

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 8日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2011

課題番号：20560252

研究課題名（和文）光トラップポテンシャル場の動的形成による非接触マイクロ操作の研究

研究課題名（英文）Non-contact micro manipulation based on the dynamical control of laser trap fields

研究代表者

田中 芳夫（TANAKA YOSHIO）

独立行政法人産業技術総合研究所・健康工学研究部門・主任研究員

研究者番号：30357454

研究成果の概要（和文）：本研究では、画像処理による特徴認識技術とレーザトラップ場の実時間制御技術の統合・融合化により、非接触で被操作対象物の姿勢や位置を高精度かつ自動的に制御するための基盤技術を開発した。開発した技術は、棒状のウイスカや楕円状の珪藻などの非球状な形状の微小物を捕捉・自動操作できる多点光クランプ法、微小球を用いて自動的に動的微粒子アレイを作るための制御アルゴリズム、大規模な微粒子アレイを操作できるハイブリッド光ピンセットなどである。

研究成果の概要（英文）：In this research, we have developed non-contact micro-manipulation techniques, which can handle various micro-objects precisely and automatically, based on the laser trap methods combining with intelligent control techniques such as image processing and computer vision. The developed techniques are the multiple-force optical clamps which can manipulate non-spherical micro-objects such as rod-shaped whiskers and ellipse-shaped diatoms, the control algorithms for automated assembling of dynamic micro-bead arrays, and the hybrid optical tweezers for manipulating massive micro-bead arrays.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	600,000	180,000	780,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：光メカトロニクス

科研費の分科・細目：機械工学・知能機械学・機械システム

キーワード：光ピンセット，マイクロ・ナノデバイス，知能機械，画像処理

1. 研究開始当初の背景

マイクロ・ナノテクノロジー、バイオ技術における細胞操作など、様々な分野で光学顕微鏡下の微小対象物を精密あるいは自動的に操作する技術が重要となっている。光ピンセットを用いたマイクロ操作は、光学顕微鏡下の状況を対物レンズを経由して CCD などの

各種カメラで観察するのと並行して、対物レンズを介して作業を行うという特徴から画像処理技術との相性が良く、画像処理と光ピンセット操作の統合による各種マイクロ作業の自動化の概念が提案されていた。しかし、未知の微小物の多方向からの観察やマイクロマシン構成要素の搬送など、本来、球以外

の形状の対象物の3次元空間での姿勢操作が重要かつ本質的であるにもかかわらず、光ピンセットを用いた非球状物の3次元マイクロ操作は、極めて少数の報告があるに留まっていた。また、操作自動化に関しては、2次元空間においてでさえ、全く報告がなかった。

2. 研究の目的

本研究では、光学顕微鏡下の様々な形状（球状、棒状、楕円状等）と光学的性質（屈折率、色彩等）を有する微小物を対象に、実時間画像処理による被操作対象物の特徴認識技術とレーザ光の照射により形成される光トラップポテンシャル場分布の実時間制御により、非接触で被操作対象物の3次元姿勢や位置を高精度かつ自動的に制御するための基盤技術を開発することを目的とする。これにより、顕微鏡熟練作業の自動化やMicro-TAS (Micro Total Analysis Systems) 構成要素の自動搬送・組立などの分野への適用可能性を検討すると共に、接触型マイクロ操作技術を補完かつ凌駕する技術として、レーザ光を利用した非接触マイクロ操作技術の汎用化と確立を目指す。

3. 研究の方法

本研究では、光トラップポテンシャル場の動的形成・制御技術と画像処理技術を統合・融合化するため、以下の3つの研究項目について検討する。

(1) 特徴認識アルゴリズムの開発

CCDカメラによる光学顕微鏡下の画像に対して、光トラップポテンシャル場の空間分布制御の際の指標となる輪郭・骨格点・色彩等の特徴抽出を行い、液中の操作対象物がブラウン運動等により孤立点型の光トラップポテンシャル場（従来の光ピンセット法）での捕捉位置から外れない程度の速度（数秒程度）で、オンライン認識できる手法を開発する。

(2) 空間分布制御による非球状物の複数同時捕捉

1本のレーザビームの時分割走査を利用して、空間分布を対象物の形状に応じて制御した光トラップポテンシャル場を生成し、これまで複数のレーザ源を用いた多点光ピンセット法でさえも、安定した捕捉が非常に困難であった楕円状の珪藻や棒状のウイスカを主な対象に、複数個の対象の安定した同時捕捉法を検討する。

(3) 時間分布制御による微粒子の同時移動操作

安定な捕捉と移動の比較的容易な微小球を主な対象に、項目(1)で開発した認識アル

ゴリズムと時分割走査を利用して生成した孤立点型の多点光トラップ場を用いて、複数個の微粒子の自動的な捕捉を行うと共に、その時間分布を制御することで、各々の微粒子が衝突することなく任意の位置へ移動できる制御法など、Micro-TAS中などにおける複数微粒子の自動操作法を検討する。

