

Рішення
разової спеціалізованої вченої ради
про присудження ступеня доктора філософії

Здобувач ступеня доктора філософії

Олександр КАЗАКОВ-КРАВЧЕНКО, 1992 року народження, громадянин України.
Освіта вища, у 2015 році закінчив Київський національний університет імені Тараса Шевченка, за спеціальністю «Хімія».

Виконав акредитовану освітньо-наукову програму «Освітньо-наукова програма підготовки докторів філософії в галузі 09 Біологія».

Разова спеціалізована вчена рада, утворена наказом Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, м. Київ, від 25 червня 2026 року №24, у складі:

Голови разової
спеціалізованої
вченої ради

Тетяни СЕРГЕЄВОЇ, члена-кореспондента НАН України, доктора біологічних наук, старшого наукового співробітника, провідного наукового співробітника відділу біомолекулярної електроніки Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

Ігора ДУБЕЯ, доктора хімічних наук, старшого наукового співробітника, завідувача відділу синтетичних біорегуляторів Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

Рецензентів

Інесси СКРИПКІНОЇ, кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника, завідувачки лабораторії біосинтезу нуклеїнових кислот Інституту молекулярної біології і генетики НАН України.

Опонентів

Тетяни ВЕКЛІЧ, доктора біологічних наук, старшого дослідника, провідного наукового співробітника відділу біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

Василя ПИВОВАРЕНКА, доктора хімічних наук, професора, професора кафедри органічної хімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

на засіданні 20 серпня 2026 року прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія Олександрову Кравченку на підставі публічного захисту дисертації «Флуоресцентні ціанінові барвники для аналізу нуклеїнових кислот методом ПЛР» за спеціальністю 091 Біологія. Дисертацію виконано в Інституті молекулярної біології і генетики НАН України, м. Київ.

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

Дисертація Олександра Казакова-Кравченка є самостійною та ґрунтовною науковою працею, що виконана з дотриманням умов академічної доброчесності, результати якої містять важливе теоретичне та практичне значення для галузі Біологія. Робота 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. Наукова новизна дисертаційної роботи полягає у встановленні закономірностей впливу структури триметинових, монометинових і діоксаторинових 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 монометинціанінового 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. Дисертацію подано у вигляді спеціально підготовленого рукопису та відповідає вимогам, які висуваються до дисертацій, затвердженим наказом МОН України «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» від 12 січня 2017 р. №40 та положенню Постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», » (зі змінами, внесеними згідно із постановою Кабінету Міністрів України №341 від 21.03.2022р. та постановою Кабінету Міністрів України №502 від 19.05.2023р.).

Здобувач має 6 наукових публікацій, з них – 4 статті у фахових українських виданнях, що індексуються в базах даних Scopus (Q4), а також 2 тези доповідей на міжнародних конференціях:

1. **Kazakov-Kravchenko O. S.**, Balanda A., Losytsky 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>.
2. **Kazakov-Kravchenko O. S.**, Losytsky 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>.
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>.
4. **Kazakov-Kravchenko O.S.**, Losytsky 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>
5. **Kazakov-Kravchenko O. S.**, Yarmoluk S. M. Fluorescent properties of 1,3,2-dioxaborine polymethine dyes upon interaction with albumins. *Book of Abstracts of the VIII International (XVIII Ukrainian) Scientific Conference for Students and Young Scientists “Current Chemical Problems”*, March 25–27, 2025, Vinnytsia, Ukraine, P. 30.
6. **Kazakov-Kravchenko O. S.**, Polishchuk V. M., Shandura M. P., Yarmoluk S. M. Spectral-luminescent properties of cyanine dyes for nucleic acid detection. *Abstracts of the IX International (XIX Ukrainian) Scientific Conference for Students, Postgraduates and Young Scientists “Current Chemical Problems” (CCP-2026)*, March 24–26, 2026, Vinnytsia, Ukraine, P. 19.

**У дискусії взяли участь (голова, рецензенти, офіційні опоненти, інші присутні)
та висловили зауваження:**

Сергєєва Тетяна Анатоліївна, член-кореспондент НАН України, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, провідний науковий співробітник відділу біомолекулярної електроніки ІМБГ НАН України. Оцінка позитивна без зауважень.

Дубей Ігор Ярославович, доктор хімічних наук, старший науковий співробітник, завідувач відділу синтетичних біорегуляторів Інституту молекулярної біології і генетики НАН України надав позитивну рецензію із зауваженнями:

1. У розділі “Наукова новизна” не згадується про аналіз впливу структури барвників на їхні спектрально-флуоресцентні властивості, а це має важливе теоретичне значення. Разом з тим, цьому присвячено Висновок 1.
2. Методики спектроскопічних досліджень описані не надто детально. Так, у “Матеріалах і методах” не вказані концентрації розчинів барвників, з якими проводили запис спектрів у вільному стані та в комплексах з НК й білками. Не наведені вони і в розділі 3 й додатку Б. В результаті представлені в роботі дані збіднені з погляду спектроскопії.
3. Робочі концентрації розчинів біомолекул (але не барвників) наведені в експериментальній частині, проте не вказані молярні співвідношення барвник-біомолекула, використані при вивченні їх комплексів. Зазначимо, що такі дані для зручності варто вказувати і в підписах до спектрів і таблиць.
4. В багатьох таблицях наведені значення оптичної густини (D) розчинів, проте не вказані концентрації. Це недостатньо інформативно (хоча й достатньо для кількісної оцінки змін поглинання за різних умов). Доречно було би вказати й коефіцієнти екстинкції барвників.
5. У Висновку 2 роботи сказано, що для барвника fb128 інтенсивність флуоресценції $I \approx 2000$ в.о. (відносних одиниць). Ця величина сама по собі не має особливого сенсу, оскільки не зазначена концентрація барвника.
6. Розділ 3 дуже об’ємний і поєднує два окремі напрямки – спектрально-люмінесцентні дослідження барвників та їх вивчення в ПЛР. Раціонально було б розбити його на два окремих розділи, об’єднані кожен своєю темою.
7. Список скорочень слід наводити в алфавітному порядку.
8. Робота написана правильною літературною мовою, хоча в тексті зрідка зустрічаються й описки, на яких не варто зупинятися. Часом бачимо не зовсім строгі терміни, такі як “ультрафіолетова та видима спектроскопія” (правильно “ спектроскопія в ультрафіолетовій та видимій області”).

Скрипкіна Інесса Яківна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувачка лабораторії біосинтезу нуклеїнових кислот Інституту молекулярної біології і генетики НАН України надала позитивну рецензію із зауваженнями та питаннями:

1. В Розділі 2 «Матеріали та методи», П. 2.7. Ампліфікація ДНК in vitro:
 - 1) « in vitro» пишеться курсивом.
 - 2) «Після ампліфікації зразки охолоджували при кімнатній температурі та зберігали при +40 °С.» - ймовірно описка і зразки зберігали при +4 °С
- В Розділі 3, п. 3.4.4:

- 1) Для розрахунку ефективності кПЛР у реальному часі для ампліфікації різних продуктів використовували різні стандарти розведення ДНК (PMP22 — в діапазоні (12,5–100 нг/мкл), SMN — в діапазоні (26,4–89 нг/мкл)), проте було б доцільніше використовувати однакові стандарти для всіх варіантів ампліфікації.
- 2) Оцінка концентрацій контрольних зразків ДНК для порівняння ефективності флуоресцентного барвника fb128 проводилася з використанням різних комерційних наборів (з концентрацією 50 нг/мкл тестувався набором EvaGreen, а з концентрацією ДНК 6,25 нг/мкл – набором SYBR Green I), проте доцільно було б стандартизувати методику оцінювання і використовувати в обох випадках як набір EvaGreen, так і набір SYBR Green I, або тільки один з них.
- 3) Також варто було б додати Таблицю щодо кількісного визначення методами кПЛР різними комерційними наборами фрагментів ДНК, що були взяті за стандарти, з показниками, подібної до Таблиць оцінки точності кількісного визначення ДНК за стандартною кривою кПЛР для фрагментів PMP22 та SMN1 у присутності барвника fb128.
- 4) Таблиці 3.9 та 3.10 – що мається на увазі під «Реальна концентрація (нг/мкл)» - концентрація? Невдалий вираз, можливо це концентрація стандартної ДНК?

Питання:

- 1) Є питання щодо практичного застосування барвника fb128:
 - чи оцінювали Ви вартість набору для кПЛР, що буде включати барвник fb128, щоб він був конкурентноспроможним у порівнянні з існуючими на ринку комерційними наборами що включають SYBR Green I (наприклад Applied Biosystems, TaKaRa Bio) чи EvaGreen (Solis BioDyne, Bio-Rad)?
- 2) Щодо подальшого використання охарактеризованих Вами барвників:
 - як Ви думаєте, чи є перспективи для використання досліджуваних Вами барвників (зокрема fb128) для швидкого визначення концентрацій білків, як, наприклад, з використанням розчину Bradford?

Векліч Тетяна Олександрівна, доктор біологічних наук, старший дослідник, провідний науковий співробітник відділу біохімії м'язів Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України надала позитивний відгук із запитаннями:

1. Ви показали, що наявність гідроксильних груп у бензенових фрагментах, порівняно з метоксильними замісниками, суттєво підвищує флуоресцентну відповідь при взаємодії з нуклеїновими кислотами ($\Delta Q \approx 280$ проти $\Delta Q \approx 71$). Які механізми пояснюють вплив гідроксильних груп на збільшення флуоресцентної відповіді?
2. В роботі встановлено, що оптимальний робочий діапазон концентрацій барвника fb128 становить 0,2–2 μM . Як Ви вважаєте, що відбувається при концентраціях нижче 0,2 μM або вище 2 μM ?
3. Якщо потрібно було б покращити fb128, які структурні модифікації Ви б запропонували і чому?
4. Які фактори можуть обмежувати використання fb128 у практичній лабораторній практиці?
5. Ви протестували fb128 на двох ампліконах, чи вважаєте, що цього достатньо для узагальнення, що такий “мінімальний набір” буде достатнім для наступної валідації інших різних локусів – наприклад, з різним GC-вмістом, довжиною?
6. Чи розглядали Ви, що певні барвники можуть зв'язуватися не лише з ДНК, але й з компонентами реакційної суміші (Mg^{2+} , буфер, полімераза, солі) ?

