



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0059228
(43) 공개일자 2023년05월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 21/64 (2006.01) G02B 26/08 (2006.01)
G02B 3/14 (2006.01) G02B 5/08 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 21/6458 (2013.01)
G01N 21/6428 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-0143196
(22) 출원일자 2021년10월26일
심사청구일자 2021년10월26일

(71) 출원인
포항공과대학교 산학협력단
경상북도 포항시 남구 청암로 77 (지곡동)
서울대학교병원
서울특별시 종로구 대학로 101(연건동)
연세대학교 원주산학협력단
강원도 원주시 흥업면 연세대길 1
(72) 발명자
김기현
대구광역시 수성구 청호로 345, 105-1805
이중빈
경상북도 포항시 남구 청암로 77 포항공과대학교
대학원아파트 1동 505호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
박진호, 이재명, 김태완

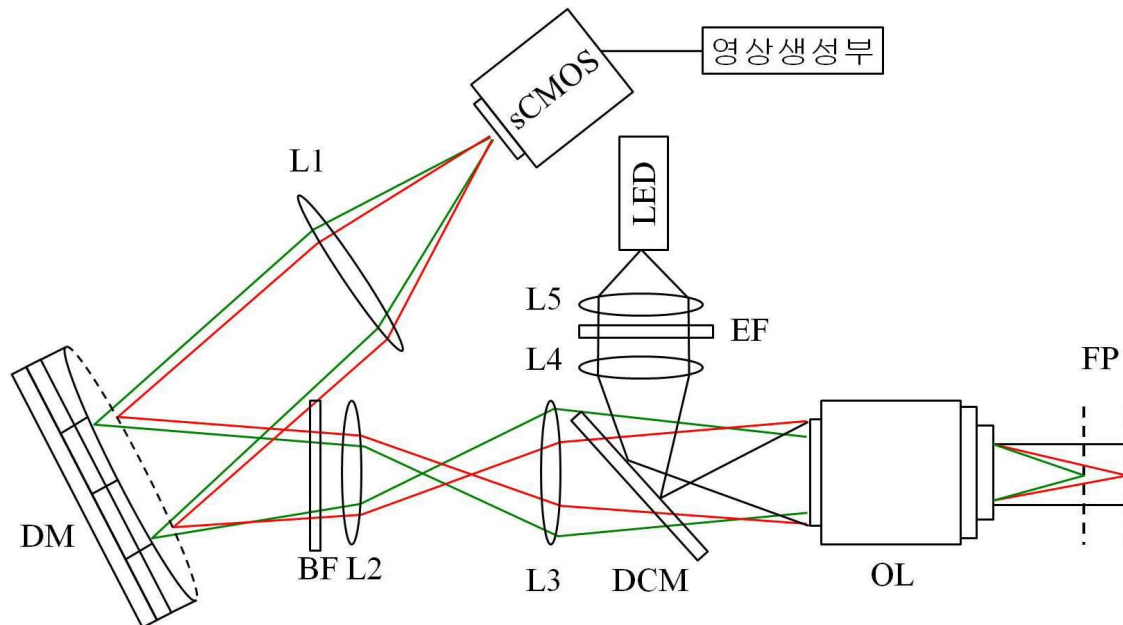
전체 청구항 수 : 총 6 항

(54) 발명의 명칭 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치 및 목시플록사신을 이용한 생체조직 표면 세포 영상검사방법

(57) 요약

본 발명은 플로오로퀴놀론계 항생제 중 하나인 목시플록사신으로 생체조직을 염색하고, 염색된 생체조직은 단광자 여기하여 형광활형하되, 능동렌즈가 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시켜 촬영유닛이 생체조직을 촬영하는 시간동안 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있도록 하는 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치 및 목시플록사신을 이용한 생체조직 표면 세포 영상검사방법 (뒷면에 계속)

대표도



포 영상검사장치 및 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사방법에 관한 것이다.

이를 위하여, 본 발명은 목시플록사신으로 염색된 생체조직을 촬영하여 세포를 검사하는 장치에 있어서, 상기 생체조직으로 빛을 조사하는 광원부와, 상기 광원부에서 조사된 빛에 의하여 형광 여기된 상기 생체조직을 촬영하는 촬영유닛과, 상기 광원부로부터 출력된 빛 또는 상기 빛에 의해 여기된 상기 플루오로퀴놀론계 항생제의 형광의 경로를 제어하는 렌즈부와, 상기 촬영유닛의 초점을 제어하는 대물렌즈와, 상기 대물렌즈와 상기 촬영유닛 사이에 배치되어, 상기 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시키는 능동렌즈와, 상기 촬영유닛에서 촬영한 생체조직의 세포영상을 영상처리하여 상기 세포영상의 전 영역이 인포커스(in-focus)된 영상을 생성하는 영상 생성부를 포함하는 것을 특징으로 하는 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치를 제공한다.

(52) CPC특허분류

G01N 21/6486 (2013.01)

G02B 26/0816 (2013.01)

G02B 3/14 (2013.01)

G02B 5/08 (2013.01)

G01N 2021/6478 (2013.01)

(72) 발명자

김성한

서울특별시 마포구 삼개로 33 (17/5), 15동 603호

윤창호

서울특별시 송파구 양재대로 1218, 올림픽선수촌아파트 115동 203호

양세정

서울특별시 강남구 선릉로 120, 8동 406호

명세서

청구범위

청구항 1

목시플록사신으로 염색된 생체조직을 촬영하여 세포를 검사하는 장치에 있어서,

상기 생체조직으로 빛을 조사하는 광원부;

상기 광원부에서 조사된 빛에 의하여 형광 여기된 상기 생체조직을 촬영하는 촬영유닛;

상기 광원부로부터 출력된 빛 또는 상기 빛에 의해 여기된 상기 플루오로퀴놀론계 항생제의 형광의 경로를 제어하는 렌즈부;

상기 촬영유닛의 초점을 제어하는 대물렌즈;

상기 대물렌즈와 상기 촬영유닛 사이에 배치되어, 상기 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시키는 능동렌즈;

상기 촬영유닛에서 촬영한 생체조직의 세포영상을 영상처리하여 상기 세포영상의 전 영역이 인포커스(in-focus)된 영상을 생성하는 영상 생성부;를 포함하며,

상기 능동렌즈는 상기 촬영유닛이 상기 생체조직을 촬영하는 시간동안 상기 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있도록 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시키는 것을 특징으로 하는 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 능동렌즈는 디포머블 미러로 구성되는 것을 특징으로 하는 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 능동렌즈는 전기식 튜닝 렌즈로 구성되는 것을 특징으로 하는 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치.

