

★ 2026년 3월 24일(화) 조간 (온라인 3.23.(월), 낮 12:00 이후) 보도해 주시기 바랍니다.

## 보도자료



한국연구재단  
National Research Foundation of Korea

청렴한 연구지원 신뢰받는 NRF

<대외홍보실> 김윤숙 팀장, 고흥숙 연구원 ☎ 042-869-6119

<자료문의> 고려대학교 화학과 심상희 교수(02-3290-3129)

# 형광 표지 없이 분자 관찰하는 라만 현미경 개발

## - 전자 공명 유도기술로 비형광 단일 분자 관측 성공 -

- 형광 표지나 근접장 증폭 기술 없이도 분자 하나하나를 직접 관찰할 수 있는 차세대 단일 분자 라만 현미경 기술이 개발됐다.
- 한국연구재단(이사장 홍원화)은 고려대학교 심상희·우한영·박성남 교수 공동연구팀이 전자 공명 유도 라만 산란(ER-SRS)\* 기술과 비형광 분자 프로브(RANMP)\*\*를 결합해, 개별 분자의 거동을 실시간으로 확인할 수 있는 단일 분자 현미경 기술을 개발했다고 밝혔다.
  - \* 전자 공명 유도 라만 산란(ER-SRS): 레이저 주파수를 분자의 전자전이(흡수) 영역과 진동 주파수에 맞춰 라만 신호를 증폭시키는 기술
  - \*\* 비형광 분자 프로브(RANMP): 강한 라만 신호를 내고 강한 근적외선 흡수를 가지면서도 형광을 거의 내지 않도록 설계된 분자
- 이번 연구 성과는 과학기술정보통신부와 한국연구재단이 추진하는 중견연구사업 등의 지원으로 수행됐으며, 국제학술지 ‘네이처 커뮤니케이션즈(Nature Communications)’에 1월 29일 온라인 게재됐다.
- 현대 생명과학에서는 질병의 발생과 기전을 이해하기 위해 개별 분자의 거동을 직접 관찰하는 ‘단일분자 현미경’과 수십 종의 지표를 동시 분석하는 ‘초다중 이미징’ 기술이 핵심 도구로 부상했다. 특히 세포 내 다양한 분자의 위치 정보를 분석해 생체 지도를 그리는 공간 오믹스(spatial omics)\* 연구가 빠르게 발전하고 있다.

\* 공간 오믹스(Spatial Omics): 세포 내 수많은 유전자와 단백질의 위치 정보를 한번에 분석하여 생체 지도를 그리는 차세대 생명과학 기술. 주로 질병의 정밀 진단, 신약 개발, 생체 메커니즘 규명 등에 널리 활용된다.

- 그러나 기존 형광 기반 이미징 기술은 스펙트럼 대역이 넓어 동시에 구분할 수 있는 분자 수에 한계가 있다. 이를 극복하기 위해 제시된 전자 공명 유도 라만 산란 기술 또한 단일 분자 수준의 감도를 얻기 위해 결국 형광 검출 방식에 의존해야 하는 등 실용화에 제약이 따랐다.
- 이에 공동연구팀은 독자적으로 개발한 레이저 시스템과 새로운 라만 활성 분자 프로브를 결합해, 형광 검출에 의존하지 않고 단일 분자를 직접 검출하는 이미징 기술을 구현했다.
- 레이저 파장을 자유자재로 조절하는 ‘독립 튜닝 이중 레이저 시스템’과 형광을 방출하지 않는 ‘비형광 분자 프로브’를 활용해 기존 방식의 배경 신호를 효과적으로 억제했다. 그 결과 라만 신호를 200배 이상 증폭시켜 단일 분자 수준의 감도를 실험적으로 입증했다.
- 특히 라만 분광법의 높은 분별력을 활용해 1나노미터(nm) 이하의 미세한 주파수 차이를 가진 두 분자를 동시에 구분해 관찰하는 ‘이중 이미징’에 성공했다. 이는 복잡한 생체 시스템 내 여러 분자를 동시에 식별해야 하는 공간 오믹스 분야로의 높은 확장성을 보여주는 결과다.
- 이번 연구는 오랜 난제였던 ‘단일 분자 라만 신호 검출’을 해결함으로써, 형광 기반 기술의 물리적 한계를 뛰어넘는 새로운 바이오 이미징의 가능성을 제시했다는 점에서 의의가 크다.
- 연구책임자인 심상희 교수는 “분자 진동 신호로 생체분자를 구별해 기존 형광 기술의 스펙트럼 중첩 문제를 극복하고, 초고해상도 이미징의 새 지평을 열었다”라며, “향후 특정 세포 소기관 표적 기능을 결합해 살아있는 세포 내 질병 관련 분자를 정밀 추적하는 차세대 바이오 이미징 플랫폼으로 발전할 것으로 기대된다”라고 밝혔다.
- 공동연구팀은 앞으로 생체 적합성을 개선한 라만 탐침을 개발하고, 다양한 기능기를 도입한 분자 라이브러리를 구축해 초다중 단일분자 이미징 기술을 더욱 고도화할 계획이다.

