



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2013년05월06일
(11) 등록번호 10-1260051
(24) 등록일자 2013년04월25일

- | | |
|---|--|
| <p>(51) 국제특허분류(Int. Cl.) <i>G01N 21/64</i> (2006.01) <i>G01N 33/483</i> (2006.01)</p> <p>(21) 출원번호 10-2012-0009129</p> <p>(22) 출원일자 2012년01월30일 심사청구일자 2012년01월30일</p> <p>(56) 선행기술조사문헌 JP2011186182 A JP10201707 A JP2010085826 A</p> | <p>(73) 특허권자 한국화학연구원 대전광역시 유성구 가정로 141 (장동)</p> <p>(72) 발명자 이강택 대전광역시 유성구 지족동 열매마을 3단지 307-402 서영덕 대전광역시 유성구 도룡동 385-14 더포엠Ⅱ802호 남상환 대전광역시 유성구 신성동 146-6 살롬빌 202호</p> <p>(74) 대리인 이원희</p> |
|---|--|

전체 청구항 수 : 총 10 항

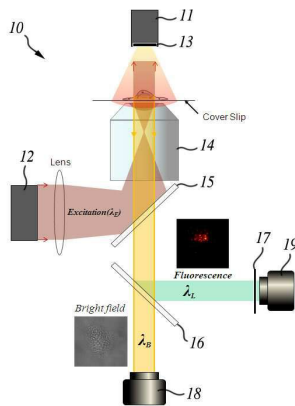
심사관 : 차영란

(54) 발명의 명칭 **살아있는 세포에 대한 명시야 이미징 및 형광 이미징의 동시 수행이 가능한 세포 이미징 장치 및 방법**

(57) 요약

본 발명은 살아있는 세포에 대한 이미지를 획득하는(live-cell imaging) 이미징 장치 및 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따르면, 종래, 명시야 이미징(bright-field microscopy) 방법으로 얻어진 세포 이미지와 형광현미경법(fluorescence microscopy)으로 얻어진 형광이미지를 사후적으로 합성하는 방법은, 두 이미지의 시차로 인해 정확한 이미징 결과를 얻을 수 없었던 종래기술의 문제점을 해결하기 위해, 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행함으로써, 세포와 형광물질 사이의 시공간적 상관관계를 명확히 관측 가능한 새로운 세포 이미징 장치 및 방법이 제공된다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 20110002131
 부처명 교육과학기술부
 연구사업명 미래유망파이오니어사업
 연구과제명 복합기능 마그네틱-포토닉 나노결정의 특성 연구를 위한 나노 측정 기반 기술 개발
 주관기관 한국화학연구원
 연구기간 2011.03.01 ~ 2012.02.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 SI-1110
 부처명 기획예산처
 연구사업명 정부출연 일반사업
 연구과제명 초미세 분자이미징 기술 기반구축사업
 주관기관 한국화학연구원
 연구기간 2011.01.01 ~ 2011.12.31

특허청구의 범위

청구항 1

살아있는 세포(live-cell)에 대한 명시야 이미징(bright-field imaging)과 형광 이미징(fluorescence imaging)을 동시에 수행 가능한 세포 이미징 장치에 있어서,

측정대상에 대한 명시야 이미징을 위한 제 1 광원 및 형광 이미징을 위한 제 2 광원을 포함하는 광원부;

상기 제 1 광원 및 상기 제 2 광원으로부터의 광을 세포 이미징을 위한 명시야 이미지 신호와 형광 이미징을 위한 형광 이미지 신호로 각각 분리하는 광처리부; 및

상기 광처리부를 통하여 분리된 상기 명시야 이미지 신호와 상기 형광 이미지 신호를 각각 수신하여 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행하는 촬상부를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징장치.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 제 1 광원은, 가시광선 영역의 스펙트럼(spectrum)을 가지는 빛을 발광하는 광원이며;

상기 제 2 광원은, 형광 여기(excitation)를 위한 광을 조사하여 세포 내의 형광물질을 여기시키는 여기 광원(excitation light source)인 것을 특징으로 하는 세포 이미징장치.

청구항 3

제 2항에 있어서,

상기 제 1 광원은 램프(Lamp)이고,

상기 제 2 광원은 레이저(Laser) 광원인 것을 특징으로 하는 세포 이미징장치.

청구항 4

제 2항에 있어서,

상기 광처리부는,

상기 제 1 광원로부터의 광의 과장대중 형광 이미징에 사용될 형광물질의 형광 과장 부분은 필터링(filtering out) 또는 차단(blocking)하고 그 외의 부분만 통과시키는 노치 필터(Notch filter);

상기 제 1 광원으로부터의 광이 상기 노치 필터를 통과하여 형성되는 명시야 이미지 신호를 수집(collect)하는 동시에, 상기 제 2 광원에 의해 상기 측정대상인 세포 내의 형광물질로부터 발생하는 형광 이미지 신호를 수집하는 대물렌즈(Objective lens);

상기 제 2 광원으로부터의 광은 반사하고, 상기 대물렌즈를 통과한 명시야 발광(bright-field illumination) 영역의 광과 상기 제 2 광원의 과장 영역 이외의 형광 영역의 광은 통과시키는 제 1 다이크로익 빔 스플리터(Dichroic beam splitter);

상기 제 1 다이크로익 빔 스플리터를 통과한 상기 형광 영역의 광은 반사하고 상기 명시야 발광 영역의 광은 통과시키는 제 2 다이크로익 빔 스플리터; 및

상기 제 2 다이크로익 스플리터에 의해 반사된 잔여 형광 외 영역 성분 및 명시야 발광 영역 성분을 제거하는 발광 필터(Emission filter)를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징장치.

