Il codice dell'invisibile

OpenFlexure e la microscopia ottica libera

PARTE 1 di 2



FermoLUG
www.fermolug.org



LINUX DAY 2026

Il codice dell'Invisibile - Parte 1
© 2026 by Federico Massi
pubblicata sotto CC BY-NC-SA 4.0.
https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Il codice dell'invisibile

Cos'è un **microscopio ottico**

(oltre che il principe del laboratorio di biologia)

Il microscopio ottico è uno **strumento** che sfrutta la luce e un sistema di lenti di vetro **per ingrandire l'immagine** di campioni microscopici.

Permette di osservare dettagli strutturali invisibili a occhio nudo, sfruttando fenomeni fisici come la rifrazione e l'interferenza della luce.

Viene impiegato ampiamente in biologia, medicina, istologia, mineralogia e scienza dei materiali per analisi diagnostiche, educative e di ricerca.

Open Source e Open Hardware

Il valore aggiunto

Progetti come OpenFlexure ridefiniscono il concetto di strumentazione scientifica grazie a un approccio aperto e modulare.

ACCESSIBILITÀ + ECONOMICITÀ

Riduce i costi di produzione sfruttando la stampa 3D e componenti standard (viterie e componenti elettronici), rendendo la microscopia avanzata accessibile a scuole, università e laboratori nei paesi in via di sviluppo.

PERSONALIZZAZIONE E RIPARABILITÀ

Chiunque può accedere ai sorgenti CAD, adattare il design alle proprie esigenze specifiche, progettare e aggiungere nuove funzionalità, stampare parti di ricambio in autonomia e riparare il dispositivo senza dipendere da costosi canali di assistenza proprietari.

INTEGRAZIONE DIGITALE

la prima personalizzazione è l'automazione via software.

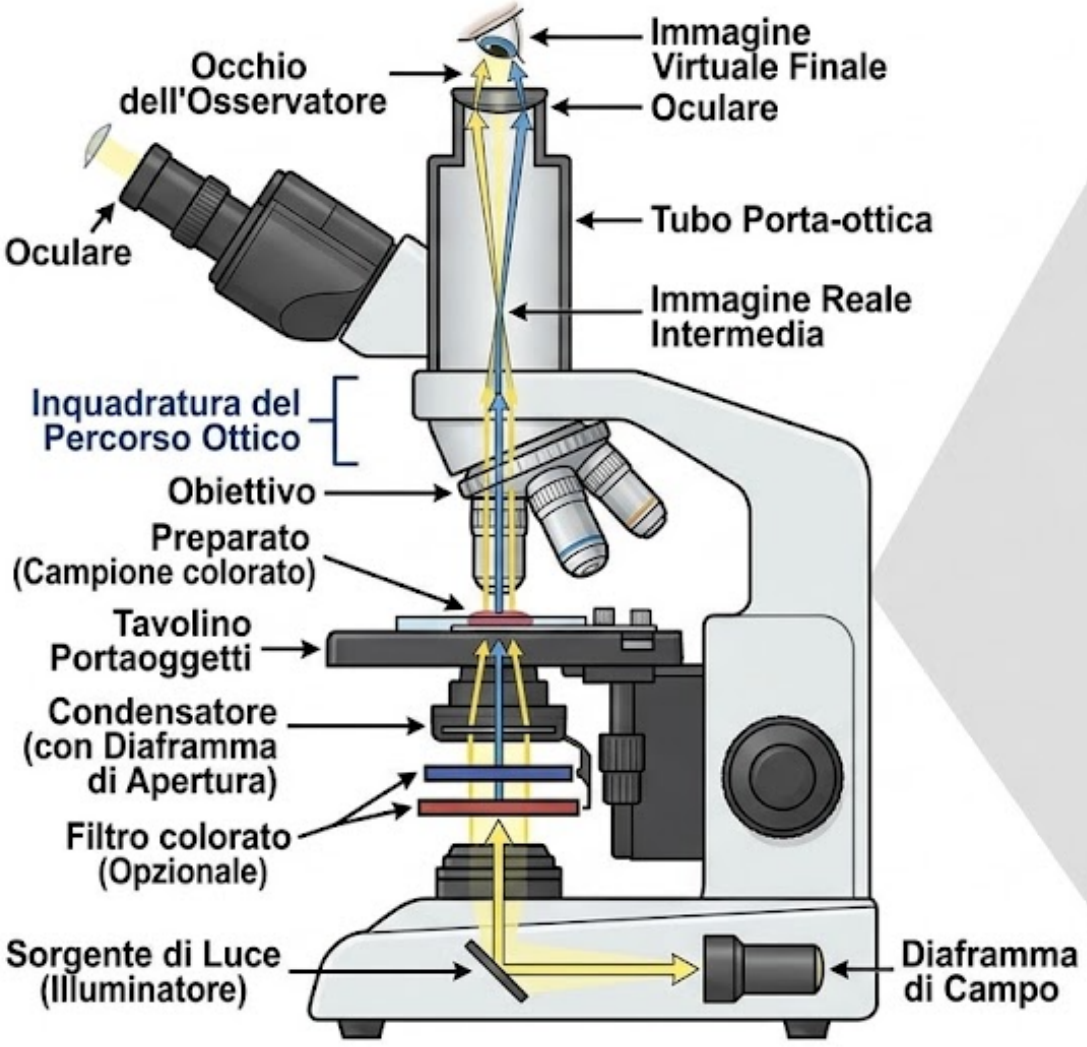
Caricamento dei vetrini e scansione robotizzata, telemedicina, integrazioni per il riconoscimento dei campioni con IA,… Il limite è il cielo.

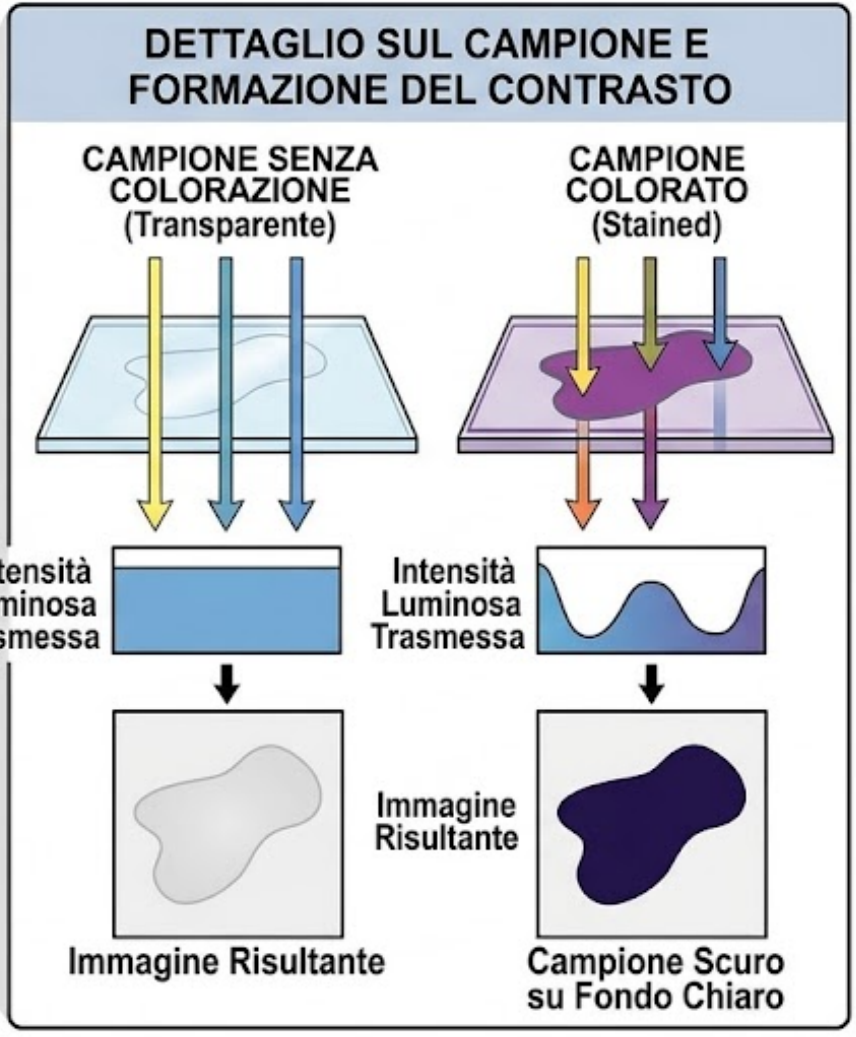
Principali tipi di microscopia ottica

Microscopia in campo chiaro

Utilizzata sin dal XVII secolo, la luce attraversa direttamente il campione illuminato dal basso. È ideale per osservare campioni naturalmente pigmentati o sezioni di tessuti colorati con appositi coloranti.

