



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년09월11일
(11) 등록번호 10-1777515
(24) 등록일자 2017년09월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 1/28 (2006.01) G01N 33/50 (2017.01)
(52) CPC특허분류
G01N 1/2813 (2013.01)
G01N 1/286 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2016-0059659
(22) 출원일자 2016년05월16일
심사청구일자 2016년05월16일
(56) 선행기술조사문헌
JP5164003 B2*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
선웅
서울특별시 노원구 덕릉로73길 28, 205동 1501호 (중계동, 양지대림2차아파트)
김주연
서울특별시 동대문구 사가정로 65, 203동 1904호 (전농동, 래미안크레시디아파트)
이은수
서울특별시 동대문구 한천로 248, 110동 706호 (휘경동, 주공아파트)
(74) 대리인
특허법인 무한

전체 청구항 수 : 총 12 항

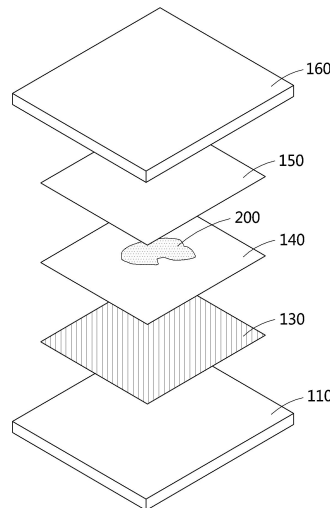
심사관 : 전형태

(54) 발명의 명칭 조직 필름화 장치 및 조직 필름화 방법

(57) 요약

본 발명은, 하부 기관, 투명 기관, 수분흡수막, 반투막 및 상부 기관을 포함하는 조직 필름화 장치 및 이를 이용하여 조직을 필름화하는 방법에 관한 것으로, 투명화된 조직의 두께 정보를 압축하여, 3차원 이미지 재구성에 필요한 시간 및 비용을 절감할 수 있으며, 조직 내 신경세포의 모양, 신경망 분석, 혈관 분석, 세포 변화 또는 단백질 변화 분석 등을 용이하게 수행할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

G01N 33/5005 (2013.01)

G01N 2001/2826 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2015028790

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 원천기술개발사업

연구과제명 뇌발달 지도 구축을 통한 뇌발달장애 진단기술개발

기 여 율 1/1

주관기관 고려대학교

연구기간 2015.06.01 ~ 2016.05.31

명세서

청구범위

청구항 1

삭제

청구항 2

삭제

청구항 3

삭제

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

하부 기관;

상기 하부 기관 상에 배치되는 수분흡수막;

상기 수분흡수막 상에 배치되는 제1 반투막;

상기 제1 반투막 상에 배치되는 제2 반투막; 및

상기 제2 반투막 상에 배치되는 상부 기관;을 포함하고

상기 제1 반투막과 제2 반투막 사이에 생체 조직을 위치시켜 필름화하고,

상기 상부 기관 및 하부 기관은, 길이 방향 또는 길이 방향의 직각 방향으로 형성되는 슬롯을 포함하고,

상기 제1 반투막은 상기 하부 기관의 슬롯을 관통하고,

상기 제2 반투막은 상기 상부 기관의 슬롯을 관통하는, 조직 필름화 장치.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 상부 기관, 하부 기관, 또는 이들 모두는 개구를 갖는, 조직 필름화 장치.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 하부 기관과 수분흡수막 사이에 투명 기관을 더 포함하는, 조직 필름화 장치.

청구항 13

제10항에 있어서,

상기 상부 기관 또는 하부 기관은,

열선 또는 진공선을 포함하는, 조직 필름화 장치.

청구항 14

제10항에 있어서,

상기 상부 기관 또는 하부 기관은,

플라스틱, 합성수지, 실리콘, 유리, 목재 및 금속으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인, 조직 필름화 장치.

청구항 15

제10항에 있어서,

상기 수분흡수막은, 종이, 합성종이, 부직포, 합성부직포, 한지, 및 흡수성물질이 코팅된 수지 필름으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인, 조직 필름화 장치.

청구항 16

제10항에 있어서,

상기 제1 반투막 및 제2 반투막은, 수분투과성 합성 수지막, 콜로디온막, 셀로판, 질산 이탈 콜로디온막, 겔 셀로판막, 파치먼트지, 폴리비닐알코올막 및 박테리아셀룰로오스막으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인, 조직 필름화 장치.

청구항 17

제1 반투막 및 제2 반투막 상에 물을 분무하는 단계;

하부 기관, 수분흡수막 및 상기 제1 반투막을 차례로 적층하는 단계;

상기 제1 반투막 상에 생체 조직을 배치하는 단계;

상기 생체 조직 상에 상기 제2 반투막 및 상부 기관을 적층하는 단계;

상기 하부 기관과 상부 기관을 복수 개의 고정 부재로 고정하여 조직 필름화 장치를 조립하는 단계; 및

상기 조직 필름화 장치를 건조하는 단계;를 포함하는, 조직 필름화 방법.

청구항 18

제17항에 있어서,

상기 조직 필름화 장치를 건조하는 단계는,

40 내지 70 ℃에서 1 내지 3 시간 정도 수행되는 것인, 조직 필름화 방법.

청구항 19

제17항에 있어서,

상기 상부 기관, 하부 기관, 또는 이들 모두는 개구를 갖는 것인, 조직 필름화 방법.

청구항 20

제17항에 있어서,

상기 하부 기관과 수분흡수막 사이에 투명 기관을 더 포함하는, 조직 필름화 방법.

청구항 21

제17항에 있어서,

상기 상부 기관 또는 하부 기관은, 열선 또는 진공선을 포함하고,

상기 조직 필름화 장치를 건조하는 단계는,

상기 열선 또는 진공선을 이용하여 수행되는, 조직 필름화 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 조직 필름화 장치 및 조직 필름화 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 조직에서 3차원 입체 정보를 얻기 위해 조직 투명화 기술 및 정보 분석 방법이 시도되어 왔다. 예를 들어, 뇌에 존재하는 신경세포 하나의 이미지 정보를 얻기 위해서는, 우선, 뇌 조직 내 신경세포를 관찰될 수 있도록 생체 조직을 투명화시키는 과정이 수행된다. 조직을 투명화시킨 후, 투명화된 조직에서 타겟 신경세포를 이미징하려면, 공초점 현미경을 사용하여 2차원 이미지 스캐닝하여 3차원 입체 정보를 얻어야 하며, 이렇게 얻어진 이미지 정보를 이용하여 3차원 입체 정보로 재구성하는 과정을 거쳐야 비로소 뇌에 존재하는 신경세포의 이미지 정보를 얻을 수 있었다. 이러한 종래의 조직 분석 방법은, 이미지 정보 획득과 분석에 많은 시간 및 비용이 소요되며, 이미지 정보를 분석함에 있어서 분석 셋팅 값에 따라서 이미지 정보가 손실되기도 한다는 문제점이 있었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0003] 본 발명의 목적은, 3차원 정보를 단순화하기 위하여 생체 조직을 필름화할 수 있는 조직 필름화 장치 및 조직 필름화 방법을 제공하는 것이다.

[0004] 그러나, 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 해당 기술분야의 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

