



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0046859
(43) 공개일자 2025년04월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 21/64 (2006.01) G02B 21/00 (2022.01)
G02B 21/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 21/6458 (2013.01)
G01N 21/6428 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0130841
(22) 출원일자 2023년09월27일
심사청구일자 2023년09월27일

(71) 출원인
포항공과대학교 산학협력단
경상북도 포항시 남구 청암로 77 (지곡동)
재단법인 아산사회복지재단
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)
울산대학교 산학협력단
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
(72) 발명자
김기현
경상북도 포항시 남구 청암로 77
박원영
경상북도 포항시 남구 청암로 77
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
박진호

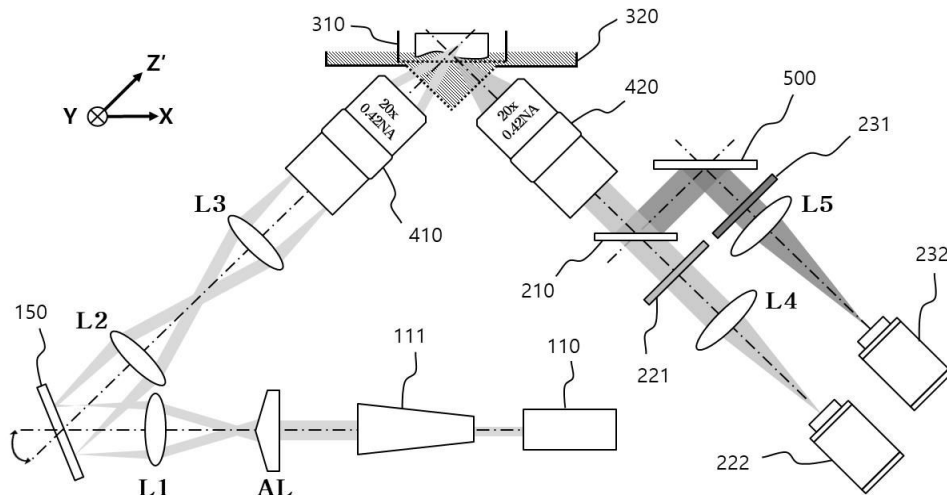
전체 청구항 수 : 총 18 항

(54) 발명의 명칭 **오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프 및 이의 작동방법**

(57) 요약

본 발명은 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프 및 이의 작동방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 베셀 빔을 기반으로 고심도의 영상화, 고대비의 해상도 및 이중 대비도를 얻을 수 있으며, 조직의 광 투명화 과정이나 절편 과정 없이 먼 단위로 연속 촬영하여 신속한 3차원 영상화가 가능하도록 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프 및 이의 작동방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

G01N 21/6486 (2013.01)

G02B 21/0076 (2013.01)

G02B 21/04 (2013.01)

G01N 2021/6467 (2013.01)

G01N 2021/6478 (2013.01)

G01N 2021/6482 (2013.01)

(72) 발명자

전수일

경상북도 포항시 남구 청암로 77

홍승모

서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 서울아산병원

신진호

서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 서울아산병원

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711161876

과제번호 2020R1A2C3009309

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 개인기초연구(과기정통부)

연구과제명 임상가능 고선명도 초고속 현미경과 실시간 영상분석법 개발

기 여 율 1/2

과제수행기관명 포항공과대학교

연구기간 2022.03.01 ~ 2023.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 9991008164

과제번호 22-CM-E0-06

부처명 다부처

과제관리(전문)기관명 국방과학연구소

연구사업명 민군기술협력(R&D)(산업부,방사청)

연구과제명 적응광학계용 MEMS 변형 거울 배열 기술 연구

기 여 율 1/2

과제수행기관명 (주)에스디옵틱스

연구기간 2023.06.01 ~ 2023.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

샘플에 이광자 여기 레이저 빔을 조사하는 레이저 조사부; 및

상기 조사된 레이저 빔에 의하여 발생한 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호를 수광하는 영상 획득부;를 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빛 시트 마이크로스코프.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 레이저 조사부는 제1 대물렌즈를 포함하고, 상기 영상 획득부는 제2 대물렌즈를 포함하되,

상기 제1 대물렌즈와 상기 제2 대물렌즈는 직교하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빛 시트 마이크로스코프.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 레이저 조사부는 제1 대물렌즈를 포함하고, 상기 영상 획득부는 제2 대물렌즈를 포함하되,

상기 제1 대물렌즈와 상기 제2 대물렌즈는 비직교로 배치되는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빛 시트 마이크로스코프.

청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 샘플을 거치하는 샘플 거치대;를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빛 시트 마이크로스코프.

청구항 5

제 4항에 있어서,

상기 샘플 거치대를 x방향으로 이송시키는 전동 스테이지;를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빛 시트 마이크로스코프.

청구항 6

제 2항에 있어서,

상기 샘플 거치대는,

비축 광학 수차를 제거하기 위한 액체 프리즘;을 더 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빛 시트 마이크로스코프.

청구항 7

제 1항에 있어서,

상기 레이저 조사부는,

단일 베셀 빔을 생성하는 단일 베셀 빔 생성부 또는 다중 베셀 빔을 생성하는 다중 베셀 빔 생성부를 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빛 시트 마이크로스코프.

청구항 8

제 2항에 있어서,

상기 레이저 조사부는,

레이저 빔을 발생시키는 광원부;

상기 광원부로부터 발생된 레이저 빔을 단일 베셀 빔으로 변환시키는 엑시콘 렌즈; 및

상기 엑시콘 렌즈에서 변환된 단일 베셀 빔을 y방향으로 스캐닝하여 베셀 시트 빔을 생성하는 y방향 스캔 미러;를 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프.

청구항 9

제 8항에 있어서,

상기 영상 획득부는,

상기 샘플로부터 발생된 반응빔을 수광하여 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호로 분리시키는 다이크로익 미러;

상기 다이크로익 미러를 통과한 이광자 형광 신호를 수광하는 이광자 형광 신호 이미지 획득부; 및

상기 다이크로익 미러에서 반사된 2차 고조파 신호를 수광하는 2차 고조파 신호 이미지 획득부;를 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프.

청구항 10

제 2항에 있어서,

상기 레이저 조사부는,

레이저 빔을 발생시키는 광원부;

상기 광원부로부터 발생된 점 형태의 레이저 빔을 선 형태의 빔으로 변환시키는 제1 원통형 렌즈;

상기 변환된 선 형태의 빔을 시준된 빔으로 정리하는 제2 원통형 렌즈;

상기 시준된 선 형태의 라인 빔을 다중 베셀 빔으로 변환시키는 공간 광 변조기; 및

상기 변환된 다중 베셀 빔을 y방향으로 스캐닝하여 다중 베셀 시트 빔을 생성하는 y방향 스캔 미러;를 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프.

청구항 11

제 10항에 있어서,

상기 영상 획득부는,

상기 샘플로부터 발생된 반응빔을 수광하여 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호로 분리시키는 다이크로익 미러;

상기 다이크로익 미러를 통과한 이광자 형광 신호를 수광하는 이광자 형광 신호 이미지 획득부; 및

상기 다이크로익 미러에서 반사된 2차 고조파 신호를 수광하는 2차 고조파 신호 이미지 획득부;를 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프.

청구항 12

제 3항에 있어서,

상기 레이저 조사부는,

레이저 빔을 발생시키는 광원부;

상기 광원부로부터 발생된 점 형태의 레이저 빔을 선 형태의 빔으로 변환시키는 제1 원통형 렌즈;

상기 변환된 선 형태의 빔을 시준된 빔으로 정리하는 제2 원통형 렌즈;

상기 시준된 선 형태의 빔을 다중 베셀 빔으로 변환시키는 공간 광 변조기; 및

상기 변환된 다중 베셀 빔을 y방향으로 스캐닝하여 다중 베셀 시트 빔을 생성하는 y방향 스캔 미러;를 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프.

청구항 13

제 12항에 있어서,

상기 영상 획득부는,

상기 샘플로부터 발생된 반응빔의 기울어진 영상면을 복원하는 복원 모듈;

상기 복원 모듈을 통과한 반응빔을 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호로 분리시키는 다이크로익 미러;

상기 다이크로익 미러를 통과한 이광자 형광 신호를 수광하는 이광자 형광 신호 이미지 획득부; 및

상기 다이크로익 미러에서 반사된 2차 고조파 신호를 수광하는 2차 고조파 신호 이미지 획득부;를 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프.

