(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0158625
(43) 공개일자 2024년11월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 21/84 (2006.01) *G01N 21/64* (2006.01)
G01N 33/483 (2006.01) *G01N 33/58* (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 21/8483 (2013.01)
G01N 21/6428 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-0055539
(22) 출원일자 2023년04월27일
심사청구일자 2023년04월27일

(71) 출원인
세종대학교산학협력단
서울특별시 광진구 능동로 209 (군자동, 세종대학교)
(72) 발명자
권보미
서울특별시 강남구 삼성로 150, 107동 108호 (대치동, 한보미도맨션)
문은이
서울특별시 성동구 성수이로 137, 110동 703호 (성수동2가, 성수동아이파크)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
유병욱

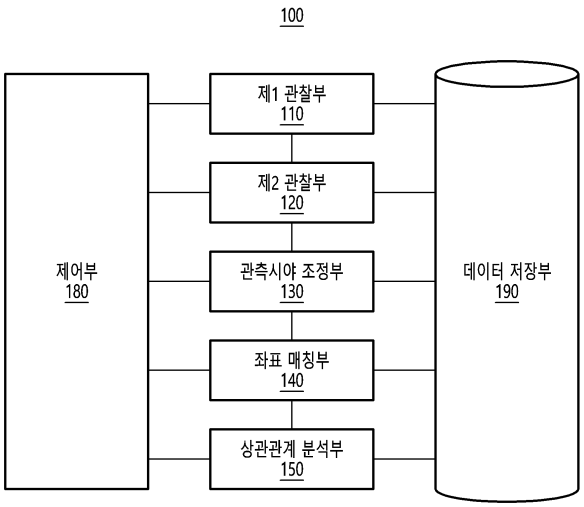
전체 청구항 수 : 총 9 항

(54) 발명의 명칭 **하이브리드 세포 분석 시스템 및 방법**

(57) 요 약

본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템은, 생세포 이미징을 통해 세포의 동적 인자를 관찰하는 제1 관찰부; 상기 세포의 생물학적 인자를 관찰하는 제2 관찰부; 상기 제1 관찰부의 관측시야 및 상기 제2 관찰부의 관측시야를 조정하는 관측시야 조정부; 상기 제1 관찰부에서 관측되는 세포의 관측 위치와 상기 제2 관찰부에서 관측되는 세포의 관측 위치를 일치시키는 좌표 매칭부; 및 상기 제1 관찰부에서 얻은 상기 세포의 동적 인자와 상기 제2 관찰부에서 얻은 상기 세포의 생물학적 인자 사이의 상관관계를 도출하는 상관관계 분석부;를 포함할 수 있다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
G01N 21/6456 (2013.01)
G01N 21/6486 (2013.01)
G01N 33/4833 (2013.01)
G01N 33/582 (2013.01)
G01N 2021/6439 (2013.01)
(72) 발명자
정아라
서울특별시 송파구 오금로 54길 10, 현대 1차, 104동 621호

김희진
서울특별시 마포구 월드컵북로12길 24 (성산동)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711182365
과제번호 2022R1A2C2010940
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 개인기초연구
연구과제명 세포의 형태-운동-힘 (MMF) 통합 고속 스크리닝 시스템 개발 및 이를 활용한 암 전이와 관련된 후성유전제어법 제시
기 여 율 1/2
과제수행기관명 세종대학교
연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.29
이 발명을 지원한 국가연구개발사업
과제고유번호 1711187580
과제번호 2021R1A4A5033289
부처명 과학기술정보통신부
과제관리(전문)기관명 한국연구재단
연구사업명 집단연구지원
연구과제명 섬모기반 종양내 생화학적-기계적 요소 융합제어 기초연구실
기 여 율 1/2
과제수행기관명 세종대학교
연구기간 2023.03.01 ~ 2024.02.29

명 세 서

청구범위

청구항 1

생세포 이미징을 통해 세포의 동적 인자를 관찰하는 제1 관찰부;

상기 세포의 생물학적 인자를 관찰하는 제2 관찰부;

상기 제1 관찰부의 관측시야 및 상기 제2 관찰부의 관측시야를 조정하는 관측시야 조정부;

상기 제1 관찰부에서 관측되는 세포의 관측 위치와 상기 제2 관찰부에서 관측되는 세포의 관측 위치를 일치시키는 좌표 매칭부; 및

상기 제1 관찰부에서 얻은 상기 세포의 동적 인자와 상기 제2 관찰부에서 얻은 상기 세포의 생물학적 인자 사이의 상관관계를 도출하는 상관관계 분석부;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 하이브리드 세포 분석 시스템.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 제1 관찰부는 생세포 이미징을 통해 상기 세포의 배양 시간 경과에 따라 상기 세포를 인식하고 추적하여 상기 세포의 동적 특성 또는 움직임을 분석하는 것을 특징으로 하는 하이브리드 세포 분석 시스템.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 제2 관찰부는,

상기 제1 관찰부에서 생세포 이미징이 완료된 상기 세포를 고정하고, 상기 세포에서 관찰하려는 생물학적 인자를 표지자로 염색하며, 상기 표지자를 이용한 고배율 이미지에서 상기 표지자의 신호를 인식하거나 마커를 띠고 있는 세포를 추출하고 마커의 유무에 따라 세포를 분류하는 것을 특징으로 하는 하이브리드 세포 분석 시스템.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 제2 관찰부는, 관측배율이 저배율에서 고배율로 바뀜에 따라 관측시야의 이미지 중심에서부터 주변으로 이미지 영역을 넓히면서 이미지 스티칭을 수행하는 것을 특징으로 하는 하이브리드 세포 분석 시스템.

청구항 5

제4항에 있어서,

상기 상관관계 분석부는,

상기 제1 관찰부에서 얻은 가장 마지막 시점의 이미지와 상기 제2 관찰부에서 얻은 고배율 이미지를 정합하여 세포의 분류 또는 마커의 유무에 따라 세포의 동적 데이터를 분류하거나, 상기 제2 관찰부에서 획득한 마커의 신호의 존재 여부 또는 신호의 크기와 상기 제1 관찰부에서 획득한 세포의 동적인 움직임과 관련된 변수 사이의 상관관계를 도출하는 것을 특징으로 하는 하이브리드 세포 분석 시스템.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 관측시야 조정부는, 상기 제2 관찰부의 관측시야는 상기 제1 관찰부의 관측시야 보다 줄이고 상기 제2 관찰부의 관측배율은 상기 제1 관측부의 관측배율 보다 높이고,

상기 좌표 매칭부는, 상기 제1 관찰부에서 얻은 가장 마지막 시점의 이미지와 상기 제2 관찰부에서 얻은 이미지가 일치하도록 상기 제2 관찰부의 관측 위치를 상기 제1 관찰부의 관측 위치로 되돌리거나 일치시키는 것을 특징으로 하는 하이브리드 세포 분석 시스템.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 제1 관찰부 또는 상기 제2 관찰부는,

상기 세포를 배양하거나 상기 세포를 고정하기 위한 배양접시 및 상기 세포의 관측 위치 또는 각도가 고정되도록 상기 배양접시가 장착 고정되는 지그를 포함하며,

상기 지그는,

상기 배양접시의 상단이 위치하는 상부장착홀이 형성된 상부지그 및 상기 상부지그의 하부에 결합되며 상기 배양접시의 하단이 위치하는 하부장착홀이 형성된 하부지그를 포함하고,

상기 상부장착홀 및 상기 하부장착홀의 가장자리에는 각각 상기 배양접시의 상단 및 하단을 가압하는 상부단턱부 및 하부단턱부가 형성되는 것을 특징으로 하는 하이브리드 세포 분석 시스템.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템을 이용한 하이브리드 세포 분석 방법에 있어서,

지그에 세포 배양접시를 고정하고 세포를 배양하는 배양접시 고정 및 세포 배양 단계;

상기 지그에 고정된 상기 배양접시를 관측하여 세포에 대한 저배율 광시야 세포 이미징을 수행하는 광시야 세포 이미징 단계;

저배율 세포 이미지로부터 세포의 동적 인자를 도출하는 동적 인자 분석 단계;

상기 배양접시에서 배양액을 걷어내고 세포를 고정하며, 고정된 세포에서 관찰하려는 생물학적 인자를 표지자로 염색하는 세포 고정 및 염색 단계;

관측배율을 높인 후 상기 지그에 고정된 상기 배양접시를 관측하기 위해 상기 광시야 세포 이미징의 마지막 시점의 관측 위치로 돌아가는 이미징 좌표 매칭 단계;

고배율 협시야의 이미지 중심에서부터 주변으로 이미지 영역을 넓히면서 이미지 스티칭을 수행하는 협시야 세포 이미징 단계; 및

저배율 세포 이미지와 고배율 세포 이미지 사이의 상관관계를 도출하는 상관관계 분석 단계;

를 포함하는 것을 특징으로 하는 하이브리드 세포 분석 방법.

청구항 9

제8항에 있어서,

상기 상관관계 분석 단계에서는,

상기 광시야 세포 이미징 단계에서 얻은 가장 마지막 시점의 이미지와 상기 협시야 세포 이미징 단계에서 얻은 고배율 이미지를 정합하여 세포의 분류 또는 마커의 유무에 따라 세포의 동적 데이터를 분류하거나, 상기 협시야 세포 이미징 단계에서 획득한 마커의 신호의 존재 여부 또는 신호의 크기와 상기 광시야 세포 이미징 단계에서 획득한 세포의 동적인 움직임과 관련된 변수 사이의 상관관계를 도출하는 것을 특징으로 하는 하이브리드 세포 분석 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 하이브리드 세포 분석 시스템 및 방법에 관한 것으로, 보다 상세하게는 세포 이동이라는 동적 인자와 세포 내 단백질이나 마커와 같은 생물학적 인자 사이의 상관관계를 시각화하여, 동적 인자와 생물학적 인자 사이의 상관관계를 측정할 수 있는 하이브리드 세포 분석 시스템 및 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0003] 세포 이동(migration)은 발생(development), 상처치유(wound healing), 암 전이(cancer metastasis)와 같이 다양한 생·병리적 과정과 직결된 중요한 세포 활동을 의미한다. 따라서, 생명과학, 의학 등과 같은 분야의 다양한 연구에는 이러한 세포 이동을 다양한 광학적인 방법을 이용하여 관찰하고 있다.

[0004] 세포의 이동을 관찰하기 위해서는 세포를 장시간 동적으로 관찰하는 방법이 필요하며, 장시간의 세포 이미징이 필요하므로 세포에 최대한 영향이 없도록 강한 에너지를 가지는 레이저를 광원으로 사용하는 현미경 보다는 주로 위상차 현미경(phase-contrast microscope) 또는 명시야 현미경(bright-field microscope) 등을 일반적으로 사용한다.

[0005] 그러나, 기존의 실험 방법에서는 이러한 세포의 이동 양상을 특정 신호의 활성이나 단백질의 상/하향조절과 직접적으로 연관시키는 것이 어렵다는 문제가 있다.