- [0005] 일실시예에 따르면, 하부 기관, 상기 하부 기관 상에 배치되는 수분흡수막, 상기 수분흡수막 상에 배치되는 제1 반투막, 상기 제1 반투막 상에 배치되는 제2 반투막, 및 상기 제2 반투막 상에 배치되는 상부 기관을 포함하고, 상기 제1 반투막과 제2 반투막 사이에 생체 조직을 위치시키고 필름화하는, 조직 필름화 장치를 제공한다.
- [0006] 일측에 따르면, 상기 수분흡수막은, 종이, 합성종이, 부직포, 합성부직포, 한지 및 흡수성물질이 코팅된 수지 필름으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다.
- [0007] 일측에 따르면, 상기 제1 반투막 및 제2 반투막은, 수분투과성 합성 수지막, 콜로디온막, 셀로판, 질산 이탈 콜로디온막, 겔 셀로판막, 과치먼트지, 폴리비닐알코올막 및 박테리아셀룰로오스막으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다.
- [0008] 일측에 따르면, 상기 조직 필름화 장치는 복수 개의 고정 부재를 더 포함할 수 있다.
- [0009] 일측에 따르면, 상기 복수 개의 고정 부재는, 상기 상부 기관 및 하부 기관의 적어도 일부 측면을 감싸고, 상기 상부 기관 및 하부 기관을 고정할 수 있다.
- [0010] 일측에 따르면, 상기 고정 부재는 클립형 또는 집게형일 수 있다.
- [0011] 일측에 따르면, 상기 상부 기관 및 하부 기관은 각각 대응되는 위치에 복수 개의 관통 홈을 포함하고, 상기 상부 기관 및 하부 기관은 각각 대응하는 상기 관통 홈을 관통하는 상기 복수 개의 고정 부재에 의하여 체결되는 것일 수 있다.
- [0012] 일측에 따르면, 상기 고정 부재는 볼트 및 너트로 구성되는 것일 수 있다.
- [0013] 일측에 따르면, 상기 상부 기관 및 하부 기관의 사이의 간격은 상기 너트를 조이거나 풀어서 조절되는 것일 수 있다.
- [0014] 일측에 따르면, 상기 상부 기관 및 하부 기관은 길이 방향 또는 길이 방향의 직각 방향으로 형성되는 슬롯을 포함하고, 상기 제1 반투막은 상기 하부 기관의 슬롯을 관통하고, 상기 제2 반투막은 상기 상부 기관의 슬롯을 관통할 수 있다.
- [0015] 일측에 따르면, 상기 상부 기관, 하부 기관, 또는 이들 모두는 개구를 가질 수 있다.
- [0016] 일측에 따르면, 상기 하부 기관과 수분흡수막 사이에 투명 기관을 더 포함할 수 있다.
- [0017] 일측에 따르면, 상기 상부 기관 또는 하부 기관은, 열선 또는 진공선을 포함할 수 있다.
- [0018] 일측에 따르면, 상기 상부 기관 또는 하부 기관은, 플라스틱, 합성수지, 실리콘, 유리, 목재 및 금속으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다.
- [0019] 일실시예에 따르면, 제1 반투막 및 제2 반투막 상에 물을 분무하는 단계, 하부 기관, 수분흡수막 및 상기 제1 반투막을 차례로 적층하는 단계, 상기 제1 반투막 상에 생체 조직을 배치하는 단계, 상기 생체 조직 상에 상기 제2 반투막 및 상부 기관을 적층하는 단계, 상기 하부 기관과 상부 기관을 복수 개의 고정 부재로 고정하여 조직 필름화 장치를 조립하는 단계, 및 상기 조직 필름화 장치를 건조하는 단계를 포함하는, 조직 필름화 방법을 제공한다.
- [0020] 일측에 따르면, 상기 조직 필름화 장치를 건조하는 단계는 40 내지 70 ℃에서 1 내지 3 시간 정도 수행되는 것일 수 있다.
- [0021] 일측에 따르면, 상기 상부 기관 또는 하부 기관은, 열선 또는 진공선을 포함하고, 상기 조직 필름화 장치를 건조하는 단계는, 상기 열선 또는 진공선을 이용하여 수행될 수 있다.

발명의 효과

[0022] 본 발명의 조직 필름화 장치 및 이를 이용한 조직 필름화 방법은, 투명화 된 조직의 두께 정보를 압축시킬 수 있으므로, 3차원 이미지 재구성에 필요한 시간과 노력을 절감할 수 있으며, 조직 내 존재하는 신경세포의 모양

분석 및 신경망 분석을 더 용이하게 할 수 있다. 또한, 고가의 공초점 현미경 없이도 3차원 이미지의 압축 정보를 획득할 수 있으므로 축약된 정보를 통해 다양한 연구 및 정보 분석에 보다 효율적으로 사용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0023] 도 1은, 일 실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- 도 2는, 일 실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- 도 3은, 일 실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- 도 4는, 일 실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- 도 5는, 일 실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- 도 6은, 일 실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- 도 7은, 일 실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- 도 8은, 일 실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- 도 9는, 일 실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- 도 10은, 일 실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- 도 11은, 슬라이스된 조직, 투명화된 조직 및 필름화된 조직, 각각에 대한 크기, 투명도 및 두께를 나타낸 것이다.
- 도 12는, 공초점 현미경으로 획득된 이미지 사진(A), 이미지의 간격(B) 및 조직의 두께(C)를 나타낸 것이다.
- 도 13은, 필름화되기 전의 조직과 필름화된 후의 조직을 비교한 사진 및 그래프이다.
- 도 14는, 필름화되기 전의 조직과 필름화된 후의 조직의 사진이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0024] 이하에서, 첨부된 도면을 참조하여 실시예들을 상세하게 설명한다. 각 도면에 제시된 동일한 참조 부호는 동일한 부재를 나타낸다.
- [0025] 아래 설명하는 실시예들에는 다양한 변경이 가해질 수 있다. 아래 설명하는 실시예들은 실시 형태에 대해 한정하려는 것이 아니며, 이들에 대한 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.
- [0026] 실시예에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 실시예를 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성 요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성 요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.
- [0027] 다르게 정의되지 않는 한, 기술적이거나 과학적인 용어를 포함해서 여기서 사용되는 모든 용어들은 실시예가 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가지고 있다. 일반적으로 사용되는 사전에 정의되어 있는 것과 같은 용어들은 관련 기술의 문맥 상 가지는 의미와 일치하는 의미를 가지는 것으로 해석되어야 하며, 본 출원에서 명백하게 정의하지 않는 한, 이상적이거나 과도하게 형식적인 의미로 해석되지 않는다.
- [0028] 또한, 첨부 도면을 참조하여 설명함에 있어, 도면 부호에 관계없이 동일한 구성 요소는 동일한 참조 부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 실시예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 실시예의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다.
- [0029] 일반적으로, 조직 내 세포 정보는 2차원적인 기술을 사용하여 획득할 수 있다. 예를 들면, 고정된 생체 조직을 마이크로미터 두께로 절편하고, 면역염색과 같은 방법으로 관찰하고자 하는 세포를 표지한 후, 현미경을 이용하여 세포 정보를 획득할 수 있다. 하지만, 신경세포와 같이 생체 조직 내에서 입체적으로 존재하는 세포에 대한 정보를 획득하기 위해서는, 우선, 세포가 속한 조직을 투명화하는 과정이 필요하며, 투명화된 조직으로부터 획득된 정보를 3차원적인 입체 정보로 재구성하는 과정이 필요하다. 두께가 두꺼운 조직의 경우에는 3차원 이미

지를 획득하기 위하여 공초점 현미경을 사용하여 수십 마이크로미터 수준의 두께 정보를 얻을 수 있는데, 이 과정에서 이미지 정보의 손실 없이 최대한 미세한 수준에서의 연속적인 이미지를 획득해야 하며, 이렇게 얻어진 이미지를 다시 3차원 입체 정보로 재구성하는 일련의 과정이 필요하다. 예를 들면, 신경세포를 전기생리학 분석 후 dye를 넣어 분석한 세포를 표지한 후 세포를 이미징 하기 위해서는, 300마이크로미터 두께의 조직 슬라이스를 더 촘촘하게 절편하여 이미징을 하거나, 조직을 투명화시킨 후 이미징을 하여 신경세포의 3차원적 정보를 획득할 수 있다. 하지만, 제한된 구역에 존재하는 단일 신경세포의 3차원 정보 획득에 필요한 시간과 비용을 고려한다면, 정보를 보다 단순화시켜 분석할 수 있는 기술이 요구된다. 따라서, 관찰하고자 하는 세포의 정보가 왜곡되지 않는 수준에서, 불필요한 정보를 단순화하고, 정보 획득에 드는 시간 비용을 절감할 수 있는 기술의 개발이 필요하다. 이에 대하여, 발명자들은 두꺼운 조직 내에 단순하게 존재하는 세포 이미지 정보를 압축하여 보다 효율적으로 정보를 처리할 수 있도록, 조직을 필름화 하는 방법 및 장치를 고안하였다.

[0030] 도 1은, 일실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.

[0031] 일실시예에 따르면, 하부 기관(110), 상기 하부 기관 상에 배치되는 수분흡수막(130), 상기 수분흡수막 상에 배치되는 제1 반투막(140), 상기 제1 반투막 상에 배치되는 제2 반투막(150), 및 상기 제2 반투막 상에 배치되는 상부 기관(160)을 포함하고, 상기 제1 반투막과 제2 반투막 사이에 생체 조직(200)을 위치시키고 필름화하는, 조직 필름화 장치를 제공한다.

[0032] 일측에 따르면, 상기 수분흡수막(130)은, 반투막 또는 조직으로부터의 수분을 잘 흡수할 수 있도록, 종이, 합성 종이, 부직포, 합성부직포, 한지 등이 사용될 수 있으며, 또는 흡수성코팅이 된 수지 필름 또는 이형필름이 사용될 수 있다. 상기 종이는 셀룰로오스계 종이가 바람직하다.

