



- (51) 국제특허분류:
C12M 1/34 (2006.01) C12M 1/42 (2006.01)
C12M 3/02 (2006.01) C12N 13/00 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2012/011555
- (22) 국제출원일: 2012년 12월 27일 (27.12.2012)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보:
10-2012-0032808 2012년 3월 30일 (30.03.2012) KR
10-2012-0138741 2012년 12월 3일 (03.12.2012) KR
- (71) 출원인: 고려대학교 산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION) [KR/KR]; 136-701 서울시 성북구 안암동 5가 1, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 서성규 (SEO, Sung-Kyu); 448-160 경기도 용인시 수지구 죽전동 1483번지 도담마을 죽전휴먼빌 103동 501호, Gyeonggi-do (KR). 진건수 (JIN, Geon-Soo); 616-828 부산시 북구 만덕1동 743-6번지 15통 1반 대진황금식당, Busan (KR). 하운환 (HA, Un-Hwan); 305-770 대전시 유성구 지족동 열매마을 6단지 603-901, Daejeon (KR). 백세환 (PAEK, Se-Hwan); 143-751 서울시 광진구 광장동 극동 2차아파트 10동 503호, Seoul (KR). 백승필 (PACK, Seung-Pil); 305-759 대전시

유성구 하기동 송림마을아파트 602-1604, Daejeon (KR).

- (74) 대리인: 송인호 (SONG, In-Ho); 135-935 서울시 강남구 역삼동 839-7 동림빌딩 5층, Seoul (KR).

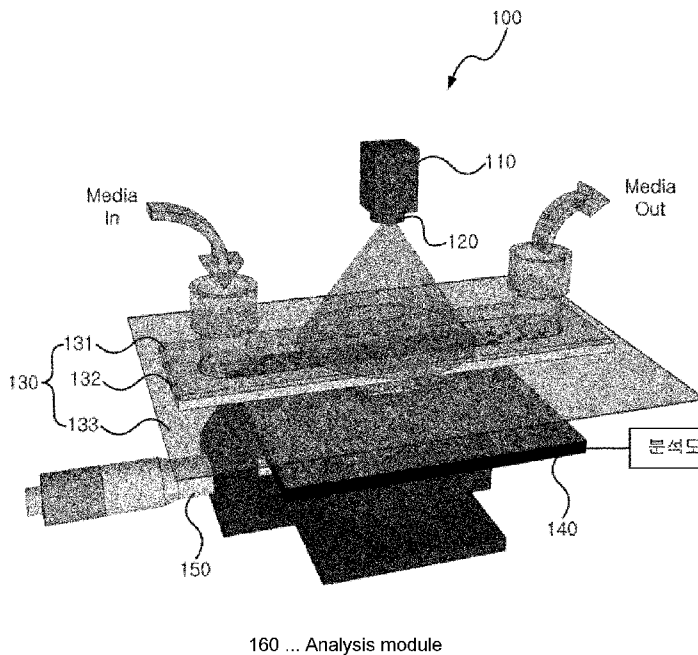
- (81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

- (84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[다음 쪽 계속]

(54) Title: APPARATUS FOR MEASURING CELL ACTIVITY AND METHOD FOR ANALYZING CELL ACTIVITY

(54) 발명의 명칭: 세포 활성도 측정 장치 및 세포 활성도 분석 방법



(57) Abstract: The present invention relates to an apparatus that uses shadow images of cells to continuously measure cell activity at a high processing rate in order to provide cell activity and cell number results. According to one embodiment of the present invention, instead of a highly experienced examiner or technician using a microscope, ELISA reader, etc. having to collect various cell activity measurements and cell numbers, the collection of said information can be automated so as to reduce cost and largely reduce errors in measurements through the development of computer software coupled with hardware using low cost and compact optoelectronic components and simple image processing techniques.

(57) 요약서: 본 발명은 세포의 그림자 이미지를 이용하여 세포의 활성도를 연속적이며, 고 처리량으로 측정하여 세포 활성도 및 세포 계수 결과를 제공하는 장치에 관한 것이다. 본 발명의 일실시예에 의하면, 현미경이나 ELISA Reader 등을 이용하여 숙련된 검사자 혹은 기술자만이 할 수 있던 각종 세포 활성도 측정 및 계수를 저가, 소형의 광전자 부품 등을 이용한 하드웨어 및 간단한 이미지 프로세싱 기법과 결합한 컴퓨터 소프트웨어의 개발로 자동화 할 수 있어 비용이 감소하고 측정의 오차도 크게 줄일 수 있다.



공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

명세서

발명의 명칭: 세포 활성화도 측정 장치 및 세포 활성화도 분석 방법 기술분야

- [1] 본 발명은 세포 활성화도 측정 장치 및 세포 활성화도 분석 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 세포의 그림자 이미지를 이용하여 세포의 활성화도를 연속적이며, 고 처리량으로 측정하는 세포 활성화도 측정 장치 및 측정된 세포 활성화도를 분석할 수 있는 세포 활성화도 분석 방법에 관한 것이다.

배경기술

- [2] 세포의 생사유무나 활동성 관찰은 현대 신약이나 식품의 개발과정에서 중요한 단계이다. 특정 약품이나 시료에 대한 세포의 반응성이나 생사 유무 관찰은 연구 과정에서 필수적이다. 전통적으로 세포의 증식이나 활동성 관찰을 위해서 개발된 기술들은 다음과 같다.
- [3] ELISA(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)란 특이성이 좋고 민감도가 높은 항체와 신호발생원이 되는 효소를 이용하여 특정 상태의 세포만을 선택 반응시켜 흡광도를 측정하는 기술이다.
- [4] Western blots이란 단백질을 전기영동으로 검출하는 방법이다. 우선 단백질을 폴리아크릴아미드 겔 전기영동(Polyacrylamide Gel Electrophoresis)법에 의하여 분획한 다음 영동된 분획의 위치를 그대로 여과지에 옮겨 방사선 면역검정법(Radioimmunoassay)에 의해 특정 단백질을 검출하는 방법이다.
- [5] Immunohistochemistry란 조직이나 세포에 존재하는 특정 항원을 표지항체를 이용하여 가시화 하여 광학현미경 또는 전자현미경으로 관찰할 수 있게 조작하는 방법이다.
- [6] 상기 열거된 방법은 세포의 생사유무 및 활성화도 측정을 위해 고가의 큰 장비를 사용하거나 세포염색 후 현미경을 통한 관찰이나 흡광도를 측정하는 등의 방법으로 이루어지기 때문에, 많은 비용과 복잡한 시스템, 그리고 큰 공간을 요구한다. 또한, 분석을 위해서는 반드시 시료를 파괴하여야 하므로 특정세포의 연속적인 관찰이 불가능하다.
- [7] 따라서 보다 간단하면서도 신속 대량화가 가능하고 별도의 시약을 필요로 하지 않으며 시료를 파괴하지 않는 세포 활성화도 측정 기술에 대한 연구가 필요한 실정이다.

발명의 상세한 설명

기술적 과제

- [8] 본 발명의 목적은 별도의 시약 처리를 하지 않으면서도 연속적으로 시료를 파괴하지 않고 세포를 관찰할 수 있는 그림자 이미징 기술 기반의 세포 활성화도 측정 장치를 제공하는 데 있다.
- [9] 본 발명의 목적은 이미지 센서를 통해 촬영된 세포의 그림자 이미지에서 특정

파라미터를 추출하여 세포의 활성도를 분석하는 세포 활성도 분석 방법을 제공하는 데 있다.

과제 해결 수단

- [10] 상기 목적을 달성하기 위해 본 발명의 일실시예에 의하면, 배양액 및 세포가 주입되는 플루이드 채널; 상기 플루이드 채널 상부에 위치하여 상기 플루이드 채널 방향으로 빛을 발광하는 발광 소자; 및 상기 플루이드 채널 하부에 위치하여 상기 세포의 그림자 이미지를 촬영하는 이미지 센서를 포함하는 세포 활성도 측정 장치가 제공된다.
- [11] 상기 목적을 달성하기 위해 본 발명의 일실시예에 의하면, 배양액 및 세포가 주입되는 웰 플레이트; 상기 웰 플레이트 상부에 위치하여 상기 웰 플레이트 방향으로 빛을 발광하는 발광 소자; 및 상기 웰 플레이트 하부에 위치하여 상기 세포의 그림자 이미지를 촬영하는 이미지 센서를 포함하는 세포 활성도 측정 장치가 제공된다.
- [12] 상기 목적을 달성하기 위해 본 발명의 일실시예에 의하면, 배양액 및 세포가 주입되는 세포 칩; 상기 세포 칩 상부에 위치하여 상기 세포 칩 방향으로 빛을 발광하는 발광 소자; 및 상기 세포 칩 하부에 위치하여 상기 세포의 그림자 이미지를 촬영하는 이미지 센서를 포함하는 세포 활성도 측정 장치가 제공된다.
- [13] 상기 목적을 달성하기 위해 본 발명의 일실시예에 의하면, 빛을 발광하는 발광 소자; 및 상기 발광 소자 하부에 위치하여 세포 및 배양액이 주입될 수 있는 공간이 포함된 세포 저장 수단이 안착될 수 있고, 상기 세포의 그림자 이미지를 촬영하는 이미지 센서를 포함하는 세포 활성도 측정 장치가 제공된다.
- [14] 상기 목적을 달성하기 위해 본 발명의 일실시예에 의하면, 이미지 센서로부터 촬영된 그림자 이미지를 수신하는 단계; 상기 수신된 그림자 이미지에서 특정 파라미터를 산출하는 단계; 상기 산출된 파라미터를 이용하여 세포의 활성화 상태를 디스플레이 하는 단계를 포함하는 세포 활성도 분석 방법이 제공된다.

발명의 효과

- [15] 본 발명의 일실시예에 의한 세포 활성도 측정 장치는 간단하고 저비용의 장치를 이용하면서도 많은 양의 세포를 별도의 시약 없이 연속적으로 관찰할 수 있다.
- [16] 본 발명의 일실시예에 의하면, 현미경 등의 각종 세포 활성도 측정 장비를 이용할 수 있는 숙련된 검사자 혹은 기술자만이 할 수 있던 일을 간단한 이미지 프로세싱 기법과 결합한 컴퓨터 소프트웨어의 개발로 자동화 할 수 있어 비용이 감소하고 측정의 오차도 크게 줄일 수 있다.
- [17] 또한, 본 발명의 일실시예에 의한 세포 활성도 분석 방법은 세포의 그림자 이미지의 픽셀 값을 이용하므로, 고가의 현미경이나 ELISA Reader와 같은 장치 없이도 세포의 활성도를 손쉽게 분석할 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [18] 도 1은 본 발명의 일실시예와 관련된 세포 활성화 측정 장치이다.
- [19] 도 2는 도 1에 도시된 플루이드 채널이 온도 조절부로 둘러싸인 형태를 나타내는 도면이다.
- [20] 도 3 내지 도 5는 본 발명의 다른 일실시예와 관련된 세포 활성화 측정 장치이다.
- [21] 도 6은 본 발명의 일실시예와 관련된 분석 모듈의 블록도이다.
- [22] 도 7은 도 1의 세포 활성화 측정 장치를 통해 촬영된 세포의 그림자 이미지와 현미경을 통해 촬영된 세포의 이미지를 나타낸 도면이다.
- [23] 도 8은 본 발명의 일실시예와 관련된 세포의 활성화 분석 방법을 나타내는 흐름도이다.
- [24] 도 9는 도 1의 세포 활성화 측정 장치를 통해 촬영된 세포의 핵 분화 상태를 나타내는 도면이다.
- [25] 도 10은 도 1의 세포 활성화 측정 장치를 통해 촬영된 살아 있는 세포와 죽은 세포가 혼재된 그림자 이미지를 나타낸 도면이다.
- [26] 도 11은 도 10의 그림자 이미지를 이미지 프로세싱 기법을 통해 나타낸 도면이다.
- [27] 도 12는 본 발명의 일실시예와 관련된 세포의 활성화 분석 방법 중 세포의 숫자를 계수화하는 방법을 설명하기 위한 도면이다.
- [28] [부호의 설명]
- [29] 100, 300, 400, 500: 세포 활성화 측정 장치
- [30] 110: 발광 소자
- [31] 120: 핀홀
- [32] 130: 플루이드 채널
- [33] 131: 플로우 셀
- [34] 132: 벽
- [35] 133: 커버 글래스
- [36] 140: 이미지 센서
- [37] 150: 거리 조절부
- [38] 160: 분석 모듈
- [39] 170: 온도 조절부

발명의 실시를 위한 형태

- [40] 이하, 첨부된 도면을 참조하면서 본 발명의 일실시예와 관련된 세포 활성화 측정 장치 및 세포 활성화 분석 방법에 대해 설명하기로 한다. 본 발명의 일실시예에 의한 세포 활성화 측정 장치는 세포 저장 수단의 형태에 따라 다양하게 구현될 수 있다. 상기 세포 저장 수단은 세포가 주입되어 배양되거나 측정되는 공간이 포함된 수단을 의미한다. 예를 들어, 상기 세포 저장 수단은 플루이드 채널, 웰 플레이트, 세포 칩 등을 포함할 수 있다.

