



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0149138
(43) 공개일자 2024년10월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61B 5/00 (2021.01) A61B 5/0245 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61B 5/0068 (2013.01)
A61B 5/0245 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0044700
(22) 출원일자 2023년04월05일
심사청구일자 2024년05월08일

(71) 출원인
한국과학기술원
대전광역시 유성구 대학로 291(구성동)
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암
동5가)
(72) 발명자
유흥기
대전광역시 유성구 대학로 291(구성동)
장민석
대전광역시 유성구 대학로 291(구성동)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
유미특허법인

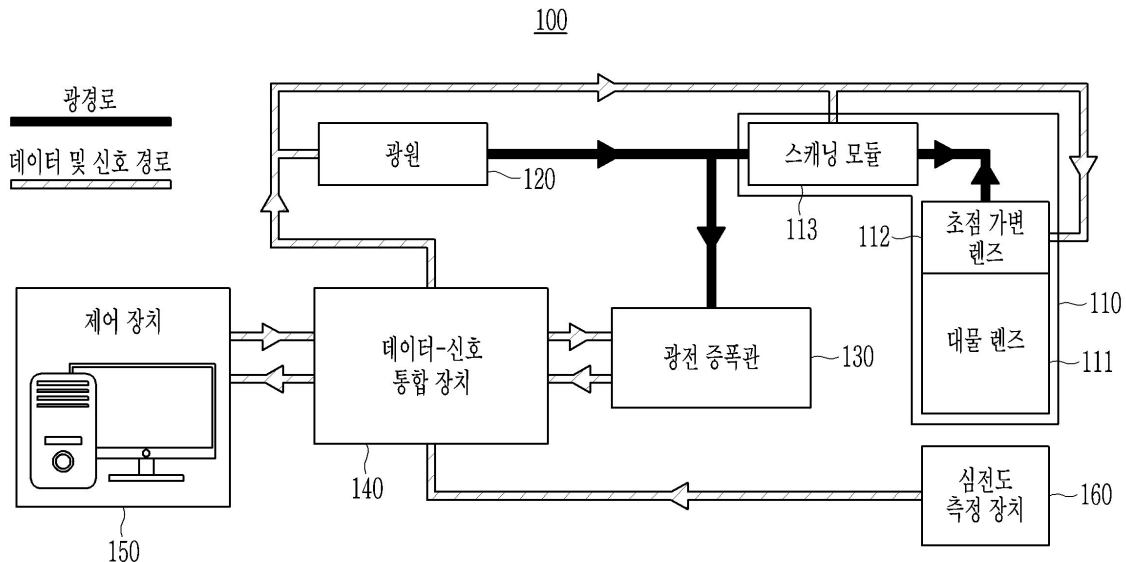
전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 초점 가변 렌즈를 이용한 동적 초점 움직임 보상을 통해 생체 내 이미지를 촬영하는 방법, 장치 및 시스템

(57) 요약

적어도 하나의 프로세서에 의해 동작하는 제어 장치의 생체 이미지 촬영 방법으로서, 초점 가변 렌즈를 포함하는 공초점 현미경으로부터 생체 샘플을 한 방향으로 스캐닝한 1차원 이미지들을 획득하는 단계, 상기 1차원 이미지들로부터 상기 생체 샘플의 움직임 정보를 추정하는 단계, 상기 추정한 움직임 정보를 기초로 상기 초점 가변 렌즈의 초점 평면을 상기 생체 샘플의 움직임과 동기화하여 가변시키는 구동 신호를 생성하고, 상기 구동 신호로 상기 초점 가변 렌즈를 제어하는 단계, 그리고 상기 공초점 현미경으로부터, 상기 구동 신호에 따라 가변되는 초점 평면에서 스캐닝한 상기 생체 샘플의 연속된 이미지를 획득하는 단계를 포함한다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61B 5/721 (2013.01)

A61B 5/7289 (2013.01)

A61B 2503/40 (2013.01)

(72) 발명자

김진원

서울특별시 구로구 구로동로 148(구로동)

송준우

서울특별시 구로구 구로동로 148(구로동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711157682

과제번호 2019M3A9E206688021

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 원천기술개발사업

연구과제명 (N01220162)(통합EZ)혈관내 광단층-분자영상-광치료 융합 카테터 시스템 개발(2022
년도)

기 여 율 1/1

과제수행기관명 한국과학기술원

연구기간 2022.01.01 ~ 2022.12.31

명세서

청구범위

청구항 1

적어도 하나의 프로세서에 의해 동작하는 제어 장치의 생체 이미지 촬영 방법으로서,
초점 가변 렌즈를 포함하는 공초점 현미경으로부터 생체 샘플을 한 방향으로 스캐닝한 1차원 이미지들을 획득하는 단계,
상기 1차원 이미지들로부터 상기 생체 샘플의 움직임 정보를 추정하는 단계,
상기 추정한 움직임 정보를 기초로 상기 초점 가변 렌즈의 초점 평면을 상기 생체 샘플의 움직임과 동기화하여 가변시키는 구동 신호를 생성하고, 상기 구동 신호로 상기 초점 가변 렌즈를 제어하는 단계, 그리고
상기 공초점 현미경으로부터, 상기 구동 신호에 따라 가변되는 초점 평면에서 스캐닝한 상기 생체 샘플의 연속된 이미지를 획득하는 단계
를 포함하는, 방법.

청구항 2

제1항에서,
상기 추정하는 단계는,
상기 1차원 이미지들을 통해 상기 생체 샘플의 축 방향 움직임 파형을 생성하고, 상기 축 방향 움직임 파형으로부터 획득한 축 방향 진폭 주기를 상기 움직임 정보로 추정하는, 방법.

청구항 3

제2항에서,
상기 추정하는 단계는,
프레임 단위의 1차원 이미지들을 시간축 방향으로 병합한 하나의 이미지를 생성하는 단계,
병합한 이미지로부터 시간에 따른 화소 밝기 정보를 획득하는 단계, 그리고
상기 1차원 이미지들의 스캔시 상기 초점 가변 렌즈를 구동한 파형과 상기 화소 밝기 정보가 교차하는 지점인 샘플링 포인트들을 이용하여 상기 생체 샘플의 축 방향 진폭 주기를 추정하는 단계
를 포함하는, 방법.

청구항 4

제1항에서,
상기 제어하는 단계는,
상기 추정한 움직임 정보로부터 확인한 기 설정된 단위 주기의 파형 정보를 이용하여 생성한 구동 신호를 상기 초점 가변 렌즈로 출력하는, 방법.

청구항 5

제4항에서,
상기 제어하는 단계는,
상기 추정한 움직임 정보로부터 확인한 샘플 움직임의 한 주기 파형을 전압 단위로 변환한 구동 신호를 생성하는, 방법.

청구항 6

제1항에서,

상기 추정하는 단계와 상기 제어하는 단계 사이에,

심전도 측정 장치에 의해 상기 생체 샘플로부터 측정된 심전도 신호를 상기 심전도 측정 장치로부터 수신하는 단계를 더 포함하고,

상기 제어하는 단계는,

상기 심전도 신호로부터 획득한 심박 주기마다 상기 구동 신호를 생성하여 상기 초점 가변 렌즈에게 출력하는, 방법.

청구항 7

제6항에서,

상기 제어하는 단계는,

추정한 생체 샘플의 움직임 정보로부터 상기 심박 주기에 해당하는 한 주기의 움직임 정보를 획득하고, 획득한 움직임 정보를 전압 단위로 변환한 구동 신호를 생성하는, 방법.

청구항 8

제1항에서,

상기 초점 가변 렌즈는,

ETL(Electrically Tunable Lens)을 포함하는, 방법.

청구항 9

생체 내 이미지 촬영을 위한 제어 동작을 수행하는 명령어들(Instructions)이 저장된 메모리, 그리고

상기 명령어들을 실행하는 적어도 하나의 프로세서를 포함하고,

상기 적어도 하나의 프로세서는,

초점 가변 렌즈를 포함하는 공초점 현미경으로부터 생체 샘플을 한 방향으로 스캐닝한 1차원 이미지들을 획득하여, 상기 1차원 이미지들로부터 상기 생체 샘플의 움직임 정보를 추정하고,

상기 추정한 움직임 정보를 기초로 생성한 상기 초점 가변 렌즈의 초점 평면을 상기 생체 샘플의 움직임과 동기화하여 가변시키는 구동 신호를 이용하여 상기 초점 가변 렌즈를 제어하고, 상기 공초점 현미경으로부터, 상기 구동 신호에 따라 가변되는 초점 평면에서 스캐닝한 상기 생체 샘플의 연속된 이미지를 획득하는, 제어 장치.

청구항 10

제9항에서,

상기 적어도 하나의 프로세서는,

상기 생체 샘플로부터 측정된 심전도 신호로부터 심박 주기를 해석하고, 상기 심박 주기가 도래할때마다 상기 구동 신호를 상기 초점 가변 렌즈로 출력하는, 제어 장치.

청구항 11

제10항에서,

상기 적어도 하나의 프로세서는,

상기 1차원 이미지들을 통해 상기 생체 샘플의 축 방향 움직임 파형을 생성하고, 상기 축 방향 움직임 파형으로부터 획득한 축 방향 진폭 주기에서 상기 심박 주기에 해당하는 한 주기 파형을 전압 단위로 변환하여 상기 구동 신호를 생성하는, 제어 장치.

청구항 12

제9항에서,

상기 적어도 하나의 프로세서는,

프레임 단위의 복수개의 1차원 이미지를 시간축 방향으로 병합한 하나의 이미지로부터 시간에 따른 화소 밝기 정보를 획득하고,

상기 1차원 이미지 스캔시 상기 초점 가변 렌즈를 구동한 파형과 상기 화소 밝기 정보가 교차하는 지점인 샘플링 포인트들을 이용하여 상기 생체 샘플의 축 방향 움직임 정보를 추정하는, 제어 장치.

청구항 13

초점 가변 렌즈를 이용하여 생체 샘플을 한 방향으로 스캔하여 1차원 이미지들을 생성하는 공초점 현미경, 그리고

상기 공초점 현미경으로부터 획득한 1차원 이미지들로부터 상기 생체 샘플의 움직임 정보를 추정하고, 상기 추정한 움직임 정보를 기초로 상기 초점 가변 렌즈의 초점 평면을 상기 생체 샘플의 움직임과 동기화하여 가변시키는 구동 신호를 생성하여, 상기 구동 신호로 상기 초점 가변 렌즈를 제어하고, 상기 공초점 현미경으로부터, 상기 구동 신호에 따라 가변되는 초점 평면에서 스캐닝한 상기 생체 샘플의 연속된 이미지를 획득하는 제어 장치

를 포함하는, 생체 내 이미지 촬영 시스템.

청구항 14

제13항에서,

상기 공초점 현미경은,

입력 전류에 의해 곡률 반경이 변화함에 따라 초점 평면이 가변되는 상기 초점 가변 렌즈, 그리고

X축 스캐너만 구동하는 1차원 스캐닝을 통하여 상기 생체 샘플에 대한 상기 1차원 이미지들을 생성하여 상기 제어 장치로 출력하는 스캐닝 모듈

을 포함하는, 생체 내 이미지 촬영 시스템.

청구항 15

제14항에서,

상기 공초점 현미경은,

광원에 의해 조사되어 상기 초점 가변 렌즈를 통과한 빛을 굴절시켜 상기 생체 샘플로 안내하고, 상기 생체 샘플에서 반사된 광을 흡수하여 상기 스캐닝 모듈로 전달하는 대물렌즈를 더 포함하고,

상기 초점 가변 렌즈는,

상기 대물렌즈의 후초점 평면에 부착되는, 생체 내 이미지 촬영 시스템.

청구항 16

제14항에서,

상기 스캐닝 모듈의 스캔 동작을 통해 획득된 광 신호 형태의 이미지들을 전기적 신호로 변환하고, 변환된 이미지들을 상기 제어 장치로 출력하는 광전 증폭관

을 더 포함하는, 생체 내 이미지 촬영 시스템.

청구항 17

제13항에서,

상기 제어 장치는,

상기 1차원 이미지들을 통해 상기 생체 샘플의 축 방향 움직임 파형을 생성하고, 상기 축 방향 움직임 파형으로부터 획득한 축 방향 진폭 주기에서 기 정의된 단위 주기 파형을 전압 단위로 변환하여 상기 구동 신호를 생성하는, 생체 내 이미지 촬영 시스템.

청구항 18

제13항에서,

상기 생체 샘플의 심전도(electrocardiogram, ECG)를 측정하는 심전도 측정 장치를 더 포함하고,

상기 제어 장치는,

상기 심전도 측정 장치로부터 수신되는 심전도 신호로부터 심박 주기를 해석하고, 상기 심박 주기가 도래할때마다 상기 구동 신호를 상기 초점 가변 렌즈로 출력하는, 생체 내 이미지 촬영 시스템.

청구항 19

제18항에서,

상기 제어 장치는,

프레임 단위의 복수개의 1차원 이미지를 시간축 방향으로 병합한 하나의 이미지로부터 시간에 따른 화소 밝기 정보를 획득하고,

상기 1차원 이미지 스캔시 상기 초점 가변 렌즈를 구동한 파형과 상기 화소 밝기 정보가 교차하는 지점인 샘플링 포인트들을 이용하여 상기 생체 샘플의 축 방향 진폭 주기를 추정하고,

추정한 축 방향 진폭 주기 중에서 상기 심박 주기에 해당하는 한 주기 파형을 전압 단위로 변환하여 상기 구동 신호를 생성하는, 생체 내 이미지 촬영 시스템.

청구항 20

제19항에서,

상기 공초점 현미경으로부터 스캔된 이미지들을 수신하여 상기 제어 장치로 전달하고, 상기 심전도 측정 장치로부터 수신되는 심전도 신호를 상기 제어 장치로 전달하며, 상기 구동 신호를 상기 초점 가변 렌즈로 출력하는 데이터-신호 통합 장치

를 더 포함하는, 생체 내 이미지 촬영 시스템.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 초점 가변 렌즈를 이용한 동적 초점 움직임 보상을 통해 생체 내 이미지를 촬영하는 방법, 장치 및 시스템에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 생체 내 현미경(Intravital microscopy)은 살아있는 동물로부터 세포 수준의 고해상도 이미지 획득을 가능하게 해주어 다양한 기관에서 세포 추적 연구, 세포 소통 연구 등에서 활발히 활용되고 있는 기술이다.

[0003] 특히, 생체 내 현미경은 생체 외 실험(ex vivo), 시험관 실험(in vitro)과는 다르게 pH, 온도 등과 같이 미세 환경이 자연 상태 그대로 유지될 수 있는 특성이 있어, 세포 생물학 분야에 크게 기여하고 있다.

[0004] 그런데, 쥐 경동맥 등과 같이 생체를 대상으로 생체 내 이미징을 진행하면 심박에 의한 움직임으로 인해 현미경의 초점 평면이 샘플로부터 지속적으로 벗어나 연속적인 이미지 획득이 어려운 문제가 있다.

[0005] 이러한 문제, 즉, 생체 내 이미징시 필연적으로 수반되는 심호흡에 의한 움직임을 보상해주기 위해 다양한 연구가 제안되었다.

- [0006] 제안된 기술 중 하나인 조직에 직접 접촉하여 안정화하는 기술은 조직의 움직임 자체를 줄여주어 심장이나 동맥과 같은 조직에서도 고해상도 이미지 획득이 가능하지만 의도치 않은 혈류 폐색이 존재할 수 있다.
- [0007] 제안된 기술 중 하나인 센서를 사용해 움직임을 측정하면서 대물렌즈를 움직여주는 기술은 실시간으로 초점 평면이 샘플을 따라갈 수 있으나 시스템의 부피가 커지는 문제가 있다.
- [0008] 제안된 기술 중 하나인 움직임이 적은 구간에서만 이미지를 획득하는 심전도 게이팅(ECG gating) 기술은 특별한 장치 없이도 움직임이 보상된 영상을 얻을 수 있지만 시간 해상도 측면에서 손해를 보게 된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 개시는, 생물체인 샘플의 심전도를 측정하여 각 심박 주기마다 발생하는 규칙적인 움직임을 초점 가변 렌즈로 스캔하여 추정하고, 추정된 움직임대로 초점 가변 렌즈의 초점을 이동시켜 샘플의 조직이 움직이는 동안에도 샘플의 고해상도 이미지를 촬영할 수 있는 방법, 장치 및 시스템을 제공한다.
- [0010] 본 개시는, 공초점 현미경의 대물렌즈 후초점 평면에 초점 가변 렌즈를 부착하여 샘플을 축 방향으로 고속 스캐닝 하고, 고속 스캐닝을 통해 추정된 샘플의 움직임에 따라 초점 가변 렌즈의 초점 평면을 구동하는 방법, 장치 및 시스템을 제공한다.

