(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0067743
(43) 공개일자 2024년05월17일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G02B 21/00 (2022.01) *G02B 21/04* (2006.01)
(52) CPC특허분류
G02B 21/0076 (2013.01)
G02B 21/0032 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0149093
(22) 출원일자 2022년11월09일
심사청구일자 2022년11월09일

(71) 출원인
울산과학기술원
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50
(72) 발명자
박정훈
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50 울산과학기술원
정윤돈
울산광역시 울주군 언양읍 유니스트길 50 울산과학기술원
(74) 대리인
제일특허법인(유)

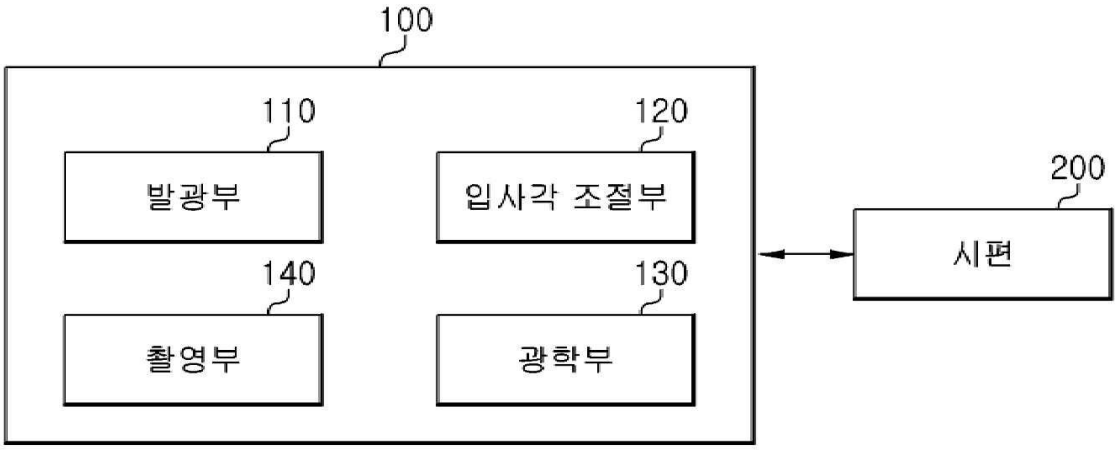
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **광학 현미경 및 이의 광 입사각 조절방법**

(57) 요 약

시편의 관찰영역 별로 서로 다른 입사각을 갖는 입사광을 출력할 수 있는 광학 현미경이 제공된다. 광학 현미경은 시편의 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 격자패턴을 이용하여 발광부에서 방출된 광의 입사각을 조절하고, 입사각이 조절된 하나 이상의 입사광을 시편에 출력할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
G02B 21/008 (2013.01)
G02B 21/04 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	1711170194
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	2022.03.01 ~ 2023.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

광을 발생시키는 발광부;

시편의 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 격자패턴을 이용하여 상기 발광부에서 방출된 광의 입사각을 조절하고, 입사각이 조절된 하나 이상의 입사광을 출력하는 입사각 조절부; 및

상기 하나 이상의 입사광을 상기 시편에 출력하는 광학부를 포함하는 광학 현미경.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 입사각 조절부는,

일면에 표시되는 상기 격자패턴을 이용하여 상기 광을 서로 다른 각도로 회절시켜 다수의 회절광을 출력하는 파면제어부;

다수의 슬릿을 포함하고, 상기 파면제어부에서 출력된 상기 다수의 회절광을 상기 다수의 슬릿을 통해 선택적으로 통과시켜 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 상기 하나 이상의 입사광을 출력하는 필터부; 및

상기 시편의 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대한 광 침투 깊이를 산출하고, 산출된 상기 광 침투 깊이에 기초하여 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 상기 격자패턴을 생성하여 상기 파면제어부로 출력하는 동작제어부를 포함하는 광학 현미경.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 동작제어부는,

상기 파면제어부에 표시되는 상기 격자패턴의 표시주기를 조절하는 광학 현미경.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 동작제어부는,

상기 다수의 슬릿 각각의 위치를 조절하여 상기 하나 이상의 입사광 각각의 입사각을 조절하는 광학 현미경.

청구항 5

제2항에 있어서,

상기 입사각 조절부는,

상기 파면제어부와 상기 필터부 사이에 배치되어 상기 파면제어부에서 출력된 상기 다수의 회절광이 상기 필터부의 서로 다른 위치에 포커싱 되도록 하고,

상기 필터부의 후단에 배치되어 상기 다수의 슬릿을 통해 출력되는 상기 하나 이상의 입사광이 상기 광학부의

서로 다른 위치에 포커싱 되도록 하는 복수의 렌즈를 더 포함하는 광학 현미경.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 입사각 조절부는,

MEMS 변형 미러(deformable mirror), 액정 공간 광 변조기(spatial light modulator), 디지털 마이크로 미러 및 위상 플레이트(phase plate) 중 적어도 하나를 포함하는 광학 현미경.

청구항 7

제1항에 있어서,

상기 하나 이상의 입사광은,

상기 광학부와 상기 시편 사이의 임계각보다 작은 제1입사각을 갖는 제1입사광;

상기 임계각보다 작고, 상기 제1입사각보다 큰 제2입사각을 갖는 제2입사광; 및

상기 임계각보다 큰 제3입사각을 갖는 제3입사광을 포함하는 광학 현미경.

청구항 8

제7항에 있어서,

상기 시편에 대한 상기 제1입사광의 침투 깊이는 상기 제2입사광 및 제3입사광 각각의 침투 깊이보다 깊고,

상기 시편에 대한 상기 제2입사광의 침투 깊이는 상기 제3입사광의 침투 깊이보다 깊은 광학 현미경.

청구항 9

제7항에 있어서,

상기 광학부는,

상기 제1입사광, 제2입사광 및 제3입사광을 상기 시편에 동시에 출력하는 광학 현미경.

청구항 10

제7항에 있어서,

상기 광학부는,

상기 제1입사광, 제2입사광 및 제3입사광을 상기 시편에 순차적으로 출력하는 광학 현미경.

청구항 11

시편의 하나 이상의 관찰영역 각각에 대한 광 침투 깊이를 산출하는 단계;

산출된 상기 광 침투 깊이에 기초하여 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 격자패턴을 생성하는 단계;

상기 격자패턴에 기초하여 발광부에서 방출된 광을 서로 다른 각도로 회절시켜 다수의 회절광을 출력하는 단계; 및

상기 다수의 회절광 중 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 일부 회절광을 선택적으로 통과시켜 하나 이상의 입사광을 출력하는 단계를 포함하는 광학 현미경의 광 입사각 조절방법.

