펄초 레이저를 이용한 카이랄 SFG 분광법 및 이미징 기술 개발

DOI: 10.3938/PhiT.28.024

Development of Femtosecond Chiral SFG Spectroscopy and Imaging Technique

Hanju RHEE, Taegon LEE, Sanghee NAH and Jun-taek OH

A chiral molecule, which is not superimposable with its mirror image like human hands are, plays a critical role in stereochemistry and biology. Despite the importance of molecular chirality, the lack of an incisive imaging tool for characterizing the stereochemical structure of chiral molecules on a microscopic scale has precluded further elucidating their function and dynamics in living cells. Here, we report a novel chiroptical imaging technique capable of distinguishing between mirror-imaged chiral molecules (enantiomers) as a part of the Korea Basic Science Institute (KBSI) Research Equipment

이한주·이태곤·나상희·오준택

Development Project, which has been ongoing since 2017, aiming not only for domestic development of foreign equipment but also for development of “world-first” equipment or techniques. As an essential method for chiroptical imaging, we have developed femtosecond chiral vibrational sum-frequency generation (SFG) spectroscopy because it is highly sensitive to the stereo-specific vibrational structure of chiral molecules. We are now combining the vibrational SFG spectroscopy with optical microscopy to further develop a chiroptical microscope system for implementing stereochemical imaging of enantiomers such as chiral drugs. In this article, we present a brief introduction of femtosecond chiral SFG spectroscopy and the chiroptical imaging technique.

들어가는 말

현대 과학에서 첨단 연구 장비를 활용한 분석과학의 비중과 중요성이 급속히 증가됨에 따라 국내에서도 첨단 분석 장비 개발에 대한 관심이 점차 높아지고 있다. 그러나 불행하게도 분석 장비가 고도화되고 첨단화될수록 투자 효율성, 시장성 등 현실적인 문제로 인해 자체 기술 개발보다는 외산 장비 수입에 의존하는 경우가 월등히 많다. 이렇게 고착화된 장비 개발 기술 문턱을 넘어 국내 연구 장비 산업 발전의 견인차 역할을 하고자 한국기초과학지원연구원(Korea Basic Science Institute, 이하 KBSI)은 2017년부터 출연연 빅사업으로 KBSI 분석과학 연구 장비 개발 사업을 추진해 오고 있다. 현재 진행되고 있는 KBSI 연구 장비 개발 사업에는 외산 분석 장비 국산화를 목표로 연구 개발하는 분야도 있지만, 세계 최초 장비 또는 핵심요소기술 개발 등 기존에 시도된 바 없는 좀 더 도전적인 연구 장비 개발 과제도 함께 추진하고 있다. 이는 과학 선진국 추격형 연구를 벗어나 미래 연구 분야를 선도하기 위해 첨단 연구 장비 및 관련 기술의 자체 개발이 반드시 필요하다는 인식을 반영한 것이기도 하다.

저자약력

이한주 박사는 2006년 포항공과대학교 화학과에서 박사학위를 취득한 후 고려대학교 화학과에서 박사후 연구원 과정을 거쳐 2009년부터 한국기초과학지원연구원에 재직 중이다. 펄초 레이저를 이용한 극초단 시분해 분광학 연구뿐만 아니라 최근에는 카이랄 SFG 및 CARS 이미징 등 다양한 비선형 광학 이미징 기술 개발 연구도 함께 수행하고 있다. (hjrhee@kbsi.re.kr)

이태곤 박사는 2014년 부산대학교 화학과에서 박사학위를 취득한 후 부산대학교 기능성물질화학연구소, 한국화학연구원 등에서 박사후 연구원 과정을 거친 후 2017년부터 한국기초과학지원연구원 등에서 박사후 연구원 과정 중이다. SFG 현상을 응용하여 카이랄 분자 이미징 기술 개발 연구를 수행하고 있다. (tglee@kbsi.re.kr)

나상희 박사는 2012년 University of Maryland 화학과에서 박사학위를 취득한 후 Stanford University 재료공학과와 Northwestern University 화학과에서 박사후연구원 과정을 거쳐 2017년부터 한국기초과학지원연구원에 재직 중이다. 현재 연구원에서 펄초 순간 흡광 이미징 기술을 이용한 나노소재 전자동역학 연구를 수행하고 있다. (snah@kbsi.re.kr)