과제의 해결 수단

- [0011] 한 특징에 따르면, 적어도 하나의 프로세서에 의해 동작하는 제어 장치의 생체 이미지 촬영 방법으로서, 초점 가변 렌즈를 포함하는 공초점 현미경으로부터 생체 샘플을 한 방향으로 스캐닝한 1차원 이미지들을 획득하는 단계, 상기 1차원 이미지들로부터 상기 생체 샘플의 움직임 정보를 추정하는 단계, 상기 추정된 움직임 정보를 기초로 상기 초점 가변 렌즈의 초점 평면을 상기 생체 샘플의 움직임과 동기화하여 가변시키는 구동 신호를 생성하고, 상기 구동 신호로 상기 초점 가변 렌즈를 제어하는 단계, 그리고 상기 공초점 현미경으로부터, 상기 구동 신호에 따라 가변되는 초점 평면에서 스캐닝한 상기 생체 샘플의 연속된 이미지를 획득하는 단계를 포함한다.
- [0012] 상기 추정하는 단계는, 상기 1차원 이미지들을 통해 상기 생체 샘플의 축 방향 움직임 파형을 생성하고, 상기 축 방향 움직임 파형으로부터 획득한 축 방향 진폭 주기를 상기 움직임 정보로 추정할 수 있다.
- [0013] 상기 추정하는 단계는, 프레임 단위의 1차원 이미지들을 시간축 방향으로 병합한 하나의 이미지를 생성하는 단계, 병합한 이미지로부터 시간에 따른 화소 밝기 정보를 획득하는 단계, 그리고 상기 1차원 이미지들의 스캔시 상기 초점 가변 렌즈를 구동한 파형과 상기 화소 밝기 정보가 교차하는 지점인 샘플링 포인트들을 이용하여 상기 생체 샘플의 축 방향 진폭 주기를 추정하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0014] 상기 제어하는 단계는, 상기 추정된 움직임 정보로부터 확인한 기 설정된 단위 주기의 파형 정보를 이용하여 생성한 구동 신호를 상기 초점 가변 렌즈로 출력할 수 있다.
- [0015] 상기 제어하는 단계는, 상기 추정된 움직임 정보로부터 확인한 샘플 움직임의 한 주기 파형을 전압 단위로 변환한 구동 신호를 생성할 수 있다.
- [0016] 상기 추정하는 단계와 상기 제어하는 단계 사이에, 심전도 측정 장치에 의해 상기 생체 샘플로부터 측정된 심전도 신호를 상기 심전도 측정 장치로부터 수신하는 단계를 더 포함하고, 상기 제어하는 단계는, 상기 심전도 신호로부터 획득한 심박 주기마다 상기 구동 신호를 생성하여 상기 초점 가변 렌즈에게 출력할 수 있다.
- [0017] 상기 제어하는 단계는, 추정된 생체 샘플의 움직임 정보로부터 상기 심박 주기에 해당하는 한 주기의 움직임 정보를 획득하고, 획득한 움직임 정보를 전압 단위로 변환한 구동 신호를 생성할 수 있다.
- [0018] 상기 초점 가변 렌즈는, ETL(Electrically Tunable Lens)을 포함할 수 있다.
- [0019] 다른 특징에 따르면, 제어 장치는 생체 내 이미지 촬영을 위한 제어 동작을 수행하는 명령어들(Instructions)이 저장된 메모리, 그리고 상기 명령어들을 실행하는 적어도 하나의 프로세서를 포함하고, 상기 적어도 하나의 프로세서는, 초점 가변 렌즈를 포함하는 공초점 현미경으로부터 생체 샘플을 한 방향으로 스캐닝한 1차원 이미지들을 획득하여, 상기 1차원 이미지들로부터 상기 생체 샘플의 움직임 정보를 추정하고, 상기 추정된 움직임 정보를 기초로 생성한 상기 초점 가변 렌즈의 초점 평면을 상기 생체 샘플의 움직임과 동기화하여 가변시키는 구동 신호를 이용하여 상기 초점 가변 렌즈를 제어하고, 상기 공초점 현미경으로부터, 상기 구동 신호에 따라 가

변되는 초점 평면에서 스캐닝한 상기 생체 샘플의 연속된 이미지를 획득한다.

- [0020] 상기 적어도 하나의 프로세서는, 상기 생체 샘플로부터 측정된 심전도 신호로부터 심박 주기를 해석하고, 상기 심박 주기가 도래할때마다 상기 구동 신호를 상기 초점 가변 렌즈로 출력할 수 있다.
- [0021] 상기 적어도 하나의 프로세서는, 상기 1차원 이미지들을 통해 상기 생체 샘플의 축 방향 움직임 파형을 생성하고, 상기 축 방향 움직임 파형으로부터 획득한 축 방향 진폭 주기에서 상기 심박 주기에 해당하는 한 주기 파형을 전압 단위로 변환하여 상기 구동 신호를 생성할 수 있다.
- [0022] 상기 적어도 하나의 프로세서는, 프레임 단위의 복수개의 1차원 이미지를 시간축 방향으로 병합한 하나의 이미지로부터 시간에 따른 화소 밝기 정보를 획득하고, 상기 1차원 이미지 스캔시 상기 초점 가변 렌즈를 구동한 파형과 상기 화소 밝기 정보가 교차하는 지점인 샘플링 포인트들을 이용하여 상기 생체 샘플의 축 방향 움직임 정보를 추정할 수 있다.
- [0023] 또 다른 특징에 따르면, 생체 내 이미지 촬영 시스템은 초점 가변 렌즈를 이용하여 생체 샘플을 한 방향으로 스캔하여 1차원 이미지들을 생성하는 공초점 현미경, 그리고 상기 공초점 현미경으로부터 획득한 1차원 이미지들로부터 상기 생체 샘플의 움직임 정보를 추정하고, 상기 추정한 움직임 정보를 기초로 상기 초점 가변 렌즈의 초점 평면을 상기 생체 샘플의 움직임과 동기화하여 가변시키는 구동 신호를 생성하여, 상기 구동 신호로 상기 초점 가변 렌즈를 제어하고, 상기 공초점 현미경으로부터, 상기 구동 신호에 따라 가변되는 초점 평면에서 스캐닝한 상기 생체 샘플의 연속된 이미지를 획득하는 제어 장치를 포함한다.
- [0024] 상기 공초점 현미경은, 입력 전류에 의해 곡률 반경이 변화함에 따라 초점 평면이 가변되는 상기 초점 가변 렌즈, 그리고 X축 스캐너만 구동하는 1차원 스캐닝을 통하여 상기 생체 샘플에 대한 상기 1차원 이미지들을 생성하여 상기 제어 장치로 출력하는 스캐닝 모듈을 포함할 수 있다.
- [0025] 상기 공초점 현미경은, 광원에 의해 조사되어 상기 초점 가변 렌즈를 통과한 빛을 굴절시켜 상기 생체 샘플로 안내하고, 상기 생체 샘플에서 반사된 광을 흡수하여 상기 스캐닝 모듈로 전달하는 대물렌즈를 더 포함하고, 상기 초점 가변 렌즈는, 상기 대물렌즈의 후초점 평면에 부착될 수 있다.
- [0026] 상기 생체 내 이미지 촬영 시스템은 상기 스캐닝 모듈의 스캔 동작을 통해 획득된 광 신호 형태의 이미지들을 전기적 신호로 변환하고, 변환된 이미지들을 상기 제어 장치로 출력하는 광전 증폭관을 더 포함할 수 있다.
- [0027] 상기 제어 장치는, 상기 1차원 이미지들을 통해 상기 생체 샘플의 축 방향 움직임 파형을 생성하고, 상기 축 방향 움직임 파형으로부터 획득한 축 방향 진폭 주기에서 기 정의된 단위 주기 파형을 전압 단위로 변환하여 상기 구동 신호를 생성할 수 있다.
- [0028] 상기 생체 내 이미지 촬영 시스템은 상기 생체 샘플의 심전도(electrocardiogram, ECG)를 측정하는 심전도 측정 장치를 더 포함하고, 상기 제어 장치는, 상기 심전도 측정 장치로부터 수신되는 심전도 신호로부터 심박 주기를 해석하고, 상기 심박 주기가 도래할때마다 상기 구동 신호를 상기 초점 가변 렌즈로 출력할 수 있다.
- [0029] 상기 제어 장치는, 프레임 단위의 복수개의 1차원 이미지를 시간축 방향으로 병합한 하나의 이미지로부터 시간에 따른 화소 밝기 정보를 획득하고, 상기 1차원 이미지 스캔시 상기 초점 가변 렌즈를 구동한 파형과 상기 화소 밝기 정보가 교차하는 지점인 샘플링 포인트들을 이용하여 상기 생체 샘플의 축 방향 진폭 주기를 추정하고, 추정한 축 방향 진폭 주기 중에서 상기 심박 주기에 해당하는 한 주기 파형을 전압 단위로 변환하여 상기 구동 신호를 생성할 수 있다.
- [0030] 상기 생체 내 이미지 촬영 시스템은 상기 공초점 현미경으로부터 스캔된 이미지들을 수신하여 상기 제어 장치로 전달하고, 상기 심전도 측정 장치로부터 수신되는 심전도 신호를 상기 제어 장치로 전달하며, 상기 구동 신호를 상기 초점 가변 렌즈로 출력하는 데이터-신호 통합 장치를 더 포함할 수 있다.

발명의 효과

- [0031] 본 개시에 따르면, 초점 가변 렌즈 하나만으로 샘플에 직접 접촉 없이도 샘플의 축 방향 움직임을 추정하고, 추정한 움직임에 맞추어 초점 가변 렌즈의 초점 평면을 움직일 수 있다.
- [0032] 또한, 비접촉 방식으로 샘플의 축 방향 움직임 추정이 가능하기 때문에 생체 내 이미징의 장점을 그대로 살릴 수 있고, 샘플이 움직이고 있는 순간에도 연속적인 이미지 획득이 가능하여 향상된 시간 해상도를 갖는 영상을 획득할 수 있다.

[0033] 또한, 1D 스캐닝과 초점 가변 렌즈로 샘플을 스캔하면서 비접촉 방식으로 샘플의 축 방향 움직임을 추정하고, 추정된 파형대로 초점 평면을 움직여주는 식으로 반복적인 심박에 의한 움직임을 보상하는 방식은 기계적인 움직임을 없어 생체 내 이미징 시 반드시 요구되는 수침(water immersion) 대물렌즈와 함께 사용될 수 있어 활용도가 높을 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

[0034] 도 1은 실시예에 따른 생체 내 이미지 촬영 시스템의 구성도이다.
 도 2는 실시예에 따른 공초점 현미경의 개략적인 구조를 나타낸다.
 도 3은 실시예에 따른 생체 내 이미지 촬영 시스템의 동작을 설명하는 순서도이다.
 도 4는 실시예에 따른 1D 스캐닝을 설명하는 도면이다.
 도 5는 실시예에 따른 샘플의 축 방향 진폭 추정 과정을 설명하는 예시도이다.
 도 6은 실시예에 따른 샘플의 움직임 추정 결과를 나타낸 예시도이다.
 도 7은 실시예에 따른 심박 움직임을 한 주기 파형을 나타낸 예시도이다.
 도 8은 실시예에 따른 초점 가변 렌즈에 가해지는 아날로그 입력 전압과 전류 사이의 관계를 나타낸 그래프이다.
 도 9는 실시예에 따른 초점 가변 렌즈의 입력 전류와 초점 평면 사이의 관계를 나타낸 그래프이다.
 도 10은 실시예에 따른 ETL의 구조도이다.
 도 11은 실제 샘플 움직임과 추정된 샘플 움직임 간의 차이를 초래하는 네가지 유형의 오류를 나타낸다.
 도 12는 실시예에 따른 심전도 신호와 심박 신호를 나타낸 그래프이다.
 도 13은 실시예에 따른 축 방향 움직임이 보상된 실시간 샘플 이미지를 나타낸다.
 도 14는 실시예에 따른 컴퓨팅 장치의 구성도이다.
 도 15는 1D 스캔 이미지의 원리(Principles of 1D scanned image)를 나타낸다.
 도 16은 시뮬레이션에서 가상 1D 스캔 이미지 생성을 나타낸 예시도이다.
 도 17a, 17b, 17c는 샘플의 축 방향 움직임을 추정하기 위한 시뮬레이션 프로세스를 나타낸다.
 도 18은 움직임 추정을 통해 측정된 미리 샘플의 변위를 나타낸다.
 도 19는 쥐 경동맥에 대한 움직임 추정 프로세스의 결과를 나타낸다.
 도 20은 샘플과 보정이 없는 초점 평면, 또는 샘플과 보정이 있는 초점 평면 사이에 초점 불일치에 대한 시뮬레이션 결과를 나타낸다.
 도 21은 쥐 경동맥에서 얻은 움직임 보정이 있거나 없는 일련의 이미지를 나타낸다.
 도 22는 움직임 보상이 없는 경우와, 움직임 보상이 있는 경우에 대한 이미지 획득 중 초점이 맞는 순간을 정량적으로 분석한 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0035] 아래에서는 첨부한 도면을 참고로 하여 본 개시의 실시예에 대하여 본 개시가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 상세히 설명한다. 그러나 본 개시는 여러가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다. 그리고 도면에서 본 개시를 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.

[0036] 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함" 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다.

[0037] 또한, 명세서에 기재된 "...부", "...기", "...모듈" 등의 용어는 적어도 하나의 기능이나 동작을 처리하는 단위를

의미하며, 이는 하드웨어나 소프트웨어 또는 하드웨어 및 소프트웨어의 결합으로 구현될 수 있다.

- [0038] 본 발명에서 설명하는 장치들은 적어도 하나의 프로세서, 메모리 장치, 통신 장치 등을 포함하는 하드웨어로 구성되고, 지정된 장소에 하드웨어와 결합되어 실행되는 프로그램이 저장된다. 하드웨어는 본 발명의 방법을 실행할 수 있는 구성과 성능을 가진다. 프로그램은 도면들을 참고로 설명한 본 발명의 동작 방법을 구현한 명령어(instructions)를 포함하고, 프로세서와 메모리 장치 등의 하드웨어와 결합하여 본 발명을 실행한다.
- [0039] 본 명세서에서 "전송 또는 제공"은 직접적인 전송 또는 제공하는 것뿐만 아니라 다른 장치를 통해 또는 우회 경로를 이용하여 간접적으로 전송 또는 제공도 포함할 수 있다.
- [0040] 본 명세서에서 단수로 기재된 표현은 "하나" 또는 "단일" 등의 명시적인 표현을 사용하지 않은 이상, 단수 또는 복수로 해석될 수 있다.
- [0041] 본 명세서에서 도면에 관계없이 동일한 도면번호는 동일한 구성요소를 지칭하며, "및/또는"은 언급된 구성 요소들의 각각 및 하나 이상의 모든 조합을 포함한다.
- [0042] 본 명세서에서, 제1, 제2 등과 같이 서수를 포함하는 용어들은 다양한 구성요소들을 설명하는데 사용될 수 있지만, 상기 구성요소들은 상기 용어들에 의해 한정되지는 않는다. 상기 용어들은 하나의 구성요소를 다른 구성요소로부터 구별하는 목적으로만 사용된다. 예를 들어, 본 개시의 권리 범위를 벗어나지 않으면서 제1 구성요소는 제2 구성요소로 명명될 수 있고, 유사하게 제2 구성요소도 제1 구성요소로 명명될 수 있다.
- [0043] 본 명세서에서 도면을 참고하여 설명한 흐름도에서, 동작 순서는 변경될 수 있고, 여러 동작들이 병합되거나, 어느 동작이 분할될 수 있고, 특정 동작은 수행되지 않을 수 있다.
- [0044] 본 개시의 장치는 적어도 하나의 프로세서가 명령어들(instructions)을 실행함으로써, 본 개시의 동작을 수행할 수 있도록 구성 및 연결된 컴퓨팅 장치이다. 컴퓨터 프로그램은 프로세서가 본 개시의 동작을 실행하도록 기술된 명령어들(instructions)을 포함하고, 비일시적-컴퓨터 판독가능 저장매체(non-transitory computer readable storage medium)에 저장될 수 있다. 컴퓨터 프로그램은 네트워크를 통해 다운로드되거나, 제품 형태로 판매될 수 있다.
- [0046] 도 1은 실시예에 따른 생체 내 이미지 촬영 시스템의 구성도이고, 도 2는 실시예에 따른 공초점 현미경의 개략적인 구조를 나타낸다.
- [0047] 도 1을 참조하면, 생체 내 이미지 촬영 시스템(100)은 샘플의 생체 내 이미지를 촬영하는 동안 축 방향으로 샘플 움직임을 보상하고, 샘플 움직임에 의해 덜 손상된 이미지를 획득할 수 있다.
- [0048] 생체 내 이미지 촬영 시스템(100)은 초변 가변 렌즈를 사용하여, 동적 포커싱을 통해 축 방향으로 샘플 움직임을 보상할 수 있다. 즉, 생체 내 이미지 촬영 시스템(100)은 샘플의 심전도(electrocardiogram, ECG)를 측정하여 각 심박 주기마다 발생하는 규칙적인 움직임을 초점 가변 렌즈로 빠르게 스캔하여 추정하고, 추정한 움직임대로 초점 가변 렌즈의 초점을 이동시켜 샘플의 조직이 움직이는 동안에도 고해상도 생체 내 이미지를 획득할 수 있다.
- [0049] 생체 내 이미지 촬영 시스템(100)은 공초점 현미경(confocal microscopy)(110), 광원(120), 광전 증폭관(130), 데이터-신호 통합 장치(140), 제어 장치(150) 및 심전도 측정 장치(160)를 포함할 수 있다.
- [0050] 공초점 현미경(110)은 일반적으로 생체 내 현미경에서 많이 활용되고 있다. 공초점 현미경(110)은 핀홀(pinhole)을 두어 초점에서 벗어난 빛은 핀홀을 통과하지 못하고 초점에서 오는 빛만 핀홀을 통과하여 공초점 현미경(110)의 해상도를 높이고 광학 절편(optical sectioning)을 형성한다. 광학 절편은 공초점 현미경(110)에서 핵심이라 할 수 있는데, 초점에서 벗어난 빛은 검출되지 않기 때문에 두꺼운 샘플에서 원하는 초점 평면에 대해서만 초점을 맞추고 이미지 획득이 가능하게 된다.
- [0051] 공초점 현미경(110)은 대물렌즈(111), 초점 가변 렌즈(112) 및 스캐닝 모듈(113)을 포함할 수 있다. 물론, 공초점 현미경(110)의 구성이 이들 구성(111, 112, 113)으로 제한되는 것은 아니며, 본 명세서에서는 실시예 설명에 필요한 개략적인 구성만을 도시한다.
- [0052] 대물렌즈(111)는 광원(120)에 의해 조사되어 초점 가변 렌즈(112)를 통과한 빛을 굴절시켜 샘플(도 2의 200)로 안내하고, 샘플(도 2의 200)에서 반사된 광을 흡수하여 스캐닝 모듈(113)로 전달한다.
- [0053] 도 2를 참조하면, 초점 가변 렌즈(112)는 대물렌즈(111)의 후초점 평면(back focal plane)에 부착되어 있다. 초

점 가변 렌즈(112)로 작업할 때 유해한 영향을 최소화하기 위해 공초점 현미경(110)에서 초점 가변 렌즈(112)의 최적 위치를 선택하는 것이 중요하다. 각 구성의 특성을 고려할 때 초점 가변 렌즈(112)를 대물렌즈(111)의 후 초점 평면에 배치하면, 최소한의 수정만 하면 된다.

