

Development of HCS(High Contents Screening) Software Using Open Source Library

Ye Ji Na[†] · Jong Gab Ho[†] · Sang Joon Lee^{**} · Se Dong Min^{***}

ABSTRACT

Microscope cell image is an important indicator for obtaining the biological information in a bio-informatics fields. Since human observers have been examining the cell image with microscope, a lot of time and high concentration are required to analyze cell images. Furthermore, It is difficult for the human eye to quantify objectively features in cell images. In this study, we developed HCS algorithm for automatic analysis of cell image using an OpenCV library. HCS algorithm contains the cell image preprocessing, cell counting, cell cycle and mitotic index analysis algorithm. We used human cancer cell (MKN-28) obtained by the confocal laser microscope for image analysis. We compare the value of cell counting to imageJ and to a professional observer to evaluate our algorithm performance. The experimental results showed that the average accuracy of our algorithm is 99.7%.

Keywords : Cell Segmentation, Cell Cycle, Cell Counting, Bio-Image Automated Analysis

오픈 소스 라이브러리를 활용한 HCS 소프트웨어 개발

나 예 지[†] · 호 종 갑[†] · 이 상 준^{**} · 민 세 동^{***}

요 약

생물정보학분야에서 현미경을 통해 얻은 세포 영상은 생물학적 정보를 얻기 위한 중요한 지표이다. 연구자들은 영상을 육안으로 분석하기 때문에 분석에 많은 시간과 고도의 집중력이 요구된다. 게다가 연구자의 주관적 관점이 분석에 개입되어 결과를 객관적으로 정량화하는데 어려움이 있다. 따라서 본 연구에서는 OpenCV 라이브러리를 이용하여 세포의 자동 분석을 위한 HCS(High Content Screen) 알고리즘을 개발하였다. HCS 알고리즘은 이미지 전처리 과정, 세포 계수, 세포 주기와 분열지수 분석 기능을 포함한다. 본 연구에서는 공초점 레이저 현미경을 통해 얻은 위암세포(MKN-28) 영상을 분석에 사용하였으며, 성능 평가를 위해 세포영상 분석 프로그램인 ImageJ와 전문 연구원의 세포 계수 분석결과를 비교하였다. 실험 결과 HCS 알고리즘의 평균 정확성이 99.7%로 나타났다.

키워드 : 세포 분할, 세포 주기, 세포 계수, 바이오영상 분석 자동화

1. 서 론

최근 생명공학기술(BT, Biotechnology) 분야의 발전에는 현미경의 역할이 매우 중요하며[1], 이에 따라 연구자들은 수많은 실험 세포 샘플의 이미지를 고해상도로 손쉽게 얻을 수 있게 되었다. 특히 공초점 레이저 현미경(Confocal Laser Microscope)의 개발[2]로 인해 세포 내에서 일어나는 일련의 생명 현상들을 실시간으로 관찰할 수 있으며 3차원으로 영상을 분석할 수 있게 되었다. 이를 기반으로 공초점 현미경을 이용한 연구 및 응용 사례들이 지속적으로 이어지고 있다[3-6].

현미경으로 촬영된 수많은 세포 이미지의 분석은 수작업으로 이루어지는데, 이는 숙련된 연구원일지라도 많은 시간과 고도의 집중력을 필요로 한다. 또한 연구자의 주관적인 관점이 많이 개입되어 영상의 해석 결과를 객관적인 수치로 나타내는 데에 어려움이 있다. 이에 따라 세포 이미지 분석의 자동화 및 고속화 기술을 적용한 소프트웨어의 필요성이 대두되고 있다[7].

High Content Screening(HCS)이란 살아있는 세포에서 광학적, 화학적, 생물학적 기술과, 이미지 분석을 이용하여 세포에서 일어나는 일련의 세포생물학적 변화를 자동으로 정량적인 데이터로 변환해주는 영상정보 분석 기법이다. 또한 한 가지 실험 방법으로 얻은 일련의 세포이미지들로부터 여러 가지의 생물학적 분석을 도출할 수 있는 기법이다. 이러한 기술은 분자 생물학적 기법뿐만 아니라, 고해상 광학 기술 및 자동화 시스템이 결합되어 있는 융합기술의 산물이다[8].

※ 이 논문은 2014년 교육부와 한국연구재단의 지역혁신 창의 인력양성사업의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2014H1C1A1066998).

