

# 광유전학 인공시각 장치를 위한 디지털 마이크로-미러 기반 자극 및 이미징 시스템

조성훈<sup>1\*</sup>, 엄경식<sup>1</sup>

부산대학교 전자공학과<sup>1</sup>

## Digital micro-mirror based optical stimulation and imaging system for optogenetic retinal prosthesis

Seonghoon Jo<sup>1\*</sup>, Kyungsik Eom<sup>1</sup>

Department of Electronics Engineering, Pusan National University, South Korea

\*jayjo2005@gmail.com

### Abstract

Retinal prosthesis based on optical neural stimulation has been spotlighted thanks to its high spatial and temporal resolution. Digital micromirror device (DMD) based optical stimulation systems have been used for neuromodulation due to their simple beam patterning capabilities without scanning, enabling the population of neural stimulation at the desired location. In this study, we developed a patterned illumination system for patterned stimulation of neurons using optogenetics and fluorescence imaging system to visualize the calcium signal from the activated neurons. The proposed system had a power density of up to  $4.052\text{mW}/\text{mm}^2$  and a spatial resolution of  $0.5960 \pm 0.1028 \mu\text{m}$  for imaging. In addition, it can stimulate a small area of  $10.94 \times 9.71 \mu\text{m}^2$ . This patterned optical stimulation and imaging system can serve as a neuromodulation and imaging tool for neuroscience in physiological and clinical applications.

### 1. 연구 배경

최근, 망막색소변성증, 황반변성, 스타르가르트 질환으로 대표되는 난치성 안질환으로 인해 야기된 실명 환자의 시력 회복을 위한 많은 시도가 의·공학계에서 진행되고 있다. 그 중, 전기 자극 기반 인공시각 장치는 시력 회복을 위해 많이 사용되고 있지만, 자극 시 전하가 조직에 3차원으로 퍼져 낮은 공간 해상도를 가지며 자극을 위해 전극을 몸에 침습적으로 삽입해야 하는 단점이 있다[1]. 반면, 광 자극 기반 인공시각 장치는 높은 공간 및 시간 해상도를 가지며 비침습적인 신경 자극이 가능하다는 점에서 주목받고 있다[2].

광유전학(Optogenetics) 기술은 표적 세포에 유전적으로 유도된 광민감성 이온 채널을 통해 신경 반응을 유도한다. 표적 세포, 이온 채널 및 파장을 고도로 지정하는 광유전학 기술은 신경 생리학 연구에서 다양한 신경 조절 방법의 개발을 가능하게 한다[3]. 광유전학을 통한 고해상도의 신경 자극을 위해서는 단일 세포 단위의 선택적인 신경 자극이 필요하다.

디지털 마이크로-거울 장치(digital micro-mirror device, DMD)는 다수의 마이크로 거울과 actuators로 구성되며, 마이크로 거울의 기울기를 조절하여 빛 패턴을 생성하는 기능을 하는 장치로, 그 간단한 구조와 설계 용이성으로 인해 신경 광학 장치에 널리 사용되고 있다.

본 연구진은 DMD가 내장된 디지털 라이트 프로세싱(digital light-processing, DLP) 유닛을 이용하여 광유전학적인 신경 자극을 위한 패턴 빛 자극 시스템을 개발하고자 한다. 시스템은 단일 신경 세포 단위의 빛 자극 및 기록을 목표로 한다. 단일 신경 세포 단위의 자극을 위하여, 최소한 표적 세포인 망막신경절 세포(retinal ganglion cell, RGC)의 크기( $\sim 10\mu\text{m}$ )의 작은 빛 패턴을 생성할 수 있으며 충분히 강한 파워( $> 0.2\text{mW}/\text{mm}^2(\text{ChR2})$ )를 전달할 수 있어야 한다. 본 연구진은 커스텀 DLP 유닛을 활용한 패턴 빛 자극 및 이미징 시스템을 개발하고, 성능을 검증하였다.

### 2. 연구 방법

#### 2.1. 광학 시스템 디자인

그림 1.은 패턴 자극 및 이미징 시스템의 개략도를 보여 준다. DLP 유닛(DPM-E4500MKII,  $\sim 1.2 \text{ W}$ ,  $450 \text{ nm}$ )에서 출력된 자극 광은 축소 렌즈 ML(AC254-200, Thorlabs)과 튜브 렌즈 TL1(TTL200-B, Thorlabs)를 통과하여 BS1의 dichroic mirror(FF484-FDi01-25x36)에 반사되어 샘플에 도달한다. 샘플에서 반사된 빛은 튜브 렌즈 TL2(TTL200-A, Thorlabs)를 통과하여  $1616 \times 1240$  픽셀 해상도의 CMOS 카메라(Blackfly S BFS-U3-19S4M, FLIR)에서 감지된다.

