

“Հաստատում եմ”

ՀՀ ԳԱԱ Հ. Բունիաթյանի անվան

Կենսաքիմիայի ինստիտուտի տնօրեն,

Կ.գ.թ., դոցենտ Ա. Անտոնյան

№ <13>> փետրվարի 2025 թ.



ԱՌԱՋԱՏԱՐ ԿԱԶՄԱՎԵՐՊՈՒԹՅՈՒՆ

ԿԱՐԾԻՔ

Մերի Կարենի Իսկանդարյանի «*Cupriavidus necator* H16 մանրէի հետերոտրոֆ ածի տարբեր պայմաններում H_2 -օքսիդացնող հիդրոգենազային ակտիվության և կենսաէներգետիկական չափանիշների ուսումնասիրում » 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 2025թ. փետրվարի 11-ի թիվ 2 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.Չախիլյանը, 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. Ալշուջյանը, Կ.գ.թ. Բ. Դանիելյանը, Կ.գ.թ. Մ. Հովհաննիսյանը, Կ.գ.թ. Զ. Պարոնյանը, Կ.գ.թ. Վ. Քնարյանը, 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.Չախիլյանը, Կ.գ.թ., դոցենտ Ա. Անտոնյանը, Կ.գ.թ. Հ.Հայրապետյանը, որոնք ընդգծեցին աշխատանքի հիմնական արժանիքները՝ նորույթը և գիտագործնական նշանակությունը:

Ատենախոսության թեմայի արդիականությունը:

Cupriavidus necator H16-ը արտադրական կիրառելի մանրէ է, որն ունակ է սինթեզել կենսապլաստիկ, կենսավառելիք և մի շարք արժեքավոր մետաբոլիտներ, թե՛ հետերոտրոֆ ճանապարհով՝ օրգանական միացություններից, թե՛ ավտոտրոֆ՝ CO_2 , H_2 և O_2 գազերից: Լիթոավտոտրոֆ ածի ընթացքում *C. necator* սինթեզում է O_2 -կայուն չորս տարբեր [NiFe]-Հիդրոգենազներ, թաղանթակապ Հիդ, ցիտոպլազմում լուծելի Հիդ, ակտինոբակտերիական տիպի Հիդ և կարգավորիչ Հիդ:

[NiFe] հիդրոգենազները կատալիզում են H_2 -ի դարձելի փոխակերպումը պրոտոնների (H^+) և էլեկտրոնների (e^-), կախված բջջի ռեդօքս վիճակից և սննդառության տիպից: Այս ռեակցիան հատկապես կարևոր է ջրածնային հենքով տեխնոլոգիաների զարգացման համար, օրինակ՝ վառելիքային սարքերում կարող են հանդես գալ որպես անոդային կենսակատալիզատորներ, սակայն դրանց կիրառությունը խոչընդոտվում է շատ հիդրոգենազների թթվածնի նկատմամբ բարձր զգայնությամբ: *C. necator* H16-ի [NiFe] հիդրոգենազների O_2 -կայունությունը մեծացնում է կենսատեխնոլոգիայում դրանց կիրառելիության հավանականությունը:

Այնուամենայնիվ, *C. necator*-ի բջջում միշտ չէ, որ տեղի է ունենում ակտիվ հիդրոգենազ ֆերմենտների սինթեզ (մակաձում): Հարուստ սննդամիջավայրերը, որոնք առավել նպաստավոր են բակտերիաների մեծ կենսազանգվածի ստացման համար, կարող են նպաստավոր չլինել հիդրոգենազների ստացման համար: Սակայն գրականության համաձայն էներգետիկ սուղ պայմանները և սթրեսը նպաստում են հիդրոգենազների սինթեզին, քանի որ այս ֆերմենտների գործունեության շնորհիվ լրացուցիչ էներգիա է մատակարարվում բջջին՝ H_2 -ի օքսիդացման արդյունքում անջատված H^+ և e^- -երը շնչառական շղթա ուղղորդվելու ճանապարհով: *C. necator*-ը հետերոտրոֆ աճի ժամանակ այլ օրգանական միացությունների շարքում կարող է նաև գլիցերոլ յուրացնել: Այսպիսով, հիդրոգենազ ֆերմենտների սինթեզը կարող է խթանվել *C. necator*-ի նաև հետերոտրոֆ աճի ժամանակ, հետևաբար կարևոր և անհրաժեշտ է բացահայտել հետերոտրոֆ պայմաններում հիդրոգենազ ֆերմենտների մակաձման և ակտիվության խթանման մեխանիզմները, ինչպես նաև ուսումնասիրել օքսիդավերականգնողական պոտենցիալը, որը այս ֆերմենտների ակտիվությամբ պայմանավորված մանրէների աճը և նյութափոխանակությունը բնութագրող կարևոր ֆիզիկաքիմիական չափանիշ է:

