(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2012 年 2 月 2 日(02.02.2012)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2012/014756 A1

(51) 国際特許分類:
C12M 1/34 (2006.01) *G06T 1/00* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2011/066488

(22) 国際出願日: 2011 年 7 月 20 日(20.07.2011)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2010-169832 2010 年 7 月 28 日(28.07.2010) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 三洋電機株式会社(SANYO Electric Co., Ltd.) [JP/JP]; 〒5708677 大阪府守口市京阪本通２丁目５番５号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 山中 義太郎(YAMANAKA Yoshitaro) [JP/JP]; 〒5708677 大阪府守口市京阪本通２丁目５番５号三洋電機株式会社内 Osaka (JP). 徳丸 智祥(TOKUMARU Tomoyoshi) [JP/JP]; 〒5708677 大阪府守口市京阪本通２丁目５番５号三洋電機株式会社内 Osaka (JP). 北條 三木夫(HOUJOU Mikio) [JP/JP]; 〒5708677 大阪府守口市京阪本通２丁目５番５号三洋電機株式会社内 Osaka (JP).

(74) 代理人: ▲角▼谷 浩(KADOYA Hiroshi); 〒5708677 大阪府守口市京阪本通２丁目５番５号三洋電機株式会社内 Osaka (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

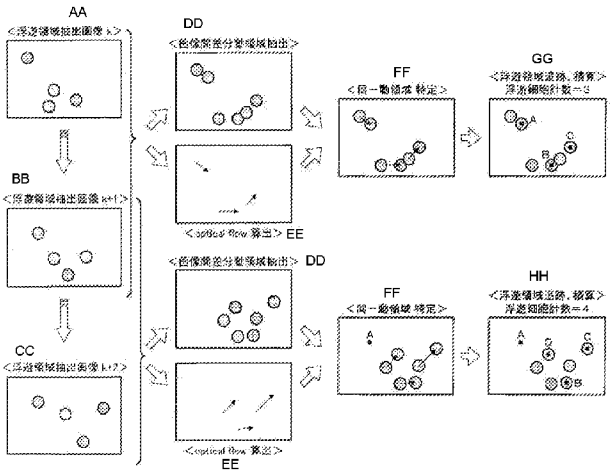
(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ

[続葉有]

(54) **Title**: IMAGING DEVICE

(54) 発明の名称 : 撮像装置

[図15]



AA <Suspension-region extraction image k>
BB <Suspension-region extraction image k+1>
CC <Suspension-region extraction image k+2>
DD <Moving-region extraction by inter-image differentials>
EE <Optical flow computation>
FF <Same-moving-region identification>
GG <Suspension-region tracking and integration> Suspended cell count = 3
HH <Suspension-region tracking and integration> Suspended cell count = 4

(57) **Abstract**: Disclosed is an imaging device that uses images from a plurality of different points in time to determine, with high precision, the suspension/attachment state of cells in a culture solution in a culture vessel. Said imaging device (1) is provided with: a vessel-gripping unit (32) that grips a culture vessel (S) containing cells and a culture solution; an oscillation unit (60) on which the vessel-gripping unit (32) is provided; a vibration unit (50) that vibrates the oscillation unit (60); an imaging unit (10) that takes images of the cells inside the culture vessel (S); an image-correction unit (4) that uses images that the imaging unit (10) has taken of a plurality of imaging sites, including at least one mid-vibration image, to correct inter-image offsets due to the fact that the imaging sites are different; and an image-processing unit (5) that uses the images taken by the imaging unit (10) and the images corrected by the image-correction unit (4) to determine the suspension state or attachment state of cells. This configuration prevents attached cells from being mistakenly determined to be suspended and distinguishes between a state in which cells are locally attached and a completely-attached state.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2012/014756 A1

(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

【課題】複数の異なる時点の画像を用いて培養容器内における培養液中の細胞の浮遊状態、付着状態を精度よく判別することが可能な撮像装置を提供する。 【解決手段】撮像装置１は、細胞と培養液とが入った培養容器Ｓを把持する容器把持部３２と、容器把持部３２が設けられた揺動部６０と、揺動部６０に振動を与える加振部５０と、培養容器Ｓ内の細胞を画像として撮像する撮像部１０と、撮像部１０が撮像した少なくとも一の振動中の画像を含む複数の撮像場所の画像を用いて、撮像場所が異なることにより生じる画像間の位置ずれを補正する画像補正部４と、撮像部１０が撮像した画像と画像補正部４が補正した画像とを用いて細胞の浮遊状態または付着状態を判別する画像処理部５と、を備える。その結果、付着状態の細胞を浮遊状態であると誤って判別することが防止され、細胞の局部的に付着している状態と完全に付着している状態とが区別される。

明　細　書

発明の名称 ： 撮像装置

技術分野

[0001] 本発明は、細胞などの撮像装置に関する。

背景技術

[0002] 細胞の培養は培養液を注いだディシュやシャーレなどの培養容器を用いて行われる。そして、培養時間が経過すると、培養容器内が細胞で埋め尽くされたり、細胞の増殖が進行し難い状況になったりすることがある。このため、培養細胞を回収し、新たな容器に移して培養を維持する継代培養が行われることがある。

[0003] 継代培養では培養容器に付着した細胞を剥離する必要があるが、細胞の個体差により付着状況が異なることが多い。したがって、細胞の培養容器への付着状況に合わせて剥離前の細胞の洗浄回数や洗浄流量を調整したり、トリプシン剥離における剥離までの時間を調整したり、剥離作業を完遂するために培養容器を叩く力や叩く回数を変更したりしなければならない。このため、培養容器内における培養液中の細胞の浮遊状態、付着状態を正確に判断する必要がある。さらに、培養容器内の細胞の浮遊状態、付着状態を判別できれば、培養容器への細胞播種後生着率を概算することも可能である。

[0004] このような培養容器内における培養液中の細胞の浮遊状態、付着状態を判別する手法の例を特許文献１及び２に見ることができる。特許文献１に記載された識別装置は培養容器を載置したステージを移動させて培養容器内に対流を発生させ、培養容器内で浮遊している細胞の位置がずれ、且つ接着している細胞の位置がずれない程度の物理的振動を与えるようにして画像を撮像、解析している。特許文献２に記載された細胞剥離判断方法は加振台に載置された培養容器を加振台ごと振動させる構成で、培養液の静止中及び加振後の２枚の画像を撮像して培養液中の細胞の浮遊状態、付着状態を判別している。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：特開２００９－８９６２８号公報

特許文献2：特開２００７－２７５０３０号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] しかしながら、特許文献１に記載された識別装置は培養容器内で対流を発生させるために培養容器を載置したステージを移動させているので、ステージを移動させるための機械要素間にバックラッシュ等が発生する可能性がある。これにより、ステージの移動の前後で同一位置において画像を撮像しても位置がずれる虞があり、付着状態の細胞を浮遊状態であると誤って判別することが懸念される。さらに、この識別装置は接着（付着）している細胞の位置がずれない程度の物理的振動を与えることを前提としており、ステージの移動の前後で撮像した２枚の画像に位置ずれが発生する可能性があることについて考慮されていない。

[0007] また、特許文献２に記載された細胞剥離判断方法は加振台に載置された培養容器を加振台ごと振動させているが、培養容器自体の製造時に生じる寸法誤差や加振台の培養容器取り付け箇所に生じるクリアランスなどに起因して培養容器が意図せず移動する虞がある。これにより、撮像した２枚の画像に位置ずれが発生する可能性があり、付着状態の細胞を浮遊状態であると誤って判別することが懸念される。そして、この細胞剥離判断方法では２枚の画像の位置ずれについて考慮されていないので、培養液中の細胞の浮遊状態、付着状態を適切に判別できない可能性が高い。

[0008] 一方、培養液中の細胞の浮遊状態、付着状態に関して、細胞に粘性があり、細胞の一部が培養容器に付着し、別の一部が培養液中を浮遊しているような状態も存在する。このような局部的に付着している状態は、特許文献１及び２では細胞が培養容器に完全に付着している状態と区別することができな

い可能性が高い。したがって、特許文献１及び２では細胞が培養容器に局部的に付着している状態が培養容器に完全に付着している状態として誤って判別される虞がある。

[0009] 本発明は上記の点に鑑みなされたものであり、複数の異なる時点の画像を用いて培養容器内における培養液中の細胞の浮遊状態、付着状態を精度よく判別することが可能な撮像装置を提供することを目的とする。また、培養容器に局部的に付着している細胞を浮遊細胞として明確に判別することが可能な撮像装置を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0010] 上記の課題を解決するため、本発明の撮像装置は、細胞と培養液とが入った容器を把持する容器把持部と、前記容器把持部が設けられた揺動部と、前記揺動部に振動を与える加振部と、前記容器内の細胞を画像として撮像する撮像部と、前記撮像部が撮像した少なくとも一の振動中の画像を含む複数の撮像場所の画像を用いて、撮像場所が異なることにより生じる画像間の位置ずれを補正する画像補正部と、前記撮像部が撮像した画像と前記画像補正部が補正した画像とを用いて細胞の浮遊状態または付着状態を判別する画像処理部と、を備える。

[0011] なお、加振部が振動させているので、異なる時点において撮像部が撮像する撮像場所は振動の周期と同期しない限り一般に異なることとなる。画像補正部はそれら異なる時点の画像における各々の撮像場所が一般に異なることから、その異なることに依存した細胞等の撮像対象物などの位置ずれを補正するものである。

[0012] この構成によれば、振動中の画像を含む複数の異なる時点の画像を用いて画像間の位置ずれを補正するので、付着状態の細胞を浮遊状態であると誤って判別することが防止される。さらに、細胞が培養容器に局部的に付着している状態と培養容器に完全に付着している状態とが区別される。

[0013] また、上記構成の撮像装置において、前記画像補正部は、一の画像における第１の特徴点の位置と、他の画像における前記第１の特徴点に対応する第

２の特徴点の位置との差から画像間の位置ずれを識別し、その位置ずれを補正した画像を生成しても良い。なお、以下「特徴点」とは、例えばエッジ検出などの結果として安定的に検出可能な画像上の特徴的な点であり、例えば画像上の細胞を意味する。また、画像を複数のブロックに分割した場合の特徴的なブロックを特徴点としても良い。

[0014] この構成によれば、付着状態にある細胞のその付着位置が明確になるので、浮遊状態にある細胞の移動状況が把握し易くなる。

[0015] また、上記構成の撮像装置において、前記画像補正部は、二の画像間で対応する二の特徴点の位置に基づき平行移動、回転移動の画像変換を行っても良い。

[0016] この構成によれば、画像変換のための画像の移動方法を適宜変更することにより、画像間の位置ずれ補正を効率よく行うことができる。

[0017] また、上記構成の撮像装置において、前記画像処理部は、三以上の異なる時点の画像を用い、各画像間の差分により導出した画像における細胞の浮遊領域候補を各差分間で追跡、積算することにより細胞の浮遊状態を判別しても良い。

