

## 토끼 망막에서 칼빈딘 면역반응성 ON 원뿔두극세포의 속얼기층 OFF 아층판에서의 리본연접

구태형, 김홍림<sup>1,2</sup>, 전지현<sup>1</sup>, 정어진<sup>1</sup>, 천명훈<sup>1</sup>, 문정일, 김인범<sup>1</sup>

가톨릭대학교 의과대학 안과학교실, <sup>1</sup>가톨릭대학교 의과대학 해부학교실, <sup>2</sup>가톨릭대학교 성의교정 공동연구지원센터  
(2011년 9월 8일 접수, 2011년 10월 27일 수정접수, 2011년 11월 7일 게재승인)

**간추림** : 내인성광수용신경절세포 (intrinsically photosensitive retinal ganglion cell)를 비롯한 일부 망막 신경원은 속얼기층 (inner plexiform layer)의 OFF 아층판 (sublayer)에 가지돌기가 분포함에도 불구하고 역설적 ON 빛반응을 보인다. 이러한 기전을 이해하고자, 토끼 망막에서 이러한 신경원과 리본연접 (ribbon synapse)을 OFF 아층판에서 형성할 것으로 생각되는 칼빈딘 면역반응성 ON 원뿔두극세포 (calbindin-immunoreactive ON cone bipolar cell) 축삭이 속얼기층의 OFF 아층판에서 실제로 연접을 이루어 ON 신호를 전달할 수 있는지를 조사하였다. 칼빈딘 항체를 이용한 면역전자현미경법 (immunoelectron microscopy)을 수행하여 표본을 만들고 전자현미경을 통해 망막 속얼기층의 OFF 아층판을 통과하는 칼빈딘 ON 원뿔두극세포의 축삭에서 리본연접을 관찰하였다. OFF 아층판에서의 리본연접은 주로 속얼기층의 가장 바깥쪽인 속핵층 (inner nuclear layer)과 속얼기층 경계부에서 주로 발견되었고, 연접후성분은 한동미 (monad)였다. 또한 이러한 리본연접에는 하나 이상의 연접리본 (synaptic ribbon)이 동원되는 경향이 있었다. 이러한 양상들은 ON 아층판인 속얼기층의 *b* 아층판 (sublamina *b*)에 중지하는 ON 원뿔두극세포의 축삭종말이 형성하는 통상적인 리본연접 (conventional ribbon synapse)과는 다른 형태로, ON 원뿔두극세포가 OFF 아층판인 속얼기층 *a* 아층판에서 이루는 축삭리본연접 (axonal ribbon synapse)의 특징으로 생각된다. 본 연구결과는 망막의 신경회로 연구에 있어서 속얼기층에서 연접의 종류를 파악하는데 유용하게 활용될 것으로 생각된다.

**찾아보기 낱말** : ON 원뿔두극세포, 리본연접, 연접회로, 전자현미경, 토끼 망막

### 서 론

망막의 두극세포 (bipolar cell)는 2차신경원으로써 포유류의 망막에는 형태학적으로 10여종의 원뿔두극세포 (cone bipolar cell)와 한 종류의 막대두극세포 (rod bipolar cell)가 존재한다 (Boycott와 Wässle 1991, Hartveit 1997, Haverkamp 등 2003, Ghosh 등 2004, MacNeil 등 2004). 이들 두극세포를 비롯한 신경절세포 (ganglion cell) 및 무축삭세포 (amacrine cell)는 빛 반응 (light response)에 대한 극성 (polarity)에 근거하면 기능적으로 OFF 세포

