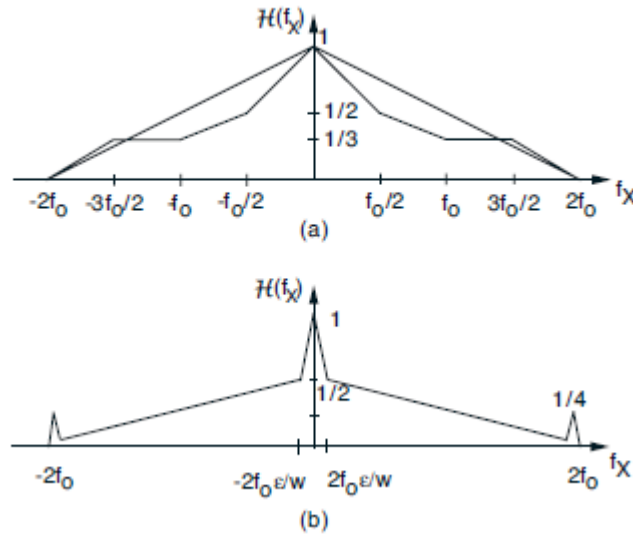


1. 교재 p. 168, Prob. 6-3.

- (a) The  $f_X$ -axis and  $f_Y$ -axis sections of the OTF of a clear square pupil are already known to be identical triangle functions, dropping linearly to zero at frequency  $2f_o = \frac{2w}{\lambda z_i}$  from value unity at the origin. Such a curve is included in part (a) of the figure. More interesting is the case with a central obscuration. We can calculate either the  $f_X$  section or the  $f_Y$  section, since they are identical. Note that the total area of the obscured pupil is  $4w^2 - w^2 = 3w^2$ , which must be used as a normalizing factor for the autocorrelation function. In calculating the autocorrelation function of the pupil, we shift one version of the pupil in the  $x$  direction with respect to the other version. As the shift takes place, the area of overlap drops from  $3w^2$  with no shift, linearly to  $3w^2/2$  at a shift of  $f_o/2$ . With further shift, the curve changes slope, dropping linearly to value  $w^2$  at shift  $f_o$ . Continuing shift results in no change of overlap until the shift is  $3f_o/2$ , following which the curve falls linearly to zero at  $2f_o$ . Part (a) of the figure shows the properly normalized OTF that results.
- (b) Suppose that the width of the stop is  $2w - 2\epsilon$ . The total clear area of the pupil become  $4w^2 - (2w - 2\epsilon)^2 = 8w\epsilon - 4\epsilon^2 \approx 8w\epsilon$ . As the two pupils are shifted, the overlap area quickly drops to  $2(2w - \epsilon)\epsilon \approx 4w\epsilon$  after a shift of  $\epsilon$ . The overlap then continues to drop linearly, but with a shallower slope, reaching value  $4\epsilon^2$  for a shift of  $2w - 2\epsilon$ . Continued shifting results in a rapid linear *rise* in the overlap to a value of  $2w\epsilon$  when the displacement is  $2w - \epsilon$ , following which it falls linearly to zero at displacement  $2w$ . After proper normalization, the resulting OTF is as shown in part (b) of the figure.



2. 교재 p. 170, Prob. 6-11.

The intensity transmittance is given by

$$\tau(\xi, \eta) = \frac{1}{2} [1 + \cos(2\pi \bar{f} \xi)]$$

and the object has uniform, constant phase shift. To find the amplitude transmittance, we note

$$\tau(\xi, \eta) = \cos^2 \left[ 2\pi \left( \frac{\bar{f}}{2} \right) \xi \right],$$

implying that

$$t_A(\xi, \eta) = \sqrt{\tau(\xi, \eta)} = \left| \cos \left[ 2\pi \left( \frac{\bar{f}}{2} \right) \xi \right] \right| e^{j\phi}$$

