

GARA 2 - LOTTO 2 (DIGITAL PCR)

Specifiche tecniche strumentazione UR 1 (Resp. Scientifico Prof. ssa E. Ciani)

ATTREZZATURA N° 1: SISTEMA PER DIGITAL PCR

L'attrezzatura dovrà consistere in un sistema integrato in grado di consentire la realizzazione di protocolli di Digital PCR a partire da acidi nucleici (unitamente ad ogni altra operazione necessaria per l'implementazione, in maniera oggettivamente efficiente, delle applicazioni consentite dallo strumento). Il sistema dovrà essere corredato da tutte le strumentazioni accessorie, desumibili come tali dal manuale d'uso della strumentazione, indispensabili per la realizzazione, in maniera oggettivamente efficiente, di tutto il work-flow.

Inoltre, lo strumento dovrà essere corredato di una fornitura di tutti i materiali di consumo specifici (reagenti, kit, enzimi, plastiche specifica) necessari per consentire l'avvio del sistema al fine di consentire la realizzazione del progetto dimostratore (processazione di almeno 2000 campioni con almeno una delle applicazioni possibili).

Il sistema deve essere in grado di consentire le seguenti applicazioni:

- Quantificazione assoluta di acidi nucleici
- Quantificazione delle library per Next Generation Sequencing
- Determinazione di mutazioni rare
- Determinazione del numero di copie genomiche
- Quantificazione dell'espressione genica anche da singola cellula
- Analisi di miRNA

Il sistema deve essere costituito imprescindibilmente almeno da:

- un generatore automatico di droplets
- un lettore in fluorescenza
- un plate-sealer per piastre da 96 pozzetti
- un termociclatore per piastre da 96 pozzetti compatibile con il work-flow dello strumento
- un computer laptop e cavi di collegamento
- software di gestione ed analisi dei dati

Il generatore automatico di droplets deve essere in grado di produrre, a partire da 20µl di campione, un'emulsione contenente almeno 10.000 droplets, con volume approssimativo di 1nl e diametro di 125µm circa, e deve poter processare in contemporanea fino a 8 campioni in soli 2 min. Tale sistema deve consentire la preparazione di un'intera piastra da 96 campioni indipendenti in meno di 30 minuti.

Il lettore in fluorescenza, indipendente dal generatore di droplets, deve consentire di processare da 1 a 96 campioni alla velocità di oltre 35 campioni/h, senza necessità di alcun intervento manuale da parte dell'operatore.

Il gruppo ottico con sorgente di eccitazione a due LED, e due detector a fotomoltiplicatori, forniti di specifico filtro di banda passante, deve essere in grado di leggere fino a 2 fluorofori (FAM, EvaGreen, VIC o HEX) contemporaneamente, per singola gocciolina.

Il sistema deve consentire l'analisi automatica di tutte le gocce di ogni singolo campione per entrambe i canali di fluorescenza. Inoltre esso deve poter eseguire termociclazione, lettura ed analisi in formato piastra standard da 96 pozzetti.

Il sistema deve consentire la possibilità di analizzare fino a 1,5 milioni di gocce per piastra da 96; deve possedere un range dinamico lineare per la quantificazione fino a 5 ordini di grandezza (5 Log); deve consentire la possibilità di identificare e quantificare anche una singola copia in un campione di DNA; deve possedere un livello di precisione almeno del 10%. Deve consentire la possibilità di discriminare anche rapporti fino a 4 o 5 copie genomiche in esperimenti di Copy Number Variation (CNV).

Il sistema deve essere compatibile con qualsiasi sistema per QPCR che utilizzi sonde ad idrolisi (TaqMan, MGB TaqMan, LNA, BHQ, BHQplus, ed altri) e con sistemi di chimiche leganti fluorogeniche, quali EvaGreen o simili e deve presentare la possibilità di utilizzo per emulsion PCR mediante recupero del DNA da droplet non analizzate per applicazioni successive.

Caratteristiche del software di gestione

- Visualizzazione delle misure di fluorescenza per entrambi i canali di eccitazione/emissione
- Analisi quantitativa per ogni singolo campione
- Modulo di analisi per CNV (copy number variation)
- Modulo di analisi per mutazioni rare con calcolo della percentuale di mutazione
- Posizionamento della soglia di analisi manuale o automatizzato per ogni singolo campione o per l'intera piastra
- Possibilità di unire i dati di più pozzetti in una statistica unica
- Determinazione del numero assoluto di copie mediante fitting verso algoritmo di Poisson
- Software di analisi senza limitazione al numero di installazioni

Il sistema deve inoltre presentare:

- Marchio CE
- Garanzia (copertura full risks su tutte le componenti e strumentazioni accessorie) per 36 mesi dalla data di collaudo.
- Corso gratuito pratico-applicativo, entro i primi trenta giorni dal collaudo, con specialist ufficiale della ditta aggiudicataria svolto in loco, per una durata non inferiore ad una giornata.
- Tempo utile per la consegna, installazione e collaudo: 45 giorni dalla sottoscrizione del contratto.