



**(19) 대한민국특허청(KR)**  
**(12) 등록특허공보(B1)**

(45) 공고일자 2012년01월31일  
(11) 등록번호 10-1109677  
(24) 등록일자 2012년01월18일

(51) Int. Cl.

G01N 21/63 (2006.01) G02B 21/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2009-0116648

(22) 출원일자 2009년11월30일

심사청구일자 2009년11월30일

(65) 공개번호 10-2011-0060147

(43) 공개일자 2011년06월08일

(56) 선행기술조사문헌

논문.2009.07

논문.2009.01\*

\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

한국화학연구원

대전광역시 유성구 가정로 141 (장동)

(72) 발명자

이강택

대전광역시 유성구 노은서로210번길 32, 407동  
1401호 (지족동, 열매마을4단지)

서영덕

대전광역시 유성구 대덕대로 598, 더포엠II아파트  
802호 (도룡동)

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

손민

전체 청구항 수 : 총 9 항

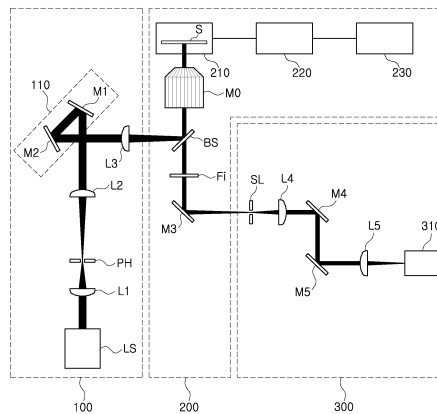
심사관 : 심재만

**(54) UCNP의 광학 이미징용 현미경 장비**

**(57) 요약**

본 발명은, 근적외선(NIR) 레이저 광원과 레이저빔을 현미경으로 유도하는 렌즈(lens), 미러(mirror), 핀홀(pinhole)로 구성된 여기 모듈; 상기 레이저빔을 사용하여 대물 렌즈를 통해 시료를 여기하고 시료의 상을 획득하는 현미경 모듈; 상기 획득된 상을 이미지화하는 탐지 모듈을 포함하며, 근적외선을 흡수하여 가시광선을 방출할 수 있는 특징을 가진 UCNP(upconverting nanoparticle)의 광학 이미징용 현미경 장비를 제공한다. 본 발명에 의한 현미경 장비에 의해 시료, 특히 세포의 손상 문제를 해결함과 동시에 시료로부터의 영상을 용이하게 획득할 수 있으며, 깜박거림 현상이나 광열화 현상을 방지할 수 있고, 신호 대 잡음비와 탐지 감도가 증가하며, 높은 투과율로서 인비보 이미징이 가능하다.

**대표도 - 도1**



<p>(72) 발명자  <b>전기석</b>                  대전광역시 대덕구 대청로63번길 17 (신탄진동)  <b>남상환</b>                  서울특별시 노원구 마들로 127, 39동 507호 (월계동)</p>	<p><b>배윤미</b>                  충청남도 논산시 연무읍 동산리 903-17 기산아파트 102동 1711호</p>
---	---

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	KK-0904-B0/2009-0081511/2009-0083209
부처명	산업기술연구회/교육과학기술부/교육과학기술부
연구관리전문기관	
연구사업명	기관고유사업/미래유망 융합기술 파이오니어 사업/나노원천기술개발사업
연구과제명	형광이미징 장비 요소기술 개발/복합기능 마그네틱-포토닉 나노결정의 특성 연구를 위한
나노 측정 기반기술 개발/질병원인 규명 및 극복을 위한 단일분자 수준 실시간 동영상 나노형광 분광법 개발	
기여율	
주관기관	한국화학연구원/고려대학교 산학협력단/한국화학연구원
연구기간	2009년 01월 01일 ~ 2009년 12월 31일/2009년 03월 01일 ~ 2010년 02월 28일/2009년 06월 01일 ~ 2010년 05월 31일

---

**특허청구의 범위**

**청구항 1**

근적외선(NIR) 레이저 광원으로부터의 레이저빔을 유도하는 여기(excitation) 모듈;  
 상기 유도된 레이저빔을 사용하여 대물 렌즈(MO)를 통해 시료(S)의 상을 획득하는 현미경 모듈;  
 상기 획득된 상을 이미지화하는 탐지 모듈을 포함하며,  
 상기 시료는 업컨버팅 나노입자(upconverting nanoparticle,UCNP)를 포함하여, 이로 인해 상기 업컨버팅 나노입자는 상기 여기 모듈로부터의 근적외선 파장을 흡수하여 가시광선 파장을 방출하고, 상기 탐지 모듈은 상기 업컨버팅 나노입자로부터 방출된 가시광선 파장을 통해 상기 시료의 상을 이미지화하는,  
 업컨버팅 나노입자의 광학 이미징용 현미경 장비.