where  $\phi$  is a constant phase shift that will hereafter be dropped, and the absolute value signs are required due to the fact that the amplitude transmittance can not change sign if its phase is constant. It is clear that for incoherent illumination, the frequency of the variations of object intensity is  $\bar{f}$ . For coherent illumination, we must use the fact that the fundamental frequency of the magnitude of a cosine is twice the frequency of the cosine without absolute signs. Therefore the fundamental frequency of amplitude variations is  $\bar{f}$ . The coherent cutoff frequency is  $f_o = \frac{w}{\lambda z_i} = \frac{w}{2\lambda f}$  while the cutoff frequency in the incoherent case is  $2f_o = \frac{2w}{\lambda z_i} = \frac{w}{\lambda f}$ . Thus in the coherent case we require

$$\bar{f} \leq \frac{w}{2\lambda f},$$

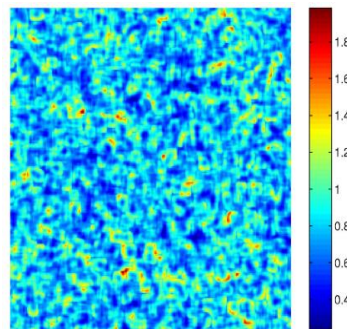
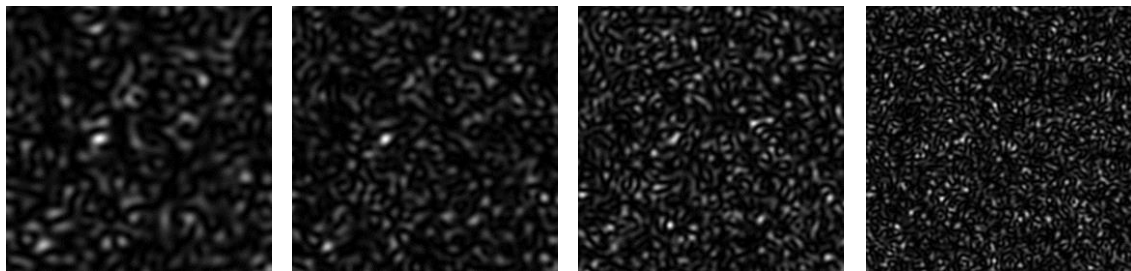
while in the incoherent case we require

$$\bar{f} \leq \frac{w}{\lambda f}.$$

Thus the frequency  $\bar{f}$  of the object can be twice as large in the incoherent case as it can be in the coherent case.

### 3. LSCI의 원리를 설명하시오.

LSCI (laser speckle contrast imaging) 기술은 가간섭성 (coherency) 를 가지는 빛 (레이저) 을 이용하여 목적으로 하는 표면 혹은 유체의 속도와 상태를 이미징하는 기술이다. 레이저 스페클 패턴이란, 가간섭성을 가지는 빛이 특정 표면 혹은 물질에서 산란된 뒤 반사되어 만드는 간섭 무늬를 말한다. 이러한 레이저 스페클 패턴은 흔히 점 (dot-shape) 모양의 패턴을 가지는데, 이러한 패턴의 평균적인 크기는 촬영에 사용되는 카메라 시스템에 배율과 조리개 값 (F-number) 그리고 파장에 따라 비례하여 증가한다. 완전히 정지해 있는 표면이 아닌, 브라운 운동 혹은 외력에 의해 움직이고 있는 분자가 존재하는 표면에 레이저를 조사할 경우, 시간에 따라 스페클 패턴이 이동하게 된다. 스페클이 이미지 센서에 노출되는 유한한 시간동안, 레이저 스페클 패턴은 산란체의 움직임 때문에 그 패턴이 뭉개져서 (blur) 기록된다. 산란체의 특성 혹은 흐르고 있는 속도에 따라 사진 상에서 뭉개지는 정도가 다르기 때문에, 우리는 이를 이용하여 간접적으로 산란체의 속도를 유추할 수 있다. 특정한 스페클 패턴을 기록한 사진 상에서 패턴이 얼마나 뭉개졌는지를 구하기 위해 사용되는 이미지 처리 방법중 하나가 바로 대조도 (contrast) 를 구하는 것이다. 대조도는 이미지 상에서 일정 크기의 사각형 윈도우를 설정한 뒤, 설정한 윈도우 안에 기록된 값들의 표준편차를 평균으로 나눈 값을 윈도우 상의 가운데 픽셀에 할당하는 것으로 구할 수 있다. 이와 비슷한 방법으로, 동영상을 녹화한 뒤, 특정 개수의 프레임을 시간적 윈도우로 설정하여 대조도를 구하는 방법도 있을 수 있다. 이와 같이 구해진 대조도를 살펴보면, 노광되는 표면의 산란체가 빠르게 움직일수록 그 값이 작게 기록된다. 근사적으로 산란체의 속도는 스페클 대조도 값의 역수의 제곱과 비례하는 관계를 가지는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 방법을 통해, 산란체의 속도를 2D 이미지로 기록할 수 있는 기술이 바로 LSCI 이다.