- [41] 본 명세서에서 사용되는 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "구성된다" 또는 "포함한다" 등의 용어는 명세서상에 기재된 여러 구성 요소들, 또는 여러 단계들을 반드시 모두 포함하는 것으로 해석되지 않아야 하며, 그 중 일부 구성 요소들 또는 일부 단계들은 포함되지 않을 수도 있고, 또는 추가적인 구성 요소 또는 단계들을 더 포함할 수 있는 것으로 해석되어야 한다.
- [42] 도 1은 본 발명의 일실시예와 관련된 세포 활성화 측정 장치이다. 상기 세포 활성화 측정 장치(100)는 세포 저장 수단으로 플루이딕 채널이 사용된 형태이다.
- [43] 도시된 바와 같이, 세포 활성화 측정 장치(100)는 발광 소자(110), 핀홀(120), 플루이딕 채널(130), 이미지 센서(140), 거리 조절부(150), 및 분석 모듈(160)을 포함할 수 있다.
- [44] 발광 소자(110)는 세포의 그림자 이미지 촬영을 위해 빛을 발광한다. 상기 발광 소자는 세포 및 배양액(*medium* 또는 *media*)이 주입되는 플루이딕 채널(130)에 위치할 수 있다. 발광 소자(110)는 선명한 그림자 이미지 촬영을 위해 RGB 발광다이오드(LED, Light-Emitting Diode)를 포함할 수 있다.
- [45] 핀홀(120)은 상기 발광 소자(110)의 하단에 결합되어 세포의 그림자 이미지를 선명하게 할 수 있다. 즉, 핀홀(120)은 빛의 가간섭성 및 조도 증대를 위해 사용될 수 있다.
- [46] 상기 핀홀(120)은 플라스틱 재질의 필름 마스크 형태로 제작될 수 있다. 플라스틱 재질의 필름마스크 핀홀은 고해상도 레이저 프린터로 OHP 필름 등에 출력한 후 발광 소자(110) 앞에 부착할 수 있으므로, 일반 플라스틱이나 금속 재질의 핀홀 보다 제조에 소요되는 비용이 훨씬 저렴하고, 손쉽게 제작될 수 있다. 또한, RGB 발광다이오드처럼 하나의 발광다이오드에 3가지 색깔(적색, 녹색, 청색)의 개별 광원이 집적되어 있는 다중파장 광원의 경우 3개의 핀홀이 수십 마이크로미터 간격으로 위치하여야 하는데, 고해상도 레이저 프린터로 출력하는 방식을 이용하면, 컴퓨터상에서 손쉽게 다중 핀홀을 디자인할 수 있다.
- [47] 플루이딕 채널(130) 내부에는 세포 및 배양액이 주입되어 세포가 배양될 수 있는 공간이 마련되어 있다. 상기 플루이딕 채널은 채널의 폭을 수 mm 이하로 구성하여, 주입되는 세포를 포함한 배양액의 부피를 줄일 수 있다. 활성화 측정에 사용되는 세포의 농도가 높으면, 그림자 이미지 분석시 노이즈가 커질 수 있기 때문이다.
- [48] 또한, 플루이딕 채널(130)의 측벽의 적어도 일부는 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane, PDMS) 재질로 구현할 수 있다. 이렇게 구현하는 이유는 세포 배양을 위해서는 산소의 공급이 필요한데, 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane, PDMS)은 재질의 특성상 산소를 투과할 수 있기 때문이다. 따라서 측벽의 적어도 일부는 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane, PDMS) 재질로 구현할 경우, 별도의 산소 공급 장치가 필요하지 않게 된다.

- [49] 상기 플루이딕 채널(130)은 플로우 셀(Flow Cell)(131), 벽(132), 커버 글래스(133)를 포함할 수 있다.
- [50] 상기 플로우 셀(131)은 세포 및 배양액이 주입과 배출되는 곳으로, 플루이딕 채널(130)의 덮개 역할을 수행할 수 있다. 상기 플로우 셀(131)은 유리, 플라스틱, 혹은 수정 등의 재료를 사용하여 제작될 수 있다.
- [51] 벽(132)은 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane, PDMS) 재질로 이루어져 상부의 플로우 셀(131)과 하부의 커버 글래스(133) 사이에 세포가 자랄 수 있는 공간을 확보하고 배양액이 세지 않도록 중간 부분이 뚫려 있는 형태로 제작될 수 있다. 상기 벽(132)을 PDMS 재료로 구현할 경우, PDMS 재료의 특성상 세포 배양에 반드시 필요한 산소를 투과시킬 수 있다. 따라서 플루이딕 채널(130)에 별도의 산소 공급 장치가 없어도 된다. 상기 벽(132)은 세포 활성화도 측정 장치(100)의 소형화를 위해 1mm 정도의 두께로 제작될 수 있다.
- [52] 커버 글래스(133)는 벽(132)의 하단에 위치하며 플루이딕 채널(130)의 바닥 역할을 할 수 있다.
- [53] 이미지 센서(140)는 상기 플루이딕 채널(130) 하부에는 세포의 그림자 이미지를 촬영할 수 있다. 상기 이미지 센서(140)는 CMOS(Complementary Metal-Oxide Semiconductor) 이미지 센서로 구현될 수 있다. 상기 CMOS 이미지 센서는 상보성 금속 산화물 반도체(CMOS) 구조를 가진 저소비 전력형의 촬상 소자이다. 상기 이미지 센서(140)는 렌즈가 없는 형태로 구현될 수 있다. 상기 CMOS 이미지 센서는 반도체 공정을 통해 대량 생산이 가능하기에 가격이 저렴하고 처리 속도가 빠르다. 또한, 렌즈를 사용하는 이미지 센서 기반의 현미경에 비해 관찰 범위가 넓으며 분석을 정량화, 자동화 할 수 있다.
- [54] 거리 조절부(150)는 상기 이미지 센서(140)와 결합되어 상기 이미지 센서(140)와 상기 플루이딕 채널(130) 사이의 거리를 조절할 수 있다. 즉, 거리 조절부(150)는 커버 글래스(133)와 이미지 센서(140) 센서와의 거리를 최대한으로 좁혀 고조도(High Contrast)의 그림자 이미지를 촬영할 수 있게 이미지 센서(140)의 위치를 미세하게 조정하는 역할을 수행할 수 있다.
- [55] 분석 모듈(160)은 상기 이미지 센서(140)를 통해 촬영된 그림자 이미지를 이미지 프로세싱 기법을 통해 분석하는 역할을 수행한다. 분석 모듈(160)의 상세한 기능은 후술하도록 하겠다.
- [56] 또한, 상기 세포 활성화도 측정 장치(100)는 배양되는 세포들을 일정한 온도로 유지하기 위한 온도 조절부를 더 포함할 수 있다.
- [57] 도 2는 도 1에 도시된 플루이딕 채널이 온도 조절부로 둘러 싸여진 형태를 나타내는 도면이다.
- [58] 도시된 바와 같이, 온도 조절부(170)는 플루이딕 채널(130)을 둘러싸서 세포가 일정한 온도(예: 37°C)로 배양될 수 있도록 인큐베이터 역할을 수행할 수 있다. 상기 온도 조절부(170)는 온도 제어가 가능하고, 온도 센서(171)를 포함할 수 있다.

- [59] 상기 이미지 센서(140)를 통해 촬영된 세포의 그림자 이미지는 분석 모듈(160)로 전달되어 세포의 활성화 상태가 분석될 있다.
- [60] 도 3은 본 발명의 일실시예와 관련된 세포 활성화도 측정 장치이다. 상기 세포 활성화도 측정 장치(300)는 세포 저장 수단으로 웰 플레이트(well-plate)가 사용된 형태이다.
- [61] 도시된 바와 같이, 세포 활성화도 측정 장치(300)은 발광 소자(310), 편홀(320), 웰 플레이트(330), 이미지 센서(340), 거리 조절부(350), 및 분석 모듈(360)을 포함할 수 있다.
- [62] 상기 발광 소자(310), 편홀(320), 이미지 센서(340), 거리 조절부(350), 및 분석 모듈(360)은 도 1에 도시된 구성이 동일하게 적용될 수 있으므로, 여기서는 상세한 설명은 생략하도록 하겠다.
- [63] 웰 플레이트(330)는 상기 발광 소자(310) 하부에 위치하여 복수 개의 웰(well)이 형성되어 있다. 웰이라 함은 시료가 주입될 수 있는 공간을 의미한다.
- [64] 예를 들어, 상기 웰 플레이트 (330)로는 96 웰 플레이트(96 well plate) 혹은 24 웰 플레이트(24 well plate)가 사용될 수 있다. 96 혹은 24 웰 플레이트란 96개 혹은 24개의 웰이 형성된 웰 플레이트를 말한다.
- [65] 한편, 상기 웰 플레이트(330)는 광손실을 최소화한 그림자 이미지 획득을 위해 웰 바닥이 얇고 광간섭이 적은 블랙 웰 플레이트(black well plate)를 사용할 수 있다.
- [66] 또한, 상기 웰 플레이트(330)는 발광 소자(310)로부터 조사되는 지점의 변화 또는 상기 CMOS 이미지 센서(340)로부터 감지되는 지점의 변화를 위해 움직임이 가능하도록 제작될 수 있다. 예를 들어, 웰 플레이트(330)는 회전 가능하도록 제작될 수 있다.
- [67] 또한, 상기 세포 활성화도 측정 장치(300)는 배양되는 세포들을 일정한 온도로 유지하기 위한 온도 조절부를 더 포함할 수 있다.
- [68] 도 4은 본 발명의 일실시예와 관련된 세포 활성화도 측정 장치이다. 상기 세포 활성화도 측정 장치(400)는 세포 저장 수단으로 세포 칩(cell chip)이 사용된 형태이다.
- [69] 도시된 바와 같이, 세포 활성화도 측정 장치(400)은 발광 소자(410), 편홀(420), 세포 칩(430), 이미지 센서(440), 거리 조절부(450), 및 분석 모듈(460)을 포함할 수 있다.
- [70] 상기 발광 소자(410), 편홀(420), 이미지 센서(440), 거리 조절부(450), 및 분석 모듈(460)은 도 1에 도시된 구성이 동일하게 적용될 수 있으므로, 여기서는 상세한 설명은 생략하도록 하겠다.
- [71] 세포 칩(430)은 세포 및 배양액이 주입될 수 있는 공간 마련되어 칩 형태로 구현된 세포 저장 수단이다. 상기 세포 칩(430)은 살아있는 세포의 활성화도 또는 세포에 의한 복합적인 생리 신호를 검출할 수 있는 바이오 칩으로 세포의 계수를 위한 용도로 사용될 수 있다.

