

초파리 배자 신경세포의 화학적 신경연접 미세구조

오 현 우, 박 호 용
한국생명공학연구원

Ultrastructural Analysis of Chemical Synapses in Cultured Wild Type *Drosophila* Embryonic Neurons

Hyun Woo Oh and Ho-Yong Park

Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-333, Korea
(Received October 5, 2004; Accepted November 18, 2004)

ABSTRACT

To identify the structural basis of mutations that affect synaptic transmission we have begun quantitative ultrastructural descriptions of synapses in cultured *Drosophila* embryonic neurons. In wild type cultures, synapses are distinguished by the parallel arrangement of a thickened pre- and post synaptic membrane separated by a synaptic cleft. The presynaptic active zones and postsynaptic densities are defined by electron dense material close to the membrane. Presynaptic regions are also characterized by the presence of one or more electron dense regions, presynaptic densities, around which a variable number of small, clear core synaptic vesicles (mean 35.1 ± 1.44 nm in diameter) are clustered. Subsets of these vesicles are in direct contact with either the presynaptic density or the membrane and are considered morphologically docked. A small number of larger, dense core vesicles are also observed in most presynaptic profiles.

Key words : *Drosophila*, Synapse, Vesicle

서 론

신경연접 (synapse)이라는 말은 그리스어에서 유래된 “함께 단단히 엮어맨다”라는 뜻으로 1897년에 Charles Sherrington 경에 의하여 처음으로 사용되었으며 오늘날 이들 신경연접은 신경세포들이 각각 독립된 구조로 떨어져 있기 때문에 신경세포간이나 신경세포와 근육 등 작용기관의 세포간에 신경충격을 전달할 수 있도록 특수하게 분화된 구조를 말한다(Peters et al.,

1991). 이러한 신경연접은 시간의 지연 없이 정보를 빨리 전달할 수 있는 전기적 신경연접 (electrical synapse)과 정보전달에 더 오랜 시간이 소요되지만 흥분성 뿐만 아니라 억제성 정보도 전달할 수 있는 화학적 신경연접 (chemical synapse)의 두 종류가 있다.

신경연접의 특징 중의 하나는 신경연접의 가소성 (synaptic plasticity)으로 신경전달활동에 의해서 절대적인 신경연접의 수가 증가하거나 또는 감소하는 끊임없는 변화인데 이러한 신경연접의 가소성이 뇌의 신경망 형성을 좌우하여 생물이 살아가는 동안에 환

이 논문은 한국과학재단의 해외 Post-doc. 연수지원에 의하여 연구되었음.

*Correspondance should be addressed to Dr. Ho-Yong Park, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, 52 Eoun, Yuseong, Daejeon 305-333, Korea. Ph.: 042-860-4650, FAX: 042-860-4659, E-mail: hypark@kribb.re.kr

경과 상호작용하여 생물체를 살아남게 한다는 것이다. 이렇게 신경연접을 통한 신호전달 과정이 여러 상황에 따라서 변화할 수 있게 되고 이런 현상은 뇌의 기억현상이나 기타 복잡한 기능을 나타내는데 중요한 기초를 이루고 있다.

신경연접의 가소성과 함께 신경충격의 전달 정도에 따라 신경세포간 또는 작용세포간의 효율성 및 신뢰도가 정해지고(Murthy et al., 1997), 신경충격의 전달 정도는 아직까지도 완전히 밝혀지지 않은 신경연접전후의 각종 변화에 의해서 이루어지며, 신경연접에서의 구조적 변화와 분자생물학적 변화가 신경연접의 기능에 변화를 일으킨다고 보고 되었다(Atwood et al., 1997; Schikorski & Stevens, 1997; Staple et al., 1997; Msghina et al., 1998; Walmsley et al., 1998; Thomson, 2000). 그리고 신경충격을 전달하는 신경전달물질의 방출정도는 방출전지의 각 신경연접소포 수와 각 신경연접소포의 방출정도에 따라 결정된다고 하였는데(Dobrunz & Stevens, 1997; Schikorski & Stevens, 1997), 이는 방출대기 상태에 있는 모든 신경연접소포들이 신경전달물질의 방출에 독립적으로 작동하며, 단일 신경충격에 의해 각 active zone에서 하나의 신경연접소포가 방출된다는 가정하에서 설명될 수 있다(Redman, 1990; Korn & Faber, 1991; Stevens & Wang, 1995; Hanse & Gustafsson, 2001).

