
서버 클라이언트 기반의 실시간 마이크로칩 형광 이미지 분석 시스템 개발

조미경* · 심재술**

Development of a real-time Analysis System of Microchip Fluorescence
Images based on Server-Client

Migyung Cho* · Jaesool Shim**

이 논문은 2012년도 한국연구재단 연구비를 지원받았음(No. 2012R1A1A2009392)

요 약

임상 의료 분야에서 질병 진단 및 치료를 위해서는 분자 수준(프로틴, DNA 등)의 크기 뿐만 아니라, 세포 수준에 대한 분석이 필요하다. 많은 경우 실험 샘플이 시간에 따라 변질되기 때문에 정확한 분석을 위해서는 빠른 분석과 실시간 데이터가 필요하다. 본 연구에서는 나노 마이크로 크기의 세포내 단백질이나 DNA의 변화 과정 등을 촬영할 수 있는 3차원 형광 관측 장치를 제작하고 이로부터 얻은 형광 이미지를 실시간 통합 관리 및 분석하기 위한 서버 클라이언트 기반의 형광 이미지 분석 시스템을 구축하였다. 시스템은 형광 관측 장치와 소프트웨어 그리고 형광 이미지를 실시간으로 분석할 수 있는 모바일 프로그램으로 구성된다. 개발된 시스템은 의료인이 시공간의 제약 없이 응급환자의 샘플에서 획득한 형광이미지를 실시간으로 전송받아 분석 및 진단을 내릴 수 있도록 해 주므로 유비쿼터스 헬스 구현에 활용할 수 있다.

ABSTRACT

In the field of clinical medicine and research, the analysis of such as protein and DNA at the molecular level and even at the cell level are necessary for disease diagnosis and treatment. In many cases, a real time image of samples is needed for the accurate analysis and manipulation of samples since experimental samples are degenerated with time. In this research, a three-dimensional fluorescence microscope device was developed for taking images of protein and DNA inside a single cell and the server-client based image analysis system was made for an integrated management of the real-time images taken from the microscope device. The system consists of a fluorescent measurement device, the associated software and a client program on smartphone. The developed system allows doctors or experimental managers to receive and look at the real-time experimental images taken from the samples of patients anywhere in the emergency, to analyze results and to instantly diagnose the disease and to transfer the results to the patients. As a result, the system is able to be utilized in the implementation of ubiquitous health as well.

키워드

마이크로 칩, 형광 관측 시스템, 스마트폰, 서버 클라이언트 시스템

Key word

Microchip, Optical Fluorescence Measurement System, Smart Phone, Server Client System

* 정회원 : 동명대학교 미디어공학과
** 정회원 : 영남대학교(교신저자, jshim@ynu.ac.kr)

접수일자 : 2013. 01. 17
심사완료일자 : 2013. 04. 01

Open Access <http://dx.doi.org/10.6109/jkiice.2013.17.5.1239>

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.
Copyright © The Korea Institute of Information and Communication Engineering.

I. 서 론

최근 들어 새로운 신약개발을 위한 임상 실험 기초 분야에서 분자 수준의 크기인 세포내에서 일어나는 현상들을 영상화하고 분석하는 기술인 바이오이미징(Bioimaging)에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 특히 세포의 형광이미지 분석에 대한 요구가 증가하고 있는데 이는 생체 세포 내 일어나는 현상들을 영상을 통해 직접 확인하고 분석할 수 있도록 해 주기 때문에 질병의 조기 진단 및 치료에 필수적으로 사용될 수 있기 때문이다[1-3].

최근 들어 나노기술이 접목된 바이오 이미징 분야는 분자 수준의 단백질이나 DNA 등에서 일어나는 현상까지도 영상으로 또렷이 관찰할 수 있는 수준으로 발전하였을 뿐만 아니라 최근 10여 년 동안 진단과 치료를 위해 의료 임상 분야에서 필수적으로 사용되고 있다. 따라서 나노미터 크기의 단백질이나 DNA 등을 촬영할 수 있도록 해 주는 장치와 촬영한 형광 이미지를 분석하기 위한 형광 이미지 분석 소프트웨어들이 활발히 개발되고 있다[4-6].