청구항 14

제 1항에 있어서,

상기 레이저 조사부와 상기 영상 획득부는,

하나의 단일 대물렌즈를 공유하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프.

청구항 15

제 14항에 있어서,

상기 레이저 조사부는,

상기 단일 대물렌즈의 일부 초점영역만 사용하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프.

청구항 16

제 15항에 있어서,

상기 레이저 조사부는,

레이저 빔을 발생시키는 광원부;

상기 광원부로부터 발생된 점 형태의 레이저 빔을 선 형태의 빔으로 변환시키는 제1 원통형 렌즈;

상기 변환된 선 형태의 빔을 시준된 빔으로 정리하는 제2 원통형 렌즈;

상기 시준된 선 형태의 빔을 다중 베셀 빔으로 변환시키는 공간 광 변조기; 및

상기 변환된 다중 베셀 빔을 y방향으로 스캐닝하여 다중 베셀 시트 빔을 생성하는 y방향 스캔 미러;를 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프.

청구항 17

제 14항에 있어서,

상기 영상 획득부는,

상기 샘플로부터 발생된 반응빔의 기울어진 영상면을 복원하는 복원 모듈;

상기 복원 모듈을 통과한 반응빔을 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호로 분리시키는 다이크로익 미러;

상기 다이크로익 미러를 통과한 이광자 형광 신호를 수광하는 이광자 형광 신호 이미지 획득부; 및

상기 다이크로익 미러에서 반사된 2차 고조파 신호를 수광하는 2차 고조파 신호 이미지 획득부;를 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프.

청구항 18

레이저 빔을 샘플에 조사하는 레이저 빔 조사단계; 및

영상 획득부가 상기 조사된 레이저 빔에 의하여 발생한 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호를 수광하는 영상 획득단계;를 포함하되,

상기 레이저 조사단계는,

상기 광원부가 레이저 빔을 발생시키는 레이저 빔 발생단계;

단일 또는 다중 베셀 빔 생성부가 상기 레이저 빔 발생단계에서 발생한 레이저 빔을 단일 또는 다중 베셀 빔으로 변환하는 단일 베셀 빔 생성단계 또는 다중 베셀 빔 생성단계; 및

y방향 스캔 미러가 상기 단일 베셀 빔 생성단계 또는 다중 베셀 빔 생성단계에서 변환된 베셀 빔을 y방향으로 스캐닝하여 단일 또는 다중 베셀 시트 빔을 생성하는 스캔단계;를 포함하고,

상기 영상 획득단계는,

다이크로익 미러가 상기 제2 대물렌즈를 통과한 반응빔을 상기 이광자 형광 신호와 2차 고조파 신호로 분리시키는 이미지 분리단계;

이광자 형광 신호 이미지 획득부가 상기 다이크로익 미러를 통과한 이광자 형광 신호를 수광하는 이광자 형광 신호 이미지 획득단계; 및

2차 고조파 신호 이미지 획득부가 상기 다이크로익 미러에서 반사된 2차 고조파 신호를 수광하는 2차 고조파 신호 이미지 획득단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프 작동방법.

발명의 설명**기술 분야**

- [0001] 본 발명은 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프 및 이의 작동방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 베셀 빔을 기반으로 고심도의 영상화, 고대비의 해상도 및 이중 대비도를 얻을 수 있으며, 조직의 광 투명화 과정이나 절편 과정 없이 면 단위로 연속 촬영하여 신속한 3차원 영상화가 가능하도록 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프 및 이의 작동방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0002] 일반적으로 오픈 탑 빔 시트 마이크로스코프는 2차원 레이저 시트를 조직에 조사하고 면 단위로 촬영하는 3차원 영상법에 이용되며, 상기 영상법은 간단한 세포 형광염색 후 절편과정 없이 조직을 현미경 스테이지에 올려놓은 채 이송하면서 고속으로 영상화하는 방식을 사용한다.
- [0003] 이러한 오픈 탑 빔 시트 마이크로스코프는 광학 부품들이 모두 스테이지 아래에 위치하는 오픈 탑 형태로 조직 크기에 제한 없이 2차원 빔 시트를 샘플에 조사하여 면 단위로 촬영할 수 있게 된다.
- [0004] 한편, 형광 영상화를 위해 짧은 파장의 단광자 여기광을 사용하기 때문에 불투명한 조직에서는 빛의 산란 및 흡수로 인해 표면 근처의 얇은 영역에서만 이미지 획득이 가능하다.
- [0005] 이때 조직의 깊은 영역까지 3차원 영상화를 위해서는 조직의 광 투명화 단계가 필요하며, 이를 위해서는 많은 시간이 소요되기 때문에 신속한 조직검사를 시행하기에 어려움이 있다.

선행기술문헌**특허문헌**

- [0006] (특허문헌 0001) 대한민국 공개특허공보 제10-2022-0115947호 (발명의 명칭: 조명 대물렌즈와 컬렉션 대물렌즈의 비직교 배열을 가지는 오픈 탑 광 시트 마이크로스코프, 공고일: 2020. 11. 13)

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 이에 본 발명은 상기와 같은 종래기술의 문제점을 해결하기 위한 것으로, 샘플에 이광자 여기 레이저를 조사하는 레이저 조사부와 상기 조사된 레이저에 의하여 발생한 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호를 수광하는 영상 획득부가 구비되어 고비용의 3차원 샘플 영상화를 절편 과정이나 광 투명화 과정 없이 고속으로 처리할 수 있는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프 및 이의 작동방법을 제공하는데 그 목적이 있다.
- [0008] 본 발명의 과제들은 이상에서 언급한 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0009] 상술한 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 샘플에 이광자 여기 레이저 빔을 조사하는 레이저 조사부 및 상기 조사된 레이저 빔에 의하여 발생한 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호를 수광하는 영상 획득부를 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프 및 이의 작동방법을 제공한다.
- [0010] 또한, 여기서, 상기 레이저 조사부는 제1 대물렌즈를 포함하고, 상기 영상 획득부는 제2 대물렌즈를 포함하되, 상기 제1 대물렌즈와 상기 제2 대물렌즈는 직교하는 것을 특징으로 한다.
- [0011] 또한, 여기서, 상기 레이저 조사부는 제1 대물렌즈를 포함하고, 상기 영상 획득부는 제2 대물렌즈를 포함하되, 상기 제1 대물렌즈와 상기 제2 대물렌즈는 비직교로 배치되는 것을 특징으로 한다.
- [0012] 또한, 여기서, 상기 샘플을 거치하는 샘플 거치대를 더 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0013] 또한, 여기서, 상기 샘플 거치대를 x방향으로 이송시키는 전동 스테이지를 더 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0014] 또한, 여기서, 상기 샘플 거치대는 비축 광학 수차를 제거하기 위한 액체 프리즘을 더 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0015] 또한, 여기서, 상기 레이저 조사부는 단일 베셀 빔을 생성하는 단일 베셀 빔 생성부 또는 다중 베셀 빔을 생성하는 다중 베셀 빔 생성부를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0016] 또한, 여기서, 상기 레이저 조사부는 레이저 빔을 발생시키는 광원부와, 상기 광원부로부터 발생된 레이저 빔을 단일 베셀 빔으로 변환시키는 엑시콘 렌즈 및 상기 엑시콘 렌즈에서 변환된 단일 베셀 빔을 y방향으로 스캐닝하여 베셀 시트 빔을 생성하는 y방향 스캔 미러를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0017] 또한, 여기서, 상기 영상 획득부는 상기 샘플로부터 발생된 반응빔을 수광하여 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호로 분리시키는 다이크로익 미러와, 상기 다이크로익 미러를 통과한 이광자 형광 신호를 수광하는 이광자 형광 신호 이미지 획득부 및 상기 다이크로익 미러에서 반사된 2차 고조파 신호를 수광하는 2차 고조파 신호 이미지 획득부를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0018] 또한, 여기서, 상기 레이저 조사부는 레이저 빔을 발생시키는 광원부와, 상기 광원부로부터 발생된 점 형태의 레이저 빔을 선 형태의 빔으로 변환시키는 제1 원통형 렌즈와, 상기 변환된 선 형태의 빔을 시준된 빔으로 정리하는 제2 원통형 렌즈와, 상기 시준된 선 형태의 빔을 다중 베셀 빔으로 변환시키는 공간 광 변조기 및 상기 변환된 다중 베셀 빔을 y방향으로 스캐닝하여 다중 베셀 시트 빔을 생성하는 y방향 스캔 미러를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0019] 또한, 여기서, 상기 영상 획득부는 상기 샘플로부터 발생된 반응빔의 기울어진 영상면을 복원하는 복원 모듈과, 상기 복원 모듈을 통과한 반응빔을 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호로 분리시키는 다이크로익 미러와, 상기 다이크로익 미러를 통과한 이광자 형광 신호를 수광하는 이광자 형광 신호 이미지 획득부 및 상기 다이크로익 미러에서 반사된 2차 고조파 신호를 수광하는 2차 고조파 신호 이미지 획득부를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0020] 또한, 여기서, 상기 레이저 조사부와 상기 영상 획득부는 하나의 단일 대물렌즈를 공유하는 것을 특징으로 한다.
- [0021] 또한, 여기서, 상기 레이저 조사부는 상기 단일 대물렌즈의 일부 초점영역만 사용하는 것을 특징으로 한다.

