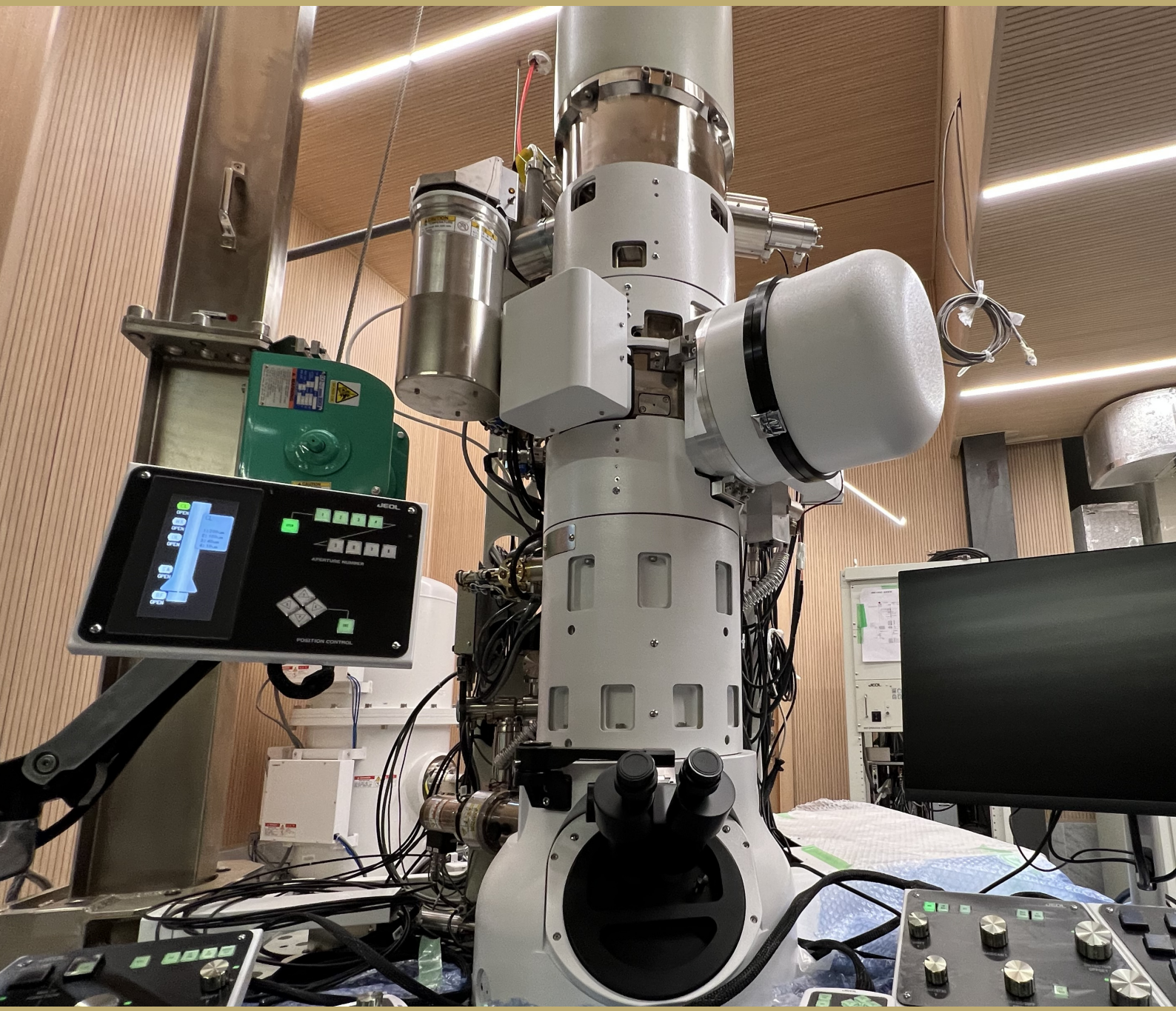
ATOMCENTER

Open Infrastructure for Advanced TOmography and Microscopies



progetto finanziato sul Bando della Regione Lazio
(determinazione n. G11949 del 4 settembre 2017)
“Infrastrutture Aperte per la Ricerca”

RELAZIONE FINALE

(chiusura ufficiale del progetto: 31 ottobre 2022)

RELAZIONE FINALE TECNICA DEI PIANI DI INVESTIMENTO MATERIALI ED IMMATERIALI

ATOM

Open Infrastructure for Advanced TOmography and Microscopies

Il sottoscritto prof. Emilio Nicola Maria Cirillo, C.F. CRLMNC67M27I158V, nato a San Severo (FG), il 27/08/1967, residente in Via Don Morosini n° 46, Comune Genzano di Roma , CAP 00045 Provincia (RM), in qualità di Direttore del Dipartimento di Scienze di Base e Applicate per l'Ingegneria, con sede legale in Roma alla Via Antonio Scarpa n° 16, Roma 00161 (RM), telefono 06 4991 6800, pec dipartimento.sbai@cert.uniroma1.it, Codice fiscale Ente 80209930587. In qualità di proponente la domanda di Sovvenzione Prot. N. 173-2017-17395 del 12/12/2017, beneficiaria di un contributo concesso a valere sulla L.R. 13/2008 - Avviso Pubblico "Infrastrutture aperte per la ricerca", Atto d'Impegno prot. n. 0028072 del 21/09/2018, CUP: B86C18000620007,

PRESENTA

la Relazione FINALE relativa al Piano di Investimenti finanziato in Immobilizzazioni materiali, inclusiva delle integrazioni richieste con nota di Lazio Innova n. prot. 41846 inviata via PEC il 4 novembre 2022. Si includono anche gli Allegati A e B, copia di precededenti comunicazioni da considerare parte integrante della Relazione, nonché il riepilogo sintetico del quadro economico coerente a quanto caricato sulla piattaforma regionale GecoWeb.

1. ILLUSTRAZIONE DEI RISULTATI CONSEGUITI

Gli investimenti nel progetto ATOM (Advanced TOmography and Microscopies) hanno permesso la realizzazione di un'infrastruttura di ricerca aperta, dedicata alla Tomografia e alle Microscopie di punta, che, al completamento del periodo progettuale, si configura come una infrastruttura pienamente realizzata, completa e funzionante, aperta alle necessità di caratterizzazione mediante metodologie correlative, multiscala e multitecnica basate su piattaforme di tomografia e microscopia allo stato dell'arte.
Il sito internet (https://www.atomcenter.org/HOME/index.php/en/), realizzato intergralmente con risorse interne, è in fase di completamento ed è in fase avanzata la realizzazione di una piattaforma informatica che rappresenterà il singolo punto di accesso esterno a tutte le strumentazioni di ricerca presenti nell'infrastruttura. E' previsto un evento pubblico di disseminazione e lancio dell'infrastruttura nel primo quadrimestre del 2023.

L'infrastruttura mette a disposizione delle imprese e degli enti di ricerca risorse strumentali e competenze tecnico-scientifiche che altrimenti non sarebbero disponibili. Le strumentazioni acquisite, unitamente a quelle già disponibili in Sapienza, consentono di offrire un cluster di strumentazioni uniche e allo stato dell'arte, in grado di garantire un amplissimo spettro di caratterizzazioni multiscala fisico-chimiche e funzionali di materiali: da quelle necessarie per ricerche in un contesto di *deep technology* a basso TRL, a quelle ad alto TRL per l'impiego di materiali in processi di innovazione industriale ovvero per esigenze di *failure analysis* in processi manifatturieri ad alta tecnologia.

In particolare, l'infrastruttura ATOM è articolata su diverse piattaforme, indipendenti ma complementari e sinergiche, che la qualificano in termini di potenzialità e stato dell'arte:

- Piattaforma per tomografia a raggi-X inclusiva del microscopio a raggi-X ZEISS Xradia Versa 610;
- Sistema per la microscopia correlativa SEM-AFM (Scanning Electron Microscopy-Atomi Force Microscopy) integrante un SEM TESCAN Vega e un AFM Nenovision;
- Piattaforma di microscopia a forza atomica (AFM) Asylum Oxford Cypher (denominato anche PESCA)
- Piattaforma per la Diffrazione di raggi X a basso angolo (SAXS) XENOCS Xeuss 2.0 HR Q-Xoom;
- Piattaforma per la microscopia confocale spettrale ZEISS LSM 800
- Piattaforma di Microscopia Elettronica a Trasmissione JEOL JEM F200
- Piattaforma NMR (Nuclear Magnetic Resonance) JEOL JNM-ECZ 600R
- Robot di cristallizzazione Douglas Instruments Oyx-4

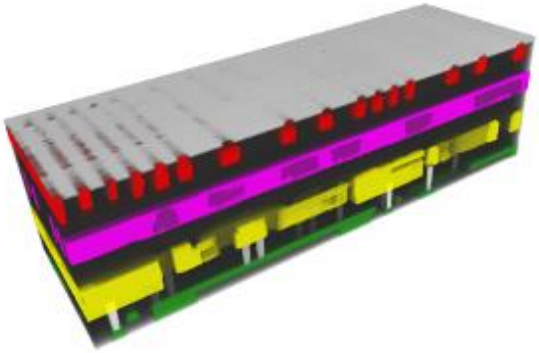
In questo quadro generale presentiamo in rassegna le diverse piattaforme e strumentazioni installate, in un ordine dato essenzialmente dalla loro tempistica di installazione e dell'impatto che si è avuto in termini di collaborazioni scientifiche e contratti di servizio attivati e in fase di attivazione. Il tempo di 'incubazione' tra l'installazione e l'utilizzo esterno è fortemente legato innanzitutto alla complessità di utilizzo della specifica strumentazione e del tempo necessario a formare il personale tecnico- scientifico in grado di lavorare sullo strumento. Nel configurare le piattaforme strumentali e nel processo di formazione del personale si è tenuto conto da un lato dello specifico know-how in essere presso Sapienza, precedentemente al progetto ATOM, e dall'altro della necessità di perseguire prioritariamente gli indirizzi strategici declinati nella S3 della Regione

Lazio, come obiettivo strategico successivamente al termine del progetto ATOM. E' stata così data particolare importanza alle esigenze degli ambiti della ***micro- e nano-elettronica***, dell'***additive manufacturing***, della ***medicina e biologia*** e dei ***beni culturali***. Tutti i bacini d'utenza sopra citati, che costituiscono il core del **mercato di ATOM**, manifestano infatti esigenze in larga misura ancora inappagate che possono essere affrontate e soddisfatte sfruttando sinergicamente le caratteristiche complementari del parco strumentale che si è reso disponibile tramite l'implementazione del progetto ATOM, unitamente alle forti competenze e conoscenze in microscopia avanzata multifunzionale che sono disponibili. Sarà così inoltre possibile anche stabilire alleanze strategiche con soggetti privati e pubblici nella Regione Lazio, in Italia e all'estero. Il rafforzamento delle attività di networking consentirà, in generale, un aumento non solo delle possibilità di partecipazione ma soprattutto delle probabilità di successo dei progetti presentati in risposta ai bandi di finanziamento a livello regionale, nazionale, europeo e, più in generale, internazionale.

Il Progetto ATOM ha cominciato in tempi relativamente brevi dal suo inizio ad offrire, grazie innanzitutto alla disponibilità fin dalle fasi iniziali progettuali, del microscopio a raggi X **ZEISS Xradia Versa 610**, un contributo decisivo nello sviluppo di metodologie e flussi di lavoro integrati (Workflow) per la caratterizzazione multimodale, multidimensionale e multiscala di materiali e tessuti biologici all'interno dei laboratori di ricerca e controllo qualità accademica e industriale. ATOM ha nel complesso messo a disposizione delle imprese e dei gruppi di ricerca piattaforme strumentali innovative con applicazioni nei settori healthcare, green technology ed economia circolare, materiali per l'energia, biomedico, biotecnologie, farmaceutico, agroalimentare, beni culturali, micro e nano-elettronica e automotive.

Il microscopio a raggi X ZEISS Xradia Versa 610 è la base di una piattaforma strumentale in grado di eseguire Tomografie con elevata risoluzione spaziale (in pratica una nano-TAC), essendo caratterizzata da un voxel size di 40 nm. Lo strumento, installato prima della pandemia, ha comportato un rilevante impegno economico, secondo solo a quello per il TEM, e ha caratteristiche di unicità a livello territoriale e nazionale. L'immagine qui accanto mostra aperto il cabinet principale della strumentazione, in cui è allocata la sorgente a raggi X, e che contiene sia il sistema di rivelazione che quello di movimentazione del campione per la realizzazione dei tomogrammi. Ci sono attualmente solo altri due strumenti analoghi installati in Italia, entrambi in ambito industriale (nelle due sedi di Agrate e Catania di STMicroelectronics) e non accessibili da parte di utenti esterni.

Le due immagini che seguono evidenziano *at-a-glance* la versatilità dello strumento in grado di fornire informazioni uniche utili che hanno consentito nello specifico l'identificazione di una nuova specie di lucertola autoctona dell'isola di Ventotene e l'individuazione in maniera non distruttiva dei difetti costruttivi in un chip per applicazioni in campo energetico. Nel complesso si tratta di una strumentazione di elezione nel campo del failure analysis.



Si sottolinea al riguardo come una parte importante dell'attività tecnico-scientifica venga svolta anche grazie al contributo fondamentale di due dottorandi industriali supportati dal primo bando (ciclo XXXVI della Regione Lazio per i dottorati innovativi (Ing. Flavio Cognigni, azienda partner Carl Zeiss SpA, e Ing. Anastasia Fornari, azienda partner Nanoshare Srl). Ad oggi, la macchina ha raggiunto un'operatività continuativa e di alto profilo scientifico attirando l'interesse dell'Industria e dell'Accademia a livello regionale, nazionale ed internazionale. La workstation di analisi delle immagini e modellazione 3D rappresenta un apparato necessario per il massimo sfruttamento del microscopio, ma anche una piattaforma di lavoro indipendente capace di servire le esigenze scientifiche e analitiche interne ed esterne ad ATOM.

Il microscopio a raggi X ZEISS Xradia Versa 610 supera i limiti imposti dalla tradizionale micro-tomografia computerizzata (microCT) combinando l'ingrandimento geometrico con l'ingrandimento ottico. La sorgente di raggi X capace di generare un elevato flusso fotonico assicura il raggiungimento di risoluzioni submicrometriche e contrasti eccezionali. Lo strumento consente di analizzare in modo non-distruttivo e tridimensionale la microstruttura dei materiali, eventualmente sottoposti a stress meccanici e/o termici monitorando l'evoluzione nel tempo con esperimenti 4D. La workstation dotata dell'innovativo software di simulazione e analisi delle immagini Dragonfly Pro (V. 2022.1) permette di sviluppare metodologie analitiche affidabili e robuste contribuendo alla caratterizzazione olistica di campioni appartenenti ad una ampio range di applicazioni.

Tale contesto ha garantito una rapida espansione del network riconducibile ad ATOM instaurando rapporti di collaborazione scientifica con laboratori istituzionali sia interni a Sapienza, tra cui Electron Microscopies and Nanoscopies (EMINA Lab), il laboratorio di Nanotecnologie e Nanoscienze di Sapienza (SNN Lab), il Centro di ricerche per le Nanotecnologie per l'Ingegneria di Sapienza (CNIS), che esterni appartenenti a primarie istituzione di ricerca pubblica, tra cui l'Istituto Superiore di Sanità (ISS), l'Università di Bologna, l'Università di Pavia e l'Istituto Nazionale di Geofisica e Vulcanologia (INIGV) di Catania. Tali rapporti si estendono a gruppi di

ricerca privati come ad esempio Leonardo SpA, Thales Alenia Space, STMicroelectronics (sedi di Milano e Catania), Micron Technology (sede di Milano), il Quality Excellence Center di Reggio Emilia (Carl Zeiss SpA divisione Microscopia e Metrologia Industriale), il Laboratorio Tecnologico di Grosseto CERTEMA S.c.a.r.l., KCS Biotech Startup Innovativa e Tensive Srl.

L'attività di ricerca ha già generato una molteplicità di attività e prodotti di carattere scientifico, tra cui si evidenziano quelle che seguono per rilevanza sia in termini di intrinseca importanza che di potenzialità future:

- A comprehensive strategy for exploring corrosion in iron-based artefacts through advanced Multiscale X-ray Microscopy, Articolo pubblicato sulla rivista Scientific Reports del Portfolio Nature. Nel presente lavoro il microscopio a raggi X e la workstation di analisi delle immagini (Dragonfly V 2022.1) hanno avuto un ruolo strategico nello sviluppo di una nuova strategia analitica multiscala e multimodale basata sulla microscopia correlativa. Molteplici tecniche di caratterizzazione (Microscopia Ottica, Microscopia Elettronica, Spettroscopia a dispersione di energia e microRaman) hanno permesso lo studio e la completa investigazione dei meccanismi di corrosione di reperti in ferro provenienti dal sito archeologico di Mozia, Sicilia.
- New Approach in Physical Failure Analysis Based on 3D Reconstruction. Presentazione Orale e Articolo in fase di Pubblicazione nel contesto di International Symposium for Testing and Failure Analysis, Pasadena Convention Center, California. Lavoro svolto in collaborazione con l'azienda STMicroelectronics. In tale contesto, sono stati sviluppati flussi di lavoro dedicati per il settore elettronica e semiconduttori nell'ambito dell'elaborazione delle immagini e modellazione 3D su dataset provenienti dal tomografie elettroniche.
- Integrated workflow built on Advanced 3D Multiscale X-ray Microscopy (XRM) to investigate corrosion in iron-based artefacts. Presentazione orale presso il Museum of Fine Arts di Budapest durante il convegno International Conservation and Science Conference. In tale contesto è stato presentato lo strumento e le sue potenzialità nell'applicazione ai Beni Culturali.
- Conventional and advanced techniques for archaeological diagnostic of iron artefacts. Articolo in fase di pubblicazione in cui si descrivono le principali tecniche analitiche, tradizionali e avanzate, per la diagnostica nel mondo dei beni culturali. Il lavoro è stato presentato durante la conferenza Metrology for Archaelogy and Cultural Heritage 2022, Cosenza.
- X-ray Microscopy: A Non-destructive High-resolution Imaging to Study the Inner Workings of Batteries. Presentazione orale presso il congresso Giornate dell'Elettrochimica Italiana (GEI) 2022, Orvieto e Articolo in fase di sottomissione presso la rivista ChemElectroChem. Il lavoro è stato svolto in collaborazione con ENEA Centro Ricerche Casaccia.
- Blog Online Zeiss Microscopy - Exploring Corrosion in Iron Nail Artifacts with Multi-Scale X-ray Microscopy. Articolo su blog online. Presentazione dell'attività svolta presso il Centro di Ricerca per le Nanotecnologie Applicate all'Ingegneria (CNIS).

Il contributo apportato da ATOM grazie alla presenza del microscopio a raggi X, ZEISS Xradia Versa 610 è riconducibile anche allo sviluppo di metodologie analitiche innovative dedicate nel contesto di specifiche applicazioni non solo a livello strumentale, ma anche a livello hardware. In collaborazione con l'Istituto Nazionale di Geofisica e Vulcanologia (INGV), è stato infatti sviluppato un modello innovativo di portacampioni con particolare attenzione ad applicazioni di microscopia correlativa ottico-SEM. Il prodotto ha l'obiettivo di soddisfare le particolari esigenze di chi opera nella caratterizzazione mineralogica di sezioni planari

bidimensionali. Sono state anche elaborate soluzioni software personalizzate in collaborazione con l'azienda Tensive Srl per caratterizzazioni innovative nel mondo healthcare.

Si riepilogano nella tabella che segue l'insieme delle attività che hanno riguardato l'impiego del sistema ZEISS Xradia Versa 610 e che può essere considerato paradigmatico anche per quello che riguarda le aspettative di utilizzo delle altre apparecchiature dopo la fase implementativa del progetto ATOM.

