



Projekts nr. 1.1.1.1/21/A/044 “Efektīvas pilot-mēroga leghemoglobīna ražošanas tehnoloģijas izstrāde uz rekombinanto *Pichia pastoris* un *Kluyveromyces lactis* fermentācijas procesu ar piebarošanu bāzes. (BioHeme)”

3. ceturkšņa progress (01.07.2022. - 30.09.2022.)

Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūts

Tiek turpināti eksperimenti, kuru mērķis ir noteikt atsevišķus fermentācijas vides komponentus, kuri ietekmē heme proteīnu sintēzes efektivitāti. Lai minimizētu nenoteiktību attiecībā uz kultivācijas vides sastāvu (komplekso komponentu dēļ) tika identificēti sintētiskas barotnes sastāvi, kurš nodrošina efektīvu biomasas augšanu un kurā visu komponentu daudzumi ir definēti. Pārskata periodā tika analizēti peridoksīna, folijskābes un glikozes paaugstinātas koncentrācijas ietekme uz LegH sintēzi. Rezultātā, tika konstatēts, ka minētas komponentes būtiski neietekmē LegH sintēzi.

Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

Tika izvērtēta sojas leghemoglobīna (LegHb) sintēze raugos *S. cerevisiae* un *H. polymorpha*. *S. cerevisiae* produkcija ir detektējama, taču ievērojami mazāka nekā *P. pastoris*. Raugā *H. polymorpha* produkcija nav detektējama vispār. Līdz ar to no visiem testētajiem raugiem *P. pastoris* ir visperspektīvākais LegHb sintēzei, un turpmākā optimizācija tiks veikta šajās šūnās. Tika izmēģināta kultivēšana pie pazeminātas temperatūras (24°C) un secināts, ka tas nedod pozitīvu efektu. Tāpat tika izmēģināta LegHb kultivēšana glicīna klātbūtnē, kas arī noveda pie produkcijas samazināšanās. Tika salīdzināts LegHb produkcijas līmenis, kultivējot fermentierī bagātajā barotnē un minimālajā ar sāļu piedevām (BSM). Minimālajā barotnē produkcija bija augstāka, tātad turpmākie eksperimenti ar dažādu komponentu pievienošanu tiks veikti šajā barotnē. Aizsākta arī LegHb attīrīšanas optimizācija, lai iegūtu par 90% tīru produktu, kas nepieciešams proteīna precīzai kvantitēšanai.

A/S Biotehniskais centrs

Norit darbs pie pilot-mēroga bioreaktora prototipa komponentu potenciālo piegādātāju identificēšanas. Paralēli, tiek projektēti svarīgie tehnoloģiskie mezgli un attiecīga vadības programmatūra (vadības algoritmi). Pārskata periodā tika turpināts darbs pie fermentācijas procesu vadības programmatūras (MPC programmatūra) izstrādes. Tika radīta pirmā versija algoritmiem, kuri turpmāk tiks integrēti fermentācijas vadības programmatūrā. Minēto algoritmu pareiza darbība tika aprobēta laboratorijas mēroga bioreaktora fermentācijas eksperimentos.

Vadošais partneris: APP Latvijas Valsts koksnes ķīmijas institūts

Sadarbības partneri: APP Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs un A/S Biotehniskais centrs

Projekta īstenošanas ilgums: 01.01.2022. - 30.11.2023. jeb 23 mēneši

Projekta kopējās attiecināmās izmaksas: 540 540 EUR, t.sk. ERAF līdzfinansējums 81.96 % apmērā – 443 026.58 EUR.