홀로그래픽 현미경을 이용한 생물 물리 연구 동향

DOI: 10.3938/PhiT.25.052

이상윤·김도연·박용근

Trends in Biophysical Studies Using Holographic Microscopy

SangYun LEE, Doyeon KIM and YongKeun PARK

Optical imaging of microscopic objects provides valuable information in various fields of research ranging from physics to engineering and to medical diagnosis. Particularly in biophysics, optical microscopic techniques are invaluable methods for investigating important scientific questions. Conventionally, bright-field microscopy and fluorescent techniques have been extensively used in biophysics. Recently, holographic microscopy techniques have been exploited for the study of biophysics. Due to the level-free and quantitative imaging capability of holographic microscopy, its uses have grown rapidly. To provide an overview of how holographic microscopy can be exploited to address various biophysical problems, we summarize recent progress on holographic microscopy techniques and their applications in biophysics.

들어가는 글

17세기 후반 로버트 훅(Robert Hooke)이 현미경으로 코르크

저자약력

이상윤 연구원은 2013년 KAIST 물리학과를 졸업하고, 현재 KAIST 물리학과 의광학 연구실에서 홀로그래픽 현미경을 이용한 의료 영상 관련 연구를 진행 중이다. (prism@kaist.ac.kr)

김도연 연구원은 2016년 KAIST 화학과를 졸업하고, 현재 KAIST 물리학과 의광학 연구실에서 홀로그래픽 현미경을 이용한 의료 영상 관련 연구를 진행 중이다. (faith286@kaist.ac.kr)

박용근 교수는 2010년 Harvard-MIT 의과학과에서 박사학위를 취득하였으며, 2010년부터 KAIST 물리학과에서 근무하고 있다. 홀로그래피와 파면 제어를 기반으로 의학/생물학 연구를 위한 광기술 개발을 하고 있다. 3차원 홀로그래픽 현미경 개발 업체인 Tomocube, Inc.를 2015년에 창업하였으며, 시간역행반사 창의연구단을 운영하고 있다. (yk.park@kaist.ac.kr)

마개의 세포(cell)를 관찰한 이래, 광학현미경을 이용한 이미징 기법은 미시영역에서의 생명현상을 직접적으로 관찰할 수 있는 대표적인 방법으로 자리 잡았다. 특히 육안으로 관찰이 어려운 세포와 미생물 같은 마이크로미터 크기의 작은 생물 시편의 직접적인 이미징이 가능해지면서, 미시영역에서 일어나는 세포간의 상호작용이나 생명현상을 자연계의 물리법칙으로 설명하고자 하는 생물 물리(biological physics, biophysics) 분야 역시 성장에 탄력을 받게 되었다.

광학 이미징 기법은 이후 꾸준히 발전하여 왔다. 현재는 초고해상도 현미경(super-resolution microscope)을 이용한 단일분자 수준의 이미징과 형광단백질(fluorescent protein)을 탐침(probe)으로 사용하여 세포 내 특정 분자를 선택적으로 추적하는 방법이 널리 사용되고 있으며, 세포의 집합적 이동(collective cell migration)이나, 조직의 산란을 직접적으로 낮추어 복잡한 조직 내의 세포 구성을 이미징할 수 있는 기술, 또한 살아있는 생쥐의 뇌 속에 있는 단일 신경세포를 직접적으로 관찰할 수 있는 기술도 개발되어 일상적으로 사용되고 있다. 본 소개 논문에서는 최근 생물 물리 연구분야에서 새로운 이미징 기법으로 대두하고 있는 홀로그래픽 현미경(holographic microscope)의 원리에 대해 설명하고 이와 관련된 생물 물리의 연구동향을 소개하고자 한다.

홀로그래피(holography)의 어원은 ‘전체(whole)’를 뜻하는 고대 그리스어인 ‘holos’와 ‘쓰기(writing)’를 뜻하는 ‘graphe’가 합쳐진 말로 빛의 세기(intensity)와 위상(phase), 즉 빛의 모든 정보를 측정할 수 있는 기술을 칭한다. 그동안, 사람의 눈이나 카메라는 빛의 세기만을 측정할 수 있어 가시광선 영역의 전자기파를 별로 흡수하지 않는 생물 시편의 이미징에 한계점이 있었다. 빛의 세기를 크게 변화시키는 일반적인 시편과는 달리 투명한 생물 시편은 빛의 세기를 거의 바꾸지 않기 때문이다. 생물 시편 내부의 굴절률(refractive index) 분포로 인해 빛의 위상은 크게 바뀌지만, 일반적인 광학 현미경으로는 빛의 위상을 측정할 수 없었다.

