

Visokozmogljiv integriran sistem za mikroplošče s sprotnim slikanjem za neprekinjeno spremljanje celičnih procesov po elektroporaciji - tehnične specifikacije

SKLOP 1: Čitalec mikrotitrskih plošč z možnostjo sprotnega slikanja celic

Splošne zahteve:

- Meritev fluorescence, luminiscence in absorbance na osnovi vira svetlobe ksenonske UV žarnice in monokromatorja;
- Vsaj naslednji načini merjenja: meritev končne točke, kinetično merjenje, spektralno skeniranje in skeniranje površine celotne jamice;
- Uporaba mikrotitrskih plošč s 6, 24, 48, 96 in 384 jamicami in z možnostjo večih meritev znotraj iste jamice;
- Uporaba mikroskopskih stekelc, Petrijevih posodic, posod za celične kulture (T25), števnik komor (hemocytometer);
- Temperaturna regulacija: 4-conska inkubacija, segrevanje do vsaj 60 °C, z odstopanjem od ± 0.3 °C pri 37 °C in nadzorom kondenzacije;
- Možnosti načina stresanja: vsaj linearno in orbitalno;
- Nadzor CO₂: območje vsaj 0-20 % CO₂;
- Dimenzije največ (Š × V × G): 50 × 60 × 55 cm;
- Vsaj dve (2) licenci programske opreme;
- Programska oprema z možnostjo hitrega zajema slik (najmanj 10 slik/s), spremljanja dolgotrajnejših celičnih procesov (vsaj do 4 dni) in zlaganje slik po Z osi (do vsaj 180 optičnih rezin na tridimenzionalne vzorce), možnost vizualizacije in obdelave slik (izravnavo ozadja za izboljšanje razmerja signal/šum, sestavljanje slik) in možnost napredne analize slik (štejeje celic na zajeti sliki in prav tako neposredno na vzorcu ter uporabo vsaj dveh mask pri analizi slik).

Fluorescenca:

- Metoda detekcije s fotopomnoževalko (PMT);
- Naprava pri fluorescenci podpira merjenje z zgornje in spodnje strani plošče;
- Uporaba sistema štirih monokromatorjev (dva za ekscitacijo in dva za emisijo);
- Meritve fluorescence v razponu vsaj 250-700 nm in širini monokromatorja vsaj 9-50 nm, v korakih po 1 nm ali manjših;
- Občutljivost vsaj 0.25 fmol na jamico pri 384-ploščici (pri meritvah od zgoraj) in vsaj 0.4 fmol na jamico pri 96-ploščicah (pri meritvah od spodaj);
- Hitrost detekcije pri 96-ploščicah ≤ 15 sekund na ploščico oz. pri 384-ploščicah ≤ 30 sekund na ploščico.

Luminiscenca:

- Meritve luminiscence v razponu vsaj 300-700 nm;
- Občutljivost vsaj 20 amol na jamico.

Absorbanca:

- Meritve absorbance v razponu vsaj 230 – 999 nm, v korakih po 1 nm;
- Valovna natančnost: ± 2 nm ali boljša;
- Razpon od vsaj 0 – 4, natančnost od ≤ 1 % pri 2,0 OD, ≤ 3 % pri 3,0 OD;
- Ločljivost vsaj 0,001 OD;
- Hitrost detekcije pri 96-ploščicah ≤ 15 sekund na ploščico oz. pri 384-ploščicah ≤ 30 sekund na ploščico.

