(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0027975
(43) 공개일자 2025년02월28일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G02B 21/36 (2006.01) *G02B 21/00* (2022.01)
G02B 5/04 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G02B 21/361 (2013.01)
G02B 21/0032 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0109009
(22) 출원일자 2023년08월21일
심사청구일자 2023년08월21일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 덕영대로 1732 (서천동, 경희대학교 국제캠퍼스내)
(72) 발명자
강성호
경기도 수원시 영통구 매영로 366, 725동 1901호 (영통동, 현대아파트)
카오잉잉
경기도 용인시 기흥구 서그내로16번길 17, 302호 (서천동, 진영빌라 4동)
이승아
경기도 용인시 기흥구 서그내로16번길 14, 105동 401호 (서천동, 서그내마을 서천아이파크)
(74) 대리인
특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 5 항

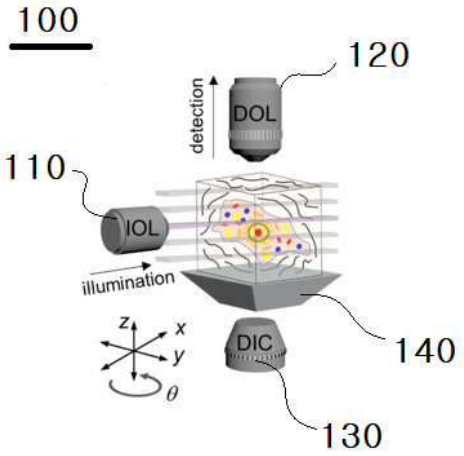
(54) 발명의 명칭 **4차원 다각도 조명 기반의 빔시트 초고해상도 이미징 시스템**

(57) 요 약

본 발명은 4차원 다각도 조명 기반의 빔시트 초고해상도 이미징 시스템에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 빔시트 초고해상도 이미징 시스템은 광로에 위치하며 시료대에 초점을 맞춘 상태의 조명 대물렌즈, 시료대의 상측에 위치하는 감지 대물렌즈, 상기 감지 대물렌즈의 저측에 위치하는 미분간섭 현미경, 그리고, 감지 대물렌즈와 미분간섭 현미경 사이에 위치하는 프리즘 유닛을 포함한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
G02B 21/365 (2013.01)
G02B 5/04 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711180069
과제번호 2019R1A2C2002556
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)
연구과제명 새로운 초고분해능 이미징 기술을 이용한 올인원 복합 4차원 다면 빔시트 나노경 시스템 및 질병 진단 응용
기 여 율 1/1
과제수행기관명 경희대학교(국제캠퍼스)
연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.29

명 세 서

청구범위

청구항 1

광로에 위치하며 시료대에 초점을 맞춘 상태의 조명 대물렌즈,

시료대의 상측에 위치하는 감지 대물렌즈,

상기 감지 대물렌즈의 저측에 위치하는 미분간섭 현미경, 그리고,

감지 대물렌즈와 미분간섭 현미경 사이에 위치하는 프리즘 유닛을 포함하는 빔시트 초고해상도 이미징 시스템.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 프리즘 유닛은,

시료대 역할을 수행하며, 감지 대물렌즈를 통과한 시료의 광을 집광하는 프리즘,

상기 프리즘을 고정하는 회전식 홀더, 및

회전식 홀더(142)가 탑재되는 베이스 홀더를 포함하는 빔시트 초고해상도 이미징 시스템.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 프리즘은,

다각면체로 형성되며, 상측에서 저측으로 갈수록 내측으로 테이퍼(taper)지고, 하측에는 상측면과 평행하도록 절단면이 형성되어 하측의 절단면의 면적이 상측면의 면적보다 작게 형성되는 빔시트 초고해상도 이미징 시스템.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 회전식 홀더는,

상기 프리즘을 상측에 안착시킨 상태에서 조명 방향에 따라 기 설정된 각도 만큼씩 회전되는 빔시트 초고해상도 이미징 시스템.

청구항 5

제2항에 있어서,

상기 회전식 홀더는,

전반사형광 조명을 위해 각 측면에 다수개의 홈이 형성되어 있고, 미분간섭 현미경의 감지를 위해 바닥에 홀이 형성되는 빔시트 초고해상도 이미징 시스템.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 4차원 다각도 조명 기반의 빔시트 초고해상도 이미징 시스템에 관한 것으로서, 더욱 상세하게 설명하면 회전 가능한 다각형 프리즘을 사용하여 광 조사 렌즈로부터 오는 빛의 방향을 변화시켜 광학 착시(optical

illusion)를 최소화하는 빔시트 초고해상도 이미징 시스템에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 자연에서 가장 미세한 구조를 관찰하는 회절한계(diffraction limit) 내에서 물리적 장벽의 한계를 우회하는 강력한 검출 기술 중 하나는 초고해상도 현미경(super-resolution microscopy, SRM)이다. 단일분자(single-molecule) 수준에서 검출 능력을 높이기 위해 2차원(2D) 검출을 3차원(3D) 초고해상도 현미경(SRM)으로 개선하여 x, y, z 좌표 범위에서 축 분해능을 향상시켰다. 촬영 시스템의 광로에서 원통 렌즈를 조정하면서 평면의 x 좌표와 y 좌표를 따라 여기 방사체가 진행될 때 광자 위치 결정은 z 방향으로 견본 추출된 영상의 깊이에 따라 점 확산 기능(point spread function, PSF)에 작용한다. 또한 초고해상도 현미경(SRM)은 빔시트 현미경(light-sheet microscopy, LSM)을 포함한 다양한 검출 접근 방식과 함께 개발되었다.

