

Рішення
разової спеціалізованої вченої ради
про присудження ступеня доктора філософії

Здобувач ступеня доктора філософії Оліфіров Борис Олексійович, 1997 року народження, громадянин України. У 2019 році закінчив біолого-екологічний факультет Дніпровського національного університету ім. Олеся Гончара здобувши ступінь бакалавра за спеціальністю 091 «Біологія»; у 2021 році закінчив кафедру біофізики та молекулярної фізіології Державної наукової установи «Київський академічний університет» здобувши ступінь магістра за спеціальністю 105 «Прикладна фізика та наноматеріали». У 2021 році вступив в аспірантуру Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Працює інженером I категорії у відділі біофізики сенсорної сигналізації Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Виконав в повному обсязі акредитовану освітньо-наукову програму «Біологія» (біофізика, фізіологія людини та тварин, патологічна фізіологія) за спеціальністю 091 «Біологія».

Разова спеціалізована вчена рада, утворена наказом Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України від «17» липня 2025 року № 92/к у складі:

Голови разової спеціалізованої вченої ради:

Скибо Галина Григоріївна - доктор медичних наук (18.04.1989 р. - нормальна фізіологія), професор, член-кореспондент НАН України, завідувачка відділу цитології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України.

Рецензентів:

Цупіков Олег Михайлович - доктор медичних наук (5.07.2018 р. - патологічна фізіологія), провідний науковий співробітник відділу цитології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України.

Романенко Сергій Вячеславович - кандидат біологічних наук (6.10.2010 р. - біофізика), старший науковий співробітник відділу біофізики сенсорної сигналізації Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України.

Офіційних опонентів:

Жолос Олександр Вікторович - доктор біологічних наук (27.06.2000 р. - біофізика), професор, завідувач кафедри біофізики та нейробиології ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету ім. Т.Г.

Шевченка.

Крисанова Наталія Валеріївна - кандидат біологічних наук (17.02.2012 р. - біохімія), старша наукова співробітниця відділу нейрохімії Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України.

на засіданні **«15» вересня 2025 року** прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» Оліфірову Борису Олексійовичу на підставі публічного захисту дисертації **«Участь гіпокальцину в NMDA-рецептор залежній довготривалій синаптичній депресії»** за спеціальністю 091 «Біологія».

Дисертацію виконано в Інституті фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, місто Київ.

Науковий керівник - доктор біологічних наук, професор, ТВО завідувача відділу біофізики сенсорної сигналізації Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України Білан Павло Володимирович.

Дисертацію подано у вигляді спеціально підготовленого рукопису, що повністю відповідає вимогам пункту 6 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року № 44 (зі змінами) та містить нові науково-обґрунтовані результати. В дисертаційній роботі відповідно до мети та поставлених завдань був розроблений новітній підхід щодо використання іонтофорезу. За допомогою цього підходу та молекулярно-генетичних, електрофізіологічних і флуоресцентних методів проведено дослідження участі гіпокальцину в NMDA-рецептор залежній довготривалій синаптичній депресії. В дисертаційній роботі показано, що нейронний Ca^{2+} сенсорний білок гіпокальцин, декодує вхід Ca^{2+} до нейронів у його локально специфічні транслокації та взаємодію з адаптерним білком 2 на плазматичній мембрані, що може опосередковувати конститутивний та викликаний ендоцитоз AMPA-рецепторів і лежати в основі індукції та підтримання довготривалої NMDA-рецептор залежної депресії.

Здобувач має 2 наукових публікацій за темою дисертації у наукових виданнях, що індексуються в наукометричних базах Scopus й Web of Science, одна з яких належить до другого квартилю (Q2), що прирівнюється до двох публікацій. Обидві публікації повністю відповідають вимогам пунктів 8, 9 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи

про присудження ступеня доктора філософії»:

1. Ye. Sheremet, B. Olifirov, A. Okhrimenko, V. Cherkas, O. Bagatskaya, P. Belan (2020) Hippocalcin Distribution Between the Cytosol and Plasma Membrane of Living Cells. Neurophysiology 52(1). **Q4**
2. B. Olifirov, O. Fedchenko, A. Dovgan, D. Babets, V. Krotov, V. Cherkas, P. Belan (2025). Local Iontophoretic Application for Pharmacological Induction of Long-Term Synaptic Depression. Bio-protocol 15(11): e5338. **Q2**

У дискусії взяли участь голова, рецензенти, офіційні опоненти та присутні на засіданні слухачі, на всі зауваження та запитання здобувач надав відповіді в повному обсязі.

