

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI TRENTO

Indirizzi internet: www.unitn.it. – PEC: ateneo@pec.unitn.it

AVVISO DI INDAGINE DI MERCATO

ACQUISTO MICROSCOPIO OTTICO ROVESCiato COMPLETO DI SPINNING DISK e SISTEMA di SUPER RESOLUTION

CIG 7276568DDC

Il CIBIO dell'Università degli Studi di Trento sta svolgendo una indagine di mercato al fine di individuare gli operatori economici da invitare alla procedura negoziata per l'affidamento della fornitura di un **Microscopio Ottico Rovesciato completo di Spinning Disk e Super Resolution**.

Descrizione del bisogno da soddisfare:

La microscopia ottica a fluorescenza è una tecnica fondamentale nella ricerca biologica moderna perché consente l'osservazione microscopica non solo di campioni fissati, ma anche di processi dinamici in cellule vive. Esigenze diverse nell'analisi microscopica necessitano di strumentazioni specifiche ed opportunamente configurate onde privilegiare velocità di acquisizione, sensibilità e/o risoluzione a seconda della domanda biologica da soddisfare.

Molte linee di ricerca del CIBIO si basano su analisi biologiche *in vivo*, per le quali spesso diventa essenziale associare alla velocità di acquisizione un incremento della risoluzione ottenibile in modalità *wide-field*, rendendo quindi necessario l'utilizzo di uno *spinning disk*, sistema cosiddetto "confocale veloce".

Inoltre, per specifiche applicazioni del Centro, al monitoraggio veloce di cui sopra, è necessario far seguire, sullo stesso campione e senza alcun ritardo temporale, l'acquisizione di strutture sub-cellulari di dimensioni ulteriormente inferiori al limite di risoluzione confocale (200 nm laterale e 400 nm assiale).

Per quanto detto sopra, si rende necessario l'acquisto di un sistema in grado di:

1. consentire il monitoraggio nel tempo di eventi dinamici ad alta velocità in campioni vivi fluorescenti in modalità *wide-field*;
2. consentire acquisizioni veloci di campioni *live* in modalità confocale;

3. risolvere strutture sotto il limite risolutivo di 200 nm in x,y e 400 nm in z in campioni spessi quali fettine di tessuto vivo;
4. combinare le modalità di acquisizione sopra elencate in modo da associare all'*imaging* veloce del campione, che permette il monitoraggio di fenomeni dinamici, l'acquisizione morfologica lenta dello stesso senza spostamento su altro sistema e conseguenti ritardi temporali.

Da una approfondita analisi bibliografica si evince che lo strumento di *imaging* ottico atto a consentire l'acquisizione di eventi dinamici su campioni vivi, in modalità sia *wide-field* sia confocale, superando il limite risolutivo tipico della microscopia ottica, deve:

- a. ridurre al minimo la fototossicità indotta dall'illuminazione del campione ripetuta nel tempo onde evitare morte cellulare e/o alterazioni del processo biologico osservato (per esempio blocco mitotico in seguito a danno a DNA indotto da radiazioni UV);
- b. essere dotato di una sorgente stabile nel tempo per garantire la ripetibilità dei fenomeni monitorati;
- c. assicurare uniformità di illuminazione del campo acquisito per garantire le medesime condizioni sperimentali sull'area acquisita;
- d. consentire l'acquisizione contemporanea del maggior numero possibile di eventi (per esempio l'acquisizione del maggior numero di cellule in un'unica immagine), o la visualizzazione in un unico *frame* di ampie aree di tessuti biologici (per esempio la visualizzazione di una intera proiezione neuronale alla cellula *target* in organismi modello di piccole dimensioni, quali embrioni di *Zebrafish* o *Xenopus*);
- e. integrare un sistema *spinning disk* che permetta le acquisizioni veloci in modalità confocale;
- f. essere equipaggiato con un sistema di super-risoluzione, che consenta di migliorare ulteriormente il limite di risoluzione di un sistema confocale per poter risolvere strutture di dimensioni al di sotto dei 200 nm in risoluzione laterale e al di sotto dei 400 nm in assiale.

Descrizione delle specifiche tecniche in grado di soddisfare questo bisogno.

