

이지사이언스 시리즈

Easy Science Series



See the Unseen

생체 이미징의 세계

See the Unseen

생체 이미징의 세계

집필 · 감수 한국기초과학지원연구원

이지사이언스 시리즈 13

See the Unseen

생체 이미징의 세계

2015년 3월 31일 초판 1쇄 인쇄

2015년 3월 31일 초판 1쇄 발행

저자 | 한국기초과학지원연구원
기획 | 미래창조과학부
발간 | 한국기초과학지원연구원, 한국학중앙연구원
홈페이지 | www.kbsi.re.kr

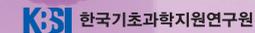
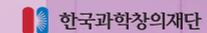
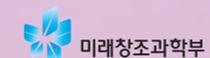
제작 | (주)동아사이언스
편집 | (주)동아사이언스
출판등록 | 2001. 3. 15 (제312-2001-000112호)
주소 | (120-715) 서울시 용산구 청파로 109
전화 | (02) 3148-0781
팩스 | (02) 3148-0809
홈페이지 | www.dongaScience.com

ISBN
979-11-955456-0-5

* 잘못된 책은 바꾸어 드립니다.

** 본 책의 내용에 대한 무단 전재 및 복제를 금합니다.

*** 본 책의 내용을 인용할 시에는 반드시 출처를 표기합니다.





생체 내 정보기술을 알려주는 '바이오이미징기술'

최근 과학기술 생명현상 연구분야에서는 생체, 또는 세포 수준의 연구결과를 간접적인 데이터가 아닌 실시간으로 관찰하고 영상을 통해 결과를 확인하는 영상기술이 새로운 흐름으로 주목받고 있다.

이러한 영상기술은 생체 내에서 세포·면역·조직학적으로 일어나는 현상을 전자현미경, 자기공명 영상장비(MRI), 공초점현미경 등과 같은 첨단영상기술분야 연구장비를 활용하여 영상으로 관찰할 수 있다.

특히 영상기술을 활용하면 연구대상이 살아있는 상태에서도 세포·분자 수준에서 일어나는 현상들을 영상으로 직접 관찰할 수 있어 기존의 영상기술이 주로 제공해온 해부학적 정보와는 다른 새로운 차원의 정보를 제공한다. 이 기술을 통해 조직 및 세포 소기관 내에서 일어나는 정보를 실시간으로 볼 수 있어서 진단 및 치료과정에서 환자에게 필요한 맞춤형 치료법을 가능하게 해준다.

현재 급속한 삶의 질이 향상되는 시점에서 의학적 패러다임이 질병의 치료 위주에서 조기 진단으로 변화하고 있으며, 진단 분야에서도 단순 분석보다는 조기 진단의 필요성이 요구되고 있다.

과학기술의 큰 발전에도 불구하고 아직 미지의 세계로 알려진 뇌과학 연구분야와 퇴행성 뇌질환환자에게 필요한 맞춤형 치료법을 개발할 수 있다.

한국기초과학지원연구원은 영상기술분야의 세계적인 연구장비를 보유하고 있으며 나노 수준까지 관찰할 수 있는 초고전압 투과 전자현미경, 질병 진단과 치료기술 연구장비인 연구용 휴먼 MRI장비, 고해상도의 3차원 구조를 관찰할 수 있는 레이저 공초점 현미경 등 최첨단 영상장비를 설치·운영하고 있다.

이미 선진국들은 '바이오이미징기술'에 대한 중요성을 알아 예산을 집중 투자하고 중장기 마스터 플랜에 따라 이를 진행하고 있다. 우리나라에서도 국가 미래과학기술을 선도하는 무한한 잠재력을 갖고 있는 핵심분야임을 파악하고, 과학기술발전 중장기로드맵에 국가적인 공동활용시설이 필요하다고 최근에 발표한 바 있다. KBSI는 영상장비를 한곳에 모아 글로벌 융합연구의 중심역할을 수행하게 될 바이오이미징센터 설립을 추진하고 있다.

바이오영상기술은 미래를 선도하는 대표주자로 우리를 상상하지 못하는 새로운 연구 영역으로 인도할 것이다.

2015년 3월

한국기초과학지원연구원

머리말

CHAPTER 1 보이지 않는 세계를 향한 탐구

- 01 보는 것이 믿는 것이다! ... 010
- 02 보이지 않는 세계에 대한 궁금증과 두려움 ... 012
- 03 현미경, 미지의 세계를 열다 ... 014
- 04 현미경 쇼크, 점점 드러나는 미시세계 ... 022
- 05 See the unseen, 현미경 이후의 관찰방법들 ... 026

CHAPTER 2 빛을 대신한 전자, 전자현미경

- 01 빛의 한계를 넘어라! ... 032
- 02 전자로 물체를 보려면? ... 040
- 03 전자로 세상을 본다 ... 052
- 04 두 가지 전자현미경, 뚫고 볼까 반사시켜 볼까? ... 056
- 05 나노과학과 전자현미경 ... 064
- 2014 KBSI 이미징장비사진 공모전 심사결과(일반부) ... 072

CHAPTER 3 부분을 모아서 전체를 본다, 공초점 형광 현미경

- 01 한계에 부딪힌 광학현미경 ... 084
- 02 점을 모아 면을 만들다 ... 086
- 03 자동화되는 공초점 현미경 ... 094
- 04 공초점 형광 현미경의 구성장치 ... 106
- 05 공초점 형광 현미경, 어디서 활약하나? ... 116

CHAPTER 4 자석으로 얻은 투시력, MRI(자기공명영상)

- 01 속살이 궁금하다! ... 126
- 02 자석으로 원자를 읽어들인다 ... 132
- 03 수소원자로 그려낸 몸 속 구조 ... 136
- 04 MRI의 현재와 미래 ... 142

CHAPTER 1

보이지 않는 세계를 향한 탐구

- 01 보는 것이 믿는 것이다!
- 02 보이지 않는 세계에 대한 궁금증과 두려움
- 03 현미경, 미지의 세계를 열다
- 04 현미경 쇼크, 점점 드러나는 미시세계
- 05 See the unseen, 현미경 이후의 관찰방법들

01 보는 것이 믿는 것이다!

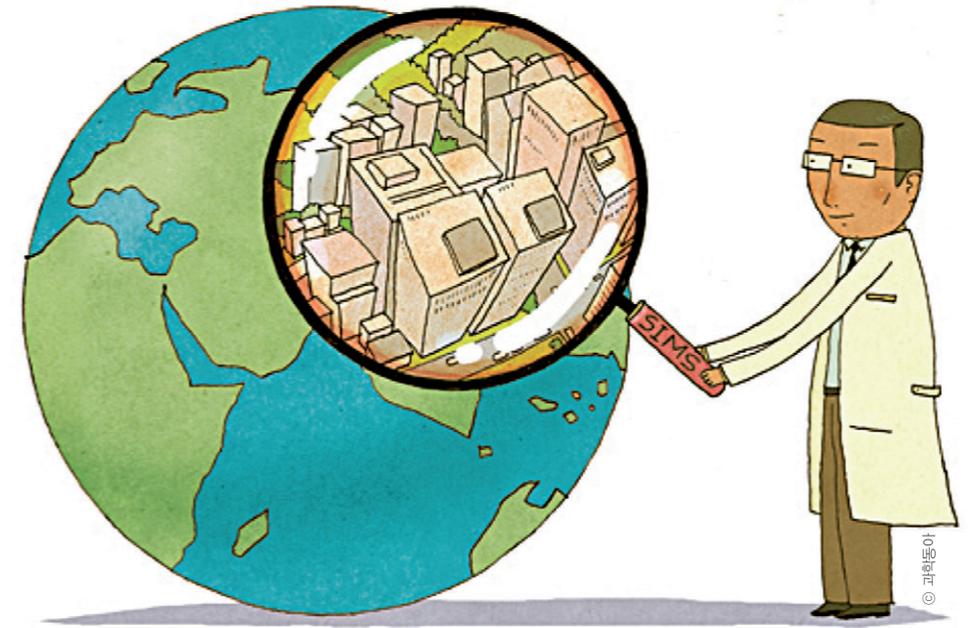
사람의 눈으로는 얼마나 작은 세상까지 볼 수 있을까. 아무리 시력이 좋은 사람이라도 손등의 땀구멍이나 주름 정도만 직접 눈으로 식별할 수 있을 뿐 피부를 이루는 세포를 보는 것은 불가능하다.

그런데 만약 우리에게 지금보다 훨씬 뛰어난 시력이 주어진다면 어떨까. 병을 옮기는 세균도 직접 볼 수 있도록 세계가 확장되는 것이다. 언뜻 생각해보면 그런 능력을 가지는 게 좋을 것만 같다. 최첨단 장비가 없어도 더 많은 세계를 보고 정보를 얻을 수 있기 때문이다.

하지만 실제로 그런 세상은 생각보다 살기 힘들지도 모른다. 깨끗한 줄 알고 마시는 음료 속에 정체를 모를 미생물이 헤엄치는 모습이 뻔히 보일 것이고, 지금 막 먹으려는 샌드위치 속에서 수백 수천 마리의 세균을 만나고 기겁할 수도 있을 것이다. 그런 장면을 보면서 음식을 제대로 먹거나 마실 강심장은 드물다. 입에 막 넣으려는 샌드위치에서 개미와 바퀴벌레가 기어나오는 모습을 상상해보라. 이렇게 생각해보면 사람의 시력에 한계가 있다는 게 살아가는 데 다행이고 고마운 일이다.

물론 사람이 건강하게 살아가려면 병원균이 어떻게 생겼는지, 무슨 물질로 구성돼 있는지 미리 파악해둬야 한다. 병원균뿐 아니라 세상을 이루는 다양한 물질의 정체를 알아야 지금보다 편안한 세상을 만드는 데 활용할 수 있다. 그래서 과학자들은 눈에 보이지 않는 작은 세균이나 물질을 관찰하고 연구해왔다. 이처럼 우리 눈에 보이지 않는 세상을 열어주는 분야를 영상과학(Imaging Science)이라고 한다.

이 분야는 우리가 세상을 이해하는 데 도움을 줄 뿐 아니라 과학 활동을 매우 흥미진



과학자들은 광학현미경, 전자현미경, MRI 등 최첨단 장비를 이용해 우리 눈에 보이지 않는 세계를 탐구하고 있다. 이들이 얻은 정보들은 인류에게 더 건강하고 편리한 삶을 제공해줄 예정이다.

진하게 만들기도 한다. 어려운 글의 나열로 그칠 과학 논문이나 세미나에 영화를 보는 것만 같은 생생함을 불어넣기 때문이다. 심지어 첨단장비로 분석된 영상들은 예술작품 처럼 보이기도 한다. 당장 유명한 과학 저널의 표지를 장식한 현미경 사진을 찾아보면 그 신비로움과 영상미에 감탄할만한 ‘작품’들이 많다.

프란시스 베이컨(Francis Bacon)은 ‘보는 것이 믿는 것(Seeing is believing)’이라는 말로 경험적 사실주의를 강조했다. 우리에게 보이지 않는 세상을 관찰하기 위해 현미경을 만들고 발전시킨 과학기술자들은 바로 이런 경험을 과학적인 방법으로 연구하는 사람들이다.

02

보이지 않는 세계에 대한 두려움과 궁금증

시대마다 사람들이 두려움을 느끼는 대상은 달랐다. 예수가 살았다는 시대에 사람들은 귀신과 악마에게 공포를 느꼈고, 중세시대에는 사람의 모습을 한 마녀를 두려워했다. 14세기 유럽에서는 흑사병이나 페스트 같은 전염병이 가장 두려운 대상이었다. 모두 눈으로 쉽게 볼 수 없는 대상에서 비롯된 공포들이다.



독일의 르네상스 화가 한스 발둥 그리엔(Hans Baldung Grien)이 그린 마녀의 모습

이러한 두려움은 과학기술이 발달하면서 조금씩 누그러들었다. 눈으로 보이지 않는 현상도 설명할 수 있게 됐기 때문이다. 특히 전염병의 경우, 미시세계에 대한 이해가 높아지면서 대응할 방법을 찾는 수준까지 왔다. 전염병을 신의 저주라 여기며, '독기(miasma)'를 원인으로 지목했던 시대에 비하면 엄청난 발전이다.

그런 반면 과학의 발달로 매일 두려움이 새롭게 늘어나기도 한다. 그 전에는 몰랐던 위험 요소들이 하나둘씩 밝혀지면서 경계해야 할 대상의 목록이 늘어나고 있는 것이다. 매일 먹는 음식에 대한 불안, 눈에 보이지 않는 바이러

스, 조금씩 우리의 신체를 병들게 하는 환경호르몬, 호흡기를 타고 들어오는 미세먼지, 피부와 땀구멍으로 스며드는 유독물질과 발암물질, 세균, 냄새, 화학물질 등 우리를 공격하는 미세한 입자들이 그 주인공이다.

그러니 우리는 더욱 미시세계에 대해 두 눈을 부릅뜨고 살펴볼 수밖에 없다. 병원균의 정체는 무엇인지, 어떻게 생겼고 어떤 과정을 통해 위협 요소가 되는지 파악해야 대비할 수 있기 때문이다.

작은 세상을 들여다 볼 수 있게 된 사람들은 병원균뿐 아니라 그 세상 자체에도 궁금증을 가지게 됐다. 눈으로 볼 수 없는 미세한 물질과 그들의 상호작용을 파악하면 지금 우리가 살고 있는 세상과는 또 다른 최첨단 세계를 열 수 있다. 이 때문에 과학자들은 수 나노미터(nm, 1nm=100억 분의 1m) 크기의 물질들에 대한 궁금증을 가지고, 꾸준히 연구개발하고 있다.



'콜레라'를 악마의 모습으로 형상화한 1912년 프랑스 '르 뽀띠 저널'

© 위키백과

03 현미경, 미지의 세계를 열다



© 위키백과

이븐 알하이삼의 가장 유명한 저서는 1011년부터 1021년 사이에 쓰인 광학에 대한 책인 '광학의 서'다. 이 책은 12세기 말에서 13세기 초에 어떤 학자에 의해 라틴어로 번역됐고, 1572년에는 독일의 수학자이자 광학자인 프리드리히 리스너(Friedrich Risner)에 의해서 출판됐다.

현미경은 작은 세상을 관찰하고 연구하는 데 필요한 도구다. 식물세포는 돋보기로 관찰할 수 있지만, 미생물은 광학현미경이 있어야 볼 수 있다. 세포 내 미세조직이나 나노미터(nm, nm=10억분의 1m) 크기의 물체를 관찰하려면 전자현미경 같은 정밀한 장비가 있어야 한다.

현미경의 역사는 9세기 아랍의 과학자 이븐 피르나스(Abbas Ibn Firnas)가 만든 교정 렌즈에서 시작한다. 그는 '독서용 돌'이라고 불린 확대경을 만들었는데, 이 물건을 읽을거리 위에 올려놓으면 글씨를 확대할 수 있었다. 1011년부터 1021년 사이에 아랍의 과학자 이븐 알하이탐(Ibn Al-Haytham)은 광학에 관한 책을 썼



© 라이카 '공조관 현미경의 개요'

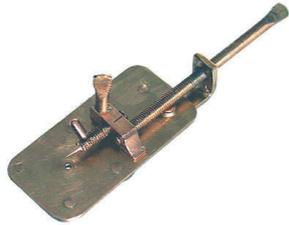
안센 부자가 만든 최초의 현미경

고, 확대경에 대한 광학적 연구의 기초를 놓았다. 이 책을 13세기에 들어와 영국인 로저 베이컨(Roger Bacon)이 라틴어로 번역했고, 이후 1284년경 이탈리아인 살비노 다르마테(Salvino D'Armate)가 최초의 안경을 만들었다.

최초의 광학현미경은 1590년에 네덜란드에서 만들어졌다. 광학현미경을 만들었다고 알려진 사람은 세 명인데, 망원경의 발명가이기도 한 한스 리퍼세이(Hans Lipershey), 한스 안센(Hans Jansen)과 그의 아들인 자카리아스 안센(Sacharias Jansen)이다. 이들이 만든 광학현미경은 빛의 굴절을 이용해 두 개의 볼록렌즈를 조합시킨 원시적인 형태였다.

이 최초의 현미경의 경통은 3개의 튜브로 구성됐다. 접안렌즈(eyepiece lens)는 양면이 볼록한 렌즈를, 대물렌즈(objective lens)는 한 면만 볼록한 렌즈를 사용했다. 그런데 빛의 파장에 따라 굴절률이 달라져 일그러지거나 다른 색깔이 보이는 현상인 색수차가 있어 고배율 관찰은 어려웠다고 한다. 이탈리아 사람으로 로마대학에서 의학과 식물학을 강의했던 요한스 파베르(Johannes Faber)는 이 도구에 '마이크로스코피움(Microscopium)'이라는 이름을 붙였다. 이 이름은 현재의 현미경이라는 단어의 기원이 된다.

파베르 이후 물체를 확대해 관찰하는 데 있어 획기적인 발전은 광학현미경의 아버지라고 알려진 네덜란드의 안토니 판 레이우엔훅(A.V. Leeuwenhoek)에 의해 이뤄졌다. 레이우엔훅의 현미경은 구리로 만들어졌고 유리구슬을 이용한 단순현미경(single lens microscope)이다. 이 현미경은 엄지손가락보다 약간 큰 정도의 크기였는데, 당시



안센과 레이우엔훅이 각각 최초로 만든 현미경의 모습.
위쪽이 안센과 그가 1596년 최초로 만든 현미경의 모습이다.
아래쪽은 레이우엔훅이 그가 만들었던 현미경의 모습

존재하던 다른 현미경보다 분해 능력이 뛰어나 273배 정도의 고배율을 관찰이 가능했다. 1675년 레이우엔훅은 현미경으로 원생동물과 세균의 존재를 발견했다.

1665년에는 로버트 훅(Robert Hooke)이 자신이 고안한 현미경으로 코르크 절편을 관찰해 처음으로 세포를 발견했다. 이때 사용한 현미경은 일종의 집속렌즈(condenser lens system)의 개념을 최초로 도입한 것으로 볼 수 있다. 램프로 불을 켜 후 일차적으로 물을 넣는 둥근 플라스크(flask)로 빛을 모은 후 다시 볼록 렌즈로 빛을 모아서 시료대에 비추는 시스템을 사용한 것이다.

인물 소개

안토니 판 레이우엔훅

안토니 판 레이우엔훅은 1632년 10월 24, 네덜란드의 델프트에서 태어났다. 그가 6살 때 바구니를 만드는 일을 하던 아버지가 세상을 떠났다. 이 때문에 그는 레이던 근처에 있는 학교에 들어갔지만 정규교육을 마치지 못하는 등 불후한 어린 시절을 보냈다. 대신 그곳 친척에게 수학과 물리의 기초 원리를 배울 수 있었다.

레이우엔훅은 16살이 되던 해인 1648년부터 스코틀랜드계 포목상인 밑에서 도제 생활을 시작했다. 그가 현미경에 흥미를 갖게 된 것은 이 시기로 추정된다. 도제 생활을 하면서 유리를 입으로 불어 형태를 만드는 기술을 배우는 등 현미경의 기반이 되는 유리에 대한 기술을 익히게 된 것이다.

1654년 레이우엔훅은 고향으로 돌아와 가게를 열고, 직접 현미경을 제작했다. 그러다 시 공무원 등의 일을 하면서 경제적 안정을 이루자 취미에 더 많은 시간을 보낼 수 있었다. 그가 직접 렌즈를 갈아 제작한 현미경의 배율은 50배에서 300배, 최고 500배까지 이르렀다. 당시로서는 세계 최고 수준이었다.

그는 당시의 일반적인 복합 현미경 대신 초점 거리가 짧은 단일 렌즈를 사용했다. 얇은 황동판 2개 사이에 자신이 갈 렌즈를 끼워 넣었다. 이렇게 만든 현미경으로 다양한 연구를 진행했다. 1670년대 중반 그는 현미경을 통해 '극미동물'(미생물)을 관찰했는데 1676년 5월 26일, 지붕 위에서 떨어진 물을 현미경으로 관찰하다가 순수한 빗방울에는 존재하지 않는 동물을 발견한 것으로 유명하다. 그는 또 곰팡이, 꿀벌의 촉수, 기생충, 머리카락 등 수많은 것들을 현미경으로 관찰했고 뱀장어 꼬리의 얇은 피막에서 모세혈관을 흐르는 혈액을 보기도 했다.

아흔 넘게 장수한 이 아마추어 미생물학자는 평생 500개가 넘는 렌즈를 갈았다. 게다가 약 50년이 넘는 기간 동안 자신이 관찰한 내용을 영국 왕립학회를 포함한 학회와 학자들에게 약 600통이나 보낼 정도로 연구에 열정적이었다.

로버트 훅

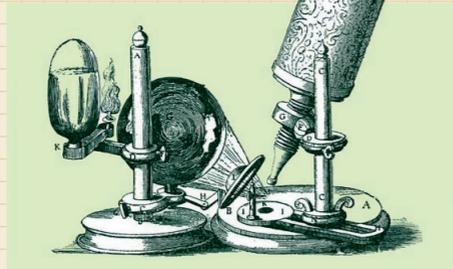
로버트 훅은 1635년 7월 18일 영국의 화이트 섬에서 가난한 목사의 아들로 태어났다. 어려서부터 몸이 약해 주로 집에서 아버지에게 교육을 받았다. 미술에 재능이 있었던 그는 1648년 13살이 되던 해에 화가가 되기 위해 런던으로 갔다. 그러나 물감에서 나는 냄새 때문에 두통을 겪고는 화가가 되기를 포기하고 웨스트민스터 학교에 입학해 라틴어와 수학 등을 공부했다.

머리가 뛰어났던 로버트 훅은 1651년 16살이라는 어린 나이에 옥스퍼드 대학교의 크라이스트 처치 대학에 입학했다. 그는 이곳에서 기체의 성질을 연구하던 로버트 보일의 조수가 됐으며, 약 10년에 걸쳐 그와 함께 일했다.

영국 런던에 흑사병이 번졌던 1665년, 로버트 훅은 옥스퍼드 대학교의 기하학 교수가 됐다. 그는 기하학 교수로 강의하면서 자신이 직접 설계, 제작한 현미경을 이용해 여러 가지 광물과 동식물을 관찰했다. 훅의 현미경은 현재의 광학 현미경과 비교해도 손색이 없을 정도로 잘 만든 것이었다. 그는 눈과 접안렌즈 사

이의 거리를 일정하게 유지하기 위해 눈을 갖다 댈 수 있는 부분을 만들었고, 경통을 분리한 다음 기울어지게 만들었다. 또 접안렌즈와 경통 안에 중간 렌즈를 뒀는데, 이 때문에 색과 모양이 일그러지자 조리개를 만들어 주변의 빛을 조정했다. 이뿐만 아니라 어둡게 보이

로버트 훅이 만든 현미경의 모습



© 라이카, 공조진 현미경의 개요

는 것을 해결하기 위해 물이 담긴 플라스크를 이용해 램프의 빛을 모았다.

이렇게 직접 만든 현미경으로 관찰하던 중 코르크에서 세포를 발견했다. 코르크의 얇은 조각이 벌집 같은 작은 방으로 돼 있

었는데, 이것을 ‘작은 방’이라는 라틴 어를 빌어 세포(Cell)라고 불렀다. 최초로 세포를 관찰한 것이다.

그는 또 주변에서 쉽게 볼 수 있는 여러 가지 대상들을 현미경으로 관찰하고, 그 구조를 상세하게 기술한 ‘마이크로그라피아(Micrographia)’를 출간했다. 이 책은 당시 영국에서 베스트셀러가 됐고, 훅은 명성을 높일 수 있었다.

훅은 타고난 실험 과학자였다. 하루에 3~4시간 밖에 자지 않고 깨어 있는 동안에는 항상 실험 장치들을 주물럭거리고 수많은 실험을 수행하며 매우 폭 넓고 다양한 이론을 만들며 일생을 보냈다. 수학, 물리학, 천문학, 생물학, 화학 등 과학 대부분의 영역에서 수많은 과학 장치를 발명하거나 개선했음 독창적인 발견 등의 연구 활동을 왕성하게 했다.

그는 영국왕립학회의 실험 관리인으로 지내면서 당시 영국에서 진행된 주요 과학 실험들에 대부분 관여했고 많은 업적을 남겼다. 그러나 같은 시대에 활동했던 역사상 가장 위대한 과학자로 평가 받는 뉴턴의 그늘에 가려진 불운한 거인으로 남은 채 1703년 68세의 나이로 세상을 떠났다.



마이크로그라피아의 모습

© 라이카, 공조진 현미경의 개요



광학현미경의 발달에 기여한 과학자들. 왼쪽 위부터 시계방향으로 리스터, 에어리, 짜이츠, 아베의 모습

이후 현미경은 비약적으로 발전했다. 1733년에 영국 사람인 체스터 홀(Chester M. Hall)이 색지움렌즈(achromat lens)를 개발해 색수차 현상을 보완했고, 이를 다시 1758년에 존 도널드(John Dolland)가 개선했다. 1830년에는 리스터(J.J. Lister)가 광학현미경의 또 다른 난제였던 구면수차(spherical aberration)를 제거한 비구면렌즈를 개발했다.

구면수차는 렌즈의 가장자리에서 상이 일그러지는 원인인데 이를 줄임으로써 현미경으로 정확하게 볼 수 있는 시야가 넓어지고 정확한 형태를 관찰할 수 있었다. 리스터는

여기에 그치지 않고 색수차와 구면수차를 동시에 해결한 렌즈를 개발하기도 했다. 그가 사용한 방식은 여러 장의 렌즈를 조합하는 것이었으며, 이를 이용하여 최초로 적혈구를 관찰하는 데 성공했다. 원래 와인업자였던 리스터는 이 공로를 인정받아 영국 국립학술원의 중신회원이 되는 영광을 얻었다.

년대	내용
1595	자카리아스 안센(네덜란드)이 복합현미경 발명
1660	요하네스 파베르(이탈리아)가 현미경(Microscope, Microscopium)란 용어 고안
1660	안톤 판 레이우엔훅(네덜란드)가 단순 현미경 발명
1665	로버트 훅의 현미경 제작 및 세포 발견, 고전적인 렌즈 시스템 도입
1733	체스터 홀(영국)이 색지움렌즈 개발
1830	조셉 잭슨 리스터(영국)가 비구면 렌즈 개발
1836	조지 비델 에어리 경(독일)이 에어리 디스크라는 현상 발견
1846	카를 자이스가 회사 창립
1855	조반니 아미치(이탈리아)가 '수침렌즈'를 이용한 관찰방법 발명
1876	라이헤르트 회사 창립
1886	에른스트 아베가 광학현미경의 분해능의 한계를 발견하고 유침렌즈 개발

하지만 세포 내 미세조직을 관찰하거나 더 작은 세계를 관찰하는 데는 한계가 있었다. 광학현미경은 파장이 0.3~0.7 μ m인 빛을 광원으로 사용하기 때문에 최대로 확대해도 3000배까지만 가능했기 때문이다. 우리 눈으로 볼 수 있는 빛의 파장만으로는 볼 수 없는 세계가 있다는 사실을 발견하면서 가시광선보다 짧은 파장의 다른 광원을 이용해야 한다는 걸 깨닫게 됐다.

독일의 에른스트 루스카(Ernst August Friedrich, Ruska)는 최초로 전자현미경을 만든 인물이다. 그는 빔처럼 사물에 전자를 쏘아줄 수 있다면 광학현미경보다 훨씬 확대된 상태로 대상을 볼 수 있을 것이라 보고 이를 실현시켰다. 1931년 그는 렌즈가 빛의 초점을 맞추는 것처럼 전자빔의 초점을 맞출 수 있는 전자석 렌즈를 만들고, 이 렌즈 몇 개를 일직선으로 연결해 전자현미경을 발명했다.

빛보다 파장이 작은 전자를 이용한 전자현미경은 나노 세계를 들여다 볼 수 있게 만들었고, 이 공로로 루스카는 1986년 노벨상을 수상했다. 루스카 이후 전자현미경은 최고 분해능이 0.1nm 이하까지 볼 수 있도록 발전했다. 그 종류도 투과전자현미경뿐만 아니라 주사전자현미경, 전자현미분석기 등 기능에 따라 다양해짐에 따라 미지의 세계로 가는 문이 활짝 열렸다.



04 현미경 쇼크, 점점 드러나는 미시세계

인간은 현미경이라는 눈으로 보이는 세상에 대해 호기심을 갖게 됐으며, 이는 곧 세포와 미생물 연구로 이어져 생물학 발전의 토대가 됐다. 그러나 인간은 여기서 만족하지 않고 빛 대신 전자를 이용해 더 작은 세계를 바라볼 수 있는 눈을 갖게 됐다. 바로 전자현미경이다. 독일의 루스키는 빛보다 파장이 훨씬 짧은 전자선을 광원으로 이용하면 더 정밀하게 관찰할 수 있을 것이라는 아이디어를 가지고 수년간 노력한 끝에, 1933년 광학현미경의 분해능(分解能)을 뛰어 넘는 전자현미경을 세상에 선보였다.

루스키는 마이크로미터(μm)보다 더 작은 미시세계를 인간의 눈앞에 펼쳐 보임으로써 지난 20세기 동안 물리학을 비롯해 의학, 나노과학, 생명공학 등 다양한 과학기술 분야가 비약적으로 발전하는 데 근본적인 방향을 제시했다.

이후 전자 산업의 발전과 함께 전자현미경의 성능은 급속도로 향상되어 현재는 물질의 미세 구조는 물론, 이를 구성하는 원자까지도 직접 관찰할 수 있는 수준이 됐다. 물질을 원자 수준으로 보기 위해서는 약 1500만 배 정도로 확대해서 볼 수 있는 눈이 필요하다. 이는 우리가 지구에서 망원경으로 달에 있는 모래 알갱이 하나를 사과 크기로 확대하여 보는 것과 마찬가지다. 그러니 인간이 얼마나 좋은 눈을 가지게 된 것인지 충분히 짐작할 수 있다.

우리나라도 일본, 미국, 독일에 이어 세계에서 4번째로 뛰어난 첨단과학의 눈을 갖고 있다. 2003년 말 한국기초과학지원연구원에 설치된 가속전압 1300kV의 초고전압 투과전자현미경(High Voltage Electron Microscope, HVEM)이다. HVEM은 전 세계적



초고전압 투과전자현미경(HVEM)은 아파트 4층 높이인 14.5m의 거대한 위용을 자랑한다. 큰 덩치에서 강력한 전자빔을 물체에 투과시켜 반도체나 세포 속의 원자 구조까지 생생하게 관찰할 수 있다.

© 과학동아



© 과학동아

생물투과전자현미경은 120kV의 전압을 이용해 HVEM보다 규모가 작지만 시료를 좌우로 70°까지 움직이며 관찰할 수 있어 세포나 단백질의 3차원 구조를 분석한다.

으로 20여 대를 운영하고 있는데, 우리나라가 보유하고 있는 장비는 현존하는 장비 중 최고의 성능을 자랑한다.

물질의 원자 배열구조를 관찰하기 위해선 적어도 0.1nm의 분해능을 가진 장비가 필요하다. 그런데 한국기초과학지원연구원에 설치된 초고전압투과전자현미경은 약 0.12nm의 분해능을 가진 우수한 장비다. 하지만 여기서 머무르는 것이 아니라 더 뛰어난 장비 개발로 분해능 장벽을 넘기 위해 전 세계 과학자들이 계속 도전하고 있다.

보인다고 모두 아는 것은 아니다. 어린 학생이 전자현미경을 통해 이것저것 보았다고 해서 그것이 무엇인지는 정확히 알 수 없다. 하지만 ‘백문(百聞)이 불여일견(不如一見)’이라는 말처럼 직접 볼 수 있다는 것은 큰 의미를 갖는다. 특히 눈에 보이는 것에 대한 궁금증과 호기심 유발이 바로 탐구의 출발점이기 때문에, 잘 볼 수 있다는 것은 과학기술의 잠재적 발전 가능성이 높다는 것을 의미한다.

더 작은 세상을 잘 보려는 우리의 도전은 나노과학(NT)이나 생명과학(BT)과 같은 다양한 분야의 과학기술이 발전할 수 있도록 끌어주는 견인차 역할을 한다. 이 기술들이 점차 발전하면 과학기술의 발전 속도가 빨라질 뿐 아니라 우리는 더 넓은 세상을 보고 이해하게 될 것이다.

05

See the unseen, 현미경 이후의 관찰방법들

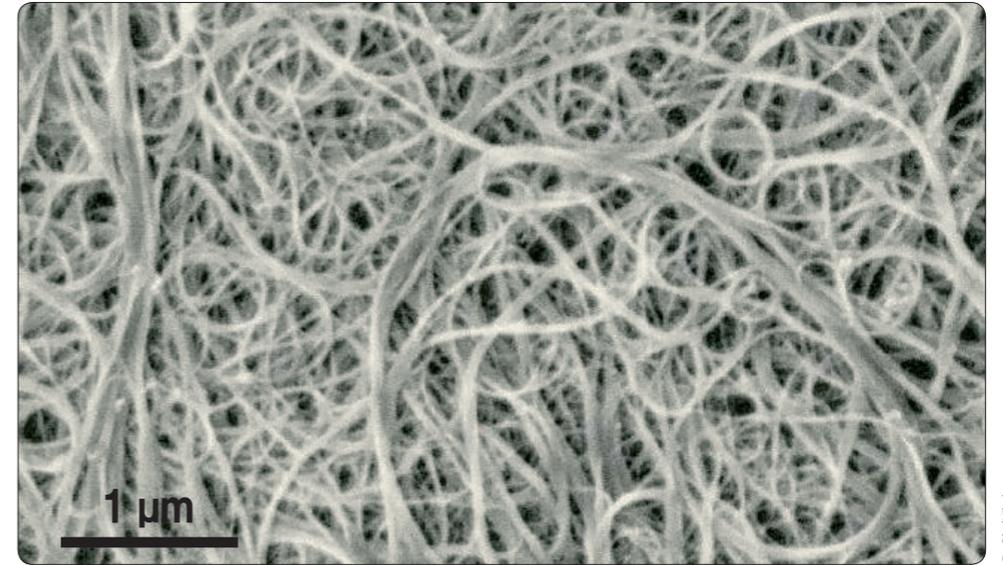
인간은 오래 전부터 육안으로는 관측하기 어려운 세계에 대해 강한 호기심을 가지고 있었다. 이런 욕구를 충족시키기 위해 탄생한 것이 광학현미경이다. 광학현미경의 기본적인 한계를 넘어 더 작은 원자의 세계까지 보려고 전자현미경이 나왔고, 원자를 직접 보며 세는 것까지 가능해졌다. 이후 탄생한 것이 주사프로브현미경(SPM)이다. 대표적인 것은 원자간력현미경(AFM)과 주사터널링현미경(STM)이다.

AFM은 캔틸레버에 고정된 대략 2 μ m 길이의 예리한 침을 재료의 표면 위에 이동시키면서 침과 원자 사이의 힘을 측정해 표면형태 이미지를 형성한다. 반면 STM은 침에 전압을 걸어 전류 세기를 측정하는 방법을 이용한다. 이 장치로는 원자 단위의 해상



주사탐침현미경의 모습

© Angstrom Advanced Inc. | <http://angstrom-advanced.com>



전자현미경으로 본 탄소나노튜브의 모습

© 위키백과

도로 표면의 실제 공간 이미지를 볼 수 있고, 침에 걸린 전압을 이용해 마치 핀셋처럼 분자나 원자를 집어 올릴 수 있다. 개별 원자를 들어 올리고 그들을 증착해 마치 레고를 사용해서 구조물을 만들듯이 원하는 형태를 제작하는 것이다.

이러한 장비의 발전으로 나노기술은 다양한 분야에서 연구되고 있다. 오늘날 나노기술의 핵심 분야 중 하나인 탄소나노튜브도 전자현미경 덕분에 세상에 알려졌다. 1991년 일본 닛폰 전기주식회사(NEC)의 스미오 이지마(飯島 澄男) 박사가 전자현미경으로 검은 얼룩을 관찰하다가 탄소원자로 구성된 직경 수 나노미터의 매우 미세한 대롱형태의 튜브를 발견한 것이다.

초고집적 반도체, 테라급 나노소자, 수소저장 나노튜브 개발 등 세계 선도적인 나노기술 개발을 위해서는 전자현미경의 도움이 필요하다. 원자·분자 수준의 미세한 입자를 관찰할 수 있는 기능별 전자현미경 설치는 물론이고, 시료의 종류에 따른 시편 준비와 다양한 분석기법에 이르기까지 체계적인 운영체제가 구축돼야만 나노기술 개발을 한 단계 앞서 발전시킬 수 있다.