Mikroskopija:

- Načini slikanja: fluorescenca, fazni kontrast, svetlo polje, visokokontrastno svetlo polje, barvno svetlo polje;
- Metode slikanja: enobarvno, večbarvno, spremljanje kinetike, z-zlaganje;
- 16-bitna sivinska kamera s širokim vidnim poljem;
- Avtomatiziran nosilec z vsaj petini (5) zamenljivimi fluoritnimi objektivni: 4x objektiv z N.A. ≥ 0.13 in faznim kontrastom; 10x objektiv z N.A. ≥ 0.3 in faznim kontrastom; 20x objektiv z N.A. ≥ 0.45 ; 40x objektiv z N.A. ≥ 0.60 ; 60x objektiv z N.A. ≥ 0.70 ;
- Vsaj 4 uporabniško zamenljive filter kocke, vključno s kanalom za svetlo polje;
- Vključeni vsaj 4 filtri za naslednja barvila/kanale: DAPI, GFP, Cy5, TRITC;
- Možnost samodejnega ostrenja na osnovi slike, samodejnega laserskega ostrenja in samodejne osvetlitve.
- Hitrost zajema slik:
 - Z ostrenjem na osnovi slike pri 4x objektivu, pri 96 ploščicah, pri uporabi enega kanala: ≤ 8 min oz. pri uporabi vsaj treh kanalov: ≤ 14 min.
 - Z laserskim ostrenjem: pri 4x objektivu, pri 96 ploščicah, pri uporabi enega kanala: ≤ 5 min oz. pri uporabi vsaj treh kanalov: ≤ 10 min.

Dodatne zahteve:

- Ustrezen zmogljiv računalnik, zaslon, miška, tipkovnica;
- Prisotnost pooblaščenega servisa v Sloveniji, odzivnost servisa med delavniki v roku 48 ur od prijave napake v delovanju;
- Vključena vsaj 3-letna (36-mesečna) garancija;
- Začetno šolanje uporabnikov in možnost tehnične podpore v prihodnosti.

SKLOP 2: Sistem za visokoučinkovito transfekcijo

- Delovna temperatura: od vsaj +15 °C do +40 °C;
- Omogoča reakcije v volumnih vsaj 20 μ L (jamic) in vsaj 100 μ L (kivete);
- Omogoča zaporedno transfekcijo več vzorcev v jamicah (najmanj 10 vzorcev) ali v kivetah (najmanj 2 vzorca);
- Hitrost transfekcije za 10 vzorcev je ≤ 1 min;
- Sistem vključuje elektroporacijske kivete oz. elektrode iz komponent, ki preprečujejo sproščanje kovinskih ionov med elektroporacijo;
- Obstoječi pripravljeni protokoli s strani proizvajalca, ki omogočajo transfekcijo DNA, RNA, oligonukleotidov, RNP-jev, proteinov ali peptidov;
- Pred pripravljene protokole je možno optimizirati za različne tipe celic;
- Omogoča transfekcijo vsaj od 10⁴ do 10⁷ celic;
- Dimenzije največ (Š × V × G): 35 x 35 x 40 cm;
- USB-priključek za posodobitev programske opreme in prenos podatkov;
- Prisotnost pooblaščenega servisa v Sloveniji, odzivnost servisa med delavniki v roku 48 ur od prijave napake v delovanju;
- Vključena vsaj 3-letna (36-mesečna) garancija.

High-throughput system allowing analysis of electroporation-induced cellular dynamics – technical specifications

SUBSYSTEM 1: A multi-mode plate reader with fluorescent real-time imaging and CO2 control

General requirements:

- Measurement of fluorescence, luminescence, and absorbance based on a xenon UV light source and a monochromator
- At least the following measurement modes: endpoint, kinetic, spectral scanning, and full-well area scanning;
- Compatibility with microplates of 6, 24, 48, 96, and 384 wells, with the possibility of multiple measurements within the same well;
- Compatibility with microscope slides, Petri dishes, cell culture flasks (T25), and counting chambers (hemocytometer);
- Temperature control: 4-side incubation, heating up to at least 60 °C, with an accuracy of ± 0.3 °C at 37 °C, and condensation control;
- Shaking modes: at least linear and orbital;
- CO₂ control: range at least 0–20% CO₂%;
- Maximum dimensions (W × H × D): 50 × 60 × 55 cm;
- At least two (2) software licenses;
- Software enabling high-speed image acquisition (a minimum of 10 frames/s), long-term monitoring of cellular processes (at least up to 4 days), and Z-stack imaging of up to 180 optical slices for 3D samples; including image visualization and processing (background flattening to improve signal-to-noise ratio, image stitching) and advanced image analysis capabilities (cell counting on acquired images and live sample, and the use of at least two masks in image analysis).