[0054] 초점 가변 렌즈(112)로서, ETL(Electrically Tunable Lens)이 사용될 수 있다.

[0055] 초점 가변 렌즈(112)는 내부가 액체로 채워진 렌즈로서, 액체를 감싸는 렌즈 표면 막을 눌러주는 세기에 따라 막의 곡률이 바뀌어 초점 거리를 고속으로 바꿔줄 수 있다. 공초점 현미경(110)에서 샘플(200)의 광축 방향 또는 축 방향의 움직임을 초점 가변 렌즈(112)를 사용해 빠른 속도로 스캔을 해주면, 공초점 현미경(110)의 광학 절편 능력 덕분에 초점이 맞는 순간에서만 밝은 이미지를 획득할 수 있어 이를 적용하면 샘플(200)의 축 방향 움직임을 추정할 수 있다.

[0056] 초점 가변 렌즈(112)에 의해 형성되는 초점 평면은 샘플(200)의 움직임 대로 움직인다. 초점 가변 렌즈(112)의 초점 평면은 데이터-신호 통합 장치(140)로부터 수신한 구동 신호에 따라 가변된다. 즉, 초점 가변 렌즈(112)는 구동 신호에 따라 단위 주기 동안 시간에 따라 초점 거리가 변동된다.

[0057] 스캐닝 모듈(113)은 광원(120)으로부터 출사된 빛의 경로를 조절하여 빛을 샘플(200) 상에 조사한다. 빛은 초점 가변 렌즈(112) 및 대물렌즈(111)를 통하여 샘플(200)에 조사된 후, 초점 가변 렌즈(112)에 의해 샘플(200)에 형성된 초점에서 반사되어 대물렌즈(111) 및 초점 가변 렌즈(112)를 통과하여 스캐닝 모듈(113)로 입사된다.

[0058] 스캐닝 모듈(113)은 입사된 신호로부터 샘플(200)의 이미지를 생성하는데, 이때, 하나의 미러를 이용하여 샘플(200)을 축 방향으로 스캐닝 하여 1D 스캐닝 이미지를 생성한다.

[0059] 1D 스캐닝 이미지는 샘플(200)의 축 방향 움직임에 대한 정보를 포함한다. 1D 스캐닝 이미지에서 세로축이 시간이 되며 초점 가변 렌즈(112)로 샘플(200)을 축 방향으로 스캔해주면 시간에 따른 샘플(200)과 공초점 현미경(110)의 초점이 맞는 순간이 1D 스캐닝 이미지에 포함된다.

[0060] 광원(120)은 레이저(laser)를 비롯한 여러 종류의 것을 적용할 수 있다.

[0061] 광전 증폭관(Photo Multiplier Tube)(130)은 스캐닝 모듈(113)로부터 수신되는 광 신호 형태의 1D 스캐닝 이미지를 전기적 신호로 변환하고, 전기적 신호 형태의 1D 스캐닝 이미지를 데이터-신호 통합 장치(140)에게 출력한다.

[0062] 전기적 신호 형태의 1D 스캐닝 이미지는 데이터-신호 통합 장치(140)로부터 제어 장치(150)에게 전달된다.

[0063] 제어 장치(150)는 1D 스캐닝 이미지에 포함된 샘플(200)의 축 방향 움직임, 즉, 샘플(200)의 축 방향 진폭 주기를 추정한다. 제어 장치(150)는 추정한 축 방향 진폭 주기마다 초점면이 움직이도록 제어하는 구동 신호를 생성할 수 있다.

[0064] 제어 장치(150)는 구동 신호를 데이터-신호 통합 장치(140)에게 출력한다. 데이터-신호 통합 장치(140)는 구동 신호를 초점 가변 렌즈(112)에게 출력한다. 초점 가변 렌즈(112)의 초점 평면은 구동 신호에 따라 가변된다.

[0065] 구동 신호는 톱니파 또는 삼각파의 형태이다. 구동 신호는 샘플의 축 방향 움직임보다 큰 진폭으로 샘플을 스캔하여 초점 가변 렌즈(112)의 스캔 범위 안에 샘플(200)의 움직임이 벗어나지 않도록 제어한다.

[0066] 심전도 측정 장치(160)는 생체 샘플(200)의 심장에 흐르는 전기를 측정한다. 심전도 측정 장치(160)는 측정된 심전도 신호를 데이터-신호 통합 장치(140)에게 전송한다. 데이터-신호 통합 장치(140)는 수신한 심전도 신호를 제어 장치(150)로 전달한다.

[0067] 제어 장치(150)는 심전도 신호가 전달되면, 심전도 신호의 파동을 검사하여 심전도 신호의 R피크마다 전기적 펄스를 생성한다. 이 전기적 펄스는 심박 신호이다.

[0068] 제어 장치(150)는 심박 주기마다 구동 신호를 생성하고, 생성한 구동 신호를 데이터-신호 통합 장치(140)로 출력한다. 즉, 심박 신호는 구동 신호를 생성하기 위한 트리거 신호로 사용된다. 따라서, 샘플로부터 심전도 신호가 생성될 때마다 구동 신호를 초점 가변 렌즈(112)로 출력할 수 있게 된다.

[0070] 도 3은 실시예에 따른 생체 내 이미지 촬영 시스템의 동작을 설명하는 순서도이고, 도 4는 실시예에 따른 1D 스캐닝을 설명하는 도면이고, 도 5는 실시예에 따른 샘플의 축 방향 진폭 추정 과정을 설명하는 예시도이고, 도 6은 실시예에 따른 샘플의 움직임 추정 결과를 나타낸 예시도이고, 도 7은 실시예에 따른 심박 움직임을 한 주기 파형을 나타낸 예시도이고, 도 8은 실시예에 따른 초점 가변 렌즈에 가해지는 아날로그 입력 전압과 전류 사이

의 관계를 나타낸 그래프이고, 도 9는 실시예에 따른 초점 가변 렌즈의 입력 전류와 초점 평면 사이의 관계를 나타낸 그래프이고, 도 10은 실시예에 따른 ETL의 구조도이고, 도 11은 실제 샘플 움직임과 추정된 샘플 움직임 간의 차이를 초래하는 네가지 유형의 오류를 나타내고, 도 12는 실시예에 따른 심전도 신호와 심박 신호를 나타낸 그래프이고, 도 13은 실시예에 따른 축 방향 움직임이 보상된 실시간 샘플 이미지를 나타낸다.

- [0071] 도 3을 참조하면, 생체 내 이미지 촬영 시스템(100)의 제어 장치(150)가 다른 구성 요소들(110, 120, 130, 140, 160)과 연동하여 샘플의 움직임을 보상하는 절차에 대해 설명한다.
- [0072] 제어 장치(150)는 3단계의 움직임 보상 절차를 수행한다.
- [0073] 3단계의 움직임 보상 절차는 축 방향 움직임 탐색 모드, 움직임 추정 모드, 움직임 보상 모드로 구성된다.
- [0074] S101은 축 방향 움직임 탐색 모드의 동작이고, S102는 움직임 추정 모드의 동작이며, S103 ~ S105는 움직임 보상 모드의 동작이다. 생체 내 이미지 촬영 시스템(100)은 이러한 연속적인 과정(S101~S105), 즉, 초점 가변 렌즈(도 1의 112)를 사용하여 동적 포커싱을 통해 이미지를 획득하는 동안 생체 내 이미지의 모션 아티팩트(motion artifacts)를 줄일 수 있다.
- [0075] 축 방향 움직임 탐색 모드에서, 제어 장치(150)는 1D 스캐닝과 초점 가변 렌즈(도 1의 112)를 사용한 고속 축 방향 스캐닝을 통해 1D 스캐닝 이미지를 획득한다(S101).
- [0076] 이때, 제어 장치(150)는 1D 스캐닝을 위한 스캔 파형을 초점 가변 렌즈(도 1의 112)에게 출력하여, 초점 가변 렌즈(도 1의 112)를 구동한다. 이때, 스캔 파형은 톱니파 또는 삼각파이고, 샘플(도 2의 200)의 축 방향 움직임보다 큰 진폭으로 샘플(도 2의 200)을 스캔할 수 있는 진폭을 가지도록 설정된다. 따라서, 초점 가변 렌즈(도 1의 112)의 스캔 범위 안에 샘플(도 2의 200)의 움직임이 벗어나지 않도록 한다.
- [0077] 1D 스캐닝이란, 2D 이미지를 형성할 때 사용되는 두 개의 스캐너 중 하나만 구동하여 이미지를 획득하게 된다.
- [0078] 도 4의 (a)를 참조하면, 기본적으로 샘플의 경동맥 2D 이미지는 X축 스캐닝과 Y축 스캐닝을 동시에 수행하여 획득된다.
- [0079] 반면, 도 4의 (b)를 참조하면, 본 발명의 실시예에서는 X축 스캐너만 구동하여 경동맥 1D 스캐닝을 통해 1D 스캐닝 이미지를 획득할 수 있다. 이때, 세로 축은 시간(s)이다.
- [0080] 이때, 1D 스캐닝 이미지에는 샘플(도 2의 200)의 축 방향 움직임에 대한 정보, 즉, 축 방향 움직임의 파형이 포함된다.
- [0081] 움직임 추정 모드에서, 제어 장치(150)는 1D 스캐닝 이미지에 포함된 샘플(200)의 축 방향 움직임 파형으로부터 샘플(200)의 축 방향 진폭 주기를 추정한다(S102).
- [0082] 한 실시예에 따르면, S102에서 MATLAB 및 LabVIEW에서 프로그래밍된 맞춤형 움직임 추정 알고리즘이 사용될 수 있다. MATLAB은 MathWorks 사에서 개발한 수치 해석 및 프로그래밍 환경을 제공하는 공학용 소프트웨어이다. LabVIEW는 내셔널 인스트루먼트의 시각 프로그래밍 언어를 위한 시스템 디자인 플랫폼이자 개발 환경이다. 이러한 움직임 추정 알고리즘의 결과는 MATLAB 코드용 텍스트 파일 또는 LabVIEW 코드용 tdms 파일에 저장될 수 있다.
- [0083] 도 5의 (a)를 참조하면, 제어 장치(150)는 프레임 단위의 복수개의 1D 스캐닝 이미지를 시간축 방향으로 병합한 하나의 이미지를 생성한다. 이처럼 병합된 하나의 이미지는 연속적인 복수개의 1D 스캔 이미지가 시간축에 함께 배치된다.
- [0084] 도 5의 (b)를 참조하면, 제어 장치(150)는 병합한 이미지로부터 시간에 따른 화소 밝기(또는 pixel intensity)에 대한 정보를 획득할 수 있다. 화소 밝기는 병합 이미지의 수직선들에서 획득된다.
- [0085] 도 5의 (c)를 참조하면, 제어 장치(150)는 초점 가변 렌즈 진폭 파형을 화소 밝기와 매칭하여 화소 밝기가 최대가 되는 지점에서 샘플링 포인트를 생성할 수 있다. 즉, 제어 장치(150)는 도 5의 (b)에 표현된 화소 밝기와 초점 가변 렌즈(도 1의 112)를 구동한 파형의 진폭을 매칭하면, 도 5의 (c)와 같은 샘플링 포인트를 획득할 수 있다.
- [0086] 제어 장치(150)는 초점 가변 렌즈(도 1의 112)에 대한 입력 신호에 대한 정보, 예컨대, 파형, 진폭, 주파수를 알고 있으므로, 초점 평면 위치, 즉, 초점 가변 렌즈 진폭을 톱니 파형으로 표현할 수 있다.
- [0087] 초점 평면 위치와 화소 밝기가 교차(intersection)하는 점은 샘플의 움직임 정보를 포함한다. 화소 밝기의 최대

치는 샘플의 위치와 초점 평면이 일치하는 동안에만 도달하기 때문에 초점 가변 렌즈(도 1의 112)에 의해 유도된 초점 평면 변화와 시간적 화소 밝기 변화의 교차점이 샘플 파형의 샘플링 포인트가 된다.

[0088] 따라서, 제어 장치(150)는 샘플링 포인트를 통해 결과적으로 도 6와 같이 샘플(도 2의 200)의 축 방향 움직임을 추정할 수 있다. 축 방향 움직임은 시간에 따른 진폭의 변화로 표현된다.

[0089] 도 6을 참조하면, 샘플(도 2의 200)로서 정상 Balb/c 쥐를 사용한 예시를 나타낸다. 샘플(도 2의 200)의 경동맥의 심박에 의한 움직임은 10 Hz 정도되는 작은 진폭에 해당하고, 약 2초 간격으로 크게 움직이는 것은 호흡에 의한 움직임의 결과를 나타낸다.

[0090] 이와 같이, 샘플(도 2의 200)의 경동맥에서는 호흡에 의한 움직임도 존재한다. 따라서, 복원한 샘플(도 2의 200)의 파형에서 심박에 의한 움직임이 존재하는 구간만 선택하여 도 7과 같은 심박 움직임의 한 주기 파형을 획득할 수 있다. 심박 움직임의 한 주기 파형은 전압 단위로 변환된 구동 신호로 생성되어 초점 가변 렌즈(도 1의 112)에 제공된다.

[0091] 다시, 도 3을 참조하면, 제어 장치(150)는 데이터-신호 통합 장치(140)로부터 심전도 측정 장치(160)가 전송한 심전도 신호가 수신되는지 판단한다(S103).

[0092] S103에서 심전도 신호 수신으로 판단되면, 제어 장치(150)는 S102에서 추정한 샘플 움직임의 한 주기를 포함하는 구동 신호를 초점 가변 렌즈(도 1의 112)로 출력한다(S104).

[0093] 제어 장치(150)는 매 심박 신호가 발생할 때마다, S102에서 추정한 샘플 움직임의 한 주기를 포함하는 구동 신호를 생성하여 데이터-신호 통합 장치(140)에게 출력한다. 데이터-신호 통합 장치(140)는 구동 신호를 초점 가변 렌즈(도 1의 112)에게 출력한다.

[0094] S104에서, 제어 장치(150)는 S102에서 추정한 샘플 움직임의 한 주기 파형을 전압 단위로 변환한 구동 신호를 생성할 수 있다. 도 8을 참조하면, 초점 가변 렌즈(도 1의 112)에 가해지는 아날로그 입력 전압과 전류 사이의 관계를 나타낸다.

[0095] 도 9를 참조하면, 입력 전류와 초점 평면 변화 사이의 관계를 나타낸다. 0mA ~ 75mA의 입력 전류는 초점 가변 렌즈(도 1의 112)를 끼우기 전의 초점 평면에서 더 먼 쪽에 떨어진 초점 평면을 형성하는 음의 초점 거리를 제공한다.

[0096] 75mA ~ 300mA의 입력 전류는 양의 초점 거리를 제공하여 대물렌즈(도 1의 111)에 더 가까운 위치에 초점 평면을 형성한다.

[0097] 도 8 및 도 9를 참조하면, 전압 신호로 변환된 구동 신호에 매칭되는 전류로부터 초점 평면의 위치를 확인할 수 있다.

