

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)(11) 공개번호 10-2020-0049036
(43) 공개일자 2020년05월08일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61B 5/00 (2006.01) A61B 3/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61B 5/4845 (2013.01)
A61B 3/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2018-0131826
(22) 출원일자 2018년10월31일
심사청구일자 2018년10월31일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
엄영섭
서울특별시 송파구 한가람로 478, 101동 1401호(풍납동, 씨티극동아파트)
권순일
경기도 안산시 단원구 적금로 123, 고려대학교 안산병원 (고잔동)
(74) 대리인
특허법인 다해

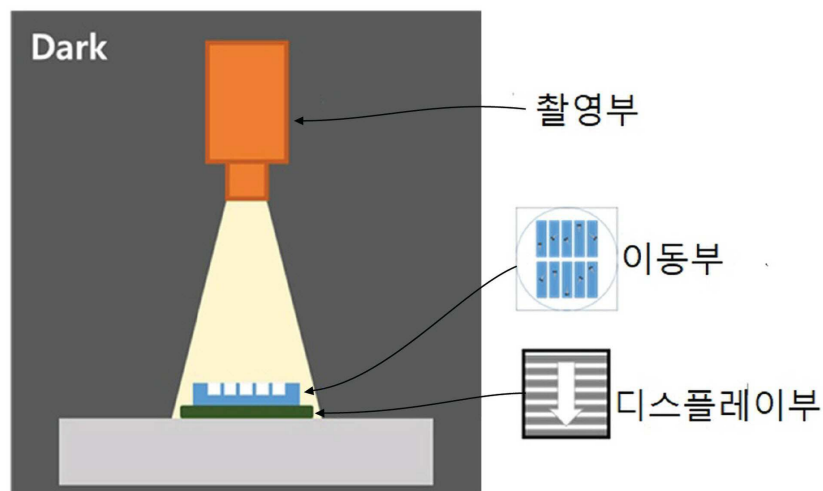
전체 청구항 수 : 총 19 항

(54) 발명의 명칭 어류의 시기능 평가 시스템 및 이를 이용한 안구 독성 약물 스크리닝 방법

(57) 요약

본 발명은 어류의 시기능 평가 시스템 및 이를 이용한 안구 독성 약물 스크리닝 방법에 대한 것이다. 본 발명에 따른 어류의 시기능 평가 시스템은, 시기능 이상 정도를 단계별로 구분하는 효과를 제공한다.

대표도 - 도1



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2018R1C1B6002794

부처명 과학기술정보통신부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 개인기초연구사업

연구과제명 물고기 척추동물 시기능 평가 실험모델 개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교

연구기간 2018.03.01 ~ 2021.02.28

명세서

청구범위

청구항 1

기 설정된 물흐름 시자극 패턴을 가지는 동영상에 디스플레이되는 디스플레이부;

상기 디스플레이 장치의 상부측에 위치되며, 상기 동영상에 시각적으로 반응하는 다수의 어류의 이동이 가능하도록 하는 이동부;

상기 이동부의 상부측로부터 소정 거리 이격되도록 설치되어, 상기 이동부를 촬영하는 촬영부; 및

상기 촬영 영상을 수신 및 분석하여 어류 이동 패턴을 분석하는 분석부;

를 포함하는 어류의 시기능 평가 시스템.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 디스플레이부는 단계별 대비 감도 차이가 있는 물흐름 시자극 패턴을 가지 동영상에 디스플레이 되는 것인, 어류의 시기능 평가 시스템.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 단계별 대비 감도 차이가 있는 물흐름 시자극 패턴에서, 상기 단계별 대비 감도 차이로 색갈의 대비 감도 차이인 것인, 어류의 시기능 평가 시스템.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 단계별 대비 감도(명시도) 차이가 있는 물흐름 시자극 패턴에서, 상기 단계별 대비 감도 차이는 도 4에 기재된 색상표의 색상 차이를 기준으로 하는 것인, 어류의 시기능 평가 시스템.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 대비 감도 차이는 G4 단계 색상에서 G7, G8, G9, G10, G11, G12, G13 또는 G14 단계 색상으로 차이를 주는 것인, 어류의 시기능 평가 시스템.

청구항 6

제1항에 있어서,

상기 물흐름 시자극 패턴을 가지 동영상에 디스플레이되는 디스플레이부는, 일 방향의 흐름을 가진 물흐름 영상을 일정 시간 재생하고, 일정 시간 정지 이후에, 상기 재생 영상과 대비 감도에 차이를 가지면서 반대 방향의 흐름을 가진 물 흐름 영상이 일정 시간 재생되는 것인, 어류의 시기능 평가 시스템.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 일 방향의 흐름을 가진 물흐름 영상을 5 내지 25초 재생하고, 1 내지 5초 정지 이후에, 상기 재생 영상과 대비 감도에 차이를 가지면서 반대 방향의 흐름을 가진 물 흐름 영상이 5 내지 25초 재생되는 것인, 어류의 시기능 평가 시스템.