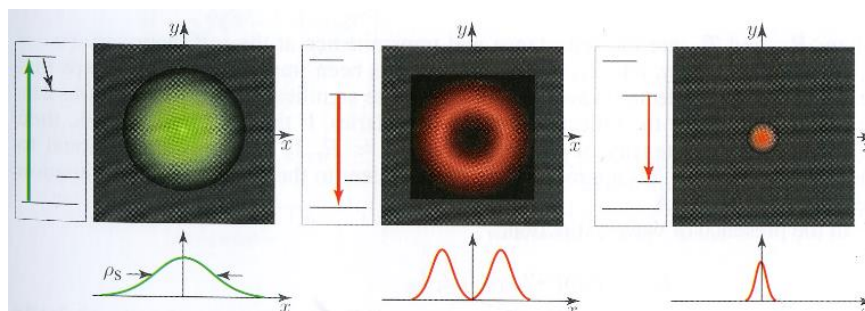
Speckle contrast computed over 7 x7 pixel region

#### 4. 2014년도 노벨화학상 수상 업적들의 내용을 설명하시오.

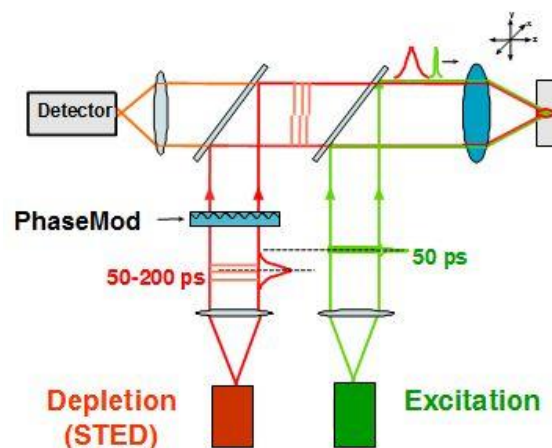
“광학 현미경으로는 가시광선 파장의 절반 정도밖에 볼 수 없다” (Ernst Abbe, 1873) 와 같이 광학 현미경의 파장 한계를 극복한 연구에 2014년도 노벨화학상이 돌아갔다. 수상자는 Eric Betzig, Stefan W. Hell, William E. Moerner 로 STED와 single molecule microscopy를 통해 상을 수상하였다.