청구항 4

목시플록사신으로 염색된 생체조직을 촬영하여 세포를 검사하는 방법에 있어서,

광원부가 상기 생체조직으로 빛을 조사하는 광 조사단계;

상기 광원부에서 조사된 빛에 의하여 형광 여기된 상기 생체조직을 촬영유닛이 촬영하는 촬영단계; 및

상기 촬영유닛에서 촬영한 생체조직의 세포영상을 영상처리하여 상기 세포영상의 전 영역이 인포커스(in-focus)된 영상을 생성하는 영상 생성단계를 포함하되,

상기 촬영단계는,

상기 촬영유닛의 촬영을 시작하는 촬영시작단계;

대물렌즈와 상기 촬영유닛 사이에 배치되는 능동렌즈가 상기 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시키는 초점위치 변화단계; 및

상기 촬영유닛의 촬영을 종료하는 촬영종료단계;를 포함하고,

상기 초점위치 변화단계에서 상기 능동렌즈는 상기 촬영유닛이 상기 생체조직을 촬영하는 시간동안 상기 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있도록 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시키는 것을 특징으로 하

는 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사방법.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 초점위치 변화단계에서 상기 능동렌즈는 디포머블 미러로 구성되는 것을 특징으로 하는 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사방법.

청구항 6

제4항에 있어서,

상기 초점위치 변화단계에서 상기 능동렌즈는 전기식 튜닝 렌즈로 구성되는 것을 특징으로 하는 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치 및 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사방법에 관한 것으로, 플로오로퀴놀론계 항생제 중 하나인 목시플록사신으로 생체조직을 염색하고, 염색된 생체조직은 단광자 여기하여 형광촬영하되, 능동렌즈가 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시켜 촬영유닛이 생체조직을 촬영하는 시간동안 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있도록 하는 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치 및 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 생체조직 내 세포를 고해상도 촬영할 수 있는 광학현미경(optical microscopy)은 생물학 연구에서 사용되고 있으며, 임상에서는 안과, 피부과 검사에 활용되고 있다.

[0003] 목시플록사신을 활용하는 형광 현미경 영상법은 인체 활용 가능한 세포 단위 검사법으로 결막 표면의 술잔세포 검사, 식도, 대장 등 소화기기관 표면의 세포 구조체 검사법 등으로 활용 가능하다.

[0004] 이와 같은 생체조직 표면에서 세포 영상화를 통한 검사에서는 조직의 표면이 평평하지 않거나 기울어져 있는데, 고해상도로 촬영하는 목시플록사신 기반 현미경은 영상 심도(DOF: depth-of-field)가 낮아 한 장의 영상에 표면 전체가 초점이 맞는 인포커스(in-focus)로 촬영할 수 없다.

[0005] 이와 같은 고해상도 현미경의 얇은 영상 심도 문제를 해결하기 위하여, 확장 영상 심도 현미경(extended depth-of-field, EDOF) 기술이 위상 판(phase plate) 등을 이용하여 개발되고 있으나, 이 경우, 확장 영역이 100 마이크로미터 단위 이하에만 적용이 가능하므로 생체조직 촬영에 제한이 따르는 문제점이 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0006] (특허문헌 0001) 대한민국 등록특허공보 제10-1898220호 (발명의 명칭: 공초점 현미경 및 이를 이용한 영상 처리 방법, 공고일: 2018.09.12)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 상술한 문제를 해결하기 위하여, 본 발명은 플로오로퀴놀론계 항생제 중 하나인 목시플록사신으로 생체조직을 염색하고, 염색된 생체조직은 단광자 여기하여 형광촬영하되, 능동렌즈가 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시켜 촬영유닛이 생체조직을 촬영하는 시간동안 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있도록 하는 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치 및 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사방법

법을 제공한다.

[0008] 본 발명의 과제들은 이상에서 언급한 과제들로 제한되지 않으며, 언급되지 않는 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0009] 상술한 과제를 해결하기 위하여, 본 발명은 목시플록사신으로 염색된 생체조직을 촬영하여 세포를 검사하는 장치에 있어서, 상기 생체조직으로 빛을 조사하는 광원부와, 상기 광원부에서 조사된 빛에 의하여 형광 여기된 상기 생체조직을 촬영하는 촬영유닛과, 상기 광원부로부터 출력된 빛 또는 상기 빛에 의해 여기된 상기 플루오로퀴놀론계 항생제의 형광의 경로를 제어하는 렌즈부와, 상기 촬영유닛의 초점을 제어하는 대물렌즈와, 상기 대물렌즈와 상기 촬영유닛 사이에 배치되어, 상기 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시키는 능동렌즈와, 상기 촬영유닛에서 촬영한 생체조직의 세포영상을 영상처리하여 상기 세포영상의 전 영역이 인포커스(in-focus)된 영상을 생성하는 영상 생성부를 포함하며, 상기 능동렌즈는 상기 촬영유닛이 상기 생체조직을 촬영하는 시간동안 상기 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있도록 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시키는 것을 특징으로 하는 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치를 제공한다.

[0010] 여기서, 상기 능동렌즈는 디포머블 미러로 구성될 수 있다.

[0011] 또한, 상기 능동렌즈는 전기식 튜닝 렌즈로 구성될 수 있다.

[0012] 또한, 본 발명은 목시플록사신으로 염색된 생체조직을 촬영하여 세포를 검사하는 방법에 있어서, 광원부가 상기 생체조직으로 빛을 조사하는 광 조사단계와, 상기 광원부에서 조사된 빛에 의하여 형광 여기된 상기 생체조직을 촬영유닛이 촬영하는 촬영단계와, 상기 촬영유닛에서 촬영한 생체조직의 세포영상을 영상처리하여 상기 세포영상의 전 영역이 인포커스(in-focus)된 영상을 생성하는 영상 생성단계를 포함하되, 상기 촬영단계는 상기 촬영유닛의 촬영을 시작하는 촬영시작단계와, 대물렌즈와 상기 촬영유닛 사이에 배치되는 능동렌즈가 상기 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시키는 초점위치 변화단계와, 상기 촬영유닛의 촬영을 종료하는 촬영종료단계를 포함하고, 상기 초점위치 변화단계에서 상기 능동렌즈는 상기 촬영유닛이 상기 생체조직을 촬영하는 시간동안 상기 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있도록 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시키는 것을 특징으로 하는 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사방법을 제공한다.

[0013] 여기서, 상기 초점위치 변화단계에서 상기 능동렌즈는 디포머블 미러로 구성될 수 있다.

[0014] 또한, 상기 초점위치 변화단계에서 상기 능동렌즈는 전기식 튜닝 렌즈로 구성될 수 있다.