청구항 12

제11항에 있어서,

상기 다수의 회절광을 출력하는 단계는,

파면제어부의 일면에 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 상기 격자패턴을 표시하는 단계; 및

상기 격자패턴의 표시주기를 조절하여 상기 다수의 회절광을 출력하는 단계를 포함하는 광학 현미경의 광 입사각 조절방법.

청구항 13

제11항에 있어서,

상기 하나 이상의 입사광을 출력하는 단계는,

필터부의 다수의 슬릿 각각의 위치를 조절하여 상기 하나 이상의 입사광 각각의 입사각을 조절하는 단계를 포함하는 광학 현미경의 광 입사각 조절방법.

청구항 14

컴퓨터 프로그램이 저장된 컴퓨터 판독 가능 기록매체로서,

상기 컴퓨터 프로그램은,

시편의 하나 이상의 관찰영역 각각에 대한 광 침투 깊이를 산출하는 단계;

산출된 상기 광 침투 깊이에 기초하여 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 격자패턴을 생성하는 단계;

상기 격자패턴에 기초하여 발광부에서 방출된 광을 서로 다른 각도로 회절시켜 다수의 회절광을 출력하는 단계; 및

상기 다수의 회절광 중 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 일부 회절광을 선택적으로 통과시켜 하나 이상의 입사광을 출력하는 단계를 수행하기 위한 명령어를 포함하는 컴퓨터 판독 가능한 기록매체.

청구항 15

컴퓨터 판독 가능한 기록매체에 저장되어 있는 컴퓨터 프로그램으로서,

상기 컴퓨터 프로그램은,

시편의 하나 이상의 관찰영역 각각에 대한 광 침투 깊이를 산출하는 단계;

산출된 상기 광 침투 깊이에 기초하여 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 격자패턴을 생성하는 단계;

상기 격자패턴에 기초하여 발광부에서 방출된 광을 서로 다른 각도로 회절시켜 다수의 회절광을 출력하는 단계; 및

상기 다수의 회절광 중 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 일부 회절광을 선택적으로 통과시켜 하나 이상의 입사광을 출력하는 단계를 수행하기 위한 명령어를 포함하는 컴퓨터 프로그램.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 시편(sample)의 관찰영역 별로 서로 다른 입사각을 갖는 입사광을 출력하여 시편에서 방출되는 형광 또는 산란광을 측정할 수 있는 광학 현미경 및 이의 광 입사각 조절방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 현미경을 이용해 시편, 예컨대 관찰대상의 형광 신호를 관측하기 위해서는 시편의 형광 입자를 여기(excitation)시킬 수 있는 조명, 즉 광이 시편에 제공되어야 한다.

[0003] 일반적으로 사용되는 형광 현미경의 경우, 광이 시편의 전체 영역을 투과하도록 제공되며, 이로 인해 시편이 과도한 광에 노출되게 된다. 이에, 세포나 조직이 많은 시편이 광에 노출될 경우 광 독성(photo toxicity)에 의해 시편이 손상되는 문제가 발생되고, 특히 오가닉(organic) 기반의 시편은 광에 오래 노출될수록 형광 신호가 점점 약해지는 광 표백 효과(photo bleaching effect)가 일어나는 문제가 있었다.

[0004] 이에, 최근에는 서로 다른 두 매질 사이에 굴절률이 달라지는 경계면에서 빛이 전반사 현상을 일으킬 때 발생하는 감쇠장(evanescent field)을 시편에 제공되는 광으로 이용하는 전반사 형광 현미경(total internal reflection fluorescence microscopy)이 개발되고 있다.

[0005] 감쇠장은 시편으로 출력되는 광의 입사 각도를 조절함으로써 그 투과 깊이가 달라지는 특징이 있다. 또한, 감쇠장은 반사면에서 멀어질수록 그 세기가 지수적으로 감쇠하기 때문에, 시편에 광이 투과되는 깊이가 수백 나노미터 정도로 아주 얕다는 특징이 있다.

[0006] 이러한 감쇠장의 특징에 따라 전반사 형광 현미경에서는 시편의 표면에 있는 형광 입자에만 제한적으로 광을 투과시킬 수 있어, 시편이 광 독성에 의해 손상되거나 광 표백 효과를 받는 것을 최소화할 수 있다.

[0007] 그러나, 종래의 전반사 형광 현미경은 시편으로 출력되는 광에 대해 하나의 입사각 조절을 통해 감쇠장을 발생시키고 있어, 시편에 복수개의 형광 입자가 서로 다른 깊이에 존재하는 경우에 이를 정확하게 관측하는데 어려움이 있다.

[0008] 이에, 종래의 전반사 형광 현미경에서는 시편에 출력되는 광의 입사각을 순차적으로 조절하여 시편에 광이 투과되는 깊이를 다르게 하는 방식을 사용하고 있다. 그러나, 이러한 방식은 전반사 형광 현미경의 구성을 복잡하게 하고, 시편에 순차적으로 출력되는 광 각각마다 시편 이미지를 획득하여 관측한 후 이들을 다시 하나의 이미지로 합성하는 이미지 후처리가 필요하여 실시간으로 시편에 대한 이미지를 획득하여 관측하는 데 어려움이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0009] (특허문헌 0001) 한국공개특허 제10-2017-0062750호(2017.06.08.)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 본 발명은 시편의 관찰영역 별로 서로 다른 입사각을 갖는 입사광을 출력하여 시편에서 방출되는 형광 또는 산란광을 측정할 수 있는 광학 현미경 및 이의 광 입사각 조절방법을 제공하고자 하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0011] 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 현미경은, 광을 발생시키는 발광부; 시편의 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 격자패턴을 이용하여 상기 발광부에서 방출된 광의 입사각을 조절하고, 입사각이 조절된 하나 이상의 입사광을 출력하는 입사각 조절부; 및 상기 하나 이상의 입사광을 상기 시편에 출력하는 광학부를 포함한다.

[0012] 상기 입사각 조절부는, 일면에 표시되는 상기 격자패턴을 이용하여 상기 광을 서로 다른 각도로 회절시켜 다수의 회절광을 출력하는 파면제어부; 다수의 슬릿을 포함하고, 상기 파면제어부에서 출력된 상기 다수의 회절광을 상기 다수의 슬릿을 통해 선택적으로 통과시켜 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 상기 하나 이상의

입사광을 출력하는 필터부; 및 상기 시편의 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대한 광 침투 깊이를 산출하고, 산출된 상기 광 침투 깊이에 기초하여 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 상기 격자패턴을 생성하여 상기 파면제어부로 출력하는 동작제어부를 포함한다.