# 주요내용 설명

<작성 : 고려대학교 심상희 교수>

논문명	Fluorescence-free single-molecule microscopy via electronic resonance stimulated Raman scattering
저널명	Nature Communications <a href="https://doi.org/10.1038/s41467-026-69348-6">https://doi.org/10.1038/s41467-026-69348-6</a>
키워드	Raman microscopy (라만 현미경), Single-molecule imaging (단일 분자 이미징), Multiplexed imaging (다중 이미징), Fluorescence-free detection (비형광 검출)
DOI	<a href="https://doi.org/10.1038/s41467-026-69348-6">https://doi.org/10.1038/s41467-026-69348-6</a>
저자	심상희 교수(교신저자/고려대학교), 우한영 교수(교신저자/고려대학교), 박성남 교수(교신저자/고려대학교), 오수민 박사과정(공동 제 1저자/고려대학교), 엄윤지 석사졸업(공동 제1저자/고려대학교), 김하연 박사과정(공동 제1저자/고려대학교), आयुषी त्रिपाठी(Ayushi Tripathi) (2저자/고려대학교)

## 1. 연구의 필요성

- 초다중 이미징과 분자 수준 관찰의 중요성
  - 현대 과학에서는 세포 내 수많은 유전자와 단백질을 한번에 관찰하는 초다중 이미징을 통해 복잡한 생명 현상을 정밀하게 분석하려는 노력이 계속되고 있다.
  - 특히 분자 하나의 움직임을 포착하는 단일 분자 현미경 기술은 질병의 원인을 규명하고 맞춤형 신약을 개발하는 데 필수적인 도구로 꼽힌다.
- 기존 형광 현미경의 한계: 신호 겹침과 반복적 실험 과정
  - 단일 분자 현미경 기술에 널리 쓰이는 형광 현미경은 신호 폭이 매우 넓어 (약  $1,500\text{ cm}^{-1}$ ), 한번에 3~4 가지 이상의 분자를 구분하기 어렵다.
  - 이를 해결하기 위해 형광 물질의 부착, 이미징, 세척 과정을 반복적으로 수행해야 하는 복잡한 실험 절차가 필요하다는 한계가 있다.
- 기존 라만 기술의 한계: 약한 신호와 배경 잡음 문제
  - 분자 고유의 진동을 이용하는 라만 현미경은 스펙트럼 선폭이 형광보다 100배 이상 좁아, 이론적으로는 많은 종류의 분자를 동시에 구분할

수 있는 장점이 있다.

- 그러나 라만 신호는 본질적으로 세기가 매우 약해 단일 분자 수준의 검출이 어렵다는 근본적인 한계가 있었다.
- 이러한 약한 신호를 보완하기 위해 형광 검출 방식(SREF 등)을 결합하기도 하지만, 이 경우 원치 않는 배경 신호가 발생하여 정밀한 단일분자 관찰을 방해하는 문제가 있다.
- 또한 높은 라만 활성과 강한 적외선 광흡수 및 형광 방출 특성을 가지면서도 형광 배경을 최소화하는 등 여러 광화학적 조건을 동시에 만족하는 분자 프로브를 개발하는 데에도 어려움이 있다.

