

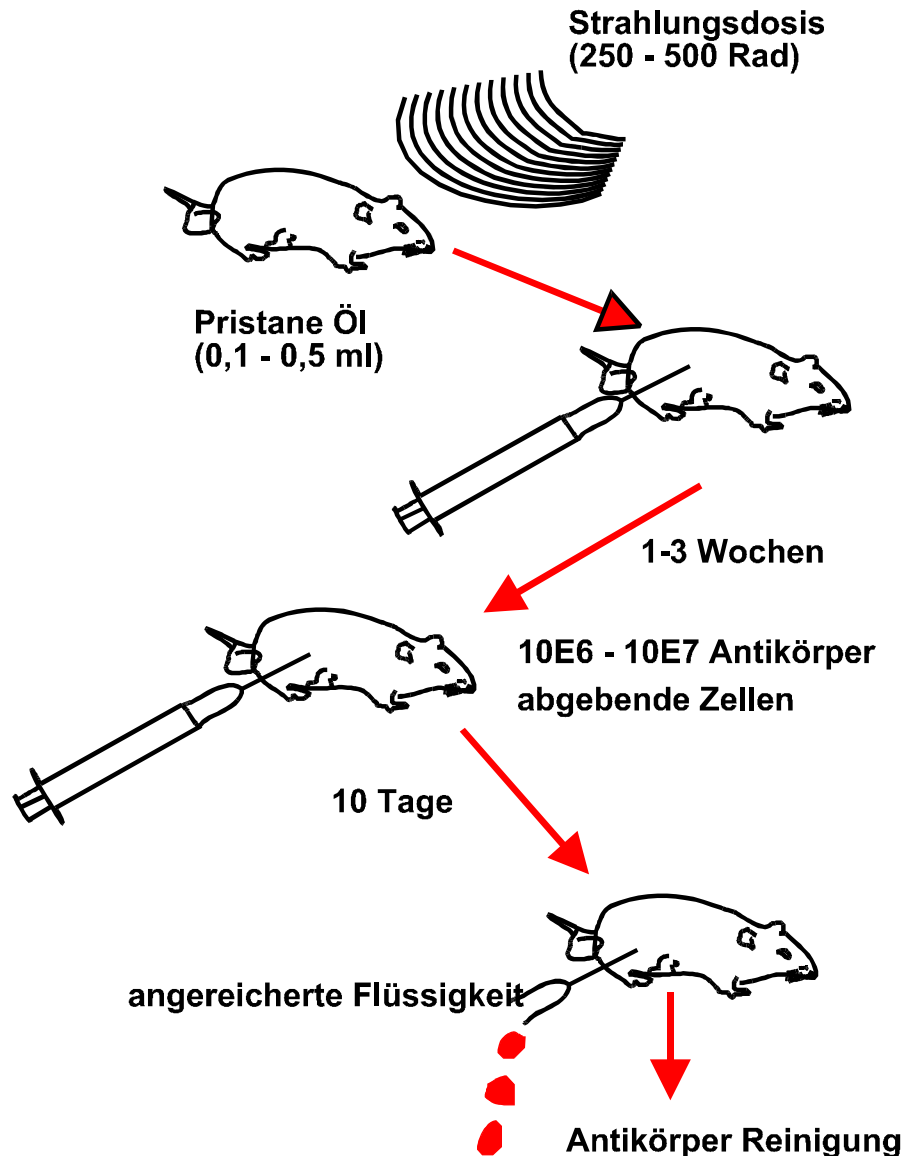
# DoE: Prozessoptimierung in drei Schritten

---

Am Beispiel der Optimierung der in vivo Produktion von Antikörpern

*nach: Adrion, Siebert, Weck, Yen und Manson (1984)\**

# Prozessbeschreibung



**Problem:**  
2 Jahre Forschung konnten die Ausbeute von ca. 300 Titrier-Einheiten nicht mehr verbessern.

# Identifizierte Prozessvariablen

---

- Strahlungsmenge
- Zeitdauer
- Menge Öl (1. Gabe)
- Anzahl Antikörper produzierender Zelle
- Wachstumsstadium der Antikörper produzierenden Zellen
- 2. Ölgabe (ja oder nein?)

