

소동물 발광영상 측정을 위한 광학분자영상기기의 개발

전남대학교병원 핵의학과¹, 조선대학교 물리학과²
이병일¹ · 김현식¹ · 정혜진¹ · 이형재¹ · 문성민¹ · 권성영¹ · 최은서² · 정신영¹ · 범희승¹ · 민정준¹

Development of Optical Molecular Imaging System for the Acquisition of Bioluminescence Signals from Small Animals

Byeong-il Lee, Ph.D.¹, Hyeon Sik Kim, BS.¹, Hye Jin Jeong, MS.¹, Hyung Jae Lee, MS.¹,
Seung Min Moon, MS.¹, Seung Young Kwon, M.D.¹, Eun Seo Choi, Ph.D.², Shin Young Jeong, M.D.¹,
Hee-Seung Bom, M.D., Ph.D.¹, and Jung-loon Min, M.D., Ph.D.¹

¹Department of Nuclear Medicine, Chonnam National University Hospital, Gwangju, Korea; ²Department of Physics, Chosun University, Gwangju, Korea

Purpose: Optical imaging is providing great advance and improvement in genetic and molecular imaging of animals and humans. Optical imaging system consists of optical imaging devices, which carry out major function for monitoring, tracing, and imaging in most of molecular in-vivo researches. In bio-luminescent imaging, small animals containing luciferase gene locally irradiate light, and emitted photons transmitted through skin of the small animals are imaged by using a high sensitive charged coupled device (CCD) camera. In this paper, we introduced optical imaging system for the image acquisition of bio-luminescent signals emitted from small animals. **Materials and Methods:** In the system, Nikon lens and four LED light sources were mounted at the inside of a dark box. A cooled CCD camera equipped with a control module was used. **Results:** We tested the performance of the optical imaging system using effendorf tube and light emitting bacteria which injected intravenously into CT26 tumor bearing nude mouse. The performance of implemented optical imaging system for bio-luminescence imaging was demonstrated and the feasibility of the system in small animal imaging application was proved. **Conclusion:** We anticipate this system could be a useful tool for the molecular imaging of small animals adaptable for various experimental conditions in future. (Nucl Med Mol Imaging 2009;43(4):344-351)

Key Words: Optical imaging, bioluminescence, molecular imaging

서 론

최근 생물의 분자단위에서 발생하는 현상을 광학적으로 영상화하고자 하는 연구가 활발해지고 있으며 이 추세에 따라 광학영상기기를 이용한 소동물 분자영상실험이 다양한 연구분야에서 활발하게 수행되고 있다.¹⁻⁵⁾ 광학분자영상기기는 높은 민감도를 가지는 검출기 개발 기술의 발전으

로 인하여 생체 내부에서 발광되는 매우 약한 세기의 빛도 검출할 수 있게 되었으며 2000년대 초반 이후 그 개발이 가속화 되었다. 몇몇 회사에서 여러가지 다양한 형식의 광학분자영상기기를 선보이고 있는데, 대부분 기기의 특징은 사용하는 CCD (charged coupled device)의 특성 내지는 소프트웨어기반의 신호처리 방법에 의해서 구별되고 있다.⁶⁻¹⁰⁾ 기존의 CCD는 전자의 실온에서의 열 에너지에 의한 잡음으로 인해 낮은 민감도를 가지는데 이러한 CCD의 민감도를 향상시키기 위해 CCD 자체를 저온으로 냉각시킴으로써 감도를 향상시킬 수 있게 되었다. 이러한 냉각방식을 이용하는 경우 때 20도를 낮출 때마다 10%의 열에너지에 의한 잡음을 줄일 수 있는 것으로 보고되고 있다.^{11,12)}

다양한 광학영상기기를 중에서 분자광학영상관련 연구자들이 많이 사용하고 있는 모델로는 형광영상과 발광영상을 동시에 지원할 수 있는 장점을 가지는 IVIS (Xenogen)

- Received: 2009. 3. 5. • Revised: 2009. 4. 30.
- Accepted: 2009. 5. 4.
- Address for reprints: Jung-Joon Min, MD, Ph.D., Department of Nuclear Medicine, Chonnam National University Hwasun Hospital, 160 Ilslim-ri, Hwasun, Jeonnam 519-809, Korea
Tel: 82-61-379-8476, Fax: 82-61-379-7280
E-mail: jjmin@jnu.ac.kr
- ※ 본 연구는 산업자원부 지방기술혁신사업 RTI05-01-01 지원으로 수행되었음

를 들 수가 있다. 그 뒤를 이어 코닥, 하마마츠, 바이오스페이스에서 형광영상과 발광영상을 지원하는 영상기기를 개발하였으며, 올림푸스, GE, VisEn 등의 회사에서는 다양한 형광영상 관련된 기능을 지원할 수 있는 제품을 출시하고 있다. 형광영상기기는 보다 다양한 기능을 구현하기 위해서 영상의 배율 조절이 가능하도록 개발되고 있으며 일부의 경우 단층영상을 구현할 수 있도록 하기 위한 연구가 진행되고 있다. 하지만 각각의 기기들이 사용하는 광원의 동작 파장 내지는 광세기는 차이를 가지고 있고 이에 따른 형광영상에 따른 결과는 서로 상이한 특성을 가지고 있다. 형광영상과 발광영상을 동시에 얻기 위한 장비들이 있으나, 두 가지를 모두 잘 얻고 있는 장비는 찾기 힘든 실정이다. 발광영상과 함께 여러가지 형광물질을 동시에 측정하거나 실시간 관찰하는 방식, 혹은 투과력을 높이기 위한 근적외선을 이용하는 방식이 개발되고 있다.¹³⁻¹⁵⁾ 하지만 전체적으로 시스템에 사용하는 조사광 및 발광, 형광의 파장대역이 원하는 물질의 특성과 잘 맞도록 디자인되어야 하는 점이 중요하다.

