

Application News

培養最適化支援ソフトウェアCellTune

培養最適化支援ソフトウェアCellTuneによる効率的な培養条件の最適化

南元 彩花、山本 周平、本山 賢人、山田 香央里、鈴木 崇

ユーザーベネフィット

- ◆ 少ない培養実験数で効率的に条件を探索できるため、培養条件最適化に要する時間と開発コストを削減します。
- ◆ 統計解析に深い知識がなくても、簡単な操作で膨大な測定結果から最適なパラメータの抽出および条件値を提案します。
- ◆ 人にはイメージしづらい4次元以上の多成分の一括最適化が可能です。

■はじめに

医薬品の開発・製造における細胞培養では、培養条件の最適化が重要です。しかし、培地組成や培養環境のパラメータの組み合わせは無数で、条件の最適化は熟練者の経験と勘に依存する試行錯誤によって成り立っており、膨大な時間とコストがかかります。本アプリケーションニュースでは、AIを用いた培養最適化を支援するソフトウェア「CellTune」により、少ない培養実験数で効率的に抗体生産濃度を向上させた実例をご紹介します。



CellTuneは島津製作所とエピストラ社の共同研究開発製品です。

■Feed培養条件

市販のFeed培地（当該製品の指定濃度を1×とする）に対して表1に示す12本（6条件×N=2）の培地を調製し、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を培養しました。培養開始3-7日の間で24時間ごとに培養液を採取し、抗体濃度の定量、バイオプロファイルFLEX2（Nova Biomedical社製）による培養環境計測（細胞数、pH、ガス、浸透圧等）およびLC/MS/MSメソッドパッケージ細胞培養プロファイリングVer.3による144成分の培養上清中の代謝物分析を行いました。細胞培養プロファイリングVer.3の詳細は、アプリケーションニュース[No.01-00498A-JP](#)をご覧ください。

表1 Feed培地の条件

フラスコ	市販Feed培地	グルコース	グルタミン
1	1×	10 g/L	市販Feed培地へ終濃度6 mMとなるよう添加
2	1×	10 g/L	
3	1×	17.5 g/L	
4	1×	17.5 g/L	
5	1×	25 g/L	
6	1×	25 g/L	
7	2×	10 g/L	
8	2×	10 g/L	
9	2×	17.5 g/L	
10	2×	17.5 g/L	
11	2×	25 g/L	
12	2×	25 g/L	

■特徴量抽出モジュールによる重要成分抽出

CellTuneは特徴量抽出モジュールとAI自動最適化モジュールの2つの機能モジュールを有するソフトウェアです。特徴量抽出モジュールでは、(1)データセットの結合、(2)データクレンジング、(3)対象データの絞り込み、(4)PLS（部分的最小二乗回帰）と相関解析による2種の統計解析の4ステップで、最適化対象パラメータを抽出します（図1）。本実験では、(1)各培養環境計測データとLC/MS測定データを培養フラスコのIDや培養液のサンプリング時間で紐づけてデータセットを結合しました。その後、(2)欠損値の除去・補完などのデータクレンジングを行い、(3)培養5日目および培養6日目の取得データを解析対象として、(4)それぞれ独立にnaive PLS回帰を実施し、変数の重要度を示すVIP(variable importance for prediction)を計算し、抗体濃度と相関する培養上清成分を抽出しました。両日のデータともVIPが0.8より大きい成分を重要成分としました（表2）。これら(1)から(4)のステップについて、CellTuneでは、必要な解析処理をソフトウェア上で予め連結した解析レシピ（図2）として提供するので、ユーザーは解析レシピの選択と閾値などのパラメータを設定するだけで結果が取得可能です。

表2 抽出された重要成分リスト

Substance name	Vip: day5	Vip: day6
Histidine	1.36354	1.328939
Cystine	1.358055	1.327764
Tryptophan	1.357963	1.316705
Phenylalanine	1.351867	1.341002
Tyrosine	1.351663	1.331608
Methionine	1.350939	1.33506
...
Thymine	0.801899	1.011638

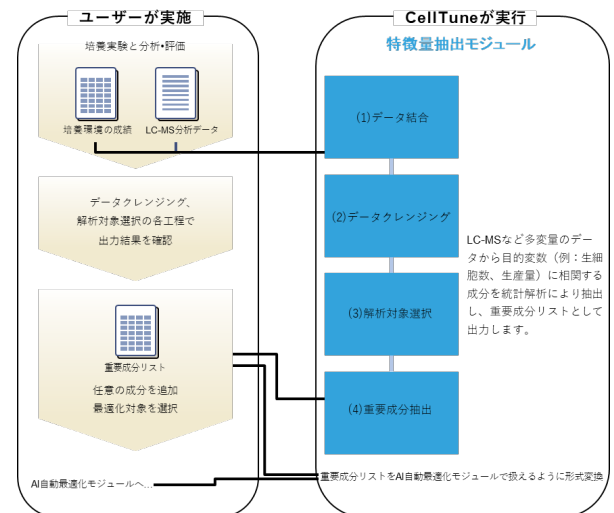


図1 特徴量抽出モジュールのフロー



図2 解析レシピの一例

■ AI自動最適化モジュールによるFeed培地組成の最適化

AI自動最適化モジュールは、最適化対象変数の実験計画を生成する機能を有します。ユーザーは、目的変数を設定し、特徴量抽出モジュールで絞り込んだ重要成分から最適化対象変数を選択（必要に応じて任意に変数を追加）し、所定のフォーマット上で、探索範囲の上下限值設定とコントロール条件を入力します。これをCellTuneにインプットすることで、指定する条件数の実験計画を生成することが可能です。CellTuneを用いることで、人には予測しづらい多次元の一括最適化ができ、しかも小数点以下3桁までの値を提案してくれるため細かく微調整が可能です。

本実験では、特徴量抽出モジュール機能で得られた重要成分上位8成分に加え、Glucose等の任意で加えた計13成分を最適化対象変数とし、抗体濃度と生細胞数を乗じた値を目的変数と設定し、その最大化を目指しました。CellTuneを用いて、コントロール1条件を含む、計12条件の実験計画を生成しました（表3）。この実験計画に従って調製したFeed培地を、培養3日目に添加し、培養6日目に抗体濃度と生細胞数を評価しました。実験計画と目的変数の評価値（成績）を再度CellTuneにインプットし、新たに実験計画を生成しました。実験計画の生成から培養実験の実施・評価までのサイクルを1ラウンドとし、3ラウンドまで繰り返しました。CellTuneでは、実験計画と成績のデータをもとに、ソフトウェア内部で成績の予測モデルを生成し、高成績領域に対して重点的に次回実験計画が生成されるので、効率的に最適条件を探索することが可能です。

CellTuneには最適化結果の可視化機能が含まれています。ヒストリープロット機能では、ラウンドごとに、各フラスコの成績をプロットするとともに、最大値の変化を折れ線グラフで表示します。これにより全培養実験の成績を一覧することが可能です。本実験では3ラウンド目まで右肩上がりに抗体濃度が向上し、コントロール条件と比較して約40%の向上が見られました（図3）。また、CellTuneのサマリープロット機能を用いて得られた結果を図4に示します。各最適化対象成分（説明変数、緑Bar）と成績（目的変数、オレンジBar）は、ラウンドが進むごとに各成分における条件間のばらつき（緑Barのばらつき）が減り、培養成績（オレンジBar）が全体的に上がっていることから、最適化が収束していることが把握できます。本実験では、3ラウンドの実験で最適化が飽和し、Feed培地の組成最適化が達成できたことが示唆されました。このように、サマリープロットを確認することで、最適化の進捗を視覚的に把握することが可能です。

表3 生成された実験計画例

ID	Glutamic acid	Aspartic acid	Glutamine	...	Cystine	Control?	note
category							
lower	0.5	12.8	32	...	9		
upper	1.35	24.96	54.4	...	14.37		
Control	0.5	12.8	32	...	9	TRUE	
Flask2	1.15	24.32	54.4	...	9.895		
Flask3	1	22.4	38.4	...	14.37		
...		
Flask12	0.9	23.68	44.8	...	9		

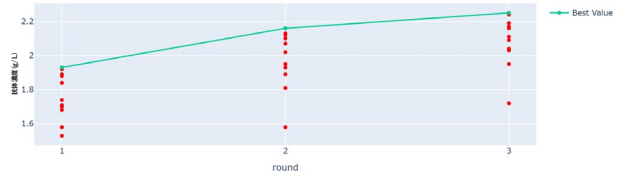


図3 ヒストリープロット

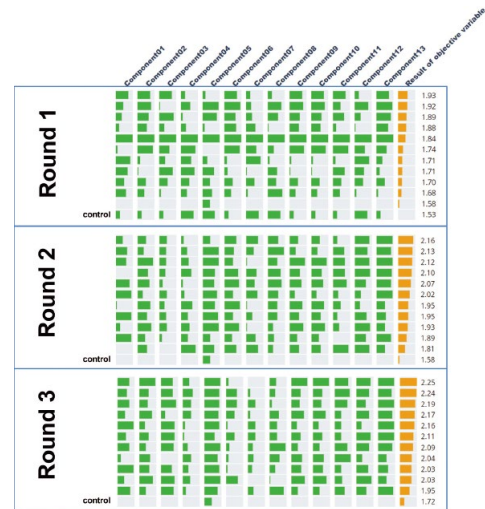


図4 サマリープロット

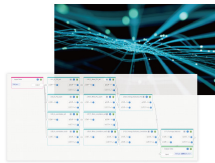
■ まとめ

CellTuneの特徴量抽出モジュールを用いることで簡単な操作で膨大な測定データから抗体濃度の向上に寄与する13種の最適化対象成分を特定しました。また、AI自動最適化モジュールによって、各ラウンド12条件の実験計画を生成し、3ラウンドの最適化実験で抗体濃度をコントロール条件に対して約40%向上させることができました。

CellTuneを用いることで少ない培養実験数で効率的に条件を探索できるため、培養条件最適化に要する時間と開発コストの削減に貢献します。

› アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



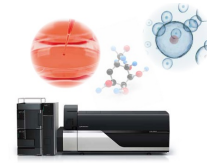
› CellTune

培養最適化支援ソフトウェア



› LCMS-TQ RX シリーズ

トリプル四重極質量分析計



› LC/MS/MSメソッド
パッケージ 細胞培養プロ
ファイリング

関連分野

› 医薬・バイオ医薬品

› バイオ医薬品

› ライフサイエンス

› 細胞解析

› 細胞培養 - 医薬品

› 価格お問い合わせ

› 製品お問い合わせ

› 技術お問い合わせ

› その他お問い合わせ