[0006] 기존의 세포 내 단백질을 측정하는 방법은 정해진 종말점(endpoint)에서 세포를 수거(harvest)하여 용해(lysis)하거나 고정(fixation)한 후에 원하는 세포 내의 단백질의 발현량을 측정하는 방법을 활용하였다. 그러나, 세포를 용해하는 방법의 경우는 세포 개개의 특징을 특정하기 어려우며, 특히, 매우 이질적인(heterogeneous) 세포 집단 내에서는 세포 내 신호가 전체 세포에서 측정된 평균 신호에 묻혀서 측정 자체가 어려울 수 있다. 또한, 세포를 고정하여 면역 염색하는 경우도 염색하는 과정을 거쳐야 하는 관계로 고정 전의 세포 개개의 움직임과 특정 단백질 발현과의 연관을 짓기 어려운 문제가 있다.

[0007] 이처럼, 관찰 대상인 세포의 이동 양상과 같은 동적인 인자와 관찰하고자 하는 세포 내 단백질 발현과 같은 생물학적 인자 사이의 직접적인 상관성을 쉽게 알기는 매우 어렵다.

[0008] 이러한 종말점 측정 방법 외에도 최근에는 관찰하고자 하는 단백질 마커에 녹색형광단백질(green fluorescence protein, GFP)과 같은 형광표지자(labeling agent)를 부착하는 방법을 사용하여 세포의 움직임과 마커의 발현 정도를 동시에 관찰하는 방법도 존재한다. 특히, 다양하게 개발된 유전자 도입법 등을 통해 정교하게 원하는 단백질에 형광단백질을 도입하는 것이 가능해 졌다. 그러나, 이러한 형광표지자를 활용하는 경우에도 세포의 이동 양상과 단백질 발현을 동시에 관찰하는 것이 불가능한 경우가 존재한다. 이것은 세포의 이동 양상을 관찰하기 위하여 사용하는 관측시야(field of view)와 특정 단백질의 발현 여부를 관찰하기 위하여 사용하는 관측시야가 맞지 않는 경우에 발생한다.

[0009] 세포 내 단백질 발현과 같은 생물학적 인자를 확인하기 위해서는 주로 40 ~ 100x 배율의 대물렌즈로 수 μm ~ 수십 μm 정도의 좁은 관측시야 내에서 이미징을 진행하지만, 세포 이동을 관찰하기 위해서는 주로 가로세로 수백 μm 정도의 넓은 관측시야가 필요하다.

[0010] 이와 같이 기존의 방법으로는 세포의 이동과 같은 세포의 동적인 특징과 단백질 발현과 같은 종말점에서 관찰하는 마커 사이의 직접적인 상관성 시각적으로 확인하기는 매우 어렵다는 한계가 있다.

[0011] 종래기술의 경우에는, 표지자(labeling agent) 없이는 세포움직임과 같은 동적 요소와 단백질 발현과 같은 생물

학적 요소 간의 직접적 상관관계를 관찰하기 어렵고, 표지자를 사용하더라도 동적 인자를 관찰할 수 있는 관측시야(field of view)와 생물학적 인자를 관찰할 수 있는 관측시야 사이의 불일치로 인하여 둘 사이의 상관관계를 직접 시각화하기 어려운 문제가 있다.

[0012] 본 출원인은, 상기와 같은 문제점을 해결하기 위하여, 본 발명을 제안하게 되었다.

선행기술문헌

특허문헌

[0014] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-0947398호(2010.03.05. 등록)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0015] 본 발명은 상기의 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로서, 세포 이동이라는 동적 인자와 세포 내 단백질이나 마커와 같은 생물학적 인자 사이의 상관관계를 시각화하여, 동적 인자와 생물학적 인자 사이의 상관관계를 측정할 수 있는 하이브리드 세포 분석 시스템 및 방법을 제공한다.

[0016] 본 발명은 생세포 이미징이라는 동적 측정법과 세포 고정 후 관찰하고자 하는 마커에 표지자를 부착하는 종말점 측정법을 결합하고 정렬하는 하이브리드 세포 분석 시스템 및 방법을 제공한다.

[0018] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제(들)로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제(들)은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0020] 상기한 바와 같은 과제를 달성하기 위한 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템은, 생세포 이미징을 통해 세포의 동적 인자를 관찰하는 제1 관찰부; 상기 세포의 생물학적 인자를 관찰하는 제2 관찰부; 상기 제1 관찰부의 관측시야 및 상기 제2 관찰부의 관측시야를 조정하는 관측시야 조정부; 상기 제1 관찰부에서 관측되는 세포의 관측 위치와 상기 제2 관찰부에서 관측되는 세포의 관측 위치를 일치시키는 좌표 매칭부; 및 상기 제1 관찰부에서 얻은 상기 세포의 동적 인자와 상기 제2 관찰부에서 얻은 상기 세포의 생물학적 인자 사이의 상관관계를 도출하는 상관관계 분석부;를 포함할 수 있다.

[0021] 상기 제1 관찰부는 생세포 이미징을 통해 상기 세포의 배양 시간 경과에 따라 상기 세포를 인식하고 추적하여 상기 세포의 동적 특성 또는 움직임을 분석할 수 있다.

[0022] 상기 제2 관찰부는, 상기 제1 관찰부에서 생세포 이미징이 완료된 상기 세포를 고정하고, 상기 세포에서 관찰하려는 생물학적 인자를 표지자로 염색하며, 상기 표지자를 이용한 고배율 이미지에서 상기 표지자의 신호를 인식하거나 마커를 띠고 있는 세포를 추출하고 마커의 유무에 따라 세포를 분류할 수 있다.

[0023] 상기 제2 관찰부는, 관측배율이 저배율에서 고배율로 바뀜에 따라 관측시야의 이미지 중심에서부터 주변으로 이미지 영역을 넓히면서 이미지 스티칭을 수행할 수 있다.

[0024] 상기 상관관계 분석부는, 상기 제1 관찰부에서 얻은 가장 마지막 시점의 이미지와 상기 제2 관찰부에서 얻은 고배율 이미지를 정합하여 세포의 분류 또는 마커의 유무에 따라 세포의 동적 데이터를 분류하거나, 상기 제2 관찰부에서 획득한 마커의 신호의 존재 여부 또는 신호의 크기와 상기 제1 관찰부에서 획득한 세포의 동적인 움직임과 관련된 변수 사이의 상관관계를 도출할 수 있다.

[0025] 상기 관측시야 조정부는, 상기 제2 관찰부의 관측시야는 상기 제1 관찰부의 관측시야 보다 줄이고 상기 제2 관찰부의 관측배율은 상기 제1 관측부의 관측배율 보다 높이고, 상기 좌표 매칭부는, 상기 제1 관찰부에서 얻은 가장 마지막 시점의 이미지와 상기 제2 관찰부에서 얻은 이미지가 일치하도록 상기 제2 관찰부의 관측 위치를

상기 제1 관찰부의 관측 위치로 되돌리거나 일치시킬 수 있다.

[0026] 상기 제1 관찰부 또는 상기 제2 관찰부는, 상기 세포를 배양하거나 상기 세포를 고정하기 위한 배양접시 및 상기 세포의 관측 위치 또는 각도가 고정되도록 상기 배양접시가 장착 고정되는 지그를 포함하며, 상기 지그는, 상기 배양접시의 상단이 위치하는 상부장착홀이 형성된 상부지그 및 상기 상부지그의 하부에 결합되며 상기 배양접시의 하단이 위치하는 하부장착홀이 형성된 하부지그를 포함하고, 상기 상부장착홀 및 상기 하부장착홀의 가장자리에는 각각 상기 배양접시의 상단 및 하단을 가압하는 상부단턱부 및 하부단턱부가 형성될 수 있다.

[0027] 한편, 발명의 다른 분야에 의하면, 본 발명은, 상기한 하이브리드 세포 분석 시스템을 이용한 하이브리드 세포 분석 방법에 있어서, 지그에 세포 배양접시를 고정하고 세포를 배양하는 배양접시 고정 및 세포 배양 단계; 상기 지그에 고정된 상기 배양접시를 관측하여 세포에 대한 저배율 광시야 세포 이미징을 수행하는 광시야 세포 이미징 단계; 저배율 세포 이미지로부터 세포의 동적 인자를 도출하는 동적 인자 분석 단계; 상기 배양접시에서 배양액을 걷어내고 세포를 고정하며, 고정된 세포에서 관찰하려는 생물학적 인자를 표지자로 염색하는 세포 고정 및 염색 단계; 관측배율을 높인 후 상기 지그에 고정된 상기 배양접시를 관측하기 위해 상기 광시야 세포 이미징의 마지막 시점의 관측 위치로 돌아가는 이미징 좌표 매칭 단계; 고배율 협시야의 이미지 중심에서부터 주변으로 이미지 영역을 넓히면서 이미지 스티칭을 수행하는 협시야 세포 이미징 단계; 및 저배율 세포 이미지와 고배율 세포 이미지 사이의 상관관계를 도출하는 상관관계 분석 단계;를 포함하는 하이브리드 세포 분석 방법을 제공할 수 있다.

[0028] 상기 상관관계 분석 단계에서는, 상기 광시야 세포 이미징 단계에서 얻은 가장 마지막 시점의 이미지와 상기 협시야 세포 이미징 단계에서 얻은 고배율 이미지를 정합하여 세포의 분류 또는 마커의 유무에 따라 세포의 동적 데이터를 분류하거나, 상기 협시야 세포 이미징 단계에서 획득한 마커의 신호의 존재 여부 또는 신호의 크기와 상기 광시야 세포 이미징 단계에서 획득한 세포의 동적인 움직임과 관련된 변수 사이의 상관관계를 도출할 수 있다.

[0030] 기타 실시예들의 구체적인 사항들은 상세한 설명 및 첨부 도면들에 포함되어 있다.

발명의 효과

[0032] 본 발명에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템 및 방법은 생명의 발생, 상처치유, 질병의 전이와 같이 다양한 생·병리적 과정과 직결된 중요한 세포 활동과 관련된 동적 인자와 생물학적 중요 마커 간의 상관관계를 직접적으로 밝힐 수 있기 때문에 바이오 및 의학 분야의 다양한 난제를 풀어낼 수 있는 솔루션을 제공할 수 있다.

[0033] 본 발명에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템 및 방법은 실험실에서 다루는 이동성을 가진 모든 포유류 세포에 적용될 수 있다.

[0034] 본 발명에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템 및 방법은 현미경이 제공해 줄 수 있는 채널의 종류에 따라 동시에 3-4가지의 마커를 동시에 표지하여 관찰하는 것도 가능하다.

도면의 간단한 설명

[0036] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템의 구성을 예시적으로 보여주는 도면이다.

도 2는 도 1에 따른 시스템의 제1 및 제2 관찰부에 포함되는 지그 및 배양접시를 이용하여 세포를 배양하는 과정을 보여주는 도면이다.

