Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0418U005248

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 19-12-2018

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:

II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Савінова Ірина Віталіївна

2. Savinova Iryna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: кандидат наук

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 16.00.03

Назва наукової спеціальності: Ветеринарна мікробіологія та вірусологія

Галузь / галузі знань: Не застосовується

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 30-11-2018

Спеціальність за освітою: ветеринарна медицина

Місце роботи здобувача: ТОВ "Інститут клітинної терапії"

Код за ЄДРПОУ: 32379957

Місцезнаходження: вул. Космонавта Комарова, 3., м. Київ, Київ, 03680, Україна

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): Д 55.859.04

Повне найменування юридичної особи: Сумський національний аграрний університет

Код за ЄДРПОУ: 04718013

Місцезнаходження: вул. Герасима Кондратьєва, 160, м. Суми, Сумський р-н., Сумська обл., 40021, 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: Інститут ветеринарної медицини Національної академії аграрних наук України

Код за ЄДРПОУ: 05510830

Місцезнаходження: вул. Донецька, 30, м. Київ, Київ, 03151, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія аграрних наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 68.41.32

Тема дисертації:

1. Отримання, стабілізація, культурально-морфологічні характеристики культур клітин амфібій та рептилій, чутливих до вірусів тварин

2. Establishment, immortalization and characterization of amphibian and reptilian cell lines and susceptibility to animals' viruses

Реферат/анотація:

1. Об'єкт дослідження: первинні культури клітин, субкультури та стабільні клітинні культури, отримані від холоднокровних хребетних тварин, представників класів Амфібії (Amphibia) та Рептилії (Reptilia). Мета: отримання нових стабільних культур клітин від наземних пойкілотермних хребетних тварин, представників класів Амфібії (Amphibia) та Рептилії (Reptilia), вивчення їх культурально-морфологічних властивостей та можливостей використання у ветеринарній вірусології та біотехнології. Методи досліджень: методи отримання культур клітин (первинних експлантатів та трипсинізації: холодова, теплова, без підігріву); метод підтримання культур клітин шляхом послідовних пересівів, цитоморфологічний; мікроскопічний; вірусологічний; іммуноцитохімічний; мікробіологічний; каріологічний аналіз; статистичні методи. Вперше в

Україні отримано культури клітин пойкілотермних хребетних тварин класів Амфібії (Amphibia) та Рептилії (Reptilia). Визначено оптимальні субстрати, середовища і умови культивування та отримано субкультури з первинних культур клітин пула внутрішніх паренхіматозних органів жаби шпоркової гладенької (Xenopus laevis), черепахи червоновухої (Trachemys scripta elegance), а також шкірно-м'язевого лоскута від ящірки прудкої (Lacerta agilis). Визначена цитоморфологічна характеристика отриманих клітинних культур холоднокровних тварин. Відпрацьовано методи малоінвазивного отримання тканинних зразків від тварин-донорів, які в подальшому можуть бути використані для ініціації клітинних ліній від рідкісних видів тварин. Отримано стабільну клітинну культуру з найбільш перспективних субкультур та вивчено її біологічні, морфологічні та антигенні властивості. Виявлена чутливість отриманих культур клітин до деяких вірусів. Наукова новизна дисертаційної роботи підтверджена патентом на корисну модель № 91485 «Спосіб отримання первинних культур клітин хребетних холоднокровних тварин» патент України від 10.07.2014 та патентом України на корисну модель № 114779 «Перещеплювана клітинна лінія з тканин черепахи, TF (Testudo fibroblasts)» від 27.03.2017. Результати досліджень впроваджені у практику у вигляді методичних рекомендацій «Методичні рекомендації з отримання первинно-трипсинізованих культур клітин холоднокровних тварин», які схвалено та затверджено Методичною комісією (протокол № 1 від 03.07.2014 р.) та Вченою радою Інституту ветеринарної медицини НААН (протокол № 4 від 09.07.2014 р.) і Державною ветеринарною та фітосанітарною службою України (протокол № 1 від 25.12.2014) як такі, що можуть використовуватись у навчальному процесі та наукових дослідженнях на кафедрах вищих закладів освіти України та у науково-дослідних інститутах. Сфера (галузь) використання. Ветеринарна вірусологія та біотехнологія; вивчення епідемічних та епізоотичних процесів та взаємодії вірус-клітина; вивчення екології та еволюції вірусів; модельна система для виділення та вивчення вірусів-збудників захворювань рептилій та амфібій; модельна система для токсикологічних, цитогенетичних, біохімічних та інших досліджень

