

バイオ医薬品における 生細胞密度測定的重要性

FM10396-A

生細胞密度 (IVCD) または濃度 (IVCC) の積分値 (曲線の下の面積) は、細胞培養の操作において重要な計算基準です。IVCC は、工数の計算と同様に特定の時間枠内での動的な生細胞濃度の有効作業時間を定量化します。特定の培養時間枠に対して計算された IVCC を生成物の力価と組み合わせて、プロセスの指定された時間枠内の培養生産性の傾向を評価したり、プロセスの細胞固有の栄養素要件に基づいて栄養素消費プロファイルを推定するために使用したりできます。

流加プロセスでは、IVCC 用語は培養の進行を特徴付けるだけでなく、ボラス飼料の添加に関するプロセスのアクションを決定するために非常に重要になります^{*1}。具体的には、IVCC の計算された変化を用いて、培養中の栄養プロファイルの変化を直接評価し、その後、特定の濃度設定値に戻すために必要なボラス添加の濃度と量を決定できます。

IVCC の計算方法

通常、IVCC の数値近似は 2 つのオフライン VCD データポイント間の台形近似を使用して決定されます (図 1)。培養上での台形計算の精度と現実的な表現は、サンプル間の培養増殖の直線性と測定頻度に大きく依存します。オフラインサンプル間の大きなギャップ、細胞増殖に固有の非線形性、オフラインサンプリング技術に存在する測定誤差はすべて、オフライン VCD に基づく IVCC 計算が提供できる予測能力の限界に寄与しています^{*2}。

IVCC 計算の精度と有用性は、定期的なオフラインサンプリングをインライン誘電率測定による生細胞濃度の連続測定に置き換えることによって大幅に向上できます。特に、連続的な誘電率由来の VCD 測定を利用して、台形計算に入力されるデータの分解能と量を向上させ、堅牢な IVCC 計算を実現できます。さらに、オフライン個別サンプリングから連続インライン測定への移行により、オフラインサンプリングだけでは不可能な自動計算およびプロセス制御計画の開発が可能になります。

改善された制御機能の利点は、プロセス改善のための修正された計画を評価したり、複製バッチ間の一貫性を改善したりするときにより明らかになります。

オンラインで計算された IVCC メトリクスの使用

これまで、誘電率由来の IVCC 計算は流加プロセスにおける予測制御スキームとフィードバック制御スキームの両方で使用されてきました。

たとえば、あるフィードバック制御研究では、誘電率計算による IVCC 計算を使用して、24 時間の固定給餌スケジュールでの各ボラス添加で追加する栄養素の量を決定し、プロセスのパフォーマンスプロファ

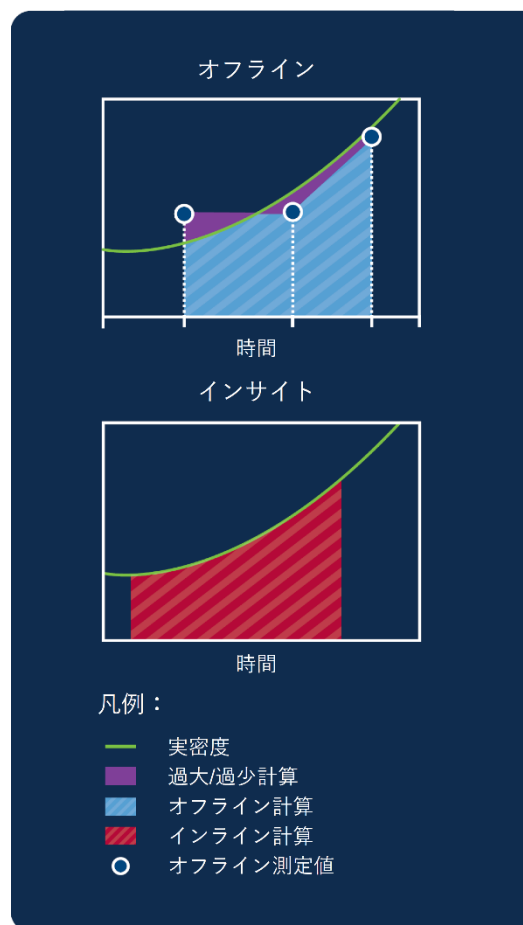


図 1 オフライン台形計算と誘電率計算の比較

イルをオフラインで計算された IVCC と比較しました (図 2)。運転の間、同様の総供給量とプロセス力価が達成され、手作業やサンプリング作業を必要とせずに、確立された過去の方法論に対して誘電率で計算されたポーラス添加が同等であることが実証されました*2。

誘電率由来の IVCC 計算は、オフライン VCD 計算よりも一貫性があり、エラーが発生しにくいことも示されており、手作業の削減と自動制御の向上に加えて、より信頼性の高い信号が提供されます。さらに、インラインでの誘電率計算により、プロセスの自動制御が可能になります*3。

同じ自動化された誘電率計算された IVCC 値を利用した追跡調査では、自動化により同じプロセス内での供給頻度を 24 時間から 4 時間に変更できることがわかりました。より頻繁な給餌スケジュールへの変更により、所定のポーラス添加でより少ない量の栄養素を実装することができるようになりました。オフライン VCD に基づく IVCC 計算では、オフラインサンプル間の大きな時間差、細胞増殖の固有の非線形性、および測定自体の誤差により、予測能力が制限される可能性があります。その結果、過去のプロセスベンチマークと比較して、修正された計画により力価生成の顕著な増加 (最大 20%) が得られました*3。