청구항 5

제 2항에 있어서,

상기 광처리부는,

상기 제 1 광원으로부터의 광의 과장대중 형광 이미징에 사용될 형광물질의 형광 과장 부분은 필터링(filtering out) 또는 차단(blocking)하고 그 외의 부분만 통과시키는 노치 필터(Notch filter);

상기 제 1 광원으로부터의 광이 상기 노치 필터를 통과하여 형성되는 명시야 이미지 신호를 수집(collect)하는 동시에, 상기 제 2 광원에 의해 상기 측정대상의 세포 내의 형광물질로부터 발생하는 형광 이미지 신호를 수집하는 대물렌즈(Objective lens);

상기 제 2 광원으로부터의 광은 반사하고, 상기 대물렌즈를 통과한 명시야 발광(bright-field illumination) 영역의 광과 상기 제 2 광원의 과장 영역 이외의 형광 영역의 광은 통과시키는 제 1 다이크로익 빔 스플리터(Dichroic beam splitter);

상기 제 1 다이크로익 빔 스플리터를 통과한 상기 형광 영역의 광은 통과시키고 상기 명시야 발광 영역의 광은 반사하는 제 2 다이크로익 빔 스플리터; 및

상기 제 2 다이크로익 스플리터에 의해 반사된 명시야 발광 영역 성분 및 잔여 형광 외 영역 성분을 제거하는 발광 필터(Emission filter)를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징장치.

청구항 6

제 4항에 있어서,

상기 제 1 광원으로부터 상기 노치 필터를 통과한 광과 상기 제 2 광원으로부터의 광이 동시에 상기 측정대상에 조사되는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 장치.

청구항 7

제 4항에 있어서,

상기 촬상부는,

상기 측정대상에 대한 명시야 이미징을 수행하는 제 1 CCD; 및

상기 측정대상에 대한 형광 이미징을 수행하는 제 2 CCD를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 장치.

청구항 8

제 7항에 있어서,

상기 제 1 CCD와 상기 제 2 CCD가 동기화(synchronize) 되어 동작됨으로써 상기 명시야 이미징과 상기 형광 이미징이 동시에 수행되는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 장치.

청구항 9

제 8항에 있어서,

상기 제 1 광원으로부터 상기 노치필터, 상기 대물렌즈, 상기 제 1 다이크로익 스플리터 및 상기 제 2 다이크로익 스플리터를 차례로 통과한 광이 상기 제 1 CCD에 수신되어 상기 명시야 이미징이 이루어지며,

상기 제 2 광원으로부터 상기 제 1 다이크로익 스플리터에 의해 반사되어 상기 측정대상에 조사된 광에 의해 상기 측정대상의 세포 내에서 상기 형광이미지 신호가 발생하여 상기 대물렌즈에 의해 집속되고, 상기 대물렌즈에

의해 집속된 상기 형광이미지 신호가 상기 제 2 다이크로익 스플리터에 의해 반사되고 상기 발광 필터를 통과하여 상기 제 2 CCD에 수신됨으로써 상기 형광 이미징이 이루어지는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 장치.

청구항 10

청구항 1항 내지 9항 중 어느 한 항에 기재된 세포 이미징 장치를 이용하여 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 살아있는 세포에 대한 이미지를 획득하는(live-cell imaging) 이미징 장치 및 방법에 관한 것으로, 더 상세하게는, 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징(bright-field microscopy)과 형광 이미징(fluorescence microscopy)을 동시에 수행 가능한 세포 이미징 장치 및 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [0002] 최근, "살아있는 세포 이미징(live-cell imaging)" 분야에 대하여 많은 연구가 이루어지고 있다.
- [0003] 이러한 살아있는 세포 이미징은, 예를 들면, 입자 전송(particle transport), 단백질-단백질 상호작용(protein-protein interaction), 효자임 반응(enzyme reaction), 유전자 발현(gene expression) 등과 같이, 세포에서 발생하는 각종 현상을 시각적인 이미지로 이미징하는 기술을 의미한다.
- [0004] 또한, 이러한 세포 이미징 방법으로는, 예를 들면, 형광현미경법(fluorescence microscopy)이 있으며, 최근에는, 특히, epi-fluorescence microscopy 혹은 TIRF(total internal reflection fluorescence) microscopy 등과 같은 대면적(wide-field) 형광현미경법이 주로 사용된다.
- [0005] 아울러, 상기한 바와 같은 세포 이미징을 위한 형광현미경법에 대한 종래기술의 예로는, 예를 들면, 한국 등록특허 제10-0980306호에 개시된 바와 같은 "하이컨텐츠 스크리닝을 위한 공초점 형광현미경"이 있다.
- [0006] 더 상세하게는, 상기한 등록특허 제10-0980306호의 "하이컨텐츠 스크리닝을 위한 공초점 형광현미경"은, 외부환경에 따른 진동에 민감하고 다양한 파장의 레이저를 사용하는 경우 여러 가지 색수차를 보정해야 하는 종래의 공초점 형광현미경의 문제점을 해결하기 위해, 외부 환경에 영향을 받지 않고 정확한 측정이 가능하며, 다양한 파장의 광을 사용함에 따라 발생하는 여러 문제점이 보완된 공초점 형광 현미경을 제공하고자 하는 것이다.
- [0007] 이를 위해, 상기한 등록특허 제10-0980306호는, 파장이 각각 다른 광을 제공하는 광원부, 상기 광원부에서 방출되는 서로 다른 파장을 갖는 광의 색수차를 보정하여 콜리메이팅하는 콜리메이터, 상기 광원부로부터 제공받은 광을 대상물에 조사하고, 이를 통해 대상물에서 방출되는 형광신호를 획득하는 현미경부, 상기 현미경부에서 반사되는 대상물의 형광신호를 분광시키는 AOTF, 상기 광원부에서 상기 현미경부로 광을 제공할 때 AOTF를 통과한 광을 집광시켜주는 포커서, 상기 현미경부를 통해 대상물에 조사된 후 방출된 광을 이용하여 포커싱하는 포커싱부 및 상기 현미경부에서 검출된 대상물의 형광신호를 검출하는 적어도 하나 이상의 검출부를 포함하여 구성되며, 상기 광원부와 콜리메이터, AOTF, 포커서, 현미경부는 광섬유로 연결되는 것을 특징으로 하는 하이컨텐츠 스크리닝을 위한 공초점 형광 현미경을 개시하고 있다.

