

光学顕微鏡下での ビジュアルフィードバックを用いた精密位置決め

伊部 公紀* 山下 淳**† 金子 透** 大塚 二郎***

* 静岡大学創造科学技術大学院自然科学系教育部
〒432-8561 静岡県浜松市中区城北 3-5-1

** 静岡大学工学部 〒432-8561 静岡県浜松市中区城北 3-5-1

† カリフォルニア工科大学 1200E. California Blvd. MC 104-44, Pasadena, CA 91125, USA

*** 静岡理工科大学理工学部 〒437-8555 静岡県袋井市豊沢 2200-2

E-mail: {f5745016, tmtkane, tayamas}@ipc.shizuoka.ac.jp

あらまし ナノテクノロジーやバイオテクノロジーの発展に伴い、サブミリメートル以下の微小な対象物への操作・観察技術の向上が求められている。微小な対象物への操作を行う場合、任意の位置に高精度な位置決めが必要となる。本研究では、光学顕微鏡の視野画像をビジュアルフィードバックし XY ステージを制御することで、顕微鏡視野の任意の位置に $0.1\mu\text{m}$ の精度で位置決めすることのできるシステムを構築し、その位置決め性能の評価を行った。

キーワード ビジュアルフィードバック, 画像処理, 精密位置決め, 光学顕微鏡

1. はじめに

近年、世界的に注目を集めている技術分野としてナノテクノロジーやバイオテクノロジーなどが挙げられる。これらの研究分野の発展に伴い[1], サブミリメートル以下の微小な対象物への観察・操作技術の向上などが求められている。

微小な対象物へのアプローチとして、Ogawa らが開発した移動する微生物の高速トラッキングシステム[2]が挙げられる。このシステムでは高速で移動する大きさが 0.1mm ~ 0.2mm ほどの微生物を光学顕微鏡の視野中心に自動追従することができる。

対象物に対して何らかの操作を行う場合、任意の位置に精密に移動させることのできる位置決めシステムが求められる。そこで本研究では、サブミリメートルの対象物を光学顕微鏡視野の任意の位置に $0.1\mu\text{m}$ の精度で位置決めすることのできるシステムの構築し、その検証を行うことを目的とする。

2. ビジュアルフィードバックによる位置決め手法

2.1 光学顕微鏡視野のビジュアルフィードバック

本研究では、サブミリメートル以下の微小な物体（以下、対象物と呼ぶ）を位置決め制御するための手法として、光学顕微鏡の視野をビジュアルフィードバックする方法を適用する。

本研究では、対物レンズが対象物の下側に位置し、上側に

光源が位置する構造の倒立型光学顕微鏡（オリンパス社製：倒立型ルーチン顕微鏡 CKX41）をベースに位置決めシステムを構築する。光学顕微鏡上の位置決めシステムの概要図を図1に示す。用いた光学顕微鏡は無限遠光学系を備えている。

イメージセンサを光学顕微鏡の鏡筒に取り付けることで光学顕微鏡の視野画像を撮像する。対象物は光源と対物レンズとの間に取り付けた XY ステージ上に置かれる。イメージセンサにより撮像された光学顕微鏡の視野画像をコンピュータ上で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

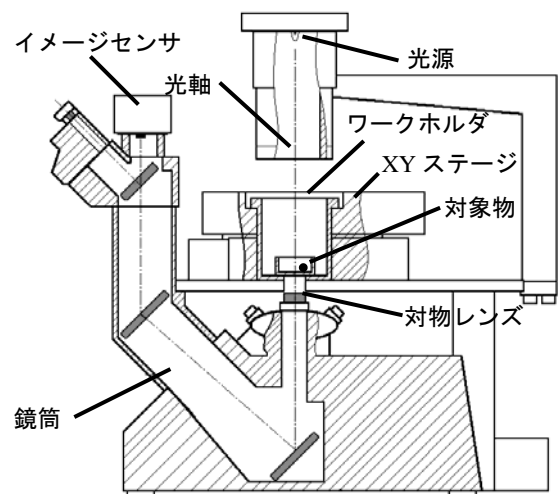


図1 光学顕微鏡上位置決めシステムの概観図

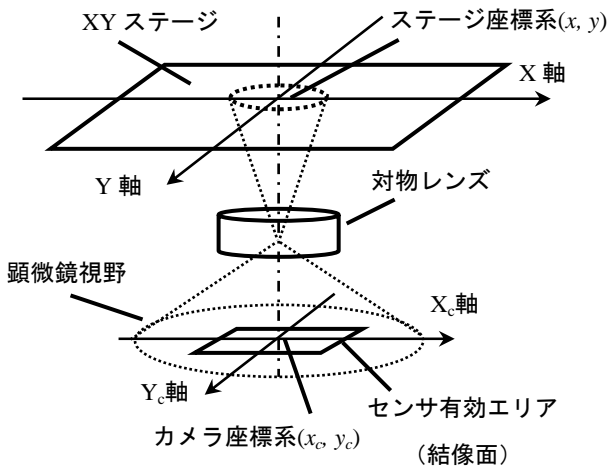


図2 座標系

めを行う。

図2にカメラ座標系とXYステージの座標系を示す。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する。カメラ座標系は結像面の中心位置を原点とする。XYステージの座標系とカメラ座標系の軸方向が一致するようにイメージセンサを配置する。ただし、カメラ座標系のスケール幅は対物レンズの倍率によって拡大されている。ここで、 (x, y) はステージ座標系、 (x_c, y_c) はカメラ座標系である。

本研究では、イメージセンサに最高 1000fps のフレームレートを持ち、撮像した画像に対していくつかの画像処理を実行することのできるビジョンシステム（浜松ホトニクス社製：インテリジェントビジョンシステム） [3]を用いた。

ビジョンシステムの仕様を表1に示す。ビジョンシステムは撮像した画像に対していくつかの画像処理を実行し、その処理データをコンピュータに伝送することができる。本研究で用いたビジョンシステムでは画像の白黒反転処理と画像を 8×8 画素の微小領域（本研究ではブロックと呼ぶ）ごとに特徴値を算出する処理の二つが行われる。

本研究では光源からの光を対象物に透過させ、その透過光を観察する明視野法を用いる。画像処理を行わずに撮像した光学顕微鏡の視野画像を図3に示す。明視野法では背景は光源からの光をそのまま通すため明るく、対象物は光を吸収して暗くなる。

ビジョンシステムで処理されるブロックの特徴値にはブロック内の全ての画素の輝度総和値や面積情報や4近傍ブロックとの関係性を示す情報などがある。

表1 ビジョンシステムの仕様

項目	仕様
センサ有効エリア	5.12mm × 5.12mm
解像度	128 × 128 画素
フレームレート	1000fps, 500fps, 250fps, 125fps
画素ピッチ	40 μm
階調	8bit (256 レベル)



図3 顕微鏡視野の原画像

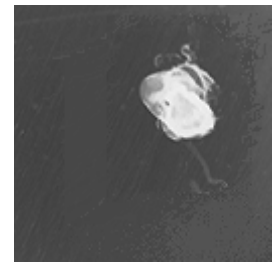


図4 白黒反転処理後

2.2 ブロック特徴値からの重心算出

ビジュアルフィードバックを用いた位置決めにおいて、画像処理による対象物の位置測定分解能は位置決めの最小分解能の下限となり、位置測定分解能よりも細かく位置決めすることはできない。このため、位置測定分解能は十分小さいことが望まれる。

本研究では、画素の輝度値を重みとして物体の位置を求める輝度重心法により輝度重心座標を求め、輝度重心座標を対象物の位置座標であるとする。

明視野法による光学顕微鏡視野の画像に対して輝度重心法を適用しても、輝度重心座標は背景の輝度分布の中央座標が示され、対象物の位置座標とはならない。そこで、光学顕微鏡の視野画像をビジョンシステムにより白黒反転処理させることで、対象物を明るく、背景を暗くすることができる。これにより輝度重心座標を対象物の位置座標と一致させることができる。図4に光学顕微鏡の視野画像をビジョンシステムにより白黒反転処理させた結果を示す。

ビジョンシステムはブロックごとに特徴値を算出することができるため、本研究では、算出される特徴値の一つである輝度総和値を用いて近似的に輝度重心座標を求める。

ブロックを基本単位としたブロック座標系 (i, j) を考える。各ブロックの輝度総和値はブロックの中心に位置しているものとする。ブロック座標系と輝度総和値の配置を図5に示す。座標 (i, j) の輝度総和値を $f(i, j)$ とするとブロック座標系での0

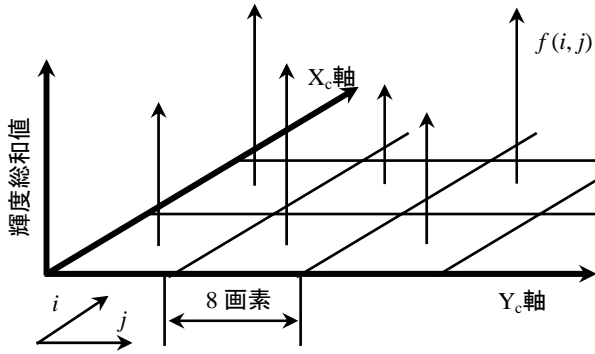


図5 ブロック座標と輝度総和値

$$D = \frac{AL}{360} \quad (8)$$

ステッピングモータの基本角やボールねじのリードは機械加工上、その最小化には限界ある。このため、より微小な駆動量を得るためにマイクロステップ法を用いる。マイクロステップ法はステッピングモータの駆動信号を電氣的に分割することでより微細かつ滑らかな駆動を実現するために用いられる。本研究ではステッピングモータの駆動にマイクロステップ法により駆動させることのできるマイクロステップドライバ（テクノドライブ社製：KR-55ME-2Z）を用いた。

次モーメント和 M_{00} 、 Y_c 軸まわりの1次モーメント M_{1Y} および X_c 軸まわりの1次モーメント M_{1X} はそれぞれ式(1)、式(2)、式(3)により求まる。

$$M_{00} = \sum \sum f(i, j) \quad (1)$$

$$M_{1Y} = \sum \sum i \cdot f(i, j) \quad (2)$$

$$M_{1X} = \sum \sum j \cdot f(i, j) \quad (3)$$

以上のモーメント値により、ブロック座標系での輝度重心座標 X_G および Y_G は式(4)、式(5)により求められる。

$$X_G = \frac{M_{1Y}}{M_{00}} \quad (4)$$

$$Y_G = \frac{M_{1X}}{M_{00}} \quad (5)$$

ブロック座標系からステージ座標系(x, y)への変換は、1ブロックの一边の長さが8画素であり、1画素の対応長さであるビジョンシステムの画素ピッチを P および対物レンズの倍率を M_g とすれば式(6)、式(7)により求められる。

$$x = \frac{8P}{M_g} X_G \quad (6)$$

$$y = \frac{8P}{M_g} Y_G \quad (7)$$

2.3 位置決め制御

研究で用いたXYステージ（シグマテック社製：CKX41用顕微鏡ステージ）は両軸とも、ボールねじとステッピングモータの組み合わせで位置決め駆動される。このXYステージには両軸とも $0.1 \mu\text{m}$ 分解能のリニアスケールが内蔵されている。本研究では、リニアスケールを位置決め制御には用いずに、位置決めの評価に用いている。

ステッピングモータを用いての駆動制御はパルス信号によって制御される。位置決め装置の理論最小駆動量 D はステッピングモータの基本角 $A[^\circ]$ とボールねじのリード（送り量） L から式(8)により求められる。

マイクロステップを用いた場合の理論最小駆動量 D_M はマイクロステップの分割数を M_D とすると式(9)により求められる。また、ステージを X 移動させるのに必要となるパルス数 P_S は式(10)により求められる。

$$D_M = \frac{AL}{360M_D} \quad (9)$$

$$P_S = \frac{X}{D} \quad (10)$$

XYステージの位置決め制御はまず、対象物の位置座標と目標座標との差をとり、各軸での偏差を求める。次に偏差を式(10)によりパルス数に変換し、PID制御則により操作量を算出する。求められた操作量をモーションコントローラ（ナショナルインスツルメンツ社製：pci-7344）に指令することで、ステッピングモータを駆動し、位置決めを行う。

3. 実験と結果

本研究では表2に示す仕様で位置決めシステムを構築し、目標の位置決め性能を満たしているかを次の実験により確認した。なお、ビジョンシステムのフレームレート（白黒反転処理およびブロック特徴値の算出含む）を250fps（4msec）に設定し、重心算出からXYステージまでの制御周期は6msecで実行させ、システム全体での実行周期は10msecである。この実験では対象物に図6に示す大きさが約0.4mmの位置決めマークを用いた。

3.1 測定分解能の評価

研究に用いたXYステージは内蔵されたリニアスケールからのフィードバック制御により、位置決めコントローラ（シグマテック社製：FC-101）を用いることで $\pm 0.1 \mu\text{m}$ の精度で位置決めすることが可能である。この実験では、XYステージを専用のコントローラを用いてステップ駆動し、それによる対象物の移動量を、提案したシステムの画像処理により測

表 2 位置決めシステムの仕様

項目	仕様
対物レンズ	4 倍
ビジョンシステムの視野	1.28mm × 1.28mm
ボールねじのリード	1mm
ステッピングモータの基本角	0.72°
マイクロステップ分割数	20
ステージ最小駆動量	0.1 μm