최근 신경연접에 대한 생화학 및 전기생리학적인 많은 연구가 이루어지고 있으나, 신경연접 미세구조에 대한 기본적인 자료가 아직 부족한 실정이므로 우선 배양이 가능한 초파리 배자로부터 신경세포를 배양하여 초파리의 신경연접 미세구조와 신경연접 기능의 차이점(quantal size and variance)을 규명하고자 본 연구를 수행하였다. 그리고 이와 같은 구조적인 차이를 규명하기 위한 일차적 작업으로써 신경연접에서의 미세구조를 계수화하여 분석하였다.

재료 및 방법

1. 공시충

본 연구에서는 실내에서 누대 사육중인 wild-type

초파리(Canton-S and Oregon-R)를 이용하였다.

2. 세포배양

초파리 배자 신경세포의 세포배양은 *Drosophila*-defined medium (DDM1)을 이용하여 아무 처리도 되지 않은 원형 유리 coverslip 위에 O'Dowd (1995)의 방법으로 세포배양하였다.

3. 전자현미경관찰

원형 coverslip 위에서 배양된 신경세포가 4일째 되는 날 coverslip 전체를 2% paraformaldehyde-glutaraldehyde (4°C, 0.1 M phosphate buffer, pH 6.8)에 한 시간동안 전 고정하고 인산완충용액 (4°C, 0.1 M phosphate buffer, pH 6.8)으로 수회 세척한 후, 얼음 위에서 1% OsO₄ (0.1 M phosphate buffer, pH 6.8)로 한 시간동안 후고정하였다. 모든 고정이 끝난 재료는 동일 인산완충용액으로 세척한 후, ethanol 농도 상승순으로 탈수하고, propylene oxide로 치환하여 Epon812로 포매한 후, 50°C에서 24시간, 60°C에서 48시간 열중합하였다.

열중합이 끝난 시료는 37% hydrofluoric acid 용액을 이용하여 coverslip을 제거한 후, 광학현미경으로 관찰하여 특정부위를 정하고 삭정한 뒤 다이아몬드 칼(Diatome)이 부착된 초박절편기(Ultracut E, Leica)를 이용하여 60 nm 초박절편을 만든 후, formvar coated single hole grid에 부착시킨 후, uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 투과전자현미경(CM10, Philips)으로 가속전압 60 kV에서 관찰하였다.

4. 분석

모든 전자현미경 사진은 ADOBE Photoshop과 NIH Image 프로그램을 이용하여 그 길이나 크기를 측정하였으며, 다음 세가지 기준에 의하여 선발된 신경연접들의 전자현미경 사진만을 이용하였다. 1) 신경연접전돌기 세포막을 구분할 수 있고 그 크기를 측정하기에 충분히 양호한 신경연접소포를 가지고 있으며, 2) Presynaptic dense body나 density를 가지고 있고, 3) 신경연접 간극이 존재하는 경우(Satzler et al., 2002). 신

경연접소포의 경우에는 연속된 단일막을 확인할 수 있고, 최소한 3개 이상의 연속절편에서 관찰 가능할 때만 그 외경을 측정하여 신경연접소포의 직경으로 이용하였다. Clustered vesicles의 경우에는 같은 신경연접전 돌기내에서 다른 신경연접에 모여있는 신경연접소포들과의 혼동을 피하기 위하여 신경연접전 돌기 세포막 200 nm 이내의 신경연접소포만을 포함하여 측정하였다(Reist et al., 1998). 신경연접전 돌기의 세포막과 접촉하고 있거나 10 nm 이내의 거리에 있는 신경연접소포는 Morphologically docked vesicle로 간주하였다. Active zone의 면적은 각 절편에서 근접한 두 신경연접 세포막이 넓혀져 신경연접 간극을 이루는 부분의 길이와 절편의 두께(60 nm)를 곱한 값으로 전체 면적은 이들 active zone이 발견되는 절편의 수를 합하여 구하였다. 본 실험에 사용한 모든 수치는 평균 \pm SEM으로 나타내었다.

