

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ARQUITETURA  
DEPARTAMENTO DE DESIGN E EXPRESSÃO GRÁFICA  
CURSO DE DESIGN DE PRODUTOS

MARIA JULIA DOS SANTOS OLIVEIRA

**DISPOSITIVO PARA  
MONITORAMENTO CONTÍNUO DE  
CULTURA DE CÉLULAS DENTRO DE  
ESTUFAS**

Porto Alegre  
2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Reitor: Prof. Rui Vicente Oppermann

Vice-Reitora: Prof<sup>a</sup>. Jane Fraga Tutikian

Pró-Reitor de Graduação: Prof. Vladimir Pinheiro do Nascimento

Diretor da Faculdade de Arquitetura: Prof. Tânia Luisa Koltermann da Silva

Coordenador do Curso de Design: Prof. Sérgio Leandro dos Santos

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, gostaria de agradecer ao meu orientador, Professor Doutor Fábio Gonçalves Teixeira, por todo apoio, incentivo e disposição cedidos nesta etapa final de conclusão de curso. Apesar de não nos vermos com tanta frequência, sempre se mostrou acessível e compreensível. Espero que este seja apenas o início de trabalhos e pesquisas que virão.

Aos colegas de curso gostaria de agradecer por toda ajuda e disponibilidade providos os momentos em que foram necessários.

Em especial a minha mãe Maria Clara Oliveira, que me apoiou desde o dia em que escolhi seguir o rumo da minha graduação e por todo auxílio e amparo, sem os quais não seria capaz de chegar neste momento, a conclusão do curso de graduação em Design de Produto. Um agradecimento aos meus colegas de trabalho, em especial ao Henrique Knorst, e por fim, um agradecimento a minha irmã Mariana, por ter contribuído de diversas formas nessa graduação.

## RESUMO

Este trabalho trata do desenvolvimento de um produto da área de Biociências integrado com o Design Participativo, baseado em estudos dos cenários atuais sobre monitoramento contínuo de cultura de células, em especial, dentro de estufas. O objetivo foi desenvolver um dispositivo capaz de fazer captura de imagens constantes das culturas de células, sem prejudicar o bem estar das mesmas, dentro do ambiente amostral, no caso as estufas. Para a elaboração deste trabalho, foi realizada uma pesquisa sobre os tópicos associados à microscopia ótica, envolvendo o estudo dos seus principais conceitos e a análise de materiais e princípios utilizados para a aquisição de imagens de alta resolução. Foram analisados os produtos similares existentes com as mesmas finalidades óticas ou de resistência material, para verificar se os mesmos apresentavam estruturas e características indispensáveis e que pudessem ser utilizadas para o produto futuro. Para a obtenção das informações sobre as necessidades dos professores e dos alunos quanto à microscopia biológica, foram realizadas entrevistas com docentes e discentes da UFRGS, ligados ao LabSinal. Conforme a metodologia adotada, a identificação das necessidades dos usuários foi fundamental na determinação das especificações de projeto. Seguindo o processo de projeto de produto, se fez uso da metodologia de estrutura criativa, da Stella Sapper, resultando assim numa alternativa de solução final. Esta foi então melhor desenvolvida e detalhada, para assim poder ser modelada e produzido o protótipo. Ao final do projeto, foi possível produzir um protótipo funcional que atendesse as necessidades dos usuários.

**Palavras-chave:** Microscopia Ótica. Cultura de Células. Fluorescência. Design de Produto. Design Participativo.

## **Device for long-term monitoring of cell culture inside incubators.**

### **ABSTRACT**

This work is about the development of a product in the field of Biosciences integrated with the Participatory Design, based on studies of current scenarios on long-term imaging of cell culture, in particular within incubator. The objective was to develop a device capable of capturing constant images of cell cultures, without harming their well-being, within the sample environment, in this case the incubators. For the elaboration of this work, a research was carried out on the topics associated to optical microscopy, involving the study of its main concepts and the analysis of materials and principles used for the acquisition of high resolution images. Existing similar products with the same optical or material resistance purposes were analyzed to verify if they had the necessary structures and characteristics that could be used for the future product. To obtain information about the needs of teachers and students regarding biological microscopy, interviews were conducted with teachers and students of UFRGS, from LabSinal. According to the adopted methodology, the identification of the needs of the users was fundamental in the determination of the design specifications. Following the product design process, Stella Sapper's creative structure methodology was used, resulting in a final solution alternative. This has been improved and detailed so that it can be modeled and produced by the prototype. At the end of this project, it was possible to produce a functional prototype that would meet the needs of users.

**Keywords:** Optical Microscopy, Cell Culture, Fluorescence, Product Design, Participatory Design.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Fases do Processo de Desenvolvimento de Produtos Industriais.....	21
Figura 2.2 Fluxograma para determinação das especificações de projeto .....	22
Figura 3.1 Microscópio Ótico .....	27
Figura 3.2 Lentes Objetivas .....	28
Figura 3.3 Lentes Oculares .....	28
Figura 3.4 Ilustração da abertura numérica.....	29
Figura 3.5 Influência da abertura numérica, na objetiva, e do comprimento de onda na resolução do microscópio de luz. ....	30
Figura 3.6 Influência da abertura numérica objetiva e comprimento de onda na profundidade de campo do microscópio de luz.....	31
Figura 3.7 Configuração do cubo de fluorescência. ....	33
Figura 3.8 Incubadora de microscópio de ambiente controlado. ....	34
Figura 4.1 Invitrogen EVOS FL Auto 2.....	39
Figura 4.2 EVOS XL Core.....	41
Figura 4.3 Lionheart FX.....	43
Figura 4.4 Cytation 1 .....	45
Figura 4.5 CytoSMART 2 System .....	47
Figura 4.6 CytoSMART Connect Cloud gráficos e dados. ....	48
Figura 4.7 CytoSMART Omni.....	49
Figura 4.8 PAULA Cell Imager.....	50
Figura 4.9 Usuário utilizando o aplicativo do PAULA. ....	50
Figura 4.10 LS720 Microscope.....	52
Figura 4.11 LS720 Microscope dentro de uma incubadora padrão. ....	52
Figura 4.12 ZOE Cell Imager.....	54
Figura 6.1 Microscópio utilizado no laboratório. ....	70
Figura 6.2 Árvore funcional do microscópio, com e sem fluorescência, para cultura celular.....	71
Figura 6.3 Matriz morfológica. ....	72
Figura 6.4 Tela de comando da Zortrax M200.....	78
Figura 6.5 Tela de comando da Zortrax M200 Plus.....	78
Figura 7.1 Matriz morfológica dos produtos similares/concorrentes. ....	79
Figura 7.2 Esquema de organização das fases da estrutura preliminar. ....	80
Figura 7.3 Painéis Semânticos da fase Representar. ....	83
Figura 7.4 Mapa mental dos conceitos para os requisitos estéticos e simbólicos.....	84
Figura 7.5 Mapa mental (organizado) dos conceitos para os requisitos estéticos e simbólicos. ....	85
Figura 7.6 Painel de Referências visuais para a geração de formas: modelo 1. ....	86
Figura 7.7 Painel de Referências visuais para a geração de formas: modelo 2. ....	87
Figura 7.8 <i>Sketches</i> de formas livres.....	88
Figura 7.9 <i>Sketches</i> gerados das funções. ....	88
Figura 7.10 Opções geradas. ....	89
Figura 8.1 Configuração final do produto. ....	95
Figura 8.2 Sistema interno com deslizamento x/y. ....	96
Figura 8.3 Desenho técnico da configuração total externa. ....	97

Figura 8.4	Desenho técnico do sistema interno. ....	97
Figura 8.5	Desenho técnico da parte superior. ....	98
Figura 8.6	Desenho técnico da parte inferior. ....	98
Figura 8.7	Sistema câmera + lente objetiva + filtros. ....	99
Figura 8.8	Sistema câmera + lente objetiva + filtros, com foco nos filtros. ....	100
Figura 8.9	Estrutura externa. ....	100
Figura 8.10	Render do produto com foco nos LEDs. ....	100
Figura 8.11	Render do produto com foco no visor de acrílico. ....	101
Figura 8.12	Render da estrutura interna posicionada no produto. ....	101
Figura 8.13	Render da estrutura final. ....	101
Figura 9.1	Protótipo do Produto. ....	102
Figura 9.2	Produto Final. ....	103
Figura 9.3	Detalhe dos LEDs. ....	103
Figura 9.4	Instalação dos componentes eletrônicos. ....	104

## LISTA DE QUADROS

Quadro 4.1	Especificações de Invitrogen EVOS FL Auto 2.....	40
Quadro 4.2	Especificações de Invitrogen EVOS XL Core .....	42
Quadro 4.3	Especificações do sistema de imagem do Lionheart FX.....	44
Quadro 4.4	Especificações de Cytation 1.....	46
Quadro 4.5	Especificações do CytoSMART 2 System. ....	48
Quadro 4.6	Especificações do PAULA Cell Imager.....	51
Quadro 4.7	Especificações do LS720 Microscope.....	53
Quadro 4.8	Especificações do ZOE Cell Imager.....	55
Quadro 5.1	Transformação das necessidades em requisitos de usuários. ....	61
Quadro 5.2	Requisitos de projeto.....	63
Quadro 5.3	Pesos Atribuídos aos Requisitos de Usuário. ....	65
Quadro 5.4	Priorização dos requisitos de projeto. ....	66
Quadro 5.5	Especificações de projeto. ....	67
Quadro 6.1	Matriz de avaliação de Pugh, com referencial o microscópio invertido AxioVert 135 da marca Zeiss.....	75
Quadro 6.2	Detalhamento dos Conceitos A, B e C.....	76
Quadro 6.3	Matriz de avaliação de Pugh, com os Conceitos A, B e C.....	77
Quadro 7.1	<i>Brainstorming</i> da fase Representar. ....	82
Quadro 7.2	Matriz de Decisão da fase "Selecionar". ....	90
Quadro 7.3	Escalas de diferencial semântico da fase "Selecionar". ....	91

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DI	Design de Interação
DP	Design Participativo
PRODIP	Processo de Desenvolvimento Integrado de Produtos
NeDIP	Núcleo de Desenvolvimento Integrado de Produtos
NA	<i>Numerical Aperture</i>
UV	<i>Ultraviolet</i>
LED	<i>Light-Emitting Diode</i>
UCSF	<i>University of California, San Francisco</i>
CAD	<i>Computer-Aided Design</i>
3D	<i>Three-Dimensional</i>
2D	<i>Two-Dimensional</i>
FDM	<i>Fused Deposition Modelling</i>
FFF	<i>Fused Filament Fabrication</i>
LCD	<i>Liquid-Crystal Display</i>
QFD	<i>Quality Function Deployment</i>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
<b>1.1 Contextualização</b> .....	<b>12</b>
<b>1.2 Objetivo Geral</b> .....	<b>14</b>
<b>1.3 Objetivos Especificos</b> .....	<b>14</b>
<b>1.4 Justificativa</b> .....	<b>15</b>
<b>I PLANEJAMENTO DO PROJETO</b> .....	<b>17</b>
<b>2 PROBLEMA DO PROJETO</b> .....	<b>19</b>
<b>2.1 Metodologia</b> .....	<b>20</b>
2.1.1 Fase 1 – Planejamento do Projeto .....	21
2.1.2 Fase 2 – Projeto Informacional .....	21
2.1.3 Fase 3 – Projeto Conceitual .....	22
2.1.4 Fase 4 – Projeto Detalhado .....	23
<b>II PROJETO INFORMACIONAL</b> .....	<b>24</b>
<b>3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>26</b>
<b>3.1 Microscopia Ótica</b> .....	<b>26</b>
3.1.1 Sistema de Lentes .....	27
3.1.2 Resolução .....	30
3.1.3 Profundidade de Campo .....	31
3.1.4 Fluorescência .....	31
<b>3.2 Imagens de Células Vivas</b> .....	<b>33</b>
3.2.1 Ambiente da Amostra .....	33
3.2.2 Fototoxicidade .....	35
<b>3.3 Softwares de Bio Imagem</b> .....	<b>35</b>
3.3.1 Aquisição de Imagens .....	35
3.3.2 Análise de Imagens .....	37
<b>4 ANÁLISE DE SIMILARES</b> .....	<b>39</b>
<b>4.1 Invitrogen EVOS FL Auto 2 Cell Imaging System</b> .....	<b>39</b>
<b>4.2 EVOS XL Core Cell Imaging System</b> .....	<b>41</b>
<b>4.3 Lionheart FX Automated Microscope</b> .....	<b>42</b>
<b>4.4 Cytation 1 Cell Imaging Multi-Mode Reader</b> .....	<b>45</b>
<b>4.5 CytoSMART 2 System</b> .....	<b>47</b>
<b>4.6 CytoSMART Omni</b> .....	<b>48</b>
<b>4.7 PAULA Cell Imager</b> .....	<b>49</b>
<b>4.8 LS720 Microscope</b> .....	<b>51</b>
<b>4.9 ZOE Fluorescent Cell Imager</b> .....	<b>53</b>
<b>4.10 Quadro Comparativo dos Produtos Similares</b> .....	<b>56</b>
<b>5 DESENVOLVIMENTO DAS ESPECIFICAÇÕES DE PROJETO DE PRO- DUTO</b> .....	<b>59</b>
<b>5.1 Identificação dos Usuários do Projeto de Produto</b> .....	<b>59</b>
<b>5.2 Elicitação das Necessidades dos Usuários</b> .....	<b>60</b>
<b>5.3 Transformação das Necessidades em Requisitos de Usuários</b> .....	<b>60</b>
<b>5.4 Conversão dos Requisitos de Usuários em Requisitos de Projetos</b> .....	<b>62</b>
<b>5.5 Priorização dos Requisitos de Projetos</b> .....	<b>63</b>
<b>5.6 Conversão dos Requisitos de Projeto em Especificações de Projeto</b> .....	<b>66</b>
<b>III PROJETO CONCEITUAL</b> .....	<b>68</b>
<b>6 GERAÇÃO DE CONCEITOS</b> .....	<b>70</b>
<b>6.1 Análise das Funções do Produto</b> .....	<b>70</b>
<b>6.2 Matriz Morfológica</b> .....	<b>70</b>

<b>6.3 Seleção de Conceito.....</b>	<b>74</b>
<b>7 GERAÇÃO DE ALTERNATIVA.....</b>	<b>79</b>
<b>7.1 Estrutura Criativa .....</b>	<b>80</b>
7.1.1 Identificar .....	81
7.1.2 Representar .....	81
7.1.3 Relacionar .....	83
7.1.4 Gerar .....	87
7.1.5 Selecionar.....	90
<b>7.2 Apresentação da Alternativa Final.....</b>	<b>92</b>
IV PROJETO DETALHADO .....	93
<b>8 CONFIGURAÇÃO FINAL .....</b>	<b>95</b>
<b>8.1 Desenho Técnico.....</b>	<b>96</b>
<b>8.2 Seleção de Materiais .....</b>	<b>99</b>
<b>8.3 Render .....</b>	<b>99</b>
<b>9 PROTORIPAGEM.....</b>	<b>102</b>
<b>10 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>105</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>106</b>
<b>APÊNDICE A — ENTREVISTAS COM USUÁRIOS.....</b>	<b>109</b>
<b>APÊNDICE B — MATRIZ QFD .....</b>	<b>112</b>
<b>APÊNDICE C — DESENHOS TÉCNICOS .....</b>	<b>114</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Neste capítulo, será apresentada uma análise introdutória do tema deste trabalho, de modo a conferir uma melhor compreensão dos tópicos que o cercam. Será apontada a relevância deste projeto através da justificativa.

### 1.1 Contextualização

A compreensão da biologia molecular das células é uma área dinâmica de pesquisa e se faz fundamental para todas as ciências biológicas. Entender o controle molecular das decisões celulares, como elas são dinamicamente codificadas como *inputs* para as células, e conforme elas se manifestam fenotipicamente é uma questão central na pesquisa acadêmica e é crucial para as aplicações translacionais (SKYLAKI; HILSENBECK; SCHROEDER, 2016).

O sistema de cultivo de células *in vitro* passou a ser um recurso de extrema relevância em pesquisas da área biológica. A técnica tem permitido o estudo do crescimento e da diferenciação celular, bem como a compreensão estrutural e funcional de genes através da manipulação genética. Desta maneira, possibilita a realização de experimentos que visam a produção de produtos biotecnológicos, tais como vacinas e anticorpos, assim como o desenvolvimento de novas drogas.

A observação contínua de células únicas por longos períodos pode fornecer respostas claras e inovadoras para perguntas de longa data, como por exemplo o controle molecular do destino celular, o qual é fundamental para populações de células raras e heterogêneas, como células tronco de mamíferos. Sem esta observação contínua, questões aparentemente triviais podem manter pesquisadores no mesmo impasse durante muito tempo (SCHROEDER, 2011).

Visto que as células são muito pequenas para serem vistas a olho nu, o estudo das mesmas depende do uso de microscópios. Em 1670, Antonie van Leeuwenhoek, utilizando um microscópio que aumentava os objetos cerca de 300 vezes o seu tamanho real, foi capaz de observar uma grande variedade de tipos celulares diferentes, incluindo espermatozóides, glóbulos vermelhos e bactérias. Atualmente, os microscópios óticos são capazes de ampliar objetos até mil vezes, permanecendo assim como um instrumento básico da Biologia Celular. Diferentes técnicas são rotineiramente utilizadas, sendo a mais simples a **microscopia de campo claro**, no qual a luz passa diretamente através da célula

e a capacidade de distinguir diferentes partes celulares depende do contraste resultante da absorção da luz visível. Em múltiplos casos, são aplicados corantes nas células, os quais reagem com proteínas e ácidos nucleicos, aumentando, assim, o contraste. Antes da coloração, as amostras sofrem um tratamento com fixadores (álcool, ácido acético ou formaldeído) para estabilizar e preservar suas estruturas; entretanto, este procedimento é tóxico às células e, portanto, não é adequado para experimentos nos quais é necessário que as células estejam vivas (COOPER; HAUSMAN, 2016).

Garantir a saúde das células e que as mesmas mantenham sua função fisiológica e não sejam alteradas pelas condições de aquisição de imagem ou de incubação, são os aspectos mais críticos do monitoramento contínuo. É imprescindível enfatizar que a saúde das células é prioridade e que melhorias na qualidade de imagem jamais devem ocorrer às custas de células estressadas. Sendo assim, é fundamental encontrar um bom equilíbrio, o qual, geralmente, requer inúmeras rodadas de otimização para cada configuração experimental, mesmo em laboratórios especializados (SKYLAKI; HILSENBECK; SCHROEDER, 2016).

**A microscopia de contraste de fase e a microscopia de contraste de interferência diferencial** são exemplos de técnicas utilizadas para visualização de células vivas, nas quais ambas utilizam sistemas óticos que convertem variações de densidade ou espessura entre diferentes partes da célula em diferenças de contraste que podem ser visualizadas na imagem final (COOPER; HAUSMAN, 2016).

O poder do microscópio ótico foi consideravelmente expandido pelo uso de câmeras digitais e computadores para análise e processamento de imagens; os sistemas eletrônicos já existentes são capazes de melhorar substancialmente o contraste das imagens obtidas com o microscópio ótico, permitindo, assim, a visualização de pequenos objetos não detectados por outros métodos (COOPER; HAUSMAN, 2016). Recentemente, viu-se uma revolução em escopo e escala na obtenção de bioimagens, a qual estimulou o desenvolvimento tecnológico. Novas e sofisticadas técnicas produzem grandes conjuntos de dados multidimensionais e heterogêneos, os quais demandam serem vistos, analisados, anotados, consultados e compartilhados, podendo exigir uma análise automatizada (CARPENTER; KAMENTSKY; ELICEIRI, 2012).

Com a crescente exposição a novas tecnologias e inovações, as imagens de células vivas tornaram-se uma ferramenta analítica indispensável entre laboratórios de biologia celular, como os que operam no campo da neurobiologia, biologia do desenvolvimento e farmacologia. Entretanto, até o momento, as imagens de células vivas e seus dados

coletados exigem dispositivos caros, de grande porte e difíceis de operar, além disso, a análise dos dados é feita de maneira manual e posteriormente publicada em periódicos, impossibilitando, assim, um acesso rápido e comum entre toda a comunidade científica.

A associação entre a captação de imagem de alta resolução de células vivas, a computação, análise e o compartilhamento de dados através de um mesmo dispositivo até então é algo de difícil solução. A mesma exige um dispositivo de alta capacidade ótica, de *softwares* dedicados e de uma colaboração muito próxima entre as áreas da Biologia e da Computação. Ademais, existem diversas questões a serem consideradas, as quais influenciam no processo de captação de imagem das amostras cultivadas dentro das incubadoras, da análise e do compartilhamento dos dados coletados.

Baseado na influência do monitoramento contínuo das culturas de células *in vitro* na área da Biologia, assim como nas diversas áreas derivadas da mesma, este trabalho se insere nesse processo de buscar e desenvolver uma nova alternativa de dispositivo para o mesmo, que seja mais acessível, *user-friendly* e *developer-friendly*, e, assim, buscando integrar todas as áreas e auxiliando na obtenção de um produto final satisfatório.

## 1.2 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho é o desenvolvimento de um dispositivo para fazer o monitoramento contínuo de culturas celulares dentro de estufas, com capacidade de registrar fotos em sequência de um mesmo campo que, ainda, tenha atribuído a função de fluorescência e, a possibilidade de transferência dos dados coletados entre a comunidade científica.

## 1.3 Objetivos Específicos

Para que o objetivo geral deste projeto seja atingido, será preciso concluir os seguintes objetivos específicos:

- Compreender o funcionamento de um microscópio ótico e sua interação com a luz, para poder fazer uso de seus componentes;
- Compreender o ambiente celular dentro de estufas, para verificar possíveis materiais que contemplem alta resistência ao meio;
- Identificar os requisitos técnicos para um monitoramento contínuo de células vivas,

para verificar os requisitos de projeto;

- Pesquisar questões de *hardware* e *software*, analisando os existentes e identificando necessidades singulares que possam ser atribuídas à alternativa criada;
- Analisar soluções de captação de imagem existentes no mercado com a mesma finalidade proposta, para verificar possíveis formas e materiais utilizados;
- Identificar materiais e formas de acordo com os requisitos de projeto para contemplar a nova alternativa;
- Analisar o ambiente de laboratório, a fim de verificar a necessidade do usuário.

#### 1.4 Justificativa

A cultura celular se refere ao crescimento de células em meio de cultura favorável contendo nutrientes essenciais, o qual permite o estudo das mesmas em um ambiente com as variáveis controladas. Esta é uma das principais ferramentas em estudos de biologia molecular e celular, sendo amplamente utilizada por diversos laboratórios. Através da cultura de células é possível se obter excelentes modelos para estudo da siologia e bioquímica normal de células, como o envelhecimento e metabolismo; dos efeitos de drogas e compostos tóxicos em células; e dos processos de carcinogênese e mutagênese. Ademais, a técnica pode ser aplicada no desenvolvimento e triagem de novas drogas terapêuticas, assim como na fabricação de biocompostos em larga-escala, como vacinas e fármacos. Além das inúmeras aplicabilidades, vantagens da cultura de células são a consistência e reprodutibilidade de seus dados e um bom custo-benefício (SCIENTIFIC, 2015).

Na maior parte dos experimentos, as células são analisadas e quantificadas em tempos específicos, o que permite trabalhar com altas quantidades de dados. Entretanto, em muitos desses casos se utilizam métodos invasivos e as células acabam morrendo, além disso, pode-se ter má interpretação dos resultados pela perda de resolução temporal, como oscilações e transições muito rápidas. Assim, o monitoramento contínuo e ininterrupto é uma alternativa para enriquecer esta informação temporal, permitindo e facilitando o estudo da dinâmica celular, acompanhando estados transicionais em sequência; do comportamento molecular e da detecção da heterogeneidade entre células (SKYLAKI; HILSENBECK; SCHROEDER, 2016).