1940년 후반 데니스 가버(Dennis Gabor)는 시편에 의해 산란한 빛에 추가로 참조광(reference beam)을 간섭시킬 때 얻을

Fig. 1. The imaging principle of holographic microscopy. (A) Differences in imaging contrasts between light intensity and holographic imaging techniques. (B) 2-D & 3-D holographic imaging techniques.

수 있는 홀로그램(hologram)에서 빛의 세기 정보뿐만이 아닌 위상 정보 역시 얻는 방법을 개발하였다(그림 1(A) 참조). 이때 얻을 수 있는 위상 정보는 빛이 서로 다른 굴절률을 가진 매질을 투과할 때 생기는 속도의 차이에 의해 생기는 위상 지연(phase delay)을 담고 있으며, 이는 매질 간의 굴절률 차이와 매질 두께의 곱으로 생각될 수 있다. 따라서 매질의 굴절률 정보를 미리 알고 있다면, 세포 표지(cell labeling)의 필요 없이 홀로그램에서 생물 시편의 두께를 직접 얻을 수 있기에 세포의 정량적인 이미징이 필수적인 생물 물리 연구의 새로운 연구기법으로 대두하였다.^[1,2]

최근에는 홀로그래픽 현미경 기술이 발달하면서, 측정된 위상 지연에서 측정 시편의 굴절률과 두께 정보를 분리하는 동시에 시편의 3차원 정보 역시 복원이 가능해지게 되었다. 이는 시편을 고정해 놓은 뒤 광원을 여러 방향에서 비추어주거나, 반대로 광원을 고정한 뒤 시편을 회전시키거나, 측정 시편을 광축방향으로 스캐닝하며 얻은 광학 장(optical field)으로부터 헬름홀츠 방정식(Helmholtz equation)을 역으로 풀어 빛이 통과한 생물 시편의 3차원 굴절률 정보를 재구성하게 된다(그림 1(B) 참조).^[3]

홀로그래피는 세포의 위상정보를 측정할 수 있어 이미징을 위해 세포를 염색할 필요가 없는 비표지(label-free) 기술로 기존의 형광 탐침(fluorescent probe)의 광표백화(photobleaching) 또는 광독성(phototoxicity) 문제에서 자유롭다. 더욱이 생물 시편의 준비과정 역시 비침습적(noninvasive)이며 간단하다는 장점이 있다. 또한 세포의 굴절률 및 두께 정보를 실시간으로 정량적(quantitative)으로 얻을 수 있으므로 생물 물리 분야에서의 세포

동역학(cell dynamics) 연구에도 적합하다.

하지만 홀로그래픽 현미경 기술의 가장 큰 단점은 분자 특이성(molecular specificity)이 결여되어 있다는 점이다. 매질 내의 분자가 다르더라도 굴절률로 대표되는 광학적 성질이 비슷하다면 세포의 위상정보만으로는 서로 다른 분자를 구분할 수 없기 때문이다. 이러한 한계점을 극복하기 위해 최근에는 물질마다 파장에 따른 분산 스펙트럼(dispersive spectrum)이 다르다는 점을 활용하거나^[4,5] 자외선 영역의 빛을 사용하여 세포의 핵을 구분하고,^[6] 세포 내 타깃 단백질에 선택적으로 높은 굴절률을 가지는 금나노입자(gold nanoparticle)를 부착함으로써 세포 내 기관들을 구분하려는 연구^[7]가 활발히 진행되고 있다.

세포의 건조 질량 측정

홀로그래픽 현미경을 이용한 생물 물리 연구 중 대표적인 응용 예는 세포의 건조 질량(dry mass) 측정이다. 건조 질량은 세포를 구성하는 성분 중 물을 제외한 나머지를 일컫는 용어로 세포 내 단백질, 지방, 그리고 탄수화물 등을 포함한다. 건조 질량은 세포를 직접적으로 구성하고 세포가 영양분으로 사용하는 성분들이기 때문에 주로 세포의 성장이나 분열 연구의 주요 지표로써 사용된다. 이전에 흔히 사용되는 측정 방법은 세포를 파쇄한 후, 그 산물을 가열하여 수분을 증발시키는 방법이었다. 하지만 이러한 방법은 살아있는 세포의 건조 질량을 측정하지 못하기 때문에 1950년대부터 간접 현미경을 사용한 비침습(non-invasive) 측정 방식이 연구되기 시작하였다.

