

CAPITOLATO TECNICO

Sistemi di cromatografia liquida per la purifica di particelle virali

Il presente capitolato, nell'ambito della creazione di centri di ricerca nazionale, selezionati con procedure competitive, che siano in grado di raggiungere, attraverso la collaborazione con le Università, centri di ricerca e imprese, una soglia critica di capacità di ricerca e innovazione, ha come oggetto la fornitura degli strumenti necessari per l'incremento del pacchetto strumentale già in dotazione all'Ospedale nell'ambito dell'iniziativa PNRR e la creazione di un Centro Nazionale per Terapia RNA e Terapia Genica.

Nell'implementazione delle attività di ricerca e sviluppo svolte dall'Unità di Ricerca Terapia Genica dei Tumori, afferente all'Area di Ricerca Oncoematologia e Officina Farmaceutica, è stata scelta la strumentazione:

- Cytiva ÄKTA Avant 150 (codice 28976337, dotato di: UNICORN 7 WrkStn avant cod. 29702894; HP COMPUTER Mini Desktop cod. 29740281; Monitor, Widescreen cod. 29153626; KEYBOARD, ITALY cod. 28402066; Installation of Cytiva Instr/System cod. 18116488; White Glove Delivery Service cod. 29324503; Cassette, for 15 ml tubes (2- pack) cod. 28956404; Cassette, for 50 ml tubes (2- pack) cod. 28956402; Rack, for 250 ml bottles cod. 28981873; Column holder cod. 28956282; Binder IQOQ AKTA avant cod. 29266554)
- Cytiva ÄKTA Pilot 600R (codice 29750824, dotato di: HP COMPUTER Mini Desktop cod. 29740281; Monitor, Widescreen cod. 29153626; KEYBOARD, ITALY cod. 28402066; UNICORN 7 Manufacturing cod. 29708935; Installation Basic cod. 29011780; Binder IQOQ AKTA PILOT 600 cod. 29310214)

per la purificazione di particelle lentivirali.

Lo sviluppo del processo per la produzione di un vettore lentivirale prevede prima una fase di amplificazione del vettore lentivirale (LVV) all'interno di cellule di packaging, poi una successiva fase di purifica e di concentrazione del LVV. L'ottimizzazione di entrambi le fasi deve tenere in considerazione le caratteristiche chimico-fisiche di LVV. Per produrre una quantità di LVV sufficiente per lo svolgimento di trial clinici di fase I e II sono necessari: un'alta produttività volumetrica di LVV, mediante piattaforma di bioreattori, e un'alta infettività del LVV dopo il processo di purifica.

Il processo di purifica si effettua mediante cromatografia liquida, che sfrutta una peculiarità specifica della molecola di interesse (in questo caso, il LVV) per isolarla e separarla dal resto dei contaminanti di una soluzione.

I due sistemi Cytiva ÄKTA Avant 150 e Cytiva ÄKTA Pilot 600R (come di sopra configurati) presentano le seguenti caratteristiche tecniche che rispondono alle esigenze progettuali:

- è necessario l'impiego del modello ÄKTA Avant 150 che copre intervalli di portata e di pressioni ottimali per le fasi iniziali di sviluppo, per lo screening e l'ottimizzazione del metodo (volume iniziale: 100 mL - 20 L; flow rate: 1-150mL/min, pressure range: 0-5 MPa, colonne di diametro da 16 a 50 mm), e del modello ÄKTA Pilot™ 600 R, che lavora con intervalli di portata e di pressione che consentono uno scale-up lineare (volume iniziale: 35L a 50L; flow rate: 0.1-1200mL/min, Pressure range: 0-0.2 MPa, colonne di diametro da 26 a 200 mm). Il sistema ÄKTA Pilot™ 600 R, seppur impostabile a flussi minimi di 0,1 mL/min, perde di precisione, accuratezza ed uniformità per flussi così bassi, considerando il diametro delle colonne e la pressione massima impostabile: inoltre, il sistema ÄKTA Pilot™ 600 R non consente di montare colonne di diametro inferiore a 26 mm, e questo limita fortemente lo sviluppo di protocolli in parallelo.

Per questo motivo, il sistema ÄKTA Pilot™ 600 R non è la soluzione per le attività di sviluppo e validazione dei protocolli di purifica, mentre risponde a pieno alla necessità di gestire elevati volumi in ingresso del processo di purifica. In questo modo è coperta l'intera scala di volume di sviluppo e di produzione.

- entrambi i modelli ÄKTA Avant 150 e ÄKTA Pilot 600R sono dotati del software UNICORN™, così da ottenere due sistemi uniformi da un punto di vista della programmazione dei metodi e dei protocolli, della nomenclatura, delle immagini di processo e tecnologie dei sensori utilizzati nelle operazioni di processo. In aggiunta, il modello ÄKTA Avant 150 viene fornito con la funzione di Design of Experiment (DoE), che disegna gli esperimenti basandosi su un metodo statistico, permettendo di variare più parametri simultaneamente in modo da ridurre significativamente il numero di esperimenti rispetto ad un approccio tradizionale.
- il modello ÄKTA Avant 150 è dotato di raccoglitore di frazioni mediante diversi alloggiamenti (tubi da 3,5,8,15 e 50mL, sia well-plate da 24, 48 e 96 well) con integrato il sistema di raffreddamento, al fine di evitare stress del LVV particolarmente suscettibile alle variazioni di temperatura sulle caratteristiche di infettività.
- il modello ÄKTA Avant 150 è dotato del sistema brevettato BufferPro che, grazie alla presenza di una valvola quaternaria collegata a 4 differenti soluzioni stock, consente la produzione di buffer a diverse concentrazioni di pH e a diverse composizioni di Sali.

N.B. su tutta la strumentazione deve essere prevista la consegna al piano, attività di installazione e collaudo, formazione del personale operatore, la garanzia 12 mesi "Full Risk", che include per tutto il periodo la copertura di manutenzione correttiva (compresa di ricambi) e attività di manutenzione preventiva come prevista dal fabbricante.