

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：57103

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K05883

研究課題名(和文)非接触運動制御と機能分析技術の融合で実現するスマートハンドリングシステムの創出

研究課題名(英文)Creation of a smart handling system using the non-contact motion control and the functional analysis technology

研究代表者

久池井 茂 (Shigeru, KUCHII)

北九州工業高等専門学校・生産デザイン工学科・教授

研究者番号：50300653

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：培地内で細胞の三次元操作や回転運動の最適操作条件を調べ、本研究に用いる装置と共焦点レーザー操作顕微鏡を組み合わせることによって、細胞の三次元姿勢制御を研究した。そして、断層画像を撮影することによって三次元画像を作成し、「人」に代わり細胞をリアルタイムで計測処理、精緻なハンドリングができるシステムの研究を行った。

機能分析と画像処理結果との相関を調べ、細胞の反応を示すメカニズムを分析し、ハンドリング技術の応用展開を提案した。

研究成果の概要(英文)：The most suitable operation condition of the cell is researched by the three-dimensional operation a rotary motion, and the three-dimensional posture control of the cell is researched by the experimental apparatus of this research and the cofocus laser operation microscope. The three-dimensional image are made by photographing tomogram. Therefore, this research system can measure the real time and the minute handling in place of a person. The relationship between the functional analysis and the image processing result is checked and the development of the handling technology is suggested to new field.

研究分野：機械工学

キーワード：Non-contact Functional analysis Smart handling Matching Rotational-Invariant

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 近年では、対象物の微小化に伴って、 $\mu\text{m}$  オーダーの微小物体の観測や操作を行う技術が望まれている。これを実現する方法として、レーザー光を用いた非接触の運動制御法 (A. Ashikin et al., Opt. Lett. 11, pp. 288-290, 1986) がある。この技術を光学顕微鏡で用いて、対物レンズにレーザー光を強く集光することによって、焦点位置に粒子を捕捉することができる。そして、焦点位置を動かせば捕捉した粒子を移動することも可能であり、非破壊、非接触で微粒子を操作できる。この光ピンセットと呼ばれる技術は、空中でも利用可能 (R. Omori, T. Kobayashi and A. Suzuki, Opt. Lett. 22, 11, pp. 816-218, 1997 など) で、さまざまな産業分野でも応用範囲が急速に広がっている。

バイオテクノロジー分野では、生体組織内の  $\mu\text{m}$  オーダーの細胞を生きたままに保護、移動する技術が、重要な要素技術として求められており、生物学や医学を専門とする研究者からも注目されている。これまで、様々な粒子や生体細胞の捕捉・移動に成功し、科研費の支援を受けて研究を継続してきた。

(2) 現在、バイオテクノロジーの発展に伴い、細胞の培養技術を有用物質生産技術として利用する研究が行われている。この有用物質の生産量の計測は、機器分析が一般的である。しかし、この方法では時間や費用がかかり、細胞を破壊しないと計測できないというデメリットがある。

そこで、本研究では細胞の抗体や核を蛍光色素で染色し、蛍光顕微鏡を用いて観察することで、細胞内のさまざまな機能を画像処理技術によって分析する方法を提案する。たとえば、画像処理技術を用いて細胞内の有用物質の計測方法を新たに提案し、蛍光顕微鏡で撮影された画像の輝度を測定することで、細胞内の有用物質を測定できる。さらに、共焦点レーザー走査顕微鏡を用いることによって細胞の連続断層画像を取得し、連続断層画像を重ね合わせることで三次元化し、細胞全体の機能情報も取得できる。

以上より、本研究では上記(1)と(2)の研究シーズを融合し、細胞の破損や損傷を避けるためレーザー光を用いて非接触で運動制御し、回転不変マッチングを中心とする産業財産権を活用した画像処理技術で、3次元でリアルタイムに細胞をハンドリングできるシステムを研究する。バラバラな状態である細胞群から単一の個体を立体的に自動認識する。通常のコローニングは一ヶ月ほど時間がかかるので、実験操作の時間短縮が実現する。研究開発の競争が熾烈なバイオ分野では「人」に代わる画像処理のニーズが強く求められているので、本研究の提案手法で独創的なハンドリングシステムの構築を目指す。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究は、研究シーズである①レーザー光を用いた非接触運動制御技術と②画像処理による細胞の機能分析技術を組み合わせることで、何万個という生体細胞の中から単一の個体(クローン)を取得するスマートハンドリング技術を確立するものである。コア技術となる回転不変マッチング『RIM (Rotational-Invariant Matching)』を活用し、従来は人でしか対応できなかった作業の自動化を実現し、将来的には様々な分野に対応できる次世代のハンドリングシステムを創出する。