양전자방출단층촬영기 PET



전산화단층촬영 CT



자기공명분자영상기 MRI

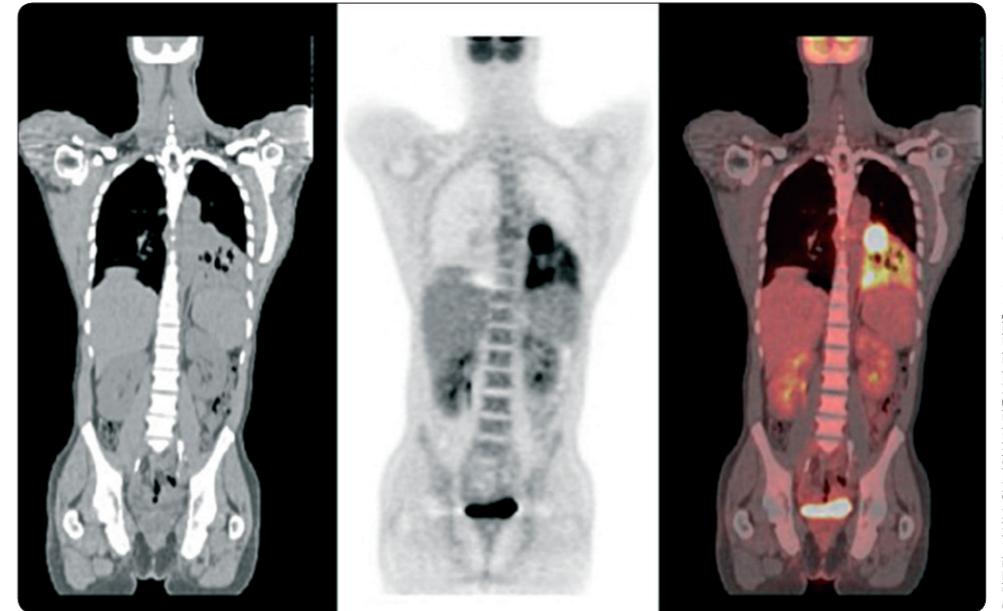


단일광자방출단층촬영 SPECT 장비

생체영상 분야에서는 영상장비와 분석기술의 발달에 힘입어 대상에 따른 다양한 영상을 얻게 됐다. 우선 고분자 및 세포영상은 미세구조를 확대해 관찰하는 광학현미경에 의존한다. 대상을 50만 배 이상 확대해 나노구조물을 분석하는 전자현미경을 이용하면 세포 내 소기관, 세포막의 단백질 등의 구조를 분석할 수 있다.

특정 단백질, DNA, 이온 등의 세포 내 위치 및 발현·이동 분석을 위한 형광현미경, 공초점 레이저 현미경은 형광 현상을 이용해 특정물질을 추적하는 데 많이 이용된다.

병원에서 질병 진단을 위해 사용하는 장비로는 자기공명영상(Magnetic Resonance Imaging MRI), 양전자단층촬영영상(Positron Emission Tomography PET), 컴퓨터단



PET-CT 이미지

층촬영(Computed Tomography CT), 초음파영상(Ultrasound), X-ray 영상 등이 있다. 모든 영상 분석 장비와 분석기술은 빠른 속도로 발전하고 있으며, 영상기술이 융합돼 종합적으로 분석할 때 효과도 높아진다.

앞으로 영상분석 장비는 각기 다른 기법을 이용한 장비에서 분석한 영상들을 융합시켜 새로운 정보를 얻는 방향으로 발전할 것이다. 실제로 암 진단을 위해 인체용 양전자단층촬영/컴퓨터단층촬영(PET/CT) 두 가지 영상 기법을 융합한 통합형 장비로써 병원에서 널리 사용되고 있다. 자기공명영상/양전자단층촬영(MRI/PET), 분광학영상/컴퓨터단층촬영(Optical/CT) 융합형 장비들도 인체영상분야에서 상용화될 시기가 멀지 않았다.

- 01 빛의 한계를 넘어라!
- 02 전자현미경의 역사
- 03 전자현미경의 원리
- 04 전자현미경의 종류
- 05 전자현미경의 활용

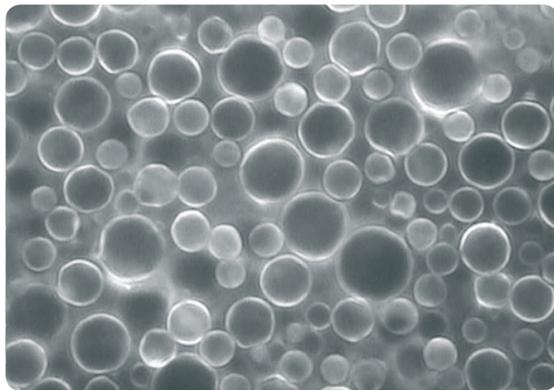
CHAPTER 2

빛을 대신한 전자 전자현미경

01 빛의 한계를 넘어라!



우유는 겉으로 보기에는 그저 하얀 색 물처럼 보인다.



그러나 우유를 확대해보면 물 속에 기름방울이 퍼져 있다는 사실을 알 수 있다. 우유를 4200배로 확대한 사진.

빛으로 볼 수 없는 것을 어떻게 볼 수 있을까?

아침마다 한 잔씩 마시는 우유는 어떻게 생겼을까. 우리 눈에 보이는 우유는 종이나 유리병 등 용기에 담긴 하얀색 액체다. 답은 그릇에 따라 모양이 바뀌어서 어떤 모양이라고 딱 꼬집어 설명하기 어렵다. 그런데 우유의 실제 모습은 단순히 하얀색 액체가 아니다. 현미경으로 살펴본 우유는 물에 기름방울이 둥둥 떠 있는 모습이다. 기름방울 하나의 크기는 대체로 $3\sim 5\mu\text{m}$ (10^{-6}m) 수준이니 사람의 눈으로 우유의 진짜 모습을 보기는 불가능하다. 아무리 눈이 좋은 사람도 0.1mm , 1mm 보다 10배 더 작은 크기까지만 볼 수 있기 때문이다. $1\mu\text{m}$ 가 1mm

보다 1만 배나 작다는 걸 생각하면 우유 속에 있는 기름방울의 크기가 얼마나 작은지 짐작할 수 있다.

이처럼 우리는 눈에 보이지 않는 작은 세계를 살필 때 현미경이라는 도구를 사용한다. 과학 실험실에서 쉽게 볼 수 있는 '광학현미경'을 사용하면 약 $0.1\mu\text{m}$ 수준까지 볼 수 있다. 보통 거미줄의 굵기가 $7\mu\text{m}$ 정도이니까 $0.1\mu\text{m}$ 는 거미줄보다 약 70배 정도 작은 크기의 물질까지 현미경으로 관찰할 수 있다.

하지만 $0.1\mu\text{m}$ 도 원자 크기에 비하면 집채만큼이나 큰 수준이다. 물을 이루고 있는 원자 중 하나인 수소 원자 크기는 25\AA (옹스트롬, $1\text{\AA}=10^{-10}\text{m}$)인데, 이는 우유에 떠 있는 기름방울 하나보다 1만 배 정도 작은 크기다. 그러니 광학현미경으로 원자의 모습을 직접 본다는 건 어렵없는 이야기다. 원자 크기의 세상까지 보려면 광학현미경보다 더 뛰어난 현미경이 있어야 한다.

그런데 왜 사람의 눈이나 광학현미경으로는 일정한 크기 이상의 물체를 볼 수 없을까. 그 이유는 빛이 파동이기 때문이다. 우리가 무엇을 보거나 광학현미경으로 물질을 관찰할 때는 빛을 사용한다. 그런데 빛과 같은 파동은 지나가는 길에 방해물을 만나면 주변으로 흩어져 버리는 성질이 있다. 이것을 '회절'이라고 하는데, 바로 이 현상 때문에 눈이나 광학현미경으로 볼 수 있는 한계가 생긴다.

회절 현상은 방파제에 부딪친 파도를 생각하면 이해하기 쉽다. 바닷가로 밀려오는 파도는 방파제에 부딪친 뒤 부서져 해변 구석구석에 흩어진다. 원래 가려던 방향성을 잃어버리게 되는 것이다. 빛도 이와 마찬가지로 지나가는 길에 장애물을 만나면 틈 사이



© 과학동아

전자현미경은 빛 대신 전자를 이용해 물질의 실체를 파악하는 장비이다.

로 퍼져나가게 된다. 이렇게 되면 빛이 흐릿해져 물체를 또렷하게 볼 수 없다.

예를 들어 빛이 지나가는 길에 장애물이 있어 두 개 이상의 틈이 있다면 회절 현상이 일어난다. 두 개의 간격이 멀다면 각각의 틈을 지난 빛을 분명히 구별할 수 있다. 하지만 거리가 가까우면 회절 때문에 두 틈을 지난 빛이 한데 섞여버리게 된다. 각각 어떤 틈을 통과한 빛인지 구별할 수 없다면 물체를 구분하기 어려워진다. 서로 떨어져 있는 물체를 구별할 수 있는 능력을 '분해능'이라고 하는데, 회절 현상이 나타나면 분해능이 낮아지는 것이다. 결국 회절 현상은 서로 다른 모습의 물질이나 물체를 하나로 인식하게 만들어 버린다.

회절 현상은 빛의 파장이 길수록 강해진다. 빛이 더 쉽게 퍼져서 흐릿해지므로 물체를 구별할 수 있는 틈의 거리가 멀어지는 것이다. 이 때문에 파장이 긴 빛으로는 일정한 크기 이상의 물체를 제대로 볼 수 없다. 눈으로 볼 수 있는 물체가 0.1mm에 그치고, 광학현미경으로 볼 수 있는 세계가 0.1 μ m 수준인 까닭이 바로 여기에 있다.

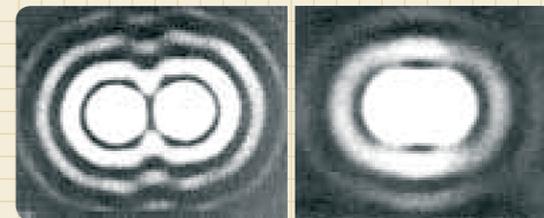
광학현미경에서 사용하는 가시광선의 파장은 약 500~600nm다. 이보다 파장이 훨씬 짧은 전자빔(0.004~0.00073nm)은 가시광선보다 훨씬 짧은 틈을 통과할 수 있다. 이를 이용하면 광학현미경으로는 볼 수 없었던 원자의 세계까지 들여다 볼 수 있다. 실제로

용어 소개

분해능이란?

분해능은 서로 떨어져 있는 두 물체를 구별할 수 있는 능력이다. 분해능이 높으면 아주 가까워 보이는 두 물체도 구분할 수 있다. 반대로 분해능이 낮으면 서로 떨어져 있는 두 개의 물체도 하나처럼 보여 명확하게 관찰하기 어렵다. 이 개념은 1830년경 에어리(Airy)경이 '에어리 디스크(Airy disc)를 발견하며 알려졌다.

호수나 물 표면에 돌을 던지면 돌이 떨어진 점을 중심으로 주변에 둥근 물결이 생기는 걸 볼 수 있는데, 빛이 작은 구멍을 통과할 때도 주위에 원(ring)이 생긴다. 이런 회절 패턴(diffraction pattern)을 에어리 경의 이름을 따서 에어리 디스크라고 부른다.

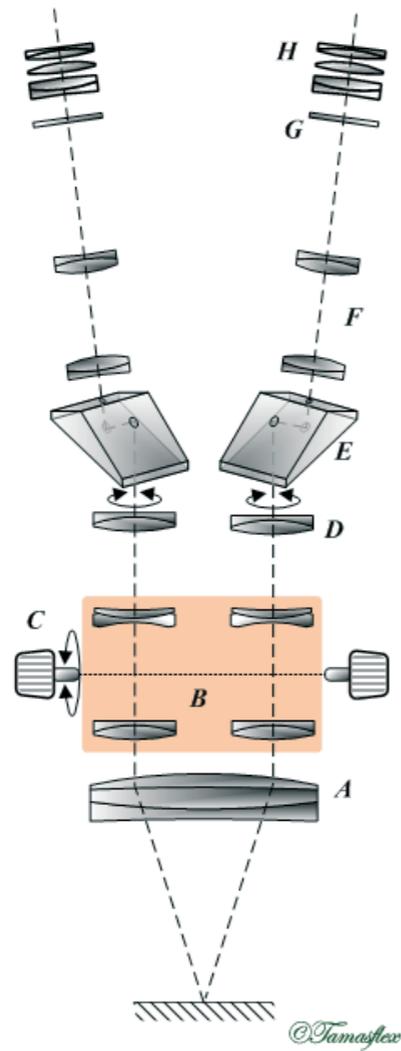


에어리 디스크의 모습

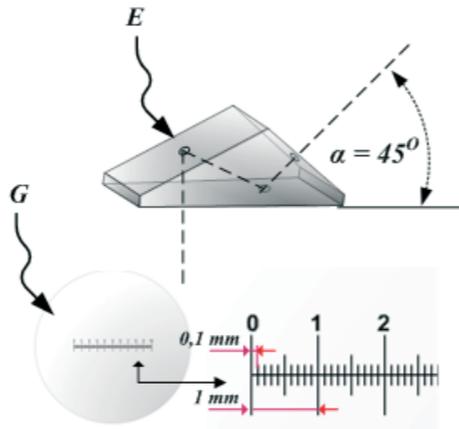
© 한국전자현미경학회지 제38권 제2호

서로 다른 물체에서 반사된 빛이 렌즈를 통과하면서 회절 현상이 나타나 에어리 디스크를 만든다고 생각해보자. 이때 두 물체의 거리가 가깝다면 두 물체로 인해 생긴 에어리 디스크가 겹칠 수 있다. 이런 상황에서는 따라서 현미경 배율을 높여도 두 물체를 구분하기 어렵다. 이미 에어리 디스크가 겹쳐 상이 흐려지기 때문이다. 아무리 완벽한 환경에서 아무리 완벽한 렌즈를 써도 현미경에 맺힌 상은 에어리 디스크 무늬끼리의 간격 이상으로 자세하게 볼 수 없는 것이다.

에어리 경 이후의 연구자들은 공기와 렌즈의 굴절률 때문에 에어리 디스크가 나타난다는 걸 깨닫고 이를 극복하기 위한 여러 방법을 개발했다.



현대의 입체 현미경 광학 디자인. 현미경은 2개의 렌즈가 결합돼 구성된다. 대물렌즈는 초점거리가 극히 짧은 렌즈이며 물체가 확대된 실상을 만들고, 접안렌즈는 그것을 보는 확대경이다. 대물렌즈와 접안렌즈는 1개의 원통의 양단에 장치되며, 그 원통의 길이는 기계통 길이라고 불린다. 그림 속에서 A는 대물렌즈, B는 갈릴레이식 망원경, C는 배율 조절, D는 접안렌즈, E는 프리즘, F는 릴레이 렌즈, G는 망선(Reticle), H는 접안렌즈이다.



전자빔을 이용하면 물체를 100만 배 이상 확대할 수 있다. 나노 세계를 관찰할 수 있는 능력(분해능)을 가지게 되는 것이다. 전자빔을 사용해 물체를 관찰하는 전자현미경으로 나노 세계 구석구석을 살필 수 있는 이유도 바로 이 때문이다. 특히 한국기초과학지원연구원에서 운영하고 있는 초고전압투과전자현미경은 나노 물질의 원자구조를 3차원으로 분석할 수 있는 세계적인 연구 장비로 손꼽힌다.

광학현미경과 전자현미경, 알고 보면 비슷

전자현미경은 기본적으로 광학현미경과 동일하다. 눈에 보이지 않는 물체를 확대해서 보여주는 장비이고, 물체를 확대하기 위해 쓰는 도구만 가시광선에서 전자빔으로 바뀌었기 때문이다.

광학현미경에서는 관찰하려는 물체의 아래에서 빛(가시광선)을 비추고, 물체를 통과한 빛을 렌즈로 받아들여 상을 얻는다. 관찰하려는 시료를 통과한 빛이 렌즈로 들어가면 굴절하게 되는데 이때 상이 커지므로 우리 눈으로는 볼 수 없었던 세상이 열리게 된다.

전자현미경에서는 가시광선 대신 전자빔을 이용해 상을 확대시킨다. 전자에 전압을 걸어서 속도를 빠르게 하면 한 점으로 모이려는 성질을 갖는다. 이를 집속(集束)이라고 하는데, 쉽게 말해 초점을 맞추는 것이다. 이때 강력한 자기장을 걸어서 전자가 모이는 길을 조절한다.

광학현미경에서와 마찬가지로 초점에 부딪친 전자들을 받아들여 분석하면 우리가 원하는 상을 얻을 수 있다. 속도가 빨라진 전자들은 빛보다 훨씬 짧은 파장을 가진 전자기파이므로 가시광선으로는 볼 수 없었던 세계까지 보여준다. 정리하면 전자현미경은 가시광선이 아닌 전자빔을 사용하고, 빛의 꺾이는 성질인 굴절은 전압을 걸어서 전자를 가속시켜서 생기는 특징으로 대체했다. 전자기파만 다를 뿐 기본적인 원리가 똑같은 것이다.

따라서 두 현미경의 구조도 상당히 비슷하다. 우선 광학현미경에는 시료 아래에 가시광선인 빛이 존재하고, 그 빛을 모으는 집속렌즈가 있다. 빛은 몇 개의 렌즈를 통해

들어오면서 상을 확대시키고, 접안렌즈로는 시료를 관찰하게 된다.

전자현미경은 맨 위에 전자과를 만들어내는 전자총이 있다. 이 부분은 광학현미경에서 가시광선에 해당하며, 물체를 확대해 보여줄 수 있는 근본적인 요소다. 전자총 아래에는 만들어진 전자과를 모아서 시료에 쪼이는 집속렌즈가 있다. 이는 광학현미경과 동일한 부분이지만 원리만 다르다. 광학현미경에서는 빛의 굴절 현상을 이용하지만, 전자현미경에서는 전자에 자기장을 가하여 휘어줌으로써 초점을 맞춘다.

광학현미경에서는 시료를 통과한 빛이 렌즈로 들어가며 굴절돼 상을 확대시킨다. 하지만 전자현미경에서는 전자가 시료를 통과하거나 스캔하게 된다. 이런 작업을 거치면서 상을 확대하는 각종 렌즈가 집속렌즈 아래 배치돼 있다. 그리고 확대한 영상을 눈으로 볼 수 있도록 투사하는 형광스크린도 있다.

두 현미경에서 다른 점은 물질을 관찰할 때 사용하는 매체, 즉 전자기파에 있다. 광학현미경은 우리 눈에 보이는 빛인 가시광선을 이용하지만 전자현미경은 가시광선보다 파장이 짧은 전자과를 사용한다. 이를 활용하면 현미경의 분해능이 높아져 나노 수준의 미세한 물체까지 관찰할 수 있고 원자의 모습까지 살펴볼 수 있다.

하지만 전자현미경도 단점은 있다. 물체를 관찰할 때 쓰는 전자기파를 따로 만들어야 한다는 점이다. 광학현미경은 태양이나 램프 등으로 손쉽게 광원을 얻을 수 있지만 전자현미경은 전자과를 만들어내고 초점에 맞춰 모으는 특별한 장치가 필요하다. 따라서 가격이 비쌀 수밖에 없다. 또 전자현미경에서 사용하는 전자빔은 투과력이 약해서 관찰하려는 물체의 시료를 얇게 만들어야 한다는 번거로움도 있다.

전자기 유도 현상

전류가 흐를 때 주위에 자기장이 생긴다면 어떻게 될까? 정답은 ‘자기장의 영향을 받아 도선에 전류가 흐르게 된다’이다. 영국의 물리학자 마이클 패러데이(Michael Faraday)가 실험으로 밝혀낸 이 현상은 ‘패러데이의 법칙(전자기 유도 법칙)’으로 잘 알려져 있다.

패러데이는 코일로 감아 놓은 도선의 양끝을 검류계와 연결하고 그 코일 안으로 자석을 넣었다 빼면 전류가 흐른다는 사실을 보여줬다. 전지는 연결하지 않고 자석만 움직였을 뿐인데 검류계의 바늘이 움직인 것이다. 코일 속에 자석을 넣으면 자기장이 생기고, 이런 자기장의 변화가 전류를 흐르게 하는 전압을 발생시킨 것으로 해석할 수 있다.

패러데이의 전자기 유도 현상은 전기와 자기가 본질적으로 연결됐다는 걸 보여줬고, 전자기장이라는 독특하고 중요한 물리 개념을 세우는 데 큰 역할을 했다. 특히 이 개념은 전자현미경에도 활용된다. 전자를 가속시켜 하나의 점으로 모을 때 자기장을 활용하는 것이다. 가속된 전자에 자기장을 주면 일정한 방향으로 휘어지게 할 수 있는데, 전자현미경에서는 이 원리를 이용해 초점을 맞춘다.

참고로 패러데이가 전자기 유도 현상을 발견한 후, 과학 애호가들을 대상으로 강연한 일화가 재미있다. 당시 청중 중 한 명이었던 재무 장관이 “이 법칙은 어디에 도움이 될 수 있는가?”라고 질문하자, 패러데이가 “장래에 세금을 매길 수 있게 될지도 모른다”고 대답한 것이다. 그의 말처럼 오늘날 전자기 유도 법칙은 발전기, 전동기, 변압기 등의 제작에 이용되는 기본 법칙이 돼 현재 엄청난 세금의 원천이 되고 있다.



02 전자로 물체를 보려면?

빛인 듯 아닌 듯, 이상한 전자

전자를 어떻게 이용하면 물체를 볼 수 있을까? 전자현미경의 원리를 이해하려면 전자가 무엇인지부터 알아야 한다. 중, 고등학교에서 배우는 '전선을 따라 흐르면서 전류를 만들어내는 입자'로만 전자를 이해한다면 전자현미경의 원리를 전혀 알 수 없기 때문이다.

1897년 독일 출신의 톰슨(Thomson) 경은 놀라운 현상을 발견했다. 이전까지 전기의 성질을 띤 덩어리인 전하는 전선을 따라 흐른다고만 생각했다. 그러나 톰슨 경은 전하가 다발을 이루어 날아가면서 마치 빛과 같은 성질을 내는 현상을 발견했다. 전기 회로의 음극에서 나오는 광선이라고 하여 음극선(Cathode-Ray)이라 이름 붙인 이 현상은 전자를 빛 대신 사용할 수 있게 하는 기초 이론을 세우는 데 기여했다.

음극선을 이용한 대표적인 장치가 CRT(Cathode-Ray Tube)인데, 이는 과거 텔레비전 화면에 활용됐던 브라운관 모니터다. 브라운관 모니터는 전자총으로 전자를 발사시켜 형광물질을 빛나게 하면서 색을 표현했는데, 이때 전자총이 전자현미경에서 쓰는 것과 같은 원리다.

톰슨은 진공으로 된 관에 양극과 음극을 연결한 실험 장치를 만들고, 전하가 진공 속에서도 흐른다는 사실을 알아냈다. 양극과 음극이 떨어져 있고 둘 사이에 전압 차이가 있으면 진공관 안에서는 전류가 흐르는데, 이것이 바로 전하의 이동이라는 것을 발견한 것이다. 톰슨은 이 발견을 통해 이전에 알려지지 않았던 음의 전하를 갖는 입자, 즉 전자(electron)의 존재를 발표했다.

년대	내용
1895	W.Roentgen(독일)이 X-ray 발견
1897	Sir J.J. Thomson(독일)이 Electron 발견
1924	Louis de Broglie(프랑스)가 전자파동설 제안
1926	Hans Busch가 전자에 대한 자계의 렌즈작용 이론화
1931	Max Knoll & Ernst Ruska의 TEM 발명(×17.4)

전자는 원자핵과 함께 원자를 이루는 요소다. 둘 사이에는 전기력이 작용하므로 각자 특정한 위치에 있으며 일정한 에너지를 가진다. 따라서 전자가 상온에서 자기 위치를 벗어나 공중으로 방출되는 일은 거의 일어나지 않는다. 하지만 전자가 가지고 있는 에너지보다 더 큰 에너지가 주어지면 원자에서 전자가 튕겨져 나오게 된다. 전자현미경에 쓰이는 전자총은 바로 이런 원리를 이용해 전자빔을 만든다.

전자총의 필라멘트로 사용되는 텅스텐 같은 금속을 높은 온도로 가열시키면 원자에 묶여 있던 전자들이 원자핵의 힘에서 벗어나 진공 중으로 튀어나오는 것이다. 전자총은 이런 원리를 이용해 꾸준히 전자빔을 만들어 전자현미경에서 쓸 수 있는 가시광선보다 파장이 짧은 전자기파를 만들어낸다.

빛을 대신할 것이 준비되었으니 이제 렌즈만 있으면 전자현미경을 만들 수 있다. 전자에 사용하는 렌즈는 1926년 한스 부시(Hans Busch)가 발견했다. 패러데이의 법칙을 이용하면 전자의 방향을 바꿀 수 있다는 내용을 이론으로 발표한 것이다. 전자총에서 나오는 전자들이 자기장의 영향을 받아 휘어질 수 있다면 자기장을 렌즈 삼아 빔처럼 사용할 수 있다. 자기장을 조절하면 렌즈보다 더 수월하게 초점거리를 조절할 수 있을 것이다. 이처럼 전자를 빔처럼, 자기장을 렌즈처럼 쓸 수 있다는 사실의 발견은 전자현미경이 탄생하는 결정적인 계기가 됐다.

전자가 서로 모이도록 이동 경로를 휘어 주면 마치 볼록렌즈가 빛을 모으듯이 전자를 모아준다. 코일(coil)에 흐르는 전류를 변환시키면 전자렌즈의 초점거리(focal length)를 바꿀 수 있어 시료를 확대할 수 있다. 자기장을 약하게 걸어주면 전자렌즈



루스카(왼쪽)와 크놀(오른쪽)의 모습

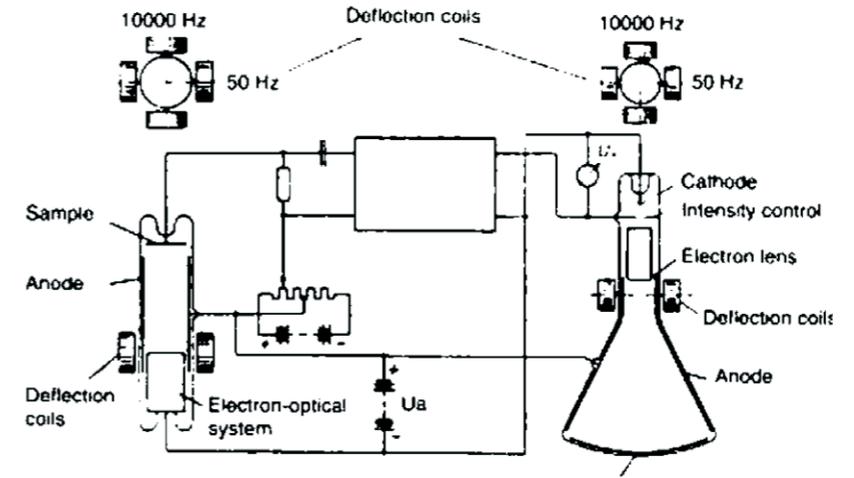
의 초점거리가 멀어지고, 반대로 강하게 걸어주면 초점거리가 가까워지는 것이다.

그러나 부시의 이론만으

로는 전자현미경에 필요한 초점거리를 계산하고 작동방식을 설계하는 데 많은 시간이 걸렸을 것이다. 그러나 부시의 발표 2년 전인 1924년, 드 브로이(de Broglie)가 제안한 ‘전자파동설’ 덕분에 전자를 이용한 전자현미경에도 간편하게 광학현미경의 원리를 적용시킬 수 있었다.

툼슨 경이 발견한 음극선은 마치 빔처럼 보였지만 전자라는 단단한 입자가 만들어내는 현상이라는 사실이 분명했다. 마치 총알을 쏜 것 마냥 회절이나 굴절 같은 파동의 성질을 나타내지 않았기 때문이다. 그러나 드 브로이는 ‘파동인 빛이 때로 입자처럼 행동한다’는 아인슈타인의 광량자 가설에서 힌트를 얻어, ‘전자를 포함한 모든 물질입자들이 파동의 성질을 가진 것은 아닐까’ 생각했다. 이 생각을 정리해 박사논문으로 제출했는데, 이 가설이 바로 전자파동설이 나온 것이다. 이 가설은 양자역학의 출발점 중 하나였을 뿐 아니라 전자의 파장을 계산할 수 있게 하여 전자현미경의 이론적인 기초가 됐다.

이러한 결과들을 종합하여 1931년 독일의 막스 크놀(Max Knoll)과 그의 제자였던 에른스트 루스카(Ernst Ruska)가 전자현미경을 발명했다. 공식적인 발표에 따르면 이 현미경은 17.4배까지 물체를 확대해 관찰할 수 있었다.



루스카와 크놀이 만든 최초의 전자현미경의 구조도

17.4배는 광학현미경에 한참 못 미치는 기운 빠지는 수치다. 당시 루스카가 만든 전자현미경은 전자가 내는 열 때문에 높은 배율을 얻을 수 없었기 때문이다. 두 사람은 이런 현미경을 ‘새로운 방식의 현미경’이라고 발표하면 남들이 쇼맨십이라고 놀린다고 우려해 이 역사적인 발명품을 전자현미경이라고 부르지 않기로 결정했다.

루스카와 크놀은 최초로 전자현미경을 발명한 후 형편없는 배율에 크게 낙담했다. 처음 발명된 전자현미경의 배율이 낮았던 주요 이유는 두 가지였다. 우선 시료에 전자가 흡수되는 양의 차이를 측정함으로써 영상을 얻으려 했기 때문에 전자빔을 쪼이는 수준을 높일 수밖에 없었다. 이 때문에 시료에 흡수된 전자에서 열이 나고 시료를 태워버릴 수 있다는 사실을 간과한 것이다.

둘째는 전자렌즈의 초점거리의 문제였다. 이들이 드 브로이가 발표한 전자 파장을 계산하는 공식을 모르고 있었다. 드 브로이의 공식에 따르면 전자 파장은 가시광선보다 105배 정도 짧다. 따라서 렌즈의 초점거리도 그에 비례해 짧게 설계돼야 하지만 두 사람은 이를 몰라 실수했던 것이다.

둘은 이런 문제점을 해결하고자 1933년 극관(pole piece)를 개발해 초점거리와 빔을 쪼이는 넓이를 줄였다. 그 결과 1만 2000배의 배율을 얻을 수 있게 됐다.

또한 시료의 두께를 얇게 만들면 전자가 산란되는 정도의 차이만 확인해도 충분히

년대	배율	구성요소
1931	17.4×	집속렌즈, 대물렌즈
1933	12,000×	대물렌즈에 pole piece 적용
1938	30,000×	집속렌즈, 대물렌즈에 pole piece, 투사렌즈, 사진판, 시료방의 사전배기장치
1954	100,000×	2단 집속렌즈를 도입하여 시료에 대한 열영향 방지

전자현미경의 배율의 증가시키기 위한 노력

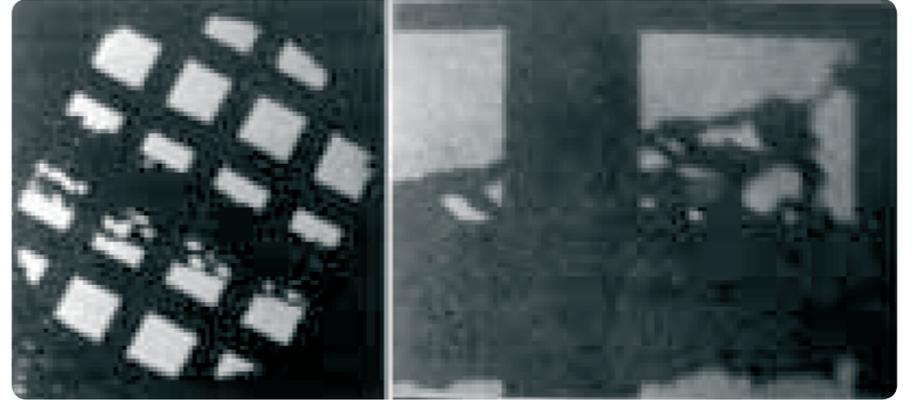
알아볼 수 있는 영상을 얻을 수 있다는 사실을 알아냈다. 이렇게 하면 시료가 전자를 흡수하지 않으므로 시료에 발생하는 열을 크게 줄여 시료가 손상되지 않고도 고밀도의 전자빔을 이용하여 배율을 높일 수 있다.

개량을 거듭한 결과 1938년에는 투사렌즈(projection lens)를 이용하고 다른 장치도 설치해 3만 배 배율이 가능한 전자현미경이 만들어졌다. 10만 배 이상의 고배율 관찰은 1954년 집속렌즈(condenser lens)를 2단으로 설계해 시료에 전자빔을 쪼이는 면적을 대폭 줄이면서 가능해졌다. 이때에도 처음 시도했을 때에는 두 번째 집속렌즈를 통과한 시료상이 너무 어두워서 관찰하기 어려웠다. 경통 내부에 남아있는 가스분자가 전자의 흐름을 방해하여 상이 제대로 맺히지 않는 현상 때문이었다. 이 문제는 시료 둘레를 액화공기로 냉각시켜 해결했다. 이는 현재 전자현미경에 사용되는 액체질소의 역할과 비슷하다.

루스카 박사는 전자현미경을 발명한 지 55년 만인 1986년 80세라는 고령의 나이에 노벨 물리학상을 수상했다. 전자현미경을 발명하고, 끊임없이 성능을 개선시킨 점을 인정받은 것이다.

생명의 비밀을 밝힌 전자현미경

전자현미경에 주목한 학자들은 루스카와 크놀 뿐만은 아니었다. 여러 과학자들이 전자현미경의 성능을 개선하기 위해 노력했는데, 이들 대부분은 생물학자들이었다. 지금이야 나노과학이나 화학과 같은 분야에도 널리 사용되지만 당시에는 고배율 현미경이 가장 필요한 분야가 생물학이었기 때문이다. 1934년 벨기에의 마르통(B.L. Marton)이 최초로 생물시료를 촬영하는 데 성공했다. 마르통은 끈끈이 주걱(Drosera



© 한국전자현미경학회지 제33권 제2호

마르통이 전자현미경을 이용해 최초로 생물시료를 촬영한 영상

intermedia)의 잎을 15 μ m 두께로 잘라서 450배 정도로 관찰했다. 지금 보면 무엇인지 식별조차 어려운 사진이지만 당시는 획기적인 사건이었다.

생물시료의 미세구조를 실제로 관찰하게 된 데는 전자현미경의 발달과 더불어 1950년대 들어 시료를 고정시키거나 정밀하게 잘라낼 수 있는 기술의 도움이 컸다. 이후 전자현미경은 급속도로 상용화돼 1939년 독일의 지멘스(Siemens)사에서 세계 최초로 투과전자현미경(TEM, transmission electron microscope)을 시판했다. 미주대륙에서는 미국의 RCA사가 1940년 TEM을 개발했으며, 아시아에서는 일본의 히타치(Hitachi)사에서 1941년 HU-1이라는 TEM을 개발하기에 이르렀다. 필립스(Philips)사에서는 1949년에 분해능이 5nm인 EM100이라는 모델을 제작했다.

주사전자현미경(SEM, scanning electron microscope)과 유사한 형태는 TEM을 발명한 크놀이 1935년에 제작한 ‘전자선속 스캐너(electron beam scanner)’다. 이 장치는 집속렌즈를 사용하지 않았을 뿐 현재의 주사전자현미경과 비슷했다.

