(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년10월28일
(11) 등록번호 10-1563826
(24) 등록일자 2015년10월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/02 (2006.01) *G01N 1/28* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-0194641
(22) 출원일자 2014년12월31일
심사청구일자 2014년12월31일
(56) 선행기술조사문헌
WO2014025392 A1*
Nat. Protoc., Vol. 9, No. 7, pp. 1682-1697 (2014.07.)*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095 (신당동)
(72) 발명자
김신
대구광역시 수성구 수성로 412, 103동 1101호(수성보성타운)
이현수
대구광역시 달서구 호산동로 157, 401호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인태백

전체 청구항 수 : 총 2 항 심사관 : 윤준호

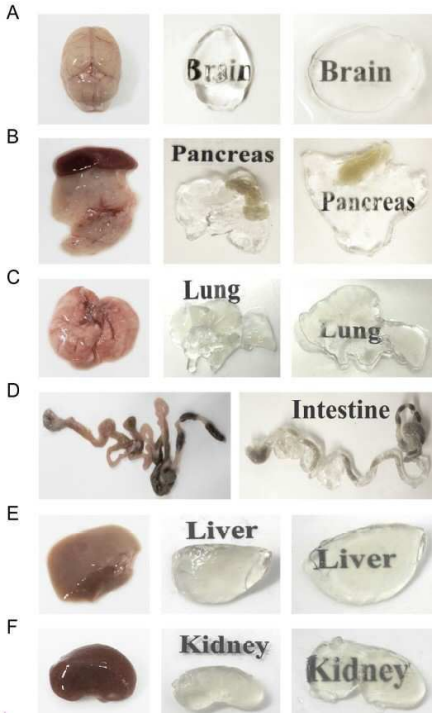
(54) 발명의 명칭 **조직 투명화 방법**

(57) 요 약

본 발명은 조직에 하이드로겔을 관류시켜 인큐베이션 하는 단계; 및 상기 하이드로겔이 관류된 조직을 전기영동하여 지질이중층을 하이드로겔로 교체하는 단계를 포함하는 조직 투명화 방법에 관한 것으로, 본 발명에 따른 조직 투명화 방법은 전체 뇌의 다양한 부분에 적용 가능하였으며, 투명화된 뇌 조직은 소뇌의 푸르키네(Purkinje)

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1



세포층까지 확인이 가능하였다. 또한, 췌장, 간, 폐, 소장, 대장 및 신장과 같은 다양한 조직에서도 적용이 가능하였는데, 췌장의 말단 부분에서 세포와 혈관 간의 완전한 구조적 관계를 단일 광자 현미경으로 확인할 수 있었으며, 이를 통하여 복잡한 췌도 혈관계의 객관적인 이미지를 얻었을 수 있었다. 또한, 기존의 조직 투명화 방법에서 나타났던 버블 형성, 변색 및 검은 퇴적물이 나타나지 않고 투명성이 향상된 것을 확인할 수 있었다. 따라서, 본 발명에 따른 조직 투명화 방법은 혈관계뿐만 아니라, 뇌를 포함한 다양한 조직에 손상을 입히지 않고 3차원 재건이 가능함에 따라, 이들의 생리학적 및 병리학적 관찰을 가능하게 할 수 있다.

(72) 발명자

박재형

대구 수성구 들안로 325, 101동 808호 (수성동2가, 롬바드아파트)

서인철

대구 달서구 호산로 125, 218동 1705호 (파호동, 삼성명가타운)

박순현

경상북도 경산시 자인면 한장군로65길 29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	2014R1A5A2010008
부처명	미래창조과학부
연구관리전문기관	한국연구재단
연구사업명	선도연구센터지원사업
연구과제명	비만매개질환연구센터
기 여 율	1/1
주관기관	계명대학교 산학협력단
연구기간	2014.05.01 ~ 2018.02.28

명 세 서

청구범위

청구항 1

사람을 제외한 동물의 조직에 하이드로겔을 관류시키는 단계;

상기 하이드로겔이 관류된 조직을 적출하여 인큐베이션 하는 단계; 및

상기 적출된 조직을 전류 250 내지 280 mA의 고정된 전류 및 20 내지 26 V의 전압하에서 1 내지 25일 동안 전기영동하여 지질이중층을 하이드로겔로 교체하는 단계를 포함하는 조직 투명화 방법.