[0022] 또한, 본 발명은 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프가 작동하는 방법에 있어서, 레이저 빔을 샘플에 조사하는 레이저 빔 조사단계 및 영상 획득부가 상기 조사된 레이저 빔에 의하여 발생한 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호를 수광하는 영상 획득단계를 포함하되, 상기 레이저 조사단계는 상기 광원부가 레이저 빔을 발생시키는 레이저 빔 발생단계와, 단일 또는 다중 베셀 빔 생성부가 상기 레이저 빔 발생단계에서 발생한 레이저 빔을 단일 또는 다중 베셀 빔으로 변환하는 단일 베셀 빔 생성단계 또는 다중 베셀 빔 생성단계 및 y방향 스캔 미러가 상기 단일 베셀 빔 생성단계 또는 다중 베셀 빔 생성단계에서 변환된 베셀 빔을 y방향으로 스캐닝하여 단일 또는 다중 베셀 시트 빔을 생성하는 스캔단계를 포함하고, 상기 영상 획득단계는 다이크로익 미러가 상기 제 2 대물렌즈를 통과한 반응빔을 상기 이광자 형광 신호와 2차 고조파 신호로 분리시키는 이미지 분리단계와, 이광자 형광 신호 이미지 획득부가 상기 다이크로익 미러를 통과한 이광자 형광 신호를 수광하는 이광자 형광 신호 이미지 획득단계 및 2차 고조파 신호 이미지 획득부가 상기 다이크로익 미러에서 반사된 2차 고조파 신호를 수광하는 2차 고조파 신호 이미지 획득단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 작동 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0023] 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프 및 이의 작동방법에 따르면 다음과 같은 효과가 있다.

[0024] 첫째, 단광자 기반 빔 시트 마이크로스코프와 비교하여 상대적으로 깊은 곳까지 영상화할 수 있으며, 기존 2차원 병리조직 검사보다 신속하고 효율적인 검사가 가능하다는 장점이 있다.

[0025] 둘째, 긴 파장의 이광자 여기광과 회절하지 않는 특성의 베셀 빔 스캐닝을 사용함으로써 형광 영상화에도 불구하고 빛의 산란 및 흡수의 방해받지 않고 해상도의 감소 없이 조직의 심부까지 관측할 수 있는 이점이 있다.

[0026] 셋째, 파장 대역 별 두 개의 이미지 획득부를 사용함으로써 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호를 동시에 영상화하여, 세포 정보 외에도 추가적인 세포외기질의 콜라겐 정보를 얻을 수 있어 병변에서 정밀한 분석이 가능하다는 장점이 있다.

[0027] 본 발명의 효과들은 이상에서 언급한 효과들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 효과들은 청구범위의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0028] 도 1은 본 발명의 제1 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면이다.

도 2는 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 단일 베셀 빔을 이용하여 빔 시트를 만드는 광학계 구성도이다.

도 3은 본 발명의 제2 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면이다.

도 4는 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 다중 베셀 빔을 이용하여 빔 시트를 만드는 광학계 구성도이다.

도 5는 본 발명의 제3 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면이다.

도 6은 본 발명의 제4 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면이다.

도 7은 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 액체 프리즘 장치의 구성도이다.

도 8은 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호 발현 과정을 도시한 도면이다.

도 9는 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프 작동방법의 순서도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0029] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있으며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다. 명세서 전체에 걸쳐 동일 참조 부호는 동일 구성 요소를 지칭한다.
- [0030] 본 명세서에 첨부된 도면에 도시된 구성요소의 크기나 형상 등은 설명의 명료성과 편의성을 위하여 과장되게 도시될 수 있다. 각 도면에서 동일한 구성은 동일한 참조부호로 도시한 경우가 있음을 유의하여야 한다. 또한, 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 공지 기술의 기능 및 구성에 관한 상세한 설명은 생략될 수 있다.
- [0031] 본 명세서에서 사용된 용어는 특정 실시예를 설명하기 위하여 사용되며, 본 발명을 제한하기 위한 것이 아니다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이 단수 형태는 문맥상 다른 경우를 분명히 지적하는 것이 아니라면, 복수의 형태를 포함할 수 있다. 또한, 본 명세서 전체에서 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0032] 어떠한 구성 요소가 다른 구성 요소에 “연결되어” 있다거나 “접속되어” 있다고 언급된 때에는, 그 다른 구성 요소에 직접적으로 연결되어 있거나 또는 접속되어 있을 수도 있지만, 중간에 다른 구성 요소가 존재할 수도 있다고 이해되어야 할 것이다. 반면에, 어떠한 구성 요소가 다른 구성요소에 “직접 연결되어” 있다거나 또는 “직접 접속되어” 있다고 언급된 때에는, 중간에 다른 구성 요소가 존재하지 않는 것으로 이해되어야 할 것이다. 구성 요소들 간의 관계를 설명하기 위한 다른 표현들도 마찬가지로 해석되어야 한다.
- [0033] 본 명세서에서 사용되는 상단, 하단, 상면, 하면 또는 상부, 하부 등의 용어는 구성 요소들에 있어서 상대적인 위치를 구별하기 위해 사용되는 것이다. 예를 들어, 편의 상 도면상의 위쪽을 상부, 도면상의 아래쪽을 하부로 명명하는 경우 실제로 있어서는 본 발명의 권리 범위를 벗어나지 않으면서 상부는 하부로 명명될 수 있고, 하부는 상부로 명명될 수 있다.
- [0034] 본 명세서에서 기재한 ~제1~, ~제2~ 등과 같이 서수를 포함하는 용어는 다양한 구성 요소들을 설명하는데 사용될 수 있지만, 상기 구성 요소들은 상기 용어들에 의해 한정되지 않는다. 상기 용어들은 각 구성요소가 서로 다른 구성 요소들임을 구분하기 위해서 지칭한 것일 뿐, 제조된 순서에 구애받지 않는 것이며, 발명의 상세한 설명과 청구범위에서 그 명칭이 일치하지 않을 수 있다.
- [0035] 본 명세서에서 사용되는 기술적이거나 과학적인 용어를 포함한 모든 용어들은, 다르게 정의되지 않는 한 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 갖는 것으로 해석되어야 하며, 본 명세서에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0036] 이하, 본 발명의 일 실시예에 의한 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프 및 이의 작동방법을 설명하기 위하여 도면들을 참고하여 본 발명에 대해 설명하도록 한다.
- [0037] 도 1은 본 발명의 제1 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면이며, 도 2는 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 단일 베셀 빔을 이용하여 빔 시트를 만드는 광학계 구성도이고, 도 3은 본 발명의 제2 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면이며, 도 4는 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 다중 베셀 빔을 이용하여 빔 시트를 만드는 광학계 구성도이다. 또한, 도 5는 본 발명의 제3 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면이고, 도 6은 본 발명의 제4 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면이며, 도 7은 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 액체 프리즘 장치의 구성도이고, 도 8은 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호 발현 과정을 도시한 도면이며, 도 9는 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프 작동방법의 순서도이다.
- [0038] 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프는 조직의 심부까지 먼 단위로 연속 촬영하여 3차원의 고해상도 영상화를 고속으로 가능하게 하는 장치에 관한 것으로, 도 1 내지 도 9를 참조하여 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 4가지 실시예들을 설명하면 다음과 같다.

