(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0061359
(43) 공개일자 2025년05월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G02B 21/00 (2022.01) *G01N 33/533* (2006.01)
(52) CPC특허분류
G02B 21/0076 (2013.01)
G01N 21/6428 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0145702
(22) 출원일자 2023년10월27일
심사청구일자 2023년10월27일

(71) 출원인
울산과학기술원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(72) 발명자
박정훈
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
김정모
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(74) 대리인
특허법인리채

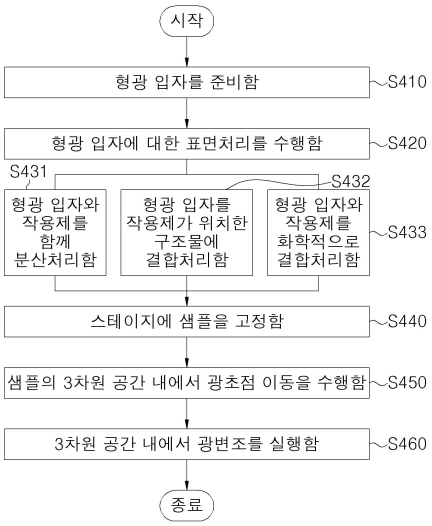
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **3차원 광변조 시스템 및 광변조 제어방법**

(57) 요 약

본 발명의 다른 실시예에 따른 광변조 제어방법은 (A) 형광 입자를 준비하는 단계; (C) 작용제와 상기 형광 입자를 근처에 위치시키기 위한 3가지 처리공정 중 어느 하나의 처리공정을 수행하는 단계; (D) 상기 작용제와 상기 형광입자를 근처에 위치시켜 표지한 샘플을 현미경 장치의 스테이지에 고정하는 단계; (E) 상기 샘플의 3차원 공간내에서 광초점 이동을 수행하는 단계; 및 (F) 상기 샘플의 3차원 공간내에서 이동한 상기 광초점에서 광변조를 실행하는 단계;를 포함한다.

대 표 도 - 도4



(52) CPC특허분류
G01N 33/533 (2013.01)
G02B 21/0004 (2013.01)
G02B 21/008 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711184277
과제번호	2021R1A2C3012903
부처명	과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명	한국연구재단
연구사업명	개인기초연구(과기정통부)
연구과제명	3차원 볼륨 동시 측정 홀로그래픽 in-vivo 이광자 현미경을 통한 뇌활성지도 작성
기 여 율	1/1
과제수행기관명	울산과학기술원
연구기간	2023.03.01 ~ 2024.02.29

명 세 서

청구범위

청구항 1

연속적인 파동을 가지는 빛을 방출하는 연속파동 레이저를 포함한 광원, 다수의 렌즈, 광초점을 형성하기 위한 대물렌즈 및 상기 대물렌즈에 대응하고 형광입자를 표지한 샘플을 거치한 스테이지를 포함한 현미경 장치; 및

상기 현미경 장치에 연결되고, 상기 샘플의 형광 입자로부터 방출되는 형광 신호와 상기 형광 신호가 측정된 광초점의 위치를 기반으로 3차원 영상을 생성하는 이미징 장치;

를 포함하는 3차원 광변조 시스템.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 현미경 장치는 상기 다수의 렌즈 사이에 광초점 평면 상의 X-Y축 위치를 조절하기 위한 갈바노(galvano) 거울을 더 포함할 수 있는 것을 특징으로 하는 3차원 광변조 시스템.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 스테이지는 XYZ축 방향으로 각각의 위치를 조절하는 것을 특징으로 하는 3차원 광변조 시스템.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 형광 입자는 상기 광원으로부터 방출되는 연속파동을 가지는 여기 빛에 의해 비선형 광학 반응을 나타내는 형광 입자로서, 상기 여기 빛의 광자를 흡수하여 상기 여기 빛의 광자보다 높은 고에너지 광자를 방출하는 기작이 비선형적으로 일어나는 입자를 포함하는 것을 특징으로 하는 3차원 광변조 시스템.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 형광 입자는 란탄족 이온이 도핑된 상향변환 입자로서, 호스트 결정, 상기 란탄족 이온의 종류 및 상기 란탄족 이온의 농도 중 적어도 어느 하나에 의해 조합된 것을 특징으로 하는 3차원 광변조 시스템.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 형광 입자는 공명 에너지 전달(resonant energy transfer)의 에너지 전달 방식에 의해 작용제에 에너지를 전달할 수 있는 입자를 포함하는 것을 특징으로 하는 3차원 광변조 시스템.

청구항 7

(A) 형광 입자를 준비하는 단계;

(C) 작용제와 상기 형광 입자를 근처에 위치시키기 위한 3가지 처리공정 중 어느 하나의 처리공정을 수행하는 단계;

(D) 상기 작용제와 상기 형광입자를 근처에 위치시켜 표지한 샘플을 현미경 장치의 스테이지에 고정하는 단계;

(E) 상기 샘플의 3차원 공간내에서 광초점 이동을 수행하는 단계; 및

(F) 상기 샘플의 3차원 공간내에서 이동한 상기 광초점에서 광변조를 실행하는 단계;

를 포함하는 광변조 제어방법.

청구항 8

제 7 항에 있어서,

상기 (A)단계와 상기 (C)단계 사이에

(B) 상기 형광입자에 대한 표면처리 공정을 수행하는 단계;

를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 광변조 제어방법.

청구항 9

제 7 항에 있어서,

상기 형광 입자는 상기 광원으로부터 방출되는 연속파동을 가지는 여기 빛에 의해 비선형 광학 반응을 나타내는 형광 입자로서, 상기 여기 빛의 광자를 흡수하여 상기 여기 빛의 광자보다 높은 고에너지 광자를 방출하는 기작이 비선형적으로 일어나는 입자를 포함하는 것을 특징으로 하는 광변조 제어방법.

청구항 10

제 7 항에 있어서,

상기 형광 입자는 란탄족 이온이 도핑된 상향변환 입자로서, 호스트 결정, 상기 란탄족 이온의 종류 및 상기 란탄족 이온의 농도 중 적어도 어느 하나에 의해 조합된 것을 특징으로 하는 광변조 제어방법.

청구항 11

제 7 항에 있어서,

상기 형광 입자는 공명 에너지 전달(resonant energy transfer)의 에너지 전달 방식에 의해 작용제에 에너지를 전달할 수 있는 입자를 포함하는 것을 특징으로 하는 광변조 제어방법.

청구항 12

제 7 항에 있어서,

상기 (C)단계의 3가지 처리공정은 상기 작용제와 상기 형광 입자를 같은 용매에 함께 분산처리하는 제 1 처리공정, 상기 형광입자를 상기 작용제가 위치한 근처 구조물에 결합처리하는 제 2 처리공정 및 상기 형광입자와 상기 작용제를 화학적으로 결합처리하는 제 3 처리공정을 포함하는 것을 특징으로 하는 광변조 제어방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 3차원 광변조 시스템 및 광변조 제어방법에 관한 것으로, 특히 특정 깊이에만 고에너지 광자를 전달하는 능력을 지닌 형광 입자를 활용하여 광변조 기술들을 3차원으로 실시할 수 있는 3차원 광변조 시스템 및 광변조 제어방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 광변조 기술은 특정 파장대의 광자를 흡수시켜 재료의 특성을 변화시키는 기술을 통칭하는 용어이다. 대표적인 광변조 기술과 기작의 간단한 예시는 다음과 같다.

[0003] 3D 프린팅 기술은 포토레진(photocurable resin)이 특정 파장의 광자를 흡수한 후 고형화되는 현상을 이용한 제조 기술이다. 포토리소그래피(photolithography) 기술은 포토레지스트(photoresist) 재료가 특정 파장의 광자를 흡수한 후 화학적 특성이 변하는 현상을 이용한 것으로, 추후의 현상 과정을 통해 특정 모양을 재료에 새기는 제조 기술이다.

[0004] 광유전학(optogenetics) 기술은 특정 파장의 광자에 반응하는 광수용체를 가진 뉴런을 이용한 기술로서, 빛을 조사함으로써 유전적 기질의 변화나 반응을 꾀하는 생명의학 기술이다.

[0005] 광역학요법(photodynamic therapy) 기술은 특정 파장의 광자를 흡수하여 활성 산소(reactive oxygen)를 생성하는 감광제를 이용한 기술로, 감광제에 의해 생성된 활성 산소가 암세포 등 문제가 되는 세포의 사멸을 유도하는 치료법이다. 형광 이미징 기술은 특정 파장의 광자를 흡수하여 다른 파장의 빛을 방출하는 유기 혹은 무기 형광 재료를 이용한 기술로, 생명의학 분야에서 진단 및 시각화에 널리 사용되는 기술이다.

[0006] 위 기술들은 광변조 기술의 몇 가지 대표적인 예시를 제시한 것으로, 특정 파장대의 광자를 흡수하여 기존 특성이 변하거나 새로운 특성을 발현하는 재료를 이용한다면 광변조 기술의 한 종류라고 볼 수 있다.

[0007] 이러한 광변조 기술에 사용되는 인공 혹은 생체 재료들은 일반적으로 상대적으로 에너지가 높은 파장 영역인 자외선에서 푸른색의 파장을 가진 광자들을 흡수하여 기능한다.

[0008] [표 1]에는 대표적인 광변조 기술들, 각 기술들에 사용되는 작용제들의 예시들 및 각 작용제가 흡수하는 스펙트럼 영역이 정리되어 있다.