[0018] この構成によれば、連続する各画像間で細胞の浮遊状態が把握できるので、複数の異なる時点の画像間において細胞が常に移動していない場合でも細胞の浮遊状態が識別される。

[0019] また、上記構成の撮像装置において、前記揺動部は、弾性体によって支持されていても良い。なお、揺動部と弾性体との間に他の部材が介在してもよい。

[0020] この構成によれば、弾性体の弾性変形を利用できるので、培養容器内の浮遊状態にある細胞の移動量が比較的大きくなるのを期待でき、細胞の浮遊状態、付着状態を判別し易くなる。

[0021] また、上記構成の撮像装置において、前記加振部は、前記揺動部に接合され、前記弾性体の変位より小さい振幅で振動させても良い。

[0022] この構成によれば、加振部が揺動部と一緒に振動するので、例えば装置全

体が振動する撮像装置を構成することができる。これにより、培養容器と撮像部との間の相対的な変位を抑制でき、異なる時点の画像間の位置ずれを防止する作用がより高められる。

[0023] また、上記構成の撮像装置において、ホルダにて支持された前記容器把持部を水平方向に移動させるステージ部を備え、前記加振部は、前記揺動部と前記ホルダとの間に存在する支点によって前記揺動部を振動させても良い。なお、「揺動部とホルダとの間」には「揺動部自体」及び「ホルダ自体」も含むものとする。すなわち、支点は揺動部自体またはホルダ自体または揺動部とホルダとの間に存在する。

[0024] この構成によれば、容器把持部が設けられた揺動部のみを振動させるので、比較的小さな駆動力の加振部を用いて培養容器内の培養液を揺らすことができる。

[0025] また、上記構成の撮像装置において、前記撮像部は、前記揺動部に設けられることにしても良い。

[0026] この構成によれば、容器把持部と撮像部とが一緒に揺動部に設けられていることになるので、容器把持部と撮像部とに対して同時に、同じ振動を与えることができる。これにより、培養容器と撮像部との間の相対的な変位を抑制でき、異なる時点の画像間の位置ずれを防止する作用がより高められる。

[0027] また、上記構成の撮像装置において、前記加振部が加振動作パラメータを調整可能に構成され、前記加振動作パラメータを用いて得られた前記画像処理部の前回の判別結果に基づき今回の前記加振動作パラメータを調整しても良い。

[0028] 培養容器に局部的に付着している細胞の振動具合は加振部の加振動作パラメータの影響を受けると考えられるので、この構成によれば、培養容器に局部的に付着している細胞を浮遊細胞として明確に判別するのに好適な振動状況が得られる。

発明の効果

[0029] 本発明の構成によれば、複数の異なる時点の画像を用いて培養容器内にお

ける培養液中の細胞の浮遊状態、付着状態を精度よく判別することが可能な撮像装置を提供することができる。また、培養容器に局部的に付着している細胞を浮遊細胞として明確に判別することが可能な撮像装置を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0030] [図1]本発明の第１の実施形態に係る撮像装置の垂直断面側面図である。

[図2]図１の撮像装置の構成を示すブロック図である。

[図3]図１の撮像装置の斜視図である。

[図4]図３と同様の撮像装置の斜視図にして、ステージ部が前方に移動した状態を示すものである。

[図5]図１の撮像装置のステージ部の斜視図である。

[図6]図５のステージ部の上面図である。

[図7]図１の撮像装置による細胞の浮遊状態、付着状態の判別に係る動作を示すフローチャートである。

[図8]図１の撮像装置で撮像した異なる時点の画像の例を示す説明図である。

[図9]図８の画像の補正方法の第一例を示す説明図である。

[図10]図８の画像の類似度判別方法（ブロックマッチング）を示す説明図である。

[図11]図１の撮像装置で撮像した異なる時点の画像の差分を示す説明図である。

[図12]図８の画像の補正方法の第二例（オプティカルフロー）を示す説明図である。

[図13]細胞の浮遊状態、付着状態、及び局部的な付着状態を示す説明図である。

[図14]複数画像間積算の概略説明図である。

[図15]複数画像間積算の詳細説明図である。

[図16]図１５の説明図における異なる時点の画像間の同一動領域の特定に係る動作を示すフローチャートである。

[図17]図１５の説明図における浮遊領域の追跡と積算に係る動作を示すフローチャートである。

[図18]本発明の第２の実施形態に係る撮像装置の正面図である。

[図19]図１８の撮像装置の構成を示すブロック図である。

[図20]図１８の撮像装置の加振部の正面図である。

[図21]図１９の加振部の側面図である。

発明を実施するための形態

[0031] 以下、本発明の実施形態を図１～図２１に基づき説明する。

[0032] （第１の実施形態） 最初に、本発明の第１の実施形態に係る撮像装置について、図１～図４を用いてその構造を説明する。図１は撮像装置の垂直断面側面図、図２は撮像装置の構成を示すブロック図、図３は撮像装置の斜視図、図４は撮像装置の斜視図にして、ステージ部が前方に移動した状態を示すものである。なお、図３では培養容器の描画を省略している。また、以下の説明において、図３のｘ軸方向を左右方向、ｙ軸方向を前後方向（＋ｙ方向を前方、－ｙ方向を後方）、ｚ軸方向を上下方向とする。

[0033] 撮像装置１は、図１～図３に示すようにその筐体である本体２に撮像部１０、照明部２０、ステージ部３０、及び駆動部４０を備えている。撮像装置１はその正面中央部に配置された培養容器Ｓ内の細胞の撮像部１０及び照明部２０を用いた撮像が可能で、駆動部４０によって培養容器Ｓを把持するステージ部３０を前後、左右の所望の方向、位置に移動させることができる。なお、本体２は床面に対して四箇所に設けられた脚部６によって支持されている。

[0034] 撮像部１０は本体２の下部に設けられ、対物レンズ１１、反射ミラー１２、ズームレンズ１３、及びＣＣＤカメラ１４を備えている。対物レンズ１１は培養容器Ｓを把持するステージ部３０のすぐ下方に配置され、上方に向かって撮像可能にして設けられている。反射ミラー１２は対物レンズ１１の下方に配置され、後方に向かって略水平に光を反射するよう傾斜させて設けられている。反射ミラー１２は対物レンズ１１から得られた像を後方のズーム

レンズ１３に導く。

[0035] ズームレンズ１３は反射ミラー１２の後方に配置され、前後方向に延びる形で設けられている。ズームレンズ１３は対物レンズ１１から得られた像を拡大する。ＣＣＤカメラ１４はズームレンズ１３のさらに後方に配置され、対物レンズ１１、反射ミラー１２、及びズームレンズ１３を経て得られる像がその撮像素子面で結像する。このような構成により、撮像部１０は培養容器Ｓ内の細胞を画像として撮像する。

[0036] 照明部２０は本体２の上部に設けられ、ＬＥＤ２１、及び反射ミラー２２を備えている。ＬＥＤ２１は照明部２０の下方に位置するステージ部３０の撮像対象である培養容器Ｓを照らす光を発する。反射ミラー２２は対物レンズ１１の鉛直上方に配置され、ＬＥＤ２１が照射した光が培養容器Ｓ及び対物レンズ１１に到達するよう反射させる。

[0037] ステージ部３０は本体２の正面中央部であって、下方の撮像部１０と上方の照明部２０とに挟まれた形で設けられている。ステージ部３０は撮像対象である細胞と細胞の培養液とが入った培養容器Ｓを把持している。ステージ部３０の詳細な構成は後述する。

[0038] 駆動部４０はステージ部３０の後方及び側方に設けられ、ｘ軸駆動機構４１、ｘ軸モータ４２、ｙ軸駆動機構４３、ｙ軸モータ４４、ｚ軸モータ４５、及びズームモータ４６を備えている。なお、図３に示すように撮像装置１に対して左右方向をｘ軸と、前後方向をｙ軸と、上下方向をｚ軸として説明する。

[0039] ｘ軸駆動機構４１はステージ部３０のすぐ後方に配置されるとともにステージ部３０を直接支持している。ｘ軸駆動機構４１は図示しないベルト、プーリ、スライドガイド部材、シャフト等を備えてｘ軸モータ４２によって駆動され、ステージ部３０を左右方向に移動させる。ｙ軸駆動機構４３はステージ部３０及び本体２の側面の箇所に配置され、ｘ軸駆動機構４１を支持している。ｙ軸駆動機構４３は図示しないベルト、プーリ、スライドガイド部材等を備えてｙ軸モータ４４によって駆動され、ｘ軸駆動機構４１とともに

ステージ部３０を前後方向に移動させる（図４参照）。

[0040] ｚ軸モータ４５及びズームモータ４６はステージ部３０後方の本体２内に配置されている。ｚ軸モータ４５は撮像部１０を上下方向に移動させるためのモータである。ズームモータ４６はズームレンズ１３の拡大倍率の変更させるためのモータであり、撮像する画像の倍率変更が可能である。

[0041] また、撮像装置１は装置全体の動作制御のため、図２に示すようにその内部に制御部３を備えている。制御部３は一般的なマイコンやその他の電子部品によって構成され、このマイコン内部等に記憶、入力されたプログラム、データに基づいて撮像装置１に係る一連の動作を制御する。また、制御部３は撮像部１０によって撮像された画像の補正や処理を行う画像補正部４及び画像処理部５を備えている。画像補正部４及び画像処理部５による画像の補正や処理の詳細は後述する。

[0042] 続いて、ステージ部３０の詳細な構成について、図３に加えて、図５及び図６を用いて説明する。図５はステージ部３０の斜視図、図６はステージ部３０の上面図である。

[0043] ステージ部３０は図５及び図６に示すようにホルダ３１、容器把持部３２、取り付けネジ３３、ゴム３４、容器押さえ３５、及び加振部５０を備えている。

[0044] ホルダ３１は略垂直に延びる支持部３１ａの箇所をｘ軸駆動機構４１（図３参照）によって支持され、支持部３１ａ下部が前方に向かって水平に延びる側方から見てＬ字形状をなしている。容器把持部３２はホルダ３１の前方に取り付けネジ３３によって取り付けられている。なお、取り付けネジ３３の締め付け箇所であってホルダ３１との間には弾性体であるゴム３４は設けられている。すなわち、容器把持部３２はゴム３４を介してホルダ３１に支持されている。容器把持部３２は水平をなし、その上面に細胞と細胞の培養液とが入った培養容器Ｓ等を載置することができる。培養容器Ｓは板ばね形状をなす容器押さえ３５によって容易に移動しないよう押さえられている。