- [72] 일반적인 세포 칩은 상판, 하판 광학적으로 투명한 두 장의 유리, 플라스틱, 혹은 고분자 물질로 제조된 기판을 세포를 저장할 공간을 사이에 두고 접합하거나 조립하여 사용되는데, 본 발명에서 사용될 세포 그림자 이미징용 세포 칩(430)의 경우 하판의 두께가 0.1mm ~ 1.0mm 정도로 얇은 하판 두께를 가지는 것을 특징으로 한다. 또한, 세포를 저장할 공간을 사이에 두고 접합하거나 조립하지 않은 일체형으로 제조된 세포 칩의 경우에도 하판의 두께가 0.1mm ~ 1.0mm 정도로 얇은 것을 특징으로 한다.
- [73] 도 5는 본 발명의 일 실시예와 관련된 세포 활성화 측정 장치이다.
- [74] 도시된 바와 같이, 세포 활성화 측정 장치(400)는 발광 소자(510), 편광(520), 이미지 센서(530), 거리 조절부(540), 및 분석 모듈(550)을 포함할 수 있다.
- [75] 상기 발광 소자(510), 편광(520), 이미지 센서(530), 거리 조절부(540), 및 분석 모듈(560)은 도 1에 도시된 구성이 동일하게 적용될 수 있으므로, 여기서는 상세한 설명은 생략하도록 하겠다.
- [76] 다만, 상기 이미지 센서(530)는 세포 저장 수단이 안정적으로 안착될 수 있게 구현될 수 있다.
- [77] 상기 세포 활성화 측정 장치(500)는 세포 저장 수단이 구성요소로 포함되지 않고, 상기 세포 저장 수단을 수용할 수 있는 공간이 마련된 형태이다. 즉, 세포 활성화 측정 장치(500)는 세포 저장 수단과 함께 세트로 구성되는 것이 아니라, 세포 저장 수단이 안착 또는 수용될 수 있는 공간이 마련되어, 필요에 따라 세포 저장 수단을 다양한 형태로 교체할 수 있게 구현될 수 있다. 예를 들어, 세포 활성화 측정 장치(500)는, 세포 저장 수단으로 웰 플레이트가 필요한 경우, 웰 플레이트를 상기 이미지 센서(530) 위에 웰 플레이트를 안착시켜 세포의 활성도를 측정하고, 세포 저장 수단으로 세포 칩이 필요한 경우, 상기 이미지 센서(530) 위에 세포 칩을 안착시켜 세포의 활성도를 측정할 수 있다.
- [78] 또한, 세포 활성화 측정 장치(500)는, 특정 세포 저장 수단이 전용으로 안착 또는 수용 용도로 사용될 수도 있다. 예를 들어, 세포 활성화 측정 장치(500)는 세포 칩이 전용으로 안착될 수 있는 형태로 제작될 수 있다.
- [79] 전술한 세포 활성화 측정 장치(100, 300, 400, 500)는 동일한 분석 모듈을 포함할 수 있다.
- [80] 도 6은 도 1에 도시된 분석 모듈의 블록도이다.
- [81] 도시된 분석 모듈(160)은 상기 세포 활성화 측정 장치(100)의 일 구성요소로도 구현될 수 있지만, 세포 활성화 측정 장치(100)와 별도의 장치로도 구현될 수 있다.
- [82] 분석 모듈(160)은 수신부(161), 추출부(162), 픽셀 필터링부(163), 디스플레이부(164) 및 제어부(165)를 포함할 수 있다.
- [83] 수신부(161)는 상기 이미지 센서(140)로부터 그림자 이미지를 수신할 수 있다. 상기 그림자 이미지 수신은 상기 분석 모듈(160) 상기 세포 활성화 측정 장치(100)와 별도로 존재하는 경우, 다양한 통신 방식(예: 무선 통신)을 통해

수신할 수 있다.

- [84] 추출부(162)는 그림자 이미지로부터 세포 활성화도 분석을 위한 특정 파라미터를 산출할 수 있다. 예를 들어, SNR(Signal-to-Noise Ratio) 값, SD(Shadow Diameter) 값, 최대 픽셀 값, 최대값을 가지는 픽셀의 위치, 최소 픽셀 값, 최소값을 가지는 픽셀의 위치, 첫 번째 밝은 링의 지름, 첫 번째 어두운 링의 지름, 밝은 링과 어두운 링 사이의 폭, 그림자 이미지가 차지하는 면적, 그림자 이미지의 원형도 등이 세포 활성화도 분석을 위한 파라미터가 될 수 있다.

- [85] SNR(Signal-to-Noise Ratio)은 세포를 포함하도록 지정된 픽셀의 최대 밝기(Intensity) 값과 세포를 포함하지 않는 백그라운드의 평균 밝기 값과의 차를 백그라운드의 표준편차 값으로 나누어 로그 값을 취한 값을 말한다.

- [86] 상기 SNR은 수학식 1로 표현될 수 있다.

- [87] 수학식 1

$$SNR = 20 \log | (\max(I) - \mu_b) / \sigma_b | \text{ (dB)}$$

- [88] 여기에서

μ_b

와

σ_b

는 각각 그림자 이미지의 배경 평균값과 표준편차를 가리킨다. $\max(I)$ 는 최대 밝기 픽셀 값이다.

- [89] 또한, SD(Shadow Diameter)는 세포를 포함하도록 지정된 픽셀의 밝기 값으로부터 추출한 세포 그림자 이미지의 지름(Diameter)을 실효값(Root Mean Square)으로 표시한 값이다. 상기 SD는 수학식 2와 같이 표현될 수 있다.

- [90] 수학식 2

$$SD = 2 \sqrt{\sum_{x=1}^n (x - \bar{x})^2 |f(x)|^2 / \sum_{x=1}^n |f(x)|^2} \text{ (pixel)}$$

- [91] 여기에서 n , x , $f(x)$ 는 각기 세포 그림자 영역의 최대 픽셀수, 지정 픽셀, 그리고 지정된 픽셀의 밝기 값을 나타낸다.

- [92] 세포의 그림자 이미지는 밝은 링(bright ring)과 어두운 링(dark ring)이 도넛 형태로 교대로 나타나는 원형 이미지일 수 있다. 이 경우, 중심에서 첫 번째의 밝은 링을 첫 번째 밝은 링이라고 하고, 중심에서 첫 번째의 어두운 링을 첫 번째 어두운 링이라고 한다.

- [93] 또한, 그림자 이미지의 원형도(Circularity)는 그림자 이미지가 얼마만큼 원형에 유사한지를 나타내는 척도라 할 수 있다.

- [94] 픽셀 필터링부(163)는 상기 특정 파라미터, 특정 모양과의 유사도 등을

- 이용하여 그림자 이미지에서 특정 픽셀만은 지정할 수 있다. 이에 대한 자세한 설명은 후술하도록 하겠다.
- [95] 디스플레이부(164)는 상기 추출부(162)에서 추출한 세포 활성화 분석을 위한 항목을 이용하여 세포의 활성화 상태를 디스플레이할 수 있다.
- [96] 제어부(165)는 수신부(161), 추출부(162), 픽셀 필터링부(163), 디스플레이부(164)에서 수행하는 전반적인 기능을 제어한다.
- [97] 이하에서는 실험예를 통해 세포의 활성도를 분석하는 방법에 대해 설명하도록 하겠다.
- [98] 본 실험예에서는 인간의 폐 상피세포인 Human Aveolar Epithelial Cell(A549)을 이용하였다. 초기 농도는 250,000 cells/ml 이다. 플루이딕 채널(130) 내에 배양된 세포의 산소 요구량은 5.795×10^{-7} mol/day이나 PDMS 재질로 제작된 벽(132)의 산소 투과량은 1.771×10^{-6} mol/day으로 별도의 산소 공급이 필요하지 않다. 세포 배양을 위해 주입되는 배양액은 별도의 CO₂ 공급을 필요치 않는 CO₂ Independent Media(18045, GIBCO)를 이용하였다. 상기 배양액은 별도의 실린지 펌프(M200, KD Scientific)를 이용하여 5~10 μ l/min 속도로 플루이딕 채널(130)로 주입하였다. 본 실험예에서는 발광 소자(110)로 RGB 발광다이오드를 사용하였고, 이미지 센서(140)로 CMOS 이미지 센서를 사용하였다.
- [99] 도 7은 도 1의 세포 활성화 측정 장치를 통해 촬영된 세포의 그림자 이미지와 현미경을 통해 촬영된 세포의 이미지를 나타낸 도면이다.
- [100] 상기 세포 활성화 측정 장치(100)를 이용하면 세포의 핵 분화도 현미경 없이 손쉽게 관찰할 수 있다. 세포 활성화 측정 장치(100)와 일반 광학 현미경을 동시에 이용하여 관심세포(Cell Of Interest)를 48시간 동안 관찰, 비교한 결과 도 7(a)와 같이 현미경(노란색 사진) 하에서 관찰된 세포의 핵 분화가 세포 그림자 이미지에서도 관찰되었다. 이러한 그림자 이미지의 변화를 이미지 프로세싱 기법을 이용하여 3차원(도 7(b)) 및 2차원(도 7(c))으로 픽셀 값을 그래프화 해 보면 핵 분화가 일어난 시점인 4시간에서 10시간 사이의 그림자 패턴변화가 급격하게 발생함을 확인할 수 있다.
- [101] 도 8은 분석 모듈을 이용하여 세포의 활성도를 분석하는 방법을 나타내는 흐름도이다.
- [102] 수신부(161)는 이미지 센서(140)를 통해 촬영된 세포의 그림자 이미지를 수신할 수 있다(S810).
- [103] 추출부(162)는 상기 수신된 세포의 그림자 이미지로부터 특정 파라미터를 산출할 수 있다(S820). 본 실험예에서는 특정 파라미터 중 SNR 값 및 SD를 추출하였다.
- [104] 그리고 픽셀 필터링부(163)는 특정 모양과의 유사도를 이용하여 그림자 이미지에서 특정 픽셀만은 지정할 수 있다(S830).
- [105] 예를 들어, 픽셀 필터링부(163)는 세포의 그림자 패턴을 형성하는 픽셀들의 원형도(Circularity)가 특정 범위에 해당하는 픽셀들만을 선별하여 지정할 수

있다.

- [106] 디스플레이부(164)는 상기 추출된 SNR 값 및 SD 값을 시간에 따라 그래프화하여 디스플레이할 수 있다(S840).
- [107] 도 9는 상기 실험예에서 이용된 세포의 그림자 이미지에서 SNR 값 및 SD 값을 추출하여 시간에 따라 나타낸 그래프이다.
- [108] 도시된 바와 같이, 두 가지 항목(SNR과 SD)을 48시간 동안 추적한 결과가 도 9에 나타나 있다.
- [109] 도 9(a)는 SNR의 변화를 나타낸 것이고, 도 9(b)는 SD의 변화를 나타낸 것으로 두 결과 모두 실험시작 4시간에서 10시간 사이 핵 분화가 일어나는 시점에서 큰 폭의 변화를 보여주고 있다.
- [110] 도 10은 도 1의 세포 활성화 측정 장치를 통해 촬영된 살아 있는 세포와 죽은 세포가 혼재된 그림자 이미지를 나타낸 도면이다.
- [111] 세포 활성화 측정 장치(100)에서, 세포의 활성화 비교 측정을 위해 세포를 장시간 배양한 후 일부의 세포군을 열을 가하여 사멸을 유도하였다. 도 10(a)와 같이 이미지 센서(140)로 촬영된 한 장의 그림자 이미지 상에는 수 천개의 정상 세포군(좌)과 죽은 세포군(우)이 혼재되도록 실험을 수행하였다. 그 결과 도 10(b) 및 도 10(c)와 같이 현미경 하에서 명확하게 세포의 삶과 죽음을 구분할 수 있었다.
- [112] 도 10에서도 확인할 수 있듯이 세포 활성화 측정 장치(100)는 현미경으로 촬영한 것 이상의 세포 활성도를 관찰할 수 있다.
- [113] 도 11은 도 10의 그림자 이미지를 이미지 프로세싱 기법을 통해 나타낸 도면이다.
- [114] 도 11은 그림자 이미지를 이용하여 상기 세포군의 삶과 죽음을 정량화하기 위해 앞서 정의된 SNR과 SD 값을 이용하여 살아있는 세포와 죽은 세포군에 대해 그 값의 변화를 나타낸다.
- [115] 도 11(a)와 도 11(b)에 나타난 것과 같이 세포가 살아있을 때와 죽었다고 판단될 때에는 세포의 핵 분화 시 관찰되었던 것보다 더 큰 폭의 SNR과 SD 변화를 관찰할 수 있었다. 도 11(c)는 특정 세포의 그림자 패턴이 60시간 동안 어떻게 변화하는지 보여준다.
- [116] 도 12는 본 발명의 일실시예와 관련된 세포의 활성화 분석 방법 중 세포의 숫자를 계수화하는 방법을 설명하기 위한 도면이다.
- [117] 그림자 패턴의 SNR과 SD값의 변화를 관찰하면 세포의 생사 유무에 대한 정량화 된 기준을 확립할 수 있다. 도 9는 SNR과 SD의 변화를 세포의 생사를 정량화하고 이를 이용하여 살아있는 세포의 숫자를 계수한 실시 예이다. 또한, 본 발명의 일실시예에 의하면, 세포의 그림자 이미지에 대한 픽셀과 특정 모양과의 유사도를 이용하여 특정 픽셀들을 선별하는 단계를 포함할 수 있다. 세포의 그림자 패턴을 형성하는 픽셀들의 원형도(Circularity)가 특정 범위에 해당하는 픽셀들만을 선별하여 지정할 수 있다. 이를 통하여 원형에 가까운

