

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2017년 4월 6일 (06.04.2017)



(10) 국제공개번호
WO 2017/057966 A1

- (51) 국제특허분류: G02B 21/00 (2006.01) G02B 21/36 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2016/011004
- (22) 국제출원일: 2016년 9월 30일 (30.09.2016)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2015-0137924 2015년 9월 30일 (30.09.2015) KR
10-2016-0125735 2016년 9월 29일 (29.09.2016) KR
- (71) 출원인: 주식회사 싸이토젠 (CYTOGEN CO.,LTD.) [KR/KR]; 05839 서울시 송파구 충민로 52, A204 호(문정동), Seoul (KR).
- (72) 발명자: 전병희 (JEON, Byung Hee); 13611 경기도 성남시 분당구 내정로 55, 316 동 2401 호(정자동, 상록아파트), Gyeonggi-do (KR).
- (74) 대리인: 남준욱 (NAM, Jun-Wook); 13494 경기도 성남시 분당구 대왕판교로 660, A 동 1101 호(유스페이스 1), Gyeonggi-do (KR).

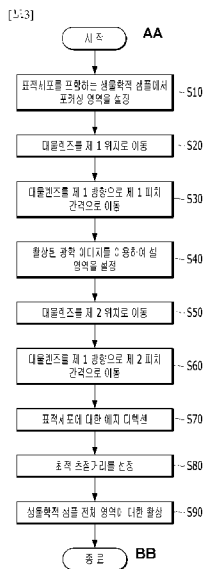
(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[다음 쪽 계속]

(54) Title: CELL IMAGING DEVICE AND METHOD THEREFOR

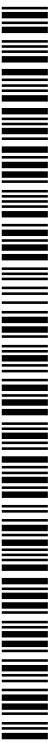
(54) 발명의 명칭: 세포 이미징 장치 및 그 방법



- S10 ... Select focusing region from biological sample comprising target cell
- S20 ... Move objective lens to first position
- S30 ... Move objective lens in first direction by first pitch interval
- S40 ... Select cell region by using photographed optical image
- S50 ... Move objective lens to second position
- S60 ... Move objective lens in first direction by second pitch interval
- S70 ... Perform edge detection on target cell
- S80 ... Select optimal focal distance
- S90 ... Photograph entire region of biological sample
- AA ... Start
- BB ... End

(57) Abstract: One embodiment of the present invention is a cell imaging method, and provides a cell imaging method comprising the steps of: selecting, as a focusing region, a partial region of a biological sample comprising a target cell; positioning an objective lens in a first position; moving the objective lens or the biological sample in a first direction by a first pitch; selecting a cell region; positioning the objective lens in a second position; moving the objective lens or the biological sample in the first direction by a second pitch; edge detecting; selecting an optimal focal distance; and photographing, from the selected optimal focal distance, across the entire region of the biological sample at the same time or consecutively.

(57) 요약서: 본 발명의 일 실시예는 세포 이미징 방법으로서, 표적세포(target cell)를 포함하는 생물학적 샘플의 일부 영역을 포커싱 영역으로 선정하는 단계와, 대물렌즈가 제 1 위치에 위치하도록 하는 단계와, 상기 대물렌즈 또는 상기 생물학적 샘플을 제 1 방향으로 제 1 피치로 이동시키는 단계와, 셀 영역을 선정하는 단계와, 상기 대물렌즈가 제 2 위치에 위치하도록 하는 단계와, 상기 대물렌즈 또는 상기 생물학적 샘플을 제 1 방향으로 제 2 피치로 이동시키는 단계와, 에지 디텍션 단계와, 최적 초점거리 선정 단계와, 상기 선정된 최적 초점거리에서 상기 생물학적 샘플의 전체 영역에 걸쳐 일시 또는 순차로 촬영을 하는 촬영 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법을 제공한다.



WO 2017/057966 A1

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

명세서

발명의 명칭: 세포 이미징 장치 및 그 방법

기술분야

[1] 본 발명은 세포 이미징 장치 및 그 방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 분석이 필요한 표적세포를 광 파장별로 촬영하고 이를 분석하여 표적세포를 카운팅할 수 있는 고식별성의 자동화된 세포 이미징 장치 및 그 방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

[3] 형광 현미경은 생물, 화학, 의학 등의 분야에서 세포 영상 관찰을 위해 가장 널리 사용되는 장치이다. 사용자는 형광 현미경을 통해 광학 이미지를 얻은 후에 특정한 세포(표적세포)의 개수나 존재비율 등의 통계자료를 얻을 수 있다. 이를 위해서는 무엇보다도 고품질의 광학 이미지를 얻는 것이 필수적이다.

[4] 세포 이미징은 세포를 이용한 검사 또는 검진에도 응용된다. 유전자 해석, 암진단 등 바이오 기술의 발달에 따라 세포를 이용한 다양한 검사 또는 검진 방법이 개발되고 있다. 이를 위해 표적세포를 포함한 생물학적 샘플에 대해 형광 현미경을 통한 촬영 및 촬영된 이미지의 분석이 요구된다. 그러한 표적세포의 한 예로 혈중 암세포를 들 수 있다. 혈중 암세포(CTCs: Circulating Tumor Cells)는 1차적인 종양조직, 즉 원발암으로부터 떨어져 나와 혈액 속을 돌아다니는 소수의 종양세포로 전이암의 핵심요인으로 알려져 있다. 혈중 암세포는 혈구 성분 $10^8 \sim 10^9$ 개당 약 1개 비율로 존재한다고 알려져 있다. 이러한 혈중 암세포의 개수나 비율을 정확히 판정하는 것은 암 검진이나 항암치료의 검증 등에 있어 매우 중요하다.

[5] 표적세포의 개수를 판단하고 이들의 종류를 판단하기 위해서는 각 세포의 크기와 형상을 특정해야 하며, 이를 위해서는 세포의 경계를 명확히 식별해야 한다. 따라서 세포의 경계를 명확히 식별할 수 있도록 세포 이미징을 할 수 있는 신뢰성과 경제성이 우수한 장치와 방법이 요구되고 있다.

[6] 또한, 다수개의 생물학적 샘플을 빠른 속도로 처리할 수 있는 자동화된 방식의 세포 이미징 장치와 방법이 요구되고 있다. 이러한 장치 및 방법은 특히 셀 카운팅(세포 계수) 기능이 포함된 디지털 영상 분석 분야에서 그 중요성이 더욱 크다.

[7]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[8] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 분석이 필요한 표적세포를 광 파장별로 촬영하고 이를 분석하여 표적세포를 카운팅할 수 있는 고식별성의 자동화된 세포 이미징 장치 및 그 방법을 제공하는 것이다.

[9] 본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는 이상에서 언급한 기술적 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 기술적 과제들은 아래의 기재로부터 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

[10]

과제 해결 수단

- [11] 상기 기술적 과제를 달성하기 위하여, 본 발명의 일실시예는 세포 이미징 방법으로서, 표적세포(target cell)를 포함하는 생물학적 샘플의 일부 영역을 포커싱 영역으로 선정하는 단계와, 상기 포커싱 영역에서 렌즈 포커싱이 이루어지도록 대물렌즈가 제1 위치에 위치하도록 하는 단계와, 상기 대물렌즈와 상기 포커싱 영역 사이의 거리가 순차적으로 감소하도록, 상기 대물렌즈 또는 상기 생물학적 샘플을 제1 방향으로 제1 피치로 이동시키는 단계와, 촬상된 광학 이미지를 통해 상기 포커싱 영역에서 셀 영역을 선정하는 단계와, 상기 대물렌즈 또는 상기 생물학적 샘플을 제2 방향으로 이동시켜 상기 대물렌즈가 제2 위치에 위치하도록 하는 단계와, 상기 대물렌즈 또는 상기 생물학적 샘플을 제1 방향으로 제2 피치로 이동시키는 단계와, 촬상된 광학 이미지를 통해 상기 셀 영역 내의 표적세포에 대한 에지 디텍션(edge detection)을 하는 에지 디텍션 단계와, 상기 에지 디텍션을 통해 표적세포와 배경 간의 콘트라스트 차이가 최대가 되는 지점에서 상기 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 거리를 최적 초점거리로 선정하는 최적 초점거리 선정 단계와, 상기 선정된 최적 초점거리에서 상기 생물학적 샘플의 전체 영역에 걸쳐 일시 또는 순차로 촬상을 하는 촬상 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법을 제공한다.
- [12] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 제2 위치에서 상기 대물렌즈와 상기 생물학적 샘플 사이의 거리는, 상기 제1 위치에서 상기 대물렌즈와 상기 생물학적 샘플 사이의 거리보다 작을 수 있다.
- [13] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 제2 피치는 상기 제1 피치보다 작을 수 있다.
- [14] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 최적 초점거리 선정 단계에서, 상기 셀 영역 내의 소정의 라인 프로파일 상에서 인접한 두 픽셀 사이의 크기(intensity) 차이가 가장 큰 구간을 검출하고, 상기 두 픽셀 사이의 크기 차이를 이용하여 상기 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 최적 초점거리를 선정할 수 있다.
- [15] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 촬상 단계에서, 2개 이상의 과장영역에서 각각 상기 생물학적 샘플에 대한 광학 이미지를 얻을 수 있다.
- [16] 상기 기술적 과제를 달성하기 위하여, 본 발명의 일실시예는 표적세포를 포함하는 생물학적 샘플에 대한 세포 이미징 방법으로서, 대물렌즈를 제1 피치로 이동시키며 각 피치당 표적세포에 대한 제1차 광학 이미지를 얻고, 상기 제1차 광학 이미지를 통해 셀 영역을 선정하는 단계와, 상기 선정된 셀 영역에서 대물렌즈를 상기 제1 피치보다 작은 제2 피치로 이동시키며 각 피치당

표적세포에 대한 제2차 광학 이미지를 얻는 단계와, 상기 제2차 광학 이미지에서 표적세포에 대한 에지 디텍션을 통해 상기 대물렌즈와 상기 생물학적 샘플 사이의 최적 초점거리를 선정하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법을 제공한다.