- [0039] 도 1은 본 발명의 제1 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면으로, 도 1을 참조하면, 본 발명의 제1 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프는 샘플에 이광자 여기 레이저 빔을 조사하는 레이저 조사부(100) 및 상기 조사된 레이저 빔에 의하여 발생한 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호를 수광하는 영상 획득부(200)를 포함할 수 있다.
- [0040] 상기 레이저 조사부(100)는 레이저 빔을 발생시키고, 단일 베셀 빔 또는 다중 베셀 빔 형태로 변환한 후 스캔 미러로 스캔하여 상기 샘플에 조사한다.
- [0041] 이렇게 샘플에 조사된 레이저 빔은 샘플에서 반응하여 반응빔을 형성하며, 반응빔은 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호를 포함한다.
- [0042] 따라서, 상기 영상 획득부(200)에서는 샘플에서 반응하여 발생된 반응빔을 수광하여 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호로 분리한 뒤 각각 영상(이미지)을 획득한다.
- [0043] 상기 레이저 조사부(100)에서는 단일 베셀 빔 또는 다중 베셀 빔을 생성하고, 스캔 미러를 통하여 생성된 단일 베셀 빔 또는 다중 베셀 빔을 스캔함에 따라서 상기 영상 획득부(200)에서는 2차원 영상을 획득할 수 있다. 구체적으로 예를 들어, 도 1을 참조하면, (단일) 베셀 빔은 z -방향으로 레이저 빔을 확장하며, y -방향 스캔미러(150)를 통하여 스캔함으로써 $y-z$ 의 영상(이미지)이 획득된다.
- [0044] 후술하겠지만, 샘플거치대(300)가 x -방향으로 스캔함으로써, 상기 영상 획득부(200)는 $x-y-z$ 의 3차원 영상을 획득할 수 있다.
- [0045] 상기 레이저 조사부(100)는 제1 대물렌즈(410)를 포함할 수 있고, 상기 영상 획득부(200)는 제2 대물렌즈(420)를 포함할 수 있되, 상기 제1 대물렌즈(410)와 상기 제2 대물렌즈(420)는 서로 직교로 배치될 수 있다.
- [0046] 다시 도 1을 참조하면, 상기 레이저 조사부(100)의 제1 대물렌즈(410)와 상기 영상 획득부(200)의 제2 대물렌즈(420)는 직교로 배치될 수 있는데, 그 이유는 상술한 바와 같이 영상 획득부(200)에서 영상(이미지)을 $y-z$ -방향으로 뒤틀림(distortion)없이 획득하기 위함이다.
- [0047] 한편, 상기 제1 대물렌즈와 상기 제2 대물렌즈는 비직교로 배치될 수 있다. 바람직하게는 예각으로 배치될 수 있는데, 45도인 경우가 영상(이미지)을 획득하기 가장 유리한 배치가 된다.
- [0048] 어느 각도도 배치가 되더라도 후술하는 영상 복원모듈(600)로 복원이 가능하며, 상술한 예에서는 초점면이 45도 경사져 있으므로 이를 복원모듈(600)을 통하여 복원하여 원래 초점면으로 만들어 3차원 영상을 획득할 수 있다.
- [0049] 상술한 바와 같이 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프는 상기 샘플을 거치하는 샘플 거치대(300)를 포함할 수 있으며, 상기 샘플 거치대(300)를 x -방향으로 이송시키는 전동 스테이지(310) 및 비축 광학 수차를 제거하기 위한 액체 프리즘(320)을 더 포함할 수 있다.
- [0050] 상기 샘플 거치대(300)는 조직 샘플을 거치하되, 조직 샘플을 x -방향으로 이송(스캔)하여 3차원 영상(이미지)을 측정할 수 있게 하며, 상술한 제1 대물렌즈(410)와 제2 대물렌즈(420)가 직교할 경우에, 즉 제1 대물렌즈(410)와 제2 대물렌즈(420)가 샘플에 대하여 수직이 아닌 일정각도를 가질 경우에 발생하는 비축 광학 수차를 제거하는 역할도 수행한다.
- [0051] 도 7을 참조하여 상기 샘플 거치대(300)를 자세히 설명하면 다음과 같다.
- [0052] 상기 샘플 거치대(300)는 전동 스테이지(310)와 액체 프리즘(320)을 포함할 수 있는데, 상기 전동 스테이지(310)는 샘플을 거치하는 바닥면인 퀴즈(311)를 포함할 수 있다.
- [0053] 상기 전동 스테이지(310)는 상술한 바와 같이 x -방향으로 이송될 수 있으며, 이송에 따라서 상기 샘플을 x -방향으로 스캔하여 영상을 얻을 수 있다. 상기 전동 스테이지(310)가 상기 액체 프리즘(310) 상에서 이동함으로써 제1 대물렌즈(410)와 제2 대물렌즈(420)에 의한 레이저 빔과 반응빔은 같은 자리에 초점이 맞춰지게 되고, 샘플만 x -방향으로 이동함에 따라서 샘플의 x -방향으로 각각의 영상(이미지)을 얻을 수 있다.
- [0054] 이 경우에 상기 퀴즈(311)가 상기 제1 대물렌즈(410)와 제2 대물렌즈(420)와 45도의 각도를 이루기 때문에 상기 퀴즈(311)에 의하여 비축 광학 수차를 발생시키게 되며, 이를 위하여 상기 액체 프리즘(320)은 매칭 솔루션(322)을 포함하게 된다. 매칭 솔루션(322)은 커버슬립(321) 내부에 구비되며, 45도 각도에 따른 비축 광학 수차를 제거할 수 있다.
- [0055] 상기 매칭 솔루션(322)은 상기 퀴즈(311)의 굴절율과 매칭하기 위한 용액이므로, 상기 제1 대물렌즈(410) 및 제

2 대물렌즈(420)의 배율이 변경되거나 샘플 조직의 크기가 변경되어도 장치 자체의 구성은 변경할 필요가 없으며, 매칭 솔루션(322)은 매칭이 필요한 굴절율에 따라 변경될 수 있다.

