

# 二方向同時観察法を用いた微生物の三次元自動追跡

鳥取大学大学院 工学研究科 機械宇宙工学専攻 応用数理工学科コース

## 背景

### 対象物の三次元自動追跡機能付き顕微鏡の開発

DFDi (ピントのボケ量により奥行き位置情報を高速画像処理で推定する手法)

顕微鏡にカメラを1つ載せるだけで適用できるが、照明方法が限定される

奥寛雅“高速ビジョンによる微生物トラッキング顕微鏡”, 生物物理, Vol.49, pp.11-14

## 目的

対象物の位置情報を

二方向から取得することで三次元自動追跡

顕微鏡光学系を直交配置し,同時観察する

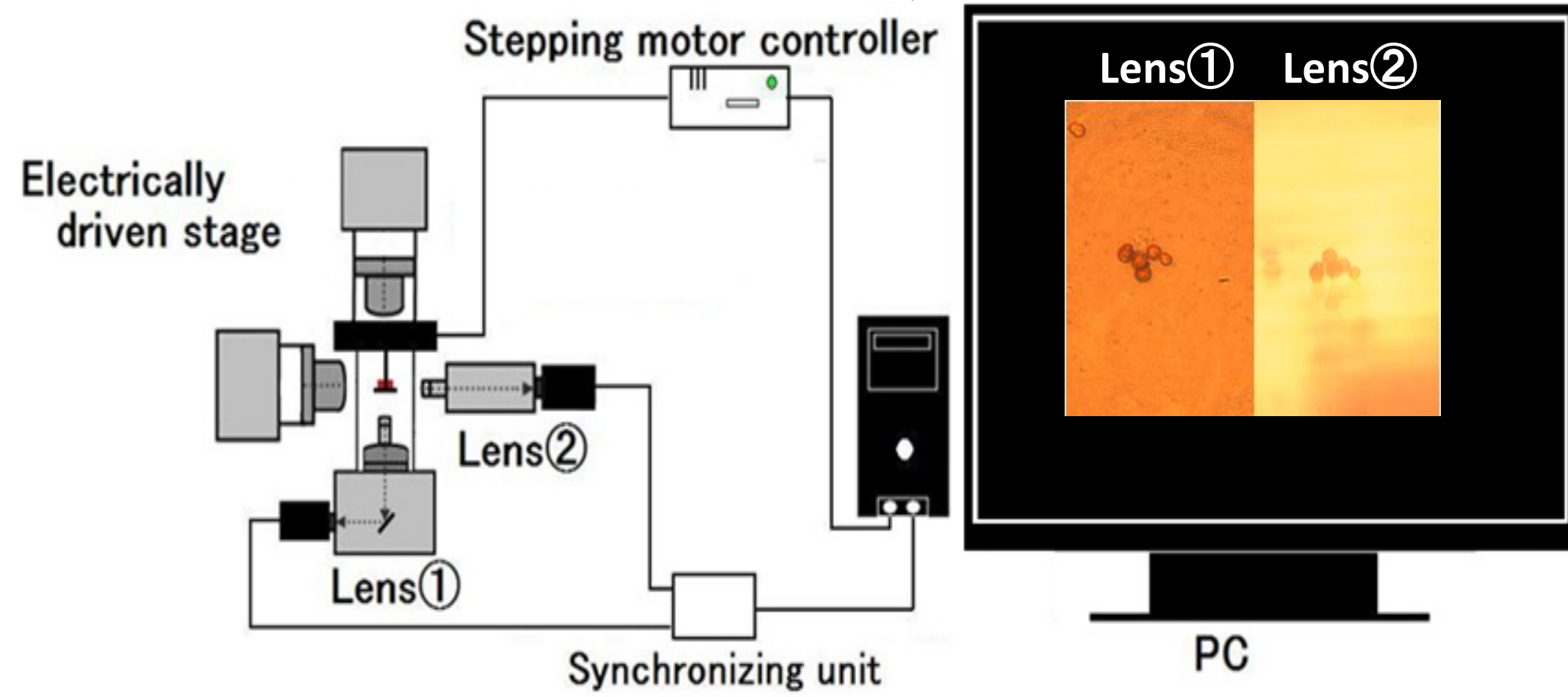
⇒照明方法を限定することなく奥行き位置情報を取得できる

## 実験装置・試料

顕微鏡映像をカメラを用いてパソコンに送る

映像を計測制御ソフトLabVIEWを用いて画像処理することで対象物の位置座標を取得する. その位置座標をもとにステージを動かす.

