

0.1 μm 이하 세포구조 살아있는 채로 본다

나노미터 관찰, 연 X-선 현미경 개발

글_ 김동언 포항공대 교수 kimd@postech.ac.kr

전통적으로 현미경은 생명 과학 분야의 발전에 많은 공헌을 해왔고, 앞으로도 중요한 역할을 할 매우 중요한 연구 기기이다. 그 대표적인 것이 가시광선을 이용하는 광학현미경과 전자빔을 이용하는 전자현미경이다. 광학현미경의 경우 살아 있는 세포를 관찰할 수 있으나 사용되는 가시광선의 파장이 길어 1 μm 크기보다 작은 구조를 관찰하기가 거의 불가능하다.

전자현미경으로 살아있는 세포 관찰 불가능

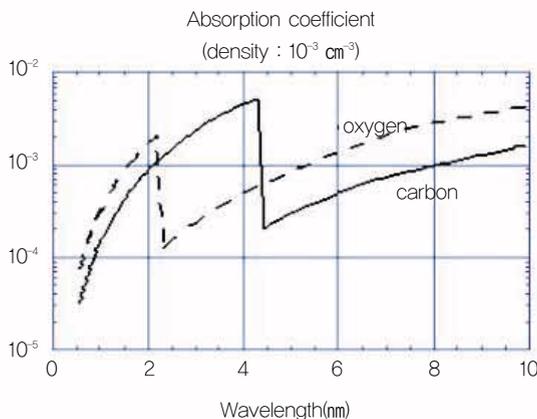
전자 현미경의 경우 1nm 크기 이하의 분해능을 제공하여 원자 하나하나를 볼 수 있을 정도로 분해능은 매우 좋지만, 전자의 투과도가 매우 낮고, 원소별 구별성이 미약해 전자현미경으로 관찰하기 위해서는 세포에 인위적인 조작을 많이 해야 한다. 예를 들면, 전자의 투과도가 낮아 세포를 100nm 두께로 잘라야 하는데 제대로 자르기 위해서는 세포를 말리고 얼리게 된다.

또한 전자는 세포를 구성하는 주원소인 탄소, 산소, 질소 등을 잘 구별하지 못하므로, 보고자 하는 부분을 미리 특별 처리해야 한다. 즉, 화학적 고정, 염색, 또는 건조 등의 처리를 해야

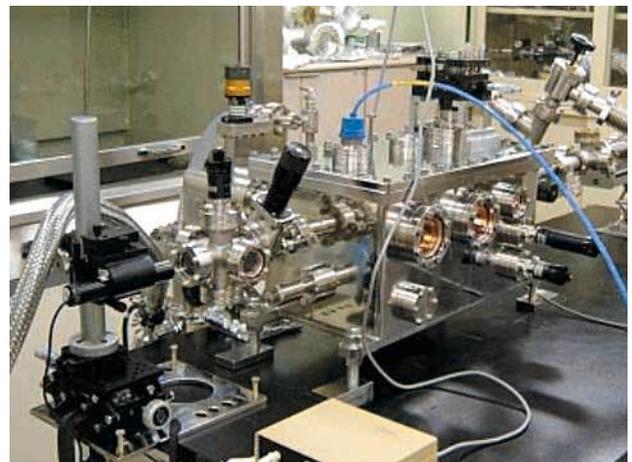
한다. 이러한 과정을 거치는 동안 세포는 결국 죽게 되고 인위적으로 조작된 죽은 세포 구조를 관찰하게 된다. 설령 앞의 조작을 하는 동안 살아있더라도, 전자를 사용하기 위해서는 추가로 고진공 환경이 필요하므로, 세포를 고진공 중에 두어야 한다. 산소가 공급되지 않는 상황이므로 결국 세포는 죽게 된다. 따라서 전자현미경으로는 살아 있는 세포를 관찰할 수가 없다.