결과 및 고찰

화학적 신경연접은 신경전달물질을 이용하여 신경충격을 다른 신경세포에 전달하는 방법으로 곤충을 포함한 대부분의 포유류에서 발견된다. 화학적 신경연접의 구조는 기본적으로 비슷하여 신경연접전 돌기(presynaptic area), 신경연접후 돌기(postsynaptic cell), 연접간극(synaptic cleft)의 세부분으로 구성된다(Peters et al., 1991).

전자현미경을 이용한 구조적 신경연접(structural synapse)은 일차적으로 낮은 배율(5,000배)에서 신경돌기들이 근접하고 있으며 이들 근접한 두 세포막이 높은 전자밀도를 보이고, 세포막 주위에 일정한 크기의 신경소포들이 모여있는 것을 관찰하여 확인하였다(Fig. 1). 위의 방법에 의해 관찰된 사진들 중에서 신경연접의 세가지 구성요소들이 충분히 확인가능하고 그 크기나 길이를 측정 가능한 사진들만 선정하여 분석에 이용하였다. 신경연접의 가능성이 확인되면 배율을 확대하여 고배율(20,000배)에서 신경연접을 확인 관찰하였다. 세포 배양된 배자 초파리 신경세포의 화학적 신경연접도 이미 보고된 것과 같은 전형적인 화학적 신경연접의 모습을 보였다(Fig. 2). 이렇게 확인된

배양 초파리 배자 신경세포의 신경연접은 신경연접전돌기의 active zone을 이루는 presynaptic densities와 연접후 돌기의 postsynaptic densities가 연접간극(synaptic cleft)에 의해서 떨어져 있었다(Fig. 2). 초파리의 경우 화학적 신경연접은 12~20 nm의 간격을 두고 떨어져 있으며 신경연접전 돌기의 세포막 주위에 신경연접소포들이 모여있다고 하였는데(Blagburn et al., 1999), 본 연구에서도 신경연접전 돌기와 신경연접후 돌기의 공간인 연접간극은 일반적으로 10~20 nm의 거리를 두고 떨어져 있었다. 신경연접전 돌기의 active zone에는 하나 또는 그 이상의 전자밀도가 높은 presynaptic densities가 발견되었고(Fig. 2), 이들은 신경연접전 세포막의 일부분에 한정되어 있거나 또는 전부분에 퍼져있는 것 같이 보였으며, 그 위치는 연속절편을 이용하여 관찰하였을 경우 절편에 따라 변하였다.

신경연접전 돌기끝에서는 신경전달 물질들이 단일막으로 둘러싸인 다양한 크기와 형태의 신경연접소포들이 관찰되었다. 일반적으로 가장 많이 관찰되는 신경연접소포는 내부가 투명하고 신경전달물질을 가지고 있다고 알려진 40~50 nm 크기의 clear core vesicles이고, 다른 하나는 clear core vesicles 보다는 적으나 내부에 펩타이드를 가지고 있으면서 전자밀도가 높은 물질로 채워진 dense core vesicles로 알려져 있다(Peters et al., 1991; Kupfermann, 1991). 본 연구에서도 원형이고 내부가 투명한 직경 20~50 nm의 clear core vesicle이 가장 많이 관찰되었으며, 일부는 morphologically docked vesicle의 상태로 관찰되었다(Figs. 2, 3). 그리고 이들 clear core vesicle들 중 일부는 가끔 길게 늘어나거나 납작해진 변형된 형태를 보이기도 하였다. 또한 이들 clear core vesicle보다는 직경이 크면서 전자밀도가 높은 물질로 내부가 채워진 dense core vesicle도 함께 관찰되었는데 이들 dense core vesicle은 clear core vesicle과 항상 함께 관찰되었으나, 신경연접전 돌기에서 관찰된 숫자는 clear core vesicle 보다는 적었다(Fig. 3). 그 외에도 전형적인 clear core vesicle보다 직경이 크면서 endosome과 형태적으로 유사한 투명한 신경연접소포들도 신경연접전 돌기에서 관찰되었는데, 이들이 신경연접소포인지 아닌지에 대해서는 이번 연구에서는 확인할 수 없었다.