1. Stativo rovesciato a fluorescenza completamente motorizzato con uscite fotografiche laterali per eventuale *upgrade* della macchina e FOV preferibilmente a largo campo;
2. Motorizzazioni richieste: messa a fuoco, ruota portafiltri completa di *shutter*, percorso ottico, tavolino XY, condensatore, *revolver* portaobiettivi;
3. Tubo binoculare;
4. Oculari 10X;
5. Colonna illuminatore per luce trasmessa a LED ribaltabile per accesso a campione;
6. Condensatore motorizzato predisposto per DIC;
7. Tavolino motorizzato con *encoder* lineare, passo minimo di 100 nm e ripetibilità minima di +/- 500 nm;
8. *Joystick* ergonomico di controllo tavolino con controlli a bordo;
9. Supporto universale *slide*, piastre *multi-well* e Petri;
10. Sistema *hardware* di correzione automatica in tempo reale delle fluttuazioni assiali del fuoco (no *autofocus software*);
11. Porta obiettivi motorizzato predisposto per DIC a minimo 6 posizioni;
12. Obiettivi:
 - *Plan Apochromatic* 10X, *dry* NA minima 0.45, $\infty/0.17$;
 - *Plan Apochromatic* 20X, *dry* NA minima 0.75, $\infty/0.17$;
 - *Plan Apochromatic* 100X Olio, NA minima 1.45 $\infty/0.17$.
13. Sistema integrato nel microscopio di *triggering* avanzato tramite gestione TTL;
14. *Revolver* porta filtri motorizzato minimo 6 posizioni completo di *shutter* motorizzato;
15. Modulo epifluorescenza completo di lampada al mercurio da minimo 100 W;

16. Filtri per fluorescenza:

- *Filter set* per DAPI;
- *Filter set* per GFP;
- *Filter set* per DsRed;
- *Filter set* per Cy5.

17. Sistema *spinning disk* confocale di tipo a “disco di Nipkow” con rotazione del disco di almeno 13000 rpm corredato di:

- Ruota portafiltri a comando motorizzato *software*, interna alla testa *spinning disk*, ad almeno 8 posizioni;
- Ruota filtri comando motorizzato *software*, interna alla testa *spinning disk*, con 5 alloggiamenti per diicroici;
- Sistema di illuminazione a LED, completo di fibra ottica, per sistema *spinning disk* a 7 canali con *switch* ad alta velocità controllabile via *trigger hardware* (modalità TTL) corredati da filtri di eccitazione passabanda per estrarre i seguenti 7 colori (Violet, Blue, Cyan, Teal, Green, Yellow, Red);

18. Sistema di *super resolution* integrato nella testa *spinning disk* tramite sistema di illuminazione strutturata *hardware* che permetta una risoluzione limite di almeno 150 nm x,y e 350 nm in z;

19. Possibilità di cambiare le modalità di osservazione: *wide-field*, super-risoluzione e confocale *spinning disk* tramite motorizzazioni interne con comando *software* in modo completamente automatizzato;

20. Telecamera triggerabile con sensore sCMOS:

- *Pixel size* di 6.5 μm x 6.5 μm ;
- Velocità acquisizione max 100 fps;
- Telecamera raffreddata;
- Interfaccia USB3 o similari.

21. Sistema di incubazione a *cage* in plexiglass sagomato sul corpo del microscopio in modo da includere il tavolino motorizzato e il condensatore, lasciando al di fuori i dispositivi installati sulle

porte laterali dello stativo. Il *cage* deve presentare come accessori pannelli oscuranti per esperimenti in fluorescenza ed essere corredato di:

- Controllo della temperatura digitale automatico con dispositivo ad aria completo di dispositivi di filtraggio per un ambiente pulito all'interno (accuratezza temperatura circa 0,1 °C);
- Camera di microincubazione da posizionare sul tavolino motorizzato ad atmosfera controllata (*range* CO₂ 0-10%) completa di:
 - i. Chiusura con vetro ottico compatibile con tecniche di osservazione in luce trasmessa quali DIC;
 - ii. Adattatori per cameretta di incubazione con supporti per Petri da 35 mm e *chambered coverglass* da 57 mm.

