

Schlussbericht zum Vorhaben

„Biotechnologische Prozessoptimierung durch nahtlose Geräteintegration und Automatisierung“

im Rahmen des Eurostars Projekts

E! 113536 BioProBot

„Entwicklung einer Plattform für die automatische robotisierte Optimierung von Bioprozessen“

Peter Neubauer, Mariano Nicolas Cruz Bournazou, Niels Krausch

TU Berlin, FG Bioverfahrenstechnik
ACK24, Ackerstr. 76, 13355 Berlin

Das diesem Bericht zugrunde liegende Vorhaben wurde mit Mitteln des Bundesministeriums für Bildung und Forschung gefördert. Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt bei der Autorin / beim Autor.

Förderkennzeichen: 01QE1957C

Projektlaufzeit: 01.03.2020 – 28.02.2023

Inhaltsverzeichnis

1.	Kurzdarstellung.....	1
1.1.	Aufgabenstellung.....	1
1.2.	Projekt Voraussetzungen	1
1.3.	Projektumsetzung	2
1.4.	Wissenschaftlicher und technischer Stand	3
1.5.	Zusammenarbeit mit anderen Stellen.....	4
2.	Eingehende Darstellung	5
2.1.	Projektergebnisse.....	5
2.2.	Hauptausgaben	12
2.3.	Notwendigkeit der Zuwendung.....	12
2.4.	Verwertung der Projektergebnisse	12
2.5.	Wissenschaftlicher Fortschritt an anderen Stellen	13
2.6.	Veröffentlichungen.....	13
3.	Literaturverzeichnis	14

1. Kurzdarstellung

1.1. Aufgabenstellung

Die Aufgabe dieses Projekts war die Entwicklung einer Software namens IDEAL (Intelligent Design for Automated Laboratories), die eine vollständige Integration und Automatisierung von Roboterplattformen mit hohem Durchsatz in der biotechnologischen Produktion ermöglicht. Die Software soll die Steuerung einer Vielzahl von Bioreaktoren und die entsprechende Datenanalyse optimieren. Weiterhin sollten verschiedene Algorithmen entwickelt werden, um die Prozessentwicklung weiter zu automatisieren und einen Prozess, der zunächst als Fallstudie innerhalb des Projektes definiert werden sollte, zu optimieren. Die Software sollte auf der Roboterplattform der Technischen Universität Berlin und später auf kommerziellen Roboterplattformen möglicher interessierter Industriepartner getestet werden. Die wichtigsten Features, die im Rahmen dieses Projekts entwickelt werden sollten, umfassen die Kompatibilität verschiedenen Analyseplattformen, die schnelle und benutzerfreundliche Kommunikation zwischen diversen Geräten und Nutzern, den Umgang mit verschiedenen Datenquellen und -standards sowie ein Modellierungsframework, welches für verschiedene biologische Organismen, den Prozessverlauf simuliert und optimiert.

Am Beispiel einer Fallstudie sollte exemplarisch der Mehrwert dieses Frameworks gezeigt werden und der Weg für weitere Anwendungen gelegt werden. Der Partner TU Berlin, FG Bioverfahrenstechnik (BVT) war im Rahmen des Projekts für die Bereitstellung der Roboteranlage sowie die Einbindung der Frameworks und das ausführen der Fallstudie verantwortlich. Die weiteren Partner waren DataHow AG (Schweiz), die die Analysesoftware DataHowLab für die Prozessanalytik und modellbasierte Prozessoptimierung bereitstellen sollen als auch labforward GmbH (Deutschland), welche für die Anbindung sämtlicher Geräte im Labor eine Plattform-agnostische Software „laboperator“ zu deren Steuerung sowie eine elektronisches Laborbuch „labfolder“ bereitstellen, die in diesem Projekt für die weitere Digitalisierung und Automatisierung verwendet werden sollen. Schlussendlich sollte noch Marketingmaterial erstellt werden, welches potenziell interessierten Unternehmen zur Verfügung gestellt werden soll, um die Software kommerziell zu vermarkten.

1.2. Projekt Voraussetzungen

Die Erfahrungen und Methoden aus vorhergehenden Forschungsprojekten, insbesondere dem LEAN-PROT und Bio-RAPID Projekten konnten direkt in das Projekt eingebracht werden. In den vorherigen Projekten wurde bereits die Voraussetzung für das „Lab of the future“ gelegt, welches in diesem und weiteren Projekten weiter ausgebaut wurde. Insbesondere im Bereich der Prozessmodellierung haben frühere Arbeiten gezeigt, wie wichtig es ist, Prozesse in der biotechnologischen Produktion zu verstehen und mathematisch zu modellieren. Diese Modelle können dann verwendet werden, um die Effizienz der Produktion zu verbessern und die Produktqualität zu erhöhen, wie auch in diesem Projekt. Kernstück war jedoch die Bereitstellung einer automatisierten Roboteranlage, die in diesem Projekt weiterentwickelt wurde und als zentrale Plattform für die untersuchten Fallstudien diente. Hierfür mussten aber weitere Analysegeräte wie der Roche Cedex HT in die automatisierte Roboteranlage integriert werden. Bisher war die Bedienung des Gerätes, welches im Hochdurchsatz die Analyse der Glukosekonzentration und wichtiger weiterer Metabolite ermöglicht sehr aufwändig und die Ergebnisse nicht digital verfügbar, sodass diese nicht online für die Prozessoptimierung verwendet werden konnten.

1.3. Projektumsetzung

Das Projekt startete seitens des Projektpartners BVT mit der Einstellung des Wissenschaftlichen Mitarbeiters, Herrn Niels Krausch zum 01.04.2020. Der Start des Projektes fiel in den Höhepunkt der 1. Welle der Coronapandemie, weswegen das erste initiale Kick-off Treffen mit allen Projektbeteiligten zunächst online stattfand. Seitdem fanden in 14-tägigem Abstand Projekttreffen mit allen Partnern statt, um die Fortschritte zu begleiten und weitere Ziele zu bestimmen.

Zentral war die BVT in die Bereitstellung und Erweiterung der Roboteranlage eingebunden und hat iterativ die jeweilig eingesetzten Softwarelösungen der Projektpartner DataHow und labforward eingesetzt und evaluiert. Zunächst wurde die im WP1 vorgesehene Definition des Konsortiums sowie die Projektstrategie mit allen Partnern abgestimmt und ein Konsortialvertrag geschlossen, der die Grundlage für die weitergehende Zusammenarbeit und die Verwendung der jeweils entwickelten Soft- und Hardwarelösungen mit allen Projektpartnern regelt.

Weiterhin wurde im Rahmen von WP2 seitens der BVT eine biologische Fallstudie erarbeitet und charakterisiert, die als Grundlage für die weiteren Arbeiten in dem Projekt dienen sollen. Hierbei handelt es sich um die Identifikation optimaler Produktionsbedingungen für Elastin-like Proteins (ELP). Dies sind vielversprechende Biomaterialien mit einzigartigen Eigenschaften, die eine zentrale Rolle für eine nachhaltige Bioökonomie darstellen. Es gibt verschiedene interessante ELPs und mögliche Stämme, sodass diese Fallstudie sich optimal eignet, um die Möglichkeiten der neuen Plattform darzustellen.

Die ELP-Produktion wurde hierbei in einem Experiment untersucht, bei der das ELP an ein Fluoreszenzprotein (GFP) gekoppelt wurde, um die Produktion nicht-invasiv mittels Fluoreszenzmessung zu ermitteln. Es wurden verschiedene experimentelle Setups sowie mögliche Produktionsstämme des Bakteriums *Escherichia Coli* (*E. coli*) untersucht. Hierbei sollte das Framework automatisch die Fütterungsrate so anpassen, dass sauerstofflimitierende Bedingungen vermieden werden, aber gleichzeitig eine Hohe Biomasse erzielt wird.

Die Grundlagen für die Einbindung der Software "laboperator" und "DataHowLab" der Projektpartner labforward und DataHow wurden in den Jahren 2020 und 2021 gelegt. Im Jahr 2021 wurde aufgrund eines Hackerangriffs der IT-Service der TU Berlin beeinträchtigt, was den Rollout der Software beeinträchtigte. Trotzdem wurde die automatisierte Roboter-Infrastruktur weiter ausgebaut und die Fallstudie optimiert. Im Jahr 2022 wurde eine Datenverbindung zwischen der TU Berlin und der Software "labfolder" des Partners labforward integriert und getestet. Auch Marketingmaterial für die spätere Zusammenarbeit und Einwerbung von interessierten Kunden wurde auf Basis der bis dahin erstellten Entwicklungen erarbeitet und kontinuierlich an die neuesten Entwicklungen angepasst. Da sich die Integration der Geräte und Software als deutlich herausfordernder darstellte als zunächst gedacht, konnte das WP4 mit der iterativen Produktentwicklung an Kundenbedürfnissen nur mit Verzögerung umgesetzt werden. Stattdessen wurde sich aber während der vorhandenen Zeit mit besonderem Fokus auf der Entwicklung der vorhandenen Plattform konzentriert und mit der Modellprädiktiven Regelung gezeigt, wie auch mit wenig Informationen über das Wachstum und die physiologischen Eigenschaften der Bakterien solch ein Prozess optimiert werden kann und optimale Fütterungsraten vorhergesagt werden können, während gleichzeitig wichtige Nebenbedingungen wie die Einhaltung aerober Bedingungen, eingehalten werden.

1.4. Wissenschaftlicher und technischer Stand

Für vielfältige Abläufe im Bereich biotechnologischer Forschung existieren bereits gute Prozessbedingungen. Dennoch gibt es einen großen Bedarf an der großtechnischen Produktion neuartiger Substanzen, insbesondere im Pharmabereich, aber auch um erdölbasierte Prozesse zu ersetzen. In diesem Sinne stellt die Biotechnologie einen wesentlichen Beitrag zu einer nachhaltigen Kreislaufwirtschaft dar (Schilling & Weiss, 2021). Insbesondere die frühe Prozessentwicklung stellt für die industrielle Produktion mittels biotechnologischen Organismen einen Flaschenhals dar, da die Zeit von der Entwicklung bis zum finalen Produkt üblicherweise einige Jahre in Anspruch nimmt (Neubauer et al., 2013). Automatisierte und digitalisierte Prozesse könnten solche Entwicklungsprozesse beschleunigen, indem zum einen mehr Experimente parallel gefahren werden als auch moderne Datenanalyse Tools die Möglichkeit eröffnen, einen höheren Informationsgehalt aus den Experimenten zu erzielen als auch weitere Prozesse in interessanten Prozessbereichen vorzuschlagen (Wechselberger et al., 2013). Insbesondere die Integration von Robotern in automatische Pipettierstationen (LHS) und analytische Hochdurchsatzsysteme wie z.B. der Roche Cedex haben dazu beigetragen, workflows zu optimieren und die Effizienz zu verbessern. Für die Hochdurchsatzkultivierung bieten sich insbesondere Mini-Bioreaktoren an. Diese werden in der Regel für die parallele Kultivierung verwendet, um verschiedene Prozessbedingungen bzw. verschiedene Stämme und deren optimale Prozessbedingungen zu ermitteln (D'ambrosio et al., 2021). Grundlegend ist der Grad der Digitalisierung in biotechnologischen Laboren noch weit hinter dem in anderen industriellen Bereichen. Dies liegt unter anderem an der Variabilität biologischer Prozesse und dem Fehlen von einheitlichen Schnittstellen in der Laborkommunikation (Gauglitz, 2018). Die Anbindung labotechnischer Geräte ist insofern ein essenzieller Schritt auf dem Weg zu einem vollautomatisierten Labor.

Ein weiterer wichtiger Baustein in der biotechnologischen Prozessoptimierung ist die Verwendung von Modellen (Smiatek et al., 2020). Mathematische Modelle lassen sich dadurch einteilen, inwieweit sie die wirklichen biochemischen bzw. physikalischen Veränderungen durch mathematische Gleichungen widerspiegeln (mechanistische Modelle) bzw. abstrakt empirische Beziehungen in den Daten erklären (datengetriebenen Modelle) (Narayanan et al., 2020). Solche Modelle können sowohl im Bereich Versuchsplanung als auch für die modellprädiktive Regelung (MPC) verwendet werden. Für den verwendeten Modellorganismus *E. coli* gibt es bereits ein Modell, welches mehrfach zur Charakterisierung verschiedener Stämme verwendet wurde (Anane et al., 2019). Insofern war es für dieses Projekt von Interesse zu untersuchen, inwiefern das genannte Modell auch für die online Steuerung im Rahmen von MPC verwendet werden kann. Eine weitere große Herausforderung bei der datengesteuerten Versuchsplanung und -optimierung ist der Bedarf an großen Mengen hochwertiger Daten. Um diese Herausforderung zu meistern, setzen Bioprozessingenieure fortschrittliche Sensoren und Analysewerkzeuge ein, die große Mengen solchen Daten in Echtzeit messen und sammeln. Darüber hinaus werden neue Softwaretools entwickelt, die die Integration und Analyse von Daten aus verschiedenen Quellen, wie Laborgeräten, Datenbanken und externen Datenquellen, ermöglichen und diese im Rahmen von Laboratory Execution Systems für die Gerätesteuerung nutzbar zu machen (Neubert et al., 2017). All diese Software Implementation sind ein wichtiger Baustein auf dem Weg zum automatisierten und digitalisierten Labor, welches selbstständig Experimente durchführt und optimiert (Bai et al., 2022; King et al., 2009). Auch moderne Datenanalyse ist ein wichtiger Baustein in der optimalen Prozessteuerung. Insbesondere die biopharmazeutische Industrie sieht sich bei der Umstellung auf Industrie 4.0 mit Herausforderungen konfrontiert. Digitalisierung, Datenanalyse und Prozessmodelle gelten jedoch als wichtige Voraussetzungen, um diese Herausforderungen zu bewältigen und die Ziele der Branche zu erreichen und gleichzeitig die regulatorischen Anforderungen zu erfüllen (Narayanan et al., 2020). So kann mittels verschiedener Tools zur Prozessdatenanalyse das Wissen über den Prozess und

optimale Prozessbedingungen massiv verbessert werden. Hierfür werden oft statistische Verfahren zur Dimensionsreduktion herangezogen, die Aussage darüber treffen können, welche Faktoren in einem Prozess einen besonders großen Einfluss haben, so z.B. die Hauptkomponentenanalyse (PCA) (Sokolov et al., 2017). Die Kombinationen und Integration dieser verschiedenen Geräte und Analysesysteme in ein ganzheitliches Framework stellt immer noch eine Herausforderung dar, da moderne biotechnologische Labore immer noch über einen vergleichsweise geringen Automatisierungsgrad verfügen. In diesem Sinne würde eine automatisierte, modellgetriebene Kultivierungsanlage einen wesentlichen Beitrag für die effizientere Prozessentwicklung und Stammscreening leisten und diese Entwicklungen maßgeblich beschleunigen (Zhang et al., 2019).

1.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Im Rahmen des Projektes wurde intensiv mit den beiden beteiligten Projektpartnern DataHow und labforward zusammengearbeitet. Das Projekt wurde hierbei durch Dr. Nicolas Cruz Bournazou seitens DataHow koordiniert. Er verfügt über eine hervorragende langjährige Expertise auf dem Gebiet der Modellierung und Optimierung von Bioprozessen und arbeitet bereits seit einigen Jahren eng mit der BVT zusammen. Auch Prof. Neubauer von der BVT verfügt über ein umfangreiches Wissen über die Physiologie und industriell relevante Prozessbedingungen von *E. coli* und konnte dadurch das Projekt in dieser Hinsicht wissenschaftlich hervorragend unterstützen. Seitens des Projektpartners labforward wurde eng mit den dortigen Projektverantwortlichen Dr. Florian Hauer und Jared Cocke zusammengearbeitet, der die Integration der Softwareplattformen sowie zentrales Know-How im Bereich Labordigitalisierung bereitstellte. Weiterhin wurde ein enger Austausch mit Prof. Sergio Lucia (TU Dortmund, DE) und Prof. Antonio del Rio Chanona (Imperial College, UK) gesucht, welche beide international renommierte Forscher im Bereich der modellgestützten Prozessoptimierung sind. Sie konnten das Projekt wissenschaftlich begleiten und beraten.

Während der Projektlaufzeit wurden regelmäßig Videokonferenzen abgehalten, aufgrund der Corona-Pandemie war dies allerdings nur online möglich. Für die Integration der Software und insbesondere die Anbindung des zentralen Analysegerätes Roche Cedex sowie der Analyseplattform DataHowLab, fanden mehrere Meetings in den Laboren der TU Berlin statt. Weitere Schulungen mit Mitarbeitern des Projektpartners DataHow zur Nutzung der im Projekt bereitgestellten Software fand auch größtenteils online statt. Zeitweise kamen einzelne Mitarbeiter an die TU Berlin um vor Ort die Integration und Datenauswertung zu testen.

2. Eingehende Darstellung

2.1. Projektergebnisse

Das Projekt startete in der Hochphase der Corona Pandemie, was mit vielfältigen Einschränkungen verbunden war. Der Zugang zu Laboren und Räumlichkeiten sowie persönliche Treffen der Projektpartner war über lange Zeiträume kaum oder nur eingeschränkt möglich. Hinzu kam, dass die TU Berlin im April 2021 Ziel einer Cyberattacke wurde und im Zuge dessen sämtliche IT-Infrastruktur zunächst abgeschaltet und dann für einen längeren Zeitraum nur eingeschränkt verfügbar war, was dazu geführt hat, dass zentrale IT-Pakete der Projektpartner nicht in den ursprünglich vorgesehenen Zeiträumen an der TU implementiert werden konnten. Nichtsdestotrotz haben sich alle Projektpartner bemüht dies durch intensive Arbeit an den weiteren Projektpaketen sowie der digitalen Vorbereitung zu kompensieren.

Zentrales Ziel des Projektes war die Entwicklung einer Plattform für die automatische robotisierte Optimierung von Bioprozessen. Nachdem zunächst alle Projektpartner einen Konsortialvertrag über die weitere Zusammenarbeit geschlossen haben, wurde zunächst ein Prozess als Fallstudie definiert. Als Fallstudie wurde die Optimierung der Produktion eines „Elastin-like-protein“ (ELP) ausgewählt. Diese Proteine sind aufgrund ihrer Eigenschaften sehr vielversprechend und könnten als neue Biomaterialien im Bereich der gezielten Wirkstoffabgabe oder als Hochleistungstextilien eingesetzt werden (MacEwan & Chilkoti, 2014). Das in dieser Fallstudie eingesetzte ELP ist an ein Fluoreszenzprotein (GFP) gekoppelt, so dass sich die Produktion nichtinvasiv mittels Fluoreszenzmessung ermitteln lässt. In diesem Zusammenhang sollten verschiedene interessante experimentelle Setups sowie verschiedene mögliche Produktionsstämme von *E. coli* untersucht werden (Huber et al., 2015). Hierfür sollte ein Softwareframework entwickelt werden, welches den Prozess online optimiert.

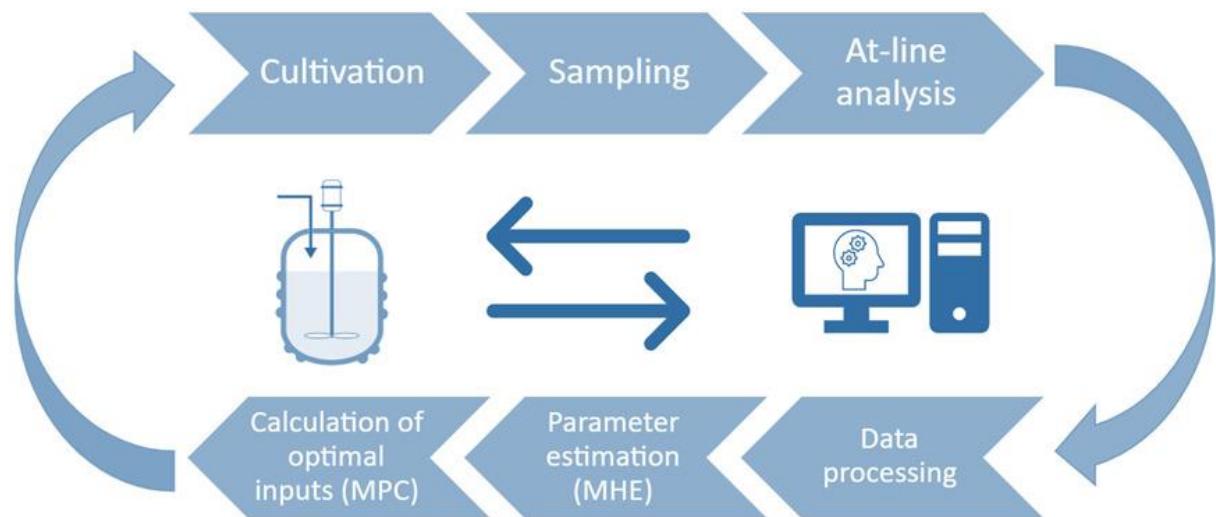


Abbildung 1: Schematischer workflow der modellprädiktiven Regelung. Im Rahmen der Kultivierung werden regelmäßig Proben genommen, die einerseits auf einer weiteren LHS und andererseits auf dem Roche Cedex HT analysiert werden. Die Daten fließen in ein Modell des Organismus, welches schlussendlich neue Fütterungsprofile vorschlägt unter der Berücksichtigung, dass zentrale Nebenbedingungen wie ein Mindestsauerstoffgehalt im Medium eingehalten werden.

Wie in Abbildung 1 dargestellt, wurde ein datengestützter workflow entwickelt, bei dem während der laufenden Kultivierung regelmäßig Proben genommen wurden, die auf einem weiteren Robotersystem und dem Roche Cedex HT, einem wichtigen Laborgerät zur Hochdurchsatzmessung verschiedener Substanzen im Nährmedium analysiert wurden. Auf Basis dieser Messungen wurden die Parameter eines Modells des Organismus *E. coli* geschätzt, auf deren Basis anschließend das Modell das weitere Fütterungsprofil optimierte, unter der Berücksichtigung, dass wesentliche Nebenbedingungen wie aerobe

Bedingungen einzuhalten berücksichtigt wurden. Solche MPC Ansätze sind in der chemischen Industrie weit verbreitet, aber haben bisher wenig Anwendung in der Bioprozesstechnik gefunden (Mears et al., 2017). Die Informationen für die Proben, welche mittels des Roche Cedex analysiert wurden, wurden automatisiert mittels der Software laboperator auf das Gerät übertragen und die Messung auch automatisiert gestartet. Dies hat einen wesentlichen Schritt in der Automatisierung und Digitalisierung der experimentellen Prozessabläufe dargestellt.

Auf Basis dieses workflows konnte nun der im Fallbeispiel erläuterte Fed-Batch Prozess zur optimalen Fütterung im *E. coli* Prozess eingesetzt werden. Um die Anzahl der notwendigen Experimente zu reduzieren, bis optimale Prozessbedingungen gefunden sind, wurde unser bisheriges HT-Kultivierungssystem um diesen innovativen MPC-Ansatz erweitert (Haby et al., 2019). Der MPC-Ansatz versucht, eine optimale Fütterungsrate auf der Grundlage der zuletzt generierten Daten zu finden, Dabei muss jedoch sichergestellt werden, dass der DOT nicht unter 30 % fällt und das System nicht weniger als 3 μL pipettieren kann.

Eine große Herausforderung für die modellprädiktive Regelung und Einhaltung der DOT-Nebenbedingung stellt die pulsbasierte Fütterung durch die LHS dar. Sobald ein Glukosepulse in das Nährmedium gegeben wird, sinkt der DOT steil ab, da die Zellen anfangen die zugegebene Glukose zu verstoffwechseln. Sobald die zugegebene Glukose aufgebraucht ist, steigt der DOT entsprechend wieder steil an. Da das Absinken des DOT direkt abhängig von der zugegebenen Glukosemenge ist, können insbesondere klassische Regelungsarten wie ein PID-Regler dann nicht mehr entgegenwirken, sodass eine prädiktive Regelung erforderlich ist. Die Einhaltung von aeroben Bedingungen für einen Bioprozess ist sehr wichtig, da *E. coli* sonst auf gemischte Säuregärung umsteigt, welche energetisch weniger günstig ist und auch der Einbau von nicht-kanonischen Aminosäuren wurde beobachtet, welche sich auf die Produktqualität auswirken können (Valgepea et al., 2010).

Unter Berücksichtigung dieser Beschränkungen für DOT und das minimale Pipettvolumen wurde ein optimales Fütterungsprofil gefunden, das die Biomasse am Ende der Kultivierung maximiert. Abbildung 2 zeigt eine solche optimale Trajektorie bei einer Iteration, bei der die farblich gekennzeichneten Beschränkungen berücksichtigt wurden.

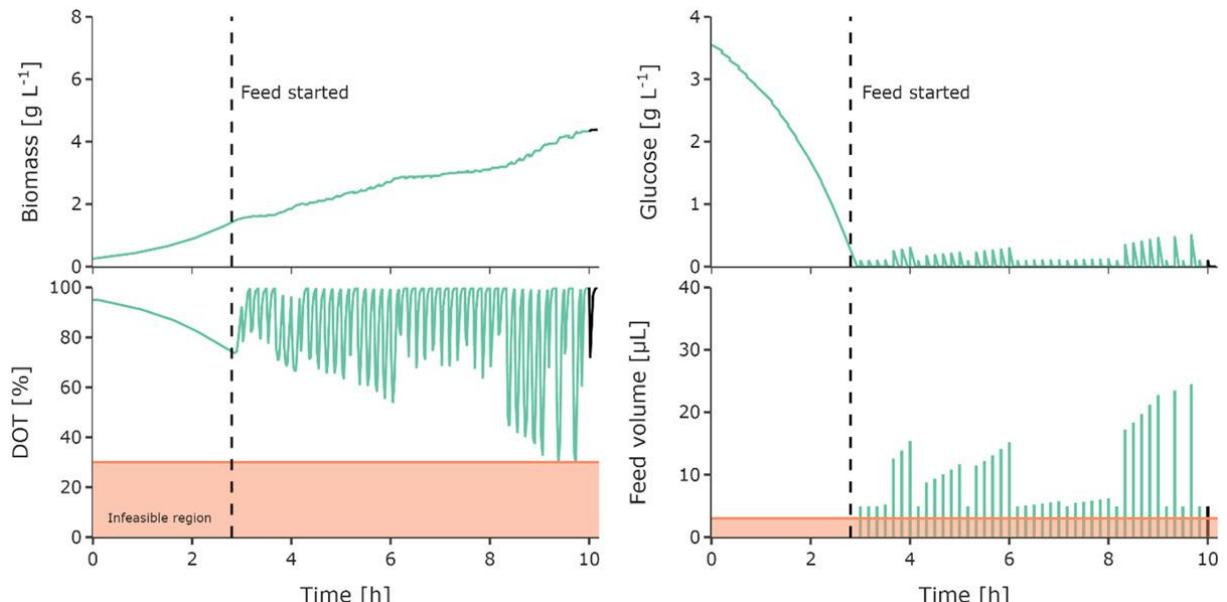


Abbildung 2: Optimale Steuerung und Nebenbedingungen. Dargestellt sind der simulierte Verlauf der Biomasse, Glukose, DOT und das Fütterungsvolumen als grüne Linie. Die schwarze Linie zeigt das neue vorgeschlagene Fütterungsprofil und die daraus resultierenden Simulationsergebnisse. Rot schattiert sind die Nebenbedingungen, die nicht verletzt werden sollen.

Mit Hilfe dieses Ansatzes konnte die nötige Zeit für die Prozessoptimierung maßgeblich verringert werden. Der gesamte Workflow sowie die erzielten Ergebnisse wurden anschließend in der Publikation Krausch et al., (2022) veröffentlicht. Die mathematischen Hintergründe, insbesondere zu dem verwendeten Gleichungssystem und den Aufbau des MPC Kontrollers sind ausführlich in Kim et al., (2023) beschrieben.

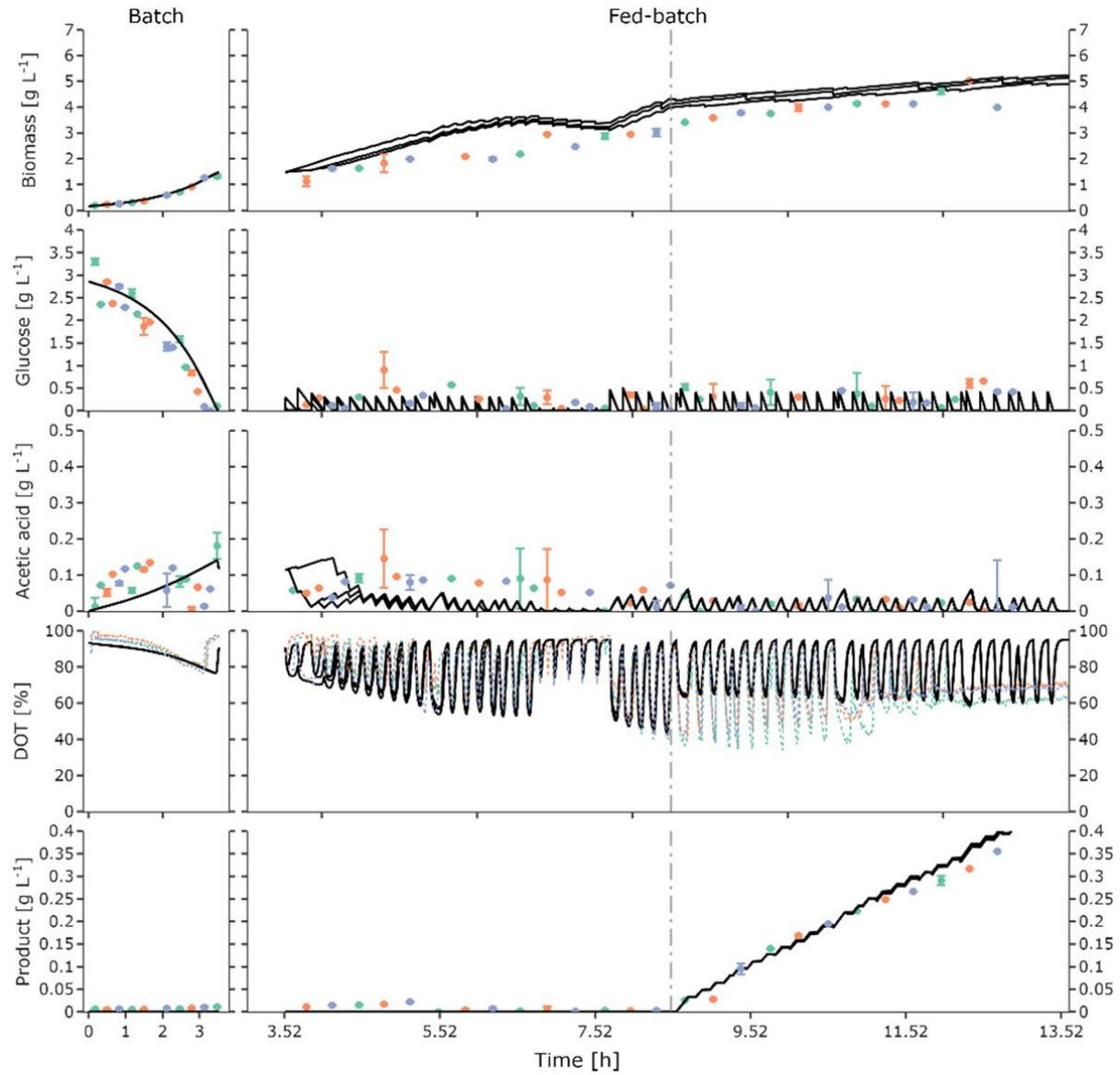


Abbildung 3: Ergebnisse der Parameterschätzung. Dargestellt sind sowohl die Messungen (farbige Punkte) als auch die Simulationen auf Basis der letzten Parameterschätzung für jeden der 3 Bioreaktoren, die als Triplicate liefen (schwarze Linien). Die gestrichelte, graue senkrechte Linie zeigt den Zeitpunkt der Induktion.

Für eine gute Modellvorhersage ist es unerlässlich über gute Parameterwerte für das zugrundeliegende Modell zu verfügen (Rodríguez et al., 2021). Hierfür wurde fortlaufend in einem „sliding-window“ Ansatz das Modell an die letzten 3 h des Prozesses angepasst. Die daraus resultierenden Parameterwerte wurden anschließend genutzt, um den Prozess, unter Berücksichtigung der Nebenbedingungen, zu optimieren. Das Ziel war, am Ende des Prozesses eine höchstmögliche Biomasse zu erzielen, ohne, dass der DOT auf unter 30% sinkt. Abbildung 3 zeigt anschaulich, dass die Parameterschätzung akkurate Parameterwerte lieferte. Für den Prozess wurden für jede getestete Bedingung jeweils 3 Bioreaktoren parallel laufen gelassen, bei denen abwechselnd in einem Intervall von 20 min Proben genommen wurden. Diese Proben wurden anschließend auf der zweiten LHS oder dem Roche

Cedex analysiert und die Ergebnisse in die zentrale Datenbank eingespeist. Die farbigen Punkte zeigen jeweils die Messergebnisse der 3 Bioreaktoren und die schwarzen durchgezogenen Linien die Ergebnisse der Simulation auf Basis der zuletzt geschätzten Parameterwerte. Es zeigt sich eine gute Übereinstimmung der Simulationsergebnisse mit den Messungen der einzelnen Bioreaktoren, insbesondere für die Prozessgrößen Glukose und DOT. Insbesondere sind auch, die auf die pulsbasierte Fütterung zurückzuführende Oszillationen des DOT erkennbar. Immer wenn ein neuer Glukosepuls in die Reaktoren gegeben wurde, sinkt der DOT rapide ab. Nachdem die Glukose im Nährmedium verbraucht ist, steigt dieser wieder steil an. Insbesondere das rapide Absinken und anschließende steile Aufsteigen stellt aus Modellierungssicht eine Herausforderung dar, konnte aber gut gemeistert werden.

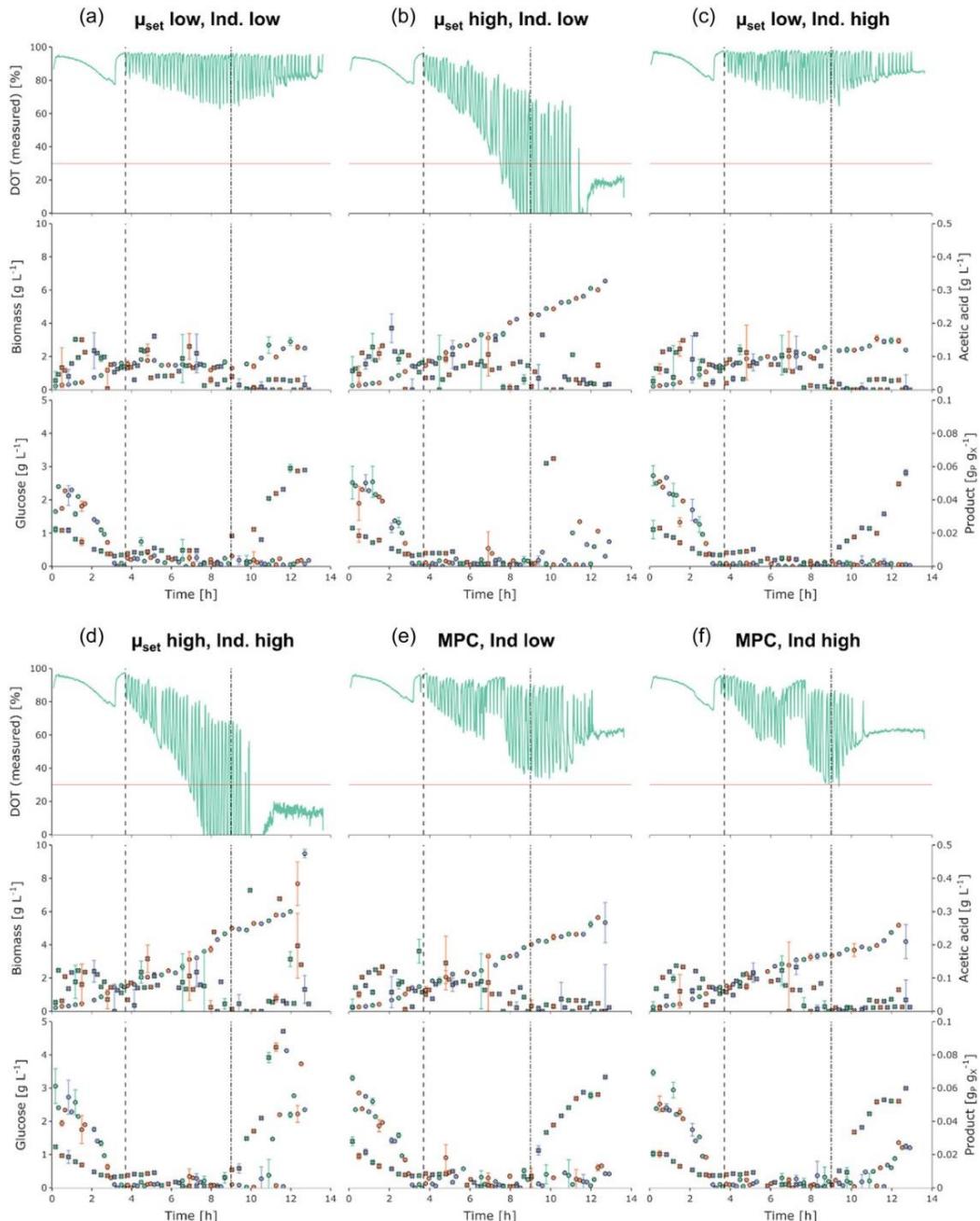


Abbildung 4: Ergebnisse der Benchmark-Kultivierung. In den Abbildungen (a-d) sind die Kultivierungen mit niedriger ($0,15 \text{ h}^{-1}$) und hoher ($0,3 \text{ h}^{-1}$) Fütterungsrate sowie mit niedriger ($0,02 \text{ mM}$) und hoher (2 mM) Induktion mit IPTG dargestellt. Die Teilbilder (e) und (f) zeigen den Vergleich der Prozesse, die durch MPC gesteuert werden, wiederum mit der niedrigen und hohen Induktion. Dargestellt sind die Messungen von DOT, Biomasse (Kreise), Glucose (Kreise), Acetat (x) und Produkt pro Biomasse (x). Die gestrichelte vertikale Linie zeigt den Beginn der Fütterung und die gestrichelte vertikale Linie den Beginn der Induktion an. IPTG, Isopropyl- β -d-thiogalactopyranosid; MPC, modellprädiktive Steuerung.

Als weitere zentrale Entwicklung in diesem Projekt lässt sich die Integration des Roche Cedex HT in die Software "Laboperator" der Firma Labforward hervorheben. Diese Integration hat die Analyse der zentralen Prozessparameter Glukosekonzentration und Azetatkonzentration erheblich erleichtert und effizienter gemacht. Durch diese Neuerung ist es nun möglich, dass die Proben automatisiert von dem Roche Cedex HT bearbeitet werden und die entsprechenden Daten direkt und digital in die Datenbank eingespeist werden, statt wie bisher manuell. Durch die Einschränkungen der Coronapandemie und den Hackerangriff auf die IT-Infrastruktur der TU Berlin verzögerte sich diese Anbindung allerdings und auch die Integration der weiteren Geräte. Dennoch lassen sich zurzeit sämtliche Geräte über Apache Airflow orchestrieren und sollen mittelfristig auch an die Software laboperator angebunden werden, um die Steuerung zu vereinheitlichen.

Bisher war es für Probenanalyse notwendig, die Proben manuell zu entnehmen und einzeln in die Datenbank des Gerätes einzugeben. Dieser zeitaufwändige und fehleranfällige Prozess wurde durch die Automatisierung und Anbindung an unsere vorhandene Datenbankinfrastruktur komplett eliminiert. Das Gerät kann nun die Proben eigenständig bearbeiten, was zu einer erheblichen Zeitsparnis führt. Im parallel stattfindenden Projekt KIWI-Biolab wurde auch ein automatisierter Laborroboter angeschafft, der selbstständig Multiwellplatten mit den Proben vom Ort der Probennahme zum Cedex fahren kann (Kaspersetz et al., 2022). Durch die Integration dieses Gerätes in unsere Infrastruktur wurde auch dieser Flaschenhals beseitigt und das Labor arbeitet nun weitestgehend autonom und automatisiert. Darüber hinaus ermöglicht die Integration mit der Software laboperator eine nahtlose Übertragung der Messergebnisse in die Datenbank. Die digitalisierten Daten sind sofort verfügbar und können in Echtzeit überwacht und analysiert werden. Dies verbessert die Effizienz der Datenverarbeitung und erleichtert die Nachverfolgung und Auswertung der Proben. Abbildung 5 veranschaulicht einen Screenshot des workflows und erfolgreiche Integration der Software.

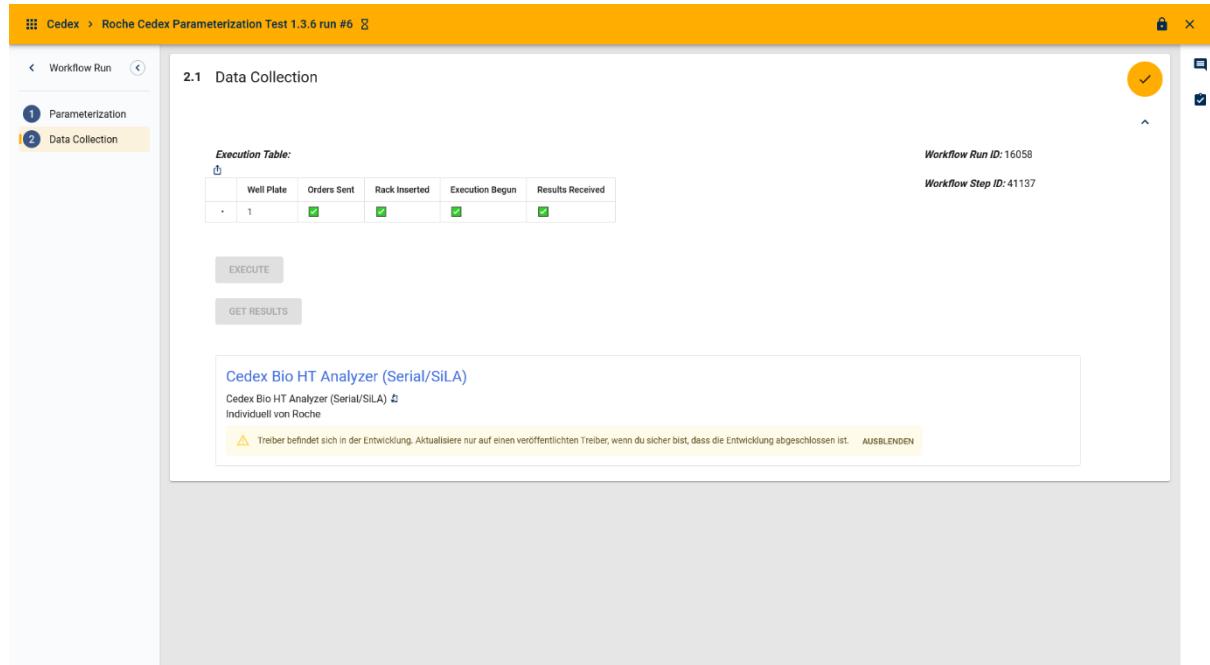


Abbildung 5: Erfolgreiche workflow Integration und Analyse des Roche Cedex HT mittels laboperator

Durch die Einbindung der verschiedenen Geräte und frameworks in eine ganzheitliches Softwareplattform konnte der in der Fallstudie dargestellte Prozess, auch ohne vorherige Informationen über das Wachstumsverhalten der Stämme zu einer hohen Biomasse am Ende des Prozesses gesteuert werden ohne wichtige Nebenbedingungen zu verletzen. Um die Vorteile dieses Frameworks darzustellen,

wurde der MPC gesteuerte Ansatz mit auf Expertenwissen vordefinierten Fütterungsprofilen mit definierten Fütterungsraten μ_{set} von $0,30 \text{ h}^{-1}$ oder $0,15 \text{ h}^{-1}$ verglichen. Die Reaktoren mit den höheren Fütterungsraten erreichten im Vergleich zu den Reaktoren mit den niedrigeren Fütterungsraten höhere Biomassewerte und damit einhergehend auch höhere Produktkonzentrationen, wie auch in Abbildung 4 dargestellt. Allerdings sinkt nach Induktion das DOT-Signal in diesen Reaktoren unter die vordefinierte Grenze von 30% und es kommt zu Overflow Stoffwechsel, höheren Glukose- und höheren Azetatwerten in diesen Reaktoren. Die Induktionsstärke hatte nur einen geringen Einfluss auf die Produktion. Die Kulturen mit der höheren IPTG-Konzentration wiesen etwas höhere Produktkonzentrationen normalisiert auf die Biomasse auf als die Kulturen mit niedrigerem IPTG. Die mittels MPC gesteuerten Bioreaktoren erreichten hinsichtlich der Biomasse entsprechende Werte verglichen mit den Reaktoren zwischen der hohen und der niedrigen vordefinierten Fütterungsrate (Abbildung 6). Weiterhin konnten alle Reaktoren, die mittels MPC gesteuert wurden, den Sauerstoffgehalt von über 30% beibehalten. Eine Akkumulation von Glukose wurde nur nach Induktion in den Reaktoren mit hoher Induktionskonzentration beobachtet und auch die Konzentration an Acetat blieb weitestgehend konstant im Verlauf der Kultivierung. Auch die Produktkonzentrationen waren genauso hoch wie bei den Kulturen mit der vordefinierten Fütterungsrate. Infolgedessen war die finale Biomasse ähnlich hoch wie bei der vordefinierten hohen Fütterungsrate, ohne jedoch die Nebenbedingung, dass der DOT unter 30% fällt, zu verletzen.

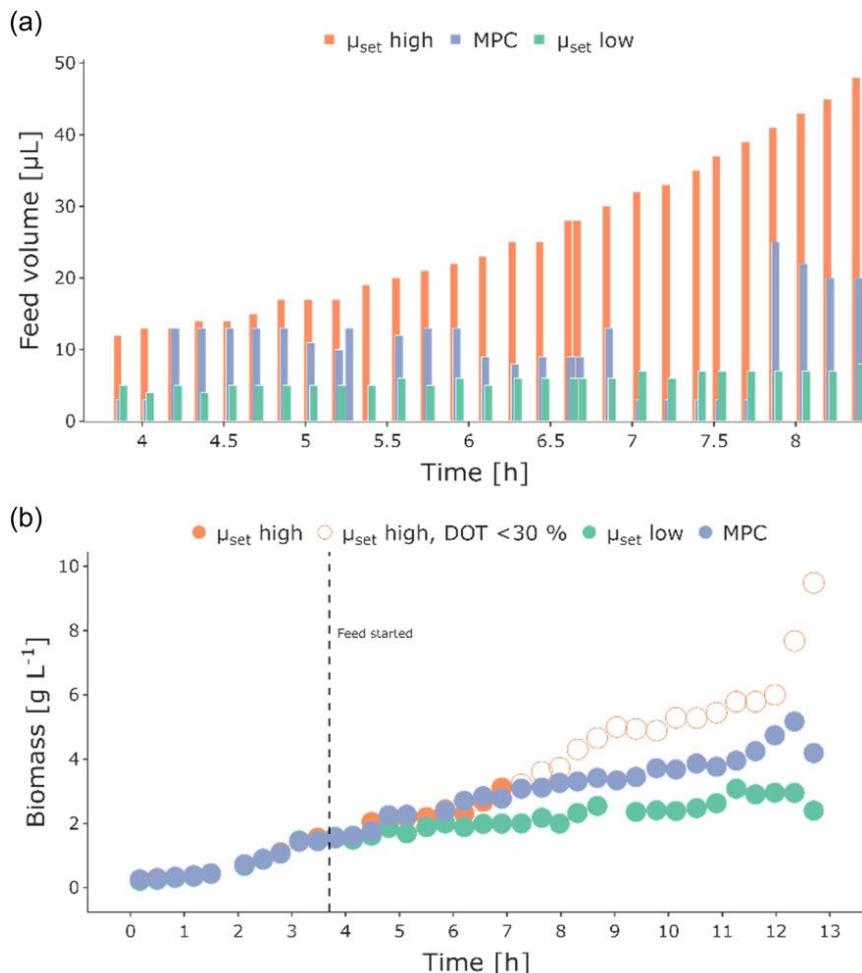


Abbildung 6: Vergleich der Fütterprofile. Dargestellt sind die Fütterungsprofile für jeweils eine hohe und eine niedrige vordefinierte Fütterrate (a) sowie die damit einhergehenden Biomassekonzentrationen (b). Die Biomassewerte, bei denen der DOT unter 30% gefallen ist, sind als leere Kreise dargestellt.

Die verschiedenen Messdaten aus den unterschiedlichen Quellen, wie den online Sensoren für DOT und pH sowie den at-line Analysen für OD, Glukose und Azetat wurden alle zentral in unsere vorhandene MySQL Datenbank eingespeist und standen somit direkt für weitere Analysen zur Verfügung. Insbesondere wurden diese Daten mittels der Software DataHowLab des Projektpartners DataHow analysiert, um Vorhersagen über die erwartete Biomasse bzw. Produktkonzentration am Ende des Prozesses vorherzusagen. Wie in Abbildung 7 [Abbildung 6](#) dargestellt, kann die Software die Biomasse am Ende des Prozesses gut vorhersagen einschließlich eines Unsicherheitsintervalls. Leider stellte sich die Transformation der vorhandenen Modelle in DataHowLab, die bisher maßgeblich auf Basis von Daten von Zellkulturprozessen trainiert worden waren, als herausfordernd da, wenn diese auf bakterielle Prozesse angewandt werden sollen. Durch diese Anpassungen an die neuen Dynamiken und den Angriff auf die IT-Infrastruktur der TU Berlin kam es zu Verzögerungen in der Bereitstellung von DataHowLab auf den Servern der TUB, was wiederum in Verbindung mit der verspäteten Integration der Software laboperator zu Verzögerung bei den nachgelagerten Arbeitspaketen wie der Anpassung der Softwareplattform an Kundenbedürfnisse führte, aber schlussendlich abgeschlossen werden konnte. Nichtsdestotrotz konnte mit der Software DataHowLab interessante Einsichten in den Prozess erlangt werden. Insbesondere zeigte sich durch die PCA-Analyse, dass Sauerstoff einen entscheidenden Einfluss auf finale Zellkonzentration hat und sich auch im direkten Vergleich der MPC gesteuerten Prozesse, mit den klassisch gesteuerten Prozessen wie auf Basis einer hohen oder einer niedrigen Feedrate sich deutliche Unterschiede im Prozessgeschehen zeigen. Dies wird auch anhand von Abbildung 7 deutlich.

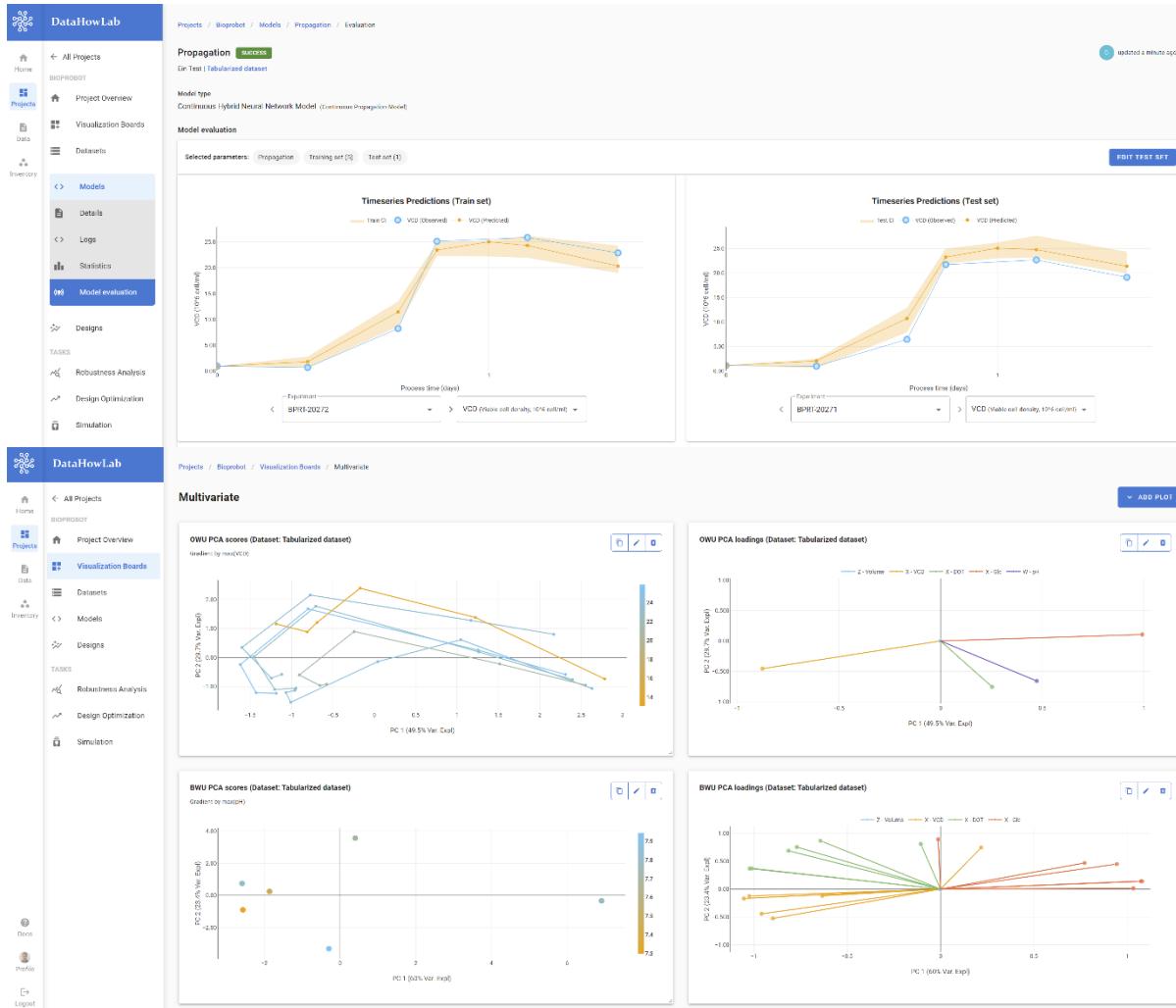


Abbildung 7: DataHowLab. Oben: Vorhersage der Biomasse über die Prozesslaufzeit mit Unsicherheiten. Unten: Principal-Component-Analysis als Observation Based Unfolding (obere Plots) und Batch Wise Unfolding (untere Plots) zur Analyse der Einflusstärke einzelner Prozessgrößen sowie des Verlaufs des Prozesses.

Insgesamt ließ sich durch die Integration der verschiedenen Softwarelösungen wie dem laboperator und dem DataHowLab zusammen mit der Modellgesteuerten Regelung (MPC) eine deutliche Verbesserung des Screenings erreichen. Wie in eingehenden Simulationen gezeigt, führen klassische, vordefinierte Feedraten nicht direkt zu optimalen Ergebnissen bzw. erfordern diese einen höheren experimentellen Aufwand. Durch die Einbindung des Roche Cedex in die Software laboperator wird der automatisierte Entwicklungszyklus geschlossen, sodass nun Proben automatisiert per Roboter von der Kultivierungsanlage zum Analysegerät gefahren werden können und dort vollautomatisch analysiert werden und schließlich die Daten in die zentrale Datenbank gespeist werden, wodurch sie für die online Steuerung der Versuche verfügbar sind.

Insgesamt ließ sich durch Kombination der verschiedenen Software- und Hardware Komponenten in ein zentrales Framework eine deutliche Verbesserung des initialen Screenings und der Vorhersage von Bioprozessen erreichen. Exemplarisch wurde dies anhand einer Fallstudie zur Produktion eines rekombinanten Proteins (ELP) in *E. coli* durchgeführt. Die hier gezeigten Ergebnisse können perspektivisch in weiteren Projekten wie dem KIWI-biolab und weiteren sich anbahnenden Kooperationen mit verschiedenen Firmen weiter verbessert und auch mittels Technologietransfer an deren Standorten ausgerollt werden.

2.2. Hauptausgaben

Die größten Ausgabenposten im BioProBot Projekt waren, neben den Personalausgaben (WiMi: 203.364€) die Anschaffungskosten für einen im Projekt benötigten Laptop (1.687 €) sowie die Verbrauchsmaterialien im Labor (15.800 €). Diese verteilen sich hauptsächlich auf Verbrauchsmaterialien wie Bioreaktoren und Analyse Kits, die für die zahlreichen Experimente in dem Projekt verwendet wurden. Weiterhin wurden Reisekosten für Reisen zum Projektpartner in der Schweiz, verschiedene Konferenzen und weiteren interessierten Forschungspartnern verwendet.

2.3. Notwendigkeit der Zuwendung

Das geplante Forschungsvorhaben ebnnet den Weg für eine neuartige Entwicklung auf dem Feld automatisierter und digitalisierter Labore. Obwohl bereits einige miniaturisierte Kultivierungssysteme auch im Hochdurchsatzbereich für die Kultivierung von verschiedenen biologischen Organismen existieren, gibt es immer noch viel Bedarf für die optimale Steuerung und die Modellierung solch komplexer Systeme. Gerade die Entwicklung von Treibern für eine zentralisierte Gerätesteuerung und das Zusammenspiel mit modernen Algorithmen für die Auswertung und Analyse von biotechnologischen Anwendungen stellt eine enorme Herausforderung dar. Insbesondere die Entwicklung solcher Systeme stellt für die beteiligten Firmen in dem Projekt ein wirtschaftliches Risiko dar und die Entwicklung solch weitreichender und maßgeschneiderter Softwaresysteme ist herausfordernd. Die Technische Universität Berlin ist eine Forschungseinrichtung des öffentlichen Rechts. Die finanzielle Ausstattung der BVT ist für klar definierte Forschungsaufgaben abgegrenzt. Finanzielle Mittel für die Bearbeitung der im Projekt beschriebenen Fragestellungen lagen nicht vor. Eine Förderung war daher notwendig. Fördermittel aus anderen Programmen standen nicht zur Verfügung.

2.4. Verwertung der Projektergebnisse

Zentral in diesem Projekt war die Entwicklung einer automatisierten hochdurchsatz Kultivierungsanlage sowie die Einbindung des zentralen Analysegerätes Roche Cedex HT in das intelligente und agile Laborausführungssystem (LES) der Firma labforward. Weiterhin sollten der im Laufe des Projektes definierte Fallstudienprozess mittels moderner Computermodelle seitens des Projektpartners DataHow im Rahmen ihrer Software DataHowLab analysiert und somit der Prozess verbessert werden. Die im Projekt entwickelte automatische Anbindung und Probenanalyse durch den Cedex mittels des LES soll im BMBF geförderten Zukunftslabor KIWI-biolab weiter genutzt werden und für weitere Analysen verwendet werden.

Auch die im Rahmen des Projektes entwickelten modellprädiktiven Regelegungsmethoden (MPC) sollen in weiteren Forschungsprojekten wie dem KIWI-biolab als auch als Grundlage für weitere Drittmittelanträge dienen. Die Ergebnisse wurden auf mehreren internationalen Fachkonferenzen wie der ESCAPE, der DECHEMA Himmelfahrtstagung, dem AIChE annual meeting und der ECCE/ECAB vorgestellt sowie in wichtigen peer-reviewed Fachzeitschriften veröffentlicht. Es ist weiterhin angestrebt die entwickelten Softwarelösungen weiter zu verfeinern und schließlich kommerziell zu verwerten.

2.5. Wissenschaftlicher Fortschritt an anderen Stellen

Uns sind keine signifikanten Fortschritte an anderen Stellen bekannt.

2.6. Veröffentlichungen

Im Laufe des Projektes wurden folgende Arbeiten publiziert:

Krausch, N., Kim, J. W., Barz, T., Lucia, S., Groß, S., Huber, M. C., ... & Cruz Bournazou, M. N. (2022). High-throughput screening of optimal process conditions using model predictive control. *Biotechnology and Bioengineering*, 119(12), 3584-3595. <https://doi.org/10.1002/bit.28236>

Krausch, N., Kim, J. W., Lucia, S., Groß, S., Barz, T., Neubauer, P., & Cruz Bournazou, M. N. (2022). Optimal operation of parallel mini-bioreactors in bioprocess development using multi-stage MPC. In Computer Aided Chemical Engineering. *32nd European Symposium on Computer Aided Process Engineering* (Vol. 51, pp. 1069–1074). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95879-0.50179-X>

Krausch, N., Hans, S., Fiedler, F., Lucia, S., Neubauer, P., & Cruz Bournazou, M. N., "From Screening to Production: a Holistic Approach of High-throughput Model-based Screening for Recombinant Protein Production," in *Computer Aided Chemical Engineering*, vol. 48, Elsevier, 2020, pp. 1723–1728. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823377-1.50288-3>

Kim, J. W., Krausch, N., Aizpuru, J., Barz, T., Lucia, S., Neubauer, P., & Cruz Bournazou, M. N. (2023). Model predictive control and moving horizon estimation for adaptive optimal bolus feeding in high-throughput cultivation of *E. coli*. *Computers & Chemical Engineering*, 172, 108158. <https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2023.108158>

Krausch, N., Kaspersetz, L., Gaytán-Castro, R. D., Schermeyer, M. T., Lara, A. R., Gosset, G., ... & Neubauer, P. (2023). Model-Based Characterization of *E. coli* Strains with Impaired Glucose Uptake. *Bioengineering*, 10(7), 808. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10070808>

Darüber hinaus sind weitere Publikationen über die Automatisierung und optimale Steuerung der Roboteranlage geplant und werden im weiteren Verlauf publiziert.

3. Literaturverzeichnis

- Anane, E., García, Á. C., Haby, B., Hans, S., Krausch, N., Krewinkel, M., Hauptmann, P., Neubauer, P. & Cruz Bournazou, M. N. (2019). A model-based framework for parallel scale-down fed-batch cultivations in mini-bioreactors for accelerated phenotyping. *Biotechnology and bioengineering*, 116(11), 2906–2918. <https://doi.org/10.1002/bit.27116>
- Bai, J., Cao, L., Mosbach, S., Akroyd, J., Lapkin, A. A. & Kraft, M. (2022). From Platform to Knowledge Graph: Evolution of Laboratory Automation. *JACS Au*, 2(2), 292–309. <https://doi.org/10.1021/jacsau.1c00438>
- D'ambrosio, S., Ventrone, M., Alfano, A., Schiraldi, C. & Cimini, D. (2021). Microbioreactor (micro-Matrix) potential in aerobic and anaerobic conditions with different industrially relevant microbial strains. *Biotechnology progress*, 37(5), e3184. <https://doi.org/10.1002/btpr.3184>
- Gauglitz, G. (2018). Lab 4.0: SiLA or OPC UA. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 410(21), 5093–5094. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1192-6>
- Haby, B., Hans, S., Anane, E., Sawatzki, A., Krausch, N., Neubauer, P. & Cruz Bournazou, M. N. (2019). Integrated Robotic Mini Bioreactor Platform for Automated, Parallel Microbial Cultivation With Online Data Handling and Process Control. *SLAS technology*, 24(6), 569–582. <https://doi.org/10.1177/2472630319860775>
- Hernández Rodríguez, T., Posch, C., Pörtner, R. & Frahm, B. (2021). Dynamic parameter estimation and prediction over consecutive scales, based on moving horizon estimation: applied to an industrial cell culture seed train. *Bioprocess and biosystems engineering*, 44(4), 793–808. <https://doi.org/10.1007/s00449-020-02488-1>
- Huber, M. C., Schreiber, A., Olshausen, P. von, Varga, B. R., Kretz, O., Joch, B., Barnert, S., Schubert, R., Eimer, S., Kele, P. & Schiller, S. M. (2015). Designer amphiphilic proteins as building blocks for the intracellular formation of organelle-like compartments. *Nature materials*, 14(1), 125–132. <https://doi.org/10.1038/NMAT4118>
- Kaspersetz, L., Waldburger, S., Schermeyer, M.-T., Riedel, S. L., Groß, S., Neubauer, P. & Cruz Bournazou, M. N. (2022). Automated Bioprocess Feedback Operation in a High-Throughput Facility via the Integration of a Mobile Robotic Lab Assistant. *Frontiers in Chemical Engineering*, 4, Artikel 812140. <https://doi.org/10.3389/fceng.2022.812140>
- Kim, J. W., Krausch, N., Aizpuru, J., Barz, T., Lucia, S., Neubauer, P. & Cruz Bournazou, M. N. (2023). Model predictive control and moving horizon estimation for adaptive optimal bolus feeding in high-throughput cultivation of *E. coli*. *Computers & Chemical Engineering*, 108158. <https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2023.108158>
- King, R. D., Rowland, J., Oliver, S. G., Young, M., Aubrey, W., Byrne, E., Liakata, M., Markham, M., Pir, P., Soldatova, L. N., Sparkes, A., Whelan, K. E. & Clare, A. (2009). The automation of science. *Science (New York, N.Y.)*, 324(5923), 85–89. <https://doi.org/10.1126/science.1165620>
- Krausch, N., Kim, J. W., Barz, T., Lucia, S., Groß, S., Huber, M. C., Schiller, S. M., Neubauer, P. & Cruz Bournazou, M. N. (2022). High-throughput screening of optimal process conditions using model predictive control. *Biotechnology and bioengineering*, 119(12), 3584–3595. <https://doi.org/10.1002/bit.28236>

- MacEwan, S. R. & Chilkoti, A. (2014). Applications of elastin-like polypeptides in drug delivery. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 190, 314–330. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.06.028>
- Mears, L., Stocks, S. M., Sin, G. & Gernaey, K. V. (2017). A review of control strategies for manipulating the feed rate in fed-batch fermentation processes. *Journal of biotechnology*, 245, 34–46. <https://doi.org/10.1016/j.biote.2017.01.008>
- Narayanan, H., Luna, M. F., Stosch, M. von, Cruz Bournazou, M. N., Polotti, G., Morbidelli, M., Butté, A. & Sokolov, M. (2020). Bioprocessing in the Digital Age: The Role of Process Models. *Biotechnology journal*, 15(1), e1900172. <https://doi.org/10.1002/biot.201900172>
- Neubauer, P., Cruz Bournazou, M. N., Glauche, F., Junne, S., Knepper, A. & Raven, M. (2013). Consistent development of bioprocesses from microliter cultures to the industrial scale. *Engineering in Life Sciences*, 13(3), 224–238. <https://doi.org/10.1002/elsc.201200021>
- Neubert, S., Göde, B., Gu, X., Stoll, N. & Thurow, K. (2017). Potential of Laboratory Execution Systems (LESs) to Simplify the Application of Business Process Management Systems (BPMSs) in Laboratory Automation. *SLAS technology*, 22(2), 206–216. <https://doi.org/10.1177/2211068216680331>
- Schilling, C. & Weiss, S. (2021). A Roadmap for Industry to Harness Biotechnology for a More Circular Economy. *New biotechnology*, 60, 9–11. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2020.08.005>
- Smiatek, J., Jung, A. & Bluhmki, E. (2020). Towards a Digital Bioprocess Replica: Computational Approaches in Biopharmaceutical Development and Manufacturing. *Trends in biotechnology*, 38(10), 1141–1153. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2020.05.008>
- Sokolov, M., Ritscher, J., MacKinnon, N., Souquet, J., Broly, H., Morbidelli, M. & Butté, A. (2017). Enhanced process understanding and multivariate prediction of the relationship between cell culture process and monoclonal antibody quality. *Biotechnology progress*, 33(5), 1368–1380. <https://doi.org/10.1002/btpr.2502>
- Valgepea, K., Adamberg, K., Nahku, R., Lahtvee, P.-J., Arike, L. & Vilu, R. (2010). Systems biology approach reveals that overflow metabolism of acetate in *Escherichia coli* is triggered by carbon catabolite repression of acetyl-CoA synthetase. *BMC systems biology*, 4, 166. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-4-166>
- Wechselberger, P., Sagmeister, P. & Herwig, C. (2013). Model-based analysis on the extractability of information from data in dynamic fed-batch experiments. *Biotechnology progress*, 29(1), 285–296. <https://doi.org/10.1002/btpr.1649>
- Zhang, D., Del Rio Chanona, E. A., Petsagkourakis, P. & Wagner, J. (2019). Hybrid physics-based and data-driven modeling for bioprocess online simulation and optimization. *Biotechnology and bioengineering*, 116(11), 2919–2930. <https://doi.org/10.1002/bit.27120>

Teil I – Kurzbericht (Anlage)

1. Ursprüngliche Aufgabenstellung, wissenschaftlicher und technischer Stand

Aufgabe des Projektes war die Entwicklung einer Plattform für die Integration, Digitalisierung und den computergestützten Betrieb von automatisierten Biotech-Laboren. Zentral war die Entwicklung einer maßgeschneiderten, vollautomatischen intelligenten Laborlösung mit minimalen Kosten. Die Hauptziele der Plattform sind: 1. beliebige Daten und Geräte herstellerunabhängig in das System zu integrieren, 2. fortschrittliche Algorithmen für maschinelles Lernen zu entwickeln, um alle Roboter und Geräte zu koordinieren und zu betreiben, und 3. das gesamte Labor von einer zentralen Datenbank aus zu steuern.

Zum derzeitigen wissenschaftlichen und technischen Stand der in der Biotech- und Pharmaindustrie gehören mehrere etablierte Roboter- und Digitaltechnologien, die zu Standardverfahren geworden sind. Dazu gehören Hochdurchsatzplattformen für das Prozess-Screening, Online-Analysen zentraler Prozessparameter, unternehmensspezifische Datenintegrationsplattformen für Laboraufbauten und statistische Prozessdatenanalysen. Die aktuellen Lösungen zeichnen sich jedoch durch einen begrenzten Automatisierungsgrad aus, wobei eine beträchtliche Anzahl von Tätigkeiten immer noch menschliche Unterstützung erfordert, darunter die Programmierung von Robotern und Analyseinstrumenten, das Probenmanagement und die Datenübertragung. Darüber hinaus erfordern multivariate Modelle umfangreiche statistische Kenntnisse der Benutzer und sind nicht automatisiert. Datenintegrationsplattformen erfordern ebenfalls eine langwierige Programmierung durch IT-Experten, um grundlegende Kontrollstrategien und Alarmsysteme zu definieren. Nichtsdestotrotz gibt es einen klaren Trend zur vollständigen Automatisierung und Digitalisierung, wie die erheblichen Investitionen führender biopharmazeutischer Unternehmen in digitalisierte Standorte zeigen. Die Entwicklung einer vollständig digitalisierten Lösung für die automatisierte Hochdurchsatz-Bioprozessentwicklung von Enzymen, Biopharmazeutika oder therapeutischen Proteinen bleibt eine offene Herausforderung in diesem Bereich.

2. Ablauf des Vorhabens

Das Vorhaben startete an der TU Berlin am 1. April 2020 mit der Einstellung des wissenschaftlichen Mitarbeiters Niels Krausch. Ein erstes Projekttreffen mit allen Projektpartnern fand Anfang April als Videokonferenz statt. Seitdem haben sich die Projektteilnehmenden alle 2 Wochen in Videokonferenzen getroffen, um die Projektenwicklung zu besprechen. In den ersten Monaten wurden im Rahmen des WP1 die Definition des Konsortiums sowie die Projektstrategie abgestimmt und ein möglicher Bioprozess als Fallbeispiel ausgewählt. Im Rahmen des WP2 wurden die Grundlagen für die spätere Einbindung der Software "laboperator" des Projektpartners labforward sowie "DataHowLab" des Projektpartners DataHow gelegt. Dabei wurde die Produktion eines "Elastin-like-proteins" (ELP) als Fallstudie ausgewählt, um verschiedene experimentelle Setups und mögliche Produktionsstämme von *E. coli* zu untersuchen. Im Jahr 2021 wurden die Grundlagen für die Einbindung der Software "laboperator" und "DataHowLab" weiter ausgebaut. Trotz eines Hackerangriffs im April auf die IT-Systeme der TU Berlin waren die Testläufe der automatisierten Roboterinfrastruktur (wenn auch mit einiger dadurch bedingter Verzögerung) erfolgreich und es wurden modellgestützte Optimierungen von Bioprozessen durchgeführt. Es wurden erste Versuchsdaten in die Software DataHowLab eingelesen und die Integration

des Roche Cedex HT-Geräts wurde vorangetrieben. Die Integration der Geräte in die Software laboperator gestaltete sich als schwierig, weswegen die Gerätesteuerung teilweise noch über Zwischenlösungen erfolgte. Dadurch verzögerte sich auch die Bearbeitung des WP4, der iterativen Anpassung des Produktes an Kundenvorgaben. Dennoch wurden fortlaufend Marketingmaterial entwickelt und an die iterativen Verbesserungen in der Fallstudie angepasst. Schlussendlich konnten alle Arbeitspakte erfolgreich bearbeitet werden und die Ergebnisse anhand einer Fallstudie validiert werden. Zentrale Ergebnisse der modell-gestützten Prozessoptimierung wurden in Fachzeitschriften publiziert und auf Konferenzen präsentiert.

3. Wesentliche Ergebnisse

Im Rahmen des Projekts wurde eine automatisierte Bereitstellung der experimentellen Daten über eine Schnittstelle im Electronic Lab Notebook (ELN) des Projektpartners labforward ermöglicht. Dies ermöglicht deren Verwendung durch die Analysesoftware DataHowLab des Projektpartners DataHow. Diese Daten wurden anschließend verwendet, um das Modell in DataHowLab zu trainieren und wesentliche Einflussfaktoren auf den Prozess zu identifizieren. Innerhalb des Frameworks wurde eine modellgestützte Regelung entworfen und implementiert, welche den in der Fallstudie beschriebenen Prozess von ELPs zu optimieren ohne vorherige Informationen über das Wachstumsverhalten des verwendeten Stamms. Darüber hinaus wurde das zentrale Analysegerät für den Prozess, der Roche Cedex HT in die Software laboperator integriert. Somit konnte die beschriebene Fallstudie optimiert werden und der Workflow in weiteren Schritten iterativ verbessert werden. Hierfür wurde Marketingmaterial erstellt, welches zukünftigen Kunden zur Verfügung gestellt werden kann. Insgesamt ließ sich durch den digitalisierten Workflow und die Kombinationen verschiedener Softwarepackages das initiale Screening von Bioprozessen verbessern im Vergleich zu herkömmlichen Methoden mit vordefinierter Fütterungsrate.