표 1

광변조 기술	작용제 예시	흡수 스펙트럼 영역
광유전학	Lamprey Parapinopsin	Activation : 360~370 nm Deactivation : 470~510 nm
	UVR8	280~315 nm
	CRY2/CIB1	~ 450 nm
	FP Dronpa	Activation : 390 nm Deactivation : 490 nm
	LOV proteins	~ 450 nm
광역학 요법	TiO_2	< 380 nm
	ZnO	365 nm
	CdTe QDs	440 nm
	C60	355 nm
	Porphyrins derivates	300~450 nm
	Phthalocyanines (Pcs) derivates	300~420 nm
	Diketopyrrolopyrrole (DPP) derivates	400~600 nm
	Ru(II) Complexes	250~700 nm
	Ir(III) Complexes	~365 nm, ~450 nm
	Metal-Organic Framework (MOF)	350~500 nm
제조 기법 (3D 프린팅, 포토리소그래피)	SU8 photoresist	350~400 nm
	UV-curing resins	Broad in UV
형광	DAPI	300 ~ 400 nm
	Alexa 350, Alexa 430	(Alexa 350) 300~400 nm (Alexa 430) 350~525 nm
	Green fluorescent protein (GFP), Blue fluorescent protein (BFP), Cyan fluorescent protein (CFP)	(GFP) 350~600 nm (BFP) 325~425 nm (CFP) 375~500 nm
	Fluorescein	400 ~ 525 nm

[0009]

[0010] [표 1]에서 볼 수 있듯이, 대부분의 광변조 기술에 사용되는 재료들은 자외선 영역인 300nm 정도에서 푸른색 영역인 550 nm 정도까지의 파장에 반응한다. 특수한 작용제의 경우 자외선~푸른색 파장 영역 이외의 파장에 반응하기도 하며, 펄스 레이저를 이용한 다광자 흡수에 따른 반응 스펙트럼은 특히 더욱 다양할 수 있지만, 일반적인 작용제의 경우 자외선에서 푸른색의 파장을 가진 광자에 반응한다고 볼 수 있다.

[0011] 따라서, 일반적으로 광변조 기술 실시에는 자외선~푸른색의 파장을 가진 광자를 방출하는 램프나 레이저 등의 광원이 이용된다. 해당 광원에서 방출된 광자는 삼차원 공간상에서 광자가 먼저 도착하는 작용제의 표면에서부터 흡수되며, 작용제는 그 기능을 하여 광변조가 일어난다. 특별한 조치를 하지 않는 이상, 광자가 먼저 도착하는 표면에서부터 광변조가 일어나기 때문에, 삼차원으로 공간내의 특정 깊이에서 선택적으로 광변조 기술을 실시할 수 없다.

[0012] 이러한 한계를 극복하기 위해, 몇몇의 광변조 기술들에 있어서는 새로운 방식의 도입을 통해 삼차원으로 실시가 가능하다. 예를 들어, 광경화 방식의 3D 프린팅 기술 중 하나인 SLA(stereolithography)의 경우, 표면에서부터 포토레진의 고형화를 진행하면서 적층하는 방식으로 삼차원으로 프린팅이 가능하지만, 근본적으로 삼차원으로 수행했다고 보기 어렵다. 스테이지 이동으로 적층하는 방식으로 출력하므로 출력 속도가 상대적으로 느리다는 단점도 있다. 다중 광자 흡수가 가능한 특수한 포토레진의 경우에는, 여기 빛 세기와 흡수 효율이 비선형적인 관계를 가진다는 특성을 이용하여, 펄스 레이저를 기반으로 적층 없이 광초점만을 이동하여 빠른 속도로 삼차원으로 재료 고형화가 가능하다.

[0013] 하지만 펄스 레이저의 경우에는 연속파동 레이저에 비해서 50 ~ 100배 가량 가격이 비싸다는 단점이 있으며, 유지보수에 전문 인력이 필요하여, 일반 광경화 방식의 프린팅 방식에 비해서는 아직까지 널리 보급되지 않은 실정이다. 만일 상대적으로 저렴하고 유지보수가 간편한 연속파동 레이저를 이용하여 특정 깊이에만 고에너지 광자를 전달 또는 생성할 수 있다면, 적층 없이 광초점만을 이동하여, 저렴한 비용에 빠른 속도의 3D 프린팅 기술을 개발할 수 있을 것이다.

[0014] 이렇게 종래에 대부분의 광변조 기술들은 삼차원으로 실시되지 못한 상황이다. 예를 들어, 광유전학 기술의 경우, 광수용체를 가진 뉴런의 깊이 정보를 특정하여 원하는 깊이에 존재하는 뉴런만을 자극하고자 하더라도, 조사된 광자들이 표면에 위치한 광수용체부터 반응하므로 깊이 선택적으로 해당 기술을 실시하는 것은 쉽지 않다.

이에 따라 빛이 통과한 모든 깊이의 세포들의 광수용체가 조사된 빛에 반응하게 된다. 만일, 삼차원으로 특정 깊이에 있는 뉴런에만 선택적으로 광수용체가 반응하는 광자를 전달할 수 있다면, 새로운 생명의학 연구의 기반이 될 수 있다.

[0015] 광역학요법의 경우에는 펄스 레이저 기반 다광자 흡수에 따른 깊이 선택이 가능한 특별한 감광제가 개발되고 있다. 하지만, 상술한 바와 마찬가지로, 펄스 레이저의 사용으로 인한 가격적인 부담 및 전문적인 유지보수 인력이 필요하여 널리 보급되기 쉽지 않다. 게다가, 펄스 레이저를 이용한 다광자 흡수에 기반한 감광제의 활성 산소 생성 효율은 연속파동 레이저를 이용한 경우에 비해 극도로 낮다는 단점이 있다. 일반적인 감광제와 함께 자외선 내지 푸른색 광자를 방출하는 연속파동 레이저 혹은 램프를 이용하여 광역학요법을 실시할 시, 감광제가 살포된 표피부터 활성 산소가 생성되며, 병변이 존재하는 표적 깊이까지 광자를 전달한다면 병변 근처에서 활성 산소를 생성할 수 있다. 이 경우, 깊이 선택적인 활성 산소 생성이 불가능하므로, 특정 깊이에 존재하는 병변뿐만 아니라 표피에 위치한 건강한 세포의 사멸 또한 유도된다는 부작용이 있다. 게다가, 표적 깊이 위의 산란 매질(예: 피부)에 의한 여기 세기 감소를 극복하여 산란이 심한 자외선~푸른색의 광자를 병변 깊이까지 전달하기 위해서는 레이저 및 램프의 여기 세기를 높여야 한다. 세기를 극단적으로 높이더라도, 해당 파장을 이용한 광역학 요법은 1 cm 이상 깊이에 위치한 병변에 적용할 수 없다는 것이 일반적으로 알려진 사실이다. 감광제의 존재 유무를 떠나서라도, 해당 파장대의 광자는 생체 재료에 극도의 피로감을 주어, 추가적인 부작용을 일으킬 수 있다.

[0016] 따라서, 만일 표적 깊이의 병면에만 자외선 내지 푸른색의 광자를 전달하여 활성산소를 만들 수 있다면, 다른 깊이에 있는 정상 세포의 사멸을 획기적으로 감소시켜 부작용이 상대적으로 적은 광역학 요법 실시가 가능할 것이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0017] (특허문헌 0001) 특허문헌 : 등록특허공보 제 10-1423589호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0018] 본 발명은 상기 문제점을 해소하기 위하여 안출된 것으로, 본 발명의 목적은 특정 깊이에만 자외선 내지 푸른색의 고에너지 광자를 전달하는 능력을 지닌 형광 입자를 활용하여 광변조 기술들을 삼차원으로 실시할 수 있는 3차원 광변조 시스템을 제공하는 데 있다.

[0019] 본 발명의 다른 목적은 특정 깊이에만 자외선 내지 푸른색의 고에너지 광자를 전달하는 능력을 지닌 형광 입자를 활용하여 광변조 기술들을 삼차원으로 실시할 수 있는 광변조 제어방법을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0020] 본 발명의 일실시예에 따른 3차원 광변조 시스템은 연속적인 파동을 가지는 빛을 방출하는 연속파동 레이저를 포함한 광원, 다수의 렌즈, 광초점을 형성하기 위한 대물렌즈 및 상기 대물렌즈에 대응하고 형광입자를 표지한 샘플을 거치한 스테이지를 포함한 현미경 장치; 및 상기 현미경 장치에 연결되고, 상기 샘플의 형광 입자로부터 방출되는 형광 신호와 상기 형광 신호가 측정된 광초점의 위치를 기반으로 3차원 영상을 생성하는 이미징 장치;를 포함한다.

[0021] 본 발명의 일실시예에 따른 3차원 광변조 시스템에서 상기 현미경 장치는 상기 다수의 렌즈 사이에 광초점 평면상의 X-Y축 위치를 조절하기 위한 갈바노(galvano) 거울을 더 포함할 수 있는 것을 특징으로 한다.

[0022] 본 발명의 일실시예에 따른 3차원 광변조 시스템에서 상기 스테이지는 XYZ축 방향으로 각각의 위치를 조절하는 것을 특징으로 한다.

[0023] 본 발명의 일실시예에 따른 3차원 광변조 시스템에서 상기 형광 입자는 상기 광원으로부터 방출되는 연속파동을 가지는 여기 빛에 의해 비선형 광학 반응을 나타내는 형광 입자로서, 상기 여기 빛의 광자를 흡수하여 상기 여기 빛의 광자보다 높은 고에너지 광자를 방출하는 기작이 비선형적으로 일어나는 입자를 포함하는 것을 특징으

로 한다.

[0024] 본 발명의 일실시예에 따른 3차원 광변조 시스템에서 상기 형광 입자는 란탄족 이온이 도핑된 상향변환 입자로서, 호스트 결정, 상기 란탄족 이온의 종류 및 상기 란탄족 이온의 농도 중 적어도 어느 하나에 의해 조합된 것을 특징으로 한다.

[0025] 본 발명의 일실시예에 따른 3차원 광변조 시스템에서 상기 형광 입자는 공명 에너지 전달(resonant energy transfer)의 에너지 전달 방식에 의해 작용제에 에너지를 전달할 수 있는 입자를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0026] 또한, 본 발명의 다른 실시예에 따른 광변조 제어방법은 (A) 형광 입자를 준비하는 단계; (C) 작용제와 상기 형광 입자를 근처에 위치시키기 위한 3가지 처리공정 중 어느 하나의 처리공정을 수행하는 단계; (D) 상기 작용제와 상기 형광입자를 근처에 위치시켜 표지한 샘플을 현미경 장치의 스테이지에 고정하는 단계; (E) 상기 샘플의 3차원 공간내에서 광초점 이동을 수행하는 단계; 및 (F) 상기 샘플의 3차원 공간내에서 이동한 상기 광초점에서 광변조를 실행하는 단계;를 포함한다.