와 ON 세포로 나눌 수 있다 (Famiglietti와 Kolb 1976, Nelson과 Kolb 1983). OFF 두극세포의 축삭 (axon)은 OFF 신경절 세포의 가지돌기 (dendrite)와 속얼기층 (inner plexiform layer)의 바깥쪽 절반인 *a* 아층판 (sublamina) (OFF 아층판 [sublayer])에서 리본연접 (ribbon synapse)을 이루는 반면, ON 두극세포의 축삭은 ON 신경절세포의 가지돌기와 속얼기층의 안쪽 절반인 *b* 아층판 (ON 아층판)에서 리본연접을 이룬다 (Famiglietti와 Kolb 1976, Nelson 등 1978, Peichl과 Wässle 1981, Bloomfield와 Miller 1986, Euler와 Wässle 1995, Hartveit 1997). 이러한 망막 신경원의 ON과 OFF 반응이 속얼기층에서 구분되는 것은 망막의 회로 구성에 중요한 원칙으로 간주된다. 그러나 내인성광수용신경절세포 (intrinsically photosensitive retinal ganglion cell)는 가지돌기가 OFF 아층판에 분포함에도 불구하고 역설적 ON 빛반응 (para-

저자(들)는 '의학논문 출판윤리 가이드라인'을 준수합니다.  
저자(들)는 이 연구와 관련하여 이해관계가 없음을 밝힙니다.  
교신저자 : 문정일 (가톨릭대학교 의과대학 안과학교실),  
김인범 (가톨릭대학교 의과대학 해부학교실)  
전자우편 : jimoon@catholic.ac.kr, ibkimmd@catholic.ac.kr

doxical ON light response)을 보이는 신경원으로(Hattar 등 2002, Berson 2003, Dacey 등 2005, Fu 등 2005), 최근 이러한 ON 빛반응의 기원을 제시하는 2편의 공초점 현미경(confocal microscopy) 연구가 발표되었다(Dumitrescu 등 2009, Hoshi 등 2009). 즉 Dumitrescu 등(2009)은 생쥐 망막에서 6형 ON 원뿔두극세포가 OFF 아층판에 속하는 속열기층의 바깥부분인 *a* 아층판에서 내인성 광수용신경절세포에 ON 수출신호를 줄 가능성을 제시하였으며, Hoshi 등(2009)도 토끼 망막에서 칼빈딘 면역반응성 ON 원뿔두극세포(calbindin-immunoreactive ON cone bipolar cell)가 *a* 아층판에서 내인성광수용신경절세포에 ON 신호를 보낼 가능성을 제시하였다. 하지만 연접은 전자현미경으로 확인할 수 있는 구조로써 망막에서 이러한 특정 ON 원뿔두극세포의 OFF 아층판에서의 축삭리본연접에 대한 연구는 이루어진 바 없다.

한편 토끼 망막의 칼빈딘 면역반응성 두극세포는 암전도로(scotopic pathway)의 중요한 사이신경원(inter-neuron)인 AII 무축삭세포(AII amacrine cell)와 전기연접(gap junction)을 통해 연결된 신경원으로(Massey와 Mills 1996, 1999), Strettoi 등(1994)과 본 연구진(Kim 등 2010)에 의해 그 신경회로가 밝혀진 바 있다. 그러나 두 연구 모두 오직 속열기층의 *b* 아층판에서 그들의 축삭종말의 연접회로에 초점이 맞추어져 있어서 이 ON 원뿔두극세포가 축삭종말이 아닌 중간이 위치하는 *a* 아층판에서의 리본연접을 통해 내인성광수용신경절세포와 같이 역설적 빛반응을 보이는 망막 신경원에 ON 수출신호를 전할 수 있다는 증거를 제시하지 못하였다. 이에 본 연구에서는 칼빈딘 ON 원뿔두극세포의 축삭종말이 아닌 속열기층의 *a* 아층판을 지나는 축삭 중간에 연접을 형성하는지 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 망막분리

실험동물로는 체중 2.0~2.5 kg 내외의 New Zealand 흰토끼를 사용하였다. 토끼를 ketamine (100 mg/kg)과 xylazine (20 mg/kg)으로 마취한 후 안구를 적출하였고, 동물은 마취제를 과량 주입하여 안락사 시켰다. 실험동물은 미국 NIH (National Institute of Health)의 1996년 개정된 실험동물 사용법(NIH Publications No. 80-23)에 기초한 가톨릭대학교 실험동물윤리위원회의 규정에 따라 처치하였다. 안구의 앞분절인 각막과 수정체를 톱니