청구항 8

제1항에 있어서,

상기 이동부는 어류가 이동할 수 있는 투명 재질의 다수의 레인을 포함하는 것인, 어류의 시기능 평가 시스템.

청구항 9

제1항에 있어서,

상기 분석부는 다음 식과 같이 어류의 이동 패턴을 분석하는 것인, 어류의 시기능 평가 시스템:

어류의 이동 개체 비율(%)

$$= \frac{\text{물흐름 시자극 패턴 동영상에 반응하여 반대쪽으로 이동한 개체 수}}{\text{시작점 개체 수}} \times 100$$

청구항 10

제1항에 있어서,

상기 분석부는 어류 자동화 고성능 추적 시스템(automated high-throughput tracking system)을 이용하여 어류의 이동 패턴을 분석하는 것인, 어류의 시기능 평가 시스템.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 어류는 제브라피쉬(zebrafish)인, 어류의 시기능 평가 시스템.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 제브라피쉬는 수정후 4일 이상인 치어인 것인, 어류의 시기능 평가 시스템.

청구항 13

어류들에 약물을 처리하고; 그리고

상기 어류들이 대비 감도 차이가 있는 물흐름 시자극에 대해 반응하여 이동한 개체수를 검출하는;

단계를 포함하는 약물의 안구 독성 스크리닝 방법.

청구항 14

제13항에 있어서,

상기 어류는 제브라피쉬(zebrafish)인, 어류의 시기능 평가 시스템.

청구항 15

제13항에 있어서,

상기 제브라피쉬는 수정후 4일 이상인 치어인 것인, 어류의 시기능 평가 시스템.

청구항 16

제13항에 있어서,

상기 약물은 천연화합물, 합성화합물, RNA, DNA, 폴리펩티드, 효소 및 단백질로 이루어진 군으로 선택되는 어느 하나인 것인, 약물의 안구 독성 스크리닝 방법.

청구항 17

제13 항에 있어서,

상기 어류들에 약물을 처리한 단계 이후에,

일정 시간 동안 암순응 단계를 더 포함하는 것인, 약물의 안구 독성 스크리닝 방법.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 암순응은 20 내지 60분 수행하는 것인, 약물의 안구 독성 스크리닝 방법.

청구항 19

제13항에 있어서,

상기 검출 단계는,

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 따른 평가 시스템을 이용하여 상기 동물의 시기능을 평가하는 단계를 포함하는 약물의 안구 독성 스크리닝 방법.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 어류의 시기능 평가 시스템 및 이를 이용한 안구 독성 약물 스크리닝 방법에 대한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0003] 국내에서 발생한 가슴기 살균제 사건을 계기로, 여러 가지 화학 물질에 대한 독성 연구의 중요성이 강조되고 있다. 또한, 여러 가지 약제와 화학 물질에서 안독성이 보고되고, 약제 및 화학물질에 의한 실명이 보고되기도 한다.
- [0004] 전 세계적으로 80,000종 이상의 화학 물질이 등록되어 있으며, 매년 수천 개의 새로운 물질이 의약품, 식품, 화장품 등의 원료로 사용되고 있어, 여러 화학 물질의 안구 독성 조기 스크리닝을 위한 방법 개발이 필요하다.
- [0005] 기존 연구들은 흰색과 검은색 또는 회색의 한 가지 대비 시자극에 대한 어류(예를 들면, 제브라피쉬)의 반응을 평가하여 시자극에 대한 어류의 반응 유무만 확인할 수 있으며, 약제 또는 유전질환에 의한 시기능의 소실이 있을 경우 시기능 이상 정도의 단계를 구분할 수 있을 뿐이다.
- [0006] 안과 영역에서 사용되는 시기능 평가 방법 중 하나인 대비 감도 검사는 공간 내의 인접한 물체 사이에 존재하는 서로 다른 세기의 빛(명시도 차이)을 감지해 내는 능력을 평가함으로써 보다 넓은 망막의 기능을 평가할 수 있다. 이는 문자를 이용한 시기능 평가 보다 더 민감한 평가법이다.
- [0007] 비특허문헌 1을 보면, 제브라피쉬의 대비 감도를 이용한 시각 검사 방법에 대하여 개시하고 있다. 그러나 비특허문헌 1은 유전적으로 변형되고 운동성이 없는 제브라피쉬 라바의 시각 퍼포먼스를 정량화할 뿐이다.
- [0009] 본 발명자들은 대비 감도 차이를 이용하여 시기능을 평가하는 방법에 대해 연구를 계속하여, 일반적인 검사에서는 확인할 수 없었던 시기능 이상을 확인할 뿐만 아니라 시기능 이상 정도를 단계별로 구분할 수 있는 객관적이고 정량화된 시기능 평가방법을 개발하고, 본 발명을 완성하였다.

