



## VYSVĚTLENÍ ZADÁVACÍ DOKUMENTACE Č. 3

**ZADAVATEL:** Univerzita Karlova  
Týká se součástí: 2. lékařská fakulta  
Sídlem: Ovocný trh 560/5, Staré Město, 116 36 Praha 1  
Adresa: V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 – Motol  
Jednající: prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc., děkan 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy  
IČO: 00216208

### **VEŘEJNÁ ZAKÁZKA: „UK2LF –Konfokální mikroskop s patch-clamp aparaturou“**

Výše uvedený zadavatel Vám v souladu s ustanovením § 98 zákona č. 134/2016 Sb., o zadávání veřejných zakázkách, (dále jen „ZZVZ“), sděluje následující vysvětlení zadávací dokumentace vztahující se k výše uvedené nadlimitní veřejné zakázce zadávané v otevřeném nadlimitním řízení dle ZZVZ.

*„Zde je výběr požadovaných technických parametrů, které splňuje jenom jeden dodavatel:*

- 1.Laditelný pulsní laserový zdroj s rozsahem vlnových délek min. od 485 – 685 nm*
- 2.Akusto-optický laditelný filtr pro navázání laserů a výběr vlnové délky a intenzity u všech použitých laserů.*
- 3.kombinace požadovaných parametrů:  
-Rychlost skenování vzorků s rychlostí 10 snímků/sekundu při rozlišení 512x512px a plnémzorném poli  
-Rychlost skenování rezonančním skenerem vzorků s rychlostí 28 snímků/sekundu při rozlišení 512x512px pro plné zorné pole*
- 4.Zoom v rozsahu min. 0,75x-48x.*
- 5.Skenovací mody xy,xyz,xyt,xyzt, xzyt spektrální skeny pro zjištění aktuální odezvy vzorku na excitační vlnovou délku přes celé možné emisní spektrum v kombinaci s prostorovými a časovými skeny.*
- 6.Detektory minimálně 3ks:  
-super citlivé spektrální detektory pro detekci velmi slabých fluorescenčních signálů, hardwarově oddělené pro lepší nastavení emisního spektra, QE min. 56%, gating funkce pro separaci autofluorescence a zlepšení rozlišení.*
- 7.objektiv: apochromatický 63x vodní objektiv s N.A. min. 0.9 s dlouhou pracovní vzdáleností min. 2.2mm*

*Všechny tyto parametry a kombinace těchto parametrů umí splnit jenom jeden dodavatel. Pokud má zadavatel zájem, lze požadované technické parametry poupravit tak, aby podmínky zadávacího řízení splnil víc než jenom jeden dodavatel, a to tak, že budou nadále zachovány všeobecné požadavky zadavatele pro konfokální mikroskop přizpůsobený pro elektrofyziologická měření a pro snímání fixovaných imunohistochemických preparátů.“*

**Zadavatel uvádí, že na dotazy výše bylo odpovězeno v rámci jednotlivých vysvětlení zadávací dokumentace níže:**

#### **Znění žádosti o vysvětlení zadávací dokumentace č. 1:**

Laditelný pulsní laserový zdroj s rozsahem vlnových délek min. od 485 – 685 nm



Laditelný pulsní laserový zdroj s rozsahem vlnových délek min. od 485 – 685 nm nebo kombinace alespoň 488, 514, 561, 594 a 640 nm laserů.

Alternativní řešení nabízí lasery pro všechny excitační spektra fluorochromů a navíc mají vyšší výkon, tj. tyto lasery lze využít pro různé manipulační metody FRAP, FLIP, iFRAP, FLAP, fotoaktivace a fotokonverze. Navíc mají samostatné lasery většinou delší životnost.

#### **Znění vysvětlení zadávací dokumentace č. 2:**

Laditelný laserový zdroj s vyšším rozsahem vyrábí více výrobců na trhu. Zadavatel požaduje tuto minimální specifikaci pro zdárné provedení plánovaných experimentů z více důvodů. Za prvé, pulsní zdroj lze použít pro měření „lifetime“ jednotlivých fluoroforů, které umožňuje jak rozlišení fluoroforů, tak odlišení fluorescence pozadí vzorku. V našich projektech jsou mimo jiné plánované také experimenty, které zahrnují měření metabolické aktivity jednotlivých buněk, pro něž je FLIM klíčovou metodou. Za druhé, rozsah excitace až do 685 nm je požadován z důvodu excitace infračervených fluoroforů, které rutinně používáme pro značení buněk. Samotné kontinuum vlnových délek světelného zdroje je pro nás důležité, protože běžně používáme mnohonásobné barvení vzorku a pracujeme tak s mnoha druhy fluorescenčních proteinů, které již dnes tvoří jemnější spektrum, než jaké by bylo možné dostatečně obsáhnout menším počtem laserů pevné vlnové délky. Navíc spolupracujeme s týmy v zahraničí, které vyvíjejí nové fluorofory jejichž excitační a emisní spektrum se nemusí překrývat s běžně používanými fluorofory, a proto je pro nás laditelný laser výhodné východisko. Zadavatel zde proto trvá na zadaných parametrech.

