

«Հաստատում են»
ՀՀ ԳԱԱ Ն. Բունիաթյանի անվան
Կենսաքիմիայի ինստիտուտի տնօրեն, կ.գ.դ.
Ս.Գ. Չախլյան
«20» Յուլի 2021թ.

ԱՌԱՋԱՏԱՐ ԿԱԶՄԱԿԵՐՊՈՒԹՅՈՒՆ
ԿԱՐԾԻՔ

Հեղինե Խաժակի Գևորգյանի «Պրոտոնային F₂F₁-ԱԵՏագի և մրջնաթթուջրածինլիազի փոխազդեցությունը ածխածնի տարբեր աղբյուրների և դրանց խառնուրդների խմորման ընթացքում» թեմայով Գ.00.04 «Կենսաքիմիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության վերաբերյալ

Աշխատանքը քննարկվել և տրվել է կարծիք ՀՀ ԳԱԱ Ն. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի գիտխորհրդի 2021թ. օգոստոսի 19-ի թիվ 11 նիստում: Նիստին մասնակցում էին կ.գ.դ. Ս.Գ. Չախլյանը, կ.գ.դ., պրոֆեսոր Մ.Ս. Սիմոնյանը, կ.գ.դ. Ս.Ս. Մարդանյանը, կ.գ.դ. Ս.Ս. Աբրահամյանը, կ.գ.թ., դոցենտ Հ.Լ. Հայրապետյանը, կ.գ.թ., դոցենտ Ա.Անտոնյանը, կ.գ.թ. Գ. Գ. Գյուլխանդանյանը, կ.գ.թ. Վ.Կ. Գասպարյանը, կ.գ.թ. Թ.Ե. Սեֆերյանը, կ.գ.թ. Ի.Կ. Սահակյանը, կ.գ.թ. Զ.Խ. Պարոնյանը, կ.գ.թ. Բ. Դանիելյանը, կ.գ.թ., դոցենտ Լ. Առաքելյանը, կ.գ.թ. Վ.Հ. Քնարյանը:

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

Ատենախոսության թեմայի արդիականությունը: Ներկայումս խմորման գործընթացի կիրառական ոլորտները ընդլայնվում են, ինչը հնարավորություն է տալիս տարբեր միջավայրերի և համապատասխան օրգանիզմների օգտագործման միջոցով ստանալ ցանկալի վերջնանյութեր:

Վերջին տարիներին գիտական շատ խմբերի ուշադրությունը սևեռվել է խմորման միջոցով էներգիայի այլընտրանքային աղբյուրների ստացման վրա, քանի որ հանածո վառելիքի պաշարները աստիճանաբար սպառվում են: Տարբեր մանրէների կողմից խմորման արդյունքում առաջանում են էթանոլ, բութանոլ, H₂, որոնք համարվում են խոստումնալից կենսավառելիքներ

ապագայի համար: H₂-ը՝ որպես կենսավառելիք, ունի բազմաթիվ առավելություններ՝ վերականգնվող է, ունի բարձր արդյունավետություն՝ 142 կՋ գ¹, թունավոր չէ, և այրման ընթացքում օդի աղտոտում տեղի չի ունենում:

Բակտերիաներում ածխածնի խառն աղբյուրներից H₂-ի ստացման ուսումնասիրության նկատմամբ հետաքրքրությունը ներկայումս մեծ է, քանի որ մեծ քանակով խառն աղբյուրներ առկա են արդյունաբերական, գյուղատնտեսական և այլ օրգանական ածխածնի աղբյուրներ պարունակող թափոններում: Ածխածնի տարբեր աղբյուրների համախմորման կենսաքիմիական և կենսաէներգետիկական բնութագրերի որոշումը կարևոր է H₂-ի և բակտերիաների կենսազանգվածի արտադրության բարելավման համար:

Escherichia coli-ն H₂ արտադրող բակտերիաներից է, որն ունակ է յուրացնել ածխածնի աղբյուրներ լայն տիրույթ և իրականացնել խառը խմորում: Այս բակտերիան ունակ է յուրացնել ածխածնի տարբեր աղբյուրները ոչ միայն առանձին, այլ նաև խառնուրդներում: Վերջիններիս համախմորման ուսումնասիրությունը կարևոր է ոչ միայն հիմնարար, այլ նաև H₂-ի մեծածավալ արտադրությունում կիրառական տեսանկյունից:

H₂-ի նյութափոխանակությունն իրականանում է թաղանթակապ չորս հիդրոգենազ (Հիդ) ֆերմենտների միջոցով, որոնք իրականացնում են H₂-ի արտադրություն կամ օքսիդացում՝ կախված խմորման պայմաններից: H₂-ի արտադրության բարելավման նպատակով առաջնային է H₂-ի նյութափոխանակությանը մասնակցող ֆերմենտների և այլ թաղանթակապ սպիտակուցների փոխազդեցության ուսումնասիրումը: Հիդ-ների գործունեության արդյունքում թաղանթի երկայնքով առաջանում է ջրածնային ցիկլ, որը, ըստ վերջերս կատարված բազմաթիվ հետազոտությունների, կապված է պրոտոնային ցիկլի հետ: Այս փոխազդեցությունը իրականանում է H₂-ի արտադրությանը մասնակցող Հիդ-ների և պրոտոնային F₁F₀-ԱԵՖազի միջև և ուղղված է բակտերիաներում պրոտոնաշարժ ուժի առաջացմանը, հետևաբար նաև նրանց կենսունակության պահպանմանը: Նախկինում կատարված ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ K⁺ իոնները ունեն նշանակալի ազդեցություն պրոտոնային ԱԵՖազի ակտիվության վրա: Մասնավորապես, Հիդ-4-ը, K⁺ իոններ տեղափոխող Trk համակարգը և F₁F₀-ԱԵՖազը փոխազդում են գլյուկոզի խմորման պայմաններում աճման միջավայրի pH 7.5 արժեքում:

Ներկայումս ուսումնասիրությունները ուղղված են թաղանթում համալիրներ կազմող սպիտակուցների և ֆերմենտների փոխազդեցության արդյունքում էներգիայի փոխանցման ուսումնասիրությանը և դրանցում երկթիոլ-երկսուլֆիդ փոխանակության դերի բացահայտմանը: Ցույց է տրվել, որ երկթիոլ-երկսուլֆիդ փոխանակման միջոցով էներգիան փոխանցվում է ԱԵՖազից դեպի լուծելի երկրորդային տեղափոխիչներ գլյուկոզի խմորման պայմաններում: Տարբեր հետազոտությունների արդյունքում պարզվել է, որ

Հիդ-ները նշանակալի դեր ունեն պրոտոնաշարժ ուժի առաջացման գործընթացում: Դեռ ավելին, կարևորվում է մրջնաթթուջրածինլիազ համալիրների սինթեզի կարգավորման ուսումնասիրումը, ինչպես նաև համալիրի կազմում գտնվող ֆերմենտների և թաղանթակապ այլ սպիտակուցների փոխազդեցության արդյունքում պրոտոնային գրադիենտի առաջացման և թաղանթային պոտենցիալի կարգավորման բացահայտումը:

Այսպիսով, ածխածնի խառն աղբյուրների (գլյուկոզ, գլիցերոլ, մրջնաթթու) խմորման պայմաններում կենսաքիմիական և կենսաէներգետիկական բնութագրիչների որոշումը կիրառելի է տարբեր թափոնների և դրանց խառնուրդների որպես ածխածնի աղբյուրների, կիրառման դեպքում կենսազանգվածի և H₂-ի արտադրության կարգավորման և բարելավման համար:

Ատենախոսության գիտական նորույթը: Հետազոտության արդյունքները ցույց են տվել, որ *E. coli*-ն ունակ է աճել յուրացնելով և համախմորելով գլյուկոզի, գլիցերոլի և մրջնաթթվի խառնուրդը աճման միջավայրի pH-ի տարբեր արժեքներում (5.5, 6.5 և 7.5): Մասնավորապես, pH 7.5-ը եղել է ամենաբարենպաստը *E. coli* բակտերիաների աճման համար: Դեռ ավելին, արտաքին մրջնաթթվի կոնցենտրացիան ունեցել է դրական ազդեցություն բակտերիաների աճման տեսակարար արագության արժեքի վրա թույլ հիմնային և թույլ թթվային pH-ներում: Ցույց է տրվել, որ ՄՁԼ համալիրը կազմող սպիտակուցները ունեն կարևոր դեր բակտերիաների աճման վրա: Այս արդյունքները տալիս են կարևոր տեղեկատվություն *E. coli* բակտերիաների կենսազանգվածի ստացման և բարելավման համար:

Ցույց է տրվել, որ մրջնաթթուն յուրացվել է աճման լազ փուլում, սակայն չի հանգեցրել H₂-ի արտադրության և մասնակցել է H₂-ի նյութափոխանակությանը մասնակցող ֆերմենտների սինթեզի և ակտիվության կարգավորմանը: Գլիցերոլի յուրացման արագությունը գլյուկոզի հետ համախմորման պայմաններում եղել է ավելի բարձր pH 7.5-ում: Դեռ ավելին, աճման 72-րդ ժամից հետո, երբ աճման միջավայրում հայտնաբերվել է գլիցերոլը՝ որպես միակ խմորվող սուբստրատ, տեղի է ունեցել առաջացող թթուների հարաբերակցության փոփոխություն, ինչն ուղղված է եղել բջիջների օքսիդավերականգնողական վիճակի կարգավորմանը և պրոտոնաշարժ ուժի ձևավորմանը:

Բացահայտվել է, որ թաղանթակապ ֆերմենտները՝ F₀F₁-ԱԵՖազը, ՄԴՀ և Հիդ ֆերմենտները փոխազդում են գլյուկոզի, գլիցերոլի և մրջնաթթվի խառնուրդի խմորման պայմաններում pH 7.5-ում և pH 5.5-ում: Հայտնաբերվել է, որ թթվային պայմաններում K⁺ իոններ տեղափոխող համակարգը ունի կարևոր նշանակություն ՄՁԼ համալիրի բաղադրիչների և պրոտոնային ԱԵՖազի փոխազդեցության համար: Ստացված արդյունքները վկայում են, որ վերը նշված փոխազդեցություններն իրականանում են թիոլ խմբերի երկթիոլ-

երկսուլֆիդ անցման շնորհիվ: Այս մեխանիզմի ուսումնասիրումը կարևոր է ածխածնի խառն աղբյուրների խմորման գործընթացի կարգավորման համար:

Ցույց է տրվել, որ FhlA կարգավորիչ սպիտակուցն ունի կարևոր նշանակություն պրոտոնային ԱԵՖազային ակտիվության և ΔpH-ի կարգավորման համար բակտերիաների աճման 20-րդ և 72-րդ ժամերում: Բացի այդ, FhlA-ը կարգավորում է խմորման ելանյութերի յուրացումը և վերջնանյութերի արտադրությունը:

Ատենախոսության բովանդակությունը և ձևավորման գնահատականը:

Հեղինե Խաժակի Գևորգյանի ատենախոսական աշխատանքը կազմված է գրական ակնարկ, հետազոտման նյութեր և մեթոդներ, հետազոտությունների արդյունքներ և դրանց քննարկում 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 ատենախոսի կողմից կիրառված մանրէաբանական և կենսաքիմիական ժամանակակից մեթոդները:

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

Ներկայացված աշխատանքում առաջին անգամ ուսումնասիրվել է *E. coli*-ում ածխածնի խառն աղբյուրների՝ գլյուկոզի, գլիցերոլի և մրջնաթթվի խմորման պայմաններում մրջնաթթուդեհիդրոգենազների, Հիդ ֆերմենտների և F.F.-ԱԵՖազի փոխազդեցության մեխանիզմները միջավայրի pH 5.5, 6.5 և 7.5 արժեքներում, ինչպես նաև այդ փոխազդեցության նշանակությունը բակտերիաների աճման և պրոտոնաշարժ ուժի առաջացման գործընթացում:

Ցույց է տրվել, որ pH 7.5-ը ամենաբարենպաստ պայմանն է *E. coli* բակտերիաների աճման վերը նշված պայմաններում: FhlA կարգավորիչ սպիտակուցը ունի փոխհատուցողական նշանակություն աճման տեսակարար արագության վրա պրոտոնային ԱԵՖազի արգելակման պայմաններում pH 7.5-ում ուսումնասիրված բոլոր պայմաններում և 6.5-ում 10 մՄ մրջնաթթվի ավելացման դեպքում: pH 6.5-ում Հիդ և ՄԴՀ ֆերմենտներն ունեն կարևոր դեր բակտերիաների աճման վրա առանձին կամ ՄՁԼ համալիրի կազմում:

E. coli-ն համախմորում է գլյուկոզի, գլիցերոլի խառնուրդը մրջնաթթվի ներկայությամբ աճման միջավայրի pH 5.5, 6.5 և 7.5 արժեքներում: Ընդ որում, աճման սկզբնական ժամերին յուրացվում է մրջնաթթուն: Դեռ ավելին.

