

# Պ Ա Շ Տ Ո Ն Ա Կ Ա Ն Ը Ն Դ Դ Ի Մ Ա Խ Ո Ս Ի

## Կ Ա Ր Ծ Ի Ք

Գ.00.07 - «Միկրոբիոլոգիա. կենսատեխնոլոգիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման ներկայացված Տիգրան Մերուժանի Սողոմոնյանի «*Bacillus* ցեղի մանրէներից տեխնոլոգիական արժեք ունեցող ռեկոմբինանտ  $\alpha$ -ամիլազների շտամ արտադրիչների ստացումը և համապատասխան ֆերմենտների բնութագրումը» ատենախոսության վերաբերյալ

Ամիլազներն կարևորագույն արդյունաբերական ֆերմենտներ են, որոնք ունեն լայն կիրառություն՝ սկսած օսլայի փոխակերպումից շաքարային օշարակների մինչև դեղագործական արդյունաբերության համար ցիկլոդեքստրանների արտադրություն և կազմում են ֆերմենտների համաշխարհային արտադրության ծավալի ավելի քան 30%-ը: Այսպիսով, ժամանակից գեն-ճարտարագիտական տեխնոլոգիաների կիրառմամբ նոր  $\alpha$ -ամիլազների բարձր ակտիվությամբ օժտված ռեկոմբինանտ շտամ-արտադրիչների ստացումն արդիական է և ունի գիտագործնական կարևոր նշանակություն:

Ժամանակակից գեն-ճարտարագիտական մեթոդների կիրառմամբ հեղինակի կողմից ստացվել են ամիլազ կենսասինթեզող և արտազատող *Bacillus* ցեղի ակտիվ շտամ-արտադրիչներ: Նպատակային գեների կլոնավորումն իրականացվել է Գիբսոնի համակցման մեթոդով, որն իրականացվում է մեկ փուլով, մեկ ժամվա ընթացքում, խառնելով կաչուն ծայրերով ԴՆԹ-ի հատվածները՝ էկզոնուկլեազ, ԴՆԹ պոլիմերազ և ԴՆԹ լիզազ ֆերմենտների հետ: Ի դեպ, համաձայն հեղինակի պնդման, գեների կլոնավորման այս պարզ արդյունավետ մեթոդը հայ գիտնականների կողմից կիրառվել է առաջին անգամ:

Քանի որ պլազմիդների կրկնօրինակների քանակը *B. subtilis*-ի բջիջներում ցածր է հեղինակը օգտագործել է *E. coli*-ի TOP10 շտամը՝ Takara Bio-ի pBE-S օղակաձև ԴՆԹ-ի և ստացված ռեկոմբինանտ պլազմիդների բազմացման համար:

Ամիլազների առավելագույն ելքն ապահովելու նպատակով իրագործվել է ստացված *B. subtilis* RIK 1285\_amy1974 և *B. subtilis* RIK 1285\_amy3500 շտամների աճի միջավայրերի և ֆերմենտացման պայմանների՝ ներառյալ ազոտի օրգանական աղբյուրի, աերացիայի ինտենսիվության, կանամիցինի քանակի և ֆերմենտացման տևողության և այլ գործընթացների օպտիմալացում:

Սպիտակուցի արտազատումը ռեցիպիենտ շտամից կենսատեխնոլոգիական արտադրության կարևորագույն փուլերից մեկն է հանդիսանում, քանի որ այն ապահովում է արդեն իսկ անմշակ ակտիվ ֆերմենտների մեծ քանակով ստացումը, որը հնարավորություն է տալիս պարզեցնել հետագա մաքրման ընթացքը: Նշված խնդրի լուծման նպատակով հեղինակը ամիլազի գենի կլոնավորման համար օգտագործել է համապատասխան ազդանշանային պեպտիդը կոդավորող ԴՆԹ հաջորդականություն պարունակող մոլեկուլային վեկտոր, որը թույլ է տվել էականորեն բարձրացնել սինթեզված արգասիքի ելքի արդյունավետությունը:

Ատենախոսական աշխատանքը շարադրված է համակարգչային շարվածքով՝ 128 էջի վրա, ներառում է 43 նկար և 9 աղյուսակ, 2 հավելված: Ատենախոսությունը կազմված է «Հապավումների ցանկ», «Ներածություն», «Գրականության ակնարկ», «Հետազոտության նյութեր և մեթոդներ», «Արդյունքներ և քննարկում», «Ամփոփում», «Եզրակացություններ», «Գրականության ցանկ», «Հավելված» բաժիններից:

Գրականության ակնարկում ներկայացված են հայտնի մանրէային ամիլազների բնութագրերը, կենսասինթեզը, գեն-ճարտարագիտական եղանակով արտադրիչ շտամների ակտիվության բարձրացման մոտեցումները, ստացված ամիլազների մաքրման և պատրաստուկների ստացման եղանակները:

Ատենախոսությունում «Նյութեր և մեթոդներ» գլխում մանրամասն բերված են օգտագործված մանրէաբանական, կենսաքիմիական մոլեկուլյար-գենետիկական մի քանի տասնյակ մեթոդներ:

Ատենախոսության փորձարարական մասը ներկայացված է նկարներով ու աղյուսակներով՝ համապատասխան մեկնաբանություններով հանդերձ:

Սեղմագիրը և թեմայով հրատարակված աշխատանքները լիովին համապատասխանում են ատենախոսության հիմնական դրույթներին: Ատենախոսության եզրահանգումները տրամաբանորեն հետևում են փորձերի

արդյունքներից և հիմնավորված են: Ատենախոսության հիմնադրույթներն ու արդյունքներն հրապարակված են 3 հոդվածներում և միջազգային գիտաժողովի թեզիսում:

Ներկայացված ատենախոսական աշխատանքը անառարկելի առավելություններով հանդերձ զուրկ չէ որոշ բացթողումներից և վրիպակներից: Այսպես՝

- Ցանկալի կլիներ շտամների ակտիվությունը նշելիս, ինչպես նաև տեխնիկատնտեսական հաշվարկ իրագործելիս՝ համեմատություն անցկացվեր հայտնի արտադրական շտամների ցուցանիշների հետ:
- Ցավոք, ատենախոսությունում հանդիպում են որոշ սխալ արտահայտություններ, օրինակ՝ «*B. subtilis* MDC3500 շտամի 16S rRNA գենի նուկլեոտիդային հաջորդականությունը (GenBank՝ MT534524) 99% նույնականություն է ցուցաբերում *Bacillus* sp-ի KBS0812 շտամի համապատասխան ամինաթթվային հաջորդականության հետ» էջ 58, «... ԴՆԹ-ից հնարավոր է եղել ամալիֆիկացնել ֆունկցիոնալ թթվային  $\alpha$ -ամիլազ» էջ 58-59, կամ «pBE-S արտազատող վեկտորում առկա ազդանշանային պեպտիդիզ բացի  $\alpha$ -ամիլազների սեփական ազդանշանային պեպտիդի առկայությունը...»:
- Տեխնոլոգիական տեսանկյունից որքանով է արդարացված երկակի աուքստորոֆ *B. subtilis* RIK 1285 ռեցիպիենտ շտամի ընտրությունը ամիլազների գենների էքսպրեսիայի համար, որը կարող է բացասական անդրադառնալ արտադրական գործընթացի տևողության և արտադրանքի ինքնարժեքի վրա:

Արված դիտողությունները ամենևին չեն նսեմացնում ատենախոսական աշխատանքի գիտագործնական կարևոր նշանակությունը: Տիգրան Սողոմոնյանի ատենախոսության աշխատանքը մեծաձավալ, ամենարդի մեթոդներով իրականացված ավարտուն հետազոտություն է: Միայն ցուցադրական նյութի քանակը՝ 43 նկար և 9 աղյուսակ արդեն իսկ վկայում է կատարված աշխատանքի ծավալի, ուսումնասիրության խորության ու ստացված արդյունքների հավաստիության մասին: Բազմաթիվ ատենախոսությունների շարքում Տիգրան Սողոմոնյանի աշխատանքը առանձնանում է իր ամբողջականությամբ՝ երբ

գիտական ձեռքբերումները ներդրվում է արդյունաբերության մեջ, տալով իրական արդյունք: Աշխատանքի արդյունքում ստացված շտամ-արտադրիչները կարող են առաջարկվել ամիլազի մեծածավալ արտադրությունում փորձարկելու ու ներդնելու նպատակով:

Տիգրան Մերուժանի Սողոմոնյանի «*Bacillus* ցեղի մանրէներից տեխնոլոգիական արժեք ունեցող ռեկոմբինանտ  $\alpha$ -ամիլազների շտամ-արտադրիչների ստացումը և համապատասխան ֆերմենտների բնութագրումը» ատենախոսական աշխատանքը իր արդիականությամբ, հսկայական ծավալով, գիտական նորույթով և գործնական արժեքով լիովին համապատասխանում է ՀՀ ԲԿԳԿ-ի կողմից թեկնածուական ատենախոսություններին ներկայացվող պահանջներին, իսկ հեղինակն արժանի է Գ.00.07 - «Միկրոբիոլոգիա. կենսատեխնոլոգիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի շնորհմանը:

Պաշտոնական ընդդիմախոս՝

«Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ ՊՈԱԿ  
Կ.Գ.Ղ., պրոֆեսոր

Հ.Գ. Հովհաննիսյան

Հ.Գ. Հովհաննիսյանի ստորագրությունը հաստատում են՝

«Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ ՊՈԱԿ  
գիտական քարտուղար, Կ.Գ.Թ.

Հ.Օ. Քոլոյան



07.10.2024 թ.