발명의 효과

[0015] 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치 및 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사방법은 다음과 같은 효과가 있다.

[0016] 첫째, 플루오로퀴놀론계 항생제 중 하나인 목시플록사신으로 생체조직을 염색하고, 염색된 생체조직은 단광자 여기하여 형광촬영하되, 능동렌즈가 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시켜 촬영유닛이 생체조직을 촬영하는 시간동안 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있도록 하는 이점이 있다.

[0017] 둘째, 수 백 마이크로 수준으로 확장된 영상 심도를 가짐으로써, 표면이 기울어져 있거나 불균일한 표면을 가진 생체조직에서도 원활한 표면 세포 검사가 가능한 이점이 있다.

[0018] 셋째, 한 번의 영상촬영에서 능동렌즈가 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시켜 촬영유닛이 생체조직을 촬영하는 시간 동안 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있게 됨에 따라 고속 촬영으로 넓은 영역에서 표면 세포 검사가 가능한 이점이 있다.

[0019] 넷째, 고속 촬영으로 넓은 영역에서 2차원 영상을 획득할 수 있게 됨으로써 생체조직의 술잔세포의 수를 기준으로 안구건조증과 같은 안구의 병변을 진단할 수 있게 된다.

[0020] 본 발명의 효과들은 이상에서 언급한 효과들로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 효과들은 청구범위의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

도면의 간단한 설명

[0021] 도 1은 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 일 실시예에 포함되는 구성

및 배치를 개략적으로 도시한 도면이다.

도 2는 본 발명에 따른 목시플루로사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 다른 실시예에 포함되는 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면이다.

도 3은 본 발명에 따른 목시플루로사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치를 이용하여 목시플루로사신으로 염색된 쥐의 술잔세포를 촬영한 영상 및 비교예이다.

도 4는 본 발명에 따른 목시플루로사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치를 이용하여 마이크로스코피어 샘플을 촬영한 영상 및 비교예이다.

도 5는 본 발명에 따른 목시플루로사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치를 이용하여 기울어진 타겟을 촬영한 영상 및 비교예이다.

도 6은 본 발명에 따른 목시플루로사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치를 이용하여 생체외 및 생체내 토끼의 결막 술잔세포를 촬영한 영상을 도시한 사진이다.

도 7은 본 발명에 따른 목시플루로사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사방법의 단계를 도시한 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0022] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 첨부되는 도면과 함께 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있으며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다. 명세서 전체에 걸쳐 동일 참조 부호는 동일 구성 요소를 지칭한다.
- [0023] 본 명세서에서 사용된 용어는 특정 실시예를 설명하기 위하여 사용되며, 본 발명을 제한하기 위한 것이 아니다. 본 명세서에서 사용된 바와 같이 단수 형태는 문맥상 다른 경우를 분명히 지적하는 것이 아니라면, 복수의 형태를 포함할 수 있다. 또한, 본 명세서 전체에서 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.
- [0024] 어떠한 구성 요소가 다른 구성 요소에 “연결되어” 있다거나 “접속되어” 있다고 언급된 때에는, 그 다른 구성 요소에 직접적으로 연결되어 있거나 또는 접속되어 있을 수도 있지만, 중간에 다른 구성 요소가 존재할 수도 있다고 이해되어야 할 것이다. 반면에, 어떠한 구성 요소가 다른 구성요소에 “직접 연결되어” 있다거나 또는 “직접 접속되어” 있다고 언급된 때에는, 중간에 다른 구성 요소가 존재하지 않는 것으로 이해되어야 할 것이다. 구성 요소들 간의 관계를 설명하기 위한 다른 표현들도 마찬가지로 해석되어야 한다.
- [0025] 본 명세서에서 사용되는 기술적이거나 과학적인 용어를 포함한 모든 용어들은, 다르게 정의되지 않는 한 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 갖는 것으로 해석되어야 하며, 본 명세서에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0026] 본 발명에 따른 목시플루로사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치는 목시플루로사신으로 염색된 생체조직을 촬영하여 세포를 검사하는 장치에 관한 것으로, 도 1 내지 도 6을 참조하여 본 발명에 따른 목시플루로사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치를 설명하면 다음과 같다.
- [0027] 도 1은 본 발명에 따른 목시플루로사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 일 실시예에 포함되는 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면으로, 도 1에 따르면 본 발명에 따른 목시플루로사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 일 실시예는 광원부(300), 촬영유닛(100), 렌즈부, 여기필터(EF, excitation filter), 다이크로익 미러(DCM, dichroic mirror), 방출필터(BF, emission filter), 대물렌즈(OL), 능동렌즈 및 영상 생성부(200)를 포함한다.
- [0028] 상기 광원부(300)는 플루오로퀴놀론계 항생제로 염색된 생체조직에 빛을 조사하며, 여기서 상기 생체조직을 염색하는 상기 플루오로퀴놀론계 항생제는 목시플루로사신이다.
- [0029] 이때, 상기 광원부(300)는 단광자를 출력하며, 상기 광원부(300)에서 출력되는 파장의 범위는 365nm 내지 405nm(UVA-short visible)대의 LED 광원을 여기광 광원으로 사용하는 것이 바람직하다.