영국의 Barer 연구팀은 빛이 세포를 통과하면서 발생한 위상 지연이 세포 내 물질의 농도와 관련이 있다는 것을 수식으로 도출하였다. 이를 실험적으로 구현하기 위해 간접 현미경을 사용하여 위상 지연을 측정한 후, 세포의 단위 면적당 건조 질량(dry mass density distribution)을 계산하였다.^[8] 그 후 미국 MIT 연구팀에서는 디지털 홀로그래픽 현미경을 사용하여 세포의 건조 질량을 측정한 후 이를 세포의 성장 과정 연구에 응용하였다.^[9] 그림 2(A)와 같이 단일 층으로 이루어진 헬라 세포(HeLa cell,

REFERENCES

- [1] G. Popescu, *Quantitative phase imaging of cells and tissues* (McGraw-Hill Professional, 2011).
- [2] K. Lee *et al.*, *Sensors* **13**, 4170 (2013).
- [3] K. Kim *et al.*, *J. Biomed. Photonics Eng.* **2**, 020201 (2016).
- [4] J. Jung, J. Jang and Y. Park, *Anal. Chem.* **85**, 10519 (2013).
- [5] J. Jung *et al.*, *Appl. Opt.* **53**, G111 (2014).
- [6] Y. Sung *et al.*, *PLoS ONE* **7**, e49502 (2012).
- [7] N. A. Turko, A. Peled and N. T. Shaked, *J. Biomed. Opt.* **18**, 111414 (2013).
- [8] R. Barer, *Nature* **172**, 1097 (1953).
- [9] G. Popescu *et al.*, *Am. J. Physiol., Cell Physiol.* **295**, C538 (2008).

Fig. 2. (A) Dry mass density image of HeLa cells obtained using Fourier phase microscopy. (B) Temporal evolution of total dry mass content for numbered cells in Fig. 2. (A). (C) Dry mass vs. time of E. coli family. (D) Growth rate vs. mass of 20 cells. (E) Correlation map between volume and hemoglobin content. (F) between sphericity and volume. Reproduced from Ref. [9], [11], and [14] with permission.

자극경부압 세포)의 위상 영상을 홀로그래픽 현미경으로 촬영해 각 세포의 단위 면적당 건조 질량을 계산한 후, 임의의 세포들에 대하여 시간에 따른 건조 질량의 변화를 지속적으로 관찰하였다 (그림 2(B) 참조).

선행 연구들에서 살아있는 세포의 건조 질량을 간접 현미경을 사용하여 실시간으로 측정할 수 있고 얻어진 건조 질량 정보가 세포의 성장과정 연구에 사용될 수 있다는 것이 밝혀진 후, 후속 연구들에서는 이를 여러 종류의 세포 연구에 응용하기 시작했다. 2009년 스위스의 로잔연방공과대 연구팀은 디지털 홀로그래픽 현미경을 사용하여 효모의 세포 주기에 따른 건조 질량을 측정하였다.^[10] 또한 2011년에는 미국 UIUC 대학 연구팀에서 홀로그래픽 현미경으로 대장균의 성장 양상이 지수 함수적 증식이라는 실험적인 증거를 얻어내었다.^[11] 그림 2(C)와 같이 각 대장균에 대하여 시간에 따른 건조 질량 정보를 얻은 후 이를 여러 세포에 대하여 반복하여 질량에 따른 성장 속도 그래프를 얻었다 (그림 2(D) 참조). 해당 결과는 대장균의 성장 양상이 선형적 증식이 아니라 지수함수적 증식이라는 것을 보여주었다. 또한 2013년에는 미국 하버드와 MIT 공동 연구팀이 연골 세포의 부피 증가 기작을 홀로그래픽 현미경을 사용한 건조 질량 모니터링으로 알아내었다.^[12] 연골 세포의 부피 증가는 골격 형성에 중요한 역할을 담당하지만 그 기작은 이전까지 알려져 있지 않았다. 해당 연구팀은 연골 세포의 건조 질량을 지속적으로 관찰하여 부피 증가가 크게 세 단계로 일어나며, 마지막 부피 증가 단계가 인슐린 유사 성장 인자(insulin-like growth factor)에 의해 조절된다는 사실을 밝혀내었다. 현재는 건조 질량을 단일세포분석(single cell profiling)에 응용하려는 연구가 활발히 진행되고

있다.

