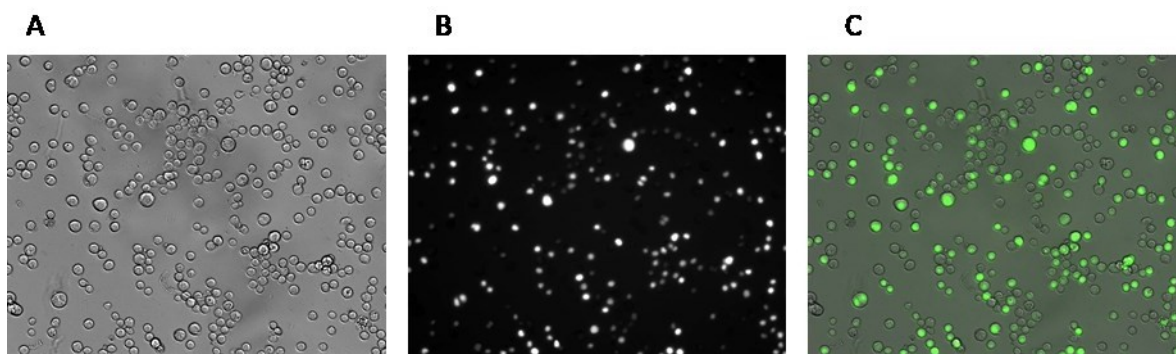


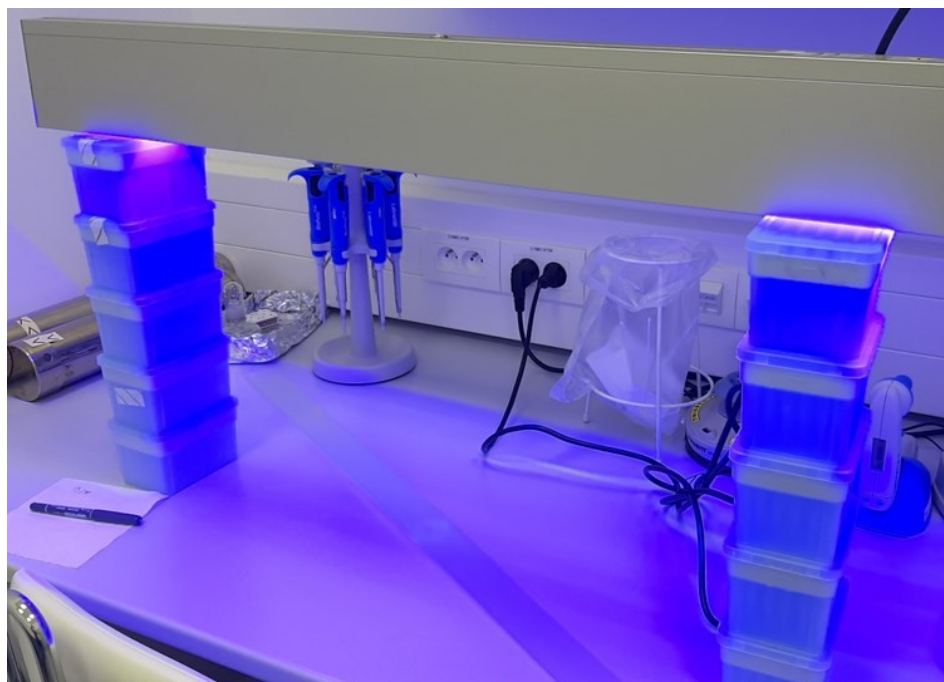
Testování virucidních účinků modrého světla, 405 nm.

Firma Germitec zastoupená panem Fialou požádala o test virucidních účinků modrého světelného zdroje Germitec, který emituje světlo o vlnové délce 405 nm. Toto světlo dle tvrzení firmy prokázalo antibakteriální účinky v předchozích testech. Pro testování antivirových účinků byl zvolen jako modelový vir rekombinantní bakulovirus (obalený virus infikující housenky motýlů), který je schopen v případě úspěšné infekce v cílových hmyzích buňkách SF9 (ovariální buňky motýla druhu *Spodoptera frugiperda*) produkovat zelený fluorescenční protein EGFP. Takto pozitivní buňky jsme potom schopni detekovat metodou průtokové cytometrie (FACS) a určit tak procento infikovaných buněk.



Obrázek 1 Ilustrační fotografie z fluorescenčního mikroskopu. A buňky SF9, brieťfield B infikované buňky SF9 C složená fotografie, infikované buňky svítí zeleně díky přítomnosti EGFP

Virové inokulum (roztok obsahující infekční virové částice bakuloviru) bylo ozařováno v tenké vrstvě 3 mm na plastových Petriho miskách po dobu 6, 12 a 24 hodin ze vzdálenosti cca 50 cm. Víčka misek byly odstraněny a misky byly zakryty difuzorem, který byl odmontován ze světelného zdroje (obr. 2). Tímto způsobem se zabránilo případné mikrobiální kontaminaci v průběhu pokusu, zároveň odstraněním víček Petriho misek nedošlo k ovlivnění vlastností světelného zdroje.



Obrázek 2 Schéma experimentu, Petriho misky s inokulem se nachází pod odmontovaným difuzorem

Takto ozářenými inokuly pak byla provedena infekce buněk SF9 ve 24 jamkové destičce. Po 40 hodinách probíhající infekce byla provedena detekce infikovaných buněk metodou průtokové cytometrie (FACS). Titr použitého inokula byl 10^6 /ml infekčních částic. Počet buněk SF9 vyšetých do 24 jamkových destiček byl 5×10^4 /jamka. Kromě infekcí provedených ozářenými inokuly byly provedeny i kontrolní infekce, jednak zdrojovým inokulem (Kontrolní infekce) a ke každému ozařovacímu času byla provedena temná kontrola. Tzn inokulum ponechané v miskách za stejných podmínek, jen ozáření bylo zabráněno překrytím pomocí hliníkové fólie.

Závěr a výsledky

Výsledky experimentu jsou shrnuty v následující tabulce. Detaily měření metodou FACS jsou přiloženy. Vliv modrého světla na infektivitu viru byl podle mého názoru prokázán. Již po 6 hodinách ozařování klesl počet infikovaných buněk o cca 85 %. V následující časech 12 a 24 hodin byl počet infikovaných buněk o cca 97 % nižší než v případě kontrolní infekce. Jak je patrné z výsledků temných kontrol, neměla inkubace virového inokula při laboratorní teplotě ve zvolených časech vliv na pokles infekčního titru inokula. Mechanismus virucidního účinku modrého světla nebyl zkoumán. Toxicita modrého světla na tkáňové kultury (tzn. na hmyzí a savčí buňky) nebyla provedena.

Použitý modelový virus (Bakulovirus) je stejně jako virus Sars-Cov-2 virus obalený. Nejedná se však o RNA virus, ale genetická informace bakuloviru je tvořena DNA. Pokud by mechanismus účinku modrého světla spočíval v poškozování genetické informace (DNA, RNA), lze předpokládat, že účinek osvitů na Sars-CoV-2 bude stejný, nebo možná i lepší vzhledem k vyšší nestabilitě RNA vůči DNA.