청구항 2

삭제

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 조직은 뇌, 췌장, 폐, 간, 소장, 대장 및 신장으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나인 것을 특징으로 하는 조직 투명화 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 조직 투명화 기술인 클라리티(CLARITY)의 효과를 향상시키기 위한 기술에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 클라리티(CLARITY) 및 관류 도움 시약 방출방법(PARS)과 같이 광학적으로 투명하고 고분자 투과가 가능한 이미지를 창출할 수 있는 조직투명성 기술은 매우 향상된 기관계 이미징에 있어서 주요한 진전을 제공하였다.

[0003] 이러한 방법들은 나노 기공성 하이드로겔로 세포막 지질이중층을 대체하여 조직 투과성을 향상시키는 기술이다. 마이크로 단위로 절개시 조직 구조의 변형을 악화시키는 기계적인 마이크로 단위의 절개 방법과는 다르게, 클라리티는 뇌 조직의 구조를 손상없이 보존하여, 신경돌기 추적과 3 차원(3D) 및 추적된 뉴런의 위상 재건을 가능하게 한다. PARS 역시 뇌 및 다른 8개 기관(뇌, 척수, 심장, 근육, 간, 폐, 신장, 대장 및 소장)에 고분자 투과성 및 광학적(시각적) 투명성을 제공할 수 있다.

[0004] 일반적인 광학 현미경을 사용하여 기관 전반에 걸친 세밀한 정보를 얻는 것은 엄청난 일이다. 예를 들어, 단일 광자 현미경은 기관 표면 아래 최대 50 nm 깊이까지의 이미지 촬영만 가능하며, 매우 최적화된 이광자 현미경은 대략 800 nm보다 더 깊은 곳은 이미지화가 불가능하다.

[0005] 그러나, 클라리티 또는 PARS는 다양한 기관을 손상시키지 않고, 더 깊은 곳까지 향상된 기관 구조 관찰 기술을 향상시킬 수 있으며, 뇌 및 손상되지 않은 다른 기관계로부터 통합적인 구조와 분자 정보의 접근을 가능하게 한다. 특히, 클라리티는 뇌에 전기력을 적용하여, 절개되지 않은 조직에 더욱 빠르고 투명하게 할 수 있으며, 투명화 과정 동안 조직 손상을 예방할 수 있다.

[0006] 그러나, 기존의 10 내지 60V의 다소 넓은 범위의 전압을 이용하였던 클라리티 방법은 조직 표면에 버블 및 검은 입자를 생성시키거나, 조직을 변색시키는 문제점이 발견되었으며, 각각 다른 특성을 가지는 다양한 조직 및 혈관계의 생리학적 및 병리학적 관찰을 위한 적합한 전기력 조건에 대해서는 아직까지 연구되지 않았다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-0920135호

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 앞서 전술한 바와 같이, 기존의 연구에서는 조직 투명성을 위해, 높은 전압과 온도를 사용하였으나, 고전압은 버블 형성의 원인이 되며, 조직 샘플을 변색시키거나, 검은 입자 퇴적물을 생성하는 등 조직에 손상을 입힐 수 있다. 이에 본 발명은 뇌뿐만 아니라, 다양한 조직의 손상 없이 투명화를 위한 최적의 전류 조건을 확인하여 이를 조직 투명성이 향상된 조직 투명화 방법으로 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명은 사람을 제외한 동물의 조직에 하이드로겔을 관류시키는 단계; 상기 하이드로겔이 관류된 조직을 적출하여 인큐베이션 하는 단계; 및 상기 적출된 조직을 전기영동하여 지질이중층을 하이드로겔로 교체하는 단계를 포함하는 조직 투명화 방법을 제공한다.

