

# 반사 및 형광 복합 *in-vivo* 공초점 현미경

## Reflection and Fluorescence Hybrid *in-vivo* Confocal Microscope

안명기, 전병선, 송철, 권대갑

Nano Opto Mechatronics Lab. School of Mechanical, Aerospace & Systems Engineering,  
KAIST, Daejeon, Korea  
amk4354@kaist.ac.kr

공초점 현미경은 광원, 시편상의 초점과 Detector 앞의 pinhole이 서로 공액관계를 이루고 있기 때문에 일반 광학현미경에 비해 다양한 장점을 갖고 있다<sup>(1)</sup>. 초점 평면 밖(out-of-focus)의 신호를 원천적으로 차단하고 초점 평면(in-focus)의 신호만 받아들임으로써, 고분해능의 선명한 영상을 얻을 수 있으며, 비침습 및 2차원 절편 영상을 획득할 수 있다<sup>(1)</sup>. *In-vivo* 공초점 현미경 기술은 생체조직의 내부 투시가 가능한 비파괴/비절개식 고해상도 3차원 생체 영상화 기술로써, 관련 기술은 의료 영상 진단은 물론 신약 개발 등의 Bio 산업 전반의 연구 개발용 고분해능 측정/분석기기로의 응용이 가능하다.

본 연구에서는 공초점 반사 영상과 공초점 형광 영상을 동시에 획득할 수 있는 반사 형광 복합 *in-vivo* 공초점 현미경 시스템을 개발하였다. 그림 1은 본 연구에서 개발된 시스템의 개념도를 나타내고 있다. 공초점 반사 영상을 얻기 위해 선편광을 갖고 있는 830 nm 파장의 레이저를 사용하였고, 공초점 형광 영상을 얻기 위해 488 nm 파장의 레이저와 660 nm 파장의 레이저를 사용하였다. 두 개의 Detector를 사용하여 반사 신호와 형광 신호를 각각 독립적으로 받을 수 있도록 시스템을 구성하였다. 반사 모드는 빛의 선편광 특성을 사용하기 때문에 Polarized Beamsplitter (PBS)와 Quater-Wave Plate (QWP)를 사용하여 광손실이 없도록 하였다. 형광 모드에서는 488 nm, 660 nm 두 파장을 형광 Excitation으로 사용하였고, Wavelength Combiner를 이용하여 두 파장의 빛이 동일한 경로를 통하여 시편에 조명되도록 하였다. 두 개의 Excitation 레이저에 의해 발생한 여러 가지 형광 신호는 Emission 또는 Band-pass 필터를 이용하여, Detector에서 선택적으로 받아들일 수 있다. 반사 신호와 Excitation/Emission 신호는 Dichroic Mirror에 의해 합쳐지거나 분리되도록 하였다.

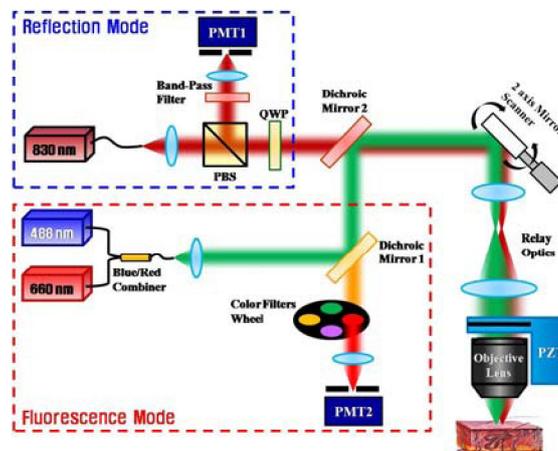


그림 1. 반사 형광 복합 *in-vivo* 공초점 현미경 개념도

그림 2는 상용 광학 설계 소프트웨어(ZEMAX)를 이용하여 Relay 광학계를 설계한 내용을 보여주고 있다. 고속 미러 스캐너를 사용하기 위해 필요한 Relay 광학계는 488 nm에서 830 nm까지의 광대역 파장에 대해서 수차가 보정되도록 설계하여 제작하였다.

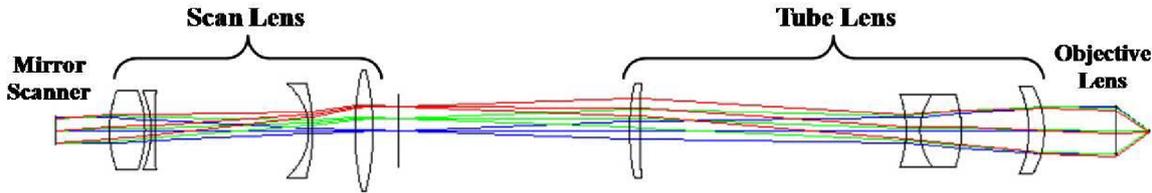


그림 2. Relay 광학계 구성도

그림 3은 실제로 제작된 반사 형광 복합 *in-vivo* 공초점 현미경 시작품을 나타내고 있다. *In-vivo* 현미경의 목적에 부합되도록 크기를 소형화 시켰다. 그 크기는 약 280 mm X 170 mm X 380 mm, 무게는 약 8 kg 정도이다. 그림 4는 추후에 최종적으로 제작될 *in-vivo* 공초점 현미경 시작품 3D 도면을 보여주고 있다. 실험실에서 사용하는 일반적인 Table-Top 형태의 현미경이 아니라, Cart와 연결된 관절 Arm Stand에 공초점 현미경 모듈을 장착함으로써, *in-vivo* 공초점 현미경의 이동성을 최대한 구현할 수 있도록 하였다.

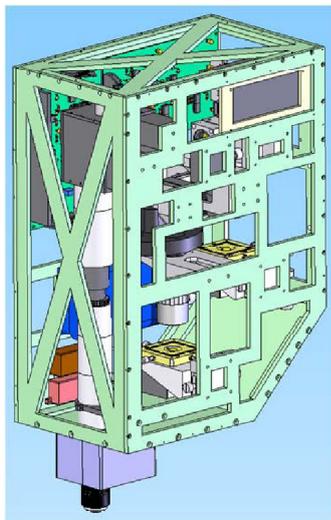


그림 3. 실제로 제작된 현미경 시작품

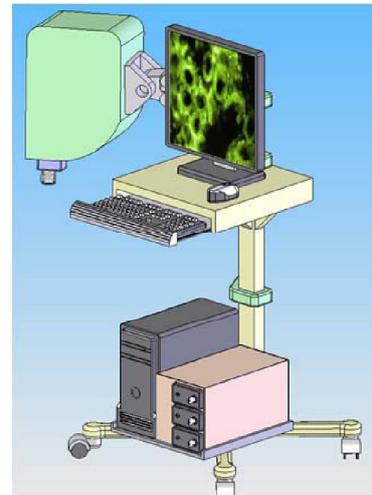


그림 4. 최종 시작품의 3D 도면

추후에는 그림 3과 같이 제작된 *in-vivo* 공초점 현미경 시작품의 기초 성능을 테스트하기 위해, 여러 생물 시편들의 다양한 반사/형광 영상을 측정할 것이다.

본 연구는 지식경제부의 중기거점기술개발사업으로 수행되고 있다.

1. C.J.R Sheppar, D.M. Shotton, BIOS Scientific Publishers, Springer-Verlag New York Inc., "Confocal Laser Scanning Microscopy", p.1