3차원 형광 이미지 획득을 위한 영상 촬영 장치로 최근 가장 많이 사용되는 것이 공초점 현미경(Confocal Microscope)인데 이는 공초점 현미경에 장착된 핀홀이라는 장치를 이용하여 기존의 형광 현미경으로 얻을 수 없었던 고배율, 초고해상도 형광 이미지를 얻게 해 주기 때문이다. 공초점 현미경 장치로부터 여러 가지 방법으로 세포를 스캔하여 형광 이미지를 획득하기 위한 소프트웨어와 획득된 형광 이미지를 분석하기 위한 소프트웨어도 필수적이다. 따라서 형광 이미지 분석 시스템은 공초점 현미경 장치와 분석 소프트웨어가 하나의 시스템으로 구축되어 기초 실험과 연구를 위해 사용하고 있다.

하지만 기 개발된 형광 이미지 분석 시스템들은 장치가 설치되어 있는 실험실이나 병원과 같은 장소에서만 형광 이미지의 분석이 가능하다는 단점이 있다. 촬영한 형광 이미지에 대한 분석 결과가 필요한 경우 단순 실험자가 실험한 결과를 의사나 연구자에게 시간차를 두고 오프라인이나 온라인으로 전송하므로 결과를 긴박하게 분석해야 되는 경우에는 어려움이 생기고, 또한 잘못된 실험이 진행된 경우에도 즉각적인 대처를 할 수가 없는 실정이다.

본 연구에서 개발된 형광 이미지 분석 시스템은 위에서 소개한 것과 같은 기존의 한계점을 극복하기 위하여 형광 관측 장치와 연결된 소프트웨어 및 컴퓨터를 서버로 하고 실시간으로 서버와 연결하여 2D 및 3D 형광 이미지를 의사나 연구자가 즉각적으로 분석 및 진단할 수 있도록 Wifi 및 3G가 작동되는 스마트폰을 기반으로 하는 클라이언트 분석 시스템을 함께 개발하여 장소나 시간적인 제약 없이 언제든지 사용 가능하도록 하였다. 예를 들어, 의사가 병원에 있지 않는 상황에서 위급한 환자의 형광 이미지를 보고 곧바로 처방을 해야 될 상황이 발생할 때, 모바일 형광 이미지 분석 시스템을 통하여 의사가 스마트폰을 이용하여 병원 서버로 접속한 후 형광 이미지를 다운로드하여 곧바로 분석할 수 있도록 해 주는 시스템이다. 이러한 시스템의 개발은 향후 유비쿼터스 헬스(ubiquitous health) 구현에 활용될 수 있다[7].

본 논문의 구성은 다음과 같다. 2장에서는 개발된 3차원 형광 관측 장치 및 형광 이미지 측정 장비에 대해 설명하고 3장에서는 형광 이미지 분석을 위한 서버 클라이언트 기반의 형광 이미지 분석 시스템 전체적인 구조를 살펴본다. 그리고 4장에서는 스마트폰 기반의 클라이언트 프로그램이 제공하는 기능을 살펴보고 5장에서는 앞으로는 연구 방향에 대해 언급하고 결론을 맺는다.

II. 형광 측정 장치 제작 및 실험

형광 이미지의 장점은 육안으로 관찰이 불가능한 단백질 및 DNA의 변화와 바이러스의 발현 위치를 이미지로 얻을 수 있고 동시에 네 가지 서로 다른 색의 형광으로 각각 단백질 및 세포 소기관 등을 표시할 수 있어 정확하고 많은 정보를 동시에 얻을 수 있다는 것이다. 이러한 형광 이미지는 형광 물질을 주입한 후 다양한 광원을 이용하여 살아있는 세포들의 변화를 광학 현미경을 통해 촬영하는데 형광 관측 장치의 핵심은 공초점 현미경이다.