둘레를 따라 절개하여 제거한 다음 망막을 조심스럽게 분리하였다. 분리된 망막은 0.1 M phosphate buffer (PB: pH 7.4)로 완충시킨 4% paraformaldehyde에 2~3시간 동안 고정 하였다. 그 후 망막을 PB에 녹인 30% sucrose 용액에 넣어 4°C에 하루 동안 보관하였다. 이후 망막을 액체질소에 넣어 급속히 얼렸다가 실온에서 서서히 녹인 다음 0.01 M phosphate buffered saline (PBS: pH 7.4)으로 수세하였다.

### 2. 면역형광법 (Immunofluorescence)

망막을 vibratome을 이용하여 50  $\mu$ m 두께의 수직절편을 만들고 10% 정상 당나귀혈청으로 비 특이적 면역반응을 차단하고 PBS로 완충시킨 단클론 칼빈딘 항체(monoclonal antibody against calbindin D-28K, Swant, Bellinzona, Switzerland)를 1:3000으로 희석시켜 4°C에서 하루 동안 반응시켰다. 이후 절편들을 PBS로 수세한 후 Alexa Fluor 488이 표지된 donkey anti-mouse (Molecular Probes, Eugene, OR)를 1:200으로 희석한 PBS 용액에 2시간 동안 실온에서 반응시켰다. 이후 PBS 및 PB로 충분히 수세한 다음, Vectashield H-1000 (Vector Laboratories, Burlingame, CA)으로 망막 조직을 봉하였다.

### 3. 면역전자현미경법 (Immunoelectron microscopy)

면역형광법에 기술한 것처럼 망막 수직절편을 제작하고 정상혈청 및 1차 항체인 칼빈딘 항체에 배양 후 수세하고, 2차 항체로 biotin이 표지된 goat anti-mouse IgG (Jackson Immuno Research, West Grove, CA)를 1:100으로 희석한 PBS용액에 2시간 동안 반응시켰다. 이후 PBS로 수세하고 avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) 용액 (Vector Laboratories, Burlingame, CA)을 조직절편에 1시간 동안 처리한 다음 0.05 M Tris buffer (TB: pH 7.6)로 세척하였다. 조직을 0.01% 과산화수소수를 포함하는 0.05% 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB)로 발색하였다. 염색이 완료된 절편을 4.5% sucrose가 녹아있는 PB로 세척한 후 1% glutaraldehyde와 1% OsO<sub>4</sub>로 각각 1시간씩 후고정하고 1시간 동안 1% uranyl acetate로 전자염색을 시행한 후 탈수과정을 거쳐 Epon 수지(EMS, Fort Washington, PA)에 포매하였다. 3일 동안 60°C에서 건조시킨 후 염색이 잘 된 부위를 선택하여 미세박절기(Reichert-Jung, Nußloch, Germany)로 초박절편(70~90 nm)을 제작하고, 전자현미경 JEM 1010 (JEOL, Tokyo, Japan)으로 관찰하였다.

