



PLEC DE PRESCRIPCIONS TÈCNIQUES PEL SUBMINISTAMENT I INSTAL·LACIÓ DE COMPONENTS DE MILLORA D'UN MICROSCOPI

EXPEDIENT 2023/249

1. Objecte del contracte:

El present Plec de Prescripcions Tècniques (PPT) té per objecte definir les característiques i requisits mínims que hauran de reunir els béns que s'ofereixen en el present concurs, per al subministrament i instal·lació de components de millora d'un microscopi.

En el present plec de prescripcions tècniques es descriuran aquells punts que es considerin de major rellevància i no es farà constar una descripció detallada de la totalitat dels components dels equips. No obstant això, un cop instal·lat el conjunt instrumental ha de funcionar a plena satisfacció, complint totes i cadascuna de les especificacions del fabricant.

2. Justificació de la contractació:

Exposició dels motius que justifiquen la contractació. Cal descriure la naturalesa, extensió i la justificació de les necessitats a satisfer, i exposar la idoneïtat de la contractació. En el seu cas, caldrà exposar els antecedents que es creguin convenient.

Los experimentos propuestos para el proyecto de investigación que me han concedido como investigador a través de la Universidad de Barcelona, cuya referencia es **RYC202-030096-I**, requieren de una prominente precisión.

El interés principal es entender mejor cómo funciona la neurotransmisión y la plasticidad sináptica, en especial ahondar en los mecanismos moleculares que son esenciales para la formación y mantenimiento de la sinapsis así como aquellos cambios plásticos que subyacen entre otros procesos a la formación de la memoria a largo plazo.

En particular estamos interesados en conocer cuál es la contribución iónica específica de los endolisosomas particularmente en la sinapsis, y cómo su contribución puede afectar a la dinámica sináptica del calcio. En esencia, pretendemos manipular el contenido de calcio dentro de los endolisosomas y evaluar cómo ello afecta a la homeostasis y función sináptica del calcio. Para ello, utilizaré técnicas de imágenes en vivo empleando sensores de fluorescencia que estarán fusionados bien a una proteína sináptica, bien a una proteína endolisosomal. De esta manera, podré monitorizar específicamente cómo cambios en el calcio proveniente de los endolisosomas puede afectar al calcio sináptico o a la función sináptica ya sea midiendo la liberación de neurotransmisores (usando sensores de glutamato o GABA) o al reciclaje de proteínas presentes en las vesículas sinápticas (mediante el uso de sensores sensibles a pH) las cuales son cruciales para mantener que el conjunto de reserva de vesículas sea competente para sostener la neurotransmisión. Por tanto, el proyecto requiere en sí mismo de **registro de imágenes in vivo de dos colores a la vez**, así como de una **elevada resolución temporal**, ya que la dinámica del calcio sináptico en la sinapsis ocurre en escala de tiempo de milisegundos.

Por tanto, para este tipo de experimentos es un REQUISITO IMPRESCINDIBLE contar con algunas mejoras en el microscopio que ya disponemos en el grupo de laboratorio "PATHOPHYSIOLOGY OF MEMBRANE AND ORGANELLAR ION CHANNELS AND TRANSPORT PROTEINS IN NEUROLOGICAL DISEASES", puesto que por un lado, los terminales presinápticos son pequeños (aproximadamente entre 20 y 40 nanómetros de ancho) y por ende, difíciles de estudiar; y por otro lado, es un desafío realizar los estudios funcionales propuestos, ya que debemos estar muy seguros de diferenciar la contribución de orgánulos como los endolisosomas a la dinámica de fusión y reciclaje de las vesículas sinápticas teniendo por tanto una repercusión en el control de la neurotransmisión y su posible plasticidad.



