

Università di Pavia: Piano di Acquisizione di Strumentazioni Scientifiche (PASS)

Nel 2018 l'Università di Pavia ha finanziato l'acquisto di 10 Strumentazioni mediante il Piano di Acquisizione di Strumentazioni Scientifiche (PASS) per un valore complessivo superiore a 8.5 milioni di Euro. Entro il 2019 tutta la strumentazione verrà acquisita, con il completamento e la ri-funzionalizzazione degli spazi dedicati alla logistica ad essi dedicata, costituendo 6 nuovi laboratori, 4 dei quali gestiti dal Centro Grandi Strumenti di Ateneo (CGS) (<http://www-7.unipv.it/cgs/>).

- a) Laboratorio di "**Imaging Molecolare, cellulare e tissutale**", che include *Microscopia Ottica e Microscopia crioelettronica* (Sezione del CGS distaccata presso il Botta 2).
- b) Laboratorio di **Imaging a Risonanza magnetica** (*Tomografo a risonanza magnetica e micro tomografo a raggi X* per piccoli animali (Collocato presso il Laboratorio di Radiobiologia dello Stabulario di Ateneo).
- c) Laboratorio di **spettrometria NMR** presso la sede del CGS.
- d) Laboratorio di **spettrometria di massa**, presso la sede del CGS.
- e) **Cluster di Calcolo** (*Gestione sistemi*).
- f) Laboratorio **3DMetal@UniPV**, presso Dipartimento di Ingegneria Civile e Architettura (DICAR).

Descrizione dei 10 strumenti:

- 1) **Microscopio STED**: Nanoscope-Stimulated Emission Depletion (STED), è l'invenzione che, applicata alla microscopia confocale, è valse il premio Nobel a S. Hell (2014). STED è lo strumento che meglio di tutti può osservare in time-lapse su cellule vive i cambiamenti molecolari della cellula, potendo raggiungere risoluzioni fino a 30-40 nm, mai ottenute precedentemente. Utilizzando molecole fluorescenti all'interno della cellula e due laser (il primo per illuminare le molecole fluorescenti del campione e il secondo per cancellare il segnale luminoso ottenuto ad eccezione di piccole regioni nanometriche), il campione è scansionato punto per punto in "nanorisoluzione" così da raccogliere molte più informazioni di quelle di un normale microscopio confocale.

Strumento Leica SP8WLL STEDONE Flexible Supply Unit WLL, consegnato, installato e collaudato, dicembre 2018. In particolare lo strumento acquisito è dotato di:

Testa di scansione multibrand spettrale che grazie ad un prisma ottico, con funzione di monocromatore, posto davanti ai fotomoltiplicatori, consente la selezione sullo spettro di emissione dei fluorocromi con una finestra minima di 5 nm. Sistema AOBS (Acoustic-Optical Beam Splitter) per selezionare lunghezze d'onda in eccitazione/emissione programmabile fino a 8 laser contemporaneamente. Registrazione reale dello spettro senza la modulazione dei filtri dicroici. Detector HyD, rivelatori di nuova generazione particolarmente sensibili per l'acquisizione del segnale fluorescente che rendono, inoltre, possibile la conta fotonica. Laser a luce bianca (White Light Laser WLL) è una sorgente di eccitazione che consente la selezione di lunghezze d'onda da 470 nm a 670 nm con step di 1 nm. Funzione di deconvoluzione semi-automatica Lightning che consente l'eliminazione di segnali

fluorescenti aspecifici. STED 3X integrato alla testa di scansione che consente la ricostruzione tridimensionale del preparato mantenendo la nanorisoluzione.

Gruppo Tecnico di riferimento: DBB (Maurizio Zuccotti e Francesco Moccia), DMM (Ermanno Gherardi, Silvia Priori) e Patrizia Vaghi (CGS).

Referenti: Maurizio Zuccotti e Patrizia Vaghi.

Logistica: Botta 2, sezione distaccata Centro Grandi Strumenti (CGS).

