

Allegato: specifiche tecniche

Sistema di microscopia confocale con laser bianco per spettri di eccitazione risolti spazialmente ed applicazioni FLIM ed FCS

ALLEGATO TECNICO

Introduzione

Il microscopio confocale che si intende acquisire deve soddisfare in modo ottimale le esigenze di ricerca presenti e future nel campo delle scienze e delle tecnologie dei materiali e dispositivi. Inoltre deve prevedere la possibilità di eseguire implementazioni e potenziamenti futuri.

Le attività di ricerca in questo campo in atto nell'Università di Bari prevedono la sintesi di nuove molecole o la modifica o integrazione in dispositivi di molecole tradizionali. Di conseguenza, i sistemi oggetto di studio hanno spettri di assorbimento non necessariamente compatibili con le righe laser convenzionali. Risulta pertanto **INDISPENSABILE** poter regolare finemente la lunghezza d'onda della sorgente di eccitazione nell'intero spettro della luce visibile. Inoltre la possibilità di effettuare spettri di eccitazione e di emissione risolti spazialmente è fondamentale per la caratterizzazione dei dispositivi, anche per questa applicazione risulta **INDISPENSABILE** il controllo fine della lunghezza d'onda del laser di eccitazione.

Pertanto lo strumento dovrà essere equipaggiato con un laser a luce bianca (white light laser) capace di emettere linee in un ampio intervallo dello spettro del visibile con passi di un solo nanometro e con un dispositivo (quale dicroico) liberamente programmabile sia in eccitazione che in emissione con capacità di gestire bandwidths fino a circa 2 nm coerenti con la flessibilità applicativa del laser a luce bianca. L'uso dei dicroici tradizionali con bandwidth tipicamente di circa 10 nm di fatto annullerebbe tutti i vantaggi applicativi di poter selezionare con precisione di un solo nanometro la linea laser per la specifica eccitazione del fluorocromo non convenzionale. Da questo punto di vista il dispositivo con funzione di dicroico deve avere performances almeno pari a quelle di un cristallo opto acustico sia in eccitazione che in emissione, per permettere di mappare il rapporto eccitazione vs emissione a livello di singolo pixel e quindi di caratterizzare i relativi spettri anche di fluorocromi non convenzionali ed in contesti sperimentali in cui il campione presenta una complessa commistione di elementi (cosiddetto lambda lambda scan).

Nello studio dei dispositivi innovativi, dei biomateriali o delle interazioni di particelle o superfici con tessuti biologici, particolare importanza è associata a come variano le proprietà ottiche al variare dell'intorno. Diventa importante poter risolvere spazialmente gli spettri di eccitazione e i tempi di vita di fluorescenza e poter costruire una mappa di correlazione in cui a ogni singolo punto è possibile associare lo spettro di eccitazione, lo spettro di emissione o il decadimento di fluorescenza. Risulta pertanto **INDISPENSABILE** che la sorgente di eccitazione di cui sopra sia pulsata per poter effettuare FLIM alla lunghezza d'onda di eccitazione desiderata e che la modulazione del segnale in eccitazione/emissione sia compatibile con la scansione dello spettro non solo in emissione ma anche in eccitazione (lambda lambda scan) con una efficienza quantica almeno pari a quella assicurata da dispositivi AOBs (Acousto Optical Beam Splitter).

Il microscopio deve essere in grado di effettuare esperimenti di Fluorescence Correlation Spectroscopy (FCS) per permettere lo studio dei fenomeni di aggregazione che hanno luogo in soluzione. Il sistema deve anche essere compatibile con un successivo upgrade del confocale a sistema in super risoluzione ottica STED.

Allegato: specifiche tecniche

Il Microscopio deve avere una geometria diritta (per poter sottoporre ad indagine anche dispositivi) ed essere motorizzato in tutte le sue componenti

Sulla base di queste motivazioni scientifiche il microscopio confocale che si intende acquisire deve possedere le caratteristiche tecniche minime di seguito elencate:

Sistema di microscopia confocale con laser bianco per applicazioni FLIM ed FCS

- Microscopio diritto motorizzato in tutte le sue componenti.
- Porta obiettivi motorizzato con obiettivo semiplanapocromatico alla fluorite 5X, obiettivi planapocromatici 10X e 20X a secco, 40X e 60/63X immersione ad olio, 60/63X immersione ad acqua per applicazioni FLIM ed FCS
- Asse fluorescenza con filtri per DAPI, FITC e TRITC e sorgente esterna con lampada autocentrante agli alogenuri metallici e durata non inferiore alla 1000 ore
- Contrasto interferenziale con gestione automatica delle componenti ottiche necessarie in relazione all'ingrandimento selezionato.
- Messa fuoco motorizzata con regolazione della sensibilità
- Scanning stage motorizzato in XY con errore di riposizionamento inferiore a 5 microns ed inserto piezo oppure galvo per imaging veloce in Z
- Testa di scansione con
 - 2 fotomoltiplicatori spettrali triggerati per applicazioni FLIM
 - 2 fotomoltiplicatori spettrali con efficienza quantica migliore del 40% a 500nm, operatività in modalità single photon counting e rivelazione del segnale di emissione con impostazione del punto di inizio e fine in un intervallo temporale tra 1 e 10 nanosecondi
 - 1 fotomoltiplicatore spettrale standard
- 1 fotomoltiplicatore per luce trasmessa
- Porta per output segnale a dispositivi esterni con filtri per selezione lunghezze d'onda in emissione
- Detector APD esterni per applicazioni FCS
- Sorgente laser pulsata singolo fotone in grado di generare linee nell'intervallo del visibile con step di 1 nm e regolazione della frequenza del pulse su più step (80/40/20/10 MHz)