- [0008] 또한, 상기한 바와 같은 세포 이미징을 위한 형광현미경법에 대한 종래기술의 다른 예로서, 예를 들면, 한국 공개특허공보 제10-2011-0107179호(2011.09.30. 공개)에 개시된 바와 같은 "형광 측정 장치 및 방법"이 있다.
- [0009] 더 상세하게는, 상기한 공개특허공보 제10-2011-0107179호의 "형광 측정 장치 및 방법"은, 종래, 생체 세포를 관찰하기 위한 광학 시스템으로 가장 일반적으로 사용되는 형광 현미경(fluorescence microscope)은, 형광 염료로 염색된 세포에서 나온 형광 빛을 대물렌즈로 받아들여, 확대된 세포의 이미지를, 예를 들면, CCD(Charge Coupled Device)와 같은 이미지 센서에 맺히게 하여 세포의 이미지를 얻는 것으로, 즉, 종래의 형광 현미경의 광학 시스템은 고전적인 WFM(Wide Field Microscope)을 기본 구조로 한 것으로서, 단순히 세포에서 나오는 형광 빛을 이용해 세포를 관찰하는 시스템이기 때문에 세포의 특정 부분의 형광이 어떤 정보를 담고 있는지는 알아내지는 못하는 문제점이 있었으므로, 이러한 문제점을 해결하기 위해, 샘플의 형광 이미지를 모니터링할 뿐만 아니라, 해당 샘플의 특정 위치에서의 형광 정보를 신속, 정확하게 얻을 수 있는 형광 측정장치를 제공하고자 하는 것이다.
- [0010] 이를 위해, 상기한 공개특허공보 제10-2011-0107179호는, 샘플의 형광 이미지를 획득하고, 획득된 형광 이미지가 소정 이미지 면에 결상되도록 형광 빛을 출력하는 형광 현미경, 상기 이미지 면 상의 일정 위치에 말단이 위치한 광섬유 및 상기 광섬유를 통해 입사된 형광 빛을 이용해 상기 샘플의 특정 위치의 형광 정보를 획득하는 광신호 처리부를 포함하는 형광 측정 장치를 개시하고 있다.
- [0011] 상기한 바와 같이, 종래, 형광 현미경을 이용한 세포 이미징 방법에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으나, 이러한 형광 현미경을 이용한 종래의 세포 이미징 방법은 다음과 같은 문제점이 있는 것이었다.
- [0012] 즉, 형광현미경법은, 세포 내에 주입 또는 발현된 형광물질(fluorophore)을 레이저나 램프와 같은 광원을 이용하여 여기(excitation) 시킨 후, 세포 내에서 발생하는 형광을 검출하여 이미징을 수행하는 방법으로, 따라서 이와 같은 형광현미경법을 이용한 연구에서는 형광물질이 세포의 어느 부분에 분포하고 있는지를 파악하는 것이 가장 중요하다.
- [0013] 그러나 현재, 대부분의 연구에서는, 세포의 형상을 명시야 이미징(bright-field microscopy) 또는 DIC(differential interference contrast microscopy)를 이용하여 이미징하고, 광원 및 광학필터와 같은 현미경의 모드를 전환하여 형광 이미징을 별도로 수행한 후, 얻어진 각각의 이미지를 오버랩하는 방식을 취하고 있다.
- [0014] 즉, 이러한 경우, 명시야 이미지와 형광 이미지는 서로 같은 순간에 얻어졌다고 볼 수 없으며, 따라서 연속적으로 각각 운동하고 있는 세포와 형광물질의 상호 위치 관계를 정확히 반영했다고 볼 수 없다는 문제가 있다.
- [0015] 이러한 한계는, 특히, 빠른 세포 동력학적 현상을 형광물질을 이용하여 추적하는 실시간(real-time) 이미징의 경우에 매우 중요한 걸림돌이 되고 있는 실정이다.
- [0016] 따라서 상기한 바와 같은 문제를 해결하기 위하여는, 명시야 이미징(bright-field microscopy)과 형광 이미징(fluorescence microscopy)을 동시에 정확히 획득함으로써 세포와 형광물질의 상호작용 및 시공간적 상관관계를 명확히 관측할 수 있는 새로운 장치나 방법을 제공하는 것이 바람직하나, 아직까지 그러한 요구를 모두 만족시키는 관측장치나 관측방법은 제시되지 못하고 있는 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0017] 본 발명은 상기한 바와 같은 종래기술의 문제점을 해결하고자 하는 것으로, 따라서 본 발명의 목적은, 명시야 이미징(bright-field microscopy) 방법으로 얻어진 세포 이미지와 형광현미경법(fluorescence microscopy)으로 얻어진 형광이미지를 사후적으로 합성하는 종래기술의 방법은 두 이미지의 시차로 인해 정확한 이미징 결과를 얻을 수 없었던 문제점을 해결하기 위해, 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행함으로써, 세포와 형광물질 사이의 시공간적 상관관계를 명확히 관측 가능한 새로운 세포 이미징 장치 및 방법을 제공하고자 하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0018] 상기한 바와 같은 목적을 달성하기 위해, 본 발명에 따르면, 살아있는 세포(live-cell)에 대한 명시야 이미징(bright-field imaging)과 형광 이미징(fluorescence imaging)을 동시에 수행 가능한 세포 이미징 장치에 있어서, 측정대상에 대한 명시야 이미징을 위한 제 1 광원 및 형광 이미징을 위한 제 2 광원을 포함하는 광원부; 상기 제 1 광원 및 상기 제 2 광원으로부터의 광을 세포 이미징을 위한 명시야 이미지 신호와 형광 이미징을 위한 형광 이미지 신호로 각각 분리하는 광처리부; 및 상기 광처리부를 통하여 분리된 상기 명시야 이미지 신호와 상기 형광 이미지 신호를 각각 수신하여 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행하는 촬상부를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징장치가 제공된다.