SCHEMA FUNZIONALE: MICROSCOPIA IN CAMPO CHIARO





Principali tipi di microscopia ottica

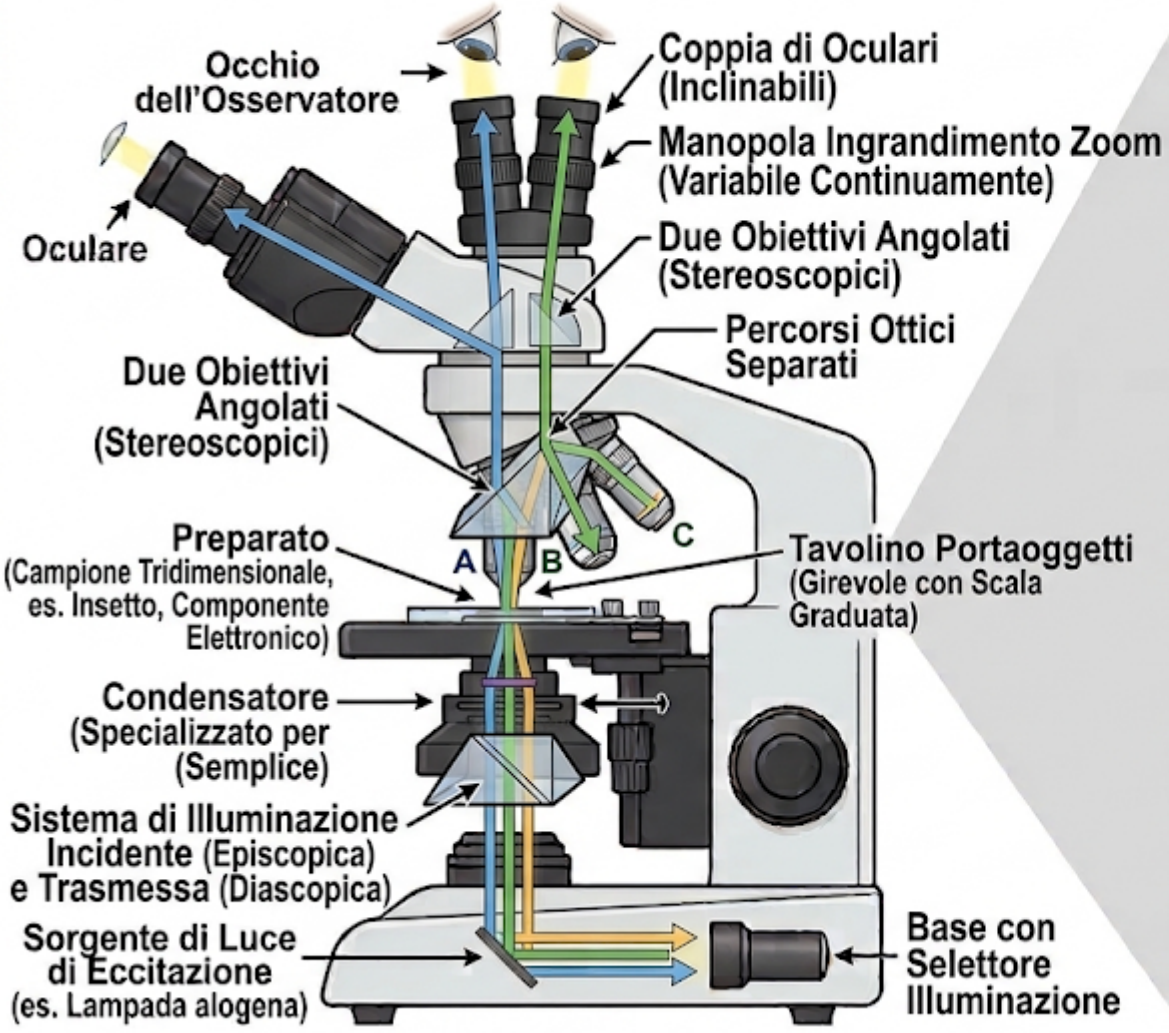
Microscopia stereoscopico



Un particolare strumento che sfrutta due percorsi ottici, ottimale per esaminare campioni opachi e di grande dimensione.

Il doppio percorso permette una visione realmente tridimensionale.

SCHEMA FUNZIONALE: MICROSCOPIA STEREOSCOPICA



DETTAGLIO SUL CAMPIONE E FORMAZIONE DELL'IMMAGINE STEREOSCOPICA (VISIONE 3D)

RIPRESA DA OBIETTIVO SINISTRO (Immagine 2D)



Immagine Singola Piana

RIPRESA DA OBIETTIVO DESTRO (Immagine 2D)



Immagine Singola Plana (con Parallasse)

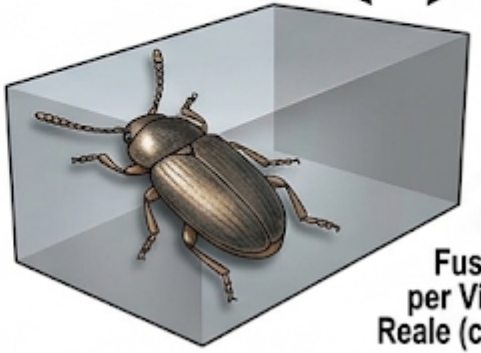


IMMAGINE RISULTANTE STEREOSCOPICA (Fusione Cerebrale)

