

고압전자현미경을 이용한 소뇌 조롱박세포 가지돌기가지 관찰

유 임 주*, 이 계 주, 서 영 석
고려대학교 의과대학 해부학교실

Observation of Dendritic Spines of Purkinje Cell Using High-Voltage Electron Microscopy

Im Joo Rhyu*, Kea Joo Lee and Young Suk Suh
Department of Anatomy, College of Medicine, Korea University
(Received December 10, 2000)

ABSTRACT

The morphological features of neuronal dendritic spines are changed their shapes, sizes and density in response to physiological or pathological conditions. Therefore, exact analysis of spines warrants understanding of neuronal function. The size of the spine is at the borderline of resolution with light microscopy. High voltage electron microscopy provide excellent resolution of the spines with proper stain techniques thanks to its higher resolution and penetration power.

We evaluated more effective staining method for observing dendritic spines after labeling Purkinje cells with anti-calbindin 28 kD immunohistochemistry or Golgi staining methods. 4 μm thickness sections were observed with high voltage electron microscopy and some morphometric analyses were performed.

Both Golgi staining and immunohistochemistry revealed the detail structures of the Purkinje cell such as soma, dendrites, and dendritic spines. High voltage electron micrographs with Golgi staining provide more precise morphology and are easy to measure. Average density of spine is $24.5 \pm 3.6/10 \mu\text{m}$ and its length is $1.12 \pm 0.22 \mu\text{m}$.

For quantitative analysis of the spines, high voltage-electron micrographs with Golgi staining are more effective. This preliminary result is expected to be useful for further study of spine plasticity in various conditions.

Key words : Cerebellum, Dendritic spines, Gogi staining, High voltage electron microscopy, Purkinje cell

본 논문의 요지는 제 31차 한국전자현미경학회 추계학술대회(2000)에서 발표되었음.

* Correspondence should be addressed to Dr. Im Joo Rhyu, Department of Anatomy, College of Medicine, Korea University, 126-1 Anam-Dong 5 Ga, Seongbuk-Ku, Seoul, 136-705 Korea. Ph.: 02-920-6405, FAX: 02-929-5696, E-mail: irhyu@korea.ac.kr

Copyright © 2001 Korean Society of Electron Microscopy

서 론

신경세포 가지돌기가시는 중추신경계의 흥분성 자극에 반응하는 신경연접 이후 부위 (Gray, 1959)로 Ramon y Cajal이 golgi법으로 관찰하여 보고한 이후 현재까지 신경세포에서의 역할에 대하여 많은 연구가 이루어져 왔다.

신경세포 가지돌기가시는 발달과정, 환경, 노화 (Globus et al., 1973; Purpura, 1974; Scheibel et al., 1975; Feldman & Dowd, 1975) 등에 의해 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 또한 최근 연구에 의하면 학습, 호르몬 상태 등에 의해서도 변화되며 (Woolley & McEwen, 1993; Moser et al., 1997; O'Malley et al., 1998), kainic acid (Suzuki et al., 1997), pilocarpine (Isokawa, 1998), kindling stimulation (Bundman & Gall, 1994; Spigelman et al., 1998) 및 alcohol (King et al., 1988) 등의 처치에 의해서도 변화된다고 알려져 있다. 특히 기억형성과정과 관련된 모델로 제시되고 있는 Long Term Potentiation (LTP) 과 관련하여 신경세포 가지돌기가시 부위의 형태학적 변화에 대한 보고가 있어 (Buchs & Muller, 1996; Collin et al., 1997; Toni et al., 1999) 신경세포 가지돌기가시가 기억형성 등의 신경가소성에 중요한 역할을 하는 것으로 제시되고 있다. 신경세포의 가지돌기가시는 광학현미경, 전자현미경, 초고압전자현미경 및 공초점전자현미경 등을 이용하여 관찰할 수 있는데, 특히 초고압전자현미경이 유용한 것으로 보고되고 있다 (Hama et al., 1994).