μm

[0098] S104에서, 제어 장치(150)는 S102에서 추정한 마이크로 미터() 단위의 거리에 대한 샘플 움직임의 한 주기 파형을, 초점 가변 렌즈(112)를 통해 실험적으로 획득한 록업 테이블인 도 8과 도 9를 선형적으로 곱해주어 전압 단위로 변환할 수 있다.

[0099] 도 8과 도 9를 통해 전압 단위로 변환하는 과정은 다음과 같다.

[0100] 도 8은 아날로그 출력 전압에 따른 초점 가변 렌즈(도 1의 112)에 전달되는 전류를 나타내며, 도 8에 표시된 두 물리량의 관계는 수학적 식 1과 같이 선형식으로 정의할 수 있다.

[0101] [수학적 식 1]

$$I = 118.67V - 303.16$$

[0102]

[0103] 이때, I와 V는 각각 전류와 전압이다.

[0104] 도 9는 초점 가변 렌즈(도 1의 112)에 입력해주는 전류에 따라서 수직 방향, 즉, 축 방향으로 초점 평면이 이동하는 거리 사이의 관계를 나타내며 수학적 식 2와 같이 선형식으로 정의할 수 있다.

[0105] [수학식 2]

$$\delta z = 2.9461 \cdot 213.76$$

[0106]

[0107] 이때, δz 와 I 는 각각 초점 가변 렌즈(도 1의 112)로 인해 초점 평면이 이동한 거리와 전류이다.

[0108] 따라서, 도 8과 도 9의 선형식에서 매개변수 전류 I 를 소거해주면 전압과 초점 평면 이동 거리에 대한 선형식, 즉, 수학식 3과 같은 선형식을 획득할 수 있다.

[0109] [수학식 3]

$$V = 2.86 \times 10^{-3} \delta z + 3.166$$

[0110]

[0111] 이러한 선형식에 도 7에서 획득한 거리의 단위로 표시된 샘플 움직임의 축 방향 진폭값을 대입하면 샘플 움직임을 구성하는 각 데이터 포인트(샘플링 포인트)에 해당하는 전압 값이 대응된다. 이러한 방식으로 도 7의 한 주기 파형을 전압 단위로 변환할 수 있다.

[0112] 이처럼, 한 주기 파형을 전압 단위로 변환한 구동 신호는 데이터-신호 통합 장치(140)에게 전달되어 초점 가변 렌즈(도 1의 112)가 한 주기 파형대로 움직이도록 한다.

[0113] 도 10을 참조하면, 초점 가변 렌즈(도 1의 112)로 사용된 ETL(Electrically Tunable Lens)의 구조를 나타낸다. ETL은 두개의 멤브레인(Membranes)으로 덮인 액체 렌즈이다. 보이스 코일 액추에이터를 사용한 정교한 전류 제어는 멤브레인을 눌러 렌즈 표면의 곡률 반경을 변경한다.

[0114] ETL로 입력 전류는 상부 렌즈 멤브레인의 곡률 반경을 변화시키는 보이스 코일 보빈(bobbin with voice coil)에 가해지는 압력을 제어한다.

[0115] 따라서, 전압 신호로 변환된 샘플 움직임의 한 주기 파형을 포함하는 구동 신호를 ETL에 제공하면, 전압 신호에 매칭되는 전류 신호가 상부 렌즈 멤브레인의 곡률 반경을 변화시킴으로써, 결과적으로 초점 평면을 샘플 움직임에 맞추어 가변 할 수 있게 된다.

[0116] 도 11을 참조하면, 실제 샘플 움직임(Actual sample movements)과 추정 움직임(Estimated motion) 간의 차이가 있다.

[0117] 축 방향 움직임 탐색 모드에서의 스캐닝 이미지 획득 시점과 움직임 보상 모드에서의 초점 평면 변경이 동일하지 않으며 이러한 두 개의 독립적인 신호의 시작 모멘트를 일치시키기가 어려우므로, 추정한 샘플 움직임 파형은 실제 샘플의 움직임 파형과 차이가 있다. 이러한 차이를 초래하는 네가지 유형의 오류는 "1. 진폭 오프셋(Amplitude Offset)", "2. 진폭 오류(Amplitude errors)", "3. 위상 오프셋(Phase offset)", "4. 주파수 오류(Frequency errors)"을 포함한다.

[0118] 도 5의 (c)에 따르면, 시간에 따른 화소 밝기와 초점 평면 위치를 매칭할 때, 이들의 시작점이 동일하게 시작된다고 가정하였다. 이러한 시작점의 오류로 인해 초점 가변 렌즈(도 1의 112)의 톱니 파형에서 계산이 잘못되고, 이로 인해 추정한 샘플의 움직임 파형이 축 방향으로 이동하기 때문에 진폭 오프셋이 발생하게 된다. 진폭 오프셋은 샘플 스테이지를 수동으로 이동하여 쉽게 제어할 수 있다.

[0119] 진폭 오류는 생체 내 이미징에서 샘플 움직임의 불규칙한 진폭으로 인해 발생하지만, 움직임 추정 성능을 크게 감소시키는 변동량은 아니다.

[0120] 샘플 움직임 추정 성능에 큰 영향을 미치는 가장 중요한 변수는 위상 오프셋과 주파수 오류이다.

[0121] 위상이 실제 샘플 움직임과 일치하지 않으면 샘플 움직임이 보정된 이미지를 얻기가 어렵다. 또한, 주파수가 샘플의 움직임과 동일하지 않은 경우 위상 오프셋은 시간에 따라 달라진다. 따라서, 실제 샘플 움직임의 실시간 주파수를 반영하는 것이 중요하며, 이를 반영하기 위해 심전도(ECG) 주기별 타이밍 신호가 필요하다.

[0122] 도 12를 참조하면, 제어 장치(150)는 심전도 측정 장치(160)로부터 수신한 심전도(ECG) 신호(Signal)의 파형을 분석하여, 심박(Heart Beat) 신호(Signal)를 분석할 수 있다. 심전도 신호는 심장을 박동하게 하는 전기 파동을 나타내며, 이러한 전기 파동을 검사하면 심박수를 측정할 수 있고, 심박수를 통해 도 12와 같은 심박 신호가 생성될 수 있다.

- [0123] 이처럼, 심전도 신호 획득 중에 심박 신호를 획득하고 초점 가변 렌즈(도 1의 112)에 대한 초점 평면 이동을 트리거 한다. 따라서, 초점 가변 렌즈(도 1의 112)의 초점 평면 움직임과 주파수를 실제 샘플의 움직임과 주파수와 자동으로 일치시킬 수 있으며, 주파수 일치 후 반복 오차가 되므로, 위상 오프셋을 수동으로 설정할 수 있다.
- [0124] 이와 같이, 주파수 오차는 심전도 신호를 구동 신호의 출력의 트리거 신호로 사용함으로써 해결할 수 있고, 진폭 오프셋, 진폭 오차, 위상 오차는 사용자가 실시간으로 획득하는 이미지를 보면서 조정하여 해결할 수 있다.
- [0125] 결론적으로, 1D 스캐닝 이미지만으로도 샘플(도 2의 200)의 축 방향 움직임을 알 수 있을 뿐 아니라 추정된 샘플의 파형대로 초점 가변 렌즈(도 1의 112)의 초점 평면을 움직임으로써 생체 내 이미징 시 존재하는 심박에 의한 움직임을 보상해줄 수 있다.
- [0126] 초점 가변 렌즈(도 1의 112)는 S104에서 수신한 구동 신호에 따라 초점 평면을 가변한다. 따라서, 제어 장치(150)는 초점 평면이 샘플 움직임에 맞추어 움직이도록 하여 실시간으로 샘플 움직임에 맞추어 보상된 샘플의 생체 내 이미지를 획득할 수 있다(S105).
- [0127] 도 13의 (a), (b), (c), (d), (e)를 참조하면, 제어 장치(150)는 0.036s 주기마다 샘플(도 2의 200)의 움직임과 초점 평면이 일치하는 순간의 이미지들을 획득할 수 있게 된다.
- [0129] 이와 같이, 공초점 현미경(도 1의 110)에서 샘플(도 2의 200)의 광축 방향(또는 축 방향)의 움직임을 초점 가변 렌즈(도 1의 112)를 사용해 빠른 속도로 스캔을 해주면, 공초점 현미경(도 1의 110)의 광학 절편 능력 덕분에 초점이 맞는 순간에서만 밝은 이미지를 획득할 수 있어 이를 적용하면 샘플(도 2의 200)의 축 방향 움직임을 추정할 수 있다.
- [0130] 따라서, 1D 스캐닝 이미지만으로도 샘플(도 2의 200)의 축 방향 움직임을 알 수 있을 뿐 아니라 추정된 샘플(도 2의 200)의 파형대로 초점 평면을 움직임으로써 생체 내 이미징 시 존재하는 심박에 의한 움직임을 보상해줄 수 있다.
- [0132] 도 14는 실시예에 따른 컴퓨팅 장치의 구성도이다.
- [0133] 도 14를 참고하면, 도 1 ~ 도 13에서 설명한 데이터-신호 통합 장치(140) 및/또는 제어 장치(150)는 적어도 하나의 프로세서에 의해 동작하는 컴퓨팅 장치(200)로 구현될 수 있다.
- [0134] 컴퓨팅 장치(200)는 하나 이상의 프로세서(210), 프로세서(210)에 의하여 수행되는 컴퓨터 프로그램을 로드하는 메모리(220), 컴퓨터 프로그램 및 각종 데이터를 저장하는 저장 장치(230), 통신 인터페이스(240), 그리고 이들을 연결하는 버스(250)를 포함할 수 있다. 이외에도, 컴퓨팅 장치(200)는 다양한 구성 요소가 더 포함될 수 있다.
- [0135] 프로세서(210)는 컴퓨팅 장치(200)의 동작을 제어하는 장치로서, 컴퓨터 프로그램에 포함된 명령어들을 처리하는 다양한 형태의 프로세서일 수 있고, 예를 들면, CPU(Central Processing Unit), MPU(Micro Processor Unit), MCU(Micro Controller Unit), GPU(Graphic Processing Unit) 또는 본 개시의 기술 분야에 잘 알려진 임의의 형태의 프로세서 중 적어도 하나를 포함하여 구성될 수 있다.
- [0136] 메모리(220)는 각종 데이터, 명령 및/또는 정보를 저장한다. 메모리(220)는 본 개시의 동작을 실행하도록 기술된 명령어들이 프로세서(210)에 의해 처리되도록 해당 컴퓨터 프로그램을 저장 장치(230)로부터 로드할 수 있다. 메모리(220)는 예를 들면, ROM(read only memory), RAM(random access memory) 등 일 수 있다.
- [0137] 저장 장치(230)는 컴퓨터 프로그램, 각종 데이터를 비임시적으로 저장할 수 있다. 저장 장치(230)는 ROM(Read Only Memory), EPROM(Erasable Programmable ROM), EEPROM(Electrically Erasable Programmable ROM), 플래시 메모리 등과 같은 비휘발성 메모리, 하드 디스크, 착탈형 디스크, 또는 본 개시가 속하는 기술 분야에서 잘 알려진 임의의 형태의 컴퓨터로 읽을 수 있는 기록 매체를 포함하여 구성될 수 있다.
- [0138] 통신 인터페이스(240)는 유/무선 통신을 지원하는 유/무선 통신 모듈일 수 있다.
- [0139] 버스(250)는 컴퓨팅 장치(200)의 구성 요소 간 통신 기능을 제공한다.
- [0140] 컴퓨터 프로그램은, 프로세서(210)에 의해 실행되는 명령어들(instructions)을 포함하고, 비일시적-컴퓨터 판독 가능 저장매체(non-transitory computer readable storage medium)에 저장되며, 명령어들은 프로세서(210)가 본 개시의 동작을 실행하도록 만든다. 컴퓨터 프로그램은 네트워크를 통해 다운로드되거나, 제품 형태로 판매

될 수 있다.

- [0141] 한 실시예에 따른 컴퓨터 프로그램은, 1D 스캐닝을 위한 스캔 광형을 초점 가변 렌즈(도 1의 112)에게 출력하여, 초점 가변 렌즈(도 1의 112)를 이용한 고속 축 방향 스캐닝을 통해 샘플(도 2의 200)의 1D 스캐닝 이미지를 획득하는 축 방향 움직임 탐색을 수행하는 명령어들을 포함할 수 있다.
- [0142] 컴퓨터 프로그램은 1D 스캐닝 이미지에 포함된 샘플(도 2의 200)의 축 방향 움직임 광형으로부터 샘플(도 2의 200)의 축 방향 진폭 주기를 추정하는 샘플의 움직임 추정을 수행하는 명령어들을 포함할 수 있다.
- [0143] 컴퓨터 프로그램은 샘플(도 2의 200)로부터 측정된 심전도 신호를 수신하고, 심전도 신호로부터 심박 주기를 추출하여, 심박 주기마다 추정한 샘플 움직임의 한 주기를 포함하는 구동 신호를 생성하여 초점 가변 렌즈(도 1의 112)에게 출력하고, 구동 신호에 따라 샘플 움직임에 맞추어 초점 평면을 가변함으로써, 샘플 움직임과 초점 평면이 일치하는 순간의 샘플 이미지들을 획득하는 움직임 보상을 수행하는 명령어들을 포함할 수 있다.
- [0145] 이하에서는 실험예를 통하여 본 발명을 상세하게 설명한다. 이러한 실험예는 단지 본 발명을 예시하기 위한 것이며, 본 발명이 여기에 한정되는 것은 아니다.
- [0146] **실험예**
- [0147] 이미징 조건은 생체(intravital) 실험에 최적화되어 있다. 이미지 크기는 256x256이고 프레임 속도는 27.7 FPS(Frames Per Second)이다.
- [0148] 공초점 현미경의 핀홀 직경은 1 AU이고, 축 움직임 탐색 모드에서 여기 파장(excitation wavelength)은 488 nm이고 온-샘플 전력(on-sample power)은 1 ~ 1.5 mW이다.
- [0149] 초점 가변 렌즈로 Optotune AG사의 ETL이 사용되었다. ETL은 프레임 속도의 두 배인 55.4Hz에서 진폭 200um로 샘플을 스캔하였다. 각 ETL 스캐닝의 두 기간이 단일 이미지에 포함될 수 있다.
- [0150] ETL은 빠른 응답 시간과 높은 주파수 응답 대역폭 덕분에 고주파 동적 포커싱을 달성할 수 있다.
- [0151] 샘플로서, 정상 Balb/c 쥐(mice)가 사용되었고, 경동맥의 로다민 6G 표지 세포에서 방출되는 신호를 감지했다.
- [0152] 생체 이미징을 수행하기 전에 미리 샘플을 사용하여 축 방향 움직임 탐색 모드, 움직임 추정 알고리즘, 움직임 보상 알고리즘을 테스트하였다.
- [0153] 축 방향 움직임 탐색 모드 동안 ETL은 움직이는 샘플을 40 ~ 100Hz에서 축 방향으로 스캔한다. 그리고 획득한 이미지에서 샘플 움직임을 추정할 수 있다.
- [0154] 샘플 움직임이 추정되면 재구성된 샘플 움직임이 ETL로 다시 전송되어 ETL의 초점이 움직이는 샘플에 유지된다.
- [0155] ETL로 전송되는 신호는 심전도(ECG) 신호에 의해 트리거되어 추정된 움직임의 타이밍과 샘플의 실제 움직임을 일치시킨다.
- [0156] 경동맥의 생체내 영상 촬영시 심장 박동에 의한 모션 아티팩트가 심하기 때문에 ETL 작동을 유발하기 위해 ECG 신호를 사용한다.
- [0157] 쥐 경동맥의 생체 내 이미징을 수행하여 동적 초점 접근 방식을 검증했다. 프레임간 횡방향 움직임은 참조 프레임에 대한 교차 상관 알고리즘을 사용하여 보상된다. 따라서, 제안된 방법을 사용하여 생체 내 영상화 동안 고유 조직 움직임으로 인한 축 운동 및 측면 운동 아티팩트를 감소시킬 수 있다.
- [0158] 움직임 보상 전/후의 정량적 분석도 수행되었다. 움직이는 조직을 40~100Hz로 주사하여 ETL을 이용한 축 방향 움직임 측정 알고리즘을 설계하였다.
- [0159] ETL은 움직이는 샘플에서도 초점면을 유지하는 역할을 한다.
- [0160] 조직에 거의 부정적인 영향을 미치지 않는 최소 침습적 안정화는 생체 내 이미징 중에 보다 자연스러운 환경을 제공한다.
- [0161] ETL을 사용하는 동적 포커싱 시스템은 움직이는 조직에서 연속적인 움직임 없는 이미지를 캡처하고, ETL을 현미경 시스템에 쉽게 설치하고 침수 대물렌즈와의 호환성으로 방법의 유용성을 향상시킬 수 있다.
- [0162] 동맥의 이미지 획득은 심장 박동 및 혈관 색조와 같은 모션 아티팩트에 의해 방해받을 수 있는 경향이 있다. 모션 아티팩트를 처리하고 새로 개발된 모션 보상 기술의 성능을 검증하기 위해 유효성 검사 시스템과 생체 내 이미징

시스템을 설계했다.