선행기술문헌

비특허문헌

- [0011] (비특허문헌 0001) 1. Rinner, Oliver, Rick, Jens M, Neuhauss, Stephan C F. Contrast sensitivity, spatial and temporal tuning of the larval zebrafish optokinetic response Investigative Ophthalmology & Visual Science, January 2005, Vol. 46, No. 1

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0012] 본 발명의 목적은 어류의 시기능 평가 시스템을 제공하기 위한 것이다.
- [0013] 본 발명의 다른 목적은 약물의 안구 독성 스크리닝 평가 방법을 제공하기 위한 것이다.

과제의 해결 수단

- [0015] 상기 과제를 해결하기 위해서, 본 발명은 어류의 시기능 평가 시스템을 제공한다.
- [0017] 상기 어류의 시기능 평가 시스템은, 다음을 포함할 수 있다:
- [0018] 기 설정된 물흐름 시자극 패턴을 가지는 동영상에 디스플레이되는 디스플레이부;
- [0019] 상기 디스플레이 장치의 상부측에 위치되며, 상기 동영상에 시각적으로 반응하는 다수의 어류의 이동이 가능하도록 하는 이동부;
- [0020] 상기 이동부의 상부측로부터 소정 거리 이격되도록 설치되어, 상기 이동부를 촬영하는 촬영부; 및

- [0021] 상기 촬영 영상을 수신 및 분석하여 어류 이동 패턴을 분석하는 분석부.
- [0022] 상기 디스플레이부는 단계별 대비 감도(명시도) 차이가 있는 물흐름 시자극 패턴을 가지 동영상상이 디스플레이될 수 있다.
- [0024] 도 1을 보면, 본 발명에 따른 어류의 시기능 평가 시스템은 디스플레이부; 이동부; 및 촬영부를 포함한다.
- [0025] 상기 디스플레이부 하부에는 지지대를 포함할 수도 있다.
- [0027] 본 발명에서 "대비 감도"란, 검사 공간 내의 인접한 물체 사이에 존재하는 서로 다른 세기의 빛(명시도 차이)을 말하며, "대비 감도 검사"란, 이러한 대비 감도의 차이를 감지하는 내는 능력을 평가하는 것을 말한다.
- [0028] 상기 단계별 대비 감도 차이가 있는 물흐름 시자극 패턴에서, 상기 단계별 대비 감도 차이란 색깔의 대비 감도 차이를 의미할 수 있다.
- [0029] 상기 대비 감도는 색깔별로 다양하게 단계를 정할 수 있고, 흰색/회색뿐만 아니라 회색/검은색, 흰색/파란색 등 다양한 색깔의 조합으로 대비 감도를 정할 수 있다.
- [0030] 상기 디스플레이부는 대비 감도 차이가 있는 물흐름 시자극 패턴을 가지는 동영상상이 디스플레이 될 수 있는 장치라면 어느 장치나 이용이 가능하다. 예를 들면 스마트폰, 태블릿 등 휴대성이 있는 디스플레이 구현 장치라면 어느 것이나 사용 가능하다.
- [0031] 상기 "물흐름 시자극 패턴"이란, 물 흐름을 보여주면서 동시에 일정 색깔의 반복 무늬의 시자극 패턴을 가지는 동영상 패턴을 말한다.
- [0032] "주류성(rheotaxis)"이란, 흐르는 물의 자극에 반응하는 세포나 동물의 이동을 의미한다.
- [0033] 일반적으로, 물이 흐르면 빛의 흐름은 물의 흐름과 반대 방향으로 생긴다. 치어(fry)의 경우, 빛의 흐름을 따라 움직이는 경향이 있다.
- [0034] 본 발명은 이러한 어류의 주류성을 시기능 평가에 도입한 것이다. 구체적으로, 일정 빛(색깔)의 반복 무늬를 가지는 시자극 패턴 동영상상을 재생하면, 반복 무늬의 시자극 패턴 동영상상은 물 흐름과 반대 방향인 빛의 흐름으로 인지되고, 정상 시각을 가진 어류는 이에 반응하여 시자극 패턴 동영상상의 시자극 방향으로 움직일 것이다.
- [0035] 본 발명에서는 상기 디스플레이부에서 단계별로 대비 감도에 차이가 있는 물흐름 시자극 패턴(시자극 등급표)을 가진 동영상상을 제작하였다.
- [0036] 도 2는 일반적인 RGB 색상표이다(https://en.wikipedia.org/wiki/Web_colors 등 참고). 그레이(gray) 색상을 RGB로 표현하는 경우 0부터 255까지 256단계로 구별할 수 있다. 도 3의 맨 왼쪽(노란색)과 같이 그레이 등급을 일정한 간격(17)으로 16 단계로 나누는 경우, 짙은색의 색상이 더 몰려있게 느껴진다. 이는 사람이 색상의 밝기에 대해 비선형적으로 반응하기 때문이다. 따라서, 이를 비선형 전달 함수를 이용하여 색상의 밝기를 비선형적으로 변형시키는 감마 보정이 필요하다(도 3의 가운데 초록색). 감마 보정은 "Adobe® RGB (1998) Color Image Encoding"을 참고하여 수행하였다. 감마 보정을 하고 나면 밝은 색상의 분포가 더 많아진 것을 알 수 있다. 본 발명은 도 3의 맨 오른쪽과 같이 표시된 감마 보정값이 반영된 대비 감도 차이가 있는 시자극 등급표를 제작하여 이용하였다.
- [0037] 도 4는 도 3의 맨 오른쪽 등급표를 별도로 분리하여 나타낸 본 발명의 시자극 등급표이다.
- [0038] 본 발명의 상기 단계별 대비 감도(명시도) 차이가 있는 물흐름 시자극 패턴에서, 상기 단계별 대비 감도 차이는 도 4에 기재된 색상표의 색상 차이를 기준으로 할 수 있다.
- [0039] 상기 대비 감도 차이는 G4 단계 색상에서 G7, G8, G9, G10, G11, G12, G13 또는 G14 단계 색상으로 차이를 주는 것일 수 있다.
- [0040] 구체적으로 도 4의 G4 단계의 색깔을 가지는 물흐름 동영상상을 재생하고, 그 다음에 G7 단계의 색깔을 가지는 물흐름 동영상상을 재생한 다음 어류의 이동 패턴을 분석하는 것이다. 그 다음 G4 단계의 색깔을 가지는 물흐름 동영상상을 재생하고 그 다음에 G8 단계의 색깔을 가지는 물흐름 동영상상을 재생하여 어류의 이동 패턴을 분석하는 것이다. 그리고 또 그 다음 G4 단계 색깔 물흐름 동영상상을 재생하고 G9 단계 색깔 물흐름 동영상상을 재생하는 순