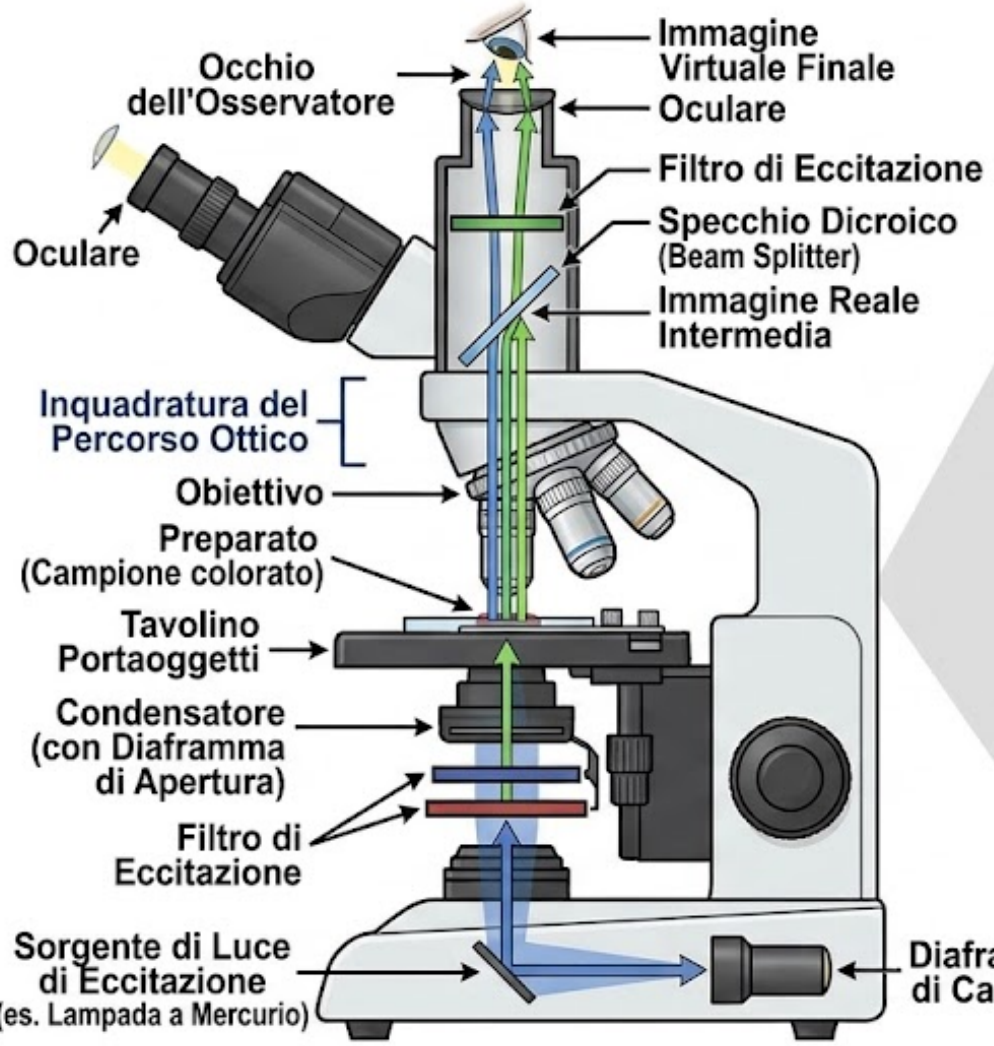
Fusione di Due Immagini per Visione Tridimensionale Reale (con Profondità e Rilievo)

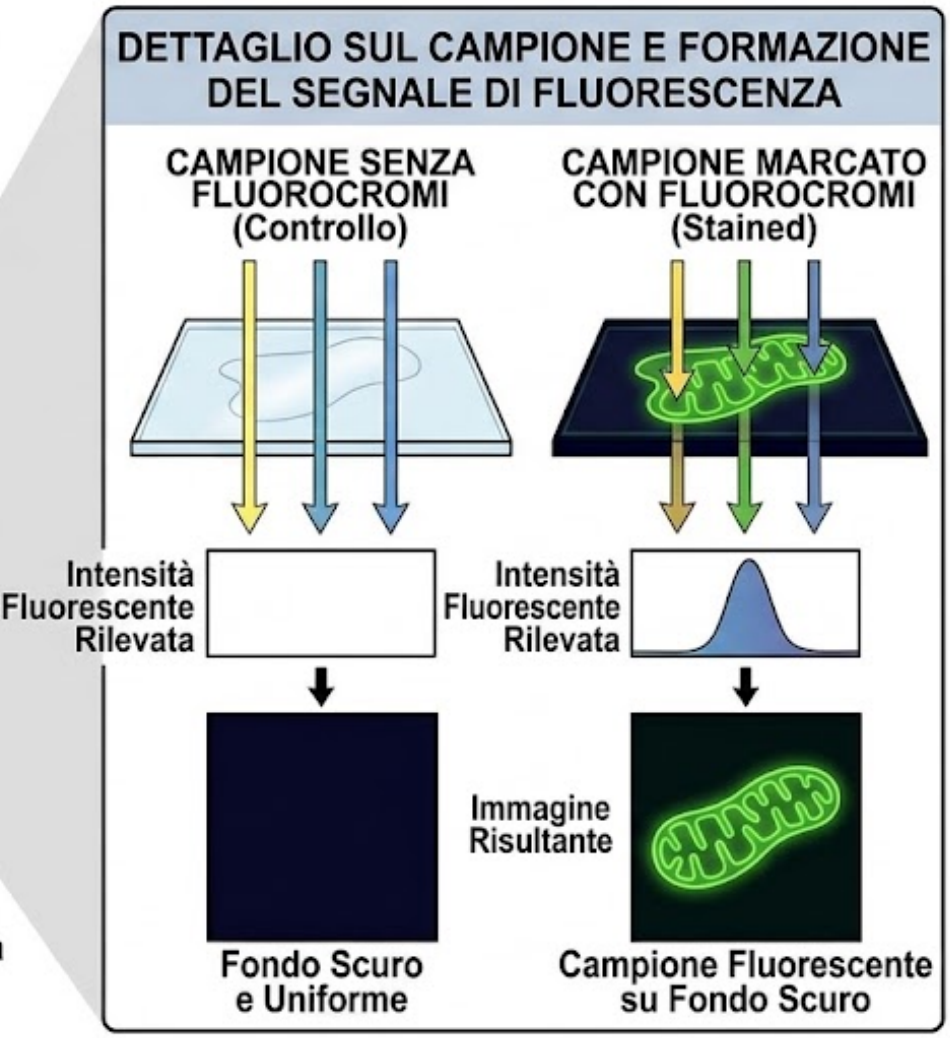
Principali tipi di microscopia ottica

Microscopia a fluorescenza

Sviluppata nel corso del XX secolo, sfrutta fluorofori e specifiche lunghezze d'onda d'eccitazione per illuminare selettivamente solo le componenti cellulari marcate, offrendo un contrasto elevatissimo.

