

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 01.10.2019. – 31.12.2019.

Pabeigta aktivitāte:

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).

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:

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.

Eksperimentālo datu analīze (modeļa un modeļa parametru re-identifikācija, kontroles sistēmas noskaņošana). Pabeigts darbs pie uz-modeli bāzētas kontroles sistēmas izstrādes.

Mikroorganismu kultivēšana bioreaktorā

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 Gurramkonda et al. (2009), *Microbial Cell Factories*, 8, 1–8, <https://doi.org/10.1186/1475-2859-8-13>), ar uzstādīto metanola koncentrāciju 6 g/l. Uzkrāja un analizēja tiešsaistes mērījumus – metanola koncentrācija (BCP-EtOH, Bluesens), kultūras duļķainība (ASD19-EB-01, Optek), O₂/CO₂ koncentrācijas izejas gāzēs (EasyFerm, Bluesens).

Mērķa produkta ieguve un analīze

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

Izdalīts un tīrīts HBsAg; mērķis – pamainot tīrīšanas shēmu, sekmēt izdalāmā produkta ieguvu. Šī ceturkšņa ietvaros iegūts augstākais attīrīta HBsAg produktivitātes iznākums uz šūnu sausni – 1.3 mg(HBsAg)/g(šūnu sausne); uz kultūras litru – 186 mg(HBsAg)/L(kultūra).

Projekta realizācija

- Realizēts 1 nedēļu garš mobilitātes brauciens. PostDok projekta mobilitātes braucienā pie sadarbības partnera (Automatizācijas departaments, Kauņas Tehnoloģiju universitāte) strādāja pie 3. aktivitātes uzdevumu izpildes. Tika analizēti 3. aktivitātē iegūtie eksperimentālie dati: *P. pastoris* GS115 HBcAg (Mut+) 10. kultivācijas eksperimentu dati un *P. pastoris* GS115 HBsAg (MutS) 5. kultivācijas eksperimentu dati. HBcAg gadījumā tika piemeklēti mehānistiskā modeļa parametri, kas raksturo biomasas un substrātu (glicerīna un metanola) koncentrāciju maiņas dinamiku, gadījumam ar metanola kontroli 0-2 g/l. HBsAg gadījumā piemeklēja modeļa parametrus kultivācijām dažādās temperatūrās (24 un 30 C), un izmantojot 2 dažādus kultivācijas protokolus (protokoli: 1. Invitrogen un 2. Gurramkonda, et al., 2009, doi:10.1186/1475-2859-8-13). Ar modeli simulēja PI-kontroles proporcionālā koeficienta vērtībās, kas pielietojamas metanola kontrolei 0.5, 2 un 6 g/l kontrolei HBsAg ieguves procesam.
- Realizēts 1 nedēļu garš mobilitātes brauciens. PostDok projekta mobilitātes braucienā pie sadarbības partnera (Automatizācijas departaments, Kauņas Tehnoloģiju universitāte) strādāja pie 3. aktivitātes uzdevumu izpildes. Tika analizēti 3. aktivitātē iegūtie eksperimentālie dati: *S. cerevisiae* DY7221 3. kultivācijas eksperimentu dati. Tika piemeklēti mehānistiskā modeļa parametri, kas raksturo biomasas un substrātu (glikozes) koncentrāciju maiņas dinamiku, gadījumam ar etanola kontroli 0-5 g/l. Ar modeli

simulēja PI-kontroles proporcionālā koeficienta vērtībās, kas pielietojamas etanola kontrolei 2 un 5 g/l *S. cerevisiae* DY7221 biomasas ieguves procesam.

- 2019. gada 12. decembrī LVKĶI tika rīkots informatīvs seminārs par pēcdoktorantūras pētniecības projekta rezultātiem. Semināra mērķis bija iepazīstināt zinātniekus, maģistrantūras un doktorantūras studentus, kā arī nozares pārstāvētos uzņēmumus par projektā sasniegtajiem rezultātiem, kā arī diskutēt par iespējamo sadarbību. Seminārā piedalījās 10 viesi (no A/S Biotehniskais centrs, SIA Biofekts, LU un LV BMC) un 6 LV KĶI pārstāvji.
- Turpināts darbs pie projekta rezultātu noformēšanas zinātniskās publikācijas veidā. Veica patentmeklējumus un analizēja patentliteratūru saistībā ar metanola kontroli rūpnieciskajos rekombinanto olbaltumvielu ieguves procesos. Analizēta zinātniskā literatūra par HBcAg un HBsAg ieguves procesiem.

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: 30.12.2019.