Зауваження та запитання від членів ради:

1. **Скибо Галина Григоріївна** - доктор медичних наук (18.04.1989 р.), професор, член-кореспондент НАН України, завідувачка відділу цитології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України.

Оцінка позитивна та одне запитання до здобувача:

- Які можуть бути механізми патологічного впливу мутантних форм гіпокальцину на функціонування нейронів, відмінні від відомих механізмів молекулярного патогенезу дистонії DYT2?

2. **Цупіков Олег Михайлович** - доктор медичних наук (5.07.2018 р.), провідний науковий співробітник відділу цитології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. **Оцінка позитивна**, водночас є декілька несуттєвих зауважень та запитань до здобувача.

Зауваження:

- У тексті дисертації автор вказує на потенційну клінічну значущість гіпокальцину при дистонії 2 типу. Було б корисно додати окремий підрозділ в огляді літератури з глибшим аналізом мутацій Нрса і механізмів їх впливу на функціональність білка.
- У дисертаційній роботі було поставлено 5 завдань, а висновків сформульовано 6. Бажано було б і кількість висновків зменшити до 5.

Запитання:

- Як Ви можете пояснити специфічність участі гіпокальцину саме у механізмах LTD, а не LTP, враховуючи, що обидва процеси є Ca^{2+} - залежними і активуються через NMDA-рецептори?
- Наскільки результати, отримані з використанням флуоресцентно мічених конструкцій гіпокальцину, можуть відображати поведінку ендогенного білка за фізіологічних умов?

3. **Романенко Сергій Вячеславович** - кандидат біологічних наук

(6.10.2010 р.), старший науковий співробітник відділу біофізики сенсорної сигналізації Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Висловлено декілька запитань до здобувача та зауважень, що не впливають на **загальну позитивну оцінку роботи**.

Запитання та зауваження:

- У проєктування системи локальної аплікації для з'ясування особливостей розливу краплі діючої речовини (в даній роботі конкретно NMDA) було використано флуоресцентний барвник AlxaFluor 594. Використовуючи флуоресцентний слід від AlxaFluor 594 було визначено просторовий та часовий патерн доданого діючого агента. Здобувач розкрив, що сам процес формування краплі є складним, регулюється принаймні чотирма основними факторами як то дифузія, електрохімічний градієнт, тиск в системі аплікації та ін. Втім, хоча обидві молекули мають порівняний негативний заряд, вибудовуючи відповідні патерни необхідно враховувати молекулярну масу (та в ідеалі - просторові особливості молекули) кожної із молекул: для AlxaFluor 594 це близько 984, в той час, як для NMDA це лише 147, тобто використовувана в подальших експериментах молекула в 6 разів легша і відповідно має бути більш рухливою, що впливає на кінцевий патерн концентраційного градієнта як в просторі, так і по часу! Більше того, концентрація використаної в калібрувальному експерименті AlxaFluor 594 була 100 мкМ, в той час, як NMDA – 15 мМ, що в 150 більше, і безумовно це є фактором що впливає на патерн зони локальної активації! Чи було це враховано в роботі автора – це питання, що недостатнім чином розкрито в рукописі даної роботи!
- До попереднього питання слідує наступне: чи було проведено аналіз автором, стосовно відповідності використаної часової динаміки прикладання NMDA фізіологічним часовим патернам, що відповідають природному процесу формування довготривалої пластичності? Порівняльний аналіз із попередніми роботами та зрівняння із альтернативними експериментальними методами розкрито досить поверхово!
- Окремий коментар до рис. 3.1. С: більш детальне роз'яснення чому базові лінії на різних рівнях відносних одиниць.
- У розділі Методів, чомусь питанню статистичного аналізу приділено надзвичайно мало уваги. Варто зважати, що перелік програмних пакетів, що були використані як автоматизовані методи статистичного аналізу є по суті інформацією вторинного типу, адже пакети та програми змінюються із часом, а самі статистичні підходи та алгоритми, самі по собі, також зазнають еволюції та розвитку! Втім саме обґрунтуванню, чому саме ті чи інші статистичні підходи були використані, у роботі описано

неповно. Відсутнє роз'яснення доцільності використання тих чи інших метрик як показників, зокрема використання міжквартильного інтервалу в одних місцях та девіаційного розкиду в інших!