도 3은 도 1에 따른 시스템의 제1 관찰부에 의해 세포의 동적 인자를 관찰하는 과정을 보여주는 도면이다.

도 4는 도 1에 따른 시스템의 제1 관찰부에 의해 세포의 동적 인자를 관찰한 후 세포를 고정 및 염색하는 과정을 보여주는 도면이다.

도 5는 도 1에 따른 시스템의 제2 관찰부에 의해 세포의 생물학적 인자를 관찰하는 과정을 보여주는 도면이다.

도 6은 도 1에 따른 시스템의 상관관계 분석부에 의해 동적 인자와 생물학적 인자의 상관관계를 도출하는 과정

을 보여주는 도면이다.

도 7 및 도 8은 도 2에 따른 지그를 보여주는 단면도이다.

도 9는 도 1에 따른 시스템을 이용한 하이브리드 세포 분석 방법을 설명하기 위한 순서도이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 명세서에 개시된 실시 예를 상세히 설명하되, 동일하거나 유사한 구성요소에는 동일, 유사한 도면 부호를 부여하고 이에 대한 중복되는 설명은 생략하기로 한다. 이하의 설명에서 사용되는 구성요소에 대한 접미사 "부"는 명세서 작성의 용이함만이 고려되어 부여되거나 혼용되는 것으로서, 그 자체로 서로 구별되는 의미 또는 역할을 갖는 것은 아니다. 또한, 본 명세서에 개시된 실시 예를 설명함에 있어서 관련된 공지 기술에 대한 구체적인 설명이 본 명세서에 개시된 실시 예의 요지를 흐릴 수 있다고 판단되는 경우 그 상세한 설명을 생략한다. 또한, 첨부된 도면은 본 명세서에 개시된 실시 예를 쉽게 이해할 수 있도록 하기 위한 것일 뿐, 첨부된 도면에 의해 본 명세서에 개시된 기술적 사상이 제한되지 않으며, 본 발명의 사상 및 기술 범위에 포함되는 모든 변경, 균등물 내지 대체물을 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0038] 제1, 제2 등과 같이 서수를 포함하는 용어는 다양한 구성요소들을 설명하는데 사용될 수 있지만, 상기 구성요소들은 상기 용어들에 의해 한정되지는 않는다. 상기 용어들은 하나의 구성요소를 다른 구성요소로부터 구별하는 목적으로만 사용된다.

[0039] 어떤 구성요소가 다른 구성요소에 "연결되어" 있다고 언급된 때에는, 그 다른 구성요소에 직접적으로 연결되어 있을 수도 있지만, 중간에 다른 구성요소가 존재할 수도 있다고 이해되어야 할 것이다.

[0040] 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다.

[0041] 본 출원에서, "포함한다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서 상에 기재된 특징, 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것이 존재함을 지정하려는 것이지, 하나 또는 그 이상의 다른 특징들이나 숫자, 단계, 동작, 구성요소, 부품 또는 이들을 조합한 것들의 존재 또는 부가 가능성을 미리 배제하지 않는 것으로 이해되어야 한다.

[0042] 도면들은 개략적이고 축적에 맞게 도시되지 않았다는 것을 일러둔다. 도면에 있는 부분들의 상대적인 치수 및 비율은 도면에서의 명확성 및 편의를 위해 그 크기에 있어 과장되거나 감소되어 도시되었으며 임의의 치수는 단지 예시적인 것이지 한정적인 것은 아니다. 그리고 둘 이상의 도면에 나타나는 동일한 구조물, 요소 또는 부품에는 동일한 참조 부호가 유사한 특징을 나타내기 위해 사용된다.

[0043] 본 발명의 실시예는 본 발명의 이상적인 실시예들을 구체적으로 나타낸다. 그 결과, 도면의 다양한 변형이 예상된다. 따라서 실시예는 도시한 영역의 특정 형태에 국한되지 않으며, 예를 들면 제조에 의한 형태의 변형도 포함한다.

[0045] 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템의 구성을 예시적으로 보여주는 도면, 도 2는 도 1에 따른 시스템의 제1 및 제2 관찰부에 포함되는 지그 및 배양접시를 이용하여 세포를 배양하는 과정을 보여주는 도면, 도 3은 도 1에 따른 시스템의 제1 관찰부에 의해 세포의 동적 인자를 관찰하는 과정을 보여주는 도면, 도 4는 도 1에 따른 시스템의 제1 관찰부에 의해 세포의 동적 인자를 관찰한 후 세포를 고정 및 염색하는 과정을 보여주는 도면, 도 5는 도 1에 따른 시스템의 제2 관찰부에 의해 세포의 생물학적 인자를 관찰하는 과정을 보여주는 도면, 도 6은 도 1에 따른 시스템의 상관관계 분석부에 의해 동적 인자와 생물학적 인자의 상관관계를 도출하는 과정을 보여주는 도면, 도 7 및 도 8은 도 2에 따른 지그를 보여주는 단면도, 도 9는 도 1에 따른 시스템을 이용한 하이브리드 세포 분석 방법을 설명하기 위한 순서도이다.

[0047] 이하에서는 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 실시예에 대해서 상세히 설명하기로 한다.

[0048] 도 1을 참조하면, 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)은, 생세포 이미징을 통해 세포의 동적 인자를 관찰하는 제1 관찰부(110); 세포의 생물학적 인자를 관찰하는 제2 관찰부(120); 제1 관찰부(110)의 관측시야 및 제2 관찰부(120)의 관측시야를 조정하는 관측시야 조정부(130); 제1 관찰부(110)에서 관측되는 세포의 관측 위치와 제2 관찰부(120)에서 관측되는 세포의 관측 위치를 일치시키는 좌표 매칭부(140); 및

제1 관찰부(1100에서 얻은 세포의 동적 인자와 제2 관찰부(120)에서 얻은 세포의 생물학적 인자 사이의 상관관계를 도출하는 상관관계 분석부(150);를 포함할 수 있다.

[0049] 또한, 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)은 구성요소(110~150)의 작동을 제어하는 제어부(180), 구성요소(110~150)에서 생성된 데이터를 저장하는 데이터 저장부(190)를 포함할 수도 있다. 데이터 저장부(190)는 저장된 데이터를 구성요소(110~150)에 전송하거나 구성요소(110~150) 간에 주고 받는 데이터를 저장할 수도 있다.

[0050] 또한, 도시하지는 않았지만, 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)은 구성요소(110~150) 간의 데이터 송수신, 데이터 저장부(190)와의 데이터 송수신 또는 외부기기와의 데이터 송수신을 위한 무선 통신부(미도시)를 포함할 수도 있다.

[0051] 한편, 도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)의 구성을 개념적으로 보여주는 것으로서, 각 구성요소(110~150)는 다양한 형태의 하드웨어 등으로 구현될 수 있다. 또한, 구성요소(110~150) 중 일부는 통합되어 형성되거나 일체로 형성될 수도 있고, 공통적인 하드웨어를 공유할 수도 있다.

[0052] 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)은, 저배율의 넓은 관측시야에서 생세포 이미징을 통해 세포의 동적 인자를 관찰한 후 관측시야를 줄이는 동시에 대물렌즈의 배율을 높여 동일한 위치에 존재하는 세포의 생물학적 인자를 관찰하는 과정을 모두 수행할 수 있다.

[0053] 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)은 세포 이미징이라는 동적 측정법과 표지자를 활용한 고배율 이미징이라는 종말점 측정법을 순차적으로 이용하여 세포의 이미지 데이터를 획득할 수 있다.

[0054] 이하에서, "하이브리드(hybrid)"는 동적 측정법과 종말점 측정법을 모두 이용하는 것을 의미한다.

[0055] 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)의 제1 관찰부(110)는 동적 측정법을 수행하고, 제2 관찰부(120)는 종말점 측정법을 수행할 수 있다. 즉, 세포의 동적 특성을 분석하는 동적 측정법은 제1 관찰부(110)에 의해서 수행될 수 있고, 세포의 생물학적 인자를 분석하는 종말점 측정법은 제2 관찰부(120)에 의해서 수행될 수 있다.

[0056] 여기서, 제1 관찰부(110)와 제2 관찰부(120)는 개별적인 하드웨어로 구현되거나 일부의 하드웨어를 서로 공유하는 형태로 구현될 수도 있다. 또한, 제1 관찰부(110)와 제2 관찰부(120)는 일체로 형성될 수도 있다. 즉, 제1 관찰부(110)와 제2 관찰부(120)는 일체로 마련된 동일한 하드웨어로 구현될 수 있다. 이 경우, 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)은, 생세포 이미징을 통해 세포의 동적 인자를 관찰하고, 세포의 생물학적 인자를 관찰하는 관찰부(110,120); 관찰부(110,120)의 관측시야를 조정하는 관측시야 조정부(130); 동적 인자 관측시 세포 관측 위치와 생물학적 인자 관측시의 세포 관측 위치를 일치시키는 좌표 매칭부(140); 및 관찰부(110,120)에서 얻은 세포의 동적 인자와 세포의 생물학적 인자 사이의 상관관계를 도출하는 상관관계 분석부(150);를 포함할 수 있다.

[0057] 한편, 제1 관찰부(110)는 생세포 이미징을 통해 세포의 배양 시간 경과에 따른 세포의 동적 특성을 분석할 수 있다. 제1 관찰부(110)는 세포의 순간 움직임이나 형태 변화가 아니라 장시간의(수시간 범위) 움직임을 관측하여 세포의 동적 특성을 분석할 수 있다.

[0058] 제1 관찰부(110)는, 도 2 내지 도 4에 도시된 바와 같이 지그(200), 배양접시(300), 인큐베이터(400), 현미경(500)을 포함하거나 이용하여 생세포 이미징을 수행할 수 있다.

[0059] 도 2 내지 도 4를 참조하면, 제1 관찰부(110) 또는 제2 관찰부(120)는, 세포를 배양하거나 세포를 고정하기 위한 배양접시(300) 및 세포의 관측 위치 또는 각도가 고정되도록 배양접시(300)가 장착 고정되는 지그(200)를 포함할 수 있다.

[0060] 세포의 동적 인자를 관찰하기 위해 생세포 이미징을 수행한 후 생물학적 인자를 관찰하기 위해 세포를 고정하고 염색하는 과정을 거치는 동안 세포의 관측 위치가 바뀌지 않도록 샘플 또는 세포를 담고 있는 배양접시(300, petri dish)의 위치 또는 각도를 고정해 줄 수 있는 지그(200,jig)를 사용한다.

[0061] 본 발명의 일 실시예에 따른 시스템(100)은, 세포의 동적 인자 및 생물학적 인자를 관찰하기 위해 세포를 관측할 때, 배양접시(300)가 고정된 지그(200)를 배양 인큐베이터(400)에 넣거나 현미경(500)에 놓음으로써, 배양접시(300)가 기울어진 상태로 놓이는 등의 문제를 방지할 수 있다.

