

초파리 단안 신경계의 미세형태학적연구

윤 춘 식[†]

생명공학연구소 유전체연구단

Ultrastructure of Ocellar Never System in *Drosophila melanogaster*

Chun-Sik Yoon[†]

Genome Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejeon 305 600, Korea

Abstract

Ultrastructure of ocellar system was studied in adult *Drosophila melanogaster*. Ocellus was composed of terminal receptors, interneuron and glia. These three part showed different brightness each other and each component was distinct. In the glial cell, rER was abundant, and terminal receptors and interneuron showed numerous microtubules, special transporting system. The terminal receptors have particular structure referred as capital projection connecting the terminal receptor to glia. In synaptic active zone between terminal receptor and interneuron, ribbon-like structures and synaptic vesicles around the structures were frequently observed. In addition, the cross section of giant interneuron was also observed.

Key words – Electron microscope, Synapse, Visual system, Neuron

서 론

곤충의 성충에서 시각계(visual system)는 잘 발달되고 복잡한 구조를 가진 복안(compound eye)과 보다 단순한 형태를 보여주는 단안(ocellus)이 있다. 성충 초파리의 시각계는 그들이 가지고 있는 유전적 특성에 의해 분자생물학적인 측면의 연구에 유용한 것으로 알려져 있다[7]. 초파리의 시각계 중에서도 복안은 자세히 연구되어 있지만 단안은 아직 연구되어야 할 부분이 많이 남아 있는 실정이다[5]. 그러므로 본 연구에서는 단안의 시신경계를 중심으로 그 미세구조를 밝히고자 한다. 성충에서 단안은 두부

의 정수리 부분에 3개가 있고, 크기는 직경 $40\mu\text{m}$ 정도이다[20,21]. 복안은 상(image)을 보는데 주 기능을 담당하고, 단안은 미세한 빛의 변화를 예민하게 인지하며, 특히 자외선과 청색광(blue light)에 민감한 기관으로 비행(flying)에 관여하는 것으로 알려져 있다[8]. 복안은 상을 감지하기 위하여 단안에 비해서는 복잡하고 조직적인 시신경계를 가지고 있지만 그에 비해 단안의 시신경은 단순한 형태를 취하고 있으나, 복안에 비해서 뇌로 전달되는 신호는 매우 빠른 것이 특징이다. 즉, 복안에서는 뇌까지 신호가 도달하기 위해 5단계의 시냅스를 거쳐야 하지만 단안은 3단계만 지나면 뇌까지 신호가 전달된다. 이는 단안이 주위의

[†]Corresponding author

광 변화에 민감하게 반응하는 일종의 반사신경과 같은 역할을 수행하기 때문인 것으로 생각되고 있다[3,6]. 복안의 시신경계는 lamina, medulla, lobula의 3층으로 명확하게 구분되어 있지만[15,18], 단안의 시신경계는 다층으로 구성되지 않고, 시세포의 말단에서부터 신경층이 형성되며, 그 밑으로 거대신경세포가 연결되어 직접 뇌까지 신호를 전달한다[16,17]. 단안의 신경계에는 3종류의 신경세포가 있는데, 먼저 광수용세포의 말단 부분에서부터 나타나는 수용기말단(terminal receptor) 그리고 전자현미경 상에서 밝게 보이는 개재신경(interneuron), 마지막으로 약간 어두운 밝기로 관찰되는 신경교(glia) 세포로 구성되어 있다. 따라서, 본 연구에서는 이들 단안 시신경에서 관찰되는 미세형태학적인 구조를 전자현미경수준에서 관찰하였다.

재료 및 방법

초파리의 준비

정상 초파리(*Drosophila melanogaster*, C-S)가 실험에 사용되었다. 초파리는 일반적인 먹이를 공급하여 24-25°C에서 성장시켰으며, 우화 후 3일된 초파리를 5-10마리씩 사용하였다.

광학현미경적 관찰

초파리 두부를 전자현미경 고정하여 Epon-Araldite에 포매한 후 1 μ m로 thin-section하여 Toluidine blue로 염색, 관찰하였다.