- [0030] 상기 촬영유닛(100)은 상기 광원부(300)에서 조사된 빛에 의하여 형광 여기된 상기 생체조직을 촬영하며, 이때, 상기 촬영유닛(100)은 한다.
- [0031] 상기 렌즈부는 상기 광원부(300)로부터 출력된 빛 또는 상기 빛에 의해 여기된 목시플록사신 형광의 경로를 제어하며, 구체적으로 상기 렌즈부는 제1 렌즈(L1) 내지 제5 렌즈(L5)를 포함하고, 이에 대한 설명은 후술하도록 한다.
- [0032] 상기 대물렌즈(OL)는 상기 촬영유닛(100)의 초점을 제어하며, 상기 능동렌즈는 상기 대물렌즈(OL)와 함께 사용되어 초점 정도를 조절하여 상기 생체조직에 맺히는 초점 위치(도 1 및 도 2의 FP)를 조절한다.
- [0033] 즉, 상기 능동렌즈는 상기 대물렌즈(OL)와 함께 사용되어, 상기 촬영유닛(100)이 상기 생체조직을 촬영하는 시간동안 상기 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있도록 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시키는 동시에 상기 생체조직을 고속 스캔한다.
- [0034] 이때, 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 일 실시예에서 상기 능동렌즈는 디포머블 미러(DM, Deformable mirror)로 구성되고, 이에 대한 상세한 설명은 후술하도록 한다.
- [0035] 상기 영상 생성부(200)는 상기 촬영유닛(100)에서 촬영한 생체조직의 영상을 기반으로 상기 촬영유닛(100)이 촬영한 생체조직의 영상을 영상처리하여 하나의 인포커스 영상을 추출한다.
- [0036] 상기 영상 생성부(200)에서 인포커스 영상을 추출하는 과정을 설명하기 이전에, 상기 광원부(300)에서 조사되는 빛의 경로와, 상기 생체조직이 염색된 목시플록사신으로부터 여기된 형광의 경로를 설명하면 다음과 같다.
- [0037] 도 1에 도시된 바와 같이, 상기 광원부(300)에서는 단광자의 빛을 조사하며, 상기 빛은 상기 제5 렌즈(L5), 상기 여기필터(EF), 상기 제4 렌즈(L4), 상기 다이크로익 미러(DCM) 및 상기 대물렌즈(OL)를 거쳐 목시플록사신으로 염색된 상기 생체조직에 조사된다.
- [0038] 이때, 상기 제4 렌즈(L4) 및 제5 렌즈(L5)는 상기 광원부(300)와 상기 다이크로익 미러(DCM) 사이에 배치되며, 상기 제5 렌즈(L5)는 상기 광원부(300)와 상기 여기필터(EF) 사이에 배치되고, 상기 제4 렌즈(L4)는 상기 여기필터(EF)와 상기 다이크로익 미러(DCM) 사이에 배치된다.
- [0039] 상기 제4 렌즈(L4) 및 상기 제5 렌즈(L5)는 상기 광원부(300)에서 조사되는 빛의 조사 위치를 상기 대물렌즈(OL)의 초점 위치와 맞추기 위해 한 쌍으로 구성된다.
- [0040] 상기 여기필터(EF)는 상기 광원부(300)로부터 조사된 빛을 상기 생체조직을 관찰할 수 있는 파장대만 투과시킨다.
- [0041] 상기 다이크로익 미러(DCM)는 상기 제4 렌즈(L4)를 통과한 상기 빛은 상기 대물렌즈(OL) 방향으로 반사시킨다. 여기서, 상기 다이크로익 미러(DCM)은 빔 스플리터로 대체할 수 있다.
- [0042] 상술한 경로를 따라 이동한 빛은 상기 생체조직에 조사되며, 상기 생체조직에서 여기된 형광은 상기 대물렌즈(OL), 상기 제3 렌즈(L3), 상기 제2 렌즈(L2), 상기 방출필터(BF), 상기 디포머블 미러(DM), 제1 렌즈(L1)를 거쳐 상기 촬영유닛(100)이 상기 생체조직의 영상을 촬영한다.
- [0043] 상기 제2 렌즈(L2) 및 상기 제3 렌즈(L3)는 상기 대물렌즈(OL)를 거쳐 상기 디포머블 미러(DM)로 이동하는 형광의 크기를 조절하며, 즉, 상기 디포머블 미러(DM)의 구멍(aperture)으로 들어가는 형광의 크기를 상기 구멍의 크기에 맞게 조절하도록 한 쌍으로 구성된다.
- [0044] 이후, 상기 방출필터(BF)를 통과한 형광은 상기 디포머블 미러(DM)에서 반사하게 되는데, 이때, 상기 디포머블 미러(DM)는 상기 형광의 초점 정도를 조절하여 초점 위치를 조절한다.
- [0045] 이는, 상기 촬영유닛(100)이 상기 생체조직을 촬영할 때, 상기 생체조직의 형상이 굴곡지게 형성됨에 따라, 상기 생체조직의 형상에 의한 상기 생체조직의 높이차로 인해 초점이 맺히는 영역(인포커스 영역)이 달라져, 하나의 영상에 표면 전체를 인포커스로 촬영할 수 없게 된다.
- [0046] 이러한 문제를 해결하기 위하여, 상기 대물렌즈(OL)와 상기 촬영유닛(100) 사이에 상기 디포머블 미러(DM)를 배치하여 수 백 마이크론 수준으로 확장된 영상 심도를 가지도록 함으로써, 표면이 기울어져 있거나 불균일한 표면을 가진 생체조직에서도 원활한 표면 세포 검사가 가능하도록 한다.
- [0047] 여기서, 상기 디포머블 미러(DM)는 얇고 휘어지는 거울 면에 영역별로 수십개의 액추에이터가 부착되고, 상기

액추에이터가 개별적으로 구동되어 상기 형광이 반사되는 상기 거울 면의 여러 부분을 각 영역별로 서로 다른 높이를 가지도록 조절한다.

