

## 결맞음이 작은 간섭 현미경을 쓴 적혈구의 굴절률 분포 측정

### Measurement of refractive index distribution over a red blood cell by using low-coherence interference microscope

양병관, 김현우, 김진승

전북대학교 광전자정보기술연구소

jin@chonbuk.ac.kr

광학적 세포 진단 기술은 세포의 모양, 구조, 구성에 따라 세포에서 산란되는 빛의 특성이 달라지는 것을 이용한 것으로서 생물학과 의학에서 널리 쓰인다. 대표적인 응용사례인 유세포분석법(flow cytometry)은 산란된 빛의 차이를 바탕으로 세포를 분리할 뿐 세포의 구조와 산란된 빛 사이의 관계를 직접 연결시켜 분석하는 일은 드물다. 그러나 유핵 및 무핵 적혈구 세포가 섞인 것을 분리해 내려면 크기와 모양이 거의 같지만 내부 구조가 조금 다른 두 가지 세포의 광산란 특성을 내부 구조의 차이와 연결시켜야 한다. 이론적으로는 세포 모형을 써서 전산시뮬레이션(computer simulation)<sup>(1)</sup>하는데, 좀 더 정확한 결과를 얻으려면 세포의 굴절률 분포를 재어 그 결과를 바탕으로 세포 모형을 만들어야 한다. 이 연구의 목적은 보다 정확한 세포 모형을 만드는데 필요한 정보를 얻고자 적혈구 세포의 굴절률 분포를 재는 것이다.

이 연구에서는 결맞음이 작은 간섭현미경<sup>(2)</sup> (low-coherence interference microscopy)에 위상이동기법(phase shifting technique)을 써서 적혈구의 굴절률 분포를 잰다. 장치 구성은 그림 1과 같다. 할로겐 등에서 나오는 빛을 대역투과 필터로 걸러 대역폭을 40-nm로 줄였다. 편광판, 반파장판(HWP)과 사반파장판(QWP)을 써서 편광프리즘에 들어오는 빛의 편광상태를 조절한다. 편광판의 투과축은 편광프리즘(PBS)의 광축에 대해서 45도로 고정했다. 반파장판과 사반파장판은 “물색원편광기(achromatic circular polarizer)”를 이룬다. 위상을 재는데는 PBS에서 갈라진 두 직교 선편광의 위상차를 90도씩 바꾸는 3-단계 위상이동기법을 썼다. PBS에서 갈라진 두 직교 선편광은 각각 사반파장판과 현미경의 대물렌즈를 거쳐 시료와 반사경에서 반사되어 다시 PBS를 지나 모여 경통렌즈 앞의 검광판(투과축 45도)을 지나면서 간섭하고, CCD 카메라로 이 신호를 잰다.

3-단계에 걸쳐 잰 간섭신호 각각은 다음과 같은 꼴의 함수이다:

$$I_1(x, y) = A + B \cos[\phi(x, y)] \quad (1)$$

$$I_2(x, y) = A - B \sin[\phi(x, y)]$$

$$I_3(x, y) = A - B \cos[\phi(x, y)]$$

여기에서  $\phi(x, y)$  는 시료에서 반사되어 나오는 빛과 기준빛 사이의 위상차이다. 식 (1)로부터 위상분포는 다음과 같이 구한다.

$$\phi(x, y) = \tan^{-1} \left( \frac{I_1 - 2I_2 + I_3}{I_1 - I_3} \right) \quad (2)$$

결맞음이 작은 빛을 쓰므로 시료의 여러 곳에서 반사된 빛 가운데 기준빛과 광경로가 같은 빛만 간섭신호를 만든다. 따라서 간섭무늬로부터 복원한 진폭은 세포 단면의 반사율에 대한 정보가 실려 있다. 또한 위상은 광경

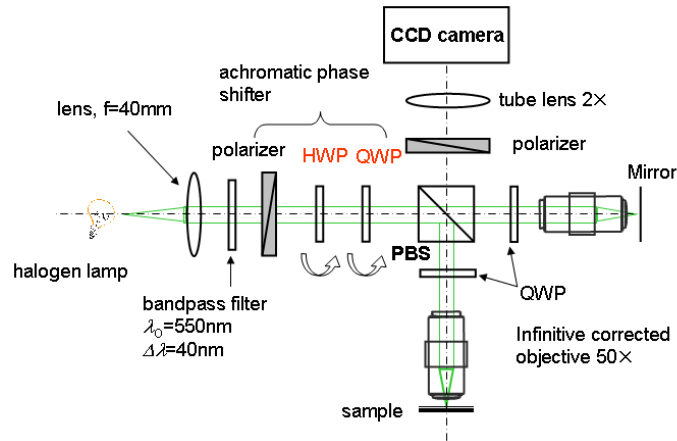


그림 1. 물색 위상이동기법을 쓴 저간섭성 간섭 현미경의 장치도.

로차에 대한 정보를 주는데 “결맞음 문열림(coherence gating)”으로 광경로가 거의 같은 곳까지의 광경로에 의한 위상변화만을 갖는다. 시료를 z축을 따라 이동하여 두 번 켜 위상분포의 차는 이동한 거리만큼의 광경로차를 준다. 그래서 이동거리를 알면 아래의 식에 따라 굴절률 분포  $n(x,y)$  를 결정할 수 있다.

$$n(x,y) = \frac{\lambda_0}{2\pi} \frac{\Delta\phi}{\Delta z} \quad (3)$$

여기에서  $\lambda_0$  는 중심파장,  $\Delta\phi$  는 두 지점에서 켜 위상분포의 차이이고  $\Delta z$  는 이동한 거리이다. 단, 위상차  $\Delta\phi$  는  $2\pi$  의 정수배의 모호함이 있다. 그러나 이 값에 대한 굴절률의 변화  $\delta n$  는  $\Delta\phi$  가  $2\pi$  에 해당하는 값으로 식 (3)에서  $\delta n$  는  $\lambda_0/\Delta z$  이 된다. z축을 따라 시료를 움직인 거리  $\Delta z$  는 적혈구의 두께보다 조금 작은  $1-\mu m$  가 되게 했으므로 굴절률의 변화는 0.5 정도로 비교적 큰 값이므로 쉽게 구별된다. 그러므로 위상값에서  $2\pi$  의 정수배인 모호함은 쉽게 없앨 수 있다.

1. Andrew Dunn et al., “Three-Dimensional Computation of Light Scattering From Cells”, *IEEE J. Select. Top. Quantum Electron*, 2, 898-905 (1996).
2. Yuuki Watanabe, et al., "Full-field optical coherence tomography by achromatic phase shifting with a rotating polarizer", *Appl. Opt.*, 44, 1387-1392 (2005).