

생물의료용 연 X-선 현미경 시스템 개발

Development of a soft X-ray microscopy system for Biological Application

김경우, 권영만, 김규겸, 민중환, 박정권, 임종혁, 남기용, 윤권하*, 민진영**
원광대학교 익산방사선영상과학연구소, 원광대학교 의과대학 방사선과*, (주)리시스템**
kwkim@wonkwang.ac.kr

Abstract - In this paper the conceptual design and development of a compact vertical type soft x-ray microscope is described. This x-ray microscope operates in the water window wavelength region(2.3~4.4nm), where natural contrast between carbon(protein) and oxygen(water) allows imaging of unstained biological material their natural, hydrated environment. Until now, operational x-ray microscopes are based on synchrotron radiation sources, which limit their accessibility. Many biologists would benefit from having the x-ray microscope as a tool among other tools in their own laboratory. For this purpose we introduced the compact vertical type soft X-ray microscope with 50 nm resolution for biomedical application. The compact vertical type soft x-ray microscope is based on a laser plasma x-ray source, doubled ellipsoidal condenser reflective optics, diffractive zone plate optics and MCP coupled with CCD to record an x-ray image.

연 X-선 현미경에서 사용하는 '물의 창' 영역이라 불리는 파장영역으로 물과 생체를 구성하는 단백질과의 흡수계수의 차가 큰 현상을 이용하여 수분층을 통해서도 단백질을 관찰할 수 있다. 따라서 시료의 전처리과정에 의하여 생체시료가 파괴 또는 죽지 않게 되므로 살아있는 상태에서 수십 나노미터의 분해능으로 생체시료의 내부구조 및 현상을 관찰할 수 있어 기존 현미경으로는 얻을 수 없는 영상 및 세포내의 기능성 단백질의 관찰도 가능하다. 현재까지의 연구는 방사광을 이용한 X-선 현미경을 주로 사용하고 있으나, 사용에 제약이 많아 활용도 및 사용자에게 많은 제약이 있다. 따라서 본 연구에서는 실험실에서 유용하게 사용할 수 있는 생물의료용 수직형 연 X-선 현미경 시스템을 개발하고자 한다.

수직형 연 X-선 현미경 시스템의 광학계 구성은 Fig. 1과 같다. 본 시스템에서 사용하는 X-선 광원은 액체질소 liquid-jet 타겟에 고출력의 Nd/YAG 레이저를 초점렌즈를 통하여 집적하여 X-선을 발생한다. Liquid-jet 타겟은 미세파편이 발생하지 않고 높은 에너지의 안정적인 광원을 얻을 수 있는 장점이 있다.⁽¹⁾ 광원의 강도 및 밝기와 파장영역은 생체 시료에 적합하도록 최적화하였다. 조명광학계는 이중의 타원형 거울을 적용하였으며 central stop을 타원거울 사이에 부착하여 거울의 중심부를 통과하는 x-선과 대물광학계로 사용하는 존플레이트의 0차광을 제거하도록 하였다. 대물광학계로 사용하는 존플레이트는 약 12%의 x-선 집광효율을 가지며 최외각 존의 폭은 50nm이며, 배율은 1000배이다. X-선 검출기는 Chevron 타입의 MCP를 CCD에 부착하여 제작하였으며, 반도체 냉각방식과, 수냉방식에 의해 냉각되어진다. 조명광학계, 시료, 대물광학계 및 검출기의 광학적인 정렬은 정렬 스테이지에 의하여 주어 진 자유도로 이루어지며, 정렬 알고리즘을 이용하여 컴퓨터에 의해 제어된다. 조명광학계인 이중 타원형 거울은 5축의 자유도를 갖는 구동 스테이지(3-axis translation stage & 2-axis tilt stage, PI)에 장착되

어 실험계획법을 이용한 정렬알고리즘으로 광원으로부터의 x-선을 집광하여 시료에 조명한다. 시료는 홀더에 고정되어 3축의 자유도를 갖는 선형스테이지에 의하여 원하는 위치로 정렬된다. 존플레이트는 광축방향으로 이동할 수 있는 정렬 스테이지에 장착하여 초점거리를 조정한다. 또한 시료와 존플레이트 사이의 상대거리를 정렬하기 위한 정렬광학계를 적용하였다. 시스템 전체의 광학정렬은 각 요소의 기능에 맞추어 정렬알고리즘을 작성하여 자동 정렬을 수행하도록 프로그램을 작성하였다.