하지만, 발광영상은 형광영상에 비해서 매우 미약한 신호를 받아들여야 하므로 발광현상에 의해 발생한 광자를 다른 요인에 의해서 발생한 빛과 구분하여 차단할 수 있도록 시스템 디자인에 반영해야 하며 발생된 광자를 효율적으로 집광하기 위한 밝기가 밝은 렌즈를 사용하여야 한다.

최근 국내연구진에서 광학영상기기를 이용하여 발광박테리아로 중앙 표적분자영상을 얻는데 성공하였다.¹⁶⁾ 이 연구진은 개발된 발광박테리아를 활용하여 심장에 이식된 심근줄기세포의 추적이나 유방암, 대장암 등 여러가지 암세포를 추적하는 등의 활용도를 넓혀가고 있다. 세계적으로도 발광영상기술을 이용한 소동물에서의 대장암, 암전이 현상 추적 연구가 활발히 진행되고 있다.¹⁷⁻²⁰⁾ 이러한 발광물질 개발 상황과는 달리 국내에서 발광영상을 측정하기 위한 광학분자영상기기의 개발이 보고된 바가 없다. 하지만 국내에서도 연구 목적에서 개발에 대한 필요성과 그에 대한 관심을 증대되고 있으며, 국제적으로는 개발 후 제품으로 여러 연구소 및 병원에 보급되고 있는 상태이다. 여러가지 다양한 기능을 갖춘 광학영상기기가 계속적으로 개발되고 있으며 다양한 실험조건에서 분자영상연구를 수행할 수 있도록 하기 위한 연구조건을 제공해 가고 있다. 현재 10 여대가량의 광학분자영상기기가 국내에 도입되어 있는 상태이나, 이 기기들이 고가의 장비이므로 소규모 단위 실험실에 구비하기 어렵다. 이러한 문제점을 가지고 있음에도 불구하고 분자영상 연구를 위한 반복적인 비침습적 실험이 가능하면서도 실시간으로 분자단위에서 발생하는 현상을 영상

으로 확인할 수 있는 장점으로 인해 장비에 대한 활용도는 지속적으로 증대되고 있다.

이 연구에서는 분자영상연구를 수행하는데 있어서 소동물을 이용한 발광영상 측정을 위한 분자광학영상기기의 설계 및 제작과정을 소개하고, 획득된 발광신호를 영상으로 구현한 결과를 제시하였다. 마우스 암모델 및 팬텀에서 발현된 발광 신호를 실험조건을 달리하여 획득하였고 이렇게 획득된 발광영상을 통해서 개발된 분자광학영상기기의 활용가능성을 소개하고자 한다.

대상 및 방법

1. 기기의 설계 및 구성

개발중인 발광영상기기(ALIS: animal lighting imaging system)의 하드웨어의 구성은 검출기부분, 스테이지부분, 암실부분으로 나누어져 있으며, 각각의 구동 및 제어모듈은 작업용 컴퓨터를 통해서 제어할 수 있도록 설계하였다. 검출기부분에는 CCD (Princeton instruments, Roper scientific, USA) 카메라와 CCD 카메라 제어장치(ST133B, 16bit@100kHz & 1MHz) 그리고 집광 렌즈가 사용되었다. CCD 카메라를 암실상단에 수직으로 부착하였고 영상획득을 위해 이를 제어장치에 연결을 하였다. CCD 카메라에 C 마운트를 통해서 집광 렌즈를 연결할 수 있도록 하였으며, 고효율 집광을 위해서 밝기가 밝은 일반 카메라용 렌즈(Nikon, 50mm, F/1.2)를 CCD 카메라 앞에 장착하였다. 스테이지부분에는 투명 패널, 검은색 불투명 패널, 케이스형 패널들을 교체 가능하도록 설계하였으며, 암실은 빛의 차단 및 내부 반사가 없도록 내부 전체를 코팅처리를 하였다. CCD 카메라의 민감도를 보장하기 위하여 선택한 액체질소 냉각 CCD 카메라는 온도에 의한 잡음을 줄이기 위해 -120도까지 냉각이 가능하다. 직접조명을 위해 암실내부상단에 8개의 백색 LED를 설치하였고 모터제어기(AJINEXTEK, Korea)와 연결하여 광원의 on/off를 제어할 수 있도록 하였다. 스테이지는 실험대상체의 높이와 카메라의 초점거리확보를 위해 40cm 이상 거리를 유지하였다. 제어상자는 작업용 컴퓨터에 연결되어 있어서 사용자가 컴퓨터를 이용하여 모든 하드웨어를 제어하고 영상을 획득할 수 있으며, 발광영상을 처리하고 분석하기 위한 소프트웨어는 영상획득 라이브러리 모듈을 이용하여 Visual C++로 개발하였다(Fig. 1).

