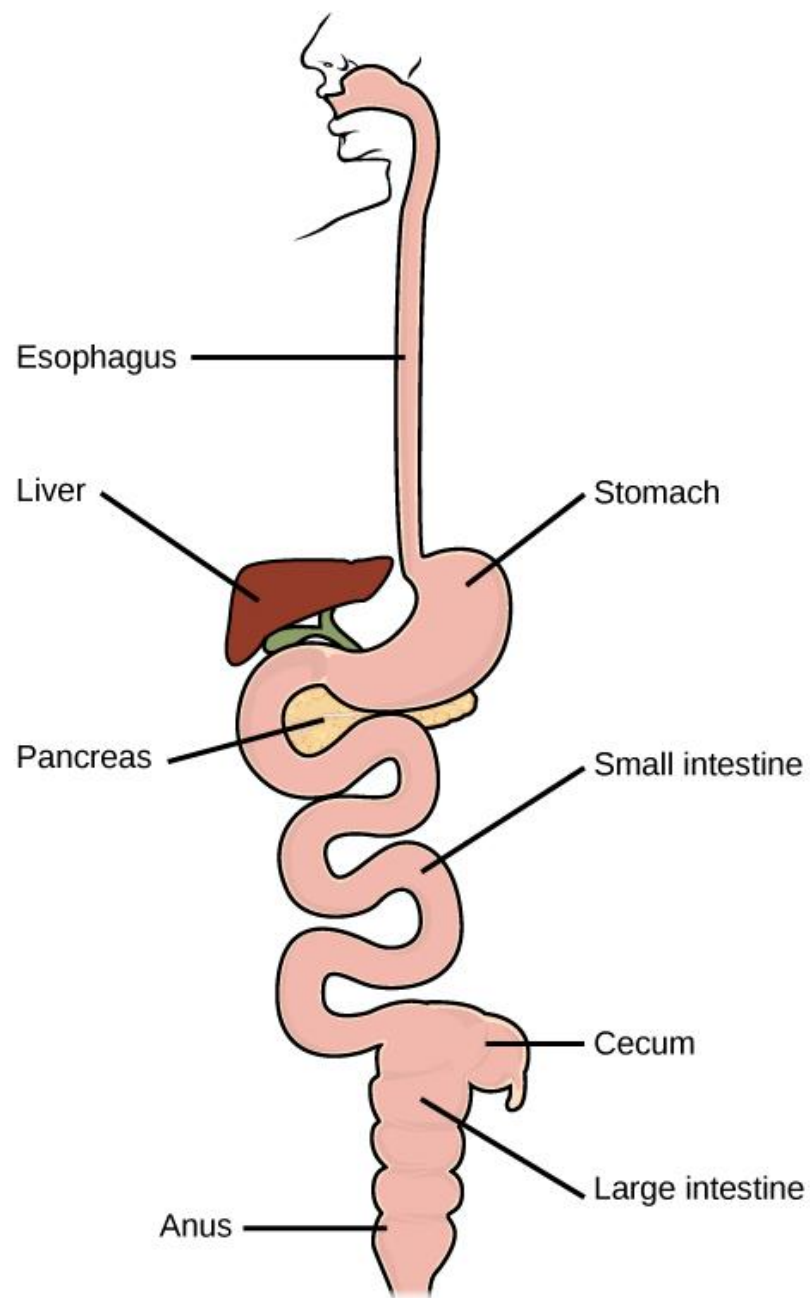


면역계통(immune system)