연 x-선 현미경 시스템은 연 x-선을 광원으로 사용하기 때문에 대기상에서는 흡수가 일어나므로 광원의 경로는 진공상태를 유지하도록 진공챔버로 구성하였다. 광원챔버 및 미러챔버의 진공도는 약 10^{-6} torr, 검출기 챔버는 약 10^{-7} torr를 유지하도록 설계 제작하였다 (Fig. 2).

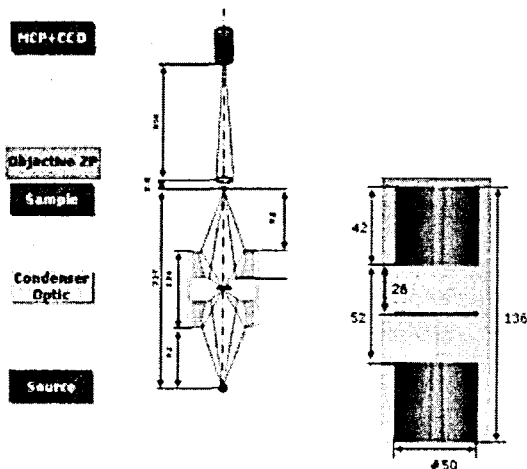


Fig. 1 Optical system of the compact vertical soft x-ray microscope system with a laser produced plasma source.

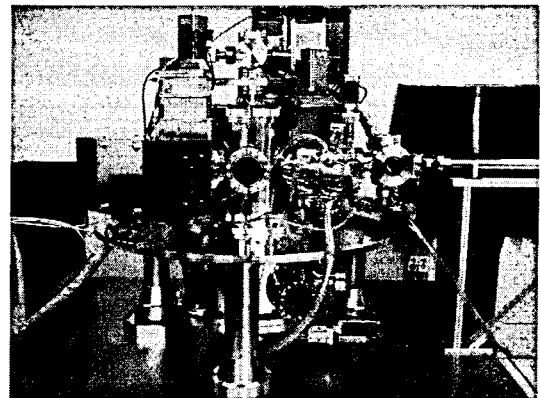


Fig. 2 Photograph of compact vertical type soft x-ray microscope.

시료는 스프링의 예압을 이용한 kinematic mechanism을 적용하여 수 마이크로 급의 정밀도로 시료 교체시 항상 일정위치에 정렬되도록 설계 제작하였다. 시료 홀더에 생체시료를 고정하기 위한 시료실 기판은 실리콘 웨이퍼를 이용하며, 중심부에는 포토 리소그래피법으로 가공한 길이가 1mm인 정사각형 홀이 있으며 Si_3N_4 가 코팅이 되어 있다. 생체시료가 놓이는 시료 홀더부는 생체시료의 보존을 위하여 시스템 내부의 진공과 분리되도록 설계, 제작하였다.⁽²⁾

참고문헌

1. K. H. Yoon, K. W. Kim, and Y. D. Shin, "Design of laser plasma-based X-ray microscope system using grazing incidence mirror for biology applicagtion," in *VII international Conference on X-ray Microscopy 02*, 2002, pp. 79.
2. K. W. Kim, K. Y. Nam, Y. M. Kwon, S. T. Shim, K. G. Kim, and K. H. Yoon, "Conceptual Design of Soft X-ray Microscopy for Live Biological Samples," *Journal of the Optical Society of Korea*, vol. 7, No. 4, 2003, pp. 230-233.

FC