한국전자현미경학회지 제 33 권 제 3 호 2003
Korean J. Electron Microscopy 33(3), 243~250(2003)

넙치 (*Paralichthys olivaceus*)의 웅성생식세포 발달에 관한 미세구조적 연구

김재원*, 김봉석[1], 최철영[2], 이정식[3]
부경대학교 해양생물학과, [1]국립수산과학원,
[2]미국 국립보건원, [3]여수대학교 어병학과

Ultrastructural Study on the Development of Male Germ Cell of the Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus* (Teleostei: Pleuronectidae)

Jae-Won Kim*, Bong-Seok Kim[1], Cheol-young Choi[2] and Jung-Sick Lee[3]
Department of Marine Biology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea
[1]Biotechnology Research Center, National Fisheries Research and Development Institute, Busan 619-900, Korea, [2]Laboratory of Gene Regulation and Development, National Institute of Child Health and Human Development, National Institutes of Health (NIH), Bethesda, MD 20892, [3]Department of Fish Pathology, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea
(Received September 6, 2003; Accepted September 20, 2003)

ABSTRACT

Ultrastructural changes of the male germ cells and structure of spermatozoa in *Paralichthys olivaceus* were examined by means of the light and transmission electron microscopes. The spermatogonium has a large nucleus with a single nucleus with a single nucleolus in the interphase.

Primary spermatocytes are identified by the formation of the synaptonemal complex in the karyoplasm. The secondary spermatocytes are more concentrated and contains numerous cell organelle in the cytoplasm. The nucleus of spermatid in spermiogenesis is more condensed in the karyoplasm, and show spherical structure in shape. Mitochondria of the spermatids are observed in the lower portion of the nucleus. The spermatozoon consists of the head, mid piece and tail.

The acrosome is not observed in the head. Axial filaments of the flagellum consists of nine pairs of the peripheral microtubules and one pair of the central microtubules.

Key words : *Paralichthys olivaceus*, Spermatogenesis, Ultrastructure

이 논문은 1999년 한국학술진흥재단의 신진연구인력 연구장려금에 의하여 연구되었음.
* Correspondence should be addressed to Dr. Jae-Won Kim, Department of Marine Biology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea.
Ph.: 051-620-6146, FAX: 051-628-7430, E-mail: kjw01@hanmail.net
Copyright © 2003 Korean Society of Electron Microscopy

서 론

넙치, *Paralichthys olivaceus*는 넙치과(Bothidae)에 속하는 체외수정 경골어류로서 우리나라에서 양식되는 대표 어류이며 산란기는 2～6월이다(Chyung, 1977). 가자미목의 정자에 관한 연구는 *Platichthys flesus* (Jones & Butler, 1988)를 비롯하여 물가자미, *Eopsetta grigorjewi* (An et al., 1999a), turbot, *Scophtalmus maximus* (Suquet et al., 1993) 및 문치가자미, *Limanda yokohamae* (An et al., 1999b) 등의 연구들이 있다.

어류에서 정자의 형태 및 구조에 관한 연구는 진화적인 측면에서 유연관계 추적을 위해 그들의 변이성을 토대로 행해지고 있으며(Jamieson, 1991), 어류 정자의 형태 및 미세구조는 종간 또는 그들의 생식생태와 관련하여 그 변이가 다양하다. 일반적으로 어류의 정자는 수정장소에 따라 체외수정형(aquasperm type)과 체내수정형(introsperm type)으로 나뉘고, 이는 다시 첨체의 유무에 따라 첨체형(acrosomal type)과 무첨체형(anacrosomal type)으로 나누어진다(Jamieson, 1991). 경골어류의 정자형성과정과 정자의 형태 등은 고등척추동물과는 다르며, 경골어류들 사이에도 정자형태는 다양하게 나타나고 있어 이에 대한 형태학적 연구 결과들이 많이 보고되고 있다.

본 연구는 넙치 웅성 생식세포의 발달과 정자의 형태 등을 전자현미경을 통하여 밝힘으로써 가자미목의 유연관계와 체외수정 경골어류의 정자형성과정에 관한 기초 생물학적 자료를 마련하고자 한다.