[0010] 상기 전기영동은 전류 250 내지 280 mA에서 1 내지 25일 동안 수행되어질 수 있다.

[0011] 또한 상기 조직은 뇌, 췌장, 폐, 간, 소장, 대장 및 신장으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.

발명의 효과

[0012] 본 발명에 따른 조직 투명화 방법은 전체 뇌의 다양한 부분에 적용 가능하였으며, 투명화된 뇌 조직 중 소뇌의 푸르키네(Purkinje) 세포층까지 확인이 가능하였다. 또한, 췌장, 간, 폐, 장 및 신장과 같은 다양한 조직에서도 적용이 가능하였는데, 췌장의 말단 부분에서 세포와 혈관 간의 완전한 구조적 관계를 단일 광자 현미경으로 확인할 수 있었으며, 이를 통하여 복잡한 췌도 혈관계의 객관적인 이미지를 얻었을 수 있었다. 또한, 기존의 조직 투명화 방법에서 나타났던 버블 형성, 변색 및 검은 퇴적물이 나타나지 않고 투명성이 향상된 것을 확인할 수 있었다. 따라서, 본 발명에 따른 조직 투명화 방법은 혈관계뿐만 아니라, 뇌를 포함한 다양한 조직에 손상을 입히지 않고 3 차원 재건이 가능함에 따라, 이들의 생리학적 및 병리학적 관찰을 가능하게 할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0013] 도 1은 본 발명의 조직 투명화 방법을 이용하여 성인 생쥐 조직의 조직 투명성을 확인한 결과로, 도 1A는 뇌(Brain)이며, 도 1B는 췌장(Pancreas), 도 1C는 폐(Lung), 도 1D는 장(Intestine), 도 1E는 간(Liver) 및 도 1F는 신장(Kidney)의 조직 투명화 결과이다.

도 2는 활성화된 성인 생쥐의 손상되지 않은 뇌 조직의 이미지로, 본 발명의 투명화 방법을 이용하여 투명화된 생쥐 뇌의 소뇌 부분의 푸르키네 층을 타우(tau)항체(녹색)로 면역염색하고 500 μm 스케일바(Scale bar)크기로 확인한 결과로, 화살표 부분이 푸르키네 세포이며, 윗부분의 양방향 화살표는 과립층이며, 아랫부분의 양방향 화살표는 분자 층을 나타낸다.

도 3은 본 발명의 조직 투명화 방법을 이용하여 성인 생쥐 췌장 조직을 투명화 시킨 후 이미지화한 결과로, 도 3A의 왼쪽 이미지는 300 μm 스케일바(Scale bar)로 3 차원(3D) 투사 이미지이며, 오른쪽은 렌더링(rendering) 이미지이며, 도 3B의 왼쪽 이미지는 투명화된 생쥐 췌장의 모세혈관을 α-평활근 액틴 항체(녹색) 으로 면역염색한 후 200 μm 스케일바(Scale bar)로 확인한 3 차원(3D) 투사 이미지이며, 중간 이미지는 혈관 추적 후 병합한 이미지이며, 오른쪽 이미지는 추출한 모세혈관을 3 차원(3D) 렌더링(rendering)한 이미지이다.

도 4는 본 발명의 조직 투명화 방법을 이용하여 성인 생쥐 췌장 조직을 투명화 시킨 후 이미지화한 결과로, 왼쪽 이미지는 투명화된 생쥐 췌장에 DAPI(파랑)으로 핵 염색한 후 3 차원 투사한 이미지이며, 중간 이미지는 α-평활근 액틴(녹색)으로 혈관을 면역염색 후 3 차원 투사한 이미지이며, 오른쪽 이미지는 3차원 렌더링된 핵(파랑) 및 혈관(녹색) 이미지로, 각각의 스케일바(Scale bar)는 200 μm이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0014] 본 발명은 사람을 제외한 동물의 조직에 하이드로겔을 관류시키는 단계; 상기 하이드로겔이 관류된 조직을 적출

하여 인큐베이션 하는 단계; 및 상기 적출된 조직을 전기영동하여 지질이중층을 하이드로겔로 교체하는 단계를 포함하는 조직 투명화 방법을 제공한다.

