ՊԱՇՏՈՆԱԿԱՆ ԸՆԴԴԻՄԱԽՈՍԻ

ԿԱՐԾԻՔ

Գ.00.07 - «Միկրոբիոլոգիա. կենսատեխնոլոգիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի աստիճանի հայցմանը ներկայացված Անի Ռոբերտի Սաղաթելյանի «*Thermus scotoductus* K1 շտամի ջերմակայուն ԴՆԹ պոլիմերազ I-ի հետերոլոգիական էքսպրեսիան, բնութագրումը և կենսատեխնոլոգիական ներուժը» ատենախոսության վերաբերյալ

Անի Սաղաթելյանի թեկնածուական ատենախոսական աշխատանքը նվիրված է Քարվաճառի երկրաջերմային աղբյուրի միկրոբիոտայի կազմի ուսումնասիրմանը, այդ աղբյուրից մեկուսացված *T. scotoductus* K1 ջերմասեր բակտերիայի գենոմի վերծանմանը և կենսատեխնոլոգիական ներուժի բնութագրմանը, *T. scotoductus* K1 շտամի I-տիպի ԴՆԹ-պոլիմերազի գենի *E. coli*-ի բջիջներում հետերոլոգիական էքսպրեսիայի նպատակով կոդոնային օպտիմալացմամբ սինթետիկ գենի ձեռքբերմանը, այդ գենի բարձր ներբջջային էքսպրեսիայով պլազմիդների կազմում կլոնավորմանը և էքսպրեսմանը, համապատասխան ռեկոմբինանտ ֆերմենտի ստացմանը, մաքրմանն ու բնութագրմանը և *T. scotoductus* K1 շտամի ԴՆԹ-պոլիմերազի կիրառական ներուժի բացահայտմանը:

Թերմոֆիլ մանրէների կենսաբազմազանության ուսումնասիրությունը կարևոր է մենահատուկ առանձնահատկություններով օժտված կենսատեխնոլոգիական կիրառման հեռանկար ունեցող մանէների և դրանց հիմքով նոր արդյունավետ տեխնոլոգիաների մշակման տեսակետից: Ներկայումս երկրաջերմային աղբյուրներից մեկուսացվել և նույնականացվել են բազմաթիվ թերմոֆիլ և հիպերթերմոֆիլ մանրէներ, որոնք կիրառվում են կենսատեխնոլոգիական արտադրություններում որպես ջերմակայուն հիդրոլազների, ԴՆԹ-պոլիմերազների և այլ ֆերմենտների ակտիվ արտադրիչներ: Մոլեկուլային կենսաբանությունում տարաբնույթ կիրառություններ ունեցող պոլիմերազային շղթայական ռեակցիայում (ՊՇՌ) կիրառվում են ինչպես *Thermus*, այնպես էլ թերմոֆիլ ու հիպերթերմոֆիլ մանրէների այլ ցեղերի տեսակներից անջատված ԴՆԹ պոլիմերազներ: Մենահատուկ հատկանիշներ ունեցող նոր ջերմակայուն ԴՆԹ պոլիմերազների հայտնաբերումն ու կիրառական ներուժի բացահայտումը կարևոր է նաև սեքվենավորման, կլոնավորման, ախտորոշիչ և այլ մեթոդների մշակման և բարելավման տեսակետից:

Վերը նշվածից հետևում է, որ Անի Սաղաթելյանի «*Thermus scotoductus* K1 շտամի ջերմակայուն ԴՆԹ պոլիմերազ I-ի հետերոլոգիական էքսպրեսիան, բնութագրումը և կենսատեխնոլոգիական ներուժը» ատենախոսությունը կենսաբանության զարգացման ժամանակակից միտումներին համահունչ ակնհայտորեն կարևոր և արդիական աշխատանք է:

Անի Սաղաթելյանի ատենախոսական աշխատանքի նյութը շարադրված է տպագիր տեքստի 143 էջի վրա և ներառում է 54 նկար ու 10 աղյուսակ: Ատենախոսությունը կազմված է հետևյալ մասերից «Հապավումների և միավորների ցանկ», «Ներածություն», «Գրականության ակնարկ», «Փորձարարական մաս», «Արդյունքներ և դրանց քննարկումը», «Ամփոփում», «Եզրակացություններ», «Օգտագործված գրականության ցանկ», որը ներառում է 238 հղում, «Հավելված»:

Ատենախոսության «Գրականության ակնարկ» **գլուխը** բաղկացած է երեք բաժիններից, նվիրված՝ *Thermus* ցեղի նկարագրությանը, Thermus ցեղի կենսատեխնոլոգիական նշանակությանը և ԴՆԹ պոլիմերազներին: «*Thermus* ցեղի նկարագրությունը» բաժինը իր հերթին բաղկացած է չորս ենթաբաժիններից, նվիրված՝ *Thermus* ցեղի կարգաբանությանը և ֆիլոգենիային; *Thermus* ցեղի մորֆոլոգիային, ֆիզիոլոգիային, նյութափոխանակությանը և կենսաքիմիական հատկանիշներին; *Thermus* ցեղի էկոլոգիային և տարածվածությանը և *Thermus* ցեղի ներկայացուցիչների գենոմի կառուցվածքին:

Գլուխ 1-ում ներկայացված է *Thermus* ցեղին պատկանող թերմոֆիլ մանրէների տարածվածությունը, կարգաբանությունը և ֆիլոգենեզը, մորֆո-ֆիզիոլոգիական, նյութափոխանակային և կենսաքիմիական առանձնահատկությունները, էկոլոգիական դերը և բազմազանությունը, գենոմի կառուցվածքը, ինչպես նաև՝ դրանց կենսատեխնոլոգիական ներուժը: Նկարագրված են ԴՆԹ պոլիմերազների կառուցվածքը և առանձնահատկությունները, դրանց կիրառական նշանակությունը, ջերմակայուն ԴՆԹ պոլիմերազների առավելությունները և կենսատեխնոլոգիական ներուժը: Բերված են շուկայում հայտնի ջերմակայուն ԴՆԹ պոլիմերազների օրինակներ:

Ատենախոսությունում դրված խնդիրների լուծման համար կիրառվել են ժամանակակից մեթոդներ և սարքավորումներ (Գլուխ 2), որոնք ներկայացված են 17 բաժիններում: «Ուսումնասիրության օբյեկտները, նմուշառումը և նմուշների քիմիական վերլուծությունը» առաջին բաժնում ներկայացված են ուսումնասիրության օբյեկտները, նմուշառման և նմուշների քիմիական վերլուծության մեթոդաբանությունը: Հաջորդ «ԴՆԹ-ի անջատումը» և «Գեների ՊՇՌ ամպլիֆիկացումները» բաժիններում մանրազնին ներկայացված են ԴՆԹ-ի անջատման և գեների ՊՇՌ ամպլիֆիկացման մեթոդներն ու գործիքակազմը: «Կլոնային գենադարանի կառուցումը» բաժնում նկարագրված է pJET1.2/blunt վեկտորի կազմում մետագենոմային նմուշների 16S rԴՆԹ-ի ՊՇՌ արգասիքների կլոնավորման և հետագա անալիզի պայմանները: «Սեքվենավորումը և տվյալների կենսաինֆորմատիկական վերլուծությունը» և «ILUMINA սեքվենավորումը և տվյալների կենսաինֆորմատիկական վերլուծությունը» բաժիններում ներկայացված են, համապատասխանաբար, բակտերիական կլոնային գենադարանից ստացված հաջորդականությունների Սենգերի մեթոդով և հանրագումարային ԴՆԹ-ի մետագենոմային հետազոտության Illumina HiSeq տեխնոլոգիայով սեքվենավորումների և հետագայում համապատասխան կենսաինֆորմացիոն փաթեթներով ստացված ինֆորմացիաների վերծանման մեթոդաբանությունները: «Թերմոֆիլ աերոբ էնդոսպոր չառաջացնող մանրէի մեկուսացումը» և «Մեկուսացված կուլտուրայի ֆենոտիպական հատկանիշների ուսումնասիրությունը» բաժիններում ներկայացված են հետազոտվող մանրէների մեկուսացման և մորֆոլոգիական, ֆիզիոլոգիական ու կենսաքիմիական հատկանիշների ուսումնասիրման մեթոդաբանությունն ու գործիքակազմը: Իններորդ՝ «Մեկուսացված կուլտուրայի թաղանթի լիպիդային կազմի որոշումը» բաժնում ներկայացված են կուլտուրայի թաղանթի լիպիդային կազմի որոշման մեթոդաբանությունը: «Մեկուսացված կուլտուրայի գենոմի սեքվենավորումը և կենսաինֆորմատիկական վերլուծությունը» բաժնում ներկայացված են PacBio երկար ռիդերի համակարգում K1 շտամի գենոմի սեքվենավորման և հետագայում ասամբլինգի ու անոտացման համար կիրառված մեթոդաբանությունը: Տասնմեկերրորդ՝ «Ֆիլոգենետիկ ծառերի կառուցումը» բաժնում ներկայացված է 16S rԴՆԹ-ի նուկլեոտիդային հաջորդականությունների հիման վրա հետազոտված մանրէների

