

# 视觉伺服控制微机械手的细胞注射研究

钟辉, 郭阿全, 席文明

( 厦门大学机电系, 厦门大学萨本栋机电中心 BioMEMS 研究室, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 细胞注射前, 利用伺服控制方程计算的误差矩阵对系统进行标定, 减小显微视觉系统和机械手系统间的坐标变换误差。系统误差标定后, 利用显微镜聚焦—失焦技术获得深度信息, 将细胞、负压管和注射针定位到同一平面上, 定位误差达到  $0.3806\mu\text{m}$ , 再结合光学流跟踪法, 轨迹误差由 (7, 13) 像素减小 (0, 1) 像素。误差矩阵的应用非常有利于实时控制。利用纳米驱动平台设计微注射泵和负压泵, 通过脉冲控制药液注射量的大小, 注射泵理论注射量可以达到 3.2 皮升, 负压泵可以安全地吸附住细胞。实验结果表明, 利用上述各种技术, 可以方便地完成细胞显微注射。

**关键词:** 显微镜聚焦—失焦 误差矩阵 光学流跟踪 微量注射

中图分类号: TH789

文献标识码: A

文章编号: 1672-545X(2007)04-0021-03

将微量生物物质注射到细胞中的方法广泛应用于生物遗传学<sup>[1]</sup>, 特别是在体外遗传注射和 DNA 克隆技术<sup>[2]</sup>。对胚胎、细胞、染色体、DNA 等的操纵在生物技术中起关键作用<sup>[3]</sup>。

细胞注射系统包括微机械手系统、显微镜视觉系统。要完成细胞注射, 系统精度必须达到微米级。细胞注射通常是在显微镜坐标系中完成对机械手末端执行器的控制, 这就要求建立显微镜视觉系统和微机械手系统之间的映射关系, 即上述两个坐标系统的变换关系。采用不同的控制方法, 对坐标变换矩阵的标定精度要求也不同。基于位置的视觉伺服<sup>[4]</sup>, 要求坐标系间有很高的标定精度; 而基于图像的视觉伺服<sup>[4]</sup>, 并不要求对坐标系间进行精确的标定, 因为该方法利用跟踪特征点现有位置与目标位置的坐标差来驱动机械手运动, 在每个采样周期后, 不断对坐标差进行调整, 从而消除各坐标系之间的误差。但是如果系统坐标系间的误差较大, 为了保证跟踪轨迹精度, 必须采用小的采样间隔, 这必将影响系统的实时性。所以基于图像的视觉跟踪同样也需要对系统各坐标系位置关系进行标定。

与文献<sup>[5-7]</sup>标定方法不同, 本文利用推导的伺服控制方程计算误差矩阵, 只要机械手在图像空间走一组点, 然后将该组点的位置代入伺服控制方程, 就可以求得误差矩阵, 从而完成对系统坐标间的标定。误差矩阵的应用使误差限定在一个小范围内, 有利于实时控制。基于视觉伺服控制的细胞注射, 深度信息的获得很重要。利用显微镜聚焦—失焦技术<sup>[8]</sup>获得深度信息, 并将该信息集成到伺服控制方程中, 可以控制细胞、注射针、负压管处于同一平面, 方便细胞注射。为了提高注射针轨迹精度, 注射针尖采用光学流方法进行跟踪<sup>[9]</sup>。本文利用纳米驱动平台推动注射器, 通过脉冲控制药液注射量的大小, 并对注射泵理论注射量进行了测量, 也对负压泵进行了细胞固定过程的测试。

## 1 误差矩阵推导

### 1.1 深度信息获取

对于细胞注射系统, 如果丢失深度信息, 常会产生严重的后果, 致使细胞注射失败。如: 玻璃注射针与载物台相碰, 造成注射针碰断; 注射针不从细胞中间部分穿刺, 造成细胞刺破等。采用聚焦—失焦法是获得深度信息比较理想的方法<sup>[8]</sup>。图像是否聚焦, 表现为图像的边界或细节部分是否清晰, 可以利用图像边界或细节部分的灰度值变化情况来作为聚焦的判断。这样就可以设计一估计器, 计算某一区域图像的灰度变化之和  $F$ 。沿  $Z$  轴移动, 利用估计器不断计算对应图像的  $F$  值, 当  $F$  值达到最大  $F_{\text{max}}$  时, 该区域就处于焦平面上。用拉普拉斯算子作为估计器可以实现这一目的, 拉普拉斯算子为:

$$\nabla^2 I_M = |2I(x, y) - I(x-1, y) - I(x+1, y)| + |2I(x, y) - I(x, y-1) - I(x, y+1)| \quad (1)$$