#### **Znění žádosti o vysvětlení zadávací dokumentace č. 2:**

Akusto-optický laditelný filtr pro navázání laserů a výběr vlnové délky a intenzity u všech použitých laserů.

Navržená změna:

Akusto-optický laditelný filtr pro navázání laserů a výběr vlnové délky a intenzity u všech použitých laserů nebo sada dichroických zrcátek pro navázání laserů a výběr vlnové délky u všech použitých laserů s regulací pomocí akusto-optického laditelného filtru. Pokud zadavatel požaduje „akusto-optický laditelný beam splitter / dělič paprsků“ (AOBS) a ne „akusto-optický laditelný filtr“ (AOTF), který umí jenom regulovat výkon, tak alternativní řešení navázání laserů do optické dráhy pomocí dichroických zrcátek nabízí vyšší propustnost pro emisní světlo, tj. vyšší citlivost. Zvýšení citlivosti je velmi důležité pro šetrné snímání živých ale i neživých preparátů.

#### **Znění vysvětlení zadávací dokumentace č. 2:**

Zadavatel požaduje akusto-optický laditelný filtr v obecném smyslu jako modul, který z jemného spektra excitačních koherentních světelných zdrojů vybere požadovanou vlnovou délku, anebo kombinaci více vlnových délek. Dichroická zrcátka neumožňují takovou flexibilitu jako modul s akusto-optickým deflektorem.

#### **Znění žádosti o vysvětlení zadávací dokumentace č. 3:**

kombinace požadovaných parametrů:

- Rychlost skenování vzorků s rychlostí 10 snímků/sekundu při rozlišení 512x512px a plnémzorném poli
- Rychlost skenování rezonančním skenerem vzorků s rychlostí 28 snímků/sekundu při rozlišení 512x512px pro plné zorné pole

Navržená změna:

- Rychlost skenování vzorků minimálně 10 snímků za vteřinu při rozlišení 512x512px a plnémzorném poli.



-Rychlost skenování rezonančním skenerem vzorků s rychlostí 28 snímků/sekundu přirozlišení 512x512px pro plné zorné pole nebo vícebodové paralelní skenování s rychlostí minimálně 25 snímků/sekundu při rozlišení 512x512px.

Alternativní řešení paralelního skenování více bodů nabízí mnohonásobně vyšší kvalitu obrazu než rezonanční skener. Využití lineárního skeneru i při rychlém skenování je navíc mnohem šetrnější ke vzorkům.

#### **Znění vysvětlení zadávací dokumentace č. 3:**

V našich projektech plánujeme zejména funkční snímání buněčného kalcia, membránového potenciálu, nebo extracelulárních hladin neurotransmiterů. Rychlost snímání je pro tyto experimenty klíčová. **Zadavatel ale uznává, že 28 a 25 snímků za sekundu při referenčním rozlišení 512x512 pixelů není velký rozdíl, a proto mění tuto podmínku na „alespoň 25 snímků/sekundu pro 512x512 pixelů při plném zorném poli.**

#### **Znění žádosti o vysvětlení zadávací dokumentace č. 4:**

Zoom v rozsahu min. 0,75x-48x.

Navržená změna:

Zoom v rozsahu min. 0,75x-40x.

#### **Znění vysvětlení zadávací dokumentace č. 4:**

V našich experimentech je plánováno i se snímáním aktivity na jednotkách synapsí, a tedy ve velmi malém prostorovém rozsahu. **Zadavatel ale uznává, že nad hodnotu jednotek x již nesouvisí s rozlišením, ale jde již především o otázku vzorkování/převzorkování snímané části, a tedy rozdíl mezi 48x a 40x je efektivně malý a tedy zadavatel mění podmínku na formulaci dle navržené změny na „Zoom v rozsahu min. 0,75x-40x“.**

#### **Znění žádosti o vysvětlení zadávací dokumentace č. 5:**

Skenovací módy xy,xyz,xyt,xyzt, zxyt spektrální skeny pro zjištění aktuální odezvy vzorku na excitační vlnovou délku přes celé možné emisní spektrum v kombinaci s prostorovými a časovými skeny.

Navržené změny:

Skenovací módy xy,xyz,xyt,xyzt, spektrální skeny pro zjištění aktuální odezvy vzorku na excitační vlnovou délku přes celé možné emisní spektrum v kombinaci s prostorovými a časovými skeny. Skenování zxyt lze nahradit skenem xyzt, který lze později zobrazit ve všech směrech.

#### **Znění vysvětlení zadávací dokumentace č. 5:**

Skenovací mód zxyt v reálném čase je pro nás důležitý, protože velká část experimentů bude spojena s časově přesnou aplikací solutů, které budou detekovány již vázanými fluorescenčními geneticky kódovanými reportéry v celé hloubce kultivovaného mozkového řezu (například vápníku, draslíku, glukózy). Je tedy důležité, když budeme moci vyměnit jednu plošnou osu za hloubku, abychom měli v reálném čase informaci o koncentračním gradientu solutu v řezu. Zadavatel trvá na uvedeném parametru.