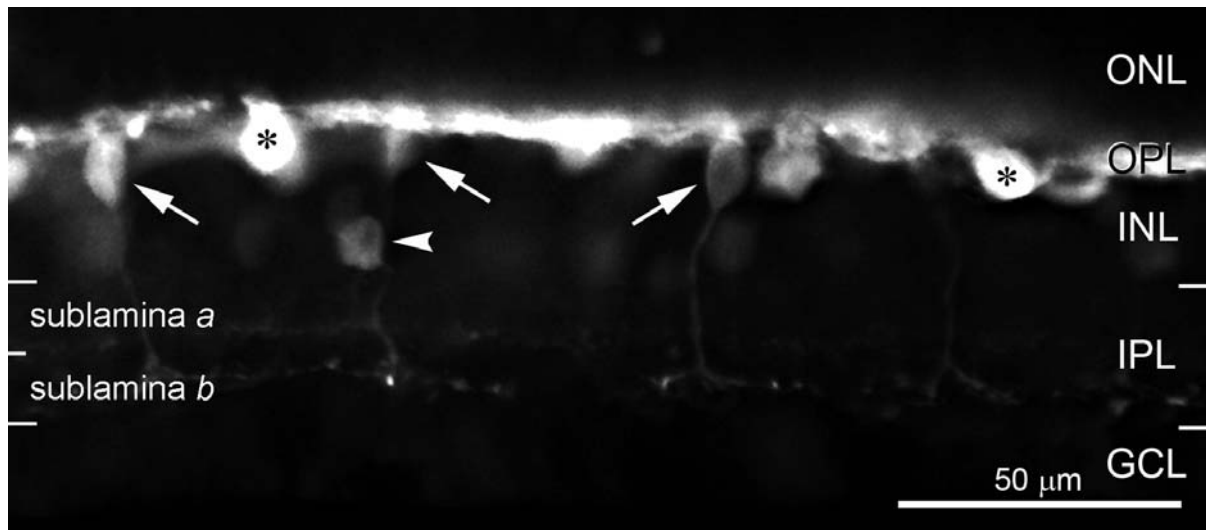
## 결 과

토끼 망막의 수직절편에서 칼빈딘 면역반응성은 이전에 보고된 바와 같이 (Massey와 Mills 1996, Kim 등 2010), ON 원뿔두극세포, 수평세포와 무축삭세포에서 나타났다 (Fig. 1). 칼빈딘 면역반응성 원뿔두극세포의 축삭은 속핵층과 속열기층의 바깥쪽인 *a* 아층판을 지나 *b* 아층판인 속열기층의 80~85%의 깊이에서 분지하였다. 따라서 칼빈딘 면역반응성 원뿔두극세포는 ON 형태에 속함을 확인할 수 있었다.

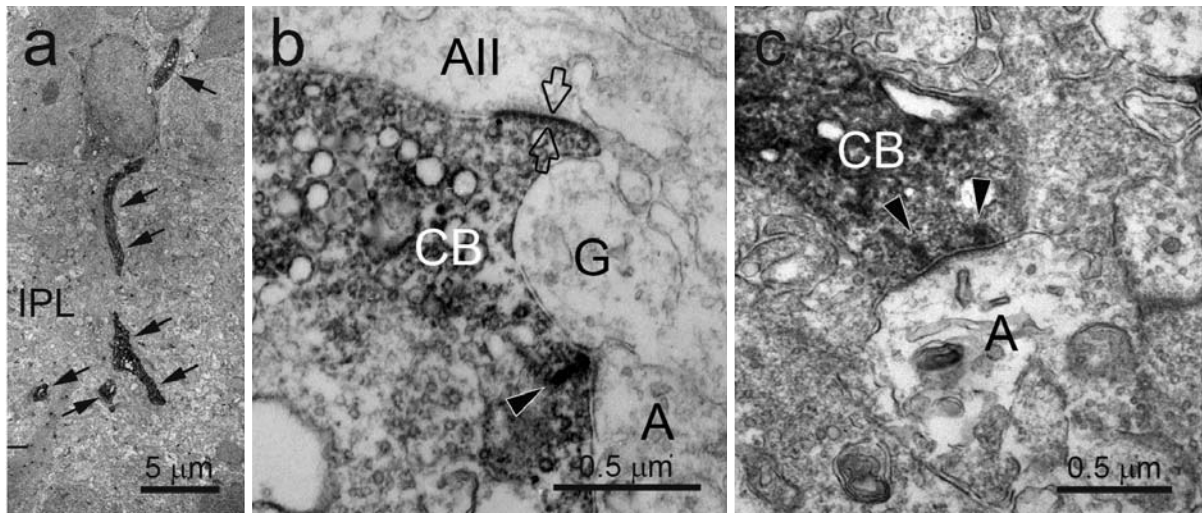
면역전자현미경법으로 얻은 표본에서 칼빈딘 면역반응성 ON 원뿔두극세포는 DAB가 침착되어 쉽게 구별이 가능하였고 (Fig. 2a), 무축삭세포와 신경절세포의 돌기들은 이전 전자현미경 연구에서 제안된 미세구조 기준에 따라 동정하였다 (Dubin 1970, Kolb 1979, McGuire 등 1984, 1986). 즉 무축삭세포 돌기는 연접소포 (synaptic vesicle) 들로 가득 채워져 있고 통상화학연접 (conventional chemical synapse) 을 형성하지만 신경절세포 돌기들은 연접소포 대신에 미세관 (microtubule) 과 미세섬유 (microfilament) 를 포함하고 있어 구분이 가능하였다. 면역형광법에서 관찰된 것처럼 칼빈딘 면역반응성 ON 원뿔두극세포의 축삭은 속열기층의 *a* 아층판을 지나 *b* 아