**청구항 2**

제 1 항에 있어서,  
 상기 근적외선 레이저 광원으로부터의 레이저의 파장은 970 내지 1000nm인 것을 특징으로 하는,  
 업컨버팅 나노입자의 광학 이미징용 현미경 장비.

**청구항 3**

제 1 항에 있어서,  
 상기 근적외선 레이저 광원은 980nm CW 다이오드 레이저인 것을 특징으로 하는,  
 업컨버팅 나노입자의 광학 이미징용 현미경 장비.

**청구항 4**

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,  
 상기 현미경 모듈은,  
     단파장 통과형 이색성 빔 스플리터(BS; short-pass dichroic beam splitter); 및  
     단파장 통과형 필터(Fi; short-pass emission filter)를 포함하는 것을 특징으로 하는,  
 업컨버팅 나노입자의 광학 이미징용 현미경 장비.

**청구항 5**

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,  
 상기 여기 모듈은 Epi 모드 또는 TIRF 모드 전환이 가능한 것을 특징으로 하는,  
 업컨버팅 나노입자의 광학 이미징용 현미경 장비.

**청구항 6**

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,  
 상기 탐지 모듈은 EMCCD(electron multiplying CCD), CCD 및 이미징 동영상 촬영 장치 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는,  
 업컨버팅 나노입자의 광학 이미징용 현미경 장비.

**청구항 7**

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 업컨버팅 나노입자는 "NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>", "NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Tm<sup>3+</sup>", "NaGdF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>", "NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>/NaGdF<sub>4</sub>", "NaGdF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>/NaGdF<sub>4</sub>" 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는,

업컨버팅 나노입자의 광학 이미징용 현미경 장비.

**청구항 8**

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 여기 모듈은 가시광선 광원을 더 포함하여, 상기 근적외선 레이저 광원과 상기 가시광선 광원 중 어느 하나를 선택적으로 광원으로 사용할 수 있는 것을 특징으로 하는,

업컨버팅 나노입자의 광학 이미징용 현미경 장비.

**청구항 9**

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 현미경 모듈은,

상기 시료가 위치하는 챔버 및

상기 챔버의 분위기를 유지시킬 수 있는 분위기 유지부를 포함하며,

상기 분위기 유지부는 상기 챔버 내측의 온도, 습도, pH 중 어느 하나 이상을 제어할 수 있는 것을 특징으로 하는,

업컨버팅 나노입자의 광학 이미징용 현미경 장비.

**명세서**

**발명의 상세한 설명**

**기술분야**

[0001] 본 발명은 나노 입자의 발광 현상을 측정하기 위한 광학 이미징용 현미경 장비에 관한 것이다. 보다 상세하게, 본 발명은, 근적외선(NIR) 레이저 광원과 레이저빔을 현미경으로 유도하는 렌즈(lens), 미러(mirror), 핀홀(pinhole)로 구성된 여기 모듈; 상기 레이저빔을 사용하여 대물 렌즈를 통해 시료를 여기하고 시료의 상을 획득하는 현미경 모듈; 상기 획득된 상을 이미지화하는 탐지 모듈을 포함하며, 근적외선을 흡수하여 가시광선이 방출할 수 있는 특징을 가진 UCNP(upconverting nanoparticle)의 광학 이미징용 현미경 장비에 관한 것이다.

**배경 기술**

[0002] 나노 물질을 이용한 차세대 의학 영상 기술에 있어서 광학 영상(optical image)이 차지하는 비중이 매우 높다. 현재 광학 영상은 수술용 현미경이나 복강경, 내시경 등에 사용되거나 또는 각종 진단용 현미경 기술의 형태로 사용되고 있으며, 그 중요성은 점점 커지고 있다. 특히, 단백질-리간드 상호작용이나 유전자 발현을 검출하는 것과 같이 세포-단백질-유전자 수준의 기능성 영상을 보여줄 수 있기에, 지속적인 연구가 진행되고 있다.