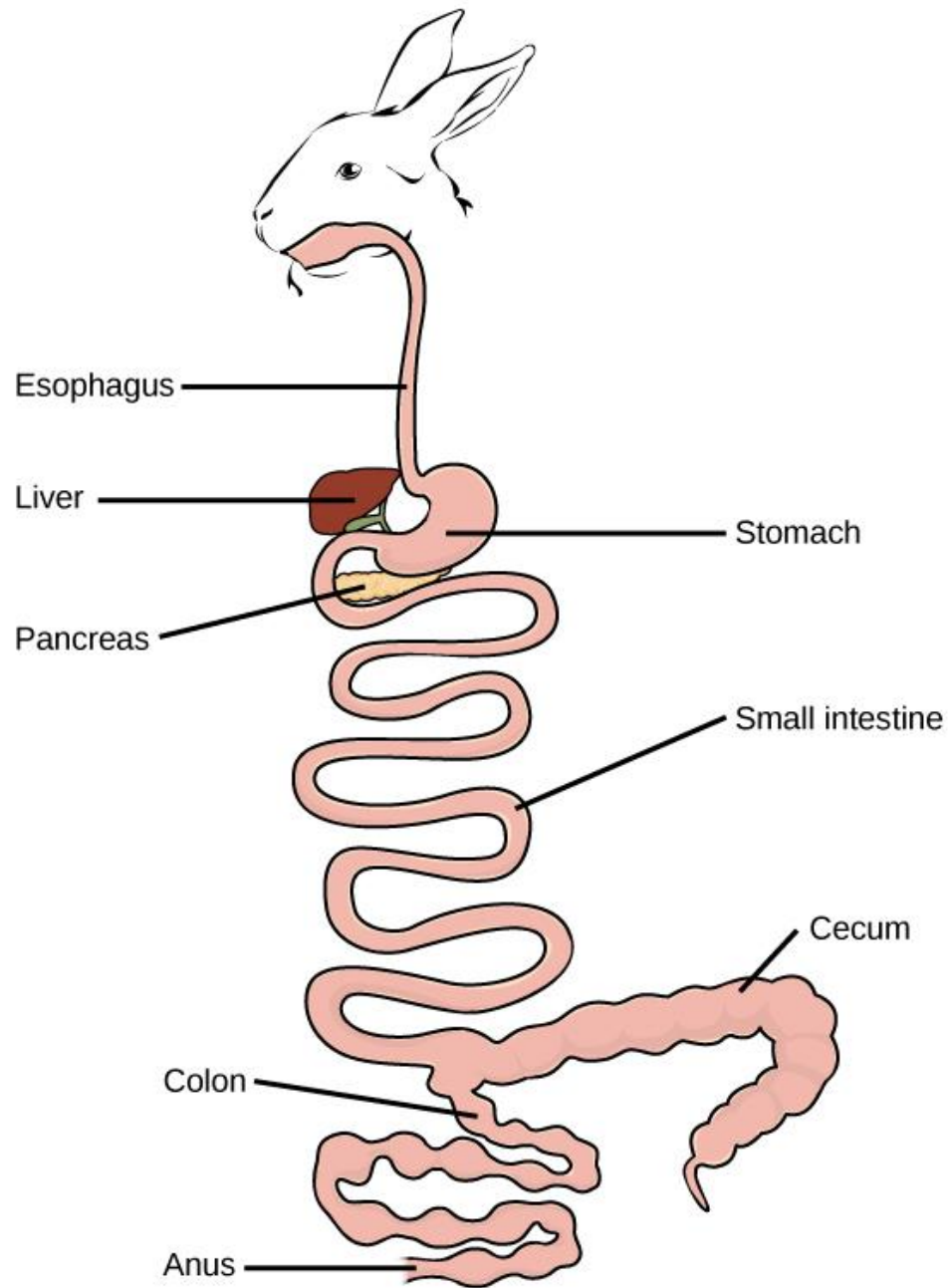
비장 (지라, spleen)