1938년 독일의 폰 아르덴(M. von Ardenne)은 TEM에서 두꺼운 시료를 관찰할 때 대물렌즈에서 나타나는 오류를 줄이기 위해 주사 방법을 채택한 전자현미경을 제작했다. 주사 방법을 선택한 전자현미경, 즉 주사전자현미경(SEM)의 가장 큰 목적은 ‘입체감’이었다. 투과전자현미경은 전자를 시료에 통과시켜서 관찰했기 때문에 시료의



© 위키백과

최초의 투과전자현미경의 모습



© 이미지 출처: 한국전자현미경학회지 제33권 제2호

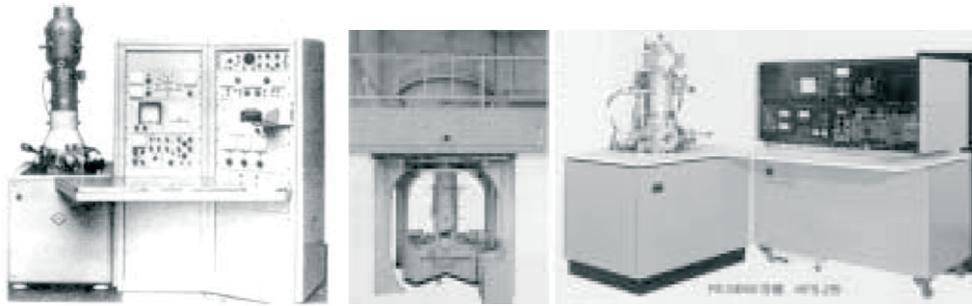
주사전자현미경(SEM)의 개발에 공헌한 인물들, 왼쪽 위부터 시계방향으로 아르테네, 즈보리킨, 맥멀란, 오우틀리

표면 구조는 알아보기 어려웠는데, 물체의 표면을 제대로 관찰하겠다는 의도가 있었던 것이다.

TEM과 SEM의 차이는 일반 현미경과 해부현미경의 관계와 비슷하다. 광학현미경 중에서도 일반 현미경은 시료 아래에서 빛을 쬐서 시료를 관통시켜 관찰한다. 따라서 시료를 얇게 썰어야 하므

로 덩어리는 관찰하지 못하고, 상도 아주 평면적인 것밖에 얻을 수 없다. 게다가 빛을 투과시켜 관찰하는 방식이라 물체의 표면을 알아보는 것은 극히 어려웠다.

이런 단점을 극복하고 물체의 표면을 직접 보자는 취지로 만들어진 것이 해부현미경이다. 이 현미경은 비스듬히 들어오는 빛이 시료에 반사된 것을 관찰하는 방식이다. 따라서 시료를 얇게 썰 필요도 없고 표면도 볼 수 있었다. 울퉁불퉁한 표면을 살피는 게 목적이니 초점이 맞는 영역도 제법 깊었다. 초점이 맞는 영역을 피사계 심도라고 하는데 이 영역이 깊다는 것은 엄청난 장점이었다. 일반 광학현미경에서는 시료가 조금만 두꺼워도 윗면과 아랫면에 동시에 초점이 맞지 않아 깨끗한 상을 얻기 어려운 데 비해 해부현미경으로는 시료가 어느 정도 두껍더라도 전체적인 모습을 한 눈에 제대로 볼 수 있었다.



최초의 상용 주사전자현미경인 스테레오 스캔 MK1의 모습

최초의 상용 고전압전자현미경(HU650)과 히타치에서 최초로 상용화한 FE-SEM의 모습

전자현미경에서도 이런 장점을 살리고자 만들어진 게 바로 SEM이다. 주사전자현미경이라는 이름에서도 알 수 있듯 전자빔을 주사기로 쏘듯 표면에 쏘고, 이것이 반사돼 생성되는 전류가 브라운관에 닿아 상을 만드는 원리다. 다시 말해 강력한 전자빔을 시료에 쏘아 반사시킴으로써 시료가 마치 전자총과 같은 역할을 하게 만든 것이다.

아르텐은 SEM에서 더 좋은 해상도를 얻을 수 있는 방법도 제안했지만, 안타깝게도 그가 제작한 SEM은 1944년 베를린 공습 때 파괴됐다. 전쟁이 끝난 뒤 그는 전공 분야를 바꿔 더 이상 전자현미경 개발에는 관여하지 않았다.

미국에서는 러시아에서 미국으로 이민 간 블라디미르 즈보리킨(Vladimir Kosma Zworykin)이 1938년부터 RCA사에서 SEM의 개발 연구를 했다. 그는 힐러(J. Hiller), 스나이더(R. L. Snyder)와 함께 1942년 최초의 SEM을 만들었다. 그러나 초기의 SEM은 검출기의 효율이 매우 나빠서 화질이 좋지 않았기에 크게 주목받지는 못했다. 그러나 전자빔으로 표면의 굴곡을 관찰할 수 있다는 가능성에 주목한 사람들도 제법 많았다. 무엇보다 매력적인 것은 SEM을 이용하면 시료를 아주 얇게 썬는 수고를 하지 않아도 될 뿐만 아니라 입체적인 상을 얻을 수 있다는 점이었다.

이러한 장점 덕분에 SEM에 대한 연구가 꾸준히 진행되어 큰 발전을 이루었다. 현재도 많은 연구자들이 용도와 시료의 종류에 따라 TEM과 SEM을 골고루 사용한다.

현대적 의미의 SEM은 영국 케임브리지대의 오틀리(C.W.Oatley) 교수와 대학원생이 개발했다. 맥멀란(D. McMullan)은 저속주사 시스템을 개발하고 빔 크기를 20nm까지 낮췄으며, 스미스(C. A. Smith)는 정전기 렌즈를 전자기렌즈로 교체하고 이중

년대	내용
1934	B.L. Marton의 생물시료 관찰 : 최초로 성공
1935	Max Knoll의 SEM 원리 제안
1938	M. von Ardenne(독일)의 SEM 발명
1940	일본의 EM 개발 - Hitachi에서 HU-1 제작
1942	Vladimir Kosma Zworykin(러시아)의 SEM 개선
1949	네덜란드의 EM 개발 - Philips에서 EM100(5nm) 제작
1962	영국 Cambridge사의 SEM 상용화
1965	500kV 고압전자현미경(HVEM) 개발 - Hitachi, HU-500
1966	SEM 시판
1966	1MV 고압전자현미경 개발 - JEOL과 Hitachi
1969	SEM 발전 - 15nm(Hitachi, HSM-2)

생명과학분야에서 활용되는 전자현미경의 발달 과정

편향코일과 '비점수차 교정기'를 개발했다. 에버하트(T. E. Everhart)와 톨리(R. F. M. Thornley)가 잡음도를 대폭 낮춘 검출기를 개발해 SEM의 쓸모를 크게 높였다.

이들의 노력은 결실을 맺어 마침내 1965년, 영국의 케임브리지 인스트루먼트사에서 최초로 상용 SEM인 '스테레오스캔 MK1'을 개발했고 이후 SEM이 널리 사용됐다. 최근에는 SEM의 기능이 더 확장되어 생명공학과 의학, 금속공학과 같은 분야에서 많이 쓰이고 있다. 분석을 더욱 편리하게 하기 위해 개인 컴퓨터와 연결한 PC 기반 SEM은 일반화됐고 최근에는 원격 조정까지 할 수 있는 SEM이 교육용으로 개발되고 있다.

‘색안경’을 끼고 보는 물질의 세계, 에너지 필터란?

색안경을 끼고 세상을 바라본다는 건 분명 좋은 의미는 아니다. 진지한 성찰 없이 무턱대고 주관과 편견에 의지한 채 자의적으로 세상을 해석하고 이를 보편적 진리로 주장하는 사람을 우리는 색안경을 낀 사람이라고 놀리기도 한다. 자신이 생각하고 있는 범주 안에 속하지 않는 것이면 무조건적으로 차단하고 배제하는 사람을 우리는 별로 좋아하지 않는다. 하지만 과학의 세계에 있어선 예외가 있다.

사물에서 일어나는 현상과 성질들을 이해하기 위한 바탕에는 이러한 색안경을 낀 관찰자의 시각이 존재한다. 이것은 정신과 마음에 달린 것이 아니라 우리가 세상을 이해하기 위해 사용하는 과학적 관찰 장비에 색안경과 같은 기능을 부여하는 것이다. 우리는 이를 ‘필터링(걸러냄)’이라는 일반적인 말로 표현한다. 이러한 기능을 사용함으로써 관찰 장비는 다른 것은 보지 않고 색안경으로 걸러진 신호만을 보게 되며 이를 통해 기존에 알지 못했던 새로운 사실들을 알아낼 수 있다.

많은 과학 장비들이 있지만 직접적으로 아주 작은 나노 세계를 관찰할 수 있게 하는 대표적인 장비는 바로 전자현미경이다. 그래서 사람들은 전자현미경을 과학의 눈이라고 한다. 물질을 구성하는 분자나 원자들의 배열상태를 직접 관찰함으로써 물질의 본질을 연구하는 데 쓰이는 강력한 분석 도구이기 때문이다.

전자현미경에 색안경을 처음으로 달아 주어야겠다고 생각한 사람은 제임스 힐러(James Hillier, 1915-2007)다. 그는 1944년에 이런 장치를 고안해 처음으로 전자현미경에 부착해 기존 전자현미경의 물질 구조를 탐색하는 기능뿐만 아니라 물질의 화학성질까지도 동시에 관찰할 수 있게 하였다. 현대 과학자들은 이 장치를 ‘에너지 필터’라고 부른다.

전자현미경은 물질을 통과시킨 전자 빔을 확대해 형광관에 비춰봄으로써 물질의 형상을 관찰한다. 이렇게 물질을 통과한 전자 빔은 물질의 구성 성분에 따라

빔의 에너지가 달라져서 속도 차이가 난다. 에너지 필터는 물질을 통과하고 나온 전자의 에너지에 따라서 특정한 에너지를 선택적으로 분류하는 역할을 한다.

원리적으로는 전자 빔에 자기장을 걸어 주고 경로를 휘게 하면 물질을 통과하고 나온 전자 빔은 에너지 크기 순서대로 길게 늘어선다. 여기에 관찰하고 싶은 빔만을 슬릿을 두고 걸러내서 관찰하는 게 에너지 필터의 기능이다. 따라서 이 장치를 이용하면 관찰 물질의 구성 성분과 관련된 신호만을 추출할 수 있기 때문에 매우 작은 물질 세계의 화학적 현상을 관찰할 수 있다.

이는 매우 강력한 기능이다. 에너지 필터가 부착된 전자현미경을 이용하면 물질의 원자 구조를 관찰함과 동시에 물질을 이루고 있는 원소들까지도 구분해 낼 수 있다. 힐러의 공헌으로 개발된 이 에너지 필터라는 색안경을 전자현미경에 끼워줌으로써 물질의 형태뿐만 아니라 내부가 어떤 원소들로 이뤄졌는지를 구분해 낼 수 있게 됐다. 이후 많은 전자현미경 학자들의 노력으로 지금은 발전에 발전을 거듭하여 원자나 분자세계에서 일어나는 화학적 현상도 관찰할 수 있게 됐다.

색안경을 끼고 보는 일은 대상의 한 부분만을 강조함으로써 인간 생활에선 편협함을 야기한다. 하지만 분석과학의 영역에서 색안경은 진실을 제대로 보기 위한 매우 중요한 방편이 된다. 이런 분석 기술들이 개발되지 않았다면 오늘날 우리가 누리는 나노와 생명공학의 유익한 기술들이 탄생하는 데 훨씬 더 많은 시간이 걸렸을 것이다.

현재는 나노시대이고 생명공학의 시대다. 이들 기술의 융합에 의해 신기술들이 계속 탄생되고, 인간 생활의 유익함을 위한 과학자들의 노력은 끊임없다. 그 저변에 우리 눈에 보이지 않는 세계를 열어 이해하도록 도와준 전자현미경 연구자들의 숨은 기여는 실로 위대하다. 하지만 그들의 꿈은 소박하다. 진정한 과학의 눈이 되는 것. 그것이 그들의 목표다.

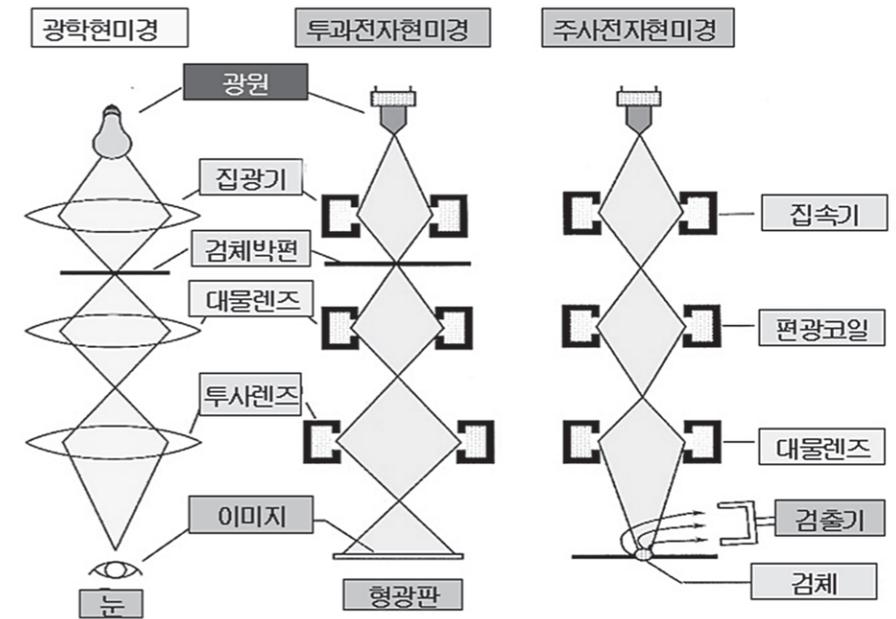
03 전자로 세상을 본다

전자현미경은 시료 관찰을 위해 빛 대신 전자를 이용한다. 전자가 시료와 충돌하면서 얻은 정보를 이미지로 만들기 때문에 전자에 적합하도록 시료를 준비하는 과정이 반드시 필요하다. 전자현미경이 어떻게 물체의 미세한 구조를 보여줄 수 있는지 살펴본다.

전자를 모아서 쓰는 전자총

TEM이나 SEM 같은 종류에 따라 차이가 있기는 하지만 일반적으로 전자현미경의 구조는 비슷하다. 우선 전자를 빛 대신 이용하는 현미경인 만큼 전자를 만들어내는 장치가 필요하다. 요즘의 광학현미경에는 빛을 내는 전구가 달려있는 것과 마찬가지로.

전자를 만들어내는 장치가 바로 ‘전자총’이다. 제법 무서워 보이는 이름과 달리 전자총에서는 전자를 모아서 내보내는 역할만을 한다. 전자총은 필라멘트, 음극, 양극으로 구성되어, 전압을 걸어주면 필라멘트에서 전자가 방출된다. 이 전자들이 만드는 흐름이 전자빔의 형태가 되면 양극에서 가속된다. 전자는 음의 전하를 띠기 때문에 양극으로 끌려가면서 속도를 얻는 것이다. 가속된 전자는 다시 자기장으로부터 패러데이의 법칙에 따른 힘을 받아 파장이 일정해진 전자가 무리를 지어 한 방향으로 흐르기 시작하면서 ‘집속렌즈’를 통과하면 전자현미경에 필요한 전자빔이 준비된다.



광학현미경과 투과전자현미경, 주사전자현미경의 구조를 비교한 그림. 광학현미경과 전자현미경의 가장 큰 차이는 빛 대신 전자를 사용한다는 점이고, 투과전자현미경과 주사전자현미경의 차이는 전자를 통과시키는지, 한 점에 초점을 맞춰 쏘는지에 있다.

© 서울특별시과학기술진흥원·2011 전자현미경 활용 직무연수

이렇게 일정한 파장을 갖는 전자빔은 TEM의 경우 시료를 통과한 후 자기장을 이용한 ‘대물렌즈’를 지나면서 굴절되어 상이 확대된다. 이렇게 확대된 전자의 상은 다시 자기장 렌즈를 통과하여 형광관에 도착한다. 형광관은 마치 사람 눈의 망막처럼 입사되는 전자를 검출하고, 이를 처리장치가 이미지로 변환하여 모니터에 출력함으로써 사용자가 고배율로 확대된 상을 볼 수 있다. 반면 SEM은 TEM과 달리 시료 조각에 초점을 맞추어 쪼여진다. 이 때 시료에 투과된 전자의 영향으로 2차 전자, 후방 산란전자 등이 상호작용해 방출되는데 이 신호를 검출기로 포집한 후 디지털 신호로 변환시킨다.

전자현미경은 광학현미경과 다르게 가시광선이 아닌 전자선의 짧은 파장에서 신호가 나온다. 이 때문에 신호를 받아 전기신호로 변환하는 ‘검파기’와 우리 눈으로 이를 볼 수 있도록 영상으로 바꿔주는 ‘영상화 장비’ 예컨대 형광관, 사진판, 모니터 등의 장비가 추가로 필요하다.

상의 배율과 초점은 자기장 렌즈를 이용해 조절한다. 우선 상의 배율은 중간렌즈와 투영렌즈 사이에 있는 코일에 흐르는 전류 세기에 따라 결정된다. 초점은 대물렌즈의 코일에 흐르는 전류에 의해 조절된다. 미세한 조절을 통해서 전자 흐름이 바뀌기 때문에 전자현미경은 진공상태를 유지하는 게 일반적이다.

광학현미경은 표본의 빛을 흡수해 상이 형성되는데 반해 전자현미경은 전자가 표본의 원자에 의해 산란돼 상이 형성된다. 전자의 특성상 무거운 원자와 충돌했을 때 더 잘 산란되므로, 크고 복잡한 분자나 무거운 원소가 많을수록 짙고 선명하게 보인다.

관찰은 광학현미경처럼 간편하게

시료가 준비되었다면 비교적 간편하게 조작할 수 있는 주사전자현미경을 이용하여 관찰을 할 수 있다. 시료는 사전에 전자현미경 관찰을 위한 표본제작 과정을 거쳐야 한다. 전자현미경을 이용해 시료를 관찰하려면 우선 전자현미경을 켜서 전자를 생성해야 한다. 그 다음 전자현미경의 시료대에 표본을 올려놓고 진공 상태로 만든다. 이후 가속전압을 설정한 후 상을 관찰하면 된다.

상의 관찰은 가속전압을 설정하고 상을 조정하면서 이뤄진다. 가속전압은 진공에서 설정하며 보통 금속표본의 경우 15kv, 생체 표본의 경우 10kv로 설정한다. 배율조절 손잡이와 대조 밝기 조절 손잡이를 통해 배율과 대조와 밝기를 조절한다. 또 초점 손잡이를 통해 초점을 맞추는 데 먼저 저배율에서 초점을 대강 맞춘 후 배율을 높이는 과정을 거친다.

짧은 파장의 전자를 이용하므로 미세 조절이 필요한데 ‘비점수차 교정기(stigmator)’라는 걸 통해 수차에 의한 상의 흔들림을 교정한다. 광학현미경과 마찬가지로 상의 이동은 시료를 관찰하면서 조절할 수 있다.

04 두 가지 전자현미경, 뚫고 볼까 반사시켜 볼까?

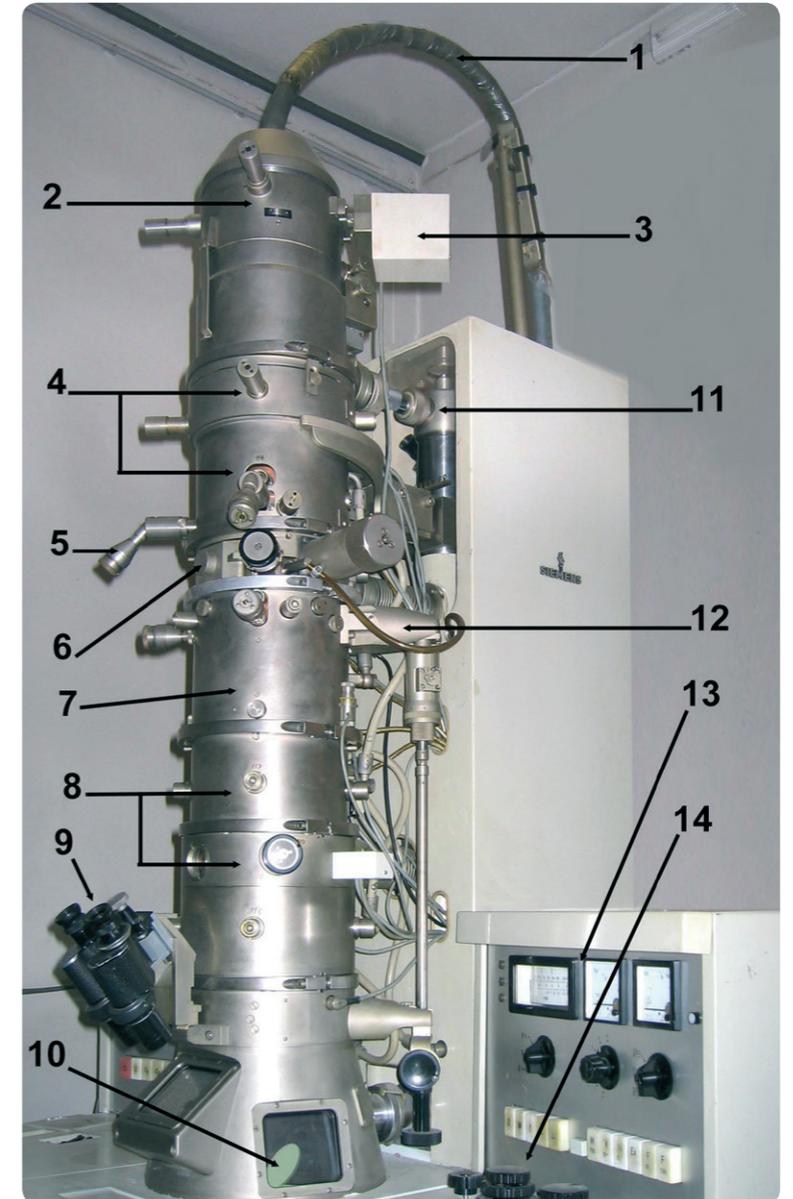
단위가 작은 자로 거리를 재면 더 정확한 값을 알 수 있다. 이와 마찬가지로 파장이 짧은 전자기파를 이용해 사물을 보는 전자현미경은 정밀한 형상을 얻을 수 있다. 최근의 전자현미경은 수백만 배까지 상을 확대해 관찰할 수 있고, 결정 내 원자 배열까지 판별할 수 있어 생물학, 의학, 공학, 등 넓은 분야에 걸쳐 이용되고 있다. 목적에 따라서 투과형과 주사형, 반사형 등으로 분류되며 투과전자현미경과 주사전자현미경이 가장 많이 이용된다.

단면의 구조를 자세히 볼 수 있는 투과전자현미경

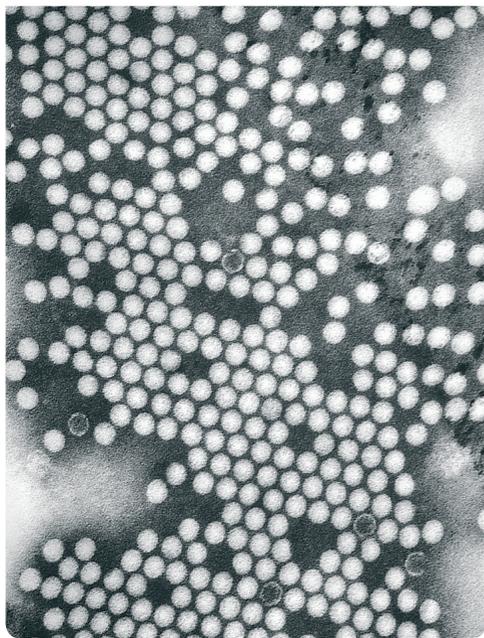
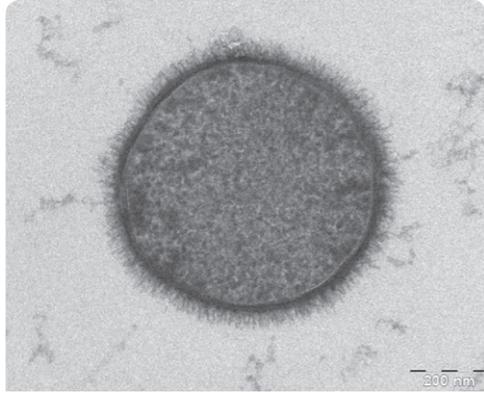
투과전자현미경(Transmission Electron Microscopy, TEM)은 광원과 광원 렌즈 대신에 전자빔과 전자 렌즈를 사용한다. 전자빔으로는 만드는 가속 전자를 관찰 대상에 투과시키면 결정면이나 결합 등의 정도에 따라 투과할 수 있는 전자빔의 강도 차이가 발생한다. 형광스크린에 명암으로 표시되는 이 차이를 통해 매우 작은 시료도 관찰할 수 있다.

TEM은 전자가 시료 내부를 투과하기 때문에 내부구조나 결정구조를 관찰하기 좋다. 통상 1000배~100만 배의 고배율로 관찰할 수 있는데, 높은 배율의 경우 높은 속련도가 요구된다. 시료 두께가 100nm를 넘으면 전자빔이 투과하기 어려우므로 윤곽 밖에 보이지 않는다. 따라서 시료의 내부 구조를 보려면 100nm보다 더 얇은 시료를 만들어야 한다.

TEM은 고압으로 전자빔을 만들고 또 자기장을 이용해 전자를 가속해야 하므로 비



투과전자현미경의 모습, 가장 위에 전자총이 있고, 4번과 7번, 8번은 시료를 투과한 전자를 잡아내는 전자렌즈다. 10번의 스크린을 통해 전자렌즈로 본 장면이 나타나고, 13번과 14번을 통해 전자빔을 조절한다.



TEM으로 촬영한 바실러스균의 모습(위)과 TEM으로 촬영한 폴리오 바이러스의 모습(아래). 폴리오 바이러스는 30nm 사이즈다.

교적 전자 제어가 어렵다. 또 구조가 복잡하며 가격이 비싸다는 단점이 있다. 또한 고성능일수록 크기가 커 공간을 많이 차지하게 된다. 실제로 원자 수준까지 관찰할 수 있는 세계적 전자현미경인 HVEM은 높이가 14.5m, 너비가 4.0m에 이른다.

TEM을 통해서도 세포의 미세구조, 시료의 단면 정보, 원소 내부의 정보, 화학적 조성 등을 알아낼 수 있다. 더 나아가 금속, 세라믹, 반도체, 고분자 합성체를 포함한 재료분야, 미생물, 세포를 포함한 생물분야, 생체 조직 관찰을 포함한 의학 분야에도 응용이 가능하다. 즉, 나노기술 및 바이오기술 개발에 꼭 필요한 장비 중 하나가 바로 TEM이다.

이름 거리

초고전압 투과전자현미경으로 3차원 구조 밝힌다

가느다란 철사를 손으로 잡아 반으로 휘어보자. 휘어진 반쪽을 다시 반으로 휘고, 또 반으로 휘기를 반복하면 어느 순간 철사는 더 큰 힘을 가하지 않는 이상 휘어지지 않는다. 이렇게 재료의 크기가 작아질수록 더 강해지고 변형이 어려워지는 현상, 즉 '크기 효과'는 결정 크기가 마이크로미터($1\mu\text{m}=10^{-6}\text{m}$)보다 작을 때 더욱 강하게 나타난다.

2009년 2월 한국기초과학지원연구원 환경·소재분석본부 연구팀은 크기 효과의 원인을 알아내 '네이처 머티리얼스'에 게재했다. 연구 결과에 따르면 두께 500nm의 알루미늄 결정은 힘을 가할 때마다 선 모양으로 불규칙하게 배열된 구조가 움직인다. 이것은 마치 강한 지진과가 전달될 때 지층이 뒤틀리거나 끊어지는 모양과 유사하다.

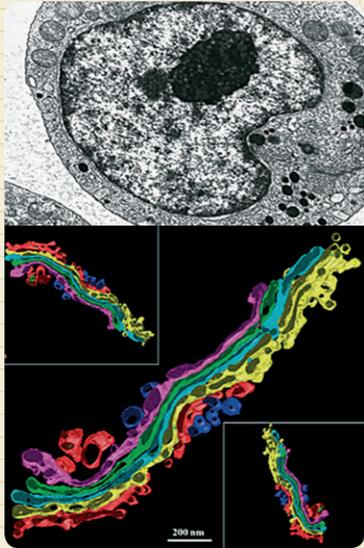
연구팀은 이 실험을 하기 위해 두께 500nm의 알루미늄 결정 속 미세구조를 일일이 관찰해야 했다. 하지만 전자현미경으로 들여다 볼 수 있는 재료 두께의 한계는 100nm. 내부를 들여다보기에는 알루미늄 결정이 너무 두껍다는 뜻이다.

그렇다면 연구팀은 어떻게 알루미늄 결정 내부를 훤히 들여다볼 수 있었을까. 기초연의 권희석 박사는 "높이 14.5m, 무게 340톤의 초고전압 투과전자현미경(High Voltage Electron Microscope, 이하 HVEM)이 해답"이라고 소개했다.

원자도 구분 가능한 해상도

전자현미경은 빛을 이용하는 광학현미경과 달리 전자를 이용해 시료를 관찰한다. 전자총으로 시료에 전자이온빔을 쬐 튀겨져 나오는 2차 전자 신호로 영상을 얻는 주사전자현미경과 전자가 시료를 투과해 형광관에 영상을 만드는 투과전자현미경이 있다.

전자를 이용하기 때문에 어두운 곳에서도 시료를 관찰할 수 있는 것은 물론, 전자가 빛보다 파장이 짧고 전자렌즈가 전자기장을 이용해 전자이온빔을 흩어지지 않게 한 줄기로 모으는 덕분에 세포 핵 속의 미세 구조까지도 볼 수 있을 만큼 해상도가 높다.



100배 확대 ©

일반 전자현미경으로 찍은 세포의 단면(위)을 보면 크기가 1~2 μ m 정도인 골지체는 너무 작아서 형태를 알아보기 어렵다. 아래쪽 그림은 연구팀에서 HVEM을 이용해 알아낸 골지체의 3차원 구조다.

한국기초과학지원연구원 환경·소재분석본부에 있는 HVEM은 국내는 물론 세계적으로도 성능을 인정받고 있는 최첨단 전자현미경이다. 일반 전자현미경에서 사용되는 전자빔이 100kV로 0.2~0.3nm 크기의 입자를 볼 수 있는데 비해 HVEM의 전자빔 성능이 이보다 13배나 강한 1300kV여서 0.12nm의 해상도로 원자까지 볼 수 있다. 우주망원경에 비유하면 달 표면에 있는 모래알을 보는 셈이다. 가속 장치와 고압 발생 장치는 물론 인체에 유해한 전자선이 밖으로 새어나오지 못하도록 장비를 설계한 탓에 규모가 우주망원경만 큼이나 크다.

무엇보다도 HVEM만이 가진 중요한 장점은 시료의 입체 구조를 관찰하는 '틸팅 기능'과 극저온에서 시료를 관찰하는 '급속 동결 장치'다. HVEM은 시료를 여러 각도에서 찍어 3차원 구조를 분석한다. 3차원 구조를 분석하는 기기로 쉽게 떠올릴 수 있는 CT는 환자가 가만히 누워 있으면 환자 주위를 360° 촬영해 환부의 3차원 영상을 얻는다. 하지만 모래알보다 작은 시료를 관찰하려고 340t이나 나가는 HVEM을 회전시키기는 불가능하다. 권 박사는 "장비 대신 시료를 회전시켜 3차원 구조를 알아낸다"고 말했다.

격자 무늬 석쇠처럼 생긴 '그리드'는 HVEM으로 분석할 시료를 얹고 좌우 60°씩 시소처럼 움직일 수 있다. 전자빔이 격자를 통과할 때 시료가 있는 부분과 없는 부

분, 그리고 시료의 두께에 따라 강도가 달라지는 성질을 이용해 시료의 2차원 구조를 얻는다. 이때 그리드를 움직여 찍은 시료의 2차원 사진들을 컴퓨터로 합성해 3차원 구조를 완성한다.

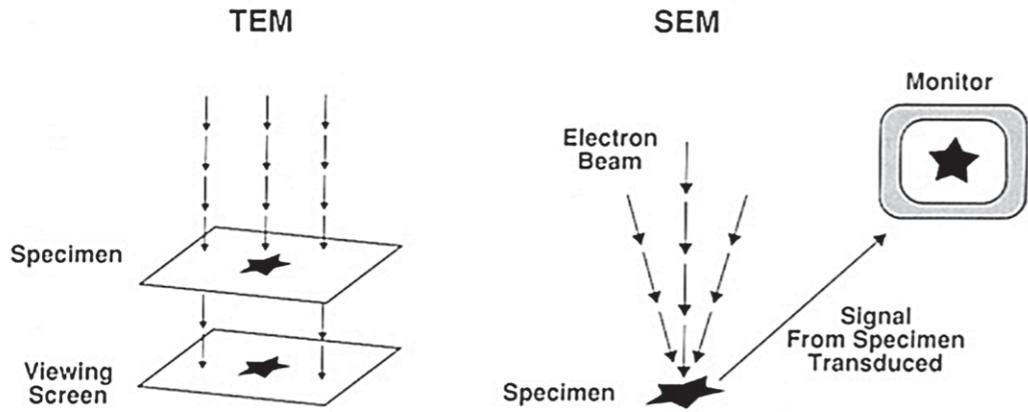
HVEM은 시료를 변형해야 하는 일반 전자현미경의 한계를 액체 질소(-196°C)나 액체 헬륨(-268°C)을 이용한 동결 전자현미경 기술로 해결했다. 일반 전자현미경으로 관찰할 때는 시료의 수분을 없애기 위해 60~80°C로 처리한다. 하지만 건포도가 싱싱한 포도알과 전혀 다른 모양이듯 이런 과정을 거치면 시료의 구조가 바뀐다. HVEM은 이런 과정을 없애고 시료를 푹푹 얼린 뒤 수 μ m로 얇게 썰어 시료를 거의 변형시키지 않고도 내부를 훤히 들여다본다.

HVEM이 설치된 2004년부터 해마다 '네이처'를 비롯한 저명한 학술지에 HVEM을 이용한 연구 결과가 실리고 있다. 2007년 연세대 천진우 교수팀과 공동으로 연구해 '네이처 메디슨'에 게재했던 기능성 나노입자 개발도 HVEM을 이용한 결과다. 이 연구로 몸속에서 스스로 암세포 위치를 추적하고 결합하는 초고감도 망간나노입자 '메이오'가 탄생했다.



© 권희석 박사

HVEM) 높이 14.5m로 건물의 지하에서부터 2층까지 설치돼 있다. 권희석 박사가 HVEM으로 촬영한 세포 단면을 보고 있다. 일반 전자현미경보다 해상도가 더 높는데다가 다른 각도에서 찍은 2차원 사진들을 합성하면 세포의 3차원 구조를 알 수 있다.



투과전자현미경과 주사전자현미경의 이미지 비교

입체의 표면을 볼 수 있는 주사전자현미경

주사전자현미경(Scanning Electron Microscope, SEM)은 고체 상태에서 미세 조직과 형상을 관찰할 때 널리 쓰인다. 초점 심도가 깊고 3차원 영상을 관찰하기 편리해 복잡한 표면구조나 결정 외형 등의 입체적인 형상을 높은 배율로 관찰할 수 있는 분석 장비다. 최초로 상용화된 것은 1965년이다.

SEM이 TEM과 가장 다른 점은 전자가 시료를 투과하지 않고 시료 표면에 한 점을 초점으로 맞춰 주사한다는 것이다. 전자발생원(electron source)에서 나온 전자선을 아주 작은 한 점을 초점으로 삼아 맞추고, 이 점에서 변화된 신호를 검출기로 잡아내 브라운관 점의 명암으로 나타낸다.

시료에 입사된 전자빔은 시료의 원자와 충돌하며 2차 전자, 후방산란전자, X선 및 가시광선과 같은 다양한 신호를 만들어낸다. 비교적 에너지가 낮은 전자를 흔히 2차 전자라 부르는데 이들은 1차 전자에 의해 원자에서 이온화된 전자들이다. 이들은 시료 조각의 외부로 탈출해 검출된 것인데, 그 세기는 원자에 따라서 크게 변화하지 않고 표면 형상이나 시료표면과 검출기의 위치에 따라 달라진다. 보통 2차 전자를 검출해 만든 상이 가장 성능이 좋아서 널리 사용한다.

SEM으로는 주로 시료 표면의 정보를 알 수 있다. 금속과면, 광물과 화석, 반도체 소자, 회로망을 포함한 품질검사와 고분자, 유기물, 생체시료, 유가공 제품을 포함한 산업분야에서 이 장비를 응용할 수 있으며, 분석장비를 추가해 영역을 확대하고 있다.

