

ATTO DI VALUTAZIONE DI CONGRUITA' TECNICA

Fornitura di materiali di consumo Life Technologies Italia necessari alla conduzione degli esperimenti (che comprende anche il corretto funzionamento delle apparecchiature di laboratorio) per le attività di ricerca presso l'Unità di Ricerca Terapia Cellulare e Genica delle Malattie Ematologiche e l'Unità di Ricerca Genetica e Epigenetica dei Tumori Pediatrici, afferente all'Area di Ricerca Oncoematologia dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù.

CUP B53C22006140001

1. Atto di valutazione di congruità tecnica, presentato dalla Prof.ssa Concetta Quintarelli, con cui è stata esaminata la documentazione tecnica e sono state valutate congrue l'offerta del 29/05/2025 e la domanda di partecipazione con offerta economica del 09/06/2025, presentate da Life Technologies Italia, per l'importo di Euro 71.162,06 (settantunomilacentosessantadue/06) oltre IVA, ove dovuta, con uno sconto del 24,72% rispetto all'importo massimo della fornitura, riportato nella Determina a contrarre, pari ad Euro 94.529,04 (novantaquattromilacinquecentoventinove/04) oltre iva, ove applicabile.

2. Trattasi di documentazione relativa alla procedura mediante affidamento diretto, ai sensi dell'art. 50, comma 1 lett. b), del D. Lgs. 36/2023, per la fornitura di materiali di consumo Life Technologies Italia necessari alla conduzione degli esperimenti (che comprende anche il corretto funzionamento delle apparecchiature di laboratorio) per le attività di ricerca presso l'Unità di Ricerca Terapia Cellulare e Genica delle Malattie Ematologiche e l'Unità di Ricerca Genetica e Epigenetica dei Tumori Pediatrici, afferente all'Area di Ricerca Oncoematologia dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, mediante la stipula di un Accordo Quadro ex art.59 del D. Lgs. n.36/2023, nell'ambito dell'Iniziativa "Digital Driven Diagnostics, prognostics and therapeutics for sustainable Health care", acronimo "D3 4 Health", contrassegnata dal codice identificativo PNC0000001 - CUP B53C22006140001.

Di seguito, si riporta l'elenco dei materiali consumabili richiesti; per il dettaglio e le quantità dei singoli prodotti si rimanda al Capitolato tecnico e all'Allegato 1 "Lista materiali consumabili Life Technologies Italia (CUP_ B53C22006140001)":

1. AF-100-15- 100UG HUMAN EGF
2. AF-100-18B-100U HUMAN FGF-BASIC (ANIMAL FREE)100UG
3. N8010580 MicroAmp 8-tube strip (0.2ml)
4. 4323032 MicroAmp® Optical 8-Cap Strips
5. 20349 Pierce Streptavidin agarose
6. 21059 RESTORE WESTERN BLOT
7. 26149 PIERCE CO-IP KIT EA
8. 492024 MAGnify™ Chromatin Immunoprecipitation System
9. 492025 DynaMag™-PCR Magnet
10. Supporto magnetico per purificazione biglie magnetiche
11. 730020 ANTI-PRMT3 - RMAB 100 µg