[0045] 加振部５０は容器把持部３２の側方に位置し、ホルダ３１に取り付けられ

ている。加振部５０はベース５１、レバー５２、支軸５３、接触片５４、モータ５５、偏心カム５６、レバー引張バネ５７、及び把持部引張バネ５８を備えている。

[0046] ベース５１は容器把持部３２の側方の近接する箇所において、ホルダ３１から前方に向かって延びる形でホルダ３１に固定されている。レバー５２は前後方向に向かって延び、支軸５３でベース５１に支持されている。レバー５２は支軸５３を中心として水平面内で回転可能にして支持されている。

[0047] 接触片５４はレバー５２の支軸５３より前方の箇所に設けられている。接触片５４はレバー５２に前後方向に向かって延びる形で設けられた長穴５２ａに対して取り付けられ、この長穴５２ａに沿って前後方向に取り付け箇所の変更が可能である。また、接触片５４はローラ形状をなし、その周面である側面が容器把持部３２の側壁３２ａに接触する。

[0048] モータ５５及び偏心カム５６はレバー５２の支軸５３を隔てて接触片５４が設けられた側と反対側の端部、すなわちレバー５２のホルダ３１側の端部近傍に設けられている。モータ５５は回転軸線が垂直をなし、その最下部に偏心カム５６が回転可能に取り付けられている。偏心カム５６はその回転面が水平をなし、そのカム形状を有する周面である側面がレバー５２に接触する。これにより、モータ５５を駆動させて偏心カム５６を回転させると、レバー５２が支軸５３を中心としてその前方、すなわち接触片５４を左右に変位させるように揺動する。

[0049] なお、レバー引張バネ５７がレバー５２の支軸５３より偏心カム５６側の箇所にベース５１との間に設けられている。レバー５２を偏心カム５６に押し付けるようにレバー引張バネ５７の弾性力が作用しているので、レバー５２は常に偏心カム５６のカム形状に連動して揺動する。

[0050] モータ５５の駆動によりレバー５２が偏心カム５６のカム形状に連動して揺動すると接触片５４も揺動し、接触片５４に接触する容器把持部３２が接触片５４よって左右方向に押されることとなる。その結果、容器把持部３２は取り付けネジ３３を用いてゴム３４を介してホルダ３１に支持されている

ので、ゴム３４が弾性変形し、容器把持部３２が左右に揺動する。すなわち、ゴム３４の弾性変形を利用できるので、培養容器Ｓ内の浮遊状態にある細胞の移動量が比較的大きくなるのを期待でき、細胞の浮遊状態、付着状態を判別し易くなる。

[0051] このようにして、容器把持部３２は加振部５０によって左右に揺動する揺動部６０となり、加振部５０は揺動部６０に振動を与えるように動作する。すなわち、加振部５０は揺動部６０とホルダ３１との間の取り付けネジ３３の箇所に存在する支点によって揺動部６０を振動させる。これにより、容器把持部３２が設けられた揺動部６０のみを振動させるので、比較的小さな駆動力の加振部５０を用いて培養容器Ｓ内の培養液を揺らすことができる。

[0052] なお、把持部引張バネ５８が容器把持部３２とベース５１との間で設けられ、容器把持部３２を接触片５４に押し付けるように弾性力が作用しているので、揺動部６０である容器把持部３２は常に偏心カム５６のカム形状に連動して揺動する。

[0053] また、接触片５４の取り付け位置を長穴５２ａに沿って前後方向に変更することにより接触片５４と容器把持部３２との接触位置が変更できるので、容器把持部３２の振幅が変更可能である。このようにして、加振部５０は加振動作パラメータのひとつである容器把持部３２の振幅の調整が可能である。また、加振動作パラメータの他の例として、モータ５５の回転周波数などが挙げられる。

[0054] 続いて、撮像装置１による培養容器Ｓ内の細胞の浮遊状態、付着状態の判別に係る動作について、図２を用いて、図７に示すフローに沿って説明する。図７は撮像装置１による細胞の浮遊状態、付着状態の判別に係る動作を示すフローチャートである。

[0055] なお、図７に示す動作フローは本願発明の撮像装置１を例えば培養装置に組み込んだ場合を想定し、「培養作業」のステップを含んでいる。「培養作業」には人による手作業を含む場合がある。

[0056] 撮像装置１において培養容器Ｓ内の細胞の浮遊状態、付着状態の判別に係

る動作をスタート（図７のスタート）させると、制御部３は撮像部１０及び照明部２０を制御し、まず培養容器Ｓ内の細胞の画像を撮像する（ステップ＃１０１）。

[0057] 次に、制御部３は加振部５０を制御して揺動部６０である容器把持部３２に振動を与え、培養容器Ｓ内の細胞を揺動させる（ステップ＃１０２）。そして、制御部３は振動中の培養容器Ｓ内の細胞の画像を撮像する（ステップ＃１０３）。

[0058] ここで、制御部３は画像補正部４に画像補正を実行させる（ステップ＃１０４）。すなわち、画像補正部４はステップ＃１０１で撮像した静止中の細胞の画像とステップ＃１０３で撮像した振動中の細胞の画像との異なる時点の画像を用いて、画像間の位置ずれを補正する。これにより、静止中の細胞を撮像した画像が補正されるので、付着状態の細胞を浮遊状態であると誤って判別することが防止される。

[0059] そして、制御部３は画像処理部５に細胞の浮遊状態、付着状態を判別させる（ステップ＃１０５）。すなわち、画像処理部５はステップ＃１０３で撮像部１０が撮像した振動中の細胞の画像とステップ＃１０４で画像補正部４が補正した静止中の細胞の画像とを用いて細胞の浮遊状態、付着状態の判別する。

[0060] ここで、本発明の撮像装置１を例えば培養装置に組み込んだ場合、上記のような細胞の浮遊状態、付着状態の判別の結果として、予め設定した標準値に対する浮遊細胞数の多寡を評価する。その評価結果に応じて、細胞の浮遊状態、付着状態の判別が完了していないと判断された場合（ステップ＃１０５のＮｏ）、例えば必要な培養作業を加えたり、培養作業におけるパラメータを調整したりする（ステップ＃１０６）。

[0061] ステップ＃１０６の具体的な培養作業としては、例えば死細胞除去のための洗浄操作や培地交換、付着作業を剥離して回収する継代操作などがある。培養作業におけるパラメータ調整については、例えば洗浄操作の洗浄時間や洗浄回数を増加したり、剥離剤添加後の反応時間や反応後の培養容器タッピ

ング回数を増加したりするなどの調整を行う。

[0062] そして、ステップ＃１０６の培養作業後、再度ステップ＃１０１に戻ってステップ＃１０１～＃１０５の処理を経て評価を行い、細胞の浮遊状態、付着状態の判別の良否を判断する。

[0063] ステップ＃１０５において細胞の浮遊状態、付着状態の判別が完了した場合（ステップ＃１０５のＹｅｓ）、細胞の浮遊状態、付着状態の判別に係る動作を終了する（図７のエンド）。

[0064] 続いて、細胞の浮遊状態、付着状態の判別に係る動作に関して、図７のステップ＃１０４で画像補正部４が実行する画像補正について、図８～図１２を用いて説明する。図８は撮像装置１で撮像した異なる時点の画像の例を示す説明図、図９は図８の画像の補正方法の第一例を示す説明図、図１０は図８の画像の類似度判別方法（ブロックマッチング）を示す説明図、図１１は撮像装置１で撮像した異なる時点の画像の差分を示す説明図、図１２は図８の画像の補正方法の第二例（オプティカルフロー）を示す説明図である。

[0065] 図８は撮像装置１で撮像した異なる時点の画像の例として、培養容器Ｓが静止中の時刻ｔ１の画像と、振動中の時刻ｔ２の画像とを示している。２つの画像中の丸印及び四角印は細胞を示している。なお、これらは２つの画像間において位置ずれが生じたことを想定して描画しているので、浮遊状態、付着状態にかかわらずすべての細胞が画像中で移動しているように見える。画像間に位置ずれが生じなかった場合、付着状態にある細胞は画像間で移動しないことになる。

[0066] 一方で、加振部５０が振動させているので、異なる時点において撮像部１０が撮像する場所は振動の周期と同期しない限り一般に異なることとなる。さらに、たとえ振動と同期させて撮像したとしても、構造上のクリアランスやバックラッシ等により、完全に撮像場所を一致させることは困難である。このため、図８に示す時刻ｔ１の画像と時刻ｔ２の画像とは浮遊状態、付着状態にかかわらずすべての細胞が画像中で移動しているように見える。画像補正部４はそれら異なる時点の画像における各々の撮像場所が一般に異なる

ことから、その異なることに依存した細胞等の撮像対象物などの位置ずれを補正するものである。

[0067] よって、「位置ずれ」には、加振部５０の振動によって撮像場所が異なることによる撮像対象物の位置ずれ（付着細胞の位置ずれとして観測される）と、浮遊細胞の振動結果による位置ずれと、の２種類がある。

[0068] そして、画像補正部４は、図９に示すように時刻ｔ２の画像を基準として時刻ｔ１の画像を変換し、位置ずれを補正した時刻ｔ１’の画像を生成する。これに関して、画像補正部４は時刻ｔ１の画像における特徴点（細胞）の位置と、この特徴点（細胞）に対応する時刻ｔ２の画像における特徴点（細胞）の位置との差から画像間の位置ずれを識別し、その位置ずれを補正した画像を生成する。また、画像補正部４は２つの画像間で対応する各々の特徴点（細胞）の位置に基づき平行移動、回転移動の画像変換を行う。

[0069] このような画像補正方法の具体的な例として、ブロックマッチングの手法を第一例に掲げ、図１０を用いて説明する。時刻ｔ２の画像を基準として時刻ｔ１の画像を変換して位置ずれを補正した時刻ｔ１’の画像を生成する際、画像補正部４はまず時刻ｔ１及び時刻ｔ２の画像を各々ブロック分割する。各ブロックは、例えば縦１００ピクセル×横１００ピクセルといった複数の画素を含んでいる。

[0070] そして、画像補正部４は時刻ｔ１の画像のあるブロックについて着目してヒストグラムを算出する。ヒストグラムは、例えば横軸の階級を画素の明るさとし、縦軸の度数を画素数としている。続いて、画像補正部４は時刻ｔ２の画像の同じ位置及びその周辺のブロックのヒストグラムを算出し、時刻ｔ１の画像のヒストグラムとの類似度を判別する。画像補正部４は２つのヒストグラムを比較してそれらの類似度を判断する。