† 준 회원 : 순천향대학교 의료IT공학과 석사과정

** 정 회원 : 선문대학교 기계ICT융합공학부 조교수

*** 종신회원 : 순천향대학교 의료IT공학과 교수

Manuscript Received : May 2, 2016

Accepted : May 17, 2016

* Corresponding Author : Se Dong Min(sedongmin@sch.ac.kr)

현재 HCS 기법을 상용화하고 있는 기업은 미국의 Cellomics, 영국 GE Healthcare사의 InCell 3000 Analyzer, 독일 Evotec사의 Opera 등이 있으며[9], 국내에서는 HCS관련 기술과 장비의 운영노하우를 축적하고 있으나 실제 장비의 개발 또는 분석을 위한 응용 프로그램의 개발은 시도되지 않은 것으로 파악된다. 대부분의 소프트웨어들은 현미경 이미지 분석 시스템에 응용 모듈 형태를 추가하는 방식으로 개발되었으며 응용 분야에 따라 독립적으로 만들어진다.

대표적인 현미경 이미지 분석 시스템들에 포함된 응용 모듈로는 Cell Counting, Cell toxicity, Cell Cycle, Mitotic Index 등으로 구성되어 있으며 이러한 모듈들은 부담스러운 가격으로 인해 대부분 규모가 큰 기업이나 일부 연구소에서만 사용될 뿐, 소규모 연구실의 사용자들에게는 활용도가 적다. 또한 고가의 소프트웨어를 구매하여 사용하더라도 하나의 장비 시스템에 의존하게 되어 장기간 촬영 시 한 실험에만 장비가 독점되는 문제가 생길 수 있다. 이러한 이유로 연구자들은 대부분 기본적인 분석 시스템의 분석 결과를 가지고 직접 추가 분석을 하고 있는 상황이다.

따라서 본 논문에서는 개인용 PC 환경에서도 이미지 분석이 가능한 소프트웨어를 개발하여 장비 독점 문제를 해결하고 고가의 HCS 소프트웨어의 대체 가능성을 확인하고자 한다. 상용화 소프트웨어인 LabWindows CVI 틀에 Open Source를 적용하여 HCS 소프트웨어의 구현이 가능하다는 것을 보여주는 것이 본 연구의 목적이다. 소프트웨어는 공초점 레이저 현미경으로 촬영된 세포 이미지의 특징 정보를 자동으로 추출하여 세 가지 모듈인 Cell Cycle, Cell Counting, Mitotic Index 기능을 구현하였다.

2. 본 론

본 연구에서 개발한 세포 분석 소프트웨어는 크게 영상 획득 과정, 이미지 전처리 및 주요 특징 추출 과정, 분석 모듈 구현으로 나누어져있다. 본 소프트웨어의 세 가지 모듈은 현미경 이미지에서 얻은 세포의 특징 정보를 기반으로 구현하였으며, 세포 특징 추출은 이미지 전처리 단계를 거쳐 수행되었다.

2.1 영상 획득

본 연구에서는 Fig. 1에 보이는 공초점 레이저 현미경을 사용해 실제 70대 여자 노인의 위암세포인 MKN-28 세포 영상을 Fig. 2와 같이 획득하였다.

공초점 레이저 현미경(Confocal Laser Scanning Microscopy)은 광원에서 나온 광속이 집속 렌즈에 의해 시료 표면에 조사되고, 시료깊이의 변화를 빛의 세기의 변화로 검출하여 영상으로 구현하는 주사형 현미경이다. 공초점 레이저 현미경이 가지고 있는 장점은 기존의 광학현미경에 비해 초점심도가 낮아 초점을 벗어난 영상을 제거할 수 있다. 따라서 선명하고 감도 높은 영상을 얻을 수가 있으며 비접촉, 비파괴적인 방법을 사용하여 조직에 대한 침해 없이 광학적인



Fig. 1. Confocal Laser Scanning Microscopy (Carl Zeiss社 LSM-700)

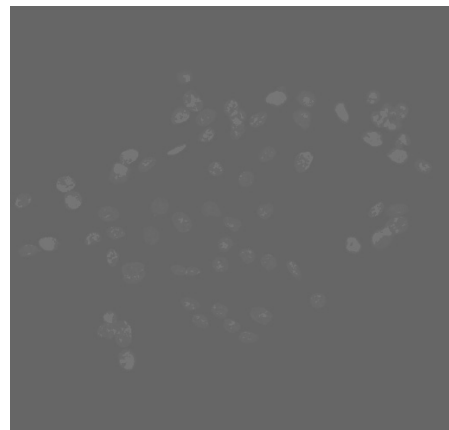


Fig. 2. Cell Image of Confocal Microscopy

절편영상을 만든다[10]. 또한 4개의 파장 대역(358nm, 488nm, 555nm, 639nm)의 빛을 조사하여 여러 개의 형광 염색처리된 샘플을 촬영 및 저장할 수 있다. 본 논문에서 사용한 공초점 레이저 현미경은 Carl Zeiss사의 LSM-700 모델이며 200배율로 샘플 세포를 촬영하여 72dpi의 해상도로 export 하였다. MKN-28 샘플 세포는 Confocal Dish의 위치에 따라 30장을 촬영하였으며, 촬영된 영상은 512×512 크기의 16bit 칼라 영상이다. 영상 포맷 유형은 화질 저하를 막기 위해 Tiff 파일로 변환하여 저장하였고 이를 USB로 획득하였다.