[0013] 여기서, 상기 동작제어부는, 상기 파면제어부에 표시되는 상기 격자패턴의 표시주기를 조절한다.

[0014] 또한, 상기 동작제어부는, 상기 다수의 슬릿 각각의 위치를 조절하여 상기 하나 이상의 입사광 각각의 입사각을 조절한다.

[0015] 또한, 상기 입사각 조절부는, 상기 파면제어부와 상기 필터부 사이에 배치되어 상기 파면제어부에서 출력된 상기 다수의 회절광이 상기 필터부의 서로 다른 위치에 포커싱 되도록 하고, 상기 필터부의 후단에 배치되어 상기 다수의 슬릿을 통해 출력되는 상기 하나 이상의 입사광이 상기 광학부의 서로 다른 위치에 포커싱 되도록 하는 복수의 렌즈를 더 포함한다.

[0016] 또한, 상기 입사각 조절부는, MEMS 변형 미러(deformable mirror), 액정 공간 광 변조기(spatial light modulator), 디지털 마이크로 미러 및 위상 플레이트(phase plate) 중 적어도 하나를 포함한다.

[0017] 상기 하나 이상의 입사광은, 상기 광학부와 상기 시편 사이의 임계각보다 작은 제1입사각을 갖는 제1입사광; 상기 임계각보다 작고, 상기 제1입사각보다 큰 제2입사각을 갖는 제2입사광; 및 상기 임계각보다 큰 제3입사각을 갖는 제3입사광을 포함한다.

[0018] 여기서, 상기 시편에 대한 상기 제1입사광의 침투 깊이는 상기 제2입사광 및 제3입사광 각각의 침투 깊이보다 깊고, 상기 시편에 대한 상기 제2입사광의 침투 깊이는 상기 제3입사광의 침투 깊이보다 깊다.

[0019] 상기 광학부는, 상기 제1입사광, 제2입사광 및 제3입사광을 상기 시편에 동시에 출력한다.

[0020] 또한, 상기 광학부는, 상기 제1입사광, 제2입사광 및 제3입사광을 상기 시편에 순차적으로 출력한다.

[0021] 본 발명의 실시예에 따른 광학 현미경의 광 입사각 조절방법은, 시편의 하나 이상의 관찰영역 각각에 대한 광 침투 깊이를 산출하는 단계; 산출된 상기 광 침투 깊이에 기초하여 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 격자패턴을 생성하는 단계; 상기 격자패턴에 기초하여 발광부에서 방출된 광을 서로 다른 각도로 회절시켜 다수의 회절광을 출력하는 단계; 및 상기 다수의 회절광 중 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 일부 회절광을 선택적으로 통과시켜 하나 이상의 입사광을 출력하는 단계를 포함한다.

[0022] 상기 다수의 회절광을 출력하는 단계는, 파면제어부의 일면에 상기 하나 이상의 관찰영역 각각에 대응되는 상기 격자패턴을 표시하는 단계; 및 상기 격자패턴의 표시주기를 조절하여 상기 다수의 회절광을 출력하는 단계를 포함한다.

[0023] 상기 하나 이상의 입사광을 출력하는 단계는, 필터부의 다수의 슬릿 각각의 위치를 조절하여 상기 하나 이상의 입사광 각각의 입사각을 조절하는 단계를 포함한다.

발명의 효과

[0024] 본 발명에 따른 광학 현미경은 발광부에서 출력되는 하나의 광으로부터 시편의 관찰영역 별로 서로 다른 입사각을 갖는 다수의 입사광을 생성하여 시편에 출력함으로써, 각각의 입사광이 시편에 여기(excitation)되는 깊이가 달라지도록 제어할 수 있다.

[0025] 이에, 본 발명의 광학 현미경이 전반사 형광 현미경에 적용되는 경우에, 시편에 서로 다른 입사각의 다수의 입사광을 제공함으로써, 시편의 서로 다른 깊이에 존재하는 형광 입자를 선택적으로 관측할 수 있어 형광 입자에서 방출되는 형광신호를 포함하는 시편 이미지를 실시간 고속으로 처리할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0026] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 광학 현미경을 나타내는 블록도이다.

도 2는 본 발명의 실시예에 따른 광학 현미경에서의 광 경로를 나타내는 도면이다.

도 3 내지 도 6은 본 발명의 광학 현미경의 동작에 대한 실시예들을 나타내는 도면들이다.

도 7은 본 발명의 실시예에 따른 광학 현미경의 광 입사각 조절방법에 대한 순서도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0027] 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.

[0028] 본 발명의 실시예들을 설명함에 있어서 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략할 것이다. 그리고 후술되는 용어들은 본 발명의 실시예에서의 기능을 고려하여 정의된 용어들로서 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 그러므로 그 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다.

[0029] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시 예에 대하여 상세하게 설명한다.

[0030] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 광학 현미경을 나타내는 블록도이고, 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 광학 현미경에서의 광 경로를 나타내는 도면이고, 도 3 내지 도 6은 본 발명의 광학 현미경의 동작에 대한 실시예들을 나타내는 도면들이다.

[0031] 이하에서는, 설명의 편의를 위하여 광학 현미경 중 시편의 다양한 깊이에서 방출되는 다수의 형광을 측정하는 전반사 형광 현미경을 예로 설명하기로 한다. 그러나, 본 발명은 이에 제한되지 않으며, 본 발명은 시편에서 방출되는 다수의 산란광을 측정하는 광학 현미경에서 적용될 수도 있다.

[0032] 도 1 및 도 2를 참조하면, 본 실시예의 광학 현미경(100)은 시편(200)에 서로 다른 입사각으로 광을 제공하고, 그에 따라 상기 시편(200)에서 방출되는 하나 이상의 형광신호(FL)를 수신하여 이미지화 함으로써, 시편(200)에 대한 정보를 획득할 수 있다. 이러한 광학 현미경(100)은 발광부(110), 입사각 조절부(120), 광학부(130) 및 촬영부(140)를 포함할 수 있다.

[0033] 발광부(110)는 광원(111), 시준렌즈(112) 및 반사미러(113)를 포함할 수 있다.

[0034] 광원(111)은 시편(200)을 투과할 수 있는 광을 생성하여 출력할 수 있다. 광원(111)에서 생성되는 광은 시편(200)의 형광입자를 여기(excitation)시킬 수 있는 여기광(L1)일 수 있으나, 이에 제한되지는 않는다.