서이다.

[0041]

[0042]

상기 물흐름 시자극 패턴을 가지는 동영상에 디스플레이되는 디스플레이부는, 일 방향의 흐름을 가진 물흐름 영상을 일정 시간 재생하고, 일정 시간 정지 이후에, 상기 재생 영상과 대비 감도에 차이를 가지면서 반대 방향의 흐름을 가진 물 흐름 영상이 일정 시간 재생될 수 있다.

[0043]

일 구체예로, 상기 일 방향의 흐름을 가진 물흐름 영상을 5 내지 25초 재생하고, 1 내지 5초 정지 이후에, 상기 재생 영상과 대비 감도에 차이를 가지면서 반대 방향의 흐름을 가진 물 흐름 영상이 5 내지 25초 재생될 수 있다.

[0044]

일시 시간 정지를 주는 이유는, 시자극 패턴 중 짙은 색깔 부분에 치어가 위치하는 경우, 치어 분간이 되지 않아 정확한 분석이 어려운 문제점이 발생할 경우 이를 해결하기 위한 것이다. 즉, 배경의 시자극 패턴 영상이 없는 상태에서 어류의 이동 거리를 평가하기 위함이다.

[0045]

상기 이동부는 어류가 이동할 수 있는 투명 재질의 다수의 레인을 포함할 수 있다. 이는 촬영이 명확하게 이루어질 수 있게 하기 위함이다.

[0046]

도 1에서 이동부에 표시된 화살표는 물 흐름 방향을 표시한 것이다.

[0047]

상기 분석부는, 데스크탑, 노트북, 스마트폰 등과 같은 각종 컴퓨팅 장치로 구현될 수 있다

[0049]

상기 분석부는 다음 식과 같이 어류의 이동 패턴을 분석할 수 있다:

[0051]

어류의 이동 개체 비율(%)

$$= \frac{\text{물흐름 시자극 패턴 동영상에 반응하여 반대쪽으로 이동한 개체 수}}{\text{시작점 개체 수}} \times 100$$

[0052]

[0054]

또한 상기 분석부에서 어류의 이동 패턴 분석은 자동화 개체 추적을 통하여 수행할 수도 있다. 구체적으로 상기 자동화 개체 추적은 자동화 고성능 추적 시스템 (automated high-throughput tracking system) 등의 방법으로 구현될 수 있다.

[0055]

상기 자동화 고성능 추적 시스템은 이 기술분야에 널리 알려져 있다. 예를 들면, Nodulus사의 DanioVision과 ViewPoint사의 ZebraLab 및 VisioBox 등이 있다.

[0056]

G4 단계의 물 흐름 동영상에 재생되는 것을 시작점으로 보고, G4 단계 물 흐름 동영상 재생 이후 G7 단계 동영상이 재생되었을 때 어류의 주류성으로 인해 시작점에서 반대쪽으로 이동한 개체수의 비율을 분석하는 것이다.

[0057]

어류의 시기능이 정상이라면 주류성으로 인해 G4 다음에 G7의 물흐름 시자극 패턴 동영상에 재생되면 반대 방향으로 이동할 것이다. 그런데 만약 어류의 시기능이 손상되었다면, 반대 방향으로 이동하지 못할 것이다.

[0058]

따라서 본 발명의 어류의 시기능 평가 시스템을 통해 어떤 약물이 안구 독성이 있는지 평가 할 수 있다. 검사하고자 하는 화합물을 어류에 처리한 다음 상기 언급한 시기능 평가 시스템에 적용하여, 피검 화합물이 처리된 약물이 안구 이상을 유발하는 지 여부를 평가할 수 있다.