էվոլյուցիոն հեռավորության որոշման մեթոդաբանությունը: «ԴՆԹ-պոլիմերազ I-ի գենի նախնական կլոնավորումը և էքսպրեսիան» և «ԴՆԹ-պոլիմերազ I-ի գենի էքսպրեսիայի այլընտրաքային ուղին» բաժիններում ներկայացված են, համապատասխանաբար, pET-21b(+) պլազմիդի կազմում ԴՆԹ-պոլիմերազի գենի դասական մեթոդով նախնական կլոնավորման և հետագայում p7xC3H և p7xNH3 պլազմիդների կազմում IIS տիպի ռեստրիկտազի կիրառմամբ նույն ֆերմենտի գենի կոդոն-բարելլված տարբերակի կլոնավորման ամբողջական մեթոդաբանությունները: «Ռեկոմբինանտ ԴՆԹ պոլիմերազի հատկանիշների ուսումնասիրությունը» բաժնում ներկայացված է ֆերմենտի մի շարք ֆիզիկաքիմիական և կատալիտիկ բնութագրերի ուսումնասիրման մեթոդաբանությունը: «Անջատված ԴՆԹ պոլիմերազի համար ՊՇՌ պայմանների բարելավումը» և «Անջատված ԴՆԹ պոլիմերազի՝ ՊՇՌ իրականացնելու ունակությունը» բաժններում ներկայացված են ՊՇՌ ռեակցիաներում կիրառման համար ռեակցիոն միջավայրերի պայմանների օպտիմալացման մեթոդաբանությունը: Եվ, վերջապես, 17-րդ՝ «Պոլիմերազի ճշգրտության (Fidelity) որոշումը» բաժնում ներկայացված է այլ ԴՆԹ-պոլիմերազների հետ *Thermus scotoductus* K1 շտամի ջերմակայուն ԴՆԹ պոլիմերազի աշխատանքի ճշգրտության համեմատման մեթոդաբանությունը:

Անի Սաղաթելյանի ատենախոսության «Արդյունքներ և դրանց քննարկումը» գլուխը բաղկացած է 13 բաժիններից:

Առաջին՝ «Քարվաճառի երկրաջերմային աղբյուրի ֆիզիկաքիմիական բնութագրերը», բաժնում նկարագրվել են հետազոտվող աղբյուրի կոորդինատները, ինչպես նաև դրա ջրի և նստվածքների ֆիզիկաքիմիական բնութագրերը:

«Կլոնային գենադարանների կառուցմամբ երկրաջերմային աղբյուրների միկրոբիոտայի ուսումնասիրության արդյունքները» բաժնում Քարվաճառի երկրաջերմային աղբյուրի բակտերիական համակեցության կազմի վերծանման նպատակով ջրատղմային նմուշներից նախ անջատվել է հանրագումարային ԴՆԹ-ն, որից ՊՇՌ մեթոդով բակտերիական համընդհանուր փրայմերների կիրառմամբ հաջողությամբ ամպլիֆիկացվել են հանրագումարային բակտերիական 16S ՌՌՆԹ-ի գենները, դրանց հիման վրա կառուցվել է միկրոբիոտայի կլոնային գենադարանը, որով և բնութագրվել է այդ միկրոբիոտան:

«Քարվաճառի երկրաջերմային աղբյուրի միկրոբիոտայի մետագենոմային ուսումնասիրությունը» բաժնում Illumina HiSeq պլատֆորմի կիրառմամբ Քարվաճառի երկրաջերմային աղբյուրի ջրային և նստվածքային նմուշներից անջատված հանրագումարային ԴՆԹ-ի մետագենոմային վերլուծության արդյունքում ստացվել են ավելի քան 11 միլիոն բարձր որակի հաջորդականությունների կտորներ, որոնցից բակտերարիական պատկանելիություն են ունեցել 94.2%-ը և 83.8%-ը՝ արքեական ծագում՝ 0.04% և 0.07%-ը, համապատասխանաբար ջրային և նստվածքային նմուշներում: Երկրաջերմային ջրում գերակշռել են Proteobacteria ֆիլումի ներկայացուցիչները (ընդհանուր հաջորդականությունների կտորների 85%-ից ավելին), որոնց հաջորդում են Bacteroidetes, Actinobacteria, Firmicutes, Chloroflexi, Ignavibacteriae և Deinococcota (նախկինում՝ Deinococcus–Thermus) ֆիլումների ներկայացուցիչները:

«Թերմոֆիլ աերոբ ասպորոգեն մանրէի մեկուսացումը» բաժնում նկարագրված է ջրատղմային նմուշից գրամ-բացասական, աերոբ ասպորոգեն, ձողաձև բակտերիաների կուլտուրայի մեկուսացումը, որն անվանակոչվել է K1: Այն առաջացնում է դեղին գունավորված, կլոր, հարթ եզրերով, փոքր-ինչ ուռուցիկ գաղութներ, բջիջները ձողաձև

են, ունեն 0.2-0.25 մկմ տրամագիծ և 2.15-2.90 մկմ երկարություն և ֆիլամենտներ են առաջացնում:

«K1 շտամի նույնականացումը և ֆիլոգենետիկան» բաժնում ըստ 16S ռՌՆԹ-ի գենի հաջորդականությունների վերլուծության հետազոտվող կուլտուրան նույնականացվել է որպես *Thermus scotoductus* K1 և կառուցվել է այս շտամի ու ցեղի այլ ներկայացուցիչների միջև ազգակցությունն արտահայտող ֆիլոգենետիկական ծառը:

«K1 շտամի գենոմի ուսումնասիրությունը» բաժնում K1 շտամի գենոմի PacBio սեքվենավորման արդյունքում ստացվել են ընդհանուր 110,643 հաջորդականությունների կտորներ, սեքվենավորված հիմքերի 303,436 հ.ն.զ. չափով, որոնք հավաքագրվել են 55 քոնթիգներում՝ ներառելով ընդհանուր 2,379,636 ն.զ.: K1 շտամի գենոմի ԳՑ պարունակությունը կազմել է 65.2%: K1 և դրան առավել մոտ՝ SA-01 շտամի, գենոմների միջին նուկլեոտիդային նմանությունը կազմում է 97.48%: Շտամի գենոմի մի շարք հետաքրքիր մանրամասնություններ հանգամանորեն բացահայտված են ատենախոսության արդյունքների 6-րդ բաժնում:

«K1 շտամի I տիպի ԴՆԹ-պոլիմերազի գենի և համապատասխան սպիտակուցի հաջորդականության *in silico* ուսումնասիրությունը» բաժնում ցույց է տրվել, որ ԴՆԹ-պոլիմերազի գենը ներառում է 2493 ն.զ., որը կոդավորում է 830 ամինաթթվից բաղկացած 93613.61 Դա մոլեկուլային զանգվածով սպիտակուց, որը անվանակոչել է TsK1: Իրականացված ամինաթթվային հաջորդականությունների ֆիլոգենետիկ վերլուծությունը, ցույց է տվել, որ TsK1 ԴՆԹ-պոլիմերազի ամինաթթվային հաջորդականությունը բարձր հոմոլոգիա ունի *T. scotoductus* SA-01-ի և *T. antranikianii*-ի ԴՆԹ-պոլիմերազների հետ: *In silico* ուսումնասիրվել են ֆերմենտի մի շարք կարևոր բնութագրեր:

«Thermus scotoductus K1 շտամի ԴՆԹ-պոլիմերազ I-ի գենի նախնական կլոնավորումը և էքսպրեսիան» բաժնում նկարագրվում է TsK1 ԴՆԹ-պոլիմերազի գենի նախնական կլոնավորումը pET-21b(+) վեկտորի կազմում, որը հետագայում կիրառություն չի գտել թույլ հետերոլոգիական էքսպրեսիայի պատճառով:

«ԴՆԹ-պոլիմերազի այլընտրանքային կլոնավորումը, էքսպրեսիան և մաքրումը» բաժնում ներկայացվել է p7xC3H և p7xNH3 պլազմիդների կազմում IIS տիպի ռեստրիկտազի կիրառմամբ նույն ֆերմենտի գենի կոդոն-բարելլավված տարբերակի կլոնավորումը և ուժեղ էքսպրեսիան *E. coli* տեր բջիջներում: Այստեղ հանգամանորեն նկարագրված է նաև TsK1 ԴՆԹ-պոլիմերազի ստացումը, անջատումը, մաքրումը և բնութագրումը:

«TsK1 ԴՆԹ պոլիմերազի որոշ հատկանիշների ուսումնասիրությունը» բաժնում հանգամանորեն բնութագրվել են ֆերմենտի գործունեության օպտիմալ ջերմաստիճանը և pH-ը, ջերմակայունությունը, ակտիվության կախումը մետաղի իոնների կոնցենտրացիայից և այլն:

«TsK1 պոլիմերազով իրականացվող ՊՇՌ ամպլիֆիկացման պայմանների բարելավումը» բաժնում հետազոտվել են TsK1 պոլիմերազի ՊՇՌ-ներում կիրառման օպտիմալ պայմանները: Մշակվել է կայունաչուցիչներ պարունակող OPT բուֆերը (10 մՄ Tris-HCl, pH 9.0, 50 մՄ KCl, 0.1% Triton X, pH 9.0), որը և օգտագործվել է որպես հիմնական ռեակցիոն բուֆեր հետագա փորձերում: Հատուկ փորձերի արդյունքում ցույց է տրվել, որ 3 մՄ $MgCl_2$ և 10% գլիցերոլ համակցությունը պարտադիր է ՊՇՌ-ների նորմալ ընթացքի համար: Որոշվել է նաև TsK1 պոլիմերազի ամպլիֆիկացիայի

արդյունավետությունը կախված օգտագործվող ԴՆԹ-կաղապարի քանակից և երկարձգման ջերմաստիճանից:

«TsK1 ԴՆԹ պոլիմերազով իրականացվող ՊՇՌ ամպլիֆիկացումները» բաժնում ցույց է տրվել, որ TsK1 պոլիմերազը կարող է բարձր արդյունավետությամբ ամպլիֆիկացնել առնվազն մինչև 2.5 հ.ն.զ. չափով պրոդուկտներ: Փորձարկվել է նաև TsK1 պոլիմերազի մուլտիպլեքս ՊՇՌ իրականացնելու կարողությունը: Այդ նպատակով մարդու գենոմային ԴՆԹ-ն օգտագործվել է որպես կաղապար ամպլիֆիկացնելու համար մարդու դիստրոֆինի գենի հավանական մուտացիաներ պարունակող չորս տարբեր էկզոնների տեղամասեր մեկ ՊՇ ռեակցիայում միաժամանակ ամպլիֆիկացնելու համար:

«TsK1 ԴՆԹ պոլիմերազի ճշգրտությունը» բաժնում աշխատանքի ճշգրտության համեմատման նպատակով TsK1 պոլիմերազը համեմատվել է OneTaq, Taq, Fusion պոլիմերազների հետ ըստ միևնույն կիրառված փրայմերային զույգերի օգնությամբ lacZ գենի 265 ն.զ. հատվածի pUC19 պլազմիդի կազմում ընդգրկվելու հավանականության: TsK1, Taq, OneTaq, և Fusion պոլիմերազներով նշված կլոնավորման հավանականությունները բաշխվել են հետևյալ կերպ՝ 1.26%, 2.40%, 2.39%, և 0.779%: Այս արդյունքներից հեղինակը եզրակացնում է, որ լայն կիրառում գտած Taq պոլիմերազի համեմատ TsK1 պոլիմերազը առնվազն երկու անգամ ավելի ճշգրիտ է աշխատում:

Աշխատանքի «Ամփոփում» բաժինը ներկայացված է 6 էջով, որտեղ հանգամանորեն քննարկվում և ի մի են բերվում ստացված արդյունքները և ցույց է տրվում, որ *T. scotoductus* K1 շտամի նոր ԴՆԹ-պոլիմերազը նմանատիպ ֆերմենտների շարքում ցուցաբերում է այնպիսի բնութագրեր, որ հնարավոր են դարձնում այս ռեկոմբինանտ ֆերմենտի կիրառումը տարբեր կենսատեխնոլոգիական գործընթացներում:

Աշխատանքի եզրակացություններում սեղմ կերպով 7 կետում ամփոփված են ստացված արժեքավոր, հարուստ, խիստ այժմեական գիտական տվյալները:

Անի Սաղաթելյանի ատենախոսությունը արդիական է, ստացված արդյունքները կարևոր գիտական և պրակտիկ հետաքրքրություն են ներկայացնում, ինչի մասին են վկայում տպագրված 17 գիտական հրապարակումները, ամփոփված 6 հոդվածներում, որոնցից 1-ը՝ առանց համահեղինակների, 3 գրքի գլուխներում և միջազգային գիտաժողովների 8 թեզիսներում:

Ատենախոսությունն ընդհանուր առմամբ լավ տպավորություն է թողնում: Այն գրված է կուռ տրամաբանությամբ, ստացված արդյունքների մեկնաբանությունները համոզիչ են: Այնուհանդերձ, պետք է նշել, որ այն զերծ չէ որոշ թերություններից, որոնք ամենևին էլ չեն նսեմացնում աշխատանքի գիտական և գործնական մեծ արժեքը: Մասնավորապես.

1. Ատենախոսությունում առկա են տառասխալներ և տեխնիկական սխալներ: Աշխատանքի 38 և 53 էջերում կենտրոնախուսումը բնութագրվել է պտ/րոպ պարամետրով, որը թերի է փորձի վերարտադրման տեսակետից:

2. Ատենախոսության «Փորձարական մաս» գլխի 13-րդ բաժնում՝ «ԴՆԹ-պոլիմերազ I-ի գենի էքսպրեսիայի այլընտրաքային ուղին», չեն բերվել p7xC3H և p7xNH3 պլազմիդներում TsK1 ԴՆԹ-պոլիմերազի կլոնավորման համար նախատեսված փրայմերները, իսկ նշված պլազմիդների թիվ 7 և թիվ 8 նկարներում նշված չեն այդ

կլոնավորման ընթացքում կիրառված IIS տիպի SapI ռեստրիկտազի ազդեցության տեղամասերը:

3. Ատենախոսության 38-րդ նկարում, «Տրանսֆորմացումից հետո պլազմիդներից իրականացված ՊՇՌ արգասիքների ագարոզային ժել էլեկտրաֆորեգրամ», աստիճանավորման սանդղակում ԴՆԹ մարկերների չափերի վերաբերյալ ինֆորմացիան բացակայում է:

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

Անի Ռոբերտի Սաղաթելյանի ատենախոսությունն իր արդիականությամբ, դրույթների ճշտությամբ, ստացված տվյալների գիտագործնական արժեքով համապատասխանում է ՀՀ ԲՈԿ-ի կողմից թեկնածուական ատենախոսություններին առաջադրվող պահանջներին, իսկ հայցորդն արժանի է Գ.00.07 - «Միկրոբիոլոգիա. կենսատեխնոլոգիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի շնորհմանը:

ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի
Սպիտակուցային տեխնոլոգիաների
լաբորատորիայի վարիչ, կ.գ.թ. Ա.Ա. Համբարձումյան

Ա. Համբարձումյանի ստորագրությունը վավերացնում եմ՝
ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի
գիտական հարցերով փոխտնօրեն, կ.գ.թ. Վ.Բ. Գոգինյան

04.12.2023