[0027] 본 발명의 다른 실시예에 따른 광변조 제어방법은 상기 (A)단계와 상기 (C)단계 사이에 (B) 상기 형광입자에 대한 표면처리 공정을 수행하는 단계;를 더 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0028] 본 발명의 다른 실시예에 따른 광변조 제어방법에서 상기 형광 입자는 상기 광원으로부터 방출되는 연속파동을 가지는 여기 빛에 의해 비선형 광학 반응을 나타내는 형광 입자로서, 상기 여기 빛의 광자를 흡수하여 상기 여기 빛의 광자보다 높은 고에너지 광자를 방출하는 기작이 비선형적으로 일어나는 입자를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0029] 본 발명의 다른 실시예에 따른 광변조 제어방법에서 상기 형광 입자는 란탄족 이온이 도핑된 상향변환 입자로서, 호스트 결정, 상기 란탄족 이온의 종류 및 상기 란탄족 이온의 농도 중 적어도 어느 하나에 의해 조합된 것을 특징으로 한다.

[0030] 본 발명의 다른 실시예에 따른 광변조 제어방법에서 상기 형광 입자는 공명 에너지 전달(resonant energy transfer)의 에너지 전달 방식에 의해 작용제에 에너지를 전달할 수 있는 입자를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0031] 본 발명의 다른 실시예에 따른 광변조 제어방법에서 상기 (C)단계의 3가지 처리공정은 상기 작용제와 상기 형광입자를 같은 용매에 함께 분산처리하는 제 1 처리공정, 상기 형광입자를 상기 작용제가 위치한 근처 구조물에 결합처리하는 제 2 처리공정 및 상기 형광입자와 상기 작용제를 화학적으로 결합처리하는 제 3 처리공정을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0032] 본 발명의 특징 및 이점들은 첨부도면에 의거한 다음의 상세한 설명으로 더욱 명백해질 것이다.

[0033] 이에 앞서, 본 명세서 및 청구범위에 사용된 용어나 단어는 통상적이고, 사전적인 의미로 해석되어서는 아니 되며, 발명자가 그 자신의 발명을 가장 최선의 방법으로 설명하기 위해 용어의 개념을 적절하게 정의할 수 있다는 원칙에 입각하여 본 발명의 기술적 사상에 부합되는 의미와 개념으로 해석되어야만 한다.

발명의 효과

[0034] 본 발명의 실시예에 따른 광변조 시스템은 연속파동 레이저 여기 시 비선형 광학 반응을 통해 저에너지 광자를 흡수하여 고에너지 광자를 방출하는 형광입자를 이용하여 광변조 기술을 삼차원으로 실시할 수 있는 효과가 있다.

[0035] 본 발명의 다른 실시예에 따른 광변조 제어방법은 저에너지 광자를 흡수하여 비선형적으로 고에너지 광자를 방출하는 형광 입자와 광변조 기술의 작용제를 함께 위치시키고, 현미경 장치를 이용한 연속파동 레이저로 만들어진 광초점 이동만으로 광변조 기술을 삼차원으로 깊은 영역까지 실시할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

[0036] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 광변조 시스템의 개략적인 구성도.

도 2는 본 발명의 실시예에 따른 광변조 시스템을 구성하는 현미경 장치의 예시도.

도 3은 본 발명의 실시예에 따른 광변조 시스템을 구성하는 현미경 장치의 다른 예시도.

도 4는 본 발명의 다른 실시예에 따른 광변조 제어방법을 설명하기 위한 순서도.

도 5는 본 발명의 실시예에 따라 적외선 여기 하에서 자외선과 푸른색의 파장 영역 대에서 형광 입자의 발광 스펙트럼을 나타낸 도면.

도 6은 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자의 여기 빛 세기 대비 방출되는 형광 신호의 세기를 나타내는 그래프.

도 7은 본 발명의 실시예에 따른 여기 빛과 형광 신호의 공간 분포를 나타내는 도면.

도 8은 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자에서 발생하는 형광신호의 예시도.

도 9는 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자의 여기시에 형광신호의 3차원 공간분포를 나타낸 예시도.

도 10은 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자를 광유전학에 적용하여 광변조를 수행한 예시도.

도 11은 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자를 광역학 요법에 적용하여 광변조를 수행한 예시도.

도 12는 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자를 제조기법에 적용하여 광변조를 수행한 예시도.

도 13은 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자를 형광 여기에 적용하여 광변조를 수행한 예시도.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] 본 발명의 목적, 특정한 장점들 및 신규한 특징들은 첨부된 도면들과 연관되는 이하의 상세한 설명과 바람직한 실시예로부터 더욱 명백해질 것이다. 본 명세서에서 각 도면의 구성요소들에 참조번호를 부가함에 있어서, 동일한 구성 요소들에 한해서는 비록 다른 도면상에 표시되더라도 가능한 한 동일한 번호를 가지도록 하고 있음에 유의하여야 한다. 또한, 제1, 제2 등의 용어는 다양한 구성요소들을 설명하는데 사용될 수 있지만, 상기 구성요소들은 상기 용어들에 의해 한정되어서는 안 된다. 상기 용어들은 하나의 구성요소를 다른 구성요소로부터 구별하는 목적으로만 사용된다. 또한, 본 발명을 설명함에 있어서, 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명은 생략한다.

[0038] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 광변조 시스템의 개략적인 구성도이고, 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 광변조 시스템을 구성하는 현미경 장치의 예시도이며, 도 3은 본 발명의 실시예에 따른 광변조 시스템을 구성하는 현미경 장치의 다른 예시도이다.

[0039] 본 발명의 실시예에 따른 광변조 시스템(100)은 현미경 장치(110) 및 이미징 장치(120)를 포함한다.

[0040] 구체적으로, 현미경 장치(110)는 광원(111)에서 방출되는 연속파동을 가지는 빛을 형광입자로 표지된 샘플(10)에 조사하여 미리 설정된 깊이에서 광초점이 형성되도록 하고, 이러한 광초점에서 형광 입자로부터 방출되는 형광(또는 형광 신호)을 측정한다. 현미경 장치(110)는 종래의 비선형 현미경과 대비되는 특징으로 초고속 펄스 레이저가 아닌 보다 저렴하고 유지 관리가 간편한 연속파동 레이저 기반 레이저 스캐닝 현미경으로 구비될 수 있다.

[0041] 현미경 장치(110)는 형광 입자로 입사되는 여기(excitation) 빛에 의해 해당 형광 입자로부터 방출되는 형광을 기반으로 특정 여기 세기 영역을 3차원 이미징을 위한 세기 영역으로 설정할 수 있다. 예를 들어, 현미경 장치(120)는 형광 입자로부터 방출되는 형광의 세기가 해당 형광 입자로 입사되는 여기 빛의 세기에 대해 비선형으로 형광이 방출되는 세기 영역을 샘플(10)에 대한 3차원 이미징을 위한 세기 영역으로서 설정할 수 있다.

[0042] 현미경 장치(110)는 샘플(10)의 설정된 깊이에서 광초점의 위치를 이동시키면서 형광 입자로부터 방출되는 형광 신호를 깊이 선택적으로 측정할 수 있고, 광초점의 위치를 3차원 공간상에서 이동시키면서 단일 평면 상의 영역뿐만 아니라 3차원 공간 상의 영역까지 형광 신호를 측정할 수 있다.

[0043] 이러한 현미경 장치(110)는 도 2에 도시된 바와 같이 연속적인 파동을 가지는 빛을 방출하는 연속파동 레이저를 포함한 광원(111), 빛의 크기를 조절하기 위한 다수의 렌즈(112,113,115,116), 미리 설정된 깊이에서 샘플(10)에 광초점을 형성하기 위한 대물렌즈(117), 광초점의 평면 상의 위치, 즉 X-Y축 위치를 조절하기 위한 갈바노(galvano) 거울(114) 및 대물렌즈(117)에 대응하고 샘플(10)을 거치하여 Z축 방향으로 위치를 조절하기 위한 스테이지(118)를 포함한다.

[0044] 이러한 도 2에 도시된 현미경 장치(110)는 갈바노 거울(114)과 스테이지(118)를 이용하여 광초점을 설정할 수 있어서, XY 광초점은 갈바노 거울(114)에 의해 설정하고 Z 광초점은 스테이지(118)를 이용하여 샘플(10) 내에서

3차원 공간상에 광초점을 설정할 수 있다.

[0045] 또는, 현미경 장치(110)는 도 3에 도시된 바와 같이 연속적인 파동을 가지는 빛을 방출하는 연속파동 레이저를 포함한 광원(111), 빛의 크기를 조절하기 위한 제 1 렌즈(112-1)와 제 2 렌즈(113-1), 제 2 렌즈(113-1)를 거친 빛을 조사하여 미리 설정된 깊이에서 샘플(10)에 광초점을 형성하기 위한 대물렌즈(117-1) 및 대물렌즈(117-1)에 대응하고 샘플(10)을 거치하여 XYZ축 방향으로 위치를 조절하기 위한 스테이지(119)를 포함한다.

[0046] 이러한 도 3에 도시된 현미경 장치(110)는 스테이지(119)를 이용하여 XYZ축 방향으로 위치를 용이하게 조절하여 샘플(10) 내에서 3차원 공간에 광초점을 용이하게 설정할 수 있다.

[0047] 이미징 장치(120)는 예컨대 컴퓨터를 포함하고, 샘플(10)의 형광 입자로부터 방출되는 형광 신호와 형광 신호가 측정된 광초점의 위치를 기반으로 3차원 영상을 생성할 수 있다. 이를 위해, 현미경 장치(110)는 형광 입자로부터 방출되는 형광 신호의 세기 정보와 해당 형광 신호가 측정된 광초점의 위치 정보를 이미징 장치(120)로 전달하거나 또는 이미징 장치(120)가 현미경 장치(110)로부터 형광 신호의 세기 정보와 해당 형광 신호가 측정된 광초점의 위치 정보를 획득할 수 있다.