- В роботі мало приділено уваги особливості локального іонофоретичного впливу на досліджувані нейрони. Аплікаційна крапля була досить великою, щоб покривати не лише частину дендритного дерева, а й сому нейрона, що є малоімовірним процесом за природних умов. Більше того, використана концентрація NMDA – 15 mM, була достатньою аби повністю активувати відповідні рецептори навіть у Min zone. На це варто зважати з огляду на набагато більші можливості соми значно потужніше ампліфікувати внутрішньоклітинний кальцієвий сигнал! Як наслідок, розвиток і розповсюдження внутрішньоклітинного вільного кальцію від соми в базальну зону дендритного дерева може значно спотворити процес природного формування довготривалої пластичності.
- В узагальненні результатів та у висновках залишились недостатньо розкриті результати даної роботи, що стосуються електрофізіологічної її частини, зокрема аналіз мініатюрних постсинаптичних подій.
- Видається досить відносно обґрунтований експериментальний дизайн із дослідженням розподілу мінорного фосфоліпиду PIP2 між різними типами клітинних мембран у загальній структурі даної дослідницької роботи, що імовірно пов'язано із потенційним продовженням даного дослідження в майбутніх роботах автора.

4. **Жолос Олександр Вікторович** - доктор біологічних наук (27.06.2000 р.), професор, завідувач кафедри біофізики та нейробіології ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету ім. Т.Г. Шевченка. **Оцінка роботи позитивна**, із незначними зауваженнями та запитаннями до здобувача:

- Чи могло вплинути на властивості досліджуваних білків, наприклад на швидкість їх дифузії та вбудовування у мембрани клітин, наявність приєднаної флуоресцентної мітки? Якою є молекулярна вага міток у порівнянні з розміром досліджуваних білків?
- Методи, розділи 2.1.4 та 2.1.5: чи проводилась оцінка ефективності транз'єнтної трансфекції клітин?
- Методи, розділ 2.2.1: виникає питання як саме працює АМ форма фотолабільного кальцієвого хелатора NP-EGTA. Якщо калієва сіль NP-EGTA може утворювати комплекс з доданим Ca^{2+} для формування «caged» Ca^{2+} ; у цитозолі клітини, який здатен швидко

вивільняти Ca^{2+} після флеш-фотолізу, то як відбувається вивільнення Ca^{2+} у випадку АМ форми NP-EGTA?

- Методи, розділ 2.2.2: яким чином підбирали оптимальні умови (потужність лазера, тривалість опромінення клітини) для фотолізу NP-EGTA? Чи проводилась оцінка відсотку фотолізу речовини і контрольні експерименти щодо можливих негативних ефектів ультрафіолетового світла на клітини?
- Іонтофорез як методичний підхід для аплікації агоністів рецепторів має багато суттєвих переваг порівняно з додаванням речовин до усього розчину в експериментальній камері, але є і певні проблеми, такі як невизначеність концентрації діючої речовини. Чи можна якимось чином оцінити концентрацію NMDA у проведених експериментах?
- Для приготування KCl-метансульфонатного розчину для заповнення петч-піпеток його рН доводився ймовірно з використанням KOH. Це потрібно було зазначити, як і величину рН, у Табл. 2.5.
- Величина послідовного опору (R_s) суттєво впливає на якість фіксації потенціалу. Якого порядку вона була у петч-клемп експериментах і чи робилась компенсація R_s ?
- Як узгоджується досить швидка кінетика повернення гіпокальцину з мембрани у цитоплазму клітини після довготривалого іонтофорезу NMDA (Рис. 3.5B.C), а також транслокація гіпокальцину у відповідь навіть на короткі іонофоретичні прикладання NMDA тривалістю лише 2,5 с (Рис. 3.6B) із можливою участю гіпокальцину в ініціації довготривалої синаптичної депресії? Чи можна на основі цих даних стверджувати, що роль гіпокальцину полягає насамперед в індукції LTD, а не у підтриманні LTD?
- Чи спостерігаються якісь прояви порушення NMDA-рецептор залежної довготривалої синаптичної депресії при первинній ізольованій дистонії, зокрема спричиненої точковою мутацією N75K, що суттєво впливає на афінітет HPCA до Ca^{2+} ?