- 2) Spettrometro NMR ≥ 700 MHz con Cryo-probe:** La spettroscopia NMR è una apparecchiatura indispensabile sia in chimica che in farmacologia, biologia strutturale e medicina. Uno dei suoi vantaggi è la possibilità di permettere studi in soluzione e quindi più vicini all'ambiente cellulare e di consentire l'ottenimento di informazioni dettagliate sulla dinamica ed il folding di molecole biologiche anche non strutturate. Study NMR ad alto campo (≥ 16 T, o ≥ 700 MHz per ^1H) consentono inoltre studi di 'drug discovery' (ad esempio tramite le tecniche fragment-based), lo screening di farmaci, la identificazione di metaboliti, la determinazione strutturale di acidi nucleici e proteine, compresi i processi di folding e misfolding, e studi sulla connettività funzionale (systems biology, etc). Il cryo-probe, che è l'entità fisica più importante di questa apparecchiatura, dopo il magnete, in quanto quella che permette la registrazione del segnale NMR, aumenta la sensibilità con cui lo strumento opera e consente di ottenere dati di qualità superiore. Questo strumento per campo e sensibilità ad oggi è unico nel nord-Italia dove esistono solo NMR a campi fino a 600 MHz (14 T).

Spettrometro AVANCE NEO 700 MHz NMR Bruker + He Cryoprobe. Installazione quarta settimana giugno 2019.

Gruppo Tecnico di riferimento: DMM (Annalisa Pastore, Vittorio Bellotti), DBB (Andrea Mattevi) e Mella Mariella (Chimica)

Referenti: Teresa Recca. Tecnico D (Chimica).

Logistica: Centro Grandi Strumenti (CGS), sede, via Bassi.

- 3) Stampante 3D Metallica.** Progetto "3DMetal@UniPV": La stampante 3D metallica consente la produzione di oggetti 3D di forma complessa, partendo da una rappresentazione virtuale tridimensionale del componente. I materiali impiegati sono acciai, alluminio, leghe di titanio. Il leasing della stampante stampante SLS (Selective Laser Sintering) prevede anche l'acquisto di, centro di lavoro 3 assi, macchina per elettroerosione, unità di Sabbiatura, Forno trattamenti termici. È la stampante che completa il parco di stampante 3D disponibili in ateneo.

Stampante Renishaw AM400 (camera di stampa di 250 x 250 x 300 mm e laser 400W), installata il 25 settembre 2018.

Referenti: Ferdinando Auricchio.

Logistica: Dipartimento di Ingegneria Civile ed Architettura (DICAr).

- 4) Tomografo MRI preclinico 7T:** L'utilizzo di modelli sperimentali nelle scienze di base e precliniche consente di sviluppare nuove metodologie diagnostiche, di validare l'utilizzo di terapie innovative e l'impiego di nuovi farmaci, oltre a essere rilevante per studi di natura funzionale. Gli studi preclinici sono pertanto divenuti essenziali per il successo della ricerca, offrendo un approccio più efficace nella definizione degli obiettivi da sviluppare nella ricerca clinica e per le industrie farmaceutiche. La

risonanza magnetica per immagini (MRI) rappresenta uno fra gli approcci più versatili e più utilizzati per lo studio non invasivo a livello preclinico. La possibilità di utilizzare campi magnetici sufficientemente intensi per aumentare il rapporto segnale/rumore e la risoluzione spaziale, assieme alla possibilità di utilizzare nuclei differenti come sonde rende questa tecnica particolarmente efficace per gli studi preclinici. Un *Tomografo MRI preclinico da 7 Tesla* per studi in vivo su topi, ratti e altri piccoli animali (bore da 16 cm) con hardware sia per ^1H che per altri nuclei (^{19}F , ^{13}C e ^{23}Na) e unità di amplificazione dei gradienti di campo, rappresenta uno strumento unico nel panorama universitario italiano.

Tomografo Bruker Pharmascan 7 Tesla con Bore da 16 cm, generazione di gradienti di campo fino a 760 mT/m, hardware e set di bobine di volume e di superficie per effettuare esperimenti su ^1H , ^{19}F , ^{13}C e ^{23}Na , implementabile anche per altri nuclei, sia per MRI che per spettroscopia. L'installazione è prevista per maggio 2019.