주사전자현미경적 관찰

초파리는 ethyl-acetate로 마취시킨 뒤 고정하지 않은 상태에서 acetone series 로 탈수시키고, 공기건조 하였다. 표본을 gold: palladium coating 한 후 Hitachi S-700 주사전자현미경으로 15kV에서 조영하였다.

투과전자현미경적 관찰

초파리의 머리를 분리하고 0.1M sodium cacodylate (pH 7.3) 완충액으로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde와 2% formaldehyde 용액으로 4.5시간 고정하였다. 고정액은 체내 침투가 잘 되도록 구문(proboscis)을 절단하였다. 고정 후 3% sucrose 용액으로 2번 세척하고 1% osmium te-

trioxide 용액으로 4°C에서 1시간 고정한 뒤, *en bloc* 상태에서 0.5% uranyl acetate 용액으로 2시간 염색하였다. 이를 증류수로 세척후 에탄올로 탈수하고 epon-araldite 혼합물로 포매하였다. 블록을 초박절편하고, 2% uranyl acetate 용액과 Reynolds' lead citrate 용액[9]으로 염색한 후 JEOL 1200EX 투과전자현미경, 80kV로 관찰하였다.

결과 및 고찰

초파리의 시각계는 유충시기에는 측단안(lateral ocellus)을 가지며, 성충이 되면서 복안과 배측 단안(dorsal ocellus)의 두 종류의 시각계를 완성한다. 복안은 사물의 상을 관찰하는데 주로 사용되며 두부의 양측면에 크게 두 개가 존재하고, 한 쪽 복안은 약 600-700개의 개안(ommatidium)으로 구성되어 있다. 반면 단안은 두부의 정수리 부분에 위치하고 빛의 변화를 빠르게 감지하면서 비행에 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며, 3개로 구성되어 있다(Fig. 1). 단안은 복안과는 달리 하나의 큰 렌즈 밑에 평평한 한 층의 각막형성세포(corneagenous cell)가 있고, 그 바로 밑에 75-90개 정도의 시세포(photoreceptor cell)들이 존재한다. 이들 전체를 색소세포가 둘러싸고 있다[19]. 시세포에는 각각 하나의 간상분체(rhabdomeres)가 있고, 말단으로 가면서 수용기말단이라고 불리는 구조로 된다(Fig. 2). 단안의 종단면에서 간상분체는 U자 형태로 렌즈 밑에 분포하는데 이는 가능한 많은 빛을 흡수할 수 있도록 간상분체가 배열되기 때문이다. 간상분체 바로 아래에는 색소과립(pigment granules)들이 배열되어 있는데, 이도 역시 빛을 잘 흡수하도록 도와주는 구조라 사료된다. 이는 복안에서의 색소과립이 단안과는 다르게 과도한 빛 흡수를 방지하는 역할을 하는 것과 대조되는 사실이다. 과도한 빛의 흡수는 정교한 상을 인지하는데 방해가 되기 때문에, 복안의 색소과립은 빛이 유입되면 간상분체 쪽으로 이동을 해서 빛의 유입을 조절하지만 단안의 색소과립은 전혀 이동하지 않는다[13]. 단안 시세포의 종단면에서는 핵의 아래쪽에서부터 말단을 향하여 점점 밝게 변화하면서 신경세포화 하는데 이 부분을 수용기말단이라 한다. 그리고 수용기말단들 사이에 좀더 어둡게 나타나는 부분이 있는데 이들이 신경교세포이다. 사진의 가운데 부분에서는 시세포에서 나타나는 핵과는 확연히 구분되는 어두운 색의 신경