12. 4304437 TAQMAN UNIVER.PCR MASTER MIX 200RXN
13. 4346906 PIASTRE OTTICHE FAST BARC.MICROAMP
14. 4374966 High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit
15. 4444557 TAQMAN FAST ADVANCED MMIX 5 ML
16. 12587010 B-27™ Supplement (50X), minus vitamin A_gibco
17. 16210064 Goat Serum, New Zealand origin, gibco
18. 17502048 N2 SUPPLEMENT 5 ml
19. 17504044 B-27™ Supplement (50X)
20. 21103049 Neurobasal med
21. 31330038 DMEM:F12(1:1) W/HEPES 500ML
22. 21901BID EZ-Link™ Maleimide-PEG2-Biotin, No-Weigh™ Format
23. A3890401 Poly-D-Lysine
24. A5256701 FBS VALUE
25. AM9780 RNASE ZAP 250ML
26. C10840 SENESENCE FLOW 50 ASSAYS 50 ASSAYS
27. C1430 Calcein AM, cell-permeant green and blue dyes
28. L3000008 LIPOFECTAMINE 3000, 0.75ML
29. MA1980 PIERCE C-MYC MOUSE MONOCLONAL ANTIBODY
30. 15544034 S.O.C. medium 10X10 ml
31. 10569010 DMEM (hg, with sodium pyruvate, with glutaMax)
32. 12563011 TrypLE™ Select Enzyme (1X), no phenol red, 100mL
33. 12563029 TrypLE™ Select Enzyme (1X), no phenol red, 500mL
34. 01-2222-42 UltraComp eBeads - Compensation Beads
35. 11668-019 Lipofectamine 2000 1.5 ml
36. 21980-032 IMDM 500ml
37. 36600-088 MCCOYS 5A W/GLUTAMAXI 10X500
38. A1286001 Glutamax cts 100x (200 mM)
39. A35348 LV-MAX Transfection Kit
40. A3583401 LV-Max Production Medium
41. A4124801 CTS OPTI-MEM 100 ml
42. A5670701 FBS North
43. AM9906 DEPC-treated water
44. C36950 Countbright Absolute counting Beads
45. MA523627 IL-15 100 tests MA523627
46. Q10210 Qubit BR RNA 100 assay
47. Q32854 Qubit HS DNA 500 assay
48. Q32855 Qubit HS RNA 500 assay
49. Q32856 QUBIT ASSAY TUBES SET OF 500
50. Q33266 Qubit BR DNA 500 assay
51. 4331182-Hs9999990 Hs99999903_m1 ACTIN B
52. 4331182-Hs9999995 Hs99999905_m1 GAPDH
53. 4331182-Hs00909569 Hs00909569_g1 ATF4
54. 4331182-Hs01009259 Hs01009259_m1 PROM1
55. 4331182-Hs00999632 Hs00999632_g1 POU5F1
56. 4331182-Hs00180411 Hs00180411_m1 BMI1
57. 4331182-Hs00801390 Hs00801390_s1 β Tubulin III
58. 4331182-Hs01548727 Hs01548727_m1 MMP2

- 59. 4331182-Hs00958111 Hs00958111_m1 VIM
- 60. 4331182-Hs00195591 Hs00195591_m1 SNAI1
- 61. 4331182-Hs00411605 Hs00411605_m1 Prmt3
- 62. 4427975miR-34c hsa-miR-34c
- 63. 4427975miR-638 hsa-miR-638
- 64. 4427975U6 snRNA U6 snRNA
- 65. 4427975ath-159a ath-159a

3. La fornitura in questione è finanziata con fondi PNC Piano Nazionale per gli investimenti Complementari approvato ai sensi del decreto legge 6 maggio 2021 n.59, convertito con modificazioni dalla legge 1° luglio 2021, n.101 recante “Misure urgenti relative al Fondo complementare al piano nazionale di ripresa e resilienza e altre misure urgenti per gli investimenti”, nell’ambito del piano nazionale complementare Decreto Direttoriale 6 giugno 2022 n. 931;

4. Pertanto, per la formalizzazione del contratto in questione, l’OPBG ha deciso di procedere in ottemperanza alle disposizioni del Decreto Legislativo 31 marzo 2023 n.36 e ss.mm.ii. e della normativa vigente in materia di appalti e contratti pubblici nonché di quanto previsto dal D. L. 31 maggio 2021 n.77, convertito con modificazioni in Legge 29 luglio 2021 n.108;

5. Il Contratto che l’Ospedale stipulerà con la Life Technologies Italia è propedeutico alla realizzazione dell’Iniziativa denominata “Digital Driven Diagnostics, prognostics and therapeutics for sustainable Health care”, acronimo “D3 4 Health”, contrassegnata dal codice identificativo PNC0000001.

- **Relazione Prof.ssa Concetta Quintarelli:**

Il materiale offerto risponde alle esigenze di progetto, come di seguito specificato.

