



DiBio
DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA

AVVISO ESPLORATIVO PER VERIFICA UNICITA' DEL FORNITORE PER L'AFFIDAMENTO AI SENSI DELL'ART. 76 COMMA 2 LETT. B) PUNTO 2) DEL D. LGS N. 36/2023 E S.M.I. DELLA FORNITURA DI UNA PIATTAFORMA PER L'ISOLAMENTO MICROBICO SINGLE-CELL AD ELEVATA PRECISIONE BASATA SU ANALISI DI MICROSCOPIA OTTICA A FLUORESCENZA. PER IL DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA DELL'UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA – PROGETTO FIS 3 -CARBON CAPTURE AND CONVERSION VIA ANAEROBIC BIOSYSTEMS FOR A SUSTAINABLE BIOREFINERY (C3ANAEROBI) - PROF.SSA TREU

CUP C53C25001110001 (TREU_MUR_BANDI26_01)

RELAZIONE TECNICA

0. OGGETTO DELLA FORNITURA

La fornitura richiesta mira ad acquisire una piattaforma per l'isolamento microbico single-cell ad elevata precisione basata su analisi di microscopia ottica a fluorescenza.

1. INTRODUZIONE

Per il conseguimento degli obiettivi di ricerca del progetto C3AneroBi, finanziato dal Fondo Italiano per la Scienza (FIS), CUP: C53C25001110001 - Codice UGOV TREU_MUR_BANDI26_01, la Principal Investigator Prof.ssa Laura Treu prevede l'acquisto di una piattaforma tecnologica avanzata per l'isolamento di singole cellule microbiche (0.5 – 20 μm) utilizzabile nel campo della microbiologia applicata per la scoperta di nuovi metaboliti microbici, come dettagliata in seguito. Il sistema consente l'isolamento rapido (minuti) e mirato (microscopia in campo chiaro e fluorescenza) di singole (o coppie di) cellule in compartimenti indipendenti (piastre da 96 a 384 pozzetti) partendo da micro-volumi (5 – 80 μL) di campioni microbiologici complessi o colture semplificate. Questo permette la propagazione e la caratterizzazione di ceppi microbici di interesse con elevato grado di accuratezza e riproducibilità

2. CONTESTO

L'acquisizione della piattaforma rappresenta un investimento strategico per il potenziamento delle infrastrutture tecnologiche dipartimentali dedicate alla biologia molecolare, microbiologia e alle biotecnologie. Con questo tipo di strumentazione, infatti, è possibile implementare tecnologie avanzate per l'analisi funzionale e l'isolamento selettivo di microrganismi provenienti da microbiomi naturali o ingegnerizzati, la propagazione e la caratterizzazione di ceppi microbici di interesse con elevato grado di accuratezza e riproducibilità. In tale contesto, la possibilità di isolare singole cellule microbiche (eucarioti o procarioti) in maniera affidabile costituisce un requisito fondamentale per studi di genomica funzionale, trascrittomica, metabolomica e sviluppo di bioprocessi innovativi. La piattaforma risulta pertanto essenziale per garantire elevati standard di qualità e throughput nei processi di isolamento e studio dei microorganismi

2. VALORE STIMATO DELLA FORNITURA

La fornitura per l'acquisizione della piattaforma di isolamento ha un valore stimato di circa 139.609 Euro iva esclusa, comprensivo di costi di installazione, training e trasporto

3. DESCRIZIONE GENERALE DELLA FORNITURA E REQUISITI MINIMI

Il progetto C3AnaeroBi è mirato allo studio di cellule isolate da colture di diversa natura, per la crescita, la caratterizzazione e l'analisi dei metaboliti derivanti dal metabolismo microbico. Per questo motivo il sistema oggetto della fornitura deve consentire l'isolamento di organismi unicellulari (eucarioti e/o procarioti, 0.5 – 20 µm) tramite tecnologia di dispensazione di micro-volumi (5 – 80 µL) a singola cellula associata a microscopia ottica in campo chiaro e a fluorescenza, ad alta risoluzione e analisi di immagine in tempo reale.

L'apparecchiatura individuata è il sistema della ditta CYTENA, a BICO company denominato B.SIGHT™ 2.0 con sede in Neuer Messplatz, 379108 Freiburg (Germany) - VAT DE295807841.