= 6 Einflussgrößen

Zielgröße: Ausbeute an Antikörpern

# 1. Schritt: Screeningexperiment

---

- Ziele:
  - bestimmt, welche der vielen Prozessvariablen Einfluss auf die Güte des Prozesses haben
  - bestimmt, wie die wichtigen Variablen einzustellen sind, um die Güte des Prozesses zu verbessern
- Methoden:
  - mehrfaktorielle Versuche
  - kleine, effiziente Versuchspläne
  - leistungsfähige, graphische Methoden der Datenanalyse

# 1. Schritt: Screeningexperiment – Plan

Faktorname	Einheit	Low	High	Skala
RadDosis	rads	250	500	numerisch
Zeit	Wochen	1	3	numerisch
Oelmenge	ml	0.1	0.3	numerisch
Zellzahl	Anzahl	10e6	10e7	numerisch
Wachstum		Log	Stat	Kategorie
Oel2		nein	ja	Kategorie

## Zielgroesse

TtrVol	numerisch
--------	-----------

**Welcher Plan? →  $2^{6-2}$  (Typ 4, 16 runs)**

# 1. Schritt: Screeningexperiment – Ergebnis

Ver- suchs- numm er	RadDo sis (rad)	Zeit1 Wochen	Menge (ml)	Anzahl	Wachs tum	Öl2	TtrVol
1	250	1	0.1	10E6	Log	Nein	70
2	250	1	0.1	10E7	Sat	Nein	150
3	250	1	0.5	10E6	Sat	Ja	34
4	250	1	0.5	10E7	Log	Ja	32
5	250	3	0.1	10E6	Sat	Ja	138
6	250	3	0.1	10E7	Log	Ja	56
7	250	3	0.5	10E6	Log	Nein	123
8	250	3	0.5	10E7	Sat	Nein	225
9	500	1	0.1	10E6	Log	Ja	50
10	500	1	0.1	10E7	Sat	Ja	2,7
11	500	1	0.5	10E6	Sat	Nein	1,2
12	500	1	0.5	10E7	Log	Nein	12
13	500	3	0.1	10E6	Sat	Nein	90
14	500	3	0.1	10E7	Log	Nein	2,1
15	500	3	0.5	10E6	Log	Ja	4
16	500	3	0.5	10E7	Sat	Ja	15

 Uncool?

# 1. Schritt: Screeningexperiment – Ergebnis

---

- Wichtige Faktoren:
  - *RadDosis*: niedrige Dosis ist am besten
  - *Oel2*: weglassen
  - *Wachstum*: Stadium „Stat“ ist besser
  - *Zeit*: 3 Wochen sind besser als eine Woche
- Unwichtige Faktoren:
  - *Zellzahl*: billiger, wenn bei  $10e6$
  - *Oelmenge*: billiger bei 0,1 ml