2.2 영상처리 및 세포 특징 정보 획득

생물학 연구자들은 하나의 조직 샘플 이미지에서 세포의 크기, 수, 모양과 같은 특징 변수들을 고려하여 진단을 내린다. 현미경으로부터 얻은 이미지는 각종 분비물과 세포질 및 얼룩 등을 포함하고 있으므로 전처리 작업이 필수적이다. 따라서 본 연구에서는 Fig. 3과 같은 전처리 과정을 거쳐 이진 이미지를 획득하고자 한다. 먼저 Fig. 3-1 블록에서는 Fig. 4(a)와 같이 공초점 레이저 현미경으로부터 얻은 칼라 이미지를 Fig. 4(b)에서 보이는 것과 같이 그레이 스케일 이미지로 재구성 하였다. Fig. 3-2 블록은 영상 내의 불필요한 잡음 성분을 없애주기 위해 가우시안 필터를 적용하여 Fig. 4(c)와 같이 이미지에 Blurring 처

리를 한 과정이다. Fig. 3-3 블록은 잡음이 제거된 그레이 영상을 이진 영상으로 변환하는 Binarization 과정에 해당한다. 영상 이진화 과정에서 단일 임계값을 사용할 경우 영상 내의 많은 정보를 손실할 수 있으므로 본 연구에서는 주변 화소들의 정보를 이용해 적응적으로 임계값을 결정하는 Niblack 이진화를 수행하였다[11]. 이진화 된 결과는 Fig. 4(d)에서와 같이 세포들이 서로 접촉하거나 겹쳐진 채로 군집화 되어 있다. 이는 세포의 개수를 세는 작업이나 세포의 모양 및 크기 정보를 얻는 데 있어 많은 측정오차를 유발시킬 수 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위해 Fig. 3-4 블록은 기존 세포 분할을 위한 대표적인 영역 확장 방식 중 하나인 워터셰드(Watershed) 기반의 알고리즘[12]을 사용하여 Fig. 4(e)에서 보여 지는 것과 같이 겹쳐진 세포 영역을 분할하였다. 마지막 전처리 단계인 Fig. 3-5 블록에서는 분할된 세포의 경계선 검출을 위해 Canny 연산자[13]를 이용하여 세포의 경계 영역만을 확보하였으며, 경계선이 아닌 부분은 255, 경계선은 0의 화소 값을 주어 Fig. 4(f)과 같이 세포의 경계선 영상을 만들었다.

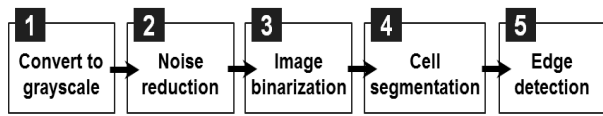


Fig. 3. Image Pre-processing flow

전처리 과정을 거친 결과로 얻은 이진 경계선 이미지에서 각 세포의 특징 정보를 얻는다. 세포의 특징 정보는 크기와 위치, 그리고 세포의 밝기 값이다. 세포의 크기는 세포를 이루고 있는 픽셀의 개수로 구할 수 있으며, 세포 위치는 경계선 추적을 통해 각 세포에서 가장 먼저 발견 된 픽셀 좌표로 간주하였다. 세포의 밝기 정보는 세포를 이루고 있는 픽셀들의 밝기 값의 합을 구하여 크기로 나눈 정보이다.

위 세 가지의 특징 값을 도출하기 위해 본 연구에서는 Flood Fill 알고리즘[14]과 프리만 체인코드[15], 그리고 개선된 체인코드 알고리즘[16]의 세 가지 알고리즘을 Fig. 5(a) 원본 이미지에 비교 적용해보았다.