[0015] 상기 전기영동은 전류 250 내지 280 mA에서 1 내지 25일 동안 수행되어질 수 있으며, 상기 조직은 뇌, 췌장, 폐, 간, 소장, 대장 및 신장으로 이루어진 군에서 선택되는 어느 하나일 수 있다.

[0016] 보다 상세하게는 상기 각각의 조직을 투명화하기 위해 소요된 시간 및 전기력은 전체 뇌 조직의 경우, 280 mA로 12 내지 16 일간 전기영동이 필요하며, 3 mm 두께로 자른 뇌 조직은 280 mA로 3 일간 전기영동이 필요하며, 췌장 조직은 250 mA로 8 내지 12일간 전기영동이 필요하며, 폐 조직은 250 mA로 13 내지 17일간 전기영동이 필요하며, 소장 및 대장 조직은 250 mA로 8 내지 12일간 전기영동이 필요하며, 간 및 신장 조직은 280 mA로 18 내지 22일간 전기영동이 필요하나, 이에 한정되는 것은 아니다.

[0017] 본 발명의 일실시예에 따르면, 본 발명의 조직 투명화기술은 뇌, 췌장, 간, 폐, 신장 및 장을 포함하여 손상되지 않은 다양한 조직의 활성화된 구조를 투명화 한 후 단일 광자 현미경을 사용하여 시각적으로 확인이 가능하였으며, 3 차원적으로 혈관 패턴을 재건할 수 있었다. 특히, 이미지화된 췌장의 혈관 패턴의 경우, 일반적인 이미지화 및 3차원 재건으로 전체적인 패턴을 추적하는 것에 매우 어려움이 따르나, 본 발명의 조직 투명화 기술은 3 차원적 혈관계 재건과 시각적인 이미지를 제공할 수 있으므로, 이를 통하여 췌장 기능 및 항상성 연구에 효과적으로 사용될 수 있다.

[0018] 또한, 본 발명의 다른 일실시예에 따르면, 소뇌 지역의 푸르키네 층과 인접한 다른 층들까지 3 차원 재건에 성공함에 따라, 푸르키네 세포와 관련된 사람 질병에 대한 연구 분야에도 본 발명의 조직 투명화 방법이 효과적으로 사용될 수 있다.

[0019] 상기 사람을 제외한 동물은 생쥐, 토끼, 원숭이, 돼지, 말, 양, 염소 및 닭으로 이루어진 군에서 선택될 수 있으며, 이에 한정되지는 않는다.

[0020] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.

[0021] **<실시예 1> 투명성(CLARITY) 향상을 위한 전류 조건 확인**

[0022] 기존의 연구에서는 조직 투명성을 위해, 높은 전압과 온도를 사용하였으나, 고 정전압은 버블 형성의 원인이 되며, 조직 샘플을 변색시키거나, 검은 입자의 퇴적물을 생성하는 등 조직에 손상을 입힐 수 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해, 또 다른 연구는 전기영동 조직 투명성(electrophoretic tissue clearing; ETC)을 위해 10-40V의 낮은 전압을 사용하였으나, 이러한 조건은 전체 뇌뿐만 아니라, 다른 조직 형태에 효과적으로 적용되지 못하였다. 따라서, 본 발명자들은 조직 투명성을 위하여, 최적의 전기 조건을 확인하였다.

[0023] 모든 동물 실험 과정은 계명대학교 동물 자원 대학위원회의 지침서에 따라 수행되었다(Approval No. KM-2014-20R1).