그림 1은 본 연구에서 개발된 3차원 형광 측정 장치 개략도이다. 기존의 3차원 측정 장치는 하나의 PMT를 이용하여 하나의 특수한 레이저 입력 파장에 대한 형광 입력을 얻는 반면에 본 연구에서 개발된 형광 측정 장치는 동시에 두 개의 PMTs를 구성함으로써 두 개 이상의 형광물질에서 나오는 저주파 영역 ($\lambda > 665 \text{ nm}$) 및 고주

파 영역 ($550\text{nm} < \lambda < 600\text{nm}$)이 동시에 측정가능 하도록 하여, 실시간으로 두 가지 형광물질을 동시에 사용할 수 있도록 구성하여 실험적 측정 시간을 줄이고자 하였다. 투사 레이저는 532nm 의 Nd: Yag 레이저를 사용하였다.

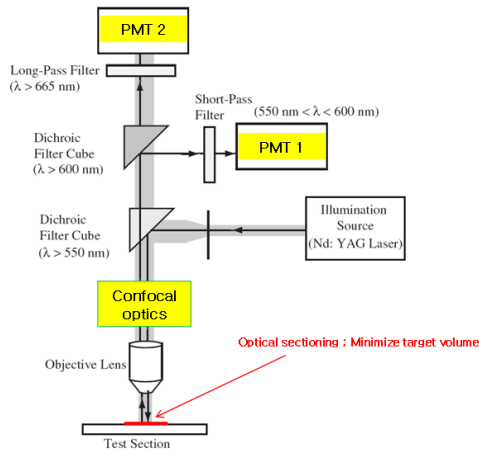


그림 1. 형광측정장치 개략도
Fig. 1 Overview of a our optical fluorescence measurement

그림 2는 본 연구에서 개발하여 사용한 형광 관측 장치를 보여준다. 제작된 형광 관측 장치는 형광 현미경 (Olympus BX51M)과 공초점 스캔 장치(NSS NF-1000K), 전원 및 제어 장치와 형광 이미지 그래버(grabber)로 구성되어 있다.



그림 2. 제작된 형광 관측 장치
Fig. 2 Our optical fluorescence measurement device

또한 PMTs를 두 개를 사용하므로 기존의 공초점 현미경과 비교하여 픽셀 강도 민감도가 증가되었고, 픽셀 매칭 작업이 불필요하며, 측정시편이 레이저에 매우 민감할 경우 레이저에 의한 오차율을 최소화 하는 것이 가능하도록 구성한 것이 본 연구의 핵심 기술이다.

그림 3은 본 연구에서 개발된 멀티 PMTs 장치를 가진 3차원 공초점 장치를 사용하여 3차원 형상의 형광 이미지를 얻기 위하여 3D 하이드로젤 내에 세포를 주입하여 촬영한 것이다. 하이드로젤은 PEG를 사용하였고, 하이드로젤을 만들기 위해서 UV 빛을 이용하여 3차원 마이크로 형상에서 고형화하였다.

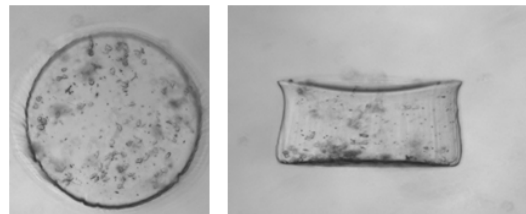


그림 3. 3D 하이드로젤내의 세포 이미지
(직경 $400\mu\text{m}$ * 높이 $300\mu\text{m}$)
Fig. 3 3D Cell image within the hydrogel
(Width $400\mu\text{m}$ * height $300\mu\text{m}$)

그림 4는 제작된 형광 측정시스템을 통하여 하이드로젤 내의 세포 이미지를 측정된 결과이다. 그림 3의 하이드로젤 이미지는 완전히 제거되었으며, 하이드로젤 내의 세포의 형상을 완전히 측정 가능함을 볼 수 있으므로 형광 측정 장치가 잘 동작함을 알 수 있다.