[0059]

더욱이 본 발명은 일반적인 검사에서는 확인할 수 없었던 시기능 이상을 확인할 수 있으며, 시기능 이상 정도를 단계별로 구분할 수 있도록 객관적이고 정량화된 평가법을 제공한다.

[0061]

상기 어류는 제브라피쉬(zebrafish)일 수 있으나, 반드시 이로 제한되는 것은 아니다.

[0062]

상기 제브라피쉬는 수정 후 4일 이상인 치어일 수 있다.

- [0064] 다른 측면에서 본 발명은,
- [0065] 어류들에 약물을 처리하고; 그리고
- [0066] 상기 어류들이 대비 감도 차이가 있는 물흐름 시자극에 대해 반응하여 이동한 개체수를 검출하는;
- [0067] 단계를 포함하는 약물의 안구 독성 스크리닝 방법을 제공한다.
- [0068] 상기 대비 감도 차이가 있는 물흐름 시자극은, 앞서 설명한 바와 같이, 도 4에 개시된 시자극 등급표에 기반하여 시자극 등급 차이가 있는 물흐름 시자극을 의미한다. 예를 들면, G4 단계의 물흐름 시자극 다음에 G7 단계의 물흐름 시자극이 주어진다면, 이것이 "대비 감도 차이가 있는 물흐름 시자극"이 될 것이다.
- [0069] 앞서 설명한 바와 같이, 어류의 주류성으로 인해 대비 감도 차이가 있는 물흐름 시자극에 대해 정상적으로 반응하면 어류가 반대 방향으로 이동할 것이다. 약물 처리된 어류의 반대 방향으로 이동한 개체수의 비율을 분석하였는데, 정상 어류의 대비 감도 차이 물흐름 시자극에 반응하여 반대 방향으로 이동하는 개체 비율에 비해서 일정 수준으로 반대 방향으로 이동하는 개체 비율이 감소되어 있다면 그 약물은 안구 독성이 있는 약물로 평가할 수 있을 것이다.
- [0070] 상기 어류는 제브라피쉬(zebrafish)일 수 있다.
- [0071] 상기 제브라피쉬는 수정 후 4일 이상인 치어일 수 있다.
- [0072] 상기 약물은 안독성 평가가 필요한 약물이라면 어느 것이나 포함될 수 있다. 구체적으로, 천연화합물, 합성화합물, RNA, DNA, 폴리펩티드, 효소 및 단백질로 이루어진 군으로 선택되는 어느 하나일 수 있으나, 반드시 이로 제한 되는 것은 아니다.
- [0073] 상기 어류들에 약물을 처리한 단계 이후에, 일정 시간 동안 암순응 단계를 거친 다음에, 상기 어류들의 물흐름 시자극에 대한 반응을 검출하는 단계를 더 포함할 수 있다.
- [0074] 상기 암순응은 20 내지 60분 수행할 수 있다.
- [0075] 본 발명의 어류의 시기능 평가 시스템은 암실에서 수행되는데, 그 이유는 물흐름 시자극 이외에 다른 시자극을 최소화하기 위함이다. 따라서 어류의 물흐름 시자극에 대한 반응 전에 암순응을 실시하면, 물흐름 시자극에 대한 민감도가 더욱 높아지는 효과가 있다.
- [0076] 상기 검출 단계는, 앞서 언급한 본 발명의 어류의 시기능 평가 시스템을 이용하여 상기 동물의 시기능을 평가하는 단계일 수 있다.
- [0078] 덧붙여 상기한 과제에의 해결수단은, 본 발명의 특징을 모두 열거한 것이 아니다. 본 발명의 다양한 특징과 그에 따른 장점과 효과는 아래의 구체적인 실시형태를 참조하여 보다 상세하게 이해될 수 있을 것이다.

발명의 효과

- [0080] 본 발명에 따른 어류의 시기능 평가 시스템은, 시기능 이상 정도를 단계별로 구분하는 효과를 제공한다. 상기 어류의 시기능 평가 시스템을 이용한 본 발명의 안구 독성 스크리닝 방법은, 신약의 안독성 및 안전성 평가에 대한 신속하고 효율적인 대규모 스크리닝 기술이 가능한 효과를 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0082] 도 1은 본 발명에 따른 어류의 시기능 평가 시스템의 모식도이다.
- 도 2는 일반적인 RGB 색상표이다.
- 도 3은 본 발명의 시자극 등급표 제작 과정을 나타낸 것이다.
- 도 4는 본 발명의 시자극 등급표이다.
- 도 5는 물흐름 시자극 패턴을 가지는 동영상 구현 방법을 나타낸 모식도이다.

도 6은 암순응(상), 명순응(중), 비순응(하)에 따른 제브라피쉬 반응 실험 결과를 나타낸 것이다.

도 7은 본 발명의 일 실시예에 따른 Digoxigenin 농도 별 제브라피쉬 안구 독성 평가 결과이다.

