

# microscopie

Anno XII - n.2 (24) - Settembre 2015



Attività SISM 2015

Microscopia Elettronica tra Bologna e Cambridge  
di Ugo Valdrè

Contributi scientifici del Workshop SISM



Società Italiana  
Scienze Microscopiche

[www.sism.it](http://www.sism.it)



**Presidente**

ELISABETTA FALCIERI  
Dipartimento di Scienze della Terra,  
della Vita e dell'Ambiente (DiSTeVA)  
Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"  
Campus Scientifico "E. Mattei", via Ca' Le Suore 2,  
61029 Urbino (PU)  
Tel/Fax +39.0722.304284  
E-mail: elisabetta.falcieri@uniurb.it

**Vicepresidenti**

ROBERTO BALBONI  
Istituto per la Microelettronica e i Microsistemi,  
CNR Bologna  
via P. Gobetti 101, 40129 Bologna  
Tel. +39.051.6399186 - Fax: +39.051.6399216  
E-mail: balboni@bo.imm.cnr.it

ANDREA TOMBESI

CIGS, Centro Interdipartimentale Grandi Strumenti  
Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia  
via Campi 213/a, 41125 Modena  
Tel. +39.059.2055232 - Fax: +39.059.2055600  
E-mail: andrea.tombesi@unimore.it

**Direttore responsabile del bollettino**

MANUELA MALATESTA  
Dipartimento di Scienze Neurologiche, Biomediche  
e del Movimento, Sezione di Anatomia e Istologia  
Università degli Studi di Verona  
strada Le Grazie 8, 37134 Verona  
Tel. +39.045.8027157/8425115  
E-mail: manuela.malatesta@univr.it

**Consiglieri**

CRISTIANO ALBONETTI  
Istituto per lo Studio dei Materiali Nanostrutturati (ISMN),  
CNR Bologna  
via P. Gobetti 101, 40129 Bologna  
Tel. +39.051.6398531/6398523/6398526  
Fax: +39.051.6398540  
E-mail: c.albonetti@bo.ismn.cnr.it

REGINA CIANCIO

IOM-CNR TASC  
Area Science Park Basovizza  
S.S. 14 Km 163.5, 34012 Trieste  
Tel. +39.040.3756467 - Fax: +39.040.226767  
E-mail: ciancio@iom.cnr.it

STEFANIA MESCHINI

Istituto Superiore di Sanità  
viale Regina Elena 299, 00161 Roma  
Tel. +39.06.49902783 - Fax: +39.06.4938 7140  
E-mail: stefania.meschini@iss.it

Organo Ufficiale della Società Italiana Scienze  
Microscopiche  
<http://www.sism.it>

**Direttore Responsabile**

Manuela Malatesta

**Comitato di Redazione**

Consiglio Direttivo della Società Italiana Scienze Microscopiche

**Editore**

PAGEPress s.r.l.  
via Giuseppe Belli 7  
27100 Pavia, Italy  
Tel. +39.0382.1751762 - Fax: +39.0382.1750481.  
[info@pagepress.org](mailto:info@pagepress.org) - [www.pagepress.org](http://www.pagepress.org)

**Stampa**

Press Up s.r.l.  
via La Spezia, 118/C 00055 - Ladispoli (RM)  
Tel. e Fax: +39.076152735.

Aut. Trib. n. 688 S.P. del 26 marzo 2008

In copertina: *Cellule HeLa incubate con il colorante fluore-*  
*scente PKH26 di Carlo Pellicciari e collaboratori.*

**Editoriale del Presidente**

3

**Attività SISM**

Verbale del CD di Febbraio 2015

6

Verbale dell'Assemblea Soci SISM 2015

10

Attività promosse dalla SISM nel 2015

15

**Notizie**

Le Università di Bologna e Cambridge: gemellaggio "de facto" in Microscopia Elettronica?  
*di U. Valdrè*

19

Eventi nazionali

24

Eventi internazionali

25

**Microscopist's Digest**

30

**Contributi scientifici**

Contributi del Workshop

31

*Microscopia elettronica e tecniche di imaging per lo studio degli alimenti*

Optical imaging in pills: techniques, instruments and applications

38

*F. Boschi, L. Calderan*

DAB photo-oxidation as a tool for detecting low amounts of free

45

and membrane-bounded fluorescent molecules at transmission electron microscopy

*C. Pellicciari, M. Biggiogera, M. Malatesta*

**ISCRIZIONE**

Possono iscriversi alla Società i ricercatori e gli operatori professionali comunque attivi nel campo delle diverse microscopie. Per l'iscrizione alla Società è necessario compilare la richiesta di associazione ed inviarla al Presidente. La scheda di associazione può essere compilata direttamente sul sito web della società all'indirizzo [www.sism.it](http://www.sism.it) oppure può essere reperita in questo periodico ed inviata via fax. Le richieste verranno valutate dal Consiglio Direttivo nella prima riunione utile e l'approvazione dei nuovi Soci sarà comunicata personalmente agli interessati. Dopo tale comunicazione il nuovo socio può procedere al pagamento della quota sociale secondo le modalità riportate sotto.

**QUOTA SOCIALE**

La quota sociale è di euro 35 per i soci ordinari e di euro 25 per i non strutturati. I soci non strutturati, unitamente alla quota sociale, dovranno far pervenire al Presidente della Società una dichiarazione attestante il proprio status. Modalità di pagamento:

- mediante carta di credito dal sito [www.sism.it](http://www.sism.it)
- mediante invio di un assegno bancario non trasferibile intestato a S.I.S.M.  
l'assegno deve essere spedito alla Prof.ssa Elisabetta Falcieri, Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente (DiSTeVA), Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo", Campus Scientifico "E. Mattei", via Ca' Le Suore 2, 61029 Urbino (PU)
- mediante bonifico bancario intestato a S.I.S.M.  
codice IBAN IT4300200802455000103039142  
Presso Unicredit, Agenzia 3305 "Bologna Dante"  
Causale: "NOME del SOCIO"

**SEDE SOCIALE**

*Prof.ssa Elisabetta Falcieri*

Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente (DiSTeVA), Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo",  
Campus Scientifico "E. Mattei", via Ca' Le Suore 2, località Crocicchia, 61029 Urbino  
Tel/Fax +39.0722.304284  
E-mail: elisabetta.falcieri@uniurb.it  
P.IVA 05089821002 C.F. 80181630155

Si ricorda che le richieste di associazione verranno valutate dal Consiglio Direttivo e l'approvazione dei nuovi Soci verrà comunicata personalmente agli interessati.  
Il pagamento della quota di associazione deve essere effettuato solo dopo il ricevimento della comunicazione dell'approvazione, da parte del Direttivo, della richiesta di associazione.

Il sottoscritto richiede l'ammissione alla SISM in qualità di:

- Socio ordinario (35 euro)  
 Socio non strutturato (25 euro)

Titolo, Nome e Cognome

Data di nascita

Titolo di studio e qualifica

Tipo di istituzione

- Università  CNR  Industria  Commerciale  Altro ente pubblico di ricerca

Istituto/Ente/Ditta

Dipartimento

Indirizzo

Città

CAP

Telefono

Fax

E-mail

Indirizzo cui inviare la corrispondenza, se diverso dal precedente

Settore di attività

- Biomedico  Scienza dei materiali  Commerciale  Altro (specificare) \_\_\_\_\_

Come deliberato nell'Assemblea Generale del 24/09/2001 ogni Socio SISM è anche Socio EMS.

Questi stessi dati saranno pertanto automaticamente inviati anche all'EMS, di cui la SISM fa parte. I dati dei Soci sono utilizzati dalla Segreteria EMS per distribuire il Notiziario in forma elettronica, per annunciare informazioni importanti come Congressi, Corsi, Scuole e per pubblicare l'Annuario dei Soci EMS.

Se si desidera che i propri dati personali non compaiano nell'annuario EMS, selezionare l'apposita opzione.

- Chiedo che il mio indirizzo privato non compaia nell'annuario EMS  
 Chiedo che il mio numero di telefono/fax non compaia nell'annuario EMS

Data \_\_\_\_\_

Firma \_\_\_\_\_

# Editoriale

---

Cari Amici e Colleghi,

a conclusione di questo biennio, è giunto il momento di fare un bilancio dell'attività svolta dalla SISM.

Il Consiglio Direttivo della Società, nel corso del biennio 2014-2015, ha curato l'organizzazione di nove attività didattico-scientifiche. Queste attività hanno suscitato un vero interesse e registrato una numerosa partecipazione, permettendo di consolidare i rapporti con Università, Istituti, Enti di ricerca e Aziende operanti. A tal proposito, nell'aprile 2015 sono stata invitata, in qualità di Presidente SISM, presso l'Università della Calabria, all'inaugurazione del Sistema Integrato di Laboratori per l'Ambiente, Progetto SILA, PONA3.

Queste sono in dettaglio le attività organizzate dalla SISM nell'ultimo biennio:

1. *1<sup>st</sup> Italian EELS School*, "Scuola Internazionale sulla Spettroscopia a Perdita di Energia degli Elettroni, EELS" (Electron Energy Loss Spectroscopy), organizzata dal Dott. Giuseppe Nicotra a Catania, presso la sede dell'IMM-CNR, il 26-29 Maggio 2014. La scuola ha visto la partecipazione di 12 studenti di diverse nazionalità europee, impegnati in un corso intensivo di quattro giorni, con lezioni in aula, laboratori informatici ed esercitazioni al microscopio. Tra i docenti erano presenti i maggiori esperti di spettroscopia EELS, tra cui alcuni relatori inglesi e americani.
2. *Corso di Base integrato di microscopia confocale e microscopia elettronica TEM/STEM*, organizzata dal Dott. Andrea Tombesi a Modena presso il C.I.G.S., Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, il 17-19 Settembre 2014. È stato raggiunto il numero degli iscritti previsti e i lavori si sono svolti con soddisfazione di tutti, sia relativamente alle lezioni frontali che alle esercitazioni strumentali.
3. *La microscopia confocale nello studio dei mitocondri*, Workshop teorico-pratico, organizzato dalla sottoscritta con il supporto del Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente dell'Università degli Studi di Urbino Carlo Bo, presso il Campus Scientifico Enrico Mattei, Università di Urbino, il 23-24 ottobre 2014. L'evento ha visto la partecipazione di 27 ricercatori impegnati in lezioni teoriche frontali, in cui autorevoli relatori hanno illustrato i loro dati più recenti su diversi aspetti morfo-funzionali dei mitocondri. Di particolare interesse la parte pratica, dedicata ai metodi di preparazione per la microscopia confocale, alle caratteristiche dei vari fluorocromi, all'analisi e all'elaborazione dell'immagine, nonché all'osservazione di campioni specifici.
4. *La microscopia elettronica applicata allo studio dei Beni Culturali*, pure organizzato dalla sottoscritta, presso il Campus Scientifico Enrico Mattei, Università degli Studi di Urbino, il 6-7 novembre 2014. L'evento ha avuto una partecipazione numerosa, con 26 iscritti ed uno spiccato interesse di ricercatori e studiosi che operano nel campo della microscopia applicata alla conservazione e al restauro dei beni culturali.
5. *Scuola TEM "Pier Giorgio Merli" 2014*, Scuola teorico-pratica di Microscopia Elettronica in Trasmissione in Scienza dei Materiali, organizzata dal Dott. Roberto Balboni e dai ricercatori del CNR-IMM, presso i laboratori del CNR-IMM di Bologna: la prima settimana dal 17 al 21 Novembre 2014, e la seconda settimana dal 2 al 6 Febbraio 2015. L'evento ha raggiunto il numero di iscritti previsto ed è stato particolarmente apprezzato per l'efficiente organizzazione e l'alto livello scientifico delle lezioni teoriche

# Editoriale

---

e pratiche sulle tecniche di microscopia elettronica in trasmissione applicata alla Scienza dei Materiali. Gli argomenti trattati sono stati: ottica e diffrazione elettronica, teoria del contrasto, risoluzione atomica con tecniche di imaging coerenti (HREM) e incoerenti (STEM con rivelatore HAADF), olografia elettronica, tecnica CBED, metodi analitici (EDX e EELS).

6. *Microscopia elettronica e tecniche di imaging per lo studio degli alimenti*, organizzata dalla Prof.ssa Manuela Malatesta, in collaborazione con il Dipartimento di Scienze Neurologiche e del Movimento dell'Università degli Studi di Verona, il 19 giugno 2015. Numerosa la partecipazione al workshop, con più di 40 iscritti. Relatori qualificati hanno illustrato le potenzialità offerte dall'integrazione di tecniche avanzate di microscopia elettronica e di imaging utili per la caratterizzazione ed il controllo di qualità degli alimenti.
7. *Corso di base integrato di microscopia confocale e microscopia elettronica TEM/STEM*, organizzata dal Dott. Tombesi a Modena presso il C.I.G.S., Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, il 23-25 Settembre 2015. La scuola ha raggiunto il numero di partecipanti previsto. L'evento, organizzato dalla SISM in collaborazione con il Centro Interdipartimentale Grandi Strumenti, ha avuto come obiettivo quello di fornire principi e tecniche di base per l'utilizzo del microscopio confocale e del microscopio elettronico a trasmissione, con l'integrazione di lezioni pratiche agli strumenti ed esercitazioni di analisi di immagini.
8. *La microscopia elettronica applicata allo studio dei Beni Culturali*, organizzato dalla sottoscritta presso il Campus Scientifico "E. Mattei", Università degli Studi di Urbino, il 28-29 settembre 2015. Il workshop, organizzato con il supporto del Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente dell'Università di Urbino, è stato ripetuto dopo il successo dell'edizione precedente. Ha avuto 32 partecipanti, tra cui numerosi studenti dei corsi di restauro di Urbino, Firenze e Venezia. Di notevole interesse le tematiche e l'alto livello scientifico dei relatori, che hanno illustrato i dati più recenti sulla caratterizzazione morfologica ultrastrutturale e chimica dei materiali costitutivi delle opere d'arte, in particolare pietre, ceramiche, vetri, metalli, monili, materiali policromi, legno, carta, pergamena, tessuti e materiali polimerici. Presente anche una parte pratica sulla microscopia elettronica applicata all'osservazione di legni e filati, e, per la prima volta, una piccola sessione poster.
9. *Scuola di microscopia elettronica a scansione su materiali nanostrutturati e applicazioni innovative*, organizzata dalla Dott.ssa Regina Ciancio presso il CNR-IOM, Area Science Park - Basovizza, Trieste, che si terrà dal 12 al 14 Ottobre 2015. La scuola, riservata a ricercatori e studiosi che si occupano di microscopia e di materiali nanostrutturati, conta al momento circa una ventina di iscritti, e si propone di fornire i concetti e i principi fisici di base della microscopia elettronica a scansione, con particolare riferimento ai materiali nanostrutturati. La scuola prevede una parte teorica sul SEM, sulle applicazioni innovative nel campo dei materiali nanostrutturati, e una parte pratica che verrà a condotta ad un microscopio elettronico a scansione. Verrà inoltre offerta la possibilità di osservare campioni portati dai partecipanti.

# Editoriale

---

In questo biennio la SISM si è quindi particolarmente impegnata in varie attività scientifiche. Il Consiglio Direttivo ha stimolato il coinvolgimento attivo delle Aziende nelle diverse iniziative, affinché potessero presentare le principali novità tecnologico-strumentali. Ad esse va la gratitudine della Società per aver contribuito con spirito collaborativo e professionale.

Il bilancio per l'anno 2014 mostra una Società attiva, grazie al successo degli eventi citati. La SISM ha potuto così favorire la partecipazione di molti giovani ricercatori ad eventi internazionali (IMC, Praga 2014; MCM, Eger 2015) grazie ai premi di partecipazione da essa banditi. Prossimo impegno della SISM sarà il sedicesimo congresso europeo di microscopia, ECM2016, che si terrà a Lione (28 agosto-2 settembre) del cui International Board fanno parte due membri del nostro Consiglio Direttivo.

La rivista è sempre ricca di novità e curata brillantemente dal Direttore Responsabile, Prof.ssa, Manuela Malatesta. Ad oggi la rivista è on line ed agli articoli scientifici pubblicati viene assegnato uno specifico DOI, che ne rende facile la citabilità aumentandone la visibilità anche internazionale.

Come vedete, è stato un biennio ricco di attività e di prospettive, che dimostrano, nonostante le difficoltà, la vivacità della nostra Società, che ha visto rinnovare ed incrementare il numero dei propri Soci. Dobbiamo essere grati di questo a tutti coloro che con fatica si sono messi in gioco e a coloro che lo faranno....

Qualunque proposta è benvenuta e noi del Consiglio Direttivo siamo a disposizione per suggerimenti e sostegno. La SISM, con l'aiuto prezioso di alcuni sponsor abituali, con il contributo di altri in occasione dei singoli eventi, e con le quote dei Soci può e deve continuare a fare cultura, ricerca e supporto ai giovani, i veri importanti nostri obiettivi.

*Elisabetta Falcieri*

**Consiglio direttivo della SISM****Verbale della riunione del 10 febbraio 2015**

*Dipartimento di Scienze Biomediche/Istituto di Anatomia Umana  
Via Imerio 48, Bologna*

Il giorno 10 febbraio 2015 alle ore 10,30 presso il Dipartimento di Scienze Biomediche/Istituto di Anatomia Umana, in Via Imerio 48, Bologna si è svolta una riunione del Consiglio Direttivo SISM, per discutere il seguente OdG:

1. Comunicazioni del Presidente
2. Approvazione del verbale della riunione precedente
3. Aggiornamento gestione amministrativa della Società
4. Attività SISM 2015
5. Bando Premi SISM 2015
6. Approvazione ammissione nuovi Soci
7. Varie ed eventuali

Sono presenti: *Cristiano Albonetti, Roberto Balboni, Regina Ciancio, Elisabetta Falcieri, Manuela Malatesta, Andrea Tombesi.*

Assenti giustificati: *Stefania Meschini.*

Presiede *Elisabetta Falcieri*; svolge le funzioni di segretario verbalizzante *Regina Ciancio.*

1. Il Presidente Elisabetta Falcieri relaziona sullo stato di organizzazione del prossimo congresso MCM2015 di Eger. I chairperson sono stati tutti definiti mentre resta ancora da completare la lista degli invited speaker. Il Presidente si propone di inviare agli altri membri del Direttivo una lista delle sessioni ancora da definire al fine di identificare possibili proposte. Il Presidente riferisce inoltre la preoccupazione dell'organizzatrice del congresso, Agnes Kittel, a coprire tutte le spese degli invited speakers. Il Presidente propone di contribuire al congresso supportando la partecipazione di alcuni invited speakers italiani con fondi SISM.  
Il Presidente riferisce che gli organizzatori dell'EMC Lione hanno richiesto due rappresentanti per i board internazionali, di cui, al solito, uno proveniente dal contesto scienze della vita e uno dal contesto scienze dei materiali. In qualità di vicepresidenti, vengono proposti Roberto Balboni ed Andrea Tombesi. È inoltre pervenuta la documentazione relativa alla richiesta di associazione internazionale EMS e IFSM. Circa l'IFSM, entro il 1 aprile dovrà essere corrisposta una quota di 260 € che tiene del conto del fatto che, come SISM, abbiamo diritto a due voti assembleari per l'IFSM.  
Il Presidente comunica inoltre che Giuseppe Nicotra è stato contattato da alcuni microscopisti internazionali con la proposta di organizzare la prossima scuola di Erice. La reale fattibilità della proposta verrà valutata nei mesi a seguire.
2. Il verbale della riunione del Consiglio Direttivo del 15 dicembre 2014 viene approvato all'unanimità.
3. Il Presidente E. Falcieri riferisce sulla situazione economica della società che ad oggi è di circa 36000 € di attivo. Si valuta di considerare tale positiva condizione come risorsa utile per aumentare il numero di premi per supportare la partecipazione di giovani alle conferenze (punto 5) .
4. Andrea Tombesi propone di organizzare anche per l'anno 2015 una scuola congiunta di Microscopia Confocale-STEM presso il CIGS dell'Università di Modena con un focus simile a quello delle edizioni precedenti, ma con maggior enfasi alla parte di preparativa STEM. La scuola potrebbe tenersi orientativamente a fine settembre 2015.



Manuela Malatesta comunica di aver iniziato, in collaborazione con Andrea Sbarbati dell'Università di Verona, le prime fasi dell'organizzazione di un evento di microscopia su alimenti. L'idea è quella di partire, per questa prima edizione, con un approccio esplorativo, proponendo una giornata di studio con partecipazione gratuita finalizzata a fornire una visione generale dell'applicazione combinata di varie tecniche microscopiche e di imaging (anche NMR) a varie problematiche alimentari. L'evento si terrà a Verona a maggio-giugno 2015. Sono stati avviati i primi contatti circa possibili siti in cui organizzare l'evento, ovvero presso l'Università di Verona, a Borgo Roma o presso una scuola alberghiera.

Cristiano Albonetti illustra le caratteristiche del progetto ERC Micropop's appena sottomesso come principal investigator a dicembre 2014. Il progetto ha come obiettivo principale la divulgazione dei concetti fisici di base della microscopia elettronica e a sonda al fine di promuoverne una maggiore diffusione nella comunità scientifica internazionale anche grazie all'introduzione di figure scientifiche specifiche finalizzate alla disseminazione e divulgazione scientifica sul territorio europeo. Il finanziamento richiesto dal progetto è di circa 900 k€. Le valutazioni dovrebbero essere rese note ad aprile.

Il Presidente Elisabetta Falcieri dettaglia circa gli avanzamenti dell'organizzazione dei tre eventi a sua cura presso l'Università di Urbino nell'autunno-inverno 2015, ovvero il workshop su "La microscopia confocale nello studio del nucleo cellulare", il workshop su "La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali" e il workshop di "Microscopia elettronica a scansione SEM/ESEM in campo ambientale". Tutti e tre gli eventi avranno costi contenuti ed avranno un taglio teorico-pratico. A seguito del positivo riscontro delle precedenti edizioni, ci si attende un'ampia risposta anche grazie all'offerta organizzativa del sito ospitante che consente di avere vitto e alloggio a costi contenuti.

Regina Ciancio riferisce i dettagli scientifici e logistici relativi all'organizzazione della Scuola SEM a Trieste. La proposta è di organizzare l'evento a metà ottobre in concomitanza col periodo di shutdown del sincrotrone, così da poter contare su una maggiore disponibilità dei servizi alberghieri e di ristorazione situati nelle vicinanze. In armonia con la missione scientifica dell'istituzione co-organizzatrice (CNR-IOM), la scuola si proporrà quest'anno un focus scientifico/applicativo ampio, ovvero materiali nanostrutturati, in maniera tale da abbracciare i vari settori scientifici d'interesse dello IOM e da tener conto del recente coinvolgimento dello stesso in iniziative di interesse industriale.

5. Al fine di supportare un numero sempre maggiore di giovani ricercatori italiani non strutturati a partecipare ai congressi di microscopia, il Presidente propone di aumentare il numero e l'importo dei futuri Contributi SISM. In occasione del prossimo congresso MCM2015 ad Eger, si decide, dunque, all'unanimità di bandire 10 contributi SISM di 750 euro ciascuno, di cui 5 per il settore scienze dei materiali e 5 per il settore scienze della vita. Nel caso in cui in uno dei due settori non si arrivi ad un minimo di 5 contributi, le borse non assegnate verranno destinate all'altro settore, per un totale, in ogni caso, di 10 contributi assegnati. Al fine di incentivare le carriere dei giovani ricercatori, i contributi saranno concepiti come premi SISM. La scadenza di presentazione delle domande sarà coincidente con quella di sottomissione degli abstract alla conferenza e costituirà titolo preferenziale essere socio SISM alla data di presentazione della domanda.
6. Il Consiglio Direttivo approva l'ammissione dei seguenti soci:

*Dott. Marelli Marcello* (Socio non strutturato)

Settore di attività: Scienza dei Materiali Catalisi e materiali nanostrutturati

Tipo Istituzione: CNR

*Dott.ssa Basso Petra R.* (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biologico

Tipo Istituzione: Università

*Prof. Cerbino Roberto* (Socio ordinario)

Settore di attività: Scienza dei Materiali

Tipo Istituzione: Università

*Dott. Venturi Federico* (Socio non strutturato)

Settore di attività: Scienza dei Materiali

Tipo Istituzione: Università

*Dott. Serafini Andrea* (Socio non strutturato)

Settore di attività: Scienza dei Materiali

Tipo Istituzione: Università

*Dott.ssa Vezzoli Elena* (Socio non strutturato)

Settore di attività: Biologico Neuroscienze

Tipo Istituzione: Università

7. Regina Ciancio propone di redigere una brochure descrittiva della SISM da diffondere in tutti gli eventi organizzati dalla SISM. Manuela Malatesta propone di coinvolgere la PagePress nella fase di editing tipografico e stampa.