SCHEMA FUNZIONALE: MICROSCOPIA A FLUORESCENZA



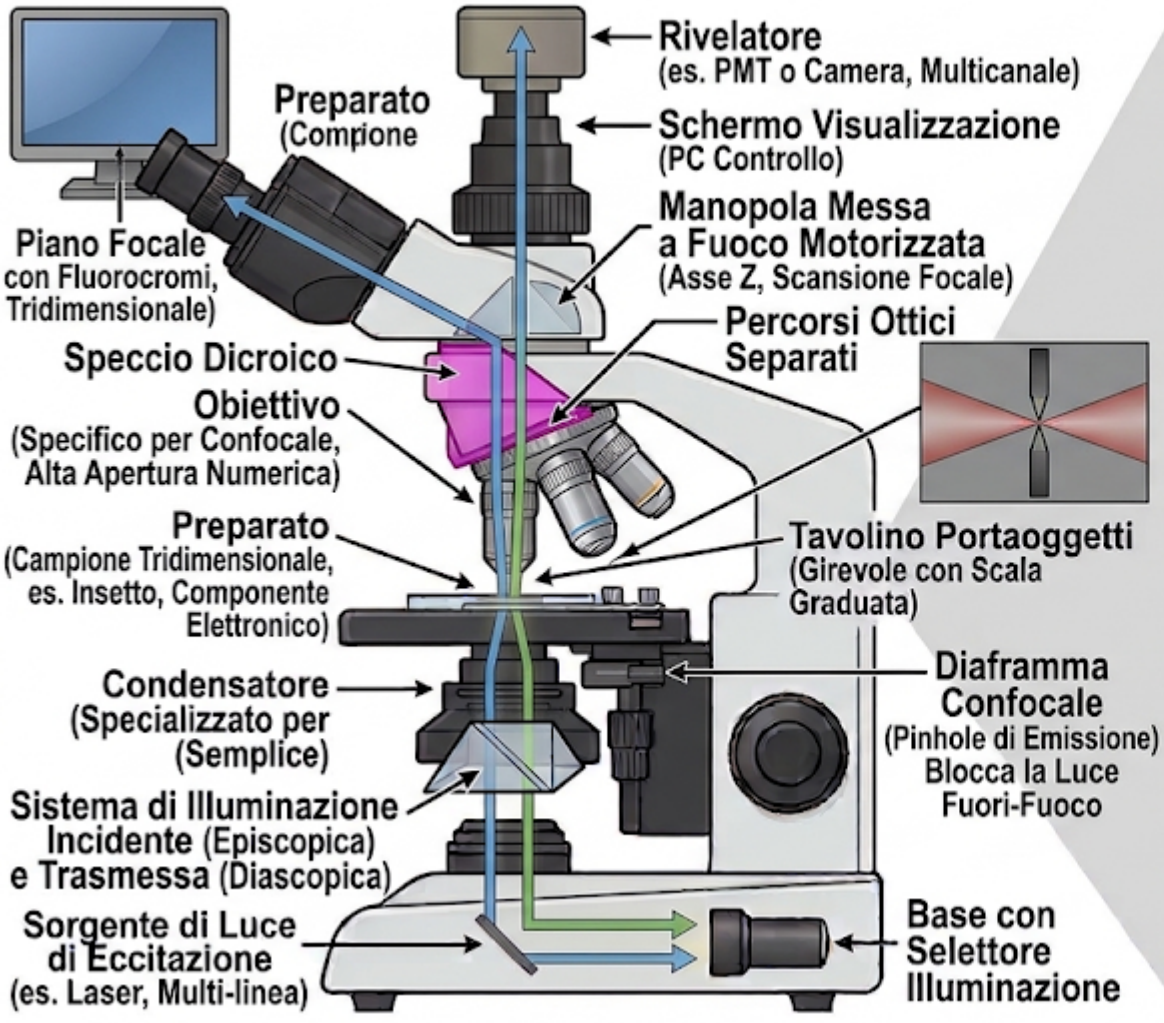


Principali tipi di microscopia ottica

Microscopia confocale

Introdotta tra gli anni '60 e '80, utilizza un fascio laser e un diaframma a foro stenopeico (pinhole) per scartare la luce fuori fuoco, permettendo di ottenere immagini ad altissima risoluzione e ricostruzioni tridimensionali dei campioni.

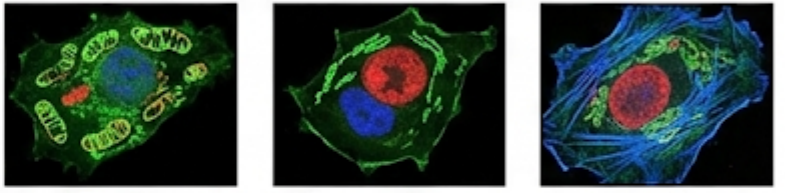
SCHEMA FUNZIONALE: MICROSCOPIA CONFOCALE



DETTAGLIO SUL CAMPIONE E FORMAZIONE DELL'IMMAGINE CONFOCALE (A SEZIONE OTTICA)

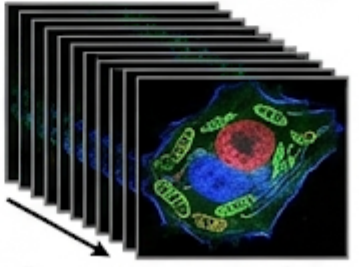
FORMAZIONE DELLA SEZIONE OTTICA XY (Piano Z Singolo)

XY Section 1 | XY Section 2 | XY Section 3



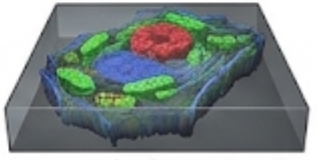
XY Section 1 | XY Section 2 | XY Section 3

FORMAZIONE DEL VOLUME Z (Stacks di Sezioni)



Stack di Sezioni Ottiche (Z-stack)

IMMAGINE RISULTANTE RISULTANTE CONFOCALE (Proiezione 3D di Volume)



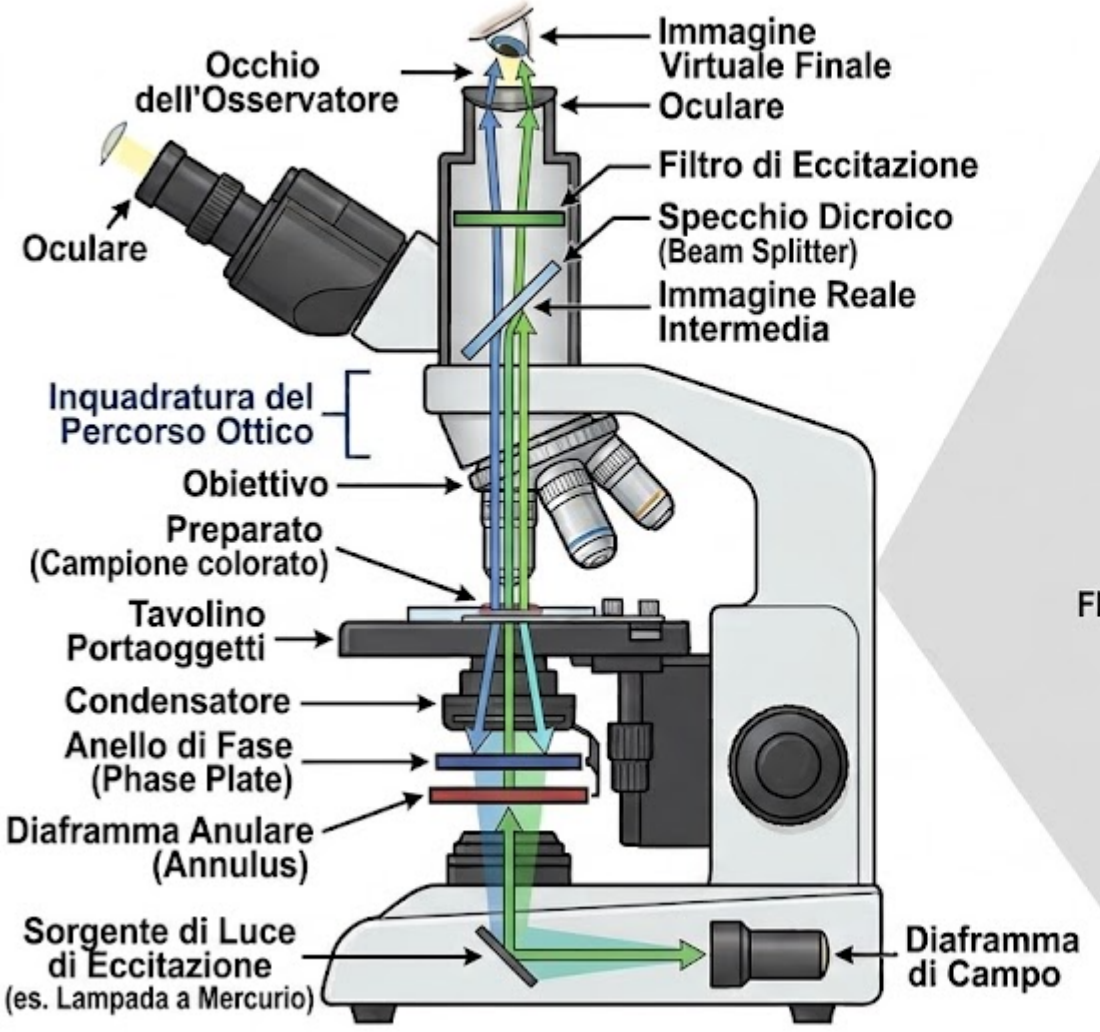
Proiezione di Volume
(Vibrante Colore/Relief)
Sezione Ottica Nitida
Volume Tridimensionale Percepito
Ricostruzione Software Intelligente