[0019] 여기서, 상기 제 1 광원은, 가시광선 영역의 스펙트럼(spectrum)을 가지는 빛을 발광하는 광원이며; 상기 제 2 광원은, 형광 여기(excitation)를 위한 광을 조사하여 세포 내의 형광물질을 여기시키는 여기 광원(excitation light source)인 것을 특징으로 한다.

[0020] 또한, 상기 제 1 광원은 램프(Lamp)이고, 상기 제 2 광원은 레이저(Laser) 광원인 것을 특징으로 한다.

[0021] 아울러, 상기 광처리부는, 상기 제 1 광원로부터의 광의 파장대중 형광 이미징에 사용될 형광물질의 형광 파장 부분은 필터링(filtering out) 또는 차단(blocking)하고 그 외의 부분만 통과시키는 노치 필터(Notch filter); 상기 제 1 광원으로부터의 광이 상기 노치 필터를 통과하여 형성되는 명시야 이미지 신호를 수집(collect)하는 동시에, 상기 제 2 광원에 의해 상기 측정대상의 세포 내의 형광물질로부터 발생하는 형광 이미지 신호를 수집하는 대물렌즈(Objective lens); 상기 제 2 광원으로부터의 광은 반사하고, 상기 대물렌즈를 통과한 명시야 발광(bright-field illumination) 영역의 광과 상기 제 2 광원의 파장 영역 이외의 형광 영역의 광은 통과시키는 제 1 다이크로익 빔 스플리터(Dichroic beam splitter); 상기 제 1 다이크로익 빔 스플리터를 통과한 상기 형광 영역의 광은 반사하고 상기 명시야 발광 영역의 광은 통과시키는 제 2 다이크로익 빔 스플리터; 및 상기 제 2 다이크로익 스플리터에 의해 반사된 잔여 형광 외 영역 성분 및 명시야 발광 영역 성분을 제거하는 발광 필터(Emission filter)를 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0022] 또한, 상기 광처리부는, 상기 제 1 광원로부터의 광의 파장대중 형광 이미징에 사용될 형광물질의 형광 파장 부분은 필터링(filtering out) 또는 차단(blocking)하고 그 외의 부분만 통과시키는 노치 필터(Notch filter); 상기 제 1 광원으로부터의 광이 상기 노치 필터를 통과하여 형성되는 명시야 이미지 신호를 수집(collect)하는 동시에, 상기 제 2 광원에 의해 상기 측정대상의 세포 내의 형광물질로부터 발생하는 형광 이미지 신호를 수집하는 대물렌즈(Objective lens); 상기 제 2 광원으로부터의 광은 반사하고, 상기 대물렌즈를 통과한 명시야 발광(bright-field illumination) 영역의 광과 상기 제 2 광원의 파장 영역 이외의 형광 영역의 광은 통과시키는 제 1 다이크로익 빔 스플리터(Dichroic beam splitter); 상기 제 1 다이크로익 빔 스플리터를 통과한 상기 형광 영역의 광은 통과시키고 상기 명시야 발광 영역의 광은 반사하는 제 2 다이크로익 빔 스플리터; 및 상기 제 2 다이크로익 스플리터에 의해 반사된 명시야 발광 영역 성분 및 잔여 형광 외 영역 성분을 제거하는 발광 필터(Emission filter)를 포함하는 것을 특징으로 한다.

