(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0126233
(43) 공개일자 2023년08월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*G16B 40/00* (2019.01) *C12Q 1/04* (2017.01)
*C12Q 1/686* (2018.01) *G01N 21/17* (2006.01)
*G01N 33/483* (2006.01) *G06N 20/00* (2019.01)
*G16B 50/00* (2019.01)
(52) CPC특허분류
*G16B 40/00* (2019.02)
*C12Q 1/04* (2013.01)
(21) 출원번호 10-2022-0022065
(22) 출원일자 2022년02월21일
심사청구일자 2022년02월21일

(71) 출원인
**재단법인 아산사회복지재단**
서울특별시 송파구 올림픽로43길 88 (풍납동)
**울산대학교 산학협력단**
울산광역시 남구 대학로 93(무거동)
(72) 발명자
**김준기**
서울특별시 광진구 뚝섬로 52마길 56, 102-2203
**백찬기**
경기도 수원시 영통구 청명북로 33, 434동 1702호 (영통동, 청명마을삼성아파트)
*(뒷면에 계속)*
(74) 대리인
**특허법인비엘티**

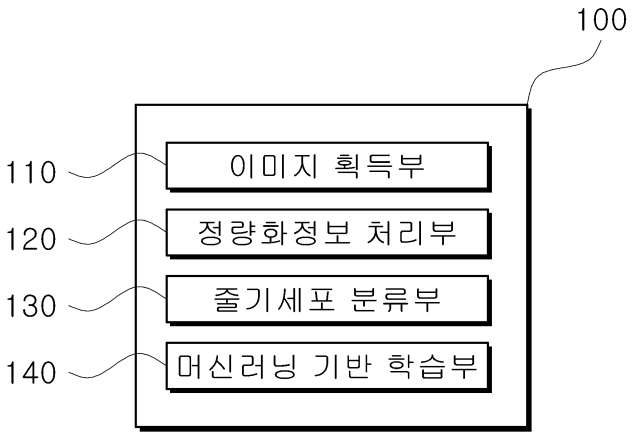
전체 청구항 수 : 총 16 항

(54) 발명의 명칭 **광학 회절 단층 촬영법(ODT)을 이용한 줄기세포 분류 방법 및 장치**

## (57) 요 약

본 발명은 컴퓨터에 의해 수행되는 광학 회절 단층 촬영법(ODT)을 이용한 줄기세포 분류 방법을 제공한다. 상기 방법은 광학 회절 단층 촬영법(Optical Diffraction Tomography, ODT)으로 줄기세포의 3차원 굴절률(Refraction index, RI) 이미지를 획득하는 단계, 상기 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 상기 줄기세포 내 소기관별로 3차원 매핑하는 단계, 상기 3차원 매핑 결과를 기반으로 상기 줄기세포 내 소기관별 정량화 정보를 획득하는 단계, 상기 정량화 정보를 기반으로 상기 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 단계를 포함한다.

*대 표 도* - 도2



(52) CPC특허분류
***C12Q 1/686*** (2018.05)
***G01N 33/4833*** (2013.01)
***G06N 20/00*** (2021.08)
***G16B 50/00*** (2019.02)
*G01N 2021/1787* (2013.01)
(72) 발명자
**주미연**
서울특별시 동대문구 전농로 37가길 4 203호

**김영규**
서울특별시 영등포구 양평로 12가길 14, 514호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1415173558
과제번호 20000843
부처명 산업통상자원부
과제관리(전문)기관명 한국산업기술평가관리원
연구사업명 로봇산업기술개발(R&D)
연구과제명 경구강 및 복강경 수술을 위한 형광 영상유도 내시경 기반 유연관절 단일통로 수술 로봇 기술 개발
기 여 율 1/4
과제수행기관명 한양디지텍(주)
연구기간 2021.01.01 ~ 2021.12.31
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1465034233
과제번호 HI18C2391020021
부처명 보건복지부
과제관리(전문)기관명 한국보건산업진흥원
연구사업명 첨단의료기술개발(R&D)
연구과제명 비침습 생체 영상화 기술을 통한 줄기세포 치료 효능의 실시간 in vivo 모니터링기술 개발
기 여 율 1/4
과제수행기관명 서울아산병원
연구기간 2021.07.01 ~ 2022.06.30
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711130659
과제번호 2019R1A2C2084122
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구(과기정통부)(R&D)
연구과제명 표면증강 라만(SERS) 결합 미세내시경 영상 시스템을 이용한 비뇨기계 염증 질환의 조기 진단 기술 연구
기 여 율 1/4
과제수행기관명 울산대학교
연구기간 2021.03.01 ~ 2022.02.28
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1345341810
과제번호 2019R1A6A3A01093658
부처명 교육부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 이공학학술연구기반구축(R&D)
연구과제명 염증질환 진단 바이오마커 검출을 위한 표면증강 라만(SERS) 분광 기반 나노바이오센서 개발
기 여 율 1/4
과제수행기관명 서울아산병원
연구기간 2021.09.01 ~ 2022.08.31

# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

컴퓨터에 의해 수행되는, 광학 회절 단층 촬영법(ODT)을 이용한 줄기세포 분류 방법에 있어서,

광학 회절 단층 촬영법(Optical Diffraction Tomography, ODT)으로 줄기세포의 3차원 굴절률(Refraction index, RI) 이미지를 획득하는 단계;

상기 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 상기 줄기세포 내 소기관별로 3차원 매핑하는 단계;

상기 3차원 매핑 결과를 기반으로 상기 줄기세포 내 소기관별 정량화 정보를 획득하는 단계; 및

상기 정량화 정보를 기반으로 상기 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 단계;를 포함하는, 방법.

### 청구항 2

제1항에 있어서,

PCR 기반 줄기세포 분석 정보를 획득하는 단계;

상기 PCR 기반 줄기세포 분석 정보 및 상기 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 획득되는 상기 정량화 정보를 기반으로 데이터셋을 구성하는 단계; 및

상기 데이터셋을 기반으로 머신러닝을 이용하여 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습을 수행하는 단계;를 더 포함하고,

상기 PCR 기반 줄기세포 분석 정보는, 상기 데이터셋의 라벨링 생성을 위한 기준 정보로 사용되는 것인, 방법.

### 청구항 3

제2항에 있어서,

상기 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 단계는,

상기 정량화 정보를 상기 머신러닝에 입력하여 상기 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는, 방법.

### 청구항 4

제1항에 있어서,

상기 줄기세포의 3차원 굴절률 이미지를 획득하는 단계는,

상기 광학 회절 단층 촬영법으로 상기 줄기세포에 대하여 적어도 하나 이상의 각도로 레이저 광원을 입사시켜 적어도 하나 이상의 2차원 홀로그램 이미지를 획득하는 단계;

상기 적어도 하나 이상의 2차원 홀로그램 이미지를 기반으로 상기 줄기세포의 3차원 굴절률 분포를 측정하여 상기 3차원 굴절률 이미지를 획득하는 단계;를 포함하는, 방법.

### 청구항 5

제1항에 있어서,

상기 줄기세포 내 소기관별로 3차원 매핑하는 단계는,

상기 3차원 굴절률 이미지에서 굴절률 값을 기반으로 상기 줄기세포 내 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 중 적어도 하나의 소기관을 추출하여 상기 3차원 매핑 영역을 결정하는 단계; 및

상기 3차원 매핑 영역을 기반으로 상기 줄기세포 내 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 중 적어도 하나의 소기관에 대한 3차원 이미지를 생성하는 단계;를 포함하는, 방법.

**청구항 6**

제5항에 있어서,

상기 정량화 정보는, 상기 줄기세포 내 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 중 적어도 하나의 소기관에 대한 굴절률 값, 위치, 부피, 개수 중 적어도 하나의 정보를 포함하는, 방법.

**청구항 7**

제1항에 있어서,

상기 줄기세포의 3차원 굴절률 이미지를 보정 처리하는 단계;를 더 포함하고,

상기 보정 처리된 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 상기 줄기세포 내 소기관별 정량화 정보가 획득되는 것인, 방법.

**청구항 8**

제2항에 있어서,

상기 머신러닝을 통해 학습된 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습모델을 기반으로 구현된 어플리케이션을 제공하는 단계;를 더 포함하고,

상기 어플리케이션은,

분석 대상 줄기세포에 대한 3차원 굴절률 이미지 정보를 기반으로 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 소기관별 정량화 정보를 산출하여 제공하거나, 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 소기관별로 디스플레이하거나, 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 분류 정보를 제공하는 것인, 방법.

**청구항 9**

광학 회절 단층 촬영법(ODT)을 이용한 줄기세포 분류 방법을 수행하는 장치에 있어서,

광학 회절 단층 촬영법(Optical Diffraction Tomography, ODT)으로 줄기세포의 3차원 굴절률(Refraction index, RI) 이미지를 획득하는 이미지 획득부;

상기 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 상기 줄기세포 내 소기관별로 3차원 매핑하고, 상기 3차원 매핑 결과를 기반으로 상기 줄기세포 내 소기관별 정량화 정보를 획득하는 정량화정보 처리부; 및

상기 정량화 정보를 기반으로 상기 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 줄기세포 분류부;를 포함하는, 장치

**청구항 10**

제9항에 있어서,

PCR 기반 줄기세포 분석 정보를 획득하고, 상기 PCR 기반 줄기세포 분석 정보 및 상기 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 획득되는 상기 정량화 정보를 기반으로 데이터셋을 구성하고, 상기 데이터셋을 기반으로 머신러닝을 이용하여 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습을 수행하는 머신러닝 기반 학습부;를 더 포함하고,

상기 PCR 기반 줄기세포 분석 정보는, 상기 데이터셋의 라벨링 생성을 위한 기준 정보로 사용되는 것인, 장치.

**청구항 11**

제10항에 있어서,

상기 줄기세포 분류부는,

상기 정량화 정보를 상기 머신러닝에 입력하여 상기 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는, 장치.

**청구항 12**

제9항에 있어서,

상기 이미지 획득부는,

상기 광학 회절 단층 촬영법으로 상기 줄기세포에 대하여 적어도 하나 이상의 각도로 레이저 광원을 입사시켜 적어도 하나 이상의 2차원 홀로그램 이미지를 획득하고, 상기 적어도 하나 이상의 2차원 홀로그램 이미지를 기반으로 상기 줄기세포의 3차원 굴절률 분포를 측정하여 상기 3차원 굴절률 이미지를 획득하는, 장치.

**청구항 13**

제9항에 있어서,

상기 정량화정보 처리부는,

상기 3차원 굴절률 이미지에서 굴절률 값을 기반으로 상기 줄기세포 내 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 중 적어도 하나의 소기관을 추출하여 상기 3차원 매핑 영역을 결정하고, 상기 3차원 매핑 영역을 기반으로 상기 줄기세포 내 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 중 적어도 하나의 소기관에 대한 3차원 이미지를 생성하는, 장치.

**청구항 14**

제13항에 있어서,

상기 정량화 정보는, 상기 줄기세포 내 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 중 적어도 하나의 소기관에 대한 굴절률 값, 위치, 부피, 개수 중 적어도 하나의 정보를 포함하는, 장치.

**청구항 15**

제9항에 있어서,

상기 이미지 획득부는, 상기 줄기세포의 3차원 굴절률 이미지를 보정 처리하고,

상기 정량화정보 처리부는, 상기 보정 처리된 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 상기 줄기세포 내 소기관별 정량화 정보를 획득하는, 장치.

**청구항 16**

제10항에 있어서,

상기 머신러닝 기반 학습부는,

상기 머신러닝을 통해 학습된 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습모델을 기반으로 구현된 어플리케이션을 제공하고,

상기 어플리케이션은,

분석 대상 줄기세포에 대한 3차원 굴절률 이미지 정보를 기반으로 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 소기관별 정량화 정보를 산출하여 제공하거나, 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 소기관별로 디스플레이하거나, 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 분류 정보를 제공하는, 장치.

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] 본 개시는 광학 회절 단층 촬영법(ODT)을 이용한 줄기세포 분류 방법 및 장치에 관한 것이다.