Principali tipi di microscopia ottica

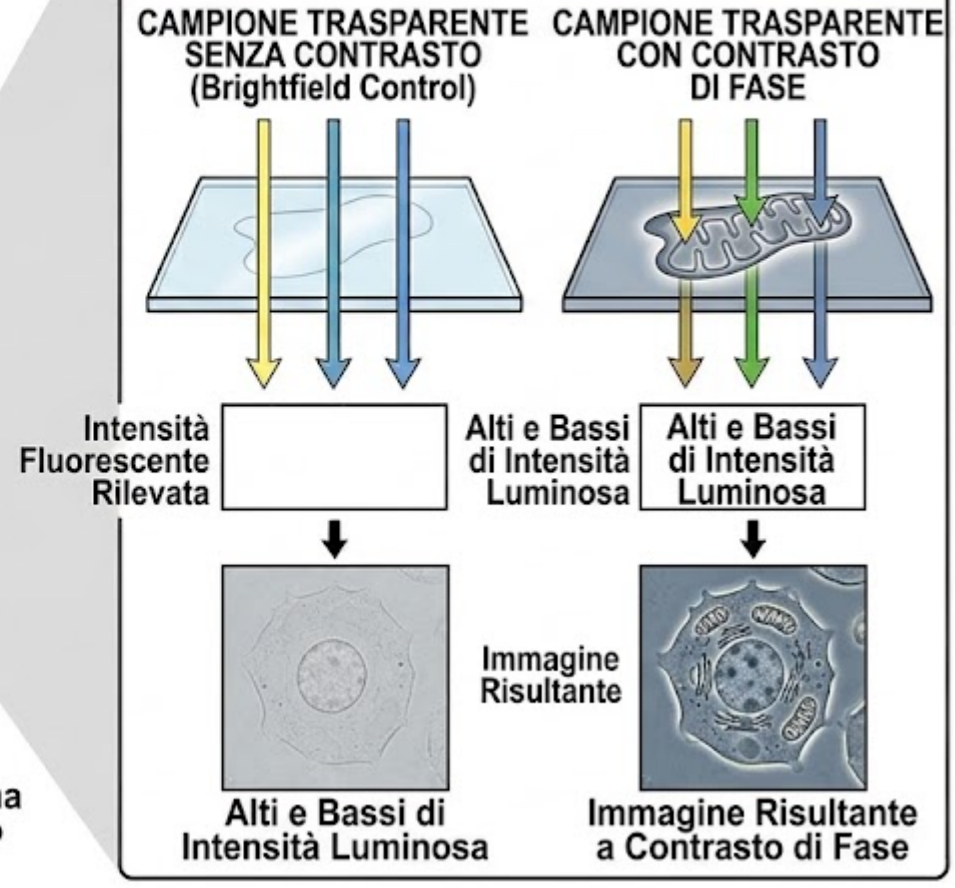
Microscopia a contrasto di fase

inventata negli anni trenta del Novecento da Frits Zernike, che vinse il Nobel nel 1953. Permette di osservare cellule vive, batteri e tessuti non colorati (che al microscopio in campo chiaro sarebbero quasi invisibili perché trasparenti) sfruttando il fatto che le diverse parti di una cellula rallentano la luce in modo leggermente diverso (sfasamento). Un apposito anello di fase trasforma questi sfasamenti invisibili in variazioni di luminosità e contrasto percepibili dall'occhio umano.