이미징 시스템은 Köhler illumination을 이용한 trans-illumination과 형광 이미징을 위한 epi-illumination으로 구성된다. Köhler illumination은 LED1( $\lambda = 780\text{nm}$ , M780L3, Thorlabs)와 두 개의 볼록 렌즈, 그리고 두 개의 슬릿으로 구성되며 샘플을 균일한 세기로 조명한다. Epi-illumination은 LED2( $\lambda = 565 \text{ nm}$ ,  $6.1\text{W}$ , SOLIS-565C, Thorlabs)을 광원으로 사용하였으며 LED2에서 나온 빛은 BS2의 필터 셋을 거쳐 샘플로 향한다.

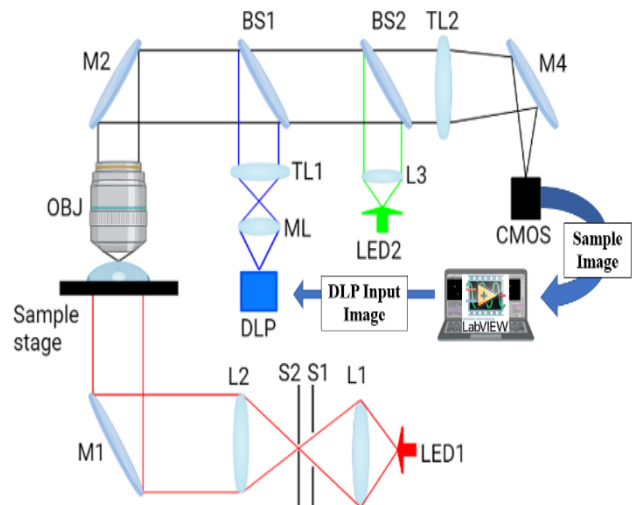


그림 1. 패턴 자극 및 이미징 시스템의 개략도

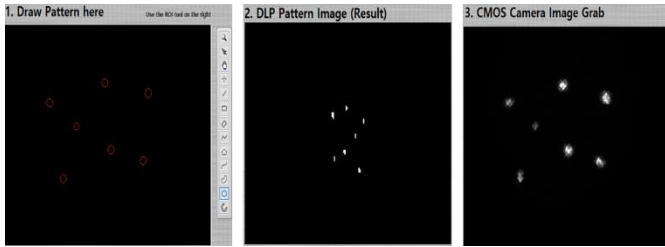


그림 2. LabVIEW 기반 자극 패턴 생성기 구동 예시: 패턴 그림 (왼쪽), DLP 인가 이미지 (가운데), 생성된 빛 패턴 (오른쪽)

## 2.2. 자극 패턴 생성

자극 패턴은 LabVIEW 기반의 자체 제작 소프트웨어를 이용하여 생성하였다. LabVIEW 프로그램으로 샘플을 실시간으로 이미징하고 샘플의 원하는 위치에 패턴을 그린 후에 DLP에 인가할 이미지를 생성한다. (그림 2.)

LabVIEW 프로그램을 통해 CMOS 카메라(1616 x 1240 픽셀, 픽셀 크기: 4.5  $\mu\text{m}$ )와 DMD(912 x 1140 픽셀, 픽셀 크기: 7.6  $\mu\text{m}$ )의 해상도 및 픽셀 크기의 차이를 고려하여 DLP에 인가할 이미지의 해상도 및 패턴의 크기를 조정하였다.

## 3. 연구 결과

### 3.1. 시스템의 이미징 성능

0.7-0.9  $\mu\text{m}$  크기의 형광 입자를 촬영하여 시스템의 공간 해상도를 구하였다. MATLAB을 이용하여 형광 입자의 point spread function(PSF)를 가우시안 피팅으로 구하고 PSF의 반치전폭(FWHM)을 계산한 결과 0.5960  $\pm$  0.1028  $\mu\text{m}$ 으로 나타났다. (그림 3. (a), (b))

### 3.2 시스템의 자극 성능

먼저, 광유전학 도구로써 자극 시스템의 사용 가능성 확인을 위해 파워 미터(PM100D, Thorlabs)와 파워 센서(S120C, Thorlabs)를 이용하여 샘플 단에서의 빛 세기를 측정하였다. 샘플 단에서의 파워 밀도는 0.4188 ~ 4.052  $\text{mW}/\text{mm}^2$ 로 나타났다.

