

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 01.01.2020. – 31.03.2020.

Turpinātas aktivitātes:

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:

Mikroorganismu kultivēšana bioreaktorā

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

Realizēja 2 *P. pastoris* GS115 HBsAg (MutS) laboratorijas bioreaktora kultivācijas procesus: * 56 h pie 30 °C (kultivācija pēc *Invitrogen co.* protokola), ar uzstādīto metanola koncentrāciju 2 g/l; * 71 h pie 30 °C (kultivācija pēc *Invitrogen co.* protokola), ar uzstādīto metanola koncentrāciju 5 g/l. Uzkrāja un analizēja tiešsaistes mērījumus – metanola koncentrācija (BCP-EtOH-Bluesens un Raven), kultūras duļķainība (ASD19-EB-01, Optek), O₂/CO₂ koncentrācijas izejas gāzēs (EasyFerm, Bluesens).

Mērķa produkta ieguve un analīze

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

Produkta elektroforēzes analīžu rezultāti augstākaprakstīto procesu paraugiem uzrādīja zemu HBsAg uzkrāšanās dinamiku un turpmāka produkta izdalīšana un kvantitatīva analīze netika veikta.

Projekta realizācija

- Iesniegts kopsavilkums dalībai 24. Starptautiskajā Ķīmijas un Procesu Inženierijas Kongresā CHISA2020, kas 23.-27. augustā norisināsies Prāgā, Čehijā. Kopsavilkuma virsraksts: *Application of software and hardware sensors for recombinant P. pastoris GS115 biomass estimation: a case analysis of HBcAg (Mut+) and HBsAg (MutS) obtainment under varying cultivation conditions*. Kopsavilkums apstiprināts mutiskai auditorijas prezentācijai.
- Projekta ietvaros tiek realizēta tiešsaistes biomasas koncentrācijas novērtēšanas sensoru, kas balstās uz kultūras duļķainības (turbidity) un dielektrisko īpašību (permittivity) mērījumiem, aprobācija, un šo rezultātu apkopošana zinātniskās publikācijas veidā. Salīdzinoši neilgu laiku (10-30 desmitgades) dotie analītiskie rīki ir pieejami biotehologu sabiedrībai, jo to cena un tehiskās iespējas ir kļuvušas konkurētspējīgākas salīdzinājumā ar laiku, kad šīs tehnoloģijas tikai attīstījās. Tomēr zinātniskajā literatūrā pieejams maz informācijas par risinājumiem, lai minimizētu atsevišķu bioreaktora parametru šķērsietekmi uz mērījuma precizitāti. Doto sensoru mērījumus būtiski ietekmē procesa parametri, kā bioreaktora maisītāja rotācijas ātrums un putu-dzēsēja pievienošanas ātrums. Projekta ietvaros realizētajos dažādi kontrolētajos *P. pastoris* kultivēšanas eksperimentos pielietoja augstākminētos sensorus. Strauji mainoties maisītāja augriezienu ātrumam un/vai pievienojot putu dzēsēju tika novēroti īslaicīgi vai patstāvīgi sensora rādījumu lēcieni/kritumi, kas rezultējas līdz 30 % un 80 % neprecīziem biomasas koncentrāciju mērījumiem pēc duļķainības un dielektriskās caurlaidības sensoriem attiecīgi. Projekta ietvaros tika izstrādāts filtrs doto sensoru signālu stabilitātes nodrošināšanai. Signāla filtra pamatā ir algoritms, kas aprēķina sensora signāla maiņas ātrumu. Pie pārāk straujām sensora signāla rādījuma izmaiņām, filtrs to identificē, kā neraksturīgu sensora rādījumu un atbilstošu lēcienu vai kritumu neņem vērā. Abu sensoru rādījumiem tika piemeklēti droši parametri, kas tos ļauj pielietot pie dažādiem procesa nosacījumiem-parametriem, kā T, piebarošanas ātrums un barotnes sastāvs.

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: 31.03.2020.