



ԱՄԵՆԱՄՅԱ ԱՄՓՈՓԻԳ ԳԻՏԱԺՈՂՈՎ

ԸՆԿՏՆՄԵՐԻ 5-10
ԴՈՒՐՑՆԱԼ



Ծածկագիր՝ 21AG-2I090

Առաջատար հետազոտությունների աջակցության գիտական թեմա 2021

Մանրէների լիզոցելյուլոզ յուրացնող համակեցություններից մետազենոմների ստացում, պահպանում, ինֆորմացիայի վերծանում և դրանց կիրառում նոր ռեկոմբինանտ ցելյուլազների, հեմիցելյուլազների ու լիզին մոդիֆիկացնող ֆերմենտների ստացման համար

Խոյեցյան Լ., Մխիթարյան Ա., Պարոնյան Մ., Դյուկովա Կ., Իզմաիլյան Մ., Հովսեփյան Ա.,
Համբարձումյան Ա.

**ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» Գիտա Արտադրական Կենտրոն,
Սպիտակուցային տեխնոլոգիաների լաբորատորիա**

Դիվիզան 2025

Կատարող թիմի կազմը



Արթուր Համբարձումյան

Լև Խոյեցյան



Օլեգ Ռեվա

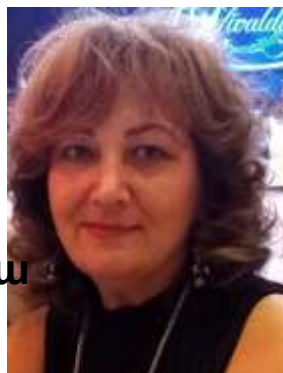
Աննա Մխիթարյան



Անիշկա Հոլսեփյան



Մարինա Պարոնյան



Կարինե Դյուկովա

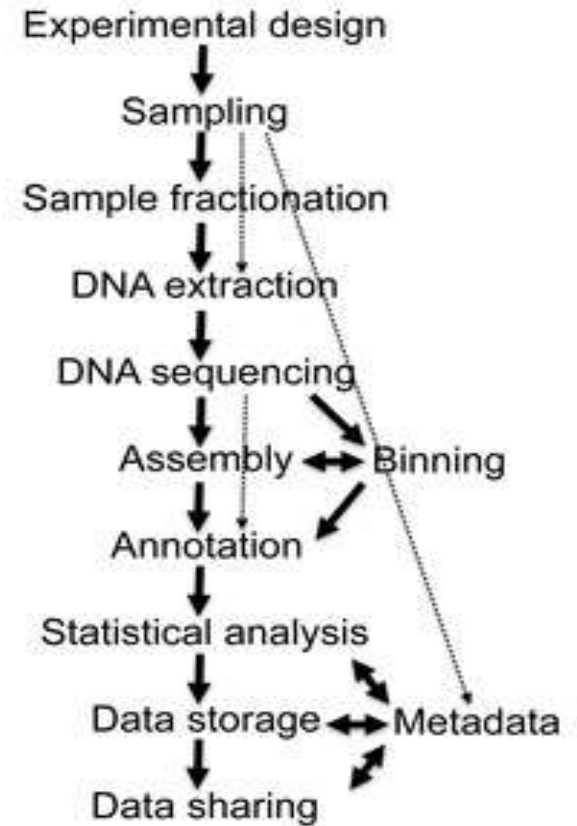
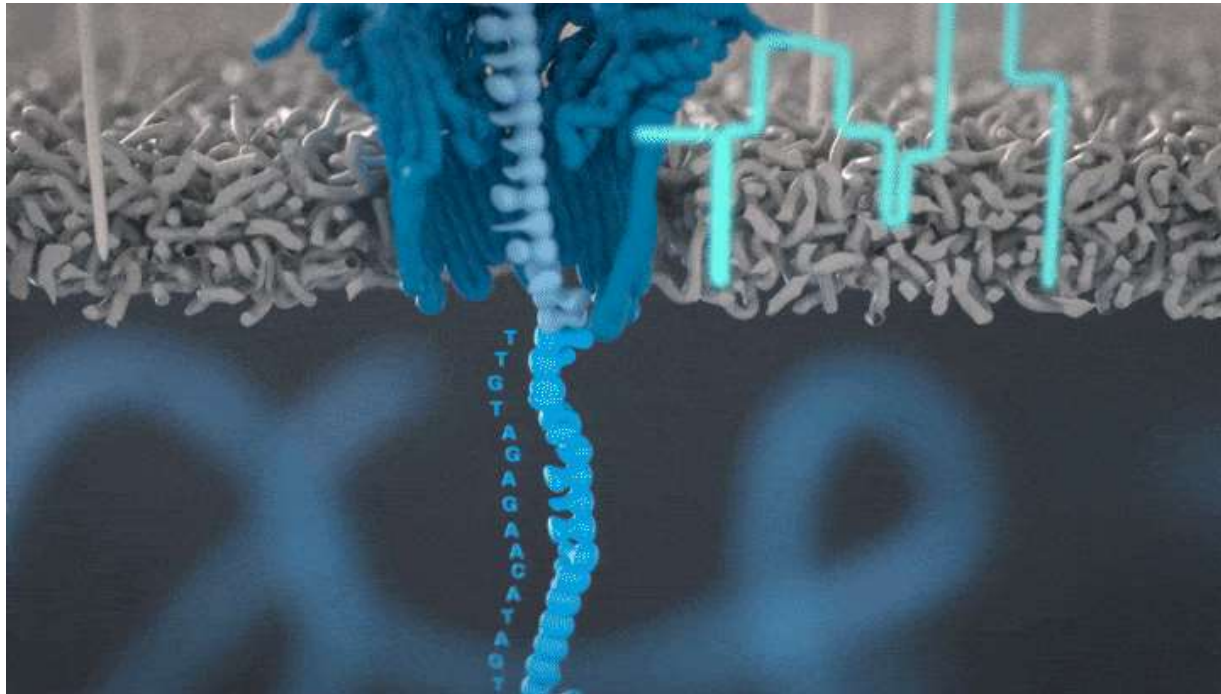