- [0023] 여기서, 상기 제 2 다이크로익 빔 스플리터는, 상기 형광 영역은 통과시키고 상기 명시야 발광 영역은 반사하는 것을 특징으로 한다.
- [0024] 더욱이, 상기한 장치는, 상기 제 1 광원으로부터 상기 노치 필터를 통과한 광과 상기 제 2 광원으로부터의 광이 동시에 상기 측정대상에 조사되는 것을 특징으로 한다.
- [0025] 또한, 상기 촬상부는, 상기 측정대상에 대한 명시야 이미징을 수행하는 제 1 CCD; 및 상기 측정대상에 대한 형광 이미징을 수행하는 제 2 CCD를 포함하는 것을 특징으로 한다.
- [0026] 아울러, 상기한 장치는, 상기 제 1 CCD와 상기 제 2 CCD가 동기화(synchronize) 되어 동작됨으로써 상기 명시야 이미징과 상기 형광 이미징이 동시에 수행되는 것을 특징으로 한다.
- [0027] 더욱이, 상기한 장치는, 상기 제 1 광원으로부터 상기 노치필터, 상기 대물렌즈, 상기 제 1 다이크로익 스플리터 및 상기 제 2 다이크로익 스플리터를 차례로 통과한 광이 상기 제 1 CCD에 수신되어 상기 명시야 이미징이 이루어지며, 상기 제 2 광원으로부터 상기 제 1 다이크로익 스플리터에 의해 반사되어 상기 측정대상에 조사된 광에 의해 상기 측정대상의 세포 내에서 상기 형광이미지 신호가 발생하여 상기 대물렌즈에 의해 집속되고, 상기 대물렌즈에 의해 집속된 상기 형광이미지 신호가 상기 제 2 다이크로익 스플리터에 의해 반사되고 상기 발광 필터를 통과하여 상기 제 2 CCD에 수신됨으로써 상기 형광 이미징이 이루어지는 것을 특징으로 한다.
- [0028] 또한, 본 발명에 따르면, 상기에 기재된 세포 이미징 장치를 이용하여 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법이 제공된다.

발명의 효과

- [0029] 상기한 바와 같이, 본 발명에 따르면, 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행함으로써, 세포와 형광물질 사이의 시공간적 상관관계를 명확히 관측 가능한 새로운 세포 이미징 장치 및 방법을 제공할 수 있다.
- [0030] 따라서 본 발명에 따르면, 상기한 바와 같이 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행 가능한 세포 이미징 장치 및 방법이 제공되므로, 명시야 이미징 방법으로 얻어진 세포 이미지와 형광현미경법으로 얻어진 형광이미지를 사후적으로 합성함으로써 두 이미지의 시차로 인해 정확한 이미징 결과를 얻을 수 없었던 종래기술의 문제점을 해결할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0031] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행 가능한 세포 이미징 장치의 전체적인 구성을 개략적으로 나타내는 도면이다.
 도 2는 도 1에 나타난 본 발명의 실시예에 따른 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행 가능한 세포 이미징 장치에 적용 가능한 다양한 광원의 과장을 나타내는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0032] 이하, 첨부된 도면을 참조하여, 본 발명에 따른 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에

수행 가능한 세포 이미징 장치 및 세포 이미징 방법의 상세한 내용에 대하여 설명한다.

[0033] 여기서, 이하에 설명하는 내용은 본 발명을 실시하기 위한 실시예일 뿐이며, 본 발명은 이하에 설명하는 실시예의 내용으로만 한정되는 것은 아니라는 사실에 유념해야 한다.

[0034] 즉, 본 발명은, 후술하는 바와 같이, 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행함으로써, 세포와 형광물질 사이의 시공간적 상관관계를 명확히 관측 가능한 세포 이미징 장치 및 방법에 관한 것이다.

[0035] 이를 위해, 본 발명에 따르면, 측정대상에 대한 명시야 이미징을 위한 제 1 광원 및 형광 이미징을 위한 제 2 광원을 포함하는 광원부, 상기 제 1 광원 및 상기 제 2 광원으로부터의 광을 명시야 이미징을 위한 세포 이미징 신호와 형광 이미징을 위한 형광 이미징 신호로 각각 분리하는 광처리부 및 상기 광처리부를 통하여 분리된 상기 명시야 이미징 신호와 상기 형광 이미징 신호를 각각 수신하여 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행하는 촬상부를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징장치 및 그러한 장치를 이용한 세포 이미징 방법이 제공된다.

[0036] 여기서, 상기한 제 1 광원은 가시광선 영역의 스펙트럼(spectrum)을 가지는 빛을 발광하는 광원이며, 제 2 광원은 형광 여기(excitation)를 위한 광을 조사하여 세포 내의 형광물질을 여기시키는 여기 광원(excitation light source)이다.

[0037] 또한, 상기한 광처리부는, 형광 이미징에 사용될 형광물질의 형광 파장 부분은 필터링(filtering out) 또는 차단(blocking)하고 그 외의 부분만 통과시키는 노치 필터(Notch filter), 명시야 이미징 신호 및 형광 이미징 신호를 수집하는 대물렌즈(Objective lens), 제 2 광원의 광은 반사하고 대물렌즈를 통과한 명시야 발광(bright-field illumination) 영역의 광과 제 2 광원 이외의 형광 영역의 광은 통과시키는 제 1 다이크로익 빔 스플리터(Dichroic beam splitter), 제 1 다이크로익 빔 스플리터를 통과한 형광 영역의 광은 반사하고 명시야 발광 영역의 광은 통과시키는 제 2 다이크로익 빔 스플리터 및 제 2 다이크로익 스플리터에 의해 반사된 잔여 형광 영역 외 영역 성분 및 명시야 발광 영역 성분을 제거하는 발광 필터(Emission filter)를 포함하여 이루어진다.