Հիդրոգենազների արդյունավետ և մատչելի սինթեզը ապահովելու համար նպատակահարմար է կիրառել հարուստ սննդամիջավայր հանդիսացող օրգանական թափոնները, ինչպիսին է կաթնամթերքի արդյունաբերության հիմնական ենթամթերք շիճուկը: Կաթնամթերքի շիճուկը առաջանում է կաթի ջերմային մշակման արդյունքում՝ կազեինի հեռացումից հետո: Շիճուկի կազմի մոտ 50%-ը սննդանյութեր են, ներառյալ լակտոզ, սպիտակուցներ, հանքանյութեր և վիտամիններ: Տարեկան մոտ 180-190

միլիոն տոննա շիճուկ է արտադրվում ամբողջ աշխարհում: Ներկայումս այն օգտագործվում է սննդի արդյունաբերության տարբեր ոլորտներում, սակայն մինչ այժմ մարդկությունը բախվում է մեծածավալ թափոնների արտանետման խնդրի հետ: Ուստի անհրաժեշտ է մշակել նոր մեթոդներ և մոտեցումներ՝ կաթնամթերքի թափոնների այլընտրանքային, կայուն ուղիով օգտագործելու համար:

Արենախոսության գիտական նորույթը:

Ցույց է տրվել, որ ոչ ախտածին *C. necator* H16-ի O₂-կայուն հիդրոգենազները պոտենցիալ թիրախներ են ֆերմենտային վառելիքային սարքերում կիրառման համար: Հայտնաբերելով *C. Necator* H16-ի հիդրոգենազների սինթեզի կամ ակտիվության խթանման մեխանիզմները՝ հնարավոր է մշակել նոր մոտեցումներ առավել ակտիվ ֆերմենտների ստացման համար, որոնք կարող են կիրառվել վառելիքային սարքերում:

Աշխատանքում առաջին անգամ ուսումնասիրվել են տարբեր պայմաններում *C. necator* H16 մանրէի աճի առանձնահատկությունները՝ կարևորելով H₂-օքսիդացնող O₂-կայուն հիդրոգենազների ակտիվության խթանման հնարավոր մեխանիզմները: Առաջին անգամ ցույց է տրվել ամինաթթուների՝ մասնավորապես գլիցինի, ինչպես նաև գլիցին բետաինի դերը հիդրոգենազ ֆերմենտների մակաձման և ակտիվության խթանման գործընթացում: Հետազոտվել է գլիցինի ազդեցությունը մաքրված և մեկուսացված չորս հիդրոգենազների ակտիվության և սինթեզի վրա: Այս ֆերմենտների մեկուսացումը և դրանց ազդեցության նկարագրությունը հնարավոր է դարձնում հետագայում դրանց առավել արդյունավետ կիրառումը վառելիքային սարքերում:

Մատչելի օրգանական թափոնների՝ կաթնամթերքի շիճուկի և գլիցերոլի կիրառությունը հնարավորություն է տալիս նվազեցնել *C. necator* H16-ի կենսազանգվածի արտադրության ծախսերը, ինչպես նաև առաջարկել նշված թափոնների մշակման և կիրառման նոր մեթոդներ:

Ուսումնասիրված հետերոտրոֆ աճի միջավայրերից մեկուսացված ակտիվ հիդրոգենազներ պարունակող *C. necator* H16-ի բջիջները փորձարկվել են որպես անոդային կենսակատալիզատորներ, որը նպաստում է ֆերմենտային վառելիքային սարքերում կենսահոսանքի արդյունավետ արտադրությանը:

Առաջարկված նոր մոտեցումները կարող են հիմք հանդիսանալ հիդրոգենազների հիմքով վառելիքային սարքերի զարգացման և էլեկտրաակտիվ մանրէաբանական կենսազանգվածի արտադրության համար:

Ատենախոսության բովանդակությունը և ձևավորման գնահատականը:

Մերի Իսկանդարյանի ատենախոսական աշխատանքը կազմված է ներածություն, գրական ակնարկ, նյութեր և մեթոդներ, հետազոտման արդյունքներ և դրանց քննարկում բաժիններից, եզրակացություններից, օգտագործած գրականության և երկու հավելվածներից:

Ներածական բաժնում հայցորդի կողմից հիմնավորված են աշխատանքի արդիականությունը, աշխատանքի նպատակն ու խնդիրները, գիտական նորույթը և կիրառական նշանակությունը:

Գրական ակնարկում հեղինակի կողմից ուսումնասիրվել են գիտական գրականության առկա տվյալները՝ *C. necator* H16 մանրէի նյութափոխանակության առանձնահատկությունները, *C. necator* H16-ի [NiFe]-հիդրոգենազները և դրանց դասակարգումը, յուրաքանչյուր տարատեսակի նկարագիրն ու գործունեությունը:

Մանրամասն նկարագրվել է *C. necator* H16-ի էներգետիկ նյութափոխանակությունը, ամինաթթուների և գլիցին-բետաինի կենսասինթեզը և դերը բակտերիաների նյութափոխանակային ուղիներում, օրգանական թափոններից մանրէային կենսազանգվածի և արժեքավոր նյութերի ստացումը: Բերվել են նաև տվյալներ կենսավառելիքային սարքերում հիդրոգենազների կիրառման վերաբերյալ: Տվյալները ուղեկցվում են համապատասխան նկարների ցուցադրմամբ:

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

Արդյունքների նկարագրման և քննարկման բաժնում կատարած ծավալուն փորձարարական աշխատանքի հիման վրա ներկայացված են ստացված տվյալները և դրանց քննարկումը: Հետազոտվել է Լուրիա Բերտանի միջավայրի բաղադրիչների ազդեցությունը H_2 -օքսիդացնող հիդրոգենազային ակտիվության և ածի ցուցանիշների վրա *C. necator* H16 բակտերիայի հետերոտրոֆ կուլտիվացման պայմաններում, *C.*

necator H16 բակտերիաների աճը L-ամինաթթուների և B խմբի վիտամինների առկայությամբ: Դիտարկվել է C. necator H16-ի անոթ աճը և H₂-օքսիդացնող հիդրոգենազային ակտիվությունը գլիցին-բետահինի, գլիցինի տարբեր կոնցենտրացիաների առկայությամբ, C. necator H16-ի անոթ կուլտիվացումը կաթնամթերքի արտադրության շիճուկի կիրառմամբ: Ուսումնասիրվել է պրոտոնաշարժ ուժի և C. necator H16-ի O₂-կայուն հիդրոգենազների միջև կապը, ինչպես նաև C. necator H16-ի բջիջների էլեկտրաքիմիական ակտիվությունը:

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

Արտադրության գործնական արժեքը:

Էկոլոգիապես մաքուր էներգիայի և կենսասեստորների արտադրության համար առավել նպատակահարմար միջոց են ջրածնային հենքով տեխնոլոգիաները: Աշխատանքում ցույց է տրվել, որ օրգանական թափոնների՝ կաթնամթերքի շիճուկի և գլիցերոլի, կիրառման միջոցով խթանվել է O₂-կայուն հիդրոգենազների ակտիվությունը և կենսազանգվածի արտադրությունը: Մատչելի օրգանական թափոնների կիրառությունը հնարավորություն է տալիս նվազեցնել C. necator H16-ի կենսազանգվածի արտադրության ծախսերը: Առաջարկվում են նշված թափոնների մշակման և կիրառման նոր մեթոդներ, ինչպես նաև բնապահպանական խնդիրների լուծման նոր մոտեցումներ: Աշխատանքը կարևոր է կիրառական տեսանկյունից՝ առաջարկված նոր մոտեցումները և աճի միջավայր ներմուծվող սննդանյութերի ընտրությունը կարող են հիմք հանդիսանալ հիդրոգենազների հիմքով վառելիքային սարքերի զարգացման և էլեկտրաակտիվ մանրէաբանական կենսազանգվածի արտադրության համար:

Սեղմագրի համապատասխանությունը արտադրության հիմնական

դրույթներին: Հեղինակի կողմից ստացված արդյունքները տպագրվել են միջազգային գիտական ամսագրերում և միջազգային գիտաժողովների թեզիսներում: Սեղմագիրը համապատասխանում է ատենախոսության բովանդակությանը:

Այս ամենով հանդերձ կան որոշակի դիտողություններ՝

- Բակտերիայի աճը, հիդրոգենազային ակտիվությունը ցուցադրող և այլ գծապատկերներում որպես չափորոշիչ բերված օպտիկական խտության 2-ից ավելի արժեքը ճշգրիտ չէ, քանի որ հայտնի է, որ սպեկտրալ չափիչ սարքերում՝ սպեկտրաֆոտոմետրերում օպտիկական խտության ճշգրիտ չափելի առավելագույն արժեքը 2-ն է:
- Եզրակացությունները նկարագրական բնույթի են: Դրանք ավելի արժեքավոր կլինեին, եթե լինեին հակիրճ և հստակ:
- Աշխատանքում առկա են ոճական և ուղղագրական սխալներ, որոնք թեև չեն ազդում հիմնական իմաստի վրա, սակայն ցանկալի կլիներ տեսնել դրանց նվազագույն քանակը:

Եզրակացություն: Հաշվի առնելով վերը նշվածը, կարելի է եզրակացնել, որ Մերի Կարենի Իսկանդարյանի «*Cupriavidus necator* H16 մանրէի հետերոտրոֆ աճի տարբեր պայմաններում H_2 -օքսիդացնող հիդրոգենազային ակտիվության և կենսաէներգետիկական չափանիշների ուսումնասիրում» թեմայով թեկնածուականատենախոսական աշխատանքը ավարտուն ուսումնասիրություն է: Այն բավարարում է ՀՀ-ում գիտական աստիճանաշնորհման կանոնակարգի 7-րդ կետով թեկնածուականատենախոսություններին 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. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի գիտխորհրդի նիստում (արձանագրություն թիվ 2, 11 փետրվարի 2025թ.):

Նիստի նախագահ, կ.գ.թ., դոցենտ

 Ա.Անտոնյան

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

 Տ.Տարսապետյան