[0062] 도 7 및 도 8에는 지그(300)의 구조가 예시적으로 도시되어 있다.

[0063] 도 7 및 도 8을 참조하면, 지그(200)는, 배양접시(300)의 상단(310)이 위치하는 상부장착홀(220)이 형성된 상부지그(210) 및 상부지그(210)의 하부에 결합되며 배양접시(300)의 하단이 위치하는 하부장착홀(270)이 형성된 하부지그(260)를 포함할 수 있다.

[0064] 지그(200)는 서로 결합되는 한 쌍의 상부지그(210)와 하부지그(260)를 포함하며, 상부지그(210)와 하부지그(260) 사이에 배양접시(300)를 설치하고 고정함으로써, 세포를 배양하거나 고정하고 관측하는 동안에 배양접시(300)의 각도 또는 위치가 변해서 관측 중인 세포의 위치 등이 변하는 것을 방지할 수 있다.

[0065] 상부지그(210)와 하부지그(260)에는 복수개의 장착홀(220,270)이 각각 형성되며, 배양접시(300)는 장착홀(220,270)에 위치하도록 마련될 수 있다.

[0066] 상부장착홀(220) 및 하부장착홀(270)의 가장자리에는 각각 배양접시(300)의 상단(310) 및 하단(320)을 가압하는 상부단턱부(211) 및 하부단턱부(261)가 형성될 수 있다. 상부단턱부(211) 및 하부단턱부(261)는 각각 상부장착홀(220) 및 하부장착홀(270)의 중심을 향해서 돌출되는 형태로 마련되기 때문에 상부단턱부(211)와 하부단턱부(261) 사이에 배양접시(300)가 끼워져서 고정될 수 있다.

[0067] 상부지그(210) 및 하부지그(260)에는 양자를 서로 결합하거나 고정하기 위한 체결수단(290)이 삽입되는 체결홀(230,280)이 관통 형성될 수 있다. 체결홀(230,280)에 볼트와 같은 체결수단(290)을 삽입하고 체결함으로써 상부지그(210)와 하부지그(260)가 결합될 수 있고, 배양접시(300)는 상부단턱부(211)와 하부단턱부(261) 사이에 단단하게 고정될 수 있다.

[0068] 여기서, 체결수단(290)은 상부지그(210)와 하부지그(260)에 직접적으로 마련되는 반면에, 배양접시(300)에 직접 접촉되지 않는다. 따라서, 체결수단(290)을 체결하는 과정에서 체결수단(290)이 배양접시(300)를 밀어서 배양접시(300)의 위치 또는 각도가 변하는 문제가 발생하지 않는다.

[0069] 배양접시(300)의 하단(320)은 유리(glass)와 같이 투명한 재질로 마련되며, 배양접시(300)의 하단(320)은 하부장착홀(270)에 위치하게 된다. 따라서, 배양접시(300)가 장착 고정된 지그(200)를 도 3의 (a)에 도시된 바와 같이 현미경(500)의 대물렌즈 위에 올리면, 대물렌즈는 하부장착홀(270)을 통해서 배양접시(300)의 하단(320)에 놓인 세포를 관찰할 수 있게 된다.

[0070] 한편, 도 2의 (b) 및 (c)에 도시된 바와 같이, 배양접시(300)가 고정된 지그(200)를 배양 인큐베이터(400)에 넣는데, 인큐베이터(400) 내에서 세포를 히팅(heating)하는 동안 배양액에 증발할 가능성이 있다. 따라서, 배양접시(300)를 덮는 접시커버(360)가 필요한 경우도 있다. 이 경우에, 접시커버(360)도 지그(200)에 설치되어야 한다.

[0071] 도 8에는 접시커버(360)를 설치할 수 있는 지그(200)가 예시적으로 도시되어 있다. 도 8의 (a)를 참조하면, 상부 지그(210)의 상부 장착홀(220)에는 상부단턱부(211)의 수직면과 접촉하도록 접시커버(360)가 삽입될 수 있다. 이때, 접시커버(360)와 상부단턱부(211) 사이에 실링재(sealing material, 미도시)가 삽입될 수도 있다.

[0072] 또한, 도 8의 (b)에 도시된 바와 같이, 상부지그(210)의 상면 중 상부장착홀(220)의 둘레에는 접시커버(360)의 하단이 삽입되는 커버홈(240)이 음각으로 형성될 수 있다. 커버홈(240)에도 실링재(미도시)가 마련될 수 있다.

[0073] 도 8에 도시된 바와 같이, 상부지그(210)에 접시커버(360)를 설치함으로써 배양접시(300)에서 배양액 등이 증발하는 것을 방지할 수 있다.

[0074] 한편, 이산화탄소 등이 배양접시(300)에 공급되어야 하는 경우에는, 접시커버(360)와 상부지그(210)의 실링 상태를 조절하는 것이 필요할 수도 있다. 따라서, 접시커버(360)는 상부지그(210)에 대한 실링 상태 또는 실링 강도를 조절할 수 있도록 상부지그(210)에 마련되는 것이 바람직하다.

[0075] 지그(200)에 배양접시(300)를 고정한 후(도 2의 (a) 참조), 디스펜서(600) 등으로 배양접시(300)에 배양액 등을 주입하고(도 2의 (b) 참조) 배양접시(300)가 고정된 상태의 지그(200)를 인큐베이터(400)에 넣어서 세포를 배양하게 된다.

[0076] 배양이 된 후에 배양접시(300)가 지그(200)에 고정된 상태로 지그(200)를 현미경(500)에 올려 놓고 생세포 이미징을 수행하게 된다(도 3의 (a) 참조). 본 발명의 일 실시예에 따른 시스템(100)의 제1 관찰부(110) 또는 제2 관찰부(120)는 현미경(500)을 포함할 수 있는데, 현미경(500)으로는 위상차 현미경(phase-contrast microscope)이나 명시야 현미경(bright-field microscope) 등이 사용될 수 있다.

[0077] 본 발명의 일 실시예에 따른 시스템(100)의 제1 관찰부(110)는 현미경(500)을 사용해서 배양된 세포에 대해서

생세포 이미징을 수행하여 세포의 동적 특성 또는 세포의 움직임을 관찰하게 된다.

[0078] 세포의 동적 특성을 관찰하기 위해서는 넓은 관측시야를 통해서 장시간 동안 세포를 관찰해야 한다. 세포 이동을 관찰하기 위해서는 가로×세로 수백 μm 정도의 넓은 관측시야가 필요하다. 넓은 관측시야를 위해서는 현미경(500)의 관측배율을 낮춰야 한다. 즉, 현미경(500)이 저배율의 관측배율을 가져야 한다.

[0079] 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)은 관측시야 조정부(130)에 의해서 제1 관찰부(110)에 사용되는 현미경(500)의 배율을 낮춤으로써 제1 관찰부(110)가 넓은 관측시야를 통해서 생세포 이미징을 수행할 수 있다. 여기서, 관측시야 조정부(130)는 현미경(500)과 일체로 마련되거나 현미경(500)에 포함되도록 마련될 수 있다.

[0080] 도 3의 (b)~(e)는 제1 관찰부(110)가 저배율의 넓은 관측시야(광시야, wide vision)를 통해 생세포 이미징을 수행하는 과정을 설명하기 위한 도면이며, P1 및 P2는 저배율 광시야 이미지를 나타낸다. 도 3의 (d)와 (e)는 (b)와 (c)를 확대해서 도시한 도면이다. 이미지 P1과 비교하여 이미지 P2에는 세포(C1)의 이동 경로(T1)가 표현되어 있다. 일정한 관측시간 동안 세포(C1)는 움직이게 되는데, 제1 관찰부(110)는 세포를 인식하고 세포의 움직임을 자동으로 추적하고(auto-tracking) 분석하여 세포의 이동 경로(T1)를 도출할 수 있다.

[0081] 제1 관찰부(110)는 세포의 동적 특성을 분석하여 세포의 이동속도, 이동거리, 터닝앵글, 직선경로를 따라 움직이는지, 곡선경로를 따라 움직이는지 등 동적 인자를 도출할 수 있다.

[0082] 제1 관찰부(110)는 생세포 이미징에서 얻은 데이터를 이용하고 세포를 자동인식(auto-recognition) 및 자동추적(auto -tracking)하는 방법을 통해 세포의 움직임을 자동 분석할 수 있다.

[0083] 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)의 제2 관찰부(120)는 제1 관찰부(110)에서 생세포 이미징이 완료된 세포를 고정하고, 세포에서 관찰하려는 생물학적 인자를 표지자로 염색하며, 표지자를 이용한 고배율 이미징의 이미지 스티칭을 통해 제1 관찰부(110)에서 얻은 가장 마지막 시점의 이미지와 관측시야를 일치시킬 수 있다.

[0084] 도 3이 제1 관찰부(110)에서 동적 인자를 관찰하는 과정을 보여주는 도면이라면, 도 4 및 도 5는 제2 관찰부(120)에서 생물학적 인자를 관찰하는 과정을 보여주는 도면이다.

[0085] 도 4에 도시된 바와 같이, 제2 관찰부(120)는 제1 관찰부(110)에서 생세포 이미징이 완료된 직후 지그(200)에 고정된 배양접시(300) 내 세포를 고정한다. 이때, 생세포 이미징이 완료되자마자 배양접시(300)에서 배양액을 걷어 내고 빠르게 세포를 고정하는 것이 필요하다.

[0086] 제2 관찰부(120)는, 배양접시(300) 내의 세포를 고정한 후 고정된 세포에서 관찰하고자 하는 생물학적 인자(특정 단백질이나 마커)를 표지자로 염색한다(도 4의 (a) 참조). 표지자로 염색된 세포의 배양접시(300)가 지그(200)에 고정된 상태로 지그(200)를 현미경(500)에 올려 두고 관찰을 시작한다(도 4의 (b) 참조).

[0087] 세포 내 단백질 발현과 같은 생물학적 인자를 확인하기 위해서는 40 ~ 100x 배율의 대물렌즈로 수 μm ~ 수십 μm 정도의 좁은 관측시야 내에서 이미징을 진행해야 한다. 따라서, 제2 관찰부(120)는 관측시야 조정부(130)에 의해 현미경(500)의 대물렌즈 배율을 고배율로 변경하여 좁은 관측시야(협시야, narrow vision)로 세포 이미징을 수행하게 된다.

[0088] 이와 같이, 관측시야 조정부(130)는, 제2 관찰부(120)의 관측시야는 제1 관찰부(110)의 관측시야 보다 줄이고 제2 관찰부(120)의 관측배율은 제1 관찰부(110)의 관측배율 보다 높이게 된다.

[0089] 한편, 제1 관찰부(110)에서 얻은 세포의 동적 인자와 제2 관찰부(120)에서 얻은 세포의 생물학적 인자 사이의 상관관계를 도출하거나 분석하기 위해서는 동일한 세포에 대한 이미지를 얻어야 한다. 따라서, 제1 관찰부(110)에서 사용되는 현미경(500)과 제2 관찰부(120)에서 사용되는 현미경(500)의 관측 좌표가 동일해야 한다.