[0163] 모션 보상 기술을 구현하기 위해 두 개의 완전히 다른 공초점 현미경 시스템인 검증 시스템과 생체 내 이미징 시스템이 개발되었다. 검증 시스템에서는 맞춤형 공초점 현미경으로 모션 보정 알고리즘의 진행을 확인했다. 전기적으로 조정 가능한 렌즈(ETL)를 C-마운트 및 RMS 스테드 어댑터를 사용하여 대물 후면 초점면에 설치했다.

[0164] ETL을 대물렌즈 후면 초점면에 최대한 가깝게 배치하려고 했지만 어댑터에 의한 긴장으로 인해 사용할 수 없다. 따라서 초점 이동 시 배율 변화가 수반되었으나, 이러한 효과는 움직임 탐색 성능에 큰 영향을 미치지 않았다.

[0165] 이미지 저장이 시작되면 모든 프레임 수집이 완료될 때마다 생성되는 수직 동기화(V-sync) 펄스가 DAQ 시스템으로 전송된다. V-sync 펄스는 ETL 드라이버 및 압전(PZT) 컨트롤러로 향하는 신호를 트리거한다. ETL에 의해 구동되는 초점 이동은 이미지 수집이 시작될 때 동시에 작동될 수 있다.

[0166] 움직임 탐색 알고리즘의 성능을 검사하기 위해 거울 표면의 반사 신호와 렌즈 페이퍼의 자동 형광 신호를 이미지화한다.

[0167] 샘플이 PZT 스테이지에 놓이면 임의의 입력 신호에서 샘플의 축 방향 움직임을 제어할 수 있다. ETL은 검증 시스템에서와 같은 방식으로 대물 렌즈의 후면 초점면에 장착되었다.

[0168] ETL(Electrically Tunable Lens)은 두 개의 멤브레인으로 덮인 액체 렌즈이다.

[0169] 보이스 코일 액추에이터를 사용한 정교한 전류 제어는 멤브레인을 눌러 렌즈 표면의 곡률 반경을 변경한다. ETL로의 입력 전류는 상부 렌즈 막의 곡률 반경을 변화시키는 보이스 코일 보빈에 가해지는 미묘한 압력을 제어한다.

[0170] 수학적 4에 따르면, 초점 거리 f 는 렌즈 R_1 및 R_2 의 곡률의 함수이다.

[0171] [수학적 4]

$$\frac{1}{f} = (n-1) \left(\frac{1}{R_1} - \frac{1}{R_2} \right)$$

[0172]

[0173] 따라서, 렌즈의 모양을 변경하여 초점 거리를 조절할 수 있다. 0~250mA의 저전류 입력으로 대물렌즈에 따라 수 밀리미터에서 수백 마이크로미터의 초점 거리 변화가 가능하다. 샘플의 움직임보다 훨씬 빠른 축 방향 스캐닝(Axial Scanning)은 샘플의 움직임 중에도 이미지를 수집할 수 있다.

[0175] **축 방향 움직임 탐색 모드(Axial motion probing mode)**

[0176] 도 15는 1D 스캔 이미지의 원리(Principles of 1D scanned image)를 나타낸다.

[0177] 이때, 도 15의 (a)는 일반적인 2D 이미지 생성을 위한 스캐닝 미러의 방향을 나타내고, 도 152의 (b)는 고정 샘플에 대한 1D 스캔 이미지를 나타낸다.

[0178] 도 15의 (a)는 렌즈 페이퍼를 현미경으로 촬영한 형광 영상을 나타낸다. 일반적으로, 렌즈 페이퍼는 렌즈를 세척하기 위한 부드러운 소재의 휴지로서, 실험예에서는 형광 표준 시료 또는 구조를 가진 형광 팬텀으로써 사용되었다.

[0179] 렌즈 페이퍼는 확대하여 관찰하면 특이적인 구조를 가지고 있는 형광 영상을 얻을 수 있으므로, 형광 영상을 획득하고 평가하는 표준 시료로 사용된다.

[0180] 도 15의 (a)에 나타난 바와 같이, 일반적인(Ordinary) 2D 이미지는 두 개의 스캐닝 미러에 의해 각각 고속 스캐닝과 저속 스캐닝을 통해 생성된다.

[0181] 이때, 고속 축 스캐닝에서는 역회전 스캐너(CRS, counter rotating scanner)가 사용될 수 있다. 따라서, 도 15의 (a)와 같이 2D 이미지를 생성할 때 고속 스캐닝이 적용되는 부분을 CRS 스캐닝이라 호칭할 수 있다.

[0182] 저속 축 스캐닝에서는 갈바노 미러(galvano mirror)가 사용될 수 있다. 따라서, 도 15의 (a)와 같이 상대적으로 느린 속도로 스캐닝을 하게 되는 저속 스캐닝 구간을 갈바노 스캐닝이라 호칭할 수 있다.

[0183] 실험예에서는, 일반적인 2D 이미지 생성과 달리 두 개의 스캐닝 미러 중에서 하나의 스캐닝 미러만 구동하는 1D 스캐닝을 수행하고, 이를 통해 고속 축 스캐닝 방향에 대하여 샘플링하였다. 이때, 갈바노 미러에 비해 고주파 스캐닝에 더 적합한 CRS만 구동하여 1D 스캐닝을 수행하였다. 즉, 1D 스캐닝 중에는 갈바노 미러가 작동하지 않

고 CRS만 샘플을 스캔한다.

- [0184] 도 15의 (b)는 갈바노 미리 실행을 중지하는 동안 축 방향 스캐닝을 통해 획득한 1D 스캔 이미지를 나타내며, 샘플은 축방향으로 움직이지 않도록 고정된 렌즈 페이퍼를 이미징한다.
- [0185] 이러한 방식으로 축 모션에 대한 샘플링 지점은 CRS 구동 주파수와 동일한 샘플링 주파수를 가진 연속적인 수평선으로 표시된다.
- [0186] 도 15의 (a)의 렌즈 용지가 축 방향으로 고정되어 있기 때문에 도 15의 (b)에서 수평선이 시간에 따라 변하지 않는 1D 스캔 이미지를 얻을 수 있다. 즉, 이미지의 수직 방향에 따른 변화가 나타나지 않는다.
- [0187] 이미지의 크기가 1024×1024 이고 CRS 주파수가 4000Hz라고 가정하면, 이미지에서 1024개의 수평선을 채우는데 $1024/4000 = 0.256$ 초가 걸린다. 이 경우, 프레임 속도는 $1/0.256 = 3.9$ FPS(Frames Per Second)로 계산된다. 결과적으로, 갈바노 미러는 이미지 크기와 CRS 주파수에 따라 3.9Hz의 주파수로 샘플을 스캔한다.
- [0188] 이처럼, 이미지를 형성하는데 0.256초가 걸리므로, 0.256초 동안의 샘플링 포인트가 하나의 이미지에 저장된다. 따라서, 전체 이미지 획득 기간 동안 샘플 간의 초점 평면 편차의 시간적 변화를 1D 스캔 이미지에 저장할 수 있다.
- [0190] 도 16은 시뮬레이션에서 가상 1D 스캔 이미지 생성을 나타낸 예시도이다.
- [0191] 도 16의 (a)는 한 예시에 따른 현미경의 초점 평면 위치(focal plane position)와 샘플의 축 위치의 시간적 변화를 나타낸 그래프이고, 도 16의 (b)는 도 16의 (a)를 통해 획득한 1D 스캔 이미지를 나타낸다.
- [0192] 도 16의 (a)에 따르면, 샘플 위치(sample position)는 정현파(또는 사인파)를 따라 수직으로 이동한다. 현미경의 초점 평면(focal plane)이 시간이 지남에 따라 변하지 않는다고 가정하면, 현미경의 초점 평면 위치(focal plane position, 또는 초점 가변 렌즈 진폭)는 직선으로 나타난다.
- [0193] 이 경우, 1D 스캐닝 모드를 적용하면, 피크(peak) 픽셀 강도(pixel intensity)(또는 화소 밝기 최대치)는 초점 평면과 샘플 위치가 일치하는 동안에 형성된다.
- [0194] 도 16의 (b)에 따르면, 주변에 비해 밝은 수평선(또는 평행선)은 초점 평면 위치와 샘플의 위치가 일치하는 순간을 나타낸다. 이때, 1D 스캔 이미지의 수직선은 시간축이다.
- [0195] 그런데, 초점 평면이 고정되어 있으면 파형을 재구성할 수 있는 충분한 수의 샘플링 포인트를 얻을 수 없다. 따라서, 나이퀴스트(Nyquist)의 정리로 인해 샘플은 축 방향 스캐너의 축 방향 움직임 주파수보다 적어도 2배 빠른 속도로 축 방향으로 스캔되어야 하며, 이는 ETL이 필수적으로 사용되어야 하는 이유이기도 하다.
- [0196] 도 16의 (c)는 다른 예시에 따른 현미경의 초점 평면 위치와 샘플의 축 위치의 시간적 변화를 나타낸 그래프이고, 도 16의 (d)는 도 16의 (c)를 통해 획득한 1D 스캔 이미지를 나타낸다.
- [0197] 샘플의 움직임보다 훨씬 빠른 속도, 예컨대, 40Hz ~ 100Hz의 속도로 ETL을 사용하여 샘플을 축 방향으로 스캔한다.
- [0198] 도 16의 (c)에 따르면, 샘플은 정현파(사인파)를 따라 이동하고 초점 평면은 40Hz 톱니파를 따라 이동함을 나타낸다. 이때, 피크(peak) 픽셀 강도(pixel intensity)는 초점 평면과 샘플 위치가 일치하는 동안에 형성된다.
- [0199] 도 16의 (d)에 따르면, 주변에 비해 밝은 수평선(또는 평행선)은 초점 평면 위치와 샘플의 위치가 일치하는 순간을 나타내며 복수개를 획득하였다. 이때, 1D 스캔 이미지의 수직선은 시간축이다. 이와 같이, 1D 스캐닝 중에 충분한 수의 샘플링 포인트를 저장할 수 있다.
- [0200] 도 16의 (d)에 나타난 1D 스캔 이미지는 움직임 추정 모드에서 샘플의 움직임 파형을 재구성하는데 사용된다.
- [0202] **움직임 추정 모드(Motion estimation mode)**
- [0203] 도 16의 (b), (d)를 통해 획득한 1D 스캔 이미지는 축 방향 움직임에 대한 샘플링 포인트가 포함되어 있으므로, 이를 통해 샘플의 움직임 파형을 재구성할 수 있다.
- [0205] 도 17a, 17b, 17c는 샘플의 축 방향 움직임을 추정하기 위한 시뮬레이션 프로세스를 나타낸다.
- [0206] 이때, 도 17a는 시간 경과에 따른 픽셀 강도 데이터의 시간적 변화를 나타낸다. 도 17b는 현미경의 초점 평면 위치와 샘플의 축 위치의 시간적 변화를 나타낸 그래프이다. 도 17c는 재구성된 샘플의 움직임 파형을 나타낸

그래프이다.

- [0207] 연속적인 1D 스캔 이미지는 시간축에 함께 배치되고 시간에 따른 픽셀 강도 데이터는 도 17a와 같이 나타낼 수 있다. 픽셀 강도 데이터는 도 16의 (b), (d)에 표시된 연속적인 1D 스캔 이미지의 수직선들에서 획득된다.
- [0208] 도 17b에 따르면, 현미경의 초점 평면 위치는 40Hz 톱니파로 표현된다. ETL에 대한 입력 신호에 대한 정보, 예컨대, 톱니 파형, 진폭, 주파수를 이미 알고 있으므로, 이를 토대로, ETL에 의한 초점면 움직임은 도 17b와 같이 톱니 파형으로 표현된다.
- [0209] 이때, 픽셀 강도 데이터와 초점 평면 위치가 교차(intersection)하는 점은 샘플의 움직임 정보를 포함한다. 최대 픽셀 강도는 샘플의 위치와 초점 평면이 일치하는 동안에만 도달하기 때문에 ETL에 의해 유도된 초점면 변화와 시간적 픽셀 강도 변화의 교차점이 샘플 파형의 샘플링 포인트가 된다.
- [0210] 따라서, 연속적인 1D 스캔 이미지들과 매칭하는 작업을 통해 도 17c와 같이 시간에 따른 샘플의 움직임 파형이 추정될 수 있다.
- [0211] 그런데, 중간값 정리에 의해 초점면의 톱니 파형 변화의 각 기간 동안 단 하나의 교차점이 존재한다고 가정하여 샘플의 움직임 파형을 추정하였다. 즉, 도 17b에 도시된 초점 평면 매칭 과정에서, 단순히 시간적 픽셀 강도 변화와 초점면 변화의 시작점이 알려져 있고, 이들은 동일하게 시작된다고 가정했다. 이러한 시작점의 오류는 앞서 도 11에서 설명한 바와 같이, 진폭 오프셋을 초래한다.
- [0212] 그 밖에, 진폭 오류, 위상 오프셋, 주파수 오류는 실제 샘플 움직임과 추정한 샘플 움직임 파형 간의 차이를 초래하는데, 진폭 오프셋, 진폭 오류, 위상 오프셋은 사용자가 실시간으로 획득하는 이미지를 보면서 수동으로 조정하고, 주파수 오류는 심박 주기를 통해 초점 평면 이동을 트리거함으로써 해결하였다.
- [0213] 샘플 움직임 보상에 대한 또 다른 중요한 고려 사항은 형광 샘플이 넓은 축 응답을 갖는다는 것이다. 예를 들어, 미러 샘플은 1D 스캔 이미지에서 선명하고 밝은 수평선을 생성하는 반면, 생체 내 이미징에서 렌즈 페이퍼 또는 조직의 자가형광과 같은 형광 샘플은 1D 스캔 이미지에서 두껍고 넓은 수평선을 생성한다. 결국, 초점의 정확한 축 위치는 넓은 밝은 수평선에서 결정될 수 없다.
- [0214] 최대 픽셀 강도만 사용하여 축 샘플 움직임을 탐색하는 경우 다른 초점 평면의 조합은 움직임 추정의 정확도를 방해한다. 따라서, 실제 초점과 오류가 발생한 초점 사이의 교차 오류를 수정하기 위해 추가 보정 알고리즘을 구현한다.
- [0215] 추가 보정 알고리즘에 따르면, 먼저, 1D 스캔 이미지에서 각 축 스캔 기간 내의 최대 픽셀 강도 수평선에서 단일 밝은 초점 라인을 획득하게 된다. 앞서 설명한 중간값 정리에 의해 축 스캔 기간에 하나의 밝은 초점 라인이 존재한다. 예를 들어, 샘플을 1D 스캔 모드에서 40Hz 축으로 스캔할 때 40개의 밝은 초점 라인이 표시된다.
- [0216] 모든 밝은 초점 선을 평균화하는 단일 가상 초점을 얻는다. 가상 초점은 밝은 픽셀 강도만으로 발견되는 초점 라인에 비해 실제 초점에 더 가깝다. 그런 다음, 가상 초점과 연속적인 1D 스캔 이미지 사이의 교차 상관이 계산된다. 즉, 교차 상관 계산을 사용하여 가상 초점과 가장 유사한 수평선을 찾을 수 있다. 결과적으로 샘플의 보다 정확한 축 위치를 결정할 수 있다.
- [0217] 단일 가상 초점으로 초점을 보정하는 것은 고성능 움직임 추정에 적합하지 않을 수 있다. 이러한 이유로, 인접한 수평선은 가상 초점 생성에 포함된다.
- [0218] 첫번째 단계에서는 가상 초점을 찾기 위해 각 축 스캔 기간의 단일 밝은 초점 라인을 결정하고 평균화에 사용했다.
- [0219] 인접한 수평선을 추가하려면 밝은 초점 라인 위에 있는 두개의 수평선과 밝은 초점 라인 아래에 있는 두 개의 수평선을 선택한다. 따라서, 하나의 밝은 초점 라인 대신 5개의 수평 라인으로 구성된 초점 이미지가 생성된다.
- [0220] 다음 프로세스는 단일 밝은 포커스 라인 보정과 동일하다. 초점 이미지는 각 축 스캔 기간에 대해 평균화 되고, 그 뒤에 가상 초점 이미지를 얻게 된다.
- [0221] 가상 초점 이미지는 가상 초점 이미지와 가장 유사한 초점면을 찾기 위해 연속 1D 스캔 이미지 간의 상호 상관 계산에 사용된다. 이러한 방식으로, 오해의 소지가 있는 포커스 라인을 실제 포커스 라인으로 수정할 수 있다.
- [0222] 이와 같이, 가상 초점 이미지를 이용한 초점 보정 알고리즘을 사용하면 초점면 위치 파악의 정확도를 최대 $\pm 0.768\mu\text{m}$ 까지 높일 수 있다.