## 2. 연구내용

### ○ 기존 한계를 극복한 새로운 전략: 'ER-SRS'와 'RANMP'의 결합

- 연구진은 형광 검출 없이도 분자 하나를 볼 수 있는 전자 공명 유도 라만 산란(ER-SRS) 기술을 구현하기 위해 펌프광과 스톱스광이라는 두 레이저 파장을 각각 자유자재로 조절할 수 있는 독립 튜닝 이중 OPO 레이저 시스템을 구축했다. 이를 통해 각 분자에 맞는 최적의 파장 조합을 찾아내어 신호 효율을 극대화했다.
- 형광은 라만 신호를 방해하는 배경 신호로 작용한다. 이를 해결하기 위해 연구진은 형광을 거의 내지 않으면서도 라만 신호를 많이 내는 비형광 분자 프로브(RANMP)를 개발하여 배경 신호를 근본적으로 차단했다.

\* 전자 공명 유도 라만 산란(ER-SRS): 레이저 주파수를 분자의 전자전이(흡수) 주파수 및 진동 주파수에 정밀하게 맞춰 라만 신호를 증폭시키는 기술.

\* 비형광 분자 프로브(RANMP): 강한 근적외선 흡수 및 라만 신호를 내면서도 형광을 거의 내지 않도록 설계된 분자.

### ○ 기존 연구와의 차이점: 신호 최적화 및 단일 분자 검출

- 기존에는 라만 기술로 단일 분자를 검출하기 위해서는 형광 검출에 의존하였고, 스톱스의 파장이 고정된 레이저 시스템을 활용하여 효과적인 신호 최적화가 어려웠다. 연구진은 펌프와 스톱스의 파장이 모두 조절이 가능한 레이저 시스템을 구축하였고, 효과적인 신호 최적화를 통해 단일 분자 검출에 성공하였다.

○ 주요 연구 성과 및 수치적 결과

- 단일 분자 이미징 성공: 고분자 박막 위에 고정되어 있는 1 nM 농도의 분자를 감지했으며, 한 단계로 신호가 사라지는 계단형 광표백 현상을 통해 단일 분자 수준의 감도를 입증했다.
- 단일 입자 검출 및 이중 이미징: 두 개의 입자가 임의로 섞여 있는 샘플에서 단  $17 \text{ cm}^{-1}$ 의 미세한 라만 주파수 차이를 정확히 구분하여, 서로 다른 분자를 구별해내는 이중 이미징을 구현했다.

