

culture media design by DoE

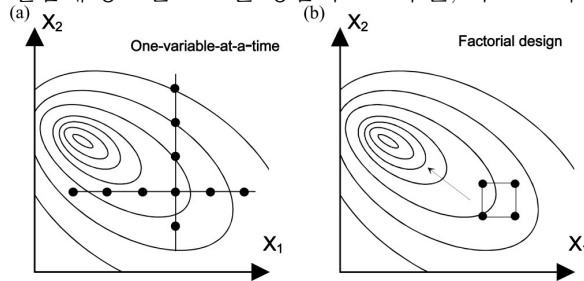
lichen

January 3, 2022

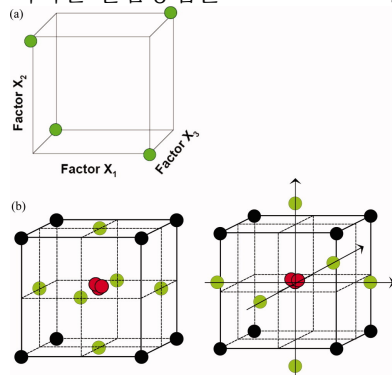
1 Bioprocess Optimization Using Design-of-Experiments Methodology[2]

1.1 in vitro experiment process

실험에 중요한 요소를 경험적으로 추론, 각 요소의 범위를 결정.



한번에 한 요소를 바꾸는 실험의 경우 실험 결과가 최적에 도달하기 까지 많은 시행 필요하기 때문에 여러 요소의 조합을 중복없이 시험하여 모델을 설정하고 검증함. 이러한 실험방법을 Factorial Design이라고 함.



2 수준 실험에선는 가능한 모든 경우의 수를 시험해 볼 수도 있지만, 요소의 수가 많아지면 그 중 일부만 실험하게 됨. 다변수 실험의 경우 한 중앙값을 잡아 반복 실험을 진행함. 또한 실험 진행에서 오류를 막기 위해 실험 순서를 무작위로 배열 → 일반적인 소프트웨어는 실험에 사용하는 요소와 상관관계를 입력하면 실험에 사용할 요소의 조합과 수준, 반복 횟수를 제시함.

1.2 experimental data explain

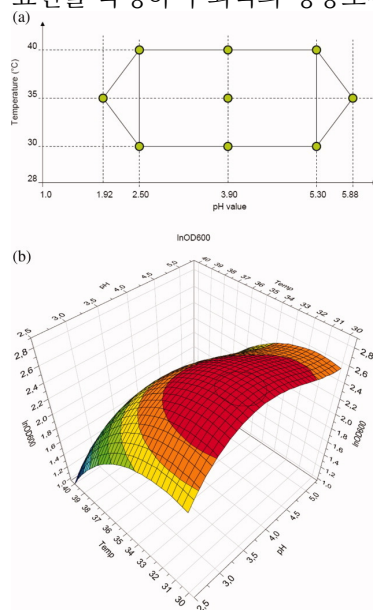
소프트웨어(Matlab, SPSS, MiniTab, JMP, python, R등)를 통해 목표로 하는 값 (세포 성장 속도, 대사 작용 등)을 분석

1.3 data procssing

MLR, Multiple Linear Regression, PLS, Partial Least Squares 사용, 모델의 적합성과 예측 가능성을 R^2, Q^2 지표로 계산 DoE를 통한 FD를 진행하면 모델의 최적 값뿐만 아니라 모델의 안정성을 확인 할 수 있음 (Taguchi method)

1.4 results

FD를 *Pachysolen tannophilus*의 성장을 최적화하기 위해 적용하여 2개의 요소 (온도,PH) 수준에 따라 실험을 19번(9개 조건에서 두 번 반복하여)진행하고 반응 표면을 작성하여 최적의 성장조건을 탐색함.



2 Evaluation and optimization of hepatocyte culture media factors by design of experiments (DoE) methodology[1]

human hepatoma cell line, C3A을 위한 배지 최적화

목표 : hepatoma cell의 대사 작용에 대해 배지를 최적화 하는 것

→ HGF, OSM, FGF4, EGF, albumin, nicotin- amide, dexamethasone의 요소가 Urea, Lac, LDH 반응에 미치는 영향 조사

2.1 in vitro experiment process

- Cell materials and culture procedures
- Analytical methods : enzymatic test kits 사용하여 6일에 걸쳐 2일 마다 대사 물질 수준 측정

Modde 사용하여 **two-level factiorial design** 실험 설계, 7개 요소에 대해 3개의 수준씩 실험진행

Exp.no	HSA	HGF	OSM	DexM	FGF4	EGF	NicA	Urea	Lac	LDH
1	0	0	0	7.4	50	100	10	6.3	133.0	35.0
2	6	0	0	0.0	0	100	100	9.0	135.0	147.0
3	0	50	0	0.0	50	0	100	7.6	110.0	22.3
4	6	50	0	7.4	0	0	10	6.3	149.0	23.0
5	0	0	50	7.4	0	0	100	8.0	132.0	8.0
6	6	0	50	0.0	50	0	10	9.6	143.0	27.6
7	0	50	50	0.0	0	100	10	8.0	137.0	27.0
8	6	50	50	7.4	50	100	100	6.3	87.0	25.7
9	3	25	25	3.7	25	50	55	6.7	147.0	24.7
10	3	25	25	3.7	25	50	55	8.0	149.0	22.7
11	3	25	25	3.7	25	50	55	8.3	139.0	30.0

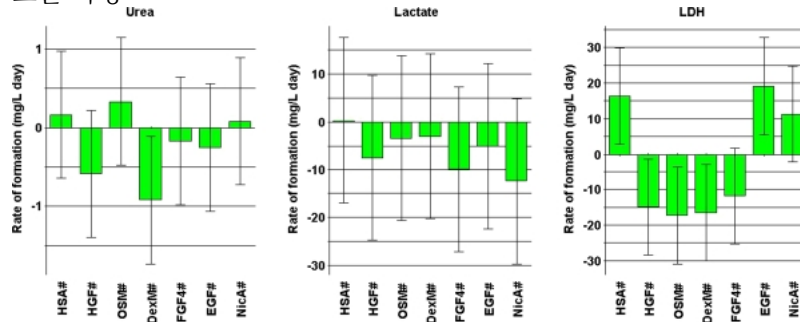
실험 결과를 통해 주요 요소를 선별하고 주요 요소를 중심으로 추가 실험 진행

Exp.no.	HGF	OSM	FGF4	Urea	Lac	LDH	Alb
1	0	0	0	8.0	121	34.0	14.1
2	40	0	0	11.0	123	44.0	12.0
3	0	50	0	14.0	202	66.0	18.4
4	40	50	0	14.0	135	86.0	7.13
5	0	0	40	7.0	76.6	28.0	17.8
6	40	0	40	8.0	134	21.0	9.8
7	0	50	40	11.0	177	44.0	9.2
8	40	50	40	14.0	130	127	2.6
9	0	25	20	10.0	176	42.0	7.0
10	40	25	20	13.0	140	95.0	5.3
11	20	0	20	9.0	139	28.0	14.6
12	20	50	20	9.0	185	43.0	5.8
13	20	25	0	12.0	180	60.0	4.9
14	20	25	40	9.0	186	47.0	4.9
15	20	25	20	14.0	132	74.0	6.9
16	20	25	20	10.0	191	51.0	4.7
17	20	25	20	11.0	175	50.0	6.0
18	0	0	0	8.0	123	32.0	18.3

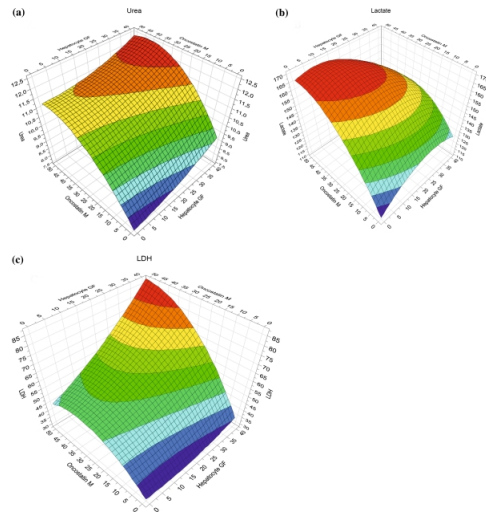
2.2 experimental data explain

2.3 data procssing

- model parameter select : 분산을 측정하여 결과 값에 가장 영향력 있는 요소를 측정



- reaction surface : 동일한 수준의 결과를 얻는 요소의 조합을 통해 경제적으로 우수한 조건을 탐색할 수 있음



2.4 results

- hepatocyte growth factor, oncostatin M, and fibro-blast growth factor 4 significantly influenced the metabolic activities of the C3A cell line
- hepatocyte growth factor 30 ng/ml, oncostatin 35 ng/ml is optimal level for meida

References

- [1] Jia Dong, Carl-Fredrik Mandenius, Marc Lübberstedt, Thomas Urbaniak, Andreas KN Nüssler, Daniel Knobeloch, Jörg C Gerlach, and Katrin Zeilinger. Evaluation and optimization of hepatocyte culture media factors by design of experiments (doe) methodology. *Cytotechnology*, 57(3):251–261, 2008.
- [2] Carl-Fredrik Mandenius and Anders Brundin. Bioprocess optimization using design-of-experiments methodology. *Biotechnology progress*, 24(6):1191–1203, 2008.