

## **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 01.01.2019. – 31.03.2019.**

#### **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 mērogošanas tehnoloģiskā instrukcija.

## **Veiktās projekta darbības:**

### **Uz modeli bāzētas izmeklētas tiešsaistes sistēmas izveidošana**

Uz modeli bāzētu izmeklētu kontroles algoritmu izraudzīšanās. Turpināts darbs 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. Turpināts darbs pie tiešsaistes mērījumu analīzes – 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. \* Realizēja *P. pastoris* GS115 HBcAg (Mut+) laboratorijas bioreaktora kultivācijas procesu (92 h) ar noslēgta-kontūra metanola piebarošanas PI kontroles algoritmu ar uzstādīto metanola koncentrāciju 1 g/l. Ievāca un analizēja šūnu biomasas paraugus slapjā un sausā svara aprēķiniem. \* Realizēja *P. pastoris* GS115 HBcAg (Mut+) laboratorijas bioreaktora kultivācijas procesu (92 h) ar noslēgta-kontūra metanola piebarošanas PI kontroles algoritmu ar uzstādīto metanola koncentrāciju 2 g/l; iegūta metanola kontrole intervālā 0-4 g/l. Iepriekšminētajos procesos ievāca un analizēja šūnu biomasas paraugus slapjā un sausā svara aprēķiniem; uzkrāja un 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), kultūras dielektriskā caurlaidība (Incyte, Hamilton co.).

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 Invitrogen co. protokola). \* Realizēja *P. pastoris* GS115 HBsAg (MutS) laboratorijas bioreaktora kultivācijas procesu (94 h) pie 24 °C (kultivācija pēc Invitrogen co. protokola). \* Realizēja *P. pastoris* GS115 HBsAg (MutS) laboratorijas bioreaktora kultivācijas procesu (94 h) pie 26 °C (kultivācija pēc Invitrogen co. protokola).

Iepriekšminētajos procesos ievāca un analizēja šūnu biomasas paraugus slapjā un sausā svara aprēķiniem; uzkrāja un 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), kultūras dielektriskā caurlaidība (Incyte, Hamilton co.).

*S. cerevisiae* DY7221 kultivācija bioreaktorā, tiešsaistes un rokas analīžu datu ievākšana un analīze. Realizēts *S. cerevisiae* DY7221 biomasas ieguves process (30 h) izmantojot rauga ekstraktu, glikozes un sāļu barotni.

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

Hepatīta B kor-antigēna (HBcAg) sintēzes daudzuma un kvalitātes analīze. Kvantitatīvs HBcAg uzkrāšanās likumsakarību atkarībā no izraudzītās limitējošā substrāta kontroles un tās kvalitātes, novērtējums. Preparatīvi izdalīts un attīrīts HBcAg no procesa ar metanola kontroli 1 g/l: 9.06, 18.35 un 18.14 mg (proteīna)/g (sausā šūnu svara) attiecīgi no procesa 48, 71 un 92 h. un 3.5 mg (proteīna)/g (slapjā šūnu svara) no procesa 75 h. Kopējie iegūtie HBcAg daudzumi bija 1.33, 4.86 un 4.70 g attiecīgi procesa 48, 71 un 92 stundās. Iegūtie dati norāda, ka realizējas HBcAg

dinamiska uzkrāšanās no 48-71 h, kur tālāk procesa 92 h novērojama proteīna līmeņa saglabāšanās iepriekšējā līmenī, vai pat samazināšanās.

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

Pēc produkta elektroforēzes ainas secināts par HBsAg uzkrāšanos. Preparatīvas tīrīšanas gaitā HBsAg veidoja agregātus, kā rezultātā zuda produkts.

*S. cerevisiae* DY 7221 biomasas daudzuma analīze. Limitēta substrāta apstākļos, procesa 30 h, konstatēts biomasas pieaugums līdz 70 g/l.

**Projekta realizācija**

- 15. janvārī apmeklēts VIAA seminārs par Eiropas Komisijas jauno Funding&Tender portālu un Elsevier zinātniskās informācijas analītisko rīku SciVal, kas ir nenovērtējams rīks konsorcijs partneru piesaistē un projektu tēmas izvēlē.

**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:** 31.03.2019.