INSTITUTO INTERNACIONAL DE NEUROCIÊNCIAS EDMOND E LILY SAFRA, IIN-ELS

INSTITUTO SANTOS DUMONT, ISD
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROENGENHARIA
COMPONENTE CURRICULAR: FUND. DE PROGRAMAÇÃO E
DESENVOLVIMENTO DE PROJETOS APLICADOS A NEUROENGENHARIA
DOCENTE: PROF. Dr. ANDRÉ FELIPE OLIVEIRA DE AZEVEDO DANTAS
DISCENTE: YAGO DANIEL SOUTO

LISTA 03

QUESTÕES OBJETIVAS:

Objetivo 1: Listar os recursos da linguagem de programação e situações onde é utilizada;

- 1. ASSINALE AS AFIRMATIVAS REFERENTE AOS RECURSOS DA LINGUAGEM DE PROGRAMAÇÃO PYTHON:
 - a) Linguagem simples e eficaz;
 - b) Muito utilizada tanto profissionalmente quanto cientificamente;
 - c) Linguagem interpretada usando Máquina Virtual Python;
 - d) Conjunto de bibliotecas estáveis e bem estruturadas;
 - e) Difícil leitura e compreensão.

Objetivo 2: Reconhecer os ambientes de programação para o Python e os recursos computacionais para utilizá-lo;

- 2. QUAIS OS RECURSOS NECESSÁRIOS PARA A INSTALAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE PROGRAMAS EM PYTHON:
 - a) Extensão;
 - b) IDE;
 - c) Bibliotecas;
 - d) VSCODE:
 - e) MIKROC.

Objetivo 3: Lembrar, reconhecer e usar comentários variáveis e tipos e operadores em Python;

- 3. O PYTHON PODE MANIPULAR VARIÁVEIS BÁSICAS COMO:
- a) Strings;
- b) Inteiros;
- c) Reais;
- d) Booleanos;
- e) Numéricos.

Objetivo 4: Utilizar a ferramenta de desenvolvimento para escrever comandos de entrada e saída na linguagem;

- 4. O VSCODE É UMA IDE COMUMENTE UTILIZADA PELOS DESENVOLVEDORES PARA SUAS IMPLEMENTAÇÕES. SÃO RECURSOS DA IDE VSCODE AS SEGUINTES CARACTERÍSTICAS:
 - f) Editor de códigos leve:
 - g) Suporta várias linguagens;

- h) Integração com .NET and Unity;
- i) Extensions for other languagens: C++, C#, Java, Python, PHP, Go;
- j) Buil in: JavaScript, TypeScript, Node.js and FORTRAN.

Objetivo 5: Utilizar ferramentas de debug para visualizar variáveis e sequência de código;

5. SÃO CARACTERÍSTICAS DA FERRAMENTA DEBUG:

- a) Breakpoint;
- b) Acesso a variáveis;
- c) Executa linha por linha;
- d) Apresenta o programa funcionando;
- e) Não apresenta o erro.

ATIVIDADE CONTEXTUALIZADA: QUESTÃO 01:

O Microscópio Confocal de Varredura a Laser

yagodaniel edited this page 14 days ago · 4 revisions

INSTITUTO SANTOS DUMOND

INSTITUTO INTERNACIONAL DE NEUROCIÊNCIAS EDMOND E LILY SAFRA - IIN-ELS

MESTRADO EM NEUROENGENHARIA

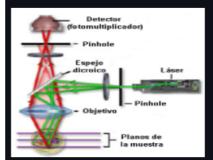
DISCENTE: YAGO DANIEL SOUTO

INTRODUÇÃO

As bases físicas dos microscópios confocais de varredura são as mesmas para os microscópios de luz convencionais as quais foram adicionadas as modificações necessárias para que os princípios da confocalidade sejam aplicados. Devido a estes princípios a forma pela qual a imagem é adquirida nos microscópios confocais é muito diferente da forma pela qual a imagem é adquirida em um microscópio convencional. Começando pela fonte luminosa, no lugar das lâmpadas encontradas nos microscópios de epifluorescência os microscópios confocais usam o laser. Este feixe de luz coerente percorre um caminho óptico perfeitamente alinhado com o eixo óptico da objetiva preenchendo toda a parte traseira da lente com luz. Desta forma, a objetiva focaliza um volume limitado da amostra dado pela difração da luz dentro da amostra gerando a iluminação pontual deseiada.