[0003] 광학 영상에 있어서 중요한 것 중 하나는 조영 방법이다. 조영을 위한 약물은 종류가 매우 다양한데, 그 중 주목을 받는 것이 나노 입자(nanoparticle)이다.

[0004] 대표적인 나노 입자로 하나는 양자점(quantum dot)을 들 수 있다. 다만, 양자점을 사용할 경우 그 특성에 의해 깜박거림(photoblinking) 현상이나 광열화(photobleaching) 현상이 발생할 수 있으며, 장시간에 걸친 연속적 실시간 이미징이 어렵다는 단점이 있다.

[0005] 한편, 최근 큰 관심을 받고 있는 나노 입자 중 하나는 UCNP(upconverting nanoparticle)이다. UCNP는 광학적 업컨버전 과정을 통해 근적외선 광자(NIR photon)를 흡수하여 가시광선 광자(visible photon) 또는 근자외선 광자(near-UV photon)를 방출하는 특성이 있다. 이에 따라, 시료에 조사되는 빔의 파장은 근적외선인데, 이미징

빔의 파장은 가시광선이 되도록 할 수 있다. 대표적인 UCNP로는 “NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>”, “NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Tm<sup>3+</sup>”, “NaGdF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>”, “NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>/NaGdF<sub>4</sub>”, “NaGdF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>/NaGdF<sub>4</sub>” 등을 들 수 있다.

## 발명의 내용

### 해결 하고자하는 과제

[0006] 기존의 나노입자 이미징의 경우 가시광선이나 자외선 영역의 광원을 사용하므로 나노입자를 이용하여 세포를 이미징할 시, 세포에 대한 손상 위험이 크고, 세포의 자체발광(autofluorescence)이 상당히 큰 배경잡음(background noise)으로 작용하는 심각한 문제가 있다. 또한, 인비보(in vivo) 이미징 시, 가시광선이나 자외선의 생체 투과율이 매우 낮다는 문제도 있다. 한편, 최근 주목받고 있는 나노입자인 UCNP는 생체 친화적인 근적외선에 의해 여기되고 가시광선 영역에서 빛을 방출하므로 이를 세포 이미징, 인비보 이미징에 이용할 시, 세포 시료에 거의 손상을 주지 않고, 자체발광도 방지할 수 있으며, 생체 투과율을 현격히 증가시킬 수 있고, 별도의 근적외선용이 아닌 일반적인 가시광선용 CCD를 통해 이미지를 얻을 수 있다는 장점이 있다. 그리고, UCNP는 깜빡거림 현상(photoblinking)이나 광열화 현상(photobleaching)이 없기 때문에 연속적인 장시간 광학 이미지를 얻을 수 있다는 추가적인 장점도 있다. 이에 본 발명에서는 UCNP 및 UCNP와 결합된 세포를 이미징할 수 있는 광학 이미징용 현미경 장비를 제공하고자 한다.

### 과제 해결수단

[0007] 상기와 같은 과제를 해결하기 위해 본 발명은, 근적외선(NIR) 레이저 광원과 레이저빔을 현미경으로 유도하는 렌즈(lens), 미러(mirror), 핀홀(pinhole)로 구성된 여기 모듈; 상기 레이저빔을 사용하여 대물 렌즈를 통해 시료를 여기하고 시료의 상을 획득하는 현미경 모듈; 상기 획득된 상을 이미지화하는 탐지 모듈을 포함하며, 근적외선을 흡수하여 가시광선을 방출할 수 있는 특징을 가진 UCNP(upconverting nanoparticle)의 광학 이미징용 현미경 장비를 제공한다.

[0008] 또한, 상기 근적외선 레이저 광원으로부터의 레이저의 파장은 970 내지 1000 nm인 것이 바람직하며, 980 nm CW 다이오드 레이저인 것이 보다 바람직하다.

[0009] 또한, 상기 현미경 모듈은, 단파장 통과형 이색성 빔 스플리터(BS; short-pass dichroic beam splitter) 및 단파장 통과형 필터(Fi; short-pass emission filter)를 포함하는 것이 바람직하다.

[0010] 또한, 상기 여기 모듈은 Epi 모드와 TIRF 모드 사이의 전환이 가능한 것이 바람직하다.

[0011] 또한, 상기 탐지 모듈은 EMCCD(electron multiplying CCD), CCD 및 이미징 동영상 촬영 장치 중 어느 하나인 것이 바람직하다.

