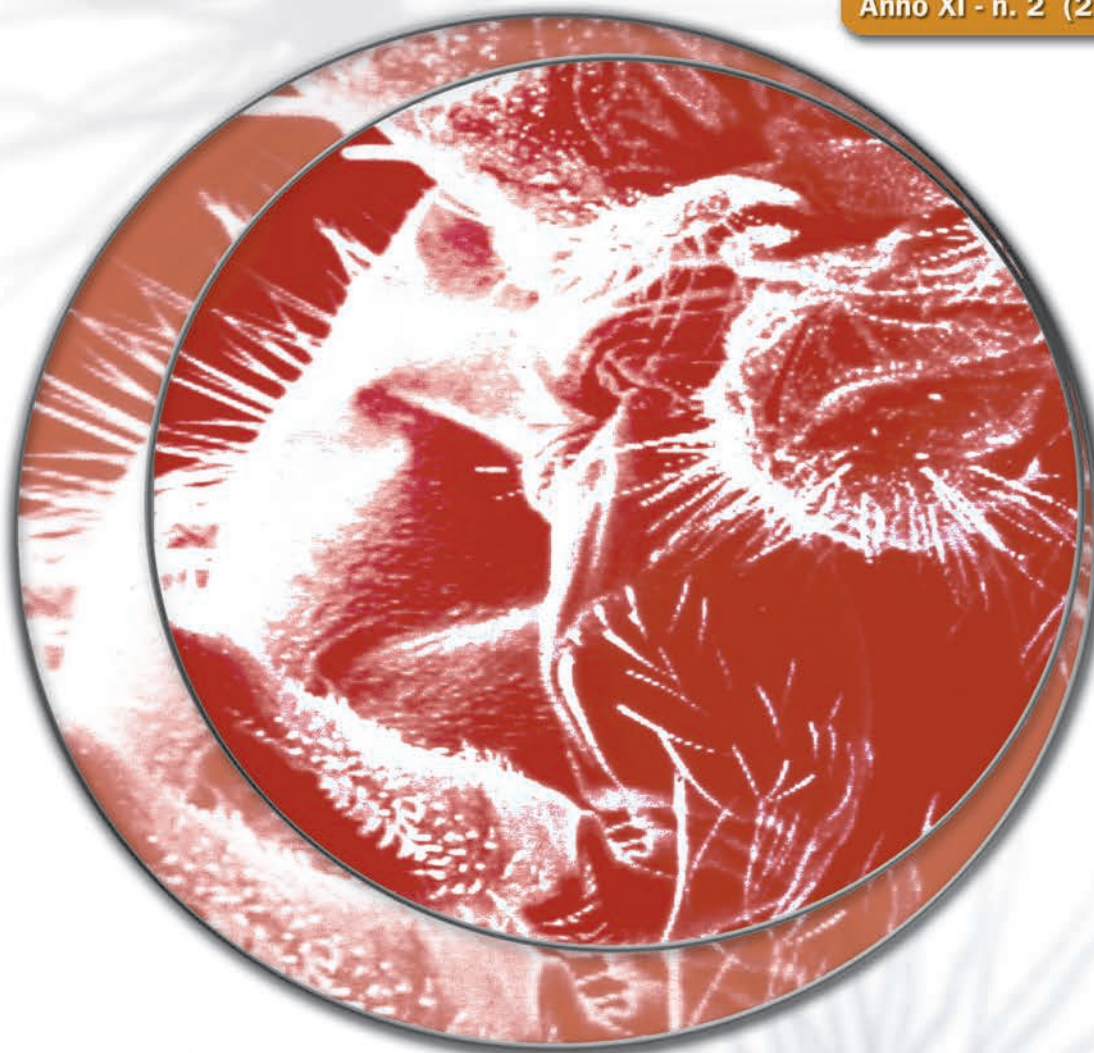


microscopie

Anno XI - n. 2 (22) - Settembre 2014



Attività SISM 2014

Centro Interdipartimentale Grandi Strumenti

Università di Modena e Reggio Emilia

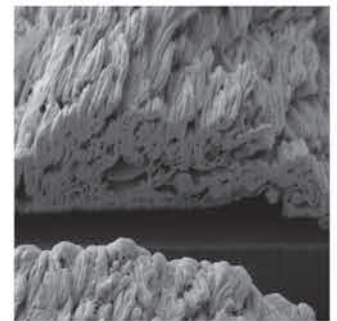
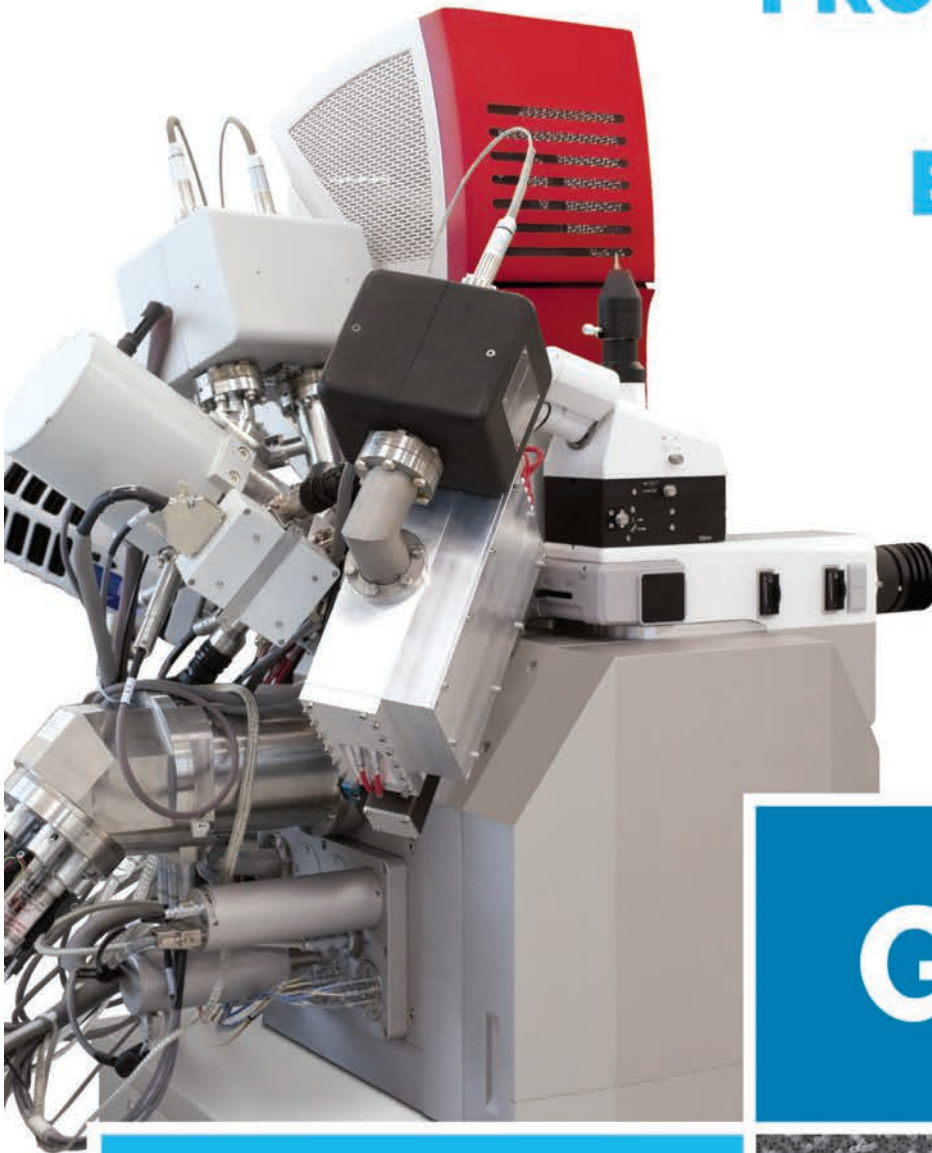
Microscopist's Digest



Società Italiana
Scienze Microscopiche

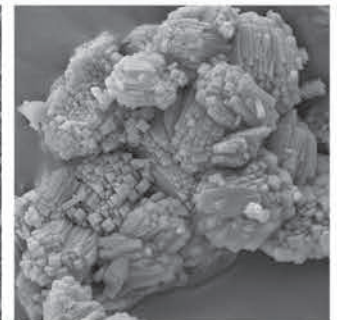
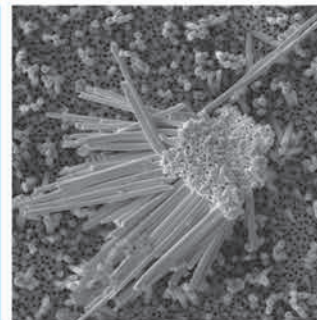
www.sism.it

**GREATER
PRODUCTIVITY
WITH
EXCELLENT
RESULTS**



GAIA3

**Includes a wide range
of leading technologies
in a FE-SEM/FIB system**

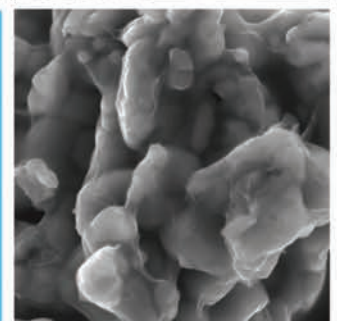


TESCAN ORSAY HOLDING, a.s.
Libušina tř. 21
623 00 Brno - Kohoutovice
Czech Republic
Tel: +420 530 353 411
Email: sales@tescan.cz



tescan.com

**Excellent
resolution
at low beam
energies**



SOCIETÀ ITALIANA SCIENZE MICROSCOPICHE

Presidente

ELISABETTA FALCIERI

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

Vicepresidenti

ROBERTO BALBONI

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

ANDREA TOMBESI

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

Direttore responsabile del bollettino

MANUELA MALATESTA

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

Consiglieri

CRISTIANO ALBONETTI

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

REGINA CIANCIO

IOM-CNR TASC

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

STEFANIA MESCHINI

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

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

Direttore Responsabile

Manuela Malatesta

Comitato di Redazione

Consiglio Direttivo della Società Italiana Scienze Microscopiche

Editore

PAGEPress s.r.l.

via Giuseppe Belli 7
27100 Pavia, Italy
Tel. +39.0382.1751762 - Fax: +39.0382.1750481.
info@pagepress.org - www.pagepress.org

Stampa

Press Up s.r.l.

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

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

In copertina: *Dettaglio di testa di mosca al SEM.*
Immagine da archivi CIGS.

ndice

Editoriale del Presidente

3

Attività SISM

Verbale del CD di febbraio 2014

5

Bilancio 2013

8

Attività promosse dalla SISM nel 2014

10

Resoconto della Scuola SISM di Catania

17

Notizie

Eventi nazionali

19

Eventi internazionali

21

Laboratori di microscopia in Italia

Microscopia al CIGS

26

M. Tonelli, P.L. Fabbri

Microscopist's Digest

30

Contributi scientifici

Plantaris muscle adaptation to atrophy generated by disuse: an ultrastructural study

31

F.M. Giordano, E. Vizziello, J.G. Tidball, E. Falcieri, D. Curzi

Adhesive properties of *Aspergillus fumigatus* biofilms probed by atomic
force microscopy and effects of alginate lyase enzyme

37

*A. Maiorana, F. Bugli, M. Papi, R. Torelli, G. Maulucci, B. Posteraro, M. Chiarpotto,
P. Posteraro, F. Paroni Sterbin, V. Palmieri, G. Ciasca, M. Sanguinetti, M. De Spirito*

ISCRIZIONE

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

QUOTA SOCIALE

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

a) mediante carta di credito dal sito www.sism.it

b) mediante invio di un assegno bancario non trasferibile intestato a S.I.S.M.

l'assegno deve essere spedito alla Prof.ssa Elisabetta Falcieri, Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente (DiSTeVA), Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo", Campus Scientifico "E. Mattei", via Ca' Le Suore 2, 61029 Urbino (PU)

c) mediante bonifico bancario intestato a S.I.S.M.
codice IBAN IT4300200802455000103039142
Presso Unicredit, Agenzia 3305 "Bologna Dante"
Causale: "NOME del SOCIO"

SEDE SOCIALE

Prof.ssa Elisabetta Falcieri

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

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

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

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

Titolo, Nome e Cognome

Data di nascita

Titolo di studio e qualifica

Tipo di istituzione

- ☐ Università ☐ CNR ☐ Industria ☐ Commerciale ☐ Altro ente pubblico di ricerca

Istituto/Ente/Ditta

Dipartimento

Indirizzo

Città

CAP

Telefono

Fax

E-mail

Indirizzo cui inviare la corrispondenza, se diverso dal precedente

Settore di attività

- ☐ Biomedico ☐ Scienza dei materiali ☐ Commerciale ☐ Altro (specificare) _____

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

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

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

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

Data _____

Firma _____

Inviare via fax a:

Prof.ssa Elisabetta Falcieri

Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente (DiSTeVA), Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"
Campus Scientifico "E. Mattei", via Ca' Le Suore 2, 61029 Urbino (PU)
Tel. +39.0722.304284 Fax: +39.0722.304244

Editoriale

Cari Amici e Colleghi,

Dal 26 al 29 maggio scorso si è svolta a Catania la prima “Scuola Internazionale sulla Spettroscopia a Perdita di Energia degli Elettroni, EELS” (Electron Energy Loss Spectroscopy) presso la sede dell’IMM-CNR. La scuola, coordinata da Giuseppe Nicotra, ha visto la partecipazione di 12 studenti di diverse nazionalità europee, impegnati in un corso intensivo di 4 giorni, con lezioni in aula, laboratori informatici ed esercitazioni al microscopio. Tra i docenti erano presenti i maggiori esperti di spettroscopia EELS, tra cui alcuni relatori inglesi e americani. Tale evento ha riscosso un notevole successo e, probabilmente, sarà ripetuto in futuro. Il suo carattere internazionale rappresenta inoltre un elemento di vivacità e di apertura della nostra Società.

Dal 7 al 12 settembre siamo stati impegnati al IMC14, “18th International Microscopy Congress”, organizzato da Pavel Hozak, nel Congress Center di Praga. Il congresso ha raccolto 3200 partecipanti, provenienti da tutto il mondo e appartenenti a 38 società di microscopia. Le presentazioni, organizzate in 12 sessioni parallele e in numerosissimi poster distribuiti in 2 piani della struttura, si riferivano agli ambiti Instrumentation and Techniques, Materials Science, Interdisciplinary and Life Sciences. Ogni mattina nell’Auditorium aveva luogo una sessione plenaria, con interventi di altissimo livello scientifico. Tra gli italiani erano presenti molti giovani, in parte con i contributi di partecipazione SISM e in parte con borse EMS, alcuni vincitori di entrambi. Nella vastissima e ricca mostra strumentale erano esposti numerosi strumenti dedicati alle tecnologie microscopiche più avanzate, spesso utilizzati in corsi tematici, che hanno visto la presenza di numerosi giovani.

Nel corso del congresso Roberto Balboni ed io siamo stati coinvolti nelle riunioni dei Comitati Scientifici Internazionali.

In quello dei rappresentanti delle Società coinvolte nell’organizzazione del prossimo “Multinational Congress”, siamo intervenuti su alcuni aspetti organizzativi del MCM15, che sarà organizzato a Eger (HU) da Agnes Kittel dal 23 al 28 agosto 2015 (www.mcm2015.com). Ci riproponiamo - e sarà oggetto di discussione nella riunione del prossimo nostro Consiglio Direttivo - di bandire, anche in questo caso, un ragionevole numero di borse di partecipazione, che consentano ai nostri giovani una continua formazione internazionale.

All’assemblea EMS sono state discusse le varie forme di supporto che la European Microscopy Society offre agli eventi in corso di organizzazione ed è stato presentato il prossimo congresso europeo, cioè il “16th European Microscopy Congress”, che verrà organizzato presso il Convention Center di Lione dal 28 agosto al 2 settembre 2016 (www.emc2016.fr).

All’Assemblea IFSM si è discusso sulle proposte presentate, con molta cura e molta aspettativa, dalla Cina, dalla Corea e dall’Australia per l’organizzazione del prossimo congresso internazionale: dopo votazione tra tutte le società, la scelta è andata all’Australia e, quindi, il prossimo IMC19 sarà a Sydney dal 9 al 13 settembre 2018.

Tra le attività italiane, si è concluso da pochi giorni a Modena, con l’organizzazione di Andrea Tombesi, il terzo “Corso di Microscopia Confocale, TEM e STEM: basi teoriche e pratiche”. È stato raggiunto il numero degli iscritti previsti e i lavori si sono svolti con soddisfazione di tutti, sia relativamente alle lezioni frontali che alle esercitazioni strumentali.

Editoriale

In un prossimo futuro avranno luogo il workshop teorico-pratico “La microscopia confocale nello studio dei mitocondri”, Urbino, 23-24 ottobre p.v. e il workshop “La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali”, Urbino 6-7 novembre p.v.

Successivamente, presso i laboratori CNR-IMM di Bologna, Roberto Balboni coordinerà la quinta edizione della “Scuola teorico-pratica di Microscopia Elettronica in Trasmissione in Scienza dei Materiali”, che si svolgerà dal 17 al 21 novembre 2014, e dal 2 al 6 febbraio 2015.

Come vedete, è stato un anno ricco di attività e di prospettive che dimostrano, nonostante le difficoltà, la vivacità della nostra Società. Dobbiamo essere grati di questo a tutti coloro che con fatica si sono messi in gioco e a coloro che lo faranno... qualunque proposta è benvenuta e noi del Consiglio Direttivo siamo a disposizione per suggerimenti e sostegno. La SISM, con l'aiuto prezioso di alcuni sponsor abituali, con il contributo di altri in occasione dei singoli eventi e con le quote dei Soci può e deve continuare a fare cultura, ricerca e supporto ai giovani, i veri importanti nostri obiettivi.

Buon lavoro a tutti, a presto

Elisabetta Falcieri

Consiglio direttivo della SISM

Verbale della riunione del 4 febbraio 2014*Dipartimento di Scienze Anatomiche Umane, Via Irnerio 48, Bologna*

Il giorno 4 febbraio 2014 alle ore 10,30 presso il Dipartimento di Scienze Biomediche/Istituto di Anatomia Umana, in Via Irnerio 48, Bologna si è svolta una riunione del Consiglio Direttivo SISM, per discutere il seguente OdG:

1. Comunicazioni del Presidente
2. Approvazione del verbale della riunione precedente
3. Risultati delle elezioni e rinnovo dei componenti del Consiglio Direttivo 2014-2015
4. Nomine dei Vicepresidenti e del Direttore Responsabile di "Microscopie"
5. Nomina del Responsabile del sito web della Società
6. Organizzazione gestione amministrativa della Società
7. Attività SISM 2014
8. Bando Premio SISM 2014
9. Vincitori dei Premi Carla Milanese 2013
10. Approvazione ammissione nuovi Soci.
11. Varie ed eventuali.