재료 및 방법

본 연구에 사용한 재료는 전장 35.0 cm 내외의 넙치를 실험실로 옮겨 연수절단 방법으로 죽인 다음, 정소를 적출하여 Bouin's 용액에 24시간 고정한 후 70% ethanol에 보존하였다. 정소표본은 파라핀 절편법에 따랐으며, 4～6 μm 두께의 파라핀 절편을 제작한 후 Mayer's hematoxylin과 0.5% eosin으로 비교염색하였다.

투과전자현미경(TEM)의 조직표본 제작은 적출한 정소조직을 1 mm^3 내외 크기로 얇게 자른 후 0.1 M phosphate buffer (pH 7.2)로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde 용액으로 4°C에서 2～4시간 동안 전고정 하였다. 고정된 조직 절편은 phosphate buffer로 약 10분간 충분히 세척한 후 1% osmium tetroxide (OsO_4)로 4°C에서 2시간 동안 후고정 하였다. 고정이 끝난 조직은 0.1 M phosphate buffer로 세척하고 ethanol을 이용하여 실온에서 15분 간격으로 단계별로 탈수하여 Epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 두께 0.5 μm의 semithin section과 70 nm의 ultrathin section을 하였다. Ultrathin section은 copper grid (200 mesh)에 올려 uranylacetate와 lead citrate 용액으로 이중염색하여 투과전자현미경 (JEM-1200EXII, JEOL)으로 관찰하였다.

결 과

1. 광학현미경 관찰

넙치의 정소는 일반적으로 성숙과 동시에 복강내에서 삼각형의 형태로 비후되면서 발달하고, 성숙에 이르면 외형상 유백색을 띈다(Lee & Lee, 1990). 정소의 내부구조는 소엽형(lobular type)으로서 각각의 소엽은 다수의 정소 소낭(testicular cyst)으로 구성되고 이곳에서 정원세포를 비롯한 생식세포들이 발달하면서 정자형성과정이 일어났다. 소엽내 정소낭의 생식상피는 염기성 haematoxylin에 반응하는 정원세포들이 분열증식하며 소낭 내부를 가득 채우고 있었다(Fig. 1). 정소가 발달함에 따라 소낭 내에는 생식세포의 크기가 작아지고 세포질 대부분을 차지하는 구형의 핵이 염기성 염료에 농염되는 정모세포군이 주류를 이루고 있었다(Fig. 2). 이후 정소소엽내 소낭은 염기성 haematoxylin에 짙게 염색되며 더욱 치밀하게 작아진 정세포들이 주를 이룬 정세포기를 보였고(Fig. 3), 이들은 정자변태과정을 거쳐 소낭벽의 정세포에서 내강으로 유리해 나온 완숙정자로 가득찬 성숙한 정소로 보였다(Fig. 4).

2. 투과 전자현미경 관찰

투과전자현미경에 의해 넙치 정소발달 단계에 따른 생식세포의 세포학적 특징은 정원세포기 (spermatogonium stage), 정모세포기 (spermatocyte stage), 정세포기 (spermatid stage), 정자기 (spermatozoon stage)로 나누어 관찰하였다.

1) 정원세포기 (spermatogonium stage)

간기의 정원세포들은 직경 11 μm 내외의 난형으로 비교적 적은량의 세포질을 가지고 있으며 핵막 주변에 관상의 크리스테를 가지는 미토콘드리아와 공포들이 식별된다. 전자밀도가 낮은 핵은 직경이 7 μm 내외로 핵막에 의해 세포질과 구분되며, 핵 내부에는 전자밀도가 높은 단일 인이 나타난다. 세포막과 핵막 사이 대부분의 세포질은 향후 기부가 발달하게 될 부위로 집중되고, 이 부위에는 관상의 크리스테가 뚜렷한 미토콘드리아군이 형성되고 있으며 소포체와 골지체도 관찰된다 (Fig. 5).