Es por ello que se solicita la compra de un **sistema de iluminación específico** así como un **filtro doble**, los cuales nos van a permitir poder registrar simultáneamente varios fluoróforos a la vez sin la necesidad de tener que cambiar el sistema de filtros, permitiéndonos ganar de esta manera resolución temporal. Asimismo, solicitamos también la compra de una **cámara microambiental** así como un **controlador de la temperatura y un adaptador** específico para el uso de las cámaras de registro que ya tenemos en el laboratorio y que son de un determinado tamaño, para básicamente poder realizar todos nuestros estudios a temperatura fisiológica y no a temperatura ambiente, puesto que se ha comprobado que los mecanismos moleculares que operan a una u otra temperatura son diferentes en las neuronas, y por ello queremos acercarnos al máximo en nuestros estudios a los parámetros que operan en la realidad. Creemos por tanto, que el equipamiento solicitado es un requisito imprescindible para el tipo de experimentos que queremos elaborar.

3. Característiques bàsiques del subministrament que es demana

Els licitadors hauran de presentar una proposta que compleixi els requisits que es descriuen a continuació:

Adaptador Magnético para 2 placas Petri 35: este adaptador es necesario para poder utilizar cámaras de registro (de imagen y/o de estimulación eléctrica) de dicha medida, con lo que es imprescindible contar con dicho adaptador para poder llevar a cabo nuestros experimentos en el microscopio que ya tenemos y que carece de tal adaptador.

Iluminación pE-300 white multi band: El sistema de iluminación “pE-300white de CoolLED” ofrece una iluminación LED intensa y de amplio espectro para microscopía de fluorescencia. Nuestra necesidad de tal fuente de iluminación radica en la posibilidad que nos ofrece al poder ver en combinación varios fluoróforos sin cambiar el cubo de filtro lo que nos permite poder hacer estudios de imagen a una alta resolución temporal (milisegundos) lo cual es clave para entender procesos fisiológicos neuronales clave como la monitorización in vivo de la liberación de neurotransmisores así como los mecanismos asociados a la regulación del calcio sináptico. Un beneficio adicional del pE-300white es que se trata de una tecnología galardonada (en 2017 recibió el “Premio Go Beyond” del Instituto Internacional de Laboratorios Sostenibles por su “Excelencia en sostenibilidad en laboratorios y otras instalaciones de alta tecnología”), ya que hace que los laboratorios sean más seguros y sostenibles si lo comparamos con otras fuentes de iluminación como las de mercurio.

Filtro doble GFP/mCHERRY - FITC/T: Esta serie de juego de filtros de doble banda nos resulta perfecto para poder hacer registros de imagen en los que podamos visualizar simultáneamente dos fluorocromos distintos a una alta resolución temporal eliminando la necesidad de un mecanismo de cambio de filtro más costoso o, en algunos casos, de dos cámaras separadas.

Controlador UNO-T-H-CO2: Este sistema es óptimo para el desarrollo del proyecto del solicitante el cual se basa en un elevado porcentaje en el uso de microscopía de células vivas, más concretamente en neuronas primarias de ratón. Estas células son altamente sensibles y van a responder a estímulos de manera diferente si están a temperatura ambiente o a temperatura fisiológica. El controlador UNO-T-H-CO2 permite garantizar de manera precisa que mientras se realiza la captura de imágenes in vivo, la temperatura de la muestra pueda ser la encontrada de manera fisiológica (37°C). Asimismo, el nombre “UNO” refleja la simplicidad del sistema, al permitir acondicionar la temperatura, la humedad y el CO2 de una manera muy fácil.

Camara Microambiental: Esta cámara microambiental es clave para poder hacer registros de imagen a temperatura fisiológica ya que por sus características presenta un sensor de temperatura integrado y una tapa de vidrio con revestimiento conductor de óxido de indio y estaño también con sensor de temperatura integrado. De esta manera, la cámara microambiental está conectada a los controladores de temperatura, gas y humedad de Okolab, creando el entorno adecuado para obtener imágenes de células vivas directamente en la platina del microscopio.



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Instalación y funcionamiento básico: Se requiere de instalación por parte de personal experto así como una introducción al correcto manejo de los productos obtenidos.

L'Hospitalet de Llobregat, 11 de diciembre
de 2023

Signaturas

Dra. Tania López Hernández
Departament de Ciències Fisiològiques
Campus de Bellvitge

Dr. Raúl Estévez Povedano
Departament de Ciències Fisiològiques
Campus de Bellvitge