[0012] 또한, 상기 UCNP는 “NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>”, “NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Tm<sup>3+</sup>”, “NaGdF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>”, “NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>/NaGdF<sub>4</sub>”, “NaGdF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>/NaGdF<sub>4</sub>” 중 어느 하나인 것이 바람직하다.

[0013] 또한, 상기 여기 모듈은 가시광선 광원을 추가적으로 포함하여, 상기 근적외선 레이저 광원과 상기 가시광선 광원 중 어느 하나를 선택적으로 광원으로 사용할 수 있는 것이 바람직하다.

[0014] 또한, 상기 현미경 모듈은, 시료가 살아있는 세포를 포함하는 경우 세포 시료가 위치하는 챔버 및 상기 챔버의 분위기를 유지시킬 수 있는 분위기 유지부를 포함하며, 상기 분위기 유지부는 상기 챔버 내측의 온도, 습도, pH 중 어느 하나 이상을 제어할 수 있는 것이 바람직하다.

### 효과

[0015] UCNP는 생체 친화적인 근적외선에 의해 여기되고 가시광선 영역에서 빛을 방출하므로 본 발명에 따른 현미경 장비를 이용하여 세포 이미징, 인비보 이미징을 수행할 시, 세포 시료에 거의 손상을 주지 않으므로 장시간 이미징이 가능하다.

- [0016] 또한, 자체발광도 방지할 수 있어 신호대잡음 비율(S/N ratio)와 탐지 감도(detection sensitivity)를 증가시킬 수 있다.
- [0017] 또한, 인비보 이미징 시, 생체 투과율을 현격히 증가시킬 수 있다.
- [0018] 또한, 별도의 근적외선용이 아닌 일반적인 가시광선용 CCD를 통해 이미지를 얻을 수 있다는 장점이 있으며, 최소 수 밀리 초의 시간 분해능으로 이미지 동영상을 촬영할 수도 있다.
- [0019] 또한, UCNF는 깜빡거림 현상(photoblinking)이나 광열화 현상(photobleaching)이 없기 때문에 연속적인 광학 이미지를 장시간 얻을 수 있다는 추가적인 장점도 있다.
- [0020] 또한, 광원을 변경함으로써 나노 입자의 발광 이미지와 명시야상(bright-field image)을 동시에 획득할 수도 있다.
- [0021] 또한, Epi 모드와 TIRF 모드의 전환이 가능하여, 사용자가 원하는 이미지를 획득할 수 있다.
- [0022] 또한, 시료가 위치하는 챔버의 온도, 습도, pH 등을 일정하게 유지시켜 주는 기능을 추가함으로써 세포 시료를 더욱 안전하게 보호하고 정교한 이미지를 획득할 수 있다.
- [0023] 또한 UCNF는 이광자 흡수(TPA; two-photon absorption)와 비교하면 업컨버전(upconversion) 효율이 높기에, 고가의 펄스 레이저가 아닌 저가의 CW 레이저를 활용할 수 있어서, 초기 설치비를 감소할 수 있다.

