

살아있는 세포 영상획득을 위한 common-path phase microscopy

Common-path phase microscopy for lives cell imaging

이지용, 이승락, W.Z. Yang, 김덕영
 3D 나노광이미징시스템연구단, 광주과학기술원 정보기전공학부
 jylee@gist.ac.kr

We present a quantitative phase microscopy for live cells. This method uses the principles of common path inteferometry and single shot phase image. This system has the ability to measure live cells quantitatively with subnanometer path length stability and millisecond scale aquisition time.

Phase Contrast (PC) 와 Differential Interference Contrast (DIC)현미경은 살아있는 세포를 부가의 contrast agents 없이 영상화할 수 있는 기술로 세포관찰용으로 폭넓게 이용되어왔다. 그러나 PC와 DIC 현미경기술은 위상정보를 intensity image로 변환시켜 영상화하는 기술로 제한된 물리적인 정보만 제공할 뿐이다. 이 한계를 극복하기 위하여 Quantitative phase microscopy 기술이 제안되었으며, 최근 많이 연구되고 있다.^{1),2)} 본 논문에서는 살아있는 세포의 정량적인 위상영상획득을 위한 위상현미경기술을 소개한다.

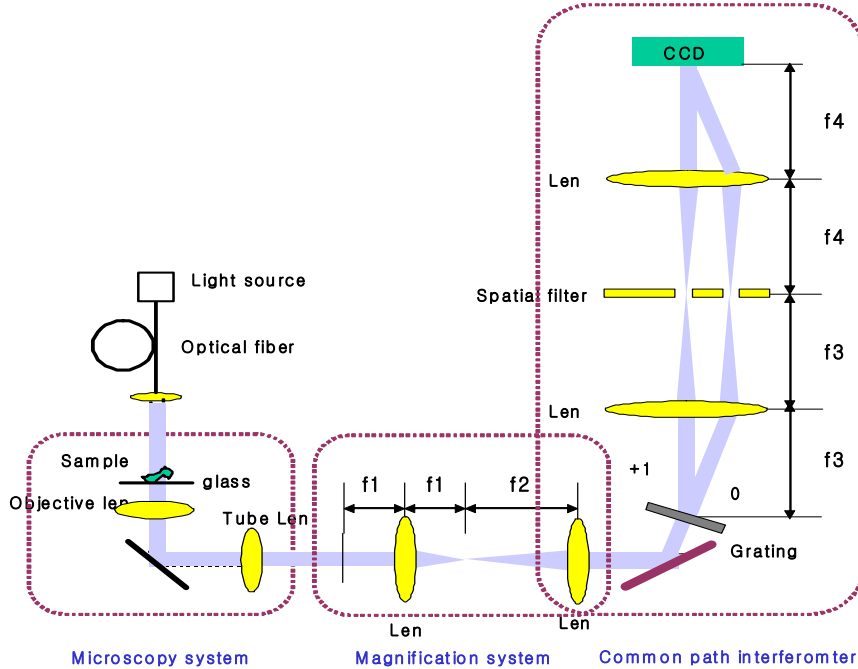


그림 1

[그림1] Diffraction phase microscopy

제안된 위상현미경은 크게 (1) microscopy system, (2) magnification system , 그리고 (3) common-path interferometer로 3부분으로 이루어졌다. 광섬유로 커플링된 632nm의 반도체레이저가 광원으로 사용되었고, 본체 현미경으로 inverted microscopy(IX-51, Olympus inc.)이 사용되었다. Video

output port 후미에 $f1/f2=2$ 인 magnification lens계를 장착했으며, image plane에 Transmission grating(grating pitch=5000/inch)을 위치시켜 0th차 1st차의 diffraction된 광을 이용한 common path interferometer를 구성하였다. 0th차 beam의 광경로의 Fourier plane에 pinhole을 두어 low-path filtered된 0th차 beam을 reference beam으로 1st차는 sample beam으로 이용하였다. 또한 $f4/f3=5$ 인 lens system을 이용하여, objective len를 제외한 시스템의 배율을 10배로 맞추었다. common path interferometer를 통과한 reference beam과 sample beam은 간섭무늬를 일으키고, CCD에서 검출된다. 본 실험에서는 2차원 hilbert변환이 위상추출알고리즘으로 사용되었다.