式中:  $I$  为对应像素点的灰度值,  $\nabla^2 I_M$  是相邻点灰度值微分。

如果图像区域大小为  $N \times N$ , 灰度变化之和为:

$$F = \sum_{x=1}^{n-1} \sum_{y=1}^{n-1} \nabla^2 I_M \quad (2)$$

要得到高的测量精度, 显微镜物镜每次移动的距离必须很小, 这势必增加图像的处理量, 不利于操作的实时性。一般来说, 式 2) 中的  $F$  与镜头移动距离  $d$  是正态分布的关系, 可以写出  $F$  的分布

$$1nF = 1nF_{\text{max}} - \frac{1}{2} \left( \frac{d - \bar{d}}{\sigma} \right)^2 \quad (3)$$

式中:  $F_{\text{max}}$  为正态分布的灰度最大值,  $\sigma$  为正态分布的方差,  $\bar{d}$  为正态分布的坐标均值, 表示的是距离大小, 是与  $F_{\text{max}}$  对应的镜头移动距离。

设有 3 个位置  $d_{m-1}$ ,  $d_m$ ,  $d_{m+1}$ , 对应的的  $F$  测量值分别为  $F_{m-1}$ ,  $F_m$ ,  $F_{m+1}$  (且  $F_m > F_{m-1}$ ,  $F_m > F_{m+1}$ ), 代入式 3) 得到 3 个方程, 解出得:

$$\bar{d} = \frac{(1nF_{m-1} - 1nF_{m+1})(d_{m-1}^2 - d_{m+1}^2)}{2[d((1nF_{m-1} - 1nF_{m+1}) + (1nF_{m-1} - 1nF_{m+1}))]}$$

收稿日期: 2007-01-18

作者简介: 钟辉 (1983-), 男, 江西瑞金人, 厦门大学机电系 2005 级硕士研究生, 研究方向: 微操作与微装配; 郭阿全 (1982-), 男, 福建漳州人, 厦门大学机电系 2005 级硕士研究生, 研究方向: 自动控制; 席文明 (1965-), 男, 江苏人, 厦门大学机电系副教授, 研究方向: 微操作与微装配。

$$-\frac{(1nF_m - 1nF_{m-1})(d_m^2 - d_{m+1}^2)}{2d\{(1nF_m - 1nF_{m-1}) + (1nF_m - 1nF_{m+1})\}}$$

式中  $d = d_m - d_{m+1} = d_{m+1} - d_m$

这样,测得3个位置的F就可计算出某一区域焦平面的位置。

### 1.2 伺服控制方程和误差矩阵推导

由文献[8]可以得到细胞注射系统的伺服控制方程

$$u(k) = -(tJ_v^T W_e t J_v + W_{in})^{-1} t J_v^T W_e [x(k) x_D(k+1)] \quad (5)$$

式中:  $u(k) = [\dot{x}_t \quad \dot{y}_t \quad \dot{z}_t]^T$  是机械手运动速度,  $t$  为视觉系统的采样时间,  $J_v$  为视觉雅可比矩阵,  $W_e, W_{in}$  为跟踪的误差权重矩阵和控制输入的权重矩阵,  $k$  为采样间隔,  $x(k)$  为点的图像现有位置和点在深度方向的位置,  $x_D(k+1)$  为点的图像希望运动到的目标位置和点在深度方向希望运动到的位置。

$$J_v = \begin{bmatrix} -\frac{m}{d_x} & & & \\ & -\frac{m}{d_y} & & \\ & & & -1 \end{bmatrix} \quad (6)$$

式中:  $m$  为显微镜的放大倍数,  $d_x, d_y$  为像平面像素点在  $x, y$  向的大小。

在像平面控制机械手的空间运动时,图像空间并没有深度方向的信息,所以需要聚焦——失焦技术获得注射针的深度信息,代入(5)式  $x(k)$  中,然后将希望运动到的深度位置代入(5)式  $x_D(k+1)$  中。