소뇌의 조롱박세포는 소뇌로 들어오는 정보를 처리하여 원심성섬유를 내보내는 소뇌결질에서의 유일한 신경세포이다. 조롱박세포의 가지돌기가시는 조롱박세포로 들어오는 정보를 일차적으로 수용하여 처리하는 기능을 수행하고 있어 소뇌의 적절한 기능수행을 위해 중요한 구조물이다. 이에 본 연구에서는 PROD계 마우스를 calbindin항체를 이용한 면역조직화학법과 Golgi 염색방법으로 각각 처리하여 표본을 제작하고 고압전자현미경으로 관찰하여 효과적인 관찰방법을 찾고 영상분석 기법을 이용하여 가지돌기가시의 밀도와 가시의 길이를 측정하였다.

재료 및 방법

1. Golgi 염색

생후 6개월 된 PROD계의 3마리의 건강한 웅성 생쥐를 Nembutal (50 mg/kg)을 복강 투여하여 마취한 후 4% paraformaldehyde를 이용하여 관류고정하였다. 소뇌를 적출하여 2% paraformaldehyde와 2.5% glutaraldehyde에 하룻밤 동안 후고정한 후 3~4 mm의 시상절편을 제작하고 0.1 M cacodylate buffer로 수세하였다. 이어서 2.25% potassium dichromate-0.4% osmium tetroxide의 혼합용액에 4일 동안 조직을 반응시키고, 0.75% silver nitrate용액에서 3일 동안 반응시켰다. 그 후 통상적인 방법으로 탈수과정을 거쳐 Epon-Araldite mixture에 포매하였다. 활주형 박절기를 이용하여 포매된 조직으로부터 50 μ m의 절편을 제작한 후 유리 슬라이드위에 재포매하여 광학현미경으로 관찰하였으며, 적절하게 염색된 절편을 선택하였다. 선택된 절편을 Epon-Araldite블록에 순간접착제를 이용하여 부착하였고, 3~4 μ m의 절편을 제작하여 75 mesh double copper grid에 올린 후 일본 국립생리연구소 (NIPS, Okazaki, Japan)에 있는 고압 전자현미경 (Hitachi H-1250M)으로 가속전압 1000 kV에서 관찰하였다.

2. 면역조직화학법

PROD계의 웅성 생쥐 3마리를 Nembutal (50mg/kg)을 복강 투여하여 마취한 후 4% paraformaldehyde와 0.1% glutaraldehyde를 이용하여 관류 고정하였으며 소뇌를 적출하여 동일 고정액에 16시간 정도 후고정하였다. 30% sucrose용액에 조직이 가라앉을 때까지 기다린 후 꺼내어 액체질소에 약 20~30초간 담갔다 꺼내어 녹인 후 Vibratome을 이용해 30~200 μ m의 시상절편을 제작하였다. 절편을 PBS 완충액으로 세척하고 normal goat serum, 2% bovine serum albumin 등을 거쳐서 비특이적 면역반응을 감소시킨 다음에 calbindin-28 kD 항체 (Sigma, MO)를 1 : 30,000으로 희석하여 4°C에서 하룻밤 반응시킨 후, PBS 완충액으로 10분씩 3~4회 세척하여 biotin-labeled anti-mouse IgG (Vector Lab., 1 : 400)로 2시간 정도 반응시

키고 horseradish peroxidase-labeled streptavidin 용액으로 1시간 처리하였다. 0.05% DAB와 0.006% H₂O₂로 발색반응을 10~20분간 시행하였다. 발색을 확인한 다음 1% osmium tetroxide용액에 2시간 후고정하였고 1% uranyl acetate로 전자염색한 후 탈수와정을 거쳐 Epon-Araldite mixture에 포매하여 Golgi 염색에서 기술한 방법과 동일하게 절편을 제작하여 관찰하였다.

3. 가시의 밀도와 길이 측정

소뇌 조롱박세포 가지돌기가시의 정량적 분석적으로 가시의 밀도와 길이를 측정하였다. 얻어진 필름을 스캐너를 통하여 Tiff 형태로 저장하여 Rhyu 등의 방법에 따라 NIH 영상 분석 프로그램을 이용하여 측정하였다 (Rhyu et al., 1999a). 가시의 밀도는 가지돌기 10 μm당 가시의 수로 표기하였고, 모든 가지돌기가시의 측정은 3차 분지 수준에서 시행되었다.