O monitoramento contínuo ainda permite que células sejam analisadas e quantificadas de maneira não invasiva, podendo serem acompanhadas ao longo de inúmeras

divisões e semanas, visto que em muitos casos de células mamíferas decisões celulares e moleculares demoram diversas gerações para serem tomados. Assim, inúmeros estudos vêm utilizando esta técnica para responder questões biológicas, até então inconclusivas; como o entendimento dos padrões de migração celular, dos mecanismos de determinação da forma, da determinação da heterogeneidade celular, de genes envolvidos na progressão do ciclo celular, da dinâmica transcricional e da eficiência da combinação de células dependentes do tempo (SKYLAKI; HILSENBECK; SCHROEDER, 2016). Em suma, o monitoramento contínuo de células é crucial para o entendimento do controle molecular do destino celular e já tem trazido importantes conhecimentos biológicos, demonstrando a relevância desta técnica e linha de pesquisa.

Desta maneira, busca-se desenvolver um dispositivo que seja capaz de monitorar células em culturas, que estejam dentro de uma estufa, o qual consiga tirar fotos em sequência de um mesmo campo e que, ainda, tenha atribuído a função de uorescência. Com este instrumento, será possível estudar e acompanhar a divisão de células e compostos celulares, assim como a assincronia do ciclo celular, no qual células em diferentes estados emitem uorescência em diferentes cores. Além disso, pode-se estudar a heterogeneidade fenotípica de células tumorais e entender como estas células se comportam fenotipicamente a diferentes fármacos e terapias, buscando assim novas possibilidades para o combate ao câncer.

Do ponto de vista do Design, busca-se, com o desenvolvimento deste dispositivo, a criação de uma solução mais viável para a atual situação da ciência no país, bem como um melhoramento das funções do produto, fazendo uso da metodologia do Design Participativo (DP). A utilização do DP na interação usuário-sistema pode garantir uma maior utilização do ambiente por meio da participação efetiva dos interessados, este parte do princípio de que as pessoas estão sempre participando, mesmo que não-ocialmente, pois as adaptações que fazem para usar suas ferramentas são também ações criativas, ou seja, o uso não é considerado mero consumo (CAMARGO; FAZANI, 2014).

Entender a experiência do usuário, para este trabalho, é uma questão de extrema relevância, pois é o diferencial que o Design pode oferecer para a comunidade científica, de maneira a proporcionar um produto que melhora a vida daqueles que o usam. O objetivo é centralizar o usuário e projetar o produto pensando como o usuário fará uso do mesmo. Compreender a experiência e fazer desta prioridade, é estar focado nas interações entre pessoas e produtos, e a experiência (sentimento) que resulta (BATTARBEE; KOSKINEN, 2005).

## **Part I**

# **PLANEJAMENTO DO PROJETO**

Ao iniciar um projeto, é necessário que haja um planejamento do objetivo que se pretende alcançar e uma identificação das atividades a serem desenvolvidas, tal como a maneira como isso será feito. Simultaneamente, é essencial que se estabeleça os recursos necessários e prazos, início e conclusão do projeto. As metodologias existentes propõem uma direção a ser seguida, que facilita o alcance dos objetivos e resultados finais.

## 2 PROBLEMA DO PROJETO

Até o presente momento, não existe um processo universal usado para fazer o monitoramento contínuo de células únicas dentro de estufas. O ato de fazer a imagem das células é sempre arriscado e sempre um compromisso, pois depende de quem está operando o microscópio ótico e a placa de cultura celular. Além disso, os melhores parâmetros para captação de fotos e para o rastreamento de células, são prejudiciais às mesmas. Sendo assim, a melhor abordagem será dependente de um conjunto de fatores: questão biológica, os tipos de células e condições de cultura, o *hardware* de incubação celular e sua compatibilidade com o *hardware* de aquisição de imagens, o *software* de aquisição de imagem e o processamento de imagens (SCHROEDER, 2011; SKYLAKI; HILSENBECK; SCHROEDER, 2016).

Segundo Coutu & Schroeder (2013), já se passaram mais de 120 anos desde que Étienne-Joules Marey, um cientista, fisiologista e cronógrafo francês, e seus colegas inventaram o primeiro aparelho fotográfico de *time-lapse*. Naquela época, os pioneiros já estavam lidando com os obstáculos técnicos que ainda hoje enfrentamos, quando tratamos de bioimagens, como a viabilidade da amostra, a estabilidade do sistema, a otimização da iluminação e o contraste. Com o desenvolvimento incremental de técnicas de microscopia, métodos de purificação e cultura de células, manipulação genética de organismos inteiros, engenharia de proteínas e ciências da computação, a microscopia de *time-lapse* chegou a um ponto em que pode se tornar uma abordagem padrão para responder questões biológicas de longa data. Contudo, apesar da evolução técnica e de *hardware*, ainda enfrentamos obstáculos devido ao carecimento de ferramentas integradas de bioinformática, que nos permitam processar em lote e analisar todos os dados em um *software* de fácil acesso.

De maneira geral, grande parte das imagens de culturas de células que são feitas hoje, são feitas fora de estufas, onde o operador retira a placa de cultura e a posiciona no microscópio ótico para fazer a captação de imagens. Esse processo, além de ser um risco à saúde das células, devido a contaminação, não permite um acompanhamento contínuo por parte do pesquisador. Os dados então são processados nos *softwares*, dedicados ou não, e estão prontos para o operador coletá-los. Em virtude desse conjunto de etapas, é necessário um aparato que seja capaz de fazer o monitoramento contínuo de cultura de células de dentro de estufas, proporcionando, assim, um acompanhamento mais controlado e real, por parte do pesquisador, com capacidade de tirar fotos em sequência de um mesmo

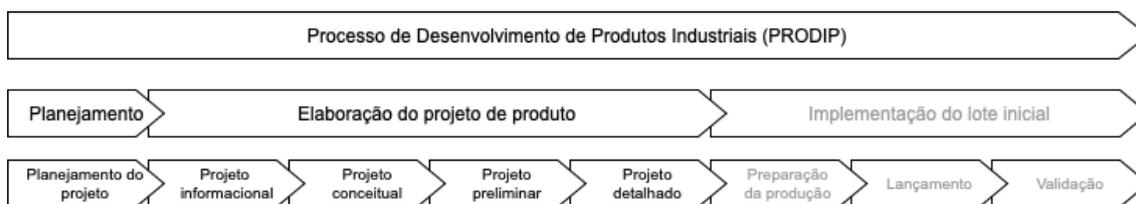
campo de cultura, que também tenha a capacidade de captar fotos com fluorescência e, que faça um processamento dos dados coletados.

## 2.1 Metodologia

A metodologia adotada neste trabalho é a de Processo de Desenvolvimento Integrado de Produtos (PRODIP) proposta por Back et al. (2008), com base em pesquisas e experiências desenvolvidas pelo NeDIP. O modelo proposto pelos autores é decomposto em três macrofases que são segmentadas em oito fases (Figura 2.1) o que contribui para um desenvolvimento de produtos mais formal e sistemático. Para este projeto, devido aos seus fins acadêmicos, serão abordadas apenas as cinco primeiras fases. É importante salientar que ao final de cada fase é possível retornar um ou dois passos para complementar a mesma, especialmente quando há a necessidade de realimentação; pois o processo é circular e não linear.

A metodologia adotada neste trabalho é a de Processo de Desenvolvimento Integrado de Produtos (PRODIP) proposta por Back et al. (2008), juntamente com a metodologia do Design Participativo (MORAES; ROSA, 2012), a de Baxter (2000) e com a de Sapper (2015). O modelo proposto por Back et al. (2008) é decomposto em três macrofases que são segmentadas em oito fases 2.1 o que contribui para um desenvolvimento de produtos mais formal e sistemático. Para este projeto, devido aos seus fins acadêmicos, serão abordadas apenas quatro fases, estas são: Planejamento do projeto, Projeto informacional, Projeto conceitual e Projeto detalhado. É importante salientar que ao final de cada fase é possível retornar um ou dois passos para complementar a mesma, especialmente quando há a necessidade de realimentação. O Design Participativo, no qual os usuários atuam como coprojetistas, tendo papel ativo e alto envolvimento no projeto, no intuito de melhorar a qualidade do sistema e evitar a implementação de funções sem utilidade (MORAES; ROSA, 2012), é fortemente utilizado nas etapas dois e três, Projeto informacional e Projeto conceitual, respectivamente.

Figura 2.1: Fases do Processo de Desenvolvimento de Produtos Industriais



Fonte: Adaptado de Back et al. (2008).

### 2.1.1 Fase 1 – Planejamento do Projeto

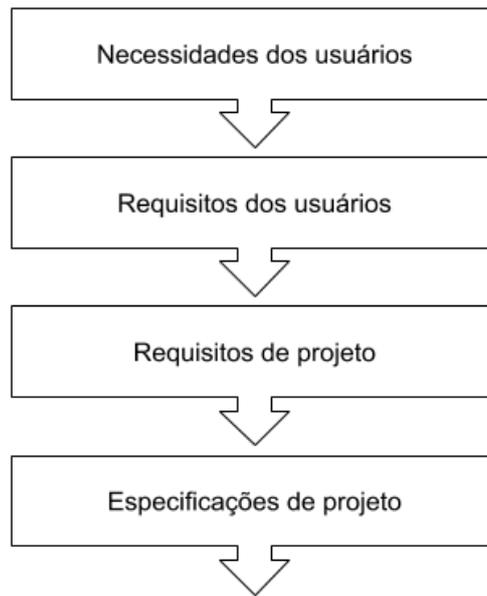
Na primeira fase é onde ocorre o planejamento de um novo projeto, a pesquisa por referências bibliográficas e são decididas as estratégias de organização do trabalho a ser desenvolvido ao longo do processo. É elaborado o escopo do projeto, a justificativa, definindo assim os objetivos que se pretende alcançar e as restrições de projeto (BACK et al., 2008).

### 2.1.2 Fase 2 – Projeto Informacional

A fase de projeto informacional é a fase mais importante e é a que irá sustentar as outras fases do projeto, pois trará toda a fundamentação teórica e dados sobre os usuários. Nesta etapa, primeiramente, é feita uma coleta de informações sobre o tema, o mercado e sobre os usuários, através de pesquisas, entrevistas e registros fotográficos. Com as informações identificadas, é feita uma análise de dados para então definir as necessidades dos usuários, sendo essas desdobradas em requisitos dos usuários, esses expressos de forma qualitativa. A partir dos requisitos de usuário, os requisitos de projeto de produto são definidos levando em consideração diferentes atributos, como: funcionais, ergonômicos, de segurança, de confiabilidade, de modularidade, estéticos e legais (BACK et al., 2008).

Conhecidos os requisitos de projeto, é feita uma análise comparativa dos produtos já existentes no mercado, permitindo assim verificar os produtos concorrentes e se ocorre ou não o atendimento dos mesmos aos requisitos dos usuários e aos de projeto. Ao final de todas essas etapas, as especificações de projeto (os objetivos que o produto deve atender) são determinadas, derivadas dos requisitos de projeto. A Figura 2.2 apresenta o fluxograma dos desdobramentos das etapas até a determinação das especificações de projeto.

Figura 2.2: Fluxograma para determinação das especificações de projeto



Fonte: Adaptado de Back et al. (2008).

### 2.1.3 Fase 3 – Projeto Conceitual

Na fase de projeto conceitual é feito o desenvolvimento da concepção do produto, estabelecendo a sua estrutura funcional com base nos resultados obtidos nas fases anteriores. Nesta etapa são definidas a função global a ser executada, suas subfunções e o conceito, que irá servir como guia na geração das concepções de alternativas (BACK et al., 2008). Com a utilização da metodologia de Baxter (2000), são utilizados métodos para facilitar o processo do projeto conceitual, bem como na concepção de conceitos. Já a metodologia de Sapper (2015) auxilia na hora da concepção das novas opções de alternativas finais. São feitos protótipos de várias resoluções, que servem como ferramenta de concepção, os quais, ajudam na tomada de decisão. A partir de uma análise comparativa entre as alternativas, é feita uma seleção da concepção que mais se adequa nas especificações do projeto, levando em conta o custo meta, os riscos de desenvolvimento, as metas de qualidade, de segurança e de dependabilidade (BACK et al., 2008).

#### **2.1.4 Fase 4 – Projeto Detalhado**

A fase de projeto detalhado é destinada à parte de aprovação do protótipo, finalização das especificações dos componentes e detalhamento do plano de manufatura. Nesta etapa o protótipo passa por ensaios de laboratório e de campo, de acordo com os planos de fabricação e de testes emitidos na fase anterior. Na sequência, as alterações na estrutura do protótipo são aprovadas e a construção do produto é concluída, os componentes certificados, o plano de manufatura detalhado e as especificações técnicas fixadas (BACK et al., 2008).

## **Part II**

# **PROJETO INFORMACIONAL**

O projeto informacional inclui a identificação de uma oportunidade, pesquisa de marketing, análise dos produtos concorrentes, proposta do novo produto, elaboração das especificações da oportunidade e especificações do projeto. Nesta etapa, muitas decisões importantes sobre o produto são tomadas, como qual é a clientela do produto e quais são as principais restrições ao seu desenvolvimento. Nisso, muitas decisões sobre o projeto do produto são tomadas antes que comece o seu processo de desenvolvimento de fato.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo será apresentado o referencial teórico necessário para a compreensão do problema e o embasamento do trabalho proposto. Para isso, foi realizada uma análise do funcionamento de microscópios biológicos, e uma análise dos fatores que os influenciam. Buscou-se compreender os conceitos da microscopia ótica, da imagem digital, e como fazer uso dos mesmos, além de, compreender o ambiente celular ideal dentro de estufas, o funcionamento dos *hardwares* e *softwares* existentes, finalizando com a compreensão dos requisitos para uma captação da bioimagem ideal, que poderiam ser aplicados ao projeto.

#### 3.1 Microscopia Ótica

O microscópio ótico é um instrumento utilizado para ampliar e observar estruturas pequenas. Os primeiros microscópios óticos datam 1600, mas é incerto quem terá sido o autor do primeiro. A sua criação é atribuída a vários inventores: Zacharias Janssen, Galileo Galilei, entre outros. A popularização deste instrumento, no entanto, é atribuída a Anton van Leeuwenhoek. São constituídos por uma componente mecânica de suporte e de controle da componente ótica que amplia as imagens (MOREIRA, 2003). A Figura 3.1 ilustra os componentes.

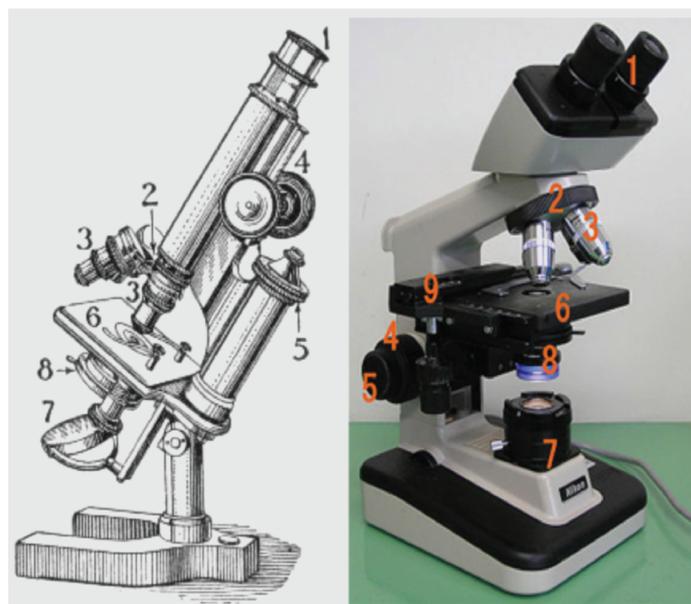
Segundo Moreira (2003), os componentes mecânicos podem ser listados como:

- **Pé ou base** – apoio a todos os componentes do microscópio;
- **Braço** – fixo à base, serve de suporte às lentes e à platina;
- **Platina** – base de suporte e fixação da preparação, tem uma abertura central que deixa passar a luz; as pinças ajudam à fixação da preparação;
- **Revólver** – suporte das lentes objetivas, permite trocar a lente objetiva rodando sobre um eixo;
- **Tubo ou canhão** – suporta a lente ocular na extremidade superior;
- **Parafuso macrométrico** – permite movimentos verticais da grande amplitude da platina;
- **Parafuso micrométrico** – permite movimentos verticais lentos de pequena amplitude da platina para focagem precisa da imagem.

E os componentes óticos como:

- **Condensador** – sistema de duas lentes (ou mais) convergentes que orientam e distribuem a luz emitida de forma igual pelo campo de visão do microscópio;
- **Diafragma** – regula a quantidade de luz que atinge o campo de visão do microscópio, através de uma abertura que abre ou fecha;
- **Fonte luminosa;**
- **Lente ocular;**
- **Lente objetiva.**

Figura 3.1: Microscópio Ótico



- |                          |                                       |
|--------------------------|---------------------------------------|
| 1. Lentes oculares       | 6. Platina                            |
| 2. Revólver              | 7. Foco luminoso (Lâmpada ou espelho) |
| 3. Lentes objetivas      | 8. Condensador e diafragma            |
| 4. Parafuso macrométrico | 9. Braço                              |
| 5. Parafuso micrométrico |                                       |

Fonte: Adaptado de Moreira (2003).

Ao considerar a microscopia ótica, os fatores mais importantes para atingir uma alta qualidade ótica são, os sistemas de lentes, a resolução e a profundidade de campo. A seguir, serão abordados estes fatores de forma mais detalhada.

### 3.1.1 Sistema de Lentes

O sistema de lentes é formado por lentes convergentes de dois tipos; objetiva e ocular. A objetiva (Figura 3.2) é um conjunto de lentes que apresenta pequena distância

focal e que fornece uma imagem real e aumentada do objeto que é observado inicialmente. Já a ocular (Figura 3.3), funciona como uma lupa, dando uma imagem virtual e ampliada da imagem real que se formou pela objetiva.

Figura 3.2: Lentes Objetivas



Fonte: DHGate (2019).

Figura 3.3: Lentes Oculares



Fonte: Ningbo Chutong Electric Co Limited (2019).

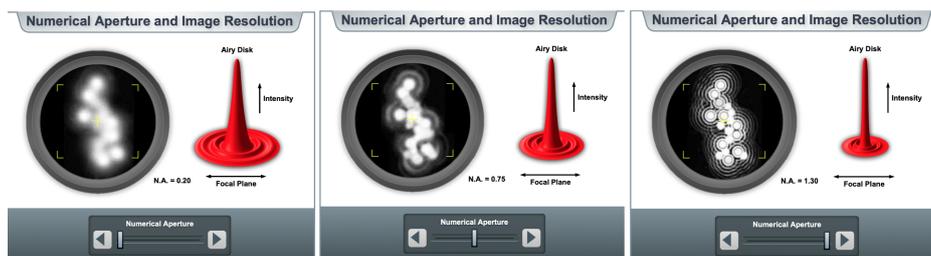
### Abertura Numérica

A abertura numérica de uma objetiva é uma medida de sua capacidade de coletar luz e resolver detalhes finos de espécimes a uma distância fixa do objeto. Ondas de luz que formam a imagem passam através da amostra e entram na objetiva em um cone invertido, como mostra a Figura 3.4. Uma fatia longitudinal deste cone de luz revela a abertura angular, que é um valor que é determinado pela distância focal da objetiva (MICROSCOPY, 2019).

### Objetiva

A lente objetiva forma a imagem primária da microestrutura e é, também, o componente mais importante do microscópio de luz; a objetiva capta a maior quantidade de luz possível do espécime e combina essa luz para produzir a imagem. A abertura numérica ( $NA$ ) da objetiva, correspondente à capacidade de captação de luz da lente, é definida

Figura 3.4: Ilustração da abertura numérica



Fonte: MicroscopyU (2019).

pela Equação 3.1, onde  $n$  é o índice de refração mínimo do material (ar ou óleo) entre o corpo de prova e a lente, e  $\alpha$  é a metade do ângulo dos raios de luz mais oblíquos que entram na lente frontal da objetiva. A capacidade de captação de luz aumenta com  $\alpha$ , e o ajuste do diafragma de abertura altera o  $NA$  do condensador e, portanto, o  $NA$  do sistema (VANDERVOORT, 2005).

$$NA = n \sin\alpha \quad (3.1)$$

A lente objetiva mais utilizada é a acromática, que limita os efeitos das aberrações cromática e esférica; é corrigida esféricamente para uma cor, normalmente para amarelo-verde, e para aberração cromática longitudinal, para duas cores, vermelho e verde. Portanto, os cromatos não são adequados para a fotomicroscopia colorida, particularmente em ampliações maiores, fazendo assim uso de um filtro amarelo-verde para produzir bons resultados (EVENNETT; HAMMOND, 2005).

## Oculares

O microscópio ótico produz uma imagem virtual da amostra no ponto de visão mais distinto, geralmente a 250 mm do olho. A lente ocular amplia essa imagem, permitindo a obtenção de magnificações úteis.

A lente ocular mais simples é a *Huygenian*, que é usada com objetivas de alta e média potência; as oculares compensadoras são utilizadas com acromáticas de alta  $NA$  e com objetivas altamente corrigidas. Como algumas correções da lente são feitas usando essas oculares, estas devem corresponder ao tipo de objetiva utilizada; os microscópios mais recentes, corrigidos pelo infinito, não realizam correções nas oculares, e sim, em uma lente tubular. Assim, as oculares são mais simples nos microscópios corrigidos para infinito (VANDERVOORT, 2005).

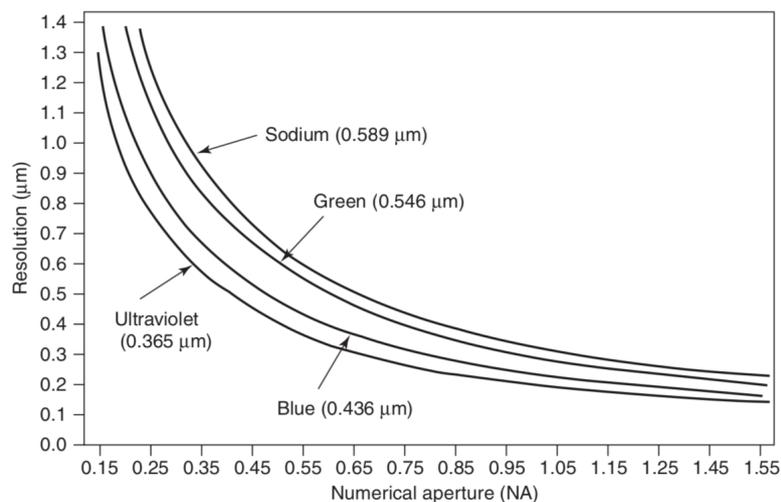
### 3.1.2 Resolução

Segundo Vander Voort (2005), para visualizar os detalhes microestruturais, o sistema ótico deve produzir uma resolução adequada, ou poder de resolução e contraste de imagem adequado. Se a resolução é aceitável, mas falta contraste, os detalhes não podem ser observados. Comumente, a capacidade de resolver dois pontos ou linhas separadas pela distância  $d$  é uma função do comprimento de onda da luz incidente,  $\lambda$ , e da abertura numérica,  $NA$ , na objetiva, expressada pela Equação 3.2, onde  $k$  é 0.5 ou 0.61.

$$d = \frac{k \lambda}{NA} \quad (3.2)$$

A Figura 3.5 ilustra essa relação para  $k = 0.61$  e quatro comprimentos de onda de luz.