죽은 세포의 구조를 관측하다보니 구조 변화와 관련된 세포기관의 기능에 대한 연구는 이루어질 수 없고, 이루어진다고 해도 매우 제한적일 수밖에 없다. 그런 제한적인 경우에도 죽은 세포에서 관측되는 구조가 살아서 기능을 할 때와 같거나 유사하다는 근본적인 가정이 필요한데, 이 가정은 직접적으로 검증된 바가 없다. 따라서 0.1 μm 이하의 분해능으로 살아있는 세포내 기관의 활동시 구조에 관한 정보를 얻는 것은 학문적으로 매우 중요한 의미를 갖는다.

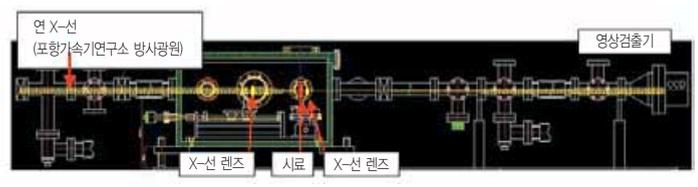
최근에는 유전자를 조작하여 세포의 여러 기능을 제어하고, 변형하는 분자 생물학 분야가 매우 빠르게 발전하고 있는데, 살아 있는 세포기관의 활동 기작을 수십~수백nm 급에서 관측할 수 있게 되면 이 분야에서 새로운 장을 열 수 있을 것이다.



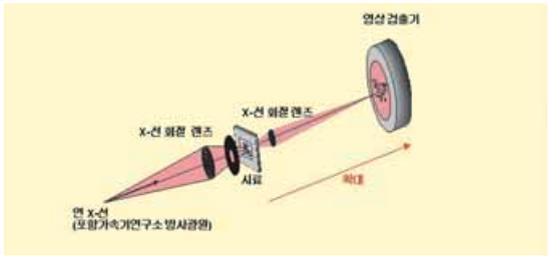
〈그림 1〉 탄소와 산소의 흡수 계수



〈그림 2〉 연 X-선 현미경 사진



〈그림 3〉 방사광 빔라인에 연결된 연 X-선 현미경 열개도



〈그림 4〉 연 X-선 현미경 열개도

‘물의 창’ 영역 ‘연 X-선’으로 세포 촬영

현재 초유의 관심대상이 되고 있는 생명공학은 기존 광학현미경의 분해능보다 훨씬 높은 나노미터급의 공간분해능을 가지는 측정방식을 필요로 하고 있다. 어떻게 하면 살아있는 세포를 나노급에서 관측할 수 있을까? 가시광 광학현미경과 전자현미경의 단점을 보완하면 그 해답이 얻어진다. X-선은 전자보다 해상도는 떨어지지만 가시광선보다 1/10배 정도로 짧으므로 수십 나노미터급의 공간분해능을 원리적으로 제공할 수 있다. X-선은 전자에 비해 투과도가 좋아서 10 μ m 두께를 투과할 수 있다. 따라서 세포를 열려 얇은 막으로 자를 필요가 없다.

전자현미경의 문제점인 세포에 대한 인위적 조작을 가급적 줄여야 하는데, 이 문제는 자연적으로 존재하는 세포의 구성 원소들의 원소별 흡수 차이를 이용하면 상당히 줄일 수 있다. 소위 ‘물의 창(water window)’ 이라고 하는 파장 영역의 연 X-선이 세포 촬영에 필요한 특성을 가지고 있다. ‘물의 창’ 영역이라 함은 2.3~4.4nm 파장대의 X-선을 말한다.

〈그림1〉은 1~10nm 영역에서의 탄소와 산소의 흡수 계수가 파장에 따라 어떻게 변하는 지를 보여준다. 2.3~4.4nm영역에서 탄소의 흡수 계수가 산소에 비해 10배 정도의 큰 차이가 나는 것을 알 수 있다. 따라서 이 영역의 연 X-선을 이용하여 사진을 찍는 경우 탄소가 산소에 비해 까맣게 보인다. 세포는 산소가 주성분인 물과 탄소가 만들어진 단백질 등으로 이뤄져 있다. 그러므로 이 영역의 X-선으로 세포를 찍으면 물과 세포 구조물이 확연히 구분된다. 이 파장의 X-선이 이른바 ‘물의 창’으로 불리는 것도 이 때문이다. 이런 성질은 살아 있는 세포내의 여러 조직 및 기관의 활동사진을 찍는데 매우 중요하게 이용될 수 있다.