결 과

광학 현미경적 소견을 살펴보면 Golgi염색과 면역화학반응 모두에서 세포체와 가지돌기는 쉽게 확인되었고 가지돌기가시의 존재 사실을 확인 할 수 있었으며 Golgi 염색의 경우 (Fig. 1A, B). 초점을 조절해가면서 관찰하면 가지돌기가시의 수를 셀 수 있었다.

고압전자현미경을 이용하여 1,000배에서 관찰한 소견을 보면 Golgi염색과 면역화학반응 모두에서 광학현미경에 비하여 좀 더 자세히 관찰되었으며, 특히 Golgi염색의 경우 가지돌기가시가 분명하게 관찰되었다 (Fig. 1C, D).

면역화학반응을 이용하여 조롱박세포를 표지한 경우, 가지돌기가시의 표면이 매끄럽게 관찰되고 있으며, 다양한 형태로 존재하고 있음을 알 수 있으나, 주변에 있는 다른 조롱박세포와 겹쳐 관찰되어 정량적으로 분석하기에는 많은 노력이 필요하였다 (Fig. 2B, D).

Golgi 염색으로 표지된 가지돌기가시는 매우 뚜렷하여 쉽게 가시의 숫자와 길이를 파악할 수 있었다. 8,000배 정도의 고배율로 관찰하게 되면 면역 염색 방법과는 달리 가지 주변부에 다양한 크기의 원형

입자가 관찰되었다. 이는 가시 자체의 구조가 아니라 Golgi 염색과정에서 나타나는 반응산물의 침착으로 생각된다 (Palay & Chan-Palay, 1974a). Golgi 염색으로 준비된 시료를 관찰할 경우 다양한 형태의 가지돌기가시가 관찰되었다. 가시의 형태를 살펴 보면 (1) 목이 짧고 머리가 둥근 형태 (2) 목이 길고 머리가 둥근 형태 (3) 막대모양으로 생긴 형태 (4) 머리가 없이 실 모양으로 늘어진 형태 (5) 나뭇 잎모양의 형태 (6) 머리가 둘 또는 셋으로 갈라진 형태 등이 관찰되었다 (Fig. 1C).

Golgi 염색으로 준비된 시료가 가지돌기가시의 정량분석에 용이한 것으로 판단되어 NIH 영상 분석 프로그램을 이용하여 561 μm의 가지돌기 위에 위치한 1,354개의 가지돌기가시를 분석한 결과 평균 24.5 ± 3.6개/10 μm (평균 ± 표준편차)로 나타났다. 위의 1,354개의 가지돌기가시 중 전체의 모습이 확실하게 나타나는 가시의 길이를 측정한 평균길이는 1.12 ± 0.22 μm (평균 ± 표준편차)였다.

고 찰

현재까지의 연구들에 따르면 신경세포 가지돌기가시는 발달과정에서 가시생성에 문제가 있는 경우 정신펙약의 증상을 나타낼 수 있고 (Purpura, 1974) 특정 환경에 의해 가시의 밀도가 변화한다고 알려져 있으며 (Globus et al., 1973), 노화에 따라 가지돌기가시의 수가 감소한다고 보고되어 있다 (Scheibel et al., 1975; Feldman & Dowd, 1975).

