Centri Nazionali, Progetto “National Center for Gene Therapy and Drugs based on RNA Technology”

MISSIONE 4, COMPONENTE 2, INVESTIMENTO 1.4
Codice Progetto MUR: CN00000041 – CUP UNINA: E63C22000940007 –
CUI “F00876220633202300005”

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II

DIPARTIMENTO DI FARMACIA

ELABORATO TECNICO RELATIVO ALL’ACQUISTO DI UNO SPETTROMETRO DI MASSA AD ALTA RISOLUZIONE (HRMS) ABBINATO A SISTEMI DI CROMATOGRAFIA A NANO-FLUSSI E UHPLC PER IL DIPARTIMENTO DI FARMACIA

Premessa

L’intervento in oggetto riguarda l’acquisto di uno spettrometro di massa ad alta risoluzione per analisi proteomiche e metabolomiche per ampliare la dotazione al Dipartimento di Farmacia dell’Università degli Studi di Napoli Federico II.

Il presente elaborato, predisposto dalla Commissione tecnico consultiva nominata con delibera del Consiglio del Dipartimento n. 4 del 20/04/2023, è preordinato a definire le caratteristiche tecnico funzionali idonee a soddisfare le esigenze del Dipartimento.

Spettrometro di Massa ad Alta Risoluzione

1. Spettrometro di massa composto da tre diversi analizzatori di massa, il primo basato sulla tecnologia quadrupolare, il secondo basato sulla tecnologia a trappola lineare (con possibilità quindi di effettuare MS^n, con n>3) mentre per il terzo si richiede un detector ad alta risoluzione che lavori in trasformata di Fourier (FTMS);

2. Il sistema FTMS non deve utilizzare liquidi criogenici per il suo mantenimento;

3. Ogni analizzatore di massa deve essere in grado di lavorare sequenzialmente o in parallelo con gli altri;

4. I due analizzatori di massa, basati sulla tecnologia a trappola ionica lineare e FTMS devono poter funzionare indipendentemente o in concerto l'uno con l'altro;

5. Tutti e tre gli analizzatori di massa devono essere in grado di effettuare un'analisi di massa in tempo reale. Il detector ad alta risoluzione e la trappola Ionica devono essere in grado di rilevare gli ioni ed effettuare l'elaborazione dei dati in tempo reale, consentendo un'elevata frequenza di scansione spettrale. Il funzionamento dei tre analizzatori di massa deve essere gestito da un sistema di Dynamic Scan Management per una massima efficienza operativa;

6. Il sistema deve essere dotato di una cella di collisione per frammentazioni HCD (Higher Energy Collisional Dissociation) di tipo MS^2, ed il successivo instradamento verso gli analizzatori di massa a trappola ionica o alta risoluzione;

7. Possibilità di frammentazione MS^n in trappola ionica con $1 \leq n \leq 10$;

8. Il sistema deve operare nelle seguenti range di massa:
   Quadrupolo: 50-2.000 (m/z);
   Trappola ionica lineare: 50-8.000 (m/z);
   Detector ad alta risoluzione: 50-8.000 (m/z);

9. Il quadrupolo deve essere in grado di selezionare gli ioni precursori con finestra di isolamento fino a 0,4 m/z;

10. Il sistema MS deve essere quindi in grado di eseguire frammentazioni di tipo HCD (Higher Energy Collisional Dissociation) in cella di collisione e CID (Collision Induced Dissociation) nella trappola lineare e come possibilità opzionali (ed eventualmente aggiornabili) le modalità ETD/ETciD, UVPD

o EThcD, con rilevazione degli ioni frammento nella trappola ionica lineare o nell' analizzatore di massa ad alta risoluzione in qualsiasi stadio MS^n;

11. Mass Resolution:
    L'analizzatore HRMS deve ottenere una Risoluzione fino a 500.000 (FWHM) misurata a m/z 200;

12. Frequenza di acquisizione:
    L'analizzatore in alta risoluzione deve essere in grado di lavorare con una frequenza di acquisizione fino a 40Hz;
    Velocità di acquisizione della trappola ionica: fino a 45 Hz;

13. Accuratezza di massa detector ad alta risoluzione:
    <3 ppm RMS - con calibrazione esterna;
    <1 ppm RMS - con calibrazione interna;

14. Capacità di effettuare lo switching di polarità in un tempo minore di 1,1 secondi a risoluzione fissata (deve esser in grado di effettuare un ciclo completo di scansione in entrambe le polarità nel tempo indicato con Risoluzione fissata a 30.000 FWHM);

15. Range dinamico: lo Spettrometro di massa in alta risoluzione deve garantire un range dinamico di almeno 5 ordini di grandezza;