2) 정모세포기 (spermatocyte stage)

투과전자현미경으로 관찰된 제1감수분열 전기의 세사기 (leptotene stage)에 해당되는 제1정모세포의 직경은 약 5 μm, 핵경은 3 μm로 정원세포에 비하여 작지만 감수분열을 시작한 관계로 정원세포에서 세포질에 대한 핵이 차지하는 면적이 매우 크다. 핵은 더욱 커지고 핵 내에 있었던 인은 이미 소실되어 관찰할 수 없고 핵질은 진정염색질과 이질염색질로 뚜렷히 구분된다 (Fig. 6). 쌍사기 (zygotene)의 제1정모세포에서 세포질의 골지체는 시스터네가 발달된 상태이고, 미토콘드리아는 수가 증가되며, 미토콘드리아의 기질은 전자밀도가 높아지며 확장된 크리스테를 가진다. 핵 내에는 분산되어 있던 염색사들이 상동염색체로 될 연접사복합체 (synaptonemal complex)로 특징지워진다 (Fig. 7). 이때 제2정모세포의 핵질은 점차 응축되어 높은 전자밀도를 나타낸다. 감수분열 말기 (telophase)의 핵분열이 완료된 정모세포는 직경 약 2.3 μm의 핵을 가지는데, 핵막은 뚜렷한 이중막 구조를 보였고, 핵 내에는 진정염색질과 이질염색질이 명확하게 구분되었다 (Fig. 8).

3) 정세포기 (spermatid stage)

감수분열을 마친 초기의 정세포는 핵이 세포질 한 쪽에 치우쳐 있으며, 핵 내의 이질염색질은 진정염색질에 비하여 핵의 많은 부분을 점유하고 있다. 그리고 세포질의 한 쪽에서는 크리스테가 발달된 미토콘드리아 등이 관찰된다 (Fig. 9). 그 후 정자변태기 동안 정세포의 핵은 원형을 갖추면서 핵질에는 전자밀도가 높은 과립성 염색질들이 거의 균질하게 분포하고 있다. 그리고 세포질은 한쪽이 신장되면서 반대쪽 세포막은 핵막과 접하게 되고, 앞으로 편모축사의 기부가 될 중심립이 출현한다 (Fig. 10). 변태가 계속 진행되면서 정자 두부의 후방 세포질에는 발달된 골지체와 공포들이 출현하며 핵의 과립성 염색질은 서로 융합하여 전자밀도가 더욱 높아지게 된다. 미토콘드리아들은 핵 아래쪽의 편모축사를 한층으로 둘러싸며, 편모축사 기저부의 핵막은 함입되면서 cytoplasmic canal을 형성한다 (Fig. 11).

4) 정자기 (spermatozoon stage)

변태를 완료한 완숙 정자의 두부는 난형으로 농축된 균질성 핵질로 나타나며 높은 전자밀도를 보였다. 그리고 핵의 전방부에 첨체소포 (acrosome)는 볼 수 없었다. 정자는 두부와 미부로 구성되고 두부의 형태는 난형으로 핵의 정단면에서 첨체는 관찰되지 않는다 (Fig. 12). 두부 하방의 cytoplasmic collar는 여섯 개의 미토콘드리아들이 한 층으로 편모축사를 둘러싸고 있었다 (Fig. 13). 정자의 미부는 중심립 기저체 (basal body)로부터 편모축사가 길게 신장되고, cytoplasmic canal 부위부터 세포질이 막상구조로 미부의 편모축사를 둘러싸고 있다. 편모축사의 구조는 횡단면에서 주변미세소관과 중심미세소관의 "9+2"의 축사구조로 나타났다 (Fig. 14).

고 찰

넙치의 정자형성과정을 광학현미경적으로 관찰한 결과, 일반적인 경골어류의 특징인 정소소엽내 정소소낭의 구조로 이루어져 있었으며, 이를 정원세포기, 정모세포기, 정세포기 및 정자기로 구분할 수 있다. 넙치

의 정소내 생식세포들의 미세구조는 정자형성과정을 통한 이들의 유전관계 검검에 매우 유용하게 이용되고 있다 (Jameison, 1991). 정자형성과정과 정자구조에 관한 형태학적 연구는 현재 정자학의 주요 관심거리 중의 하나로써, 어류정자의 미세구조에 관한 현재 연구는 100種 이상의 290여 종에 이르고 있다(Jamieson, 1991; Mattei, 1991).