Azienda/Ente di Ricerca	**Tema**	***Descrizione della collaborazione***
Leonardo Finmeccanica	Micro- e nano-elettronica (failure analysis)	*La collaborazione con Leonardo Finmeccanica ha garantito il potenziamento dell'apparato strumentale dell'azienda per la caratterizzazione micro- e nano-scopica dei propri dispositivi nell'ambito dell'elettronica e dei semiconduttori. L'unicità e le elevate prestazioni del microscopio Xradia Versa 610 sono state determinanti nello studio qualitativo e quantitativo di microprocessori di ultima generazione. I dati ottenuti hanno reso accessibile una nuova prospettiva di sviluppo e controllo qualità mirata a soddisfare le odierne necessità di un settore in continua evoluzione.*
STMicroelectronics	Micro- e nano-elettronica (failure analysis)	*Nel contesto del Progetto ATOM sono stati sviluppati dei flussi di lavoro innovativi volti ad automatizzare complessi protocolli di caratterizzazione e failure analysis propri del mondo della micro e nanofabbricazione di dispositivi elettronici. In tale contesto, il team congiunto e costituito da ATOM, STMicroelectronics e Carl Zeiss ha lavorato alla progettazione e alla messa a punto di un approccio innovativo dedicato all'individuazione di difetti nelle interconnessioni di nanoprocessori su scala nanometrica attraverso l'impiego della tomografia elettronica FIB. Il prodotto della collaborazione è stato presentato nel contesto dell'International Symposium for Testing and Failure Analysis (ISTFA) 2022 tenutosi a Pasadena, California.*
KCS Biotech Srl e Università di Pavia	Biologia e Medicina (Nutraceutica e Bio-integratori)	*Le principali applicazioni tecnologiche sviluppate e investigate nel contesto del progetto ATOM sono riconducibili alle scienze dei materiali. Ad ogni modo, le attività di correlazione e interpretazioni dei dati provenienti da piattaforme di microscopia e caratterizzazione risultano ottimizzabili anche nel mondo delle scienze della vita. Tra le varie, si riportano le attività svolte in partecipazione con KCS Biotech Startup Innovativa e l'Università di Pavia. In tale contesto, sono state messe a sistema le conoscenze multidisciplinari e il know-how sviluppato all'interno di ATOM per lo studio dell'attività biodegradativa operata da specie fungine su substrati polimerici. La ricerca condotta si pone l'obiettivo di investigare le modalità di interazione tra fungo e polimero valutando la capacità biodegradativa del primo al fine di essere impiegato su larga scala come mezzo per lo smaltimento di materie plastiche.*

Tensive Srl e Quality Excellence Center di Carl Zeiss SpA (sede di Reggio Emilia)	Biologia e Medicina (Medicina e Chirurgia)	*La workstation dedicata all'analisi delle immagini e alla modellazione 3D rappresenta un apparato fondamento per lo sfruttamento completo delle potenzialità del tomografo Xradia Versa 610, ma allo stesso tempo rappresente un ambiente di lavoro in cui far convergere dataset tridimensionali proveniente da una vasta gamma di strumenti. In collaborazione con Tensive Srl e il Quality Excellence Center di Carl Zeiss sono state sviluppate delle metodoligie di investigazione semi automatiche nella ricerca di materiali innovativi per applicazione biomedicali sfruttando la strumentazione di tomografia industriale e il software di image processing Dragonfly Pro.*
CERTEMA S.c.a.r.l. e Istituto Nazionale di Geofisica e Vulcanologia (INGV)	Additive Manufacturing	*Il raggiungimento di una compresione olistica del campione osservato richiede la correlazione di un elevato numero di informazioni, provenienti da numerose piattaforme analitiche, e riferite alla medesima regione di interesse individuata. Pertanto, è fondamentale disporre si soluzioni hardware e software capaci di supportare il ricercatore in questo delicato compito. ATOM ha contribuito alla sviluppo di soluzioni hardware innnovative per la correlazione dei dati provenienti da microscopio ottico ed elettronico capaci di integrarsi con diverse proposte a livello software già presenti sul mercato.*
Istituto Nazionale di Geofisica e Vulcanologia (INGV)	Geoscienze	*Il portacampioni sviluppato e creato nel contesto del progetto ATOM è stato collaudato presso l'Istituto Nazionale di Geofisica e Vulcanologia (INGV) di Catania. E' stata dimostrata non solo una completa efficacia del prodotto, ma anche la possibilità di integrare lo stesso nei più moderni ecosistemi dedicati alla microscopia correlativa già presenti sul mercato, come ad esempio ZEN Connect. Il nuovo prodotto è stato applicato ad un caso di studio reale nell'ambito delle geoscienze. Nello specifico, sono state analizzate diverse tipologie di campioni, tra cui sezioni sottili e campioni tridimensionali di ceneri e lapilli dei vulcani Etna e Stromboli combinando i dati provenienti dal microscopio ottico e dal microscopio elettronico. Il nuovo flusso di lavoro messo a punto permette di aumentare il numero di analisi effettuate durante una singola sessione e semplifica le attività di correlazione grazie ad una procedura di calibrazione snella ed automatica.*
Università dell'Aquila	Medicina (odontoiatria) Bioedilizia	*La tecnologia Xradia Versa 610 risulta essere di grande interesse anche grazie alla sua considerevole versatilità. Sono stati approfonditi casi applicativi propri della ricerca e dell'industria nel settore dell'elettronica, della bioingegneria, delle geosceinze, della nutraceutica, della green technology e circular economy, dei beni culturali e della biologia. Tra le varie si riportano a titolo esemplicativo le esperienze maturate presso l'Università dell'Aquila in collaborazione con il Dipartimento di Scienze Cliniche e Biotecnologiche applicate e il Dipartimento di Ingegneria Civile, Edile - Architettura, Ambientale. In tale contesto sono state individuate delle soluzioni per la caratterizzazione di nuovi dispositivi odontoiatrici (bite) e lo sviluppo di materiali innovativi per la bioedilizia.*

Università di Bologna	Geoscienze	*Si evidenzia, inoltre, la collaborazione con l'Università di Bologna e il Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali volta all'ottimizzazione di processi analitici nell'ambito delle geoscienze. Il progetto nasce con l'ambizioso obiettivo di creare flussi di lavoro per la microscopia correlativa dedicata alle scienze della terra in cui far convergere molteplici tecniche di caratterizzazione distruttiva e non-distruttiva.*
Centro Ricerche Enea Casaccia	Energy Materials e Batterie	*Il considerevole impulso, generato dall'attuale crisi energetica, verso la ricerca di nuovi materiali per l'energia ha determinato la nascita di una collaborazione con il Centro Ricerche ENEA Casaccia. In tale contesto, il tomografo Xradia Versa 610 e la workstation per analisi delle immagini hanno giocato un ruolo determiante in quanto apparati fondamentali per la caratterizzazione non distruttiva di batterie tipo coin cell, pouch cell e cylindrical cell commerciali. Questo progetto ha reso accessibile una comprensione approfondita dei meccanismi alla base della perdita di capacità da parte delle batterie a seguito di un certo numero di cicli di carica/scarica. Infatti, tale ricerca, ha permesso di correlare la generazione di difettosità microscopiche all'interno degli strati attivi della batteria con la perdita di capacità e la successiva rottura della stessa. Inoltre, è stata dimostrata la possibilità di effettuare dettagliate analisi quantitative dei parametri geometrici che caratterizzano una specifica cella elettrochimica e allo stesso tempo verificare il corretto assemblaggio del dispositivo. I risultati verranno pubblicati nei prossimi mesi.*
Thales Alenia Space	Aerospace e Additive Manufacturing	*Il mondo dell'aerospazio non rimane escluso dalle tematiche affrontate durante il progetto ATOM. In particolare, le attività svolte con il supporto di Thales Alenia Space hanno dimostrato l'importanza di sviluppare approcci multidisciplinari nell'ambito della caratterizzazione di dispositivi per la geolocalizzazione satellitare. Nello specifico, è emersa la necessità di correlare i processi costruttivi di tali dispositivi coin le proprietà funzionali.*
Istituto di Nanotecnologia del CNR	Medicina e Biologia	*La tecnologia Xradia Versa 610 vanta dei tubi radiogeni con caratteristiche eccezionali in termini di energia, flusso fotonico e potenza che, in combinazione con ottiche brevettate, garantisce il raggiungimento di risoluzioni submicrometriche e prestazioni confrontabili con quelle del sincrotrone. Tali proprietà sono state investigate e validate, in collaborazione con l'Istituto di Nanotecnologie del CNR, al fine di analizzare campioni di tessuto biologico e confrontare i risultati con dati precedenti ottenuti presso il sincrotrone.*

Wrocław University of Science and Technology	Energy Materials	*La propensione alla cooperazione internazionale è un tratto distintivo della filosofia che ha guidato il progetto ATOM per tutta la sua durata. La bontà dei risultati ottenuti sul territorio nazionale ha avuto un'eco a livello internazionale attirando l'attenzione e la curiosità di gruppi di eccellenza europei. L'accesso a strumentazione capace di risolvere scale micro e nanometriche, in combinazione con soluzioni software di ultima generazione per la modellazione 3D, facilita l'avanzamento della ricerca accademica e industriale nel mondo dei materiali per l'energia. Da qui nasce la collaborazione con Wrocław University of Science and Technology. Con il supporto del Prof. Andrzej Sikora della Facoltà di Microsistemi per l'elettronica e la fotonica è stata approfondita la conoscenza e il funzionamento di tecniche di fabbricazione avanzate per la realizzazione di nuovi materiali elettrodici.*
Sapienza Dipartimento di Scienze della Terra	Beni Culturali	*Il microscopio a raggi X è stato largamente impiegato per la caratterizzazione di reperti archeologici in collaborazione con il Dipartimento di Scienze della Terra di Sapienza Università di Roma. L'attività condotta ha compreso l'analisi di campioni provenienti dal sito archeologico di Mozia in Sicilia. In tale contesto, sono stati progettati dei flussi di lavoro di microscopia correlativa per l'investigazione dei meccanismi di corrosione di diversi artefatti tra cui monete, armi come ad esempio asce e coltelli, chiodi e tessuti. I risultati ottenuti sono stati pubblicati su Scientific Reportrivista del portfolio Nature e pubblicizzati sul blog online di Microscopia curato da Carl Zeiss Microscopy.*

Tra le altre piattaforme allo stato dell'arte, installate più recentemente rispetto al sistema di Microscopia X, ma comunque tutte caratterizzate da unicità nel territorio, occorre sottolineare la **piattaforma di microscopia correlativa che integra un AFM Nenovision Litescope nel SEM TESCAN mod VEGA** che permetta di effettuare analisi alla micro- e nano-scala in differenti ambienti, non soltanto in aria, ma anche in atmosfera di gas inerte e soprattutto in vuoto all'interno della camera della strumentazione SEM. Ciò ha risposto alle esigenze progettuali iniziali di disporre di un sistema AFM che permetta di effettuare analisi in vuoto, ma ha nel contempo permesso di estendere gli ambienti in cui è possibile effettuare analisi al gas inerte, ciò che rappresenta un avanzamento rispetto agli obiettivi iniziali del progetto. Inoltre, la piattaforma integrata AFM-SEM permette di effettuare microscopia correlativa AFM e SEM, potendo quindi analizzare la stessa area di interesse del campione contemporaneamente mediante microscopia SEM e AFM combinando i benefici di entrambe le tecniche. In particolare, in aggiunta alla caratterizzazione morfologica, il sistema AFM permette attualmente anche la caratterizzazione della conducibilità elettrica locale e del potenziale superficiale

mediante tecnica basata su microscopia Kelvin probe. Nel complesso, quindi, il sistema permette l'analisi correlativa SEM e AFM e delle proprietà morfologiche ed elettriche del campione su scala micro- e nano-metrica. Va osservato che il progetto ATOM prevedeva esplicitamente l'implementazione di una piattaforma AFM allo stato dell'arte che potesse operare in vuoto. In questo senso, il sistema AFM-SEM rappresenta il soddisfacimento di tali necessità in quanto permette di effettuare caratterizzazioni a scansione di sonda in vuoto, all'interno della camera del SEM. Questo ha permesso di implementare anche un'ulteriore tecnica di microscopia correlativa, denominata CPEM (Correlative Probe and Electron Microscopy), originariamente non prevista, attualmente unica nel territorio regionale, e che consente di ampliare ulteriormente la gamma di servizi di caratterizzazione allo stato dell'arte che ATOM potrà mettere a disposizione della ricerca sia per l'innovazione che per lo sviluppo di *deep technology*.

Le prime collaborazioni strutturate che è stato già possibile attivare sono riportate nella tabella che segue:

AZIENDA\ENTE DI RICERCA	**TEMA**	***DESCRIZIONE***
Leonardo Finmeccanica SpA	Elettronica & Semiconduttori	*La collaborazione con Leonardo Finmeccanica ha garantito il potenziamento dell'apparato strumentale dell'azienda per la caratterizzazione micro- e nano-scopica dei propri dispositivi nell'ambito dell'elettronica e dei semiconduttori.*
Nanoshare srl	Biologia & Medicina	*La collaborazione con l'azienda ha comportato lo studio di nanocellulosa estratta da diverse tipologie di piante al fine di poter distinguere la morfologia delle nanostrutture. Tale lavoro rientra in un progetto di dottorato di ricerca industriale svolto alla sintesi da materiale vegetale di nanostrutture da utilizzare per il drug delivery di fitofarmaci.*
Chimec SpA	Energia	*La collaborazione con la Chimec SpA ha comportato lo studio di parti d'impianto per la raffinazione di greggio che presentavano problemi di funzionamento. L'analisi al microscopio elettronica ha potuto caratterizzare residui di processo e valutarne anche la composizione chimica tramite microanalisi.*
Labor srl	Biologia & Medicina	*La collaborazione con la Labor srl ha comportato la caratterizzazione di tessuti non tessuti (TNT) composti da fibre miste di natura polimerica, prodotti tramite tecniche miste di elettro-filatura. Tale lavoro di caratterizzazione rientra in un progetto di dottorato di ricerca industriale dedicato allo sviluppo di nuovi dispositivi di filtrazione per diverse applicazioni commerciali.*
Parco archeologico di Cerveteri e Tarquinia	Beni culturali	*La collaborazione con il Parco archeologico di Cerveteri e Tarquinia ha comportato la caratterizzazione di una particolare forma di carbonato di calcio nanostrutturato denominato moonmilk, rinvenuto all'interno di diverse tombe della Necropoli di Monterozzi. Piccoli residui di questa polvere bianca simile al talco è stato studiata anche utilizzando il sistema AFM-in-SEM della Nenovision, e dal quale è stata anche tratta una pubblicazione recente su IOP Conference Series: Materials Science and Engineering.*

Grazie a queste tecnologie di caratterizzazione, oltre a quelli sopra descritti, sono in corso di definizione contratti di servizio con imprese di alta tecnologia (tra cui LFoundry, STMicroelectronics e Micron Technology). Numerose le attività di collaborazione tecnico-scientifiche in divenire con diversi istituti del CNR.

L'installazione del sistema correlativo di microscopia elettronica e microscopia a sonda, insieme a quella più recente (giugno 2022) della **piattaforma AFM Cyhper di Oxford-Asylum**, consente senz'altro di affermare che il progetto si può considerare senz'altro completamente realizzato dal punto di vista tecnico/scientifico in conformità a quanto previsto in fase di presentazione della domanda per quanto attiene le potenzialità strumentali dell'infrastruttura ATOM nell'ambito delle tecniche di microscopie di sonda.

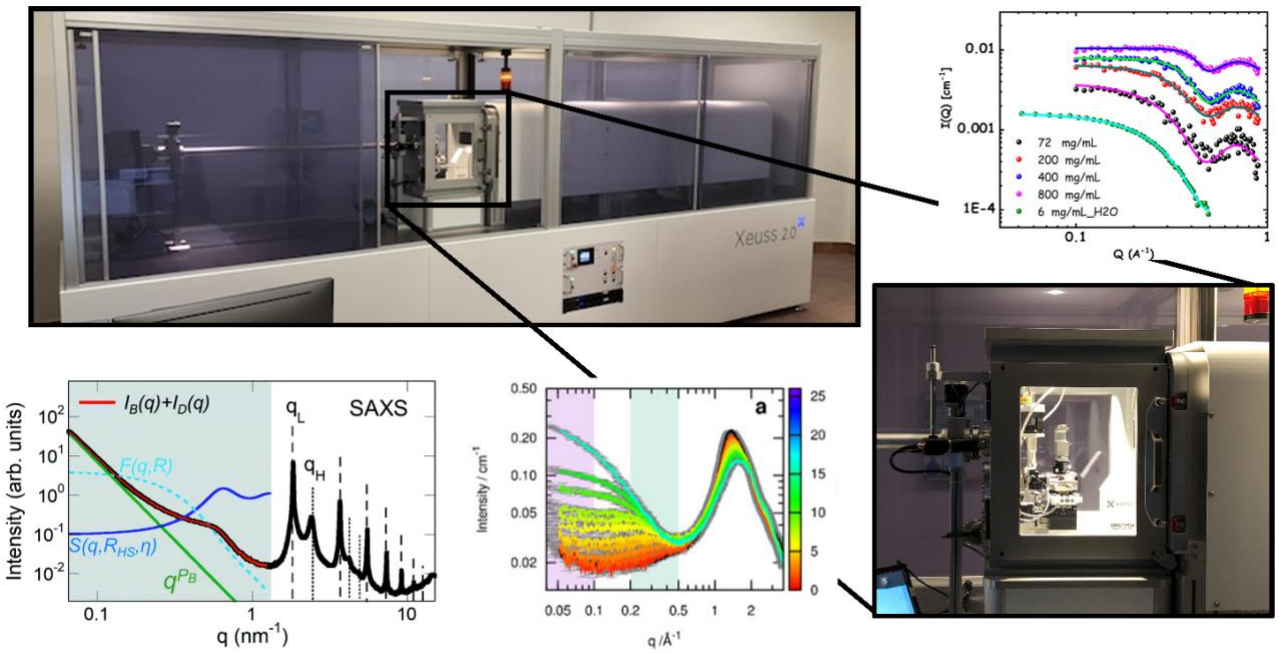
In questo contesto, la piattaforma AFM Chyper di Oxford-Asylum rappresenta, da sola, un unicum nel suo genere perché permette di investigare la superficie del campione mediante tecnica AFM sia con eccitazione del cantilever convenzionale mediante attuazione piezoelettrica che con il sistema innovativo blueDrive che prevede l'eccitazione fototermica diretta del cantilever mediante laser impulsato. In questo modo il sistema permette di effettuare immagini ad altissima velocità e basso rumore ambientale, permette di lavorare agevolmente non solo in aria, ma anche in liquido. Inoltre, la piattaforma ospita tecniche avanzate per la caratterizzazione di differenti parametri fisici, in particolare metodi di caratterizzazione delle proprietà elastiche e viscoelastiche alla nanoscala quali la contact resonance AFM (CR-AFM) e la amplitude and frequency modulation (AM-FM). Pur essendo la strumentazione Cypher una piattaforma AFM general purpose allo stato dell'arte, la caratteristica di ospitare queste tecniche avanzate di caratterizzazione meccanica permetterà di indirizzare la piattaforma verso lo sviluppo di tecniche di tomografia basate su contrasto meccanico.

Nel complesso si ritiene che per quanto riguarda le microscopie di sonda si è in presenza di una dotazione strumentale con caratteristiche ben oltre quelle si erano definite nel progetto iniziale, avendo avuto cura di adeguare il piano di acquisto agli sviluppi tecnologici intervenuti in itinere nel settore, in totale coerenza con gli obiettivi e le finalità del progetto. La presenza di piattaforme strumentali di microscopia a sonda uniche nel loro genere e allo stato dell'arte consentirà nel generale contesto formativo di Sapienza sia di creare che di sviluppare nuove competenze da impegnare nel mondo del lavoro, in particolare in quei settori industriali in cui tali tecniche rappresentano un indispensabile supporto ai processi di innovazione. Attualmente diversi dottorandi (con borse ottenute anche attraverso i bandi della Regione Lazio dedicati ai dottorati per l'innovazione) stanno lavorando su tali piattaforme.

Tra le apparecchiature principali e installata ad inizio progetto c'è la **piattaforma multifunzionale SAXS della XENOCS (Xeuss 2.0 HR Q-Xoom)**, finita di installare ad inizio 2019, che rappresenta una quota di co-finanziamento dell'Ateneo Sapienza all'interno del progetto ATOM. Tale strumentazione permette di effettuare misure di Small Angle X-Ray Scattering (SAXS), Wide Angle X-ray Scattering (WAXS) e Grazing Incidence Small Angle Scattering (GISAXS).

Si tratta di una strumentazione che è stata oggetto di un ulteriore e recente cofinanziamento da parte dell'Ateneo per garantirne il mantenimento allo stato dell'arte in funzione di recenti sviluppi tecnologici. La tipologia di strumentazione è unica nel territorio regionale e garantisce di poter fare molteplici tipologie di misure necessarie per un largo spettro di applicazioni (dalla scienza e ingegneria dei materiali alla farmaceutica) senza dover ricorrere alle beam line presenti nei centri infrastrutturali internazionali in cui sono installati sincrotroni, tra cui si ricordano a mero titolo di esempio: Elettra Sincrotrone a Trieste, European Synchrotron Radiation Facility ESRF a Grenoble(FR) , Large Hadron Collider LHC a Ginevra (CH), Electrotechnical Laboratory Electron Accelerator Facility a Tsukuba (JP), National Synchrotron Light Source NSLS (US).

I vantaggi di avere questa apparecchiatura, in condizioni di km 0, sono stati particolarmente evidenti e tangibili durante la pandemia. La strumentazione consente quindi anche di limitare gli spostamenti fisici dei ricercatori, garantendo una maggiore sostenibilità delle ricerche che si avvalgono delle informazioni ottenibili tramite le molteplici tecniche di caratterizzazione garantite da una piattaforma SAXS.



La diffusione dei raggi X a piccoli angoli (Small Angle X-ray Scattering, SAXS) è una tecnica in cui viene misurata ad angoli molto piccoli (tipicamente 0.1 - 10°) la diffusione elastica dei raggi X da parte di un campione che abbia disomogeneità di densità elettronica dell'ordine 1-100 nanometri. Questo intervallo angolare contiene informazioni sulla forma, le dimensioni o le distanze caratteristiche di tali disomogeneità. In pratica mediante analisi SAXS è possibile ottenere informazioni strutturali su macromolecole o aggregati colloidali, distanze caratteristiche in materiali parzialmente ordinati, dimensioni dei pori.

Estendendo l'intervallo angolare anche ad angoli maggiori (Wide Angle X-Ray Scattering, WAXS), sono accessibili anche informazioni su distanze caratteristiche al di sotto di 1 nm, relative alla struttura interna del

campione. La possibilità di effettuare misure in geometria di riflessione ad angolo radente (GISAXS) rende possibile anche caratterizzare superfici strutturate alla scala nano- e mesoscopica. Tale intervallo di dimensioni spaziali estende notevolmente il regime accessibile mediante tecniche complementari come la Tomografia, consentendo quindi la caratterizzazione strutturale di sistemi a morfologia multiscala.
La tecnica SAXS permette di ottenere informazioni mediate sull'intero campione ed ha il grande vantaggio di richiedere una minima e semplice preparazione dei campioni da analizzare (che possono presentarsi come liquidi, gel, polveri, film sottili), rendendo possibile una caratterizzazione dei sistemi oggetto di studio in situazioni vicine alle loro condizioni di funzionamento e al variare di diversi parametri sperimentali. Numerosi campioni possono essere quindi analizzati e confrontati in condizioni altamente riproducibili, in maniera quantitativa e statisticamente significativa, per scoprire l'effetto sulla struttura di numerose variabili e rivelare correlazioni struttura-proprietà.