[0033] 일측에 따르면, 상기 제1 반투막(140) 및 제2 반투막(150)은, 수분투과성 합성 수지막, 콜로디온막, 셀로판, 질산 이탈 콜로디온막, 젤 셀로판막, 파치먼트지, 폴리비닐알코올막 및 박테리아셀룰로오스막으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나인 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않고, 수분이 통과할 수 있는 막으로서, 조직으로부터 수분을 외부로 방출하거나, 수분을 수분흡수막으로 이동시키는 역할을 수행할 수 있는 막이면 사용될 수 있다. 또한 상기 반투막은 투명하고 빛 반사가 없는 것이 바람직하며, 건조되는 과정에서 수축하는 성질을 갖는 것이 바람직하다. 특히, 셀로판막의 경우, 수분을 함유하고 있을 때는 팽윤했다가, 수분이 건조되면서 다시 수축하는 성질이 있는데, 이를 이용하여 효율적으로 조직을 필름화할 수 있다. 또한, 상기 1 반투막 및 제2 반투막은, 상기 상부 기관 및 하부 기관보다 크기가 큰 것이 사용될 수 있는데, 이는 조직 필름화 장치가 조립되고 고정된 후에도 양쪽에서 잡아당길 수 있게 하여 장치 내부에 형성될 수 있는 반투막의 주름이나 접힘 등을 편평하게 하기 위한 것일 수 있다.

[0034] 일측에 따르면, 상기 조직 필름화 장치는, 제2 반투막(150) 및 상부 기관(160) 사이에, 제2 수분흡수막을 더 포함할 수 있다. 제2 반투막과 접하는 면에도 수분흡수막을 배치하여 조직으로부터의 수분이 보다 빠르게 흡수되도록 할 수 있다.

[0035] 도 2는, 일실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.

[0036] 일실시예에 따르면, 하부 기관(113), 상기 하부 기관 상에 배치되는 투명 기관(120), 상기 투명 기관 상에 배치되는 수분흡수막(130), 상기 수분흡수막 상에 배치되는 제1 반투막(140), 상기 제1 반투막 상에 배치되는 제2 반투막(150), 및 상기 제2 반투막 상에 배치되는 상부 기관(163)을 포함하고, 상기 제1 반투막과 제2 반투막 사이에 생체 조직(200)을 위치시키고 필름화하는, 조직 필름화 장치를 제공한다.

[0037] 도 2에는, 개구를 갖는 하부 기관(113) 및 상부 기관(163)을 포함하는 조직 필름화 장치가 도시되어 있으나, 상기 하부 기관(113) 또는 상부 기관(163) 중 어느 하나만 개구를 갖는, 조직 필름화 장치 또한 본 발명의 범위에 포함된다. 도 2와 같이, 하부 기관(113) 및 상부 기관(163) 모두 개구를 갖는 경우에는, 하부 기관 상에 투명 기관(120)을 포함될 수 있다. 조직을 감싸는 반투막과 수분흡수막은 얇고 유연한 성질을 갖기 때문에, 조직을 지지해줄 기관이 적어도 하나 필요하므로, 상부 기관과 하부 기관이 모두 개구를 갖는 경우에는 투명 기관(120)을 더 포함하는 것이 바람직하다. 상기 투명 기관(120)은 투명한 유리 또는 투명한 플라스틱 소재가 사용될 수 있다.

[0038] 도 3은, 일실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.

[0039] 일측에 따르면, 상기 조직 필름화 장치는 복수 개의 고정 부재(170)를 더 포함할 수 있다. 조직 필름화 장치를 구성하는, 하부 기관(110), 수분흡수막(130), 제1 반투막(140), 제2 반투막(150), 및 상부 기관(160)을 차례로

적층하고, 복수 개의 고정 부재(170)를 사용하여 적층된 구조물을 고정시킬 수 있다.

- [0040] 일측에 따르면, 상기 복수 개의 고정 부재(170)는, 상기 상부 기관(160) 및 하부 기관(110)의 적어도 일부 측면을 감싸고, 상기 상부 기관(160) 및 하부 기관(110)을 고정하는 것일 수 있다. 상기 복수 개의 고정 부재(170)는, 상부 기관(160) 및 하부 기관(110)의 모든 측면에 적용되거나, 대응하는 측면에 각각 적용되는 것일 수 있다. 일 측면에 고정 부재(170)가 적용됨에 있어서, 일 측면 전부 또는 일부를 감싸는 것일 수 있다.
- [0041] 도 4는, 일실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- [0042] 일측에 따르면, 상기 하부 기관, 상부 기관, 또는 이들 모두가 개구를 갖는 경우에도, 복수 개의 고정 부재(170)를 이용하여, 하부 기관과 상부 기관을 고정할 수 있다.
- [0043] 일측에 따르면, 상기 고정 부재는 클립형 또는 집게형일 수 있다. 도 3 및 4를 참고하면, 클립형 고정 부재(171)은, 조직 필름화 장치의 하부 기관(110)과 상부 기관(160)의 일부 측면을 감싸는 형태로 접촉되어, 조립된 조직 필름화 장치를 고정시키는 역할을 수행한다. 클립형 고정 부재는 탄성을 갖는 소재로 구성될 수 있으며, "ㄷ"모양으로 절곡된 형상의 특성상 탄력적으로 벌어지면서 원래의 상태로 복귀하려는 탄성 복원력을 통하여, 조직 필름화 장치에 용이하게 끼워질 수 있다.
- [0044] 도 5는, 일실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- [0045] 도 5에서, 집게형 고정 부재(172)는, 조직 필름화 장치의 하부 기관(110)과 상부 기관(160)의 일부 측면을 감싸는 형태로 접촉되며, 조립된 조직 필름화 장치를 고정시키는 역할을 수행한다. 집게형 고정 부재 또한 탄성을 갖는 소재로 구성될 수 있으며, 집게의 손잡이 부분을 이용하여 "ㄷ" 모양 부분이 탄력적으로 벌어지고 조직 필름화 장치에 끼워질 수 있다.
- [0046] 도 6은, 일실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- [0047] 일측에 따르면, 상기 상부 기관(161) 및 하부 기관(111)은 각각 대응되는 위치에 복수 개의 관통 홈을 포함하고, 상기 상부 기관(161) 및 하부 기관(111)은 각각 대응하는 상기 관통 홈을 관통하는 상기 복수 개의 고정 부재(173)에 의하여 체결 또는 고정되는 것일 수 있다. 상기 상부 기관(161) 및 하부 기관(111)에 형성되는 복수 개의 관통 홈은, 기관의 외각 부분에 위치하는 것일 수 있으며, 모서리뿐 아니라 외각의 측면 중 어느 부분이라도 위치될 수 있다. 또한, 상기 복수 개의 관통 홈은, 상부 기관(161) 및 하부 기관(111)의 각각 대응되는 위치에 형성되어 상부 기관(161) 및 하부 기관(111)을 한번에 관통하는 홈을 구성한다. 다만, 상부 기관(161) 또는 하부 기관(111) 내에서 복수 개의 관통 홈은, 기관의 중심 축을 기준으로 대응되는 위치에 형성될 수 있을 뿐 아니라, 중심 축을 기준으로 대응되지 않는 위치에도 형성될 수 있다. 즉, 상기 복수 개의 관통 홈은, 기관 상에서 각각 2개 이상으로 구성되며, 상부 기관(161) 및 하부 기관(111)를 체결하여 조직 필름화 장치의 구성요소들을 고정시킬 수 있는 위치라면 어디든지 상관없이 배치될 수 있다.
- [0048] 상기 복수 개의 관통 홈은 내부에 나사산이 형성된 것일 수 있으며, 이 경우 상기 고정 부재(173)는 나사형태 또는 볼트형태인 것을 사용하여, 별도의 체결부 없이도 상부 기관(161) 및 하부 기관(111)을 고정시킬 수 있다.
- [0049] 도 7은, 일실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- [0050] 일측에 따르면, 상기 상부 기관(164), 하부 기관(114), 또는 이들 모두는 개구를 가질 수 있으며, 또한 상기 상부 기관(164) 및 하부 기관(114)은 각각 대응되는 위치에 복수 개의 관통 홈을 포함할 수 있다. 상기 상부 기관(164) 및 하부 기관(114)은 각각 대응하는 상기 관통 홈을 관통하는 상기 복수 개의 고정 부재(173)에 의하여 체결 또는 고정될 수 있다.
- [0051] 도 7을 참고하면, 상기 하부 기관(114) 및 상부 기관(164) 모두 개구를 갖는 것이 도시되어 있으나, 상기 하부 기관 또는 상부 기관 중 어느 하나가 개구를 갖는 것이 포함될 수 있다. 도 7와 같이, 하부 기관(114) 및 상부 기관(164) 모두 개구를 갖는 경우에는, 하부 기관 상에 투명 기관(120)을 포함될 수 있다. 조직을 감싸는 반투막과 수분흡수막은 얇고 유연한 성질을 갖기 때문에, 조직을 지지해줄 기관이 적어도 하나 필요하므로, 상부 기관과 하부 기관이 모두 개구를 갖는 경우에는 투명 기관(120)을 더 포함하는 것이 바람직하다. 상기 투명 기관(120)의 소재로는, 유리 또는 플라스틱이 사용될 수 있다.
- [0052] 도 8은, 일실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.
- [0053] 일측에 따르면, 상기 고정 부재는 볼트(173) 및 너트(174)로 구성되는 것일 수 있다. 상부 기관 및 하부 기관은 각각 대응되는 위치에 형성된 관통 홈을 관통하는 볼트(173)를 이용하여 결합될 수 있으며, 상기 볼트(173)