### *배 경 기 술*

[0002] 줄기세포는 신체의 거의 모든 유형의 세포로 분열 및 분화할 수 있는 특성을 가져 현재 치료가 적절치 않거나 치료 방법이 없는 경우 새로운 대안으로 떠오르고 있다. 다만 줄기세포 하나하나의 분석과 모든 줄기세포의 계통 확인이 어려워 임상에서 사용될 경우 안정성에 문제가 생길 가능성이 있다.

[0003] 현재 사용하고 있는 방법들은 화학적 염색 분석법(chemical staining assay), 정량적 중합 효소 연쇄 반응(quantitative polymerase chain reaction, qPCR), 웨스턴 블랏 분석법(western blot analysis), 면역 형광 염색법(immunofluorescene staining)과 같은 파괴적인 방법이며, 동시에 여러 확인법을 시행하려면 많은 줄기세포

를 소진해야 한다.

[0004] 따라서, 비파괴적이며, 줄기세포에 영향을 주지 않는 범위내에서 각각의 줄기세포의 특성을 확인하고 정량화하여 분류할 수 있는 기술이 필요하다.

## 선행기술문헌

### 특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 일본특허 제6071007호

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0006] 본 개시에 개시된 실시예는 광학 회절 단층 촬영법(ODT)을 이용한 줄기세포 분류 방법 및 그 장치를 제공하는데 그 목적이 있다.

[0007] 본 개시에 개시된 실시예는 광학 회절 단층 촬영법(ODT) 기반 줄기세포 정보 및 PCR 기반 줄기세포 정보를 조합한 데이터셋을 구축하고 이를 기반으로 학습된 학습모델을 통해 줄기세포를 분류하는 방법 및 그 장치를 제공하는데 그 목적이 있다.

[0008] 본 개시가 해결하고자 하는 과제들은 이상에서 언급된 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0009] 상술한 기술적 과제를 달성하기 위한 본 개시에 일 측면에 따른 컴퓨터에 의해 수행되는 광학 회절 단층 촬영법(ODT)을 이용한 줄기세포 분류 방법은, 광학 회절 단층 촬영법(Optical Diffraction Tomography, ODT)으로 줄기세포의 3차원 굴절률(Refraction index, RI) 이미지를 획득하는 단계, 상기 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 상기 줄기세포 내 소기관별로 3차원 매핑하는 단계, 상기 3차원 매핑 결과를 기반으로 상기 줄기세포 내 소기관별 정량화 정보를 획득하는 단계, 상기 정량화 정보를 기반으로 상기 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 단계를 포함할 수 있다.

[0010] 또한, PCR 기반 줄기세포 분석 정보를 획득하는 단계, 상기 PCR 기반 줄기세포 분석 정보 및 상기 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 획득되는 상기 정량화 정보를 기반으로 데이터셋을 구성하는 단계, 상기 데이터셋을 기반으로 머신러닝을 이용하여 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습을 수행하는 단계를 더 포함하고, 상기 PCR 기반 줄기세포 분석 정보는, 상기 데이터셋의 라벨링 생성을 위한 기준 정보로 사용될 수 있다.

[0011] 또한, 상기 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 단계는, 상기 정량화 정보를 상기 머신러닝에 입력하여 상기 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류할 수 있다.

[0012] 또한, 상기 줄기세포의 3차원 굴절률 이미지를 획득하는 단계는, 상기 광학 회절 단층 촬영법으로 상기 줄기세포에 대하여 적어도 하나 이상의 각도로 레이저 광원을 입사시켜 적어도 하나 이상의 2차원 홀로그램 이미지를 획득하는 단계, 상기 적어도 하나 이상의 2차원 홀로그램 이미지를 기반으로 상기 줄기세포의 3차원 굴절률 분포를 측정하여 상기 3차원 굴절률 이미지를 획득하는 단계를 포함할 수 있다.

[0013] 또한, 상기 줄기세포 내 소기관별로 3차원 매핑하는 단계는, 상기 3차원 굴절률 이미지에서 굴절률 값을 기반으로 상기 줄기세포 내 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 중 적어도 하나의 소기관을 추출하여 상기 3차원 매핑 영역을 결정하는 단계, 상기 3차원 매핑 영역을 기반으로 상기 줄기세포 내 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 중 적어도 하나의 소기관에 대한 3차원 이미지를 생성하는 단계를 포함할 수 있다.

[0014] 또한, 상기 정량화 정보는, 상기 줄기세포 내 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 중 적어도 하나의 소기관에 대한 굴절률 값, 위치, 부피, 개수 중 적어도 하나의 정보를 포함할 수 있다.

[0015] 또한, 상기 줄기세포의 3차원 굴절률 이미지를 보정 처리하는 단계를 더 포함하고, 상기 보정 처리된 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 상기 줄기세포 내 소기관별 정량화 정보가 획득될 수 있다.

[0016] 또한, 상기 머신러닝을 통해 학습된 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습모델을 기반으로 구현된 어플리케이션을 제공하는 단계를 더 포함하고, 상기 어플리케이션은, 분석 대상 줄기세포에 대한 3차원 굴절률 이미지 정보를 기반으로 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 소기관별 정량화 정보를 산출하여 제공하거나, 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 소기관별로 디스플레이하거나, 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 분류 정보를 제공할 수 있다.

[0017] 또한, 본 개시의 다른 측면에 따른 광학 회절 단층 촬영법(ODT)을 이용한 줄기세포 분류 방법을 수행하는 장치는, 광학 회절 단층 촬영법(Optical Diffraction Tomography, ODT)으로 줄기세포의 3차원 굴절률(Refraction index, RI) 이미지를 획득하는 이미지 획득부, 상기 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 상기 줄기세포 내 소기관별로 3차원 매핑하고, 상기 3차원 매핑 결과를 기반으로 상기 줄기세포 내 소기관별 정량화 정보를 획득하는 정량화정보 처리부, 상기 정량화 정보를 기반으로 상기 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 줄기세포 분류부를 포함할 수 있다.

[0018] 이 외에도, 본 개시를 구현하기 위한 실행하기 위한 컴퓨터 판독 가능한 기록 매체에 저장된 컴퓨터 프로그램이 더 제공될 수 있다.

[0019] 이 외에도, 본 개시를 구현하기 위한 방법을 실행하기 위한 컴퓨터 프로그램을 기록하는 컴퓨터 판독 가능한 기록 매체가 더 제공될 수 있다.

## *발명의 효과*

[0020] 본 개시의 전술한 과제 해결 수단에 의하면, 비파괴적, 비침습적, 비표지적 방법인 광학 회절 단층 촬영법을 이용함으로써 살아있는 상태의 줄기세포를 대상으로 하므로 분석 및 분류 결과의 신뢰도를 높일 수 있고, 실험, 치료에 사용될 줄기세포에 대하여 직접 검사를 수행할 수 있으므로 개별 세포에 대한 분류 결과의 정확도를 높일 수 있다.

[0021] 또한, 본 개시의 전술한 과제 해결 수단에 의하면, 비표지 상태로 줄기세포를 측정할 수 있어 염색에 의한 독성이나 이상반응을 피할 수 있고 세포 그대로의 상태와 실시간으로 변하는 상태 또한 관측이 가능하다. 또한, 비파괴적 분석 방법이기 때문에 오랜 시간동안 성장 및 분화시킨 줄기세포를 퀄리티 체크로 소진하지 않고 실험에 사용할 수 있다. 또한, 기존의 파괴적인 확인방법과는 달리 상태를 확인한 줄기세포에 대해서도 실험이 가능할 수 있다.

[0022] 또한, 본 개시의 전술한 과제 해결 수단에 의하면, 줄기세포의 분화상태 및 유형을 분류하는데 머신러닝 등과 같은 학습 알고리즘을 이용함으로써 대량의 줄기세포 샘플에 대하여 신속한 분석 결과를 획득할 수 있다. 또한, 기존의 PCR 검사 등에서 얻은 분석 결과를 머신러닝 등의 학습 알고리즘을 위한 데이터셋 구축 기반 정보로 활용함으로써 학습 효과를 향상시킬 수 있다.

[0023] 본 개시의 효과들은 이상에서 언급된 효과로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 효과들은 아래의 기재로부터 통상의 기술자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

## *도면의 간단한 설명*

[0024] 도 1a 및 도 1b는 침습적 세포조작에 의한 세포성질 변화를 설명하기 위한 예시를 나타낸 도면이다.

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법(Optical Diffraction Tomography, ODT)을 이용한 줄기세포 분류 방법을 수행하는 장치를 개략적으로 나타낸 블록도이다.

도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법(Optical Diffraction Tomography, ODT)을 이용한 줄기세포 분류 방법을 개략적으로 나타내는 순서도이다.

도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법(ODT)를 이용하여 이미지를 생성하는 방법을 설명하기 위한 도면이다.

도 5a는 본 발명의 일 실시예에 따른 ODT를 이용하여 획득한 RI 이미지를 나타낸 도면이고, 도 5b는 도 4a에 도시된 각 세포의 RI 이미지로부터 도출된 세포 소기관의 굴절률 값을 나타낸 도면이고, 도 5c는 도 5a에 도시된 각 세포의 RI 이미지로부터 도출된 각 세포의 부피를 나타낸 도면이다.

도 6a는 본 발명의 일 실시예에 따른 ODT 이미지에서 도출된 세포 소기관의 3차원 이미지를 나타낸 도면이고, 도 6b는 도 6a에 도시된 세포 소기관의 3차원 이미지로부터 분석한 세포 소기관의 정량화 정보를 나타낸 도면이

다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 3차원 RI 이미지를 이미지 처리하는 과정을 설명하기 위한 도면이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법을 이용한 줄기세포 분류 방법의 구체적인 일예를 나타낸 도면이다.

## *발명을 실시하기 위한 구체적인 내용*

[0025] 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 제한되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 수 있으며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야의 통상의 기술자에게 본 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[0026] 본 명세서에서 사용된 용어는 실시예들을 설명하기 위한 것이며 본 발명을 제한하고자 하는 것은 아니다. 본 명세서에서, 단수형은 문구에서 특별히 언급하지 않는 한 복수형도 포함한다. 명세서에서 사용되는 "포함한다(comprises)" 및/또는 "포함하는(comprising)"은 언급된 구성요소 외에 하나 이상의 다른 구성요소의 존재 또는 추가를 배제하지 않는다. 명세서 전체에 걸쳐 동일한 도면 부호는 동일한 구성 요소를 지칭하며, "및/또는"은 언급된 구성요소들의 각각 및 하나 이상의 모든 조합을 포함한다. 비록 "제1", "제2" 등이 다양한 구성요소들을 서술하기 위해서 사용되나, 이들 구성요소들은 이들 용어에 의해 제한되지 않음은 물론이다. 이들 용어들은 단지 하나의 구성요소를 다른 구성요소와 구별하기 위하여 사용하는 것이다. 따라서, 이하에서 언급되는 제1 구성요소는 본 발명의 기술적 사상 내에서 제2 구성요소일 수도 있음은 물론이다.

[0027] 다른 정의가 없다면, 본 명세서에서 사용되는 모든 용어(기술 및 과학적 용어를 포함)는 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 기술자에게 공통적으로 이해될 수 있는 의미로 사용될 수 있을 것이다. 또한, 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 용어들은 명백하게 특별히 정의되어 있지 않는 한 이상적으로 또는 과도하게 해석되지 않는다.

[0028] 본 개시 전체에 걸쳐 동일 참조 부호는 동일 구성요소를 지칭한다. 본 개시가 실시예들의 모든 요소들을 설명하는 것은 아니며, 본 개시가 속하는 기술분야에서 일반적인 내용 또는 실시예들 간에 중복되는 내용은 생략한다. 명세서에서 사용되는 '부, 모듈, 부재, 블록'이라는 용어는 소프트웨어 또는 하드웨어로 구현될 수 있으며, 실시예들에 따라 복수의 '부, 모듈, 부재, 블록'이 하나의 구성요소로 구현되거나, 하나의 '부, 모듈, 부재, 블록'이 복수의 구성요소들을 포함하는 것도 가능하다.

[0029] 명세서 전체에서, 어떤 부분이 다른 부분과 "연결"되어 있다고 할 때, 이는 직접적으로 연결되어 있는 경우뿐 아니라, 간접적으로 연결되어 있는 경우를 포함하고, 간접적인 연결은 무선 통신망을 통해 연결되는 것을 포함한다. 또한 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.