또한 가지돌기가시는 학습이나 호르몬 처치에 의해 밀도와 분포의 증가를 보이며 (Woolley & McEwen, 1993; Moser et al., 1997; O'Malley et al., 1998), kainic acid 투여에 의한 가시의 크기와 밀도증가 (Suzuki et al., 1997), pilocarpine 또는 alcohol 처치에 의한 가시의 감소 (King et al., 1988; Isokawa, 1998), kindling stimulation에 의한 가시 수의 증가 (Bundman & Gall, 1994; Spigelman et al., 1998) 등 신경상태변화에 민감하게 변화된다고 알려져 있다. 특히 최근 기억형성과정과 관련된 Long Term Potentiation (LTP) 과정을 거치면서 신경세포 가지돌기가시의 크기, 형태, 밀도 및 신경연접부위가 변화된다는 보고 (Buchs & Muller,

1996; Collin et al., 1997; Toni et al., 1999) 등이 있어 신경세포 가지돌기가시의 형태를 분석하는 것은 기능을 이해하는데 중요한 정보를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

가지돌기 가시는 약 0.2~2 μm 정도로 광학현미경 해상도의 경계부분에 있어 공초점전자현미경과 투과전자현미경을 이용한 연구가 많이 보고되고 있다 (Harris & Stevens, 1989). 투과전자현미경을 이용할 경우 가지돌기가시를 단편적으로 관찰할 수 있고, 연속절편의 3차원 재구성을 통하여 전체적인 형태를 가늠할 수 있으나 많은 시간과 노력이 필요하다. 적절한 염색을 시행후 3~4 μm 두께의 절편을 초고압전자현미경으로 관찰하면 효과적으로 가지돌기가시를 관찰할 수 있는 것으로 알려져 있다 (Hama et al., 1989).

의생명 분야에서 고압전자현미경의 활용시도는 초박편기술이 정립되지 않았을 때, 세포 전체를 한번에 관찰하고자 하는 노력에서 시작되었다 (Hama, 1989). 꾸준한 기술개발로 현재 가속전압 3,000 kV까지의 초고압전자현미경이 상용화되어 여러 분야에서 활용되고 있다. 고압전자현미경은 통상적인 투과전자현미경에 비하여 높은 해상력과 우수한 투과력을 가지고 있어 3~5 μm 정도의 두꺼운 절편을 입체적으로 관찰할 수 있다. 하지만 상대적으로 낮은 콘트라스트를 보여 적절한 염색기법을 활용하는 것이 효과적인 관찰을 위하여 요구된다.

본 연구는 소뇌 조롱박세포의 가지돌기가시를 Golgi 방법과 항calbindin-28 kD항체를 이용하여 표지한 후 광학현미경과 고압전자현미경을 이용하여 비교 관찰하였다. Golgi 염색은 고전적인 염색기법이나 아직까지 그 원리를 완전히 알지 못하고 있어 표준화된 조건을 잡기가 쉽지 않으며 불특정 다수의 세포가 염색되어 원하는 세포가 항상 염색되는 것은 아니다 (Rhyu et al., 1999b). 항calbindin-28 kD항체를 이용할 경우 소뇌에서는 조롱박세포만을 특이적으로 염색하는 특징이 있기 때문에 조롱박세포의 형태를 연구하는데 활용되어 왔다 (Rhyu et al., 1999c). Golgi 염색의 경우 7일 정도가 소요되지만, 면역염색은 2~3일 정도만 필요하다. 시간절약과 특이적 표지가 가능한 면역염색기법을 고압전자현미경 관찰에 활용가

능성을 확인하였고 기존에 활용되어 온 Golgi 염색방법과 비교하였다.

Golgi 염색법과 면역화학법 모두에서 조롱박세포의 세포체, 가지돌기, 가지돌기가시 등을 무리 없이 관찰할 수 있었다. 하지만 면역염색기법을 이용할 경우 주변에 있는 거의 모든 조롱박세포가 염색되어, 하나의 세포만을 염색하는 Golgi 방법에 비하여 정량적으로 분석하기에는 적절하지 못하였다. Golgi 염색의 경우 강한 반응물의 침착과 주변의 다른 세포가 거의 염색되지 않은 관계로 형태학적 계측을 쉽게 할 수 있었다. 따라서 정량적 분석까지 고려한다면 Golgi 염색으로 준비된 시료를 고압전자현미경으로 관찰하는 것이 바람직하다고 생각된다.