Regina Ciancio informa circa i primi contatti avviati in vista dell'istituzione di un Master di II livello di Scienze Microscopiche a Trieste. Il Direttore del CNR-IOM, Prof. Alberto Morgante, docente dell'Università di Trieste, ha accolto molto positivamente la proposta. Sono dunque stati presi i primi contatti con l'ufficio competente dell'Università di Trieste che ha fornito le indicazioni formali preliminari che saranno meglio dettagliate nel bando (in uscita entro aprile 2015) riguardante i carichi didattici e i costi di gestione del master. La proposta è che il Master abbia un target scientifico quanto più generale possibile, così da abbracciare tutti i settori della microscopia rappresentati anche nelle anime della SISM (dalle microscopie elettroniche a quelle a sonda). La sede del master sarebbe formalmente l'Università di Trieste anche se, considerata la realtà scientifica multidisciplinare di Area Science Park e i laboratori scientifici in essa collocati, ha senso che sia le lezioni frontali che i tirocini formativi si svolgano presso la sede di Basovizza. Da alcune prime simulazioni sui costi generali per l'attivazione del Master, emerge chiara la necessità di un supporto economico e, dunque, del coinvolgimento di vari sponsors per co-finanziare l'iniziativa. Il Presidente dà la sua disponibilità a che la SISM supporti l'iniziativa nelle prime fasi di avvio. È plausibile inoltre il coinvolgimento della Fondazione Trieste (ex Cassa di Risparmio di Trieste) solitamente disponibile a finanziare eventi formativi di natura scientifica. La collocazione geografica dello IOM implica in maniera naturale il coinvolgimento del Sincrotrone Elettra che, di fatto, potrebbe essere coinvolto in docenze specifiche o in seminari specialistici nel corso. La cosa potrebbe avere un ritorno positivo anche in termini di potenziali altri finanziamenti dal Sincrotrone stesso.

Si propone inoltre di coinvolgere le aziende operanti nel settore della microscopia nella istituzione di stage formativi patrocinati dalle stesse per favorire la formazione e il conseguente potenziale reclutamento di nuove unità di personale.

Andrea Tombesi condivide i contenuti del questionario da diffondere tra realtà accademiche ed aziendali per avere una sorta di censimento delle realtà di microscopia presenti sul territorio nazionale. Per un'ampia distribuzione, Roberto Balboni propone di interfacciarsi con le aziende perché possano esse stesse suggerire potenziali destinatari e favorire una maggiore diffusione del questionario. Andrea Tombesi ha ricevuto la disponibilità di alcune aziende operanti nel settore della microscopia elettronica a promuovere la diffusione del questionario diramandolo alle aziende presenti nelle loro banche dati.

Si propone di introdurre la possibilità di accedere al questionario anche attraverso il sito della SISM. Manuela Malatesta informa di aver ottenuto dalla PagePress la proposta di pubblicare online open access e gratuitamente sul loro sito la rivista *Microscopie*. Il sito è già esistente <http://www.pagepressjournals.org/index.php/microscopie> e sarà presto aperto al pubblico e al suo interno sarà possibile consultare online la versione della rivista contenente i soli articoli scientifici che avranno dunque una visibilità internazionale sul sito del publisher. Sul sito, è già presente un archivio di tutti gli articoli pubblicati sui precedenti numeri della rivista identificati da un doi che li renderà tracciabili e citabili. Sia la homepage di *Microscopie* che la pagina degli annunci del sito di *Microscopie* contengono già i siti per i banner delle aziende; gli sponsor annuali della SISM (che hanno già diritto ad una pagina pubblicitaria sulla rivista cartacea) potranno così inserire il loro banner sulla homepage. Invece gli sponsor dei singoli eventi avranno la possibilità di mettere il loro banner nella sezione annunci del sito.

La stampa cartacea a colori della rivista potrà essere effettuata aggiungendo 160 € ad ogni numero di *Microscopie*.

Andrea Tombesi fornisce i dettagli circa l'introduzione del pagamento tramite Paypal sul sito SISM. La registrazione va fatta online selezionando, per il nostro caso, la procedura business. In sistema di transazione si appoggerà su un conto preesistente (quello della SISM) senza costi aggiuntivi. Andrea Tombesi procederà ad instradare la procedura e a fare alcune prime prove di funzionamento.

Alle ore 14:00, null'altro essendovi da deliberare, il Presidente dichiara chiusa la seduta.

*Elisabetta Falcieri  
Roberto Balboni  
Manuela Malatesta  
Cristiano Albonetti  
Regina Ciancio  
Andrea Tombesi*

## Verbale dell'Assemblea Ordinaria dei Soci S.I.S.M. del 27 agosto 2015

MC 2015 - Eger, Ungheria

Il giorno 27 agosto 2015 alle ore 14:30 presso la sede in cui era in corso l'MCM 2015, Eger (Ungheria), si è svolta l'Assemblea SISM, per discutere il seguente OdG:

1. Relazione del Consiglio Direttivo sulla gestione finanziaria e scientifica della Società nel biennio 2014-15 (Art.11 del regolamento)
  2. Relazione sulla gestione economica e scientifica di *Microscopie* nel biennio 2014-2015
  3. Bilancio definitivo dell'anno 2014 e bilancio provvisorio dell'anno 2015
  4. Presentazione e valutazione delle candidature per l'organizzazione del prossimo Congresso
  5. Proposta di nomina di Soci Onorari
  6. Lettura del regolamento elettorale (Art. 19 del regolamento)
  7. Nomina della Commissione Elettorale
  8. Designazione dei candidati alle cariche sociali
  9. Assegnazione dei premi SISM
  10. Varie ed eventuali
1. Il Presidente Prof.ssa Elisabetta Falcieri relaziona sulla gestione finanziaria e scientifica nel biennio 2014-2015. Illustra, quindi, ai presenti gli sponsor ufficiali della Società e quelli minori che sostengono singoli eventi. Inoltre, relaziona sulle Scuole e sui Workshop che la Società ha organizzato nel biennio 2014-2015:
    - "1st Italian EELS School" (Catania, 26-29 maggio 2014)
    - "Corso Base integrato di microscopia confocale e microscopia elettronica TEM/STEM" (Modena, 17-19 settembre 2014)
    - "La microscopia confocale nello studio dei mitocondri" (Urbino, 23-24 ottobre 2014)
    - "La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali" (Urbino, 6-7 novembre 2014)
    - Scuola TEM "Pier Giorgio Merli" 2014 (Bologna, 17-21 novembre 2014; 2-6 febbraio 2015)
    - "Microscopia elettronica e tecniche di imaging per lo studio degli alimenti" (Verona, 19 giugno, 2015)
    - "Corso base integrato di microscopia confocale e microscopia elettronica TEM/STEM" (Modena, 23-25 settembre, 2015),
    - "La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali" (Urbino, 28-29 settembre, 2015),
    - "Scuola di microscopia elettronica a scansione su materiali nanostrutturati e applicazioni innovative" (Trieste, 12-14 ottobre, 2015).
    - "La microscopia elettronica SEM/ESEM nello studio dell'ambiente" (Urbino, 19-21 ottobre).
 Il Presidente, infine, mette in evidenza l'interesse che la Società ha verso i giovani, per i quali annualmente mette a disposizione premi di partecipazione ad eventi di caratura internazionale.
  2. Manuela Malatesta relaziona riguardo la gestione della rivista della Società *Microscopie*. Si raccomanda di promuoverla quale ottimo punto di partenza per giovani ricercatori, essendo la rivista on line e dotata di DOI, quindi facilmente citabile e visibile a livello internazionale.
  3. Il Presidente, sulla base di quanto fornito dal commercialista, illustra all'Assemblea il bilancio definitivo dell'anno 2014 che chiude attivamente con circa 38000 Euro. Mostra, inoltre, un bilancio provvisorio per l'anno 2015 che evidenzia una Società attiva, impegnata ed economicamente salda.
  4. Il Presidente comunica che il prossimo MCM si terrà in Croazia nel settembre 2017.
  5. Nessun Socio Onorario è stato nominato.

6. Il Presidente legge il regolamento elettorale per la nomina del prossimo Consiglio Direttivo.
7. Dopo rapide consultazioni, viene nominata all'unanimità la Commissione elettorale composta da Paolo Mengucci (Presidente), Gianni Barrucca e Michela Battistelli (scrutatori). Lo spoglio delle schede avverrà presso l'Università Politecnica delle Marche (Ancona).
8. Il Presidente comunica all'Assemblea che i membri del Consiglio Direttivo 2014-2015 si ricandidano ad eccezione del Dott. Andrea Tombesi, vice-presidente, che si dimette per sopravvenuti eccessivi impegni istituzionali. Viene proposta la candidatura del Dott. Massimo Tonelli, del Centro Grandi Strumenti di Modena.
9. Il Presidente, complimentandosi, consegna l'attestato ai vincitori del premio SISM 2015: Michela Battistelli, Davide Curzi, Sara Salucci, Emanuela Viaggiù, Elena Vezzoli (Scienze Biologiche); Andrea Liscio, Marcello Marelli, Raffaele Mazzaro, Enzo Rotunno, Federico Venturi (Scienze dei Materiali).

Alle ore 15:40, null'altro essendovi da deliberare, il Presidente dichiara chiusa L'Assemblea.

*Il Presidente*  
*Elisabetta Falcieri*

*Il Segretario*  
*Regina Ciancio*

ALLEGATO N.1

Bilancio esercizio 2014

S.I.S.M. Società Italiana Scienze Mediche P.I.05089821002

Pag. 1

**BILANCIO GENERALE**

Periodo esaminato dal 01/01/2014 al 31/12/2014

ATTIVITA'			PASSIVITA'		
Conto	Descrizione	Saldo	Conto	Descrizione	Saldo
<b>31</b>	<b>Crediti</b>	<b>6.023,75</b>	<b>40</b>	<b>Patrimonio netto</b>	<b>21.412,55</b>
<b>3100</b>	<b>Crediti verso clienti</b>	<b>1.290,00</b>	<b>4000</b>	<b>Capitale sociale</b>	<b>298,43</b>
310000/000022	UNIVERISTA' DI ROMA TOR	100,00	400000	Capitale sociale	298,43
310000/000028	UNIVERSITA DI GENOVA	1.190,00	<b>4070</b>	<b>Utili (perdite) portati a</b>	<b>21.114,12</b>
<b>3140</b>	<b>Crediti verso terzi</b>	<b>4.733,75</b>	407000	Utile portato a nuovo	21.114,12
314002	Credito Ires	4.347,25	<b>60</b>	<b>Debiti</b>	<b>7.554,89</b>
314004	Credito Irap	294,35	<b>6030</b>	<b>Debiti verso fornitori</b>	<b>1.716,27</b>
314007	Depositi cauzionali	79,53	603000/000007	EUROPROMOS	11,97
314025	Erario c/ritenute su inter.	12,62	603002/000010	REGISTER.IT SPA	69,30
<b>33</b>	<b>Disponibilità liquide</b>	<b>38.006,22</b>	603002/000011	CIMAS SRL	1.635,00
<b>3300</b>	<b>Depositi bancari e postali</b>	<b>37.928,19</b>	<b>6070</b>	<b>Debiti Tributari</b>	<b>930,00</b>
330000	Banca Unicredit	37.928,19	607005	Erario conto IVA	930,00
<b>3320</b>	<b>Denaro e valori in cassa</b>	<b>78,03</b>	<b>6090</b>	<b>Altri debiti</b>	<b>4.908,62</b>
332000	Cassa	78,03	609005	Debiti diversi	4.908,62
			<b>70</b>	<b>Ratei e risconti passivi</b>	<b>7.298,96</b>
			<b>7000</b>	<b>Ratei passivi</b>	<b>7.298,96</b>
			700000	Ratei passivi	7.298,96
<b>TOTALE</b>		<b>44.029,97</b>	<b>TOTALE</b>		<b>36.266,40</b>
			<b>UTILE D'ESERCIZIO</b>		<b>7.763,57</b>
			<b>TOTALE A PAREGGIO</b>		<b>44.029,97</b>

S.I.S.M. Società Italiana Scienze Mediche P.I.05089821002

Pag. 2

**BILANCIO GENERALE**

Periodo esaminato dal 01/01/2014 al 31/12/2014

COSTI			RICAVI		
Conto	Descrizione	Saldo	Conto	Descrizione	Saldo
<b>80</b>	<b>Valore della produzione</b>	<b>198,80</b>	<b>80</b>	<b>Valore della produzione</b>	<b>38.570,52</b>
<b>8000</b>	<b>Ricavi delle vendite e delle</b>	<b>198,80</b>	<b>8000</b>	<b>Ricavi delle vendite e delle</b>	<b>38.469,34</b>
800090	Sconti ed abbuoni pass. su	198,80	800005	Quote corsi e convegni	28.738,34
<b>90</b>	<b>Costi della produzione</b>	<b>29.690,41</b>	800006	Compensi promozionali	7.700,00
<b>9000</b>	<b>Acquisti di materie prime</b>	<b>8.357,72</b>	800007	Quote associative	2.031,00
900017	Spese gestione corsi	8.357,72	<b>8040</b>	<b>Altri ricavi e proventi</b>	<b>101,18</b>
<b>9010</b>	<b>Acquisizione di servizi</b>	<b>14.587,55</b>	804001	Arrotondamenti attivi	101,18
901013	Servizi amministrativi	2.450,00	<b>81</b>	<b>Proventi finanziari</b>	<b>11,73</b>
901017	Rimb. spese collaboratori	4.607,75	<b>8110</b>	<b>Altri proventi finanziari</b>	<b>11,73</b>
901026	Spese per servizi bancari	1.719,00	811010	Interessi attivi su c/c	11,73
901037	Premi S.I.S.M. per meriti	1.500,00	<b>83</b>	<b>Proventi straordinari</b>	<b>219,00</b>
901041	Sito Internet	324,80	<b>8310</b>	<b>Altri proventi straordinari</b>	<b>219,00</b>
901046	Libri e pubblicazioni	3.986,00	831000	Sopravvenienze attive	219,00
<b>9080</b>	<b>Oneri diversi di gestione</b>	<b>6.745,14</b>			
908008	Multe ed ammende	31,00			
908011	Iva indetraibile	606,69			
908012	Arrotondamenti passivi	15,00			
908014	Altri oneri di gestione	30,78			
908015	Contributi per realizzazione	4.011,09			
908017	Iscrizioni annuali	2.050,58			
<b>91</b>	<b>Oneri finanziari</b>	<b>25,47</b>			
<b>9100</b>	<b>Oneri finanziari</b>	<b>25,47</b>			
910005	Altri interessi passivi	25,47			
<b>93</b>	<b>Oneri straordinari</b>	<b>1.123,00</b>			
<b>9310</b>	<b>Altri oneri straordinari</b>	<b>1.123,00</b>			
931000	Sopravvenienze passive	1.123,00			
<b>TOTALE</b>		<b>31.037,68</b>	<b>TOTALE</b>		<b>38.801,25</b>
<b>UTILE D'ESERCIZIO</b>		<b>7.763,57</b>			
<b>TOTALE A PAREGGIO</b>		<b>38.801,25</b>			

## ALLEGATO N.2

## Relazione del Direttore della Rivista *Microscopie* sulla Gestione Scientifica Della Rivista

MC 2015 - Eger, Ungheria

Nel biennio 2014-2015, *Microscopie* ha sinora pubblicato tre fascicoli (Marzo e Settembre 2014 e Settembre 2015), per un totale di 160 pagine, mantenendo in ciascun fascicolo la tradizionale suddivisione in sezioni, con una prima parte informativa dedicata alle attività della S.I.S.M. e agli eventi nazionali e internazionali relativi alle scienze microscopiche, ed una seconda parte costituita da articoli scientifici.

Per quanto riguarda la sezione informativa, nel corso biennio è stata inaugurata una nuova modalità di relazione sulle attività della S.I.S.M.: sono stati pubblicati gli atti, quando le caratteristiche dell'evento lo hanno consentito (i *workshop* sono risultati particolarmente indicati): la pubblicazione è stata fatta sia sotto forma di abstract, come per i *workshop* "La microscopia confocale nello studio dei mitocondri" (23-24 ottobre 2014) e "La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali" (6-7 novembre 2014), tenuti entrambi a Urbino, sia sotto forma di *minipaper*, come nel caso del "Science through Scanning Probe Microscopy (StSPM '13)", svoltosi a Bologna il 12-13 dicembre 2013.

Per quanto riguarda la sezione scientifica, in ogni numero della rivista sono comparsi due articoli, relativi alle scienze biomediche e alle scienze dei materiali, prevalentemente ma non unicamente redatti da Soci della S.I.S.M. È bene ricordare che se il numero di articoli è rimasto stabile rispetto agli anni precedenti, si deve fondamentalmente all'impegno di pochi Soci a sostegno della nostra rivista; perché *Microscopie* possa mantenere un adeguato livello scientifico è tuttavia necessario che tutti i Soci, in particolare i più giovani, contribuiscano al lavoro della redazione inviando manoscritti di buona qualità, in tutti i settori nei quali si articola l'attività di ricerca della S.I.S.M.

Si auspica che l'interesse per la nostra Rivista sia incrementato dalla pubblicazione *on-line*, in forma *open-access*, degli articoli scientifici. Dal 2015, infatti, *Microscopie* ha un suo sito web ([www.pagepress.org/microscopie](http://www.pagepress.org/microscopie)) all'interno del portale della PagePress, una qualificata casa editrice impegnata nella pubblicazione di molte riviste presenti nei maggiori indici bibliografici internazionali. *Microscopie* è diventata così, a tutti gli effetti, una rivista internazionale liberamente consultabile, seppur non indicizzata. Nel sito sono pubblicati tutti gli articoli scientifici a partire dal 2008: ogni articolo è identificato da un codice doi, essenziale per la citabilità, e la forma *open-access* garantisce una immediata ed ampia visibilità.

La pubblicazione *online* non sostituisce ovviamente la rivista cartacea che, dal 2015, viene stampata totalmente a colori.

Complessivamente, i risultati raggiunti da *Microscopie* nel biennio 2014-2015 si possono ritenere del tutto positivi, per la raggiunta visibilità internazionale e per la sua confermata utilità come strumento di informazione ai Soci delle attività scientifiche, divulgative e formative realizzate.

Di seguito sono riportati gli indici dei numeri di *Microscopie* sinora pubblicati nel biennio 2014-2015.

**Anno XI – n. 1 (21) – Marzo 2014**

Editoriale del Presidente

Editoriale del Direttore responsabile

*Attività SISM*

Verbale del CD di agosto 2013

Verbale della Commissione Elettorale

Attività promosse dalla SISM nel 2014

Bando Contributi di partecipazione a IMC 2014

*Notizie*

Eventi nazionali

Eventi internazionali

*Microscopist's Digest*

*Contributi scientifici*

Contributi scientifici del StSPM'13

Scanning electron microscopy in monitoring the aging of alternative materials for plastering of canvas manufactured products (Burattini *et al.*)

Autofluorescence and metabolic signatures in a pig model of differentiation based on induced pluripotent cells and embryonic bodies (Croce *et al.*)

**Anno XI – n. 2 (22) – Settembre 2014**

Editoriale del Presidente

*Attività SISM*

Verbale del CD di febbraio 2014

Bilancio 2013

Attività promosse dalla SISM nel 2014

Resoconto della Scuola SISM di Catania

*Notizie*

Eventi nazionali

Eventi internazionali

*Laboratori di microscopia in Italia*

Microscopia al CIGS (Tonelli e Fabbri)

*Microscopist's Digest*

*Contributi scientifici*

Plantaris muscle adaptation to atrophy generated by disuse: an ultrastructural study view (Giordano *et al.*)

Adhesive properties of *Aspergillus fumigatus* biofilms probed by atomic force microscopy and effects of alginate lyase enzyme (Maiorana *et al.*)

**Anno XII – n. 1 (23) – Settembre 2015**

Editoriale del Presidente

Editoriale del Direttore responsabile

*Attività SISM*

Verbale del CD di dicembre 2014

Attività promosse dalla SISM nel 2015

Bando per Premi di partecipazione al MCM 2015

*Notizie*

Eventi nazionali

Eventi internazionali

*Microscopist's Digest*

*Contributi scientifici*

Contributi del workshop “La microscopia confocale nello studio dei mitocondri”

Contributi del workshop “La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali”

An easy and inexpensive method to expose adhering cultured cells to ozonization (Costanzo *et al.*)

Coprolite specimens from Pietraraja (lower Cretaceous, Southern Italy): morphological analysis by scanning electron microscopy (Russo *et al.*)



## Elenco delle attività promosse dalla SISM nel 2015

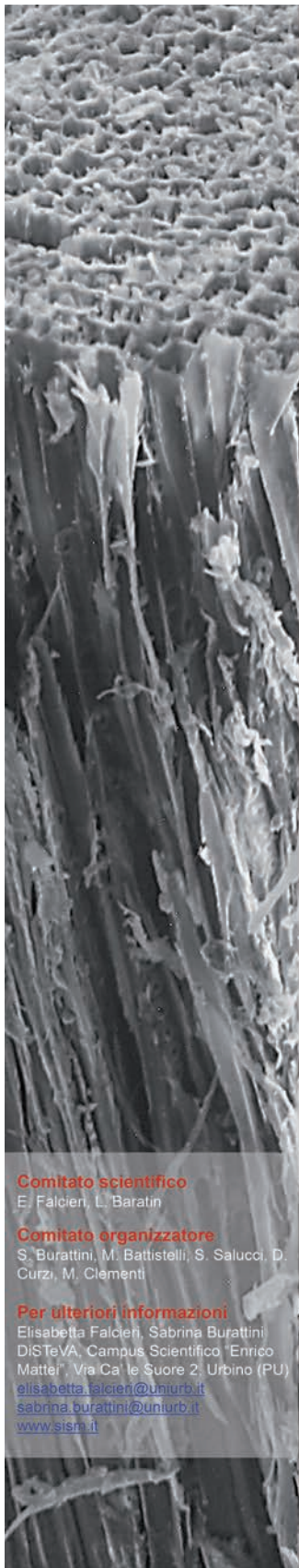
**Workshop teorico-pratico su “La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali”** a cura della Prof.ssa Elisabetta Falcieri e dei suoi collaboratori.  
28-29 settembre 2015, Urbino

**School of Scanning Electron Microscopy on Nanostructured materials and innovative applications**, a cura della Dott.ssa Regina Ciancio.  
12-14 ottobre 2015, Trieste

**Workshop teorico-pratico su "La microscopia elettronica SEM/ESEM nello studio dell'ambiente"**, a cura della Prof.ssa Elisabetta Falcieri, del Prof. Pietro Gobbi e dei loro collaboratori.  
data da definire, Urbino

E per il 2016.....

**Workshop su “Contributi delle microscopie allo studio delle colture cellulari”**, in collaborazione con l'Associazione Italiana per le Colture Cellulari, a cura della Dott.ssa Stefania Meschini.  
Aprile 2016, ISS, Roma



## La microscopia elettronica applicata allo studio dei Beni Culturali

Urbino, 28-29 settembre 2015

L'evento, organizzato dalla SISM, con il supporto del Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente dell'Università degli Studi di Urbino Carlo Bo, è dedicato a professionisti, docenti, ricercatori, tecnici e studenti che operano nel campo dello studio, della conservazione e del restauro dei beni culturali. Sarà dedicata particolare importanza alle applicazioni delle microscopia elettronica, nei suoi diversi approcci metodologici. Autorevoli relatori illustreranno, nell'Aula Magna del Campus, i loro dati più recenti sulla caratterizzazione morfologica ultrastrutturale e chimica dei materiali costitutivi le opere d'arte, in particolare pietre, ceramiche, vetri, metalli, monili, materiali policromi, legno, carta, pergamena, tessuti e materiali polimerici. Oltre le relazioni in aula, ci saranno delle **esercitazioni pratiche** sulla preparazione di campioni specifici, e uno **spazio dedicato alle Aziende**. E' prevista infine una **sessione di Poster**, che saranno esposti per tutta la durata del Workshop.