오준택 연구원은 2013년 한양대학교 물리학과에서 학사 학위를 취득한 후 2018년부터 한국기초과학지원연구원 등에서 인턴 연구원으로 광학 이미징 시스템 제어 프로그램 개발을 진행하고 있다. (superojt@kbsi.re.kr)

본 저자는 KBSI 분석과학 연구 장비 개발 사업의 세부과제 중 하나인 '카이랄 분자 입체화학 영상 기술 개발' 과제를 수행하고 있으며, 서로 다른 입체 구조의 두 거울상 이성질체 분자를 판독할 수 있는 '세계 최초형' 광학 이미징 기술을 개발하고 있다. 본 기술이 성공적으로 개발된다면 기존 광학 영상 기술로는 관측이 어려운 세포 내 카이랄 약물의 반응기작 및 생체 역동성 분석이 가능해질 전망이며 신약 개발, 제약 산업 및 의학 연구에 혁신적인 생체영상 도구로서 유용하게 활용될 것으로 기대하고 있다.

카이랄 분자 이미징 기술은 크게 카이랄 분광 기술과 광학현미경 기술, 그리고 이 두 시스템을 결합하는 기술로 나눌 수 있는데 아직 개발이 진행 중인 관계로 본 특집호에서는 가장 핵심이 되는 펄스 레이저 기반 비선형 카이랄 분광법에 대해 주로 논의하고, 진행 중인 일부 이미징 기술을 소개하고자 한다.

카이랄 분자란?

사람의 오른손과 왼손처럼 어떤 물질의 분자가 자신의 거울상과 서로 포개어지지 않는 두 개의 서로 다른 구조를 가질 때, 이를 카이랄 분자 또는 거울상 이성질체 분자라 한다. 대표적인 예로, 아미노산은 중심 탄소 주변에 서로 다른 4개의 원자 또는 치환기가 정사면체 꼭짓점 방향으로 결합된 형태로 되어 있어서 반전 대칭(inversion symmetry)이 없기 때문에 두 거울상 아미노산 분자는 결국 '서로 다른' 입체 구조를 가진다(그림 1). 한 가지 흥미로운 점은 실험실에서 합성된 화합물은 두 거울상 이성질체가 각각 50 : 50으로 존재하는 라세믹(racemic) 상태가 되지만, 생명체 내에 존재하는 분자는 한 쪽 거울상 이성질체 또는 한 쪽 방향으로만 꼬여있는 카이랄 구조를 가지며, 이러한 생체물질의 한 쪽 방향 카이랄 성(homochirality)은 생명현상과 매우 밀접한 연관이 있는 것으로 알려져 있다. 이는 판매 의약품의 50% 이상이 카이랄 의약품이라는 사실과도 무관하지 않다. 카이랄 약물의 한 쪽 거울상 이성질체는 정상 효능을 보이지만, 그 반대 이성질체는 생체 내 다른 생화학 반응을 거쳐 심각한 부작용을 초래할 수도 있는 것이다. 이렇듯 카이랄 한 두 거울상 이성질체 분자는 동일한 화학식을 가지고 모양도 유사하지만 외부 물질과 서로 다른 화학 반응을 일으킬 수 있기 때문에 비대칭 촉매반응 및 생체 내 약물반응에서 결정적인 역할을 하며, 따라서 이들 분자의 3차원 입체 구조를 분석하는 일은 매우 중요하다.

광학 활성 분광법

광학 활성(optical activity)은 좌-원형 편광(left-circularly

Fig. 1. Mirror-imaged stereochemical structures of amino acid enantiomers (R- and S-Cysteine).

polarized, LCP) 및 우-원형 편광(right-circularly polarized, RCP)된 빛이 카이랄 분자와 서로 다른 상호작용을 통해 나타나는 광학적 성질로서 카이랄 분자의 입체화학 구조를 분석하기 위해 주로 사용된다. 대표적인 광학 활성 분광법으로 원편광 이색성(circular dichroism, CD), 카이랄 발광(chiral luminescence) 및 라만 광학 활성(Raman optical activity, ROA) 분광법 등이 있으며 카이랄 분자의 절대 배열(absolute configuration) 또는 단백질, DNA 등 생체고분자의 2차 구조(α -helix, β -sheet 및 DNA 이중나선 구조 등)를 분석하는 데 널리 활용되고 있다.^[1,2]