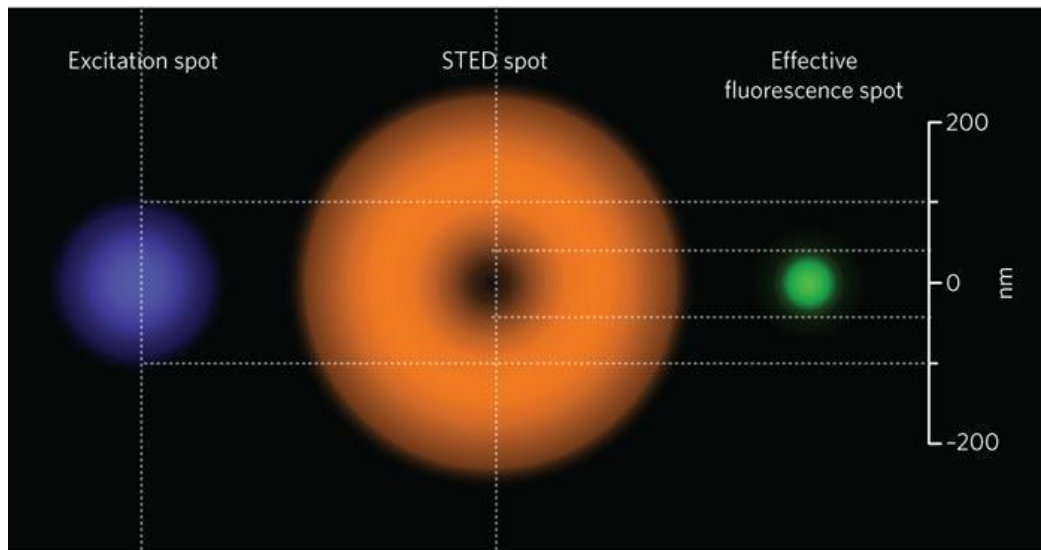
##### STED (Stimulated Emission Depletion Microscopy)

도넛 모양의 De-excitation beam을 이용하여 반응하는 형광의 크기를 줄여 해상도를 높이는 형광 현미경 방식



관측 대상인 시료에 쏘 영역의 모든 분자를 들뜨게 해 형광을 내게 한 뒤 위 그림의 가운데 그림과 같이 도넛 모양의 레이저를 통해 유도 방출을 일으켜 중심부의 작은 공간을 제외한 주변 모든 형광체가 들뜬 상태를 잃어 형광이 사라진다. 그리하여 위 그림의 오른쪽 그림과 같이 작은 중심부 공간의 형광만 관측되게 되어, 이를 이동시키면서 회절 한계를 넘어서는 해상도를 얻어낼 수 있다.





### Single molecule microscopy

초고해상도 형광 현미경은 여러 종류가 있는데, 단일 형광 분자의 관찰을 기반으로 하는 방법으론 (STORM/PALM: Stochastic Optical Reconstructino Microscopy/ Photo-Activated Localization Microscopy)방법이 있다. 보통 형광물질 들은 서로 매우 가깝게 분포하므로 실제 이미지에서는 매우 많은 수의 단일분자의 모양이 겹쳐 있어 비선형 회귀분석을 통한 중심 위치 추적이 불가능하다. 형광분자 중 일부 BME(betamercaptoethanol)나 MEA(mercaptoethylamine)같은 화학 물질이 존재하는 경우, 빛을 내지 않다가 가끔씩 빛을 내는 특징을 갖고 있다. 즉, 이 방법 을 이용하면 매우 많은 수의 형광분자가 가까이 분포하고 있다고 하더라도 적은 수의 형광분자만 빛을 내고 있기 때문에 단 일형광분자의 신호를 구별하는 것이 가능해진다. 이 경우, 다음 과 같은 과정을 거칠 수 있다. 1) 현재 빛을 내는 형광 분자의 위치를 결정하고, 2) 시간이 지나면 빛을 내던 형광분자는 빛을 내지 않게 되고 다른 형광분자가 빛을 내기 시작하면 새롭게 빛을 내는 형광분자의 위치를 결정한다. 이와 같은 과정을 계속 반복하게 되면 결국 나노미터 수준의 형광분자들의 위치 분포 를 파악하게 되고 이를 재구성하게 되면 최종적으로 기존의 형 광현미경에 비해 약 10배 정도의 정밀도를 갖는 이미지를 얻을 수 있다(그림 4, 5). 이와 같은 방법으로 고해상도 이미지를 얻 는 기술은 크게 STORM과 PALM을 들 수 있는데, 위에 설명한 것처럼 화학물질을 사용하여 형광물질을 깜박 이게 하는 방식을 이용하는 것이 STORM이고 PALM의 경우는 기존의 형광단백질 을 변형시켜서 약한 자외선이나 보라색 빛을 쬌어주면 형광의 특징이 바뀌는 광활성형광단백질(Photo-activatable fluorescent protain을 이용한다는 점이 STORM과 다를 뿐 기본적으로 같 은 원리를 이용한다. STORM의 경우는 외부에서 형광물질을 주입하기 때문에 더 밝은 형광물질을 사용할 수 있다는 장점이 있지만 살아있는 세포를 대상으로 실험하기 어렵다는 단점이 있다. 반대로 PALM은 형광단백질을 사용하기 때문에 밝기가 STORM에 비해 약하지만 살아있는 세포를 대상으로 실험하기 쉽다는 장점이 있다. 이외에도 몇 가지 다른 종류가 있지만 결 국