Sono presenti: *Cristiano Albonetti, Roberto Balboni, Regina Ciano, Elisabetta Falcieri, Manuela Malatesta, Stefania Meschini e Andrea Tombesi.*

Assenti giustificati: nessuno.

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

1. Il Presidente E. Falcieri riferisce circa i cambiamenti amministrativo-gestionali della società a seguito dell'insediamento del nuovo Direttivo e del nuovo Presidente. La sede sociale della società è ora ad Urbino e Unicredit è la banca di riferimento, presso cui sono in corso l'attivazione del nuovo conto corrente e le procedure per i pagamenti con carta di credito.
2. Il verbale della riunione del Consiglio Direttivo del 28 agosto 2013 viene approvato all'unanimità.
3. Si prende atto del rinnovo dei componenti del Consiglio Direttivo, già notificato attraverso la diffusione del verbale della commissione elettorale, nelle persone del nuovo Presidente Elisabetta Falcieri e dei consiglieri Roberto Balboni, Andrea Tombesi, Manuela Malatesta, Regina Ciano e Stefania Meschini.
4. Il Consiglio Direttivo delibera all'unanimità le nomine di Roberto Balboni e Andrea Tombesi a Vicepresidenti della Società. Conferma inoltre la nomina di Manuela Malatesta quale Direttore della rivista "Microscopie".
5. Viene riconfermato all'unanimità il ruolo di Roberto Balboni quale Responsabile del sito web. L'architettura del sito continuerà ad essere gestita da Cosimo Elefante.

6. Il Presidente comunica che, analogamente agli anni precedenti, la gestione amministrativa della società sarà coadiuvata da un commercialista, scelto a Bologna. Sara Salucci, dell'Università di Urbino, sarà la figura di supporto organizzativo all'interno della società. Si discute collegialmente dell'eccessiva complessità delle procedure di iscrizione alle scuole e ai workshop organizzati dalla SISM. Al fine di snellire tale procedure, si decide all'unanimità di introdurre come unico canale la procedura online sul sito della SISM, attraverso il quale gli interessati possano compilare sia la scheda di iscrizione che procedere eventualmente al pagamento dell'iscrizione.

7. Si approva all'unanimità la proposta di Giuseppe Nicotra dell'IMM di Catania di organizzare una scuola EELS dal 26 al 28 maggio 2014, in collaborazione con la SISM (già resa nota al Direttivo a mezzo mail dal presidente E. Falcieri). Roberto Balboni farà parte del Comitato Scientifico. Per l'anno 2014 (e 2015) vengono altresì proposti i seguenti eventi:
 - Scuola TEM in Scienza dei Materiali, organizzata a Bologna dal gruppo di Microscopia Elettronica del CNR-IMM (resp. R. Balboni), che si svolgerà nelle due settimane previste (la parte teorica in Novembre 2014 e quella pratica in Febbraio 2015).
 - Scuola congiunta di Microscopia Confocale-STEM presso il CIGS dell'Università di Modena, a cura di Andrea Tombesi, fine settembre/inizi ottobre 2014.
 - Workshop teorico-pratico su "La microscopia confocale nello studio dei mitocondri" seconda metà di ottobre 2014, Università di Urbino (resp. E. Falcieri)
 - Workshop su "La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali" novembre 2014, Università di Urbino. Il Presidente richiede suggerimenti ed eventuali nominativi da contattare.
 - Workshop su "Contributi delle microscopie allo studio delle colture cellulari", in collaborazione con AICC e a cura di S. Meschini, aprile 2015, ISS, Roma.
 - Workshop congiunto di microscopia elettronica e microscopia mediante luce di Sincrotrone a cura di R. Ciancio presso Area Science Park di Trieste, seconda metà 2015.
 E si propone il patrocinio ai seguenti eventi:
 - Celebrazione del quarantennale del CIGS di Modena, all'interno del quale si collocherà un intervento del Presidente della SISM (proposto da A. Tombesi)
 - Nanomedicine 2014, organizzato, presso l'Università di Viterbo, dalla Associazione Italiana per le Colture Cellulari (proposto da S. Meschini).

8. Il Presidente E. Falcieri rende nota la difficoltà di avere candidature per l'attribuzione del premio SISM. Si decide all'unanimità di bandire le future edizioni, a partire dal 2015, con cadenza biennale e con alternanza del settore di pertinenza iniziando dal settore "scienze dei materiali". L'ammontare previsto per l'edizione 2014 del premio (2000 euro, suddivisi tra i due settori) verrà invece utilizzato per bandire n. 4 contributi SISM (di 500 euro ciascuno, 2 per il "settore biomedico" e 2 per il "settore scienze dei materiali") per la partecipazione al prossimo congresso IMC2014 a Praga. Si stabiliscono collegialmente i criteri di selezione, sulla base dei quali verrà predisposto il bando.

9. Valutate le domande ed i curricula pervenuti, viene nominato Luca Ortolani vincitore del Premio Carla Milanese 2013 per il settore Scienze dei Materiali.

10. Il Consiglio Direttivo approva l'ammissione dei seguenti soci:
 - Acquaviva Stefania
 - Barbieri Elena
 - Boarino Luca
 - Calliari Irene
 - Cante Maria Teresa
 - Caporizzi Vita Donatella
 - Carangi Rosa
 - Castronovo Matteo
 - Celegato Federica
 - Cervasio Mariarosaria
 - Ciaccio Marinella
 - Coisson Marco
 - Colone Marisa

De Vincenti Francesco
 Fortuna Sara
 Galimberti Valentina
 Gentili Denis
 Giglio Anita
 Graziosi Patrizio
 Guido Stefano
 Iovino Maria Rosa
 La Torre Alessandro
 Leonardi Francesca
 Mardegan Marco
 Mariani Luca
 Morgante Emanuela
 Mulone Angelo
 Muolo Mariagrazia
 Palmisano Maurizio
 Panzeri Maria Carla
 Quiroga Santiago David
 Romita Cristina
 Taronna Angelo Pio
 Tranchida Davide
 Vallino Marta

11. Il Presidente riferisce circa il perdurare del problema di raccolta delle quote sociali. Si suggerisce pertanto di cominciare a sfoltire l'elenco degli iscritti alla società considerando decaduti i soci dopo un determinato periodo di morosità. Roberto Balboni si propone di individuare un criterio di esclusione dei soci morosi che sia in linea con quanto stabilito dallo Statuto della Società.

Al fine di promuovere una maggiore interconnessione della SISM e le realtà di microscopia operanti sul territorio nazionale, viene approvata all'unanimità la proposta di Roberto Balboni di inviare, mediante posta elettronica, una survey ai laboratori di microscopia nazionali per conoscere le loro potenzialità e campi d'interesse scientifico. Il Presidente invita inoltre a tenere alta l'attenzione nei confronti di eventi inerenti il tema della microscopia organizzati da enti/istituti attualmente non in contatto con la società ma potenzialmente interessati a stabilire rapporti con essa.

Si decide all'unanimità di valutare le modalità per effettuare le elezioni del prossimo direttivo online sul sito della società.

Si delibera che una copia dello Statuto venga resa disponibile online sul sito della società.

La scuola di microscopia a sonda organizzata da Cristiano Albonetti ha riscosso un notevole successo, portando numerosi nuovi iscritti nella società. Data la partecipazione alla scuola di relatori di fama internazionale, Albonetti propone di pubblicare su Microscopie i Proceedings della Scuola: Manuela Malatesta valuterà le modalità di inserirli all'interno di uno dei numeri di Microscopie del 2014, compatibilmente con le esigenze tipografiche della rivista.

Si valuta anche la possibilità, in linea con quanto richiesto dal prof. Diaspro (Genova) per il suo giornale MRT, di attivare su Microscopie una rubrica di recensione di articoli di nostro interesse.

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

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

Bilancio esercizio 2013

Data di stampa: 24/09/2014

S.I.S.M. Soc. Italiana Scienze Microscop VIA ANGUILLARESE 301-ENEA CASA 00061 ANGUILLARA SABAZIA

Pag.: 1
RM

SITUAZIONE PATRIMONIALE 2013 dal 01/01/2013 al 31/12/2013

ATTIVITA'		PASSIVITA'	
04/01/003 - Banca Nazionale del Lavoro	11.833,32	04/02/008 - Erario c/IVA	108,00
04/01/012 - Carisbo - San Paolo IMI	17.973,48	06/00/000 - DEBITI V/FORNITORI	11,97
04/05/006 - Deposito cauzionale	79,53	07/02/001 - Creditori diversi	4.908,62
07/02/008 - Erario c/ires	4.347,25	07/03/004 - Ritenute d'acconto	798,00
07/02/C12 - Erario c/irap	294,35	07/05/001 - Ratei passivi	7.298,96
07/02/C21 - Erario credito su rit.fisc c/c	10,17	09/01/001 - Capitale sociale	298,43
		09/03/002 - Utile d'esercizi precedenti	27.451,00
TOTALE ATTIVITA'	34.538,10	TOTALE PASSIVITA'	40.874,98
PERDITA D'ESERCIZIO	6.336,88		
TOTALE A PAREGGIO	40.874,98	TOTALE A PAREGGIO	40.874,98

Data di stampa: 24/09/2014

S.I.S.M. Soc. Italiana Scienze Microscop VIA ANGUILLARESE 301-ENEA CASA 00061 ANGUILLARA SABAZIA

Pag.: 2
RM

SITUAZIONE ECONOMICA 2013 dal 01/01/2013 al 31/12/2013

PERDITE		PROFITTI	
01/05/023 - Compenso prestaz. occasionale	2.500,00	02/51/051 - Compensi promozionali	16.813,97
01/07/008 - Spese di pulizia	150,00	02/51/052 - Quote corsi e convegni	11.957,95
01/07/010 - Iscrizioni annuali	1.560,00	02/51/053 - Quote associative	3.195,00
01/09/001 - Compensi a terzi	3.990,00	02/52/001 - Interessi attivi di C/C	51,06
01/09/014 - Rimb. spese collaboratori	4.916,45		
01/09/020 - Premi S.I.S.M. per meriti	5.900,00		
01/11/002 - Arrotondamenti passivi	1,68		
01/12/001 - Interessi passivi bancari	165,00		
01/12/004 - Inter.0,40% ind. dilaz.imposte	85,78		
01/12/009 - Interessi ind.ravved.operoso	7,76		
01/12/010 - Sanzione ind.ravved.operoso	26,80		
01/25/001 - Commissioni e spese banca	1.517,96		
01/25/014 - Cancelleria	66,60		
01/25/016 - Postali, marche, bolli, comm.	162,40		
01/25/030 - I.V.A.non ded. per pro-rata	803,94		
01/25/100 - Spese di gestione corsi	3.829,99		
01/25/103 - Noleggio attrezzature	2.500,00		
01/25/110 - Contributo di collaborazione	1.250,00		
01/25/111 - Libri e pubblicazioni	5.410,00		
01/25/116 - Aule per convegni	500,00		
01/25/120 - Hosting, domini, PEC	38,50		
01/32/002 - IRES inded.carico eserc.	2.632,00		
01/32/003 - IRAP inded.carico esercizio	290,00		
01/32/030 - Perd. su cred. non ded. fisc.	50,00		
TOTALE COSTI D'ESERCIZIO	38.354,86	TOTALE RICAVI D'ESERCIZIO	32.017,98
		PERDITA D'ESERCIZIO	6.336,88
TOTALE A PAREGGIO	38.354,86	TOTALE A PAREGGIO	38.354,86

Data di stampa: 24/09/2014

Pag.:

Contribuente : 0614 S.I.S.M. Soc. Italiana Scienze Microscop

VIA ANGUILLARESE 301-ENEA CASA

00061 ANGUILLARA SABAZIA

RM

DETERMINAZIONE DEL RISULTATO DI ESERCIZIO AI FINI II.DD. 2013

Dal 01/01/2013 al 31/12/2013

Risultato civilistico (perdita)		6.336,88
Costi fiscalmente non deducibili	% non deduc.	
01/12/004 - Inter.0,40% ind. dilaz.imposte	100,00	85,78
01/12/009 - Interessi ind.ravved.operoso	100,00	7,76
01/12/010 - Sanzione ind.ravved.operoso	100,00	26,80
01/25/030 - I.V.A.non ded. per pro-rata	100,00	803,94
01/32/002 - IRES inded.carico eserc.	100,00	2.632,00
01/32/003 - IRAP inded.carico esercizio	100,00	290,00
01/32/030 - Perd. su cred. non ded. fisc.	100,00	50,00
Totale costi fiscalmente non deducibili		3.896,28
Ricavi fiscalmente non imponibili	% non impon.	
Totale ricavi fiscalmente non imponibili		0,00
Perdita ai fini imposte dirette		2.440,60

Elenco delle attività promosse dalla SISM nel 2014

Workshop teorico-pratico “La microscopia confocale nello studio dei mitocondri”
DiSTeVA, Campus Scientifico Enrico Mattei, Università di Urbino, Urbino
23-24 ottobre 2014

L'evento, organizzato dalla SISM, con il supporto del Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente dell'Università degli Studi di Urbino Carlo Bo, è dedicato a ricercatori di varia provenienza e di interesse biomedico, con particolare attenzione allo studio del mitocondrio. Tale organello cellulare è un argomento di carattere trasversale e di ampio interesse, che riveste una sempre maggiore importanza sia nella ricerca biomedica di base, che in numerosi ambiti più specifici. Inoltre, la presenza in commercio di un numero sempre più alto di validissimi anticorpi monoclonali, oltreché di una grande varietà di fluorocromi, ne permette una crescente caratterizzazione in microscopia confocale. Il Workshop si articolerà in una parte pratica, dedicata ai metodi di preparazione per la microscopia confocale, alle caratteristiche dei vari fluorocromi, all'analisi e all'elaborazione dell'immagine, nonché all'osservazione di campioni specifici. Inoltre, autorevoli relatori illustreranno, nell'Aula Magna del Campus, i loro dati più recenti su diversi aspetti morfo-funzionali dei mitocondri.

Per informazioni: elisabetta.falcieri@uniurb.it, michela.battistelli@uniurb.it

Workshop “La microscopia elettronica applicata allo studio dei beni culturali”
DiSTeVA, Campus Scientifico Enrico Mattei, Università di Urbino, Urbino
6-7 novembre 2014

L'evento, organizzato dalla SISM, con il supporto del Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente dell'Università degli Studi di Urbino Carlo Bo, è dedicato a professionisti, docenti, ricercatori, tecnici e studenti che operano nel campo dello studio, della conservazione e del restauro dei beni culturali. Sarà dedicata particolare importanza alle applicazioni della microscopia elettronica, nei suoi diversi approcci metodologici. Autorevoli relatori illustreranno, nell'Aula Magna del Campus, i loro dati più recenti sulla caratterizzazione morfologica ultrastrutturale di filati, affreschi, stucchi, legni, marmi, ceramiche, vetri, pietre, monili, libri, polimeri e altro materiale provenienti da opere d'arte.

Per informazioni: elisabetta.falcieri@uniurb.it, sabrina.burattini@uniurb.it

Scuola TEM "Pier Giorgio Merli" 2014 “Scuola teorico-pratica di Microscopia Elettronica in Trasmissione in Scienza dei Materiali”
CNR-IMM Bologna, via Gobetti 101, Bologna
1a settimana: 17-21 Novembre 2014, 2a settimana: 2-6 Febbraio 2015

La quinta edizione della scuola, organizzata congiuntamente dalla SISM e dal CNR-IMM di Bologna, si rivolge a ricercatori e microscopisti che desiderano acquisire una qualificata introduzione alle tecniche di microscopia elettronica in trasmissione applicata alla Scienza dei Materiali.

Oltre ai principi di funzionamento dello strumento, ai partecipanti verrà fornito un quadro teorico di base della disciplina ed una descrizione delle principali applicazioni nell'indagine strutturale ed analitica. Gli argomenti trattati comprendono: ottica e diffrazione elettronica, teoria del contrasto, risoluzione atomica con tecniche di imaging coerenti (HREM) e incoerenti (STEM con rivelatore HAADF), olografia elettronica, tecnica CBED, metodi analitici (EDX e EELS).

La scuola sarà strutturata in una parte teorica, durante la prima settimana (Novembre 2014), ed una parte pratica la seconda settimana (Febbraio 2015). Sarà possibile la partecipazione all'intero corso, o alla sola parte teorica.

Questa edizione della scuola sarà aperta alla partecipazione di studenti provenienti dall'estero e pertanto le lezioni saranno tenute in lingua inglese.

Per informazioni: balboni@bo.imm.cnr.it

<http://temschoool.bo.imm.cnr.it/>

E per il 2015...

Aprile 2015, Roma, ISS: Workshop su “Contributi delle microscopie allo studio delle colture cellulari”, in collaborazione con l’Associazione per le Italiana Colture Cellulari, a cura della Dott.ssa Stefania Meschini

Seconda metà 2015, Trieste: Workshop congiunto di “Microscopia elettronica e microscopia mediante luce di Sincrotrone” a cura della Dott.ssa Regina Ciano



Società Italiana Scienze Microscopiche



1906
UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI URBINO
CARLO BO

Dipartimento di Scienze della Terra, della
Vita e dell'Ambiente (DiSTeVA)



SIAI Società Italiana di
Anatomia e Istologia

SOCIETÀ ITALIANA DI
ISTOCHEMICA



Società Italiana di Citometria

Workshop teorico-pratico

La microscopia confocale nello studio dei mitocondri

Urbino 23-24 ottobre 2014

L'evento, organizzato dalla SISM, con il supporto del Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente dell'Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo", è dedicato a ricercatori di varia provenienza e di interesse biomedico, con particolare attenzione ai mitocondri. Il mitocondrio è un argomento di carattere trasversale e di ampio interesse, che riveste una sempre maggiore importanza sia nella ricerca biomedica di base, che in numerosi ambiti più specifici. Inoltre, la presenza in commercio di un numero sempre più alto di validissimi anticorpi monoclonali, oltreché di una grande varietà di fluorocromi, ne permette una crescente caratterizzazione in microscopia confocale. Il Workshop si articolerà in una parte pratica, dedicata ai metodi di preparazione per la microscopia confocale, alle caratteristiche dei vari fluorocromi, all'analisi e all'elaborazione dell'immagine, nonché all'osservazione di campioni dedicati. Inoltre, autorevoli relatori illustreranno, nell'Aula Magna del Campus, i loro dati più recenti su diversi aspetti morfo-funzionali dei mitocondri.

