

### **Scheda tecnica Requisiti della fornitura**

La Stazione Appaltante «Istituto di Cristallografia» del CNR per le attività della sua Sede Secondaria di Catania nell'ambito del Progetto «Potenziamento della Piattaforma per lo sviluppo di biomolecole ad attività farmacologica per la Salute e il Benessere dell'Uomo – Piano biennale Infrastrutture» intende acquisire un Sistema automatizzato per analisi in tempo reale (*live-cell imaging analysis system*) su colture cellulari, per la sintesi, caratterizzazione e valutazione dell'attività biologica di molecole che sono di potenziale interesse applicativo nel settore farmaceutico. L'analisi delle attività biologiche prevede una serie di esperimenti che, per la loro realizzazione, comportano elevati consumi in termini di materiale (cellulare e chimico) e soprattutto di tempo. Affinché lo screening di nuove molecole fornisca dati affidabili e riproducibili, sarebbe auspicabile avvalersi di diversi approcci sperimentali per studiare diversi aspetti fenomenologici influenzati eventualmente dalla molecola in esame (studio della vitalità, apoptosi, proliferazione, internalizzazione, motilità cellulare, traslocazioni di proteine all'interno della cellula e/o tra cellule della stessa coltura, attivazione di vie di *signaling* e di espressione genica, etc.). L'analisi automatizzata in tempo reale di cellule *in live*, permettendo di acquisire simultaneamente informazioni diverse, ma complementari, su fenomeni influenzati dalla molecola in esame, potrebbe costituire un enorme vantaggio per gli obiettivi di ricerca della Stazione Appaltante.

In sintesi, lo strumento richiesto deve essere in grado di fornire la soluzione ottimale per semplificare, standardizzare e velocizzare gli esperimenti su colture cellulari considerando una serie di accorgimenti che permettono di mantenere l'habitat biologico ottimale per la vita cellulare, mentre il sistema ottico di microscopia rileva, monitora e registra ogni evento durante l'esperimento in modo che l'utilizzatore ottenga sia il risultato del test che la registrazione video dello stesso.

Sono state definiti i seguenti requisiti tecnici minimi che devono caratterizzare lo strumento oggetto dell'acquisto:

1. Sistema automatizzato di acquisizione e analisi delle immagini da una coltura cellulare o tissutale nel contesto del suo ambiente fisiologico che opera e cattura immagini dall'interno di un incubatore standard di coltura cellulare laddove il controllo preciso della temperatura, dell'umidità e altri fattori ambientali come CO<sub>2</sub> e ossigeno possono essere mantenuti e monitorati.
2. Possibilità di visualizzare ed analizzare contemporaneamente ed in maniera indipendente fino a due micropiastre conformi agli standard ANSI/SLAS per piastre di dosaggio senza che siano rimosse dall'ambiente di incubazione.
3. Le ottiche devono essere mobili, cioè l'ottica deve spostarsi nelle aree di interesse del campione mentre le micropiastre rimangono stazionarie durante questo processo, soprattutto per l'analisi e l'imaging di tipi cellulari sensibili (neuroni primari) o in sospensione, così da garantire l'integrità del sistema sottoposto ad analisi.
4. Lo strumento deve fornire un funzionamento completamente automatizzato dotato di autofocus e autoesposizione senza intervento esterno, anche per periodi lunghi (superiori a 20 giorni) nel caso in cui sia necessario monitorare fenomeni che richiedono tempistiche sperimentali lunghe. In seguito a ripetuti passaggi sullo stesso campione, nello stesso periodo di tempo, lo strumento deve garantire un elevato standard di riproducibilità e basso tasso di errore di misura.

5. Lo strumento deve disporre di un sistema di calibrazione della fluorescenza che consenta il confronto delle metriche basate sulla fluorescenza derivata dalle immagini su uno strumento con le metriche derivate dalle immagini su un altro strumento; inoltre, deve avere un sistema di calibrazione che consenta anche il confronto dei valori di intensità per le immagini che vengono catturate con obiettivi diversi, e in tempi di acquisizione diversi, e consentire la correzione automatizzata dell'offset della telecamera, della forma dell'illuminazione e del segnale di fondo da sorgenti come la perdita di luce e l'auto-fluorescenza degli elementi ottici (ad esempio, correzioni del campo scuro e del campo piatto).
6. Lo strumento deve essere dotato di ottiche ad alta definizione, sia per il contrasto di fase che per l'analisi, e di due lunghezze d'onda in epifluorescenza (rosso: ex565-605nm, em625-705nm; verde: ex440-480nm, em504-544nm), consentendo così il monitoraggio di fluorofori di uso comune, nonché analisi *labelling-free*.
7. Il sistema deve disporre dei seguenti obiettivi: 4x, 10x e 20x.
8. Il sistema deve disporre di un pacchetto software a componenti aggiuntivi con una interfaccia semplice ed accessibile che consenta di affrontare facilmente applicazioni specifiche ed ottenere informazioni su proliferazione, conte cellulari, misura dei prolungamenti cellulari (neuriti), ed una serie di parametri monitorabili tramite l'uso di sonde fluorescenti e non (conteggio delle cellule senza marcature sia aderenti che non aderenti), colture 3D, migrazione cellulare da ferite da graffio (*wound healing*), angiogenesi.
9. Il controllo dell'acquisizione e dell'analisi automatizzata delle immagini del sistema deve potersi effettuare da qualsiasi computer in rete. Le licenze del software non devono essere limitate.
10. Deve essere inclusa installazione e collaudo.
11. Devono essere inclusi almeno 2 anni di garanzia, training di formazione ed *updates* del software.

#### **Strumenti individuati e costi attesi**

Dopo un'attenta indagine di mercato fatta sulla base delle conoscenze scientifiche e consultando le informazioni presenti in rete, è emerso che lo strumento che soddisfa tutte le esigenze della Stazione Appaltante per le motivazioni su riportate e argomentate sia **IncuCyte® SX1 Live-Cell Analysis System** fornito dalla Essen BioScience, Ltd - Sartorius per Live-cell analysis.

Il costo atteso per l'acquisizione dell'attrezzatura scientifica è di € 101.000,00 (euro centounomila/00) oltre IVA.

Il Responsabile Unico del Procedimento  
Ing. Brunella Maria ARESTA