### Lunedì, 28 settembre

#### Aula Magna

- 14.00 Registrazione
- 14.30 Benvenuto ai partecipanti e presentazione del workshop
- 15.00 *Le nuove tecnologie ed il SEM-EDS nella diagnostica non tradizionale* (D. Ferro, Roma)
- 15.30 *L'occhio del SEM nella pittura moderna e contemporanea, considerazioni analitiche* (G. Lanterna, Firenze)
- 16.00 Coffee break
- 16.30 *Applicazione della microscopia elettronica in petro-archeometria e archeometallurgia* (P. Santi, Urbino)
- 17.00 *Applicazione del SEM/EDS allo studio dei dipinti. Considerazioni di interpretazione ed attribuzione* (T. Zubin Ferri, Pola, Croazia)
- 17.30 *Applicazione della microscopia elettronica allo studio di bronzi dorati a fuoco* (C. Martini, Bologna)
- 18.00 *Studio di materiali metallici di interesse archeologico e storico-artistico mediante microscopia elettronica a scansione* (G.L. Garagnani, Ferrara)
- 18.30 *Malte idrauliche a calce per il restauro. Studio in microscopia elettronica a scansione* (M. Macchiarola, Faenza)
- 19.00 *La virtualizzazione del microscopio elettronico applicata ai beni culturali* (A. Conventi, Venezia)
- 20.30 Cena

### Martedì, 29 settembre

#### Aula Magna

- 09.00 *Tra le antiche "pietre" preziose: il contributo delle indagini SEM-EDX alla conoscenza dei materiali e del loro uso* (P. Pallecchi, Firenze)
- 09.30 *La presenza di metalli pesanti sulle superfici del Giardino Pensile del Palazzo Ducale di Urbino indagata con tecniche microscopiche* (M.L. Amadori, Urbino)
- 10.00 *Il SEM-EDX nello studio dei materiali cartacei e membranacei antichi e moderni: dall'archeologia alla conservazione* (F. Pinzari, Roma)
- 10.30 Coffee break
- 11.00 *La microscopia elettronica in pressione variabile per la diagnostica e la conservazione dei Beni Culturali* (P. Croveri, Torino)
- 11.30 *La microscopia elettronica nello studio dei materiali ceramici antichi* (S. Gualtieri, Faenza)
- 12.00 **Spazio dedicato alle Aziende**
- 13.00 Pranzo al campus
- 14.00 **Spazio dedicato alle Aziende**
- 15.00 **Esercitazioni pratiche:** preparazione campioni per TEM e SEM, da filati e legno (S. Burattini, M. Battistelli, S. Salucci, D. Curzi)
- 17.30 Chiusura del workshop

#### Comitato scientifico

E. Falciari, L. Baratin

#### Comitato organizzatore

S. Burattini, M. Battistelli, S. Salucci, D. Curzi, M. Clementi

#### Per ulteriori informazioni

Elisabetta Falciari, Sabrina Burattini  
 DiStEVA, Campus Scientifico "Enrico Mattei", Via Ca' le Suore 2, Urbino (PU)  
[elisabetta.falciari@uniurb.it](mailto:elisabetta.falciari@uniurb.it)  
[sabrina.burattini@uniurb.it](mailto:sabrina.burattini@uniurb.it)  
[www.sism.it](http://www.sism.it)

#### Informazioni pratiche

Sede: Aula Magna Campus Scientifico "Enrico Mattei"

**Quota d'iscrizione** (entro e non oltre il 25 settembre 2015):

Soci SISM alla data del 30/05/2015: 150 € Non soci SISM: 200 €

Dottorandi, assegnisti: 200 € Studenti: 70 €

**La quota comprende:** partecipazione alle relazioni e alle esercitazioni pratiche in laboratorio, materiale didattico, pranzo, cena in un ristorante tipico di Urbino, 2 coffee break, pernottamento al Collegio Internazionale, con prima colazione. Comprende inoltre la pubblicazione degli abstract delle relazioni e dei poster su *Microscopie* ed eventualmente, come lavori in extenso, su *Archeomedia*.

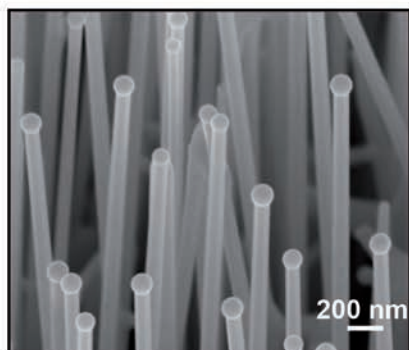
Al termine del workshop sarà rilasciato un attestato di partecipazione.

Chi farà richiesta di associazione alla SISM sarà esonerato dal versamento della quota associativa per l'anno 2016.





S.I.S.M.

Istituto Officina  
dei Materiali

## School of Scanning Electron Microscopy on nanostructured materials and innovative applications

Trieste, 12-14 Ottobre 2015

CNR-IOM - Istituto Officina dei Materiali

c/o Area Science Park - Basovizza  
Strada Statale 14 km 163,5 - 34149 Trieste

### Director

Regina Ciancio (CNR-IOM, Trieste)

### Local Organizing Committee

Stefano Bigaran, Simone Dal Zilio, Silvio  
Greco, Alessia Matruglio, Luca Piantanida

### Local Technical Support

Matteo Brutti, Vanja Cvelbar

### Supported by:



### Sponsored by:



## Programme

### Monday 12 October

- 8.30 - 9.00 Participants registration  
 9.00 - 9.15 Welcome and introduction  
 9.15-10.00 Principles of electrons-matter interactions  
*(Roberto Balboni, CNR-IMM Bologna)*  
 10.00 - 10.45 Basic and operation of a Scanning Electron  
 Microscope (SEM) *(Andrea Tombesi, CNR-NANO-S3,  
 Modena)*  
**10.45 - 11.00 Coffee Break**  
 11:00-11:45 Signals and detectors in the SEM  
*(Paolo Mengucci, Università Politecnica delle Marche)*  
 11:45-12.30 Energy Dispersive Spectroscopy (EDS)  
 Microanalysis *(Amelia Montone, ENEA-Casaccia)*  
**12.30:14:00 Lunch break**  
 14:00-14:45 STEM: image formation and detectors  
*(Vittorio Morandi, CNR-IMM Bologna)*  
 14:45-15:30 Optimization of SEM performances  
*(Marco Vittori Antisari, Associazione Nanotaly)*  
 15:30-16:15 Sample preparation for SEM analysis  
*(Daniele Mirabile Gattia, ENEA-Casaccia)*  
**16:15-16:30 Coffee break**  
 16:30-17.15 Basic principles of Scanning Helium Ion  
 Microscope *(Marco Vittori Antisari, Associazione  
 Nanotaly)*  
 17:15-18.00 Characterization and Microscopies by  
 Synchrotron Radiation Light *(Luca Gregoratti, Elettra  
 Sincrotrone Trieste)*  
*Informative session on recent advances in instruments  
 and techniques*  
 18.00 - 18.30 Companies presentation

### Tuesday 13 October

- 9:00-9:45 Introduction to Focused Ion Beam (FIB)  
*(Gian Carlo Gazzadi, CNR-NANO-S3, Modena)*  
 9:45-10:30 EBIC - Principles and applications to device  
 diagnostics *(Massimo Vanzi, University of Cagliari)*  
**10:30-10:45 Coffee break**  
 10:45-11:30 In-situ electrical and mechanical probing in  
 the FIB *(Gian Carlo Gazzadi CNR-NANO-S3, Modena)*  
 11:30-12:15 3D Photometric Stereo at the SEM.  
 Application to microelectronics *(Giovanna Mura,  
 University of Cagliari)*

### Informative session on recent advances in instruments and techniques

- 12.15-13.15 Companies presentation  
**13.15-15.00 Lunch break**  
 15.00 -18.00 Practical sessions

### Wednesday 14 October

- 9.00-12.00 Practical sessions  
**12:00-13:00 Lunch break**  
 13:00-16:00 Practical sessions

## General Information

The school, jointly organized by SIMS and CNR-IOM, aims to provide the concepts and basic physical principles of scanning electron microscopy and microanalysis with a special focus on nanostructured materials and technological applications. The school is addressed to researchers, technicians and students both from academia and industry who wish to acquire the skills necessary for the proper use of scanning electron microscopy and related analytical techniques.

The school includes both lectures and demonstrations at the CNR-IOM facilities. The basic physical principles and the various analytical techniques available in a modern scanning electron microscope will be presented to participants in the form of lectures; practical sessions will be conducted both on a Field Emission Gun (FEG) Scanning Electron Microscope (SEM) and on a Focused Ion Beam/Dual Beam system to investigate different types of nanostructured materials and to highlight performances, differences and fields of applications.

Emphasis will be also paid on current trends and technologies for industrial applications from device nanofabrication by electron beam lithography and Focused Ion beam technology to characterization and failure analysis as well as in-situ electrical and mechanical probing.

Participants, during practical sessions, will have the opportunity to observe their own samples properly prepared in advance.

To this end, participants are kindly invited to send their samples along with a detailed description of the related scientific case to the organizers of the school, not later than **31/07/2015**.

Samples received after that date will not be taken into consideration.

At the end of the school, participants will receive a certificate of attendance

## Registration

The registration form should be sent by e-mail before 13/09/2015 ([semschool2015@iom.cnr.it](mailto:semschool2015@iom.cnr.it)) together with copy of the payment of the registration fee, or by filling out the form on the SIMS website, [www.sism.it](http://www.sism.it).

### Registration fees

**Full:** € 350 + VAT

**Reduced<sup>1</sup>:** € 250 + VAT

<sup>1</sup> SIMS members at 30/05/2015

An additional 20% discount (VAT excluded) on the fees is foreseen for students and not permanent staff

After payment, regular invoice will be issued.

Please note that for employees of public bodies the fee is exempt from VAT (art. 10 DPR 633/72).

Fees include registration at the school, teaching materials, coffee breaks and lunches.

Registration fees can be paid in the following ways:

1) credit card (on [www.sism.it](http://www.sism.it))

2) bank transfer

IBAN: IT 43 Q 02008 02455 000103039142

BIC/SWIFT: UNCRITM1PM5

Account holder: S.I.S.M.

Account address: Unicredit - Ag. Dante, Bologna

Payment reference: Participant Surname + TSSEM2015

Participants making membership request to SIMS will be exempted from payment of membership fees for the year 2016

The school will be open to a maximum of **30 participants**.

A minimum number of **10 attendees** is required to activate the courses

For further information: <http://semschool.iom.cnr.it>

Contact: Dr. Regina Ciancio : [ciancio@iom.cnr.it](mailto:ciancio@iom.cnr.it)

## Le Università di Bologna e Cambridge: gemellaggio “de facto” in Microscopia Elettronica?

Ugo Valdrè

Sebbene da un punto di vista formale non si possa parlare di gemellaggio fra queste Università, le strette relazioni scientifiche ed i fatti succedutisi su un arco di tempo di oltre 50 anni nel campo della Microscopia Elettronica (ME) sono stati tali da suggerire una forma di gemellaggio se non di simbiosi. Il vero fenomeno di gemellaggio fu in realtà fra il Metal Physics Group assieme all'Electron Microscopy (EM) Section del Cavendish Laboratory (il Dipartimento di Fisica) dell'Università di Cambridge in Inghilterra ed il Laboratorio di Microscopia Elettronica (Centro ME) dell'Istituto di Fisica (ora Dipartimento) dell'Università di Bologna. Qui, a giustificazione del titolo, vengono riassunti gli eventi occorsi in questi 50 anni. Essi sono culminati col trasferimento, da Bologna a Cambridge, dei disegni di progetto e costruzione del primo microscopio elettronico britannico ad alta tensione, concepito e realizzato nel Cavendish i quali, a causa delle circostanze qui descritte, erano finiti a Bologna.

L'Università di Bologna, fondata nominalmente nel 1088, è stata la prima Università italiana a dotarsi, nel 1949, di un microscopio elettronico e di un Centro ME presso l'Istituto di Fisica della Facoltà di Scienze sotto la direzione del professor Giorgio Valle (Trieste 1888-Bologna 1953), il promotore dell'iniziativa. Lo strumento in questione, di marca CSF, usava lenti elettrostatiche ed aveva una tensione massima di accelerazione di 60 kV; era quindi di prestazioni assai limitate.

Nel 1956 il Metal Physics Group (una sezione del Crystallography Group del Cavendish), utilizzando un microscopio della Electron Microscopy Section la cui tensione di accelerazione arrivava a 100 kV, fece le prime osservazioni sul moto delle dislocazioni in campioni di metalli assottigliati e formulò la teoria del contrasto delle immagini di cristalli.<sup>1,2</sup> Ciò aprì la strada allo studio dei materiali cristallini per trasparenza con i microscopi elettronici. Questi strumenti prima di allora erano usati quasi esclusivamente da biologi e medici; i metallurgisti li utilizzavano per osservare le repliche di superfici e delle figure di attacco.

Con la morte di Giorgio Valle, alla direzione dell'Istituto di Fisica succedette nel 1954 il professor Giampietro Puppi (Bologna 1917-2008), la cui

attività di ricerca era nel campo della fisica della alte energie. Puppi diede un enorme impulso al suo campo di ricerca, ma volle conservare il Centro ME aggiungendovi una attività di ultramicrotomia a favore di medici e biologi. Decise poi, intorno al 1957, di aprire un nuovo indirizzo di ricerca nel campo della Fisica della Materia con la creazione del Gruppo di Fisica dello Stato Solido, indirizzo allora inesistente; il Centro ME avrebbe affiancato il nuovo gruppo in fase di formazione. Questo fatto e la recente notizia della possibilità offerta dalla ME di vedere l'interno dei materiali suggerirono la necessità di disporre di uno strumento adeguato e di aggiornarsi sui nuovi metodi di preparazione dei campioni da studiare. Fu in effetti possibile ordinare un nuovo microscopio elettronico, il Siemens Elmiskop I, entrato in funzione nel 1959 e venne presentata dallo scrivente (UV) una richiesta alla NATO per una borsa di studio di un anno da usufruire presso il Metal Physics Group (MP Group) del Cavendish sotto la guida del Dr Peter Bernard Hirsch.

Ottenuta la borsa, UV incominciò a lavorare al Cavendish a partire dal novembre 1960. Scopo della ricerca era di quantificare l'effetto dell'assottigliamento sull'assetto delle dislocazioni nel caso dell'acciaio inossidabile<sup>3</sup>, perché i metallurgisti, che usavano le tecniche delle repliche e delle figure di attacco per lo studio microscopico dei metalli, ritenevano che l'assottigliamento alterasse talmente la distribuzione dei difetti da non poter trarre conclusioni realistiche dalle osservazioni per trasparenza.

Nel giugno 1961 ebbe luogo l'evento chiave che diede origine alla successiva stretta collaborazione fra l'MP Group ed il Centro ME, collaborazione poi durata ben mezzo secolo, anche oltre il pensionamento di UV nel 2002 e dei colleghi anziani del Cavendish. Il tutto ebbe origine da una conversazione di UV col Dr Archie Howie, (il più anziano dei presenti nel Cavendish nel periodo estivo) il quale gli accennò della necessità di disporre di un portacampioni che consentisse di inclinare il piano del preparato in ogni direzione fino ad alti angoli rispetto alla normale al fascio elettronico, al fine di poter applicare appieno la teoria dinamica del contrasto da lui stesso sviluppata assieme

al Dr Mike Whelan.<sup>2</sup> Il disegno di progetto di un tale dispositivo, in fase di realizzazione all'NPL (National Physical Laboratory di Teddington) che Howie gli fece vedere, era così complicato e di scarsa inclinazione che ad UV, la cui formazione iniziale era stata in ingegneria meccanica, sembrò impossibile che non si potesse trovare una soluzione molto più semplice ed efficace. Ed infatti, tornato poco dopo a Bologna, ne parlò col suo disegnatore Primo Ricciotti ed una soluzione venne escogitata. Due settimane dopo UV tornò al Cavendish con un prototipo di portaoggetti "a doppio asse (double tilt, 2t)", realizzato dal meccanico Sig. Libero Morini dell'officina del Centro ME, capace di inclinare il piano del preparato in ogni direzione fino a 22° rispetto alla sua posizione ordinaria.<sup>4</sup> Da ciò apparve chiara la complementarità delle competenze ed i comuni interessi dell'MP Group e del Centro ME. Fu di fondamentale importanza per la riuscita della futura collaborazione il fatto che entrambe queste unità di ricerca fossero dotate dello stesso tipo di strumento.

Il Dr Hirsch, il capogruppo del Metal Physics, apprezzò il lavoro fatto e chiese subito ad UV di progettare e costruire nel Centro ME altri dispositivi, che vennero poi utilizzati per le ricerche nel campo della Fisica della Materia; ad esempio, 2t e riscaldamento, 2t e raffreddamento, 2t per microscopia di Lorentz ed un impianto per studi di deposizione epitassiale in ultra alto vuoto (10<sup>-8</sup> torr) (per dettagli si veda la ref. Valdrè and Hawkes 2015<sup>5</sup>). Diversi di questi dispositivi vennero poi costruiti su licenza da AEON Labs ed AEI entrambi del Regno Unito e Siemens, Germania.

Quando nel 1965 il Dr Hirsch si trasferì ad Oxford per coprire la Isaac Wolfson cattedra di Metallurgia, il Metal Physics Group si divise: due dei membri più anziani, il Dr Archie Howie ed il Dr Mick Brown, rimasero a Cambridge con il resto del Gruppo e formarono poi il Microstructural Physics Group. UV restò con loro e continuò a collaborare sia col nuovo Gruppo sia col Gruppo del Dr Vernon Ellis Cosslett (1908-1990), responsabile dell'EM Section.

A partire dal 1968 fino al 2002 ebbero luogo tre collaborazioni ufficiali sponsorizzate dal SERC (Science and Engineering Research Council, UK) ed il CNR italiano, oltre ad una quarta collaborazione sotto l'egida della Comunità Europea che coinvolse anche Francia e Spagna. Esse riguardarono ricerche su metodi per realizzare contrasto di fase controllato; la caratterizzazione di materiali e dispositivi a semiconduttore con contrasto di diffrazione, STEBIC (cioè il metodo EBIC applicato alla microscopia a scansione in trasmissione, STEM) e microanalisi elettronica a perdita di ener-

gia (EELS); lo studio del danno prodotto dal fascio elettronico su materiale organico e biologico cristallino ed infine la produzione e caratterizzazione di nano-punte per microscopia STEM e per microscopi a forze atomiche (AFM).

Sono state condotte anche collaborazioni in campo biologico aventi per scopo la messa a punto di tecniche per lo studio di materiale biologico il più vicino possibile allo stato nativo. La collaborazione col Prof. R.W. Horne, (del John Innes Institute, Norwich, UK), ha riguardato la preparazione di materiale particolato (virus), osservato in specifiche condizioni ambientali<sup>6</sup>. La tecnica per la preparazione ed analisi di fettine ultrasottili di muscolo nello stato congelato idratato è stata sviluppata ed applicata nella collaborazione col Dr M. Sjöström dell'Università di Umeå, Svezia<sup>7</sup>. Il materiale fu tagliato nel crio-ultramicrotomo dell'Istituto di Patologia Generale dell'Università di Modena.

Per una pura coincidenza, l'arrivo di UV al Cavendish avvenne nello stesso momento in cui ebbe inizio il progetto per la costruzione del microscopio ad alta tensione, la cui differenza di potenziale massima di accelerazione degli elettroni sarebbe stata di 750 kV (HVEM). Questo progetto fu condotto sotto la direzione del Dr Ellis Cosslett<sup>8</sup> e dal progettista Dr Ken Smith<sup>9</sup>. Lo strumento, che occupava tre piani del Maxwell Building del Cavendish, fu ultimato nel 1965 e l'attività di ricerca iniziò nel 1966 con grande affluenza di microscopisti. UV e collaboratori ebbero così la possibilità di usufruire di questo strumento per esami su campioni spessi e per lo studio di materiali superconduttori e dispositivi a semiconduttore sia a bassa (Figura 1) sia ad alta temperatura. Nel 1970, il professor Antonino Zichichi, Direttore del Centro di Cultura Scientifica "Ettore Majorana", Erice (Trapani), chiese ad UV se riteneva utile e proponibile l'apertura di una Scuola Internazionale di Microscopia Elettronica nell'ambito del Centro E. Majorana; alla risposta positiva, UV ne fu nominato Direttore. Il primo Corso ebbe luogo nell'aprile 1970 e fu seguito da altri sei corsi, fino al 1989, suddivisi fra Scienza dei Materiali e Scienze Bio-Mediche. Il nucleo base dei docenti invitati a tenere lezioni per entrambi i tipi di corsi è sempre stato formato, per ragioni di affidabilità, competenza e disponibilità, da specialisti provenienti dall'Università di Cambridge. Le lezioni di tutti i quattro corsi ad indirizzo Scienza dei Materiali sono state pubblicate, in versioni ampliate e corredate da problemi risolti, da case editrici internazionali. Un partecipante al corso del 1970, l'israeliano Dr Dan Shechtman ha ricevuto il premio Nobel per la chimica nel 2011 per la scoperta

dei quasi cristalli.

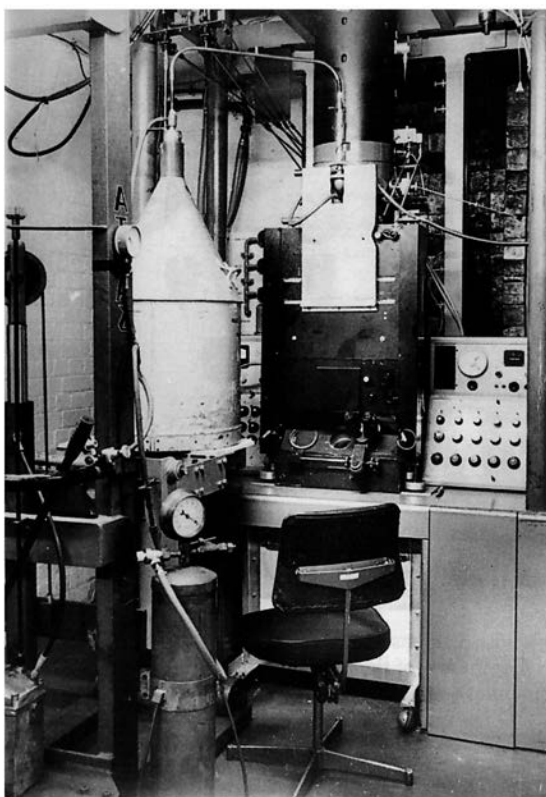
Nel 1975 le prestazioni del 750 kV TEM furono potenziate con l'aggiunta di uno spettrometro ad elettroni del tipo a perdita di energia<sup>10</sup> e, nel periodo 1976-1977, fu costruito ed installato un dispositivo per scansione in trasmissione (STEM) operante ad una tensione massima di 500 kV<sup>11</sup> (Figura 2). Da questo momento in poi lo strumento è stato quasi esclusivamente utilizzato come HVSTEM per lo studio di dispositivi a semiconduttore mediante la tecnica STEM/EBIC, indicata brevemente con la sigla STEBIC.

Dopo alcuni tentativi<sup>12,13</sup>, rimasti senza esito, di acquisire anche in Italia un microscopio elettronico ad alta tensione, forse a causa dell'alto costo, da parte delle varie istituzioni italiane, sia pubbliche sia private, UV verso il 1985 si rivolse al Professore Carlo Rizzoli, Rettore dell'Università di Bologna ed ormai prossimo alla fine del suo mandato (1976-1985), gli espone la situazione e chiese di adoprarsi affinché i ricercatori italiani potesse-

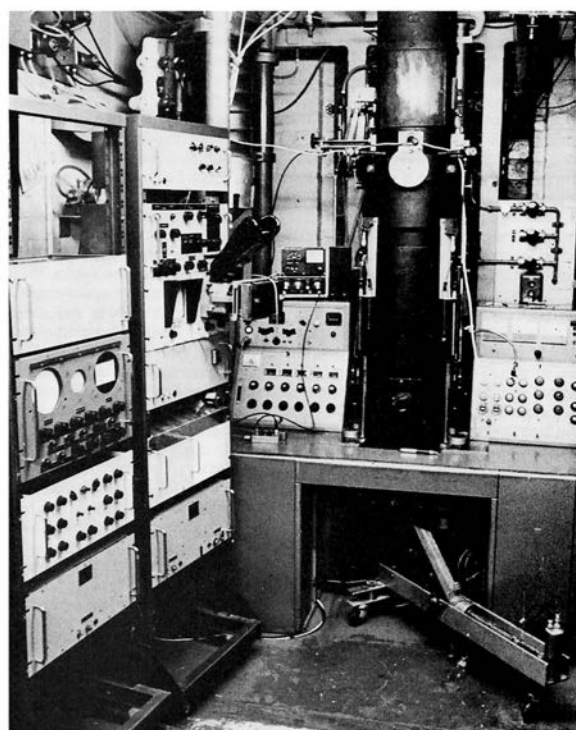
ro avere accesso allo strumento del Cavendish. Il medico Carlo Rizzoli, lui stesso un ex utilizzatore della ME, non ebbe dubbi: aderì alla proposta e seduta stante diede disposizioni per inviare una somma congrua di denaro all'Università di Cambridge.