- [0048] 상기 디포머블 미러(DM)의 상기 거울 면의 형상을 변형시킴으로써 상기 디포머블 미러(DM)를 볼록렌즈나 오목렌즈 형상으로 변화시켜, 상기 디포머블 미러(DM)가 중립상태, 즉, 평면상태를 기준으로 상기 거울 면의 형상을 변화시켜 상기 촬영유닛(100)에 찍히는 상기 생체조직 중 초점이 맞는 초점면을 변화시킨다.
- [0049] 이때, 상기 촬영유닛(100)이 상기 생체조직을 촬영하여 한 장의 영상을 획득하는 시간(10 내지 30 ms(millisecond))동안 상기 디포머블 미러(DM)는 상기 거울 면의 형상을 고속으로 변형시켜 초점면을 고속 스캐닝 함으로써, 상기 생체조직의 전체 영역을 인포커스된 상태로 촬영되도록 한다.
- [0050] 즉, 상기 디포머블 미러(DM)의 거울 면이 변형되는데에 소요되는 시간은 최소 1ms 이하이며, 이에 따라 상기 생체조직을 촬영하여 한 장의 영상을 획득하는 시간(10 내지 30 ms(millisecond))동안 상기 디포머블 미러(DM)가 최대 30번 이상 변형되어 생체조직의 서로 다른 영역별로 초점면에 맞게 모두 촬영함으로써 생체조직의 전 영역을 인포커스 상태로 고속 스캐닝할 수 있게 된다.
- [0051] 상기 제1 렌즈(L1)는 상기 디포머블 미러(DM)로부터 반사된 상기 형광이 이미지 센서로 구성된 상기 촬영유닛(100)으로 이동하는 과정에서, 상기 형광을 모아주는 역할을 수행하는 튜브렌즈로 구성된다.
- [0052] 상기 영상 생성부(200)는 상기 촬영유닛(100)에서 촬영한 생체조직의 세포영상을 영상처리하여 상기 세포영상의 전 영역이 인포커스(in-focus)된 인포커스 영상을 생성하며, 상기 영상 생성부(200)에서 상기 인포커스 영상을 생성하는 상세 설명은 다음과 같다.
- [0053] 상기 촬영유닛(100)에서 촬영한 세포영상은 상기 생체조직 표면의 인포커스 및 아웃포커스 정보가 중첩되어 포함됨에 따라, 상기 세포영상의 전체 영역에서 높은 배경신호를 가져 흐리게 나타난다.
- [0054] 상기 세포영상이 높은 배경신호를 가지는 이유는, 점 퍼짐 함수(point spread function)가 인포커스때와 아웃포커스때의 누적으로 배경신호가 높아졌기 때문이다.
- [0055] 따라서, 상기 영상 생성부(200)는 디콘볼루션(Deconvolution) 영상처리법을 사용하여, 점 퍼짐 함수의 영향을 제거함으로써 상기 세포영상의 전체 영역에서 인포커스된 생체조직을 확인할 수 있도록 인포커스 영상을 생성한다.
- [0056] 여기서, 디콘볼루션 영상처리법은 선명한 이미지가 특정 점 퍼짐 함수와 콘볼루션(Convolution)되어 있어서 영상이 흐리게 되었다고 가정하고, 선명한 이미지로 돌려 놓는 알고리즘이다.
- [0057] 즉, 이미지에서 모든 형태의 신호 손상을 콘볼루션이라고 하며, 디콘볼루션은 원본 데이터를 손상시키지 않고 콘볼루션을 제거하는 프로세스이다. 이때, 상기 디콘볼루션 영상처리법은 Wiener deconvolution 방식, Richardson-Lucy deconvolution 방식으로 수행될 수 있다.
- [0058] 결과적으로, 목시플루오로사신으로 생체조직을 염색하고, 염색된 생체조직은 단광자 여기하여 형광촬영하되, 디포머블 미러(DM)가 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시켜 촬영유닛(100)이 생체조직을 촬영하는 시간동안 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있도록 한다.
- [0059] 또한, 기존의 영상 심도 현미경과 비교하여 수 백 마이크로 수준으로 확장된 영상 심도를 가짐으로써, 표면이 기울어져 있거나 불균일한 표면을 가진 생체조직에서도 원활한 표면 세포 검사가 가능하며, 한 번의 영상촬영에서 디포머블 미러(DM)가 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시켜 촬영유닛(100)이 생체조직을 촬영하는 시간 동안 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있게 됨에 따라 고속 촬영으로 넓은 영역에서 표면 세포 검사가 가능하게 된다.
- [0060] 즉, 상술한 과정을 통해 생체조직의 3차원 영상이 아닌 2차원 영상을 획득하며, 이에 따라 3차원 영상을 획득할 때와 비교하여 짧은 촬영시간 및 영상 생성시간이 소요되므로, 고속 촬영으로 넓은 영역에서 2차원 영상을 획득할 수 있게 됨으로써 생체조직의 결막 술잔세포의 수를 기준으로 안구건조증과 같은 안구의 병변을 진단할 수 있게 된다.
- [0061] 도 2는 본 발명에 따른 목시플루오로사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 다른 실시예에 포함되는 구성 및 배치를 개략적으로 도시한 도면으로, 도 2에 따르면 본 발명에 따른 목시플루오로사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 일 실시예는 광원부(300), 촬영유닛(100), 렌즈부, 여기필터(EF, excitation filter), 다이크로익 미러(DCM, dichroic mirror), 방출필터(BF, emission filter), 대물렌즈(OL), 능동렌즈 및 영상 생성부

(200)를 포함한다.

- [0062] 상기 광원부(300), 상기 촬영유닛(100), 상기 대물렌즈(OL), 상기 여기필터(EF), 상기 방출필터(BF), 상기 다이크로익 미러(DCM) 및 상기 영상 생성부(200)는 상술한 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 일 실시예에서 설명한 광원부(300), 촬영유닛(100), 대물렌즈(OL), 여기필터(EF), 방출필터(BF), 다이크로익 미러(DCM) 및 영상 생성부(200)와 동일하므로, 이에 대한 설명은 생략한다.
- [0063] 상기 렌즈부는 상기 광원부(300)로부터 출력된 빛 또는 상기 빛에 의해 여기된 목시플록사신 형광의 경로를 제어하며, 구체적으로 상기 렌즈부는 제1 렌즈(L1) 내지 제3 렌즈(L3)를 포함하고, 이에 대한 설명은 후술하도록 한다.
- [0064] 상기 능동렌즈는 상기 대물렌즈(OL)와 함께 사용되어, 상기 촬영유닛(100)이 상기 생체조직을 촬영하는 시간동안 상기 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있도록 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시키는 동시에 상기 생체조직을 고속 스캔한다.
- [0065] 이때, 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 다른 실시예에서 상기 능동렌즈는 전기식 튜닝 렌즈(ETL, Electrically Tunable Lens)로 구성되고, 이에 대한 상세한 설명은 후술하도록 한다.
- [0066] 도 2에 도시된 바와 같이, 상기 광원부(300)에서는 단광자의 빛을 조사하며, 상기 빛은 상기 제3 렌즈(L3), 상기 여기필터(EF), 상기 제2 렌즈(L2), 상기 다이크로익 미러(DCM) 및 상기 대물렌즈(OL)를 거쳐 목시플록사신으로 염색된 상기 생체조직에 조사된다.
- [0067] 여기서, 상기 제3 렌즈(L3) 및 상기 제2 렌즈(L2)는 상술한 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 일 실시예에서 제5 렌즈(L5) 및 제4 렌즈(L4)와 동일하므로, 이에 대한 설명은 생략한다.
- [0068] 상술한 경로를 따라 이동한 빛은 상기 생체조직에 조사되며, 상기 생체조직에서 여기된 형광은 상기 대물렌즈(OL), 상기 제1 렌즈(L1), 상기 전기식 튜닝 렌즈(ETL) 및 방출필터(BF)를 거쳐 상기 촬영유닛(100)이 상기 생체조직의 영상을 촬영한다.
- [0069] 상기 제1 렌즈(L1)는 상기 대물렌즈(OL)로부터 이동하는 형광이 이미지 센서로 구성된 상기 촬영유닛(100)으로 이동하는 과정에서, 상기 형광을 모아주는 역할을 수행하는 튜브렌즈로 구성된다.
- [0070] 상기 제1 렌즈(L1)를 통과한 상기 형광은 상기 전기식 튜닝 렌즈(ETL)를 통과하며, 이때, 상기 전기식 튜닝 렌즈(ETL)는 상기 형광의 초점 정도를 조절하여, 상기 생체조직에 맺히는 초점 위치를 조절한다.
- [0071] 상기 전기식 튜닝 렌즈(ETL)는 일정 전류를 흘려주면 볼록 또는 오목한 형상을 만들어주는 액체를 이용하여 렌즈의 형상을 가변한다.
- [0072] 이때, 상기 전기식 튜닝 렌즈(ETL)에 전류를 연속적으로 흘려주어 상기 전기식 튜닝 렌즈(ETL)를 볼록렌즈 형태로부터 오목렌즈 형태로 연속적으로 변화시켜, 상기 전기식 튜닝 렌즈(ETL)가 중립상태, 즉, 평면상태를 기준으로 상기 전기식 튜닝 렌즈(ETL)의 형상을 변화시켜 상기 촬영유닛(100)에 찍히는 상기 생체조직 중 초점이 맞는 초점면을 변화시킨다.
- [0073] 여기서 상기 전기식 튜닝 렌즈(ETL)는 인가된 전기장에 따라 광학적 특성이 변화하여 초점면을 가변시키는 리퀴드 크리스탈 튜너블 렌즈(Liquid Crystal Tunable Lenses), 섞이지 않는 유체의 메니스커스를 이용하여 초점면을 가변시키는 렌즈(예: Electrically or electro-mechanically shaped meniscus lenses), 캡슐화된 유체가 피스톤에 연결되고, 피스톤을 이용하여 캡슐에 외압을 가해 유체의 형상을 변형시켜 초점면을 가변시키는 렌즈(예: Electro-mechanically shaped encapsulated-fluid lenses), 외부 펌프, 전자기 액추에이터, 유전체 엘라스토머, 전기변형 폴리머 액추에이터, 압전 액추에이터를 사용하거나 또는 지퍼효과 및 유체의 열팽창을 이용하여 유체의 형상을 변형시킴으로써 초점면을 가변시키는 렌즈(예: Hydraulically shaped lenses), 피브러이드(PVD) 젤로 구성된 엘라스토머 렌즈(예: Electrically deformed elastomeric lens), 외부모터를 작동시키거나, 정전기, 압전, PE멤브레인 등을 이용하여 유체의 형상을 변형시킴으로써 초점면을 가변시키는 렌즈(예: Electro-mechanically shaped elastomeric lenses) 중 하나로 선택적으로 구성될 수 있다.
- [0074] 이때, 상기 촬영유닛(100)이 상기 생체조직을 촬영하여 한 장의 영상을 획득하는 시간(10 내지 30 ms(millisecond))동안 상기 전기식 튜닝 렌즈(ETL)는 상기 거울 면의 형상을 고속으로 변형시켜 초점면을 고속