Figura 3.5: Influência da abertura numérica, na objetiva, e do comprimento de onda na resolução do microscópio de luz.



Fonte: Adaptado de Vander Voort (2005).

Utilizando a Equação 3.2, o limite de resolução para uma objetiva com um  $NA$  de 1.3 é  $\approx 0.2 \mu\text{m}$ . Para ver linhas ou pontos espaçados de  $0.2 \mu\text{m}$ , a ampliação necessária deve ser determinada pela divisão do poder de resolução do olho humano, que é difícil de determinar sob condições de observação. Para luz com um comprimento de onda médio de  $0.55 \mu\text{m}$ , a ampliação necessária é de 1100 vezes o  $NA$  da objetiva. Esta é a origem da regra de  $1000 \cdot NA$  para a ampliação máxima útil. Qualquer ampliação acima de  $1000 \cdot NA$  é denominada "vazia" ou inútil (VANDERVOORT, 2005).

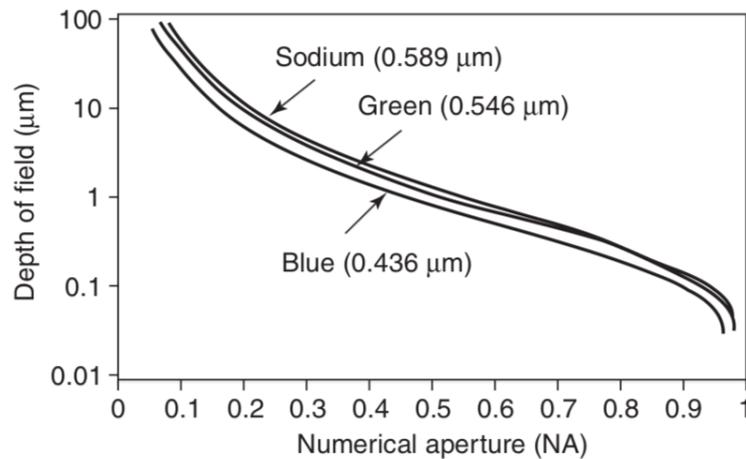
### 3.1.3 Profundidade de Campo

Profundidade de campo é a distância, ao longo do eixo ótico, sobre a qual os detalhes da imagem são observados com clareza. Os fatores que influenciam a resolução afetam, na direção oposta, a profundidade de campo. A profundidade de campo,  $d_f$ , pode ser estimada a partir da Equação 3.3:

$$d_f = \lambda \frac{(n^2 - NA^2)^{\frac{1}{2}}}{NA^2} \quad (3.3)$$

onde  $n$  é o índice de refração do meio entre a amostra e a objetiva ( $n \approx 1.0$  para ar),  $\lambda$  é o comprimento de onda da luz e  $NA$  é a abertura numérica (VANDERVOORT, 2005). Esta equação exemplifica que a profundidade de campo aumenta à medida que o  $NA$  diminui e quando a luz de maior comprimento de onda é usada, como mostra na Figura 3.6.

Figura 3.6: Influência da abertura numérica objetiva e comprimento de onda na profundidade de campo do microscópio de luz.



Fonte: Adaptado de Vander Voort (2005).

### 3.1.4 Fluorescência

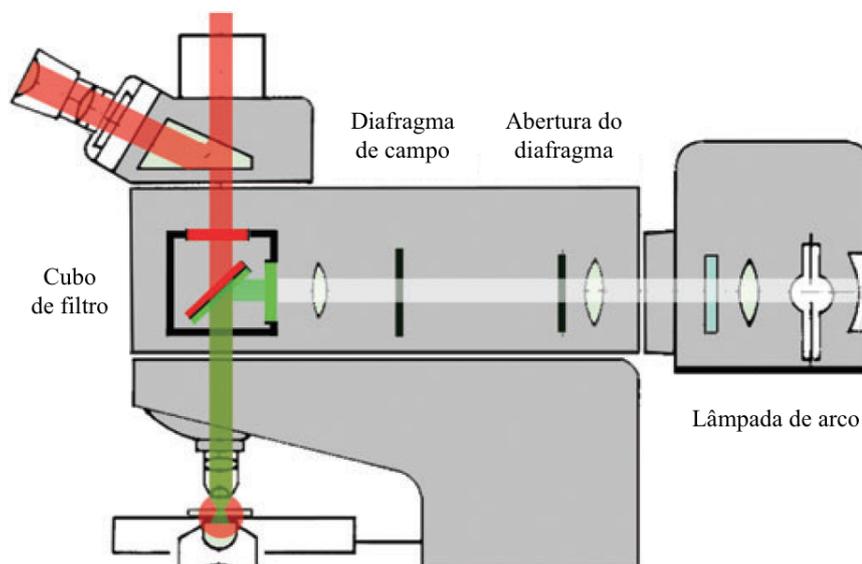
Fluorescência é a emissão de luz que ocorre dentro de nanossegundos após a absorção de luz que é tipicamente de menor comprimento de onda. A diferença entre os comprimentos de onda excitantes e emitidos, conhecidos como o deslocamento de Stokes, é a propriedade crítica que faz a fluorescência tão poderoso. Filtrando completamente

o excitante luz sem bloquear a fluorescência emitida, é possível ver apenas os objetos que são fluorescentes. Esta abordagem ao contraste é superior às técnicas de absorção nas quais objetos são manchados com agentes que absorvem a luz. Com absorbância corantes, a quantidade de luz absorvida torna-se apenas infinitesimalmente diferente do fundo para pequenos objetos. Na fluorescência, no entanto, até mesmo moléculas fluorescentes únicas são visíveis se o fundo não tem autofluorescência (LICHTMAN; CONCHELLO, 2005).

### **Cubo de Fluorescência**

Um microscópio de fluorescência é montado de maneira que ilumina a amostra com um comprimento de onda e filtra a luz de retorno, resultando somente a fluorescência de maior comprimento de onda. A configuração mais utilizada é a da epi-iluminação, como mostrado na, Figura 3.7, onde a objetiva serve também como condensador que ilumina a amostra; a luz excitante vem através do condensador e a emissão é coletada pela objetiva. A vantagem desta configuração sobre a transmissão, ou diascópica, microscópios de fluorescência (em que a luz excitante vem através do condensador e a emissão é coletada pelo objetivo) é que a excitação do fluoróforo é equivalente em ambos epi; e os microscópios transmitidos, apenas a pequena porcentagem de luz excitante, que é refletida da amostra precisa ser bloqueada no retornar do caminho da luz no modo de epi-iluminação. A fonte de luz, envia espectro de luz total para o espécime por meio de um "cubo" de fluorescência que ilumina seletivamente a amostra com um comprimento de onda que excita um determinado fluoróforo (mostrado, luz verde para excitar rodamina). A fluorescência vermelha, que é animada, envia fótons em todas as direções e uma fração é coletada pela objetiva e enviada através do cubo para o olho ou porta da câmera acima; o cubo tem dois filtros, o espelho dicróico e filtro de barreira, para evitar os comprimentos de onda excitantes de alcançar o detector (LICHTMAN; CONCHELLO, 2005).

Figura 3.7: Configuração do cubo de fluorescência.



Fonte: Adaptado de Lichtman & Conchello (2005).

## 3.2 Imagens de Células Vivas

Para a aquisição de imagens de células vivas, é importante salientar que não existe um método fechado que possa ser utilizado universalmente, pois cada modelo e questão biológica requer uma combinação específica de fatores interdependentes. A principal preocupação é garantir que as células mantenham sua função fisiológica e que estas não sejam alteradas por condições de incubação ou de imagem (SKYLAKI; HILSENBECK; SCHROEDER, 2016).

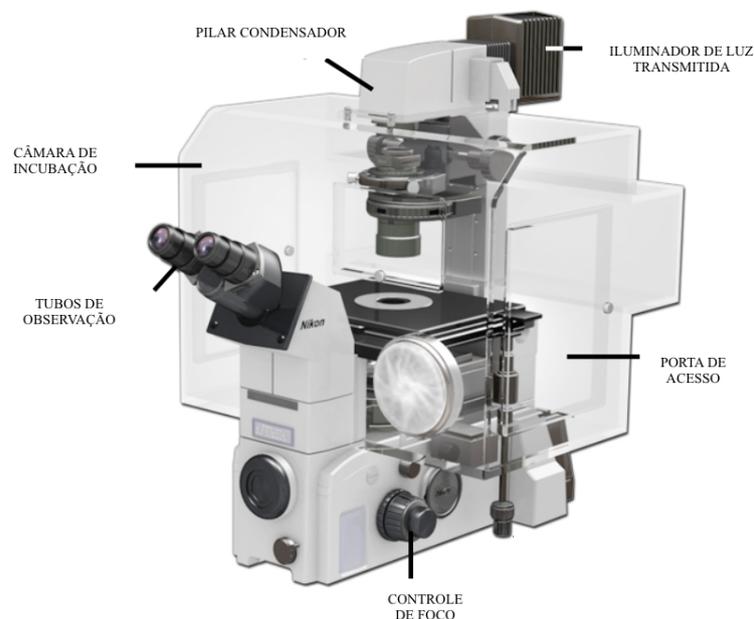
### 3.2.1 Ambiente da Amostra

Para que o processo de aquisição de imagens ocorra com sucesso, as células devem ser mantidas em um ambiente que não as cause estresse, pois o mesmo pode alterar os processos celulares de interesse. Alguns dos fatores a se considerar, são o tipo de meio de cultura, ou seja, o lugar em que as amostras ficam, seu conteúdo e a temperatura da amostra. A maioria dos meios celulares, são à base de bicarbonato e requerem  $\text{CO}_2$  em concentrações superiores às condições atmosféricas para manter o pH fisiológico, para metabolizar a glicose e fazer o funcionamento adequado dos transportadores de íons e

ácidos-base. Hoje, as culturas são comumente mantidas em incubadoras umidificadas a 37 °C que são abastecidas com 5% de CO<sub>2</sub>. Assim, o pH da amostra deve ser mantido em um nível fisiológico e a evaporação do meio deve ser minimizada para evitar mudanças na osmolaridade (COUTU; SCHROEDER, 2013).

Ao executar um experimento de *time-lapse*, a maneira mais fácil de manter o pH é usar um microscópio equipado com uma incubadora (Figura 3.8, onde é possível ajustar e monitorar a temperatura e o CO<sub>2</sub>). Uma alternativa simples é saturar o meio de cultura com CO<sub>2</sub> e usar câmaras de incubação seladas. Também, deve ser notado que a maioria das culturas de tecidos celulares feitas em poços de cultura de plástico, são permeáveis ao gás e que algum vazamento é esperado. O uso de grandes volumes de meios de cultura, evita problemas de evaporação e a necessidade de um aparato de perfusão para atualizar o meio continuamente ou periodicamente, mas pode contribuir para aumentar o ruído na imagem de fluorescência. A evaporação altera a osmolaridade e concentração dos componentes do meio, o que é um problema em particular para poços muito pequenos. Isto é corriqueiro para grandes câmaras de incubação, que não podem ser umidificadas para evitar danos em partes microscópicas sensíveis à oxidação (COUTU; SCHROEDER, 2013).

Figura 3.8: Incubadora de microscópio de ambiente controlado.



Fonte: Adaptado de MycroscopyU (2019).

Para evitar mudanças na osmolaridade causada pela evaporação do meio, é necessário umidificar o ar sobre a amostra. Normalmente, o gás CO<sub>2</sub> é borbulhado através de

um reservatório de água para umidificar o ambiente. Ao usar câmaras grandes que envolvem todo o microscópio, apenas um pequeno invólucro colocado sobre a amostra deve ser umedecido para que a umidade não danifique as partes mecânicas do microscópio (FRIGAULT et al., 2009).

### 3.2.2 Fototoxidade

O maior problema na captação de imagens em sequência, por fluorescência, é a fotodegradação das células pela exposição constante à luz de excitação. A fototoxidade é causada pela luz de comprimento de onda curta que reage com os componentes celulares ou as proteínas adicionadas. A fototoxicidade pode ser minimizada reduzindo a intensidade da luz de excitação. A iluminação por fluorescência deve ser usada somente quando necessário, em baixa frequência e para baixos tempos de exposição. Diminuir a intensidade da excitação e prolongar os tempos de exposição pode ser útil para reduzir a toxicidade. O uso de corantes excitáveis por radiação UV deve ser evitado o máximo possível, e os corantes vermelhos ou avermelhados devem ser preferidos aos verdes, amarelos e azuis. Além disso, câmeras sensíveis e obturadores rápidos devem ser priorizados. Os sistemas sem obturadores (por exemplo, com excitação LED comutável rápida) podem reduzir drasticamente a toxicidade e melhorar a resolução temporal (SKYLAKI; HILSENBECK; SCHROEDER, 2016; COUTU; SCHROEDER, 2013).

### 3.3 Softwares de Bio Imagem

As bioimagens feitas em sequência, por um longo período de tempo, chamadas *long-term images*, e com filtros de fluorescência, geram dados maiores e mais pesados, quando comparados com os dados fornecidos por imagens comuns, por isso, essas demandam de maior espaço para *storage* e *back up*, de uma análise mais aprofundada e de *softwares* cada vez mais sofisticados.

#### 3.3.1 Aquisição de Imagens

A maioria dos *hardwares* de aquisição de imagens existentes no mercado, são vendidos juntamente com seus *softwares* proprietários. São exemplos destes: AxionVision

(Zeiss), elementos NIS (Nikon), cellSens (Olympus), Metamorph (Molecular Devices) e Velocity (Perkin-Elmer). A principal vantagem dessa abordagem é compatibilidade existente entre os componentes projetados para os *hardwares* específicos, eliminando assim os problemas comumente atrelados a isso. Entretanto, acaba por resultar numa alta inflexibilidade, limitando muito as alterações personalizadas feitas em um *hardware* de criação de imagens como o uso de novas fontes de iluminação. Assim, laboratórios que utilizam de diversos componentes de *hardware* que são automontados para necessidades específicas e com frequentes mudanças nos projetos experimentais são limitados por esses pacotes. Portanto, os pesquisadores acabam escrevendo seus próprios códigos para satisfazerem suas necessidades (COUTU; SCHROEDER, 2013).

Em contrapartida, desde 2005, vários membros do laboratório de Ron Vale na Universidade da Califórnia, São Francisco (UCSF), com a assistência de colaboradores de diversas nações, vêm desenvolvendo o  $\mu$ Manager: um *software* gratuito e de código aberto para controlar equipamentos automatizados de microscópio. O  $\mu$ Manager é um *software* que oferece um padrão universal para controle de microscópios, câmeras e outros equipamentos periféricos de um conjunto diversificado de fabricantes, que pode ser executado em sistemas Windows, Mac OS e Linux. O aplicativo inclui uma interface gráfica de usuário (GUI - *graphic user interface*) baseada em janelas fáceis de usar para usuários comuns de microscópios, mas também oferece ferramentas avançadas para personalização. Para combinar facilmente a aquisição com a análise, o  $\mu$ Manager foi desenvolvido como um *plug-in* para o ImageJ, um programa de análise de imagens gratuito e de código aberto que é usado por muitos cientistas (EDELSTEIN et al., 2010).

A aquisição de uma imagem por um microscópio biológico moderno envolve diversas etapas; uma sequência de imagens padrão, pode incluir a troca de filtros, a mudança de intensidade de uma lâmpada, a troca de posição de uma amostra, a alteração do foco, a definição do tempo de exposição da câmera, a abertura e fechamento do obturador, o início e o término a exposição da câmera, a recuperação e armazenamento da imagem. O  $\mu$ Manager automatiza tais sequências, tornando-as fáceis de repetir e reproduzir. Além disso, o *software* consiste de vários módulos: uma coleção de bibliotecas de “adaptadores de dispositivos”, para controlar componentes de *hardwares* específicos; um sistema de controle de *hardware* “core” que coordena esses dispositivos; um “painel de *script*” para escrever protocolos automatizados personalizados e um mecanismo “*plug-in*” para aplicações avançadas de microscopia. Estes módulos podem ser acessados por programadores e cientistas, através de uma coleção de APIs (interfaces de programação de aplicativos),

a qual permite que os desenvolvedores implementem os adaptadores de dispositivos para novos *hardwares* que ainda não são suportados pelo  $\mu$ Manager. A interface Core API fornece aos programadores o controle de todo o *hardware* através de um conjunto de comandos, já a GUI API é uma API baseada em Java que oferece aos programadores a capacidade de modificar e estender todos os aspectos da interface do usuário. Ambas as APIs, GUI e Core, podem ser acessadas por *scripts* e pelo código do *plug-in*, bem como pelo MATLAB (um aplicativo de computação numérica comercial). Além disso, a API principal do  $\mu$ Manager pode ser acessada pela linguagem de programação Python (EDELSTEIN et al., 2010).

### 3.3.2 Análise de Imagens

Após a aquisição das imagens, os dados destas precisam ser analisados de forma estatisticamente significativa. Para funções comuns de análise de imagens, como visualização, colocalização e quantificação básica, muitos programas já estão comercialmente disponíveis, são estes: Imaris (Bitplane), Volocity (Perkin-Elmer), ZEN (Zeiss), MetaMorph (Molecular Devices) e Amira (VSG). Há também, uma alto crescimento dos *softwares* de código aberto, cada um trazendo suas particularidades e suas especialidades. Entretanto, como muitos desses *softwares* foram desenvolvidos para responder a uma necessidade específica, não há um *software* perfeito, que abranja todas as categorias, para cada pesquisador, exigindo dos mesmos algum conhecimento em programação (COUTU; SCHROEDER, 2013).

Um dos primeiros *softwares* de código aberto para análise de dados de microscopia foi o ImageJ, que foi criado há 25 anos pelo National Institutes of Health (NIH), nos EUA, e hoje conta com mais de 500 colaboradores na sua equipe de desenvolvedores e seus *plug-ins* disponíveis excedem esse número. Outros *softwares* disponíveis atualmente, que podem ser úteis para análise de imagens são: BioImageXD, OMERO, Vaa3D, CellProfiler, Fluorender, ImageSurfer, 3D Slicer, Image Slicer, Reconstruir, OsiriX, IMOD, SIMIoBioCell, TimeLapseAnalyzer, TLM-Tracker e TTT. Entretanto, todos são especializados na execução de tarefas específicas na análise de imagens, e são otimizados para imagens com propriedades muito específicas. Alguns, como CellProfiler e Icy, permitem que o usuário, sem habilidades de programação, crie segmentações de instruções para processamento em lote de imagens. No entanto, nenhum desses *softwares* fornecem todas as ferramentas necessárias para resolver todos os requisitos fundamentais

para gerar dados unicelulares a partir de dados contínuos de experimentos de *time-lapse* (COUTU; SCHROEDER, 2013).

## 4 ANÁLISE DE SIMILARES

Para o desenvolvimento deste projeto, é necessário analisar os produtos existentes, que se assemelham de maneira funcional à proposta apresentada ao decorrer deste trabalho, para verificar formas, materiais, e tecnologias utilizadas.

Segundo Baxter (2000), a análise de similares serve para monitorar as empresas concorrentes e seus produtos, e assim determinar como elas conseguiram alcançar o sucesso e onde fracassaram. Nesta etapa do trabalho serão analisados diversos produtos já existentes no mercado e que possuem alguma característica comparável com a proposta em desenvolvimento. Assim, foi possível analisar como alguns problemas de projeto foram resolvidos, tanto quanto as forças e fraquezas de possíveis concorrentes.

### 4.1 Invitrogen EVOS FL Auto 2 Cell Imaging System

Invitrogen EVOS FL Auto 2 (Figura 4.1) é um microscópio de monitoramento e captação de imagens automatizado, produzido pela Thermo Fisher Scientific. Foi projetado com recursos para simplificar o uso com aplicativos de bioimagem, incluindo imagens de células vivas, *image tiling* (imagens muito grandes que são segmentadas) e *Z-stacking* (conhecida por empilhamento de foco, onde são combinadas várias imagens com diferentes distâncias focais para fornecer uma imagem composta com maior profundidade de campo).

Figura 4.1: Invitrogen EVOS FL Auto 2



Fonte: Thermo Fisher Scientific (2018).

Tem capacidade de fazer uma varredura motorizada da área da platina de X/Y (com faixa de deslocamento de 120 x 80 mm, com resolução submicron; com *drop-in*,

para suportes de recipientes e suportes de travamento, utilizados durante varreduras longas). Possui capacidade de movimentação rápida mantendo sua precisão entre a ampliação baixa, o modo de campo único e de alta ampliação. Capaz de digitalizar uma placa de 96 poços em 3 canais fluorescentes, num período menor de 5 minutos. Transfere os dados para o monitor LCD, colorido de 23 polegadas, com tela de toque, de resolução de 1.920 x 1.080 pixels. Pesa 16 Kg, e têm suas dimensões: (P x L x A) 33 x 46 x 36 cm.

Possui mais de 20 cubos de lâmpadas LED, substituíveis pelo usuário, câmeras duplas (monocromáticas e coloridas), com lentes objetivas que variam de 1,25x a 100x. Dispõe de opção para controle de temperatura, umidade e gases para condições normóxicas ou hipóxicas. Além disso, detém de um software dedicado para análise quantitativa e estatística.

O Quadro 4.1, traz algumas especificações restantes.

Quadro 4.1: Especificações de Invitrogen EVOS FL Auto 2.

Iluminação	Cubos de lâmpadas LED de intensidade ajustável (>50.000 horas de vida por cubo de lâmpada)
Canais de fluorescência	Acomoda, simultaneamente, 4 cubos de fluorescência e imagem de campo claro
Métodos de contraste	Fluorescência e luz transmitida (campo claro e contraste de fase)
Capacidade da objetiva	5-posições; controle montado na frente
Objetivas (não inclusas)	Ampla seleção de objetivos de alta qualidade, longa distância de trabalho (LWD) e correção de lamínulas variando de 1.25x a 100x
Condensador	Condensador LWD de 60 mm, torre de 4 posições com uma abertura livre e anular trifásico
Câmeras (opção dupla)	Câmera monocromática CMOS de 1.3 MP de alta sensibilidade com 1.328 x 1.048 pixels Câmera colorida CMOS de alta sensibilidade de 3.2 MP com 2.080 x 1.552 pixels
Imagens capturadas	TIFF monocromático de 16 bits ou PNG 8 bits por canal TIFF, PNG ou JPG; time-lapse AVI

Fonte: Adaptado de Thermo Fisher Scientific (2018).

## 4.2 EVOS XL Core Cell Imaging System

O EVOS XL Core (Figura 4.2) faz o monitoramento celular e a captação de imagens de cultura celular dentro do fluxo (um gabinete onde o ar é controlado para não haver contaminação).

Figura 4.2: EVOS XL Core



Fonte: Thermo Fisher Scientific (2018).

O seu formato remete a um microscópio convencional, com objetivas de 4x, 10x, 20x, 40x, *plan phase LWD*, infinita e uma opcional de 2x. Possui torre objetiva de 4 posições com controle manual, e torre do condensador de 3 posições para campo claro e contraste de fase (os quais são os métodos de contraste de luz transmitida). Faz controle do eixo X/Y e estrutura do suporte do vaso, com amplitude de movimento de 120 x 78 mm e seus botões com 56 mm/revolução. Pesa 9,1 Kg quando a platina é fixa (AMEX1000), 10,0 Kg quando a platina tem controle mecânico (AMEP4712) e têm suas dimensões: (P x L x A) 406 x 318 x 533 mm.

O Quadro 4.2, a seguir, traz algumas especificações restantes.