Մարիետա Իզմաիլյան

Թեմայի նպատակը

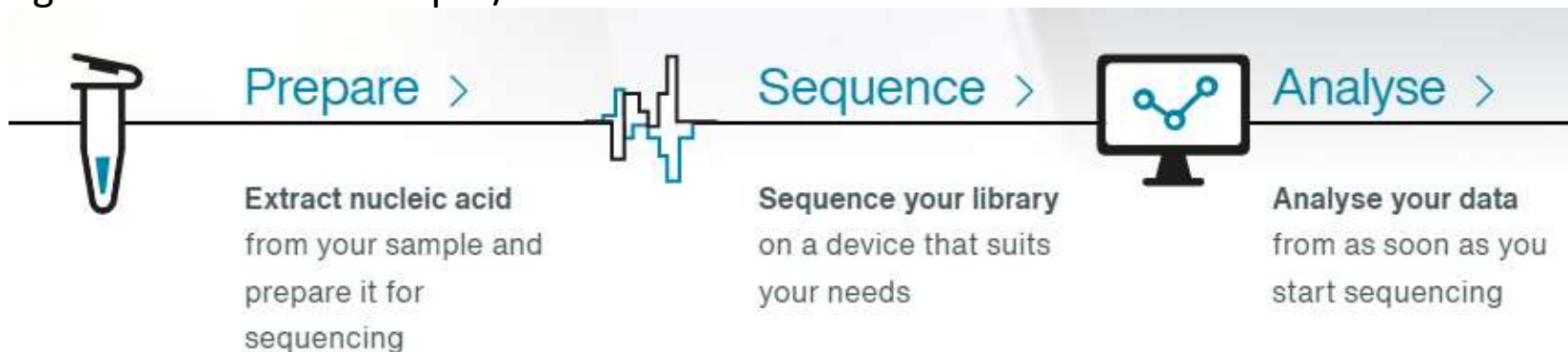
- մանրէների լիզոցելյուլոզ յուրացնող համակեցություններից (կոմպոստ, նեխող ծղոտ) մետազենոմների ստացումը, պահպանումը և նանոպորային սեքվենավորմամբ ինֆորմացիայի վերծանումը;
- ստացված մետազենոմների կիրառմամբ նոր ռեկոմբինանտ ցելյուլազների, հեմիցելյուլազների ու լիզին մոդիֆիկացնող ֆերմենտների ստացումը, և դրանց վրա հիմնված լիզոցելյուլոզի կենսաադեգրացման (մինչև մոնոսախարիդներ, արոմատիկ միացություններ և այլն) տեխնոլոգիաների ստեղծումը:

Նանոպորային սեքվենավորում



MinION Flow cell - 50 Gb per/Run
Flongle Flow Cel – 2.8 Gb per/Run

Նանոպորային սեքվենավորման տրամաբանությունը



M1 և M2 մետագենոմների հոլմ ռիդերի համակցման և անոտացման արդյունքները

Մետագենոմ M1 (MinION R10.4.1)		Մետագենոմ M2 (MinION R9.4.1)	
Flye assembled		Flye assembled	
Prokka annotated		Prokka annotated	
Total length:	325871196	Total length:	25063188
Fragments:	17056	Fragments:	935
Fragments N50:	28637	Fragments N50:	71931
Largest frg:	1362323	Largest frg:	973877
Scaffolds: 0		Scaffolds: 0	
Mean coverage:	9	Mean coverage:	38
contigs: 16455 bases: 324457125 CDS: 479350 rRNA: 426 repeat_region: 36 tRNA: 3285 tmRNA: 50		contigs: 824 bases: 24859457 CDS: 40763 rRNA: 73 repeat_region: 31 tRNA: 432 tmRNA: 6	

2 մետազենոմից կլոնավորման համար ընտրվել են հետևյալ ֆերմենտների գենե

1. **β -գլյուկանազ** 1,3-1,4- β -glucanase (NGJGEFEI_28564 Beta-glucanase)

Rhodothermus marinus beta-glucanase-ին 93.75% նման

պրայմերներ՝ BetaGluc_M2_28564_F GCCGGTGCACATATGGGCGGTCACGGCTGGG
BetaGluc_M2_28564_R ATGGTGATGTCTAGACTACTCCACCCATCGGTACACG

2. **Քսիլանազ Endo-1,4- β -xylanase** (NGJGEFEI_14874)

Thermus brokianus-ի Endo-1,4- β -xylanase-ին 75.56% նման

պրայմերներ՝ Xyl_M2_14874_F GCCGGTGCACATATGGGAAAGTCTAGAACCCAATCGGGG
Xyl_M2_14874_R ATGGTGATGTCTAGACTACTTTGCACCCAGGTGCAAAAG

3. **Քսիլանազ Endo-1,4- β -xylanase** (NGJGEFEI_34975)

Rhodothermus marinus-ի Endo-1,4- β -xylanase-ին 82.51% նման

պրայմերներ՝ Xyl_M2_34975_F GCCGGTGCACATATGGCCGTTACGTTCAACATGGCC
Xyl_M2_34975_R ATGGTGATGTCTAGATCAGAAAATCCTCCATGAACGAAGC

4. **Dyp-type Peroxidase** dye-decolorizing peroxidase (NGJGEFEI_05038)

