

细胞注射显微系统的空间精确定位方法

席文明^{1,2}, 钟辉^{1,2}, 郭阿全^{1,2}, 孙道恒^{1,2}

(1. 厦门大学机电工程系, 361005, 厦门; 2. 厦门大学萨本栋微机电中心, 361005, 厦门)

摘要: 利用改进的激光三角测量法获得图像采集时丢失的高度信息,其相对误差小于0.4%,将该信息集成到伺服控制方程中就可以利用视觉信息来控制机械手在空间做三维运动.在图像空间控制机械手运动时,利用光学流方法获得每个采样周期后注射针在图像空间的位置,就可以消除系统存在的误差,使注射针沿预定的轨迹运动,完成细胞的注射.实验结果表明,利用该方法可以将轨迹误差从(11,10)像素,减小为(0,2)像素,从而方便地控制机械手在三维空间做精确定位和运动.

关键词: 细胞注射;光学流;激光三角测量;伺服控制

中图分类号: TP24 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-987X(2007)07-0829-04

Space Precision Orientation Method for Cell Micro-Injection System

Xi Wenming^{1,2}, Zhong Hui^{1,2}, Guo Aqun^{1,2}, Sun Daoheng^{1,2}

(1. Department of Mechanical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2. Pen-Tung Sah MEMS Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The laser trigonometry measurement method is improved to obtain the data of height of probe with a relative error less than 0.4%, which are integrated in the servoing equation to control micro-manipulator movement in three dimensional space. When micro-manipulator moves in image space, the modified sum of squared difference method is employed to track probe, thus the error of micro-manipulator movement is eliminated and probe moves along the expected track to realize the cell micro-injection. The experimental results show that this method enables to minish error from (11,10) pixels to (0,2) pixels to accurately control the micro-manipulator movement in three dimensional space.

Keywords: cell micro-injection; sum of squared difference; laser trigonometry measure; vision servoing control

将微量生物物质注射到细胞中的方法广泛应用于生物学和遗传学中^[1],特别是在体外遗传注射和DNA克隆技术中^[2].在刚刚兴起的细胞生物力学研究中^[3],需要将注射针或玻璃毛细管进行空间精确定位,利用CCD将图像提取到计算机中进行处理,但物体沿显微镜光轴方向的高度丢失,会直接影响细胞注射的成功与否.对于该问题,文献[4]采用显微镜聚焦和失焦方法来确定物体高度方向的信息,认为当物体聚焦时它的图像是清晰的,具有大部分的高频信息,这时对图像进行微分可以得到较大的数值,而当物体失焦时,物体图像是模糊的,只存在

低频率信息,这时对图像进行微分只能得到较小的数值.根据物体的景深可以得到物体的高度,但要不断移动显微镜物镜.文献[5]利用双目视觉系统提取物体的高度,然后利用立体眼镜在计算机屏幕上观察物体图像的三维信息,但存在的缺点是系统复杂,利用显微镜构成多个视觉系统会产生复杂的光路,而且提取的物体高度只能用于观察,不能将物理高度集成到细胞注射的伺服控制方程中去.

本文采用激光测量的方法来获得物体的高度^[6],让一点激光源通过一个柱面镜,将点激光变为线激光,然后让线激光通过一光栅形成很细的激光

条纹,该条纹倾斜照射在物体上,当物体高度发生变化时,倾斜的条纹会发生偏移,根据激光的倾斜角度以及条纹的偏移量来获得物体的高度.将物体的高度集成到伺服控制方程中^[7],并通过图像来控制机械手在三维空间运动,利用图像信息控制机械手运动,采用光学流的方法^[8],不断搜索注射针的位置,从而消除系统误差,完成细胞注射.

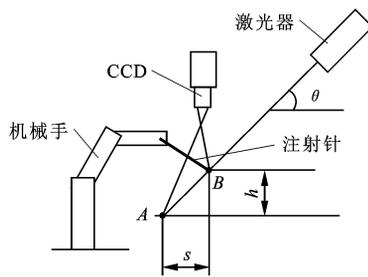
1 注射针高度的获取

1.1 高度的测量原理

如图1所示,假设线性激光投影到平台的A点,如果有一注射针与该线激光相交,则原来投影到A点的光线就会投影到B点,即

$$h = stg \tag{1}$$

式(1)中的s可以由安装在显微镜上的CCD获得,如果已知θ,则h就可以通过式(1)得到.



