

**Bolzano,
17.12.2018**

Oggetto: Motivazione all'acquisto della piattaforma proteomica costituita da Q Exactive Plus, NANO RSLCNANO SYS per EASY-SPRAY e software di analisi

Con riferimento all'oggetto, sono di seguito descritte le caratteristiche tecniche che rendono unica la piattaforma proteomica e relative potenzialità di applicazione.

Come evidenziato nella proposta progettuale, tra le scienze "omiche", la proteomica è sicuramente la più polivalente ed efficace, offrendo un approccio olistico per la selezione e assemblaggio delle comunità microbiche responsabili delle produzioni alimentari, e del miglioramento della qualità degli alimenti, con riferimento agli attributi nutrizionali, funzionali e di autenticità.

Nell'ultimo ventennio le tecnologie analitiche "gel free" basate sulla Spettrometria di Massa hanno preso il sopravvento nelle analisi proteomiche per la facilità e la rapidità con cui è possibile sviluppare linee di ricerca che portino rapidamente ad identificare e caratterizzare le proteine e loro derivati a livello microbico, alimentare e biologico.

Tale approccio proteomico è correntemente sotto attenta investigazione, in quanto ha la potenzialità di poter aprire nuovi orizzonti di ricerca sia per l'uso integrato di strumenti e sia per l'applicazione della "targeted proteomics" in applicazioni di analisi veloci, accurate e avanzate. Le proteine e loro derivati sono, nel contempo, indicatori della fisiologia dei microrganismi, metaboliti microbici ed elementi strutturali, funzionali, nonché marcatori dell'autenticità, degli alimenti. Il loro monitoraggio e condizionamento dell'espressione consente l'utile uso dei microbi nei processi alimentari e la valutazione della qualità degli alimenti, secondo molteplici attributi. Inoltre, tale piattaforma e approccio può essere applicata per condurre studi che consentono di correlare la dieta al microbioma gastrointestinale e di garantirne un condizionamento.

In generale, il flusso lavorativo richiede, prima dell'analisi in spettrometria di massa, strumentazioni e protocolli analitici che permettano l'isolamento, la marcatura e la separazione di biomarcatori o eventuali candidati proteici/peptidici dalle miscele complesse che ne derivano durante i loro processi estrattivi. A causa delle dispersive metodiche di isolamento e purificazione degli eventuali

candidati, si riscontra, in questo tipo di analisi, una notevole perdita di materiale proteico, causato dall'utilizzo di sistemi non concentrativi, che comporta problemi di sensibilità durante l'acquisizione in spettrometria di massa. La possibilità di poter disporre di uno spettrometro di massa ad elevata risoluzione con tecnologia a Trasformata di Fourier (FTMS), accoppiabile a strumentazione UHPLC di tipo Nano, consente una serie di prospettive analitiche di estremo interesse nel campo dell'analisi di biomarcatori proteici microbici, biologici e alimentari consentendo un nuovo livello di routine analitica.

Con la presente dichiarazione, e sulla base della precedente premessa, si richiede l'acquisizione di uno "Spettrometro di massa ibrido Quadrupolo-FT MS ad alta risoluzione, tecnologia Orbitrap Q EXACTIVE Plus" equipaggiato con UHPLC di tipo Nano. La strumentazione richiesta ha una serie di caratteristiche premianti sia per quanto riguarda le singole componenti come Spettrometro di Massa che come UHPLC di tipo Nano. È importante sottolineare, inoltre, che la strumentazione richiesta è controllata da un'unica piattaforma di gestione software. Questo rende molto più semplice ed omogeneo il controllo strumentale, il processamento e l'archiviazione dei dati. La possibilità di impiegare strumentazione ad alta risoluzione e accuratezza di massa (UHPLC-HRAM) per l'identificazione di metaboliti microbici in matrici alimentari e/o biologiche (es. urine, feci) e di molecole in campo alimentare richiede, pertanto, alcune caratteristiche strumentali che sono indispensabili per l'affidabilità del risultato di seguito elencate:

- Il sistema cromatografico deve essere del tipo nanoUHPLC, operante a pressione di esercizio fino ad almeno 860 bar: questa caratteristica permette di ottenere separazioni cromatografiche ultra veloci nell'analisi di peptidi e proteine in matrici alimentari e biologiche complesse garantendo quindi un elevato throughput analitico.
- Intervallo di massa analizzabile: l'intervallo di massa analizzabile dallo strumento deve essere almeno 50-6000 m/z, questo per permettere l'analisi e lo studio sia di peptidi e piccole proteine che per lo studio di tutte le varianti proteiche.
- Spettrometro di massa ibrido: spettrometro di massa con tecnologia ibrida composto da: analizzatore ad elevatissima risoluzione a trappola. L'analizzatore a trappola orbitale dello spettrometro di massa deve essere di ultima tecnologia e stabile alle variazioni di temperatura dell'ambiente senza la necessità di continue ricalibrizioni.
- Risoluzione: la risoluzione di massa dello strumento deve essere pari almeno fino a 140.000 FWHM per un valore di $m/z = 200$. Tale caratteristica è molto

importante nello studio di molecole isobare. Infatti, una tale risoluzione permette di ottenere l'esatto profilo isotopico delle molecole di interesse, con una elevata precisione in termini di intensità dei vari isotopi, necessaria per ottenere in modo univoco informazioni strutturali per una vasta gamma di molecole target, contribuendo in misura significativa agli sforzi di caratterizzazione e di quantificazione. Questo aspetto, assieme alla capacità di elaborazione dei dati da algoritmi specifici in grado di poter sfruttare al meglio il potere risolutivo e l'accuratezza della misurazione, rende lo spettrometro FTMS lo strumento ideale per le applicazioni di interesse nella caratterizzazione e quantificazione di composti incogniti.

- Lo strumento FTMS a trappola orbitale è in grado di abbinare elevate velocità di scansione in modalità MS/MS mantenendo una elevatissima risoluzione nella selezione dei precursori in MS, senza compromessi della sensibilità strumentale. Duty cycle molto veloci consentono di poter ottenere un numero elevato di data point per picco senza compromettere il potere risolutivo dello strumento: requisito fondamentale per analisi di "discovery quantification".

In base a quanto su descritto l'azienda Thermofisher è risultata l'unica in grado di fornire un sistema con suddette caratteristiche.

In fede,

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'L. F. M.', written in a cursive style.