SCHEMA FUNZIONALE: MICROSCOPIA A CONTRASTO DI FASE



DETTAGLIO SUL CAMPIONE E FORMAZIONE DEL CONTRASTO

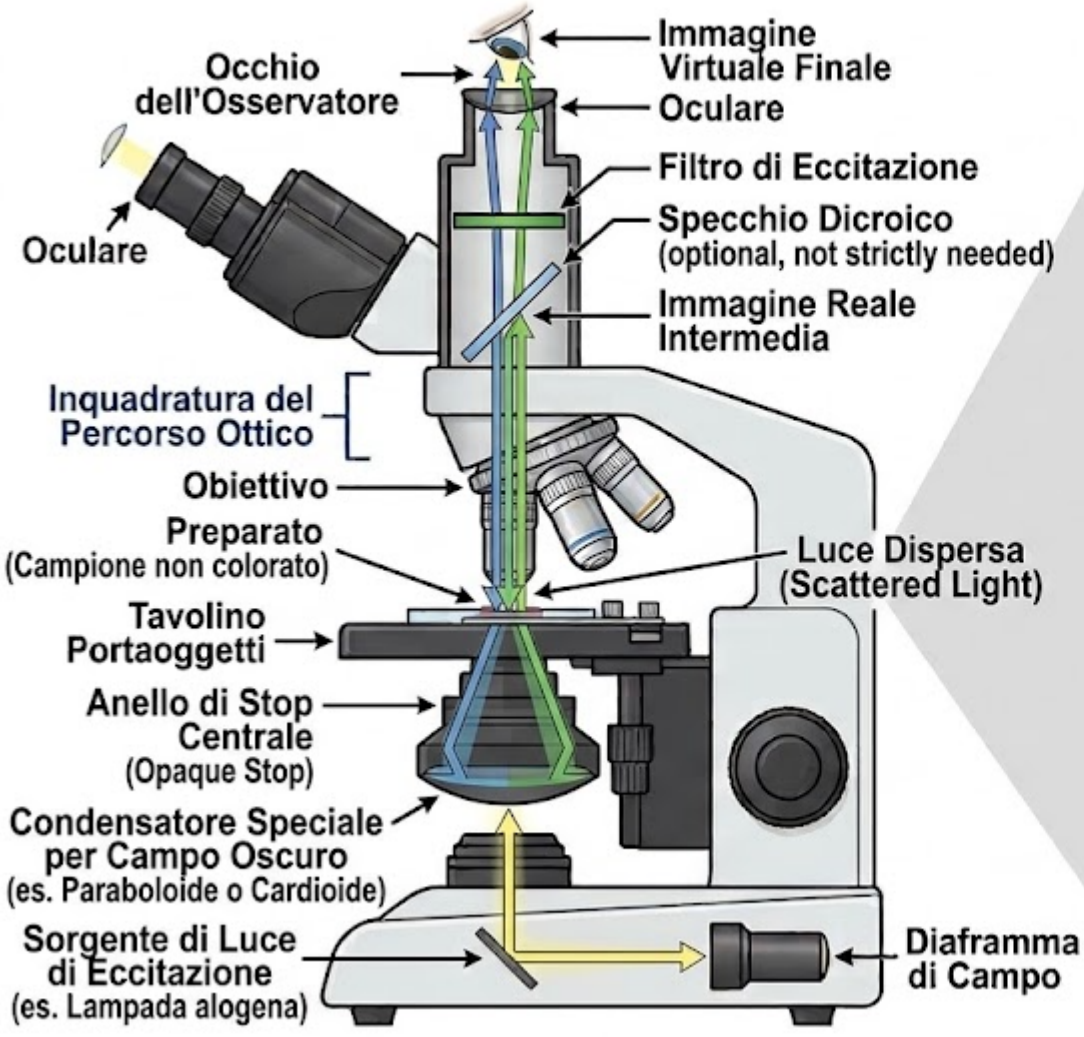


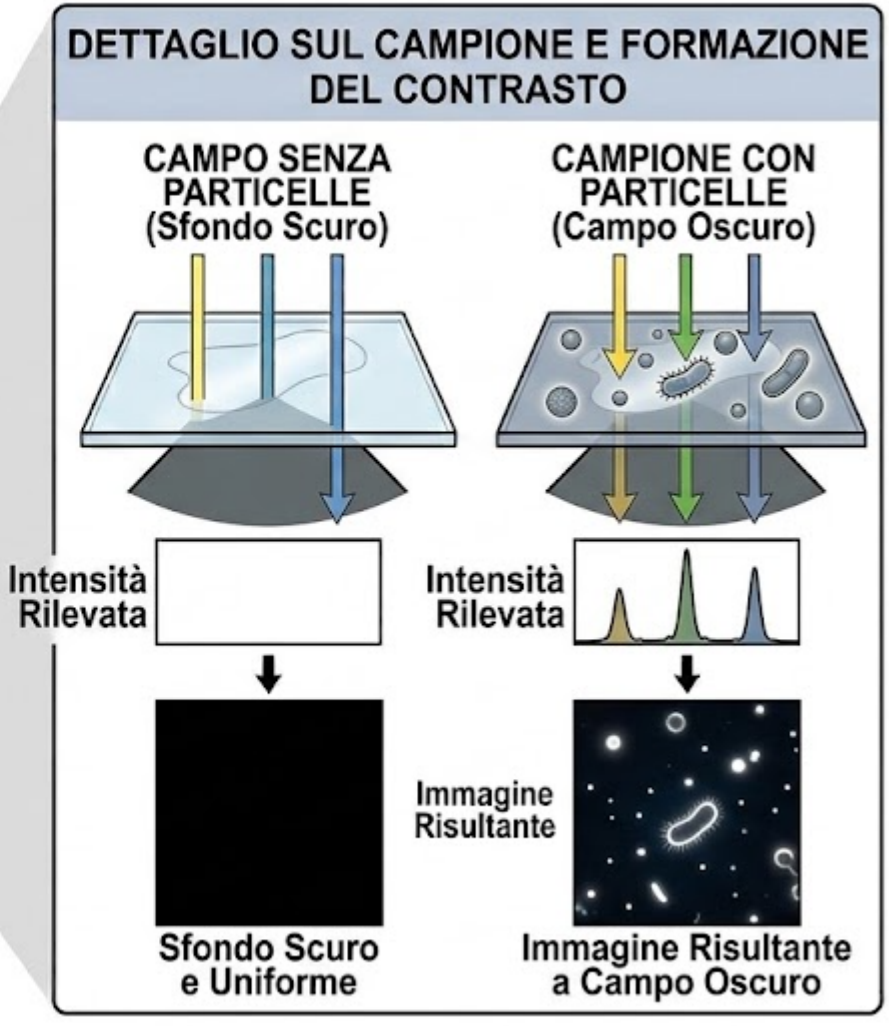
Principali tipi di microscopia ottica

Microscopia a campo oscuro

Utilizzata fin dal XIX secolo, è ideale per studiare organismi acquatici vivi, batteri mobili (come le spirochete) o minuscole particelle in sospensione. Un apposito diaframma blocca la luce diretta che arriverebbe dal basso, illuminando il campione solo con raggi obliqui. Nell'obiettivo entra esclusivamente la luce diffusa o riflessa dal campione, che appare quindi brillante su uno sfondo nero (effetto "cielo stellato").

SCHEMA FUNZIONALE: MICROSCOPIA A CAMPO OSCURO





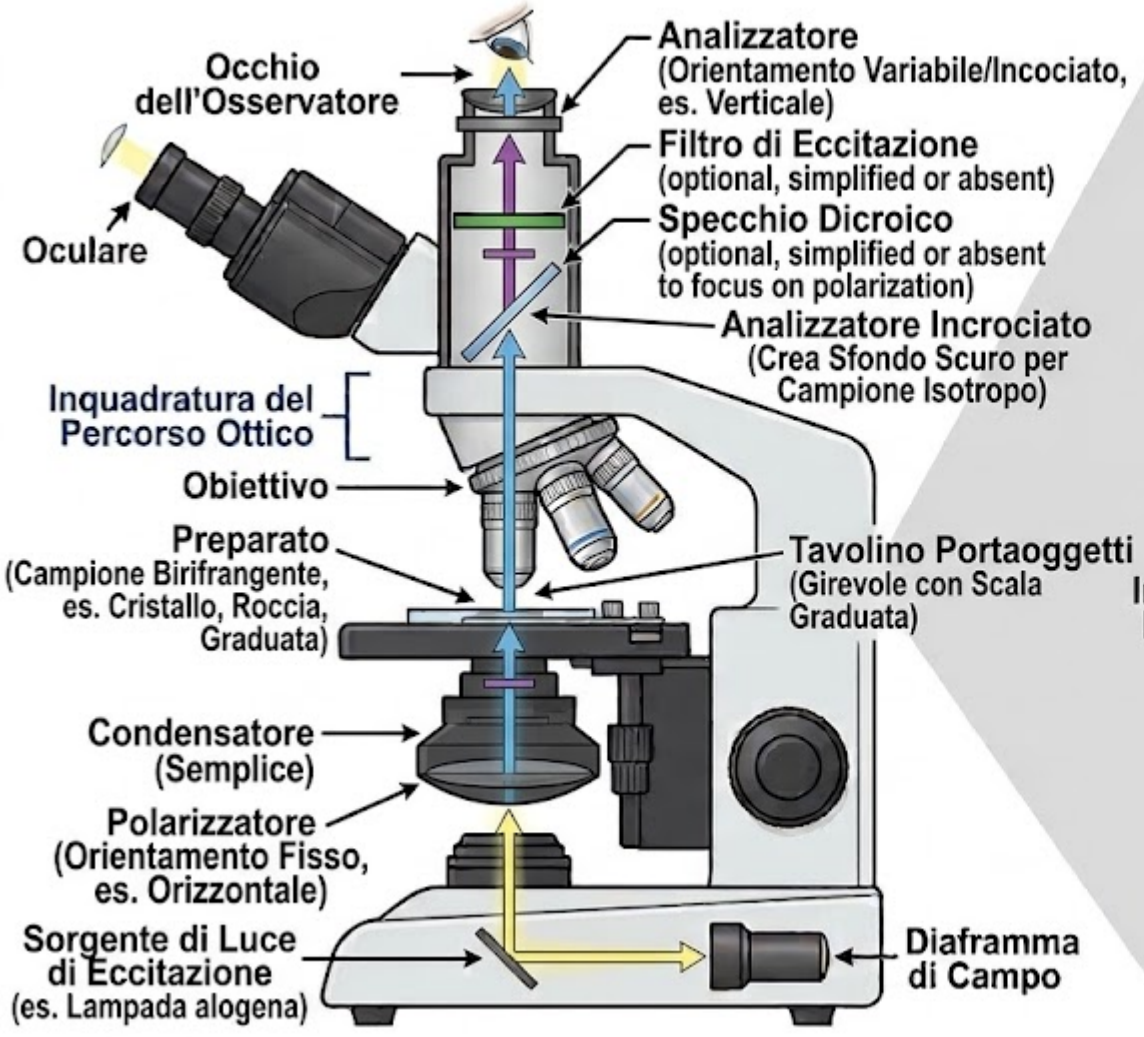
Principali tipi di microscopia ottica

Microscopia a polarizzazione

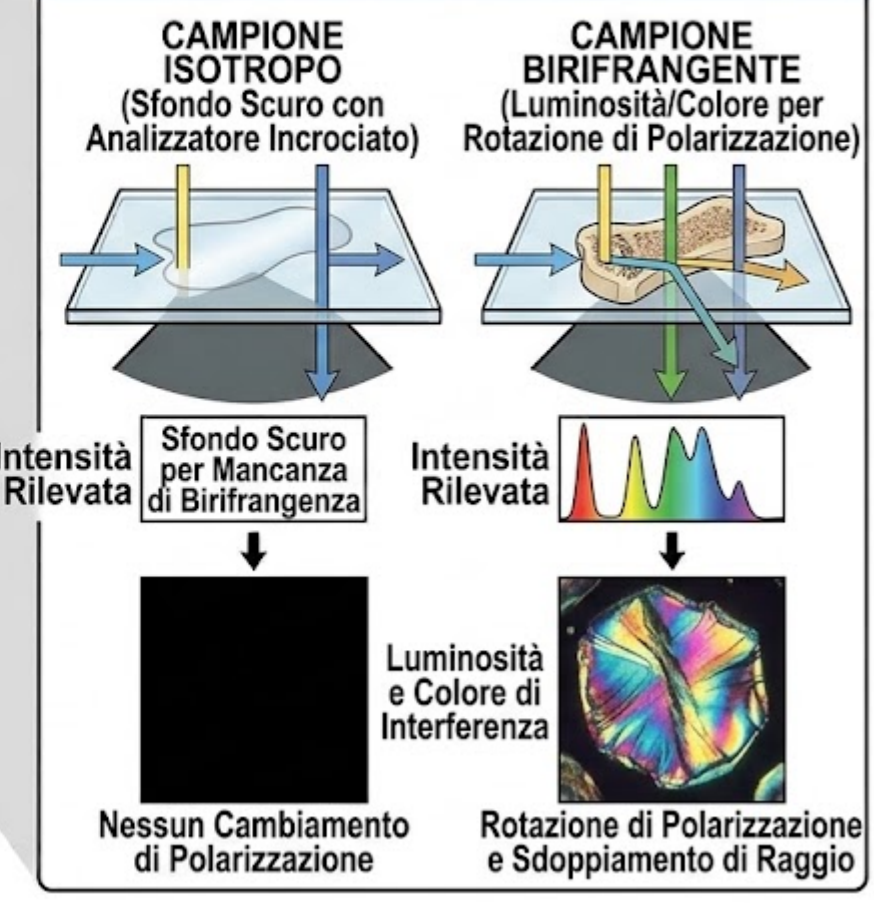
Sviluppata nel XIX secolo, è fondamentale in mineralogia e petrografia.