(2) これまでに科研費で継続してきた研究で、非接触細胞機能分析システムのプロトタイプを試作した。生体細胞に直接レーザー光を照射せずに、細胞の三次元操作および回転運動ができることを確認した。しかしながら、リアルタイムでハンドリングを実現するためには、細胞の回転量に対して不変なパラメータ処理が必要である。

そこで、平成27年度には、①非接触運動制御技術の導入と、それに伴う②機能分析技術の確立を行った。培地内で細胞の三次元操作や回転運動の最適操作条件を調べ、本研究に用いる装置と共焦点レーザー操作顕微鏡を組み合わせることによって、細胞の三次元姿勢制御を研究した。そして、断層画像を撮影することによって三次元画像を作成し、「人」に代わり細胞をリアルタイムで計測処理、精緻なハンドリングができるシステムの研究を行った。

平成28年度は、平成27年度に研究した③2つの技術を融合した次世代ハンドリングシステムの構築を行い、平成29年度は実用化に向けて④実証実験を実施した。最適操作条件の評価とビジネス・インテリジェンスを考慮したアプリケーションについても研究した。

## 3. 研究の方法

(1) 現在までに、レーザー光で様々な微粒子の捕捉や移動、培地内におけるヒト細胞の捕捉や移動を行ってきた。培地内の細胞はバラバラの状態で存在しており、細胞の選別に人が関与しているのが現状である。そこで、撮像した画像から自らの位置を判断し、姿勢などを調整する自律機能をもつようにスマートハンドリング技術を活用した自動認識システムの実現を図った。

従来は人でしかできなかった部分を自動化すれば、システム全体の製造原価を下げることも可能である。非接触運動制御技術と細胞機能分析技術の融合の深化によって課題を解決し、精緻な分析と付加価値を実現する次世代のハンドリング技術の研究を行った。

(2) 本研究のシステムでは、レーザー光を独立して動かす必要があり、それを実現するために、対物レンズにピエゾステージを導入して動作させる方法を考えた。そして、ピエゾステージとパソコンを繋ぐことによって、パソコン上で細胞の運動制御を行うことを可能とし、より正確に移動が行えるような環境を構築した。6自由度で操作できることにより、あらゆる角度から細胞の有用物質の情報を得ることが可能となった。

(3) 平成27年度に研究した2つの技術を融合することによって、細胞からの反応によるデータを用いて、画像解析イメージングによるハンドリング技術を確立した。最先端の研究では、細胞内の温度によって画像の輝度が変わる方法なども研究されている。機能分析と画像処理結果との相関を調べ、細胞の反応を示すメカニズムを分析し、ハンドリング技術の応用展開を提案した。

#### 4. 研究成果

(1) 本研究では、細胞の機能をリアルタイムで分析処理するシステムを開発するため、細胞の破損や損傷がないことを絶対条件として取り組んできた。解決課題の1つであった細胞の姿勢（回転等）により形状が変化することを防ぐために、対象の回転によってパラメータ変動が生じない、重心点からの等距離エッジ強度を使用して照合を行った。回転量に対して不変なパラメータであるため、回転のための処理を必要とせず、高精度で処理時間を短縮できる。なお、画像処理技術である回転不変マッチングは、画像認識システムの中核技術となるので、他分野でもいくつかの実用化に向けた研究開発を実現した。