2. 튜브 팬텀 영상획득

발광의 세기에 따른 획득영상차이를 조사하기 위하여 발광 박테리아가 든 effendorf 튜브를 사용하였다. 발광 박테

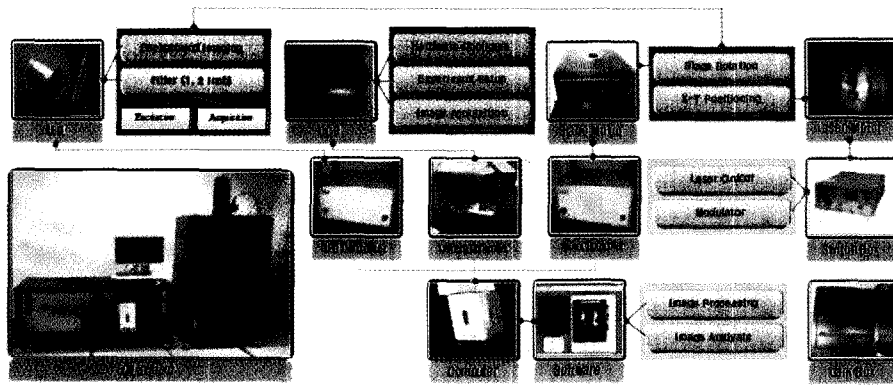


Figure 1. Optical imaging system was designed and implemented. The block diagram shows functional working flow for image acquisition and processing.

리아를 만들기 위해 E.coli 중에서도 DH5a를 이용하여 발광시키는 유전자인 lux CDABE로 형질전환 하였다.¹¹⁻¹⁴⁾ 형질전환 된 DH5a를 14시간에서 16시간 동안 세포배양을 하여 발광 박테리아 수를 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 , 1×10^{10} , 5×10^{10} 개로 달리 함으로써 밝기가 서로 다른 5개의 effendorf 튜브를 각각 만들었다. 다섯 개의 다른 밝기를 가지는 effendorf 튜브 속 발광신호를 영상화하였다.

3. 렌즈 밝기에 따른 획득영상의 비교

렌즈밝기차이에 따른 신호획득감소정도를 조사하기 위해 최대값에서부터 조리개수를 한 단계씩 줄여가며 영상을 얻었다. 가장 밝은 F 값은 1.2였으며, 2, 2.8, 4, 5.6, 8의 순서로 영상을 얻었다. 야광물질이 들어있는 모형쥐를 이용하여 시간에 따라 획득신호 카운트의 변화를 알아보기 위해 영상획득을 각 F수에 따라 구분하여 수행하였으며, 획득시간은 0.5초, 1초, 2초, 3초, 4초, 5초, 10초, 30초, 60초이었다.

4. 잡음신호 측정을 위한 실험

배경부의 잡음신호의 균일성을 평가하기 위하여 샘플이 없는 상태에서 1초, 2초, 3초, 5초, 10초, 20초, 30초, 60초에서 영상을 얻은 후 전체 영상부분 중 12개의 관심영역에서 총 계수를 얻어 이들의 평균을 구하였다.

5. 누드마우스영상획득

살아있는 balb 쥐에서 발광영상을 획득하기 위해 유방암 4T1을 이식한 쥐에 개의 살모넬라 JH20을 정맥주사를 하고 10일 뒤에 복강 마취를 하여 살아있는 쥐에서의 발광영상을 획득하였다. 살모넬라 JH20은 살모넬라 sch2130에 lux 유전자로 형질전환 한 뒤, GFP plasmid로 형질전환하여 만

들었다. 마취한 쥐를 개발한 광학분자영상기기에서 1분 동안 노출을 주고 영상을 획득하였다.

6. 광량계수 측정 및 데이터 처리

두 기기들로부터 얻어진 영상데이터는 Xenogen에서 사용하고 있는 소프트웨어(living image, v.2.5)를 이용하여 분석 및 비교하였으며, 팬텀영상 및 마우스 영상에서도 각각 같은 방법으로 결과를 얻었다.

결 과

1. 광학분자영상기기의 구현

개발된 광학분자영상기기의 크기는 다음과 같다. 영상기 기본체의 크기는 높이 150 cm, 폭 65 cm, 깊이 65 cm 이고, $120 \times 65 \text{ cm}^2$ 크기의 보조선반에는 각종 제어장치 및 컴퓨터를 위치하였으며, 높이가 62 cm 이다(Fig. 2). 영하 120도로 냉각시키기 위해 액체질소로 약 1 시간 이상 냉각 시킨 후 0.1 초에서 60 초까지 CCD가 이상없이 동작함을 확인하였으며, 팬텀을 이용한 영상을 획득하였다. 영상획득 신호 처리보드를 통해 영상신호가 정보의 손실없이 전달되었으며, 조명장치인 LED 광원들의 제어도 적절히 수행되었다. 렌즈에서 물체와의 초점거리는 수동으로 조절하였다. 광학분자영상기기로부터 획득한 영상의 크기는 512×512 픽셀로 하였으며 사용자에게 의한 변경이 가능하다. 발광영상은 실시간으로 획득되어 저장되었다.