또한, DLP를 이용하여 자극 가능한 최소 크기를 확인하기 위해 DLP에 1x1 pixel 이미지를 인가하여 생성한 패턴을 이미징 한 결과, 패턴의 최소 크기는 10.94 x 9.71  $\mu\text{m}^2$ 으로 측정되었다. (그림 3. (c), (d))

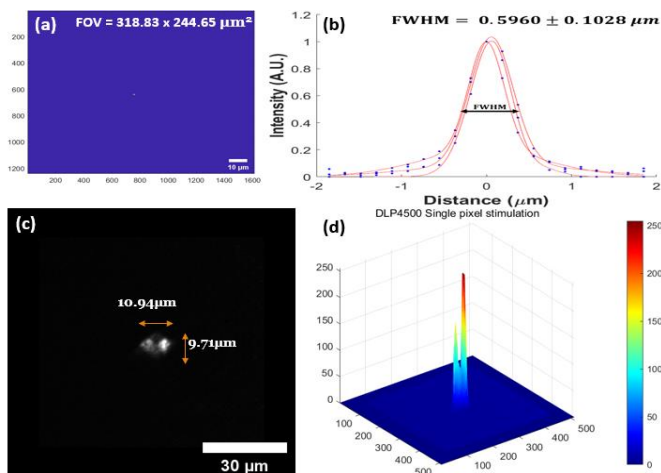


그림 3. (a) 형광 입자 이미지, (b) 형광 입자의 point spread function(PSF) (n=3), (c) 생성 가능한 최소 단위의 패턴의 이미지, (d) 해당 패턴의 intensity profile

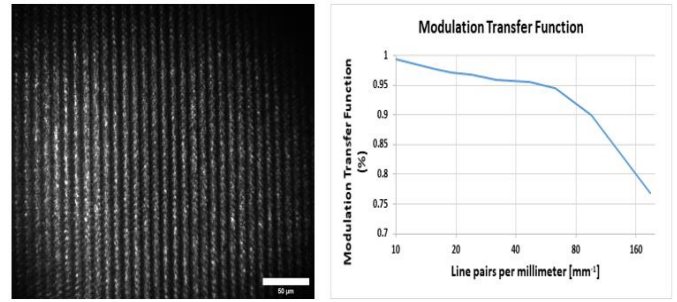


그림 4. 최대 공간 주파수 이미지: line width = 5.29  $\mu\text{m}$  (왼쪽), 자극 시스템의 modulation transfer function(MTF)

추가로, 자극 해상도를 측정하기 위하여 (식. 1)으로 modulation transfer function (MTF)를 계산하였다.

$$MTF = \frac{I_{max} - I_{min}}{I_{max} + I_{min}} \quad (\text{식. 1})$$

$I_{max}$ : 최대 빛 세기,  $I_{min}$ : 최소 빛 세기. MTF는 0에서 1의 값을 가진다. MTF는 MATLAB으로 계산하였다.

MTF 측정 결과, MTF는 0.769에서 0.995로 나타났고, line pair per millimeter가 89이하일 때(line width = 11.23  $\mu\text{m}$ ) MTF 값이 90% 이상으로 계산되었다. (그림 4.)

실험 결과 우리 시스템의 이미징 해상도는 0.5960  $\pm$  0.1028  $\mu\text{m}$ , 샘플 단에서의 파워 밀도는 0.4188 ~ 4.052  $\text{mW}/\text{mm}^2$ , 자극 가능한 최소 패턴의 크기는 약 10.94  $\mu\text{m}$ , 그리고 MTF 측정 결과 11.23  $\mu\text{m}$  이상의 라인 패턴의 MTF가 90%이상으로 나타났다. 따라서, 개발한 시스템을 활용하면 단일 신경 단위의 자극 및 이미징이 가능할 것으로 보인다. 단, MTF 계산 결과를 고려했을 때, 패턴 간의 간격이 10  $\mu\text{m}$  이내로 좁아지면 패턴의 대비(contrast) 감소 문제가 발생할 것으로 예상되며, 이 부분의 개선이 필요할 것으로 보인다.

## 4. Acknowledgements

이 성과는 2020년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단 (MSIT) (2020R1C1C1010505)과 BK21PLUS, 4차 산업혁명 ICT융합을 위한 창의적 인재 교육 및 연구프로그램의 지원을 받아 수행하였음.

## 5.참고 문헌

1. K. Eom, J. Kim, J. Choi, T. Kang, J. Chang, K. Byun, S. Jun, and S. Kim, "Enhanced Infrared Neural Stimulation using Localized Surface Plasmon Resonance of Gold Nanorods", *Small* **10**, 3853-3857 (2014).
2. H. Jung, H. Kang, and Y. Nam, "Digital micromirror based near-infrared illumination system for plasmonic photothermal neuromodulation", *Biomed. Opt. Express* **8**, 2866-2878 (2017)
3. L. Fenno, O. Yizhar, and K. Deisseroth, "The development and application of optogenetics," *Annu. Rev. Neurosci.* **34**(1), 389-412 (2011).