[0090] 제2 관찰부(120)는, 대물렌즈의 배율을 높인 후 지그(200)에 고정된 배양접시(300)를 현미경(500)에 다시 올리고 제1 관찰부(110)에서 생세포 이미징을 수행했던 좌표(관측 위치)로 다시 돌아가야 한다.

[0091] 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)의 좌표 매칭부(140)는, 제1 관찰부(110)에서 얻은 가장 마지막 시점의 이미지와 제2 관찰부(120)에서 얻은 이미지가 일치하도록 제2 관찰부(120)의 관측 위치를 제1 관찰부(110)의 관측 위치로 되돌리거나 일치시킬 수 있다.

[0092] 좌표 매칭부(140)는 관측시야 조정부(130)와 마찬가지로 현미경(500)과 일체로 형성되거나 현미경(500)의 자동

정밀 스테이지(motorized precision stage) 형태로 마련될 수 있다.

[0093] 좌표 매칭부(140)는, 주어진 좌표(관측 위치)에 있는 세포를 최소한의 오차로 반복적으로 추적할 수 있도록 자동 정밀 스테이지(motorized precision stage)를 활용할 수 있다.

[0094] 제2 관찰부(120)는, 관측시야 조정부(130)에 의해 현미경(500)의 배율을 고배율로 올려서 좁은 관측시야(협시야)를 만든 후, 현미경(500)에 지그(200)를 올리고 관측을 하게 된다(도 4의 (b) 참조).

[0095] 도 4의 (d)에서 P3-1는 협시야에서 보이는 이미지를 나타내고 C3는 마커를 띠고 있는 세포를 나타낸다. 도 4의 (c)에서 P3는 여러 개의 P3-1 이미지가 모두 더해진 이미지를 나타낸다.

[0096] 제2 관찰부(120)의 관측시야가 좁아 졌기 때문에 제2 관찰부(102)는 관측시야 변화에 따라 좌표 주변으로 이미징 영역을 넓혀 가면서 이미징을 수행하는 것이 바람직하다. 즉, 제2 관찰부(120)에서의 관측배율이 저배율에서 고배율로 바뀜에 따라 제2 관찰부(120)는 관측시야의 이미지 중심에서부터 주변으로 이미지 영역을 넓히면서 이미지 스티칭(image stitching)을 수행할 수 있다. 예를 들면, 도 4의 (c)와 같은 이미지를 얻은 경우 제2 관찰부(120)의 좁아진 관측시야(협시야)에는 도 4의 (d)와 같은 이미지만 보이기 때문에, 도 4의 (c)에 도시된 이미지의 중심에서부터 주변으로 이동하면서 이미징 영역을 넓혀가야 한다.

[0097] 제2 관찰부(120)는 세포에 염색된 표지자를 이용한 고배율 이미지에서 표지자의 신호를 인식하거나 마커를 띠고 있는 세포를 추출하고 마커의 유무에 따라 세포를 분류할 수 있다.

[0098] 도 5에는, 제2 관찰부(120)에서 얻은 고배율 협시야 이미지가 도시되어 있다. 도 5의 (a)에서 C2는 마커를 띠고 있지 않은 세포를 나타내고, C3는 마커를 띠고 있는 세포를 나타낸다. 도 5의 (a)에는 종말점에서 표지자를 활용한 고배율 이미징 후 이미지 스티칭을 통해 저배율 이미지와의 관측시야를 일치시킨 이미지가 도시되어 있다.

[0099] 제2 관찰부(120)는 도 5의 (a)에 도시된 바와 같은 이미지에서 고배율로 생물학적 인자를 측정할 수 있다. 제2 관찰부(120)는 도 5의 (a)에 도시된 바와 같은 이미지를 도 5의 (b)에 도시된 바와 같은 분석 이미지(P4)로 변환하여, 표지자를 활용한 고배율 이미지에서 표지자의 형광신호 등을 트레스홀딩(tresholding) 등과 같은 방법을 사용하여 자동 인식하고 마커를 띠고 있는 세포를 추출(segmentation)하고 마커의 유무에 따라 세포의 클래스(class)를 분류(classification)할 수 있다.

[0100] 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)의 상관관계 분석부(150)는, 제1 관찰부(110)에서 얻은 가장 마지막 시점의 이미지와 제2 관찰부(120)에서 얻은 고배율 이미지를 정합하여 세포의 분류 또는 마커의 유무에 따라 세포의 동적 데이터를 분류하거나, 제2 관찰부(120)에서 획득한 마커의 신호의 존재 여부 또는 신호의 크기와 제1 관찰부(110)에서 획득한 세포의 동적인 움직임과 관련된 변수 사이의 상관관계를 도출할 수 있다.

[0101] 상관관계 분석부(150)는 제1 관찰부(110)에 의한 동적 측정법에서 얻은 가장 마지막 시점 또는 마지막 프레임(frame) 의 이미지(도 3의 (e) 참조)와 제2 관찰부(120)에 의한 종말점 측정법에서 얻은 이미지(도 5의 (b) 참조)를 정합(registration)할 수 있다. 이때, 상관관계 분석부(150)는 두 이미지(도 3의 (e)와 도 5의 (b)에 도시된 이미지) 간의 교차 상관(cross-correlation) 등과 같은 방법을 활용할 수 있다.

[0102] 상관관계 분석부(150)는 도 3의 (e)에 도시된 이미지와 도 5의 (b)에 도시된 이미지를 정합하여, 마커를 띠고 있는 세포(C3)와 마커를 띠고 있지 않은 세포(C2)의 동적 특성(동적 인자)을 도출해 낼 수 있다. 이와 같이, 상관관계 분석부(150)는 세포의 클래스에 따라 (또는 마커의 존재 유무에 따라) 세포의 동적 데이터를 분류할 수 있다.

[0103] 도 6은 상관관계 분석부(150)의 분석 결과를 예시적으로 보여주는 도면이다. 도 6의 (a)에는, 진한 회색으로 표시된 클래스 1에 속하는 세포(C3)와 연한 회색으로 표시된 클래스 2에 속하는 세포(C2)의 움직임이 표시되어 있다.

[0104] 도 6의 (b)에는, 클래스 1에 속하는 세포(C3)와 클래스 2에 속하는 세포(C2)의 마커의 신호의 크기가 표시되어 있다. 진한 회색으로 표시된 것이 클래스 1에 속하는 세포(C3)의 신호이고, 연한 회색으로 표시된 것이 클래스 2에 속하는 세포(C2)의 신호이다.

[0105] 도 6의 (b)에 도시된 그래프에서, X축은 마커의 존재 여부를 나타내고(즉, 마커가 있는 경우와 없는 경우를 나타냄), Y축은 세포의 이동속도를 나타낸다. 도 6의 (b)에 도시된 그래프의 경우에는 세포의 이동속도만 이용하여 그린 것이지만, 세포의 이동에 따른 다양한 파라미터들도 추가로 추출해 낼 수도 있다. 예를 들면, 세포가

이동하는 중에 보여주는 터닝 앵글(turning angle), 세포의 이동에서 추출한 확산 계수 등의 파라미터들도 추출해 낼 수 있다.

[0106] 이와 같이, 상관관계 분석부(150)는 제2 관찰부(120)에 의한 종말점 측정법에서 획득한 주요 마커의 신호의 존재 여부나 신호의 크기와 동적 측정법에서 획득한 세포의 동적인 움직임과 관련된 다양한 변수들 간의 상관함수를 획득하고 상관관계를 확인할 수 있다.

[0107] 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)은 상관관계 분석부(150)를 구비함으로써, 세포의 이동과 같은 세포의 동적인 특징과 단백질 발현과 같은 종말점에서 관찰하는 마커 사이의 직접적인 상관관계를 시각적으로 제시할 수 있다.

[0108] 상기에서 설명한 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100)은 지그(200)에 배양접시(300)를 고정하는 과정, 지그(200)에 고정된 배양접시(300)에 배양액을 주입하거나 고정 또는 염색하는 과정, 배양접시(300)가 고정된 지그(200)를 배양하는 과정, 제1 관찰부(110)에 의해 동적 측정법을 수행하는 과정, 제2 관찰부(120)에 의해 종말점 측정법을 수행하는 과정을 자동적으로 수행할 수 있다.

[0109] 이상에서 설명된 시스템(장치)은 하드웨어 구성 요소, 소프트웨어 구성 요소, 및/또는 하드웨어 구성 요소 및 소프트웨어 구성 요소의 조합으로 구현될 수 있다. 예를 들어, 실시예들에서 설명된 장치 및 구성 요소는, 예를 들어, 프로세서, 컨트롤러, ALU(arithmetic logic unit), 디지털 신호 프로세서(digital signal processor), 마이크로컴퓨터, FPA(field programmable array), PLU(programmable logic unit), 마이크로프로세서, 또는 명령(instruction)을 실행하고 응답할 수 있는 다른 어떠한 장치와 같이, 하나 이상의 범용 컴퓨터 또는 특수 목적 컴퓨터를 이용하여 구현될 수 있다. 처리 장치는 운영 체제(OS) 및 상기 운영 체제 상에서 수행되는 하나 이상의 소프트웨어 애플리케이션을 수행할 수 있다. 또한, 처리 장치는 소프트웨어의 실행에 응답하여, 데이터를 접근, 저장, 조작, 처리 및 생성할 수도 있다. 이해의 편의를 위하여, 처리 장치는 하나가 사용되는 것으로 설명된 경우도 있지만, 해당 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자는, 처리 장치가 복수 개의 처리 요소(processing element) 및/또는 복수 유형의 처리 요소를 포함할 수 있음을 알 수 있다. 예를 들어, 처리 장치는 복수 개의 프로세서 또는 하나의 프로세서 및 하나의 컨트롤러를 포함할 수 있다. 또한, 병렬 프로세서(parallel processor)와 같은, 다른 처리 구성(processing configuration)도 가능하다.

[0110] 소프트웨어는 컴퓨터 프로그램(computer program), 코드(code), 명령(instruction), 또는 이들 중 하나 이상의 조합을 포함할 수 있으며, 원하는 대로 동작하도록 처리 장치를 구성하거나 독립적으로 또는 결합적으로(collectively) 처리 장치를 명령할 수 있다. 소프트웨어 및/또는 데이터는, 처리 장치에 의하여 해석되거나 처리 장치에 명령 또는 데이터를 제공하기 위하여, 어떤 유형의 기계, 구성요소(component), 물리적 장치, 가상 장치(virtual equipment), 컴퓨터 저장 매체 또는 장치, 또는 전송되는 디지털 신호(digital signal)에 영구적으로, 또는 일시적으로 구체화(embody)될 수 있다. 소프트웨어는 네트워크로 연결된 컴퓨터 시스템 상에 분산되어서, 분산된 방법으로 저장되거나 실행될 수도 있다. 소프트웨어 및 데이터는 하나 이상의 컴퓨터 판독 가능 기록 매체에 저장될 수 있다.

[0112] 한편, 도 9를 참조하면, 본 발명은, 상기한 하이브리드 세포 분석 시스템(100)을 이용한 하이브리드 세포 분석 방법에 있어서, 지그(200)에 세포 배양접시(300)를 고정하고 세포를 배양하는 배양접시 고정 및 세포 배양 단계(1100); 지그(200)에 고정된 배양접시(300)를 관측하여 세포에 대한 저배율 광시야 세포 이미징을 수행하는 광시야 세포 이미징 단계(1200); 저배율 세포 이미지로부터 세포의 동적 인자를 도출하는 동적 인자 분석 단계(1300); 배양접시(300)에서 배양액을 걷어내고 세포를 고정하며, 고정된 세포에서 관찰하려는 생물학적 인자를 표지자로 염색하는 세포 고정 및 염색 단계(1400); 관측배율을 높인 후 지그(200)에 고정된 배양접시(300)를 관측하기 위해 광시야 세포 이미징의 마지막 시점의 관측 위치로 돌아가는 이미징 좌표 매칭 단계(1500); 고배율 협시야의 이미지 중심에서부터 주변으로 이미지 영역을 넓히면서 이미지 스티칭을 수행하는 협시야 세포 이미징 단계(1600); 및 저배율 세포 이미지와 고배율 세포 이미지 사이의 상관관계를 도출하는 상관관계 분석 단계(1700);를 포함하는 하이브리드 세포 분석 방법을 제공할 수 있다.

[0113] 배양접시 고정 및 세포 배양 단계(1100)는, 도 2의 (a)~(c)에 도시된 바와 같은 과정으로 수행될 수 있다.

[0114] 광시야 세포 이미징 단계(1200)는, 도 3의 (a)~(c)에 도시된 바와 같은 과정으로 수행될 수 있으며, 제1 관찰부(110) 및 관측시야 조정부(130)에 의해 수행될 수 있다.

[0115] 동적 인자 분석 단계(1300)는, 도 3의 (d)~(e)에 도시된 바와 같은 과정으로 수행되며, 제1 관찰부(110)에 의해

서 세포의 움직임 특성(속도, 이동거리, 터닝 앵글 등)을 분석해 낼 수 있다.

[0116] 세포 고정 및 염색 단계(1400)는, 도 4의 (a)에 도시된 바와 같은 과정이며 제2 관찰부(120)에 의해 수행될 수 있다.

[0117] 이미징 좌표 매칭 단계(1500)는, 좌표 매칭부(140)에 의해서 수행되며, 제1 관찰부(110)에서 얻은 가장 마지막 시점의 이미지와 제2 관찰부(120)에서 얻은 이미지가 일치하도록 제2 관찰부(120)의 관측 위치를 제1 관찰부(110)의 관측 위치로 되돌리거나 일치시키는 과정이다.

[0118] 협시야 세포 이미징 단계(1600)는, 도 4의 (b)~(d), 도 5의 (a)~(b)에 도시된 바와 같은 과정으로 수행되며, 제2 관찰부(120) 및 관측시야 조정부(130)에 의해서 수행될 수 있다.

[0119] 상관관계 분석 단계(1700)는, 도 6의 (a)~(b)에 도시된 바와 같은 과정으로 수행되며, 상관관계 분석부(150)에 의해서 수행될 수 있다.

[0120] 상관관계 분석 단계(1700)에서는, 광시야 세포 이미징 단계(1200)에서 얻은 가장 마지막 시점의 이미지와 협시야 세포 이미징 단계(1600)에서 얻은 고배율 이미지를 정합하여 세포의 분류 또는 마커의 유무에 따라 세포의 동적 데이터를 분류하거나, 협시야 세포 이미징 단계(1600)에서 획득한 마커의 신호의 존재 여부 또는 신호의 크기와 상기 광시야 세포 이미징 단계(1200)에서 획득한 세포의 동적인 움직임과 관련된 변수 사이의 상관관계를 도출할 수 있다.

[0121] 본 발명의 일 실시예에 따른 하이브리드 세포 분석 방법의 각 단계는 하이브리드 세포 분석 시스템(100)에 관한 설명과 유사하므로 반복적인 설명은 생략한다.

[0122] 실시예에 따른 방법은 다양한 컴퓨터 수단을 통하여 수행될 수 있는 프로그램 명령 형태로 구현되어 컴퓨터 판독 가능 매체에 기록될 수 있다. 상기 컴퓨터 판독 가능 매체는 프로그램 명령, 데이터 파일, 데이터 구조 등을 단독으로 또는 조합하여 포함할 수 있다. 상기 매체에 기록되는 프로그램 명령은 실시예를 위하여 특별히 설계되고 구성된 것들이거나 컴퓨터 소프트웨어 당업자에게 공지되어 사용 가능한 것일 수도 있다. 컴퓨터 판독 가능 기록 매체의 예에는 하드 디스크, 플로피 디스크 및 자기 테이프와 같은 자기 매체(magnetic media), CDROM, 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. 프로그램 명령의 예에는 컴파일러에 의해 만들어지는 것과 같은 기계어 코드뿐만 아니라 인터프리터 등을 사용해서 컴퓨터에 의해서 실행될 수 있는 고급 언어 코드를 포함한다. 상기된 하드웨어 장치는 실시예의 동작을 수행하기 위해 하나 이상의 소프트웨어 모듈로서 작동하도록 구성될 수 있으며, 그 역도 마찬가지이다.

[0124] 상기에서 설명한 본 발명에 따른 하이브리드 세포 분석 시스템(100) 및 방법은, 실험실에서 다루는 이동성을 가진 모든 포유류 세포들을 대상으로 적용 가능하고, 장시간의 세포 움직임을 추적 및 관찰할 수 있는 모든 광학적 관찰 방법을 포함하며, 현미경이 제공해 줄 수 있는 채널의 종류에 따라 동시에 3~4가지의 마커를 동시에 표지하여 관찰하는 것도 가능하다.

[0125] 이상과 같이 본 발명의 일 실시예에서는 구체적인 구성 요소 등과 같은 특정 사항들과 한정된 실시예 및 도면에 의해 설명되었으나 이는 본 발명의 보다 전반적인 이해를 돕기 위해서 제공된 것일 뿐, 본 발명은 상기의 실시예에 한정되는 것은 아니며, 본 발명이 속하는 분야에서 통상적인 지식을 가진 자라면 이러한 기재로부터 다양한 수정 및 변형이 가능하다. 따라서, 본 발명의 사상은 설명된 실시예에 국한되어 정해져서는 아니되며, 후술하는 청구범위뿐 아니라 이 청구범위와 균등하거나 등가적 변형이 있는 모든 것들은 본 발명 사상의 범주에 속한다고 할 것이다.

