

Leistungsbeschreibung

**Hochdurchsatz-Culturomics-Plattform für Mikroorganismen und
Bakteriophagen (Phagen)**

Hochdurchsatz-Culturomics-Plattform für Mikroorganismen und Bakteriophagen (Phagen)

1. Primäre Anwendungen

Die Hochdurchsatz-Culturomics-Plattform ist für die Kultivierung, das Screening und die Charakterisierung von Mikroorganismen und Bakteriophagen (Phagen) konzipiert. Durch den Einsatz einer kontinuierlichen Bildaufnahme während des gesamten Kulturlebenszyklus gewährleistet das System eine präzise Clusterbildung und Dereplikation und reduziert dadurch Redundanzen in nachgelagerten Kultivierungs- und Validierungsschritten erheblich. Darüber hinaus ermöglicht die vollständige Prozessüberwachung von Mikroben-Phagen-Interaktionen hochpräzise Untersuchungen zu Wachstumskinetik, Infektiosität, Stoffwechselprofilen sowie symbiotischen Beziehungen von Mikroorganismen und Phagen.

Zur Überwindung der Einschränkungen herkömmlicher Kultivierungsverfahren – beispielsweise der Abhängigkeit der Morphologie von Mikroorganismen vom Kultivierungsverlauf, vom Medium und von unterschiedlichen Umgebungsbedingungen, der sehr geringen Häufigkeit nicht kultivierbarer oder schwer kultivierbarer Spezies sowie der Tatsache, dass die meisten mit der menschlichen Gesundheit verbundenen Spezies anaerob sind – soll die Culturomics-Plattform über die folgenden Fähigkeiten verfügen:

- Etablierte anaerobe Kultivierung während des gesamten Kultivierungs- und Screeningprozesses mit einem Sauerstoffgehalt von bis zu 1 ppm oder niedriger.
- Automatisierung des vollständigen Kultivierungsprozesses einschließlich Ausplattieren, Kultivierung, Bildgebung, Cherry-Picking, Passagierung und Screening.
- Aufbau einer spezifischen Datenbank unter Einbeziehung öffentlicher und eigener privater Daten zur Schulung von KI-Algorithmen, damit Mikroorganismen anhand ihrer Morphologie derepliziert werden können, während zeit- und kultivierungsbedingte Variationen mithilfe kontinuierlicher Bildaufnahme weitgehend unberücksichtigt bleiben.

2. Funktionsmodule

- Gasmanagementsystem:** Verfügt über eine integrierte Gassteuerungseinheit, die Gasabsaugung und Spülvorgänge automatisch ausführt, um gezielt anaerobe oder aerobe Bedingungen schnell herzustellen. Das System ist mit verschiedenen Gasgemischen, einschließlich N_2 , H_2 , CO_2 und O_2 , kompatibel, um unterschiedlichen Anforderungen der mikrobiellen Kultivierung gerecht zu werden.
- Automatisiertes Inkubationssystem:** Ausgestattet mit einem präzise geregelten Konstanttemperatur-Inkubator. Das System reguliert die interne Umgebung auf Basis benutzerdefinierter Parameter autonom und verfügt über Echtzeitüberwachung sowie dynamische Anpassungen zur Sicherstellung optimaler Wachstumsbedingungen für Mikroorganismen.
- Umweltkontrollsystem:** Hält durch integrierte Steuerung von Temperatur, Luftfeuchtigkeit und HEPA-Filtration strenge Betriebs- und Inkubationsbedingungen aufrecht. Dadurch werden eine hohe Kultivierungseffizienz, Reproduzierbarkeit der Daten und ein konsequenter Kontaminationsschutz gewährleistet.
- Kolonie-/Plaque-Erkennungssystem:** Nutzt proprietäre Algorithmen und eine umfangreiche Datenbank, um Kolonien oder Phagen-Plaques anhand phänotypischer Parameter wie Größe, Pigmentierung, Konvexität, Nähe und Rundheit schnell zu identifizieren, zu differenzieren und zu clustern.
- System zur Datenerfassung und Rückverfolgbarkeit:** Erfasst kritische Laufzeitparameter, z. B. Gaskonzentrationen, Temperatur, Luftfeuchtigkeit und OD, automatisch in Echtzeit. Eine vollständige Datenrückverfolgbarkeit wird unterstützt, um eine umfassende Ergebnisanalyse und Versuchsdokumentation sicherzustellen.
- Automatisierungsmodule:** Umfasst eine umfassende Reihe von Hochdurchsatz-Automatisierungskomponenten, einschließlich Plattenstaplern, Förderbändern, 6-Achs-

Roboterarmen, automatisierter Zentrifuge, Liquid-Handling-System, automatisiertem Ausplattiermodul sowie Kolonie-/Plaque-Picking. Dadurch wird der gesamte Workflow für die Isolierung und Subkultivierung von Mikroben/Phagen optimiert.

3. Technische Parameter:

3.1 Mindestanforderungen

- Eingebauter sauerstoffzehrender Katalysator zur Sicherstellung einer anaeroben Umgebung mit O_2 -Werten ≤ 1 ppm. Aufrechterhaltung anaerober Bedingungen für > 12 Stunden ohne zusätzliche Injektion eines Gasgemisches.
- Erzeugung einer anaeroben Umgebung mittels Vakuum-Spül-Mechanismus unter Nutzung präziser Mikroflusssteuerung. Kompatible Gasgemische: 99,99 % N_2 oder eine Mischung aus 5 % H_2 / 10 % CO_2 / 85 % N_2 .
- Ausgestattet mit integrierten akustischen Alarmen bei niedrigem Druck, niedriger Temperatur und Abweichungen durch zu hohe Temperatur.
- Verfügt über eine hocheffiziente Mini-Pleat-HEPA-Filtration mit einer Effizienz von 99,99 % für Partikel mit $0,3 \mu m$ zur Aufrechterhaltung einer Reinraumumgebung nach ISO-Klasse 5 (Klasse 100) im Arbeitsbereich.
- Integriert ein flexibles automatisiertes Ausplattiermodul, das berührungsloses Dosieren von Proben, Ausplattieren sowie Inline-Waschen und Flammensterilisation der Ausplattierwerkzeuge ermöglicht. Vollständig kompatibel mit Agarplatten mit 0,4–0,7 % Agar.
- Fortschrittliches Bildgebungssystem mit Weißlicht sowie reflektierender und transmittierender Beleuchtung; minimale optische Auflösung von 72 Pixel/mm.
- Analysesoftware zur Erkennung und Clusterung von Kolonien/Plaques unter Nutzung von mindestens 500 unterschiedlichen morphologischen Indizes, einschließlich Fläche, Umfang, Radius, Rundheit, Konvexität und Grauwertintensität, zur Sicherstellung einer robusten Dereplikation.
- Softwarefunktionen zur direkten taxonomischen Identifizierung durch Datenbankabgleich, um spezifische Isolate bis auf Gattungs- oder Artebene zu klassifizieren.
- Fortschrittliche Software-Clusteralgorithmen sind universell mit unterschiedlichen Medientypen kompatibel und unterstützen kontinuierliche plattenübergreifende Nachverfolgung und Dereplikation, wodurch die Redundanz um mehr als 50 % reduziert wird.
- Die Software verfolgt dynamisch die Entwicklung einzelner Kolonien/Plaques, erzeugt automatisch Wachstumskinetikkurven und unterscheidet lebensfähige Kolonien mit einer minimal detektierbaren Größe von $0,3 mm$ zuverlässig von partikulären Verunreinigungen.
- Bediener können bestimmte Zielklone/Plaques für die nachgelagerte Verarbeitung manuell übersteuern, auswählen oder abwählen.
- Picking-Modul mit 2 unabhängig betreibbaren Picking-Pins aus Wolframstahl, geeignet zum Auflösen und Aufnehmen von Kolonien/Plaques mit einem Mindestabstand von $0,3 mm$.
- Hochdurchsatz-Picking-Kapazität: ≥ 500 Klone/Stunde. Nachgewiesene Picking-Effizienz von ≥ 98 % für Kolonien/Plaques mit einem Durchmesser von $\geq 1 mm$.
- Ausgestattet mit einer automatisierten Zentrifuge, die mit Roboterarm und Liquid-Handling-System integriert ist, um die Trennung von Mikroben und Phagen durchzuführen; Zentrifugalkraft $\geq 2000 \times g$; kompatibel mit 96-Well- und 384-Well-Mikrotiterplatten.
- Wasserummantelter Konstanttemperatur-Inkubator mit einem Betriebsbereich von 25 – 45 °C. Temperaturgleichmäßigkeit: $\leq \pm 0,1$ °C; Temperaturschwankung: $\leq \pm 0,3$ °C. Geregelter Feuchtigkeitsbereich: 30 %–80 %.
- Hochkapazitäts-Inkubatoren zur Aufnahme von mehr als 300 Standardplatten im SBS-Format.
- Integrierter Barcodeleser zur automatisierten Plattenverfolgung und Protokollierung. Die Software unterstützt sowohl automatisierte Plattenbenennung als auch anpassbare manuelle Eingaben.
- Integrierter automatisierter Liquid Handler (Pipettier-Workstation) mit einem Volumenbereich von 1 – $1000 \mu L$; mit unabhängiger Z-Achsen-Bewegung für verschiedene Pipettierkanäle; 384-Well-Plattendosierung in < 15 Sekunden bei $2 \mu L$ -Volumina.

Der Liquid Handler ist vollständig geeignet für Medienabgabe, Well-Reformatierung (Cherry-Picking), Kultivierung im größeren Maßstab und Einrichtung kombinatorischer Kultivierungen. Verwendet einen Infrarotstrahler zur schnellen thermischen Sterilisation von Ausplattierwerkzeugen und Picking-Pins und ermöglicht dadurch deren kontinuierliche Wiederverwendung innerhalb eines einzelnen Betriebsdurchlaufs.

Die Software führt einen vollständigen Audit-Trail und protokolliert automatisch jedes Probenhandhabungsereignis sowie jeden Kolonie-/Plaque-Phänotyp, wodurch vollständige Rückverfolgbarkeit und Wiederauffindbarkeit aller isolierten Ziele gewährleistet werden.

Ausgestattet mit einem Mikrotiterplatten-Reader zur OD-Erkennung von Kulturplatten, kompatibel mit 96-Well- und 384-Well-Formaten, wodurch eine kontinuierliche Überwachung des Wachstums von Mikroben/Phagen und die direkte Erstellung von Wachstumskurven ermöglicht wird.

Die Manufacturing-Execution-System-Software (MES) unterstützt Kommunikationsschnittstellen zur nahtlosen Integration und Konnektivität mit Geräten und Instrumenten von Drittanbietern.

3.2 Erweiterte Anforderungen

Fortschrittliche Software-Clustering-Algorithmen sind mit den unterschiedlichsten Medientypen universell kompatibel und unterstützen eine kontinuierliche plattenübergreifende Nachverfolgung und Redundanzbeseitigung, wodurch die Redundanz um über 80 % reduziert wird.

Das Entnahmemodul ist mit mindestens 4 unabhängig voneinander betreibbaren Entnahmestiften aus Wolframstahl ausgestattet und in der Lage, Kolonien/Plaques mit einem Mindestabstand von 0,3 mm zu erkennen und zu entnehmen.

Inkubatoren mit hoher Kapazität, die Platz für mindestens 600 Standardplatten im SBS-Format bieten.

4. Mindestanforderungen für den Dienst

Der Lieferant hat umfassende Garantie-, Wartungs- und technische Supportleistungen für das gesamte System zu erbringen, einschließlich der gesamten gelieferten Hardware, Software und der zentralen Hardwarekomponenten. Der Leistungsumfang muss mindestens die folgenden Anforderungen umfassen:

- Für alle Hardware- und Softwarefehler, Funktionsstörungen und Schäden ist ein zweijähriger Garantie- und Servicevertrag enthalten, der Reparaturen, Austausch, Fehlerbehebung und erforderliche Abhilfemaßnahmen ohne zusätzliche Kosten für den Käufer abdeckt, es sei denn, der Schaden wurde durch unsachgemäßen Gebrauch, unbefugte Änderungen oder höhere Gewalt verursacht.
- Ein weiterer dreijähriger Servicevertrag ist für alle zentralen Hardwarekomponenten des Systems enthalten und umfasst technischen Support, Inspektion, Wartung, Reparatur sowie Unterstützung beim Austausch, die zur Aufrechterhaltung des normalen Systembetriebs erforderlich sind.
- Der Lieferant gewährt eine zehnjährige Garantie für Softwarewartung und -service, einschließlich Software-Support, Fehlerbehebung, Aufrechterhaltung der Kompatibilität sowie notwendiger Updates, die zur Gewährleistung eines stabilen und zuverlässigen Systembetriebs erforderlich sind.
- Der Lieferant gewährleistet eine Reaktionszeit von 24 Stunden bei der Lösung technischer Probleme, einschließlich solcher, die sowohl die Hardware als auch die Software betreffen. Die Reaktion umfasst gegebenenfalls eine Ferndiagnose, technische Anleitung, Unterstützung bei der Fehlerbehebung sowie, falls erforderlich, die Weiterleitung an den Vor-Ort-Service.

Die folgende englische Übersetzung dient lediglich der Übersichtlichkeit; maßgebend ist der deutsche Originaltext. / *The following English translation is provided for convenience only and the German original prevails.*

High throughput culturomics platform for microorganisms and bacteriophages (phages)

1. Primary Applications

The high throughput culturomics platform is designed for the cultivation, screening and characterization of microorganisms and bacteriophages (phages). By utilizing continuous image acquisition throughout the entire culture lifecycle, the system ensures accurate clustering and de-replication, significantly reducing redundancies in downstream cultivation and validation. Furthermore, through full-process monitoring of microbe-phage interactions, it facilitates highly precise studies on the growth kinetics, infectivity, metabolic profiles, and symbiotic relationships of microorganisms and phages.

To tackle with the limitations of traditional culture process, such as the morphology of microorganisms varies with culture process, media and different environment; and the abundance of unculturable or hard-to-culture species are very limited; most of the species related with human health are anaerobic. The culturomics platform should have the following capabilities:

- Well-established for anaerobic cultivation for the whole culture and screening process which can be as low as 1ppm of oxygen.
- The capability of automation of full cultivation process including spreading, cultivation, imaging, cherry picking, passaging, and screening.
- obtain specific database including public and private own data to train AI algorithm for the capability to de-redundance of microorganism via morphology while ignoring the variations due time and different culture conditions with the help of continuous image acquisition.

2. Functional Modules

- **Gas Management System:** Features an integrated gas control unit that automatically executes gas evacuation and purging to rapidly establish targeted anaerobic or aerobic conditions. The system is compatible with various gas mixtures (including N₂, H₂, CO₂, and O₂) to accommodate diverse microbial cultivation requirements.
- **Automated Incubation System:** Equipped with a precision-controlled, constant-temperature incubator. The system autonomously regulates the internal environment based on user-defined parameters, featuring real-time monitoring and dynamic adjustments to ensure optimal microbial growth conditions.

- **Environmental Control System:** Maintains stringent operational and incubation environments through integrated temperature, humidity, and HEPA filtration controls. This ensures high cultivation efficiency, data reproducibility, and rigorous contamination prevention.
- **Colony/Plaque Recognition System:** Utilizes proprietary algorithms and an extensive database to rapidly identify, differentiate, and cluster colonies or phage plaques based on phenotypic metrics such as size, pigmentation, convexity, proximity, and circularity.

Data Logging & Traceability System: Automatically captures critical run-time parameters (e.g., gas concentrations, temperature, humidity, and OD) in real-time. Full data traceability is supported to ensure comprehensive result analysis and experimental documentation.

- **Automation Modules:** Incorporates a comprehensive suite of high-throughput automation components, including plate stackers, conveyor belts, 6-axis robotic arms, automated centrifuge, liquid handler, automated plating module and colony/plaque picking, streamlining the entire workflow for microbe/phage isolation and subculturing.

3. Technical Parameters

3.1 minimum requirements

- Built-in oxygen-depleting catalyst ensuring an anaerobic environment with O₂ levels ≤ 1 ppm. Maintains anaerobic conditions for > 12 hours without supplementary gas mixture injection.
- Anaerobic environment generation via a vacuum-and-purge mechanism utilizing precise micro-flow control (Compatible gas mixtures: 99.99% N₂, or a blend of 5% H₂ / 10% CO₂ / 85% N₂).
- Equipped with integrated audible alarms for low pressure, low temperature, and high-temperature deviations.
- Features ultra-high efficiency mini-pleat HEPA filtration, achieving 99.99% efficiency for 0.3 µm particles to maintain an ISO Class 5 (Class 100) cleanroom environment within the operational zone.
- Integrates a flexible automated plating module capable of hands-free sample dispensing, plating, and in-line spreader washing/flame sterilization. Fully compatible with 0.4 - 0.7% agar plates.