由(5)式,令  $t=1, W_{in}=1, x(k) - x_D(k+1) = X$  为每个采样间隔特征点走的距离,则

$$(J_v^T W_e J_v + I)u = J_v^T W_e X \quad (7)$$

$J_v^T$  是对角阵,所以  $J_v^T = J_v$ , 化简得:

$$J_v W_e (J_v u + X) = -u \quad (8)$$

要计算  $W_e$ , 必须知道  $J_v$ , 所以在计算  $W_e$  前, 必须利用机械手标定出  $J_v$ , 方法是让机械手在空间水平面上, 沿水平方向和垂直方向分别走一段距离  $h$ , 然后在图像空间计算  $h$  的大小  $S$ , 两值之比即为水平方向和垂直方向的标定结果, 分别用  $K_x$  和  $K_y$  表示。

标定结果为:

$$J_v = \begin{bmatrix} -\frac{m}{d_x} & & & \\ & -\frac{m}{d_y} & & \\ & & & -1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -K_x & & & \\ & -K_y & & \\ & & & -1 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -0.758 & & & \\ & -0.629 & & \\ & & & -1 \end{bmatrix} \quad (9)$$

## 2 误差矩阵计算方法

假设要使注射针针尖在图像坐标系中从  $O$  点运动到  $a$  点, 由于机械手坐标系与显微镜视觉坐标系并不重合, 即使机械手沿着它自己的  $X$  轴移动, 实际在图像坐标系上, 注射针针尖并不能运动到  $a$  点 (见图 1 a) 所示), 而是运动到  $a'$  点。要使机械手从  $a'$  点运动到  $a$  点, 就必须有一个矩阵来对这个误差进行补偿, 这就是误差矩阵。

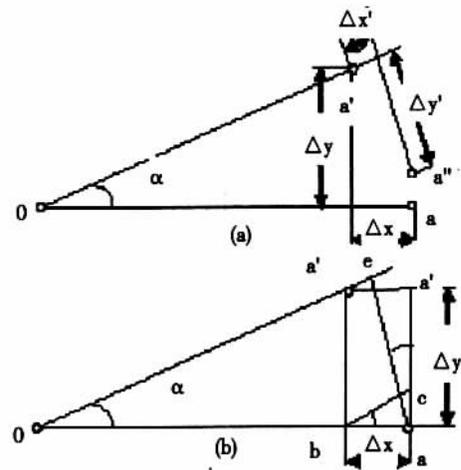


图 1 误差矩阵计算原理

以固定距离 (如  $50\mu m$ ) 移动机械手, 得出一组坐标, 即图像中理想的  $a$  点坐标和机械手实际在图像坐标系中的坐标。在误差调整时, 机械手并不能直接调整一个  $x$  和  $y$  距离, 因为机械手在图像坐标系中是沿  $Oa'$  和垂直  $Oa'$  方向运动, 如果沿机械手的水平和垂直方向直接调整  $x$  和  $y$  距离, 图像上机械手会调整到  $x'$  和  $y'$  (见图 1 a) 所示) 误差仍然较大。为了尽量减小该误差必须使调整距离大于  $x$  和  $y$ , 用  $bc$  和  $ae$  代替需调整的  $x$  和  $y$ , 图中  $Oa' = Oa$ , 从而减小调整误差 (见图 1 (b) 所示)。因为  $\cos\alpha = \frac{Ob}{Oa'} = \frac{Ob}{Oa}$ , 所以  $bc = \frac{x}{\cos\alpha} = x \frac{Oa}{Ob}$ ;  $ae = \frac{y}{\cos\alpha} = y \frac{Oa}{Ob}$ 。  $Oa, Ob, x$  和  $y$  可从图像中直接获得, 这样连续走三个点, 就可以得到三组  $x$  坐标和三组  $u$  坐标, 其中,  $u$  是机械手空间变量, 需要将图 1 上的调整坐标映射到机械手空间, 即用各坐标调整分量分别乘  $k_x, k_y$ 。将三组数据代入(8)式, 就可以求得  $W_e$ 。