Lo strumento risulta tra i migliori sul mercato nell'ambito della tecnologia offerta e presenta margini di confronto con infrastrutture analoghe su sorgenti di sincrotrone. Una sua caratteristica essenziale è la possibilità di variare automaticamente la distanza campione-detector per accedere, mediante le diverse configurazioni, a diversi range di spazio reciproco ed ottenere una caratterizzazione completa alle diverse scale dimensionali. Grazie all'elevata automatizzazione mediante interfaccia programmabile è possibile pianificare acquisizioni lunghe, con cambio dei campioni irraggiati, della configurazione e della temperatura, permettendo di produrre dati h24.
L'esperienza di attività della piattaforma SAXS è stata oggetto di un'intervista pubblicata sul sito web dell'azienda produttrice dello strumento Xenocs nella sezione "Customer testimonials" ("How Sapienza University of Rome accelerates research with the Xeuss SAXS/WAXS instrument from Xenocs").
Come richiamato in precedenza, allo scopo di estendere le capacità strumentali è stato richiesto (ed ottenuto) un finanziamento per un upgrade sperimentale che include un secondo tubo generatore di raggi X maggiormente penetranti (con energia ~ 17 keV) per studiare sistemi con più elevata assorbività dei raggi X (es. con atomi metallici, o liquidi ad alta densità) ed un setup sperimentale per estendere l'intervallo di temperatura accessibile e permettere studi al variare in temperatura anche su campioni solidi. Tale upgrade è stato concesso dall'Ateneo Sapienza ed ammonta a ca. 140 k€.

L'utilizzazione dello strumento è attualmente gestito tramite il dipartimento di Chimica che ha avuto per tale finalità dall'Ateneo a disposizione una Unità di Personale con profilo di assegnista fino al 2021. La continuità operativa e l'accesso alla strumentazione sono attualmente assicurati tramite personale proprio dei gruppi di ricerca principalmente interessati all'uso della piattaforma SAXS e da un'unità di personale con profilo RTD-A finanziata su un progetto PON Research and Innovation 2014–2020 DM1062/2021.
Attualmente la ricerca condotta su questa piattaforma comprende attività nel campo dell'energia (sviluppo nuovi materiali come elettrodi / elettroliti per energy storage), della biomedicina (polymer scaffolding), della green chemistry (nuovi solventi sostenibili), del farmaceutico (dispersione di farmaci in complessi supramolecolari) e dell'agroalimentare.

La presenza e la conseguente attività della piattaforma SAXS, oltre ad accelerare la produttività e migliorare l'impatto della ricerca accademica svolta all'interno dell'Ateneo, ha indubbiamente stimolato innanzitutto l'avvio di collaborazioni scientifiche con gruppi di ricerca nazionali (Roma, Milano, Bologna, Firenze, Camerino,

Cagliari, Napoli, Palermo, Bari) ed internazionali (Svezia, Germania, Svizzera, Spagna). Significato e crescente è l'accesso alla strumentazione da parte di utenti industriali.
L'accesso da parte di utenti industriali ha finora riguardato soprattutto la caratterizzazione di formulazioni farmaceutiche in cui i principi attivi sono dispersi alla scala nanometrica, consentendo di ottenere informazioni dettagliate e rappresentative sulla forma, le dimensioni, le interazioni, la struttura interna e la concentrazione delle particelle in soluzione, con l'obiettivo di ottimizzare i processi di dispersione, la stabilità e la riproducibilità. Tra le aziende che possono essere indicate per ragioni di riservatezza, ricordiamo la OPOCRIN S.p.A, industria farmaceutica e Excelsus Structural Solutions, azienda di consulenza scientifica nel campo dell'industria farmaceutica.

Si riportano quindi sinteticamente alcune delle attività di ricerca (le più significative) che hanno beneficiato e stanno beneficiando dell'uso della piattaforma SAXS
Nell'ambito della comunità Sapienza:

- Caratterizzazione delle strutture supramolecolari formate da molecole anfifile da precursori di origine biologica.
- Studio della micellizzazione di copolimeri a blocchi sensibili agli stimoli
- Studi strutturali su liquidi ionici e deep eutectic solvents, loro miscele con co-solventi e le loro proprietà di solubilizzazione.
- Caratterizzazione di gel compositi di precursori peptidici.
- Caratterizzazione di nanoparticelle metalliche e polimeriche
- Caratterizzazione di biosurfattanti per applicazioni nel recupero di inquinanti.
- Caratterizzazione di micelle e vescicole per l'incapsulamento di porfirazine.
- Studi strutturali e spettroscopici su proteine in condizioni di stress.

Nell'ambito di collaborazioni nazionali e internazionali:

- Caratterizzazione di miscele di sali biliari e copolimeri a blocchi cationici (coll. Division of Physical Chemistry, Lund University).
- Caratterizzazione di nanoparticelle di selenio ottenute mediante sintesi assistita da surfattanti (coll. Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche, Università di Palermo)
- Caratterizzazione di cheratina ricostituita da piume e lana (coll. Scuola di Scienze e Tecnologie, Università di Camerino)
- Caratterizzazione di film di carbonio nanostrutturato e loro interazione con liquidi ionici (coll. Università degli Studi di Milano)
- Caratterizzazione delle transizioni di fase dei sali biliari (coll. Department of Physical Chemistry, Universidade de Santiago de Compostela)
- Caratterizzazione di campioni di laccasi nella deposizione di film con metodo electrospray per biosensori (coll. CNR, Istituto Struttura della Materia)
- Caratterizzazione di formulazioni di liposomi (coll. Dipartimento di Scienze Fisiche e Chimiche, Università degli Studi dell'Aquila)
- Caratterizzazione di nanoparticelle di CeO2 con ricoprimento anfifilico (Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di Napoli Federico II)

- Studio dei processi di indurimento di cemento e calcestruzzo (coll. Chemistry Department, Queen Mary University of London)
- Studio di proteine con domini disordinati (coll. Dipartimento di Scienze Biochimiche "A. Rossi Fanelli", Sapienza)
- Caratterizzazione di metal-organic frameworks ottenuti come film sottili mediante tecniche di microfluidica (coll. ETH Zurich/ University of Barcelona)
- Caratterizzazione di nanocluster di Ag (CNR Istituto di Struttura della Materia)
- Caratterizzazione di formulazioni di nanoparticelle a struttura liquido cristallina (coll. Dipartimento di Scienze Chimiche e Geologiche, Università di Cagliari)
- Studio dell'autoassociazione di peptidi modello anfifili. (coll. Division of Physical Chemistry, Lund University).

Considerando l'ecosistema Laziale con numerose aziende nei settori chimico, bio-farmaceutico, agroalimentare, gestione dei rifiuti etc, l'ampia versatilità di applicazione della caratterizzazione strutturale alla scala colloidale, le opportunità per la modernizzazione del settore produttivo e gli investimenti in ricerca e sviluppo resi possibili dagli interventi legati al PNRR, si prospetta un potenziale di crescita per l'accesso industriale alla piattaforma.

La strumentazione è anche funzionale ai programmi formativi relativi a tre Corsi nell'ambito della Laurea Magistrale in Chimica, Chimica Industriale e Dottorato in Scienze Chimiche. La piattaforma fornisce informazioni strutturali nell'ambito di numerosi Tesi di Laurea Magistrale e Dottorati di Ricerca.

A conferma dell'importanza e lungimiranza della scelta di dotare Sapienza e il territorio regionale di questa tipologia di strumentazione, a partire dall'anno 2021 è aumentato il numero di analoghe piattaforme SAXS di laboratorio disponibili sul territorio nazionale (ed internazionale), indice di una crescita dell'interesse nei confronti di questo tipo di caratterizzazioni da parte del mondo accademico e produttivo, considerando l'elevata qualità e affidabilità delle analisi che si possono effettuare in maniera relativamente semplice con strumenti di questo tipo, e la possibilità di ottenere informazioni rappresentative e su diverse scale dimensionali, in maniera complementare alle più dettagliate e costose tecniche di microscopia. Nelle tecniche di scattering la competenza in termini di interpretazione ed analisi dati, che può seguire procedure piuttosto diverse a seconda del campo di applicazione e delle informazioni più rilevanti da estrarre, è un fattore cruciale nel determinare il successo di uno studio sperimentale e la possibilità di trarre conclusioni trasferibili alla tecnologia. In questo contesto l'accrescimento delle competenze in materia di tecniche di scattering e loro applicazione per lo studio della struttura dei materiali alla nano e meso-scala risulta un aspetto strategico per la competitività.

Tra le apparecchiature disponibili c'è anche la **piattaforma di microscopia confocale spettrale ZEISS LSM 800** caratterizzato da 4 Laser su stativo rovesciato ZEISS Axio Observer 7 e sistema in super-risoluzione Airyscan per live-imaging e timelapse. Il microscopio confocale è uno strumento versatile e potente che, grazie alla vasta disponibilità di sorgenti laser e di potenti sistemi di computer-imaging e data-processing, permette di ottenere ricostruzioni tridimensionali con risoluzione submicrometrica di una grande varietà di campioni biologici.

Tra le caratteristiche tecniche della piattaforma ZEISS LSM 800 evidenziamo: a) La sensibilità Airyscan che consente, lavorando in parallelo, di applicare potenze laser fino a 10 volte inferiori rispetto alla tradizionale microscopia confocale, a diretto vantaggio di campioni sensibili e soprattutto per l'imaging cellulare dal vivo. Inoltre, il sistema Airyscan permette l'acquisizione d'immagini ad alta risoluzione anche con obiettivi con piccola apertura numerica, ovvero gli obiettivi necessari per la visione dei preparati istologici e del microambiente extracellulare. b) L'elevata risoluzione nelle tre dimensioni x, y, z rispetto alla normale microscopia confocale. In pratica, le proprietà della piattaforma sono tali da superare la barriera del limite di risoluzione di Abbe, permettendo così di apprezzare meglio le co-localizzazioni e i dettagli fini, altrimenti molto più difficilmente interpretabili. Lo strumento è anche pensato per poter essere implementato anche in futuro, tenendo conto della rapida evoluzione della scienza e della tecnologia, per poter offrire anche la massima flessibilità operativa.

Il progetto ATOM si può quindi ritenere realizzato dal punto di vista tecnico/scientifico in conformità a quanto previsto in fase di progettazione e sono stati centrati gli obiettivi prefissati con la realizzazione del progetto.

La microscopia confocale a scansione laser ha fornito un mezzo per acquisire e analizzare immagini di strutture morfologiche complesse e per definire molecole e/o cellule nel loro corretto contesto morfologico, fornendo anche dati tridimensionali. La microscopia confocale offre numerosi vantaggi rispetto alla microscopia ottica a campo largo convenzionale, inclusa la capacità di controllare la profondità di campo, l'eliminazione o la riduzione di artefatti e la capacità di raccogliere sezioni ottiche seriali da campioni spessi. La chiave di base dell'approccio confocale è l'uso di tecniche di filtraggio spaziale per eliminare la luce sfocata.

Attualmente l'attività tecnico-scientifica condotta su questa piattaforma comprende l'acquisizione di imaging biologico ad elevata risoluzione, ricostruzioni tridimensionali di campioni microscopici con risoluzione submicrometrica, analisi immunofenotipiche, analisi fine di strutture complesse.

Uno specifico e qualificante obiettivo che si intende assicurare grazie alla presenza della tecnologia della microscopia confocale è la standardizzazione delle procedure di fenotipizzazione. Lo strumento è attualmente gestito da una Unità di Personale con profilo di tecnico di laboratorio che garantisce la continuità operativa e l'accesso alla strumentazione, assistendo i ricercatori nella loro progettazione ed esecuzione sperimentale e fornendo un rigoroso profilo di analisi morfologiche, funzionali e molecolari.

Sono state avviate collaborazioni scientifiche con gruppi di ricerca nazionali fornendo consulenza nel disegno sperimentale, assistenza tecnica, acquisizione immagini multicolore e rendering 3D sul microscopio confocale,

consulenza per l'elaborazione delle immagini e l'analisi quantitativa dei dati ottenuti dalle osservazioni al microscopio. L'obiettivo è anche promuovere l'innovazione tecnologica con il trasferimento di conoscenze dall'università a realtà produttive, economiche e professionali (italiane ed estere).

Sono state avviate collaborazioni con ricercatori dei seguenti dipartimenti Sapienza:

- Biologia e Biotecnologie "Charles Darwin
- Biotecnologie Cellulari ed Ematologia
- Fisiologia e Farmacologia "Vittorio Erspamer"
- Ingegneria Meccanica e Aerospaziale
- Medicina Clinica e Molecolare
- Medicina Molecolare
- Medicina Sperimentale
- Scienze Anatomiche, Istologiche, Medico Legali e dell'apparato Locomotore
- Scienze Cardiovascolari, Respiratorie, Nefrologiche, Anestesiologiche e Geriatriche
- Scienze e Biotecnologie Medico-Chirurgiche

Le Collaborazioni Attive esterne che prevedono l'uso del microscopio confocale sono attualmente le seguenti.

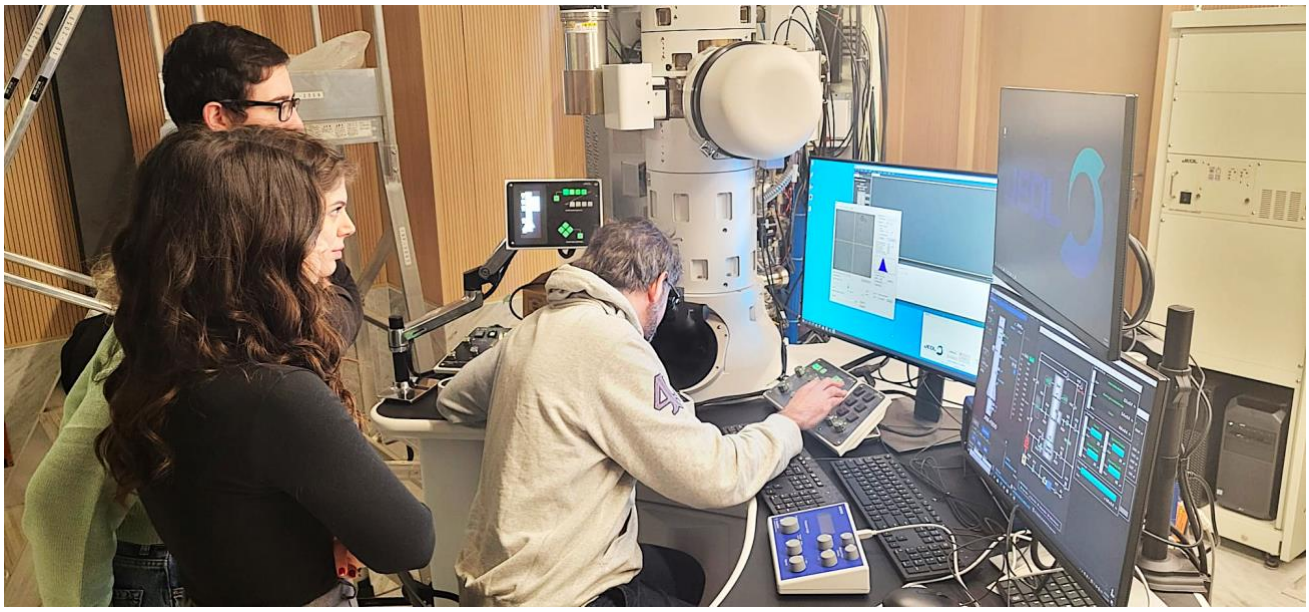
- Accordo Attuativo Università "Sapienza" di Roma – SAIMLAL – Agenzia Spaziale Italiana: n. 2020-24-HH.0, Codice Unico di Progetto (CUP) F82F20000180005" anno 2020.
- Collaborazione con Dipartimento di Medicina Sperimentale dell'Università della Campania "Luigi Vanvitelli" (DIMESP-UniCampania)
- Collaborazione con il Dipartimento di Neuroscienze, Imaging e Scienze Cliniche dell'Università "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara (DNISC-UdA).

Tra gli obiettivi caratterizzanti il progetto ATOM va ricordato e sottolineato quello di creare una stretta e rapida sinergia fra diverse tipologie di analisi, intese sia come microscopia e/o spettroscopia, al fine di poter caratterizzare un materiale o un campione biologico nella maniera più completa. Tale approccio alla caratterizzazione ha assunto in tempi recenti il nome di microscopia correlativa, denominazione che riassume in sé una serie di metodologie che hanno il compito di mettere in pratica l'analisi di una particolare zona d'interesse del campione in analisi, utilizzando molteplici metodi d'indagine, mantenendo però una rapida capacità esecutiva. La prima di queste tecniche ad essere inventata, e al giorno d'oggi risulta quella più utilizzata, soprattutto in ambito biologico, è la CLEM, acronimo per Correlative Light to Electron Microscopy, nel quale vengono praticamente associate le informazioni derivante dalla microscopia ottica a fluorescenza con quella elettronica. Infatti, dalla prima vengono estrapolate informazioni riguardanti alcune specifiche funzionalità di una cellula o un tessuto, mentre la microscopia elettronica permette di raggiungere una maggiore risoluzione spaziale, nell'ordine di qualche nanometro per quella a scansione o di qualche angstrom per quella a trasmissione. In tal senso, il progetto ATOM presenta tutta una serie di strumentazioni, dalle nuove acquisizioni come l'ottico confocale Zeiss LSM800 o la piattaforma di microscopia correlativa SEM-AFM della Nenovision\Tescan e che si aggiungono a strumentazioni già acquisite e presenti presso il CNIS, come la multipiattaforma FIB-SEM Zeiss Auriga o l'ottico a fluorescenza Zeiss Apotome, che permettono la completa applicazione di diversi protocolli per l'analisi correlativa, non limitandosi alla già citata CLEM, ma comprendendo anche tecniche di correlazione meno conosciute come per esempio la CPEM (Correlative Probe to Electron Microscopy), che sovrappone le informazioni di natura chimico-fisica di un materiale fornite da

svariate tecniche di microscopia a forza atomica, con l'osservazione ad alta risoluzione di un microscopio elettronico. In quest'ultimo caso, l'acquisto della già citata piattaforma SEM-AFM rappresenta un modo assolutamente innovativo per effettuare la CPEM in maniera rigorosa e con un enorme risparmio di tempo, dal momento che il microscopio a forza atomica viene montato all'interno della camera del SEM. Questo permette di poter ottenere il meglio delle due tecniche di analisi, nonché poter utilizzare l'alto vuoto operativo del microscopio elettronico per abbattere del noise ambientale, spesso decisivo per alcune tecniche di caratterizzazione AFM per i semiconduttori. I vantaggi di questa particolare strumentazione sono stati messi in evidenza su un articolo recentemente pubblicato sulla rivista IoP dal titolo "Comparison of different correlative AFM-SEM workflows on calcite moonmilk". Tuttavia, la microscopia correlativa non si ferma solamente sulla messa in comune di informazioni riguardanti delle aree d'interesse, e quindi essenzialmente bidimensionali, ma si stanno recentemente sviluppando anche delle metodologie per estendere questo approccio anche allo studio di volumi.

In tale contesto, è risultata fondamentale l'acquisizione del tomografo a raggi X Zeiss X-radia, uno dei più performanti presenti in circolazione ed avente una risoluzione sul singolo voxel di 40 nm. Tale strumentazione permette di ottenere in maniera non distruttiva la ricostruzione 3D di qualsiasi materiale, e può essere utilizzata per individuare zone d'interesse, che possono poi essere esposte ed analizzate in maniera più dettagliata con la microscopia elettronica. In tal senso, uno studio di tal tipo che sulla corrosione di reperti metallici provenienti dallo scavo archeologico dell'isola di Mozia è stato sottomesso alla rivista "Corrosion Science". Inoltre, combinando la XRM con la tomografia FIB-SEM, disponibile sulla piattaforma FIB-SEM Zeiss Apotome, e con quella TEM, rappresentata dall'acquisto del microscopio JEOL F-200, è possibile realizzare delle correlazioni 3D multi-scala, con risoluzioni spaziali che vanno dal micrometro, fino ad arrivare a risoluzioni di Angstrom, e che risultano una vera e propria sfida per il futuro. Inoltre, è da segnalare che sull'argomento sta anche lavorando da un anno e mezzo un dottorando industriale, che in collaborazione con Carl Zeiss spa, sta sviluppando protocolli e tecniche di analisi innovative per la microscopia correlativa 3D.

L'ultima strumentazione ad essere installata e collaudata (settembre 2022), ma che rappresenta nel contempo la strumentazione di punta dell'infrastruttura ATOM è basata su un Microscopio Elettronico a Trasmissione **TEM JEOL modello JEM-F200** con sorgente FEG (Field Emission Gun), che integra nella sua configurazione finale anche un rivelatore di raggi a dispersione di energia (EDX), un rivelatore STEM, uno stadio criogenico, oltre che un modulo per effettuare analisi strutturali e cristallografiche con la tecnica della diffrazione elettronica in precessione (PED) prodotto dalla Nanomegas e altra strumentazione ancillare, tra cui un sistema di vitrificazione di ultimissima generazione per la preparazione di campioni biologici.