#### **Znění žádosti o vysvětlení zadávací dokumentace č. 6:**

Detektory minimálně 3ks:



-super citlivé spektrální detektory pro detekci velmi slabých fluorescenčních signálů, hardwarově oddělené pro lepší nastavení emisního spektra, QE min. 56%, gating funkce pro separaci autofluorescence a zlepšení rozlišení.

Navrhovaná změna:

Detektory minimálně 3ks

-citlivé detektory pro detekci velmi slabých fluorescenčních signálů, hardwarově oddělené pro lepší nastavení emisního spektra, QE min. 45%, gating funkce nebo spektrální detektor pro separaci autofluorescence.

Vysvětlení vynechání slov „supercitlivý“ a „spektrální“ – viz. níže.

Změna hodnoty QE – viz. níže

#### **Znění vysvětlení zadávací dokumentace č. 6:**

Současný požadavek na kvantovou efektivitu/výtěžek detektorů je požadavek na maximum možného současné technologie v otázce senzitivity. 45% vs 56% je rozdíl již 20% a to je pro signály s omezeným počtem emitovaných fotonů (rychlé napěťové zobrazování) již značné. Funkce gating je klíčová pro potlačení pozadí a šumu v takovýchto i jiných typech experimentů. Zadavatel trvá na uvedených parametrech.

#### **Znění žádosti o vysvětlení zadávací dokumentace č. 7:**

objektiv: apochromatický 63x vodní objektiv s N.A. min. 0.9 s dlouhou pracovní vzdáleností min. 2.2mm

Navrhovaná změna:

objektiv: apochromatický 63x vodní objektiv s N.A. min. 0.9 s dlouhou pracovní vzdáleností min. 2.1 mm

#### **Znění vysvětlení zadávací dokumentace č. 7:**

Vysvětlení zadavatele: Aparatura, kterou soutěžíme, má sloužit pro kombinovaná měření metodou terčíkového zámku, anglicky „patch-clamp“, v konfiguraci snímání ze dvou buněk zároveň, případně v konfiguraci stimulace jedné buňky a snímání z druhé. Tato měření chceme dále kombinovat s měřením extracelulárních změn napětí nebo extracelulárních změn koncentrace draslíku (obojí pomocí extracelulárních elektrod zavedených do řezu), nebo změn intracelulární koncentrace vápníku a napětí pomocí fluorescenčních sond. K elektrofyziologickým experimentům tak budeme používat několik skleněných elektrod zavedených do mozkových řezů pod objektivem. Z letitých zkušeností s podobnými měřeními víme, že co největší pracovní vzdálenost, která je dostupná na trhu při zachování zvětšení a NA objektivu, je pro naše experimenty zásadní. V principu ale není nutné, aby měl takový objektiv dané zvětšení přesně 63x, a proto zadavatel specifikuje dané parametry takto: apochromatický vodní objektiv se zvětšením 55-65x s N.A. min. 0.9 s dlouhou pracovní vzdáleností min. 2.2mm.

#### **Znění žádosti o vysvětlení zadávací dokumentace č. 8:**

Dále bychom rádi požádali o vysvětlení následujících požadovaných parametrů:

1. Zadavatel požaduje „konfokální spektrální kanály“ a „super citlivé spektrální detektory“.

Dotaz:

Prosíme o vysvětlení slov „spektrální kanál“ a „spektrální detektor“. Myslí tím zadavatel detektor, pro který lze volně nastavit detekční rozsah, nebo tím zadavatel myslí pravý spektrální detektor, kde jedním skenem lze získat celé emisní spektrum?



2.zadavatel požaduje: „super citlivé spektrální detektory pro detekci velmi slabých fluorescenčních signálů, hardwarově oddělené pro lepší nastavení emisního spektra, QE min. 56%, gating funkce proseparaci autofluorescence a zlepšení rozlišení.“

Dotazy:

Prosíme o vysvětlení pojmu „supercitlivý spektrální detektor“?

Co znamená slovo „supercitlivý“? Zadavatel požaduje QE min. 56%. Nedošlo při specifikaci k záměně QE (Quantum Efficiency) s parametrem PDE (Photon Detection Efficiency)? Prosíme o upřesnění.

**Znění vysvětlení zadávací dokumentace č. 8:**

8.1: Spektrální kanál v tomto případě znamená detektor, pro který lze volně nastavit detekční rozsah a tento případně i měnit pro proměření celého emisního spektra.

8.2: Adjektivum „supercitlivý“ bylo volně použito pro zdůraznění priority zadavatele, kterou je v tomto případě citlivost detektoru. Nebylo použito pro přesnou kategorizaci zařízení. U parametrizace požadovaných detektorů máme skutečně na mysli kvantovou efektivitu (QE), jak jsme uvedli.

**Znění vysvětlení zadávací dokumentace č. 9:**

S ohledem na poskytnutí výše uvedených informací a podkladů, zadavatel přiměřeně upravuje konec lhůty pro podávání nabídek a to následovně:

**Nová lhůta veřejné zakázky:**

**Lhůta pro podání nabídek končí dne: 21.11.2022, hodina: 9:00 hodin**

.....  
prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc.,  
děkan 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy