

Acquisition d'un système
d'imagerie confocale haute
résolution dédié aux organoïdes

1. OBJET DE LA PRESTATION.....	2
2. CONTEXTE DES PRESTATIONS.....	3
3. CONDITIONS DE RÉALISATION DES PRESTATIONS	5
4. DESCRIPTION DES EQUIPEMENTS ATTENDUS	5
5. GARANTIE ET SERVICE APRES-VENTE	9

Sélectionner le sommaire, appuyer sur la touche F9 (ou Fn+F9) pour mettre à jour la numérotation des pages.

1. OBJET DE LA PRESTATION

■ Objet de la prestation :

Ce contrat porte sur l'acquisition et l'installation d'un système d'imagerie confocale haute résolution. Celui-ci sera dédié à l'analyse d'organoïdes, de sphéroïdes complexes (modèles de culture 3D intégrant cellules tumorales, fibroblastes et cellules immunitaires) ainsi qu'à l'étude de coupes de tissus. L'objectif est de visualiser et quantifier les variations d'infiltration de composés fluorescents, les populations cellulaires, ainsi que les modifications calciques et métaboliques en fonction du temps.

Ce système devra permettre :

- le suivi de l'infiltration des cellules immunitaires au sein des sphéroïdes ;
- l'observation de l'incorporation de composés fluorescents dans ces modèles 3D complexes ;
- l'imagerie en conditions contrôlées sur plusieurs heures, incluant la régulation des gaz et de la température.

L'équipement devra comporter au minimum quatre objectifs et être doté d'un système d'injection permettant l'ajout de composés en cours d'acquisition.

Enfin, le système devra inclure des logiciels d'analyse avancés, adaptés à l'étude de paramètres variés : morphologie, taille, circularité, quantification des cellules infiltrantes, suivi de fluorescence et analyse temporelle.

■ Lieu d'exécution :

Inserm UMR1069 Niche, Nutrition, Cancer et métabolisme Oxydatif (N2COx), UFR de Médecine, Bâtiment Dutrochet 4ème étage 10 Boulevard Tonnellé, 37032, Tours Cedex

■ Intervenants :

Les prestations sont réalisées pour le compte de l'acheteur **Université de Tours**, Établissement public à caractère scientifique, culturel et professionnel, représenté par son Président.

Adresse et coordonnées :

Université de Tours - BP 12050
60 rue du Plat D'Etain
Tours
37020 Tours Cedex 1
Téléphone : 02 47 36 66 00
Courriel : commande-publique@univ-tours.fr

Site internet : www.univ-tours.fr

■ **Structure et forme du contrat**

La forme retenue pour l'exécution du contrat est **ordinaire**.

2. CONTEXTE DES PRESTATIONS

■ Contexte général :

L'acquisition de ce système d'imagerie confocale haute résolution est motivée par le besoin d'étudier de manière fine et dynamique les variations de calcium cytosolique et intra-organellaire dans des modèles biologiques avancés. L'équipement sera utilisé sur des organoïdes, des coupes de tissus organotypiques, ainsi que sur des modèles 3D complexes de sphéroïdes comprenant des fibroblastes, des cellules tumorales et des cellules immunitaires, reproduisant au plus près le microenvironnement tumoral.

■ Objectifs scientifiques :

L'objectif est de caractériser la signalisation calcique en suivant simultanément les variations de Ca^{2+} dans le cytosol et dans les organites (réticulum endoplasmique, mitochondries) en réponse à divers facteurs micro-environnementaux. L'utilisation d'indicateurs chimiques du calcium et de sondes génétiquement encodées permettra d'obtenir des informations spatio-temporelles précises sur ces processus.

Enjeux technologiques et fonctionnels :

Afin de garantir la pertinence physiologique des expériences menées sur des modèles 3D vivants, le système devra intégrer :

- une chambre d'incubation avec contrôle précis des gaz, notamment CO_2 et O_2 , et de la température, et de l'humidité assurant un suivi expérimental sur plusieurs heures ;
- un système d'injection et de perfusion, permettant l'ajout de composés (médicaments, inhibiteurs, sondes fluorescentes, etc.) pendant l'acquisition ;
- idéalement, un système automatisé de lavage des échantillons, intégrable au dispositif d'imagerie, afin de faciliter les cinétiques de stimulation.

Idéalement, un module ou un outil du suivi du métabolisme cellulaire en temps réel des structures cellulaires 3D.

■ Analyse des modèles 3D et quantification :

Le système devra permettre :

- l'imagerie fluorescente en temps réel pour suivre l'infiltration de cellules immunitaires marquées au sein des sphéroïdes ;
- l'analyse de l'incorporation de molécules fluorescentes ou de métabolites afin d'étudier leurs effets sur la structure 3D ;
- la quantification du nombre de cellules infiltrantes ou internes ainsi que de leur distribution ;
- la mesure de paramètres morphologiques tels que, le devenir d'un substrat métabolique fluorescent, la taille, circularité, opacité, nécrose, apoptose ou prolifération au cours du temps.

Ces fonctionnalités devront être accompagnées de logiciels d'analyse performants permettant le traitement avancé de données 3D et temporelles (tracking cellulaire, segmentation, analyse multiparamétrique, etc.).

■ Impact scientifique et mutualisation :

Cet équipement jouera un rôle central dans plusieurs projets visant à clarifier les liens fonctionnels entre calcium mitochondrial et cytosolique, ainsi que dans l'étude des interactions entre cellules tumorales et immunitaires dans un cadre physiopathologique et de discussion immunométabolique. Il sera mis à disposition de plusieurs unités de recherche, permettant de renforcer les collaborations et de soutenir le développement de la plateforme technologique.

■ Cadre d'utilisation :

Cette solution instrumentale est exclusivement destinée aux activités de recherche et ne sera pas utilisée à des fins cliniques ou pédagogiques.

■ Données relatives au lieu de réalisation des prestations :

L'équipement sera à livrer à :

Université de Tours

Faculté de médecine

Laboratoire Niche, Nutrition, Cancer et métabolisme Oxydatif (N2COx) – U1069

10 boulevard Tonnellé
Bâtiment A – 4^e étage
37032 TOURS cedex 1

Contact technique : Maxime GUEGUINOU Email : maxime.gueguinou@univ-tours.fr Tel : 02 47 36 61 24

Le bâtiment Dutrochet où est localisé le laboratoire dispose d'un ascenseur.

3. CONDITIONS DE RÉALISATION DES PRESTATIONS

■ Normes et réglementation applicables :

L'équipement doit être conforme aux normes de sécurité en vigueur et équipé de tous les éléments et organes de sécurité nécessaires à la protection des individus, notamment pour l'utilisation de sources laser.

Conditions de livraisons :

L'équipement devra être livré et installé à l'adresse indiquée selon les conditions FCA (Free Carrier).

Seront réalisées :

- Une **vérification d'aptitude** (première étape) concernant le fonctionnement des différents équipements livrés lors de leur mise sous tension
- Une **vérification de service régulier** (seconde étape) ayant pour objet de constater que les prestations fournies sont capables d'assurer un service régulier dans les conditions normales d'exploitation

Modalités de formation :

Le marché inclut à la charge du Titulaire la dispense de formations aux utilisateurs :

- **Deux sessions de formation sur site** à l'utilisation de l'instrument et de ses logiciels
- Formation à la maintenance de premier niveau
- Maximum 8 personnes par session

Les exigences minimales concernant la documentation relative à l'instrument sont les suivantes : documentation complète et détaillée (plans et notices) fournie en français et/ou anglais.

4. DESCRIPTION DES EQUIPEMENTS ATTENDUS

■ Spécifications techniques :

Les spécifications techniques définies au présent CCTP constituent le niveau minimal de performances et de fonctionnalités que doit impérativement atteindre l'équipement proposé.

Il est précisé que certains équipements peuvent intégrer, de manière native, une ou plusieurs technologies complémentaires allant au-delà des exigences minimales définies.

Les exigences minimales prévues au présent CCTP constituent le socle commun et obligatoire.

Système d'imagerie confocale pour organoïde:

Le système devra comprendre les caractéristiques et composants suivants :

Le système devra pouvoir être installé sur des paillasse de laboratoire ou si ce n'est pas possible le fournisseur devra proposer une solution pour son installation (exemple table antivibrante...)

Source d'illumination laser :

- Source d'illumination laser à plusieurs canaux, minima 6 couvrant le spectre suivant :
 - 405 +/- 10 nm (DAPI)
 - 445 +/- 10 nm (CFP)
 - 475 +/- 10 nm (FITC/GFP)
 - 520 +/- 10 nm (RFP)
 - 555 nm +/- 10 (TRITC)
 - 640 nm +/- 10 (Cy5)

Système de détection et filtres :

- Filtres et miroirs dichroïques pour détection sur 4 canaux : DAPI, FITC, RFP, Cy5, plus le Champ clair.

Le titulaire s'engage à fournir les courbes de transmission réelles des filtres d'excitations, des filtres d'émissions et des miroirs dichroïques.

Objectifs :

Le système sera équipé d'au minimum quatre objectifs, choisis parmi les propositions suivantes, sans que cette liste soit limitative :

- Objectif 4x Plan Apochromat D, 0.16 NA, ou équivalent (inclus)
- Objectif 10X Plan Fluorite 0.3 NA ou équivalent (inclus)
- Objectif 20X Plan Fluorite 0.45 NA ou équivalent (inclus)
- Système d'immersion à eau 40X et 60X comprenant :
 - Objectif 40X APO LWD 1.15 NA à immersion dans l'eau ou équivalent (inclus)
 - Objectif 60X APO immersion
- Objectif 40X APO 0.95 NA short working distance sans immersion ou équivalent.
-

Le changement d'objectif sera motorisé.

Le titulaire s'engage à fournir les courbes de transmissions réelles de chaque objectif.

Système d'imagerie brightfield :

- Contrôle environnemental avec LED pour imagerie en lumière transmise (brightfield) avec objectifs de grossissement compatible 1.25x à 60x

- La LED est intégrée dans le l'instrument.
- Alimentation 240 VAC

Système de contrôle environnemental :

- **Mélangeur de gaz** pour systèmes confocale
 - Mélange de CO₂, O₂ et air
 - Flux et mélange contrôlés et stabilisés électroniquement
 - Pour time-lapses à long terme de cellules vivantes saines et précis
- Porte-plaques compatible robotique pour utilisation avec contrôle environnemental
- **Régulation de la température** avec contrôle anti-condensation **pour les cinétiques longues.**
- **Contrôle de l'humidité pour cinétique longue.**

Système de fluidique et sécurité laser :

- Environnement sécurisé laser et combinaison fluidique pour source lumineuse laser

Compatibilité automation :

- Instrument construit comme compatible automation pour expédition au client

Hardware et software :

Ordinateurs d'acquisition et d'analyse :

- 1 Station fourni avec l'imageur pour les organoïdes
- Stations de travail avec >6 ports USB et multiples entrées vidéo
- Configuration minimale : Windows, mémoire vive (RAM) de 8GB minimum
- Disque dur d'une capacité suffisante

Logiciel informatique d'analyse:

- Logiciel d'acquisition et d'analyse d'images préchargé et configuré
 Le logiciel devra permettre de réaliser des acquisitions avec les modalités suivantes, avec la possibilité de les combiner :
 - Contraste / Brightfield
 - Mosaïques
 - Time lapse
 - Multi-point
 - Série en Z
 - Auto-focus
 - Calcul de ratio automatique à l'acquisition

- Modules d'analyse personnalisables

Station d'analyse (Workstation) avec GPU :

- 1 Station de travail avec GPU pour traitement déporté du laboratoire.
- Configuration minimale : mémoire vive (RAM) suffisante, disques SSD pour manipulation rapide des fichiers

Logiciel d'analyse avancée :