일반적으로 경골어류의 정자형성은 정소의 포낭(cyst)내에서 이루어져 정자변태가 완료되면 정소낭내강으로 이탈하여 나오는데 (Burke & Leatherland, 1984), 넙치도 같은과에 속하는 문치가자미 (An et al., 1999b)와 마찬가지로 정소낭내에 동일한 생식세포 발달 단계별로 포낭을 형성하여 정자형성과정을 이루었으며 각 단계의 생식세포를 쉽게 관찰할 수 있었다.

넙치의 정원세포는 핵의 크기와 염색질 밀도의 변화가 두드러지는데, 이와 같은 변화는 노래미, *Agrammus agrammus* (Chung & Lee, 1985), 문치가자미 (An et al., 1999b)에서 보고된 바 있다. 넙치의 연접사 복합체의 형성은 제1감수분열의 전기에 국한된 것으로 감수분열을 진행하기 위해 핵내에 분산되어 있던 염색사들이 상동염색체로 되는 과정으로 정모세포를 두 단계 (제1정모세포기와 제2정모세포기)로 구분할 수 있는 특징이라 하겠다.

본 연구결과, 넙치의 초기 정세포가 정자로 변태됨에 따라 세포질의 양은 감소되면서 세포질 내에 포낭물질(vesicular material)들이 점차 많아지고 있는데, 이들은 일부 세포질과 함께 axonemal lateral fin의 형성과 정자의 운동을 돕는 역할을 하는 것으로 보고하였다 (An et al., 1999b).

어류의 정자형태는 종간 또는 그들의 생식생태와 관련하여 그 변이가 아주 다양하다. 넙치의 정자는 두부와 미부로 구성되며, 두부에는 첨체를 가지지 않는다. 체외수정경골어류 가운데 정자의 두부에 첨체를 가지지 않는 종류는 뱀장어, *Anguilla japonica* (Colak & Yamamoto, 1974), 노래미 (Chung & Lee, 1985), 미꾸라지, *Misgurunus mizolepis* (Kim, 1995) 등의 어류에서 보고되고 있다. 경골어류의 정자가 두부에 첨체를 가지지 않는 이유는 이들이 알의 동물극에 있는 난문(mycropyle)을 통하여 수정에 이르는 이들의 독특한 수정 방법에 기인하는 것으로 보고되고 있다(Jamieson, 1991).

넙치 정자의 미세구조는 미꾸라지에서와 같이 일부 핵강을 형성하며 두부의 후방에 cytoplasmic collar를 가진다. 이곳에는 6개의 미토콘드리아를 포함하고 있다. 경골어류의 정자가 가지는 미토콘드리아 수는 turbot은 8～10개 (Suquet et al., 1993), 물가자미는 7개 (An et al., 1999a), 문치가자미는 8개 (An et al., 1999b) 등으로 종에 따라 다소 차이가 있는 것으로 보고되었다. 이와 같은 정자의 미토콘드리아는 cytoplasmic collar의 형태와 크기 그리고 cytoplasmic canal의 깊이와도 연관이 있는 것으로 판단되며, 미토콘드리아가 정자운동에 필요한 에너지를 제공한다는 점에서 미토콘드리아의 수와 두부의 미세구조적 차이는 종에 따른 정자의 운동시간, 운동능력 및 난자의 수정기구와 밀접한 연관이 있을 것으로 보고하였다 (An et al., 1999b).

넙치 정자의 핵이 안쪽으로 들어가서 약간 함몰되어 있는 함입부의 핵강 (basal fossa of nucleus 또는 fossa)에는 미토콘드리아와 중심소체 (centrioles)및 편모의 기부가 존재하며, 함입부의 형태는 "∩"모양을 하고 있다. 문치가자미 (An et al., 1999b)는 "∩", 미꾸리류, *Acanthophthalmus semicinctus* (Jamieson, 1991)는 거의 "∩"모양을 하고 있으나, 미꾸리류, *Misgurnus anguillicaudatus* (Park & Kim,1996)는 "ㄱ" 또는 "ㄴ" 모양이며 은어, *Plecoglossus altivelis* (Kenzo, 1993)은 안쪽으로 깊이 패인 "凹"모양 등으로 종에 따라 다소 차이가 있는 것으로 보고되고 있는데, 이것의 차이 역시 종에 따른 정자운동에 상관이 있는 것으로 판단된다.

일반적으로 어류의 정자 미부는 하나의 편모를 가지는 uniflagellate sperm, 2개의 편모를 가지는 biflagellate sperm, 그리고 편모를 가지지 않는 aflagellate sperm으로 크게 구분되고 있다(Jamieson, 1991).

넙치의 편모는 어류에서 일반적으로 나타나는 1개의 편모를 가지는 uniflagellate sperm이며, 편모축사(axial filaments)는 1쌍의 중심 미세소관과 이를 둘러싸는 9쌍의 주변 미세소관으로 구성되어 있어 전형적인 "9+2"의 미세소관 구조를 갖고 있으나, 뱀장어, *Anguilla japonica* (Colak & Yamamoto, 1974)는 9+0의 구조이며, 틸라피아 (Bern & Avtalion, 1990)는 9+1

의 구조를 갖고 있는 것으로 보고되어 있다. 그리고 넙치의 편모에서 관찰할 수 있는 axonemal lateral fin은 챠넬메기, *Ictalurus punctatus* (Jaspers et al., 1976)와 인상어, *Neoditrema ransonneti* (Lee & Chung, 1997)의 어종에서 볼 수 없으나, turbot (Suquet et al., 1993), 물가자미 (An et al., 1999a) 및 문치가자미 (An et al., 1999b) 등에서 존재하는 것으로 보고되고 있다.

Axonemal lateral fin이 없는 것은 정자변태기 동안 세포질이 대부분 소실하기 때문이며, axonemal lateral fin을 형성하는것은 핵을 둘러싸고 있던 세포질이 후방의 편모쪽으로 이동한 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

An CM, Lee JS, Huh SH: Spermiogenesis and Spermatozoal Ultrastructure of the Roundnose Flounder, *Eopsetta grigorjewi* (Teleostei: Pleuronectidae). J Korean Fish Soc 32 : 730 736, 1999a. (Korean)

An CM, Lee JS, Huh SH: Ultrastructural study on the spermatogenesis of the marbled sole, *Limanda yokohamae* (Teleostei: Pleuromectidae). J Korean Electron Microscopy 29 : 427 435, 1999b. (Korean)

Bern O, Avtalion RR: Some morphological aspects of fertilizattion in tilapias. J Fish Biol 36 : 375 381, 1990.

Burke MG, Leatherland JF: Seasonal changes in testicular histology of brown bullheads, *Ictalurus nebulosus* Lesueur. Can J Zool 62 : 1185 1194, 1984.

Chung EY, Lee TY: Studies on the reproductive cycle of greenling, *Agrammus agrammus*. Bull Nat'l fish Univ Pusan 25 : 26 42, 1985.

Chyung MK: The fishes of Korea. IIji sa Pub Co, Seoul, p. 727, 1977. (Korean)

Colak A, Yamamoto: An electron microscope study of spermiogenesis in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. Bull Fac Fish Hokkaido Univ 25 : 1 5, 1974.

Jamieson BGM: Fish evolution and systematics: Evidence from spermatozoa. Cambridge University Press, New york, pp. 319, 1991.

Jaspers EJ, Jr Avault JW, Roussel JD: Spermatozoal morphology and ultrastructure of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Trans Am Fish Soc 3 : 475 480, 1976.

Jones PR, Butler RD: Spermatozoan ultrastructure of *Platichthys flesus*. J Ultrastruc Mol Struc Res 98 : 71 82, 1988.

Kenzo U: Motility and morphology of sperm of the Ayu, *Plecoglass altivelis*, at different salimities. Japan J Ichthyol 40 : 273 278, 1993.