7. Щодо практичної складової даного дослідження, а саме імпортозалежності, то чи оцінювали Ви вартість синтезу fb128 щоб використовувати його замість комерційних аналогів?

Пивоваренко Василь Георгійович, доктор хімічних наук, професор, професор кафедри органічної хімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка надав позитивний відгук із зауваженнями та питаннями:

- 1) Анотація, с. 2, написано: «Встановлено, що взаємодія барвників з біополімерами супроводжується суттєвим приростом інтенсивності флуоресценції, що зумовлено обмеженням внутрішньомолекулярної рухливості хромофора». Наведене твердження є неповним і неправильно описує результати роботи. По-перше, це вже давно відомий факт, що взаємодія багатьох барвників з біополімерами супроводжується суттєвим приростом інтенсивності флуоресценції. Саме на цьому принципі основані численні приклади детекції їх взаємодії з полімерами: білками, нуклеїновими кислотами тощо. По-друге, приріст інтенсивності флуоресценції пов'язаний не лише з обмеженням «внутрішньомолекулярної рухливості хромофора», але й зі зменшенням кількості молекул води в оточенні хромофора барвника. Вода часто вносить головний вклад у процеси безвипромінювальної дезактивації збудженого стану органічних барвників.
- 2) С. 3, написано: «...тоді як при взаємодії з ДНК (діоксаторонових барвників) флуоресцентна відповідь виявилась суттєво нижчою ($\Delta Q \approx 0,8-3,2$), а в окремих сполук інтенсивність флуоресценції, навпаки, спадала, що, ймовірно, зумовлено посиленням агрегації барвників у присутності ДНК» Таке пояснення є сумнівним, і тому вимагає додаткової аргументації. Тут більш імовірним є часткове гасіння флуоресценції нуклеїновими основами за механізмом фотоперенесення електрону.
- 3) Рис. 1.1. Не вказано структуру замісника R.
- 4) Розділ 1 має понижену наочність. Відсутність рисунків спектрів флуоресценції в окремих випадках ускладнює сприйняття матеріалу.
- 5) У Табл. 3.1 (с. 68) наведено відносні інтенсивності флуоресценції барвників за оптичної густини розчину 0.5 – 1.15. Виникають сумніви у точності цих вимірів, оскільки за таких умов флуоресценція на максимумі смуги поглинання збирається зі зменшеного у 2 – 5 разів об'єму аналітичної комірки в кюветі порівняно з оптичними густинами розчину <0.1.
- 6) Написано: «Довгохвильовий максимум у спектрах поглинання барвників fb123 та fb124 розташований приблизно на тих самих довжинах хвиль, що й максимум у ДМСО, і тому може бути віднесений до поглинання індивідуальних молекул барвника.» Тут не врахована можливість перпендикулярної орієнтації хромофорів у агрегаті, при якій теж не змінюється положення максимуму у спектрі поглинання.
- 7) Рис. 3.4 і 3.5, Таблиця 3.2. Не вказані концентрації барвників у досліді. Як наслідок, неможливо зрозуміти, з чим спектральні ефекти (наприклад, різниця у оптичній густині розчину) пов'язані – з агрегацією чи різницею у концентраціях.
- 8) Рис. 3.4 і 3.5, Таблиця 3.1.2. ДНК у досліді одно- чи дволанцюгова?
- 9) У Табл. 3.3 (с. 89) і 3.4 (с. 93) наведено відносні інтенсивності флуоресценції барвників за оптичних густин розчинів 0.5 – 1.75. Виникають сумніви у точності цих вимірів, оскільки за таких умов флуоресценція на максимумі смуги поглинання збирається зі зменшеного у 2...5 разів об'єму аналітичної комірки в кюветі порівняно з оптичними густинами <0.1.

Результати відкритого голосування:

«За» 5 членів ради,

«Проти» немає членів ради.

На підставі результатів відкритого голосування разова спеціалізована вчена рада присуджує ступінь доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

На підставі результатів відкритого голосування разова спеціалізована вчена рада постановила:

1. Присудити Олександрі КАЗАКОВУ-КРАВЧЕНКУ ступінь доктора філософії з галузі знань 09 - Біологія, спеціальність - 091 Біологія.
2. Рішення разової спеціалізованої ради затвердити.
3. Підготувати наказ про видачу Олександрі КАЗАКОВУ-КРАВЧЕНКУ диплома доктора філософії та додатка до нього європейського зразка.

Відеозапис трансляції захисту дисертації додається.

Голова разової спеціалізованої вченої ради


(підпис)

Тетяна СЕРГЕСВА