세포의 그림자 패턴과 상이한 직선형 먼지 파티클 등을 효과적으로 선별하고, 제거할 수 있다. 픽셀들의 원형도의 측정은 그림자 패턴의 가로길이 혹은 세로길이 중 작은 값을 큰 값으로 나누어 계산할 수 있다. 완벽한 원형 형태의 그림자 이미지는 1의 원형도 값을 가지고, 원형도가 낮아짐에 따라 0 ~ 1 사이의 값을 가질 수 있다.

- [118] 도 12(a)는 세포의 그림자 이미지에서 추출된 SNR 값을 이용하여 세포들의 생사 여부에 대한 1차 판별(도 11(a)의 점선 이상 영역이 살아있는 세포)을 실시하고, 이미지 프로세싱 기법을 이용하여 적색 픽셀들로 표시한 실시 예를 보여준다. 상기 1차 판별에서는 전체 그림자 이미지에서 특정 SNR 값(대략 18dB) 이상을 가지는 픽셀들을 붉은색으로 선별하여 지정한다.
- [119] 도 12(b)는 도 12(a)의 특정 부분을 디지털 줌으로 확대한 이미지이다. 또한, SD 값을 이용하여 세포들의 생사 여부에 대한 2차 판별(도 11(b)의 점선 이하 영역이 살아있는 세포)이 이루어지면 도 12(c)와 같이 살아있는 정상 세포만이 실루엣 형태로 표시되게 된다.
- [120] 2차 판별에서는 1차 판별을 거쳐서 선택된 붉은 픽셀 클러스터 중 선택된 붉은 영역의 픽셀들의 SD가 특정값 이하(대략 24um 이하) 이면서 픽셀들의 모임의 원형도(Circularity)가 0.3~1.0의 값을 가지는 픽셀 클러스터만을 선택적으로 지정한다.
- [121] 이 후 1, 2차 판별을 거쳐 최종적으로 살아있다고 생각되는 그림자 이미지들만을 계수하여 세포의 활성도를 수치화 한다.
- [122] 도 12(d)는 SNR과 SD를 이용한 세포의 2차례 판별이 끝난 실루엣 이미지를 이미지 프로세싱 기법을 이용하여 계수화한 것을 나타낸다. 이를 통해 최종적으로 세포의 활성도를 정량화할 수 있다. 도 12(d)는 세포의 활성도 정량화 과정을 명확하게 보이기 위해 T=36hr에서 배양액의 공급을 중단한 후 살아있는 세포의 계수 결과를 나타낸다.
- [123] 전술한 실험예에서도 확인할 수 있듯이, 본 발명의 일실시예와 관련된 세포 활성도 측정 장치(100)는 많은 양의 세포를 별도의 시약 없이 연속적으로 관찰할 수 있다. 세포 활성도 측정 장치(100)는 기존에 별도의 염색 시약 등을 이용하여 고가의 현미경 등으로만 관찰할 수 있었던 세포의 핵 분화나 생사의 구분을 손쉽게 가능하게 한다.
- [124] 본 발명의 일실시예에 의한 세포 활성도 측정 장치 특히 신약 개발과정에서 필요한 세포독성 시험이나, 환경 및 식품과 관련한 미생물의 활성도 측정이나 판별을 저비용으로 보다 빠르게 가능하게 할 수 있다.
- [125] 또한, 기존에는 현미경 등의 각종 세포 활성도 측정 장비를 이용할 수 있는 숙련된 검사자 혹은 기술자만이 할 수 있던 일을 간단한 이미지 프로세싱 기법과 결합한 컴퓨터 소프트웨어의 개발로 자동화할 수 있어 비용이 감소하고 측정의 오차도 크게 줄일 수 있을 것이다.
- [126] 상술한 세포 활성도 분석 방법은 다양한 컴퓨터 수단을 통하여 수행될 수 있는

프로그램 명령 형태로 구현되어 컴퓨터로 판독 가능한 기록 매체에 기록될 수 있다. 이때, 컴퓨터로 판독 가능한 기록매체는 프로그램 명령, 데이터 파일, 데이터 구조 등을 단독으로 또는 조합하여 포함할 수 있다. 한편, 기록매체에 기록되는 프로그램 명령은 본 발명을 위하여 특별히 설계되고 구성된 것들이거나 컴퓨터 소프트웨어 당업자에게 공지되어 사용 가능한 것일 수도 있다.

[127] 컴퓨터로 판독 가능한 기록매체에는 하드 디스크, 플로피 디스크 및 자기 테이프와 같은 자기 매체(Magnetic Media), CD-ROM, DVD와 같은 광기록 매체(Optical Media), 플롭티컬 디스크(Floptical Disk)와 같은 자기-광 매체(Magneto-Optical Media), 및 롬(ROM), 램(RAM), 플래시 메모리 등과 같은 프로그램 명령을 저장하고 수행하도록 특별히 구성된 하드웨어 장치가 포함된다.

[128] 한편, 이러한 기록매체는 프로그램 명령, 데이터 구조 등을 지정하는 신호를 전송하는 반송파를 포함하는 광 또는 금속선, 도파관 등의 전송 매체일 수도 있다.

[129] 또한, 프로그램 명령에는 컴파일러에 의해 만들어지는 것과 같은 기계어 코드뿐만 아니라 인터프리터 등을 사용해서 컴퓨터에 의해서 실행될 수 있는 고급 언어 코드를 포함한다. 상술한 하드웨어 장치는 본 발명의 동작을 수행하기 위해 하나 이상의 소프트웨어 모듈로서 작동하도록 구성될 수 있으며, 그 역도 마찬가지이다.

[130] 상기와 같이 설명된 세포 활성화 측정 장치 및 세포 활성화 분석 방법은 상기 설명된 실시예들의 구성과 방법이 한정되게 적용될 수 있는 것이 아니라, 상기 실시예들은 다양한 변형이 이루어질 수 있도록 각 실시예들의 전부 또는 일부가 선택적으로 조합되어 구성될 수도 있다.

청구범위

- [청구항 1] 배양액 및 세포가 주입되는 플루이딕 채널;
상기 플루이딕 채널 상부에 위치하여 상기 플루이딕 채널
방향으로 빛을 발광하는 발광 소자; 및
상기 플루이딕 채널 하부에 위치하여 상기 세포의 그림자
이미지를 촬영하는 이미지 센서를 포함하는 것을 특징으로 하는
세포 활성화 측정 장치.
- [청구항 2] 제 1 항에 있어서, 상기 플루이딕 채널은
측벽의 적어도 일부가 폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane,
PDMS) 재질로 이루어진 것을 특징으로 하는 세포 활성화 측정
장치.
- [청구항 3] 제 2 항에 있어서, 상기 플루이딕 채널은
상기 배양액 및 세포가 주입 및 배출되는 플로우 셀(Flow Cell);
상기 플로우 셀 하부에 위치하여 상기 주입된 세포가 배양될 수
있도록 공간이 형성되고 상기
폴리디메틸실록산(polydimethylsiloxane, PDMS) 재질로 이루어진
벽; 및
상기 벽 하단에 위치한 커버를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포
활성도 측정 장치.
- [청구항 4] 제 2 항에 있어서, 상기 발광 소자는
RGB 발광다이오드(LED, Light-Emitting Diode)를 포함하는 것을
특징으로 하는 세포 활성화 측정 장치.
- [청구항 5] 제 1 항에 있어서, 상기 세포도 활성화 측정 장치는
빛이 발광되는 상기 발광 소자의 하단부와 결합된 핀홀을 더
포함하는 것을 특징으로 하는 세포 활성화 측정 장치.
- [청구항 6] 제 1 항에 있어서, 상기 세포도 활성화 측정 장치는
상기 플루이딕 채널을 둘러싸도록 배치된 온도 조절부를 더
포함하는 것을 특징으로 하는 세포 활성화 측정 장치.
- [청구항 7] 제 1 항에 있어서, 상기 세포도 활성화 측정 장치는
상기 이미지 센서와 결합되어 상기 이미지 센서와 상기 플루이딕
채널 사이의 거리를 조절하는 거리 조절부를 더 포함하는 것을
특징으로 하는 세포 활성화 측정 장치.
- [청구항 8] 제 1 항에 있어서, 상기 세포도 활성화 측정 장치는
상기 이미지 센서를 통해 촬영된 그림자 이미지에서 추출된
SNR(Signal-to-Noise Ratio) 값, SD(Shadow Diameter) 값, 최대 픽셀
값, 최대값을 가지는 픽셀의 위치, 최소 픽셀 값, 최소값을 가지는
픽셀의 위치, 첫 번째 밝은 링의 지름, 첫 번째 어두운 링의 지름,

밝은 링과 어두운 링 사이의 폭, 그림자 이미지의 넓이, 그림자 이미지의 원형도 중 적어도 하나를 이용하여 세포의 활성 상태를 분석하는 분석 모듈이 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 활성도 측정 장치.

[청구항 9]

제 8 항에 있어서, 상기 분석 모듈은
상기 이미지 센서를 통해 촬영된 그림자 이미지에 대한 픽셀과 특정 모양과의 유사도를 이용하여 세포의 활성 상태를 분석하는 것을 특징으로 하는 세포 활성도 측정 장치.

[청구항 10]

배양액 및 세포가 주입되는 웰 플레이트;
상기 웰 플레이트 상부에 위치하여 상기 웰 플레이트 방향으로 빛을 발광하는 발광 소자; 및
상기 웰 플레이트 하부에 위치하여 상기 세포의 그림자 이미지를 촬영하는 이미지 센서를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 활성도 측정 장치.

[청구항 11]

제 10 항에 있어서, 상기 웰 플레이트는
상기 RGB 발광다이오드에서 발광되는 빛이 수직으로 조사되는 지점 또는 상기 CMOS 이미지 센서로부터 감지되는 지점이 변화될 수 있도록 움직임이 가능한 것을 특징으로 하는 세포 활성도 측정 장치.

[청구항 12]

제 10 항에 있어서, 상기 세포도 활성 측정 장치는
상기 이미지 센서와 결합되어 상기 이미지 센서와 상기 웰 플레이트 사이의 거리를 조절하는 거리 조절부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 활성도 측정 장치.

[청구항 13]

제 10 항에 있어서, 상기 세포도 활성 측정 장치는
상기 이미지 센서를 통해 촬영된 그림자 이미지에서 추출된 SNR(Signal-to-Noise Ratio) 값, SD(Shadow Diameter) 값, 최대 픽셀 값, 최대값을 가지는 픽셀의 위치, 최소 픽셀 값, 최소값을 가지는 픽셀의 위치, 첫 번째 밝은 링의 지름, 첫 번째 어두운 링의 지름, 밝은 링과 어두운 링 사이의 폭, 그림자 이미지의 넓이, 그림자 이미지의 원형도 중 적어도 하나를 이용하여 세포의 활성 상태를 분석하는 분석 모듈이 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 활성도 측정 장치.