MICROSCÓPIO CONFOCAL DE VARREDURA A LASER

O diâmetro do ponto iluminado pelo laser varia de 0,25 a 0,8 micrômetros e este tamanho é determinado em função do tipo do microscópio, comprimento de onda luminosa de excitação e características próprias da objetiva. Esta mesma objetiva coletará a luz emitida pelo agente fluorescente a partir deste ponto. Tanto a onda luminosa de excitação (luz laser transmitida através da amostra) quanto a emissão fluorescente passarão por um espelho dicróico (os espelhos dicróicos apresentam a propriedade de opacidade a determinados comprimentos de onda e transparência a outros). Em seguida a luz emitida pelo agente fluorescente formará a imagem que está em plano focal conjugado (confocal) ao do ponto iluminado. Esta luz (emitida pelo agente fluorescente) deve passar através de uma abertura confocal (o pinhole) colocado na frente do fotodetector, finalmente no fotodetector chegarão apenas os fótons que partiram do plano focal observado, todos os demais fótons que partiram de pontos focais diferentes estarão sujeitos a desvios em ângulos variados e serão barrados pelo pinhole, não contribuindo com a formação da imagem. Em geral o fotodetector é um fotomultiplicador ou um fotodiodo altamente sensível. O sinal elétrico no fotomultiplicador é digitalizado e processado pela estação de trabalho (computador) através do programa que controla o equipamento. A Figura a seguir apresenta um modelo de fotomultiplicador da microscopia confocal.



Nos microscópios confocais as lentes objetivas desempenham duas funções diferentemente do que ocorre nos microscópios convencionais. No microscópio confocal a objetiva recebe a emissão dos agentes fluorescentes para a formação da imagem e também desempenha o papel da lente condensadora atuando no processo de iluminação, o que resulta em incremento de resolução em um fator de 1,4. Esta ampliação é uma vantagem relevante para a microscopia confocal e é explicada pela dependência do quadrado da abertura numérica da objetiva decorrente do perfil do caminho óptico. Já na microscopia convencional a atuação das lentes objetivas é exclusiva para a formação da imagem.

COMPOSIÇÃO DE UM MICROSCÓPIO CONFOCAL

Os microscópios confocais de varredura utilizam como fonte luminosa o laser sendo que a objetiva está posicionada de forma a separar fonte de luz e os fotodetectores. Nestes microscópios encontramos múltiplos emissores laser com comprimentos de onda cobrindo todo o espectro de luz visível, um conjunto de varredura (componente chave do sistema), sistemas ópticos como divisores de feixes, combinadores de feixe, prismas, filtros e espelhos dicróicos. Tudo isso combinado a elementos eletrônicos (representados pelos fotomultiplicadores) e um sistema computacional acoplado para o controle dos dispositivos eletrônicos do equipamento, aquisição, processamento e visualização das imagens, contendo ainda módulos avançados de análise. Filtros, prismas e espelhos dicróicos são os elementos ópticos contidos dentro das unidades de varredura, sendo que o componente central desta unidade é o pinhole. Atualmente a arquitetura do pinhole mudou de um orifício em um disco metálico para um diafragma em que o operador do equipamento pode controlar a sua abertura e fechamento, o que afeta diretamente a espessura da fatia óptica obtida da amostra. O equilíbrio entre o diâmetro de abertura do pinhole, a resolução espacial (tanto xy quanto em z) e a resolução final da imagem deve ser alcançado durante a análise das imagens, garantindo assim aquisição de imagens de alta qualidade das amostras observadas. O acerto destes parâmetros dependem exclusivamente do objetivo do experimento, em determinados casos pode ser adequado fechar mais o pinhole para melhorar a resolução espacial e em outros o adequado pode ser abrir mais o pinhole de forma a captar mais sinal luminoso reduzindo a resolução. A condição em que o diâmetro do pinhole é o mesmo do diâmetro do disco de Airy para uma dada objetiva, resulta na melhor relação entre resolução e sinal luminoso. A excessiva diminuição do diâmetro do pinhole (abaixo do disco de Airy) leva a uma progressiva perda de sinal, sendo que o ganho de resolução não aumenta na mesma proporção, principalmente em z. Reduzir excessivamente o diâmetro do pinhole é uma prática desvantajosa para a maioria das aplicações.