Kim BS, An CM, Kim DS: Histological studies on gonad and germ cell development of diploid and triploid mud loach, *Misgurnus mizolepis*, J Aquacult 8 : 327 341, 1995. (Korean)

Lee JS, Chung EY: Electron microscopical study on development of the male germ cell in *Neoditrema ransonneti* (Teleostei: Embiotocidae). Bull Yosu Nat Fisher Univer 11 : 149 158, 1997.

Lee JS, Oh YK, Huh SH: Fine structural observations on spermatogenesis of the Golkdye rockfish, *Sebastes thompsoni* (Teleostei: Scorpaenidae). J Korean Fish Soc 30 : 1005 1012, 1997.

Lee YD, Lee TY: Sex differentiation and development of the gonad in the flounder, *Paralichthys olivaceus*. Bull Mar Res Inst Cheju Nat Univ 14 : 61 86, 1990. (Korean)

Mattei X: Spermatozoon ultrastructure and its systematic implications in fishes. Can J Zool 69 : 3038 3055, 1991.

Park JY, IS Kim: Fine structure spermatozoa of Cobitidae (Pisces: Cypriniformes) from Korea. Korean J Ichthyol 8 : 74 83, 1996.

Suquet MG, Dorange Mj, Omnes Y, Normant A, Le Roux, C Fauvel: Composition of the seminal fluid and ultrastructure of the spermatozoon of turbot, *Scophtalmus maximus*. J Fish Biol 42 : 509 516, 1993.

<국문초록>

넙치의 웅성생식세포의 발달과 정자 구조를 광학현미경과 투과전자현미경을 이용하여 관찰하였다.

곡정세관의 각 소낭내의 생식상피에서는 분열 증식중인 정원세포군이 염기성 염료에 미약하게 반응하기 시작한다. 정소조직의 계속적인 발달로 각 소낭내에는 분열증식중인 정모세포군을 관찰할 수 있다. 이후 소엽내강에는 상당수의 초기 정세포를 관찰할 수 있으며, 더욱 더 발달된 변태된 정자를 볼 수 있다. 투과전자현미경에 의한 관찰에서 간기의 정원세포는 세포질이 미약한 반면, 커다란 핵과 뚜렷한 인을 가진다. 제1정모세포의 핵내에서는 연접사 복합체 (synaptonemal complex)가 뚜렷하고 세포질내에서는 세포소기관이 증가한다. 제2정모세포의 핵질은

응축되어 높은 전자밀도를 나타낸다. 정세포는 세포질과 핵질이 응축되면서 타원형의 형태를 취하고, 미토콘드리아는 핵의 후방으로 위치한다. 변태를 마친 정자는 두부와 미부로 구성되며 무첨체형이다. 두부 후방에서는 cytoplasmic collar는 6개의 미토콘드리아를 가진다. 미부에서는 axonemal lateral fin을 관찰할 수 있다. 미부 편모 축사의 횡단면은 "9+2"의 미세소관 구조를 나타낸다.