**발명의 실시를 위한 구체적인 내용**

- [0024] 이하, 도면을 참조하여 본 발명에 의한 이미징 장비를 보다 상세히 설명한다. 도 1은 본 발명에 따른 현미경 장비의 개략도이다.
- [0025] <현미경 장비의 설명>
- [0026] 본 발명에 따른 현미경 장비는 여기 모듈(100)과 현미경 모듈(200)과 탐지 모듈(300)로 구분될 수 있다. 이와 같은 모듈의 구분은 설명을 위한 구분일 뿐이며 상호 배타적이고 독립적인 것이 아닐 수 있으며, 상호 일정 영역에서 겹치거나 하나의 영역에서 둘 이상의 모듈이 중복될 수 있음을 밝힌다.
- [0027] 여기 모듈(100)
- [0028] 여기 모듈(100)은 광원(LS)에서 발생하는 레이저빔을 현미경 내부로 유도한다.
- [0029] 일 실시예에서, 광원(LS)은 근적외선(NIR) 레이저이다. 근적외선 레이저를 사용하는 것은 UCNF의 흡수(absorption) 영역이 근적외선에 있기 때문이며, 그 결과 전술한 바와 같이 가시광선 파장을 광원으로 사용할 경우 생기는 여러 가지 문제를 해결할 수 있다. 본 발명자는 실험을 통하여 근적외선 파장(970~1000nm)의 레이저가 활용 가능함을 확인하였으며, UCNF에서의 흡수 측면에서 검토할 경우 980nm의 파장을 사용하는 경우가 특히 바람직함을 확인하였다.
- [0030] 특히, 본 발명에 따른 현미경 장비의 경우 Q-switching 레이저, 펄스 레이저 등 어떠한 레이저도 사용 가능하나, 비교적 저가의 CW(continuous wave) 레이저를 사용할 수 있다는 장점이 있다. 일 실시예에서, 광원(LS)은 980nm CW 다이오드 레이저(980nm CW diode laser)이다.
- [0031] 광원(LS)에서 발생하는 레이저빔은 다수의 렌즈(L1, L2, L3)와 핀홀(PH)을 통해 현미경 내부로 유도된다. 특히, 도면부호 "110"은 Epi 모드 또는 TIRF 모드로 선택 및 전환을 가능하게 하는 구성요소를 지칭하며, 이에 따라 사용자가 원하는 이미지를 획득할 수 있다. 상기 Epi(에피) 모드는 일반적으로 피검체의 상방 또는 하방에서 대물렌즈를 통해 광원을 입사시켜 조명되는 방식으로서, 상기 대물 렌즈가 자신의 집광기로 작용하기 때문에 작동이 간편하고 효율이 높다. 한편, 상기 TIRF 모드는 전반사 형광(total internal reflection fluorescence) 모드를 나타내는 것으로서 일반적으로 물유리(glass-water) 또는 완충유리(glass-buffer)의 접촉면에 접촉된 시료의 제한된 영역을 관찰할 수 있는 관찰법이다. 도면에서 상기 모듈(110)은 2개의 미러(M1, M2)를 사용하는 것으로 도시되었으나, 이러한 구성에 제한되지 않음은 물론이다.

- [0032] 광원(LS)으로서, 근적외선 레이저 광원 이외에도 일반적인 램프(가시광 광원)를 사용할 수 있다. 이 경우 세포 이미지를 명시야상(bright field image)으로 획득할 수 있는데(도 3a 및 3b 상단 이미지 참조), 이렇게 일반적인 램프로 획득된 세포 이미지와 근적외선 레이저 광원으로 획득된 UCNP의 이미지를 동시에 획득할 수 있다는 장점을 갖는다.
- [0033] 상기와 같은 여기 모듈을 통해 레이저는 약 10mm의 빔 직경으로 집광되어 현미경 모듈(200)에 진입할 수 있다.
- [0034] 현미경 모듈(200)
- [0035] 현미경에 진입한 레이저빔은 빔스플리터(BS; beam splitter)에 의해 반사되어 대물 렌즈(MO; microscope objective)로 진행한다. 상기 빔 스플리터(BS)는 단파장 통과형 이색성 빔 스플리터(short-pass dichroic beam splitter)인 것이 바람직하다.
- [0036] 시료(S)는 UCNP 샘플로서 표면에 고정될 수도 있고 용액 상에 존재하거나 세포와 결합되어 있을 수도 있다. 시료(S) 내의 UCNP는 근적외선을 흡수하여 가시광선을 방출할 수 있다. UCNP 샘플로는 "NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>", "NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Tm<sup>3+</sup>", "NaGdF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>", "NaYF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>/NaGdF<sub>4</sub>", "NaGdF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>/NaGdF<sub>4</sub>" 등이 사용될 수 있다.
- [0037] UCNP로부터 방출되는 가시광선은 빔 스플리터(BS)를 통과하고 필터(Fi)를 통과함으로써 필터링된다. 특히, 단 파장 통과형 필터(short-pass emission filter)를 사용함으로써 가시광선 영역대의 UCNP 발광빔만 통과하도록 효과적으로 필터링할 수 있다.
- [0038] 한편, 시료(S)가 위치하는 챔버(210) 내부는 온도, 습도, pH 등의 분위기(atmosphere)가 일정하게 유지되는 것이 바람직하다. 이를 위해 챔버(210)가 실링(sealing)되고, 별도의 분위기 유지부(220)가 이에 연결되어, 사용자가 제어 패널(230)을 통해 설정한 분위기로써 챔버(210) 내부가 유지되는 것이 바람직하다.
- [0039] 탐지 모듈(300)
- [0040] 현미경 모듈(200)로부터 방출된 가시광 영역의 발광빔은 탐지 모듈(300)을 거쳐 최종 이미지가 획득된다.
- [0041] 탐지 모듈(300)은 슬릿(SL; slit), 2개의 렌즈(L4, L5) 및 2개의 미러(M4, M5)를 포함한다.
- [0042] 광검출부(310)는 최종 이미지를 획득한다. 획득되는 이미지는 적외선 영역이 아닌 가시광선 영역이기 때문에, 광검출부(310)로써 종래에 사용되는 어떠한 가시광용 이미징 장치도 사용될 수 있으며, 동영상 촬영 기기를 사용하여 수 밀리 초의 시간분해능으로서 이미지 동영상 촬영 역시 가능하다. 일 실시예에서 CCD를 사용할 수 있으나, EMCCD(electron multiplying CCD)를 사용하는 것이 특히 바람직하다.
- [0043] <실시예>
- [0044] 도 2a ~ 도 3b를 참조하여, 본 발명에 따른 현미경 장치의 실시예 및 이를 이용한 실험을 설명한다. 본 발명에 따른 현미경 장치의 일 실시예의 상세한 제원은 다음과 같다.
- [0045] 현미경 장치
- [0046] 광원(LS) : 980nm CW 다이오드 레이저(980nm CW diode laser), 500mW
- [0047] 렌즈(L1) : f1=75
- [0048] 핀홀(PH) : φ100<sub>μ</sub>m
- [0049] 렌즈(L2) : f1=300
- [0050] 렌즈(L3) : f1=400