[0003] 빔시트 현미경(LSM)은 원래 표본 검출의 회절한계를 극복하기 위해 개발되었다. 빔시트 현미경(LSM)은 전체 표본을 광학적으로 절단하기 위해 초점 영역을 형성하는 시료를 통과하는 얇은 빛 평면을 기반으로 한다. 일반적으로 빔시트 현미경(LSM)은 다른 현미경에 비해 살아있는 유기체를 영상화 하는 것과 호환되는 더 빠르고 편리한 탐지 능력으로 광손상과 광독성을 최소화할 수 있는 이점을 제공한다. 따라서 빔시트 현미경(LSM)과 초고해상도 현미경(SRM) 모두 빛의 회절 한계를 잘 극복하기 때문에 LSRM(light sheet-based SRM)은 가장 정확한 관찰 방법 중 하나이다.

[0004] 또한, 시료를 측면 방향으로 빔시트로 분할하면 다차원으로 분석 부피, 위치 및 해상도를 향상시킬 수 있다. 따라서, 최근 수년 동안 빔시트 기반 3D 이미징 연구가 활발히 진행되고 있다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 이와 같이 본 발명에 따르면, 회전 가능한 다각형 프리즘을 사용하여 광 조사 렌즈로부터 오는 빛의 방향을 변화시켜 광학 착시(optical illusion)를 최소화하는 빔시트 초고해상도 이미징 시스템을 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

[0006] 이러한 기술적 과제를 이루기 위한 본 발명의 실시예에 따르면 빔시트 초고해상도 이미징 시스템은 광로에 위치하며 시료대에 초점을 맞춘 상태의 조명 대물렌즈, 시료대의 상측에 위치하는 감지 대물렌즈, 상기 감지 대물렌즈의 저측에 위치하는 미분간섭 현미경, 그리고, 감지 대물렌즈와 미분간섭 현미경 사이에 위치하는 프리즘 유닛을 포함한다.

[0007] 상기 프리즘 유닛은, 시료대 역할을 수행하며, 감지 대물렌즈를 통과한 시료의 광을 집광하는 프리즘, 상기 프리즘을 고정하는 회전식 홀더 및 회전식 홀더가 탑재되는 베이스 홀더를 포함할 수 있다.

[0008] 상기 프리즘은, 다각면체로 형성되며, 상측에서 저측으로 갈수록 내측으로 테이퍼(taper)지고, 하측에는 상측면과 평행하도록 절단면이 형성되어 하측의 절단면의 면적이 상측면의 면적보다 작게 형성될 수 있다.

[0009] 상기 회전식 홀더는, 상기 프리즘을 상측에 안착시킨 상태에서 조명 방향에 따라 기 설정된 각도 만큼씩 회전될 수 있다.

[0010] 상기 회전식 홀더는, 전반사형광 조명을 위해 각 측면에 다수개의 홈이 형성되어 있고, 미분간섭 현미경의 감지를 위해 바닥에 홀이 형성될 수 있다.

발명의 효과

[0011] 이와 같이 본 발명에 따르면, 다양한 각도에서 다중 조명하여 획득된 재구성 이미지를 이용하여 단일세포 내 표적물질(예, 나노입자 및 분자)의 위치를 균일하게 확인할 수 있도록 함으로써 광학적 착시현상을 최소화할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 빔시트 초고해상도 이미징 시스템을 설명하기 위한 도면이다.

도 2는 도 1에 도시된 프리즘 유닛을 설명하기 위한 도면이다.

도 3은 본 발명의 실시예에서 회전식 홀더의 회전에 따른 입자의 위치를 설명하기 위한 예시도이다.

도 4는 PLL 코팅 커버슬립에 FeMP(검은색 공)를 조명 장애물로 이용했을 경우의 플라즈모닉 응집체와 산란 이미지를 설명하기 위한 예시도이다.

도 5는 PVA 용액에 3D 고정화된 NP 및 FeMP 응집체와 산란이미지를 설명하기 위한 예시도이다.

도 6은 FeMP 대신 양면테이프를 다각도 조명의 장애물로 사용하였을 경우에 NP 및 FeMP 응집체와 산란이미지를 설명하기 위한 예시도이다.

도 7은 PCL 나노섬유 위의 고정된 3D 배양 단일 대식세포에 대한 예시도이다.

도 8은 다중 조명 각도(0°, 90°, 180° 및 270°)에서 응집된 NP의 일련의 산란 이미지를 나타내는 예시도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 이하 첨부된 도면을 참조하여 본 발명에 따른 바람직한 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 이 과정에서 도면에 도시된 선들의 두께나 구성요소의 크기 등은 설명의 명료성과 편의상 과장되게 도시되어 있을 수 있다.