[0035] 시준(collimating)렌즈(112)는 광원(111)에서 출력되는 여기광(L1)이 분산되지 않고 진행방향을 따라 평행해지도록 할 수 있다.

[0036] 반사미러(113)는 시준렌즈(112)를 통과한 여기광(L1)을 소정 각도로 반사시킬 수 있다. 반사미러(113)에서 반사된 여기광(L1)은 입사각 조절부(120)로 제공될 수 있다.

[0037] 입사각 조절부(120)는 발광부(110)에서 출력된 여기광(L1)으로부터 서로 다른 입사각을 갖는 다수의 입사광(IL1, IL2, IL3)을 생성하여 출력할 수 있다. 여기서, 입사각은 후술될 광학부(130)를 통해 시편(200)에 제공되는 광의 입사각도를 의미할 수 있다.

[0038] 입사각 조절부(120)는 파면제어부(121), 필터부(122), 동작제어부(124) 및 복수의 렌즈들, 예컨대 제1렌즈(125), 제2렌즈(126) 및 제3렌즈(127)를 포함할 수 있다.

[0039] 파면제어부(121)는 여기광(L1)으로부터 다수의 회절광을 생성하여 출력할 수 있다. 파면제어부(121)는 일면, 예컨대 발광부(110)에서 출력된 여기광(L1)이 입사되는 입사면에 표시되는 하나 이상의 격자(grating)패턴을 이용하여 상기 여기광(L1)을 다수의 각도로 회절시키고, 그에 따라 다수의 회절광을 출력할 수 있다.

[0040] 이러한 파면제어부(121)는 MEMS 변형 미러(deformable mirror), 액정 공간 광 변조기(spatial light modulator), 디지털 마이크로 미러 및 위상 플레이트(phase plate) 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.

[0041] 여기서, 파면제어부(121)에 표시되는 하나 이상의 격자패턴은 시편(200)의 다수의 관찰영역, 예컨대 시편(200)에 대해 서로 다른 깊이로 관찰하고자 하는 영역들 각각에 대응될 수 있으며, 각 관찰영역에 대응되는 격자패턴은 서로 다른 패턴형태를 가질 수 있다.

[0042] 도 3을 참조하면, 하나 이상의 격자패턴은 각각이 서로 다른 패턴 형태를 갖는 제1격자패턴(G1), 제2격자패턴(G2) 및 제3격자패턴(G3)을 포함할 수 있다. 이들 격자패턴은 시편(200)의 다수의 관찰영역 중 서로 다른 관찰

영역에 대응될 수 있다.

[0043] 예컨대, 제1격자패턴(G1)은 시편(200)의 중심영역, 예를 들어 세포의 핵이 위치하는 영역에 대응되는 패턴일 수 있다. 제2격자패턴(G2)은 시편(200)의 중심영역을 둘러싸는 영역, 예컨대 핵을 제외한 세포영역에 대응되는 패턴일 수 있다. 또한, 제3격자패턴(G3)은 시편(200)의 세포영역을 제외한 나머지 영역에 대응되는 패턴일 수 있다.

[0044] 이러한 제1격자패턴(G1), 제2격자패턴(G2) 및 제3격자패턴(G3) 각각은 후술될 동작제어부(124)에서 생성되어 파면제어부(121)에 제공될 수 있다. 이때, 동작제어부(124)는 하나 이상의 격자패턴의 표시 주기를 제어할 수 있으며, 이에 따라 파면제어부(121)는 제1격자패턴(G1) 내지 제3격자패턴(G3)이 동시에 표시되거나 또는 제1격자패턴(G1) 내지 제3격자패턴(G3)이 순차적으로 표시될 수 있다.

[0045] 다시 도 2를 참조하면, 제1렌즈(125)는 파면제어부(121)와 필터부(122) 사이에 배치될 수 있다. 제1렌즈(125)는 파면제어부(121)에서 출력되는 다수의 회절광이 필터부(122)의 서로 다른 위치에 포커싱(focusing) 되도록 할 수 있다.

[0046] 필터부(122)는 제1렌즈(125)를 통해 입사된 다수의 회절광 중 특정 위치의 회절광을 선택적으로 통과시켜 하나 이상의 입사광, 예컨대 제1입사광(IL1), 제2입사광(IL2) 및 제3입사광(IL3)을 출력할 수 있다.

[0047] 여기서, 파면제어부(121)로부터 필터부(122)에 입사되는 다수의 회절광은 상기 파면제어부(121)에 표시되는 하나 이상의 격자패턴에 의해 발생된 광이므로, 필터부(122)에서 출력되는 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3) 각각은 대응되는 회절광을 발생시킨 격자패턴에 따라 시편(200)의 다수의 관찰영역 각각에 대응되는 광일 수 있다. 따라서, 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3)은 후술될 광학부(130)를 통해 시편(200)의 서로 다른 영역에 출력될 수 있다.

[0048] 또한, 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3)은 대응되는 회절광의 회절각도에 따라 서로 다른 입사각을 가질 수 있다. 이때, 제1입사광(IL1)의 입사각은 제2입사광(IL2) 및 제3입사광(IL3) 각각의 입사각보다 작고, 제2입사광(IL2)의 입사각은 제3입사광(IL3)의 입사각보다 작을 수 있다. 또한, 제1입사광(IL1)의 입사각과 제2입사광(IL2)의 입사각은 임계각보다 작고, 제3입사광(IL3)의 입사각은 임계각보다 클 수 있다. 여기서, 임계각은 후술될 광학부(130)에서 출력되는 광이 시편(200)에 입사될 때 굴절각이 90도가 되어 전반사가 일어나는 입사각을 의미할 수 있다.

[0049] 필터부(122)는 일면, 즉 다수의 회절광이 입사되는 일면에 길이 방향으로 배열된 다수의 슬릿(123)을 포함할 수 있다. 이에 도 4에 도시된 바와 같이, 필터부(122)에 입사되는 다수의 회절광은, 도 5에 도시된 바와 같이 필터부(122)의 다수의 슬릿(123)에 의해 특정 위치의 광만이 필터부(122)를 통과하여 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3)으로 출력될 수 있다.

[0050] 한편, 필터부(122)의 다수의 슬릿(123)은 동작제어부(124)에 의해 그 위치 또는 개폐가 조절될 수 있으며, 이로 인해 필터부(122)를 통과한 회절광, 즉 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3) 각각의 입사각이 달라질 수 있다.