단일 세포의 특성을 분석하여 질병을 진단하려는 연구^[13]에서 사용될 수 있는 세포 특성 중 하나로 홀로그래픽 현미경을 사용하여 실시간으로 측정 가능한 건조 질량이 주목 받고 있는 것이다. 실제로 2014년에는 본 연구실에서 3차원 홀로그래픽 현미경을 이용하여 정상, 철결핍성 빈혈(iron deficiency anemia), 망상 적혈구(reticulocyte) 수 과다, 그리고 유전성 구상적혈구증(hereditary spherocytosis) 환자 등 다양한 혈액 질환을 가진 환자의 적혈구의 헤모글로빈 양과 부피 등의 특성을 분류했는데, 이때 건조 질량 계산식으로 단일 적혈구의 헤모글로빈 양을 도출해낼 수 있었다(그림 1(E), (F) 참조).^[14] 그리고 2015년에는 본 연구실에서 에탄올이 단일 적혈구에 미치는 영향을 마찬가지로 홀로그래픽 현미경을 사용하여 얻은 건조 질량 등의 특성으로 설명하였다.^[15] 앞서 언급했듯이 건조 질량은 세포를 구성하고 영양분이 되는 성분들의 집합체이므로 세포의 물질 대사와 밀접한 연관이 있다. 홀로그래픽 현미경을 사용할 경우, 이를 살아있는 세포에서 실시간으로 측정할 수 있기 때문에 비침습 검사가 필요한 기초 세포 생물학 연구 및 의학 진단에 활발히 응용될 것으로 기대된다.

REFERENCES

- [10] B. Rappaz *et al.*, J. Biomed. Opt. **14**, 034049 (2009).
- [11] M. Mir *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. **7**, 108 (2011).
- [12] K. Cooper G. *et al.*, Nature **495**, 375 (2013).
- [13] D. J. Weatherall, N. Engl. J. Med. **364**, 376 (2011).
- [14] Y. Kim *et al.*, Sci. Rep. **4**, 6659 (2014).
- [15] S. Y. Lee *et al.*, PLoS ONE **10**, e0145327 (2015).

Fig. 3. Cell dynamics studies employing holographic microscopy. (A) A set of cross-sectional slices of the 3-D refractive index tomogram of the malaria parasitized RBCs with different axial locations. (B) 2-D membrane height profiles and membrane fluctuation maps of RBCs from a sickle cell disease patient. (C) The label-free observation of HEK 293 cell electromotility. (D) Observed phase alterations in a neuron cell mediated by treating glutamate. Reproduced from Refs. [18], [20], [24], and [25] with permission.

Cell Dynamics and Mechanics

홀로그래픽 현미경은 실시간으로 일어나는 세포의 움직임이나 상호작용을 정량적으로 이미징할 수 있기 때문에 세포동역학이나 세포의 물리적 특성 연구에 다방면으로 응용되고 있다. 대표적인 관련 생물연구로는 적혈구(red blood cell)에 관한 연구를 들 수 있다. 적혈구는 모세혈관까지 산소 운반을 용이하게 할 수 있도록 높은 탄성도(deformability)를 지니도록 진화해 왔다. 적혈구의 세포막 내벽에는 세포골격 단백질(cytoskeletal protein)인 스펙트린(spectrin)과 여러 막 단백질들이 촘촘한 네트워크를 구성하고 있어 막이 높은 탄성도를 지니게 하는데, 이를 홀로그래피로 측정한 적혈구의 실시간 세포막 떨림과 연결 짓기 위한 연구들이 수행된 바 있다.^[16,17] 적혈구의 탄성도는 다양한 생리학학적 병리학적인 요인에 의해 영향을 받는다고 알려져 있다. 정상 적혈구뿐만 아니라 말라리아(malaria)^[18]나 바베시아(babesia)^[19] 같은 기생충 감염성 질환부터 겸상적혈구 빈혈증(sickle cell disease)^[20] 같은 유전성 혈구질환에 노출된 적혈구의 탄성도 및 세포막 떨림 변화에 대한 연구 역시 비슷한 시기에 이루어졌다(그림 3(A-C) 참조).

