

“Հաստատում եմ”

ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան

Կենսաքիմիայի ինստիտուտի տնօրեն

Կ.գ.թ., դոցենտ Ա. Անտոնյան

<<30>> մայիսի 2024 թ.



ԱՌԱՋԱՏԱՐ ԿԱԶՄԱԿԵՐՊՈՒԹՅՈՒՆ

ԿԱՐԾԻՔ

Անահիտ Համբարձումի Շիրվանյանի «Որոշ խմորասնկերի աճի և հակաօքսիդանտային ֆերմենտների ակտիվության վրա սթրեսային գործոնների ազդեցության մեխանիզմները» ատենախոսության վերաբերյալ ներկայացված Գ.00.04 «Կենսաքիմիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման համար

Աշխատանքը քննարկվել և տրվել է կարծիք ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի գիտխորհրդի 2024թ. մայիսի 30-ի թիվ 7 նիստում: Նիստին մասնակցում էին Կ.գ.թ., դոցենտ Ա. Անտոնյանը, Կ.գ.դ., պրոֆեսոր Մ. Սիմոնյանը, Կ.գ.դ. Ս. Մարդանյանը, Կ.գ.թ., դոցենտ Հ. Հայրապետյանը, Կ.գ.թ. Գ. Գյուլխանդանյանը, Կ.գ.թ. Վ. Գասպարյանը, Կ.գ.թ. Թ. Սեֆերյանը, Կ.գ.թ. Ն. Ալչուջյանը, Կ.գ.թ. Ֆ. Սարովանյանը, Կ.գ.թ. Զ. Պարոնյանը, Կ.գ.թ. Վ. Քնարյանը, Կ.գ.թ. Ն. Քոչարյանը, Կ.գ.թ. Ա. Աղաբաբովան, Կ.գ.թ., դոցենտ Լ. Առաքելյանը, Կ.գ.թ. Ի. Սահակյանը, Կ.գ.թ. Ռ. Սիմոնյանը, Կ.գ.թ., դոցենտ Ա. Մարգարյանը:

Քննարկման ընթացքում տրվեցին հարցեր, որոնց ատենախոսը տվեց մանրամասն պատասխաններ: Ելույթ ունեցան՝ Կ.գ.դ. Ս.Ս. Մարդանյանը, Կ.գ.թ., դոցենտ Ա. Անտոնյանը, Կ.գ.թ. Ն. Ալչուջյանը, որոնք ընդգծեցին աշխատանքի հիմնական արժանիքները՝ նորույթը և գիտագործնական նշանակությունը:

Արենախոսության թեմայի արդիականությունը: Ներկայումս շրջապատող միջավայրի տեխնածին ադտոտվածության մեծացման հետ միասին մեծանում է նաև կենդանի օրգանիզմների վրա տարատեսակ սթրեսների ազդեցությունը: Նյութափոխանակությունը կարգավորող համակարգերը պատասխանում են միջավայրի փոփոխվող պայմաններին: Շրջակա միջավայրի գործոնների նկատմամբ

բջջային արձագանքն ընդգրկում է թե՛ մենահատուկ, թե համընդհանուր բջջային պատասխան: Սթրեսի պատասխանի կենսաբանական նպատակը ընթացիկ սթրեսային գործոնների հնարավոր վտանգավոր ազդեցություններից բջիջները պաշտպանելն է: Սթրեսի գործոնների ազդեցությամբ խմորասնկերում նյութափոխանակության դինամիկ փոփոխությունները լավ ուսումնասիրված չեն: Խմորման ընթացքում առկա տարբեր սթրեսների գործոնների նկատմամբ հարմարվողականության մոլեկուլային հիմքերի բացահայտումը կարևոր է գենետիկորեն ձևափոխված խմորասնկային շտամերի ստացման համար, որի շնորհիվ բազմակի սթրեսակայուն խմորասնկային շտամերը կիրառելի կլինեն բարձր ելքով տարբեր վերջնանյութերի, օրինակ՝ կենսաէթանոլի արտադրության համար:

Արտադրական տեսանկյունից շատ կարևոր է մեծ քանակով կենսազանգվածի ստացումը, սակայն մի շարք գործոններ՝ ջերմային, սննդային և օքսիդային գործոնները, աճը արգելակող նյութերի(քացախաթթու, մրջնալիզեինոլ և այլն) մեծ քանակությունը, բարձր օսմոսային ճնշումը, սուլֆիտների մեծ քանակությունները, ցածր pH-ը, թթվածնի սահմանափակումը, խմորման սկզբում՝ շաքարների, իսկ վերջնական փուլերում՝ սպիրտների, հատկապես էթանոլի և գլիցերոլի մեծ քանակությունները կարող են ազդել խմորասնկերի կենսունակության վրա: Այս գործոնները կարող են վնասել խմորասնկային բջիջները՝ բերելով կենսազանգվածի արտադրության արգելակման և դրանց մահվան: Գլիցերոլի արտադրությունը կարևոր դեր ունի խմորասնկերի համար, այն կարգավորում է ներբջջային նիկոտինամիդադենին դինուկլեոտիդի վերականգնված (ՆԱԴԻ) և օքսիդացած (ՆԱԴ⁺) ձևերի հարաբերությունը, գործում է որպես օսմոկարգավորիչ, պաշտպանում է բջիջները սառչելուց: Չնայած դրան՝ գլիցերոլի գերարտադրությունը ճնշում է խմորասնկերի աճը 50 %-ով և փոփոխում է գեների ավելի քան 40%-ի աշխատանքը: Գլիցերոլի սինթեզը *Saccharomyces cerevisiae*-ի առաջնային նյութափոխանակության և սթրեսի կենսաբանության կարևոր գործոններից է: Գլիցերոլով խթանված օսմոսային սթրեսին արձագանքելու և հարմարվելու համար անհրաժեշտ բջջային պատասխանները խորապես ուսումնասիրվելու կարիք ունեն:

Արտադրության ելային փուլում, կախված շաքարների կոնցենտրացիայից, էթանոլային խմորումը կարող է իրականանալ 3 պայմաններում՝ նորմալ, բարձր և շատ

բարձր ձգողականության: Վերջինիս դեպքում ձևավորվում է բարձր օսմոսային ճնշում, որնազդում է խմորասնկերի աճի և նրանց կողմից էթանոլի արտադրության վրա: Էթանոլային խմորման վերջնանյութերի կուտակումը արտաբջջային միջավայրում և նրանց կոնցենտրացիաների միջթաղանթային տարբերությունը նույնպես խթանում է օսմոսային ճնշման բարձրացում խմորվող համակարգում՝ բերելով օսմոսային սթրեսի զարգացմանը: Երբ արտաբջջային միջավայրում ջրի ակտիվությունը նվազում է, ջուրը շարժվում է կոնցենտրացիայի գրադիենտի ուղղությամբ և դիֆուզվում է դեպի արտաբջջային միջավայր՝ բերելով բջջի ծավալի նվազմանը, որի արդյունքում, հոմոեստազի կարգավորման համար բջիջները պետք է ծախսեն մեծ քանակով էներգիա: Օսմոսային սթրեսային պայմաններում ֆոսֆոլիպիդների գլխիկները կաչում են իրար՝ բերելով թաղանթի անցմանը գելային վիճակի, որը բնութագրվում է թաղանթի նվազեցված հոսելիությամբ: Այսպիսով, արդիական են այն հետազոտությունները, որոնք ուղղված են օսմոսային սթրեսային պայմաններում իոնային անցուղիների ուսումնասիրմանը, իսկ ստացված տվյալները կարող են օգտագործվել խմորասնկերի հարմարվողականության պարզաբանման համար:

Աերոբ պայմաններում հակաօքսիդանտային ֆերմենտների վերաբերյալ շատ հետազոտություններ կան, սակայն սակավ են տվյալները իրական խմորման պայմաններում նրանց ակտիվացման կամ գործունեության մասին: Տարբեր սթրեսների նկատմամբ կայուն խմորասնկային բջիջներն անհրաժեշտ են խմորվող մթերքների և կենսավառելիքի ելքի բարձրացման համար: Չնայած դրան, բջիջների պահպանման, աճի և սթրեսային գործոնների միջև համակարգային փոխազդեցությունները մնում են չուսումնասիրված: Միջավայրի փոփոխվող պայմաններին հարմարվելու ճշգրիտ մեխանիզմները ևսլիովին բացահայտված չեն:

Էներգիայի օգտագործման անընդհատ աճող ծավալները, մթնոլորտում ջերմոցային գազերի կուտակումը և դրանց ազդեցությունը կլիմայի փոփոխության վրա մեծացնում են վերականգնվող էներգիայի աղբյուրների, օրինակ կենսաէթանոլի արտադրության պահանջարկը, որը 21-րդ դարի գլխավոր մարտահրավերներից մեկն է: Կենսավառելիքները ներկայումս մեծ պահանջարկ ունեն, քանի որ հանածո վառելիքների համեմատությամբ էկոլոգիապես մաքուր են, համաշխարհային տաքացման վրա ունեն նվազ ազդեցություն, կայուն են և վերականգնվող:

Խմորասնկերի վրա հիմնված արտադրական գործընթացներում թափոնների կիրառման գնահատման համար անհրաժեշտ է ուսումնասիրել խմորասնկերի աճման առանձնահատկությունները մեծ քանակով արգելակիչների (օրինակ՝ մրջնալդեհիդ, քացախաթթու, ծանր մետաղներ) և բարձր օսմոսայնության պայմաններում: Կայուն խմորասնկային շտամերի ստացումը և թափոնների հիմքով էթանոլի արտադրությունն կարևոր են՝ հաշվի առնելով թափոնների կառավարման համակարգերի սակավությունը Հայաստանում և վերականգնվող ռեսուրսների պահանջարկը միջազգային շուկայում:

Արենախոսության գիտական նորույթ: Ներկայացված աշխատանքում կիրառվել են երկու խմորասնկային արտադրական շտամեր՝ *S. cerevisiae* ATCC 9804 և ATCC 13007: ATCC 9804 շտամը անջատվել է արմավենու գինուց կամ Մակգեոլիից (կորեական ավանդական գինի), իսկ ATCC 13007 շտամը անջատվել է Իոլանդական գարեջրից և ունակ է սինթեզել արտաբջջային գլյուկոամիլազ: Այս հատկությունը կարող է կիրառվել թափոնների վերամշակման հիմքով կենսաէթանոլի արտադրության համար: Գրականության մեջ սակավ են սթրեսային պայմաններում այս շտամերի թաղանթային տեղափոխիչների, նյութափոխանակության և հարմարման ուղիների, ինչպես նաև կարգավորման մեխանիզմների մասին հրապարակումները, ուստի աշխատանքում առաջին անգամ մեկնաբանվել է այս շտամերի սթրեսին արձագանքելու և հարմարման ուղիների մոլեկուլային մեխանիզմները: Ուսումնասիրվել են խմորասնկերում աճման պայմաններից և թթվածնի հասանելիությունից կախված նյութափոխանակության առանձնահատկությունները և հարմարման ուղիների տարբերությունները օսմոսային սթրեսային պայմաններում:

Հետազոտությունը պատկերացում է տալիս այն մասին, թե ինչպե՞ս են խմորասնկերը հարթահարում շրջակա միջավայրի մարտահրավերները, ինչը հիմք կդրվի գենետիկորեն մշակված սթրեսակայուն խմորասնկային շտամերի զարգացմանը և այդ առումով այն ունի զգալի գործնական կիրառություններ և հնարավորություններ:

Աշխատանքը կարևոր նշանակություն կարող է ունենալ թափոնների վերամշակման հիմքով էթանոլի և կենսազանգվածի, ինչպես նաև այլ արժեքավոր նյութերի արդյունավետ արտադրության համար:

Խմորասնկերի օսմոսային սթրեսի նկատմամբ հարմարվողական մեխանիզմների ուսումնասիրությունը կարող է կիրառվել նաև շրջակա միջավայրի պահպանմանն ուղղված կենսատեխնոլոգիաների մեջ:

Արենախոսության բովանդակությունը և ձևավորման գնահատականը:

Անահիտ Շիրվանյանի ատենախոսական աշխատանքը կազմված է ներածություն, գրական ակնարկ, նյութեր և մեթոդներ, փորձարարական մաս, ստացված արդյունքների քննարկում, ամփոփում բաժիններից, եզրակացություններից, օգտագործած գրականության և հապավումների ցանկերից:

Ներածական բաժնում հայցորդի կողմից հիմնավորված են աշխատանքի արդիականությունը, գիտական նորույթը, աշխատանքի նպատակն ու խնդիրները, ստացված արդյունքների գործնականում կիրառելու հնարավորությունները:

Գրական ակնարկում հեղինակի կողմից ուսումնասիրվել են խմորասնկային բջջի քիմիական կազմը, կառուցվածքի առանձնահատկությունները և բաղադրիչների դերը սթրեսային պատասխանում և նյութափոխանակային առանձնահատկությունները: Մանրամասն ներկայացված են արտադրության հետ ասոցացված սթրեսները, ազդեցության և պաշտպանության ուղիները: Տրվել է խմորասնկերի նկարագիրը և թափոններում դրանց աճեցման հեռանկարները:

Հետազոտության առարկան և մեթոդները բաժնում մանրամասն նկարագրված են ատենախոսի կողմից կիրառված հետազոտության կենսաքիմիական և մանրէաբանական ժամանակակից մեթոդները:

Արդյունքների նկարագրման և քննարկման բաժիններում ներկայացված են կատարած ծավալուն փորձարարական աշխատանքի հիման վրա ստացված տվյալները և դրանց քննարկումը: Ներկայացված աշխատանքում առաջին անգամ իրականացվել է միջավայրի ֆիզիկաքիմիական ցուցանիշների փոփոխության ուսումնասիրումը կախված միջավայրի pH-ից և աճման պայմաններից, օսմոլալության փոփոխությունները ֆիզիոլոգիական և օսմոսային սթրեսային պայմաններում: Գնահատվել է թաղանթային լիպիդների օքսիդացումը ֆիզիոլոգիական և օսմոսային սթրեսի պայմաններում: Ցույց է տրվել, որ օսմոսային սթրեսի ենթարկված խմորասնկերի աճի տեսակարար արագությունը նվազում է թթվածնի

սահմանափակման և թթվային պայմաններում: Ֆիզիոլոգիական պայմանների համեմատ *S. cerevisiae* ATCC 9804 շտամի աճի տեսակարար արագությունն ընկճվում է 85%-ով, իսկ *S. cerevisiae* ATCC 13007 շտամի դեպքում՝ 60%-ով: Միջավայրի օսմոլալության փոփոխությունը կախված է խմորասնկերի շնչառական կամ խմորման տեսակի նյութափոխանակության բնույթից, շտամից և աճման ընթացքում թթվածնի հասանելիությունից:

Հետազոտվել են H^+ , K^+ և Na^+ հոսքերը *S. cerevisiae*-ի տարբեր շտամերի ֆիզիոլոգիական և օսմոսային սթրեսային պայմաններում աճի ընթացքում, հակաօքսիդանտային ֆերմենտների ակտիվության փոփոխությունները *S. cerevisiae*-ում՝ կախված աճման պայմաններից: Կալիումի հոսքը լիովին ԴՅԿԴ-կախյալ է ATCC 9804 շտամի ֆիզիոլոգիական միկրոաերոֆիլ պայմաններում աճի ժամանակ: K^+ -ի նկատմամբ ամենաբարձր խնամակցություն գրանցվում է ATCC 9804 շտամի աերոբ աճման պայմաններում, իսկ ամենացածր խնամակցություն՝ ԴՅԿԴ-ով արգելակված ATCC 13007 շտամի միկրոաերոֆիլ աճի պայմաններում: Նատրիումի արտահոսքը մեծանում է օսմոսային սթրեսային պայմաններում: Na^+/K^+ փոխանակությունը վճռորոշ դեր է կատարում աերոբ պայմաններում *S. Cerevisiae* ATCC 9804 և ATCC 13007 խմորասնկերի օսմոսային սթրեսի պայմաններին հարմարվելու մեջ, մինչդեռ K^+/H^+ փոխանակությունը՝ թթվածնի սահմանափակման պայմաններում սթրեսի հաղթահարման մեջ:

Ատենախոսության շրջանակներում ուսումնասիրվել են հակաօքսիդանտային ֆերմենտների ակտիվության փոփոխությունները *S. cerevisiae*-ում՝ կախված աճման պայմաններից: Երկու շտամերում էլ ՍՕԴ-ի և ԿՎՍՏ-ի ակտիվությունը կրկնակի բարձր է աերոբ ֆիզիոլոգիական պայմաններում՝ միկրոաերոֆիլ աճման պայմանների համեմատությամբ:

Հետազոտվել են սուլֆիդրիլային խմբերի քանակության փոփոխությունները խմորասնկերում ֆիզիոլոգիական և օսմոսային սթրեսային պայմաններում, ինչպես նաև միտոքոնդրիումային պրոտոնային ԱԵՖազի ակտիվության փոփոխությունները օսմոսային սթրեսի ազդեցությամբ: Թե՛ աերոբ, թե՛ միկրոաերոֆիլ ֆիզիոլոգիական պայմաններում աճման ընթացքում հասանելի SH խմբերի կապումը խթանում է ֆերմենտի ակտիվությունը երկու շտամերում էլ: Օսմոսային սթրեսի ազդեցությամբ

երկու շտամերի անորոշ անման ժամանակ հասանելի սուլֆիդիդրիլային խմբերի կապումը մեծացնում է ֆերմենտի ակտիվությունը, ի տարբերություն միկրոաերոֆիլ պայմանների:

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

Արենախոսության գործնական արժեքը: Հետազոտությունն ունի զգալի գործնական կիրառության հնարավորություններ: Այն կարևոր նշանակություն կարող է ունենալ թափոնների վերամշակման հիմքով էթանոլի և կենսազանգվածի, ինչպես նաև այլ արժեքավոր նյութերի արդյունավետ արտադրության համար:

Խմորասնկերի օսմոսային սթրեսի նկատմամբ հարմարվողական մեխանիզմների ուսումնասիրությունը կարող է կիրառվել նաև շրջակա միջավայրի պահպանմանն ուղղված կենսատեխնոլոգիաների մեջ: Շրջակա միջավայրի փոփոխվող պայմաններին միկրոօրգանիզմների արձագանքման ուղիների մասին գիտելիքները կարող են կիրառվել կենսավերականգնման ռազմավարությունների մշակման կամ շրջակա միջավայրի վերականգնման նպատակներով մանրէների կոնսորցիումների մշակման մեջ:

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

Այս ամենով հանդերձ աշխատանքը զերծ չէ որոշ թերություններից, այսպես՝

- Եզրակացությունները ծավալուն են, նկարագրական, կարելի էր դրանք տալ ավելի հակիրճ տեսքով և որոշակի եզրահանգումներով:
- Անհասկանալի է, թե հակաօքսիդանտային ֆերմենտների գործունեության, վերօքս հավասարակշռության և օսմոսային սթրեսին ի պատասխան նյութափոխանակության փոփոխությունների վերաբերյալ բացահայտումները ինչպես կարող են կիրառվել կենսաբժշկական հետազոտություններում, առավել ևս խմորասնկերի սթրեսային հարմարվողականության հիմքում

ընկած մուլտիմեդիայի մեխանիզմների և բարձրակարգ էուկարիոտ օրգանիզմների նմանատիպ գործընթացների համեմատության առումով:

- 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 Անահիտ Համբարձումի Շիրվանյանի «Ռոշ խմորասնկերի աճի և հակաօքսիդանտային ֆերմենտների ակտիվության վրա սթրեսային գործոնների ազդեցության մեխանիզմները» թեմայով թեկնածուական ատենախոսական աշխատանքը 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 Հ. Բունիայանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի գիտխորհրդի նիստում (արձանագրություն թիվ 7, 30 մայիսի 2024թ.):

Նիստի նախագահ, կ.գ.թ., դոցենտ

Ալեգ

Ա.Անտոնյան

Նիստի քարտուղար, գիտխորհրդի քարտուղար, կ.գ.թ., դոցենտ



Հայրապետյան