

전자현미경을 이용한 세포골격의 관찰법

이준재, 이진수, 서영록, 한성식

고려대학교 자연자원대학 농생물학과, KIST 의과학센타, 고려대학교 생명공학원

전자현미경을 이용한 세포골격을 관찰하기 위해서 바퀴(*Blattella germanica*) 혈구의 cytoplasmic skeleton과 nucleoskeleton의 분화양상을 대상으로하여 일차적으로 기본적인 연구방법을 확립하였다. 적용된 방법은 다음과 같다 : 1) 저압 및 고압전자현미경, 2) 전자현미경의 whole mount법, 3) 직접 및 간접 면역형광 현미경법 4) confocal laser scanning microscopy의 네 가지였다. 전자현미경의 whole mount법은 세포에서 cytoskeleton만을 남기고 다른 세포구성 성분을 모두 녹여냄으로써 cytoskeleton만을 더 자세히 관찰할 수 있는 방법으로서 결과에서 cytoskeleton들이 연합하여 혈구를 지지하는 양상을 관찰하였다. 세포질 내에 복합적으로 어우러진 cytoplasmic skeleton을 관찰할 수 있었고 핵을 지지하는 nucleoskeleton과 그 내부에 존재하는 ovoid body가 관찰되었다. 다음으로 phalloidin과 특이적 항체를 이용한 형광현미경관찰에서 microfilament, intermediate filament, microtubule 각각을 구분하여 관찰하였다. 그 결과 혈구가 기질에 부착하기 위해 형성된 fibroblastic overgrowth에서 filamentous actin이 관찰되었다. 그리고 바퀴 혈구의 intermediate filament는 vimentin을 포함하고 있는 것으로 분석되었다. 정상적 상태에서 marginal band를 형성하고 있던 microtubule이 기질에 부착함에 따라서 점차 변형되어감을 보였다. 그리고 이러한 filamentous actin의 향상되 이미지를 위해서 confocal laser microscope를 이용하여 삼차원적인 이미지로 이를 재구성하였다. 그 결과들로부터 바퀴 혈구에서 cytoskeleton은 알려진 바 대로 세포의 형태를 유지하는 기능을 하며, 혈구의 구조적 형태가 변화될 때는 cytoskeleton의 형태가 변형되며, 특히 fibroblastic overgrowth의 형성에 있어서는 filamentous actin이 그 주요한 기능을 한다는 것을 알 수 있었다. 끝으로 고압전자 현미경과 whole cell mount법을 이용하여 세포와 소기관 과의 양상을 stereo graphy를 통해 살펴보았다. 이상의 방법들과 결과들은 세포에서 cytoskeleton의 기능연구에 있어서 중요한 기초자료로서 앞으로 cytoskeleton간의 상호작용의 연구와 병행하여 곤충혈구의 역동적 분화과정을 연구하는 데 중요한 기법들이 될 것이다.