- [0056] 상기 레이저 조사부(100)는 단일 베셀 빔을 생성하는 단일 베셀 빔 생성부(120) 또는 다중 베셀 빔을 생성하는 다중 베셀 빔 생성부(130)를 포함할 수 있는데, 도 1에 따른 제1 실시예는 단일 베셀 빔 생성부(120)를 포함하는 경우이고, 도 3, 도 5 및 도 6의 제2 내지 4 실시예는 다중 베셀 빔 생성부(130)를 포함하는 경우이다.
- [0057] 도 2는 단일 베셀 빔 생성부(120)를 설명하기 위한 도면이고, 도 4는 다중 베셀 빔 생성부(130)를 설명하기 위한 도면으로 먼저 단일 베셀 빔 생성부(120)를 설명하면 다음과 같다.
- [0058] 도 1을 참조하면, 도 1에서 광원부(110)가 레이저 빔을 생성하고 나면, 빔 익스팬더(111)에 의하여 레이저 빔을 확장하고, 확장된 빔을 엑시콘 렌즈(AL)에 의하여 단일 베셀 빔으로 변환을 하게 된다. 이후에 y 방향 스캔 미러(150)를 통하여 단일 베셀 빔을 스캔하여 베셀 시트 빔을 생성하고, 이를 샘플에 조사하게 된다.
- [0059] 도 2를 참조하면, 도 2의 (a)는 y방향 스캔 미러(150)가 작동하여 y방향으로 스캔하는 경우 빔이 y방향으로 스캔되는 현상을 나타내고 있으며, 도 2의 (b)는 xz 평면에서 본 도면으로 빔이 y방향으로 스캔되는 부분이 나타나지 않는다.
- [0060] 도 2의 (a)를 참조하면, 단일 베셀 빔으로 인하여 z방향(심도)으로 초점이 확장된 상태에서 y방향 스캔이 이루어져 yz평면으로 영상을 획득할 수 있도록 빔을 조사할 수 있다.
- [0061] 한편 도 4를 참조하면, 다중 베셀 빔의 경우에는 베셀 빔을 다중으로 형성하는 것인데, y방향으로 다중 베셀 빔이 형성되고 y방향 스캔 미러(150)에 의하여 시트 빔을 생성함으로써 형광효율이 높아지게 된다. 즉, 베셀 빔이 동일한 부분에 머무르는 시간이 상대적으로 증가되어 형광효율이 높아지며 이로 인하여 더욱 고속으로 선명한 영상(이미지)을 얻을 수 있게 된다.
- [0062] 즉, 도 4의 (a)를 참조하면, 제1 원통형 렌즈(CL1)는 점 형태의 빔을 선 형태의 빔으로 변환시키고, 제2 원통형 렌즈(CL2)는 상기 제1 원통형 렌즈(CL1)에 의하여 변환된 선 형태의 빔을 원하는 않는 방향으로 분산되지 않도록 시준된 빔 형태로 정리할 수 있다. 이후에 공간 광 변조기(140)에 의하여 다중 베셀 빔으로 변환하고, 변환된 다중 베셀 빔은 y방향으로 다수개가 생성되어 이를 다시 y방향 스캔 미러(150)로 스캔함에 따라서 조사되는 샘플의 동일한 부분에 베셀 빔이 머무르는 시간이 증가되어 형광효율이 높아지게 된다. 도 4의 (b)는 xz방향에서 본 도면으로 y방향 확장에 대해서 나타나지 않는다.
- [0063] 한편, 다시 도 1을 참조하면, 상기 레이저 조사부(100)는, 레이저 빔을 발생시키는 광원부(110)와, 상기 광원부로부터 발생된 레이저 빔을 단일 베셀 빔 형태로 변환시키는 엑시콘 렌즈(AL) 및 상기 엑시콘 렌즈(AL)에서 변환된 단일 베셀 빔을 y방향으로 스캐닝하여 단일 베셀 시트 빔을 생성하는 y방향 스캔 미러(150)를 포함할 수 있다.
- [0064] 상기 광원부(110)는 상기 레이저 빔을 생성하기 위한 펄스 레이저 장치일 수 있다. 펄스 레이저 장치는 단광자 여기 기반의 광원에 비해 약 2배 정도 긴 파장인 이광자 여기광을 생성할 수 있고, 이는 이광자 여기 기반의 형광 신호 및 2차 고조파 신호를 발현시킬 수 있게 한다.
- [0065] 상기 이광자 여기광은 상기 레이저 조사부(100)에 의해 베셀 시트 빔으로 변환되어 이광자 빔 시트를 형성할 수 있다.
- [0066] 상기 이광자 여기광은 상대적으로 장파장이기에 불투명한 조직에서의 빛의 산란을 감소시킬 수 있고, 고심도(피부 기준 70~80 마이크론 범위)의 영상화를 가능하게 한다.
- [0067] 이에 따라, 본 발명에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프는 얇은 이미징 깊이(피부 기준 20~30 마이크론 범위)를 극복하기 위하여 샘플 조직을 투명하게 만드는 광 투명화 과정을 생략할 수 있고, 따라서, 시간을 절약할 수 있는 효과가 있다.
- [0068] 상기 엑시콘 렌즈(AL)는 통과하는 레이저 빔을 광축을 따라 라인 형태로 초점을 맺게 할 수 있다. 즉, 상기 엑시콘 렌즈(AL)는 상기 샘플의 z축(또는 z'축) 영상화를 위해 상기 광원부(110)에서 발생한 가우시안 빔 형태의 이광자 여기광을 단일 베셀 빔 형태로 변환시킬 수 있다.
- [0069] 상기 y방향 스캔 미러(150)는 상기 엑시콘 렌즈(AL)에서 변환된 단일 베셀 빔을 y축 방향으로 1차원 고속 스캐닝하여 z-y축(또는 z'-y축) 2차원 단일 베셀 시트 빔으로 변환시킬 수 있다.

- [0070] 한편, 도 1을 참조하면, 광원부(110)에서 발생된 레이저 빔은 빔 익스팬더(111)를 거쳐서 확장되고, 확장된 빔이 상기 엑시콘 렌즈(AL)로 입사하게 되며, 제 1 렌즈 내지 제3 렌즈(L1 내지 L3)는 상기 레이저 빔의 경로에 따라서 모아주거나 확장시켜 최종 제1 대물렌즈(410)에 이를 수 있도록 각 구성요소의 배치에 따라서 사양이 결정된다.
- [0071] 상기 영상 획득부(200)는 상기 샘플로부터 발생된 반응빔을 수광하여 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호로 분리시키는 다이크로익 미러(210)와, 상기 다이크로익 미러(21)를 통과한 이광자 형광 신호를 수광하는 이광자 형광 신호 이미지 획득부(222) 및 상기 다이크로익 미러에서 반사된 2차 고조파 신호를 수광하는 2차 고조파 신호 이미지 획득부(232)를 포함할 수 있다.
- [0072] 상기 다이크로익 미러(210)는 상기 제2 대물렌즈(420)를 통과한 반응빔을 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호로 분리시킬 수 있다. 일 실시예로 상기 다이크로익 미러(210)는 롱패스필터일 수 있으며, 상대적으로 파장이 긴 이광자 형광 신호를 통과시키고, 상대적으로 파장이 짧은 2차 고조파 신호를 반사시킨다.
- [0073] 상기 이광자 형광 신호 이미지 획득부(222)는 상기 이광자 형광 신호를 수신하여 이광자 형광 신호의 이미지를 획득하며, 상기 2차 고조파 신호 이미지 획득부(232)는 2차 고조파 신호를 수신하여 2차 고조파 신호 이미지를 획득할 수 있다.
- [0074] 상기 이광자 형광 신호 이미지 획득부(220)는 제1 밴드패스 필터(221) 및 제1 카메라(222)를 포함할 수 있고, 상기 2차 고조파 이미지 획득부(230)는 제2 밴드패스 필터(231) 및 제2 카메라(232)를 포함할 수 있다.
- [0075] 상기 다이크로익 미러(210)와 상기 제1 밴드패스 필터(221) 및 제2 밴드패스 필터(231)는 여기광의 파장대역에 따라서 스펙이 변할 수 있다.
- [0076] 상기 제1 카메라(222) 및 제2 카메라(232)는 CMOS 장비에 비해 낮은 노이즈 및 높은 해상도와 민감도를 도출하는 상기 sCMOS 카메라(Scientific CMOS)를 사용할 수 있다.
- [0077] 상기 2차 고조파 신호의 세기가 상기 이광자 형광 신호에 비해 많이 낮기에 개인(카메라 센서의 신호 증폭을 제어하는 디지털카메라 설정)을 조절하면 상기 제1 카메라(222) 및 제2 카메라(232)는 한 대의 카메라로 대체될 수도 있다.
- [0078] 도 3은 본 발명의 제2 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면으로, 도 3을 참조하면, 본 발명의 제2 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 레이저 조사부(100)는 레이저 빔을 발생시키는 광원부(110)와, 상기 광원부(110)로부터 발생된 레이저 빔을 점 형태에서 선 형태의 빔으로 변환시키는 제1 원통형 렌즈(CL1)와, 상기 변환된 선 형태의 빔을 시준된 빔으로 정리하는 제2 원통형 렌즈(CL2)와, 상기 정리된 선 형태의 빔을 다중 베셀 빔으로 변환시키는 공간 광 변조기(140) 및 상기 변환된 다중 베셀 빔을 y방향으로 스캐닝하여 다중 베셀 시트 빔을 생성하는 y방향 스캔 미러(150)를 포함할 수 있다.
- [0079] 상기 제1 원통형 렌즈(CL1)는 상기 광원부(110)로부터 발생한 점 형태의 빔을 선 형태의 빔으로 변환하기 위해 사용될 수 있고, 상기 점 형태의 빔을 선 형태의 빔으로 변환시킬 수 있는 다른 장치로 대체될 수 있다.
- [0080] 상기 제2 원통형 렌즈(CL2)는 상기 제1 원통형 렌즈(CL1)로 인해 변환된 선 형태의 빔이 원하지 않는 방향으로 분산되지 않도록 시준된 빔으로 변환시킬 수 있다.
- [0081] 도 4의 (a)를 참조하면, 상기 공간 광 변조기(140)는 단일 베셀 빔 생성부(120)의 엑시콘 렌즈(AL)를 대신할 수 있는 페이즈 마스크(베셀 빔을 생성할 수 있는 위상 패턴을 가지는 마스크)가 여러 개 배치되어 생성될 수 있으며, 상기 정리된 라인 빔을 4개 혹은 다중 베셀 빔으로 분리시켜 z방향으로 확장된 다중 베셀 빔 형태로 변환시킬 수 있다.
- [0082] 상기 y방향 스캔 미러(150)는 상기 변환된 다중 베셀 빔을 y축 고속 스캐닝하여 2차원 베셀 시트 빔으로 변형시킬 수 있다.
- [0083] 상기 y축 스캔 미러(150)는 4개 혹은 다중 여기 베셀 빔을 함께 스캐닝하여 빔 시트를 생성할 수 있고, 이에 따라서 상기 다중 베셀 빔이 각 픽셀에 머무는 시간이 선형적으로 증가한다.
- [0084] 이는 단일 베셀 빔을 사용하는 경우에는 단일 베셀 빔을 스캔하기 때문에 스캔해야 되는 스캐닝 범위가 넓어 상기 샘플의 각 포인트에 상기 베셀 빔이 머무는 시간이 짧아 상대적으로 낮은 형광효율을 야기하는 단일 베셀 빔