[0030] 명세서 전체에서, 어떤 부재가 다른 부재 "상에" 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 부재가 다른 부재에 접해 있는 경우뿐 아니라 두 부재 사이에 또 다른 부재가 존재하는 경우도 포함한다.

[0031] 각 단계들에 있어 식별부호는 설명의 편의를 위하여 사용되는 것으로 식별부호는 각 단계들의 순서를 설명하는 것이 아니며, 각 단계들은 문맥상 명백하게 특정 순서를 기재하지 않는 이상 명기된 순서와 다르게 실시될 수 있다.

[0032] 이하 첨부된 도면들을 참고하여 본 개시의 작용 원리 및 실시예들에 대해 설명한다.

[0033] 줄기세포의 경우, 많은 연구가 특정 바이오마커를 검출하는 데에만 치중해 소기관을 체계적으로 이미징하거나 소기관의 조직학적 특징을 평가하지 않고 있다. 또한, 기존의 줄기세포 이미징 방법이 주로 이차원적 평면 분석에 치우쳐져 있기 때문에, 소기관의 3차원적 특징을 알아보기 힘들다. 현재까지 줄기세포 특성분석을 위해서는 전자현미경, 형광현미경, 공초점 레이저 스캐닝 현미경 등 여러 방법이 이용되고 었다. 하지만, 전자현미경의 경우 세포를 고정하고 금속이나 탄소 코팅의 조작이 필요하고, 형광을 이용할 경우에는 염색을 위한 고정과 세포막침투(immunofluorescene staining)나 green fluorescent protein (GFP)와 같은 외부 형광유전자발현 등 특정 형광 마커 추가를 위한 전처리가 필요하여 본래의 상태를 유지하는 줄기세포를 이미징하기 어렵다.

[0034] 또한, 줄기세포의 분자생물학적 분석을 위하여 PCR 검사 등의 방법을 활용하는데, 이는 세포를 파괴한 뒤 검사

를 수행하는 방식이다. 구체적으로, 공초점 현미경을 이용하는 경우, 줄기세포에 대한 체적, 개수와 같은 정량화 정보는 획득할 수 있으나, 세포를 파괴한 뒤 관찰하는 방법이다. 또한, PCR 검사를 이용하는 경우, 일부 세포를 파괴하여 분석을 수행하고, 일부 세포에 대해 수행한 검사 결과가 전체 세포에 대해서도 동일한 결과를 가진다고 가정하는 것이므로 실제 개별 세포에 대한 정확도를 담보할 수 없고, 살아있는 상태의 세포를 대상으로 분석할 수 없다는 한계가 있다.

[0035] 따라서, 본 발명에서는 표지를 필요로 하지 않고, 비침습적인 비표지 방식을 사용하여 줄기세포를 연구하고 분석할 수 방안을 제안하고자 한다. 또한, 본 발명에서는 비파괴적인 방법을 사용하여 살아있는 상태의 세포를 대상으로 관찰을 수행할 수 있도록 하여 세포의 변화 상태를 정확히 파악할 수 있고 이에 따라 분석 결과의 신뢰도를 높일 수 있는 방안을 제안하고자 한다.

[0036] 도 1a 및 도 1b는 침습적 세포조작에 의한 세포성질 변화를 설명하기 위한 예시를 나타낸 도면이다.

[0037] 도 1a를 참조하면, 먼저 도 1a의 하단에는 상술한 바와 같은 기존의 침습적 방식인 IF(Immunofluorescence)를 이용한 세포조작에 의하여 발생하는 핵질과 세포질 밀도 변화를 나타낸 것이다. 이 방식에 따르면, IF에 의해 세포체 구조가 소멸된 것을 확인할 수 있다.

[0038] 이와 대비하여, 도 1a의 상단에는 후술할 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법(Optical Diffraction Tomography, ODT)을 이용한 세포의 밀도 변화를 나타낸 것이다. 이에 따르면, 핵소체 구조를 확인할 수 있다. 즉, 본 발명에서 제안하는 ODT 방식을 사용할 경우, 기존 방식에서 사용하는 침습적이고 파괴적인 전처리가 필요하지 않으므로 본래 상태를 유지하는 세포를 대상으로 세포 특성을 관찰하고 분석할 수 있는 효과가 있다.

[0039] 도 1b를 참조하면, 먼저 도 1b의 중단 및 하단에는 상술한 바와 같은 기존의 특정 형광 마커를 추가하여 전처리하는 방식(예: RFP, GFP)에 따라 획득된 굴절률(Refraction index, RI) 매핑 이미지를 나타낸 것이다. 이 방식에 따르면, 특정 형광 마커에 의해 세포 물성이 변화되어 RI 매핑 이미지에 영향을 준 것을 확인할 수 있다.

[0040] 이와 대비하여, 도 1b의 상단에는 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법(ODT)을 이용하여 획득된 RI 매핑 이미지를 나타낸 것이다. 이에 따르면, 형광 마커 처리 없이 ODT 이미지로부터 RI 매핑 이미지를 획득할 수 있으므로 세포에 변형이 일어나지 않아서 세포의 상태 변화를 정확히 파악할 수 있는 효과가 있다.

[0041] 도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법(Optical Diffraction Tomography, ODT)을 이용한 줄기세포 분류 방법을 수행하는 장치를 개략적으로 나타낸 블록도이다.

[0042] 도 2를 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법을 이용한 줄기세포 분류 방법을 수행하는 장치(100)는 연산처리를 수행하여 사용자에게 결과를 제공할 수 있는 다양한 장치들이 모두 포함된다. 예를 들어, 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법을 이용한 줄기세포 분류 방법을 수행하는 장치(100)는, 컴퓨터, 서버 장치 및 휴대용 단말기를 모두 포함하거나, 또는 어느 하나의 형태가 될 수 있다.

[0043] 여기에서, 상기 컴퓨터는 예를 들어, 웹 브라우저(WEB Browser)가 탑재된 노트북, 데스크톱(desktop), 랩톱(laptop), 태블릿 PC, 슬레이트 PC 등을 포함할 수 있다.

[0044] 상기 서버 장치는 외부 장치와 통신을 수행하여 정보를 처리하는 서버로써, 애플리케이션 서버, 컴퓨팅 서버, 데이터베이스 서버, 파일 서버, 게임 서버, 메일 서버, 프록시 서버 및 웹 서버 등을 포함할 수 있다.

[0045] 상기 휴대용 단말기는 예를 들어, 휴대성과 이동성이 보장되는 무선 통신 장치로서, PCS(Personal Communication System), GSM(Global System for Mobile communications), PDC(Personal Digital Cellular), PHS(Personal Handyphone System), PDA(Personal Digital Assistant), IMT(International Mobile Telecommunication)-2000, CDMA(Code Division Multiple Access)-2000, W-CDMA(W-Code Division Multiple Access), WiBro(Wireless Broadband Internet) 단말, 스마트 폰(Smart Phone) 등과 같은 모든 종류의 핸드헬드(Handheld) 기반의 무선 통신 장치와 시계, 반지, 팔찌, 발찌, 목걸이, 안경, 콘택트 렌즈, 또는 머리 착용형 장치(head-mounted-device(HMD) 등과 같은 웨어러블 장치를 포함할 수 있다.

[0046] 일 실시예로, 본 발명에 따른 광학 회절 단층 촬영법을 이용한 줄기세포 분류 방법을 수행하는 장치(100)는 이미지 획득부(110), 정량화정보 처리부(120), 줄기세포 분류부(130), 머신러닝 기반 학습부(140)를 포함할 수 있다. 도 2에 도시된 구성요소들은 본 개시에 따른 상기 장치(100)를 구현하는데 있어서 필수적인 것은 아니어서, 본 명세서 상에서 설명되는 상기 장치(100)는 도 2에 도시된 구성요소들 보다 많거나, 또는 적은 구성요소들을

가질 수 있다.

[0047] 이미지 획득부(110)는 광학 회절 단층 촬영법(Optical Diffraction Tomography, ODT)으로 줄기세포의 3차원 굴절률(Refraction index, RI) 이미지를 획득할 수 있다.

[0048] 여기서, 광학 회절 단층 촬영법(ODT)은 세포에 레이저 광원을 다양한 각도로 입사시켜 여러 장의 2차원 광학장을 측정한 뒤, 이를 푸리에 회절 원리를 바탕으로 한 복원 알고리즘을 이용해 최종적으로 세포의 3차원 굴절률(RI) 분포를 측정하는 방법이다. 따라서, ODT는 샘플(즉, 줄기세포)에 특별한 화학적, 물리적 처리없이 레이저 광원만을 조사하여 데이터를 획득하기에 샘플의 손상 없이 살아있는 상태에서 비침습적, 비파괴적으로 세포 영상을 획득할 수 있다.

[0049] 정량화정보 처리부(120)는 이미지 획득부(110)로부터 획득된 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 줄기세포 내 소기관별로 3차원 매핑하고, 상기 3차원 매핑 결과를 기반으로 줄기세포 내 소기관별 정량화 정보를 획득할 수 있다.

[0050] 여기서, 줄기세포 내 소기관은 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 등을 포함할 수 있다. 정량화 정보는 상기 세포 소기관(예: 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 등)에 대한 굴절률 값, 위치, 부피, 개수 등의 정보를 포함할 수 있다.

[0051] 줄기세포 분류부(130)는 정량화정보 처리부(120)로부터 획득된 정량화 정보를 기반으로 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류할 수 있다.

[0052] 머신러닝 기반 학습부(140)는 PCR 기반 줄기세포 분석 정보를 획득할 수 있다. 그리고, 머신러닝 기반 학습부(140)는 상기 PCR 기반 줄기세포 분석 정보 및 상기 정량화 정보를 기반으로 데이터셋을 구성하고, 상기 데이터셋을 기반으로 머신러닝을 이용하여 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습을 수행할 수 있다.

[0053] 여기서, PCR 기반 줄기세포 분석 정보는 별도의 PCR 검사를 수행하여 획득한 줄기세포의 분석 결과 데이터일 수 있다. 이때, PCR 기반 줄기세포 분석 정보는 상기 데이터셋의 라벨링 생성을 위한 기준 정보로 사용될 수 있다.

[0054] 정량화 정보는 정량화정보 처리부(120)로부터 획득되는 정보로서, 광학 회절 단층 촬영법(ODT)를 통해 획득한 3차원 굴절률 이미지로부터 3차원 매핑하여 얻은 데이터일 수 있다.

[0055] 일 실시예로, 머신러닝 기반 학습부(140)는 특정 줄기세포에 대한 분석 결과를 ground truth(또는 정답값)으로 사용하고, 상기 정량화정보 처리부(120)로부터 획득되는 정량화 정보를 입력값으로 하여 학습을 수행할 수 있다. 이를 통해, 머신러닝 기반 학습부(140)는 상기와 같은 머신러닝을 통해 학습된 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습모델을 구축할 수 있다.

[0056] 예를 들어, 머신러닝 기반 학습부(140)는 정량화정보 처리부(120)로부터 특정 줄기세포에 대한 정량화 정보를 입력받으면, 상기 데이터셋(즉, 훈련 데이터)에 의해 학습된 학습모델을 통해 상기 특정 줄기세포에 대한 분화 상태 및 유형을 분류한 정보를 결과값으로 출력할 수 있다.

[0057] 상기에서는 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습모델로서 머신러닝을 이용하는 것으로 기술하였으나, 이는 하나의 예시일 뿐이며 다른 학습모델 알고리즘이나 인공지능 등을 사용할 수 있다. 예를들어, 딥러닝 알고리즘을 사용할 수도 있다.

[0058] 또한, 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법을 이용한 줄기세포 분류 방법을 수행하는 장치(100)는 머신러닝을 통해 학습된 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습모델을 기반으로 구현된 어플리케이션을 제공할 수 있다.