[0014] 또한 후술되는 용어들은 본 발명에서의 기능을 고려하여 정의된 용어들로서, 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 관례에 따라 달라질 수 있다. 그러므로 이러한 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다.

[0015] 이하에서는 도 1 내지 도 8을 이용하여 본 발명의 실시예에 따른 4차원 다각도 조명 기반의 빔시트 초고해상도 이미징 시스템에 대해 더욱 상세하게 설명한다.

[0016] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 빔시트 초고해상도 이미징 시스템을 설명하기 위한 도면이고, 도 2는 도 1에 도시된 프리즘 유닛을 설명하기 위한 도면이다.

[0017] 도 1에 도시된 바와 같이, 본 발명의 실시예에 따른 빔시트 초고해상도 이미징 시스템(100)은 광로에 위치하며 시료대에 초점을 맞춘 상태의 조명 대물렌즈(Illumination Objective Lens, IOL)(110)과, 시료대의 상측에 위치하는 감지 대물렌즈(Detecting Objective Lens, DOL)(120) 및 상기 감지 대물렌즈(DOL)(120)의 저측에 위치하는 미분간섭 현미경(Differential Interference Contrast, DIC)(130)을 포함한다.

[0018] 상기 조명 대물렌즈(IOL)(110), 감지 대물렌즈(DOL)(120) 및 미분간섭 현미(DIC)(130)은 시중에 유통되고 있는 것을 사용해도 무방하며, 본 발명의 핵심 기술이 아니므로 조명 대물렌즈(IOL)(110), 감지 대물렌즈(DOL)(120) 및 미분간섭 현미(DIC)(130)에 대한 구체적인 설명은 생략한다.

[0019] 한편, 세포 환경의 초고해상도 영상의 정확성과 정밀도를 높이기 위해서는 영상 재구성을 위한 다각도 조명이 필수적이므로 본 발명에서는 감지 대물렌즈(DOL)(120)와 미분간섭 현미(DIC)(130) 사이에 프리즘 유닛(140)를 더 포함한다.

[0020] 프리즘 유닛(140)는 시료대 역할을 수행하며, 감지 대물렌즈(DOL)(120)를 통과한 시료의 광을 집광하는 프리즘(141)과, 프리즘(141)을 고정하는 회전식 홀더(142) 및 회전식 홀더(142)가 탑재되는 베이스 홀더(143)를 포함한다.

[0021] 구체적으로 설명하면, 프리즘(141)은 다각면체로 형성되며, 상측에서 저측으로 갈수록 내측으로 테이퍼(taper)지고, 하측에는 상측면과 평행하도록 절단면이 형성된다. 따라서, 하측의 절단면의 면적은 상측면의 면적보다 작게 형성된다.

[0022] 회전식 홀더(142)는 프리즘(141)을 상측에 안착시킨 상태에서 조명 방향에 따라 기 설정된 각도 만큼씩 회전시킨다.

[0023] 예를 들어, 프리즘(141)이 직육면체라고 가정하면, 회전식 홀더(142)는 90°, 180° 및 270° 중에서 어느 하나의 각도로 회전시킨다. 또한, 프리즘(352)이 육각기둥이라고 가정하면, 회전식 홀더(142)는 60°, 120°, 180°, 240° 및 300° 중에서 어느 하나의 각도로 회전시킨다.

[0024] 또한, 회전식 홀더(142)는 전반사형광(Total Internal Reflection Fluorescence, TIRF) 조명을 위해 각 측면에 다수개의 홈이 형성되어 있고, 미분간섭 현미(DIC)(130)의 감지를 위해 바닥에 홀이 형성되어 있다.

[0025] 도 3은 본 발명의 실시예에서 회전식 홀더의 회전에 따른 입자의 위치를 설명하기 위한 예시도이다.

[0026] 도 3에 도시된 바와 같이, 조명 대물렌즈(IOL)(110)에서 발산된 빛이 시료를 비추게 되면, 대상 입자(AgNP, AuNP 및 AuNR) 앞의 장애물(큰 검은색 공으로 표현, FeMP)은 입사된 빛을 흡수한다.

[0027] 입사되는 빛을 굴절 및 산란시키고 대상 입자의 산란 강도를 최대화하기 위하여 시료를 다른 각도(예, 90°)로 회전시킨다. 응집체의 개별 입자는 다양한 조명각도에서 서로 다른 산란강도를 나타낸다. 더 높은 강도는 더 나은 이미지 수집에 도움이 되며, 최대 산란강도를 사용하여 응집체의 개별 입자는 난시 기반 최소 입방 알고리즘을 사용하여 3D로 재구성될 수 있다. 따라서 본 발명의 실시예에 따른 빔시트 초고해상도 이미징 시스템은 3D 배양세포에서 플라즈모닉 응집체를 재구성할 수 있다.

[0028] 구체적으로는 3D 이미지를 확인하기 위해 세포 내 3개의 NPs(80nm AgNPs, 100nm AuNPs, 40nm AuNRs) 응집체를 이미징 프로브로 선택한다. 선택된 응집체들은 큰 산란 및 흡수 효율을 가지며 높은 광안정성과 생체적합성을 갖추고 있다.

