

微生物培養における菌液塗布工程の動作解析

Motion Analysis of Coating Process of Fungus Liquid in Microbiological Culture

○菊地悠馬¹, 武田健嗣², 金子美泉³, 栗飯原萌³, 内木場文男³*Yuma Kikuchi¹, Kenji Takeda², Minami Kaneko³, Megumi Aibara³, Fumio Uchikoba³

Abstract: In this paper, a motion analysis by an AI edge device in a biological field is reported. In a microbial cultivation, difference cultivation results between researchers by a difference of a process skill are occurred. Therefore, by analyzed and quantified the motion of the researcher's hand movements during the cultured process, it will be realized the stable microbial supply. In this research, a direction of the hand movement during the coating was analyzed.

1. はじめに

微生物培養とは微生物を寒天上などの人工的な環境下で繁殖させることを指し、医学や薬学などの幅広い分野で実験に必要な微生物を入手するために利用されている。医薬品や食品などの大量生産に利用するために、実験の度に対象となる微生物を採取しに行く手間がかかる他、採取者自身にも危険が伴う。また、採取サンプル内の特定の組織や微生物を取り出すことも難しいケースがあるため、こうしたリスク軽減や効率化を図る上で微生物培養の技術は重要となっている。

寒天培地を用いた微生物培養では、菌液の滴下や塗布など培養過程において手作業で行われる工程が多くある。特にこれらの工程においては塗り込みの速度や力加減、塗り込み完了と見なす基準などは担当している研究者自身の感覚で決まり、研究者個人の感覚的な技術に大きく依存しているケースが多くある。そのため塗り込み速度や力加減の差によって培養される微生物が異なり、研究者間で実験結果に差異が出てしまう可能性¹⁾や、実験の再現性などが低下してしまうおそれがある。そのため塗布工程ではコンラージ棒の軌跡や塗り込み時間が等しいことが望ましい。

本研究では微生物培養の技術の定量化と機械的作業の導入による機械化を行い、各研究者の技術の差が及ぼす、培養結果の差を抑えることが可能な実験装置の開発と、塗布工程の自動化による微生物培養の効率化を目的とする。本原稿では塗布工程の動画を利用し、研究者の手の動きやコンラージ棒と呼ばれる菌液塗布で用いるガラス棒の軌跡を動体追跡で解析し、機械的に模倣することで微生物培養技術の定量化を図る。

2. 一般的な塗布方法と技術的課題

2. 1. 塗布方法

寒天培地を用いた微生物培養の工程を Fig. 1 に示す。一般的な塗布方法としては、培地となる寒天上に培養

対象の微生物や菌を混ぜた菌液を滴下する。それをコンラージ棒と呼ばれるガラス製の棒を用いて塗布し、塗布完了後一定期間経過すると、微生物や菌が寒天培地上で繁殖するものとなっている。

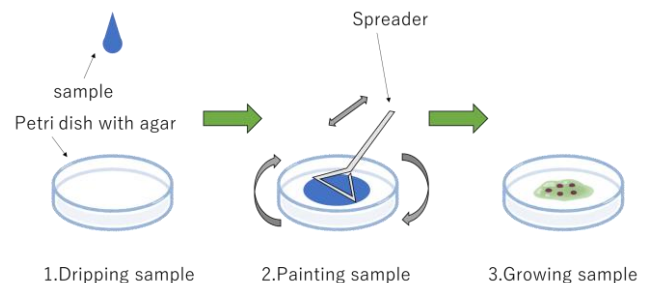


Fig. 1 Microbial culture

2. 2. 技術的課題と検討項目

上述した工程中の塗布工程を機械化する場合、発生しうる技術的課題および検討項目として以下のような問題が挙げられる。

- ・使用するコンラージ棒はガラス製であるため、塗布工程において過剰な圧力をかけると破損の恐れがある。また、培地となる寒天の変形を招き、均一な塗布ができなくなる恐れがある。
- ・菌液に圧力が強くかかると微生物や菌が摩擦により一部死滅やコロニーと呼ばれる集合体の形成位置の偏りが生じる恐れがある。
- ・塗り込みにムラができないようにシャーレ自体を回転させるなどの対策が必要となる。
- ・塗り込み速度や回数によっても結果に影響が出る可能性があるため、結果を調査し、最適な塗り込み速度や回数を検討する必要がある。
- ・本研究では研究者の手の動きを模倣することを目的の一つにしているため、画像解析を用いて研究者の手の動きに近づくようにコンラージ棒の動作などを考慮する必要がある。