[0038] 아울러, 상기한 촬상부는, 측정대상에 대한 명시야 이미징을 수행하는 제 1 CCD 및 측정대상에 대한 형광 이미징을 수행하는 제 2 CCD를 포함하며, 상기 제 1 CCD와 상기 제 2 CCD가 동기화(synchronize) 되어 동작됨으로써, 명시야 이미징과 형광 이미징이 동시에 수행되는 것을 특징으로 한다.

[0039] 즉, 본 발명에 따른 세포 이미징장치는, 제 1 광원으로부터 노치필터, 대물렌즈, 제 1 다이크로익 스플리터 및 제 2 다이크로익 스플리터를 차례로 통과한 광이 제 1 CCD에 수신되어 명시야 이미징이 이루어진다.

[0040] 동시에, 제 2 광원으로부터 제 1 다이크로익 스플리터에 의해 반사되어 측정대상에 조사된 광에 의해 측정대상의 세포 내에서 형광이미징 신호가 발생하면, 대물렌즈에 의해 집속되고 제 2 다이크로익 스플리터에 의해 반사되어 발광 필터를 통하여 제 2 CCD에 수신됨으로써, 형광 이미징이 이루어진다.

[0041] 따라서 본 발명에 따르면, 상기한 바와 같이 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행 가능한 세포 이미징 장치 및 방법이 제공됨으로써, 명시야 이미징 방법으로 얻어진 세포 이미지와 형광현미경법으로 얻어진 형광이미지를 사후적으로 합성함으로써 두 이미지의 시차로 인해 정확한 이미징 결과를 얻을 수 없었던 종래기술의 문제점을 해결할 수 있다.

- [0042] 계속해서, 도 1 내지 도 2를 참조하여, 상기한 바와 같은 본 발명에 따른 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행 가능한 세포 이미징 장치 및 방법의 구체적인 실시예에 대하여 설명한다.
- [0043] 먼저, 도 1을 참조하면, 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행 가능한 세포 이미징 장치의 전체적인 구성을 개략적으로 나타내는 도면이다.
- [0044] 또한, 도 2를 참조하면, 도 2는 상기한 바와 같은 본 발명의 실시예에 따른 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행 가능한 세포 이미징 장치에 적용 가능한 다양한 광원의 파장을 나타내는 도면이다.
- [0045] 즉, 도 1에 나타낸 바와 같이, 본 발명의 실시예에 따른 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행 가능한 세포 이미징 장치는, 전체적으로 epi 형광현미경(epi-fluorescence microscope) 구조를 기본으로 하는 것이다.
- [0046] 더 상세하게는, 본 발명의 실시예에 따른 세포 이미징 장치(10)는, 도 1에 나타낸 바와 같이, 램프(Lamp)(11), 여기 광원(excitation light source)(12) 노치 필터(Notch filter)(13), 대물렌즈(Objective lens)(14), 제 1 다이크로의 빔 스플리터(Dichroic beam splitter)(15), 제 2 다이크로의 빔 스플리터(16), 발광 필터(Emission filter)(17), 제 1 CCD(18) 및 제 2 CCD(19)를 포함하여 구성되어 있다.
- [0047] 여기서, 상기한 램프(11)는, 명시야 이미징(bright-field imaging)을 위한 광원으로서, 가시광선 영역에서 광범위한(broad) 스펙트럼(spectrum)을 특성을 가지는 빛을 발광하는 램프이다.
- [0048] 또한, 상기한 여기 광원(excitation light source)(12)은, 형광 여기(excitation)를 위한 광을 조사하여 세포 내 형광물질을 여기시키는 광원으로서, 일반적으로, 레이저 광원이 주로 사용된다.
- [0049] 즉, 상기한 램프(11) 및 여기 광원(12)은, 도 2에 나타낸 바와 같이, 다양한 스펙트럼을 가지는 광원이 사용될 수 있다.
- [0050] 또한, 상기한 노치 필터(13)는, 램프(11)로부터 나오는 빛의 파장대중 형광 이미징에 사용될 형광물질의 형광 파장 부위(λ_L)를 필터링(filtering out) 또는 차단(blocking)하고, 그 외의 부분(λ_B)만 통과시키는 광학 필터의 역할을 하는 것이다.
- [0051] 아울러, 대물렌즈(14)는, 램프(11) 광원에 의해 형성되는 세포의 이미지 신호를 수집(collect)하는 동시에, 여기 광원(12)에 의해 형광물질에서 발생하는 형광 이미지 신호를 수집하는 역할을 한다.
- [0052] 더욱이, 제 1 다이크로의 스플리터(15), 형광 여기 광원(12) 파장대(λ_E)에서는 반사 특성을 가지며, 명시야 발광(bright-field illumination) 영역(λ_B) 과 형광 영역(λ_L)은 통과시키도록 설계된 광학 미러(optical mirror)이다.
- [0053] 또한, 제 2 다이크로의 스플리터(16)는, 형광 파장대(λ_L)는 반사하고, 명시야 발광 영역(λ_B)은 통과시키거나,

또는 그 반대의 역할을 하도록 설계된 광학 미러이다.