[0059] 예를 들어, 상기 어플리케이션은 분석 대상 줄기세포에 대한 3차원 굴절률 이미지 정보를 기반으로 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 소기관별 정량화 정보를 산출하여 제공할 수 있다. 또한, 상기 어플리케이션은 분석 대상 줄기세포에 대한 3차원 굴절률 이미지 정보를 기반으로 상기 줄기세포 내 각 소기관별로 상이하게 표시된 디스플레이 화면을 제공할 수 있다. 또한, 상기 어플리케이션은 분석 대상 줄기세포에 대한 3차원 굴절률 이미지 정보를 기반으로 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 분류 정보를 제공할 수 있다.

[0060] 일예로, 사용자가 분석 대상 줄기세포에 대해 촬영된 3차원 굴절률 이미지 정보를 어플리케이션의 입력값으로 입력하면, 어플리케이션은 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 정량화 정보를 산출하여 그 결과를 출력하거나, 상기 줄기세포 내 각 소기관별로 서로 다른 색깔로 표시하여 디스플레이하거나, 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 분화 상태 및 유형을 분류한 정보를 출력할 수 있다.

[0061] 또한, 실시예에 따라, 광학 회절 단층 촬영법을 이용한 줄기세포 분류 방법을 수행하는 장치(100)는 도 2에 도시되지는 않았으나 메모리부 및 제어부 등을 더 포함할 수도 있다.

[0062] 메모리부는 본 장치의 다양한 기능을 지원하는 데이터와, 제어부의 동작을 위한 프로그램을 저장할 수 있고, 입/출력되는 데이터들(예를 들어, 음악 파일, 정지영상, 동영상 등)을 저장할 있고, 본 장치에서 구동되는 다수의 응용 프로그램(application program 또는 애플리케이션(application)), 본 장치의 동작을 위한 데이터들, 명령어들을 저장할 수 있다. 이러한 응용 프로그램 중 적어도 일부는, 무선 통신을 통해 외부 서버로부터 다운로드 될 수 있다.

[0063] 이러한, 메모리부는 플래시 메모리 타입(flash memory type), 하드디스크 타입(hard disk type), SSD 타입(Solid State Disk type), SDD 타입(Silicon Disk Drive type), 멀티미디어 카드 마이크로 타입(multimedia card micro type), 카드 타입의 메모리(예를 들어 SD 또는 XD 메모리 등), 램(random access memory; RAM), SRAM(static random access memory), 롬(read-only memory; ROM), EEPROM(electrically erasable programmable read-only memory), PROM(programmable read-only memory), 자기 메모리, 자기 디스크 및 광디스크 중 적어도 하나의 타입의 저장매체를 포함할 수 있다. 또한, 메모리부는 본 장치와는 분리되어 있으나, 유선 또는 무선으로 연결된 데이터베이스가 될 수도 있다.

[0064] 제어부는 본 장치 내의 구성요소들의 동작을 제어하기 위한 알고리즘 또는 알고리즘을 재현한 프로그램에 대한 데이터를 저장하는 메모리, 및 메모리에 저장된 데이터를 이용하여 전술한 동작을 수행하는 적어도 하나의 프로세서(미도시)로 구현될 수 있다. 이때, 메모리와 프로세서는 각각 별개의 칩으로 구현될 수 있다. 또는, 메모리와 프로세서는 단일 칩으로 구현될 수도 있다.

[0065] 또한, 제어부는 이하의 도 3 내지 도 8에서 설명되는 본 개시에 따른 다양한 실시 예들을 본 장치 상에서 구현하기 위하여, 위에서 살펴본 구성요소들을 중 어느 하나 또는 복수를 조합하여 제어할 수 있다.

[0066] 도 2에 도시된 구성 요소들의 성능에 대응하여 적어도 하나의 구성요소가 추가되거나 삭제될 수 있다. 또한, 구성 요소들의 상호 위치는 시스템의 성능 또는 구조에 대응하여 변경될 수 있다는 것은 당해 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 용이하게 이해될 것이다.

[0067] 한편, 도 2에서 도시된 각각의 구성요소는 소프트웨어 및/또는 Field Programmable Gate Array(FPGA) 및 주문형 반도체(ASIC, Application Specific Integrated Circuit)와 같은 하드웨어 구성요소를 의미한다.

[0068] 이하에서는, 상술한 본 발명의 일 실시예에 따른 장치(100)에서 수행되는 광학 회절 단층 촬영법(ODT)을 이용한 줄기세포 분류 방법에 관해 상세히 설명하도록 한다.

[0069] 도 3은 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법(Optical Diffraction Tomography, ODT)을 이용한 줄기세포 분류 방법을 개략적으로 나타내는 순서도이다.

[0070] 도 4는 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법(ODT)를 이용하여 이미지를 생성하는 방법을 설명하기 위한 도면이다.

[0071] 도 5a는 본 발명의 일 실시예에 따른 ODT를 이용하여 획득한 RI 이미지를 나타낸 도면이고, 도 5b는 도 5a에 도시된 각 세포의 RI 이미지로부터 도출된 세포 소기관의 굴절률 값을 나타낸 도면이고, 도 5c는 도 5a에 도시된 각 세포의 RI 이미지로부터 도출된 각 세포의 부피를 나타낸 도면이다.

[0072] 도 6a는 본 발명의 일 실시예에 따른 ODT 이미지에서 도출된 세포 소기관의 3차원 이미지를 나타낸 도면이고, 도 6b는 도 6a에 도시된 세포 소기관의 3차원 이미지로부터 분석한 세포 소기관의 정량화 정보를 나타낸 도면이다.

[0073] 도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 3차원 RI 이미지를 이미지 처리하는 과정을 설명하기 위한 도면이다.

[0074] 도 3 내지 도 7의 동작들은 도 2에 개시된 장치(100)에 의해 수행될 수 있다. 여기서, 도 2에 개시된 장치(100)는 컴퓨터 장치일 수 있으며, 이 경우 도 3 내지 도 7의 동작들은 컴퓨터에 의해 수행될 수 있다.

[0075] 도 3을 참조하면, 이미지 획득부(110)는 광학 회절 단층 촬영법(Optical Diffraction Tomography, ODT)으로 줄기세포의 3차원 굴절률(Refraction index, RI) 이미지를 획득할 수 있다(S200).

[0076] 여기서, 상술한 바와 같이 광학 회절 단층 촬영법(ODT)은 세포에 레이저 광원을 다양한 각도로 입사시켜 여러 장의 2차원 광학장을 측정한 뒤, 이를 푸리에 회절 원리를 바탕으로 한 복원 알고리즘을 이용해 최종적으로 세

포의 3차원 굴절률(RI) 분포를 측정하는 방법이다.

[0077] 보다 구체적으로, 이미지 획득부(110)는 광학 회절 단층 촬영법으로 줄기세포에 대하여 적어도 하나 이상의 각도로 레이저 광원을 입사시켜 적어도 하나 이상의 2차원 홀로그램 이미지를 획득할 수 있다. 그리고, 이미지 획득부(110)는 상기 획득된 적어도 하나 이상의 2차원 홀로그램 이미지를 기반으로 줄기세포의 3차원 굴절률 분포를 측정하여 3차원 굴절률 이미지를 획득할 수 있다.

[0078] 일 실시예로, 도 4에 도시된 바와 같이, 산란된 표본의 빛이 기준 빛과 간섭하여 공간적으로 변조되어 이차원 홀로그램 이미지를 생성할 수 있다. 또한 이차원 홀로그램 이미지에서 스캔된 연속된 각도에서 이미지의 굴절률 범위를 얻을 수 있고, 이를 병합하여 굴절률의 배분을 계산하여 3차원 굴절률 이미지를 생성할 수 있다.

[0079] 이와 같이, 본 발명에서는 줄기세포에 특별한 화학적, 물리적 처리 없이 레이저 광원만을 조사하는 광학 회절 단층 촬영법을 사용하므로, 줄기세포의 손상 없이 살아있는 상태에서 비침습적, 비표지적, 비파괴적으로 줄기세포 영상을 획득할 수 있다.

[0080] 정량화정보 처리부(120)는 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 줄기세포 내 소기관별로 3차원 매핑할 수 있고(S210), 상기 3차원 매핑 결과를 기반으로 줄기세포 내 소기관별 정량화 정보를 획득할 수 있다(S220).

[0081] 여기서, 줄기세포 내 소기관은 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 등을 포함할 수 있다. 정량화 정보는 상기 세포 소기관(예: 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 등)에 대한 굴절률 값, 위치, 부피, 개수 등의 정보를 포함할 수 있다.

[0082] 보다 구체적으로, 정량화정보 처리부(120)는 3차원 굴절률 이미지에서 굴절률 값을 기반으로 줄기세포 내 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 중 적어도 하나의 소기관을 추출하여 3차원 매핑 영역을 결정할 수 있고, 상기 결정된 3차원 매핑 영역을 기반으로 줄기세포 내 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 중 적어도 하나의 소기관에 대한 3차원 이미지를 생성할 수 있다. 그리고, 정량화정보 처리부(120)는 각 소기관(예: 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 등)에 대한 3차원 이미지를 분석하여, 각 소기관(예: 핵소체, 세포질, 소포, 세포막 등)의 굴절률 값, 위치, 부피, 개수 등의 정량화된 데이터를 산출할 수 있다.

[0083] 일 실시예로, 도 5a는 3가지 줄기세포(즉, 인간 간 유래 줄기세포, 인간 제대 유래 중간엽 줄기세포, 인간 유도 만능성 줄기세포)와 섬유아세포의 광학 회절 단층 촬영(ODT) 이미지(상단), 각 세포의 굴절률(RI) 매핑 이미지(중단), 각 세포에서 특정 영역(즉, 소포 구조의 밀도 높은 부분)의 굴절률 매핑 이미지를 확대한 것(하단)을 나타낸 것이다. 이때 굴절률 렌더링에 사용된 굴절률의 범위가 하단의 색 범례로 표현되었다. 예를 들어, ODT를 사용해 각 세포(즉, 3가지 줄기세포 및 섬유아세포)에 대한 ODT 이미지가 생성될 수 있고, 각각의 ODT 이미지에서 굴절률 값을 측정하여 그 굴절률 값에 기반하여 각 세포에 대한 3차원 RI 이미지가 재구성될 수 있다.

[0084] 또한, 도 5b는 3가지 줄기세포(즉, 인간 간 유래 줄기세포, 인간 제대 유래 중간엽 줄기세포, 인간 유도 만능성 줄기세포)와 섬유아세포의 평균 굴절률 값을 나타낸 것이고, 도 5c는 3가지 줄기세포(즉, 인간 간 유래 줄기세포, 인간 제대 유래 중간엽 줄기세포, 인간 유도 만능성 줄기세포)와 섬유아세포의 평균 부피를 나타낸 것이다. 즉, 도 5a 내지 도 5c에 도시된 것처럼, 3차원 RI 이미지에서 각 세포 소기관(즉, 핵, 세포질, 소포, 세포막)의 평균 굴절률 값 및 각 단위 세포의 평균 부피를 산출할 수 있고, 이를 통해서 줄기세포의 정량적 특징을 추출할 수 있다.

[0085] 또한, 일 실시예로, 도 6a는 3가지 줄기세포(즉, 인간 간 유래 줄기세포, 인간 제대 유래 중간엽 줄기세포, 인간 유도 만능성 줄기세포)와 섬유아세포에 대한 ODT 이미지를 나타낸 것이다(상단). 여기서, 도 5a 내지 도 5c에서 확인할 수 있듯이, 줄기세포에서 핵소체와 소포의 평균 굴절률이 높기 때문에, 이 굴절률 값을 기반으로 ODT 이미지로부터 각 세포(3가지 줄기세포와 섬유아세포) 내의 소포 및 핵소체를 추출하여 3차원 매핑을 통해 소포 및 핵소체의 삼차원 이미지를 생성할 수 있다. 즉, 도 6a의 중단에는 ODT 이미지로부터 도출된 소포 구조의 삼차원 이미지를 도시하였고, 도 6a의 하단에는 ODT 이미지로부터 도출된 핵소체의 삼차원 이미지를 도시하였다.