Quadro 4.2: Especificações de Invitrogen EVOS XL Core

Iluminação	LED de intensidade ajustável (>50.000 horas de vida por cubo de luz)
Distância de trabalho do condensador	60 mm
Mecanismo de foco	Botões de foco coaxial com controle de tensão: Foco grosseiro: 38 mm/rev Foco preciso: 0.2 mm/rot, precisão 0.002 mm
Monitor	Monitor LCD colorido de alta resolução (1.024 x 768 pixels) de 12,1 pol. com inclinação ajustável
Câmera	Cor: 1/2 "2.048 x 1.536, 3.1 megapixels
Aquisição de imagem	Sistema operacional incorporado, com <i>software</i> de imagem para captura de imagem e economia via mouse ou botões manuais montados na frente
Imagens capturadas	Câmera colorida: TIFF ou PNG colorida de 24 bits; JPEG, BMP (2.048 x 1.536 pixels)
Portas de saída	2 portas USB 2.0
Fonte de alimentação	Adaptador AC; entrada 100-240 V, 47-63 Hz; saída 12 V DC / 2.0 A 24 W max

Fonte: Adaptado de Thermo Fisher Scientific (2018).

### 4.3 Lionheart FX Automated Microscope

O microscópio automatizado Lionheart FX (Figura 4.3), da marca BioTek, é um sistema de microscopia compacto. Possui captura e pré-processamento de imagens automatizadas, com o autofoco baseado em imagem e *laser*. Dispõe de uma tampa de co-

bertura para fazer controle do ambiente, com incubação a 40 °C e contenção efetiva para controle de CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>. Apresenta câmara de umidade e um *software* dedicado, o Gen5™, que automatiza totalmente a captura, processamento e análise de imagens.

Figura 4.3: Lionheart FX



Fonte: BioTek (2018).

O Lionheart FX suporta placas de culturas de 6 a 1536 poços, como outros materiais laboratoriais. Possui resolução do eixo X/Y de 0,1 microns, potência de 250 *Watts* de consumo máximo, e dimensões: (P x L x A) 45,5 x 46,5 x 35,8 cm com tampa fechada; 45,5 x 46,5 x 69,8 cm com tampa totalmente aberta. Pesa 23,1 Kg, sem a cobertura de controle ambiental, e 26,3 Kg, com a tampa de controle ambiental.

A seguir, o Quadro 4.3, lista algumas especificações restantes.

Quadro 4.3: Especificações do sistema de imagem do Lionheart FX.

Modo de imagem	Fluorescência, campo claro, campo claro de alto contraste, campo claro de cor e contraste de fase
Método de imagem	Cor única, multi-cor, montagem, <i>time lapse</i> , <i>Z-stacking</i> , modo <i>burst</i>
Fonte de luz	LEDs de alta potência (comprimentos de onda disponíveis: 365 nm, 390 nm, 465 nm, 505 nm, 523 nm, 590 nm, 623 nm, 655 nm, 740 nm)
Câmera	Câmera CMOS de 16 bits, sensor 2.3 MP Sony IMX249 1/1.2" com tamanho de pixel de 5.86 micron
Intervalo de exposição da câmera	5 milisegundos a 4 segundos
Saídas de imagem disponíveis	Imagens Raw TIFF de 16 bits
Capacidade de quantidade de objetiva	Já vêm com 6; objetivas substituíveis pelo usuário
Objetivos disponíveis	Air: 1.25x, NA .04; 2.5x (2.25x eff), NA: .07; 2.5x (2.75x eff), NA: .12; 4x, NA: .13; 10x, NA: .30; 20x, NA: .45; 40x, NA.60; 60x, NA .70 Oil: 60x, NA:1.42; 60x, NA 1.25; 100x, NA 1.4; 100x, NA 1.3 High NA: 20x, NA 0.75; 40x, NA 0.95
Funções automáticas	Autofoco, autofocus treinado pelo usuário, exposição automática, intensidade do LED automático
Taxa de coleta de imagem	Única captura de taxa de quadros bem mais rápida: Resolução total: até 10 quadros por segundo para imagens de cor única *2x2 Binning: até 20 quadros por segundo para imagens de cor única

Fonte: Adaptado de BioTek (2018).

#### 4.4 Cytation 1 Cell Imaging Multi-Mode Reader

O Cytation 1 *Cell Imaging Multi-Mode Reader* (Figura 4.4) combina imagens de fluorescência e de campo claro de alto contraste com a detecção de modo multi convencional. Provém velocidade de leitura cinética de 96 poços em 11 segundos e de 384 poços em 22 segundos. Possui filtro de alta sensibilidade e sistema monocromador para absorção de UV-Vis. Possui também, controle de temperatura, de incubação de 4 zonas a 45 °C com controle de condensação, permitindo uma variação de +0,2 °C a 37 °C, e controle de CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>. Pesa 29 Kg, e têm suas dimensões: (P x L x A) 50,8 x 41,91 x 44,5 cm.

Figura 4.4: Cytation 1



Fonte: BioTek (2018).

Apresenta fluorescência e imagem de campo claro de alto contraste, onde oferece quatro canais de cor e campo claro, de 1.25x a 60x para capturar grandes regiões ou detalhes intracelulares. Dispõe de mais de 15 cubos de filtro/LED, suportando diversos aplicativos de imagem. Possui eixo X/Y, foco, exposição e intensidade automáticos. Conta com o *software* Gen5, da BioTek, de fácil uso: *capture > process > analyze > publish*.

A seguir, o Quadro 4.4, lista algumas especificações restantes do Cytation 1.

Quadro 4.4: Especificações de Cytation 1.

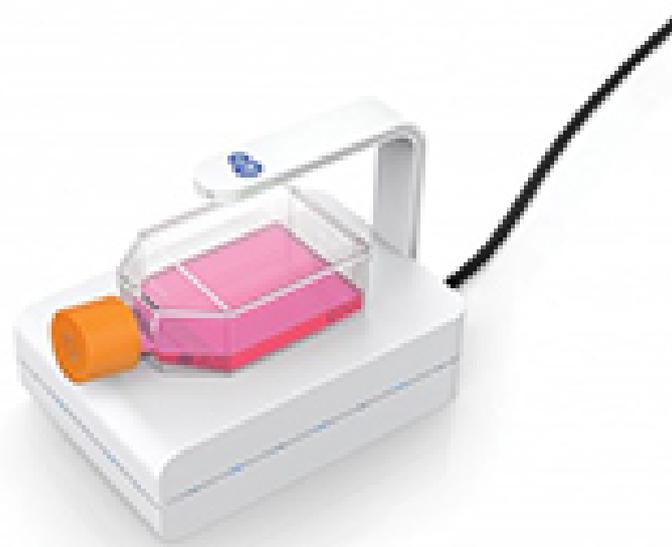
Modos de detecção	Absorvância UV-Vis Intensidade de Fluorescência Luminescência Polarização de fluorescência Fluorescência resolvida no tempo
Tipos de microplacas	Monocromador: placas de 6 a 384 cavidades Filtros: placas de 6 a 1536 poços Imagem: placas de 6 a 1536 poços
Modo de imagem	Fluorescência e campo claro de alto contraste (2.5x Zeiss, 4x, 10x, 20x, 40x e 60x)
Método de imagem	Imagem de cor única, multi-color, montagem, lapso de tempo, <i>z-stacking</i>
Capacidade da objetiva	2 objetivas substituíveis pelo usuário
Objetivas disponíveis	1.25x, 2.5x (2.25x eff), 2.5x (2.75x eff), 4x, 10x, 20x, 40x, 60x
Capacidade do cubo do filtro de imagem	4 cubos de fluorescência substituíveis pelo usuário mais o canal de campo claro
Cubos de filtro de imagem disponíveis	DAPI, CFP, GFP, YFP, RFP, vermelho do Texas, CY5, CY7, laranja de acridina (ACR OR), CFP-YFP FRET, propídio, iodeto, clorofila, ficoeritrina, CY5.5, TagBFP, Alexa568, Ex377/Em647
Cubos LED de imagem disponíveis	365 nm, 390 nm, 465 nm, 505 nm, 523 nm, 590 nm, 623 nm, 655 nm, 740 nm
Fonte de luz	Flash Xenon
Resolução	0.0001 OD
Precisão	OD <1% a 2.0 OD; <3% a 3.0 DO
Linearidade	OD <1% de 0 a 3.0 OD
Repetibilidade	OD <0.5% a 2.0 OD
Luz difusa	0.03% a 230 nm

Fonte: Adaptado de BioTek (2018).

#### 4.5 CytoSMART 2 System

O sistema do CytoSMART 2 SYSTEM (Figura 4.5) é um microscópio compacto e invertido para geração de imagens de células vivas para ser usado dentro da incubadora. Pesa 0,5 Kg, e apresenta dimensões: (P x L x A) 13,3 x 9 x 10 cm.

Figura 4.5: CytoSMART 2 System



Fonte: CytoSMART (2018).

Seu sistema opera em baixa tensão e é próprio para uso seguro em uma incubadora de CO<sub>2</sub> regular, funcionando normalmente por um longo período de tempo enquanto fotografa as células vivas. Além disto, pode ser configurado para gravar imagens em intervalos específicos por minutos, horas e dias. As imagens gravadas são enviadas para o CytoSMART Connect Cloud (Figura 4.6), uma nuvem onde são guardadas toda a data adquirida, onde o *software* de análise de imagens examina a proliferação, analisando a área ocupada (% confluência) das imagens celulares ao longo do tempo; os dados de análise de imagem são representados graficamente em um painel e os alertas podem ser configurados para confluência, podendo assim, o usuário verificar no aparelho de celular ou *tablet*, o andamento de seus experimentos.

Figura 4.6: CytoSMART Connect Cloud gráficos e dados.



Fonte: CytoSMART (2018).

A seguir, o Quadro 4.5, lista algumas especificações relevantes do CytoSMART 2 SYSTEM.

Quadro 4.5: Especificações do CytoSMART 2 System.

Ótica	Campo claro apenas com contraste de fase digital
Ampliação	10x objetiva fixa
Filtros de Fluorescência	Não possui
Campo de visão	2.4 x 1.5 mm
Câmera	5MP CMOS Sensor
Fonte de Alimentação	AC 100-240V, 2A, 10W, 50 / 60HZ
Condições de operação	0 - 42 °C, 5 - 95% RH sem condensação

Fonte: Adaptado de CytoSMART (2018).

#### 4.6 CytoSMART Omni

Apresentado como um produto compacto, podendo digitalizar e analisar até 96 poços, ao mesmo tempo, o CytoSMART Omni (Figura 4.7) é descrito como o menor sistema automatizado, de captura de imagens de células vivas, que se encaixa dentro de

uma incubadora de cultura de células padrão. Isso permite que o usuário realize suas experiências nas condições de cultura ideais para suas células, até mesmo condições de cultura de uma incubadora de hipóxia. É capaz de completar uma varredura de campo claro de uma placa de poço inteira, dentro de sua área de digitalização de 94 x 132 mm e 55mm de altura (espaço entre a janela óptica e o arco de luz), em menos de 5 minutos e de fornecer uma análise instantânea de confluência de suas culturas.

Figura 4.7: CytoSMART Omni



Fonte: CytoSMART (2018).

Não há problemas com agitação da placa, visto que a captura de imagem é feita movendo a ótica interna em vez da amostra. O *hardware* Omni, utilizado neste recurso, torna o processo de verificação altamente repetível, aumentando a precisão de seus dados de lapso de tempo, realizando experimentos com células sensíveis ou não aderentes, já que suas células não são perturbadas durante toda a duração do experimento.

Colocando o dispositivo dentro de uma incubadora de cultura celular, o usuário conecta o mesmo a um computador e inicia o aplicativo Omni. Em seguida, coloca-se o recipiente de cultura na janela óptica do Omni e é definido o intervalo de tempo de análise. O aplicativo gera uma imagem de toda a área digitalizada e para cada poço separadamente; o software de análise integrado analisa automaticamente a confluência.

#### 4.7 PAULA Cell Imager

O PAULA - *Personal AUTomated Lab Assistant* (Figura 4.8), da Leica Microsystems, foi criado para acelerar as tarefas diárias de cultura celular e padronizar os resultados para melhorar o fluxo de trabalho. É compacto e fácil de acomodar dentro de uma incubadora; com dimensões (P x L x A): 264 x 218 x 219 mm.

O dispositivo é rápido e está sempre em contato com o seu usuário via conexão

Figura 4.8: PAULA Cell Imager.



Fonte: Leica Microsystems (2018).

sem fio (Android e IOS); as opções de controle são flexíveis o suficiente para manter o usuário conectado, mesmo de longe, podendo informar quando as células estão prontas para a próxima etapa do fluxo de trabalho. Pode ficar dentro de uma incubadora padrão (<math>37^{\circ}\text{C}</math>, 90% de umidade) e adquirir registros de imagens em sequência para análise de confluência e eficiência de transfecção, enviando uma notificação por e-mail quando o status desejado é alcançado (Figura 4.9).

Figura 4.9: Usuário utilizando o aplicativo do PAULA.



Fonte: Leica Microsystems (2018).

Apresenta um leitor de código de barras para verificação e identificação de frascos, armazenando a documentação em um banco de dados.

A seguir, o Quadro 4.6, lista algumas especificações relevantes do PAULA *Cell Imager*.

Quadro 4.6: Especificações do PAULA Cell Imager.

Métodos de contraste	Contraste de fase (sem ajuste) Fluorescência
LEDs	LED vermelho para contraste de fase para proteger as células do branqueamento 2 LEDs de fluorescência (vermelho, verde) para monitorar a transfecção
Objetiva	10x com zoom digital (3x)
Multiplexação	Combine até 3 dispositivos PAULA

Fonte: Adaptado de Leica Microsystems (2018).

#### 4.8 LS720 Microscope

O LS720 Microscope (Figura 4.10) possui controle de movimento do eixo XY (110 x 74 mm) automatizado, movimentando-se com uma velocidade de 25mm/s. O foco motorizado permite autofoco, *z-stacks* e fornece imagens, séries temporais e vídeos gravados, que são mandados diretamente para o computador, permitindo que os usuários visualizem as células a partir de microplacas, frascos e slides. Possui tempo de captura de imagem de poço a poço (em segundos): imagem de 96 poços: a) 1 foco e imagem em cores, 13 min, b) foco e imagem em 3 cores, 34 min.

- a) 1 foco e imagem em cores, 13 min
- b) foco e imagem em 3 cores, 34 min

Sua parte superior (demonstrada pelo círculo vermelho na Figura 4.11 - chamada de fase) é removível/opcional, a qual controla o contraste de fase, influenciando nas dimensões desta. Pesa 13 kg sem fase e 14 kg com fase, e tem dimensões: com fase (P x L x A) 43,8 x 37,4 x 46,8 cm. Permite o uso dentro de incubadoras, resistindo a condições de operação de 4 °C - 42 °C, 5% - 95% RH sem condensação (Figura 4.11). Além disso, possui LEDs (fluorescência azul, verde e vermelha; campo brilhante), fornecendo resolução por difração (máxima teórica).

Figura 4.10: LS720 Microscope.



Fonte: Etaluma Microscopy Simplified (2018).

Figura 4.11: LS720 Microscope dentro de uma incubadora padrão.



Fonte: Etaluma Microscopy Simplified (2018).

A seguir, o Quadro 4.7, traz algumas especificações restantes do LS720 Microscope.

Quadro 4.7: Especificações do LS720 Microscope.

Opções objetivas	Ampliação de 2,5x, 4x, 10x, 20x, 40x, 60x e 100x (óleo)
Compatibilidade com objetivas	RMS com rosca, correção infinita, distância parfocal de 45 mm
Filtros de Fluorescência	Azul: Excitação 370-410 nm; Emissão 429-462 nm Verde: Excitação 473-491 nm; Emissão 502-561 nm Vermelho: Excitação 580-598 nm; Emissão 612-680 nm
Câmera	Sensor CMOS Monocromático de Alta Sensibilidade Montagem em C
Campo de visão	0.9 x 0.9 mm com objetivo de 20x
Taxas de vídeo	Até 10 quadros / segundo (fps) com tamanho de quadro reduzido, até 30 fps

Fonte: Adaptado de Etaluma Microscopy Simplified (2018).

#### 4.9 ZOE Fluorescent Cell Imager

O ZOE Fluorescent Cell Imager (Figura 4.12) é um sistema com fluorescência brilhante e multicanal (3 canais de fluorescência), com câmera digital integrada e uma interface *touch-screen* (monitor LCD colorido de 25,6 cm, sensível ao toque com anti-reflexo e tratamento anti-impressão digital, resolução de imagem de 1.280 x 768 pixels e ângulo de inclinação de 80 a 180 °). Pesa 9 Kg; e apresenta dimensões: (P x L x A) 32 x 33 x 30 cm.

Figura 4.12: ZOE Cell Imager.



Fonte: Bio-Rad (2018).

A seguir, o Quadro 4.8, lista algumas especificações restantes do ZOE Cell Imager.

Quadro 4.8: Especificações do ZOE Cell Imager.

Fontes de luz de iluminação	LED ultravioleta para canal azul LED azul para canal verde LED verde para canal vermelho Anel de LEDs verdes para canal de campo claro (reduz a aberração cromática)
Canal azul	Excitação: 355/40 nm; Emissão: 433/36 nm
Canal verde	Excitação: 480/17 nm; Emissão: 517/23 nm
Canal vermelho	Excitação: 556/20 nm; Emissão: 615/61 nm
Mecanismo de foco	Ajuste grosso e fino, manual
Objetivas	20x
Abertura numérica	0.40
Campo de visão	0.70 mm <sup>2</sup>
Ampliação da tela	175x
Ampliação do zoom digital	700x
Eixo motorizado	6 mm de curso na direção X/Y Controle <i>touch-screen</i> da velocidade e direção do deslocamento
Consumíveis compatíveis	Frascos (T25, T75, T225) Placas de múltiplos poços (6, 12, 24, 48, 96 e 384 poços) Pratos (35, 60 e 100 mm) Lâmina de câmara Lâmina de microscopia de vidro
Câmera	Câmera monocromática, CMOS de 12 bits, 5 megapixels

Fonte: Adaptado de Bio-Rad (2018).

## 4.10 Quadro Comparativo dos Produtos Similares

										
<b>Produto</b>	<b>Modelo</b>	<b>Marca</b>	<b>Origem</b>	<b>Peso</b>	<b>Dimensões (P x L x A)</b>	<b>Preço</b>	<b>Fonte de luz</b>			
	EVOS FL Auto 2	Thermo Fisher Scientific	EUA	16 Kg	33 x 46 x 36 cm		Cubos de lâmpadas LED de intensidade ajustável (>50.000 horas de vida por cubo de lâmpada)			
	EVOS XL Core	Thermo Fisher Scientific	EUA	9,1 Kg (platina fixa); 10 Kg (platina controle mecânico)	40,6 x 31,8 x 53,3 cm		Cubo de LED de intensidade ajustável (>50.000 horas de vida por cubo de luz)			
	Lionheart FX	BioTek	EUA	23,1 Kg (sem cobertura de controle ambiental); 26,3 Kg (com tampa de controle ambiental)	45,5 x 46,5 x 35,8 cm (com tampa fechada, sem tampa); 45,5 x 46,5 x 69,8 cm (com tampa totalmente aberta)	US\$ 55.685,00	LEDs de alta potência (comprimentos de onda disponíveis: 365 nm, 390 nm, 465 nm, 505 nm, 523 nm, 590 nm, 623 nm, 655 nm, 740 nm)			
	Cytation 1	BioTek	EUA	29 Kg	50,8 x 41,91 x 44,5 cm	US\$ 49.932,00	Flash Xenon			
	CytoSMART 2 SYSTEM	CytoSMART	Holanda	0,5 Kg	13,3 x 9 x 10 cm		LED superior (arco de luz)			
	CytoSMART Omni	CytoSMART	Holanda				LED superior (arco de luz)			
	PAULA	Leica Microsystems	EUA		26,4 x 21,8 x 21,9 cm		LED vermelho para contraste de fase para proteger as células do branqueamento; 2 LEDs de fluorescência (vermelho, verde) para monitorar a transição			
	LST20	Etaluma Microscopy Simplified	EUA	13 kg (sem fase); 14 kg (com fase)	43,8 x 37,4 x 46,8 cm		LED			
	ZOE	Bio-Rad	EUA	9 Kg	32 x 33 x 30 cm		LED ultravioleta para canal azul LED azul para canal verde LED verde para canal vermelho Anel de LEDs verdes para canal de campo claro (reduz a aberração cromática)			

<b>Monitor</b>	LCD colorido de 23 polegadas, com tela de toque de alta resolução de 1.920 x 1.080 pixels	LCD colorido de alta resolução (1.024 x 768 pixels) de 12,1 pol. com inclinação ajustável	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	LCD colorido de 25,6 cm, touch-screen com anti-reflexo e tratamento anti-impressão digital, resolução de imagem de 1.280 x 768 pixels, ângulo de inclinação de 80 a 180 °
<b>Câmara</b>	Câmara monocromática CMOS de 1.3 MP de alta sensibilidade com 1.328 x 1.048 pixels; Câmara colorida CMOS de alta sensibilidade de 3,2 MP com 2.080 x 1.552 pixels	Cor: 1/2 " 2,048 x 1,536, 3,1 megapixels	Câmara CMOS de 16 bits, sensor 2.3 MP Sony IMX249	Escala de cinza de 16 bits, Sony CCD	5MP CMOS Sensor	5MP CMOS Sensor	Leica	Sensor CMOS Monocromático de Alta Sensibilidade; Montagem em C	Monocromática, CMOS de 12 bits, 5 megapixels
<b>Velocidade de escaneamento x/y</b>	96 poços em 3 canais fluorescentes, em menos de 5 minutos	56 mm/rev		96 poços em 11 segundos e de 384 poços em 22 segundos	94 x 132 x 55 mm em 5 minutos			25mm/s	
<b>Área de escaneamento</b>	120 x 80 mm	120 mm x 78 mm	Placas de culturas de 6 a 1536 poços	Monocromador: placas de 6 a 384 cavidades; Filtros: placas de 6 a 1536 poços; Imagem: placas de 6 a 1536 poços	94 x 132 mm e 55mm de altura; até 96 poços, ao mesmo tempo	2,4 x 1,5 mm		110 x 74 mm	6 mm de curso na direção X/Y
<b>Canais de fluorescência</b>	Acomoda, simultaneamente, 4 cubos de fluorescência e imagem de campo claro	N/A	N/A	Quatro canais de cor	N/A	N/A	N/A	Azul: Excitação 370-410 nm; Emissão 429-462 nm Verde: Excitação 473-491 nm; Emissão 502-561 nm Vermelho: Excitação 580-598 nm; Emissão 612-680 nm	Excitação: 355/40 nm; emissão: 433/36 nm; Excitação: 480/17 nm; emissão: 517/23 nm; Excitação: 556/20 nm; emissão: 615/61 nm

<b>Modo de imagem</b>	Fluorescência e luz transmitida (campo claro e contraste de fase)	Luz transmitida (campo claro e contraste de fase)	Fluorescência, campo claro, campo claro de alto contraste, campo claro de cor e contraste de fase	Fluorescência e campo claro de alto contraste (2.5x Zeiss, 4x, 10x, 20x, 40x e 60x)	Campo claro apenas com contraste de fase digital	Varredura de campo claro	Contraste de fase (sem ajuste); Fluorescência	Contraste de fase; Fluorescência	Campo claro, três canais de fluorescência.
<b>Capacidade de objetivas</b>	5-posições; controle montado na frente	4x, 10x, 20x, 40x; planejar a fase LWD, infinito;	Fluorescência: Ar: 1,25x, NA 0,04; 2,5x (2,25x <sub>eff</sub> ), NA: 0,07; 2,5x (2,75x <sub>eff</sub> ), NA: 0,12; 4x, NA: 0,13; 10x, NA: 0,30; 20x, NA: 0,45; 40x, NA, 60; 60x, NA, 70 Óleo: 60x, NA: 1,42; 100x, NA: 1,40 Objetivos da fase: 4x, NA: 1,3; 10x, NA: 0,30; 20x, NA: 0,45; 40x, NA, 60	1,25x, 2,5x (2,25x <sub>eff</sub> ), 2,5x (2,75x <sub>eff</sub> ), 4x, 10x, 20x, 40x, 60x	10x objetiva fixa		10x com zoom digital (3x)	Ampliação de 2,5x, 4x, 10x, 20x, 40x, 60x e 100x (óleo)	20x
<b>Capacidade de ser usada dentro da incubadora</b>	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	SIM	SIM	SIM	NÃO
<b>Possui componentes extras</b>	SIM	SIM	NÃO	SIM	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	NÃO
<b>Possui acompanhamento direto via wifi</b>	NÃO	NÃO	NÃO	NÃO	SIM	SIM	SIM	SIM	NÃO

## **5 DESENVOLVIMENTO DAS ESPECIFICAÇÕES DE PROJETO DE PRODUTO**

Conforme as metodologias de Back et al. (2008) e de Baxter (2000), aplicadas neste trabalho, para o prosseguimento do processo de produto e para que os requisitos de usuários sejam determinados, é conveniente que as necessidades, verificadas nas entrevistas (Apêndice A) e observações, sejam desdobradas ou agrupadas nos mesmos. Os requisitos de usuário devem ser traduzidos em requisitos de projeto, para assim ser possível, posteriormente, classificá-los utilizando da matriz de Desdobramento da Função Qualidade (QFD); os requisitos de projeto serão a base para o desenvolvimento da etapa seguinte.