생성부(120)에 비해 형광효율이 향상되면서 감도 및 영상화 속도가 상승할 수 있는 효과가 있다.

- [0085] 이 경우에, 스캔에 소요되는 시간은 픽셀에 머무는 시간 및 총 픽셀 수에 비례하고, 베셀 빔 수에 반비례한다.
- [0086] 도 4의 영상 획득부(200)의 구체적인 구성은 도 1에 따른 제1 실시예에서 상술한 설명과 동일하므로 같음하기로 한다.
- [0087] 도 5는 본 발명의 제3 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면으로, 도 5를 참조하면, 본 발명의 제3 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 레이저 조사부(100)는 제1 대물렌즈(410)를 포함할 수 있고, 영상 획득부(200)는 제2 대물렌즈(420)를 포함할 수 있고, 상기 제1 대물렌즈(410)와 상기 제2 대물렌즈(420)는 비직교(예각)로 배치될 수 있다.
- [0088] 상기 제2 대물렌즈(420)는 상기 샘플 표면을 기준으로 수직으로 배치될 수 있고, 이는 촬영의 깊이를 최대로 확보할 수 있게 한다.
- [0089] 이때, 상기 제1 대물렌즈(410)와 상기 제2 대물렌즈(420)의 비직교 배치로 인해 상기 샘플에서 발생된 반응빔이 상기 제2 대물렌즈(420)의 초점면과 경사지게 되고, 이에 따라 상기 영상 획득부(200)는 비틀어진 상을 원상태로 돌릴 수 있는 복원 모듈(600)을 포함하여 광학계 구성이 달라질 수 있다.
- [0090] 상기 영상 획득부(200)는 상기 샘플로부터 발생된 반응빔의 기울어진 영상면을 복원하는 복원 모듈(600)과, 상기 복원 모듈(600)을 통과한 반응빔을 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호로 분리시키는 다이크로익 미러(210)와, 상기 다이크로익 미러(210)를 통과한 이광자 형광 신호를 수광하는 이광자 형광 신호 이미지 획득부(220) 및 상기 다이크로익 미러(210)에서 반사된 2차 고조파 신호를 수광하는 2차 고조파 신호 이미지 획득부(230)를 포함할 수 있다.
- [0091] 상기 복원 모듈(600)은 상기 제2 대물렌즈(420)를 통과한 반응빔의 기울어진 초점면 또는 영상면을 복원시키는 기능(리모트 포커싱)을 할 수 있으며, 편광 빔 분리기(610), 쿼터 파장판(620), 전달 대물렌즈(440) 및 제2 프리즘 미러(520)를 포함할 수 있다.
- [0092] 상기 편광 빔 분리기(610)는 상기 제2 대물렌즈를 통과한 입사광을 편광에 따라 두 개의 빔으로 분할시켜 통과 및 반사시킬 수 있다.
- [0093] 상기 쿼터 파장판(620)은 상기 편광 빔 분리기(610)에서 통과된 광의 편광상태를 바꾸어줄 수 있으며, 상기 전달 대물렌즈(440)는 상기 쿼터 파장판(620)을 통과한 투과광이 높은 개구수를 얻을 수 있게 한다.
- [0094] 제2 프리즘 미러(520)는 상기 복원 모듈(600)을 통과하여 복원된 영상면을 다시 상기 전달 대물렌즈(440)와 상기 쿼터 파장판(620) 및 상기 편광 빔 분리기(610)를 거쳐 상기 다이크로익 미러(210)에 조사시킬 수 있다.
- [0095] 제1 대물렌즈(410)와 상기 제2 대물렌즈(420)의 비직교(예각, 제2 대물렌즈가 샘플을 수직으로 바라보는 형태) 배치는 반응빔의 침투 경로에 비해 실제 영상화 깊이는 얇게 표현되는 문제를 극복할 수 있다. 즉, 상기 비직교 형태의 배치는 반응빔의 침투 경로가 실제 영상화 깊이가 되게 하여 촬영의 깊이를 향상시킬 수 있다.
- [0096] 이하 각 단계의 구체적인 설명은 도 1 및 도 3의 제1, 제2 실시예에서 상술한 설명과 동일하므로 같음하도록 한다.
- [0097] 도 6은 본 발명의 제4 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면으로, 도 6을 참조하면, 본 발명의 제4 실시예에 따른 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프의 레이저 조사부(100) 및 영상 획득부(200)는 하나의 단일 대물렌즈(430)를 공유할 수 있다.
- [0098] 이때, 상기 레이저 조사부(100)는 상기 단일 대물렌즈(430)의 일부 초점영역만 사용할 수 있다.
- [0099] 상기 단일 대물렌즈(430)는 하나의 장치로 상기 레이저 조사부(100)에서 발생한 레이저 빔과 상기 영상 획득부(200)가 획득할 반응빔을 통과시킬 수 있다.
- [0100] 또한, 상기 레이저 조사부(100)와 상기 영상 획득부(200)는 하나의 단일 대물렌즈 다이크로익 미러(210')를 공유할 수 있다.
- [0101] 상기 단일 대물렌즈 다이크로익 미러(210')는 하나의 장치로 상기 레이저 조사부(100)에서 발생한 레이저 빔과 상기 영상 획득부(200)가 획득할 반응빔을 다르게 처리할 수 있다. 일 실시예로 상기 단일 대물렌즈 다이크로익 미러(210')는 숏패스필터일 수 있으며, 상대적으로 파장이 긴 레이저 빔을 반사시키고, 상대적으로 파장이 짧은

반응 빔을 통과시킬 수 있다.