22. Gestione diretta tramite pulsanti *hardware* di macro *software* liberamente programmabili per esecuzione di funzioni complesse;

23. *Software* di gestione acquisizione e analisi d'immagine:

- *Software* di acquisizione unico, in grado di controllare microscopio, confocale *spinning disk* e sistema super-risoluzione;
- Gestione completa e automatizzata di tutti i parametri del microscopio, del sistema confocale *spinning disk* e del sistema di super-risoluzione;
- Possibilità di creare immagini grandi (*stitching*) in modo automatico tramite tavolino motorizzato in modalità fluorescenza, campo chiaro e confocale;
- Modulo acquisizione di immagini in fluorescenza multicanale in modalità automatica;
- Modulo misure semi-automatiche e automatiche mediante binarizzazione;
- Modulo per misure automatiche in *stack* di immagini 3D;
- Modulo colocalizzazione;

- Modulo 3D completo di renderizzazione avanzata ad alta risoluzione;
- Modulo di acquisizione *time-lapse* con acquisizione immagini multidimensionali x,y,z,λ (lunghezza d'onda), t (tempo) e su più punti del preparato;
- Modulo di controllo per esperimenti in modalità TTL;
- Modulo di controllo del sistema *hardware* di correzione automatica in tempo reale delle fluttuazioni assiali del fuoco tramite memorizzazione degli *offset* in *multipoint*;
- Modulo di gestione super-risoluzione;
- Modulo *High Throughput* con le seguenti funzioni:
 - i. Riconoscimento automatico evoluto dei nuclei/*spot*. Identificazione dei *cluster* di nuclei/*spot* sia di immagini in campo chiaro sia di immagini in fluorescenza. Possibilità di effettuare misure quali ad esempio conta di oggetti o caratteristiche geometriche;
 - ii. Modulo per l'esecuzione avanzata di esperimenti *High Throughput* con la possibilità di creare esperimenti complessi, totalmente liberi nella composizione delle fasi (*loop* temporali, *z-stack*, multi-punto) sia in sequenza, sia nidificata;
 - iii. Database dei supporti più comuni (piastre *multi-well* e Petri) con la possibilità di identificare automaticamente l'area di acquisizione all'interno del supporto e stabilire acquisizioni automatiche su punti scelti casualmente ad ogni analisi così da permettere un'analisi statisticamente significativa ma allo stesso tempo eseguita in modo ciclico tramite una singola interfaccia *software*;
 - iv. Possibilità di inserire punti di controllo decisionali all'interno dell'esperimento. Tali punti devono poter permettere sia un controllo automatico (es. mediante riconoscimento di caratteristiche nell'immagine acquisita) sia un controllo utente mediante finestra di richiesta informazioni;
 - v. Possibilità di creare o di utilizzare interfacce già pronte (*wizards*) per eseguire esperimenti di acquisizione. Tali interfacce devono mostrare all'utente solo i

parametri dell'esperimento lasciando la struttura dell'esperimento nascosta all'utente;

- vi. Programmazione avanzata tramite macro di tutte le funzioni del *software*, anche con esecuzione delle macro durante l'esperimento;
- vii. Programmazione C con possibilità di importazione di librerie dinamiche di terze parti.

24. *Workstation* dedicata ad altissime prestazioni (no assemblati):

- a. Sistema Operativo a 64 bit;
- b. Scheda madre con doppia CPU (Processori *server*);
- c. Doppio HD SSD 512 GB in configurazione *raid*;
- d. HD SATA 2TB;
- e. RAM minima 16GB;
- f. Scheda grafica professionale 4GB GDDR5, 256 bit, 173 GB/sec, PCI Express 2.0x16;
- g. Dispositivi *hardware* per controllo TTL dello strumento.

Durata garanzia: 3 anni.

Valore totale stimato della fornitura: € 175.000,00 (netto oneri I.V.A.).

Requisiti di partecipazione:

- inesistenza delle cause di esclusione di cui all'art. 80 del D. Lgs 50/2016;

La procedura negoziata sarà aggiudicata con il criterio dell'offerta economicamente più vantaggiosa.

Criteri di selezione degli operatori economici da invitare:

Saranno invitati tutti gli operatori economici in possesso dei requisiti di partecipazione.

Modalità di presentazione della manifestazione di interesse:

Gli operatori economici interessati dovranno presentare la propria manifestazione di interesse (Allegato 1 al presente avviso) via PEC all'indirizzo ateneo@pec.unitn.it indicando nell'oggetto "Procedura

negoziata per la **fornitura di un Microscopio Ottico Confocale completo di Spinning Disk e di sistema di Super Resolution** al CIBIO.

entro il termine perentorio delle ore di 12:00 del 22 dicembre 2017

Data del presente avviso: 14 novembre 2017

Il Direttore di CIBIO e
responsabile del procedimento
Prof. Alessandro Quattrone