[0086] 또한, 도 6b는 각 세포에서 추출된 소포 및 핵소체의 삼차원 이미지로부터 정량화 정보를 분석한 그래프를 나타낸 것이다. 도 6b에서 A 내지 D는 3가지 줄기세포(즉, 인간 간 유래 줄기세포, 인간 제대 유래 중간엽 줄기세포, 인간 유도 만능성 줄기세포)와 섬유아세포 각각에서 추출된 단일 소포의 부피를 나타낸 그래프이다. 도 6b에서 E는 3가지 줄기세포(즉, 인간 간 유래 줄기세포, 인간 제대 유래 중간엽 줄기세포, 인간 유도 만능성 줄기세포)와 섬유아세포 각각에서 추출된 소포의 평균 개수를 나타낸 그래프이다. 도 6b에서 F는 3가지 줄기세포(즉, 인간 간 유래 줄기세포, 인간 제대 유래 중간엽 줄기세포, 인간 유도 만능성 줄기세포)와 섬유아세포 각

각에서 추출된 핵소체의 평균 부피비(핵소체 부피/세포 부피)를 나타낸 그래프이다.

[0087] 즉, 도 6a 및 도 6b에 따르면, 인간 유도 만능성 줄기세포에서는 핵의 개수로 세포의 개수를 측정한 뒤 분모로 삼는 것으로 핵소체의 평균 부피와 소포의 평균 개수를 구할 수 있다. 다른 두 줄기세포에서는 각각 이미징이 가능하므로, 각각 측정할 수 있다. 단일 소포의 평균 부피는 줄기세포에서 섬유아세포보다 더 높았지만, 부피의 중간값은 전체 세포에서 단일 소포 부피의 평균보다 작았다. 이는 도 6b의 A 내지 D까지 나타냈듯 단일 소포의 부피값의 분배가 정규분포가 아니라 우측 편중된 비대칭 분포라는 것을 의미한다. 단일 소포의 부피를 히스토그램으로 나타내었을 때, 인간 간 유래 줄기세포와 인간 제대 기질 유래 중간엽 줄기세포는 타 세포종에 비하여 단일 소포의 부피가 크고 개수가 많다. 3종의 줄기세포군 내부 소포의 평균 굴절률 값이 섬유아세포의 값보다 높고, 부피가 큰 소포들이 널리 분배되어 있기 때문에, 이 3가지 줄기세포에서만 이러한 소포의 특징이 나타난다고 판단할 수 있다. 그러나 인간 유도 만능성 줄기세포에서는 도 6b의 E에서 도시된 것과 같이 큰 부피의 소포가 다른 두 줄기세포들보다 적게 발견되고, 소포의 평균 개수 역시 다른 세포들보다 적다. 또한, 인간 유도 만능성 줄기세포에서는 도 6b의 F와 같이 핵소체가 전체 부피에서 차지하는 비율이 타 세포들에 비해 월등히 높은 것이 확인된다.

[0088] 상술한 바와 같이, 본 발명에 따르면 광학 회절 단층 촬영법을 통해 획득한 굴절률 이미지에 기반하여 세포 내 각 소기관을 추출하여 매핑할 수 있고, 상기 매핑을 통해 세포 내 각 소기관별 3차원 이미지를 생성하여 이를 기반으로 각 소기관별 정량화된 특징(개수, 부피, 분포 등)을 도출할 수 있다.

[0089] 한편, 실시예에 따라, 이미지 획득부(110)는 줄기세포의 3차원 굴절률 이미지를 획득하여 보정 처리를 수행할 수 있다. 이 경우, 정량화정보 처리부(120)는 보정된 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 줄기세포 내 소기관별 정량화 정보를 획득할 수 있다. 다시 말해, 정량화정보 처리부(120)는 보정된 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 상술한 단계 S210 ~ S220을 수행할 수 있다.

[0090] 예를 들어, 정량화 정보를 획득하기 위해 보정 처리를 수행함에 있어서, 도 7을 참조하면, ODT 이미지로부터 줄기세포의 RI 및 부피를 정량화할 경우, 측정하고자 하는 각 소기관의 위치와 형태를 고려하여 RI 이미지를 지정하고 각 RI 범위에서 렌더링된 소기관의 병합된 이미지 획득할 수 있으며, 세포 부피는 세포막 내의 복셀(voxel)로 평가될 수 있다. 또한, ODT 이미지로부터 핵소체 및 소포 구조의 부피 및 개수를 분석할 경우, 3차원 ODT 이미지로부터 배경 및 노이즈를 제거하고, 특정 소기관의 RI 이미지 데이터를 추출하고, 추출된 RI 이미지에서 특정 소기관의 표면을 생성하여 그것의 속성을 계산할 수 있다.

[0091] 줄기세포 분류부(130)는 줄기세포(즉, 줄기세포 내 소기관)에 대한 정량화 정보를 기반으로 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류할 수 있다(S230).

[0092] 줄기세포의 경우 다양한 형태의 분화가 가능하므로 분화 시점에 유형을 분류하는 것(즉, 줄기세포의 계통 확인)이 필요하며, 이러한 분류의 정확성 및 신뢰성을 높이기 위해서 본 발명에서는 머신러닝, 딥러닝, 인공지능 등과 같은 학습 알고리즘을 적용할 수 있고, 이를 통해 대량의 샘플을 정확하고 신속하게 분류할 수 있다.

[0093] 일 실시예로, 머신러닝 기반 학습부(140)는 상술한 단계 S200 ~ S230을 통해 도출된 줄기세포에 대한 정량화 정보를 기반으로 데이터셋을 구성할 수 있고, 상기 데이터셋을 기반으로 머신러닝을 이용하여 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습을 수행할 수 있다. 예를 들어, 머신러닝 기반 학습부(140)는 특정 줄기세포에 대한 분석 결과를 ground truth(또는 정답값)으로 사용하고, 상기 정량화 정보를 입력값으로 하여 학습을 수행할 수 있다. 이를 통해, 머신러닝 기반 학습부(140)는 상기와 같은 머신러닝을 통해 학습된 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습모델을 구축할 수 있다.

[0094] 또한, 머신러닝 기반 학습부(140)는 PCR 기반 줄기세포 분석 정보를 획득하고, 이를 머신러닝을 위한 데이터셋의 라벨링 생성을 위한 기준 정보로 사용할 수 있다. 여기서, PCR 기반 줄기세포 분석 정보는 별도의 PCR 검사를 수행하여 획득한 줄기세포의 분석 결과 데이터일 수 있다. 즉, 이 경우, 머신러닝 기반 학습부(140)는 상술한 3차원 굴절률 이미지를 기반으로 도출되는 정량화 정보뿐만 아니라 상기 PCR 기반 줄기세포 분석 정보를 함께 데이터셋으로 구성하여 머신러닝을 학습시키는데 활용할 수 있다. 따라서, 본 발명에 따르면 비파괴적인 ODT 측정방법으로 도출된 정량화된 데이터와 PCR과 같은 기존 분석 데이터를 함께 합습시킴으로써 복합적으로 줄기세포의 형상 특성과 줄기세포의 분류를 예측할 수 있다. 또한 이를 통해서 분석 및 예측에 대한 정확성 및 신뢰성을 향상시키는 효과를 얻을 수 있다.

[0095] 줄기세포 분류부(130)는 단계 S200 ~ S220에서 도출된 정량화 정보를 머신러닝을 통해 학습된 학습모델에 입력할 수 있고, 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류한 정보를 결과값으로 획득할 수 있다.

[0096] 상기에서는 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습모델로서 머신러닝을 이용하는 것으로 기술하였으나, 이는 하나의 예시일 뿐이며 다른 학습모델 알고리즘이나 인공지능 등을 사용할 수 있다. 예를들어, 딥러닝 알고리즘을 사용할 수도 있다.

[0097] 또한, 실시예에 따라, 머신러닝 기반 학습부(140)는 머신러닝을 통해 학습된 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류하는 학습모델을 구축할 수 있고, 상기 학습모델을 기반으로 구현된 어플리케이션을 제공할 수 있다.

[0098] 예를 들어, 상기 어플리케이션은 분석 대상 줄기세포에 대한 3차원 굴절률 이미지 정보를 기반으로 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 소기관별 정량화 정보를 산출하여 제공할 수 있다. 또한, 상기 어플리케이션은 분석 대상 줄기세포에 대한 3차원 굴절률 이미지 정보를 기반으로 상기 줄기세포 내 각 소기관별로 상이하게 표시된 디스플레이 화면을 제공할 수 있다. 또한, 상기 어플리케이션은 분석 대상 줄기세포에 대한 3차원 굴절률 이미지 정보를 기반으로 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 분류 정보를 제공할 수 있다.

[0099] 일예로, 사용자가 분석 대상 줄기세포에 대해 촬영된 3차원 굴절률 이미지 정보를 어플리케이션의 입력값으로 입력하면, 어플리케이션은 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 정량화 정보를 산출하여 그 결과를 출력하거나, 상기 줄기세포 내 각 소기관별로 서로 다른 색깔로 표시하여 디스플레이하거나, 상기 분석 대상 줄기세포에 대한 분화 상태 및 유형을 분류한 정보를 출력할 수 있다.

[0100] 또한, 실시예에 따라, 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법을 이용한 줄기세포 분류 방법을 수행하는 장치(100)는 줄기세포의 샘플을 준비하고 전처리하는 단계를 더 포함할 수 있다. 이 경우, 전처리된 줄기세포를 이용하여 상술한 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법을 이용한 줄기세포 분류 방법을 수행할 수도 있다.

[0101] 도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법을 이용한 줄기세포 분류 방법의 구체적인 일예를 나타낸 도면이다. 도 8의 동작들은 도 2에 개시된 장치(100)에 의해 수행될 수 있다. 여기서, 도 2에 개시된 장치(100)는 컴퓨터 장치일 수 있으며, 이 경우 도 8의 동작들은 컴퓨터에 의해 수행될 수 있다. 또한, 도 8에서는 상술한 도 2 내지 도 7과 중복되는 동작들에 대해서 상세한 설명을 생략하도록 한다.

[0102] 도 8을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 광학 회절 단층 촬영법을 이용한 줄기세포 분류 방법을 수행하는 장치(100)(이하, 장치(100)라고 함)는 줄기세포 샘플을 준비하고 전처리를 수행할 수 있다(S800).

[0103] 장치(100)는 ODT를 이용하여 획득된 줄기세포에 대한 RI 이미지를 기반으로 정량화 데이터를 추출할 수 있다(S810).

[0104] 즉, 장치(100)는 ODT를 이용하여 줄기세포에 대한 RI 이미지를 획득하고, RI 이미지에 대해 보정 처리를 수행할 수 있다. 그리고, 장치(100)는 상기 보정된 RI 이미지를 기반으로 줄기세포 내 소기관별 3D 매핑을 통해 소기관별 3D 이미지를 획득할 수 있고, 상기 소기관별 3D 매핑 이미지를 기반으로 정량화 데이터(즉, 소기관별 특성 정보)를 추출할 수 있다.

[0105] 장치(100)는 정량화 데이터(즉, 소기관별 특성 정보)를 기반으로 줄기세포의 분화 및 유형을 분류할 수 있다(S820).

[0106] 이때, 장치(100)는 RI 이미지 기반 줄기세포 내 소기관의 정량화 정보 및 PCR 기반 줄기세포 분화 및 유형 분류 정보를 이용하여 데이터셋(즉, 훈련 데이터)을 구성하고(S830), 이를 기반으로 딥러닝을 이용하여 학습을 수행할 수 있다(S840).

[0107] 따라서, 장치(100)는 상기 단계 S810에서 RI 이미지를 기반으로 추출된 정량화 데이터를 딥러닝에 입력하여 줄기세포의 분화 및 유형을 분류한 결과값을 출력할 수 있다. 그리고, 장치(100)는 비표지, 비침습적으로 샘플 줄기세포에 대해 분화 및 유형 분류를 할 수 있고, 샘플 줄기세포를 즉각적으로 실험 및 치료에 사용할 수 있다.

[0108] 상술한 본 발명에 따르면, 비파괴적, 비침습적, 비표지적 방법인 광학 회절 단층 촬영법을 이용함으로써 살아있는 상태의 줄기세포를 대상으로 하므로 분석 및 분류 결과의 신뢰도를 높일 수 있고, 실험, 치료에 사용될 줄기세포에 대하여 직접 검사를 수행할 수 있으므로 개별 세포에 대한 분류 결과의 정확도를 높일 수 있다.