別の研究では、予測給餌制御をインライン誘電率信号と共に使用して、IVCC を使用して培養物の増殖速度を計算し、次の飼料添加のための将来の栄養給餌要件を予測しました。誘電率から得た計算と 4 時間の供給頻度を利用した自動動的供給システムの実装では、当初、72 時間の固定ポーラス計画と比較して、歩留まりの大幅な改善が示されませんでした。

ただし、変更されたフィード頻度を IVCC 培養促進による培地最適化と組み合わせると、ベースラインプラットフォームプロセスと比較して力価が約 50%、フィード頻度を変更しない最適な給餌と比較して約 20%増加しました*4。

動的な供給計画を確立することも、効果的な培地最適化の手がかりになり、成長率供給計画により、培地再配合の反復ごとに特定の投与量と頻度の計画を開発する必要がなくなります。

バイオ医薬品の運用において PAT と自動化の役割が大きくなるにつれて、プロセス制御のための継続的なインライン方法論がより重要になります。インライン誘電率は、実行全体を通じてバイオマスの増殖を測定するための堅牢で複雑さの少ないツールを提供し、重要な培養変数を決定するために使用されるパラメーターの計算においてオフラインのサンプリングと測定を置き換えることができます。

対象製品：生細胞密度センサー インサイトアーク (Incyte Arc)

本書に記載された情報は作成時点のもので、内容は予告なしで変更することがありますので予めご了承ください。

2023 年 12 月 作成

お問い合わせ先

MAIL : toiawase@tactec.co.jp

TEL : 03-3871-1750

ハミルトン担当窓口まで

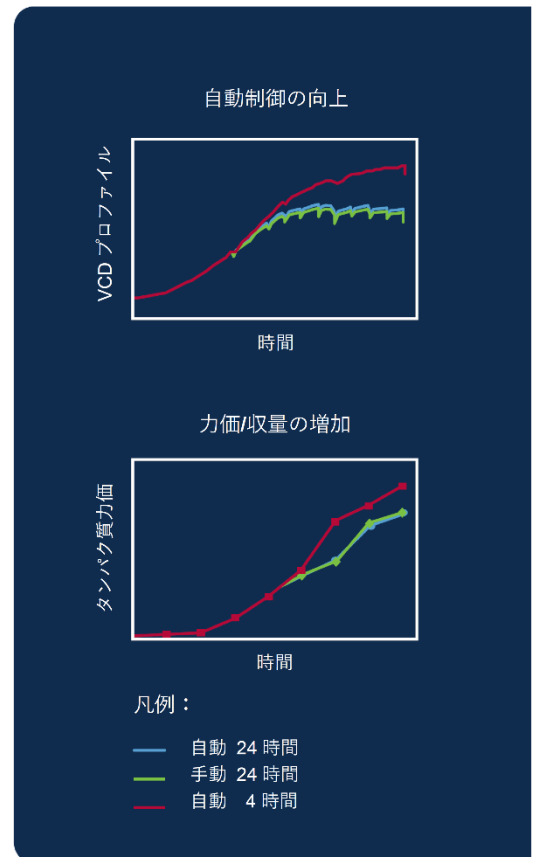


図 2 誘電率制御の利点。この図には、一貫性の向上 (より正確な計算)、自動化制御の改善 (24~4 時間)、および力価収率の改善 (動的制御) が含まれています。

1. Pan, X.; Streefland, M.; Dalm, C.; Wijffels, R. H.; Martens, D. E. Selection of Chemically Defined Media for CHO Cell Fed-Batch Culture Processes. *Cytotechnology* 2017, 69 (1), 39–56. <https://doi.org/10.1007/s10616-016-0036-5>.
2. Zhang, A.; Tsang, V. L.; Moore, B.; Shen, V.; Huang, Y.-M.; Kshirsagar, R.; Ryll, T. Advanced Process Monitoring and Feedback Control to Enhance Cell Culture Process Production and Robustness: Advanced Process Monitoring and Feedback Control. *Biotechnol. Bioeng.* 2015, 112 (12), 2495–2504. <https://doi.org/10.1002/bit.25684>.
3. Moore, B.; Sanford, R.; Zhang, A. Case Study: The Characterization and Implementation of Dielectric Spectroscopy (Biocapacitance) for Process Control in a Commercial GMP CHO Manufacturing Process. *Biotechnol. Bioeng.* 2019, 35 (3), e2782. <https://doi.org/10.1002/btpr.2782>.
4. Lu, F.; Toh, P. C.; Burnett, I.; Li, F.; Hudson, T.; Amanullah, A.; Li, J. Automated Dynamic Fed-Batch Process and Media Optimization for High Productivity Cell Culture Process Development. *Biotechnol. Bioeng.* 2013, 110 (1), 191–205. <https://doi.org/10.1002/bit.24602>.

Hamilton プロセスセンサー 日本国正規代理店

株式会社ティ・アンド・シー・テクニカル

本社：〒110-0003 東京都台東区根岸 1-2-17
ホームページ：<https://www.tactec.co.jp>