본 연구에서는 2,000배로 촬영한 고압전자현미경 사진 중 측정이 용이한 가지돌기를 무작위로 측정하여 실험적 수준의 계측결과를 얻었다. 생쥐의 조롱박세포의 가지돌기가시의 평균 밀도는 가지돌기 10 μm 당 24.5 ± 3.6 개로 나타났다. 현재까지 생쥐 조롱박세포 가지돌기가시의 밀도나 가시의 길이를 계측한 논문은 찾아 볼 수 없어 직접적인 비교는 어렵지만, 다른 척추동물에서의 연구결과를 살펴보면 기존의 Golgi 염색 후 광학현미경으로 관찰한 자료로는 흰쥐 17.8개/10 μm (Palay & Chan-Palay, 1974b), 원숭이 15개/10 μm (Fox & Bernard, 1957) 및 개구리 10개/10 μm (Hillman, 1969) 등으로, 양서류보다는 확실히 많게 존재하는 것으로 생각되며, 흰쥐와의 차이는 고압전자현미경의 높은 해상력에 기인한 것이라고 판단된다. 하지만 흰쥐에서 Golgi염색과 고압전자현미경을 이용하여 Hama와 Kosaka (1979)가 보고한 42개/10 μm 보다는 적게 계측되었다. 이는 본 연구가 한 장의 사진에 의존하여 평면적 분석을 한 반면, Hama와 Kosaka는 경사를 주어 촬영한 두 쌍의 사진으로 만들어진 입체상을 분석한 결과에서 얻어진 결과로 더 많은 가지돌기가시가 관찰된 것으로 생각된다.

또한 Hama와 Kosaka는 흰쥐의 조롱박세포 가시의 크기가 최대 1.5 μm 까지 존재하는 것을 확인하여 보고 (1979)하였는데, 본 연구의 결과인 $1.12 \pm 0.22 \mu\text{m}$ 보다 조금 크게 나타난 것은 입체적인 분석에 기인한 것이라고 판단되며, 입체상을 분석하면 좀 더 사실에 가까운 계측을 할 수 있을 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