16. Spettrometro di massa completo di doppia sorgente: ESI e nano-ESI.

Cromatografo Liquido a nano flussi (nano-UHPLC):

1. HPLC in grado di operare in un unico sistema con flussi nano, capillari e micro-LC;

2. Composto da pompa binaria con miscelazione in altra pressione con possibilità di impostare flussi da 1 nl/min a 100 µl/min;

3. RSD dei tempi di ritenzione ≤ 0.2%,

4. Pressione operativa del modulo di pompaggio: fino a 1500 bar;

5. Delay volume della pompa < 25 nl;

6. Autocampionatore con tecnologia di iniezione split Loop in grado di operare in modalita: iniezione diretta con loop inline, iniezione diretta con loop offline, iniezione "trap-and-elute" con sistema back-flush o forward-flush, "trap-and-elute" riscaldato con sistema di eluizione backflush o forward-flush;

7. Volume di iniezione: 0.01–25 µL (minimo step 0.01 µL). Opzionali: 0.01–100 µL (minimo step 0.01 µL), "High volume trapping" fino a 500 µL (usando il loop da 100 µL);

8. L'autocampionatore deve operare con accuratezza ≤ 0.5% (per un volume di iniezione di 5 µL) e consentire il controllo della temperatura del campione tra 4 e 40°C (operando in condizioni ambientali fino a 23°C sotto la temperatura ambiente);

9. L'autocampionatore deve poter ospitare fino a 4 piatti well plate da 384 posizioni ciascuno;

10. HPLC e Spettrometro di Massa di unico fornitore e produttore.

Cromatografo Liquido ad Alte Prestazioni (UHPLC):

1. Il cromatografo liquido dovrà essere in grado di operare sia con colonne HPLC classiche sia con colonne con impaccamento di dimensioni inferiori a 2µm (UHPLC);
2. Il sistema di pompaggio dovrà essere a gradiente binario con miscelazione ad alta pressione;
3. Flusso operativo compreso tra 0,001 – 8 mL/min con incrementi di 1µL/min;
4. Possibilità di selezionare per la miscelazione binaria da un numero massimo di sei eluenti;
5. Precisione del Flusso: ≤ 0.05% RSD
6. Il sistema dovrà essere in grado di operare a contropressioni superiori a 1000 bar
7. Autocampionatore con volume di iniezione compreso tra 0,01 -25 µl;
8. Autocampionatore termostatato tra 4-40°C;
9. Possibilità di alloggiare oltre 200 vials da 2 mL;
10. Carry Over <0,0004% con Caffeina;
11. Accuratezza del volume di iniezione: ± 0,5% per 10 µl di H_2O;
12. Compartimento Colonna in grado di lavorare sia in modalità aria statica che ventilazione forzata;

13. Possibilità di alloggiare almeno due colonne da 30 cm di lunghezza;
14. Compartimento Colonne operativo tra 5-120°C con incrementi di 0,1°C;
15. Stabilità della temperatura del Compartimento Colonne: ± 0.05C;
16. Valvole: Possibilità (opzionale) di alloggiare fino a 2 valvole nel compartimento della colonna (2 posizioni/6porte o 6 posizioni/7porte);
17. Sensori di perdita (leak sensor).

Generatore di Azoto

Generatore di azoto che garantisca la piena funzionalità dello strumento ovvero dotato delle seguenti caratteristiche:

- Flusso di Azoto fino a 45 Nl/min
- Flusso di Aria Oil Free fino a 40 l/min
- Pressione di uscita fino a 8,0 bar
- Kit regolatori di pressione in uscita da 1 a 8 bar opzionali e disponibili su richiesta
- Due gas disponibili in uscita, Azoto ed Aria compressa Oil Free
- Purezza dell'Azoto fino a 99,9%
- Produzione Azoto ed Aria automatica, in base al consumo
- Compressore con tecnologia a Pistoni Oil-free
- Essiccatore integrato aria/aria con Filtro a Coalescenza per offrire l'abbattimento totale del condensato
- Due riserve smaltate internamente, una di Azoto interna (≥25 litri) ed una di Aria (≥25 litri) per evitare il surriscaldamento del compressore e facilitare l'erogazione stabile della pressione
- Risparmio energetico con software per ridurre i consumi con monitoraggio a Display e da remoto della modalità di funzionamento
- Dimensioni ridotte che ne consentano il posizionamento sotto il banco di lavoro
- Rumorosità ridotta (Noise Level 54 dBA)
- Indice di protezione IP20
- Dispositivo per produrre azoto a doppia purezza fino al 99,999%

