



BioCampus Montpellier - UAR3426

**OBJET : ACQUISITION D'UN MICROSCOPE DÉDIÉ À
L'OPTOPROTÉOMIQUE GUIDÉE**

Article 1 : Objet du marché

Le présent marché a pour objet la fourniture d'un microscope compatible à une approche d'optoprotéomique, entièrement automatisé permettant le photomarquage (photobiotinylation) des protéines au sein de régions définies automatiquement dans des cellules ou dans un tissu. La reconnaissance des régions et la photoactivation devra se faire par analyse d'images de manière automatique et très rapide.

L'appareil doit être de conception ouverte permettant de larges utilisations pour des projets multiples, versatiles et d'utilisation conviviale pour l'utilisation en plateforme.

- Ce système devra répondre à certains points techniques décrits ci-après.

Dans ce cadre, le marché comporte au minimum les prestations suivantes :

- L'acquisition
- La livraison
- L'installation
- La mise en service
- La garantie
- La formation à l'utilisation

Article 2 : Caractéristiques techniques

Le descriptif technique de chacun des équipements est décrit ci-après :

1. Microscope 'optoproteomique'

Un système de microscopie complet, avec un statif d'un microscope inversé équipé des sources LED, d'une source laser pulsée, d'une caméra pour l'imagerie, d'une platine xy motorisée, d'un système de maintien de focus, d'une table antivibratoire.

Cet équipement devra permettre de faire la photobiotinylation in situ ultrarapide des protéines par un laser pulsé. Les régions ciblées seront détectées par un marquage en fluorescence, sur des échantillons fixés tels que des cultures cellulaires adhérentes ou des coupes de tissus.

Les spécifications techniques à respecter sont :

- Un statif inversé motorisé au niveau des trajets optiques (sorties latérales, binoculaires...), au niveau de la tourelle des objectifs (position et hauteur Z de l'objectif), et au niveau du changement de cubes à fluorescence, statif équipé d'un condenseur.
- Un système de maintien de focus fonctionnel quel que soit l'objectif fourni et avec des supports en fond lamelle de verre 0.17mm

- Un objectif 10X d'ouverture numérique (ON) autour de 0.45, un objectif 20X de ON autour de 0.80, et un objectif 40X d'ouverture autour de 0.95. Les trois objectifs auront la correction apochromatique de l'UV au proche IR.
- Parfocalité entre tous les objectifs
- Un set de filtres mono-bandes pour l'imagerie aux oculaires et l'acquisition d'images optimisé pour le canal DAPI, GFP, des marquages dans le rouge de type Cy3 et des marquages dans le rouge lointain de type Cy5.
- Une platine motorisée encodée qui permettra un repositionnement précis en XY et Z rapide et précis. Les dimensions de scan en XY doivent être au moins 57cmx36cm. Cette platine ne devra pas être trop fragile et compatible avec différents inserts à fournir : inserts pour boîte 35mm, inserts pour lame, insert pour boîte type ibidi 8 puits et pour plaque multi-puits.
- Système d'éclairage LED ou halogène pour la lumière transmise
- Système d'éclairage LED d'intensité réglable pour l'imagerie de fluorescence
- Laser pulsé femtosecond autour de 780 nm pour le photo-marquage de la biotine photo-activable dans les régions d'intérêt choisies par le logiciel, avec une puissance moyenne de 800mW minimum et une fréquence de pulses de l'ordre de 80MHz. Le laser doit être réglable en intensité de manière linéaire. La durée de vie devra être précisée.
- Système des miroirs galvanométriques installé dans le trajet optique du laser pulsé pour permettre le photo-marquage à haut vitesse et avec une excellente corrélation entre la région d'intérêt définie sur l'image et la zone scannée point à point. Tous les éléments pour une calibration devront être fournis.
- Système de détection de type capteur matriciel (sCMOS) pour l'imagerie de fluorescence. Un haut rendement quantique est demandé sur l'ensemble du spectre visible. Le fournisseur devra fournir les caractéristiques de rendement quantique et s'assurer qu'il répond de manière linéaire à un signal donné. Taille de pixel 6.5um ou inférieur, d'un champ minimum de 2048x2048 pixels

2. Une table anti-vibration active de taille minimum de 900x1200cm

3. Station informatique et logiciel

Le système sera installé avec sa propre station informatique. Conformément à notre démarche qualité, le fournisseur s'engage à installer un ordinateur de 6 mois d'âge maximum depuis sa date de production. La configuration de la station informatique doit correspondre au standard le plus élevé en termes de caractéristiques générales et supporter une taille de fichiers générés élevée par expérience (>200Go). Le système devra être fourni avec un écran à haute résolution (minimum 36" ou deux écrans de minimum 27").

Le système d'exploitation souhaité au minimum est Windows 11 LTSC. La version de Windows en cours devra bénéficier des mises à jour de sécurité de l'éditeur tout le long de l'exploitation du système, sinon la mise à jour de l'OS sera à la charge du fournisseur.

En cas de panne et en cours d'exploitation du système, la prise en main à distance pour les sessions de support se fera en priorité via les outils de la plateforme.

Le fournisseur s'engage à ne pas remonter des données automatiquement vers ses services. Les disques durs restent la propriété du CNRS, ils ne pourront en aucun cas être récupérés par le fournisseur.

