



OSPEDALE Casa Sollievo della Sofferenza
ISTITUTO DI RICOVERO E CURA A CARATTERE SCIENTIFICO
OPERA DI SAN PIO DA PIETRELICINA
Viale Cappuccini snc - SAN GIOVANNI ROTONDO (FG)

DICHIARAZIONE DI UNICITA'

PER PROGETTI FINANZIATI DAI FONDI SIE-FSC-FESR E DA ENTI NAZIONALI ED INTERNAZIONALI

San Giovanni Rotondo, 10.12.2024

Al Responsabile Amministrativo
Dott. Michele Giuliani

DICHIARAZIONE DI UNICITA' **(resa ai sensi del D.P.R. n. 445/2000)**

La sottoscritta Rosa Di Paola, C.F. DPLRSO67E52D643J, in qualità di Responsabile Scientifico dell'UO4 del Progetto: "Integration of Human Carotid Atherosclerotic Plaques Transcriptomics and Metabolomics-based signature to identify new therapeutic targets and biomarkers for Cardiovascular Diseases"

- codice identificativo: PNRR-MAD-2022-12376543
- acronimo: ATHEROMICS
- codice commessa: RPNRR22DE12
- CUP: I23C22000750001

con riferimento alla richiesta di acquisto n. 00004179.3 presentata in data 15/02/2024 ed in relazione all'articolo: NextSeq 500/550 High Output Kit v2.5 (150 Cycles), codice produttore 20024907;

premesso che l'articolo innanzi specificato è garantito da privativa industriale che lo rende unico per caratteristiche di produzione, che detto articolo è prodotto, commercializzato e distribuito in modo esclusivo dalla ditta Illumina Group, così come confermato dalla allegata dichiarazione rilasciata dalla medesima Illumina Group, nel rispetto dei principi di trasparenza, non discriminazione, pubblicità ed effettiva concorrenza previsti dalla normativa nazionale e comunitaria applicabile a tutti i soggetti, anche di natura privata, che accedono a progetti finanziati dai fondi afferenti al Piano nazionale di ripresa e resilienza, PNRR 2022;

DICHIARA

la sua Infungibilità in quanto è un bene di consumo collegato a tecnologia proprietaria indispensabile per l'attuazione del progetto innanzi specificato, ovvero di kit di reagenti compatibili in modo esclusivo ai sequenziatori di DNA prodotti dalla stessa ditta Illumina Group,
Rev. 3



OSPEDALE Casa Sollievo della Sofferenza
ISTITUTO DI RICOVERO E CURA A CARATTERE SCIENTIFICO
OPERA DI SAN PIO DA PIETRELCINA
Viale Cappuccini snc - SAN GIOVANNI ROTONDO (FG)

DICHIARAZIONE DI UNICITA'

PER PROGETTI FINANZIATI DAI FONDI SIE-FSC-FESR E DA ENTI NAZIONALI ED INTERNAZIONALI

San Giovanni Rotondo, 10.12.2024

specificatamente per il modello NextSeq 500/550, già citato in pubblicazioni su riviste scientifiche, di cui se ne allega stralcio, quindi imprescindibili per replicare metodiche e risultati coerenti ai dati già pubblicati e di futura pubblicazione;

la sottoscritta dichiara, inoltre, che quanto affermato corrisponde a verità e di essere a conoscenza della responsabilità penale prevista, dall'art. 76 del D.P.R. 445/2000, per le ipotesi di falsità in atti e dichiarazioni mendaci ivi indicate in merito alla presente dichiarazione.

Il Responsabile Scientifico del Progetto
Dott.ssa Rosa Di Paola

Dott.ssa Di Paola Rosa
Cod. 83081
Lab. di Ricerca Endocrinologia

Visto e approvato
Il Direttore Scientifico

Si Allegano:

- Documentazione comprovante i diritti di privativa industriale sottoscritta dal produttore e distributore e riferita agli articoli specificati in testo;
- Pubblicazione scientifica.



ILLUMINA ITALY S.r.l.
Società a socio unico
Sede legale: Viale Certosa 218
Quartiere Garegnano Milano Italy
C.F./Part. IVA 06814140965
R.E.A. MI-1917431
Cap. Soc. Euro 100.000

Dichiarazione distribuzione

Si attesta e si certifica che ILLUMINA Group è l'unico produttore delle strumentazioni Illumina e Illumina Italy s.r.l. è l'unica entità in Illumina Group autorizzata a promuovere e commercializzare attivamente gli strumenti ed i reagenti compatibili con le tecnologie sequencing Illumina inclusi nel listino Illumina 2024.

Si certifica, inoltre, che Illumina Italy s.r.l., con sede legale in MILANO, VIALE CERTOSA 218, Quartiere Garegnano CAP 20156, Codice Fiscale/Partita Iva 06814140965, è una consociata interamente controllata avente socio unico Illumina GmbH (DE228451997) con sede in Eichhornstraße 3, 10785 Berlin, Germania in qualità di entità del gruppo ILLUMINA, gruppo che fa capo alla holding Illumina Inc. con sede in 5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, U.S.A.