- Buchs PA, Muller D: Induction of long-term potentiation is associated with major ultrastructural changes of activated synapses. *Proc. Natl Acad Sci USA* 93(15): 8040-5, 1996.
- Bundman MC, Gall CM: Ultrastructural plasticity of the dentate gyrus granule cells following recurrent limbic seizures. *Hippocampus* 4(5): 611-622, 1994.
- Collin C, Miyaguchi K, Segal M: Dendritic spine density and LTP induction in cultured hippocampal slices. *J Neurophysiol* 77(3): 1614-23, 1997.
- Feldman ML, Dowd C: Loss of dendritic spines in aging cerebral cortex. *Anat Embryol (Berl)* 148(3): 279-301, 1975.
- Fox CA, Bernard JW: A quantitative study of the Purkinje cell dendritic branchlets and their relationship to afferent fibres. *J Anat* 91: 299-313, 1957.
- Globus A, Rosenzweig MR, Bennett EL, Diamond MC: Effect of differential experience on dendritic spine counts in rat cerebral cortex. *J Comp Physiol Psychol* 82(2): 175-181, 1973.
- Gray EG: Electron microscopy of synaptic contacts in cerebral cortex. *Nature* 183: 1592-1593, 1959.
- Hama K, Kosaka T: Purkinje cell and related neurons and glia cells under high-voltage electron microscopy. In: Zimmerman HM, ed, *Progress in Neuropathology Vol. 4*, pp. 61-77, Raven Press, New York, 1979.
- Hama K, Arai T, Kosaka T: Three-dimensional morphometrical study of dendritic spines of the granule cell in the rat dentate gyrus with HVEM stereo images. *J Electron Microscopy Technique* 12(2): 80-87, 1989.
- Hama K: Biological application of high voltage electron microscopy. *J Electron Microscop* 38: Suppl., S156-162, 1989.
- Hama K, Arai T, Kosaka T: Three-dimensional organization of neuronal and glial processes. *Microsc Res Tech* 29(5): 357-367, 1994.
- Harris KM, Stevens JK: Dendritic spines of CA 1 pyramidal cells in the rat hippocampus. *J Neurosci* 9: 2982-2997, 1989.
- Hillman DE: Neuronal organization of the cerebellar cortex in amphibia and reptilia. In: Llinas R, ed, *Neurobiology Cerebellar Evolution and Development*, pp. 279-325, American Medical Association, Chicago, 1969.
- Isokawa M: Remodeling dendritic spines in the rat pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *Neurosci Lett* 258(2): 73-76, 1998.
- King MA, Hunter BE, Walker DW: Alterations and recovery of dendritic spine density in rat hippocampus following long-term ethanol ingestion. *Brain Res* 459(2): 381-385, 1988.
- Moser MB, Trommald M, Egeland T, Andersen P: Spatial training in a complex environment and isolation alter the spine distribution differently in rat CA1 pyramidal cells. *J Comp Neurol* 380(3): 373-381, 1997.
- O'Malley A, O'Connell C, Regan CM: Ultrastructural analysis reveals avoidance conditioning to induce a transient increase in hippocampal dentate spine density in the 6 h post-training period of consolidation. *Neuroscience* 87(3): 607-613, 1998.
- Palay SL, Chan-Palay V: *Cerebellar cortex*. Springer-Verlag, New York, pp. 36, 1974a.
- Palay SL, Chan-Palay V: *Cerebellar cortex*. Springer-Verlag, New York, pp. 34, 1974b.
- Purpura DP: Dendritic spine dysgenesis and mental retardation. *Science* 186(4169): 1126-1128, 1974.
- Rhyu JJ, Cho TH, Lee NJ, Uhm CS, Kim H, Suh YS: Magnetic resonance image-based cerebellar volumetry in healthy Korean adults. *Neurosci Lett* 270(3): 149-152, 1999a.
- Rhyu JJ, Abbott LC, Walker DB, Sotelo C: An ultrastructural study of granule cell/purkinje cell synapses in tottering (tg/tg), leaner (tg (la)/tg (la)) and compound heterozygous tottering/leaner (tg/tg (la)) mice. *Neuroscience* 90(3): 717-728, 1999b.
- Rhyu JJ, Oda S, Uhm CS, Kim H, Suh YS, Abbott LC: Morphologic investigation of rolling mouse Nagoya (tg (rol)/tg (rol)) cerebellar purkinje cells. *Neurosci Lett* 266(1): 49-52, 1999c.
- Scheibel ME, Lindsay RD, Tomiyasu U, Scheibel AB: Progressive dendritic changes in aging human cortex. *Exp Neurol* 47(3): 392-403, 1975.
- Spigelman I, Yan XX, Obenaus A, Lee EY, Wasterlain CG, Ribak CE: Dentate granule cells form novel basal dendrites in a rat model of temporal lobe epilepsy. *Neuroscience* 86(1): 109-120, 1998.
- Suzuki F, Makiura Y, Guilhem D, Sorensen JC, Onteniente B: Correlated axonal sprouting and dendritic spine formation during kainate-induced neuronal morphogenesis in the dentate gyrus of adult mice. *Exp Neurol* 145(1): 203-

213, 1997.

Toni N, Buchs PA, Nikonenko I, Bron CR, Muller D: LTP promotes formation of multiple spine synapses between a single axon terminal and a dendrite. *Nature* 402(6760): 421-5, 1999.

Woolley CS, McEwen BS: Roles of estradiol and progesterone in regulation of hippocampal dendritic spine density during the estrous cycle in the rat. *J Comp Neurol* 336(2): 293-306, 1993.

< 국문초록 >

신경세포 가지돌기가지는 생리적인 조건이나 병적인 상태의 변화에 의해 그 크기, 모양, 밀도 및 신경연접부위가 변화된다는 보고 등이 있어 신경세포 가지돌기가지의 형태를 분석하는 것은 신경세포의 기능을 이해하는데 중요하다. 가지돌기가지는 광학현미경 해상도의 한계근처에 있는 구조물로 투과전자현미경 및 공초점현미경 등을 이용한 연구들이 보고 되고 있다. 고압전자현미경은 높은 해상도와 투과능력 덕분에 두꺼운 절편의 관찰이 용이하여 신경세포의 가지돌기가지 등을 관찰하는데 유용한 것으로 알려져 있다. 고압전자현미경을 이용

하여 신경세포의 가지돌기가지를 효과적으로 관찰하는 방법을 확인하고 기본적인 형태학적 자료를 축적하고자 하였다.