[0048] 이때, 이미징 장치(120)는 형광 신호의 세기 정보와 해당 형광 신호가 측정된 광초점의 위치 정보를 기반으로 광초점의 위치 별로 해당 위치에서 측정된 형광 신호를 대응시켜 3차원 영상을 생성할 수 있다.

[0049] 샘플(10)에 표지되는 형광 입자는 광원(111)으로부터 방출되는 연속파동을 가지는 여기 빛에 의해 비선형 광학 반응을 나타내는 형광 입자로서, 저에너지 광자를 흡수하여 고에너지 광자를 방출하는 기작이 비선형적으로 일어나는 입자를 포함한다. 이러한 형광 입자는 예컨대 적외선 파장대의 광자를 흡수하여 자외선 내지 푸른색의 파장을 가진 고에너지 광자를 방출하는 입자를 포함할 수 있다.

[0050] 이때, 광변조 기술의 작용제는 형광 입자 여기에 사용된 적외선 파장대의 광자는 흡수하지 않고, 형광 입자에서 방출된 자외선 내지 푸른색 파장의 광자를 흡수하여 기능한다.

[0051] 형광 입자가 적외선 광자를 흡수하여 고에너지 광자를 방출하는 과정이 비선형적으로 흡수하는 여기 광자의 양이 증가함에 따라, 방출되는 광자의 양이 지수적으로 증가한다. 현미경 장치(110)에 의해 만들어진 초점을 중심으로 하는 여기 빛 세기는 가우시안 분포를 가지므로, 결과적으로 현미경 장치(110)의 초점에 위치한 형광 입자에서는 고에너지 광자들이 폭발적으로 방출되고, 초점에서 멀어진 위치에 있는 형광 입자에서는 무시할 만한 수준의 미량의 광자들이 방출된다. 이러한 형광 입자를 이용하면 광변조 기술을 삼차원으로 실시할 수 있다.

[0052] 이러한 형광 입자는 란탄족 이온이 도핑된 상향변환 입자로서, 예컨대 호스트 결정, 란탄족 이온의 종류, 농도 등에 의해 다양한 조합으로 제조될 수 있다. 특히, 형광 입자의 예시인 란탄족 이온들이 도핑된 상향변환 나노입자의 경우, 호스트 결정의 종류, 도핑된 란탄족 이온의 종류, 도핑된 란탄족 이온의 농도 등을 달리하여 발광 스펙트럼을 조절하여, 광변조 기술의 필요성에 맞추어 최적화할 수 있다. 예시로 제시한 란탄족 이온들이 도핑된 상향변환 나노입자가 아니더라도, 형광 입자 혹은 분자가 작용제가 흡수하지 않는 적외선에서 여기되어 작용제가 흡수하는 자외선 내지 푸른색 파장 영역의 광자를 비선형적 반응에 따라 방출한다면, 적용될 수 있다.

[0053] 또한, 작용제의 흡수 영역이 자외선 내지 푸른색이 아닐 경우에도, 형광 입자의 여기 파장이 작용제에 흡수되지 않고, 방출 파장이 작용제에 흡수된다면, 적용될 수 있다. 특히 형광 입자에서 방출된 광자를 작용제가 직접 흡수하지 않고 작용제와 형광입자 사이에 공명 에너지 전달(resonant energy transfer)의 에너지 전달 방식을 따른다면, 광변조의 3차원 구속(confinement)을 증대시킬 수 있다.

[0054] 이와 같이 구성된 본 발명의 실시예에 따른 광변조 시스템(100)은 연속파동 레이저 여기 시 비선형 광학 반응을 통해 저에너지 광자를 흡수하여 고에너지 광자를 방출하는 형광입자를 이용하여 광변조 기술을 삼차원으로 실시할 수 있다.

[0055] 이하, 본 발명의 다른 실시예에 따른 광변조 제어방법에 대해 도 4 내지 도 13을 참조하여 설명한다. 도 4는 본 발명의 다른 실시예에 따른 광변조 제어방법을 설명하기 위한 순서도이고, 도 5는 본 발명의 실시예에 따라 적외선 여기 하에서 자외선과 푸른색의 파장 영역 대에서 형광 입자의 발광 스펙트럼을 나타낸 도면이며, 도 6은 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자의 여기 빛 세기 대비 방출되는 형광 신호의 세기를 나타내는 그래프이며, 도 7은 본 발명의 실시예에 따른 여기 빛과 형광 신호의 공간 분포를 나타내는 도면이며, 도 8은 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자에서 발생하는 형광신호의 예시도이며, 도 9는 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자의 여기시에 형광신호의 3차원 공간분포를 나타낸 예시도이며, 도 10은 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자를 광유전학에 적용하여 광변조를 수행한 예시도이며, 도 11은 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자를 광역학 요법에 적용

하여 광변조를 수행한 예시도이며, 도 12는 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자를 제조기법에 적용하여 광변조를 수행한 예시도이며, 도 13은 본 발명의 실시예에 따른 형광 입자를 형광 여기에 적용하여 광변조를 수행한 예시도이다.

[0056] 본 발명의 다른 실시예에 따른 광변조 제어방법은 먼저 광변조를 위해 비선형 광학 반응을 통해 저에너지 광자를 흡수하여 고에너지 광자를 방출하는 능력을 갖는 형광 입자를 준비한다(S410).

[0057] 구체적으로, 형광 입자는 연속파동 레이저 여기 시 비선형 광학 반응을 통해 저에너지 광자를 흡수하여 고에너지 광자를 방출하는 특징을 갖는다.

[0058] 이러한 형광 입자는 도 5에 도시된 바와 같이 적외선 여기 하에서 자외선과 푸른색의 파장 영역 대의 발광 스펙트럼을 나타낸다. 자외선의 경우, 약 325 nm 부터 400 nm 까지 그리고 푸른색의 경우, 약 430 nm 부터 525 nm 까지로 넓은 발광 대역폭을 보이며, 이 두 파장 영역대 모두 일반적인 광변조 기술 작용제의 흡수 스펙트럼에 포함된다.

[0059] 이때, 광변조 기술의 작용제는 적외선 파장 대의 광자를 흡수하지 않으므로, 작용제와 형광 입자가 근처에 위치해 있다면, 작용제는 형광 입자에서 방출된 자외선, 푸른색 광자를 흡수하여 기능하게 된다. 결과적으로, 광변조 기술을 적외선 여기 하에서 실시할 수 있게 된다.

[0060] 또한, 형광 입자의 다른 특징은 저에너지 광자를 흡수하여 고에너지 광자를 방출하는 기작이 비선형적으로 일어난다는 것이다.

[0061] 이러한 비선형의 특징은 도 6에 도시된 바와 같이 검은 실선으로 나타낸 연속파동 레이저 하에서 비선형 광학 반응을 보이는 형광입자의 여기 빛 세기 대비 방출된 형광 세기의 로그-로그 플롯으로 보여준다. 도 6에서 $I_{emission}$은 형광입자로부터 방출된 형광 세기를 나타내고, $I_{excitation}$은 형광입자 여기를 위한 빛의 세기를 의미한다. 도 6에서 로그-로그 플롯의 기울기는 $I_{emission} = I_{excitation}^{s}$의 방정식에 따라, 값 s로 표시된다.

[0062] 도 6에서 상대적으로 낮은 여기 세기 영역(영역 1)에서는 여기 빛 세기 대비 방출된 형광 세기의 로그-로그 플롯의 기울기 s는 1보다 작다. 반면에 상대적으로 높은 여기 에너지 영역(영역 2)에서는 여기 빛 세기 대비 방출된 형광 세기의 로그-로그 플롯의 기울기 s는 1보다 크다.

[0063] 영역 1과 영역 2의 구분은 여기 빛 세기 대비 방출된 형광 세기의 로그-로그 플롯의 기울기 s가 1이 되는 지점의 여기 빛 세기를 기준으로 하고, 이때의 여기 빛 세기를 A로 표시한다.

[0064] 한편, 도 7에는 광학 시스템의 초점거리를 중심으로 하는 가우시안(Gaussian) 분포를 가진 여기 빛 세기가 실선으로 도시되어 있다. 도 6에 대한 설명과 같이, 여기 빛의 세기가 A가 되는 공간상 위치를 기준으로 영역 1과 영역 2가 구분된다. 영역 1에서의 로그-로그 플롯의 기울기 s는 1보다 작다. 따라서, 영역 1의 특정 공간 위치에서 여기 빛 에너지 대비 방출되는 형광 세기의 기울기 s는 여기 빛 세기의 가우시안 분포의 기울기보다 항상 낮다. 이 때, 예상되는 형광의 분포는 점선으로 도시되어 있다.

[0065] 반면에, 영역 2에서의 로그-로그 플롯의 기울기s는 1보다 크다. 따라서, 영역 2의 특정 공간 위치에서 여기 빛 에너지 대비 방출되는 형광 세기의 기울기 s는 여기 빛 세기의 가우시안 분포의 기울기보다 항상 높다. 이때, 예상되는 형광의 분포는 일점 쇄선으로 도시되어 있다.

[0066] 결과적으로 도 7에 도시된 바와 같이, 형광 입자에서 방출되는 형광 세기의 거리에 따른 분포(점선과 일점 쇄선의 합)의 폭은 여기 빛 세기의 가우시안 분포의 폭보다 좁다.

[0067] 광변조 시스템에서 여기 빛 세기의 분포의 폭은 여기 빛 파장의 회절 한계에 의해 결정되며, 초고해상도 영상법, 근접장 제어 등의 특별한 처리를 하지 않는 이상 물리적으로 이보다 작아질 수 없다. 그러나 도 7에 도시된 바와 같이 비선형 광학 반응을 보이는 형광 입자에서 방출되는 형광 세기의 거리에 따른 분포의 폭은 여기 빛 파장의 회절 한계의 폭보다 작아질 수 있다. 이는 여기 빛이 모이는 광학 시스템의 초점면에서는 폭발적으로 증가하는 형광 세기를 기대할 수 있음을 의미한다.

