

## ALLEGATO 1

### **Microscopio Confocale Spettrale dotato di 6 laser su stativo rovesciato e di sistema di super risoluzione e live imaging – Carl Zeiss Modello LSM 880 con Airyscan e Axio Observer 7**

L'apparecchiatura richiesta, che da una prima verifica risulta infungibile secondo quanto definito dall'art. 63 comma 2 lett.b) del D.Lgs. 50/2016, è necessaria agli IFO al fine di analizzare componenti intracellulari e del microambiente su campioni in live imaging e in preparati istologici.

Per far ciò è necessario per gli IFO garantire che la stessa tecnologia sia comprensiva di meccanismi che consentano l'acquisizione di immagini in super-risoluzione anche con obiettivi a basso ingrandimento per i preparati istologici ed, al contempo, che garantiscano elevata efficienza in fluorescenza su campioni in live-imaging, il tutto con elevata velocità di scansione al fine di non danneggiare il campione.

Tale configurazione definisce quindi una apparecchiatura, identificata in particolare nel Microscopio Confocale Carl Zeiss Modello LSM 880 con Airyscan e Axio Observer 7, che da una prima verifica risulta infungibile secondo quanto definito dall'art. 63 comma 2 lett.b) del D.Lgs. 50/2016 e per la quale si richiede quindi verifica attraverso avviso pubblico/manifestazione di interesse.

Per permettere le attività agli IFO necessarie e sopra esposte, si richiedono le seguenti caratteristiche tecniche/funzionali e da intendersi quali requisiti minimi della fornitura:

Microscopio confocale spettrale dotato di 6 laser su stativo rovesciato e di sistema di super risoluzione e live imaging. Carl Zeiss Modello LSM 880 con Airyscan e Axio Observer 7:

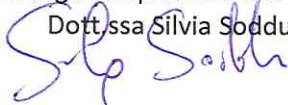
- Super-risoluzione: che garantisca 120 nm nel verde, almeno 100 nm nel blu e circa 140 nm nel rosso, con efficienza e sensibilità superiori al confocale standard e con potenza di eccitazione minore del confocale standard stesso;
- Efficienza in fluorescenza: uso di un elevato numero di detector GASP (superiore a 30) al fine di massimizzare l'efficienza di acquisizione "simultanea" sul campione garantendo il non danneggiamento del campione;
- Stativo rovesciato con tavolo motorizzato
- Stativo con revolver motorizzato per obiettivi e filtri a fluorescenza su almeno sei posizioni e centralina esterna al cage con schermo per controllo visivo.
- obiettivi alla fluorite o superiori 10x; 20x/0,5NA; 40x/1,3NA ad olio e planapocromatico ad olio 63x/1,4NA.
- Pinhole ad apertura variabile in maniera quasi continua e differenziato su più detector (>30) con tecnica GASP;
- Illuminazione a fluorescenza tramite lampada ad alogenuri metallici da 120W ad intensità regolabile.
- tre filtri per fluorescenza dapi, gfp e ds-red o gestione di filtri virtuali
- Illuminazione alogena 100W o equivalente a LED, condensatore LD 0,55 adatto a metodiche BF, PH e DIC.
- motorizzazione asse z con passo minimo di 10nm.
- Oculari 10x indice di campo minimo 23 mm. /con aggiustamento diottrico
- tavolino motorizzato xy con joystick e compatibile con Zpiezo, precisione 0,1nm/ riproducibilità +/- 1 nm
- telecamera da almeno 6Mpixel monocromatica raffreddata con sistema Peltier
- tavolo antivibrante idoneo

SS      

- Sistema confocale spettrale con capacità di acquisizione di almeno 5 differenti fluorocromi in maniera sequenziale sulla linea o in maniera simultanea per applicazioni in live.
- Capacità di scansione spettrale con passo minimo al singolo nanometro.
- sistema confocale con almeno tre PMT di cui almeno uno in tecnologia GaAsP
- ulteriore detector per luce trasmessa simultaneo ai precedenti e contrasto interferenziale per obiettivi 20x, 40x e 63x, comprensivo di prismi ed analizzatori
- velocità di acquisizione non inferiore a 6800 linee/secondo ovvero almeno 13fps 512x512.
- 6 Linee laser visibili ovvero indicativamente: 405nm, Argon 458-488-514nm, HeNe543nm, HeNe 633nm.
- gestione tramite AOTF di almeno 6 linee Laser con predisposizione per almeno altre due linee aggiuntive tramite.
- risoluzione consentita di almeno 4000x4000.
- zoom almeno 0,5x-40x.
- PC dedicato con monitor di almeno 30" e risoluzione di almeno 2560\*1440 pixel
- Software di acquisizione per esperimenti in T, C, Z, ROI, Bleaching, multiposizione ed analisi dei dati quali:
  - misure lineari, di area e di intensità, conte automatiche, colocalizzazione, esecuzione FRET e FRAP, misure Ca, rendering 3D e creazione filmati.
  - autofocus ed autoesposizione per analisi confocale.
- Capacità di estrazione automatica di un fluorocromo dalla componente spettrale.
- modulo integrato per super risoluzione in tempo reale, in grado almeno di separare due punti distanti 150 nm.
- Scansione lineare ad almeno 13fps 512x512 per garantire informazioni quantitative costanti su tutto il campo ed evitare bleaching differenti nel campo durante l'acquisizione, in particolare durante l'esecuzione di esperimenti di FRAP e FRET in cui un bleaching costante è un prerequisito.
- Super risoluzione rapida ad almeno 50fps 512x512 per l'analisi di veloci reazioni biologiche quali movimenti vescicolari, Ca-imaging, cinetica cellulare.
- Sistema di mantenimento del fuoco hardware in grado di lavorare in esperimenti di multiposizione, con led ad almeno 850nm per non interferire con le code dei fluorocromi rosso lontano.
- Routine di verifica della posizione del pinhole ed autocalibrazione per garantire alla diverse lunghezze d'onda la perfetta analisi di colocalizzazione dei segnali.
- Tools software di verifica della linearità di scansione e correzione automatica dell'eventuale deviazione per la riproducibilità dei risultati quantitativi.
- Filtri virtuali: ruota dicroici ad almeno 6 posizioni combinata con ruota filtri di emissione ad almeno 8 posizioni.
- L'apparecchiatura dovrà inoltre garantire piena compatibilità con il sistema di incubazione già presente presso gli IFO e di cui alle seguenti specifiche:  
MODULO CO2 ZEISS CARL e TEMP MODULE S1

Responsabile UOSD Network cellulari  
e bersagli terapeutici Molecolari

Dott.ssa Silvia Soddu



Ingegneria Clinica IFO  
Ing. Giuseppe Navanteri