Výsledky experimentu							
% infikovaných	Osvit 6h	Temná kontrola 6h	Osvit 12h	Temná kontrola 12h	Osvit 24h	Temná kontrola 24h	Kontrolní infekce
Vzorek 1	9,58	90,95	3,03	90,06	1,72	90,95	88,15
Vzorek 2	12,37	90,24	2,11	90,07	2,55	90,67	88,37
Vzorek 3	17,24	82,26	1,48	88,93	2,11	90,02	89,05
Průměr	13,06	87,82	2,21	89,69	2,13	90,55	88,52
Směrodatná odchylka	3,17	3,94	0,64	0,54	0,34	0,39	0,38
Redukce infekce	85,24	0,80	97,51	-1,31	97,60	-2,29	

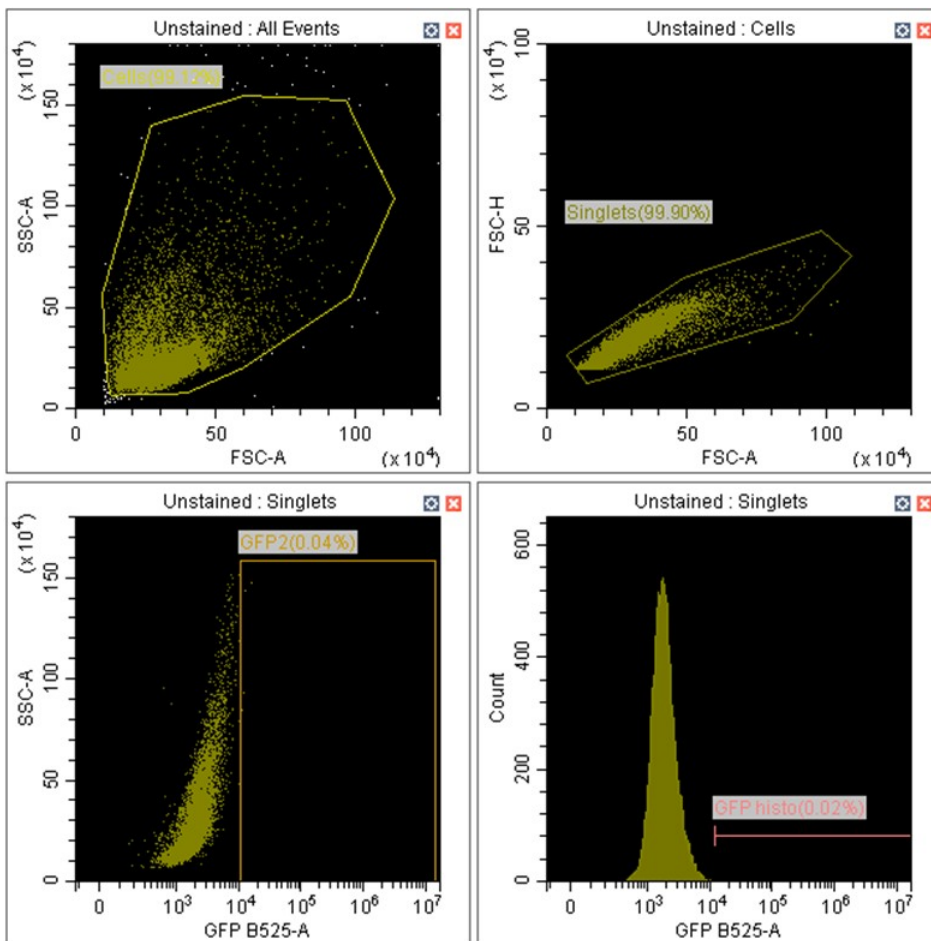
V Praze dne 10.8.2021

*Doc. RNDr. Jitka Forstová, CSc.
Mgr. Martin Fraiberk, Ph.D.*

Doc. RNDr. Jitka Forstová, CSc.
Mgr. Martin Fraiberk, Ph.D.