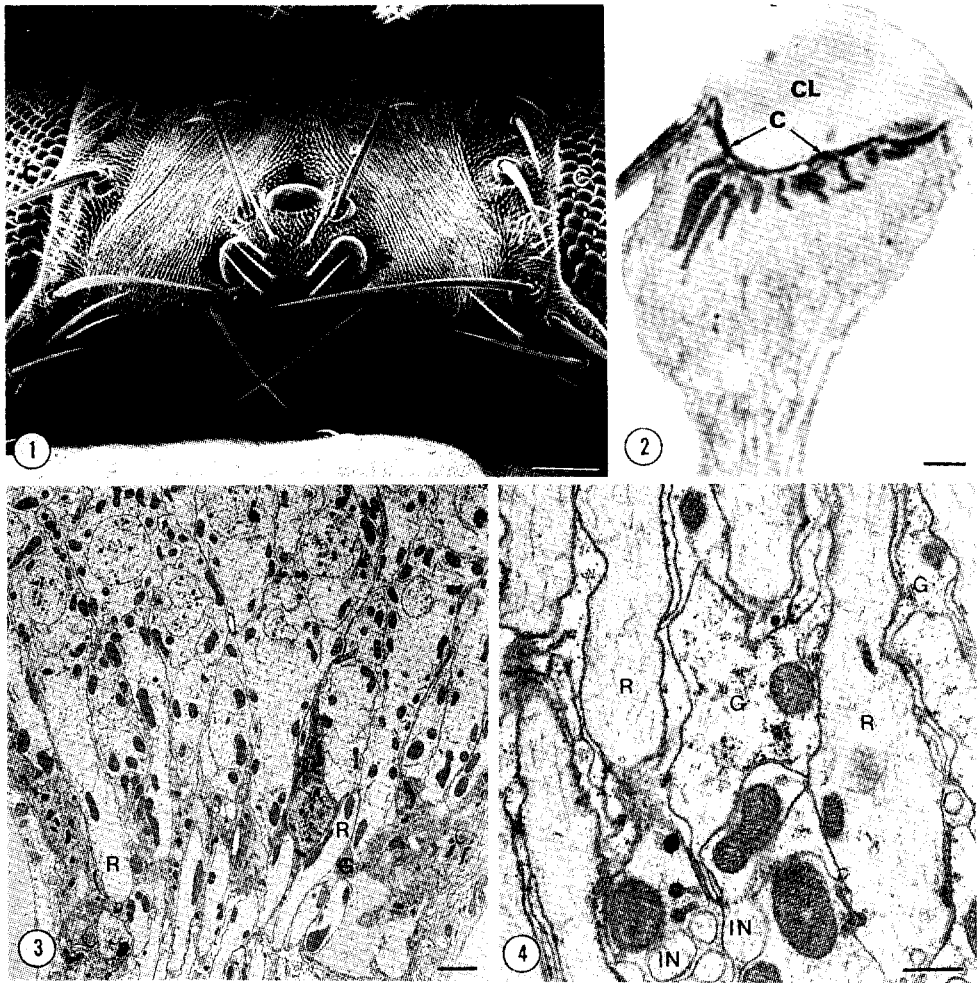


Fig. 1. Scanning electron micrograph of a wild type adult *Drosophila* head showing two compound eyes(C) and 3 ocelli(arrows). Bar= $50\mu\text{m}$.

Fig. 2. Light micrograph of a frontal section of an ocellus. Note that the rhabdomeres(R) in the central region of the ocellus are longer than those in the peripheral region. CL(corneal lens), CG(corneagenous cells), Bar= $5\mu\text{m}$.