Quest'ultima strumentazione, unica nel territorio del Lazio e presente in condizioni operative solo in altre due Regioni (Lombardia e Toscana), rappresenta un elemento di importanza strategica per l'analisi strutturale di materiale biologico e, più in generale, per il futuro sviluppo del progetto ATOM. Grazie al vitrificatore "Leica Automatic Plunge Freezer GP" è infatti possibile produrre campioni di proteine, acidi nucleici ed organelli cellulari da sottoporre a caratterizzazione mediante il JEM-200 in modalità criogenica. Tale caratterizzazione è indispensabile per permettere l'accesso a cryoTEM specializzati per l'analisi strutturale disponibili al momento solo presso grandi infrastrutture europee di ricerca quali l'ESRF che da tempo supportano SME e big Pharma per lo sviluppo di farmaci e diagnostici innovativi.

La possibilità di preparare e caratterizzare tali permette alle imprese biotech e biomed, in sinergia con gruppi di ricerca avanzati nel campo, di caratterizzare nuove biomolecole (anticorpi, DNA, RNA, nanoparticelle) a livello atomico e quindi di ottimizzarle e studiarne il meccanismo d'azione su rigorose basi strutturali. Per fare un esempio, tutti gli anticorpi anti SARS-CoV2 sono validati per il sito di legame sulla proteina spike del virus mediante indagine strutturale tramite cryoEM e/o cristallografia.

La vocazione di ATOM nella fornitura di servizi e metodologie avanzate al settore biomedico avanzato è confermata dal coinvolgimento nel progetto del Dipartimento di Scienze Biochimiche della Sapienza che ha aggiunto alla strumentazione in dotazione ad ATOM un sistema robotico a microfluidica per la produzione di cristalli di macromolecole biologiche e loro complessi.

Complessivamente, il vitrificatore di campioni biologici, il TEM JEM-200 ed il robot di cristallizzazione costituiscono la dotazione strumentale necessaria e sufficiente per accedere alla metodologia di biologia strutturale integrata presso grandi infrastrutture italiane (sincotrone ELETTRA ed Europee ESRF) e permettono un avanzamento di qualità per le imprese del settore biomedico al livello più avanzato a livello globale.
Tale risorsa suscita un notevole interesse, come confermato dalla sinergia stabilita con Takis Biotech per la caratterizzazione strutturale di anticorpi terapeutici e diagnostici in campo oncologico in collaborazione con il Dip. di Scienze Biochimiche che si avvale di entrambe le strumentazioni suddette (un dottorato industriale "Intervento per il rafforzamento della ricerca nel Lazio - incentivi per i dottorati di innovazione per le imprese" ed un progetto nell'ambito del bando Regione Lazio "Coronavirus ed oltre").
ATOM si colloca come la prima realtà nazionale in grado di aprire l'accesso a tecnologie avanzate di studi strutturali indispensabili per la messa a punto di nuovi strumenti terapeutici e diagnostici e per una attività brevettuale efficace Queste tecnologie sono accessibili a piccole e medie imprese biomediche solo attraverso l'accesso a piattaforme di servizi per la ricerca, poiché solo le grandi multinazionali farmaceutiche possono sostenerne i costi a livello "in-house". La recente valutazione effettuata dalla Vantage Market Research stima un utile di 6,1 miliardi di dollari nel 2021 ed un margine di crescita annuale del 17,1% per la fornitura di servizi di biologia strutturale ***["****Structural Biology and Molecular Modeling Market by Tools (SaaS and Standalone Modeling, Visualization and Analysis, Other Tools), by Application (Drug Development, Drug Discovery, Other Applications), by Region (North America, Europe, Asia Pacific, Latin America) - Global Industry Assessment (2016-2021) & Forecast (2022-2028)"*].

Sia il TEM base che la piattaforma nel suo insieme, sono allo stato dell'arte, unici nel territorio ed infungibili per per le finalità strategiche di ATOM. Questo strumento è caratterizzato da un'architettura costituita da elementi costruttivi unici, non sostituibili, alcuni dei quali coperti da brevetto: US Patent US 9,318,301, "Specimen Insertion device-Specporter"; Japan Patent No.5889117, e No.5972677 "Electron Microscope and its operation- Emission noise correction by the noise canceller"; Japan Patent No. 5166722, "Data process device and method"; Japan Patent No. 5373463, "Automatic focus device in Transmission Electron Microscope"; Japan Patent No. 3870141, "Technology for recording position coordinates of movable diaphragm. L'insieme di questi brevetti, ma in particolare il primo indicato, rendono tale strumento infungibile in particolare per le finalità progettuali e più in generale per il soddisfacimento della più ampia gamma di esigenza della ampia e fortemente multidisciplinare comunità dei ricercatori ed aziende che potranno usufruire delle risorse di ATOM.

In particolare, in considerazione delle applicazioni previste nell'ambito di ATOM l'acquisto, per le molteplici e molto differenti tipologie di campioni di cui si è interessati all'analisi, il TEM acquisito garantirà l'osservazione di aree le più estese possibili e di raggiungere ingrandimenti con risoluzione nanometrica o sub-nanometrica, a seconda dell'analisi richiesta e della tipologia di campione sotto osservazione. A seguito di ciò, componente fondamentale del microscopio elettronico è lo specifico ed unico sistema di lenti elettromagnetiche adottato, che garantirà oltre alla risoluzione spaziale sopra menzionata, una facilità di ottimizzazione da parte dell'utente di parametri del fascio elettronico come lo spot size, probe current ed angolo di convergenza.

ùIn tale contesto, il JEM-F200 è l'unico microscopio elettronico a trasmissione di 200 kV sul mercato dotato del sistema di lenti elettromagnetiche denominato Quad-Lens che consente l'ottimizzazione in maniera

indipendente dello spot size e probe current, dall'angolo di convergenza e dall'area di illuminazione. La sua colonna elettronica è composta da un sistema di quattro lenti elettromagnetiche poste in serie, capace di generare un punto di cross-over fisso, posizionato tra la seconda e terza lente, denominate CL 2 e CL3, che permette il controllo indipendente dell'intensità del fascio elettronico, gestita con l'ausilio delle prime due lenti, dall'angolo di convergenza, controllato dalle altre due lenti. Un altro vantaggio di questo sistema di controllo del fascio elettronico è quello di poter passare in maniera semplice e rapida da un imaging a campo chiaro o scuro, che utilizza un fascio elettronico parallelo, ad una analisi in diffrazione elettronica, che impiega invece un fascio convergente. In questo modo è possibile ottenere correlazioni dirette in maniera semplice e rapida tra topografia dedotta dalle immagini e l'analisi strutturale della diffrazione elettronica. A questo si aggiunge la presenza di una sorgente di elettroni di tipo Schottky in grado di fornire alla tensione di 200 kV una probe current di 2,5 nA con spot size di 1 nA, in grado di generare un elevato numero di fotoni X per l'analisi chimica elementare tramite EDS, rendendo tale strumento analitico una importantissima risorsa per gli utenti del microscopio. In definitiva, già queste prime caratteristiche strumentali, come sopra descritte, rendono le caratteristiche architetturali di tale strumento uniche, versatili e infungibili per le necessità della comunità tecnologica e scientifica potenzialmente interessata ad ATOM.

Altri aspetti di rilievo applicativo da considerare riguardano il sistema EDS, le cui ulteriori condizioni di unicità e infungibilità, sono anche tali da garantire importanti vantaggi in termini gestionali e manutentivi. Il JEM F-200 è l'unico TEM da 200 kV disponibile sul mercato ad utilizzare un rivelatore di microanalisi EDS con un'area attiva per la raccolta di raggi X di 100 mm2, non raffreddato ad azoto liquido.
Va inoltre adeguatamente sottolineato che il sistema EDS è perfettamente integrato sia a livello hardware che software, essendo prodotto dalla stessa azienda produttrice del TEM, ed in grado di descrivere un angolo solido di almeno 1 steradiante grazie all'abbinamento con un design specifico del pezzo polare del TEM. Ciò consente l'ottimizzazione della raccolta dei fotoni X necessari ad una rapida e spazialmente risolta analisi chimica dei campioni.
Nel complesso, l'implementazione tecnologica del sistema EDS di JEOL, unica sul mercato, permette quindi non solo di poter usufruire di uno strumento di analisi estremamente potente, ma anche di poter avere vantaggi di tipo economico e gestionale. Si evita infatti di dover aver azoto liquido sempre a disposizione dello strumento ed inoltre, il microscopio è dotato di un sistema di gestione energetica chiamata ECO mode che, durante la fase di stand-by, limita a circa un quinto il consumo di energia elettrica. Tale funzione permette inoltre di eseguire un'accurata programmazione di tale riduzione energetica nei periodi di non utilizzo certo dello strumento, come nel caso della sospensione di agosto o durante il periodo natalizio.

Essendo la microscopia elettronica a trasmissione una tecnica molto utilizzata in diversi ambiti scientifici, dalla medicina alla scienza dei materiali, si preannuncia un ampio utilizzo della macchina da parte di diverso personale preventivamente istruito. Per tale ragione, onde evitare danneggiamenti, e quindi costi aggiuntivi evitabili, risulta indispensabile la presenza di un sistema di controllo per l'inserimento di un portacampioni capace di evitare tale problema. Il JEM F-200 è l'unico TEM equipaggiato con il sistema di caricamento automatico SPECPORTER (US Patent N° 9.318.301), composto da una camera di pre-evacuazione e da un sistema motorizzato, che gestisce in maniera automatica l'inserimento del portacampione. Tale inserimento è inoltre effettuato in maniera estremamente 'gentile' che evita non solo un possibile danneggiamento dei sistemi interni del microscopio, ma, quando utilizzato in modalità criogenica, previene possibili oscillazioni

della carica di azoto liquido contenuta nel dewar del portacampione e conseguenti alterazione della temperatura che potrebbero compromettere la stabilità strutturale del campione in esame.

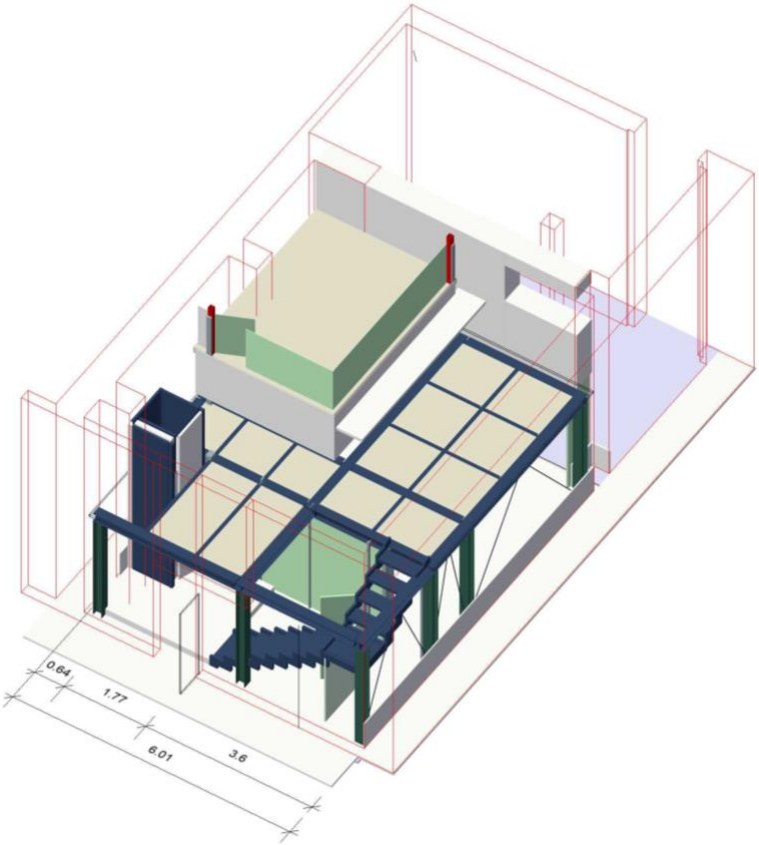
A queste caratteristiche del JEM-F200 si aggiunge quella di essere l'unico TEM 200kV sul mercato dotato di uno schermo fluorescente e binoculare, in grado di fornire ingrandimenti di 10 volte, dove poter ottimizzare le condizioni di illuminazione per le varie tipologie di analisi. Ciò rende l'ottimizzazione delle condizioni di illuminazione semplice, molto rapida e soprattutto è possibile eseguirla anche con campioni particolarmente sensibili come quelli polimerici e biologi grazie alla maggiore sensibilità dello schermo a fluorescenza rispetto alle camere digitali.

Per quanto riguarda il sistema ancillare di Diffrazione Elettronica in Precessione (PED), prodotto dalla Nanomegas questo rappresenta un ulteriore fattore di unicità e di rilevante interesse applicativo, in svariati settori applicativi da quello geologico a quello dei beni culturali, essendo di fatto un sistema che garantisce una ricostruzione 3D nello spazio reciproco, con altissima risoluzione.

L' installazione del TEM ha richiesto anche la predisposizione di un idoneo laboratorio che consentisse l'utilizzo dello strumento in un ambiente con caratteristiche metrologiche (in termini di controllo di temperatura e di umidità) nonché di stabilità meccanica e di assenza di inquinamento elettromagnetico. Ciò ha richiesto un complesso lavoro di recupero e riqualificazione di un locale all'interno della città universitaria (edificio CU014 – Edificio storico di Chimica) in precedenza utilizzato per la centrale termica dell'edificio e in completo disuso da oltre 20 anni. L'attuazione dell'intervento di recupero e riqualificazione ha comportato ulteriori investimenti di circa 300 keuro da parte dell'Ateneo.

Il progetto di riqualificazione e riuso funzionale è stato fatto *pro bono publico* dalla prof.ssa Arch. Anna Del Monaco, del dip.to Architettura e Progetto di Sapienza Università di Roma. Il progetto di riqualificazione è stato elaborato come 'ricerca scientifico-progettuale" per uno laboratorio dedicato al funzionamento del nuovo microscopio e alle diverse articolazioni delle relative attività di ricerca che in esso saranno svolte. In particolare, occorre evidenziare che lo spazio da progettare e trasformare, è collocato nello storico Edificio di Chimica della Città universitaria della Sapienza Università di Roma, un contesto edilizio realizzato nel primo lustro degli anni Trenta del Novecento, riconosciuto come un luogo di alto pregio architettonico, un campus-museo, patrimonio fisico abitato e fruito ogni giorno da docenti e studenti. Un caso unico in Italia per la concentrazione di edifici d'autore entro un master plan d'autore. Dunque, le opere programmate sono state concepite ed attuate interpretando le funzioni specifiche di un laboratorio specialistico e complesso: dislocazione delle superfici e delle aree di lavoro in relazione agli ingombri delle macchine e del loro funzionamento, svolgimento di elaborazioni analisi e archiviazione dati, evidenza di un interesse connesso con la conservazione dei luoghi e attenzione rappresentativa dello spazio. L'ingombro delle macchine e il loro funzionamento hanno guidato l'impostazione del layout planimetrico e la dislocazione volumetrica dei solai calpestabili. Oltre alla superfice destinata alle macchine, si è reso necessario lo spazio per archiviare, depositare, elaborare, post-produrre gli esiti delle scansioni elaborate col microscopio.

Dunque, la disposizione volumetrica degli spazi ha avuto l'obiettivo primario di massimizzare la superficie calpestabile disponibile, assicurando la funzionalità delle macchine, e non rinunciando alla qualità dei luoghi, potenziale e futura. L'articolazione spaziale degli ambiti progettati, conseguenza dalle funzioni da svolgere e dalle attrezzature da contenere, è stata stemperata e controllata attraverso l'uso di rivestimenti prevalentemente uniformi, organizzati per aree e per coerenza di fasce orizzontali, distinguibili percettivamente come omogenee. Il rivestimento del pavimento in lastre uniformi in marmo di carrara (trattamento opaco) è una citazione-omaggio agli ambienti di pregio storici della Città Universitaria di Sapienza: oltre a garantire durevolezza alla superficie calpestabile pubblica del laboratorio ne caratterizza la qualità della finitura, con evidente pregio visivo e tattile. Il rivestimento montato a secco in pannelli fono assorbenti (del tipo Fantoni), oltre a rifinire le pareti perimetrali e a controsoffittare i solai, attribuisce un carattere informale al laboratorio, e non per questo meno rifinito, in linea con le più recenti tendenze nella progettazione degli spazi di lavoro realizzate, soprattutto in ambito high-tech, come è il caso in questione. I controsoffitti (orizzontali) e i rivestimenti (verticali), seguendo un ritmo scandito, alloggiano fasci led illuminanti integrandoli nel triplo involucro fatto di ambiti spaziali di dimensione crescente. Gli elementi di distribuzione verticale (scale, ascensore, soppalco, infissi) sono in materiale metallico (color canna di fucile), e lastre di vetro dove occorre. L'interdipendenza degli ambiti del laboratorio, dovuta soprattutto a questioni metrologiche, è compensata dalla ricerca di una materialità (tattilità, silenzio, imperscrutabilità) che cerca di ricomporre costantemente l'equilibro tra tradizione architettonica e tecnologie emergenti, una metafora che esprime il senso e lo scopo di ATOM, un luogo di innovazioni entro un ateneo di antica tradizione.



Lo stato originario dei luoghi, quello durante le opere edili e quello prima dell'installazione dello strumento è mostrato nelle foto che seguono.

REDMI NOTE 8 PRO
AI QUAD CAMERA

In ragione poi di eventi esterni (pandemia con conseguente estensione della durata progettuale, nonché avanzamenti tecnologici intervenuti nel frattempo e non prevedibili al momento della domanda iniziale), si è ritenuto anche opportuno richiedere l'inserimento nel progetto ATOM, per ragioni di finalità funzionali e di obiettivi futuri, della piattaforma per spettroscopia NMR (Nuclear Magnetic Resonance) **JEOL JNM ECZR 600**, acquisita in cofinanziamento con fondi Sapienza.

La richiesta è stata accettata e per ulteriori dettagli sulle motivazioni della richiesta si rimanda all'allegato A, da ritenere parte integrante della presente relazione finale, insieme all'Allegato B in cui è riportato l'aggiornamento del piano dei costi al 30 giugno 2021, con l'inclusione del robot di cristallizzazione, con motivazioni che sono sostanzialmente riconducibili alle stesse ragioni di finalità funzionali e di obiettivi futuri che hanno motivato l'inclusione della piattaforma per spettroscopia NMR.

Si sottolinea come la piattaforma NMR JEOL - JNM ECZR 600 renda disponibile la spettroscopia a risonanza magnetica in alta risoluzione, tecnica complementare e sinergica rispetto sia alla Microscopia Elettronica in Trasmissione che ad altre tecniche spettroscopiche; consente di contribuire alla determinazione della struttura di molecole organiche (anche in soluzione) e allo studio della fisica molecolare oltre che delle proprietà strutturali di cristalli e non.
La piattaforma NMR inserita in ATOM è in particolare in grado di eseguire analisi direttamente in liquido ed è stata specificatamente specializzata per lo studio di catene proteiche, di evidente interesse per le attività strategiche di ATOM nel settore life-science e di estrema attualità per le esigenze connesse alle problematiche emerse in era Covid.

Lo strumento è integrato nel Laboratorio di Metabolomica che ne garantisce l'operatività e l'accessibilità mettendo a disposizione le strutture e le competenze necessarie per la preparazione di campioni per l'analisi metabolomica, l'acquisizione degli spettri, la loro elaborazione e l'analisi dei dati.

La piattaforma NMR viene impiegata per una varietà di applicazioni e finalità; viene quindi usata, prioritariamente ma non esclusivamente, per:

- caratterizzare i profili (fenotipi) metabolici di organismi viventi vegetali ed animali caratterizzare i profili (fenotipi) metabolici di organismi viventi vegetali ed animali
- caratterizzare i profili metabolici di cellule microbiche, vegetali, animali ed umane in relazione a mutazioni genetiche o perturbazioni biotiche o abiotiche;
- identificare nuovi biomarcatori che consentano di migliorare la diagnosi e la prognosi clinica;
- identificare nuovi bersagli metabolici nelle diverse patologie umane;
- valutare l'effetto di interventi farmacologici, dietetici o comportamentali sullo stato di salute umano ed animale;
- valutare possibili effetti collaterali di trattamenti farmacologici;
- valutare le interazioni tra dieta, microbiota intestinale e metabolismo umano ed animale in stati fisiologici e patologici;
- personalizzare gli interventi farmacologici e/o nutrizionali basati sul fenotipo metabolico dell'individuo (Medicina e Nutrizione di Precisione);

- effettuare la caratterizzazione integrata degli alimenti vegetali in relazione a origine, condizioni pedo-climatiche e agronomiche;
- identificare composti bioattivi negli alimenti;
- progettare alimenti funzionali e di valutare il loro impatto sulla salute.
- valutare le fasi di trasformazione di prodotti alimentari per l'ottimizzazione dei processi
- valutare le fasi di processi coinvolti nella economia circolare agricola

Le caratteristiche dello spettrometro JNM-ECZ 600R non limitano tuttavia la sua applicazione al solo campo dell'analisi metabolomica, ma anzi permettono il suo impiego in numerose altre tematiche di ricerca quali ad esempio la determinazione della struttura di molecole, della composizione di miscele e tutte le applicazioni per le quali si renda necessario l'ottenimento di spettri RMN ad alta risoluzione mono e bidimensionali.

La piattaforma NMR è stata e viene utilizzata in progetti e attività di ricerca che coinvolgono aziende agricole ed alimentari per lo sviluppo di nuovi prodotti alimentari, per garantire la sicurezza e l'ottimizzazione dei processi tecnologici di trasformazione dei prodotti, per l'ottimizzazione dei processi agronomici, per lpo sviluppo di nuovi prodotti per un'agricoltura sicura e sostenibile, come pure per il completo recupero e riciclo di sottoprodotti della lavorazione. Le pubblicazioni scientifiche, i progetti, i contratti di ricerca e gli accordi di collaborazione confermano l'attività svolta ed in corso con questa piattaforma strumentale.