FACS DATA

Kontrolní buňky, neinfikované

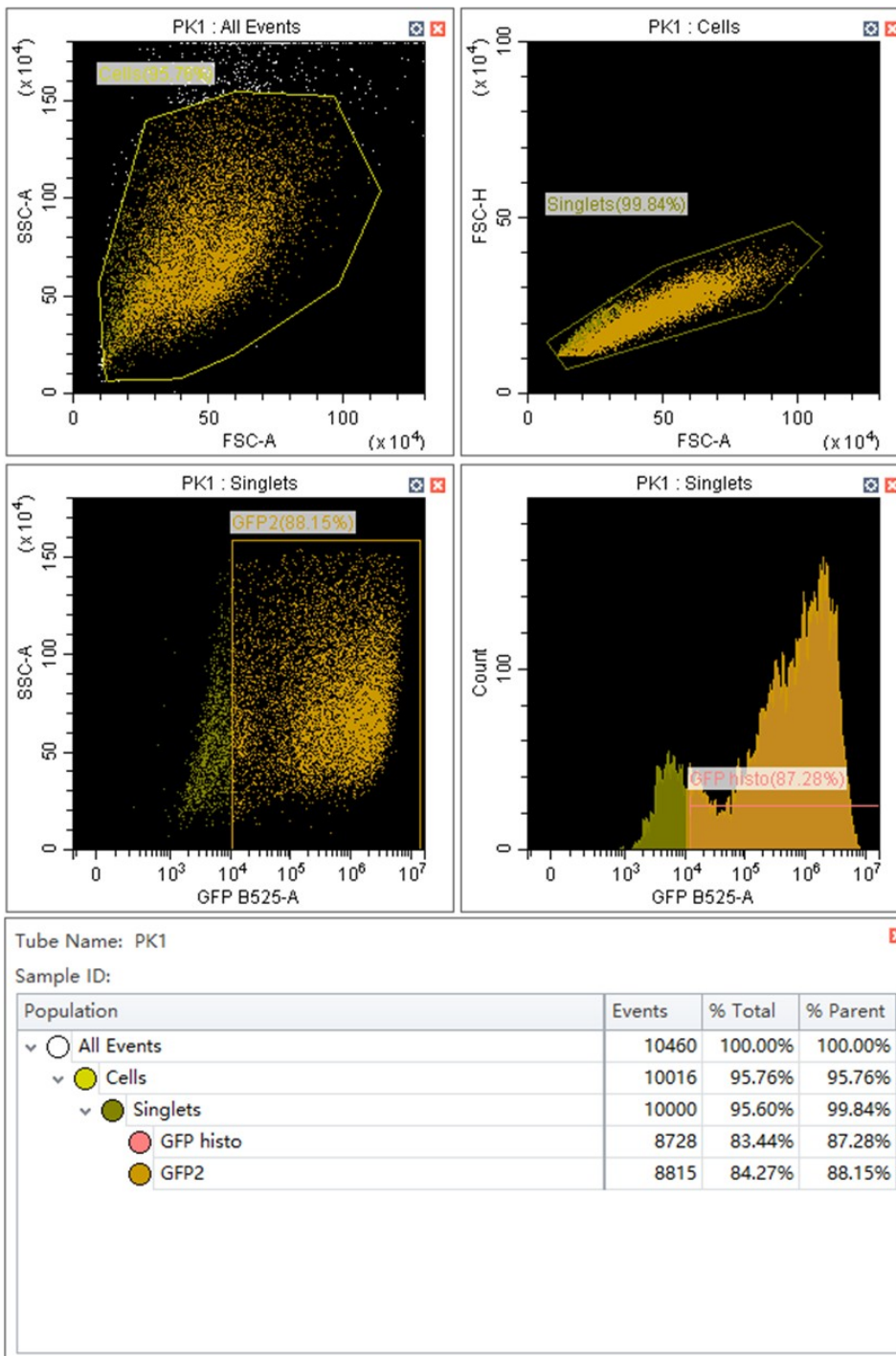


Tube Name: Unstained

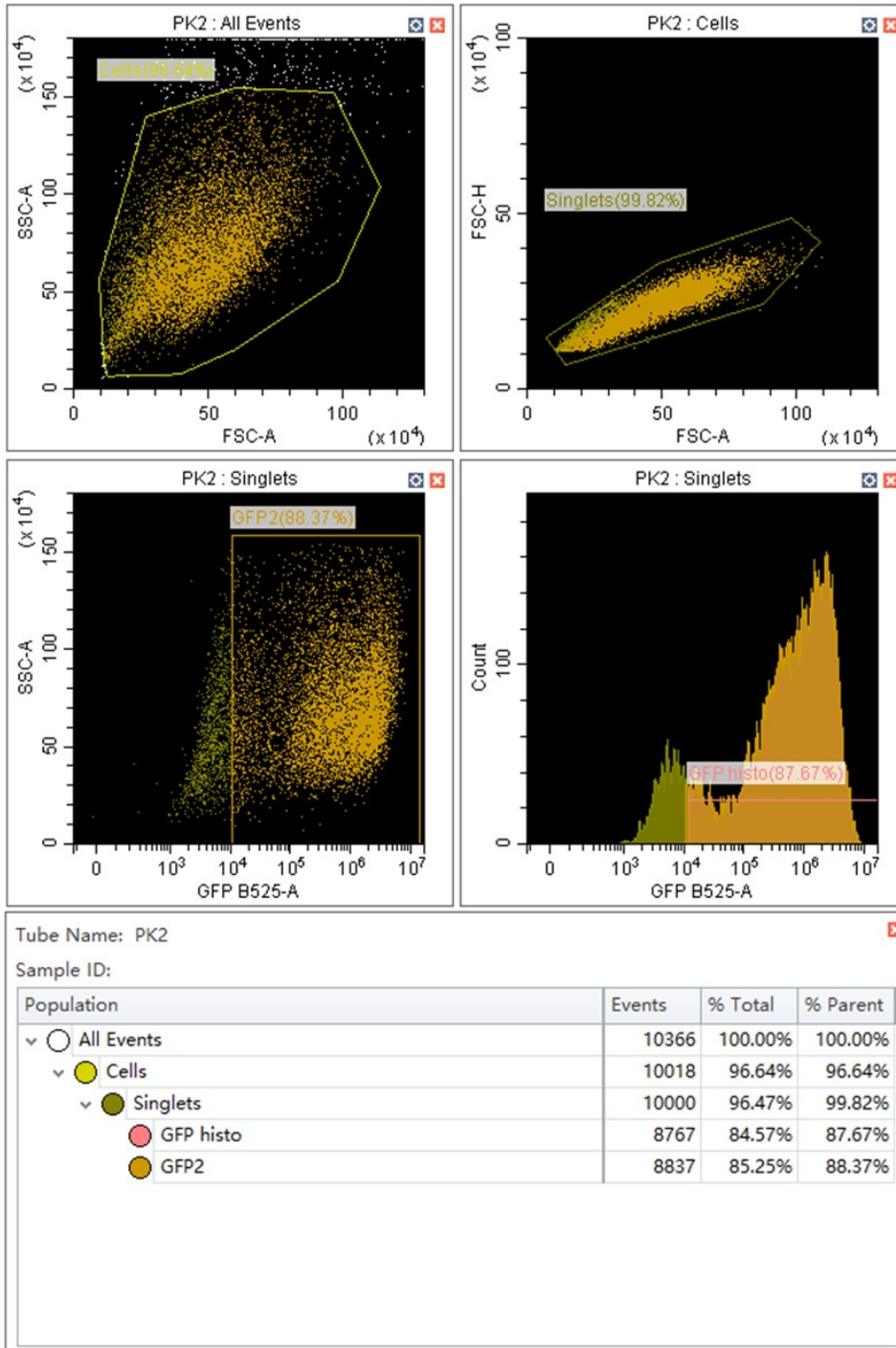
Sample ID:

Population	Events	% Total	% Parent
<input type="radio"/> All Events	10099	100.00%	100.00%
<input checked="" type="radio"/> Cells	10010	99.12%	99.12%
<input checked="" type="radio"/> Singlets	10000	99.02%	99.90%
<input checked="" type="radio"/> GFP histo	2	0.02%	0.02%
<input checked="" type="radio"/> GFP2	4	0.04%	0.04%