[0024] 틸레타민(tiletamine)-졸라제팜(zolazepam)-자일라진(xylazine) 혼합물을 이용하여 성인 생쥐(12주령)를 마취시키고, 경심관류로 얼음처럼 차가운 1×인산완충용액(phosphate-buffered saline) 30mL을 관류시킨 후, 4% PFA, 4% 아크릴아마이드(acrylamide), 0.05% 비스-아크릴아마이드(bis-acrylamide), 0.25% VA044(2,2'-Azobis[2-(2-imidazolin-2-yl)propane]dihydrochloride)가 포함된 PBS를 얼음처럼 차가운 하이드로겔 용액 30 mL에 혼합하여 관류시켰다.

[0025] 그 다음, 기관을 적출하고 4 ℃에서 7일간 상기 동일한 용액으로 인큐베이션하였다.

[0026] 인큐베이션 7일 후, 용액 온도를 37℃로 증가시켜 3시간 동안 중합하였다.

[0027] 중합이 완료된 후, 하이드로겔이 내장된 조직을 전기영동 조직 투명성(electrophoretic tissue clearing; ETC)(Chung K, Wallace J, Kim SY, Kalyanasundaram S, Andalman AS, Davidson TJ, Mirzabekov JJ, Zalocusky KA, Mattis J, Denisin AK, et al: Structural and molecular interrogation of intact biological systems. *Nature* 2013, 497:332-337.) 챔버에 넣고 전기장을 적용시켰다. 챔버를 통해 클리어링 용액인 4% SDS가 포함된 붕산염 완충용액(200 mM, pH 8.5)을 10 L를 분당 28 L의 용액 속도로 순환시키면서, 각각의 장기에 42℃에서 2-4주간 250-280 mA를 흘려주었다.

[0028] 클리어링 용액 교체 주기는 표 1과 같이 수행하였으며, 클리어링 후 SDS를 제거하기 위해 장기를 37℃에서 4일

간 PBS에 담가 인큐베이션하였다.

표 1

[0029]

기관	ETC (days) (mean ±SD)	전류(mA)	변전압(V)	클리어링 용액 교체 주기(days)
뇌(Brain)	Whole brain: 12~16	280	20~26	5
	3-mm-thick-block: 3			N/A
췌장(Pancreas)	8~12	250		7
신장(Kidney)	18~22	280		7
간(Liver)	18~22	280		7
장(Intestine)	8~12	250		7
폐(Lung)	13~17	250		7

[0030] 상기 표 1과 같이 뇌 시료는 12~16 일간, 280 mA의 고정 전류를 시료에 유지하고, 클리어링 용액을 3번 교체하여 완벽하게 투명화하였다.

[0031] 그 결과, 도 1A와 같이, 280 mA가 뇌 시료에서 어떠한 손상도 나타내지 않는 최적의 전류인 것을 확인할 수 있었다. 추가적으로, 정전기적 전류 조건을 확인하기 위해, 전압을 측정한 결과, 최소 20-30 V 사이의 전압으로 측정되었다.

[0032] 또한, 생쥐의 췌장 및 폐 조직의 투명화를 위하여, 췌장 시료는 8~12 일간 250 mA를 적용하고 두 번 클리어링 용액을 교체하여 확인한 하였으며, 폐 조직은 13~17 일간 250 mA를 적용하고 세 번 클리어링 용액을 교체하여 투명성을 확인하였다.

[0033] 그 결과, 도 1B 및 1C와 같이, 췌장 및 폐 조직은 뇌 조직보다 부드러운 조직이기에 250 mA가 최적의 전류 조건임을 확인하였다.

[0034] 추가적으로, 상기 클리어링 조건으로 다른 견고한 기관들을 확인하였다.

[0035] 생쥐의 창자 시료에 8~12 일간 250 mA를 적용하고 두 번 클리어링 용액을 교체하였으며, 생쥐 간 및 신장 시료는 18~22 일간 280 mA를 적용하여 세 번 클리어링 용액을 교체하여 투명성을 확인하였다.

[0036] 그 결과, 도 1E 및 1F와 같이 투명화된 생쥐의 창자, 간 및 신장 조직을 확인할 수 있었다.