Per il mantenimento di linee cellulari derivate dai campioni biologici dei pazienti arruolati e per le procedure di trasfezione cellulare sono stati individuati i seguenti reagenti:

1. AF-100-15- 100UG HUMAN EGF

Fattore di crescita per colture cellulari in sospensione

2. AF-100-18B-100U HUMAN FGF-BASIC (ANIMAL FREE)100UG

Fattore di crescita per colture cellulari in sospensione

16. 12587010 B-27™ Supplement (50X), minus vitamin A_ gibco

Supplemento per per colture cellulari in sospensione

17. 16210064 Goat Serum, New Zealand origin, gibco

Siero da utilizzare per bloccare i siti aspecifici nella reazione di immunofluorescenza.

18. 17502048 N2 SUPPLEMENT 5 ml

Supplemento per per colture cellulari in sospensione

19. 17504044 B-27™ Supplement (50X) Supplemento per per colture cellulari in sospensione

20. 21103049 Neurobasal med Terreno di coltura per cellule in sospensione

21. 31330038 DMEM:F12(1:1) W/HEPES 500ML

Terreno di coltura per cellule in semi-sospensione

24. A3890401 Poly-D-Lysine Reagente per far aderire le cellule in sospensione a supporti di plastica

25. A5256701 FBS VALUE Supplemento di coltura per cellule in semi-sospensione

28. C1430 Calcein AM, cell-permeant green and blue dyes

Colorante per cellule

29. L3000008 LIPOFECTAMINE 3000, 0.75ML

Reagente di trasfezione cellulare

31. 15544034 S.O.C. medium 10X10 ml

Il terreno S.O.C. (Super Optimal broth with Catabolite repression) viene utilizzato nella fase finale della trasformazione delle cellule batteriche per ottenere la massima efficienza di trasformazione di E. coli. La repressione dei cataboliti si ottiene fornendo glucosio nel terreno di coltura e creando così condizioni metaboliche ottimali per E. coli. Inoltre, l'elevata concentrazione di nutrienti consente alle cellule di riprendersi dopo lo stress indotto dalla trasformazione e di ottenere un'efficienza 2-3 volte superiore rispetto al recupero in terreno LB.

32. 10569010 DMEM (hg, with sodium pyruvate, with glutaMax)

Terreno di coltura per cellule

33. 12563011 TrypLE™ Select Enzyme (1X), no phenol red, 100mL

L'enzima TrypLE è un sostituto della tripsina, è stabile a temperatura ambiente e, inoltre, è estremamente delicato sulle cellule. È così delicato, infatti, che l'enzima TrypLE non necessita di agenti inibitori. Al contrario, viene inattivato dalla sola diluizione. Inoltre, gli enzimi TrypLE vantano una cinetica di dissociazione simile a quella della tripsina suina, nonché una cinetica di riproduzione, proliferazione e mantenimento a lungo termine delle cellule comparabile.

34. 12563029 TrypLE™ Select Enzyme (1X), no phenol red, 500mL

L'enzima TrypLE è un sostituto della tripsina, è stabile a temperatura ambiente e, inoltre, è estremamente delicato sulle cellule. È così delicato, infatti, che l'enzima TrypLE non necessita di agenti inibitori. Al contrario, viene inattivato dalla sola diluizione. Inoltre, gli enzimi TrypLE vantano una cinetica di dissociazione simile a quella della tripsina suina, nonché una cinetica di riproduzione, proliferazione e mantenimento a lungo termine delle cellule comparabile.

36. 11668-019 Lipofectamine 2000 1.5 ml

Reagente di trasfezione cellulare

37. 21980-032 IMDM 500ml

Terreno di coltura per cellule

38. 36600-088 MCCOYS 5° W/GLUTAMAXI 10X500

Terreno di coltura per cellule

39. A1286001 Glutamax cts 100x (200 mM)

La L-glutammina è un importante integratore di aminoacidi comunemente aggiunto ai terreni di coltura delle cellule di mammifero. La L-glutammina favorisce la crescita delle cellule in coltura cellulare fungendo da fonte energetica ausiliaria, soprattutto quando le cellule si dividono rapidamente.

40. A35348 LV-MAX Transfection Kit

Reagente di trasfezione cellulare

41. A3583401 LV-Max Production Medium

Il terreno di produzione Gibco LV-MAX è un terreno chimicamente definito, privo di siero e di proteine, appositamente sviluppato per la crescita ad alta densità e la trasfezione di cellule di produzione virale Gibco (cellule derivate da HEK 293 adattate in sospensione) che promuovono la produzione lentivirale ad alta concentrazione.