적혈구의 세포막 진동과 탄성도와와의 관계는 생물물리학 분야에서 폭넓게 연구된 주제 중 하나이다. 70년대 중반 Brochard와 Lennon에 의해 적혈구 세포막 진동의 correlation 분석을 통

해 탄성도를 추출할 수 있는 이론적인 방법이 제시된 이후,^[21] 다양한 연구자들이 간접 현미경을 이용해서 관련 실험 연구를 수행하였다. 위상차 현미경(phase contrast microscopy)을 이용해서도 세포막 진동을 측정할 수는 있었으나 정확한 진폭을 정량적으로 측정하기가 어려웠다. 홀로그래픽 현미경이 적혈구의 이미징에 응용되면서부터는 50 nm 정도에 달하는 적혈구의 세포막 진동을 정확하게 측정할 수 있게 되었다.^[22,23]

다른 세포 연구 분야로는 태아 간세포인 HEK 293 세포에 주기적인 전기자극을 주었을 때 홀로그래피로 얻은 세포의 위상 이미지를 주기 분석함으로써 세포막의 전기유동성(electromotility)을 비표지적으로 관찰한 연구^[24]가 있다. 최근에는 신경 생물학 분야에서 홀로그래픽 현미경이 활발하게 활용되고 있다. 글루타메이트(glutamate)를 매개로 단일 뉴런세포의 내부로 흐르는 전류를 유도해 신경세포의 위상변화를 관찰한 연구(그림 3(D) 참조),^[25] 그리고 뉴런 네트워크의 성장 및 성장에 있어서 염화리튬(LiCl)의 효과를 정량적으로 분석한 연구^[26] 등을 들 수 있다.

Soft Matter Biophysics

홀로그래픽 현미경은 샘플을 파괴할 필요가 없이 정량적인 측정이 실시간으로 가능하기 때문에 연성물질물리학(soft matter physics) 연구에도 활발히 사용되고 있다. 먼저 유체 내 입자의 3차원 운동 분석에도 홀로그래픽 현미경이 사용될 수 있다. 2007년 미국 MIT 연구팀에서 2차원 홀로그래픽 현미경을 활용하여 구형 폴리스티렌 입자의 3차원 브라운 운동을 추적하는데 성공하였다(그림 4(A) 참조).^[27]

2011년에는 미국의 하버드 연구팀에서 다중산란모형을 사용하여 구형 입자층의 병진, 회전, 진동 운동 모드를 동시에 측정하는 연구를 진행하였다.^[28] 하지만 위에 언급된 연구들에 사용

REFERENCES

- [16] Y. Park *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. **107**, 6731 (2010).
- [17] D. A. Fedosov, B. Caswell and G. E. Karniadakis, Biophys. J. **98**, 2215 (2010).
- [18] Y. Park *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. **105**, 13730 (2008).
- [19] H. Park *et al.*, Sci. Rep. **5**, 10827 (2015).
- [20] H. Byun, *et al.*, Acta Biomater. **8**, 4130 (2012).
- [21] F. Brochard and J. Lennon, J. Phys. France **36**, 1035 (1975).
- [22] G. Popescu *et al.*, Phys. Rev. Lett. **97**, 218101 (2006).
- [23] Y. Kim, K. Kim and Y. Park, *Measurement Techniques for Red Blood Cell Deformability: Recent Advances* (INTECH Open Access Publisher, 2012).
- [24] S. Oh *et al.*, Biophys. J. **103**, 11 (2012).
- [25] P. Marquet, C. D. Depeursinge and P. Magistretti, Annu. Rev. Biomed. Eng. **15**, 407 (2013).
- [26] M. Mir *et al.*, Sci. Rep. **4**, 4434 (2014).
- [27] Y. Park *et al.*, Opt. Lett. **32**, 811 (2007).
- [28] J. Fung *et al.*, Opt. Express **19**, 8051 (2011).

A

B

Fig. 4. (A) 3D trajectories of a 3 μm diameter polystyrene bead under Brownian motion. (B) Mass density imaging of a vaginal microbicide film. Reproduced from Ref. [27], and [30] with permission.