- Logiciel d'analyse d'images
- Préprocessing, nettoyage bruit de fond (1 siège à minima)
- Visualiseur 3D
- Des modules d'application intégrés :
- (A titre d'exemple mais non limitant)
 - Cell Cycle
 - Cell Circularity
 - Cell Health
 - Cell Scoring
 - Count Nuclei
 - Granularity
 - Live/Dead
 - Micronuclei
 - Mitotic Index
 - Calcium measurment
 - ATP production
 - Neurite Outgrowth
 - Translocation

Le logiciel devra permettre l'analyse avancée des acquisitions et notamment :

- L'amélioration de la qualité d'image avec outils d'élimination de la diffusion
- Réaliser des déconvolutions
- L'apprentissage automatisé de reconnaissance d'objets
- Traitement d'images d'objets 3D

Accessoires fournis :

- Kit d'outils avec porte-lames
- Ensemble d'adaptateurs pour différents supports (lames ou plaques ou dish)

- Joystick pour naviguer sagement dans le support.
- Module d'injection pour test de composé.

Évolutivité du système :

Le système sera modulable et évolutif vers les solutions suivantes :

- Acquisition conditionnelle avec analyse d'image (High content screening)
- Système de maintien de focus Hardware temps réel
- Platine motorisée XY
- Modules logiciels supplémentaires
- Les filtres pourront être changés facilement en fonction de l'évolution des projets de recherche
- Option 1 : Module de lavage de sphéroïdes
- Option 2 : Système d'imagerie épifluorescence pour organoïde :
- : Source d'illumination LED :
- Source d'illumination LED à plusieurs canaux, minima 4 couvrant le spectre suivant :
 - 405 +/- 10 nm (DAPI)
 - 445 +/- 10 nm (CFP)
 - 475 +/- 10 nm (FITC/GFP)
 - 520 +/- 10 nm (RFP)
 - 555 nm +/- 10 (TRITC)
 - 640 nm +/- 10 (Cy5)

Système de détection et filtres :

- Filtres et miroirs dichroïques pour détection sur 4 canaux : DAPI, FITC, RFP, Cy5, plus le Champ clair.

Option 3 Système d'imagerie avec Microscopie à nappe de lumière (Light sheet fluorescence microscopy) pour organoïde (incluant Objectifs et sources lumineuses adaptés)

Option 4 : Module de suivi de métabolisme cellulaire 2D/3D.

5. GARANTIE ET SERVICE APRES-VENTE

Garantie / SAV / Formation :

Le titulaire s'engage dans sa proposition technique sur un délai d'intervention, faute de quoi il sera fait application des pénalités définies au Cahier des clauses administratives particulières (CCAP).

Garantie :

- **Garantie de 2 ans minimum** couvrant pièces et main d'œuvre (fournie avec le système)
- Une **garantie de disponibilité des pièces après discontinuation du produit de 8 ans** est un minimum (objectifs, caméra, filtres, etc.)

Installation :

- **Une intervention d'installation sur site** incluse dans le contrat
- Le titulaire s'engage à installer l'ensemble du système

Formation :

- **Deux sessions de formation sur site** incluses
- Formation d'une journée par session, maximum 4 personnes par session.
- Formation à l'utilisation de l'instrument et de ses logiciels
- Formation à la maintenance de premier niveau

Support et SAV :

- Le titulaire doit être à même d'assurer des Services Après-vente en France
- Une documentation complète et détaillée (plans et notices) devra être fournie en anglais
- Le titulaire s'engage à fournir les mises à jour logicielles pendant la durée de garantie à minima.

Maintenance :

- Le titulaire s'engage à effectuer la maintenance de l'appareil pendant une durée minimale de 2 ans.
- Le délai dont dispose le titulaire pour effectuer une mise au point ou réparation au titre de la maintenance corrective ne saurait excéder 21 jours calendaires. S'il propose un délai plus court dans son offre, le titulaire est lié par celui-ci.

Sécurité :

- La machine doit être équipée de tous les éléments et organes de sécurité nécessaires à la protection des individus, notamment concernant la sécurité laser

Conditions de paiement :

Les paiements relatifs au présent marché seront effectués conformément aux modalités définies dans le CCAP.