A:激光与平台交点;B:激光与注射针顶端交点;s:激光条纹偏移距离;h:注射针高度;θ:激光器倾角

图1 注射针高度的测量原理

1.2 测量系统的标定

在测量过程中,θ是固定的,设 $K_1 = tg \theta = \text{常数}$,则式(1)变为

$$h = sK_1 \tag{2}$$

假设s在CCD中所成的像为s',由于CCD是线性成像,所以s'与s的比值也为常数,设该常数为K₂,则

$$s' = sK_2 \tag{3}$$

由式(2)和式(3)得

$$K = h'/s' \tag{4}$$

式中:K = K₁ K₂ 为常数. K的标定方法为将线激光投影到三自由度平台上,记录对应激光线的初始位置,然后将平台沿高度方向移动h距离,这时在图像中初始激光线产生偏移,假设偏移距离为s',利用式(4)即可以标定出K.下面,利用K值计算注射针的高度,方法是检测出相应激光线的偏移距离,然后用K乘偏移距离就可以得到注射针的高度.

利用此方法同样可以对水平面上的x、y方向进行标定,由于在2个方向上CCD像素数目不同,所以要分别进行标定.标定方法是在平台上分别画一水平线和垂直线,平台在2个方向分别移动l距离,在图像空间计算水平线和垂直线的移动距离l',l'和l之比即为水平方向和垂直方向的标定结果,并分别用K_s和K_v表示.

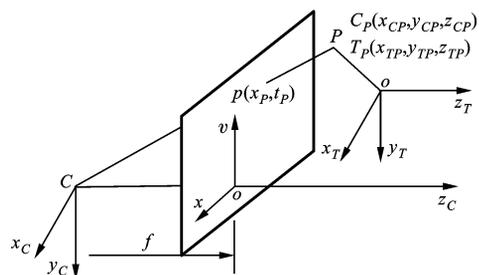
2 机械手伺服控制方程的建立

图2为摄像机的成像模型,C为视觉空间坐标系,T为任务坐标系.设P在C中的坐标为C_P(x_{CP},y_{CP},z_{CP}),在T中的坐标为T_P(x_{TP},y_{TP},z_{TP}),它在像平面上的坐标为p(x_p,y_p).设显微镜的放大倍数为m,则

$$x_p = (m/d_x) x_{CP} \tag{5}$$

$$y_p = (m/d_y) y_{CP} \tag{6}$$

式中:d_x、d_y表示像平面在x、y方向的像素点.



f:CCD焦距;p(x_p,y_p):P点在像平面上的坐标;C_P(x_{CP},y_{CP},z_{CP}):P点的视觉空间坐标;T_P(x_{TP},y_{TP},z_{TP}):P点的任务空间坐标

图2 摄像机成像模型

假设摄像机坐标经历了平移运动 $V_C = [\dot{x}_C \quad \dot{y}_C \quad \dot{z}_C]^T$ 后得到

$$\left. \begin{aligned} \dot{x}_{CP} &= -\dot{x}_C \\ \dot{y}_{CP} &= -\dot{y}_C \\ \dot{z}_{CP} &= -\dot{z}_C \end{aligned} \right\} \tag{7}$$

将式(5)、式(6)的导数代入式(7)得到

$$\left. \begin{aligned} \dot{x}_p &= -\frac{m}{d_x} \dot{x}_C \\ \dot{y}_p &= -\frac{m}{d_y} \dot{y}_C \\ \dot{z}_{CP} &= -\dot{z}_C \end{aligned} \right\} \tag{8}$$

式(8)的矩阵形式为

$$\dot{X} = J_V V \tag{9}$$

$$\dot{X} = [\dot{x}_p \quad \dot{y}_p \quad \dot{z}_{CP}]^T; V = [\dot{x}_C \quad \dot{y}_C \quad \dot{z}_C]^T$$

$$J_V = \begin{bmatrix} -m/d_x & & \\ & -m/d_y & \\ & & -1 \end{bmatrix} \tag{10}$$

式中: J_V 为视觉雅可比矩阵.

通过式(10),可以写出点在像平面上的速度和点在任务空间的速度映射关系

$$\dot{X} = J_V U \quad (11)$$

$$U = [\dot{x}_{TP} \quad \dot{y}_{TP} \quad \dot{z}_{TP}]^T$$

式中: U 是点在任务空间的速度.由式(11)可写出的离散伺服控制方程为

$$X(k+1) = X(k) + tJ_V U(k) \quad (12)$$

式中: t 为视觉系统的采样时间; k 为采样间隔.