된 방법의 경우, 구형이 아닌 복잡한 입자에서는 방향 성분까지 추가가 되기 때문에 분석 능력에 한계를 보였다. 하지만 3차원 홀로그래픽 현미경을 사용할 경우, 물체의 3차원 굴절률 분포를 측정하기 때문에 입자의 모양이 산란 방정식의 해가 구해져 있는 특정 모양일 필요가 없다. 실제로 본 연구실에서는 2015년에 3차원 홀로그래픽 현미경과 홀로그래픽 광집계(holographic optical tweezers)를 사용하여 입자의 모양과 움직임을 3차원 공간에서 동시에 시각화하는 연구를 발표하였다.^[29] 또한 홀로그래픽 현미경으로 지방 이중층 막의 생물물리적 특성을 이해하려는 시도 또한 계속되고 있다.

분자의 수동 및 능동 수송 과정 또한 홀로그래픽 이미징을 통해 연구되고 있다. 먼저 2014년 미국의 듀크 대학 연구팀은 살균제 필름 속으로 물 분자가 어떠한 양상으로 확산되는지 필름 각 부분의 굴절률을 측정하여 살펴보았다(그림 4(B) 참조).^[30] 2011년에는 UIUC 그룹에서는 신경세포 내에서 소포체를 통한 물질 전달 과정을 1차원 확산 모델로 설명하였다.^[31] 단일 파장 레이저를 사용하는 기존의 방식으로는 스펙클(speckle)로 인한

공간 해상도의 감소 때문에 신경세포의 얇은 축삭돌기 및 수상돌기를 관찰하는데 어려움이 있었으나, 해당 연구진은 백색광을 사용하여 이를 극복하였다. 또한 같은 연구팀에서 2016년에는 위상 상관도 이미징(phase correlation imaging)을 사용하여 시간에 따른 세포 내부 굴절률 변화도를 측정함으로써 세포 내부에서 물질 전달이 어떠한 양상으로 일어나는지 연구하였다.^[32]

홀로그래픽 현미경이 효과적으로 사용될 수 있는 다른 한 가지 연구 분야가 바로 젖음(wetting) 현상이다. 기존에 관련 분야를 연구할 때에는 보통 표면에 붙어있는 물방울의 사진을 여러 각도에서 찍어 접촉각(contact angle)을 분석하였다. 하지만 이 경우 얻을 수 있는 정보가 제한적이고 그 크기와 접촉각이 비교적 큰 방울에만 효과적으로 적용될 수 있는 문제점이 있었다. 홀로그래픽 현미경을 활용한 정량적 위상 분석의 경우, 방울 내부의 굴절률 변화를 알 수 있고 측정 장비의 민감도가 높기 때문에 마이크로 사이즈의 방울에도 적용이 가능하다. 실제로 2015년에는 미국 Goddard 교수 연구팀에서 2차원 홀로그래픽 현미경을 사용하여 마이크로 물방울의 접촉각, 부피, 그리고 내부 굴절률 변화를 동시에 실시간으로 관찰하는데 성공하였다.^[33]

마지막으로 홀로그래픽 현미경 기술은 비가우시안(nongaussian) 및 비평형(nonequilibrium) 상태를 설명하는 연구에도 활발히 사용되고 있다. 특히 홀로그래픽 현미경을 이용한 위상차 측정은 샘플에 직접 센서를 부착하지 않아도 정량적인 정보를 얻을 수 있기 때문에, 외부 자극에 민감한 생물체 내 비평형 상태를 연구하는 곳에 적극적으로 사용되고 있다. 대표적인 생물체 내 비평형 상태가 적혈구의 막떨림 현상이다. 2010년 MIT 연구팀은 적혈구의 막떨림에 열에너지와 대사에너지가 동시에 기여한다는 것을 2차원 홀로그래픽 현미경을 이용해서 밝혀내었고,^[34] 이 연구 결과를 바탕으로 2011년 이스라엘의 Gov 외 공동 연구진은 적혈구의 막떨림 현상에 대한 이론적 모델을 제시할 수 있었다.^[35] 연성 물질은 그 특징상 외부에서 작용하는 힘과 환경 변화에 민감하게 반응한다. 따라서 일반적으로 재료의 구조와 역학을 분석하기 위해 사용되는 전자현미경(electron microscope) 및 원자간력 현미경(atomic force microscope)은 강한 진공 상태가 필요하거나 샘플에 외력을 가하기 때문에 연성 물질 연구에 적합하지 않다. 홀로그래픽 현미경의 경우 샘플을 변