Nel proseguimento delle celebrazioni per il 900° anniversario della fondazione dell'Alma Mater Studiorum di Bologna (1988), il giorno 29 maggio 1989 è stata conferita la Laurea Honoris Causa al Professor Archibald Howie dell'Università di Cambridge, U.K. per le sue ricerche teorico-sperimentali sull'interazione degli elettroni con la materia in un microscopio elettronico.

Un altro aspetto formale del rapporto fra le due Università di Cambridge e Bologna lo si è avuto nel 1994 con l'istituzione di un Bologna-Clare Hall Fellowship. Clare Hall è un College di Cambridge riservato ai soli laureati o "graduati". Ogni anno l'Università di Bologna propone un suo membro per questa nomina. Il Fellow beneficia dell'acces-



**Figura 1.** Il microscopio elettronico da 750 kV ad alta tensione (HVEM), corredato da un dispositivo portaoggetti raffreddato ad elio liquido. Questa configurazione fu usata per esperimenti riguardanti materiali superconduttori e per lo studio dell'effetto della temperatura sulla conservazione di preparati organici sotto irraggiamento di elettroni. Il contenitore di elio liquido era montato su un carrello che obbligava l'operatore a sdraiarsi sulla consolle dello strumento.



**Figura 2.** Il microscopio ad alta tensione di Cambridge corredato da accessori per ottenere immagini da scansione in trasmissione fino ad una tensione massima di 500 kV, per esperimenti su semiconduttori con la tecnica della corrente indotta (STEBIC) e per spettrometria elettronica a perdita di energia (EELS). Lo spettrometro è applicato sotto alla consolle. L'elettronica per il comando degli accessori è sistemata nella scaffalatura a sinistra nella foto.

so al College e delle sue strutture. Lo scrivente, che già aveva rapporti con Clare Hall come Associato, fu il primo professore dell'Università di Bologna ad essere nominato Fellow.

Con l'andata in pensione del Dr Cosslett nel 1975, che coincise col trasferimento del Cavendish nei nuovi edifici e laboratori di Madingley Road (ora 19 J.J. Thomson Avenue), una parte del suo gruppo si trasferì nei nuovi locali mentre Cosslett rimase nel (vecchio) Cavendish di Free School Lane per sovrintendere un nuovo progetto: la costruzione di un microscopio elettronico a risoluzione atomica<sup>14</sup>. Da allora in poi la gestione effettiva del 750 kV HVTEM/STEM passò allo scrivente.

Nel 1993, non molto tempo dopo la morte di Cosslett, il General Board dell'Università di Cambridge decise di destinare una parte dello spazio occupato dallo strumento ad alta tensione al Dipartimento di Materials Science and Metallurgy e una parte al Dipartimento di Social and Political Sciences. Ciò comportò la chiusura nel 1995 dell'attività del microscopio, ormai assai ridotta e lo smantellamento di tutto ciò che formava il laboratorio annesso a questa macchina. Il sottoscritto cercò di salvare al massimo il ricordo di questo strumento. Il Dipartimento di Materials Science and Metallurgy, che già si era espanso nella vicina Austin Wing del vecchio Cavendish, decise di conservare parte del generatore dell'alta tensione tipo Cockroft-Walton costruito dalla ditta Haefely (Svizzera), eliminandone alcuni stadi del moltiplicatore per poterlo sistemare nella Hall d'ingresso della Austin Wing, dove i visitatori possono ammirarlo.

Allo scrivente fu chiesto di interessarsi della colonna del microscopio, degli strumenti e del materiale di cui erano dotati i laboratori annessi (camera oscura, preparazione campioni, archivio, studiolo, ecc.). Fu materialmente impossibile aggiungere niente di questo materiale nella piccola collezione di cimeli storici contenuta nelle bacheche lungo un corridoio del nuovo Cavendish. Una visita al Whipple Museum in Free School Lane, contenente oggetti d'interesse per la storia della scienza, mostrò locali assai affollati da reperti da far subito capire che anche lì c'era poca speranza; tuttavia UV riuscì ad ottenere che venisse accettato il componente essenziale di ogni strumento sia ottico sia elettronico: la lente obiettivo. Con l'aiuto di Mr Anton King, venne eseguito il trasporto di questa lente elettromagnetica del peso di circa 50 kg nel Whipple Museum, che fortunatamente confina con il Maxwell Building del Cavendish. Il materiale rimanente venne eliminato, tranne la serie dei disegni progettuali e costruttivi dello strumento, che UV portò a Bologna assieme

me ad alcuni piccoli componenti, con la speranza di salvarli dalla distruzione sistemandoli in qualche archivio.

Sono passati 20 anni da allora, ma non si sono presentate opportunità concrete di dare una collocazione stabile a questo materiale.

Nel gennaio 2015 UV chiese consiglio al vecchio amico e collega Dr Peter W. Hawkes, già Direttore del Laboratoire d'Optique Électronique du CNRS (ora CEMES-CNRS) di Tolosa, Francia, sapendolo assai sensibile al problema della conservazione di materiale di valore per gli storici delle scienze. PWH è stato un membro dell'Electron Microscopy Section del Cavendish dal 1959 al 1975 ed ha quindi vissuto il periodo di intensa attività che portò alla costruzione del microscopio ad alta tensione ed in seguito a quello ad alta risoluzione. PWH, che è un Friend della Cambridge University Library ed un ex Fellow del Churchill College si adoprò sulla possibilità di depositare la raccolta dei disegni presso la University Library oppure negli University Archives o nel Churchill College Archives. Dopo qualche mese di indagini e trattative, Mr Allen Packwood ha acconsentito ad ospitare nel Churchill Archives Centre (Figura 3) del quale è Direttore, come regalo senza riserve e senza costi di trasporto i disegni, per essere sistemati, come è opportuno, assieme al materiale storico ivi conservato relativo all'attività del Dr. E. Cosslett e del Prof. Charles Oatley, ben noto per aver promosso la realizzazione del primo microscopio elettronico a scansione (SEM).

Un rendiconto più dettagliato degli eventi qui solo accennati è riportato nella rivista "In Focus", The Proceedings of the Royal Microscopical



**Figura 3.** La sede dell'Archives Centre del Churchill College di Cambridge dove ora sono conservati i disegni di progetto e costruzione del microscopio elettronico da 750 kV realizzato dal Cavendish Laboratory ed entrato in funzione nel 1966.



Society<sup>5</sup>.

Si è poi presentato il problema del costo, non indifferente, del trasporto. Una proposta di sponsorizzazione è stata inviata al Sig. Alberto Tinti, Sales Director South Europe della ditta FEI: la risposta è stata rapida e positiva. Ed ora, grazie alla generosità della FEI Company, i documenti storici datati oltre 50 anni fa hanno trovato una collocazione ottimale. Tutti coloro che sono interessati e si sono preoccupati della conservazione di questi disegni intendono qui esprimere il loro

caldo ringraziamento alla FEI Company per aver aderito alla richiesta di sostenere una iniziativa per salvare il ricordo storico di un notevole progetto di strumentazione elettro-ottica che ha consentito a studiosi di molti Paesi di svolgere ricerche in campi fino allora inesplorati.

Il titolo di questo articolo termina con una domanda: è sperabile che il lettore sia d'accordo con una risposta affermativa.

## Bibliografia

1. M.J. Whelan. The early observations of defects in metals by transmission electron microscopy. In: *Understanding Materials. A Festschrift for Sir Peter Hirsch* (C.J. Humphreys Ed.). Maney, London, for The Institute of Materials, 2002, pp.17-35.
2. A. Howie and M.J. Whelan. Diffraction contrast of electron microscopic images of crystal lattice defects. *Proc. Roy. Soc. A* 263, 217 (1961); A 267, p. 206 (1962).
3. U. Valdrè and P.B. Hirsch. Rearrangement of dislocations in stainless steel during electropolishing, *Phil. Mag.*, 8, pp. 237-246 (1963).
4. U. Valdrè. A simple goniometer stage for the Siemens electron microscope. *J. Sci. Instrum.*, 39, pp. 278-280 (1962).
5. U. Valdrè and P.W. Hawkes. Bologna and Cambridge Universities, an electron microscope twinning phenomenon? In *Focus*, 40, Dec. 2015.
6. U. Valdrè and R.W. Horne. A combined freeze chamber and low temperature stage for an electron microscope, *J. Microsc.* Vol. 103, Pt 3, April 1975, pp. 305-317.
7. M. Sjöström and U. Valdrè. Freezing of muscle fibers ultrathin cryocutting and transfer of frozen-hydrated sections. *Microbeam Analysis in Biology* (C. Lechene and R. Warne, Eds), Academic Press Inc., New York 1979, pp. 427-444.
8. V.E. Cosslett. High voltage microscopy in England. In: *Electron Microscopy 1968, Proc. 4th European Regional Conference on Electron Microscopy* (Daria Steve Bocciarelli, Ed.), Vol. I, pp. 19-24, Tipografia Poliglotta Vaticana, Roma, 1968.
9. K.C.A. Smith. STEM at Cambridge University: reminiscences and reflections from the 1950s and 1960s. *Adv. Imaging & Electron Phys.* 159, pp. 387-406 (2009).
10. E.H. Darlington and T.G. Sparrow. A magnetic prism spectrometer for a high voltage electron microscope. *J. Phys. E: Sci. Instrum.* 8, pp. 596-600 (1975).
11. A. Strojnik and T.G. Sparrow. An improved scanning system for a high-voltage electron microscope. *J. Phys. E: Sci. Instrum.* 10, pp. 502-504 (1977).
12. Rapporto della Commissione MEAT (Microscopio Elettronico ad Alta Tensione) del CNR, della quale facevano parte P.G. Merli e G.F. Missiroli. Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma, 1978.
13. G. Donelli, P.G. Merli, I. Pasquali Ronchetti e U. Valdrè. La microscopia elettronica in Italia: stato attuale e prospettive di sviluppo. *Ann. Ist. Super. Sanità* 18, 153-162 (1982).
14. V.E. Cosslett, R.A. Camps, W.O. Saxton, David J. Smith, W.C. Nixon, H. Ahmed, C.J.D. Catto, J.R.A. Cleaver, K.C.A. Smith, A.E. Timbs, P.W. Turner and P.M. Ross. Atomic resolution with a 600-kV electron microscope. *Nature* 281, pp. 49-51 (1979).

## Eventi nazionali

### 2015

#### **NanoItaly 2015**

21-24 settembre 2015

Sapienza Università di Roma, Roma

[www.nanoitaly.it](http://www.nanoitaly.it)

#### **Citopatologia aspirativa: tecniche di prelievo, di guida ecografica e di valutazione microscopica della adeguatezza diagnostica**

Napoli, 12-17 Ottobre 2015

<http://www.unina.it/studentididattica/postlaurea/perfezionamento/dettagli.jsp?cont=344>

#### **Workshop Luce, Imaging, Microscopia, Spettri di applicazione (LIMS 2015)**

ENEA C.R. Frascati il 15-16 ottobre 2015

<http://www.frascati.enea.it/LIMS2015/index.html>

#### **Corso Interattivo di Citomorfologia Ematologica: Le Sindromi Mielodisplastiche nella Classificazione WHO 2008 (evento AIPACMeM in collaborazione con SIMeL)**

6-7 Novembre 2014, Roma

E-mail: [segreteria nazionale@aipacmem.it](mailto:segreteria nazionale@aipacmem.it)

<http://www.sipmel.it/it/convegno.php/106259>

## Eventi internazionali

### 2015

#### **Advanced EELS and EFTEM training school**

September 29 - October 2, 2015

Grenoble, France

Organisers: CEA MINATEC and Gatan

#### **Nanomechanical Testing in Materials Research and Development V**

October 4-9, 2015

Albufeira, Portugal

#### **Workshop on Integrated CLEM**

October 5, 2015

Hosted by the Electron Microscopy Core Facility at the European Molecular Biology Laboratory (EMBL)

Heidelberg, Germany

#### **DoKDoK 2015 - a doctoral conference on Optics and Photonics**

October 11-15, 2015

Eisenach, Germany

#### **Nano-Spectroscopy & Bio-Imaging**

October 14-15, 2015

The Ricoh Arena, Coventry, UK

#### **The Aurion ImmunoGold Silver Staining Fall Workshop**

October 14-15, 2015

University of Maryland, Electron Microscopy Core Imaging Facility, Baltimore, USA

Organizations: Aurion and Electron Microscopy Sciences

#### **Symposium L: Nanofunctional Materials and Nanodevices at the 2015 MRS Fall Meeting & Exhibition**

November 29 - December 4, 2015

Boston, Massachusetts, USA

#### **Global Engage's Microscopy Congress**

**Utilizing Microscopical Technologies as a Tool for Progressing Medical Research**

November 30 - December 1, 2015

London, UK

## 2016

### **24<sup>th</sup> Australian Conference on Microscopy and Microanalysis (ACMM24)**

January 31 - February 4, 2016

Melbourne, Australia

### **10<sup>th</sup> Winter School of the ESMI on Cardiovascular Imaging**

January 31 - February 5, 2016

Ecole de Physique, Les Houches, France

### **11<sup>th</sup> European Molecular Imaging Meeting – EMIM 2016**

March 8-10, 2016

Congress centre Jaarbeurs „Supernova“, Utrecht, The Netherlands

### **43<sup>rd</sup> Annual Meeting of SCUR**

May 26-28, 2016

Galway, Ireland

### **ISM2016 - ISM Golden Jubilee conference**

The 50<sup>th</sup> annual meeting of the Israel society for microscopy

May 31 - June 2, 2016

Leonardo Hotel, Haifa, Israel

### **SCANDEM 2016**

Annual conference of the Nordic Microscopy Society

June 7-10, 2016

Trondheim, Norway

Organisers: Norwegian University of Science and Technology (NTNU)

### **15<sup>th</sup> International Congress of Histochemistry and Cytochemistry (IHC 2016)**

June 19-22, 2016

Istanbul, Turkey

### **12<sup>th</sup> International Congress of Cell Biology**

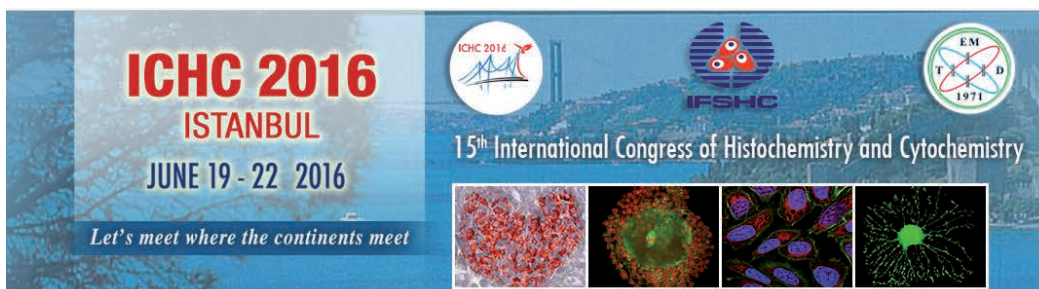
July 21-25, 2016

Prague, Czech Republic

### **16<sup>th</sup> European Microscopy Congress (EMC2016)**

August 28 - September 2, 2016

Lyon Convention Centre, Lyon, France



**ICHC 2016**  
**ISTANBUL**  
 JUNE 19 - 22 2016

Let's meet where the continents meet

15<sup>th</sup> International Congress of Histochemistry and Cytochemistry

## Welcome Message



Dear Ladies and Gentlemen,

On behalf of the Turkish Society for Electron Microscopy, it is my pleasure to invite you to 15<sup>th</sup> International Congress of Histochemistry and Cytochemistry (ICHC 2016) in June 19-22, 2016, Istanbul, Turkey.

International Congress of Histochemistry and Cytochemistry, held in every four years under the auspices of IFSHC has been providing an international medium on up-to-date techniques to contribute to scientific progresses.

The main goal of ICHC 2016 is to bring the worldwide histochemists together and provide an environment for close cooperation, exchange of information and collaborations. As Istanbul is centrally located between Europe and Asia, we really hope an easy access of scientists from all areas. Istanbul is a unique historical meeting point of Turkey with charming monuments, museums and breathtaking atmosphere of Bosphorus.

Istanbul has previous experiences in hosting large number of congresses. The congress venue, "**Military Museum Convention and Exhibition Center**" is an historical building within city center with an ideal range of facilities .As being situated in the congress valley, the venue is in walking distance to many 3-,4- and 5- stars hotels.

We hope that all of the participants will spend a fruitful time in ICHC 2016, making the most of the opportunities for international exchange in the field of histochemistry and cytochemistry.

We are looking forward to meeting you in Istanbul in June 2016.

Serap Arbak  
 ICHC 2016 Chairman

# 12<sup>th</sup> International Congress of Cell Biology

July 21-25, 2016, Prague  
Czech Republic, Prague Congress Centre



Exploring cellular structure and function

## WELCOME WORD

**Dear Colleagues,**

On behalf of the Czech Society for Cell Biology, I wish to extend a cordial invitation to you to participate in the 12<sup>th</sup> International Congress of Cell Biology. The congress, held under the auspices of the International Federation for Cell Biology (IFCB), will take place 21 - 25 of July, 2016 at the Prague Congress Center, Prague, Czech Republic.

The aim of the congress is to offer a unique opportunity for sharing well selected aspects on the latest evidence based research findings and applications. Also, the congress is a stimulating forum for professional development and establishing fruitful global and regional collaborations.

Newly integrated in the congress programme are the academic, scientific and corporate project development day, exchange and career fair for students, professional development accreditation (CME), industry training centre and last but not least new innovative congress technologies for delegates. We expect more than 3000 participants including 80 invited speakers.

The congress theme, „Exploring cellular structure and function“ recognises the key role that cell biology plays in the management of deeper understanding of the tissues and organisms that cells compose. We have done the utmost to create a programme in line with the theme.

Prague is a charming city situated in the very heart of Europe. It has a rich history, magnificent architecture, and a unique culture. The region of Prague is an important center of research with several universities and a majority of institutes of the Czech Academy of Sciences. Please join us for the International Congress of Cell Biology 2016 in Prague, Czech Republic. We look forward to seeing you in July, 2016.



**Prof. Ivan Raška**

*Chairman of the Czech Society for Cell Biology, z.s.*

*Chairman of the 12<sup>th</sup> International Congress of Cell Biology*



Dear colleagues, dear partners

On behalf of the French Society of Microscopy SF $\mu$ , we would like to warmly welcome you in the charming and cultural city of Lyon for the **16th European Microscopy Congress - EMC2016**, from August 28th to September 2nd, 2016, organized under the auspices of the **European Microscopy Society (EMS)** and the **International Federation of Microscopy Societies (IFSM)**.

After having hosted the International Congress on Electron Microscopy in Grenoble in 1970, then in Paris in 1994, it is a great pleasure and a great honour for us to invite you to be part of this new international event on microscopy that will be again in France.

Since the 12th European Congress on Electron Microscopy EUREM in Brno, Czech Republic in 2000, this European meeting, which is held every four years, has evolved to cover not only electron microscopy but a much larger panel of all the microscopies. We clearly intend to promote in the next EMC2016 a pluri- and multi-disciplinary atmosphere, mixing, photonic, near field, ionic and electron-based approaches, with an extension to complementary techniques such as spectroscopies, atom probe and X-ray tomography.

Our goal is to organize an unforgettable meeting for all attendees, and offer you, as partner companies and exhibitors, fruitful conditions to participate, animate, exchange, and show to the whole community all your expertise and new products, on booths or during workshop sessions. This remains a definitive driving force for better knowledge and advances not only in microscopies, but more generally in science for the human being safety, care and comfort.

**Dr. Thierry EPICIER**  
Conference President

**Dr. Pascale BAYLE-GUILLEMAUD**  
Conference Vice-President

**Didier BLAVETTE**  
SF $\mu$  President (2014)

**Analysis of ER-mitochondria contacts using correlative fluorescence microscopy and soft X-ray tomography of mammalian cells**

*Elgass K.D., Smith E.A., LeGros M.A., Larabell C.A., Ryan M.T.*

J. Cell Sci. 128(15):2795-804, 2015. doi: 10.1242/jcs.169136

In recent years the dynamics of mitochondria and their relationships with other cell organelles (especially the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus) have received increasing attention, and several research groups have been focusing on this issue by using high resolution microscopic techniques. In this article, the Authors combined confocal live-cell imaging with correlative cryogenic fluorescence microscopy and soft x-ray tomography to investigate mitochondrial fission: this event is strictly related to organelle transport, quality control and regulated cell death, and the endoplasmic reticulum is possibly involved in this process. The spectacular results obtained by this approach demonstrate the involvement of two proteins located in the mitochondrial outer membrane (MiD49 and MiD51) at the endoplasmic reticulum-mitochondrial division foci, thus supporting a role of the endoplasmic reticulum in mitochondrial fission. The 3D reconstruction of endoplasmic reticulum-mitochondria contact sites during fission add further insight into this complex and still incompletely elucidated process.

*Manuela Costanzo  
Università di Verona*

**Models of lipid droplets growth and fission in adipocyte cells**

*Boschi F., Rizzatti V., Zamboni M., Sbarbati A.*

Exp. Cell Res. 336(2):253-62, 2015. doi: 10.1016/j.yexcr.2015.06.001

In this paper the Authors, who have wide experience in research on adipose tissue, investigate the still unknown mechanisms regulating the number and size of lipid droplets. This is only apparently a theoretical issue, since the comprehension of these processes could help in designing therapies for pathologies related to lipid accumulation, like obesity, type 2 diabetes, hepatic steatosis and atherosclerosis. The Authors analyzed the number and size distribution of lipid droplets in a cell model *in vitro* by applying their previously published method which mimics the fusion process between lipid droplets by Monte Carlo simulations. Obviously, these simulations were developed taking into account not only droplets' fusion but also other processes such as the *de novo* formation, the growth through additional lipid deposition in pre-existing droplets, and the absorption/interaction with other organelles. Moreover, the reduction in size of lipid droplets occurring under lipolytic conditions (fission and size decrease through lipid exit from pre-existing droplets) was also considered in the simulations. After collecting measurements of more than 11,000 lipid droplets detected by a classic histochemical method (Oil Red O staining), the Monte Carlo simulations demonstrated that each single process cannot be considered the only responsible for the number and size variation but, if the different processes play together, they fully reproduce the cellular model. This confirms the suitability of this statistical approach for understanding the intracellular lipid dynamics, and opens interesting perspectives for its application in clinical studies.

*Carlo Pellicciari  
Università di Pavia*



**Workshop proceedings**  
**Electron microscopy and imaging techniques**  
**in food science**

June 19, 2015 - University of Verona

**THE SCANNING ELECTRON MICROSCOPE  
 IN FOOD INDUSTRY: APPLICATIONS AND  
 EXAMPLES**

S. G. Alberici<sup>1</sup>, V. Kostal<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Surface Analysis Division, Gambetti Kenologia Srl,  
 Via Volta 27, 20082, Binasco, Italy*

<sup>2</sup>*SEM Demo Labs, TESCAN ORSAY HOLDING, a. s.,  
 Libusina trida. 21, 62300, Brno, Czech Rep.*

*E-mail: stefano.alberici@gambetti.it*

Scanning Electron Microscope (SEM) usage has strongly increased over the past decades, dealing with a number of interest fields that has constantly grown, from semiconductors, to Metallurgy, to Chemistry, to Life Science, just to cite a few.

The technological improvement, together with the development of user friendly interface with the user, made the SEM much more appealing even to scientist who were not familiar with this technique, extending their research capability to boundaries that were not in their focus just a few years ago.

Here, the great step ahead with respect to the classical microscopy, lies on being able to go much further than the optical microscope resolution limit (i.e.: a few hundreds of nm) down to even less than one nm.

In Life Science the complication arises from the nature of the sample, that usually contains water, it is not stable under vacuum, is very often non electrically-conductive and, therefore, not easily suitable for a SEM analysis where vacuum is needed as well as a conductive specimen would be the desirable condition.

Instead of making use of a light beam as a probe medium as it happens in the optical microscope, the SEM uses an electron beam as a probe, that is regularly scanned by a computer onto the specimen surface to be analysed, the beam being coupled to a detector and the computer itself that reproduces the specimen topography.