[0051] 빔 스플리터(BS) : 단과장 통과형 이색성 빔 스플리터(short-pass dichroic beam splitter)

[0052] 대물 렌즈(MO) : 60x, NA 1.40

[0053] 필터(Fi) : 단과장 통과형 필터(short-pass emission filter), 투과영역은 400~700nm

[0054] 렌즈(L4) : f1=120

[0055] 렌즈(L5) : f1=260

[0056] 광검출부(310) : EMCCD

[0057] 실험 1

[0058] UCNP를 단일입자 수준에서 촬영하기 위한 실험으로서, 커버슬립에 poly(L-lysine)(0.1% w/v, H<sub>2</sub>O)이 코팅되고, 여기에 스피코팅(spin-coating)에 의해 UCNP가 표면에 흡착된 시료(S)를 촬영하였다. 사용된 UCNP는 41nm 크기의 "NaGdF<sub>4</sub>:Yb<sup>3+</sup>,Er<sup>3+</sup>/NaGdF<sub>4</sub>"이다.

[0059] 상기와 같은 현미경 장치 및 시료에 의해 도 2a 내지 도 2c의 결과가 획득된다. 도 2a 위 그림에 보이는 각 발광점이 단일 UCNP 혹은 UCNP 클러스터이며 본 장치가 성공적으로 UCNP를 촬영할 수 있음을 보여 준다. 이미지 상의 여러 입자 중 중에서 제 1 파티클(particle 1)과 제 2 파티클(particle 2)로 표시한 입자(도 2a 상단의 “1” 과 “2” )는 별도의 AFM 측정, 즉 입자의 크기 측정을 통해 UCNP 단일입자라는 것이 증명되었다 (도 2a의 하단). 도 2b는 UCNP의 깜박거림(photoblinking) 현상 존재 여부를 확인하기 위해, 200ms의 간격으로 획득한 제 1 파티클과 제 2 파티클의 발광 강도 그래프(luminescence time trace)이다. 양자점과 같이 깜박거림 현상이 발생하는 경우 일정 시간 동안 비발광 영역이 그래프에 존재하는데, 도 2b의 그래프에서는 비발광 영역이 없는 것으로 나타났다. 즉, 본 발명에 의한 현미경 장비를 통해 UCNP의 발광에는 깜박거림 현상이 없음을 확인할 수 있었다.

[0060] 도 2c는 980nm CW 레이저로 4시간 동안 연속 조사한 이후 UCNP의 광열화(photobleaching) 현상 여부를 확인하기 위한 비교 이미지(도 2c의 상단)와 시간에 따른 발광 강도 그래프(도 2c의 하단)를 나타낸다. 좌측의 이미지(t=0)와 우측의 이미지(t=4시간) 사이에 전혀 차이가 없는 것을 알 수 있고, 이는 정량적으로 시간에 따른 발광 강도 그래프(도 2c의 하단)에서도 나타난다. 이는 UCNP가 장시간의 레이저 조사 후에도 광열화하지 않는다는 사실을 입증한 것이며, 본 발명에 의한 현미경 장비를 통해서 최초로 확인할 수 있었다.