에 너트(174)를 체결하여 조직 필름화 장치를 보다 견고하게 고정시킬 수 있다. 너트(174)가 사용되는 경우, 상기 상부 기관 및 하부 기관 사이의 간격은 상기 너트(174)를 조이거나 풀어서 조절되는 것일 수 있다.

[0054] 도 9 및 도 10은, 일실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도이다.

[0055] 일측에 따르면, 상기 상부 기관(162) 및 하부 기관(112)은 길이 방향 또는 길이 방향의 직각 방향으로 형성되는 슬롯을 포함하고, 상기 제1 반투막(140)은 상기 하부 기관의 슬롯을 관통하고, 상기 제2 반투막(150)은 상기 상부 기관의 슬롯을 관통하는 것일 수 있다. 제1 반투막(140)과 제2 반투막(150) 사이에 조직이 배치되는데, 제1 반투막(140)과 제2 반투막(150)은 두께가 얇아 조직의 형태에 따라 굴곡이 생기면서, 주름지거나 또는 접힘이 발생할 수 있다. 따라서 조직 필름화 장치가 조립되고 고정된 후에도 제1 반투막(140)과 제2 반투막(150)을 양 쪽으로 당겨서 편평하게 펴줘야 하는 경우가 발생할 수 있기에, 제1 반투막(140)과 제2 반투막(150)은 상부 기관이나 하부 기관보다 큰 사이즈가 사용되는 것이 바람직하며, 도 9에서와 같이, 상부 기관(162) 및 하부 기관(112)에 슬롯을 형성하여 제1 반투막(140) 및 제2 반투막(150)을 각각 관통하도록 끼워서 사용할 수 있다. 도 10에서도 제1 반투막(140)과 제2 반투막(150)은 상부 기관이나 하부 기관보다 큰 사이즈가 사용될 수 있으며, 슬롯을 관통하도록 끼워서 사용하는 것이 바람직하다.

[0056] 상기 슬롯은, 상부 기관(162) 및 하부 기관(112)의 길이 방향 또는 길이 방향의 직각 방향으로 상부 기관(162) 및 하부 기관(112) 상에 형성되며, 외각에 형성되는 것이 바람직하다. 도 9 및 도 10에서와 같이, 슬롯은 상부 기관(162) 및 하부 기관(112)의 외각 부분에 한 쌍으로 형성될 수 있다.

[0057] 도 10을 참고하면, 상기 하부 기관(115) 및 상부 기관(165) 모두 개구를 갖는 것이 도시되어 있으나, 상기 하부 기관 또는 상부 기관 중 어느 하나가 개구를 갖는 것이 포함될 수 있다. 도 10과 같이, 하부 기관(115) 및 상부 기관(165) 모두 개구를 갖는 경우에는, 하부 기관 상에 투명 기관(120)을 포함될 수 있다. 조직을 감싸는 반투막과 수분흡수막은 얇고 유연한 성질을 갖기 때문에, 조직을 지지해줄 기관이 적어도 하나 필요하므로, 상부 기관과 하부 기관이 모두 개구를 갖는 경우에는 투명 기관(120)을 더 포함하는 것이 바람직하다. 상기 투명 기관(120)의 소재로는, 유리 또는 플라스틱이 사용될 수 있다.

[0058] 일측에 따르면, 상기 상부 기관, 하부 기관, 또는 이들 모두는 개구를 가질 수 있다. 도 2, 도 7 및 도 10은, 본 발명의 일 실시예에 따른 조직 필름화 장치의 모식도로서, 앞에서 설명한 본 발명의 조직 필름화 장치의 상부 기관(163, 164, 165) 및 하부 기관(113, 114, 115)이 각각 개구를 갖는 형태를 나타낸 것이다. 개구가 형성된 상부 기관(163, 164, 165) 및 하부 기관(113, 114, 115)을 사용하여, 필름화되는 조직 내 수분을 보다 빠르고 효율적으로 건조시킬 수 있다.

[0059] 일측에 따르면, 상기 상부 기관 또는 하부 기관은, 열선 또는 진공선을 포함할 수 있다. 상부 기관 또는 하부 기관의 표면 또는 내부에 열선을 포함하는 경우, 조직을 건조시키는 시간을 단축시킬 수 있다. 다만, 상기 열선의 온도는 조직 또는 반투막 등을 변형시키지 않는 범위에서 조절되는 것이 바람직하다.

[0060] 일측에 따르면, 상기 상부 기관 또는 하부 기관은, 플라스틱, 합성수지, 실리콘, 유리, 목재 및 금속으로 이루어진 군으로부터 선택되는 적어도 하나일 수 있다. 상기 상부 기관 또는 하부 기관을 구성하는 소재는 유연하고 얇은 소재의 반투막, 수분흡수막, 조직 등을 지지해줄 수 있는 단단한 소재이면 제한 없이 사용될 수 있다. 투명한 것이 보다 바람직할 수 있으나, 기관에 개구가 형성되는 경우에는 불투명한 것이라도 상관없다. 경우에 따라 보다 적절한 기관 소재가 선택되어 사용될 수 있다. 예를 들면, 기관에 진공선이 포함되는 경우에는, 진공 압력이 작동하기 용이하도록 유연한 실리콘 소재가 기관으로 사용될 수 있으며, 기관에 열선이 포함되는 경우에는, 플라스틱, 합성수지, 목재, 금속 등이 사용될 수 있다.

[0061] 일실시예에 따르면, 제1 반투막 및 제2 반투막 상에 물을 분무하는 단계, 하부 기관, 수분흡수막 및 상기 제1 반투막을 차례로 적층하는 단계, 상기 제1 반투막 상에 생체 조직을 배치하는 단계, 상기 생체 조직 상에 상기 제2 반투막 및 상부 기관을 적층하는 단계, 상기 하부 기관과 상부 기관을 복수 개의 고정 부재로 고정하여 조직 필름화 장치를 조립하는 단계, 및 상기 조직 필름화 장치를 건조하는 단계를 포함하는, 조직 필름화 방법을 제공하며, 상기 단계는 반드시 순차적으로 수행될 필요는 없으며, 일부 단계는 순서가 변경될 수 있다.

[0062] 상기 조직 필름화 방법으로, 조직은 고르게 압축되면서 건조되므로 조직의 두께정보가 단순화될 수 있다. 즉, 조직이 고르게 압축되므로, 조직 투명화 후 면적염색을 한 조직으로부터 이미지를 획득하는 시간을 최소 10배 이상 단축시킬 수 있으며, 고화질의 입체정보가 포함된 이미지를 얻을 수 있다. 또한, 조직 필름화 후에도 조직 내 두께에 따른 위치 정보를 보존할 수 있다.

[0063] 일측에 따르면, 상기 조직 필름화 장치를 건조하는 단계는 40 내지 70 °C에서 1 내지 3 시간 정도 수행되는 것

일 수 있다. 40 ℃ 보다 낮은 온도에서 수행되는 경우에는 건조가 되지 않을 수 있으며, 70 ℃ 보다 높은 온도에서 수행되는 경우에는 조직 내 단백질에 변성이 발생하거나 조직 필름화 장치의 반투막에 변형이 생길 수 있다.