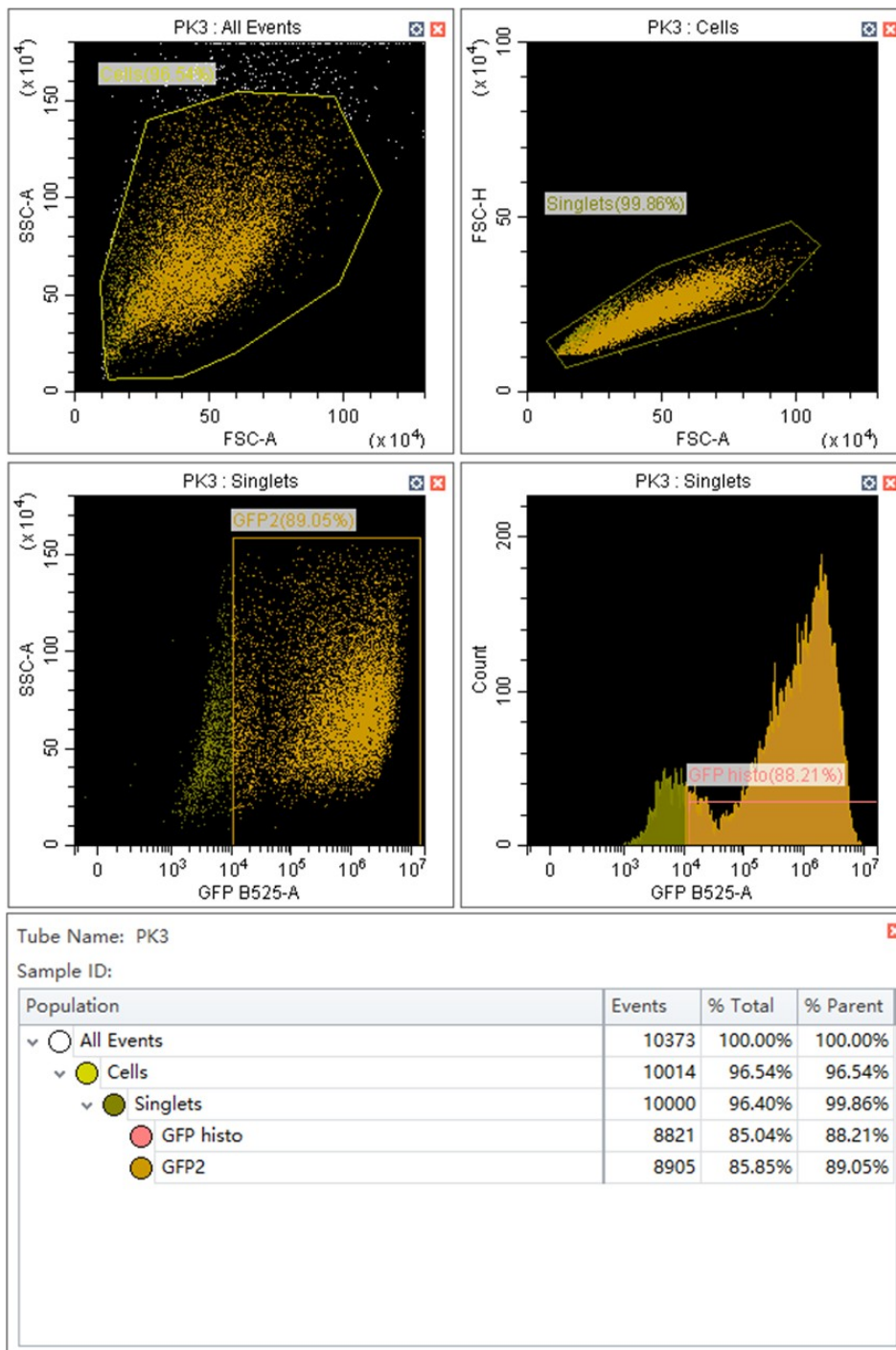
Kontrolní infekce 1



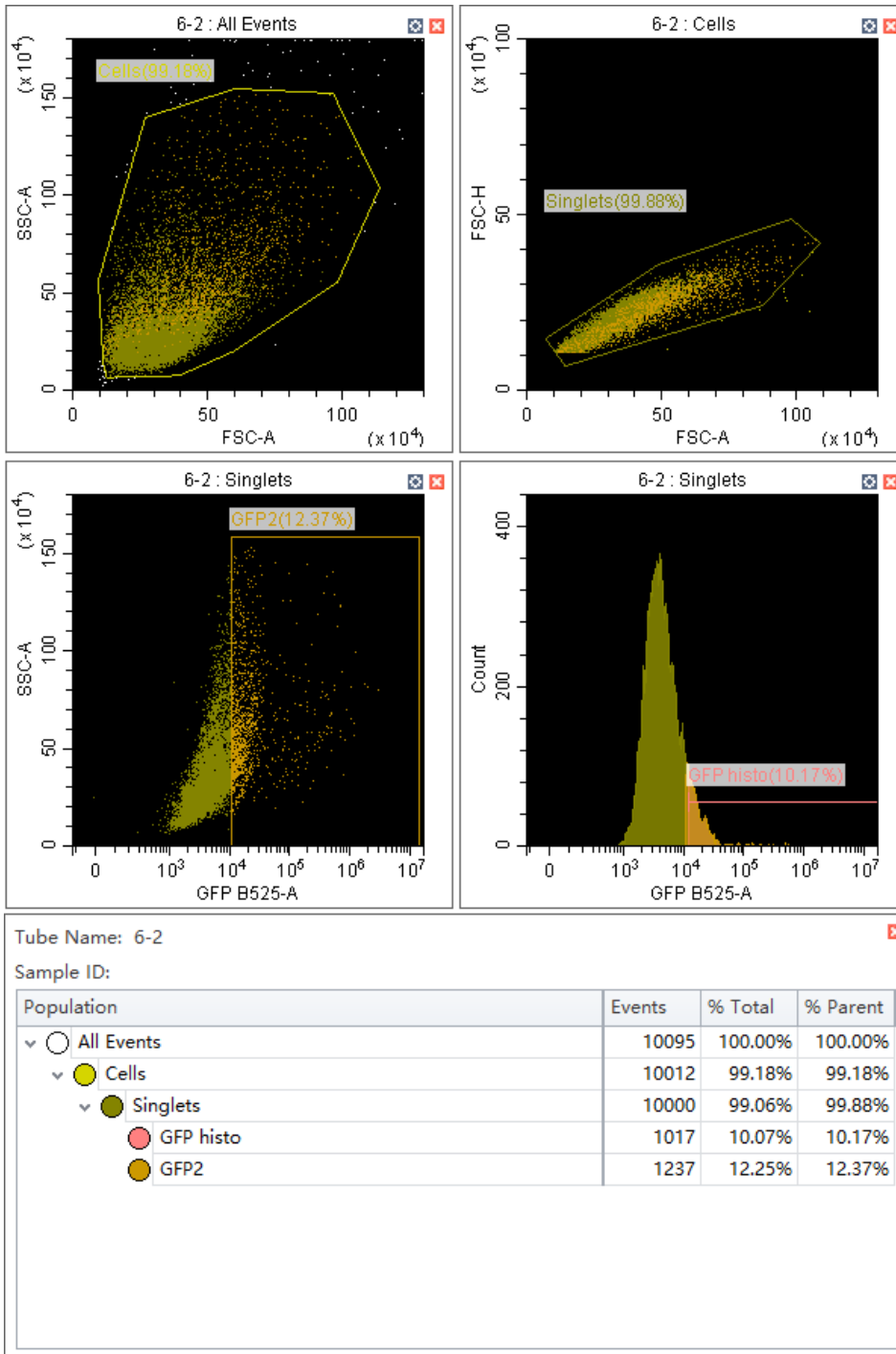
Kontrolní infekce 2



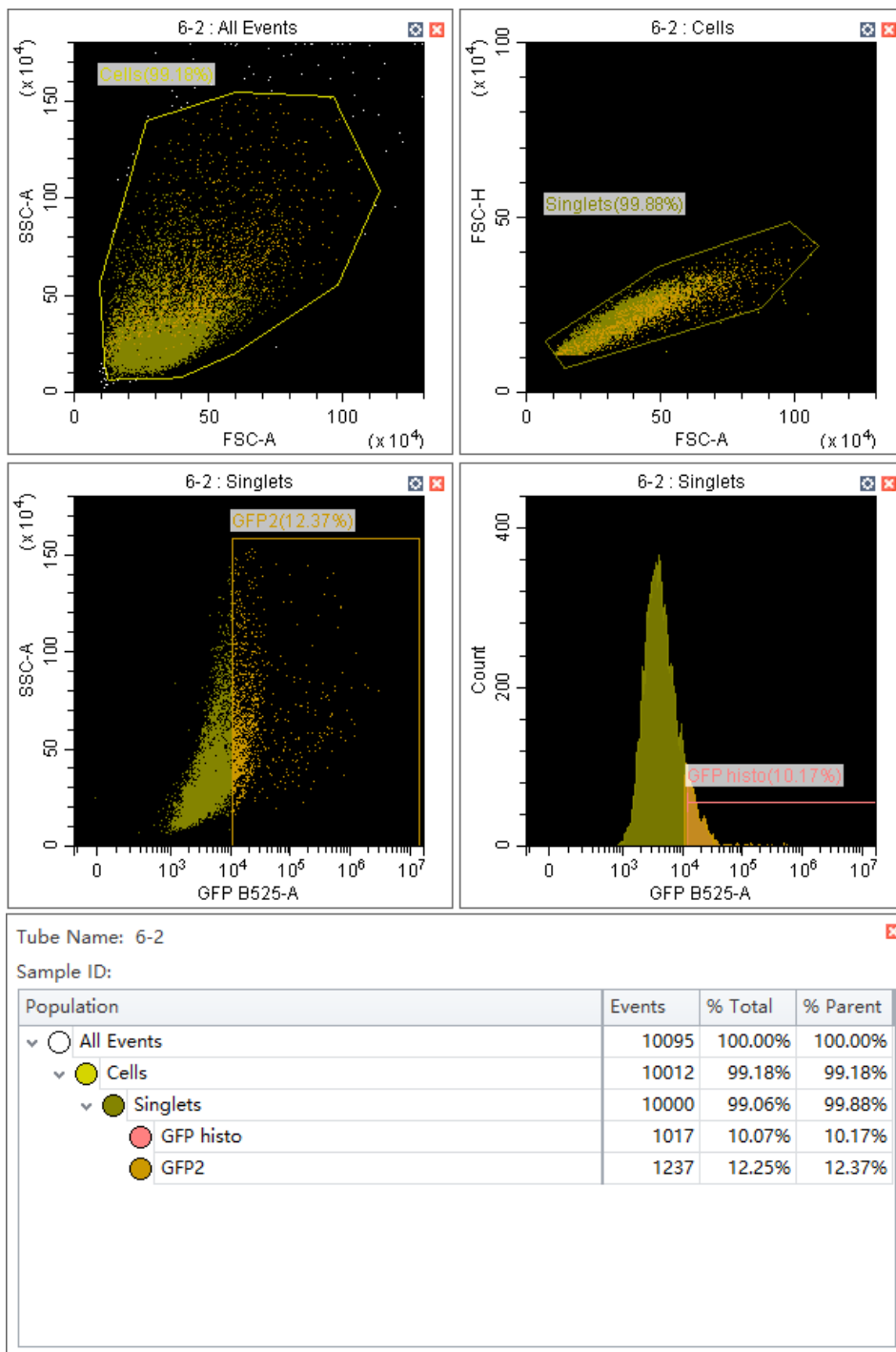
Kontrolní infekce 3