Gli scenari di utilizzo prevedono che la piattaforma debba garantire:

- Produzione controllata di microgocce ~50 pL contenenti singole cellule microbiche a partire dal campione biologico in tempi rapidi (3-8 minuti);
- Separazione delle cellule microbiche tramite un univoco sistema di rilevamento e riconoscimento basato su acquisizione di immagini in campo chiaro (fotocamera CMOS, ingrandimento 20x) e fluorescenza (Ex. 488 nm Em. 504 - 596 nm)
- Deposizione precisa di singole cellule all'interno di pozzetti individuali di piastre da 96 (3 minuti) a 384 pozzetti (8 minuti);
- Elevata riproducibilità e riduzione del rischio di contaminazioni o multipla dispensazione cellulare.
- Alto tasso di automatizzazione del processo con sistema di cartucce monouso per mantenere elevati standard di purezza, EASY.ON 20 µm.
- Totale compatibilità di operatività in condizioni di anaerobiosi con controllo remoto per utilizzo in apposite camere anaerobiche (glove box).
- Software adeguato alla progettazione di esperimenti personalizzati per dispensazione microbica e monitoraggio in tempo reale la distribuzione di singole cellule in piastre da 96 o 384 pozzetti, documentando le immagini per garantire la clonalità.

In merito a termini e condizioni della fornitura, si richiede che la fornitura rispecchi gli standard legislativi in termini di omologazione e certificazione con riferimento alla normativa CE vigente.

CONFIGURAZIONE DEL SISTEMA

Il sistema deve essere costituito da:

- Tecnologia di dispensazione singola cellula basata su cartucce di microfluidica monouso contenenti chip dispensatore in grado di generare rapidamente microgocce dal campione biologico, denominate EASY.ON, per garantire sterilità, riduzione del rischio di contaminazione e facilità operativa;
- Sistema di microscopia ad alta risoluzione integrato per il riconoscimento delle cellule microbiche di interesse con modulo di rilevazione della fluorescenza e di un sistema a doppia camera per dispensare cellule marcate o non marcate e acquisizione di immagini con controllo indipendente;
- Software di analisi di immagine in tempo reale per la verifica della presenza di cellule prima della dispensazione, riconoscimento della morfologia cellulare e selezione di singoli organismi in base a parametri come dimensione, rotondità e intensità di fluorescenza;
- Sistema di deposizione automatica su piastre standard da 96 o 384 pozzetti tramite AOC system per una deposizione altamente accurata nelle posizioni centrali;
- Compatibilità con workflow automatizzati e integrazione con sistemi robotizzati di laboratorio;

CARATTERISTICHE UNICHE RICHIESTE

Le caratteristiche generali sopra elencate sono state individuate da un'indagine di mercato nel prodotto B.SIGHT™ 2.0 e, oltre alle specifiche sopra descritte, sono richieste le seguenti caratteristiche peculiari:

- Sistema integrato di generazione microgocce ad alta velocità e ad alto rendimento per l'elevata produttività nella generazione di isolati microbici, con utilizzo di microscopia a fluorescenza per l'isolamento di particolare specie microbiche di interesse;
- Elevata accuratezza di dispensazione con deposizione controllata in singoli pozzetti ad elevata produttività di generazione di isolati microbici anaerobici;
- Basse emissioni che ne permettono l'utilizzo all'interno di camera di anerobiosi (glove box) fondamentale per l'isolamento di specie anaerobiche, focus principale di questo processo.

GARANZIA

- Il sistema deve essere fornito con garanzia minima di 12 mesi comprensiva di assistenza tecnica e supporto specialistico, con possibilità di estensione del servizio di manutenzione preventiva e supporto remoto.

TECHNICAL SUMMARY

0. OBJECT OF THE SUPPLY

The requested supply aims to acquire a high-precision single-cell microbial isolation platform based on optical fluorescence microscopy analysis.

1. INTRODUCTION

To develop the C3AnaeroBi research project, funded by the Italian Science Fund (FIS), third edition (FIS3), CUP: C53C25001110001 - Codice UGOV TREU_MUR_BANDI26_01 the Principal Investigator, Prof. Laura Treu, plans to purchase an integrated platform for the recognition and isolation of microbial cells (0.5–20 µm) for use in molecular biology and biotechnology. The system must enable rapid (minutes) and targeted (bright-field and fluorescence microscopy) isolation of single cells (or pairs of cells) into independent compartments (96- to 384-well plates), starting from micro-volumes (5–80 µL) of complex microbiological samples or simplified cultures.

