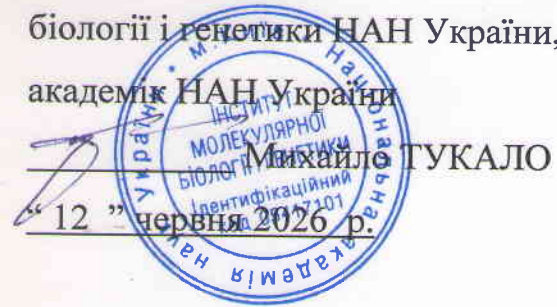


“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Директор Інституту молекулярної
біології і генетики НАН України,
академік НАН України



“12” червня 2026 р.

ВИСНОВОК

**про наукову новизну, теоретичне та практичне значення
результатів дисертації**

**на тему «Флуоресцентні ціанінові барвники для аналізу нуклеїнових
кислот методом ПЛР»**

**на здобуття ступеня доктора філософії у галузі знань 09 Біологія
за спеціальністю 091 Біологія**

ВИТЯГ

із протоколу засідання об'єднаного семінару відділу біомедичної хімії, відділу синтетичних біорегуляторів, відділу біомолекулярної електроніки, лабораторії біосинтезу нуклеїнових кислот, лабораторії генетики спадкових патологій ІМБГ НАН України від “11” червня 2026 р.

З метою надання висновку про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації 11 червня 2026 року на об'єднаному семінарі наукових відділів ІМБГ НАН України – здобувач ступеня доктора філософії Казаков-Кравченко Олександр Сергійович публічно презентував наукові результати дисертації на тему «Флуоресцентні ціанінові барвники для аналізу нуклеїнових кислот методом ПЛР».

На об'єднаному семінарі були присутні 19 осіб, у тому числі 1 доктор біологічних наук, 2 доктори хімічних наук, 8 кандидатів біологічних наук, 6 кандидатів хімічних наук. Головуюча – чл.-кор. НАН України, д.б.н., ст.н.с.,

пров.н.сп. Сергеева Т.А. Присутні: чл.-кор. НАН України, д.х.н., проф., зав. відділу Ярмолюк С.М., д.х.н., ст.н.с., зав. відділу Дубей І.Я., к.х.н., н.с., Кузів Я. Б., к.б.н., ст.н.с. Негрудська В.В., к.х.н., ст.н.с. Бджола В.Г., к.б.н, ст.досл. Шкотова Л.В., к.х.н., ст.н.с. Лукашов С.С., к.х.н., м.н.с. Котей І.М., аспірант Маюла Т.Г, к.б.н., ст.н.с. Кравченко С.А., к.б.н., ст.н.с. Грищенко Н.В., м.н.с. ернушин С.Ю., к.х.н., н.с. Баланда А.О., к.х.н., ст.н.с. Приходько А.О., к.б.н., ст.н.с. Скрипкіна І. Я., к.б.н., ст.н.с. Арешков П.О., к.б.н., ст.н.с. Онопрієнко О. В., к.б.н., ст.н.с. Волинець Г.П.

Порядок денний. Обговорення дисертаційного дослідження аспіранта відділу біомедичної хімії Казакова-Кравченка Олександра Сергійовича на тему «Флуоресцентні ціанінові барвники для аналізу нуклеїнових кислот методом ПЛР», поданого на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Дисертація виконувалася у відділі біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України. Тема дисертації затверджена на засіданні Вченої ради Інституту молекулярної біології і генетики НАН України (протокол №14 від «11» грудня 2020).

Науковий керівник – чл.-кор. НАН України, доктор хімічних наук, професор, завідувач відділу біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України Ярмолюк Сергій Миколайович. З дисертаційною роботою попередньо ознайомилися: доктор хімічних наук, професор, завідувач відділу синтетичних біорегуляторів ІМБГ НАН України Дубей І. Я., кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувачка лабораторії біосинтезу нуклеїнових кислот НАН України Скрипкіна І.Я.