- [17] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 최적 초점거리를 선정하는 단계에서, 상기 에지 디텍션을 통해 표적세포와 배경 간의 콘트라스트 차이가 최대가 되는 지점에서 상기 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 거리를 최적 초점거리로 선정할 수 있다.
- [18] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 최적 초점거리를 선정하는 단계에서, 상기 셀 영역 내의 소정의 라인 프로파일 상에서 인접한 두 픽셀 사이의 크기 차이가 가장 큰 구간을 검출하고, 상기 두 픽셀 사이의 크기 차이를 이용하여 상기 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 최적 초점거리를 선정할 수 있다.
- [19] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 표적세포는 혈중 암세포(CTC)일 수 있다.
- [20] 상기 기술적 과제를 달성하기 위하여, 본 발명의 일 실시예는 표적세포를 포함하는 생물학적 샘플을 위치시킨 플레이트와, 상기 플레이트 측으로 입사광을 조사하는 광원과, 상기 생물학적 샘플에서 여기된 광을 집광하는 대물렌즈와, 상기 대물렌즈를 통과한 광을 검출하는 촬상부와, 상기 대물렌즈 또는 상기 플레이트를 z축 방향으로 이동시키는 구동부와, 상기 촬상부에서 촬상된 광학 이미지를 분석하고, 상기 구동부에 대한 제어신호를 생성하는 제어부를 포함하며, 상기 제어부는, 상기 대물렌즈를 제1 위치에 위치시킨 후 상기 대물렌즈 또는 플레이트를 제1 방향으로 제1 피치로 이동시키면서 셀 영역을 선정하고, 상기 셀 영역 내에서 상기 대물렌즈 또는 플레이트를 제2 방향으로 이동시켜 상기 대물렌즈를 제2 위치에 위치시킨 후 상기 대물렌즈 또는 플레이트를 제1 방향으로 제2 피치로 이동시키면서 최적 초점거리를 선정하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 장치를 제공한다.
- [21] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 제어부는 상기 표적세포에 대한 에지 디텍션을 통해 최적 초점거리를 선정할 수 있다.
- [22] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 제어부는 상기 에지 디텍션을 통해 표적세포와 배경 간의 콘트라스트 차이가 최대가 되는 지점에서 상기 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 거리를 최적 초점거리로 선정할 수 있다.
- [23] 본 발명의 실시예에 있어서, 상기 제어부는 상기 셀 영역 내의 소정의 라인 프로파일 상에서 인접한 두 픽셀 사이의 크기 차이가 가장 큰 구간을 검출하고, 상기 두 픽셀 사이의 크기 차이를 이용하여 상기 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 최적 초점거리를 선정할 수 있다.

[24]

발명의 효과

- [25] 본 발명의 실시예에 따르면, 분석이 필요한 표적세포를 광 파장별로 촬영하고

이를 분석하여 표적세포를 카운팅할 수 있는 고식별성의 자동화된 세포 이미징 장치 및 그 방법을 제공할 수 있다. 또한, 본 발명에 의한 세포 이미징 장치 및 그 방법에 의하면, 세포의 경계를 명확히 구별하여 표적세포의 개수와 종류를 정확히 판단할 수 있도록 한다. 또한, 다수개의 생물학적 샘플을 빠른 속도로 처리할 수 있다.

[26] 본 발명의 효과는 상기한 효과로 한정되는 것은 아니며, 본 발명의 상세한 설명 또는 특허청구범위에 기재된 발명의 구성으로부터 추론 가능한 모든 효과를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[27]

도면의 간단한 설명

[28] 도 1은 세포와 대물렌즈 사이의 거리에 따른 광학 이미지 샘플 사진이다.

[29] 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 세포 이미징 장치의 개략적인 구성도이다.

[30] 도 3은 본 발명의 실시예에 따른 세포 이미징 방법을 나타낸 플로우 차트이다.

[31] 도 4는 생물학적 샘플 내에서 셀 영역을 나타낸 사진이다.

[32] 도 5 및 도 6은 하나의 표적세포에 대한 에지 디텍션의 실제 과정을 나타낸 참고도이다.

[33] 도 7은 초점거리에 따른 표적세포 광학 이미지를 나타낸 사진이다.

[34] 도 8은 본 발명의 다른 실시예에 따른 세포 이미징 방법을 나타낸 플로우 차트이다.

[35]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[36] 이하에서는 첨부한 도면을 참조하여 본 발명을 설명하기로 한다. 그러나 본 발명은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며, 따라서 여기에서 설명하는 실시예로 한정되는 것은 아니다. 그리고 도면에서 본 발명을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.

[37] 명세서 전체에서, 어떤 부분이 다른 부분과 "연결(접속, 접촉, 결합)"되어 있다고 할 때, 이는 "직접적으로 연결"되어 있는 경우뿐 아니라, 그 중간에 다른 부재를 사이에 두고 "간접적으로 연결"되어 있는 경우도 포함한다. 또한 어떤 부분이 어떤 구성요소를 "포함"한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성요소를 더 구비할 수 있다는 것을 의미한다.

[38] 본 명세서에서 사용한 용어는 단지 특정한 실시예를 설명하기 위해 사용된 것으로, 본 발명을 한정하려는 의도가 아니다. 단수의 표현은 문맥상 명백하게 다르게 뜻하지 않는 한, 복수의 표현을 포함한다. 본 명세서에서, "포함하다" 또는 "가지다" 등의 용어는 명세서상에 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.
- [39] 이하 첨부된 도면을 참고하여 본 발명의 실시예를 상세히 설명하기로 한다. 본 발명에 첨부된 도면에서 세포에 대한 광학 이미지는 실제 이미지에서 흑백 반전한 이미지를 사용하였다.
- [40]
- [41] 도 1은 세포와 대물렌즈 사이의 거리에 따른 광학 이미지 샘플 사진, 도 2는 본 발명의 실시예에 따른 세포 이미징 장치의 개략적인 구성도이다.
- [42] 세포 이미징 시스템은 예컨대 슬라이드 글라스와 같은 플랫폼 상에 염색된 세포를 놓고 여러 파장별로 세포를 관찰하고 촬영하는 시스템이다. 세포 이미징 시스템은 자동 셀 카운팅(cell counting) 모듈, 형광 강도(intensity) 분석 모듈, 형질 주입(transfection) 효율 분석 모듈, 3D 디컨볼루션(deconvolution) 모듈, 세포학(cytology) 기반 셀 분류/인식(cell classification/cognition) 모듈을 포함할 수 있다. 또한, 사용자 편의 기능으로서, 측정(Measurement) 기능, 리포트(Report) 자동 생성 기능, DB 관리 기능을 유저 인터페이스로 포함할 수 있다.
- [43] 이러한 세포 이미징 시스템은 세포, 배양액, 데브리스(debris) 등을 구별하고, 사용자가 원하는 세포를 판별하고 계수하기 위한 디지털 영상분석 장비가 포함된다. 이러한 세포 이미징 시스템에서 세포의 경계를 정확히 판정하기 위한 고품질의 광학 이미지 추출 장치, 즉 세포 이미징 장치가 필요하다.
- [44] 도 1의 (a) 내지 (f)는 표적이 되는 세포와 대물렌즈 사이의 거리에 대한 광학 이미지 샘플 사진으로서, 적절한 초점거리가 주어지는 경우에만 세포의 식별이 이루어짐을 알 수 있다. 예컨대 도 1 (d)의 광학 이미지를 통해서만 세포의 경계를 적절히 확정하여 세포의 크기나 형상을 판단하고, 이를 통해 세포의 종류를 판별하고 계수할 수 있다. 나머지 광학 이미지에서는 세포의 식별이나 경계 확정이 어렵다.
- [45]
- [46] 도 2를 참조하면, 본 발명에 따른 세포 이미징 장치(10)는 플레이트(1), 광원(2), 대물렌즈(3), 촬상부(4), 구동부(5) 및 제어부(6)를 포함한다.
- [47] 플레이트(1)에는 표적세포를 포함하는 생물학적 샘플(S)이 위치한다. 표적세포는 특정 시료에 의해 형광염색된 세포, 또는 특정 혈구세포, 또는 혈중 암세포(CTC) 등과 같은 특정 세포일 수 있으며, 그 종류에는 특별한 제한이 없다. 또한 생(live) 세포이든 죽은 세포이든 관계없다. 플레이트(1)는 슬라이드 글라스(slide glass)일 수 있으며, 슬라이드 글라스를 고정시키기 위한 지그가 포함될 수도 있다. 플레이트(1)에는 하나의 생물학적 샘플(S)이 위치하는 것도 가능하고, 하나의 플레이트에 복수개의 샘플이 배치되거나, 다수개의 독립된 플레이트가 병치되는 것도 가능하다. 또한 플레이트(1)는 챔버 내에 위치할 수도 있다.
- [48] 광원(2)은 플레이트(1) 측으로 입사광을 조사한다. 광원(2)은 LED와 같은

조명일 수 있으며, 사용자의 선택 또는 제어부의 제어 동작에 따라 발광시간이 소정범위 내로 조정될 수 있다. 또한 광원(2)은 투과 광원(transmission light source)이거나 형광 광원(fluorescence light source)일 수 있다. 또한 광원(2)은 2개 이상의 모드를 가지도록 교체 가능하게 마련될 수도 있으며, 이 경우 예컨대 암시야 모드와 명시야 모드를 제공할 수 있다.