- Controllo remoto mediante collegamento via cavo di rete e/o WIFI, raggiungibile dai più comuni Browser di internet da PC, Tablet o Smart phone
- Possibilità di ottenere Tracciati giornalieri, settimanali o mensili relativi alle pressioni erogate, alle Temperature di esercizio, alla velocità di rotazione (portata Azoto in uscita) ed all'energia consumata
- Due anni di garanzia

Software

La fornitura dovrà comprendere:

1. Software proprietario di gestione e acquisizione dei dati;

2. Devono essere forniti tutti i tool necessari alla migliore gestione della strumentazione oggetto dell'offerta: dal tuning dello spettrometro di massa, all'elaborazione dei dati qualitativi e quantitativi, dalla gestione dei dati su fogli elettronici (excel), alla personalizzazione dei report di stampa;

3. Devono essere presenti algoritmi in grado di ottenere le formule brute per ogni composto di cui viene misurata la massa esatta e associare le formule brute identificate con le strutture chimiche dei composti ottenuti (sia in modalità MS che MS/MS);

4. Software per l'identificazione di proteine in campioni biologici. Il programma deve consentire l'analisi PTM, la quantizzazione della marcatura isobarica e/o di tipo SILAC e analisi label free. Il software inoltre deve essere in grado di processare automaticamente i dati LC/MS/MS di digeriti triptici comparandoli con banche dati e preparare automaticamente un semplice rapporto comprendente: Nome della Proteina Identificata, sequenza della proteina evidenziando Il segmento Identificato e spettro del segmento analizzato evidenziando le posizioni "Y" e "B";

5. La fornitura deve prevedere infine una licenza di un Software in grado di effettuare la ricerca di masse esatte e riconoscimento di spettri MS^2 nell'ambito delle applicazioni in metabolomica ed in grado di collegarsi a banche dati online (ChemSpider o similari). Inoltre, deve permettere di:
   attribuire le formule brute e le strutture chimiche dei rapporti m/z rilevati (sia in modalità MS che MS/MS) anche con la possibilità di analisi fine dei pattern isotopici consentita dall'elevata risoluzione di massa;
   Effettuare una trattazione statistica dei dati, con funzioni quali: PCA, PLS-DA, Volcano Plot e analisi differenziale con confronto campioni con n>2;
   Verificare la frammentazione in-silico per spettri di frammentazione;
   Applicare filtri per difetto di massa.

Unità di acquisizione dati

La fornitura deve essere inoltre comprensiva di:

1. Un PC di acquisizione dati per lo strumento con le seguenti caratteristiche di minima:
   Workstation basata su processore Intel Core I7 o successivo;
   32GB Memory – 512GB SSD + 1TB Hard Drive – DVD Writer;
   Scheda Grafica;
   Monitor almeno da 23", VGA, DVI-D;
   Mouse & Keyboard;
   2 schede ethernet;

2. Due PC per l'installazione e l'utilizzo dei Software di elaborazione dati con caratteristiche adeguate, che consentano il completo funzionamento degli stessi.

Servizi, Formazione del Personale e Garanzia:

1. Sono a carico dell'aggiudicatario i servizi di trasporto, consegna, installazione e collaudo della fornitura da parte di personale qualificato;

2. Non si intendono a carico del fornitore eventuali opere murarie, elettriche o in generale di adeguamento del laboratorio;

3. Immediatamente a seguito del positivo collaudo del sistema, la ditta aggiudicataria dovrà effettuare un primo corso pratico di avvicinamento (familiarizzazione base) allo strumento da parte di personale tecnico qualificato;

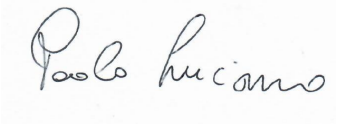
4. A seguito del positivo collaudo del sistema, la ditta aggiudicataria dovrà effettuare un corso di addestramento presso il Dipartimento di Farmacia dell'Università degli Studi di Napoli Federico II, per un tempo adeguato al raggiungimento di uno standard operativo minimo e comunque non inferiore a 3 giorni lavorativi on site;

5. Inoltre, devono essere previste ulteriori sessioni di training da remoto principalmente per l'approfondimento delle piattaforme SW della durata di almeno 2 giornate lavorative;

6. Garanzia: La garanzia prevista sulla strumentazione scientifica deve essere dei canonici 12 mesi standard più ulteriori 24 mesi di estensione (per un totale quindi di mesi 36) comprensivi di:
   Assistenza telefonica e/o collegamenti da remoto;
   Un numero illimitato di uscite del tecnico per attività di riparazione on-site;
   Parti di ricambio ed una visita di manutenzione preventiva per anno di estensione (Totali 2);

LA COMMISSIONE SCIENTIFICA

Prof. Alfonso Mangoni (Presidente)

Prof. Antonio Randazzo (Componente)

Dott. Paolo Luciano (Componente)