

# Облікова картка дисертації

## I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0411U000286

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 04-02-2011

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



## II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Рудь Юрій Петрович

2. Rud' Yuriy Petrovych

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 03.00.06

Назва наукової спеціальності: Вірусологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 25-01-2011

Спеціальність за освітою: 8.070401

Місце роботи здобувача: Інститут рибного господарства

Код за ЄДРПОУ: 04372342

Місцезнаходження: 03164, м.Київ, вул.Обухівська, 135

Форма власності:

Сфера управління: Українська академія аграрних наук

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

### **III. Відомості про організацію, де відбувся захист**

**Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради):** Д 26.001.14

**Повне найменування юридичної особи:** Київський національний університет імені Тараса Шевченка

**Код за ЄДРПОУ:** 02070944

**Місцезнаходження:** вул. Володимирська, 60, м. Київ, Київська обл., 01033, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію**

**Повне найменування юридичної особи:** Київський національний університет імені Тараса Шевченка

**Код за ЄДРПОУ:** 02070944

**Місцезнаходження:** 01033, м. Київ, вул. Володимирська, 64

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **V. Відомості про дисертацію**

**Мова дисертації:**

**Коди тематичних рубрик:** 34.25.29

**Тема дисертації:**

1. Молекулярно-біологічні властивості та фізико-хімічна характеристика іридовірусу комара *Aedes flavescens*
2. The molecular-biological properties and physicochemical characterization of an iridovirus from mosquito *Aedes flavescens*

**Реферат:**

1. Дисертація присвячена дослідженню молекулярно-біологічних та фізико-хімічних властивостей іридовірусу, виділеного нами з личинок комара *Aedes flavescens*, виловлених у природних водоймах Київської області. Встановлено можливість репродукції іридовірусу в умовах *in vitro* на культурі клітин *A. aegypti* Mos 20A та *in vivo* в личинках великої вошинної молі *G. mellonella*. Досліджено морфологічні особливості та ультраструктуру вірусних частинок. Іридовірус має гексагональну форму, діаметр віріонів становить 200 нм. Іридовірус комара *A. flavescens* чутливий до ультрафіолетового опромінення, нагрівання, органічних розчинників, рН 3,0 і 11,0 та протеїнази К, але стійкий до ефіру, трипсину та детергентів. Кількість білків та їхня молекулярна маса, а також різниця в сайтах рестрикції ДНК свідчать про значний ступінь відмінності цього штаму іридовірусу кровосисних комарів від типового представника роду *Chloriridovirus* -

іридовірусу комара *A. taeniorhynchus*. Розроблений ПЛР-метод діагностики іридовірусу комара *A. flavescens*, збільшує точність виявлення вірусної інфекції втричі. Даний метод дозволяє ідентифікувати іридовірус у личинках комарів при сублетальній інфекції, без прояву характерних зовнішніх ознак захворювання. За молекулярно-біологічними, а також фізико-хімічними властивостями віріонів та їхньої ДНК, виділений штам іридовірусу кровосисного комара *A. flavescens* віднесений до роду *Chloriridovirus* родини *Iridoviridae*.