Table 1. Summary of morphological observations for embryonic synapse features

| | | |
|--|--------|--------|
| Number of clear core vesicles/synapse | 94.90 | 24.62 |
| No. of clustered clear core vesicles/synapse | 25.06 | 3.45 |
| No. of docked clear core vesicles/synapse | 6.06 | 1.15 |
| clear core vesicle size (nm) | 35.1 | 1.44 |
| Number of dense core vesicles/synapse | 10.40 | 3.09 |
| No. of clustered dense core vesicles/synapse | 1.59 | 0.45 |
| No. of docked dense core vesicles/synapse | 0.06 | 0.06 |
| dense core vesicle size (nm) | 53.8 | 1.25 |
| Area of active zone (μm^2) | 0.0676 | 0.0147 |

이들 신경연접소포외에도 신경연접전 돌기에서는 미토콘드리아와 미세소관과 같은 일반적인 세포내 소기관들을 관찰할 수 있었다. 특히 신경연접전 돌기에서의 미토콘드리아는 신경전달물질을 방출하기 위해서 에너지가 필요한 것과 관계가 있을 것으로 추정된다. 또한 endosome like structure와 multivesicular bodies를 관찰할 수 있었다(Fig. 4). Multivesicular bodies는 직경 200~1000 nm의 큰 소포성 구조로써 내부에 50~70 nm의 작은 소포들을 가지고 있으며, early endosome과 lysosomes의 순환관계에서 late endosomal compartment로 작용하는 것으로 알려져 있고(Denzer et al., 2000), 초파리의 경우 Fergestad et al. (1999)에 의해서도 보고되었다.

본 연구에서는 이러한 신경연접의 미세구조에 대해 보다 정확한 정보를 확인하고자 연속시편을 제작하여 관찰하였다. 대부분의 초파리 배자 신경연접은 5~6개의 연속시편을 관찰함으로써 전체 신경연접의 미세구조를 보다 정확히 확인할 수 있었다(Fig. 5). 절편에 따라 각 신경연접은 하나 또는 그 이상의 active zone을 가졌으며, active zone의 위치도 변하였다. 그리고 대부분의 시편에서 신경연접소포는 이들 active zone을 중심으로 일정한 거리 내에 모여있었다. 배양된 초파리 배자 신경세포의 경우 하나의 신경연접전 돌기가 두개의 다른 신경연접후 세포와 신경연접을 이루는 경우도 다수 관찰할 수 있었는데(Fig. 5), rat의 경우 약 10% 정도가 한 개의 신경연접전 돌기가 두 개 이상의 다른 신경연접후 세포와 두 개 이상의 신경연접을 이룬다고 보고되었다(Boyer et al., 1998). 이는 아마도 배양된 신경세포의 경우 각 신경세포들이 서로 방향으로 교차하여 자라기 때문이라 생각되지만 이들

의 정확한 기능을 알기 위해서는 전기 생리학적인 연구와 함께 보다 많은 관찰이 필요하다.

3개 이상의 연속절편으로부터 확인된 초파리 배자 신경세포의 미세구조를 분석한 결과 초파리 배자 신경세포의 신경연접에는 평균 94.9개의 신경연접소포들이 들어있으며, 26%의 신경연접소포들이 세포막으로부터 200 nm 이내에 위치하고 있었다. 신경연접소포의 약 11%는 dense core vesicle이었으며, clear core vesicle의 크기는 평균 35.1 1.44 nm, dense core vesicle의 평균크기는 53.8 1.25 nm였다(Table 1). Clear core vesicle의 경우 wild-type 초파리의 신경-근육간 신경연접에서 39.7 6.6 nm라고 보고한 Zhang et al. (1998)과 일치하는 결과를 보였다. 신경연접전 돌기에서 신경연접당 docked된 신경연접소포의 경우 평균 6개였는데, 이는 초파리 유충에서 Reist et al. (1998)에 의해 조사된 0.8개보다 많은 것으로 나타났다. Reist et al. (1998)의 경우 배양된 신경세포가 아니라 초파리 유충의 뇌조직으로부터 얻어진 결과라는 사실과 전체 신경연접을 연속절편에 의해 조사한 것이 아니라 무작위에 의한 하나의 시편으로부터 얻어진 결과의 차이로 생각되나 보다 정확한 분석을 위해서는 배양 신경세포의 경우에도 초파리 연령에 따른 연령별 신경세포의 신경연접 미세구조에 대한 차이를 확인하여야 할 것으로 생각한다.