광학 활성 분광법은 LCP와 RCP 빛을 시료에 쬔어준 후 이 두 빛 간의 흡광($\Delta A = A_{LCP} - A_{RCP}$), 발광 또는 산란광($\Delta I = I_{LCP} - I_{RCP}$)의 차이를 측정한다. 그러나 이 두 빛 간의 신호 차이(ΔA 또는 ΔI)가 비카이랄 배경 신호(achiral background)의 $10^{-4} \sim 10^{-6}$ 정도로 매우 작기 때문에 압도적으로 큰 배경 신호로부터 미약한 광학 활성 신호를 분별하여 검출하기 위해서는 상당히 정밀한 측정이 요구된다. 물론, 측정 장비 기술의 발달로 인해 현재 상용되고 있는 CD나 ROA 분광기로도 웬만한 수준의 광학 활성 스펙트럼 측정이 충분히 가능해진 상황이지만 시분해 분광학 또는 카이랄 이미징과 같이 좀 더 높은 측정 감도를 요구하는 응용 연구에 활용하기에는

REFERENCES

- [1] N. Berova, K. Nakanishi and R. W. Woody, *Circular dichroism: principles and applications*, 2nd edn (Wiley-VCH, New York, Chichester, 2000).
- [2] L. D. Barron, *Molecular light scattering and optical activity*, 2nd edn (Cambridge University Press, Cambridge, UK, New York, 2004).

아직 기술적 한계가 있다. 다양한 카이랄 응용 연구를 위해 펄스 헤테로다인(heterodyne) 광학 활성 분광법^[3,4] 및 비선형 광학 현상을 이용한 SHG(second harmonic generation: 2차 조화파 생성),^[5] SFG(sum-frequency generation: 합 진동수 생성),^[6-8] CARS(coherent anti-Stokes Raman scattering)-ROA^[9] 광학 활성 분광법 등의 고급 분광 기술들이 개발되었다. 이 중에서 2차 비선형 현상을 이용한 SFG 분광법은 배경 잡음 신호의 간섭이 거의 없이 효과적인 카이랄 신호 측정이 가능하며 분자의 화학결합상태와 입체 구조에 대한 정보를 동시에 제공하는 등 여러 장점 때문에 비표지(label-free) 카이랄 분자 이미징 기술 개발에 유용하게 사용될 수 있다.

펄스 카이랄 SFG 분광법

SFG 분광법은 2차 비선형 현상을 이용한 레이저 분광법 중 하나로서 표면 또는 계면에 존재하는 분자의 구조나 동역학을 선택적으로 관찰하는 데 주로 사용되어 왔다.^[10] 이는 SFG와 같은 2차 비선형 전기 쌍극자 신호가 등방성의 벌크(isotropic bulk) 영역에서는 0이 되고, 오직 반전 대칭(inversion symmetry)이 깨지는 표면에서만 생성되기 때문이다. 그러나 카이랄 분자로 이루어진 용액의 경우에는 표면뿐만 아니라 벌크 영역에서도 상당한 세기의 SFG 신호가 생성될 수 있다는 사실이 이론과 실험 연구를 통해 입증되었다.^[11,12] 즉, 무작위 배향(randomly oriented) 분자로 이루어진 벌크 용액이라 할지라도 카이랄 분자 자체가 반전 대칭을 갖고 있지 않기 때문에, 그로 인해 카이랄 분자의 입체 구조 특이적인 독특한 SFG 신호를 얻을 수 있게 된다. Belkin 등은 피코초 적외선(IR) 및 가시광선(vis) 레이저를 이용해 리모넨(limonene) 벌크 용액의 카이랄 진동 SFG(chiral vibrational SFG) 스펙트럼을 최초로 측정하는 데 성공하였다.^[12] 그러나 낮은 레이저 펄스 반복률(10 Hz)과 하나의 스펙트럼을 얻기 위해 적외선 레이저 주파수를 스캔해야 되는 문제 때문에 기존 방법을 카이랄 이미징 기술로 확장하는 데에는 한계가 있다. 본 연구에서는 1 kHz 펄스 적외선 레이저를 이용해 카이랄 SFG 스펙트럼을 주파수 스캔 없이 한 번에 획득할 수 있는 측정 시스템을 고안하였고 원형 편광 세기 차이(circular polarization intensity difference, CID) 신호 측정을 통해 벌크 상태에서 카이랄 분자의 거울상 이성질체 구조를 판독할 수 있는 SFG 분광 기술을 최초로 개발하였다.^[13]