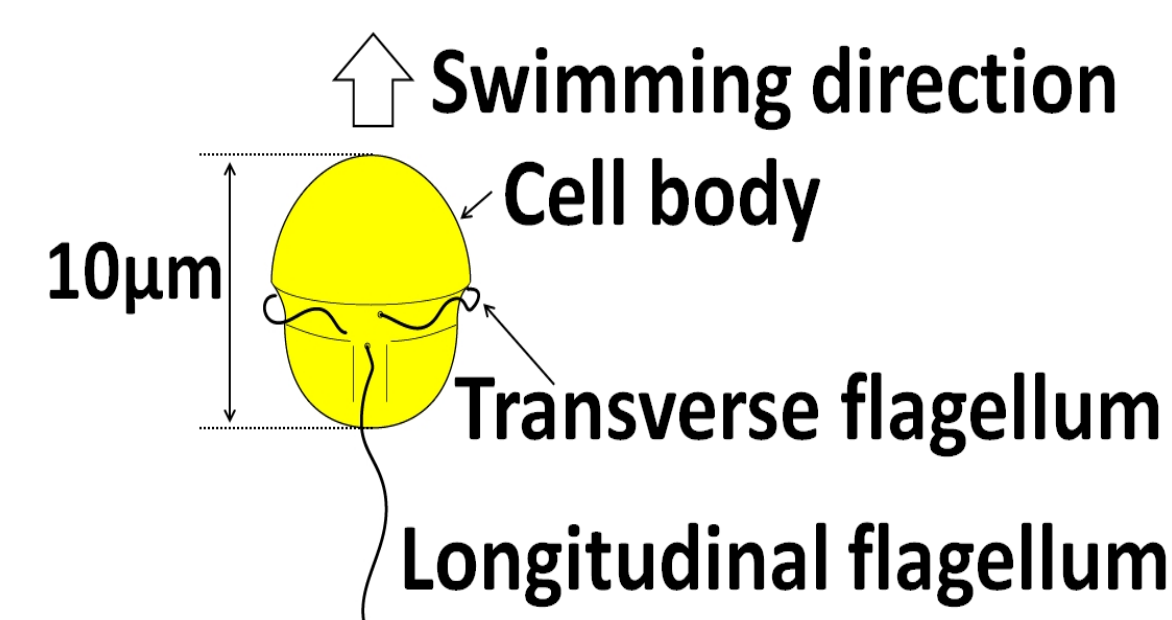
Lens①とLens②の映像は,一画面に合成される



対物レンズを20倍に設定した場合

カメラ視野はおおよそ横136[μm]×縦210[μm], 渦鞭毛藻は1秒以下で視野内から外れる⇒手動追跡は困難である

### 実験試料



渦鞭毛藻 *Symbiodinium*

境界近傍: 回転運動

自由空間: 直進・回転運動

