

*Pitch di proposta di acquisizione grandi attrezzature  
CISUP 2021*

---

**Facility di Imaging avanzato  
dell'Università di Pisa**

Francesca Cella Znacchi

Dipartimento di Fisica  
Università di Pisa

[francesca.cella@unipi.it](mailto:francesca.cella@unipi.it)

Proponenti: Francesca Cella, Arti Devi Ahluwalia,  
Dario Pisignano

Pisa 18.05.2021



UNIVERSITÀ DI PISA

# Visione e logica di filiera scientifica

## Visione alla base della proposta:

Si inserisce in un percorso di potenziamento della strumentazione dell'Ateneo, perfettamente consistente con i precedenti sforzi di potenziamento strumentale effettuati dal CISUP

Sviluppo di **sinergie** tra i Dipartimenti su tematiche scientifiche chiave e **massa critica di persone e know-how interdisciplinare**

## Scopo della proposta:

Fornire all'Ateneo una **Facility Flagship di imaging avanzato in fluorescenza**, tecniche stato dell'arte del settore con caratteristiche complementari, in grado di espandere il panorama delle tecniche di microscopia in fluorescenza presenti sul territorio.

## Ottica di filiera scientifica

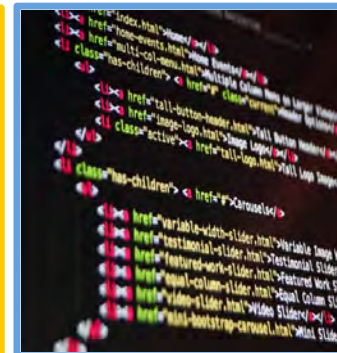
Sviluppo *hardware* di materiali e dispositivi (microfab e nanolayering)



Tecniche di caratterizzazione avanzate

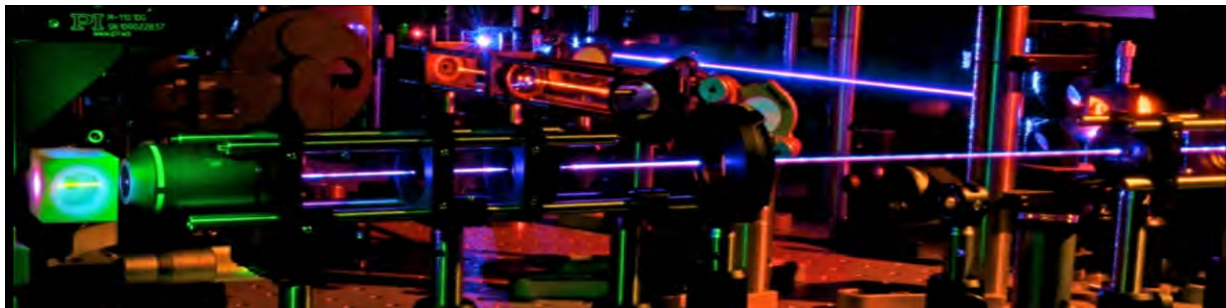


Data, Integrative & Translational Science



Microscopia a super-risoluzione in fluorescenza (SML)

Microscopia "Light-Sheet" (LSFM)



# Vantaggi rispetto alla microscopia confocale e convenzionale

---

Quali sono i requisiti delle più moderne facility di imaging in fluorescenza?  
Miglioramento rispetto alla microscopia convenzionale:

- ✓ Risoluzione spaziale
- ✓ Risoluzione temporale
- ✓ Profondità di imaging

Sistemi di imaging che permettano di coprire un vasto range di applicazioni (in ambiti scienza e ingegneria dei materiali, biomedicale, e delle Life Sciences): dall'imaging a livello della nanoscala all'imaging volumetrico in campioni spessi.