[0061] 실험 2

[0062] 세포 내에 존재하는 UCNP도 본 발명 장비를 통해 이미징이 되는 지 여부를 확인하기 위하여 유방암 세포(SK-BR-3)에 결합된 UCNP의 이미지를 얻었다. 도 3a와 도 3b는 각각 세포의 명시야상(bright-field image, 도 3a, 3b의 상단)과 레이저에 의해 여기되어 얻어진 발광 이미지(luminescence image, 도 3a, 3b의 하단)를 보여 준다. 도 3a의 세포에는 UCNP가 가해지지 않은 상태로서 발광 이미지 상에 아무 것도 나타나지 않음을 보여준다. 이로부터 근적외선 여기로 인해 세포의 자체발광이 전혀 관측되지 않아 배경잡음(background noise)이 최소화되고 있음을 알 수 있다. 도 3b는 세포와 UCNP가 4시간 동안 인큐베이션(incubation)된 후에 촬영한 이미지로서, 세포 내에 이미 많은 UCNP가 들어와 있는 것을 볼 수 있다. 이는 본 발명 장비를 통해 UCNP가 결합된 세포도 성공적으로 촬영할 수 있음을 보여 준다.

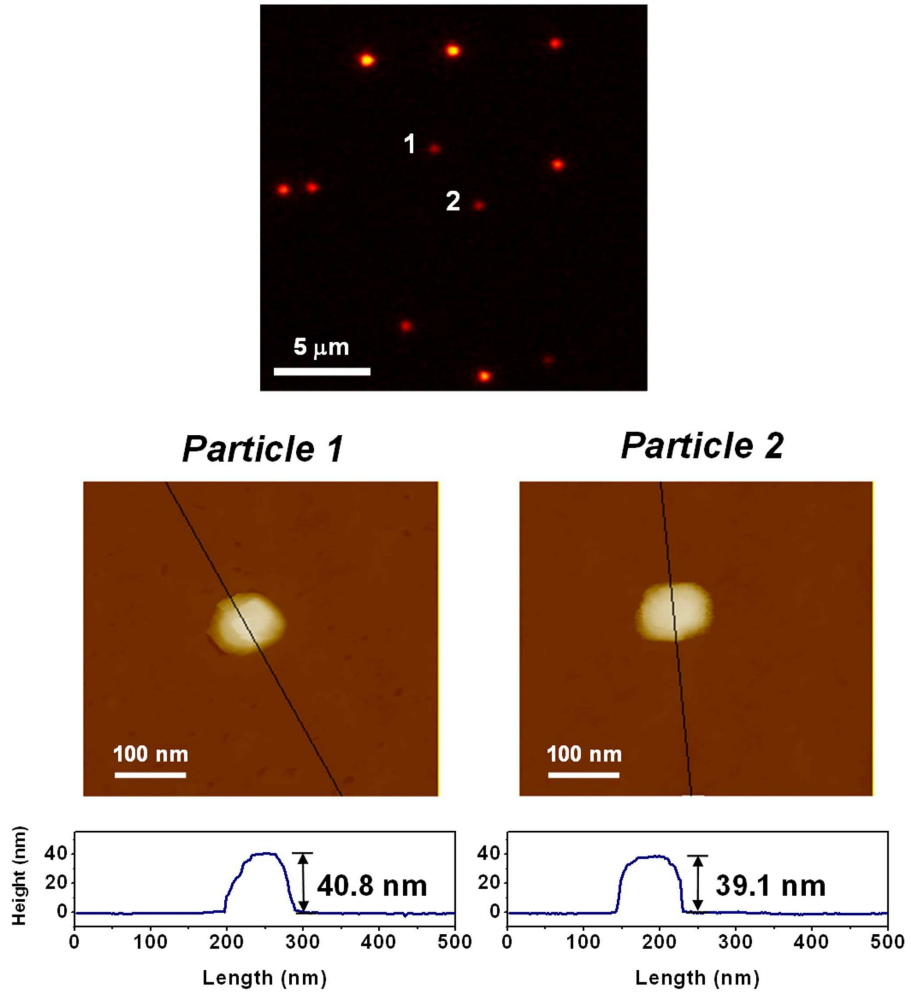
[0063] 이제까지 본 발명에 대하여 그 바람직한 실시 예들을 중심으로 살펴보았다. 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 발명이 본 발명의 본질적인 특성에서 벗어나지 않는 범위에서 변형된 형태로 구현될 수 있음을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 개시된 실시 예들은 한정적인 관점이 아니라 설명적인 관점에서 고려되어야 한다. 본 발명의 범위는 전술한 설명이 아니라 특허청구범위에 나타나 있으며, 그와 동등한 범위 내에 있는 모든 차이점은 본 발명에 포함된 것으로 해석되어야 할 것이다.