[0037] 상기 결과로부터, 뇌조직은 280 mA가 투명화를 위한 최적의 전류조건임을 확인할 수 있었으며, 생쥐의 췌장, 폐 및 소장, 대장 조직은 250 mA, 생쥐 간 및 신장 조직은 280 mA가 가장 최적의 전류조건임이 확인되었다.

[0038] **<실시예 2> 투명화된 성인 마우스 뇌 및 췌장 이미지 확인**

[0039] 1. 클리어리티가 진행된 생쥐 뇌 및 췌장의 면역염색

[0040] 생쥐 뇌 면역염색을 위해, 생쥐 뇌와 췌장을 3 mm 두께 블록 모양으로 가로로 자른 후, 하이드로겔이 내장된 투명해진 뇌를 생쥐 뇌 매트릭스(Ted pella)를 이용하여 3 mm 두께 블록으로 절단하였다.

[0041] 축삭 염색을 위해, 투명화된 뇌를 항-타우(tau) 1 항체 (1:50; Cat# MAB3420, Millipore Corp, Bedford, MA, USA)가 포함된 0.1% 트리톤 X-100, 1 M 붕산염 완충용액(sodium borate buffer, pH 8.5)으로 37 ℃에서 3 주간 인큐베이션하였다.

[0042] 또한 췌장의 혈관 염색을 위해, 투명화된 췌장의 혈관을 항-1α-평활근 엑틴항체(1:50; Cat# ab5694, Abcam, Cambridge, UK)가 포함된 0.1% 트리톤 X-100, 1 M 붕산염 완충용액(sodium borate buffer, pH 8.5)으로 37 ℃에서 2 주간 인큐베이션하였다.

[0043] 뇌와 췌장을 0.1% 트리톤 X-100 및 1 M 붕산염 완충용액(sodium borate buffer, pH 8.5)으로 37 ℃에서 1 주일간 세척한 후, 염소 항-토끼-알렉사플루오르 488 2차 항체(1:100; Cat# A11029,Invitrogen)가 포함된 0.1% 트리톤 X-100, 1 M 붕산염 완충용액(sodium borate buffer, pH 8.5)으로 37 ℃에서 2 주간 인큐베이션하였다.

[0044] 핵 염색을 위해, 투명화된 췌장을 DAPI (0.1 mg/mL, Cat# D9542, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)으로 37 ℃에서 30분간 인큐베이션하였다.

[0045] 뇌 및 췌장의 구조를 이미지화하기 위해, 투명화된 뇌 및 췌장을 수계 침수 배지인 FocusClear에 4 일간 인큐베이션하였다.

[0046] 뇌 및 췌장을 페트리 디쉬 바닥과 커버글라스 사이에 넣고 봉한 다음, 488 nm 방출 파장의 공초점 레이저 스캐닝 현미경(LSM 5 EXCITER; Carl Zeiss, Jena, Germany)과 C-수차교정(Apochromat)×40 대물렌즈를 이용하여 뇌와 췌장을 이미지화(Z-stack volume, 110-650 mm)하였다.

[0047] 또한, LSM5 EXCITER software (Carl Zeiss)를 사용하여 3차원으로 재건하고, 췌장 미세 혈관 이미지를 추출하기 위해, ImageJ plug-in Single Neurite Tracer를 이용하여 항-α-평활근 액틴을 추적하였다.

[0048] 2. 투명화 이미지 확인

[0049] 상기 방법과 같이 미세소관과 관련된 단백질 타우(tau) 항체를 이용하여 성인 생쥐 뇌에 면역염색을 수행하고, 공초점 현미경 이미지로 해마 영역 및 소뇌의 푸르키네 층의 타우(tau) 항체로 염색된 축삭 돌기(axon) 섬유를 확인하였다.

[0050] 그 결과, 도 2와 같이 해마 영역 및 소뇌의 푸르키네 층을 3차원 이미지(Z-stack volume, 650 μm)로 재건할 수 있었다.

[0051] 또한, 모세혈관을 포함한 혈관 마커인 α-평활근 액틴 항체를 이용하여 췌장 시료에서 이미지를 확인하였다.

