

## ԿԱՐԾԻՔ

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

**Տիգրան Սողոմոնյանի թեկնածուական ատենախոսական աշխատանքը նվիրված է *Bacillus* ցեղի մանրէներից տեխնոլոգիական արժեք ունեցող, նոր, արտազատվող, ռեկոմբինանտ  $\alpha$ -ամիլազիների շտամ-արտադրիչների և ֆերմենտային պատրաստուկների ստացմանը, դրանց բնութագրմանը և արտադրական տեխնոլոգիաների մշակմանը:**

Ռեկոմբինանտ ԴՆԹ-ների տեխնոլոգիան համարվում է շատ ժամանակակից տեխնոլոգիա, և լայնորեն կիրառվում է աշխարհում՝ տարբեր օգտակար սպիտակուցներ ստանալու համար: Ամենացայտուն օրինակը, այս տեխնոլոգիայով ինսուլինի արտադրությունն է, որի շնորհիվ վերացան նախկինում նկատվող կենդանական ինսուլինների նկատմամբ հակամարմինների ձևավորումը և պրեպարատի արդյունավետության անկումը: Այդ իմաստով շատ ողջունելի է Հայաստանում նման ուղղության զարգացումը: Աշխատանքում կատարվել են ծավալուն հետազոտություններ՝ ուղղված նոր շտամերի ստացմանը, որոնք ունեն բարձր ամիլազային ակտիվություն: Ամիլազն արտազատվում է միջավայր և այդ իմաստով նախընտրելի տարբերակ է այդ սպիտակուցի էժան և արդյունավետ մաքրման համար:

Ասվածից հետևում է, որ Տիգրան Սողոմոնյանի «*Bacillus* ցեղի մանրէներից տեխնոլոգիական արժեք ունեցող ռեկոմբինանտ  $\alpha$ -ամիլազների շտամ

արտադրիչների ստացումը և համապատասխան ֆերմենտների բնութագրումը»  
ատենախոսությունը կենսատեխնոլոգիաների զարգացման ժամանակակից  
միտումներին համահունչ ակնհայտորեն կարևոր և արդիական աշխատանք է:

Տիգրան Սողոմոնյանի ատենախոսական աշխատանքի նյութը շարադրված է  
տպագիր տեքստի 128 էջի վրա և ներառում է 43 նկար ու 9 աղյուսակ:  
Ատենախոսությունը կազմված է «Հապավումների ցանկ», «Ներածություն»,  
«Գրականության ակնարկ», «Հետազոտության նյութեր և մեթոդներ», «Արդյունքներ  
և քննարկում», «Ամփոփում», «Եզրակացություններ», «Գրականության ցանկ» որը  
ներառում է 192 հղում, «Հավելված» բաժիններից:

Ատենախոսության «Գրականության ակնարկ» գլխում ներկայացված է  
ածխաջրերի վրա ներգործող ֆերմենտների (CAZy) տեսակները, դասակարգումը,  
առանձնահատկությունները, գլիկոզիդ հիդրոլազների ընտանիքները,  
ենթաընտանիքները և  $\alpha$ -ամիլազը, որպես այդ ընտանիքի անդամ: Նկարագրվել են  
 $\alpha$ -ամիլազների ֆունկցիոնալ և կառուցվածքային առանձնահատկությունները, բջջից  
արտազատման մեխանիզմները: Մանրամասնորեն ներկայացվել են մանրէային  
ծագման  $\alpha$ -ամիլազների ֆիզիկաքիմիական և կատալիտիկ բնութագրերը:  
Ներկայացված են նաև ռեկոմբինանտ  $\alpha$ -ամիլազների ստացման մեթոդները,  
ինչպես նաև մեծածավալ արտադրության հիմնական տեխնոլոգիական  
մոտեցումները:

**Ատենախոսությունում դրված խնդիրների լուծման համար կիրառվել են  
ժամանակակից մեթոդներ և սարքավորումներ (Գլուխ 2), որոնք ներկայացված են  
11 ենթագլուխներով:**

