



UNIVERSITA' degli STUDI di PAVIA

RELAZIONE TECNICO-SCIENTIFICA

Pavia, 30 Luglio 2024

Il Dipartimento di Ingegneria Civile e Architettura (DICAr) ha in corso un progetto di ricerca Joint Undertaking tra la Commissione Europea e il Ministero delle Imprese e del Made In Italy intitolato KDT UNLOOC "Unlocking the data content of Organ-on-Chips" il cui principal investigator è lo scrivente, Prof. Francesco Pasqualini. Il DICAr, nell'ambito del sopra menzionato progetto, intende procedere all'acquisto di un microscopio confocale da collocare nel laboratorio del Dr. Pasqualini e dedicare quasi interamente agli esperimenti necessari al progetto KDT.

In particolare, abbiamo bisogno di un microscopio a fluorescenza di tipo lightsheet che ci consenta di studiare senza causare foto-tossicità tessuti ingegnerizzati di varie dimensioni, dalle single cellule in 2D, a tessuti spessi planari (2.5D), ad organoidi (3D). In aggiunta, abbiamo bisogno che il microscopio si possa integrare con una sorgente laser a 2 fotoni e impulsi al femtosecondo, per poter fotomanipolare le parti biologiche o sintetiche delle preparazioni. Esempi includono foto-polymerizzare hydrogels, foto-attivare componenti biologiche, optogenetica, e foto-ablazione. Data la eterogeneità delle nostre preparazioni abbiamo bisogno di un sistema estremamente versatile che possa accomodare i vari campioni sia come dimensioni che come risoluzione. DA questo punto di vista le specifiche critiche per il progetto sono:

1. Possibilità di montare campioni sia per microscopia che per fabbricazione.
2. Possibilità di avere illuminazione a 2-fotoni.
3. Light sheet thickness variable da $<2\mu\text{m}$ a $>6\mu\text{m}$ con controllo continuo e non predeterminato.
4. Possibilità di avere illuminazione uniforme su larghi campi di vista (field of view, FOV).
5. Possibilità di avere molteplici magnificazioni, FOX, e campionamento digitale (pixel size).
6. Formato di unità benchtop per venire incontro al poco spazio disponibile in laboratorio e limitare il rischio associato con la fonte laser da utilizzare.

Seguendo queste specifiche, lo scrivente ha provveduto all'espletamento di un'indagine informale di mercato per l'individuazione delle soluzioni tecniche ed economiche presenti. In breve, gli unici fornitori di sistemi lightsheet benchtop sono Luxendo GMBH, acquisita da Bruker, e Viventis Microscopy, recentemente acquisita da Leica Microsystems. Sulla base di attenta valutazione della documentazione scientifica e commerciale disponibile per queste macchine, meetings con i venditori e i loro specialisti tecnici, discussioni con utenti finali in Europa e Stati Uniti, lo scrivente ritiene che il sistema Luxendo TruLive3D offra vantaggi unici rispetto alla concorrenza. In particolare:

1. Possibilità di vendita del sistema preconfigurato per foto-manipolazione a 2-fotoni
2. Montaggio del campione in modalità classica invertita, che rende facili sia applicazioni di microscopia che di fabbricazione
3. Light sheet thickness da $1.6\mu\text{m}$ a $8\mu\text{m}$ con controllo continuo e non predeterminato
4. TAG lens per scanning assiale veloce e uniforme su larghi campi di vista (field of view, FOV)
5. Cambio automatico di magnificazione via tube lenses con 4 posizioni e zoom ottico effettivo 0.5x, 1x, 1.5x e 2x. Queste corrispondono a FOV quadrate con lato di $1065\mu\text{m}$, $532\mu\text{m}$, $355\mu\text{m}$ e $266\mu\text{m}$ e dimensioni del pixel di $0,520\mu\text{m}$, $0,260\mu\text{m}$, $0,173\mu\text{m}$ e $0,130\mu\text{m}$.
6. Collare di correzione automatizzato sull'obiettivo
7. Modulo di acquisizione a due canali con correzione cromatica automatica

La caratteristica di unicità commerciale al punto #1 è stata confermata telefonicamente con il Dr. Corrado Dellacosta di Leica e il Dr. Andrea Boni di Viventis. Dall'azienda infatti hanno confermato la mancanza della certificazione per la commercializzazione di modulo foto-manipolazione a 2-fotoni.

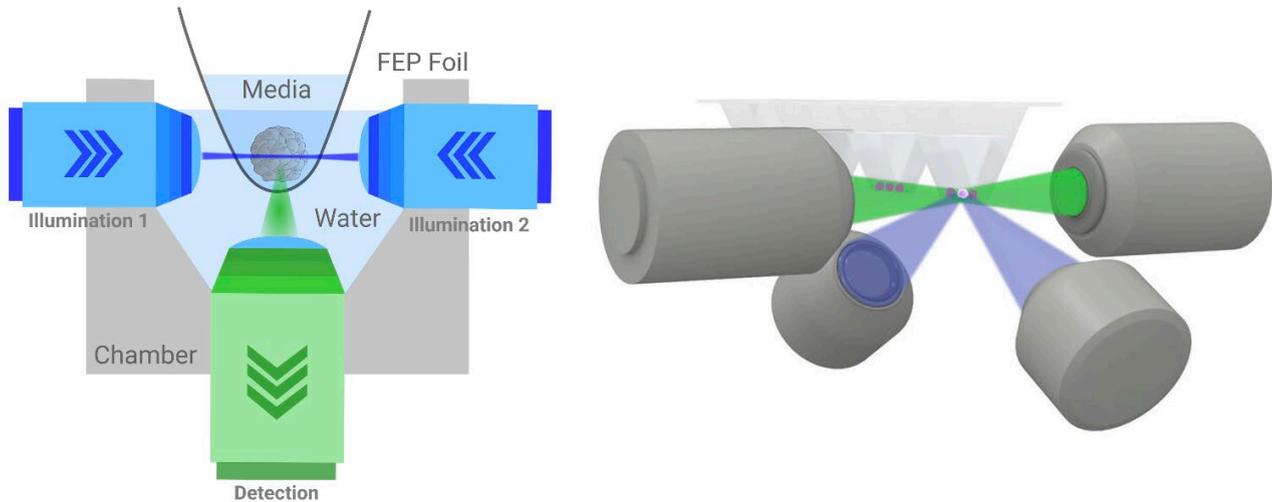


Figure 1: Blocco obiettivi di Luxendo/Bruker (sx) e Viventis/Leica (dx).

Le caratteristica tecnica indicata al #2 è schematizzata nelle illustrazioni in Figura 1, prese dalla documentazione tecnica dei fornitori, dei blocchi obiettivi dei due sistemi (Luxendo/Bruker a sinistra e Viventis/Leica a destra). Il modulo Luxendo ha un tradizionale singolo obiettivo di detezione in configurazione invertita (verde) che è compatibile con la microscopia (obiettivi di illuminazione laterali, blu) e la foto-fabbricazione (rimuovendo gli obiettivi laterali). Nel sistema Viventis (destra), invece, la presenza dei due obiettivi di detezione angolati (fasci blu in questa illustrazione) favorisce la microscopia ma rende impossibile la tradizionale foto-fabbricazione in configurazione invertita che è invece requisito fondamentale del sistema.

Le caratteristiche tecniche di cui ai punto 3-7 sono supportate dai brevetti:

- USD780935S1
- WO2019092138A1

In fede,

Francesco Pasqualini