2. 튜브팬텀을 이용한 영상획득

튜브팬텀을 이용하여 획득한 영상으로부터 박테리아의 개수에 따라 빛의 세기가 다름을 영상으로 확인할 수 있었

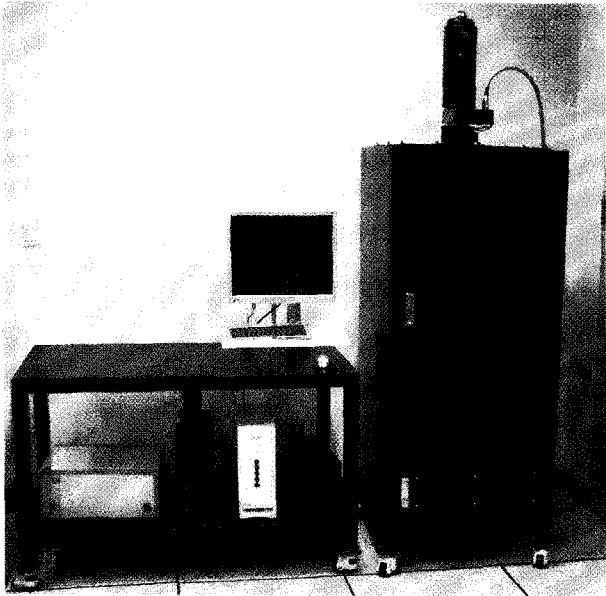


Figure 2. Animal lighting imaging system (ALIS) is dedicated optical imaging device for bio-luminescence of small animals.

다. 5×10^{10} 개의 박테리아가 들어있는 튜브에서의 광량의 최대값은 24,259였고, 1×10^7 개의 박테리아가 들어있는 튜브에서의 광량의 최대값은 203으로 박테리아의 개수에 따라 측정되는 값이 비례하였다. 영상을 5초 동안 노출하여 획득한 결과는 광량이 낮은 영역에서는 신호가 모두 약하였으며, 박테리아가 많은 튜브에서는 ALIS와 IVIS-100과 유사하게 영상이 얻어짐을 육안으로 확인 할 수 있었다(Fig. 3).

Exp = 5sec

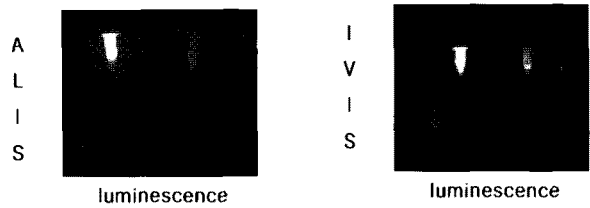


Figure 3. Luminescence image was obtained at IVIS and ALIS system using the same tube phantom. Five tube were filled with different number of light emitting bacteria.

3. 렌즈 밝기 값에 따른 획득영상의 차이

ALIS에서 단초점렌즈를 사용하였을 때, 렌즈의 조리개를 닫으면서 밝기조절을 하여 영상을 획득하였다. 영상의 대조도가 점차 낮아졌으며 조리개의 f-수가 4 이상에서는 거의 육안으로는 구분하기 힘들었다. 조리개의 최대개방상태에서 최대밝기가 확보되었을 때에는 발광영상을 보다 쉽게 얻을 수 있었다(Fig. 4).

4. 배경영역에서의 카운트 비교

배경영역에서의 획득된 카운트를 비교하기 위해서 주변부에서 설정한 12곳의 관심영역에서 측정된 카운트의 평균값을 비교한 결과는 획득시간의 변화와는 무관하게 12곳에서의 광량 평균이 일정하게 유지되는 것을 알 수 있었으며 편차는 0.27-0.28%로 매우 낮았다(Fig. 5).

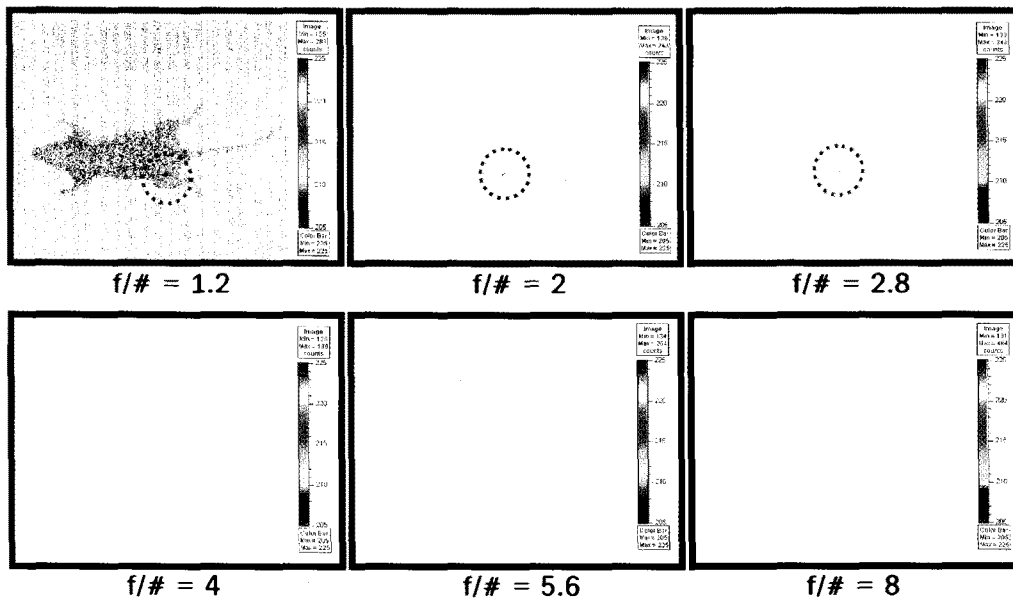


Figure 4. Mouse phantom images were obtained with changing F-number of the lens from 1.2 to 8. Nikon lens was available at F/1.2 for luminescence imaging.