Giovedì, 23 ottobre

Aula Magna:

- 14.00 Registrazione
- 14.30 Benvenuto ai partecipanti e presentazione del workshop (E. Falcieri, R. Cuppini, Urbino)
- 14.45 *Introduzione alla microscopia confocale* (A. Tombesi, Modena)
- 15.30 *Sonde e anticorpi fluorescenti* (G. Mazzini, Pavia)
- 16.15 Coffee break
- 16.45 *I mitocondri: breve stato dell'arte* (E. Barbieri, Urbino)
- 17.15 *I fluorocromi mitocondriali* (B. Canonico, Urbino)
- 17.45 *Età ed attività controllano l'associazione fra rilascio di calcio e mitocondri nel muscolo scheletrico* (F. Protasi, Chieti)
- 18.15 *Ruolo fisiopatologico dell'accumulo di calcio nei mitocondri* (C. Mammuccari, Padova)

Venerdì, 24 ottobre

Laboratorio di microscopia, aula M:

- 08.30 Sessioni parallele: Esercitazioni al microscopio confocale (C. Ciacci, S. Burattini, S. Salucci)
Microscopia confocale ed elaborazione di immagini (A. Tombesi)
Ricostruzione di immagini 3D (T. Cerullo, Leica Microsystems)
- 10.30 Coffee break
- 11.00 Sessioni parallele: Esercitazioni al microscopio confocale (C. Ciacci, S. Burattini, S. Salucci)
Microscopia confocale ed elaborazione di immagini (A. Tombesi)
Ricostruzione di immagini 3D (T. Cerullo, Leica Microsystems)
- 13.00 Pranzo al Campus
- 14.00 Sessioni parallele: Esercitazioni al microscopio confocale (C. Ciacci, S. Burattini, S. Salucci)
Microscopia confocale ed elaborazione di immagini (A. Tombesi)
Ricostruzione di immagini 3D (T. Cerullo, Leica Microsystems)
- 16.00 Coffee break

Aula Magna:

- 16.30 *Mitocondri e linea germinale: il contributo di un sistema inusuale di eredità mitocondriale* (M. Passamonti, Bologna)
- 17.00 *Ridistribuzione della proteina mitocondriale AIF nel corso dell'apoptosi* (C. Pellicciari, Pavia)
- 17.30 *Approcci e metodologie per lo studio della morfologia dei mitocondri e delle loro alterazioni* (G. Carpino, Roma Foro Italico)
- 18.15 Chiusura del workshop

Sede del corso:
Campus Scientifico Enrico Mattei, via Ca' le Suore 2, Urbino
Quota d'iscrizione (entro e non oltre il 20/09): 150 €
Studenti, dottorandi, assegnisti e soci SISM 100 €
La quota comprende: partecipazione alle dimostrazioni pratiche e alle relazioni, materiale didattico, pranzo, cena in un ristorante tipico di Urbino, 3 coffee break.
Il pernottamento al Collegio Internazionale, con prima colazione, può essere richiesto a parte al costo di 30€.
Al termine del workshop sarà rilasciato un attestato di partecipazione.
Chi farà richiesta di associazione alla SISM sarà esonerato dal versamento della quota associativa per l'anno 2015.

Comitato scientifico:
E. Falcieri, A. Tombesi, A. Minelli, M. Balsamo, R. Cuppini.

Comitato organizzatore:
M. Battistelli, S. Burattini, C. Ciacci, P. Ambrogini, S. Salucci, D. Curzi, F. Giordano

Per ulteriori informazioni:
Prof.ssa Elisabetta Falcieri
DiSTeVA, Campus Scientifico "Enrico Mattei"
e-mail: elisabetta.falcieri@uniurb.it
oppure consultare il sito: www.sism.it










Dipartimento di Scienze della
Terra, della Vita e dell'Ambiente
(DiTeVA)



ERSU URBINO

La microscopia elettronica applicata allo studio dei Beni Culturali

Urbino 06-07 novembre 2014

L'evento, organizzato dalla SISM, con il supporto del Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente dell'Università degli Studi di Urbino Carlo Bo, è dedicato a professionisti, docenti, ricercatori, tecnici e studenti che operano nel campo dello studio, della conservazione e del restauro dei beni culturali. Sarà dedicata particolare importanza alle applicazioni delle microscopia elettronica, nei suoi diversi approcci metodologici. Autorevoli relatori illustreranno, nell'Aula Magna del Campus, i loro dati più recenti sulla caratterizzazione morfologica ultrastrutturale e chimica dei materiali costitutivi le opere d'arte, in particolare pietre, ceramiche, vetri, metalli, monili, materiali policromi, legno, carta, pergamena, tessuti e materiali polimerici.

Giovedì, 06 novembre

Aula Magna:

14.00: *Registrazione*

14.30: Benvenuto ai partecipanti e presentazione del workshop (E. Falcieri, L. Baratin, R. Cuppini, Urbino)

15.00: Dalla microdiagnostica i segreti della oreficeria antica (D. Ferro, Roma)

15.30: Applicazioni SEM/EPMA nello studio e nel restauro di opere d'arte (G. Lanterna, Firenze)

16.00: SEM e microanalisi a raggi X applicati allo studio del vetro romano colorato (M. Verità, Venezia)

16.30: *Coffee break*

17.00: Indagini archeometriche sul patrimonio artistico abruzzese: il contributo della microscopia elettronica (M.P. Staccioli, ICIET Engineering Srl, Teramo)

17.30: Il legno nei Beni Culturali: le differenti tecniche microscopiche al servizio del processo di identificazione della specie legnosa (C. Capretti, Firenze)

18.00: Valutazione oggettiva e soggettiva per lo studio e l'autenticazione delle opere d'arte (S. Lorusso, Ravenna)

20.30: *Cena*

Venerdì, 07 novembre

Aula Magna:

09.00: SEM-EDX nello studio dell'evoluzione delle tecniche pittoriche dalle origini al medioevo (P. Pallecchi, Firenze)

09.30: Indagini microscopiche integrate per lo studio delle superfici policrome di terrecotte robbiane (M.L. Amadori, Urbino)

10.00: Attacchi biologici su carta e pergamena: l'importanza delle tecniche SEM-EDX per l'analisi dei meccanismi e dei danni (F. Pinzari, Roma)

10.30: Indagini sulle pitture parietali romane di area vesuviana (P. Baraldi, Modena)

11.00: *Coffee break*

11.30: Applicazione del Microscopio Elettronico allo studio dei fenomeni connessi alla durabilità delle malte da ripristino impiegate negli edifici storici. (D. Salvioni, MAPEI SpA, Milano)

12.00: Il microscopio elettronico a scansione nella caratterizzazione archeometrica dei metalli, alcuni casi di studio (A. Conventi, Venezia)

12.30: La microscopia elettronica a scansione nello studio dei materiali ceramici antichi (S. Gualtieri, Faenza)

13.00: *Pranzo al campus*

15.00: Studio di materiali musivi mediante microscopia elettronica a scansione (M. Macchiarola, Faenza)

15.30: Applicazioni ESEM/EDX per lo studio delle superfici di interesse architettonico e storico artistico (G. Quarta, CNR-IBAM, Lecce)

16.00: Applicazione della microscopia FEM allo studio dei materiali costitutivi e di restauro nei beni culturali (U. Santamaria, Roma)

16.30: La microscopia elettronica in pressione variabile per la diagnostica e la conservazione dei Beni Culturali (P. Croveri, Torino)

17.00: Spazio dedicato alle Aziende

Chiusura del workshop

Sede del corso:

Campus Scientifico "Enrico Mattei", via Ca' le Suore 2, Urbino

Quota d'iscrizione (entro e non oltre 11/10/2014): 150 €

Dottorandi, assegnisti e soci SISM: 80 €

Studenti: 50 €

La quota comprende: partecipazione alle relazioni, materiale didattico, pranzo, cena in un ristorante tipico di Urbino, 3 coffee break.

Il pernottamento al Collegio Internazionale, con prima colazione, può essere richiesto a parte al costo di 30 €.

Al termine del workshop sarà rilasciato un attestato di partecipazione.

Chi farà richiesta di associazione alla SISM, sarà esonerato dal versamento della quota associativa per l'anno 2015.

Comitato scientifico:

E. Falcieri, L. Baratin, M.L. Amadori

Comitato organizzatore:

S. Burattini, D. Curzi, A. Valdrè, M. Clementi

Per ulteriori informazioni:

Prof.ssa Elisabetta Falcieri

DiTeVA, Campus Scientifico "Enrico Mattei"

e-mail: elisabetta.falcieri@uniurb.it

Oppure consultare il sito: www.sism.it





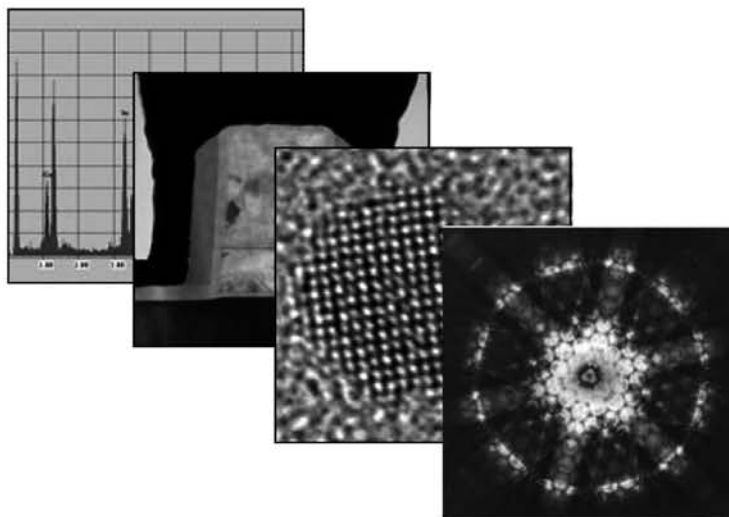
CNR – IMM Bologna

SISM



Electron Microscopy School

“Pier Giorgio Merli”



5th Theoretical - Practical course on Transmission Electron Microscopy in Materials Science

Bologna, Area della Ricerca del CNR

November 17 - 21 , 2014

February 2 – 6, 2015

temschoool.bo.imm.cnr.it

Directors: *Roberto Balboni and Andrea Migliori*

Teachers: *Aldo Armigliato, Roberto Balboni, Gianluca Calestani (Univ. Parma), Matteo Ferroni (Univ. of Brescia), Vincenzo Grillo (CNR-NANO), Giorgio Lulli, Andrea Migliori, Vittorio Morandi, Luca Ortolani, Andrea Parisini.*

Organised by CNR-IMM, Bologna, Italy and the
Italian Society for Microscopical Sciences (SISM)



The school, jointly organised by SISM and CNR-IMM, consists of two full weeks of theoretical and practical lessons and will provide researchers and microscopists a qualified introduction to transmission and scanning transmission electron microscopy techniques for materials science. After an introduction to the working principles of the instrument, a description of the main techniques for structural and analytical characterization will be provided. The topics covered include: electron emission and electron optics, theory of electron diffraction, mechanism of contrast formation, atomic resolution via coherent (HREM) and incoherent (HAADF/STEM) imaging techniques, electron holography and interferometric methods, convergent beam electron diffraction, analytical methods (EDX and EELS) and TEM and STEM image simulations.

The school is divided into a theoretical part (17-21 Nov 2014) and a practical part (2-6, Feb 2015). It is possible to participate to either the whole course or the theoretical part only (it is not possible to participate to the practical course only).

The practical course will take place at the Electron Microscopy Laboratory of the CNR-IMM Institute, where the students will directly operate on the FEI Tecnai F20ST, under teachers supervision, practicing with the techniques exposed during the first week. An overview of some of the available simulation and data processing softwares for transmission electron microscopy will be also provided. Representatives of TEM/STEM manufacturers, sample preparation instruments and accessories for electron microscopy will also give brief presentations of their new products.

Monday 17 November

9:00 - 9:30	Registration
9:30 - 10:00	Introduction
10:00 - 11:30	Electron optics (G. Lulli)
11:30 - 12:00	Coffee break
12:00 - 13:00	Electron sources (A. Migliori)
13:00 - 14:30	Lunch
14:30 - 16:00	Instrumentation and detectors (A. Migliori)
16:00 - 16:30	Coffee break
16:30 - 17:30	Introduction to aberration correction (L. Ortolani)

Tuesday 18 November

9:00 - 11:00	Elements of crystallography (G. Calestani)
11:00 - 11:30	Coffee break
11:30 - 12:30	Radiation damage (G. Lulli)
12:30 - 13:30	Electron-matter interaction (R. Balboni)

13:30 - 15:00	Lunch
15:00 - 16:00	Electron diffraction (R. Balboni)
16:30 - 17:00	Coffee break
17:00 - 18:00	Convergent beam electron diffraction (R. Balboni)

Wednesday 19 November

9:00 - 11:00	Theory of electron diffraction (A. Parisini)
11:00 - 11:30	Coffee break
11:30 - 13:00	X-ray microanalysis and energy-loss spectrometry of thin films I (A. Armigliato)
13:00 - 14:30	Lunch
14:30 - 16:30	X-ray microanalysis and energy-loss spectrometry of thin films II (A. Armigliato)

Thursday 20 November

9:30 - 11:00	High resolution electron microscopy I (A. Parisini)
11:00 - 11:30	Coffee break
11:30 - 13:00	High resolution electron microscopy II (A. Parisini)
13:00 - 14:30	Lunch
14:30 - 16:00	Scanning transmission electron microscopy I (V. Morandi)
16:00 - 16:30	Coffee break
16:30 - 18:00	Scanning transmission electron microscopy II (V. Morandi)

Friday 21 November

9:00 - 11:00	Computer simulations for transmission electron microscopy (V. Grillo)
11:00 - 11:30	Coffee break
11:30 - 13:30	Electron holography and interferometric methods (L. Ortolani)
13:30 - 14:30	Lunch
14:30 - 15:30	TEM manufacturers presentations
15:30 - 16:30	Final discussion and closing remarks

Application form

Surname:

Name:

Title:

Address:

.....

.....

Phone:

E-mail:

☐ Theory only ☐ Whole school☐ SISM member☐ Student, temporary worker**Billing information**

For invoices issued to an individual please provide residential address and social security number. For employees of public authorities, in order to avail tax exemption, you must provide details of the Institution you belong to.

Heading

(Institution, University, Physics Department or Individual)

.....

.....

Address:

.....

.....

VAT number/ F.C.

For information

Dott. R. Balboni: balboni@bo.imm.cnr.it

Dott. A. Migliori: miglioni@bo.imm.cnr.it

Registration

Registration to the school is obtained by signing up before October 15, 2014 directly on site www.sism.it, or sending the application form by e-mail (balboni@bo.imm.cnr.it, miglioni@bo.imm.cnr.it) together with a copy of the payment of the registration fee.

The fee includes participation to the courses, education materials, coffee breaks and lunches to the local CNR canteen. SISM members at 31/07/2014 will obtain a 20% discount. Students and young researchers with a temporary position can claim an additional 30% discount on the fees (VAT excluded).

Theoretical part only (1st week):

Non SISM mebers € 700 + VAT

SISM members € 560 + VAT

Whole school (2 weeks):

Non SISM mebers € 1700 + VAT

SISM members € 1360 + VAT

For any payment an invoice will be issued. Please note that for employees of public institutions the fee is exempt from VAT (Article 10 of DPR 633/72). Registration fees may be paid through :

Credit card (www.sism.it)**Bank transfer to**

S.I.S.M

IBAN: IT 43 Q 02008 02455 000103039142

BIC-SWIFT: UNCRITM1PM5 or UNCRITMM

address: Unicredit - Ag. Dante, Bologna

reference: "Name of the participant + BOTEM2014"

A minimum number of 6 students is required, while the maximum number of participants to the practical course is limited to 10 people. Participation to the school will give right to a free SISM membership for year 2015.

INFORMATION

For information on accommodation and how to reach CNR-IMM Bologna, please refer to www.bo.cnr.it or contact:

Mrs. Giorgia Giovannini, CNR – IMM Sezione di Bologna

Tel: +39 051 6399143

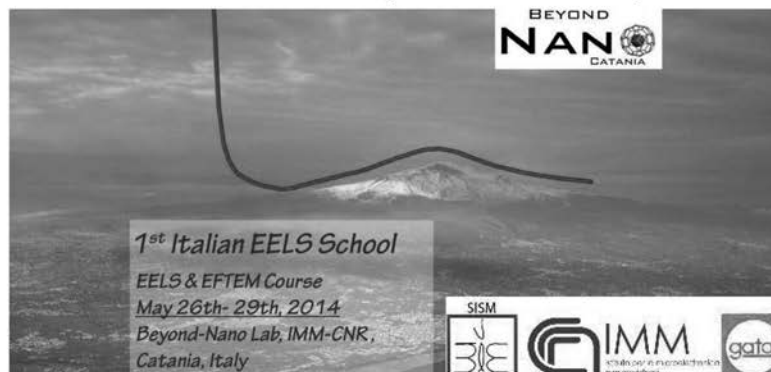
giovannini@bo.imm.cnr.it

Resoconto della Scuola SISM

Prima scuola internazionale “SISM” sulla spettroscopia di perdita di energia degli elettroni, EELS

La prima scuola internazionale SISM sulla spettroscopia di perdita di energia degli elettroni, EELS (*Electron Energy Loss Spectroscopy*) si è svolta a Catania dal 26 al 29 Maggio 2014, presso la sede dell'IMM-CNR. La scuola è stata coordinata, oltre che dalla SISM, dall'IMM di Catania e dalla Gatan Inc.

La scuola ha coinvolto 12 studenti di diverse nazionalità europee, in un corso intensivo di 4 giorni che ha compreso: lezioni, laboratori informatici ed esercitazioni al microscopio.



L'obiettivo che si è

voluto raggiungere con questa scuola è stato quello di fornire ai partecipanti un'esperienza completa sia sulla spettroscopia EELS che sulla microscopia TEM filtrata in energia, EFTEM (*Energy Filtered Transmission Electron Microscopy*). Le lezioni pratiche sono state effettuate presso il nuovo Sub-Ångstrom Lab dell'IMM (www.beyondnano.it), ove è installato un microscopio analitico di ultima generazione con correttore di aberrazione sferica in modalità STEM, della JEOL - l'ARM 200F - dotato di una sorgente a catodo freddo (C-FEG) e di un sistema GIF / EELS di ultima generazione della Gatan - il GIF Quantum ER - totalmente accessoriato. Grazie alla microscopia elettronica a trasmissione (TEM) oggi possiamo rivelare i dettagli di strutture naturali e artificiali, anche su scala sub-nanometrica. Tale microscopio, grazie all'accoppiamento con lo spettrometro EELS, diventa lo strumento analitico ideale per analisi sia chimiche che strutturali a risoluzione atomica.

Il programma del corso si è basato sui seguenti argomenti: Fondamenti EELS ed EFTEM; Ottimizzazione dell'acquisizione dati EFTEM ed EELS; Quantificazione della composizione elementare; Informazioni fornite dall'EFTEM / EELS e il modo migliore per estrarle; Uso di segnali EELS per formare mappe di composizione elementare e chimica; Atomic EELS; Identificazione delle fasi dei materiali mediante EELS e studio della struttura fine; Modellizzazione avanzata ed elaborazione dati mediante DFT ed infine esperimenti in laboratorio.