이러한 이유로 2.3~4.4nm 영역의 물의 창 영역에서 운영되는 ‘결상 투과 X-선 현미경’은 관측하고자 하는 생체시료를 자

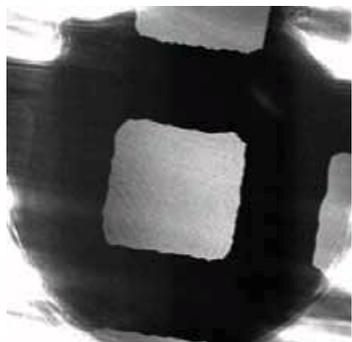
연 그대로인 수용액 상태에서 관측할 수 있다는 장점이 있다. 또한 파장에 따라 세포를 구성하고 있는 원소의 흡수계수가 다르다는 점을 이용하여 세포 내부의 특정 단백질의 분포 등의 분자 생물학적 연구에 이용할 수 있다는

큰 장점을 가지고 있다. 이런 장점 때문에 현재 전세계의 방사광 가속기를 중심으로 X-선 현미경 장치 관련 연구가 활발히 이루어지고 있는 실정이다. 현재 미국의 ALS 가속기에서는 50nm 이하의 해상도를 가지는 영상을 얻을 수 있고, 필요한 경우 토모그래피 방법을 이용하여 세포의 3차원 영상을 얻을 수 있는 수준에 이르렀다.

존 플레이트를 콘덴서 · 결상소자로 사용

나노급에 이르는 공간 분해능을 얻기 위해서는 X-선을 이용해야 하는 것뿐만 아니라 결상 광학계를 구성하는 것이 필수적이다. 연 X-선은 가시광선에 비해서 흡수가 매우 잘되므로 렌즈와 같은 가시광선 광학소자를 사용할 수 없고, 존 플레이트(zone plate, 회전운대판)와 같은 회절 광학소자를 사용해야 한다.

연구팀은 생체시료 관측의 목적으로 X-선 집속렌즈인 프레넬 존 플레이트를 이용, 최대 50nm급의 공간분해능을 가진 연 X-선 현미경 장치(그림2, 3)를 구현하여 포항 가속기 연구소 8A1 빔라인에 설치한 후 성능을 테스트하였다. 이번에 개발한 연 X-선 현미경은 회절 광학소자인 존 플레이트를 콘덴서와



〈그림 5〉 2000line/inch mesh 이미지

결상 소자로 사용하고 있다. 첫번째 존 플레이트는 콘덴서라 불리며 연 X-선을 집속하여 샘플을 조명하는 역할을 한다. 샘플에 조명된 빛은 샘플을 투과하며 샘플의 구조에 따라 그 세기 분포가 변하게 된다. 결상소자라 불리는 두번째 결상 존 플레이트는 샘플을 통과한 빛의 세기 분포를 X-선 평면 검출기에 상을 맺히게 한다(그림4). 연구팀은 존 플레이트의 특성을 이용하여 확대율이 500~1천배 되는 광학계를 직접 설계하여 구축하고, 방사광을 이용하여 실험을 성공적으로 이끌었던 것이다.

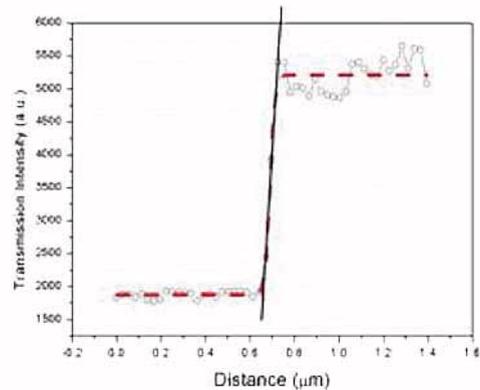
나노급의 분해능 획득 여부를 판단하기 위해 전자현미경에 사용되는 금 그물망으로 1인치 당 2천개의 선이 그어져있는 'TEM mesh 2000' 이 샘플로 사용되었다. <그림5>는 2.87nm 파장의 영역 연 X-선으로 획득한 TEM 메시의 영상으로 메시 구멍의 크기는 7.5 μm 이다. 존 플레이트에 의해 결상된 영상은 콘덴서 중앙멈춤부의 그림자에 해당되는 부분에 형성되었다. 존 플레이트의 회절 특성 때문에 결상된 이미지 부근에 회절되지 않은 X-선에 의한 투영 영상이 만들어진 것을 확인할 수 있다.