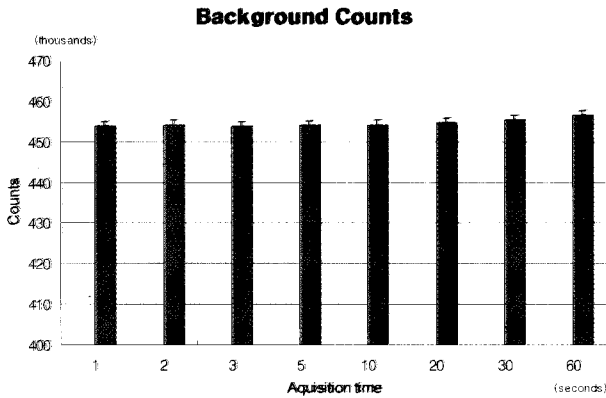


Figure 5. Background counts were measured as acquisition time. Background noise was constant at time elapsed.

5. 쥐모형에서 영상획득 비교

조명영상을 0.15초 동안 얻어 배경영상을 확보한 후 발광영상을 마우스 팬텀에서 60초 동안 신호를 획득하여 영상을 얻었다. 같은 영상획득 시간에서는 민감도가 높은 상용화 장비인 IVIS-100에서 얻어진 영상과 비교를 하였다. 광량이 ALIS에서 얻어진 것보다 전반적으로 높았으나, 발광 위치의 구분에서는 차이가 없었다(Fig. 6).

6. 누드마우스 영상획득

개발한 ALIS 장비를 이용하여 광학분자영상 연구에서 많이 사용하고 있는 누드마우스의 발광영상을 획득하기 위해 F/1.2 렌즈를 사용하였으며, 0.15초간 배경영상을 얻은 후

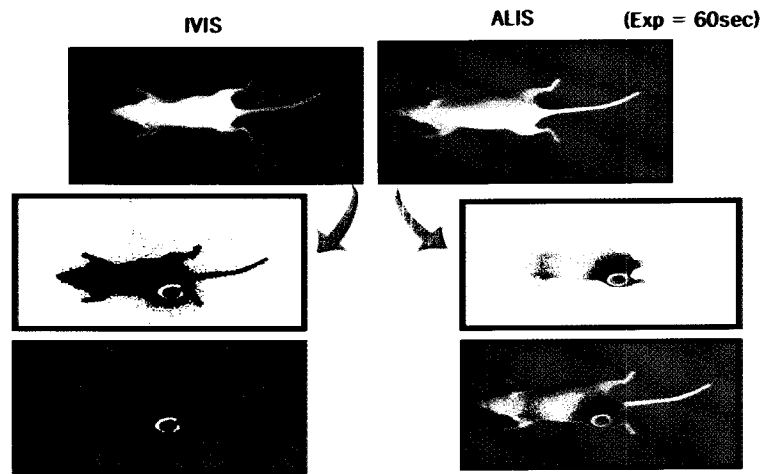


Figure 6. Fused optical image of plastic phantom mouse was produced with implemented system. Same test was performed at commercialized system IVIS for comparison during 60 seconds. Luminescence signal was detected at the same region.

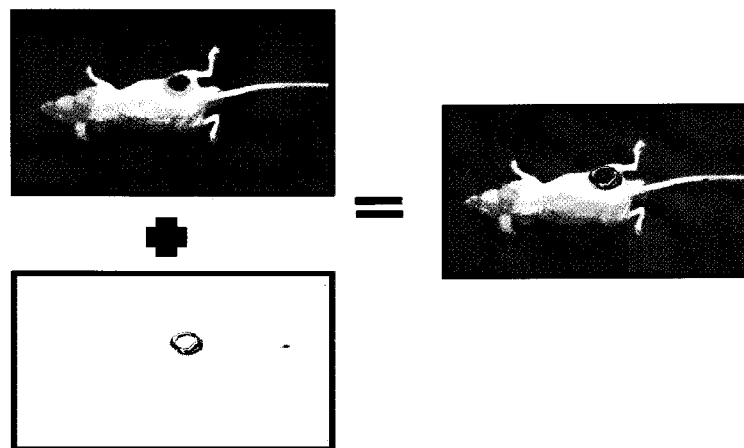


Figure 7. Fused optical image of nude mouse was obtained by using ALIS after tail vein injection of light emitting bacteria. Luminescence image of cancer was measured at targeted area.