# 1. Schritt: Schlussfolgerung

---

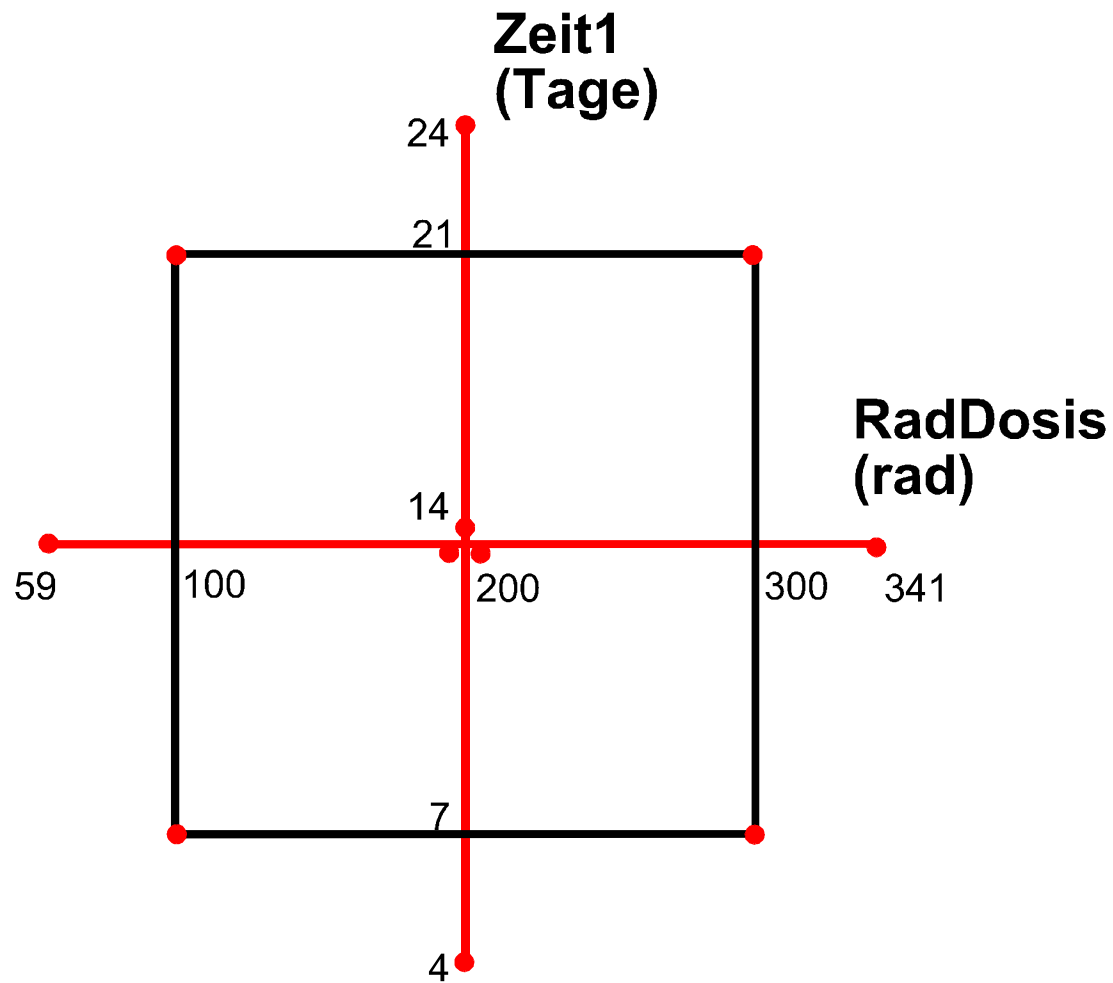
- Die Resultate des ersten Versuches waren sehr ermutigend!
- Zwei wichtige Faktoren werden im nächsten Experiment untersucht
- Zwei wichtige qualitative Faktoren werden auf die besten Werte eingestellt
- Zwei unwichtige Faktoren werden auf die ökonomischsten Werte eingestellt
- Problemreduktion:  $6 \implies 2$  Faktoren
- Die Optimierung kann beginnen.

## 2. Schritt: Optimierungsexperiment

---

- Ziele:
  - Aufstellen eines mathematischen Modells zur Vorhersage der Güte des Prozesses
  - Finden der optimalen Prozessgüte
  - Festlegen der besten Einstellungen der wichtigen Faktoren
- Methoden:
  - Raumfüllendes Design
  - Wirkungsflächen (Response Surface)
  - Numerische Optimierung
  - Höhenlinien (Contour Plots)


## 2. Schritt: Optimierung – Design



**Welcher Plan? → CCD mit 3 x Center**

## 2. Schritt: Optimierung – Ergebnis

---

<b>Experi- mentnr.</b>	<b>RadDosis (rad)</b>	<b>Zeit1 (Tage)</b>	<b>TtrVol</b>	
1	100	7	207	
2	100	21	257	
3	300	7	306	
4	300	21	570	
5	200	4	315	
6	200	24	154	
7	59	14	100	
8	341	14	513	
9	200	14	630	
10	200	14	528	Cool?
11	200	14	609	