층판 깊숙한 위치에 분지함을 확인할 수 있었다. 이 곳의 축삭종말에는 리본연접이 형성되어 있었다 (Fig. 2b). 두극세포가 축삭종말에서 형성하는 통상리본연접 (conventional ribbon synapse) 의 연접후성분은 두동이 (dyad) 이며, 본 연구진은 이전 연구에서 칼빈딘 면역반응성 ON 원뿔두극세포 축삭종말에서 리본연접의 연접후성분은 무축삭세포의 돌기와 신경절세포의 돌기로 이루어진 두동이 이거나 두 개의 무축삭세포의 돌기들로 구성된 두동이임을 보고한 바 있는데 (Kim 등, 2010), 이는 Fig. 2b에서 표지된 칼빈딘 면역반응성 ON 두극세포의 축삭종말이 두 개의 무축삭세포 돌기들로 구성된 두동이에 리본연접을 형성하는 예에서 보듯이 이와 같은 연접양상이 일반적인 것을 본 연구에서 다시 확인할 수 있었다.

Hoshi 등 (2009)에 따르면 칼빈딘 면역반응성 ON 두극세포의 *a* 아층판에서의 리본연접은 속열기층의 *a* 아층판 중에서도 가장 바깥쪽인 속핵층과의 경계부에 위치할 가능성이 높기에 칼빈딘 면역반응성 ON 두극세포의 축삭이 이 부분을 지나는 부위에서 리본연접을 관찰하기로 하였다. 칼빈딘 면역반응성 ON 두극세포가 이루는 총 12개의 축삭리본연접을 *a* 아층판에서 관찰하였다. 예상된 것처럼, 칼빈딘 면역반응성 ON 두극세포의 *a* 아층판에서의 축삭리본연접은 무축삭세포의 세포체가 보이는 속열기층의 가장 바깥부분에서 흔히 발견되었다



**Fig. 1.** Calbindin immunoreactivity in the rabbit retina. A fluorescent micrograph was taken from a 50- $\mu$ m-thick vertical vibratome section of a rabbit retina processed for calbindin immunoreactivity. Calbindin immunoreactivity is present in several bipolar cell somata (arrows) and horizontal cell somata (asterisks) located in the distal part of the inner nuclear layer (INL). A dense immunoreactive band created by bipolar cell dendrites and horizontal cell processes is seen in the outer plexiform layer (OPL), and one continuous band of IR axons originating from bipolar cells is visible in sublamina *b* of the inner plexiform layer (IPL). In addition, one amacrine cell soma (arrowhead) can be observed in the proximal part of the INL adjacent to the IPL and gives rise to a process passing through the IPL in the direction of the ganglion cell layer (GCL).