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





(a) Human digestive system

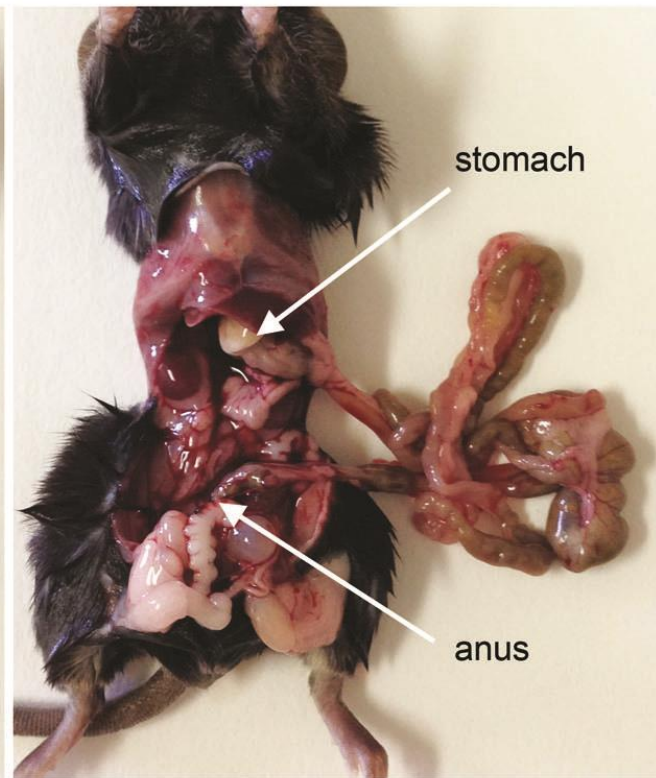


(b) Rabbit digestive system