도 8은 본 발명의 일 실시예에 따른 Gentamicin 농도 별 제브라피쉬 안구 독성 평가 결과이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0083] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자가 본 발명을 용이하게 실시할 수 있도록 바람직한 실시예를 상세히 설명한다. 다만, 본 발명의 바람직한 실시예를 상세하게 설명함에 있어, 관련된 공지 기능 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명을 생략한다. 또한, 유사한 기능 및 작용을 하는 부분에 대해서는 도면 전체에 걸쳐 동일한 부호를 사용한다.

[0084] 덧붙여, 명세서 전체에서, 어떤 부분이 다른 부분과 '연결'되어 있다고 할 때, 이는 '직접적으로 연결'되어 있는 경우뿐만 아니라, 그 중간에 다른 소자를 사이에 두고 '간접적으로 연결'되어 있는 경우도 포함한다. 또한, 어떤 구성요소를 '포함'한다는 것은, 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 포함할 수 있다는 것을 의미한다.

[0086] 실시예 1: 제브라피쉬의 시기능 평가 시스템 구축

[0087] 수정 후 4일된 제브라피쉬 치어를 사용하였다. 제브라피쉬 시기능을 효과적으로 평가할 수 있는 물흐름 시자극 동영상 구현 방법으로, 처음 일정 시간 (예, 45분간) 암순응 혹은 명순응 이후 암실에서 이동부 아래에 물흐름 시자극 패턴을 가지는 동영상이 디스플레이되는 디스플레이부를 재생하여 촬영부를 통해 비디오 녹화를 시행하였다(도 1).

[0088] 물흐름 시자극 패턴을 가지는 동영상은 도 5에 모식적으로 나타내었다. 제브라피쉬를 출발 기준점으로 이동시키기 위하여 물흐름 동영상을 한쪽 방향으로 흐르도록 일정 시간 (예, 15초간) 재생 후, 1초의 멈춤 이후, 대비 감도에 차이 물흐름 동영상이 반대 방향으로 일정 시간 (예, 15초씩) 재생되도록 하였다.

[0089] 암순응, 명순응 및 비순응 조건에서 제브라피쉬의 반응 결과를 알아보기 위해, 암실에서 물흐름 시자극 패턴을 가지는 동영상이 디스플레이되는 디스플레이부를 재생하기 전에 암순응, 명순응 및 비순응 조건을 주었다. 그 결과를 도 6에 나타내었다.

[0090] 도 6을 보면, 대비 감도 차이가 있는 물흐름 시자극 동영상에 노출 전, 45분 암순응 후 시행한 실험이 명순응 및 비순응에 비해서 대비 감도 차이에 따른 제브라피쉬의 반응을 평가하기 좋은 조건임을 알 수 있었다. 이는 암순응 이후 물이 흐를 때 반대 방향으로 생기는 빛의 흐름을 보다 잘 인지할 수 있기 때문으로 생각된다.

[0092] 실시예 2: Digoxigenin 약물의 안구 독성 평가

[0093] 수정 후 4 또는 5일 된(4 ~ 5 days post fertilization, DPF) 치어에 24 시간 동안 Digoxigenin 약물을 처리하였다. 그리고 5 DPF에서 시기능 평가를 수행하였다. 대조군으로 DMSO를 처리한 제브라피쉬를 이용하였다. 그룹당 30마리씩 검사하였고, 6회 반복 실험을 실시하여 통계 분석을 진행하였다. Digoxigenin은 5 uM, 10 uM 및 15 uM 농도로 처리하였다.

[0094] 실시예 1에 기재된 대로, 암순응을 거친 다음, 암실에서 시기능 평가 시스템을 수행하였다. 구체적으로, 대비 감도 차이는 도 4의 시자극 등급표를 기준으로 G4에서 G7; G4에서 G8; G4에서 G9; G4에서 G10; G4에서 G11; G4에서 G12 및 G4에서 G13으로 단계별로 대비 감도에 차이가 있는 물흐름 시자극 패턴을 가지는 동영상을 디스플레이부에서 재생하였다. 시기능이 정상인 제브라피쉬는 G4 단계의 시자극을 받으면 왼쪽으로 모이고, G7, G8, G9, G10, G11, G12 또는 G13 단계의 시자극을 받으면 오른쪽(반대쪽)으로 이동하게 된다. 만약 시기능에 이상 있는 제브라피쉬의 경우 대비 감도가 감소되어 있는 시자극 이동 방향인 오른쪽(반대쪽)으로 잘 움직이지 않을 것이다. 제브라피쉬의 이동 개체 비율을 분석하여 도 7에 나타내었다.