42. A4124801 CTS OPTI-MEM 100 ml

Terreno di coltura per cellule

43. A5670701 FBS North

I sieri fetali bovini Gibco offrono un valore eccellente per la coltura cellulare di base, la ricerca specialistica e i test specifici. Presenta bassi livelli di endotossina ed emoglobina. Certificati ISO 13485, lavorati in strutture registrate dalla FDA. Etichettati per la diagnostica in vitro (conformi al più alto livello di test di sterilità USP). Triplo filtro a 0,1 µm.

45. C36950 Countbright Absolute counting Beads

Le microsfere CountBright sono una sospensione calibrata di microsfere che sono brillantemente

fluorescenti in un'ampia gamma di lunghezze d'onda di eccitazione ed emissione (eccitazione da UV a 635 nm ed emissione da 385 a 800 nm). Le microsfere di conteggio assoluto CountBright vengono miscelate con il campione di cellule e analizzate mediante citometria a flusso. Confrontando il rapporto tra gli eventi delle microsfere e quelli delle cellule, è possibile calcolare il numero assoluto di cellule nel campione. Poiché le microsfere CountBright sono mescolate al

campione in esame, la conta assoluta delle cellule con questo metodo a piattaforma singola è più accurata e meno complicata rispetto alla concentrazione cellulare determinata con test a piattaforma multipla. Le microsfere CountBright per il conteggio assoluto possono essere utilizzate con qualsiasi tipo di campione, compreso il sangue intero non lavato/liquidato.

Per le attività di biologia molecolare (estrazione acidi nucleici, purificazione di proteine e anticorpi biotinilati, preparazione campioni per amplificazione RT-PCR e rilevazione/quantizzazione di DNA o RNA, immunofluorescenza e immunochimica,

western blotting per identificare e quantificare proteine specifiche) sono stati identificati i seguenti reagenti e plasticheria a corredo:

3. N8010580 MicroAmp 8-tube strip (0.2ml)

Plasticheria -strip di provette termoresistenti per reazioni

4. 4323032 MicroAmp® Optical 8-Cap Strips

TAPPI PER STRIP DI PROVETTE TERMORESISTENTI PER REAZIONI

5. 20349 Pierce Streptavidin agarose

Resina di biglie di agarosio streptavidina da usare in una varietà di metodi di purificazione per

Affinità di legame alla biotina.

6. 21059 RESTORE WESTERN BLOT

Soluzioni per tecnica di western blot

7. 26149 PIERCE CO-IP KIT EA

Kit per reazioni di co-immunoprecipitazione delle proteine

8. 492024 MAGnify™ Chromatin Immunoprecipitation System

Kit per reazioni di immunoprecipitazione della cromatina

9. 492025 DynaMag™-PCR Magnet

Supporto magnetico per purificazione biglie magnetiche

10. 730020 ANTI-PRMT3 – RMAB 100 µg

Anticorpo diretto contro il marcatore epigenetico PRMT3

11. 4304437 TAQMAN UNIVER.PCR MASTER MIX 200RXN

Master mix per reazioni di PCR Real-time

12. 4346906 PIASTRE OTTICHE FAST BARC.MICROAMP

Piastre da utilizzare in PCR Real-time

13. 4374966 High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit

Kit di retroscrazione del RNA in cDNA

14. 4444557 TAQMAN FAST ADVANCED MMIX 5 ML

Master mix per reazioni di PCR Real-time

22. 21901BID EZ-Link™ Maleimide-PEG2-Biotin, No-Weigh™ Format

Reagente di biotinilazione di media lunghezza, attivato con maleimide e reattivo ai solfidrili che contiene un glicole etilenico a 2 unità nel suo braccio distanziatore per caratteristiche di maggiore