[0071] 引き続き、画像補正部４は少しずつブロックをずらしながら、時刻ｔ１及びｔ２の画像中のすべてのブロックの各々のヒストグラムの比較を繰り返す。このとき、画像補正部４はブロックや画像を平行移動、或いは回転移動させながらヒストグラムの比較を繰り返す。また、ブロックの大きさは当初比

較的大まかに設定し、段階的に小さくしながらヒストグラムの比較を繰り返すことにより類似度の判別の精度を高めても良い。そして、時刻ｔ２の画像を基準として最も相関が高いと判断される時刻ｔ１の画像の位置を算出し、その位置情報として平行移動及び回転移動の各移動量の情報を得る。

[0072] これにより、画像補正部４は平行移動量及び回転移動量の情報に基づいて時刻ｔ１の画像を変換して位置ずれを補正し、図９右側の時刻ｔ１’の画像を生成する。時刻ｔ１’の画像では時刻ｔ１の画像に対して細胞が全体的に移動しているが、細胞間の相対位置は変化していないことがわかる。

[0073] そして、時刻ｔ１’の画像と時刻ｔ２の画像との差分をとれば、図１１に示すように浮遊状態にある細胞を判別することができる。

[0074] また、時刻ｔ２の画像を基準として時刻ｔ１の画像を変換し、位置ずれを補正した時刻ｔ１’の画像を生成する画像補正方法の具体的な例として、オプティカルフロー（ｏｐｔｉｃａｌ　ｆｌｏｗ）の手法を第二例に掲げ、図１２を用いて説明する。この場合、画像補正部４はまず時刻ｔ１及び時刻ｔ２の各々の画像を用いて特徴点フローを算出する。なお、以下の説明において、フローチャートの「フロー」との混同を避けるため、オプティカルフローによるフローを「ｆｌｏｗ」と表記することがある。

[0075] そして、画像補正部４はすべての細胞に対して大勢を占めるｆｌｏｗを算出し、これを付着細胞のｆｌｏｗとみなす。付着細胞は時刻ｔ１及び時刻ｔ２の画像間で移動しないので、付着細胞のｆｌｏｗが振動分（位置ずれ）と判別される。これにより、画像補正部４は時刻ｔ１の画像を振動分だけ移動して補正し、図１２下端の時刻ｔ１’の画像を生成する。ブロックマッチングの場合の図９同様、時刻ｔ１’の画像では時刻ｔ１の画像に対して細胞が全体的に移動しているが、細胞間の相対位置は変化していない。さらに、時刻ｔ１’の画像と時刻ｔ２の画像との差分をとれば、図１１に示すように浮遊状態にある細胞を判別することができる。

[0076] なお、ｆｌｏｗの算出処理において、大きく外れたｆｌｏｗを例えばM推定で除外して平均ｆｌｏｗを算出し、これにより一旦補正画像を生成しても

良い。そして、この補正画像と時刻ｔ２の画像とを用いてｆｌｏｗを算出する。さらに引き続き補正画像の生成と、補正画像と時刻ｔ２の画像とを用いたｆｌｏｗ算出とを繰り返すことにより補正の精度を高めても良い。

[0077] また、ｆｌｏｗの算出処理においても、一旦ブロック毎に平均化した画像を生成してその画像についてのｆｌｏｗ算出を行い、ブロックの大きさを段階的に小さくしながらｆｌｏｗ算出を繰り返すことにより処理を高速化しつつ補正の精度を高めても良い。

[0078] また、時刻ｔ１の画像を基準として時刻ｔ２の画像を補正（変換）し、新たに作成した時刻ｔ２’の画像と時刻ｔ１の画像とを用いて浮遊細胞を判別しても良い。

[0079] これらの画像補正部４の処理により、付着状態にある細胞のその付着位置が明確になるので、浮遊状態にある細胞の移動状況が把握し易くなる。そして、画像変換のための画像の移動方法を適宜変更することにより、画像間の位置ずれ補正を効率よく行うことができる。

[0080] 一方、図１３に示すように、細胞に粘性があり、細胞の一部が培養容器に付着し、別の一部が培養液中を浮遊しているような状態も存在する。図１３は細胞の浮遊状態、付着状態、及び局部的な付着状態を示す説明図である。このような局部的な付着状態の場合、２つの画像間において細胞が同じ位置に存在することがあり、浮遊状態であると判別できない可能性がある。したがって、振動中に撮像した画像を含めた複数の画像を用いて、判別結果を積算することで対応する「複数画像間積算」という方法を適用する。

[0081] 続いて、この細胞の局部的な付着状態の判別方法である複数画像間積算について、図１４～図１７を用いて説明する。図１４は複数画像間積算の概略説明図、図１５は複数画像間積算の詳細説明図、図１６は図１５の説明図における異なる時点の画像間の同一動領域の特定に係る動作を示すフローチャート、図１７は図１５の説明図における浮遊領域の追跡と積算に係る動作を示すフローチャートである。

[0082] 複数画像間積算において、画像処理部５は、図１４に示すように振動中に

撮像した画像を含めた複数の画像（画像１～４以下）から、図７～図１３を用いて説明した浮遊状態にある細胞の判別方法で得られた結果により浮遊とされた領域（浮遊領域、図１４中の丸印）を抽出する。さらに、画像処理部５は浮遊領域を抽出した各画像を積算する。これにより、撮像と揺動とのタイミングの同期をとる必要がなく、細胞の付着性にかかわらず浮遊状態、付着状態の判別結果を得ることができる。

[0083] 複数画像間積算についてさらに詳しく、図１５を用いて、図１６及び図１７に示すフローに沿って説明する。

[0084] 画像処理部５は、図１５に示すように連続する２つの浮遊領域抽出画像、例えば画像ｋと画像ｋ＋１を用いて、画像間の差分による動領域（浮遊領域、図１５中の丸印）の抽出とオプティカルフローの算出とを行う。そして、これらの結果を用いて、画像処理部５は同一動領域の特定を行う。この同一動領域の特定に係る処理を図１６に示すフローに沿って説明する。

[0085] なお、浮遊領域抽出画像は次のように生成しても良い。すなわち、時刻ｔ１の画像を基準として時刻ｔ２の画像を補正して浮遊細胞を判別する場合、画像補正部４にて生成する時刻ｔ２’の画像を浮遊領域抽出画像ｋとする。さらに、時刻ｔ２の画像を基準として時刻ｔ３の画像を補正して浮遊細胞を判別する場合、生成した時刻ｔ３’の画像に対し、時刻ｔ２’の画像を生成する際に用いた補正量をさらに加味して浮遊領域抽出画像ｋ＋１とする。以後同様に、前回処理までの補正量を累積することで、時刻ｔ１における付着細胞の位置を基準として時間連続な浮遊領域抽出画像を得ることができる。

[0086] 画像処理部５は同一動領域の特定に係る処理をスタート（図１６のスタート）させると、現画像の特徴点が帰属する動領域をチェックする（ステップ＃２０１）。次に、画像処理部５はチェックした動領域にオプティカルフローによるｆｌｏｗの適用を行う（ステップ＃２０２）。そして、画像処理部５はすべての動領域についてｆｌｏｗの適用が済んだか否かを判別する（ステップ＃２０３）。すべての動領域についてｆｌｏｗの適用が済んでいない場合（ステップ＃２０３のＮｏ）、画像処理部５はステップ＃２０１及び＃

２０２の処理を繰り返す。

[0087] すべての動領域についてｆｌｏｗの適用が済んだ場合（ステップ＃２０３のＹｅｓ）、画像処理部５は各動領域に適用したｆｌｏｗをチェックし（ステップ＃２０４）、比較的大きく外れて目立つｆｌｏｗを除外してｆｌｏｗの平均を算出する（ステップ＃２０５）。

[0088] 次に、画像処理部５は動領域重心からｆｌｏｗの平均分だけ逆方向に移動し、前画像における推定前動領域重心を算出する（ステップ＃２０６）。そして、画像処理部５は推定前動領域重心が別の動領域に内在するかチェックする（ステップ＃２０７）。推定前動領域重心が別の動領域に内在する場合、画像処理部５はそれら動領域を画像間において同一の動領域であると判断し、同一動領域の特定に係る処理を終了する（図１６のエンド）。

[0089] 再び図１５に戻り、画像処理部５は同一動領域の特定が済むと、それら動領域を推定浮遊領域とし、推定浮遊領域の追跡と積算を行う。なお、「追跡」とは、画像間で同一の動領域であると特定された推定浮遊領域のさらに時間的に後続する画像における移動先を追うことを意味する。この推定浮遊領域の追跡、積算に係る処
理を図１７に示すフローに沿って説明する。

[0090] 画像処理部５は推定浮遊領域の追跡、積算に係る処理をスタート（図１７のスタート）させると、現画像の推定浮遊領域を算出する（ステップ＃３０１）。なお、このステップ＃３０１は図１６のフローで説明した処理を意味する。また、「現画像」は図１５における連続する２つの浮遊領域抽出画像、例えば画像ｋと画像ｋ＋１の場合の画像ｋ＋１を意味する。画像ｋは後述する「前画像」を意味する。

[0091] 次に、画像処理部５は現画像の推定浮遊領域をテンプレート化し、ヒストグラムを算出する（ステップ＃３０２）。さらに、画像処理部５はヒストグラムに加えて現画像の推定浮遊領域から得られる領域位置、領域サイズといったテンプレート情報を取得し、浮遊細胞推定データとする（ステップ＃３０３）。浮遊細胞推定データは推定浮遊領域から得られる領域位置、領域サ

イズ、ヒストグラムなどで構成され、推定浮遊領域の数だけ複数存在する。

[0092] そして、画像処理部５は前画像の浮遊細胞結果データを取得する（ステップ＃３０４）。なお、浮遊細胞結果データは前画像の一連の処理の結果、浮遊細胞として計数された領域から得られる領域位置、領域サイズ、ヒストグラムなどで構成され、浮遊細胞として計数された領域の数だけ複数存在する。画像処理部５は浮遊細胞推定データに浮遊細胞結果データを重ね合わせる。

[0093] 次に、画像処理部５は浮遊細胞結果データの近傍に浮遊細胞推定データがあるか否かを判別する（ステップ＃３０５）。なお、「近傍」の範囲は、例えばこれまでに観察されたｆｌｏｗの最大サイズから算出したり、加振部５０を用いて揺動部６０に振動を与えたときに設定した加振動作パラメータの振幅から決定したりする。