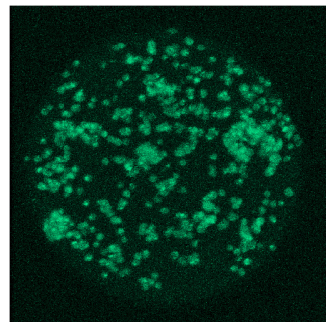
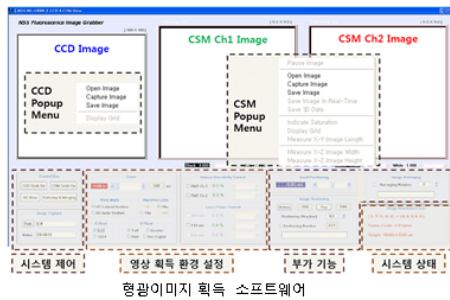


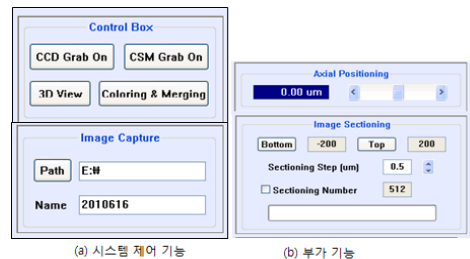
그림 4. 3D 하이드로 내의 세포이미지 측정결과
Fig. 4 Measurement results of 3D cell image within the hydrogel

III. 형광 이미지 분석 시스템의 전체적인 구조와 기능

형광 관측 장치로부터 획득한 형광 이미지를 분석하기 위해 본 연구에서는 서버 클라이언트 기반의 형광 이미지 분석 시스템을 개발하였다. 개발된 시스템의 전체적인 구조는 그림 5와 같다. 형광 이미지 획득 소프트웨어는 장치와 연결된 컴퓨터에서 수행되며 장치로부터 다양한 옵션으로 형광 이미지를 획득한다. 스마트폰을 이용한 서버 클라이언트 기반의 분석 시스템은 형광 관측 장치와 연결된 컴퓨터와 상호 통신하며 시공간의 제약을 받지 않고 형광 이미지를 분석 및 진단할 수 있도록 해 준다.



과 3차원 뷰 기능과 컬러화와 병합 뷰 기능, 파일 저장 기능을 포함한다. 그림 6의 (b)는 Axial Positioning, Image Sectioning와 같은 부가적인 기능을 보여준다. 그림 6의 (c)는 영상 획득 환경 설정을 위한 대표적인 기능인 줌(zoom) 설정, 뷰 모드 설정, CSM 영상 획득을 위한 센서 민감도 설정, 레이저 파워 설정 등의 기능을 보여 준다.



(a) 시스템 제어 기능 (b) 부가 기능



(c) 영상 획득 환경 설정 기능

그림 6. 형광 이미지 획득 소프트웨어 기능들
Fig. 6 Functions of fluorescence images acquisition software



그림 5. 서버 클라이언트 기반의 형광이미지 분석 시스템의 전체적인 구조
Fig. 5 Overview of analysis system of fluorescence images based on server-client

형광 이미지 획득 소프트웨어는 스캔된 형광 이미지를 보여주는 디스플레이 부분과 각종 기능들(시스템 제어를 위한 기능, 영상 획득 환경을 설정하기 위한 기능, 시스템 상태를 보여주는 기능, 기타 부가적인 기능)로 구성되어 있다. 영역별 기능을 살펴보면 먼저 시스템 제어 기능은 그림 6의 (a)에서 보듯이와 같이 형광 이미지를 획득하기 위한 두 가지 모드인 CSM/CCD 선택

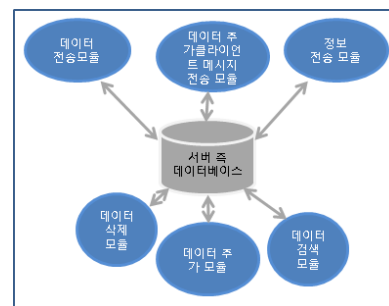


그림 7. 모바일 형광 이미지 분석 시스템 서버 구조
Fig. 7 Sever architecture of mobile fluorescence images analysis system

모바일 형광 이미지 분석 프로그램은 서버 클라이언트 구조를 가진다. 서버는 형광 이미지 획득 소프트웨어에서 생성된 정보를 가지고 클라이언트의 요구가 있거나 새로운 데이터가 생성될 때 필요한 정보를 클라이언

트로 보낸다. 클라이언트는 서버로부터 전송받은 형광 데이터를 분석하고 필요한 정보를 사용자에게 제공하는 기능으로 구성된다. 그림 7은 서버 측 구조와 기능들을 보여주고 그림 8은 클라이언트 측 구조와 기능들을 보여준다.