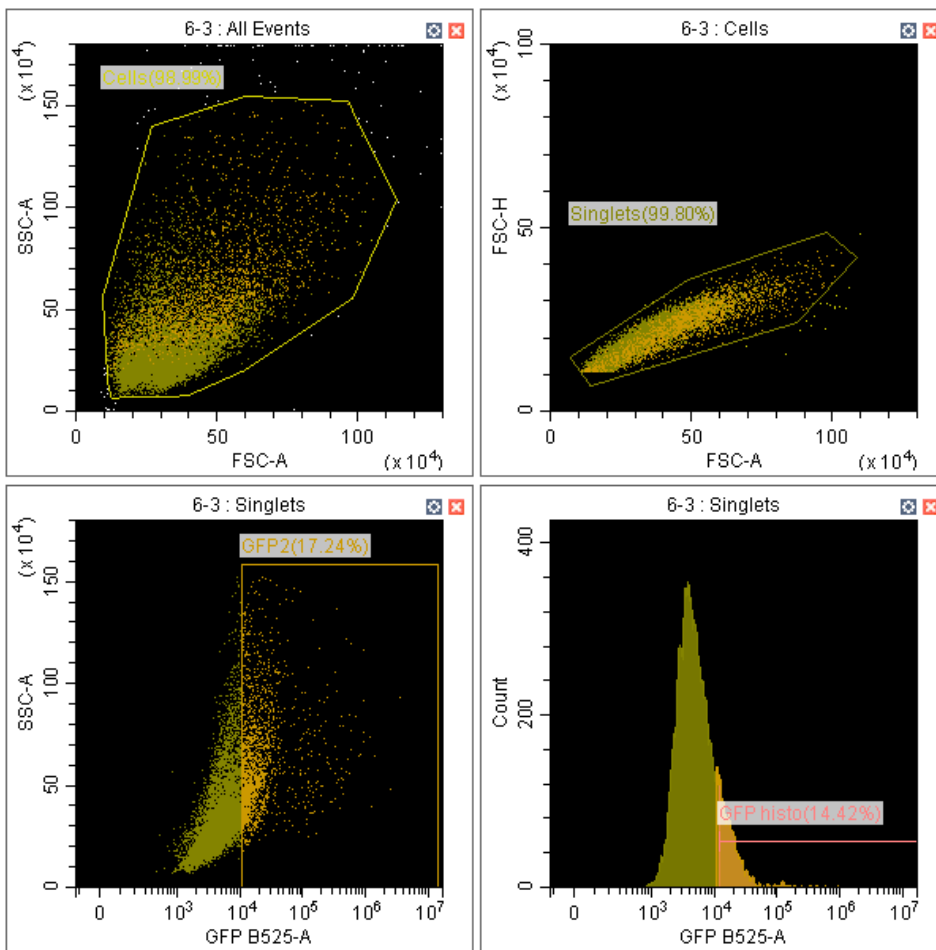
Osvit 6 hodin - 1



Osvit 6 hodin - 2



Osvit 6 hodin - 3

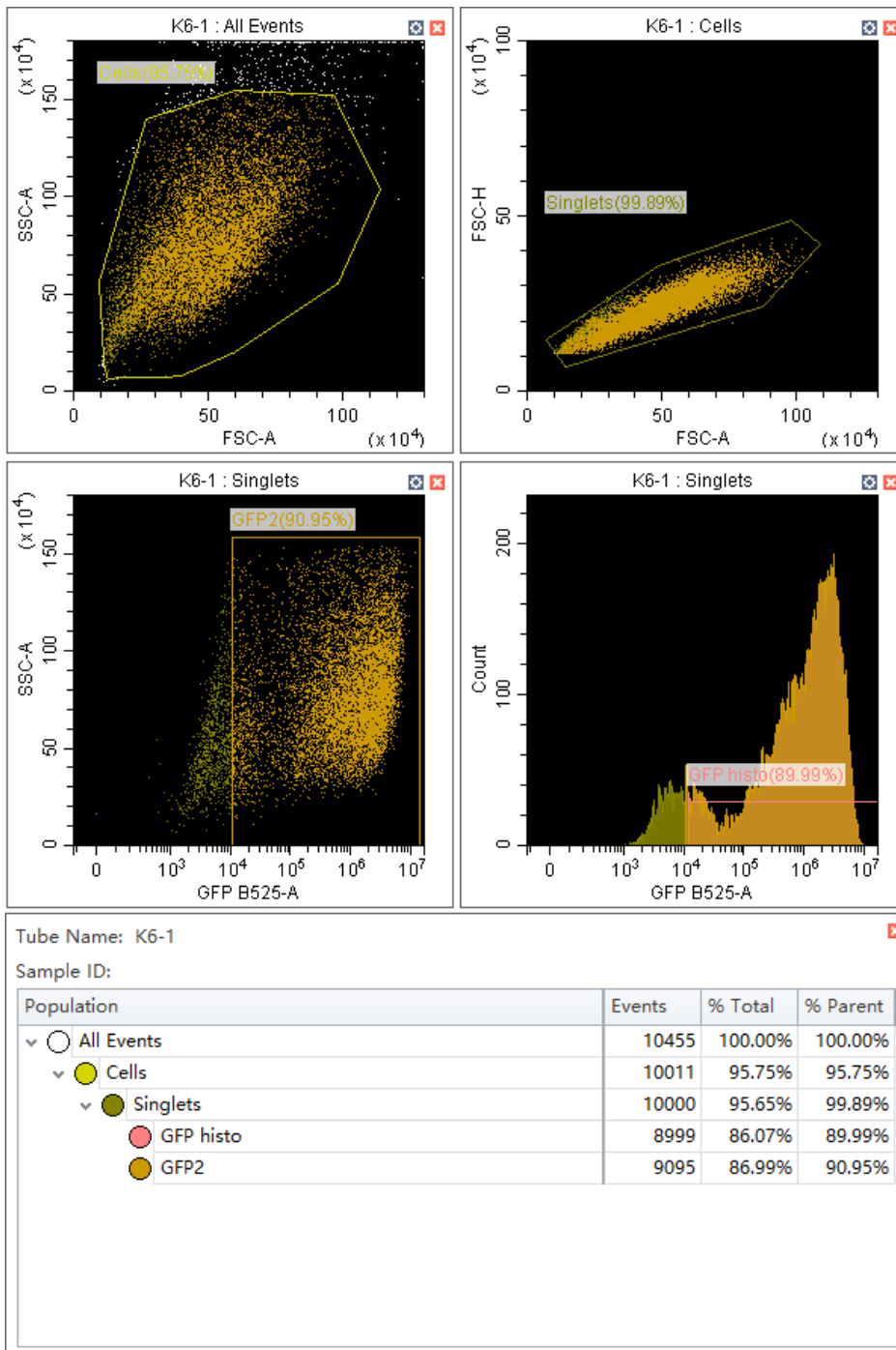


Tube Name: 6-3

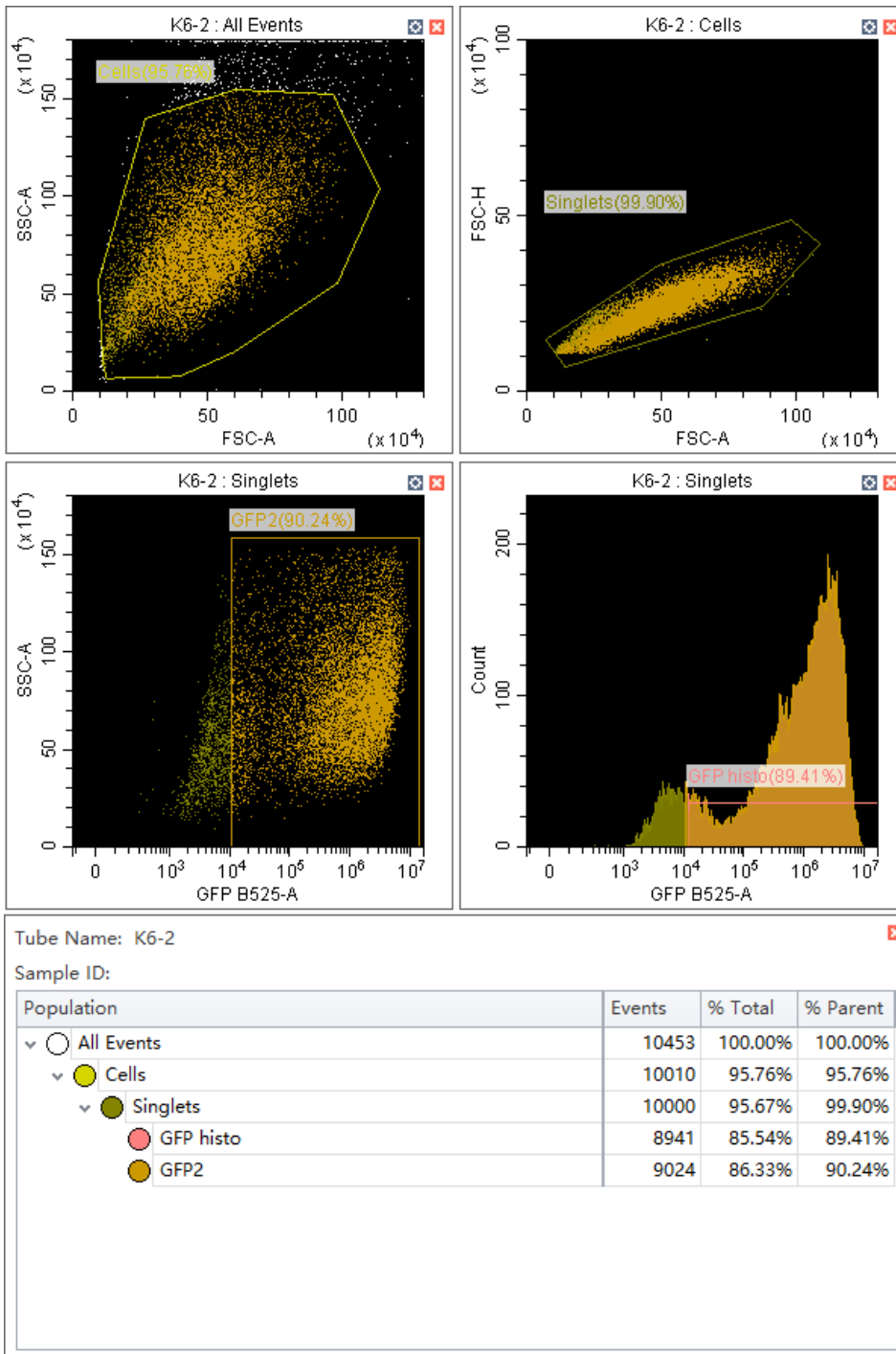
Sample ID:

Population	Events	% Total	% Parent
○ All Events	10122	100.00%	100.00%
● Cells	10020	98.99%	98.99%
● Singlets	10000	98.79%	99.80%
● GFP histo	1442	14.25%	14.42%
● GFP2	1724	17.03%	17.24%

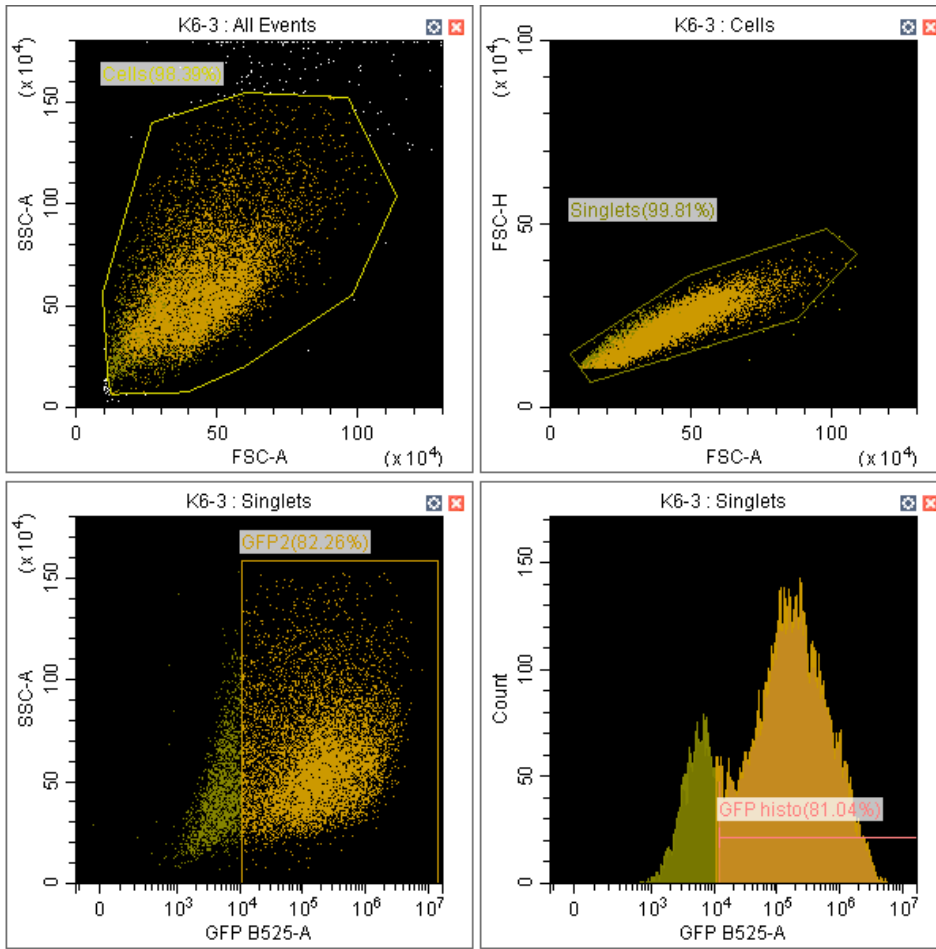
Temná kontrola 6 hodin -1



Temná kontrola 6 hodin -2



Temná kontrola 6 hodin -3

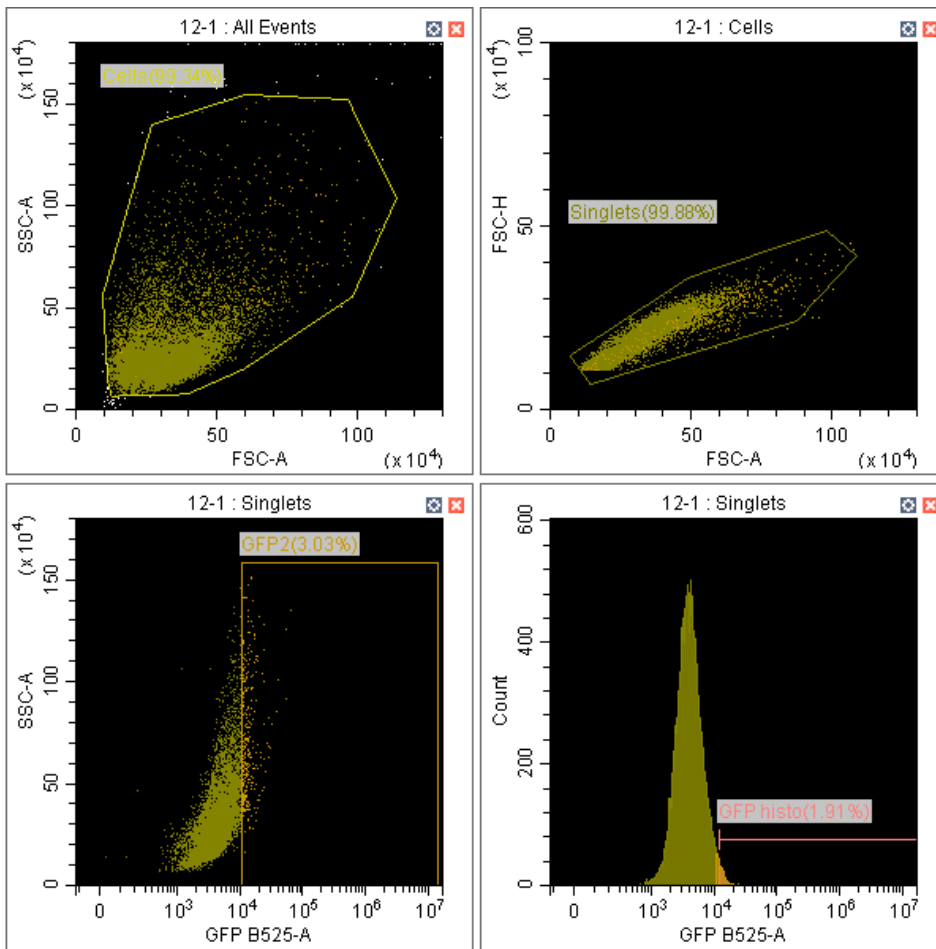


Tube Name: K6-3

Sample ID:

Population	Events	% Total	% Parent
○ All Events	10183	100.00%	100.00%
● Cells	10019	98.39%	98.39%
● Singlets	10000	98.20%	99.81%
● GFP histo	8104	79.58%	81.04%
● GFP2	8226	80.78%	82.26%