[0094] 浮遊細胞結果データの近傍に浮遊細胞推定データがある場合（ステップ＃３０５のＹｅｓ）、画像処理部５は前画像のその浮遊細胞結果データを破棄する（ステップ＃３０６）。すなわち、画像処理部５は浮遊細胞が前画像の位置から現画像の位置まで移動したとみなして現画像の浮遊細胞推定データを残す。

[0095] 一方、浮遊細胞結果データの近傍に浮遊細胞推定データがない場合（ステップ＃３０５のＮｏ）、画像処理部５は前画像のその浮遊細胞結果データをそのまま浮遊細胞推定データに追加する（ステップ＃３０７）。すなわち、画像処理部５は前画像で検出されていた浮遊細胞が現画像で検出されなかった場合への対応として浮遊細胞結果データを残す。

[0096] ステップ＃３０７の後、画像処理部５は前画像の浮遊細部の動領域についてヒストグラムを生成し、これを用いて近傍を探索して動領域を追跡する（ステップ＃３０８）。なお、「近傍」の範囲は、例えばこれまでに観察されたｆｌｏｗの最大サイズから算出したり、加振部５０を用いて揺動部６０に振動を与えたときに設定した加振動作パラメータの振幅から決定したりする。そして、画像処理部５はステップ＃３０８で検出された領域情報を用いて

、ステップ＃３０７で追加した浮遊細胞推定データを更新する（ステップ＃３０９）。

[0097] 次に、画像処理部５はステップ＃３０６で残された現画像の浮遊細胞推定データと、ステップ＃３０９で更新された浮遊細胞推定データとを現画像の浮遊細胞結果データとして格納する（ステップ＃３１０）。そして、画像処理部５は推定浮遊領域の追跡を行うべき前画像の浮遊細胞結果データが残っているか否かを判別する（ステップ＃３１１）。前画像の浮遊細胞結果データが残っている場合（ステップ＃３１１のＹｅｓ）、ステップ＃３０５に戻り、画像処理部５はステップ＃３０５～ステップ＃３１０までの処理を繰り返す。

[0098] ステップ＃３１１において前画像の浮遊細胞結果データが残っていない場合（ステップ＃３１１のＮｏ）、画像処理部５は現画像の浮遊細胞結果データを計数して浮遊細胞数とする（ステップ＃３１２）。そして、推定浮遊領域の追跡、積算に係る処理を終了する（図１７のエンド）。なお、現画像の浮遊細胞結果データは次回の推定浮遊領域の追跡、積算に係る処理において「前画像の浮遊細胞結果データ」として利用される。

[0099] 再び図１５に戻り、画像処理部５は上記のように推定浮遊領域の追跡、積算の後、浮遊細胞を計数する。すなわち、図１５の例では浮遊領域抽出画像ｋと画像ｋ＋１とに関して、細胞Ａ、細胞Ｂ、細胞Ｃの３個の細胞が計数される。

[0100] そして、図１５に示すように、画像処理部５は浮遊領域抽出画像ｋ＋１と画像ｋ＋２との画像間についても、同様の処理を実行する。ここで、画像ｋと画像ｋ＋１との画像間で移動したとされる特徴点と、画像ｋ＋１と画像ｋ＋２との画像間で算出したｆｌｏｗの起点となる特徴点とが同じ領域に存在する場合、画像形成部５はそれらが同じ細胞の動きに帰属すると判断する。すなわち、図１５の例では細胞Ｂ、細胞Ｃがこれに該当する。

[0101] 一方、このような動きをしていないと判断された画像ｋと画像ｋ＋１との画像間で検出された特徴点は画像ｋ＋１と画像ｋ＋２との画像間で移動しな

かったとして、その後浮遊細胞の計数に継続して含める。すなわち、図１５の例では細胞Ａがこれに該当する。なお、細胞Ｄは浮遊領域抽出画像ｋ＋１と画像ｋ＋２との画像間で新たに浮遊状態であると認められた細胞である。

[0102] 最終的に、浮遊領域抽出画像ｋ、画像ｋ＋１、画像ｋ＋２の３枚の画像間で、画像処理部５は細胞Ａ～Ｄの４個が浮遊状態であると判別する。

[0103] なお、加振部５０の加振動作パラメータを用いて得られた画像処理部５の前回の判別結果に基づき、今回加振部５０によって振動させるときの加振動作パラメータを調整しても良い。具体的には、図１７のフローによる繰り返し処理中に加振動作パラメータを調整していくことも可能である。画像処理部５の判別結果の例としては浮遊細胞の数や浮遊細胞の振幅などが挙げられ、加振動作パラメータの例としてはモータ５５の回転周波数や揺動部６０の振幅などが挙げられる。

[0104] 浮遊細胞や培養容器Ｓに局部的に付着している細胞の振動具合は未知であるが、加振動作パラメータを調整することによりその影響を受けて振動具合が変動すると考えられる。例えば、細胞の付着状態、浮遊状態の判別を行うための画像処理等では、例えば画像の解像度に対する細胞の振幅が好適な程度で、画像のサンプリングレートに対する細胞の振動周波数が小さい方が好ましいので、そのような振動具合が得られるよう前回の判別結果に基づき今回振動させるときの加振動作パラメータを調整する。

[0105] また、同じサンプルに対してより多くの浮遊細胞数が検出できる加振動作パラメータが見つかれば、その設定が浮遊細胞の判別にとって好適であるということになる。なお、これはサンプルを変えればもちろん、同じサンプルでも観察点が異なればその都度、前回の判別結果に基づき今回の加振動作パラメータの設定を調整することが望ましい。

[0106] このようにして、培養容器Ｓに局部的に付着している細胞の振動具合はモータ５５の回転周波数や揺動部６０の振幅などの影響を受けると考えられるので、加振動作パラメータを調整することにより培養容器Ｓに局部的に付着している細胞を浮遊細胞として明確に判別するのに好適な振動状況が得られ

る。

[0107] そして、上記実施形態のように振動中の画像を含む複数の異なる時点の画像を用いて画像間の位置ずれを補正するので、細胞が培養容器に局部的に付着している状態と培養容器に完全に付着している状態とが区別される。

[0108] 本発明の実施形態の構成によれば、複数の異なる時点の画像を用いて培養容器Ｓ内における培養液中の細胞の浮遊状態、付着状態を精度よく判別することが可能な撮像装置１を提供することができる。また、培養容器Ｓに局部的に付着している細胞を浮遊細胞として明確に判別することが可能な撮像装置１を提供することができる。

[0109] （第２の実施形態） 次に、本発明の第２の実施形態に係る撮像装置について、図１８～図２１を用いてその構造を説明する。図１８は撮像装置の正面図、図１９は撮像装置の構成を示すブロック図、図２０は撮像装置の加振部の正面図、図２１は加振部の側面図である。なお、この実施形態の基本的な構成は図１～図１７を用いて説明した前記第１の実施形態と同じであるので、第１の実施形態と共通する構成について図面の記載及びその説明を省略するものとする。

[0110] 第２の実施形態に係る撮像装置１０１は、図１８に示すようにその本体１０２が、床面に対して四箇所に設けられた弾性体たる脚部ゴム１０７を備える脚部１０６で支持されている。さらに、本体１０２はその側面に加振部１５０を接合して備えている。図１８及び図１９に示すように、加振部１５０は脚部ゴム１０７で支持された本体１０２を揺動部１６０として振動させる。

[0111] 加振部１５０は、図２０～図２１に示すようにベース１５１、レバー１５２、支軸１５３、接触片１５４、モータ１５５、偏心カム１５６、スライドガイド１５７、プッシャ１５８、及びプッシャバネ１５９を備えている。

[0112] ベース１５１は前後方向に延びる垂直部１５１ａ及び水平部１５１ｂを備えた正面から見てＬ字形状の板状部材で構成されている。このベース１５１の垂直部１５１ａにて加振部１５０は本体１０２に接合している。また、ベ

ース１５１は左右方向に延びる垂直壁で構成され、垂直部１５１ａと水平部１５１ｂとに連結してそれらの構成を補強する補強部１５１ｃを備えている。

[0113] レバー１５２は左右方向に向かって延びる形にして、支軸１５３でベース１５１の補強部１５１ｃに支持されている。支軸１５３はレバー１５２の最も外側の端部に設けられている。レバー１５２は支軸１５３を中心として垂直面内で回転可能にして支持されている。

[0114] 接触片１５４はレバー１５２の支軸１５３より内側、すなわち本体１０２側の箇所に設けられている。接触片１５４はレバー１５２に左右方向に向かって延びる形で設けられた長穴１５２ａに対して取り付けられ、この長穴１５２ａに沿って左右方向に取り付け箇所の変更が可能である。また、接触片１５４はローラ形状をなし、その周面である側面が接触片１５４の下方に位置するプッシャ１５８の上端部１５８ａに接触する。

[0115] モータ１５５及び偏心カム１５６はレバー１５２の支軸１５３が設けられた側と反対側の端部、すなわち本体１０２側の端部近傍に設けられている。モータ１５５は回転軸線が前後方向に水平をなして補強部１５１ｃに固定され、その最前部に偏心カム１５６が回転可能に取り付けられている。偏心カム１５６はその回転面が垂直をなし、そのカム形状を有する周面である側面がレバー１５２の上面に接触する。これにより、モータ１５５を駆動させて偏心カム１５６を回転させると、レバー１５２が支軸１５３を中心としてその本体１０２側、すなわち接触片１５４を上下に変位させるように揺動する。

[0116] なお、スライドガイド１５７がレバー１５２の本体１０２側端部の箇所の垂直部１５１ａに設けられている。そして、スライドガイド１５７の上下方向に延びるガイド溝１５７ａ内にレバー１５２の本体１０２側端部が収められている。これにより、スライドガイド１５７はレバー１５２を上下方向にのみ移動可能に案内し、前後方向への移動を制限している。

[0117] プッシャ１５８は接触片１５４の下方に配置されている。プッシャ１５８

はベース１５１の水平部１５１ｂを貫通して上下方向に延び、その上端部１５８ａが接触片１５４に、下端部が床面に当接している。また、プッシャ１５８は水平部１５１ｂに左右方向に向かって延びる形で設けられた長穴１５１ｄに対して取り付けられ、この長穴１５１ｄに沿って左右方向に取り付け箇所の変更が可能である。

[0118] なお、プッシャバネ１５９がプッシャ１５８の上端部１５８ａと水平部１５１ｂの上面との間に設けられている。プッシャ１５８の上端部１５８ａを接触片１５４に、さらにレバー１５２を偏心カム１５６に押し付けるようにプッシャバネ１５９の弾性力が作用しているので、プッシャ１５８とレバー１５２とが常に偏心カム１５６のカム形状に連動して揺動する。

