

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 01.07.2018. – 30.09.2018.

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.

Uzsākta projekta aktivitāte:

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 mērogošana tehnoloģiskā instrukcija.

Veiktās projekta darbības:

Uz modeli bāzētas izmeklētas tiešsaistes sistēmas izveidošana

Uz modeli bāzētu izmeklētu kontroles algoritmu programmēšana *Matlab*. Zināma daļa esošā uz modeli bāzētā kontroles (MPC) algoritma ar prognozi, kas paredzēta *E. coli* kultivācijai ar glikozi, pārprogrammēta *P. pastoris* kultivācijai ar metanola uzņemšanu.

Uz modeli bāzētu izmeklētu kontroles algoritmu integrēšana bioreaktora kontroles sistēmā. Tika strādāts pie: (1) glicerīna periodiskās (partijas) fāzes noslēgšanās laika tiešsaistes novērtēšanas glicerīna-metanola piebarošanas kontroles MPC algoritmam; (2) Paplašinātā *Kalman* filtra pielietošanas biomasas, substrāta un specifiskā biomasas augšanas ātruma novērtēšanai.

Eksperimentālo datu analīze (modeļa un modeļa parametru re-identifikācija, kontroles sistēmas noskaņošana). Tika analizēti 3. aktivitātes eksperimentālie dati. Balstoties uz 2. *P. pastoris* GS115 HBcAg (Mut+) eksperimentiem ar lietoto noslēgta-kontūra metanola piebarošanas PI kontroles algoritmu, tika sastādīts eksperimentu plāns optimālo PI parametru piemeklēšanai balstoties uz *Ziegler-Nicols* metodi.

Mikroorganismu kultivēšana bioreaktorā

Rekombinantā *P. pastoris* GS115 HBcAg producenta kultivācija bioreaktorā, tiešsaistes un rokas analīžu datu ievākšana un analīze. Realizēja 2 *P. pastoris* ~70 h kultivēšanas procesus ar noslēgta-kontūra metanola piebarošanas PI kontroles algoritmu (substrāta kontrole ar atgriezenisko saiti).

Mērķa produkta ieguve un analīze

Hepaīta B kor-antigēna (HBcAg) sintēzes daudzuma un kvalitātes analīze. Analizēts HBcAg daudzums no pirmajiem 2 *P. pastoris* GS115 procesiem pēc *Invitrogen* protokola bez substrāta kontroles ar atgriezenisko saiti. Lai gan procesi tika realizēti pēc viena un tā paša protokola, sintēzes līmeņi abos procesos bija atšķirīgi, 2. procesā sintēzes līmenis bija augstāks nekā pirmajā. Dotais apstākļi jāņem vērā, plānojot nākamās eksperimentus, kuros īpaša uzmanība jāpievērš barotnes gatavošanai un procesa standarta parametru, kā T, pH un pO₂ kontrolei. Kvantitatīvs HBcAg /HBsAg uzkrāšanās likumsakarību atkarībā no izraudzītās limitējošā substrāta kontroles un tās kvalitātes, novērtējums. Kvalitatīva HBcAg uzkrāšanās novērtēšana tika veikta pēc gēla elektroforēzes attēla vizuālas analīzes. Turpmāk nepieciešams ievākt paraugus arī kvantitatīvai HBcAg analīzei ar HPLC.

Projekta realizācija

- Dalība 12. Eiropas Bioķīmisko Inženierzinātņu Simpozijā, 9.-12. septembris, Lisabona, Portugāle. Mutiskās prezentācijas veidā prezentēts pētījums “*Development of a model-based monitoring and control system for improved process control of fed-batch cultivations with recombinant and non-recombinant target products*”.
- Publicitātes pasākuma ietvaros – “Zinātnieku nakts”, 28. septembrī, T/C Origo, sabiedrība tika informēta par Pēcdoktorantūras projekta rezultātiem un popularizēta tā tematika. Vairāk par pasākumu var atrast zem saites:
http://viaa.gov.lv/lat/pecdoktoranturas_atbalsts/jaunumi/?year=2018&text_id=40299

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:** 29.09.2018.