Здобувач Казаков-Кравченко Олександр Сергійович представив презентацію за основними положеннями дисертації на тему «Флуоресцентні ціанінові барвники для аналізу нуклеїнових кислот методом ПЛР», поданої на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

З відгуком на роботу виступили рецензенти - доктор хімічних наук, професор, завідувач відділу синтетичних біорегуляторів ІМБГ НАН України Дубей І. Я. та кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувачка лабораторії біосинтезу нуклеїнових кислот НАН України Скрипкіна І.Я., які дали позитивну оцінку виконаній роботі, підкреслили її наукову новизну та актуальність комплексного дослідження спектрально-люмінесцентних властивостей серії ціанінових барвників для оцінки перспектив застосування їх як флуоресцентних репортерів у ПЛР у реальному часі.

В обговоренні також взяли участь: чл.-кор. НАН України, д.б.н., ст.н.с., пров.н.сп., Сергеева Т.А., к.х.н., ст.н.с. Лукашов С.С., д.х.н., ст.н.с., Дубей І.Я, к.б.н., ст.н.с. Скрипкіна І. Я.

На засіданні обговорили проєкт висновку про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації «Флуоресцентні ціанінові барвники для аналізу нуклеїнових кислот методом ПЛР».

Актуальність роботи. Полімеразна ланцюгова реакція у реальному часі є одним із ключових інструментів молекулярної діагностики, що широко застосовується в медицині, біологічних дослідженнях та біотехнології. Важливим компонентом цього методу є флуоресцентні зонди, які забезпечують реєстрацію процесу ампліфікації в режимі реального часу. Серед існуючих підходів значного поширення набули флуоресцентні барвники завдяки їх простоті використання та відносно низькій вартості порівняно з олігонуклеотидними зондами. Однак барвники, що широко застосовуються, такі як SYBR Green I, мають ряд обмежень, зокрема здатність інгібувати ПЛР при підвищених концентраціях, впливати на температуру плавлення ДНК та знижувати точність аналізу кривих плавлення. Це обумовлює необхідність пошуку нових флуоресцентних барвників із покращеними характеристиками. Перспективними у цьому контексті є ціанінові барвники, які характеризуються інтенсивним

поглинанням, значним приростом флуоресценції при зв'язуванні з нуклеїновими кислотами. Водночас вплив структурних особливостей ціанінових барвників на параметри ампліфікації вивчений недостатньо, що обмежує можливості їх більш ефективного застосування. Поряд з тим, подальше дослідження цих закономірностей створює підґрунтя для цілеспрямованого конструювання більш ефективних флуоресцентних барвників для використання в ПЛР у реальному часі. Зважаючи на це, дослідження флуоресцентних ціанінових барвників, оцінка їх придатності до використання в ПЛР у реальному часі є актуальним науковим завданням, вирішення якого сприятиме підвищенню ефективності, чутливості та точності методів детекції нуклеїнових кислот.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота відповідає основному плану науково-дослідних робіт відділу біомедичної хімії Інституту молекулярної біології і генетики НАН України та виконувалась в рамках бюджетної теми № 2.2.4.16 (№ держ. реєстрації 0122U201823) та в рамках гранту Європейського Союзу «Горизонт 2020» Науково-інноваційної програми імені Марії Склодовської-Кюрі “NoBiasFluors”, №872331 (2020 – 2024 рр.).

Мета та завдання дослідження. Метою роботи було вивчення спектрально-люмінесцентних характеристик серії ціанінових барвників у присутності нуклеїнових кислот та білків, аналіз впливу хімічної структури барвників на ці характеристики та оцінка перспектив застосування таких барвників як флуоресцентних репортерів у ПЛР у реальному часі.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

1. Дослідити спектрально-люмінесцентні характеристики ціанінових барвників у вільному стані та у присутності нуклеїнових кислот і білків та виявити взаємозв'язок хімічної структури барвників з цими характеристиками.

