

공초점 형광현미경 시스템 구성 및
 바이오 샘플 영상 구현

Composition of Confocal Fluorescence Microscope
 System and Realization of Bio-Sample Images

김형영, 김정민, 김석원
 울산대학교 물리학과
 anarchists-7@nate.com

근대 의학에서의 정밀 진단기구의 발달과 산업에서의 기계부품의 소형화에 의해 더욱 세밀한 표면형상 측정과 관찰이 최근 들어 높은 관심을 끌고 있다. 형광현미경은 생명과학, 의학, 약학, 식품, 금속, 반도체 등 다양한 분야에 이용될 수 있으며 가장 많이 이용되는 분야는 바로 생명과학 연구인데, 주로 세포 구조 연구와 염색체 분석을 위해 이용한다. 형광 현미경은 형광을 이용한다는 점에서 일반 광학 현미경과 대비된다. 일반적으로 광학 현미경은 가시광선을 이용하여 시료에서 반사 또는 투과된 빛을 보게 되지만 형광 현미경은 레이저를 광원으로 사용하여 형광물질을 발광시켜 이를 보게 된다. 형광현미경은 시료를 절단하지 않고도 시료 내부의 구조를 관찰할 수 있는 장점이 있다.^[1, 2, 3]

본 연구에서는 공초점 원리를 이용한 레이저 스캐닝 방식의 형광현미경 시스템을 구성하고 형광물질을 염색한 바이오 샘플에 관한 정보를 얻어 Labview 프로그램을 통해 영상을 얻었다. 광원으로는 488 nm 청색 Ar-ion 레이저를 사용하였고, 형광 현미경에 필요한 GFP(green fluorescent protein) excitation filter, emission filter와 dichroic mirror를 추가로 사용하였다. 실험을 위한 시료로는 형광물질을 염색한 대장균세포(Escherichia coli)를 사용하였으며 Fig. 1은 실제 구성된 공초점 형광 현미경 시스템의 사진이다.

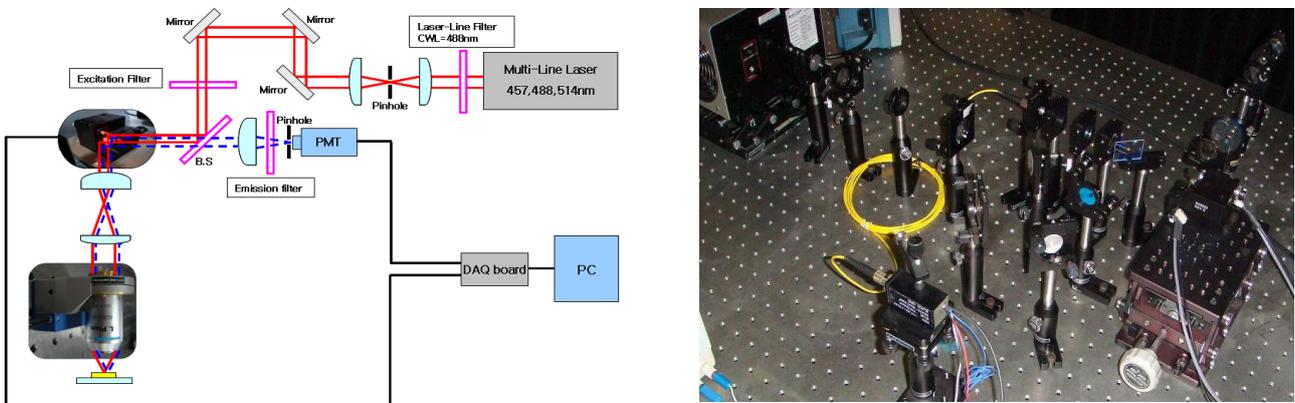


Fig. 1 Schematic diagram and photograph of the composed confocal fluorescence microscope system

GFP의 경우 488 nm의 광을 조사하면 507 nm 녹색의 형광이 나타난다. 본 장치에서는 레이저광이 excitation filter를 통과한 후 빔 분할기(dichroic mirror)에 의해 반사된 광이 galvano scanner를 지나 object lens를 통과한 후 시료에 도달하게 된다. 이때 시료에 염색된 형광물질에 의해 488 nm의 광은 507 nm의 광으로 변화하여 반사된다. 이광은 다시 빔 분할기를 지나 emission filter를 통과한 후 PMT에 도달하게 된다. Fig. 2는 GFP excitation filter, emission filter와 빔 분할기(dichroic mirror)의 원리를 나타내는 그림이다. 형광을 내는 물질은 excitation되는 파장과 emission되는 파장이 각각 다르기 때문에 원하는 excitation파장을 얻기 위해 광원에 filter를 달고, 그리고 원하는 emission 파장을 excitation에 사용된 빛과 분리하기 위해 또다시 filter를 사용하였다.

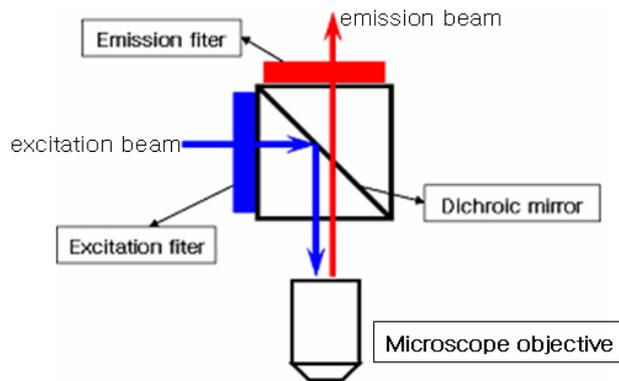


Fig. 2 The principle of green fluorescent protein(GFP) filter

본 연구에서는 대장균 세포를 관찰하였는데 시료에 형광물질을 염색함으로써 광이 시료의 형광물질을 자극하여 발광하게 만들고 그 광을 디텍터로 검출하였다. Fig. 3은 형광물질에 의해 발광되어 반사된 광의 신호 세기에 따라 영상처리를 통해 표현 한 사진이다. 실험 수행 결과 검은 부분이 형광에 의해 발광된 대장균세포 이며 대장균의 크기는 $2 \times 5 \mu\text{m}$ 정도로 측정되었다.

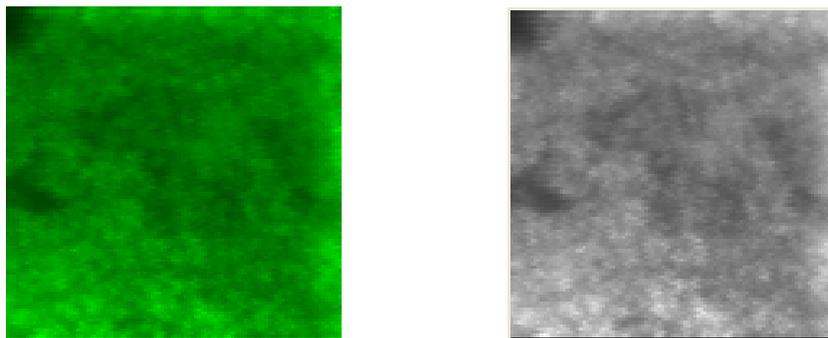


Fig. 3 Image of the E. coli

참고문헌

[1] J. Y. Ko and J. G. Oh, Y. H. Kim, C. W. Lee, Korean J Dermatol 44(5), 545 (2006).
 [2] J. S. Lee and J. W. Hong, Y. S. Han, J Korean Ophthalmol Soc. 43(6), 953 (2002).
 [3] T. Fukano and I. Yamaguchi, Opt. Lett. 25(8), 548 (2000).