### 3. 연구성과/기대효과

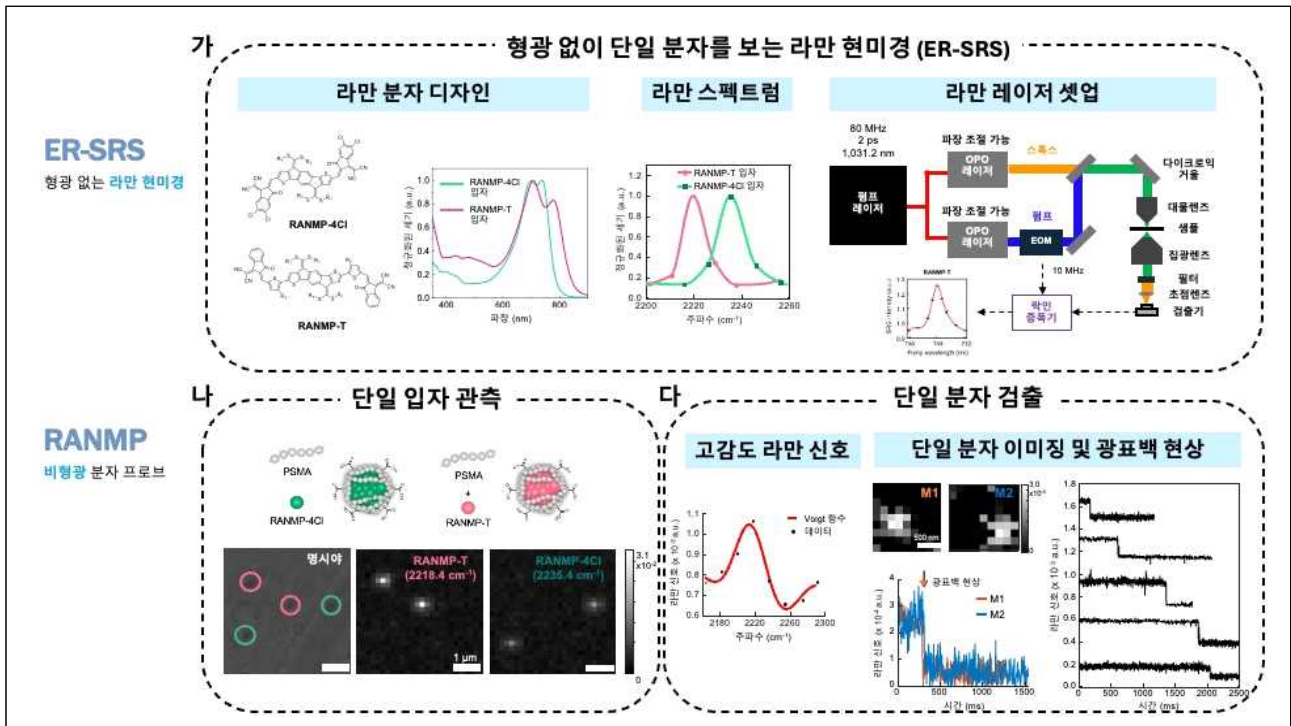
○ 학술적 의의: 형광 없이도 가능한 단일 분자 라만 검출의 실현

- 이번 연구는 그동안 기술적 한계로 여겨졌던 형광 검출 없이 단일 분자 라만 검출 기술을 최초로 구현했다는 점에서 학술적 가치가 크다.

○ 적용 및 응용 분야: 살아있는 세포 관찰부터 질병 진단까지

- 초다중 공간 오믹스: 이번 연구에서는 분자 구조를 미세하게 조절 (타이오픈 스페이서 삽입 등)하여 주파수 위치를 미세하게 바꾸는 데 성공했으며, 이는 복잡한 생체 지도를 그리는 공간 오믹스나 초고해상도 현미경 분야에 혁신적인 도구가 될 포텐셜을 보여준다.
- 세포 내 특정 소기관 정밀 관찰: 연구에 사용된 RANMP는 생물학적 탐침으로 널리 쓰이는 유기 소분자 형태이다. 여기에 미토콘드리아를 찾는 양이온 그룹이나 리소좀을 찾는 염기성 그룹 등 특정 부위를 찾아가는 성질을 결합하면, 세포 속 특정 지점을 정확히 짚어내는 표지자로 변신할 수 있다.
- 나노 입자를 활용한 생체 적용: 고분자(PSMA)로 캡슐화된 입자 형태는 형광 신호를 줄여줄 뿐만 아니라 입자 표면의 기능을 활용해 실제 살아있는 세포나 복잡한 생물학적 샘플 내에서 효율적으로 표적을 찾아낼 수 있는 경로를 제공한다.

# 그림 설명



(그림1) 전자 공명 라만 현미경 전반적인 개요

(그림1, 가) 전자 공명 라만의 배경 신호로 작용하는 형광을 억제하기 위해 새롭게 디자인된 라만 프로브(RANMP-4Cl, RANMP-T). 이 두 분자의 라만 스펙트럼은 17 cm<sup>-1</sup>의 주파수 차이가 나기 때문에 레이저 튜닝을 통해 구분 가능함. 효과적인 라만 신호 증대를 위하여 활용된 라만 레이저 셋업에서는 파장 조절이 가능한 두 대의 피코초 레이저가 동기화 되어 있음.

(그림1, 나) 분자가 응집되어 그 바깥을 고분자가 둘러싸고 고정시킨 형태의 입자. 이들을 아가로스 겔 안에 임의로 섞어 투과이미징으로 관찰하면 두 입자가 구분되지 않지만, 라만 신호로 관찰하면 명확하게 구분이 됨.

(그림1, 다) 박막 위에 고정되어 있는 1 nM 농도의 분자의 라만 스펙트럼. 1 nM은 레이저 초점 영역 내에 6개의 분자가 있는 수준임. 동일 농도에서 레이저는 고정시키고 샘플을 움직이며 단일 분자를 검출한 이미지와 그 분자의 광표백 현상. 한 단계로 떨어지는 광표백 현상은 해당 분자가 단 하나의 분자임을 입증함.