La scuola ha inoltre annoverato alcuni fra i maggiori esperti della spettroscopia EELS, ovvero: Dott. Ioannis Deretzis, IMM-CNR (I); Dott. Paolo Longo, Gatan Inc, Pleasanton CA (USA); Dott. Giuseppe Nicotra, BeyondNano Sub-Angstrom lab (I); Dott. Quentin Ramasse, SuperSTEM lab (UK); Dott. Corrado Spinella, director of IMM-CNR (I); Dott. Ray Twisten, Gatan Inc, Pleasanton CA (USA) e il Prof Stephen J. Pennycook, University of Tennessee, (USA);

La scuola ha riscosso un notevole interesse da parte di tutti gli studenti molti dei quali hanno espresso il desiderio di vederla rinnovata nei prossimi anni al fine di poter formare nuovi ricercatori. A conclusione, il gruppo formato da quasi tutti gli studenti e gli insegnanti, si è



cimentato in un'escursione ai crateri sommitali del monte Etna, spingendosi sino a quota 3000 s.l.m. In foto si riporta un momento prima della partenza.

Direttori della scuola

Dr Giuseppe Nicotra, Head of BeyondNano Sub-Angstrom lab, giuseppe.nicotra@cnr.it

Dr Paolo Longo, Gatan Inc, Pleasanton CA (USA), plongo@gatan.com

Dr Roberto Balboni, vice-president of SISM, balboni@bo.imm.cnr.it

Eventi nazionali

2014

Quarantennale della fondazione del Centro Interdipartimentali Grandi Strumenti (CIGS) dell'Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

Dipartimento di Scienze Fisiche, Informatiche e Matematiche, Modena

3 Ottobre 2014

<http://www.cigs.unimo.it/eventi/2014/quarantennale/quarantennale.html>

15th International School and Workshop on Nanoscience and Nanotechnology 2014 (n&n 2014)

INFN – Laboratori Nazionali di Frascati

6-7 Ottobre 2014

<http://www.lnf.infn.it/conference/nn2014>

NanotechItaly 2014

NH Hotel Laguna Palace Convention Center, Venezia Mestre

26-28 November 2014

<http://www.nanotechitaly.it/>



Centro Interdipartimentale Grandi Strumenti

UNIMORE
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI
MODENA E REGGIO EMILIA



1974 - 2014 QUARANTENNALE DELLA FONDAZIONE DEL CENTRO INTERDIPARTIMENTALE GRANDI STRUMENTI dell'Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia*

3 ottobre 2014

Aula L1.1 (ex Aula G)
del Dipartimento di Scienze Fisiche, Informatiche e Matematiche · Via Campi 213/A, Modena

- 09:30** **Indirizzo di benvenuto**
Dr. Andrea Tombesi · Direttore del CIGS
Saluto del Magnifico Rettore dell'Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia
Prof. Angelo Oreste Andrisano
Saluto delle Autorità
- 10:00** **Breve storia del CIGS**
Dr. Pier Luigi Fabbri
Prof. Ermanno Galli
- 10:20** **Ruolo della Fondazione Cassa di Risparmio di Modena nel sostegno alla ricerca**
Prof. Andrea Landi · Presidente della Fondazione Cassa di Risparmio di Modena
- 10:40** **L'importanza dell'utilizzo di risorse condivise nella ricerca**
Prof. Umberto Del Pennino · Delegato del Rettore per la ricerca
- 11:00** **coffee break**
- 11:20** **Il punto di vista delle aziende**
Dr. Alessandro Lapini · Biofer Spa
Dr. Giorgio Mari · Fresenius HemoCare Srl
Dr. Gino Mailli · Kerakoll Spa
- 12:00** *Dr. Alberto Tinti · FEI Italia Srl*
- 12:15** *Dr. Pierangelo Morini · Bruker Italia Srl*
- 12:30** **Prospettive future**
Dr. Andrea Tombesi · Direttore del CIGS
- 12:45** **Relazione conclusiva a cura del Magnifico Rettore**
Prof. Angelo Oreste Andrisano
- 13:00** **Inaugurazione del nuovo laboratorio di microscopia elettronica**

 **FONDAZIONE**
Cassa di Risparmio di Modena

Eventi internazionali

2014

µFiBR 2014

A series of tutorial lectures on Optical Imaging in Biomedical Nanotechnology

October 3, 2014

Hasselt University, Belgium

8th edition of BioImage Informatics (BII)

October 8-10, 2014

Leuven, Belgium

2nd Congress of the Spanish Network of Advanced Optical Microscopy (REMOA)

October 13-15, 2014

Spanish National Center of Oncology (CNIO), Madrid, Spain

Materials in Science and Technology 2014 (MIST 2014)

October 13-19, 2014

Oludeniz, Fethiye, Turkey

Autumn International School on Growth and Characterization of Advanced Materials (AISMAT 2014)

October 13-19, 2014

Oludeniz, Fethiye, Turkey

Second Conference on In-Situ and Correlative Electron Microscopy (CIS-CEM)

October 14-15, 2014

Saarbrücken, Germany

2nd International Multidisciplinary Microscopy Congress (INTERM 2014)

October 16-19, 2014

Oludeniz, Fethiye, Turkey

Autumn School on Microstructural Characterization and Modelling of Thin-Film Solar Cells

November 2-7, 2014

Resort Hotel Schwielowsee, Werder (near Potsdam), Germany

Low energy electrons: Lithography, Imaging, and Soft Matter

November 4-5, 2014

Advanced Center for Nanolithography (ARCNL), Amsterdam, The Netherlands

European PhD School Nanobeams

November 17-21, 2014

Centre de Recherche Public - Gabriel Lippmann, Belvaux, Luxembourg

2015

42nd Annual Meeting of the Society for Cutaneous Ultrastructure Research (SCUR)

March 12-14, 2015

Mannheim, Germany

Focus on Microscopy 2015

March 29 - April 1, 2015

Göttingen, Germany

PICO 2015 - Third Conference on Frontiers of Aberration Corrected Electron Microscopy

April 19-23, 2015

Kasteel Vaalsbroek, The Netherlands

Organization: Ernst Ruska-Centre (Jülich)

3rd Croatian Microscopy Congress

April 26-29, 2015

Zadar, Croatia

15th Euroseminar on Microscopy Applied to Building Materials

June 16-19, 2015

Delft, The Netherlands

Microscience Microscopy Congress, incorporating EMAG 2015

June 29 - July 2, 2015

Manchester Central, Manchester, UK

Multinational Congress on Microscopy

August 23-29, 2015

Eger, Hungary

Organization: ASEM, CMS, CSMS, HSM, SISM, SSM, SDM, TEMD

31st European Conference on Surface Science (ECOSS-31)

August 31, September 4, 2015

Barcelona, Spain

Microscopy Conference (MC) 2015

September 6-11, 2015

Göttingen, Germany

Microscopy at the Frontiers of Science 2015

September 9-11, 2015

Porto University, Portugal

Eventi internazionali

Venue



Hotel Eger & Park****

Hotel Eger Park built in baroque style at the early 20th century is situated in the town centre. The venue offers lecture rooms of up to 1000 participants, free Wi-Fi, spa and convenient space for exhibition. There are many alternative accommodation options nearby also.

The city of Eger, with its one thousand-year history, heroic past, rich monuments, famous wines and thermal baths is one of the most famous towns of Hungary. Eger is usually considered to be a historic town, yet it is also noted for its splendid Baroque architecture, wine, thermal and medicinal waters and lively student population. It became an episcopal seat as early as the 11th century, during the reign of St. Stephen, the first king of Hungary. The town and the surrounding region are well-known for its wines, the oldest wine-cellars are more than 400 years old.

Book your exhibition place

Exhibitors and sponsors are welcome to present their outstanding products and services at MCM 2015.

The conference is a great opportunity to meet the experts of microscopy and related fields.

Download the Sponsor Kit at www.mcm2015.com for tailored options.

We are looking forward to meeting you in Eger.



HOSTED BY THE HUNGARIAN SOCIETY FOR MICROSCOPY



worldwide knowledge
akcongress



Multinational Congress on Microscopy

August 23-28, 2015
Eger, Hungary

www.mcm2015.com

www.mcm2015.com

www.mcm2015.com

On behalf of the Hungarian Society for Microscopy and AKCongress we cordially invite you to participate in the next Multinational Congress on Microscopy (MCM) that will be held in Eger, Hungary between August 23-28, 2015.

The aim of MCM conferences is to bring together leading experts and merging young researchers applying many types of microscopic techniques in the field of life or material sciences as well as provide a forum for new directions.

Plenary Speakers



Péter Somogyi
University of Oxford, UK



Velimir R. Radmilović
University of Belgrade, Serbia



Iva Tolić
Max Planck Institute of Molecular Cell Biology and Genetics, Germany / Ruđer Bošković Institute, Croatia



Bruno Humbel
University of Lausanne, Switzerland



Jannik C. Meyer
University of Vienna, Austria

Main Topics

LIFE SCIENCES

- + Structure and imaging of biomolecules
- + Live cell imaging
- + Neurobiology
- + Organelles and cellular dynamics
- + Multidisciplinary approaches for medical and biological sciences
- + Microscopic applications in plants, microorganisms and environmental sciences
- + Super-resolution microscopy in biological sciences

INSTRUMENTATION

- + Advances in scanning probe microscopy
- + 3D imaging and tomography
- + Electron diffraction techniques and analytical microscopy
- + Advances in sample preparation techniques
- + In situ microscopy
- + Correlative microscopy in life and materials sciences
- + Low voltage electron microscopy

MATERIAL SCIENCES

- + Materials for nanotechnology
- + Metal alloys and intermetallics
- + Ceramics, composites, minerals and microscopy in cultural heritage
- + Thin films, coatings, surfaces and interfaces
- + Carbon based materials
- + Polymers and soft materials and self-assembled materials
- + Semiconductors and magnetic materials

Registration fees

	Early-bird until March 30, 2015	Standard until August 10, 2015	Late / On-site from August 11, 2015
EMS* Member	180 EUR	230 EUR	400 EUR
EMS* Non-Member	250 EUR	300 EUR	400 EUR
Student	80 EUR	110 EUR	400 EUR
Accompanying person	80 EUR	80 EUR	80 EUR

* European Microscopy Society

Registration & Online Submission at

www.mcm2015.com



DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR
ELEKTRONENMIKROSKOPIE

Deutsche Gesellschaft für Elektronenmikroskopie e.V.

(German Society for Electron Microscopy)

announces the

ERNST RUSKA PRIZE 2015

for outstanding achievements in the field of electron microscopy.

The Deutsche Gesellschaft für Elektronenmikroskopie invites to propose candidates for the Ernst-Ruska-Prize. The prize is awarded for work carried out by younger scientists pioneering new capabilities of electron microscopy as a scientific technique through innovative instrumentation or novel methods of basic and general interest. Work carried out by pure application of existing techniques will not be considered. The eligible work should not date back more than 7 years. It must be published or it must be accepted for publication at the time of submission of the proposal.

The decision will be made by an independent committee. The Ernst-Ruska-Prize consists of a certificate, a financial award, as well as the honor of giving an *Ernst-Ruska Distinguished Lecture* at the Ceremony of Award. If a group of authors receives the award, they will be awarded jointly. The ceremony will take place at the Microscopy Conference 2015 in Göttingen, Germany, Sept. 6th- 11th, 2015.

Proposals including appraisal of the achievement, reprints or preprints, and short CV including list of publications of the authors should be received (on paper and CD) not later than November 30th, 2014, addressed to

President of DGE
Dr. Michael Laue
Robert Koch-Institut
Nordufer 20
13353 Berlin
GERMANY
E-mail: lauem (at) rki.de



DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR
ELEKTRONENMIKROSKOPIE

Deutsche Gesellschaft für Elektronenmikroskopie e.V.

(German Society for Electron Microscopy)

announces the

Harald Rose Distinguished Lecture 2015

for outstanding achievements in the field of particle optics.

The German Society for Electron Microscopy invites the international community to propose candidates for the Harald Rose Distinguished Lecture. The prize is awarded to one person for her/his outstanding work which is still pursued today. The aim of the prize is to celebrate the work of Harald Rose. Therefore the work should cover the field of particle optics, preferentially the realm of electron microscopy. This includes work on image formation and/or energy filtering. Due to Rose's commitment to teaching, candidates who have developed new teaching concepts for topics in these fields will also be considered. There is no limitation concerning the scientific field (life science, physics, chemistry, materials science, instrumentation etc.) nor the age of the awardee. In general the work must be published.

The decision will be made by an independent committee. The awardee receives a certificate, a financial award, and the honor of giving a *Harald Rose Distinguished Lecture* as a plenary talk. The ceremony will take place at the Microscopy Conference MC2015 in Göttingen, Germany (<http://www.mc2015.de>, Sept. 6th-11th, 2015)

Proposals including appraisal of the achievement, reprints or preprints, and short CV including list of publications of the authors should be received (by e-mail or on CD) not later than Feb 28th, 2015, addressed to

President of DGE
Dr. Michael Laue
Robert-Koch-Institut
Nordufer 20
13353 Berlin
GERMANY
E-mail: [lauem \(at\) rki.de](mailto:lauem@rki.de)

Microscopia al CIGS

Massimo Tonelli, Pier Luigi Fabbri

Centro Interdipartimentale Grandi Strumenti, Università di Modena e Reggio Emilia, Italia

Ad Ottobre 2014 il CIGS festeggia i 40 anni di vita, essendo stato inaugurato il 3 Ottobre 1974. Per chi non ci conoscesse, la sigla CIGS corrisponde a Centro Interdipartimentale Grandi Strumenti, un laboratorio avente come finalità principale quella di mettere a disposizione dei ricercatori dell'Università di Modena e Reggio Emilia strumentazioni adatte ad un ambiente multi-disciplinare.

Gli utenti del Centro dispongono di strumentazioni di alto livello, ben consolidate e fruibili, che consentono loro di concentrarsi sulle proprie ricerche evitando le delicatissime ottimizzazioni tipiche degli strumenti "di punta" che hanno prestazioni al limite delle possibilità tecniche.

La microscopia elettronica (scansione o trasmissione) e quella a scansione di sonda sono tecniche ampiamente utilizzate, sia nel campo delle scienze dei materiali che in quello delle scienze della vita. La nostra esperienza pluridecennale ci ha dimostrato, senza ombra di dubbio, quanto la microscopia sia la tecnica o, per meglio dire, la serie di tecniche che maggiormente tiene uniti questi due mondi solo apparentemente così diversi.

L'esperienza del CIGS nell'ambito della microscopia è cominciata verso la fine degli anni '70 con il microscopio elettronico a scansione SEM 500 della Philips. I microscopi a scansione, a quell'epoca, erano completamente analogici. Il fascio elettronico in colonna si muoveva in perfetta sincronia con quello del tubo a raggi catodici, la cui leggera persistenza permetteva di poter osservare e ottimizzare l'immagine lavorando necessariamente al buio. Le immagini ad alta risoluzione dovevano essere raccolte con tempi molto lunghi e il risultato finale poteva essere valutato solo sulla lastra fotografica; una lunga sessione di lavoro era particolarmente stancante ma, come ripetiamo, erano gli anni '70 e l'avvento dei Personal Computers e delle tecnologie digitali era ancora di là da venire.

I SEM di quella generazione erano però insuperabili per quanto riguarda la didattica, in quanto permettevano di seguire "in diretta" ciò che succedeva effettivamente sul campione e si potevano mostrare facilmente gli effetti della variazione di

ciascuno dei parametri principali.

L'ingresso dell'informatica nel laboratorio di microscopia a scansione avvenne con l'introduzione dei primi sistemi EDS per l'analisi elementare dei raggi X. Si trattava in realtà di mini-computers aventi le dimensioni di piccoli armadi e dotati di ben 32 Kb (sic!) di memoria. Hardware e software erano specifici per la raccolta e l'analisi dei raggi X prodotti dall'impatto del fascio elettronico con il campione. Il primo sistema di questo tipo che venne acquisito fu un sistema EDAX PV9100 (in seguito arrivò anche un PV9900), corredato da mini-computer Digital PDP-11. Al CIGS c'era già chi iniziava ad appassionarsi all'informatica: avere fra le mani tale meraviglia (per allora) fece nascere l'idea di provare ad utilizzare il PDP-11 per tentare di produrre dal SEM una immagine digitale. Fu così che, aggiungendo l'hardware necessario e scrivendo i nostri primi programmi in Fortran o addirittura in "linguaggio macchina", riuscimmo a produrre alcune fra le prime immagini digitali realizzate in Italia utilizzando un SEM analogico.



Figura 1. Immagine digitale realizzata nei primi anni '80 utilizzando il microscopio Philips SEM 500 ed una scheda di conversione ADC installata su sistema EDAX PV9900.

Entro breve tempo questa modalità venne applicata anche ad analisi EBIC (Electron Beam Induced Current) su campioni di celle solari policristalline; avere immagini sotto forma di dati numerici era indispensabile per la loro elaborazione su altri computers, così da ricavarne informazioni sulle proprietà dei materiali utilizzati negli esperimenti.

Si dovette aspettare fino al 1986 perché venisse mostrato in Italia il primo SEM completamente digitale prodotto dalla Zeiss, il Digital Scanning Microscope (DSM) 950. La presentazione avvenne nell'ambito del memorabile Corso di Microscopia Elettronica tenutosi a Castro Marina (LE) nel Settembre 1986 a cura dell'allora SIME (Società Italiana di Microscopia Elettronica) a cui il Dott. Fabbri, tra gli autori di questo articolo, ebbe l'onore di partecipare in qualità di docente. Chi fu presente a quel bellissimo corso ricorderà ancora lo stupore di tutti nel poter osservare finalmente in luce ambiente e senza alcuna difficoltà un'immagine SEM ad alta risoluzione, prima ancora che fosse fissata sulla lastra fotografica.

Il passaggio alla strumentazione digitale ha consentito di lavorare in maniera molto più proficua. Tuttavia, alcuni aspetti che sicuramente rimangono insuperabili di quei vecchi microscopi sono la qualità della documentazione a corredo ed il conseguente aiuto nella diagnostica e nella riparazione dei guasti. Si tratta di un aspetto tutt'altro che trascurabile per chi è abituato a "mettere le mani" sugli strumenti in prima persona con un notevole risparmio sui costi di manutenzione.

I manuali del SEM 500 spiccavano per l'enorme quantità di informazioni che venivano fornite all'utente. Di ogni parte meccanica era presente il disegno ed erano descritte le modalità per smontarla e rimontarla. Per ogni scheda elettronica erano riportati gli schemi elettrici e la descrizione del funzionamento di ogni singolo componente. Era evidente l'intenzione di permettere all'utente finale di conoscere profondamente lo strumento che stava utilizzando.