In order to have enough mean free path for the electrons, from the electron source down to the

specimen vacuum must be produced, to prevent air from stopping or just scattering the electron beam off the electron path axis. This is why vacuum is needed in this microscope setup.

There are different ways to manage the food samples for SEM analysis: from freezing the sample down to low temperatures, to prevent itself from degaussing (i.e.: changing its morphology and structure) when in vacuum, to coating it by conductive and impermeable films that prevent water from being dispersed into vacuum, to dehydrate the sample if loss of water does not imply a change in the imaging expectations, and so on.

This presentation deals with an overview about sample preparation for Food Science related samples that are then supposed to be measured by SEM, a discussion on the challenges and opportunity that an SEM offers in the field of analysis of the Food Science, and a session dedicated to the application and examples of what can be done by using an SEM in food applications.

It is discussed the sample issues for a good SEM analysis, how to properly manage the sample itself, the usage of the instrument and the results, with a special focus toward the ones who are not expert in SEM practise, though they are used to analyse Food related samples for their Research areas.

**OPTICAL IMAGING IN FOOD ASSESSMENT:  
 TECHNIQUES AND INSTRUMENTS**

F. Boschi

*Department of Computer Science, University of Verona,  
 Strada le Grazie 15, 37134 Verona, Italy*

*E-mail: federico.boschi@univr.it*

The visual perception is one of the most ancient and useful approach for food assessment. Nowadays the extension of the visual perception is represented by the optical imaging which is based on the detection of ultraviolet and near

infrared photons beyond visible photons. This extension is possible thanks to the development of new instruments, light sources (lasers and LEDs) and very sensitive detectors (photomultipliers and charge coupled devices – CCDs). Here the attention is focused on the detection of light with optical imagers and confocal microscopes.

Generally, the light processes detected with these instruments are: fluorescence, phosphorescence and bioluminescence. When a beam of light passes through the matter the photons can excite a molecule to a higher vibrational energy level. The excited molecule rapidly loses part of the energy as heat and relaxes to the previous state with the emission of a photon with lower energy. The process, called fluorescence, is almost immediate ( $10^{-8}$  s). Sometimes the excited molecule can stay in an intermediate energy level and returns at the ground level at significantly slower time scales. The emission, called phosphorescence, is thus retarded with respect to the excitation. The third process is the bioluminescence which is a form of chemiluminescence which happens in biological systems.

The optical imagers are composed by a dark chamber to prevent the contamination of light from outside and a very sensitive CCD camera with very low noise level. They are also equipped with a light lamp and many excitation and emission filters which are used in fluorescence modality. The autofluorescence of cells and tissues can be used as endogenous fluorescent markers, instead commercially available fluorescent molecules as exogenous markers. They can be selected among a great variety and with the required optical properties. The contemporary use of two or three markers are also very interesting. In case of bioluminescence modality, the lamp is off and no filters are used to detect the light. The optical imaging technique is cheap, repeatable, allowing very simple samples preparation and it offers the advantages of fast acquisitions (1 sec to 5 min, depending of the modalities).

The confocal microscopes are an improvement of the classic optical microscopes designed for increasing optical resolution and contrast by means of adding a spatial pinhole placed at the confocal plane of the lens to eliminate out-of-focus light. They permit high resolution in thin section using autofluorescence, exogenous fluorescence and allowing the 3D reconstruction of the foods' properties and structures.<sup>1</sup> The struc-

ture of a food affects how it breaks down in our mouths and our perception of its flavor but also the release and bioavailability of minerals, vitamins and polyphenols in our digestive system. Thus food structures are increasingly being recognized as important in technology innovation for the development of healthier foods.<sup>2</sup>

## References

1. Rincon Cardona JA, in Biochemistry, Genetics and Molecular Biology "Confocal Laser Microscopy - Principles and Applications in Medicine, Biology, and the Food Sciences", book edited by Neil Lagali , ISBN 978-953-51-1056-9, 2013
2. <http://csironewsblog.com/tag/food/>

## OPTICAL PROPERTIES OF FOODS: POTENTIALITIES AND PROSPECTS

L. Calderan

*Department of Neurological, Biomedical and Movement Sciences, University of Verona, Strada Le Grazie 8, 37134 Verona, Italy*

*E-mail: laura.calderan@univr.it*

Food analysis is the discipline dealing with the development, application and study of analytical procedures for characterizing the properties of foods and their constituents. Many investigative procedures are used to provide information about a wide variety of different characteristics of foods, including their composition, structure, physico-chemical properties and sensory attributes.

Optical properties of food are a good instrument to evaluate many parameters as presence of bacteria, product quality, freshness or state of preservation or conservation type.

Normally in the food and raw materials industry methods of quality and sterility control are used (which detect the presence of bacteria, fungi or yeasts) through luminometric quantitative methods that relate the presence of living organisms with the emission of photons. But in this case optical properties of luciferase - luciferine system are used to measure presence and quantity of ATP.

Intrinsic optical properties of food could be assessed with no difficulty in case of vegetable foods. The fluorescence emission of chlorophyll (680 and 700 nm) is measurable in a non invasive and relative easy way and it is indicative of the changes in the morphology, anatomy and physiol-

ogy of the plant itself. Chlorophyll fluorescence could be used as an early stress indicator. In particular, the fluorescence could provide details on the ability of a plant to tolerate environmental stresses and their capacity to damage the structure of the plant. So it is possible to detect cultivation mode, mode and timing of harvest and post-harvest preservation methods.

Also, food of animal origin contains molecules, as peptides or proteins or others components, that have intrinsic optical properties of photon emission. All these components could be affected by how they are to be processed, handled, stored, and conserved. In this case the cause of photon emission is unknown so only with the use of a multimodal approach could it be possible to characterize the structure and identity of the source of this emission.

The measurement of the photon emission could be also useful to highlight the presence of food additives or ingredients if they have, as it is often the case, intrinsic optical characteristics of photons emission with fluorescence or phosphorescence modality. Besides thanks to basic research studies it could be also monitored the presence of these components in living organism, their biodistribution and tissue accumulation characteristics through experimental model where they are viewable.

Food safety and quality control could be investigated through optical properties of the food but also the study of optical properties of food is a non invasive way to monitor the impact on human health of the use of additive, preservative and food processing mode.

## References

- Fan F. and Wood K.V. Technology Review: Bioluminescent Assays for High-Throughput Screening. Assay and Drug Development Technologies, Vol 5, N° 1, pp.127-136. 2007
- Karoui R. and Blecker C. Fluorescence Spectroscopy Measurement for Quality Assessment of Food Systems - a Review. Food Bioprocess Technol 2011; 4:364-86

## POTENTIAL OF MAGNETIC RESONANCE IMAGING IN FOOD SCIENCE

P. Marzola

*Department of Computer Science, University of Verona, Strada Le Grazie 15, 37134 Verona, Italy*

*E-mail: pasquina.marzola@univr.it*

Magnetic Resonance Imaging (MRI) is a powerful diagnostic modality providing high resolution, non-invasive and multi-parametric images of the human body. Dedicated equipment, mainly developed for imaging of small laboratory animals, can reach the limit of MRI microscopy that generally is assumed to be 100 microns.<sup>1</sup> NMR, and particularly its microscopy version, also known as MRI, has been applied to investigate different kind of foods: fruit, vegetables, meat, dairy products, cereals.<sup>2</sup> The non-invasiveness of MRI acquisitions, which is one of the most relevant features of diagnostic MRI, is advantageous also in food science since it allows dynamic studies to be performed during the preparation process of food or during fruit ripening. For example, MRI has been applied in dynamic studies to investigate de-hydration, cheese brining, fish salting, thermal processing of cereals.<sup>2</sup> Moreover, it is worthwhile to mention the studies performed to unveil the geographical origin of food growth,<sup>3</sup> or to measure fat content in ham.<sup>2</sup> Interestingly, most of MRI modalities used in the clinics can be translated in food science. For example T2-weighted images can provide high resolution images of vegetables with superb morphological detail and clear discrimination of regions containing free water. Localized spectroscopy is used in humans to detect and quantify lipids or metabolites and can be applied in food science as well to quantify lipids or sugar concentration. Diffusion tensor imaging (DTI) allows to detect axonal fiber in the brain, but can also be used in several fiber-rich vegetables as celery<sup>4</sup> or fennel to detect the organization of vegetal fiber. Finally dynamic contrast enhanced MRI (DCE-MRI), used in humans to study in vivo tissue perfusion, has been recently used to study fluid transportation in tomatoes.<sup>5</sup>

In conclusion, MRI at microscopic resolution has a great potential in food science that has not been fully exploited at the present, mainly due to the high costs of the equipment and the requirement of specialized personnel.

---

## References

1. Badea A, Johnson A, Magnetic Resonance Microscopy, Biophotonics in Pathology. 2013;185:153.
2. Mariette F et al., Quantitative MRI in Food Science & Food Engineering, Encyclopedia of Magnetic Resonance, Online 2007-2012, John Wiley & Sons, Ltd.
3. Sequi P et al., Journal of the Science of Food and Agriculture. 2007;87:127.
4. Gaggl W et al., Magn Reson in Medicine. 2014;72:1668.
5. Kenouche S, et al., Magn Reson Imaging. 2014;32:1418

## MEAT COMPOSITION, FROM MICROSCOPY TO CHEMISTRY BY WAY OF DIAGNOSTIC IMAGING

S.C. Modina<sup>1</sup>, E. Trevisi<sup>2</sup>, C. Bernardi<sup>1</sup>, M. Di Giancamillo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Health, Animal Science and Food Safety, Università degli Studi di Milano, via Celoria 10, 20133 Milano, Italy

<sup>2</sup>Institute of Zootechnics, Faculty of Agriculture, Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense 84, 29122 Piacenza, Italy

<sup>3</sup>Department of Veterinary Science and Public Health, Università degli Studi di Milano, via Celoria 10, 20133 Milano, Italy

E-mail: [silvia.modina@unimi.it](mailto:silvia.modina@unimi.it)

The increasing demand of a real-time monitoring of food products has encouraged the application of non-invasive techniques. Computed Tomography (CT) and Magnetic Resonance Imaging (MRI) proved to be very accurate and valuable tools in estimating body and carcass composition in farm animals.<sup>1</sup> CT has been successfully used for the characterization of food Italian products such as salami, providing a precise evaluation of fat percentage, also assessing its spatial distribution.<sup>2</sup> Manzocco and colleagues demonstrated that MRI has great potential in monitoring the evolution of dry curing in S. Daniele hams.<sup>3</sup>

In our experience, helical CT proved to be a fast tool in the classification of different meat cuts, deriving from adult cow and destined for the preparation of air-cured products as “lean meat” or “fat meat”, both in fresh and frozen samples.

Histological studies confirmed that CT clearly distinguishes adipose and connective tissue infil-

tration within muscles and that semi-quantitative analysis of infiltration degree can be achieved. These data were further supported by the chemical analysis of meat samples corresponding to the same region of interest observed in both CT and histologic investigations; dry matter, crude proteins, crude fat and ash contents, calculated following standard international methods,<sup>4</sup> varied in fact depending on the fat infiltrated extent, according with CT images. We finally observed that CT could be used in the evaluation of the same products at the end of ripening, without removing the outer envelope.

These results are important for beef and meat industrial processing sector, suggesting that CT could be employed as an on-line instrument in abattoir and dry-cured meat industry in classifying the products at the beginning of the manufacturing even they are frozen. Moreover, it might represent a rapid and non-invasive technique for quality check at the end of the production line and for the assignment of the most appropriate nutritional and commercial value to different products.

---

## References

1. Scholz AM et al. Animal. 2015; 9: 1250
2. Frisullo P et al. Journal of Food Engineering. 2009; 94: 283
3. Manzocco L et al. Food Chem. 2013;141(3):2246
4. AOAC International 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International Gaithersburg, MD

## MRI (AND NOT ONLY) IN FOOD SCIENCE

F. Moneta<sup>1</sup>, C. Vailati<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bruker Italia Srl Unipersonale, Bruker BioSpin Preclinical Imaging Division, V.le Lancetti 43, 20158 Italy

<sup>2</sup>Bruker Italia Srl Unipersonale, Bruker Nano Analytics, V.le Lancetti 43, 20158 Italy

E-mail: [francesco.moneta@bruker.com](mailto:francesco.moneta@bruker.com)  
[cristian.vailati@bruker.com](mailto:cristian.vailati@bruker.com)

Food is any substance consumed to provide nutritional support for the body. It is usually of plant or animal origin, and contains essential nutrients, such as carbohydrates, fats, proteins, vitamins, or minerals. The whole food industry covers several areas from farming and food production, packaging and distribution, to retail and catering including subareas like regulation, educa-

tion, R&D, manufacturing, agriculture, processing, marketing, wholesale and distribution, and for Europe it represents the second largest industry (after metal industry) with Euro 917 billions 310.000 companies and 4.8 millions employees, equal to 14% of the total manufacturing sector (EU-27 - 2013 [http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/food/eu-market/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/food/eu-market/index_en.htm)).

With a wide range of products, Bruker ([www.bruker.com](http://www.bruker.com)) offers solutions in most of these fields. In particular Bruker offers a wide portfolio of imaging techniques like magnetic resonance imaging (MRI), high resolution microtomography (microCT), PET, SPECT, CT, Optical fluorescence and bioluminescence, Magnetic Particle Imaging (MPI).

These techniques are routinely used in the fields of food quality and safety, food technology, raising, seafood, preparation of fresh products, manufacture of prepared food products and warehousing.

MRI has the advantage of being a non-destructive, non-invasive, molecule specific (fat, water, alcohol, ...), nucleus specific ( $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{19}\text{F}$ , etc.) technique mainly based on the detection water (or generally speaking  $1\text{H}$ ) content in tissues/materials, under several contrast parameters as density, mobility, relaxation, diffusion and flow with a typical image resolution down to tens of microns.

It allows 2D/3D spatial localization, resolution of the information in the temporal dimension even with dynamic and real time capabilities. As a non-destructive technique it's very useful in longitudinal studies. A non-exhaustive list of examples of MRI applications in the food industry are the cooking process of pasta, single onion cell imaging, leaves structure, melon infection studies, plants roots growing, water uptake followed by drying of a barley corn, bread dough leavening and yoghurt homogeneity determination.

A good alternative to MRI is represented by micro-tomography (microCT). It allows a complete quantitative 3D volume insight of any food during its preparation as well as in the packaging

with a resolution down to a nanometer. Examples of uCT application in the food industry are the distribution of coffee powder in coffee chowders, potato chips distribution of air/oil bubbles, maple seeds fine structure, determination of fat content in fish food, degradation of apples, studies on ice cream homogeneity.

In conclusion imaging techniques represent an innovative tool for the food industry and bridge the gap between macroscopic observation and microscopy techniques.

## TECHNIQUES FOR THE ULTRASTRUCTURAL ANALYSIS OF FOOD

A. Sbarbati

*Department of Neurological, Biomedical and Movement Sciences, University of Verona, Strada Le Grazie 8, 37134 Verona, Italy*

*E-mail: andrea.sbarbati@univr.it*

Ultrastructural techniques are powerful tools by which a wide variety of data can be obtained on the structure and composition of food. In particular, transmission electron microscopy allows to gain evidence on the preservation state of food, to investigate the processing-induced changes, and to distinguish food typicalities, while scanning electron microscopy provides detailed information on the outer and cutting surfaces of food products. X-ray microanalysis at electron microscopy can be used to detect the occurrence of specific chemical elements which can be either naturally present or may contaminate food during processing or packaging. These techniques are often used to examine meat or fruit, but they could also be applied to more specialized investigations such as the analysis of microbial components with probiotic activity or of nanoparticulates. Ultrastructural techniques should therefore integrate the conventional histological analyses and be extensively applied, in future, for food characterization and safety control, thus being a helpful support for the protection of public health.

## IMAGING TECHNIQUES APPLIED TO THE STUDY OF GRAPEVINE BERRY RIPENING AND POSTHARVEST DEHYDRATION

G.B. Tornielli

Department of Biotechnology, University of Verona,  
Strada le Grazie 15, 37134 Verona, Italy

E-mail: giovannibattista.tornielli@univr.it

Grapevine berry development is characterized by many metabolic and structural changes that determine the final quality of the fruit at harvest. These include the pericarp tissue softening, the flesh cell volume increase due to water and sugar import, and the accumulation of anthocyanins and other flavonoids in the epidermal and hypodermal cells of the skin. For particular enological purposes (i.e. the production of wines like Recioto and Amarone), in the Verona area grapes are placed in ventilated rooms, for a period of about three months after harvest. During this time berries undergo several physical and biochemical changes in part due to a slow but constant water loss. We performed analyses using several different imaging and microscopy techniques to explore their potential application in revealing structural and composition features of grape berries through development and during the postharvest dehydration phases. The preliminary results showed that NMR is a powerful non-destructive technique to study the structural changes occurring in berry tissues along development. On the other hand, SEM microscopy was particularly helpful in revealing differences in the outermost cell layers of berry skin in different grapevine varieties. Finally, using optical imaging spectroscopy we were able to select combination of excitation/emission wavelengths able to discriminate whole grape berries (i) at different dehydration levels, (ii) subjected to different dehydration condition and (iii) of different varieties. Overall these preliminary data indicate that the microscopy and imaging approaches used in this study represent promising tools for the detailed description of the changes that characterize grape berries during the on-vine growth and ripening stages and the off-vine dehydration process.

## DISCOVERY THE MICROORGANISMS OF FOODS AND BEVERAGES BY ELECTRON MICROSCOPY

S. Torriani, G.E. Felis

Department of Biotechnology, University of Verona,  
Strada le Grazie 15, 37134 Verona, Italy

E-mail: sandra.torriani@univr.it

The study of microorganisms has gone hand in hand with microscopy since Antoni van Leeuwenhoek observed and described single-celled organisms in 1684 using handcrafted simple microscopes. However, the ability to resolve structures using light microscopes is though limited to around 200 nm. With the development of electron microscopy (EM) techniques, the resolution limits of light optical microscopy was breached, and a dramatic enhancement of the level of detail in cell morphology has been achieved, as well as the possibility to reveal the cellular ultrastructure.

Since the 1950s, EM technologies have been used in microbiological research and remain essential tools for the users to explore the microbial world and provide novel insights into a wide variety of aspects of modern microbiology.

This presentation demonstrated some application of EM related to the microorganisms associated with foods and beverages, with special attention to the pro-technological and the probiotic organisms.

Selected scanning EM (SEM) micrographs showing pure cultures of single bacteria, yeasts and moulds were presented to visualize the different shapes, sizes and arrangements of cells. This basic information on morphological features is fundamental in the taxonomic characterization of new culturable food-borne isolates. In addition, the description of novel genera and species should include morphology to ensure a rich polyphasic characterization. As an example, in the proposal of *Zygosaccharomyces gambellarensis*, a novel yeast isolated from an Italian "passito" style wine, we have reported a detailed description of the cell shape and morphology as observed in photomicrographs.

SEM also plays a paramount role for assessing

---

the three-dimensional structure of microbial populations present in complex food samples, and can unveil food-microbe and microbe-microbe interactions thought to be crucial for obtaining the desired product quality. Examples of such observations were reported: SEM images of yogurt and cheese revealed the presence of micro-colonies of bacilli and cocci in micro-holes of the matrices. A carpet of yeasts and bacteria colonized the surface of Kefir grains, and fibrillar material was also observed among cells. During the first months of ripening, the San Daniele ham was covered by an agglomerate of moulds, yeasts and bacteria, that

are important for a proper drying. Development of *Botrytis cinerea* in its noble form in grapevine berries during withering can be followed by EM examination and linked to peculiar sensory traits of the obtained wine.

Finally, in this post-genomic era, the identification of novel genome features coding for specific morphological characters, such as presence of pilus gene clusters in a probiotic bacterium, needs validation through appropriate EM observations. Thus the close link between microbiology and microscopy is continuing to increase our understanding of the beneficial effects of microbes in food.

# Optical imaging in pills: techniques, instruments and applications

F. Boschi,<sup>1</sup> L. Calderan<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Computer Science, University of Verona, Strada le Grazie 15, 37134 Verona, Italy

<sup>2</sup>Department of Neurological, Biomedical and Movement Sciences, University of Verona, Strada le Grazie 8, 37134 Verona, Italy

Corresponding author: Federico Boschi

Department of Computer Science, University of Verona, Strada le Grazie 15, 37134 Verona, Italy

Tel. +39.045.8027272

E-mail: federico.boschi@univr.it

## Summary

Optical imaging (OI) is an emerging field based on the detection of light photons in the ultraviolet, visible and infrared regions of the electromagnetic spectrum. According to the definition, the term “optical imaging” typically excludes classical microscopy techniques in favour of larger scale imaging methods which are devoted to the acquisition of images of small (few centimetres) sized samples. Biomedical OI is focused on the detection of biological samples with special attention to the *in vivo* acquisitions. Recent development of very sensitive detectors (photomultipliers and charge coupled devices – CCDs) allowed the detection of very weak light signal in biological samples not only in the visible range but also in the near infrared (NIR) region of the spectrum, which is noteworthy for the biological applications. The parallel advance of the light sources (lasers and LEDs) allowed to produce high intensity light beam with very powerful optical characteristics at relatively low costs. These two technological improvements, combined with the advances in the chemical field by the synthesis of new contrast agents with luminescent properties, led to the increasing importance of the OI techniques in the molecular imaging landscape. Here we review the conceptual bases of OI, the three main techniques (i.e. Bioluminescence, Fluorescence, and Cerenkov luminescence imaging), and some applications of OI in our laboratory.

**Key words:** optical imaging, bioluminescence, fluorescence, Cerenkov luminescence imaging, *in vivo* imaging

## Light propagation in biological tissues

The term *optical imaging* (OI) “typically excludes classical microscopy techniques in favour of larger scale imaging methods” (Nature.com, 2015) which are devoted to the acquisition of images of small (few centimetres) sized samples. In order to understand the advantages and limits of OI, it is fundamental to highlight what it happens when the light passes through the matter. The most important processes are the scattering and the absorption of photons.

A light beam, travelling through a slab of biologic material, encounters many different structures with different optical refractive index (membranes, cytoplasm, organelles, extracellular matrix) and it is forced to change its original direction.

From another point of view, each photon of the beam can be deviated by the interaction with the electrons of the matter. The phenomenon is called “scattering” and it is responsible of the diffusion of light as it occurs, for example, when a finger is placed in front of the red LED of a television set. A photon can undergo 10-1000 or more scattering events; the number depends on both the wavelengths of the photon and the optical properties of the matter. Each scattering event can be fatal for the photon which can be absorbed by a molecule. If it happens, the molecule is excited to a higher vibrational energy level and rapidly losses part of the energy as heat and relaxes to the ground state with the emission of a photon with lower energy. The process is almost immediate ( $10^{-8}$  s) and it is called “fluorescence”.



The photons' absorption is crucial for OI. Instead, the number of a photons in a light beam decreases as the travelled distance increases, with an exponential law (Lambert-Beer law). The "mean free path before absorption" of the photons, i.e. the distance which reduces the photons' number to about 1/3 (which depends on the wavelength and the optical properties of the matter) is about 0.4 cm for blue photons (450 nm) and 1.8 cm for NIR photons (800 nm), in a tissue with the optical properties of muscle. It is clear that only shallow light sources are detectable and the technique is prevalently appropriate for small laboratory animals. Moreover, acquisition in the NIR range is more favorable with respect to the other spectral regions. In fact the absorption of hemoglobin, water and lipids, which are the most important absorbers in biological tissues, is reduced between 650 and 800 nm which is the so called "optical transparency window". For this reason the availability of CCD cameras able to detect NIR photons has increased the diffusion of the OI technique. Finally, further technological advances in the sensitivity of the detectors could lead to the imaging of deeper sources.

Small-sized animals are generally needed for OI investigations for the obviously reduced optical thickness of their tissues. Special role is represented by the athymic Nu/Nu mice which have a thin skin layer, furless and without the hair bulb: skin, fur and hair bulbs are high light absorbers. Unfortunately Nu/Nu mice cannot support many experimental model of pathologies, so other strains must be used with the consequence of a loss in the light signal. Sometimes, it can be useful to shave the animals before the OI acquisitions, but care has to be taken to avoid even small wounds which are well visible in the optical images.

The OI technique was borne as a planar technique capable to only acquire 2D images of the samples. Nowadays, OI is a full tomographic technique by which 3D localization can be acquired of the light sources inside the bodies. Two different approaches are used: the first one is the *multi-view* approach based on the acquisitions of images from different viewpoints (this is obtained by rotating the sample or the detector); the second one is the *multi-spectral* approach which is based on the acquisition of images with many different wavelength emission filters.