図1に本研究で構築したシステムを示す。

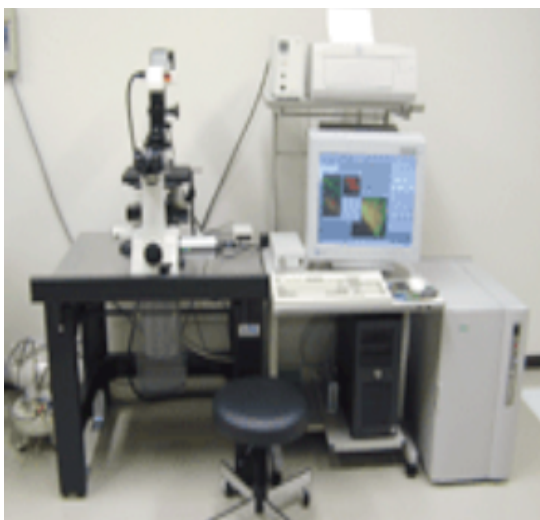


図1 システム構成

(2) 細胞内の抗体をFITCによって蛍光染色したものを、共焦点レーザ走査顕微鏡（米国Bio-Rad: Radianc2000）で撮影した断層画

像の一例を図2に示す。画像における輝度の強度差を捉え易いように、輝度が強くなるにつれて青-黄-赤と色調が変化するレインボーカラーで表示する。

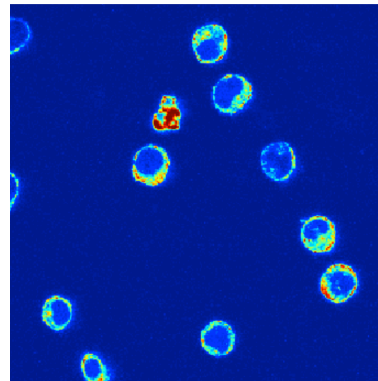


図2 断層画像

(3) 図3に示すMATLABのGUI（グラフィックユーザインターフェイス）機能を用いて自動処理できるシステムを構築した。グラフィックウィンドウ上で画像を観察しながら、様々な処理を自由なパラメータや処理順序で行うことができるシステムを構築した。このシステムによって、画像の特徴に合わせた画像処理法開発の作業の簡単化に成功した。

このシステムを用いて開発した処理法によって、実際に核染色細胞画像と抗体染色細胞画像のノイズ除去を行った結果を図4に示す。

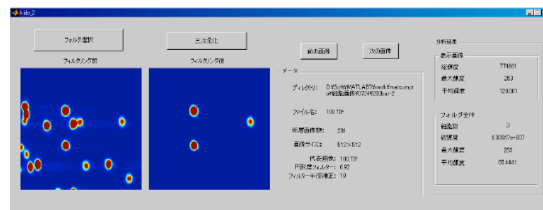


図3 GUIアプリケーション

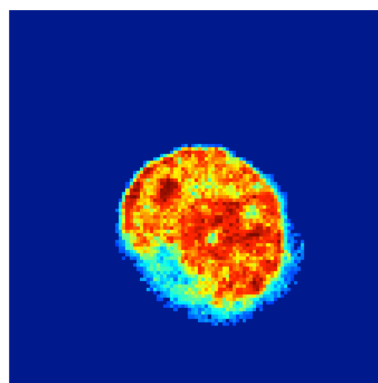


図4 ノイズ処理後の画像

(4) 全ての断層画像内からノイズを除去し、染色部のみの蛍光を抽出する。抽出された染色部のみの断層画像を重ねることによって3次元画像を構築できた。縦横比は、撮影条件から与えられる実寸から計算し、調整する。3次元化された画像は拡大縮小、回転を自由に行え、任意断面で切断することも可能である。このような特徴から、三次元画像を用い

ることで、染色部の三次元的形状や分布、さらに内部の蛍光分布を捉えることが可能となった。

実際に核染色細胞の三次元画像構築結果の一例を図5に示す。表面の色は形状を捉え易いように擬似的に着色したものである。この画像の撮影条件は、画像サイズ  $47.275[\mu\text{m}] \times 47.275[\mu\text{m}]$ 、スライス間距離  $0.328[\mu\text{m}]$  である。この条件から、この画像の分解能は、x軸y軸方向  $0.185[\mu\text{m}/\text{pixel}]$ 、z軸方向  $0.328[\mu\text{m}/\text{pixel}]$  となる。このように3次元画像で表示することにより、核染色部の3次元形状を容易に捉えることができる。

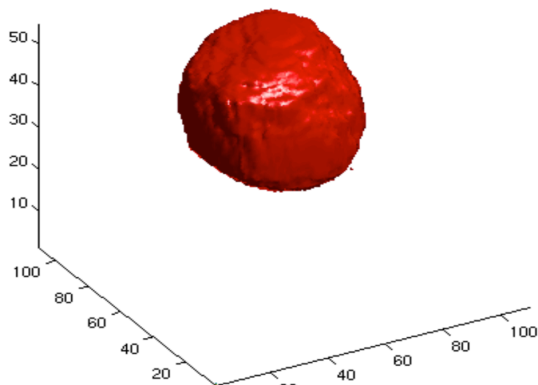


図5 三次元画像

(5) 同一細胞の核と抗体を染色した2重染色細胞について三次元化を行った。核染色画像と抗体染色画像を同一の画像処理法でノイズ除去することは困難である。そこで、それぞれ別々に画像処理を行い、染色部を抽出したものを三次元化した後に、それらを合成して表示させるという方法をとった。

図6に三次元化結果を示す。中心にある球状の赤色部分が核染色部で、それを囲むように存在する緑色部分が抗体染色部である。両部分の分布が捉えやすいように抗体染色部は半透明にして表示している。多重染色細胞の三次元化を行うことによって、同一細胞内の複数の器官や、有用物質がどのような分布で存在しているかなどの相互関係を調べることができる。