La nostalgia per queste utilissime peculiarità svanì velocemente quando iniziammo a lavorare proficuamente con il nostro primo SEM Digitale: un Philips-XL40. Era iniziata l'era dei PC e le "manopole" erano quasi completamente sparite per lasciare posto ad un mouse con il quale si potevano gestire tutte le fasi del lavoro e controllare tutti i parametri principali del microscopio. Le immagini potevano essere acquisite e immagazzinate su hard disks sempre più capienti. Eravamo tra la fine degli anni '80 ed i primi anni '90 ed Internet era ancora solo un'idea nella mente fertile di qualche "cervellone" del CERN.

L'esperienza di microscopia del CIGS comprende anche il settore della microscopia a trasmissione. Il primo TEM fu un Philips EM-400T equipaggiato con un sistema EDS EDAX, strumento condiviso fra ricercatori in campo biologico e ricercatori nel campo delle scienze dei materiali. Questo aspetto ci porta ad una considerazione riguardante la vocazione multi-disciplinare del CIGS; nella nostra esperienza abbiamo avvertito come nel settore TEM, più che in quello SEM, ci fosse una dicotomia tra le diverse applicazioni, portando le aziende a costruire microscopi TEM maggiormente dedicati all'uno o all'altro degli ambiti.

Anche se è spesso difficile tracciare confini netti, ci sembra che una differenza evidente riguardasse l'utilizzo delle lastre fotografiche, prima delle moderne telecamere digitali. Per molti anni le lastre fotografiche hanno mantenuto una qualità insuperabile e ricordiamo come il biologo tendesse a lavorare molto in camera oscura mentre nelle scienze dei materiali si cercava di ottimizzare il lavoro durante la sessione allo strumento. Per questa ragione le prime telecamere digitali (che non avevano certo la risoluzione delle attuali) sono state maggiormente utilizzate inizialmente nel campo delle scienze dei materiali.

La "rivoluzione digitale" nei TEM arrivò con qualche anno di ritardo rispetto ai SEM e certamente le telecamere digitali giocarono un ruolo primario. Infatti, solo all'inizio degli anni '90 sull'EM-400T venne installata una telecamera digitale CCD (694 Gatan 1024x1024). Alla fine del 2000 arrivò un TEM Jeol 2010 equipaggiato con filtro EELS della Gatan e microanalisi Oxford. Una importante caratteristica di questo nuovo microscopio era quella di permettere la gestione di alcune sue funzioni attraverso comandi che possono essere inviati da un computer esterno attraverso una connessione seriale. In questo senso rappresentava un antesignano dei più moderni microscopi TEM completamente gestiti via software.

Si tratta di uno strumento ancora in funzione sul quale è stata recentemente installata una ulteriore telecamera del tipo "side entry" a testimonianza dell'impegno del CIGS nell'aggiornare anche gli strumenti più datati.

Abbiamo usato il termine "rivoluzione digitale" non riferendoci solo alle immagini, ma pensando più in profondità alla progettazione dei microscopi e dell'interfaccia con l'operatore. Alcune parti sono rimaste sostanzialmente identiche rispetto al passato, basti pensare al rivelatore per elettroni secondari Everhart-Thornley, ma la struttura hardware/software degli strumenti è decisamente cambiata. Le schede analogiche erano costituite da componenti discreti ben identificabili: transi-

stors, condensatori, resistenze, ecc. erano facilmente riconoscibili su ogni scheda.

Le schede digitali, invece, sono composte prevalentemente da circuiti integrati, attivi o passivi, il cui funzionamento può essere definito attraverso una programmazione firmware. E' evidente che sia più facile aggiornare questo tipo di componenti piuttosto che riprogettare una scheda elettronica di tipo analogico e questo ha portato ad una maggiore flessibilità delle funzioni dello strumento, il quale può essere integrato con nuovi accessori o con nuove modalità operative.

Se le immagini digitali hanno rappresentato una rivoluzione nella vita di tutti i giorni, nel caso della strumentazione scientifica hanno consentito di memorizzare, elaborare e condividere le informazioni in modo molto più efficace. Questo sia per le immagini vere e proprie che per le informazioni analitiche ad esse associate (spettri, mappe ecc.) nonché, più in generale, per tutte le altre informazioni, cioè per tutti i parametri che possono essere "esportati e/o importati" al fine di modificare la configurazione strumentale ed impostare opportunamente lo strumento a seconda delle diverse esigenze.

Dai primi anni '90 iniziò l'era di Internet. In breve capimmo che poteva essere una grande opportunità per pensare ad un modo tutto nuovo di organizzare e condividere dati (immagini, spettri, ecc.). Gestire opportunamente i dati acquisiti e renderli disponibili attraverso la rete è stato un lavoro sul quale il CIGS ha immediatamente investito persone e risorse e ce ne prendiamo orgogliosamente il merito. L'idea trainante è stata quella di strutturare il sito web del CIGS non soltanto perché fornisse informazioni statiche ma perché potesse essere usato come piattaforma in grado di mettere a disposizione dei propri utenti tutto quanto memorizzato durante la sessione di lavoro allo strumento. Questo ha comportato lo sviluppo di un protocollo ben definito per tutta la sequenza di operazioni: acquisizione, memorizzazione, sicurezza dei dati, fruizione dei dati stessi. Oggi si parla di "cloud" ma già dalla metà degli anni '90 l'infrastruttura Web del CIGS era una sorta di cloud "ante litteram". Fin da allora i nostri utenti hanno iniziato a poter accedere ai nostri laboratori producendo dati in forma digitale per poi poterli scaricare comodamente da una sede remota tramite l'accesso protetto al nostro sito web nel quale sono state implementate tecnologie dinamiche per la gestione, il backup, la catalogazione e la

fruibilità dei dati prodotti nel pieno rispetto della sicurezza e della privacy.

La gestione computerizzata degli strumenti e le moderne risorse informatiche hanno inoltre consentito l'interazione remota degli strumenti stessi: la struttura informatica del CIGS può integrare anche funzionalità di questo tipo e nel corso del tempo sono stati realizzati al nostro interno diversi applicativi software per permettere di accedere alle funzionalità degli strumenti da sedi distaccate. Questa potenzialità viene utilizzata ampiamente dai nostri utenti per seguire gli esperimenti in corso o per svolgere attività didattiche.

I progressi tecnologici che si sono avuti in 40 anni non sono stati solamente digitali o virtuali. Alcune tipologie di microscopi sono diventate più "amichevoli". Pensando ai microscopi con emettitori ad effetto Schottky ed ai microscopi in basso vuoto, si può notare come nel corso degli anni questi strumenti siano diventati maggiormente fruibili, senza penalizzarne eccessivamente le performance finali.

Questa riflessione si può applicare benissimo alla microscopia a scansione di sonda. I primi tentativi di sfruttare l'effetto "tunnel" per ottenere immagini morfologiche di un campione risalgono alla fine degli anni '70, ma gli sviluppi successivi hanno ampliato notevolmente la famiglia delle microscopie a sonda, che di fatto realizzano dei veri e propri nano-laboratori nei quali vengono utilizzate interazioni di vario genere (magnetiche, elettriche, chimiche, ecc.) Nel suo complesso si tratta di una tecnica più recente rispetto alla microscopia elettronica, quindi con aspetti ancora ampiamente da esplorare.

I due microscopi SPM in dotazione al CIGS sono arrivati in anni diversi (1995 e 2007) ed hanno tra loro caratteristiche complementari in modo da poter offrire agli utenti un maggior numero di opzioni riguardanti la tipologia dei campioni e le modalità di analisi.

I lettori di questa rivista hanno certamente dimestichezza con la classica forma a "pera" che rappresenta l'interazione fra il fascio di elettroni incidenti ed il campione e mostra i diversi segnali dai quali si possono ricavare informazioni. Per aumentare le possibilità analitiche di un microscopio elettronico occorre aumentare il numero dei dispositivi installati (a volte è riduttivo chiamarli semplicemente accessori) e la lista delle possibili opzioni è cresciuta nel corso del tempo. L'ultimo microscopio arrivato al CIGS è stato installato

poco più di un anno fa (di fatto siamo alla III generazione) ed è un microscopio FEI con sorgente ad emissione di campo per effetto Schottky. Oltre alle indubbe performance di questo tipo di colonne è da notare il notevole numero di sistemi di raccolta che possono essere installati. Le immagini da elettroni secondari o retrodiffusi possono essere acquisite con diverse modalità e, ulteriormente, elettroni trasmessi, luce (catodoluminescenza), raggi X (microanalisi EDS), elettroni diffratti (EBSD) possono ciascuno fornire informazioni sul campione che viene analizzato.

Per tracciare una brevissima storia del CIGS, limitata alla microscopia, abbiamo menzionato esplicitamente solo alcuni degli strumenti, ma nel corso degli anni il CIGS si è dotato di microscopia confocale e di microscopia connessa a spettrofotometri Raman ed Infrarosso.

Tutte queste tecniche sono fondamentali perché il CIGS sia e diventi sempre più un importante riferimento per tutti i ricercatori dell'Ateneo UniMoRe e possa svolgere sempre meglio un

ruolo di supporto per le realtà produttive del nostro territorio ma non solo.

A fine articolo vogliamo elencare tutti i microscopi attualmente installati al CIGS come fosse la lista degli attori di un film.

Dotazione strumentale del CIGS:

- Microscopio Elettronico a Scansione SEM Nova NanoSEM 450 - FEI
- Microscopio Elettronico a Scansione ESEM - Quanta200 - FEI
- Microscopio Elettronico a Trasmissione JEM 2010 - Jeol
- Microscopio a Forza Atomica Autoprobe - Veeco
- Microscopio a Forza Atomica NanoScope III - Veeco
- Microscopio FTIR PE i-Series 2000 - Perkin Elmer
- Microscopio Confocale SP2-AOBS - Leica
- Microscopio Raman LabRam - Jobin Yvon

Chromatin structure in situ: the contribution of DNA ultrastructural cytochemistry

Derenzini M., Olins A.L., Olins D.E.

Eur. J. Histochem. 58:2307, 2014. doi:10.4081/ejh.2014.2307

Conventional transmission electron microscopy has widely been used for investigating in situ the organization of cell nucleus in a wide variety of tissues and organisms. The relatively little impact of these studies in conclusively defining the structural organization of chromatin is essentially due to the fact that the ultrastructure of chromatin is partially masked by the electron density of different substances which are intermingled and interacting with deoxyribonucleoproteins.

In this article, Massimo De Renzini, Ada L. Olins and Donald E. Olins reviewed the literature on the studies on chromatin at electron microscopy, and demonstrate that ultrastructural cytochemistry is a powerful tool to obtain meaningful data both on the morphological and the functional organization of chromatin in situ.

The results obtained by selectively staining DNA in thin sections by the Feulgen-like osmium-amine reaction were discussed by the authors, taking into account the most recent data on the interphase chromatin domains and the structural organization of transcriptionally active and inactive chromatin fibers.

It is worth recalling that Ada L. Olins and Donald E. Olins have been pioneers in the study of chromatin structure with their fundamental discovery, in 1974, of the bead-on-a-string organization of chromatin which they defined as "a linear arrays of spherical particles (nu bodies)".

Carlo Pellicciari
Università di Pavia

Special issue on "Single-Molecule Super-Resolution Microscopy"

Histochem. Cell Biol. Volume 141, Issue 6, June 2014
(<http://link.springer.com/journal/418/141/6/page/1>)

Super-resolution microscopy is a form of light microscopy by which images are obtained with a higher resolution than conventional light microscopy where resolution is limited by the diffraction of light. The different super-resolution techniques allow to finely describe the structural organization and molecular assembly of subcellular components, at a very high (virtually molecular) spatial resolution.

The recent development, over the last few years, of super-resolution microscopy took advantage of the continuous improvements in fluorescent probes and specific labeling techniques, and of the availability of refined procedures for data analysis and processing: nowadays, complex and interacting cellular machineries can be investigated in situ in the subcellular compartments where they actually work, and their molecular composition and dynamic interactions can precisely be reconstructed in 2D and 3D.

In this special issue, the basic principles of super-resolution imaging by single-molecule localization are illustrated in three review articles, while novel chemicals and algorithms for image reconstruction are presented in four original papers.

Manuela Malatesta
Università di Verona

Plantaris muscle adaptation to atrophy generated by disuse: an ultrastructural study

F.M. Giordano,^{1*} E. Vizziello,^{1*} J.G. Tidball,² E. Falcieri,^{1,3} D. Curzi¹

¹Department of Earth, Life and Environmental Sciences, University of Urbino "Carlo Bo", Urbino, Italy;

²Department of Integrative Biology and Physiology, University of California, Los Angeles, CA, USA;

³Institute of Molecular Genetics and Rizzoli Orthopaedic Institute, Bologna, Italy

***Contributions: FMG and EV contributed equally to the manuscript**

Corresponding author: Davide Curzi

Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente, Via Ca' le Suore 2, 61029 Urbino, Italy

Tel. +39.0722.304311 - Fax: +39.0722/304244

E-mail: davide.curzi@uniurb.it

Summary

Muscle atrophy is a mechanism which induces muscle mass loss, through an increased protein degradation and a decreased synthesis. This alteration compromises the muscle contractile capacity and is implied in numerous physiological and pathological conditions (e.g. denervation, aging, bed rest, dystrophies and myopathies). The aim of this work is to analyze the ultrastructural changes generated by disuse on rat plantaris muscle, mainly composed by fast fibers. Eight animals were equally assigned to control and unloaded group, and the treated rats were tail-suspended for 10 days. After suspension, the animals of both groups were euthanized and the hind-limb muscles were processed for electron microscopy. Transmission electron microscopy observations show morphological modifications in the unloaded group respect to the control group, such as sarcomere disorganization, continuity lack among myofilaments and Z-line thickening. In the fiber cytosol, swollen mitochondria and dilated triads can be observed, as well as a growing amount of glycogen, which suggests a possible fiber shift. Therefore our findings reveal macroscopic and microscopic modifications induced by disuse, which concern both contractile and energetic system.

Key words: Skeletal muscle, ultrastructure, suspension, atrophy, disuse.

Introduction

Muscle atrophy is a mechanism which involves the loss of contractile proteins, implying a decrease of fiber section size, strength and endurance (Rommel *et al.*, 2001). These modifications reduce the muscle mass, compromising its capacity to generate the contractile force (Snijders *et al.*, 2013).

The skeletal muscle maintenance depends on the balance between protein synthesis and degradation, both involved in the preservation of muscle mass. Atrophy and hypertrophy (the reverse condition which concerns a muscle mass increase) depend on the modifications of this balance. Therefore, muscle atrophy is characterized by an increased protein degradation, associated with a rapid contractile protein loss, and a protein synthesis inhibition (Lecker *et al.*, 1999; Sandri *et al.*, 2008). Atrophic mechanism is still under discussion, in particular the myonucleus role and the molecular pathways concerning its activation. Siu and Alway (2009), basing on the myonuclear domain theory, have hypothesized that during

muscle atrophy there would be a numerical reduction of myonuclei, with a maintenance of myonuclear domain size. Regarding the molecular mechanisms, disuse atrophy may be related to Atrogin-1/MAFbx and MuRF1, IGF-1-AKT-mTOR pathway and myostatin pathway (Brooks *et al.*, 2014).

In the literature several works analyse the atrophy role in different conditions. The muscle mass loss may be due to particular disorders such as diabetes, muscular dystrophies and denervation. The last can be the consequence of numerous diseases, such as Spinal Muscular Atrophy (SMA), where the motoneuron loss at spinal cord level implies a clear weakness and hypotonia of affected muscles (Martínez-Hernández *et al.*, 2014).

Duchenne Muscular Dystrophy is a commonly studied disease in which dystrophin, a protein that links the muscle fiber cytoskeleton to extracellular matrix, through the cell membrane, appears absent. Cheng *et al.* (2013) investigated clinical and pathological features in children with progressive muscular dystrophy (PMD), showing, by means of EMG exam-

ination, that PMD manifests as atrophic signs in the early stage, accompanied by neurogenic damage in the late stage.

The relationship between diabetes and atrophy is still under discussion, although in literature it is well known that the disease inhibits muscle regrowth. Kataoka *et al.* (2014) have caused disuse atrophy in diabetic and non-diabetic rats, through immobilization. In the following recovery period, muscle IGF-1 levels increased significantly in the non-diabetic rats, but not in the diabetic ones. In conclusion, the decreased level of IGF-1 and the impairment of angiogenesis associated with the disease, are probably responsible for the inhibition of regrowth and the consequent atrophy. There are also other conditions which lead to atrophy such as aging, forced resting and microgravity (Sinha *et al.*, 2014). Aging is a physiological condition characterized by the loss of skeletal muscle mass and the decline in satellite cell content (Verdijk *et al.*, 2014). These age-related modifications were observed particularly in type II muscle fibers and twelve weeks of resistance exercise training, significantly increased muscle fiber section and satellite cell content (Verdijk *et al.*, 2009). However, Snijders *et al.* (2014) suggest that muscle disuse atrophy is not accompanied by changes in skeletal muscle satellite cell content.

Resting may be considered similar to the microgravity condition (Linderman *et al.*, 1994) because of the mechanical loading absence. In fact, muscle unloading, caused by the absence of movement or gravity, leads to atrophy (Brooks *et al.*, 2014). Lloyd *et al.* (2014) confirmed the loss of skeletal muscle mass in hindlimb suspended mice. This condition causes atrophy and is also related to trabecular bone loss, which occurs both in elderly subjects and astronauts.

Ferreira *et al.* (2008) studied mice muscle atrophy after 48 hours of tail suspension and reported a significant decrease of muscle weight and protein concentration. Tagliavini *et al.* (2014), investigated muscle adaptations in patients with collagen VI-related myopathies. Their observations showed swollen mitochondria, hypodense matrix, dilated sarcoplasmic reticulum and apoptotic features.

The aim of our research is to investigate, at ultrastructural level, morphological and morphometrical changes due to disuse atrophy in rat plantaris muscle, which is mainly composed by type II muscle fibers and then particularly sensitive to the atrophic condition.

Materials and Methods

Animal model

Eight male albino Sprague-Dawley rats, aged eight weeks, were placed in individual suspension cages on a standard 12:12-h dark-light cycle in a room maintained at $24 \pm 1^\circ\text{C}$ and fed a standard diet without limitations. After 1 week of quarantine, 4 rats were randomly chosen for the unloading protocol (unloaded group). These animals were tail-suspended for 10 days and the tail was wrapped in a piece of Fast-Trac adhesive tape, covered with a stockinette and secured with fiber tape (Curzi *et al.*, 2013). The Fast-Trac tape was passed through a wire hook, which was then suspended from a fishing swivel. The swivel was, in turn, suspended from the overhead track system. This arrangement allowed the rats to move freely about the cage on their forelimbs. The suspension tracks were blocked, so that the rats were unable to touch the sides of the cage with their hindlimbs (Grindeland *et al.*, 1994; Linderman *et al.*, 1994). The other four rats were euthanized under general anesthesia with i.v. injection of sodium pentobarbital (50 mg/kg body wt) after 10 days (CTRL group). At the end of the unloading protocol, under general anesthesia also the suspended rats were sacrificed. Animal care and use were in accord with the "Ames Research Center Animal Users Guide" (AHB 7180).