**Fig. 2.** Electron micrographs showing calbindin ON cone bipolar axon and synapses. a: A labeled calbindin ON cone bipolar cell axon (arrows) descends through the inner nuclear layer (INL) and the inner plexiform layer (IPL). The labeled axon branches and ramifies in the sublamina *b* of the IPL. b: Conventional synapse in sublamina *b*. A labeled axon terminal (CB) forms a conventional ribbon synapse (arrowhead) on a postsynaptic dyad composed of an amacrine cell process (A) and a ganglion cell dendrite (G). The calbindin axon terminal (CB) also forms a gap junction (open arrows) with an AII amacrine cell process (AII). c: Axonal synapse in sublamina *a*. The labeled axon form an *en passant* ribbon synapse onto an amacrine process (A) represented as a monad. Note that two synaptic ribbons (arrowheads) are engaged at this axonal synapse.

(Fig. 2c). 흥미롭게도 두 가지 특징이 발견되었는데, 하나는 이 축삭리본연접의 연접후성분이 통상리본연접에서 관찰되는 두동이가 아닌 한동이라는 점이었는데, 이는 12개 리본연접 모두에서 공통된 소견이었다. 두 번째 특징은 이 축삭리본연접에 두 개 이상의 연접리본(synaptic ribbon)이 위치한다는 점이었는데 (Fig. 2c), 이러한 형태가 12개 중 10개에 해당되었고, 2개의 경우는 하나의 연접리본만이 위치하였다.

## 고 찰

망막신경원의 축삭종말 또는 가지돌기가 속얼기층의 *a* 아층판에 위치하는 두극세포와 신경절세포는 OFF 빛 반응을 나타내고 *b* 아층판에 위치하면 ON 빛 반응을 보인다. 해부학과 생리학의 이러한 절묘한 관계성은 망막 구조와 신경 회로를 이해하는데 중요한 원칙이다. 그러나 망막신경원 중 도파민성 무축삭세포 (dopaminergic amacrine cell) (Boelen 등 1998, Witkovsky 2004), 내인성광수용신경절세포 (Hattar 등 2002, Berson 2003, Dacey 등 2005, Fu 등 2005), 그리고 이중판다이빙신경절세포 (bistratified diving ganglion cell) (Hoshi와 Mills, 2009) 등은 이런 원칙에 위배되는 신경원들로, OFF 아층판인 속얼

기층의 *a* 아층판에 돌기들이 분지하고 있으나 빛자극을 주면 ON 반응을 보인다. 최근에 ON 원뿔두극세포의 몇몇 유형들이 속얼기층 *a* 아층판에서 리본연접을 형성할 가능성을 보여준 공초점현미경 연구결과 결과가 보고되어 위에 언급한 역설적 ON 빛 반응을 보이는 신경원의 ON 신호 유래를 설명하였다 (Dumitrescu 등 2009; Hoshi 등 2009). 본 연구는 전자현미경 관찰을 통해 축삭리본연접의 실재를 증명함으로써 위의 가설을 검증하였다는 데 큰 의미가 있다.

본 연구를 통해 속얼기층의 *a* 아층판에서 칼빈딘 면역반응성 ON 원뿔두극세포가 이루는 축삭리본연접에서 몇몇 특징적인 모습을 발견하였다. 첫째로 칼빈딘 면역반응성 ON 원뿔두극세포의 *a* 아층판에서의 축삭리본연접은 속얼기층의 *a* 아층판 중에서도 특히 가장 바깥쪽인 속핵층과의 경계부위에서 흔히 발견되었다. 이 부위는 도파민성 무축삭세포와 내인성광수용신경절세포의 가지돌기가 주로 분포하는 곳으로, 앞서 언급한 것처럼 칼빈딘 면역반응성 ON 원뿔두극세포는 도파민성 무축삭세포와 내인성광수용신경절세포의 연접이전신경으로써 ON 신호를 이들 신경세포들에게 전달하도록 특화된 신경원으로 생각된다. 둘째는 칼빈딘 면역반응성 ON 원뿔두극세포의 축삭리본연접의 연접후성분이 한동이라는 점이였다. 일반적으로는 속얼기층에서 무축삭세포나