생쥐 소뇌에 위치하는 조롱박세포의 가지돌기가지를 anti-calbindin 28 kD항체 및 Golgi 염색으로 표지한 후 4 μm 두께의 절편을 제작하여 impregnation방법으로 각각 처리하여 표본을 제작한 후, 초고압전자현미경으로 관찰하여 효과적인 관찰방법을 찾고, 영상분석 기법을 이용하여 가지돌기가지의 밀도와 가시의 길이를 측정하였다.

초고압전자현미경 관찰 결과, 면역조직화학법과 Golgi법 모두 조롱박세포의 가지돌기가지를 관찰할 수 있었으나 Golgi법으로 준비된 표본이 가시를 정량적으로 분석하기에 더욱 적합하였다. 영상분석 결과로는 가지돌기가지의 평균밀도가 24.5 ± 3.6 개/ $10 \mu\text{m}$ 였고, 가시의 평균 길이는 $1.12 \pm 0.22 \mu\text{m}$ 였다.

본 연구를 통해서 Golgi법으로 염색된 조롱박세포를 고압전자현미경으로 관찰할 경우, 가지돌기가지를 정량적으로 관찰할만한 만족스러운 영상을 얻을 수 있었고, 추후 경사를 주어 촬영한 두 장의 사진을 이용하여 3차원적으로 분석하면 좀 더 정확한 결과를 얻을 수 있을 것으로 판단되며, 이는 소뇌의 신경가소성을 이해하는데 중요한 자료가 될 것이다.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. Light microscopic photographs of Purkinje cell labeled with Golgi staining (A) and anti-Calbindin 28 kD antibody (B) reveal soma, dendrites and dendritic spines. High voltage electron micrograph with Golgi (C) reveals soma, dendrite and dendritic spines of Purkinje cell. High voltage electron micrograph with immunohistochemistry (D) also demonstrate cell body, dendrite and faintly stained dendritic spines, too (Scale bar: 10 μm).

Fig. 2. Many dendritic spines are emanating from tertiary dendrites. Golgi-stained spines showed strong contrast and permit easy morphometric evaluation (A, C). Spines labeled with anti-Calbindin 28 kD antibody are observed, but it is not easy to count and measure the spines due to its background and weak contrast (B, D). Scale bar, 10 μm (A, B); 1 μm (C, D).