Transmission electron microscopy (TEM)

From the sacrificed animals, the right plantaris muscles were taken, quickly weighed on a precision scale, tied to an applicator stick at physiological length and immediately fixed with 1.4% glutaraldehyde in a 0.2 M sodium cacodylate buffer at pH 7.2 for 1 h at 4°C . The samples were then rinsed in cacodylate buffer and minced into small bundles ($<1\text{ mm}^3$) of muscle fibers that were fixed in the same solution for an additional hour. After washing, samples were post-fixed with 1% osmium tetroxide for 1 h in the same buffer, rinsed in cacodylate buffer and dehydrated in a graded series of ethanols. They were embedded in epoxy resin and longitudinally sectioned (Law *et al.*, 1995). Semithin sections were stained with 1% toluidine blue in distilled water at 60°C and thin sections, stained with uranyl acetate and lead citrate, were then observed with a Philips CM10 electron microscope (Curzi *et al.*, 2012; Salucci *et al.*, 2013).

Morphometric analysis

Measurements were made only on longitudinal muscle sections and one hundred images were evaluated for each group and twenty-five for each rat. Hundred squared areas (Area= 50 μm^2), one for each image, were analyzed. The number of swollen mitochondria and the sarcomere diameters were measured in semiautomatic mode, using *Image J* analysis software. All data were expressed as mean values $\pm$ SEM and the results were compared using Student's t-test. Significance was set at $p \leq 0.01$.

Results

In the CTRL group, the sarcomere arrangement along myofibril seemed well-organized and the myofibrils appeared parallelly oriented (Figure 1A). On the contrary, the treatment determined sarcomere and Z-line misalignment and the latter appeared thickened or completely absent (Figure 1B). After ten days of suspension, in fact, the ultrastructural images of plantaris muscles revealed a general tissue disorganization.

At high magnification, in the mitochondria of CTRL fibers, the typical double-membrane system and the cristae were observable (Figure 1C). Conversely, in the suspended rats, these organelles appeared swollen and characterized by a unique membrane and by the absence of cristae (Figure 1D). Furthermore, in the unloaded group, the Z-line correlated disposition of mitochondria and triads seemed to be lost and the terminal cisterns of sarcoplasmic reticulum appeared dilated and severely compromised (Figure 1E-F).

The classical sarcomere structure, where thin actin filaments appeared well bound to the Z-lines (Figure 2A), in treated group appeared frequently altered, and myofilaments were randomly oriented (Figure 2B). In the muscles of unloaded group, cytosol spread among myofilaments and glycogen amount increased respect to the CTRL group (Figure 2C-D).

Morphometric analysis confirmed the ultrastructural observations. In fact, the percentage of swollen mitochondria displayed a significant increase ($P < 0.01$) in the unloaded rats (66.18%) respect to the CTRL (19.97%) (Figure 2E). On the contrary, comparing the sarcomere diameter means in the two groups, a significant decrease ($P < 0.01$) in the suspended animals (0.62 μm) in comparison to the CTRLs (1.24 μm) (Figure 2F) was evident.

Discussion

Several pathological or physiological conditions are directly or indirectly characterized by muscle atrophy, the role of which is currently investigated by numerous researchers. The aim of this study was to describe the morphological features of atrophic plantaris muscle by means of electron microscopy. In the literature, the higher capacity of fast fibers to respond to muscle atrophy, respect to the slow fibers, is well known (Ciciliot *et al.*, 2013). Therefore, the plantaris muscle, mainly composed by fast fibers, has been chosen. After 10 days of suspension, rat plantaris muscles display numerous and deep ultrastructural modifications, which regard not only to the fiber structural system, but also to the related structures. Unloaded muscles show morphological changes such as a general sarcomere disorganization, myofilament misalignment, cytosol spreading among them and a significant sarcomere diameter decrease. These features suggest a structural impairment related to a protein amount decrease and to an altered capacity to transfer the contractile force generated from single sarcomeres. In fact, several works show that this condition induces strength and endurance decrease (Rommel *et al.*, 2001; Lloyd *et al.*, 2014). Whereas on one hand the unloading appears to structurally affect the contractile system, on the other hand it also influences the activation system of muscle contraction. In fact, the triad alterations revealed in the suspended rats, both concerning sarcoplasmic reticulum and transverse tubule system, suggest an impairment of excitation-contraction coupling. Our findings display also significant modifications in mitochondria, which appear to lose their physiological position and structure. These changes reveal that atrophic process generated by unloading may influence the energetic mechanism of muscle fibers, which may not have sufficient levels of available energy. Moreover, electron microscopy observations suggest an apparent glycogen increase in the cytosol, which may be explained with a progressive shift of muscle fibers to a glycolytic metabolism, as well as reported by Du *et al.* (2011).

In conclusion, the muscle atrophy generated by disuse reveals macroscopic and microscopic tissue alterations, which involve the impairment of organelles essential for function and viability of muscle fibers. These modifications, appeared just after ten days of suspension, display the strong and quick impact of this condition on the muscle function.

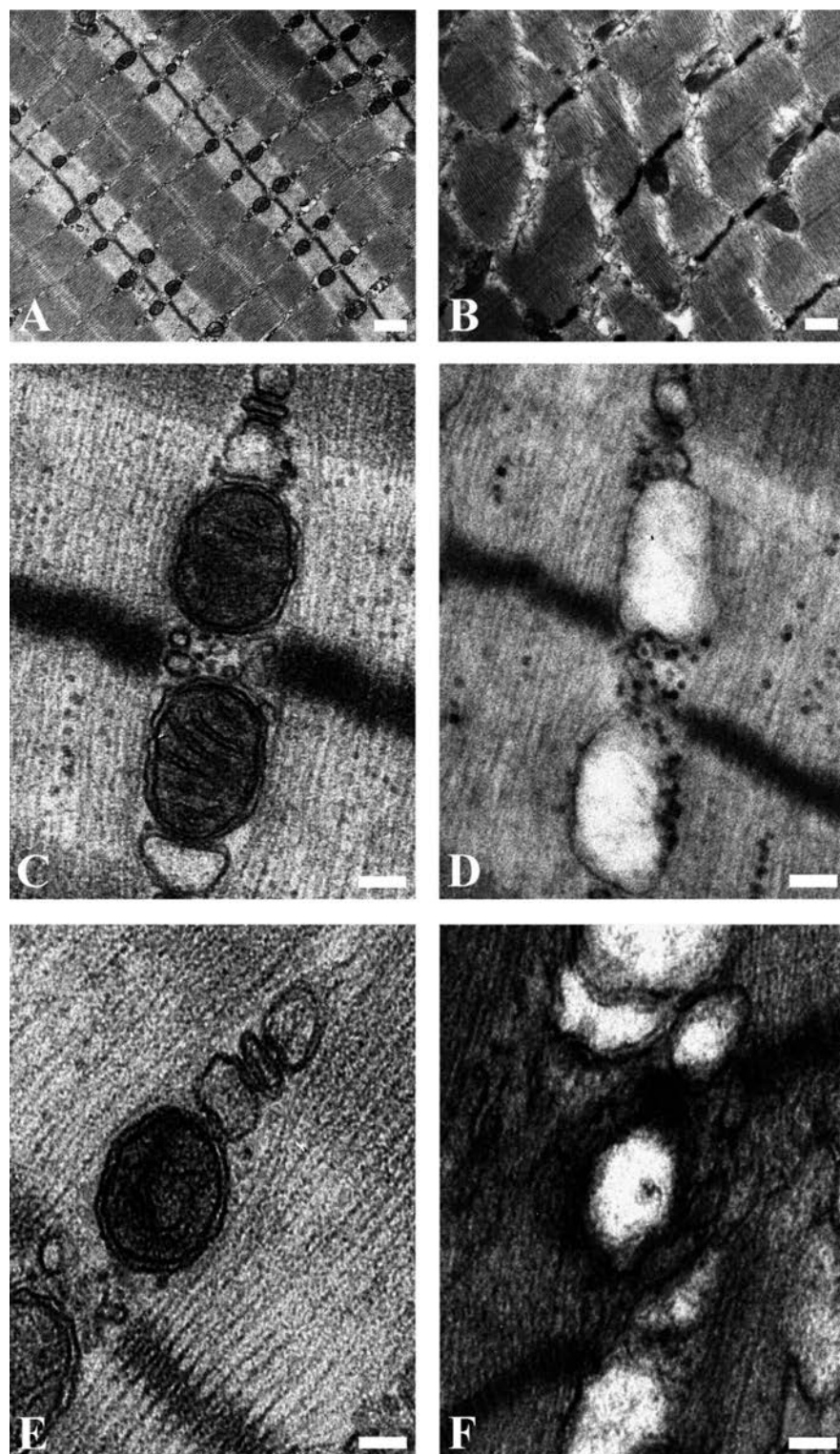


Figure 1. Longitudinal sections of CTRL (A) and unloaded (B) rat muscles. In CTRL rats, mitochondria with the characteristic double membrane and mitochondrial cristae, are observable (C), differently from suspended ones which show swollen mitochondria (D). Triads are perfectly intact in CTRL (E), in comparison to the suspended group, where they appear strongly dilated (F). Bars: A, B 0.5 μ m; C, D, E, F 0.1 μ m.

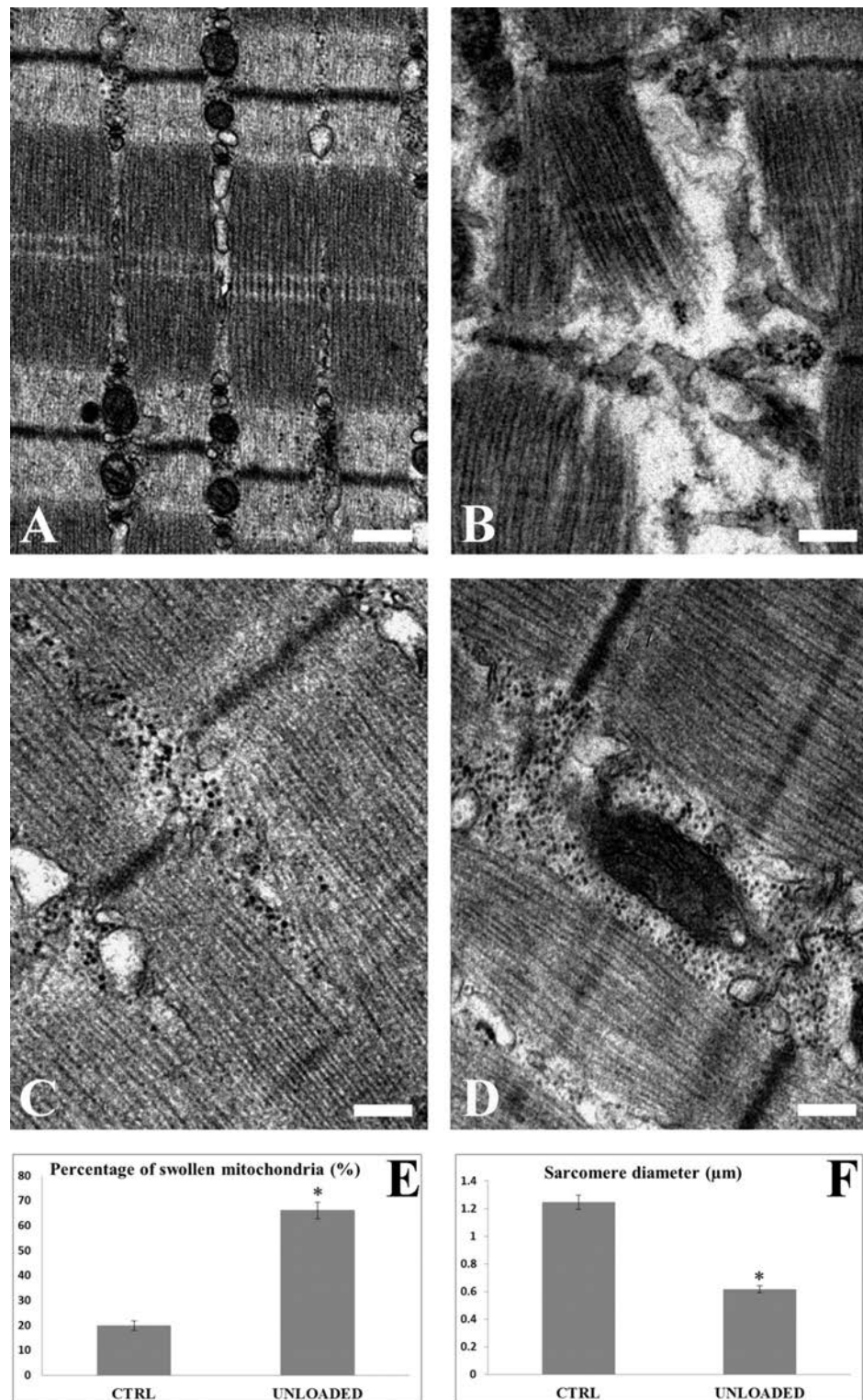


Figure 2. High magnification of CTRL (A) and unloaded (B) rat muscles. A lower amount of glycogen is observable in CTRL fiber cytoplasm (C), compared to the suspended group (D). Morphometric analyses reveal significant differences in the percentage of swollen mitochondria (E) and in the mean of sarcomere diameter between the two groups (F). Bars: A, B 0.4 μm ; C, D 0.3 μm .

Acknowledgements

We would like to thank Mr. Oliviero Rusciadelli and Mr. Lorenzo Bedini of Urbino University for their technical help.

References

- Brooks NE, Myburgh KH. Skeletal muscle wasting with disuse atrophy is multi-dimensional: the response and interaction of myonuclei, satellite cells and signaling pathways. *Front Physiol* 2014;5:99.
- Cheng SQ, Qiang H, Cao YH, Li QL, Chen CP. Clinical and pathological features in children with progressive muscular dystrophy. *Chin J Contemp Pediatrics* 2013; 15:649-52.
- Ciciliot S, Rossi AC, Dyar KA, Blaauw B, Schiaffino S. Muscle type and fiber type specificity in muscle wasting. *Int J Biochem Cell Biol* 2013;45:2191-9.
- Curzi D, Lattanzi D, Ciuffoli S, Burattini S, Grindeland RE, Edgerton VR, et al. Growth hormone plus resistance exercise attenuate structural changes in rat myotendinous junctions resulting from chronic unloading. *Eur J Histochem* 2013;57:e37.
- Curzi D, Salucci S, Marini M, Esposito F, Agnello L, Veicsteinas A, et al. How physical exercise changes rat myotendinous junctions: an ultrastructural study. *Eur J Histochem* 2012;56:e19.
- Du F, Wang J, Gao Y, Wang H, Wang Q, Jiang S, et al. A hindlimb disuse model inducing extensor digitorum longus atrophy in rats: tail suspension-immobilization. *Aviat Space Environ Med* 2011;82:689-93.
- Ferreira R, Neuparth MJ, Vitorino R, Appell HJ, Amado F, Duarte JA. Evidences of apoptosis during the early phases of soleus muscle atrophy in hindlimb suspended mice. *Physiol Res* 2008;57:601-11.
- Grindeland RE, Roy RR, Edgerton VR, Grossman EJ, Mukku VR, Jiang B, et al. Interactive effects of growth hormone and exercise on muscle mass in suspended rats. *Am J Physiol* 1994;267:R316-22.
- Kataoka H, Nakano J, Morimoto Y, Honda Y, Sakamoto J, Origuchi T, et al. Hyperglycemia inhibits recovery from disuse-induced skeletal muscle atrophy in rats. *Physiol Res* 2014; [Epub ahead of print].
- Law DJ, Caputo A, Tidball JG. Site and mechanics of failure in normal and dystrophin-deficient skeletal muscle. *Muscle Nerve* 1995;18:216-23.
- Lecker SH, Solomon V, Mitch WE, Goldberg AL. Muscle protein breakdown and the critical role of the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J Nutr* 1999;129:227S-37S.
- Linderman JK, Gosselink KL, Booth FW, Mukku VR, Grindeland RE. Resistance exercise and growth hormone as countermeasures for skeletal muscle atrophy in hindlimb-suspended rats. *Am J Physiol* 1994;267:R365-71.
- Lloyd SA, Lang CH, Zhang Y, Paul EM, Laufenberg LJ, Lewis GS, et al. Interdependence of muscle atrophy and bone loss induced by mechanical unloading. *J Bone Miner Res* 2014;29:1118-30.
- Martínez-Hernández R, Bernal S, Alias L, Tizzano EF. Abnormalities in early markers of muscle involvement support a delay in myogenesis in spinal muscular atrophy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2014;73:559-67.
- Rommel C, Bodine SC, Clarke BA, Rossman R, Nunez L, Stitt TN, et al. Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways. *Nature Cell Biol* 2001;3: 1009-13.
- Salucci S, Burattini S, Baldassarri V, Battistelli M, Canonico B, Valmori A, et al. The peculiar apoptotic behavior of skeletal muscle cells. *Histol Histopathol* 2013;28:1073-87.
- Sandri M. Signaling in muscle atrophy and hypertrophy. *Physiology* 2008; 23:160-70.
- Sinha U, Csapo R, Malis V, Xue Y, Sinha S. Age-related differences in diffusion tensor indices and fiber architecture in the medial and lateral gastrocnemius. *J Magn Reson Imaging* 2014; [Epub ahead of print].
- Siu PM, Alway SE. Response and adaptation of skeletal muscle to denervation stress: the role of apoptosis in muscle loss. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2009;14: 432-52.
- Snijders T, Wall BT, Dirks ML, Senden JM, Hartgens F, Dolmans J, et al. Muscle disuse atrophy is not accompanied by changes in skeletal muscle satellite cell content. *Clin Sci* 2013;126:557-66.
- Tagliavini F, Sardone F, Squarzone S, Maraldi NM, Merlini L, Faldini C, et al. Ultrastructural changes in muscle cells of patients with collagen VI-related myopathies. *Muscles Ligaments Tendons J* 2014;3:281-6.
- Verdijk LB, Koopman R, Schaart G, Meijer K, Savelberg HH, van Loon LJ. Satellite cell content is specifically reduced in type II skeletal muscle fibers in the elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;292:151-7.
- Verdijk LB, Gleeson BG, Jonkers RA, Meijer K, Savelberg HH, Dendale P, et al. Skeletal muscle hypertrophy following resistance training is accompanied by a fiber type-specific increase in satellite cell content in elderly men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2009; 64:332-9.

