

Izmeklētas uz modeli bāzētas substrāta piebarošanas ātruma kontroles sistēmas ar prognozi izstrāde rekombinantu un ne-rekombinantu mikroorganismu fermentācijas procesu produktivitātes uzlabošanai

Projekta vienošanās Nr. 1.1.1.2/16/I/001

Pētniecības pieteikuma Nr. 1.1.1.2/VIAA/1/16/186

Darbības programma "Izaugsme un nodarbinātība"

Aktivitāte 1.1.1.2. "Pēcdoktorantūras pētniecības atbalsts"

Projekta progressa pārskats par periodu 01.04.2019. – 30.06.2019.

Turpinātas aktivitātes:

Nr. 2. Uz modeli bāzētas izmeklētas tiešsaistes sistēmas izveidošana, *kas satur sekojošas apakšaktivitātes:*

- Uz modeli bāzētu izmeklētu kontroles algoritmu izraudzīšanās.
- Uz modeli bāzētu izmeklētu kontroles algoritmu programmēšana *Matlab*.
- Uz modeli bāzētu izmeklētu kontroles algoritmu integrēšana bioreaktora kontroles sistēmā.
- Eksperimentālo datu analīze (modeļa un modeļa parametru re-identifikācija, kontroles sistēmas noskaņošana).

Nr. 3. Mikroorganismu kultivēšana bioreaktorā, *kas satur sekojošas apakšaktivitātes:*

- Rekombinantā *P. pastoris* GS115 HBcAg producenta kultivācija bioreaktorā, tiešsaistes un rokas analīžu datu ievākšana un analīze.
- Rekombinantā *P. pastoris* GS115 HBsAg producenta kultivācija bioreaktorā, tiešsaistes un rokas analīžu datu ievākšana un analīze.
- *S. cerevisiae* DY7221 kultivācija bioreaktorā, tiešsaistes un rokas analīžu datu ievākšana un analīze.

Nr. 4. Mērķa produkta ieguve un analīze, *kas satur sekojošas apakšaktivitātes:*

- Hepatīta B kor-antigēna (HBcAg), Hepatīta B virsmas-antigēna (HBsAg) sintēzes daudzuma un kvalitātes analīze, un *S. cerevisiae* DY 7221 biomasas daudzuma analīze.
- Kvantitatīvs HBcAg /HBsAg uzkrāšanās likumsakarību atkarībā no izraudzītās limitējošā substrāta kontroles un tās kvalitātes, novērtējums.
- HBcAg/HBsAg ieguves ar *P. pastoris* GS115 un *S. cerevisiae* DY 7221 biomasas ieguves procesa mērogošanas tehnoloģiskā instrukcija.

Veiktās projekta darbības:

Uz modeli bāzētas izmeklētas tiešsaistes sistēmas izveidošana

Uz modeli bāzētu izmeklētu kontroles algoritmu programmēšana *Matlab*. Uz modeli bāzētu izmeklētu kontroles algoritmu integrēšana bioreaktora kontroles sistēmā.

Ekspiermentālo datu analīze (modeļa un modeļa parametru re-identifikācija, kontroles sistēmas noskaņošana). Veikts darbs pie *P. pastoris* biomasas rokas- mērījumu aprobācijas. Izmantojot biomasas analīžu rezultātus (no aptuveni 10. eksperimentu 70 mērījumiem, laika intervālā 0-90 h) ieguva $X_{sausne}=f(OD590)$ [g/l], $X_{slapj.}=f(OD590)$ [g/l], $X_{sausne}=f(X_{slapj.})$ [g/l] modeļus. Veikts darbs pie tiešsaistes izejas gāzu O₂/CO₂ mērījumu aprobācijas biomasas koncentrācijas novērtēšanai. Aptuveni 10 *P. pastoris* kultivācijas eksperimentiem, tajā skaitā ar dažādu metanola koncentrācijas kontroles līmeni, noteica modeļa parametru - Y_{mXO} , Y_{rXO} , Y_{mXC} , Y_{rXC} – vērtības, kas dod visaugstāko “O₂” un “CO₂” modeļu sakritību ar rokas- X_{sausne} mērījumiem. Novērtēta noteikto parametru izkliede un uzsākta izkļedes iemeslu analīze. Līdzīgi novērtēts Y_{rXB} parametrs biomasas novērtēšanas parametram pēc pievienotās bāzes daudzuma. Veikts darbs pie tiešsaistes kultūras duļķainības (Optek devējs) mērījuma aprobācijas biomasas koncentrācijas novērtēšanai. Izmantojot biomasas analīžu rezultātus (no aptuveni 10. eksperimentu 70 mērījumiem, laika intervālā 0-90 h) ieguva 3 $X_{sausne}=f(\text{duļķainība})$ [g/l] modeļus.