Si riepilogano qui i Progetti e contratti di ricerca sviluppati dal 2020 al 2022 grazie alla presenza di questa strumentazione.

- 2020-2023. Contratto di Ricerca con Azienda Agricola Aureli Mario, Ortucchio (AQ); nell'ambito del *Progetto vincitore del Bando "Fabbrica intelligente, Agrifood e Scienze della vita" per la richiesta di agevolazioni economiche al Ministero dello Sviluppo Econom Si riepico, Programma Operativo Nazionale «Imprese e Competitività» 2014-2020 FESR, acronimo progetto B.I.C.Y. (Biostimulants increase crops yield)*. Finanziamento 210.000 Euro + IVA.
- 2019-2022 BANDO RICERCHE IN COLLABORAZIONE (BRIC 2019) TEMATICA ID 09 "Meccanismi di danno e biomarcatori precoci nel rischio per la funzionalità uditiva da esposizione ad agenti oto/neurotossici: modelli di sperimentazione animale e imaging cocleare su soggetti esposti e pazienti neurologici con simulazioni numeriche di funzionalità cocleare e analisi di profili metabolici anche mediante tecniche di machine learning." finanziamento complessivo di € 432.000
- 2020-2022. Progetti di ricerca industriale e sviluppo sperimentale nelle 12 Aree di specializzazione individuate dal PNR 2015-2020. *Titolo del progetto: Sviluppo di Nutraceutici da Fonti Naturali. Acronimo del progetto: BIONUTRA Soggetto Capofila: Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"*. Responsabili per Unità Sapienza: Massimo Reverberi, Alfredo Miccheli, Daniela Uccelletti. Finanziamento per Miccheli 48.000 Euro .
- 2020. Contratto di ricerca con Azienda Agricola Mario Aureli nell'ambito dell'Innovazione sostenibile per le produzioni agroalimentari di qualità - *INNOPAQ: OR3_Sviluppo di processi innovativi per la produzione di ortaggi e derivati ad elevata valenza salutistica con approccio del Water Use Efficiency. Titolo del programma di ricerca: "Applicazione di spettroscopia NMR per la caratterizzazione metabolica di mais sottoposto al trattamento con biostimolanti e di materie prime vegetali AURELI per la trasformazione in farine speciali per pasta wellness".* Finanziamento 29.931 Euro + IVA.

- 2018-2020: Progetto “Innovazione sostenibile per le produzioni agroalimentari di qualità - INNOPAQ” nell’ambito dei progetti POR FESR Abruzzo 2014-2020 : Linea di azione 1.1.1_ *“Sostegno a progetti di ricerca delle imprese che prevedano l’impiego di ricercatori presso le imprese stesse”;* Linea di azione 1.1.4_ “*Sostegno alle attività collaborative di R&S per lo sviluppo di nuove tecnologie sostenibili, di nuovi prodotti e servizi”.* Contratto Azienda Agricola Mario Aureli, Ortucchio. Finanziamento di 65.000 Euro + IVA .
- 2020: Progetto di ricerca finanziato Azienda Agricola Mario Aureli, Ortucchio: “Sviluppo di nuovi Alimenti vegetali Funzionali al benessere della salute E di nuovi processi di sanificazionE di AlimenTi” Acronimo SAFE EAT, 39.000 Euro + IVA;
- 2018-2020: Tecnologie "green" per una agricoltura sostenibile: protezione da fitopatogeni e fertilizzanti di colture agroalimentari mediante biomolecole ottenute da reflui oleari. ACRONIMO ABASA (Agricultural By-products into valuable Assets for Sustainable Agriculture). Progetto gruppi di ricerca Lazio Innova protocollo: 85-2017-15080. Euro 150.000

Si riepilogano qui gli accordi di collaborazione scientifiche per lo sviluppo nel territorio della metabolomica basata su NMR in ambito clinico con Istituzioni di ricerca pubbliche:

1) 2022- 2025 Accordo di collaborazione scientifica tra INAIL e Dipartimento di Chimica NMLab, Univ. Sapienza di Roma. Responsabile prof. F. Marini
2) 2021-2023 Accordo di collaborazione scientifica IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù e Dipartimento di Biologia Ambientale NMLab, Univ Sapienza di Roma, responsabile prof. Alfredo Miccheli.

La piattaforma NMR unitamente al laboratorio di Metabolomica che ne assicura l’operatività è anche inserita nei seguenti progetti infrastrutturali :

1) Metrofood-EU
2) Agritech, spoke 7 e spoke 9

Infine, ma di evidente rilevanza strategica, l’inserimento formale della strumentazione NMR nell’ambito dell’infrastruttura ATOM sta consentendo il perfezionamento di un accordo di collaborazione con JEOL Italia finalizzato alla creazione di un Joint-Lab Sapienza-JEOL, unico nel suo genere e dedicato alle diverse attività sia didattiche che di ricerca che di terza missione come delineate nella lettera di intenti riportata nell’allegato A.

Al termine della veloce rassegna delle strumentazioni installate, si vuole innanzitutto e nello specifico sottolineare come la presenza del TEM JEOL F200 con le caratteristiche indicate in precedenza rappresenti un primo, rilevante e fondamentale passo nella direzione necessaria a colmare una pesante lacuna nell'ecosistema regionale. La piattaforma installata è inoltre non solo di assoluto interesse per tutte le attività di ricerca che coinvolgono materiali (da quelli di interesse per l'aerospazio a quelli di interesse in campo biologico e medico) ma consente ad ATOM di collocarsi come la prima realtà nazionale in grado di aprire l'accesso a tecnologie avanzate di studi strutturali indispensabili per la messa a punto di nuovi strumenti terapeutici e diagnostici e per una attività brevettuale efficace. Queste tecnologie sono accessibili a piccole e medie imprese biomediche solo attraverso l'accesso a piattaforme di servizi per la ricerca, poiché solo le grandi multinazionali farmaceutiche possono sostenerne i costi a livello "in-house".

A questo proposito si sottolinea come ATOM abbia posto in essere una massa critica di strumenti ed una struttura organizzativa di gestione della stessa, dimostrando un'efficacia nella fornitura di servizi e messa in opera di progetti di ricerca avanzata sinergistici tra industrie ed atenei/enti di ricerca. Queste attività si sono svolte in maniera preponderante, seguendo il business plan e la proposta progettuale, nell'ambito della scienza dei materiali, microelettronica e della caratterizzazione di campioni biomedici in ambito di imaging ed in soluzione.

Questa visione strategica attuata in ATOM pone l'infrastruttura come possibile fulcro per lo sviluppo futuro degli obiettivi strategici del Rome Technopole nell'ambito dei diversi Flagship Projects, inclusi quelli in ambito biotech/biomed (FP4 - Development, innovation and certification of medical and non-medical devices for health ed FP7 - Advanced and automated innovation labs for diagnostic and therapeutic biopharma solutions). ATOM ha inoltre strategicamente posto le basi per una full exploitation a livello di studi strutturali a livello atomico mediante cryoTEM e cristallografia, che sono assenti a livello nazionale ed indispensabili per la competitività ed il raggiungimento di un ciclo completo per lo sviluppo di farmaci e diagnostici innovativi basati su RNA, DNA e proteine (anticorpi, enzimi ingegnerizzati, disegno razionale di piccole molecole), come dimostrato dai progetti collaborativi con Takis Biotech che dimostrano la possibile espansione sull'intero panorama del comparto biomed e biotech in ambito regionale, nazionale ed anche a livello europeo/internazionale.

Da un punto di vista più generale e specificatamente relativo alla rendicontazione di fine progetto , le attività di ATOM si sono fin qui svolte e si svolgeranno nel prosieguo tenendo sempre ben presente che le infrastrutture aperte per la ricerca sono piattaforme strumentali avanzate dal punto di vista tecnologico finalizzate a sostenere e supportare attività di ricerca, di sviluppo e trasferimento tecnologico a livello locale, nazionale ed internazionale e sono volte a fornire servizi tecnologici anche al settore industriale e imprenditoriale, oltre che agli organismi di ricerca e di alta formazione.
Nel complesso, le piattaforme analitiche che costituiscono l'infrastruttura aperta ATOM rappresentano una facility unica per l'investigazione correlativa 2D e 3D di proprietà morfologiche e chimico/fisiche che è a disposizione dell'ecosistema della ricerca scientifica di base e industriale regionale e nazionale.
Le diverse piattaforme sono tutte attualmente pienamente operative. Alcune di esse sono entrate in funzione solo negli ultimi mesi, altre nel corso del 2021 (in fase pandemia) e altre lo sono da più tempo (SAXS, da inizio 2019).

Nel suo complesso, l'infrastruttura aperta per la ricerca ATOM rappresenta un unicum nel suo genere, permettendo l'accesso a strumentazione allo stato dell'arte per caratterizzazione tomografica, microscopica e nanoscopica a tutto l'ecosistema della ricerca universitaria, degli istituti di ricerca e delle aziende interessate, sia a livello regionale che nazionale. In particolare, ciò è evidenziato dalla notevole (per quantità e qualità) rete di collaborazioni e di utenze dell'infrastruttura. Inoltre, l'infrastruttura permette l'accesso e il training di utenti esterni effettuato dal personale esperto che opera nell'infrastruttura ATOM. In questo modo, è possibile per le aziende del territorio non solo accedere a strumentazione avanzata, ma anche vedere il proprio personale formato al suo utilizzo. In questo modo è possibile innescare un circolo virtuoso che permette l'innalzamento del livello di tecnologia e competenze delle aziende del territorio incrementandone la competitività. Si può prevedere che ciò permetterà la creazione di nuovi posti di lavoro come figure professionali altamente specializzate che potranno fare da ponte tra il mondo industriale e l'infrastruttura aperta ATOM.
L'infrastruttura ATOM è integrata tramite SRI ed insieme alle altre infrastrutture di ricerca finanziate sul medesimo bando, nella rete per la ricerca, l'innovazione, il trasferimento tecnologico denominata IARI (Infrastruttura Aperta di Ricerca per l'Innovazione", il cui protocollo è stato approvato dalla giunta regionale in data 14 maggio 2021 . All'accordo, che sarà firmato dai vari contraenti, aderiscono, oltre alla Regione Lazio: Sapienza Università di Roma, l'Università di Roma Tor Vergata, l'Istituto Superiore di Sanità (Iss), il Consiglio Nazionale delle Ricerche (Cnr), l'Istituto Nazionale di Fisica Nucleare (Infn), l'Agenzia nazionale per le nuove tecnologie, l'energia e lo sviluppo economico sostenibile (Enea) e l'Istituto Nazionale di Geologia e Vulcanologia (Ingv).

L' obbiettivo è di mettere in rete le infrastrutture di ricerca del Lazio, integrandone l'azione, le competenze, le piattaforme tecnologiche, e aprendole ad una funzione di servizio per il mondo delle imprese
L'Infrastruttura Aperta di Ricerca per l'Innovazione della Regione sarà dotata di un modello di gestione organizzativo leggero e avrà un'interfaccia comune per l'accesso. Il suo scopo sarà quello di sostenere attività di ricerca di eccellenza negli ambiti tematici di interesse strategico della Regione Lazio e di essere aperta al tessuto industriale e imprenditoriale per la fornitura di servizi di ricerca, sviluppo e trasferimento tecnologico e innovazione. Non solo, con la messa in rete delle strutture di eccellenza di questi enti di formazione e ricerca, si vuole realizzare una realtà che abbia la massa critica per partecipare a programmi di sviluppo e potenziamento non solo regionali, ma anche nazionali e internazionali, pronta a supportare, ad esempio anche iniziative progettuali comuni nell'ambito del Programma Nazionale delle Infrastrutture (PNIR), dello European Strategy Forum on Research Infrastructures (ESFRI) e del programma Horizon Europe, con particolare attenzione per quelle inerenti il nuovo Pillar 3 – Innovative Europe che prevedano ricadute per il sistema produttivo nazionale.

Le diverse piattaforme strumentali allo stato dell'arte di ATOM saranno a disposizione anche delle attività dell'ecosistema Rome Technopole e dei suoi progetti flagship.

C'è infine da sottolineare che le piattaforme strumentali allo stato dell'arte acquisite con ATOM, hanno già permesso la partecipazione, altrimenti non possibile, di Sapienza a diversi progetti sia nazionali che

internazionali. In particolari, si ricorda qui il finanziamento di due progetti europei (CHALLENGES e AGAMI-EURIGAMI) e del progetto PNRR iENTRANCE@ENL, di cui si riportano le caratteristiche essenziali.

CHALLENGES (Real-Time Nano-Characterization Related Technologies: www.challlenges2020.eu), è stato finanziato nell'ambito del programma quadro Horizon 2020 (14 partner europei coinvolti). Il finanziamento globale (100% dei costi) è di circa 4,5 milioni di euro, di cui circa 520 keuro sono la quota del partner Sapienza, che coordina l'intero progetto (PI: prof. Marco Rossi).

Nell'ambito dei Progetti PNRR relativi ai fondi Next Generation EU, è stato finanziato (sul Bando Infrastrutture di Ricerca) per complessivi 75,2 milioni di euro il Progetto "Infrastructure for Energy Transition and Circular Economy @ EuroNanoLab" (iENTRANCE@ENL), a guida CNR, di cui Sapienza (PI: Prof. Marco Rossi) è partner con una quota di circa 4,2 M€.
Il progetto prevede, tra le altre cose, oltre un updating di tutta la strumentazione ATOM, anche l'assunzione di 6 tecnologi laureati livello D3 a tempo pieno con contratti a tempo determinato della durata di 18 mesi (rinnovabili per altri 18 mesi) e con concrete possibilità, al termine dei 36 mesi, di una rapida stabilizzazione in base alle normative PNRR. I tecnologi avranno chiaramente tra le loro mansioni quelle di occuparsi del funzionamento della strumentazione del progetto ATOM che si integrerà perfettamente con iENTRANCE@ENL.

Dal 1 gennaio 2023 sarà attivo per 4 anni il progetto European Innovative GaN Advanced Microwave Integration (AGAMI_EURIGAMI), finanziato sul bando EUROPEAN DEFENCE FUND (EDF) 2021, con oltre 20 M€ e con 24 partner, tra cui Sapienza (PI: Prof. Marco Rossi) con una quota di circa 400 k€.
Il progetto è focalizzato sulla tecnologia del nitruro di gallio (GaN) materiale chiave per i componenti elettronici RF ad alte prestazioni. Il GaN sta sostituendo la precedente tecnologia all'arseniuro di gallio (GaAs), fornendo maggiore potenza, larghezza di banda e linearità agli amplificatori RF elettronici. Le caratterizzazioni possibili grazie alle strumentazione di ATOM sono state l'elemento chiave per l'ingresso di Sapienza nel partneriato del progetto, che include alcuni tra i maggiori player Hi-Tech europei (Leonardo Company, AIRBUS, United Monolithic Semiconductors, Thales, etc).

In questo contesto, si può quindi affermare, in maniera documentata e certa, che ad oggi l'effetto di ATOM sui finanziamenti addizionali ottenuti in conseguenza della disponibilità strumentale garantita da ATOM e altrimenti non attivabili, è stato pari a circa 5.1 M€. Si può così dire che il leverage è stato di oltre il 127%, senza considerare i ricavi che saranno ottenuti dai diversi contratti già sottoscritti e da quelli che sono in corso di definizione.

Pubblicazioni e altri prodotti della ricerca

Oltre ai contratti, ai finanziamenti e agli accordi sopra richiamati e che non sarebbe stato possibile ottenere senza la presenza delle piattaforme strumentali acquisite grazie al progetto ATOM, si riepilogano anche gli articoli scientifici più significativi fin qui pubblicati, nonché le presentazioni a primari eventi internazionali, e riconducibili specificatamente alla disponibilità di tali strumentazioni. Si riporta l'elenco per le strumentazioni installate da tempi sufficienti a garantire il completamento dell'iter editoriale su riviste con processi di peer-reviewing. Per ognuna delle piattaforme strumentali che si trovano nelle condizioni richiamate si riportano fino ad un massimo dei 10 prodotti più significati.

Piattaforma per tomografia ZEISS Xradia Versa 610

1. D. Dini, F. Cognigni, D. Passeri, F. A. Scaramuzzo, M. Pasquali, and M. Rossi: Multiscale characterization of Li-ion batteries through the combined use of atomic force microscopy and X-ray microscopy and considerations for a correlative analysis of the reviewed data. *J. Electrochem. Soc.* **168**, 12 (2021), Article number: 126522. https://doi.org/10.1149/1945-7111/ac4298

2. M. Bernabale, F. Cognigni, L. Nigro, M. Rossi, T. de Caro, and C. De Vito: A comprehensive strategy for exploring corrosion in iron-based artefacts through advanced Multiscale X-ray Microscopy. *Sci Rep* **12**,1 pp 1-9 Article Number: 6125 (2022). https://doi.org/10.1038/s4159022-10151-w

3. M. Bernabale, F. Cognigni, L. Nigro, M. Rossi, C. De Vito, Conventional and advanced techniques for archaeological diagnostic of iron artefacts, 2022 IMEKO TC-4 International Conference on Metrology for Archaeology and Cultural Heritage University of Calabria, Italy, October 19-21, 2022. Oral Presentation and Proceeding.

4. D. Mello, G. Sciuto, M. Astuto, M.F. Santangelo, H. Stegmann, F. Cognigni & M. Rossi: New Approach in Physical Failure Analysis Based on 3D Reconstruction. In *ISTFA 2022* (pp. 201-205). ASM International. https://doi.org/10.31399/asm.cp.istfa2022p0201

5. F.Cognigni: Advanced 3D Multiscale X-ray Microscopy (XRM) for ancient bones and iron-based artefacts investigation; Conference: XXIV Congresso dell'Associazione Antropologica Italiana, Museo Universitario di Chieti, Italy, September 9, 2022;

6. F. Cognigni, S. Dinaelli, M. Girasole, G. Longo, G. Fabi, M. Rossi (2022) 3D X-ray Microscopy (XRM) investigation of exogenous materials inside mussels' organs, IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 1265 012012

7. F. Cognigni: Integrated workflow built on Advanced 3D Multiscale X-ray Microscopy (XRM) to investigate corrosion in iron-based artefacts. International Conservation and Science Conference (IConS) 19–20 May 2022, Museum of Fine Arts, Budapest, Hungary. Oral presentation (invited) https://www.mfab.hu/icons-2022/.

8. F. Cognigni, M. Pasquali, P.P. Prosini, C. Paoletti, A. Aurora, F. Scaramuzzo and M. Rossi: X-ray Microscopy: A Non-destructive High-resolution Imaging to Study the Inner Workings of Batteries; Conference: Giornate dell'Elettrochimica Italiana (GEI) 2022, Palazzo del Capitano del Popolo, Orvieto, Italy, September 11-15, 2022; Oral Presentation and Special Issue (in preparation).

9. F. Cognigni: Sub-micron X-ray Microscopy: A World of Applications. NanoInnovation 2022 (https://www.nanoinnovation2022.eu/home/). Oral Presentation (invited)

10. F. Cognigni, N. Gueninchault, L. Nicola, M. E. E. Temporiti, S. Tosi & M. Rossi: Sub-micron X-ray microscopy to investigate fungal biodegradation of plastics. In preparation for submission on Nature Sustainability (2022)

Piattaforma per SAXS XENOCS Xeuss 2.0 HR Q-Xoom

1. M.C. Castrovilli, E. Tempesta, A. Cartoni, P. Plescia, P. Bolognesi, J. Chiarinelli, P. Calandra, N. Cicco, M.F. Verrastro, D. Centonze, L. Gullo, A. Del Giudice, L. Galantini, L. Avaldi, Fabrication of a New, Low-Cost, and Environment-Friendly Laccase-Based Biosensor by Electrospray Immobilization with Unprecedented Reuse and Storage Performances, ACS Sustain. Chem. Eng. 10 (2022) 1888–1898. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c07604

2. D. Piccinino, E. Capecchi, V. Trifero, E. Tomaino, C. Marconi, A. Del Giudice, L. Galantini, S. Poponi, A. Ruggieri, R. Saladino, Lignin Nanoparticles as Sustainable Photoprotective Carriers for Sunscreen Filters, ACS Omega. (2022). https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.2C02133

3. G. Du, D. Belić, A. Del Giudice, V. Alfredsson, A.M. Carnerup, K. Zhu, B. Nyström, Y. Wang, L. Galantini, K. Schillén, Condensed Supramolecular Helices: The Twisted Sisters of DNA, Angew. Chemie. 134 (2022) e202113279. https://doi.org/10.1002/ange.202113279

4. L. De Caro, A. Del Giudice, M. Morin, M. Reinle-Schmitt, A. Grandeury, F. Gozzo, C. Giannini, Small Angle X-ray Scattering data analysis and theoretical modelling for the size and shape characterization of drug delivery systems based on Vitamin E TPGS micelles, J. Pharm. Sci. (2022). https://doi.org/10.1016/J.XPHS.2022.09.029

5. M. Busato, A. Del Giudice, V. Di Lisio, P. Tomai, V. Migliorati, A. Gentili, A. Martinelli, P. D'Angelo, Fate of a Deep Eutectic Solvent upon Cosolvent Addition: Choline Chloride-Sesamol 1:3 Mixtures with Methanol, ACS Sustain. Chem. Eng. 14 (2021) 26. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c03809

6. A. Jover Ramos, F. Fraga López, F. Meijide, J. Vázquez Tato, J. Cautela, A. Del Giudice, M. Chiara di Gregorio, Revealing the complex self-assembly behaviour of sodium deoxycholate in aqueous solution, J. Colloid Interface Sci. 604 (2021) 415–428. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.06.140

7. G. Campi, L. Suber, G. Righi, L. Primitivo, M. De Angelis, D. Caschera, L. Pilloni, A. Del Giudice, A. Palma, M. Satta, A. Fortunelli, L. Sementa, Design of a fluorescent and clickable Ag38(SRN3)24nanocluster platform: synthesis, modeling and self-assembling, Nanoscale Adv. 3 (2021) 2948–2960. https://doi.org/10.1039/d1na00090j

8. M. Fornasier, R. Pireddu, A. Del Giudice, C. Sinico, T. Nylander, K. Schillén, L. Galantini, S. Murgia, Tuning lipid structure by bile salts: Hexosomes for topical administration of catechin, Colloids Surfaces B Biointerfaces. 199 (2021) 111564. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.111564

9. A. Triolo, F. Lo Celso, O. Russina, Structural Features of β-Cyclodextrin Solvation in the Deep Eutectic Solvent, Reline, J. Phys. Chem. B. 124 (2020) 2652–2660. https://doi.org/10.1021/acs.jpcb.0c00876.