[0051] 예컨대, 다수의 슬릿(123)은 필터부(122)의 일면에서 일 방향으로 이동되도록 구성되거나 또는 셔터(shutter) 방식으로 개폐되도록 구성될 수 있다. 이에, 동작제어부(124)는 다수의 슬릿(123)의 위치를 조절하거나 또는 이들의 개폐를 제어함으로써, 다수의 슬릿(123)을 통과하는 회절광을 변경할 수 있으며, 이로 인해 필터부(122)에서 출력되는 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3) 각각의 입사각이 달라질 수 있다.

[0052] 동작제어부(124)는 시편(200)의 다수의 관찰영역들 각각에 대응되는 격자패턴을 생성하고, 이를 파면제어부(121)에 제공하여 표시되도록 할 수 있다. 이때, 동작제어부(124)는 격자패턴의 표시주기를 제어할 수 있다.

[0053] 또한, 동작제어부(124)는 필터부(122)의 다수의 슬릿(123)의 위치를 조절하거나 또는 다수의 슬릿(123)의 개폐를 제어할 수 있다.

[0054] 제2렌즈(126) 및 제3렌즈(127)는 필터부(122)와 광학부(130) 사이에 배치될 수 있다. 제2렌즈(126) 및 제3렌즈(127)는 필터부(122)에서 출력된 하나 이상의 입사광, 즉 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3) 각각이 광학부(130)의 대물렌즈(131)에 서로 다른 위치에 포커싱 되도록 할 수 있다.

[0055] 이와 같이, 본 실시예의 입사각 조절부(120)는 시편(200)의 다수의 관찰영역 각각에 대응되는 하나 이상의 격자패턴을 통해 발광부(110)에서 출력된 여기광(L1)에서 서로 다른 입사각을 갖는 하나 이상의 입사광을 생성하여 출력할 수 있다.

[0056] 한편, 본 실시예의 입사각 조절부(120)는 파면제어부(121)에 3개의 격자패턴을 표시하고, 이를 통해 회절된 광으로부터 필터부(122)를 통해 각각이 서로 다른 입사각을 갖는 3개의 입사광을 출력하는 것을 예로 설명하였다. 그러나, 본 발명은 이에 제한되지 않으며, 예컨대 파면제어부(121)에는 3개 이상의 격자패턴이 표시될 수 있으며, 필터부(122)에서는 3개 이상의 격자패턴을 통해 회절된 광으로부터 각각이 서로 다른 입사각을 갖는 3개 이상의 입사광을 출력할 수도 있다.

[0057] 즉, 본 실시예의 입사각 조절부(120)는 파면제어부(121)에 표시되는 격자패턴의 개수 또는 필터부(122)의 슬릿(123) 위치나 개폐 조절을 통해 후술될 광학부(130)를 통해 시편(200)에 제공되는 입사광, 즉 각각이 서로 다른 입사각을 갖는 입사광의 수를 조절할 수 있다.

[0058] 광학부(130)는 대물렌즈(131), 다이크로익(dichroic) 미러(132) 및 집광렌즈(133)를 포함할 수 있다.

[0059] 대물렌즈(131)는 입사각 조절부(120)로부터 제공되는 하나 이상의 입사광, 즉 제1입사광(IL1), 제2입사광(IL2) 및 제3입사광(IL3)을 시편(200)에 제공할 수 있다.

[0060] 전술한 바와 같이, 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3) 각각은 시편(200)에 대해 서로 다른 입사각을 가질 수 있으며, 시편(200)의 서로 다른 영역, 예컨대 다수의 관찰영역 각각에 제공될 수 있다. 이에, 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3) 각각은 시편(200) 내부로 침투되는 깊이가 달라질 수 있다.

[0061] 도 6을 참조하면, 대물렌즈(131)와 시편(200) 사이에는 상기 시편(200)의 일면을 덮는 커버글라스(210)가 배치될 수 있다. 또한, 대물렌즈(131)는 입사각 조절부(120)에서 제공된 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3) 중 적어도 하나를 커버글라스(210)를 통해 시편(200)에 출력할 수 있다.

[0062] 여기서, 제1입사광(IL1)은 제1입사각으로 시편(200)에 출력될 수 있다. 이때, 제1입사각은 임계각보다 작으므로, 제1입사광(IL1)의 일부는 커버글라스(210)에 의해 반사되고 나머지는 굴절되어 시편(200)에 제공될 수 있다. 이에, 시편(200)에 제공된 제1입사광(IL1)에 의해 발생되는 굴절된 빛은 시편(200) 내부에 제1깊이로 침투될 수 있다.

[0063] 또한, 제2입사광(IL2)은 제2입사각으로 시편(200)에 출력될 수 있다. 이때, 제2입사각은 임계각보다 작고, 제1입사각보다 크므로, 제2입사광(IL2)의 일부는 커버글라스(210)에 의해 반사되고 나머지는 굴절되어 시편(200)에 제공될 수 있다. 이에, 제2입사광(IL2)에 의해 발생되는 굴절된 빛은 시편(200) 내부에 제2깊이로 침투될 수 있다. 이때, 제2깊이는 제1깊이보다 얕을 수 있다.

[0064] 또한, 제3입사광(IL3)은 제3입사각으로 시편(200)에 출력될 수 있다. 이때, 제3입사각은 임계각보다 크므로, 제3입사광(IL3)의 대부분은 커버글라스(210)에 의해 반사될 수 있다. 이에, 제3입사광(IL3)에 의해 발생되는 감쇠장은 시편(200) 내부에 제3깊이로 침투될 수 있다. 이때, 제3깊이는 제2깊이보다 얕을 수 있으며, 시편(200)의 표면에 인가될 수 있다.

[0065] 또한, 대물렌즈(131)는 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3) 각각에 의해 시편(200)에서 방출된 형광신호(FL)를 수신할 수 있다.

[0066] 여기서, 입사각 조절부(120)에서 대물렌즈(131)로 제1입사광(IL1), 제2입사광(IL2) 및 제3입사광(IL3) 중 적어도 2 이상의 입사광이 동시에 제공되면, 상기 대물렌즈(131)에는 2 이상의 입사광 각각에 대응하여 시편(200)의 서로 다른 깊이에 존재하는 형광체, 예컨대 형광 입자로부터 발생된 2 이상의 형광신호(FL) 각각이 동시에 수신될 수 있다.

[0067] 또한, 입사각 조절부(120)에서 대물렌즈(131)로 제1입사광(IL1), 제2입사광(IL2) 및 제3입사광(IL3)이 순차적으로 제공되면, 상기 대물렌즈(131)에는 각 입사광에 대응하여 시편(200)의 서로 다른 깊이에 존재하는 형광 입자로부터 발생된 형광신호(FL)가 순차적으로 수신될 수 있다.

