SEZIONE A1

RELAZIONE ILLUSTRATIVA

**PROCEDURA NEGOZIATA IN ESCLUSIVA,
AI SENSI DELL'ART. 57 - COMMA 2 LETTERA B) - DEL D.LGS. N. 163/2006
PER LA FORNITURA DI UN SISTEMA LIQUIDO MASSA (LC MS/MS) ORBITRAP FUSION
TRIBRID TECNOLOGY OCCORRENTE ALL'I.R.C.C.S. GIANNINA GASLINI**

N° gara: 6072673

CIG: 62894298FE

Il Direttore Scientifico

Il sottoscritto Prof. Lorenzo Moretta, in qualità di Direttore Scientifico dell'Istituto G. Gaslini (Via G. Gaslini, 5, Genova) e responsabile del progetto "Sviluppo di tecniche di proteomica avanzata per diagnosi molecolare nello studio di patologie pediatriche", avendo preso in visione la dichiarazione di unicità relativa allo strumento Orbitrap Fusion Tribrid fornita dalla ditta Thermo Fisher Scientific S.p.A. con sede legale Strada Rivoltana 20090 Rodano - Milano, Codice Fiscale/P.IVA 07817950152

DICHIARA

che l'unico spettrometro di massa che attualmente consente, nell'ambito del progetto di ricerca sopracitato, lo sviluppo di approcci proteomico-clinici innovativi è l'Orbitrap Fusion Tribrid.
Infatti, la combinazione di tre differenti analizzatori (Quadrupolo, Trappola Lineare a doppia pressione e Trappola Orbitale FTMS) e l'integrazione di tre sistemi di frammentazione (CID, HCD e ETD) consentono una caratterizzazione a livello proteomico precisa ed accurata, non solo in esperimenti con numeri di cellule dell'ordine di grandezza di 1 milione, ma anche nel caso di sottopopolazioni cellulari molto rare (dell'ordine di grandezza di centomila cellule).
Le prestazioni che conferiscono unicità e quindi parametri di eccellenza nel campo della sensibilità, della caratterizzazione strutturale e dell'analisi quantitativa sono le seguenti:
Tecnologia FTMS sia in MS1 che MSn con altissima risoluzione e accuratezza di massa.
Lo spettrometro di massa Fusion Tribrid si basa sulla tecnologia Orbitrap FTMS (Fourier Transform Mass Spectrometry) ed è in grado di ottenere una risoluzione di massa pari a 450.000 FWHM. Attraverso questa elevatissima risoluzione è possibile caratterizzare in maniera univoca i peptidi, le proteine intere e le diverse modifiche post trascrizionali.
L'accuratezze di massa è mantenuta costantemente sotto il valore di 1 ppm grazie ad un calibrante interno.
Differenti tecniche di Frammentazione disponibili in ogni fase MSn per l'identificazione peptidica e per la caratterizzazione di glicopeptidi. Tecniche differenti per l'identificazione di sequenze peptidiche e/o proteiche aumentano il grado di confidenza necessario per una corretta valutazione dei sistemi proteici analizzati. Grazie alla presenza di tre analizzatori e di tre tecniche di frammentazione è possibile selezionare la modalità di frammentazione in qualsiasi fase di MSn e quindi di sviluppare metodi capaci di affrontare la complessità strutturale dei glicopeptidi. Considerando che molti marcatori sono glicosilati e che i differenti gradi di glicosilazione correlano con l'aggressività tumorale, la caratterizzazione di glicopetidi è di primaria importanza nei nostri studi e ciò è reso possibile sull'Orbitrap Fusion mediante un approccio unico, denominato "FT-FTMS2 (HCD) pd-CID/ETD/HCD" che consente di avere contemporaneamente il rilevamento e l'identificazione del peptide e del glicano. A supporto si riporta un interessante articolo apparso recentemente in letteratura: *Novel LC-MS² product dependent parallel data acquisition function and data analysis workflow for sequencing and identification of intact glycopeptides. Anal Chem. 2014 Jun 3;86(11):5478-86. Wu SW1, Pu TH, Viner R, Khoo KH.*