- [0223] 앞서 언급한 바와 같이, 1D 스캔 이미지에서 초점 라인을 찾는 이유는 가능한 한 정확한 교차점, 즉, 도 17의 (b)에 나타난 교차점을 찾기 위해서이다.
- [0224] 미러의 경우, 1D 스캔 이미지에서 밝은 수평선은 미러 표면과 초점 평면이 일치하는 동안에만 생성된다. 반면, 두꺼운 형광 샘플의 경우, 거울면에서도 1D 스캔 이미지의 밝은 수평선이 생성될 수 있으며 초점면이 정확히 일치하지 않는다. 이는 형광 시료의 넓은 축 방향 응답, 즉 시료가 넓은 축 방향 깊이에 초점이 맞춰져 있기 때문이다. 따라서, 형광 샘플에서 하나의 초점면을 지정하는 것은 어렵다. 이러한 이유로, 가상 초점 이미지를 얻고 구체적으로 초점 평면을 결정하기 위해 교차 상관을 계산했다. 교차 상관은 두 데이터가 얼마나 유사한지를 출력하기 때문에 두꺼운 축 응답 형광 샘플에서 하나의 초점면을 결정할 수 있다. 따라서, 움직임 추정 알고리즘을 통해 얻을 수 있는 추정 파형은 가상 초점에 의해 지정된 위치에서의 축 방향 이동이다.
- [0226] 도 18은 움직임 추정을 통해 측정된 미러 샘플의 변위를 나타낸다.
- [0227] 도 18의 (a)는 미러 샘플이 정지해있을 때, 표준 편차가 500nm 미만인 정지 동작을 나타낸다.
- [0228] 도 18의 (b)는 압전 스테이지(piezoelectric stage)를 사용하여 축 방향으로 미러를 수동으로 움직였다. 움직임 추정은 무작위로 샘플 움직임을 재구성할 수 있다.
- [0229] 도 18의 (c)는 1Hz 정현파로 움직이는 반복적인 샘플 모션을 추정했다.
- [0230] 도 18의 결과에서 움직임 추정의 놀라운 성능을 볼 수 있다.
- [0231] ETL의 스캐닝 범위가 증가하면 200um보다 큰 샘플 움직임도 추정할 수 있다. 샘플 움직임을 추정하는 데 걸리는 시간은 생체 내 이미징에서 매우 중요하다. 1D 이미지 획득 및 저장에 약 30초, 움직임 추정 프로세스로 축 움직임을 계산하는 데 10~20초가 소요된다.
- [0232] 분석할 1D 이미지의 수에 따라 시간이 더 오래 걸릴 수 있지만 대부분의 경우 샘플의 축 방향 움직임을 찾는 데 1분 미만이 소요된다. 움직임 추정을 위한 빠른 경과 시간은 생체내 이미징 동안 알고리즘을 사용하는 데 매우 중요하다.
- [0233] 마취 기간이 길어지면 쥐에게 부담이 되고 실험 후 생존 가능성이 낮아진다. 또한, 움직임 추정 과정이 오래 걸리면 추정된 움직임이 실제 움직임과 다를 수 있다.
- [0235] 도 19는 쥐 경동맥에 대한 움직임 추정 프로세스의 결과를 나타낸다.
- [0236] 도 19의 (a)는 경동맥의 축 방향 변위를 나타내고, 도 19의 (b)는 계산된 샘플 움직임에 대한 스펙트럼 밀도를 나타내며, 도 19의 (c)는 호흡을 받지 않는 선택된 기간을 나타내고, 도 19의 (d)는 선택한 주기에서 진폭과 파형을 나타낸다.
- [0237] 움직임 추정 프로세스를 사용하여 측정된 쥐 경동맥의 축 움직임은 도 19의 (a)에 나와 있다. 동맥의 전반적인 움직임은 호흡과 심장 박동으로 구성되어 있음을 알 수 있다.
- [0238] 축 방향의 축 변위는 심장 박동보다 호흡에 더 크지만 심장 박동으로 인한 움직임을 보상하는 데 중점을 두었다. ECG 보드를 사용하면 심장 박동 신호에서 타이밍 신호를 쉽게 얻을 수 있지만 호흡에 대한 타이밍 신호를 얻기 어렵기 때문이다.
- [0239] 추정된 경동맥 움직임에 대한 파워 스펙트럼 밀도는 도 19의 (b)에 나타나있다. 0.8Hz 및 6.7Hz에서 두 개의 높은 피크는 호흡 및 심장 박동의 주파수를 나타낸다. 이 결과는 Lee 등의 레이저 변위 센서를 사용하여 측정된 조직 움직임과 일치하며, 각각 심장 박동 및 호흡 주파수인 1Hz 및 6Hz 피크가 관찰된다.
- [0240] 움직임 추정 알고리즘의 사용자 인터페이스에서 심장 박동으로 인한 축 변위를 수동으로 선택할 수 있다. 도 19의 (c)에서 호흡이 나타나지 않는 기간 중 하나를 선택한다.
- [0241] 심장 박동으로 인한 움직임만 포함하는 선택된 동작 범위는 도 19의 (d)에 표현되어 있다. 이 플롯에서 움직임의 진폭과 파형을 식별할 수 있다. 진폭과 파형이 알려지면 파형이 단일 주기로 절단되어 ETL로 전송되고 ECG 박동에 의해 트리거된다.
- [0243] **움직임 보상 모드(Motion reconstruction mode)**
- [0244] ECG 박동에 의해 트리거 되는 단일 주기 파형을 구동 신호로 생성하여 ETL로 전송하여 ETL의 초점 평면을 샘플의 움직임과 맞추어 움직이게 하고, 움직이는 초점 평면을 통해 샘플 움직임과 일치하도록 움직임이 보상된 샘플

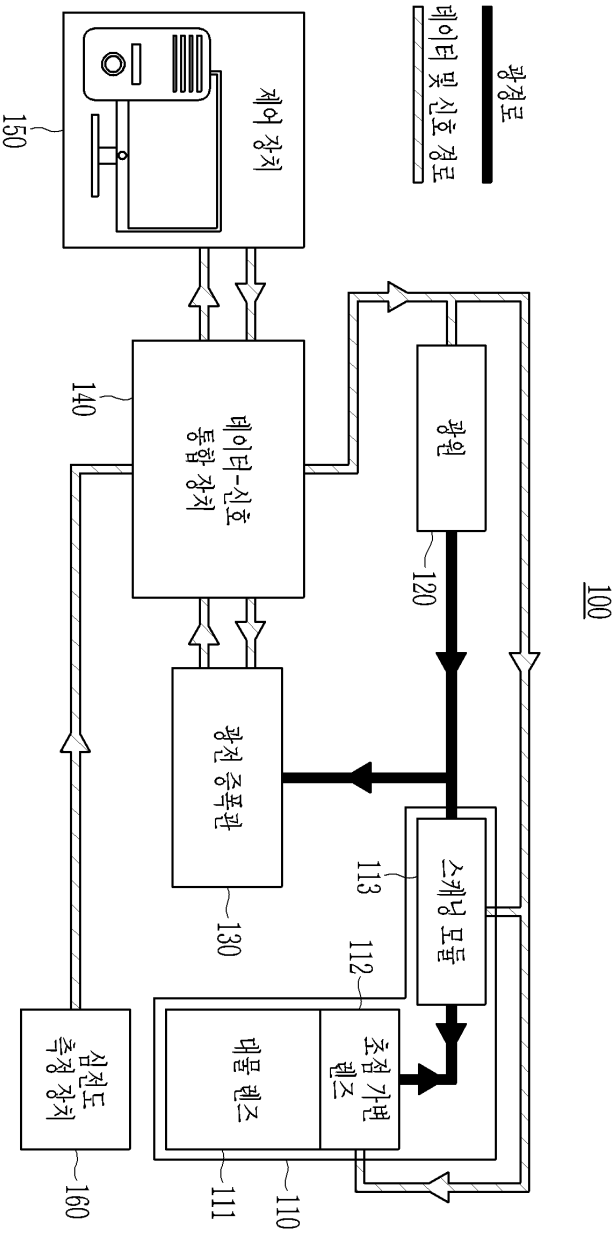
플의 생체 이미지를 획득하였다.

- [0245] 움직임 추정 알고리즘으로부터 파형의 단일 주기가 얻어지면 박동하는 경동맥에 대해 초점 평면이 얼마나 가깝게 유지될 수 있는지 분석했다.
- [0247] 도 20은 샘플과 보정이 없는 초점 평면, 또는 샘플과 보정이 있는 초점 평면 사이에 초점 불일치에 대한 시뮬레이션 결과를 나타낸다.
- [0248] 도 20의 시뮬레이션 결과는 측정 데이터(without compensation)에서 변위의 평균을 뺀 값과 측정 데이터(with compensation)에서 각 예측 움직임 주기를 뺀 값이다.
- [0249] 초점 평면이 고정되어 있으면 심장 박동으로 인해 경동맥이 초점 평면에서 지속적으로 멀어진다. 이 불일치에 대한 표준 편차는 8.45 μ m로 계산되었다.
- [0250] ETL이 설치된 상태에서 현미경 시스템의 축 응답이 14 μ m 미만이므로 심장 박동으로 인한 변위로 인해 이미지가 모션 아티팩트(motion artifacts)에 의해 심하게 손상된다. 반대로 초점 평면이 추정된 샘플 움직임으로 샘플을 따라 동적으로 이동하면 1 μ m 이내의 초점 불일치를 유지할 수 있다. 따라서, 시스템의 축 응답 내에서 축 움직임을 효과적으로 보상할 수 있다.
- [0251] 이 결과는 움직임 보상을 위한 이상적인 경우이지만, 추정된 샘플 움직임이 충분히 정확하고 트리거 신호가 안정적으로 생성되는 경우 확실히 재현할 수 있다.
- [0252] 심박 신호가 트리거될 때마다 추정 동작을 생성하려면 ECG 보드에서 안정적이고 반복적인 ECG 신호를 생성해야 한다.
- [0253] 측정에 따르면, 쥐의 박동률은 분당 약 420회~600회 였다. 심박 주기가 도착할 때마다 도 19의 (d)에서 획득한 예상 경동맥 운동이 생성될 수 있다.
- [0254] ECG 및 심박 신호 생성을 위해 사용한 PSL-iECG2는 인간을 위한 것이다. 따라서, 쥐에서 안정적으로 신호를 생성하기 위해 LPF 및 노치 필터링이 최적화되었다. ECG 보드를 사용하는 심박 신호는 동작 보상 개념에 적용하기에 충분하다.
- [0256] 도 21은 쥐 경동맥에서 얻은 움직임 보정이 있거나 없는 일련의 이미지로서, 14.6 FPS에서 20x 침수 대물렌즈로 얻은 순차적 인트라바이탈(intravital) 이미지를 나타낸다. 이미지 크기는 512x512이다.
- [0257] 도 21의 (a)는 움직임 보상이 없는 쥐 경동맥 이미지를 나타낸다. 도 21의 (b)는 움직임 보상이 있는 쥐 경동맥 이미지를 나타낸다. 이미지는 동일한 관심 영역에서 획득된다.
- [0258] 이때, 동일한 관심 영역을 이미지화하고 동적 초점 평면을 동맥 내부에 배치했다.
- [0259] 경동맥에서 심박에 의한 움직임에 맞추어 초점 평면을 움직여준 움직임 보정 전과 후의 결과가 도 21에 나타나 있다.
- [0260] 도 21의 (a)에 따르면, 움직임 보정 전에는 심박에 의한 움직임으로 인해 초점 평면이 지속적으로 동맥 내부에서 벗어나는 반면, 도 21의 (b)에 따르면, 움직임 보정 후에는 경동맥이 움직이더라도 동맥 내부에 초점 평면을 유지할 수 있다.
- [0261] 즉, 움직임 보상이 없는 경우, 초점 평면은 고정되어 있지만, 움직임 보상이 켜져 있을 때 초점 평면은 경동맥 운동을 따라 움직인다. 초점 평면이 경동맥 밖으로 나가기 때문에 움직임 보상이 없으면 프레임 간에 큰 편차가 관찰되는 반면, 초점은 더 오랜 시간 동안 경동맥 내부에 머무를 수 있음을 알 수 있다.
- [0262] 심장 박동과 호흡 모두에 의해 유도되는 모션 아티팩트가 심하기 때문에 움직임 보상이 없으면 프레임에 대해 셀 트래킹을 적용하는 것은 거의 불가능함을 알 수 있다. 경동맥 내부를 흐르는 개별 세포는 실제로 도 21의 (b)에서 볼 수 있다.
- [0264] 도 22는 움직임 보상이 없는 경우와, 움직임 보상이 없는 경우에 대한 이미지 획득 중 초점이 맞는 순간을 정량적으로 분석한 것으로서, 수동으로 선택한 프레임에 대한 상관 계수를 계산한 결과를 나타내고, 나머지 이미지 세트에 대한 상관 계수 계산에는 수동으로 선택한 초점 프레임이 사용되었다.
- [0265] 도 22의 (a)는 움직임 보상이 없는 경우이고, 도 23의 (b)는 움직임 보상이 있는 경우에 해당하고, 도 22의 (c)는 상관 계수가 0.5보다 큰 이미지의 백분율을 나타낸다.

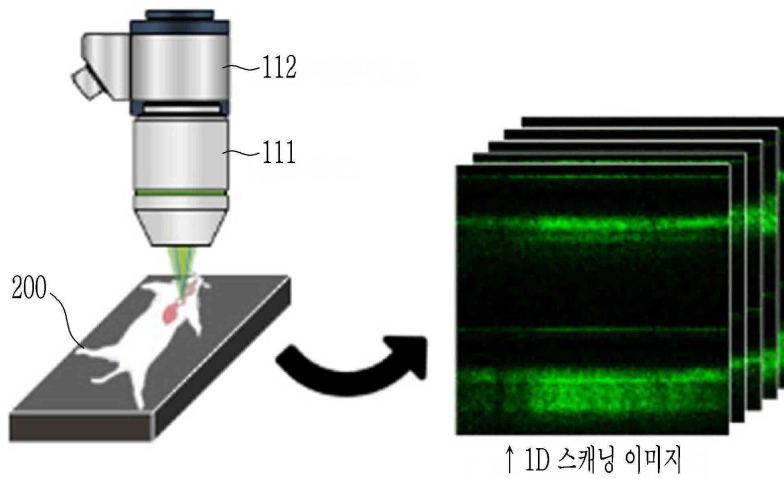
- [0266] 상관 계수가 1에 가까우면 이미지가 참조 이미지와 유사하다는 것을 의미한다. 따라서, 하나에 가까운 이미지가 많을수록 이미지 세트에 초점 프레임이 더 자주 포함된다.
- [0267] 도 22의 (a)에 따르면, 초점 평면이 샘플을 따라 이동하지 않는 경우, 즉 무보상 모드의 경우 모션 아티팩트로 인해 대부분의 이미지가 참조 이미지와 유사하지 않다.
- [0268] 도 22의 (b)에 따르면, 초점 평면이 경동맥의 축 운동을 따르도록 한 후에는 상관 계수가 1에 가까운 이미지를 더 많이 찾을 수 있다. 일부 이미지는 여전히 호흡에 의한 모션 아티팩트의 영향을 받는다. 그런 다음 움직임 보상이 없는 경우와 있는 경우 상관 계수가 0.5보다 큰 이미지를 선택했다.
- [0269] 도 22의 (c)에 따르면, 결과가 나타나있다. 움직임 보상 전, 이미지 세트 내 이미지의 11.6%는 참조 이미지에 대해 0.5보다 큰 상관 계수를 갖는다. 움직임 보상 후 이미지 세트의 이미지 중 44.5%가 조건을 만족했다. 이러한 결과는 움직임 보상 후 초점이 맞는 이미지의 수가 4배 증가했음을 보여준다.
- [0270] 시간 해상도의 향상 정도는 확실히 중요하다. 움직임 보상 기술의 고성능 덕분에 동맥 내부를 흐르는 개별 세포가 확실하게 표시되며, 움직임 보상 없이는 불가능했던 세포 추적 분석을 보장할 수 있다.
- [0272] 이상에서 설명한 본 발명의 실시예는 장치 및 방법을 통해서만 구현이 되는 것은 아니며, 본 발명의 실시예의 구성에 대응하는 기능을 실현하는 프로그램 또는 그 프로그램이 기록된 기록 매체를 통해 구현될 수도 있다.
- [0273] 이상에서 본 발명의 실시예에 대하여 상세하게 설명하였지만 본 발명의 권리범위는 이에 한정되는 것은 아니고 다음의 청구범위에서 정의하고 있는 본 발명의 기본 개념을 이용한 당업자의 여러 변형 및 개량 형태 또한 본 발명의 권리범위에 속하는 것이다.