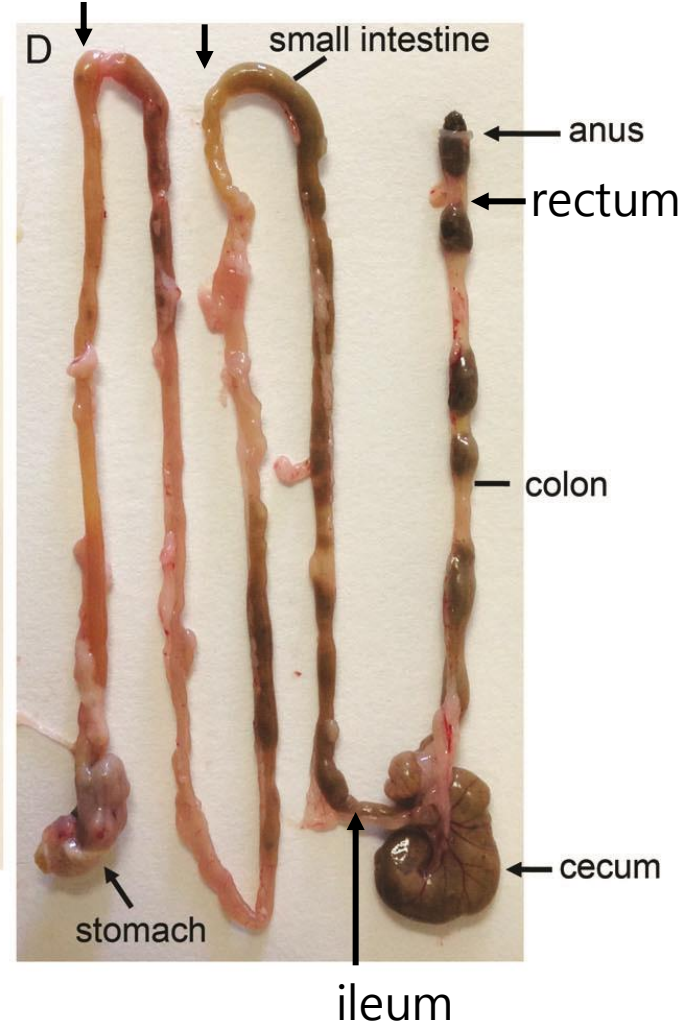
B



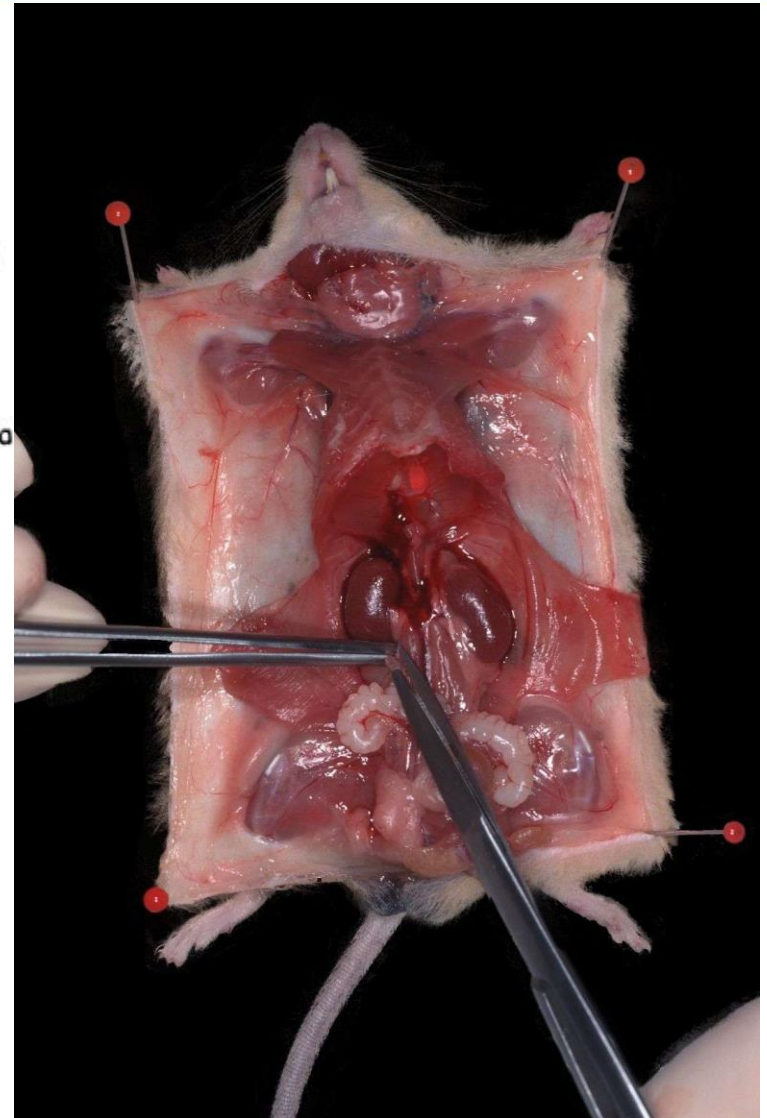
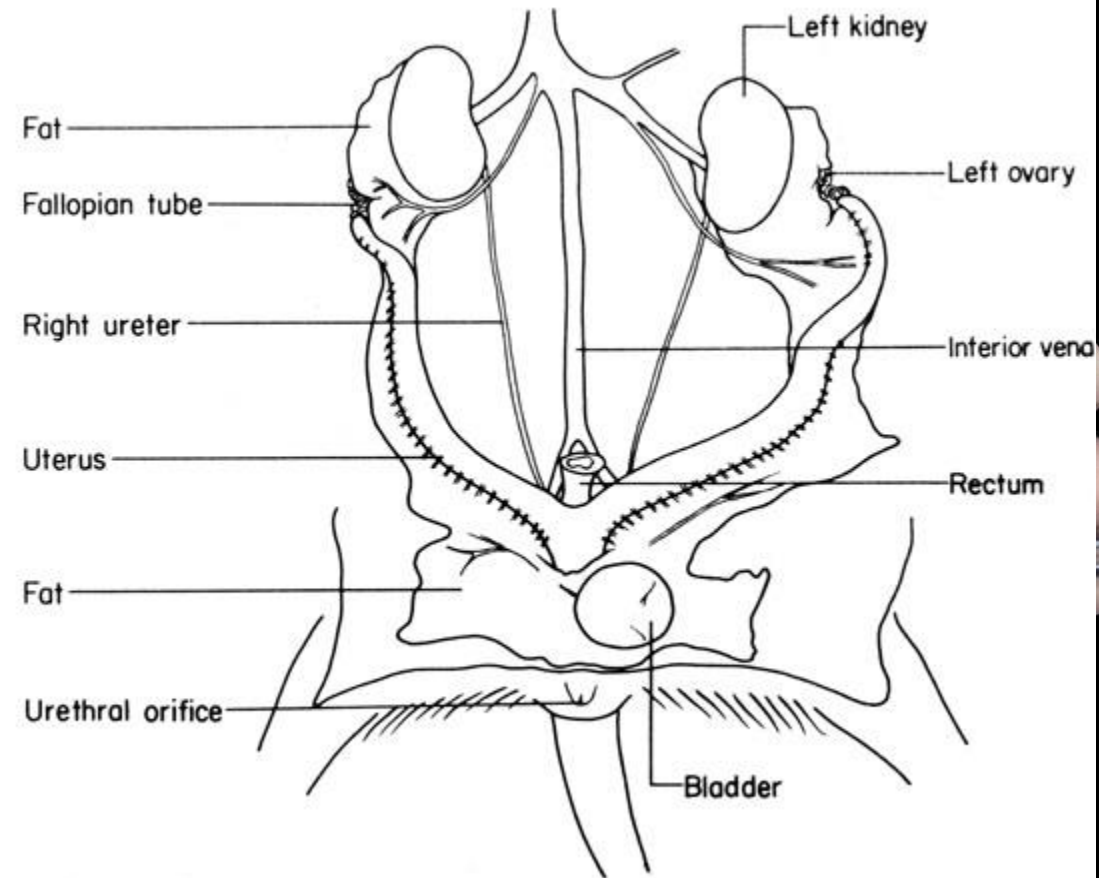
C