## OI techniques

All the light emitting processes are virtually detectable with the OI techniques. The most important are bioluminescence, fluorescence and Cerenkov emission.

### Bioluminescence Imaging (BLI)

Bioluminescence is the production and emission of light by a living organism. It is a form of chemiluminescence. The most important bioluminescence process for molecular imaging involves the light-emitting substrate luciferin and the enzyme luciferase (most frequently the *Firefly luciferase*). The enzyme-substrate reaction requires oxygen and adenosine triphosphate (ATP) and emits light with a broad emission spectrum peaked around 560 nm (Luker and Luker, 2008).

Transfected cells for luciferase expression can be used and generally transferred in the living system by inoculation (i.e. cancer cells for tumor development) or injected in different anatomical districts (i.e. stem cells in the tail vein). Luciferine is then injected intraperitoneally and the light production reaches the maximum 12-15 minute after injection and is stable up to 40 minutes. This technique allows the detection of only living cells expressing luciferase. Other cells shows a neglecting light signal background, so the images show a high signal to background ratio. Finally, the greater the number of transfected cells the stronger is the light signal, thus the number of transfected cells can be easily monitored allowing to study the tumor progression or the antitumor drug efficacy. The exposure time in BLI is in the order of 5 minutes. Tomographic acquisitions can last up to 30 minutes. New transfected luciferase expressing cells emit high luminescence signal allowing a very rapid imaging *in vivo*, with only 1 second exposure time for planar images and 6 seconds for tomographs.

### Fluorescence Luminescence Imaging (FLI)

FLI is devoted to the acquisition of photons coming from fluorescent systems. They can be endogenous molecules (collagen, hemoglobin), fluorescent proteins (GFP) or fluorescent dyes (Luker and Luker, 2008; Balas, 2009). FLI needs an external light source and the emitted light is to be detected during illumination. Filters are used to discriminate the emitted photons (with lower

energy) from the exciting photons (with higher energy). Recently, the huge improvement in the nanomaterial field led to the synthesis of many nano-sized materials with optical properties useful for OI. In particular, nanoparticles (objects with the three dimension smaller than 100 nm) were and still are developed for imaging applications. Among the fluorescent nanoparticle, quantum dots (QDs, semiconductor nanocrystals) are very useful thanks to the very wide range of excitation wavelengths and the specific emission. Their emission is tunable and depends on the size of the particle core. QDs are generally composed by a core and one or more outer shells, protecting the core and improving solubility in water. The chemical composition of the particles is an important issue, since toxic materials are often used for the synthesis of some nanoparticles.

Generally, the fluorescence emission is stronger than the bioluminescence emission but the background too is higher, mainly due to tissues' autofluorescence. Depending on the excitation and emission wavelength selected for the experiments, a specific animal diet with alpha-alpha free food can be used to reduce intrinsic autofluorescence.

The exposure time in FLI is of the order of one second only. Tomographic acquisitions can last up to 10-15 minutes.

### Cerenkov Luminescence Imaging (CLI)

CLI is a very recent technique based on the detection of charged particles travelling in the biological tissues with a velocity greater than the speed of light through the material (Boschi and Spinelli, 2014). The charged particles are generally electrons or positrons (which are positive charged electrons) emitted by radioactive nuclei. Radiotracers usually employed for humans in Nuclear Medicine are thus bimodal tracers visible by both OI and PET (Positron Emission Tomography). One of them is  $^{18}\text{F}$ -FDG which is a modified glucose molecule used to mark tumors and high active organs (brain, heart). A list of radiotracers optically detectable and their employment can be found in Boschi and Spinelli, 2014.

The exposure time in CLI is in the order of 5 minutes. Tomographic acquisitions need 5-6 images requiring a total of 25-30 minutes.

## Instruments

Generally, the instruments for OI are called "optical imagers". The heart of the instruments is a very high sensitive CCD camera with  $512 \times 512$  up to  $2048 \times 2048$  pixels. The CCD is cooled at minus 40 up to minus 90 °C to reduce the electronic noise. For FLI one or more light sources (lasers, LEDs or lamps) are needed to illuminate the samples. Instead, no sources are required in case of BLI. In order to prevent the contamination of ambient light, the samples are placed in a dark chamber on a stage which is generally heated to keep the animals warm during anesthesia. A camera for pre-anesthesia is generally equipped with the instrument.

The field of view (FoV) can be set from few centimeters to 20-30 cm allowing the imaging of more than one animal at the same time (up to five) reducing the total experimental time. For fluorescence modality, a set of excitation and emission filters is used to select the proper light to excite the fluorophores and to discriminate the right wavelengths allowed to reach the detector.

The acquisition modality is very easy, comparable to taking a picture with a standard photographic camera. To control the amount of detected light the researcher can set the exposure time, the diaphragm, the binning, (*i.e.* the sensitivity of the CCD) and the focus height. The resolution can vary depending on the FoV and the pixel size; in theory, it is possible to reach a resolution of about 20 micron for *in vitro* acquisitions, whereas, for *in vivo* applications, the resolution is reduced because the images are blurred due to the scattering of the photons in the tissues.

The luminescence images are presented in pseudo-colors related to the intensity of the collected light and superimposed on a photograph of the samples in order to co-localize the signal sources. Some instruments, equipped with a Computed Tomography module can fuse optical images with CT anatomical information, generally the skeleton of the mouse.

The quantification of the light emission is done by tracing a region of interest on the anatomical images and by measuring the total flux emitted or the efficiency (the number of emitted photons divided by the number of photons incoming on the samples) in case of FLI.

The instruments have lower costs with respect the other imaging systems based on different

techniques. Contrast agents, anesthesia and related filters are the only consumable needed for the applications.

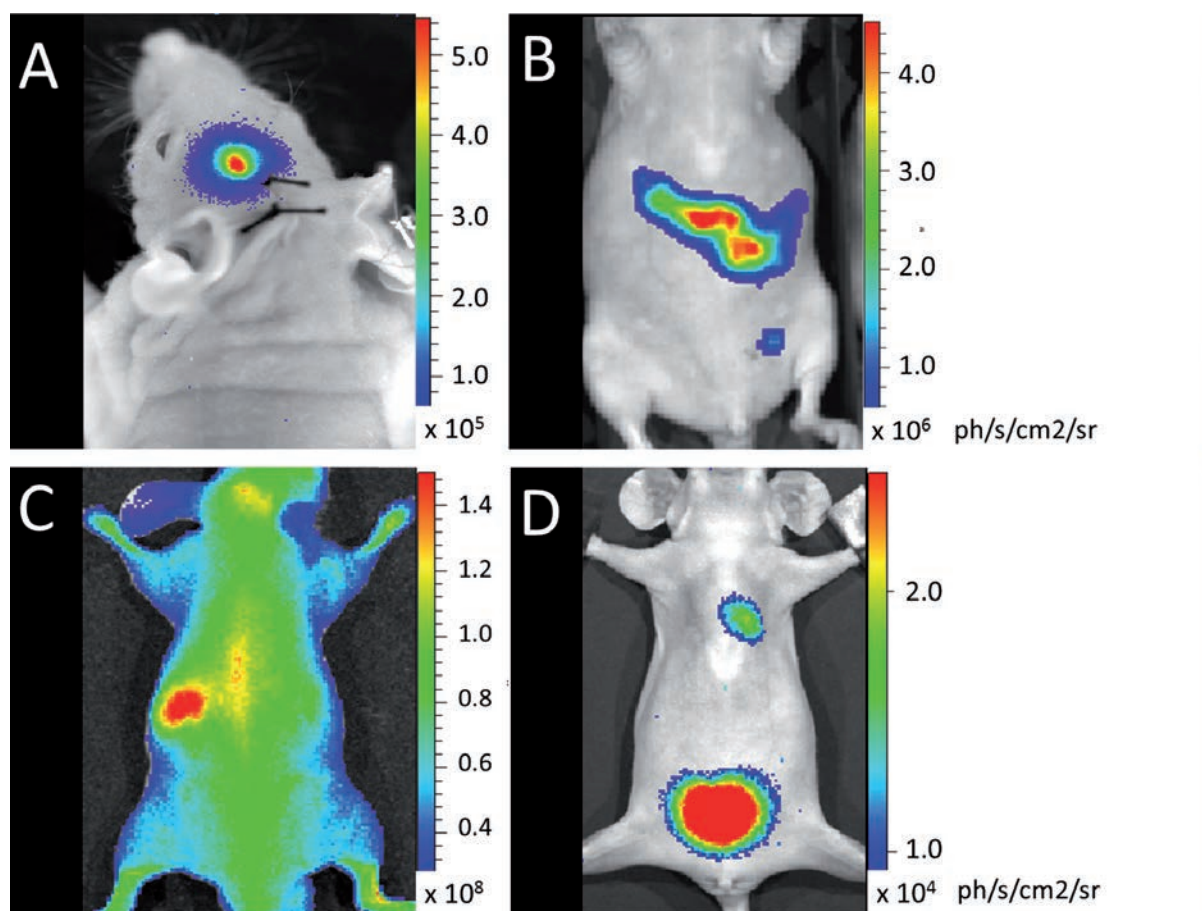
## Applications

A great variety of cellular and molecular processes *in vivo* can be visualized by OI, including protein interactions, protein degradation and protease activity. Our applications are focused in preclinical research including cancer imaging, drug biodistribution, drug targeting, stem cell homing, new nanoparticle design and CLI improvement. The laboratory is equipped since 2006 with a IVIS 200

(upgraded to IVIS Spectrum in 2012) purchased by Xenogen Corporation (now Perkin Elmer).

## BLI applications

In our laboratory BLI is mainly used in oncology to monitor tumor progression (Figures 1 and 2), with particular attention to pancreatic cancer (Ritelli *et al.*, 2015; Pozza *et al.*, 2015), colon rectal cancer (Minicozzi *et al.* 2011), and brain cancer, and to test potential anticancer drugs in collaboration with pharmaceutical companies. We also explored the sensitivity and the diagnostic potential of combined OI and magnetic resonance imaging (MRI), and we investigated the relation bet-

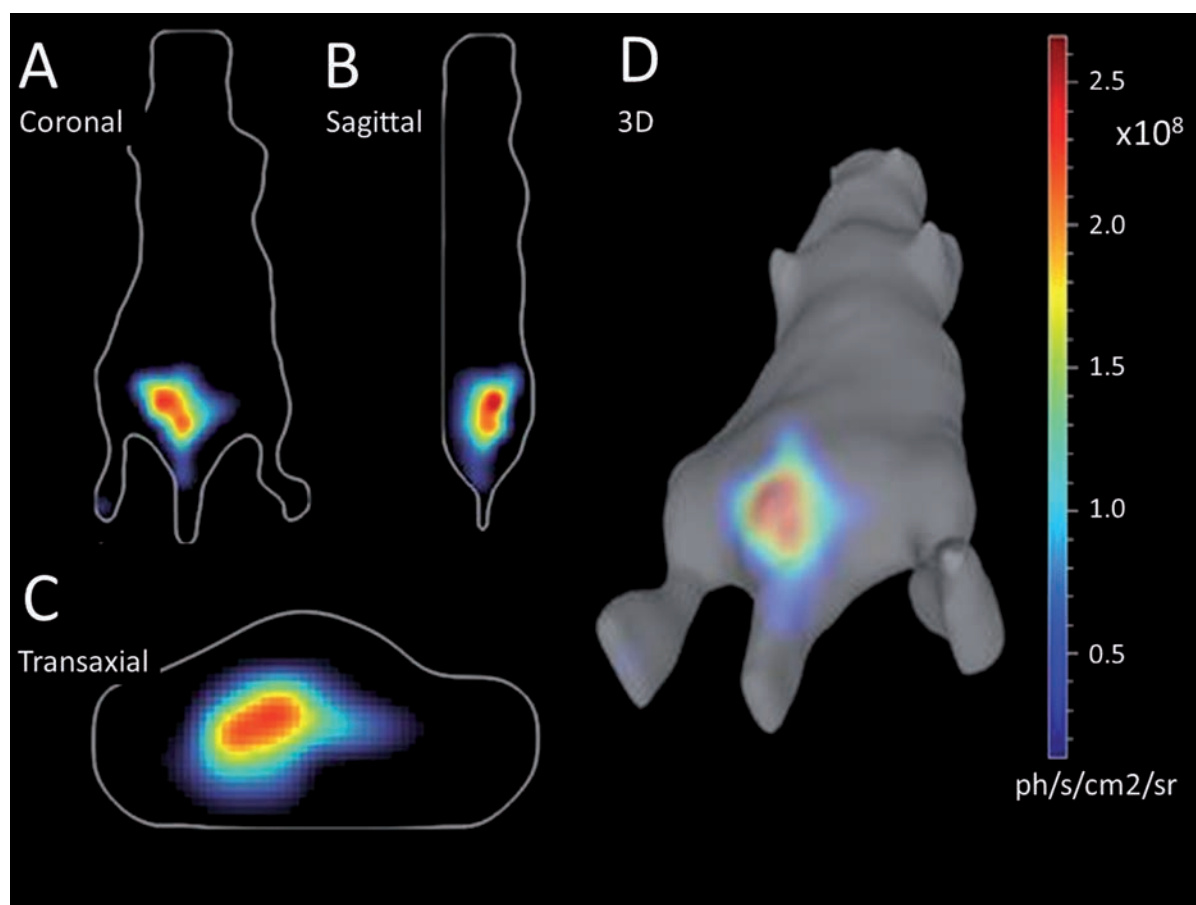


**Figure 1.** Bioluminescence imaging of luciferase expressing glioblastoma in mouse brain (A) and pancreatic cancer in mouse abdomen with metastasis (B). Fluorescence imaging of commercial NIR emitting Quantum Dots nanoparticles, 3 hours after tail vein injection in mouse; the liver uptake is clearly visible (C). Cerenkov luminescence imaging of <sup>18</sup>F-FDG, 1 hour after tail vein injection in mouse; the glucose metabolism of the heart can be observable as the accumulation in the bladder. The colorbars represent the radiance (ph/s/cm<sup>2</sup>/sr) for all the images; a logarithmic scale was used for image (D).

ween OI photon emission and MRI volume of the tumors obtained, for example, by luciferine expressing glioblastoma cells inoculated in the brain of Nu/Nu mice. In another application, we showed that intravenous administration of adipose-derived mesenchymal stem cells represents a promising therapeutic approach for neurological autoimmune diseases before the disease onset. Instead, it significantly reduces the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis by immune modulation, and decreases spinal cord inflammation and demyelination. For this purpose we used cells transiently transfected with a plasmid encoding for the firefly luciferase (Constantin *et al.*, 2009).

### FLI applications

Fluorescent imaging was firstly applied to the synthesis of a novel conjugate between a near-infrared indocyanine dye and an organic polyamine polymer (polyethylenimine, PEI) with high chemical stability and good optical properties able to bind DNA and detectable *in vivo* (Masotti *et al.*, 2008). Our attention was then focused on the study of biodistribution of commercial QDs (Boschi, 2008; Pozzi-Mucelli *et al.*, 2009) and to help in the design of new fluorescent nanoparticles. In particular, silica nanoparticles loaded with two fluorescent dyes proved to be suitable for *in vivo* optical imaging and, at the same time, for confocal microscopy (Rampazzo *et al.*, 2012).



**Figure 2.** Bioluminescence imaging of luciferase expressing colon rectal cancer in mouse. Coronal (A), sagittal (B), transaxial (C) views and 3D reconstruction (D) of the light sources inside the body. The *multi-spectral* approach was used here using 6 images with different emission filters.

Recently, we studied *in vivo* the biodistribution in mice of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers treated with polysorbate 80: the images demonstrated that after intraperitoneal administration the nanoparticles prevalently accumulated in the liver and spleen and are also able to reach the brain (Esposito *et al.*, 2015).

### CLI applications

In collaboration with dr. Spinelli from the S. Raffaele Institute in Milan, we demonstrated the potentialities of Cerenkov radiation in the biomedical field (Spinelli *et al.*, 2010) and in particular for cancer detection (Boschi *et al.*, 2011). We compared CLI and PET images in case of  $^{18}\text{F}$ -FDG administration. Moreover, we extended the reconstruction algorithm for BLI to CLI in order to obtain a tomographic reconstruction of the Cerenkov sources inside the animal body using the *multi-spectral* view approach. The result was validated by MRI (Spinelli *et al.*, 2011). Using NIR-emitting commercial QDs, we also explored the possibility to increase the detectability of Cerenkov radiation in living animals by shifting the primary Cerenkov blue emission into a red-NIR radiation (Boschi and Spinelli, 2012). Several studies were devoted to optimize Cerenkov detectors and Cerenkov images analysis (Spinelli and Boschi, 2011, 2012), and we obtained the first Cerenkov image in human, in particular from a patient treated with  $^{131}\text{I}$  for hyperthyroidisms

where iodine uptake was imaged in the thyroid gland (Spinelli *et al.*, 2013). For this application we used a portable CCD camera and only 2 minutes of exposure time.

We extended also the optical detection of radiotracers to beta minus emitters and to alpha (Boschi *et al.*, 2011) and gamma emitters, which are regularly employed in Nuclear Medicine. In particular, we observed the  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pertechnetate (a widely used gamma emitter) in salivary and thyroid glands in mice detecting very faint light signals (Boschi *et al.*, 2013). We referred to the imaging of radionuclides as radionuclide imaging (RLI).

### Future perspective

OI is very cheap, repeatable and fast. It allows very simple samples preparation and it is now largely diffused in the preclinical field, allowing detection of a wide variety of biomolecules and biological processes. The real challenge is the application on humans. Bioluminescence applications are now not applicable but FLI presently is taking the first steps into the clinical field, in particular for the localization of tumor borders during surgery. We also demonstrated that Cerenkov applications may be feasibly applied in humans, so that more numerous and successful applications can be expected in near future.

### References

- Balas C. Review of biomedical optical imaging - A powerful, non-invasive, non-ionizing technology for improving in vivo diagnosis. *Meas Sci Technol* 2009; 20 (10):104020.
- Boschi F, Calderan L, D'Ambrosio D, Marengo M, Fenzi A, Calandrino R, et al. In vivo  $^{18}\text{F}$ -FDG tumour uptake measurements in small animals using Cerenkov radiation. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011a;38(1):120-7.
- Boschi F, Meo, S.L, Rossi, PL, Calandrino, R, Sbarbati A, Spinelli AE. Optical imaging of alpha emitters: Simulations, phantom, and in vivo results. *J Biomed Opt.* 2011b;16(12):126011.
- Boschi F, Pagliuzzi M, Rossi, B, Cecchini, MP, Gorgoni G, Salgarello M, et al. Small-animal radionuclide luminescence imaging of thyroid and salivary glands with  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -pertechnetate. *J Biomed Opt.* 2013 Jul;18(7): 76005.
- Boschi F. Tecniche di Optical Imaging nello studio del metabolismo, PhD Thesis 2008.
- Boschi F, Spinelli AE. Quantum dots excitation using pure beta minus radioisotopes emitting Cerenkov radiation. *RSC Advances* 2012;2(29):11049-52.
- Boschi F, Spinelli AE. Cerenkov Luminescence Imaging at a Glance. *Curr Mol Imaging* 2014; 3(2):106-117.
- Constantin G, Marconi S, Rossi B, Angiari S, Calderan L, Anghileri E, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Stem Cells* 2009;27(10): 2624-2635.

- Esposito E, De Vries HE, van der Pol SMA, Boschi F, Calderan L, Mannucci S, et al. Production, Physico-Chemical Characterization and Biodistribution Studies of Lipid Nanoparticles. *J Nanomed Nanotechnol* 2015;6:1.  
<http://www.nature.com/subjects/optical-imaging>
- Luker GD, Luker KE. Optical imaging: current applications and future directions. *J Nucl Med*. 2008 Jan;49(1):1-4.
- Masotti A, Vicennati P, Boschi F, Calderan L, Sbarbati A, Ortaggi G. A novel near-infrared indocyanine dye-polyethylenimine conjugate allows DNA delivery imaging in vivo. *Bioconjug Chem*. 2008;19(5):983-7.
- Minicozzi AM, Conti G, Merigo G, Marzola P, Boschi F, Calderan L, et al. A new model of rectal cancer with regional lymph node metastasis allowing in vivo evaluation by imaging biomarkers. *Biomed Pharmacother*. 2011;65(6):401-6.
- Pozza ED, Dando I, Biondani G, Brandi J, Costanzo C, Zoratti E, et al. Pancreatic ductal adenocarcinoma cell lines display a plastic ability to bi-directionally convert into cancer stem cells *Int J Oncol*. 2015;46(3):1099-108.
- Pozzi-Mucelli S, Boschi F, Calderan L, Sbarbati A, Osculati F. Quantum Dots: Proteomics characterization of the impact on biological systems. *J Phys* 2009; Conf. Ser. 170 012021.
- Rampazzo E, Boschi F, Bonacchi S, Juris, R, Montalti M, Zaccheroni, N, et al. Multicolor core/shell silica nanoparticles for in vivo and ex vivo imaging. *Nanoscale* 2012;4(3):824-830.
- Ritelli R, Ngalani Ngaleu R, Bontempi P, Dandrea M, Nicolato E, Boschi F, et al. Pancreatic cancer growth using magnetic resonance and bioluminescence imaging. *Magn Reson Imaging*. 2015;33(5):592-9.
- Spinelli AE, Boschi F. Unsupervised analysis of small animal dynamic Cerenkov luminescence imaging. *J Biomed Opt*. 2011;16(12):120506.
- Spinelli AE, Boschi F. Optimizing in vivo small animal Cerenkov luminescence imaging. *J Biomed Opt*. 2012;17(4):040506.
- Spinelli AE, D'Ambrosio D, Calderan L, Marengo M, Sbarbati A, Boschi F. Cerenkov radiation allows in vivo optical imaging of positron emitting radiotracers. *Phys Med Biol*. 2010;55(2):483-95.
- Spinelli AE, Ferdeghini M, Cavedon C, Zivelonghi E, Calandrino R, Fenzi A, et al. First human cerenkography. *J Biomed Opt*. 2013;18(2):20502.
- Spinelli AE, Kuo C, Rice BW, Calandrino R, Marzola P, Sbarbati A, et al. Multispectral Cerenkov luminescence tomography for small animal optical imaging. *Opt Express* 2011;19(13):12605-18.

# DAB photo-oxidation as a tool for detecting low amounts of free and membrane-bounded fluorescent molecules at transmission electron microscopy

C. Pellicciari,<sup>1</sup> M. Biggiogera,<sup>1</sup> M. Malatesta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology and Biotechnology "Lazzaro Spallanzani" (Laboratory of Cell Biology and Neurobiology), University of Pavia, Italy

<sup>2</sup>Department of Neurological, Biomedical and Movement Sciences, Anatomy and Histology Section, University of Verona, Italy

Corresponding author: Manuela Malatesta

Department of Neurological, Biomedical and Movement Sciences, Anatomy and Histology Section, University of Verona, Italy

Tel. +39.045.8027152

E-mail: manuela.malatesta@univr.it

## Summary

DAB photo-oxidation is a well-established cytochemical technique, originally proposed in light microscopy to transform the fluorescence signals into stable reaction products. The electron-density of oxidized DAB made it possible to detect the precise location of the fluorescent probes at the high resolution of electron microscopy. Especially in the last decade, this technique has been extensively used for correlative light and electron microscopy to investigate the molecular composition of subcellular structures as well as dynamic cell processes. In the present article, we summarize the results we obtained by DAB photo-oxidation experiments performed using different fluorescent molecules under variable experimental conditions. In our experience, DAB photo-oxidation proved to be a very sensitive technique, and allowed to locate even small amounts of fluorophores irrespective of their localization either within membrane-bounded organelles or vesicles, or free in the cytosol.

**Key words:** calcium, nanoparticles, PKH26 dye, photosensitizing molecules.

## Photo-oxidation: theory and applications

Diaminobenzidine (DAB) photo-oxidation was first applied by Maranto (1982) to convert the fluorescent dye Lucifer Yellow injected in neurons into a stable signal for electron microscopy. Subsequently, many fluorochromes with specificity for different substances were photo-oxidated into reaction products visible at both light and electron microscopy (Sandell and Masland, 1988; Lubke, 1993; Singleton and Casagrande, 1996).