- [0102] 이때, 상기 단일 대물렌즈 다이크로익 미러(210')는 상기 레이저 빔 및 반응빔의 파장 대역에 따라서 스펙이 변할 수 있다.
- [0103] 상기 영상 획득부(200)는 도 5의 제3 실시예에서 상술한 제1 대물렌즈(410) 및 제2 대물렌즈(420)의 비직교 배치와 동일한 이유로 상기 단일 대물렌즈(430)가 샘플을 정면을 바라보면서 반응빔을 수집할 수 있다.
- [0104] 도 6의 제4 실시예는 상기 단일 대물렌즈(430) 장치 하나만으로 빔 시트 생성 및 영상화를 동시에 할 수 있기 때문에 두 개의 대물렌즈를 사용한 도 1, 도 3 및 도 5의 제1 내지 3 실시예에 비해 시스템의 장치 구성이 간단하고, 두 개의 대물렌즈가 다른 각도를 가지면서 생기는 조직 샘플과의 간섭이 발생하지 않고, 직접적으로 접촉하여 촬영 가능하다는 장점이 있다.
- [0105] 이하 각 단계의 구체적인 설명은 도 1, 도 3 및 도 5의 제1 내지 3 실시예에서 상술한 내용과 동일하므로 여기서는 위의 설명에 같음하도록 한다.
- [0106] 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호의 발현 과정 및 효과는 다음의 도 8을 통해 설명하도록 한다.
- [0107] 도 8(a)를 참조하면, 두 개의 여기 광자는 이광자 형광 신호 발현을 위해 형광물질 분자 내 전자 에너지 준위를 바닥상태에서 들뜬상태까지 상승시킬 수 있다.
- [0108] 상기 상승한 두 개의 여기 광자는 들뜬상태에서 바닥상태로 전자의 에너지 준위를 다시 하강시키면서 형광 광자를 방출하는 이광자 여기 형광을 할 수 있다. 여기서 이광자 여기 형광이란 두 개의 여기 광자가 흡수되고 하나의 형광 광자를 방출하는 현상을 의미한다.
- [0109] 상기 이광자 여기는 비선형 여기이므로 베셀 빔의 진행에 있어서 측엽(Side lobes, 베셀 빔이 최대가 되는 방향의 측면에 발생하는 부수적 로브)의 영향이 거의 없어 베셀 빔의 비회절 특성을 극대화시킬 수 있다.
- [0110] 도 8(b)를 참조하면, 두 개의 동일 여기 광자는 상기 2차 고조파 신호 발현을 위한 비선형 프로세스를 통해 에너지 준위를 바닥상태에서 가상상태(중간 상태)까지 상승시킬 수 있다.
- [0111] 상기 2차 고조파 신호는 상기 상승한 여기 광자가 가상상태에서 다시 하강할 때 초기 여기 광자의 두 배의 에너지를 가지며 방출될 수 있다.
- [0112] 상기 2차 고조파 신호 발현은 특정 분자 구조에 의해 방출되는 광학적 신호를 측정하는 비침습성 영상기법으로써, 서로 다른 형태의 연결조직을 구별할 수 있으며, 특히 콜라겐 섬유의 구조와 밀도를 영상화하는데 사용될 수 있다.
- [0113] 상기 이광자 형광 신호는 상기 샘플의 세포 정보를 획득하게 하고, 상기 2차 고조파 신호는 상기 샘플의 세포외기질 내 콜라겐 정보를 획득하게 한다.
- [0114] 상기 2차 고조파 신호는 정상 대비 병변에서 콜라겐 분포의 변화 및 섬유화 등을 시각화하여 다중 대비 영상화를 통한 세포외기질 변화 분석 및 정밀 진단이 가능하게 하여 병변 탐지에 유용하게 사용될 수 있다.
- [0115] 도 9를 참조하면, 오픈 탑 이광자 빔 시트 마이크로스코프 작동방법에 있어서, 레이저 빔을 샘플에 조사하는 레이저 빔 조사단계(S100) 및 영상 획득부(200)가 상기 조사된 레이저 빔에 의하여 발생한 이광자 형광 신호 및 2차 고조파 신호를 수광하는 영상 획득단계(S200)를 포함하되, 상기 레이저 조사단계(S100)는 상기 광원부(110)가 레이저 빔을 발생시키는 레이저 빔 발생단계(S110)와, 단일 또는 다중 베셀 빔 생성부(120, 130)가 상기 레이저 빔 발생단계(S110)에서 발생한 레이저 빔을 단일 또는 다중 베셀 빔으로 변환하는 단일 베셀 빔 생성단계(S120) 또는 다중 베셀 빔 생성단계(S130) 및 y방향 스캔 미러(150)가 상기 단일 베셀 빔 생성단계(S120) 또는 다중 베셀 빔 생성단계(S130)에서 변환된 베셀 빔을 y방향으로 스캐닝하여 단일 또는 다중 베셀 시트 빔을 생성하는 스캔단계(S140)를 포함하고, 상기 영상 획득단계(S200)는 다이크로익 미러(210)가 상기 제2 대물렌즈를 통과한 반응빔을 상기 이광자 형광 신호와 2차 고조파 신호로 분리시키는 이미지 분리단계(S210)와, 이광자 형광 신호 이미지 획득부(220)가 상기 다이크로익 미러(210)를 통과한 이광자 형광 신호를 수광하는 이광자 형광 신호 이미지 획득단계(S220) 및 2차 고조파 신호 이미지 획득부(230)가 상기 다이크로익 미러(210)에서 반사된 2차 고조파 신호를 수광하는 2차 고조파 신호 이미지 획득단계(S230)를 포함할 수 있다.
- [0116] 각 단계의 구체적인 설명은 상기 장치의 설명과 동일하므로 여기서는 위의 설명으로 같음하기로 한다.
- [0117] 상술한 바와 같이 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예에 대하여 도시하고 설명하였지만, 본 발명은 상

술한 특징의 실시예에 한정되지 아니하며, 특허청구범위에서 청구하는 본 발명의 요지를 벗어남이 없이 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 다양한 변형실시가 가능한 것은 물론이고, 이러한 변형실시들은 본 발명의 기술적 사상이나 전망으로부터 개별적으로 이해되어서는 안 될 것이다.

부호의 설명

[0118]

- 100 : 레이저 조사부
- 110 : 광원부
- 111 : 익스펜더
- 120 : 단일 베셀 빔 생성부
- 130 : 다중 베셀 빔 생성부
- 140 : 공간 광 변조기
- 150 : y방향 스캔 미러
- 200 : 영상 획득부
- 210 : 다이크로익 미러
- 210` : 단일 대물렌즈 다이크로익 미러
- 220 : 이광자 형광 이미지 획득부
- 221 : 제1 밴드패스 필터
- 222 : 제1 카메라
- 230 : 2차 고조파 신호 이미지 획득부
- 231 : 제2 밴드패스 필터
- 232 : 제2 카메라
- 300 : 샘플 거치대
- 310 : 전동 스테이지
- 311 : 퀀츠
- 320 : 액체 프리즘
- 321 : 커버슬립
- 322 : 매칭 솔루션
- 400 : 대물렌즈
- 410 : 제1 대물렌즈
- 420 : 제2 대물렌즈
- 430 : 단일 대물렌즈
- 440 : 전달 대물렌즈
- 500 : 미러
- 510 : 제1 프리즘 미러
- 520 : 제2 프리즘 미러
- 600 : 복원 모듈
- 610 : 편광 빔 분리기