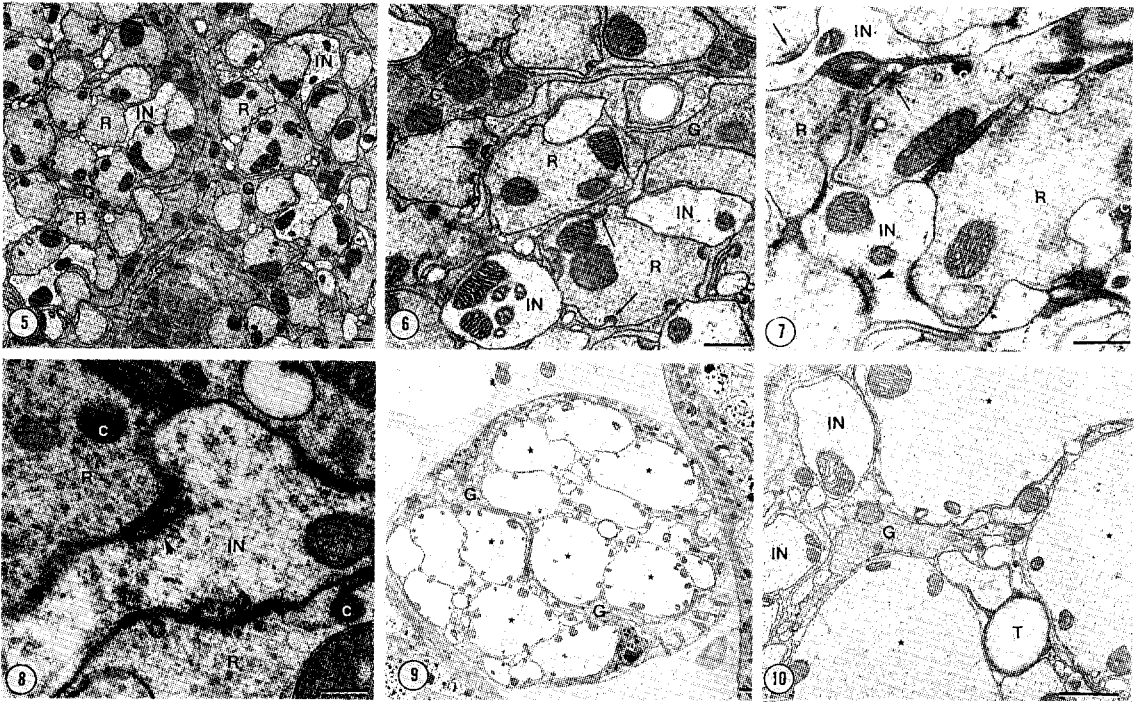
Figs. 3 and 4. Conventional electron micrograph of a frontal section of an ocellus. In longitudinal section of photoreceptor cell, the terminal receptor(R) gradually changes the brightness from the nucelic region showing characteristics of neural cell. Darker regions between receptor terminals are glial cells(G). Nuclei of glial cells are darker than those of photoreceptor cells(Fig. 3). In higher magnification, numerous microtubules are seen and rER is abundant in glial cell. Bright interneuron(IN) is also observed(Fig. 4). Bars= $2\mu\text{m}$ and 500nm .

교세포 핵이 관찰된다(Fig. 3). 수용기말단 부분을 좀더 자세히 살펴보면, 다수의 미소관(microtubule)이 관찰된다. 미소관이 많이 관찰되는 것은 신경세포에서 나타나는 일반적인 현상으로 kinesin과 dynein이 물질을 빠르게 이동

시키는 통로로 작용한다는 것이 잘 알려져 있다[4,11]. 수용기 말단 주위에서 조면소포체가 풍부하게 관찰되는 부분이 신경교세포이다. 이는 활발한 물질생산이 일어나고 있다는 것을 암시하며 이렇게 물질의 생산이 활발하게 일

어난다는 것은 신경교세포의 주 역할인 신경의 유지와 보호기능이라는 사실과 부합된다[2]. 밝은 색의 개재신경도 일부 보인다(Fig. 4). 시세포의 수용기 말단 부분을 횡단한 상에서, 3종류의 신경조직들이 각각 다른 밝기로 나타나고 있다. 이는 아마도 내부에 존재하는 단백질 밀도의 차이에 의해서 나타나는 결과일 것이며 다수의 수용기 말단과 가장 밝게 보이는 개재신경이 몇 개 보이고 이들 사이를 감싸고 있는 다소 어두운 색의 신경교세포가 관찰된다(Fig. 5). 미소관의 횡단면 때문에 나타나는 작은 원이 많이 보이

는 수용기말단에는 신경교세포로부터 나온 capital projection들이 침입하고 있는 것이 관찰된다. 이들 capital projection은 복안의 lamina층에서 1번 - 6번 시세포까지의 수용기 말단을 나타내는 중요한 marker로 알려져 있다(Fig. 6). 이들의 기능은 아직 완전히 밝혀지지 않았지만, 신경교 세포와 수용기 말단과의 신호전달과 물질의 이동 통로로 생각된다[12]. 신경세포들의 신호전달계인 시냅스가 관찰되는데, 크게 두 종류의 시냅스로 분류된다. 먼저 수용기 말단부에 있는 정방향 시냅스(feed forward synapse)



Figs. 5 and 6. Conventional electron micrograph of cross section of a ocellar receptor terminal region. Three kinds of neural cells showed different brightness each other. Mutiple terminal receptor(R) and bright interneuron(IN) is seen(Fig. 5). Glial cells(G) are distributed around interneurons. Small circles by cross section of microtubules are included at the terminal receptor and capital projections(arrows) from glial cells invested to the surface(Fig. 6). Bars=500nm.