4. 研究成果

(1) 特徴認識アルゴリズムの開発

カラーCCDカメラによる顕微鏡下の実画像に対して、一般化ハフ変換による円、楕円、直方体の検出と多値化判別閾値法による微粒子の色別分類法を検討した。その結果、液中の操作対象物が画像を取り込んだ際の初期位置からブラウン運動等により大きく外れない処理時間内で、微小球、楕円状の珪藻、棒状のウイスカなどの位置、サイズ、配向、色彩などを実時間同定することができた。これにより、市販パソコン（CPU: Intel Core2 Duo）程度の計算能力で、ノイズに強い頑強な認識手法である一般化ハフ変換を1~10ミクロン程度のサイズの微小球認識と光ピンセット法による自動捕捉に適用できることを実証した。

(2) 空間分布制御による非球状物の複数同時捕捉（多点光クランプ法の開発）

非球状微小物の2次元形状モデル化による認識を利用した多点光クランプ法を提案し、ガルバノミラーの時分割同期走査による多点光ピンセットと項目(1)の特徴認識アルゴリズムの統合により、珪藻、ウイスカなど、複数個の非球状対象物の安定した同時捕捉と位置および配向を制御した自動マイクロ操作を実現した。球以外の形状をした自然物を光ピンセットで捕捉から指定した場所への配置まで完全自動操作した例は、世界で最初の結果であり、本成果は光学分野のTop学術論文誌であるアメリカ光学学会の Optics Express に掲載された。図1に、成果の一例として、一般化ハフ変換を用いて棒状のウイスカの位置と配向を実時間で検出し、その後検出したウイスカを3本同時に多点光クランプ法で捕捉・自動操作し、長さの順番に中央に配列した結果を示す。

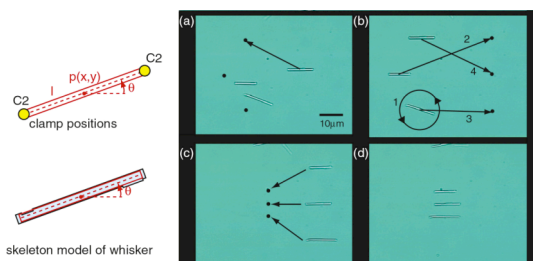


図1 多点光クランプ法によるウイスカの自動配列の結果

(3) 時間分布制御による微粒子の同時移動操作 (動的微粒子アレイの自動生成)

色付ポリスチレン球やガラス球などを対象に、項目(1)の認識アルゴリズムと時分割同期走査を利用して生成した孤立点型の多点光トラップ場により、認識した数十個の微粒子の安定した自動捕捉・操作を実現した。また、捕捉した微粒子が衝突することなく、全て同時に指定した位置に整列できる運搬アルゴリズム、格子状アレイの格子点のソーティング法などを開発し、孤立点型の多点光トラップ場を逐次制御することで、動的微粒子アレイを自動作成し、提案する制御アルゴリズムの有効性を実証した。本成果は、カバーガラス上に微粒子を含有した液滴を滴下するだけで、微粒子配列を自動的に生成できるという、DNA チップに代わる次世代のアレイ型センサ作成の基礎となる成果であり、本成果も Optics Express や計測自動制御学会論文集など、国内外の主要学術論文誌に掲載された。図2に、成果の一例として、3色のポリスチレン球を視覚認識し、その後、衝突回避アルゴリズムにより自動的に2x3の格子状微粒子アレイを作成し、さらに格子状アレイの格子点にある微粒子を群論に基づいたソーティング法を用いて、赤・黄・青の順番に並べ替えを行った結果を示す。

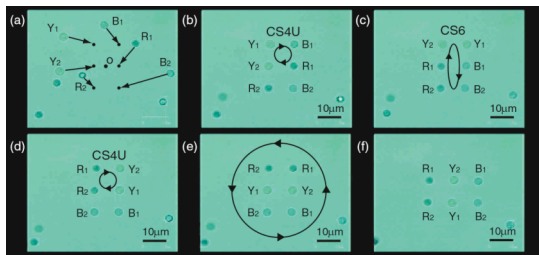


図2 3色のポリスチレン球を用いた2x3動的微粒子アレイの自動作成の結果

(4) 時間・空間分布制御の併用による大規模微粒子アレイの作成 (ハイブリッド光ピンセットの検討)

ガルバノミラーによるレーザー光の走査法と一般化位相コントラスト(GPC)法の2種類のマルチビーム光ピンセット法が1台のレーザー光源を用いて併用できるハイブリッド光ピンセットシステムを試作した。ミラーによるレーザー光の走査法を3次元操作のユーザインターフェースとして使用し、GPC法を高密度微粒子アレイ作成のための静的トラップ場生成ツールとして使用することで、従来の時分割走査法やGPC法単独では実現できない、12x12サイズの大規模な微粒子アレイ作成に成功するなど、その有効性と可能性を実証した。図3に、成果の一例として、2ミクロンのポリスチレン球を用いて12x12の大規模微粒子配列を作成し、その後アレイの