[청구항 14]

제 13 항에 있어서, 상기 분석 모듈은
상기 이미지 센서를 통해 촬영된 그림자 이미지에 대한 픽셀과 특정 모양과의 유사도를 이용하여 세포의 활성 상태를 분석하는 것을 특징으로 하는 세포 활성도 측정 장치.

[청구항 15]

배양액 및 세포가 주입되는 세포의 저장 장소를 제공함과 동시에 바닥면이 0.1 mm ~ 1.0 mm 정도로 얇은 두께를 가지는 세포 칩;

상기 세포 칩 상부에 위치하여 상기 세포 칩 방향으로 빛을 발광하는 발광 소자; 및

상기 세포 칩 하부에 위치하여 상기 세포의 그림자 이미지를 촬영하는 이미지 센서를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 활성화 측정 장치.

[청구항 16]

제 15 항에 있어서, 상기 세포도 활성화 측정 장치는 상기 이미지 센서와 결합되어 상기 이미지 센서와 상기 세포 칩 사이의 거리를 조절하는 거리 조절부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 활성화 측정 장치.

[청구항 17]

제 15 항에 있어서, 상기 세포도 활성화 측정 장치는 상기 이미지 센서를 통해 촬영된 그림자 이미지에서 추출된 SNR(Signal-to-Noise Ratio) 값, SD(Shadow Diameter) 값, 최대 픽셀 값, 최대값을 가지는 픽셀의 위치, 최소 픽셀 값, 최소값을 가지는 픽셀의 위치, 첫 번째 밝은 링의 지름, 첫 번째 어두운 링의 지름, 밝은 링과 어두운 링 사이의 폭, 그림자 이미지의 넓이, 그림자 이미지의 원형도 중 적어도 하나를 이용하여 세포의 활성화 상태를 분석하는 분석 모듈이 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 활성화 측정 장치.

[청구항 18]

제 15 항에 있어서, 상기 분석 모듈은 상기 이미지 센서를 통해 촬영된 그림자 이미지에 대한 픽셀과 특정 모양과의 유사도를 이용하여 세포의 활성화 상태를 분석하는 것을 특징으로 하는 세포 활성화 측정 장치.

[청구항 19]

빛을 발광하는 발광 소자; 및
상기 발광 소자 하부에 위치하여 세포 및 배양액이 주입될 수 있는 공간이 포함된 세포 저장 수단이 안착될 수 있고, 상기 세포의 그림자 이미지를 촬영하는 이미지 센서를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 활성화 측정 장치.

[청구항 20]

제 19 항에 있어서, 상기 세포도 활성화 측정 장치는 상기 이미지 센서와 결합되어 상기 이미지 센서의 높낮이를 조절하는 거리 조절부를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 활성화 측정 장치.

[청구항 21]

제 19 항에 있어서, 상기 세포도 활성화 측정 장치는 상기 이미지 센서를 통해 촬영된 그림자 이미지에서 추출된 SNR(Signal-to-Noise Ratio) 값, SD(Shadow Diameter) 값, 최대 픽셀 값, 최대값을 가지는 픽셀의 위치, 최소 픽셀 값, 최소값을 가지는 픽셀의 위치, 첫 번째 밝은 링의 지름, 첫 번째 어두운 링의 지름, 밝은 링과 어두운 링 사이의 폭, 그림자 이미지의 넓이, 그림자 이미지의 원형도 중 적어도 하나를 이용하여 세포의 활성화 상태를

분석하는 분석 모듈이 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포
활성도 측정 장치.

[청구항 22]

제 21 항에 있어서, 상기 분석 모듈은
상기 이미지 센서를 통해 촬영된 그림자 이미지에 대한 픽셀과
특정 모양과의 유사도를 이용하여 세포의 활성 상태를 분석하는
것을 특징으로 하는 세포 활성도 측정 장치.

[청구항 23]

제 19 항에 있어서, 상기 세포도 활성 측정 장치는
빛이 발광되는 상기 발광 소자의 하단부와 결합된 핀홀을 더
포함하는 것을 특징으로 하는 세포 활성도 측정 장치.

[청구항 24]

이미지 센서로부터 촬영된 그림자 이미지를 수신하는 단계;
상기 수신된 그림자 이미지에서 특정 파라미터를 산출하는 단계;
상기 산출된 파라미터를 이용하여 세포의 활성화 상태를
디스플레이 하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포
활성도 분석 방법.

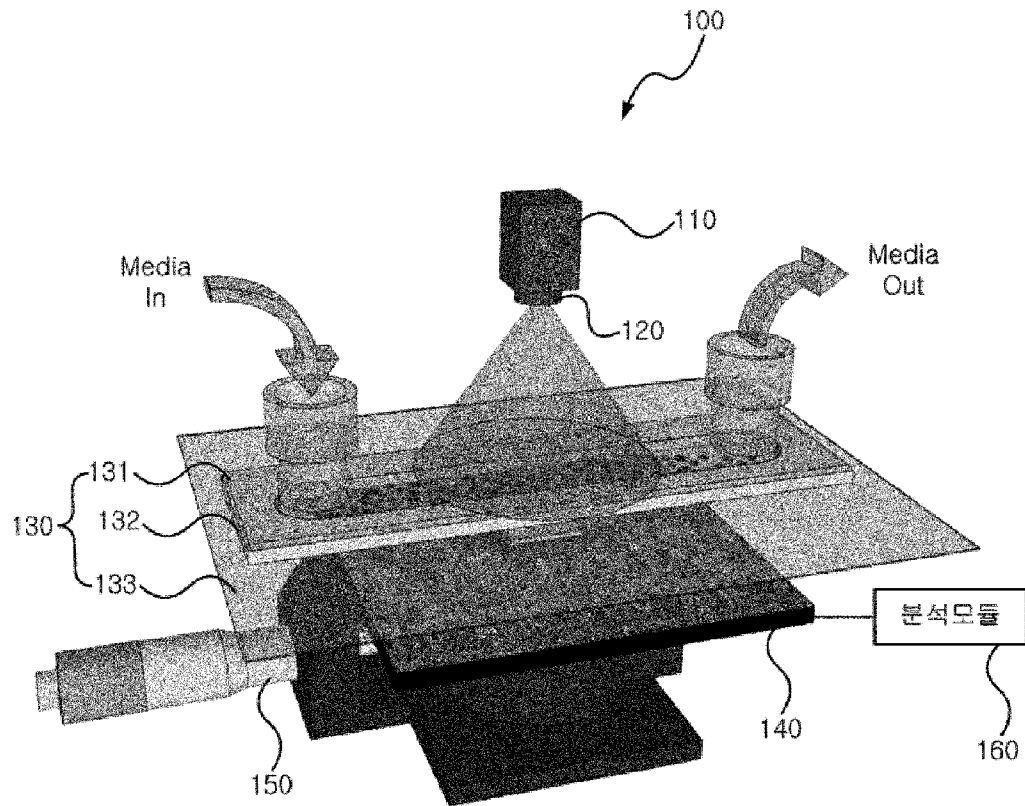
[청구항 25]

제 24 항에 있어서, 상기 특정 파라미터는
SNR(Signal-to-Noise Ratio) 값, SD(Shadow Diameter) 값, 최대 픽셀
값, 최대값을 가지는 픽셀의 위치, 최소 픽셀 값, 최소값을 가지는
픽셀의 위치, 첫 번째 밝은 링의 지름, 첫 번째 어두운 링의 지름,
밝은 링과 어두운 링 사이의 폭, 그림자 이미지의 넓이, 그림자
이미지의 원형도 중 적어도 하나를 포함하는 것을 특징으로 하는
세포 활성도 분석 방법.

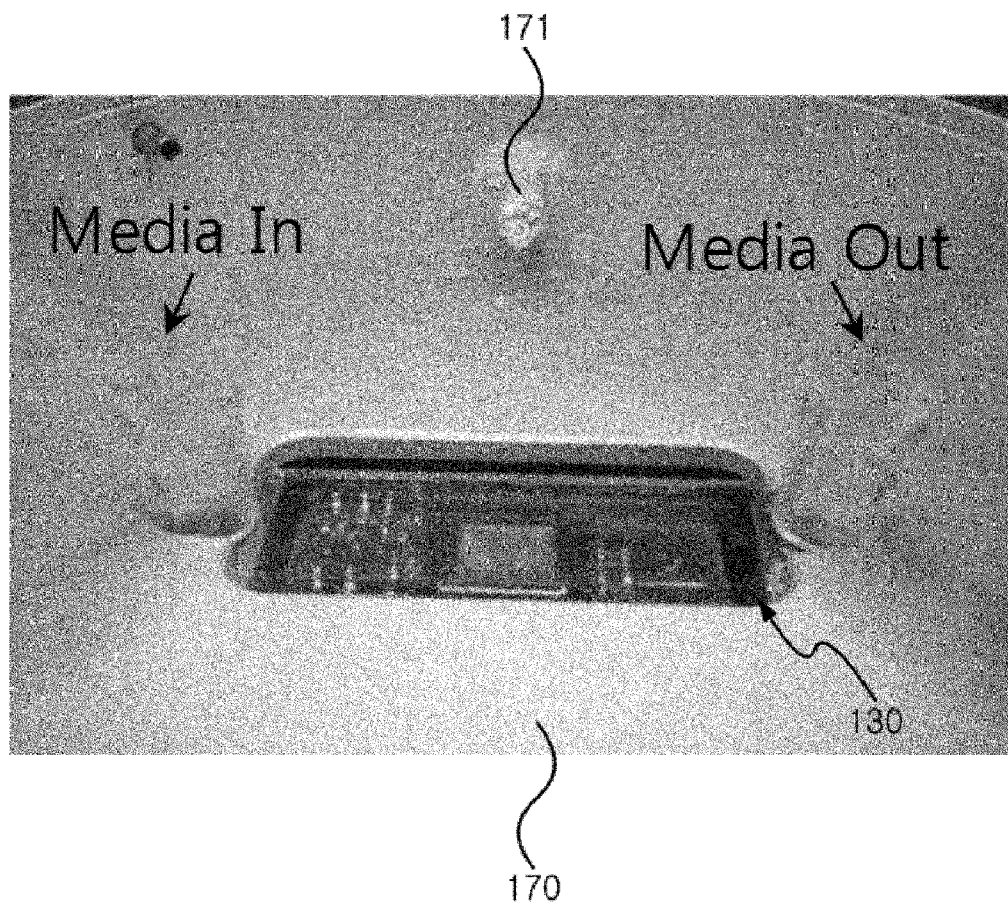
[청구항 26]

제 24 항에 있어서, 상기 세포의 활성화 상태 분석 방법은
상기 촬영된 그림자 이미지에서 상기 특정 파라미터를 이용하여
1차 픽셀 그룹을 선별하는 단계;
상기 선별된 1차 픽셀 그룹에서 세포 활성도와 관련하여 기 정의된
이미지 패턴과의 유사도를 이용하여 2차 픽셀 그룹을 선별하는
단계; 및
상기 2차 픽셀 그룹을 이용하여 상기 세포의 활성화 상태를
디스플레이 하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포
활성도 분석 방법.