REFERENCES

- [29] K. Kim, J. Yoon and Y. Park, *Optica* **2**, 343 (2015).
- [30] M. Rinehart *et al.*, *PLoS ONE* **9**, e95005 (2014).
- [31] R. Wang *et al.*, *J. Phys. Condens. Matter* **23**, 374107 (2011).
- [32] L. Ma *et al.*, *Sci. Rep.* **6**, 32702 (2016).
- [33] C. Edwards *et al.*, *Langmuir* **31**, 11020 (2015).
- [34] E. Ben-Issac *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **106**, 238103 (2011).
- [35] Y. Park *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **107**, 1289 (2010).

형하지 않고 있는 그대로 관찰할 수 있을 뿐만 아니라 샘플의 모양 및 내부 굴절률 분포 정도까지 높은 해상도로 측정할 수 있기 때문에 연성 물질 연구에 그 적합성을 인정받고 있다.

나오는 글

새로운 실험 방법의 개발은 새로운 과학적 사실을 규명하는데 큰 기여를 한다. 특히 생물학적 시편을 다루는 생물 물리 분야에서는 광학 이미징 기법의 혁신이 새로운 발견으로 이어지는 경우가 많았다. 복잡한 생명 현상을 이해하기 위해서는 시편을 살아 있는 상태로 관찰하는 것이 중요한데, 전자 현미경 기술은 매우 뛰어난 분해능을 제공하지만, 살아있는 시편을 측정하는 것이 매우 제한적이기 때문이다.

본 소개 논문에서는 레이저 간섭을 이용한 홀로그래픽 현미경의 원리를 간단히 소개한 뒤, 다양한 분야에서 활용되기 시작한 홀로그래픽 현미경의 이용 사례를 다루어 보았다. 홀로그래픽 현미경이 본격적으로 연구되기 시작한 것은 채 10년이 되지 않는다. 그 동안은 주로 광학 분야에서 기술적인 개발에 초점이 맞추어져 있었다. 하지만 몇 년 전부터 홀로그래픽 현미경이 다양한 분야의 연구자들에 의해 활용되기 시작했다. 생물학, 의학, 공학, 화학 등의 분야에서 새로운 연구 기법으로 활용되고 있으며, 점차 널리 알려져 가고 있다. 이러한 홀로그래픽 현미경의 저변 확대에는 상용화된 홀로그래픽 현미경의 보급도 일조했다. 2차원

홀로그래픽 현미경은 스위스의 Lynceetec, 벨기에의 Ovizo 등 10여 개 업체에 의해 판매되고 있으며, 최근에는 3차원 홀로그래픽 현미경이 한국의 Tomocube, 스위스의 Nanolive사에 의해 제품화되어 판매되고 있다. 이러한 제품화된 홀로그래픽 현미경의 보급으로 인해, 전문적인 광학 지식 없이 바로 홀로그래픽 현미경을 연구에 이용할 수 있게 되면서, 다양한 응용 연구가 확대되고 있다.

홀로그래픽 현미경은, 분자 특이성 정보를 주지 않는다는 단점이 있다. 따라서 홀로그래픽 현미경이 형광 현미경 기술을 대체할 수 없을 것이다. 하지만, 홀로그래픽 현미경은 생체 물질의 굴절률을 바탕으로 이미징을 하기 때문에, 세포와 조직의 동적 변화나 생체 시편의 국소 농도나 질량과 같은 형광 현미경 기법으로는 접근이 어려운 정보의 획득으로 활용될 수 있다. 또한 줄기세포나 면역세포와 같이 염색 연구 기법이 세포를 활용한 응용 분야에 제한을 두는 경우에도 홀로그래픽 현미경이 장점을 발휘할 수 있다.

본 소개 논문에서 새롭게 대두되고 있는 홀로그래픽 현미경을 이용한 생물 물리 연구 동향에 대해서 살펴보았다. 좋은 연구 기법이 있더라도 장점과 한계를 명확히 파악하지 못하면, 실질적인 연구를 하기가 어렵다. 본 소개 논문을 통해, 생물 물리 연구자들이 새로운 기술에 대한 이해에 도움이 되기를 바란다. 그리하여 궁극적으로는 홀로그래픽 현미경의 가능성을 충분히 활용하는 새로운 생물 물리 연구 결과가 많이 배출되기를 희망한다.