10. K. Schillén, L. Galantini, G. Du, A. Del Giudice, V. Alfredsson, A.M. Carnerup, N. V. Pavel, G. Masci, B. Nyström, Block copolymers as bile salt sequestrants: Intriguing structures formed in a mixture of an oppositely charged amphiphilic block copolymer and bile salt, Phys. Chem. Chem. Phys. 21 (2019) 12518–12529. https://doi.org/10.1039/c9cp01744e

Piattaforma per la microscopia confocale spettrale ZEISS LSM 800

1. Campolo F, Capponi C, Tarsitano MG, Tenuta M, Pozza C, Gianfrilli D, Magliocca F, Venneri MA, Vicini E, Lenzi A, Isidori AM, Barbagallo F. cAMP-specific phosphodiesterase 8A and 8B isoforms are differentially expressed in human testis and Leydig cell tumor. Front Endocrinol (Lausanne). 2022 Oct 7; 13:1010924. doi: 10.3389/fendo.2022.1010924.

2. Cardarelli S, Miele AE, Campolo F, Massimi M, Mancini P, Biagioni S, Naro F, Giorgi M, Saliola M. Cellular Redox Metabolism Is Modulated by the Distinct Localization of Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase 5A Isoforms. Int J Mol Sci. 2022 Aug 2;23(15):8587. doi: 10.3390/ijms23158587.

3. Iaiza A, Tito C, Ianniello Z, Ganci F, Laquintana V, Gallo E, Sacconi A, Masciarelli S, De Angelis L, Aversa S, Diso D, Anile M, Petrozza V, Facciolo F, Melis E, Pescarmona E, Venuta F, Marino M, Blandino G, Fontemaggi G, Fatica A, Fazi F. METTL3-dependent MALAT1 delocalization drives c-Myc induction in thymic epithelial tumors. Clin Epigenetics. 2021 Sep 16;13(1):173. doi: 10.1186/s13148-021-01159-6

4. Ianniello Z, Sorci M, Ceci Ginistrelli L, Iaiza A, Marchioni M, Tito C, Capuano E, Masciarelli S, Ottone T, Attrotto C, Rizzo M, Franceschini L, de Pretis S, Voso MT, Pelizzola M, Fazi F, Fatica A. New insight into the catalytic -dependent and -independent roles of METTL3 in sustaining aberrant translation in chronic myeloid leukemia. Cell Death Dis. 2021 Sep 24;12(10):870. doi: 10.1038/s41419-021-04169-7

5. Proietti D., Giordani L., De Bardi M., D'Ercole C., Lozanoska-Ochser B., Amadio S., Volonté C., Marinelli S., Muchir A.C., Bouché M., Borsellino G., Sacco A., Puri PL., and Madaro L. Activation of skeletal muscle–resident glial cells upon nerve injury. JCI Insight 2021, 6,143469. DOI: 10.1172/jci.insight.143469

6. Sideri S, Petragnano F, Maggio R, Petrungaro S, Catizone A, Gesualdi L, De Martino V, Battafarano G , Del Fattore A , Liguoro D, De Cesaris P, Filippini A, Marampon F, Riccioli A, Radioresistance Mechanisms in Prostate Cancer Cell Lines Surviving Ultra-Hypo-Fractionated EBRT: Implications and Possible Clinical Applications Cancers 2022, 14, 5504. https://doi.org/10.3390/cancers14225504

7. Taggi M, Kovacevic A, Capponi C, Falcinelli M, Cacciamani V, Vicini E, Canipari R, Tata AM. The activation of M2 muscarinic receptor inhibits cell growth and survival in human epithelial ovarian carcinoma. J Cell Biochem. 2022; 123(9):1440-1453.

8. Tito C, Ganci F, Sacconi A, Masciarelli S, Fontemaggi G, Pulito C, Gallo E, Laquintana V, Iaiza A, De Angelis L, Benedetti A, Cacciotti J, Miglietta S, Bellenghi M, Carè A, Fatica A, Diso D, Anile M, Petrozza V, Facciolo F, Alessandrini G, Pescarmona E, Venuta F, Marino M, Blandino G, Fazi F. LINC00174 is a novel prognostic factor in thymic epithelial tumors involved in cell migration and lipid metabolism. Cell Death Dis. 2020 Nov 7;11(11):959. doi: 10.1038/s41419-020-03171-9

9. Zoratto N, Forcina L, Matassa R, Mosca L, Familiari G, Musarò A, Mattei M, Coviello T, Di Meo C, Matricardi P. Hyaluronan-Cholesterol Nanogels for the Enhancement of the Ocular Delivery of Therapeutics. Pharmaceutics. 2021 Oct 25;13(11):1781. doi: 10.3390/pharmaceutics13111781.

10. Renzini A, Marroncelli N, Cavioli G, Di Francescantonio S, Forcina L, Lambridis A, Di Giorgio E, Valente S, Mai A, Brancolini C, Giampietri C, Magenta A, De Santa F, Adamo S, Coletti D, Moresi V. Cytoplasmic HDAC4 regulates the membrane repair mechanism in Duchenne muscular dystrophy.J Cachexia Sarcopenia Muscle. 2022 Apr;13(2):1339-1359. doi: 10.1002/jcsm.12891.

Piattaforma NMR JEOL JNM-ECZ 600R

1. Giampaoli, Ottavia; Sciubba, Fabio; Biliotti, Elisa; Spagnoli, Mariangela; Calvani, Riccardo; Tomassini, Alberta; Capuani, Giorgio; Miccheli, Alfredo; Taliani, Gloria"Precision medicine: determination of Ribavirin urinary metabolites in relation to drug adverse effects in HCV patients" *Int. J. Mol. Sci.* 23(17) (2 Sep. 2022):10043 https://doi.org/10.3390/ijms231710043

2. Marrocco, Francesco; Delli Carpini, Mary; Garofalo, Stefano; Giampaoli, Ottavia; De Felice, Eleonora; Di Castro, Maria Amalia; Maggi, Laura; Scavizzi, Ferdinando; Raspa, Marcello; Marini, Federico; Tomassini, Alberta; Nicolosi, Roberta; Cason, Carolina; Trettel, Flavia; Miccheli, Alfredo; Iebba, Valerio; D'Alessandro, Giuseppina; Limatola, Cristina"Short-chain fatty acids promote the effect of environmental signals on the gut microbiome and metabolome in mice" *Commun. Biol.* 5 (31 May 2022):517 https://doi.org/10.1038/s42003-022-03468-9

3. Buonaurio, Flavia; Borra, Francesca; Pigini, Daniela; Paci, Enrico; Spagnoli, Mariangela; Astolfi, Maria Luisa; Giampaoli, Ottavia; Sciubba, Fabio; Miccheli, Alfredo; Canepari, Silvia; Ancona, Carla; Tranfo, Giovanna "Biomonitoring of exposure to urban pollutants and oxidative stress during the COVID-19 lockdown in Rome residents" *Toxics* 10(5) (21 May 2022): 267 https://doi.org/10.3390/toxics10050267

4. Donati, L.; Bertin, S.; Gentili, A.; Luigi, M.; Taglienti, A.; Manglli, A.; Tiberini, A.; Brasili, E.; Sciubba, F.; Pasqua, G. and Ferretti, L. "Effects of organic biostimulants added with zeolite on zucchini squash plants infected by tomato leaf curl New Delhi virus" *Viruses* 14(15 March 2022):607 https://doi.org/10.3390/v14030607

5. Biliotti, Elisa; Giampaoli, Ottavia; Sciubba, Fabio; Marini, Federico; Tomassini, Alberta; Palazzo, Donatella; Capuani, Giorgio; Esvan, Rozenn; Spaziante, Martina; Taliani, Gloria; Miccheli, Alfredo. "Urinary metabolomics of HCV patients with severe liver fibrosis before and during the sustained virologic response achieved by direct acting antiviral treatment" *Biomed. Pharmacother.* 143 (November 2021):112217. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112217

6. Giampaoli, Ottavia; Sciubba, Fabio; Conta, Giorgia; Capuani, Giorgio; Tomassini, Alberta; Giorgi, Giorgio; Brasili, Elisa; Aureli, Walter and Miccheli, Alfredo "Red Beetroot's NMR-Based Metabolomics: Phytochemical Profile Related to Development Time and Production Year." *Foods* 10(8) (15 August 2021):1887. https://doi.org/10.3390/foods10081887

7. Frezza, Claudio; Venditti, Alessandro; De Vita, Daniela; Sciubba, Fabio; Tomai, Pierpaolo; Franceschin, Marco; Di Cecco, Mirella; Ciaschetti, Giampiero; Di Sotto, Antonella; Stringaro, Annarita; Colone, Marisa; Gentili, Alessandra; Serafini, Mauro; Bianco, Armandodoriano."Phytochemical analysis and biological activities of the ethanolic extract daphne sericea vahl flowering aerial parts collected in central Italy." *Biomolecules* 11(3) (March 2021):1-17.https://doi.org/10.3390/biom11030379

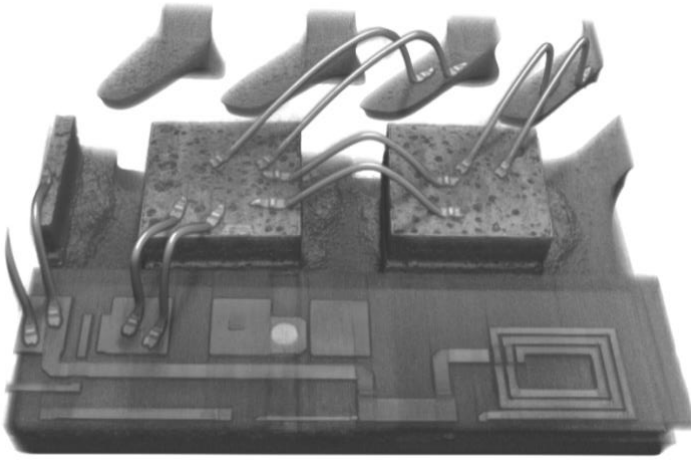
8. Vernocchi, Pamela; Marini, Federico; Capuani, Giorgio; Tomassini, Alberta; Conta, Giorgia; Del Chierico, Federica; Malattia, Clara; et al. "Fused Omics Data Models Reveal Gut Microbiome Signatures Specific of Inactive Stage of Juvenile Idiopathic Arthritis in Pediatric Patients." *Microorganisms* 8, no. 10 (October 2020): 1540. https://doi.org/10.3390/microorganisms8101540.

9. Botticelli, Andrea, Pamela Vernocchi, Federico Marini, Andrea Quagliariello, Bruna Cerbelli, Sofia Reddel, Federica Del Chierico, et al. "Gut Metabolomics Profiling of Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Patients under Immunotherapy Treatment." *Journal of Translational Medicine* 18, no. 1 (February 3, 2020): 49. https://doi.org/10.1186/s12967-020-02231-0.

10. Sciubba, Fabio, Alberta Tomassini, Giorgio Giorgi, Elisa Brasili, Gabriella Pasqua, Giorgio Capuani, Walter Aureli, and Alfredo Miccheli. "NMR-Based Metabolomic Study of Purple Carrot Optimal Harvest Time for Utilization as a Source of Bioactive Compounds." *Applied Sciences* 10, no. 23 (January 2020): 8493. https://doi.org/10.3390/app10238493.

Piattaforme AFM/SEM

1. S. Dinarelli, F Mura, C. Mancini, G. La Penna, T. Rinaldi, M. Rossi (2022), Comparison of different correlative AFM-SEM workflows on calcite moonmilk, IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 1265 012011
2. Marinello, F., Scaramuzzo, F. A., Dinarelli, S., Passeri, D., & Rossi, M. (2022). Nanoscale characterization methods in plant disease management. In *Nanotechnology-Based Sustainable Alternatives for the Management of Plant Diseases* (pp. 149-177). Elsevier.
3. Sbarigia, C., Tacconi, S., Mura, F., Rossi, M., Dinarelli, S., & Dini, L. (2022). High-resolution atomic force microscopy as a tool for topographical mapping of surface budding. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, *10*.
4. Santilli, A., Lapi, A., Cautela, J., D'Abramo, M., Chen, C. G., Del Giudice, A.,S. Sennato & Galantini, L. (2022). Bioderived, chiral and stable 1-dimensional light-responsive nanostructures: Interconversion between tubules and twisted ribbons. *Journal of Colloid and Interface Science*, *623*, 723-734.
5. Singh, T., Atanasio, P., Schiavi, D., Lorenzo, V. D., Scaramuzzo, F. A., Passeri, D., ... & Rossi, M. (2021, November). Preliminary results towards the mechanical characterization of cellulose nanofibers using HarmoniX mode atomic force microscopy. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2416, No. 1, p. 020011). AIP Publishing LLC.
6. Fernandes, J., Queirós, T., Rodrigues, J., Nemala, S. S., LaGrow, A. P., Placidi, E., ... & Capasso, A. (2022). Room-temperature emitters in wafer-scale few-layer hBN by atmospheric pressure CVD. *FlatChem*, *33*, 100366.
7. De Santis, S., Rossi, E., Sebastiani, M., Sennato, S., Bemporad, E., & Orsini, M. (2021). A Nanoindentation Approach for Time-Dependent Evaluation of Surface Free Energy in Micro-and Nano-Structured Titanium. *Materials*, *15*(1), 287.
8. Passeri, D., Angeloni, L., & Rossi, M. (2021). Magnetic Force Microscopy and Magnetic Nanoparticles: Perspectives and Challenges. *New Trends in Nanoparticle Magnetism*, 285.
9. Cautela, J., Severoni, E., Redondo-Gómez, C., di Gregorio, M. C., Del Giudice, A., Sennato, S., ... & Galantini, L. (2020). C-12 vs C-3 substituted bile salts: An example of the effects of substituent position and orientation on the self-assembly of steroid surfactant isomers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *185*, 110556.
10. Tardani, F., Sarti, S., Sennato, S., Leo, M., Filetici, P., Casciardi, S.& Bordi, F. (2020). Experimental evidence of single-stranded DNA Adsorption on multiwalled carbon nanotubes. *The Journal of Physical Chemistry B*, *124*(12), 2514-2525.



Tipica Immagine 3D in post processing di un particolare di un dispositivo elettronico (ZEISS XRadia Versa 610)

CONCLUSIONI

Al fine della liquidazione della Sovvenzione a SALDO concessa al progetto individuato in premessa, riassumendo quanto sopra descritto, si rappresenta quanto segue.

- Il Piano degli investimenti finanziati è stato realizzato secondo le modalità precedentemente esposte e con i risultati descritti e documentati, sia in termini di contratti, ai finanziamenti e di accordi sottoscritti che di pubblicazioni. Si ritiene che il progetto sia stato realizzato dal punto di vista tecnico/scientifico in conformità a quanto previsto in fase di presentazione della domanda, raggiungendo anche obiettivi addizionali e integrativi rispetto a quelli originariamente previsti.
- Il Piano degli investimento finanziati ha permesso la realizzazione dell'Infrastruttura Aperta per la Ricerca, obiettivo del progetto ATOM, con il raggiungimento della piena operatività entro il termine ultimo del progetto (30 ottobre 2022). Durante la fase implementativa l'infrastruttura ATOM, via via che le diverse piattaforme strumentali diventano operative, si è progressivamente attivata per soddisfare la domanda di accesso alla strumentazione e alle competenze sia per le esigenze di R&D e innovazione da parte di imprese sia grandi che medio-piccole, che per le esigenze di ricerca di base e applicata provenienti dal mondo accademico e degli enti di ricerca.
- L'infrastruttura è stata integrata operativamente con le altre strumentazioni allo stato dell'arte presenti in Sapienza nel laboratorio di Nanotecnologie e Nanoscienze (SNN Lab) del CNIS (Centro di ricerca per le Nanotecnologie applicate all'Ingegneria di Sapienza) ed è stata insieme a SRI (Sapienza Research Infrastructure) inserita in IARI (Infrastruttura Aperta di Ricerca per l'Innovazione della Regione Lazio – Lazio Open Research Infrastructure for Innovation), che rappresenterà un importante supporto alle attività dell'ecosistema PNRR Rome Technopole.
- Sono state anche dettagliate entità e modalità delle attività di servizio fin qui svolte dall' infrastruttura a favore delle imprese, rendendo possibile lo svolgimento di attività di ricerca finalizzate all' innovazione, altrimenti non possibili, favorendo così intrinsecamente un processo di crescita della competitività delle imprese.
- Sono stati riportati gli effetti della presenza della infrastruttura, già in fase implementativa, sulla competitività di Sapienza, con conseguenti benefici anche per le imprese ed enti di ricerca con cui sono in atto attività collaborative di varia natura, in termini di approvazione di importanti bandi sia nazionali che internazionali, cui senza ATOM sarebbe stato impossibile partecipare con una ragionevole aspettativa di successo. E' stato così possibile attivare già durante la fase implementativa diverse posizioni di lavoro a tempo determinato per le attività di ricerca da svolgere all'interno dell'infrastruttura. Anche grazie ai finanziamenti attivati su bandi PNRR, è prevista l'attivazione di numerose ulteriori posizioni; tra queste si segnala la prossima pubblicazione di un bando per 6 tecnologi che avranno tra i loro compiti prioritari anche il funzionamento e l'aggiornamento delle diverse piattaforme strumentali di ATOM, garantendone così con certezza la piena operatività nei prossimi 36 mesi. L'auspicata stabilizzazione di queste posizioni (pressoché certa sulla base delle attuali norme, salvo loro modifiche per future scelte politiche) garantirà il funzionamento a lungo termine dell'infrastruttura.
- La presenza di piattaforme strumentali allo stato dell'arte, in qualche caso anche uniche sul territorio, per la caratterizzazione multiscala di materiali allo stato dell'arte, sta consentendo di creare e sviluppare

specifiche competenze nel campo specifico delle nanotecnologie, ma anche nel più vasto contesto della scienza e ingegneria dei materiali. Questo avviene sia mediante lo svolgimento di percorsi di tesi sperimentali all'interno dei diversi corsi di laurea magistrale di Ingegneria, Fisica, Chimica, ma anche di Biologia, che, soprattutto, attraverso percorsi di dottorato di ricerca in cui l'impiego di una o più delle piattaforme strumentali di ATOM rappresenta il tratto caratterizzante. L'assoluta necessità di queste competenze da parte del mondo industriale è misurabile anche dall'interesse riscontrato sul fronte della predisposizione di progetti per la partecipazione ai bandi della Regione Lazio dedicati a supportare borse di dottorati innovativi. Ad oggi sono oltre una decina le borse di dottorato in corso e riconducibili ad attività sperimentali che richiedono l'utilizzo della strumentazione di ATOM finalizzate allo sviluppo di specifiche competenze definite proprio sulla base di quelle necessarie alle PMI e alle grandi imprese che cofinanziano le diverse borse di dottorato. Si prevede un forte aumento di questa attività di sviluppo di specifiche competenze attraverso il dottorato nei prossimi anni in ragione sia della intervenuta modifica dell'istituto del dottorato tramite il DM 226/2021 sia dei fondi che si stanno rendendo disponibili attraverso le specifiche e forti misure del PNRR dedicate ai dottorati.

In conclusione, si ritiene e dichiara di:

- aver regolarmente ultimato ed eseguito il piano delle spese, in totale coerenza con le finalità e gli obiettivi del progetto, avendolo completamente realizzato dal punto di vista tecnico/scientifico in conformità a quanto previsto in fase di presentazione della domanda;
- aver raggiunto tutti gli obiettivi previsti al termine del progetto e aver predisposto le corrette basi per il raggiungimento degli obiettivi di sviluppo previsti in fase di presentazione della domanda;
- aver predisposto le basi necessarie per garantire il funzionamento a l'ampliamento delle potenzialità dell'infrastruttura nel medio-lungo periodo, anche ai fini della piena sostenibilità dei costi operativi.