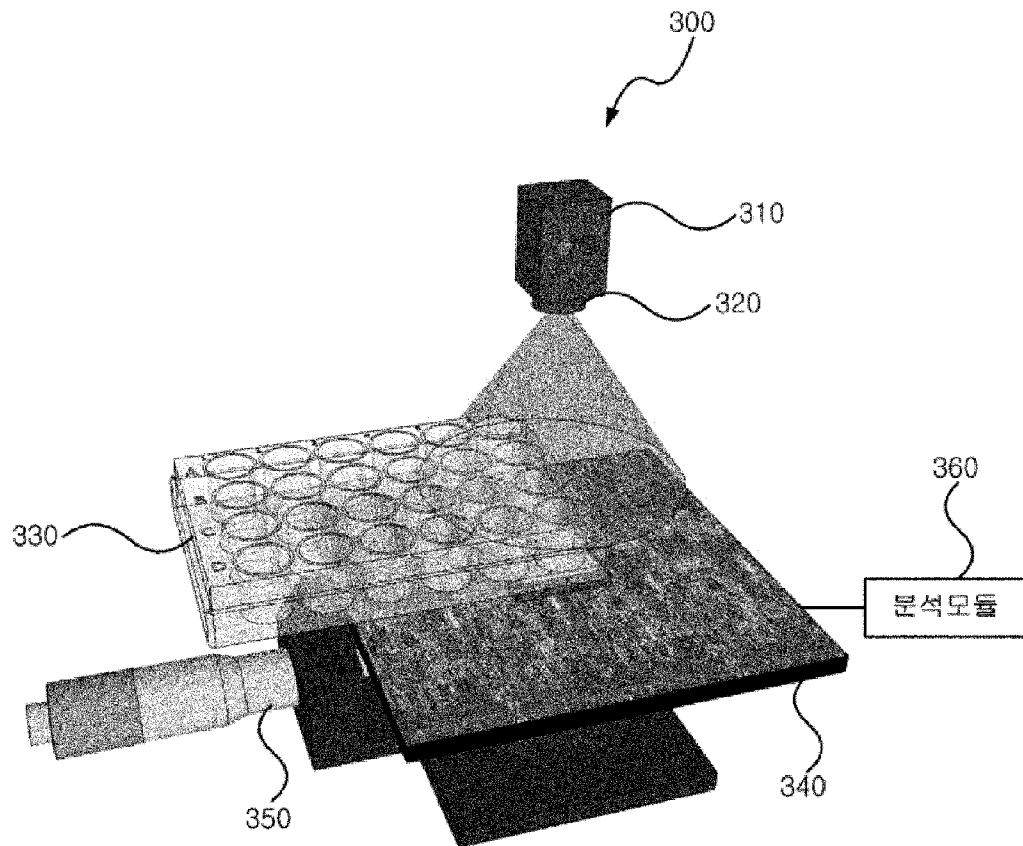
[Fig. 1]



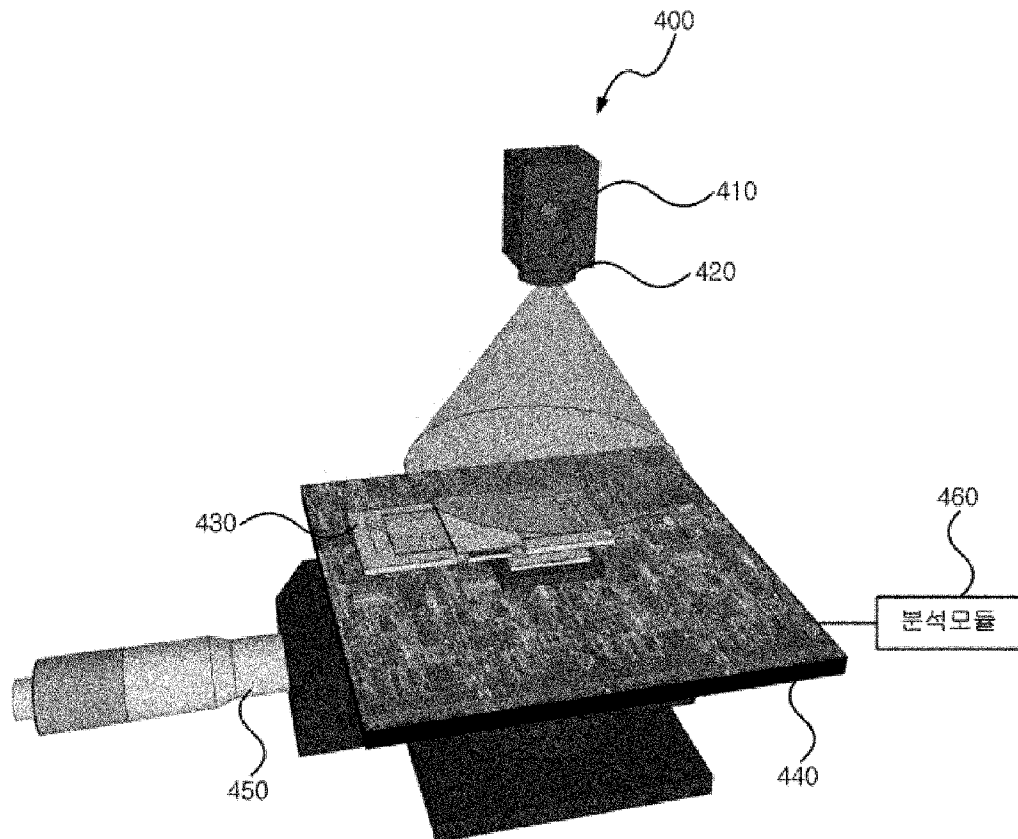
[Fig. 2]



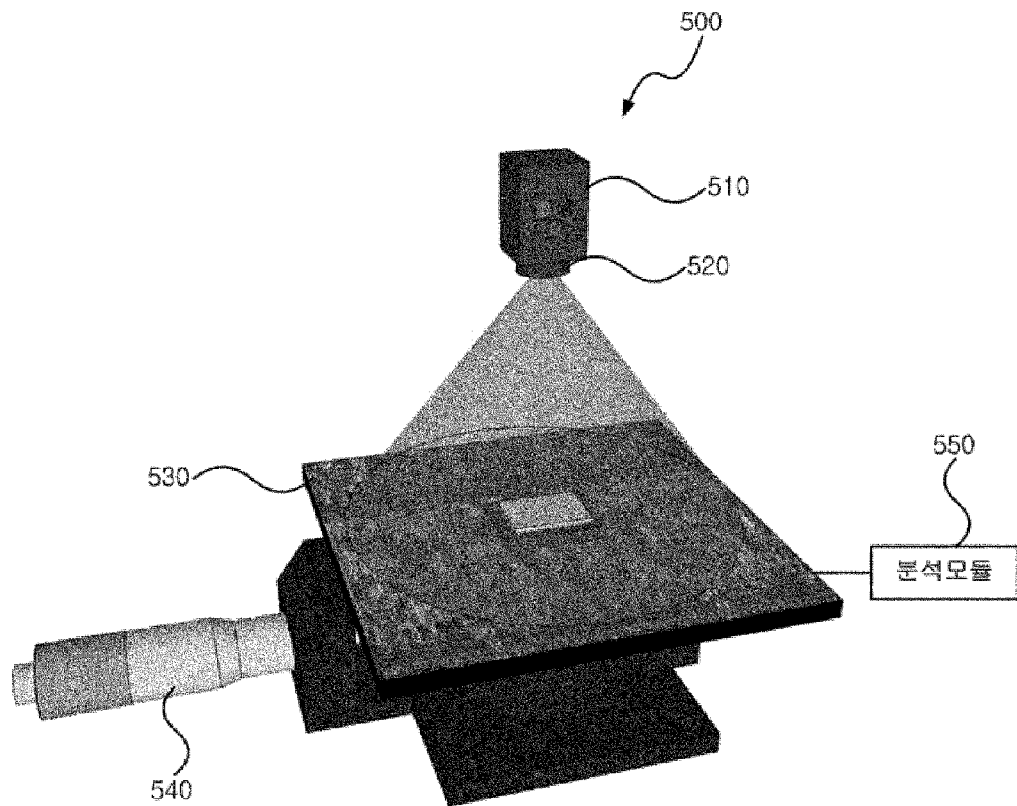
[Fig. 3]



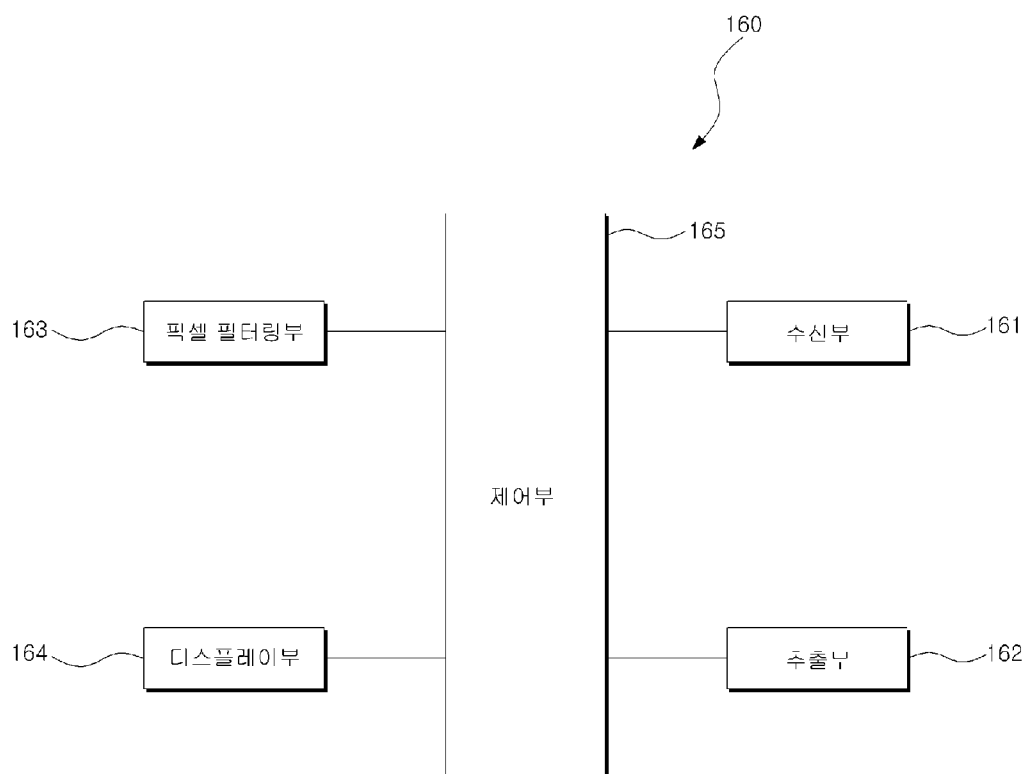
[Fig. 4]