도면

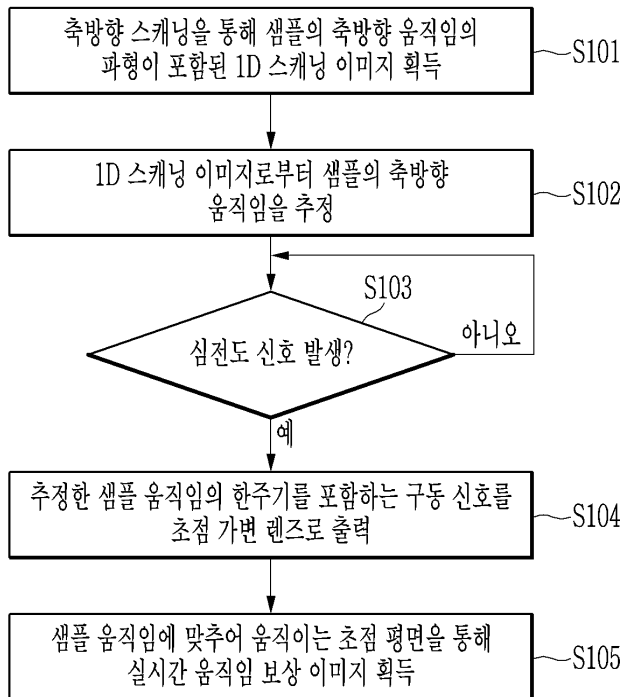
도면1



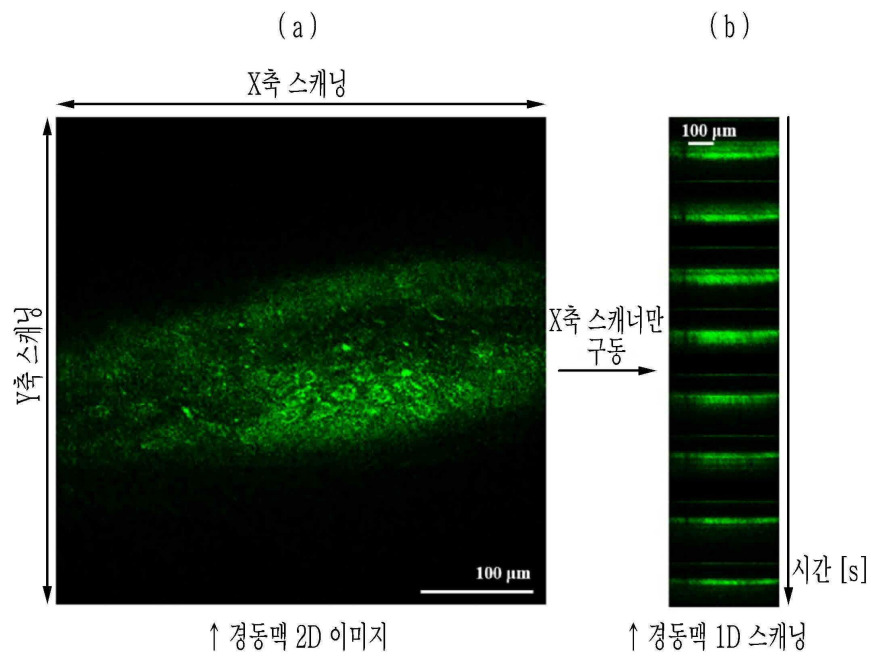
도면2



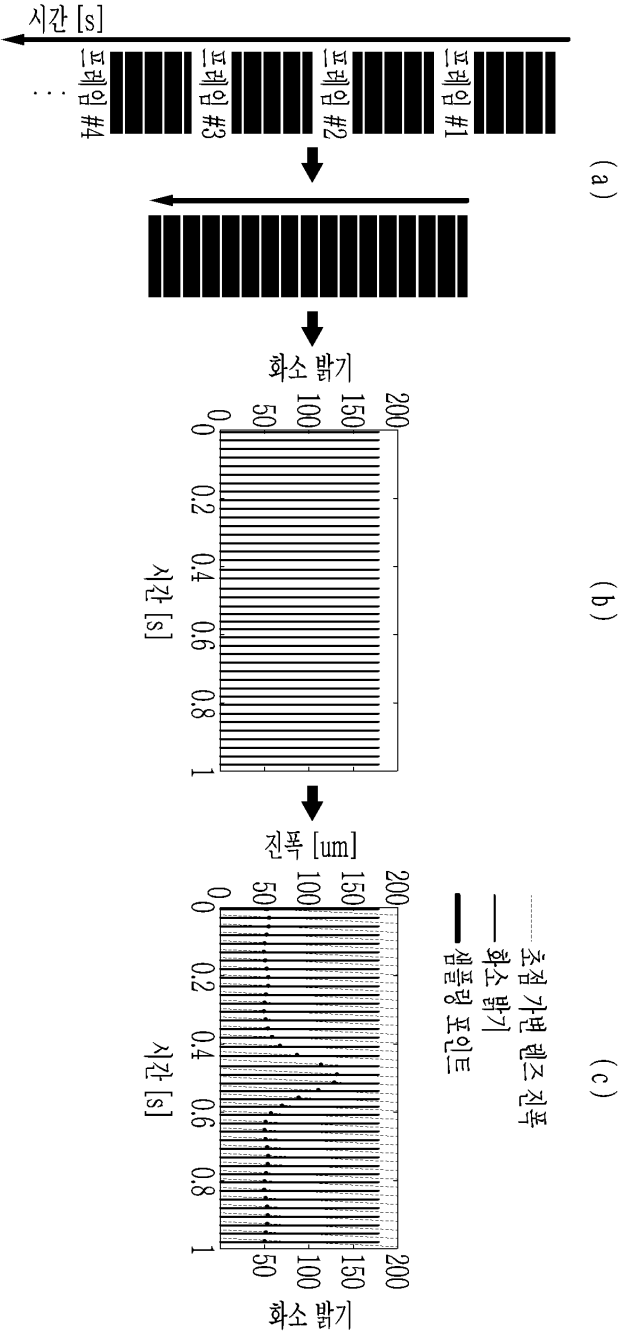
도면3



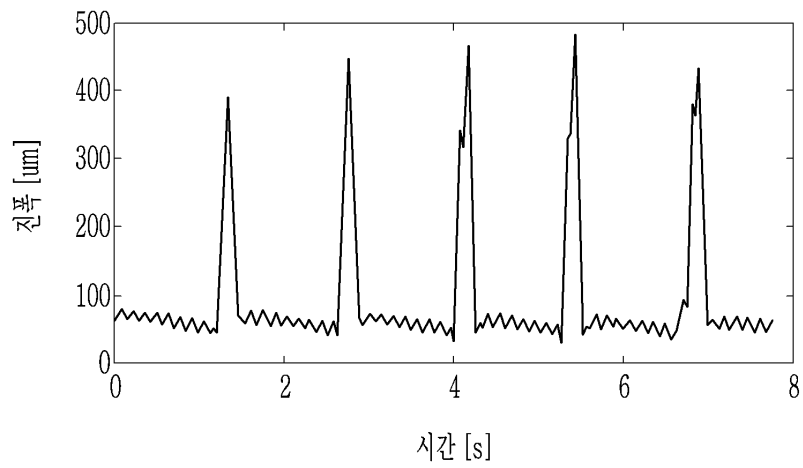
도면4



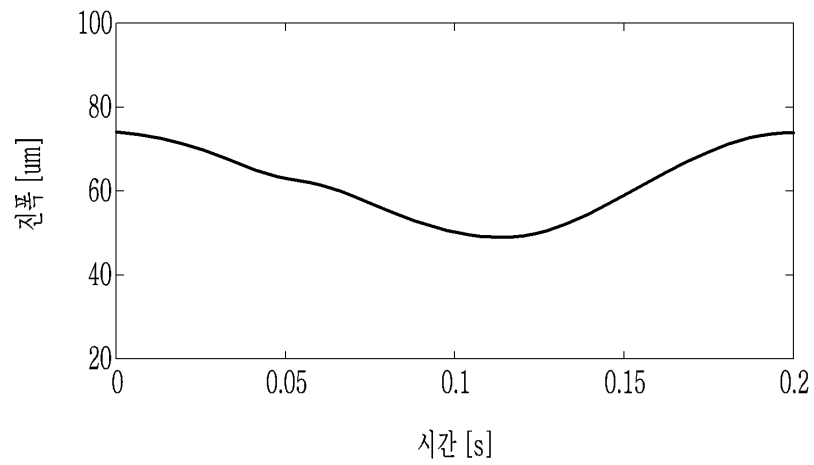
도면5



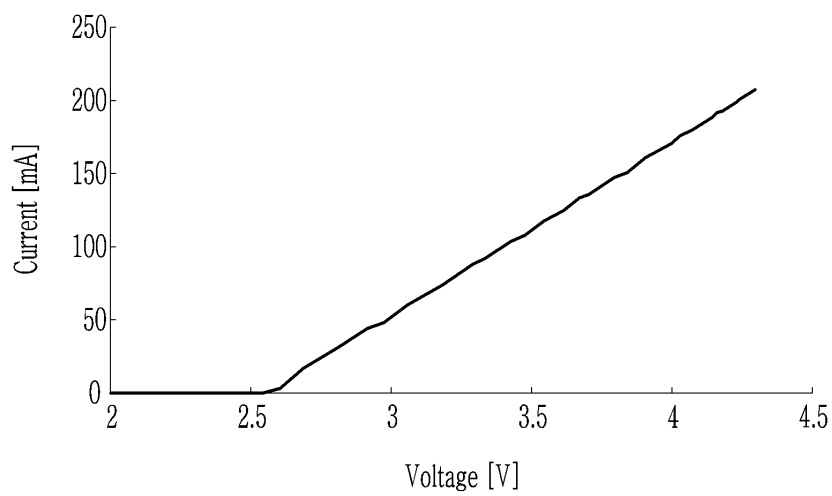
도면6



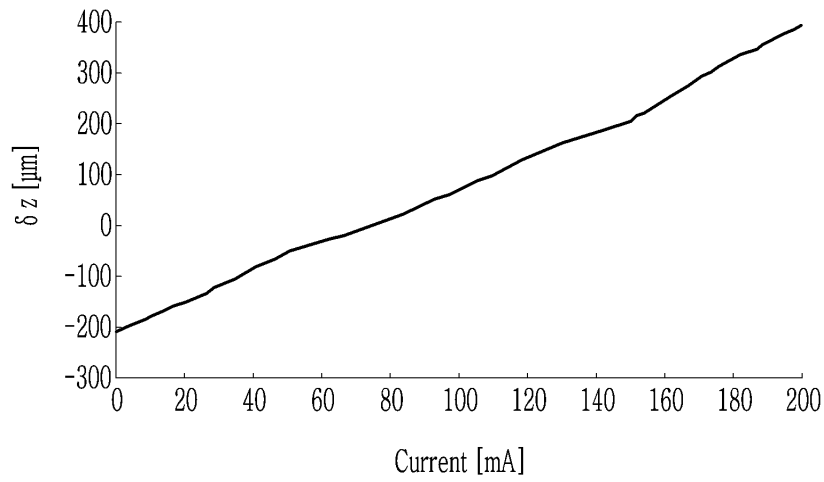
도면7



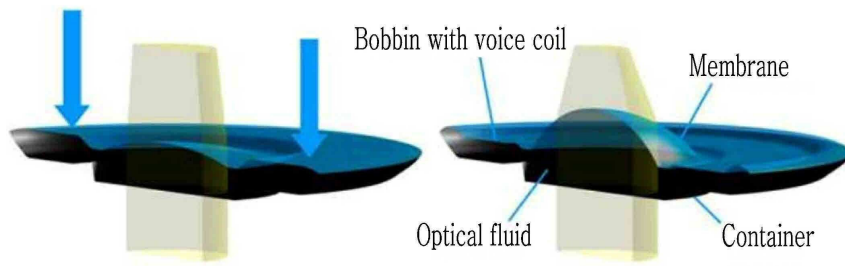
도면8



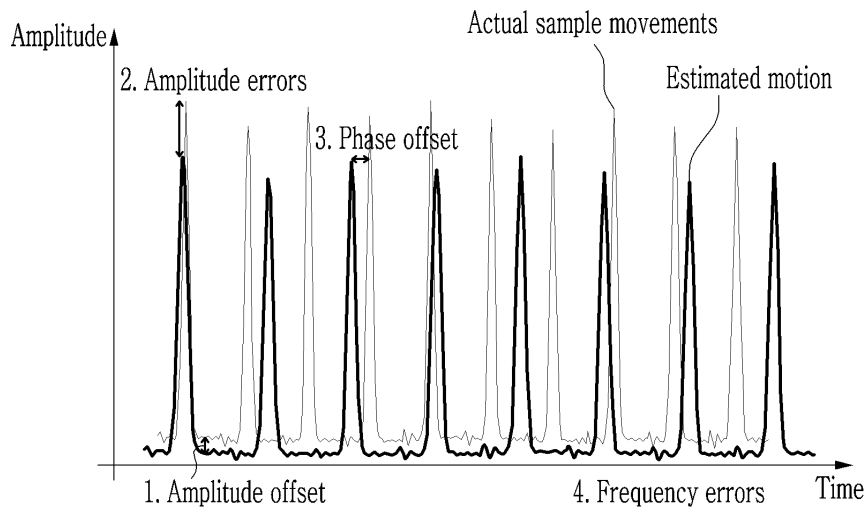
도면9



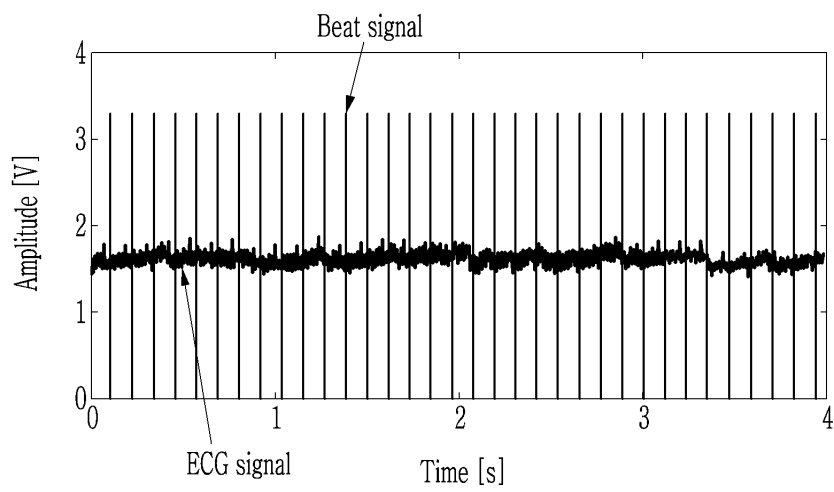
도면10



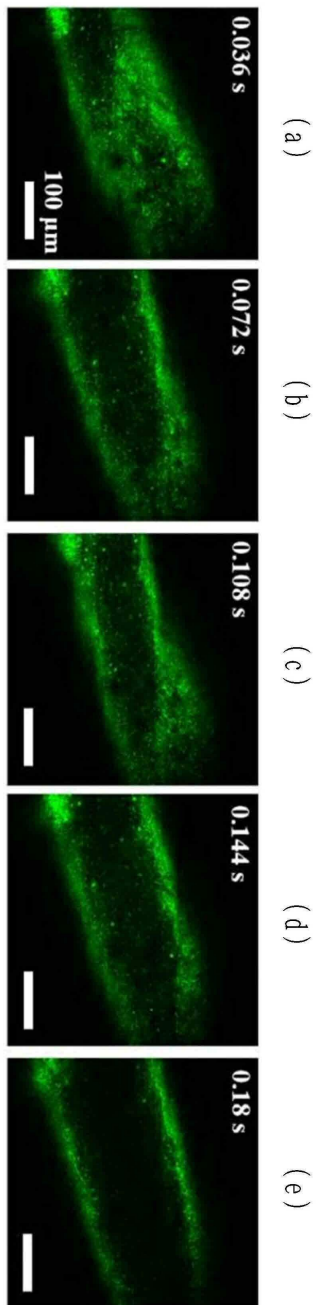