고성능의 TEM, 범용성의 SEM

TEM과 SEM의 공통점은 높은 에너지의 전자빔을 이용한다는 것이다. 또 입사전자와 분석물질과의 상호작용, 예컨대 TEM에서는 투과 전자를, SEM에서는 2차 전자를 검출해 분석한다는 점이다. 또한 입사전자의 궤도와 빔 크기를 자기장과 전기장을 이용한 전자렌즈를 통해 조정하며, 진공상태를 유지한다는 것도 같다.

하지만 둘은 구조적으로 다르다. 단순하게 크기만 봐도 TEM이 SEM에 비해 크고, 검출 분석 물질이 투과 전자와 2차 전자로 달라서 생기는 차이도 있다. 분해능과 전자빔의 에너지 작동 전압, 또 시료 준비 단계 역시 다른 점이다. TEM은 시료의 제약을 많이 받는다. 반면 표면에서 산란된 전자를 이용하는 SEM은 시료의 제약을 적게 받는다.

두 장비의 차이점은 응용 분야에도 영향을 준다. 정밀하고 미세한 관측이 필요한 나노 분야에서는 TEM을, 금속 유기물 분야에서는 SEM을 이용한다. 또 TEM은 SEM에 비해 운용과 제어가 어렵고 가격이 비싸기 때문에 SEM의 보급률이 더 높은 편이다.

05 나노과학과 전자현미경

초기에는 생물학에서 큰 활약을 보인 전자현미경이지만 현재는 여러 분야에서 중흥 무진 활약한다. 대표적인 분야가 바로 나노과학이다. 눈은 물론, 광학현미경으로도 관찰이 불가능할 만큼 작은 크기의 대상을 다루는 나노과학이야말로 고배율의 전자현미경이 절실히 필요한 학문이다. 생물학을 뛰어넘은 전자현미경이 어떤 일을 하는지 살펴보자.

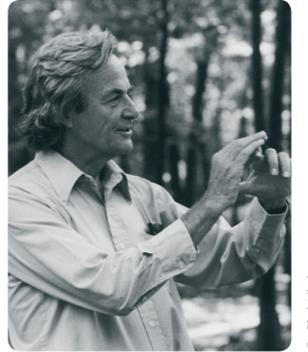
눈으로 볼 수 없는 세계, 나노세계

지름이 1만 2800km인 지구에는 수많은 사람들이 살고 있다. 한쪽에서는 땅 위에 건물을 세우고 다른 쪽에서는 산을 깎아 도로를 만들기도 한다. 지구의 크기는 65억 인류가 살아가는 공간이지만, 빛이 1년 간 갈 수 있는 거리인 '1광년(약 1013km)'에 비하면 약 10억분의 1인 크기에 지나지 않는다. 즉, 1광년을 1m라고 가정하면 지구의 크기는 1nm의 크기에 불과한 셈이다.

나노(nano)는 그리스어 난쟁이란 의미의 '나노스(nanos)'에서 유래한 말로, 1nm는 10억분의 1m의 크기를 나타낸다. 우리가 쉽게 접할 수 있는 머리카락 굵기(약 100 μ m)의 10만분의 1 크기이며, 수소 원자 10개를 쌓아놓은 매우 작은 크기다.



시료 챔버가 열린 주사전자현미경.



리처드 파인만의 모습

© 위키백과

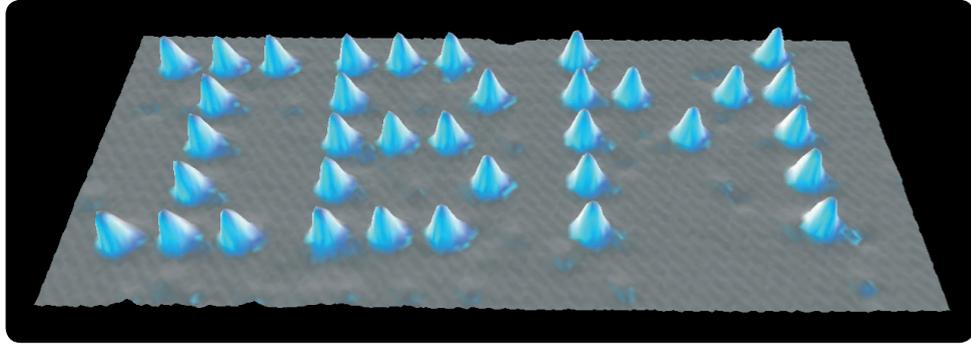
물질이 이 정도 크기로 작아지면 본래 갖고 있던 물질의 특성이 달라지거나 새로운 특성이 나타난다. 이러한 특성을 이용하는 기술이 나노기술이다. 물리적인 세계에서 보면 나노세계는 곧 원자세계이다. 따라서 나노기술이란 이러한 원자 하나하나를 빠르게 제어할 수 있는 기술로서 궁극적으로는 원자 하나하나를 쌓아 올려 새로운 세계를 다시 만들고자 하는 것이다.

1959년 미국 캘리포니아 공과대학, 리처드 파인만이 '바닥에는 풍부한 공간이 있다'는 제목의 강연에서 브리태니커 백과사전 24권 전체를 핀 머리에 기록하는 방법, 사람 몸 속의 뼈 안에 들어갈 만큼 작은 컴퓨터를 만들고 싶다는 소망, 혈관 속에 집어넣을 수 있는 로봇 의사를 만드는 미래를 예견했다.

파인만의 이 같은 생각은 하향식 나노기술 연구방법론의 초석이 됐다. 이 방식은 기존 거시물질에서 출발해 점점 크기를 축소해 가며 나노구조물을 만드는 것으로 D램을 비롯한 반도체 소자 미세가공, 나노분말 제조, 다결정재료 결정립의 미세화 등에 활용되고 있다.

1986년 에릭 드렉슬러는 나노기술에 관한 최초의 저술로 평가되는 '창조의 엔진(Engines of Creation)'이라는 나노 관련 책을 펴냈다. 이 책의 부제로 '다가오는 나노기술의 세기'를 달면서 나노기술이라는 말을 만들었다. 드렉슬러는 재래의 기술은 원자와 분자를 덩어리로 취급한다는 뜻에서 거시기술이라 칭하고 원자와 분자를 개별적으로 다루는 미래의 기술은 분자기술이라 부르자고 제안했다.

분자기술은 분자나 원자 하나하나를 조작해 전혀 새로운 성질과 기능을 가진 물질



STM으로 쓴 IBM 회사의 이름

을 만드는 기술이다. 이러한 방법은 상향식 기술의 모태가 되었다. 이 기술은 나노미터 크기의 기본구성 물질을 만든 다음에 마치 레고 블록을 조립하듯이 이것들을 하나 하나 쌓아올려 큰 구조물을 만드는 방법이다.

나노기술은 오랫동안 과학기술자들의 주목을 끌지 못했다. 그러나 원자나 분자를 눈으로 볼 수 있을 뿐만 아니라 조작도 가능한 도구가 발명됨에 따라 비로소 나노기술의 시대가 열리기 시작했다. 이런 혁명적인 도약의 발판을 마련한 도구는 주사형터널현미경(STM, scanning tunnelling microscopy)이다. STM은 반도체나 전도체 물질 표면의 구조를 나노미터 수준에서 관찰하거나 변형시키는 탐침 장치다. 1990년 미국 IBM사의 연구진들은 STM으로 35개의 크세논 원자를 정확하게 배열하여 회사 이름의 글자를 만들었다. 인류가 자연의 가장 기본적인 요소인 원자를 직접 조작할 수 있는 능력을 갖게 됐고, 새로운 세계를 창조할 수 있다는 가능성을 열어 보인 사건이다.

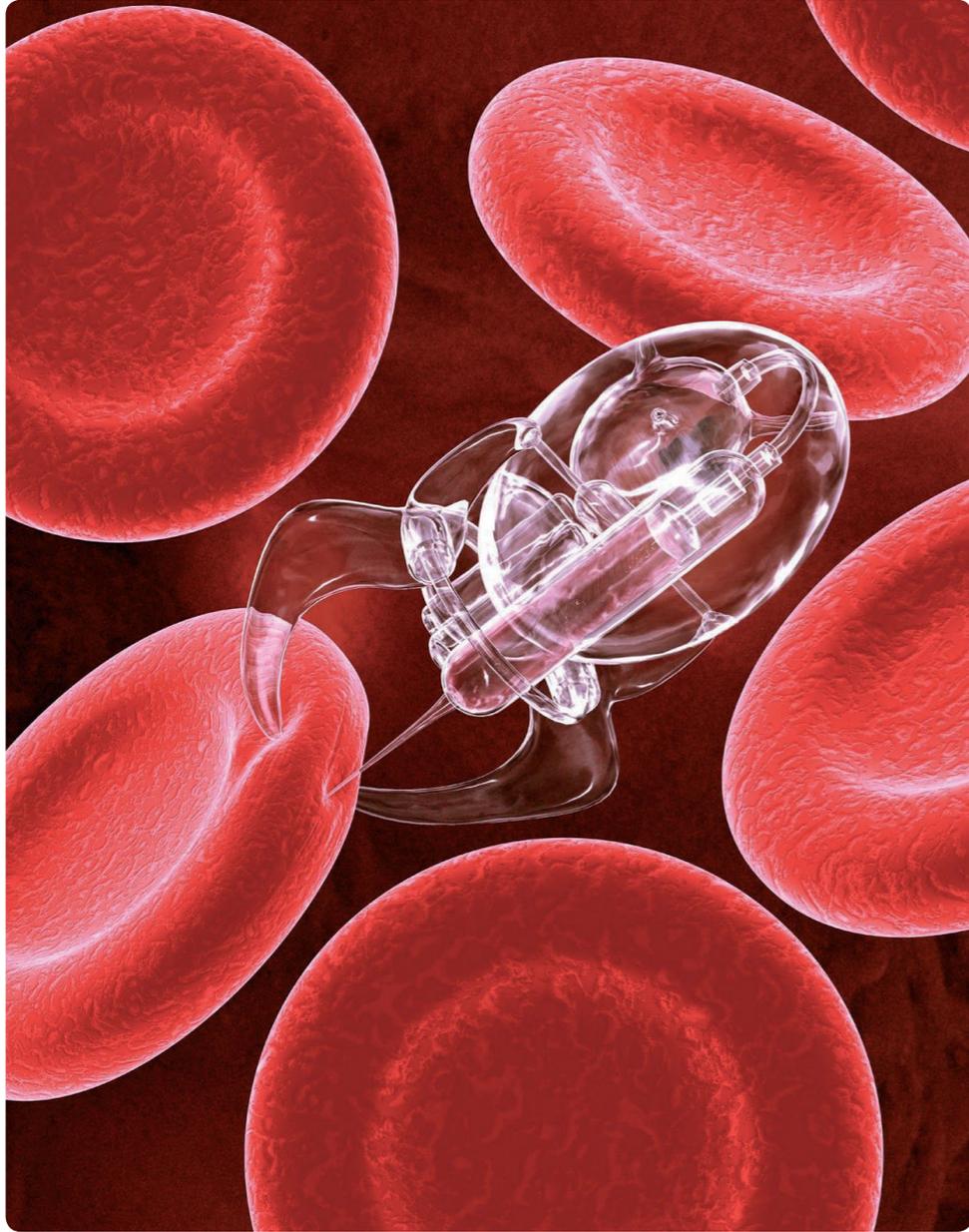
가장 기대되는 나노기술의 또 다른 응용은 생명공학기술이다. 생명체의 기본 단위인 세포 속에서 일어나는 활동의 대부분이 나노미터 수준에서 조절되기 때문이다. 나노바이오기술은 질환의 조기 발견, 약물 전달, 질병 치료 등에서 획기적인 변화를 가져올 수 있다. 하나의 예로 나노약물전달 시스템의 스마트 약이라 불리는 나노캡슐이 있다. 나노입자로 이루어진 캡슐에 약물을 담은 뒤 여기에 특정 질병인자를 인식하는 항체를 달아 체내에 주입하는 방식이다. 이 나노 캡슐은 혈액을 타고 다니다가 오직 질병인자에 약물을 방출, 치료한다. 나노바이오기술의 궁극적인 목표는 나노 크기의 나노로봇 의사를 개발하는 것이다. 이 로봇은 세포 안으로 들어가서 마치 자동차 정

비공처럼 손상된 세포를 수리하게 된다.

이처럼 나노기술을 잘 활용하면 난치병도 치료할 수 있고, 환경문제를 해결하는 데도 도움을 받을 수 있다. 그러나 아직 나노기술을 제어하기는 쉽지 않고 나노기계자 기복제기능까지 갖추면 제약으로 이어질 수도 있다. 사람이 통제할 수 없는 나노기계자 대규모 전염병을 일으키거나 좀비를 만드는 영화, 게임 등이 그런 불안감을 반영한 것이다. 앞으로 연구자들은 이런 부분까지 고려한 연구를 진행해 디지털 혁명과 유전자 혁명에 이어 새로운 물질 혁명을 일으킬 것이다. 나노기술은 인류사와 과학사에서 반드시 기록해야 할 신산업혁명이자 모든 산업과 신기술의 혁신 기반이 될 것이다.

신기한 나노의 세계

‘우리가 매일 접하고 있는 모든 물질은 무엇으로 이뤄져 있는가?’라는 질문에 가장 간단한 답변은 바로 ‘원자 또는 원소’다. 둘은 구분되지 않고 사용되는 경우가 많지만 엄밀하게 보면 큰 차이가 있다. 사전적 의미를 살펴보면 원소는 ‘모든 물질을 구성하는 기본적 요소로서, 원자핵 내의 양성자 수와 원자번호가 같으며, 현재까지 109종이 알려져 있다’이고, 원자는 ‘물질의 기본적인 단위로, 하나의 핵과 이를 둘러싼 여러 개의 전자로 구성되며, 한 개 또는 여러 개가 모여 분자를 이룬다’고 각각 정의된다. 결국 원소는 종류를, 원자는 입자를 나타내는 개념이다. 예를 들어 H_2O 에서 원소는 2가지(H, O)이고 원자는 H 2개, O 1개로 총 3개다. O_3 에서 원소는 O 1가지이고 원자는 O가 3개로 총 3개가 된다. 그러므로 우리는 특정 소재에 대한 연구를 할 때, 흔히 원



© www.yalescientific.org

예술가가 상상한 '나노로봇'의 모습.

소(화학)분석 또는 구조분석으로 분리해서 사용한다. 따라서 물질의 원자구조 분석은 해당 물질의 특성을 파악하기 위한 가장 근본적 접근이라 할 수 있다.

미래 과학을 이끌어갈 차세대 신소재 개발과 응용분야에서 나노물질의 원자구조를 밝히는 일은 대단히 중요하다. 나노물질은 입자 크기에 따라 특성이 달라지는데, 이는 각각의 원자배열 구조와 밀접한 관계를 가진다. 예를 들어, 탄소나노튜브는 응용분야에 따라 다양한 형태를 만들 수 있고 이에 따라 반도체 소자, 나노기어, 나노벨트, 나노캡슐, 주사탐침, 레이저 등 여러 분야에서 응용된다.

나노기술은 물리학, 화학, 생물학, 의학 등의 기초과학과 재료공학, 전자공학, 생물공학, 화학공학 등 광범위한 분야에서 부분적으로 연구되고 있다. 전자현미경이 학계와 산업계에서 분석기술로 이용되고, 분자나 원자단위의 구조조절이 실현 가능하게 되면서 과거에 볼 수 없었던 기술적 혁신을 일으키고 있다.

나노 세계에서 활약하는 전자현미경

많은 나라와 기업들이 나노과학을 연구하고 있지만 1m의 10억분의 1에 해당하는 크기 단위인 나노는 우리가 결코 쉽게 감지할 수 있는 세계가 아니다.

하지만 과학기술자 중에는 이런 나노세계뿐 아니라 그 10분의 1의 크기에 해당하는 원자세계도 자주 접해야 하는 분야에서 일하는 사람이 적지 않다. 원자나 분자의 상호 반응을 이용해 새로운 화합물을 만드는 화학자들이 대표적이다.

재료 분야에서 전자현미경을 다루는 연구자들은 이미 1970년대부터 전자장비의 발

달에 힘입어 소재의 구성 물질을 원자 수준까지 관찰하기 시작했다. 1981년 스위스 취리히의 IBM연구소에서 개발한 주사형터널현미경은 나노 세계를 직접 관찰할 수 있을 뿐만 아니라 대상 물질을 원자 수준에서 조작할 수도 있어 나노 과학기술의 발전에 큰 전기를 마련했다. 그 후 원자간력현미경(AFM)을 비롯한 다양한 기능의 주사탐침현미경(SPM)들이 개발돼 현재까지 활발하게 사용되고 있다.

나노세계를 직접 관찰할 수 있도록 개발된 장비들 중 전자현미경은 성능이나 활용도 면에서 가장 중요한 위치를 차지한다. 따라서 전자현미경을 ‘21세기의 눈’이라 말할 수 있다.

주사탐침현미경은 분해능 면에서 우수하지만 관찰 가능한 영역이 제한되고 저배율 관찰이 어렵다. 하지만 전자현미경의 일종인 주사전자현미경(SEM)은 이런 제한에서 자유롭다. 예를 들면 지름이 수 인치에 달하는 실리콘웨이퍼 전체를 수십 배에서 수십만 배까지 원하는 배율로 관찰할 수 있다. 이 때문에 SEM은 반도체 공정에서는 없어서는 안 될 장비로 활용된다.

나노 과학기술의 발전에 많은 노력을 기울이고 있는 정부도 이 점을 고려해 한국기초과학지원연구원에 초고전압투과전자현미경(HVEM)을 설치해 2004년부터 국가적인 공동연구 장비로 활용하고 있다.

HVEM은 원자분해능과 고경사 기능을 이용해 소재의 3차원 구조를 원자 수준까지 관찰할 수 있다. 또한 에너지 여과장치, 저온 장치 및 다양한 시료지지대 등의 부대 장치를 갖추어 나노 분야와 바이오 분야의 최첨단 연구에 이용되고 있다. 장비의 우수

한 성능을 바탕으로 2016년 부터 새로운 HVEM이 가동되면 세계 최초의 의생물 전용 HVEM 보유국이 될 전망이다.

최근 세계적인 과학기술 동향 중 하나가 융합기술인데 전자현미경은 나노와 바이오의 융합기술의 개발에도 필수적인 장비다. 나노 분야에서는 전자현미경이 이미 원자 수준까지 관찰이 가능하며, 바이오 분야에서는 저온전자현미경 기법을 사용하여 전자빔에 의한 손상을 최소화하는 기술을 통해 나노 유기화합물에 대한 정밀 분석도 가능하기 때문이다. 하지만 아직도 여러 기술적인 어려움으로 인하여 나노-바이오 융합연구를 뒷받침할 수 있는 첨단 분석장비와 기술의 개발이 필요하다.

한국기초과학지원연구원에서는 약물 전달 기술이나 암 조기진단 기술 등 나노와 바이오 기술이 융합된 국가적 전략 기술을 연구하는 과학자에게 전자현미경을 통한 세계 최고수준의 연구지원을 하기 위해 이 분야의 최신 분석법 개발을 본격적으로 수행하고 있다.

이제 막 꽃 피기 시작한 나노 과학기술이 앞으로 얼마나 발전해 우리의 삶을 바꿀지 예측하기는 어렵다. 나노 세계에서 이뤄지는 현상 중에는 지금까지 쌓아 온 과학기술로 설명할 수 없는 경우들이 종종 발생하기 때문이다. 나노 세기의 눈이라 말할 수 있는 전자현미경이 이런 불확실성을 제거해 나노 과학기술로 인류에 공헌할 수 있을 것이다.

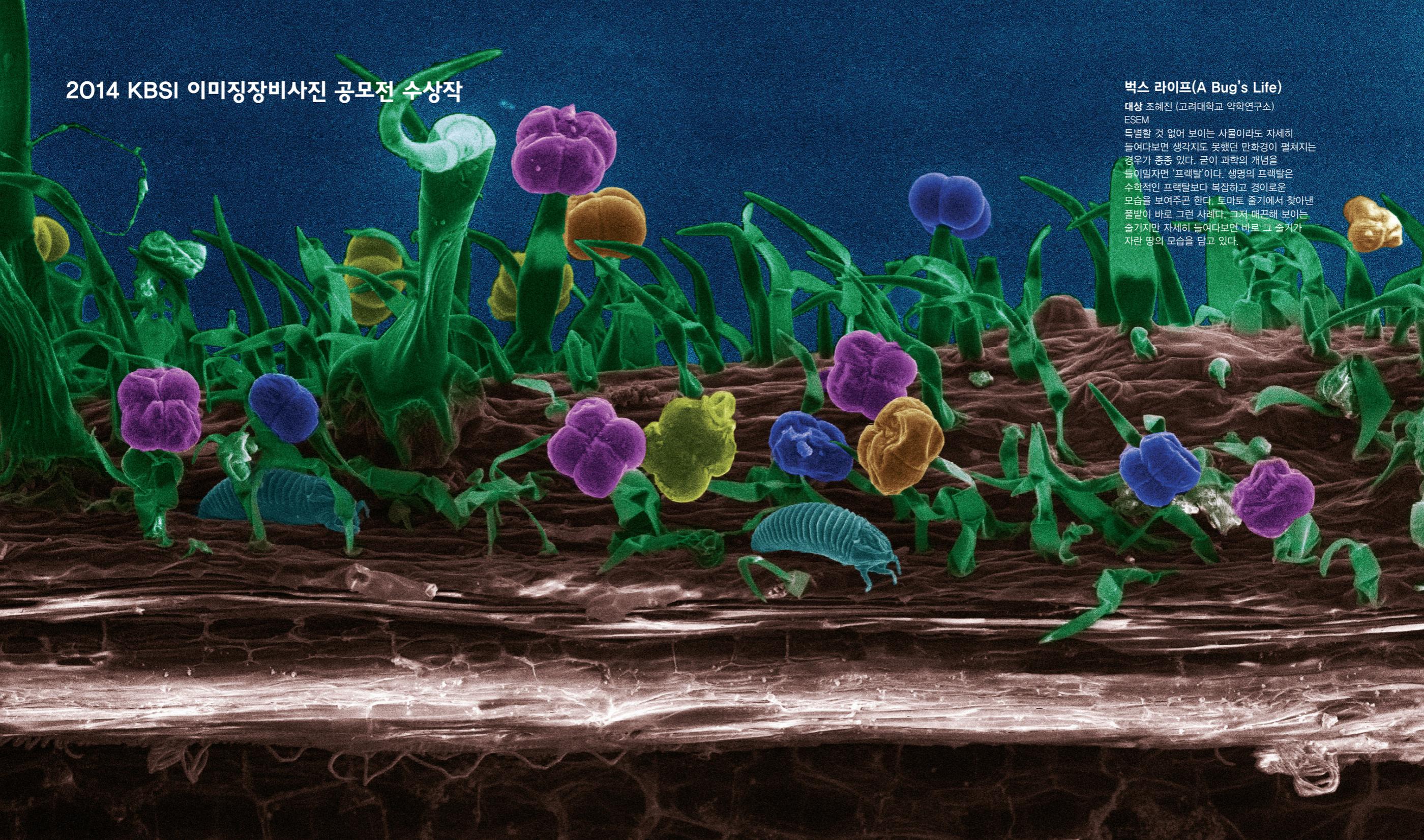
2014 KBSI 이미징장비사진 공모전 수상작

박스 라이프(A Bug's Life)

대상 조혜진 (고려대학교 약학연구소)

ESEM

특별할 것 없어 보이는 사물이라도 자세히 들여다보면 생각지도 못했던 만화경이 펼쳐지는 경우가 종종 있다. 굳이 과학의 개념을 들이밀자면 '프랙탈'이다. 생명의 프랙탈은 수학적인 프랙탈보다 복잡하고 경이로운 모습을 보여주곤 한다. 토마토 줄기에서 찾아낸 풀밭이 바로 그런 사례다. 그저 매끈해 보이는 줄기지만 자세히 들여다보면 바로 그 줄기가 자란 땅의 모습을 담고 있다.



Under the deep sea

금상 심애리 (강원대학교)

SEM

물의 생물에게 바다는 경외와 공포의 대상이다. 아마도 생명이 태어난 고향이면서도 되돌아갈 수 없기 때문이기도 할 것이다. 비록 바닷물 속에서는 몇 분을 버티지 못하는 물 포유류지만 몸 구석구석에는 그 흔적이 새겨져 있다. 쥐의 기도에서는 해초들이 하늘거리는 바닷속 풍경을 볼 수 있으니까 말이다.

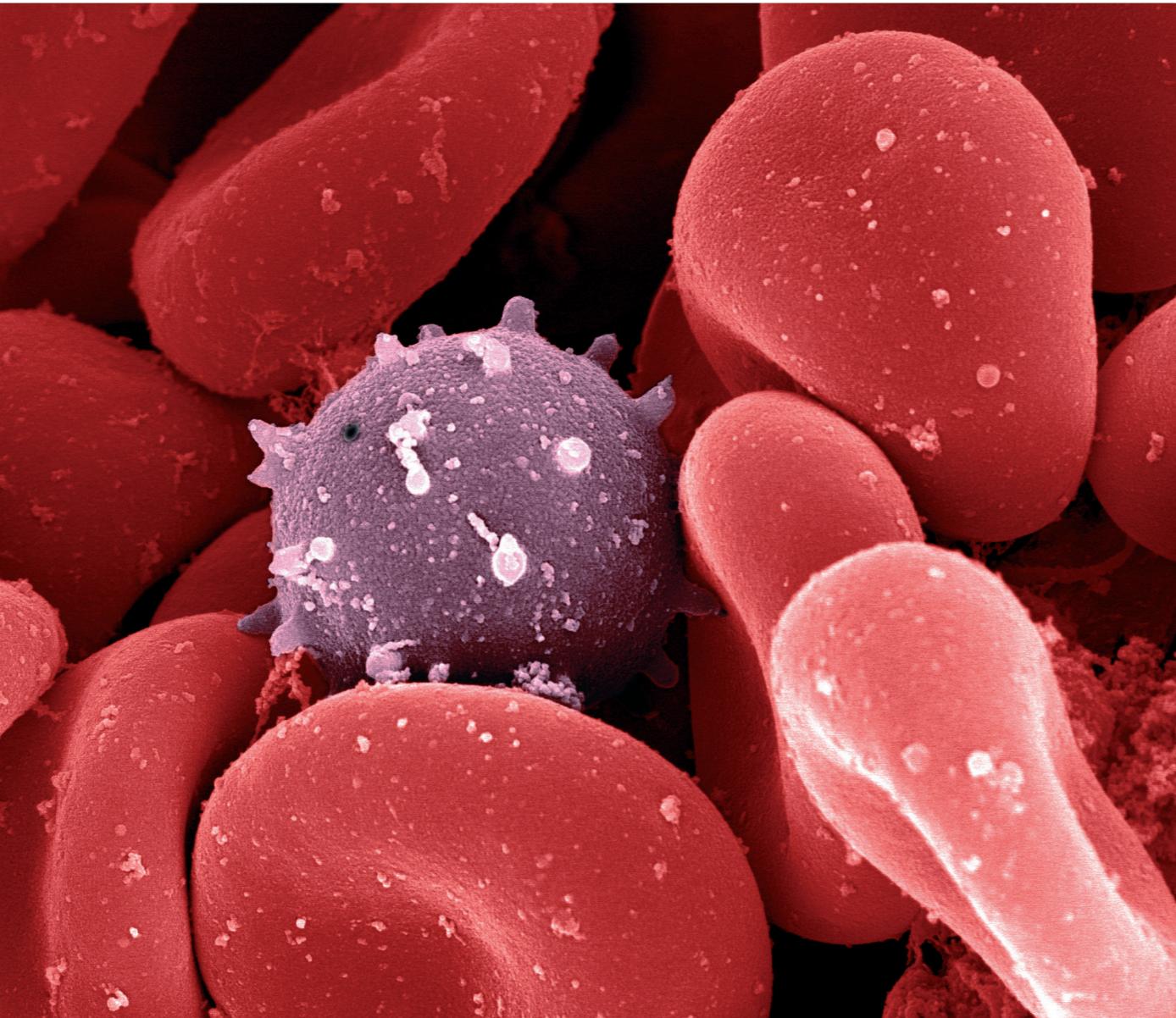


나노복(Nano Puffer-Fish)

은상 최기주 (질병관리본부)

FE-SEM

피는 생명의 상징이다. 그렇다면 적혈구는 생명의 전령이라고 불러야 마땅할지도 모르겠다. 묵묵히 제 일을 하면서 개체의 세포들을 온전히 유지하도록 돕는 적혈구 틈바구니에도 장난스러운 녀석들이 숨어 있다. 적혈구 사이로 복어 모양의 백혈구가 빼꼼하니 고개를 내밀고 있다.

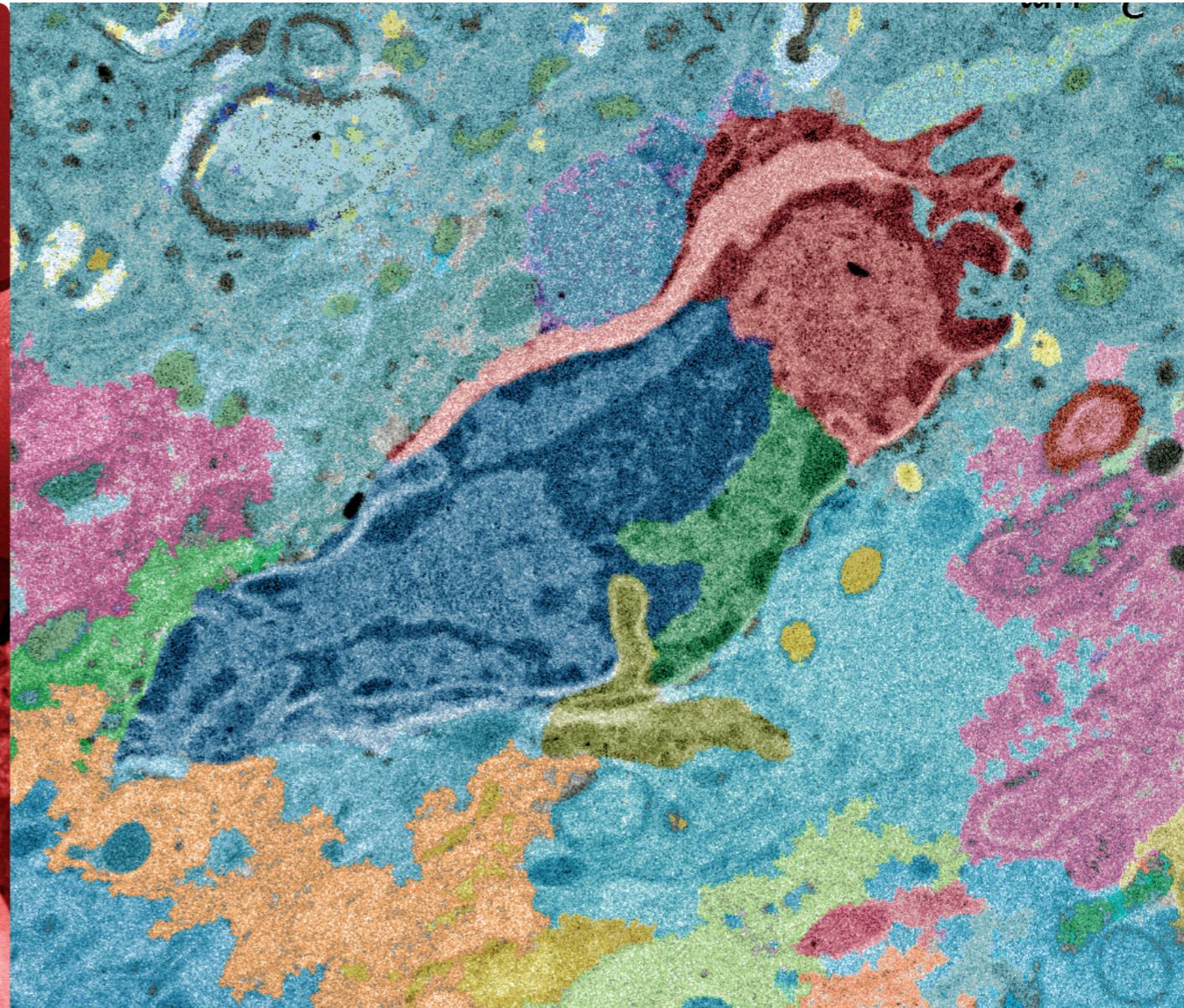


바다 속 앵무새

은상 제아름 (단국대학교)

TEM

누구였을까. 어제 실험실 창문에서 안쪽을 궁금해하던 친구였을까. 바로 옆 새장에서 다른 실험을 기다리던 동료였을까. 누군지 모를 새 한 마리는 쥐의 뇌조직에 선명한 자국을 남겨놓았다.

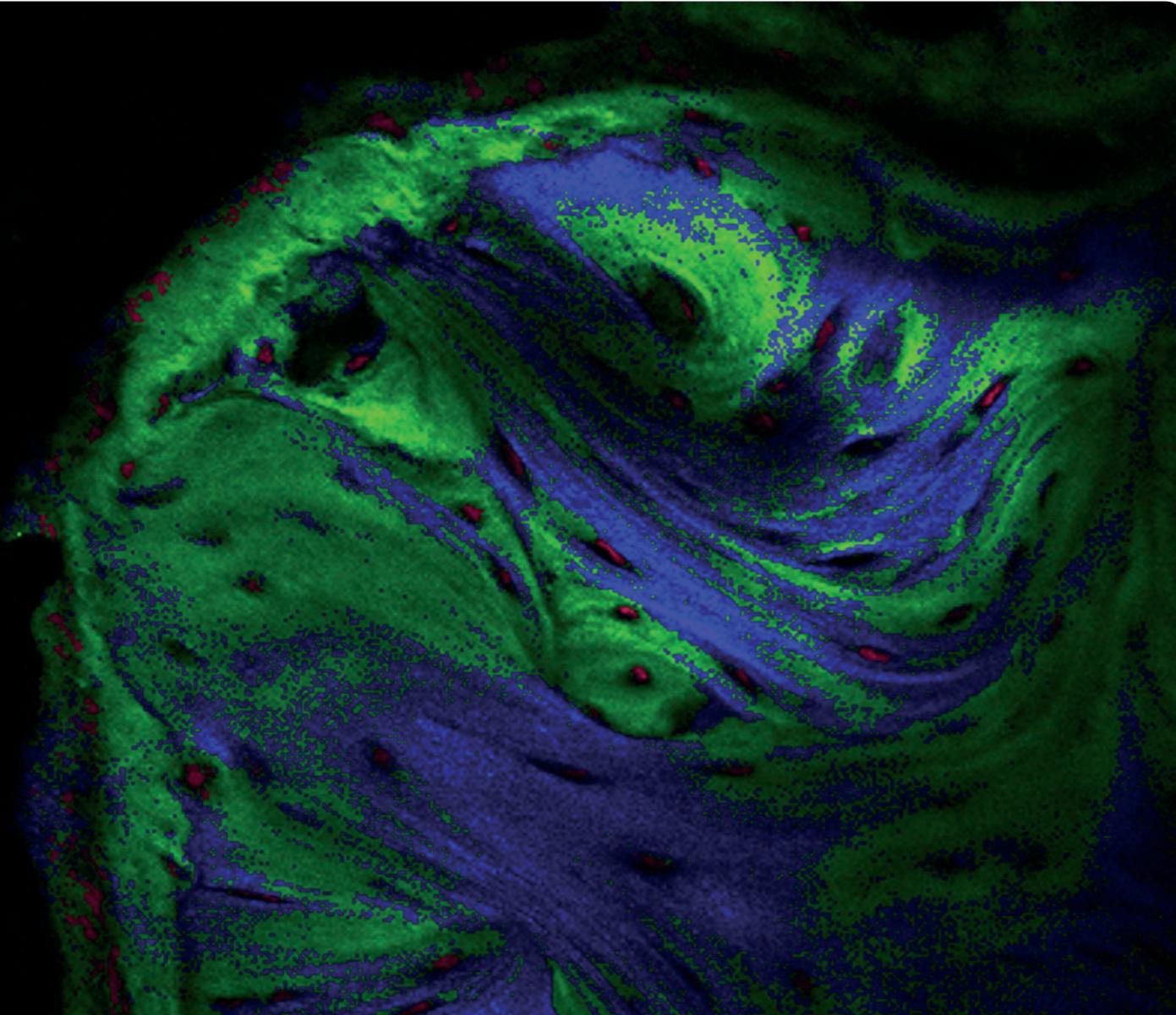


일기예보

동상 남하진(한림대학교 천연의약연구소)

IMP-CLSM

할머니의 일기예보는 틀린 적이 없다. 들뜬 마음에 설레며 준비하던 소풍 전날, 무릎이 아프다는 할머니의 말씀은 그야말로 날벼락이었다. 철없는 마음에 애꿎은 할머니를 원망하기도 했지만 할머니의 일기예보가 그리울 때다. 연골에 지구의 사진을 담은 것을 보니 쥐도 비가 오면 관절이 쑤신가보다.