Gruppo Tecnico di riferimento: Fisica (Pietro Carretta, Alessandro Lascialfari), DBB (Maurizio Zuccotti), DMM (Antonella Forlino), Sc. Sist. Ner. Comp. (Egidio D'Angelo).

Referenti: Pietro Carretta.

Logistica: Laboratorio di Radiobiologia, stabulario centralizzato.

- 5) Microscopio confocale, super risoluzione, “digital light sheet” (DLS).** Un microscopio confocale di ultima generazione che, combinando gli sviluppi degli ultimi anni nel campo dei ‘detectors’ (single photon counting) ed efficaci tecniche matematiche di deconvoluzione delle immagini consente di superare i classici limiti di diffrazione e risoluzione e consente risoluzioni che si avvicinano ai 100 nm. Un microscopio di questo tipo consente inoltre l’acquisizione di dati in tempi straordinariamente brevi e l’applicazione dello strumento a studi in cui è necessario correlare modificazioni strutturali delle cellule e dei tessuti a eventi biochimici molto rapidi, quali quelli mediati da variazioni delle concentrazioni di specie ioniche all’interno delle cellule. Lo strumento verrà dotato infine delle componenti necessarie per implementare la cosiddetta ‘light sheet fluorescence microscopy (LSFM)’. Questo nuova tecnica di microscopia, a differenza della microscopia in fluorescenza convenzionale, offre la possibilità di limitare il campo di studio a sezioni molto sottili - poche centinaia di nm - mediante tecnologie di illuminazione che limitano il campo investito dalla sorgente di luce laser al campo di osservazione, riducendo in modo drammatico il danno indotto dalla sorgente di luce su campioni biologici e consentendo quindi lo studio di processi dinamici e di grande complessità quali l’osservazione dello sviluppo dell’embrione ed i processi di rigenerazione dei tessuti.

Strumento Leica SP8WLL HYVO DLS, consegnato, installato e collaudato, dicembre 2018. In particolare questo strumento consente: di mantenere la vitalità cellulare illuminando singoli piani del campione di osservare processi cellulari molto veloci grazie alla telecamera sCMOS estremamente sensibile e veloce in acquisizione di abbinare acquisizione confocale con la microscopia DLS. In particolare lo strumento acquisito è dotato di: Testa di scansione multibrand spettrale che grazie ad un prisma ottico, con funzione di monocromatore, posto davanti ai fotomoltiplicatori, consente la selezione sullo spettro di emissione dei fluorocromi con una finestra minima di 5 nm. Sistema AOBS (Acoustic-Optical Beam Splitter) per selezionare lunghezze d’onda in eccitazione/emissione programmabile fino a 8 laser contemporaneamente. Registrazione reale dello spettro senza la modulazione dei filtri dicroici. Detector HyD , rivelatori di nuova generazione particolarmente sensibili per

l'acquisizione del segnale fluorescente che rendono, inoltre, possibile la conta fotonica. Laser a luce bianca (White Light Laser WLL) è una sorgente di eccitazione che consente la selezione di lunghezze d'onda da 470 nm a 670 nm con step di 1 nm. Funzione di deconvoluzione semi-automatica Lightning che consente l'eliminazione di segnali fluorescenti aspecifici.

Gruppo Tecnico di riferimento: DBB (Maurizio Zuccotti e Francesco Moccia), DMM (Ermanno Gherardi, Silvia Priori) e Patrizia Vaghi (CGS).

Referente: Ermanno Gherardi e Patrizia Vaghi

Logistica: Botta 2, sezione distaccata Centro Grandi Strumenti (CGS).