遊泳速度: 200[μm/s]以上

## 追跡方法

### 映像解析

#### ・画像差分

2枚の画像の輝度差を取る⇒動かない物体の消去

#### ・二値化処理

#### ・円形検出

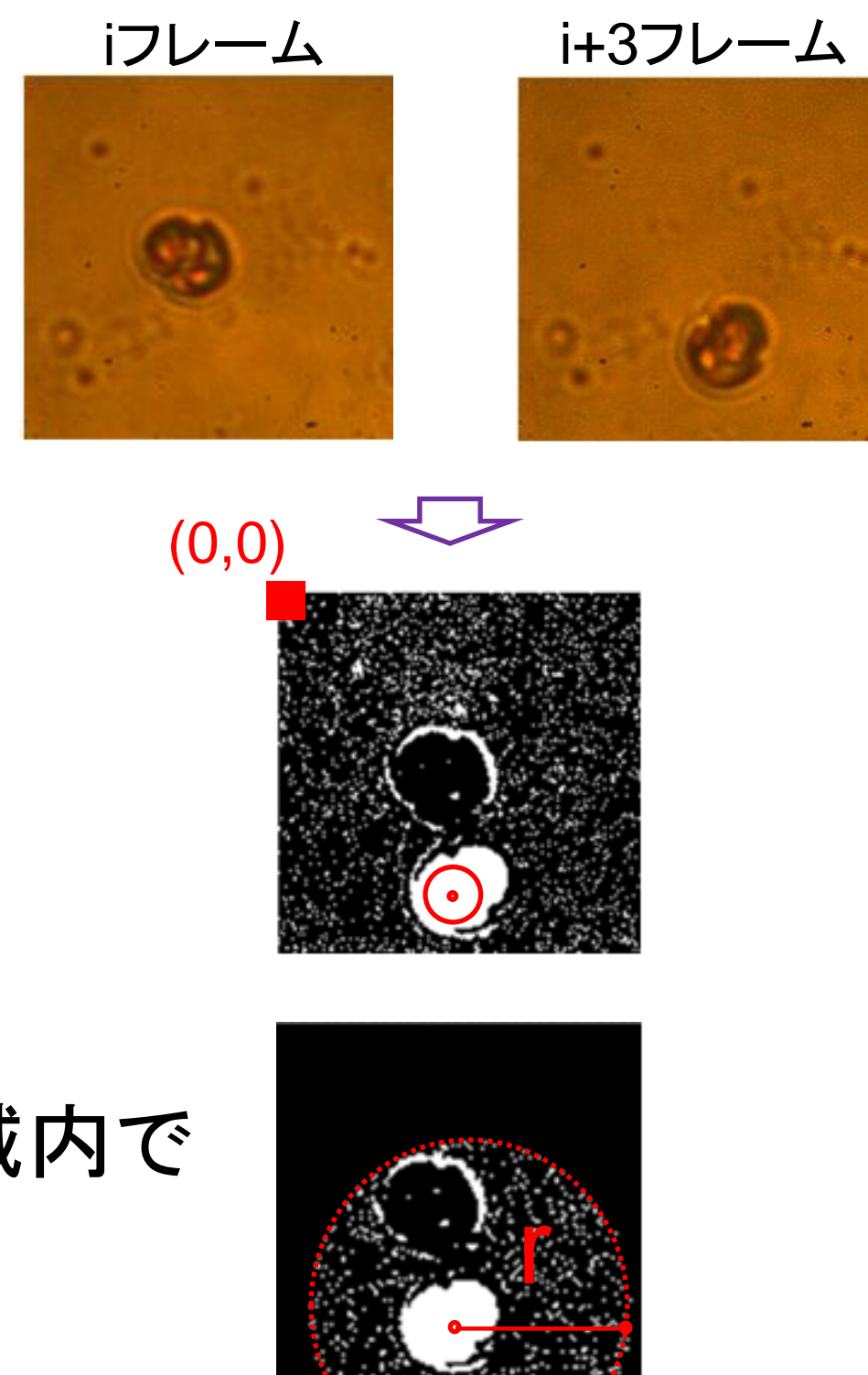
半径5~20[pixel]の円が納まるかを判定

※実験的に5~20の値が、渦鞭毛藻の位置座標を最も正確に取得できる  
収まらない場合,エラー(0,0)を返す