[0064] 일측에 따르면, 상기 상부 기관 또는 하부 기관은, 열선 또는 진공선을 포함하고, 상기 조직 필름화 장치를 건조하는 단계는, 상기 열선 또는 진공선을 이용하여 수행될 수 있다.

[0065] <실시예 1: 조직 필름화 방법>

[0066] 조직을 투명화 하기 위하여, 널리 알려진 PACT (Passive Active Clarity Technique)방법을 사용하였다. 구체적인 단계는 다음과 같다: 적출 후 고정된 조직을 4% Acrylamide 용액 (VA044 (0.4mg/ml 4% Acrylamide solution))에 넣어 4 ℃ 냉장고에서 하루 동안 침투시켰다. 다음날 산소를 제거하는 degassing 과정을 거치고, 37 ℃에서 3시간 동안 폴리머화 하였다. 조직을 8% SDS용액으로 약 2시간 정도 처리하여 조직을 투명화하였다. 이후 SDS를 제거하기 위해 5회 이상의 세척 과정을 수행하였다.

[0067] 마커를 이용하여, 투명화된 조직 내 관찰하고자 하는 세포를 면역염색하였다. (예를 들면, 전기생리 조직샘플의 경우 biocytin을 표지하기 위하여 streptavidin-488 항체를 사용하여 면역염색을 수행하였다)

[0068] 본 발명에 따른 조직 필름화 장치를 이용하여 조직을 필름화 하였다. 구체적인 단계는 다음과 같다: 제1 반투막과 제2 반투막에 물을 뿌려 수분을 머금게 한 후, 제1 반투막과 제2 반투막 사이에 조직을 배치하였다. 제1 반투막과 제2 반투막으로 조직을 감싼 후, 하부 기관, 투명 기관, 수분흡수막 순서로 적층된 구조 위에, 배치하였다. 그 위에 상부 기관을 덮고, 제1 반투막과 제2 반투막에 주름이 생기지 않도록 한 후, 고정 부재로 장치를 고정하였다. 고정된 조직 필름화 장치는 55 ℃에서 2시간 동안 건조시킨 후에, 장치를 해제하여 필름화된 조직을 수득하였다.

[0069] <실시예 2: 조직 크기, 투명도 및 두께의 변화 측정>

[0070] 도 11은, 슬라이스된 조직, 투명화된 조직 및 필름화된 조직, 각각에 대한 크기, 투명도 및 두께를 나타낸 것이다.

[0071] 본 발명의 조직 필름화 장치 및 방법에 따라 필름화되기 이전의 조직에 대하여, 동일한 조건에서 크기, 투명도 및 두께를 측정하였다. 슬라이스된 조직은 투명화되기 전 상태의 조직이므로 투명도가 가장 좋지 않았다. 반면, PACT으로 투명화된 이후의 조직은, 조직 내 지방질이 제거되고 수분을 머금으면서, 약 1.5 배 정도 투명도가 좋아졌다. 본 발명의 조직 필름화 장치 및 방법에 따라 필름화된 조직은, PACT로 투명화된 조직보다 투명도는 조금 좋아졌으며, 두께가 약 10분의 1로 감소한 것을 확인하였다.

[0072] <실시예 3: 3차원 입체 정보 획득의 제한점 및 압축률>

[0073] 도 12는, 공초점 현미경으로 획득된 이미지 사진(A), 이미지의 간격(B) 및 조직의 두께(C)를 나타낸 것이다.

[0074] 300 μ m 두께의 조직에 존재하는 신경세포를 biocytin으로 표지한 후에, 공초점 현미경을 사용하여 5 μ m씩 이미지를 얻어 1장으로 프로젝션 하였다 (최소 정보 획득 가능한 범위: 7.12마이크로미터). LSM700 공초점 현미경을 사용하여, 속도 8, 이미지 평균 값 4로 1장의 사진을 얻는데 7초가 소요되었으며, 약 60장 정도의 이미지를 얻기 위해서는 4-5분 정도의 시간이 필요하였다. 얻은 이미지의 간격을 증가시켜 세포 정보, 즉 표지된 시그널의 감소를 측정해본 결과, 세포의 정보가 감소되는 것을 확인하였다. 즉, 세포의 모든 정보를 획득하기 위해서는 공초점 현미경으로 촘촘하게 이미지를 얻어야 한다. 반면에, 본 발명의 조직 필름화 장치 및 방법으로 동일한 조직을 필름화한 경우, 신경세포의 평균 두께 정보는 12분의 1로 압축될 수 있었다.

[0075] <실시예 4: 조직 필름화 후 신경세포의 왜곡도 조사>

[0076] 투명화된 조직에서 표지한 신경세포의 이미지를 촘촘하게 획득한 후 프로젝션을 하였으며, 이후 동일한 조직을 필름화하여 단일 이미지를 획득하여, 비교 분석하였다.

[0077] 도 13은, 필름화되기 전의 조직과 필름화된 후의 조직을 비교한 사진 및 그래프이다.

[0078] 필름화되지 않은 조직으로부터 획득된 3차원 이미지를 프로젝션 과정으로 재구성한 이미지와 비교할 때, 조직을 필름화하여 획득된 단일 이미지에서, 신경돌기는 X, Y축으로 50% 가까이 확대되었으나, 어느 한쪽으로 치우치지 않았다. 즉, 본 발명의 조직 필름화 장치 및 방법으로 필름화된 조직은 고르게 확대된다는 것을 알 수 있다. 또한, 세포체의 경우에는 눈에 띄는 증감은 관찰되지 않았다. 한편, 신경세포로부터 돌출되는 신경돌

기의 개수는, 필름화 된 이후에 20% 정도 증가하였는바, 조직 필름화로 인하여 정보 획득 효율이 높아졌다는 점을 확인하였다. 그리고, 필름화된 조직의 이미지에 있어서 왜곡 현상은 전반적으로 관찰되지 않았다.

[0079] 도 14는, 필름화되기 전의 조직과 필름화된 후의 조직의 사진이다.

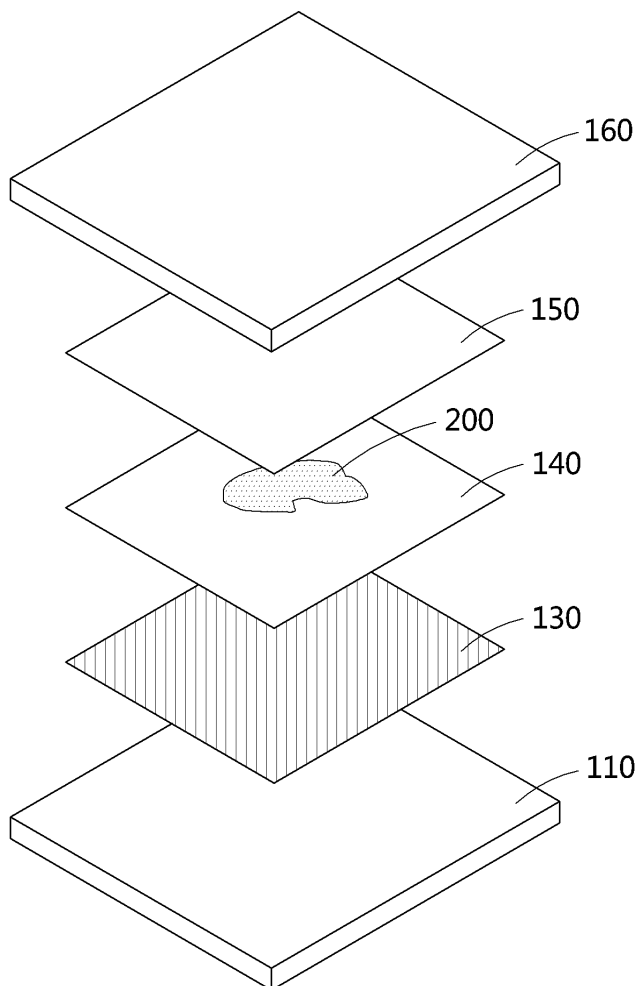
[0080] 본 발명의 조직 필름화 장치 및 방법을 이용하여, 형광 면역염색뿐 아니라 chromogen으로 발색하여 보존성을 높이면서 동시에 광학현미경으로 조직 이미징을 간단하게 수행할 수 있다.

[0081] 이상과 같이 실시예들이 비록 한정된 실시예와 도면에 의해 설명되었으나, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자라면 상기의 기재로부터 다양한 수정 및 변형이 가능하다. 예를 들어, 설명된 기술들이 설명된 방법과 다른 순서로 수행되거나, 및/또는 설명된 구성요소들이 설명된 방법과 다른 형태로 결합 또는 조합되거나, 다른 구성요소 또는 균등물에 의하여 대치되거나 치환되더라도 적절한 결과가 달성될 수 있다.