[0095] 도 7을 보면, G4에서 DMSO, Digoxigenin 5 uM, 10 uM을 처리한 군 사이에는 시기능에 차이가 없으나, Digoxigenin 15 uM 처리 군에서 유의하게 시기능 저하 소견이 관찰되었다. 또한 시자극 단계별 대비 감도 차이가 작아질수록 시자극에 따른 이동 개체 비율이 감소함을 확인하였다. 또한 G4에서 G9, G4에서 G10, G4에서 G11

의 대비 감도 차이가 있는 경우, DMSO, Digoxigenin 각각 10 μ M, 15 μ M 사이에 시기능 차이가 있음을 확인하였다. 시자극 검사의 모든 구간에서 DMSO와 Digoxigenin 5 μ M 사이에는 시기능 차이가 없었다.

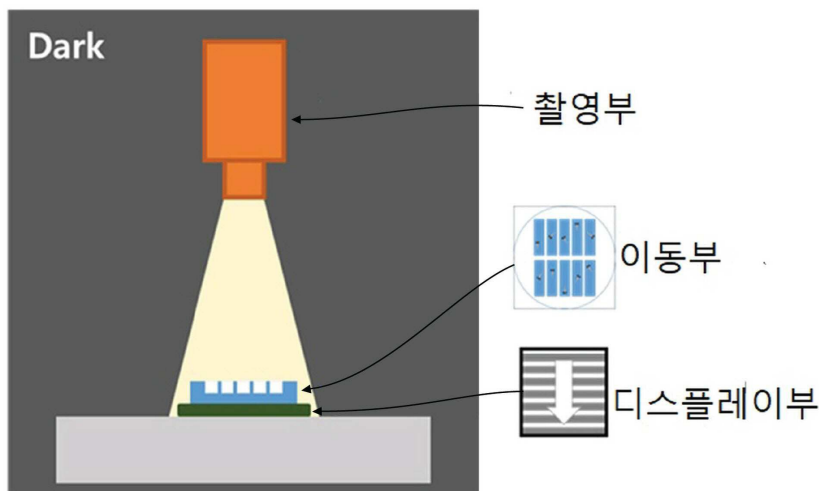
[0097] **실시예 3: Gentamicin 약물의 안구 독성 평가**

[0098] Digoxigenin 대신 Gentamicin을 사용한 것을 제외하고는 실시예 3과 동일하게 안구 독성 평가를 수행하였다. 그 결과를 도 8에 나타내었다. 도 8에 나타난 바와 같이, 시자극 단계별 대비 감도가 작아질수록 시자극에 따른 이동 계체 비율이 선형으로 감소함을 알 수 있다. 또한 G4 단계에서 G8~G13 단계로의 시자극을 준 경우, 4 그룹 (DMSO, Gentamicin 5 μ M, 10 μ M 및 15 μ M) 사이에 Gentamicin의 농도에 따른 시기능 저하의 차이를 구별할 수 있었다.

[0100] 본 발명은 전술한 실시예 및 첨부된 도면에 의해 한정되는 것이 아니다. 본 발명이 속하는 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어, 본 발명의 기술적 사상을 벗어나지 않는 범위 내에서 본 발명에 따른 구성요소를 치환, 변형 및 변경할 수 있다는 것이 명백할 것이다.

도면

도면1



도면2

#FFFFFF
#FBFBFB
#F8F8F8
#F4F4F4
#EEEEEE
#E5E5E5
#DDDDDD
#D0D0D0
#C0C0C0
#ADADAD
#989898
#808080
#666666
#4B4B4B
#262626
#000000