[0068] 다이크로익 미러(132)는 대물렌즈(131)와 입사각 조절부(120) 사이에 배치될 수 있다. 다이크로익 미러(132)는 특정 파장의 광, 예컨대 입사각 조절부(120)에서 출력된 하나 이상의 입사광을 대물렌즈(131) 방향으로 반사시킬 수 있다. 또한, 다이크로익 미러(132)는 상기 특정 파장의 광을 제외한 나머지 광, 예컨대 시편(200)에서 방출되는 형광신호(FL)를 촬영부(140) 방향으로 투과시킬 수 있다.

[0069] 집광렌즈(133)는 다이크로익 미러(132)와 촬영부(140) 사이에 배치될 수 있다. 집광렌즈(133)는 다이크로익 미러(132)를 투과한 형광신호(FL)를 집광하여 촬영부(140)로 제공할 수 있다.

[0070] 촬영부(140)의 카메라(141)는 광학부(130)에서 출력되는 시편(200)의 형광신호(FL)를 촬영하여 시편 이미지를

출력할 수 있다. 또한, 촬영부(140)의 표시부(142)는 카메라(141)에서 출력되는 시편 이미지, 즉 형광신호(FL)가 포함된 시편 이미지를 화면 등을 통해 사용자에게 표시할 수 있다.

[0071] 이와 같이, 본 실시예의 광학 현미경(100)은 입사각 조절부(120)를 통해 발광부(110)에서 출력된 하나의 광으로부터 서로 다른 입사각을 갖는 다수의 입사광을 생성하고, 이를 시편(200)의 서로 다른 관찰영역에 각각 출력할 수 있다.

[0072] 이에, 본 실시예의 광학 현미경(100)은 다수의 입사광을 이용하여 시편(200)의 서로 다른 깊이에 존재하는 형광 입자를 선택적으로 관측하여 시편(200)에 대한 하나의 이미지를 실시간 고속으로 처리할 수 있다.

[0073] 도 7은 본 발명의 실시예에 따른 광학 현미경의 광 입사각 조절방법에 대한 순서도이다.

[0074] 도 7을 참조하면, 광학 현미경(100)의 입사각 조절부(120)는 시편(200)에 대해 다수의 관찰영역을 구획하고, 각 관찰영역에 대한 광 침투 깊이를 산출할 수 있다(S10).

[0075] 입사각 조절부(120)의 동작제어부(124)는 아래 [수학식 1]에 따라 시편(200)의 관찰영역별 광 침투 깊이를 산출할 수 있다.

[0076] [수학식 1]

$$d = \frac{\lambda}{4\pi}(n_1^2 \sin^2\theta_{in} - n_2^2)^{-\frac{1}{2}}$$

[0077]

[0078] 여기서, d는 광 침투 깊이, n1은 커버글라스의 굴절률, n2는 시편의 굴절률, Θ_{in}은 광의 입사각, λ는 광의 파장을 의미한다.

[0079] 다음으로, 동작제어부(124)는 산출된 침투 깊이(d)에 기초하여 하나 이상의 격자패턴을 생성할 수 있다(S20).

[0080] 예컨대, 도 3에 도시된 바와 같이, 동작제어부(124)는 시편(200)의 각 관찰영역, 예컨대 제1영역, 제2영역 및 제3영역에 대응되는 제1격자패턴(G1), 제2격자패턴(G2) 및 제3격자패턴(G3)을 생성할 수 있다.

[0081] 여기서, 제1영역은 시편(200)의 세포의 핵이 존재하는 영역일 수 있고, 제2영역은 시편(200)의 제1영역을 둘러싸는 세포영역일 수 있으며, 제3영역은 시편(200)에서 제1영역 및 제2영역을 제외한 나머지 영역일 수 있다.

[0082] 이어, 동작제어부(124)는 생성된 격자패턴을 파면제어부(121)로 제공하여 상기 파면제어부(121)의 일면에 표시되도록 할 수 있다(S30).

[0083] 이때, 동작제어부(124)는 아래 [수학식 2]에 따라 격자패턴의 표시 주기를 산출하고, 이를 이용하여 파면제어부(121)에 표시되는 격자패턴의 표시 주기를 제어할 수 있다.

[0084] [수학식 2]

[0085] $$p(\sin\theta_{in} + \sin\theta_m) = m\lambda$$

[0086] 여기서, p는 격자패턴의 표시 주기, Θ_{in}은 광의 입사각, λ는 광의 파장, Θ_m은 회절 차수에 따른 광의 회절각도를 의미한다.

[0087] 이에, 파면제어부(121)는 동작제어부(124)의 격자패턴 표시 주기 제어에 따라 복수의 격자패턴, 즉 제1격자패턴(G1) 내지 제3격자패턴(G3)이 동시에 표시되거나 또는 제1격자패턴(G1) 내지 제3격자패턴(G3)이 순차적으로 표시될 수 있다.

[0088] 이로 인해, 파면제어부(121)는 발광부(110)에서 제공된 광을 일면에 표시된 격자패턴을 통해 다수의 각도로 회절시켜 다수의 회절광을 출력할 수 있다.

[0089] 이때, 다수의 회절광 중 제1격자패턴(G1)에 의한 회절광은 시편(200)의 제1영역에 대응되는 광이고, 제2격자패턴(G2)에 의한 회절광은 시편(200)의 제2영역에 대응되는 광이며, 제3격자패턴(G3)에 의한 회절광은 시편(200)의 제3영역에 대응되는 광일 수 있다.

[0090] 다음으로, 동작제어부(124)는 필터부(122)의 다수의 슬릿(123) 위치를 조절할 수 있다. 이에, 필터부(122)는 위치가 조절된 다수의 슬릿(123)을 통해 파면제어부(121)에서 제공된 다수의 회절광 중 일부를 선택적으로 통과시키고, 이를 통해 하나 이상의 입사광, 예컨대 제1입사광(IL1), 제2입사광(IL2) 및 제3입사광(IL3)을 출력할 수

있다(S40).

[0091] 본 발명의 실시예에 따라, 필터부(122)의 다수의 슬릿(123)이 개폐가 조절되는 셔터 구조를 갖도록 구성되면, 동작제어부(124)는 다수의 슬릿(123) 중 일부의 개폐를 조절하여 파면제어부(121)에서 제공되는 다수의 회절광 중 일부를 선택적으로 통과시킬 수도 있다.

[0092] 여기서, 제1입사광(IL1)은 시편(200)의 제1영역에 대응되는 광이고, 제2입사광(IL2)은 시편(200)의 제2영역에 대응되는 광이며, 제3입사광(IL3)은 시편(200)의 제3영역에 대응되는 광일 수 있다.

