

Příloha č. 2 – Technické podmínky

1. Integrovaná robotická HTS stanice pro testování biologických aktivit sloučenin se musí skládat z následujících komponent s příslušnými minimálními parametry:

1.1. HCS konfokální mikroskop

Mikroskop pro high content screening (HCS) musí být plně integrovaný do HTS stanice a musí být uzpůsoben pro práci s mikrotitračními destičkami minimálně ve formátu 96/384. Musí nabízet široký dynamický rozsah a zahrnovat 14-bitovou chlazenou CCD kameru, xenonový zdroj světla a LED pro světlé pole (brightfield). Mikroskop musí být přepínatelný mezi modeem fluorescence s širokým polem ostrosti a konfokálním modeem (rotující disk s 50 μ m otvory). Musí být schopen zobrazit celou 384 jamku a více než 85% plochy jedné jamky 96 jamkové destičky pomocí 2x objektivu a umožňovat rychle načtení celé destičky (preview mode/prescan). Dále musí být vybaven 20x objektivem (numerická apertura 0.45) s dlouhou pracovní vzdáleností (7 mm), excitačními filtry (360-400nm, 460-490nm, 520-550nm, 620-640nm) a emisními filtry (410-480nm, 500-550nm, 560-630nm, 650-760nm). K dispozici musí být i objektivy se zvětšením 10x, 40x, 60x a 100x. Zaostřování objektů musí být prováděno automaticky pomocí laseru. Objektivy a filtry musí být automaticky měnitelné a musí být opatřeny čárovým kódem pro bezchybný provoz. Mikroskop musí být do budoucna rozšiřitelný o jednotku kontroly teploty a atmosféry (např. CO₂).

Software musí nabízet „automatické doladování“ a navrhopvat tak nejlépe vyhovující nastavení parametrů analýzy obrazu. Software musí pracovat na multiprocessorové hardwarové platformě, aby byl schopen rychle zpracovávat paralelní procesy. Software musí nabízet stavební bloky obsahující výkonné algoritmy tak, aby bylo možné okamžitě spustit aplikaci nebo vyvinout aplikaci zcela novou. Musí mít schopnost strojového učení pro zjednodušení přípravy datové analýzy obrazu.

1.2. Čtečka (multilabel reader)

Čtečka umožňující měření absorbance, luminiscence a fluorescence. Zařízení s možností číst intenzitu fluorescence, fluorescenční polarizaci, TRF-časově rozlišenou fluorescenci, luminiscenci, AlphaScreen (laserový excitační zdroj) a absorbanci. Musí se jednat o zařízení s vysokou pracovní kapacitou, dvoudetektorovým systémem pro čtení paralelní duální emise (FP-fluorescenční polarizace, FRET-fluorescenční rezonanční přenos energie), PMT detektorem určeným pro vysoce citlivé čtení luminiscence a s filtry a zrcadly opatřenými čárovými kódy pro automatické načtení konfigurace systému. Čtečka musí být vybavena regulací teploty (+2° nad okolím, až 45°C) a mít možnost budoucího doplnění systému o monochromátor a injektory.

1.3. 6-osé robotické rameno

Programovatelné industriální robotické rameno s prodlouženým dosahem (délka ramena min. 75 cm), s terminálem pro učení poloh (teach pendant) a držákem mikrodestiček.

1.4. Pipetovací robotická stanice

Pipetovací stanice musí mít maximální šířku 80 cm a na obsluhované ploše minimálně 9 pozic pro mikrodestičky. Navíc musí být každý bod obsluhované plochy samostatně kalibrovatelný, aby bylo garantováno přesné cílení manipulace. Stanice musí být vybavena pipetovacím ramenem, s hlavou pro formát 384, které ale musí být kompatibilní s 96-, i 1536-formátem mikrodestiček. Pipetovací hlavy musí být automatizovaně vyměnitelné bez nutnosti manuálního zásahu uživatele a to i v rámci běhu jednoho protokolu.

Zařízení musí být vybaveno nástavcem pro přenos velmi malých objemů kapalin, tzv. Pin Tool ve formátu 384 s hydrofobními vlastnostmi a s objemem 20 nanolitřů přenášeného vzorku. Součástí tohoto Pin Tool zařízení musí být i promývací jednotka pro formát 384. Pipetovací hlava musí být integrovaná s unašečem schopným pohybovat s mikrodestičkami nebo víčky i v případě, že nese špičky. 384 kanálová pipetovací hlava nesoucí 10 μ l špičky musí vykazovat přesnost minimálně 5% CV. Pipetovací hlava musí mít také možnost nést jedinou řadu nebo sloupec špiček a provést sériovou ředící řadu na mikrodestičce.

Ovládací software bude postaven na základě grafického uživatelského rozhraní s rozvíjecími menu ovladatelnými myší. Defínice použitého spotřebního materiálu v protokolu bude řešena „drag and drop“ výběrem a virtuálním umístěním na obsluhovanou plochu. Navíc musí obsahovat předdefinované vzorové, obecně využívané protokoly jako jsou replikace mikrodestiček, expanze mikrodestiček, komprese mikrodestiček, přidání reagentů, sériová ředící řada a také uživatelsky definovatelné procedury. Software musí být schopen standardně pracovat minimálně se třemi kvalitativními třídami kapalin, jako jsou voda, sérum a DMSO.

1.5. Bezkontaktní akustický dispensor sloučenin

Akustický ejekční systém pro přenos malých objemů kapalin „cherry picking“, který využívá stejný formát souborů a procedur jako u pipetovací robotické stanice a být schopen pracovat s formáty 96/384/1536. Rozpětí přenášených objemů se musí pohybovat minimálně mezi 2,5 a 250 nanolitry, s přesností <10% CV. Rychlost systému musí být vyšší než 7 tis. jamek/hod. při přenosu 2,5 nl v 384 formátu. Systém musí navíc být schopen pracovat se vzorky rozpuštěnými v DMSO.

1.6. Rozplňovací zařízení

Robustní peristaltické rozplňovací zařízení pro formáty destiček minimálně 96/384/1536 s výměnnými kazetami pro objemy 0,5-2500 μ l a rychlostí rozplnění 10 μ l v 384 formátu minimálně za 6 s (CV<3%).

1.7. Automatický CO₂ inkubátor

CO₂ inkubátor s integrovaným karuselem, kontrolou teploty (33-50°C), rychlým doplněním CO₂ a kapacitou minimálně 110 mikrodestiček.

1.8. Automatický CO₂ inkubátor s chlazením

CO₂ inkubátor s integrovaným karuselem, kontrolou teploty (4-50°C), rychlým doplněním CO₂ a kapacitou minimálně 110 mikrodestiček.

1.9. Vysokokapacitní zásobník mikrodestiček

Univerzální vysokokapacitní zásobník mikrodestiček s minimální kapacitou 250 standardních mikrodestiček a použitelný i pro zásobníky špiček jako kompaktní součást systému.

1.10. Nízkokapacitní zásobník mikrodestiček

Zásobník destiček s náhodným přístupem (stacker) pro min. 10 destiček, s umístěním na pracovní ploše integrované stanice,

1.11. Zásobník víček mikrodestiček (dellider)

Vakuový operátor pro zacházení s víčky musí mít minimálně 4 pozice pro víčka. Součástí zařízení je i vakuová pumpa.

1.12. Promývačka mikrodestiček

96-kanálová promývačka mikrodestiček formátu 96/384 s možností ultrazvukového promývání se speciálním modem pro citlivé promývání buněk. Promývací kapalina bude připojena k promývačce prostřednictvím automatizovaného ventilu pro min. 4 různé kapaliny.

1.13. Centrifuga mikrodestiček

Centrifuga musí mít minimální kapacitu 2 mikrodestiček a minimální rychlost 3000 rpm s akcelerací do 8 s pro tuto rychlost.

1.14. Zatavovačka mikrodestiček

Automatizované zařízení pro termální nanášení krycích hliníkových fólií na mikrodestičky (plate sealer) s minimální rychlostí 10 s/destičku a rozsahem teplot 30-200°C. Součástí dodávky musí být role DMSO-rezistentní hliníkové fólie.

1.15. Třepačka mikrodestiček

Třepačka pro 96- a 384- formát mikrodestiček s rychlostí třepání 100 až 2000 rpm pro umístění na pracovní ploše integrované jednotky.

1.16. Čtečka čárových kodů

Integrovaná čtečka čárových kodů mikrodestiček v horizontálním uspořádání. Minimálně musí být schopna číst standard Code39 a Code128.

1.17. Skříň s filtrací vzduchu (HEPA)

Integrovaná stanice musí být kompaktní s rozměry skříně max. 2,4m x 1,4m (HEPA filtrace vzduchu), s tím že integrovaný HCS mikroskop, inkubátory a akustický dispenzor mohou být umístěny mimo tuto skříň. Celkový půdorys integrované HTS stanice ale nesmí přesáhnout rozměry 2,4m x 3,6m.

1.18. Integrovaná digestoř (fume hood)

Digestoř pro odstraňování formaldehydových aerosolů s umístěním nad promývačkou mikrodestiček.

1.19. Řídící jednotka a integrace hardware

Pracovní stanice (PC) jako řídicí jednotka musí komunikovat se všemi součástmi pracovní stanice a tvořit jedinou síť, PC ovládající zařízení 1.1, 1.2, 1.4 a 1.5 musí být přístupné přes vzdálený přístup. Součástí integrované jednotky jsou také dva 24“ LCD monitory. Specifikace PC: 3GHz procesor, 4GB RAM, 500 GB SATA HD, operační systém, který bude kompatibilní se systémem používaným zadavatelem.

1.20. Software a integrace

Součástí dodávky řídicího softwaru musí být ovladače (drivery) pro všechny zařízení integrované stanice (tj. položky 1.1.-1.16, viz výše), událostmi řízený plánovač pro kontrolu procesu a optimalizaci procesního času. Software musí umožnit offline simulaci procesu a běh paralelních procesů. Software musí umožnit vyřadit konkrétní část z procesu pro případné její manuální využití během pokračujícího automatizovaného běhu. Systém musí disponovat databází všeho potřebného laboratorního spotřebního materiálu, jako jsou mikrodestičky a víčka tak, aby poskytovala jejich přesné rozměry a geometrická data. Typ mikrodestiček použitých během procesu se definuje v softwaru na jediném místě. Software musí umožňovat zpožděný start procesu po inicializaci a běh různých procesů v dávkách. Způsob ošetření chyb systému musí umožnit obnovit proces a nabídnout individuální výběr k pokračování nebo ukončení procesů.

Požadavky na automatizaci a integraci:

Uspořádání stanice musí být cirkulární s centrálním robotickým ramenem schopným obsloužit všechny zařízení integrované stanice. Musí být zajištěn snadný přístup ke všem součástem pro obsluhu i servis systému. Stanice musí být dále vybavena

centrálním napájením, centrálním hlavním vypínačem a centrálním bezpečnostním tlačítkem „STOP“. Systém musí být schopen pracovat s běžnými 96-, 384- i 1536-jamkovými mikrodestičkami, optimalizován by měl být však především pro formát 384-mikrodestiček. Stanice musí být schopna přenášet robotickým ramenem použité mikrodestičky a zásobníky špiček do odpadu.

2. Destičkový analyzátor beta částic se musí skládat z následujících komponent s příslušnými minimálními parametry:

2.1. Destičkový analyzátor beta částic

Analyzátor musí být schopen měřit radioaktivitu i luminiscenci ve formátu 96- i 384-jamkových destiček. Analyzátor musí měřit pomocí 12 detektorů paralelně a musí být schopen zpracovat mikrodestičky i filtry v kazetách. Kapacita integrovaného zásobníku bude minimálně 16 mikrodestiček. Součástí zařízení je i pracovní stanice (PC) s 21“ LCD monitorem a software pro ovládání přístroje, sběr a analýzu dat. Specifikace PC: 2.5GHz procesor, 2GB RAM, 250 GB SATA HD, operační systém, který bude kompatibilní se systémem používaným zadavatelem.

2.2. Harvester buněk s vakuovou pumpou

Harvester musí být schopen sklídit adherentní buňky z 96-jamkové destičky a přenést je na filtr ve formátu 96.

3. Mikrodestičkový fluorometr pro analýzu sekundárních přenašečů

Zařízení musí být schopno měřit koncentraci sekundárních přenašečů v buňce (např. vápníku nebo cAMP) pomocí testů využívajících k detekci Fluo3/4, beta-arestin a aequorin. Zařízení musí mít vestavěný pipetor (formát 384 jamek), umožňující kontinuální měření fluorescence nebo luminiscence vysoce citlivou CCD kamerou ihned po přidání vzorků ve všech 384 jamkách zároveň a obsahuje také promývací stanici pro špičky ve formátu 384. Součástí zařízení je i pracovní stanice (PC) s 21“ LCD monitorem a software pro ovládání přístroje, sběr a analýzu dat. Specifikace PC: 1.6 GHz procesor, 1GB RAM, 60 GB HD, operační systém, který bude kompatibilní se systémem používaným zadavatelem.

Zprovoznění a předání Integrované robotické HTS stanice

Přejímací test (site acceptance test) bude proveden dodavatelem na místě instalace a musí se skládat z následujících částí:

Test integrace a funkčnosti všech zařízení na základě dvou protokolů provedených vždy s minimálně 10 mikrodestičkami ve formátu 384 (10x testovací mikrodestička s víčkem a 10x mikrodestička se sloučeninami bez folie – všechny budou dodány zadavatelem) v následujícím pořadí úkonů na jednotlivých zařízeních [v závorce je příslušné zařízení - viz seznam výše].

- A)
1. inkubace mikrodestičky 10 min. (20°C) [1.8.]
 2. čtení čárového kodu [1.16.]
 3. odstranění víčka mikrodestičky [1.11.]
 4. rozplnění 30 µl pufu [1.16.]
 5. navrácení víčka mikrodestičky [1.11.]
 6. inkubace 7 min. při RT [1.10.]
 7. odstranění víčka mikrodestičky [1.11.]
 8. přenos sloučenin ze zdrojové destičky (po přečtení čárového kodu [1.16.]) uskladněné ve velkokapacitním zásobníku [1.9.] na pipetovací stanici pomocí pintoole nástroje do testovací destičky [1.4.]
 9. promytí mikrodestičky [1.12.]
 10. navrácení víčka mikrodestičky [1.11.]
 11. inkubace mikrodestičky 15 min. (37°C) [1.7.]
 12. víčko mikrodestičky do odpadu
 13. zatavení mikrodestičky folií [1.14.]
 14. čtení mikrodestičky na HCS mikroskopu v preview mode [1.1.]
 15. inkubace mikrodestičky (20°C) [1.8.]
- B)
1. inkubace mikrodestičky 10 min. (20°C) [1.8.]
 2. čtení čárového kodu [1.16.]
 3. odstranění víčka mikrodestičky [1.11.]
 4. rozplnění 30 µl pufu [1.16.]
 5. navrácení víčka mikrodestičky [1.11.]
 6. inkubace 5 min. při RT [1.10.]
 7. odstranění víčka mikrodestičky [1.11.]
 8. přenos sloučenin ze zdrojové destičky (po přečtení čárového kodu [1.16.]) uskladněné ve velkokapacitním zásobníku [1.9.] bezkontaktním přenosem do testovací destičky [1.5.]
 9. navrácení víčka mikrodestičky [1.11.]
 10. třepání mikrodestičky 0,5 min. [1.15.]
 11. inkubace mikrodestičky 15 min. (37°C) [1.7.]



12. čtení mikrodestičky - fluorescence [1.2.]

13. inkubace mikrodestičky (20°C) [1.8.]

Kritéria pro převzetí zařízení:

Bezproblémová inicializace všech komponent a zařízení a kompletní běh protokolů bez zásahu obsluhy zařízení. Žádná mikrodestička nesmí během testu spadnout nebo se během procesu zaseknout. Nesmí take dojít k automaticky neodstranitelným závadám.