일반적으로 분자 진동 SFG 실험에서는 적외선(ω_{IR})과 가시광선(ω_{vis}) 두 개의 레이저가 입사 빔으로 사용되고 빛과 물질의 상호작용 후 시료로부터 발생되는, 이들의 합 진동수에 해당하는 $\text{SFG}(\omega_{\text{SFG}} = \omega_{\text{IR}} + \omega_{\text{vis}})$ 신호를 검출한다. 즉, 입사되

Fig. 2. (a) Energy level diagram of IR-vis SFG process. (b) Non-collinear three-wave mixing geometry for femtosecond chiral SFG spectroscopy. (c) Photographic image of the femtosecond chiral SFG measurement setup at the KBSI. This figure is adapted from Fig. 1 in Ref. [13].

는 적외선 레이저의 광자 에너지가 시료 분자의 진동 에너지와 일치할 때 분자 진동 공명 현상이 일어나며 가시광선 레이저가 공명된 분자와 두 번째 상호작용하여 SFG 신호가 발생된다. 표면이 아닌 벌크 시료 용액의 카이랄 SFG 신호 측정을 위해서는 세 빔(IR, vis, SFG)의 편광이 서로 직교해야 하며 그림 2는 이를 위한 3광파 혼합 편광 구조(three-wave mixing polarization geometry)를 보여준다. 실험에서는 IR과 vis 빔의

REFERENCES

- [3] H. Rhee, Y.-G. June, J.-S. Lee, K.-K. Lee, J.-H. Ha, Z. H. Kim, S.-J. Jeon and M. Cho, *Nature* **458**, 310 (2009).
- [4] H. Rhee, I. Eom, S.-H. Ahn and M. Cho, *Chem. Soc. Rev.* **41**, 4457 (2012).
- [5] M. A. Kriech and J. C. Conboy, *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 2834 (2005).
- [6] N. Ji, K. Zhang, H. Yang and Y.-R. Shen, *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 3482 (2006).
- [7] M. Okuno and T. Ishibashi, *J. Phys. Chem. Lett.* **5**, 2874 (2014).
- [8] L. Fu, J. Liu and E. C. Y. Yan, *J. Am. Chem. Soc.* **133**, 8094 (2011).
- [9] K. Hiramatsu, M. Okuno, H. Kano, P. Leproux, V. Couderc and H. Hamaguchi, *Phys. Rev. Lett.* **109**, 083901 (2012).
- [10] C.-S. Hsieh, R. K. Campen, A. C. Verde, P. Bolhuis, H.-K. Nienhuys and M. Bonn, *Phys. Rev. Lett.* **107**, 116102 (2011).
- [11] J. A. Giordmaine, *Phys. Rev.* **138**, A1599 (1965).
- [12] M. A. Belkin, T. A. Kulakov, K.-H. Ernst, L. Yan and Y.-R. Shen, *Phys. Rev. Lett.* **85**, 4474 (2000).
- [13] T. Lee, H. Rhee and M. Cho, *J. Phys. Chem. Lett.* **9**, 6723 (2018).

Fig. 3. (a) Chemical structures of R- and S-limonene. (b) *spp*-SFG and (c) *ssp*-SFG spectra of R-, S-limonene and their racemic mixture. CID SFG spectra of limonene measured using (d) manual and (e) EOM polarization switching. This figure is adapted from Fig. 2 in Ref. [13].

