

“Հաստատում եմ”



ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան
Կենսաքիմիայի ինստիտուտի տնօրեն,
Կ.գ.թ., դոցենտ Ա. Անտոնյան
<<7>> հոկտեմբերի 2024 թ.

ԱՌԱՋԱՏԱՐ ԿԱԶՄԱԿԵՐՊՈՒԹՅՈՒՆ

ԿԱՐԾԻՔ

Լիանա Մանվելի Վանյանի «*Escherichia coli*-ում ջրածնի նյութափոխանակությունը և պրոտոնային ցիկլը գլյուկոզի տարբեր կոնցենտրացիաների խմորման պայմաններում»
ատենախոսության վերաբերյալ ներկայացված Գ.00.04 «Կենսաքիմիա»
մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական
աստիճանի հայցման համար

Աշխատանքը քննարկվել և սորվել է կարծիք ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան
Կենսաքիմիայի ինստիտուտի գիտխորհրդի 2024թ. սեպտեմբերի 30-ի թիվ 11 նիստում:
Նիստին մասնակցում էին Կ.գ.թ., դոցենտ Ա. Անտոնյանը, Կ.գ.դ., պրոֆեսոր Մ.
Սիմոնյանը, Կ.գ.դ. Ս. Մարդանյանը, Կ.գ.դ. Ս.Չախլյանը, Կ.գ.դ. Ս.Աբրահամյանը,
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. Ալուջյանը, Կ.գ.թ. Ֆ.
Սարովանյանը, Կ.գ.թ. Մ. Հովհաննիսյանը, Կ.գ.թ. Զ. Պարոնյանը, Կ.գ.թ. Վ.
Քնարյանը, Կ.գ.թ. Ն. Քոչարյանը, 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.Աբրահամյանը, Կ.գ.դ.
Ս.Չախլյանը, Կ.գ.թ., դոցենտ Ա. Անտոնյանը, Կ.գ.թ. Ն. Ալուջյանը, Կ.գ.թ. Ն.
Քոչարյանը, որոնք ընդգծեցին աշխատանքի հիմնական արժանիքները՝ նորոյթը և
գիտագործնական նշանակությունը:

Ատենախոսության թեմայի արդիականությունը:

Անատրոք պայմաններում *Escherichia coli* մանրէի ածխածնի աղբյուրի խառը
թթվային խմորման հետևանքով մրջնաթթվի ճեղքման արդյունքում արտադրվում է

մոլեկուլային ջրածին (H_2 : H_2 -ն էկոլոգիապես մաքուր է և նավթի և գազի համեմատությամբ առավել արդյունավետ էներգիայի աղբյուր է՝ H_2 -ի այրումից անջատվում է ~ 142 կՋ/գ էներգիա, և որպես կողմնակի արտադրանք առաջանում է միայն ջուր: H_2 -ի ընդհանուր նյութափոխանակության պարզաբանումը կարևոր է նաև H_2 -ի արտադրության համար պատասխանատու ֆերմենտների ակտիվության ուսումնասիրությունը: *E. coli*-ում H_2 -ի արտադրության գործընթացի պատասխանատու ֆերմենտները 4 Հիդրոգենազներն (Հիդ) են, որոնք գործում են միասին՝ ձևավորելով H_2 -պրոտոնային ցիկլային համակարգ թաղանթի ներսում: Այս ֆերմենտների գործունեության կարգավորման մեխանիզմների բացահայտմամբ հնարավոր կլինի լիովին կառավարել գործընթացը բարձր արդյունավետությամբ: Խնդրման գործընթացները առավել քիչ են ուսումնասիրված և պարզաբանված, թեև ունեն առավել լայն տարածվածություն (մարդու օրգանիզմի շատ ախտածին մանրէներ գոյատևում են հենց անթթվածին պայմաններում և ընդանրապես արտադրական գործընթացների համար տնտեսապես շահավետ է կիրառել խմորում իրականացնող մանրէներ):