끝으로 포유류 중추신경계 신경연접의 경우 GABAergic과 glutamatergic 신경연접전 돌기에서의 신경연접소포의 크기와 모양이 다르다는 것이 전자현미경 관찰에 의해서 알려져 있으나(Hamori et al., 1990) 초파리 중추신경계에서는 아직 그 결과를 추측만 할 뿐 정확히 알려진 바가 없으므로 이번 결과를 시작으로 곤충에서의 신경작용에 따른 신경연접소포의 변화를 다양한 변종을 이용하여 확인해 나감으로써 신경전달 물질이나 신경충격의 작용에 따른 미세구조의 변화에 대해서 보다 정확한 해석을 할 수 있으리라 생각한다. 이번 실험에서는 가장 기본적인 사항만을 조사 분석하였으나 앞으로는 이들 신경연접 미세구조의 모든 사실들을 계수화하여 신경충격의 전달 기능에 따른 미세구조의 의미와 차이를 밝히고자 한다. 그리고 이런 신경연접의 기능에 따른 차이점은 초파리 변종의 중추신경계를 직접 또는 세포배양하여 이용함으로써

짧은 시간 내에 많은 정보를 확보할 수 있으리라 기대한다.

참 고 문 헌

- Atwood HL, Karunanithi S, Georgiou J, Charlton MP: Strength of synaptic transmission at neuromuscular junctions of crustaceans and insects in relation to calcium entry. *Invert Neurosci* 3 : 81-87, 1997.
- Blagburn JM, Alexopoulos H, Davis JA, Bacon JP: Null mutation in shaking B eliminates electrical, but not chemical, synapses in the *Drosophila* giant fiber system: a structure study. *J Comp Neurol* 404 : 449-458, 1999.
- Boyer C, Schikorski T, Stevens CF: Comparison of hippocampal dendritic spines in culture and in brain. *J Neurosci* 18 : 5294-5300, 1998.
- Denzer K, Kleijmeer MJ, Heijnen HF, Stoorvogel W, Geuze HJ: Exosome: from internal vesicle of the multivesicular body to intercellular signaling device. *J Cell Sci* 113 : 3365-3374, 2000.
- Dobrunz LE, Stevens CF: Heterogeneity of release probability, facilitation, and depletion at central synapses. *Neuron* 18 : 995-1008, 1997.
- Fergestad T, Davis WS, Brodie K: The stoned proteins regulate synaptic vesicle recycling in the presynaptic terminal. *J Neurosci* 19 : 5847-5860, 1999.
- Hamori J, Takacs J, Petrusz P: Immunogold electron microscopic demonstration of glutamate and GABA in normal and deafferented cerebellar cortex: correlation between transmitter content and synaptic vesicle size. *J Histochem Cytochem* 38 : 1767-1777, 1990.
- Hanse E, Gustafsson B: Quantal variability at glutamatergic synapses in area CA1 of the rat neonatal hippocampus. *J Physiol* 531 : 467-480, 2001.
- Kupfermann I: Functional studies of cotransmission. *Physiol Rev* 71 : 683-732, 1991.
- Kom H, Faber DS: Quantal analysis and synaptic efficacy in the CNS. *Trends Neurosci* 14 : 439-445, 1991.
- Msghina M, Govind CK, Atwood HL: Synaptic structure and transmitter release in crustacean phasic and tonic motor neurons. *J Neurosci* 18 : 1374-1382, 1998.
- Murthy VN, Sejnowski TJ, Stevens CF: Heterogeneous release properties of visualized individual hippocampal synapses. *Neuron* 18 : 599-612, 1997.
- O'Dowd DK: Voltage-gated currents and firing properties of embryonic *Drosophila* neurons grown in a chemically defined medium. *J Neurobiol* 27 : 113-126, 1995.
- Peters A, Palay SL, Webster HD: The fine structure of the nervous system. Neurons and their supporting cells. Oxford university press, New York, pp.138-188, 1991.
- Redman, S: Quantal analysis of synaptic potentials in neurons of the central nervous system. *Physiol Rev* 70 : 165-198, 1990.
- Reist NE, Buchanan J, Li J, DiAntonio A, Buxton EM, Schwarz TL: Morphologically docked synaptic vesicles are reduced in synaptotagmin mutants of *Drosophila*. *J Neurosci* 18 : 7662-7673, 1998.
- Satzler K, Sohl LF, Bollmann JH, Borst JG, Frotscher M, Sakmann B, Lubke JHR: Three-dimensional reconstruction of a calyx of held and its postsynaptic principal neuron in the medial nucleus of the trapezoid body. *J Neurosci* 22 : 10567-10579, 2002.
- Schikorski T, Stevens CF: Quantitative ultrastructural analysis of hippocampal excitatory synapses. *J Neurosci* 17 : 5858-5867, 1997.
- Stapel JK, Osen-Sand A, Benfenati F, Pich EM, Catsicas S: Molecular and functional diversity at synapses of individual neurons in vitro. *Eur J Neurosci* 9 : 721-731, 1997.
- Stevens CF, Wang Y: Facilitation and depression at single central synapses. *Neuron* 14 : 795-802, 1995.
- Thomson AM: Molecular frequency filters at central synapses. *Prog Neurobiol* 62 : 159-196, 2000.
- Walmsley B, Alvarez FJ, Fyffe REW: Diversity of structure and function at mammalian central synapses. *Trends Neurosci* 21 : 81-88, 1998.
- Zhang B, Koh YH, Beckstead RB, Budnik V, Ganetzky B, Bellen HJ: Synaptic vesicle size and number are regulated by a clathrin adaptor protein required for endocytosis. *Neuron* 21 : 1465-1475, 1998.