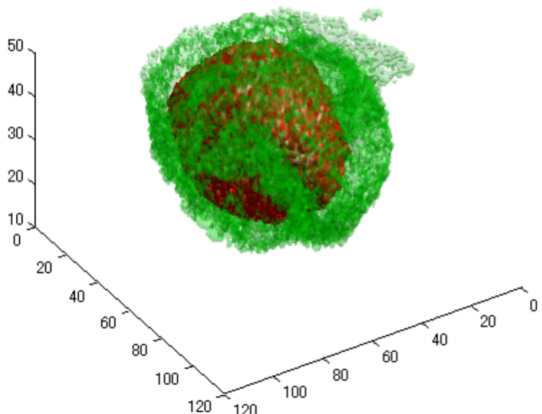


図6 2重染色細胞の三次元化

(6) 研究開発の過程で、回転不変マッチングの技術検証と実用化のための課題抽出を目的とし、いくつかの実証実験を行った。バラバラな状態である細胞群から単一の個体を立体的に自動認識するだけでなく、移動式作業ロボットシステムへの応用展開もそのうちの1つである。移動式作業ロボット支持装置及びその操作方法として産業財産権を出願し、様々な産業で広く利用できる研究成果を得た。

ロボット制御技術を活用してシステムの自動化やアプリケーション開発を行い、細胞工学分野の研究者と密に連携し、現場からの意見をシステムの研究開発にフィードバックし、安定した事業化も視野に入れ産業社会への大きな貢献を検討した。

## 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 1件)

医工連携を活用した社会実装事例, 久池井茂, 大隈 恵治, 守田 雄二, 末廣 剛敏, 杉町 圭蔵, 工学教育, 65(4) 69-73 (2017)

[学会発表] (計 8件)

- ① Shigeru KUCHII, Japanese and Thai Machine Vision, Robot Tech for the Future (RTF) #3 + Engineering Degrees by Japan, Kasetsart University (2017)
- ② Satoshi Anai, Mika Iwasaki, Keisuke Hano, Shigeru KUCHII, Identification of Medical Surgical Product and Object Distinction Using Image Processing, The 9th Information Technology and Electrical Engineering, 139-142 (2017)
- ③ 久池井茂, KOSEN における社会実装型のロボット研究開発, ロボットの進化, 有機デバイス研究会 (2017)
- ④ 穴井達, 仮屋拓真, 岩崎美香, 久池井茂, 画像処理による注射薬の姿勢認識と異物認識技術の確立, ロボティクス・メカトロニクス講演会 2017 講演概要集 No. 17-2, 23, 1A1-K01 (2017)
- ⑤ 穴井達, 岩崎美夏, 久池井茂, 画像処理による注射薬の識別と異物検知, 日本機械学会九州支部 久留米講演会, ロボティクス・メカトロニクス I, 111 (2017)
- ⑥ Arvind Kumar, Yuji Tomita, Shigeru Kuchii and Hiroshi Tsukamoto, Flow of Bi-modal Slurry through Horizontal Bend, Deo Raj Kaushal, KONA Powder and Particle Journal /Doi:10.14356/kona.2017016 (2016)
- ⑦ 穴井達, 木津祐太郎, 祖堅敬, 久池井茂, ICT を活用した非接触センシングと健康管理モデルの研究開発, ロボティクス・

メカトロニクス講演会 2016 講演概要集  
No.16-2, 6, 1A1-02b5 (2016)

- ⑧ Hinako Fujiwara, Akira MIYAMOTO,  
Takashi SOKEN and Shigeru KUCHII, ”  
Development of Healthcare system that  
could Create the Comfortable Space”,  
HANU-KOSEN JOINT CONFERENCE, Hanoi  
University (2016)

[産業財産権]

○出願状況 (計 2件)

名称：移動式作業ロボット支持装置及びその  
操作方法

発明者：本田啓一，久池井茂

権利者：株式会社ヘッズ，国立高専機構

種類：特許権

番号：特願 2016-197971

出願年月日：2016.10.6

国内外の別：国内

名称：タンパク質生産方法

発明者：川原浩治，金木達朗，林 寿人

権利者：国立高専機構ほか

種類：特許権

番号：特願 2016-075251

出願年月日：2016.10.6

国内外の別：国内

[その他]

ホームページ等

<http://w3-cise.kct.ac.jp/kuchii/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

久池井 茂 (KUCHII, Shigeru)

北九州工業高等専門学校・生産デザイン工  
学科 知能ロボットシステムコース・教授

研究者番号：50300653

### (2) 研究分担者

吉野 慶一 (YOSHINO, Keiichi)

北九州工業高等専門学校・生産デザイン工  
学科 情報システムコース・教授

研究者番号：40249876

川原 浩治 (KAWAHARA, Hiroharu)

北九州工業高等専門学校・生産デザイン工  
学科 物質化学コース・教授

研究者番号：20321515

### (3) 連携研究者

なし