Duodenum jejunum

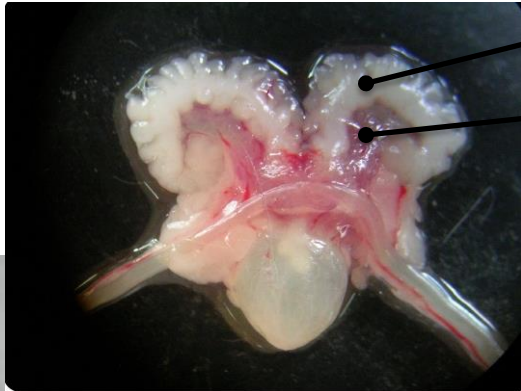


비뇨계통(Urinary system)



생식계통(reproductive system)

수컷생식기관



1) 정낭(seminal vesicle)

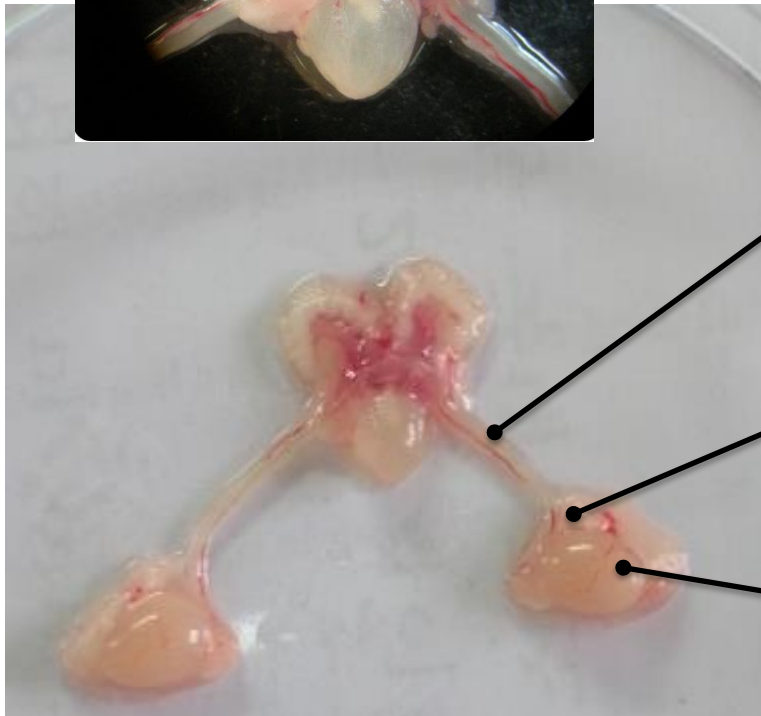
2) 응고샘(coagulating gland)