- [0054] 아울러, 발광 필터(17)는, 제 2 다이크로익 스플리터(15)에 의해 반사된 잔여 λ_E 및 λ_B 성분을 제거함으로써, 형광 과장대(λ_L)를 한층 더 명확하게 정의해 주는 광학 필터이다.
- [0055] 더욱이, 제 1 CCD(18)는, 명시야 이미지를 검출하는 카메라의 역할을 하는 것이며, 제 2 CCD(19)는, 형광 이미지를 검출하는 카메라의 역할을 하는 것으로, 제 1 CCD(18)와 동기화(synchronize) 되어 동작하도록 구성된다.
- [0056] 계속해서, 상기한 바와 같이 구성된 본 발명의 실시예에 따른 세포 이미징 장치(10)의 더욱 구체적인 동작 원리에 대하여 상세히 설명한다.
- [0057] 즉, 상기한 바와 같이, 본 발명의 실시예에 따른 세포 이미징 장치(10)는, 노치 필터(Notch filter)(13)를 사용하여, 명시야 발광(bright field illumination) 영역(λ_B)이 형광 과장대(λ_L)와 겹치지 않도록 미리 조정하는 것을 특징으로 하는 것이다.
- [0058] 또한, 본 발명의 실시예에 따른 세포 이미징 장치(10)는, 제 1 CCD(18) 및 제 2 CCD(19)를 동기화함으로써, 명시야 이미징(bright-field imaging)과 형광 이미징(fluorescence imaging)이 시간적으로 동시에 진행되는 것을 특징으로 하는 것이다.
- [0059] 더 상세하게는, 본 발명의 실시예에 따른 세포 이미징 장치(10)는, 일반적인 epi 형광현미경(epi-fluorescence microscope) 구조를 베이스로 하는 것으로, 세포/형광물질 샘플의 위로부터 노치 필터(13)를 통과한 램프(11) 광원과, 형광을 유발하는 여기 광원(12)이 동시에 샘플에 조사된다.
- [0060] 이어서, 형광 여기 광원(12)의 광을 반사하는 제 1 다이크로익 빔 스플리터(15)를 통과한 램프광(lamp light) (도 1에 황색 선으로 표시)과, 형광 광(도 1에 녹색 선으로 표시)이 제 2 다이크로익 빔 스플리터(16)에 의해 분리되어 각각 제 1 CCD(18)과 제 2 CCD(19)에 촬상(imaging) 된다.
- [0061] 즉, 상기한 바와 같은 본 발명의 실시예에 따른 세포 이미징 장치(10)에 따르면, 노치 필터(12)를 통해 램프광의 스펙트럼 중 샘플 내 형광물질의 형광 과장대와 겹치는 부분을 제거하고 그 외의 부분만 통과시킴으로써, 제 2 다이크로익 빔 스플리터(16)에 의해 두 종류의 광신호가 완벽하게 분리될 수 있다.
- [0062] 아울러, 상기한 바와 같이 두 종류의 이미지를 동시에 얻는 방법으로서, 종래의 현미경법에는, FRET(fluorescence resonance energy transfer) 현미경법(microscopy) 및 멀티 컬러 형광 현미경법(multicolor fluorescence microscopy)과 같은 것이 있으나, 이는, 다음과 같은 점에서 상기한 바와 같은 본 발명의 실시예에 따른 세포 이미징 장치(10)와 차이점이 있는 것이다.
- [0063] 더 상세하게는, 단분자(Single-molecule) FRET 현미경법과 같은 일부 FRET 현미경법에서는, 두 종류의 형광물질(donor, acceptor)로부터 발생하는 과장대가 서로 다른 형광을 다이크로익 빔 스플리터를 이용하여 분리하고, 각각의 빔 라인(beam line)을 카메라 CCD 칩(camera CCD chip)의 서로 다른 반쪽 영역에 영상함으로써, 동일한 관측 영역(field of view)에서 발생하는 두 종류의 광신호를 동시에 이미징할 수 있다.

