

## **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 01.10.2018. – 31.12.2018.**

#### **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.

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*. Veica *S. cerevisiae* kultivēšanas procesa mehānistiskā matemātiskā modeļa un tiešsaistes mērījumu – metanola koncentrācija (BCP-EtOH, Bluesens), biomasas duļķainība (ASD19-EB-01, Optek), O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> koncentrācijas izejas gāzēs (EasyFerm, Bluesens) – integrāciju izmeklētā biomasas kontroles algoritmā ar prognozi (MPC).

Uz modeli bāzētu izmeklētu kontroles algoritmu integrēšana bioreaktora kontroles sistēmā.

Programmēta *S. cerevisiae* biomasas specifiskā augšanas ātruma kontrole izmantojot “rokas” un tiešsaistes biomasas, limitējošā susbtrāta un etanola novērtēšanu.

Ekspimentālo datu analīze (modeļa un modeļa parametru re-identifikācija, kontroles sistēmas noskaņošana). Analizēja tiešsaistes mērījumus – metanola koncentrācija (BCP-EtOH, Bluesens), biomasas duļķainība (ASD19-EB-01, Optek), O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> koncentrācijas izejas gāzēs (EasyFerm, Bluesens). Apkopoti un analizēti eksperimentālie dati biomasas koncentrācijas novērtēšanai tiešsaistē.

### **Mikroorganismu kultivēšana bioreaktorā**

Rekombinantā *P. pastoris* GS115 HBcAg producenta kultivācija bioreaktorā, tiešsaistes un rokas analīžu datu ievākšana un analīze. Veica 3 (52-75 h) *P. pastoris* GS115 HBcAg (Mut<sup>+</sup>) un 1 (94 h) *P. pastoris* GS115 HBsAg (Mut<sup>S</sup>) laboratorijas bioreaktora kultivācijas pēc *Invitrogen* protokola ar mērķi preparatīvi tīrīt/analizēt HBcAg un HBsAg uzkrāšanās dinamiku metanola indukcijas fāzē. Uzkrāja tiešsaistes mērījumus – metanola koncentrācija (BCP-EtOH, Bluesens), biomasas duļķainība (ASD19-EB-01, Optek), O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> koncentrācijas izejas gāzēs (EasyFerm, Bluesens).

### **Mērķa produkta ieguve un analīze**

Hepatīta B kor-antigēna (HBcAg) sintēzes daudzuma un kvalitātes analīze. Izmantojot sadarbības partnera (Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs) infrastruktūru, no pēdējā (75 h) *P. pastoris* GS115 HBcAg producenta kultivācijas procesa 48 h un 75 h paraugiem veica HBcAg preparatīvu izdalīšanu/attīrīšanu pēc līdzīgas shēmas, kāda aprakstīta J. Freivalds et al, Protein Expression and Purification 75 (2011) 218–224 Contents. Izmantojot elektroforēzes metodi, izvirzīts secinājums par apmierinošu HBsAg uzkrāšanās dinamiku pirmajā (94 h) *P. pastoris* GS115 HBsAg (Mut<sup>S</sup>) procesā.

Kvantitatīvs HBcAg /HBsAg uzkrāšanās likumsakarību atkarībā no izraudzītās limitējošā substrāta kontroles un tās kvalitātes, novērtējums. Preparatīvi izdalīts un attīrīts HBcAg no procesa, kas realizēts pēc *Invitrogen* protokola (30 °C, metanola piebarošana pēc Mut<sup>+</sup> stratēģijas, kas ir metanola satura limitējoša piebarošanas stratēģija). Iegūti HBcAg iznākumi 2.8 mg (proteīna)/g (slapjā šūnu svara) no procesa 48 h, un 3.5 mg (proteīna)/g (slapjā šūnu svara) no procesa 75 h. Iegūtie dati norāda, ka realizējas HBcAg dinamiska uzkrāšanās no 48-75 h.

### Projekta realizācija

- Sagatavots Postdok sadaļas pētījuma kopsavilkums dalībai ESBES rīkotajā kongresā 15.-19.09.2019, Florencē, Itālijā (12th EUROPEAN CONGRESS OF CHEMICAL ENGINEERING, 5th EUROPEAN CONGRESS OF APPLIED BIOTECHNOLOGY).

### Projekta īstenošanas vietas –

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

**Plānotais kopējais projekta īstenošanas ilgums – 36 mēneši.**

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

**Institūcijas atbildīgā persona par pētniecības pieteikuma zinātnisko pētījumu:**

Dr.Sc.Ing. Juris Vanags ([btc@edi.lv](mailto:btc@edi.lv))

**Projekta vadītājs:** Dr.Sc.Ing. Uģis Cābulis ([cabulis@edi.lv](mailto:cabulis@edi.lv)).

**Projekts uzsākts:** 02.10.2017.

**Pārskats sagatavots:** 28.12.2018.