2. In the thesis a comparative analysis and justification of epizootic risks associated with reptiles and amphibians is presented. The assessment of the methods of preparing primary cell lines of poikilotermic animals and comparative analysis of culture conditions for these cells is made. Also here we report for their sensitivity to several mammalian viruses and use of reptilian cell culture in attempts to isolate the putative etiologic virus of reptiles with respiratory pathology. Reptilian cell cultures are rare and largely derived from sea turtles affected by tumors. To our knowledge, this thesis is the first to describe primary cell cultures obtained from normal tissues of reptile and amphibian in Ukraine, and the first report to describe established cell culture from tissue of Red eared slider (Trachemis scripta elegance). Here we describe efficient establishment of primary cell cultures from tissue of Amphibian and Reptile. Primary cell cultures were obtained from parenhimal organs of African clawed frog Xenopus laevis (XL) and Red-eared slider, Trachemys scripta elegance (TF). And primary cell culture of dropped tail Sand lizard, Lacerta agilis (LA) was obtained without animal sacrificing. The primary cell cultures were established by different methods of fermentative disaggregation and tissue explants method was used also. The method of fractional heat trypsinization (at 37 °C) as a best method for reptile tissues disaggregation was selected. The method of fractional trypsinization without heating (at 18 - 22) was chosen as an optimal for primary cell culture obtaining from amphibian tissue. It has been determined an optimal temperature conditions, medium and cell surfaces and for each cell culture. All three cell cultures grew optimally at temperature near 29 °C, but experienced loss viability when cultured at 37 °C. Acceptable growth of all cells occurred in some of standard cell culture media, such as DMEM, RPMI-1640 and their composition, but amphibian cells XL required osmotic pressure correction (from 290-300 mOsm/L to180-250 mOsm/L, as an osmotic pressure of amphibians' plasma). All obtained cell cultures required a FBS for proliferation. The growth surface coating with FBS was the most cost- and time-effective and the most promoted cell adhesive and proliferation. During propagation reptile and amphibian cell cultures exhibited a fibroblast-like or mixed morphology. The XL and LA cell cultures have been subcultured up to eight times before signs of senescence and crisis of cell culture have been seen. The XL and LA were determined as a finite cell culture. The different methods of maintaining/increasing proliferation and immortalization of cell cultures were investigated (increasing FBS level in culture media up to 20%, using of conditioned culture media from continuous cell lines after sterilization per 0,22 μm filter, combination of these

methods and addition of Actovegin at 224 μg/ml). Utilization of Actovegin at 224 μg/ml culture media led to increasing proliferation, stabilization and immortalization TF cell culture. The TF cell culture has been subcultured for more than 100 times successfully by the time of the thesis writing. The established cell line TF, from Red-eared slider (Trachemys scripta elegance) tissue, has been obtained for the first time. Here we describe full characterization of established cell line TF, from Red-eared slider (Trachemys scripta elegance) tissue, included validation fibroblast cells by morphology and immunocytochemistry, and confirmation species-specificity by chromosomal analysis. The TF cells were fibroblast like, and were stained by Pappenheym method to morphology detailsation and were stained with antibody against vimentin, a type III intermediate filaments, known as a reliable fibroblast marker. Chromosomal analysis using 69 passaging level cells revealed that TF cells had normal diploid chromosome number of 2n=50 and chromosome number and morphology confirmed belonging of cells to the Trachemys scripta elegance species. The TF cell line susceptibilities to warm-blooded animal viruses were investigated. The Aueski desease virus (Herpesviridae), Newcastle desease virus (Paramyxoviridae) and vesicular stomatitis virus (Rhabdoviridae) propagated in the cell line, causing nonspecific CPE. According to three times passaging results TF cells were highly capable of being successfully infected with these viruses. The titres of these viruses on 48 h after inoculation were 3,7 ± 0,07 lg ТЦД50/см3 for Aueski desease virus, 5,8 ± 0,12 lg ТЦД50/см3 for vesicular stomatitis virus and 7,1 ± 0,09 lg ТЦД50/см3 for Newcastle desease virus. Our established cell line was suitable for unknown virus isolation from tissues of ill dead reptiles Ouroborus cataphractus, Furcifer pardalis and Psammobates geometricus. This conclusion was based on the CPE presence in TF cell culture. The virus was able to replicate in reptilian cell line TF at 29 °C, and was not able at 37 °

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. Клестова Зинаїда Сергіївна
2. Klestova Zinaida Sergiivna

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

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Недосєков Віталій Володимирович
2. Nedosiekov Vitalii Volodymyrovych

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

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Корнієнко Леонід Євгенович
2. Korniyenko Leonid

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 Фотіна Тетяна Іванівна

Власне Прізвище Ім'я По-батькові головуючого на засіданні Фотіна Тетяна Іванівна

Відповідальний за підготовку облікових документів

Реєстратор

Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є відповідальним за реєстрацію наукової діяльності



Юрченко Т.А.