Figs. 7 and 8. Cross sectioned receptor axons. Feed forward synapse(arrows) of terminal receptor and feed back synapse(arrowheads) of interneurons are seen. These two kind of synapse share the ribbon-like structure at presynaptic active zone. Many of synaptic vesicles are exist at around the ribbon-like structure. See clear glial origin of capitate projection(C) at left base of figure 8. Bars=500nm and 200nm.

Figs. 9 and 10. Cross section of ocellar nerve. The twelve giant interneurons(asterisks) are seen, and glial cells(G) are exist around them. In left base of figure 10, the clear oval structure is cross section of trachea(T). IN (Interneuron) Bars=2 μ m and 1 μ m.

와 개재신경에 존재하는 역방향 시냅스(feed back synapse)가 있다. 이들 두 종류 모두에는 전시냅스(presynapse)의 활성부(active zone) 역할을 하는 T-bar 또는 리본형태라 불리우는 특이한 구조를 가지는데(Fig. 7), 이는 곤충의 신경조직에서 자주 관찰되는 것으로 보고되어 있다[16,17]. 아마도 이런 특징적인 리본형태의 구조는 시냅스 활성지역에서 시냅스 소포의 분비를 증가시키는 역할을 할 것으로 사료된다. 리본형태의 구조 주위에 다수의 시냅스 소포가 분포하고 있는 것이 관찰된다(Fig. 8). 사진의 좌측하단에 보이는 capital projection은 그 기원이 신경교세포라는 것을 입증해 주고 있다. 하나의 단안이 가지는 80-90개 정도의 수용기 신경은 4개의 거대 개재신경(giant interneuron)으로 모여서[1], 결국 12개의 거대 개재신경을 이루게 된다(Fig. 9). 이들의 주위를 신경교 세포들이 감싸고 있다. 주위에 작은 신경들이 관찰되는 것은 개재신경들이 아직 남아 보이기 때문이라 생각된다. 좌측하단의 둥글고 투명하게 보이는 구조물은 기관(tracea)의 절단면이다(Fig. 10). 이들 12개의 거대 개재신경은 둘로 나누어져 후뇌의 배측에 각각 투영된다고 보고되어 왔다[10]. 그래서 단안의 신경계는 상을 감지하는 데는 부적당하다고 생각되고 있다. 즉, 외부정보를 몇개의 신경에 통합해서 전달하기 때문에 섬세한 정보를 전달하기 보다는, 빠르게 빛의 변화를 감지하는 데 적당한 구조를 갖고 있다고 생각된다[6].

결론적으로, 단안의 신경계는 3종류의 신경세포가 명확한 밝기 차이를 나타냈다. 그리고 이들 세포들 사이의 신호와 물질전달장소를 제공하기 위한 특징적인 시냅스구조물들의 존재가 관찰되었다.

요 약

성충 초파리의 단안 신경계를 미세형태학적으로 연구하였다. 단안은 수용기말단, 개재신경 그리고 신경교세포의 3종류로 구성되어 있다. 이들은 전자현미경 사진상에서 각기 다른 밝기를 보여주고 있으므로 쉽게 구분이 가능했다. 신경교세포 내에는 조면소포체가 풍부하게 존재하고, 수용기 말단과 개재신경내에는 신경세포에서 물질의 이동 통로인 미소관이 다수 관찰되었다. 수용기말단과 신경교세포를 연결해주는 capital projection이라는 인상적인 구조물이 관찰된다. 수용기 말단과 개재신경의 시냅스 활성