실험에서는 2.87nm의 파장을 가지는 연 X-선을 이용하였고, 분해능을 정량적으로 판단하기 위해 영상의 세기가 공간적으로 얼마나 급격하게 변하는 것을 측정하는 '나이프 에지 테스트(knife edge test)' 를 이용하였다. 그물망 경계부분의 나이프 에지 테스트를 통해 메시 끝부분의 명암 세기가 50nm 이내의 거리에서 10%의 밝기에서 90%의 밝기로 변하는 것을 쉽게 파악할 수 있다. 분해능이 50nm 정도, 또는 그 이하라는 것을 직접적으로 보여주는 것이다. 이 수치는 현미경 시스템의 광학 존 플레이트와 관련된 이론적인 회절한계 해상도와 비슷한 수치이다.

구체적인 전자스핀 구조 정보 얻을 수 있어

연 X-선 현미경과 관련된 연 X-선 광원, 광학소자 기술은 과거에는 주변 기술이 취약해 그 중요성을 오랫동안 인식하여 왔음에도 불구하고 충분히 개발되지 못하였다. 그럼에도 주로 기초과학 분야에서 소규모로 연구에 활용돼 왔다.

21세기에는 생명 과학과 정보 통신 관련 반도체 기술이 중요한 과학 기술로 자리매김을 해감에 따라 연 X-선 기술의 수요가 커질 것으로 기대되고 있다. '물의 창' 연 X-선 현미경 관련 기술은 살아 있는 세포기관의 활동 기작을 수십~수백 nm의 분



<그림 6> Mesh 이미지의 단면도

해능으로 파악할 수 있게 해주는데 이런 정보는 지금까지 얻을 수 없었던 것이다. 따라서 생명과학분야에서 새로운 장을 열 수 있는 기반을 제공할 수 있는 핵심 기술의 하나로 자리 잡을 것으로 기대되며 이 기술과 관련 수요가 생명과학 분야에서 많이 창출될 것으로 보인다.

연 X-선은 주로 원자의 외곽 전자들과 상호작용을 많이 하므로, 물질의 전자 스핀 구조에 대한 직접적인 정보들을 제공한다. 따라서 물질의 특성 연구에 매우 긴요하게 사용될 수 있다. 나노기술의 발전과 더불어 새로운 자성 물질을 찾거나, 자성 물질로 나노구조를 제조하였을 경우, 그 자성의 변화 및 동작 특성 등에 대한 연구가 최근에 매우 활발해지고 있다. 이런 새로운 물질은 차세대 메모리 개발, 차세대 나노소자 등의 개발에 필요한 것이다.

연구진은 의미 있는 중요한 세포 등의 샘플을 얻기 위해 생명, 의료 과학 분야 연구자 또는 연구팀과의 공동 연구를 통해 세포 등의 영상 샘플을 확보할 계획이다. 또한, 현재보다 더 정확하고 쉬운 정렬을 위해 구동 장치를 개선할 예정이다. 살아있는 세포, 물 속에 있는 세포를 제대로 관측하기 위해 새로운 샘플 홀더, 샘플 이동조작 장치의 개발도 필요하다. 연구가 성공적으로 진행될 경우 세포의 3차원 영상을 위한 개발 연구가 시작될 것으로 보인다. 또한, 소형화를 위하여 레이저를 이용한 X-선 광원 개발 연구를 진행하고 있다 **SD**



글쓴이는 서울대 물리학을 졸업 후, 미국 프린스턴대학에서 석사·박사학위를 받았다. 1991년부터 포항공대 물리학과 교수로 재직하고 있으며, 레이저 과학연구실을 이끌고 있다.