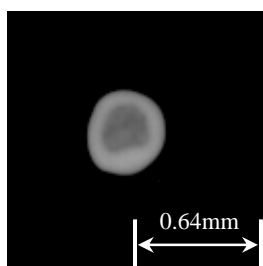


図 6 位置決めマーク（白黒反転処理後）

定する。

図 7 に X 軸を 0.1 μm ステップ駆動（Y 軸はロックする）したときの対象物の位置を画像処理により測定した結果を示す。横軸は時間で、縦軸は X 軸での変位を示す。同様に Y 軸において実験をした結果を図 8 に示す。

図 7 および図 8 の結果から、対象物がステップ状に 0.1 μm 移動していることが確認できた。これにより本研究で構築したシステムの位置測定分解能は 0.1 μm あることがわかった。

3.2 位置決め実験

この実験では構築したシステムを用いて対象物の位置決めを行った。位置決めは 0.3mm のストロークで駆動し、X 軸、Y 軸それぞれで 10 回行い、そのばらつき誤差を求めた。

実験の結果、X 軸駆動時のばらつき誤差は 87.1nm、Y 軸は 131nm となった。この結果は、X 軸の場合、目標値に ±87.1nm 以内で位置決めできていることを示す。X 軸は 1 パルス信号以内での位置決めが行えていることがわかった。しかし、Y 軸の位置決め性能は目標の精度を得られなかった。Y 軸の位置決め性能の向上には Y 軸ステージの制御ゲインを上げることや Y 軸制御の入力に含まれる高周波ノイズをローパスフィルタにより抑えるなどが考えられる。

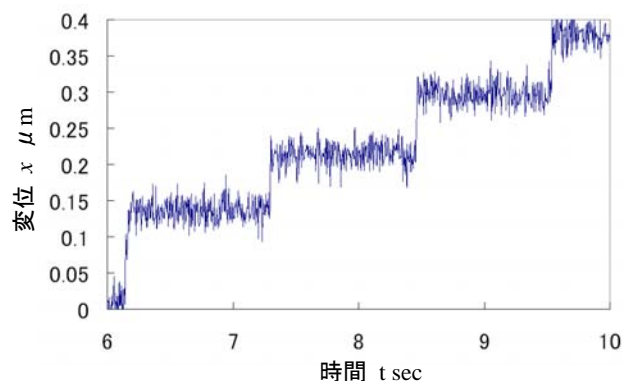


図 7 X 軸ステップ送り時の画像処理結果

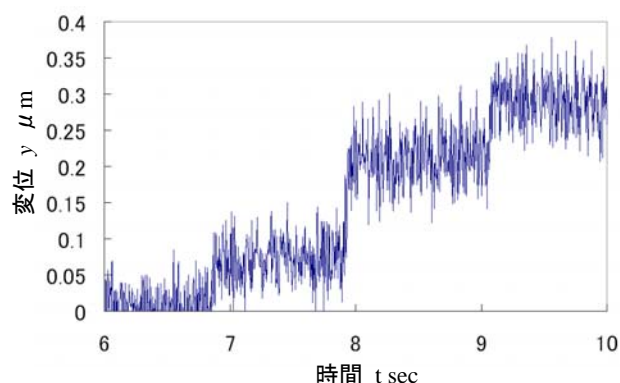


図 8 Y 軸ステップ送り時の画像処理結果

4. おわりに

光学顕微鏡の視野をビジュアルフィードバックすることでサブミリメートル以下の微小な対象物を精密に位置決めすることのできるシステムを提案し、対物レンズの倍率が 4 倍である条件でシステムの構築を行った。システムの性能評価するための実験を行い、0.1 μm の位置決めが可能であるという結果を得た。

本研究では XY 軸の片軸ごとに実験を行ったが、これはステージ座標系とカメラ座標系の軸方向がわずかにずれており、各軸の駆動がお互いに干渉してしまうためである。今後は軸方向のずれを補償する仕組みを構築する必要がある。

文 献

- [1]大塚二郎：“ナノテクノロジーと超精密位置決め技術”，工業調査会，(Feb. 2005)
- [2]N.Ogawa, H.Oku, K.Hashimoto, and M.Ishikawa, “Microrobotic visual control of motile cells using high-speed tracking system,” IEEE Trans. Robotics, vol.21, no.4, pp.704-712, (Aug. 2005)
- [3]中坊嘉宏, 石川正俊, 豊田晴義, 水野誠一郎：“ビジュアルフィードバックのための 1ms 列並列ビジョン(CPV)システム”，第 5 回ロボティクスシンポジウム講演予稿集, 22C2, pp.375-380, (Mar. 2000)