[0029] 조명레이저 및 대역통과 필터는 자외선-가시광선(UV-Vis) 흡수 스펙트럼을 기반으로 각각 80nm AgNP의 경우 473nm 레이저 및 488/10nm 필터, 100nm AuNP의 경우 594nm 레이저 및 610/10nm 필터, 40nm AuNRs의 경우 671nm 레이저 및 680/10nm 필터로 선택된다.

[0030] 이때, 2-3㎛ FeM는 광학적 착각을 유발하기 위한 모델 장애물로 사용되며, 특정 레이저 및 대역 통과 필터로 변조한 후에 측정된 3개의 NP의 산란 신호를 살펴보면, 각각 고유한 파장으로 관찰되고 구별됨을 알 수 있다. 즉, AgNP, AuNP 및 AuNR은 PLL 코팅된 커버슬립에 드물게 분산되어 개별 NP를 형성한다.

[0031] 이때, 다중 각도 조명 및 이미징은 개별 NP에 대해 90° 마다 수행되었고, 보다 강한 착시를 인위적으로 유도하기 위해 FeMPs와 양면테이프를 모델 장애물로 사용하였다. 또한, 사용된 커버슬립은 PLL-코팅을 통해 양전하로 변형되었다.

[0032] 도 4는 PLL 코팅 커버슬립에 FeMP(검은색 공)를 조명 장애물로 이용했을 경우의 플라즈모닉 응집체와 산란 이미지를 설명하기 위한 예시도이다. 도 4에 도시된 바와 같이, 3개의 NP 혼합 용액(AgNP, AuNP 및 AuNR)과 FeMP는 PLL-코팅된 커버슬립 위에 흡착된다. 흡착된 AgNP, AuNP 및 AuNR의 용액은 광 회절 한계에 따라 도 4의 (b) 내지 (d)에 도시된 바와 같이 여러 픽셀에 퍼져 흐릿하게 표현될 수 있다.

[0033] 그리고 도 4의 (e)에 도시된 바와 같이, 프리즘이 직육면체 형상이고 위치를 변경시키지 않은 상태 즉, 큰 FeMP(즉, 장애물)이 조명경로에 위치한 상태에서 AgNP, AuNP 및 AuNR은 가장 약한 산란강도를 나타내어 위치 파악에 따른 정확도가 낮게 형성된다.

[0034] 반면에 프리즘을 90° 회전하여 시료 회전으로 인해 FeMP(장애물)의 위치가 NP 응집체의 측면으로 변경되면, AgNP, AuNP 및 AuNR의 산란강도가 증가하므로 90° 에서 응집체 AuNP는 AgNP 및 AuNR과 직접 비교하여 조사된다. 따라서 응집된 AuNP는 90° 시료 회전에서 가장 높은 산란 강도를 나타냈다.

[0035] 즉, AuNP의 흡수, 굴절 및 산란은 AgNP 및 AuNR의 여기 효율을 감소시킬 수 있으며, 시료 회전으로 AgNP 및 AuNR은 각각 180° 및 270° 에서 직접 조명되어 최적의 신호-대-잡음비를 생성할 수 있다. 또한, 응집체의 각 NP의 최적 산란 이미지는 개별 N의 것과 유사한 초국부화 정밀도를 계산하는 데 사용했다.

[0036] 그 후 도 4의 (e)에 도시된 바와 같이, 최적의 산란 이미지와 국소화 정밀도를 사용하여 NP 응집체의 SR 이미지를 4D로 재구성할 수 있다.

[0037] 따라서, 본 발명은 플라즈모닉 응집체의 공간 초해상도 이미징에서 광학적 착시를 최소화할 수 있다.

[0038] 한편, 도 4의 (g)에 도시된 바와 같이, 3개의 NP 응집체는 편평한 커버슬립에 흡착되기 때문에 응집체의 z 좌표는 같고 NP가 크기보다 작은 거리에서 더 가까워지면 플라즈모닉 결합을 피할 수 없다.

[0039] 그러나 최적의 조명 각도에서 응집된 영역의 각 NP의 위치 파악 정밀도(sx, sy, sz)는 단일 N의 것과 유사하게 나타난다. 그 이유는 각 NP의 최대 산란 특성에 따른 대역통과 필터를 이용한 파장변조에 의해 플라즈모닉 커플링 효과를 무시할 수 있기 때문이다.

[0040] 도 5는 PVA 용액에 3D 고정화된 NP 및 FeMP 응집체와 산란이미지를 설명하기 위한 예시도이다.

[0041] 도 5에 도시된 바와 같이, 응고된 PVA 내에는 80nm AgNP (파란색 공), 100nm AuNP(노란색 공), 40nm AuNR(빨간색 막대), FeMP(검은색 공) 플라즈모닉 응집체가 존재한다. 이때, 시료 커버슬립은 PLL-코팅된 커버슬립의 3D

고정화 NP 및 FeMP에 응고된 PVA 용액을 추가하여 준비되며, 상기의 도 4와 동일한 이미지 획득 과정을 사용하여 다중-각도 조명 산란 이미지를 획득하였다. 이때, 응집체의 각 NP의 산란강도는 다양한 조명각도에서 변하며 최적의 이미지는 산란강도와 초국부화 정밀도를 비교하여 결정된다. 결과적으로 NP 응집체의 최적 4D CMLS SR 이미지를 획득할 수 있다. 다만, 도 5의 (g)에 도시된 바와 같이, 응고된 PVA의 NP는 서로 다른 z 높이를 가진다.