[0109] 또한, 본 발명에 따르면, 비표지 상태로 줄기세포를 측정할 수 있어 염색에 의한 독성이나 이상반응을 피할 수 있고 세포 그대로의 상태와 실시간으로 변하는 상태 또한 관측이 가능하다. 또한, 비파괴적 분석 방법이기 때문에 오랜 시간동안 성장 및 분화시킨 줄기세포를 퀄리티 체크로 소진하지 않고 실험에 사용할 수 있다. 또한, 기존의 파괴적인 확인방법과는 달리 상태를 확인한 줄기세포에 대해서도 실험이 가능할 수 있다.

[0110] 또한, 본 발명에 따르면, 줄기세포의 분화상태 및 유형을 분류하는데 머신러닝 등과 같은 학습 알고리즘을 이용함으로써 대량의 줄기세포 샘플에 대하여 신속한 분석 결과를 획득할 수 있다. 또한, 기존의 PCR 검사 등에서 얻은 분석 결과를 머신러닝 등의 학습 알고리즘을 위한 데이터셋 구축 기반 정보로 활용함으로써 학습 효과를 향상시킬 수 있다.

[0111] 이상에서 전술한 본 발명에 따른 방법은, 하드웨어인 컴퓨터와 결합되어 실행되기 위해 프로그램(또는 어플리케이션)으로 구현되어 매체에 저장될 수 있다.

[0112] 한편, 개시된 실시예들은 컴퓨터에 의해 실행 가능한 명령어를 저장하는 기록매체의 형태로 구현될 수 있다. 명령어는 프로그램 코드의 형태로 저장될 수 있으며, 프로세서에 의해 실행되었을 때, 프로그램 모듈을 생성하여 개시된 실시예들의 동작을 수행할 수 있다. 기록매체는 컴퓨터로 읽을 수 있는 기록매체로 구현될 수 있다.

[0113] 컴퓨터가 읽을 수 있는 기록매체로는 컴퓨터에 의하여 해독될 수 있는 명령어가 저장된 모든 종류의 기록 매체를 포함한다. 예를 들어, ROM(Read Only Memory), RAM(Random Access Memory), 자기 테이프, 자기 디스크, 플래쉬 메모리, 광 데이터 저장장치 등이 있을 수 있다.

[0114] 이상에서와 같이 첨부된 도면을 참조하여 개시된 실시예들을 설명하였다. 본 개시가 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는 본 개시의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고도, 개시된 실시예들과 다른 형태로 본 개시가 실시될 수 있음을 이해할 것이다. 개시된 실시예들은 예시적인 것이며, 한정적으로 해석되어서는 안 된다.

## 부호의 설명

[0115] 100 : 광학 회절 단층 촬영법을 이용한 줄기세포 분류 방법을 수행하는 장치

110 : 이미지 획득부

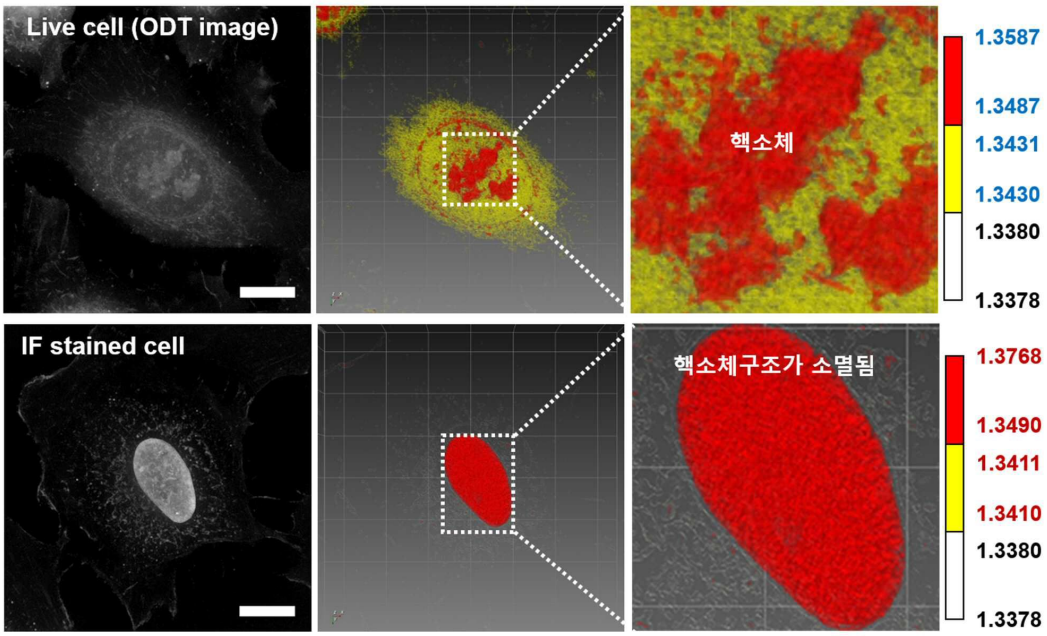
120 : 정량화정보 처리부

130 : 줄기세포 분류부

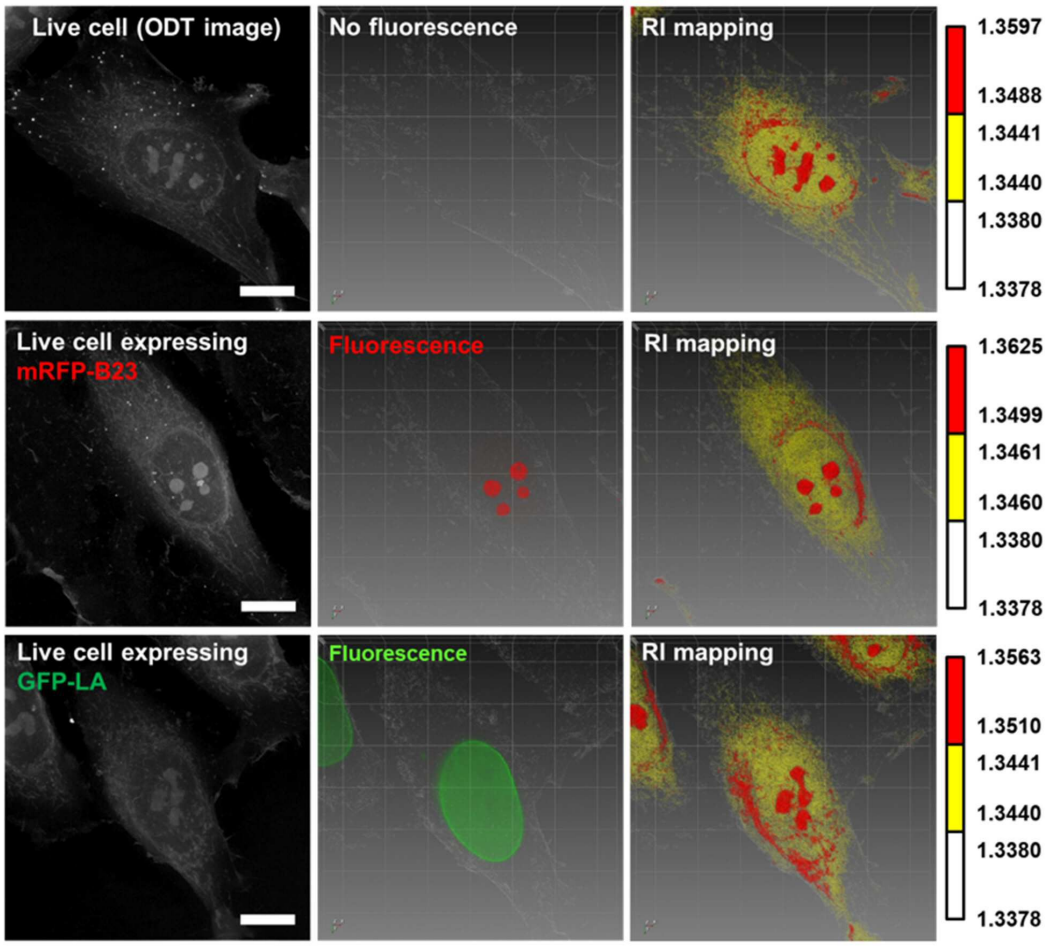
140 : 머신러닝 기반 학습부

## 도면

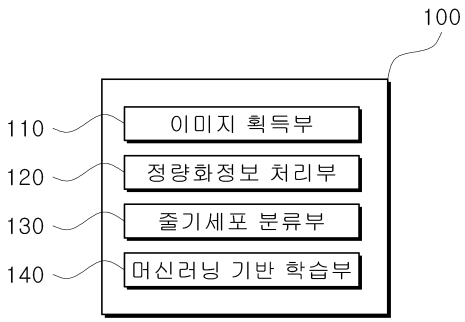
### 도면1a



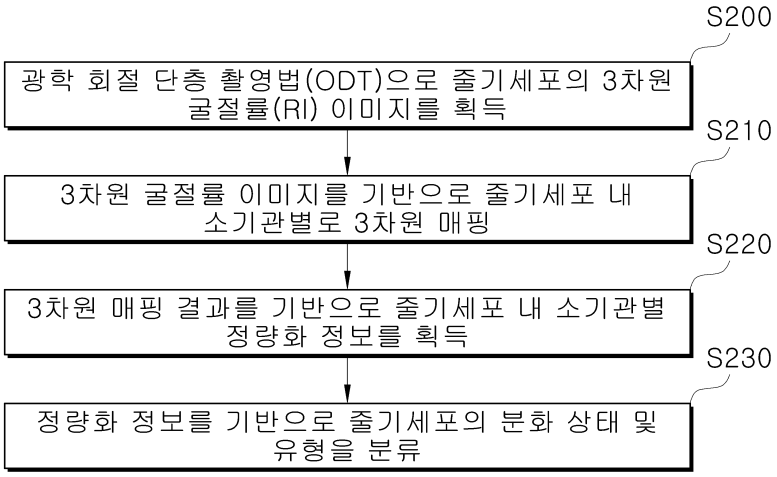
도면1b


Live cell (ODT image)
No fluorescence
RI mapping
1.3597
1.3488
1.3441
1.3440
1.3380
1.3378
Live cell expressing
mRFP-B23
Fluorescence
RI mapping
1.3625
1.3499
1.3461
1.3460
1.3380
1.3378
Live cell expressing
GFP-LA
Fluorescence
RI mapping
1.3563
1.3510
1.3441
1.3440
1.3380
1.3378