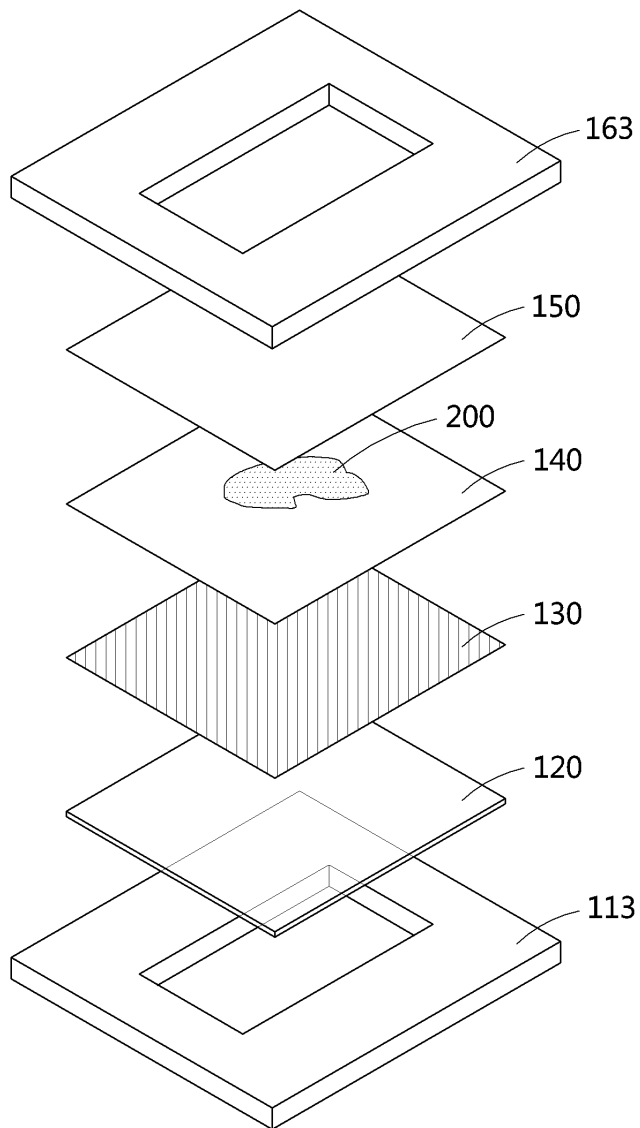
[0082] 그러므로, 다른 구현들, 다른 실시예들 및 특허청구범위와 균등한 것들도 후술하는 특허청구범위의 범위에 속한다.

