

二方向同時観察法を用いた 三次元自動追跡機能付き顕微鏡の試作

鳥取大学 工学部 応用数理工学科

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

顕微鏡に縦・横方向にカメラを2つ取り付けることにより
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

研究の流れ

本研究では一方向二次追跡を試みた

顕微鏡映像の取り込み

一方向映像の解析

X,Y軸のステージ制御

一方向での対象物の自動追跡

二方向映像の解析

+
Z軸を加えたステージ制御

二方向映像から対象物の三次元自動追跡

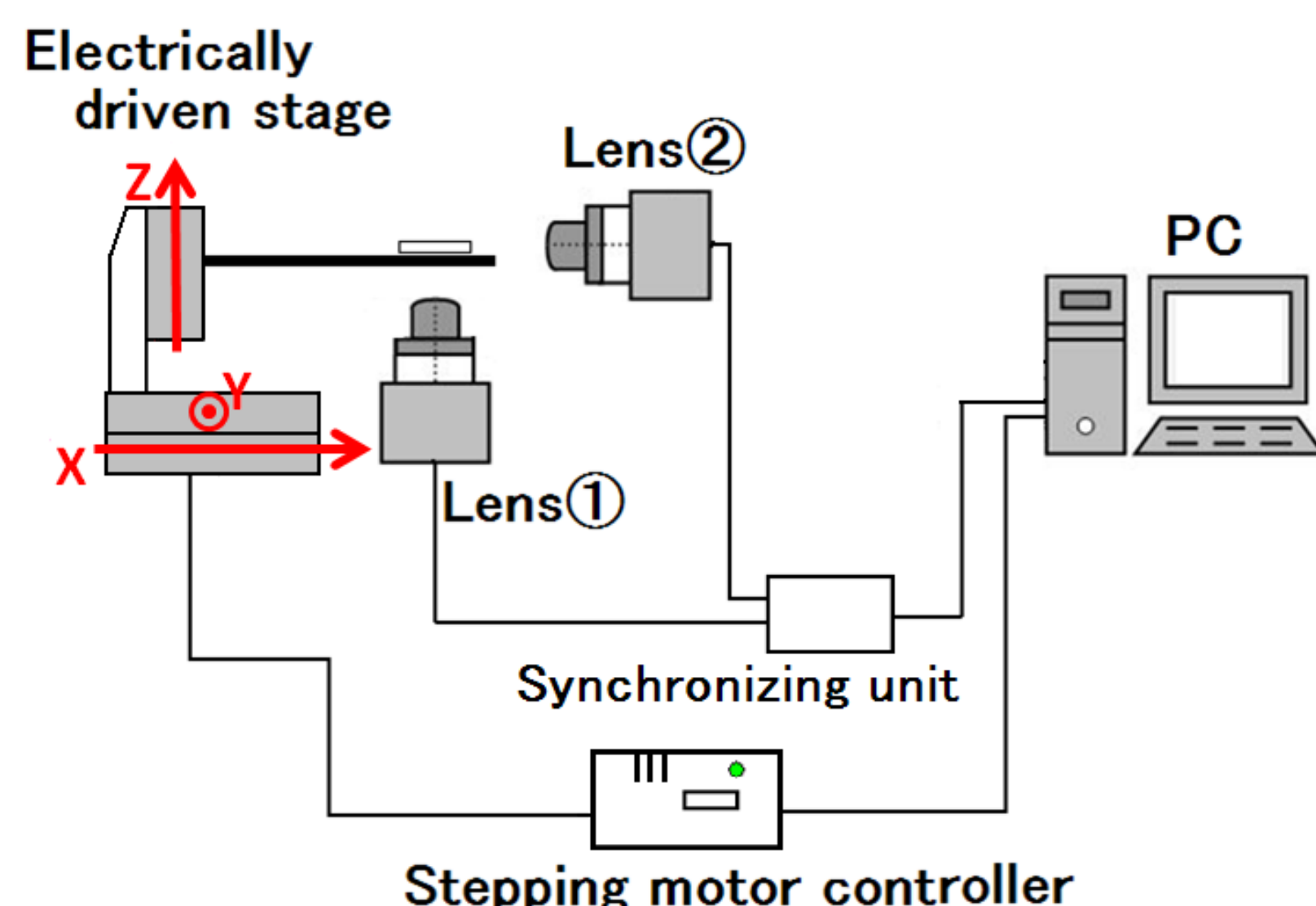
一方向
二次元追跡
二方向
三次元追跡

実験装置・試料

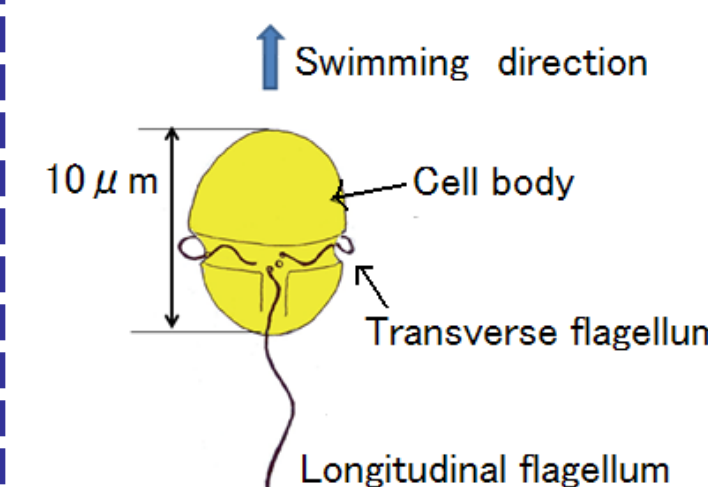