Fluorescence:

- Detection method using a PMT
- The instrument supports fluorescence measurements from both the top and bottom of the plate;
- Measurement range of at least 250–700 nm, with a monochromator bandwidth of at least 9–50 nm in 1 nm or smaller increments;
- Use of quadruple monochromators (2 double monochromators, one pair for excitation and another for emission);
- Sensitivity of at least 0.25 fmol per well in 384-well plates (top reading) and at least 0.4 fmol per well in 96-well plates (bottom reading);
- Reading speed for 96-well plates ≤ 15 seconds per plate and for 384-well plates ≤ 30 seconds per plate.

Luminescence:

- Measurement range of at least 300–700 nm;
- Sensitivity of at least 20 amol per well.

Absorbance:

- measurement range of at least 230–999 nm in 1 nm increments;
- Wavelength accuracy: ± 2 nm or better;
- OD range of at least 0–4, OD accuracy $\leq 1\%$ at 2.0 OD and $\leq 3\%$ at 3.0 OD;
- Resolution of at least 0.001 OD;
- Detection speed for 96-well plates ≤ 15 seconds per plate and for 384-well plates ≤ 30 seconds per plate.

Microscopy:

- Imaging modes: fluorescence, phase contrast, brightfield, high-contrast brightfield, color brightfield;
- Imaging methods: single-color, multi-color, kinetic imaging, Z-stacking;
- 16-bit grayscale wide field-of-view (WFOV) camera;
- Automated turret with at least five (5) user-replaceable fluorite objectives: 4× objective with N.A. ≥ 0.13 and phase contrast; 10× objective with N.A. ≥ 0.30 and phase contrast; 20× objective with N.A. ≥ 0.45 ; 40× objective with N.A. ≥ 0.60 ; 60× objective with N.A. ≥ 0.70 ; OD range of at least 0–4, OD accuracy $\leq 1\%$ at 2.0 OD and $\leq 3\%$ at 3.0 OD;
- At least 4 user-replaceable filter cubes, including a brightfield channel;
- At least 4 filter sets included for the following dyes/channels: DAPI, GFP, Cy5, TRITC;
- Capability for image-based autofocus, laser autofocus, and automatic exposure.
- Image acquisition speed:
 - With image-based autofocus, using the 4× objective, a 96-well plate, and one channel: ≤ 8 min; or using at least three channels: ≤ 14 min.
 - With laser autofocus, using the 4× objective, a 96-well plate, and one channel: ≤ 5 min; or using at least three channels: ≤ 10 min.

Additional Requirements:

- Appropriate high-performance computer, monitor, mouse, and keyboard;
- Availability of an authorized service provider in Slovenia, with a response time within 48 working hours from the reporting of a malfunction;
- Warranty of at least 3 years (36 months) included;
- initial user training and availability of technical support in the future.

SUBSYSTEM 2: High-efficiency transfection system

- Operating temperature range: at least +15 °C to +40 °C;
- Enables reactions in volumes of at least 20 μ L (wells) and at least 100 μ L (cuvettes);
- Enables sequential transfection of multiple samples in wells (a minimum of 10 samples) or in cuvettes (a minimum of 2 samples);
- Transfection speed for 10 samples ≤ 1 minute;
- The system includes electroporation cuvettes or electrodes made of components that prevent the release of metal ions during electroporation;
- Manufacturer-provided pre-optimized protocols enabling transfection of DNA, RNA, oligonucleotides, RNPs, proteins, or peptides;
- Pre-optimized protocols can be further adjusted for different cell types;
- Enables transfection of at least 10⁴ to 10⁷ cells;
- Maximum dimensions (W × H × D): 35 x 35 x 40 cm;
- USB port for software updates and data transfer;
- Availability of an authorized service provider in Slovenia, with a response time within 48 working hours from the reporting of a malfunction;
- Warranty of at least 3 years (36 months) included.