Adhesive properties of *Aspergillus fumigatus* biofilms probed by atomic force microscopy and effects of alginate lyase enzyme

A. Maiorana,¹ F. Bugli,² M. Papi,¹ R. Torelli,² G. Maulucci,¹ B. Posteraro,³ M. Chiarpotto,¹ P. Posteraro,⁴ F. Paroni Sterbin,² V. Palmieri,¹ G. Ciasca,¹ M. Sanguinetti,² M. De Spirito¹

¹Physics Institute, Università Cattolica del Sacro Cuore, Rome, Italy; ²Microbiology Institute, Università Cattolica del Sacro Cuore, Rome, Italy; ³Hygiene Institute, Università Cattolica del Sacro Cuore, Rome, Italy; ⁴Clinical Laboratory, Ospedale San Carlo, Rome, Italy

Corresponding author: Alessandro Maiorana

Istituto di Fisica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Largo Francesco Vito, 1 00168 Roma, Italia

Tel. +39.06.30154265 - Fax +39.06.33013858.

E-mail: alessandro.maiorana@rm.unicatt.it

Summary

A. fumigatus biofilms represent a problematic clinical entity, especially because of their recalcitrance to antifungal drugs, which poses a number of therapeutic implications for invasive aspergillosis, the most difficult-to-treat *Aspergillus*-related disease. While the antibiofilm activities of amphotericin B (AMB) deoxycholate and its lipid formulations (e.g., liposomal AMB [LAMB]) are well documented, the effectiveness of these drugs in combination with nonantifungal agents is poorly understood.

In the present study, *in vitro* interactions between polyene antifungals Amphotericin (AMB) and liposomal Amphotericin (LAMB) with alginate lyase (AlgL), an enzyme degrading the polysaccharides produced as extracellular polymeric substances (EPSs) within the biofilm matrix, against *A. fumigatus* biofilms were evaluated by using atomic force microscopy (AFM). AFM was used to image and quantify the effects of AlgL-antifungal combinations on biofilm-growing hyphal cells.

AFM analysis showed that when *A. fumigatus* biofilms were treated with AlgL or polyene alone, as well as with their combination, both a reduction of hyphal thicknesses and an increase of adhesive forces were observed compared to the findings for untreated controls, probably owing to the different action by the enzyme or the antifungal compounds. Interestingly, marked physical changes were noticed in *A. fumigatus* biofilms exposed to the AlgL-antifungal combinations compared with the physical characteristics detected after exposure to the antifungal alone, indicating that AlgL may enhance the antibiofilm activity of both AMB and LAMB, perhaps by disrupting the hypha-embedding EPSs and thus facilitating the drugs to reach biofilm cells.

Our results suggest that a combination of AlgL and a polyene antifungal may prove to be a new therapeutic strategy for invasive aspergillosis.

Key words: *Aspergillus fumigatus*, atomic force microscopy, biofilms, alginate lyase, amphotericin.

Introduction

Aspergillus fumigatus (*A. fumigatus*) is a ubiquitous saprophytic mold that is often found in decaying materials, such as in compost piles or within the walls of old buildings. *A. fumigatus* is considered an opportunistic pathogen, primarily causing disease in immunocompromised patients. The most severe form is invasive aspergillosis (IA), and *A. fumigatus* is responsible for 90% of cases (Latge, 1999). Mortality rates of 70-90% are reported in haematopoietic stem cell transplant

recipients, the most at-risk group (Denning, 1998). Despite improvements in the diagnosis and treatment of IA, the number of cases and severity of the disease have increased dramatically due to the sheer numbers of patients being subjected to increasingly powerful immunosuppressive therapies (Barnes and Marr, 2006).

A. fumigatus has the ability to filament within the lungs forming dense intertwined mycelial balls (Mowat *et al.*, 2008). Typical biofilm structures, aggregates of microorganisms in which cells adhere to each other on a surface embedded with-

in a self-produced extracellular matrix (ECM), are observed either in the alveoli (IA) or in an existing cavity (aspergilloma). Growth of *A. fumigatus* as a multicellular community is also found on the surface of indwelling catheters, by which the fungus can often gain access to the bloodstream causing fungemia. Studies by confocal and electron microscopy have shown that the mycelium of *A. fumigatus* growing on an agar surface is covered by the hydrophobic ECM that cohesively bonds hyphae into a contiguous sheath. The ECM, mainly composed of galactomannan, α_{1-3} -glucans, melanin, and proteins including major antigens and hydrophobins (Beauvais *et al.*, 2007), was shown to surround hyphae growing in the lung of immunocompromised mice experimentally infected with *A. fumigatus* (Loussert *et al.*, 2010). Persister cells, interactions with polysaccharides of the extracellular matrix and ECM itself, acting as a barrier, contribute to reduced antifungal drug susceptibility.

Recent observations have consistently shown that all antifungal drugs are significantly less effective when *A. fumigatus* is grown as a biofilm than when it is grown in the planktonic state (Müller *et al.*, 2011; Fiori *et al.*, 2011; Ramage *et al.*, 2012), presumably as a reflection of multiple resistance mechanisms, including the ECM, which would prevent drug diffusion by acting as a physical barrier. This could contribute to the overall mortality with IA, which remains high, despite the use of newer broad-spectrum antifungal agents and diagnostic adjuncts (Segal *et al.*, 2007).

Different studies characterized fungal and bacterial biofilms (Nunez *et al.*, 2005; Jonas *et al.*, 2007; Oh *et al.*, 2007) and the mechanisms involved in their adhesion to different surfaces (Beech *et al.*, 2002). Difficulties in accurate detection of the ECM over a generic substrate (i.e., glass, catheter, cells, etc.) are commonly experimented with a number of different biofilms and surfaces. Nevertheless, different studies showed that atomic force microscopy technique is able to detect the properties of *fungi* biofilm with a nanometer resolution (Papi *et al.*, 2012).

In the present study, we investigated the effects of combinations of Amphotericin B (AMB), a macrocyclic, polyene broad-spectrum antifungal agent, and its lipid preparation (LAMB) with an enzyme (Alginate Lyase, AlgL) against preformed *A. fumigatus* biofilms, in an attempt to instill new therapeutical strategies for IA. To detect the

effects of AlgL on *A. fumigatus* biofilm we used atomic force microscopy (AFM), an emerged powerful technique for the analysis of microbial systems (Wright, 2010).

Materials and Methods

Fungal organisms, culture conditions, and inoculum preparation.

The *A. fumigatus* Af293 (ATCC MYA-4609, CBS 101355) type strain (28) and 31 clinical isolates were used throughout this study. All the isolates were retrieved from their frozen glycerol stocks and were streaked on fresh Sabouraud dextrose agar (Kima, Padua, Italy) plates, until good sporulation was achieved following incubation at 37°C. For all experiments, conidial suspensions in RPMI 1640 medium (Sigma-Aldrich, Milan, Italy) were obtained as described elsewhere (Fiori *et al.*, 2011; Pierce *et al.*, 2008) and used to prepare the inocula (see below).

Biofilm formation

A. fumigatus biofilms were grown statically for 24 h at 37°C on 13-mm-diameter glass coverslips (Bioscience Tools, San Diego, CA) placed into a standard 24-well cell culture plate (Thermo Scientific), by dispensing a cell inoculum prepared as described above into selected wells of the plate(s). After biofilm formation, the medium was aspirated and the plates were washed in sterile phosphate-buffered saline (PBS) to remove planktonic and/or nonadherent cells. Biofilm biomass was assessed as described elsewhere (Mowat *et al.*, 2008). Briefly, biofilms were stained with 0.5% (wt/vol) crystal violet solution for 5 min, rinsed with distilled water, and destained with 95% ethanol. The absorbance was measured at 490 nm with a microtiter plate reader (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) in order to determine the quantity of biological material produced (data not shown).

Antifungal and AlgL solutions.

Standard powders of the following antifungals were used: AMB (Sigma-Aldrich) and LAMB (Gilead Sciences, Milan, Italy). Their stock solutions were freshly prepared according to the manufacturers' guidelines. The AlgL from *Flavobacterium* species (28,000 U/g) was purchased as a pure substance from Sigma-Aldrich,

and a stock solution was freshly prepared in sterile PBS.

Determination of MIC

The MICs for planktonic cells (PMICs) were determined with the reference Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M38-A2 broth microdilution method using final drug concentrations that ranged from 0.008 to 8 g/mL for both the AMB and LAMB antifungals. Briefly, for each *A. fumigatus* isolate, a conidial inoculum was prepared in RPMI 1640 medium and quantified to achieve a final concentration of 0.4×10^4 to 5×10^4 conidia/mL. Following incubation of the microtiter plates for 48 h at 37°C, MIC (inhibitory concentration [IC]) endpoints were defined as the lowest drug concentrations that caused complete visible inhibition of growth compared with that of the drug-free growth control (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008). Testing of each isolate was performed in triplicate.

AFM imaging and force measurement

To further evaluate the effect of both AMB formulations in combination with AlgL, samples for AFM studies were prepared as previously described (Papi *et al.*, 2012). Briefly, 24-h-old *A. fumigatus* biofilms that were formed on glass coverslips as mentioned above were treated with AlgL (10 U/mL), AMB (4 µg/mL), and LAMB (4 µg/mL) or with their combinations at 37°C for 24 h. Samples were then rinsed gently with ultrapure water and air dried for AFM imaging and force spectroscopy by using a NanoWizard II atomic force microscope (JPK Instruments, Berlin, Germany) in conjunction with an optical microscope (Axio Observer; Carl Zeiss, Milan, Italy). Atomic force micrographs were collected in contact mode using Si₃N₄ cantilevers (CSC16; Mikromasch USA, San Jose, CA) with the manufacturer's quoted resonance frequencies of 10 kHz (range, 7 to 14 kHz) and force constants of 0.03 N/m (range, 0.01 to 0.08 N/m) in air. Scanning across the sample surface in the x and y directions was performed at a scan speed of 1 Hz. The images shown are typical results, and they were recorded in height mode. Moreover, to detect the effects of AlgL on ECM we build Root Mean Square (RMS) images for each sample. RMS image visualizes areas with high height local value variation. The RMS of deviations from the mean value of a circular neighbourhood of radius 2.5 pixels

centered around each sample is calculated and displayed. To analyze the adhesion force over the biofilm surface, force curves were acquired by recording the cantilever deflection as a function of the vertical displacement of the samples (Papi *et al.*, 2012), in order to give the variation of the deflection signal per nanometer. During the force-distance measurement, the scanning rate in the z direction was performed at 1 Hz. A Gwyddion image viewer (<http://gwyddion.net>) was used to analyze high-resolution topographic images (500 by 500 lines per scan) of the surface changes (e.g., height [in nanometers]), as well as force-distance measurements over the sample surface. Values were averaged from force curves collected in triplicate at 10 different points on the surface of mature biofilms for five areas per sample from each experimental condition.

Results

In order to examine the substructural effects of AlgL when tested in combination with AMB or LAMB on glass-formed *A. fumigatus* Af293 biofilms we carried out an AFM study involving imaging and adhesion measurements. Therefore, five treatment groups were studied: (i) AlgL at 10 U/mL (AlgL-10), (ii) AMB at 4 µg/mL (AMB-4), (iii) LAMB at 4 µg/mL (LAMB-4), (iv) AMB-4 plus AlgL-10, and (v) LAMB-4 plus AlgL-10. Representative AFM images of biofilm-embedded hyphae scanned in air are shown in Figure 1. Treated hyphae exhibited little variation in morphology compared with the morphology of those that were untreated, in spite of differences in their texture features. In Figure 1 (middle), we show representative magnification images of ECM. We observe when the Af293 biofilms were treated with AlgL alone and in combination with AMB or LAMB (samples from groups i, iv, and v) the peculiar mesh size, visible in untreated sample (A), totally disappear. Moreover, Alg + LAMB sample (Figure 1D) shows the presence of liposomal particle, as expected, on hyphae and external surfaces. These differences are also highlighted in RMS images (Figure 1-bottom)

In Figure 2A, it was displayed the plot of hyphal height data from all five treatment groups. Interestingly, although there was a significant ($P < 0.01$) difference between AMB and LAMB in their effects on hyphae, the presence of AlgL sus-

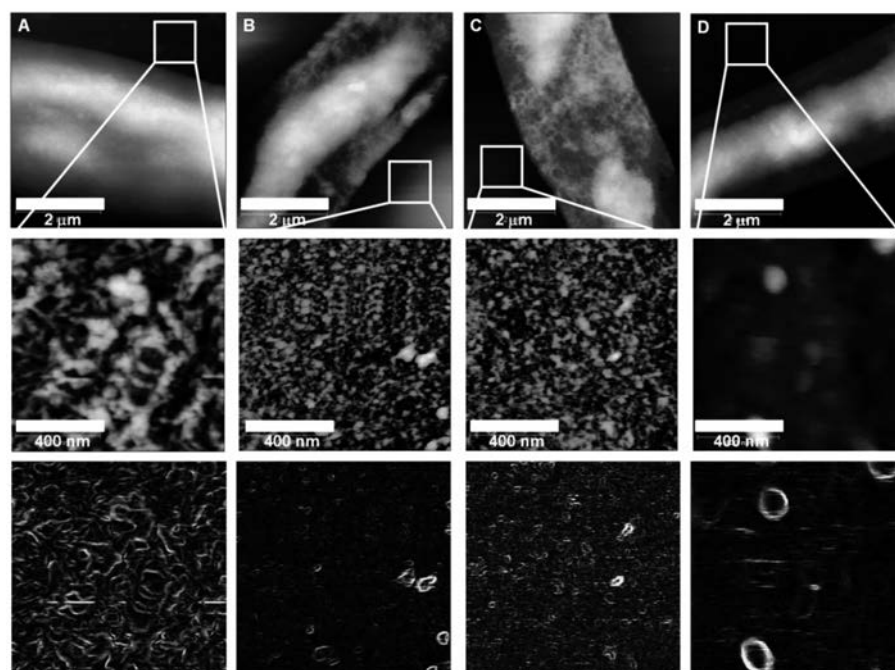


Figure 1. Atomic force micrographs of mature *A. fumigatus* Af293 biofilms imaged before treatment (A) and after treatment with AlgL (B), AlgL-AMB (C), or AlgL-LAMB (D). Topographic images (top) show hyphae from each experimental condition, as indicated, after they were grown as sessile cells for 24 h at 37°C in static and aerial environments. In the middle, magnification images (Size area 1 μm^2) reveal more details in ECM biofilm texture. Finally, root mean square (RMS) images (Size area 1 μm^2) depict clear differences in mesh size structure between treated (B to D) and untreated control (A) samples.

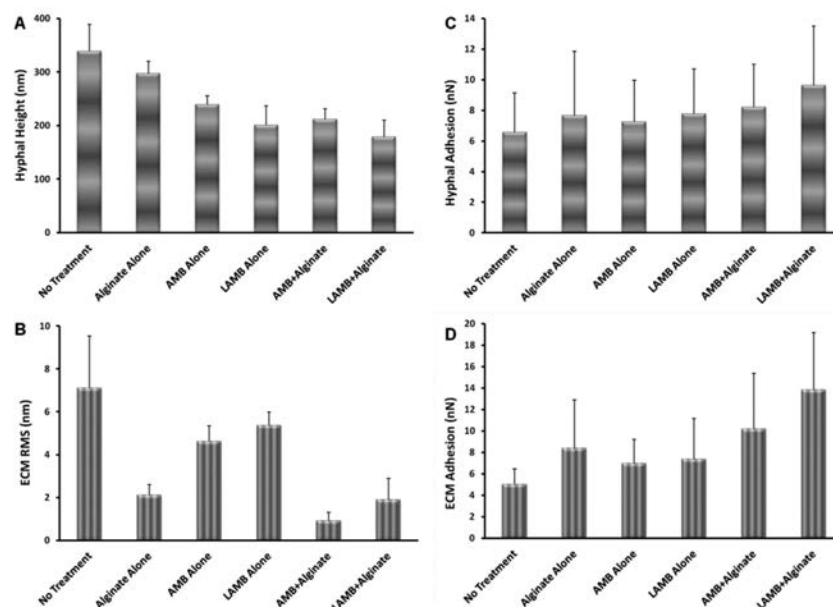


Figure 2. Biophysical properties of untreated 24-h-old *A. fumigatus* Af293 biofilms in RPMI 1640 medium and of biofilms treated for a further 24 h with AlgL or a polyene antifungal (AMB or LAMB) alone and with the AlgL-antifungal combinations, as measured by AFM. Averages of hyphal height (A), ECM-RMS (B) and adhesion force measured on hyphae surface (C) and ECM (D) from three independent experiments are shown. Error bars indicate the standard errors of the measurements.

tained such a difference, while significantly ($P < 0.01$) improving the antihyphal activity of both AMB and LAMB compared with that of each antifungal alone. Moreover, as showed in Figure 2B, the effects of AlgL are prominent on ECM where the hole formation, due to enzyme, reflects upon an increase of RMS. The combination of AlgL and LAMB produces a statistically significant enhancement ($P < 0.001$) of RMS value indicating a synergistic effect of both. Moreover, as attested to by adhesion force microscopy measurements, we found that the amount of adhesive values was significantly increased for all Af293 biofilms treated with AlgL ($P < 0.01$) or antifungal drugs (AMB or LAMB; $P < 0.05$), as well as with the AlgL and antifungal drug (AMB or LAMB) combinations ($P < 0.001$), compared to that for untreated biofilms as measured on ECM (Figure 2C) and hyphae surface (Figure 2D). However, noticeable increases were especially seen for samples from treatment groups i (AlgL alone), iv (AlgL plus AMB), and v (AlgL plus LAMB). Once again, AlgL significantly potentiated the AMB ($P < 0.05$) and LAMB ($P < 0.01$) effects, and this finding was markedly evidenced for LAMB rather than for AMB, despite a slight difference between the antifungal drugs when used alone that favoured LAMB, but not significantly (Figure 2C-D).

These results suggest that the loss of hydrophobicity subsequent to enzymatic treatment diminishes the entrapment of AMB (and LAMB) in the ECM, thus accounting for the enhanced reduction of hyphal thickness in Af293 biofilms treated with the AlgL-antifungal combination.

Discussion

A. fumigatus is now a leading fungal pathogen, and one of the most significant opportunistic fungi in a range of patient groups including cystic fibrosis patients, HIV-positive patients and other immuno-compromised individuals (Cimon *et al.*, 2001; Singh, 2005). These infections are typified by intricate networks of hyphae that develop from inhaled conidia (Shibuya *et al.*, 2004).

The colony surface of *A. fumigatus* revealed the presence of a hydrophobic matrix that cohesively bonds hyphae into a contiguous sheath. The reduced permeability of the extracellular matrix

delays penetration of the drugs into the cells and enhance the resistance of *A. fumigatus* to antimicrobial agents.