L'ensemble du système optoproteomique sera piloté avec une licence logicielle proposée par le fournisseur. Ce logiciel devra contrôler de manière efficace et rapide l'ensemble des composants électroniques. Le logiciel proposé permettra de manière très intuitive d'acquérir des images multi-couleurs, aussi en mode z stack ou mosaïque. Le logiciel pilotera l'acquisition des images des échantillons qui sont marqués, il identifiera des régions d'intérêt en temps réel par traitement d'image classique ou par apprentissage profond. Ensuite il guidera le laser pulsé sur ces ROIs qui les illuminera pixel par pixel. Cette procédure sera répétée automatiquement sur des milliers de champs de vision garantissant une durée de quelques heures pour l'ensemble du processus sur des milliers de cellules ou des tissus entiers.

Le système de maintien de focus en z doit être aussi contrôlé de façon informatique. Toutes les mises à jour du logiciel seront automatiquement proposées et gratuites pendant au minimum la période de garantie. Les outils permettant la calibration du système ainsi que la documentation associée, le cas échéant, seront fournis.

- Tout outil matériel ou logiciel permettant de diagnostiquer ou calibrer régulièrement le système devra être fourni ainsi que les manuels d'utilisation associés.

Article 3 : Livraison

La livraison du matériel par le titulaire, s'effectue au maximum 14 semaines à compter de la notification du marché.

En présence du laboratoire, le titulaire installe et met en service le matériel sur le site :

MRI - CRBM
CNRS UMR 52371919, route de Mende
34 293 Montpellier cedex 05

Le système sera installé au rez-de-chaussée à 40 mètres de la zone de débarquement des livraisons.

▪ Jours et horaires de livraison : du lundi au vendredi de 9h00 à 12h00 et de 14h00 à 17h00

Article 4 : Tests sur site

A l'installation du système, en présence du laboratoire, les titulaires établissent un compte-rendu de vérification d'aptitude.

Ce compte rendu fait clairement apparaître le descriptif des tests réalisés sur site et les valeurs des mesures obtenues.

En parallèle, le représentant du laboratoire effectuera une série de tests, avec des performances attendues :

- Homogénéité d'illumination LED avec valeurs tolérées : centrage d'illumination (canal DAPI et GFP, tous les objectifs) > 50% et uniformité > 40%. Le calcul du centrage et de l'uniformité est fait selon la norme ISO 21073 : 2019.
- PSF pour l'objectif 40x : valeurs tolérées mesurés de FWHM: < 1.5x de la valeur FWHM théorique (défini à la norme ISO 21073 : 2019) en 3D
- co-alignement de l'objectif 40x aux 4 canaux (DAPI, GFP, Cy3, Cy5) avec valeurs tolérées : ratio de la distance entre 2 canaux en 3D < 1.3x le FWHM théorique en xyz.
- Test de la précision du photomarquage (biotinylation photoactive) par le laser pulsé afin d'avoir une précision de 350nm en XY et 1.5um en Z
- Capacité à faire des acquisitions avec maintien de focus : création de masques sur des structures marquées, photo activation par laser pulsé sur seulement ces ROIs de façon automatisée, afin de répéter ce pipeline sur une nuit sans aucun bug informatique
- Détecteur : valeur tolérée du bruit de lecture < 1.2x la valeur donnée dans la datasheet du produit mesurée pour cette caméra. Si une correction de pixels chauds ou froids est faite, elle doit être indiquée.
- Le logiciel est fluide pendant les acquisitions et les traitements des images, sans souci informatique.
- Les échantillons activés seront marqués par anticorps antibiotin et réimagés pour mesurer la corrélation entre les régions fluorescentes et les régions activées détectées par l'anticorps anti-biotin.

Le laboratoire s'engage à réaliser les tests dans les **30 jours suivants la formation**. Le PV d'admission sera signé lorsque les tests réalisés seront conformes au cahier des charges.

Article 5 : Installation et la mise en service

L'installation et la mise en service devra se faire en présence des ingénieurs du plateau dans un délai maximum de 10 jours ouvrés après la livraison. La coordination sera assurée par le référent technique du marché.

Article 6 : Formation

Deux formations sont demandées :

-Une formation de base à l'utilisation, en présentiel, qui sera dispensée sur site, destinée aux 3 ingénieurs du plateau MRI.

Cette formation sera d'une durée de 1 jour au moins et aura lieu dans un délai de 8 jours ouvrés après la mise en service.

-Une formation avancée, en présentiel, qui sera dispensée sur site, destinée aux ingénieurs du plateau MRI.

Cette formation sera d'une durée de 1 jour au moins et aura lieu dans les 6 mois après exploitation.

La proposition devra être détaillée.

Article 7 : Garantie

Le titulaire devra exécuter la garantie de la sorte :

L'équipement devra être garanti durant **3 ans**, incluant une visite préventive par an : pièces (PC et lasers inclus), main d'œuvre et déplacements compris.

La garantie commence à la signature d'admission du matériel (en d'absence de PV d'admission, le laboratoire utilisera le PV d'installation).

Le titulaire dans son offre technique démontre que sa structure SAV est en capacité de répondre aux exigences de fonctionnement de notre service et devra préciser ses engagements sur :

- délai pour avoir un technicien SAV au téléphone
- délai pour avoir un diagnostic à distance via le web
- délai pour avoir une assistance sur site
- délai de livraison d'une pièce
- délai de réparation après réception de la pièce neuve.
- action garantie en cas de dysfonctionnement chronique.
- durée sur laquelle la société s'engage à maintenir le système (réparation et remplacement des pièces)

Le fournisseur devra préciser :

- le nombre d'ingénieurs SAV présents en France et/ou en Europe et compétents/opérationnels sur l'équipement (Préciser localisation et nombre pour chacun des lieux).
- le ou les lieux où les pièces détachées pouvant servir à la réparation de l'instrument sont stockées.
- la norme ou les initiatives mises en place par l'entreprise pour intégrer les principes de développement durable et à fort impact environnemental.