[0068] 또한, 초점면에서 먼 거리에서는 굉장히 적은 양의 형광 세기가 기대됨을 의미한다. 결과적으로, 광학 시스템의 여기 빛이 모이는 초점에서만 강한 형광이 발생하게 되며, 이는 비선형 현미경이 기반으로 하는 비선형 여기에 따른 결과와 일치한다. 따라서, 연속파동 레이저 여기 시에 도 6의 광학 반응을 보이는 형광 입자를 이용하는 경우 연속파동 레이저의 광원(111)으로 구동하는 비선형 현미경 장치(110)를 이용한 광변조 시스템(100)을 구현

할 수 있다.

[0069] 이러한 연속파동 레이저 여기 시에 도 6에 도시된 비선형 광학 반응을 보이는 형광 입자는 란탄족 이온이 도핑된 상향변환 입자로서, 예컨대 호스트 결정, 란탄족 이온의 종류, 농도 등에 의해 다양한 조합으로 제조될 수 있다. 이러한 조합을 통해 기울기 s와 A에 해당하는 여기 빛 세기도 설계가 가능하며, 동일한 형광 입자일지라도 여기 빛의 파장에 따라 그리고 방출되는 형광 빛의 파장에 따라 도 6에서의 기울기 s와 A에 해당하는 여기 빛 세기 또한 다를 것이다. 또한, 다양한 형광 입자 및 실험 조건에 따라, 삼차원 광변조 기술의 해상도 성능 또한 다를 것이다. 예를 들어, 도 6의 영역 1에서의 s가 낮을수록 그리고 영역 2에서의 s가 높을수록 삼차원으로 광변조 기술을 실시할 때 더 높은 해상도를 얻을 수 있다. 더불어, A가 위치한 여기 빛 세기에 따라서도, 광변조 기술의 해상도 성능 또한 변화할 것이다.

[0070] 특히, 형광 입자의 예시인 란탄족 이온들이 도핑된 상향변환 나노입자의 경우, 호스트 결정의 종류, 도핑된 란탄족 이온의 종류, 도핑된 란탄족 이온의 농도 등을 달리하여 발광 스펙트럼을 조절하여, 광변조 기술의 필요성에 맞추어 최적화할 수 있다. 여기서 형광 입자는 란탄족 이온들이 도핑된 상향변환 나노입자가 아니더라도, 형광 입자 혹은 분자가 작용제가 흡수하지 않는 적외선에서 여기되어 작용제가 흡수하는 자외선 내지 푸른색 파장 영역의 광자를 비선형적 반응에 따라 방출한다면, 적용될 수 있다.

[0071] 이러한 란탄족 도핑된 형광 입자는 예컨대 $NaYF_4$:Yb/Tm를 예로 들수 있다. $NaYF_4$:Yb/Tm의 제작은 먼저 $LnCl_3*6H_2O$(Ln = Y/Yb/Tm, 총 1.0mmol) 전구체를 메탄올 (Methanol, ACS reagent, ≥99.8%, Sigma-Aldrich) 5 ml에 녹인 후 올레산 (oleic acid, 90%, tech grade, Sigma-Aldrich) 6 ml와 1-옥타데센(1-octadecene, 90%, tech grade, Sigma-Aldrich) 15 ml가 들어 있는 용기에 넣는다.

[0072] 이때, 메탄올에 용해시키는 $LnCl_3*6H_2O$ 전구체의 용량은 합성하는 란탄족의 비율에 따라 결정한다. 예를 들어, $NaYF_4$:40%Yb^{3+}, 4%Tm^{3+} 형광 입자를 합성하고자 하는 경우, 염화 툴륨 6수화물(Thulium(III) chloride hexahydrate: $TmCl_3*6H_2O$, 99.99% , Sigma-Aldrich) 전구체 0.04 mmol, 염화 이터븀 6수화물(Ytterbium(III) chloride hexahydrate: $YbCl_3*6H_2O$, 99.998%, Sigma-Aldrich) 전구체 0.40 mmol 및 염화 이트륨 6수화물(Yttrium(III) chloride hexahydrate: YCl_3*6H_2O, 99.99%, Sigma-Aldrich) 전구체 0.56 mmol를 넣는다. 여기서, 전구체의 총 양은 1.0 mmol이다.

[0073] 이러한 용액을 아르곤 흐름 하에서 10분 동안 사전 탈기한 후, 혼합물을 약 13° C/min의 속도로 170° C까지 가열하고 170° C에서 30분 동안 유지하여 Ln-올리에이트 복합체를 형성시킨다. 그런 다음 용액을 50° C까지 냉각시킨다.

[0074] 이후, 불화 암모늄(NH_4F, >99.99%, trace metal basis, Sigma-Aldrich) 4.0 mmol과 수산화나트륨(NaOH, anhydrous, >97%, Sigma-Aldrich) 2.5 mmol를 메탄올 용액 5 ml에 용해시킨다. 해당 용액을 Ln-올리에이트 복합체가 들어있는 플라스크에 첨가하고 50 ° C에서 30분 동안 교반한다.

[0075] 그런 다음, 용액을 약 2.5 ° C/분의 속도로 150 ° C까지 가열하고 아르곤 보호 하에 150 ° C에서 20분 동안 유지하여 용액 상에 남아 있는 메탄올과 물을 제거한다. 그 후, 용액을 약 7.5 ℃의 속도로 300 ℃까지 가열하고 아르곤 흐름 하에 1시간 30분 동안 300℃에서 유지한다.

[0076] 그 후, 용액을 실온으로 냉각시키고, 용액에 안티솔벤트(예:에탄올)를 첨가하여 생성된 나노 결정을 석출시킨다. 석출된 나노 결정을 원심분리를 통해 수집한 후, 사이클로헥산(Cyclohexane, Anhydrous, 99.5%, Sigma-Aldrich)과 에탄올(Ethanol, ACS, ISO, Reag. Ph Eur, Supelco)을 이용하여 2번 세척한 후 사이클로헥산에 재분산시킴으로써 나노 입자의 $NaYF_4$:Yb/Tm을 획득할 수 있다.

[0077] 또한, 작용제의 흡수 영역이 자외선 내지 푸른색이 아닐 경우에도, 형광 입자의 여기 파장이 작용제에 흡수되지 않고 방출 파장이 작용제에 흡수된다면, 적용될 수 있다. 특히 형광 입자에서 방출된 광자를 작용제가 직접 흡수하지 않고 작용제와 형광 입자 사이에 공명 에너지 전달(resonant energy transfer)의 에너지 전달 방식을 따른다면, 광변조의 3차원 구속(confinement)을 증대시킬 수 있다.

[0078] 구체적으로, 형광 입자가 도너(donor)로써 역할을 하고 근처에 있는 작용제가 억셉터(acceptor)로써 역할을 할 때에, 형광 입자로부터의 에너지가 2극-2극 쌍(dipole-dipole coupling)을 통해 작용제로 넘어가는 과정을 공명 에너지 전달(Resonant energy transfer)이라고 하며, 이 때의 에너지 전달 효율은 도너와 억셉터 사이의 거리의

6승에 반비례한다.

[0079] 이러한 형광 입자와 무수히 많은 작용제가 함께 분산되어있는 경우, 공명 에너지 전달은 거리의 6승에 반비례하므로, 형광 입자와 매우 근접한 곳에 있는 작용제만 여기(excitation)되어 3차원 구속(confinement)을 증대시킬 수 있다.

[0080] 이에 따라, 비선형 광학반응을 갖고, 고에너지 광자를 방출하며, 작용제와 2극-2극 쌍(dipole-dipole coupling)을 수행할 수 있는 입자를 형광 입자로 적용할 수 있다.

[0081] 이와 같은 형광 입자를 준비한 후, 형광입자에 대한 표면처리 공정을 선택적으로 수행할 수 있다(S420).

[0082] 형광입자에 대한 표면처리 공정은 후술할 작용제와 형광 입자를 근처에 위치시키기 위한 3가지 처리공정 각각의 처리과정의 신뢰성을 향상시키기 위한 전처리 공정이다.

[0083] 예컨대, 3가지 처리공정중 작용제와 형광 입자를 같은 용매에 함께 분산처리하는 제 1 처리공정을 위한 전처리 공정으로 형광입자와 작용제의 분산성을 개선하기 위해 선택적으로 수행할 수 있다. 예를 들어, 작용제가 친수성인 경우, 소수성 용매에 분산되지 않으므로 합성된 형광입자의 표면을 친수성 리간드를 이용하여 표면처리할 수도 있다.

[0084] 이런 경우, 합성된 형광입자의 표면을 친수성 리간드, 예를 들어 소수성 리간드인 알킬 사슬(alkyl chain)을 친수성인 카복실산(carboxylic acid)을 포함하는 리간드로 치환하거나 캡슐화(encapsulation)하면, 형광입자를 친수성 용매에 분산시킬 수 있다. 이후, 친수성인 작용제를 형광입자가 분산되어 있는 친수성 용매에 함께 분산시키거나 용해시킬 수 있다.

[0085] 물론 표면처리 공정은 형광입자의 표면을 친수성 리간드를 이용하여 표면처리하는 과정 이외에 후술할 작용제와 형광 입자를 근처에 위치시키기 위한 3가지 처리공정 각각에 따라 다양하게 형광입자의 표면에 대한 표면처리를 수행할 수 있다.

[0086] 이어서, 작용제와 형광 입자를 근처에 위치시키기 위한 3가지 처리공정을 광변조의 적용분야 및 작용제와 형광 입자의 상태에 따라 선택하여 수행할 수 있다.

[0087] 구체적으로, 형광 입자에서 방출된 형광의 세기는 거리의 제곱에 따라 감소한다. 따라서, 광변조의 작용제와 형광 입자가 공간상에서 근처에 위치하여야, 작용제가 형광 입자에서 방출된 광자를 흡수하여 기능할 가능성을 높힐 수 있다.

[0088] 이에 따라 형광 입자를 이용하여 광변조 기술을 삼차원으로 실시하기 위해 작용제와 형광입자를 근처에 위치시키기 위한 3가지 처리공정을 선택하여 수행할 수 있다.

[0089] 3가지 처리공정중 제 1 처리공정은 작용제와 형광 입자를 같은 용매에 함께 분산처리하는 공정이다(S431).

[0090] 전술한 바와 같이 합성된 형광입자는 소수성 리간드인 알킬 사슬이 표면에 위치하고 있어, 소수성인 유기 용매에 일반적으로 잘 분산된다. 작용제 또한 소수성이거나, 소수성 용매에 용해되거나, 분산되는 경우 형광입자가 분산되어 있는 소수성 용매에 함께 용해시켜 분산처리할 수 있다. 만일, 작용제가 친수성인 경우, 소수성 용매에 분산되지 않으므로 합성된 형광입자의 표면을 친수성 리간드를 이용하여 표면처리하여 친수성 용매에 함께 용해시켜 분산처리할 수 있다.

[0091] 이러한 제 1 처리공정에서 형광 입자와 작용제 사이의 거리는 형광 입자와 작용제의 용매의 부피에 대한 체적분율에 따라 결정되며, 실험적으로 작용제와 형광 입자의 농도를 바꾸어가며 최적화된 체적 분율을 찾을 수 있다.

[0092] 3가지 처리공정중 제 2 처리공정은 형광입자를 작용제가 위치한 근처 구조물에 결합처리하는 공정이다(S432).

[0093] 예를 들어, 암 세포가 특정 위치에 존재하고, 이러한 암 세포에 대해 깊이 선택적 광변조로서, 광역학 요법을 수행하고자 하는 경우에 적용할 수 있다.

[0094] 이러한 광역학 요법에는 작용제로서 감광제가 필요하므로, 먼저 감광제를 환부에 뿌리거나 혈관에 주입하면 감광제는 확산에 의해 전체적으로 퍼지면서 암 세포에 스며들게 된다. 이후, 형광입자의 표면에 암 세포의 특정 단백질과 결합할 수 있는 항체를 화학적으로 결합시킨 후에, 환부에 뿌리거나 혈관에 주입한다.

[0095] 이때, 형광입자는 확산에 의해 퍼지면서 암 세포에 선택적으로 결합하면서 암 세포에 형광 입자가 위치하게 된다. 즉, 형광 입자를 작용제(여기에서는 감광제)가 위치한 근처 구조물(여기에서는 암 세포)에 결합시킬 수 있

다.

[0096] 이렇게 작용제와 형광 입자가 근처에 위치하게 되므로, 형광 입자로부터 깊이 선택적으로 발산되는 고에너지 광자를 작용제(여기에서는 감광제)가 흡수하여 감광제로부터 활성산소가 발생하는 기능을 수행하게 된다.

[0097] 3가지 처리공정중 제 3 처리공정은 형광입자와 작용제를 화학적으로 결합처리하는 공정이다(S433).

[0098] 제 3 처리공정은 형광입자와 작용제 사이의 거리를 계속 유지시키기 위한 처리공정으로 형광 입자와 작용제를 화학적으로 결합시켜서 어떤 경우라도 함께 이동하게 만들어, 형광입자와 작용제 사이의 거리를 계속 유지시킬 수 있다.

[0099] 형광입자와 작용제를 화학적으로 결합처리하는 제 3 처리공정은 다양하게 실시할 수 있다. 예를 들어, 대표적으로 형광 입자의 표면을 카복실산(carboxylic acid: -COOH)가 포함된 리간드로 치환하거나 캡슐화(encapsulation)한 후에, EDC-NHS(1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide/N-hydroxysuccinimide) 화학법을 통해 카복실산을 활성 상태로 만들 수 있다. 활성화된 카복실산은 아민기(amine group: $-NH_2$)와 결합하여 아미드 결합(amide bond: -CONH-)를 형성할 수 있다.

[0100] 만일, 작용제에 아민기가 있다면 또는 작용제에 아민기가 없더라도 화학적으로 작용제에 아민기를 포함시킨다면, 상술한 방법으로 형광 입자와 작용제 사이에 아미드 결합을 형성시켜, 형광 입자와 작용제를 화학적으로 결합시킬 수 있다.

[0101] 이러한 제 3 처리공정에 의해 형광 입자와 작용제가 화학적으로 결합되어 함께 이동하고 항상 근처에 존재하므로, 형광 입자를 이용한 삼차원 광변조 기술을 구현할 수 있다.

[0102] 이와 같은 3가지 처리공정중 어느 하나의 처리공정으로 작용제와 형광입자를 근처에 위치시켜 표지한 샘플(10)을 현미경 장치(110)의 스테이지(118,119)에 고정한다(S440).

[0103] 즉 도 2에 도시된 현미경 장치(110)의 스테이지(118)에 작용제와 형광입자를 근처에 위치시켜 표지한 샘플(10)을 고정하거나 또는 도 3에 도시된 현미경 장치(110)의 스테이지(119)에 샘플(10)을 고정할 수 있다.

[0104] 이렇게 작용제와 형광입자를 근처에 위치시켜 표지한 샘플(10)을 현미경 장치(110)의 스테이지(118,119)에 고정한 후, 샘플(10)의 3차원 공간내에서 광초점 이동을 수행한다(S450).

[0105] 구체적으로, 3차원 공간내에서 광초점 이동은 도 2에 도시된 현미경 장치(110)에서는 갈바노 거울(114)에 의해 XY 광초점을 설정하고 Z 광초점은 스테이지(118)를 이동시켜 샘플(10) 내의 3차원 공간상에 광초점 이동을 수행할 수 있다.

[0106] 반면에 도 3에 도시된 현미경 장치(110)에서는 스테이지(119) 자체를 XYZ축 방향으로 위치를 조절하여, 샘플(10) 내의 3차원 공간상에 광초점 이동을 수행할 수 있다.

[0107] 이렇게 작용제와 형광입자를 근처에 위치시켜 표지한 샘플(10)을 현미경 장치(110)에서 3차원 이동하면서 광원(111)의 연속 파동 레이저의 빛을 광초점으로 조사한다.

[0108] 이후, 샘플(10)의 3차원 공간내에서 이동한 광초점에서 광변조를 실행한다(S460).

[0109] 이때, 광초점면에서는 폭발적으로 증가하는 형광 빛 세기를 나타날 수 있고, 초점면에서 먼 거리에서는 굉장히 적은 양의 형광 빛 세기가 확인된다. 즉, 도 8에 도시된 바와 같이 여기 빛이 모이는 광초점에서만 강한 자외선 형광 및 푸른색 형광이 발생하는 것을 알 수 있다.

[0110] 종래에 형광 분자 또는 형광 입자를 이용할 시에는, 입사되는 빛과 형광 빛의 세기 사이에 선형 관계를 갖게 되어, 종래에 연속 파동 레이저로 형광 분자 또는 형광 입자를 여기시키면 레이저가 통과한 모든 깊이면에서 형광이 발생하게 된다. 이는 해당 광원 및 형광 입자를 활용한 광변조 기술은 깊이 선택 능력이 없음을 의미한다.

[0111] 이에 반해 본 발명의 실시예에 따른 비선형 형광 입자를 활용한 광변조 시스템(100)은 동일한 연속 파동 레이저를 이용하더라도 도 8에 도시된 바와 같이 초점이 생기는 깊이면에서만 고에너지 형광을 발생시켜, 광변조 기술을 삼차원으로 실시할 수 있다.

[0112] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 비선형 형광 입자를 활용한 광변조 시스템(100)은 광변조 기술을 더 깊은 곳까지 수행할 수 있다.

[0113] 구체적으로, 종래에는 자외선 여기광을 이용하여 작용제를 직접 반응시키는 경우, 깊이 선택성이 없다는 점 뿐

만 아니라 여기광 앞에 산란 매질이 존재할 때 여기광이 대부분 산란되어 깊은 영역에 광변조를 위한 광자를 전달하기 어렵다는 한계가 있다.

[0114] 반면에, 본 발명의 실시예에 따른 비선형 형광 입자를 활용한 광변조 시스템(100)은 도 9a에 도시된 바와 같이 작용제가 적외선 여기 하에서 형광 입자에서 나오는 고에너지 광자를 흡수하여 기능하므로, 삼차원으로 광변조 기술을 수행할 수 있다. 특히 도 9b에 도시된 바와 같이 여기광 앞에 산란 매질(20)이 존재하더라도, 적외선은 상대적으로 산란이 적어 여기광의 초점이 유지되므로 깊은 영역까지 광변조 기술을 수행할 수 있다.

[0115] 이러한 광변조를 실행함에 따라 다양한 분야에서 활용성을 갖게 되어, 도 10에 도시된 바와 같이 광유전학 기술의 경우, 광수용체를 가진 뉴런(30)이 작용제로 기능하고 형광입자(200)에서 방출된 고에너지 광자를 흡수하여 특정한 원하는 깊이에 존재하는 뉴런만을 자극하는 광변조를 수행할 수 있다.

[0116] 또는, 도 11에 도시된 바와 같이 광역학요법을 실시할 시, 병변이 존재하는 표적 깊이에 적외선 파장대의 여기광초점을 형성하여 특정 깊이에 위치한 문제가 되는 세포(40)에 대해 감광제(300)가 작용제로 기능하고 작용제가 형광입자(200)에 의해 여기 광초점에서만 방출된 고에너지 광자를 흡수하여 활성 산소를 생성하게 된다. 이렇게 감광제(300)에 의해 생성된 활성 산소가 문제가 되는 암세포의 사멸을 유도할 수 있다.

[0117] 그리고 도 12에 도시된 바와 같이 프린팅과 같은 제조 기법 기술에서 3차원 공간 내부에 존재하는 포토 레진(photocurable resin: 50)이 작용제로 기능하고 작용제가 형광입자(200)에 의해 광초점에서만 방출된 고에너지 광자를 흡수하여 고형화되도록 하여, 삼차원으로 제조 기법(프린팅)을 수행할 수 있다.

[0118] 한편 도 13에 도시된 바와 같이 형광 이미징 분야에서 형광 염료(60)가 작용제로 기능하고 작용제가 형광입자(200)에 의해 광초점에서만 방출된 고에너지 광자를 흡수하여 다른 파장의 형광을 발현함으로써, 핀홀(pinhole) 없이 삼차원 형광 이미징을 수행할 수 있다.