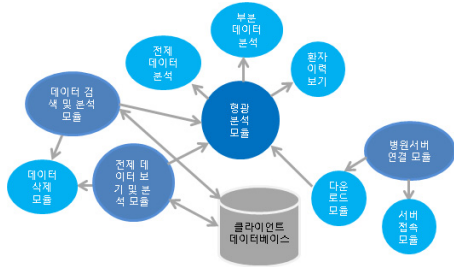


그림 8. 모바일 형광 이미지 분석 시스템 클라이언트 구조와 기능

Fig. 8 Client architecture and functions of mobile fluorescence images analysis system

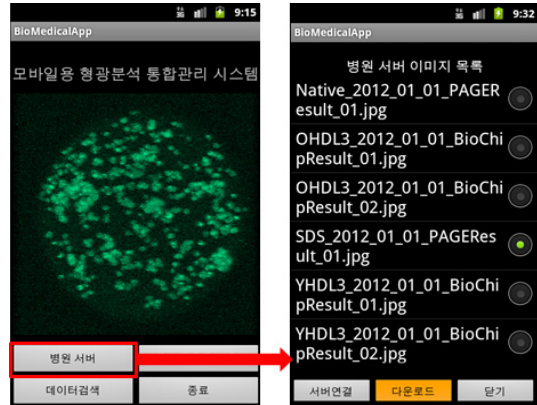
일반적으로 서버 클라이언트 시스템은 서버에서 대부분의 계산이나 처리가 이루어지고 클라이언트 측에서는 서버에서 처리된 결과를 가져와 보여준다. 하지만 모바일 형광 이미지 분석 시스템은 클라이언트 측에서 데이터 분석을 위한 처리와 계산이 이루어진다. 최근 스마트폰의 중앙처리장치 성능이나 메모리의 용량이 형광 이미지 분석을 위한 충분한 컴퓨팅 능력을 제공해 주기 때문이다. 실제 구현 결과 형광 이미지 처리를 위한 계산 능력과 처리 속도 면에서 문제가 되지 않았다.

IV. 모바일 형광이미지 분석 시스템 구현

클라이언트는 안드로이드 기반의 갤럭시를 기준으로 구현하였다. 서버 클라이언트 간 통신은 소켓 프로그램을 사용하였고 데이터 전송을 위해서는 두 개의 포트를 사용하여 하나는 데이터베이스 전체적인 정보 전달을 위해 사용하고 다른 하나는 형광이미지 파일 전송을 위해 사용하였다.

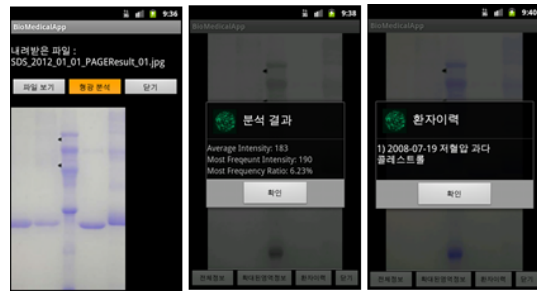
그림 9 (a)는 클라이언트 프로그램의 시작 화면을 보여 주고 (b)는 서버에 접속하여 서버 데이터베이스에 있는 데이터들을 가져와 사전적 순서로 보여 준 것이다. 데이터 정보에는 데이터 종류, 저장 날짜, 저장한 사람 등

을 있다. 서버 접속 시 제공되는 기능들에 대해서는 참고 문헌 [8]을 참고하기 바란다.



