**Allegato 1)**

**ELABORATO TECNICO RELATIVO ALLA “FORNITURA DI UN ANALIZZATORE METABOLICO CELLULARE PER IL DIPARTIMENTO DI FARMACIA – LABORATORIO DI COLTURE CELLULARI - DELL’UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II**

**CARATTERISTICHE DELL’ANALIZZATORE DA ACQUISIRE**

L’analizzatore metabolico cellulare permette la misurazione del metabolismo e della bioenergetica cellulare in real-time, l’apparecchio deve essere facilmente utilizzabile e permettere la determinazione del fenotipo metabolico cellulare, della respirazione mitocondriale, della glicolisi e dell’ossidazione degli acidi grassi. Tali misurazioni sono possibili mediante la quantificazione accurata della respirazione mitocondriale e della glicolisi cellulare con valutazione del tasso di consumo di ossigeno (Oxygen Consumption Rate o OCR) e dell’acidificazione extracellulare (Extracellulare Acidification Rate o ECAR) in cellule viventi. Utilizzando questi due parametri di misurazione, è facilmente calcolabile il tasso di efflusso glicolitico dei protoni (PER), che rappresenta un’accurata determinazione della velocità della glicolisi in tempo reale.

L’apparecchio deve fornire misurazioni in vitro rilevanti per lo studio del metabolismo cellulare in cellule primarie e in linee cellulari tumorali e non tumorali, utilizzando sia cellule aderenti che in sospensione o mitocondri isolati. Si devono poter rilevare simultaneamente sia i livelli di ossigeno che del pH nel mezzo in un sistema label-free con lettura non distruttiva del campione.

L’apparecchio deve prevedere l’utilizzo di micropiastre monouso per colture cellulari; le misurazioni devono poter essere ripetute per determinare la cinetica della risposta cellulare, calcolata ogni 5-8 minuti, per tempi prolungati. Nel caso di utilizzazione di cellule adese non deve essere necessaria la tripsinizzazione delle stesse.

Deve essere possibile l’aggiunta automatica dei reattivi (almeno fino a 4) e le determinazioni si devono poter effettuare sia prima che dopo l’aggiunta di ogni reagente.

L’apparecchio deve essere dotato di un sistema di temperatura controllato che consenta di lavorare sia a37°C che ad altre temperature in un range compreso tra 16 e 42 °C. Inoltre, è necessario l’integrazione con un software per l’elaborazione dei dati che possano essere facilmente esportati in Excel o Prism. Il software deve avere una licenza illimitata.

I sensori ottici di cui deve essere dotato l’apparecchio non devono ridurre la quantità di ossigeno presente durante la misurazione, non entrare in contatto con le cellule, né essere influenzati dai composti utilizzati né dalla fluorescenza di qualche composto utilizzato. I parametri dei sensori devono essere i seguenti: Oxygen sensor peak absorption = 530 nm (green) e Oxygen peak emission = 650 nm (red); pH sensor peak absorption = 470 nm (blue) e. pH sensor peak emission = 530 nm (green).

I led devono operare a bassa energia di eccitazione in modo da evitare il photobleaching.

L’apparecchio deve prevedere l’utilizzo di reattivi standardizzati o di kits e protocolli specifici, convenienti e semplici da utilizzare. Inoltre, l’apparecchio deve richiedere poco materiale biologico (10-20 volte in meno di quello richiesto per le determinazioni eseguite con l’elettrodo di Clark), permettere il recupero delle cellule riducendo il tempo di acquisizione dei dati.

L’apprecchio deve fornire dati caratteristici del metabolismo cellulare che possono interessare diverse aree di ricerca (cancro, immunologia, immunometabolismo, disordini metabolici includendo obesità e diabete, lo studio delle cellule staminali, disfunzioni metaboliche correlate alle patologie neurodegenerative, malattie cardiovascolari, tossicologia, invecchiamento e malattie infettive).

L’apparecchio deve essere certificato secondo gli standard ISO 9001.