[0119] 이와 같이 본 발명의 다른 실시예에 따른 광변조 제어방법은 저에너지 광자를 흡수하여 비선형적으로 고에너지 광자를 방출하는 형광 입자(200)와 광변조 기술의 작용제를 함께 위치시키고, 현미경 장치(110)를 이용한 광초점 이동만으로 광변조 기술을 삼차원으로 깊은 영역까지 실시할 수 있다.

[0120] 본 발명의 기술사상은 상기 바람직한 실시예에 따라 구체적으로 기술되었으나, 전술한 실시예들은 그 설명을 위한 것이며, 그 제한을 위한 것이 아님을 주의하여야 한다.

[0121] 또한, 본 발명의 기술분야의 통상의 전문가라면 본 발명의 기술사상의 범위 내에서 다양한 실시가 가능함을 이해할 수 있을 것이다.

부호의 설명

[0122] 100: 광변조 시스템 110: 현미경 장치

111: 광원 112,112-1: 제 1 렌즈

113,113-1: 제 2 렌즈 114: 갈바노 거울

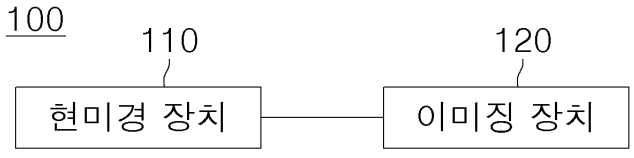
115: 제 3 렌즈 116: 제 4 렌즈

117,117-1: 대물렌즈 118,119: 스테이지

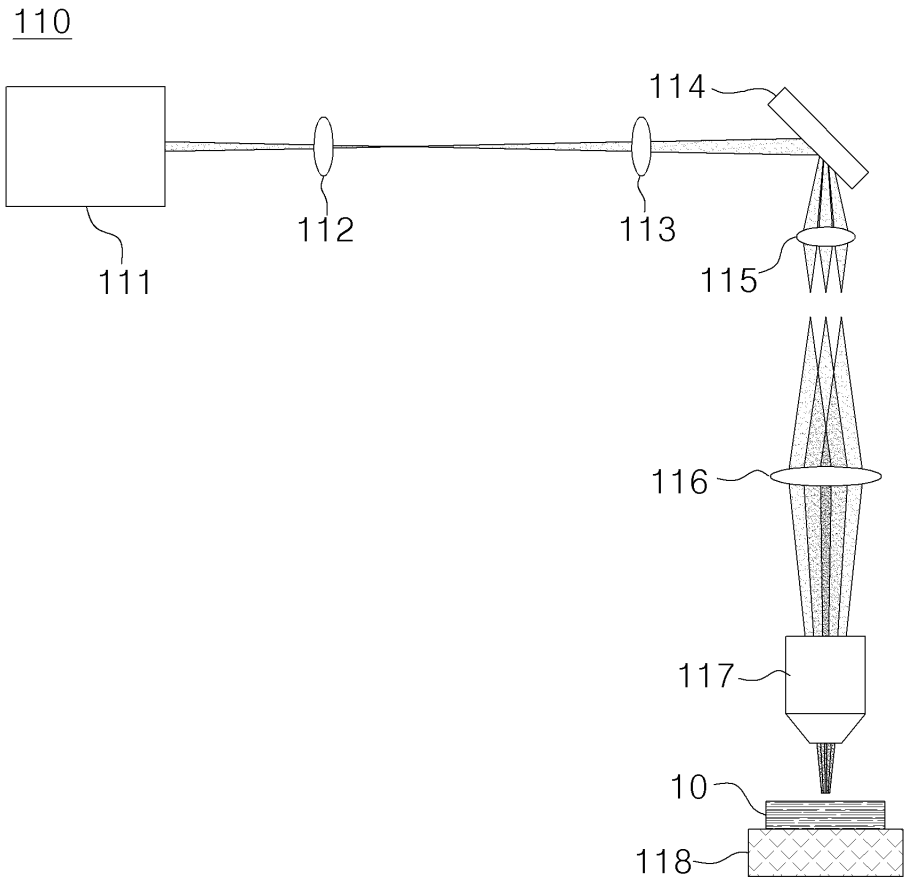
120: 이미징 장치 200: 형광 입자

도면

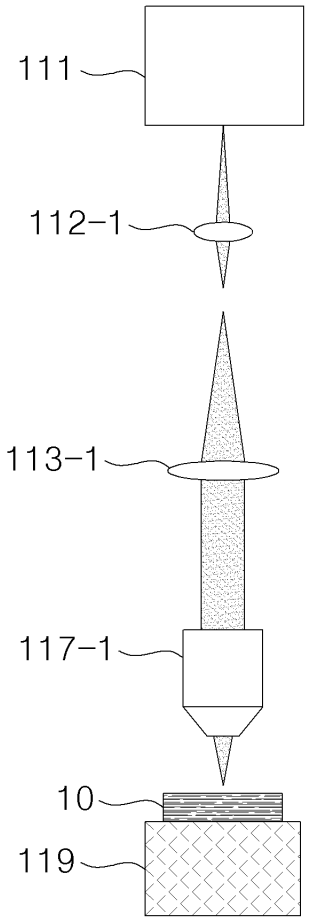
도면1



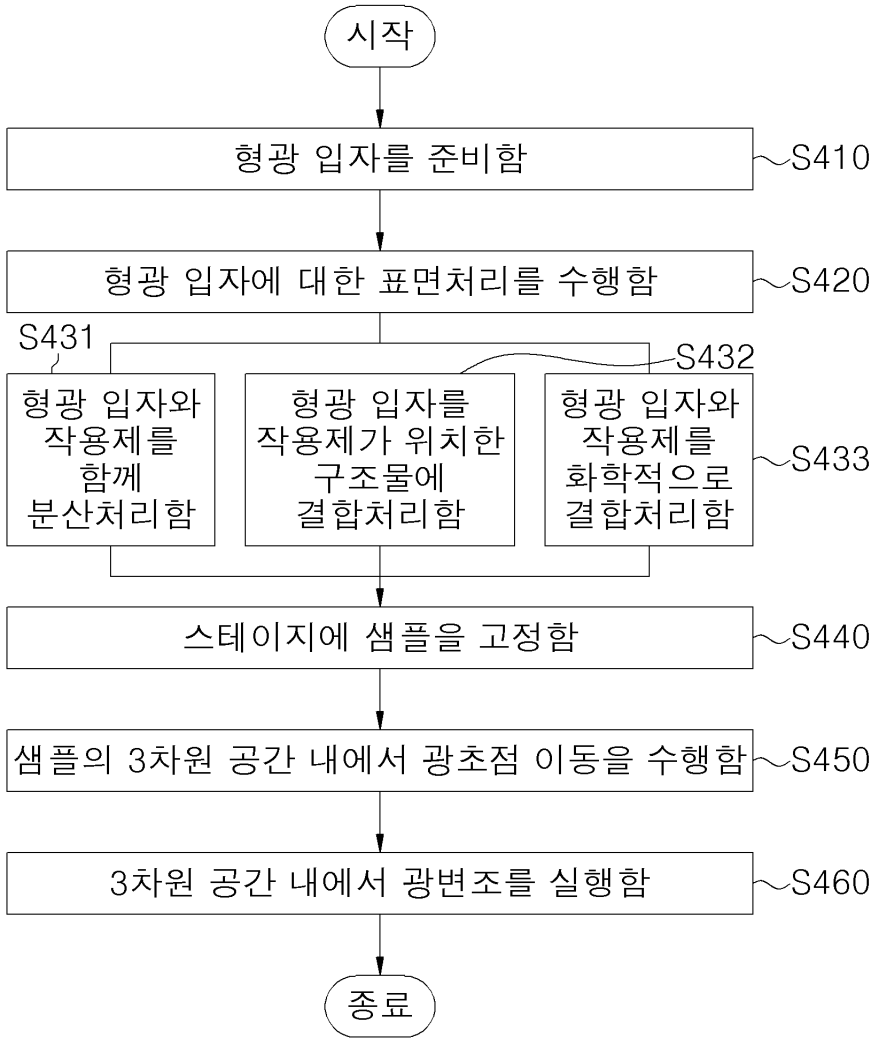
도면2



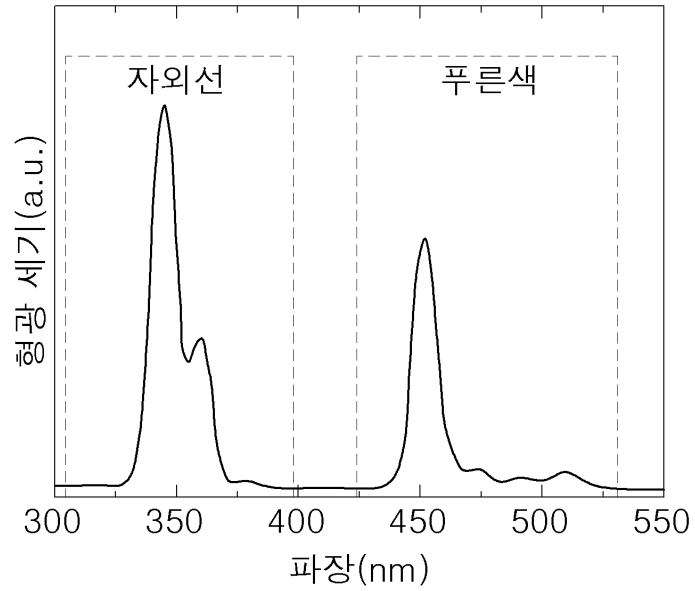
도면3



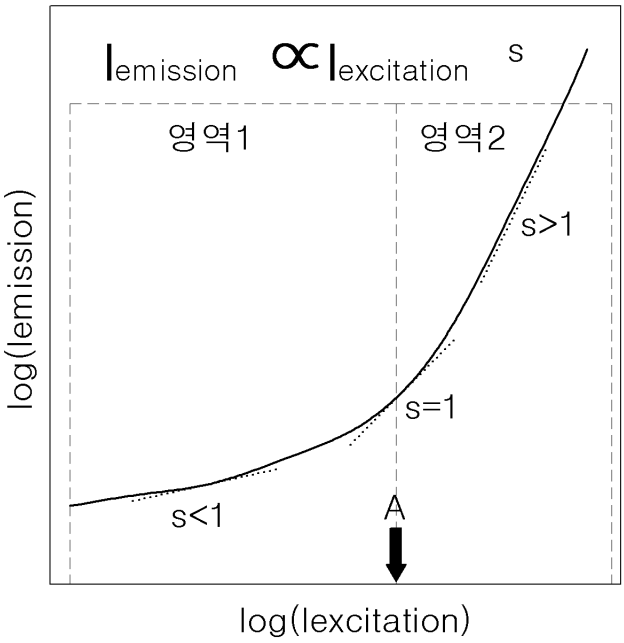
도면4


시작
형광 입자를 준비함
S410
형광 입자에 대한 표면처리를 수행함
S420
S431
S432
형광 입자와 작용제를 함께 분산처리함
형광 입자를 작용제가 위치한 구조물에 결합처리함
형광 입자와 작용제를 화학적으로 결합처리함
S433
스테이지에 샘플을 고정함
S440
샘플의 3차원 공간 내에서 광초점 이동을 수행함
S450
3차원 공간 내에서 광변조를 실행함
S460
종료