# Vantaggi rispetto alla microscopia confocale e convenzionale

Miglioramento rispetto alla microscopia confocale:

- ✓ Risoluzione spaziale
- ✓ Risoluzione temporale
- ✓ Profondità di imaging

Gli esempi non esaustivi di applicazione di questa tecnologia includono:

- Campioni spessi (materiali 3D, sistemi polimerici, tessuti e organodi)
- Imaging e misure funzionali (elettriche, diffusive, metaboliche) in parallelo
- Indagini *in vivo*

## Microscopia "Light-Sheet" Airy beam

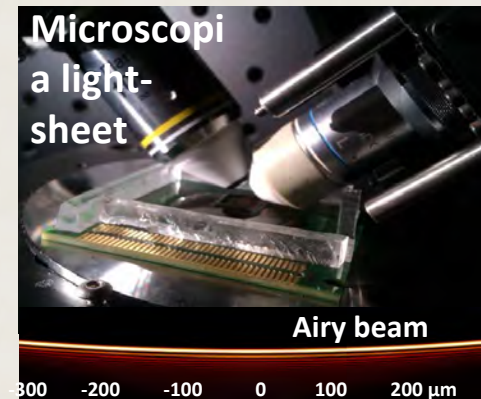


- Compatibile con eccitazione a due fotoni

Illuminazione e detection ortogonali e illuminazione confinata "planare"

- Imaging 3D e sezionamento ottico, Imaging volumetrico veloce (100 frames/sec)
- Risoluzione radiale 520nm
- Profondità imaging (working distance 10mm)
- Extended FOV (20x beam gaussiani)

Sistema stato dell'arte e top di gamma, non presente in Italia, e rappresenterà dunque un forte catalizzatore di nuove applicazioni.



# Vantaggi rispetto alla microscopia confocale e convenzionale

Miglioramento rispetto alla microscopia confocale:

- ✓ Risoluzione spaziale
- ✓ Risoluzione temporale
- ✓ Profondità di imaging

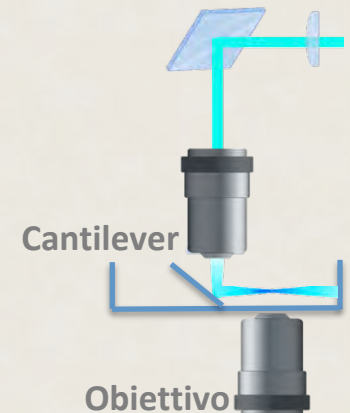
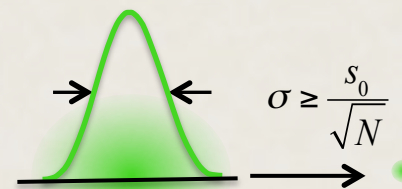
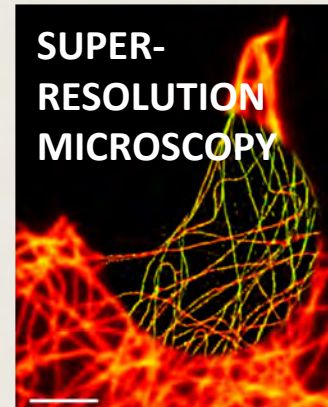
Studi con risoluzioni nanometriche di:

- materiali nanostrutturati 3D
- chimica molecolare e supramolecolare
- complessi macromolecolari biologici (anche in strutture tridimensionali)

## Microscopia a super-risoluzione in fluorescenza

Localizzazione di singola molecola:

- Imaging con risoluzioni nanometriche (20nm radiale e 50-60nm risoluzione assiale)
- Informazione quantitativa a livello molecolare
- Tracking di singole molecole
- Estensione a campioni tridimensionali grazie all'implementazione di una configurazione ottica ibrida "light-sheet"



# Investimento e Logistica

Sistema di imaging light-sheet:  
305 k€ + IVA

Macchina **top di gamma** e con  
profilo di unicità

Sistema di imaging a super  
risoluzione: 280 k€ + IVA

Procedura di gara tra strumenti **top  
di gamma** con prestazioni analoghe  
(Nikon Instr., Zeiss, Abbelight)

Costo di manutenzione e funzionamento: 20 k€/anno (i prezzi degli strumenti sono comprensivi di assistenza e garanzia per 3 anni).