2. The research is dedicated to investigation of molecular-biological and physicochemical properties of iridovirus, isolated from mosquito *Aedes flavescens* in Kiev region. Our results showed that mosquito iridovirus *A. flavescens* was able to replicate in both large wax-moth larvae *G. mellonella* and continued cell culture *A. aegypti* Mos 20A. But for virus propagation in high infectious titer it is more advisability to use larvae *G. mellonella*, where the virus titer reach up to 8,0-8,2 lg ID50/ml. AFM and EM observations revealed hexagonal virions with a diameter of 200 nm. The purified iridovirus particles showed a dense central core and three-layered membrane including an external lipoprotein envelope, an inner protein capsid and a lipid-containing membrane. These virions were morphologically similar to those of the *Iridoviridae*. Iridovirus *A. flavescens* was sensitive to ethanol, chloroform but not sensitive to ether. Infectivity of virions was rapidly lost at pH 3.0 and 11.0 and by heating to 60 °C. Sensitivity was detected following treatment by UV radiation and proteinase K. No sensitivity was detected for electromagnetic radiation, 0,1 % SDS, 0,1 M EDTA and trypsin. Gradient SDS-PAGE of purified virions revealed the presence of 12 polypeptides ranging from 14,5 to 122 kDa. The molecular weight of a major capsid protein (MCP) was a 48 kDa. Interestingly that number of proteins of another mosquito iridovirus *A. taeniorhynchus* is 9 ranging from 15,5 to 98 kDa and molecular weight of MCP is approximately 55 kDa. Restriction enzyme analysis of viral DNA with the endonucleases EcoRI, BamHI, HindIII, XbaI, MspI, and HpaII has revealed that the restriction fragment patterns of iridovirus *A. flavescens* differ from those obtained from experiments with iridovirus *A. taeniorhynchus* and iridoviruses of lower vertebrates. DNA of iridovirus *A. flavescens* is degraded by both MspI and HpaII. These enzymes have the same cleavage site (CCGG), however, whereas MspI is able to cleave viral DNA in the presence of methylcytosine, HpaII is not. Thus, DNA must be unmethylated and exhibits the expected characteristics of invertebrate iridovirus DNA. Using nucleotide sequences of all iridoviruses a set of oligonucleotide primers was designed for ribonucleoside reductase small subunit, ATPase and thymidine kinase genes. After amplification of iridovirus *A. flavescens* genomic DNA, PCR products were visible on agarose gels. PCR product of ATPase target amplification of iridovirus *A. flavescens* don't show significant homologies to other iridoviruses, but demonstrate 75 % identity to ATP-binding protein of *Pseudomonas fluorescens*. Experimental infection indicate that mosquito iridovirus *A. flavescens* is pathogenic for carp, zebrafish and stone moroco. The cumulative mortality reached up to 60-80% within 20 days. Probably the mortality of experimental fish was caused by the toxicity of virus proteins, because UV inactivated virions also lead to fish death. It was shown that water soluble C60 fullerenes under visible light interact with virions of iridovirus *A. flavescens* and lead to their destruction. Specifically, the photodynamic inactivation of virus during 1 h reduced the infectious titer of virus on 4.5 lg ID50/ml. In addition among 8 new synthetic chemicals one was selected to have antiviral activity. This chemical reduced infectious titer of virus on 4.0 lg ID50/ml. Physicochemical and molecular approaches yielded results consistent with the suggestion that mosquito iridovirus *A. flavescens* was a member of the family *Iridoviridae*. Moreover RFLP analysis of viral DNA and molecular weight of MCP distinguished iridovirus *A. flavescens* from another mosquito iridovirus *A. taeniorhynchus*, the type species of the genus *Chloriridovirus*. Presently, a large number of mosquito iridoviruses, that have been reported in literature, are insufficiently studied and consequently they are not classified. Our observation may help to understand the relatedness of mosquito iridovirus *A. flavescens* within family *Iridoviridae*.

**Державний реєстраційний номер ДіР:**

**Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:**

**Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:**

**Підсумки дослідження:**

**Публікації:**

**Наукова (науково-технічна) продукція:**

**Соціально-економічна спрямованість:**

**Охоронні документи на ОПІВ:**

**Впровадження результатів дисертації:**

**Зв'язок з науковими темами:**

## **VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Бучацький Леонід Петрович

2. Buchatsky Leonid Petrovych

**Кваліфікація:** д.б.н., 03.00.06

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

## **VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів**

**Офіційні опоненти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Щербатенко Іван Степанович

2. Щербатенко Іван Степанович

**Кваліфікація:** д.б.н., 03.00.06

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Клестова Зінаїда Сергіївна

2. Клестова Зінаїда Сергіївна

**Кваліфікація:** д.вет.н., 16.00.03

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

**Рецензенти**

## **VIII. Заключні відомості**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
голови ради**

Поліщук Валерій Петрович

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
головуючого на засіданні**

Поліщук Валерій Петрович

**Відповідальний за підготовку  
облікових документів**

**Реєстратор**

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є  
відповідальним за реєстрацію наукової  
діяльності**



Юрченко Т.А.