- 6) In vivo microCT system:** Il Microtomografo a raggi X ad alta risoluzione (μ CT) per analisi *in vivo* è uno strumento essenziale e unico per effettuare studi morfometrici su ricostruzioni 3D di piccoli animali (zebrafish, topo, ratto) senza e/o con mezzi di contrasto. Garantisce lo studio sia di tessuti duri come l'osso, che di tessuti molli quali cuore, polmone, grasso, cartilagine articolare o albero circolatorio. Lo strumento offre la possibilità di analizzare in maniera non invasiva l'animale monitorando attività cardiaca e respiratoria, temperatura e movimento e quindi garantendo una elevata riproducibilità dei dati. L'analisi *in vivo* non distruttiva per il campione ha il vantaggio di ridurre il numero di animali necessari per studi farmacologici o di evoluzione di patologie. Inoltre le analisi morfometriche valutate su uno stesso animale nel corso del trattamento e/o dello sviluppo della malattia offrono la possibilità unica di annullare gli effetti legati alla variabilità associata a campioni diversi. Infine il μ CT è uno strumento complementare all'osservazione dell'animale mediante imaging a risonanza magnetica (MRI). I due strumenti consentono all'università di Pavia di creare un laboratorio di imaging preclinico unico nel Nord Italia. L'elevata risoluzione dello strumento che si intende acquistare (2.8 μ m) estende il suo utilizzo anche a settori alternativi e di interesse per l'Ateneo quali lo sviluppo di biomateriali e/o polimeri con potenziali applicazioni in biomedicina.

Sky Scan 1276 High Resolution MicroCT, Bruker. Installazione maggio 2019

Gruppo Tecnico di riferimento: Fisica (Pietro Carretta), DBB (Maurizio Zuccotti), DMM (Antonella Forlino), Sc. Sist. Ner. Comp. (Egidio D'Angelo).

Referenti: Antonella Forlino.

Logistica: Laboratorio di Radiobiologia, stabulario centralizzato.

- 7) Cluster di Calcolo.** Le crescenti esigenze di calcolo ad alte prestazioni, calcolo distribuito e storage di grandi quantità di dati che caratterizzano le attività di scienziati e ricercatori di diversi dipartimenti UNIPV (Matematica, Fisica, Chimica, Biologia, Medicina Molecolare, Scienze del Sistema Nervoso e Comportamento, Scienze Economiche) motivano l'acquisizione di un moderno cluster di calcolo. Tale strumento renderà i gruppi partecipanti competitivi nelle sfide attuali del mondo High Performance Computing (HPC), data science, big data. Questo strumento permetterebbe di eliminare i lunghi tempi di attesa riscontrati presso i cluster di supercalcolo; questi ultimi potrebbero essere sfruttati in modo ottimale dopo aver sviluppato applicazioni scalabili sul nuovo cluster locale.

Si propone un cluster Linux con architettura parallela a memoria distribuita basata su: nodo master, nodi HPC multicore con schede GPU (e.g. con NVlink e GPU NVIDIA Tesla), nodi fat per Data Sciences (senza GPU ma con almeno 512 Gb

RAM), switch veloce (e.g. InfiniBand), storage parallelo di almeno ½ Pbyte. Un tale cluster sarebbe fra i più performanti nel mondo accademico italiano. La sua integrazione con altri strumenti di nuova acquisizione (Cryo-EM; NMR; Tomografo per MR, per analisi di dati e creazione di modelli interpretativi e/o predittivi) renderebbe UNIPV un centro unico in Italia.

Cluster di calcolo. Procedura ad invito conclusa; 6 fornitori invitati alla presentazione di offerte. Analisi e valutazione delle offerte tecniche in corso.

Gruppo Tecnico di riferimento: Matematica (Luca Pavarino), DBB/DMM (Mariangela Bonizzoni, Enzamaría Valente), Fisica (Dario Gerace), Chimica (Giorgio Colombo), Scienze Economiche ed Aziendali (Paolo Giudici e Stefano Denicolai).

Referenti: Luca Pavarino.

Logistica: Centro di calcolo.

- 8) **Cryo-EM.** Single-particle cryoEM è l'invenzione che, applicata alle macromolecole biologiche, è valsa il premio Nobel per la chimica a Dubochet, Henderson e Frank nel 2017. Si tratta di uno strumento essenziale ed unico per misurazioni strutturali biologiche (proteine e loro complessi) mediante single-particle analysis e tomografia. Grazie al Direct Electron Detector, lo strumento è in grado di raggiungere risoluzioni molto elevate. Strumenti di ultima generazione come quello acquistato presentano notevole semplicità e versatilità di applicazioni nell'utilizzo quotidiano. L'uso combinato di cryo-EM/NMR favorirà una svolta epocale per le scienze biomolecolari a Pavia.