[0052] 광학적으로 투명한 췌장의 말단 부위를 무작위로 선별하여 염색된 혈관을 확인하고, 혈관 및 췌장 지역을 3차원 이미지(Z-stack volume, 650 mm)로 재건하였다. 췌장 모세혈관의 3 차원 형태로 재건하기 위해, ImageJ를 이용하여 α-평활근 액틴 형태를 추적하고 췌장 모세혈관의 이미지를 추출하였다.

[0053] 그 결과, 도 3B와 같은 이미지를 얻었다.

[0054] 또한, 췌장의 말단 지역에서 세포-혈관 관계의 구조적 온전한 상태를 확인하기 위해, 투명화된 췌장 시료에 α-평활근 액틴 항체 및 DNA에서 A-T가 풍부한 영역에 강하게 결합하는 DAPI로 형광염색을 수행하였다.

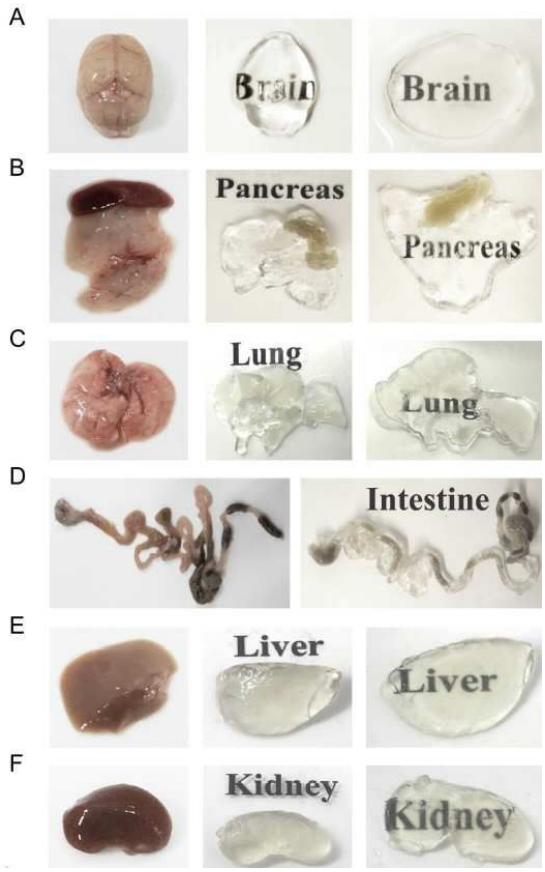
[0055] 그 결과, 도 4와 같이 광학적으로 투명한 췌장 말단의 무작위로 선정된 지역에서 염색된 혈관 및 췌장 모세혈관 핵들을 확인할 수 있었다.

[0056] 상기 결과로부터, 본 발명의 조직 투명화기술은 뇌, 췌장, 간, 폐, 소장, 대장 및 신장을 포함하여 다양한 조직의 구조를 이미지화할 수 있으며, 3 차원적으로 재건할 수 있었다. 특히, 투명화된 췌장의 혈관 패턴의 경우, 일반적인 이미지화 및 3차원 재건으로 전체적인 패턴을 추적할 수 있었다. 따라서, 본 발명의 조직 투명화 기술을 이용할 경우, 혈관계 연구를 통하여 췌장 기능 및 항상성 연구에 효과적으로 적용될 수 있으며, 본 발명자들은 소뇌 지역의 푸르키네 층과 인접한 다른 층들까지 3 차원 재건에 성공함에 따라, 푸르키네 세포와 관련된 사람 질병에 대한 연구 분야에도 본 발명의 조직 투명화 방법을 효과적으로 사용될 수 있다.

