

## 신경연접의 3차원 재구성을 위한 고압전자현미경 시료제작에 관한 연구

이계주, 박창현, 유임주

고려대학교 의과대학 해부학교실

고압전자현미경의 가장 큰 장점은 시료 투과력의 증가로 인해 두꺼운 절편을 관찰할 수 있다는 점이며, 이를 통해 미세구조의 3차원적 특성을 규명하는 것이 용이해진다. 신경연접과 같은 미세구조의 3차원 재구성은 현재 두 가지 방법으로 얻어 질 수 있다. 첫 번째는 stereo paired image나 tilting tomograph를 이용하는 방법이고, 두 번째는 일련의 연속절편을 영상 분석 프로그램을 활용하여 3차원 영상으로 재구성하는 방법이다. 최근 일반 투과전자현미경을 이용하여 두 번째 기법을 활용한 신경연접의 구조 변화 연구가 활발히 진행되고 있음을 고려할 때, 고압전자현미경을 이용하여 좀 더 두꺼운 절편을 관찰할 수 있다면 연구 기간과 노동력의 절감을 실현시킬 수 있다고 생각된다. 그러나 고압전자현미경은 우수한 투과력에도 불구하고 상대적으로 낮은 contrast로 인하여 관찰하고자 하는 구조물의 contrast를 다양한 염색법을 통해 강화시켜야 하는 제약이 있으며, 이로 인해 두꺼운 시료의 관찰은 가능하나 일반 전자현미경에서 얻을 수 있는 자세한 정보를 잃게 되는 경향이 있다. 따라서 신경연접의 3차원 재구성에 고압전자현미경을 이용하기 위해서는 고압전자현미경이 갖는 장점과 단점 사이에서 적절한 관찰조건을 찾아야 한다.

본 연구는 고압전자현미경을 이용한 신경연접의 3차원 재구성에 관한 예비 실험으로, 통상적으로 제작된 전자현미경 시료의 절편 두께와 염색 정도를 조절하여 자세한 미세구조 정보를 유지하면서 관찰할 수 있는 적절한 절편의 두께를 결정하고자 하였다. 4개월 된 웅성 흰쥐의 소뇌피질을 통상적인 투과전자현미경 시료 제작 방법을 통해 준비하고, 250, 500, 1000 nm 두께의 절편을 제작하여 다양한 조건의 전자 염색 (Uranyl acetate 및 lead citrate)을 수행한 후 고압전자 현미경으로 관찰하였다. 관찰 결과, 절편의 두께에 있어서는 준비한 모든 두께의 절편으로부터 신경연접 형태를 확인할 수 있었다. 그러나 절편의 두께가 증가할수록 신경연접의 막과 같은 미세구조들이 겹쳐서 보이는 현상이 나타나기 때문에 3차원 재구성에 어려움이 따를 것으로 생각되었다. 전자 염색에 의한 contrast의 차이에 있어서는 절편 제작 후의 전자염색 시간보다는 탈수과정 이전의 *en bloc* 염색 시간이 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 따라서 향후 연구에 가장 적합한 조건으로는 하룻밤 동안 *en bloc* 염색을 실시한 후 250 nm 두께의 절

편을 제작하는 방법이 전체적인 신경연접의 미세구조에 관한 정보와 contrast를 유지하는 동시에, 고압전자현미경을 통한 신경연접의 3차원 재구성에 적용할만한 방법으로 판단되었다.

본 연구를 통하여 신경연접의 3차원 재구성에 있어서 고압전자현미경의 적용 가능성을 검증하였고 관찰 조건을 파악하였으며, 고압전자현미경을 이용하는 것이 일반 투과전자현미경에 비해 시간적, 경제적으로 효과적임을 확인할 수 있었다. 본 연구의 결과는 향후 고압전자현미경을 이용한 미세 신경 구조의 연구에 중요한 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

This study was supported by Brain Korea 21 project