

Raman spectroscopy

MarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザー 装置間でのケモメトリックスモデルの移行性

著者

Mike Bates, Nimesh Khadka, David Kuntz, Lin Zhang, Sue Woods

要約

- Thermo Scientific™ MarqMetrix™ All-In-Oneプロセスラマンアナライザーは、複雑系における複数の分析物のインライン、リアルタイム、および実行可能なモニタリングを提供することによって、プロセス分析技術 (PAT) における革新的な結果を得られます。
- 本アプリケーションノートでは、混合物中のグルコース、グルタミン、および乳酸についてそれぞれ0.21 g/L、0.16 g/Lおよび0.3 g/Lの平均予測誤差を維持しながら、10の異なるMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーにわたる1つのケモメトリックスモデルの移行性の成功を実証します。
- 複数の装置にわたってケモメトリックスモデルを適用する場合にも、測定の正確度および精度が維持され、新しいMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーまたは新しいオートクレープ可能なプローブに対するモデル再構築のために、時間やコストを費やす必要がなくなります。

はじめに

MarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーは、R&Dでのプロセス開発中において、分子の同定、定量、および特徴付けを、迅速かつ堅牢に、拡張性および信頼性をもって実現するように設計されたラマン分光装置です。容易に交換可能でオートクレープ可能なプローブを利用する「オールインワン」装置は、上流バイオプロセスモニタリング、または最終製品確認、その他さまざまな分析ニーズを満たすことができます。

ケモメトリックス分析は、ユーザーがそれらの分析装置から複数の分析対象物質の濃度を監視するためのデータ分析モデルを開発することを可能にします。正確で堅牢なケモメトリックスモデルを構築するには、時間およびコストの観点からかなりの投資が必要です。この投資の価値を十分に活用するためには、装置間でケモメトリックスモデルを使用することが必須です。開発されたケモメトリックスモデルをMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーに併用して、高い精度で複数のリアクターを並行してモニタリングできます。



異なる装置間でケモメトリックスモデルを移行する際に維持される測定の正確度および精度によって、新しい機器または新しいプローブを使用する場合に、モデルを再構築する必要はなくなります。

実験装置

複雑なケモメトリックスモデルの移行性を実証するために、Gibco™ Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) 増殖培地中の3つの関連する分析物としてグルコース、グルタミンおよび乳酸を評価しました。3つの分析物は全て、バイオリアクターにおいてg/L濃度範囲で、グルコース：0～12 g/L、グルタミン：0～2.5 g/L、および乳酸：0～20 g/Lの範囲で生じます。1台のMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーを用いて一連の校正標準からスペクトルを収集することにより、ケモメトリックスモデルを構築しました。各分析物の関連する濃度範囲内で、ランダム化された濃度を有する24のサンプルを均一設計方法¹を使用して選択しました。次いで、このモデルを10台のMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーを使用して測定した、8つのバリデーションサンプルの異なるセットからのスペクトルに適用しました。取得パラメーターを最適化して、分析物濃度に対応するスペクトル特徴のSN比を最大化しました。最適化したパラメーターは、自動暗部補正による積算時間15秒、レーザー出力450 mW、10回の信号平均化です。この取得パラメーターではサンプリング時間は約5分となりました。このモデルは、高度な正確さおよび精度で、8サンプルのバリデーションセット中の3つの分析物全ての濃度を予測することを可能にしました。本研究で評価した各MarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーには、分光器ボックス、光ファイバーケーブルおよびバイオリアクタープローブチップから構成される独自のハードウェアセットが採用されています。各分析物の平均予測誤差は、グルコースで0.21 g/L、グルタミンで0.16 g/L、乳酸で0.3 g/Lでした。これらの結果は、多数のMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーによる複雑なケモメトリックスモデルの優れた移行性を実証します。

モデル解析

Eigenvector Soloソフトウェアを用いて単一のPLSモデルを構築し、各混合物中の3つの分析物を全て予測しました。PLS校正モデルは、サンプル当たり3反復で24の校正サンプルを使用して構築しました。全ての校正スペクトルは、1台のMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーを使用して収集しました。870～3,096 cm⁻¹の間のラマンの指紋領域を使用してモデルを構築しました。Savitzky Golay Smoothingフィルターを適用してノイズを除去し、SN比を改善しました。次に、ベースラインを補正し散乱補正および正規化を行いました。さらに、全てのデータはモデル構築前に平均中心化されていました。校正モデルはleave-one-sample-outのクロスバリデーション戦略を用いて構築しました。このプロセスにおいては同サンプルについて3つの複製が作成されました。これらの重要な前処理およびクロスバリデーションステップを行った後、4つの潜在変数を持つ最適化モデルを選択しました。モデルの校正およびクロスバリデーションの結果を表1に示します。

表1. ケモメトリックスモデルの校正およびクロスバリデーション結果

モデルパラメーター	分析種		
	グルコース	グルタミン	乳酸
RMSEC (g/L)	0.079	0.075	0.146
RMSECV (g/L)	0.095	0.088	0.176
バイアス (g/L)	4.79E-05	-1.94E-05	-2.50E-05
CV バイアス (g/L)	-2.25E-04	-6.45E-04	-4.42E-03
R ² 検量	0.9995	0.9902	0.9994
R ² クロスバリデーション	0.9993	0.9864	0.9991

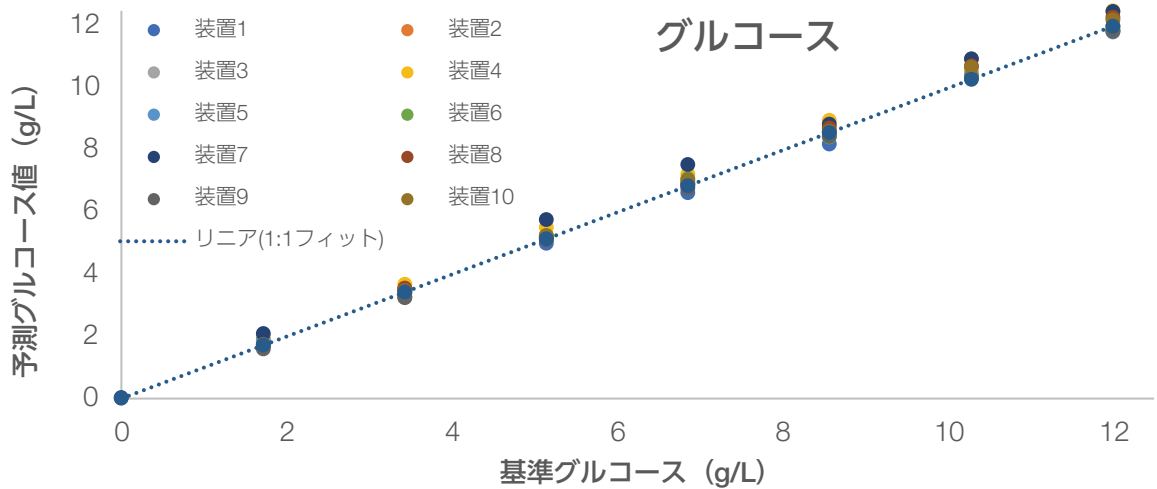
続いて、8サンプルのバリデーションセットのスペクトルを、10台の異なるMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーで収集しました。ケモメトリックスモデルを各MarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーのバリデーションセットスペクトルに適用し、分析物濃度を予測しました。以下に考察する結果は、10台全てのMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーにわたって、3つ全ての分析物の予測のために、高度に正確性および精度が維持されたことを示します。

結果

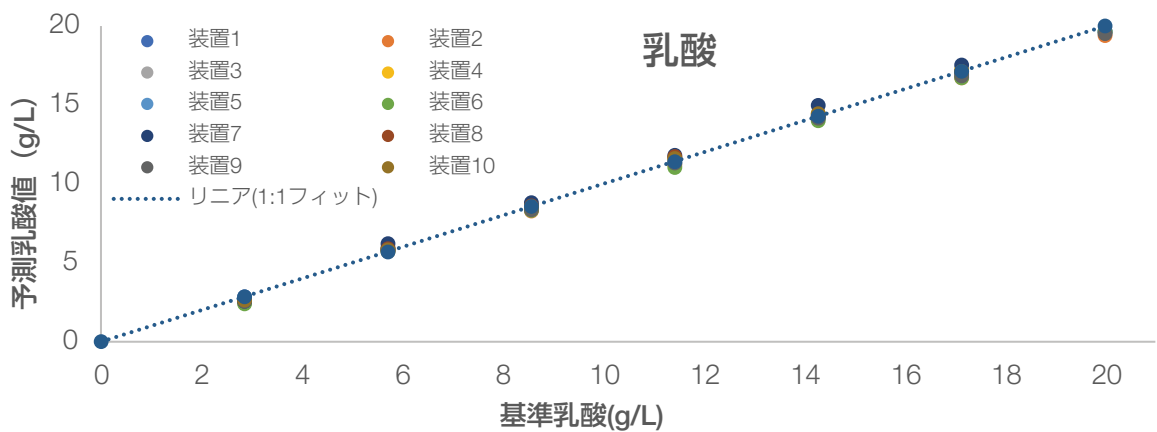
堅牢なケモメトリックスモデルの開発は、かなりの時間とコストの投資が必要です。この投資がユーザーに長期的な価値を提供することを確実にするために、私たちは複数のMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーにわたってケモメトリックスモデルの優れた移行性を実証しました。図1の相関プロットは、グルコース (図1A)、乳酸 (図1B) およびグルタミン (図1C) の予測値と基準値の比較を示します。各プロットには、10台のMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザー全ての予測値のオーバーレイが含まれます。

10台のMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーにわたるケモメトリックスモデルの精度は、ユーザーに一貫した結果を提供します。さらに、表2の結果からモデルの精度がわかります。