[0042] 도 6은 FeMP 대신 양면테이프를 다각도 조명의 장애물로 사용하였을 경우에 NP 및 FeMP 응집체와 산란이미지를 설명하기 위한 예시도이다.

[0043] 도 6에 도시된 바와 같이, 양면테이프는 표면이 거칠고 광투과율이 낮아 빛의 조도를 차단하여 빛의 방향을 왜곡시키고 빛의 세기를 감소시킨다. 또한 NP 산란강도가 크게 감소하며, 시료 회전 및 직접 NP 조명은 착시를 최소화할 수 있으므로 응집체의 고품질 4D CMLS SR 이미지를 생성한다.

[0044] 앞서 설명한 바와 같이, 커버슬립 또는 페트리 접시에 배양된 세포(2D 형태로 배양된 세포)와 비교하여 3D 형태로 배양된 세포는 복잡한 생체 내 조건에 있는 세포에 더 가까운 특징을 나타낸다.

[0045] 도 7은 PCL 나노섬유 위의 고정된 3D 배양 단일 대식세포에 대한 예시도이다.

[0046] 도 7의 (a) 및 (b)에 도시된 바와 같이, RAW264.7 대식세포 세포는 PCL 나노섬유 막에 배양되어 3D 세포 형태를 형성한다.

[0047] PCL 나노섬유는 세포 성장 3D 모델을 위한 지지 역할을 하며, PCL 나노섬유막의 산란 신호는 파장-변조를 통해 완전히 제거될 수 있다. 이는 PCL 나노섬유막이 세포에서 NP의 바탕신호를 증가시키지 않았음을 의미한다.

[0048] 도 7의 (b)에는 RAW264.7 대식세포의 미토콘드리아(녹색)와 핵(파란색)을 형광염료로 염색한 것으로서, 3D 세포 형태를 확인하기 위해 z 방향에서 10 nm 간격으로 광학절편을 수행했다. 미토콘드리아와 핵의 z-높이는 편평한 매트릭스에서 성장한 세포의 높이보다 컸다. 이는 세포가 3D 모델로 배양되었음을 의미한다.

[0049] 빔시트 초고해상도 기술의 특징은 광손상 감소, 광표백 감소, z-슬라이싱에 의한 전체 세포 이미징과 같은 3D 배양 세포 이미징에 도움이 된다.

[0050] 따라서, 본 발명의 실시예에서는 DIC 및 LS 검출모드를 사용하여 세포를 관찰하고, 3D 배양세포를 3개의 NP 및 FeMP와 함께 4시간 동안 배양 후, 3개의 NP로 구성된 빔시트 초고해상도 이미징 시스템을 사용하여 NP 응집체를 검출했다(도7의 c및 d참조).

[0051] 도 8은 다중 조명 각도(0° , 90° , 180° 및 270°)에서 응집된 NP의 일련의 산란 이미지를 나타내는 예시도이다.

[0052] 도 8에 도시된 바와 같이, 응집체의 AgNP는 조명각 0° 에서 가장 높은 산란 강도와 최적의 위치정밀도를 나타내는 반면, 다른 조명각(0° , 90° , 180° 및 270°). 0° 의 조명 각도에서 응집된 AgNP의 위치 파악 정밀도는 개별 AgNP의 위치 정확도에 가까웠다. 따라서 0° 의 조명각에서 응집된 AgN의 산란 이미지는 착시를 최소화하기 위해 4D CMLS 이미지를 구성하는 데 사용된다. 동일한 원리에 기초하여 각각 90° 및 180° 의 조명 각도에서 산란 이미지를 갖는 응집된 AuNP 및 AuNR의 3D 이미지가 구성된다. 이 3개의 최적의 3D 구성 이미지가 병합되어 세포 내 플라즈모닉 응집체의 공간 분포를 표시한다). 따라서 개발된 4D CMLS 이미징 시스템은 다각도 조명 이미징을 사용하여 착시를 최소화하여 응집된 영역에서 NP의 공간 분포를 해결할 수 있다.

[0054] 본 발명은 도면에 도시된 실시예를 참고로 하여 설명되었으나 이는 예시적인 것에 불과하며, 당해 기술이 속하는 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 이로부터 다양한 변형 및 균등한 타 실시예가 가능하다는 점을 이해할 것이다. 따라서 본 발명의 진정한 기술적 보호범위는 아래의 특허청구범위의 기술적 사상에 의하여 정해져야 할 것이다.