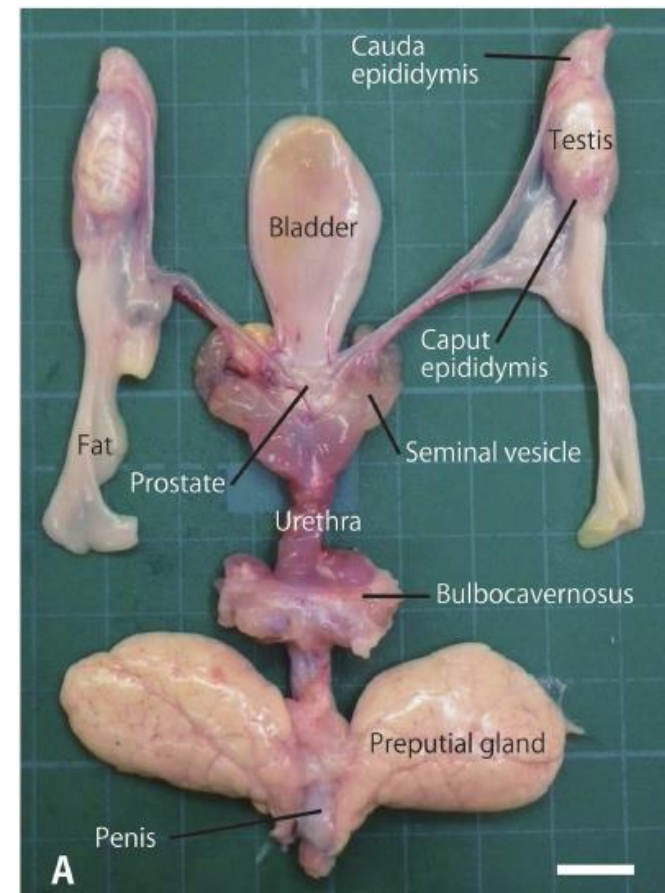
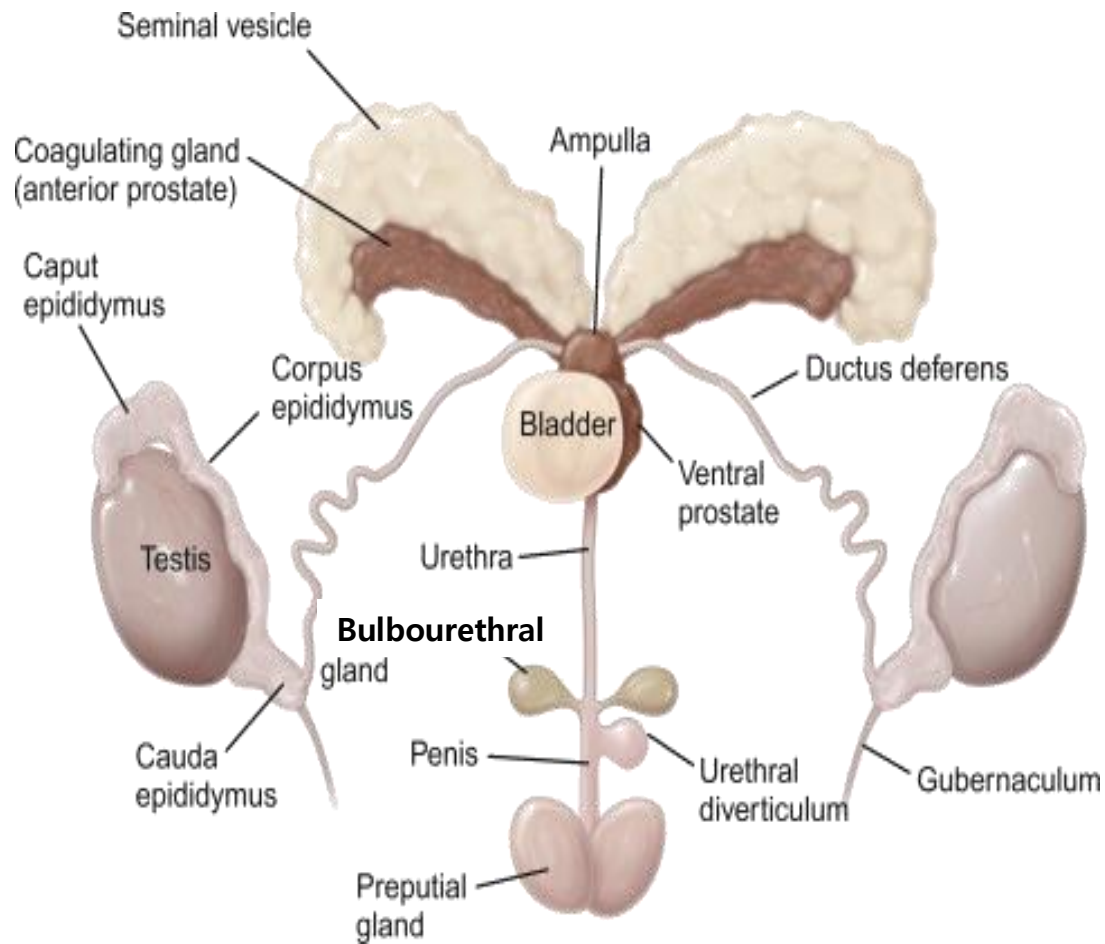
3) 음낭(scrotum): 고환과 부고환을 수용하는 피부 주머니로 항문의 바로 배쪽에 있다.