도면11



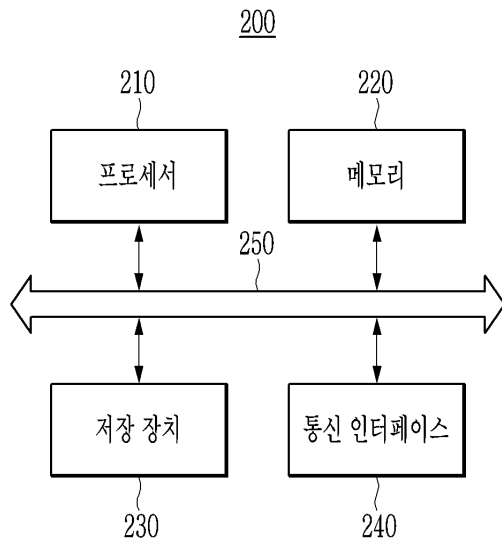
도면12



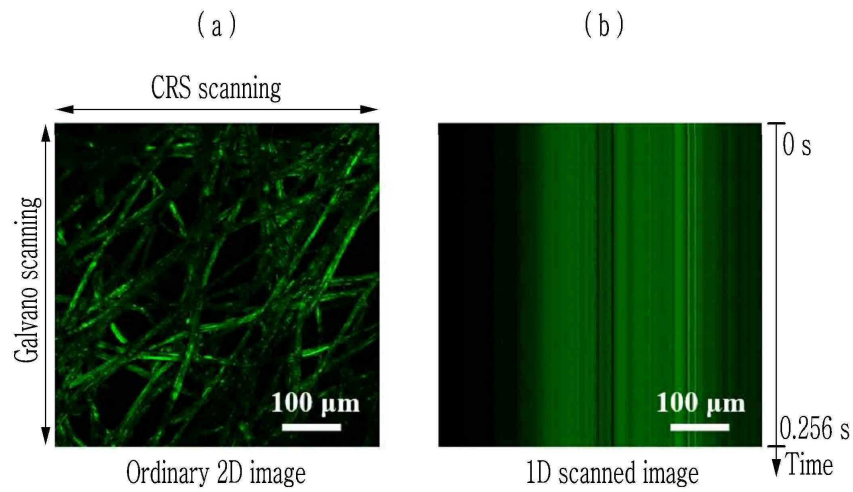
도면13



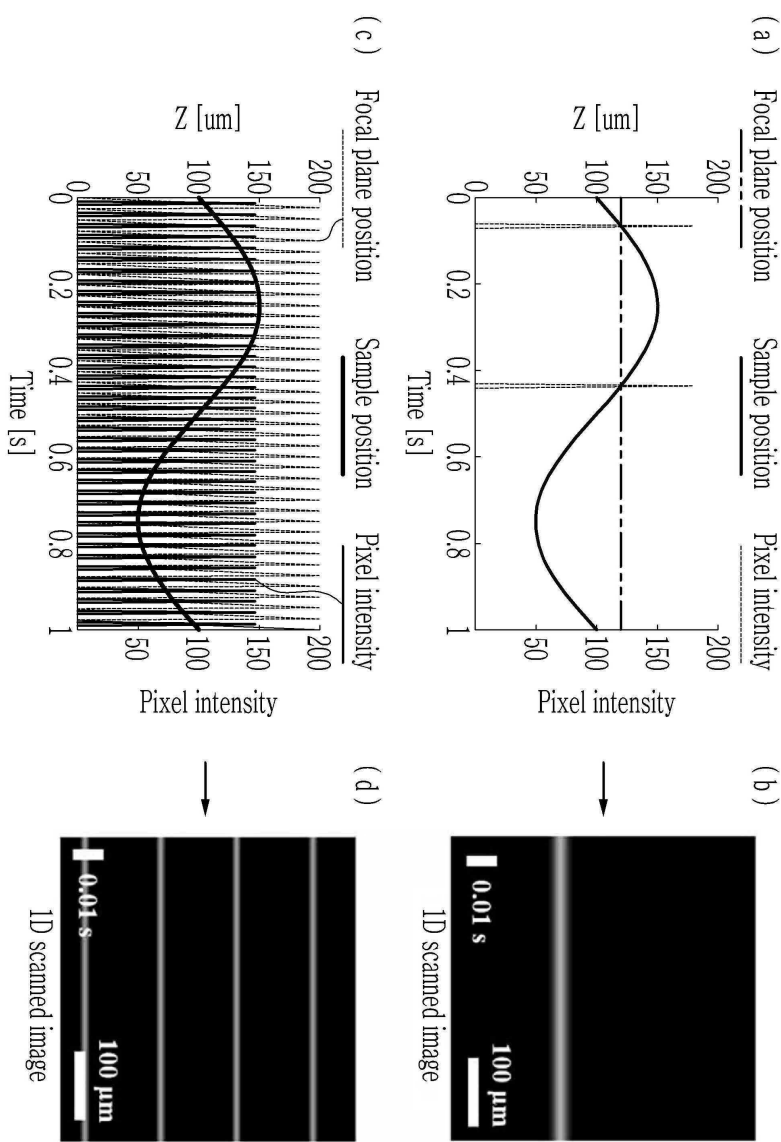
도면14



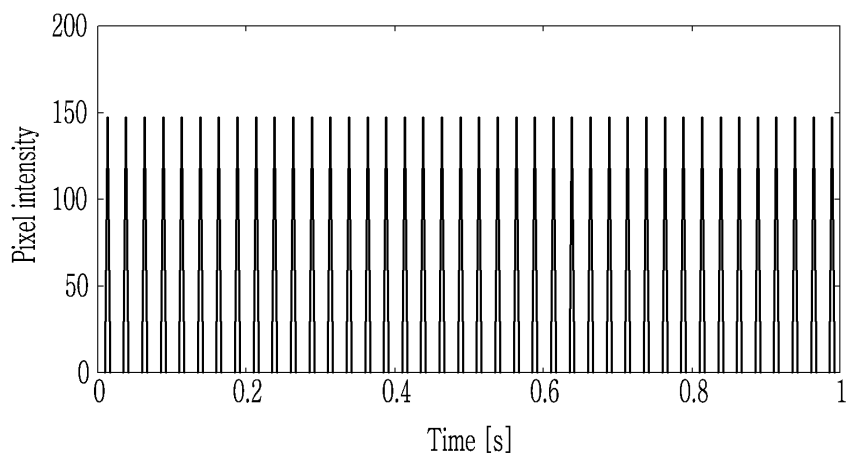
도면15



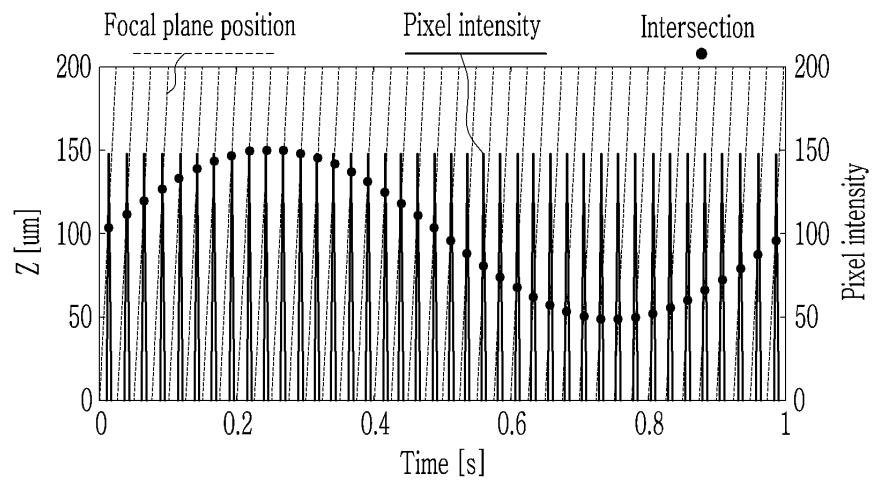
도면16



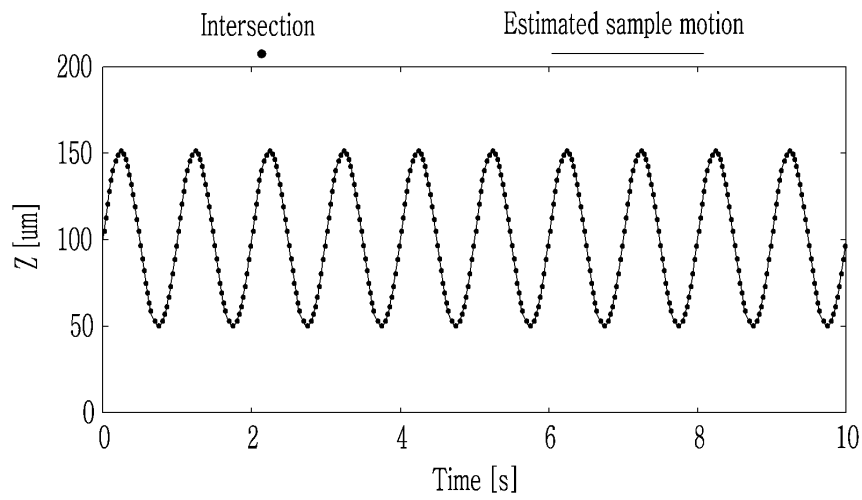
도면17a



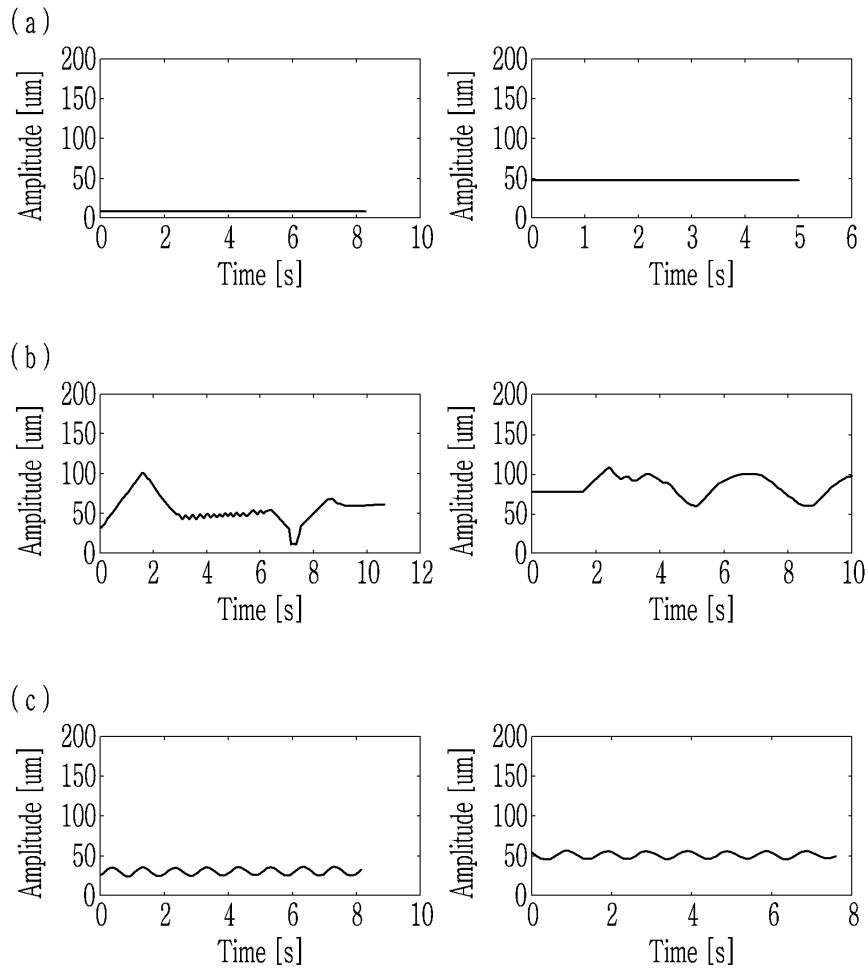
도면17b



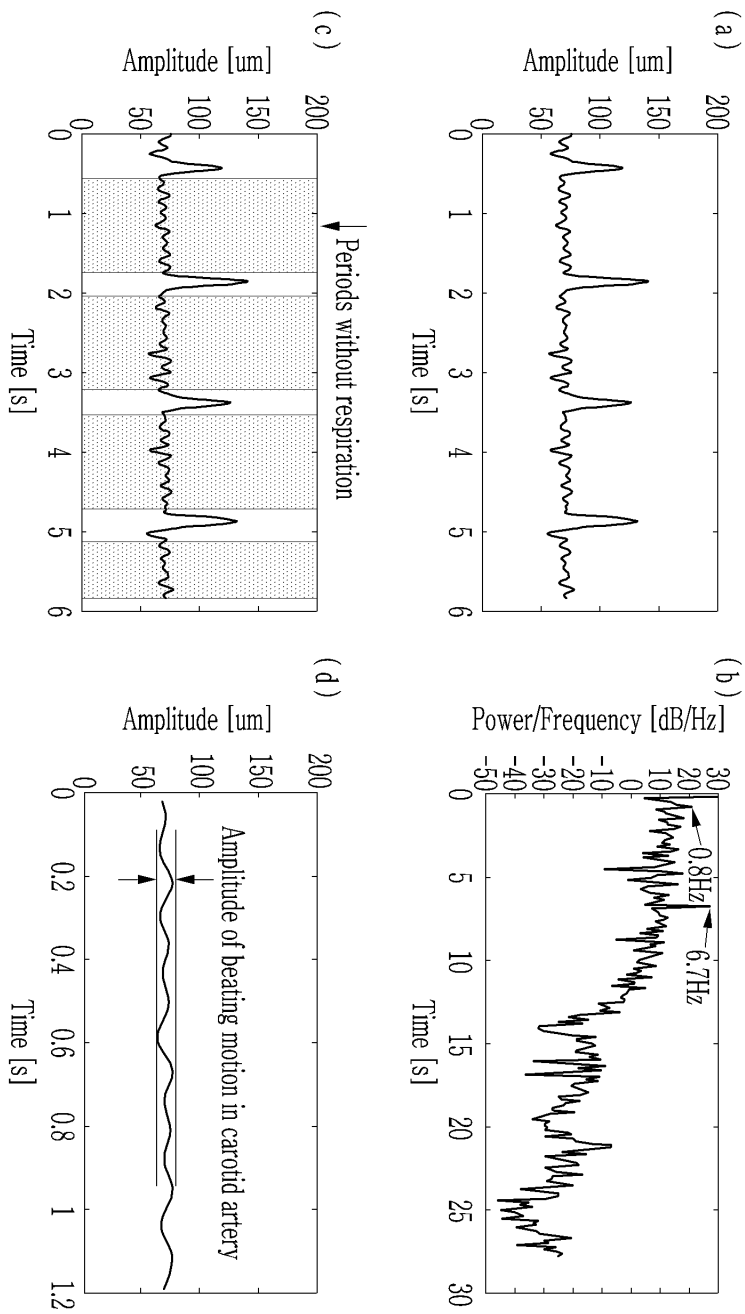
도면17c



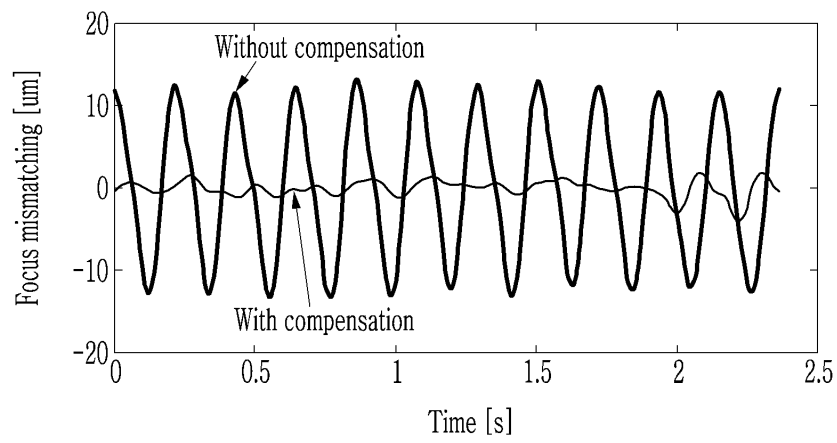
도면18



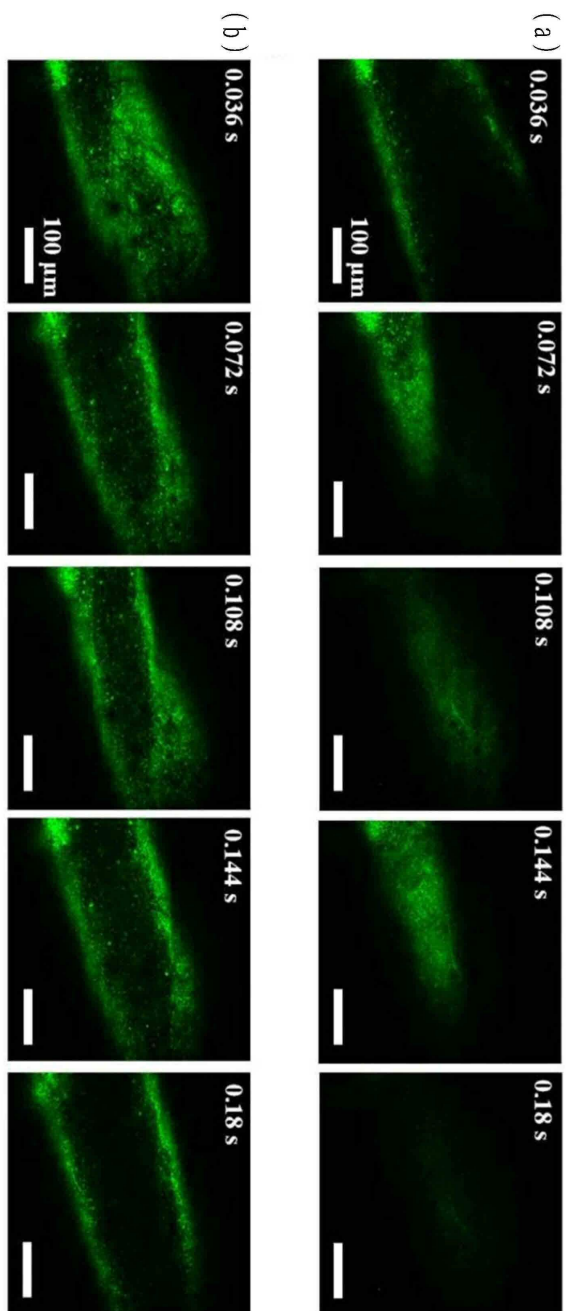
도면19



도면20



도면21



도면22