## 3 特征点跟踪

特征点在图像平面的运动轨迹称为光学流 (Optical Flow), 光学流能够给出被跟踪物体的空间排列和速度变化。SSD (Modified Sum of Squared Difference) 是一种改进的光学流方法, 该方法适合特征点的跟踪。图像序列的灰度通常可以用空间变量  $x$  和  $y$  和  $t$  时间变量表示, 即  $I(x, y, t)$ 。假设被跟踪的特征形状不变, 在图像  $A$  中, 有一个特征点在一个大小为  $N \times N$  的窗口中, 用  $P_A(x_A, y_A)$  表示, 如果该点运动后, 在图像  $B$  中, 用  $P_B(x_A + dx, y_A + dy)$  表示。假设在小的采样时间内, 在  $P_A(x_A, y_A)$  的临近区域内,  $dx, dy$  足够的小, 图像特征的光强是不变的, 那么 SSD 估计器选择位移  $X = \{dx, dy\}$  去最小化 SSD 测量

$$e(P_A, X) = \sum_{m,n} [I_A(x_A + m, y_A + n) I_B(x_A + m + d_x, y_A + n + d_y)] \quad (10)$$

式中:  $X \in L$ , 是一个长度量, 限制  $X$  的大小,  $I_A$  和  $I_B$  是特征点在图像  $A$  和图像  $B$  中的灰度函数。

## 4 实验结果

实验系统见图2, 由下列设备组成, 微生物操作机械手 (MP-285, 三自由度, 美国 Sutter 公司, 40 纳米精度)、三自由度手动机械手 (自制)、纳米运动平台 M-112.1DG, 两只, 德国 PI 公司, 20 纳米精度)、倒置显微镜 AE31, 中国麦克奥迪公司)、CCD UC-930CL, 美国 Uniq 公司)、图像捕捉卡 (METORII, 加拿大 Matrox 公司)、注射泵 (由纳米平台驱动) 和负压泵 (由纳米平台驱动)。

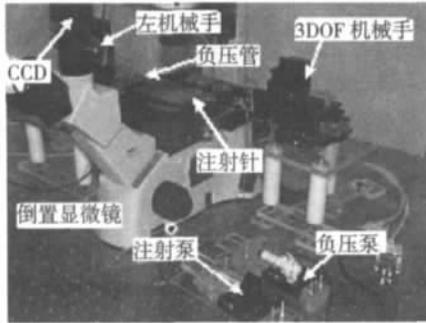


图2 细胞注射系统

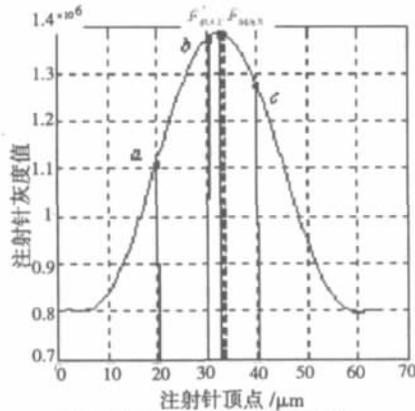


图3 注射针顶端聚焦灰度曲线

图3是注射针的聚焦曲线, 将任意测量的 a (20, 1111926)、b (30, 1383075) 和 c (40, 1254082) 三点代入 (4) 式, 计算聚焦位置为  $F_{MAX}=33.3806\mu\text{m}$ , 从图中可以看出, 聚焦时物体图像的最大灰度微分值为 1393221, 位置为  $F_{MAX}=33\mu\text{m}$ , 误差仅为  $0.3806\mu\text{m}$ 。在细胞、负压管和注射针的聚焦过程中, 只是对细胞边缘、负压管和注射针针尖的一个很小边界区域进行灰度微分计算, 有利于实时控制。

误差矩阵为:

$$W_e = \begin{bmatrix} 2.22295759 & 1.65576435 & 2.13410792 \\ 0.00013764 & -2.52912544 & 1.42839542 \\ 0 & 0 & -1.10288065 \end{bmatrix}$$

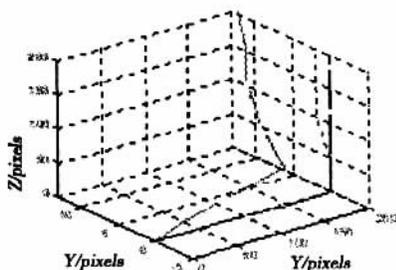


图4 理论轨迹、实际轨迹以及 SSD 轨迹比较

图4是利用伺服控制方程 (5) 以及 SSD 方法, 控制机械手在三维空间运动一空间折线轨迹, 实线是注射针针尖理想轨迹, 虚线是实际轨迹, 点划线是标定误差矩阵后结合 SSD 法控制的轨迹, 从图中可以看出, 注射针针尖实际轨迹在 X 向的最大误差为 7pixels, 在 Y 向的最大误差为 13pixels。而误差矩阵标定后, 用 SSD 法跟踪的注射针针尖实际轨迹, 在 X 向的误差为 0pixels, 在 Y 向的最大误差为 1pixels, SSD 法轨迹几乎和理想轨迹重合。

