

ALLEGATO 1

AVVISO FINALIZZATO ALLA VERIFICA DI UNICITÀ DEL FORNITORE PER L’AFFIDAMENTO, MEDIANTE PROCEDURA NEGOZIATA SENZA BANDO AI SENSI DELL’ART. 63, COMMA 2, LETT. B), E COMMA 6 DEL D.LGS. N. 50/2016 DELLA FORNITURA DI 5 INCUBATORI AUTOMATICI INTEGRABILI DI CUI 3 PER LE CULTURE CELLULARI E 2 PER LA CONSERVAZIONE A FREDDO DEI MEZZI DI COLTURA COMPRENSIVO DI GARANZIA BIENNALE.

La Fondazione Human Technopole deve realizzare una piattaforma automatica per la generazione e il mantenimento di cellule staminali pluripotenti (PSC) e organoidi cerebrali derivati da cellule staminali attraverso la **fornitura di 5 incubatori automatici integrabili di cui 3 per le culture cellulari e 2 per la conservazione a freddo dei mezzi di coltura compatibili con un sistema automatico di stoccaggio e movimentazione delle micropiastre.**

La piattaforma, che verrà realizzata nel centro di Neurogenomica, dovrà permettere la manipolazione in parallelo e ad alta numerosità (high throughput) di colture cellulari bi- e tri-dimensionali in micropiastre a multipozzetto, avvalendosi di un sistema integrato di strumentazione automatica di laboratorio.

La piattaforma è costituita da una serie di diverse componenti – ciascuna adibita a svolgere una precisa funzione – che verranno assemblate in due celle di lavoro di classe BLS2. All’interno della cella di lavoro ogni singola micropiastra (contenente uno o più campioni) viene processata seguendo un flusso di lavoro predefinito, permettono ai campioni biologici di attraversare una serie di “passaggi” obbligati, la cui esecuzione ordinata, nei tempi stabiliti, è strumentale al completamento dei protocolli di generazione e mantenimento delle colture cellulari senza l’intervento dell’operatore.

Il risultato finale è una piattaforma robotica costituita da strumenti di terze parti e controllata quali, appunto, **i 5 incubatori.**

Vengono di seguito evidenziate i fabbisogni della Fondazione.

Gli organoidi cerebrali vengono generati da cellule staminali pluripotenti (PSC). Sia gli organoidi che le PSC vengono mantenute in coltura per diversi mesi, nel caso degli organoidi si può arrivare a un anno intero di mantenimento. Queste condizioni di crescita necessitano di un controllo stringente dell’umidità della camera di incubazione associato a un sistema che assicuri la massima sterilità.

La Fondazione, deve garantire il corretto controllo della percentuale di umidità e allo stesso momento assicurare la massima sterilità della camera di incubazione così da ridurre al minimo le probabilità di contaminazione all’interno della stessa.

Gli organoidi cerebrali vengono generati e mantenuti in coltura all’interno di micropiastre multipozzetto di formato diverso.

Una volta generati, gli organoidi vengono coltivati per periodi molto lunghi, fino a 9-12 mesi, durante i quali il mezzo di coltura viene cambiato ogni giorno. Questa operazione deve avvenire, nella fase iniziale, in micropiastre con 96 pozzetti. Successivamente, gli organoidi vengono trasferiti in micropiastre di diverso formato (96, 24, 12 e 6 pozzetti per piastra). Per ottimizzare le condizioni sperimentali, gli organoidi verranno generati utilizzando protocolli diversi.

Un requisito indispensabile, in tutti i protocolli, per il corretto sviluppo della rete di cellule neuronali dell’organoide è la crescita in agitazione continua, dove la velocità dell’agitazione è specifica per ogni formato di piastra e protocollo, quindi stadio di sviluppo dell’organoide.

La Fondazione necessita di poter crescere contemporaneamente, nella stessa camera di incubazione, organoidi derivati con protocolli diversi e soggetti ad almeno quattro condizioni diverse di agitazione. Per ottenere un numero sufficiente di organoidi in ogni condizione sperimentale, la Fondazione necessita di poter generare e mantenere in incubazione, nella stessa camera di incubazione, organoidi in un numero non inferiore a 40 per ogni condizione di agitazione e/o protocollo e in un numero non inferiore a 40 per ogni formato di piastra, per un totale di non meno di 160 piastre nello stesso incubatore.

Per soddisfare tale fabbisogno, la Fondazione, quindi, necessita di tecnologie che abbiano i seguenti requisiti:

- Sistema di agitazione orbitale durante il periodo di incubazione.
- Capacità di almeno 160 piastre (17mm) nella singola camera di incubazione
- Presenza di almeno quattro colonne di incubazione (stacker) delle piastre a gestione indipendente (nella stessa camera di incubazione), così che ogni colonna possa essere programmata indipendentemente dalle altre.

- Ogni colonna (delle 4 descritte al punto precedente) a gestione indipendente dovrà avere una capacità di almeno 40 piastre (17mm)
- durante le operazioni di accesso, solo la torre coinvolta nel trasferimento delle micropiastre dovrà interrompere il movimento. Le altre 3 torri dovranno continuare il movimento di agitazione.
- un incubatore automatico dove l'umidità viene generata attraverso un sistema di iniezione di vapore ad acqua ad alta temperatura (almeno 100°C), così da ridurre al minimo le probabilità di contaminazione all'interno della camera di incubazione.
- un sistema di stoccaggio automatico a 4 gradi centigradi (4°C) per reservoir ad alta capacità (fino a 300ml), dove viene conservato il mezzo di coltura completamente integrato nella piattaforma.
- Il sistema di stoccaggio automatico a 4 gradi centigradi (4°C) dovrà essere posizionato sotto il piano di lavoro e manipolare/movimentare reservoirs attraverso uno shuttle automatico e una porta scorrevole posta sul lato superiore,

Il Sistema integrato di incubatori con le caratteristiche soprarichiamate diventa l'unico in grado di soddisfare le crescenti e mutevoli esigenze del centro di ricerca di Neurogenomica della Fondazione Human Technopole

Milano, 22.11.2022

Giovanni Fagà

Head of Automated Stem Cell and Organoid Facility