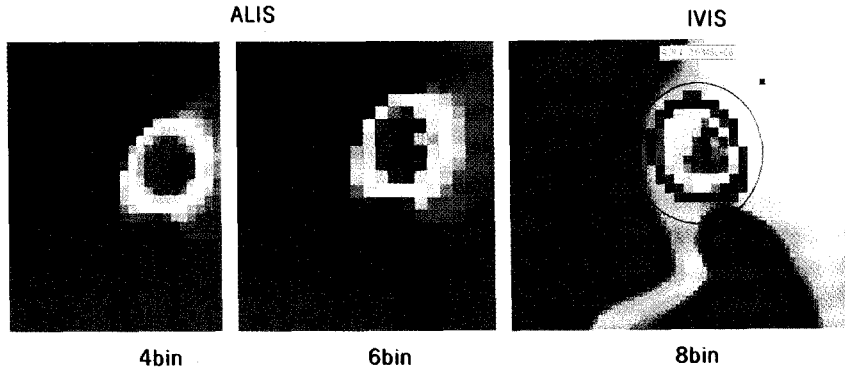


Figure 8. Binning level was set to 4 binning or 6 binning at ALIS in order to match with the level of IVIS.

60초간 발광영상을 얻었다. 픽셀의 민감도를 유지하기 위해 binning을 6으로 맞추었으며, 영상의 크기는 512×512로 하였다. 암세포 주변에 발광이 일어나고 있는 것을 영상으로 확인할 수 있었다(Fig. 7).

고찰

소동물 발광신호를 측정하기 위한 광학분자영상장치를 설계하고 개발하였다. 미약한 발광신호를 획득하기 위해 민감도가 높은 냉각형 CCD 카메라를 사용하였으며, 시스템을 암실로 구성하였다. 팬텀을 이용한 결과 및 실제 실험용 누드마우스를 이용한 결과를 CCD 카메라를 이용하여 영상으로 획득할 수 있었다. 이 연구의 결과를 통하여 상용화된 장비에서는 제공되지 않는 연구자가 필요로 하는 기능을 시스템 개발에 반영하여 향후 개선할 수 있을 것으로 기대하며, 광학영상기기 개발에 필요한 기초연구 기반이 조성되었다는 점에서 의의가 크다고 하겠다.

최근 전 세계적으로 널리 사용되고 있는 광학분자영상장치는 실험용 소동물을 대상으로 각종 분자영상기술의 생물학적인 적용, 즉 유전자 발현, 세포추적, 분자상호작용 등을 실험용 동물이 살아 있는 상태에서 실시간으로 촬영할 수 있는 장치이다. 최근 암세포의 증식 및 전이, 세포 및 분자의 상호작용, 세균 또는 바이러스의 체내 동태, 세포 및 유전자치료, 신약개발 등의 연구에서는 실험동물을 희생하지 않고 생체 내 작용을 객관적으로 평가할 수 있는 분자영상 기법이 많이 이용되고 있다. 광학분자영상기기는 이러한 목적의 실험을 단위 실험실에서 쉽고 빠르게 시행할 수 있도록 할 수 있으며, 비광학적인 다른 소동물 전용영상장비에 비해 가격이 상대적으로 저렴하다는 장점을 가지고 있다.

여러가지 기능을 동시에 가지고 있는 장비보다는 발광영

상전용이나 형광영상전용 등의 기능 독립적인 장비가 현재 널리 이용되고 있으며, 발광영상기기에서는 Xenogen의 장비가 민감도가 높은 편에 속하여 많이 이용되고 있다. 국내에서는 처음으로 설치된 소동물 광학분자영상기기인 IVIS-100과의 비교영상을 얻었을 때 민감도의 차이가 있었다. 하지만 기기의 민감도는 첫 번째로는 CCD 카메라의 특성에 따라서 좌우되며, 두 번째로는 렌즈, 암실구성, 세 번째로는 소프트웨어에서의 처리 알고리즘에 의존한다. IVIS-100에서 사용하고 있는 CCD는 냉각형으로 픽셀의 크기 및 영상의 크기가 ALIS와 다르며, 렌즈의 구성도 다르다. 특히 소프트웨어 측면의 모듈의 구성은 알 수가 없다. 실제 IVIS-100의 결과 영상은 240×240 크기를 보여주고 있으며, 이는 binning을 8로 설정하는 것을 기본으로 하고 있다(Fig. 8). 이렇게 CCD 픽셀의 크기나 민감도, 그리고 소프트웨어적인 binning 같은 요소들은 최종적 정량화에 영향을 주고 있으므로 주의해서 살펴야 한다. ALIS는 처음부터 512×512를 제공하는 CCD 카메라로써 binning은 프로그램을 통해서 조절할 수 있게 되어 있다. 하지만 현재 ALIS 시스템의 전용 소프트웨어는 계속 개발 및 보완 중에 있으므로, 보정기법이나 인터페이스에 대해서는 비교할 수가 없다. 광자의 카운트 정보는 광학영상기기에서는 쉽게 획득된 광자의 수라고 말하지만, CCD 카메라 내부로 입사되는 광자의 개수와 CCD 카메라 내부에서 전화되어 발생된 전자의 흐름과는 서로 동일하지 않다. 내부에서 발생된 전자의 흐름이 잡음이 없으면서도 빠른 응답속도를 가지도록 하는 것이 CCD 카메라의 성능에 의해 결정되는 quantum efficiency와 dark current 등의 특징이 전체 영상의 민감도를 결정짓게 된다. 이렇게 민감도를 향상시키기 위한 방법으로 냉각형 CCD를 탑재하거나 신호증폭형 CCD를 이용하는 방법이 있다. 이 연구에서는 개발된 시스템의 활용가능성을 확인하기 위한

것을 목표로 하였으며 이를 확인하기 위해서 미약한 발광 영상 획득을 수행하였다. 따라서 목표에 맞추어 기초적인 발광영상을 획득할 수 있었다. 하지만 궁극적인 기기 개발의 목표는 다양한 분자영상실험을 지원할 수 있는 활용성이 극대화된 장비로 발전시키는 것이다.