目的対象物の位置座標=円形中心座標

#### ・関心領域(ROI)の設定

円形中心座標を中心とする半径90[pixel]の円形領域内で  
画像処理を行う



### ステージ制御

視野から外れそうになった時,ステージを移動する

円形座標 $(\xi_1, \eta_1), (\xi_2, \eta_2)$ が

$$\xi_1 < \xi_a$$

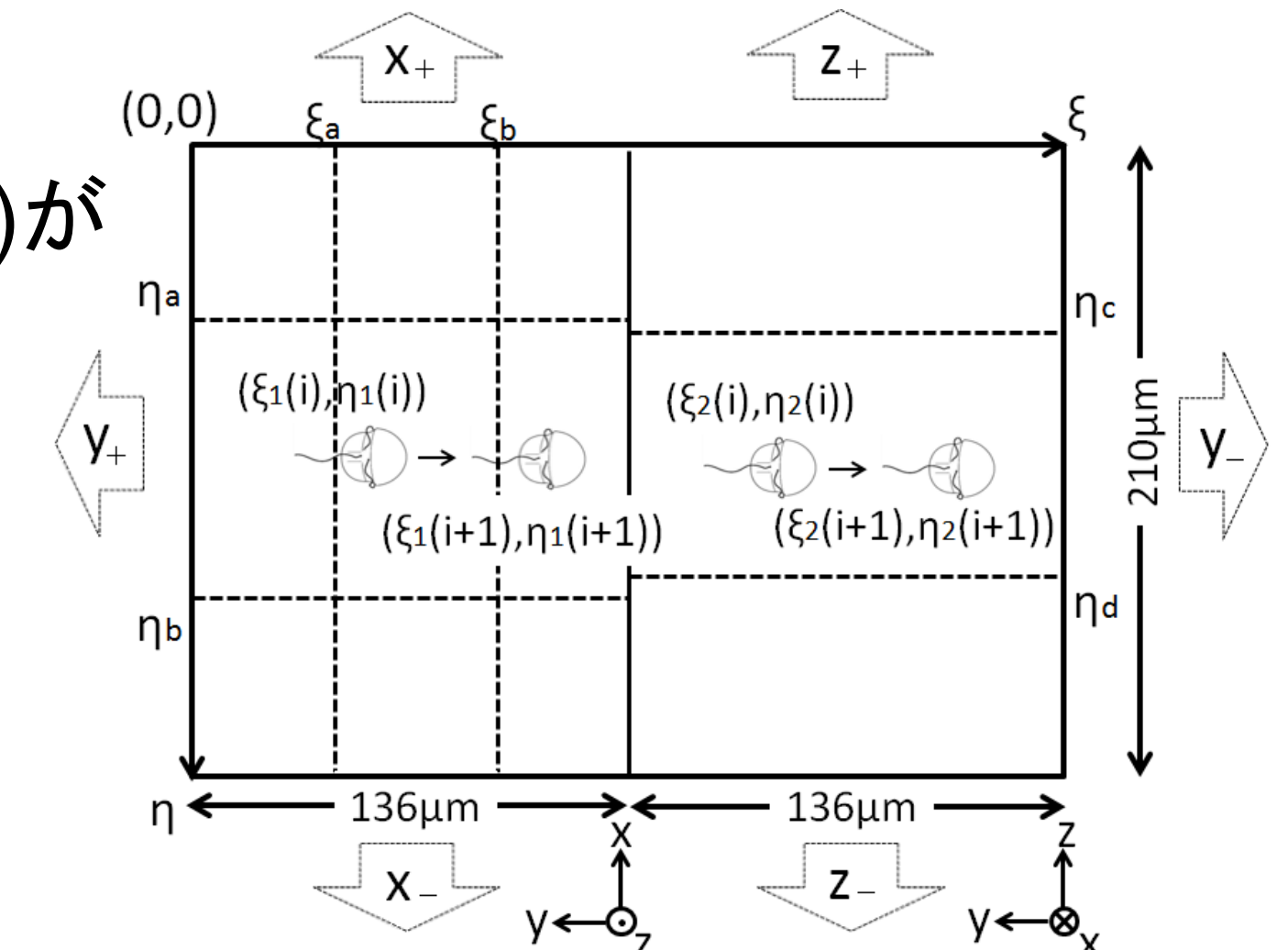