Solubilità in acqua

26. AM9780 RNASE ZAP 250ML

Soluzione di decontaminazione delle superfici che distrugge le RNasi al contatto

27. C10840 SENESENCE FLOW 50 ASSAYS 50 ASSAYS

Kit per valutare la senescenza cellulare

30. MA1980 PIERCE C-MYC MOUSE MONOCLONAL ANTIBODY

Anticorpo diretto contro il marcatore staminale C-MYC

35. 01-2222-42 UltraComp eBeads – Compensation Beads

Le UltraComp eBeads reagiscono con anticorpi di origine di topo, ratto e criceto e sono indipendenti dalla catena leggera dell'immunoglobulina. Sono progettate per essere utilizzate in compensazione con tutti i fluorocromi eccitati da laser ultravioletti (355 nm), violetti (405 nm), blu (488 nm), verdi (532 nm), giallo-verdi (561 nm) e rossi (633-640 nm). Le microsferi sono particelle sferiche che possono essere colorate con singoli anticorpi coniugati con fluorocromo per essere utilizzate come controlli di compensazione monocolori.

44. AM9906 DEPC-treated water

L'acqua trattata con DEPC di Ambion è certificata priva di nucleasi e viene fornita in cinque bottiglie da 100 ml ciascuna. L'acqua trattata con DEPC viene sterilizzata in autoclave prima e dopo il confezionamento per garantire la sterilità e l'inattivazione della DEPC. È rigorosamente testata per verificare l'assenza di attività di endonucleasi, esonucleasi e RNasi non specifiche.

47. Q10210 Qubit BR RNA 100 assay

Kit per la quantificazione accurata e precisa dell'RNA

48. Q32854 Qubit HS DNA 500 assay

Kit per la quantificazione accurata e precisa del DNA

49. Q32855 Qubit HS RNA 500 assay

Kit per la quantificazione accurata e precisa dell'RNA

50. Q32856 QUBIT ASSAY TUBES SET OF 500

Kit per la quantificazione accurata e precisa del DNA e dell'RNA

51. Q33266 Qubit BR DNA 500 assay

Kit per la quantificazione accurata e precisa del DNA

Per i saggi di espressione e quantizzazione proteica sono stati individuati I seguenti kit specifici per le proteine di interesse:

52. 4331182-Hs9999990 Hs99999903_m1 ACTIN B

Saggio per valutare la beta actina in PCR Real-time

53. 4331182-Hs9999995 Hs99999905_m1 GAPDH

Saggio per valutare GAPDH in PCR Real-time

54. 4331182-Hs00909569 Hs00909569_g1 ATF4

Saggio per valutare ATF4 in PCR Real-time

55. 4331182-Hs01009259 Hs01009259_m1 PROM1 Saggio per valutare PROM1 in PCR Real-time

56. 4331182-Hs00999632 Hs00999632_g1 POU5F1 Saggio per valutare POU5F1 in PCR Real-time

57. 4331182-Hs00180411 Hs00180411_m1 BMI1

Saggio per valutare BMI1 in PCR Real-time

58. 4331182-Hs00801390 Hs00801390_s1 β Tubulin III Saggio per valutare la beta tubulina in PCR Real-time

59. 4331182-Hs01548727 Hs01548727_m1 MMP2 Saggio per valutare MMP2 in PCR Real-time

60. 4331182-Hs00958111 Hs00958111_m1 VIM

Saggio per valutare la Vimentina in PCR Real-time

61. 4331182-Hs00195591 Hs00195591_m1 SNAI1

Saggio per valutare SNAI1 in PCR Real-time

62. 4331182-Hs00411605 Hs00411605_m1 Prmt3

Saggio per valutare PRMT3 in PCR Real-time

63. 4427975miR-34c hsa-miR-34c

Saggio per valutare il microRNA 34c in PCR Real-time

64. 4427975miR-638 hsa-miR-638

Saggio per valutare il microRNA 638 in PCR Real-time

65. 4427975U6 snRNA U6 snRNA

Saggio per valutare snRNA U6 in PCR Real-time

66. 4427975ath-159° ath-159°

Saggio per valutare lo spike-in ath-159° in PCR Real-time

Per applicazioni citofluorimetriche finalizzate all'identificazione di specifiche molecole che caratterizzano lo stato di proliferazione e attivazione cellulare sono stati identificati I seguenti anticorpi:

46. MA523627 IL-15 100 tests MA523627

Anticorpo monoclonale

Data: 09/06/2025

Firma