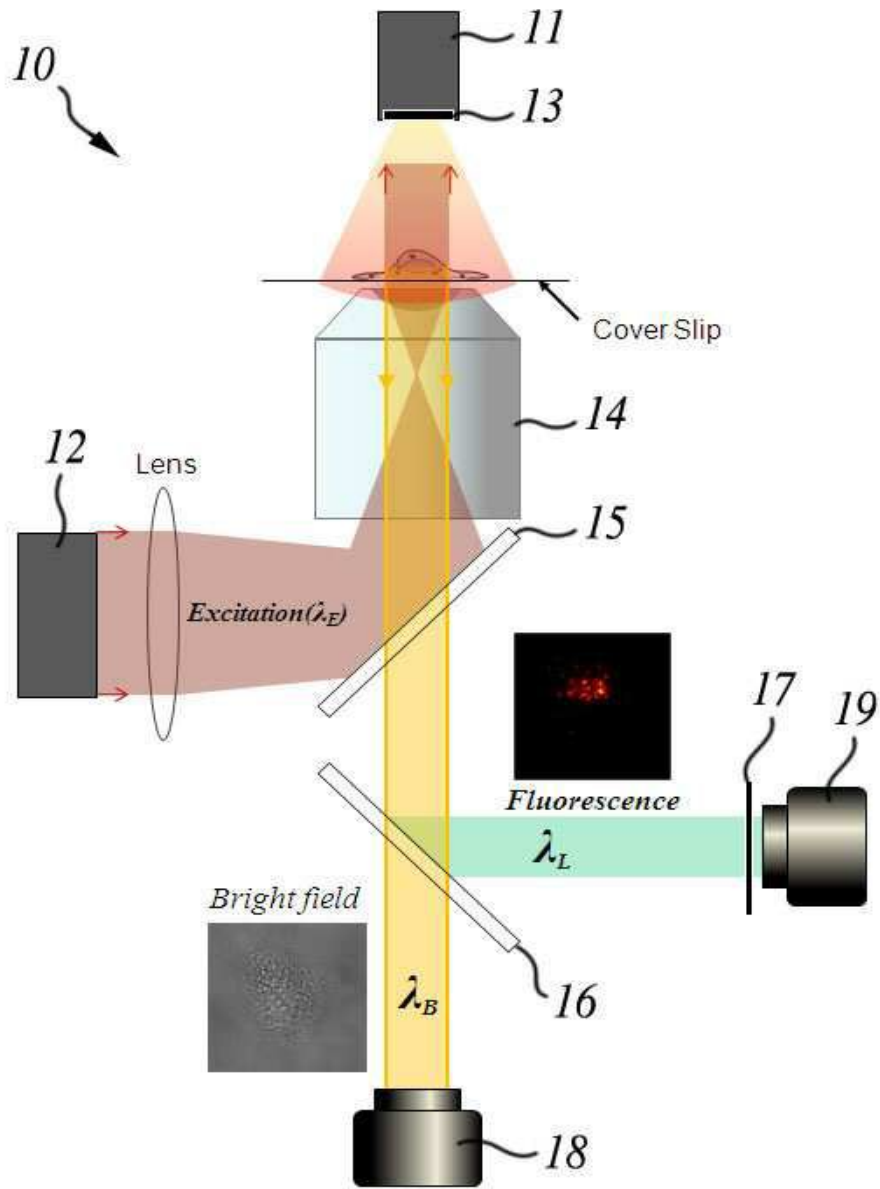
- [0064] 또한, 멀티 컬러 형광 현미경법에서는, 2종 이상의 형광물질이 샘플 내에 존재할 경우, 2종 이상의 광원(주로 레이저)을 사용하여 각각이 유발하는 형광을 분리하여 역시 하나의 카메라를 이용하여 동시에 이미징할 수 있다.
- [0065] 그러나 상기한 바와 같은 종래의 FRET 현미경법이나 멀티 컬러 형광 현미경법은, 2종 이상의 형광물질로부터 발생하는 형광을 분리하는 것인데 비하여, 상기한 바와 같은 본 발명의 실시예에 따른 세포 이미징 장치(10)는, 관측 영역(field of view) 전체를 통과하는 광원(lamp) 자체와 형광물질로부터 발생하는 형광을 분리하여, 서로 다른 CCD 카메라에 각각 명시야 이미지(bright-field image)와 형광 이미지(fluorescence image)를 동시에 이미징 한다는 점에서, 즉, 명시야 이미지(bright-field image)는 샘플을 투과한 광원 이미지로 구성되는 점에서 서로 다른 형광물질로부터의 형광을 분리하는 종래기술과는 현저한 차이점이 있는 것이다.
- [0066] 즉, 상기한 바와 같이, 본 발명은, 명시야 이미징(bright-field imaging)을 위해 사용되는 광원(램프)의 파장대를 광학필터(broad-band notch filter)를 이용하여 형광물질의 형광 파장대와 겹치는 부분을 제거한 뒤에 샘플에 조사한다는 점과, 그렇게 함으로써, 램프와 형광 이미징의 광원(주로 레이저)을 동시에 연속적으로 샘플에 조사한 후에도 2개의 광원에 의한 광신호(명시야(bright-field) 및 형광(fluorescence))를 분광학적으로 분리할 수 있다는 점에서 종래기술과 차별되는 특징을 가지는 것이다.
- [0067] 따라서 본 발명에 따르면, 명시야 이미지(bright-field image)와 형광 이미지(fluorescence image)의 동시 측정이 가능하므로, 명시야 이미징(bright-field microscopy) 방법으로 얻어진 세포 이미지와 형광현미경법(fluorescence microscopy)으로 얻어진 형광이미지를 사후적으로 합성하여 두 이미지의 시차로 인해 정확한 이미징 결과를 얻을 수 없었던 종래기술의 문제점을 해결하여, 이미지 간의 정확한 시공간적 상관관계 관측이 가능하게 된다.
- [0068] 아울러, 상기한 바와 같이, 본 발명에 따르면, 세포/형광물질 시스템뿐만 아니라, 전반적인 시스템의 형상(morphology) 및 형광물질의 상호작용을 관측하고자 하는 목적에도 일반적으로 응용될 수 있다.
- [0069] 이상, 상기한 바와 같은 본 발명의 실시예를 통하여 본 발명에 따른 살아있는 세포에 대한 명시야 이미징과 형광 이미징을 동시에 수행 가능한 세포 이미징 장치 및 세포 이미징 방법의 상세한 내용에 대하여 설명하였으나, 본 발명은 상기한 실시예에 기재된 내용으로만 한정되는 것은 아니며, 따라서 본 발명은, 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 설계상의 필요 및 기타 다양한 요인에 따라 여러 가지 수정, 변경, 결합 및 대체 등이 가능한 것임은 당연한 일이라 하겠다.

부호의 설명

- | | | |
|--------|----------------------|----------------------|
| [0070] | 10. 세포 이미징 장치 | 11. 램프 |
| | 12. 여기 광원 | 13. 노치 필터 |
| | 14. 대물렌즈 | 15. 제 1 다이크로익 빔 스플리터 |
| | 16. 제 2 다이크로익 빔 스플리터 | 17. 발광 필터 |
| | 18. 제 1 CCD | 19. 제 2 CCD |

도면

도면1



도면2