- [49] 대물렌즈(3)는 생물학적 샘플에서 여기된 광을 집광한다. 대물렌즈(3)를 통해 유입된 광은 광학 요소(optical element)를 거쳐 촬상부(4)로 향한다. 광학요소에는 형광염료로 염색된 세포 또는 세포내 물질을 검출하기 위한 필터가 포함될 수 있다.
- [50] 촬상부(4)는 대물렌즈(3)를 통과한 광을 검출하여 이미지화한다. 촬상부(4)는 예컨대 CCD 카메라일 수 있다.
- [51] 구동부(5)는 대물렌즈(3) 또는 플레이트(1)를 z축 방향으로 이동시킨다. 여기서 z축 방향은 대물렌즈(3)와 플레이트(1)가 대향하는 방향을 나타내며, 일반적으로 중력방향을 의미하나, 반드시 그러한 것은 아니다. 대물렌즈(3) 또는 플레이트(1)가 z축 방향으로 이동함으로써, 대물렌즈(3)와 플레이트(1) 사이의 법선방향 거리가 커지거나 작아질 수 있다. 도면에서 대물렌즈(3)와 플레이트(1) 사이의 거리는 d로 표시되어 있으며, 구동부(5)의 동작에 따라 d가 변화될 수 있다.
- [52] 제어부(6)는 촬상부(4)에서 촬상된 광학 이미지를 분석하며, 또한 구동부(5)에 대한 제어신호를 생성한다. 제어부(6)에는 마이크로프로세서, 메모리 등이 포함될 수 있다.
- [53] 제어부(6)에서의 처리 및 신호 생성에 의해, 먼저 대물렌즈(3)를 제1 위치에 위치시킨다. 다음으로 대물렌즈(3) 또는 플레이트(1)를 제1 방향으로 제1 피치로 이동시키면서 셀 영역(cell area)을 선정한다. 다음으로, 셀 영역 내에서 대물렌즈(3) 또는 플레이트(1)를 제2 방향으로 이동시켜 대물렌즈를 제2 위치에 위치시킨다. 다음으로 대물렌즈(3) 또는 플레이트(1)를 제1 방향으로 제2 피치로 이동시키면서 최적 초점거리를 선정한다.
- [54] 여기서, 제1 위치는 대물렌즈(3)와 플레이트(1) 사이의 거리가 최적 초점거리보다 상당히 큰 위치에 해당한다. 제1 방향은 대물렌즈(3)와 플레이트(1)가 서로 가까워지는 방향을 의미하며, 제2 방향은 제1 방향의 역방향이다. 예컨대, 도 2에서와 같이 대물렌즈(3)가 플레이트(1)의 하측에 위치하고, 대물렌즈(3)가 구동가능하고 플레이트(1)의 위치가 고정되어 있다고 할 경우, 제1 방향은 z축 상측 방향을 의미하고, 제2 방향은 z축 하측 방향을 의미한다.
- [55] 이와 달리, 제1 위치가 대물렌즈(3)와 플레이트(1) 사이의 거리가 최적 초점거리보다 상당히 작은 위치에 해당하는 경우, 제1 방향은 대물렌즈(3)와 플레이트(1)가 서로 멀어지는 방향을 의미하며, 제2 방향은 제1 방향의 역방향이 된다.

- [56] 한편, 제어부(6)는 표적세포에 대한 에지 디텍션(edge detection)을 통해 최적 초점거리(optimal focusing distance)를 선정하게 된다. 일반적으로 초점거리는 렌즈 또는 광학계에서 상수로 주어지나, 본 명세서에서는 대물렌즈와 플레이트 사이의 거리, 구체적으로 대물렌즈의 중심면과 플레이트 상의 생물학적 샘플 또는 표적세포 사이의 거리를 의미하는 것으로 한다.
- [57] 제어부(6)는 에지 디텍션을 통해 표적세포와 배경 간의 콘트라스트(contrast) 차이가 최대가 되는 지점에서 대물렌즈(3)와 생물학적 샘플(S) 사이의 거리를 최적 초점거리로 선정한다. 이를 위해, 제어부(6)는 셀 영역 내의 소정의 라인 프로파일(line profile) 상에서 인접한 두 픽셀(pixel) 사이의 크기 차이가 가장 큰 구간을 검출하고, 이러한 두 픽셀 사이의 크기 차이를 이용하여 대물렌즈(3)와 생물학적 샘플(S) 사이의 최적 초점거리를 선정할 수 있다.
- [58] 이상에서 설명한 제어부(6)에서의 광학 이미지의 분석과 구동부(5)의 제어 과정에 대해서는 아래의 세포 이미징 방법과 관련하여 상술하기로 한다.
- [59]
- [60] 도 3은 본 발명의 실시예에 따른 세포 이미징 방법을 나타낸 플로우 차트, 도 4는 생물학적 샘플 내에서 셀 영역을 나타낸 사진, 도 5 및 도 6은 하나의 표적세포에 대한 에지 디텍션의 실제 과정을 나타낸 참고도, 도 7은 초점거리에 따른 표적세포 광학 이미지를 나타낸 사진이다.
- [61] 본 발명의 실시예에 따른 세포 이미징 방법에서는, 먼저 표적세포를 포함하는 생물학적 샘플의 일부 영역을 포커싱 영역으로 선정한다(S10 단계). 여기서 표적세포는 혈중 암세포(CTC)일 수 있다.
- [62] 도 2를 참조하면, 플레이트(1)에 놓인 생물학적 샘플(S)의 일부 영역이 포커싱 영역(F)이 된다. 본 발명의 실시예에서는 생물학적 샘플에서 표적세포가 위치하는 영역의 일부를 포커싱 영역으로 선정하고, 이 포커싱 영역에서 최적 초점거리를 선정함으로써, 최종적으로 생물학적 샘플의 전체 영역에 대한 선명한 광학 이미지를 얻을 수 있게 된다.
- [63] 다음으로, 포커싱 영역에서 렌즈 포커싱(즉, 최적 초점거리 선정)이 이루어지도록 대물렌즈가 제1 위치에 위치하도록 한다(S20 단계).
- [64] 다음으로, 대물렌즈와 포커싱 영역 사이의 거리가 순차적으로 감소하도록 대물렌즈 또는 생물학적 샘플을 제1 방향으로 제1 피치로 이동시킨다(S30 단계). 생물학적 샘플을 이동시키는 것은 플레이트 또는 표적세포를 z축 방향으로 이동시키는 것과 동일한 의미이다.
- [65] 다음으로, 촬상된 광학 이미지를 통해 포커싱 영역에서 셀 영역을 선정한다(S40 단계). 도 4를 참조하면, 셀 영역은 포커싱 영역 내에서 최적 초점거리 선정을 위한 프로세싱의 대상이 되는 어느 하나 또는 복수의 세포가 존재하는 영역을 의미한다.
- [66] 다음으로, 대물렌즈 또는 생물학적 샘플을 제2 방향으로 이동시켜 대물렌즈가 제2 위치에 위치하도록 한다(S50 단계). 여기서, 제2 위치에서 대물렌즈와

생물학적 샘플 사이의 거리는, 앞서 S20 단계의 제1 위치에서 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 거리보다 작을 수 있다.

