

## **EXP. CRG04/25**

### **PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS**

## **PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS PARA EL SUMINISTRO E INSTALACIÓN DE UN MICROSCOPIO CONFOCAL DE BARRIDO LÁSER CON SUPERRESOLUCIÓN Y MULTIFOTÓN PARA LA UNIDAD DE MICROSCOPIA ÓPTICA AVANZADA DE LA FUNDACIÓ CENTRE DE REGULACIÓ GENÒMICA (CRG)**

### **1. Objeto**

El objeto de este Pliego de Prescripciones Técnicas es conseguir un marco homogéneo para poder evaluar la oferta que se presente para la adquisición de un microscopio confocal de barrido láser rápido y sensible para imágenes en vivo con superresolución y multifotón.

Las especificaciones que se detallan en este Pliego de Prescripciones Técnicas no tienen carácter exhaustivo ni limitativo, de manera que cualquier otro elemento que la empresa ofertante considere conveniente para la prestación del suministro deberá estar incluido y especificado en la oferta presentada.

### **2. Equipo objeto de la licitación**

El objeto del presente contrato es la adquisición de un Microscopio Confocal de barrido láser con superresolución y multifotón. Con la presente licitación se pretende describir claramente, no solo el objeto del contrato, si no también garantizar la correcta instalación del instrumento objeto de la presente licitación, así como la formación necesaria dirigida al personal técnico de la *Unidad de Microscopía Óptica Avanzada* (en adelante ALMU) para su correcto uso. El equipo se ubicará en la Unidad de Microscopía Óptica Avanzada del CRG y será supervisado por su personal técnico.

### **3. Alcance del suministro licitado y condiciones**

Las ofertas que se presenten se ajustarán a las prescripciones contenidas en el presente Pliego de Prescripciones Técnicas. Las ofertas incluirán el equipo objeto del presente contrato y todos los trabajos de instalación y la formación de la plantilla técnica necesaria para la correcta operación de los equipos.

Toda la documentación técnica del proyecto deberá ser entregada en soporte digital.

Además de cumplir los requisitos técnicos del equipo en concreto, el contrato ha de asegurar el suministro, transporte, instalación y asistencia técnica para el equipamiento y software asociado, así como la formación al personal del CRG encargado de su manejo.

#### 4. Características técnicas de los suministros

Los suministros deberán incluir las siguientes características técnicas:

**Un sistema de microscopio confocal de barrido láser y multifotón que permita la rápida adquisición de imágenes 3D de células vivas.** El sistema debe ser optimizado para microscopia de luz transmitida y fluorescencia, FRAP, FRET, separación spectral, FCS, infrarrojo cercano (NIR), tiempo de vida de la fluorescencia (FLIM), Second Harmonic Generation (SHG), captación de imágenes en el tiempo, adquisición de secciones ópticas y de múltiples posiciones, adquisición rápida de imágenes de superresolución en 3D. Además, el software del sistema debe ser capaz para utilizar modelos de Deep Neural Network en el análisis de imágenes.

**El Sistema debe contar con las siguientes prestaciones:**

- Microscopio recto completamente motorizado para observaciones por reflexión y transmisión con dos pasos ópticos traseros (que permitan la entrada de iluminación de epifluorescencia y fuentes láser para experimentos FRAP) y dos puertos de cámara laterales (que permitan la salida de emisión de luz para unidad de barrido por disco rotatorio, así como una cámara adicional) y con oculares. El estativo debe estar fabricado en forma que permita una gran estabilidad mecánica y térmica, favoreciendo la reproducibilidad de las medidas imagen superresolución. Incluirá un sistema de protección ante derrame de líquidos que evite su entrada en el interior del sistema óptico.
- Mesa óptica anti-vibratoria para todo el sistema, incluido el láser de Titanium-Sapphire del multifotón.
- Platina de barrido XY piezoeléctrica con una resolución mínima de 0,1  $\mu\text{m}$ .
- Movimiento en Z de 25 nm (tamaño de paso) con una reproducibilidad de 100 nm, y un rango Z de al menos 15 mm.
- Condensador de inmersión en agua con una apertura numérica (NA) de al menos 1,2 y transmisión de hasta 380 nm, apto para campo claro, DIC y Second

Harmonic Generation (SHG). Mecanismo de protección para proteger el condensador del agua.