[0119] モータ１５５の駆動によりレバー１５２が偏心カム１５６のカム形状に連動して揺動すると接触片１５４も揺動し、接触片１５４に接触するプッシャ１５８の上端部１５８ａとプッシャバネ１５９を介してベース１５１の水平部１５１ｂが上下方向に押されることとなる。その結果、ベース１５１が接合された本体１０２は脚部ゴム１０７で支持されているので、脚部ゴム１０７が弾性変形し、本体１０２が左右にも揺動する。

[0120] このようにして、加振部１５０は揺動部１６０である本体１０２に接合され、本体１０２に振動を与えるように動作する。このとき、加振部１５０は撮像装置１０１の脚部１０６に設けた脚部ゴム１０７の変位より小さい振幅で振動させる。これにより、加振部１５０が揺動部１６０と一緒に振動するので、装置全体が振動する撮像装置１０１を構成することができる。

[0121] また、撮像部１１０を揺動部１６０に設けたことにより、容器把持部１３２と撮像部１１０とが一緒に揺動部１６０に設けられていることになるので、容器把持部１３２と撮像部１１０とに対して同時に、同じ振動を与えることができる。したがって、培養容器Ｓと撮像部１１０との間の相対的な変位を抑制でき、異なる時点の画像間の位置ずれを防止する作用がより高められる。

[0122] また、接触片１５４の取り付け位置を長穴１５２ａに沿って左右方向に変

更し、同時にプッシャ１５８の取り付け位置を長穴１５１ｄに沿って左右方向に変更することにより本体１０２とプッシャ１５８との相対位置が変更できるので、本体１０２の振幅が変更可能である。このようにして、加振部１５０は加振動作パラメータのひとつである本体１０２の振幅の調整が可能である。

[0123] 以上、本発明の実施形態につき説明したが、本発明の範囲はこれに限定されるものではなく、発明の主旨を逸脱しない範囲で種々の変更を加えて実施することができる。

[0124] 例えば、細胞の局部的な付着状態の判別に関して、図１５において浮遊領域抽出画像を画像ｋ、画像ｋ＋１、画像ｋ＋２の３枚用いて判別結果を積算することとしたが、画像は３枚に限定されるわけではなく、２枚または４枚以上であっても構わない。

[0125] また、第１の実施形態で揺動部６０を支持する弾性体であるゴム３４や、第２の実施形態で揺動部１６０を支持する弾性体である脚部ゴム１０７は無くても構わない。また、弾性体はゴムに限定されるわけではなく、バネやスポンジなどであっても構わない。

[0126] また、本発明の撮像装置１を例えば培養装置に組み込んだ場合、細胞の浮遊状態、付着状態の判別の結果として多寡を評価するものは、上記浮遊細胞数のほか、浮遊細胞率（サンプル中の細胞数に占める浮遊細胞の割合）などを用いても構わない。

産業上の利用可能性

[0127] 本発明は、培養容器内の培養液中の細胞の浮遊状態、付着状態を判別する撮像装置において利用可能である。

符号の説明

[0128] １、１０１ 撮像装置

２、１０２ 本体

３、１０３ 制御部

４、１０４ 画像補正部

５、１０５　画像処理部

１０、１１０　撮像部

２０、１２０　照明部

３０、１３０　ステージ部

３１　ホルダ

３２、１３２　容器把持部

３４　ゴム（弾性体）

４０、１４０　駆動部

５０、１５０　加振部

６０、１６０　揺動部

１０６　脚部

１０７　脚部ゴム（弾性体）

Ｓ　　培養容器

請求の範囲

[請求項1] 細胞と培養液とが入った容器を把持する容器把持部と、

前記容器把持部が設けられた揺動部と、

前記揺動部に振動を与える加振部と、

前記容器内の細胞を画像として撮像する撮像部と、

前記撮像部が撮像した少なくとも一の振動中の画像を含む複数の撮像場所の画像を用いて、撮像場所が異なることにより生じる画像間の位置ずれを補正する画像補正部と、

前記撮像部が撮像した画像と前記画像補正部が補正した画像とを用いて細胞の浮遊状態または付着状態を判別する画像処理部と、

を備えることを特徴とする撮像装置。

[請求項2] 前記画像補正部は、一の画像における第１の特徴点の位置と、他の画像における前記第１の特徴点に対応する第２の特徴点の位置との差から画像間の位置ずれを識別し、その位置ずれを補正した画像を生成することを特徴とする請求項１に記載の撮像装置。

[請求項3] 前記画像補正部は、二の画像間で対応する二の特徴点の位置に基づき平行移動、回転移動の画像変換を行うことを特徴とする請求項１または請求項２に記載の撮像装置。

[請求項4] 前記画像処理部は、三以上の異なる時点の画像を用い、各画像間の差分により導出した画像における細胞の浮遊領域候補を各差分間で追跡、積算することにより細胞の浮遊状態を判別することを特徴とする請求項１～請求項３のいずれか１項に記載の撮像装置。

[請求項5] 前記揺動部は、弾性体によって支持されていることを特徴とする請求項１～請求項４のいずれか１項に記載の撮像装置。

[請求項6] 前記加振部は、前記揺動部に接合され、前記弾性体の変位より小さい振幅で振動させることを特徴とする請求項５に記載の撮像装置。

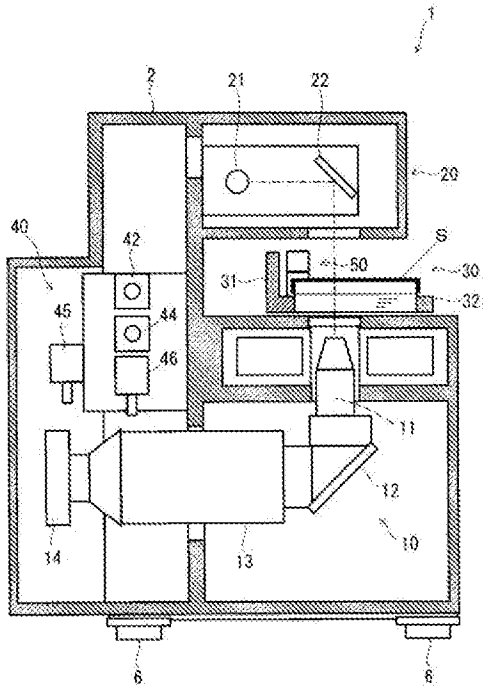
[請求項7] ホルダにて支持された前記容器把持部を水平方向に移動させるステージ部を備え、

前記加振部は、前記揺動部と前記ホルダとの間に存在する支点によって前記揺動部を振動させることを特徴とする請求項１～請求項６のいずれか１項に記載の撮像装置。

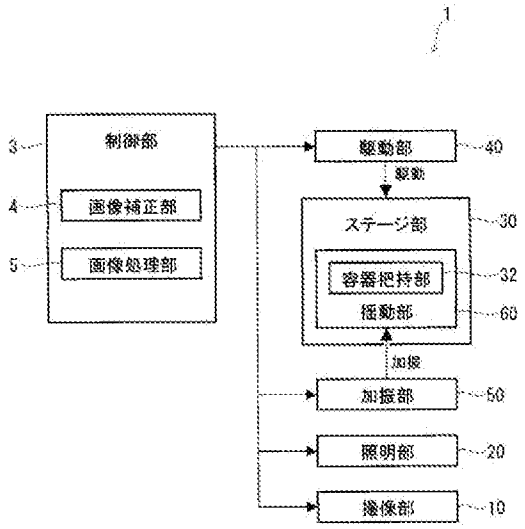
［請求項8］ 前記撮像部は、前記揺動部に設けられることを特徴とする請求項１～請求項６のいずれか１項に記載の撮像装置。

［請求項9］ 前記加振部が加振動作パラメータを調整可能に構成され、前記加振動作パラメータを用いて得られた前記画像処理部の前回の判別結果に基づき今回の前記加振動作パラメータを調整することを特徴とする請求項１～請求項７のいずれか１項に記載の撮像装置。

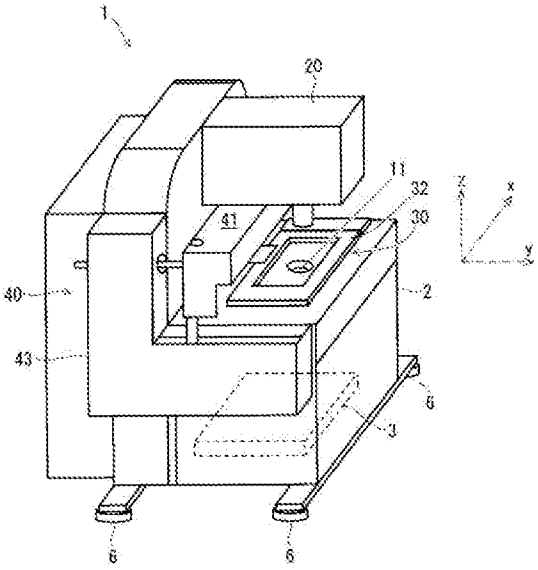
[図1]


1
2
21
22
20
40
42
S
50
30
31
32
45
44
46
11
12
10
14
13
6
6

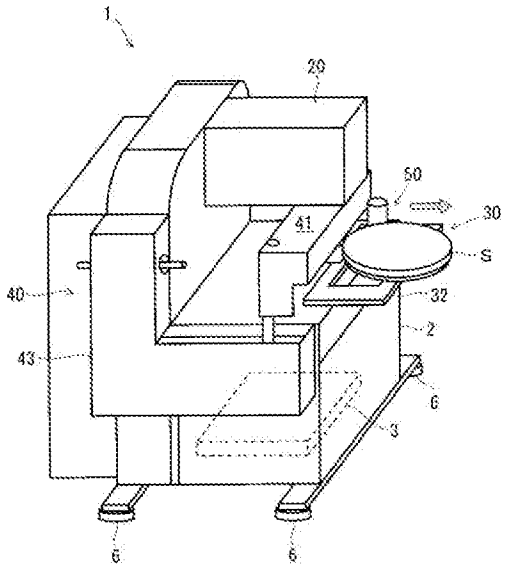
[図2]


1
3
制御部
4
画像補正部
5
画像処理部
駆動部
40
駆動
ステージ部
30
容器把持部
32
傾動部
60
加振
加振部
50
照明部
20
撮像部
10