먼저 Flood Fill 알고리즘은 경계선 내부의 영역을 연결하여 채워가는 알고리즘으로 4-방향, 8-방향 두 가지 방식이 있다. Flood Fill 알고리즘의 경우 세포 내부의 명암대비가 낮은 경우에는 잘 수행되었으나, Fig. 5(b)와 같이 경계선이 불분명하거나 밝기 변화량이 큰 경우에는 제대로 객체를 채우지 못하는 문제가 있었다. 프리만의 체인코드 알고리즘은 Fig. 5(c)의 결과와 같이 객체에 해당하는 픽셀의 주변 8방향을 차례대로 조사하여 경계선을 추적하는 알고리즘이다. 체인코드 알고리즘의 경우 세포 개수가 많은 이미지에서는 지나치게 많은 탐색 연산으로 인해 속도가 떨어져 비효율적이다.

따라서 본 연구에서는 객체에 해당하는 픽셀 주변 8방향의 탐색 우선순위를 적응적으로 계산하여 탐색 횟수 및 시간을 최소화 할 수 있는 개선된 체인코드 알고리즘을 사용하

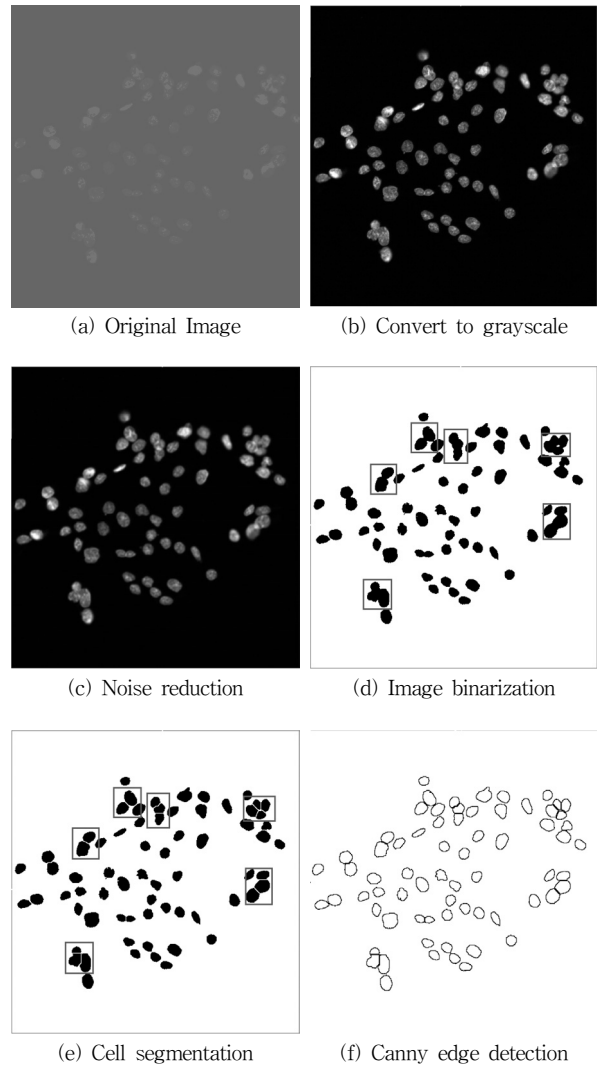


Fig. 4. Image Pre-processing Result

였다. 해당 논문[16]에서는 비교적 타원 형태를 가진 세포의 경계선을 추적하는 데에 있어, 기존의 프리만 체인코드와 개선된 체인코드를 적용하여 같은 수행 결과가 나타나는 것을 확인함으로써 정확성을 입증하였다. 또한 개선된 체인코드를 적용한 알고리즘이 기존의 프리만 체인코드 알고리즘에 비해 연산 량이 적고 수행 속도가 더 빠르게 나타났음을 확인하였다. 따라서 본 논문에서 사용하는 MKN-28세포 이미지에 프리만 체인코드와, 개선된 체인코드 알고리즘을 적용해 보았다. 두 알고리즘의 연산량 비교 결과 기존의 프리만 체인코드의 이웃 픽셀 탐색 횟수는 25,833번이며, 속도는 25초인 반면, 개선된 체인코드를 사용한 결과 탐색 횟수가 13,584번, 속도가 21초로 프리만 체인코드에 비해 연산 량과 소요시간이 적음을 확인하였다.

본 논문에서는 전처리 과정의 결과 값인 분할된 세포 이미지에 개선된 체인코드 방법을 사용하여 세포 영상 내 각 세포의 크기, 밝기, 위치 정보를 획득하였다.