Mikroorganismu kultivēšana bioreaktorā

Rekombinantā *P. pastoris* GS115 HBcAg producenta kultivācija bioreaktorā, tiešsaistes un rokas analīžu datu ievākšana un analīze.

Realizēja *P. pastoris* GS115 HBcAg (Mut+) laboratorijas bioreaktora kultivācijas procesu (67 h) ar noslēgta-kontūra metanola piebarošanas PI kontroles algoritmu ar uzstādīto metanola koncentrāciju 2 g/l; samazinot K_p parametru uz 0.02 L*L/g*h iegūta uzlabota metanola kontrole intervālā 1-3 g/l. Iegūts arī par ~20 % augstāks biomasas iznākums salīdzinājumā ar procesiem, kuros metanola līmenis kontrolēts ap 1 un zem 0.1 g/l. Ievāca un analizēja šūnu biomasas paraugus slapjā un sausā svara aprēķiniem. Uzkrāja un analizēja tiešsaistes mērījumus – metanola koncentrācija (BCP-EtOH, Bluesens), kultūras duļķainība (ASD19-EB-01, Optek), O₂/CO₂ koncentrācijas izejas gāzēs (EasyFerm, Bluesens).

Rekombinantā *P. pastoris* GS115 HBsAg producenta kultivācija bioreaktorā, tiešsaistes un rokas analīžu datu ievākšana un analīze.

Realizēja *P. pastoris* GS115 HBsAg (MutS) laboratorijas bioreaktora kultivācijas procesu (94 h) pie 30 °C (kultivācija pēc Gurrankonda et al. (2009), *Microbial Cell Factories*, 8, 1–8, <https://doi.org/10.1186/1475-2859-8-13>). Ievāca un analizēja šūnu biomasas paraugus slapjā un sausā svara aprēķiniem. Uzkrāja un analizēja tiešsaistes mērījumus – metanola koncentrācija (BCP-EtOH, Bluesens), biomasas duļķainība (ASD19-EB-01, Optek), O₂/CO₂ koncentrācijas izejas gāzēs (EasyFerm, Bluesens). Pēc produkta elektroforēzes ainas secināts par HBsAg uzkrāšanos. Pirmajā preparatīvā tīrīšanas mēģinājumā secināts par HBsAg agregātu veidošanos un produkta zudumiem.

Mērķa produkta ieguve un analīze

Hepatīta B kor-antigēna (HBcAg) sintēzes daudzuma un kvalitātes analīze. No procesa ar metanola kontroli 2 g/l, beigu kultūras izdalīts un tīrīts HBcAg. Iegūts HBcAg iznākums 9.18 g(šūnu sausne)/l.

Hepatīta B virsmas-antigēna (HBsAg) sintēzes daudzuma un kvalitātes analīze.

No aprakstītā *P. pastoris* GS115 HBsAg (MutS) procesa kultūras 2. reizi dalīja un tīrīja HBsAg. Mērķis – pamainot tīrīšanas shēmu, sekmēt izdalāmā produkta iegūvi.

Projekta realizācija

- 16. maijā LZA Senāta zālē, LZA Ķīmijas, bioloģijas un medicīnas zinātņu nodaļas sēdē ziņots par pēcdoktorantūras projekta progresu. (http://www.lza.lv/index.php?option=com_content&task=view&id=5016&Itemid=71).
- Analizēta zinātniskā literatūra par biomasas koncentrācijas novērtēšanas metodēm, to interpretāciju un savstarpējo saistīšanu. Uzsākta biomasas koncentrācijas novērtēšanas rezultātu apkopošana zinātniskajai publikācijai.

Projekta īstenošanas vietas –

- Latvijas Valsts Koksnes Ķīmijas Institūts (LV KĶI), Dzērbenes iela 27, Rīga, LATVIJA, LV-1006 (<http://www.kki.lv>, koks@edi.lv).
- Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs (LV BMC), Rātsupītes iela 1, Rīga, LATVIJA, LV-1067 (<http://biomed.lu.lv/>, bmc@biomed.lu.lv).
- Kauņas Tehnoloģiju Universitāte (KTU), K. Donelaičio g. 73, Kauņa, LIETUVA, LT-44249 (<https://ktu.edu/>, ktu@ktu.lt).

Plānotais kopējais projekta īstenošanas ilgums – 36 mēneši.

Projekta realizētājs: Dr.Sc.Ing. Oskars Grīgs (oskars.grigs@edu.rtu.lv)

Institūcijas atbildīgā persona par pētniecības pieteikuma zinātnisko pētījumu:

Dr.Sc.Ing. Juris Vanags (btc@edi.lv)

Projekta vadītājs: Dr.Sc.Ing. Uģis Cābulis (cabulis@edi.lv).

Projekts uzsākts: 02.10.2017.

Pārskats sagatavots: 28.06.2019.