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

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

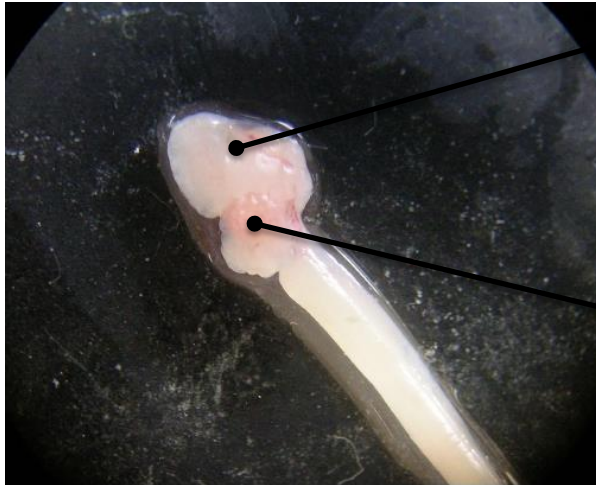
6) 고환(testis): 질긴 섬유 결합조직 피막인 백색막에 싸여 있다.





생식계통(reproductive system)

암컷생식기관



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

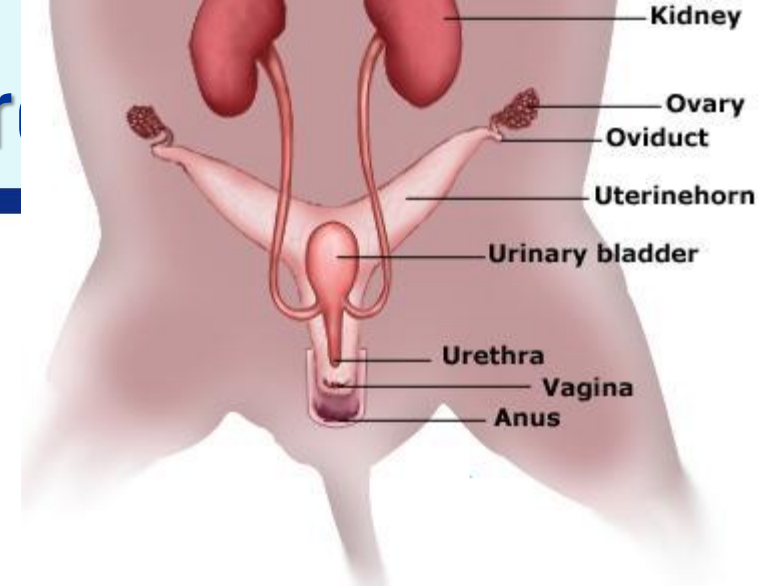
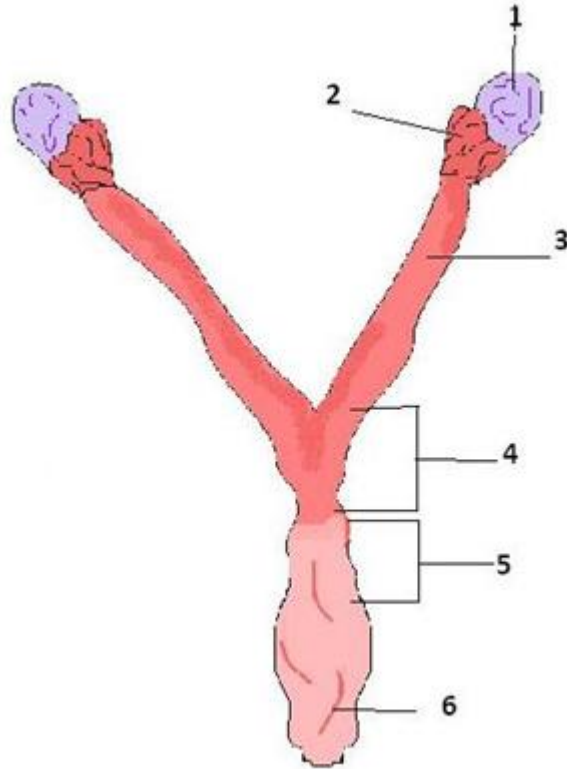
2) 난관(oviduct): 난소와 자궁을 연결하는 심히 꼬불꼬불하게 꼬인 아주 작은 관이다.