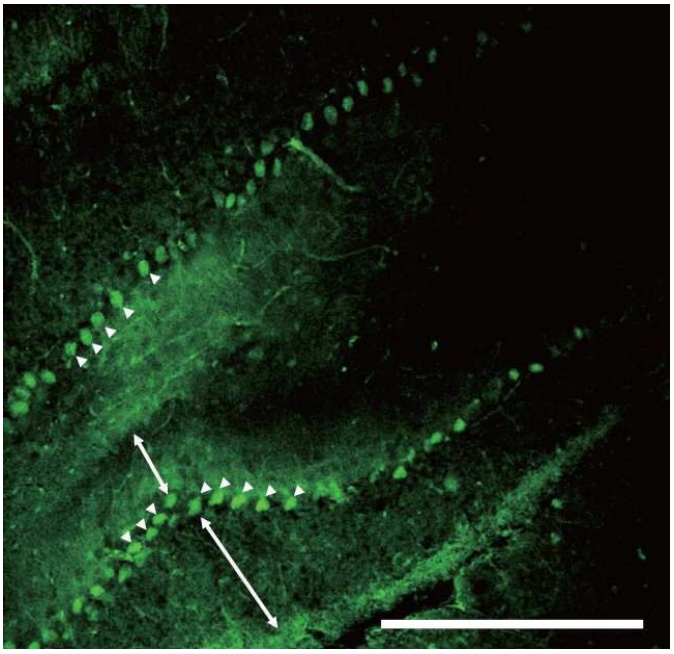
[0057] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

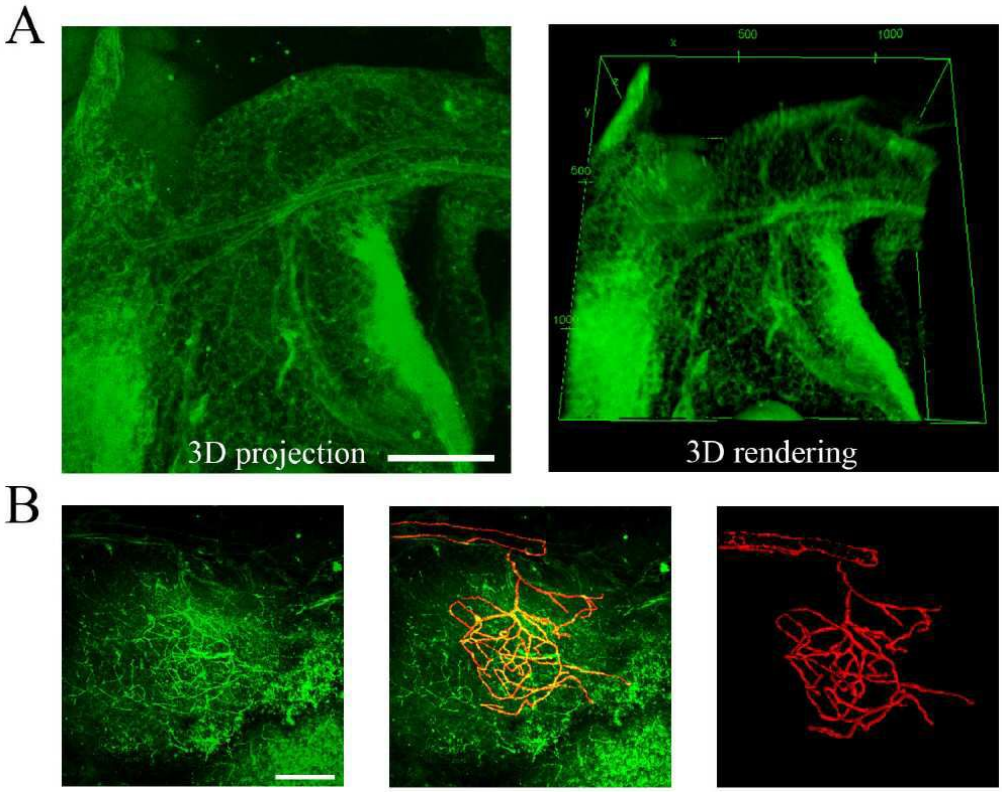
도면1


A
Brain
Brain
B
Pancreas
Pancreas
C
Lung
Lung
D
Intestine
E
Liver
Liver
F
Kidney
Kidney

도면2



도면3



도면4