부호의 설명

[0127] 100: 하이브리드 세포 분석 시스템

110: 제1 관찰부 120: 제2 관찰부

130: 관측시야 조정부 140: 좌표 매칭부

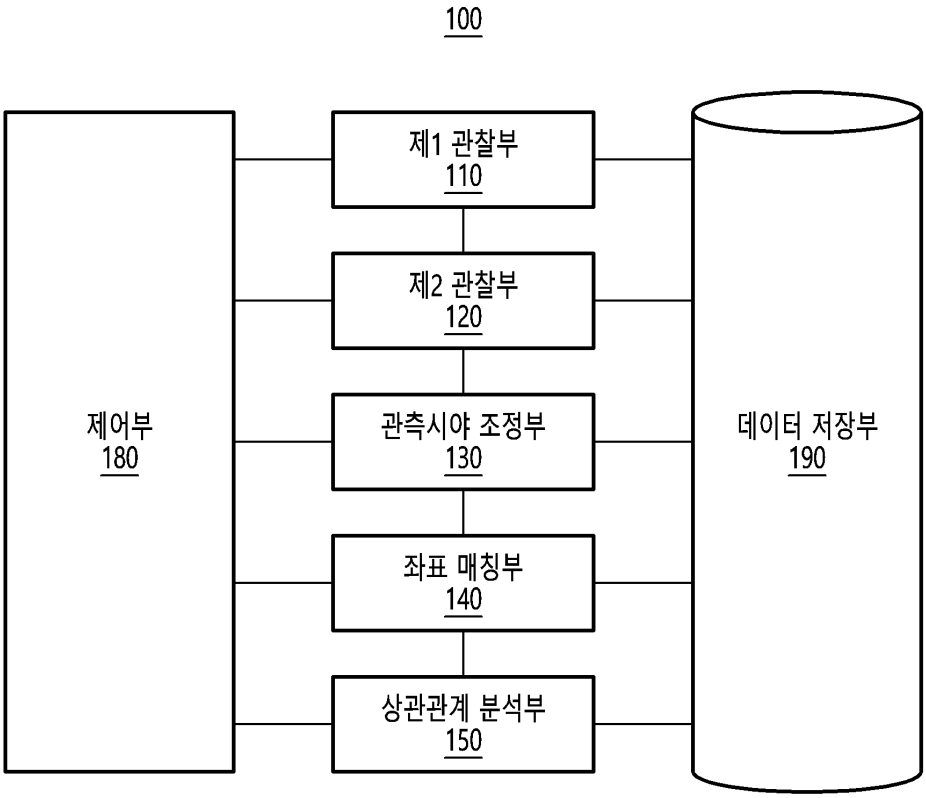
150: 상관관계 분석부 180: 제어부

190: 데이터 저장부 200: 지그

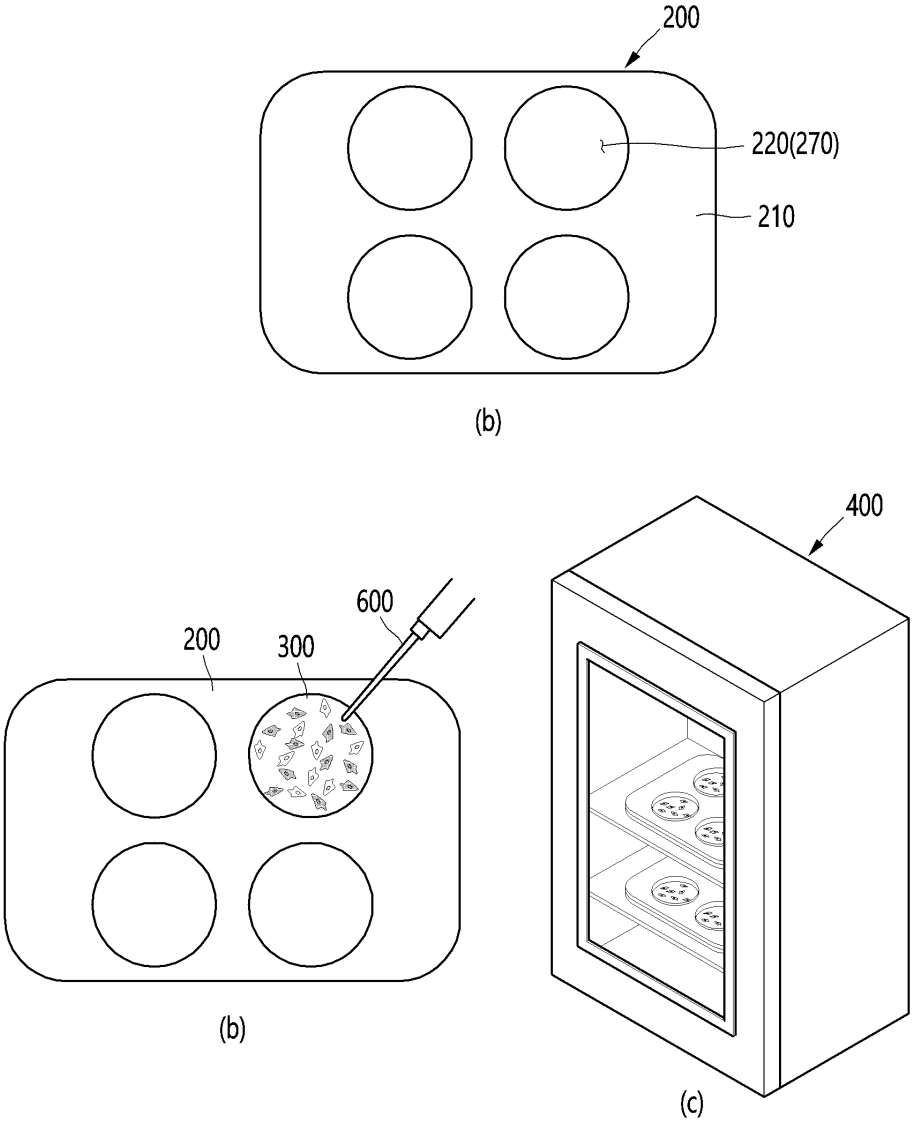
300: 배양접시

도면

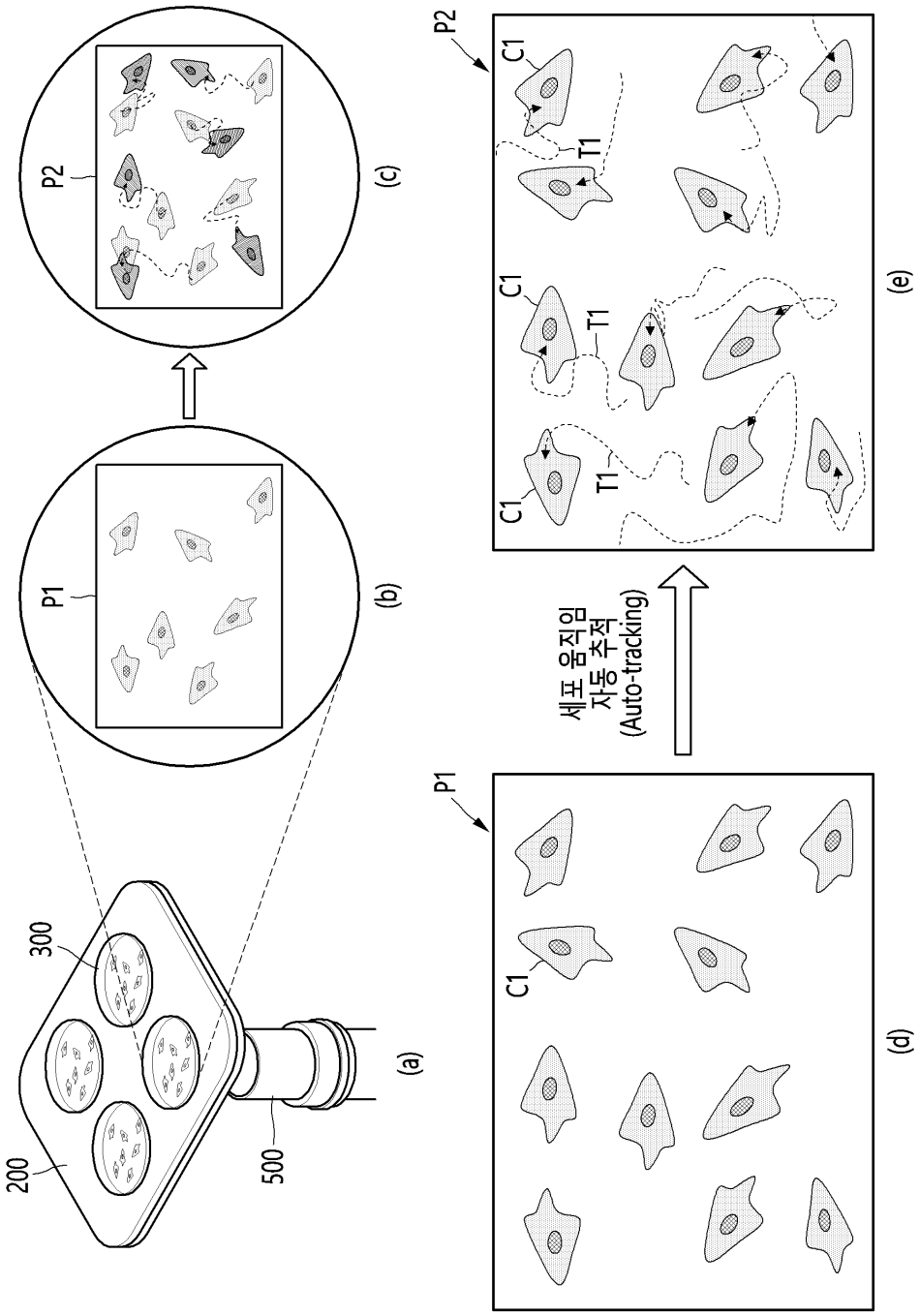
도면1



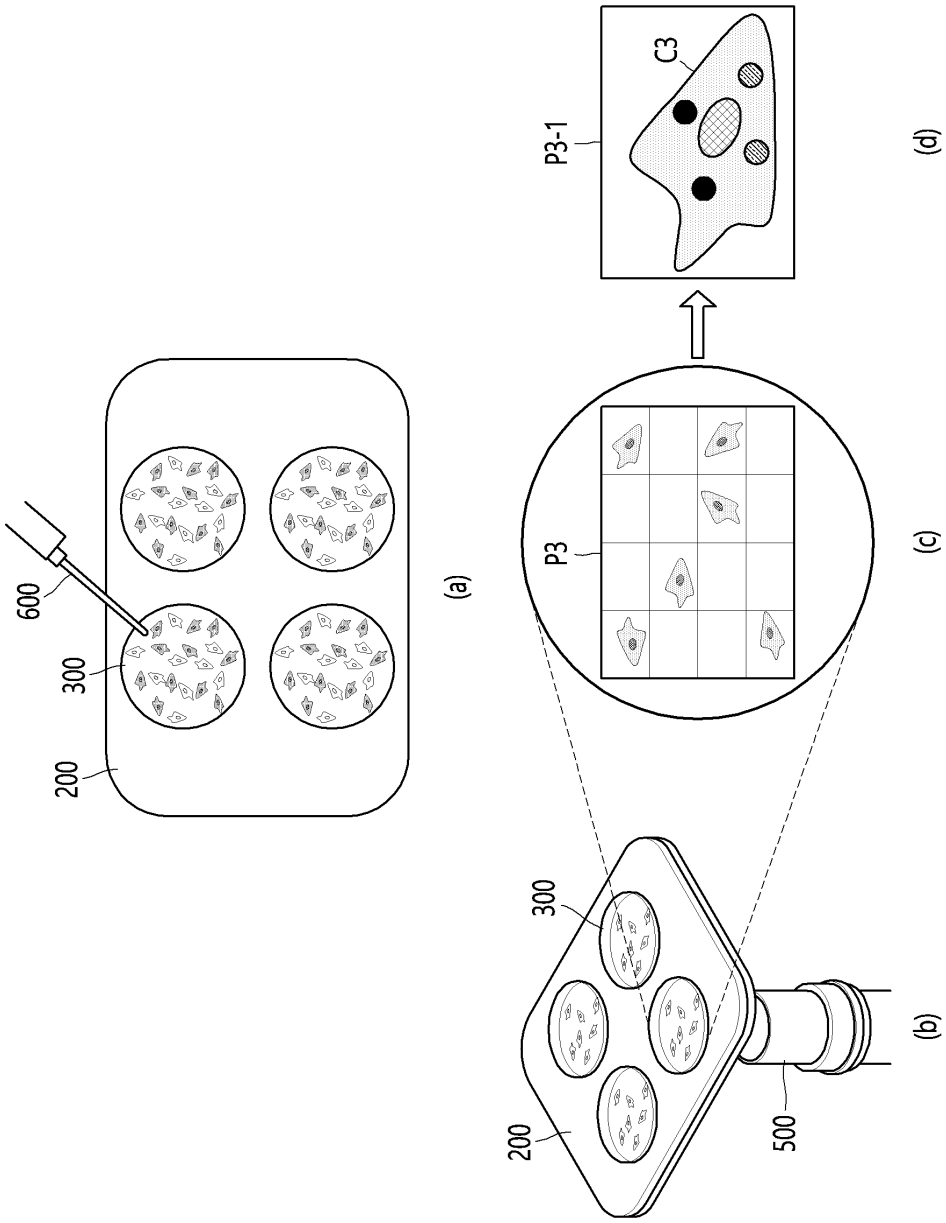
도면2



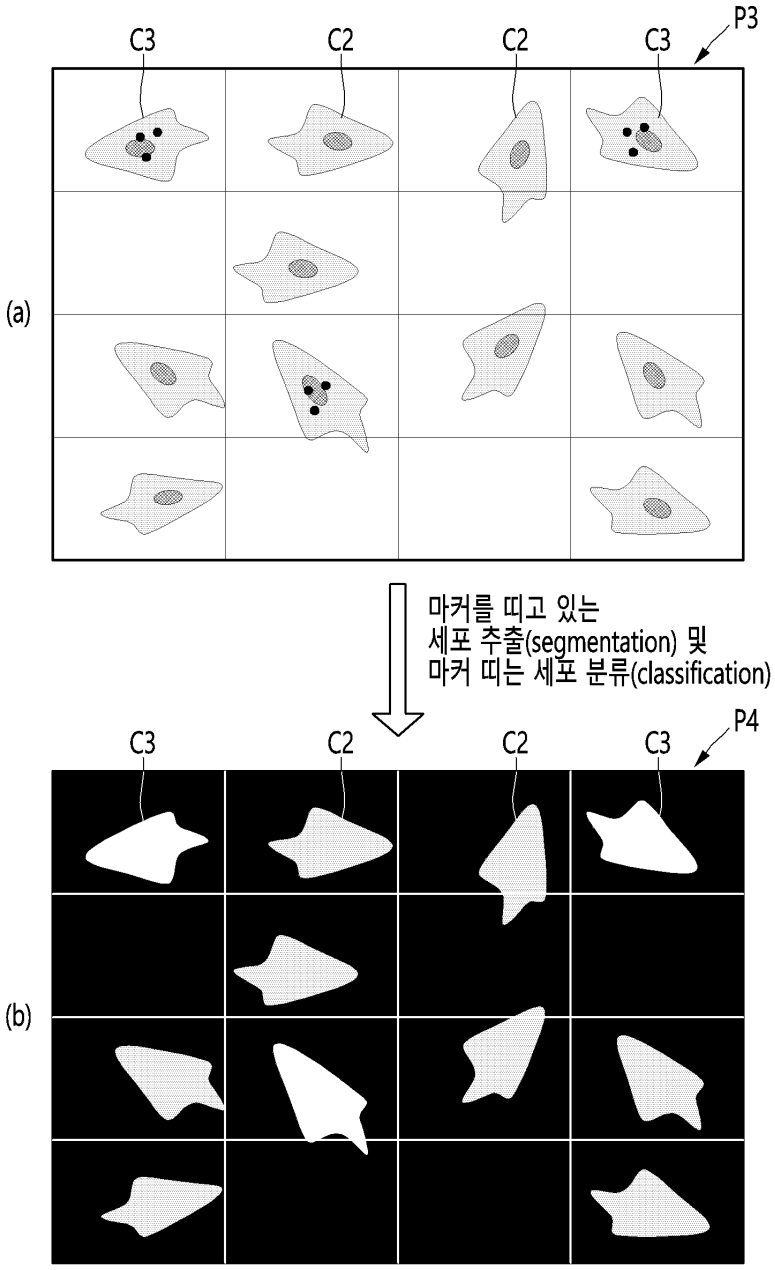
도면3



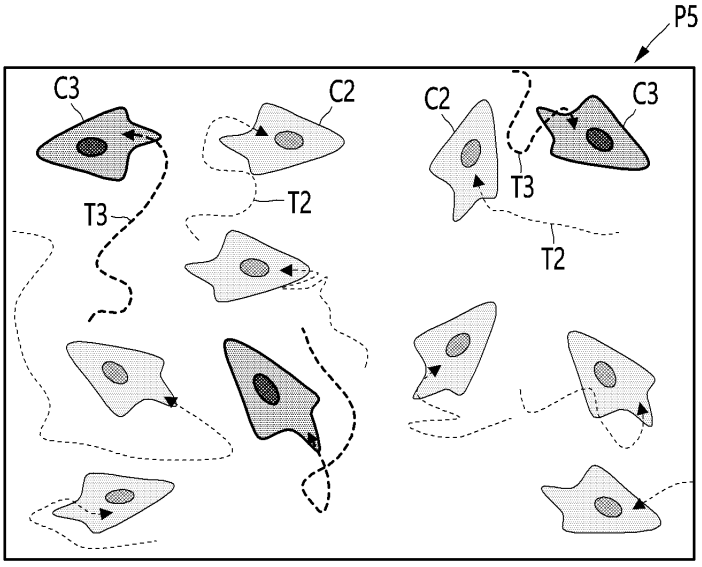
도면4



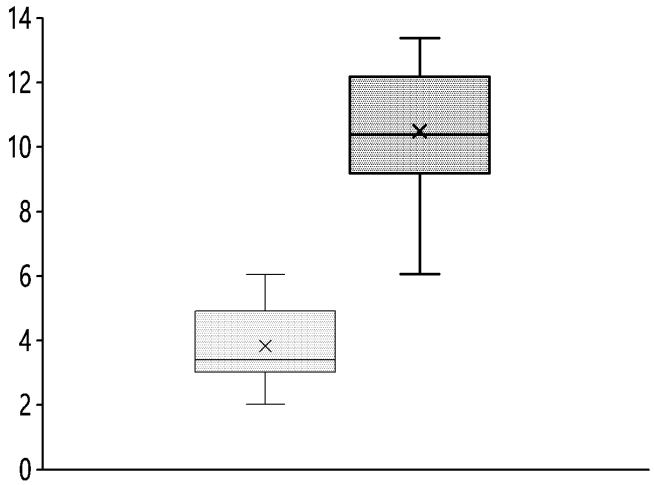
도면5


C3
C2
C2
C3
P3
(a)
마커를 띠고 있는
세포 추출(segmentation) 및
마커 띠는 세포 분류(classification)
C3
C2
C2
C3
P4
(b)

도면6

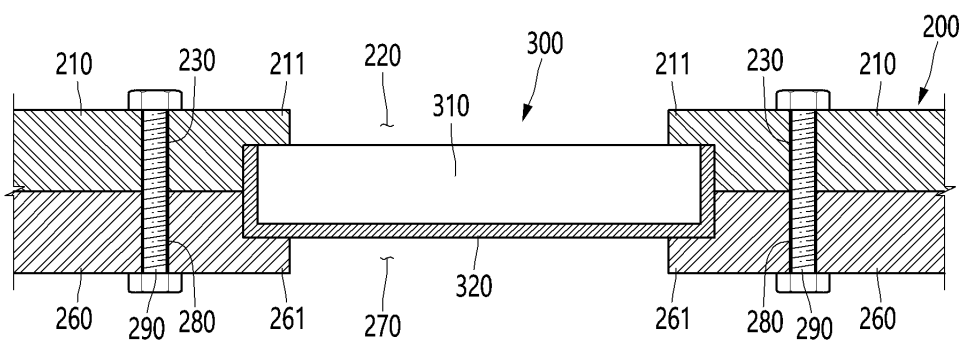