### **5.1 Identificação dos Usuários do Projeto de Produto**

Para determinar as especificações deste projeto, foi essencial uma aproximação com os usuários para compreender suas necessidades, seus corretos e reais desejos, vontades, expectativas, bem como suas razões de descontentamento ou não com os atuais produtos existentes no mercado; aplicada, então, a abordagem do Design Participativo.

Com o objetivo de chegar à resultados reais ao final deste projeto, foi traçada uma parceria juntamente com um laboratório da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), o Laboratório de Sinalização e Plasticidade Celular (LabSinal). O ambiente laboratorial possui dois tipos de usuários que devem ser levados em conta: alunos e professores. Para obter informações quanto às suas necessidades, foram feitas entrevistas com esses usuários da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS); de modo a complementar o que foi relatado, foram feitas observações, no mesmo laboratório, quanto à interação dos profissionais com o ambiente e os aparelhos. Os comentários dos usuários, bem como as observações feitas pelos mesmos, estão expostos no quadro de transformação das necessidades dos usuários em requisitos no item 5.2. Em seguida, os requisitos dos usuários obtidos foram traduzidos em requisitos de projeto, resultando nas especificações do projeto através do método QFD (*Quality Function Deployment*).

## **5.2 Elicitação das Necessidades dos Usuários**

As entrevistas estruturadas e semiestruturadas com os usuários, alunos (graduandos, mestrandos e doutorandos) bolsistas do LabSinal e com o professor Doutor Guido Lenz, foram feitas de duas maneiras, pessoalmente e via questionário online (Apêndice A). Segundo Back et al. (2008), a gravação e a transcrição das entrevistas com os reais usuários fornecem uma informação textual e mantêm a essência da voz do consumidor enquanto necessária. Essas entrevistas, comumente, são estruturadas, preparadas e baseadas em atributos típicos do produto objeto da pesquisa.

As entrevistas feitas pessoalmente ocorreram de forma mais informal, sentados em roda, os usuários expressaram suas idéias e necessidades mais comodamente. Já as entrevistas feitas via questionário online (Apêndice A), ocorreram de forma estruturada, seguindo uma sequência pré determinada e divididas em três classes: perguntas referentes à atributos básicos, atributos do ciclo de vida e atributos específicos.

O questionário enviado aos usuários, iniciava perguntando sobre as funções julgadas essenciais que deveriam estar presentes no dispositivo, seguido das funções extras. Depois foram feitas perguntas sobre as características de Ergonomia de uso, Estética, Segurança, Confiabilidade, Robustez e Impacto ambiental, que os usuários acreditavam ser relevantes para o produto. Finalizando, foi levantado a influência do preço na hora da compra.

## **5.3 Transformação das Necessidades em Requisitos de Usuários**

A descrição de uma oportunidade de produto deve ser feita de modo que um consumidor possa entendê-la. Uma descrição mais informal torna-se fácil de entender e é fortemente orientada para o mercado (BAXTER, 2000).

As necessidades dos usuários, listadas e salientadas pelos mesmos nas entrevistas (Apêndice A), foram transformadas ou traduzidas para os requisitos de usuários usando uma linguagem mais compacta e agrupadas em atributos, como mostra o Quadro 5.1, com base na tabela proposta por Back et al. (2008).

Quadro 5.1: Transformação das necessidades em requisitos de usuários.

Necessidades dos usuários	Requisitos dos usuários	Atributos
Que tire fotos das células a cada 5/10 minutos.	Possuir captura de imagem constante	Funcionalidade
Que tire foto da placa de cultura inteira.	Captura de imagem de toda área da placa de cultura	Funcionalidade
Que tivesse uma lente objetiva de alta capacidade.	Capacidade de objetiva alta	Funcionalidade
Produto tem que aguentar umidade alta e T37 graus.	Resistente ao ambiente da amostra	Funcionalidade
Tenha diferentes filtros fluorescentes.	Capacidade de filtros de fluorescência	Funcionalidade
Capacidade de monitorar células por tempo indefinido, sem que o uso do dispositivo afete as condições de cultivo padrão - as células devem se comportar e crescer da mesma maneira como ocorreria sem usar o dispositivo.	Monitoramento constante, sem afetar a saúde das células	Funcionalidade
Funções de implementação simples: alta qualidade de captura de imagens.	Imagens de alta resolução	Funcionalidade
Funções de implementação simples: simplicidade no armazenamento/transferência de dados.	Armazenamento e transferência de dados simplificado	Funcionalidade
Funções de implementação simples: acesso fácil ao meio das células (para trocar e/ou adicionar tratamento).	Facilidade para acessar as células durante experimento	Funcionalidade
Funções de difícil implementação: acompanhamento de múltiplos campos de visão (fields) ao invés de apenas um campo fixo.	Acompanhamento de múltiplos campos de visão	Funcionalidade
Funções de difícil implementação: capacidade de obter imagens de microscopia de fluorescência e não só de luz visível.	Imagens de microscopia de fluorescência	Funcionalidade
Robusto de modo a evitar com que peças/suportes caiam facilmente ao ser levado para dentro da estufa.	Robusto à manipulação	Ergonomia
	Facilidade de Manipulação	Ergonomia
Apoio firme para a placa/garrafa de células para evitar que caia se for mal colocada ou se o pesquisador encostar nela sem querer ao tentar ajustar o equipamento.	Apoio firme para a placa/garrafa de células não caia ao ser manipulada	Ergonomia
Visual simples e limpo.	Visual simples e limpo	Estética
Visual remetendo à tecnologia, eficiência e confiança.	Remeter à tecnologia e transmitir confiança	Estética
Cores metálicas ou azul.	Cores metálicas ou azul.	Estética
Não deve ter peças ou materiais capazes de servir de substrato para o crescimento de microorganismos, para minimizar o risco de contaminação das células e da própria estufa ao ser manuseado.	Eliminar peças extras capazes de contaminação	Segurança
	Minimizar risco de contaminação	Segurança
Também deve ser fácil de ser limpo com toalha de papel descartável + borrifador de álcool.	Facilidade de higienização	Segurança
Deve operar sem problemas dentro do ambiente da estufa, considerando a temperatura de 37 °C, a concentração de 5% de CO2 atmosférico e a umidade do ar.	Durabilidade	Confiabilidade
	Resistente ao ambiente da estufa	Robustez
Precisa ter boa durabilidade para diversos experimentos ao longo de anos, e indicar claramente qual a expectativa de vida do equipamento e de suas peças.	Elevada durabilidade	Robustez
	Indicar expectativa de vida dos equipamentos	Confiabilidade
É necessário pesar o custo do equipamento junto de seus benefícios. Qualquer dinheiro investido na aquisição de um equipamento destes poderia ser investido para outros projetos, reagentes, etc.	Custo benefício	Fabricabilidade
É preciso que o equipamento seja capaz de facilitar o fluxo diário de trabalho do laboratório e levar a novas descobertas para justificar a sua compra.	Facilitar o fluxo diário de trabalho do laboratório	Usabilidade
Além da facilidade no uso, é importante que qualquer problema que ocorra seja facilmente identificado e corrigido (por exemplo, lendo em um manual detalhado e bem documentado).	Facilidade no uso	Usabilidade
	Facilidade de manutenção	Montabilidade

Fonte: da Autora (2018).

#### **5.4 Conversão dos Requisitos de Usuários em Requisitos de Projetos**

Nesta etapa é quando se estabelecem as características de engenharia do produto, os requisitos de projeto, com base na sistematização dos requisitos de usuário. Segundo Back et al. (2008), eles são, em essência, os atributos do produto que podem ser manipulados (modificados, retirados, incluídos, ampliados, diminuídos, etc) para satisfazer os requisitos dos usuários.

A descrição técnica se faz necessária para o engenheiro de produção, as chamadas "características internas" à empresa. Ao converter as necessidades do consumidor em objetivos técnicos, deve-se conseguir um equilíbrio entre utilidade, precisão e fidelidade. Os requisitos de projeto devem produzir especificações úteis para controlar a qualidade durante o processo de desenvolvimento do produto. Estes, não devem prejudicar a correta interpretação das necessidades e desejos do consumidor, ou seja, devem conter uma descrição completa e compreensível das percepções e valores do consumidor (BAXTER, 2000).

Assim, os Requisitos dos usuários foram convertidos, descritos de forma técnica, nos Requisitos de projeto. A seguir, o Quadro 5.2 traz os requisitos de projeto que foram determinados após análise dos requisitos de usuário.

Quadro 5.2: Requisitos de projeto.

<b>Requisitos de Projeto</b>
Possuir geometria simples
Possuir dimensões pequenas
Ser leve
Ter utilização intuitiva
Ser durável
Ser de fácil aprendizado o manuseio
Oferecer segurança ao usuário
Ter custo de produção baixo
Ser de fácil manipulação
Ter manutenção reduzida
Possuir compatibilidade com outras interfaces
Ter boa resistência mecânica
Possuir formas e cores atrativas
Não possuir peças soltas
Estrutura externa simplificada
Utilizar materiais com alta resistência à umidade e calor
Captar fotos de 5-10 minutos
Possuir cubos de fluorescência
Possuir escaneamento xy
Possuir conexão wifi

Fonte: da Autora (2019).

### 5.5 Priorização dos Requisitos de Projetos

Segundo Back et al. (2008), uma vez definidos os requisitos de projeto, é necessário identificar a prioridade que se deve dar, no desenvolvimento do projeto, à busca de soluções que atendem a um requisito em detrimento de outros. Para tal, será utilizada a matriz QFD (desdobramento da função qualidade), que é fundamentado na preocupação de que os produtos devem ser projetados para reter os desejos, gostos e expectativas dos usuários,

os quais devem ser considerados de alguma forma durante o processo de desenvolvimento do produto.

Para a elaboração da matriz QFD, inicialmente, foram denidos valores entre 1 e 5, sendo 1 correspondente a pouco importante e 5 correspondente a muito importante, e então atribuídos pesos para os requisitos de usuário, de acordo com os devidos graus de importância designados pelos usuários, como mostrado no Quadro 5.3.

Em seguida, são colocados na matriz QFD (encontrada no Apêndice B) os requisitos de projeto, bem como os valores conferidos ao relacionamento entre cada requisito de usuário e de projeto. Esses valores foram estabelecidos de modo que um relacionamento forte tem valor 9, médio tem valor 3, fraco tem valor 1 e nulo, valor 0. Os valores de relacionamento entre requisitos de usuário e requisitos de projeto foram multiplicados pelo peso atribuído a cada requisito de usuário, estes valores obtidos foram então somados, resultando numa pontuação para cada requisito de projeto que permitiu determinar a priorização dos mesmos. Os requisitos de projeto foram organizados no Quadro 5.4, classificados de acordo com suas pontuações. Após ordenar os requisitos de projeto, deve ser feita a conversão dos mesmos em especificações de projeto; os requisitos de projeto devem ser redigidos de forma mais detalhada para melhor compreensão, não devem ser declaradas especificações muito genéricas nem adotadas soluções específicas. Para cada requisito devem ser previstas grandezas mensuráveis e meios ou métodos para verificar se a solução desenvolvida atenderá a esse requisito (BACK et al., 2008).

Quadro 5.3: Pesos Atribuídos aos Requisitos de Usuário.

Funcionalidade	Possuir capacidade de captura de imagem constante, sem afetar a saúde das células	5
	Captura de imagem de toda área da placa de cultura	3
	Possuir capacidade de objetiva alta	5
	Capacidade de filtros de fluorescência	5
	Imagens de alta resolução	4
	Possuir armazenamento e transferência de dados simplificado	5
	Facilidade para acessar as células durante experimento	5
Ergonomicidade	Facilidade de manipulação	5
	Possuir apoio firme para que a placa/garrafa de células não caia ao ser manipulada	5
Estética	Visual simples e limpo	2
	Remeter à tecnologia e transmitir confiança	2
	Possuir cores metálicas ou azul	2
Segurança	Eliminar peças extras, capazes de contaminação	4
	Facilidade de higienização	4
Confiabilidade	Durabilidade	5
	Indicar expectativa de vida dos equipamentos	2
Robustez	Robusto à manipulação	5
	Resistente ao ambiente da estufa	4
Fabricabilidade	Custo benefício	5
Usabilidade	Facilitar o fluxo diário de trabalho do laboratório	3
	Facilidade no uso	4
Montabilidade	Facilidade de manutenção	4

Fonte: da Autora (2019).

Quadro 5.4: Priorização dos requisitos de projeto.

Prioridade	Requisitos de Projeto	Pontuação
1	Ser de fácil aprendizado o manuseio	265
2	Ser durável	257
3	Ter boa resistência mecânica	239
4	Ter manutenção reduzida	238
5	Ser de fácil manipulação	230
6	Estrutura externa simplificada	209
7	Utilizar materiais com alta resistência à umidade e calor	209
8	Não possuir peças soltas	187
9	Possuir geometria simples	184
10	Possuir compatibilidade com outras interfaces	170

Fonte: da Autora (2018).

### 5.6 Conversão dos Requisitos de Projeto em Especificações de Projeto

As especificações de projeto estabelecem fatores que são necessários, verificáveis e atingíveis, estas, para serem verificáveis, devem declarar algo que pode ser aferido por exame, análise, teste ou demonstração; se uma especificação não é atingível, não há razão para redigi-la (BACK et al., 2008). Para este trabalho, os modos de verificação foram atribuídos em grande parte a testes com os protótipos, visto que o produto tem intensa relação com o usuário. O Quadro 5.5 apresenta os requisitos de projeto, com suas respectivas prioridades, traduzidos para especificações de projeto, quando possíveis, juntamente com seus modos de verificação.

Quadro 5.5: Especificações de projeto.

Requisitos de Projeto	Prioridade	Especificações de Projeto	Modo de Verificação
Ser de fácil aprendizado o manuseio	1	Dispor de operações simples para realizar as operações	Validação realizada com o usuário
Ser durável	2	Disponibilizar componentes de longa duração	Através de testes com protótipo
Ter boa resistência mecânica	3	Dispor de materiais de alta resistência mecânica	Validação através do método de fabricação do protótipo
Ter manutenção reduzida	4	Dispor de mecanismos que facilitem a troca de componentes	Através de testes com protótipo
Ser de fácil manipulação	5	Apresentar interface fácil de manipular	Validação realizada com o usuário
Estrutura externa simplificada	6	Apresentar estrutura externa simples	Através de testes com protótipo
Utilizar materiais com alta resistência à umidade e calor	7	Dispor de materiais que suportam o ambiente da amostra	Através de testes com protótipo
Não possuir peças soltas	8	Possuir estrutura que comporte adequadamente todos os componentes	Através de testes com protótipo
Possuir geometria simples	9	Apresentar geometria final simplificada	Validação através do método de fabricação do protótipo
Possuir compatibilidade com outras interfaces	10	Dispor de compatibilidade com outras interfaces	Através de testes com protótipo
Ter utilização intuitiva	11	Dispor de operações intuitivas	Validação realizada com o usuário
Ter custo de produção baixo	12	Apresentar preço final acessível	Através de levantamento de gastos de modelo físico
Captar fotos de 5-10 minutos	13	Dispor de câmera para capturar fotos de 5-10 minutos	Validação através do método de fabricação do protótipo
Possuir dimensões pequenas	14	Apresentar dimensões finais pequenas	Através de testes com protótipo
Possuir escaneamento xy	15	Dispor de tecnologia de escaneamento xy	Validação através do método de fabricação do protótipo
Oferecer segurança ao usuário	16	Possuir mecanismos confiáveis	Validação realizada com o usuário
Possuir cubos de fluorescência	17	Dispor de cubos de fluorescência	Através de testes com protótipo
Ser leve	18	Apresentar estrutura leve	Apresentar dimensões finais pequenas
Possuir conexão wifi	19	Dispor de tecnologia de conexão wifi	Através de testes com protótipo
Possuir formas e cores atrativas	20	Dispor de aparência atrativa	Validação realizada com o usuário

Fonte: da Autora (2018).

## **Part III**

# **PROJETO CONCEITUAL**

Segundo Baxter (2000), o projeto conceitual tem o objetivo de produzir princípios de projeto para o novo consumidor. Deve mostrar como o novo produto será feito para atingir os benefícios básicos, de maneira que estes estejam bem definidos e se tenha uma boa compreensão das necessidades do consumidor e dos produtos concorrentes. O projeto conceitual se propõe a desenvolver as linhas básicas da forma e função do produto, visando assim, produzir um conjunto de princípios funcionais, de estilo, derivado da proposta de benefício básico.

## 6 GERAÇÃO DE CONCEITOS

Com o problema bem definido, é possível então começar a gerar o projeto conceitual. Utilizando de métodos estruturados de geração de conceito, é capaz de reduzir o problema de projeto conceitual aos seus elementos básicos (abstração do conceito), e da utilização dos mesmos para analisar diferentes aspectos do projeto e gerar um número grande de alternativas possíveis para a solução do problema (BAXTER, 2000).

### 6.1 Análise das Funções do Produto

A análise da função é uma técnica descritiva, que além de mostrar ao designer como os consumidores usam o produto, pode incitar o aparecimento de novos conceitos. Esta é uma técnica orientada pelo consumidor, apresentando as funções percebidas e avaliadas do produto. As funções são dispostas em forma de diagrama ou árvore funcional (BAXTER, 2000). Para este projeto, foi feita uma roda de conversa com os usuários participantes, onde se foi discutido os diferentes "níveis" de funções exercidas pelo produto e pelo usuário. As funções elencadas pelos usuários como necessárias para o monitoramento de cultura de células, podem ser vistas na Figura 6.2, onde foi montada uma árvore funcional do microscópio, com e sem fluorescência, para acompanhamento de cultura celular, de acordo com o modelo que já é utilizado no laboratório (Figura 6.1).

Figura 6.1: Microscópio utilizado no laboratório.

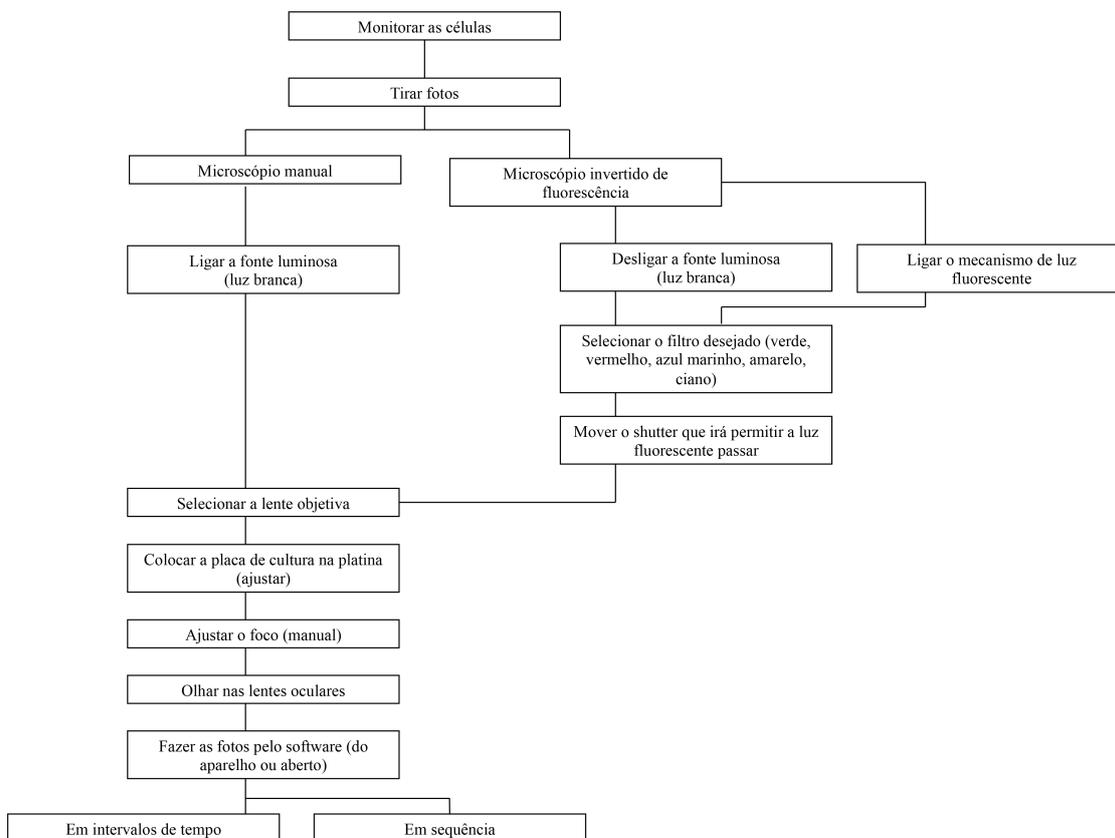


Fonte: Fluorescence Microscopes (2019).

### 6.2 Matriz Morfológica

A análise morfológica é utilizada para o estudo de todas as combinações possíveis entre os elementos ou componentes de um produto ou sistema. O método foi desenvolvido

Figura 6.2: Árvore funcional do microscópio, com e sem fluorescência, para cultura celular.



Fonte: Autora (2019).

por Fritz Zwickey, em 1948, com o objetivo de identificar, indexar, contar e parametrizar a coleção de todas as alternativas para se alcançar o objetivo determinado (BAXTER, 2000). É uma técnica que divide o problema em subproblemas, buscando analisá-los e assim compreender as suas relações, de um modo sistemático e estruturado (PEREIRA et al., 2014).

A matriz morfológica é uma derivação da análise morfológica, onde essa, tem o objetivo de estudar sistematicamente um grande número de combinações entre os elementos ou componentes de um produto ou sistema. Esta, procura organizar as diferentes combinações ou parâmetros com o objetivo de encontrar uma nova solução para o problema: listando as funções do produto, os possíveis meios (princípios de solução) para cada função, e representando visualmente as funções e os princípios de solução para explorar as combinações (PEREIRA et al., 2014).

No contexto deste trabalho, foram utilizadas as funções secundárias, descobertas na Análise de funções do produto (6.1), para montar a matriz morfológica. Inicialmente foi utilizado a técnica de brainstorming para a geração de soluções hipotéticas para o pro-

blema de cada função, onde foi explicitado o funcionamento destas. Na primeira coluna foram listadas as funções, na ordem que foram aparecendo na árvore funcional, e nas colunas seguintes as soluções hipotéticas (Figura 6.3). O uso da matriz morfológica se fez útil para os subsistemas da solução e para gerar novas combinações entre seus componentes.