[0093] 또한, 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3)은 시편(200)에 대해 서로 다른 입사각을 가질 수 있다. 예컨대, 제1입사광(IL1)의 입사각은 제2입사광(IL2) 및 제3입사광(IL3) 각각의 입사각보다 작고, 제2입사광(IL2)의 입사각은 제3입사광(IL3)의 입사각보다 작을 수 있다. 또한, 제1입사광(IL1)의 입사각과 제2입사광(IL2)의 입사각은 임계각보다 작고, 제3입사광(IL3)의 입사각은 임계각보다 클 수 있다.

[0094] 이어, 광학부(130)의 대물렌즈(131)는 입사각 조절부(120)로부터 제공된 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3)을 시편(200)에 제공할 수 있다. 이때, 전술한 바와 같이, 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3)의 입사각이 서로 다르기 때문에, 앞서 도 6을 참조하여 설명한 바와 같이, 각 입사광의 시편(200)에 대한 침투 깊이가 다를 수 있다.

[0095] 따라서, 대물렌즈(131)는 제1입사광(IL1) 내지 제3입사광(IL3) 각각에 의해 시편(200)의서로 다른 깊이에 위치하는 형광체로부터 각각 방출된 형광신호(FL)를 수신할 수 있다.

[0096] 대물렌즈(131)는 수신된 형광신호(FL)를 촬영부(140)로 제공하고, 촬영부(140)는 이를 촬영하여 시편(200)에 대한 형광신호(FL)가 포함된 시편 이미지를 표시할 수 있다(S50).

[0097] 상술한 바와 같이, 본 실시예의 광학 현미경(100)은 입사각 조절부(120)를 통해 발광부(110)에서 출력된 하나의 광으로부터 서로 다른 입사각을 갖는 다수의 입사광을 생성하고, 이를 시편(200)의 서로 다른 관찰영역에 각각 출력할 수 있다.

[0098] 따라서, 본 발명은 시편(200)의 관찰영역 별로 입사각이 다른 다수의 입사광을 제공하여 시편(200)의 서로 다른 깊이에 존재하는 형광 입자를 선택적으로 관측할 수 있어, 시편(200)에 대한 형광신호를 포함하는 이미지를 실시간 고속으로 처리할 수 있다.

[0099] 이상의 설명은 본 발명의 기술 사상을 예시적으로 설명한 것에 불과한 것으로서, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 본 발명의 본질적인 품질에서 벗어나지 않는 범위에서 다양한 수정 및 변형이 가능할 것이다. 따라서, 본 발명에 개시된 실시예들은 본 발명의 기술 사상을 한정하기 위한 것이 아니라 설명하기 위한 것이고, 이러한 실시예에 의하여 본 발명의 기술 사상의 범위가 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 보호 범위는 아래의 청구범위에 의하여 해석되어야 하며, 그와 균등한 범위 내에 있는 모든 기술사상은 본 발명의 권리범위에 포함되는 것으로 해석되어야 할 것이다.