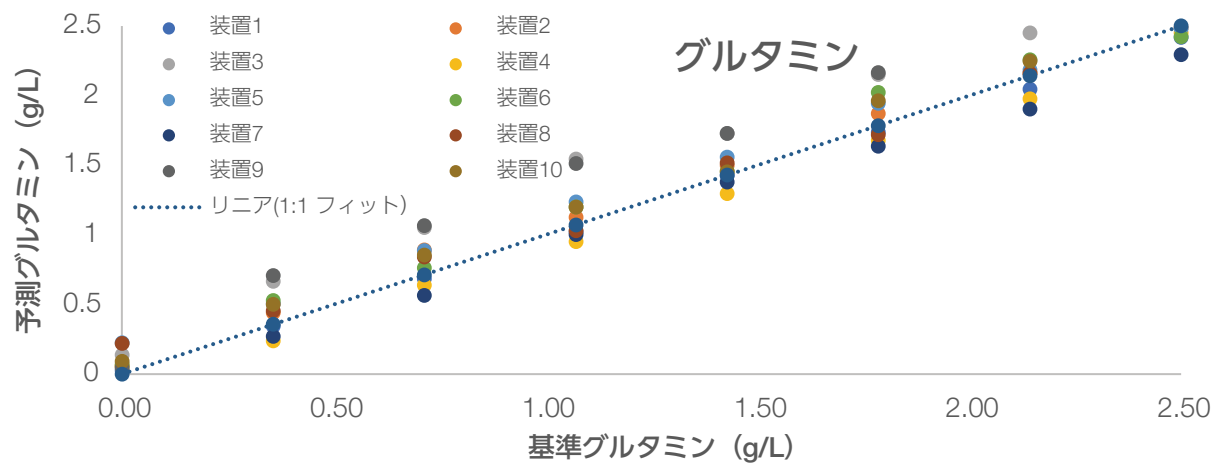




A



B



C

図1. 10台のThermo Scientific MarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーにおける予測相関プロット

表2. ケモメトリックスモデルから計算された予測誤差 (RMSEP)

ハードウェア	平均予測誤差(g/L)		
	グルコース	グルタミン	乳酸
装置1	0.18	0.05	0.20
装置2	0.11	0.13	0.40
装置3	0.12	0.15	0.21
装置4	0.18	0.14	0.26
装置5	0.18	0.08	0.40
装置6	0.40	0.11	0.25
装置7	0.13	0.38	0.32
装置8	0.21	0.11	0.26
装置9	0.47	0.15	0.44
装置10	0.09	0.34	0.23
平均誤差 (全10システム)	0.21	0.16	0.30

表2は、各MarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーの各分析物についての平均予測誤差、および全10台のMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーにわたる各分析物についての平均誤差を示します。全てのパラメーターは、 <0.5 g/L予測誤差で高い測定精度を実証しました。さらに、場合によっては、予測誤差は <0.1 g/Lです。この精度のレベルは、ケモメトリックスモデルについての他の公表された結果²と並び、バイオリアクターモニタリングのための他の関連する測定技術と同等であることが分かります。

この正確さおよび精度により、バイオリアクター内のグルコース濃度を標準的な2~4 g/Lの範囲に制御することが容易に達成されます。さらに、継続的なモニタリングとフィードバックの活用により、さらにタイトな制御が可能になり、プロセスと製品の一貫性が向上します。MarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーを用いて開発されたケモメトリックスモデルはフルスケールのバイオリアクター研究における多検体モニタリングに対してとても優れた性能を発揮します。

結論

ユーザーは、複数のMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザー間で移行可能なケモメトリックスモデルを生成することから優れた成果を得られます。MarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーが複数の装置にわたって同じケモメトリックスモデルを利用できる能力は、ユーザーに測定の正確度および精度の信頼性を提供します。

高度な信号処理およびモデルの最適化は、予測性能のレベルをさらに向上させる可能性を提供します。このアプリケーションノートの例はMarqMetrix All-In-Oneプロセスラマンアナライザーを使用したケモメトリックスモデルの開発のためのベンチマークを提供します。

参考文献

1. Zhang, Lin, et al. "Uniform design applied to nonlinear multivariate calibration by ANN." *Analytica Chimica Acta* 370.1 (1998): 65-77.
2. Buckley, Kevin, and Alan G. Ryder. "Applications of Raman spectroscopy in biopharmaceutical manufacturing: a short review." *Applied spectroscopy* 71.6 (2017): 1085-1116

詳細はこちらをご覧ください thermofisher.com/marqmetrixAIO

研究用에만使用できます。診断用には使用いただけません。

© 2023, 2024 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.

実際の価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。

価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。

標準販売条件はこちらをご覧ください。 thermofisher.com/jp-tc FTIR213-B24030B

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL : 0120-753-670 FAX : 0120-753-671

Analyze.jp@thermofisher.com

thermofisher.com

thermo scientific