Il legale rappresentante di Illumina Italy S.r.l. e Illumina GmbH
Keller Norbert Maria Hubert,

Norbert Keller

Electronically signed by: Norbert Keller
Reason: Approver
Date: Apr 11, 2024 16:36 GMT+2

11/04/2024

Dichiarazione di autorizzazione Distribuzione_2024

Final Audit Report

2024-04-11

Created:	2024-04-11
By:	Giovanni Laino (glaino@illumina.com)
Status:	Signed
Transaction ID:	CBJCHBCAABAA6axyA2KijXWX8Fm4Db1kna3YZdRq4WYN

"Dichiarazione di autorizzazione Distribuzione_2024" History

-  Document created by Giovanni Laino (glaino@illumina.com)
2024-04-11 - 2:18:56 PM GMT
-  Document emailed to Norbert Keller (nkeller@illumina.com) for signature
2024-04-11 - 2:19:22 PM GMT
-  Email viewed by Norbert Keller (nkeller@illumina.com)
2024-04-11 - 2:34:51 PM GMT
-  Norbert Keller (nkeller@illumina.com) authenticated with Adobe Acrobat Sign.
Challenge: The user opened the agreement.
2024-04-11 - 2:35:15 PM GMT
-  Norbert Keller (nkeller@illumina.com) authenticated with Adobe Acrobat Sign.
2024-04-11 - 2:36:00 PM GMT
-  Document e-signed by Norbert Keller (nkeller@illumina.com)
Signing reason: Approver
Signature Date: 2024-04-11 - 2:36:01 PM GMT - Time Source: server
-  Agreement completed.
2024-04-11 - 2:36:01 PM GMT

 Ministero della Salute Direzione generale della ricerca e dell'innovazione in sanità PNRR: M6/C2_CALL 2022 Full Proposal	 Finanziato dall'Unione europea NextGenerationEU
Project Code: PNRR-MAD-2022-12376543	Call section: Malattie Croniche non Trasmissibili (MCnT) ad alto impatto sui sistemi sanitari e
Applicant Institution: Lazio	Applicant/PI Coordinator: Federici Massimo

metagenomics and genotypes are already available. Cardiovascular, metabolic and cancer outcomes have been obtained for all subjects 5-years after the recruitment and within 2024 10-years outcomes will be obtained.

GCS-prospective design consists of 1029 subjects who consecutively underwent coronary CA from June 2016 to December 2018 and followed-up routinely for all-cause mortality (20). Dataset-inputs, outputs, conditions of testing etc. will be reported in "ad hoc" forms. Data from RNASeq Experiments will be collected both as FASTQ file containing sequence reads and transcript expression levels.

Vanvitelli CardioMetabolic cohort UO2 will enroll about n=600 consecutively patients with type 2 diabetes at different level of cardiovascular risk according to ESC guidelines (moderate, high and very high). Type 2 diabetic men and women aged 18 years or over will be selected for the study. Other inclusion criteria will BMI less than 40 kg/m², HbA1c equal or higher than 7.0%.

Cardiovascular assessment will include intima-media thickness (IMT), left ventricular mass (LVM), left ventricular, ejection fraction (LVEF), and cardiac performance index (MPI) evaluation. Outcome measures will be recorded each year for an overall follow-up period of 5 years.

The Tor Vergata Atherosclerosis Registry (ISRCTN registry, ID ISRCTN42405215, ref. 14) biobank includes 168 carotid artery plaques which will be extended to n=300.

Targeted CardioMet signature analysis will be carried out using an LC-MS/MS platform in both positive and negative ion modes against standard metabolites. The metabolites will be defined by their retention on the chromatographic method and their ion spectra. The protocol will include sample preparation and will provide for the use of an UPLC coupled to a triple quadrupole mass spectrometry equipped on ESI source for data acquisition and quantitative analysis of metabolites.

RNA-Seq library preparation and sequencing

Total RNA will be extracted by using Trizol reagent (Invitrogen) and RNA Clean & Concentrator kit (ZymoResearch).

Indexed libraries will be prepared from purified RNA with the TruSeq Total Stranded RNA Sample Prep Kit (Illumina)

according to the manufacturer's instructions. Cluster generation and sequencing will be performed by means of NextSeq 500 System (Illumina) in a 2×75 paired-end format.

Pre-processing and mapping reads to the reference genome

FASTQ file containing sequence reads and corresponding quality scores will be mapped and aligned to reference genome by using TopHat2 and/or STAR read aligner. The resulting BAM files will be analyzed by SAMtools in order to generate gene counts.

In vitro experiments

3D microfluidic microvasculature will be generated as described (27,28) by using Human Emulation System according to the manufacturer's instructions. Very briefly, HAECs cells will be introduced into the ECM-coated channels and then chips will be incubated overnight at 37 °C before perfusion with EGM2 (+/- HG) for 3 days (30 microl/hr). Microvessels will be treated or not with CardioMet (10mM, 1mM each) or TNFa (100nM, R&D Systems) as positive control for 3 or 18 hours. After staining CellTracker Dye (Thermo Fisher) THP-1 cells will be perfused by using EGM-2 and RPMI media at 1:1 ratio. Cytokines, chemokines and adhesion molecules will be analyzed in vascular effluents using the Simple Plex Ella platform (ProteinSimple) (29). To create the human EC-VSMC chip, endothelial cells seeding on the bottom channel will be followed by HASMC seeding on the top channel in smooth muscle medium.

All data will be recorded on institutional servers of each UO, according to institutional policy on security best practices and encryption of data.

Statistic plan

Categorical variables will be calculated either as nominal or ordinal data, as appropriate and expressed as frequency, percentage or absolute numbers. Continuous variables will be shown as means or medians, while their dispersion