부호의 설명

[0100] 100: 광학 현미경

110: 발광부

120: 입사각 조절부

121: 파면제어부

122: 필터부

123: 슬릿

124: 동작제어부

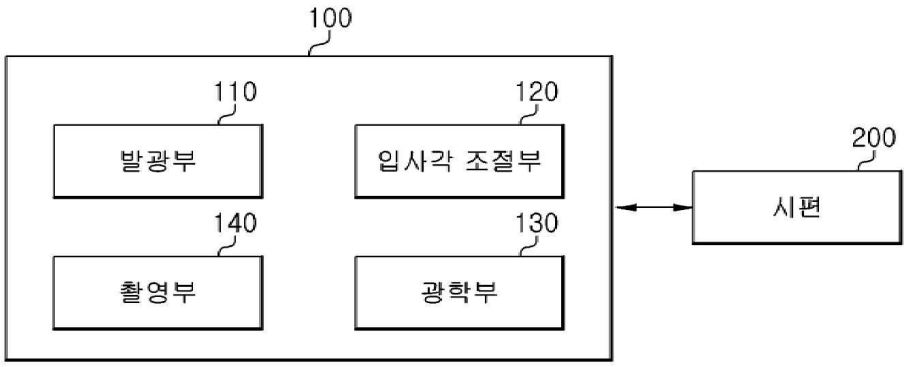
130: 광학부

140: 촬영부

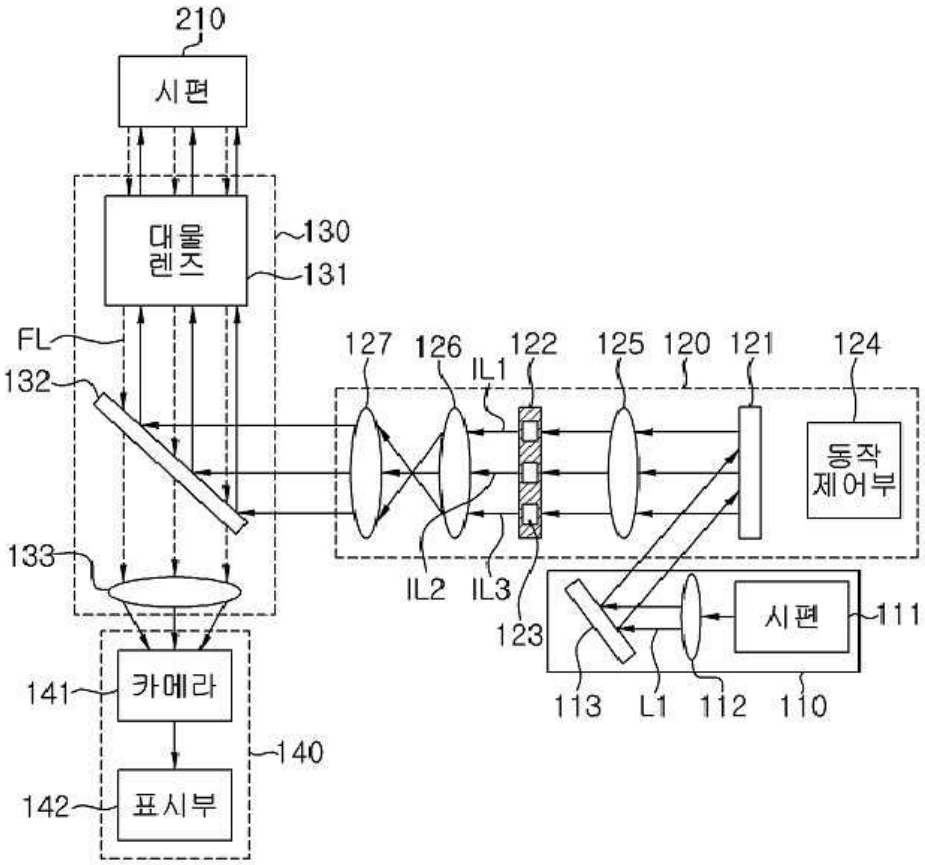
200: 시편

도면

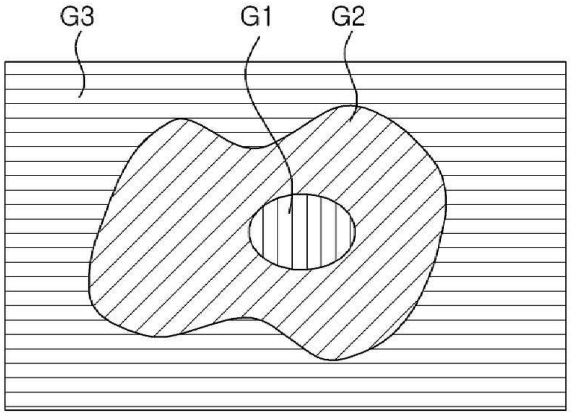
도면1


100
110
발광부
120
입사각 조절부
200
시편
140
촬영부
130
광학부

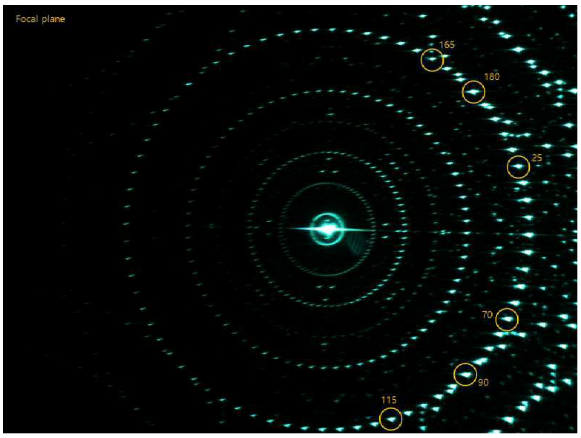
도면2


210
시편
대물 렌즈
130
131
FL
132
127
126
IL1
122
125
120
121
124
동작 제어부
133
IL2
IL3
123
시편
111
141
카메라
113
L1
112
110
140
142
표시부

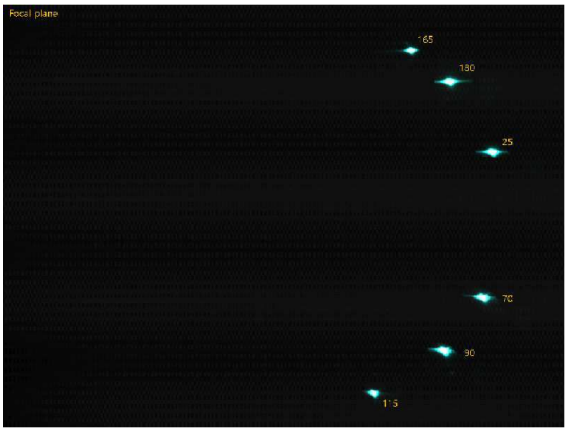
도면3


G3
G1
G2

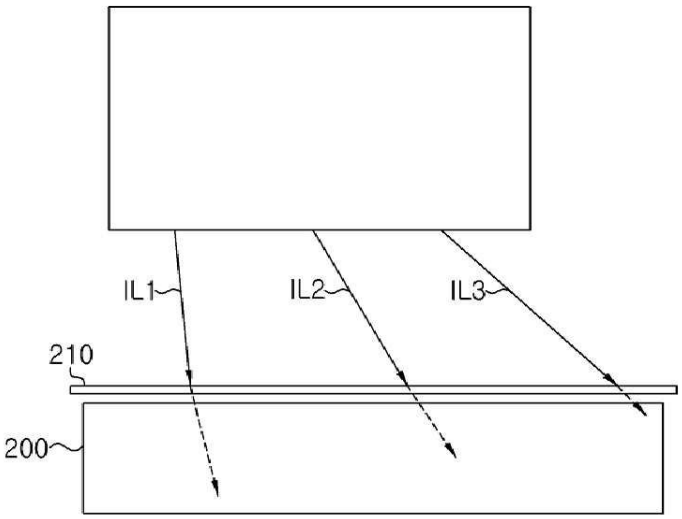
도면4


Focal plane
165
180
25
70
90
115

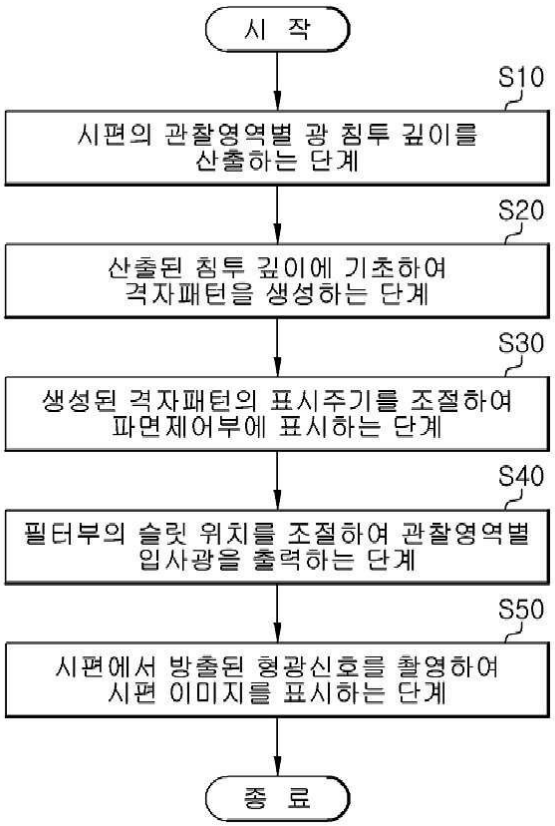
도면5


Focal plane
165
180
25
70
90
115

도면6


IL1
IL2
IL3
210
200

도면7


시 작
S10
시편의 관찰영역별 광 침투 깊이를 산출하는 단계
S20
산출된 침투 깊이에 기초하여 격자패턴을 생성하는 단계
S30
생성된 격자패턴의 표시주기를 조절하여 파면제어부에 표시하는 단계
S40
필터부의 슬릿 위치를 조절하여 관찰영역별 입사광을 출력하는 단계
S50
시편에서 방출된 형광신호를 촬영하여 시편 이미지를 표시하는 단계
종 료