스캐닝 함으로써, 상기 생체조직의 전체 영역이 초점이 맞는 영역, 즉 인포커스 영역이 전체적으로 촬영되도록 한다.

- [0075] 이후, 상기 형광은 상기 방출필터(BF)를 거쳐 상기 촬영유닛(100)에 도달한다.
- [0076] 이 외, 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 다른 실시예의 상세 설명은 상술한 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 일 실시예와 동일하므로, 이에 대한 설명은 생략한다.
- [0077] 도 3은 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치를 이용하여 목시플록사신으로 염색된 쥐의 술잔세포를 촬영한 영상 및 비교예이다.
- [0078] 도 3의 (a)은 쥐의 술잔세포를 일반 현미경으로 촬영한 영상으로, 영상 심도(depth-of-field, DOF)가 얇아 일부 영역은 인포커스 되고, 나머지 영역은 아웃포커싱 된 상태에서 영상이 촬영된 것을 확인할 수 있다.
- [0079] 도 3의 (b)는 쥐의 술잔세포를 촬영한 영상이며, 능동 렌즈를 튜브렌즈로 사용한 초점 이송 시스템으로 촬영한 영상이다.
- [0080] 이때, 한 번의 카메라 노출시간 동안 영상의 전 영역에서 인포커스 정보를 획득할 수 있으나, 아웃포커스 정보도 중첩되어 획득하게 되므로, 높은 배경 신호로 인해 영상이 흐리게 나타나는 것을 확인할 수 있다.
- [0081] 도 3의 (c)은 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치를 이용하여 쥐의 술잔세포를 촬영한 영상으로, 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치하여 생체조직을 촬영하고 디콘볼루션 영상처리를 통해, 생체조직의 모든 영역이 인포커스 된 인포커스 영상을 확인할 수 있다.
- [0082] 도 4는 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치를 이용하여 마이크로스피어 샘플을 촬영한 영상 및 비교예이다.
- [0083] 도 4의 (a)은 왼쪽은 일반 현미경으로 촬영한 마이크로스피어 샘플 영상이고 (b)는 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치로 촬영한 마이크로스피어 샘플 영상으로, (Scale bar: 20um, 마이크로스피어의 지름: 2um) 일반 현미경에 비해 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 DOF가 기존 30um수준에서 900um까지 확장되는 것을 확인하였으며, 도 4에서 각 화살표는 서로 같은 위치에 있는 마이크로스피어를 나타내고, 기존의 일반 현미경으로 촬영 한 영상에서는 DOF가 얇아 DOF 범위를 벗어나는 곳의 마이크로스피어가 보이지 않는 상황이 발생하였으나, 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치로 촬영한 영상에서는 모든 영역의 마이크로스피어가 인포커스되는 것을 확인할 수 있다.
- [0084] 도 5는 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치를 이용하여 기울어진 타겟을 촬영한 영상 및 비교예이다.
- [0085] 도 5의 (a)은 일반 현미경으로 촬영한 기울어진 타겟 영상이고, (b)는 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치로 촬영한 기울어진 타겟 영상으로, 일반 현미경에서 약 30um 범위의 영상 심도가 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치에서는 900um정도로 확장된 것을 확인할 수 있다.
- [0086] 도 6은 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치를 이용하여 생체외 및 생체내 토끼의 결막 술잔세포를 촬영한 영상을 도시한 사진이다.
- [0087] 도 6의 (a)는 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 일 실시예를 사용하여, 생체외(ex-vivo) 토끼의 결막 술잔세포(Conjunctival Goblet Cell, CGC)를 촬영한 영상이고, 도 6의 (b)는 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 일 실시예를 사용하여, 생체내(in-vivo) 토끼의 결막 술잔세포를 촬영한 영상이다.
- [0088] 이는, 토끼의 눈과 인간의 눈과 유사하므로, 안과와 관련한 연구에 널리 사용되며, 이에 따라 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치가 토끼의 결막 술잔세포의 생체외 및 생체내 촬영이 모두 가능한 것을 확인하기 위함이다.
- [0089] 도 6의 도시와 같이, 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 일 실시예는 토끼의 결막 술잔세포를 생체외 및 생체내 조건에서 모두 촬영가능하며, 따라서, 토끼의 안구 결막에 균일하게 분

포된 결막 술잔세포를 확인할 수 있다.

