

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TORINO**Allegato 1: Specifiche tecniche minime**

Consultazione preliminare di mercato per la ricerca di Operatori economici ai fini della verifica dei presupposti per l'espletamento della procedura negoziata senza previa pubblicazione di bando, ai sensi dell'art. 76, comma 2 lett. b) n. 2 e 3 del D.Lgs. 36/2023 per la fornitura di una piattaforma per lo sviluppo di terapie cellulari nell'ambito del Progetto di Eccellenza EXPECT assegnato al Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze della Salute (DBMSS).

È necessario acquisire una Piattaforma in grado di soddisfare le seguenti caratteristiche:

SEPARATORE CELLULARE IMMUNOMAGNETICO

- capacità di processare più campioni (fino a 6) in serie simultanea a partire dal volume di campione indicato nella tabella qui sotto:

Volume di campione da processare	
PMBC e tessuti dissociati	Marcatura manuale: 0.1 mL – 42 mL Marcatura automatica: 0.03 mL – 39.5 mL
Sangue intero, midollo osseo e buffy coat	Marcatura manuale: 0.4 mL – 26.7 mL Marcatura automatica: 0.25 mL – 28 mL

- capacità di isolare 2×10^8 cellule target a partire da un massimo di 4×10^9 per ciclo di isolamento, funzione integrata di caricamento porzionato del campione gestita in maniera autonoma dallo strumento.
- Capacità di processare il campione partendo da diverse fonti di materiale biologico quali:
 - sangue periferico *in toto*, senza la necessità di effettuare la lisi preventiva dei globuli rossi;
 - buffy coat senza la necessità di effettuare la lisi preventiva dei globuli rossi;
 - midollo osseo senza la necessità di effettuare la lisi preventiva dei globuli rossi;
 - cellule mononucleate ottenute dal sangue periferico o buffy coat (PBMC);
 - sangue cordonale o altri liquidi biologici;
 - sospensioni cellulari ottenute da tessuti tumorali o sani, freschi o congelati o da co-culture cellulari.
- Capacità di effettuare delle separazioni con marcatura positiva con successiva rimozione del reagente di marcatura.

Altre caratteristiche della strumentazione:

- possibilità di effettuare le fasi di marcatura a temperatura controllata tra +2 e +8°C e dotazione di porta-provette a temperatura controllata di 4°C;
- programmazione di protocolli di selezione immunomagnetica per selezione sia in positivo che in negativo per qualunque antigene, con la possibilità di recuperare tutte le frazioni cellulari, sia positiva che negativa;

- possibilità di monitorare il corretto funzionamento dello strumento grazie alla presenza di sensori con allerta luminosa in dotazione allo strumento per il controllo del processo, dell'esecuzione dei programmi, del livello delle soluzioni utilizzate e della fluidica;
- possibilità di scelta tra diversi programmi di separazione in base al grado di espressione degli antigeni sulla superficie delle popolazioni cellulari da selezionare;
- pulizia del sistema tra un campione ed il successivo e disinfezione a fine uso giornaliero dello strumento utilizzando programmi automatici dedicati;
- possibilità di effettuare separazioni in condizioni di sterilità installando lo strumento all'interno di cappe a flusso laminare in dotazione al laboratorio;
- i reagenti utilizzati non devono richiedere miscelazione o diluizione;
- di usare lo stesso anticorpo coniugato a micro-biglie sia in automatico che in manuale. Possibilità di effettuare la procedura di back-up manuale con prestazioni in termini di recupero e purezza cellulare paragonabili a quelle ottenute con procedura automatica;
- lettura di barcode relativa agli anticorpi coniugati alle microbeads;
- sistema di controllo degli accessi tramite username e password (*user management system*) e privilegi personalizzabili;
- capacità di auto-marcatore per specifici processi di selezione;
- capacità di programmare e automatizzare i processi di manutenzione;
- capacità del software di calendarizzare l'utilizzo della macchina e riservare specifici slot temporali;
- possibilità di esportare un report di processo.

STRUMENTO AUTOMATIZZATO PER SELEZIONE IMMUNOMAGNETICA. MESSA IN CULTURA E FORMULAZIONE FINALE DEL PRODOTTO DI GRADO GMP

Strumento con marchio CE sviluppato per offrire soluzioni integrate che permettono di automatizzare e standardizzare il processo di produzione che va dalla separazione cellulare alla formulazione del prodotto finale, passando anche attraverso fasi di coltura cellulare.