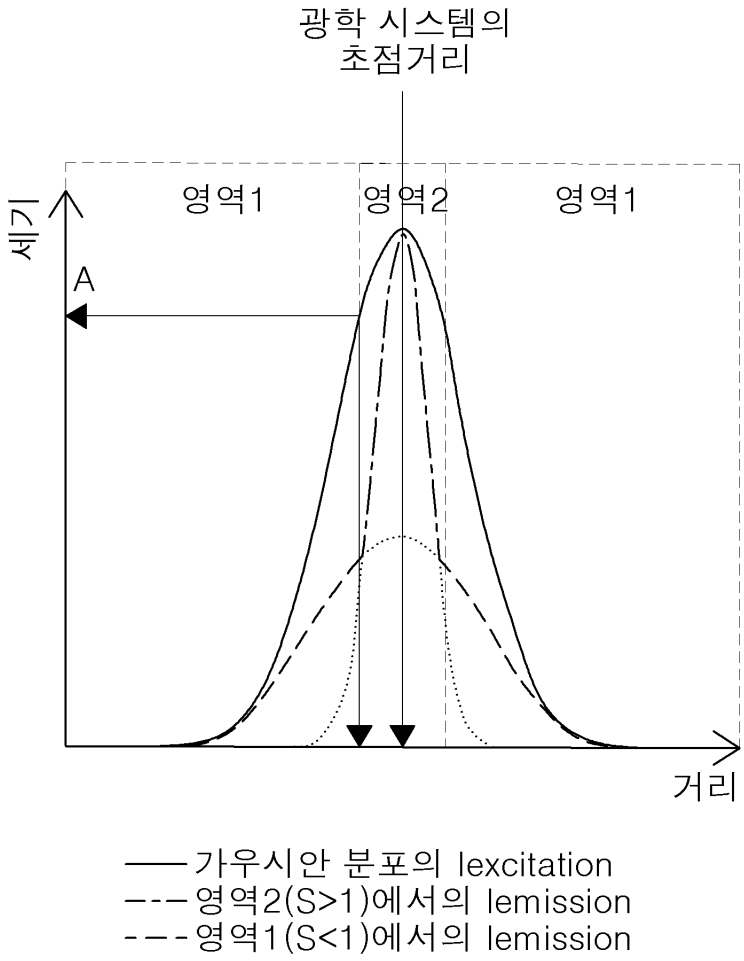
도면5


자외선
푸른색
형광 세기(a.u.)
300
350
400
450
500
550
파장(nm)

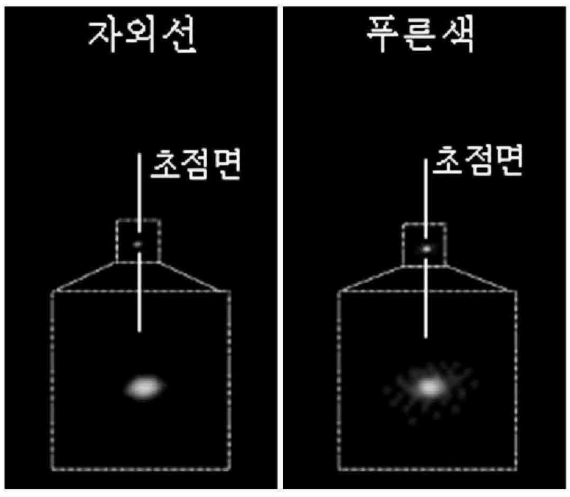
도면6


Iemission ∝ Iexcitation s
영역1
영역2
s>1
s=1
s<1
A
log(Iemission)
log(Iexcitation)

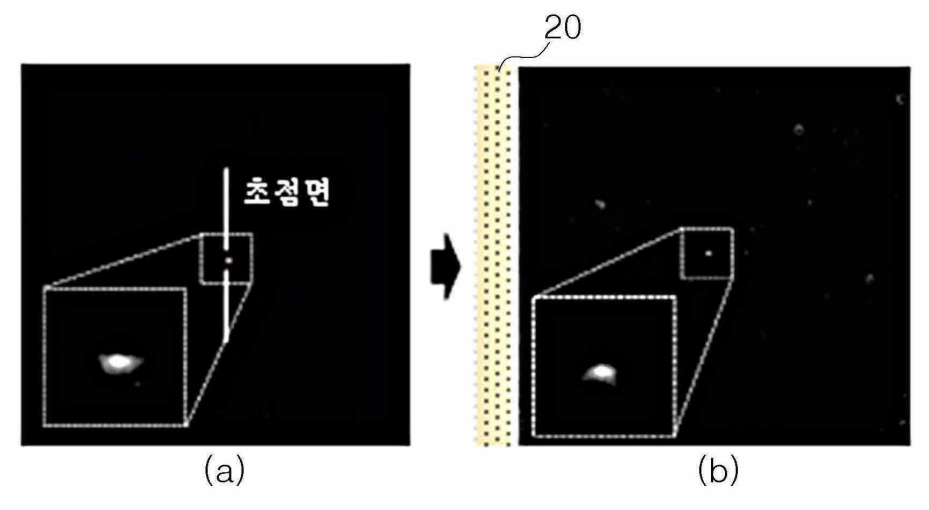
도면7


광학 시스템의
초점거리
영역1
영역2
영역1
세기
A
거리
——가우시안 분포의 Iexcitation
–--영역2(S>1)에서의 Iemission
- – -영역1(S<1)에서의 Iemission

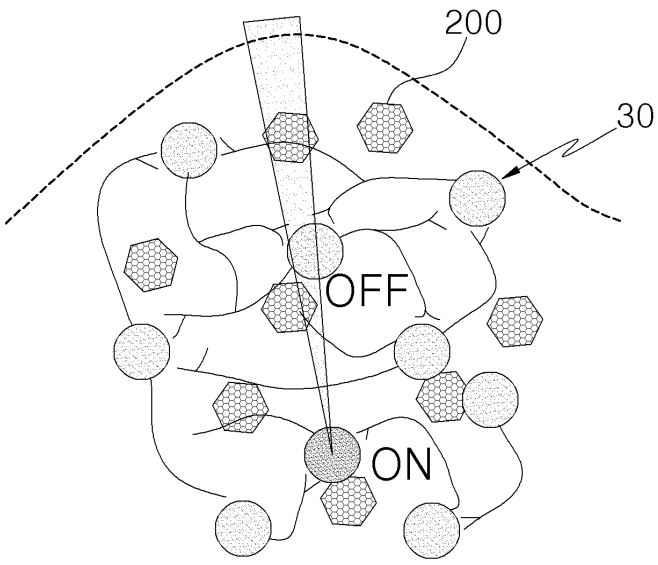
도면8


자외선
초점면
푸른색
초점면

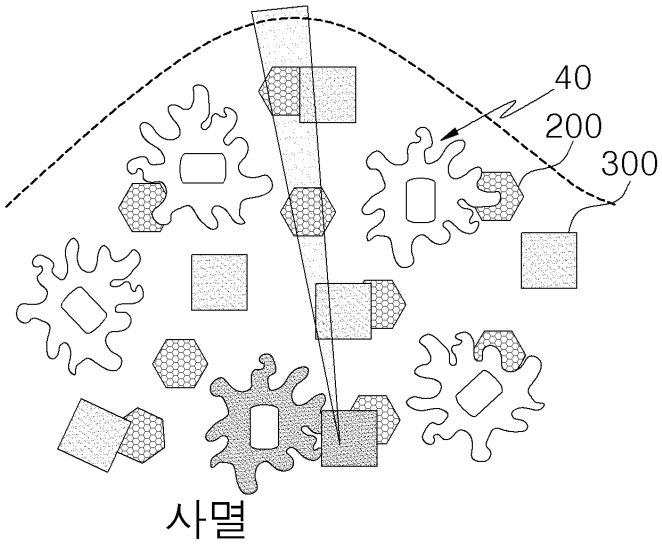
도면9



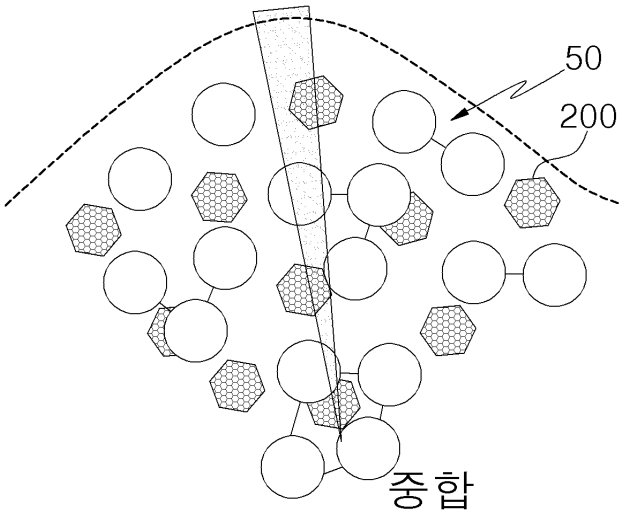
도면10



도면11



도면12



도면13