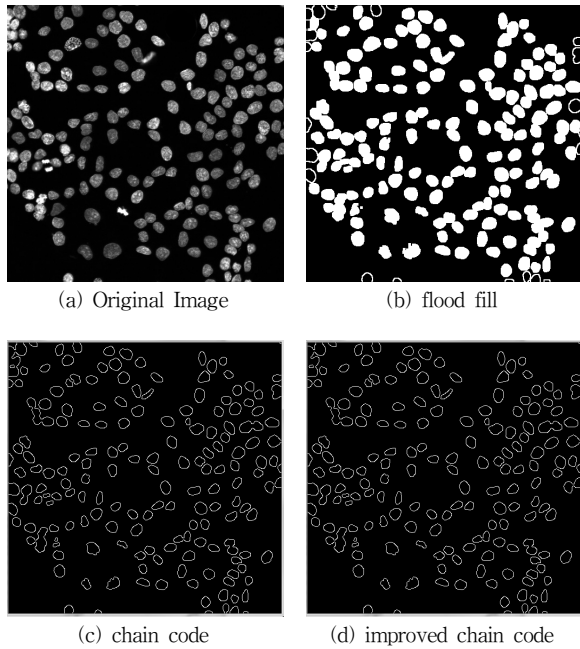


Fig. 5. Algorithm apply for same sample image

2.3 분석 모듈 구현

해당 소프트웨어는 공초점 레이저 현미경을 이용한 세포 기반 기능 분석에 대한 세 가지 응용을 포함하며 그것은 세포 개수 측정, 세포 주기, 세포 분열 지수를 분석하는 모듈로 이루어져 있다.

먼저 세포 개수 측정은 모든 세포 분석 시스템의 가장 기본적인 모듈로서, 영상에서 군집으로 모여 있는 세포들을 단일세포로 분할하는 것이 중요하다. 본 논문에서는 이미지 전처리를 거친 결과로 획득한 이진 이미지에 개선된 체인코드 알고리즘을 적용하여 세포 개수를 카운트 하였다. 세포 개수를 세기 위해서 먼저 이진화 된 영상을 왼쪽에서 오른쪽, 위에서 아래로 스캔하여 객체에 해당하는 픽셀을 찾고, 가장 처음으로 탐지된 픽셀 좌표를 저장하였다. 탐지된 픽셀 주변 8방향의 픽셀을 검색 및 이동하여 경계선을 추적해 나가다가 가장 처음 탐지된 픽셀 좌표를 만나면 경계선 추적이 종료된다. 따라서 경계선 추적 과정이 한 번 종료되면, 하나의 세포를 카운트하였다. 이러한 과정을 반복하여 이미지 내 모든 세포의 경계선 추적을 하였으며 동시에 세포의 개수를 카운트 하였다.

두 번째 기능인 Cell Cycle 모듈은 세포 영상 내의 각 세포들의 주기를 판단하는 것이다. 세포주기는 세포가 세포 내 물질들을 기존의 것보다 두 배 증가시킨 후, 두 개로 나누는 일련의 과정을 통해서 기존의 세포와 같은 세포를 계속해서 생산해 내는 과정이다. 세포주기는 네 가지 단계인 M기, G1기, S기, G2기로 구성되어 있다. 세포 주기 단계 중, M기는 염색체가 분열하여 딸세포가 형성되는 과정으로 유사분열(mitosis)이라는 핵이 분리되는 과정과 세포질분열(cytokinesis)이라는 세포가 두 개로 나뉘는 과정으로 구성

된다. M기와 M기 사이를 간기(interphase)라고 부르며, G1기, S기, G2기로 이루어져 있다. G1기는 간기의 첫 번째 시기로 M기가 끝나는 시기와 S기가 시작하는 시기 사이에 존재하여 M기에서 생성된 딸세포들이 S기에서 DNA복제가 일어나기 위한 적절한 조건을 갖추기 까지 성숙되는 단계이다. S기는 세포가 그들의 DNA를 두 배로 복제시키는 단계이다. G2기는 S기와 M기 사이의 시기로 M기의 유사분열이 적절하게 일어날 수 있을 때까지 점검하는 시기이다.

세포는 특정 약물 혹은 특정 자극에 의해 세포 분화 주기가 변할 수 있으며, 이를 세포내 핵을 특이적으로 염색하여 염색체의 양을 형광 강도를 이용하여 분석할 수 있다. 분석된 결과는 세포 주기별로 차이가 나게 되는데, 세포의 주기는 M기 (염색체수 2N → 4N), G0/G1기 (염색체수 2N), S기 (2N → 4N), 그리고 G2기 (4N)을 가지고 있으며, 염색체의 양이 2N → 4N → 2N으로 바뀌게 된다. 이를 핵만을 특이적으로 염색하는 시약을 이용하여 세포내 염색체 수를 핵의 형광 강도로 비교하여 세포 주기를 나누게 된다.