中から3個の微粒子を取り出した結果を示す。本成果も Optics Express に掲載され、また、査読者からその有用性が高く評価された。本成果で明らかになったハイブリッド光ピンセットの光学構成の課題等を整理し、より最適なシステムとして再構築・進化させることが、レーザー光を利用する非接触マイクロ操作技術の汎用化と確立を行う上で重要であるという認識の下、平成24年度から開始した新規採択科研費基盤研究(C)の中で更なる研究展開を行う予定である。

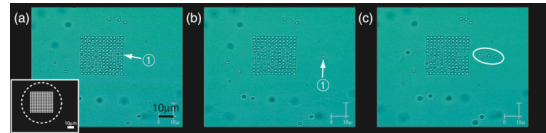


図3 ハイブリッド光ピンセットによる12x12の大規模微粒子アレイの作成の結果

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計12件)

- ① Y. Tanaka, S. Tsutsui, M. Ishikawa, H. Kitajima, Dynamic formation of massive micro-bead arrays using hybrid optical tweezers, IFMBE Proceedings, Vol. 37, pp. 1283-1286 (2011), 査読有, DOI:10.1007/978-3-642-23508-5_332
- ② Y. Tanaka, S. Tsutsui, M. Ishikawa, H. Kitajima, Hybrid optical tweezers for dynamic micro-bead arrays, Optics Express, Vol. 19, No. 16, pp. 15445-15451 (2011), 査読有, <http://dx.doi.org/10.1364/OE.19.015445>
- ③ 田中芳夫, 川田博之, 石川満, 北島博之, 群論に基づいた動的微粒子アレイのソーティング法, 計測自動制御学会論文集, Vol. 46-4, pp. 253-255 (2010), 査読有, <http://ci.nii.ac.jp/naid/10026208124>
- ④ Y. Tanaka, H. Kawada, S. Tsutsui, M. Ishikawa, H. Kitajima, Automated assembly of dynamic micro-bead arrays using a multi-arm laser manipulator with computer vision, IFMBE Proceedings, Vol. 25/8, pp. 5-7 (2009), 査読有, DOI: 10.1007/978-3-642-03887-7_2
- ⑤ Y. Tanaka, H. Kawada, S. Tsutsui, M. Ishikawa, H. Kitajima, Dynamic micro-bead arrays using optical tweezers combined with intelligent control techniques, Optics Express, Vol. 17, No. 26, pp. 24102-24111 (2009), 査読有,

<http://dx.doi.org/10.1364/OE.17.024102>

- ⑥ Y. Tanaka, H. Kawada, K. Hirano, M. Ishikawa, H. Kitajima, Automated manipulation of non-spherical micro-objects using optical tweezers combined with image processing techniques, Optics Express, Vol.16, No.19, pp.15115-15122 (2008), 査読有, <http://dx.doi.org/10.1364/OE.16.015115>
- ⑦ Y. Tanaka, H. Kawada, K. Hirano, M. Ishikawa, H. Kitajima, Non-contact micromanipulation system with computer vision, IFMBE Proceedings, Vol.22, pp.2400-2404 (2008), 査読有, DOI:10.1007/978-3-540-89208-3_576

〔学会発表〕 (計 15 件)

- ① Y. Tanaka, et al., Dynamic formation of massive micro-bead arrays using hybrid optical tweezers, 5th European Conference of the International Federation for Medical and Biological Engineering, 2011年9月14日, ブダペスト (ハンガリー)
- ② 筒井翔悟, 田中芳夫, 北島博之, ハイブリッド光ピンセットシステムの構築, 2010年度計測自動制御学会四国支部講演会, 2010年11月20日, 阿南市
- ③ Y. Tanaka, et al., Dynamical micro-bead pattern forming using laser manipulation techniques, 2010 International Symposium on Nonlinear Theory and its Applications, 2010年9月6日, クラコウ (ポーランド)
- ④ Y. Tanaka, et al., Automated assembly of dynamic micro-bead arrays using a multi-arm laser manipulator with computer vision, World Congress 2009 on Medical Physics and Biomedical Engineering, 2009年9月9日, ミュンヘン (ドイツ)
- ⑤ 田中芳夫, 顕微鏡下のマイクロ作業の自動化技術の開発, 第9回次世代医療システム産業化フォーラム2008, 2008年12月3日, 大阪市
- ⑥ Y. Tanaka, et al., Non-contact micromanipulation system with computer vision, 4th European Conference of the International Federation for Medical and Biological Engineering, 2008年11月24日, アントワープ (ベルギー)
- ⑦ 田中芳夫, 他4名, 画像処理と光ピンセットの融合による動的微粒子配列の作成, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会2008, 2008年6月7日, 長野市

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

名称: 微粒子のアレイ化法および装置
発明者: 田中芳夫, 他3名
権利者: 産業技術総合研究所
種類: 特許
番号: 特願2011-017722
出願年月日: 2011年1月31日
国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

http://www.aist.go.jp/aist_j/aist_repository/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 芳夫 (TANAKA YOSHIO)
独立行政法人産業技術総合研究所・健康工学研究部門・主任研究員
研究者番号: 30357454

(2) 連携研究者

平野 研 (HIRANO KEN)
独立行政法人産業技術総合研究所・健康工学研究部門・主任研究員
研究者番号: 80392653