Թափոնների՝ որպես ածխածնի այլընտրանքային աղբյուրների կիրառությունը և այդ ուղղությամբ հետազոտությունները արտադրական նպատակներով արդիական է: Թափոնների մշակման ընթացքում առաջանում են մանրէների համար հասանելի ածխածնի աղբյուրներ (օր.՝ գլյուկոզ), որոնց խտության ազդեցության բացահայտումը խիստ կարևոր է մանրէի արտադրության արդյունավետության բարձրացման համար: Բացի այդ գլյուկոզը հիմնական արտադրություններում կիրառվող և մի շարք մանրէների համար ածխածնի և էներգիայի նախընտրելի աղբյուրն է: Գլյուկոզի յուրացման ուղիները և դրա աստիճանական քայքայման համար պատասխանատու ֆերմենտները լավ ուսումնասիրված են ինչպես թթվածնի բացակայության, այնպես էլ առկայության դեպքում:

Իրականացնելով տարբեր պայմաններում պատասխանատու ֆերմենտների գործառության վերլուծություն՝ հնարավոր է գրանցել զգալի արդյունքներ ջրածնի արտադրության տեխնոլոգիայի զարգացման, ինչպես նաև կենսազանգվածի և այլ օրգանական նյութերի արտադրություն համար:

Արենախոսության գիտական նորույթը:

Գրականության մեջ սակավ են խմորման պայմաններում գլյուկոզի կոնցենտրացիաներից կախված այս ֆերմենտների, նրանց առանձին ենթամիավորների գործունեության և այլ թաղանթային սպիտակուցների հետ նրանց փոխազդեցության մասին տվյալները, ուստի հետազոտությունը կարևորվում է նրանով, որ ստացած տվյալները կարող են կիրառվել թափոնների հիմքով մոլեկուլային ջրածնի բարձր ելքով արտադրության համար:

Ներկայացված աշխատանքում ուսումնասիրվել է նաև Հիդ ֆերմենտների դերը սուրճի արտադրության տարբեր թափոնների հիդրոլիզատների յուրացման պայմաններում: Սուրճի թափոնների յուրացման պայմաններում Հիդ-3-ի և Հիդ-4-ի կատալիտիկ ենթամիավորների բացակայությամբ մուտանտներում մանրէների աճման տեսակարար արագությունը նվազում է, որը վկայում է Հիդ ֆերմենտների դերի մասին աճի կենսաէներգետիկայում, և ցույց է տրվել, որ ջրածնի արտադրության հիմնական պատասխանատու ֆերմենտը Հիդ-3-ն է:

Հետազոտվել են H₂-ի առավելագույն ելքի ստացման հնարավորությունները՝ թափոնների 2-200 գ լ⁻¹ նախնական կոնցենտրացիա պարունակող հիդրոլիզատների տարբեր նոսրացումներում նյութափոխանակային 7 գեների խախտումներով մուտանտ կիրառմամբ: Մանրէների աճը և H₂-ի ելքը արգելակվել են թափոնների առավել խիտ միջավայրերում, որը վկայում է, որ ածխաջրերի բարձր կոնցենտրացիան կարող է բացասական ազդեցություն ունենալ, քանի որ պրոտոն-ջրածնային ցիկլը արդյունավետ գործում է էներգիայի սահմանափակ պայմաններում:

Արենախոսության բովանդակությունը և ձևավորման գնահատականը:

Լիանա Վանյանի ատենախոսական աշխատանքը կազմված է ներածություն, գրական ակնարկ, նյութեր և մեթոդներ, հետազոտության արդյունքներ և դրանց քննարկում 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 գիտական գրականության առկա տվյալները *Escherichia coli* մանրէի կողմից գլյուկոզի նյութափոխանակության, թաղանթներում էներգիայի զուգորդման ուղիների վերաբերյալ: Մանրամասն տվյալներ են բերվել հիդրոգենագ, պրոտոնային ԱԵՖագ ֆերմենտների դասակարգման և գործունեության, *Escherichia coli*-ում կալիում տեղափոխող համակարգերի, ինչպես նաև թափոնների՝ մասնավորապես սուրճի արտադրության և օգտագործման ընթացքում առաջացած թափոնների շրջանաձև իրացման հնարավորությունների մասին:

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 հիդրոգենագ ֆերմենտների խախտումներով մուտանտներում առաջին անգամ միջավայրի տարբեր pH-ներում ուսումնասիրվել է գլյուկոզի յուրացման ընթացքում H_2 -ի արտադրությունը: Հետազոտվել է Հիդ-4-ի HyfB, HyfD և HyfF ենթամիավորների կենսաէներգետիկական գործընթացը, որի արդյունքում պարզվել է, որ Հիդ-4-ի հիմնական ֆիզիոլոգիական դերը պրոտոնաշարժ ուժի առաջացման հավասարակշռումն է, և Հիդ-4-ի յուրաքանչյուր ենթամիավոր ունի իր ուրույն գործառույթը սահմանափակ էներգիայի պայմաններում այս մեխանիզմն ապահովելու համար: Բացահայտվել է, որ կախված գլյուկոզի առկայությունից, փորձարկված ենթամիավորներից յուրաքանչյուրը տարբեր դեր ունի պրոտոնի կամ կալիումի հոսքերում՝ հետևաբար ներբջջային մրջնաթթվի կոնցենտրացիայից, այսինքն Հիդ-4-ի հիմնական ֆիզիոլոգիական դերը ոչ թե ջրածնի արտադրությունն է, այլ բջջի կենսաէներգետիկ պարամետրերը հավասարակշռելը և պահպանելը: Հիդ-4-ի HyfB, HyfD և HyfF ենթամիավորները խիստ կարևոր են pH 7.5-ում ընդհանուր և F_0F_1 -ԱԵՖագով պայմանավորված պրոտոն/կալիումական հոսքերում:

Առաջարկվել է Հիդ-4-ի HyfD և HyfF ենթամիավորների սխեմատիկ աշխատանքային մոդելը pH 7.5-ում գլյուկոզի խմորման ժամանակ: Էներգիայի սահմանափակ պայմաններում HyfD-ն և HyfF-ն աշխատում են էներգիայի պահպանման ուղղությամբ՝ փոխազդելով F_0F_1 -ի հետ՝ թաղանթի երկայնքով կամ միջով պրոտոնի արդյունավետ փոխանցման և տեղափոխման համար՝ պրոտոնի գրադիենտը և, հետևաբար, պրոտոնաշարժ ուժը հավասարակշռելու համար:

Ուսումնասիրվել է Հիդ-1-ի և Հիդ-2-ի առանձին ենթամիավորների դերը H^+/K^+ -ական տեղափոխությունում: Հետազոտությունների արդյունքում առաջարկվել է Հիդ-1-ի և Հիդ-2-ի ենթամիավորների սխեմատիկ աշխատանքային մոդել ցածր կոնցենտրացիայով գլյուկոզի խմորման պայմաններում: Պարզվել է, որ Հիդ-2-ը պատասխանատու է F_0F_1 -ԱԵՖազի միջոցով պրոտոնների տեղափոխման համար, այն ապահովում է պրոտոններ ջրածնի օքսիդացումից անմիջապես դեպի F_0F_1 -ԱԵՖազ կամ թիոլ խմբերի կամ Հիդ-4-ի միջոցով: Հավանաբար Հիդ-1-ը կարող է ստանալ պրոտոններ Հիդ-2-ից քինոնային ցիկլի միջոցով և պատասխանատու լինել թաղանթի երկայնքով պրոտոնների տեղափոխման համար: Էներգիայի սահմանափակ պայմաններում Հիդ-1-ը և Հիդ-2-ը աշխատում են էներգիայի պահպանման ուղղությամբ՝ փոխազդելով F_0F_1 -ի հետ՝ թաղանթի միջով պրոտոնի արդյունավետ փոխանցման կամ թաղանթի վրայով տեղափոխման համար՝ պրոտոնային գրադիենտը և, հետևաբար, պրոտոնաշարժի ուժը հավասարակշռելու համար:

Հետազոտությունների վերջին մասը վերաբերում է H_2 -ի արտադրությունը *E. coli*-ում սուրճի թափոնների մթնային խմորման պայմաններում՝ *E. coli*-ում կենսազանգվածի և կենսաջրածնի արտադրությունը սուրճի նստվածքից, սուրճի թաղանթից տարբեր տևողությամբ հիդրոլիզի դեպքում:

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

Արենախոսության գործնական արժեքը: Հետազոտությունն ունի հիմնարար բնույթ, որը ունի զգալի գործնական կիրառության հնարավորություններ: Այն կարևոր նշանակություն կարող է ունենալ թափոնների՝ կոնկրետ այսօր հսկայական պահանջարկ ունեցող սուրճի թափոնների վերամշակման համար:

Թափոնների մշակման ընթացքում առաջանում են մանրէների համար հասանելի ածխածնի աղբյուրներ՝ հիմնական արտադրություններում կիրառվող և մի շարք մանրէների համար ածխածնի և էներգիայի նախընտրելի աղբյուր գլյուկոզ, որի խտության ազդեցության բացահայտումը խիստ կարևոր է մանրէի արտադրության արդյունավետության բարձրացման համար: Իրականացնելով տարբեր պայմաններում գլյուկոզի յուրացման ուղիները և դրա աստիճանական քայքայման համար պատասխանատու պատասխանատու ֆերմենտների գործառության վերլուծությունը՝ հնարավոր է գրանցել զգալի արդյունքներ ջրածնի արտադրության տեխնոլոգիայի զարգացման, ինչպես նաև կենսազանգվածի և այլ օրգանական նյութերի արտադրություն համար:

Սեղմագրի համապատասխանությունը ատենախոսության 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 կան որոշակի դիտողություններ՝

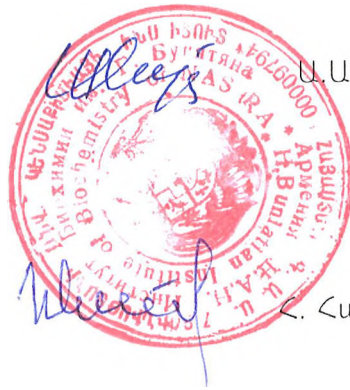
- Թեև աշխատանքում շեշտադրումը արվում է սուրճի թափոնների գործնական կիրառությանը դրանց աճող ծավալների պայմաններում, սակայն այն ունի ավելի շատ հիմնարար նշանակություն և կոնկրետ արտադրական կիրառման իմաստով դեռևս շատ հստակեցման անհրաժեշտություն կա: Այս իմաստով ծավալուն և իրենց հստակեցմանը սպասող անելիքներ կան, որոնցից հետո կարելի կլինի խոսել տնտեսության մեջ այս թափոնների վերամշակման մասին:
- Եզրակացությունները կրում են նկարագրական բնույթ, որոնք ավելի արժեքավոր կլինեին, եթե տրվեին այդ դրանցից բխող հակիրճ և հստակ հետևություններ:
- Աշխատանքում առկա են ոճական և ուղղագրական սխալներ, որոնք թեև չեն ազդում հիմնական իմաստի վրա, սակայն ցանկալի կլինեին տեսնել դրանց նվազագույն քանակը:

Եզրակացություն: Հաշվի առնելով վերը նշվածը, կարելի է եզրակացնել, որ Լիանա Մանվելի Վանյանի «*Escherichia coli*-ում ջրածնի նյութափոխանակությունը և պրոտոնային ցիկլը գյուկոզի տարբեր կոնցենտրացիաների խմորման պայմաններում» 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 11, 30 սեպտեմբերի 2024թ.):

Նիստի նախագահ, կ.գ.թ., դոցենտ

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



Ա.Անտոնյան

Հ. Հայրապետյան