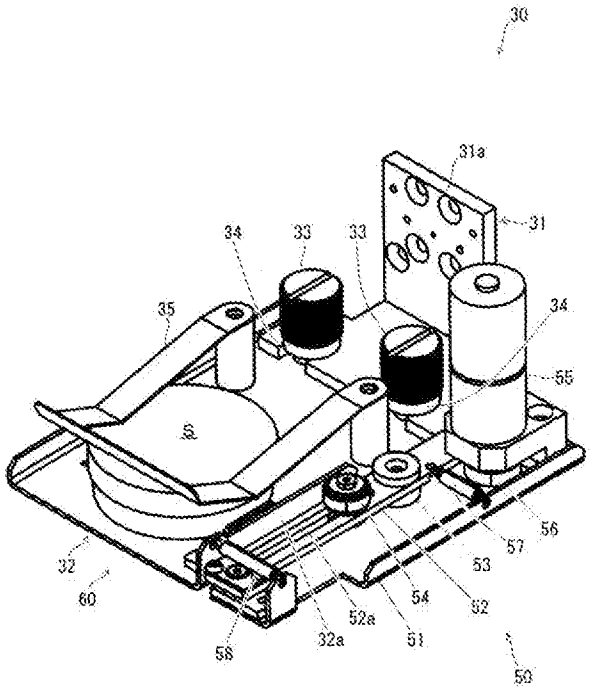
[図3]


1
20
11
32
30
41
z
x
y
40
2
43
6
3
6
6

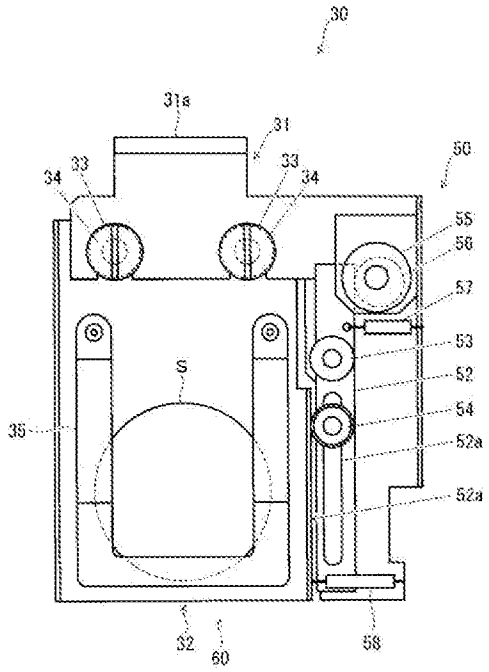
[図4]


1
29
50
30
41
S
40
32
2
43
6
3
6
6

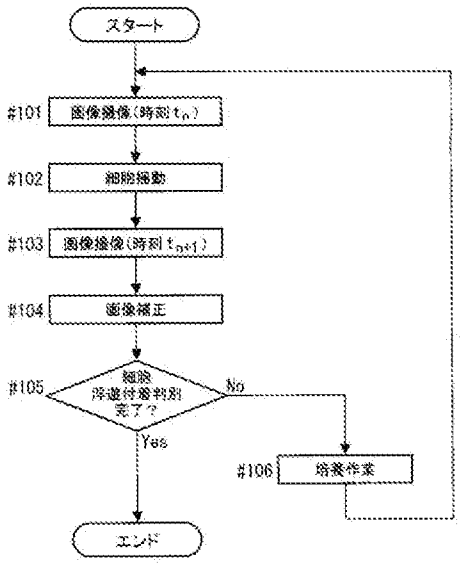
[図5]


30
31a
31
34
33
33
34
35
55
S
56
57
53
32
60
54
52
52a
32a
51
58
59

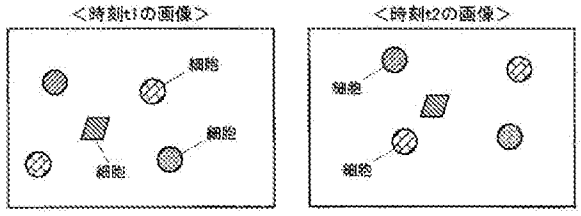
[図6]


30
31a
31
33
33
34
34
50
55
56
57
53
52
54
52a
52a
S
35
32
60
58

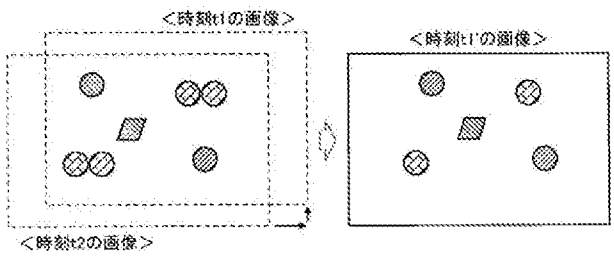
[図7]


スタート
#101
画像撮像(時刻 t_n)
#102
細胞検数
#103
画像撮像(時刻 t_{n+1})
#104
画像補正
#105
細胞
浮遊付着判別
完了?
No
Yes
#106
培養作業
エンド

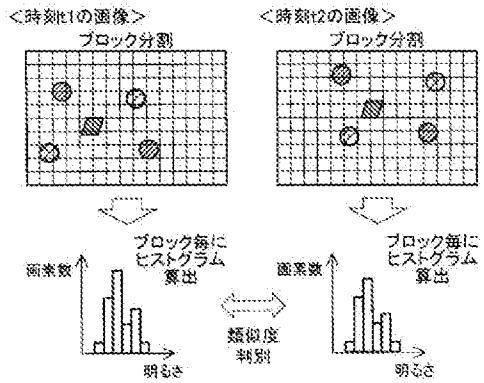
[図8]


<時刻t1の画像>
<時刻t2の画像>
細胞
細胞
細胞
細胞
細胞

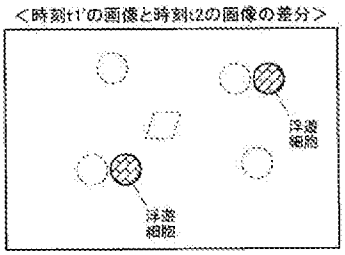
[図9]


<時刻t1の画像>
<時刻t1'の画像>
<時刻t2の画像>

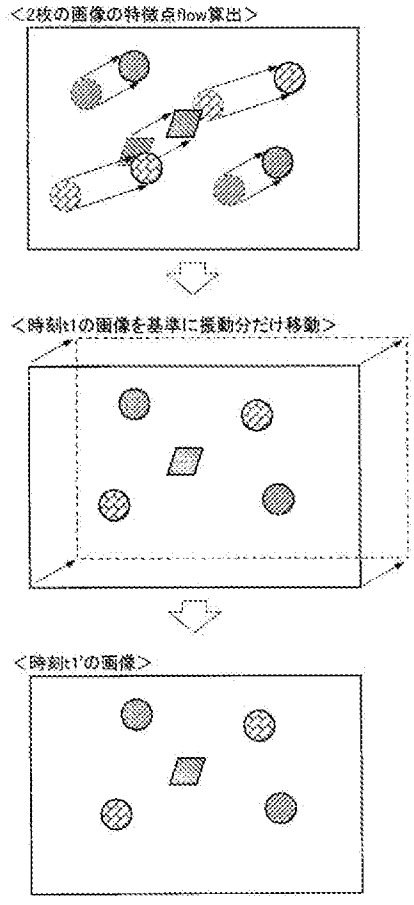
[図10]


<時刻t1の画像>
ブロック分割
<時刻t2の画像>
ブロック分割
ブロック毎に
ヒストグラム
算出
画素数
明るさ
類似度
判別
ブロック毎に
ヒストグラム
算出
画素数
明るさ

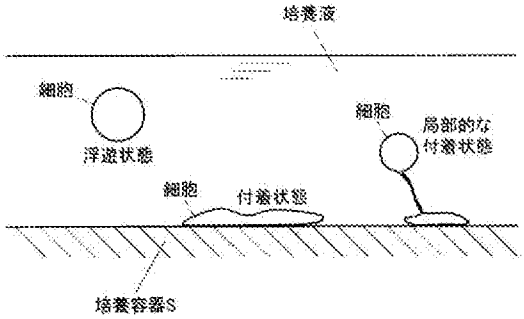
[図11]


<時刻t1'の画像と時刻t2の画像の差分>
浮遊
細胞
浮遊
細胞

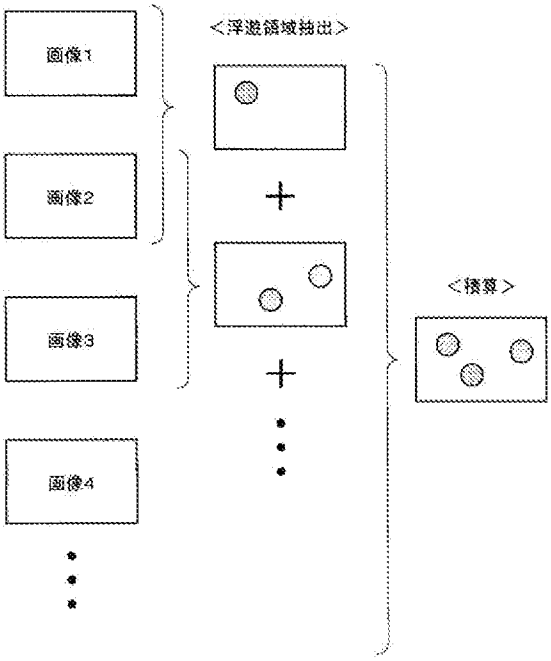
[図12]


<2枚の画像の特徴点flow算出>
<時刻t1の画像を基準に振動分だけ移動>
<時刻t1'の画像>

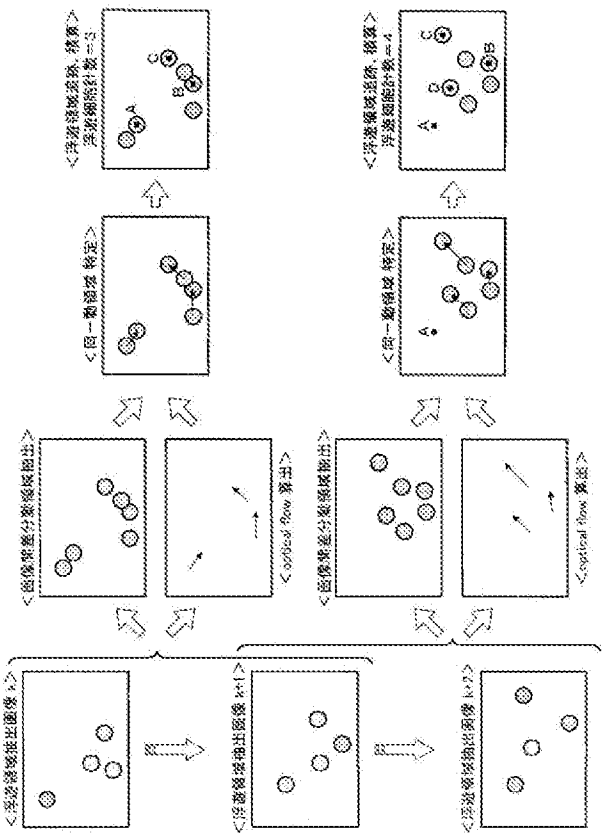
[図13]