2. Оцінити придатність досліджуваних барвників як флуоресцентних репортерів у ПЛР у реальному часі, зокрема їхній вплив на інгібування процесу ампліфікації та параметри флуоресцентної детекції.

3. Визначити оптимальні умови застосування барвників у ПЛР у реальному часі, включаючи робочий діапазон концентрацій та їхній вплив на специфічність ампліфікації.

4. Оцінити ефективність і точність кількісної ПЛР у присутності барвників та встановити ступінь узгодженості отриманих результатів із комерційними системами детекції нуклеїнових кислот.

Об'єктом дослідження є ціанінові барвники.

Предметом дослідження є спектрально-люмінесцентні властивості монометинових, триметинових та діоксобононових ціанінових барвників у присутності нуклеїнових кислот і білків, а також вплив хімічної структури цих барвників на перебіг ПЛР.

Методи дослідження. У роботі використано методи спектроскопії поглинання та флуоресценції в оптичному діапазоні для дослідження спектрально-люмінесцентних властивостей барвників. Придатність барвників для детекції нуклеїнових кислот оцінювали методом ПЛР у реальному часі з аналізом ампліфікаційних кривих і кривих плавлення. Для контролю специфічності продуктів ампліфікації застосовано гель-електрофорез.

Наукова новизна отриманих результатів. У роботі отримано нові результати, що стосуються застосування флуоресцентних барвників для детекції нуклеїнових кислот та їх використання у полімеразній ланцюговій реакції в реальному часі. Проведено комплексне дослідження спектрально-люмінесцентних властивостей серії ціанінових та діоксобононових барвників у різних середовищах, що дозволило оцінити їх поведінку у присутності нуклеїнових кислот і білків та визначити їх потенціал як флуоресцентних зондів.

Вперше для досліджуваної серії барвників здійснено системну оцінку їх придатності для використання у ПЛР у реальному часі. Встановлено вплив барвників на основні параметри ампліфікації. Показано, що досліджувані барвники можуть по-різному впливати на перебіг реакції, що необхідно враховувати при їх використанні у кількісному аналізі. Визначено вплив концентрації барвників на перебіг ПЛР у реальному часі та показано необхідність оптимізації умов реакції для забезпечення коректної детекції ампліконів. Отримано нові дані щодо впливу барвників на температуру плавлення продуктів ПЛР, що має значення для інтерпретації результатів аналізу кривих плавлення.

Практичне значення отриманих результатів.

Отримані результати обґрунтовують можливість використання монометинціанінового барвника **FB128** як флуоресцентного зонда для детекції продуктів ампліфікації у ПЛР у реальному часі. Визначено умови його ефективного застосування та показано узгодженість отриманих результатів із даними комерційних флуоресцентних систем. Отримані результати можуть бути використані при створенні нових тест-систем для молекулярної діагностики.

Особистий внесок здобувача. Представлена дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням, яке було реалізоване автором відповідно до програми експериментальних досліджень, спланованих і виконаних протягом 2019 – 2023 рр. Особистий внесок здобувача полягає в участі у формулюванні мети і основних завдань роботи, систематизації та аналізі даних літератури, плануванні та виконанні експериментальних досліджень, інтерпретації та узагальненні отриманих даних, формулюванні висновків роботи за участі наукового керівника та співавторів публікацій.