2. CONTEXT

The acquisition of the platform represents a strategic investment to strengthen the department's technological infrastructure dedicated to molecular biology, microbiology, and biotechnology. With this type of instrumentation, it is possible to implement advanced technologies for functional analysis and selective isolation of microorganisms from natural or engineered microbiomes, as well as the propagation and characterization of microbial strains of interest with a high degree of accuracy and reproducibility. In this

context, the reliable isolation of single microbial cells (eukaryotic or prokaryotic) is a fundamental requirement for studies in functional genomics, transcriptomics, metabolomics, and the development of innovative bioprocesses. The platform is therefore essential to ensure high standards of quality and throughput in microorganism isolation and study processes.

3. ESTIMATED VALUE OF THE SUPPLY

The estimated value of the supply for the acquisition of the isolation platform is approximately EUR 139,609 excluding VAT, including installation, training and shipping costs.

4. GENERAL DESCRIPTION OF THE SUPPLY AND MINIMUM REQUIREMENTS

The C3AnaeroBi project focuses on the study of cells isolated from different types of cultures for growth, characterization, and analysis of metabolites derived from microbial metabolism. For this reason, the system subject to the supply must allow the isolation of unicellular organisms (eukaryotic and/or prokaryotic, 0.5–20 µm) through single-cell micro-volume dispensing technology (5–80 µL), combined with high-resolution bright-field and fluorescence optical microscopy and real-time image analysis. The identified equipment is the B.SIGHT™ 2.0 system manufactured by CYTENA, a BICO company, headquartered at Neuer Messplatz 3, 79108 Freiburg (Germany) – VAT DE295807841.

The platform must ensure:

- Controlled production of ~50 pL microdroplets containing single microbial cells from the biological sample within short timeframes (3–8 minutes);
- Microbial cell separation through a unique detection and recognition system based on bright-field image acquisition (CMOS camera, 20× magnification) and fluorescence (Ex. 488 nm; Em. 504–596 nm);
- Precise deposition of single cells into individual wells of 96-well plates (3 minutes) or 384-well plates (8 minutes);
- High reproducibility and reduced risk of contamination or multiple-cell dispensing;
- High level of process automation through disposable cartridge systems to maintain high purity standards (EASY.ON 20 µm);
- Full operational compatibility under anaerobic conditions with remote control for use inside dedicated anaerobic chambers (glove boxes);
- Software suitable for designing customized microbial dispensing experiments and real-time monitoring of single-cell distribution in 96- or 384-well plates, with image documentation to ensure clonality.

Regarding supply terms and conditions, the system must comply with legislative standards in terms of homologation and certification, in accordance with current CE regulations.

SYSTEM CONFIGURATION

The system must include:

- Single-cell dispensing technology based on disposable microfluidic cartridges containing a dispensing chip capable of rapidly generating microdroplets from the biological sample, referred to as EASY.ON;
- An integrated high-resolution microscopy system for the recognition of microbial cells of interest, including a fluorescence detection module and a dual-camera system for dispensing labelled or unlabelled cells with independent image acquisition control;
- Real-time image analysis software to verify the presence of cells prior to dispensing, recognize cellular morphology, and select single organisms based on parameters such as size, roundness, and fluorescence intensity;

- An automated deposition system onto standard 96- or 384-well plates through an AOC system for highly accurate central positioning;
- Compatibility with automated workflows and integration with laboratory robotic systems.

REQUIRED UNIQUE FEATURES

The general characteristics listed above were identified through market research on the B.SIGHT™ 2.0 product. In addition to the specifications described, the following distinctive features are required:

- Use of disposable cartridges to ensure sterility, reduce contamination risk, and facilitate operation;
- An integrated high-speed, high-throughput microdroplet generation system for high productivity in microbial isolate generation;
- Use of fluorescence microscopy for the isolation of specific microbial species of interest;
- High dispensing accuracy with controlled deposition into individual wells;
- High productivity in generating microbial isolates;
- Low emissions, allowing operation inside an anaerobic chamber (glove box), which is essential for isolating anaerobic species, the focus of this project.

Based on the information gathered from market research, the B.SIGHT™ 2.0 system produced by CYTENA, a BICO company, is the only system capable of providing the required specifications to support the expected or foreseeable working conditions, thus constituting a unique instrumental solution currently available on the market.

WARRANTY

The system must be supplied with a minimum 12-month warranty, including technical assistance and specialist support, with the option to extend preventive maintenance services and remote support.