1 : 日大理工・学部・精機 2 : 日大理工・院(後)・精機 3 : 日大理工・教員・精機

3. 動体追跡の方法

本研究では研究者の手の動きやコンラージ棒の軌跡などを解析するにあたって Fig. 2 に示す Jetson nano@(NVIDIA 社製)を利用する。Jetson nano@とは低消費電力でありながら AI コンピューティングが可能な開発ボードで、これを用いることで画像認識や動体追跡などの用途に利用できる。また、カメラモジュールを接続することで撮影した動画や画像だけでなく、カメラに写っているものをリアルタイムで識別することも可能となっている^[2]。この Jetson nano@で入手した塗布工程の動画を動体追跡プログラムによって解析し、研究者の手の動きなどを調べる。

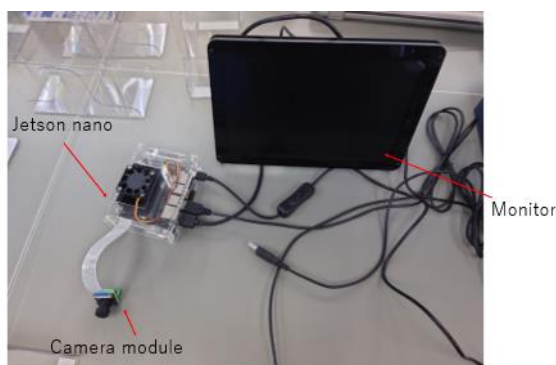


Fig. 2 Jetson nano

4. 解析結果と考察

Jetson nano@上でプログラムを起動し、得られた結果を Fig. 3 に示す。なお、プログラムは「Feature Tracker」^[2]を用いた。画像上に移る小さな青い矢印は、矢印がある位置を点として移動方向を表しており、矢印のある位置は次のフレームで矢印方向に動くことを表す。

Fig. 3 はコンラージ棒が寒天表面に接触する直前の状態であり、解析結果の矢印を見るとコンラージ棒部分の矢印はおおよそ下向きになっており、解析は出来ていると見ることができる。また、左手に着目すると、動画ではシャーレを時計回りに回転させていたところであり、解析結果では左手の親指は斜め左上へ、一方中指はシャーレの蓋によって解析できなくなっている部分を除くと矢印は右方向、もしくは斜め右下方向に向かっており、これらはシャーレを時計回りに回転させる際の指の動きと一致することが確認できた。

また、影に矢印が各所に付いているが、これはプログラムが動きを検知した箇所に矢印が付くためであり、影の部分でも矢印が付いているのは主に動きの検知がされやすい輪郭部分となっているためと考えられる。逆に影の内側は動きを検知されづらいため、矢印が無い箇所が確認された。解析結果を向上させるためには

サンプルとなる動画において蓋を無くし、コンラージ棒に黒テープを巻くなどして特徴を捉えやすくする工夫を施し、さらに真上と真横から撮影した動画を用意するなどしてサンプルを追加し、コンラージ棒の軌跡を明確にする必要がある。

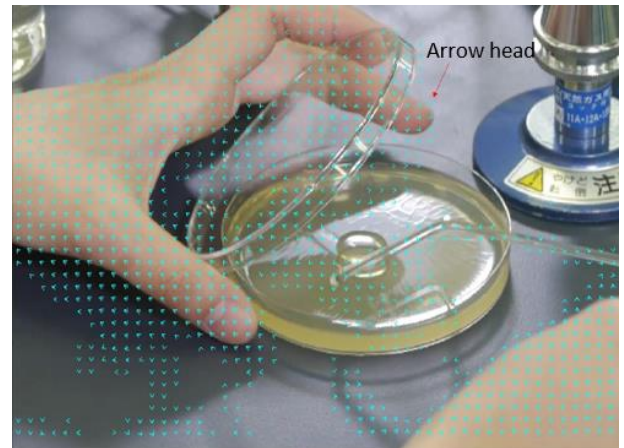


Fig. 3 Program results

5. まとめ

本研究では塗布工程での実験者の手の動きの解析が可能である事を確認できた。しかし、シャーレの蓋やコンラージ棒が透明であるが故に動体追跡が上手く機能しない部分も見受けられた。この問題を改善するために、解析対象を捉えやすくなるように動画内の撮影方向やコンラージ棒に工夫する必要があることがわかった。これらの改善を加えた上で改めて装置に適用させるアームの動きなどを検討し、実際に試しながら最適化を今後は進める。

6. 謝辞

本研究は日本大学生物資源科学部 応用生物科学科准教授 岩淵範之氏のご助力を受けたものである。

解析に用いた動画サンプルについては「2015 日本大学生物資源科学部応用生物科学科分子微生物学研究室」から一部使用させていただきました。

7. 参考文献

[1] 岩淵範之：「海洋性多環芳族炭化水素(PAHs)分解菌 *Cycloclasticus* の複合微生物群集中での優占化に対する *Rhodococcus* 属最近由来の細胞外多糖(EPS)の影響」, 用水と排水, No369, pp359-364, 2010.

[2] Jetson Japan User Group：「Jetson Nano 超入門」, ソーテック社, 改訂第2版, pp.164-176, 2021.