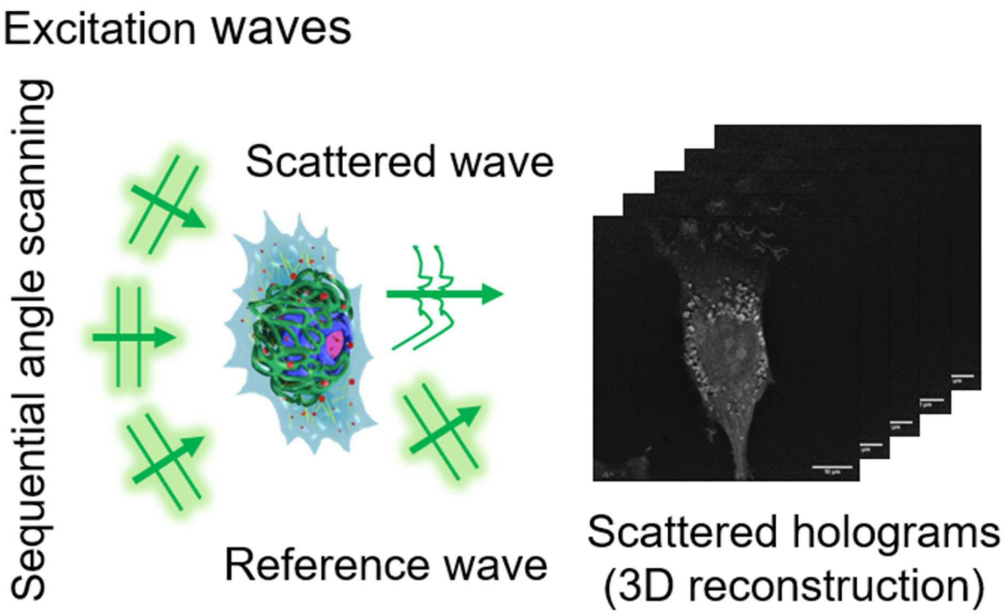
도면2


100
110
이미지 획득부
120
정량화정보 처리부
130
줄기세포 분류부
140
머신러닝 기반 학습부

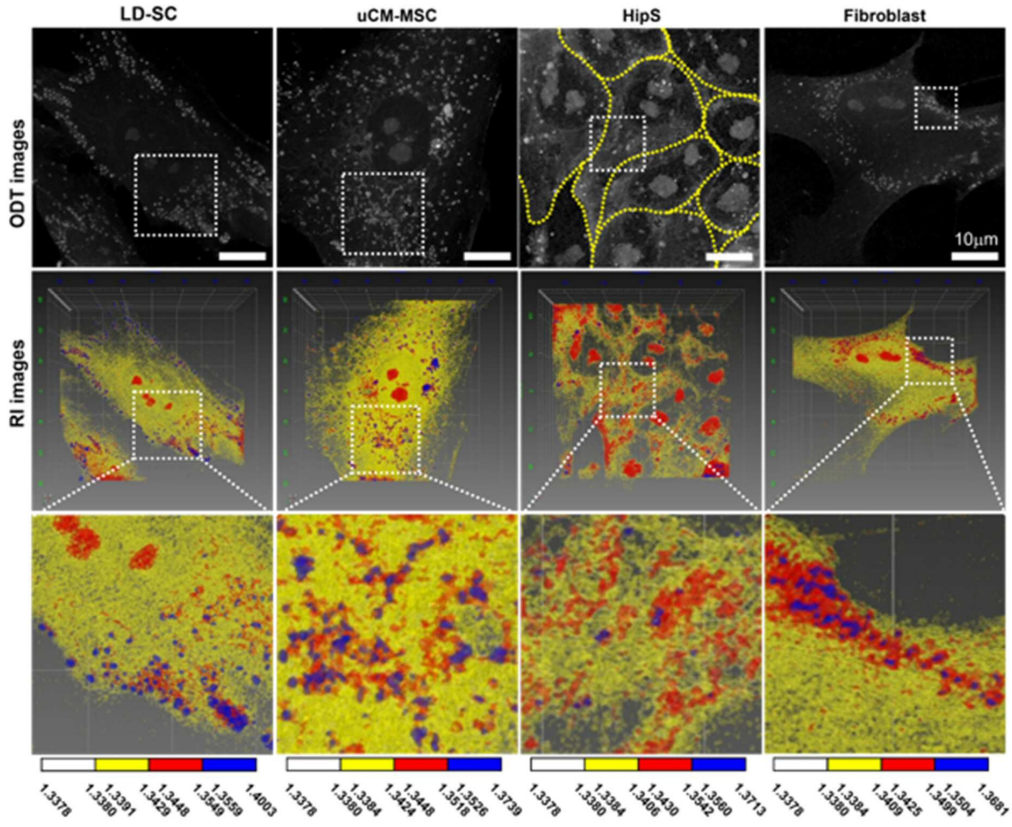
도면3


S200
광학 회절 단층 촬영법(ODT)으로 줄기세포의 3차원 굴절률(RI) 이미지를 획득
S210
3차원 굴절률 이미지를 기반으로 줄기세포 내 소기관별로 3차원 매핑
S220
3차원 매핑 결과를 기반으로 줄기세포 내 소기관별 정량화 정보를 획득
S230
정량화 정보를 기반으로 줄기세포의 분화 상태 및 유형을 분류

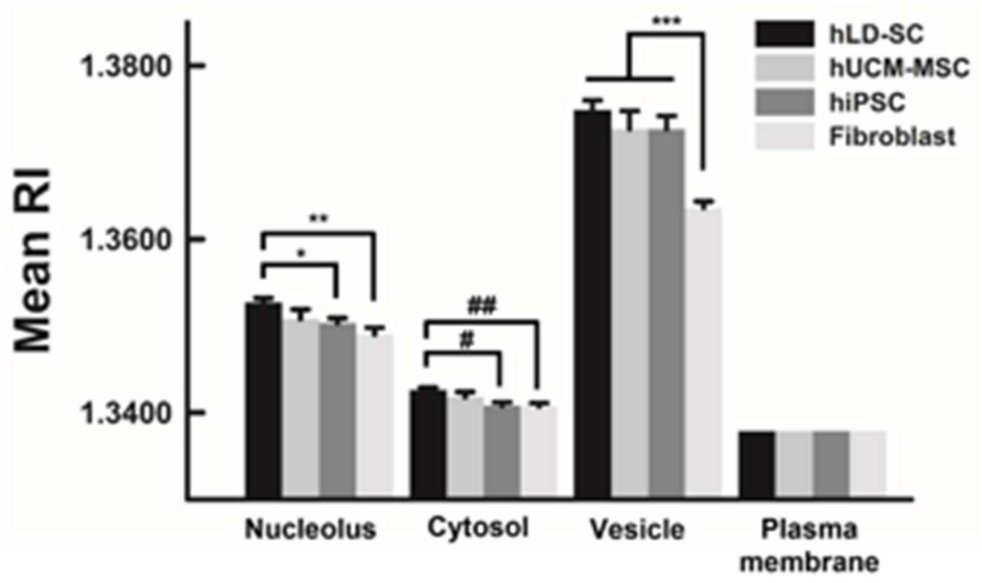
도면4


Excitation waves
Sequential angle scanning
Scattered wave
Reference wave
Scattered holograms
(3D reconstruction)

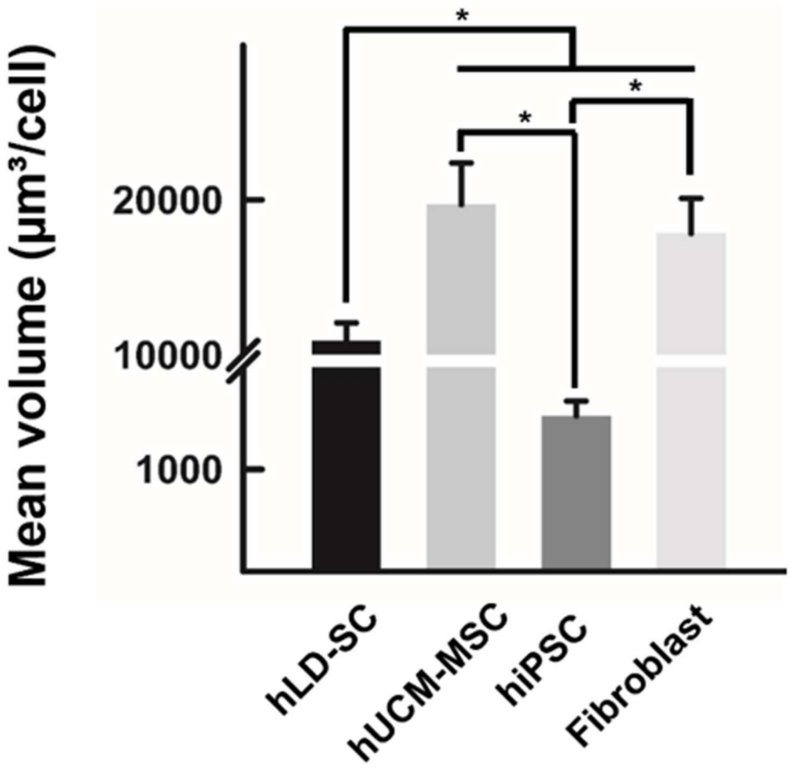
도면5a


LD-SC
uCM-MSC
HipS
Fibroblast
ODT images
RI images
10μm
1.3378
1.3380
1.3391
1.3429
1.3448
1.3549
1.3559
1.4003
1.3378
1.3380
1.3384
1.3424
1.3448
1.3518
1.3526
1.3739
1.3378
1.3380
1.3384
1.3406
1.3430
1.3542
1.3560
1.3713
1.3378
1.3380
1.3384
1.3409
1.3425
1.3499
1.3504
1.3681

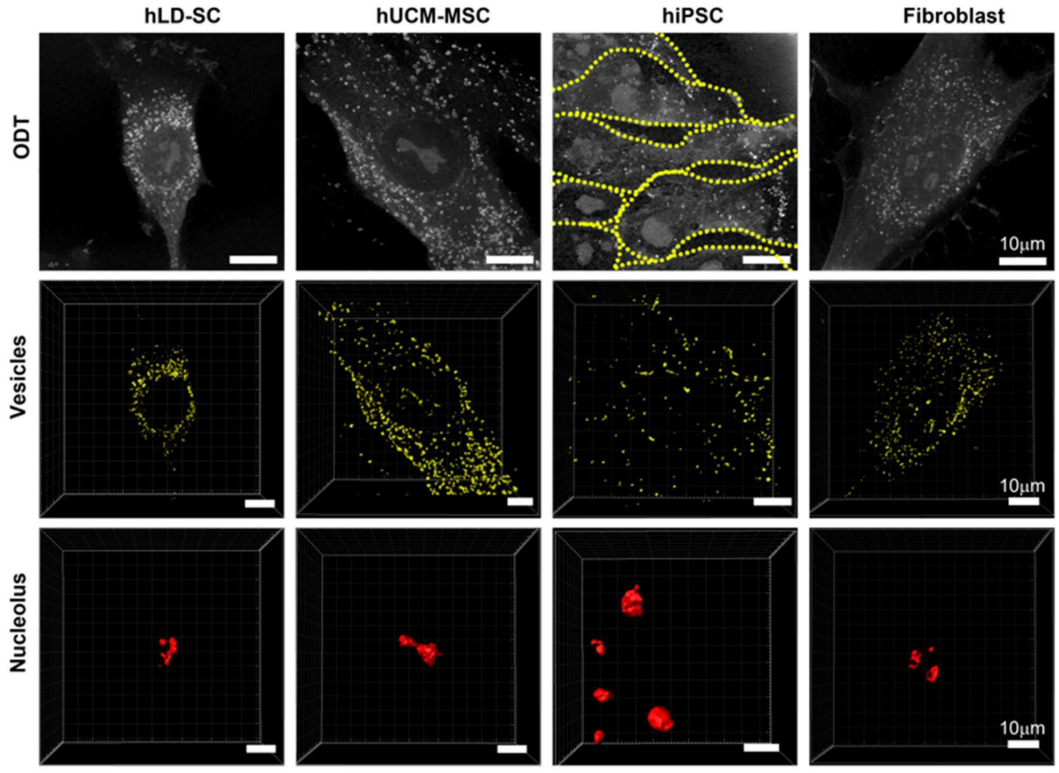
도면5b


Mean RI
1.3800
1.3600
1.3400
hLD-SC
hUCM-MSC
hiPSC
Fibroblast
***
**
*
##
#
Nucleolus
Cytosol
Vesicle
Plasma membrane