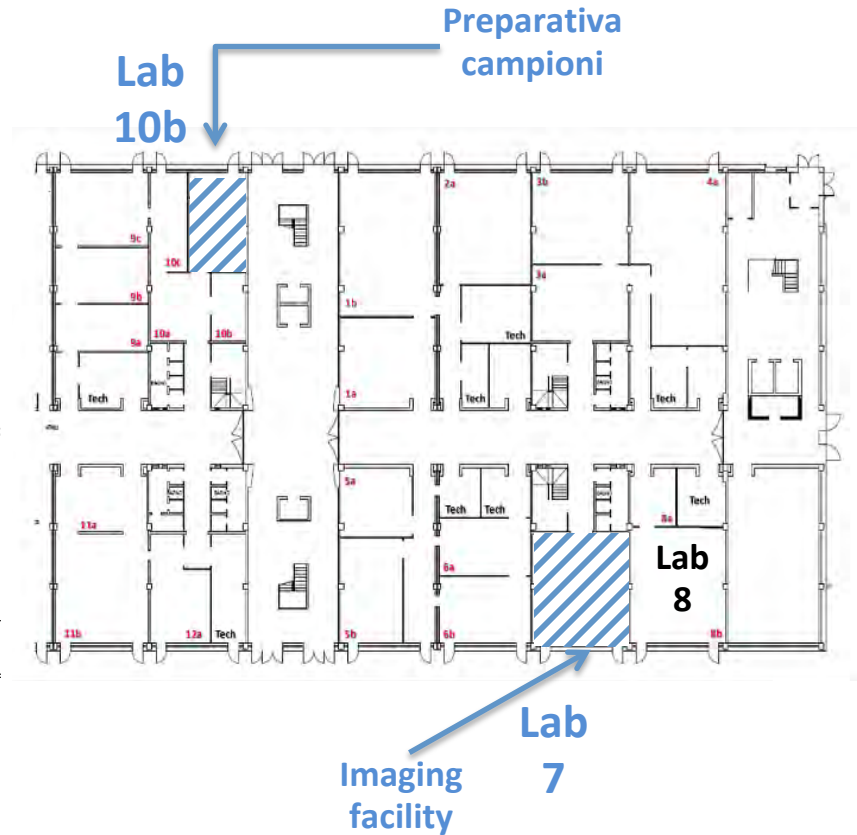
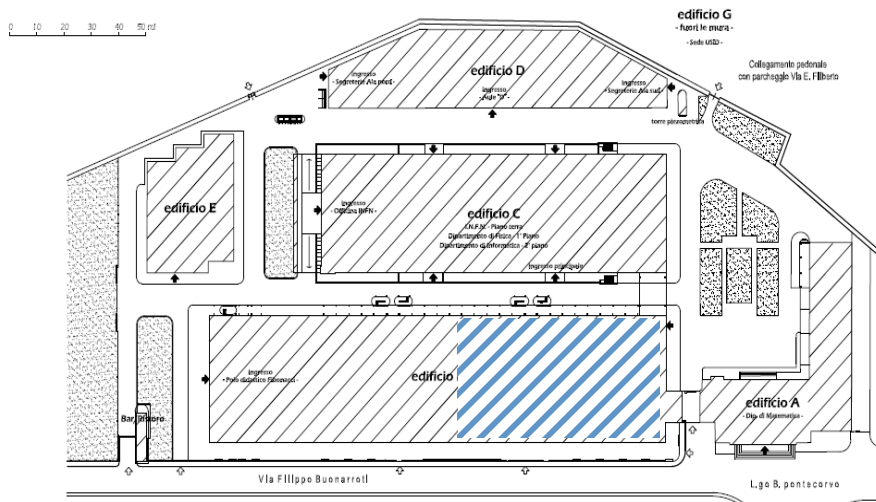
Il materiale di consumo necessario sarà interamente a carico degli utenti e dei relativi progetti di ricerca, secondo una logistica infrastrutturale di *Facility* aperta.