- [67] 다음으로, 대물렌즈 또는 생물학적 샘플을 제1 방향으로 제2 피치로 이동시킨다(S60 단계). 여기서, 제2 피치는 제1 피치보다 작을 수 있다.
- [68]
- [69] 이상의 설명에서 제1 위치, 제1 방향, 제2 방향의 의미는 앞선 실시예에서 설명한 바와 동일하다. 예컨대, 제1 위치는 대물렌즈와 플레이트 또는 생물학적 샘플 사이의 거리가 최적 초점거리보다 상당히 큰 위치에 해당할 수 있다. 제1 방향은 대물렌즈와 생물학적 샘플이 서로 가까워지는 방향을 의미하며, 제2 방향은 제1 방향의 역방향일 수 있다.
- [70] 플레이트 또는 생물학적 샘플의 z축 위치는 고정되어 있고, 대물렌즈만이 z축 방향으로 이동하며, 대물렌즈가 플레이트의 하측에 위치한다고 가정하고, 구체적인 예를 들면 다음과 같다. 아래에서의 수치는 실험 또는 예시를 위한 것임에 유의해야 할 것이다.
- [71] 먼저, S20 단계에서 대물렌즈는 $-1000\mu\text{m}$ 되는 위치로 이동한다. 즉, 제1 위치는 $-1000\mu\text{m}$ 가 된다.
- [72] 다음으로, S30 단계에서 대물렌즈는 $+10\mu\text{m}$ 간격으로 이동한다. 즉, 제1 방향은 z축 상측 방향이 되고, 제1 피치는 $10\mu\text{m}$ 가 된다. 만약, z축 이동단위가 스텝이고, 스텝당 $0.5\mu\text{m}$ 이동이 이루어진다고 하면, S30 단계에서는 1회 이동시 20스텝의 움직임이 일어나게 된다.
- [73] 이와 같이 대물렌즈가 이동하면서 셀 영역의 측정이 이루어지는데, 소정 횟수만큼 대물렌즈를 이동한 후에 셀 영역의 선정이 이루어지게 된다(S40단계). 여기서 셀 영역의 선정이 이루어진다는 것은 광학 이미지 내에서 최적 초점거리 선정을 위한 프로세싱의 대상이 되는 어느 하나 또는 복수의 세포가 선정되었다는 것임과 동시에, 최적 초점거리에 근접하도록 대물렌즈가 이동했다는 것을 의미한다.
- [74] 셀 영역의 선정이 이루어진 시점에서, 대물렌즈의 위치를 현 위치에서 $-100\mu\text{m}$ 이동한다. 즉, S50 단계에서 z축 하측 방향으로 $100\mu\text{m}$ 만큼 이동한 위치가 제2 위치가 된다.
- [75] 다음으로, S60 단계에서 대물렌즈는 $+2\mu\text{m}$ 간격으로 이동한다. 즉, 제2 피치는 $2\mu\text{m}$ 가 되며, 1회 이동시 4스텝의 움직임이 일어나게 된다. 위 S20 내지 S60 단계에서의 움직임은 결국 1차적으로 대물렌즈의 이동간격을 크게 해서(제1 피치) 후보가 되는 초점거리를 일단 선정하고, 이후 범위를 좁혀 2차적으로 대물렌즈의 이동간격을 작게 해서(제2 피치), 최적 초점거리를 탐색하는 과정이라고 할 수 있다. 이를 통해 최적 초점거리 도달에 이르기 위한 시간 소비를 줄일 수 있게 된다.
- [76] 한편, 이상에서는 대물렌즈가 이동하는 것을 전제로 설명하였으나, 이와 달리 플레이트(또는 생물학적 샘플)가 이동하거나, 대물렌즈와 플레이트가 모두

이동하는 것도 가능하다. 이 경우, 제1 방향 및 제2 방향의 실제 의미가 달라질 수 있음은 물론이다.

[77]

[78] 다시 도 3을 참조하면, 촬상된 광학 이미지를 통해 셀 영역 내의 표적세포에 대한 에지 디텍션을 한다(S70 단계). 에지 디텍션은 이미지 내에 존재하는 특정 대상물의 경계를 확정하는 것으로, 세포 이미지에 대한 에지 디텍션은 탐지 대상이 되는 세포와 그 배경을 구별할 수 있도록 피쳐 콘트라스트(feature contrast)의 차이를 감지하는 것이다. 이러한 콘트라스트 차이를 증대시키기 위해 세포에 형광염료 염색을 하거나 마커에 의한 라벨링을 하게 된다.

[79]

도 5를 참조하면, 먼저 셀 영역 내에서 세포를 중심으로 A-A'선 상에서 픽셀 값을 측정하게 된다(도 5의 (a) 참조). 도 5의 (b)는 A-A'라인 프로파일을 따라 픽셀 값(intensity)의 분포를 나타낸다. 라인 프로파일을 따라 분포된 픽셀 값의 그래디언트(gradient) 정보가 도 5의 (c)에 나타나 있다. 그래디언트는 라인 프로파일 상에서 인접한 두 픽셀 사이의 크기 차이를 에지 강도(edge strength)로 나타낸 것으로, A-A'선 상에서 세포의 에지에 해당하는 E1 및 E2 지점에서 인접한 두 픽셀 사이의 크기 차이, 즉 에지 강도의 절대값이 가장 크게 된다. 즉, 에지 강도의 절대값이 가장 큰 지점을 세포 경계로 확정할 수 있게 된다.

[80]

[81] 다시 도 3을 참조하면, 에지 디텍션을 통해 표적세포와 배경 간의 콘트라스트 차이가 최대가 되는 지점에서 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 거리를 최적 초점거리로 선정한다(S80 단계).

[82]

여기서, 셀 영역 내의 소정의 라인 프로파일 상에서 인접한 두 픽셀 사이의 크기 차이가 가장 큰 구간을 검출하고, 이러한 두 픽셀 사이의 크기 차이를 이용하여 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 최적 초점거리를 선정하게 된다.

[83]

도 6에는, 상이한 초점거리에서 촬상한 광학 이미지(a, b, c) 및 그에 따른 라인 프로파일 상에서의 에지 강도가 나타나 있다. 도시된 바와 같이 A 이미지가 B 및 C 이미지에 비해 선명한 에지를 보여주고 있음을 알 수 있으며, 이는 A 이미지에 대응하는 라인 프로파일 상에서의 에지 강도가, B 및 C 이미지에 대응하는 라인 프로파일 상에서의 에지 강도와 비교하여, 더 큰 값을 갖고 있음을 통해서 확인할 수 있다. 즉, 라인 프로파일 상에서 인접한 두 픽셀 사이의 크기 차이(에지 강도)가 가장 큰 구간을 검출하고, 이러한 두 픽셀 사이의 크기 차이가 가장 큰 값을 갖고 있는 광학 이미지를 선택하면, 해당 광학 이미지를 촬상했을 때의 초점거리를 최적 초점거리로 선정할 수 있게 된다.

[84]

도 7은 제2 피치 간격으로 대물렌즈를 이동시키며 촬영한 셀 영역의 광학 이미지(총 63개의 광학 이미지)가 도시되어 있다. 해당 도면에서는, 라인 프로파일 상에서의 에지 강도 측정을 통해 48번 광학 이미지가 가장 선명한 에지를 갖고 있음을 확인할 수 있고, 따라서 48번 광학 이미지에 대응하는 초점거리를 최적 초점거리로 선정하게 된다.

[85]

[86] 마지막으로, 선정된 최적 초점거리에서 생물학적 샘플의 전체 영역에 걸쳐 일시 또는 순차로 촬상을 하게 된다(S90 단계). 2개 이상의 과장영역에서 각각 생물학적 샘플에 대한 광학 이미지를 얻을 수 있다. 예컨대 청색 과장영역에서 광학 이미지를 얻은 후, 이어서 녹색 과장영역 및 적색 과장영역에서의 광학 이미지를 얻는 것이 가능하다.

[87]

[88] 도 8은 본 발명의 다른 실시예에 따른 세포 이미징 방법을 나타낸 플로우 차트이다. 이 실시예에 따른 세포 이미징 방법의 구성단계는 앞선 실시예에서 개별적으로 설명한 구성단계와 유사하다.

[89]

본 실시예에 따른 표적 세포를 포함하는 생물학적 샘플에 대한 세포 이미징 방법에서는, 먼저 대물렌즈를 제1 피치로 이동시키며 각 피치당 표적세포에 대한 제1차 광학 이미지를 얻고, 이러한 제1차 광학 이미지를 통해 셀 영역을 선정한다(S100 단계).

[90]

다음으로, S100 단계에서 선정된 셀 영역에서 대물렌즈를 제1 피치보다 작은 제2 피치로 이동시키며 각 피치당 표적세포에 대한 제2차 광학 이미지를 얻는다(S200 단계).

[91]

마지막으로, S200 단계에서 얻은 제2차 광학 이미지에서 표적세포에 대한 에지 디텍션을 통해 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 최적 초점거리를 선정한다(S300 단계). 여기서, 에지 디텍션을 통해 표적세포와 배경 간의 콘트라스트 차이가 최대가 되는 지점에서 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 거리를 최적 초점거리로 선정할 수 있다. 또한, 셀 영역 내의 소정의 라인 프로파일 상에서 인접한 두 픽셀 사이의 크기 차이가 가장 큰 구간을 검출하고, 이러한 두 픽셀 사이의 크기 차이를 이용하여 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 최적 초점거리를 선정할 수 있다. 이에 대한 상세 구성은 전술한 실시예에서와 동일하다.