$$\xi_1 > \xi_b$$

$$\eta_1 < \eta_a$$

$$\eta_1 > \eta_b$$

$$\eta_2 < \eta_c$$

$$\eta_2 > \eta_d$$



の時,対応する方向にステージを動かす

※エラーの(0,0)では動かない,

対象物が画面中心に来るようにステージの移動量は常に変化させる

## 試験動画を用いた対象物の特定実験

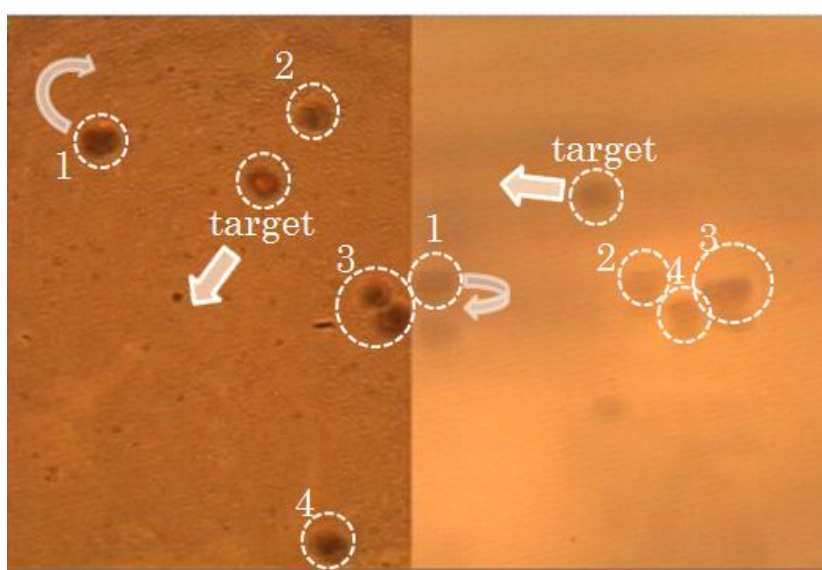