- *Training e supporto degli utenti*
- *Integrazione con altre infrastrutture CISUP, presenza di laboratori a supporto (Lab8, preparativa campioni)*
- *procedure codificate per accesso in sicurezza*

# Logistica e Collocazione:

Area Pontecorvo, Edificio B sede del Dipartimento di Fisica, Laboratori di Fisica della Materia (lato sud dell' Edificio B, piano terra)

*Site requirements:* sono stimati in 20 k€, investimento una-tantum per la messa in opera (lavorazioni su piccola scala): 20 k€



- dimensione (~85 m<sup>2</sup>)
- requisiti termo-igrometrici
- stabilità e riduzione delle vibrazioni
- locali nella disponibilità della struttura richiedente
- stanza preparativa campioni a disposizione e presenza di personale tecnico con *know-how* pluridecennale sugli apparati laser

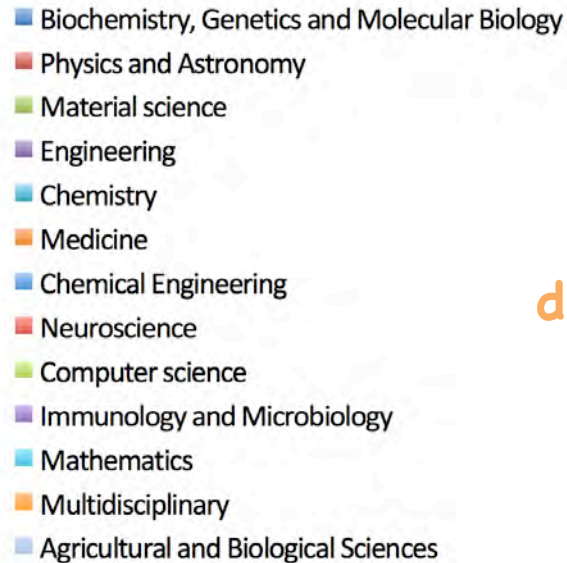
# Rilevanza internazionale della proposta e applicazioni:

Scienza dei materiali

Life-Sciences e Biomedicina

Ottica e fotonica

Years 2012-2021  
Total Publications 2345  
H-index 103



Farmacologia

Ingegneria dell'informazione

Chimica molecolare

Nanotecnologie

Computer science/sistemi complessi



# Rilevanza internazionale della proposta e applicazioni:

*Scienza dei materiali, Nanotecnologie, Chimica Molecolare e Supramolecolare*

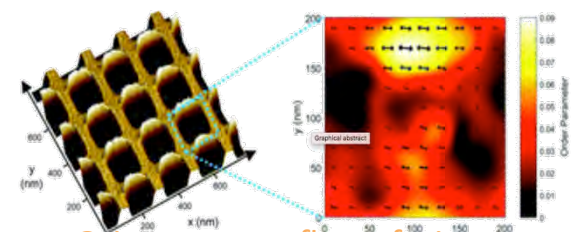
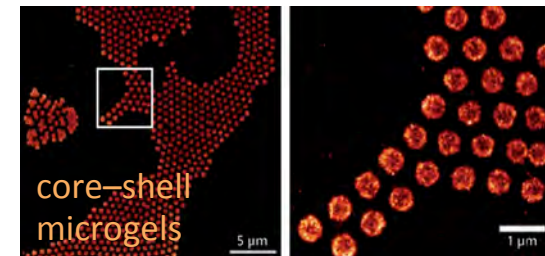
Caratterizzazione di nuovi materiali nell'ambito della fisica della materia soffice:

- complessi polimerici supramolecolari (nanofibre, *microgels* e nanoparticelle)
- Studio di deformazioni nanometriche in polimeri (mappa orientamento e allineamento dei fluorofori).