## 2. Schritt – Optimierung – Wirkungsfläche

Design-Expert® Software

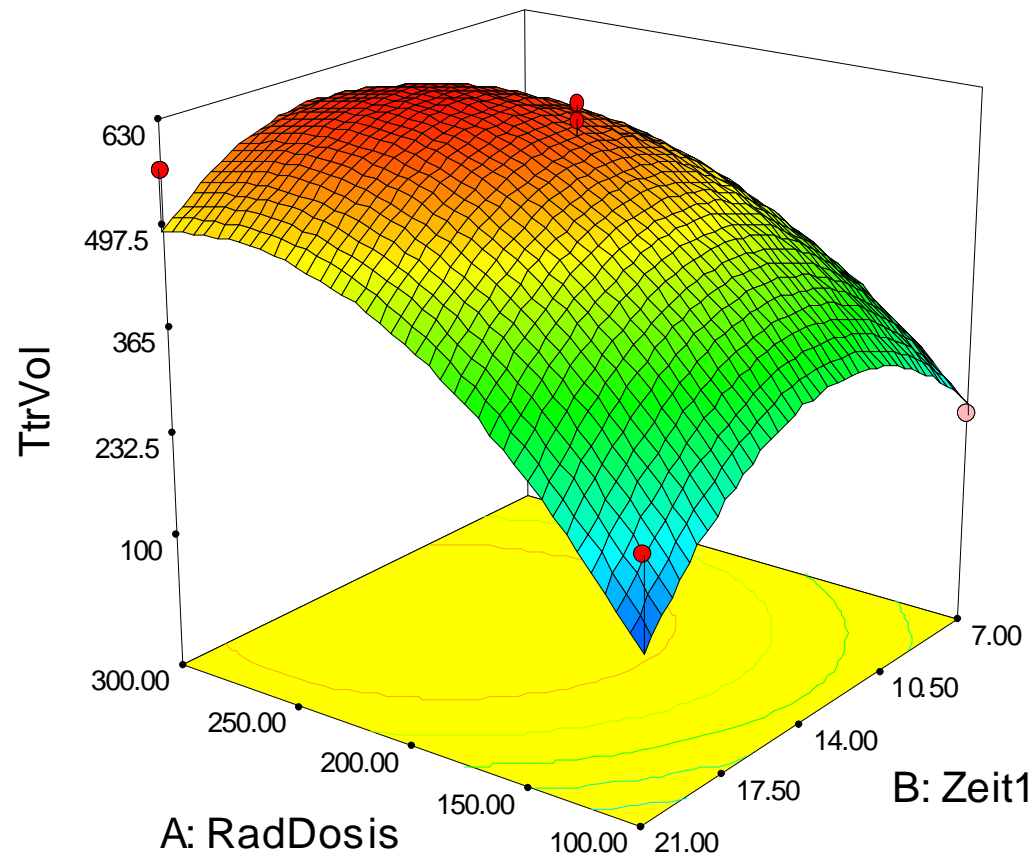
TtrVol

630

100

X1 = A: RadDosis

X2 = B: Zeit1



## 2. Schritt – Optimierung – math. Modell

---

- vorhergesagter Wert =  $-608,0 + 5,24 \cdot \text{RadDosis} + 77,0 \cdot \text{Zeit} - 0,0127 \cdot \text{RadDosis}^2 - 3,24 \cdot \text{Zeit}^2 + 0,0764 \cdot \text{RadDosis} \cdot \text{Zeit}$
- Ergebnis der numerischen Optimierung:
  - Die maximale Ausbeute ist 622 Einheiten
  - Bei 

