

«Հաստատում եմ»  
ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիայանի անվան  
կենսաքիմիայի ինստիտուտի անօրեն, կ.գ.դ.  
Ս.Գ. Չախյան  
«25 հունիսի 2024 թ.»



**ԱՌԱՋԱՏԱՐ ԿԱԶՄԱԿԵՐՊՈՒԹՅՈՒՆ  
ԿԱՐՄԻՔ**

Աննա Արշակի Փոլադյանի «Խմորման վերջնափուլերի օքսիդավերականգնողական կարգավորումը և դրա կիրառման հնարավորությունը օրգանական թափոնների մշակման գործում» Գ.00.04-կենսաքիմիա մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների դոկտորի գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության վերաբերյալ

Աշխատանքը քննարկվել և տրվել է կարծիք ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիայանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի գիտխորհրդի 2021թ. հունիսի 24-ի թիվ 7 նիստում: Նիստին մասնակցում էին կ.գ.դ. Ս.Գ. Չախյանը, կ.գ.դ., պրոֆեսոր Մ.Ա. Միմոնյանը, կ.գ.դ. Ս.Ս. Մարդանյանը, կ.գ.դ. Ս.Ս. Աբրահամյանը, կ.գ.թ., դոցենտ Հ.Լ. Հայրապետյանը, կ.գ.թ. Գ. Գ. Գյուլխանդանյանը, կ.գ.թ. Վ.Կ. Գասպարյանը, կ.գ.թ. Թ.Ե. Սեֆերյանը, կ.գ.թ. Ն.Խ. Ալշուջյանը, կ.գ.թ., դոցենտ Ա. Անտոնյանը, կ.գ.թ. Ֆ.Պ. Սարուխանյանը, կ.գ.թ. Զ.Խ. Պարոնյանը, կ.գ.թ. Վ.Հ. Քնարյանը, կ.գ.թ. Ն.Վ. Քոչարյանը, կ.գ.թ. Բ.Է. Դանիելյանը, կ.գ.թ. Ա.Ա. Աղաբաբովան:

Քննարկման ընթացքում տրվեցին հարցեր, որոնց ատենախոսը տվեց սպառիչ պատասխաններ: Ելույթ ունեցան կ.գ.դ. Ս.Ս. Մարդանյանը, կ.գ.դ., կ.գ.դ., պրոֆ Մ. Ա. Միմոնյանը, կ.գ.թ. Գ. Գյուլխանդանյանը, որոնք ընդգծեցին աշխատանքի հիմնական արժանիքները՝ նորույթը և գիտագործնական նշանակությունը:

**Ատենախոսության թեմայի արդիականությունը:** Համաշխարհային զարգացման նպատակներից մեկը CO<sub>2</sub>-ի արտանետման կրճատումն է և ջրածնահեն տնտեսության անցումը: Ջրածնի արտադրության մի քանի ուղիներ գտնվում են զարգացման ավելի վաղ փուլերում, ներառյալ բարձր ջերմաստիճանով գոլորշու էլեկտրոլիզը, արևային ջերմաքիմիական ջրի ճեղքումը (արհեստական ֆոտոսինթեզ) և կենսաբանական ջրածինի կենսաջրածնի արտադրությունը: Կայուն զարգացման պահանջները բավարարելու համար ջրածինը (H<sub>2</sub>) պետք է ստացվի վերականգնվող ռեսուրսներից, էկոլոգիապես օգտավետ և քիչ էներգիա պահանջող տեխնոլոգիաներից: Այդ պատճառով, ուշադրություն է դարձվում կենսատեխնոլոգիական մոտեցումներին՝ որոշակի մանրէաբանական կատալիզատորների օգտագործմամբ, որոնք կենսազանգվածից անջատած նյութերը անթթվածնային պայմաններում վերափոխում են H<sub>2</sub>-ի կամ հոսանքի: Այժմ կենսաջրածինը ստացվում է ֆոտո- և մթնային խմորման արդյունքում: Գործնական տեսանկյունից ամենահեշտ իրականացվելին մթնային խմորումն է: Ջրածնի

ստացման համար կիրառում են տարբեր կենսազանգվածներ, ամենատարածվածը դա լիզնոցեյուլոզային կենսազանգվածներն են: *Echserichia coli*-ն ցուցաբերում է ածխածնի (շաքարներ, սպիրտ) խառը խմորում՝ արտադրելով մրջնաթթու, սաթաթթու, քացախաթթու, էթանոլ և այլն: *E. coli*-ի թաղանթակապ մրջնաթթու ջրածին լիազ (ՄՋԼ) համալիրը փոխակերպում է մրջնաթթուն մինչև  $\text{CO}_2$ -ի և  $\text{H}_2$ -ի: Այդ գործընթացին մասնակցում են հիդրոգենազները (Հիդ), որոնք իրականացնում են  $\text{H}_2$ -ի դարձելի օքսիդացումը ( $\text{H}_2 \rightarrow 2\text{H}^+ + 2e^-$ ): Ցույց է տրվել, որ 200 և ավելի ախտածին և պայմանական ախտածին մանրէներ կրում են Հիդ գեներ: Ջրածնի նյութափոխանակության ուսումնասիրումը ախտածիններում կարող է թիրախ դառնալ դրանց հարուցած հիվանդությունների բուժման համար:

Բազմաթիվ տվյալներ են ստացվել, որոնք փաստում են ջրածնի նյութափոխանակության մեջ պրոտոնային F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> ԱԵՖսինթազի/ազի և կալիումի իոնների տեղափոխիչ TrkA համակարգի կարևորագույն դերի մասին: Երկու տեղափոխիչ համակարգերի համատեղ գործունեությունը բացատրվում է խմորման պայմաններում էներգիայի տնտեսման նպատակով թաղանթի ներսում դրանց միջև էներգիայի փոխանցման հնարավորությամբ: Ավելին, խմորման պայմաններում էներգիային փոխանակման, դրա արդյունավետ օգտագործման և կայունության գործում *E. coli*-ում ենթադրվել է  $\text{H}_2$ - և  $\text{H}^+$ -ային շրջապտույտների ձևավորումը և այդ գործընթացներում, համապատասխանաբար, Հիդ-ների և F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> ԱԵՖսինթազի/ազի մասնակցությունը: Ներկայումս  $\text{H}_2$ -ի արտադրության ոլորտում խնդիր է հանդիսանում տարբեր ֆերմենտների ակտիվության որոշումը և կառավարումը: Հիդ-ը մանրէներում ծառայում ոչ միայն  $\text{H}_2$ -ի արտադրություն համար, ավելին, դրանք կենսավառելիքային սարքերում (ԿՎՍ) կարող են օգտագործվել որպես կատալիզատորներ և մասնակցել էլեկտրաէներգիայի առաջացմանը: Մանրէների կուլտիվացման, կենսազանգվածի և  $\text{H}_2$ -ի արտադրության նպատակով օգտագործվող էժան աղբյուրների, մասնավորապես, գլիցերոլի և արտադրական այլ թափոնների օգտագործման հնարավորությունը, կնպաստի ոչ միայն էժան էներգիայի (էլեկտրականություն) ստացմանը, այլ նաև կլուծի թափոնների յուրացման էկոլոգիական խնդիրը:

**Ատենախոսության գիտական նորույթ:** Ներկայացված աշխատանքում ցույց է տրվել, որ թաղանթային սպիտակուց-սպիտակուցային համալիրների (F<sub>0</sub>F<sub>1</sub> ԱԵՖազի և կալիումի տեղափոխիչների) փոխազդեցությունը և աշխատանքի մեխանիզմը կարող է համընդհանուր լինել մի շարք մանրէներում, որը պատասխանատու է բջջի կարևորագույն էներգիային գործընթացների ապահովման և կարգավորման համար: Մասնավորապես ցույց է տրվել, որ *E. hirae*-ում F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ԱԵՖազի և K<sup>+</sup> կլանող Trk-նման համակարգի փոխազդեցությունը (պրոտոն/կալիումական պոմպի ձևավորումը), ինչպես նաև այդ փոխազդեցության մեջ թիոլային խմբերի էական դերը, որը կարգավորվում է ՆԱԴ<sup>+</sup>/ՆԱԴԻ միջնորդված կոնֆորմացիային փոփոխություններով: *E. hirae*-ում բացակայում է ՄՋԼ-ն, ուստի ՆԱԴԻ-ը այս մանրէներում կարող է լինել էներգիայի փոխանցման միջոց: Օքսիդավերականգնողական պոտենցիալը (ՕՎՊ) *E. hirae*-ում մանրէներում կարող է փոխարինել ՕՔ-ին և որոշիչ լինել աճի համար անհրաժեշտ գործընթացներում: Հեղինակը ցույց է տրվել Հիդ ֆերմենտների

