

## ВИСНОВОК

наукового керівника дисертаційної роботи

**Казакова-Кравченка Олександра Сергійовича**

«Флуоресцентні ціанінові барвники для аналізу нуклеїнових кислот методом ПЛР», поданої на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

Казаков-Кравченко Олександр Сергійович у 2015 році закінчив Київський національний університет імені Тараса Шевченка та отримав диплом магістра за спеціальністю «Хімія». Після закінчення працював, переважно, в лабораторії хімічного синтезу. На момент вступу до аспірантури Олександр уже активно займався науковою діяльністю у відділі біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. У листопаді 2020 року розпочав навчання в аспірантурі Інституту молекулярної біології і генетики НАН України у відділі біомедичної хімії. Протягом навчання в аспірантурі Олександр виконав усі вимоги освітньо-наукової програми підготовки докторів філософії в галузі біології (44 кредити ЄКТС). Крім того, ним був у повному обсязі виконаний індивідуальний план наукової роботи, набуті теоретичні знання, уміння та навички.

Дисертаційна робота Казакова-Кравченка О.С. присвячена актуальній науковій проблемі – вивченню спектрально-люмінесцентних властивостей ціанінових барвників та оцінці їх потенційного використання як флуоресцентних репортерів для детекції нуклеїнових кислот у полімеразній ланцюговій реакції в реальному часі. Актуальність виконаного дослідження зумовлена широким використанням методів ПЛР у реальному часі в сучасній молекулярній біології, медицині та біотехнології. Незважаючи на значне поширення комерційних барвників, таких як SYBR Green I та EvaGreen, їх застосування пов'язане з низкою обмежень. У зв'язку з цим пошук нових вітчизняних флуоресцентних барвників із покращеними спектральними характеристиками є важливим науковим і практичним завданням.

Дисертаційна робота виконана на високому науково-методичному рівні в рамках міжнародного проєкту Європейського Союзу «Horizon 2020» науково-інноваційної програми Марії Склодовської-Кюрі «NoBiasFluors» (№ 872331) та бюджетних тем відділу. Автором виконано значний обсяг експериментальних досліджень, які були присвячені аналізу спектральних властивостей ціанінових

барвників у присутності нуклеїнових кислот і білків, оцінюванню їх потенційного застосування в полімеразній ланцюговій реакції в режимі реального часу. Особливої уваги заслуговує комплексний підхід до виконання роботи. Автором послідовно проведено скринінг великої кількості барвників, встановлено взаємозв'язок між особливостями їх хімічної структури та спектрально-люмінесцентними характеристиками і виконано експериментальну перевірку найбільш перспективних барвників у системах ПЛР у реальному часі.

Дисертаційна робота має традиційну структуру та складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків і списку використаних джерел. Робота викладена на 184 сторінках машинописного тексту. У першому розділі узагальнено сучасні літературні дані щодо спектрально-люмінесцентних властивостей ціанінових барвників, особливостей їх взаємодії з нуклеїновими кислотами і білками, а також застосування флуоресцентних барвників у ПЛР у реальному часі. У другому розділі описано використані матеріали і методи дослідження. Третій розділ містить результати власних експериментальних досліджень спектрально-люмінесцентних властивостей різних класів ціанінових барвників та оцінку можливості використання монометинціанінового барвника fb128 як флуоресцентного репортера для ПЛР у реальному часі. У четвертому розділі проведено аналіз та узагальнення отриманих результатів із залученням сучасних літературних даних.

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає у встановленні закономірностей впливу структури триметинових, монометинцианінових і діоксаборинцианінових барвників на їх спектрально-люмінесцентні властивості та взаємодію з нуклеїновими кислотами і білками. Уперше для досліджуваної серії барвників проведено системну оцінку їх придатності для використання у ПЛР у реальному часі та досліджено вплив на ключові параметри ампліфікації. Особливу наукову цінність мають результати, отримані для монометинцианінового барвника fb128, для якого вперше продемонстровано можливість ефективного використання як флуоресцентного репортера у ПЛР у реальному часі. Встановлено оптимальний діапазон його концентрацій, показано високу ефективність ампліфікації та узгодженість результатів кількісного аналізу з комерційними системами детекції на основі SYBR Green I та EvaGreen. Практичне значення роботи полягає в розширенні наукових основ створення нових флуоресцентних барвників для молекулярної діагностики та кількісного аналізу нуклеїнових кислот. Отримані результати можуть бути використані для подальшої розробки вітчизняних флуоресцентних реагентів і тест-систем для ПЛР у реальному часі.

У процесі виконання дисертаційної роботи Казаков-Кравченко О.С. проявив себе як сформований молодий дослідник, здатний самостійно планувати і виконувати складні експериментальні дослідження, аналізувати й узагальнювати отримані результати, працювати із сучасними методами флуоресцентної спектроскопії та молекулярної біології. Автор продемонстрував високий рівень теоретичної підготовки і здатність до наукового аналізу отриманих результатів.

Основні результати дисертаційної роботи достатньою мірою апробовані на двох міжнародних наукових конференціях та опубліковані в чотирьох фахових наукових виданнях, що індексуються в міжнародних наукометричних базах даних Web of Science і Scopus.

Вважаю, що дисертаційна робота Казакова-Кравченка Олександра Сергійовича «Флуоресцентні ціанінові барвники для аналізу нуклеїнових кислот методом ПЛР» є завершеним самостійним науковим дослідженням, характеризується науковою новизною, теоретичним і практичним значенням, а її автор заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія».

Науковий керівник  
член-кореспондент НАН України,  
доктор хімічних наук, професор,  
завідувач відділу біомедичної хімії  
Інституту молекулярної біології  
і генетики НАН України

Сергій ЯРМОЛЮК