< 국문초록 >

초파리 돌연변이를 이용한 신경연접에서의 신경충격의 전달을 알아보기 위하여 다양한 초파리 배자 신경세포의

신경연접 미세구조를 관찰하여 분석하였다. 배양된 Wild type 초파리 배자 신경세포의 신경연접(synapse)은 신경연접간극(synaptic cleft)에 의해 구분되면서 평행하게 뻗어있는 신경연접전 돌기(presynaptic area)의 세포막과 신경연접후 세포(postsynaptic cell)의 세포막 구조에 의해서 확인하였다. Presynaptic active zones과 postsynaptic densities는 각 세포막부분의 전자밀도에 의해 구분하였다. 특히 두 개의 세포막이 서로 근접하여 있으면서, 하나 또는 그 이상의 전자밀도가 높은 presynaptic densities를 가지고 있고 그 주위에 투명한 신경연접소포들(clear

core synaptic vesicles)이 모여있을 경우 이를 신경연접전 돌기로 보았다. 신경연접전 돌기에는 평균 35.1 ± 1.44 nm 직경의 작고 투명한 신경연접소포들이 모여있었다. 신경연접소포들 중 일부는 세포막이나 세포막의 전자밀도가 높은 부분에 직접 접촉하고 있었는데 이를 신경전달물질이 방출되기 직전인 morphologically docked vesicles로 보았다. 이외에도 신경연접전 돌기에서는 내부가 전자밀도가 높은 물질로 채워져 있고 직경이 큰 dense core 신경연접소포들도 관찰할 수 있었다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Cross sections of synapses from embryonic neurons. Synapses are distinguished by the parallel arrangement of pre- and postsynaptic density membranes separated by a cleft. Presynaptic area contains mitochondria (M). arrow, active zones. Scale bar = 1 μ m.
- Fig. 2.** High power view of a chemical synapse from embryonic neurons. Presynaptic area contains many synaptic vesicles. An intercellular space of 200nm is surmounted by a cluster of presynaptic vesicles and presynaptic densities (arrowheads). Some of presynaptic vesicles are docked to the presynaptic membrane (arrow). Scale bar = 500 nm.
- Fig. 3.** The size of synaptic vesicles is variable. In the cytoplasm of presynaptic area are clouds of small synaptic vesicles with clear contents and vesicles with dense cores (arrow). These dense vesicles have dark core and are 40 to 80 nm in diameter. Scale bar = 200 nm.
- Fig. 4.** Cross sections of synapses from embryonic neurons. Regular synaptic vesicles compose the most prominent membrane structure in the wild-type bouton, and clusters of these vesicles are observed clustered around active zone presynaptic densities (arrowheads). In some synapses, multivesicular bodies (MV) were observed in presynaptic area. Scale bar = 200 nm.
- Fig. 5.** Cross sections of 2 synapses in serial sections from an embryonic neuron. One synapse is in sections 5a-5f (arrow head). A second synapse is in sections 5c-5h (arrow). M: Mitochondria. Scale bar = 200 nm