գործունեության և կենսաջրածնի արտադրության ռեդօքս կարգավորումը: Բացահայտվել է Հիդ-3-ի հիմնական դերը H<sub>2</sub>-ի նյութափոխանակության մեջ pH 6.5 և pH 7.5-ում, ինչպես նաև Հիդ-2-ի և Հիդ-4-ի՝ pH 7.5-ում՝ գլիցերոլի և մրջնաթթվի համատեղ խմորման պայմաններում: Սահմանափակ էներգիայի նվազագույն աղային միջավայրի և ջրածնի նյութափոխանակության տարբեր խախտումներով մուտանտների կիրառումը մատնանշում են ջրածնի նյութափոխանակության հանգուցային դերը մանրէների կենսագործունեության համար և արտաքին միջավայրի պայմանների փոփոխմամբ դրա կառավարման հնարավորությունը: Ցույց է տրվել գլիցերոլի խմորման հիմնական արգասիքի՝ էթանոլի ցածր խտությունների ազդեցությամբ *E. coli*-ի աճի և ջրածնի արտադրության կարգավորումը: Ցույց է տրվել նաև H<sub>2</sub>-ի նյութափոխանակության մեջ ներգրավված որոշ մետաղների (Ni, Fe, Mo) խթանիչ ազդեցությունը *E. coli*-ի աճի և ջրածնի արտադրության գլիցերոլի և գլյուկոզի խմորման պայմաններում: Համադրելով ստացված արդյունքները առաջարկվել է H<sub>2</sub>-ի խթանված արտադրություն համար նոր տեխնոլոգիական մոտեցում: Բացահայտվել են քսիլոզի խմորման ընթացքում ջրածնի արտադրության համար պատասխանատու Հիդ ֆերմենտները: Առաջարկվել է քսիլոզի և գլիցերոլի համատեղ օգտագործման հնարավորությունը, և բացահայտվել միջավայրի բուֆերային ունակության դերը երկարատև և խթանված ջրածնի ստացման համար:

Իրականացվել են նաև թղթի և զարեջրի արտադրության թափոնների ֆիզիկաքիմիական նախամշակում և դրանց հիդրոլիզատների օպտիմալացում՝ մանրէային առավելագույն աճի ապահովման համար: Որոշվել են *E. coli* մանրէներում ջրածնի արտադրության համար պատասխանատու Հիդ ֆերմենտները թափոնների հիդրոլիզատների յուրացման պայմաններում: Ավելին, դիտարկվել է դրանց օգտագործմամբ ջրածնի արտադրության տնտեսապես շահավետ լինելը: Իրականացվել է *Ralstonia eutropha*-ի մի շարք կենսաէներգետիկ պարամետրերի, ՕՎՊ-ի կինետիկայի ուսումնասիրություններ տարբեր թափոնների առկայության և բացակայության պայմաններում: Առաջին անգամ ցույց է տրվել բակտերիաների աճ և Հիդ ֆերմենտների սինթեզը զարեջրի թափոնի հիդրոլիզատի յուրացման պայմաններում: Վերականգնիչով պայմանավորված ցածր ՕՎՊ-ը զգալի խթանում է բջիջներում Հիդ-ների H<sub>2</sub>-օքսիդացնող ակտիվությունը: Բարձր H<sub>2</sub>-օքսիդացնող Հիդ-ային ակտիվություն դիտվել է գլիցերոլի խմորման դեպքում: *R. eutropha* թաղանթային Հիդ-ը և *E. coli*-ի ամբողջական բջիջները անշարժացվել են էլեկտրաքիմիական համակարգում սենսորների վրա, և դրանց արդյունավետությունը հաջողությամբ փորձարկվել է՝ որպես անողային կատալիզատորներ տարբեր ռեդօքս միջնորդանյութերի կիրառմամբ:

Ատենախոսության բովանդակությունը և ձևավորման գնահատականը:

Աննա Արշակի Փոլադյանի ատենախոսական աշխատանքը կազմված է գրական ակնարկ, փորձարարական մաս, ստացված արդյունքների քննարկում, ամփոփում բաժիններից, ինչպես նաև եզրակացություններից և օգտագործված գրականության ցանկից:

Ներածական և խնդրի դրվածք բաժիններում հայցորդի կողմից լիովին հիմնավորված են աշխատանքի արդիականությունը, գիտական նորույթը,

աշխատանքի նպատակն ու խնդիրները, հետազոտման եղանակների ընտրությունը և արդյունքների կիրառական նշանակությունը:

Գրական ակնարկում հեղինակի կողմից կատարված է ուսումնասիրվող նյութի վերաբերյալ գիտական տվյալների և արդյունքների բազմակողմանի վերլուծություն: Հետազոտության նյութեր և մեթոդներ բաժնում մանրամասն նկարագրված են ստենախոսի կողմից կիրառված մանրէաբանական և կենսաքիմիական ժամանակակից մեթոդները:

Արդյունքների նկարագրման և քննարկման բաժիններում ներկայացված են կատարված ծավալուն հետազոտական և փորձարարական աշխատանքի հիման վրա ստացված տվյալները և դրանց քննարկումը:

Ատենախոսության եզրահանգումները տրամաբանորեն հետևում են փորձերի արդյունքներից և բազմակողմանի հիմնավորված են:

Ատենախոսության գործնական արժեքը:

Ստացված արդյունքները նոր են և հնարավորություն են տալիս պարզաբանել տարբեր Հիդ-ների և պրոտոնային ԱԵՖ-ազի գործառական կապը ածխածնի տարբեր աղբյուրների խմորման պայմաններում, ինչպես նաև ԱԵՖ-ազի դերը բջջային նյութափոխանակության կարգավորման հարցում: Աշխատանքում առաջին անգամ ցույց է տրվել, որ կարգավորելով ՕՎՊ-ն՝ կարելի է մեծացնել բատերիաների կենսատեխնոլոգիական կիրառելիությունը, ինչպես կենսազանգվածի, այնպես էլ տարբեր արժեքավոր նյութերի ստացման նպատակով:

*R. eutropha*-ն, ինչպես և *E. coli*-ն բարձր կենսատեխնոլոգիական ներուժով մանրէներ են: Այս մանրէները ունեն  $O_2$ -կայուն Հիդ-ներ և կարող են օգնել  $H_2$ -ային կենսատեխնոլոգիայի վրա հիմնված ապագա ինչպես կոմերցիոն, այնպես էլ բժշկական արժեքավոր միացությունների արտադրությանը: Հետևաբար տարբեր ֆերմենտների, ինչպես նաև դրանց ձևավորած գերհամալիրներում փոխազդեցության մեխանիզմների, գործառույթային կապի և կարգավորման հետ կապված այս տվյալները կարելի է կիրառել ինչպես հիմնարար գիտական հետազոտություններում, այնպես էլ կենսատեխնոլոգիական նպատակներով: Ավելին, ցածրարժեք և մատչելի ածխածնի աղբյուրները, օրինակ, տարբեր օրգանական թափոնները կարող են օգտագործվել մանրէային կենսազանգվածի և Հիդ-ների արտադրության համար, որոնք հետագայում ուղղվելու են էլեկտրաէներգիայի արտադրության համար:

Սեղմագրի համապատասխանությունը ատենախոսության հիմնական դրույթներին: Հեղինակի կողմից ստացված արդյունքները տպագրվել են ազդեցության գործակցով միջազգային գիտական ամսագրերում և միջազգային գիտաժողովների թեզիսներում: Սեղմագիրը համապատասխանում է ատենախոսության բովանդակությանը:

Այս ամենով հանդերձ աշխատանքը գերձ չէ որոշ թերություններից, այսպես՝

- Եզրակացությունները ծավալուն են, նկարագրական, կարելի էր տալ ավելի հակիրճ տեսքով, թեև դրանից իմաստը չի տուժում:
- Հիդրոգենազների ակտիվ կենտրոնները ոչ հեմային երկաթ-ծծմբային, երկաթ(նիկել)-ծծմբային կոմպլեքսներ են, որոնք լաբիլ են և առանձնահատուկ զգայուն են շրջապատի թթվային-վերականգնողական փոփոխությունների

նկատմամբ: Չի բացառվում, որ բակտերիաների ջրածին անջատելու ունակության անկումը բացատրվում է հենց ակտիվ կենտրոնների նման զգայնությամբ, որը պետք է հաշվի առնվեր մետաղական իոնների և ծծմբային ռեազենտների ազդեցության ժամանակ:

- Աշխատանքում առկա են ոճական և ուղղագրական սխալներ, որոնց բացակայության դեպքում աշխատանքը, անշուշտ, կլիներ առավել հասկանալի և անթերի:

Եզրակացություն: Հաշվի առնելով վերը նշվածը, կարելի է եզրակացնել, որ Աննա Արշակի Փոլադյանի կողմից ներկայացված «Խմորման վերջնափուլերի օքսիդավերականգնողական կարգավորումը և դրա կիրառման հնարավորությունը օրգանական թափոնների մշակման գործում» թեմայով դոկտորականատենախոսական աշխատանքը հիմնավոր և ավարտուն գիտագործնական ուսումնասիրություն է: Այն բավարարում է ՀՀ-ում գիտական աստիճանաշնորհման կանոնակարգի 8-րդ կետով դոկտորականատենախոսություններին ներկայացվող պահանջներին, իսկ հեղինակն արժանի է Գ.00.04 - «Կենսաքիմիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների դոկտորի գիտական աստիճանի շնորհմանը:

Կարծիքը քննարկվել և հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Ն. Բունիայանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի գիտխորհրդի նիստում (արձանագրություն թիվ 7 24 հունիսի 2021թ.):

Նիստի նախագահ, ՀՀ ԳԱԱ Ն. Բունիայանի  
անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի  
գիտական խորհրդի նախագահ, կ.գ.դ.

Ս. Գ. Չախլյան

Նիստի քարտուղար,  
գիտական խորհրդի քարտուղար.  
կ.գ.թ., դոցենտ

*Սևեթ*



Հ. Լ. Հայրապետյան