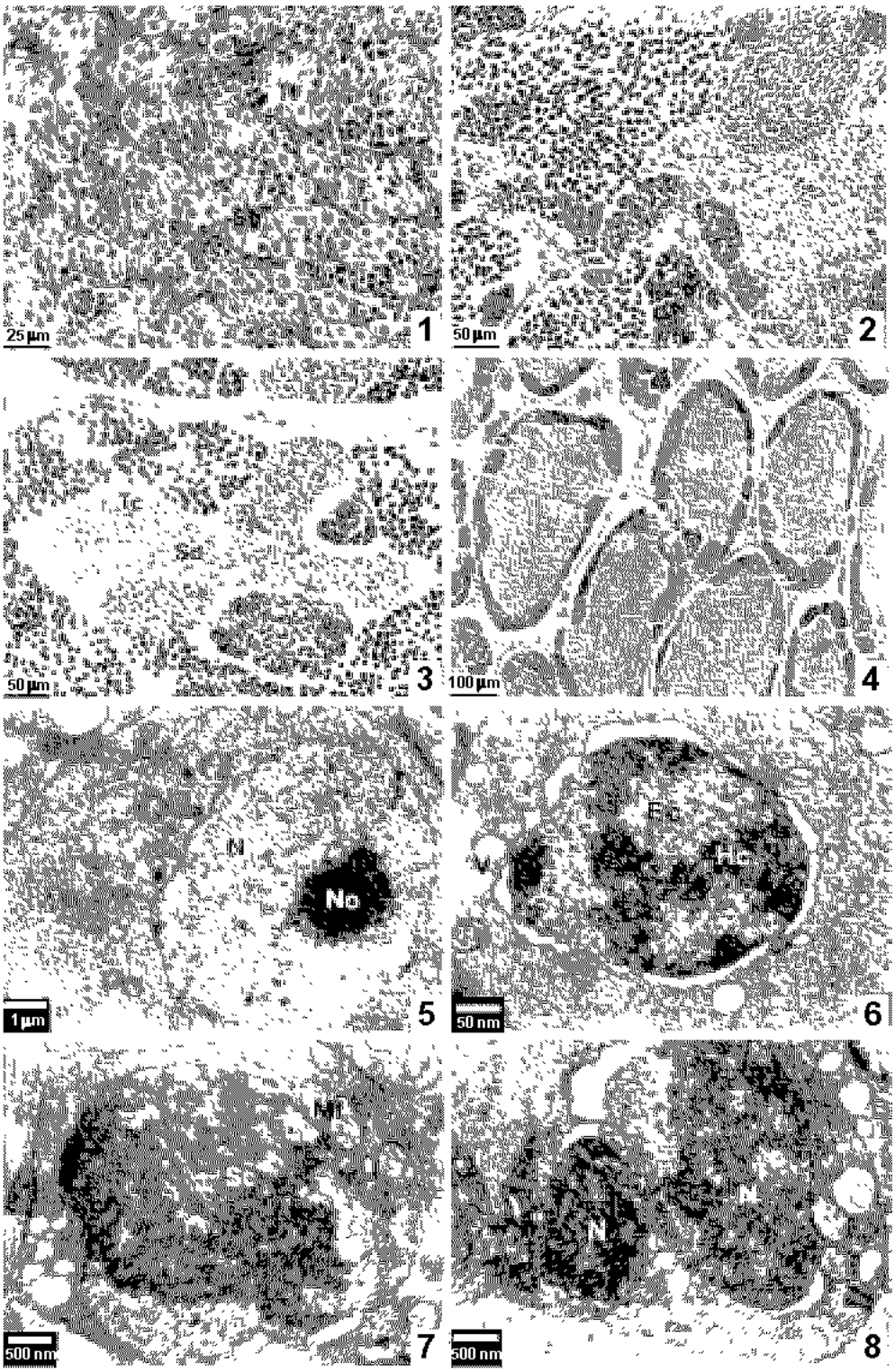
FIGURE LEGENDS

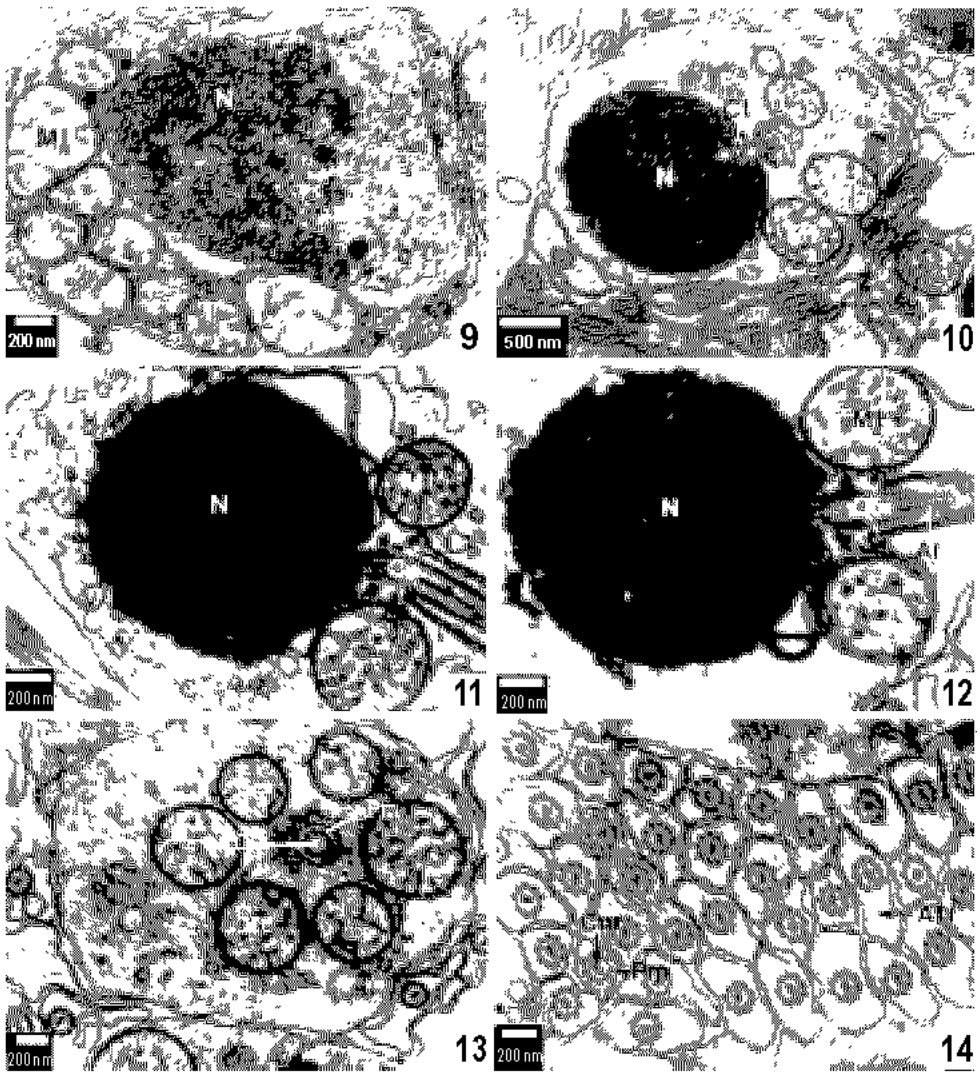
Figs. 1-4. Photomicrographs of testicular development of the Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*. Abbreviations: Sc, spermatocyte; Sd, spermatid; Sg, spermatogonia; Sz, spermatozoa; Tc, testicular cyst; Tl, testicular lobule.

1. Spermatogonia in the testicular cyst.
2. Spermatocytes in the testicular cyst.
3. Spermatids in the lumen of testicular lobule.
4. Spermatozoa in the lumen testicular lobule.

Figs. 5-14. Electron micrographs on the spermatogenesis of the Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*. Abbreviations: Af, axial filament; C, cytoplasm; Cc, cytoplasmic canal; Cm, central microtubules; Ct, centriolar complex; Ec, euchromatin; Mt, mitochondria; N, nucleus; No, nucleus; Pc, prximal centriole; Pm, peripheral microtubules; Sc, synaptonemal complex; V, vacuoles

5. spermatogonium in the interphase. Note the spermatogonium contains a large nucleus with a single nucleolus.
6. Primary spermatocyte in the zygoten stage. Note the heterochromatin and euchromatin in the large nucleus.
7. Primary spermatocyte in the pachyten stage. Note the synaptonemal complex.
8. Primary spermatocyte in the telophase. Note the cell division by furrowing action in the cytoplasm.
9. Secondary spermatocyte. Note the secondary spematocyte contain condensed in the nucleus and numerous mitochondria in the cytoplasm.
10. Spermatids. Note the centriolar complex and the mitochondria beneath the nucleus.
11. Spermatids. Note the position of the axial filament, cytoplasmic canal and mitochondria.
12. Spermatozoon. An acrosom is absent.
13. The posterior head part. Note the seven mitochondria and the axonemal structure in "9 + 2" system.
14. Spermatid tails. Note the axonemal lateral fins are observed.


25 μm
1
50 μm
2
Tc
50 μm
3
100 μm
4
N
No
1 μm
5
Ec
Lc
50 nm
6
Mt
Sc
500 nm
7
N
N
500 nm
8


N
200 nm
9
N
500 nm
10
N
200 nm
11
N
200 nm
12
200 nm
13
200 nm
14