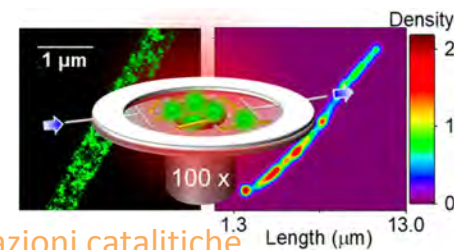
Studio di siti attivi catalitici e catalizzatori a livello della nanoscala

Sviluppo di nuovi emettitori di luce ottimizzati per tecniche di super-risoluzione (anche mediante materiali bidimensionali)

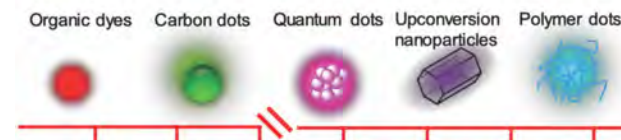
*Caratterizzazione ad alta risoluzione di nanomateriali, polimeri e materiali nanocompositi, fotofisica dei dye organici in matrici, materiali nanostrutturati per la medicina rigenerativa*



Orientamento fluorofori e deformazioni in polimeri



Reazioni catalitiche



Probes for super-resolution

Otto, P. *et al. Nanoscale Advances* (2020).

Wang, M. *et al. Materials Horizons* (2019).

Liu, X. *et al. Angew. Chemie Int. Ed.* (2020).

Ow, M. J. K. *et al. ACS App. Nano Mat.* (2020)

Sreedharan, S. *et al. Materials Chemistry Frontiers* (2021)

# Rilevanza internazionale della proposta e applicazioni:

## *Life- sciences e Biomedicina*

- *Imaging* ad alta risoluzione di sistemi bioartificiali, biomateriali e *scaffold* per la medicina rigenerativa, tessuti ed organoidi
- Studio di processi biologici in organismi modello (farmacologia e tossicologia)

### *Sistemi bioartificiali, ingegneria tissutale, studio di organoidi e medicina rigenerativa*

- Studio della stechiometria di complessi macromolecolari in sistemi biologici 3D (proteine di membrana, recettori, proteine di adesione, del citoscheletro)
- Apre la strada a nuovi approcci di radiobiologia

### *Studio degli effetti indotti da tecniche radioterapiche di nuova generazione (Terapia Flash)*

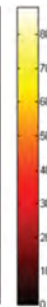
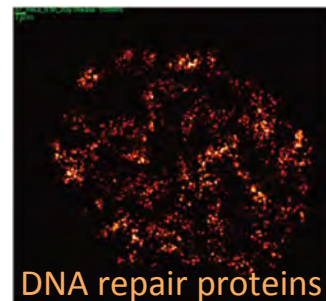
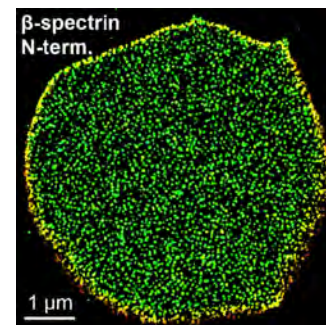
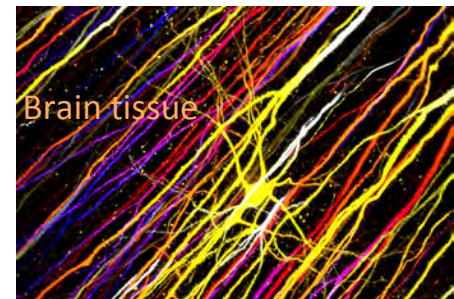
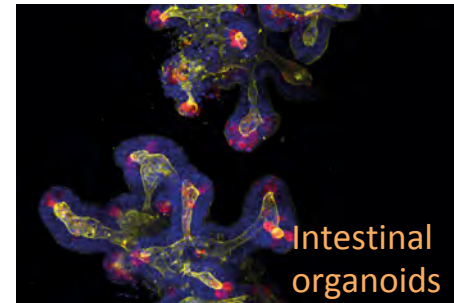


Image courtesy: MSquaredLife Ltd, Karolinska Institute, Bohr Institute Copenhagen

Image courtesy: Leiting Pan, University of California, Berkeley

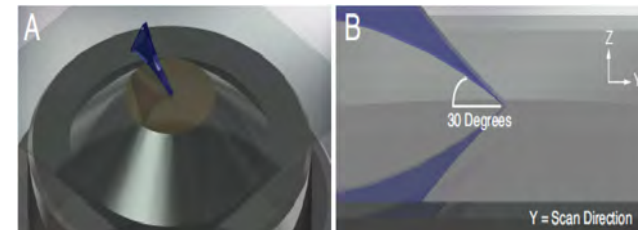
# Rilevanza internazionale della proposta e applicazioni:

## Ottica e Fotonica

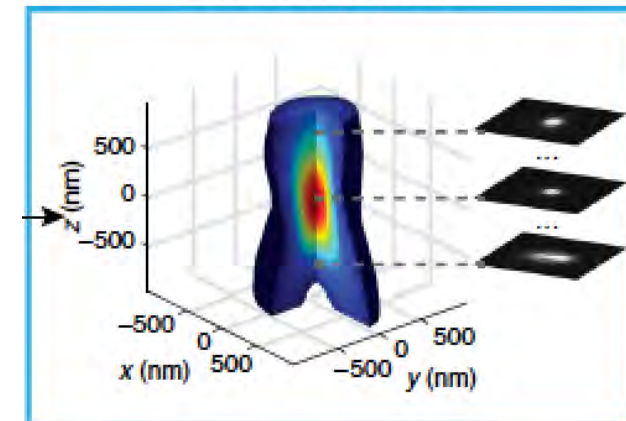
Ricerca e sviluppo di sistemi innovativi per microscopia *light-sheet* e super-risoluzione:

- eccitazione multi-fotone
- sistemi *lab-on-chip*
- *deep learning*
- ingegnerizzazione della *point spread function*

## Sviluppo R&D di nuova strumentazione



Final 3D PSF model



# Rilevanza internazionale della proposta e applicazioni:

## Ottica e Fotonica

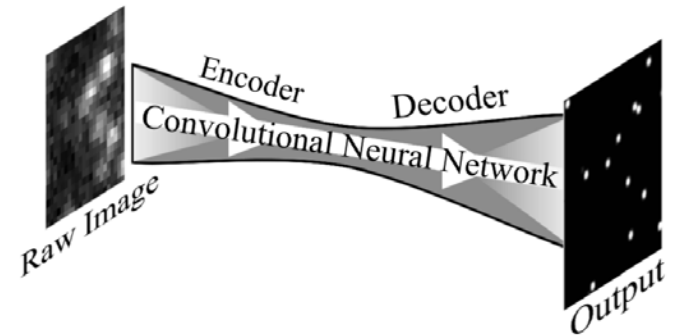
Ricerca e sviluppo di sistemi innovativi per microscopia *light-sheet* e super-risoluzione:

- eccitazione multi-fotone
- sistemi *lab-on-chip*
- *deep learning*
- ingegnerizzazione della *point spread function*

## Computer science e sistemi complessi

- Analisi statistica e *multi-scale* di dati di localizzazione di singola molecola (analisi quantitativa e cluster)
- Applicazione di metodi di *machine learning*, *modelling* di sistemi complessi
- *Big data* e *cloud computing* applicati alla gestione di dati di *imaging*

Sviluppo R&D di nuova strumentazione



Sviluppo di metodi idonei all'analisi e alla piena valorizzazione dei risultati sperimentali (es. *machine learning*)

Big Data Management e Cloud Computing

# Valore aggiunto per UNIPi, verso Horizon Europe

---

Gli strumenti sono complementari, e **perfettamente inquadrabili in un'ottica di filiera scientifica.**

Si propone di aggregare nello stesso spazio un'ampia gamma di apparecchiature sinergiche (sia di microscopia che non) affiancata da competenze tecniche scientifiche in ambito fisico, biotecnologico e bioinformatico.

**Capacità di esplorare in parallelo vari gradi di *Technology Readiness Level* (TRL), spaziando su aspetti sia fondamentali sia applicativi (fino ad ambiente operativo nel settori biomedicale e radiobiologico, i.e. terapia Flash).**

Ottica di filiera scientifica

Complemento delle tecniche di microscopia già acquisite

Sviluppo R&D di nuova strumentazione

Integrazione con Green Data center di Ateneo (predisposizione di un Data Management Plan) per tematiche di Big Data Management e Cloud Computing