նյութափոխանակության հիմնական բնութագրերը սուբստրատների յուրացման և վերջնանյութերի առաջացման արագությունները համեմատաբար բարձր են pH 7.5-ում: Խնորման արդյունքում առաջացող հիմնական արգասիքը քացախաթթուն է, ինչի արտադրման ժամանակ սինթեզվում է բարձրաէներգետիկ մոլեկուլ: Էթանոլը և սաթաթթուն առաջանում են համեմատաբար բարձր քանակությամբ, որպեսզի կարգավորվի բջջի օքսիդավերականգնողական վիճակը:

F₀F₁-ԱԵՖազի, ՄԴՀ և Հիդ ֆերմենտների միջև հիմնական փոխազդեցությունը իրականանում է pH 7.5-ում և pH 5.5-ում: Ավելին, քացախայտվել է K⁺ իոնների ազդեցությունը կախված pH-ից և մուտանտից: Հայտնաբերվել է արտաբջջային pH-ի և ՄԴՀ-ների դերը F₀F₁-ԱԵՖազային ակտիվության վրա: Հատկապես ցույց է տրվել ՄԴՀ-ների կարևոր և հիմնական ազդեցությունը, երբ արտաբջջային pH-ը ցածր է: Դեռ ավելին, բոլոր պայմաններում F₀F₁-ԱԵՖազը և Հիդ ֆերմենտները փոխալրացնում են միմյանց H⁺-ի տեղափոխության համար: Ստացված տվյալները առաջարկում են նոր մոտեցում K⁺ իոններից կախված թաղանթային սպիտակուցների փոխազդեցության վերաբերյալ: Մասնավորապես, ցույց է տրվել ցածր pH-ում F₀F₁-ԱԵՖազի և ՄՋԼ համալիրների փոխազդեցություն կախված K⁺ իոններ տեղափոխող համակարգից:

Ցույց է տրվել, որ pH 5.5-ում մրջնաթթվի և K⁺ իոնների խթանիչ ազդեցությունը պրոտոնային ԱԵՖազի ակտիվության վրա իրականանում է անուղղակի՝ հասանելի թիոլ խմբերի քանակի նվազեցմամբ և ՄԴՀ-H-ի ու F₀F₁-ի միջև երկթիոլ-երկսուլֆիդ փոխանակման միջոցով: Մինչդեռ, հիմնային pH-ում մրջնաթթվի խթանիչ ազդեցությունը F₀F₁-ԱԵՖազի ակտիվության վրա միջնորդված չէ թիոլ խմբերի վերօքս կարգավիճակով:

Առաջացող թթուների քանակության և պրոտոնային ԱԵՖազային ակտիվության մեջ գործում է փոխազդեցություն, ինչն ուղղված է ΔpH-ի կարգավորմանը և, հետևաբար, Δp-ի պահպանմանը: ΔΨ-ն եղել է հաստատուն *E. coli* բակտերիաների աճման ընթացքում: Դեռ ավելին, FhlA կարգավորիչ սպիտակուցը չունի էական նշանակություն ΔΨ-ի առաջացման գործում:

Կարևոր է նշել նաև, որ արտաքին մրջնաթթվի յուրացումն աճման լազ փուլում չի հանգեցնում H⁺-ի արտադրության և հավանական է, որ ունի կարգավորիչ նշանակություն H⁺-ի նյութափոխանակությանը մասնակցող ֆերմենտների համար: Առաջացող թթուների հարաբերակցության ուսումնասիրությունը թույլ է տալիս ենթադրել, որ բակտերիային բջիջները պահպանում են ΔpH-ը քացախաթթու-մրջնաթթու-կաթնաթթու փոխանակման միջոցով pH 7.5-ում: Արտաքին մրջնաթթուն ունեցել է խթանիչ ազդեցություն պրոտոնային ԱԵՖազային ակտիվության վրա, ինչը հիմք է հանդիսանում ենթադրելու, որ գոյություն ունի ուղղակի կամ անուղղակի կապ, ինչը անկախ է աճման ժամանակից: Հստակ ցույց է տրվել, որ FhlA-ը ունի կարևոր նշանակություն F₀F₁-ԱԵՖազային ակտիվության և ΔpH-ի կարգավորման