Si usa per analizzare minerali, rocce, cristalli, ma anche strutture biologiche ordinate come le fibre di collagene, l'amido o i fusi mitotici. Utilizza due filtri polarizzatori (uno prima del campione e uno dopo). I materiali birifrangenti (capaci di sdoppiare il raggio di luce) ruotano la polarizzazione della luce, risultando estremamente luminosi e colorati su uno sfondo scuro.

SCHEMA FUNZIONALE: MICROSCOPIA A POLARIZZAZIONE



DETTAGLIO SUL CAMPIONE E FORMAZIONE DEL CONTRASTO A POLARIZZAZIONE



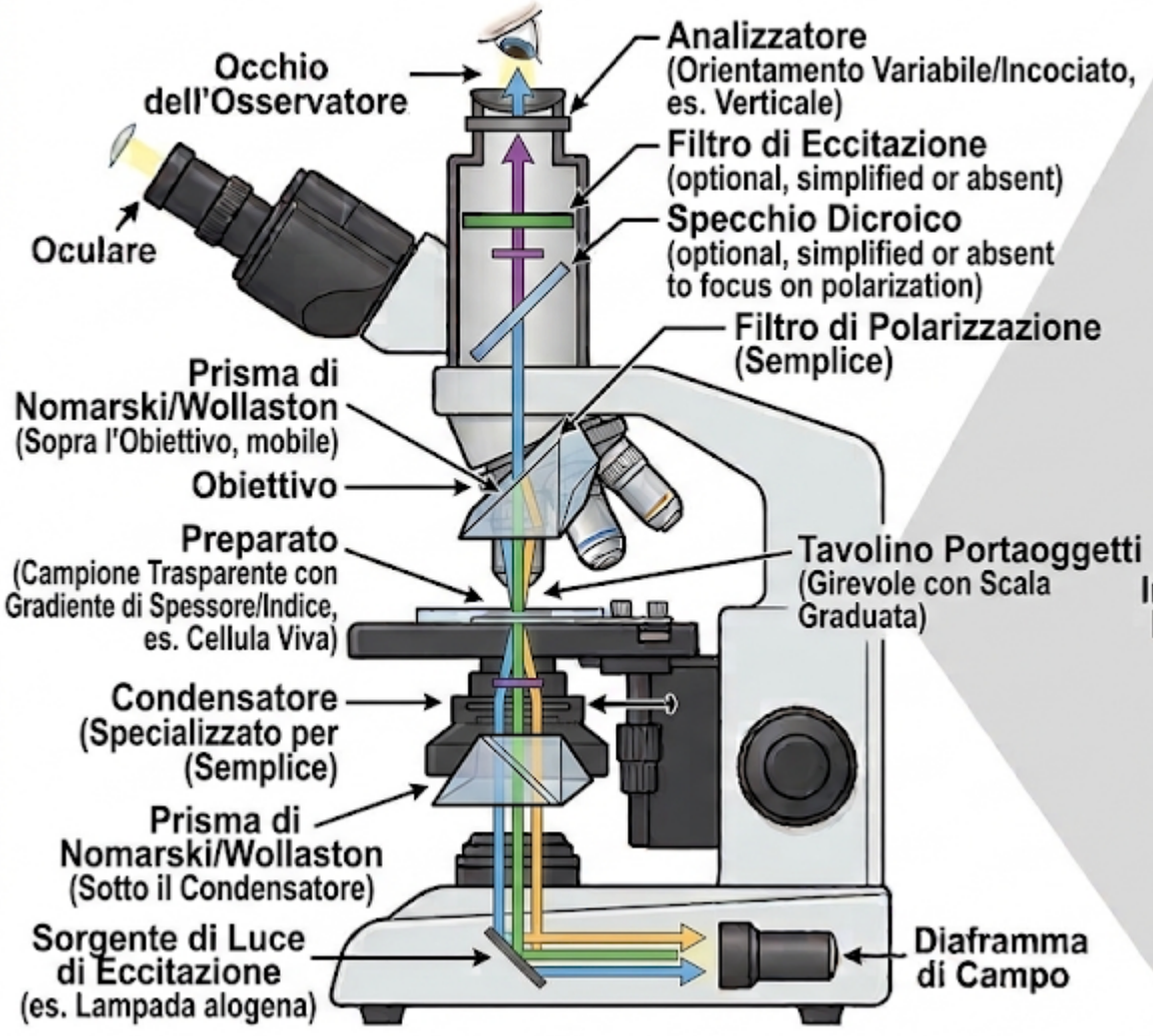
Principali tipi di microscopia ottica

Microscopia a interferenza differenziale
(DIC o Nomarski)

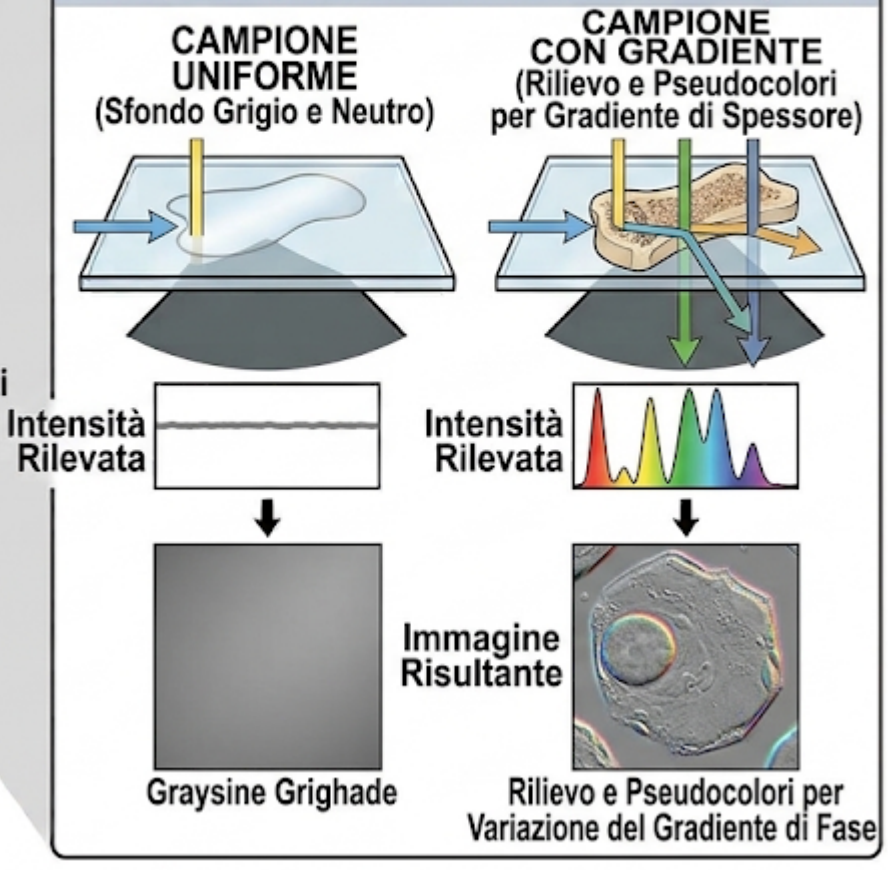
È una tecnica nata negli anni '50 del 1900. Si usa per esaminare campioni biologici spessi e trasparenti, offrendo immagini con un marcato effetto "tridimensionale" (in rilievo).