**도면의 간단한 설명**

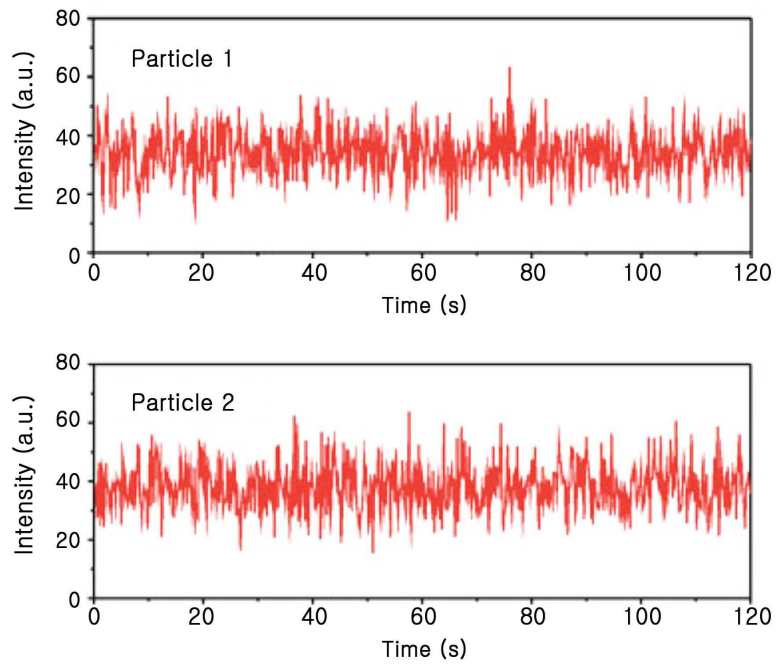




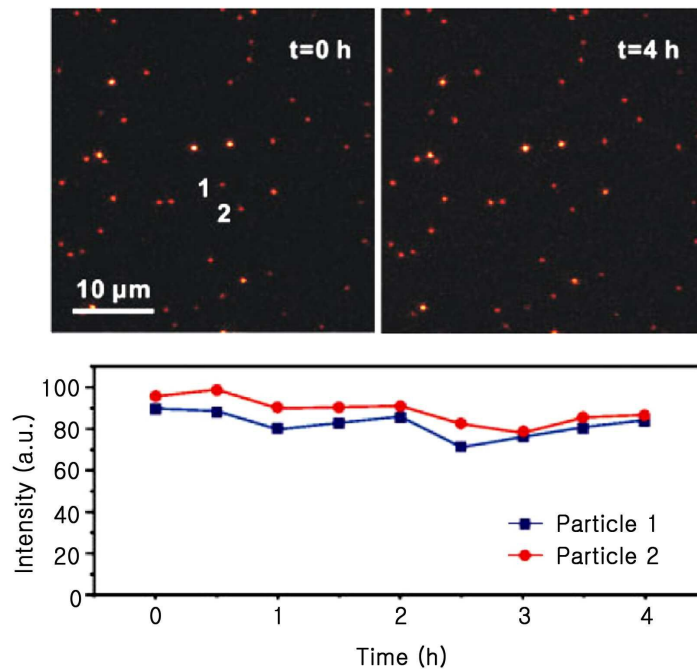
도면2a



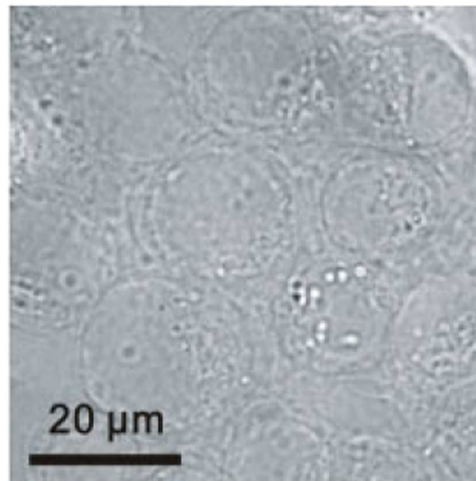
도면2b



도면2c



도면3a



도면3b