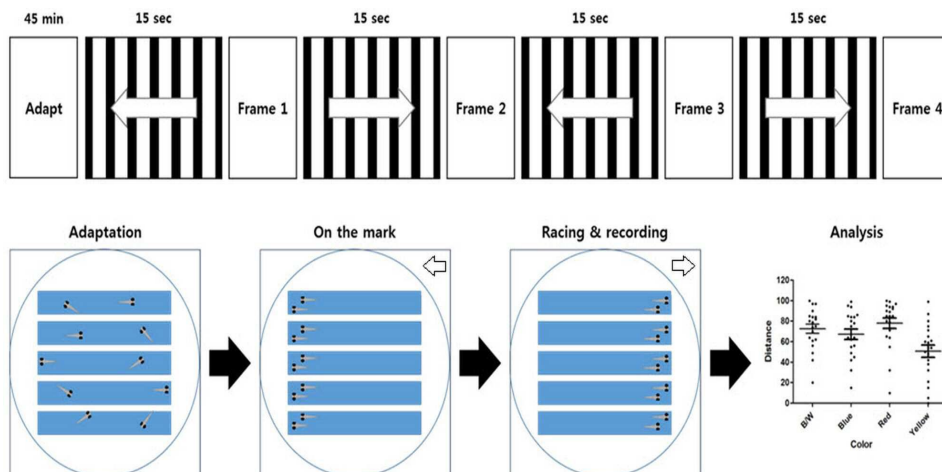
도면3

간격 17로 일정				선형값(0~255) 255				선형값(0~1) ¹ _{2.199}				γ보정값(0~1)x255			
선형값				γ보정 계산 값				연구에서 사용한 값							
16단계	Gray	선형	0-1	16단계	γ보정	γ보정	Gray	16단계	16진수	10진수	Gray				
16		255	1.00	16	1.00	255		16	#FFFFFF	255					
15		238	0.93	15	0.97	247		15	#FBFBFB	251					
14		221	0.87	14	0.94	239		14	#F8F8F8	248					
13		204	0.80	13	0.90	230		13	#F4F4F4	244					
12		187	0.73	12	0.87	221		12	#EEEEEE	238					
11		170	0.67	11	0.83	212		11	#E5E5E5	229					
10		153	0.60	10	0.79	202		10	#DDDDDD	221					
9		136	0.53	9	0.75	192		9	#D0D0D0	208					
8		119	0.47	8	0.71	180		8	#C0C0C0	192					
7		102	0.40	7	0.66	168		7	#ADADAD	173					
6		85	0.33	6	0.61	155		6	#989898	152					
5		68	0.27	5	0.55	140		5	#808080	128					
4		51	0.20	4	0.48	123		4	#666666	102					
3		34	0.13	3	0.40	102		3	#4B4B4B	75					
2		17	0.07	2	0.29	74		2	#262626	38					
1		0	0.00	1	0.00	0		1	#000000	0					

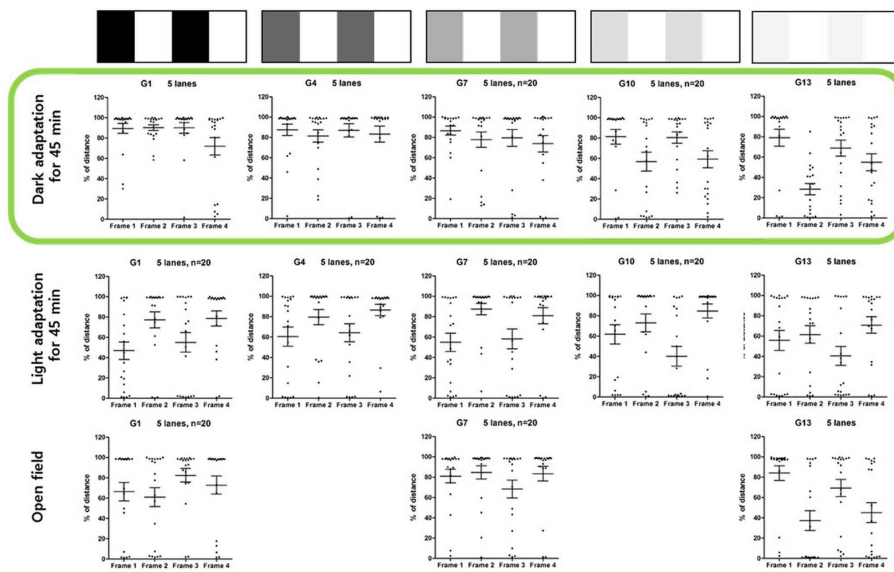
도면4

R,G,B	Grade	
255	16	#FFFFFF
251	15	#F8F8F8
248	14	#F8F8F8
244	13	#F4F4F4
238	12	#EEEEEE
229	11	#E5E5E5
221	10	#DDDDDD
208	9	#D0D0D0
192	8	#C0C0C0
173	7	#ADADAD
152	6	#989898
128	5	#808080
102	4	#666666
75	3	#4B4B4B
38	2	#262626
0	1	#000000

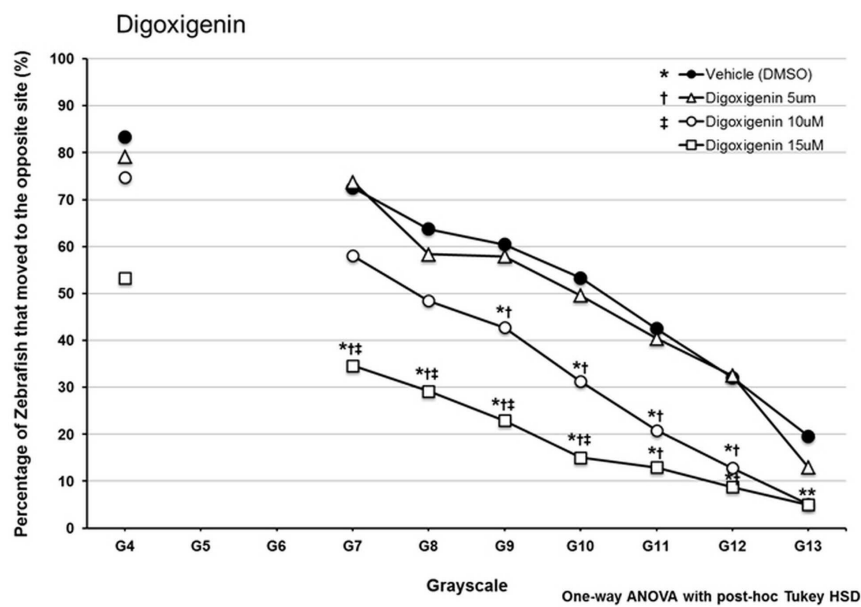
도면5



도면6



도면7



도면8