Figura 6.3: Matriz morfológica.

	Função do microscópio	Conceitos de função				
		1	2	3	4	5
A	Ligar a fonte luminosa	 botão de apertar	 sensor	 botão giratório	 pedal	 alavanca
B	Seleção da lente objetiva	 girar	 trocar uma por vez	 movimentar de um lado p/ outro	 apertar o botão	
C	Colocar a placa de cultura na platina	 garra mecânica	 suporte com várias	 colocando com a mão		
D	Ajustar o foco	 botão giratório	 regulagem de altura	 pisando no pedal	 botão flexível (intensidade)	
E	Olhar nas lentes oculares / imagem exibida	 lentes	 monitor ligado por fio	 tela do aparelho	 canhão de lente	
F	Aquisição de fotos	 botão de apertar	 app de celular/tablet	 engrenagem giratória		
G	Seleção do filtro	 giratório	 de um lado p/ outro	 um por vez		
H	Mover o shutter	 de um lado p/ outro	 tirando	 alavanca	 botão giratório	

Fonte: Autora (2019).

Os princípios compatíveis foram agrupados, a fim de promover combinações das alternativas. Destas combinações, foram selecionadas 7 possibilidades de conceitos, listadas a seguir.

Conceito 1: [13232121] Botão de apertar para ligar a fonte luminosa + lentes objetivas que deslizam de um lado para o outro + suporte com várias placas de cultura de células + pedal pisante para ajustar o foco + monitor ligado por fio para exibir as imagens + botão de apertar para fazer as fotos pelo *software* + placa com filtros que desliza de um lado para o outro + *shutter* deslizante de um lado para o outro.

Conceito 2: [11211111] Botão de apertar para ligar a fonte luminosa + lentes objetivas num suporte giratório + suporte com várias placas de cultura de células + botão giratório para ajustar o foco + lentes para exibir as imagens + botão de apertar para fazer as fotos pelo *software* + placa giratória com filtros + *shutter* deslizante de um lado para o outro.

Conceito 3: [24342333] Sensor para ligar a fonte luminosa + botão de apertar para selecionar as lentes objetivas + colocar as placas de cultura de células manualmente + botão flexível para ajustar o foco com a intensidade de aperto + monitor ligado por fio para exibir as imagens + engrenagem giratória para fazer as fotos pelo *software* + filtros colocados um por vez + *shutter* acionado por uma alavanca.

Conceito 4: [32121224] Botão giratório para ligar a fonte luminosa + lentes objetivas trocadas por vez + garra mecânica para colocar as placas de cultura de células + pedal pisante para ajustar o foco + lentes para exibir as imagens + app para fazer as fotos pelo *software* + placa com filtros que desliza de um lado para o outro + *shutter* acionado por um botão giratório.

Conceito 5: [44344332] Pedal pisante para ligar a fonte luminosa + botão de apertar para selecionar as lentes objetivas + colocar as placas de cultura de células manualmente + botão flexível para ajustar o foco com a intensidade de aperto + canhão de lentes para exibir as imagens + engrenagem giratória para fazer as fotos pelo *software* + filtros colocados um por vez + *shutter* tirado e colocado.

Conceito 6: [52133314] Alavanca para ligar a fonte luminosa + lentes objetivas trocadas por vez + garra mecânica para colocar as placas de cultura de células + pedal pisante para ajustar o foco + tela no aparelho para exibir as imagens + engrenagem giratória para fazer as fotos pelo *software* + placa giratória com filtros + *shutter* acionado por um botão giratório.

Conceito 7: [23331333] Sensor para ligar a fonte luminosa + lentes objetivas que deslizam de um lado para o outro + colocar as placas de cultura de células manualmente + pedal pisante para ajustar o foco + lentes para exibir as imagens + engrenagem giratória para fazer as fotos pelo *software* + filtros colocados um por vez + *shutter* acionado por

uma alavanca.

### **6.3 Seleção de Conceito**

Após a concepção dos conceitos, é necessário realizar uma seleção do conceito final, o qual irá orientar na geração de novas alternativas. Para isso, foi utilizado o método de Stuart Pugh (PUGH, 1991), o processo de convergência controlada, pelo qual um conjunto de conceitos gerados vai convergindo sistematicamente, em um único conceito selecionado. De acordo com esta técnica, a seleção do conceito não é apenas uma escolha do melhor conceito gerado, e sim uma combinação de vários, mesclando assim os aspectos positivos destes, podendo até gerar novas alternativas durante o processo de seleção (BAXTER, 2000).

Empregando uma matriz de avaliação, os conceitos gerados foram colocados em um dos eixos e os critérios de seleção (funções que originaram as alternativas funcionais) no outro eixo (BAXTER, 2000). Cada conceito foi comparado com o conceito referencial, o microscópio invertido AxioVert 135 da marca Zeiss, o qual é utilizado no laboratório de pesquisa LabSinal da UFRGS, onde trabalham os usuários entrevistados. Aqueles julgados "melhor que" foram avaliados em (+1), o "pior que" em (-1), e o "igual a" em (0) (BAXTER, 2000). Ao final, um número total positivo indicou que os conceitos 1, 3 e 4 eram melhores que o conceito referencial, enquanto que os restantes, com total negativo, indicaram o contrário. O Quadro 6.1, a seguir, demonstra os resultados da matriz de avaliação de Pugh.

Quadro 6.1: Matriz de avaliação de Pugh, com referencial o microscópio invertido Axio-Vert 135 da marca Zeiss.

Critério	Conceito Referencial	Conceito 1 [13232121]	Conceito 2 [11211111]	Conceito 3 [24342333]	Conceito 4 [32121224]	Conceito 5 [44344332]	Conceito 6 [52133314]	Conceito 7 [23331333]
Ligar a fonte luminosa	botão de apertar	0	0	1	0	-1	-1	1
Seleção da lente objetiva	manual, giratório	1	0	-1	-1	1	-1	1
Colocar a placa de cultura na platina	manualmente	-1	-1	0	1	0	1	0
Ajustar o foco	botão giratório	-1	0	1	1	1	-1	-1
Olhar nas lentes oculares / imagem exibida	lentes	1	0	1	0	0	1	0
Aquisição de fotos	<i>software</i>	1	1	-1	0	-1	-1	-1
Seleção do filtro	placa giratória	1	0	-1	1	-1	0	-1
Mover o <i>shutter</i>	botão	-1	-1	1	1	-1	1	1
TOTAL	-	1	-1	1	3	-2	-1	0
Notas: -1, 0 ou 1 / Pior, igual ou melhor que o conceito referência								

Fonte: da Autora (2019).

Em seguida, os conceitos com número total positivo tiveram seus critérios, com nota -1, substituídos por alternativas melhores, formando assim os conceitos A, B e C (detalhados no quadro a seguir).

Quadro 6.2: Detalhamento dos Conceitos A, B e C.

<b>Função do microscópio</b>	<b>Conceito A</b>	<b>Conceito B</b>	<b>Conceito C</b>
Ligar a fonte luminosa	botão de apertar	sensor	botão giratório
Seleção da lente objetiva	movimentar de um lado p/ outro	movimentar de um lado p/ outro	apertar o botão
Colocar a placa de cultura na platina	garra mecânica	colocando com a mão	garra mecânica
Ajustar o foco	regulagem de altura	botão flexível (intensidade)	regulagem de altura
Olhar nas lentes oculares / imagem exibida	monitor ligado por fio	monitor ligado por fio	lentes
Aquisição de fotos	botão de apertar	botão de apertar	app de celular/tablet
Seleção do filtro	de um lado p/ outro	de um lado p/ outro	de um lado p/ outro
Mover o <i>shutter</i>	botão giratório	alavanca	botão giratório

Fonte: da Autora (2019).

Foi feita uma nova matriz de avaliação de Pugh, onde os conceitos A, B e C foram comparados com o conceito referencial, com intenção de encontrar o com maior pontuação, selecionando assim o A e B, mostrado no quadro a seguir.

Quadro 6.3: Matriz de avaliação de Pugh, com os Conceitos A, B e C.

Critério	Conceito referencial	Conceito A [13122124]	Conceito B [23342123]	Conceito C [34121224]
Ligar a fonte luminosa	botão de apertar	0	1	0
Seleção da lente objetiva	manual, giratório	1	1	1
Colocar a placa de cultura na platina	manualmente	1	0	1
Ajustar o foco	botão giratório	1	1	1
Olhar nas lentes oculares / imagem exibida	lentes	1	1	0
Aquisição de fotos	software	1	1	0
Seleção do filtro	placa giratória	1	1	1
Mover o shutter	botão	1	1	1
TOTAL	-	7	7	5
Notas: -1, 0 ou 1 / Pior, igual ou melhor que o conceito referência				

Fonte: da Autora (2019).

Visando um melhor aproveitamento destes conceitos, foi apropriada aos mesmos uma nova função, inspirada pela tela de comando de máquinas de Impressão 3D, mostradas nas Figuras 6.4 e 6.5. Ao conceito A foi atribuído a tela de comando com um botão para controle (girar para escolher, apertar/pressionar para selecionar); ao conceito B foi atribuído a tela de comando touch, com todos os comandos controlados pelo toque dos dedos. Estes conceitos irão servir como base para a geração de novas alternativas.

Figura 6.4: Tela de comando da Zortrax M200.



Fonte: Adaptado de Zortrax (2019).

Figura 6.5: Tela de comando da Zortrax M200 Plus.



Fonte: Adaptado de Zortrax (2019).

Conceito A + tela de comando com botão: ligar o dispositivo ligado a fonte de energia; ligado, selecionar no menu ligar a fonte luminosa pressionando o botão; selecionar a lente objetiva que será utilizada, girando o botão e pressionando-o quando escolhida (as lentes fazem um movimento de deslize lateral); pressionar para o comando da garra mecânica de colocar a placa de cultura na platina; regular a altura do foco girando o botão; ver as imagens num monitor ligado por fio; pressionar o botão para fazer a aquisição de fotos; selecionar o filtro, que faz um deslizamento lateral, girando e pressionando o botão; girar o botão para mover o *shutter*.

Conceito B + tela de comando *touch*: ligar o dispositivo ligado a fonte de energia; ligado, selecionar no menu ligar a fonte luminosa pressionando na tela; selecionar a lente objetiva que será utilizada, pressionando quando escolhida (as lentes fazem um movimento de deslize lateral); colocar a placa de cultura manualmente na platina do dispositivo; ajustar o foco deslizando os dedos na tela e pressionando para selecionar; ver as imagens num monitor ligado por fio; pressionar a tela para fazer a aquisição de fotos; selecionar o filtro, que faz um deslizamento lateral, deslizando os dedos na tela e pressionando para selecionar; puxar a alavanca para mover o *shutter*.

## 7 GERAÇÃO DE ALTERNATIVA

Esta etapa inicia com base nos resultados obtidos nas etapas anteriores, das necessidades dos usuários, requisitos e especificações de projeto e com os conceitos definidos. Segundo Baxter (2000), a especificação do projeto fixa objetivos específicos para o novo produto. Os aspectos incluídos na especificação do projeto são aqueles que serão incorporados ao produto e oferecidos ao consumidor. Já os aspectos omitidos ou desprezados, provavelmente não serão incluídos no produto. Com isso, é necessário analisar os produtos concorrentes para identificar a melhor oportunidade de produto.

Em virtude disso, foi feita uma matriz morfológica dos produtos similares analisados no Capítulo 4, utilizando os critérios aplicados na etapa anterior (funções do microscópio). Cada produto similar (concorrente) foi avaliado de acordo com as funções critério, a fim de obter conhecimento dos pontos relevantes para o projeto, desde como as soluções utilizadas para os problemas existentes, até possíveis sistemas mecânicos, materiais, peças e interfaces de controle que possam contribuir na obtenção da solução final (PLATCHECK, ), como mostra o Quadro 7.1.

Figura 7.1: Matriz morfológica dos produtos similares/concorrentes.

Função do microscópio	Produtos similares existentes								
	EVOS FL Auto 2	EVOS XL Core	Lionheart FX	Cytation 1	CytoSMART 2	CytoSMART Omni	PAULA	LS720	ZOE
Função de ligar a fonte luminosa	Automático ao ligar o aparelho na fonte de energia				Automático ao ligar o aparelho na fonte de energia	Automático ao ligar o aparelho na fonte de energia	Automático ao ligar o aparelho na fonte de energia	Automático ao ligar o aparelho na fonte de energia	Automático ao ligar o aparelho na fonte de energia
Função de seleção da lente objetiva					Apenas 1 objetiva fixa	Apenas 1 objetiva fixa	Apenas 1 objetiva fixa		Apenas 1 objetiva fixa
Função de posicionamento da placa de cultura	Manual, com travamentos para fixação da placa	Manual	Manual	Manual, com "gaveta" mecânica	Manual	Manual	Manual	Manual	Manual
Função de ajuste do foco	Direto no software	Torre de foco com ajuste manual	Automático	Automático	Direto no software	Direto no software		Automático	
Função de visualização da imagem gerada									
Função de aquisição de fotos	Direto no software	Direto no software	Direto no software	Direto no software					
Função de seleção do filtro	Direto no software	N/A	1 filtro	Direto no software	N/A	N/A	N/A	Direto no software	Manual
Função de mover o shutter	Automático	N/A	Automático	Automático	N/A	N/A	N/A	Automático	Automático

Fonte: Autora (2019).

Após, foi utilizado o método de Estrutura Criativa, encontrado no trabalho de Stella Sapper, transposição de requisitos estéticos e simbólicos de projeto em atributos formais do produto, para assistir na criação das novas alternativas.



### 7.1.1 Identificar

A identificação dos requisitos estéticos e simbólicos do projeto é resultado das análises de usuários (identificação dos usuários/público alvo), de mercado (produtos similares/concorrentes) e de funções do produto, aplicadas no desenvolvimento da qualidade do produto. São elas:

- Eficaz
- Simples
- Moderno
- Sólido

Estas palavras sintetizam o conceito de equipamento confiável, de fácil manuseio, durável, resistente, funcional e acessível.

### 7.1.2 Representar

Através das técnicas de *Brainstorming* e Analogias (BAXTER, 2000), foi feito um aprofundamento de cada requisito estético e simbólico. No processo foram associados conceitos que contribuem para um entendimento mais detalhado de cada requisito com a construção de analogias. Como é mostrado no Quadro 7.1, foi feita uma pesquisa de termos que têm o mesmo ou aproximadamente o mesmo sentido que os quatro requisitos estéticos e simbólicos da etapa anterior (EFICAZ, SIMPLES, MODERNO e SÓLIDO). Após, foi feita uma busca por imagens que simbolizavam os requisitos e então criado quatro painéis semânticos, como é mostrado na Figura 7.3.

Quadro 7.1: *Brainstorming* da fase Representar.

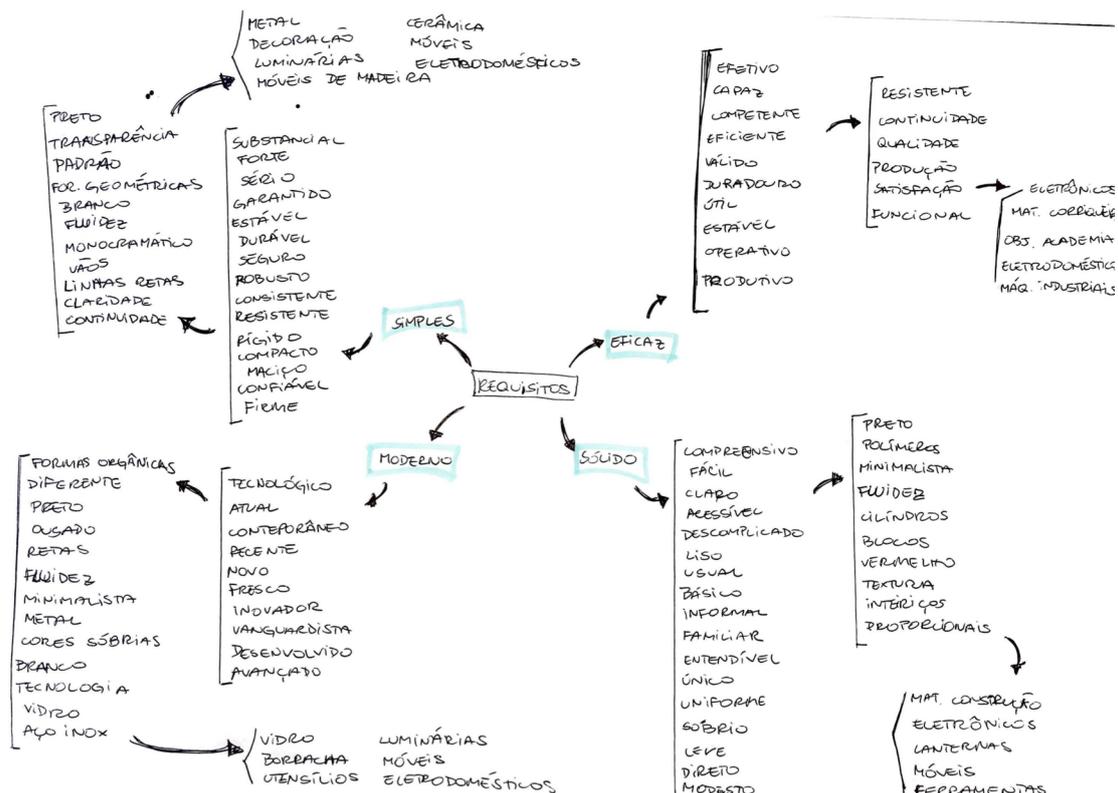
<b>EFICAZ</b>	<b>SIMPLES</b>	<b>MODERNO</b>	<b>SÓLIDO</b>
efetivo	fácil	tecnológico	maciço
capaz	compreensível	atual	compacto
competente	claro	contemporâneo	rígido
eficiente	acessível	recente	resistente
válido	descomplicado	novo	consistente
útil	entendível	fresco	robusto
duradouro	usual	avançado	seguro
estável	básico	inovador	durável
operativo	informal	vanguardista	confiável
produtivo	familiar	desenvolvido	estável
	único		garantido
	uniforme		sério
	sóbrio		substancial
	leve		firme
	direto		forte
	modesto		
	liso		
	limpo		

Fonte: da Autora (2019).



tos estéticos e simbólicos, como mostra a Figura 7.4. Este, foi organizado num formato de círculos, identificados por cores, representando cada nível/etapa do Mapa Mental (Figura 7.5).

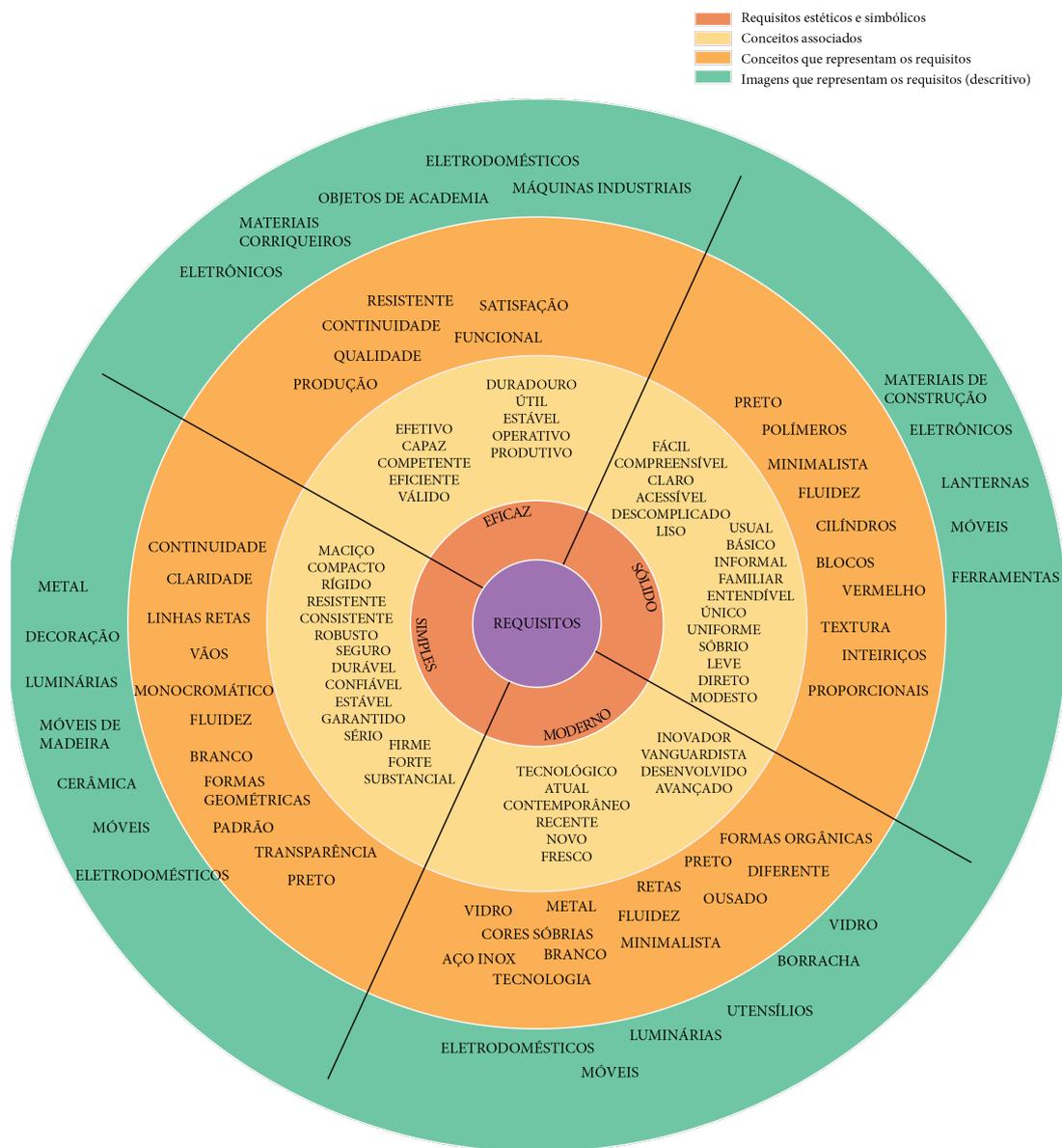
Figura 7.4: Mapa mental dos conceitos para os requisitos estéticos e simbólicos.



Fonte: Autora (2019).

