

# 機械学習による顕微鏡画像データ解析の自動化

芳賀 健也

東北大学 大学院理学研究科

## 1. はじめに

近年、基礎研究への人工知能や機械学習の導入が進んでいる。今回、ソフトマター物理学の研究分野において、顕微鏡画像の解析に、機械学習を使用した物体検出の技術を導入した。モデル生体膜の膜粘度を測定する実験において、解析の工程を自動化することに成功し、精度の向上と解析時間の短縮を実現した。

## 2. モデル生体膜の膜粘度測定実験・解析の手法

### 2.1 モデル生体膜

モデル生体膜はリン脂質等からなる球状の膜である。生物の細胞を模しており、物性の研究が多く報告されている。その中で、膜の粘度は細胞膜上でのタンパク質や糖鎖の輸送や膜分裂のための組成分子の移動に関わっており、生命活動の発現を解明するために重要なパラメータだと考えられている。図1にトレーサーを形成したモデル生体膜の顕微鏡画像を示す。膜表面上の白く明るい領域とその他の領域は構成している脂質分子が異なっている。ここでは、白く明るい領域をトレーサーと呼ぶ。

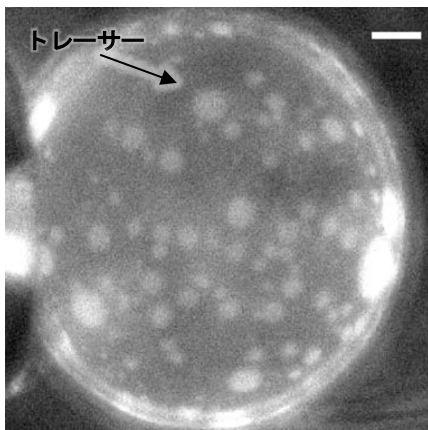


図1 モデル生体膜の顕微鏡画像

### 2.2 膜粘度測定実験・解析の手法

佐久間らは顕微鏡観察下のモデル生体膜に外力を加え、膜の流動を観察・解析することで膜粘度を測定する手法を開発した<sup>[1]</sup>。図2はその膜粘度測定

手法の模式図である。実験と解析は次の手順で行う。(i)トレーサーを形成したモデル生体膜をホールディングピペットで保持する。(ii)インジェクションピペットを用いて水流を当て、膜表面に渦流動を誘起する。(iii)トレーサーの動きを顕微鏡のカメラで記録する。(iv)顕微鏡画像中のトレーサーの動きを解析し、渦流動の中心位置を決定する。(v)渦流動の中心位置と粘度の関係を表すモデル関数から膜粘度を算出する。

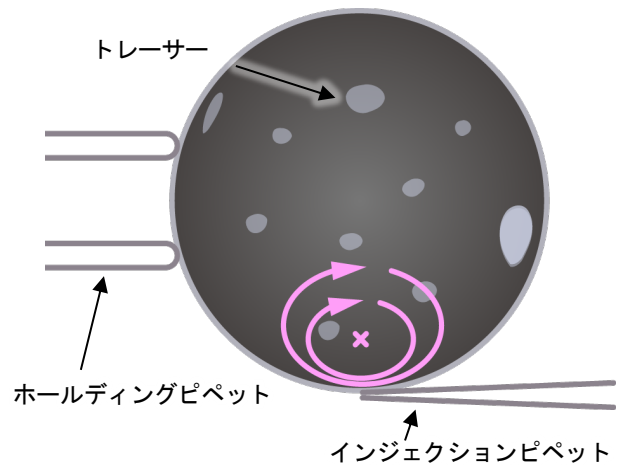


図2 モデル生体膜の粘度測定実験の模式図

### 2.3 解析の問題点

膜粘度を正確に算出するためには、渦流動の中心位置を正確に決定することが重要である。トレーサーの変位の記録を目視と手動で行う場合は次の二つの問題があった。(i)トレーサーの重心位置の決定が解析者の主観によるため、ばらつきが生じてしまうこと。(ii)解析に多大な時間がかかるため、動画データのフレームを間引くことがある。そのため、作成した軌跡が滑らかでなくなってしまうこと。

## 3. 解析の自動化

上述の問題点を解決するために、画像解析の自動化を行った。観察した顕微鏡画像から、トレーサーを検出するために機械学習による物体検出を導入し、解析の自動化を実現した。顕微鏡画像の解析には、画像解析ソフトの IgammaJ を使用している<sup>[2]</sup>。

