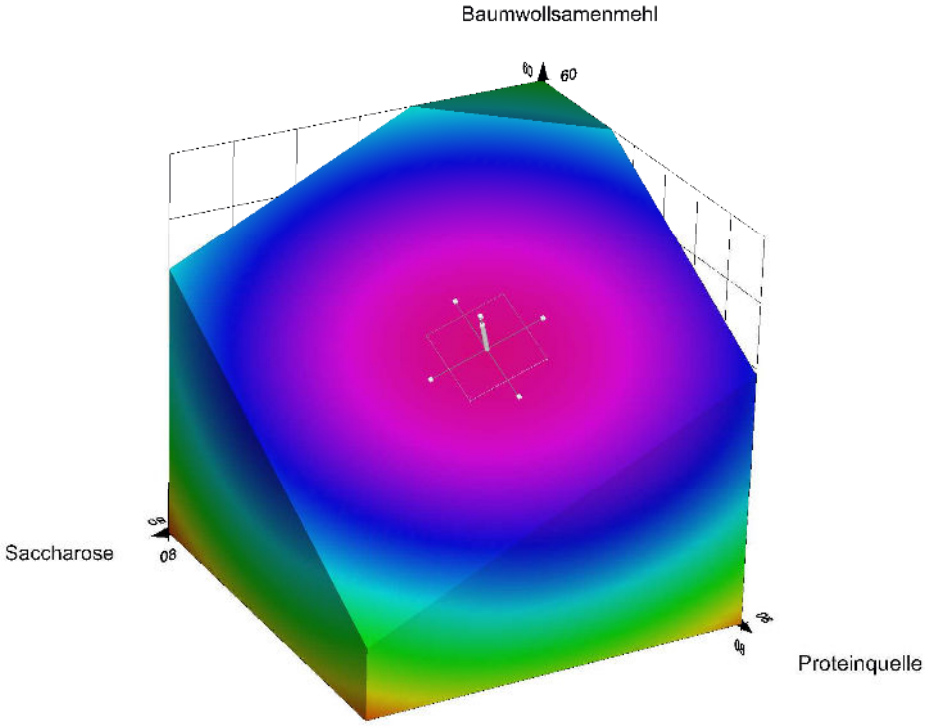
Statistisch optimierter Gourmet-Mix

Bei der Optimierung eines Prozesses soll nichts dem Zufall überlassen werden, auch nicht die Planung der Laborversuche. Dank der Umsetzung dieser Idee kann die Ausbeute eines biosynthetischen Prozesses mit wenig Aufwand verdreifacht werden.

Dr. Nikolaus Haselgruber,
Dr. Philippe Solot,
AICOS Technologies AG

Bei Biosynthesen stehen Biotechnologen häufig vor der Aufgabe, die Zusammensetzung des Trägermediums zu optimieren. Wurden einige versprechende Substanzen bereits ausgewählt, stellt sich die Frage der Mischverhältnisse. In einer solchen Situation werden oft Experimente durchgeführt, bei denen von einem zum nächsten Versuch nur jeweils ein Einflussfaktor variiert wird. Der Hauptnachteil dieser Vorgehensweise liegt auf der Hand: unter Umständen werden die Versuche im Raum aller möglichen Experimente ungünstig positioniert, sodass keine wirklich gute Konfiguration gefunden wird.



Der 4D-Höhenlinienplot stellt den Titer (in mg) in Abhängigkeit von den Konzentrationen an Saccharose (x-Achse), Proteinquelle (y-Achse) und Baumwollsamenmehl (z-Achse) dar. Die Skala geht von rot (niedrig) bis violett (hoch).

Viel Information, wenige Versuche

Das Ziel, ein Maximum an Information aus einem Minimum an Versuchen zu erhalten, kann mit statistischer Versuchsplanung erreicht werden. Die nötigen Experimente resultieren dann aus den Spezifikationen der zu optimierenden Zielgrössen und der sie beeinflussenden Faktoren. In folgender Fallstudie zur Optimierung eines Biosyntheseprozesses soll der Titer des produzierten Metaboliten durch Variation der Medienkomponenten maximiert werden. Dieses Medium besteht aus folgenden Substanzen, deren Konzentrationen jeweils in gewissem Umfang variiert werden können: Saccharose von 20 bis 50 g/l, Proteinquelle von 10 bis 50 g/l, Baumwollsamenmehl von 0 bis 20 g/l, Kalziumkarbonat von 0 bis 5 g/l, Hefeextrakt von 0 bis 10 g/l. Bereits bei diesen fünf Einflussgrössen ist die Situation nur bedingt überschaubar. Der Einsatz eines Softwarepakets, das den Benutzer durch die verschiedenen Schritte der Versuchsplanung sicher zum Ziel führt, erweist sich deshalb als sehr hilfreich.