부호의 설명

[0055] 100 : 빔시트 초고해상도 이미징 시스템

110 : 조명 대물렌즈(IOL)

120 : 감지 대물렌즈(DOL)

130 : 미분간섭 현미경(DIC)

140 : 프리즘 유닛

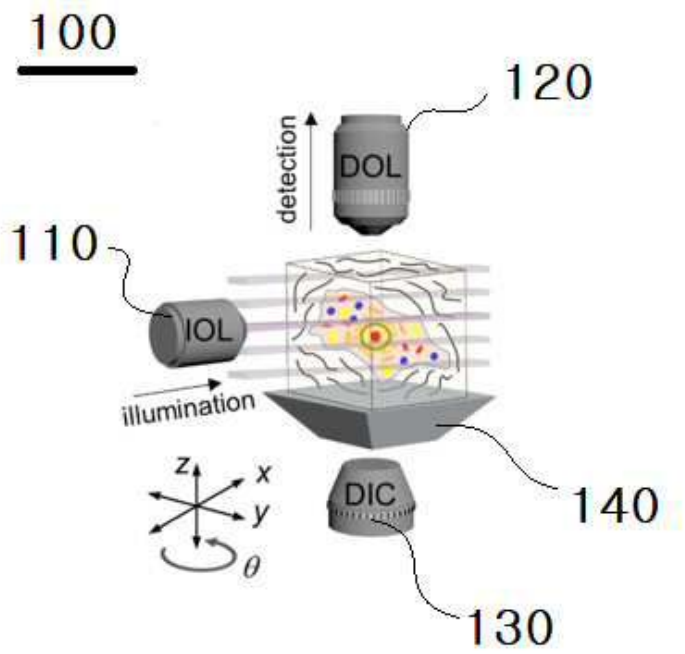
141 : 프리즘

142 : 회전식 홀더

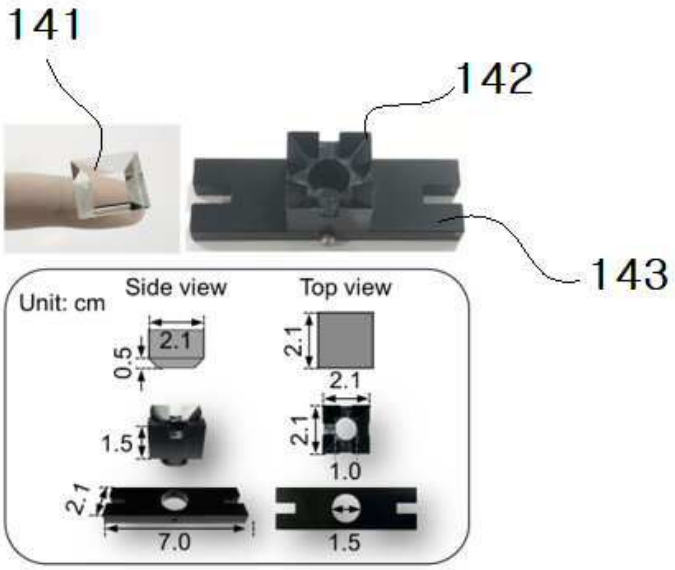
143 : 베이스 홀더

도면

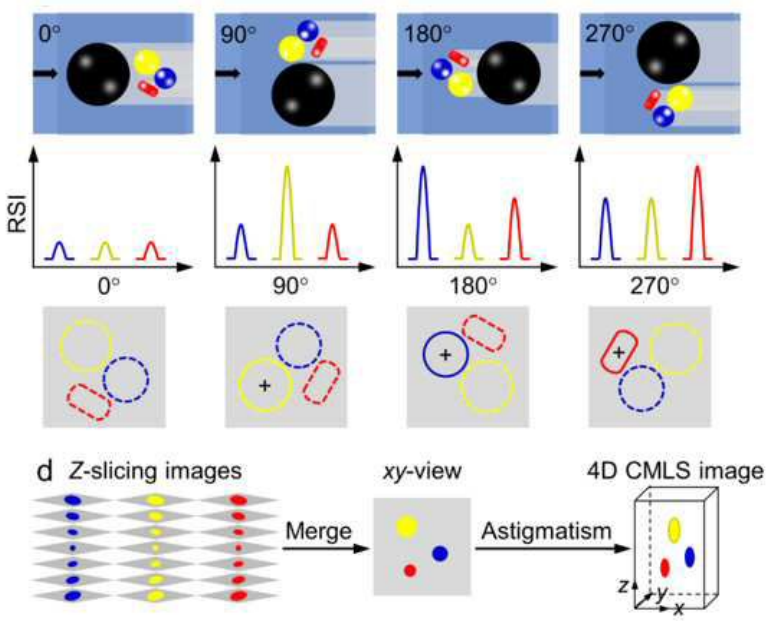
도면1



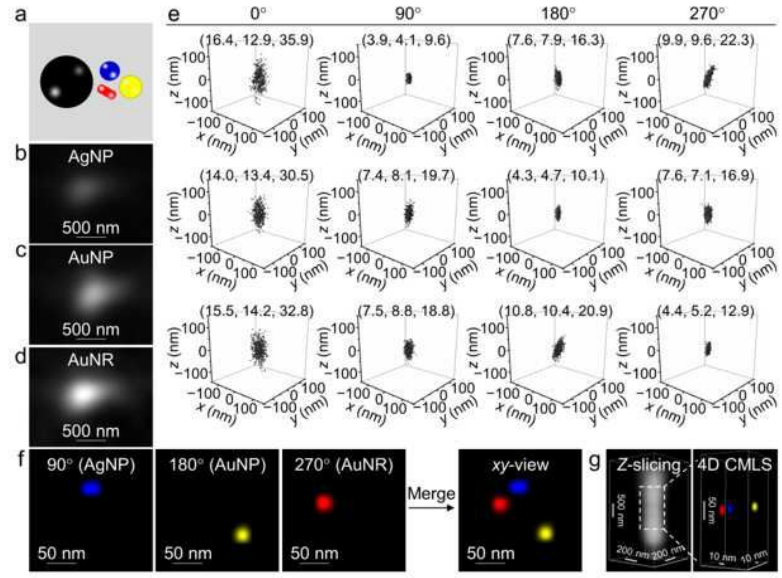
도면2


141
142
143
Unit: cm
Side view
Top view
2.1
0.5
1.5
2.1
7.0
2.1
2.1
2.1
1.0
1.5

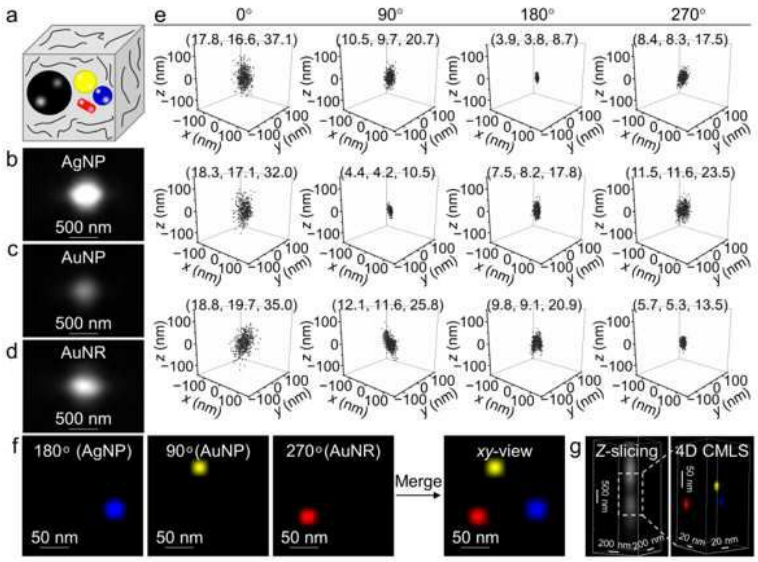
도면3


0°
90°
180°
270°
RSI