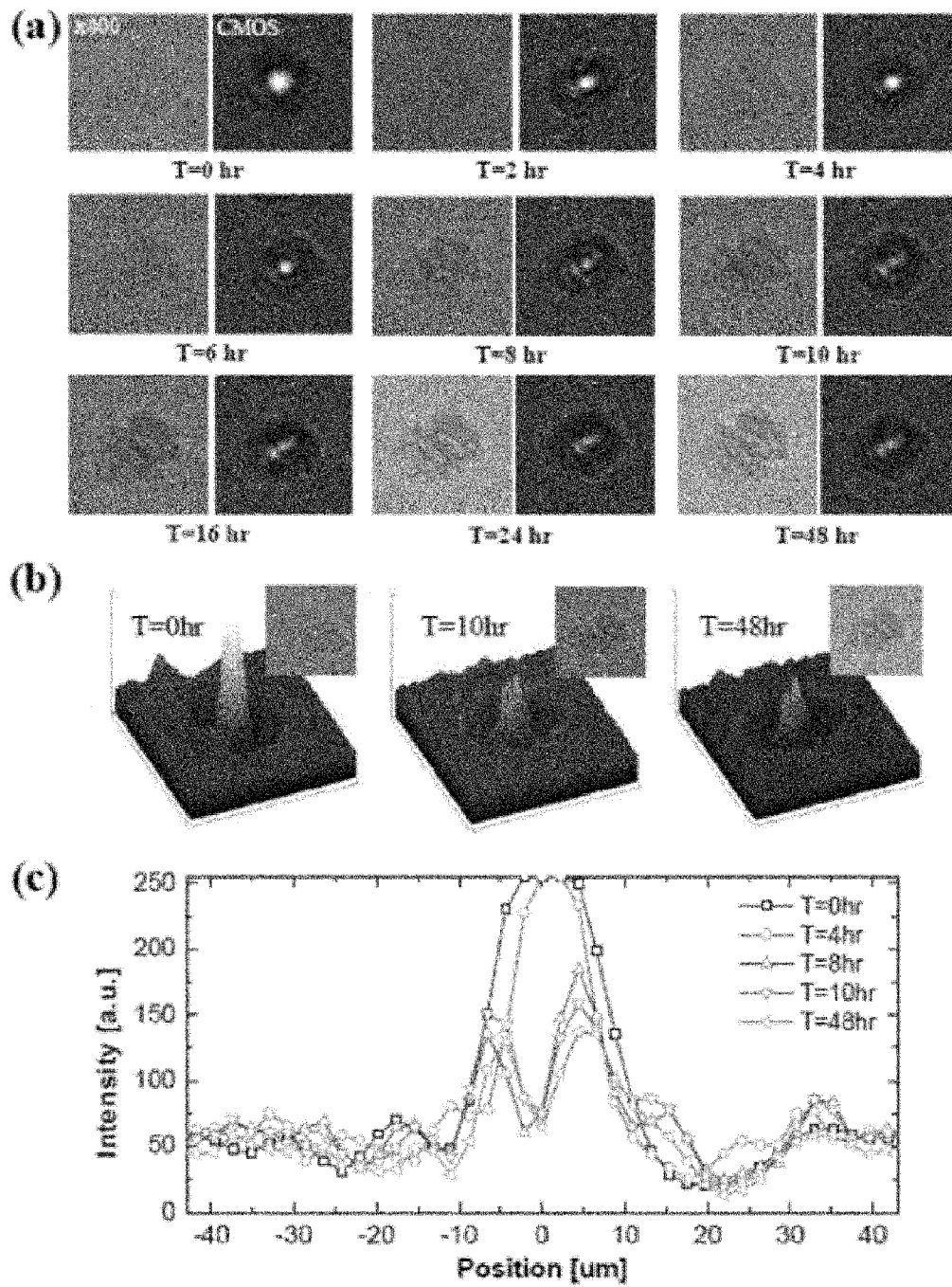
[Fig. 5]



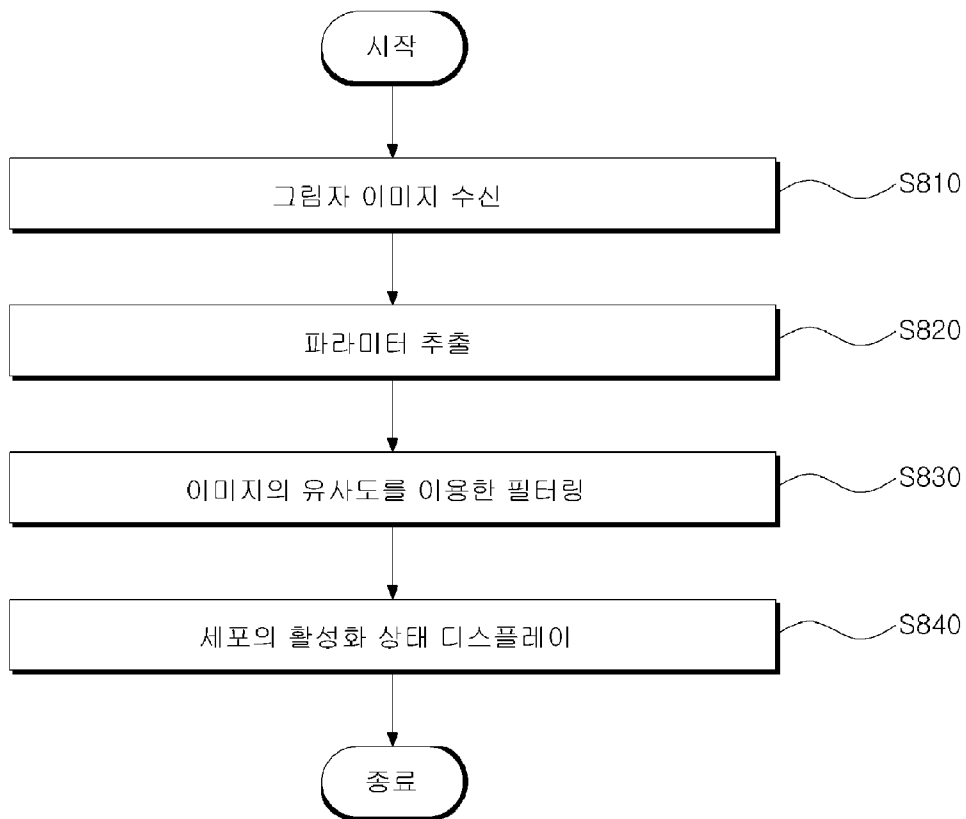
[Fig. 6]



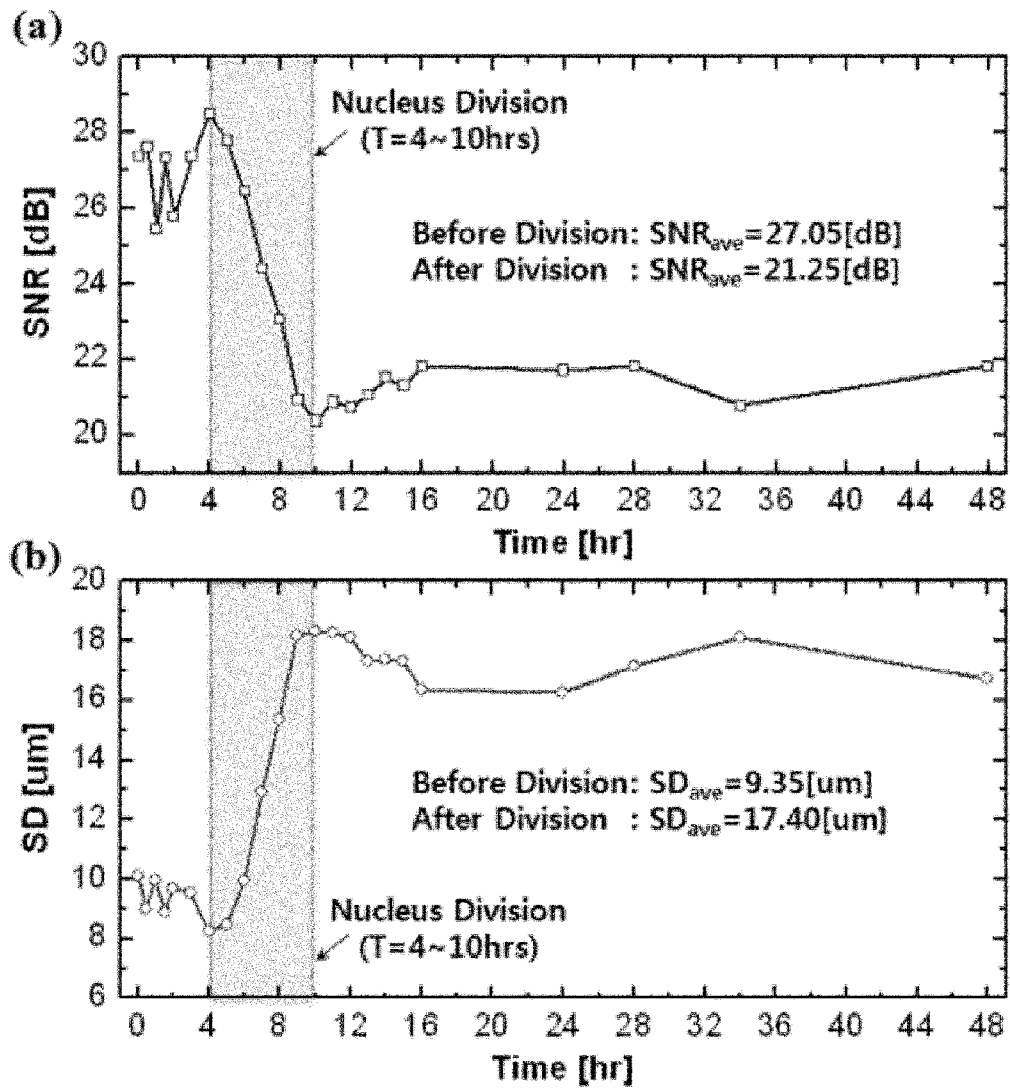
[Fig. 7]



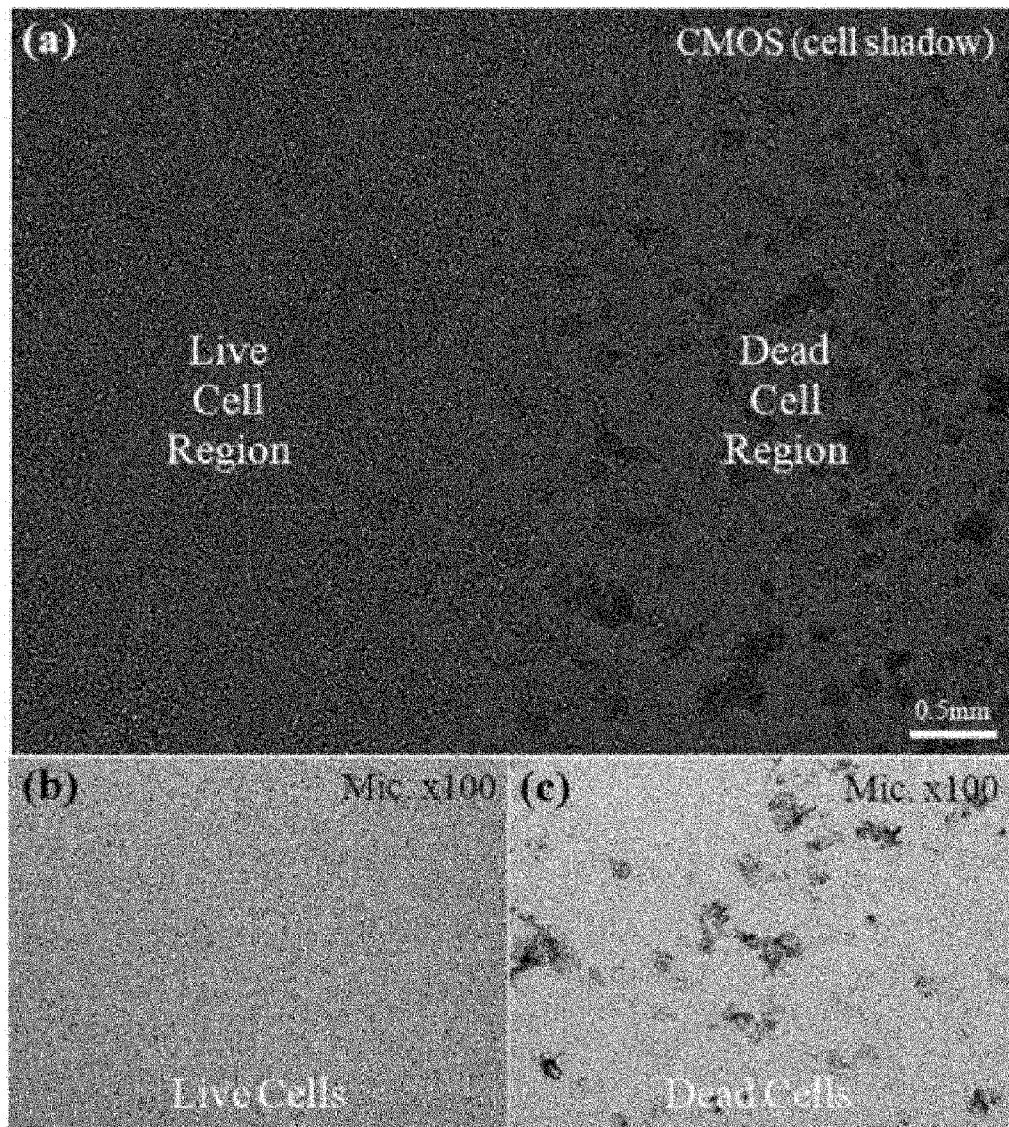
[Fig. 8]



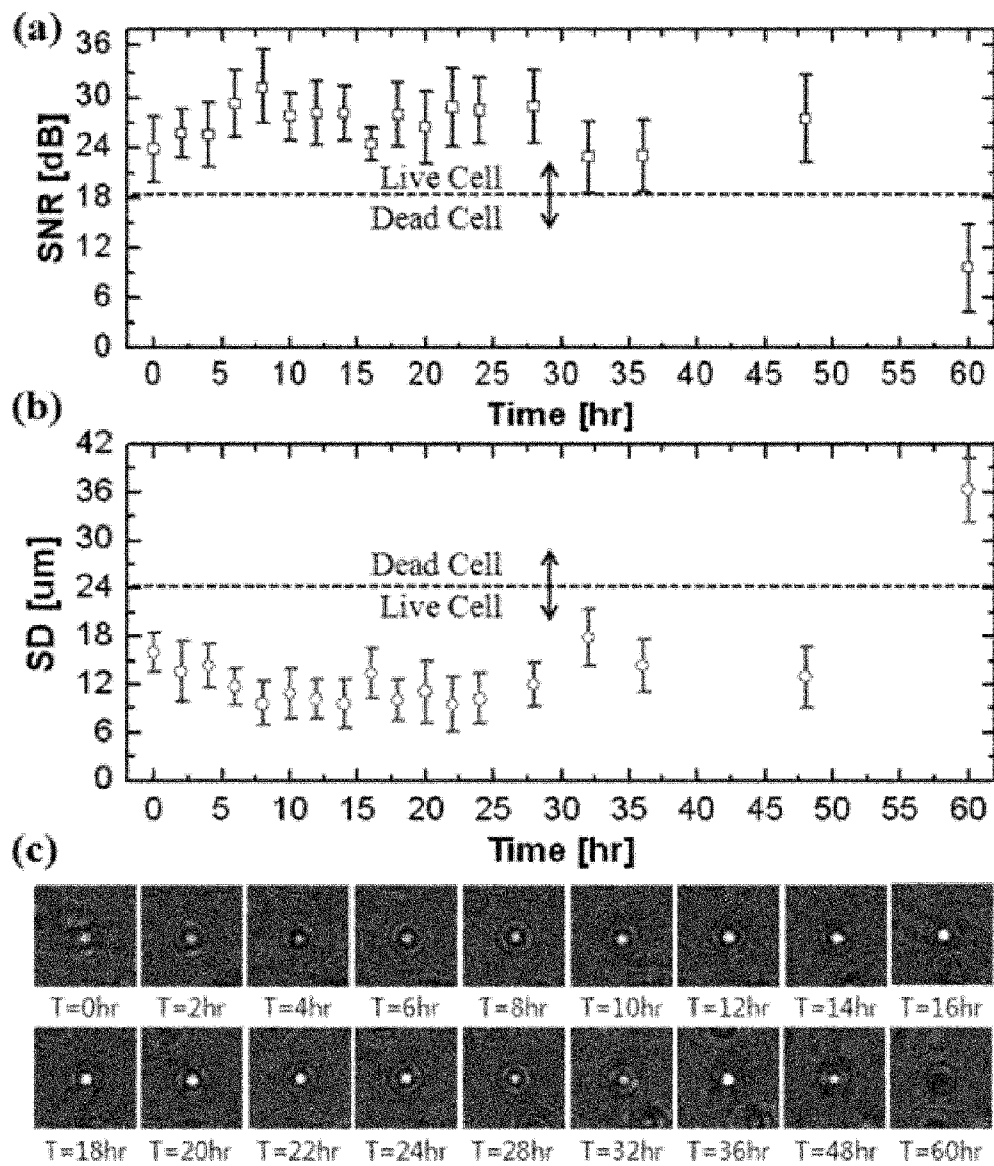
[Fig. 9]



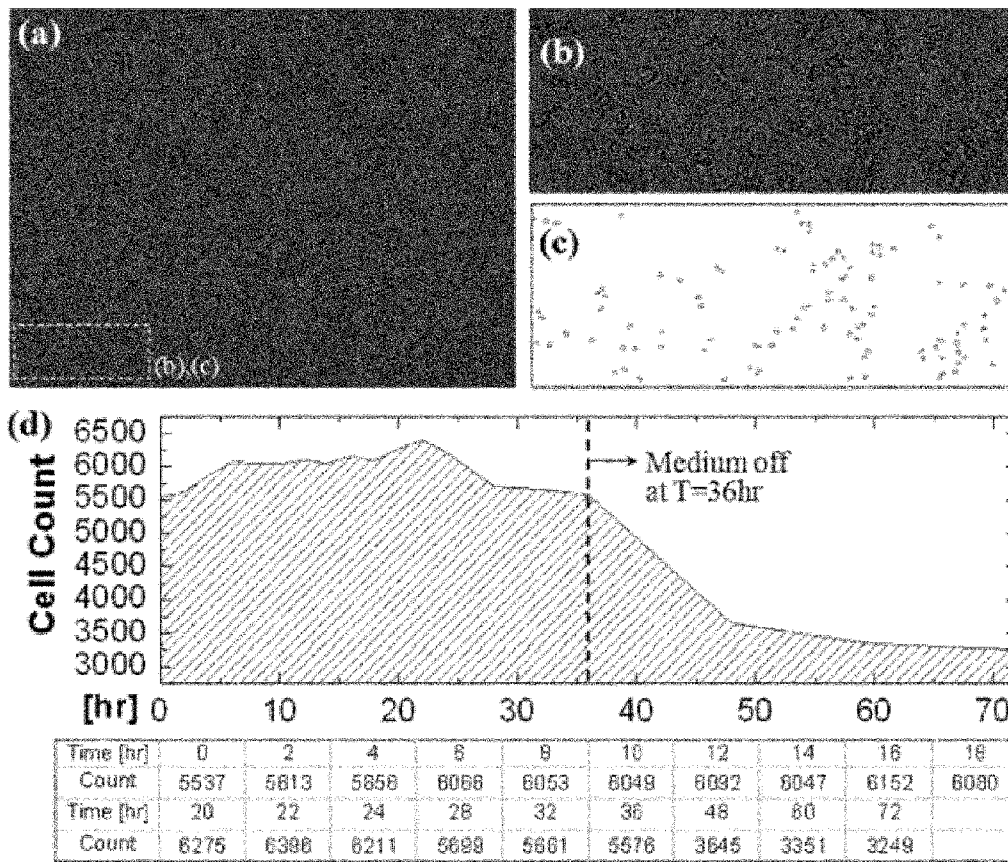
[Fig. 10]



[Fig. 11]



[Fig. 12]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2012/011555**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*****C12M 1/34(2006.01)i, C12M 3/02(2006.01)i, C12M 1/42(2006.01)i, C12N 13/00(2006.01)i***

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12M 1/34; G01N 1/28; G01N 33/49; G06K 9/62; G02B 21/10; G01N 21/63

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: cell activity, measurement, apparatus, shadow, image, fluidic, flow cell

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	KR 10-2010-0098107 A (HUMAN ELECTRONICS CO., LTD.) 06 September 2010 See the entire document.	1-26
A	US 2010-0246927 A1 (ARBUCKLE, John D.) 30 September 2010 See the entire document.	1-26
A	SEO, Sung Kyu et al., "High-throughput lens-free blood analysis on a chip", Anal. Chem., June 2010, vol. 82, no. 11, pages 4621-4627. See the entire document.	1-26
A	OZCAN, Aydogan et al., "Ultra wide-field lens-free monitoring of cells on-chip", Lab on a Chip, 2008, vol. 8, pages 98-106. See the entire document.	1-26
A	WO 2011-049965 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA et al.) 28 April 2011 See the entire document.	1-26



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 APRIL 2013 (12.04.2013)

Date of mailing of the international search report

22 APRIL 2013 (22.04.2013)

Name and mailing address of the ISA/KR



Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2012/011555

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2010-0098107 A	06.09.2010	NONE	
US 2010-0246927 A1	30.09.2010	NONE	
WO 2011-049965 A1	28.04.2011	CA 2778284 A1	28.04.2011
		EP 2491366 A1	29.08.2012
		KR 10-2012-0071405 A	02.07.2012

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC)) C12M 1/34(2006.01)i, C12M 3/02(2006.01)i, C12M 1/42(2006.01)i, C12N 13/00(2006.01)i																				
B. 조사된 분야 조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재) C12M 1/34; G01N 1/28; G01N 33/49; G06K 9/62; G02B 21/10; G01N 21/63 조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌 한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC 국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우)) eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 세포 활성화도, 측정, 장치, 그림자, 이미지, 플루이딕, 플로우 셀																				
C. 관련 문헌 <table border="1"> <thead> <tr> <th>카테고리*</th> <th>인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재</th> <th>관련 청구항</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>KR 10-2010-0098107 A (휴먼전자 주식회사) 2010.09.06 문서 전체 참조.</td> <td>1-26</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 2010-0246927 A1 (ARBUCKLE, JOHN D.) 2010.09.30 문서 전체 참조.</td> <td>1-26</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>SEO, SUNGKYU 외 7명, `High-throughput lens-free blood analysis on a chip`, Anal. Chem., 2010.06., 82권, 11호, 4621-4627 페이지. 문서 전체 참조.</td> <td>1-26</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>OZCAN, AYDOGAN 외 1명, `Ultra wide-field lens-free monitoring of cells on-chip`, Lab on a Chip, 2008., 8권, 98-106 페이지. 문서 전체 참조.</td> <td>1-26</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2011-049965 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA 외 3명) 2011.04.28 문서 전체 참조.</td> <td>1-26</td> </tr> </tbody> </table>			카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항	A	KR 10-2010-0098107 A (휴먼전자 주식회사) 2010.09.06 문서 전체 참조.	1-26	A	US 2010-0246927 A1 (ARBUCKLE, JOHN D.) 2010.09.30 문서 전체 참조.	1-26	A	SEO, SUNGKYU 외 7명, `High-throughput lens-free blood analysis on a chip`, Anal. Chem., 2010.06., 82권, 11호, 4621-4627 페이지. 문서 전체 참조.	1-26	A	OZCAN, AYDOGAN 외 1명, `Ultra wide-field lens-free monitoring of cells on-chip`, Lab on a Chip, 2008., 8권, 98-106 페이지. 문서 전체 참조.	1-26	A	WO 2011-049965 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA 외 3명) 2011.04.28 문서 전체 참조.	1-26
카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항																		
A	KR 10-2010-0098107 A (휴먼전자 주식회사) 2010.09.06 문서 전체 참조.	1-26																		
A	US 2010-0246927 A1 (ARBUCKLE, JOHN D.) 2010.09.30 문서 전체 참조.	1-26																		
A	SEO, SUNGKYU 외 7명, `High-throughput lens-free blood analysis on a chip`, Anal. Chem., 2010.06., 82권, 11호, 4621-4627 페이지. 문서 전체 참조.	1-26																		
A	OZCAN, AYDOGAN 외 1명, `Ultra wide-field lens-free monitoring of cells on-chip`, Lab on a Chip, 2008., 8권, 98-106 페이지. 문서 전체 참조.	1-26																		
A	WO 2011-049965 A1 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA 외 3명) 2011.04.28 문서 전체 참조.	1-26																		
☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. ☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.																				
* 인용된 문헌의 특별 카테고리: “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신구성 또는 진보성이 없는 것으로 본다. “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다. “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌																				
국제조사의 실제 완료일 2013년 04월 12일 (12.04.2013)		국제조사보고서 발송일 2013년 04월 22일 (22.04.2013)																		
ISA/KR의 명칭 및 우편주소  팩스 번호 82-42-472-7140		심사관 허주형 전화번호 82-42-481-8150 																		

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2010-0098107 A	2010.09.06	없음	
US 2010-0246927 A1	2010.09.30	없음	
WO 2011-049965 A1	2011.04.28	CA 2778284 A1	2011.04.28
		EP 2491366 A1	2012.08.29
		KR 10-2012-0071405 A	2012.07.02