5. **Крисанова Наталія Валеріївна** - кандидат біологічних наук (17.02.2012 р.), старша наукова співробітниця відділу нейрохімії Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України. **Позитивна оцінка роботи**, незначні зауваження та запитання до здобувача:

- У роботі зазначається що «класична і найбільш розповсюджена в глутаматергічних синапсах NMDA-рецептор залежна LTD індукується за участю рецепторів NR2B-типу» при цьому відсутня інформація щодо наявності в досліджуваних синапсах NMDA-рецепторів інших типів та їх участі в процесах синаптичної пластичності.

- Варто більш повно описати протокол навантаження нейронів індикатором Fluo-4, зокрема використання Pluronic F-127 або пробенесиду для покращення навантаження, тривалість зберігання навантажених клітини та чи проводилося визначення зміни інтенсивності флуоресценції за відсутності стимулюючих впливів.
- Обсяг вибірки значно відрізняється між окремими експериментами, які критерії застосовували при його визначенні?
- Згідно з літературними даними в мембрані розрізняється декілька фракцій фосфатиділінозитол-4,5-біфосфата, основні з яких асоціюються з холестерол-збагаченими ділянками та викривленнями мембрани, і відіграють різну роль в регуляції динаміки мембран. Чи може відбуватися взаємодія гіпокальцина з якоюсь окремою фракцією фосфатиділінозитол-4,5-біфосфата?
- Оскільки гіпокальцин залучений в процеси зменшення кількості як AMPA-рецепторів так і кількості NMDA-рецепторів в активних синапсах, наскільки різні види рецепторів можуть бути задіяні в досліджуваних процесах?

Зауваження та запитання від:

1. **Оболенська Марія Юріївна** - доктор біологічних наук, професор, голова групи системної біології Інституту молекулярної біології та генетики НАН України. **Позитивна оцінка роботи** та запитання до здобувача:
 - Якої тривалості дія і яка дія індукує LTD у людини. Яким чином здійснюється обернений ефект після LTD?
 - Чи існує вибіркковість клітин мішеней під час розвитку LTD?
 - Які енергетичні механізми забезпечують всі зміни в локалізації рецепторів?
2. **Лихенко Олександр Костянтинович** - аспірант Інституту молекулярної біології та генетики НАН України. **Позитивна оцінка роботи** та одне запитання до здобувача:
 - Як синаптична депресія проявляється у поведінці людини? За яких умов людина може потребувати штучного запуску синаптичної депресії за описаною в роботі схемою? Чи відбувається синаптична депресія природним чином за цією схемою?

3. **Шуба Ярослав Михайлович** - доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент НАН України, завідувач відділу нервово-м'язової фізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. **Загальна позитивна оцінка роботи** та публічної презентації, незначні зауваження до візуального оформлення матеріалів презентації:

- Варто додати в презентацію більше схем, що відображали б загальний дизайн дослідження, схеми дослідів та схематичні представлення описаних процесів і запропонованих сигнальних механізмів гіпокальцину.

Результати відкритого голосування:

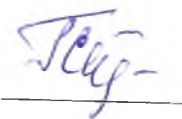
«За» 5 членів ради.

«Проти» 0 членів ради.

На підставі результатів відкритого голосування разова спеціалізована вчена рада присуджує **Оліфірову Борису Олексійовичу** ступінь доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Відеозапис трансляції захисту дисертації додається.

Голова разової спеціалізованої вченої ради



Галина СКИБО



ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ
НАН УКРАЇНИ
Галина Скибо
В. Скибо