- Porta platina y condensador, extraíbles por el usuario.
- Condensador con enfoque motorizado y Contraste Dodt.
- Fuentes de luz tipo LED de larga duración y filtros para la detección visual de emisiones para DAPI, FITC, Cy3 y Cy5.
- Objetivos, para las diferentes muestras y aplicaciones con al menos el siguiente grado de lentes y apertura numérica (NA):
  - Objetivo de aire 2,5x con al menos 8 mm de distancia de trabajo.
  - Objetivo de aire plan-apocromático de 10x y 0.45 NA con al menos 2 mm de distancia de trabajo.
  - Objetivo de aire plan-apocromático de 20x y 0.8 NA con al menos 0,55 mm de distancia de trabajo.
  - Objetivo de agua plan-apocromático de 20x con al menos 1 NA y 2,3 mm de distancia de trabajo para trabajar sin cubreobjetos con longitudes de onda de hasta 1300 nm.
  - Objetivo de inmersión en agua de al menos 30x y 0,85 NA, con al menos 1 mm de distancia de trabajo y capacidad para usarse con y sin cubreobjetos.
  - Objetivo plan-apocromático de inmersión en agua/silicona y glicerina de 40x con 1,2 NA y una distancia de trabajo mínima de 0,4 mm, adecuada para FCS y superresolución.
  - Objetivo plan-apocromático de inmersión en aceite de 63x y 1,4 NA, adecuado para superresolución (Strehl ratio > 90%), con al menos 0,14 mm de distancia de trabajo y para longitudes de onda UV-VIS-IR.
  - Objetivo de calibración para la comprobación y el mantenimiento automáticos del rendimiento del sistema.
  - Líquido de inmersión para objetivos de aceite, silicona, agua y glicerina.
- Sistema de detección confocal espectral con 34 canales que permite la obtención simultánea de imágenes en todo el rango del espectro y la separación de fluoróforos superpuestos.
- Capacidad para obtener imágenes de hasta 15 colores simultáneamente, y hasta

20 colores secuencialmente, con capacidad para extraer espectros de emisión con pasos de hasta 3 nm.

- Capacidad de conteo de fotones con estos detectores.
- Dos detectores de infrarrojo cercano (NIR) adecuados para la obtención de imágenes hasta al menos 900 nm.
- Óptica de alta transmisión que permite el uso de longitudes de onda de 355 a 1100 nm.
- Un detector PMT para luz transmitida.
- Escaneo bidireccional con escáneres de alto ciclo de trabajo, dedicando al menos el 85 % del tiempo a la captura de imágenes. Escáneres lineales con el mismo tiempo de permanencia en cada píxel. Rotación de escaneo de 360 grados ajustable en incrementos de 0,1°. Escaneo lineal y puntual.
- Formatos de píxeles configurables por el usuario, desde 32 x 32 píxeles hasta 8192 x 8192 píxeles, para permitir una captura de imágenes rápida y una resolución Nyquist completa en todas las lentes.
- Dicroicos principales que permiten una densidad óptica muy alta (al menos OD 7) de bloqueo láser y una transmisión de emisión muy alta.
- Pinhole totalmente ajustable y reproducible.
- Capacidad para definir al menos 50 regiones de interés (ROIs) para iluminar con diferentes longitudes de onda y potencias para experimentos de FRAP y fotoactivación.
- Capacidad para realizar experimentos rápidos (trigereables), donde el microscopio confocal puede actuar como maestro o esclavo con fines de temporización.
- Filtros adecuados para la obtención de imágenes con el microscopio de escaneo láser (LSM), para escanear con láseres visibles y detectar con el T-PMT, para la localización rápida de grandes áreas de muestra.
- Láseres de al menos las longitudes de onda 405/488/561/639/730 nm. Preferiblemente, basadas en diodos y ondas continuas (CW) para una larga vida

útil y un menor blanqueamiento de la muestra (photobleaching).

- Control completamente lineal de la potencia para todas las líneas láser, incluyendo la potencia y la longitud de onda de un láser Titanium-Sapphire.
- Capacidad para realizar medidas de FCS utilizando los detectores espectrales y detectores no desescaneados (Non Descanned Detectors (NDD)).
- Capacidad para obtener imágenes de superresolución confocales y multifotón de muestras. Al utilizar el objetivo de aceite de 1,4 NA con excitación de 488 nm, la resolución debe ser de al menos 80 nm lateral, y 200 nm axial con microesferas, o 90 nm lateralmente y 350 nm axialmente con nano-reglas de ADN. El método debe funcionar sin necesidad de cerrar el pinole para mejorar la resolución.
- El método de superresolución deberá funcionar con cualquier fluoróforo y láser del equipo, incluido el Titanium-Sapphire.
- Con 512 x 512 píxeles, el sistema debería permitir la captura de imágenes a una velocidad de hasta 25 fps en modo de superresolución, con cualquier láser de excitación.
- Capacidad para realizar deconvolución automática en vivo (online), lineal y cuantitativa de imágenes de todos los detectores confocales, incluyendo los espectrales, NIR y NDD. Al utilizar la lente de 1,4 NA y la excitación de 488 nm, se debería obtener una resolución lateral de al menos 120 nm y axial de 500 nm con cualquier detector confocal. La misma técnica deberá estar disponible para los detectores NDD.
- Debe tener un láser Titanium-Sapphire con una frecuencia de repetición de 80 MHz, ajustable de 680 a 1300 nm con una velocidad de ajuste de 50 ns por segundo y un ancho de pulso inferior a 120 fs. El láser debe tener al menos 3 W de potencia máxima y pre-chirping controlado por software.
- Acoplamiento para láser Titanium-Sapphire que permite dirigir, colimar y atenuar el haz hacia el cabezal de escaneo.
- Debe tener un método para facilitar el alineamiento del haz de láser multifotón que pueda ser realizado por el personal técnico de la Unidad de Microscopía Óptica Avanzada del CRG.

- Debe tener al menos 6 detectores NDD, 4 en luz reflejada y 2 en luz transmitida.
- Debe incluir filtros para permitir la detección mediante NDD de emisiones azules, verdes, rojas y rojas lejanas, así como el SHG. Además, debe ser capaz de realizar la detección simultáneamente con los detectores NDD de luz reflejada y luz transmitida para resumir señales para SHG, por ejemplo.
- Debe ser capaz de ajustar el láser simultáneamente con el sistema de detección confocal espectral para, por ejemplo, confirmar si una señal es SHG.
- El sistema debe tener un sistema TCSPC (en Inglés: Time-Correlated Single Photon Counting) FLIM totalmente cuantitativo, y al menos 2 canales de detección de NDD para la detección de microscopía FLIM.
- Debe ser capaz de realizar experimentos FLIM con combinaciones 2D (XY, XZ, YZ), 3D (XYZ) y 4D (XYZT).
- Debe incluir electrónica y software para FLIM con una resolución temporal de al menos 5 ps y capacidad para medir tiempos de vida de hasta 100 ns. Tiempo muerto total del sistema de 0,65 ns o menos.
- Debe incluir un Software completo para análisis FLIM, incluyendo el ajuste de decaimientos multiexponenciales, gated FLIM online y adquisición posterior, tiempo de decaimiento (decay time) por píxel.
- Una estación de trabajo potente que sea capaz de trabajar y procesar imágenes adquiridas de microscopios generados imágenes fast-time laps y 3D. La estación de trabajo debe ser compatible con las versiones de Windows soportadas por Microsoft y ofrecer:
  - un almacenamiento redundante para almacenar y procesar de manera segura una cantidad importante de datos
  - una tarjeta gráfica NVIDIA GPU, o equivalente, para procesar los datos con una velocidad mínima de 12Gbps
  - una tarjeta de red con puerto de fibra de 10Gbps para transferir los datos desde la estación de trabajo hasta el CPD del CRG
- La Unidad de Microscopía Óptica Avanzada (ALMU) del CRG está comprometida en la aplicación de los principios FAIR para mejorar la reproducibilidad y presentación. De esta manera, los datos obtenidos con el microscopio deben ser



gestionados con el programa de código abierto OMERO, el sistema de gestión de datos de imágenes que utiliza CRG. La empresa licitadora debe presentar sus datos de manera accesible y no en una base de datos cerrada por la empresa. Los datos generados por el microscopio deben ser fácilmente importados en OMERO, así como toda la información de los metadatos. No se aceptarán programas informáticos alternativos que gestionen los datos de las imágenes que procedan del equipo. No se aceptarán sitios bloqueados por proveedores en la nube para el manejo y análisis de los datos. Los datos generados por el microscopio deben estar descomprimidos y sin pérdida de información, completamente accesibles e interoperables con la información de los metadatos de las imágenes, tales como (aunque no limitado a): información detallada de la adquisición (láseres, canales, filtros utilizados, sección óptica en Z, binning, profundidad de bits de la cámara), intensidad del píxel, características de la platina, características de los objetivos e incubación en la captación (porcentaje de CO<sub>2</sub>, humedad y temperatura), información en el tiempo y posición en la platina.

- Software de control para adquisición completa, incluyendo módulos, entre otros, para:
  - Imágenes 2D (XY, XZ, YZ), 3D (XYZ) y 4D (XYZT).
  - Posiciones múltiples, mosaico y navegación de la platina para capturar imágenes y secciones ópticas en el tiempo y en diferentes posiciones de la platina combinado con adquisición multidimensional, con autofocus, imágenes de alto rango dinámico (HDR), ajuste automático de la potencia del láser con la profundidad.
  - Capacidad para realizar fotoblanqueo (photobleaching) automático de células en múltiples posiciones con selección automática de la región de interés.
  - Módulos avanzados de captura de imágenes, incluyendo la capacidad de crear experimentos no homogéneos, obtener retroalimentación de las imágenes para el experimento y realizar escaneos generales de baja resolución, analizar esa imagen y, posteriormente, generar imágenes de alta resolución basadas en los resultados de dichos análisis.
  - Módulos para procesamiento completo de imágenes, incluyendo, entre otros, visualización 3D, colocalización, separación espectral, medidas 2D y

3D y superposición de imágenes adquiridas con diferentes aumentos, incluyendo imágenes de superresolución.

- Capacidad de crear flujos de trabajo automatizados, procesamiento automático de adquisición de imágenes y análisis con script, interfaces macro con el lenguaje de programación Python.
- Capacidad para adquirir y procesar imágenes para análisis FRET, FRAP/FLIP. Capacidad para realizar fotoblanqueo (photobleaching) automático de células en múltiples posiciones con selección automática de la región de interés.
- Capacidad para utilizar modelos de Deep Neural Network en el análisis de imágenes.
- Es deseable la posibilidad de compresión de imágenes en vivo sin pérdidas de datos, tanto brutos como procesados.
- Debe ser capaz de guardar datos brutos sin procesar, incluyendo datos de superresolución para analizar con un software independiente.
- Control ambiental: Sistema de incubación tipo cabina y tapa que cubra la platina XY así como los objetivos del microscopio. Todos los paneles deben ser opacos para que no sea necesario apagar la luz de la sala. Debe permitir el control a través del software de la temperatura (desde temperatura ambiente hasta  $37^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ ) y el  $\text{CO}_2$ , compatible con objetivos de inmersión. El acceso al compartimento de muestra debe ser sencillo y poseer iluminación tipo LED para facilitar la visualización. Debe incluir sensores para la monitorización de temperatura. Adicionalmente el software debe permitir la monitorización de la temperatura a lo largo del experimento y posibilidad de guardar estos datos.

## 5. Plan de instalación

La empresa ofertante debe describir las previsiones de instalación, ejecución de esta, así como las características / requerimientos de la ubicación necesarios para la correcta puesta en marcha del equipo (espacio, tomas de corriente, conexión a la red, tomas de gases, etc.). Deberá aportarse dentro del plan de instalación:

- Propuesta de actuaciones previas a la instalación
- Plan de actuación para instalación



- Cronograma de instalación hasta su puesta a punto

## 6. Plan de formación

La empresa ofertante debe describir el plan de formación que permita al personal técnico de la Unidad de Microscopía Óptica Avanzada del CRG operar tanto las funciones básicas del equipo como las avanzadas.

Además, la empresa ofertante debe proporcionar e incluir formación sobre el mantenimiento del sistema dirigido a personal técnico de instalaciones de microscopía.

## 7. Soporte Técnico-Applicativo remoto

La empresa ofertante debe describir el plan de Soporte que permita al personal técnico aclarar dudas técnicas y aplicación, y además debe ofrecer, al menos, 1 año de garantía.

## 8. Sistemas de control para la ejecución del contrato

La empresa ofertante describirá los sistemas de control que utilizará para garantizar una ejecución correcta del contrato y a la vez asegurar una información específica respecto al desarrollo de los trabajos y de las incidencias que eventualmente puedan producirse.

## 9. Financiación

El objeto del presente contrato está cofinanciado, por una parte, con fondos del **proyecto EQC2024-008350-P financiado por MICIU/AEI /10.13039/501100011033 y por FEDER, UE**, y por otra parte, con los fondos internos del centro provenientes de la Generalitat de Catalunya.

Barcelona, 4 de junio de 2025

ÒRGAN DE CONTRACTACIÓ CRG

SIGNATURA