Elevata sensibilità in matrici complesse come lisati cellulari.
L'altissima risoluzione e le nuove ottiche di campionamento e di trasmissione ionica, permettono allo spettrometro di massa Fusion Tribrid di raggiungere livelli di sensibilità pari a qualche attomole di proteina. Grazie all'elevata specificità di rivelazione, data dalla risoluzione, è possibile raggiungere questi livelli di sensibilità anche su matrici estremamente complesse come i lisati cellulari. Questa capacità è di valore critico per scoprire o monitorare concentrazioni molto basse di biomarcatori di diverse patologie.
Elevata velocità di acquisizione MS/MS associata ad un elevato grado di tpPSMs (true positive peptide-to-spectrum matches). Un cellula umana contiene approssimativamente 10000 proteine. Lo spettrometro di massa necessario per lo studio dei campioni descritti nel progetto di ricerca deve essere in grado di coprire, a livello d'identificazione, la quasi totalità di proteine in un intervallo di poche ore. Lo spettrometro di massa Fusion Tribrid risponde a questo requisito in quanto è in grado di fornire simultaneamente una velocità di scansione MS/MS pari a 20Hz sulla trappola lineare e 18 Hz sull'analizzatore FTMS Orbitrap. In entrambi gli analizzatori, essendo scansioni derivanti da trappole ioniche, il rendimento della rivelazione è molto elevato poiché non sussistono perdite di segnale, classiche di altri analizzatori come Quadrupoli o Tempi di Volo (TOF). L'alta qualità dello spettro di frammentazione permette di ottenere un elevato grado di tpPSMs. A sostegno di queste affermazioni esistono diversi lavori in letteratura di seguito si riporta il primo uscito nel 2014: *The one hour yeast proteome. Mol Cell Proteomics. 2014 Jan;13(1):339-47. Hebert AS, Richards AL, Bailey DJ, Ulbrich A, Coughlin EE, Westphall MS, Coon JJ.*
Accurata quantificazione per il sistema multiplex a 10 canali senza problemi di riproducibilità e sensitività causati da interferenze di ioni contaminanti. Al fine di poter comprendere patologie complesse come il cancro, è necessaria l'analisi di molti campioni. I sistemi multiplex consentono di quantificare i cambiamenti proteici in parallelo abbattendo i problemi di tempo, costo e variabilità strumentale. L'aumento del numero di campioni analizzati consente di utilizzare i potenti strumenti della statistica per individuare biomarcatori fortemente significativi. La proteomica quantitativa deve essere solida, affidabile e non soggetta ad alcun dubbio nella valutazione dei rapporti relativi di abbondanza quantitativa. Il sistema Orbitrap Fusion soddisfa queste esigenze mediante la risoluzione (spesso si tratta di separare masse che differiscono di 6 mDa) ed elevate velocità di scansione e frammentazione. Inoltre, questo spettrometro possiede una caratteristica tecnologica unica che consente la selezione sincrona di ioni precursori per effettuare esperimenti di MS3. In questo modo si elimina ogni possibile effetto di disturbo nella stima delle intensità degli ioni marcatori multiplex e quindi si riduce al minimo la possibilità di errore sulla quantificazione proteica. Di seguito si citano due lavori, il primo è relativo allo sviluppo del metodo, il secondo descrive la sua applicazione nel campo dell'immuno-proteomica:
MultiNoteh MS3 enables accurate, sensitive, and multiplexed detection of differential expression across cancer cell line proteomes. Anal Chem. 2014 Jul 15;86(14):7150-8.
McAlister GC1, Nusinow DP, Jedrychowski MP, Wühr M, Huttlin EL, Erickson BK, Rad R, Haas W, Gygi SP.
Quantitative temporal viromics: an approach to investigate host-pathogen interaction. Cell. 2014 Jun 5;157(6):1460-72. Weekes MP1, Tomasec P, Huttlin EL, Fielding CA, Nusinow D, Stanton RJ, Wang EC, Aicheler R, Murrell I, Wilkinson GW, Lehner PJ, Gygi SP.

L'integrazione di questa nuova tecnologia di frontiera con quelle all'avanguardia già presenti presso l'Istituto G. Gaslini consentiranno di aumentare il valore complessivo della ricerca e della sua diretta applicazione ad una diagnostica avanzata.

Prof. Lorenzo Moretta
Direttore Scientifico