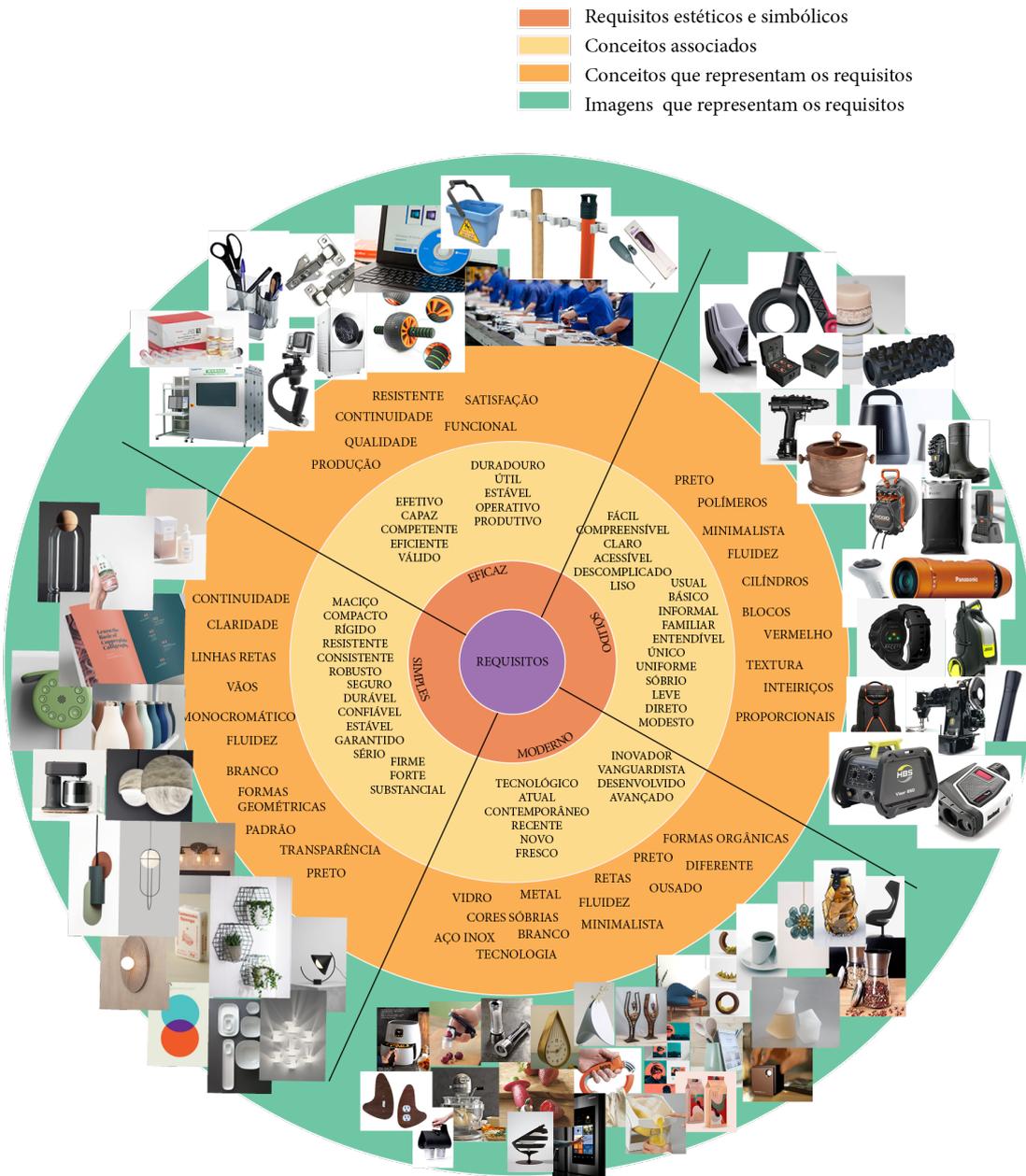
Em seguida, foi feito um aprofundamento dos painéis semânticos, criados na fase anterior, com as imagens que representam os requisitos estéticos e simbólicos, para então elaborar o Painel de referências. As imagens foram, organizadas e selecionadas de acordo com as relações e semelhanças encontradas no Mapa Mental. O Painel de referências foi organizado em dois modelos distintos (Figuras 7.6 e 7.7) para melhor ilustrar a disposição das imagens e dos conceitos usados. No modelo 1 (Figura 7.6), os termos que representam os requisitos encontrados na Figura 7.7 (na cor verde), foram substituídos por imagens. No modelo 2 (Figura 7.7), as imagens foram organizadas em um painel e os termos e conceitos que representam os requisitos foram colocados sobre o painel, conforme a proximidade e semelhança com as imagens.

Figura 7.5: Mapa mental (organizado) dos conceitos para os requisitos estéticos e simbólicos.



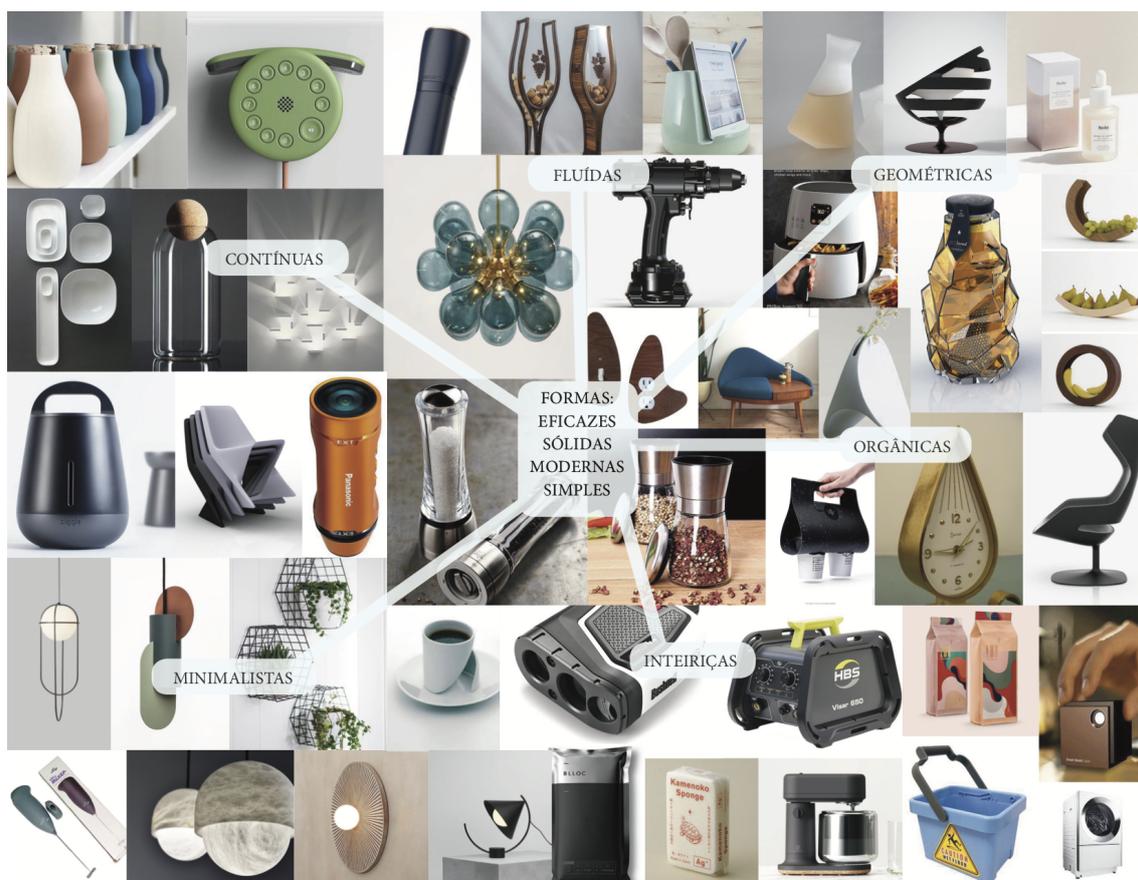
Fonte: Autora (2019).

Figura 7.6: Painel de Referências visuais para a geração de formas: modelo 1.



Fonte: Autora (2019).

Figura 7.7: Painel de Referências visuais para a geração de formas: modelo 2.



Fonte: Autora (2019).

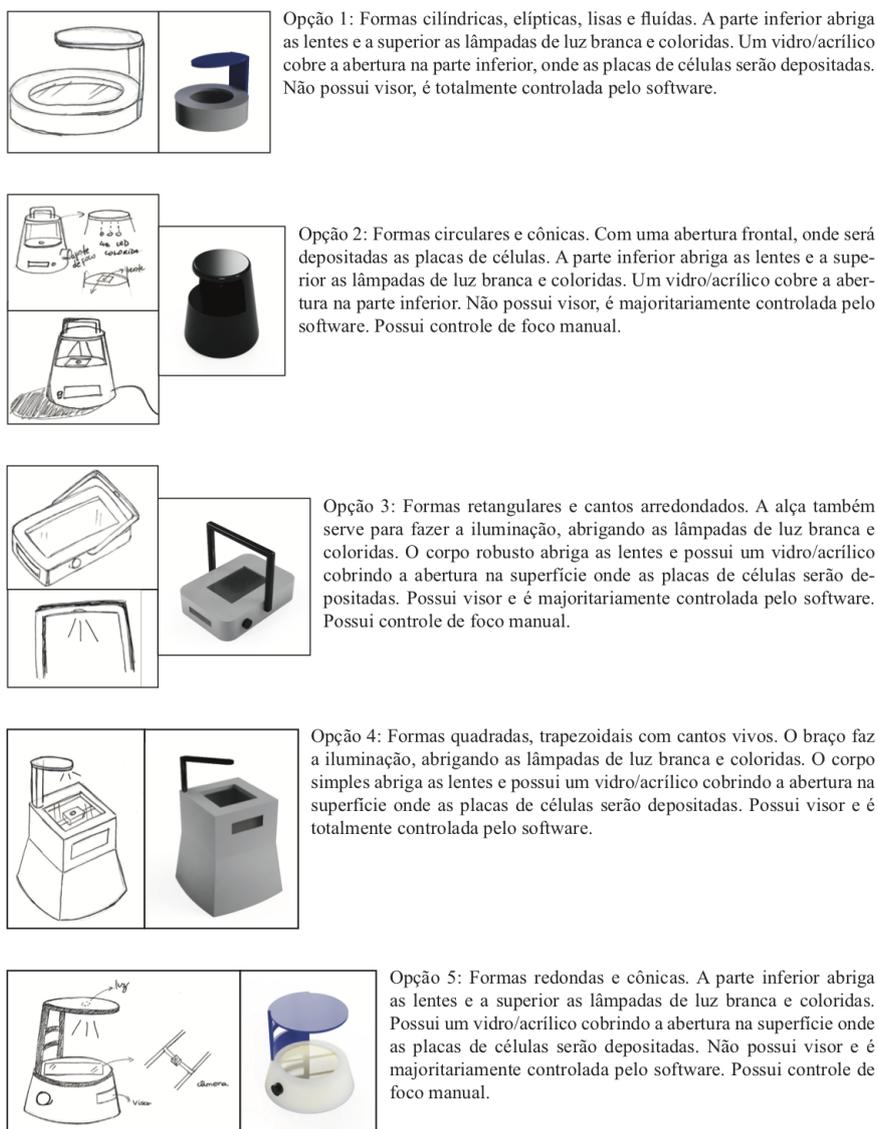
#### 7.1.4 Gerar

A fase "Gerar" objetiva a geração de formas para o produto, principalmente com o auxílio do painel de referências elaborado na fase anterior, que é utilizado como um instrumento de inspiração na geração das formas. A técnica de *Brain dumping* (*Brainstorming visual*) é aplicada nesta etapa, visando no maior resultado de esboços gerados (SAPPER, 2015). Inicialmente, foram extraídas formas do painel de referência, sem muito compromisso com o produto a ser criado, e criados esboços de formas livres, como é mostrado na Figura 7.8.



Destes *sketches*, foram geradas algumas alternativas para a forma do produto final. Ao todo foram geradas 5 opções preliminares orientadas pelas características funcionais listadas anteriormente nas matrizes de Pugh. Essas, foram modeladas no *software* CAD, para ter um melhor entendimento da volumetria das mesmas (Figura 7.10).

Figura 7.10: Opções geradas.



Fonte: Autora (2019).

### 7.1.5 Selecionar

A fase "Selecionar" busca eleger as melhores formas para o produto, e para isso, devem ser entendidas como aquelas que atendem às qualidades semânticas pretendidas para o produto, devem ser condizentes com os requisitos estéticos e simbólicos do projeto (SAPPER, 2015).

Para esta etapa, a autora Sapper (2015) indica a aplicação da técnica de seleção Matriz de Decisão, a qual atribui pontos para as formas para o produto de acordo com os requisitos estéticos e simbólicos do projeto.

As formas foram organizadas nas colunas e os requisitos nas linhas. A equipe (Designer e profissionais do laboratório LabSinal) foi reunida e, juntos atribuíram pontos para cada forma e requisito. Os requisitos foram pontuados com +1, quando positivo, e -1, quando negativo. O resultado desta matriz pode ser visto no quadro a seguir.

Quadro 7.2: Matriz de Decisão da fase "Selecionar".

	Opção 1	Opção 2	Opção 3	Opção 4	Opção 5
Eficaz	1	1	-1	1	1
Sólido	-1	1	-1	1	-1
Moderno	-1	1	-1	-1	1
Simples	1	1	1	-1	1
	0	4	-2	0	2

Fonte: da Autora (2019).

Em seguida, aplicou-se uma escala de diferencial semântico junto ao grupo de usuários (profissionais do laboratório LabSinal), para as opções que melhor pontuaram na Matriz de decisão, Opção 2 e 5. Para a construção da escala, Sapper (2015) instrui no uso de adjetivos bipolares provenientes do desdobramento dos requisitos, realizado na fase "Representar", com uma escala de 7 pontos, onde o zero é neutro e os pontos à esquerda são positivos e os à direita são negativos. As formas com maior pontuação podem ser consideradas as melhores formas para dar seguimento nas próximas etapas do processo de design.

Quadro 7.3: Escalas de diferencial semântico da fase "Selecionar".

Opção 2								
	3	2	1	0	-1	-2	-3	
Eficiente		x						Ineficiente
Duradouro			x					Momentâneo
Estável		x						Instável
Produtivo		x						Improdutivo
Fácil			x					Difícil
Claro		x						Incompreensível
Descomplicado		x						Complicado
Direto		x						Indireto
Inovador		x						Convencional
Seguro		x						Perigoso
Compacto	x							Alargado
	3	16	2	0	0	0	0	21

Opção 5								
	3	2	1	0	-1	-2	-3	
Eficiente		x						Ineficiente
Duradouro					x			Momentâneo
Estável				x				Instável
Produtivo		x						Improdutivo
Fácil			x					Difícil
Claro		x						Incompreensível
Descomplicado		x						Complicado
Direto	x							Indireto
Inovador			x					Convencional
Seguro		x						Perigoso
Compacto		x						Alargado
	3	12	2	0	-1	0	0	16

Fonte: da Autora (2019).

A alternativa de forma que mais pontuou foi a Opção 2, assim, na próxima etapa

esta irá passar por um processo de refinamento, para então se chegar até a opção final do produto que será fabricado.

## **7.2 Apresentação da Alternativa Final**

A alternativa selecionada, após refinada, é entendida como a que melhor representa e atribui as necessidades salientadas, os estudos estéticos e mecânicos desenvolvidos e oferta que se propõe alcançar. O posicionamento do equipamento está direcionado para um público muito habituado a tecnologia no seu cotidiano, assim apresentando uma alternativa mais intuitiva e com funções similares que remetem ao que já conhecem. Já a aplicação de cores e iluminação, pretende afastar o produto de da imagem de equipamentos laboratoriais e aproximar ao contexto de eletrônicos de fácil manuseio, cada vez mais presentes na vida das pessoas.

## **Part IV**

# **PROJETO DETALHADO**

A configuração do projeto tem início na escolha do conceito e termina com a concepção do protótipo completamente desenvolvido e testado. Este capítulo apresenta o desenvolvimento e o resultado do refinamento das funções definidas nas etapas anteriores, provenientes da seleção do melhor arranjo de componentes e da estrutura estética mais adequada ao produto (BAXTER, 2000). Este processo foi realizado juntamente com os profissionais do LabSinal e com engenheiros de controle e automação.

## 8 CONFIGURAÇÃO FINAL

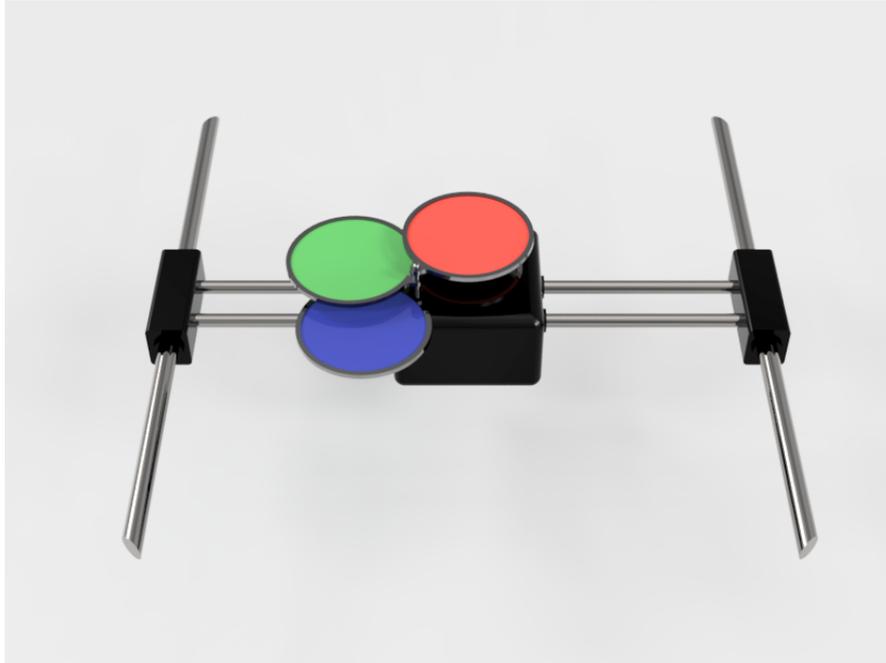
O produto final foi todo desenvolvido peça-a-peça para este projeto, como mostra a figura 9.2. A parte eletrônica interna foi desenvolvida de forma que a câmera, acompanhada da lente objetiva, deslizasse no eixo x/y para captar a maior área possível (mostrado na figura 8.2); os filtros foram feitos acoplados a câmera, para manter melhor mobilidade da mesma; já na parte superior, foram colocados LEDs branco, azul e vermelho. O produto é todo controlado pelo software, podendo ter as suas funções ajustadas dependendo da aplicação. Este funciona no fluxo a seguir: o dispositivo é ligado, por um cabo com saída usb, a um computador/tablet, que contém o software; ligado, a luz central (luz branca) é ligada, e as imagens podem ser feitas pela câmera (no interior do dispositivo), que tem uma lente objetiva de 100x acoplada, que pode ser substituída; caso queira fazer fotos em fluorescência, o filtro (círculos coloridos) é selecionado, e a luz colorida é ligada; a placa de cultura é posicionada no topo do visor de vidro, ficando no “meio do caminho” entre a luz (vindo de cima) e a câmera com os filtros (inferior); a câmera é movimentada no eixo x/y pelos cabos metais, podendo se movimentar e capturar imagens de todos os poços de cultura (das placas de cultura - dimensões (C x L x A): 128 x 85 x 17 mm, com 96 poços).

Figura 8.1: Configuração final do produto.



Fonte: Autora (2019).

Figura 8.2: Sistema interno com deslizamento x/y.

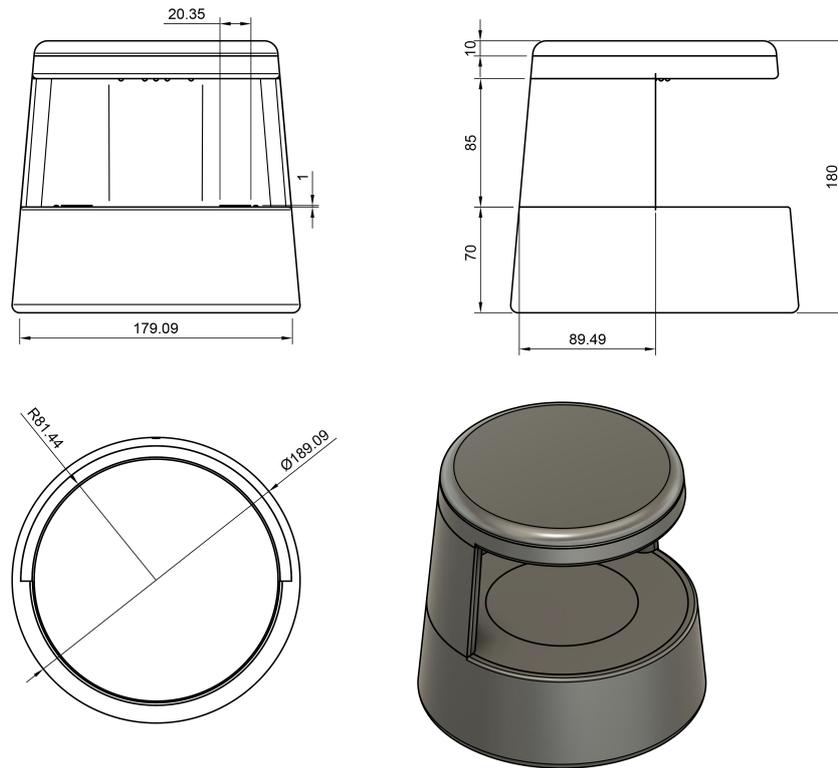


Fonte: Autora (2019).

### 8.1 Desenho Técnico

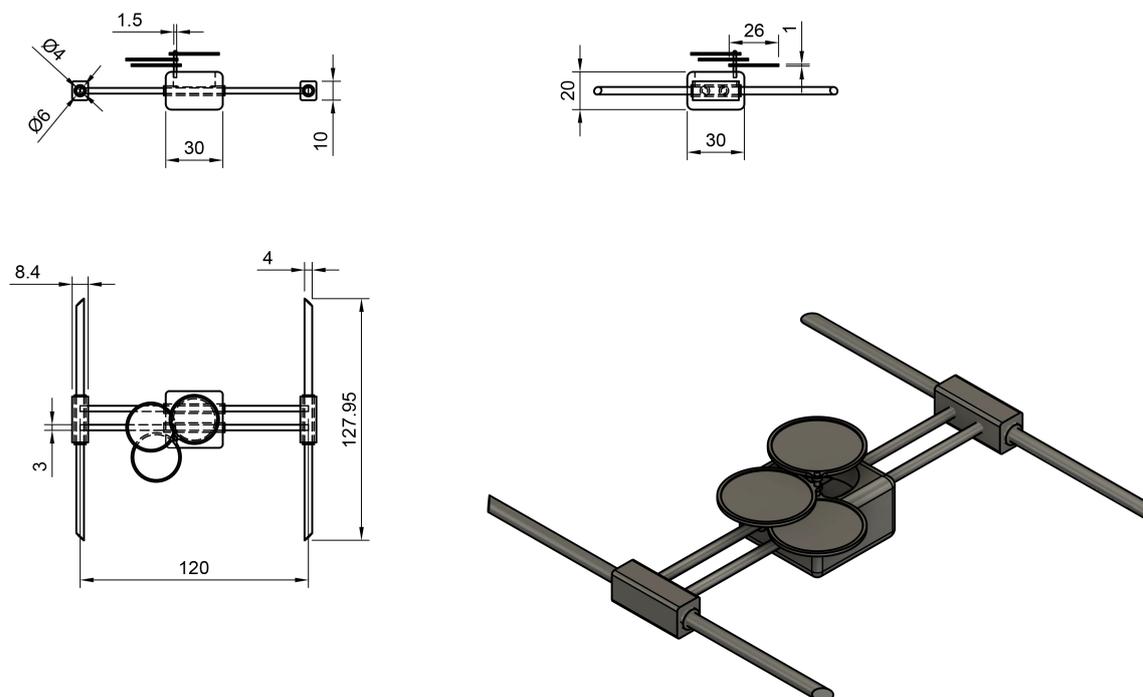
A partir da modelagem 3D, realizada no software Autodesk Fusion 360, foram geradas vistas para detalhamento técnico. Os desenhos técnicos foram separados em três partes: configuração total, configuração da parte interna e configuração da parte externa. As imagens a seguir mostram as pranchas desenvolvidas, e todas estão disponíveis no Apêndice C.

Figura 8.3: Desenho técnico da configuração total externa.