620 : 쿼터 파장판

AL : 액시콘 렌즈

CL1 : 제1 원통형 렌즈

CL2 : 제2 원통형 렌즈

S100 : 레이저 빔 조사단계

S110 : 레이저 빔 발생단계

S120 : 단일 베셀 빔 생성단계

S130 : 다중 베셀 빔 생성단계

S140 : 스캔단계

S200 : 영상 획득단계

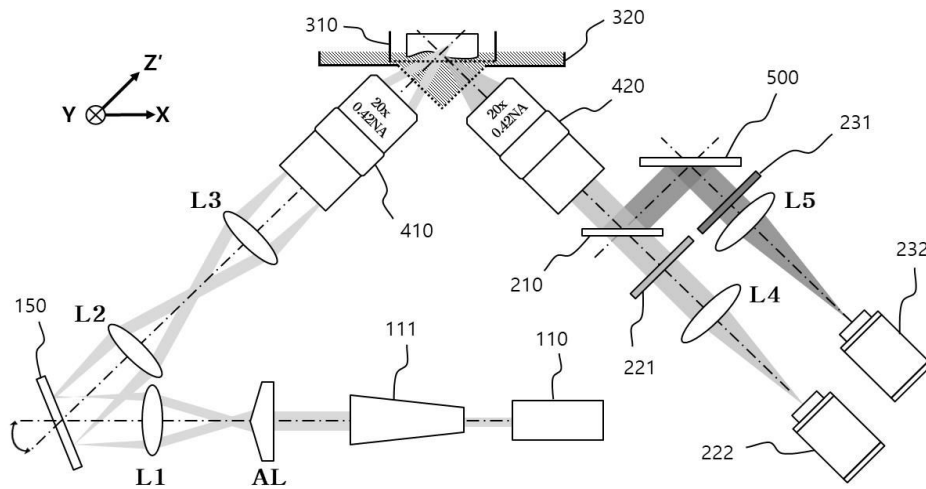
S210 : 이미지 분리단계

S220 : 이광자 형광 이미지 획득단계

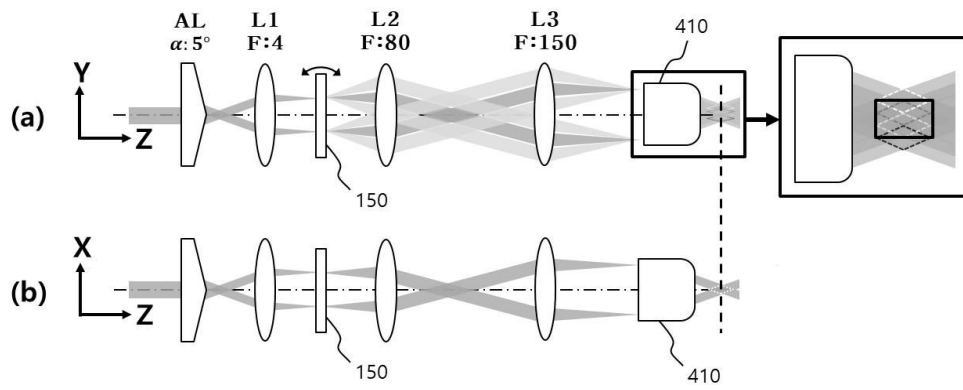
S230 : 2차 고조파 신호 이미지 획득단계

도면

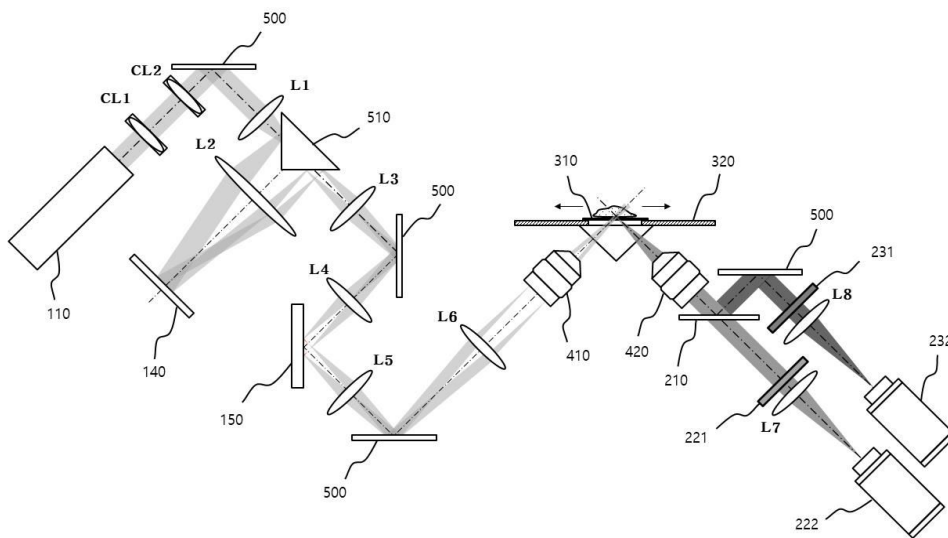
도면1



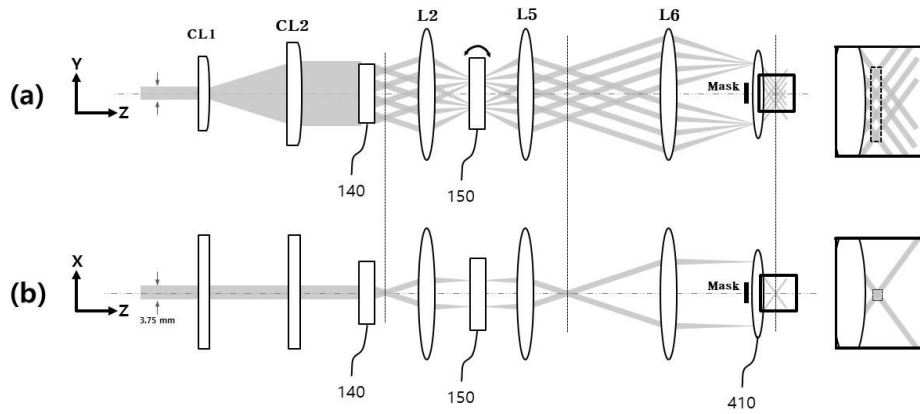
도면2



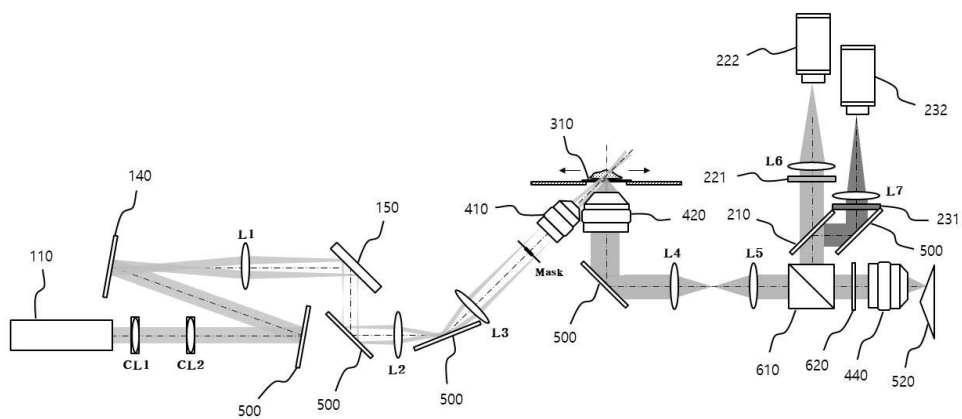
도면3



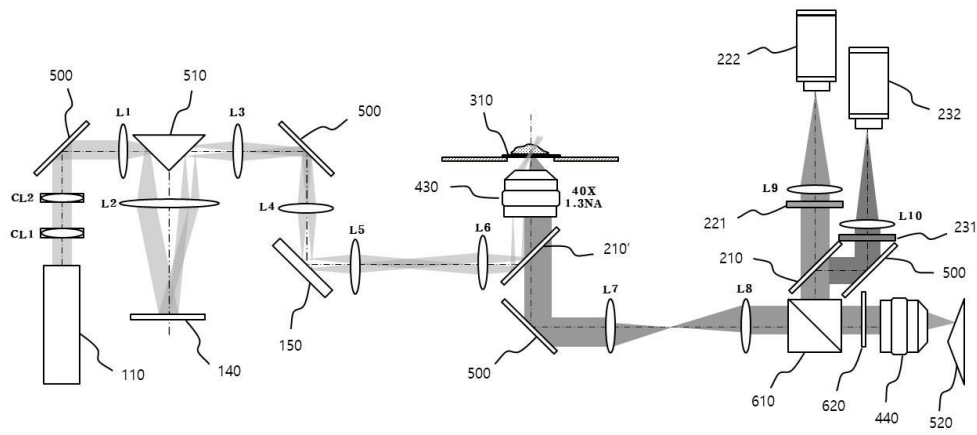
도면4



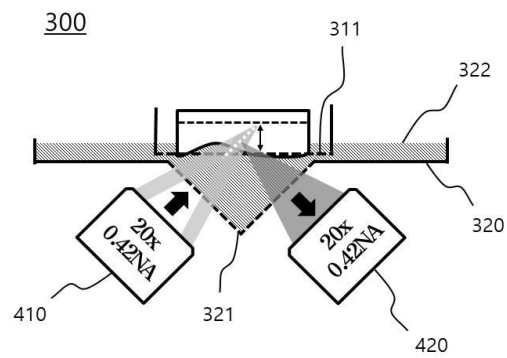
도면5



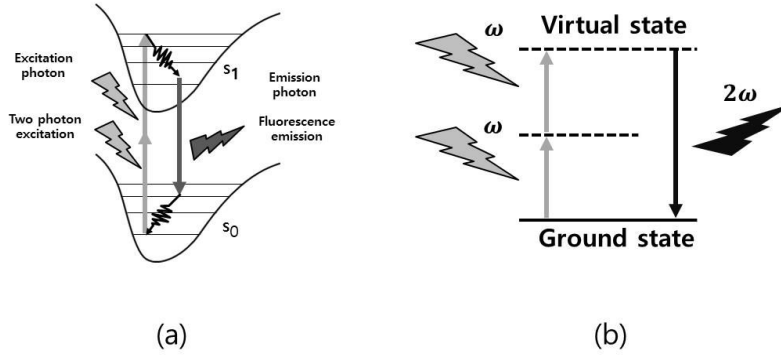
도면6



도면7



도면8



도면9