사잇각(θ)이 대략 30° 각도로 시료에 교차되도록 입사시켰고 위상 일치 조건(phase-matching condition)에 따라 두 입사 빔의 파수 벡터(wave vector) 합($\mathbf{k}_{\text{SFG}} = \mathbf{k}_{\text{IR}} + \mathbf{k}_{\text{vis}}$) 방향으로 생성된 SFG 신호를 검출하였다. 이러한 비공선 혼합 구조(non-collinear mixing geometry)에서 빛의 편광을 *spp*(순서대로 SFG-vis-IR 편광 방향)로 조절하면 세 빔 모두 서로 직교하는 성분이 존재하여 카이랄 SFG 신호 성분만이 살아남고 편광을 *ssp*로 조절하면 카이랄 성분과 무관한 비카이랄 SFG 텐서 성분이 측정된다. 그림 3(b)와 3(c)는 C-H 신축 진동 영역($2800 \sim 3000 \text{ cm}^{-1}$)에서 측정된 R형, S형 및 라세믹 리몬넨 용액의 *spp*-SFG 및 *ssp*-SFG 스펙트럼 결과를 보여주고 있는데 예상대로 카이랄 구조를 가지는 각각의 R형과 S형 리몬넨에서는 상당한 크기의 *spp*-SFG 신호 피크(peak)가 관찰되는 반면, R형과 S형이 50:50으로 섞여 있는 라세믹 시료에서는 각 성분의 상쇄효과에 의해 *spp*-SFG 신호가 사라짐을 확인할 수 있다.

spp-SFG 신호는 시료 분자의 구조가 카이랄한지 또는 거울상 초과량(enantiomeric excess)을 가지는지에 대한 정보를 줄 수 있지만 R형과 S형 거울상 이성질체 분자를 각각 구별해 내기는 어렵다. 그러나 CD나 ROA 측정법처럼 *p*-편광 대신 *vis*

빔의 편광을 한번은 LCP($I_{\text{LCP-SFG}}$), 다른 한번은 RCP($I_{\text{RCP-SFG}}$)로 변환시켜 그 차이에 해당하는 CID SFG($\Delta I_{\text{CID}} = I_{\text{LCP-SFG}} - I_{\text{RCP-SFG}}$) 신호를 측정하면 그림 3(d)와 같이 두 거울상 이성질체 분자에 대하여 서로 반대 부호를 가지는 거울상 스펙트럼을 얻을 수 있고, 이 CID 신호의 위상으로부터 카이랄 분자의 입체화학 구조가 R형인지 S형인지를 판독할 수 있다. 만일 입사 빔 또는 시료 스캔을 통해 CID SFG 신호의 위상과 세기를 2차원 또는 3차원 맵핑하면 R형과 S형 각각의 분자가 공간상에 어떻게 분포하고 있는지를 관찰하는 카이랄 분자 이미징 분석이 가능해진다. 기존 광학 활성 분광법과 비교했을 때 카이랄 SFG 분광법의 또 한 가지 장점 중 하나는 배경 잡음 신호(*ssp*)의 세기가 카이랄 SFG 신호(*spp*) 세기의 1/5 이하로 매우 작아 별도의 정밀 계측 장비 없이도 CID 신호 검출이 용이하다는 점이며, 이러한 특성은 높은 신호 감도를 필요로 하는 카이랄 이미징 실험에 상당히 유리하게 작용한다.

고속 편광 변조 장치를 이용한 CID SFG 신호 측정

가시광선 빔의 LCP와 RCP 편광을 $\lambda/4$ 파장판(wave plate) 등을 이용해 수동으로 조절하여 CID SFG 신호를 측정할 수도 있지만, 이러한 방법은 대면적 또는 장시간 이미징 측정 시 광 세기의 요동과 변화로 인해 정확한 측정이 어려운 단점이 있다. 본 방법에서는 좀 더 효과적인 CID 측정을 위해 전기광학 변조기(electro-optic modulator, EOM)를 사용해 인접한 *vis* 펄스 빔의 편광을 LCP와 RCP로 고속 변조시켰다(그림 4). 고속 편광 변조된 *vis* 빔으로부터 매 펄스마다 SFG 스펙트럼을 측정하기 위해서는 펌프초 레이저 시스템과 EOM, 그리고 EMCCD(electron multiplying charge coupled device) 검출기를 모두 동기화시키는 작업이 필요하다. 1 kHz 펌프초 레이저 시스템을 마스터 클럭(master clock, $f = 1 \text{ kHz}$)으로 사용하여 EOM은 주파수 분할기(frequency divider)를 거친 후 $f/2 = 500 \text{ Hz}$ 로, EMCCD는 레이저와 동일한 $f = 1 \text{ kHz}$ 로 동작시킨다. EOM 바로 앞에서 $\lambda/4$ 파장판을 이용해 *vis* 레이저 편광을 먼저 LCP로 만들고 그 다음 EOM을 $f/2 = 500 \text{ Hz}$ 속도로 반파 동작(half-wave operation)하도록 셋팅하면 고전압이 없을 때 첫 번째 레이저 펄스는 그대로 LCP, 고전압이 걸릴 때 인접한 두 번째 레이저 펄스는 RCP로 편광을 조절할 수 있다. EMCCD는 레이저 반복률($f = 1 \text{ kHz}$)과 같은 속도로 동작하기 때문에 LCP SFG($I_{\text{LCP-SFG}}(\omega)$)와 RCP SFG($I_{\text{RCP-SFG}}(\omega)$) 스펙트럼을 번갈아가며 검출/기록할 수 있고, 최종적으로 매 두 펄스마다 하나의 CID 스펙트럼($\Delta I_{\text{CID}}(\omega) = I_{\text{LCP-SFG}}(\omega) - I_{\text{RCP-SFG}}(\omega)$)을 획득할 수 있다. 이때 한 가지 더 고려해야 될 점은 EMCCD 측정 시 SFG 신호의 위상 잠금(phase locking)