- Advanced imaging system utilizing white light, reflective, and transmissive illumination modalities, delivering a minimum optical resolution of 72 pixels/mm.
- Analytical software configured to recognize and cluster colonies/plaques utilizing at least 500 distinct morphological indices (including area, perimeter, radius, circularity, convexity, and grayscale intensity), ensuring robust de-replication.
- Software features direct taxonomic identification capabilities, leveraging database cross-referencing to classify specific isolates down to the genus or species level.
- Advanced software clustering algorithms are universally compatible across diverse media types and support continuous cross-plate tracking/de-redundancy which reduces at least 50% less redundancy.
- Software dynamically tracks the developmental trajectory of individual colonies/plaques, automatically generating growth kinetics curves while accurately differentiating viable colonies (minimum detectable size: 0.3 mm) from particulate debris.
- Allows operators to manually override, select, or deselect specific target clones/plaques for downstream processing.
- Picking module engineered with at least 2 independently operable tungsten steel picking pins, capable of resolving and picking colonies/plaques with a minimum clearance of 0.3 mm.
- High-throughput picking capacity: ≥ 500 clones/hour. Demonstrated picking efficiency of $\geq 98\%$ for colonies/plaques ≥ 1 mm in diameter.
- Equipped with an automated centrifuge that integrates with the robotic arm and liquid handler to perform microbe-phage separation, delivering a centrifugal force of $\geq 2000 \times g$ and compatible with 96-well and 384-well microplates.
- Water-jacketed constant temperature incubator with an operational range of 25–45°C. Temperature uniformity: $\leq \pm 0.1^\circ\text{C}$; Temperature fluctuation: $\leq \pm 0.3^\circ\text{C}$. Controlled humidity range: 30%–80%.
- High-capacity incubators accommodating at least 300 standard SBS-format plates.
- Integrated barcode reader for automated plate tracking and logging. Software supports both automated plate nomenclature and customizable manual entry.
- Integrated automated liquid handler (pipetting workstation) with a volume range of 1–1000 μL ; features independent Z-axis movement for different pipetting channels and achieves 384-well plate dispensing in < 15 seconds (for 2 μL volumes).
- The liquid handler is fully capable of media dispensing, well reformatting (cherry-picking), scale-up cultivation, and combinatorial cultivation setup.

- Employs an infrared radiator for rapid thermal sterilization of spreaders and picking pins, facilitating continuous reuse within a single operational run.
- Software maintains an exhaustive audit trail, automatically logging every sample handling event and colone/plaque phenotype, ensuring complete traceability and retrievability for all isolated targets.
- Equipped with a microplate reader for OD detection of culture plates (compatible with 96-well and 384-well formats), enabling continuous monitoring of microbe/phage growth and direct generation of growth curves.
- The Manufacturing Execution System (MES) software supports communication interfaces for seamless integration and connectivity with third-party devices and instruments.

3.2 Advanced requirements

- **Advanced software clustering algorithms are universally compatible across diverse media types and support continuous cross-plate tracking/de-redundancy which reduces over 80% less redundancy.**
- **Picking module engineered with at least 4 independently operable tungsten steel picking pins, capable of resolving and picking colonies/plaques with a minimum clearance of 0.3 mm.**
- **High-capacity incubators accommodating at least 600 standard SBS-format plates.**

4. Minimum Service Requirements

The supplier shall provide comprehensive warranty, maintenance, and technical support services for the complete system, including all supplied hardware, software, and core hardware components. The service scope shall include, at minimum, the following requirements:

- A two-year warranty and service contract shall be included for all hardware and software defects, malfunctions, and damage, covering repair, replacement, troubleshooting, and necessary corrective measures at no additional cost to the purchaser, unless the damage is caused by improper use, unauthorized modification, or force majeure.
- A further three-year service contract shall be included for all core hardware components of the system, covering technical support, inspection, maintenance, repair, and replacement support required to maintain normal system operation.
- The supplier shall provide a ten-year guarantee for software maintenance and service, including software support, bug fixing, compatibility maintenance, and necessary updates required to maintain stable and reliable system operation.

- The supplier shall provide a 24-hour response time for technical problem solving, including issues related to both hardware and software. The response shall include remote diagnosis where appropriate, technical guidance, troubleshooting support, and escalation to on-site service if required.