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 3 статті у наукових виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core Collection та Scopus:

1. Kazakov-Kravchenko O. S., Balanda A., Losytskyu M., Yarmoluk S. "Effect of DNA, RNA and HSA on the spectral-luminescent properties of several monomethine cyanine dyes" *Biopolymers and Cell*, 2025, 41(2), 121-129; <https://doi.org/10.7124/bc.000B16>. *(Особистий внесок – аналіз даних літератури, дослідження спектрально-люмінесцентних властивостей монометинціанінових барвників методом флуоресцентної спектроскопії, обробка та аналіз зображень, аналіз отриманих результатів, написання чернетки рукопису, підготовка до подання)*

2. Kazakov-Kravchenko O. S., Losytskyu M., Polishchuk V. M., Kulinich A. V., Shandura M.P., Yarmoluk S. "Spectral-fluorescent response of dioxaborine dyes with varying chromophore charge in the presence of serum albumins" *Biopolymers and Cell*, 2025; 41(3):222-230. <https://doi.org/10.7124/bc.000B1A> *(Особистий внесок – дослідження спектрально-люмінесцентних властивостей діоксаборинових барвників методом флуоресцентної спектроскопії, обробка та аналіз зображень, аналіз отриманих результатів, написання чернетки рукопису, підготовка до подання)*

3. Kazakov-Kravchenko O. S., Kravchenko S. A., Yarmoluk S. M. "Evaluation of the monomethine cyanine dye FB128 for real-time PCR applications" *Biopolymers and Cell*, 2025, 41(4), 300-308; <https://doi.org/10.7124/bc.000B2C>. *(Особистий внесок – дослідження спектрально-люмінесцентних властивостей монометинціанінового барвника методом флуоресцентної спектроскопії, пробопідготовка барвників для проведення ПЛР, дослідження параметрів ПЛР з використанням барвників, підготовка до подання)*

4. Kazakov-Kravchenko O.S., Losytskyu M.Yu., Derevyanko N.A., Kulinich A.V., Shandura M.P., Yarmoluk S.M. (2026) Substituent effects in thiocarbocyanine dyes on their spectral-fluorescent response in the presence of nucleic acids and serum albumins. *Biopolymers & Cell*, 2(42), 139—149. <https://doi.org/10.7124/bc.000B39>

(Особистий внесок – аналіз даних літератури, проведення експериментальної частини, підготовка статті до друку)

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідались на VIII International (XVIII Ukrainian) Scientific Conference for Students and Young Scientists “Current Chemical Problems” (Вінниця, Україна, 2025) та IX Міжнародній (XIX Українській) науковій конференції студентів, аспірантів і молодих учених «Хімічні проблеми сьогодення» (Вінниця, Україна, 2026).

УХВАЛИЛИ:

1. Дисертаційна робота Казакова-Кравченка Олександра Сергійовича на тему «Флуоресцентні ціанінові барвники для аналізу нуклеїнових кислот методом ПЛР», є завершеною науково-дослідною роботою та відповідає всім вимогам, які висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

2. Затвердити висновок про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертаційної роботи Казакова-Кравченка Олександра Сергійовича на тему «Флуоресцентні ціанінові барвники для аналізу нуклеїнових кислот методом ПЛР».

3. Рекомендувати вченій раді Інституту молекулярної біології і генетики НАН України затвердити склад разової спеціалізованої вченої ради:

Голова ради:

Сергеева Тетяна Анатоліївна член кореспондент НАН України, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, провідний науковий співробітник відділу біомолекулярної електроніки ІМБГ НАН України.

Рецензенти:

Дубей Ігор Ярославович доктор хімічних наук, професор, завідувач відділу синтетичних біорегуляторів Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

Скрипкіна Інесса Яківна кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувачка лабораторії біосинтезу нуклеїнових кислот Інституту молекулярної біології і генетики НАН України

Опоненти: Векліч Тетяна Олександрівна доктор біологічних наук, старший дослідник, старший науковий співробітник відділу біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Пивоваренко Василь Георгійович доктор хімічних наук, професор кафедри органічної хімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Головуюча об'єднаного семінару –
член кореспондент НАН України,
доктор біологічних наук, старший
науковий співробітник, провідний
науковий співробітник відділу
біомолекулярної електроніки
ІМБГ НАН України


Тетяна СЕРГЕСВА