为了优化式(12)中的参数,建立以下的能量函数

$$E(k+1) = [X(k+1) - X_D(k+1)]^T W_e \cdot [X(k+1) - X_D(k+1)] + U^T(k) W_{in} U(k) \quad (13)$$

式中: $X_D(k+1)$ 是点的像目标位置; W_e 、 W_{in} 为系统误差权重矩阵和控制输入的权重矩阵.求式(13)的最小值可得到以下的方程

$$U(k) = - (tJ_V^T W_e tJ_V + W_{in})^{-1} tJ_V^T W_e \cdot [X(k) - X_D(k+1)] \quad (14)$$

在像平面控制机械手空间运动时,图像空间并没有高度方向的信息,因此需要用激光三角测量法来获得注射针的高度,并代入式(14)的 $X(k)$ 中,然后将注射针目标高度代入式(14)的 $X_D(k+1)$ 中.

3 特征点跟踪

在基于图像的视觉跟踪中,系统并不需要精确标定,只需要在图像空间减小特征点位置与目标位置之间的误差,当该误差为 0 时,完成视觉跟踪.由于该方法在每个采样周期都需要确定特征点的运动位置,因此需要通过调整特征点的运动方向,来消除系统对特征点运动产生的误差.本文采用光学流的方法,通过跟踪运动的特征点实时位置,完成控制视觉的跟踪.

特征点在图像平面的运动轨迹称为光学流,光学流能够给出被跟踪物体的空间排列和速度变化.SSD(Sum of Squared Difference)方法是一种改进的光学流方法,该方法适合点的特征跟踪.一般来说,图像序列的灰度可以用 2 个空间位置变量和一个时间变量表示,即 $I(x, y, t)$.假设被跟踪的特征形状是不变的,在图像 A 中,用 $P_A(x_A, y_A)$ 表示,当该点运动后,在图像 B 中,用 $P_B(x_A + dx, y_A + dy)$ 表示.假设在短的采样时间内 dx 、 dy 足够小,图像特征的灰度不变,则通过使 SSD 获得的灰度差

$$e(P_A, P_B) = \sum_{m,n} [I_A(x_A + m, y_A + n) - I_B(x_A + m + dx, y_A + n + dy)]^2 \quad (15)$$

最小化,就可以求得特征点在图像 B 中的位置.式中: $e(P_A, P_B)$ 是 SSD 的估计量,当它达到最小值时,特征点在图像 B 中的位置就被确定; m 、 n 是 A 和 B 图像中对应的像素点坐标; N 是限制搜索区域的变量; I_A 和 I_B 是特征点在 A 和 B 图像中的灰度函数.

4 实验数据处理与分析

细胞注射实验系统如图 3 所示,由下列设备组成:微生物操作机械手(MP-285,三自由度,美国 Sutter 公司生产,精度为 40 nm);纳米运动平台(M-112.1DG,三自由度,德国 PI 公司生产,精度为 20 nm);显微镜(体视 K-700Z,中国麦克奥迪公司生产);CCD(UC-930CL,美国 Uniq 公司生产);图像捕捉卡(METORII,加拿大 Matrox 公司生产);线性激光系统(激光器、柱面镜和光栅).在图 3 所示的系统上将完成注射针距平台高度的测量,测量前首先对系统进行标定,得到 $K = 0.822 \mu\text{m}/\text{像素}$, $K_s = 1.572 \mu\text{m}/\text{像素}$, $K_v = 1.317 \mu\text{m}/\text{像素}$.

表 1 是物体实际参数与线激光测量的数据比较和误差分析,测量过程中出现的这些误差主要是由程序对条纹边界的识别产生.由于边界灰度是渐变而不是跃变的,因此确定边界的位置就会产生误差.

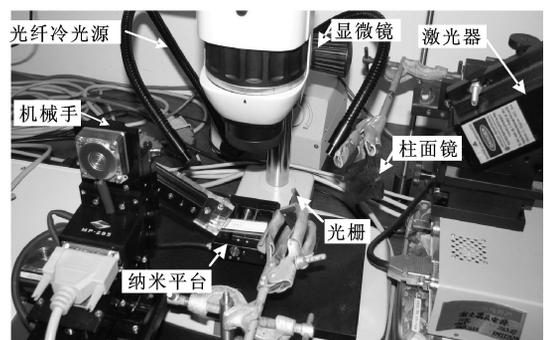


图 3 细胞注射系统

表 1 2 种参数的测量数据比较和误差分析

| 测量顺序 | 测量值/ μm | | 绝对误差/ μm | 相对误差/% |
|------|--------------------|----------|---------------------|--------|
| | 实际 | 激光 | | |
| 1 | 3 877.44 | 3 885.00 | 7.56 | 0.2 |
| 2 | 3 172.96 | 3 178.79 | 5.83 | 0.2 |
| 3 | 2 705.04 | 2 694.11 | - 10.94 | - 0.4 |