在细胞注射前, 对微量注射泵的理论注射量进行了测试。为克服毛细管现象, 将注射针替换为内径是  $735.05\mu\text{m}$  的毛细管, 给纳米平台一定的脉冲数, 观察负压管中液面的移动距离。

利用 (11) 式可以计算出每个脉冲注射泵的注射量

$$V = \frac{\pi \times D^2 \times K_s \times L}{4 \times m} \quad (11)$$

式中: L 为负压管中液面移动距离, 单位为像素, D 为负压管内径, m 为纳米平台脉冲数。

经测量  $D=735.05\mu\text{m}$ ,  $m=500$ ,  $L=5\text{pixels}$ ,  $K_s=0.758\mu\text{m}/\text{pixels}$ , 时,  $V=3.215\text{Pl}$ 。实际注射时, 利用负压管现象将微量物质吸入注射针, 然后将该微量物质注射进细胞。

与注射泵一样, 负压泵也由注射器和纳米驱动平台组成, 只不过负压泵的注射器管径大于注射泵的管径。

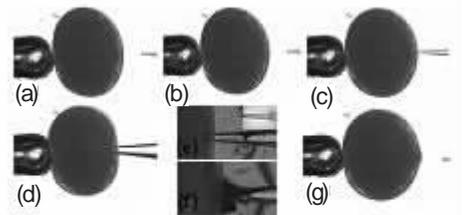


图5是细胞注射过程, 首先, 将负压管和细胞聚焦, 这时注射针是失焦的 (见图5 a)。利用式 (2) 计算注射针针尖图像灰度值, 移动三次后, 利用式 (4) 计算机手聚焦位置, 将机械手现有位置代入式 (5) 的, 聚焦位置代入, 利用公式 (5) 控制注射针运动到聚焦位置 (见图5 b)。在图像上确定注射点位置, 并将该位置代入, 而注射针聚焦位置代入, 然后利用公式 (5) 控制注射针运动到注射点位置 (见图5 c)。在注射点控制注射针插入细胞 (见图5 d)。将微量物质注射进细胞后, 细胞涨大 (见放大的图5 e) 和 (5 f)。最后, 注射针退出细胞 (见图5 g)。在注射针的运动控制中, 每运动 5 个像素为一个采样周期, 利用 (10) 式搜索注射针针尖位置。

图5细胞注射过程: (a)细胞和负压管聚焦, 注射针失焦, (b)注射针聚焦, (c)注射针到达注射点, (d)注射针插入细胞, (e)细胞注射前放大图 (小图为注射针中液体大小), (f)液体注射后, 细胞涨大, (g)注射针退出细胞。

### 5 结论

本文利用显微镜聚焦 - 失焦技术重构 CCD 成像时丢失的注射针深度信息, 从而可以控制注射针在三维空间运动, 方便细胞注射, 聚焦精度可以达到  $0.3806\mu\text{m}$ 。利用推导的伺服控制方程计算误差矩阵, 减小系统的坐标间转换误差, 有利于实时控制, 再结合 SSD 方法, 注射针的轨迹误差由 (7, 13) 像素减小

(下转第 26 页)

参考文献:

- [1] 陈华英. 磁盘阵列 RAID 可靠性分析 [J]. 电子科技大学学报, 2006, 35(8): 403- 405.
- [2] <http://www.ha999.com/ha/whatisha.htm>
- [3] 曹阳.RAID 技术实现及发展 [J]. 电脑学习, 2006 (4): 43- 44.
- [4] 丁泾莉,朱春红,成雪莉.Raid 磁盘阵列技术及应用[J]. 石油工业计算机应用, 2006,14(2): 39- 41.
- [5] 蔡文武.服务器双机热备份[J].成铁科技, 2005(2): 42- 47.

## System of Hardware RAID and Software Dual- server Hot Backup Based on IBM Servers

BAI Yan- min, HAN Yi- ming, MA Wei- hua

(College of Information Science and Technology, Nanjing University of Aeronautics & Astronautics, Nanjing 210016, China)

Abstract: With the increasingly rely on computer systems, the reliability and security of data storage technique become more and more important. So in this paper the system of hardware RAID and software dual- server hot backup based on IBM servers is introduced, which achieves data 's secure storage effectively and reduces server 's interruptive time farthest. The principle, technique and conclusion of RIAD 1 and software dual- server hot backup system are discussed mainly based on data storage demand of coal mining.