Applicazioni e fasi operative

# Valore aggiunto per UNIPi, verso Horizon Europe

**Catalizzatore di nuove collaborazioni nell'Ateneo in diversi settori:**

**Lettere di manifestazione acquisite :**

- Scienza e dell'ingegneria dei materiali e delle nanotecnologie, chimica, ingegneria tissutale e medicina rigenerativa, studio di organoidi
- Sviluppo R&D di nuove tecnologie e nuove sfide inerenti l'analisi e la gestione dei dati di *imaging*
- Radiobiologico e biomedicale
- **Strategicità nell'ecosistema della ricerca** sul territorio. Interesse esplicito già acquisito da parte di 9 istituti ed enti di ricerca tra cui INFN, CNR, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, IIT, ecc.
- **Piattaforma Europea Euro-Bioimaging**, strumentazione di supporto dell'infrastruttura



Istituto Nazionale di Fisica Nucleare  
SEZIONE DI PISA



AZIENDA OSPEDALIERO  
UNIVERSITARIA PISANA



ISTITUTO ITALIANO  
DI TECNOLOGIA



CNR-INO  
ISTITUTO NAZIONALE DI OTTICA  
CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE



Fondazione  
Monasterio  
la ricerca che cura



CNRNANO  
ISTITUTO NANOSCIENZE CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE



Consiglio Nazionale delle Ricerche  
ISTITUTO DI NEUROSCIENZE  
Pisa Padova Milano Cagliari Parma

Sede di Pisa



MMMi  
Multi-Modal Molecular  
Imaging Italian Node

THE BIROBOTICS  
INSTITUTE



Scuola Superiore  
Sant'Anna

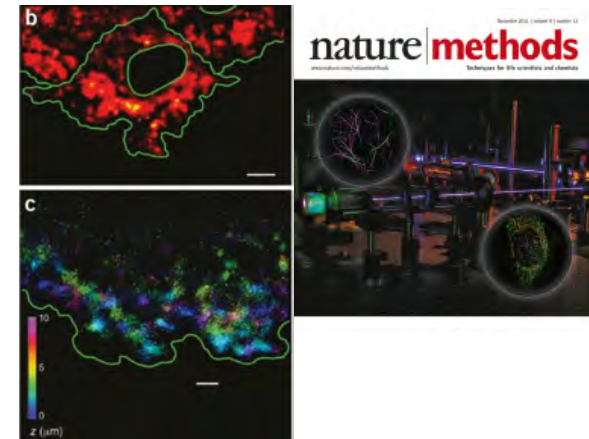
# Gruppo proponenti

## Membri del gruppo proponente:

Francesca Cella Zancchi (Dip.to di Fisica), Arti Devi Ahluwalia (Dip.to di Ingegneria dell'Informazione), Dario Pisignano (Dip.to di Fisica)

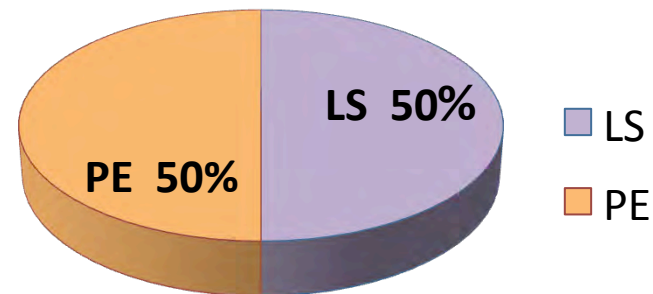
Il gruppo proponente ha caratteristiche multidisciplinari, comprovata esperienza nelle tecnologie e sui diversi ambiti applicativi oggetto della proposta.

- Tecniche di microscopia in fluorescenza e la loro applicazione in ambito biofisico
- Nano-materiali, anche ad emissione di luce, e nuove architetture bioartificiali
- Sistemi bioartificiali, preparazione di campioni biologici (organoidi, tessuti chiarificati); Elaborazione e analisi quantitativa di immagini



Esempio di sviluppo (R&D) di un nuovo metodo di super-risoluzione basato su microscopia "light-sheet"

## Settori ERC della Ricerca Abilitata



Grazie per l'attenzione!

*francesca.cella@unipi.it*