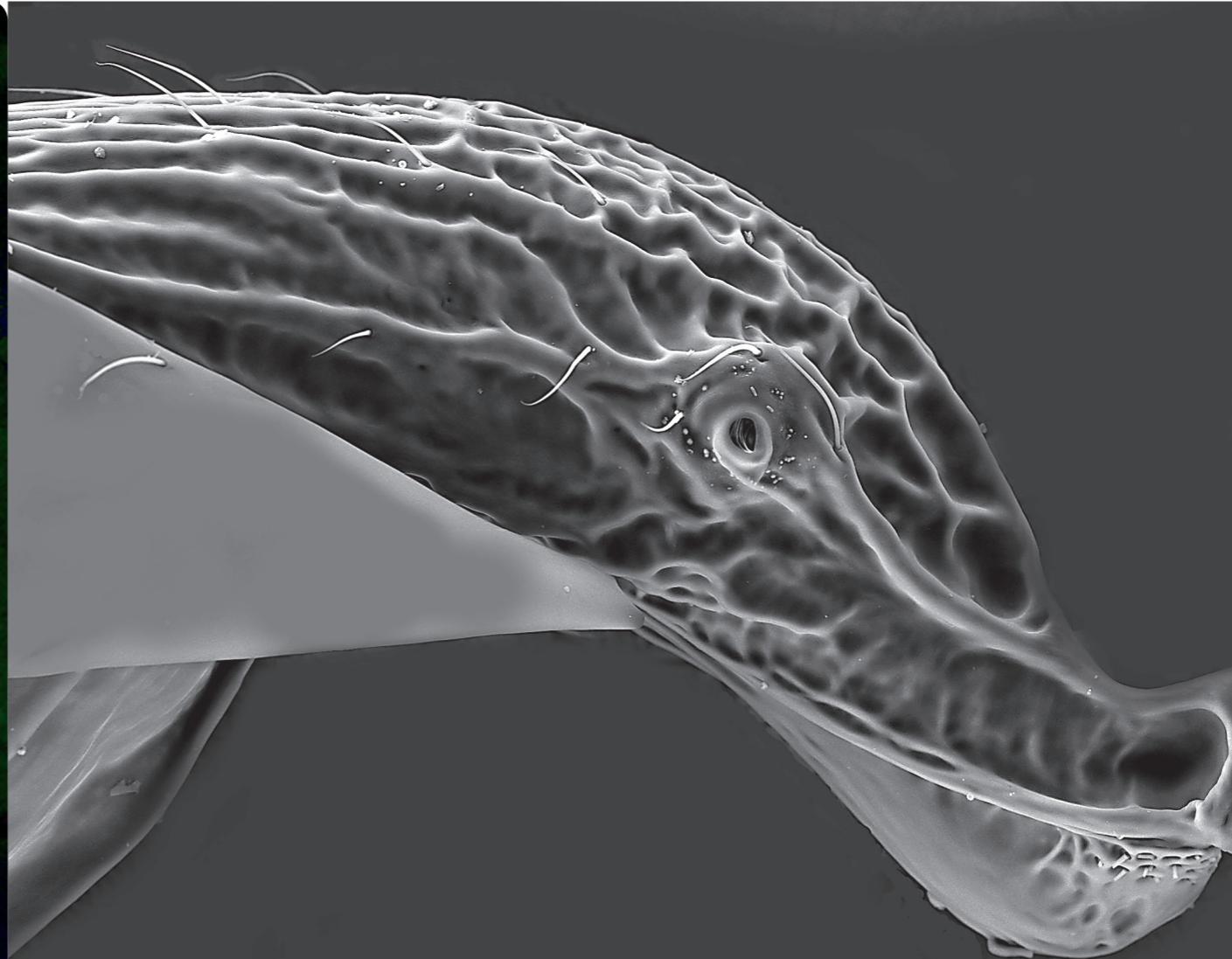


동물인 듯 동물 아닌 동물 같은 너

동상 구덕서(천적생태과학관)

FE-SEM

호흡의 효율성 때문에 별로 그럴 일은 없겠지만, 곤충이 사람만하게 커지면 세계를 지배할지도 모른다는 이야기가 있다. 능력은 둘째치고 워낙에 변화무쌍하고 다양해서 대처하기가 난해하기 때문이다. 알락하늘소의 유충에 기생하는 고치벌의 한 종류인 이 녀석도 배마디 옆쪽에 기묘한 얼굴이 달려 있다. 사람 크기로 실물을 보면 겁먹지 않고는 배기기 어려우리라.

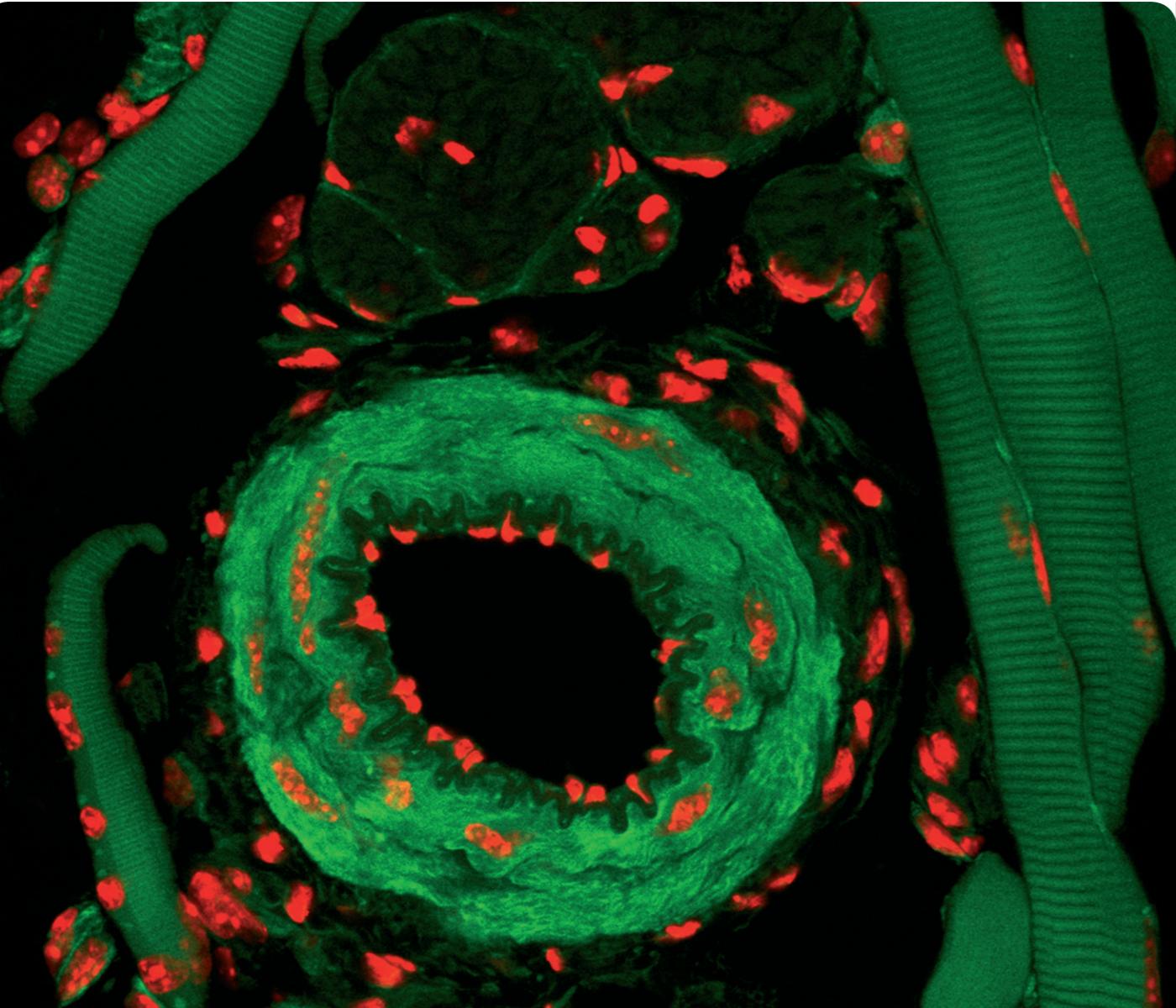


레게파티

동상 이권영 (강원대학교)

IMP-CLSM

근육이 움직일 때마다 신나는 파티가 벌어진다. 미끄러지듯 춤추는 미오신과 액틴이 있는가 하면 그 사이는 분주하게 돌아다니면서 음료를 공급하는 적혈구와 실 개 없이 들락거리면서 흥을 돋우는 칼슘 이온이 있다. 근육 사이의 신경 다발로는 번뜩이는 신경 신호가 사이키 조명처럼 훑고 지나간다. 운동이 이래서 좋은 것인지도.



하늘을 품은 백두산 천지

동상 진선미 (충남대학교 분석과학기술대학원)

FIB

천지의 한 쪽 끝에서 다른 쪽 끝을 온전히 보려면 3대가 공덕을 쌓아야 한다고들 한다. 안개가 피어오르거나 구름이 덮어버리기 일쑤기 때문이다. 다행히 현미경으로 본 천지는 번거롭게 공덕을 쌓지 않아도 제 모습을 보여준다. 화산암이 아닌 에어로졸이기는 하지만 중요한 건 풍경이니 큰 문제는 아니다.



01 한계에 부딪힌 광학현미경

02 점을 모아 면을 만들다

03 자동화되는 공초점 현미경

04 공초점 형광 현미경의 구성장치

05 공초점 형광 현미경, 어디서 활약하나?

CHAPTER 3

부분을 모아서 전체를 본다
공초점 형광 현미경

01 한계에 부딪힌 광학현미경

전자현미경은 빛보다 파장이 짧은 전자를 이용하여 빛의 한계를 극복해냈다. 그러나 광학현미경은 여전히 유용했다. 전자현미경처럼 전자를 방출하고 휘어주는 데 필요한 거추장스러운 장비들이 없어도 됐기 때문이다. 실제로 이미 전자현미경이 본격적으로 활약하기 이전부터도 광학현미경의 성능을 개선하려는 노력이 이어져 결실을 내고 있었다. 공초점현미경이 바로 이 이야기의 주역이다.

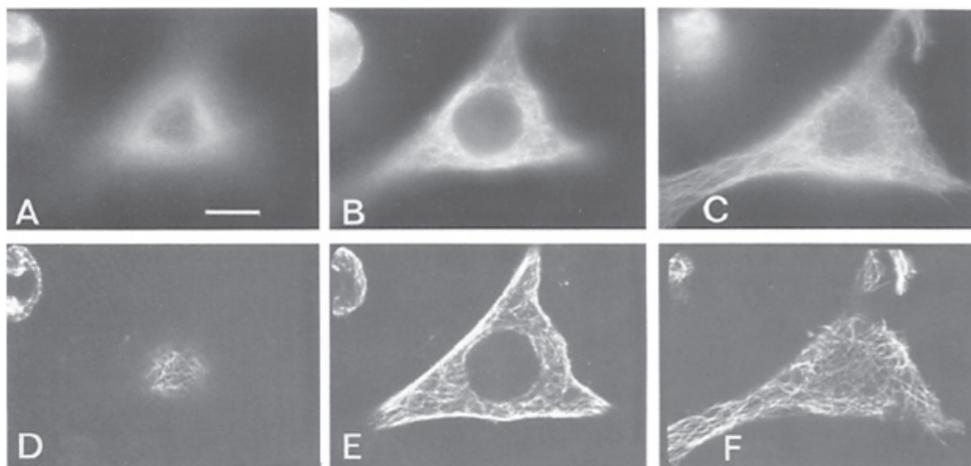
광학현미경은 사용하는 빛의 파장이 짧을수록, 물체 쪽 렌즈의 지름이 클수록 해상

력이 높아진다. 그런데 눈으로 볼 수 있는 빛의 파장은 제한되어 있고, 렌즈의 지름을 무한정 늘릴 수는 없으므로 광학현미경의 해상력을 일정 수준 이상으로 올릴 수는 없다. 결코 넘어설 수 없는 일종의 '벽'이 생기는 것이다.

과학자들은 이러한 문제를 해결하기 위해 다양한 방법을 동원했다. 가장 처음 사용한 방법은 시료의 색상을 바꾸어 보는 것이었다. 밝은 배경에 있는 어두운 색의 물체는 똑같은 크기의 밝은 색 물체보다 눈에 잘 띈다. 이처럼 명암의 차이가 크거나 색상의 대비가 분명하면 물체를 더 쉽게 알아볼 수 있으므로 해상력이 향상되는 효과가 있다.

이러한 효과를 내기 위해 등장한 것이 바로 염색약이나 암시야 현미경, 형광 현미경이다. 염색약은 이름 그대로 시료에 색을 입혀 잘 보이게 해 주는 시약이고 암시야 현미경은 특수한 조명과 렌즈를 이용하여 시료의 명암비를 극적으로 끌어올린 현미경을 말한다. 형광 현미경은 항원-항체 반응을 이용하여 시료 속의 세포나 분자에 형광 물질을 결합하여 관찰하는 방법이다. 세 가지 방법 모두 시료를 알아보기 쉽게 하는 것이 목적이다.

그러나 이러한 방법만으로는 만족스러운 해결책이 되기 어려웠다. 캔버스의 크기는 그대로 둔 채, 단지 색이 진한 선을 써서 세밀화를 그린 것과 비슷한 방법이었다. 점점 발전하는 생물학이나 화학 연구에서 요구하는 수준의 해상도와 세밀함을 얻으려면 더 가는 연필이나 더 큰 캔버스가 필요했다. 세밀한 연필을 쓰는 방법을 찾으려는 노력은 전자현미경의 발명으로 이어졌다. 그러나 캔버스의 크기를 키우는 일에는 한계가 있었다. 그렇다면 작은 캔버스를 여러 개 연결하여 큰 캔버스를 만들 수 있지 않을까?



© 라이카 '공초점 현미경의 개요'

일반 형광현미경과 공초점 현미경의 해상도 차이를 보여주는 그림. 위 그림(A, B, C)은 일반 형광현미경으로 볼 수 있는 영상이고, 아래 그림(D, E, F)는 공초점 현미경으로 얻은 영상이다. A와 D, B와 E, C와 F는 각각 같은 위치인데도 불구하고 공초점 현미경이 훨씬 선명한 상을 보여준다는 걸 알 수 있다.

02

점을 모아 면을 만들다



위상차를 시험 중인 프리츠 제르니케의 모습

광학현미경을 개선하려는 노력은 1932년 프리츠 제르니케부터 시작됐다. 그는 위상차 현미경을 만들어 염색하지 않은 투명한 생물 시료를 봤고, 이 공로로 1953년 노벨 물리학상을 수상했다. 이후 1941년 형광 현미경 관찰법이 등장하고, 1953년에는 위상차 관찰법이 개발됐다.

공초점 현미경은 위상차 관찰법이 개발되고 난 이후, 광학현미경의 한계를 극복할 요량으로 등장

했다. 형광현미경의 흐릿한 상이 불만스러웠던 미국 하버드대의 마빈 민스키는 현미경을 이용한 새로운 관찰방식이 없을까 고심했다. 그는 현미경의 상이 흐릿해지는 이유 중 하나가 시료의 두께 탓에 상이 겹쳐서 보이기 때문이라고 생각했다. 그림이 그려진 투명지를 여러 장 겹치면 그림을 제대로 알아보기 어려운 것과 마찬가지로, 현미경의 상이 두꺼운 시료를 한꺼번에 보여주기 때문에 해상력이 떨어진다는 것이다. 민스키는 '그렇다면 시료를 아주 얇은 한 층씩 보면 어떨까?'라고 생각했다. 그리고 이 발상은 공초점 형광 현미경의 발명으로 이어졌다.

불필요한 빛을 걸러내라!

해상력이란 아주 가까이 있는 두 점을 구분할 수 있는 능력을 말한다. 해상력이 좋다는 말은 서로 다른 것으로 구분되는 두 점의 거리가 가깝다는 뜻이다. 따라서 현미경은 해상력이 좋아야 작은 물체도 정확히 관찰할 수 있다. 이러한 종류의 해상력을 수평으로 나란히 놓인 두 물체를 분간할 수 있는 능력이라고 해서 '수평해상력'이라고 한다.

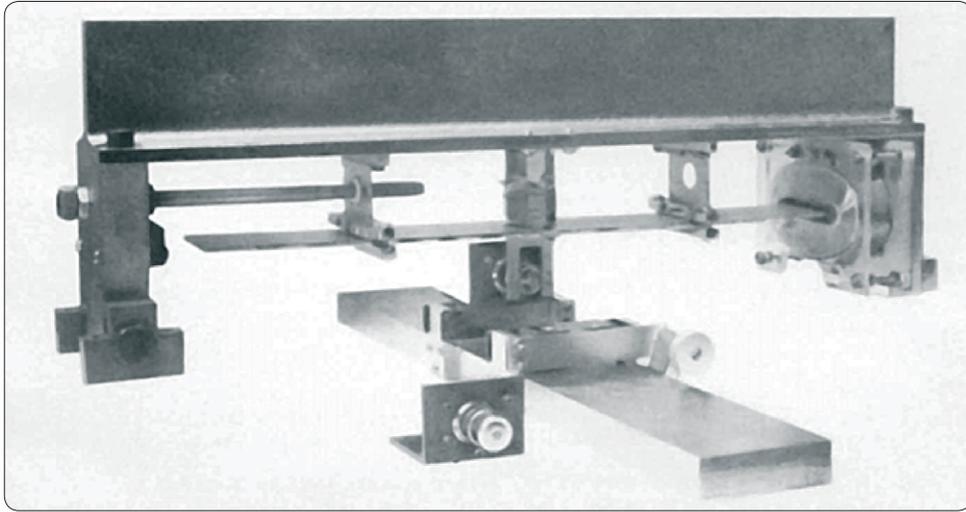
용어 소개

위상차 현미경이란?

일반적인 현미경에 대한 이론적인 기초는 광학과 조명 시스템을 거의 완벽하게 구현한 현미경을 개발한 어니스트 아베(Ernst abbe)에 의해 마련됐다. 하지만 아베의 현미경도 배경과 물체의 명암이나 콘트라스트가 달라야만 관찰할 수 있다는 한계가 있었다. 하지만 현미경으로 관찰하는 박테리아나 세포 같은 작은 유기체는 색깔이 없고 투명하기 때문에 유기체 주위의 배경과 구별하기 어려웠다. 이를 극복하기 위해 여러 착색기법이나 특별한 조명 기법들이 시도됐지만 살아있는 물체를 다룰 때는 이마저도 적절하지 않아 문제가 있었다.

이 문제를 해결한 사람은 네덜란드 사람인 프리츠 제르니케(Frits Zernike)다. 그는 빛이 투명한 물체를 통과할 때 눈으로 식별할 수는 없지만 변화가 일어난다는 점을 포착했다. 물체를 통과하지 않은 빛에 대해 1/4의 위상차가 나타나는 점이다. 제르니케는 눈으로 구분할 수 없는 미세한 빛의 위상차를 눈으로 관찰 가능한 명도의 콘트라스트로 변화시키는 방법을 연구했다.

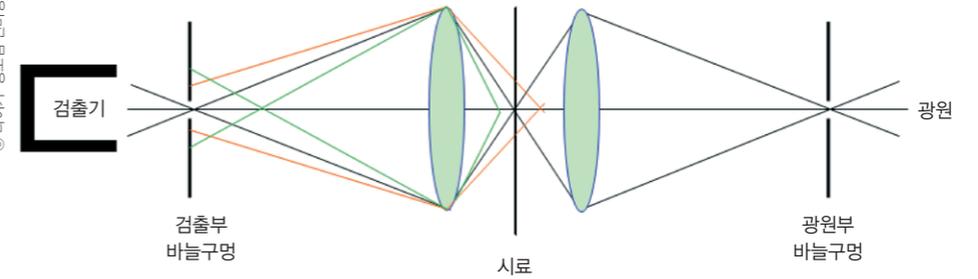
이를 통해 개발된 위상차 현미경은 어두운 배경에 있는 입자나 주변에 대한 빛의 콘트라스트를 관찰할 수 있다. 색깔이 없고 투명한 물체도 관찰이 가능해진 것이다. 제르니케는 이 공로를 인정받아 1953년 노벨물리학상을 수상했다.



마빈 민스키의 최초의 공초점 시스템

그런데 현미경의 성능에 결정적인 영향을 주는 것이 또 하나 있으니, 바로 '수직해상력'이다. 수직해상력은 말 그대로 수직 방향으로 가까이 있는 두 점을 구분해내는 능력을 말한다. 수직 방향은 달리 말하면 시선 방향으로 멀리 있는 것과 가까이 있는 것을 구분하는 것이 수직해상력이라 할 수도 있다. 수직해상력이 좋은 현미경은 두께가 있는 시료를 관찰할 때 특정 면만 깨끗하게 볼 수 있어 전반적으로 해상력이 높아진다. 그러나 수직해상력이 낮으면 두꺼운 시료가 한꺼번에 몽쳐 보여 선명도가 떨어진다. 형광현미경에서 시료가 '흐릿하게' 보이는 경우는 바로 이처럼 수직해상력의 한계 때문에 두꺼운 시료가 몽쳐 보여 나타나는 현상이다.

민스키는 수직해상력을 높이는 방법을 찾다가 렌즈에서 굴절된 빛을 걸러내면 원하는 초점면의 상만 정확하게 볼 수 있다는 사실을 알아냈다. 볼록렌즈에는 렌즈를 통과한 모든 빛이 지나는 '초점'이 있다고는 하지만, 렌즈는 통과한 모든 빛이 한 점으로 모이는 것은 아니다. 초점은 렌즈의 중심축과 평행하게 들어온 빛이 모이는 점으로 중심축과 평행하지 않은 빛은 초점을 지나지 않는다. 이는 현미경에서도 마찬가지로 시료의 위쪽 표면과 아래쪽 표면에서 출발한 빛은 렌즈로 입사한 경로가 다르기 때문에 서



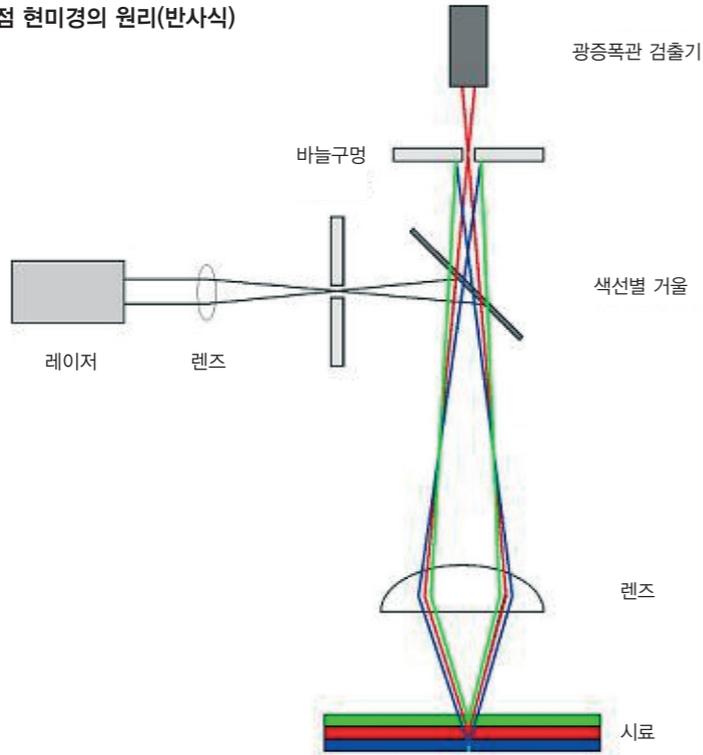
공초점 현미경의 원리

로 다른 초점에 상을 맺는다. 만약 관찰하려는 곳의 상이 맺히는 초점을 지난 빛만 남겨두고 나머지 빛을 모두 차단할 수 있다면, 시료를 실제로 자르지 않고도 원하는 단면만 볼 수 있을 것이다.

민스키는 이 발상을 곧 실행에 옮겼다. 민스키는 시료의 원하는 부분에만 빛이 집중될 수 있도록 렌즈를 설치하고 원하는 초점을 지나는 빛만 걸러낼 수 있도록 광원 앞에 바늘구멍을 설치했다. 바늘구멍을 지난 빛은 렌즈를 통과하여 시료 위의 초점을 지나며 다시 대물렌즈로 들어간다. 대물렌즈를 지난 빛은 반대편의 바늘구멍을 지나면서 초점이 아닌 곳에서 들어온 빛을 차단하고 초점을 지난 빛만 걸러내어 검출기로 보낸다. 검출기는 이렇게 들어온 빛으로부터 초점이 있는 단면의 상만 정확하게 얻을 수 있다.

이 때 광원에서 나온 빛의 초점과 대물렌즈를 지난 빛의 초점이 일치하기 때문에 이를 공유 초점(conjugated focal), 즉 공초점(confocal)이라고 부른다. 양 쪽의 렌즈가 초점을 공유하므로 한 쪽 바늘구멍과 렌즈의 위치가 바뀌면 반대편도 그에 정확히 맞추어 바꿔주어야 한다. 이 때 렌즈에 의한 초점이 시료 위를 이동하므로 바늘구

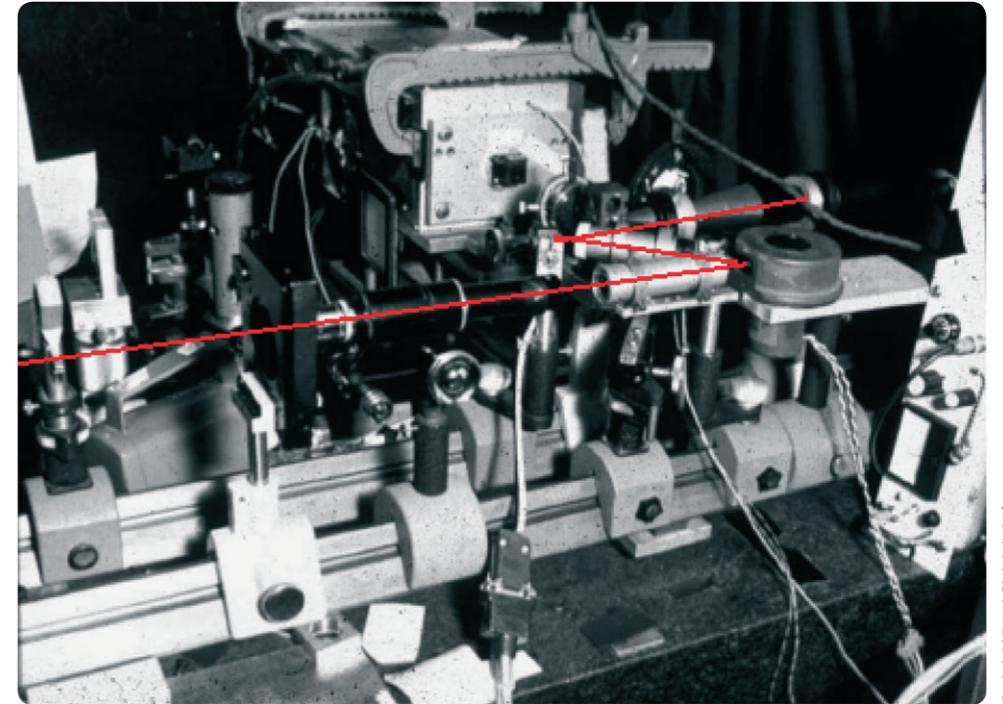
공초점 현미경의 원리(반사식)



© 라이카, 공초점 현미경의 개요.

명과 렌즈를 이동시킴으로써 모자이크를 만들듯 초점에 있는 면 전체의 영상을 얻을 수 있다. 즉, 공초점 현미경은 한 번에 초점의 상만을 얻을 수 있기 때문에 아주 작은 부분의 모습만 볼 수 있지만 초점의 위치를 조금씩 바꾸어주면서 작은 점들을 이어 붙여 단면의 상을 얻을 수 있는 것이다.

민스키의 공초점 현미경은 훌륭한 아이디어였으나 기술적인 한계가 커서 만족스러운 영상을 얻지는 못했다. 그는 CRT 화면으로 영상을 보여주는 데 성공하기는 했으나 초점을 맞추면서 시료를 정교하게 움직여서 단면 전체의 영상을 얻는 것을 쉽지 않았다. 게다가 초점을 지나지 않는 빛을 모두 걸러내기 때문에 빛의 양이 적어서 이미지가 어둡다는 점도 문제였다. 이러한 한계로 민스키의 공초점 현미경은 1970년대까지 그다지 빛을 보지 못했다.



© 라이카, 공초점 현미경의 개요.

아모스와 화이트가 움직이는 스캐너를 도입하여 제작한 CLSM, 빨간색 선이 빛이 지나가는 자리를 표시한다.

레이저로 보기 시작하다

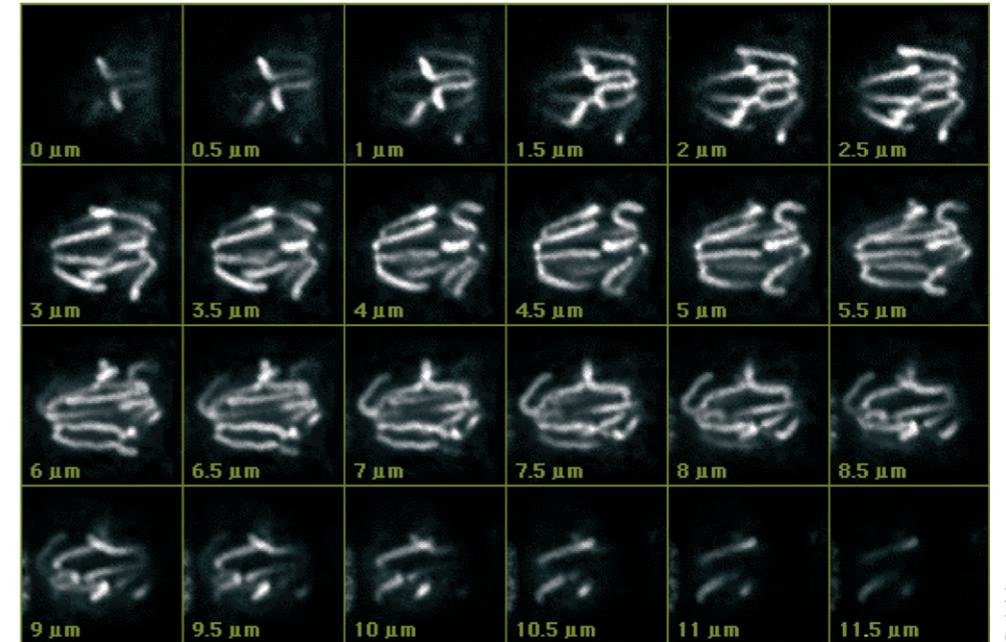
민스키가 고안한 현미경의 문제점은 1970년대 들어서야 본격적으로 해결되기 시작했다. 공초점 현미경의 한계에도 불구하고 약 10여 개의 연구그룹이 마빈 민스키의 설계에 따라 공초점 현미경을 각자 개발해서 여러 시료에 응용했다.

새로 개발된 공초점 현미경은 민스키의 첫 작품과 중요한 차이가 있었다. 민스키는 광원에서 출발한 빛이 시료를 통과하여 검출기에 이르도록 설계했는데, 이는 형광염색한 표본을 관찰하기에 그리 좋은 방법은 아니었다. 빛을 내는 부분과 그렇지 않은 부분의 밝기 차이가 별로 두드러지지 않았기 때문이다. 게다가 민스키는 일반적인 전구를 이용하여 밝기도 약해 상의 품질이 좋지 않았다. 그러나 이들의 공초점 현미경은 강한 단파장 빛인 레이저를 사용하여 밝기를 크게 개선했을 뿐 아니라 시

료를 통과하지 않고 반사되도록 함으로써 형광염색한 표본을 관찰하기 적합했을 뿐 아니라 구조도 훨씬 단순해졌다. 무엇보다 대물렌즈를 하나만 사용해도 됐기 때문에 원하는 대로 초점을 옮기기 수월해졌다.

이러한 구조는 레이저 광원에서 출발한 빛과 시료에서 반사된 빛을 분리시켜주는 일종의 반투명 거울인 '빔스플리터'를 도입함으로써 가능했다. 광원에서 출발한 레이저는 빔스플리터를 통과하여 대물렌즈를 통과해 시료 표면의 초점에 모인 후, 이 반사광이 대물렌즈를 다시 통과하여 빔스플리터에서 레이저가 입사한 경로와 직각을 이루도록 반사된 후 검출기에 도달한다. 초점에서 반사된 빛을 관찰하는 구조기 때문에 시료에 입사한 빛과 시료에서 출발하여 검출기에 이르는 빛의 초점이 자연스럽게 일치한다. 레이저를 광원으로 채택함에 따라 광증폭관(PMT)을 검출기로 사용하여 영상을 디지털 처리하는 것도 중요한 차이점이었다. 현대의 공초점 현미경은 모두 이 구조는 채택하고 있으며 SOM(Scanning Optical Microscope), 또는 LSOM(Laser Scanning Optical Microscope)이라 부른다.

공초점이라는 용어가 본격적으로 사용되기 시작한 것도 바로 이 때였다. 브라켄호프는 1979년 공유되는 초점(conjugated focal)을 줄여 공초점(con-focal)이라는 용어를 사용하기 시작했으며 이를 통해 광학절편효과(optical sectioning)를 설명했다. 말 그대로 시료를 실제로 절단하지 않고도 빛을 이용한 관측방법만으로 시료를 얇게 썰어 단면을 관찰한 것 같은 효과를 낸다는 뜻이다. 브라켄호프는 이 효과를 활용하면 기존 광학현미경에 비해 공초점 현미경의 해상도가 1.4142배 증가한다는 사실도



브라켄호프의 Crepis spp의 염색체 광학절편들

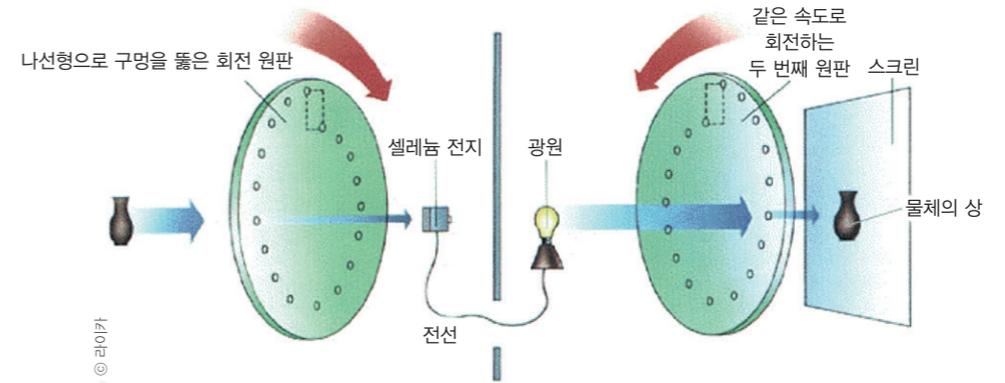
14107

증명했다. 초기 공초점 현미경의 여러 문제점에도 불구하고 브라켄호프는 1985년 네이처(Nature)에 생물학적으로 의미 있는 공초점 영상을 실을 수 있었다. 이 영상은 신경모세포종(neuroblastoma)을 삼차원으로 관찰해 염색체 배열을 파악할 수 있는 영상이었다.

03 자동화되는 공초점 현미경

초기 공초점 현미경의 가장 큰 과제는 재물대를 움직이는 것이었다. 공초점 현미경은 해상도가 높은 이미지를 얻을 수 있는 대신 한 번에 점 하나 정도의 좁은 영역만 상을 얻을 수 있었다. 이는 레이저를 사용하기 시작한 이후에도 마찬가지였다. 레이저는 더 강한 광원으로 시료에서 반사된 빛을 관찰하는 시스템을 가능하게 해주었지만 넓은 영역의 상을 얻기 위해 재물대를 움직이는 것은 전혀 다른 일이었던 것이다. 공초점 현미경의 정식 이름에 ‘스캐닝’이라는 단어가 괜히 들어가는 게 아니다.