0°
90°
180°
270°
d Z-slicing images
Merge
xy-view
Astigmatism
4D CMLS image
z
y
x

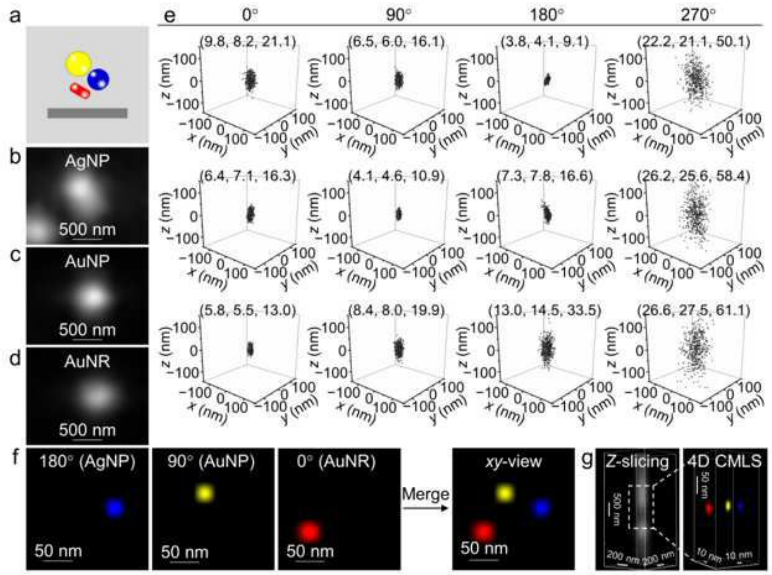
도면4


a
b
AgNP
500 nm
c
AuNP
500 nm
d
AuNR
500 nm
e
0°
90°
180°
270°
(16.4, 12.9, 35.9)
(3.9, 4.1, 9.6)
(7.6, 7.9, 16.3)
(9.9, 9.6, 22.3)
(14.0, 13.4, 30.5)
(7.4, 8.1, 19.7)
(4.3, 4.7, 10.1)
(7.6, 7.1, 16.9)
(15.5, 14.2, 32.8)
(7.5, 8.8, 18.8)
(10.8, 10.4, 20.9)
(4.4, 5.2, 12.9)
f
90° (AgNP)
180° (AuNP)
270° (AuNR)
Merge
xy-view
50 nm
g
Z-slicing
4D CMLS