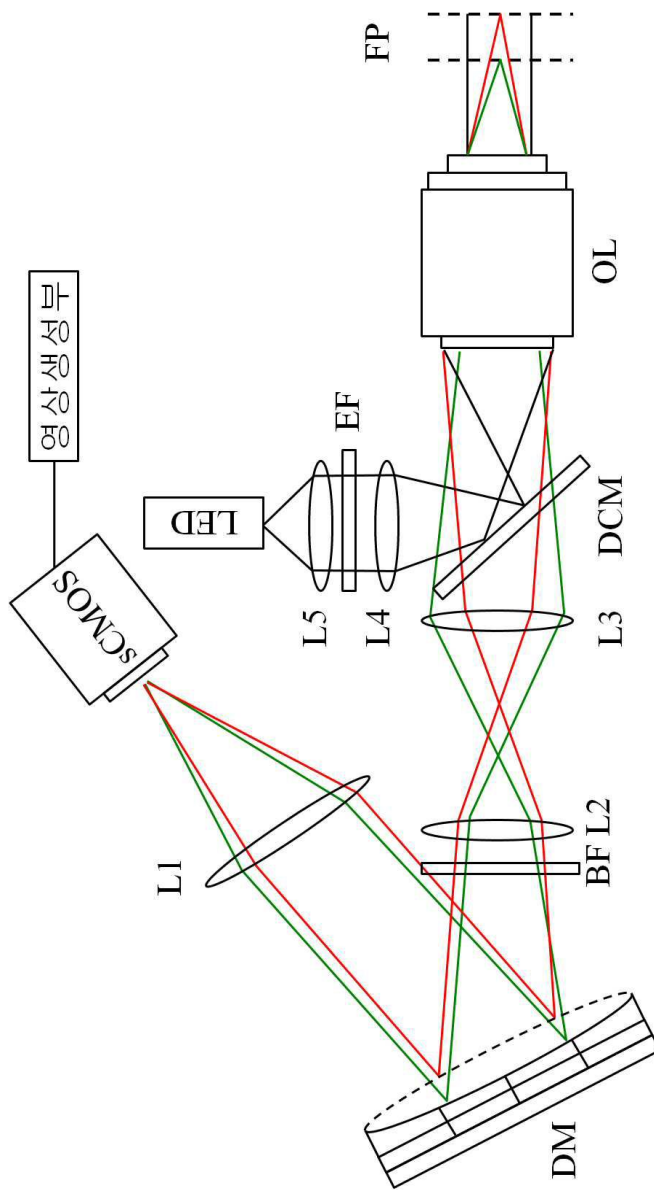
- [0090] 도 7은 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사방법의 단계를 도시한 도면으로, 도 7에 도시된 바와 같이, 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사방법은 목시플록사신으로 염색된 생체조직을 촬영하여 세포를 검사하며, 이를 위하여 광 조사단계(S100), 촬영단계(S200) 및 영상 생성단계(S300)를 포함한다.
- [0091] 상기 광 조사단계(S100)에서는 상기 광원부가 목시플록사신으로 염색된 상기 생체조직으로 빛을 조사한다.
- [0092] 상기 촬영단계(S200)에서는 상기 광원부에서 조사된 빛에 의하여 형광 여기된 상기 생체조직을 촬영유닛이 촬영하며, 구체적으로 상기 촬영단계(S200)는 촬영시작단계(S210), 초점위치 변화단계(S220) 및 촬영종료단계(S230)를 포함한다.
- [0093] 상기 촬영시작단계(S210)에서는 상기 촬영유닛의 촬영을 시작한다.
- [0094] 상기 초점위치 변화단계(S220)에서는 상기 촬영유닛의 촬영이 진행되는 시간동안 상기 능동렌즈가 상기 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시킨다.
- [0095] 상기 촬영종료단계(S230)에서는 상기 촬영유닛의 촬영을 종료한다.
- [0096] 즉, 상기 촬영유닛의 촬영시작 및 촬영종료 사이에 시간 내에 상기 초점위치 변화단계(S220)가 수행되며, 상기 촬영유닛이 상기 생체조직을 촬영하는 시간동안 상기 능동렌즈는 상기 생체조직의 전 영역의 인포커스 정보를 획득할 수 있도록 생체조직에 맺히는 초점위치를 변화시킨다.
- [0097] 이후, 상기 영상 생성단계(S300)에서는 상기 촬영유닛에서 촬영한 생체조직의 세포영상을 상기 영상 생성부(200)가 영상처리하여 상기 세포영상의 전 영역이 인포커스(in-focus)된 영상을 생성한다.
- [0098] 이 외, 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사방법의 상세 설명은 상술한 본 발명에 따른 목시플록사신을 이용한 생체조직표면 세포 영상검사장치의 설명과 대응되므로 생략한다.
- [0099] 상술한 바와 같이 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예에 대하여 도시하고 설명하였지만, 본 발명은 상술한 특징의 실시예에 한정되지 아니하며, 특허청구범위에서 청구하는 본 발명의 요지를 벗어남이 없이 당해 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 다양한 변형실시가 가능한 것은 물론이고, 이러한 변형실시예들은 본 발명의 기술적 사상이나 전망으로부터 개별적으로 이해되어서는 안 될 것이다.