공초점 현미경으로 큰 상을 얻는 것은 마치 점묘화를 그리거나 픽셀 하나하나에 색을 입혀서 그림파일을 만드는 것과 비슷하다. 무수히 많은 점을 하나하나 찍어서 합쳐야 큰 영상을 얻을 수 있었던 것이다. 당연히 넓은 영역의 상을 얻으려면 재물대를 미세하게 움직이고 촬영하고, 다시 미세하게 움직이고 촬영하는 지루한 작업을 여러 번 해야 했다. 시료의 상 하나를 얻는 데 걸리는 시간이 기본적으로 며칠이 걸릴 정도였다. 게다가 촬영 중간에 현미경이나 재물대가 흔들리더라도 하면 일반 광학현미경으로 본 것만도 못할 정도로 흐릿한 영상이 나오기 일쑤였다.



넙코디스크를 단 수동형 텔레비전

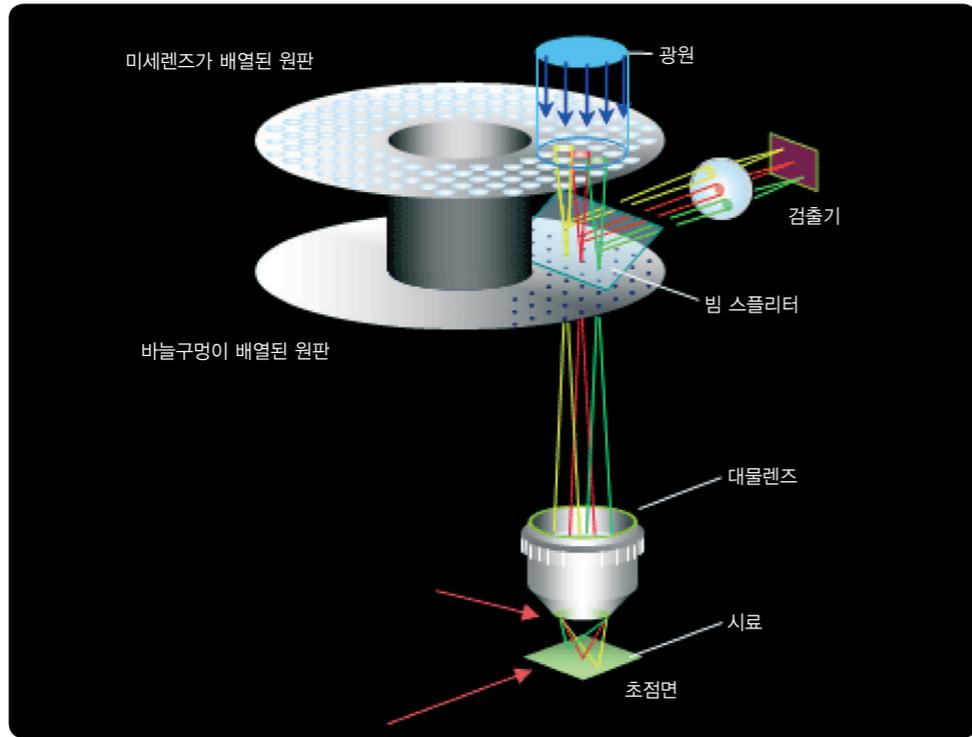
텔레비전에서 얻은 힌트

충분한 인내심과 세심함만 있다면 공초점 현미경 이미지를 얻을 수야 있었지만, 연구자에게는 여간 고역이 아니었다. 이 때문에 초점을 옮기는 작업을 조금이라도 편하게 할 수 있는 방법이 연구되기 시작했다.

첫 번째 해결책은 1968년 등장했다. 페트란이라는 연구자는 회전하는 넙코(Nikkow) 디스크를 이용하여 스캔 속도를 향상시킬 수 있었다. 넙코디스크는 폴 넙코가 1884년 개발한 기계식 텔레비전의 핵심 부품으로, 여러 개의 바늘구멍을 뚫은 원판이다. 기계식 텔레비전은 광원의 밝기가 변하는 동안 넙코디스크가 회전하며 디스크에 뚫린 구멍으로 빛을 통과시켜 영상을 표현한다. 디스크의 구멍이 계속 위치를 바꾸는 동안 광원의 밝기가 변하면서 화면상의 각 점에 명암이 표현되어 이를 이용하여 영상을 만드는 것이다. 이를 역으로 이용하면 영상을 전기신호로도 바꿀 수 있었다.

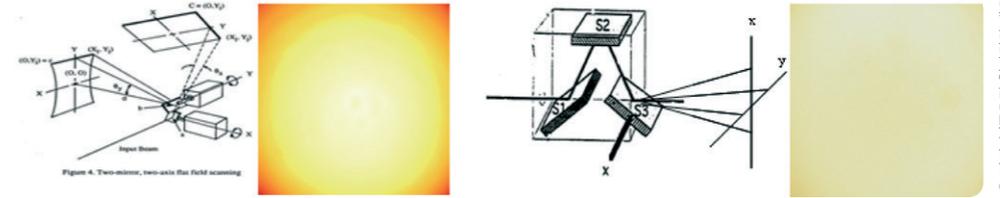
페트란은 이 낡은 기계를 시료에 여러 개의 초점을 만들어서 한꺼번에 읽어들이는 데 사용했다. 기존의 공초점 현미경으로 한 번에 점 하나씩만 볼 수 있었던 데 비해 페트란은 아예 여러 개의 바늘구멍으로 한꺼번에 여러 개의 점을 관찰하려 한 것이다. 게다가 넙코디스크를 회전시켜서 초점의 위치를 바꾸어주면 빠른 시간 안에 쉽게 넓은 영역의 영상을 얻을 수 있었다.

페트란의 발상 덕분에 공초점 현미경의 속도는 생물 시료를 실시간으로 기록할 수 있을 만큼 크게 향상됐다. 그러나 넙코디스크는 빛의 양을 너무 줄인다는 문제가 있었



요코가와 CSU22의 미소렌즈를 채용한 닛코 스캐너

다. 강력한 레이저를 한 점에 집중시키는 것이 아니라 넓은 영역에 쏘인 빛 중 극히 일부분만 디스크의 구멍으로 통과시키는 방식이었으니 아무래도 상이 어두울 수밖에 없었다. 이 때문에 아주 밝은 시료가 아니면 관찰이 어려웠으며, 이를 보완하고자 구멍의 크기를 키우면 상이 흐릿해져 쓸모가 없었다. 그러나 가장 빠르게 상을 얻을 수 있는 방법이기에도 이후에도 많은 개량을 통해 시료의 변화를 실시간으로 관찰하는 데 널리 이용됐다. 다만 정밀한 관찰에는 한계가 있어 정지된 시료를 자세히 관찰하는 데는 잘 사용되지 않는 편이다.



갈바노미터 XY 스캐너의 Bull's eye현상(좌)와 라이카 K 스캐너(우)

© 라이카, 공초점 현미경의 개요

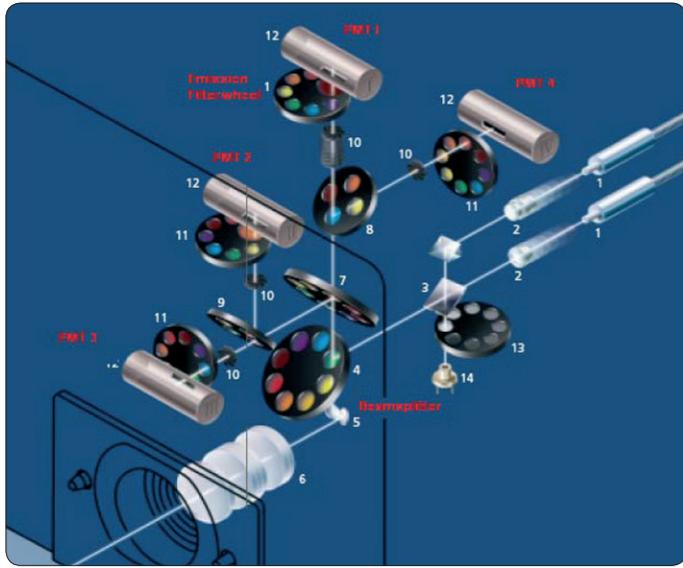
시료 대신 빔을 움직이기

넵코디스크 대신 다른 방법을 찾은 연구자들도 있었다. 발상은 비슷했다. 시료를 움직이는 것보다 빔을 움직이는 쪽이 더 편하지 않을까? 이에 1986년 옥스퍼드대의 아모스와 화이트, 1985년 스톡홀름대의 칼슨과 같은 연구자들과 자이스, 라이카, 바이오래드와 같은 기업들이 빔을 움직이는 공초점 현미경을 개발하기 시작했다.

옥스퍼드대의 아모스와 화이트는 갈바노미터를 단 거울(프레임 스캔)과 회전하는 다각형 거울(라인 스캔)을 이용하여 빔을 움직였다. 갈바노미터는 전류가 흐르는지 아닌지를 검출하는 '검류계'를 뜻하는데, 전류를 이용해서 물체를 미세하게 움직이는 데에도 사용한다. 전류를 이용하여 거울을 조금씩 이동시킴으로써 광원을 움직인 것이다. 아모스는 갈바노미터를 이용한 빔 스캐너를 특허 출원하여 상업적으로 성공을 거두었다.

1988년 드라이어와 하우프트는 점 대신 선을 이용했다. 이들은 광원에서 나온 빔을 거울을 이용하여 좁은 틈을 통과한 형태인 슬릿 모양으로 만들고 가로로만 스캔하는 공초점 현미경을 만들었다. 이는 한 줄씩 한꺼번에 읽어들이며 빠르게 스캔하면서도 넵코디스크에 비해 많은 양의 빛을 통과시켜 만족스러운 상을 얻을 수 있었다.

거울을 사용하지 않는 방법도 연구됐다. 1990년의 골드슈타인, 후빈, 로젠탈, 위시번은 전자적으로 빛을 휘어서 스캐닝하는 방법을 개발하여 초당 30장의 영상을 얻는데 성공했다. 이 정도면 동영상 만들 수 있는 수준이었지만 영상에 왜곡이 일어나



자이스의 필터형 공초점 현미경. 복잡하게 배치된 여러 개의 필터를 이용하여 원하는 파장의 빛만 걸러낼 수 있다.

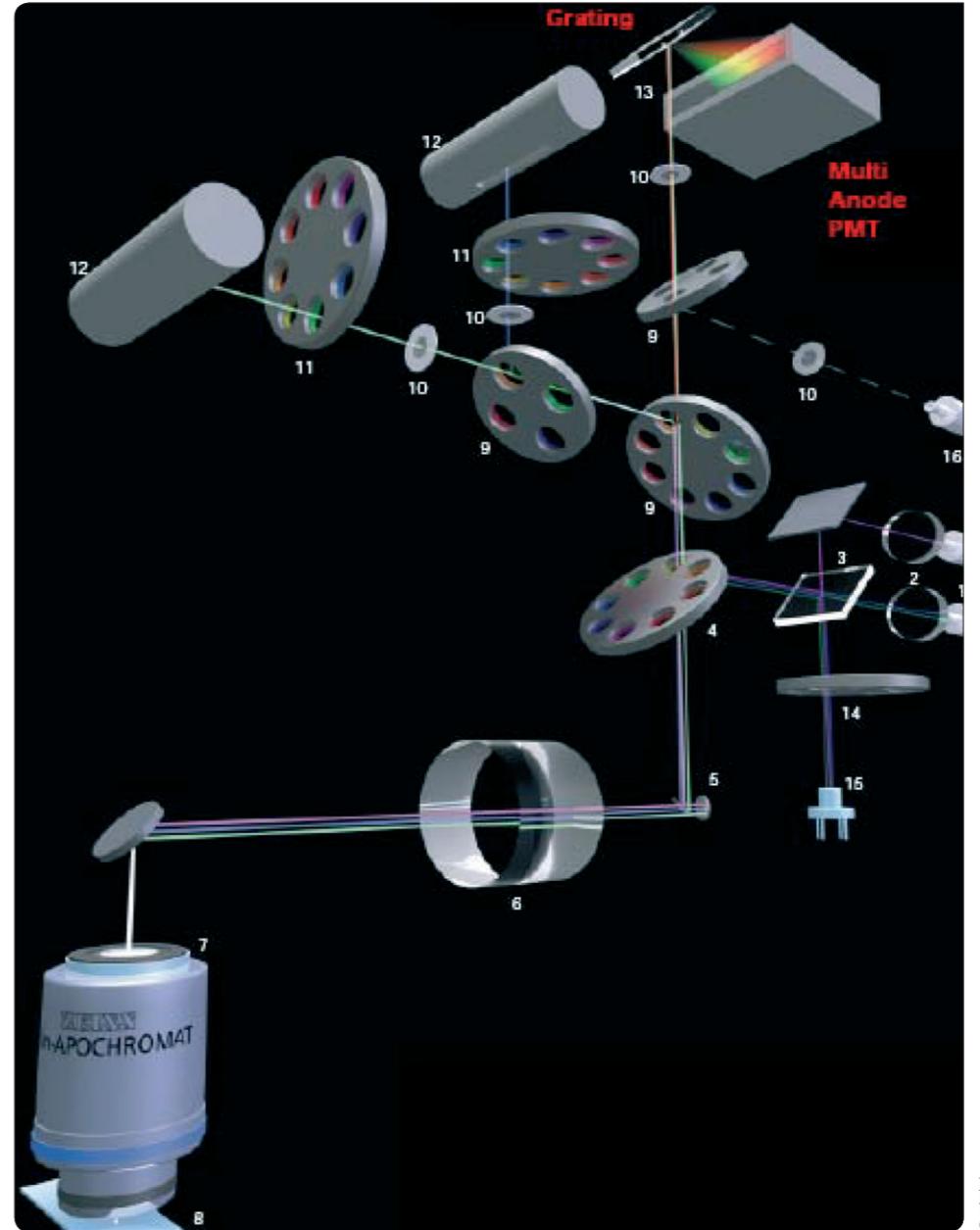
널리 사용되지는 못 했다.

이들 여러 연구자와 기업의 노력으로 현재에는 갈바노미터를 이용한 스캔 방

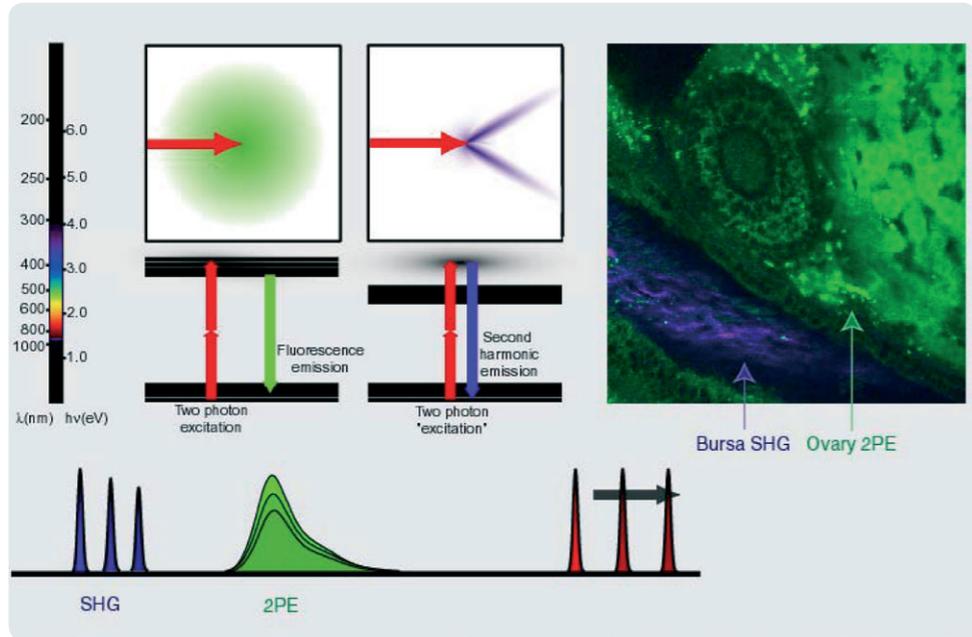
법이 확립되어 널리 사용된다. 갈바노미터식 XY 스캐너는 두 개의 거울을 단 갈바노미터를 수직으로 교차하게 배치해 한 번에 한 픽셀씩 영상을 얻는다. 이는 현존하는 스캐너 중 가장 화질이 좋지만 가장 속도가 느리다. 512*512 픽셀의 이미지를 초당 5 프레임으로 얻어내는 수준이다. 또 가장자리로 갈수록 빛이 이동하는 거리가 조금 길어져 중심보다 어두워지는 ‘블스아이’ 효과도 일어나 영상의 품질이 떨어진다.

이런 느린 속도와 불완전한 영상 품질을 개선하려는 시도로 X, 즉 가로줄을 스캔하는 갈바노미터를 공명형 갈바노미터(RS : Resonant Scanner)로 바꾼 경우도 있다. 공명형 갈바노미터는 픽셀 클럭(pixel clock) 회로를 달아 레이저의 세기와 빛이 도달하는 위치에 따라 레이저가 머무는 시간을 조절한다. 이 방법을 이용하면 512×512 이미지를 초당 20프레임 정도로 얻어낼 수 있다.

한편 갈바노미터를 이용하여 점점이 스캔하는 방식이 지나치게 느리다는 데 고심한 연구자들은 라인스캐너를 개발했다. 라인스캐너는 한 번에 점 하나가 아닌 한 줄씩 영상을 찍어 촬영 속도가 빨랐다. 그러나 이 방법으로는 같은 줄에 있는 빛들이



자이스의 그레이팅 스펙트럴 공초점 현미경. 제품에 따라 사용하는 필터의 종류와 배열이 조금씩 다르다.



SHG와 다중광자이미징의 비교. 적외선에 자극받았을 때 나오는 빛의 파장이 다르다. 보라색이 SHG, 녹색이 다중광자이미징의 영역이다.

서로 간섭하여 공초점 효과가 반감되기 때문에 화질이 좋지 않았다. 자연히 라인스캐너는 화질 손상을 감수하고라도 빠르게 영상을 얻어야 할 경우 사용됐다.

넵코디스크를 이용한 방법도 '넵코스캐너'라는 이름으로 지속적인 발전을 거듭했다. 넵코디스크의 가장 큰 단점인 어두운 영상 문제는 1996년 일본 이학연구소(RIKEN)의 타로 이치무라가 해결책을 내놓았다. 그는 페트란이 개발한 넵코디스크 앞에 미세렌즈 다발을 두어 디스크의 구멍으로 들어오는 빛의 양을 늘려서 밝은 공초점 영상을 얻었으며, 이치무라의 시도는 얼마 지나지 않아 상용화에 성공했다.

공초점 현미경은 이후에도 여러 기업과 연구자들이 지속적으로 발전시켜서 현재 초당 30프레임에 100nm 이하의 해상도를 달성하기에 이르렀다. 여기에는 고효율 레이저와 입자물리학의 발전이 큰 역할을 했다.

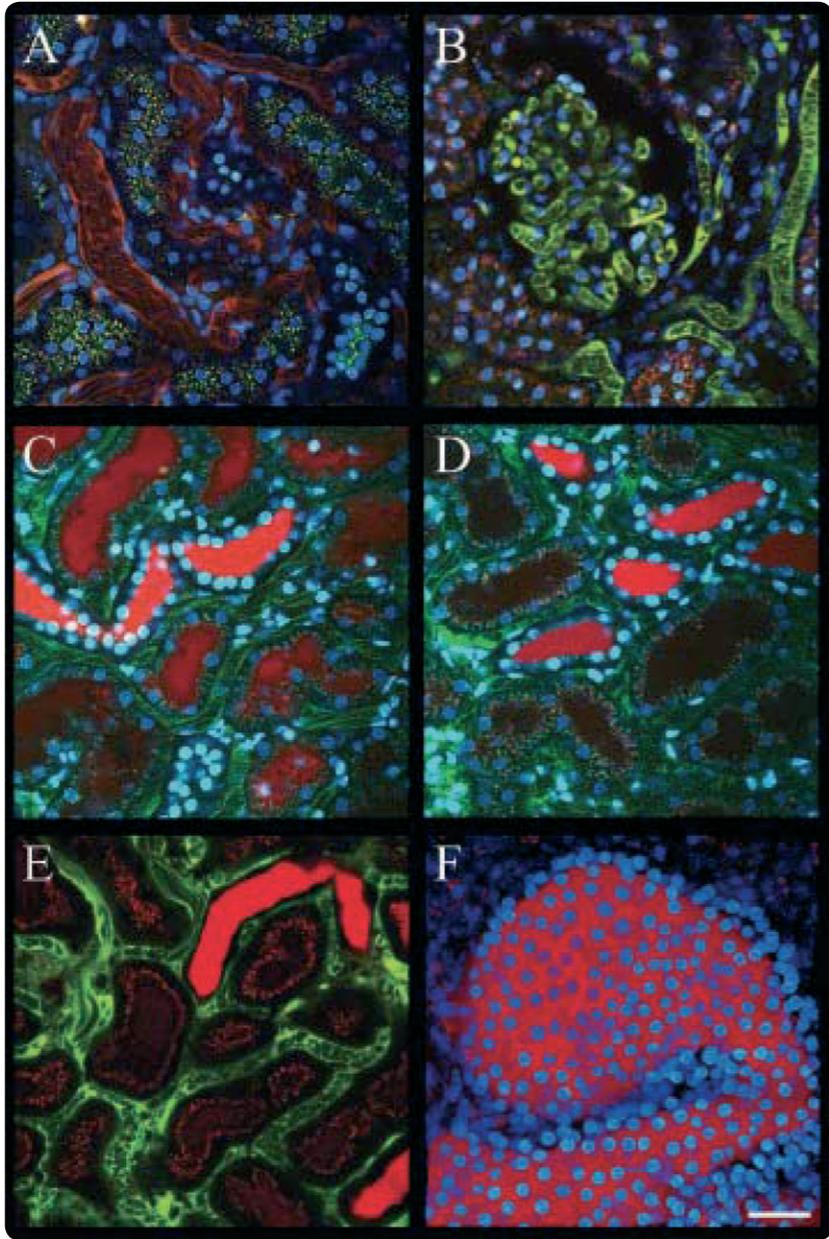
원하는 빛만 걸러내기

광원에서 바늘구멍을 통과시켜 시료로 빛을 쬐어준다는 데서 알 수 있듯 공초점 현미경은 특정 조건을 만족하는 빛만 활용한다. 따라서 원하는 빛을 어떻게 골라서 사용할 것인가가 공초점 현미경의 성능에 중요한 영향을 준다.

1990년 말까지 주로 사용된 공초점 현미경은 필터형이었다. 이 유형의 공초점 현미경은 레이저 앞에 필터를 두어 시료의 형광물질을 자극하는 빛만 걸러내어 시료 방향으로 보내고, 검출기 앞에도 필터를 두어 시료에서 오는 빛 중 원하는 형광빛의 파장만 걸러냈다. 사실 이러한 구조는 일반 형광 현미경에도 적용된 것으로, 공초점 현미경의 필터는 형광현미경의 필터와 거의 동일한 역할을 했다.

형광물질이 염색된 시료를 볼 때 필터가 필요한 이유는 하나의 시료에 여러 가지 염색시약을 사용했기 때문이다. 여러 염색시약을 사용하더라도 각각 내보내는 빛(형광)의 파장이 달라 필터를 이용하면 원하는 염색시약의 형광만 구별해낼 수 있기 때문에 복잡한 시료라도 한 번에 여러 요소들을 세세하게 관찰할 수 있었다. 염색시약마다 서로 다른 파장의 빛에 반응하여 서로 다른 빛을 내보내므로 필터는 여러 개 필요하다.

최근에는 여러 개의 필터를 갈아끼워야 하는 번거로움을 줄이기 위해 스펙트럼 방식도 개발됐다. 스펙트럼 방식은 프리즘이나 다중양극 PMT(Multi-anode PMT)를 이용하여 하나의 장치만으로 다양한 빛을 걸러낼 수 있는 방법이다. 간단히 말하면 반지름이 서로 다른 원이 있는 모양자를 사용해서 원을 그리다가 컴퍼스를 이용하는 것과 비슷하다.



© 라이카 '공초점 현미경의 개요'

살아있는 쥐 신장조직의 2중광자이미징

다중광자이미징과 SHG이미징

공초점 현미경에서는 주로 가시광선이나 자외선을 광원으로 사용한다. 이 파장대의 광원을 가장 많이 흡수하는 형광물질에 빛을 쬐이고, 그 형광물질이 내는 빛을 관찰한 것이다. 그런데 형광물질의 기존 흡수대역이 아닌 적외선 레이저로도 형광 반응을 일으켜서 관찰할 수 있다. 비선형 광학 현상인 다중광자현상과 SHG(Second Harmonic Generation)가 일어나기 때문이다.

이 현상을 이해하려면 우선 형광의 원리부터 알아야 한다. 모든 원자는 가운데의 원자핵과 주변의 전자로 이루어져 있다. 전자는 에너지에 따라 이리저리 위치를 바꾸기도 하는데, 전자가 외부에서 에너지를 흡수하여 에너지가 높은 위치에 있는 경우 이를 '흥분상태'라고 부른다.

흥분상태에 이른 전자는 에너지가 많아 불안정한 상태라 일정한 양의 에너지를 내보내고 다시 원래 자리로 돌아간다. 이 때 전자가 이동하면서 낸 에너지가 빛의 형태로 나오면 형광빛을 내는 것이다. 이는 바닥에 있던 공을 높은 선반에 올렸다가 공이 바닥으로 다시 굴러 떨어지는 과정으로 비유할 수 있다.

바닥에 있던 공을 1m 높이의 선반으로 올려놓으려면 어떻게든 공을 최소 1m만큼은 이동시켜야 한다. 마찬가지로 형광분자는 전자가 흥분상태에 이르기 위해 일정한 양의 에너지를 흡수해야 하고, 이 에너지의 양에 따라 흡수하는 빛의 파장이 결정된다. 따라서 해당 파장보다 에너지가 낮은 빛으로는 전자가 흥분상태에 이르지 못한다. 그러나 적외선이 충분히 강하면 전자가 살짝 흥분상태인 것처럼 보이도록 에너

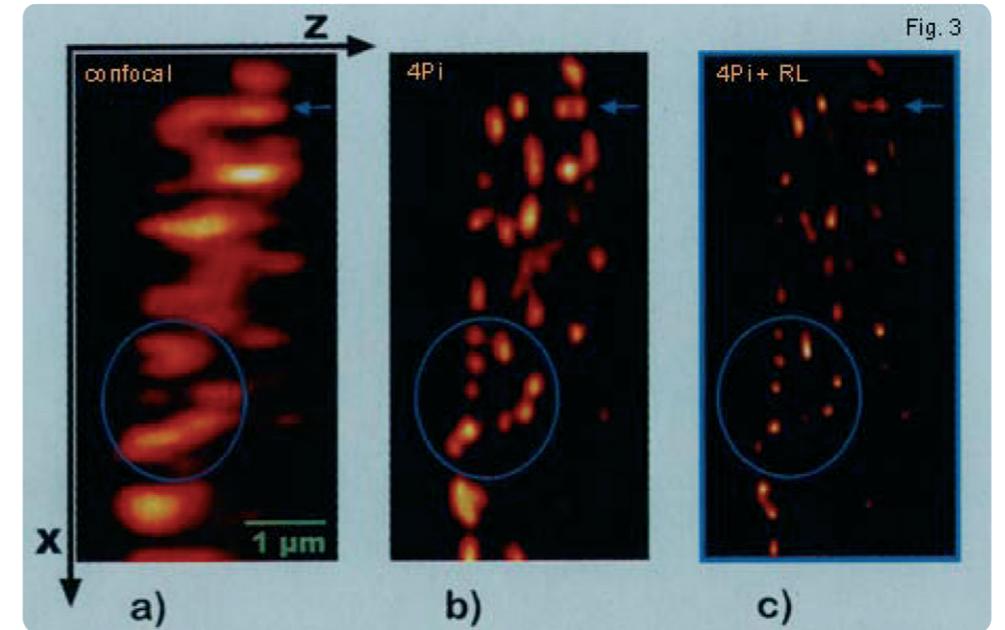
지를 흡수할 수는 있다. 여기에 적외선이 다시 부딪히면 정말로 흥분상태가 되기도 한다. 이를 이용한 것이 바로 다중광자이미징으로 적외선의 밀도가 높은 초점에서 주로 일어난다.

초점이 맞는 점만 정확하게 관찰하려면 초점이 맞지 않는 곳에는 아예 빛이 닿지 못하게 해야 한다. 따라서 일반 공초점 현미경에서는 바늘구멍이 필요하다. 물론 바늘구멍을 사용하면 형광을 발하는 두께 중 일부만 이미징하는 것이라 전체 영상의 밝기가 어두워질 수 있다.

그러나 다중광자이미징을 이용한 다중광자 현미경(MPLSM, multi photon laser scanning microscope)은 적외선을 이용하여 바늘구멍 없이 이미지를 만들어낼 수 있다. 이를 이용하면 상의 밝기를 수월하게 향상시킬 수 있다. 다만 적외선은 가시광선에 비해 빛의 출력을 조절할 수 있는 폭이 크지 않으므로 형광 신호의 세기를 강하게 하려면 역시 바늘구멍을 사용하는 편이 낫긴 하다.

SHG는 다중광자이미징과 마찬가지로 광선의 양이 많은 초점면에서만 일어나는 현상이다. 적외선으로 흥분상태가 된 분자가 가시광선을 방출하면서 이 광선이 주변의 형광물질을 자극하여 본격적인 형광 반응을 일으키는 것이다. SHG는 표면이 비대칭적 특성을 보이거나, 표면 밑에 숨겨진 구조물이 있을 때 많이 나타난다. 생물학적 시료에서는 이런 특성의 표면이 많아서 SHG를 자주 볼 수 있다. 특히 악성조직, 연결조직 등의 구조단백질들인 콜라겐, 튜블린 등에서 많이 발생한다.

두 비선형관찰법은 적외선레이저를 사용하므로 기존 가시광선 및 UV레이저보



비선형관찰법인 다중광자이미징 및 SHG를 이용하여 관찰한 시료를 선형관찰법인 단순 공초점현미경과 비교한 사진. 비선형관찰법을 이용했을 때 해상도가 높아지는 것을 확인할 수 있다.

© Nicolas Ferrando, Lois Lammerhuber

다 더 두꺼운 0.5~1.0nm의 조직시료를 이미징할 수 있다. 이러한 시료는 주로 발생 중인 배아, 신장조직, 신경조직(뇌조직), 망막조직 등을 이미징할 때 많이 사용하며, 가시광선을 사용할 때보다 시료의 손상이 적어 주의하기만 하면 오랜 시간 동안 관찰할 수도 있다. 또한 자극이 적다는 특성 덕분에 살아있는 상태의 시료를 관찰하기도 적합하여 배양세포, 적출된 조직 및 살아있는 생물의 일부를 관찰하는 경우가 많다. 특히 배양세포나 적출조직은 현미경 위에 배양 기구를 갖춰 여러 시간 또는 수 일을 유지한다.



자외선용 대물렌즈



여러 렌즈로 구성된 대물렌즈

공초점 현미경 시스템은 크게 광학현미경, 공초점 스캔헤드(confocal scanhead), 레이저 및 컴퓨터로 이뤄진다. 스캔 헤드는 이름 그대로 시료를 스캔하기 위해 빛을 쏘는 데 필요한 장치들이 모여있는 곳으로, 빔스캐너, 빔스플리터, AOTF, 바늘구멍, 형광감지부 등이 들어 있다.

대물렌즈

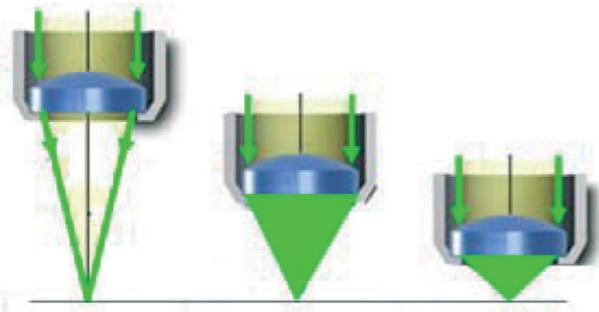
19세기 초까지만 해도 보통 대물렌즈는 한 개의 렌즈로 구성돼 있었다. 하지만 렌즈에 의해 상이 왜곡되는 현상을 보정하려면 그만큼 렌즈를 매우 정밀하게 가공해야 했

고 많은 시간이 걸렸다. 19세기 중반에는 여러 종류의 렌즈를 적절히 조합하면 왜곡현상을 줄일 수 있다는 사실이 알려졌으며, 이후 대물렌즈에는 매우 다양한 렌즈들을 넣어 여러 왜곡현상을 보정하여 사용했다. 또 필요에 따라 일부 왜곡현상만 보정한 대물렌즈에서 모든 것이 전부 보정된 형태 등 다양한 등급이 생겨났다. 공초점 현미경을 포함하여 현대의 고성능 현미경들은 수십 개가 넘는 렌즈를 조합하여 대물렌즈를 만든다.

대물렌즈의 해상력과 더불어 중요한 특징은 시야두께(Depth Of Field)와 자유작업거리(working distance)다.

시야두께는 물체를 관찰했을 때 초점이 맞는 영역 사이에 있는 시료 두께를 이야기한다. 시야두께는 빛을 많이 받아들일 수 있는 구조일수록, 부분적으로 대물렌즈의 배율이 증가할수록 얇아진다. 세포 조직을 볼 때는 보통 저배율로 세포 2~3개에 해당하는 시야두께로 관찰하는 게 유리하다. 하지만 이 정도로 시야두께가 넓어지면 깊이에 따라 초점이 맞는 정도가 달라져 약간 흐릿한 영상이 포함된다. 이런 현상을 배제하기 위해 공초점 현미경에서는 바늘구멍을 사용해 흐릿한 영상을 차단하므로 되도록 시야두께가 좁은 대물렌즈를 많이 사용한다. 시야두께와 비슷한 개념으로 초점두께(Depth Of Focus)가 있는데 초점두께는 시료의 영상이 감지기에서 제대로 영상화되는 감지기의 이동거리를 말한다.

작업거리(working distance)는 대물렌즈의 끝에서 초점이 맞은 곳까지 거리를 말한다. 대물렌즈가 시료에 닿게 내리면 작업거리는 투과하는 시료의 두께가 되며, 이는



대물렌즈에 따른 (자유)작업거리

최대로 볼 수 있는 시료 두께와 같다. 만일 중간에 유리 덮개나 배양 접시 바닥이 있으면 그만큼 시료를 볼 수 있는 두께가 줄어들게 되는데, 이 거리를 자유작업거리(free working distance)라고 한다. 즉 실질적으로 커버되는 시료 두께를 자유작업거리라고 하는 것이다. 이는 같은 배율의 대물렌즈 중 빛을 받아들이는 능력이 낮을수록 길어지지만 그만큼 해상력이 낮아진다. 따라서 세포 시료가 담긴 용기가 두껍거나 전기 생리에 쓰이는 두꺼운 시료를 봐야 할 경우 긴 자유작업거리를 가진 대물렌즈를 사용한다.

레이저

공초점 현미경에서 레이저를 사용하는 이유는 응집성(coherency) 때문이다. 레이저를 이루는 모든 빛 알갱이들은 한 같은 위치에 한 방향으로 모이므로 상쇄되거나 간섭하는 효과가 적다. 이 때문에 밝기가 강하고 직진성을 가진다. 반면 일반적인 빛은 기여드는 빛에 의해 간섭을 받아 멀리까지 가기 힘들고, 직진성도 많이 떨어진다.