현재 ALIS장비를 통해 실험할 수 있는 조건은 IVIS-100에 비해 영상획득시간을 더 길게 하여 비슷한 결과를 얻을 수 있는 수준까지 개발된 상태이다. 획득시간이 60초의 경우 10초에 비해서 오랜 시간이지만 전체 실험시간을 고려할 때 이 둘간의 시간은 극히 짧은 시간으로 간주되므로 기기가 가지는 큰 단점은 아닐 것이다. 상용화 되어 있는 발광영상장비에서도 민감도가 낮은 제품이 상당수 있는데, 이는 형광영상과의 병행실험이 가능하도록 하는 조건에서 하드웨어의 구성을 최적화하기 힘들었기 때문이라고 생각한다. 후속연구를 통해 소프트웨어의 지속적인 개선을 수행하고 이를 기반을 범용적인 보정기법을 개발하고, 표준화된 정량결과로 환산할 수 있게 된다면 특정형광과장에 의존성이 상대적으로 약한 활용범위가 넓은 시스템으로 확장할 것으로 기대한다.

국내 광학분자영상기기를 사용하는 연구자들이 주의깊게 살펴보아야 할 내용을 다음과 같이 요약할 수 있다.

1) 영상획득 시 조건을 일정하게 유지해야 하는데, 시간만 일정하게 하는 것이 아니고, binning, f-수, 확대비율 등을 일정하게 유지해야 한다.

2) 광자의 표준화 정량결과로서 IVIS-100에서는 flux라는 개념을 사용하고 있는데, 이는 단위면적당 단위시간에 통과하는 물리량에서 시작된 것이다. 실제 이것의 계산에는 검출기에서 대상체간의 거리가 들어가기 때문에 잘 안 보인다고 위로 올려서 찍거나 낮추어서 찍어도 차이가 없다고 보아야 할 지 생각해 보아야 한다.

3) Binning은 기본으로 설정되어 있는 것을 사용하면 되겠지만 발광의 세기가 큰 경우에는 낮게, 발광의 세기가 작은 경우에는 높게 설정을 하면 민감도를 높일 수 있다. 하지만 이렇게 할 경우 상대비교에 영향을 줄 수도 있다.

4) F-수는 조리개의 크기에 해당하므로 발광의 세기가 큰 경우에 높은 수를, 발광의 세기가 낮은 경우에는 낮은 수를 설정해야 할 것이다.

5) 카운트 및 표준화 정량결과를 연속적으로 실험하여 비교할 경우에는 영상결과와 일치를 위해서 하향한계에 대한 역치값을 일정하게 잡아야 할 것이다. 그렇지 않은 경우에는 대부분 최적화 영상의 제공하기 때문에 값의 상대적 차이를 영상만으로 구분하기 힘든 경우가 있다.

6) 발광분자영상기기는 대부분 렌즈를 사용하는데, 렌즈

에서 미세발광의 검출을 방해하는 것은 먼지, 지문 등이 있고, 습도가 높아져서 생기는 미세 물방울이 있을 수 있다. 왜냐하면 한 마리에서 여러 마리의 소동물을 여러 번 실험하다 보면 자연적으로 발생하는 습도가 렌즈의 상태를 변화시킬 수 있기 때문이다. 물론 주변의 습도도 고려해야 할 것이다.

7) 냉각형 CCD를 사용하는 기기인 경우 냉각시간을 충분히 주어 장비가 안정화 될 수 있도록 기다려야 할 것이다. 계속 냉각을 유지되게 하는 장비에서는 그렇지 않지만 실험 시작시점에서 다시 전원을 켜서 돌리는 장비는 초기 시간을 충분히 가져야 할 것이다. ALIS에서는 액체질소를 이용하여 냉각하는데, 처음 액체질소를 주입하고 나서 -120도 까지 약 2시간 가량이 필요하다.

현재 전 세계적으로 광학영상장비가 개발되어 상품화 되고 있으나 1억에서 4억에 이르는 고가의 장비이고, 기기별 특성에 따라 사용자의 활용도가 제한적이다. 기술력으로는 외국의 장비가 상당히 앞서 있다. 하드웨어를 설계하여 영상을 획득한 결과, 소프트웨어를 통해 하드웨어의 제어와 영상획득이 가능하며, 하드웨어들 간의 수행이 잘 이루어짐을 알 수 있었다. 분자영상분석용 처리도구들은 국내에서는 개발되지 않고 있다. 대부분 외국에서 개발되고 있으며, 하드웨어 종속적인 특징을 가진다. 그러나 하드웨어 부품들이 가지는 기본적인 라이브러리는 사용 가능하므로 하드웨어 부품을 초기화 하고 조절 할 수 있는 함수를 이용하여 소프트웨어를 개발 중에 있다. 향후 하드웨어의 최적화 및 소프트웨어의 개발을 통해 완성도 높은 발광영상측정기기를 개발할 수 있을 것으로 기대한다.