Microscopio crioelettronico a trasmissione (Cryo-TEM): Thermo Scientific™ Glacios™, 200 kV XFEG, equipaggiato con detector Thermo Scientific™ CETA™ CMOS 4x4 MP e Direct Electron Detector Thermo Scientific™ Falcon 3™, capace di acquisizione in modalità integration e in direct electron counting. Il microscopio è accompagnato da strumentazione per la preparazione di campioni criogenici vitrificati (Thermo Scientific™ Vitrobot™) per l'analisi in single particle.

Acquistato, installazione giugno-luglio 2019.

Gruppo Tecnico di riferimento: DBB (Federico Forneris e Andrea Mattevi), DMM (Ermanno Gherardi) Chimica (Umberto Anselmi Tamburini)

Referenti: Federico Forneris.

Logistica: Botta 2, sezione distaccata Centro Grandi Strumenti (CGS).

- 9) **Spettrometro di massa ad alta risoluzione UHPLC-HRMS/MS.** Grazie alla possibilità di lavorare in alta risoluzione, lo strumento può determinare la formula bruta (composizione elementare) delle molecole introdotte nella sorgente ESI e caratterizzare la struttura molecolare delle specie incognite, acquisendo direttamente tutti gli ioni frammento generati durante esperimenti di tandem MS (MS/MS). Operando in modalità di acquisizione DIA (acronimo per Data Independent Acquisition), lo strumento offre la possibilità di acquisire le informazioni MS/MS di tutti i potenziali ioni precursori, creando un vero e proprio record digitale del campione, che può essere studiato successivamente in modo retrospettivo. Per le sue caratteristiche ibride di analizzatore di massa sia qualitativo che quantitativo, lo spettrometro di massa ad alta risoluzione trova utilizzo nei più svariati settori della ricerca, dalle 'omics' (proteomica, metabolomica, lipidomica, ecc.) alle

piccole molecole, in ambiti quali la ricerca di base, forense, tossicologica, ambientale, ecc.

Spettrometro HRMS. Procedura ad invito conclusa. Offerte di 4 fornitori all'analisi del gruppo tecnico.

Gruppo Tecnico di riferimento: DBB (Federico Forneris), DMM (Annalisa Pastore), Federica Corana (CGS), Caterina Temporini (Scienze del Farmaco).

Referenti: Federica Corana.

Logistica: Centro Grandi Strumenti (CGS), sede, via Bassi.

10) Cell Sorter (citofluorimetro). Il citofluorimetro è uno strumento essenziale per caratterizzare i diversi tipi di cellule presenti in campioni contenenti più tipi cellulari (per esempio si possono quantificare le cellule staminali mesenchimali presenti nel sangue o nel midollo osseo). Sfruttando l'utilizzo di anticorpi che si legano a specifiche proteine di membrana e che vengono riconosciuti da anticorpi secondari colorati con diversi fluorocromi è possibile quantificare e caratterizzare contemporaneamente la presenza di cellule appartenenti a specifiche popolazioni anche quando presenti in numero molto limitato. Lo strumento di cui si propone l'acquisto permette anche di separare rapidamente una o più cellule di interesse dal campione utilizzando 4 tubi in uscita (falcon da 15 mL, FACS tubes da 5 mL, eppendorf). Inoltre lo strumento indirizza direttamente le cellule selezionate a piastre di coltura o a vetrini da microscopia riducendo la manipolazione delle cellule e velocizzando gli esperimenti successivi. Grazie all'uso di lasers alle lunghezze d'onda di 405 nm – 488 nm – 633 nm possono essere riconosciuti fino a 9 colori in contemporanea e quindi fino a 9 tipi diversi di cellule.

Cell sorter. Il gruppo tecnico sta definendo i requisiti minimi necessari, seguirà valutazione degli strumenti disponibili sul mercato.

Gruppo Tecnico di riferimento: DBB (Maurizio Zuccotti e Francesco Moccia), DMM (Ermanno Gherardi, Silvia Priori) e Patrizia Vaghi (CGS).

Referenti: Ermanno Gherardi.

Logistica: Botta 2, sezione distaccata Centro Grandi Strumenti (CGS).