



## SCHEDA DI UTILIZZO STRUMENTO

### MICROSCOPIO CONFOCALE STELLARIS 5 CON WHITE LIGHT LASER

---

#### Informazioni Generali

**Strumento:** Microscopio confocale STELLARIS 5 con White Light Laser

**Marca:** Leica

#### Ubicazione:

CRIETT – Padiglione Bassani

Via J.H. Dunant n°5, Varese

Piano: -1 (VA. BASSANI PS.007.0)

#### Referente:

- Dott. Maristella MASTORE

E-mail: [maristella.mastore@uninsubria.it](mailto:maristella.mastore@uninsubria.it)

Telefono: 0332 39 7191

- Prof.ssa Silvia SACCHI

E-mail: [silvia.sacchi@uninsubria.it](mailto:silvia.sacchi@uninsubria.it)

Telefono: 0332 42 1504

#### Elenco Utilizzatori:

Dott.ssa Serena Baldin

Dott.ssa Isabella Barbiero

Dott. Roberto Ferrarese

Prof.ssa Greta Forlani

Dott.ssa Maristella Mastore

Dott.ssa Aurora Montali



Via O. Rossi, 9 – 21100 Varese (VA) – Italia

Tel. +39 033221 9330

Email: [criett@uninsubria.it](mailto:criett@uninsubria.it) - PEC: [ateneo@pec.uninsubria.it](mailto:ateneo@pec.uninsubria.it)

Web: [www.uninsubria.it](http://www.uninsubria.it)

P.I. 02481820120 - C.F. 95039180120

*Chiaramente Insubria!*



Prof.ssa Silvia Sacchi

Dott.ssa Serena Valastro

Dott.ssa Giorgia Valetti

**Percorso di formazione:** Sì\*

\*È previsto l'utilizzo autonomo dello strumento. La parte pratica prevede una formazione individuale (training di una settimana). Per la parte teorica, il referente fornirà una dispensa sui principi di funzionamento.

**Ticket per interni consultabile alla pagina intranet (accesso con credenziali di Ateneo):** <https://intranet.uninsubria.it/areadocumenti/ticket-strumenti-criett-utenti-interni>

**Tariffario per esterni consultabile alla pagina web:** [www.uninsubria.it/criett](http://www.uninsubria.it/criett)

**Tracciabilità prestazioni CRIETT su riviste scientifiche (vedi Regolamento CRIETT art.11):** È obbligatorio menzionare negli *acknowledgements* delle pubblicazioni scientifiche la Grande Attrezzatura afferente al CRIETT utilizzata, secondo la seguente formula:

*"The scientific support from CRIETT centre of University of Insubria (instrument code: MIC03) is greatly acknowledged".*

**Codice strumento:** MIC03

---

## Modalità di Accesso

### 1. Accesso diretto (Self-Service)

**Chi:** Gruppi di ricerca o utenti che utilizzano lo strumento in modo continuativo e hanno ricevuto formazione specifica.

**Modalità:** L'utente formato può accedere e utilizzare autonomamente lo strumento, effettuando la prenotazione online.

### 2. Accesso con tecnico scientifico (Full-Service)

**Chi:** Gruppi di ricerca che usano la strumentazione saltuariamente, utenti esterni o chi non ha un proprio personale qualificato.





**Modalità:** L'accesso avviene tramite l'assistenza del personale tecnico dedicato, che gestisce la prenotazione e l'uso dello strumento.

3. **Utente occasionale/provisorio:** può accedere allo strumento mediante il Referente o tramite un Utilizzatore

---

### Descrizione e Funzionalità

- Microscopio rovesciato da ricerca Leica DMi8 CS completamente motorizzato

Componenti principali:

- Revolver porta obiettivi: motorizzato, 6 posizioni
- Illuminazione per fluorescenza: EL6000 Lampada a alogenuro metallico 120W  
Durata >2000 ore
- Filtri per epifluorescenza: Long Pass per DAPI, FITC, Rodamina
- Detector: 3 × Power HyD S, indipendenti, alta efficienza quantica ( $QE \geq 58\%$  @ 500 nm)
  - Modalità di lavoro: analogico, riflessione, photon counting
  - Gamma spettrale: 410–850 nm
  - Photon Detection Efficiency: > 58%, dead time < 1.3 ns, fino a 160 Mcts (laser continuo)
  - Sistema di rilevazione spettrale puro (senza filtri o dicroici) basato su prisma ad alta trasmissione (> 95%)
  - Bande regolabili da 5 nm con step di 1 nm
  - Adattabile a nuovi fluorocromi o combinazioni multiple
- Funzione Lambda Scan (emissione ed eccitazione):
  - Acquisizione di spettri completi di emissione ed eccitazione
  - Supporta Lambda Square per correlazione eccitazione/emissione



- AOBS (Acousto-Optical Beam Splitter):
- Beam splitter programmabile e automatico, selettivo e adattabile
- Consente uso simultaneo di fino a 8 sorgenti laser (485–685 nm + 405 nm)
- Massimizza la trasmissione della luce verso i detector
- Formato massimo di scansione: 8192 × 8192 pixel
- Modulo di super risoluzione
- STELLARIS 5 è dotato di modulo Lightning, una soluzione di Super Resolution (SR) basata su un metodo proprietario di deconvoluzione adattiva, che permette di ottenere una risoluzione sul piano xy di 120 nm (in tutto lo spettro del visibile) e 200 nm sull'asse z e che permette l'acquisizione simultanea di fluorescenze multiple in modalita SR in tempo reale con velocita di scansione di 10 fps a 512 × 512 pixel. Lightning migliora inoltre il rapporto Segnale/Rumore dell'immagine.
- È possibile acquisire fino a 3 fluorocromi in simultanea e in super risoluzione, in tempo reale.