顕微鏡映像をカメラを用いてパソコンに送る

映像を計測制御ソフトLabVIEWを用いて解析し、コントローラーに信号を送り

ステージを制御する



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: 平均80[μm/s]

対物レンズを100倍と設定した場合

カメラ視野: 横×縦、約60×50[μm]

渦鞭毛藻は1秒以内で視野内から外れる

⇒手動追跡が困難

映像解析

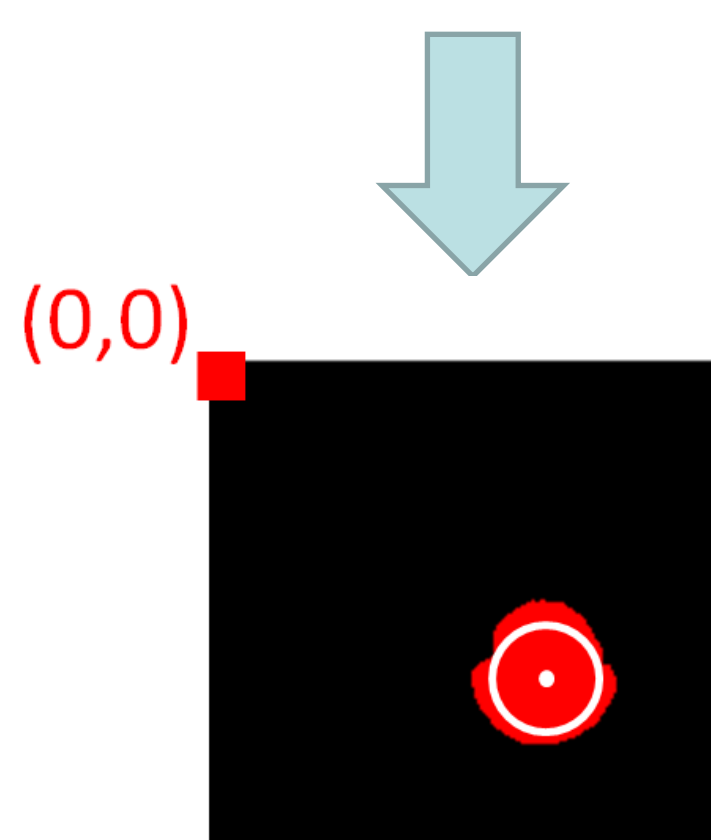
二値化処理

映像に応じて閾値を設定し、ある画素のピクセル値がその閾値に比べ低いと背景(黒)、高いと**対象物(赤)**に区別する

円形検出

二値化により区別された赤い領域から半径が40~50[pixel]の円が納まるかを判定
※実験的に40~50の値が、渦鞭毛藻の位置座標を最も正確に取得できる
⇒納まらない場合、中心座標の値を(0,0)とする