培養液
細胞
浮遊状態
細胞
局部的な
付着状態
細胞
付着状態
培養容器S

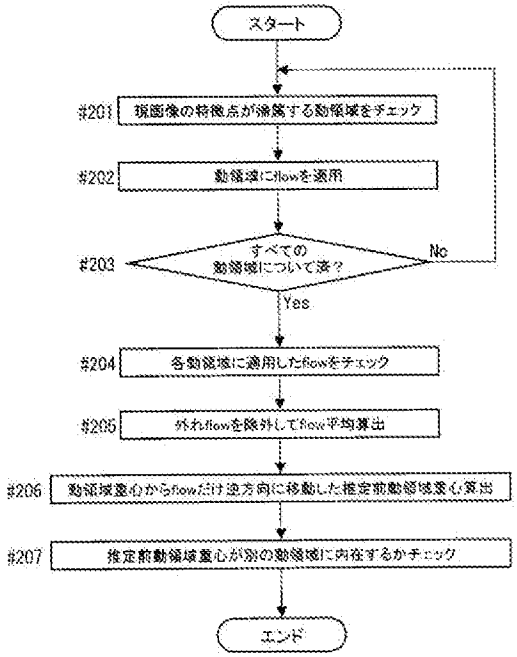
[図14]


画像1
画像2
画像3
画像4
＜浮遊領域抽出＞
＜積算＞

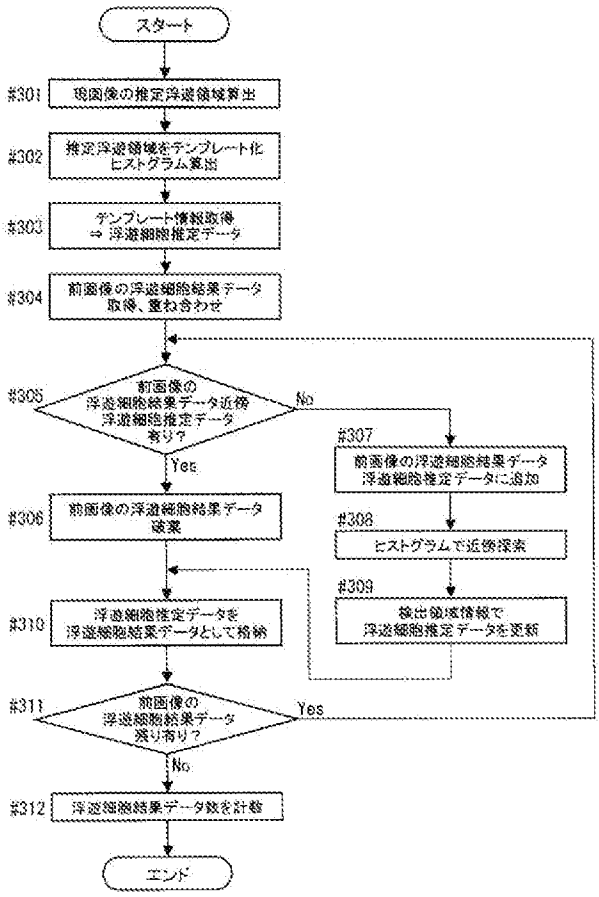
[図15]



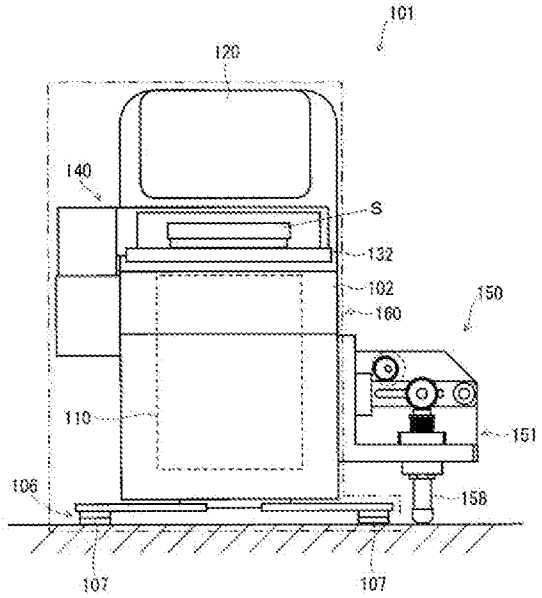
[図16]


スタート
#201
現画像の特徴点が帰属する動領域をチェック
#202
動領域にflowを適用
#203
すべての動領域について済？
No
Yes
#204
各動領域に適用したflowをチェック
#205
外れflowを除外してflow平均算出
#206
動領域重心からflow分け逆方向に移動した推定前動領域重心算出
#207
推定前動領域重心が別の動領域に内在するかチェック
エンド

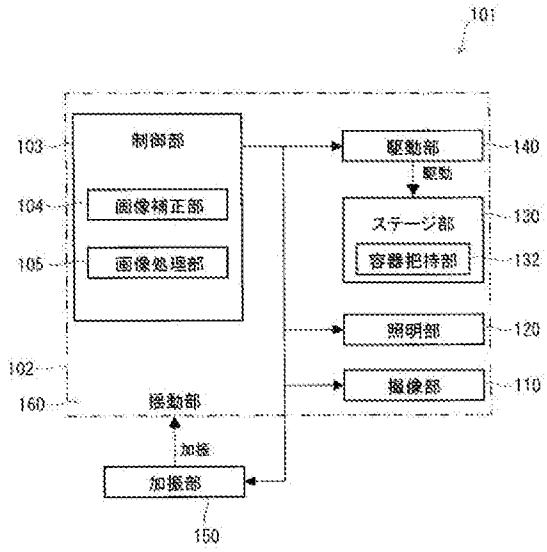
[図17]


スタート
#301
現画像の推定浮遊領域算出
#302
推定浮遊領域をテンプレート化
ヒストグラム算出
#303
テンプレート情報取得
⇒ 浮遊細胞推定データ
#304
前画像の浮遊細胞結果データ
取得、重ね合わせ
#305
前画像の
浮遊細胞結果データ近傍
浮遊細胞推定データ
有り？
No
Yes
#306
前画像の浮遊細胞結果データ
破棄
#307
前画像の浮遊細胞結果データ
浮遊細胞推定データに追加
#308
ヒストグラムで近傍探索
#309
検出領域情報で
浮遊細胞推定データを更新
#310
浮遊細胞推定データを
浮遊細胞結果データとして格納
#311
前画像の
浮遊細胞結果データ
残り有り？
Yes
No
#312
浮遊細胞結果データ数を計数
エンド

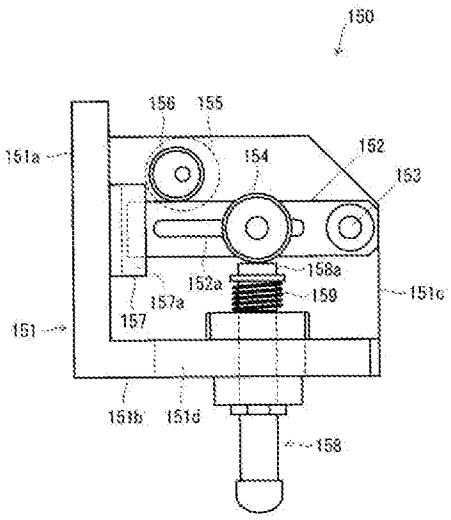
[図18]


101
120
140
S
132
102
160
150
110
151
106
158
107
107

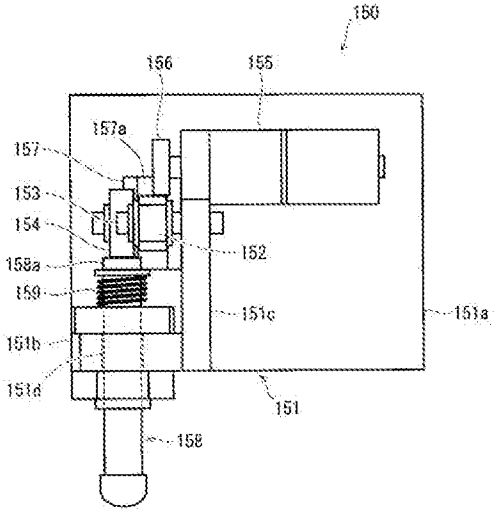
[図19]


101
制御部
103
画像補正部
104
画像処理部
105
駆動部
140
駆動
ステージ部
130
容器把持部
132
照明部
120
撮像部
110
102
160
振動部
加振
加振部
150

[図20]


150
156
155
151a
154
152
153
158a
152a
159
151c
157a
157
151
151b
151d
158

[図21]


150
156
155
157a
157
153
154
152
158a
159
151c
151a
151b
151d
151
158

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2011/066488

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C12M1/34(2006.01)i, *G06T1/00*(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12M1/34, G06T1/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2011
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2011	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2011

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2007-275030 A (Kawasaki Heavy Industries, Ltd.), 25 October 2007 (25.10.2007), & US 2009/0304257 A1 & EP 2014773 A1 & WO 2007/119764 A1	1-9
A	WO 2007/136073 A1 (Nikon Corp.), 29 November 2007 (29.11.2007), & US 2009/0081769 A1 & EP 2022845 A1	1-9
A	JP 2004-361086 A (Olympus Corp.), 24 December 2004 (24.12.2004), (Family: none)	1-9
A	JP 2009-162974 A (Olympus Corp.), 23 July 2009 (23.07.2009), (Family: none)	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
16 September, 2011 (16.09.11)	27 September, 2011 (27.09.11)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１１／０６６４８８

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C12M1/34(2006.01)i, G06T1/00(2006.01)i

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C12M1/34, G06T1/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０１１年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１１年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１１年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	JP 2007-275030 A (川崎重工業株式会社) 2007.10.25, & US 2009/0304257 A1 & EP 2014773 A1 & WO 2007/119764 A1	1-9
A	WO 2007/136073 A1 (株式会社ニコン) 2007.11.29, & US 2009/0081769 A1 & EP 2022845 A1	1-9
A	JP 2004-361086 A (オリンパス株式会社) 2004.12.24, (ファミリーなし)	1-9

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
１６．０９．２０１１	２７．０９．２０１１

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
郵便番号１００－８９１５
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

特許庁審査官（権限のある職員）　４Ｂ　３５３９
福間　信子
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４４８

C（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
A	JP 2009-162974 A (オリンパス株式会社) 2009.07.23, (ファミリーなし)	1-9