**Տիգրան Սողոմոնյանի ատենախոսության «Արդյունքներ և դրանց  
քննարկումը» գլուխը բաղկացած է 9 ենթագլուխներից:**

Աշխատանքի «Ամփոփում» բաժինը ներկայացված է 7 էջով, որտեղ  
հանգամանորեն քննարկվում և ի մի են բերվում ստացված արդյունքները և ցույց է  
տրվում, որ ռեկոմբինանտ  $\alpha$ -ամիլազները նմանատիպ ֆերմենտների շարքում  
ցուցաբերում է այնպիսի բնութագրեր, որ հնարավոր են դարձնում այս  
ռեկոմբինանտ ֆերմենտների կիրառումը տարբեր արտադրություններում:

Աշխատանքում նախանշված նպատակներին հասնելու համար օգտագործվել են «Takara Bio»-ի pBE-S մաքրքային վեկտորը՝ ռեկոմբինանտ  $\alpha$ -ամիլազի գենի կլոնավորման և արտաբջջային էքսպրեսման համար: Շտամերից անջատվել են գենոմային ԴՆԹ-ները, կատարվել է դրանց անհրաժեշտ հատվածների ամպլիֆիկացումներ: Կատարվել են սննդամիջավայրի օպտիմալացումներ, որոնք ապահովել են բակտերիաների օպտիմալ աճը և ֆերմենտների ակտիվությունը: Մշակվել է տեխնոլոգիական համակարգ ֆերմենտների անջատման, մասնակի մաքրման և դրանց որոշ հատկությունների ուսումնասիրման համար: Ստացված ֆերմենտները իրենց տարբեր հատկություններով համեմատվել են Novozyme ընկերության համապատասխան ֆերմենտի որոշ հատկությունների հետ:

Ցույց է տրվել ստացված պրոդուցենտների կայունությունը, ինչը շատ կարևոր գործոն է ռեկոմբինանտ պրոդուցենտների տեխնոլոգիականությունը գնահատելու համար:

Սակայն, ինչպես և ցանկացած աշխատանքում, իմ կարծիքով այս ատենախոսությունում ևս կան որոշակի թերություններ: Մասնավորապես, գրական ակնարկում տեղադրված է այնպիսի հատվածներ, որոնք բացարձակ կապ չունեն աշխատանքի բնույթի հետ: Օրինակ, տեղադրված է ինֆորմացիա շաքարների մետաբոլիզմի հետ կապված այլ ֆերմենտների մասին, ինչպիսիք են գլիկոզիլտրանսֆերազները, պոլիսախարիդ լիազները, ածխաջրային էսթերազները, ածխաջրեր կապող մոդուլները (CBMs): Բոլորովին հասկանալի չէ սպիտակուցների ընտանիքներին, ենթաընտանիքներին, և կլաներին վերաբերվող ինֆորմացիան: Ավելին, նկար 1-ը ներկայացվում է առանց որևէ բացատրության, որը բոլորովին հասկանալի չէ թե ինչ է ցույց տալիս: Մյուս կողմից, բացատրություններ են տրվում այնպիսի հարցերի շուրջ, որոնք բավականին ակնհայտ են: Օրինակ, հիմնավորվում է ամիլազների անրաժեշտությունը, քանի որ օսլան բարդ միացություն է բջջի կողմից օգտագործվելու համար և այն անրաժեշտ է քայքայել: Ներկայացվում է ամիլազների կատալիտիկ մասի դոմենային կառուցվածքը, որը ունի զուտ տեսական նշանակություն: Նմանապես ինչ իմաստ ունեն *B. subtilis*-ի  $\alpha$ -ամիլազի ակարբոզ պսևդոտետրասախարիդ արգելակիչի հետ կազմած կոմպլեքսի բյուրեղային կառուցվածքը մանրակրկիտ բնութագրվել 2,3 Å ճշգրտությամբ:

Ռենգենոկառուցվածքային հետազոտություններից սպասումները, որոնք թույլ կտային բարելավել ֆերմենտների կատալիտիկ հատկությունները, չիրականացան, և դրանք մնացին զուտ տեսական դաշտում: Շատ ավելի հետաքրքիր կլիներ գրական ակնարկում տեղադրվեր շատ ավելի մանրամասն ինֆորմացիա ռեկոմբինանտ ԴՆԹ-տեխնոլոգիաների մասին, քանի որ Հայաստանում դրանք այդքան էլ հայտնի տեխնոլոգիաներ չեն: Հեղինակը նշում է, որ Հայաստանում առաջին անգամ ներդրվել է օղակաձև ԴՆԹ-ի մոլեկուլում գեների համակցման Գիբսոնի մեթոդը, սակայն չի բացատրվում, թե ինչու՞մ է կայանում այդ մեթոդի էությունը: Առանձնապես չի բացատրվում *E. coli* Top10 շտամի՝ (Invitrogen), և «Takara Bio»-ի pBE-S մաքրքային վեկտորի օգտագործումը: Նկար 7. *E. coli* / *B. subtilis* pBE-S մաքրքային վեկտորի կառուցվածքային սխեմայում իրականում չի բացատրվում, թե տարբեր հատվածները ինչ խնդիրներ են լուծում: Հասկացվում է, որ նկարը ուղղակի ներբեռնվել է արտադրողի կայքից: Որոշ նկարների դեպքում բացակայում է տեքստային բացատրությունները: Եթե աշխատանքը նվիրված է ռեկոմբինանտ ամիլազների ստացմանը, ապա ցանկալի կլիներ ներկայացնել համեմատական տվյալներ աշխարհում իրականացվող նմանատիպ հետազոտությունների հետ: Հեղինակի կողմից ստացված պրոդուցենտները ինչքանով են համեմատելի օգտագործվող պրոդուցենտների հետ: Երևի թե, իմաստ ուներ գնահատել ինչ խորությամբ է իրականացվում օսլայի հիդրոլիզը, ինչ չափի օլիգոսախարիդներ են առաջանում, ինչը ֆերմենտի հատկությունների գլխավոր չափանիշներից է:

Շատ ցանկալի կլինի, որ Հայաստանում այս ուղղությունը էլ ավելի զարգանա, և ռեկոմբինանտ եղանակով ստացվեն ավելի պահանջված պրեպարատներ, որոնք կունենան լայն կիրառություն՝ մասնավորապես բժշկության և գյուղատնտեսության մեջ:

Չնայած նշված թերություններին, կարելի է հավաստել, որ կատարվել է կարևոր և կիրառական մեծ նշանակություն ունեցող աշխատանք: Աշխատանքն աչքի է ընկնում հարցերի համակարգային քննարկմամբ, արդյունքների վիճակագրական մշակմամբ, ստացված եզրահանգումների հիմնավորմամբ, և իմ խորին համոզմամբ արժանի է բարձր գնահատականի:

Տիգրան Մերուժանի Սողոմոնյանի ատենախոսությունն իր արդիականությամբ, դրույթների ճշտությամբ, ստացված տվյալների գիտապրակտիկ արժեքով համապատասխանում է ԲԿԳԿ-ի կողմից թեկնածուական ատենախոսություններին ներկայացվող պահանջներին, իսկ հայցորդը արժանի է Գ.00.07 - «Միկրոբիոլոգիա. կենսատեխնոլոգիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի շնորհմանը:

Պաշտոնական ընդդիմախոս՝ ՀՀ ԳԱԱ Հր. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի  
ինստիտուտի Բժշկական կենսատեխնոլոգիայի  
լաբորատորիայի վարիչ, կ.գ.թ.

Վ.Կ. Գասպարյան

Վ. Գասպարյանի ստորագրությունը հաստատում եմ՝  
ՀՀ ԳԱԱ Հր. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի  
գիտական քարտուղար, կ.գ.թ.



Վ.Լ. Հայրապետյան

08.10.2024թ.