目的対象物の位置座標 = 円形中心座標

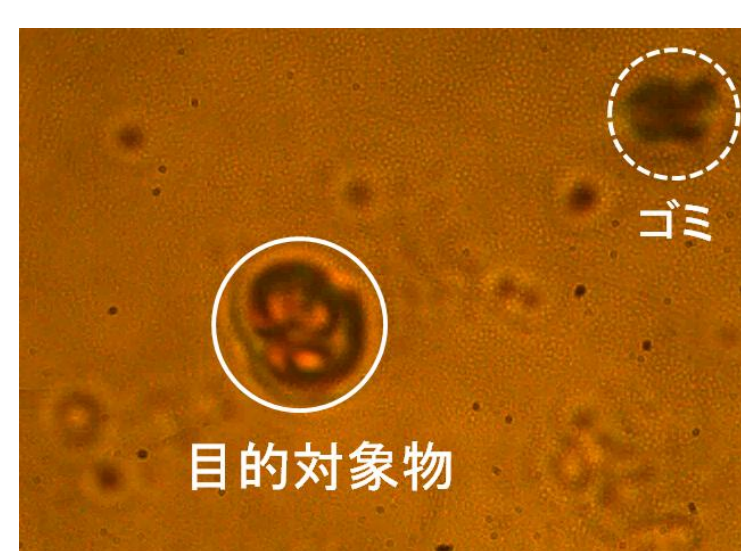


試験動画による対象物の特定実験

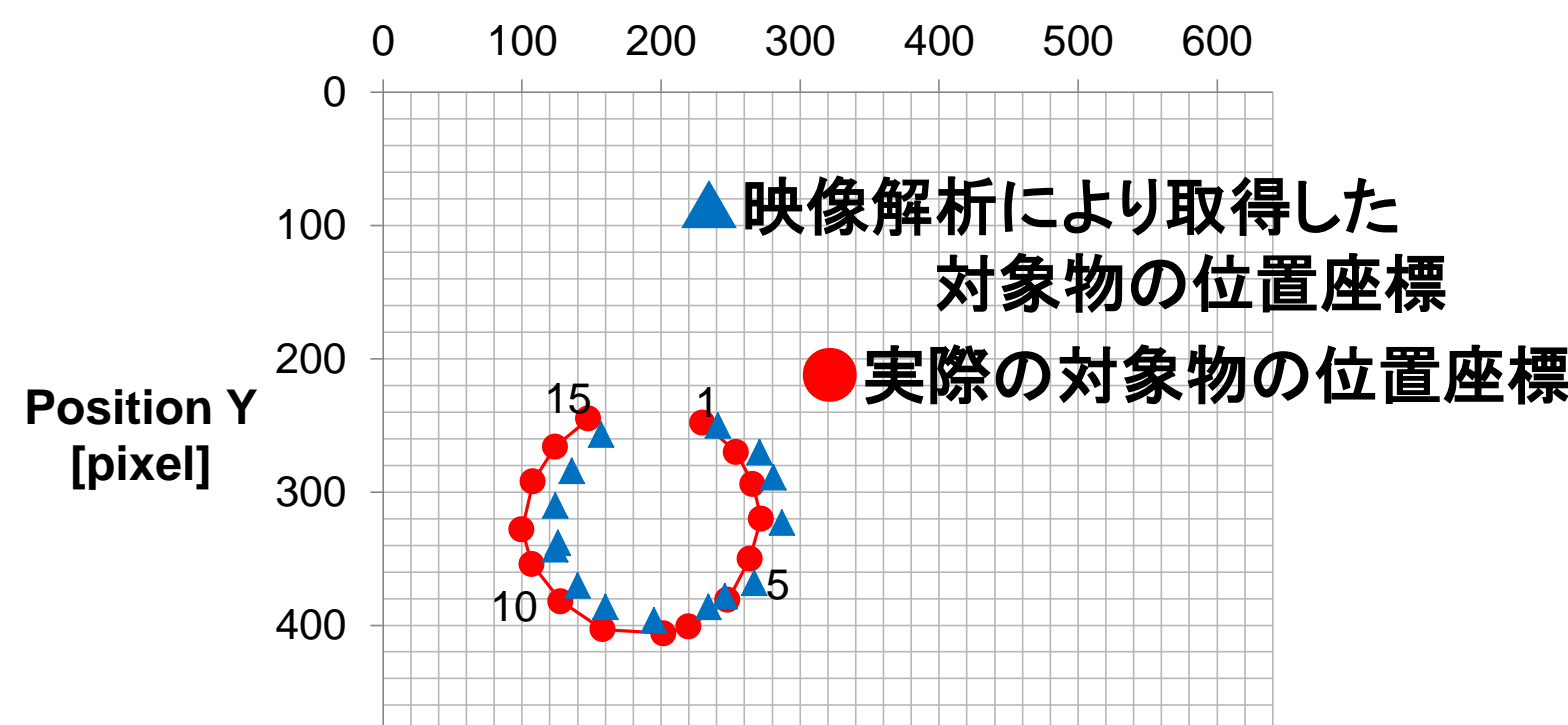
動画の座標を確認することで取得した実際の対象物の位置座標と映像解析結果を比較した