[92]

이상 설명한 본 발명의 실시예를 통해 분석이 필요한 표적세포를 광 과장별로 촬영하고 이를 통해 표적세포를 카운팅할 수 있게 된다. 특히 세포의 경계를 명확히 구별하여 표적세포의 개수와 종류를 정확히 판단할 수 있으며, 다수개의 생물학적 샘플을 빠른 속도로 처리할 수 있게 된다.

[93]

[94]

전술한 본 발명의 설명은 예시를 위한 것이며, 본 발명이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본 발명의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

- [95] 본 발명의 범위는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

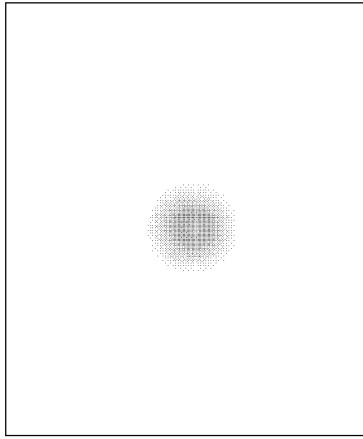
청구범위

- [청구항 1] 세포 이미징 방법으로서,
 표적세포(target cell)를 포함하는 생물학적 샘플의 일부 영역을 포커싱 영역으로 선정하는 단계와,
 상기 포커싱 영역에서 렌즈 포커싱이 이루어지도록 대물렌즈가 제1 위치에 위치하도록 하는 단계와,
 상기 대물렌즈와 상기 포커싱 영역 사이의 거리가 순차적으로 감소하도록, 상기 대물렌즈 또는 상기 생물학적 샘플을 제1 방향으로 제1 피치로 이동시키는 단계와,
 촬상된 광학 이미지를 통해 상기 포커싱 영역에서 셀 영역을 선정하는 단계와,
 상기 대물렌즈 또는 상기 생물학적 샘플을 제2 방향으로 이동시켜 상기 대물렌즈가 제2 위치에 위치하도록 하는 단계와,
 상기 대물렌즈 또는 상기 생물학적 샘플을 제1 방향으로 제2 피치로 이동시키는 단계와,
 촬상된 광학 이미지를 통해 상기 셀 영역 내의 표적세포에 대한 에지 디텍션(edge detection)을 하는 에지 디텍션 단계와,
 상기 에지 디텍션을 통해 표적세포와 배경 간의 콘트라스트 차이가 최대가 되는 지점에서 상기 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 거리를 최적 초점거리로 선정하는 최적 초점거리 선정 단계와,
 상기 선정된 최적 초점거리에서 상기 생물학적 샘플의 전체 영역에 걸쳐 일시 또는 순차로 활상을 하는 활상 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법.
- [청구항 2] 제1항에 있어서,
 상기 제2 위치에서 상기 대물렌즈와 상기 생물학적 샘플 사이의 거리는, 상기 제1 위치에서 상기 대물렌즈와 상기 생물학적 샘플 사이의 거리보다 작은 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법.
- [청구항 3] 제1항에 있어서,
 상기 제2 피치는 상기 제1 피치보다 작은 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법.
- [청구항 4] 제1항에 있어서,
 상기 최적 초점거리 선정 단계에서, 상기 셀 영역 내의 소정의 라인 프로파일 상에서 인접한 두 픽셀 사이의 크기(intensity) 차이가 가장 큰 구간을 검출하고, 상기 두 픽셀 사이의 크기 차이를 이용하여 상기 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 최적 초점거리를 선정하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법.
- [청구항 5] 제1항에 있어서,

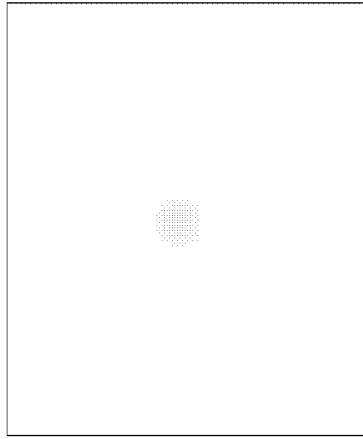
- 상기 촬상 단계에서, 2개 이상의 파장영역에서 각각 상기 생물학적 샘플에 대한 광학 이미지를 얻는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법.
- [청구항 6] 표적세포를 포함하는 생물학적 샘플에 대한 세포 이미징 방법으로서, 대물렌즈를 제1 피치로 이동시키며 각 피치당 표적세포에 대한 제1차 광학 이미지를 얻고, 상기 제1차 광학 이미지를 통해 셀 영역을 선정하는 단계와, 상기 선정된 셀 영역에서 대물렌즈를 상기 제1 피치보다 작은 제2 피치로 이동시키며 각 피치당 표적세포에 대한 제2차 광학 이미지를 얻는 단계와, 상기 제2차 광학 이미지에서 표적세포에 대한 에지 디텍션을 통해 상기 대물렌즈와 상기 생물학적 샘플 사이의 최적 초점거리를 선정하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법.
- [청구항 7] 제6항에 있어서, 상기 최적 초점거리를 선정하는 단계에서, 상기 에지 디텍션을 통해 표적세포와 배경 간의 콘트라스트 차이가 최대가 되는 지점에서 상기 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 거리를 최적 초점거리로 선정하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법.
- [청구항 8] 제6항에 있어서, 상기 최적 초점거리를 선정하는 단계에서, 상기 셀 영역 내의 소정의 라인 프로파일 상에서 인접한 두 픽셀 사이의 크기 차이가 가장 큰 구간을 검출하고, 상기 두 픽셀 사이의 크기 차이를 이용하여 상기 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 최적 초점거리를 선정하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법.
- [청구항 9] 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 표적세포는 혈중 암세포(CTC)인 것을 특징으로 하는 세포 이미징 방법.
- [청구항 10] 표적세포를 포함하는 생물학적 샘플을 위치시킨 플레이트와, 상기 플레이트 측으로 입사광을 조사하는 광원과, 상기 생물학적 샘플에서 여기된 광을 집광하는 대물렌즈와, 상기 대물렌즈를 통과한 광을 검출하는 촬상부와, 상기 대물렌즈 또는 상기 플레이트를 z축 방향으로 이동시키는 구동부와, 상기 촬상부에서 촬상된 광학 이미지를 분석하고, 상기 구동부에 대한 제어신호를 생성하는 제어부를 포함하며, 상기 제어부는, 상기 대물렌즈를 제1 위치에 위치시킨 후 상기 대물렌즈 또는 플레이트를 제1 방향으로 제1 피치로 이동시키면서 셀 영역을 선정하고, 상기 셀 영역 내에서 상기 대물렌즈 또는 플레이트를 제2 방향으로 이동시켜 상기 대물렌즈를 제2 위치에 위치시킨 후 상기 대물렌즈 또는 플레이트를 제1 방향으로 제2 피치로 이동시키면서 최적

- 초점거리를 선정하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 장치.
- [청구항 11] 제10항에 있어서,
상기 제어부는 상기 표적세포에 대한 에지 디텍션을 통해 최적 초점거리를 선정하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 장치.
- [청구항 12] 제11항에 있어서,
상기 제어부는 상기 에지 디텍션을 통해 표적세포와 배경 간의 콘트라스트 차이가 최대가 되는 지점에서 상기 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 거리를 최적 초점거리로 선정하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 장치.
- [청구항 13] 제11항에 있어서,
상기 제어부는 상기 셀 영역 내의 소정의 라인 프로파일 상에서 인접한 두 픽셀 사이의 크기 차이가 가장 큰 구간을 검출하고, 상기 두 픽셀 사이의 크기 차이를 이용하여 상기 대물렌즈와 생물학적 샘플 사이의 최적 초점거리를 선정하는 것을 특징으로 하는 세포 이미징 장치.

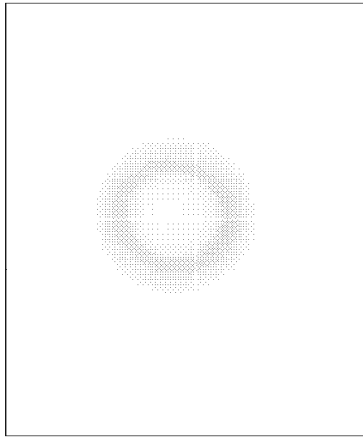
[도 1]



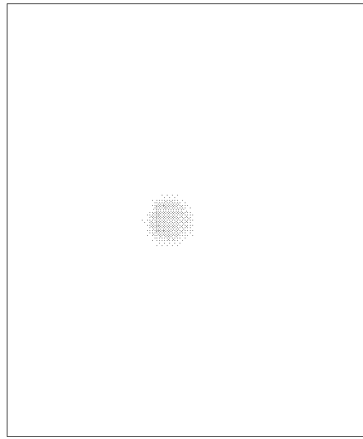
(c)



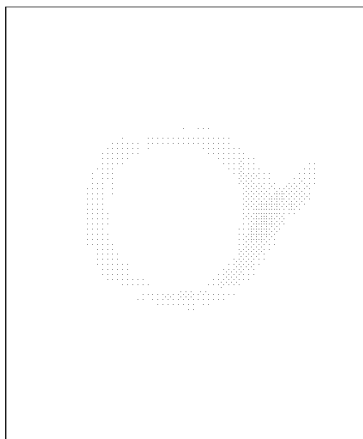
(f)