Acinetobacter indicus-ի dye-decolorizing peroxidase-ին 99.02% նման

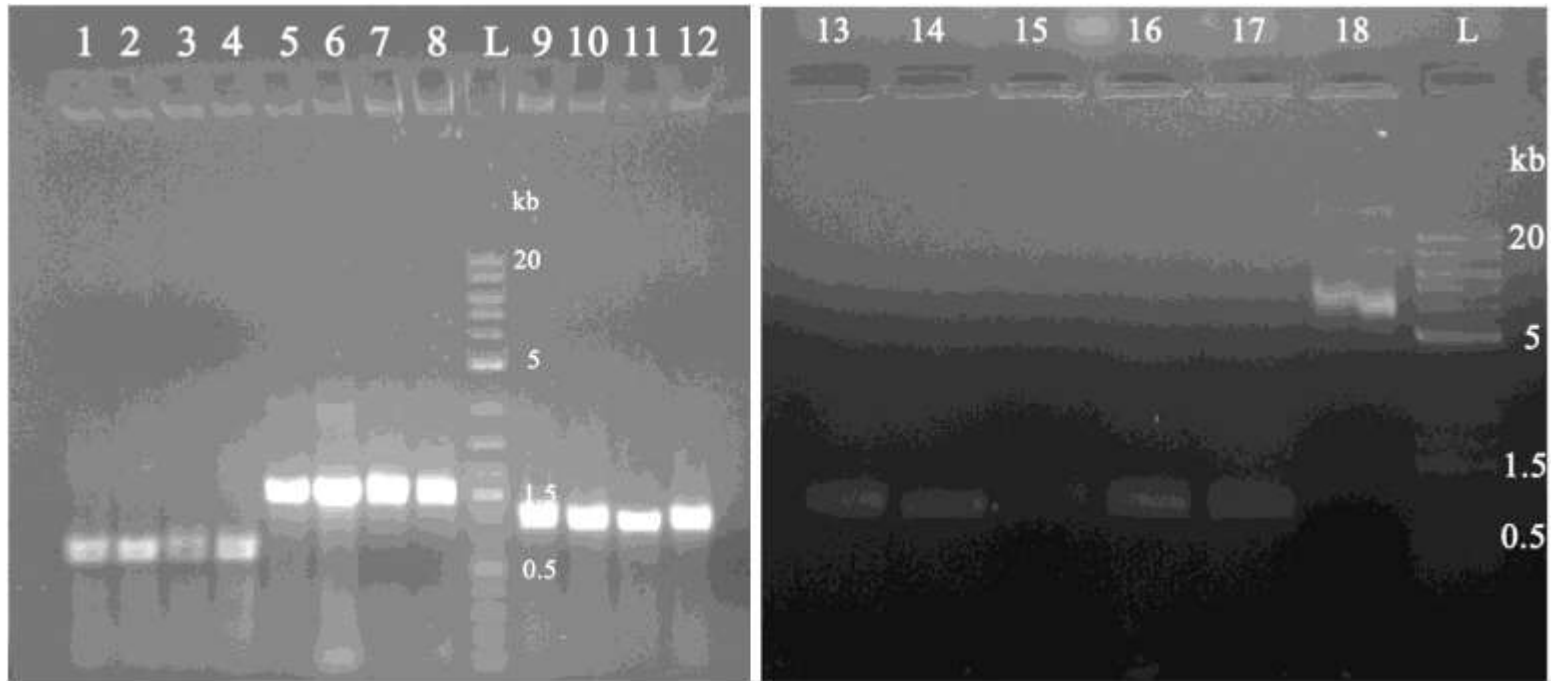
պրայմերներ՝ Pox_M2_05038_F GCCGGTGCACATATGACAGCTCAATCTGTAATCTTGCCATTAC
Pox_M2_05038_R ATGGTGATGTCTAGATTATAAATTATCCTTCAGCACTGTTTCCAGC

5. **Heme-dependent Peroxidase** (NGJGEFEI_20739)

Bacilli bacterium-ի heme dependent peroxidase-ին 99.44% նման

պրայմերներ՝ Pox_M2_20739_F GCCGGTGCACATATGTTTTGGCTTTTGCGTCCAACACC
Pox_M2_20739_R ATGGTGATGTCTAGATTACACTTTTAAGTAGTCGGCCAATTTGTC

Քսիլանագային և պերօքսիդագային ակտիվության գեները pBE-S վեկտորի վրա կրող շտամների գաղութային ՊՇՌ արդյունքները



1-4 – Xyl_M2_34975, 5-8 – Pox_M2_05038, L – Neb TriDye™ 1 kb Plus DNA ladder, 9-12 – Xyl_M2_14874, 13-17 – Pox_M2_20739, 18 – pBE-S vector, L – Neb TriDye™ 1 kb Plus DNA ladder