Photo-oxidation is based on simple physico-chemical principles: when a fluorophore is exposed to light of an appropriate wavelength, the orbital electrons are first excited from the ground state to a higher energy level and then reverts to the native state; the relaxation process generates highly reactive singlet oxygen, which in turn induces the oxidation of DAB into a granular elec-

tron-dense precipitate whose contrast may be enhanced by osmium treatment (Maranto, 1982; Sandell and Masland, 1988; Lubke, 1993; Singleton and Casagrande, 1996). Since the half-life of oxidizing chemical species such as singlet oxygen, hydroxyl or superoxide radicals is very short (1-1000 ns), their mobility is limited to 1 to 30 nm (Karuppanapandian *et al.*, 2011), thus producing DAB precipitates very close to the site where the fluorochromes produced reactive oxygen species upon light irradiation.

Following Maranto's pioneer study, photo-oxidation initially became the technique of choice for detecting fluorescent molecules to investigate the nervous tissue, thus allowing tracing neuronal networks (Balercia *et al.*, 1992; Buhl, 1993; Gan *et al.*, 1999; Hanani *et al.*, 1999) and analyzing synaptic vesicle turnover (Harata *et al.*, 2001; LoGiudice *et al.*, 2009; Meunier *et al.*, 2010; Welzel *et al.*, 2011;

Hoopmann *et al.*, 2012). In recent years, photo-oxidation has been widely used to correlate fluorescence and transmission electron microscopy with the aim to elucidate cellular dynamic processes: it has been applied to study the three-dimensional relationships of the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus (Pagano *et al.*, 1989; Meisslitzer-Ruppitsch *et al.*, 2008; Röhrl *et al.*, 2012), to describe the fine features of microtubule ends (Kukulski *et al.*, 2011), and to investigate endocytosis and exocytosis (Fomina *et al.*, 2003; Kishimoto *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2005; Lichtenstein *et al.*, 2009; Kukulski *et al.*, 2011; Schikorski, 2010; Röhrl *et al.*, 2012).

### Photo-oxidation to reveal low amounts of fluorescent molecules

Due to its high sensitivity, DAB photo-oxidation represents a valuable method to precisely detect both free and membrane-bounded fluorescent molecules. In a series of papers, we have been able to validate the reliability of this technique in different experimental issues, even when the fluorophores occur in very low amounts.

### Photosensitizing molecules

Photodynamic therapy is an emerging approach for treating tumors of the head and neck and, more generally, those which can be reached endoscopically (Wolfsen, 2005; Agostinis *et al.*, 2011), as well as for the therapy of non-tumoral diseases especially in dermatology (Lee and Baron, 2011; Darlenski and Fluhr, 2013) and ophthalmology (Ziemssen and Heimann, 2012). Photosensitizing molecules have a cytotoxic action after being excited by an appropriate light wavelength: they are able to dissipate the absorbed energy through photochemical processes rather than by fluorescence emission, thus producing oxidizing chemical species that damage the cell molecular structures, with possible induction of cell death (Garg *et al.*, 2010; Santin *et al.*, 2013).

Although photodynamic therapy is currently used in the clinical practice, the mechanisms leading to the penetration and action of most of the photosensitizing molecules at the tissue, cellular, and subcellular level are still incompletely understood. In particular, information about the intracellular accumulation and subcellular localization of the photoactive molecules is essential to obtain

an effective cytotoxic effect (Oleinick *et al.*, 2002; Piette *et al.*, 2003; Agostinis *et al.*, 2004).

In our investigations, we used the fluorogenic substrates Rose Bengal-Acetate and Hypocrellin B-Acetate: these acetate derivatives of Rose Bengal and Hypocrellin B exhibit a much more efficient cellular accumulation and greater cytotoxic effects than their native forms (Bottiroli *et al.*, 1997; Croce *et al.*, 2002, 2011). After entering the cells, the acetate groups are cleaved by the cellular esterases, and fluorescence microscopy showed that the restored photoactive molecules occurred in the cytoplasm (Bottiroli *et al.*, 1997; Soldani *et al.*, 2007; Croce *et al.*, 2011): a few minutes post-incubation, fluorescing spots occur near the plasma membrane, then they aggregate in clusters close to the nucleus and, after long incubation times, a diffuse fluorescence also appears suggesting a cytosolic diffusion of the photoactive molecules (Figure 1a). By DAB photo-oxidation (Pellicciari *et al.*, 2013; Malatesta *et al.*, 2014b) we were able to detect the Rose Bengal or Hypocrellin B molecules at the plasma membrane surface, inside endocytic vesicles, in secondary lysosomes and multivesicular bodies, thus demonstrating that the internalized molecules follow the endosome-lysosome route (Figure 1b). In addition, we found DAB precipitates free in the cytoplasm (Figure 1b), suggesting that lysosome-derived vesicles may undergo spontaneous breakage (Ono *et al.*, 2003), thus releasing the photosensitizing molecules and accounting for the diffuse cell damage induced by the irradiation in the course of photodynamic therapy (Soldani *et al.*, 2007; Santin *et al.*, 2013).

### Fluorescent nanoparticles

Nanoparticles (NPs) are receiving great attention in the diagnostic and therapeutic fields as biocompatible carriers for tracing molecules or drugs. They are especially investigated as efficient drug delivery systems, able to cross biological barriers (such as the blood-brain barrier), to easily enter the cells, to allow drug accumulation at the targeted sites, and to prolong drug activity by stabilizing the encapsulated drugs and modulating their release (Béduneau *et al.*, 2007; Jallouli *et al.*, 2007; Mundargi *et al.*, 2008). NPs have also been considered for theranostics, the integrated diagnostics and therapy for personalized medicine (Kim *et al.*, 2013).

However, designing a drug delivery strategy



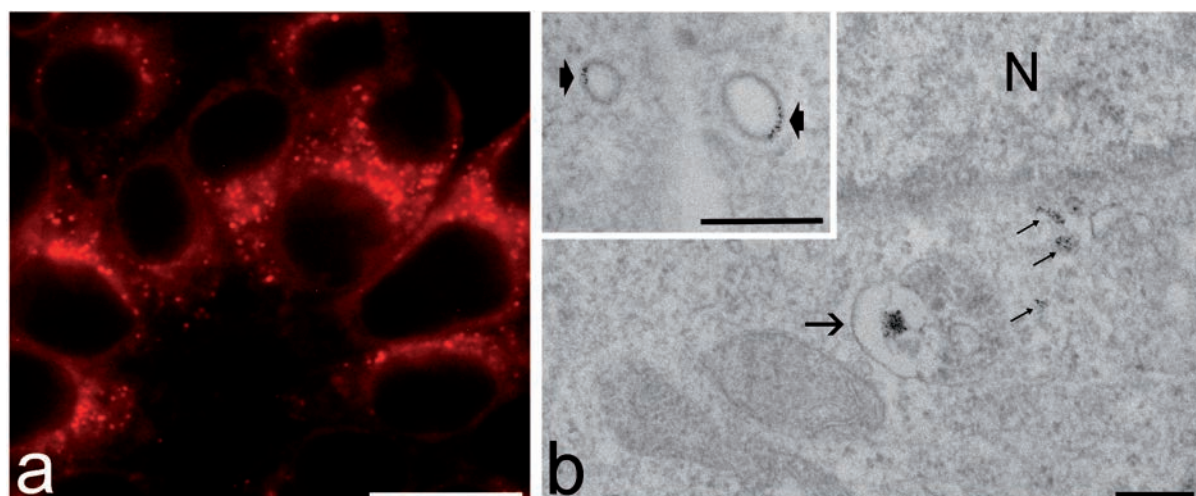
requires preliminary studies on target cells to elucidate the NP uptake mechanisms and timing, and their intracellular fate and relationships with cell organelles. NPs frequently enter the cells by endocytosis, and their intracellular degradation pathway is crucial for estimating their efficacy as drug carriers: in fact, after being endocytosed the endosome-entrapped NPs generally fuse with the acidic lysosomes, resulting in sequestration and degradation of the loaded molecules by the lysosomal enzymes (Panyam *et al.*, 2002).

Our groups studied chitosan NPs (Kumar *et al.*, 2004, Freier *et al.*, 2005; Rinaudo, 2006) as promising drug delivery systems for targeting molecules of potential biomedical interest to the central nervous system (Malatesta *et al.*, 2007, 2014a). Unfortunately, the elucidation of the exact intracellular trafficking pathway of these NPs is difficult to perform at transmission electron microscopy, due to their homogeneous and moderate electron density, which makes them hardly distinguishable from the cytosol. DAB photo-oxidation applied to FITC-labeled chitosan NPs represented a successful solution of this technical problem (Figure 2). We tested fluorescent chitosan NPs in different cell lines *in vitro* (Malatesta *et al.*, 2012,

2014b, 2015) and we could easily recognize them at transmission electron microscopy thanks to the finely granular electron dense DAB precipitates. It is worth noting that the photo-oxidation procedure allowed not only the unambiguous visualization of NPs inside endosomes or free in the cytosol after endosomal escape, but also the detection of NP remnants inside late lysosomes and residual bodies (Figure 2b), where they occur intermingled with heterogeneous material and are morphologically unrecognizable due to the action of lytic enzymes.

### The fluorescent membrane dye, PKH26

PKH26 (Sigma-Aldrich) is a red fluorescent dye specific for cell membrane labelling (Figure 3a,b) that has been successfully used for investigating, at either flow cytometry or fluorescence microscopy, macrophage phagocytosis (Bratosin *et al.*, 1997; Pricorp *et al.*, 1997; Williams *et al.*, 2005; Swan *et al.*, 2007; Healey *et al.*, 2007), virus absorption (Balogh *et al.*, 2011), and NP internalization (Malatesta *et al.*, 2012). This dye is stably incorporated with its long aliphatic tails into the phospholipid leaflets of the cell membranes and is therefore suitable for long-lasting labelling.



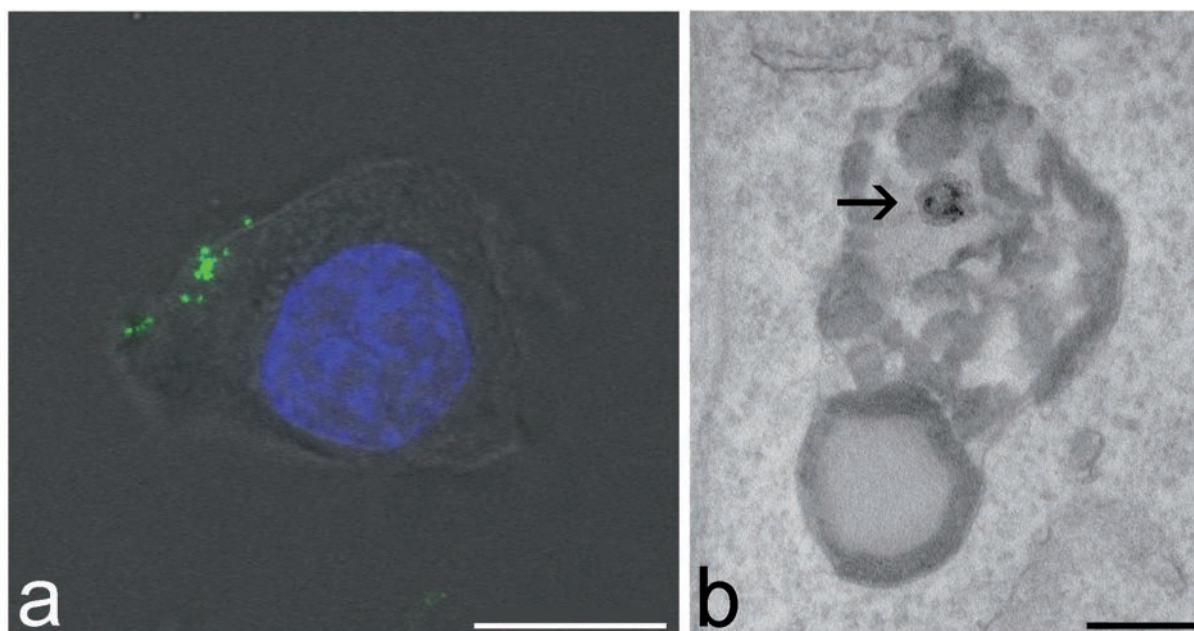
**Figure 1.** HeLa cells incubated with Hypocrellin B-Acetate. a) Conventional fluorescence micrograph. The fluorescing red signal appears as bright spots as well as diffused in the cytoplasm. Bar, 10  $\mu$ m. b) Transmission electron micrographs. The finely granular electron dense DAB precipitates are visible in endocytic vesicles (arrowheads), in secondary lysosomes (arrow) and free in the cytoplasm (small arrows). N, cell nucleus. Bars, 250 nm.

Based on these characteristics, we used PKH26 dye for DAB photo-oxidation experiments with the aim of specifically identifying at transmission electron microscopy the structural components involved in the intracellular pathways of cell membrane internalization (Grecchi and Malatesta, 2014). DAB-photo-oxidation proved to be a suitable technique; in fact, the distribution of the fine precipitates precisely matched the signal observed at fluorescence microscopy. The electron density of the reaction product was made detectable in the different subcellular compartments, even when it was quite scarce, by omitting any additional staining, osmication providing sufficient contrast to clearly distinguish the cell components. We could therefore track PKH26 dye from the plasma membrane, where it occurred as weak finely granular precipitates distributed along finger-like protrusions and in small invaginations (Figure 3b), to the resulting small vesicles (early endosomes) just beneath the cell surface, and finally in the multivesicular bodies (playing a central role in the endocytotic pathway; Hanson *et al.*,

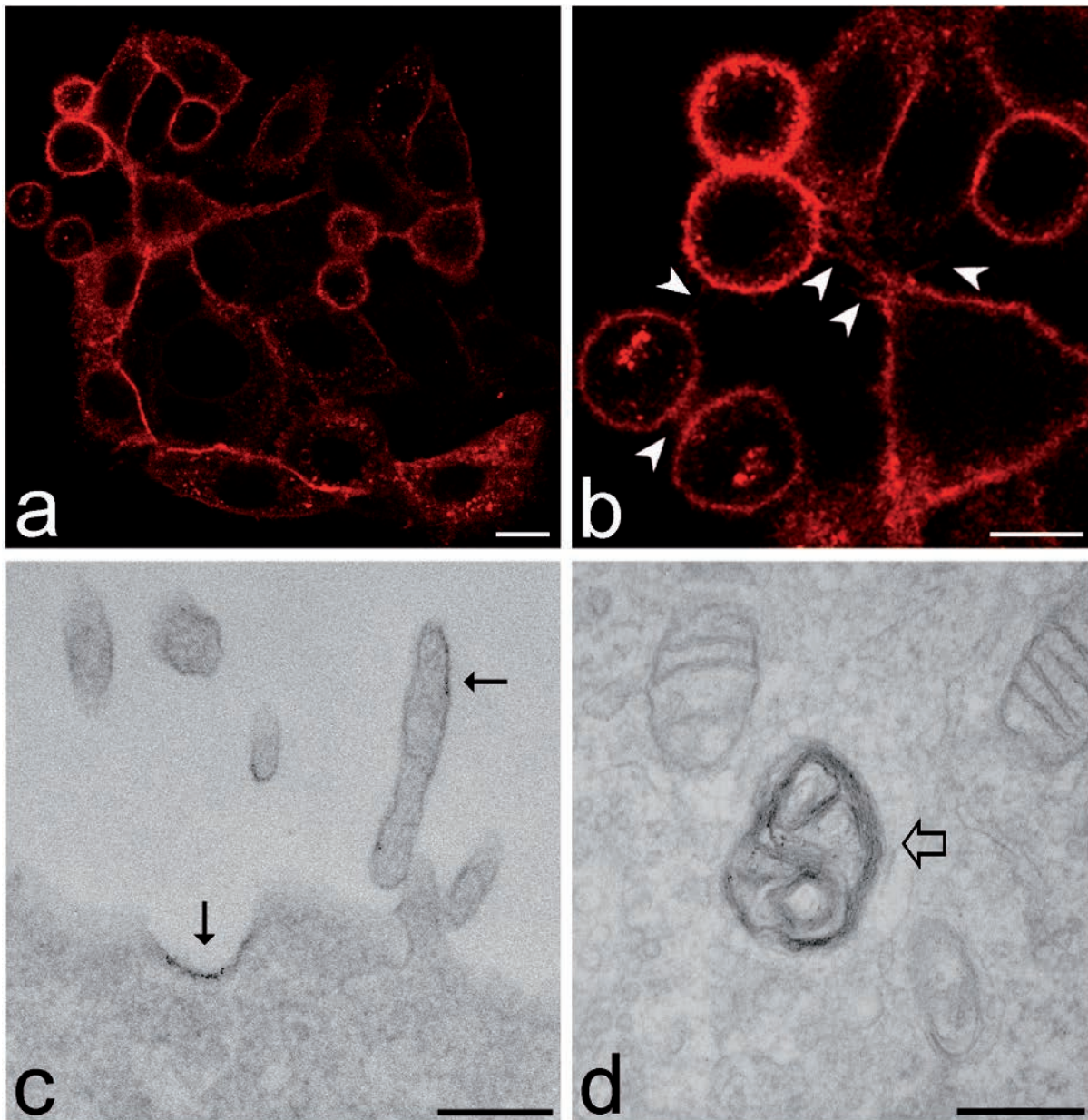
2012) and multilamellar bodies (Figure 3d) (lipid storage/secretory organelles related to defective lipid metabolism and/or autophagic activities; Schmitz and Muller, 1991).

### Calcium ions

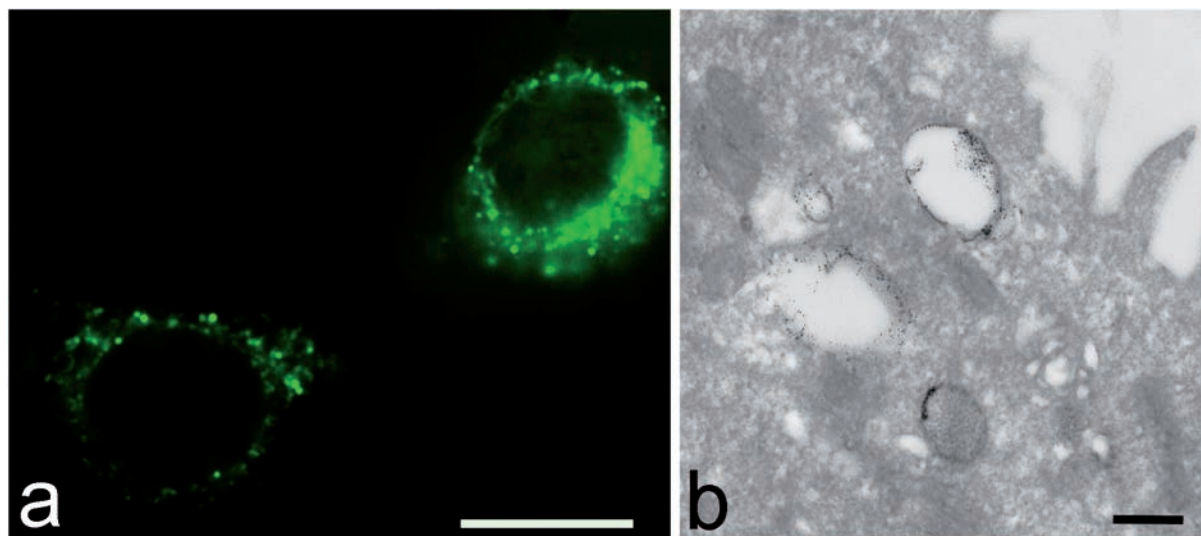
The ultrastructural localization of non electron-dense ions is generally difficult, in particular when they are highly diffusible. Precipitation techniques have been widely used, as in the case of calcium ions, which represent a challenge even when protein-bound. Tandler and coworkers (1970) used pyroantimonate to precipitate  $\text{Ca}^{2+}$ , but the technique was shown to suffer from a cross-reaction with other divalent cations. In this view, the possibility to make use of a selective fluorescent molecule to be utilized for photo-oxidation becomes an interesting tool for localizing calcium at high resolution. Several  $\text{Ca}^{2+}$ -sensitive fluorochromes, such as Fura-2, Indo-1 and Fluo-4 (Tsien *et al.* 1982) have been used to image changes in intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  concentration (Bootman *et al.*, 2013). We have recently shown that Mag-Fura 2 can be effi-



**Figure 2.** B50 cells incubated with chitosan nanoparticles. a) Confocal fluorescence micrograph. Some FITC-labelled nanoparticles (green) are visible in the cytoplasm; DNA is stained with Hoechst 33258 (blue). Bar, 10  $\mu\text{m}$ . b) Transmission electron micrograph. The dark reaction product of DAB photo-oxidation identifies a nanoparticle remnant (arrow) inside a residual body containing heterogeneous material. Bar, 250 nm.



**Figure 3.** HeLa cells incubated with the membrane red fluorescent dye PKH26. a,b) Confocal fluorescence micrographs. The fluorescent signal occurs along the cell surface as well as inside the cytoplasm as discrete spots. Note the labelled plasma membrane protrusions (arrowheads in b). Bars, 10  $\mu\text{m}$ . c,d) Transmission electron micrographs. The fine granular reaction product of DAB photo-oxidation is visible along the cell surface, especially in finger-like protrusions and in plasma membrane invagination (arrows in c). DAB precipitates are present inside a multilamellar body (open arrow in d). Bars, 250 nm.



**Figure 4.** HeLa cells stained with Mag-FURA 2 and observed in conventional fluorescence microscopy (a). Bar, 10  $\mu\text{m}$ . b) After photo-oxidation, the finely granular end-product is visible at transmission electron microscopy inside the vesicles, in particular near the membrane. Bar, 400 nm.

ciently photo-oxidized (Poletto *et al.*, 2015) for localizing  $\text{Ca}^{2+}$  ions at transmission electron microscopy (Figure 4). With this technique, it is not only possible to visualize  $\text{Ca}^{2+}$  ions but also to stabilize their intracellular presence, thus limiting the loss of ions. Interestingly enough, the final yield in terms of cells which can then be processed for electron microscopy is rather large, since the direct irradiation of the fluorochrome-stained samples is obtained via a germicide lamp.

The end product is sufficiently electron dense to be clearly detected when present in sufficient amount within vesicles or membrane-limited tubules of the smooth endoplasmic reticulum.

It must be noted that the technique is very sensitive: in comparison with the whole-cell images obtained in fluorescence, the satisfactory final yield at electron microscopy is due to the very low amount of end product which is present in a thin section of 60-80 nm.

### Concluding remarks

DAB photo-oxidation is a well-established technique which has originally been proposed in light

microscopy to transform the (intrinsically unstable) fluorescence signals into stable reaction products. The DAB electron-density, especially after osmium intensification, paved the way to the refined application of photo-oxidation experiments to detect the fluorescent probes at the high resolution of electron microscopy.

Especially in the last decade, this technique has been extensively used for correlative light and electron microscopy (Kukulski *et al.*, 2011; Meisslitzer-Ruppitsch *et al.*, 2008), also in the attempt to investigate dynamic cell processes: with this aim, the green fluorescent protein proved to be especially appropriate (Grabenbauer, 2012; Horstmann *et al.* 2013).

It is apparent from the cited literature, that the photo-oxidation products are easily visualized when the fluorescent molecules are present in a relatively high quantity and are located inside membrane-bounded organelles or vesicles. In our experience, DAB photo-oxidation is extremely sensitive and allows to detect even small amounts of both membrane-bounded and free fluorophores, provided that the appropriate fluorescent substrates are used under the proper excitation conditions and fixation/embedding/staining procedures.