부호의 설명

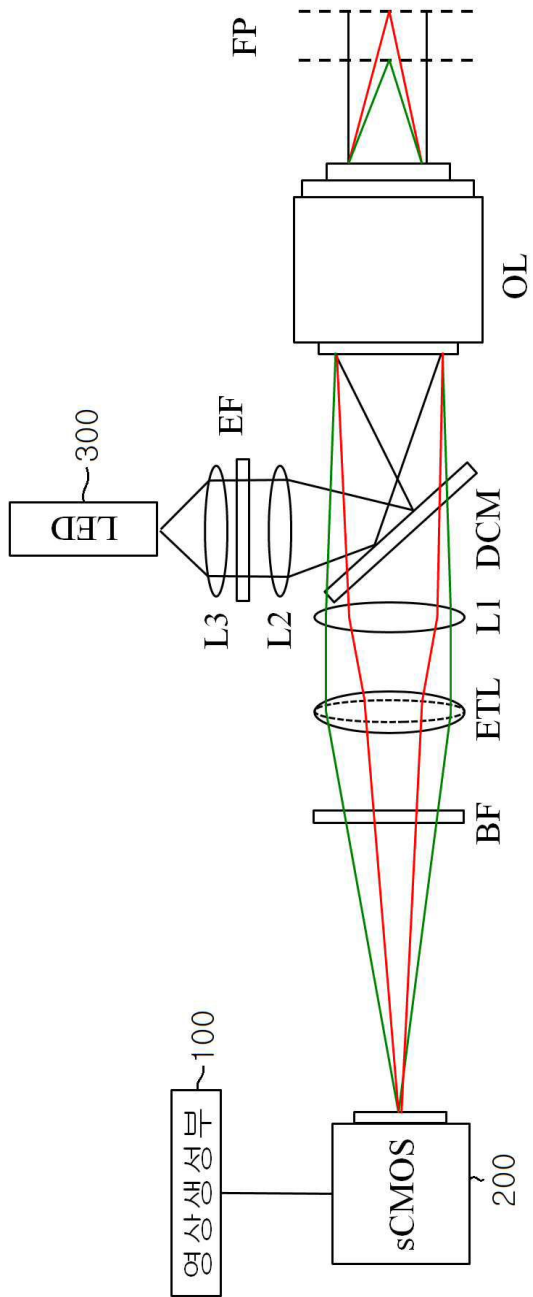
- [0100] 100: 촬영유닛
200: 영상 생성부
300: 광원부
L1: 제1 렌즈
L2: 제2 렌즈
L3: 제3 렌즈
L4: 제4 렌즈
L5: 제5 렌즈
OL: 대물렌즈
EF: 여기필터
BF: 방출필터
DCM: 다이크로익 미러
DM: 디포머블 미러
ETL: 전기식 튜닝 렌즈

도면

도면1

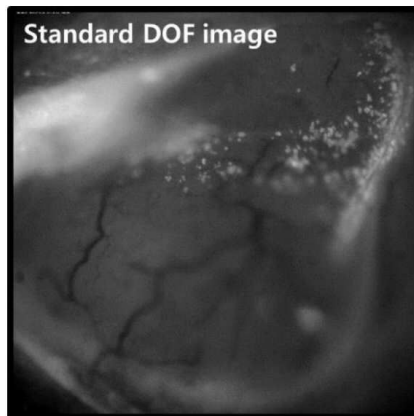


도면2

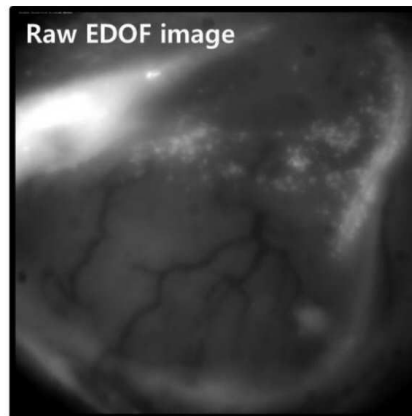


도면3

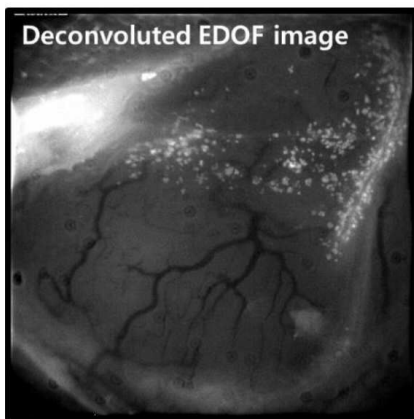
(a)



(b)

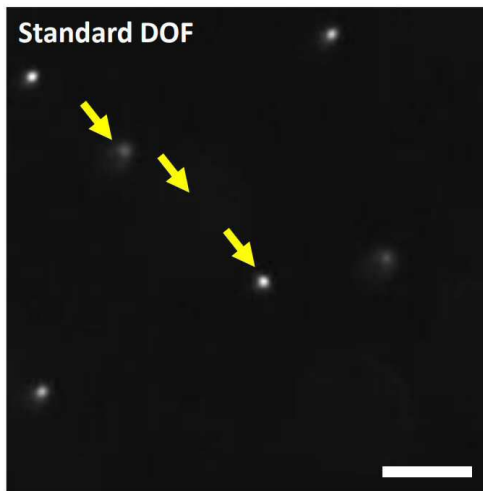


(c)

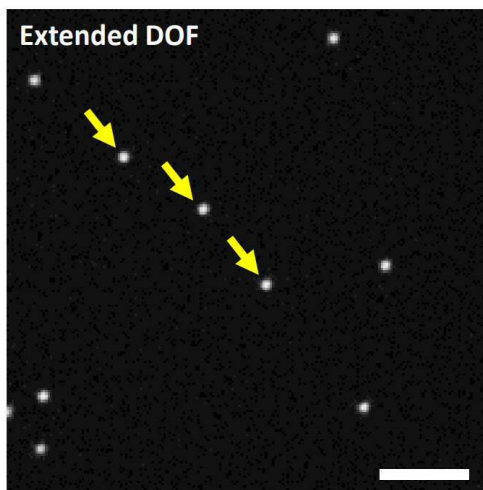


도면4

(a)



(b)

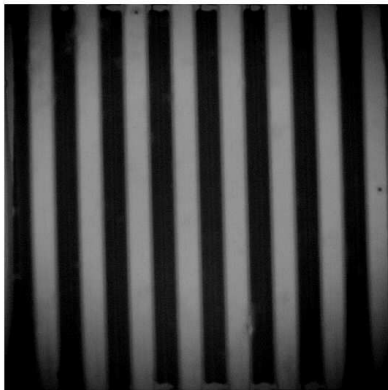


도면5

(a)

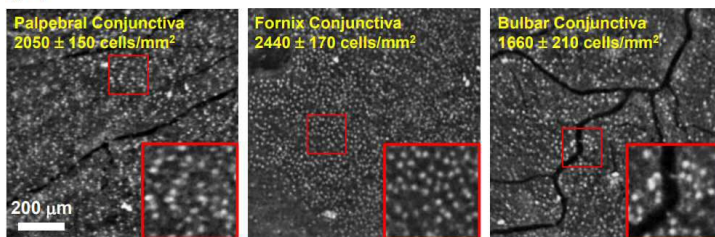


(b)

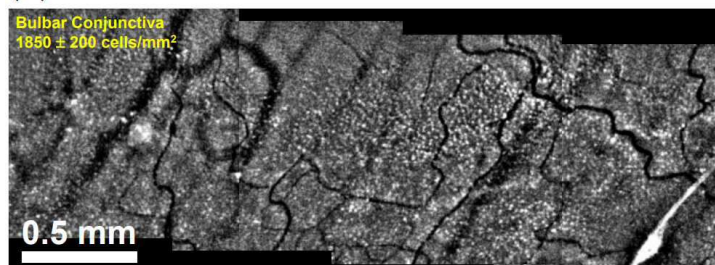


도면6

(a)



(b)



도면7