Ամբողջական գենոմների սեքվենավորում Ligation Sequencing (SQK-LSK114) KIT-ով

Բակտերիա	Օգտատեր	Flye assembly	Քրոմոսոմ	Պլազմիդ	NCBI հաս. համար
<i>Bacillus subtilis</i> MDC 3500	Տիգրան Սողոմոնյան	Total length: 4149258 Fragments: 6 Fragments N50: 1134955 Largest frg: 1820355 Scaffolds: 0 Mean coverage: 23	4088757 bp, circular	60540 bp, circular	Chr. CP184275 Pl. CP184276
<i>Bacillus spizizenii</i>	Վահե Ղոչիկյան	Total length: 4369144 Fragments: 481 Fragments N50: 16895 Largest frg: 91261 Scaffolds: 0 Mean coverage: 15	>4369144 bp,	7575 bp, circular	
<i>Bacillus safensis</i>	Անի Պալոյան	Total length: 3683588 Fragments: 1 Fragments N50: 3683588 Largest frg: 3683588 Scaffolds: 0 Mean coverage: 90	3683688 bp, circular		Chr. CP192519
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	Արմինե Մարգարյան	Total length: 6978705 Fragments: 5 Fragments N50: 3642095 Largest frg: 3642095 Scaffolds: 0 Mean coverage: 102	3642095 bp, circular	1661822 bp, circ. 1411811 bp, circ. 259377 bp, circ. 3600 bp, lin., 40 copy	
<i>Pseudarthrobacter oxydans</i>	Արմինե Մարգարյան	Total length: 6577117 Fragments: 5 Fragments N50: 4122470 Largest frg: 4122470 Scaffolds: 0 Mean coverage: 101	4122470 bp, circ.	2184622 bp, lin. 262543 bp, circ., 3 copy 3997 bp, lin., 94 copy 3485 bp, lin., 58 copy	
<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> MDC 2012	Ֆլորա Տիրումի		>3007568 bp,	64502 bp, lin., 2 copy 5558 bp, circ. 255 copy	
<i>Lactobacillus helveticus</i> MDC 9602	«Հայկենսատեխնոլոգիա» ՊԸԿ	Total length: 1923890 Fragments: 490 Fragments N50: 4401 Largest frg: 19332 Scaffolds: 0 Mean coverage: 96	>1923890 bp	9857 bp, 2 copy 3594 bp, 4 copy 1555 bp, 7 copy	

Ետքի խ կոդ	Պլազմիդ/Գեն	Օգտատեր	Արդյունք	Workflow
1	GeneScript-ից պատվիրված պլազմիդ	Եսթեր Հակոբյան	4614 գլ, օղակ.	Կլոնի նույնականացո ւմ
2	Նույն պլազմիդը ամպլիֆիկացված	Եսթեր Հակոբյան	4614 գլ, օղակ.	Կլոնի նույնականացո ւմ
3	Պլազմիդ pBE- S_amy1974_sig_	Տիգրան Սողոմոնյան	Failed	Կլոնի նույնականացո ւմ
4	16S ՌՆԹ	Անի Պալոյան	1545 գլ, Brevibacillus laterosporus	Ամպլիկոն
5	16S ՌՆԹ	Վահե Ղոչիկյան	1512 գլ, Bacillus licheniformis	Ամպլիկոն
6	16S ՌՆԹ	Վահե Ղոչիկյան	2065 գլ, Bacillus licheniformis	Ամպլիկոն
7	16S ՌՆԹ	Սոնա Ավետիսյան	1517 գլ, Bacillus cereus	Ամպլիկոն
8	16S ՌՆԹ	Սոնա Ավետիսյան	1517 գլ, Bacillus cereus	Ամպլիկոն
9	16S ՌՆԹ	Արմինե Մարգարյան	1517 գլ, Paenibacillus amylolyticus	Ամպլիկոն
10	Պլազմիդ	Անի Պալոյան	6924 գլ, օղակ.	Կլոնի նույնականացո ւմ
11	16S ՌՆԹ մետագենոմ (կենսաբազմազանություն)	Արմինե Մարգարյան	64 տիպի 16S ՌՆԹ	16S ՌՆԹ
12	16S ՌՆԹ մետագենոմ (կենսաբազմազանություն)	Արմինե Մարգարյան	108 տիպի 16S ՌՆԹ	16S ՌՆԹ
13	16S ՌՆԹ	Վալերի Բաղյան	Lactacaseibacillus paracasei, 1535 գլ	Ամպլիկոն
14	16S ՌՆԹ	Վալերի Բաղյան	Lactacaseibacillus rhamnosLus, 1534 գլ	Ամպլիկոն
15	16S ՌՆԹ	Վալերի Բաղյան	Lactacaseibacillus rhamnosLus, 1521 գլ	Ամպլիկոն
16	16S ՌՆԹ	Վալերի Բաղյան	Enterococcus faecalis, 1525 գլ	Ամպլիկոն
17	16S ՌՆԹ	Վիգեն Գոգինյան	Rhodopseudomonas palustris, 1445 գլ	Ամպլիկոն
18	16S ՌՆԹ	Վիգեն Գոգինյան	Rhodopseudomonas palustris, 1445 գլ	Ամպլիկոն
19	16S ՌՆԹ	Վիգեն Գոգինյան	Rhizobium laguerreae, 1445 գլ	Ամպլիկոն
20	16S ՌՆԹ	Վիգեն Գոգինյան	Agrobacterium tumefaciens, 1450 գլ	Ամպլիկոն
21	16S ՌՆԹ	Վիգեն Գոգինյան	Agrobacterium tumefaciens. 1446 գլ	Ամպլիկոն

