

Automação da Aquisição de Imagens de Agregados Celulares



Vinícius Faria, Leonardo Brunnet
Instituto de Física
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Porto Alegre - Brasil

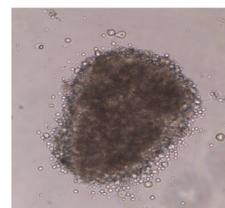
MOTIVAÇÃO

O movimento e a organização de células em organismos pluricelulares vêm sendo objeto de estudo conjunto entre biólogos e físicos. Nosso interesse está ligado à influência direta disso na estruturação e reestruturação de tecidos celulares.

No processo de morfogênese, ocorre a segregação celular, onde as estruturas semelhantes juntam-se em agregados de tamanhos diversos – que, mais tarde, dão origem aos tecidos celulares. Mais interessante ainda é a possibilidade de observação e análise repetidas da segregação a partir de um organismo com capacidade regenerativa.

Por sua estrutura simples e alta capacidade de regeneração, foi utilizado um cnidário de água doce chamado hidra. Ela é formada basicamente por dois tipos de tecido: endoderme e ectoderme. Suas células podem ser facilmente distinguidas umas das outras utilizando-se hidras transgênicas.

Diversas culturas dessas hidras modificadas geneticamente para fluorescer em frequências diferentes - verde para incidência de azul e vermelho para incidência de verde - são mantidas no laboratório. Entretanto, durante os experimentos [1] para obtenção de imagens de regeneração, verificou-se que a exposição contínua à luz causa dano às estruturas biológicas – diminuindo o período útil de observação das amostras. Como solução, buscou-se um meio de controle da incidência de luz que aumentasse o tempo de visualização ao microscópio para uma análise mais completa e conclusiva.



a) Agregado Celular



b) Hidra comum



c) Hidra fluorescendo em verde



d) Hidra fluorescendo em vermelho

OBJETIVO

O controle da incidência deve ser mecanicamente simples e funcional, automatizado à base de softwares de código livre, bem como responder às necessidades de quando e como bloquear a incidência de luz conforme a amostra em exposição. Assim, devido à sua funcionalidade e acessibilidade, a placa controladora programável *Arduino Uno* [2] e a linguagem de programação *Python* [3] são utilizadas na construção dos softwares envolvidos.

A aquisição de imagens é feita por uma câmera acoplada ao microscópio e esta leva tempos diferentes no processamento de imagens com quantidades de detalhes diferentes, isso impede que utilizemos uma sincronização sem realimentação do estado da câmera. Para isso é necessária uma interface entre os programas de controle de movimento do anteparo e de processamento de dados da câmera.



Sistema de controle concluído



Circuito de controle da incidência de luz



Acoplador óptico com o detalhe dos diodos curto-circuitados

METODOLOGIA

Em princípio, utilizou-se filtros de luz, mas o ganho no período de observação útil não foi satisfatório, já que a incidência, embora menor, ainda era contínua. O sistema mecânico planejado para agir como barreira física, bloqueando toda a passagem de luz, consiste basicamente num anteparo movido por um braço pneumático que atua conforme os sinais programados numa placa *Arduino*. Os sinais são amplificados por um foto-transistor que, através de um solenoide, dispara o movimento do braço.

Ao longo de sua construção, foram executadas algumas modificações no circuito de controle de exposição, visando sua otimização:

- Troca da alimentação 110Vca para 24Vcc;
- Substituição dos vários componentes eletrônicos do circuito de amplificação e proteção por uma única peça, utilizada a nível industrial: Acoplador Ótico (ou Optoacoplador) *Conexel c904074.2000*;
- Adaptação do circuito do Optoacoplador, curto-circuitando dois diodos para que a tensão de entrada fosse compatível com o sinal do *Arduino*.

RESULTADOS

Inicialmente, houve problemas no que diz respeito à interface da câmera utilizada. Foi então adquirida uma nova câmera - *IDS/μeye* [4] - com software de controle baseado em C, que facilitou o processo de automação do microscópio.

As bibliotecas envolvidas na programação eram bastante complexas e numerosas. Optou-se pelo uso do *Py-μeye* [5] - um software facilmente operado e direcionado à nossa câmera, com a função de traduzir *scripts* Python para linhas de comando em C - já tendo sido desenvolvidos *scripts* para teste de funções básicas da câmera.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A automação vai possibilitar um período de observação maior sem grandes danos para as hidras – o que significa aquisição de dados de melhor qualidade e uma consequente melhora nos estudos sobre a motilidade celular.

Já está em desenvolvimento o *script* Python para controle da câmera. Depois disso, a meta é concluir a interface desta com a placa *Arduino*.

REFERÊNCIAS

- [1] LENHOFF, S. G. Hydra and the birth of experimental biology-1744. Pacific Grove: Boxwood Press, 1986.
WILSON, H. V. J. Exp. Zool., v. 5, p. 245, 1907.
HOLTFRETER, J. Rev. Can. Biol., v. 3, n. 220, 1944.
MOSCONA, A. Exp. Cell Res., v. 3, n. 535, 1952.
TRINKAUS, J. P., GROVES, P. W. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., v. 41, n. 787, 1955.

- [2] Arduino: www.arduino.cc
[3] Python: <https://www.python.org/>
[4] IDS: http://en.ids-imaging.com/video_μeye.html
[5] Py-μeye: <https://code.google.com/p/pyμeye/>