### 3.1 トレーサーの自動検出

トレーサーの検出には、顕微鏡画像中の細胞を検出するために開発されたモデル **StarDist** を適応した<sup>[3]</sup>。このモデルでは、細胞を表す際に重心位置を検出し、そこから伸びる放射状のポリゴンを使っている。そのため、重なってしまっている細胞も別個のものとして検出することができる。さらに、ユーザ自身が用意した教師データを用いて、モデルの再学習が可能である。トレーサー同士は重なりや、モデル生体膜の曲率によって円形から外れてしまうことがある。そこで、このモデルを再学習し、適応することで、精度良くトレーサーを検出することができるようになった。図3にその結果を示す。トレーサーを囲むように線が表示されており、検出が成功していることがわかる。1分程度の処理時間で数百フレーム程度の動画データのすべてのフレームからトレーサーを検出することができる。

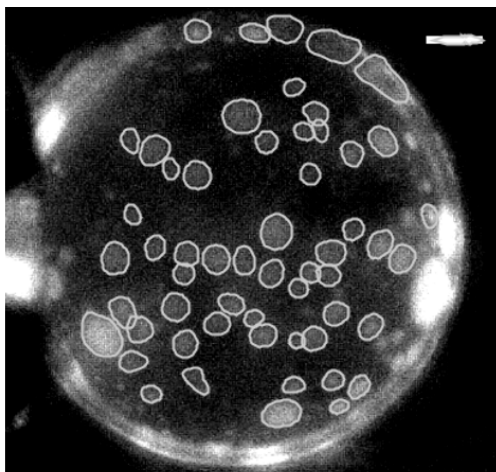


図3 モデル生体膜上のトレーサーの検出例

### 3.2 膜流動の可視化の自動化

トレーサーの変位を追跡し、膜流動を可視化する。この工程は、ImageJのプラグイン **TrackMate** を利用することで自動化を実現した<sup>[4]</sup>。図4に **TrackMate** を用いて、トレーサーの変位を追跡し、膜流動を可視化した例を示す。モデル生体膜の表面上のほとんどすべてのトレーサーの追跡し、膜全体の流動を可視化することができた。フレームの間引きを行う必要がなくなったことで軌跡が滑らかになり、トレーサーの渦流動の中心位置も正確に決定できるようになった。手動での作業では1時間程度かかっていた解析時間だったが、トレーサーの検出と軌跡の可視化を自動化したことにより、1測定あたり10分程度へ大幅な短縮に成功した。

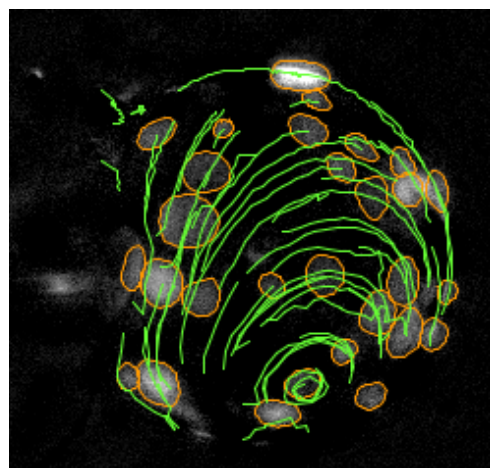


図4 モデル生体膜の流動の可視化

## 4. まとめ

モデル生体膜の膜粘度測定実験において、機械学習を利用した物体検出の技術を顕微鏡画像解析に導入した。モデル生体膜上のトレーサーを検出と、トレーサーの変位の追跡を自動化し、膜粘度の算出精度の向上と解析時間の短縮を実現した。トレーサーの検出に使用した物体検出のモデルは **StarDist**、検出したトレーサーの変位の追跡には **TrackMate** を利用した。この手法は、トレーサーを用意できればモデル生体膜だけではなく、生体由来の細胞膜の膜粘度の測定にも適応可能である。現在は、実験過程においても物体検出の技術を導入して、実験作業の自動化を行い、膜粘度測定実験のシステム化を試みている。

## 参考文献

- [1] Y. Sakuma, T. Kawakatsu, T. Taniguchi, M. Imai, Viscosity Landscape of Phase-Separated Lipid Membrane Estimated from Fluid Velocity Field, *Biophys. J.* **118**, 1576-1587, (2020).
- [2] Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis, *Nature Methods*, **9**(7), 671-675, (2012).
- [3] Weigert, M., & Schmidt, U. Nuclei Instance Segmentation and Classification in Histopathology Images with StarDist. In *The IEEE International Symposium on Biomedical Imaging Challenges (ISBIC)*, (2022).
- [4] Jean-Yves Tinevez, Nick Perry, Johannes Schindelin, Genevieve M. Hoopes, Gregory D. Reynolds, Emmanuel Laplantine, Sebastian Y. Bednarek, Spencer L. Shorte, Kevin W. Eliceiri, TrackMate: An open and extensible platform for single-particle tracking, *Methods*, **115**, 80-90, (2017).