신경절세포로 가는 두극세포의 리본연접의 연접후성분이 두둥이인 점을 고려해보면, 상당히 흥미로운 발견이다. 이러한 현상은 이전에 Hokoç과 Mariani (1988)가 고양이와 토끼 망막의 속얼기층에서 도파민성 무축삭세포가 두극세포로부터 입력신호를 받을 때 한둥이의 형태로 받는다는 사실을 보고한 바 있는데, 이와 맥을 같이 한다. 마지막으로 칼빈딘 면역반응성 ON 원뿔두극세포가 이루는 축삭리본연접에 다수의 연접리본이 동원된다는 점으로 아마도 이것은 칼빈딘 면역반응성 ON 원뿔두극세포의 연접후신경원들이 *b* 아층판보다 *a* 아층판에서 ON 신호를 받을 수 있는 빈도가 적은 것을 보상하는 차원에서 연접의 강도를 높이기 위한 시냅스가소성을 보여주는 예로 생각된다. 하지만 이러한 추론은 추후 전기생리학적 또는 다른 영상처리 연구를 통해 증명되어야 할 것이다.

## 참 고 문 헌

- Berson DM : Strange vision: ganglion cells as circadian photoreceptors. *Trends Neurosci* 26: 314-320, 2003.
- Bloomfield SA, Miller RF : A functional organization of ON and OFF pathways in the rabbit retina. *J Neurosci* 6: 1-13, 1986.
- Boelen MK, Boelen MG, Marshak DW : Light-stimulated release of dopamine from the primate retina is blocked by 1-2-amino-4-phosphonobutyric acid (APB). *Vis Neurosci* 15: 97-103, 1998.
- Boycott BB, Wässle H : Morphological classification of bipolar cells of the primate retina. *Eur J Neurosci* 3: 1069-1088, 1991.
- Dacey DM, Liao HW, Peterson BB, Robinson FR, Smith VC, Pokorny J, Yau KW, Gamlin PD : Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature* 433: 749-754, 2005.
- Dubin MW : The inner plexiform layer of the vertebrate retina: a quantitative and comparative electron microscopic analysis. *J Comp Neurol* 140: 479-505, 1970.
- Dumitrescu ON, Pucci FG, Wong KY, Berson DM : Ectopic retinal ON bipolar cell synapses in the OFF inner plexiform layer: contacts with dopaminergic amacrine cells and melanopsin ganglion cells. *Vis Neurosci* 16: 226-244, 2009.
- Euler T, Wässle H : Immunocytochemical identification of cone bipolar cells in the rat retina. *J Comp Neurol* 361: 461-478, 1995.
- Famiglietti EV Jr, Kolb H : Structural basis for ON- and OFF-center responses in retinal ganglion cells. *Science* 194: 193-195, 1976.
- Fu Y, Liao HW, Do MT, Yau KW : Non-image-forming ocular photoreception in vertebrates. *Curr Opin Neurobiol* 15: 415-422, 2005.
- Ghosh KK, Bujan S, Haverkamp S, Feigenspan A, Wässle H : Types of bipolar cells in the mouse retina. *J Comp Neurol* 469: 70-82, 2004.
- Hartveit E : Functional organization of cone bipolar cells in the rat retina. *J Neurophysiol* 77: 1716-1730, 1997.
- Hattar S, Liao HW, Takao M, Berson DM, Yau KW : Melanopsin containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science* 295: 1065-1070, 2002.
- Haverkamp S, Ghosh KK, Hirano AA, Wässle H : Immunocytochemical description of five bipolar cell types of the mouse retina. *J Comp Neurol* 455: 463-476, 2003.
- Hokoç JN, Mariani AP : Synapses from bipolar cells onto dopaminergic amacrine cells in cat and rabbit retinas. *Brain Res* 461: 17-26, 1988.
- Hoshi H, Liu WL, Massey SC, Mills SL : ON inputs to the OFF layer: bipolar cells that break the stratification rules of the retina. *J Neurosci* 29: 8875-8883, 2009.
- Hoshi H, Mills SL : Components and properties of the G3 ganglion cell circuit in the rabbit retina. *J Comp Neurol* 513: 69-82, 2009.
- Kim SA, Jung CK, Kang TH, Jeon JH, Cha J, Kim IB, Chun MH : Synaptic connections of calbindin-immunoreactive cone bipolar cells in the inner plexiform layer of rabbit retina. *Cell Tissue Res* 339: 311-320, 2010.
- Kolb H : The inner plexiform layer in the retina of the cat: electron microscopic observations. *J Neurocytol* 8: 295-329, 1979.
- MacNeil MA, Heussy JK, Dacheux RF, Raviola E, Masland RH : The population of bipolar cells in the rabbit retina. *J Comp Neurol* 472: 73-86, 2004.
- Massey SC, Mills SL : A calbindin-immunoreactive bipolar cell type in the rabbit retina. *J Comp Neurol* 366: 15-33, 1996.
- Massey SC, Mills SL : Gap junctions between AII amacrine cells and calbindin-positive bipolar cells in the rabbit retina. *Vis Neurosci* 16: 1181-1189, 1999.
- McGuire BA, Stevens JK, Sterling P : Microcircuitry of beta ganglion cells in cat retina. *Vis Neurosci* 6: 907-918, 1986.
- McGuire BA, Stevens JK, Sterling P : Microcircuitry of bipolar cells in cat retina. *J Neurosci* 4: 2920-2938, 1984.
- Nelson R, Famiglietti EV Jr, Kolb H : Intracellular staining reveals different levels of stratification for on- and off-center ganglion cells in cat retina. *J Neurophysiol* 41: 472-483, 1978.
- Nelson R, Kolb H : Synaptic patterns and response properties