試験動画は顕微鏡映像をPC上で録画したものである

渦鞭毛藻が回転運動しており、加えて画面右上にゴミが存在している



画面サイズ: 横×縦、640×480[pixel]



映像解析により取得した位置座標と実際の対象物の位置座標が一致している

ステージ制御

ステージ制御方法

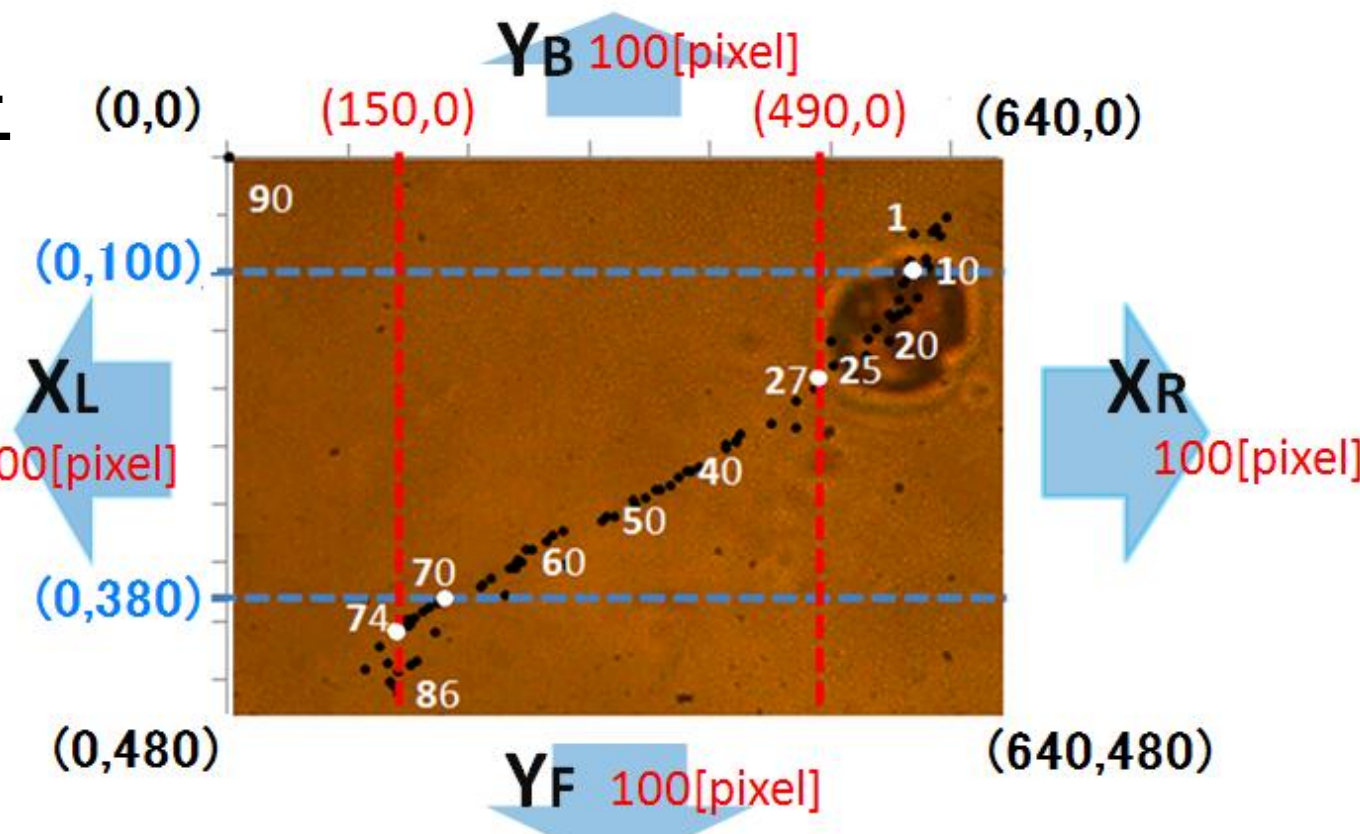
画面内に範囲を設定し、画面中心領域から円形中心座標が外れた場合、ステージを移動させる