Disco de Airy

Em óptica o disco de Airy ou padrão de Airy são descrições para o melhor ponto luminoso focalizado que uma lente perfeita com abertura circular pode proporcionar, limitado pela difração da luz. O padrão de difração resultante de uma abertura circular uniformemente iluminada apresenta uma região brilhante no centro conhecida como disco de Airy a qual juntamente com uma série de anéis concêntrico com brilho é conhecido como padrão de Airy.

GERAÇÃO DE IMAGENS

O microscópio confocal gera suas imagens a partir do princípio de varredura ou escaneamento óptico da amostra, capturando os sinais luminosos advindos da amostra, convertendo estes sinais luminosos em pulsos elétricos e transformando estes pulsos elétricos em sinais digitais que são interpretados e exibidos na tela por programas especializados neste tipo de geração de imagem. As imagens formadas são do tipo mapa de pixels. Cada ponto capturado da imagem corresponde a um pixel na imagem final e desta forma o número de pontos por linha e o número de linhas definem a resolução física da imagem digitalizada. Nos modelos iniciais deste tipo de microscopia a saída mais lógica para se fazer a varredura de uma amostra era movimentar a amostra, pois desta forma se mantinha fixo todo o alinhamento do sistema óptico. Com esta estratégia um único alinhamento era suficiente para gerar a imagem de qualquer ponto da amostra. Outro aspecto positivo desta abordagem é que a amostra poderia ser movimentada por grandes extensões sem prejuízo para a confocalidade. No entanto, o grande obstáculo a esta estratégia está em mover todo o porta objeto que contém a amostra, o que tornaria o processo extremamente lento poucos equipamentos mantiveram a estratégia de movimentar a amostra. A opção de movimentar o feixe luminoso produz um padrão de varredura muito mais rápido. Os sistemas são baseados em espelhos acoplados a galvanômetros ou defletores para fazer a varredura em ambos os eixos, x e y. Os deflectores são altamente eficientes podendo realizar varreduras em frequências de aproximadamente 5 kHz. O ajuste da velocidade da varredura determina por quanto tempo um ponto no material será iluminado, desta forma a velocidade de varredura é diretamente proporcional a intensidade do sinal emitido pelos agentes fluorescentes na amostra. Este aspecto influencia também a relação entre sinal e ruído ou seja quanto mais tempo o feixe fica em um ponto, mais lenta é a varredura e mais fótons podem ser adquiridos deste ponto melhorando a razão sinal-ruído. Por outro lado quanto mais rápida for a varredura, menor quantidade de fótons será adquirida o que acarreta em mais ruídos na imagem.

SINGLE-BEAM SCANNING E MULTIPLE-BEAM SCANNING

Os microscópios atualmente em uso apresentam seus sistemas de varredura baseados em duas diferentes técnicas:

- 1. O escaneamento por um único feixe (single-beam scanning), como o que foi anteriormente descrito;
- Por múltiplos feixes (multiple-beam scanning). O método single é mais comum, os equipamentos são mais acessíveis em relação ao seu custo e está disperso por um grande número de instrumentos. A Figura a seguir ilustra um modelo de microscópio confocal de varredura a laser.



VANTAGENS DA MICROSCOPIA CONFOCAL

As vantagens que se obtém com a utilização do microscópio confocal são:

- Redução das manchas da imagem a partir da luz de varrimento;
- Melhoria da relação sinal ruído;
- Visualização limpa de um objeto fino (melhor contraste);
- · Seccionamento óptico através de varrimentos no eixo dos Z (eixo óptico);
- Melhor resolução das imagens multidimensionais;
- Ajuste eletrônico da ampliação.

O link a seguir é de um vídeo que apresenta a ilustração do *FV10i*. Este microscópio é o primeiro confocal de varredura a laser autônomo do mundo. Microscópio Confocal FV10i

REFERÊNCIAS

- 1. CORRÊA, Jose R. Microscopia Confocal Básica. 2015. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília.
- 2. BARATA, António Júlio de Almeida Proença. Protótipo laboratorial de um microscópio de varrimento tusando um sensor linear: avaliação da sua resposta axial. 2008. Tese de Doutorado.

QUESTÃO 02:

