

## 顕微鏡下におけるビジュアルフィードバックを用いた微生物トラッキング

北海道大学 ○本田 匠 北海道大学 高氏 秀則 北海道大学 金子 俊一  
要旨

本研究は水中を自由に遊泳する微生物を追跡することを目的とする。環境の変動による背景の変化や、対象物の運動に伴う回転及び形状の変化に対してバスタな追跡手法を提案する。また得られた対象物の位置をフィードバックし、対象が常に視野中心に来るようにXYステージでの位置制御を行う。本稿では、微小な対象を任意の位置に位置決めすることのできるシステムの構築し、提案手法の有効性を本研究の実験結果により示す。

### 1. はじめに

画像処理の技術はナノテクノロジーやバイオテクノロジーの分野において、位置推定や計測、検査などに使用され、その要求は高まっている。本研究では、微生物の視覚フィードバックを目的としている。顕微鏡より得られた視覚画像から対象物のテンプレートマッチングを行いトラッキングする方法を提案する。本研究は対象物が常に視野中心に来るようにステージを移動させるものとし、テンプレートマッチングにより得られた中心位置からの差分をステージにフィードバックする。本システムではイメージセンサ、対物レンズおよびXYステージは共に平行に配置されているものとし、それらが一体となったCNC画像測定システム（ニコン社製：iNEXIV VMA-2520）をベースに位置決めシステムを考えた。対象物はXYステージ上に置かれ、撮像された視野画像を画像処理することで対象物の位置を測定し、目標位置との差をXYステージにフィードバック制御することで位置決めを行う。本研究では、微小な対象を追跡し続けることができるシステムの構築、その検証を行うことを目的とし、基本的な性能解析、提案手法の性能を確認したので報告する。

### 2. 方向符号照合法 (OCM)

本研究では方向符号照合法 (Orientation Code Matching) [1] を用いてテンプレートマッチングを行う。方向符号 (OC) とは、画素の明度値そのものではなく画素近傍における明度勾配が最大となる勾配符号を量子化した整数値である。この方向符号を用いた照合を方向符号照合と呼び、明度変化・ノイズ・変形に対して高いロバスト性を持つ。

### 3. カラー方向符号

カラー方向符号照合法 [2] は前述した OCM に色情報を使用する。本手法は XYZ 表色系を使用し、各値について OC 化を行い、各値の類似度及びその信頼度を重みとしてそれぞれ算出しこれらに基づいて評価を行う。本来、明度値だけに用いていた OC を色情報を用い、また各値について重みを設定することによって、色に起因する検出の精度や再現性がロバストに確保されるものと期待される。

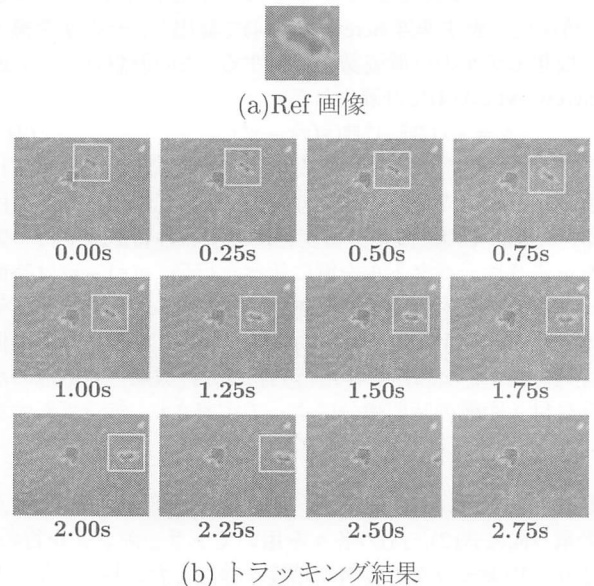


Fig. 1: 検出結果

### 4. 実験と結果

#### 4.1. 実験概要

上述したテンプレートマッチングを基にトラッキング性能を確認する。本研究ではトラッキング対象に、微小な生物の一例としてミジンコを使用する。今回使用したミジンコはカイミジンコと呼ばれ、fig.1(a) に示すような形状であり、体長約 50~200  $\mu\text{m}$  ほどの大きさをしている。以降、対象物とはミジンコのことを指し、対象物、対象部分を含むテンプレート画像を Reference (以下 Ref) とする。光軸方向の移動は微小とし、影響のないものとして XY 方向のトラッキング及びステージへのフィードバックを行った。

#### 4.2. トラッキング

本手法の照合性能を確認するため、検出結果の一例として XY ステージを固定し視野内の対象物を検出し続けた。fig.1 は対象物をトラッキングした 0.25sec ごとの連続写真を示す。視野外に出るまで対象物を捕らえマーキングしていることが分かる。

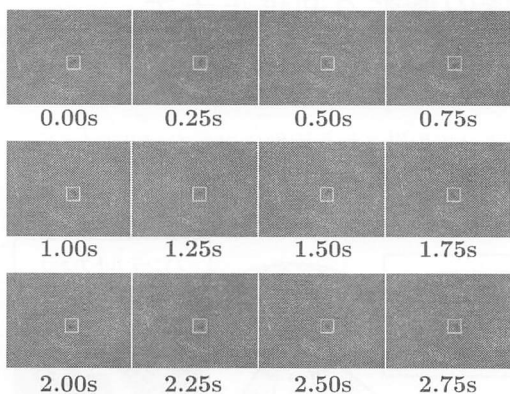


Fig. 2: 実験結果

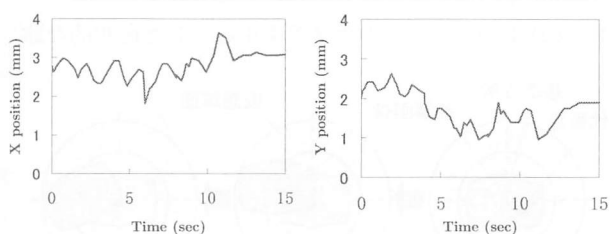


Fig. 3: 対象物の時間的な移動量

### 4.3. ビジュアルフィードバック

本研究の性能を確認するため、前述したシステムで実験を行った。対象物は浅型シャーレに蒸留水を入れ、用いた。fig.2は、視野内の画像から対象物をトラッキングした0.25secごとの連続写真を示す。本システムが移動する対象物をほぼ中心に捕らえていることが分かる。対象物の時間的な移動量をfig.3にしめす。この移動量をXYステージにフィードバックした。

また対象物の軌跡を構成したものをfig.4に示す。カメラ視野(4.7×3.5mm)よりも広い領域を追跡できていることがわかる。これらの結果から、本システムが微生物の2次元運動計測及び、トラッキングに有用であることがわかった。

また、カラー OCM の有効性の一例をfig.5に示す。水の表面張力や振動により、明度情報や色の変化が激しく変化した場合に、従来の OCM や明度を主とした他の手法では検出し続けることができない。その結果をfig.5(b)に示す、これはカラー OCM でトラッキングに成功した画像を従来の OCM でテンプレートマッチングしたものである。照明が水の表面張力により反射している状況で、検出ミスが起きていることが分かる。また検出できない間(1.00~1.25sec)で、対象物を見逃してしまいそれ以降、検出できないのがわかる。同様の場合においてもカラー OCM はトラッキングし続けることができることがfig.5(a)よりわかる。これは明度と色情報に特徴を分け、重み付けにより有効な特徴量を選んでいるためである。

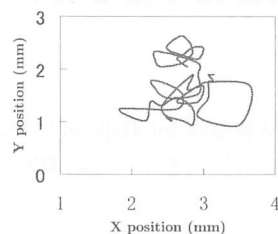
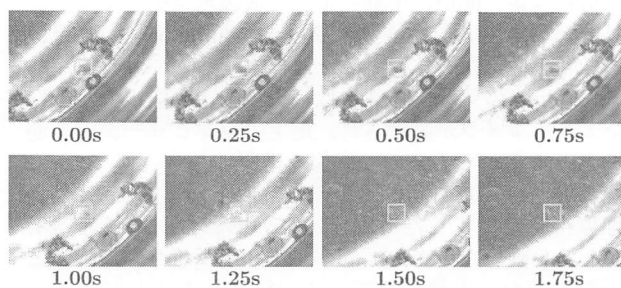
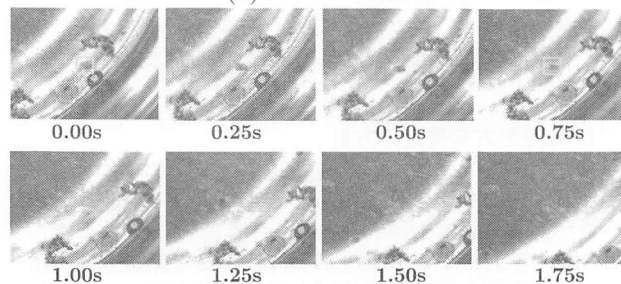


Fig. 4: 対象の軌跡



(a) カラー OCM



(b) OCM

Fig. 5: 反射の激しい面でのトラッキング

## 5. まとめ

提案手法のトラッキング性能を検証するため、ミジンコを用いた実験を行った。提案手法により画像計測器から得られたデータで視覚フィードバックをすることで、微生物の2次元運動の計測及び、位置制御が可能であるという結果を得た。今回はミジンコを用いたが、ミジンコに限らず他の微生物であっても適用できる可能性がある。またその場合、各微生物の持つ遊泳特性、運動軌跡などから分類ができると考えられる。今後の課題として、高フレームレートに対応するための高速化や、マッチングミスによるトラッキング不能状態に対策をした手法を組み合わせる必要がある。

## 参考文献

- [1] F.Ullah and S.Kaneko: Using orientation codes for rotation-invariant template matching, Pattern Recognition, vol.37, no.2, pp.201-209, 2004.
- [2] 本田 匠, 高氏秀則, 金子俊一: "照明スペクトル変動に対してロバストな重み付きカラー方向符号照合法", 精密工学会誌, Vol.75 No.2, pp313-320, 2009