Fig. 4. EOM-based fast polarization switching configuration for the CID SFG measurement. OPA: optical parametric amplifier, DFG: difference frequency generation, $\lambda/4$: quarter wave plate.

문제이다. 즉, 레이저 편광은 500 Hz로 변조되는 반면 EMCCD는 1 kHz로 동작하므로 매 펄스마다 EMCCD에서 측정되는 신호가 $I_{LCP-SFG}$ 인지 $I_{RCP-SFG}$ 인지 구별하기 힘들다. 본 실험에서는 별도의 HeNe 레이저를 EOM과 같은 속도($f/2=500$ Hz)로 동작하는 광학 쉑퍼(optical chopper)에 통과시킨 후 500 Hz로 변조된 HeNe 레이저를 EMCCD에서 동시 측정하는 방식으로 SFG 신호 위상 잠금 문제를 해결할 수 있었다. 그림 3(e)는 EOM 기반 고속 편광 변조 시스템을 이용해 측정된 리모넨의 CID 스펙트럼을 나타내며 수동 편광 조절을 통해 얻은 실험 결과와 잘 일치함을 보여준다.

카이랄 SFG 이미징 기술

카이랄 SFG 이미징 측정을 위해 앞서 설명한 카이랄 SFG 분광계와 광학현미경 시스템을 결합해야 하는데 여기서 중요하

Fig. 5. CID SFG image of AuNR-Cys complex obtained using the PMT detector and lock-in amplifier (dimension: 1 mm $\times$ 1 mm).

게 고려해야 할 부분은 적외선과 가시광선 레이저 빔을 시료에 집속시키는 대물렌즈 파트이다. 투과형 대물렌즈의 경우 가시광선과 중적외선을 모두 투과시키는 재질이 드물 뿐만 아니라 두 입사 빔의 파장 차이가 크기 때문에 심각한 색수차(chromatic aberration) 문제가 발생한다. 따라서 본 방법에서는 투과형 대물렌즈 대신 개구수(numerical aperture, NA)가 작아 낮은 분해능을 갖더라도 색수차와 투과율 문제가 없는 Cassegrainian 타입의 반사형 대물렌즈(NA=0.4)를 사용하였다. 또한, 카이랄 SFG 신호 생성을 위해 세 빔(SFG-vis-IR)의 편광이 모두 서로 수직해야 하는데, 일반적으로 사용되는 공선 빔 집속(collinear beam focusing) 방식에서는 상호 수직 편광 성분을 만들기 어렵다. 이를 해결하기 위한 한 가지 방법은 방사형 편광 변환기(radial polarization converter, RPC)를 사용하는 것이다. 선행 이론 연구에 의하면 NA가 높은($NA > 1$) 대물렌즈로 방사형 편광된 빛을 집속시키면 초점위치에서 빛의 진행 방향과 같은 방향의 종 편광(longitudinal polarization) 성분을 만들 수 있는데,^[14] 이때 나머지 두 빔의 횡 편광(transverse polarization)을 서로 직교시켜 카이랄 SFG 신호를 얻을 수 있다. 그러나 현재 사용하는 반사형 대물렌즈의 NA 값은 NA=0.4로 작기 때문에 생성되는 종 편광 성분의 세기도 무시할 정도로 작아 카이랄 SFG 신호 생성에 크게 효

REFERENCES

- [14] E. Y. S. Yew and C. J. R. Sheppard, Opt. Lett. 32, 3417 (2007).