オフラインの動画を用いて映像解析方法が妥当であるか検証した

● 手動取得した実際の対象物の位置座標

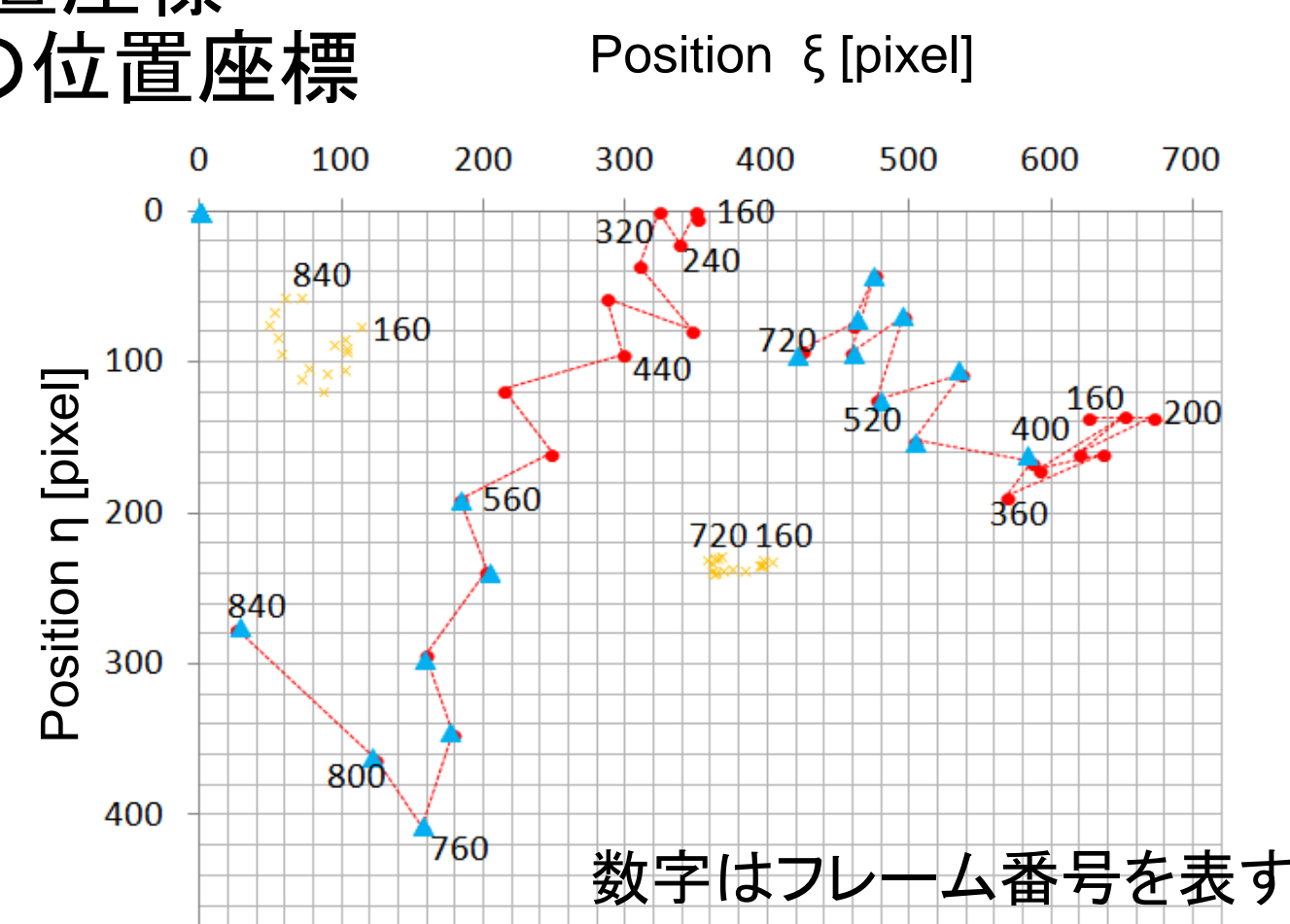
▲ 映像解析により取得した対象物の位置座標

✕ 手動取得した追跡対象でない物体1の位置座標

試験動画は顕微鏡映像をPC上で録画



画面サイズ:横×縦, 720×480[pixel]