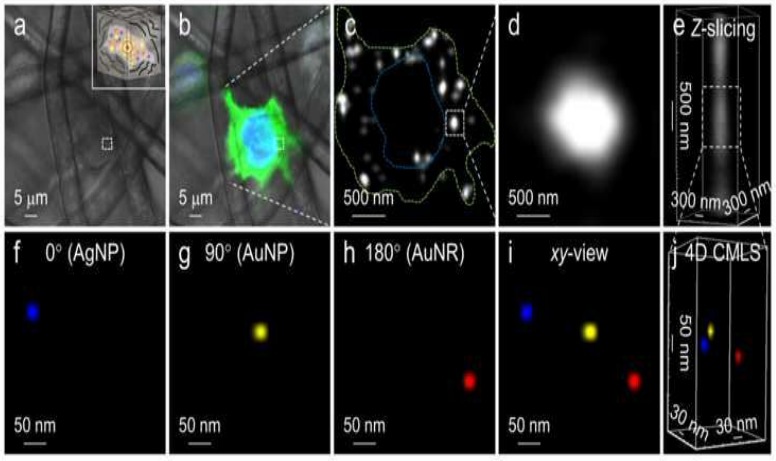
도면5


a
b
AgNP
500 nm
c
AuNP
500 nm
d
AuNR
500 nm
e
0°
90°
180°
270°
(17.8, 16.6, 37.1)
(10.5, 9.7, 20.7)
(3.9, 3.8, 8.7)
(8.4, 8.3, 17.5)
(18.3, 17.1, 32.0)
(4.4, 4.2, 10.5)
(7.5, 8.2, 17.8)
(11.5, 11.6, 23.5)
(18.8, 19.7, 35.0)
(12.1, 11.6, 25.8)
(9.8, 9.1, 20.9)
(5.7, 5.3, 13.5)
f
180° (AgNP)
90°(AuNP)
270°(AuNR)
Merge
xy-view
50 nm
g
Z-slicing
4D CMLS

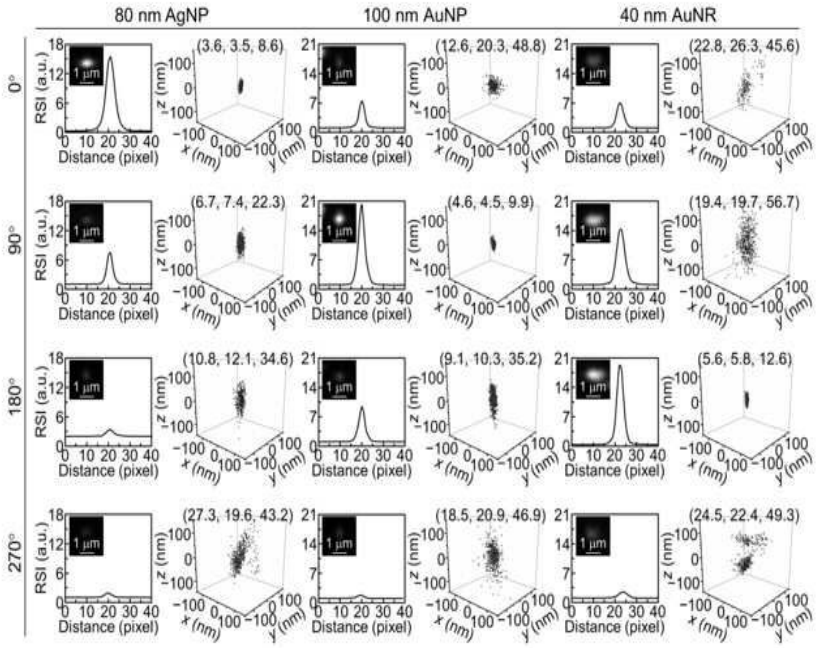
도면6


a
b
AgNP
500 nm
c
AuNP
500 nm
d
AuNR
500 nm
e
0°
90°
180°
270°
(9.8, 8.2, 21.1)
(6.5, 6.0, 16.1)
(3.8, 4.1, 9.1)
(22.2, 21.1, 50.1)
(6.4, 7.1, 16.3)
(4.1, 4.6, 10.9)
(7.3, 7.8, 16.6)
(26.2, 25.6, 58.4)
(5.8, 5.5, 13.0)
(8.4, 8.0, 19.9)
(13.0, 14.5, 33.5)
(26.6, 27.5, 61.1)
f
180° (AgNP)
90° (AuNP)
0° (AuNR)
Merge
xy-view
50 nm
g
Z-slicing
4D CMLS

도면7


a
5 μm
b
5 μm
c
500 nm
d
500 nm
e Z-slicing
500 nm
300 nm
300 nm
f 0° (AgNP)
50 nm
g 90° (AuNP)
50 nm
h 180° (AuNR)
50 nm
i xy-view
50 nm
j 4D CMLS
50 nm
30 nm
30 nm

도면8


80 nm AgNP
100 nm AuNP
40 nm AuNR
0°
90°
180°
270°
RSI (a.u.)
Distance (pixel)
1 μm
(3.6, 3.5, 8.6)
(12.6, 20.3, 48.8)
(22.8, 26.3, 45.6)
(6.7, 7.4, 22.3)
(4.6, 4.5, 9.9)
(19.4, 19.7, 56.7)
(10.8, 12.1, 34.6)
(9.1, 10.3, 35.2)
(5.6, 5.8, 12.6)
(27.3, 19.6, 43.2)
(18.5, 20.9, 46.9)
(24.5, 22.4, 49.3)
x (nm)
y (nm)
z (nm)