試験動画によるステージ制御の確認

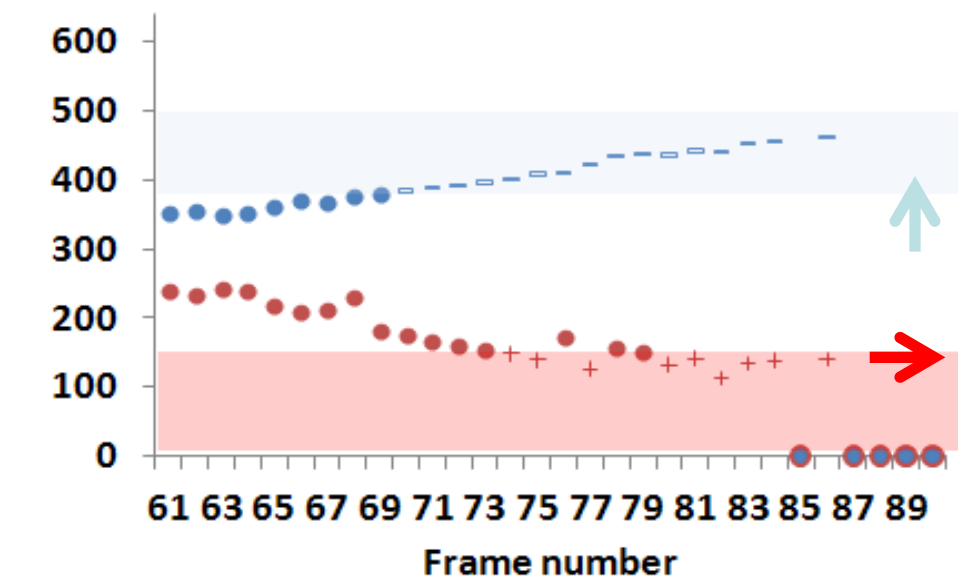
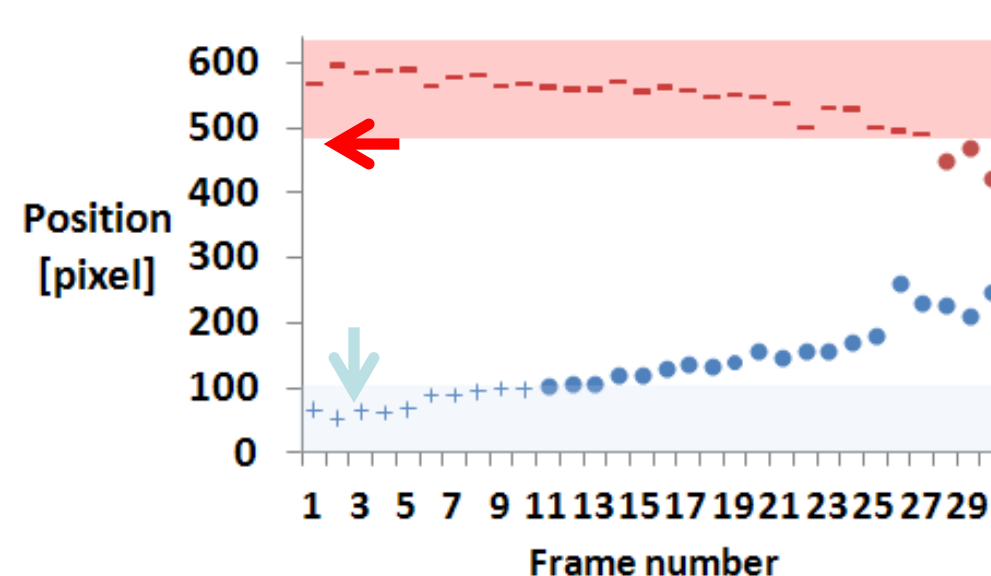
顕微鏡映像をPC上で録画した試験動画を用いて、ステージ制御の確認を行った

試験動画は渦鞭毛藻が画面右上から左下に直進運動している

全90フレームの1コマずつステージがどのように動いたか目視することで確認した



ステージ移動 +X軸正 -X軸負 +Y軸正 -Y軸負 ●,● 不動



ステージが適切な方向に動いている

円形を検出できていない(0,0)で動かないことの確認ができた

結論

対象物を特定する映像解析について

円形検出で円形半径を対象物の大きさに合わせて設定することでゴミの誤認を抑えることができる
さらに対象物の位置座標を十分特定できている

ステージ制御について

録画した試験動画において、取得した位置座標からステージを適切な方向に動かすことができる