세포 주기 단계를 나누기 위해서는 2.2절에서 얻은 세포의 주요 특징 값 중 밝기 정보를 활용한다. 연구자들은 형광 이미지에서 세포의 형광 강도가 높을수록, 세포 주기가 간기에서 분열기 단계로 진행하고 있다고 분석한다. 따라서 본 소프트웨어에서는 세포 주기 판단을 위해 이미지에서 세포를 이루는 픽셀들의 평균값을 계산하였으며, 이를 기준으로 네 단계의 주기를 구분하기 위해 세 개의 밝기 임계값을 설정하였다.

마지막 모듈은 세포 분열 지수 분석이다. 세포주기 중에서 M phase는 염색체 응축이 일어나고, 핵막이 분해되면서 세포질 분열이 일어나는 시기이다. 암과 같은 특수한 질병 조건에 놓인 세포는 M phase를 거친 세포주기 진행이 활발히 일어나는데, M phase를 차단하는 특정 약물은 항암제로 활용될 수 있다. 이와 같은 과정에서 mitotic index는 특정 약물이 M phase에 미치는 영향을 알아보기 위해 M phase의 세포가 전체 세포 수에서 얼마나 존재하는지를 보아 실제로 증식하는 세포 수를 확보할 수 있다. 즉, Equation (1)과 같이 전체 세포 수에 대해 M phase를 겪고 있는 세포 수의 비율을 계산하는 mitotic index 산출을 통해 M phase 분석이 가능하다.

$$\text{Mitotic index} = \frac{\text{Number of cells in mitosis}}{\text{Total number of cells}} \quad (1)$$

실험 원리는 전체 세포의 핵을 염색하는 PI와 같은 형광 염료로 세포를 염색하여 전체 세포의 수를 분석하고, M phase의 염색체는 히스톤 단백질인 H2 28Ser의 인산화가 특이적으로 나타나는 점에 착안하여 p-H2 28Ser을 검출할 수 있는 형광 항체를 이용하여 M phase에 있는 세포의 수를 확인함으로써 mitotic index를 산출할 수 있다.

3. 결 과

공초점 레이저 현미경으로부터 얻은 이미지는 본 연구에서 제안한 영상 전처리, 세포의 특징 정보 추출 방법을 거쳐 세 가지의 모듈을 구현하였다. 다음 Fig. 6은 본 연구에서 개발한 세포 영상 분석 프로그램으로 Fig. 2에서 나타난 샘플 세포 영상을 분석한 결과를 나타내었다.

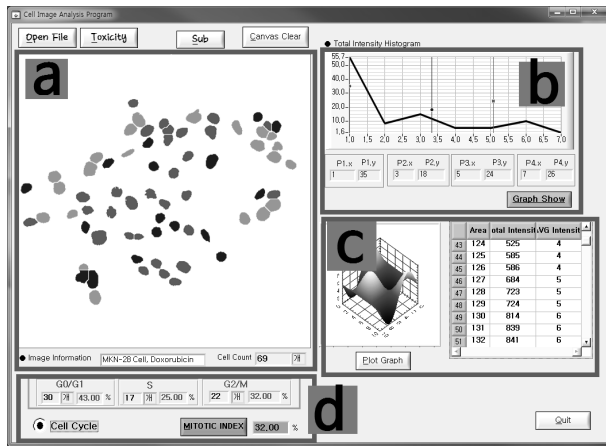


Fig. 6. Cell Image Analysis Program

Fig. 6(a)는 세포의 기본 정보, 세포 개수, 각 세포가 어떤 주기 단계에 해당하는 지를 사용자에게 디스플레이하기 위한 패널이다. 먼저 세포 영상의 분석 결과로 세포의 총 개수는 69개로 나타났다. 영상에서의 세포 각 주기는 단계 별로 다른 색상을 사용하였으며, 주기 분류의 기준은 Fig. 6(b)에 나타난 세포의 밝기 그래프를 기반으로 두 개의 적절한 임계값 설정에 따라 분류된다. 세포 주기는 G0/G1기, S기, G2/M기 세 가지로 묶어서 나타내었으며, G0/G1기의 표현 색상은 적색, S기는 파란색, G2/M기는 녹색으로 디스플레이 하였다. Fig. 6(c)는 영상으로부터 획득한 세포의 분포도를 3차원 그래프로 표현한 것이며, 세포의 특징 정보인 크기, 총 밝기 값, 평균 밝기 값은 오른쪽 테이블에 나타내었다. 마지막으로 주기 분석 결과를 나타낸 Fig. 6(d)에서는 G0/G1기가 전체 69개의 세포 중 30개, S기에 해당하는 세포는 17개, G2/M기에 해당하는 세포는 22개로 나타났다. Mitotic Index는 G2/M기에 해당하는 세포 22개를 전체 세포 개수인 69로 나눈 값으로, 최종적으로 증식 세포율이 32%로 나타났다.