Թիրախային գեների և պլազմիդների սերվենավորում Native Barcoding Kit 24 V14 (SQK-NBD114.24) լրակազմի կիրառմամբ

Կիրառվել է Flongle R10.4.1
հոսքարջիջը իր ադապտորով:

Obtaining and Characterizing Thermostable α -Amylases Secreted by *Bacillus subtilis*, Originating from *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis*

Q2

Tigran Sghomonyan ¹, Artur Hambardzumyan ^{1,*}, Anna Mkhitarian ¹, Lev Khoyetsyan ¹, Marina Paronyan ¹, Marieta Izmailyan ¹, Marina Kinoyan ¹, Valeri Bagiyon ¹, Vahe Ghochikyan ¹, Hovik Panosyan ^{2,3} and Ani Paloyan ¹

Fermentation 2024, 10, 547. <https://doi.org/10.3390/fermentation10110547>

Structural Analysis and Substrate Specificity of D-Carbamoylase from *Pseudomonas*

Q2

Marina Paronyan ¹, Haykanush Koloyan ^{1,*}, Hovsep Aganyants ^{1,*}, Artur Hambardzumyan ¹, Tigran Sghomonyan ¹, Sona Avetisyan ¹, Sergey Kocharov ², Henry Panosyan ², Vehary Sakanyan ^{3,*} and Anichka Hovsepyan ¹

BioTech 2024, 13, 40. <https://doi.org/10.3390/biotech13040040>

Genetic and Biochemical Characterization of *Lactocaseibacillus rhamnosus* MDC 2012 and its Potential in Processing of Raw Pork Meat

Hasmik Grigoryan ^{1,2,*}, Gayane Marmaryan ¹, Tigran Sghomonyan ², Lev Khoyetsyan ², Ani Paloyan ², Flora Tkhruni ², Kristina Karapetyan ², Artur Hambardzumyan ²

Bioactive Compounds in Health and Disease (BCHD)

Armenian fermented dairy functional food “Narine”: Characterization of starter bacteria *Lactobacillus helveticus* full genome sequences and potential functional food marker genes

Karine Chitchyan ¹, Arshaluys Verdyan ¹, Susanna Hovhannisyan ¹, Tigran Sghomonyan ¹, Lev Khoyetsyan ¹, Anna Mkhitarian ¹, Monika Gogchyan ², Artur Hambardzumyan ¹, Oleg Reva ³, Hrachya Hovhannisyan ¹, Valeri Bagiyon ¹
Functional Food Science (FFS)

Lev Khoyetsyan, Oleg Reva, Anna Mkhitarian, Marina Paronyan, Karine Dyukova, Marieta Izmailyan, Anichka Hovsepyan, Artur Hambardzumyan Metagenomic Insights into Lignocellulose-Degrading Microbiota in High-Temperature (75°C) Hen Compost Using Nanopore Sequencing with MinION Flow Cells in Press

Շնորհակալություն ուշադրության համար