In such a context, combined use of a conventional antifungal with AlgL may provide an effective therapeutic approach, although no experiment addressed the activity or longevity of the enzyme under our assay conditions. If AlgL is short-lived, repeated applications at lower concentrations might be significantly better than single higher doses. In a clinical setting, AlgL can be administered as an injectable alginate-dissolving solution with minimal toxicity *in vivo* for the controlled release of the therapeutic agent.

The concentrations required and the implications of AlgL in experimental IA have yet to be determined, and further *in vitro* studies are needed to test the ability of AlgL to prevent biofilm formation. However, by interfering with the *A. fumigatus* biofilm matrix, it is possible that AlgL maximized the efficacy of both AMB and LAMB, although we did not specifically evaluate this hypothesis. Testing a second antifungal in a different class in parallel would certainly have strengthened our observations, but our observations reinforce the idea of the importance of the biofilm matrix in antifungal resistance, pointing to the use of EPS-degrading enzymes as a promising strategy to improve the management of biofilm-associated infections.

In this study we used atomic force spectroscopy, allowing an accurate determination of the biofilm's hydrophilic characteristics by measuring the interaction force between the AFM tip and the outer samples surface with the resolution of the tip contact area of 10 nm, to detect AlgL effects in combination with classical antifungal drugs (AMB and LAMB). In particular, local hydrophilic and electrostatic *A. fumigatus* properties and the biofilm formation and lysis have been discriminated together with morphology and topography properties.

We demonstrated that AlgL can greatly reduce the extent of the *A. fumigatus* biofilm forming several fractures that allows the drug transit and thus enhances the antifungal drug effect on the cell walls. We feel that clinical practice will benefit for this approach, by quantifying biofilms formed on medical devices (i.e., catheters) or evaluating the *in vitro* antifungal drug susceptibility.

References

- Barnes PD, Marr KA. Aspergillosis: spectrum of disease, diagnosis, and treatment. *Infect Dis Clin North Am* 2006; 20:545-61.
- Beauvais A, Schmidt C, Guadagnini S, Roux P, Perret E, Henry C, et al. An extracellular matrix glues together the aerial-grown hyphae of *Aspergillus fumigatus*. *Cell Microbiol* 2007; 9: 1588-600.
- Cimon B, Symoens F, Zouhair R, Chabasse D, Nolard N, Defontaine A, et al. Molecular epidemiology of airway colonisation by *Aspergillus fumigatus* in cystic fibrosis patients. *J Med Microbiol* 2001;50:367-74.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi. Approved standard, 2nd ed. 2008; M38-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- Denning DW. Invasive aspergillosis. *Clin Infect Dis* 1998; 26:781-803.
- Fiori B, Posteraro B, Torelli R, Tumbarello M, Perlin DS, Fadda G, et al. In vitro activities of anidulafungin and other antifungal agents against biofilms formed by clinical isolates of different *Candida* and *Aspergillus* species. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:3031-5.
- Latgé JP. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clin Microbiol Rev* 1999; 12:310-50.
- Loussert C, Schmitt C, Prevost MC, Balloy V, Fadel E, Philippe B, et al. In vivo biofilm composition of *Aspergillus fumigatus*. *Cell Microbiol* 2010; 12: 405-10.
- Mowat E, Williams C, Jones B, McChlery S, Ramage G. The characteristics of *Aspergillus fumigatus* mycetoma development: is this a biofilm? *Med Mycol* 2008; 47: 1-7.
- Müller FM, Seidler M, Beauvais A. *Aspergillus fumigatus* biofilms in the clinical setting. *Med Mycol* 2011; 49:S96-S100.
- Papi M, Maiorana A, Bugli F, Torelli R, Posteraro B, Maulucci G, et al. Detection of biofilm-grown *Aspergillus fumigatus* by means of atomic force spectroscopy: Ultrastructural effects of alginate lyase. *Microsc Microanal* 2012; 18: 1088-94.
- Pierce CG, Uppuluri P, Tristan AR, Wormley FL, Jr, Mowat E, Ramage G, et al. A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. *Nat Protoc* 2008; 3:1494-500.
- Ramage G, Rajendran R, Sherry L, Williams C. Fungal biofilm resistance. *Int J Microbiol* 2012; 2012: 528521.
- Segal BH, Almyroudis NG, Battiwalla M, Herbrecht R, Perfect JR, Walsh TJ, et al. Prevention and early treatment of invasive fungal infection in patients with cancer and neutropenia and in stem cell transplant recipients in the era of newer broad-spectrum antifungal agents and diagnostic adjuncts. *Clin Infect Dis* 2007; 44:402-9.
- Shibuya K, Ando T, Hasegawa C, Wakayama M, Hamatani S, Hatori T, et al. Pathophysiology of pulmonary aspergillosis. *J Infect Chemother* 2005; 10:138-45.
- Singh N. Invasive aspergillosis in organ transplant recipients: new issues in epidemiologic characteristics, diagnosis, and management. *Med Mycol* 2005;43: S267-70.
- Wright CJ, Shah MK, Powell LC, Armstrong I. Application of AFM from microbial cell to biofilm. *Scanning* 2010; 32:134-49.

I VANTAGGI DEI SOCI SISM

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

Essere Soci SISM vuol dire:

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

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

Per maggiori informazioni si prega di consultare il sito all'indirizzo **www.sism.it**.

ISTRUZIONI AGLI AUTORI

I manoscritti devono rispecchiare, nel loro contenuto, le principali aree di interesse scientifico della Società (biologia, medicina, ambiente e scienza dei materiali). Saranno considerati per la pubblicazione lavori di carattere sia metodologico che applicativo.

Gli Autori devono inviare, per e-mail al Direttore Responsabile, il manoscritto, in lingua inglese, almeno 40 giorni prima della pubblicazione della rivista stessa. Gli Autori saranno avvisati dell'accettazione del lavoro, sempre via e-mail, dopo che i componenti del Consiglio Direttivo avranno revisionato il manoscritto e suggerito eventuali modifiche.

Il manoscritto, completo di tabelle e didascalie, dovrà essere fornito in un unico file in formato .DOC, mentre le figure dovranno essere in formato .TIF o .JPG ed avere una risoluzione pari o superiore a 300 dpi alle dimensioni finali di stampa.

La prima pagina deve riportare il titolo del lavoro, il nome ed il cognome degli Autori, con relative affiliazioni, e l'indirizzo completo dell'Autore di riferimento. La seconda pagina deve contenere il riassunto e cinque parole chiave. Il lavoro deve essere diviso in paragrafi secondo il seguente ordine: Introduzione, Materiali e Metodi, Risultati, Discussione e Bibliografia. Quest'ultima deve essere redatta in ordine alfabetico e secondo lo schema sotto riportato:

- Montone A, Grbovic Novakovic J, Vittori Antisari M, Bassetti A, Bonetti E, Fiorini AL, *et al.* Nano-micro MgH₂-Mg₂NiH₄ composites: Tailoring a multi-channel system with selected hydrogen sorption properties. *Int J Hydrogen Energy* 2007;32:2926-34.
- Beridze T. Satellite DNA. Springer-Verlag, Berlin, 1982.
- Mc Conkey DJ, Orrenius S. Cellular signaling in thymocyte apoptosis. In: Tomei LD, Cope FO, eds. Apoptosis: The Molecular Basis of Cell Death. *Curr Comm Cell and Mol Biol*, vol. 3. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1991, pp. 227-46.

Ai lavori di uno stesso autore pubblicati nello stesso anno deve essere aggiunto un suffisso dopo la data (a, b, etc).

Nel testo, i riferimenti bibliografici vanno riportati tra parentesi e devono contenere il cognome dell'autore, l'anno di pubblicazione e l'eventuale suffisso. Nel caso di due autori, vengono riportati entrambi i cognomi; nel caso di tre o più autori, va riportato il cognome del primo autore seguito da "*et al.*".

Le didascalie delle figure e le tabelle devono essere allegate alla fine del testo, su pagine separate. Le figure devono essere numerate progressivamente nello stesso ordine in cui compaiono nel manoscritto. Le fotografie saranno stampate a colori solo se necessario e il costo sarà addebitato agli Autori.

In base a criteri di rilevanza scientifica e qualità artistica, potrà essere scelta per la copertina una figura dai lavori accettati per la pubblicazione.

TARIFE INSERZIONI PUBBLICITARIE

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

Le tariffe per le inserzioni pubblicitarie sono le seguenti:

Pagina interna b/n	€ 400,00
Pagina interna colore	€ 600,00
Seconda o terza di copertina (colore)	€ 800,00
Quarta di copertina (colore)	€ 1000,00

I prezzi si intendono per singola pagina, IVA esclusa.

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

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

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

Talos F200X

Fast chemical analysis in multiple dimensions

The FEI Talos™ F200X scanning/transmission electron microscope (S/TEM) delivers the fastest, most precise, quantitative characterization of nanomaterials in multiple dimensions. With innovative features designed to increase throughput, precision and ease of use, FEI's Talos F200X is ideal for advanced research and analysis across academic, government, and industrial research environments.

High resolution imaging for better-quality data

FEI Talos F200X combines outstanding high-resolution S/TEM and TEM imaging with industry-leading energy dispersive x-ray spectroscopy (EDS) signal detection, and 3D chemical characterization with compositional mapping. The FEI Velox™ S/TEM control software significantly improves imaging with a Smart Scanning engine, four-channel integration based on multiple STEM detectors, and Differential Phase Contrast (DPC) imaging for resolving electro-magnetic structures. Gain high speed and superior accuracy for EDS data processing and quantification applications.

The FEI X-FEG high brightness electron source delivers high total current—up to five times the beam current of a standard Schottky FEG—while keeping the convergence angle small. You gain improved signal-to-noise ratio and exceptional image resolution for STEM, EDS, and high resolution TEM applications. Stability and a long lifecycle enable the FEI X-FEG to deliver superior imaging efficiency.

See more, faster

Fast TEM imaging on Talos supports high-resolution and in situ dynamic observations. The FEI Ceta 16M™ camera displays a large field of view and captures images at a fast rate of 25 fps, while the piezo stage ensures high sensitivity, drift-free imaging and precise sample navigation, saving time and allowing you to capture more data from each sample.

Accelerate nanoanalysis for faster answers

The FEI Talos F200X includes FEI's own Super-X patented, integrated EDS system with four silicon drift detectors (SDDs) for superior sensitivity and mapping capabilities of up to 10^5 spectra/sec. Integration with the A-TWIN objective lens maximizes collection efficiency while delivering outstanding output count rates for a given beam current—even for low intensity EDS signals.

Make research easier

Talos makes imaging and analysis workflows accessible to a broader community of scientists, with a friendly digital user interface and class-leading ergonomics. Fast image acquisition combined with the easy-to-use operating platform allows even less-experience operators to collect results quickly. Implement full remote operation for greater ease of use and enhanced environmental stability. And to assure that productivity is maintained, Talos is equipped with the new Health Monitor that collects key instrument parameters to facilitate remote diagnostics and support.

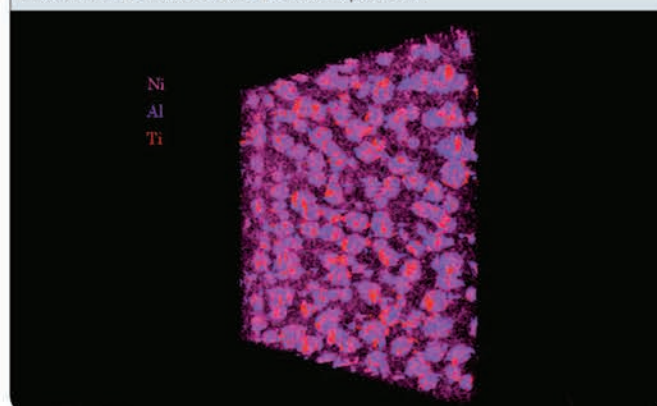
KEY BENEFITS

Better image data High throughput STEM imaging with simultaneous, multiple signal detection delivers better contrast for high quality images

Faster time to chemical composition data Rapid, precise quantitative EDS analysis reveals nanoscale details

Space for more Add application-specific in situ sample holders for dynamic experiments

Increased stability Enhanced environmental immunity with instrument enclosure and remote operation





Features

- Class-leading optical performance: Constant-power A-TWIN objective lens
- Maximized ease-of-use: Fast, easy operation switching, fits for multi-user environments
- Ultra-stable platform: Constant power objective lens, piezo stage, robust system enclosure, and remote operation ensure maximum stability
- SmartCam camera: Digital search-and-view camera improves the handling of all applications and allows daylight operation
- Fully integrated fast detector: Ceta 16M pixel CMOS camera provides large field of view and high read-out speed (25 fps @ 512 × 512)
- Full remote operation: Automatic aperture system in combination with the Ceta camera supports full remote operation
- Extended analytical capabilities: Talos extends analytical capabilities to 3D volumes using EDS tomography

Installations Requirements

Refer to preinstall guide for detailed data.

TALOS F200X	
Brightness of X-FEG	1.8×10^9 A/cm ² srad (@200kV)
Total beam current	> 50nA
Probe current	1.5 nA @ 1 nm probe (200 kV) 0.4 nA @ 0.31 nm probe
Super-X EDS system	4 SDD symmetric design, windowless, shutter-protected
Energy resolution	≤136 eV for Mn-Kα and 10 kcps (output)
Fast EDS mapping	Pixel dwell times down to 10μs

A-TWIN	
STEM HAADF resolution (nm)	0.16
EDX solid angle (srad)	0.9
TEM Information limit (nm)	0.12
STEM magnification range	150×-230M×
TEM magnification range	25×-1.50M*
Camera length (mm)	12-5700
Maximum diffraction angle	24°
Maximum tilt angle with double tilt holder	±30°
Maximum goniometer (stage) tilt angle	±90°

*1.50M achieved only when the Camera Image Enhancement is present.

World Headquarters
Phone +1 503 726 7500

FEI Europe
Phone +31 40 23 56000

FEI Japan
Phone +81 3 3740 0970

FEI Asia
Phone +65 6272 0050

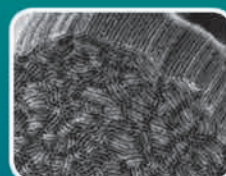
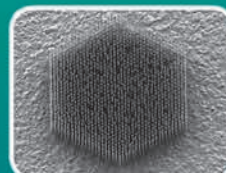
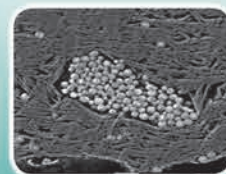
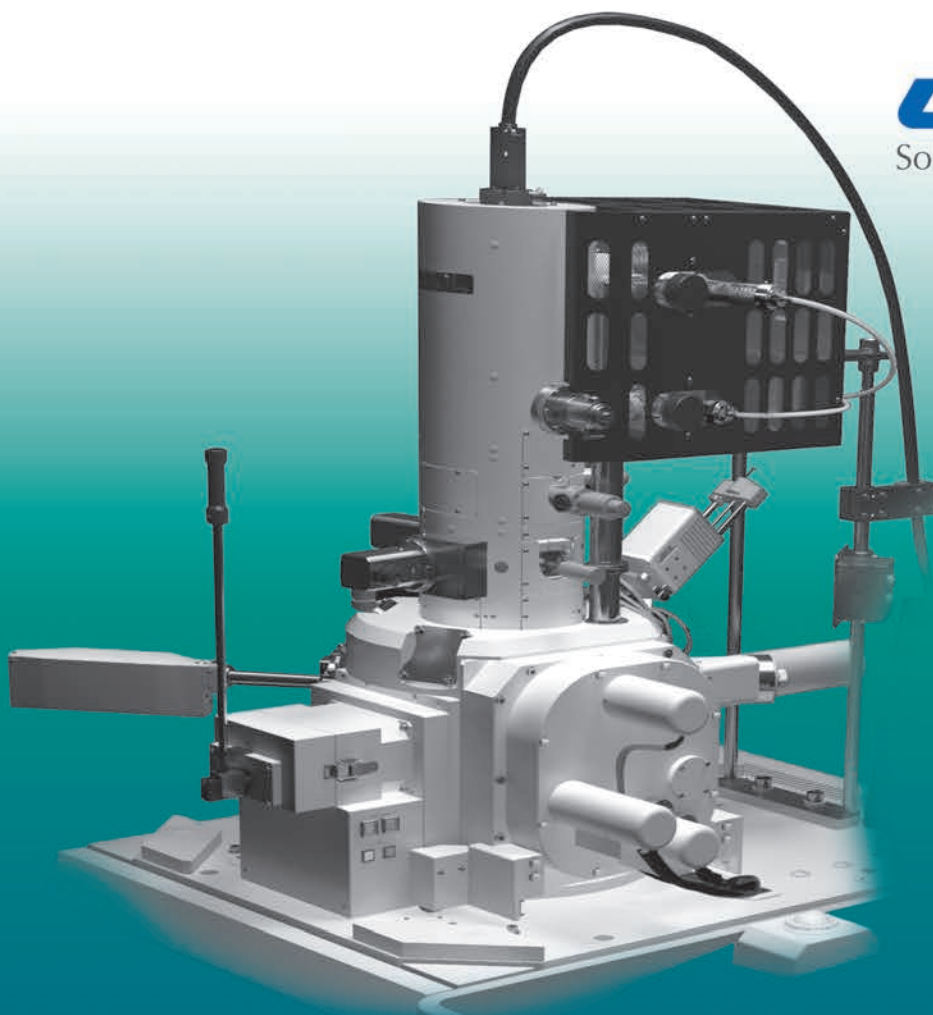
FEI Australia & New Zealand
Phone +61 3 9647 6200

Learn more at FEI.com

For current certifications, please visit FEI.com/certifications

©2014. We are constantly improving the performance of our products—all specifications are subject to change without notice. FEI, the FEI logo, Ceta 16M and Talos are trademarks of FEI Company or its affiliates. All other trademarks belong to their respective owners. DS0167-07-2014





JSM-7800F

Prime Performance Field Emission SEM

- **Ultimate image resolution AND analysis - in one instrument**
Only JEOL's JSM-7800F Prime delivers ultimate resolution (0.8 nm at 1 kV) with high-speed analysis (100 nA at 10 kV) in a single instrument.
- **Ultimate image resolution AND flexibility**
Multiple chamber ports allow the simultaneous installation of EDS (up to x3 detectors), EBSD, WDS and more - CL, μ CT, STEM.
- **See what is there - whatever the sample**
Multiple electron imaging detectors (up to x7), in-lens and in-chamber, and multiple imaging modes (energy filtering, Gentle-Beam, low angle BSE) combined with real-time simultaneous viewing and capture of up to 4 signals makes it easy to see every detail of your sample - from 10 V to 30 kV.
- **In-situ Nano-Experimentation - the limit is your imagination**
Cryo-transfer, cold stages, heating stages, environmental stages, nano-probing, mechanical testing.
- **Low-Vacuum Capable**
JEOL's remote, motorised LV-aperture exchange allows High/Low Vacuum operation without breaking vacuum or compromising image resolution or analytical performance.