도면

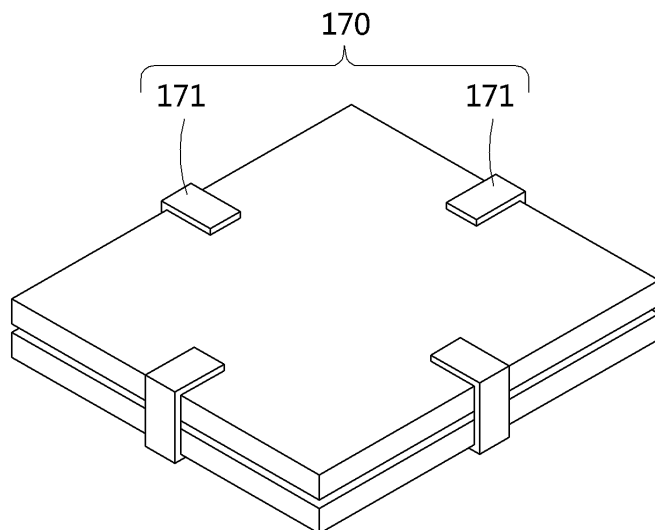
도면1



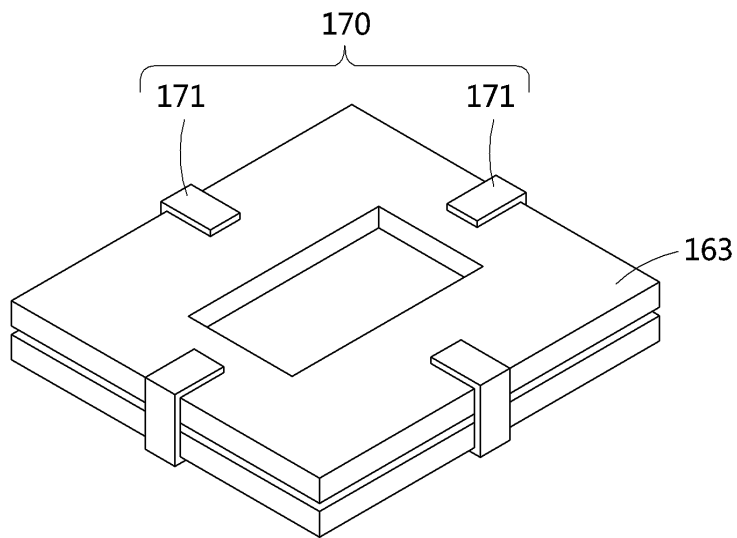
도면2



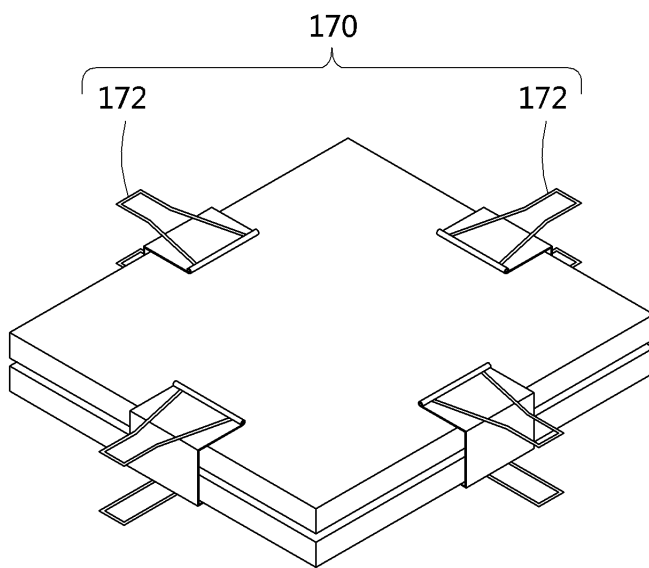
도면3



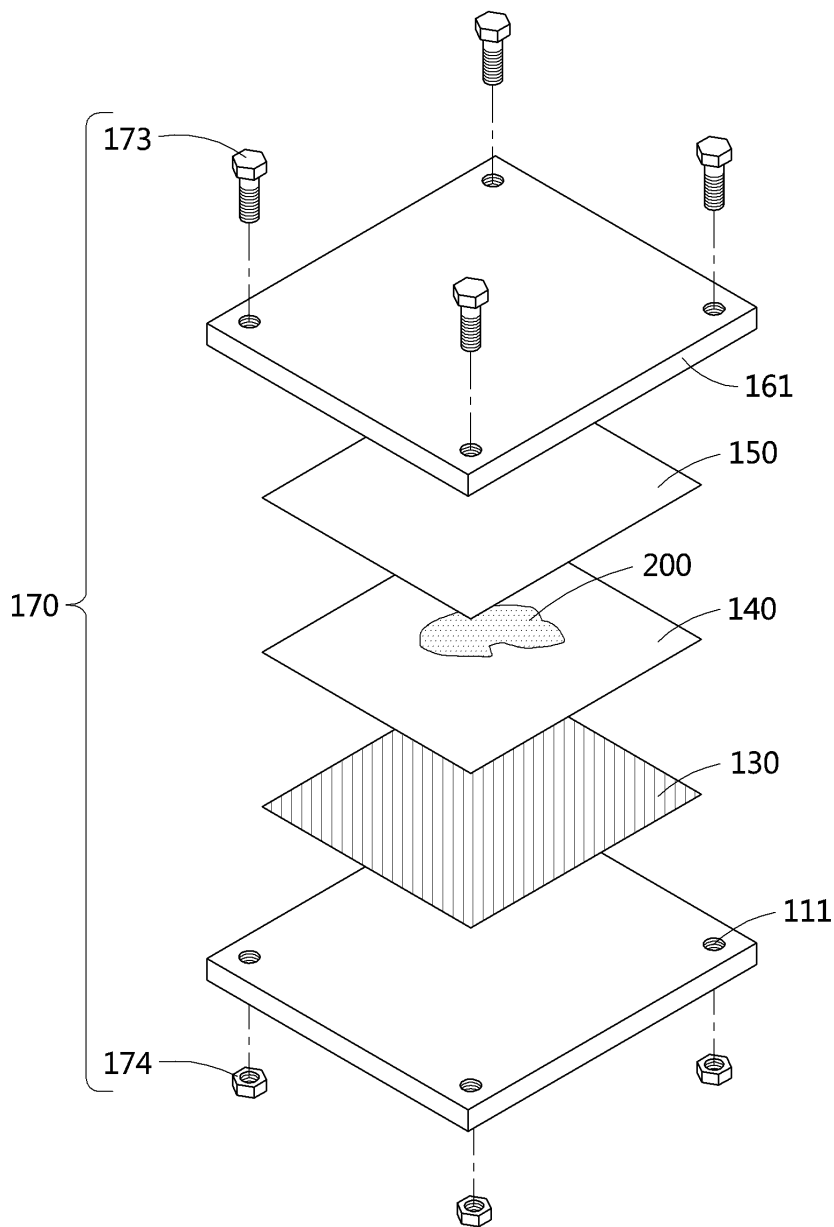
도면4



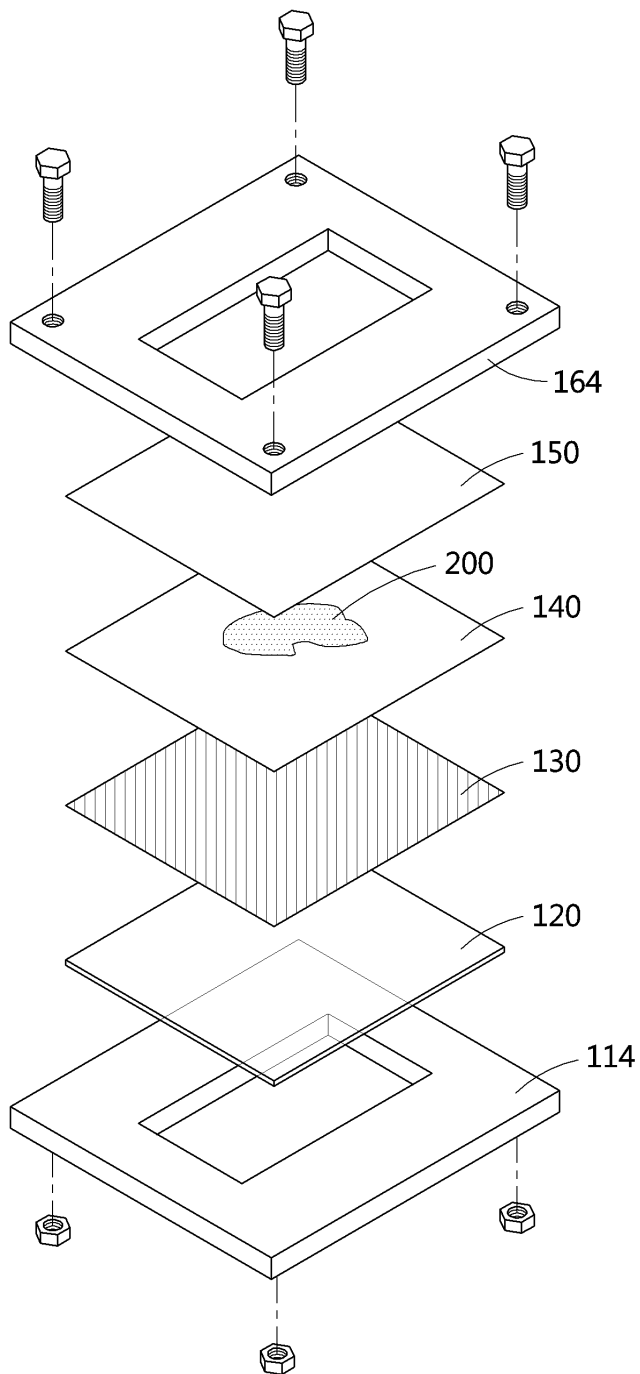
도면5



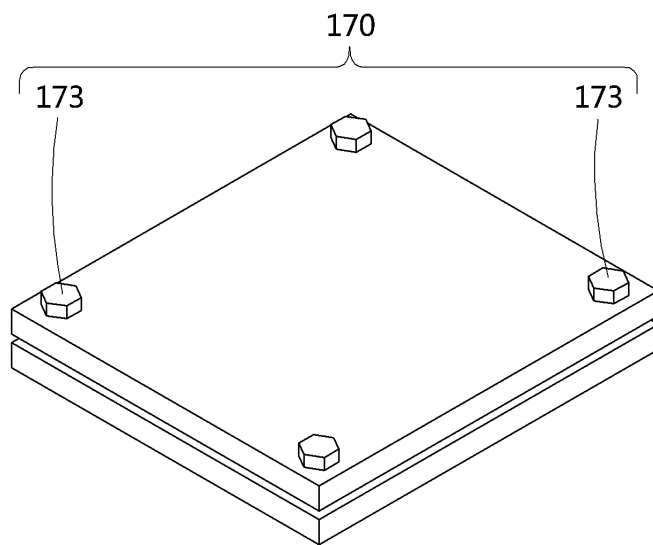