- Sistema che consente di effettuare in maniera sterile, riproducibile ed automatizzata l'immunoselezione positiva (arricchimento) e/o l'immunoselezione negativa (deplezione) di determinate popolazioni cellulari di interesse (tecnologia MACS) partendo da un campione contenente popolazioni eterogenee, quali un campione di leucaferesi, di midollo osseo o di sangue cordonale.
- sistema che permette di utilizzare differenti concentrazioni cellulari di partenza e di ottenere elevate prestazioni in termini di recupero e purezza delle popolazioni cellulari selezionate;
- sistema che permetta l'uso combinato reagenti di immunoselezione, di set di tubi dedicati creati per uso clinico e di programmi definiti;
- reagenti e consumabili di grado clinico GMP e CE per l'isolamento di cellule CD34+, CD45RA-, CD3, CD19, CD4, CD8, TCR $\alpha\beta$ e cellule Antigene specifiche mediante selezione immunomagnetica di cellule secernenti IFN- γ ;
- Sistema dotato di innovativa CentriCult™ Chamber monouso che consente la standardizzazione delle fasi di processazione delle cellule e della loro messa in coltura;
- Sistema che consenta la marcatura automatica con i reagenti CliniMACS;
- Sistema con modalità integrata di centrifugazione, con il controllo dei diversi strati cellulari grazie alla presenza di una videocamera, per procedure di lavaggio, sostituzione dei tamponi e concentrazione del prodotto;
- Sistema che consenta l'esecuzione di complessi protocolli di coltura cellulare, quali quelli di differenziamento, di espansione e di allestimento di culture a lungo termine;

le cellule possono essere ulteriormente osservate tramite microscopio integrato nel sistema;

- Sistema che consenta di arrivare alla formulazione del prodotto cellulare finito: aggiustamento del volume finale, risospensione delle cellule nel mezzo di conservazione.
- possibilità di effettuare le certificazioni IQ/OQ (Installation Qualification & Operational Qualification).

SISTEMA DI SORTING CON METODO CITOFUORIMETRICO MULTIPARAMETRICO

Vengono elencate di seguito le caratteristiche tecniche peculiari e imprescindibili richieste per la strumentazione:

- Il prodotto finale isolato con caratteristiche compatibili con i protocolli di Good Manufacturing Practices (GMP)
- Possibilità di isolare particolari popolazioni circolanti (incluse sottopopolazioni linfocitarie T e B, cellule NK, macrofagi, cellule mieloidi soppressorie, mesenchimali) dalla sede tumorale e/o da sangue periferico sfruttando l'espressione di marcatori di superficie (inclusi CD8, PD1, CTLA4);
- Mantenimento delle condizioni di sterilità durante tutto il processo, senza la necessità di essere posto all'interno di una cappa aspirata e senza formazione di aerosol;
- Assenza di attivazione cellulare intesa sia come presenza di molecole di stimolazione sulla superficie che come presenza di stress molecolare;
- Possibilità di effettuare con le cellule isolate saggi funzionali sia in vitro che in vivo su modelli animali;
- Capacità di effettuare flow-sorting multiparametrico in tempi rapidi e senza la necessità per l'operatore di rimanere allo strumento durante il sorting (walk-away technology);
- Presenza di 3 LASER e 8 parametri di fluorescenza (LASER 405 nm; 488 nm; 638 nm);
- Controllo del flusso, allineamento laser e rilevamento della velocità automatizzati;
- Presenza di una unità di raffreddamento a temperatura controllata, che stabilizza i campioni ad una temperatura a scelta;
- Intervallo di controllo della temperatura da +4 a +25°C (in condizioni ambientali standard);
- Portata fino a 55.000 eventi/s;
- Assenza di carry-over;
- Nessuna contaminazione dello strumento, dell'ambiente circostante allo strumento o dell'operatore grazie all'utilizzo di cartucce usa e getta;
- Assenza di buffer di trascinamento e soluzione di lavaggio;
- Monitor esterno da 32" e monitor touchscreen integrato da almeno 15";
- Dimensioni 965x585x760 mm³ con il monitor esterno e 965x585x280 mm³ senza monitor esterno;
- Riconoscimento automatico tramite QR Code e nello specifico riconoscimento del tipo di cartuccia e lotto di produzione;
- Fornitura di tutti i componenti necessari al corretto e completo funzionamento dell'apparecchiatura;
- Live support 24/5 grazie ad operatori specializzati che possono intervenire da remoto direttamente sullo strumento;

STRUMENTAZIONE PER ANALISI IN CITOFUORIMETRIA

Citofluorimetro a flusso che permetta la valutazione delle caratteristiche fenotipiche di cellule CAR-T (iPC, in Process Control).