- of bipolar and ganglion cells in the cat retina. *Vision Res* 23: 1183-1195, 1983.
- Peichl L, Wässle H : Morphological identification of on- and off-centre brisk transient (Y) cells in the cat retina. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 212:139-153, 1981.
- Strettoi E, Dacheux RF, Raviola E : Cone bipolar cells as interneurons in the rod pathway of the rabbit retina. *J Comp Neurol* 347: 139-149, 1994.
- Witkovsky P : Dopamine and retinal function. *Doc Ophthalmol* 108: 17-40, 2004

# Ribbon Synapses Formed at the Axon of the Calbindin-Immunoreactive ON Cone Bipolar Cell in OFF Sublamina of the Inner Plexiform Layer in the Rabbit Retina

Tae-Hyung Koo, Hong-Lim Kim<sup>1,2</sup>, Ji Hyun Jeon<sup>1</sup>, Eo Jin Jeong<sup>1</sup>, Myung-Hoon Chun<sup>1</sup>,  
Jung-Il Moon, In-Beom Kim<sup>1</sup>

*Department of Ophthalmology, <sup>1</sup>Department of Anatomy, <sup>2</sup>Integrative Research Support Center, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea*

---

**Abstract** : Some retinal neurons, including intrinsically photosensitive retinal ganglion cells have their dendrites stratified in sublamina *a* of the inner plexiform (IPL), the OFF sublayer, but paradoxically show light-driven ON electrophysiological responses. In order to understand the mechanism on this paradoxical response, by using immunoelectron microscopy with a specific antibody against calbindin, we examined the synaptic connections of the calbindin-immunoreactive ON cone bipolar cell of the rabbit retina, which is thought to make the ribbon synapse in sublamina *a* of the IPL. The ribbon synapses in sublamina *a* by calbindin-immunoreactive ON cone bipolar cells were mainly found at the border between the inner nuclear layer and the IPL. Interestingly, the output targets at these ribbon synapses turned out as monads, and multiple synaptic ribbons were engaged in each synapse. These findings were different from those at the conventional ribbon synapse formed by calbindin-immunoreactive ON cone bipolar axon terminals. Thus, these findings may be the characteristics of the calbindin-immunoreactive ON cone bipolar ribbon synapse in sublamina *a* and can be used to classify the synapse in the retinal circuit research.

---

**Keywords** : ON cone bipolar cell, Ribbon synapse, Synaptic circuitry, Electron microscopy, Rabbit retina