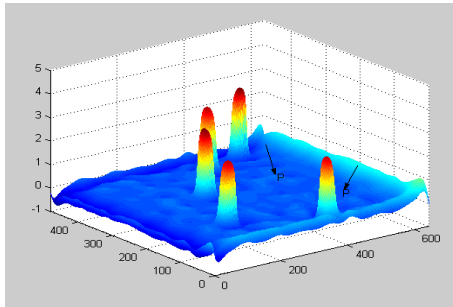


그림 2.(a)

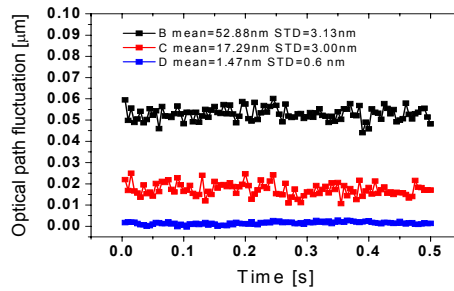
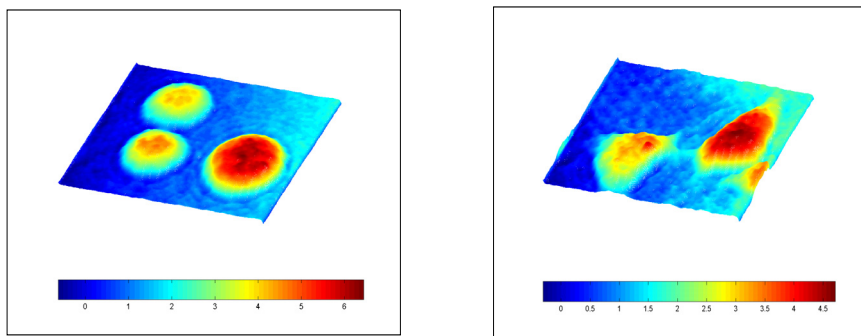


그림2.(b)

[그림2] (a) 지름이 3um인 polystyrene beads를 측정된 위상이미지 (b) Optical path length fluctuation

그림 2.(a)는 지름이 3um인 polystyrene beads의 위상이미지이다. 그림2.(b)는 동일 샘플을 5ms의 촬영속도로 100장을 찍은 후 p1, p2 지점의 optical path fluctuation을 조사한 그림이다. 검정선(B)은 p1지점, 붉은선(C)는 p2점 측정 data이다. 또한 파란선(D)는 샘플이 없을 때 측정된 그래프이다. p1 지점의 위상평균값은 약52nm, p2지점의 평균위상값은 약 17nm이고 Temporal standard deviation은 약 3 nm이다. 샘플이 없을 때 얻은 평균위상값은 약 1.4nm 이고, temporal standard deviation은 0.6nm이다.

그림 3.(a),(b)는 Breast cancer cells의 위상이미지이다. 단위는 um이다.



[그림3] (a),(b) phase image of Breast cancer cells

본 논문에서는 subnanometer의 path length, millisecond time scales로 살아있는 세포의 quantitative 한 위상 imaging이 가능한 diffraction phase microscopy를 소개하였다.

[Acknowledgment]

This work was supported by Creative Research Initiatives (3D Nano Optical Imaging Systems Research Group) of MOST/KOSEF.

[참고문헌]

1. Gabriel Popescu, Takahiro Ikeda, Ramachandra R. Dasari, and Michael S. Feld, Optics Letter 31, 775-777 (2006).
2. Y.K. Park, G. Popescu, K. Badizadegan, R.R. Dasari, and M.S. Fled, Optics Express, 14, 8263-8268, 2006