단일형광분자를 구별할 수 있도록 하는 방법이 다를 뿐 모두 단일형광분자를 관찰하고 위치를 결정하는 방식을 이용한다는 점에서는 동일하다.

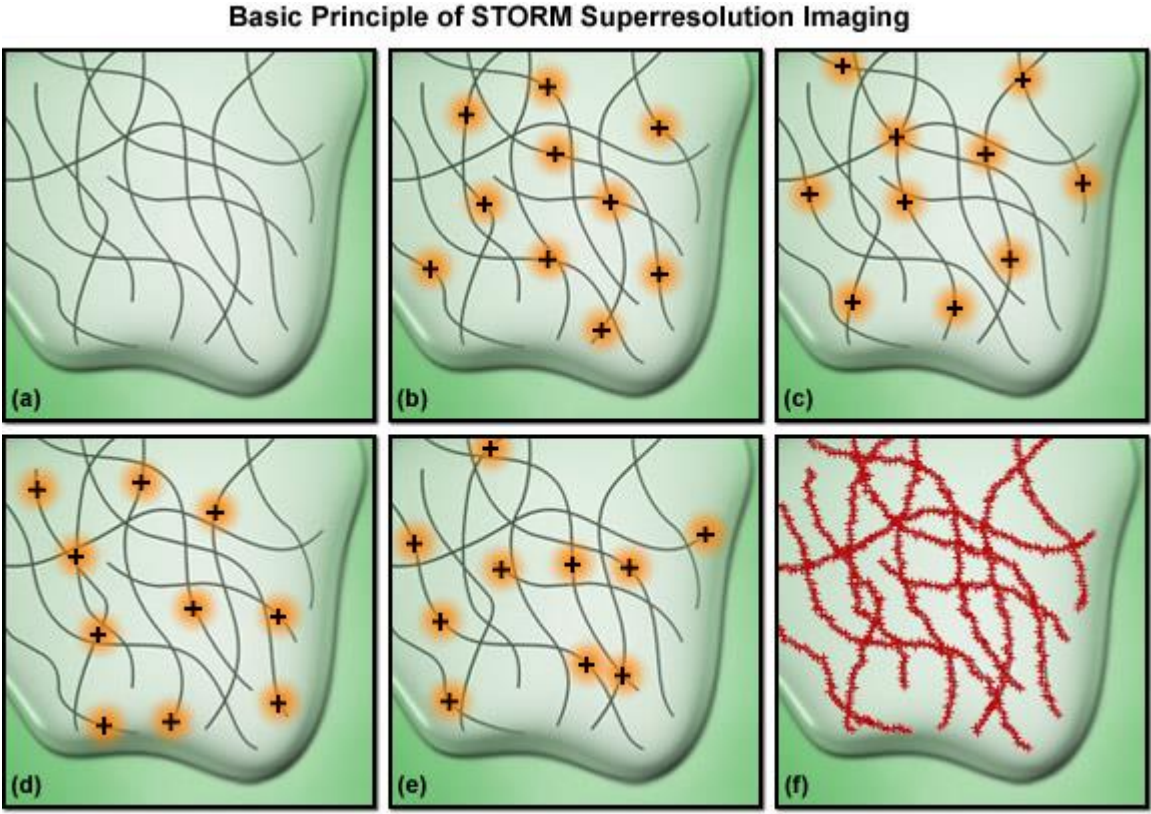


Figure 1