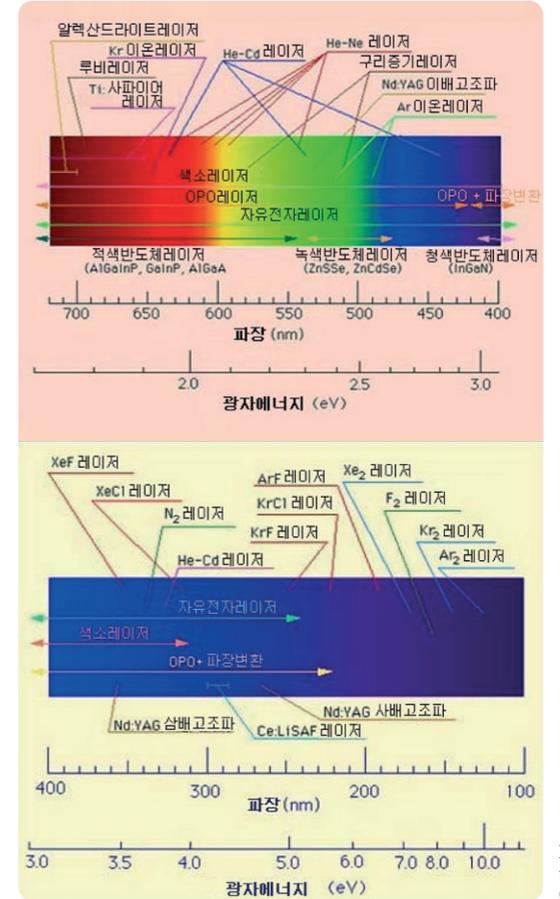
레이저는 유도방출(stimulated emission)을 응용한다. 전자가 흥분상태에 이른 분자가 스스로 빛을 방출하는 현상은 항상 존재하고, 그 시기와 방출방향 등이 무작위적이다. 유도방출은 흥분된 상태의 원자에 빛을 쬐여주어서 일부러 형광을 내도록 자극하는 것이다. 이렇게 하면 외부의 빛과 위상 및 방향이 같은 방출광을 내놓게 된다. 이러한 유도방출을 지속적으로 유지한 게 레이저(LASER, Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation)다.

유도방출을 지속적으로 유지하기 위해서는 끊임없이 에너지를 공급하여 흥분상태

에 있는 전자가 항상 존재해야 한다. 이들이 다시 바닥으로 되돌아오면서 유도광을 내기 때문이다. 이때 흥분시키는 것을 펌핑(pumping)이라고도 부르며 다양한 방법이 이용된다. 또한 방출되는 파장에 따라 X선, 자외선, 가시광선, 적외선, 원적외선 레이저가 있다.

X선과 자외선 레이저들은 강력해서 산업용 가공 기계에 많이 사용된다. 생물학에서 주로 사용되는 레이저로는 헬륨-카드뮴(HeCd)레이저 또는 수냉식 아르곤 자외선(ArUV) 등이 있다. 가시광선레이저 중에서는 HeCd레이저, 헬륨-네온(HeNe)레이저, 크립톤(Kr)이온레이저, 공랭식 아르곤(Ar)이온레이저, 청색반도체레이저 등이 생물학 분야에서 많이 사용된다. 적외선레이저에서는 티타늄사파이어 레이저가 주로 다중광자이미징, SHG이미징 등에 사용된다.

한편 광표백 실험이나 두꺼운 시료의 내부를 이미징할 때는 강한 출력(20-40mW)의 레이저가 필요하지만 보통의 이미징용으로는 출력이 약한(약 3-5mW) 다이오



가시광선 레이저(위)와 자외선의 레이저들(아래)



적외선 연속펄스 레이저 MaiTai

드 반도체레이저 정도면 충분하다. 이 다이오드 반도체 레이저는 작고 가벼운 레이저로 1962년 개발됐다. 최근에 SCG(Super Continuum Generation)라는 연속광레이저가 개발돼 쓰이고 있다. 이름 그대로 특정 파장만 내

는 것이 아니라 빛의 파장을 변화시킬 수 있는 레이저다. 각 형광시약에 맞는 파장의 레이저를 골라야 하므로 여러 개의 레이저를 구비하던 걸 SCG레이저 하나로 대체한 것이다.

필터

스펙트럼 감지방식이 나와 있는 지금도 필터형 공초점 현미경이 생산되고 있다. 이 현미경은 일반 형광필터큐브의 필터들과 비슷하게 광원 쪽의 여기필터, 빔스플리터, 관측부 쪽의 에미션필터가 각각 필터휠에 장착돼 있다. '여기'란 전자가 흥분된 상태에 이른 것을 말하며, 여기필터는 형광분자의 전자가 흥분상태에 이르도록 하는 파장의 빛만 걸러내는 필터를 말한다.

레이저에서 나온 빛은 필요에 따라 여기필터휠에서 걸러지거나 광량이 조절돼 빔스플리터로 보내진다. 형광물질의 흥분된 전자가 내는 여기광은 주 빔스플리터휠에

의해 시료로 입사된다. 여기된 시료에서 나온 형광이 다시 주 빔스플리터를 통과해 감지부의 빔스플리터휠이 지정한 PMT채널로 보내진다. 마지막으로 각 PMT 앞의 에미션필터휠에서 원하는 형광만 걸러져 감지된다. 각 필터휠에 보통 약 8개 정도의 필터가 끼워져 있다.

필터는 보통 투명한 기질에 원하는 투과대역 및 반사대역 등을 만들기 위해 특정 물질을 수 겹으로 코팅해 만든다. 보통은 진공증착비, 플라즈마 코팅기 등의 장비를 통해 각 코팅층을 씌우고 그 두께를 광학적으로 조사해 조절한다.

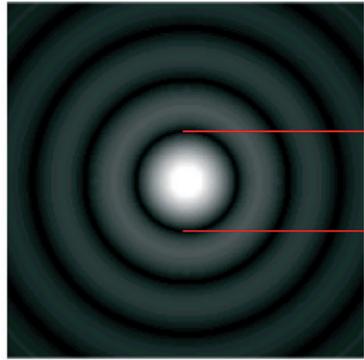


필터휠

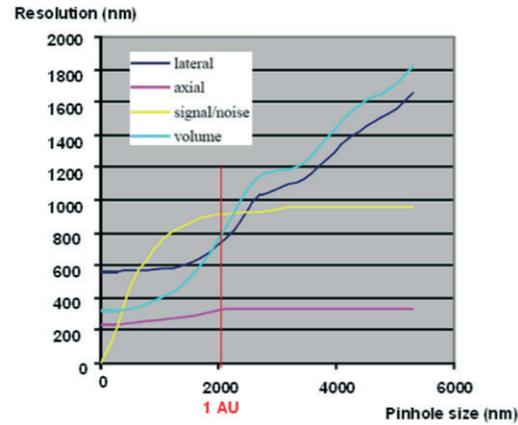
바늘구멍(pinhole)

공초점 시스템에는 레이저 앞과 감지기 앞에 하나씩 바늘구멍이 존재한다. 레이저 앞의 바늘구멍은 레이저를 점광원으로 만드는 역할을 한다. 만일 레이저가 바늘구멍에 정확히 정렬돼 있지 않으면 그만큼 시료에 도달하는 빛의 양이 줄어든다. 하지만 점광원에서 출발한 빛의 방향성에는 변함이 없다. 점광원의 빛은 시료의 초점면에 한 점만을 비추는 특징이 있어 빔스캐너를 사용해야만 XY 평면영상을 얻을 수 있다.

감지기 앞에 존재하는 바늘구멍은 시료에서 나온 형광을 통과시켜 감지기로 보내는



바늘구멍에 따른 해상력 변화



역할을 한다. 이 때 바늘구멍 크기를 늘리면 해상도가 감소하여 두꺼운 시료라도 한번에 영상화되게 할 수 있다.

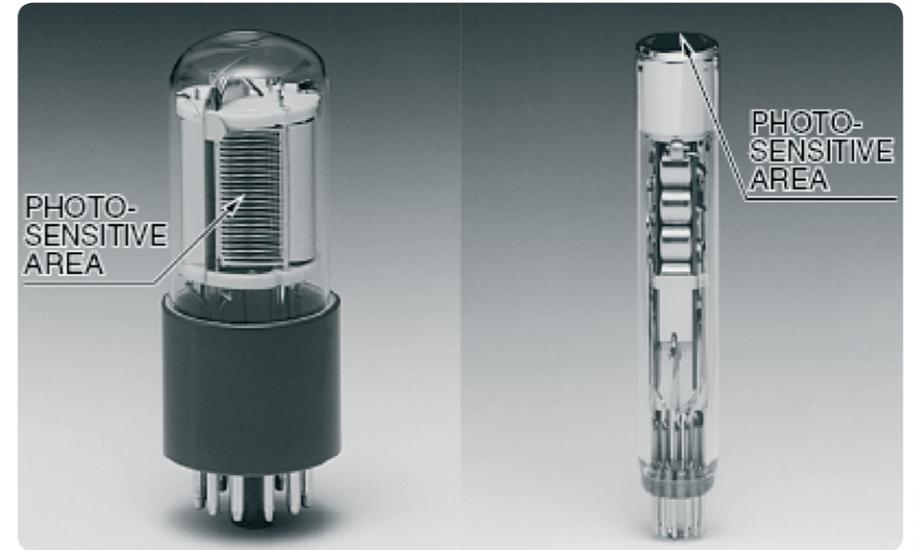
바늘구멍 크기는 AU(Airy Unit)로 표기되는데 AU는 레이저파장, 대물렌즈에 따라 달라지는 변수다. 바늘구멍 크기를 1AU까지 증가시키면 XY 및 Z 해상도가 감소하고 1AU이상으로 증가시키면 Z 해상도는 일정하고 XY해상도만 감소한다.

바늘구멍의 크기는 필요에 따라 조정해 사용한다. 매우 정밀한 입체 영상으로 재구성하려면 바늘구멍 크기를 1AU이하로 설정하고 여기에 맞추어 Z 방향의 크기를 설정해야 한다. 또한 형광 현미경에 보는 것과 같이 Z축을 관통한 영상을 얻으려면 이 바늘구멍 크기를 최대한으로 크게 열어야 한다.

검출기

공초점 현미경에서 주로 사용하는 감지기는 PMT(Photon Multiplier Tube)이지만 경우에 따라 CCD(Charged Coupled Device)나 APD(Avalanche Photo Diode)를 사용한다.

점 스캔방식으로 바늘구멍을 통과한 형광을 감지해야 하므로 매우 민감한 소자들을 사용해야 한다. 감도(sensitivity)를 고려하면 CCD, PMT, APD순으로 더 민감하다. PMT는 소립자 등의 미세한 입자를 감지하는 데 자주 사용하는데, 빛을 감지하는 영역이



Side-on형 PMT(좌)와 Head-on형 PMT(우). 표시된 부분이 빛에 반응한다.

어디인지에 사이드 온(side-on)과 헤드 온(head-on)으로 구분된다. 사이드 온은 값이 저렴하고 빛 감지 영역이 넓어 증폭율도 매우 좋다. 반면 헤드 온은 머리 부분으로만 빛을 받기 때문에 광자의 방향성이 중요한 경우 사용된다. 공초점 현미경의 감지기에는 주로 헤드 온이 사용되는데, 이는 시료에서 나오는 형광을 미광(stray light)에서 배제하기 위해서다.

선 스캐너와 님코디스크 스캐너는 동시에 여러 픽셀을 감지해야 하므로 PMT보다 CCD를 주로 사용한다. 즉 점 스캐너가 정하던 픽셀 수를 CCD가 정확하게 되고 일부 스캔속도에도 제한이 생긴다.

Z 스캔장치

Z 스캔장치는 XY평면영상을 Z축으로 움직여 가면서 광학절편을 얻을 때 사용하는 장치다. 공초점 현미경은 시료 속의 한 점만을 관찰하므로 평면 영상을 얻더라도 아주 얇은 단면의 영상이다. Z축을 달리하여 영상을 얻어 쌓아올리면 손쉽게 3차원 이미



Z 갈바노메릭 스테이지

지를 얻을 수 있다. 이 때 수직 방향으로 시료를 움직여주는 장치가 바로 Z 스캔장치다. Z 스캔 장치로는 현미경 자체의 초점 대물부와 재물대가 될 수도 있고 대물부나 재물대의 Z축 스캔 시 긴 이동거리는 거리조정자(knob)를 수동으로 제어하고 미세 이동거리는 거리조정자를 모터나 피에조(piezo)를 사용하여 정교하게 제어한다. 현미경 자체의 대물부는 Z축 이동거리가 1~2cm이나 약 100nm 정도의 최소이동거리(step width)를 갖는다. 특히, 피에조로 제어하여 이동할 수 있는 거리는 약 250~500nm 수준이고 정밀도가 3~5nm 정도로 매우 정밀하다. 한 마디로 대물렌즈와 시료 사이의 거리를 나노미터 단위로 움직일 수 있다는 뜻이다. 따라서 용도에 따라 대충 전체적인 형상의 이미지를 얻을 때는 현미경 자체 대물부를, 미세한 삼차원 재구성을 위해선 모터나 피에조를 사용하는 게 좋다.

현미경용 배양기

살아있는 세포를 며칠씩 장기간 관찰하거나 시간차를 두고 분석할 때는 재물대 위에 세포가 살아 있도록 유지하는 현미경용 배양기를 사용한다.

이때에는 이산화탄소 농도, 배양액 구성, pH, 습도 및 온도 등의 조건을 갖춘 배양기가 필요하다. 배양용기에 대기가 들어가지 않도록 밀폐하고 배양할 경우 배양액에 이산화탄소 양과 배양기 상의 온도만을 유지하면 실험시간이 몇 시간으로 줄어든다.

배양용기를 열어놓은 경우 이산화탄소와 온도 등을 유지하면 실험 시간을 하루까지 늘릴 수 있다. 장기간 배양기를 열어 놓으면 배양액이 증발할 수 있어 습도까지 유지해야 한다. 만약 관류장치를 통해 배양액까지 교환할 수 있게 되면 세포가 자랄 수 있는 여유면적이 있는 한 계속 관찰할 수 있다. 이 경우는 온도만을 유지하면 된다.



라이카 현미경용 배양기



05 공초점 형광 현미경, 어디서 활약하나?

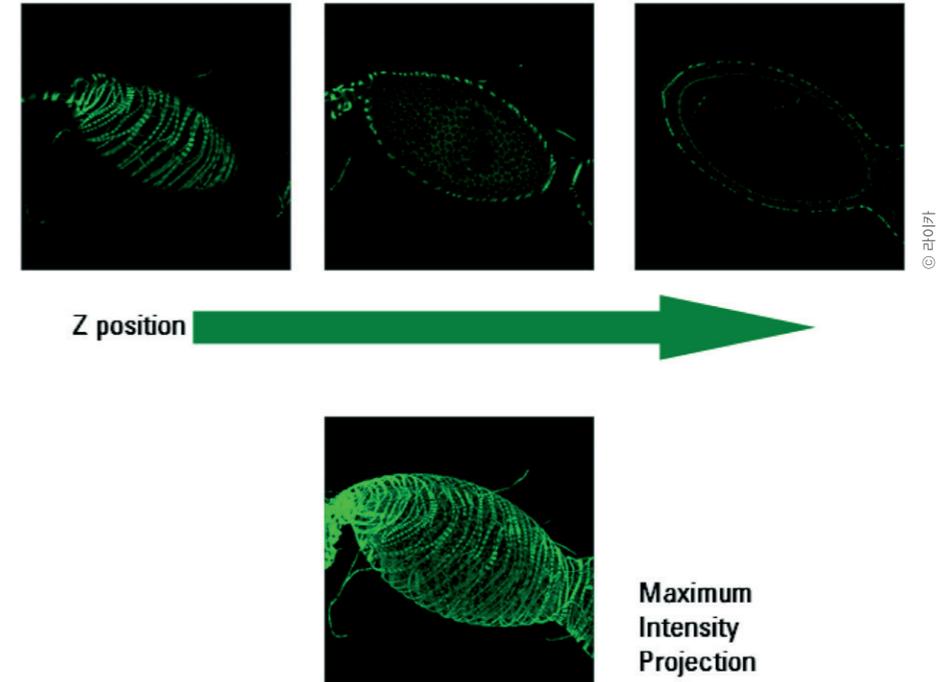
생명과학기술

● 3차원재구성

공초점 현미경을 이용하여 점을 이어 붙여서 면을 얻고, 이 면을 이어 붙여서 입체를 얻을 수 있다. 공초점 현미경의 기본 원리는 한 번에 한 점씩 관찰하여 이를 연결하는 것이므로, 이를 이용하여 얻은 이미지도 시료의 아주 얇은 층 하나만 표현하기 때문이다. 따라서 Z 스캔장치를 이용하여 시료 속에서 초점의 깊이를 변화시키면 여러 장의 단면을 얻을 수 있고, 이를 쌓아올려 3차원 형상을 재구성할 수 있다. 이는 병원에서 CT 촬영을 여러 번 하여 이를 이어 붙여 몸 내부의 3차원적 상태를 알아내는 것과 원리가 같다.

간단하게는 3D 프린터가 물체를 만들어내는 방식을 생각해 보면 된다. 3D 프린터의 노즐은 미세한 양의 합성수지를 조금씩 뽑어내는데 노즐이 평면 위에서 움직이면서 한 층 한 층 쌓아가는 방식으로 복잡한 입체를 만들어 낼 수 있다. 공초점 현미경으로 얻은 단면 영상들을 적절히 조합하면 편광 안경을 이용하여 3차원으로도 관찰할 수 있다. 이렇게 입체적인 모양을 만드는 과정을 '프로젝션'이라고 하고 공초점 현미경을 제어하는 소프트웨어가 자동으로 처리해 준다.

깊이별로 색상을 달리해 전체 단면을 프로젝션하는 경우도 있는데, 이렇게 처리한 이미지는 한눈에 시료의 깊이 방향의 정보를 파악할 수 있다. 반대로 단면 영상을 프로젝션하면 시료의 정확한 윤곽을 발견하고 그 내부구조를 자세하게 관찰할 수 있다. 생



© 리아라

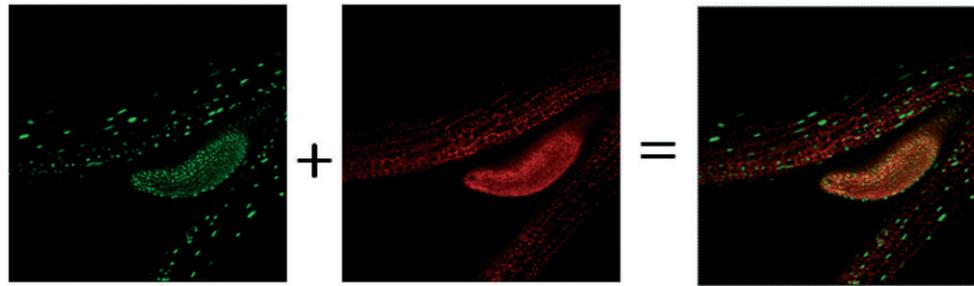
광학절편과 프로젝션

물학적으로는 세포소기관의 기형, 소포체의 연결상태 등 형태적인 요소를 형광 염색하여 파악할 때 사용된다.

● 코로컬라이제이션(colocalization)

과학자들은 한 번에 여러 가지를 한꺼번에 처리하는 것을 좋아한다. 이유는 간단하다. 시간과 노력을 크게 아낄 수 있으니까. 코로컬라이제이션은 이처럼 여러 가지를 한꺼번에 처리하기에 적합한 방법으로, 여러 종류의 형광시약을 시료에 염색하여 관찰하는 것이다.

이렇게 염색한 시료에는 각각의 형광시약만을 자극하는 파장의 레이저를 쬐어 개별적인 이미지들을 얻을 수 있다. 이렇게 얻은 영상들을 포개면 적용된 시약에 따라 서로 다른 색으로 구분되어 한 눈에 알아볼 수 있다. 이는 지도 오버레이 서비스와 비슷



오버레이 영상의 생성 (Arabidopsis thaliana)

하다. 지도 앱이나 구글 맵을 보면 기본 지형정보 위에 도로정보, 맛집정보, 날씨정보 등 여러가지 정보들을 적용할 수 있게 되어 있는데, 코로컬라이제이션은 이러한 정보들을 한 번에 겹쳐서 보여주는 것이다.

이 방법을 이용하면 각 형광시약의 위치가 어떻게 다르고 어느 정도 비슷한 위치에 있는지 알 수 있다. 이처럼 여러 물질들이 같은 곳에 위치하는지(colocalize)를 알아 볼 때 주로 사용하며 형광을 사용하는 응용실험 중 대다수의 목적이 이것이다.

● 시간차 분석(Time lapse)

시간차 분석은 일정한 시간 간격을 두고 시료나 현상이 어떻게 변하는지 관찰하는 것이다. 이는 고전적인 형광현미경에서도 종종 사용하던 방법으로 형광물질로 표시한

물질이 시간에 따라 어떻게 이동하는지 확인할 수 있어 유용하다. 이처럼 공초점 현미경으로 시간차 분석을 하려면 미세한 시간 단위로 연속 영상을 얻을 수 있어야 한다. 아주 짧은 거리를 이동하는 물질을 추적해야 하기 때문이다. 물론 바닥에 붙어 자라는 배양 동물세포의 움직임을 포착하는 경우처럼 수십 분의 시간 간격을 두어서 촬영하는 경우도 있다.

다만 스캔 속도가 빨라질수록 큰 영상을 얻기 어렵다. 영상을 검출하는 데 일정한 양의 형광이 필요하고, 형광 반응을 일으키는 데 일정한 시간이 필요하기 때문이다. 따라서 마이크로초 단위로 짧은 시간간격으로 연속영상을 얻으려면 영상의 크기를 줄여야 한다.

이러한 제약 때문에 점을 읽어들이는 공초점 현미경으로는 충분한 속도를 얻을 수 없는 경우가 많다. 이 때는 더 빠른 스캔이 가능한 선 스캐너나 님코디스크 스캐너를 이용하기도 한다. 다만 아무래도 점 스캐너보다는 해상력이 낮으므로 꼭 빠른 속도가 필요한 것이 아니라면 점 스캐너를 사용하는 경우가 많다.

● 광표백과 광활성화

광표백(photobleach)은 원래 형광 반응을 일으키던 빛보다 많은 양의 빛을 받으면 형광물질이 오히려 형광특성을 잃어버리는 현상이다. 빛을 비춘 후에 다시 두면 서서히 형광 특성이 되돌아오기 시작하는데, 이를 통해 특별한 관찰을 할 수 있다.

특정 영역에만 많은 양의 빛을 비추면 광표백 현상이 일어나서 해당 영역의 형광물질들은 형광 특성을 잃어버린다. 이 상태에서 빛을 거두면 형광물질의 형광특성이 되

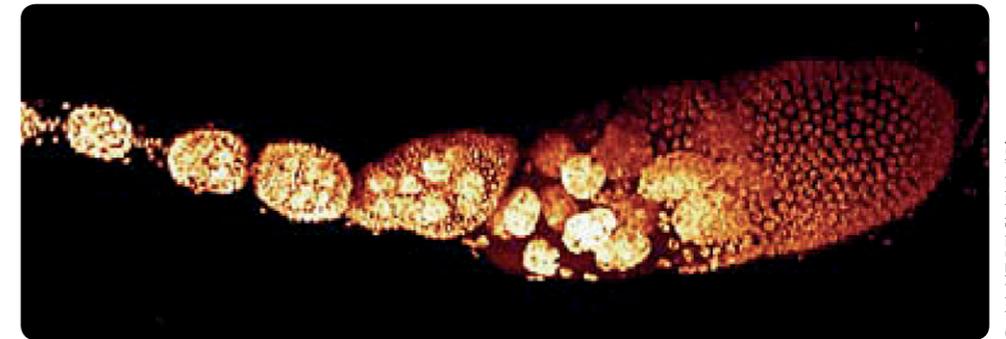
돌아오는데, 이는 형광이 나타나지 않던 곳에서 서서히 형광 현상이 나타나는 것으로 관찰된다. 이 때 형광을 다시 나타내기 시작하는 점의 움직임을 확인하면 형광물질의 이동경로와 속도를 측정할 수 있다.

이는 마치 일정한 구역에 먹물을 뿌려놓고 이 곳을 밟고 간 사람들의 발자국을 추적하는 것과 비슷하다. 다만 먹물이 지금 당장 보이지 않고 일정 시간이 지난 다음부터 먹물자국이 나타난다는 점이 차이점일 뿐이다.

이와는 반대로 특정 파장의 빛을 이용하면 형광물질이 아니던 물질을 형광물질로 만들 수 있는데, 광표백 때와 반대로 형광물질을 붙인 분자가 빛을 비추는 영역을 지나면 형광을 내는 것을 관찰하는 것이다. 이를 광활성화(PA: Photo-activation)라 부르며 물질의 특성에 따라 광표백과 광활성화를 달리 적용한다.

● 다중광자 이미징(MP: multi-photon imaging)

다중광자 이미징은 가시광선 대신 고출력적외선을 사용한다. 일반적으로 적외선은 자외선이나 가시광선보다 에너지량이 적으나 많은 양의 적외선을 형광물질에 쪼이면 형광을 내기도 한다. 처음 적외선에 닿으면 약한 형광효과를 내지만, 다시 적외선을 받으면 강한 형광효과를 내는데, 이렇게 하면 처음 적외선에 닿은 부분 근처에서 빛의 양이 일시적으로 높아진다. 따라서 두 번째 적외선을 받았을 때 처음 적외선이 닿은 부분만 빛이 특별히 더 집중된 것 같은 효과가 나므로 명암이 뚜렷한 형광영상을 얻을 수 있다.



다중광자 이미징, *Drosophila* egg

© 라이카, 공초점 현미경의 개요.

이렇게 적외선이 집중된 곳은 초점면 부근이어서 다중광자 이미징은 바늘구멍을 사용하지 않아도 초점면 영상을 얻을 수 있다. 다중광자 이미징의 또 다른 장점은 광원 자체 특성에 있는데, 바로 적외선의 시료 투과성이 높다는 점이다. 잘 알려진 것처럼 광자의 파장이 길어질수록 두꺼운 시료를 투과할 수 있다. 따라서 다중광자 이미징을 이용하면 가시광선으로는 관찰이 어려운 500 μ m 정도의 두꺼운 조직시료까지도 투과할 수 있다. 적외선 레이저를 사용해 여러 형광시약으로 염색된 시료를 이미징하면 사용된 시약의 형광이 모두 보이게 할 수 있다.

● FRET(Fluorescence Resonant Energy Transfer)

흡수하는 파장이 서로 다른 두 가지 형광물질을 사용할 경우, 하나의 형광물질만

반응하는 파장의 레이저를 쬐이면 해당 물질만 빛을 낸다. 그런데 레이저에 반응하지 않는 형광물질이 반응한 형광물질이 내는 빛에 의해 자극 받아 형광효과를 일으킨다면 두 가지 형광물질이 가까이 있는 곳을 쉽게 찾을 수 있을 것이다. FRET은 바로 이러한 원리를 이용하여 물질의 반응 과정이나 공간적인 관계를 파악하는 데 유용하게 사용된다. 하나의 형광물질이 다른 형광물질을 자극하려면 두 형광체가 대체로 1~10nm 이내의 거리로 가까이 있어야 한다. 또한 형광물질이 결합한 부위의 방향성도 중요하므로 이를 이용하여 두 물질이 어떤 방향으로 서로 접근하는지도 파악할 수 있는 것이다.

● FCS(Fluorescence Correlation Spectroscopy)

원래 공초점 현미경은 넓은 면적의 상을 얻기 위해 바늘구멍을 통과하는 레이저를 이동시키는데, FCS는 빔을 고정하는 방법이다. 이 때는 매우 좁은 영역만을 비추므로 형광물질이 초점 부분에 들어가고 나가는 수를 셀 수 있을 정도가 된다. 따라서 빛을 비추는 영역과 전체 영역의 비율을 초점 부분에 드나든 형광물질의 수에 곱하면 전체 영역에서 해당 물질이 얼마나 있는지 알 수 있다.

입자 수준에서 해당 물질의 농도를 매우 높은 정확도로 확인할 수 있는 것이다. 이는 사람이 많은 거리에서 한 사람이 간신히 설 정도의 원을 그려놓은 후 이 원을 일정 시간 동안 얼마나 많은 사람들이 밟고 지나갔는지 세어서 거리 전체에 있는 사람의 수를 추측하는 것과 원리가 비슷하다.

● 신약 개발

현재 바이오산업의 대부분을 차지하고 있는 의약품 개발의 주요 타깃은 단백질이다. 이들은 많은 질병의 중요한 원인이지만 세포 안에서 상호작용하여 복잡한 네트워크를 구성하므로 신약을 개발하는 데 어려움을 준다. 정확한 변인 통제가 어려워 특정 결과에 대해 원인이 무엇인지 추측하기 어렵게 만들기 때문이다.

이러한 어려움을 해결하는 데 공초점 현미경이 큰 기여를 하고 있다. FRET과 같은 기술이 대표적이다. 다만 대량으로 실험하기 어렵고 서로 영향을 주고받는 형광물질의 쌍을 만들기 까다로워 실험이 쉽지 않다. 이에 기존 방법의 단점을 개선한 신기술도 속속 개발되고 있다.

그 중 하나가 한국기초과학지원연구원에서 개발한 단백질 결합 분석법이다. 이 방법은 두개의 형광단백질이 결합했는지 아닌지에 따라 단백질의 기능이 나타나는 위치가 달라져서 단백질의 상호작용을 분석할 수 있는 방법이다. 공초점 현미경을 이용하며 단백질이 결합하는 방식을 실시간으로 세밀하게 볼 수 있다.

또한 신약 개발 실패에 따른 손실을 줄이기 위해 약물 표적에 관한 고품질의 정보를 얻을 수 있는 도구로 공초점 현미경을 기반으로 한 세포이미지 기반 고집적 스크리닝 시스템 HCS (High Contents screening)을 이용할 수도 있다. 이와 같은 분석을 통해 신약 개발시 연구자들이 방대한 양의 생물학적 정보를 얻을 수 있으므로 효율적인 연구가 가능해질 것이다.

01 속살이 궁금하다!

02 자석으로 원자를 읽어들인다

03 수소원자로 그려낸 몸 속 구조

04 MRI의 현재와 미래

CHAPTER 4

자석으로 얻은 투시력 자기공명영상



01 속살이 궁금하다!

우리는 가끔 겉은 멀쩡한데 막상 갈라보면 속이 상해있는 과일을 만난다. 겉보기에 멀쩡한데다 두드려보고 눌러보고 만져가며 고른 것인데도 속까지 알 수 없었던 것이다. 겉으로 보이는 게 전부가 아니라는 걸 방증하는 사례다. 각종 물질을 관찰하는 영상과 학기술 분야도 겉뿐 아니라 속까지 파악할 수 있어야 제대로 된 속성을 파악할 수 있다.

현미경이 발달하면서 우리는 눈으로 볼 수 없는 작은 물체의 표면, 다시 말해 겉모습을 관찰할 수 있게 됐다. 하지만 현미경으로는 물체의 속까지 들여다 볼 수 없다. 물질의 내부를 관찰하려면 다른 원리가 필요했던 것이다. 이를 위한 대표적인 장비가 자기공명영상(Magnetic Resonance Imaging, MRI)이다. 이 장비는 자기장을 이용해 물질을 이루는 성분을 파악하고 영상을 얻는다. 표면에 가려진 내부에 대한 이야기를 밝혀내는 것이다.

자기장이란 자석이나 전류, 변화하는 전기장 등의 주위에 자기력이 작용하는 공간을 말한다. 자석의 N극과 S극을 서로 맞대 보면 보이지 않는 힘이 자석을 밀어내고 당기는 걸 느낄 수 있다. 바로 이 힘이 작용하는 영역이 자기장이다. 자기장의 중요한 특징이라면 가로막는 것이 있다고 완전히 차단되거나 하지 않는다는 것이다. 충분히 강력한 자석이라면 두꺼운 유리가 가로막고 있어도 반대편의 자성체를 붙들어둘 수 있다는 사실을 생각해 보자. 이를 이용하면 몸을 직접 열어보지 않고도 물체의 속을 들여다볼 수 있지 않을까?

이러한 발상에서 탄생한 것이 MRI다. MRI는 흔히 병원에서 쓰이는 진단장비로 잘 알려졌다. 이 장치는 초전도 자석으로 자기장을 발생시키고, 인체를 구성하는 물질



이나 특정한 분자가 가진 자기적 성질을 측정한다. 이 정보를 영상으로 바꿔 곁으로 는 보이지 않는 속을 관찰할 수 있게 해주는 것이다. 초전도 자석은 지구가 가지고 있는 자성의 수십만 배의 자성을 띤다. 이것으로 발생시킨 자기장 안에 들어가면 사람은 느끼지 못하지만 인체 내 수소 원자의 핵이 약하게 자성을 띤다. 자화된 수소원자 핵은 움직이면서 패러데이의 법칙에 따라 약한 전류를 생성한다. 이렇게 만들어진 전기 신호를 분석하면 몸 속에서 물의 움직임을 추측할 수 있다. 몸의 70% 이상은 물이고 모든 세포에는 물 분자가 다량 포함되어 있기 때문이다.

이런 인체 자석의 에너지 변화는 매우 약하지만 기술의 발전으로 미세한 변화도 정확하게 측정 가능해지면서 MRI의 활용도도 넓어지고 있다. 의료 현장에서 몸 속을 절개하지 않고도 상세히 관찰하는 데 활용되는가 하면 비파괴 검사로 뇌 조직 같은 체내 영상을 관측할 수 있는 유용한 장비기도 하다. X-ray처럼 이온화 방사선을 사용하지 않아 인체에 무해하고, 3D 영상이 가능하다는 장점도 있다. 컴퓨터단층촬영(CT)에 비해 대조도와 해상도도 더 좋고, 원하는 면의 인체 단면상까지 만들 수 있는 첨단 관찰 장비다.

전자기 유도 현상의 발견

MRI의 기본이 되는 원리가 ‘전자기 유도 현상’이다. 이 현상은 MRI뿐 아니라 인류 역사를 바꿨다고 해도 과언이 아닌 중요한 과학적 발견이다. 1800년대 초까지만 해도 전기와 자기는 별개의 현상으로 취급됐다. 그런데 1820년 덴마크의 외르스테드가

용어 소개

초전도 자석이란?

어떤 금속이나 합금, 화합물 등의 온도를 낮추면 일정한 온도에서 전기저항이 급격히 낮아져 0이 된다. 이 현상을 ‘초전도’라고 부른다. 초전도 자석은 초전도 상태의 자석을 의미하는데, 전력을 적게 쓰면서 넓은 공간에 높은 자기장을 정상적으로 발생시킬 수 있는 자석이다.

초전도 자석은 전기 저항이 0이기 때문에 전력 손실이 없고 이론적으로는 영구전류 상태를 실현할 수 있다. 일반적인 자석과 달리 초전도 자석은 매우 적은 전력으로 높은 자기장을 만들 수 있어 불가능하다고 여겨졌던 분야에 응용되고 있다.

초전도 자석은 여러 가지 형상이 있는데 단순한 ‘솔레노이드 코일’ 외에 ‘레이스트랙’, ‘다이폴’, ‘트로이달’ 등이 제작되고 있다. 자석의 냉각 방법도 여러 가지인데 액체 헬륨 속에 자석을 담그는 ‘침지냉각’, 헬륨을 초전도선 속에 강제로 순환하는 ‘강제냉각’ 등이 있다. 침지냉각의 경우 자석은 액체 헬륨 속에 침지되고 액체 헬륨의 증발을 줄이기 위해 상온 공간과의 사이에 진공조와 액체 질소를 배치한다.

초전도 자석은 지금까지 주로 기술자나 연구자가 취급했지만 최근에는 의료용 MRI 등에서 일반인도 이용할 기회가 많아졌다. 또 고온 초전도체의 출현으로 액체 질소온도, 상온에서 자석이 가능하게 되면 더욱 넓은 분야에 응용할 수 있을 것으로 기대된다.

-첨단산업기술사전, 1992.5.1, 겸지사



© 미래창조과학부

서로 다른 상황에서만 확인되던 전기와 자기가 관련이 있다는 걸 발견했다. 전류가 흐르는 도선 근처에서 나침반 자침이 움직이는 현상, 즉 전기가 자기에 영향을 미치는 걸 발견한 것이다. 이후 패러데이는 자기 또한 전기에 영향을 미칠 수 있을 뿐 아니라 둘이 서로 영향을 주고 받을 수 있다는 사실을 알아냈다.

일반적으로 전기가 통하는 전선으로 이뤄진 회로는 외부 전원이 없으면 전류가 흐르지 않는다. 그런데 자석을 전기회로 가까이 대자 전류가 흐른다는 게 검류계를 통해 확인된 것이다. 이 현상이 바로 전자기 유도다. 말 그대로 전기가 자기를 끌어당겨 영향을 주고, 반대로 자기도 전기를 유도하는 현상이다.

패러데이는 도선을 감은 물체에 전류를 흘려주면 자석을 만들 수 있고, 또 자석을 이용해서 전류를 흘려줄 수 있다는 것을 밝혔다. 이처럼 자석을 이용해 생성되는 전류를 '유도 기전력'이라고 한다.