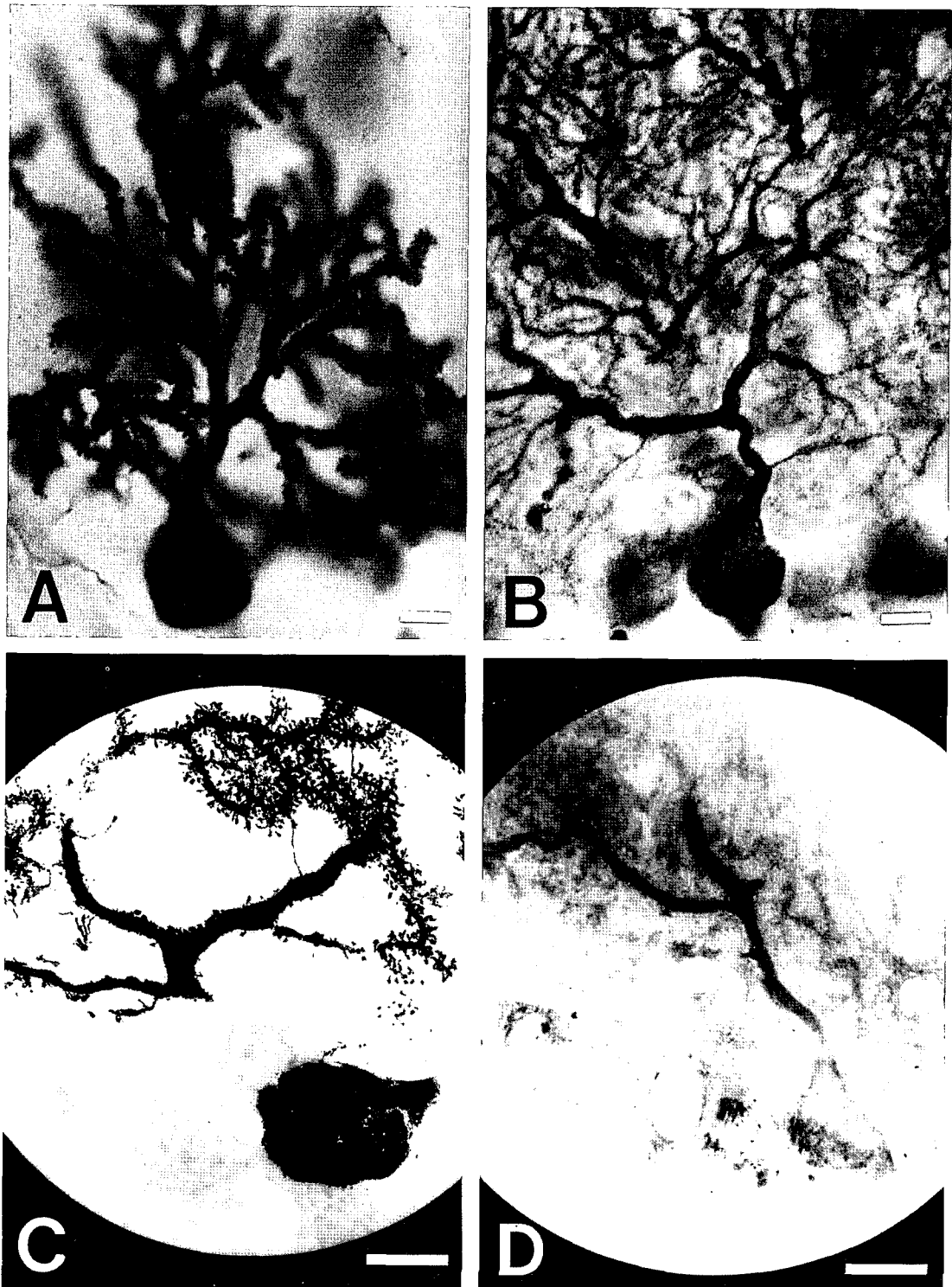


Fig. 1

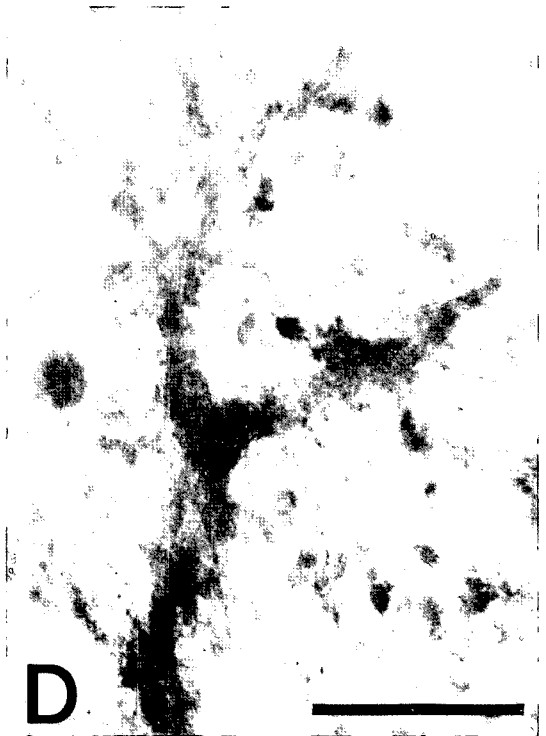


Fig. 2