RadDosis	=	252 rad
Zeit	=	14,8 Tage

## 2. Schritt – Optimierung – Contour plot

Design-Expert® Software

TtrVol

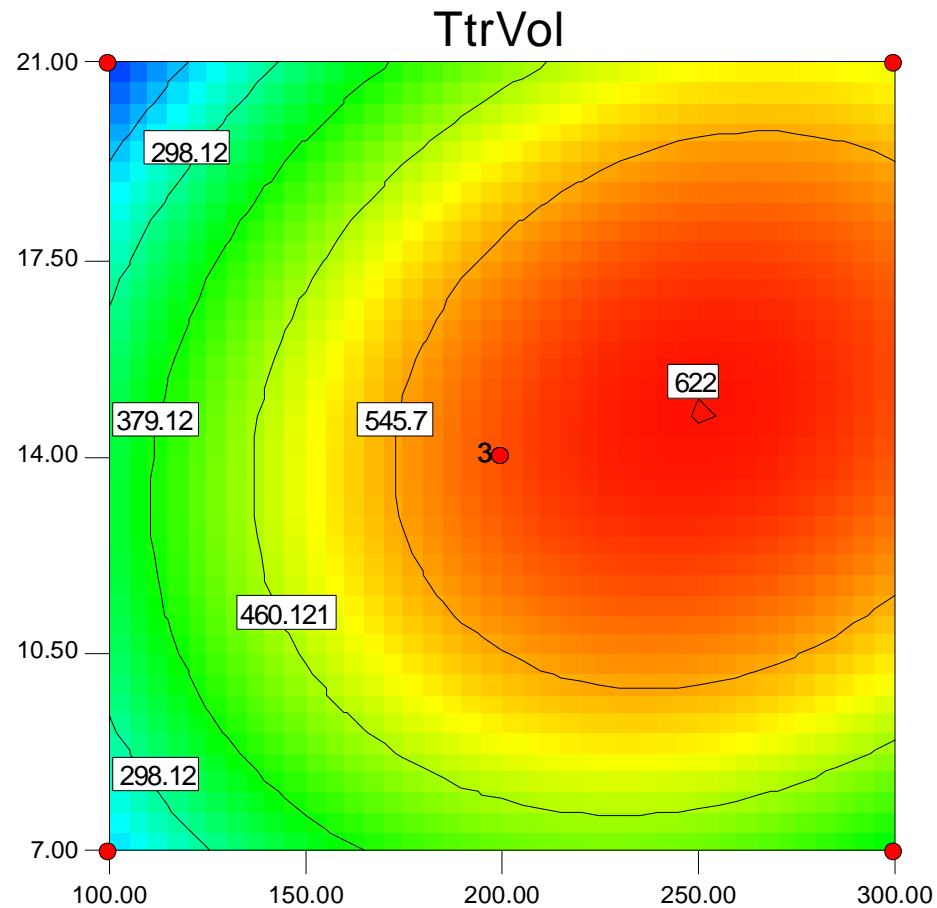
● Design Points

630

100

X1 = A: RadDosis

X2 = B: Zeit1



X1: A: RadDosis  
X2: B: Zeit1

## 3. Schritt: Kontrolleexperiment

---

- Resultat der Verifikation unter Produktionsbedingungen
- im Mittel 22 mg monoklonaler Antikörper pro Tier
- = 602 Titrier-Einheiten (TtrVol)
- vorhergesagter Wert war 622 Einheiten
- Eine 100%ige Ausbeutesteigerung wurde erreicht.

wirklich Cool!

# Zusammenfassung

---

- Eine Reihe kleiner, sorgfältig geplanter Versuche wurde zur Lösung eines komplexen biologischen Problems benutzt.
- Das Design des zweiten Versuches baut auf das im ersten Versuch gelernte auf.
- Screening Phase
  - 6 Faktoren
  - 16 Experimente
- Optimierungs Phase
  - 2 Faktoren
  - 11 Experimente

## \*Original Quelle

---

Adrion, R. F., G. R. Siebert, C. J. Weck, D. Yen and A. R. Manson (1984):  
Optimization of *in vivo* monoclonal antibody production using computer-  
assisted experimental design.  
*Proceedings of the First Carolina Biomedical Engineering Conference*,  
North Carolina Biotechnology Center, P.O. Box 12235, Research  
Triangle Park, NC 27709, 124 – 144.

Veröffentlicht auch in:

Haaland, Perry D. (1989): *Experimental Design in Biotechnology*.  
Marcel Dekker, Inc., New York and Basel.