요 약

목적: 광학영상기술은 소동물이나 임상연구에서 분자영상법으로 알려진 첨단연구 분야이다. 광학영상기기는 소동물영상연구 및 추적연구에 중요한 역할을 수행하고 있다. 발광영상에서 소동물을 영상화 하기 위해서는 피부조직을 뚫고 나오는 광자를 검출하기 위한 고민감도 CCD카메라가 필요하다. 이 연구에서는 소동물에서 발생하는 발광신호를 검출하기 위해 개발한 광학영상기기를 소개하고자 한다. **대상 및 방법:** 냉각형 CCD카메라와 집광렌즈, 8개의 백색광 LED 광원을 암실상자 안에 장치하였다. 팬텀 및 튜브를 이용한 영상을 얻은 후 발광 박테리아를 이용하여 CT26 암모델 누드마우스에서 영상을 획득하였다. **결과:** 발광영상을 얻기 위한 광학영상기기를 설계하고 개발하였다. 영상획득

이 성공적으로 수행되었고, 시스템을 완성하였다. 개발된 장비는 분자영상연구에 사용되고 있다. 결론: 개발된 광학 영상장비는 다양한 실험적 조건을 만족하는 연구에 최적화 하여 유용한 도구로 자리잡을 것으로 기대한다.

References

1. Weissleder R. A clearer vision for in vivo imaging. *Nat Biotechnol* 2001;19:316-7.
2. Sadiot RT, Blackwell TS. Bioluminescence imaging. *Proc Am Thorac Soc* 2005;2:537-40.
3. O'Connell-Rodwell CE, Burns SM, Bachmann MH, Contag CH. Bioluminescent indicators for in vivo measurements of gene expression. *Trends in Biotechnology* 2002;20:19-23.
4. Contag PR, Olomu IN, Stevenson DK, Contag CH. Bioluminescent indicators in living mammals. *Nat Med* 1998;4:245-7.
5. Chung J-K. General perspectives for molecular nuclear imaging. *Korean J Nucl Med* 2004;38:111-4.
6. Ye JC, Webb KJ, Millane RP, Bouman CA. In vivo optical molecular imaging: Principles and signal processing issues. *IEEE Press ICASSP* 2005; 5:849-52.
7. Ray P, De A, Min JJ, Tsien RY, Gambhir SS. Imaging tri-fusion multi-modality reporter gene expression in living subjects. *Cancer Res* 2004;64:1323-30.
8. Takeda M, Kobayashi M, Takayama M, Suzuki S, Ishida T, Ohnuki K, et al. Biophoton detection as a novel technique for cancer imaging. *Cancer Sci* 2004;95:656-61.
9. Rocchetta HL, Boylan CJ, Foley JW, Iversen PW, Letourneau DL, McMillian CL, et al. Validation of a noninvasive, real-time imaging technology using bioluminescent *Escherichia coli* in the neutropenic mouse thigh model of infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:129-37.
10. Meighen EA. Molecular biology of bacterial bioluminescence. *Microbiol Rev* 1991;55:123-42.
11. Meyer RR, Kirkland AI. Characterisation of the signal and noise transfer of CCD cameras for electron detection. *Microsc Res Tech* 2000;49:269-80.
12. Min JJ. Progress and prospects of reporter gene imaging. *Biosystems Review* 2006;2:2-21.
13. Yamauchi K, Yang M, Jiang P, Yamamoto N, Xu M, Amoh Y, et al. Real-time in vivo dual-color imaging of intracapillary cancer cell and nucleus deformation and migration. *Cancer Res* 2005;65:4246-52.
14. Ntziachristos V, Schellenberger EA, Ripoll J, Yessayan D, Graves E, Bogdanov AJ, et al. Visualization of antitumor treatment by means of fluorescence molecular tomography with an annexin V-Cy5.5 conjugate. *PNAS* 2004; 101:12294-9.
15. Ntziachristos V, Bremer C, Weissleder R. Fluorescence imaging with near-infrared light: new technological advances that enable in vivo molecular imaging. *Eur Radiol* 2003;13:195-208.
16. Min JJ, Nguyen VH, Kim HJ, Hong YJ, Choy HE. Quantitative bioluminescence imaging of tumor-targeting bacteria in living animals. *Nat Protoc* 2008;3:629-36.
17. Jawhara S, Mordon S. Monitoring of bactericidal action of laser by in vivo imaging of bioluminescent *E. coli* in a cutaneous wound infection. *Lasers Med Sci* 2006;21:153-9.
18. Contag CH, Spilman SD, Contag PR, Oshiro M, Eames B, Dennery P, et al. Visualizing gene expression in living mammals using a bioluminescent reporter. *Photochem Photobiol* 1997;66:523-31.
19. Wetterwald A, van der Pluijm G, Que I, Sijmons B, Buijs J, Karperien M, et al. Optical imaging of cancer metastasis to bone marrow: a mouse model of minimal residual disease. *Am J Pathol* 2002;160:1143-53.
20. Rice BW, Cable MD, Nelson MB. In vivo imaging of light-emitting probes. *J Biomed Opt* 2001;6:432-40.