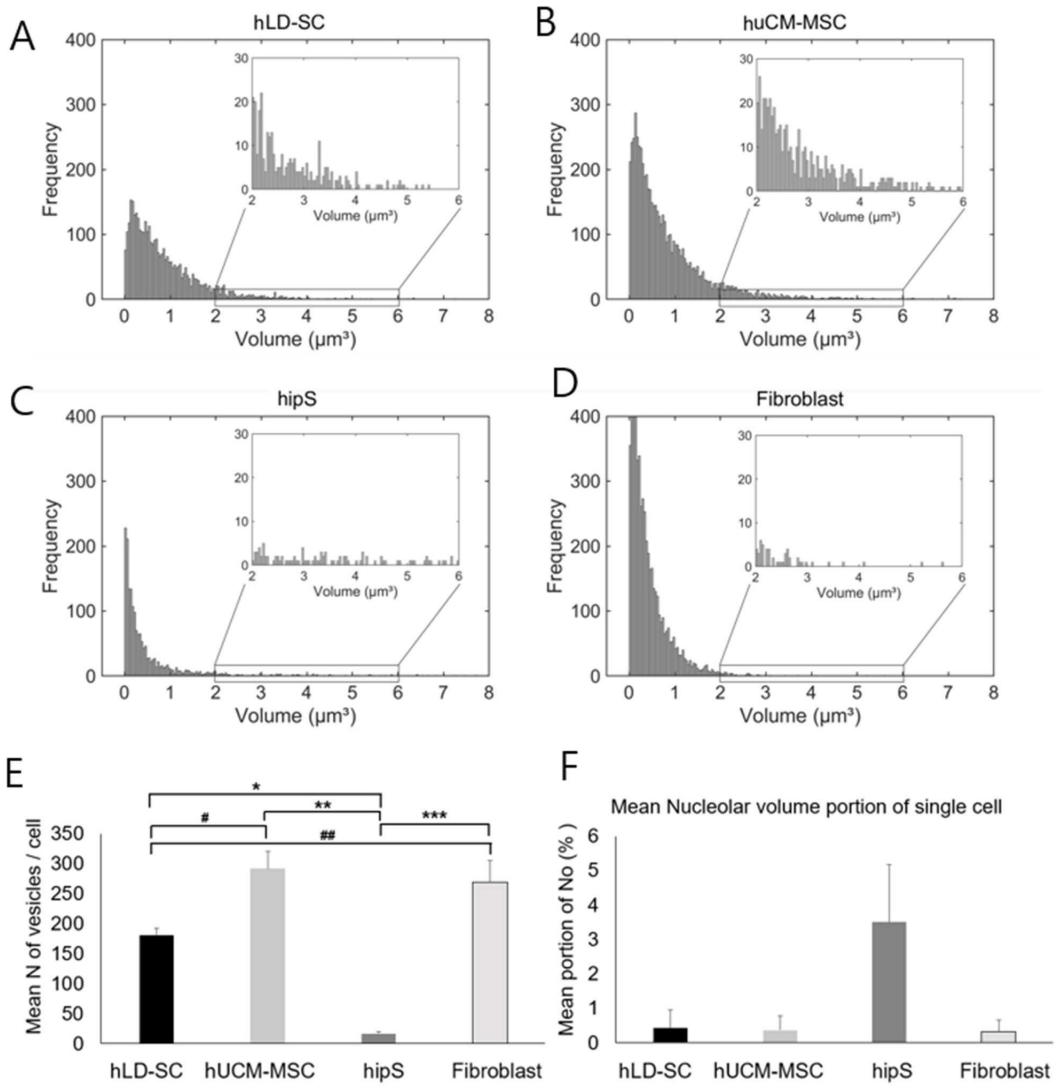
도면5c


Mean volume (μm³/cell)
20000
10000
1000
*
*
*
hLD-SC
hUCM-MSC
hiPSC
Fibroblast

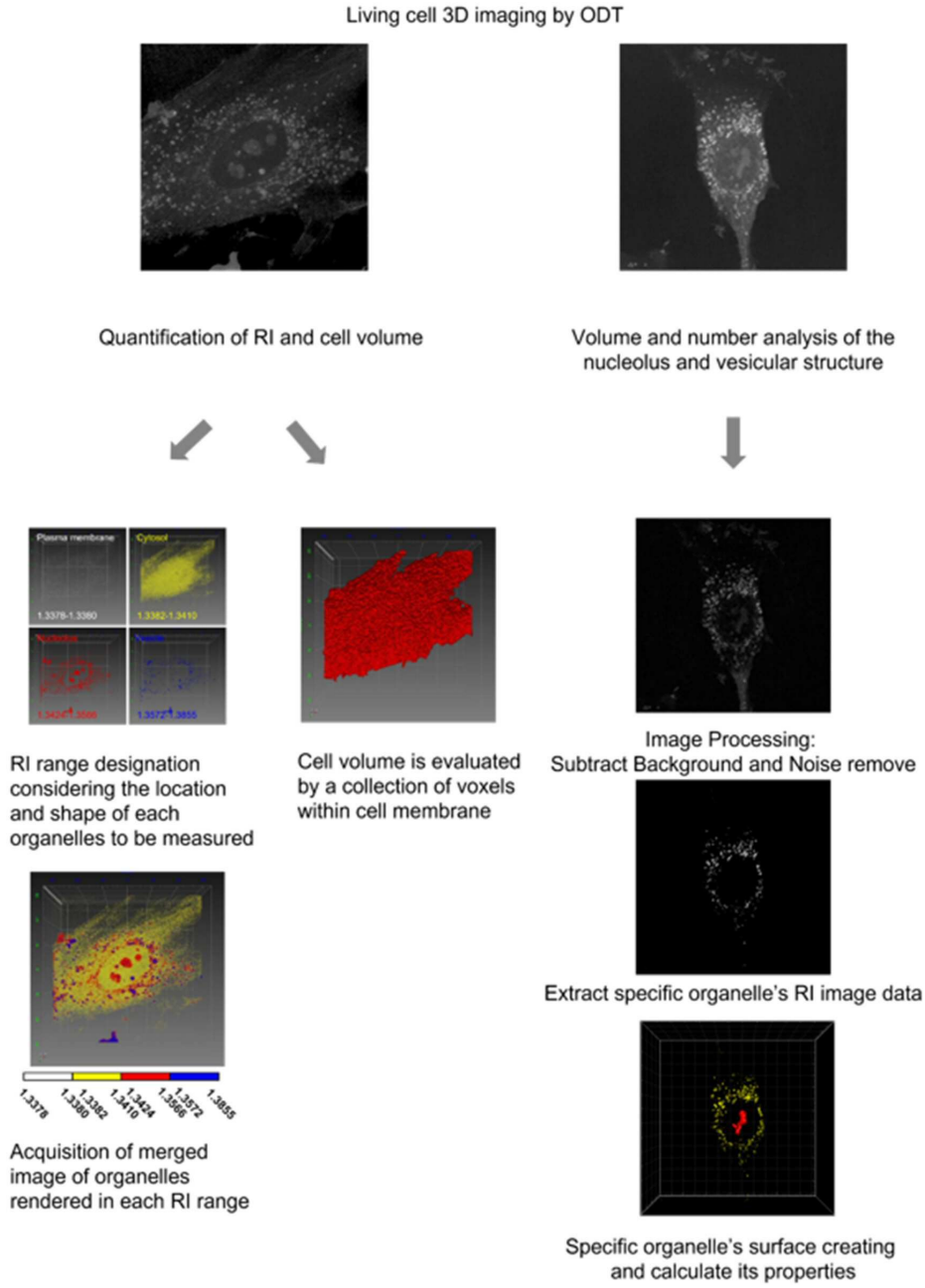
도면6a


hLD-SC
hUCM-MSC
hiPSC
Fibroblast
ODT
Vesicles
Nucleolus
10μm
10μm
10μm

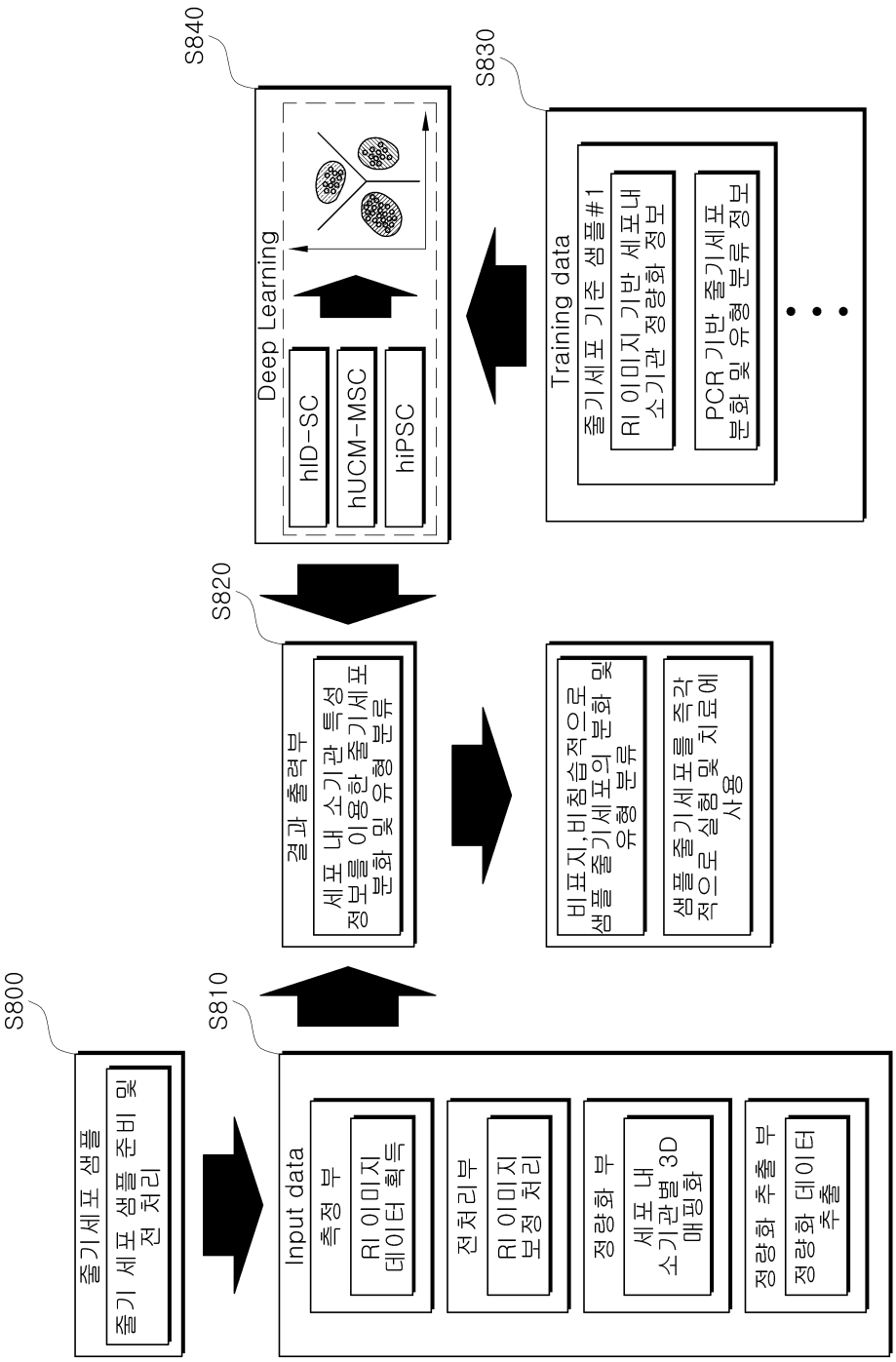
도면6b


A
hLD-SC
B
huCM-MSC
C
hipS
D
Fibroblast
Frequency
Volume (μm³)
E
Mean N of vesicles / cell
hLD-SC
hUCM-MSC
hipS
Fibroblast
F
Mean Nucleolar volume portion of single cell
Mean portion of No (% )

도면7


Living cell 3D imaging by ODT
Quantification of RI and cell volume
Volume and number analysis of the nucleolus and vesicular structure
Plasma membrane
Cytosol
1.3378-1.3380
1.3382-1.3410
RI range designation considering the location and shape of each organelles to be measured
Cell volume is evaluated by a collection of voxels within cell membrane
Image Processing:
Subtract Background and Noise remove
Extract specific organelle's RI image data
1.3378
1.3380
1.3382
1.3410
1.3424
1.3566
1.3572
1.3855
Acquisition of merged image of organelles rendered in each RI range
Specific organelle's surface creating and calculate its properties

도면8


S800
줄기세포 샘플
줄기 세포 샘플 준비 및 전 처리
S810
Input data
측정 부
RI 이미지 데이터 획득
전처리부
RI 이미지 보정 처리
정량화 부
세포 내 소기관별 3D 매핑화
정량화 추출 부
정량화 데이터 추출
S820
결과 출력부
세포 내 소기관 특성 정보를 이용한 줄기세포 분화 및 유형 분류
비표지,비침습적으로 샘플 줄기세포의 분화 및 유형 분류
샘플 줄기세포를 즉각적으로 실험 및 치료에 사용
S840
Deep Learning
hID-SC
hUCM-MSC
hiPSC
S830
Training data
줄기세포 기준 샘플#1
RI 이미지 기반 세포내 소기관 정량화 정보
PCR 기반 줄기세포 분화 및 유형 분류 정보
• • •