부에 존재하는 리본모양의 구조물과 이들 주위에 모여있는 시냅스 소포들이 자주 관찰되었다. 그리고 단안 시신경이 최종적으로 집중되어 뇌로 신호를 전달해 주는 거대 개재신경(giant interneuron)의 횡단구조를 관찰 할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Garcia-Alonso, L., R. D. Fetter and C. S. Goodman. 1996. Genetic analysis of *Laminin A* in *Drosophila*: extracellular matrix containing laminin A is required for ocellar axon pathfinding. *Development* **122**, 2611-2621.
2. Hall, Z. W., and J. R. Sanes. 1993. Synaptic structure and development: The neuromuscular junction. *Cell* Vol. 72/Neuron **10**(suppl.), 99-121.
3. Hu, K. G., H. Reichert and W. S. Stark. 1978. Electrophysiological characterization of *Drosophila* ocelli. *J. Comp. Physiol.* **126**, 15-24.
4. Martin, M. A., S. J. Iyadurai, A. Gassman, J. G. Gindhart, T. S. Hays and W. M. Saxton. 1999. Cytoplasmic dynein, the dynactin complex, and kinesin are interdependent and essential for fast axonal transport. *Mol. Biol. Cell* **10**, 3717-3728.
5. Masai, I., E. Suzuki, C.-S. Yoon, A. Kohyama and Y. Hotta. 1997. Immunolocalization of *Drosophila* eye-specific diacylglycerol kinase, *rdgA*, which is essential for the maintenance of the photoreceptor. *J. Neurobiol.* **32**, 695-709.
6. Mizunami, M. 1994. Information processing in the insect ocellar system: comparative approaches to the evolution of visual processing and neural circuits. In: Evans PD (ed) *Advances in insect physiology*. Academic Press, vol. 25, pp. 151-265.
7. Pak, W. L. 1995. *Drosophila* in vision research. *Vision Res.* **36**, 2340-2357.
8. Pollock, J. A. and S. Banzer. 1988. Transcript localization of four opsin genes in the three visual organs of *Drosophila*; RH2 is ocellular specific. *Nature* **333**, 779-782.
9. Reynolds, E. S. 1963. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* **17**, 208-212.
10. Schmidt, B. 1975. Die neuronale organisation in den ocellen von *Drosophila*. Ph.D. Dissertation, Univ Freiburg.
11. Skoufias, D. A. and J. M. Scholey. 1993. Cytoplasmic

- microtubule-based motor proteins. *Curr. Opin. Cell Biol.* **5**, 95-104.
12. Stark, W. S. and S. D. Carlson. 1986. Ultrastructure and functional evaluation of capitate projections in the dipteran optic neuropil. *Cell Tiss. Res.* **246**, 481-486.
 13. Stark, W. S. and R. Sapp. 1988. Eye color pigment granules in wild type and mutant *Drosophila melanogaster*. *Canad. J. Zool.* **16**, 1301-1308.
 14. Stark, W. S., R. Sapp and C. D. Carlson. 1989. Ultrastructure of the ocellar visual system in normal and mutant *Drosophila melanogaster*. *J. Neurogenetics* **5**, 127-153.
 15. Strausfield, N. J. and U. K. Bassemir. 1985. Lobula plate and ocellar interneurons converge onto a cluster of descending neurons leading to neck and leg motor neuropil in *Calliphora erythrocephala*. *Cell Tiss. Res.* **240**, 617-640.
 16. Toh, Y. and M. Kuwabara. 1974. Fine structure of the dorsal ocellus of the worker honeybee. *J. Morph.* **143**, 285-306.
 17. Toh, Y. and M. Kuwabara. 1975. Synaptic organization of the fleshfly ocellus. *J. Neurocytol.* **4**, 271-287
 18. Wolfgang, W. J., F. Quan, P. Goldsmith, C. Unson, A. Spiegel and M. Forte. 1990. Immunolocalization of G protein α -subunits in the *Drosophila* CNS. *J. Neurosci.* **10**, 1014-1024.
 19. Yoon, C.-S., K. Hirosawa and E. Suzuki. 1996. Studies on the structure of ocellar photoreceptor cells of *Drosophila melanogaster* with special reference to subrhabdomeric cisternae. *Cell Tissue Res.* **284**, 77-85.
 20. Yoon, C.-S., 1998. Degeneration of ocellar photoreceptor system on *Drosophila rdgC* mutant. *Korea J. Electron Microscopy* **28**, 391-398.
 21. Yoon, C.-S., 1999. Ultrastructure of ocellus in *Drosophila melanogaster* visual mutant *rdgA*. *Korea J. Life Science* **9**, 308-313.