본 연구에서 개발한 소프트웨어 세 가지 모듈 중 가장 핵심 지표로서 세포 개수 측정 결과를 연구원의 수작업에 의한 결과와 비교하였다. 무료 분석 소프트웨어인 ImageJ의 결과 또한 연구원의 수작업에 의한 결과를 기준으로 비교하였다. Image J 프로그램은 NIH (National Institute of Health)에서 개발한 프로그램으로, JAVA를 기본 언어로 각종 프로그램과의 상호 호환성 및 적합성을 제공한다[17, 18]. 또한 간단한 사용법과 접근성이 높아 디지털 이미지 분석 또는 생명 공학적 분석뿐만 아니라 다양한 분야의 연구자들이 사용되고 있다.

Table 1. Error Rate comparison between ImageJ Software and our Software

종류 \ 이미지	Img 1	Img 2	Img 3	Img 4	Img 5	Img 6	Img 7	Img 8	Img 9	Img 10	
Manual	172	98	69	263	135	161	162	183	150	132	
ImageJ Software	175	100	69	269	138	165	162	190	151	135	
Our Software	171	98	69	261	135	162	162	182	150	132	
Error Rate (%)	ImageJ	0.017	0.020	0.00	0.023	0.022	0.025	0.00	0.038	0.006	0.023
	Our Software	0.005	0.00	0.00	0.007	0.00	0.006	0.00	0.005	0.00	0.00

위 Table 1은 MKN-28세포 이미지 30장 중 임의로 뽑은 10장의 샘플 이미지에 실험해 본 결과이다. Table 1에 나타난 오류율은 전문가가 육안으로 판단한 세포 개수를 기준으로 두 가지 비교 대상 소프트웨어가 잘못 인식한 개수를 나타낸 것으로, 전체 개수에서 오차가 발생한 개수를 비율로 나타낸 것이다. 샘플 영상에서 ImageJ 프로그램에 의해 세포를 정량한 결과, 오류율이 평균 1.74%로 나타났다. 본 연구에서 개발한 소프트웨어가 자동으로 세포 개수를 측정된 결과 오류율은 평균 0.23%로 나타났다. 결과에서와 같이 제안한 소프트웨어로 세포 개수를 판단한 결과는 전문가가 육안으로 수행한 것과 평균 99.7% 일치한다는 것을 보여준다.

4. 결 론

본 연구에서는 공초점 레이저 현미경으로부터 획득한 세포 이미지를 분석하기 위해 세 가지 모듈을 탑재한 소프트웨어를 구현하였다. 현미경으로 촬영된 원본 이미지는 전처리 과정을 거쳐 영상의 질을 개선시켰으며, 이후 개선된 체인코드 알고리즘을 적용하여 각 세포의 크기와 밝기, 위치 정보 그리고 세포 개수 정보를 획득하였다. 특징 정보는 3가지 분석 모듈인 Cell counting과 Cell cycle, Mitotic index를 산출하는 데에 사용되었다. 소프트웨어에 사용된 이미지 전처리 함수는 오픈소스로 개발되고 있는 컴퓨터 비전 라이브러리인 OpenCV를 이용하여 빠르고 안정적으로 동작할 수 있도록 하였다. 본 논문에서는 제안한 소프트웨어의 세 가지 모듈 중 가장 핵심 지표로서 사용되는 세포 개수 측정만을 가지고 무료 세포 분석 소프트웨어와 비교 분석한 결과 99.7%의 정확도를 보여주었다. 이에 따라 공용 Open Source를 활용하여 HCS 구현이 가능함을 확인하였다.

개발된 소프트웨어는 개인용 PC에서도 분석이 가능하며, 기존 HCS의 문제인 장비 독점을 방지할 뿐만 아니라 연구자의 수동 업무를 자동화하여 다수의 샘플 분석을 동시에 진행해 실험 효율을 향상시킬 수 있을 것이라 기대된다. 제안된 세포 영상 분석 소프트웨어는 나머지 두 모듈에 대한 성능 검증과 추가적인 모듈 개발이 진행된다면, 생물학적 연구 결과 도출 및 실험 진행에 보조적 프로그램으로서 사용될 수 있을 것으로 기대된다.

References

[1] Sung-on Lee, "Example of Fusion between BT technology in enhanced IT technology and biological microscope IT technology," *Journal of the KSME*, Vol.52, No.11, pp.52-55, 2012.