(a) (b)

그림 9. 서버 연결과 클라이언트 시작화면
Fig. 9 Server connection and client start screen



(a) (b) (c)

그림 10. 클라이언트 형광 이미지 분석 예
Fig. 10 Example of client fluorescence images analysis

그림 10 (a)는 형광 이미지를 다운로드 받은 직후 화면이다. 그림 (b)는 형광 이미지 분석 결과를 보여준다. 형광 이미지 분석은 전체 데이터에 대한 분석과 사용자가 지정한 부분 영역에 대한 분석, 형광 이미지에 대한 추가 정보 기능으로 구분된다. 형광이미지 분석을 위해 컬러 이미지는 그레이스케일 이미지로 변환하여 각 픽셀들의 강도 값을 이용하였다. 그림 (c)는 형광 이미지들에 대한 추가 정보들도 형광 이미지와 함께 보여 줌으로 형광이미지 분석에 부가적인 도움을 주도록 하였다.

V. 결 론

본 논문에서 나노 마이크로 크기인 세포들의 상호 작용이나 세포내에서의 이동, 세포의 생성과 소멸 등을 영상화할 수 있는 형광 관측 장치와 스마트폰을 이용하여 형광이미지를 분석 진단할 수 있는 서버 클라이언트 기반의 형광이미지 분석 시스템을 개발하였다. 개발한 시스템은 의사가 스마트폰을 이용하여 환자의 형광이미지를 시공간에 제약 없이 진단할 수 있도록 해주므로 유비쿼터스 헬스 구현에 활용할 수 있다.

감사의 글

This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government(MEST) (No. 2012R1A1A2009392)

참고문헌

[1] 광IT융합산업 워킹그룹, “임상 전 단계 전신 형광 이미지 기술 분석 및 동향”, 2011년 광 IT융합산업 보고서, 한국광산업진흥회, 2011.

[2] 최영진, “차세대 나노바이오 의료 융합 기술의 개발 동향”, KEIT PD Issue Report, Vol. 7, pp.71-85, , 2011.

[3] 엄태중, 강철, 변지수, 한송희, “바이오 포토닉스 영상 기술”, 물리학과 첨단기술 Jone 2007.

[4] M. R. Lamprecht, D. M. Sabatini, et al., “CellProfiler™: free, versatile software for automated biological image analysis”, BioTechniques, Vol. 42, pp. 71-75, 2007.

[5] Mi. Pounda, A. Frencha, et al., “CellSeT: Novel Software to Extract and Analyze Structured Networks of Plant Cells from Confocal Images”, The Plant Cell, vol. 24 no. 4, pp. 1353-1361, 2012.

[6] W. Trotman, D. Taatjes, E. Bovill, Multifluorescence Confocal Microscopy: Application for a Quantitative Analysis of Hemostatic Proteins in Human Venous Valves, Methods in Molecular Biology Volume vol. 931, pp 85-95 ”, 2013.

[7] 성건용 외 5인, “유비쿼터스 라이프케어 기술 동향”, 전자통신동향분석 제 22권 제 5호, 2007년.

[8] 조미경, 심재술, “모바일 형광 이미지를 분석 통합 관리 시스템 개발,” 한국 정보 통신 학회 2012 춘계 종합 학술대회 논문집, pp.919-921, 2012.

저자소개



조미경(Migyung Cho)

1990년 2월 부산대학교
전자계산학과(이학사)
1992년 2월 부산대학교
전자계산학과(이학석사)

1998년 2월 부산대학교 전자계산학과(이학박사)
2000년 9월~ 2002년 8월 부산대학교 연구교수
2005년 9월~ 2006년 8월 워싱턴주립대학교 방문교수
2002년 9월~ 현재 동명대학교 미디어공학과 부교수
※관심분야: 알고리즘, 바이오이미징,
바이오시물레이션



심재술(Jaesool, Shim)

1995년 2월 부산대학교
생산기계공학부(공학사)
1997년 2월 포항공과대학교
기계공학부(공학석사)

2007년 12월 워싱턴 주립대 기계공학부(공학박사)
1997년 2월~ 2003년 4월 LG 전자 연구소
2008년 1월~ 2008년 8월 Harvard-MIT/Harvard Medical School 박사후 연수
2008년 9월~ 현재 영남대학교 기계공학부 부교수
※관심분야: 에너지 및 물질 전달, 나노바이오,
마이크로 칩