图4是利用伺服控制方程式(14)以及SSD方法,控制机械手在三维空间运动的折线轨迹,在用SSD方法跟踪注射针前,首先对式(14)中的误差矩阵进行标定

$$W_e = \begin{bmatrix} -0.004\ 079 & 0.000\ 395 & 0.000\ 064 \\ -0.000\ 204 & -0.001\ 415 & 0.001\ 043 \\ 0 & 0 & -1.102\ 881 \end{bmatrix}$$

标定上述误差矩阵时

$$W_{in} = I$$

$$J_v = \begin{bmatrix} K_s & & \\ & K_v & \\ & & -I \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -1.572 & & \\ & -1.317 & \\ & & -I \end{bmatrix}$$

图4中的实线是注射针顶端的理想轨迹,虚线是注射针实际轨迹,点划线是标定误差矩阵后,利用SSD方法产生的注射针顶端轨迹.从图中可以看出,注射针顶端实际轨迹在 x 方向的最大误差为11像素,在 y 方向的最大误差为10像素,而用SSD方法跟踪的注射针顶端轨迹在 x 方向的误差为0像素,在 y 方向的误差为2像素,SSD方法的轨迹几乎和理想轨迹重合.根据分析,在 z 方向轨迹产生的2个像素误差,主要是由激光三角法测量 z 方向高度时所产生的误差造成的.

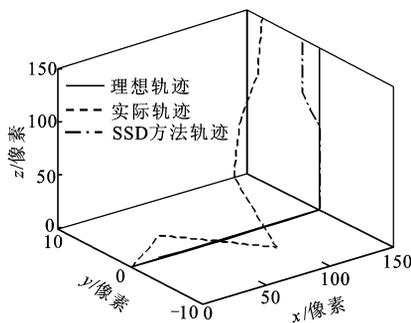


图4 理想、实际与SSD方法轨迹的比较

5 结论

在机械手细胞显微注射中,安装在显微镜上的CCD在提取图像时因为丢失了高度信息,因此直接影响到细胞注射能否成功,更严重的是会损坏设备.本文采用一种简单的线激光三角测量法,不仅完成

了注射针顶端的高度测量,而且根据实际的细胞注射系统,利用一种简单的标定方法避免了线激光倾角的繁琐测量,因此提高了测量精度.文中将该高度集成到伺服控制方程中,并用SSD方法在图像空间控制机械手来完成空间运动.实验数据表明,采用本文的测量方法和伺服控制方程,可以完成机械手的细胞自动显微注射.

参考文献:

- [1] Zhang Xiaojing, Zapp S, Quate C F, et al. Ultrasonic microinjection characterized by integrated micro-optical force encoder[C]. A Solid State Sensor, Actuator and Microsystems Workshop. Hilton Head Island, USA: The Institution of Engineering and Technology, 2004: 6-10.
- [2] Sun Yun, Nelson B J. Microrobotic cell injection[C]. Proceedings of the 2001 IEEE International Conference on Robotics & Automation. Piscataway, USA: IEEE Press, 2001: 620-625.
- [3] Bao G, Suresh S. Cell and molecular mechanics of biological materials[J]. Nature, 2003, 12(11): 715-725.
- [4] Stephen J R, Vikramaditya B, Nelson B J. Micropositioning of a weakly calibrated microassembly system using coarse-to-fine visual servoing strategies [J]. IEEE Transactions on Electronics Packaging Manufacturing, 2000, 23(2): 123-131.
- [5] Kim D H, Kim K, Kim K Y, et al. Dexterous teleoperation for micro parts handling based on haptic/ visual interface[C]. International Symposium on Micromechatronics and Human Science. Piscataway, USA: IEEE Press, 2001: 211-217.
- [6] Buerkle A, Fatikow S. Laser measuring system for a flexible microrobot-based micromanipulation station [C]. Proceedings of the 2000 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems. Piscataway, USA: IEEE Press, 2000: 799-804.
- [7] 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.
Xi Wenming, Yao Bin, Wang Lei. Study of visual servoing for virtual microassembly based on solid model [J]. Chinese Journal of Mechanical Engineering, 2005, 41(3): 59-63.
- [8] 席文明,姚斌.微装配与微操作[M].北京:国防工业出版社,2006: 88-90.

(编辑 管咏梅)