The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	On-line optimization of substrates feeding in hybridoma cell culture using an artificial neural network and genetic algorithm
Author(s)	呉, 奎燮
Citation	大阪大学, 1996, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40204
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【 4 】

氏　　名	呉　　奎　　燮（お　ぎゅ　そぶ）
博士の専攻分野の名称	博　　士（工　　学）
学 位 記 番 号	第　12641　号
学位授与年月日	平成 8 年 6 月 27 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科　醗酵工学専攻
学 位 論 文 名	On-line optimization of substrates feeding in hybridoma cell culture using an artificial neural network and genetic algorithm **(ニューラルネットワークと遺伝的アルゴリズムによるハイブリドーマ細胞培養における基質流加のオンライン最適化)**
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授　吉田　敏臣 (副査) 教 授　小林　昭雄　　教 授　菅　　健一　　教 授　山田　靖宙 教 授　塩谷　捨明　　教 授　二井　将光　　教 授　関　　達治 教 授　金谷　茂則　　教 授　室岡　義勝

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は，モノクロナル抗体生産を目的とするハイブリドーマ培養プロセスを対象に，プロセス制御には欠かせないオンライン計測システムを構築した後，流加培養における培養特性について検討し，その結果を基に数式モデルに代わる予測モデルをニューラルネットワークを利用して構築し，さらに遺伝的アルゴリズムと組み合わせることにより，オンライン最適制御システムの構築について検討した一連の研究成果をまとめたもので，以下の緒論および5章から構成されている。

緒論では，本研究の背景を述べるとともに，本論文の構成をまとめ，各章での目的とその概要について述べている。

第1章では，ハイブリドーマ培養の制御に必要なオンライン計測システムを構築し，そのオンライン計測値から細胞の状態変数の推定を行い，その精度を培養実験によって確認した結果を述べている。

第2章では，上述のオンライン計測値と推定値を利用し，主栄養源の一つであるグルコースを制限した流加培養を行いその培養特性を調べた結果を述べている。その中でグルコース消費とグルタミン消費の相互関係認識の一端としてグルコースの制限がグルタミン消費に与える影響を明らかにしその相関関係を利用したオンライン推定やグルコースとグルタミンの二元制御培養の可能性について検討している。

第3章では，グルタミン流加のオンライン最適制御を実現させるための基盤研究として，グルコースやグルタミンのレベルを変えて定値制御した実験データを基に，オンライン計測法が確立されていない生細胞密度と抗体生産量をオンラインで予測するモデルをニューラルネットワーク手法を用いて構築した結果を述べている。その予測モデルが実際の培養において応用可能であることを確認している。

第4章では，抗体生産を最大にするための基質流加のオンライン最適制御法について検討した結果を述べている。すなわち，上述の予測モデルと遺伝的アルゴリズムを組み合わせることにより，グルタミン濃度のオンライン最適制御を行い，その結果，グルタミン濃度を，アンモニアや乳酸による増殖阻害を受けない範囲内においてTCA経路やアミノ酸合成へ十分に流れるレベルに制御することにより，比増殖速度や比抗体生産速度をともに上昇させ，抗体の生産量を上げるができた状況を考察している。

5章では以上の結果を要約し，本研究で得られた主たる結論を総括するとともに，将来の展望について述べている。

論文審査の結果の要旨

物質生産のための動物細胞培養は最近実用化の端緒についたばかりで，発酵工業で用いられている微生物培養の場合と比べて，プロセス工学分野の技術的問題が多数未解決の状態で残されている。生産物の大量生産にとって必須であるプロセス制御の技術は特に立ち後れが問題となっており，動物細胞の代謝工学的検討を参考にしながら細胞の生理的状態の推定と最適制御政策探索のための方法論の開発が期待されている。本論文は，上述の背景のもとで，ハイブリドーマ細胞による抗体生産プロセスを対象に，現在取得可能な動物細胞培養に関する知識と情報をもとに知識工学の2，3の方法を応用して，オンライン計測技術，細胞の生理的状態を推定するのに必要な状態推定の方法，オンライン最適化を実現する制御政策探索法の開発を図り，研究を行ったものであり，以下に要約するようにいくつかの新しい提案を行うとともに二，三の重要な知見と結論を得ている。

(1) pH制御に必要な塩基溶液の添加量，レーザー濁度センサー出力，基質添加量，酸素分圧測定，溶存酸素濃度などの限られたオンライン測定値を用いて，簡単な代数計算によって，酸素消費速度，総細胞密度，グルコース消費速度，グルタミン消費速度等を推定するソフトウェアセンサーを開発している。さらにグルコースとグルタミンの消費速度の関係からそれぞれの基質のレベルを独立に制御する方法を提案している。

(2) 本培養系の状態予測のためのニューラルネットワークモデルを構築し，操作変数である基質流加速度ならびにオンライン測定値を入力として，測定不可能な抗体量や生細胞量の推定あるいは予測を含めて，培養経過中の状態予測を可能にするシステムを提案している。

(3) 上述の予測モデルと遺伝的アルゴリズムを組み合わせて，最適化アルゴリズムを作成し，ダイナミックプログラミング法との比較を行っている。この方法をグルコースとグルタミンを流加する本培養系に適用し，グルタミン流加速度のオンライン最適化が可能であることを示している。

(4) グルコースとグルタミンの供給が制御されたハイブリドーマ細胞における両基質の代謝の流れを解析し，最適化流加培養では阻害性生産物の生成を押さえた条件でエネルギー代謝とアミノ酸合成が活発となっていることを見い出している。

以上のように，本論文は動物細胞培養プロセスの状態予測とオンライン最適化に貴重な提案を行っており，培養工学ならびに生物プロセス制御の分野に貢献するところが大きい。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。