그림설명 및 그림제공 : 심상희 교수(고려대학교)

# 연구 이야기

<작성 : 고려대학교 화학과 심상희 교수>

## □ 연구를 시작한 계기나 배경은?

저는 형광을 이용한 단일 분자기반 초고해상도 이미징 연구를 해 오면서, 형광분자의 대안으로 라만 분광법 연구를 수행해 왔습니다. 2019년에 라만 신호에 형광을 결합해 단일 분자 감도를 달성한 SREF(Stimulated Raman excited Fluorescence) 기술이 보고되었고, 이에 저희는 라만 신호를 극대화할 수 있도록 분자 구조를 설계하여 SREF 신호 최적화 실험을 진행했습니다. 그러나 실험 과정에서 기대와는 달리 형광 신호가 나타나지 않는 문제가 발생했습니다.

원인을 분석한 결과, 설계한 분자가 형광을 거의 방출하지 않는 구조임을 확인하였으며, 이는 오히려 라만 신호 검출에는 유리한 특성임을 인식하게 되었습니다. 이에 형광에 의존하지 않고 라만 신호 자체를 증폭하는 방향으로 연구 전략을 전환하였고, 레이저 파장을 분자의 전자 전이 영역에 정밀하게 맞춰 라만 신호를 증폭시키는 전자 공명 유도 라만 산란(ER-SRS)을 도입하였습니다. 이러한 전략을 통해 형광 배경을 억제하면서 라만 신호를 효과적으로 증폭시켜 형광 없이도 단일 분자를 검출하는 데 성공하였습니다.

## □ 이번 성과, 무엇이 다른가?

지금까지 단일 분자 라만 이미징은 주로 신호가 강한 형광을 이용하거나, 근접장 증폭 효과를 통해 감도를 높이는 방식에 의존해 왔습니다. 그러나 형광검출 방법은 흡수, 라만산란, 형광방출의 다양한 분광학적 성질들을 모두 충족하는 형광물질에 의존하고, 근접장 증폭 기반 방법은 복잡한 나노구조 제작이 필요해 접근성이 제한적이었습니다.

반면 형광 방출과 경쟁하는 다양한 분광학적 경로들이 있어서, 형광방출이 잘 되는 물질을 만들려면 이 경로들을 다 막아야 하지만, 비형광 물질은 경쟁경로 중 하나만 활용하면 됩니다. 따라서, 비형광 물질을 만들기가 훨씬 쉽습니다. 본 연구에서는 레이저 파장을 정밀하게 조절해 분자 공명 조건을 맞추는 전자 공명 유도 라만 산란(ER-SRS) 기술을 활용하여 신호를 효과적으로 증폭하였으며, 이를 통해 형광이나 근접장 증폭 없이도 단일 분자를 직접 검출하는 데 성공하였습니다. 이는 라만 신호만으로 단일 분자 이미징을 구현한 최초의 사례로, 기존 형광 기반 기술의 한계를 넘어서는 새로운 접근법을 제시한 성과입니다.

## □ 실용화된다면 어떻게 활용될 수 있나? 실용화를 위한 과제는?

본 기술은 미세하지만 구분 가능한 진동수 차이를 가지는 여러 비형광물질을 개발해서, 초다중 공간 오믹스 분석에 활용 가능하며, 복잡한 생체 내 분자 분포를 정밀하게 지도화할 수 있습니다. 또한 미토콘드리아, 리소좀 등 특정 소기관을 선택적으로 표지하거나, 나노입자를 활용할 경우 살아있는 세포 환경으로도 확장 가능합니다. 이를 통해 향후 질병 관련 분자의 조기 검출 및 정밀 진단 기술로 활용될 잠재력이 있습니다.

다만 실용화를 위해서는 몇 가지 과제가 남아 있습니다. 단일 분자 라만 신호의 약한 특성을 극복하기 위한 레이저 시스템 및 신호 증폭 기술 확보가 필요하며, 생체 환경에서의 적용을 위해 탐침의 생체 적합성과 안정성 확보, 비특이적 결합의 최소화가 요구됩니다.