P5
C3
C2
C2
C3
T3
T2
T3
T2

(a)

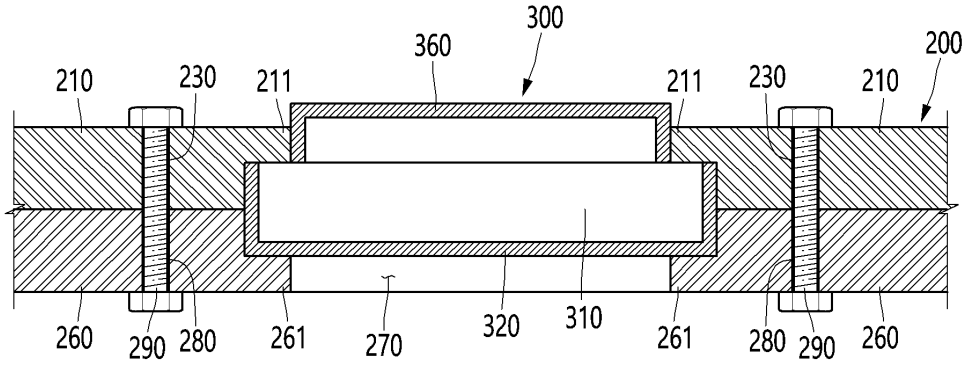

14
12
10
8
6
4
2
0

(b)

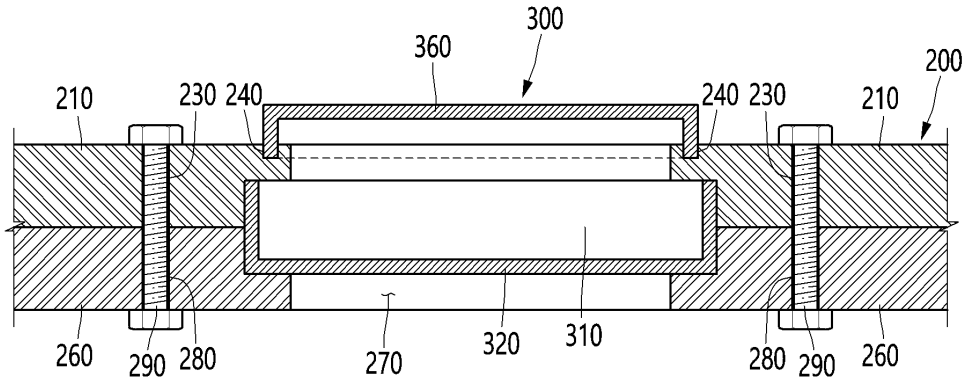
도면7


200
210
230
211
220
300
310
211
230
210
260
290
280
261
270
320
261
280
290
260

도면8

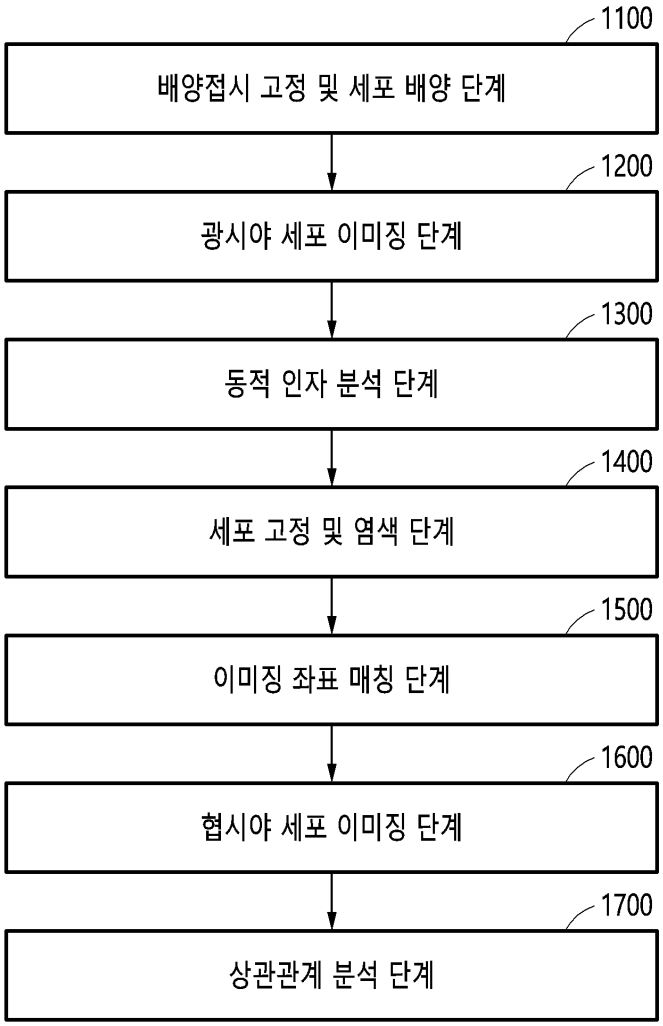

300
360
200
210
230
211
211
230
210
260
290
280
261
270
320
310
261
280
290
260

(a)


300
360
200
210
230
240
240
230
210
260
290
280
270
320
310
280
290
260

(b)

도면9


1100
배양접시 고정 및 세포 배양 단계
1200
광시야 세포 이미징 단계
1300
동적 인자 분석 단계
1400
세포 고정 및 염색 단계
1500
이미징 좌표 매칭 단계
1600
협시야 세포 이미징 단계
1700
상관관계 분석 단계