Si divide un raggio di luce polarizzata in due parti leggermente sfasate lateralmente. Le differenze di spessore o densità del campione creano un'interferenza che simula un'ombra direzionale, come se il campione fosse illuminato di lato.

SCHEMA FUNZIONALE: MICROSCOPIA A INTERFERENZA DIFFERENZIALE



DETTAGLIO SUL CAMPIONE E FORMAZIONE DEL CONTRASTO DIC (INTERFERENZA DIFFERENZIALE)



Principali tipi di microscopia ottica

Microscopia a super-risoluzione

(STED, SIM, STORM,...)

Nata tra la fine degli anni '90 e i primi anni 2000 (Premio Nobel per la Chimica nel 2014) serve a studiare strutture subcellulari e macromolecole (come i pori nucleari o le proteine) con dettagli inferiori a 200 nanometri. Aggira il "limite di diffrazione della luce" (stabilito da Ernst Abbe nel XIX secolo) sfruttando trucchi ottici e proprietà chimiche di particolari fluorofori per accendere o spegnere selettivamente le molecole luminose, raggiungendo risoluzioni prossime a quelle del microscopio elettronico.

SCHEMA FUNZIONALE: MICROSCOPIA A SUPER RISOLUZIONE

Dispositivo di Formazione del Donut (STED)

Rivelatore
(es. sCMOS ad Alta Velocità o APD)

Schermo Visualizzazione
(PC Controllo e Ricostruzione Software)

Manopola Messa a Fuoco Motorizzata
(Asse Z/Nanospostamento)

Sorgente di Luce di Eccita-diazione e Donut
(es. Laser, Multi-linea)

Percorsi Ottici Separati

Specchio Dicroico

Obiettivo
(Specifico per SR, Alta Apertura Numerica, Correzione Aberrazioni)

RISOLUZIONE CONVENZIONALE vs. SUPER RISOLUZIONE
(Illustrazione PSF)
Diffraction-Limited (es. Confocale) vs. SuperResolution (es. STED o PALM)

Preparato
(Campione Tridimensionale, es. Cellula, Nanostruttura)

Tavolino Portaoggetti
(Pinhole, se presente, o Sostituito da Array di Rivelatori)

Condensatore
(Specializzato per (Semplice)

SECONDA TECNICA SR: FOTOMODULAZIONE TEMPORALE
(PALM/STORM)

Sistema di Illuminazione Incidente (Episcopica) e Trasmessa (Diascopica)

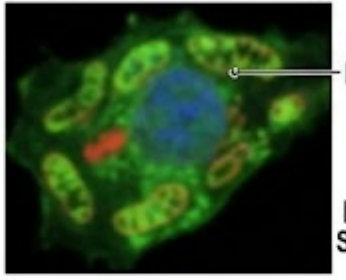
Sorgente di Luce di Eccitazione
(es. Laser, Multi-linea)

Base con Selettore Illuminazione

DETTAGLIO SUL CAMPIONE E FORMAZIONE DELL'IMMAGINE A SUPER RISOLUZIONE

CONFRONTO RISOLUZIONE (XY)

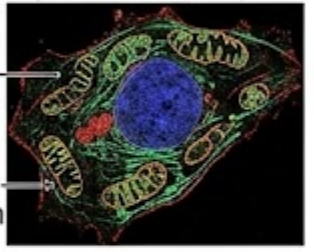
MICROSCOPIA CONFOCALE
(Diffraction-Limited)



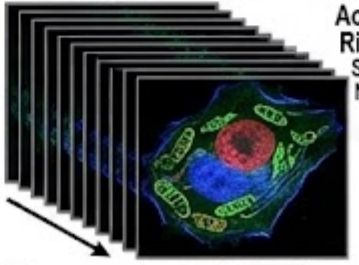
Confine di Diffrazione ~250 nm

Risoluzione SR ~20-50 nm

MICROSCOPIA A SUPER RISOLUZIONE
(es. STED/PALM)



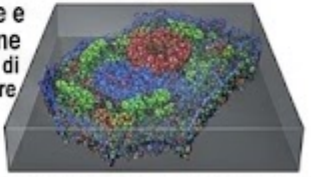
FORMAZIONE DEL VOLUME SR
(Z-Stack di Nanosezioni)



Nanosezioni Ottiche

Acquisizione e Ricostruzione Sequenziale di Nanostrutture

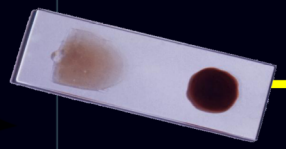
IMMAGINE RISULTANTE A SUPER RISOLUZIONE
(Ricostruzione 3D di Nanovolume)



Volume Tridimensionale Percepito
Nanostruttura Nitida
Ricostruzione Software Intelligente
(Modellizzazione Molecolare)
Dettaglio Sub-cellulare Visibile

Schema di Flusso

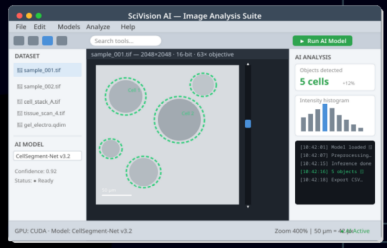
ESEMPIO DI AUTOMAZIONE



VETRINI E CAMPIONI



MICROSCOPIO OPENFLEXURE



SOFTWARE ANALITICO
(IA & PROCESSAZIONE)

Il microscopio è lo strumento simbolo di ogni laboratorio, ma la parola in sé non basta.
Per un biologo è una domanda in attesa di un aggettivo, perché oggi esistono decine di tecniche e strumenti specializzati per campi completamente diversi.

E proprio per questo **è urgente democratizzare la microscopia**, e farlo ora è una necessità non negoziabile **per almeno sei ragioni**:

1. **Contro l'oscurantismo**: Per rimettere strumenti di verifica nelle mani di chiunque, in un'epoca in cui troppi parlano a vanvera di scienza senza averla mai studiata.

2. **Contro la privatizzazione della vita**: Per rallentare il processo accaparramento del patrimonio biologico, da parte di chi rapina la comunità globale del suo patrimonio comune.

3. **Per la scuola pubblica**: Per garantire ai nostri istituti, strangolati dai tagli ai fondi, un'istruzione scientifica avanzata e pratica; per gli studenti, che devono potersi appassionare anche attraverso gli strumenti.

4. **Per la salute globale**: Per dare ai paesi in via di sviluppo i mezzi concreti per prevenire e arginare epidemie che, inevitabilmente, finiscono per riguardare tutti.

5. **Contro l'effetto "Black Box"**: Per permettere una maggior partecipazione alla citizen science, per abituarsi a chiedersi “Come funziona? Cosa c’è che non riesco a vedere?” e togliersi paraocchi che limitano la nostra comprensione del mondo che ci circonda.

6. **Per la sovranità tecnologica**: Per avere il pieno controllo hardware e software di uno strumento chiave, svincolandosi da dispositivi proprietari che possono essere controllati o disabilitati a distanza, con un semplice click.

Ora passiamo a vedere in concreto il progetto OpenFlexure