도면6



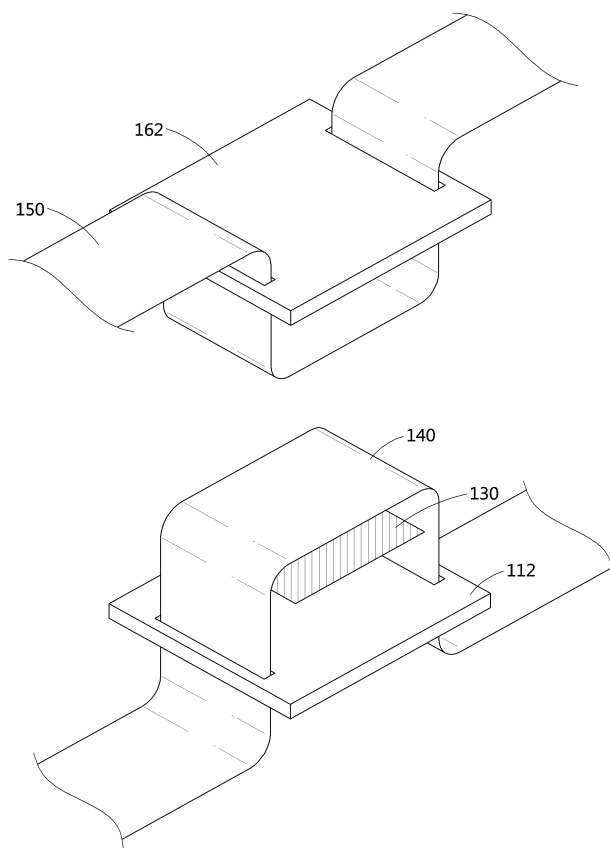
도면7



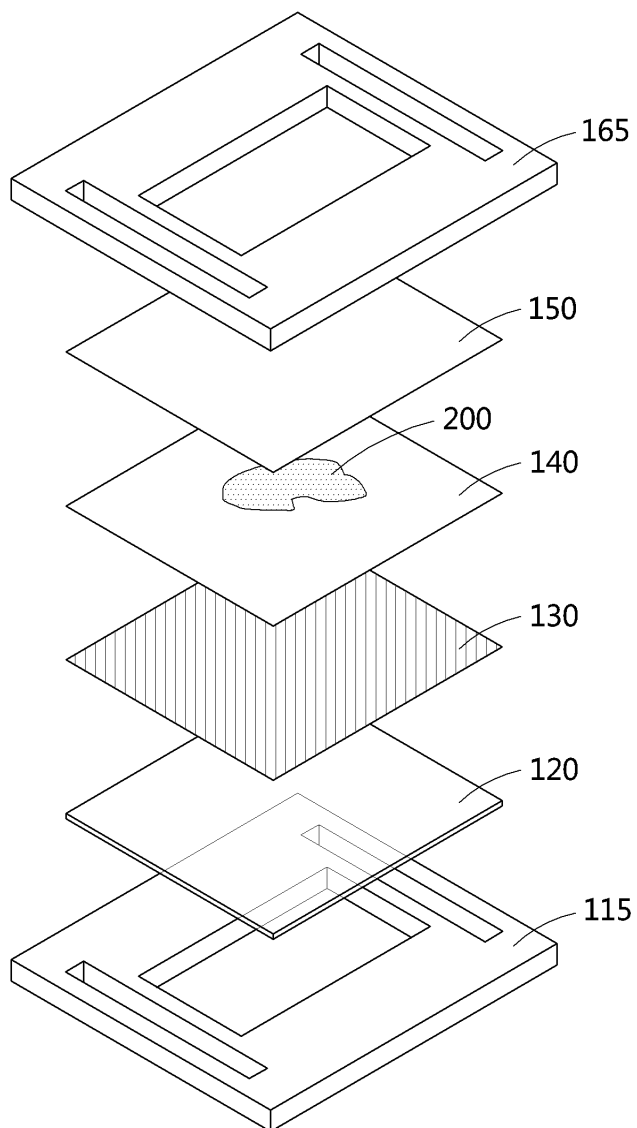
도면8



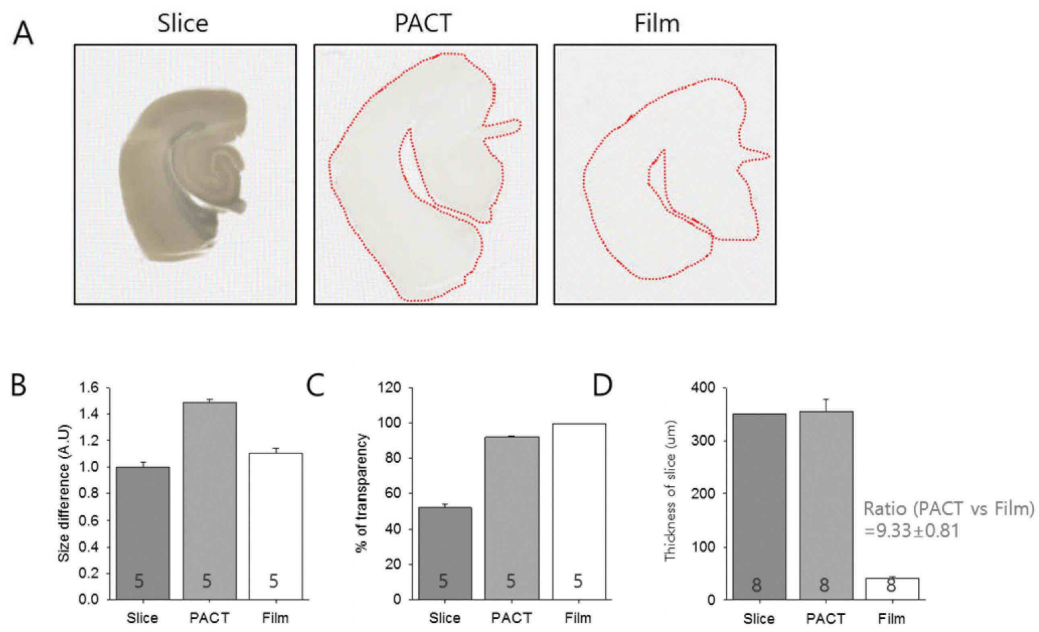
도면9



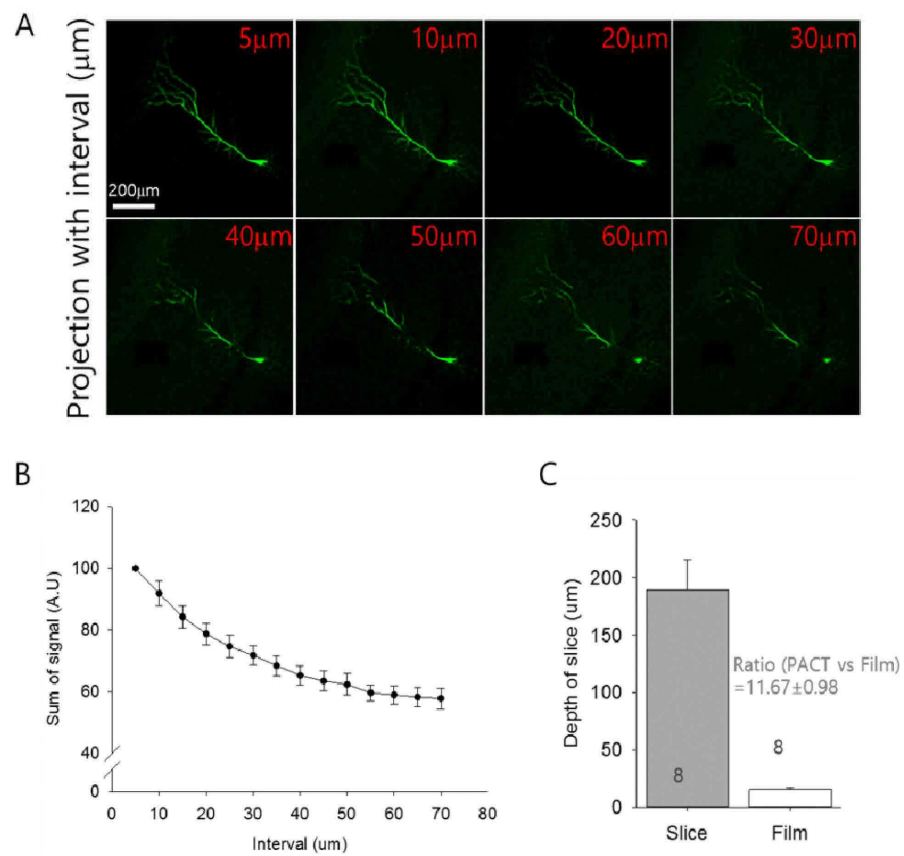
도면10



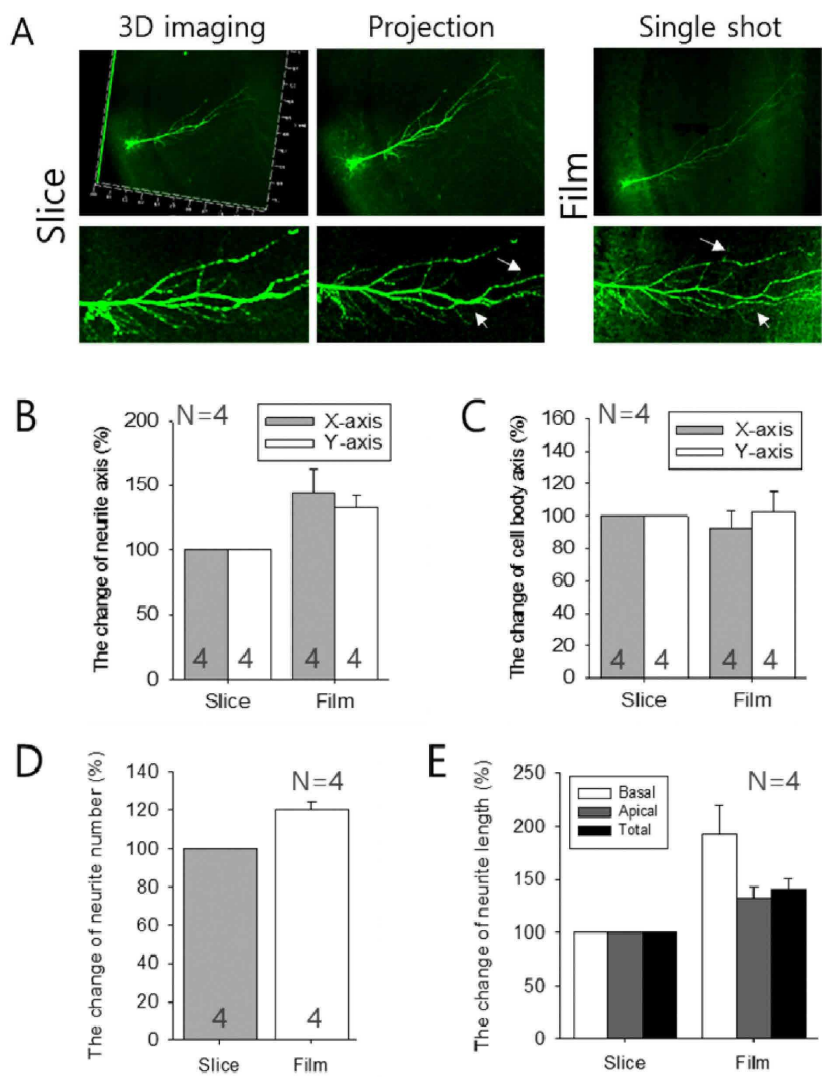
도면11



도면12



도면13



도면14