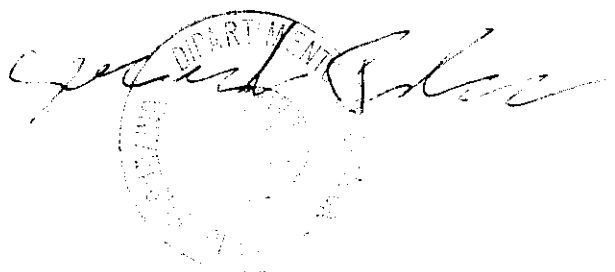
Allegato: specifiche tecniche

- Laser 405nm e laser Argon multilinea (458nm, 476nm, 488nm, 514nm)
- Possibilità di utilizzare in modo simultaneo almeno 6 linee laser con separazione dei segnali in eccitazione ed emissione tramite filtro acusto-ottico (o altro dispositivo) integrato nella testa di scansione e regolabile in continuo, con finestre di selezione di ampiezza minore o uguale a 2 nm e capace di tempi di commutazione non superiori a 10 microsecondi
- Equipaggiamento per poter effettuare l'analisi spettrale dei segnali sia in eccitazione che in emissione con regolazione in continuo delle lunghezze d'onda in eccitazione e degli intervalli di rivelazione nel visibile; rendering con mappa di correlazione per singolo pixel (eccitazione vs emissione).
- Regolazione in continuo della potenza individuale delle linee laser di eccitazione
- Funzione ROI per la scansione di una o più regioni d'interesse.
- Campo di scansione sul piano intermedio dell'immagine di almeno 22 mm
- Risoluzione di scansione di almeno 8000x8000 pixels per singola immagine
- Scanner FOV con acquisizione delle immagini a 512 x 512 pixels con velocità non inferiore a 5 frame per secondo.
- Resonant scanner con acquisizione delle immagini a 512 x 512 pixels con velocità non inferiore a 25 frame per secondo.
- Rotazione degli assi di scansione sia in modalità di scansione FOV che in quella resonant
- Predisposizione per upgrade con sorgente laser multifotone.
- PC workstation di controllo ad alte prestazioni con monitor 30" o equivalente
- Pannello di controllo remoto delle funzioni di base per eseguire la scansione in confocalità.
- Tavolo ottico antivibrante attivo per microscopio in grado di accogliere in futuro anche sorgenti laser multifotone almeno 1800x1500 cm completo di compressore e tavolo di supporto per PC workstation.
- Pacchetti software per 3D imaging, per separazione spettrale, colocalizzazione, FRET-FRAP
- Pacchetto hardware e software con eccitazione con laser bianco per esperimenti FLIM completamente integrato nella piattaforma di microscopia confocale con scambio bidirezionale dei dati tra il software FLIM e quello di gestione del confocale senza intervento manuale dell'operatore.
- Pacchetto hardware e software per esperimenti FCS completamente integrato nella piattaforma di microscopia confocale con scambio bidirezionale dei dati tra il software FCS e quello di gestione del confocale senza intervento manuale dell'operatore

- Software di monitoraggio remoto delle funzioni hardware attraverso il web con notifica in modo automatico e continuo dei potenziali malfunzionamenti ad help desk di assistenza tecnica specializzata con un immediato intervento per la risoluzione dei problemi.
- Installazione:
L'installazione deve essere condotta da tecnici della casa madre e dovrà prevedere: (i) assemblaggio dello strumento al I piano del Dipartimento di Chimica secondo le specifiche del presente capitolato tecnico; (ii) Start-up del sistema e test delle funzioni di base; (iii) Accertamento del corretto funzionamento nelle diverse modalità operative; (iv) Test di verifica e documentazione completa delle specifiche tecniche dichiarate; (v) Addestramento: Si richiede un programma d'addestramento all'uso dello strumento per imaging, FRAP, FCS, FLIM. Quest'ultimo dovrà essere tenuto da un tecnico applicativo in loco e dovrà avere la durata di almeno cinque giorni
- Garanzia, assistenza tecnica e manutenzione
Lo strumento dovrà essere coperto da un servizio di garanzia di "protezione totale" inclusivo di 2 anni di garanzia, assistenza e manutenzione compreso e compensato nel prezzo offerto, escluso il materiali di consumo ed i ricambi. I servizi prestati, così come le parti riparate e quelle eventualmente sostituite, saranno garantiti per il periodo residuo della garanzia.
- Nell'ambito dell'assistenza bisognerà indicare se esiste un centro di assistenza in Italia con personale certificato dalla casa madre;
- Il servizio di assistenza deve prevedere i seguenti punti: (i) aggiornamenti dei software; (ii) supporto telefonico e/o email con risposta immediata e garantita da parte del personale tecnico della casa madre; (iii) nel caso in cui il supporto telefonico e/o email non sia risolutivo la ditta fornitrice dovrà inviare presso il Dipartimento di Chimica dell'Università di Bari 'Aldo Moro' un idoneo tecnico specializzato entro e non oltre 7 giorni naturali e consecutivi dalla prima richiesta di assistenza.

La consegna e l'installazione deve avvenire presso il I piano del Dipartimento di Chimica dell'Università di Bari "A. Moro" – CAMPUS Universitario – via Orabona, 4 70126 Bari

Persona di riferimento per la consegna: Prof. G. Palazzo, Dipartimento di Chimica, e-mail: gerardo.palazzo@uniba.it - tel: 080-5442028



The image shows a handwritten signature in black ink over a circular official stamp. The stamp contains the text 'DIPARTIMENTO DI CHIMICA' at the top and 'UNIVERSITÀ DI BARI ALDO MORO' around the bottom edge. The signature is written in a cursive style.