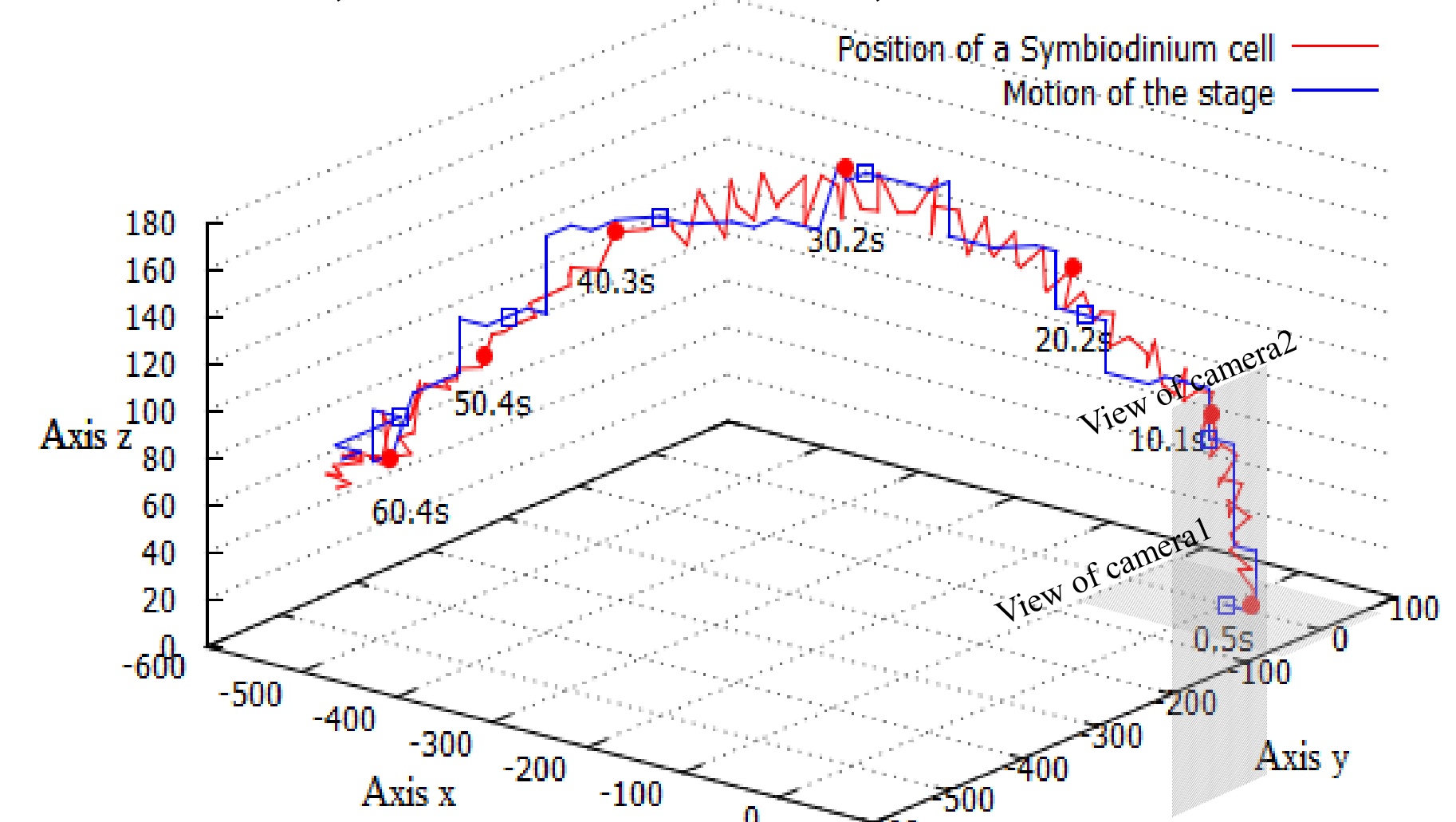
数字はフレーム番号を表す

目的の対象物が関心領域内に入った560,520フレームから映像解析により  
取得した位置座標と実際の位置座標が一致している

## 追跡結果

オンラインで行った三次元追跡結果を示す

— 渦鞭毛藻の動き, — ステージの移動, 斜線部はカメラ視野領域を表す



渦鞭毛藻を60秒以上追跡した

旋回運動に加え併進移動する渦鞭毛藻の追跡が可能である

## 結論

### 対象物を特定する映像解析について

画像差分により動かない物体の誤認を防ぎ, 関心領域を設定することで画面内に動いている渦鞭毛藻が  
複数個存在する場合でも対象の誤認を防ぐことができる ⇒ 映像解析手法は妥当である

### 追跡結果について

旋回運動に加え併進する渦鞭毛藻の追跡に成功した ⇒ 旋回中心の移動速度は約30μm/sである