Nello specifico, il citofluorimetro richiesto dovrà soddisfare questi requisiti:

- Dotazione di 3 LASER: 488nm, 640nm, e 405nm.
- Capacità di acquisire 16 parametri, 14 in fluorescenza e 2 fisici (FSC e SSC) con SSC posizionato su laser violetto (405nm) per una maggiore risoluzione di particelle di piccole dimensioni.
- I LASER e le ottiche devono essere montati su un banco ottico rigido e non modificabile (al fine di avere la maggiore durata nel tempo delle prestazioni in termini di allineamento e riduzione dei drift termici, e consentendo di conseguenza di standardizzare l'analisi citofluorimetrica per una futura e prevedibile applicazione in ambiente GMP).
- Allineamento dei laser e raccolta del segnale dopo cella di flusso senza uso di fibra ottica al fine di evitare le perdite di potenza dovute prevalentemente agli accoppiamenti in ingresso e uscita del segnale dalla fibra.
- Possibilità di marcatura automatizzata del campione senza necessità di ulteriore intervento dell'operatore al fine di ottenere la massima ripetibilità delle procedure di controllo qualità eliminando eventuali variabili introdotte da operazioni manuali di marcatura.
- Conta cellulare assoluta volumetrica senza l'utilizzo di biglie di riferimento al fine di sfruttare il dato di conta assoluta, riduzione della possibilità di errore e maggiore automatismo.
- Sistema di lavaggio automatico dello strumento tra campioni che permetta di avere un carry-over inferiore allo 0,01 %.
- Sistema integrato nella fluidica dello strumento che consenta un pre-arricchimento delle cellule mediante selezione immunomagnetica per una migliore caratterizzazione fenotipica e possibilità di studiare popolazioni rare.
- Software implementabile per rispondere ai requisiti di compliance 21 CFR Part 11 (compliance necessaria per garantire l'integrità e l'immodificabilità del dato citofluorimetrico) e che preveda il servizio di IQ/OQ che permette di validare lo strumento per le procedure di IPC/QC.
- Possibilità di usufruire di un aggiornamento automatizzato dei setting sperimentali in riferimento alla calibrazione, al fine di garantire la standardizzazione del dato ottenuto, consentendo l'ammonizzazione dei dati senza soluzione di continuità, su diversi dispositivi e siti.
- Possibilità di implementazione con i pacchetti software validati che consentano l'analisi automatizzata di pannelli per: valutazione delle caratteristiche fenotipiche di cellule CAR-T durante il processo di produzione (iPC, in Process Control) ed al termine del processo di produzione per il rilascio del lotto (QC, Quality Control) monitoraggio di pazienti trattati con terapia CAR-T.
- Presenza di modulo per acquisizione di campioni in serie (piastre da 96 pozzetti a fondo piatto, fondo conico, fondo a U, deep-well o rack per almeno 24 tubi da 5 mL) con presenza di supporti refrigerabili per il controllo della temperatura durante l'acquisizione.
- Assistenza online 24 ore direttamente accessibile dallo strumento - non è ritenuto sufficiente il solo supporto telefonico vista la delicatezza del prodotto trattato.

Le caratteristiche sopra indicate risultano pertanto indispensabili per poter svolgere ricerca scientifica nell'ambito della ricerca di base e nell'ambito della salute, energia, risorse naturali e ambiente. Le caratteristiche elencate sono inoltre indispensabili per poter svolgere le attività secondo i più moderni approcci metodologici e strumentali.

SISTEMA DI ELETTROPORAZIONE

Il sistema di elettroporazione deve potersi interfacciare direttamente con il sistema CliniMACS® Prodigy già presente in DBMSS, ed il suo funzionamento deve avvenire tramite CliniMACS® Prodigy, consentendo la trasfezione di cellule tramite collegamento al Set di tubi del CliniMACS® Prodigy per consentire un percorso dei fluidi sterile e funzionalmente chiuso.

Il sistema di fluidica dell'elettroporatore deve essere dotato di più linee di ingresso e filtri sterili per consentire l'aggiunta di cellule e acido nucleico durante tutto il processo. Il relativo Tubing Set deve consentire il flusso attraverso elettroporazione di grandi volumi di sospensioni cellulari.

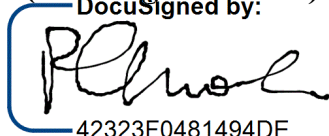
L'operatore deve poter selezionare la funzionalità di elettroporazione inclusa nei processi di separazione CliniMACS pre-programmati o di personalizzazione delle applicazioni di processazione delle cellule. Le condizioni di elettroporazione devono poter essere liberamente parametrizzabili. Inoltre deve essere incluso un adattatore per l'uso con cuvette standard manuali, che consenta un'ottimizzazione rapida ed economica, a livello pre-clinico, dei parametri di elettroporazione e facilitare lo scale-up clinico.

Il Responsabile Scientifico

Prof. Roberto Chiarle

(F.to digitalmente)

DocuSigned by:

A digital signature in black ink, appearing to read 'R. Chiarle', is enclosed within a blue rectangular border. Below the signature, the alphanumeric string '42323F0481494DE...' is printed.

42323F0481494DE...