Roma, 30/11/2022

IL RESPONSABILE SCIENTIFICO DEL PROGETTO	IL DIRETTORE DEL DIPARTIMENTO SBAI *(dal 01.XI.2022)*
Prof. Marco Rossi *(firmato elettronicamente)*	Prof. Emilio Nicola Maria Cirillo *(firmato elettronicamente)*

ALLEGATO A

Open Infrastructure for
Advanced TOmography and Microscopies

ATOM

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DI BASE
E APPLICATE PER L' INGEGNERIA

SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

Roma, 7 maggio 2021

Spett.le Lazio Innova S.p.A.
incentivi@pec.lazioinnova.it

Prot. 664 - III/13

Oggetto: Comunicazione variazione oggettiva Progetto ATOM domanda Prot. N. 173-2017-17395 L.R. 13/2008 –Avviso Pubblico "Infrastrutture Aperte per la Ricerca"

In merito al diniego ricevuto dall'audit relativo alla rendicontazione nell'ambito del progetto ATOM della strumentazione NMR, si ritiene lo stesso improprio perché trattasi di variazione oggettiva non sostanziale (art.10 comma 4 Avviso Pubblico Infrastruture Aperte per la Ricerca L.R. 13/2008), come anche confermato in varie occasioni dagli uffici di Lazio Innova e dallo stesso Tutor di progetto.
Ciononostante, alla luce del diniego ricevuto, si fa istanza di formale variazione, informando nel contempo di aver reiterato la rendicontazione della spesa in questione nel V SAL.
Le ragioni della richiesta di variazione sono riportate nella nota allegata alla presente, già trasmessa in occasione della rendicontazione del III SAL con PEC prot 891 del 06/08/2020 e riproposta nella documentazione relativa al V SAL.

Si rimane in attesa di un vostro riscontro.

Cordiali saluti

Il Direttore
Prof. Adalberto Sciubba

Dipartimento di Scienze di Base e Applicate per l'Ingegneria - Università degli Studi di Roma "La Sapienza"
Cod. Fiscale 80209930587 - P.IVA 02133771002
Via Antonio Scarpa 14, 00161 Roma - Tel (+39) 06 49766800 Fax (+39) 06 44240183

Catalogo

Allegato A - Motivazione_inserimento_NMR_01_MR.pdf ····· 1
Allegato B - spazi progetto ATOM - 01_MR.pdf ····· 5
Allegato C - bozza Accordo JEOL - Sapienza.pdf ····· 8

SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

Motivazione tecnico-scientifica
per l'inserimento della spettrometro NMR JEOL - JNM ECZR 600 con cryoprobe
nel progetto regionale Infrastruttura Aperta di Ricerca ATOM (Advanced TOmography and Microscopies)

Le infrastrutture aperte per la ricerca sono piattaforme strumentali avanzate dal punto di vista tecnologico finalizzate a sostenere e supportare attività di ricerca, di sviluppo e trasferimento tecnologico a livello locale, nazionale ed internazionale e sono volte a fornire servizi tecnologici anche al settore industriale e imprenditoriale, oltre che agli organismi di ricerca e di alta formazione.

In questo contesto si è ritenuto opportuno inserire nel progetto ATOM un'attrezzattura di recentissima acquisizione su fondi Sapienza, coerente con le complessive finalità di ATOM, ovvero la piattaforma per spettroscopia NMR JEOL - JNM ECZR 600.

Tale strumentazione non era stata inserita inizialmente nel progetto ATOM perché, nell'ambito della complessiva pianificazione strategica di Sapienza per la strumentazione per la ricerca (si ricorda a tal riguardo la presenza innovativa nella governance di Sapienza di un Prorettore alle Infrastrutture e strumenti per la ricerca di eccellenza, Prof.ssa Sabrina Sarto) si era previsto il suo inserimento e utilizzo all'interno di un altro progetto effettivamente poi sottomesso nel secondo bando della Regione Lazio dedicato alle infrastrutture aperte per la ricerca, ma poi non finanziato per mancanza di meri requisiti formali.

Si ricorda qui che, più in generale, da oltre un decennio Sapienza ha implementato un programma di acquisizione di grandi attrezzature scientifiche finalizzato a costituire un'infrastruttura tecnologica per il supporto alla ricerca scientifica, all'alta formazione e al trasferimento tecnologico. In particolare, negli ultimi 5 anni (dal 2015 al 2019) l'Ateneo ha investito oltre 10 milioni di euro per l'acquisizione di grandi attrezzature scientifiche sulla base di progetti di ricerca multidisciplinari e interdipartimentali, finalizzati a mettere in rete ed integrare competenze e capacità tecnico scientifiche nei diversi ambiti disciplinari che rappresentano la ricchezza di un Ateneo generalista come Sapienza.
L'infrastruttura di ricerca Sapienza (Sapienza Research Infrastructure – SRI) è stata formalmente costituita nel 2020 con l'approvazione da parte degli organi collegiali del regolamento che ne sancisce la istituzione. SRI si riconosce nell'ambito della categoria tassonomica delle IR-N (rif. PNIR 2014-2020), in quanto costituisce una infrastruttura di ricerca che ha forti legami con il territorio e che presenta al contempo una rilevante proiezione internazionale, traendo vantaggio anche dal ruolo di riconosciuto rilievo e centralità che ha acquisito Sapienza nell'ambito delle più rilevanti reti di Università Europee, tra le quali è da menzionare la rete CIVIS, e dai molteplici accordi di collaborazione internazionali attivati con Università di elevata qualificazione in ambito europeo ed extraeuropeo.

L'infrastruttura ATOM sarà quindi pienamente integrata in SRI che si configura, proprio sulla base delle finalità proprie di ATOM, come infrastruttura di ricerca aperta e distribuita all'interno dell'Ateneo.
Sono inoltre in atto altri interventi ed azioni che nell'ambito di questa traiettoria tecnologica, mirano alla realizzazione su territorio regionale di una facility avanzata dotata delle principali tecniche di caratterizzazione analitico-strutturale di "soft matter" e di "hard matter".

SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

In questo contesto si è pertanto ritenuto di procedere all'inclusione della piattaforma di spettroscopia NMR, decisione che è parsa ancora più opportuna considerando, a posteriori, nuove esigenze di attività di ricerca in conseguenza del mutato quadro generale di riferimento per la ricerca di eccellenza dopo l'emergenza Covid-19.

Si ricorda che la spettroscopia a risonanza magnetica in alta risoluzione è una tecnica complementare e sinergica rispetto sia alla Microscopia Elettronica in Trasmissione che ad altre tecniche spettroscopiche; consente di contribuire alla determinazione della struttura di molecole organiche (anche in soluzione) e allo studio della fisica molecolare oltre che delle proprietà strutturali di cristalli e non.
La piattaforma NMR inserita in ATOM è in particolare in grado di eseguire analisi direttamente in liquido ed è stata specificatamente specializzata per lo studio di catene proteiche, di evidente interesse per le attività strategiche di ATOM nel settore life-science e di estrema attualità per le esigenze connesse alle problematiche emerse in era Covid.

La spettroscopia NMR ha una lunga storia nelle scienze chimiche essendo utilizzata come tecnica di elezione per la determinazione strutturale di composti di sintesi e naturali.
La spettroscopia NMR è una tecnica utilizzata da quasi 50 anni per identificare in maniera univoca la struttura di molecole organiche costituite essenzialmente da idrogeno, ossigeno e carbonio. Oggi, con i moderni spettrometri che danno la possibilità di osservare nuclei diversi da quelli dell'idrogeno e del carbonio e di analizzare composti sia in fase liquida che solida, possono essere ottenute molte altre informazioni. Fra l'altro l'NMR può essere utilizzato per lo studio di miscele di analiti, per studi di dinamica molecolare e per studi di meccanismi di reazione ed è uno strumento di estrema utilità per la determinazione delle strutture sia di molecole semplici che di molecole complesse come proteine ed acidi nucleici.
Questa tecnologia, già in uso nell'industria farmaceutica e richiesta dalle normative per la presentazione di registrazione dei farmaci, si è dimostrata molto efficace nell'analisi di miscele complesse come quelle di origine naturale, in quanto permette in un singolo spettro la caratterizzazione di tutti gli aspetti strutturali e la quantificazione simultanea di tutti i composti chimici presenti, senza un pre-trattamento selettivo del campione da analizzare.
La caratterizzazione dei metaboliti in una miscela complessa richiede l'applicazione di tecniche spettroscopiche avanzate, con sensibilità e selettività accettabili, che forniscano anche informazioni strutturali sui costituenti di interesse.
La Spettroscopia RMN presenta alcuni vantaggi, rispetto ai metodi basati su altre tecniche analitiche, anche più sensibili, che consistono in:
1) capacità di fornire, attraverso un singolo spettro, l'analisi dettagliata della composizione biomolecolare in maniera rapida e con una minima manipolazione del campione;
2) essere un metodo di analisi estremamente versatile, poiché è in grado di analizzare molecole in un intervallo molto ampio di pesi molecolari e con diverse caratteristiche chimico-fisiche;
3) essere quantitativa e riproducibile, poiché l'area dei segnali è direttamente proporzionale alla concentrazione molare dei metaboliti;
4) capacità di identificare molecole incognite, anche se presenti in miscele, e di caratterizzare le loro proprietà strutturali grazie alle proprietà multi-parametriche e multinucleari della spettroscopia RMN.

Poiché la sensibilità e la risoluzione della spettroscopia RMN dipendono dall'intensità di campo magnetico, per una migliore determinazione quali-quantitativa di composti a bassa concentrazione (< 10^{-6} M) è indispensabile utilizzare strumenti RMN operanti a campi magnetici superiori o uguali a 14.1 T. Tale esigenza è ancor più stringente per le applicazioni metabolomiche della spettroscopia RMN su miscele ottenute da sistemi biologici, che contengono centinaia di metaboliti di basso peso molecolare a bassa concentrazione. Le caratteristiche della spettroscopia RMN la rendono particolarmente adatta a fornire dati che possono essere utilizzabili in maniera diretta (cioè con una post-processing minimo) per la creazione di data-base, che possono essere analizzati con metodi di analisi statistica multivariata, allo scopo di evidenziare le informazioni latenti che accomunano classi di campioni oppure per l'assegnazione di campioni ignoti a classi di campioni già definite. Questo tipo di associazione tra dati spettroscopici e sistemi di analisi multivariata è il cuore operativo della disciplina che va sotto il nome di analisi metabolomica. È evidente che l'accuratezza e la correttezza dei dati ottenuti dall'ulteriore analisi multivariata dipendono inevitabilmente dalla robustezza dei dati analitici. Questa strategia sta alla base della costruzione di reti di laboratori nazionali ed internazionali per il confronto e la condivisione dei dati ottenuti sia su uomo ed animali, come pure su sistemi vegetali e microorganismi al fine di potersi integrare con altre informazioni, quali quelle osservazionali, biomolecolari e/o analitiche, per la formazione di banche dati.

La piattaforma NMR, inserita in ATOM e che si integrerà anche in SRI, si basa su uno spettrometro NMR ad alto campo 14.1 Tesla munita di probe multinucleare standard e di un cryo-probe per aumentare la sensibilità. Si tratta di strumentazione di ultimissima generazione, allo stato dell'arte, e permetterà di effettuare esperimenti anche in tripla risonanza protone, fluoro e carbonio.

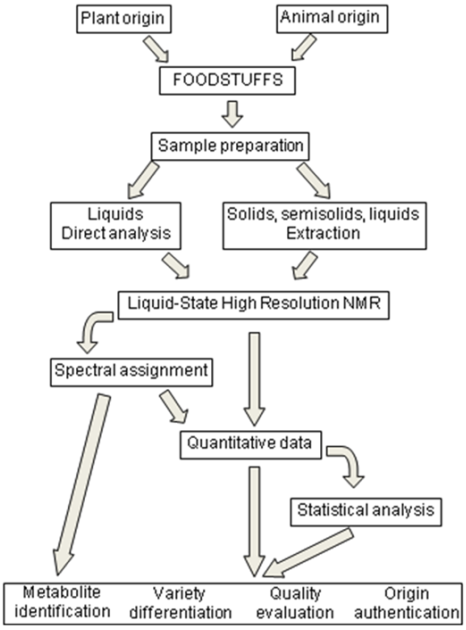
ATOM, grazie quindi alla presenza della piattaforma NMR, sarà anche parte integrante di METROFOOD (infrastructure for promoting metrology in food and nutrition, https://www.metrofood.eu/) la prima infrastruttura europea di ricerca nel campo "health & food" coordinata dall'Italia (ENEA) e costituita dai migliori Centri di 18 Paesi europei.

METROFOOD rappresenta un punto di riferimento di alto livello riguardo a frodi, qualità e sicurezza degli alimenti, garantendo imparzialità e terzietà. Essa tutela il consumatore e offre servizi di assoluta eccellenza alle industrie del settore attraverso la consulenza in fase di produzione, la standardizzazione dei metodi di analisi e la produzione di materiali di riferimento (una matrice molto simile a quella da analizzare, ma con contenuto certificato delle sostanze in esame, per apportare eventuali azioni correttive alle prestazioni del laboratorio).

In tale contesto, risulteranno fondamentali le analisi della composizione degli alimenti mediante Spettroscopia NMR ad alta risoluzione, dal momento che essa permette di:

1. ottenere informazioni quali-quantitative sui nutrienti/micronutrienti.
2. valutare l'effetto di pratiche agronomiche, biostimolazioni e concimi su alimenti vegetali
3. valutare l'influenza del processo tecnologico sul prodotto e quindi ottimizzare i processi di produzione e sanificazione
4. valutare la "shelf-life" del prodotto.
5. caratterizzare il prodotto sulla base dell'origine geografica e dell'influenza delle condizioni pedo-climatiche e ambientali.
6. caratterizzare un alimento in base alla varietà.
7. rilevare possibili frodi e adulterazioni;
8. verificare la standardizzazione di processi produttivi.

SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA



Infine, ma di evidente rilevanza strategica, l'inserimento formale della strumentazione NMR nell'ambito dell'infrastruttura ATOM consentirà il perfezionamento di un accordo di collaborazione con JEOL Italia finalizzato alla creazione di un Joint-Lab Sapienza-JEOL, unico nel suo genere e dedicato alle diverse attività sia didattiche che di ricerca che di terza missione come delineate nella lettera di intenti qui allegata.

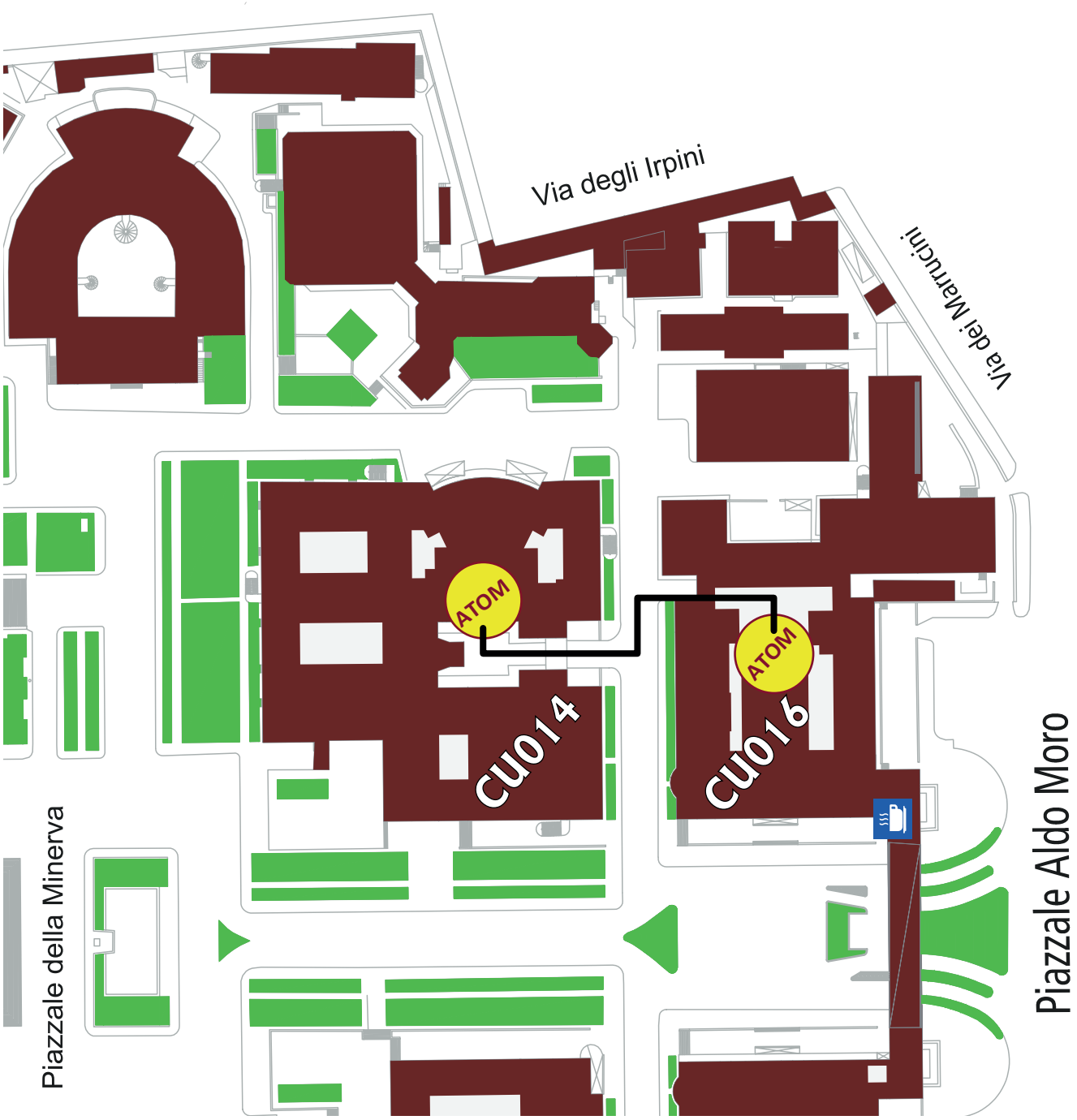
Sono pertanto evidenti i molteplici vantaggi derivanti dall'inserimento organico della strumentazione NMR nell'infrastruttura ATOM. La decisione dell'inserimento dello spettrometro NMR in ATOM è sostenuta tanto da motivazioni scientifiche e culturali, quanto da scelte generali di politica gestionale delle infrastrutture scientifiche di Ateneo, con lo scopo di portare ad una migliore utilizzazione delle grandi attrezzature del mondo accademico e soprattutto un più efficace trasferimento tecnologico nel territorio

Si rimane a disposizione per eventuali chiarimenti e approfondimenti che si dovessero rendere necessari.

Roma, 24 luglio 2020

Prof. Marco Rossi

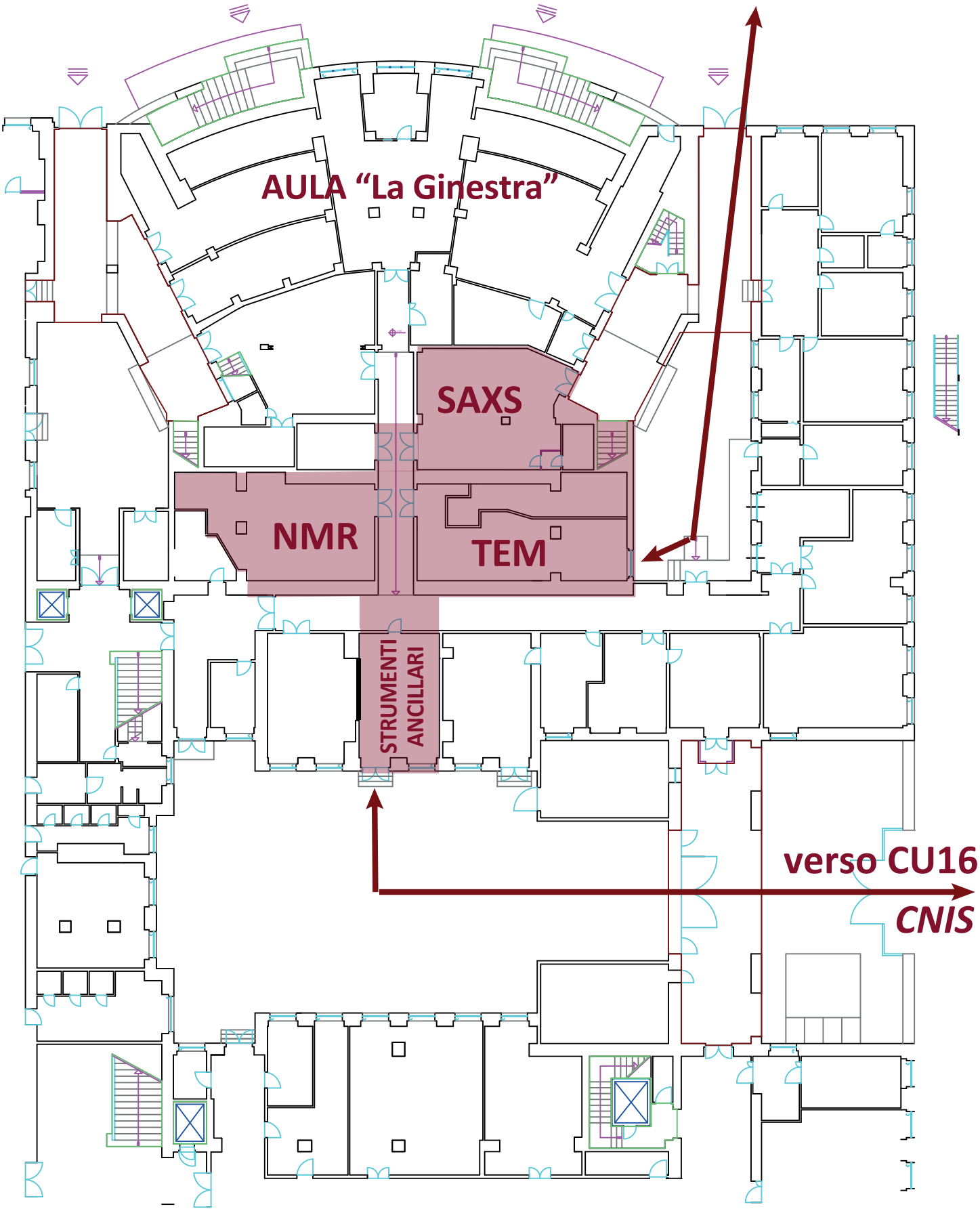
ATOM @ SAPIENZA



ATOM

Piano Terra Edificio CU 14

Edificio Cannizzaro (Chimica)