#### **Laser Bianco**

- potendo utilizzare qualsiasi lunghezza d'onda di eccitazione tra 485nm e 790nm
- White Light Laser (WLL) pulsato, regolabile da 485 a 685 nm con step di 1 nm (≈200 linee laser).
- Consente l'eccitazione ottimale per qualsiasi fluorocromo, riducendo fototossicità e photobleaching e migliorando SNR.
- Supporta marcature multiple, 8 laser simultanei, e funzioni avanzate come Lambda Square e TauSense (analisi del tempo di vita di fluorescenza).
- Include anche un laser 405 nm continuo.

#### **Software e funzionalità avanzate:**

- Integrazione con modulo software Navigator, permette acquisizione di mosaici

- Funzione di stitching avanzato

### **Lightning**

- La componente "Lightning" è un'innovativa tecnologia di elaborazione dell'immagine basata su de-convoluzione adattiva, che utilizza l'intelligenza artificiale per migliorare la risoluzione (fino a 120nm laterale e 200nm assiale) e estrarre più dettagli dai campioni, anche in condizioni di acquisizione multicanale.
- Tecnologia Lightning: Software basato sull'elaborazione adattiva che utilizza l'IA per la deconvoluzione dei dati, migliorando la risoluzione e fornendo immagini più nitide e dettagliate rispetto a un microscopio confocale standard. La deconvoluzione adattiva in un microscopio confocale è un metodo di elaborazione digitale delle immagini che migliora la nitidezza e la risoluzione. Invece di limitare la sfocatura tramite i pinhole del microscopio (metodo standard), questa tecnica applica algoritmi a un'immagine già acquisita per correggerne la sfocatura, riposizionando i fotoni dalle aree fuori fuoco al piano focale corretto. Il risultato è un'immagine più definita, più brillante e con un contrasto migliorato.

### **Come funziona:**

- Acquisizione iniziale: Inizialmente, il microscopio acquisisce un'immagine che, pur essendo già migliore di quella di un microscopio tradizionale, presenta ancora una sfocatura dovuta all'ottica.
- Correzione digitale: Il software del microscopio applica un algoritmo di deconvoluzione (come il Richardson-Lucy) per rimuovere la sfocatura. Questo processo "inverte" l'effetto della Point Spread Function (PSF) e riassegna la luce al punto corretto da cui proviene.
- Miglioramento dell'immagine: L'immagine finale appare più nitida, con dettagli più definiti e un maggiore contrasto, poiché la luce che contribuiva alla sfocatura viene recuperata e integrata nella struttura corretta.
- Vantaggi: L'uso di questa tecnica permette di ottenere immagini di qualità superiore, soprattutto in situazioni in cui l'acquisizione iniziale potrebbe non essere ottimale, offrendo un miglioramento significativo della risoluzione.



**Caratteristiche tecniche:**

- Tavolino traslatore motorizzato (Scanning Stage)
- Compatibile con:
- Vetrini portaoggetto standard
- Piastre Petri (24–68 mm) adatte per confocale (con fondo ottico, vetro o polimero ottico #1.5, spesso 0.17 mm)
- Multiwell plates

**Obiettivi**

**disponibili:**

20X (Aria) – 40X (Olio) – 63X (Olio)

- Limite fisico degli obiettivi: La profondità massima è dettata dalla WD dell'obiettivo. Ad esempio:
  - 20x/0.75 (Aria): ~620  $\mu\text{m}$ .
  - 40x/1.30 (Olio): ~240  $\mu\text{m}$ .
  - 63x/1.40 (Olio): ~140  $\mu\text{m}$ .
- Limiti ottici: Oltre i 100  $\mu\text{m}$ , la diffusione della luce (*scattering*) in tessuti non trattati riduce drasticamente la qualità dell'immagine.

---

**⚠ Avvertenze di Sicurezza**

- Utilizzare solo dopo percorso di formazione
  - Non toccare le ottiche direttamente con le dita
  - Pulire accuratamente dopo l'uso, in particolare dopo l'utilizzo di obiettivi ad olio
  - In caso di dubbi o anomalie, contattare il tecnico/referente
- 





### Note Operative

- La prenotazione dello strumento è obbligatoria tramite il sistema di gestione interna
- L'utilizzo in modalità Self-service è consentito solo agli utenti formati e registrati o (autorizzati)
- Eventuali malfunzionamenti vanno segnalati tempestivamente al personale del CRIETT

---

### Materiali e accessori per analisi forniti dal CRIETT

- carta per ottiche
- olio
- Etanolo 70%

### Materiali e accessori per analisi a cura dell'utente

- montante, coprioggetto