[2] R. Juškaitis, N. P. Rea, and Wilson Tony, "Semiconductor laser confocal microscopy," *Applied Optics*, Vol.33, No.4, pp.578-584, 1994.

[3] Benjamin A. Flusberg et al., "In vivo brain imaging using a portable 3.9? gram two-photon fluorescence microendoscope," *Optics Letters*, Vol.30, No.17, pp.2272-2274, 2005.

[4] Juergen C. Jung et al., "In vivo mammalian brain imaging using one-and two-photon fluorescence microendoscopy," *Journal of Neurophysiology*, Vol.92, No.5, pp.3121-3133, 2004.

[5] Ingo Krohne, et al., "New method for confocal microscopy and its endoscopic application," *European Conference on Biomedical Optics 2003. International Society for Optics and Photonics*, 2003.

[6] Joachim Knittel et al., "Endoscope-compatible confocal microscope using a gradient index-lens system," *Optics Communications*, Vol.188, No.5, pp.267-273, 2001.

[7] Anne E. Carpenter et al., "CellProfiler: image analysis software for identifying and quantifying cell phenotypes," *Genome Biology*, Vol.7, No.10, R100, 2006.

[8] Graeme Milligan, "High-content assays for ligand regulation of G-protein-coupled receptors," *Drug Discovery Today*, Vol.8, No.13, pp.579-585, 2003.

[9] J. Ralph, "A multi-faceted approach to the advancement of cell-based drug discovery," *Drug Discovery*, Vol.5, p.43, 2004.

[10] T. Wilson, "Optical sectioning in confocal fluorescent microscopes," *Journal of Microscopy*, Vol.154, No.2, pp.143-156, 1989.

[11] W. Niblack, "An Introduction to Image Processing," Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, pp.115-116, 1986.

[12] L. Vincent and P. Soille, "Watersheds in digital spaces: an efficient algorithm based on immersion simulations," *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, Vol.13, No.6, pp.583-598.

[13] J. Canny, "A Computational Approach to Edge Detection," *IEEE Trans. Pattern Analysis and Machine Intelligence*, Vol.8, pp.679-698, 1986.

[14] Paul S. Heckbert, "A seed fill algorithm," in *Graphics gems*, Academic Press Professional, Inc., 1990.

[15] H. Freeman, "On the encoding of arbitrary geometric configurations," *IRE Transactions on Electronic Computers*, Vol.EC-10, pp.260-268, 1961.

[16] Yeji. Na et al., "Basic research of foreign HCS equipment compatible with the cell analysis system," *The Korean Institute of Electrical Engineers, 46th Conference(2015)*, pp. 1415-1416.

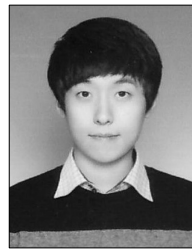
[17] Jörn Rittweger et al., "Adjusting for the partial volume effect in cortical bone analyses of pQCT images," *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, Vol.4, No.4, p.436, 2004.

[18] Martin J. Tovée et al., "Measurement of body size and shape perception in eating disordered and control observers using body shape software," *British Journal of Psychology*, Vol.94, No.4, pp.501-516, 2003.



나 예 지

e-mail : nayeeji1649@hanmail.net
 2015년 순천향대학교 의료IT공학과(학사)
 2015년~현 재 순천향대학교 의료IT공학과
 석사과정
 관심분야 : 생체신호처리, 의료영상시스템,
 스마트케어



호 종 갑

e-mail : hodori1988@naver.com
 2015년 순천향대학교 의료IT공학과(학사)
 2015년~현 재 순천향대학교 의료IT공학과
 석사과정
 관심분야 : 생체신호처리, 의료영상시스템,
 패턴인식



이 상 준

e-mail : mcp94lee@sunmoon.ac.kr
 2001년 명지대학교 제어계측공학과(학사)
 2005년 명지대학교 전자공학과(석사)
 2011년 연세대학교 전기전자공학부(박사)
 2014년~현 재 선문대학교 기계ICT융합
 공학부 조교수
 관심분야 : 임베디드시스템, 의료신호처리, 패턴인식, 영상처리



민 세 동

e-mail : sedongmin@sch.ac.kr
 2001년 고려대학교 응용전자공학과(학사)
 2004년 연세대학교 생체공학협동과정(석사)
 2010년 연세대학교 전기전자공학과(박사)
 현 재 순천향대학교 의료IT공학과 교수
 관심분야 : 생체신호처리, 스마트케어,
 의료영상시스템