Fig. 6. SFG spectral image of Cysteine obtained using the EMCCD detector.

과적이지 않다. 따라서 본 방법에서는 RPC를 사용하는 대신 가시광선과 적외선 빔을 약간 분리시켜 각각이 반사형 대물렌즈에서 양 갈래로 나뉘는 후 시료에 집속되는 비공선 빔 집속(non-collinear beam focusing) 방식을 사용하고 있다. 이 경우 두 빔의 사잇각(θ)은 대략 $\theta = 40^\circ$ 정도로 분광 실험에 사용된 $\theta = 30^\circ$ 보다 더 크기 때문에 카이랄 SFG 신호($I_{SFG} \propto \sin^2\theta$) 측정에 다소 유리할 것으로 예측된다.

광 신호 검출부는 광학 필터 또는 SFG 스펙트럼을 분산시키는 분광기와 광 검출기로 구성되며 본 방법에서는 PMT(photomultiplier tube)와 EMCCD 이중 모드 광 검출기를 사용하고 있다. PMT는 위상 잠금 증폭기(lock-in amplifier)와 함께 사용되는데 EOM 동작 속도($f/2 = 500$ Hz)와 일치하는 동기화 신호를 위상 잠금 증폭기의 reference에 입력하면 EOM에 의해 500 Hz로 LCP/RCP 변조된 SFG 신호의 차이, 즉 CID 신호를 선택적으로 측정할 수 있다. 그림 5는 PMT와 위상 잠금 증폭기를 이용하여 금 나노막대(Au nanorod, AuNR)

에 L-Cysteine 분자를 붙인 유기금속 복합체(AuNR-Cys complex)의 CID SFG 이미지를 얻은 결과이다. 덜 여과된 Cysteine 결정이 AuNR-Cys 복합체와 함께 남아 있어 시료 상태에 대한 좀 더 자세한 특성 분석이 필요하지만 서로 반대 부호 CID 신호를 갖는 입자 덩어리가 공간적으로 다른 위치에 분포되어 있다는 사실을 알 수 있으며 분광 실험을 통해 입증된 대로 측정된 CID 신호는 입자 자체 또는 결정 덩어리 집합체의 카이랄 입체 구조와 연관이 있음을 예측할 수 있다.

EMCCD 모드에서는 시료를 스캔하면서 분광 실험에 사용된 동기화 방법을 이용하여 SFG 스펙트럼 이미지를 획득할 수 있다. EMCCD는 검출 감도도 높을 뿐만 아니라 특정 파장에서의 SFG 신호만을 이미징하는 PMT 모드와는 달리 파장 스캔 없이도 각 이미지 픽셀마다 시료의 전체 SFG 스펙트럼을 한 번에 얻을 수 있는 장점이 있다(그림 6). 현재 Galvano 스캐너를 이용해 스캔 속도를 좀 더 빠르게 개선시키는 작업과 반사형 대물렌즈 광학계를 최적화시키는 작업을 진행하고 있으며 마이크로미터 분해능으로 R형/S형 카이랄 분자 분포 이미징이 가능한지 최종 테스트하고 있다.

맺음말

최근 초고분해능 광학현미경의 개발 등 광학영상 기술의 눈부신 발전에도 불구하고 대부분의 광학현미경은 카이랄 분자의 입체화학 구조에 대한 식별이 거의 불가능하며 관련기술은 아직 전 세계적으로 초기 단계에 머물러 있다. 카이랄 분자 이미징 기술은 기존 광학 영상 기술의 한계를 넘어 궁극적으로 카이랄 약물 및 신경전달물질 반응기작과 같은 생체 역동성 분석을 분자 수준에서 규명할 수 있는 '미래형 이미징 기술'이다. 따라서 이와 관련된 핵심 원천기술을 선점한다면 미래 연구 분야를 선도하여 국가 과학기술의 경쟁력과 위상을 높일 수 있을 뿐만 아니라, 고부가가치 바이오/의약 산업의 발전에도 큰 기여를 할 수 있을 것으로 기대한다.