## References

- Agostinis P, Berg K, Cengel KA, Foster TH, Girotti AW, Gollnick SO, et al. Photodynamic therapy of cancer: an update. *C A Cancer J Clin* 2011;61:250-81.
- Agostinis P, Buytaert E, Breyssens H, Hendrickx N. Regulatory pathways in photodynamic therapy induced apoptosis. *Photochem Photobiol Sci* 2004;3:721-9.
- Balercia G, Chen S, Bentivoglio M. Electron microscopic analysis of fluorescent neuronal labeling after photo-conversion. *J Neurosci Methods* 1992;45:87-98.
- Balogh A, Pap M, Markó L, Koloszá I, Csató LK, Szeberényi J. A simple fluorescent labeling technique to study virus adsorption in Newcastle disease virus infected cells. *Enzyme Microb Technol* 2011;49:255-9.
- Béduneau A, Saulnier P, Benoit JP. Active targeting of brain tumors using nanocarriers. *Biomaterials* 2007;28:4947-67.
- Bootman MD, Rietdorf K, Collins T, Walker S, Sanderson M. Ca<sup>2+</sup>-sensitive fluorescent dyes and intracellular Ca<sup>2+</sup> imaging. *Cold Spring Harb Protoc* 2013;2013:83-99.
- Bottioli G, Croce AC, Balzarini P, Locatelli D, Baglioni P, Lo Nostro P, et al. Enzyme-assisted cell photosensitization: a proposal for an efficient approach to tumor therapy and diagnosis. The Rose Bengal fluorogenic substrate. *Photochem Photobiol* 1997;66:374-83.
- Bratosin D, Mazurier J, Slomianny C, Aminoff D, Montreuil J. Molecular mechanisms of erythrophagocytosis: flow cytometric quantitation of in vitro erythrocyte phagocytosis by macrophages. *Cytometry* 1997;30:269-74.
- Buhl EH. Intracellular injection in fixed slices in combination with neuroanatomical tracing techniques and electron microscopy to determine multisynaptic pathways in the brain. *Microsc Res Tech* 1993;24:15-30.
- Croce AC, Fasani E, Bottone MG, De Simone U, Santin G, Pellicciari C, et al. Hypocrellin-B acetate as a fluorogenic substrate for enzyme-assisted cell photosensitization. *Photochem Photobiol Sci* 2011;10:1783-90.
- Croce AC, Supino R, Lanza KS, Locatelli D, Baglioni P, Bottioli G. Photosensitizer accumulation in spontaneous multidrug resistant cells: a comparative study with Rhodamine 123, Rose Bengal acetate and Photofrin. *Photochem Photobiol Sci* 2002;1:71-8.
- Darlenski R, Fluhr JW. Photodynamic therapy in dermatology: past, present, and future. *J Biomed Opt* 2013;18:061208.
- Fomina AF, Deerinck TJ, Ellisman MH, Cahalana MD. Regulation of membrane trafficking and subcellular organization of endocytic compartments revealed with FM1-43 in resting and activated human T cells. *Exp Cell Res* 2003;291:150-66.
- Freier T, Koh HS, Kazazian K, Shoichet MS. Controlling cell adhesion and degradation of chitosan films by N-acetylation. *Biomaterials* 2005;26:5872-8.
- Gan WB, Bishop DL, Turney SG, Lichtman JW. Vital imaging and ultrastructural analysis of individual axon terminals labeled by iontophoretic application of lipophilic dye. *J Neurosci Methods* 1999;93:13-20.
- Garg AD, Nowis D, Golab J, Agostinis P. Photodynamic therapy: illuminating the road from cell death towards anti-tumour immunity. *Apoptosis* 2010;15:1050-71.
- Grabenbauer M. Correlative light and electron microscopy of GFP. *Methods Cell Biol* 2012;111:117-38.
- Grecchi S, Malatesta M. Visualizing endocytic pathways at transmission electron microscopy via diaminobenzidine photo-oxidation by a fluorescent cell-membrane dye. *Eur J Histochem* 2014; 58:2449.
- Hanani M, Belzer V, Rich A, Faussone-Pellegrini SM. Visualization of interstitial cells of Cajal in living, intact tissues. *Microsc Res Tech* 1999;47:336-43.
- Hanson PI, Cashikar A. Multivesicular body morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2012;28:337-62.
- Harata N, Pyle JL, Aravanis AM, Mozhayeva M, Kavalali ET, Tsien RW. Limited numbers of recycling vesicles in small CNS nerve terminals: implications for neural signaling and vesicular cycling. *Trends Neurosci* 2001;24:637-43.
- Healey G, Veale MF, Sparrow RL. A fluorometric quantitative erythrophagocytosis assay using human THP-1 monocytic cells and PKH26-labelled red blood cells. *J Immunol Methods* 2007;322:50-6.
- Hoopmann P, Rizzoli SO, Betz WJ. FM dye photoconversion for visualizing synaptic vesicles by electron microscopy. *Cold Spring Harb Protoc* 2012;2012:84-6.
- Horstmann H, Vasileva M, Kuner T. Photooxidation-Guided Ultrastructural Identification and Analysis of Cells in Neuronal Tissue Labeled with Green Fluorescent Protein. *PLoS ONE* 8(5): e64764
- Jallouli Y, Paillard A, Chang J, Sevin E, Betbeder D. Influence of surface charge and inner composition of porous nanoparticles to cross blood-brain barrier in vitro. *Int J Pharm* 2007;344:103-9.
- Karuppanapandian T, Moon JC, Kim C, Manoharan K, Kim W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. *Aust J Crop Sci* 2011;5:709-25.
- Kim TH, Lee S, Chen X. Nanotheranostics for personalized medicine. *Expert Rev Mol Diagn* 2013;13:257-69.
- Kishimoto T, Liu TT, Hatakeyama H, Nemoto T, Takahashi N, Kasai H. Sequential compound exocytosis of large dense-core vesicles in PC12 cells studied with TEPIQ (two-photon extracellular polar-tracer imaging-based quantification) analysis. *J Physiol* 2005;568:905-15.

- Kukulski W, Schorb M, Welsch S, Picco A, Kaksonen M, Briggs JAG. Correlated fluorescence and 3D electron microscopy with high sensitivity and spatial precision. *J Cell Biol* 2011;192:111-9.
- Kumar MNVR, Muzzarelli RAA, Muzzarelli C, Sashiwa H, Domb AJ. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chem Rev* 2004;104:6017-84.
- Lee Y, Baron ED. Photodynamic therapy: current evidence and applications in dermatology. *Semin Cutan Med Surg* 2011;30:199-209.
- Lichtenstein A, Gaietta GM, Deerinck TJ, Crum J, Sosinsky GE, Beyer EC, et al. The cytoplasmic accumulations of the cataract-associated mutant, Connexin50P88S, are long-lived and form in the endoplasmic reticulum. *Exp Eye Res* 2009;88:600-9.
- Liu TT, Kishimoto T, Hatakeyama H, Nemoto T, Takahashi N, Kasai H. Exocytosis and endocytosis of small vesicles in PC12 cells studied with TEPIQ (two-photon extracellular polar-tracer imaging-based quantification) analysis. *J Physiol* 2005;568:917-29.
- Lo Giudice L, Sterling P, Matthews G. Vesicle recycling at ribbon synapses in the finely branched axon terminals of mouse retinal bipolar neurons. *Neurosci* 2009;164:1546-56.
- Lübke J. Photoconversion of diaminobenzidine with different fluorescent neuronal markers into a light and electron microscopic dense reaction product. *Microsc Res Tech* 1993;24:2-14.
- Malatesta M, Biggiogera M, Zancanaro C. Hypometabolic induced state: a potential tool in biomedicine and space exploration. *Rev Environ Sci Biotechnol* 2007;6:47-60.
- Malatesta M, Galimberti V, Cisterna B, Costanzo M, Biggiogera M, Zancanaro C. Chitosan nanoparticles are efficient carriers for delivering biodegradable drugs to neuronal cells. *Histochem Cell Biol* 2014a;141:551-8.
- Malatesta M, Giagnacovo M, Costanzo M, Conti B, Genta I, Dorati R, et al. Diaminobenzidine photoconversion is a suitable tool for tracking the intracellular location of fluorescently labelled nanoparticles at transmission electron microscopy. *Eur J Histochem* 2012;56:e20.
- Malatesta M, Grecchi S, Chiesa E, Cisterna B, Costanzo M, Zancanaro C. Internalized chitosan nanoparticles persist for long time in cultured cells. *Eur J Histochem* 2015;59:2492.
- Malatesta M, Pellicciari C, Cisterna B, Costanzo M, Galimberti V, Biggiogera M, et al. Tracing nanoparticles and photosensitizing molecules at transmission electron microscopy by diaminobenzidine photo-oxidation. *Micron* 2014b;59C:44-51.
- Maranto AR. Neuronal mapping: a photooxidation reaction makes Lucifer yellow useful for electron microscopy. *Science* 1982;217:953-5.
- Meisslitzer-Ruppitsch C, Vetterlein M, Stangl H, Maier S, Neumüller J, Freissmuth M, et al. Electron microscopic visualization of fluorescent signals in cellular compartments and organelles by means of DAB-photoconversion. *Histochem. Cell Biol* 2008;130:407-19.
- Meunier FA, Nguyen TH, Colasante C, Luo F, Sullivan RKP, Lavidis NA, et al. Sustained synaptic-vesicle recycling by bulk endocytosis contributes to the maintenance of high-rate neurotransmitter release stimulated by glycerotoxin. *J Cell Sci* 2010;123:1131-40.
- Mundargi RC, Babu VR, Rangaswamy V, Patel P, Aminabhavi TM. Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(D,L-lactide-co-glycolide) and its derivatives. *J Control Release* 2008;125:193-209.
- Oleinick NL, Morris RL, Belichenko I. The role of apoptosis in response to photodynamic therapy: what, where, why, and how. *Photochem Photobiol Sci* 2002;1:1-21.
- Ono K, Kim SO, Han J. Susceptibility of lysosomes to rupture is a determinant for plasma membrane disruption in tumor necrosis factor alpha-induced cell death. *Mol Cell Biol* 2003;23:665-76.
- Pagano RE, Sepanski MA, Martin OC. Molecular trapping of a fluorescent ceramide analogue at the Golgi apparatus of fixed cells: interaction with endogenous lipids provides a trans-Golgi marker for both light and electron microscopy. *J Cell Biol* 1989;109:2067-79.
- Panyam J, Zhou WZ, Prabha S, Sahoo SK, Labhasetwar V. Rapid endolysosomal escape of poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles: implications for drug and gene delivery. *FASEB J* 2002;16:1217-26.
- Pellicciari C, Giagnacovo M, Cisterna B, Costanzo M, Croce AC, Bottiroli G, et al. Ultrastructural detection of photosensitizing molecules by fluorescence photoconversion of diaminobenzidine. *Histochem Cell Biol* 2013;139:863-71.
- Piette J, Volanti C, Vantieghem A, Matroule JY, Habraken Y, Agostinis P. Cell death and growth arrest in response to photodynamic therapy with membrane-bound photosensitizers. *Biochem Pharmacol* 2003;15:1651-9.
- Poletto V, Galimberti V, Guerra G, Rosti V, Moccia F, Biggiogera M. Fine structural detection of calcium ions by photoconversion. *Eur J Histochem* 2015;59: in press
- Pricop L, Salmon JE, Edberg JC, Beavis AJ. Flow cytometric quantitation of attachment and phagocytosis in phenotypically-defined subpopulations of cells using PKH26-labeled Fc gamma R-specific probes. *J Immunol Methods* 1997;205:55-65.
- Rinaudo M. Chitin and chitosan: properties and applications. *Prog Polym Sci* 2006;31:603-32.
- Röhl C, Meisslitzer-Ruppitsch C, Bittman R, Li Z, Pabst G, Prassl R, et al. Combined light and electron microscopy using diaminobenzidine photooxidation to monitor trafficking of lipids derived from lipoprotein

- particles. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13:331-40.
- Sandell JH, Masland RH. Photoconversion of some fluorescent markers to a diaminobenzidine product. *J Histochem Cytochem* 1988;36:555-9.
- Santin G, Bottone MG, Malatesta M, Scovassi AI, Bottiroli G, Pellicciari C, et al. Regulated forms of cell death are induced by the photodynamic action of the fluorogenic substrate, Hypocrellin B-acetate. *J Photochem Photobiol B* 2013;125:90-7.
- Schikorski T. Monitoring rapid endocytosis in the electron microscope via photoconversion of vesicles fluorescently labeled with FM1-43. *Methods Mol Biol* 2010;657:329-46.
- Schmitz G, Muller G. Structure and function of lamellar bodies, lipid-protein complexes involved in storage and secretion of cellular lipids. *J Lipid Res* 1991;32:1539-70.
- Singleton CD, Casagrande VA. A reliable and sensitive method for fluorescent photoconversion. *J Neurosci Meth* 1996;64:47-54.
- Soldani C, Bottone MG, Croce AC, Fraschini A, Biggiogera M, Bottiroli G, et al. Apoptosis in tumor cells photosensitized with rose Bengal acetate is induced by multiple organelle photodamage. *Histochem Cell Biol* 2007;128:485-95.
- Swan R, Chung CS, Albina J, Cioffi W, Perl M, Ayala A. Polymicrobial sepsis enhances clearance of apoptotic immune cells by splenic macrophages. *Surgery* 2007;142:253-61.
- Tandler CJ, Libanati CM, Sanchis CA. The intracellular localization of inorganic cations with potassium pyroantimonate. Electron microscope and microprobe analysis. *J Cell Biol* 1970;45:355-66.
- Tsien RY, Pozzan T, Rink TJ. T-cell mitogens cause early changes in cytoplasmic free Ca<sup>2+</sup> and membrane potential in lymphocytes. *Nature* 1982; 295: 68-71.
- Welzel O, Henkel AW, Stroebel AM, Jung J, Tischbirek CH, Ebert K, et al. Systematic heterogeneity of fractional vesicle pool sizes and release rates of hippocampal synapses. *Biophys J* 2011;100:593-601.
- Williams JM, Colman R, Brookes CJ, Savage CO, Harper L. Anti-endothelial cell antibodies from lupus patients bind to apoptotic endothelial cells promoting macrophage phagocytosis but do not induce apoptosis. *Rheumatology (Oxford)* 2005;44:879-84.
- Wolfsen HC. Uses of photodynamic therapy in premalignant and malignant lesions of the gastrointestinal tract beyond the esophagus. *J Clin Gastroenterol* 2005;39:653-64.
- Ziemssen F, Heimann H. Evaluation of verteporfin pharmacokinetics—redefining the need of photosensitizers in ophthalmology. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2012;8:1023-41.

## Helios PFIB DualBeam for Materials Science

Highest throughput and highest resolution sample characterization

### High throughput multiscale characterization of materials.

The Helios PFIB DualBeam is the world's most advanced DualBeam platform for high throughput sample processing and large volume 3D materials characterization. The Helios PFIB system combines the innovative Helios Elstar™ electron column with UC technology for the highest resolution and highest contrast imaging performance with the high performance Vion xenon plasma ion column for the fastest and most precise large scale processing.

Fast access to very precise, clear information is guaranteed, not only top-down, but also on tilted specimen or cross-sections. Additional below-the-lens detectors and a beam deceleration mode ensures that all signal is collected and no information left behind. Fast, accurate and reproducible results are obtained thanks to Elstar's unique technologies, including advanced auto alignments, constant power lenses for higher thermal stability and electrostatic scanning for higher deflection linearity and speed.

Highest throughput milling is guaranteed with the high beam current densities especially at high beam currents with the Vion PFIB. With beam currents greater than  $1\mu\text{A}$  available, milling times can be reduced to minutes rather than hours when compared to traditional gallium based focused ion beam systems. When FIB milling is combined with the advanced gas delivery systems such as FEI's MultiChem and the newest chemistries developed by FEI even higher throughput milling can be achieved on given materials with higher precision and control.

For broadening application space beyond large scale cross-sectioning, the FEI EasyLift nanomanipulator system for in-situ sample preparation provides the fastest and most reliable way to prepare samples for S/TEM characterization. With full integration into the user interface, all users can quickly and easily extract large-scale lamella, while a lowest FIB energy of 2keV ensures a high quality resulting lamella.

Building on many years of proven automation performance, FEI has adapted and updated the 3D application software to provide the highest quality and highest throughput datasets. With dedicated wizards in FEI Avizo software for processing DualBeam datasets, materials science customers are guided from initial sample processing to final quantified information quickly and easily.

#### KEY BENEFITS

High-performance Elstar electron column with UC monochromator technology for nanometer SEM image resolution and surface sensitivity

Xenon Ion Plasma FIB column for high-volume, high-speed milling and cross-sectioning

Exceptional low kV ion beam performance enables material sensitivity and low sample preparation damage

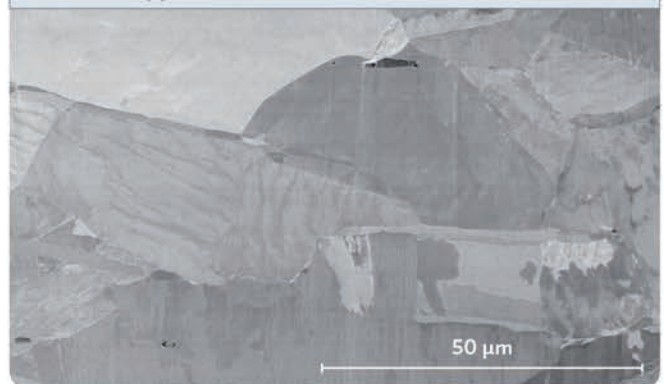
Optional MultiChem or GIS gas delivery systems provides the most advanced capabilities for electron and ion beam induced deposition and etching on FIB/SEM systems

Plasma FIB based chemistries and recipes for milling advanced materials.

Optional EasyLift nanomanipulator enables precise, site-specific preparation of large area lamellae while promoting high user confidence and yield

Highly accurate, stable and precise piezo stage offers guaranteed performance for long term 2D and 3D sample processing

Backed by FEI's world class knowledge and expertise in DualBeam applications



↑ In-lens BSE image of a large scale cross-section performed through a defect location in a surgical steel sample.





### Target Specifications

- Electron source
  - Schottky thermal field emitter, over one year lifetime
- Ion source
  - Inductively coupled Xe<sup>+</sup> Plasma (ICP), >4000 hours
  - PFIB Beam Current 1.5pA to 1.3μA
- Landing Voltage
  - 50 V - 30 kV SEM
  - 2 kV - 30 kV PFIB
- SEM resolution (Optimal WD, UC\*)
  - 1.0 nm @ 15 kV
  - 1.0 nm @ 2 kV
  - 1.1 nm @ 1 kV
  - 1.7 nm @ 200 V with beam deceleration
  - Coincident WD
- SEM resolution (Optimal WD)
  - 1.0 nm @ 15 kV
  - 1.6 nm @ 1 kV
- Ion beam resolution at coincident point
  - <25 nm @ 30 kV using preferred statistical method
- EDS spatial resolution
  - < 30 nm on thinned samples

### Gas Delivery

- MultiChem integrated gas delivery system
  - Up to 6 chemistries can be installed
  - Up to 2 external gases can be installed
- GIS gas delivery system
  - Up to 4 independent GIS units can be installed
- *In situ* Chunk or Large lamella Sample liftout
  - EasyLift LT or EX nanomanipulator

### Stage

- High precision 5-axis motorized, with XYR axis piezo driven
- 150 mm XY motion
- 10 mm Z motion
- Rotation n x 360° (endless)
- Tilt -10° to +60°
- Tilt precision 0.1° (between 50° and 54°)
- XY repeatability 1 μm
- Max sample weight @ 0° tilt 500 g (including sample holder)
- Max sample size: 150 mm with full rotation (larger samples possible with limited rotation)
- Eucentricity: Compucentric rotation and tilt

### Application software

- iFast Developers Kit Professional automation software
- User interface
  - Windows® GUI with integrated SEM, FIB, GIS, simultaneous patterning and imaging mode

### Key Options

- MultiChem chemistries
  - Milling/Deprocessing: Dielectric-etch, Polyimide-etch, Dx
  - Deposition: Conductor Dep - Platinum, Insulator Dep - IDEP2, Carbon Dep
- GIS chemistries
  - Milling/Deprocessing: Dielectric-etch, Polyimide-etch, Dx
  - Deposition: Conductor Dep - Platinum, Insulator Dep - IDEP3, Carbon Dep for SEM
  - Silicon Trenching Option with Co-axial nozzle for High Speed Trenching & Sample Prep

### Software

- Auto Slice&View™
- EBS3™, EDS3™
- Synopsys Camelot CAD Navigation

### Hardware

- EBSD analysis\*
- EDX analysis\*
- NavCam+
- IR Microscope
- Bulk Silicon Trenching

\* optional

**World Headquarters**  
Phone +1 503 726 7500

**FEI Europe**  
Phone +31 40 23 56000

**FEI Japan**  
Phone +81 3 3740 0970

**FEI Asia**  
Phone +65 6272 0050

**FEI Australia**  
Phone +61 2 6173 6200

**Learn more at FEI.com**  
ContactUs@FEI.com

For current certifications, please visit [FEI.com/certifications](http://FEI.com/certifications)

©2014. We are constantly improving the performance of our products—all specifications are subject to change without notice. FEI, the FEI logo, DualBeam, EasyLift, EBS3, EDS3, Elstar, Helios, iFAST and MultiChem are trademarks of FEI Company or its affiliates. All other trademarks belong to their respective owners. DS0188-10-2014



## I VANTAGGI DEI SOCI SISM

Essere Soci SISM (Società Italiana Scienze Microscopiche) vuol dire far parte di una Società Scientifica che, nata dalla consolidata tradizione scientifica della SIME (Società Italiana di Microscopia Elettronica), opera con uno spirito di forte dinamicità nei diversi settori della Microscopia, è sempre attenta alle continue evoluzioni tecniche e scientifiche in ambito Biologico, Biomedico e in Scienza dei Materiali e ha voluto fare della integrazione tra Ricercatori, Tecnici e quanti sono interessati alle applicazioni ed al progresso delle Scienze Microscopiche il suo obiettivo costante. La Società promuove Congressi Scientifici a livello nazionale ed internazionale, organizza e sponsorizza Scuole, Corsi teorico-pratici, Workshops, Seminari su specifici temi di particolare interesse e/o attualità per favorire l'aggiornamento teorico-applicativo di ricercatori, operatori professionali e personale specializzato delle aziende del settore.

Essere Soci SISM vuol dire:

- far parte dell'EMS (European Microscopy Society, [www.euremicsoc.org](http://www.euremicsoc.org)) e usufruire delle opportunità offerte dalla Società Europea in termini di informazioni, aggiornamenti, Corsi e Congressi a cui si può partecipare con quote ridotte;
- avere la possibilità di ricevere la rivista semestrale *Microscopie* che contiene informazioni riguardanti non solo le attività della Società, ma anche le novità che possono offrire le Ditte legate al settore, recensioni su pubblicazioni di interesse per i microscopisti, articoli scientifici e contributi dai diversi Centri di Microscopia che, diffusi su territorio nazionale, offrono grandi potenzialità in termini di strumentazioni e di competenze scientifiche facilmente condivisibili tra i Soci SISM;
- essere informati delle attività, Congressuali e non, che coinvolgono il mondo della microscopia in tutti i suoi aspetti;
- partecipare con quote vantaggiose a tutte le attività della Società;
- partecipare con quote vantaggiose alle iniziative accreditate secondo il progetto ECM (Educazione Continua in Medicina);
- avere la possibilità, per i giovani non strutturati, di usufruire di premi e borse di studio intese a favorire la partecipazione a Congressi di Microscopia nazionali ed internazionali e a premiare la ricerca svolta;
- avere libero accesso, a richiesta, a materiale didattico e scientifico prodotto dalla Società su argomenti di particolare attualità e interesse;
- avere la possibilità, per i Soci che siano promotori di attività di spin-off, di partecipare, con quote vantaggiose, alle iniziative della Società.

In conclusione, essere Soci della SISM vuol dire far parte di una Comunità di Microscopisti attiva, dinamica e in continua evoluzione non solo su scala nazionale, ma anche in un contesto europeo.

Per maggiori informazioni si prega di consultare il sito all'indirizzo [www.sism.it](http://www.sism.it).

## TARIFE INSERZIONI PUBBLICITARIE

La rivista *Microscopie* è una pubblicazione a carattere tecnico-scientifico edita dalla Società Italiana Scienze Microscopiche (SISM) che viene distribuita a tutti i soci. La rivista ha periodicità semestrale ed è stampata in b/n in formato A4 con copertina a colori. A pagamento possono essere inserite pagine interne a colori. Le tariffe per le inserzioni pubblicitarie sono le seguenti:

Pagina interna colore € 500,00

Seconda, terza o quarta di copertina (colore) € 800,00

I prezzi si intendono per singola pagina, IVA esclusa.

Il materiale pubblicitario, di elevata qualità, deve essere fornito su supporto digitale e deve essere inviato almeno 15 giorni prima della pubblicazione della rivista al seguente indirizzo:

Manuela Malatesta  
Dipartimento di Scienze Neurologiche e del Movimento, Sezione di Anatomia e Istologia  
Università degli Studi di Verona, strada Le Grazie, 8 37134 Verona  
Tel. +39.045.8027157/8425115  
E-mail: [manuela.malatesta@univr.it](mailto:manuela.malatesta@univr.it)

*Date di pubblicazione della rivista:* 15 Marzo e 15 Settembre.

Istruzioni per gli autori: [www.pagepress.org/microscopie](http://www.pagepress.org/microscopie)