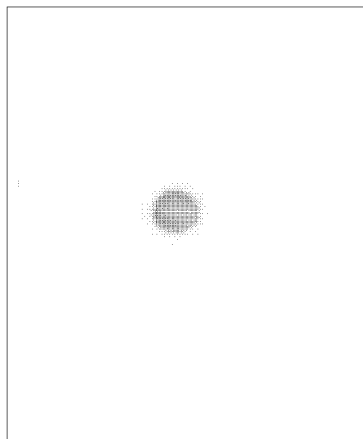
(b)



(e)

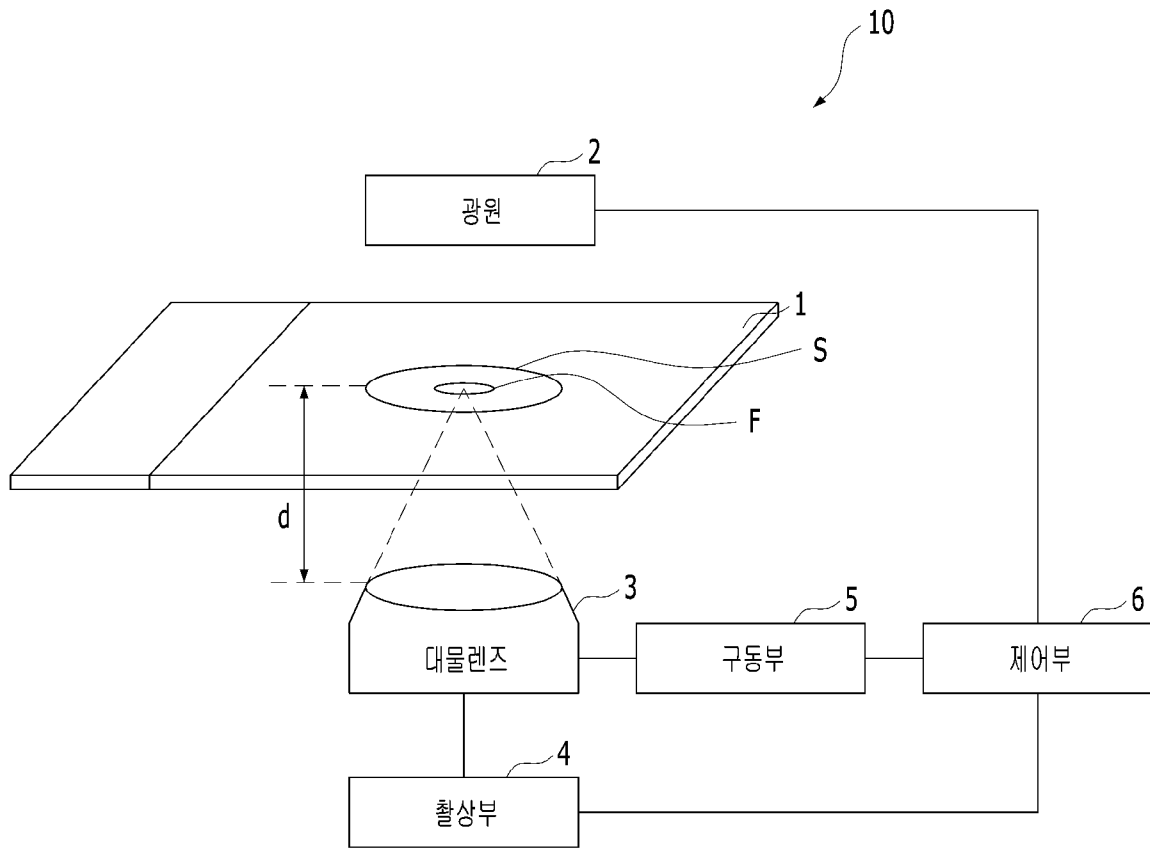


(a)

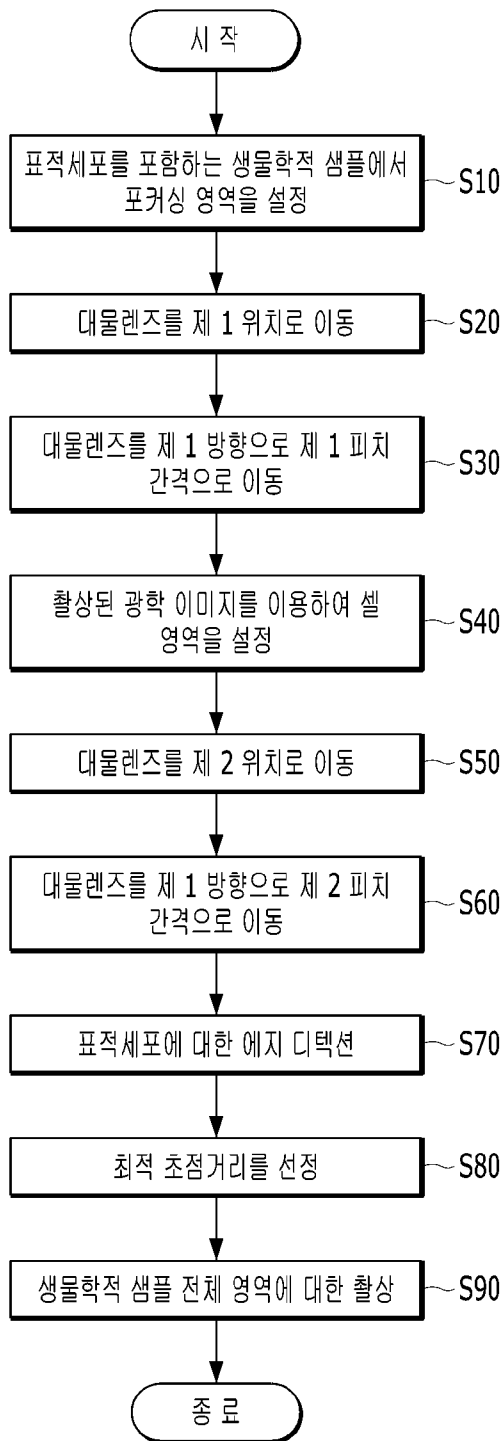


(d)

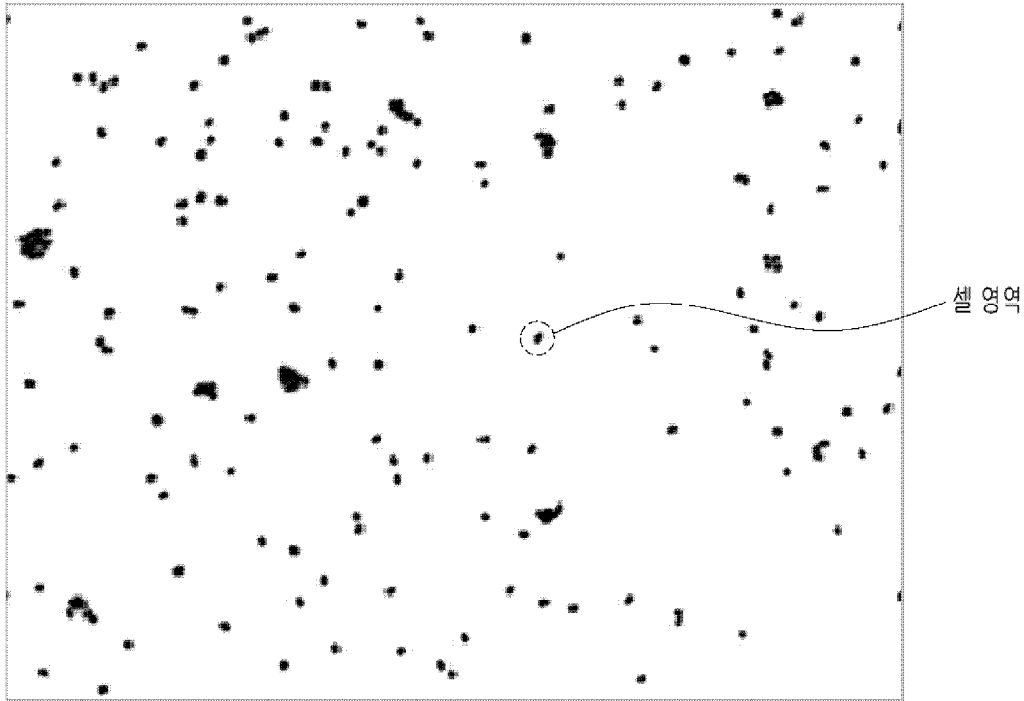
[도2]



[도3]

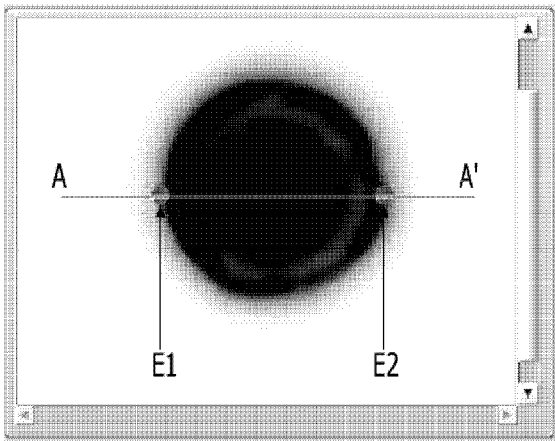


[도4]



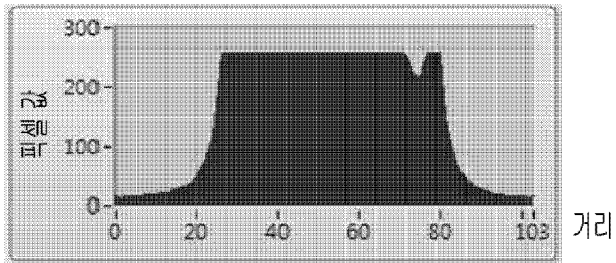
[도5]

이미지



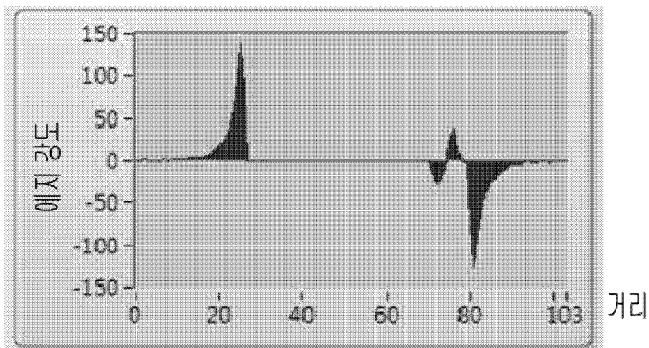
(a)

라인 프로파일



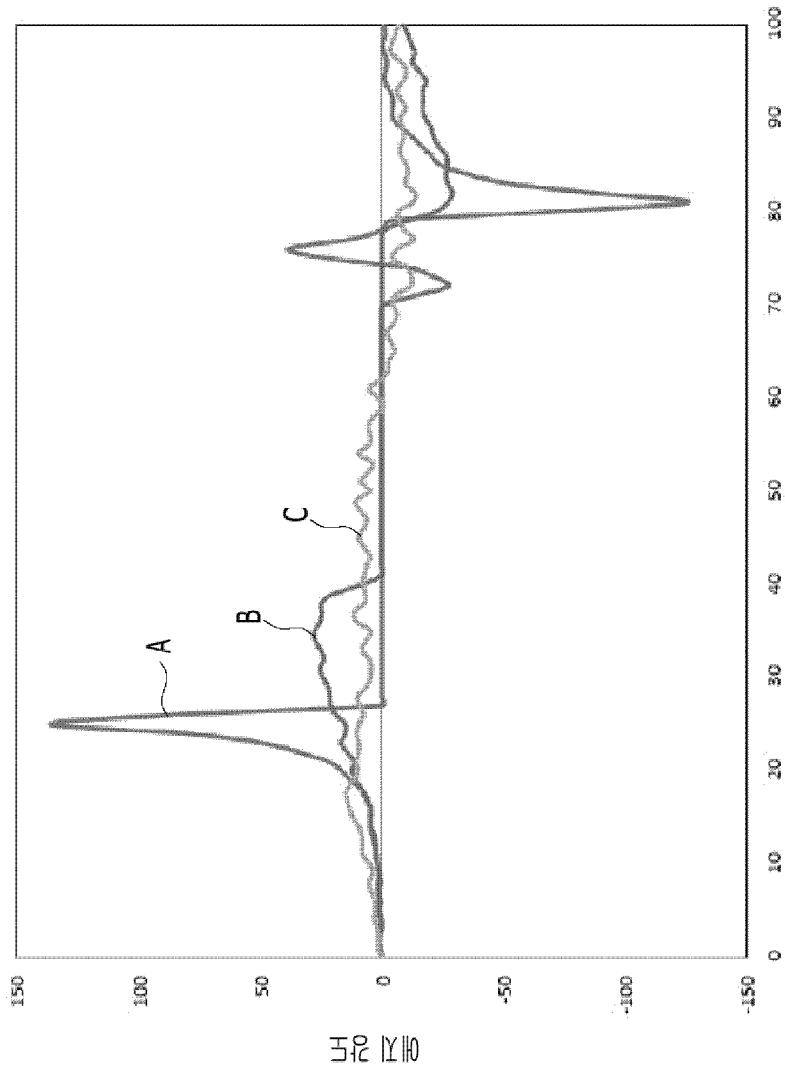
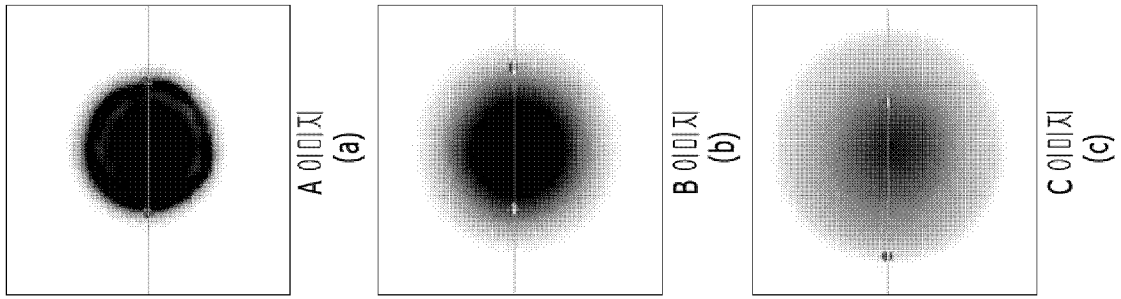
(b)

그라디언트 정보

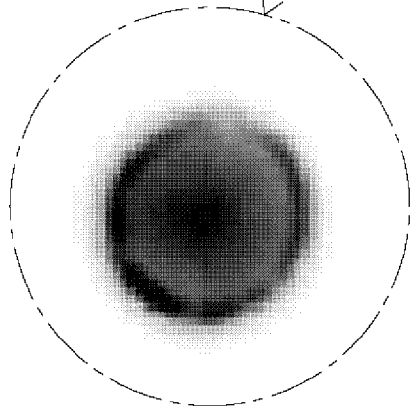
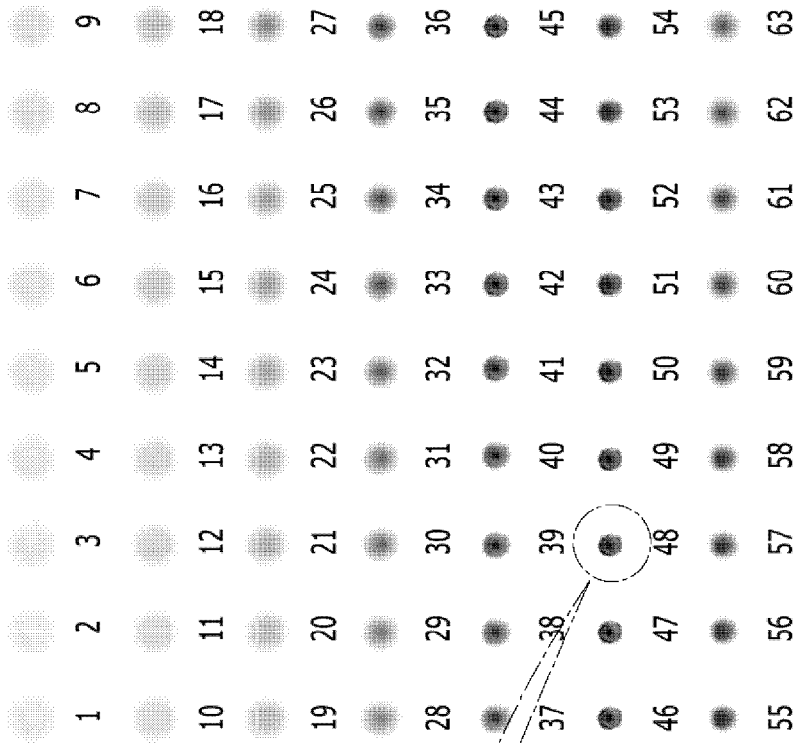


(c)

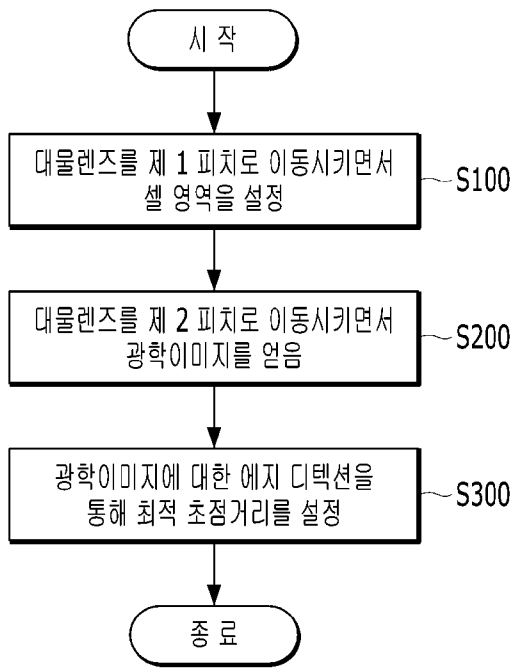
[도6]



[도7]



[도8]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2016/011004

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G02B 21/00(2006.01)i, G02B 21/36(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G02B 21/00; G02B 7/28; G02B 7/09; G02B 27/16; G01N 33/48; G01N 15/02; G01N 33/50; G01N 15/10; H01L 51/56; G02B 21/36

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as aboveElectronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: cell imaging, objective lens, pitch, edge detection, optimum focal distance

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2014-0273068 A1 (IRIS INTERNATIONAL, INC.) 18 September 2014 See paragraphs [0002], [0057]-[0190] and figures 1, 1A-1E.	1-13
A	KR 10-0608498 B1 (DIGITAL BIO. TECHNOLOGY CO., LTD.) 08 August 2006 See paragraphs [0018], [0030]-[0053] and figure 1.	1-13
A	KR 10-2006-0108461 A (K-MAC) 18 October 2006 See paragraphs [0006], [0013]-[0082] and figures 1-2, 3a-3c, 4a-4c, 5-6.	1-13
A	CN 101750272 A (ANSHAN IRON & STEEL (GROUP) COMPANY) 23 June 2010 See paragraphs [0001], [0006]-[0030].	1-13
A	KR 10-2012-0133644 A (SAMSUNG DISPLAY CO., LTD.) 11 December 2012 See paragraphs [0001], [0005]-[0020], [0028]-[0041] and figure 1.	1-13

 Further documents are listed in the continuation of Box C.
 See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 DECEMBER 2016 (30.12.2016)

Date of mailing of the international search report

04 JANUARY 2017 (04.01.2017)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701,
Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2016/011004

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date		
US 2014-0273068 A1	18/09/2014	CN 105074420 A	18/11/2015		
		CN 105074422 A	18/11/2015		
		CN 105102959 A	25/11/2015		
		CN 105143849 A	09/12/2015		
		CN 105143850 A	09/12/2015		
		CN 105164510 A	16/12/2015		
		EP 2972200 A2	20/01/2016		
		EP 2972204 A1	20/01/2016		
		EP 2972208 A1	20/01/2016		
		EP 2972210 A1	20/01/2016		
		EP 2972211 A1	20/01/2016		
		EP 2972214 A1	20/01/2016		
		JP 2016-512336 A	25/04/2016		
		JP 2016-519758 A	07/07/2016		
		JP 2016-519759 A	07/07/2016		
		JP 2016-520805 A	14/07/2016		
		JP 2016-520806 A	14/07/2016		
		JP 2016-520807 A	14/07/2016		
		KR 10-2015-0129706 A	20/11/2015		
		KR 10-2015-0129708 A	20/11/2015		
		KR 10-2015-0129709 A	20/11/2015		
		KR 10-2015-0129711 A	20/11/2015		
		KR 10-2015-0129712 A	20/11/2015		
		KR 10-2015-0130291 A	23/11/2015		
		US 2014-0273067 A1	18/09/2014		
		US 2014-0273076 A1	18/09/2014		
		US 2014-0273081 A1	18/09/2014		
		US 2014-0315238 A1	23/10/2014		
		US 2016-0041083 A1	11/02/2016		
		US 2016-0169785 A1	16/06/2016		
		US 9279750 B2	08/03/2016		
		US 9316635 B2	19/04/2016		
		US 9322752 B2	26/04/2016		
		WO 2014-145983 A1	18/09/2014		
		WO 2014-145984 A1	18/09/2014		
		WO 2014-146030 A1	18/09/2014		
		WO 2014-146051 A1	18/09/2014		
		WO 2014-146061 A1	18/09/2014		
		WO 2014-146063 A2	18/09/2014		
		WO 2014-146063 A3	08/01/2015		
		KR 10-0608498 B1	08/08/2006	CN 1826521 A	30/08/2006
				EP 1651947 A1	03/05/2006
				EP 1651947 B1	04/11/2015
KR 10-2005-0010709 A	28/01/2005				
US 2006-0187442 A1	24/08/2006				
US 7411680 B2	12/08/2008				
WO 2005-008226 A1	27/01/2005				

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2016/011004

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2006-0108461 A	18/10/2006	KR 10-0679643 B1	06/02/2007
CN 101750272 A	23/06/2010	NONE	
KR 10-2012-0133644 A	11/12/2012	US 2012-0305746 A1 US 8604403 B2	06/12/2012 10/12/2013

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))
G02B 21/00(2006.01)i, G02B 21/36(2006.01)i

B. 조사된 분야
조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
G02B 21/00; G02B 7/28; G02B 7/09; G02B 27/16; G01N 33/48; G01N 15/02; G01N 33/50; G01N 15/10; H01L 51/56; G02B 21/36

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌
한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))
eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 세포 이미징, 대물렌즈, 피치, 에지 디텍션, 최적 초점거리

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
A	US 2014-0273068 A1 (IRIS INTERNATIONAL, INC.) 2014.09.18 단락 [0002], [0057]-[0190] 및 도면 1, 1A-1E 참조.	1-13
A	KR 10-0608498 B1 (주식회사 디지털바이오테크놀러지) 2006.08.08 단락 [0018], [0030]-[0053] 및 도면 1 참조.	1-13
A	KR 10-2006-0108461 A (케이맥(주)) 2006.10.18 단락 [0006], [0013]-[0082] 및 도면 1-2, 3a-3c, 4a-4c, 5-6 참조.	1-13
A	CN 101750272 A (ANSHAN IRON & STEEL (GROUP) COMPANY) 2010.06.23 단락 [0001], [0006]-[0030] 참조.	1-13
A	KR 10-2012-0133644 A (삼성디스플레이 주식회사) 2012.12.11 단락 [0001], [0005]-[0020], [0028]-[0041] 및 도면 1 참조.	1-13

추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다. 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:
 “A” 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌
 “E” 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌
 “L” 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌
 “O” 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌
 “P” 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌
 “T” 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌
 “X” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신구성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.
 “Y” 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.
 “&” 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일 2016년 12월 30일 (30.12.2016)	국제조사보고서 발송일 2017년 01월 04일 (04.01.2017)
--	---

ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (35208) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-481-8578	심사관 이현길 전화번호 +82-42-481-8525
---	------------------------------------

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
US 2014-0273068 A1	2014/09/18	CN 105074420 A	2015/11/18
		CN 105074422 A	2015/11/18
		CN 105102959 A	2015/11/25
		CN 105143849 A	2015/12/09
		CN 105143850 A	2015/12/09
		CN 105164510 A	2015/12/16
		EP 2972200 A2	2016/01/20
		EP 2972204 A1	2016/01/20
		EP 2972208 A1	2016/01/20
		EP 2972210 A1	2016/01/20
		EP 2972211 A1	2016/01/20
		EP 2972214 A1	2016/01/20
		JP 2016-512336 A	2016/04/25
		JP 2016-519758 A	2016/07/07
		JP 2016-519759 A	2016/07/07
		JP 2016-520805 A	2016/07/14
		JP 2016-520806 A	2016/07/14
		JP 2016-520807 A	2016/07/14
		KR 10-2015-0129706 A	2015/11/20
		KR 10-2015-0129708 A	2015/11/20
		KR 10-2015-0129709 A	2015/11/20
		KR 10-2015-0129711 A	2015/11/20
		KR 10-2015-0129712 A	2015/11/20
		KR 10-2015-0130291 A	2015/11/23
		US 2014-0273067 A1	2014/09/18
		US 2014-0273076 A1	2014/09/18
		US 2014-0273081 A1	2014/09/18
		US 2014-0315238 A1	2014/10/23
		US 2016-0041083 A1	2016/02/11
		US 2016-0169785 A1	2016/06/16
		US 9279750 B2	2016/03/08
		US 9316635 B2	2016/04/19
		US 9322752 B2	2016/04/26
		WO 2014-145983 A1	2014/09/18
		WO 2014-145984 A1	2014/09/18
		WO 2014-146030 A1	2014/09/18
		WO 2014-146051 A1	2014/09/18
		WO 2014-146061 A1	2014/09/18
		WO 2014-146063 A2	2014/09/18
		WO 2014-146063 A3	2015/01/08
		KR 10-0608498 B1	2006/08/08
EP 1651947 A1	2006/05/03		
EP 1651947 B1	2015/11/04		
KR 10-2005-0010709 A	2005/01/28		
US 2006-0187442 A1	2006/08/24		
US 7411680 B2	2008/08/12		
WO 2005-008226 A1	2005/01/27		

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호

PCT/KR2016/011004

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2006-0108461 A	2006/10/18	KR 10-0679643 B1	2007/02/06
CN 101750272 A	2010/06/23	없음	
KR 10-2012-0133644 A	2012/12/11	US 2012-0305746 A1 US 8604403 B2	2012/12/06 2013/12/10