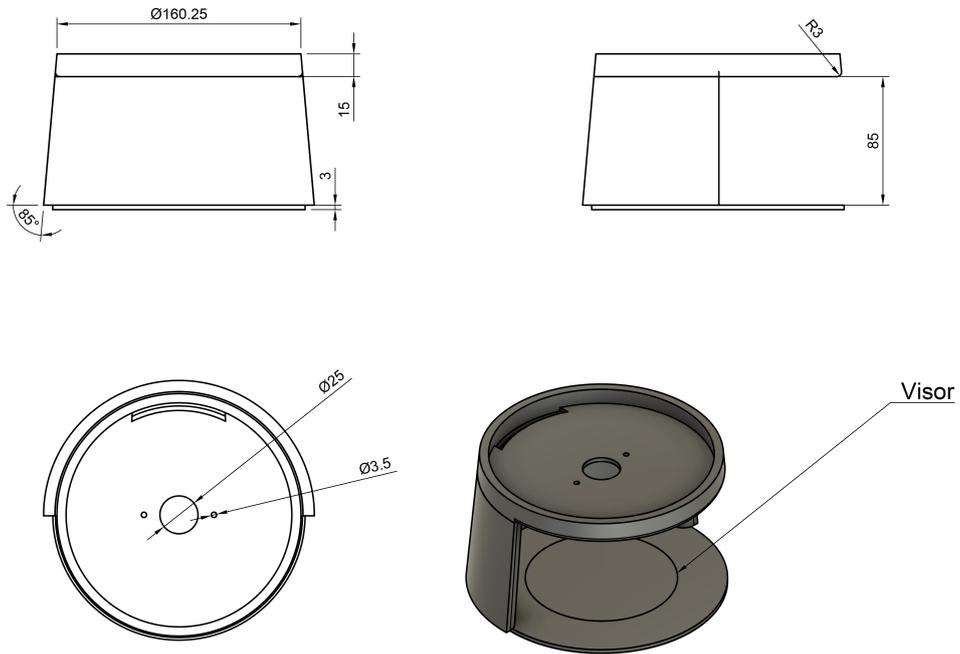
Fonte: Autora (2019).

Figura 8.4: Desenho técnico do sistema interno.



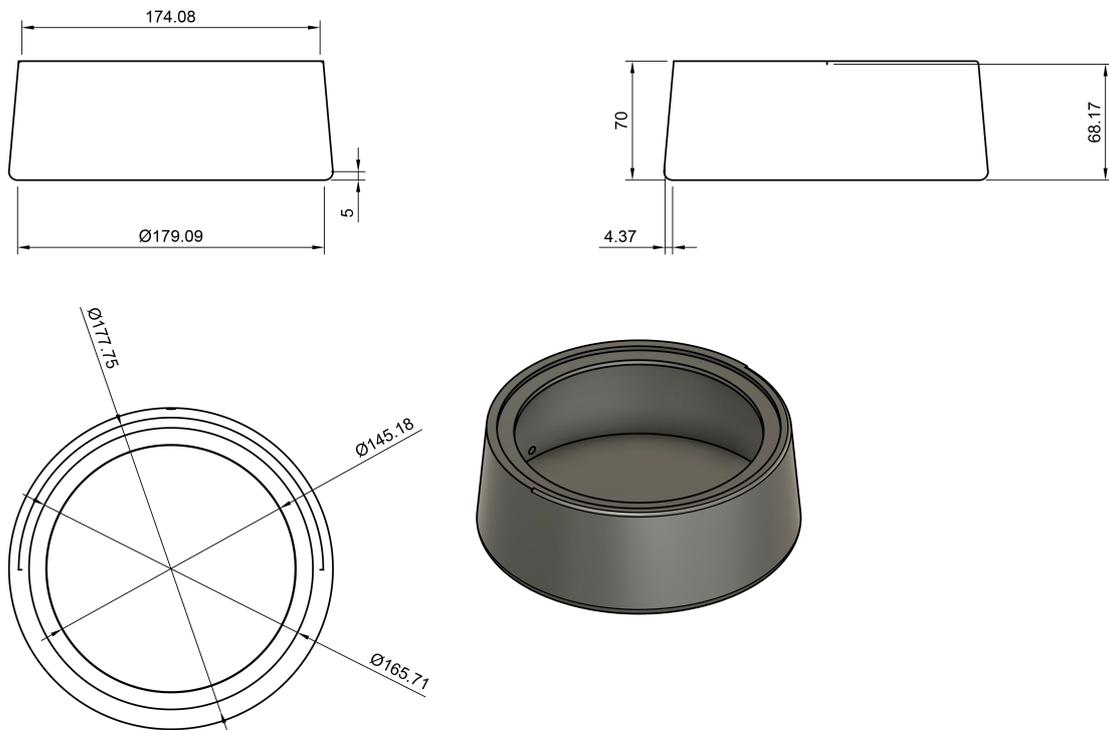
Fonte: Autora (2019).

Figura 8.5: Desenho técnico da parte superior.



Fonte: Autora (2019).

Figura 8.6: Desenho técnico da parte inferior.



Fonte: Autora (2019).

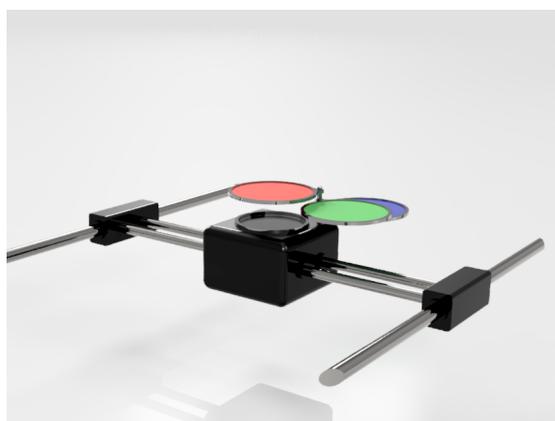
## 8.2 Seleção de Materiais

A seleção de materiais foi norteada a partir dos requisitos de produto, onde o mesmo teria que ser resistente ao meio celular (dentro da estufa), como umidade, altas temperaturas e trocas gasosas. Para a estrutura externa, foi definido o uso do polímero PPS (polisulfeto de fenileno), pois é um polímero termoplástico, semi-cristalino, de alta temperatura. Devido à sua estrutura, é muito resistente química e mecanicamente, mesmo à temperaturas acima de 200 °C. Além da sua baixa absorção de água, o polímero PPS também possui boa estabilidade dimensional sobre diversas variações de temperatura e umidade e excelentes propriedades elétricas (ENSIGNER, 2019).

## 8.3 Render

A seguir, são apresentadas as renderizações digitais, resultadas da modelagem dos componentes, feita no *software* Autodesk Fusion 360. As Figuras 8.7 e 8.8, mostram o sistema de câmera + lente objetiva + filtros, criados para este produto. Todos estes, controlados pelo aplicativo (conectados via Wifi). O sistema da câmera + lente objetiva (acoplada dentro da caixa preta da câmera, figura 8.12), foi projetado seguindo o mecanismo das impressoras 3D, onde a movimentação no eixo x/y é feito deslizando o veio retificado metálico (cromado), proporcionando assim a possibilidade de captar imagens de toda a placa de cultura celular. Já as Figuras 8.9, 8.10, 8.11 e 8.13, mostram a estrutura externa projetada de forma que as luzes ficam posicionadas na parte superior e o visor de acrílico fica posicionado acima do sistema da câmera.

Figura 8.7: Sistema câmera + lente objetiva + filtros.



Fonte: Autora (2019).

Figura 8.8: Sistema câmera + lente objetiva + filtros, com foco nos filtros.



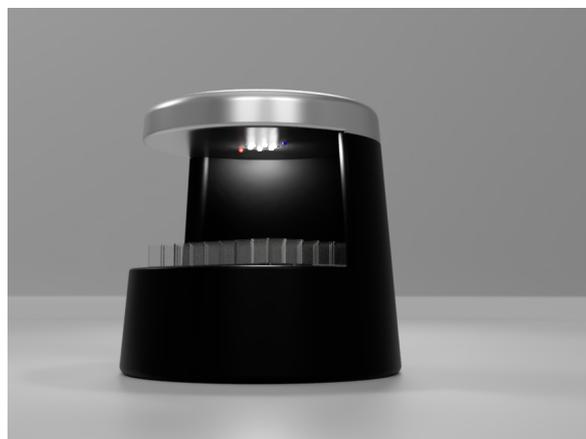
Fonte: Autora (2019).

Figura 8.9: Estrutura externa.



Fonte: Autora (2019).

Figura 8.10: Render do produto com foco nos LEDs.



Fonte: Autora (2019).

Figura 8.11: Render do produto com foco no visor de acrílico.



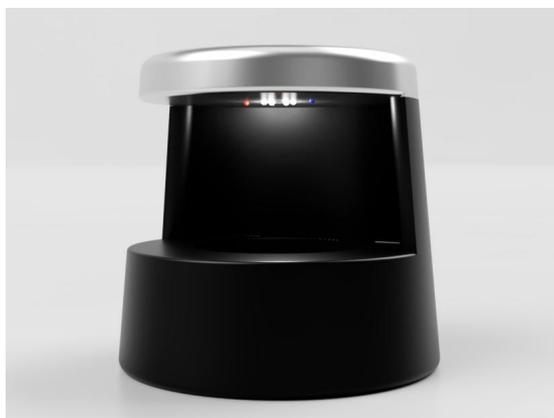
Fonte: Autora (2019).

Figura 8.12: Render da estrutura interna posicionada no produto.



Fonte: Autora (2019).

Figura 8.13: Render da estrutura final.



Fonte: Autora (2019).

## 9 PROTORIPAGEM

O protótipo físico funcional foi executado a partir de modelagem digital com recursos de impressão 3D e componentes eletrônicos. Foi desenvolvido um protótipo em escala 1:1 (Figuras 9.1, 9.2 e 9.3); as peças foram impressas em impressora 3D de filamento (FDM) e os componentes eletrônicos foram comprados prontos (Figura 9.4).

Figura 9.1: Protótipo do Produto.



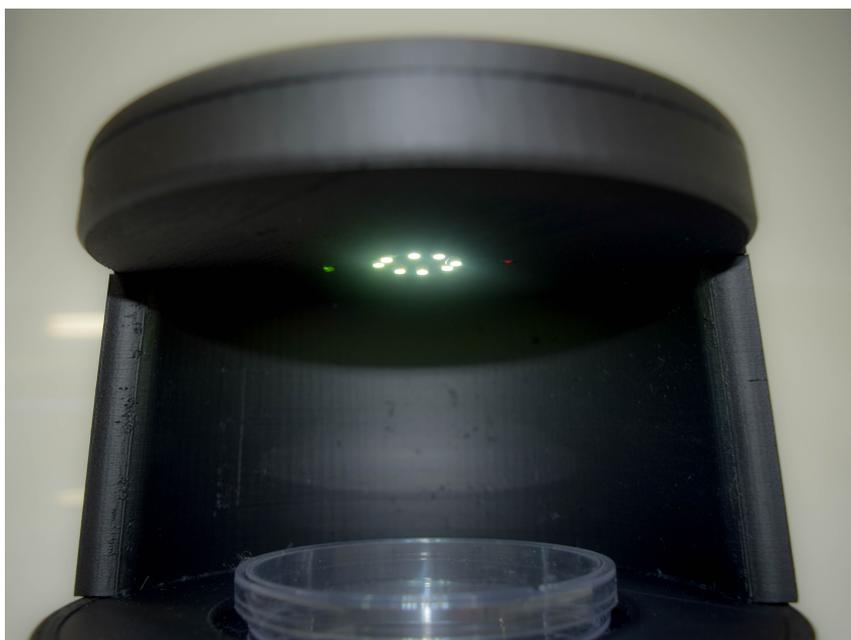
Fonte: Autora (2019).

Figura 9.2: Produto Final.



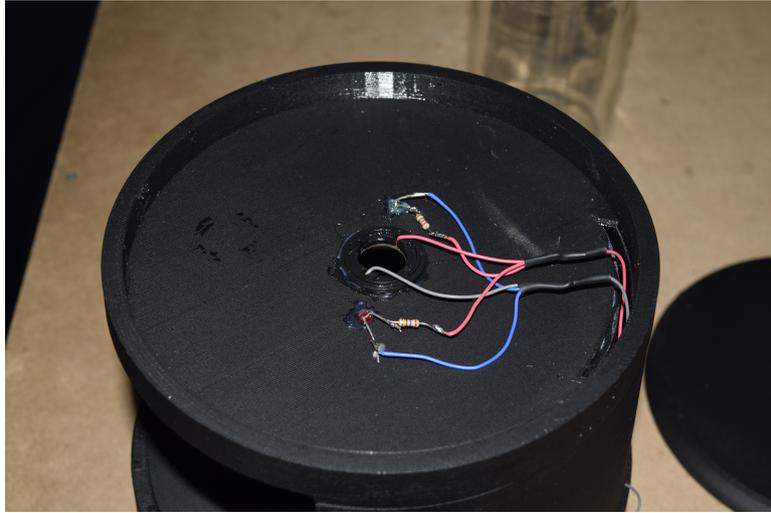
Fonte: Autora (2019).

Figura 9.3: Detalhe dos LEDs.



Fonte: Autora (2019).

Figura 9.4: Instalação dos componentes eletrônicos.



Fonte: Autora (2019).

## 10 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A proposta deste trabalho foi a melhoria do processo de acompanhamento contínuo por parte do pesquisador, onde grande parte das imagens de culturas de células são feitas fora de estufas, devido a falta de tecnologia capaz de coletar essas informações de dentro das incubadoras e processar as mesmas de forma remota. Através de medições realizadas neste trabalho e de pesquisas bibliográficas, foi verificado que não há um processo universal usado para fazer o monitoramento contínuo de células únicas dentro de estufas. Em virtude disso, se viu necessário um aparato que fosse capaz de fazer o monitoramento contínuo de cultura de células de dentro de estufas, proporcionando também um acompanhamento direto, com capacidade de tirar fotos em sequência de um mesmo campo de cultura e que processasse os dados coletados. Para o desenvolvimento deste trabalho, foi necessária a assimilação de novos conceitos sobre uma área complexa. Foi preciso compreender o funcionamento da biologia celular, da microscopia ótica, de campo aberto e fluorescência, e a interação das células com o ato de captura de imagem. Os requisitos obtidos a partir dos dados coletados em análises, entrevistas com os usuários e observações forneceram as diretrizes necessárias para a elaboração da etapa de Projeto Conceitual e Projeto Detalhado, (focados neste projeto).

Este trabalho é um desenvolvimento da minha experiência como designer de produto com aplicação de diferentes áreas. A trajetória percorrida durante este projeto de produto me conferiu um conhecimento distinto, pela pesquisa de dados, o contato com os profissionais da área envolvida e o exercício da prática projetual instruíram conhecimentos e permitiram a maturação do projeto. O contato com os profissionais da área da pesquisa universitária, permitiu um novo olhar sobre a pesquisa, a experiência de trabalho dos mesmo e acrescentou muito no meu crescimento pessoal como profissional.

## REFERÊNCIAS

- BACK, N. et al. Projeto integrado de produtos: planejamento, concepção e modelagem. **Barueri: Malone**, p. 435–482, 2008.
- BATTARBEE, K.; KOSKINEN, I. Co-experience: user experience as interaction. **CoDesign**, Taylor & Francis, v. 1, n. 1, p. 5–18, 2005.
- BAXTER, M. **Projeto de produto: guia prático para o design de novos produtos**. [S.l.]: Edgard Blucher, 2000.
- BIO-RAD. **ZOE Cell Imager**. 2018. Disponível em: <<https://zoe-bio-rad.com>>. Acesso em: 04 Nov 2018.
- BIOTEK. **Cytation 1**. 2018. Disponível em: <<https://www.biotek.com/products/imaging-microscopy-cell-imaging-multi-mode-readers/cytation-1-cell-imaging-multi-mode-reader/>>. Acesso em: 03 Nov 2018.
- BIOTEK. **Lionheart FX Automated Microscope**. 2018. Disponível em: <<https://www.biotek.com/products/imaging-microscopy-automated-cell-imagers/lionheart-fx/>>. Acesso em: 30 Set 2018.
- CAMARGO, L. S. de A.; FAZANI, A. J. Explorando o design participativo como prática de desenvolvimento de sistemas de informação. **InCID: Revista de Ciência da Informação e Documentação**, v. 5, n. 1, p. 138–150, 2014.
- CARPENTER, A. E.; KAMENTSKY, L.; ELICEIRI, K. W. A call for bioimaging software usability. **Nature methods**, Nature Publishing Group, v. 9, n. 7, p. 666, 2012.
- COOPER, G. M.; HAUSMAN, R. E. **A Célula-: Uma Abordagem Molecular**. [S.l.]: Artmed Editora, 2016.
- COUTU, D. L.; SCHROEDER, T. Probing cellular processes by long-term live imaging—historic problems and current solutions. **J Cell Sci**, The Company of Biologists Ltd, p. jcs-118349, 2013.
- CYTOSMART. **CytoSMART 2**. 2018. Disponível em: <<https://www.cytosmart.com/cytosmart2/>>. Acesso em: 03 Nov 2018.
- CYTOSMART. **CytoSMART Omni**. 2018. Disponível em: <<https://www.cytosmart.com/omni/>>. Acesso em: 04 Nov 2018.
- DHGATE. **Biological Microscope Set Achromatic Objective Lenses 4X 10X 40X 100X**. 2019. Disponível em: <<https://www.dhgate.com/product/biological-microscope-set-achromatic-objective/407488637.html>>. Acesso em: 20 Abr 2019.
- EDELSTEIN, A. et al. Computer control of microscopes using  $\mu$ manager. **Current protocols in molecular biology**, Wiley Online Library, v. 92, n. 1, p. 14–20, 2010.
- ENSIGNER. **Plásticos PPS - TECATRON**. 2019. Disponível em: <<https://www.ensingerplastics.com/pt-br/semiacabados/plasticos-de-alto-desempenho/pps>>. Acesso em: 23 Jun 2019.

- EVENNETT, P.; HAMMOND, C. *Microscopy* overview. Elsevier, 2005.
- FRIGAULT, M. M. et al. Live-cell microscopy—tips and tools. **J Cell Sci**, The Company of Biologists Ltd, v. 122, n. 6, p. 753–767, 2009.
- LICHTMAN, J. W.; CONCHELLO, J.-A. Fluorescence microscopy. **Nature methods**, Nature Publishing Group, v. 2, n. 12, p. 910, 2005.
- LIMITED, N. C. E. C. **Ocular lens eyepiece wide angle field for Biological Microscope**. 2019. Disponível em: <<http://www.chutongelec.com/product/ocular-lens-eyepiece-wide-angle-field-for-biological-microscope/>>. Acesso em: 20 Abr 2019.
- MICROSCOPES, F. **Zeiss AxioVert 135 Inverted Fluorescence Phase Microscope**. 2019. Disponível em: <<https://www.fluorescencemicroscopes.com/zeiss-axiovert-135-inverted-fluorescence-phase-microscope/>>. Acesso em: 2 Jun 2019.
- MICROSYSTEMS, L. **PAULA Cell Imager**. 2018. Disponível em: <<https://www.leica-microsystems.com/products/light-microscopes/inverted-microscopes/details/product/paula-1/>>. Acesso em: 04 Nov 2018.
- MORAES, A. M.; ROSA, J. G. S. Design participativo: técnicas para inclusão de usuários no processo de ergodesign de interfaces. **Rio de Janeiro: Rio Book's**, 2012.
- MOREIRA, C. Microscópio ótico. **Revista de Ciência Elementar**, v. 1, n. 1, 2003.
- MYCROSCOPYU. **Maintaining Live Cells on the Microscope Stage**. 2019. Disponível em: <<https://www.microscopyu.com/applications/live-cell-imaging/maintaining-live-cells-on-the-microscope-stage>>. Acesso em: 20 Abr 2019.
- MYCROSCOPYU. **Numerical Aperture and Image Resolution**. 2019. Disponível em: <<https://www.microscopyu.com/tutorials/imageformation-airyna>>. Acesso em: 20 Abr 2019.
- PEREIRA, P. Z. et al. Possibilidades de uso da matriz morfológica no processo de geração de alternativas em design. **Blucher Design Proceedings**, v. 1, n. 4, p. 1126–1135, 2014.
- PLATCHECK, E. **Design Industrial: Metodologia De Ecodesign Para O**. ATLAS EDITORA. ISBN 9788522472291. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=1afENAEACAAJ>>.
- PUGH, S. *Total design: integrated methods for successful product engineering*. Addison-Wesley Wokingham, 1991.
- SAPPER, S. L. *A transposição dos requisitos estéticos e simbólicos de projeto em atributos formais do produto*. 2015.
- SCHROEDER, T. Long-term single-cell imaging of mammalian stem cells. **Nature methods**, Nature Publishing Group, v. 8, n. 4s, p. S30, 2011.
- SCIENTIFIC, T. F. *Cell culture basics handbook*. **UK: Gibco**, 2015.

SCIENTIFIC, T. F. **EVOS XL Core Cell Imaging System**. 2018. Disponível em: <<https://www.thermofisher.com/br/en/home/life-science/cell-analysis/cellular-imaging/cell-imaging-systems/evos-xl-core.html>>. Acesso em: 30 Set 2018.

SCIENTIFIC, T. F. **Invitrogen EVOS FL Auto 2 Cell Imaging System**. 2018. Disponível em: <<https://www.thermofisher.com/br/en/home/life-science/cell-analysis/cellular-imaging/cell-imaging-systems/evos-fl-auto.html>>. Acesso em: 30 Set 2018.

SIMPLIFIED, E. M. **LS720 Microscope**. 2018. Disponível em: <<http://www.etaluma.com/products/lumascop-720/>>. Acesso em: 04 Nov 2018.

SKYLAKI, S.; HILSENBECK, O.; SCHROEDER, T. Challenges in long-term imaging and quantification of single-cell dynamics. **Nature biotechnology**, Nature Publishing Group, v. 34, n. 11, p. 1137, 2016.

VANDERVOORT, G. F. *Optical microscopy*. Elsevier, 2005.

ZORTRAX. **Zortrax 3D Printers**. 2019. Disponível em: <<https://zortrax.com/3d-printers/>>. Acesso em: 20 Abr 2019.

## APÊNDICE A — ENTREVISTAS COM USUÁRIOS

### Necessidades do usuário

Formulário para identificar as necessidades do usuário.

Objetivo: Desenvolvimento de um dispositivo para monitoramento contínuo de culturas de células dentro de estufas.

**1. Quais funções você considera essenciais neste dispositivo?**

---

---

---

---

---

**2. Quais funções extras o dispositivo deveria desempenhar? (ex. compartilhamento de dados, possibilidade de troca de lentes...)**

---

---

---

---

---

### Características

Atributos básicos

**3. Ergonomia de uso: Descreva/cite características de ergonomia que você julga relevante para o produto.**

Ergonomia = Fatores humanos. (ex. a pega tem que ser acolchoada; ...)

---

---

---

---

---

4. **Estética: Descreva/cite características estéticas que você julga relevante para o produto.**  
(aparência, estilo, cores)

---

---

---

---

---

5. **Segurança: Descreva/cite princípios de segurança que você julga relevante para o produto.**

---

---

---

---

---

6. **Confiabilidade, Robustez e Impacto ambiental: Descreva/cite características sobre estes tópicos que você julga relevante para o produto.**

---

---

---

---

---

## Ciclo de vida

7. **Custo: o valor do produto influencia na hora da escolha/compra? (produto específico para o laboratório)**

*Marcar apenas uma oval.*

- Sim  
 Não

8. **Baixo custo é um referencial importante?**

*Marcar apenas uma oval.*

- Sim  
 Não  
 Talvez

9. **Justifique.**

---

---

---

---

---

10. **Uso: cite fatores que são importantes na hora de utilizar o produto.**

Ex. fácil de operar; fácil de aprender; manutenção fácil; ...

---

---

---

---

---

**That's all folks. Obrigada.**

---





## APÊNDICE C — DESENHOS TÉCNICOS