이 내용을 정리하면 자석을 움직여 전류를 얻을 수 있다는 이야기다. 특별한 전원이 없어도 자석만 있으면 전기 에너지를 얻을 수 있다는 전자기 유도 현상의 발견은 산업 혁명을 불러온 증기기관의 발명만큼이나 혁명적인 사건이라 할 수 있다.

이후 패러데이는 전류와 자석의 상호작용 방향이 수직이라는 것을 발견했고, 전기와 자기 사이의 변화의 매개체를 장(field)으로 고안했다. 패러데이는 이를 수식으로 정리하지는 못했지만, 맥스웰은 전자기 작용을 맥스웰 방정식을 통해 전자기파를 수식으로 정의하고 이론화시켰다. 전자기 유도 현상과 맥스웰의 수식이 바로 MRI가 탄생하게 된 기반이다.

인물 소개

마이클 패러데이

마이클 패러데이는 전자기학과 전기화학 분야에 큰 기여를 한 영국의 물리학자이자 화학자다. 1791년 9월 22일 영국에서 태어난 패러데이는 어린 시절에 정식 교육을 거의 받지 못했음에도 불구하고, 역사적으로 매우 훌륭한 과학자로 남겨져 있다.

물리학에서 패러데이는 전자기장에 대한 기본적인 개념을 확립하는 직류가 흐르는 도체 주위의 자기장에 대한 연구를 했다. 또 자성이 광선에 영향을 미칠 수 있다는 것과 그들 사이의 근본적인 관계가 있다는 것 또한 확립했다.

그는 또 전자기 유도, 반자성 현상, 그리고 전기 분해의 법칙의 원리에 대해서도 발견했다. 그가 발명한 전자기 회전 장치는 전기 모터의 근본적 형태가 됐고, 이를 계기로 전기를 실생활에 사용할 수 있게 됐다.

화학자로서 패러데이는 벤젠을 발견했고, 염소(Cl)의 격자무늬 수산화물에 대해 조사했으며 초기 형태의 벤젠 버너, 산화 상태들의 체계, 그리고 양극, 음극, 전극, 이온과 같이 널리 쓰이는 전문 용어들을 처음으로 도입했다.

패러데이는 그의 생각들을 매우 명료하고 간단한 언어로 표현한 훌륭한 실험과학자였다. 하지만, 그의 수학실력은 간단한 대수까지만 가능했으며, 삼각법 역시 다루지 못하였다. 맥스웰(James Clerk Maxwell)은 패러데이를 포함한 과학자들의 업적을 모아 현대 전자기학에서 기초적인 이론으로 받아들여지고 있는 여러 쌍의 공식들로 요약했다.

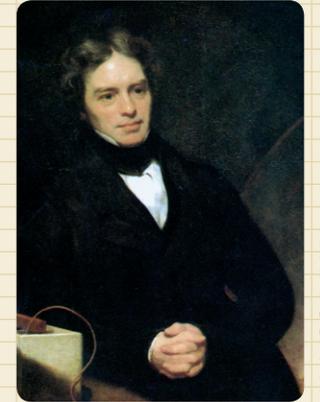


사진 및 내용 출처: 위키백과

02 자석으로 원자를 읽어들이다



부루커 700MHz NMR 분광기

MRI를 비롯한 자기공명(MR) 연구는 노벨물리학상(1944, 1952, 1966), 노벨화학상(1991, 2002), 노벨생리의학상(2003)을 모두 휩쓸었다. 자기공명의 원리를 발견한 기초연구부터 MRI와 NMR을 개발한 응용연구까지 관련 기술이 노벨상을 받을 정도로 학문적으로 의미 있는 역할을 했기 때문이다.

MRI의 역사는 ‘핵자기공명(NMR·核磁氣共鳴)’이 개발된 1946년부터 시작한다. NMR은 미국 하버드대와 스탠퍼드대 연구진이 공동으로 개발했는데 주로 분자의 구조나 특성을 파악할 때 사용한다. 이 장비는 자기장을 걸었을 때 생기는 원자들의 에너지 차이를 이용해 정보를 얻는다.

원자에 자기장을 건 뒤 주어진 자기장에서 각 원자가 갖는 고유 진동수와 일치하는 전자기파를 쏘면(공명) 원자들이 전자기파를 흡수한 뒤 에너지를 내보낸다. NMR 장치는 원자들이 내보낸 전자기파들은 스펙트럼에서 신호(공명 주파수)를 나타내는 위치, 신호 사이의 거리와 상호 작용 등 여러 정보를 이용해 원자 사이의 거리와 작용 등 여러 정보를 이용해 원자들이 어떤 구조로 배열돼

있는지 파악한다. 과학자들은 몸 속에 있는 단백질의 구조와 기능을 알아내거나 화합물을 분석해 신약을 개발하는데 NMR의 덕을 톡톡히 봤다.

NMR이라는 표현은 1913년 파울리(Wolfgang Pauli)가 처음 쓰기 시작했다. 원자핵의 스핀을 이용한 MNR 연구도 파울리의 배타 법칙을 통해 연구가 시작됐다. 1946년에는 미국 하버드대의 퍼셀(Purcell) 연구진과 스탠퍼드대의 블로흐(Bloch) 연구진에 의해 독자적으로 NMR 연구가 발표됐고 이들은 이 공로로 1952년 노벨물리학상을 공동 수상했다.

이들은 순수한 물질로 채워진 시험관에 자기장을 걸고 전자기파로 충격을 줬을 때 신호가 검출돼 분광분석의 형태로 기록되는 걸 발견했다. 이후 NMR은 분자구조, 이완 효과, 화학 반응 등의 연구에 사용됐으며 주로 화학과 물리학 등에서 많이 응용됐다.

1970년 미국의 물리학자이자 의사였던 다마니안(Raymond Damadian)은 암세포와 정상세포를 NMR 분광기로 분석했을 때 다른 스펙트럼이 나온다는 사실을 발견했다. 이로써 NMR을 의학에 활용할 수 있는 길이 열리게 됐다.

1973년 미국 뉴욕주립대 의대 폴 로터버(Paul Laterbur) 교수는 물 분자에 가하는 자기장을 일정한 세기로 변화시키면, 수소핵에서 방출되는 전파가 위치에 따라 다르게



한옥희 박사가 초전도 자석 옆에서 고체 핵자기 공명 분광기(고체 NMR)를 설명하고 있다. 기존 NMR장치에 들어 있는 초전도 자석보다 큰 덕분에 액체는 물론, 고체와 기체 시료도 분석한다.



MRI를 몸속 장치들의 이미지를 얻는 데 활용할 수 있게 한 공로로 폴 로터버 박사가 2003년 노벨물리학상을 받았다.

나타난다는 것을 발견했다. 이 전파를 정확히 측정하면 신체 어느 곳에서 발생한 수소인지 알아낼 수 있다.

하지만 공명하는 물 분자의 신호를 빠르게 분석할 수 없어 로터버 교수의 영상은 신체 장기를 국소적이고 희미하게 보는 것에 만족해야 했다. 영국 노팅엄대 물리학과 피터 맨스필드 교수가 자기장에서 공명하는 물 분자의 신호를 빠른 속도로 분석하고 이를 2차원 단면으로 나타낼 수 있는 기술을 개발하면서 비로소 MRI가 세상에 태어났다. 두 교수는 MRI 개발 공로를 인정받아 2003년 노벨생리의학상을 공동으로 수상하는 영예를 안았다.

이후 MRI는 하드웨어와 소프트웨어, 고자장 기술의 개발로 급속히 발전했고, 진단영상의학에 없어서는 안 될 중요한 위치에 오르게 됐다. MRI는 동위원소의 기능적·생리적 정보, 초음파의 비침습적 검사, CT의 조직대조도의 장점을 고루 가지고 있다. 그 덕분에 임상적 가치가 대단히 크게 평가되고 있다. 과거 NMRI로 부르던 MRI는 앞글자인 핵(nuclear)을 생략하고 보통 MRI로 부른다.

용어 소개

파울리의 배타원리

1924년 W.파울리에 의해 발견된 법칙으로, 이 원리가 바탕이 되어 원자의 전자껍질구조 개념이 확립됐다.

원자 속에 있는 전자는 보통 주양자수, 자기양자수, 스핀양자수라는 세 가지 양자수에 의해 상태가 결정된다. 그런데 같은 원자 안에 있는 전자끼리는 양자수 중 무언가 하나는 반드시 다르다. 즉 일단 어느 한 자리를 차지한 전자가 있으면 다른 전자가 그 전자와 똑같은 상태에 있을 수 없다는 뜻이다. 이는 마치 먼저 자리잡은 전자가 다른 전자가 자신의 위치에 들어오는 것을 막는 것처럼 보여 '배타원리'라는 이름이 붙었다.



이에 따르면 전자가 존재할 수 있는 위치를 나타내는 방위 '오비탈'에는 서로 스핀이 반대인 두 개의 전자만 들어갈 수 있다. 보어와 같은 물리학자들은 이 법칙을 이용하여 수소에서 우라늄에 이르는 전체 원소의 원자모형을 만드는 데 성공했다. 또한 이 원리가 나온 덕분에 경험적으로만 알고 있던 원자의 여러 성질을 이론적으로 설명할 수 있게 됐다.



03 수소원자로 그려낸 몸 속 구조



© 과학동아

MRI는 현대 진단의학에서 없어서는 안 될 중요한 장비로 자리 잡았다.

MRI는 NMR과 이미징(Imaging)을 결합한 말로 NMR을 이용해 영상을 얻는 기술이라 할 수 있다. NMR, 즉 핵자기공명을 이해하기 위해서는 우선 원자의 구조, 스핀, 자기쌍극자, 각운동량 그리고 자기 회전을 등을 알아야 한다.

원자는 물질의 기본단위이며, 더 이상 쪼갤 수 없는 물질이다. 원소의 종류에 따라 원자번호를 갖고 있으며 지구상에는 수소(1번)부터 우라늄(92번)까지 92종의 원소가 천연으로 존재한다. 원자를 쪼개보면 원자핵과 전자로 나뉜다. 원자핵은 다시 중성자와 양성자로 구성되는데, 여기서 전자는 음전하, 양성자는 양전하를 띠고 있다. 원자핵 주위에서 전자가 끊임없이 움직이며, 전자의 음전하와 양성자의 양전하의 총합은 0이 된다. 따라서 원자 자체는 전하를 띠지 않는다.

용어 소개

원자의 구조

전자를 발견한 톰슨은 원자의 구조에 대한 모형을 제시했다. 양전하를 띤 공 모양에 적절한 수의 전자가 마치 건포도 빵에 들어간 건포도처럼 여기저기 박혀 있는 모습이다. 영국의 어니스트 러더퍼드는 원자핵이 원자의 중앙에 있고, 전자들이 그 주위를 돌고 있는 원자모형을 처음 제안했다. 러더퍼드는 뉴질랜드에서 농부의 아들로 태어나 1895년에 영국으로 건너가 방사성 연구를 한 인물이다. 그는 1906년부터 양전하를 갖고 있는 알파 입자를 얇은 금박에 때릴 때 나타나는 산란을 연구했다. 그 결과 대부분의 알파 입자는 진로에 영향을 받지 않고 바로 통과하지만 일부는 큰 각도로 산란된다는 걸 발견했다. 이 실험 결과를 통해 1911년 그는 오늘날의 원자구조를 제안했다.

이 원자구조에 따르면 원자의 중앙에 원자 질량의 대부분을 차지하는 아주 작은 핵이 있는데 이것은 양전하를 띤다. 또 원자 부피의 대부분을 차지하는 전자는 음전하를 띠며 핵 주변에 돌고 있다. 이 원자구조는 행성계 구조와 유사하다. 원자핵은 태양에, 전자는 행성에 해당하며, 핵과 전자 간의 정전기적 인력이 행성계의 중력이라고 볼 수 있다.

러더퍼드의 제자인 가이거와 마르스텐은 각 원자의 전자 수는 멘델레예프 주기율표에서 원자번호와 일치하며, 이 값은 또한 원자핵에 있는 양전하의 단위수와 같다고 정리했다. 따라서 원소의 화학적 성질은 원자의 전자 수에 의해 결정된다는 게 분명해졌다. 1932년 채드윅은 방사능 연구과정에서 질량은 가장 간단한 원자핵인 수소원자핵인 양성자와 같으나 전하를 띠지 않는 중성자를 발견했다. 이로써 원자핵은 양성자와 중성자로 이뤄진 것으로 판명됐으며 원자핵의 양성자 수는 원자의 전자 수와 같다는 게 밝혀졌다. 현대 물리학에서는 전자가 특정 거리의 궤도를 돌지 않으며, 다만 핵에서 특정 거리에 있을 확률이 크다고 말한다.

러더포드의 원자 구조에는 설명하기 어려운 점이 있다. 양전하끼리는 반발하는데도, 양전하를 띠는 양성자들이 중성자와 함께 원자핵에 단단히 묶인 것이다. 1936년 일본 물리학자 유가와는 순전히 이론적 측면에서 중간자(meson)라는 입자가 있고 이것이 핵 안에서 양성자와 중성자를 결합시켜 핵의 안정성을 가져온다고 제안했다. 실제로 중간자가 상층 대기에서 지구로 떨어지는 우주선(宇宙線) 등에서 발견되자 유가는 1949년 노벨물리학상을 수상했다.

또 원자에서 전자가 계속 일정 궤도를 선회하는 것도 설명하기 어려웠다. 전자기학에 따르면 원형 코일에 전류를 흘리면 전자기파가 나오듯 핵 주위 궤도를 선회하는 전자에서도 전자기파가 나와야 한다. 전자기파 역시 에너지이므로 선회하는 전자의 에너지는 줄고 선회궤도도 작아져 전자가 핵 근처로 가야 한다. 하지만 러더포드의 모델에서는 그렇지 않다. 이에 대해 1913년에 덴마크의 닐스 보어는 원자에서 전자궤도는 특정 에너지를 갖는 특정 궤도만 가능하고, 이 궤도에서는 에너지의 손실 없이 계속 선회할 수 있다고 가정했다. 또 전자가 선회할 수 있는 궤도는 전자의 각 운동량이 어떤 값의 정수배가 되는 것이라 가정했다. 이 궤도에서는 선회하는 전자의 원심력과 전자-핵 사이의 전기적 인력이 같다는 고전역학의 내용을 적용했다. 궤도 사이의 에너지 차에 해당하는 전자기파를 흡수하면 높은 에너지 상태의 궤도로 전이되고, 높은 에너지 상태에서 낮은 에너지 상태로 전이될 때는 에너지 차에 해당하는 전자기파를 방출한다는 것이다.

이 모델로 원자의 구조는 물론 수소 원자에서 나오는 스펙트럼의 파장도 설명됐다. 그러나 보어의 원자구조는 전자를 2개 이상 갖는 원자의 성질을 제대로 설명하지 못했고, 이는 양자론으로 대체 됐다. 전자와 원자핵의 발견을 통해 원자 내부구조가 밝혀짐에 따라 물질의 내부구조에 대한 새로운 이해가 이뤄졌다. 또 핵화학과 핵물리학이라는 분야가 탄생했으며, 핵변환도 활발하게 시도됐다.

원자 구조에서 원자핵은 양전하를 띠며, 파울리의 배타 원리를 통해 알듯 스핀 양자를 가지고 있다. 가령 수소는 원자번호 1번으로 전자와 원자핵, 다시 원자핵은 중성자를 제외한 양성자로 이뤄졌다. 수소의 원자핵은 앞서 말한 원자핵의 특성과 마찬가지로 스핀과 자기 모멘트를 가지고 있다. 쉽게 말하면 수소의 원자핵이 매우 작은 자석과 같다.

질량을 가진 회전하는 원자핵에 외부 자기장이 주어지면 자기 모멘트로 인해 스핀이 만들어진다. 이는 큰 말굽자석 사이에 조그마한 자석을 비스듬하게 놓았을 때와 나타나는 현상과 비슷하다. 말굽자석의 N극과 S극 사이에는 자기장에 존재하고 있으므로 비스듬하게 놓인 작은 자석은 회전하게 되는 것이다. 이 작은 자석들은 자기장이 없는 상태에서는 제멋대로 배열돼 있으나 외부에서 자기장이 가해지면 자기장 방향과 거의 일치된다.

이와 마찬가지로 외부 자기장의 영향을 받은 원자핵은 세차운동을 하게 된다. 이 회전 진동수는 원자핵의 종류에 따라 다르며 자기장에 비례하게 된다. 원자핵이 외부의 자기장 아래에서 스핀을 통해 자성을 띠는 상태에 있을 때, 일정한 주파수의 고주파를 발사하면 공명현상이 일어난다. 에너지가 낮은 상태에 있던 원자핵이 고주파에 에너지를 흡수해 에너지가 높은 상태가 되는 것이다. 이때 사용되는 고주파의 주파수는 공명시키고자 하는 원자핵의 세차운동의 회전 주파수에 일치한다. 이를 공명주파수라고 한다.

원자핵은 각각의 공명주파수를 가지며 이는 외부자장의 강도에 따라 변하게 된다.

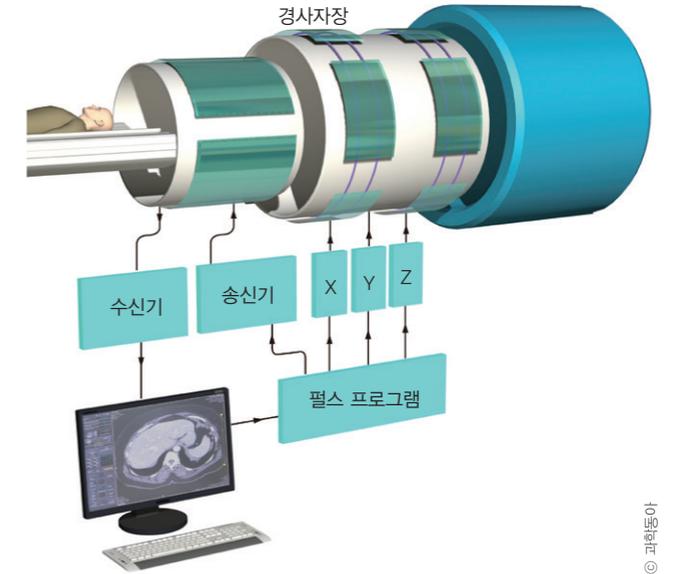
자기 모멘트

중심을 축으로 해 자유롭게 회전할 수 있는 막대자석을 자계 속에 넣었을 때, 자석의 S극은 자계의 N극으로, 자석의 N극은 자계의 S극으로 회전한다. 이 회전력은 자석의 길이와 자극의 세기의 곱에 비례한다. 자석의 길이와 자극 세기의 곱을 자기 모멘트라 한다.

수소원자핵의 공명주파수는 0.15T(테슬라) 아래에서 약 6.4MHz이며, 20T에서는 약 85.2MHz이다. 수소원자핵에서 얻는 신호의 감도는 회전자기비에 비례하며, 핵의 모양과 크기에 의해 결정된다.

원자의 양자는 자기장이 없는 상태에서는 제멋대로 분포한다. 하지만 외부 자기장이 작용하면 방향에 따라 높은 에너지 준위와 낮은 에너지 준위의 양자로 나뉜다. 이때 두 준위의 에너지 차이와 같은 고주파를 가하면 낮은 에너지 상태에 있던 양자들이 높은 에너지 상태로 옮겨가게 된다. 이 현상을 공명(Resonance)이라고 하며 MRI의 기본 원리가 된다. 강한 자기장에 놓인 원자핵에 가해주던 고주파를 끊으면 각 원자핵이 받았던 고주파와 같은 주파수의 에너지를 방출하면서 원래의 평형 상태로 돌아가게 된다. 이때 원자핵에서 방출되는 에너지, 즉 신호(signal)를 감지해 영상으로 만들면 MRI가 된다.

자기공명영상은 인체조직 내의 80% 정도를 차지하는 수소를 주로 이용한다. 특히 수소 원자 속 전자를 제외한 양성자만 고려한다. 이 때문에 자기장에 의해 수소원자



핵의 성질이 바뀌는 특성을 이용해 MRI를 고안하게 됐다. 비정상적 세포는 다른 신호를 보낸다는 것을 알게 된 이후로는 MRI로 신체의 비정상적 세포를 찾아내고 치료할 수 있게 됐다.

사람이 MRI로 들어가 준비를 마치면 운영 컴퓨터에서 원하는 정보를 얻기 위한 펄스 프로그램을 구동시켜 송신기와 경사자장계에 작동 명령을 내린다. 몸에서 신호가 발생하면 수신기가 받아 운영컴퓨터로 전달한다. 영상화 작업을 거쳐 MRI 사진을 얻는다.

MRI의 구조

MRI는 원통을 옆으로 세워 놓은 듯한 모양을 하고 있다. 그 외벽을 하나씩 벗겨보면 가장 바깥층에는 강한 전자석이 감싸고 있다. 전자석이 힘을 잃지 않도록 저항이 0인 '초전도체'를 유지하는 게 중요하다. 전자석을 초전도체로 만들기 위해 온도가 4.2K(영하 269℃)인 액체 헬륨을 넣어준다. 초전도 자석에 전기를 공급해 자기장을 형성하고 난 뒤에는 액체 헬륨만 계속해서 넣어주면 10~20년 동안 초전도체를 유지할 수 있다.

전자석 바로 안쪽에는 자기장 세기를 다르게 만들어주는 '경사자장계'가 있다. 경사자장계로 자기장 세기를 달리함으로써 어떤 위치에서 발생한 전자파인지 구별할 수 있다. 경사자장계 안쪽으로 고주파를 쏘주는 '송신 코일'이 있다. 송신 코일에서 발사된 고주파로 몸 속에 있는 수소원자핵이 에너지를 얻고 전자파를 방출한다. 이때 '수신 코일'이 전자파를 받아 영상으로 변환하는 프로그램을 거치게 된다.

04 MRI의 현재와 미래



© 과학동아

연구단은 MRI로 실험동물(쥐)의 영상을 찍어 고형암이나 골다공증 같은 질환을 조기 진단하기 위해 연구 중이다.

지구 자기장의 세기를 1이라고 하면 인체의 심장은 100만분의 1, 뇌는 1억분의 1의 자성을 띠고 있다. 특히 몸을 구성하는 물의 수소원자핵은 고유한 진동수로 회전(스핀)운동을 하고 있어 자그만 자석과 같다. 이런 특성을 이용한 것이 MRI다. 원통형 자석 안에 들어가면 인체의 수소핵이 약하게 자성을 띠기 때문에 고주파전류(에너지)를 가했다 뻔 때 수소핵에서 나오는 신호를 이용해 체내 물 분자의 분포를 영상으로 얻을 수 있다.

보통 MRI로는 커다란 인체 조직을 살펴보는데, 한국기초과학지원연구원 바이오융합분석분부는 최첨단 MRI를 이용해 작은 세포를 살아 있는 상태에서 관찰하는 데 성공했다. 개구리 알이 분화하는 생생한 과정을 자체 개발한 특수탐침을 장착한 MRI로 들여다봤는데 세계 최고 해상도로 세포를 관찰한 것이었다. 연구단의 MRI는 주로 질환모델 동물을 관찰하는 데 쓰인다. 앞으로 MRI를 이용하면 살아 있는 상태에서 치료제의 효과를 살펴볼 수 있어 치매나 뇌졸중의 치료제 효과를 실시간으로 관찰할 수 있을 전망이다.

MRI가 등장하면서 신체 내부를 볼 수 있는 영상진단법은 획기적인 변화를 맞이했다. X선이나 초음파를 이용한 기존 방식은 방사선 노출로 인체가 해를 입거나 해상도가 낮은 문제를 갖고 있었다. MRI는 강한 자기장을 사용하는데 현재 널리 보급된 3T MRI는 인체에 해롭지 않은 것으로 알려졌다. 또한 우리 몸의 70%를 이루고 있는 물의 수소원자를 이용하기 때문에 신체 내부를 정확하게 볼 수 있다.

어떤 병원에 MRI가 있다고 해서 다 같은 MRI가 아니다. MRI는 자기장의 크기에 따라

나뉜다. MRI 앞에는 0.5T, 2T, 3T, 7T 등이 붙는데 이는 자기장의 크기를 의미한다. 'T'는 자기장을 나타내는 단위인 '테슬라(Tesla)'로 1테슬라는 1만 가우스(Gauss)와 같다. 지구의 자기장 강도가 약 0.5가우스이므로 MRI가 갖고 있는 자기장의 세기는 지구 자기장의 적게는 수만 배, 많게는 수십 만 배에 해당한다.

MRI는 자기장이 강해질수록 선명한 영상을 얻을 수 있다. 자기장이 크면 자기장 내부에 놓인 수소핵의 에너지 차이가 커지게 된다. 고주파를 맞고 높은 에너지 상태로 뛰어 오른 수소핵이 다시 낮은 에너지 상태로 되돌아오면서 방출하는 전자파도 강해진다. MRI 영상은 이 전자파를 측정해 얻기 때문에 전자파의 세기가 강해질수록 더 선명한 영상이 가능하다.

현재 일반적인 병원에서 많이 사용하는 1.5T~3T MRI의 해상도는 1mm 수준, 7T MRI의 해상도는 0.3mm로 이 정도 해상도면 모세혈관까지 낱알이 드러날 정도의 영상을 얻을 수 있다.

하지만 아직 기능이나 소프트웨어 등 많은 분야가 '최적화' 되지 않은 상황이다. 3T MRI는 많은 연구가 이어져 대중화가 됐다고 볼 수 있지만 7T MRI는 전 세계적으로 약 40여대, 우리나라에는 현재 단 한 대만 보급된 상황이기 때문에 많은 연구가 뒤따라야 한다.

MRI의 가장 큰 장점은 생명체가 살아있는 상태에서 내부 영상을 얻을 수 있다는 점이다. 병원에 있는 MRI가 병을 진단하거나 치료 후 경과를 살피는데 이용된다면 연구소의 MRI는 신약의 효과를 확인하거나 신체 내부에서 일어나는 현상을 알아내는 등 여



한국기초과학지원연구원 이철현 연구원이 3T MRI의 상태를 점검하고 있다.



한국기초과학지원연구원 연구원들이 동물 전용 9.4T MRI를 이용해 연구하고 있는 모습

러 분야에 적용된다.

한국기초과학지원연구원 오창센터에는 동물전용 4.7T MRI와 9.4T MRI를 이용해 다양한 연구를 하고 있다. 인체용 7T MRI는 전 세계적으로 약 40여대 밖에 없는 신형 MRI로 우리나라에서는 가천의대 뇌과학센터에 이어 두 번째로 설치됐다. 3T MRI와 7T MRI 모두 성능을 극대화 할 수 있는 부분에 초점을 맞춰 연구하고 있다. 대표적인 사례가 신체의 각 기능에 최적화된 ‘수신 코일’의 개발이다. 고주파를 맞고 방출되는 전자파는 장기나 신체 부위에 따라 다르게 나타난다. MRI 영상을 찍을 때 신체의 특성에 적합한 수신코일을 사용하는데 정확하고 선명한 영상을 얻기 위해 업그레이드된 수신 코일을 내놓겠다는 것이다.

MRI로 촬영한 영상에 색을 입혀 정보 해석에 도움을 주는 기술도 개발한다. 영상처리를 할 때 불필요한 신호를 제거하고 부위별로 다른 색을 입히면 연구자가 사진을 정확하게 해석할 수 있다. 한국기초과학지원연구원은 이처럼 MRI와 관련한 기반 기술을 확보하여 많은 연구자들이 좋은 연구결과를 낼 수 있도록 활발히 투자하고 있다.

이미지 출처

12쪽 | 독일의 르네상스 화가 한스 발둥 그리엔(Hans Baldung Grien)이 그린 마녀의 모습
출처 : by 위키미디어 커먼스
참조 : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Baldung_Hexen_1508_kol.JPG

13쪽 | '콜레라'를 악마의 모습으로 형상화한 1912년 프랑스 '르쁘띠 주르날'
출처 : by 위키미디어 커먼스
참조 : <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cholera.jpg>

14쪽 | 이븐 알하이삼의 가장 유명한 저서, '광학의 서'
출처 : by 위키미디어 커먼스
참조 : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Thesaurus_opticus_Titelblatt.jpg

15쪽 | 안센 부자가 만든 최초의 현미경
출처 : by 라이카 '공초점 현미경의 개요'

16쪽 | 안센과 레이우엔훅이 최초로 만든 현미경의 모습
출처: by 한국전자현미경학회지 제33권 제2호 '돋보기부터 FE까지 현미경의 변천사'

18쪽 | 로버트 훅이 만든 현미경의 모습
출처 : by 위키미디어 커먼스
참조 : <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hooke-Microscope-cork.jpg>

19쪽 | 마이크로그라피아
출처 : by 위키미디어 커먼스
참조 : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Micrographia_title_page.gif

20쪽 | 광학현미경의 발달에 기여한 과학자들
출처 : by 위키미디어 커먼스
참조 : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Photograph_-_J._J._Lister,_seated,_Wellcome_M0006533.jpg
http://commons.wikimedia.org/wiki/File:George_Biddell_Airy_1891.jpg
http://en.wikipedia.org/wiki/Carl_Zeiss#/media/File:Carl_Zeiss_from_Auerbach_1907.png
http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ernst_Abbe.jpg

26쪽| 주사탐침현미경
출처 : by Angstrom Advanced Inc.
참조 : <http://angstrom-advanced.com>

27쪽| 전자현미경으로 본 탄소나노튜브
출처 : by 위키미디어 커먼스
참조 : <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:CNTSEM.JPG>

29쪽 | 양전자방출단층촬영기 PET
출처 : by 최규락, 이상복, "분자영상의 적용분야 및 전망" J. Korean. Soc. Radiol., Vol.8, No.3, 2014.04.

32쪽 | 우유를 4200배 확대한 사진
출처 : by The Weston A. Price Foundation
참조 : <http://www.westonaprice.org/wp-content/uploads/>

2013/07/rubik-fig9.jpg

35쪽| 에어리 디스크의 모습
출처 : 한국전자현미경학회지 제33권 제2호

36쪽| 현대의 입체 현미경 광학 디자인
출처 : 위키미디어 커먼스
참조 : <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Stereomic.png>

42쪽 |루스카와 크놀의 모습
출처 : 한국전자현미경학회지 제33권 제2호

43쪽 | 루스카와 크놀이 만든 전자현미경 구조도
출처 : by 한국전자현미경학회지 제33권 제2호

44쪽 |마르통이 전자현미경을 이용해 최초로 생물시료를 촬영한 영상
출처 : by 한국전자현미경학회지 제33권 제2호

46쪽 | 최초의 투과전자현미경의 모습
출처 : by 위키미디어 커먼스
참조 : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ernst_Ruska_Electron_Microscope_-_Deutsches_Museum_-_Munich-edit.jpg

47쪽 | SEM 개발에 공헌한 인물들
출처 : by 한국전자현미경학회지 제33권 제2호

53쪽 | 광학현미경과 투과전자현미경
출처 : 서울특별시과학전사관 '2011 전자현미경 활용 직무연수'

58쪽 | TEM으로 촬영한 바실러스균과 폴리오 바이러스
출처 : by 위키미디어 커먼스
참조 : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bacillus_subtilis.jpg
http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Polio_EM_PHIL_1875_lores.PNG

62쪽 | 투과전자현미경과 주사전자현미경 비교
출처 : by 서울특별시과학전사관 '2011 전자현미경 활용 직무 연수'

64쪽 | 시료 챔버가 열린 주사전자현미경
출처 : by 위키미디어 커먼스
참조 : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:SEM_chamber1.JPG

67쪽 | 리처드 파인만의 모습
출처 : by 위키미디어 커먼스
참조 : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:RichardFeynman-PaineMansionWoods1984_copyrightTamikoThiel_bw.jpg

68쪽 | STM으로 쓴 IBM 회사의 이름
출처 : by IBM
참조 : http://www-03.ibm.com/ibm/history/ibm100/images/icp/L547215L86303F86/us__en_us__ibm100__microscope__ibm_logo__620x350.jpg

70쪽 | 예술가가 상상한 '나노로봇'의 모습
출처 : by www.yalescientific.org

86쪽| 일반 형광현미경과 공초점 현미경의 해상도 차이를 보여주는 그림.
출처 : by 라이카 '공초점 현미경의 개요'

88쪽| 위상차를 시험중인 프리츠 제르니케의 모습
출처 : by 라이카 '공초점 현미경의 개요'

90쪽| 마빈 민스키의 최초의 공초점
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

91쪽| 공초점 현미경의 원리
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

92쪽| 공초점 현미경의 원리(반사식)
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

93쪽| 아모스와 화이트의 빛 움직이는 스캐너를 도입한 CLSM
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

95쪽| 브라켄호프의 Crepis spp의 염색체 광학절편들
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

97쪽| 닙코디스크를 단 수동형 텔레비전
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

98쪽| 요코가와 CSJ22의 미소렌즈를 채용한 닙코 스캐너
출처 : Yokogawa Electric Corporation
참조 : http://www.yokogawa.com/scanner/technology/principle_e.htm

99쪽| 갈바노미터 XY 스캐너의 Bull's eye 현상과 라이카 K 스캐너
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

100쪽| 자이스의 필터형 공초점 현미경
출처 : 라이카

101쪽| 자이스의 그레이팅 스펙트럴 공초점 현미경
출처 : 라이카

102쪽| SHG와 다중광자이미징의 비교.
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

104쪽| 살아있는 쥐 신장조직의 2중광자이미징
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

107쪽| 비선형관찰법과 일반 공초점현미경을 비교한 사진
출처 : Nicolas Ferrando, Lois Lammerhuber

108쪽| 자외선용 대물렌즈와 여러 렌즈로 구성된 대물렌즈
출처 : 라이카

110쪽| 대물렌즈에 따른 자유적업거리
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

111쪽 | 가시광선 레이저(위)와 자외선의 레이저들(아래)

Easy Science Serise

출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

112쪽| 적외선 연속펄스 레이저 MaTai
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

113쪽| 필터휠
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

114쪽| 비늘구멍에 따른 해상력 변화
출처 : 라이카

115쪽| Side-on형 PMT(좌)와 Head-on형 PMT(우), 표시된 부분이 빛에 반응한다.
출처 : 라이카

116쪽 | Z 갈바노메틱 스테이지
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

117쪽 | 라이카 현미경용 배양기
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

119쪽 | 광학절편과 프로젝션
출처 : 라이카

120쪽 | 오버레이 영상의 생성 (Arabidopsis thaliana)
출처 : 라이카

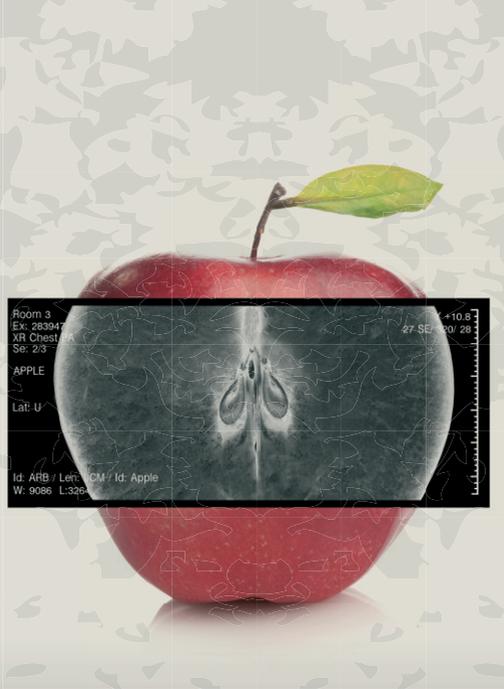
123쪽 | 다중광자이미지, Drosophila egg
출처 : 라이카 '공초점 현미경의 개요'

132쪽 | 전자기유도의 원리
출처 : 미래창조과학부

133쪽| 마이클 패러데이
출처 : 위키미디어 커먼스
참조 : https://commons.wikimedia.org/wiki/File:M_Faraday_Th_Phillips_oil_1842.jpg

134쪽| 부루커 700MHz NMR 분광기
출처 : 위키미디어 커먼스
참조 : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:700_lab_fix.JPG

137쪽| 볼프강 파울리
출처 : 위키미디어 커먼스
참조 : http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Wolfgang_Pauli_ETH-Bib_Portr_01042.jpg



Room 3
Ex: 28304
XR Chest
Se: 2/3
APPLE
Lat: U
Id: ARB / Len: CM / Id: Apple
W: 9086 L: 326