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

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

생식계통(r

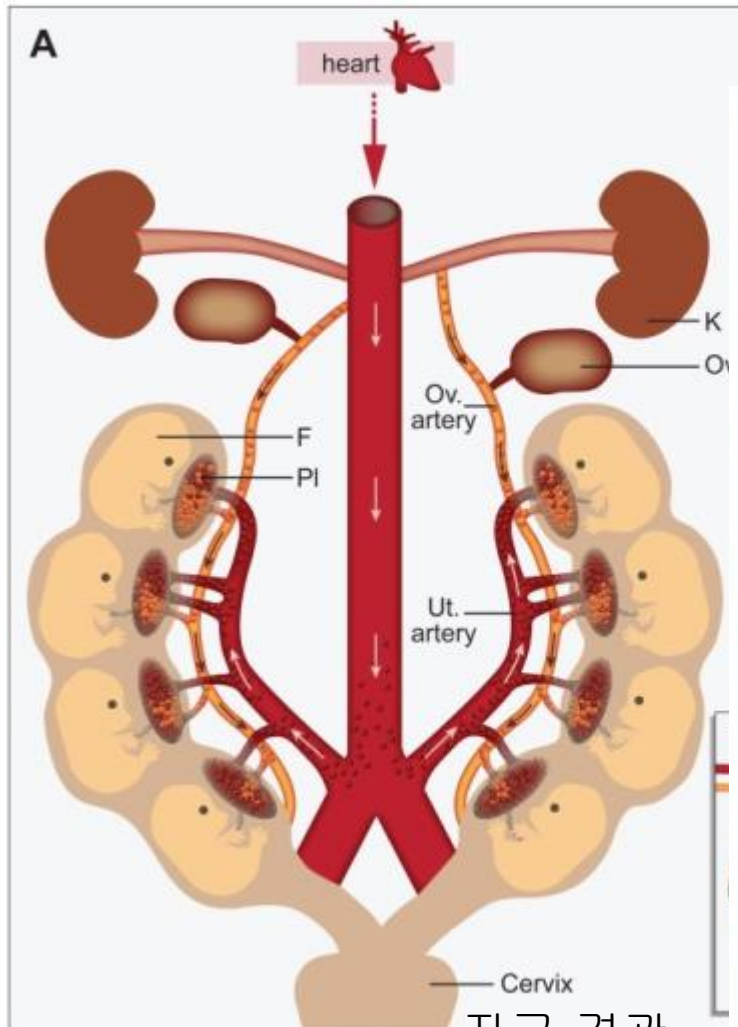


Female Mouse reproductive anatomy:

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