համար, ինչից ենթադրվում է, որ ՄՋԼ համալիրի բաղադրիչները մասնակցում են Δp-ի առաջացմանը:

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

Ատենախոսության գործնական արժեքը:

Ստացված արդյունքները տալիս են նոր տեղեկություն բակտերիայի նյութափոխանակության և պրոտոնաշարժ ուժի առաջացման վերաբերյալ: Խմորման ընթացքում առաջացող թթուների հարաբերակցության փոփոխությունը թույլ է տալիս առաջ բերել նոր մոտեցում H₂-ի արտադրության կարգավորման համար: Թաղանթակապ ֆերմենտների և սպիտակուցների փոխազդեցության մեխանիզմների բացահայտումը կիրառական է ինչպես հիմնարար գիտական հետազոտություններում, այնպես էլ կենսատեխնոլոգիական տարբեր ոլորտներում:

Ձեռք բերված տվյալները կարևոր են հասկանալու, թե ինչպես են բակտերիաները պահպանում իրենց կենսունակությունը ածխածնի աղբյուրների խառնուրդի համախմորման պայմաններում: Տվյալները կիրառելի են հետազայում թափոնների՝ որպես ածխածնի խառն աղբյուրների յուրացման պայմաններում բակտերիաների կենսազանգվածի ստացման և H₂-ի մեծածավալ արտադրության բարելավման համար: Դեռ ավելին, կենսաբիմիական և կենսաէներգետիկական բնութագրերի կարգավորումը կնպաստի խմորման գործընթացի բարելավմանը և ցանկալի վերջնանյութի ելքի մեծացմանը:

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 գերծ չէ որոշ թերություններից, այսպես

- Պաշտպանությանը ներկայացվող հիմնական դրույթները կարելի էր միավորել, որի արդյունքում դրանք կլինեին ավելի կոմպակտ և հստակ:
- Եզրակացությունները ոճական առումով կարելի էր տալ ավելի հակիրճ տեսքով, առանց սկզբնամասում բերված բայերի առկայության:
- Աշխատանքում առկա են ոճական և ուղղագրական սխալներ, որոնք ցանկացած աշխատանքի անխուսափելի ուղեկիցն են և որոնց բացակայության դեպքում աշխատանքը, կլիներ առավել հասկանալի և անթերի:

Եզրակացություն: Հաշվի առնելով վերը նշվածը, կարելի է եզրակացնել, որ Հեղինե Խաժակի Գևորգյանի կողմից ներկայացված «Պրոտոնային F₂F₁-ԱԵՖագի և մրջնաթթուջրածինլիազի փոխազդեցությունը ածխածնի

տարբեր աղբյուրների և դրանց խառնուրդների խմորման ընթացքում»
թեմայով թեկնածուական ատենախոսական աշխատանքը հիմնավոր և
ավարտուն գիտագործնական ուսումնասիրություն է: Այն բավարարում է ՀՀ-
ում գիտական աստիճանաշնորհման կանոնակարգի 7-րդ կետով
թեկնածուական ատենախոսություններին ներկայացվող պահանջներին, իսկ
հեղինակն արժանի է Գ.00.04 - «Կենսաքիմիա» մասնագիտությամբ
կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի
շնորհմանը:

Կարծիքը քննարկվել և հաստատվել է ՀՀ ԳԱԱ Ն. Բունիաթյանի անվան
կենսաքիմիայի ինստիտուտի գիտխորհրդի նիստում (արձանագրություն թիվ
11 19 օգոստոսի 2021թ.):

Նիստի նախագահ, ՀՀ ԳԱԱ Ն. Բունիաթյանի
անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի
գիտական խորհրդի նախագահ Կ.Գ.Դ.



Ս. Գ. Չախլյան

Նիստի քարտուղար,
գիտական խորհրդի քարտուղար,
Կ.Գ.Թ., դոցենտ

Ն. Լ. Չախլյան