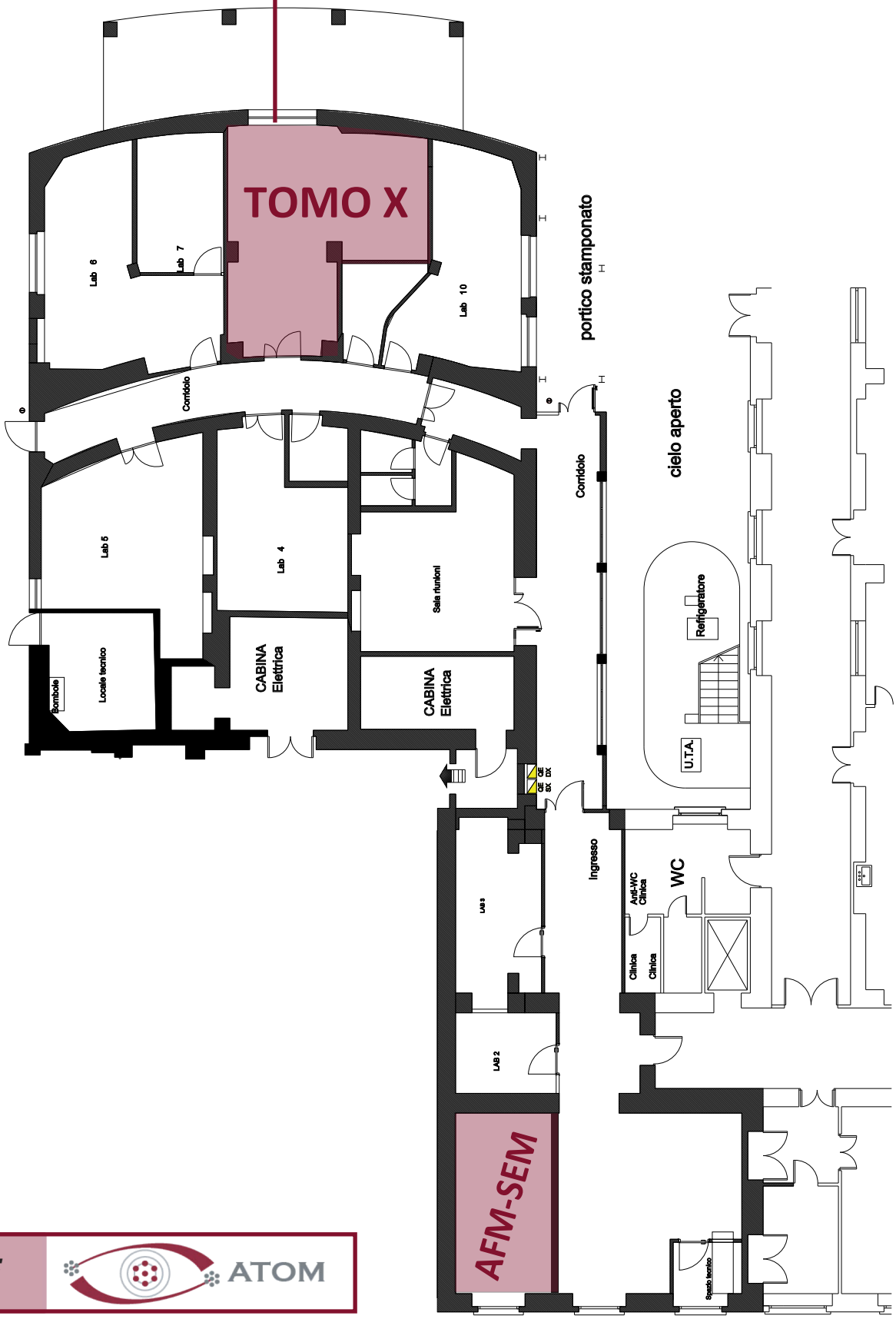
AREA ATOM

Piano Terra Edificio CU 16

CNIS (NanoLab)

VERSO CU14

Chimica



AREE ATOM

JEOL (ITALIA) S.p.A.
Via Ludovico il Moro, 6/A - 20080 Basiglio (MI) - Italy
Tel +39 029041431 Fax +39 0290414343
Email info@jeol.it PEC 04925250583ri@legalmail.it
Società Certificata ISO 9001 – 2015

Società con socio unico soggetta alla direzione e coordinamento da parte della JEOL Ltd.
Capitale Sociale Euro 300.000 i.v.
Registro Imprese 04925250583 Milano
Partita Iva IT 07436470152 C.F. 04925250583

Data 03/05/2020

Spett.le
UNIVERSITA' DI ROMA
"La Sapienza"
Piazzale Aldo Moro, 5
00185 ROMA

Ns. Rif. **LETTERA INTENTI JEOL-UNIVERSITA' SAPIENZA di ROMA** (DRAFT)

LETTERA DI INTENTI COLLABORAZIONE JEOL – UNIVERSITA' SAPIENZA di Roma

JEOL rappresenta l'unico fornitore di due importanti tecniche di analisi: Microscopia Elettronica e Risonanza Magnetica Nucleare (NMR). La combinazione di queste due tecniche e nello specifico la Microscopia Elettronica a Trasmissione con la NMR, in particolare allo stato solido, si sta affermando come una combinazione unica per risolvere problematiche scientifiche di ampio interesse, in particolar modo nel campo farmaceutico. Come dimostrato infatti da un recente articolo scientifico [Guzman-Alfonso et., Nature Communications, 2019] la combinazione di queste due tecniche, diversamente dalla classica cristallografia a raggi X, è in grado di elucidare la struttura, fino ad oggi ignota, di molteplici nano-cristalli. Considerato la presenza di uno strumento NMR a 600MHz presso il vostro dipartimento di Chimica, facilmente implementabile con la tecnica dello stato solido, e visto l'interesse mostrato per l'acquisto di un Microscopio Elettronico a Trasmissione, JEOL vorrebbe sottoporre alla Vostra attenzione la seguente lettera di intenti:

a) L'Università Sapienza rappresenterebbe un centro dimostrativo nazionale visitato da specialisti applicativi JEOL, i quali possono fornire supporto applicativo al personale tecnico di Sapienza;

b) JEOL (ITALIA) S.p.A. può fornire supporto all'organizzazione ed alla divulgazione di eventi (scuole, workshop, corsi formativi) che coinvolgano l'utilizzo di strumentazione JEOL installata nei vostri locali;

c) JEOL (ITALIA) S.p.A. si rende disponibile ad un accordo pluriennale di manutenzione della strumentazione installata presso Sapienza con particolari e favorevoli condizioni economiche;

d) JEOL (ITALIA) S.p.A. si rende disponibile a fornire parti di ricambio della strumentazione installata presso Sapienza con particolari e favorevoli condizioni economiche;

e) Sapienza in tutti gli articoli scientifici pubblicati, poster o presentazioni in congressi nazionali o internazionali, ove compaiano risultati ottenuti con strumentazioni JEOL, dovrà esplicitamente indicare marca e modello (es: JEOL XX-XX);

f) Sapienza provvederà, qualora necessario, all'adeguamento ottimale dei locali al fine di poter garantire il raggiungimento delle massime prestazioni della strumentazione JEOL installata;

Altresì JEOL è produttore di Microscopi Elettronici a Trasmissione che permettono l'osservazione di proteine allo stato nativo congelato (cryo-EM).
Tale tecnica, a seguito anche dell'ottenimento del Premio Nobel per la chimica nel 2017, si sta sempre più affermando nello studio dei sistemi biologici complessi, alla base dello sviluppo di molte malattie, al fine di comprenderne il funzionamento a livello molecolare e di facilitare quindi la scoperta di nuovi principi attivi.
A tal proposito, qualora Sapienza si dotasse nel prossimo futuro di tale strumentazione, valuterebbe positivamente la partnership per il finanziamento di una borsa di dottorato di ricerca specifica.

JEOL (ITALIA) SPA
L'Amministratore Delegato
Massimo Bettoni

ALLEGATO B

Open Infrastructure for
Advanced TOmography and Microscopies

ATOM

AGGIORNAMENTO PIANO DEI COSTI al 30 giugno 2021

A) Avanzamento dello stato dell'arte - Integrazione e up-dating sistemi di microscopia SEM e AFM

Il sistema integrato di piattaforme originariamente previsto in ATOM includeva, tra gli altri, un microscopio elettronico a scansione (SEM) e un microscopio a forza atomica (AFM) che potesse operare in vuoto. Il recente progresso tecnologico, sia per quanto riguarda la strumentazione disponibile che per quanto riguarda la combinazione di tipologie di materiali che è necessario studiare e gli ambienti di misura, ha suggerito tuttavia di riconsiderare la scelta iniziale. Infatti, lo sforzo delle industrie produttrici di strumentazione scientifica e del mondo della ricerca è sempre più mirato all'integrazione di tali piattaforme in un'ottica sempre più correlativa, che implica la capacità di caratterizzare mediante diverse tecniche di indagine la stessa area del campione per una totale integrazione delle informazioni ottenute mediante le diverse tecniche. Tale visione, peraltro, è quella alla base del progetto di infrastruttura ATOM. In quest'ottica, invece di due strumentazioni SEM e AFM in vuoto distinte, si è optato per una strumentazione unica, che integrasse le funzionalità di una piattaforma SEM e di una AFM. La strumentazione acquistata, infatti, consente di utilizzare non solo di utilizzare le piattaforme SEM e AFM indipendentemente, ma anche di utilizzare la piattaforma AFM all'interno della camera SEM, permettendo anche di operare in maniera rapida ed efficiente la tecnica di correlazione definita come CPEM ("Correlative Probe to Electron Microscopy"), che permette di mettere assieme la capacità risolutiva e di scansione veloce del microscopio elettronico, oltre che la possibilità di fare un'analisi elementale del campione tramite microanalisi, con l'altissima risoluzione sull'asse z tipica dell'AFM, nonché la possibilità di estrarre informazione sulle proprietà elettriche, magnetiche e meccaniche dell'area sotto esame. Infatti, generalmente, la correlazione tra queste due microscopie viene effettuata utilizzando dei portacampioni particolari premarcati, o creando di marker di riconoscimento tramite FIB (focused ion beam) vicino le aree d'interesse. È quindi chiaro che avere la possibilità di utilizzare entrambi gli strumenti in contemporanea comporti un notevole risparmio di tempo, rispetto alla metodologia alternativa poc'anzi indicata.

In questo modo, la piattaforma AFM può operare non solo in vuoto, come inizialmente previsto per l'infrastruttura ATOM, ma anche in modo correlativo con la strumentazione SEM. Si osservi che quest'ultima funzionalità era prevista nella visione ATOM ma avrebbe richiesto una risorsa aggiuntiva che avrebbe permesso di effettuare caratterizzazione correlate SEM e AFM in successione mentre l'apparato sperimentale combinato permette di effettuare tali caratterizzazioni correlate simultaneamente. Da ultimo, si deve anche osservare che la necessità di operare in vuoto è fondamentalmente legata alla necessità di eliminare gli artefatti causati dalla presenza di uno strato di liquido sulla superficie del campione e della punta AFM quanto operano in aria. Il vuoto, pur rappresentando per definizione la soluzione a tale problema, non permette l'analisi di determinati campioni (ad esempio cellule) senza un opportuno pre-trattamento. Una valida alternativa è quella di effettuare le caratterizzazioni AFM in atmosfera di gas inerte. Tale possibilità, non prevista generalmente nelle apparecchiature AFM da vuoto, è invece possibile con la strumentazione combinata SEM-AFM acquisita da ATOM ed è attualmente unica a livello nazionale. Si osservi, infine, che la strumentazione combinata SEM-AFM, offre ulteriori potenzialità di misure funzionali inizialmente non previste. Il costo inoltre è notevolmente inferiore a quanto inizialmente previsto come somma dei costi AFM+SEM. Anche le prestazioni del SEM sono notevolmente superiori rispetto a quelle inizialmente previste. L'unica limitazione significativa sono le dimensioni laterali degli oggetti osservabili mediante AFM, che ha fatto ritenere opportuno l'acquisto, anche grazie al budget aggiuntivo

reso disponibile da Sapienza, di un secondo sistema AFM, di ultimissima generazione e anch'esso allo stato dell'arte (AFM Cypher di Asylum Oxford).

Nella sua previsione iniziale, l'infrastruttura ATOM prevedeva inoltre la presenza di una piattaforma di microscopia acustica che permettesse una risoluzione spaziale nella direzione verticale di 50 nm. Le caratteristiche intrinseche di tale tipo di strumentazione, tuttavia, implicano una risoluzione laterale minore di 1 micron, che pur essendo adatta per campioni quali film sottili, è tuttavia fortemente limitante nel caso di nanomateriali e nanostrutture le cui dimensioni laterali sono generalmente di un ordine di grandezza inferiori. Grazie ad un ulteriore cofinanziamento interno messo a disposizione da Sapienza, in data successiva all'approvazione di ATOM, nonché al risparmio di budget conseguito con la scelta della piattaforma di microscopia correlativa AFM-SEM, in luogo di due distinti strumentazioni, si è reso possibile l'acquisto di strumentazione, non prevista inizialmente, costituita da una piattaforma AFM allo stato dell'arte che permette – tra le altre cose – di ottenere mappe viscoelastiche quantitative con risoluzione laterale analoga a quella AFM standard (nanometri o decine di nanometri) utilizzando la tecnica di microscopia acustica a forza atomica. Essendo le mappe sensibili alla variazione delle proprietà elastiche del materiale nel volume investigato, analogamente a quanto accade nella microscopia acustica, tale tecnica permette di visualizzare la presenza di non omogeneità elastiche sub-superficiali in volumi sotto la superficie che vanno da alcune decine a poche centinaia di nanometri. Peraltro, tale tecnica non necessità di un mezzo per accoppiare acusticamente la sonda e il campione, permettendo quindi la caratterizzazione di quei materiali la cui superficie non può essere "sporcata" in vista di successive caratterizzazioni o utilizzi. La mappatura di proprietà meccaniche vicino alla superficie permette di realizzare di fatto tomografie meccaniche in un range di materiali che vanno da materiali morbidi quali polimeri o campioni biologici a materiali duri come coating o cristalli.

La decisione di acquisire la strumentazione AFM con annessa modalità di microscopia acustica a forza atomica rende chiaramente non necessario procedere all'acquisto della piattaforma di microscopia acustica che risulterebbe sostanzialmente ridondante in considerazione della tipologia di materiale di maggiore interesse per ATOM.

B) Conseguenze del Covid19 - Adattamento delle piattaforme strumentali ATOM per applicazioni in life-science - Integrazione e up-dating sistemi di microscopia elettronica a trasmissione per analisi criogeniche

La situazione che si è determinata in conseguenza del Covid, nonché il tempo trascorso dal momento della presentazione del progetto, ha reso assolutamente opportuno e necessario rafforzare e completare la strumentazione di supporto per la microscopia e tomografia elettronica in condizioni criogeniche. Di questo si è tenuto opportunamente conto nel modulare la configurazione del TEM effettivamente acquisito e della relativa strumentazione ancillare, fondamentale per garantire un ampio utilizzo in diversi settori applicativi, con una particolare attenzione verso le applicazioni in ambito *life science*.

In questo contesto si è ritenuto opportuno sostituire l'acquisto di un bioprinter con caratteristiche non più all'avanguardia con una facility destinata, anziché alla costruzione di simulacri biologici (come inizialmente previsto in ATOM), alla realizzazione di sistemi biologici che rendono possibile lo studio strutturale di macromolecole altrimenti non osservabili direttamente.

La struttura delle macromolecole è infatti un'informazione cruciale per la medicina di precisione, la biotecnologia e la progettazione di farmaci. La struttura dei bersagli molecolari permette di comprendere i meccanismi della fisiologia e della patologia cellulare. Organizzazioni accademiche e a scopo di lucro stanno competendo per determinare la struttura di tutte le proteine Covid-19 e dei loro complessi con proteine dell'ospite, inclusi gli anticorpi, per progettare nuovi farmaci e strategie terapeutiche.
La Sapienza è all'avanguardia nella biologia strutturale e l'infrastruttura ATOM sta ponendo le basi per implementare la crio-microscopia elettronica a trasmissione (Premio Nobel per la Chimica nel 2017) in cui l'Italia è in ritardo rispetto agli altri paesi scientificamente avanzati, quali ad esempio il Regno Unito (dove sono già presenti più di 20 sistemi Crio-TEM), l'Europa continentale e gli Stati Uniti (10 Crio-TEM presenti nella sola area di New York).
L'approccio che si vuole seguire è quello della biologia strutturale integrata che combina la cristallografia, già presente ad alto livello in Sapienza con la crio-microscopia elettronica. Questa sinergia è fondamentale per determinare le strutture di macromolecole biologiche a seconda delle loro caratteristiche ed a livelli diversi di risoluzione. Mediante la cristallografia si ottiene il dettaglio delle interazioni atomiche di un sotto-complesso mentre la cryo-EM, visualizzando la macrostruttura, contestualizza le interazioni fini osservate nel cristallo.
Il robot di cristallizzazione Oyx-4 (Douglas Instruments, UK) permette di effettuare prove di cristallizzazione ad alto-throughput utilizzando quantità ridotte (1-2 mg) di proteine purificate, è una strumentazione unica a sapienza e nel Lazio e verrà utilizzata per fornire servizi a SME nel campo della biotecnologia avanzata, anche in progetti relativi alla ricerca sul SARS-CoV-2.
In particolare, sarà dotato di un modulo per la cristallizzazione in lipidic cubic phase, permettendo di studiare per la prima volta proteine di membrana e per la metodologia dell'inseminazione cristallina, aumentando notevolmente la probabilità di ottenere cristalli.
In conclusione, l'apparecchiatura Oryx-4, robot di cristallizzazione per macromolecole consentirà un approccio integrato alla biologia strutturale potenziando in modo strategico la parte di microscopia elettronica ed amplierà la gamma di servizi tecnologicamente avanzati che ATOM potrà offrire alle imprese in ambito regionale, nazionale ed europeo nel campo delle biotecnologie biomediche e della medicina di precisione.

In definitiva la presenza nella infrastruttura ATOM, nella sua configurazione finale, delle seguenti tre piattaforme:

- sistema di microscopia correlativa AFM-SEM Tescan-Vega+Litescope Nenovision
- piattaforma Cypher Asylum Oxford (o analoga – in fase di acquisto)
- robot di cristallizzazione

in luogo di quanto inizialmente previsto:

1) AAA_5 AFM High Vacuum. Complete Atomic Force Microscope system for small size samples in high vacuum
   AAA_6 SEM –Microscopio a scansione ottica Q250 The core instrument (Q250)
2) AAA_11 Acoustic Microscope System easySAM Professional
   AAA_7 Frame grabber, camera link cable e support package+obiettivo S60X-DDSPA
   AAA_8 Modulatori Acusto-ottici, 2-axis defector à 532 nm+DDSPA
3) AAA_10 BIOPRINTER 3D

rappresenta un evidente incremento delle capacità di ATOM di offrire servizi di nanocaratterizzazione allo stato dell'arte, rispetto a quanto previsto inizialmente in fase progettuale. Si sottolinea come le attrezzatture indicate, in termini di specifiche tecnologiche e di capacità operative, non fossero disponibili al momento della presentazione del progetto ATOM. L'acquisto della strumentazione così come ipotizzata al momento della predisposizione del progetto (2017) avrebbe rappresentato una diminuita capacità competitiva dell'infrastruttura ATOM in quanto quelle strumentazioni, in ragione dell'impetuoso sviluppo tecnologico intervenuto in questi ultimi anni nel settore delle strumentazioni per nanocaratterizzazione e per nanometrologia, non sono più oggi (2021) allo stato dell'arte. La variazione fatta, comunque non sostanziale in termini di regolamento del bando, garantisce la disponibilità in ATOM di strumentazione on-the-edge allo stato dell'arte, in grado sia di effettuare sofisticate analisi in un contesto di deep technology che di offrire servizi tecnologici di punta agli utenti esterni di ATOM, nei vari settori di interesse e di riferimento per l'infrastruttura stessa.

In questo contesto, è stato inserito nel progetto ATOM anche la strumentazione NMR, di cui si è già fornita in precedenza, nel rendiconto del SAL 3 e successivamente nel SAL 5, la necessaria documentazione finanziaria e i dettagli esplicativi delle ragioni del suo inserimento. Si conferma e ribadisce che l'incremento del valore complessivo del progetto rimarrà a totale carico di Sapienza, che lo ha considerato sostenibile in virtù dei fortissimi vantaggi competitivi e strategici che ne deriveranno.

La possibilità di avere all'interno della stessa infrastruttura sia capacità allo stato dell'arte di Microscopia Elettronica a Trasmissione che di NMR, nonché attrezzatura per la preparazione sia in termini di cristallizzazione che criogenici di campioni per entrambi le tecniche, rende l'insieme del cluster di strumentazione e delle capacità di caratterizzazione multiscala e multitecnica unico a livello nazionale. Ciò consentirà a Sapienza di essere pienamente competitiva rispetto ai più importanti e prestigiosi atenei e centri di ricerca a livello internazionale, anche in termini di trasferimento tecnologico, nei diversi ambiti delle Key Enabling Technologies (KETs) e Life Sciences in cui le capacità di caratterizzazione multiscala e multitecnica di materiali, sistemi e dispositivi rappresentano un imprescindibile necessità di supporto a tutta la catena di valore.