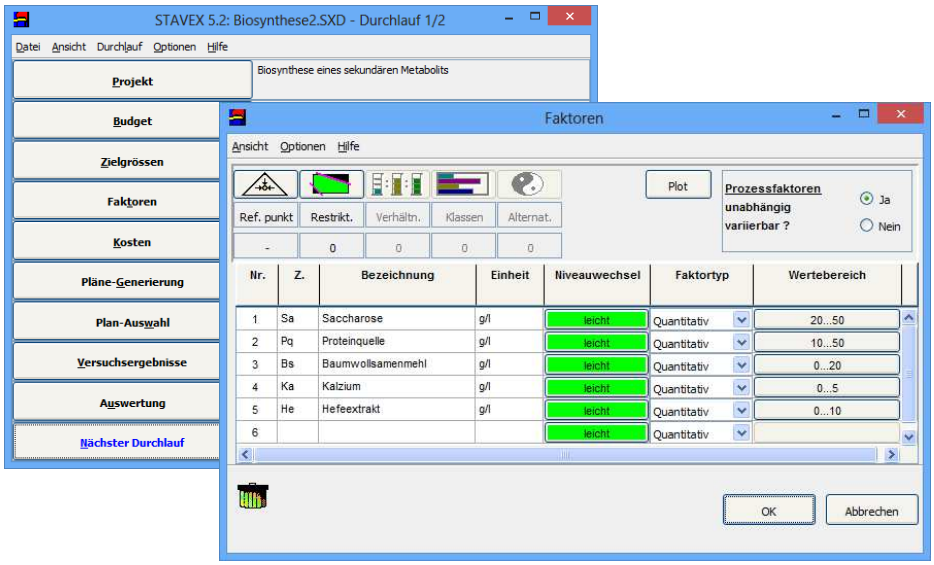
Im Allgemeinen wird der Versuchsplanungsprozess in drei Phasen unterteilt: Screening, Modellierung und Optimierung. In der ersten Phase liegen viele potenzielle Einflussfaktoren vor, deren echte Wirkung meist unbekannt ist. Daher werden die einflussreichsten Faktoren ermittelt und die wahrscheinlich unwichtigen Faktoren ausgeschieden. Es folgt die Modellierungsphase, in der man die zuvor als wichtig erachteten Faktoren näher untersucht und die Anzahl der wahren Einflussgrössen weiter reduziert. In der abschliessenden Optimierung wird versucht, den Zusammenhang der wirklich relevanten Faktoren mit den Zielgrössen möglichst genau abzubilden.

Die vorliegende Versuchsanordnung erlaubt dem Benutzer, in die Optimierungsphase einzusteigen, da lediglich fünf mögliche Einflussgrössen vorhanden sind. Die Wertebereiche der Faktoren und die Eigenschaften der Zielgrösse sind nun in STAVEX einzutragen, seitens des Programms werden dann verschiedene Versuchspläne vorgeschlagen. Diese werden so generiert, dass durch eine möglichst geringe Anzahl an Versuchen ein Maximum an Information aus deren Ergebnissen geholt werden kann. Der Benutzer kann auch angebotene Pläne verändern oder selbständig Pläne definieren und die Software dann nur zur Analyse nutzen.

Nach Auswahl eines sogenannten Ecken-Zentroid-Plans müssen hier 26 Experimente durchgeführt und der jeweils gemessene Titer in die Software eingegeben werden.