Key words: Data security; Data storage; RAID; Dual- server hot backup

( 上接第 23 页)

到 (0, 1) 像素,基本上和理论轨迹重合。文中的控制方程既可以计算误差矩阵,又可以跟踪注射针。为了进行微量注射和细胞的固定,利用纳米平台设计注射泵和负压泵,注射泵的理论精度达到 3.2pL,负压泵可以安全地固定细胞。在后续的研究中,我们将结合 PVDF 薄膜设计微力传感器,研究力、视觉混合控制的细胞注射过程以及细胞的生物力学特性。

参考文献:

- [1] Zhang X J, Zapp S, Quate C F, ect. Ultrasonic microinjection characterized by integrated micro- optical force encoder [C]. Hilton Head 2004: A Solid- State Sensor, Actuator and Microsystems Workshop, June6- 10, Hilton Head Island, South Carolina, USA, 2004.
- [2] Sun Yun, Nelson B J. Microbotic cell injection [C]. Proceedings of the 2001 IEEE International Conference on Robotics & Automation Seoul, Korea, May 21~26, 2001 :620~625.
- [3] W. Zhao, W.J.Zhang, ect. A Micro Visual Servo System for Biological Cell Manipulation: Overview and New Developments[C]. Seventh International Conference on Control, Automation, Robotics And Vision (ICARCV'02), Dec 2002, Singapore,429~434.
- [4] 席文明,姚斌.微装配与微操作[M].北京:国防工业出版社,2006.
- [5] Guangyong Li, Ning Xi. Calibration of A Micromanipulation System.Proceedings of the 2002 IEEE/RSJ intl. Conference on Intelligent Robots and Systems EPFL, Lausanne, Switzerland, October 2002, 1742~1747.
- [6] Huang Dagang, Lu Guizhang, ect. Three- Dimensional Calibration of Micro- Manipulator[C]. Proceedings of the 4th World Congress on Intelligent Control and Automation, June 10- 14, 2002, Shanghai, P.R.China, 1171~1174.
- [7] Akiko Kawaji, Fumihito Arai, ect. 3D Calibration of Bio- Micromanipulator with Local Illumination[C]. Proceedings of the IEEE Canadian Conference on Electrical and Computer Engineering Shaw Conference [C]. Edmonton, Alberta, Canada May 9- 12, 1999. 1431~1436.
- [8] 席文明,姚斌,王磊.基于实体模型的虚拟微装配视觉伺服研究[J].机械工程学报,2005,41(3): 59- 63.
- [9] Stephen J R, Vikramaditya B, Nelson B J. Micropositioning of a weakly calibrated microassembly system using coarse- to- fine visual servoing strategies[C]. IEEE Transactions on Electronics Packaging Manufacturing, Vd. 23, No.2 ,April 2000 .123~131.

## Research on Cells Micro- Injection Based on Micromanipulator Controlled by Vision Servoing

ZHONG Hui, GUO A- quan, XI Wen- ming

(Department of Mechanical Engineering,BioMEMS Research Group of Pen- Tung Sah MEMS Research Center,Xiamen University,Xiamen Fujian 361005, China)

Abstract: Before cell injected, the error matrix (EM) is calculated from servoing control equation to calibrate injection system, by which the coordinate transform error between vision system and micromanipulator system is minished. After EM is calculated, depth data is obtained using focus- defocus technology of microscope, this depth data can control probe moving to the plane where capillary and cell are focused, the position precision of probe is confined at 0.3806 μ m. Integrating Modified Sum of Squared Difference (SSD) method with servoing control equation, the tracking error of micromanipulator is minished from (7, 13) pixels to (0, 1) pixels. The application of EM is favorable to control online. A injection pump and a adsorption pump driven by nano- platform are designed, which control capacity of injection by impulse, when cell is being injected, injection pump can achieve a theory precision about 3.2 pl, adsorption pump can adsorb cell safely and fix cell stably. Our results on experimentation show that cell can be injected easily when these technologies are used.

Keywords: Focus- defocus of microscope Error matrix SSD tracking Micro- volume injection