Die Analyse zeigt eine gute Modellanpassung. Der Titer des Metaboliten wird bei folgender Konstellation maximal: Saccharose: 50 g/l, Proteinquelle: 50 g/l, Baumwollsamenmehl: 20 g/l, Kalziumkarbonat: 0 g/l und Hefeextrakt: 0 g/l. Die ersten drei Faktoren liegen an der Obergrenze ihres Wertebereichs, die letzten beiden an der Untergrenze, bei 0. Der Optimierungsschritt kann nun unter besserer Kenntnis der Situation wiederholt werden. Die beiden Faktoren Kalziumkarbonat und Hefeextrakt werden jetzt weggelassen. Ausserdem wird der Wertebereich adaptiert, indem man die Obergrenzen für die verbleibenden Faktoren Saccharose (von 50 auf 80 g/l), Proteinquelle (von 50 auf 80 g/l) und Baumwollsamenmehl (von 20 auf 60 g/l) erhöht.

Die Software schlägt dem Benutzer jetzt einen Box-Behnken-Plan mit 13 Runs vor. Diese werden durchgeführt, protokolliert und erneut analysiert. Um eine einfache Interpretation der Ergebnisse zu ermöglichen, bietet STAVEX eine breite Palette an Grafiken.



Die benutzerfreundliche Oberfläche von STAVEX ermöglicht eine einfache Definition und Behandlung der meisten praktischen Situationen.

Die neuerliche Analyse ergibt eine bessere Modellanpassung, auch der Punkt des Optimums liegt jetzt innerhalb des analysierten Wertebereichs (Saccharose: 48.53 g/l, Proteinquelle: 51.32 g/l, Baumwollsamenmehl: 38.38 g/l). Der Titer des Metaboliten beträgt 195.5 mg/l und der 90%-Konfidenzbereich dieses Gehalts (in mg/l) ist [176.6; 214.5].
Da ein statistisches Modell die Realität nur vereinfacht abbilden kann, ist es notwendig, die Anpassung bzw. die Modellgüte zu untersuchen. Auch in dieser Hinsicht wird ein sehr gutes Ergebnis erreicht (R^2_C=0.97).

Nur 40 Versuche für eine dreifache Ausbeute

Zusätzlich wird empfohlen, einen Bestätigungsversuch mit der optimalen Parametereinstellung (Saccharose: 48.53 g/l, Proteinquelle: 51.32 g/l, Baumwollsamenmehl: 38.38 g/l) durchzuführen. Der Titer aus diesem Versuch beträgt 205 g/l, was die Güte des Modells unterstreicht. Insgesamt werden also nur 40 Versuche benötigt, um den Titer aus den allerersten Versuchen, nämlich 60 mg/l, zu verdreifachen.

Statistische Versuchsplanung

STAVEX wird von über 200 Unternehmen, vorwiegend in der pharmazeutischen, biotechnologischen und chemischen Industrie, sowie von Universitäten und Forschungsinstituten eingesetzt. Die Software ist für die Optimierung von Produktionsprozessen und Formulierungen gleichermassen geeignet und erweist sich für die Bestimmung vom *Design Space* im Zusammenhang von Quality by Design als sehr hilfreich.

STAVEX ist zum Beispiel im Rahmen folgender Projekte eingesetzt worden:

- Optimierung der Zusammensetzung von Zellkulturmedien in der Biotechnologie
- Parameteroptimierung während des Scale-ups von Syntheseprozessen (sowohl für Chemikalien als auch für Pharmawirkstoffe)
- Analyse der Auflösungsgeschwindigkeit von Retard-Präparaten
- Optimierung von Tablettenformulierungen
- Thermoversiegelung von Blister-Packungen für Tabletten
- Optimierung von Lackformulierungen unter komplexen Nebenbedingungen
- Optimierung von Keramikmischungen
- Optimierung von Additivmischungen zur Verbesserung der Eigenschaften von Sprühbeton.

Sind Sie interessiert? Faxen Sie diese Seite an: +41 61 686 98 88!

Ich möchte mehr Information erhalten über:

❑ STAVEX
❑ Schulungen in statistischer Versuchsplanung
❑ Schulungen und Beratung in Datenanalyse
❑ Beratung in Prozessoptimierung
❑ Lösungen für die Produktionslogistik

Name _____ Telefon _____

Firma _____ Fax _____

Adresse _____ E-mail _____

PLZ, Stadt _____ Datum, Unterschrift _____

AICOS Technologies AG Tel.: +41 61 686 98 77 Fax: +41 61 686 98 88 E-mail: info@aicos.com Web: www.aicos.com