Osvit 12 hodin - 1

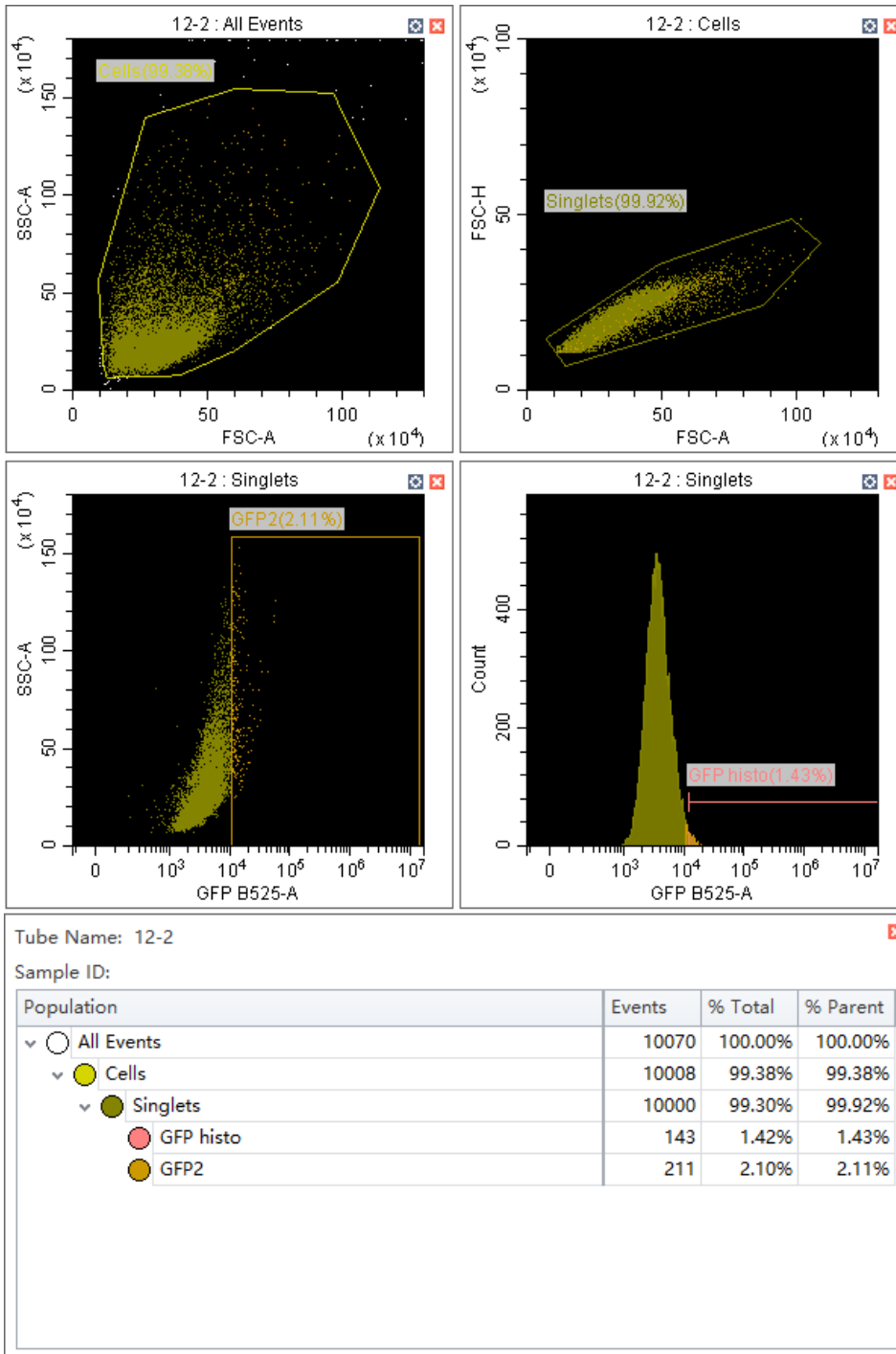


Tube Name: 12-1

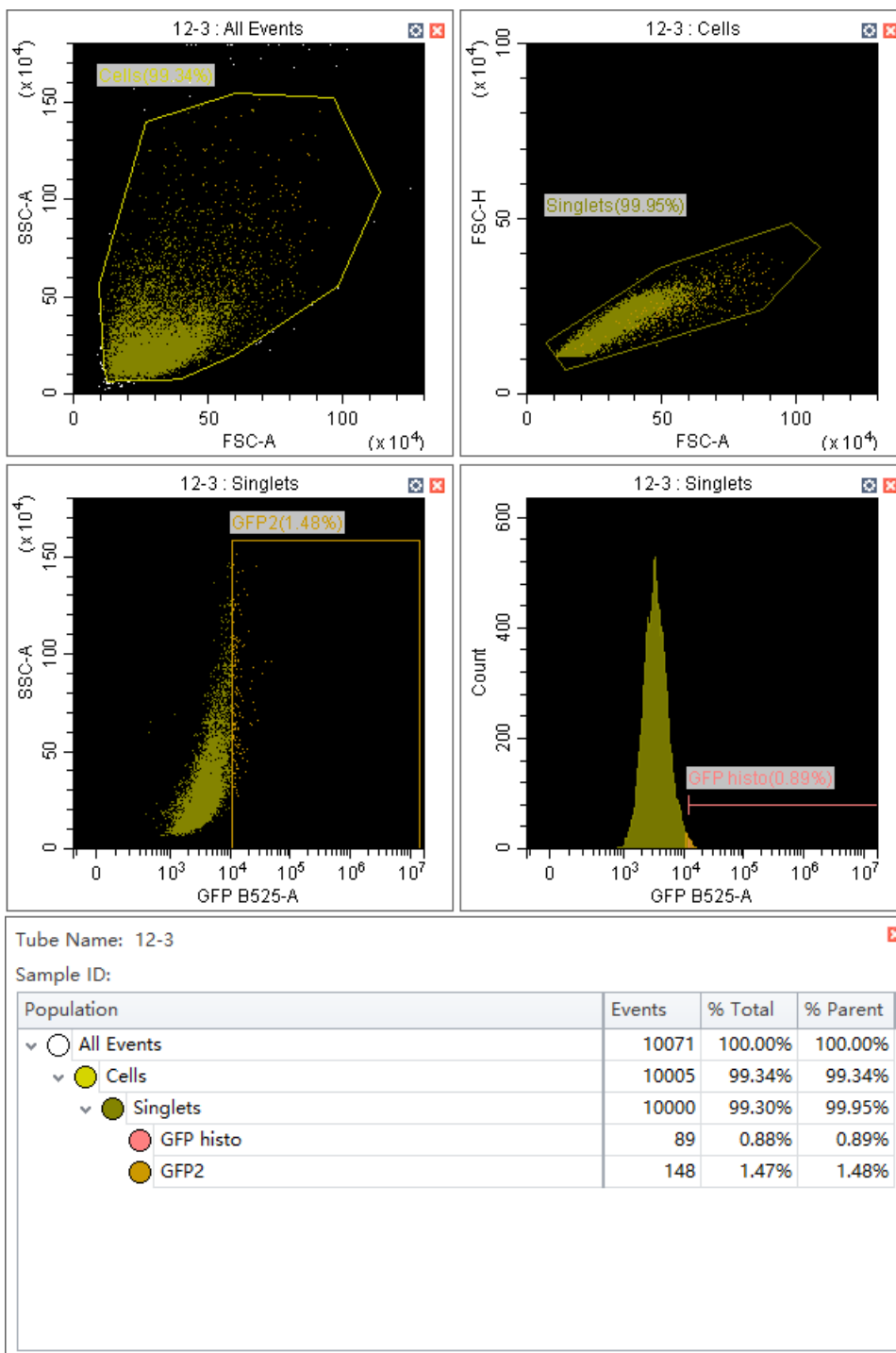
Sample ID:

Population	Events	% Total	% Parent
○ All Events	10079	100.00%	100.00%
● Cells	10012	99.34%	99.34%
● Singlets	10000	99.22%	99.88%
● GFP histo	191	1.90%	1.91%
● GFP2	303	3.01%	3.03%

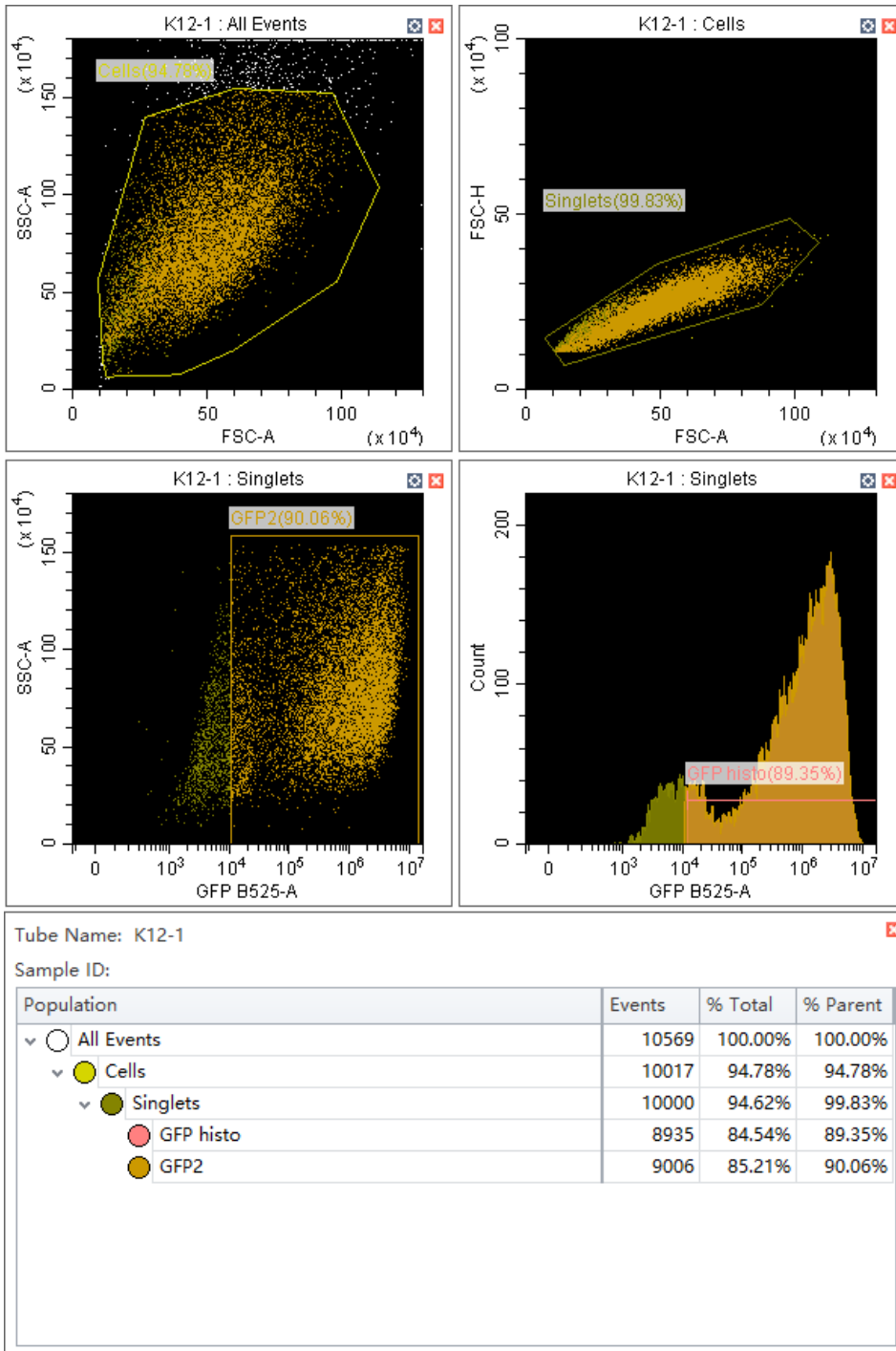
Osvit 12 hodin - 2



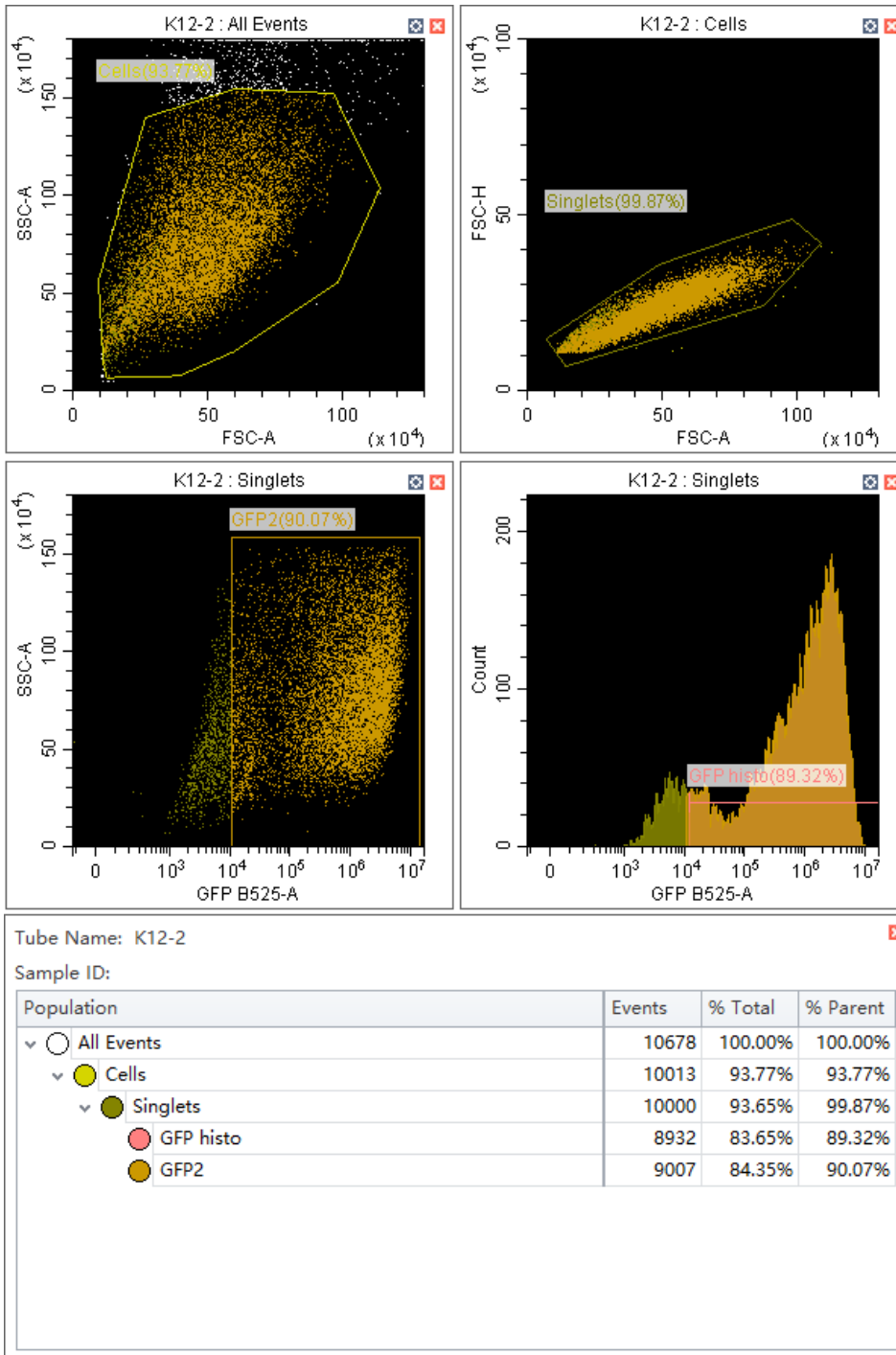
Osvit 12 hodin - 3



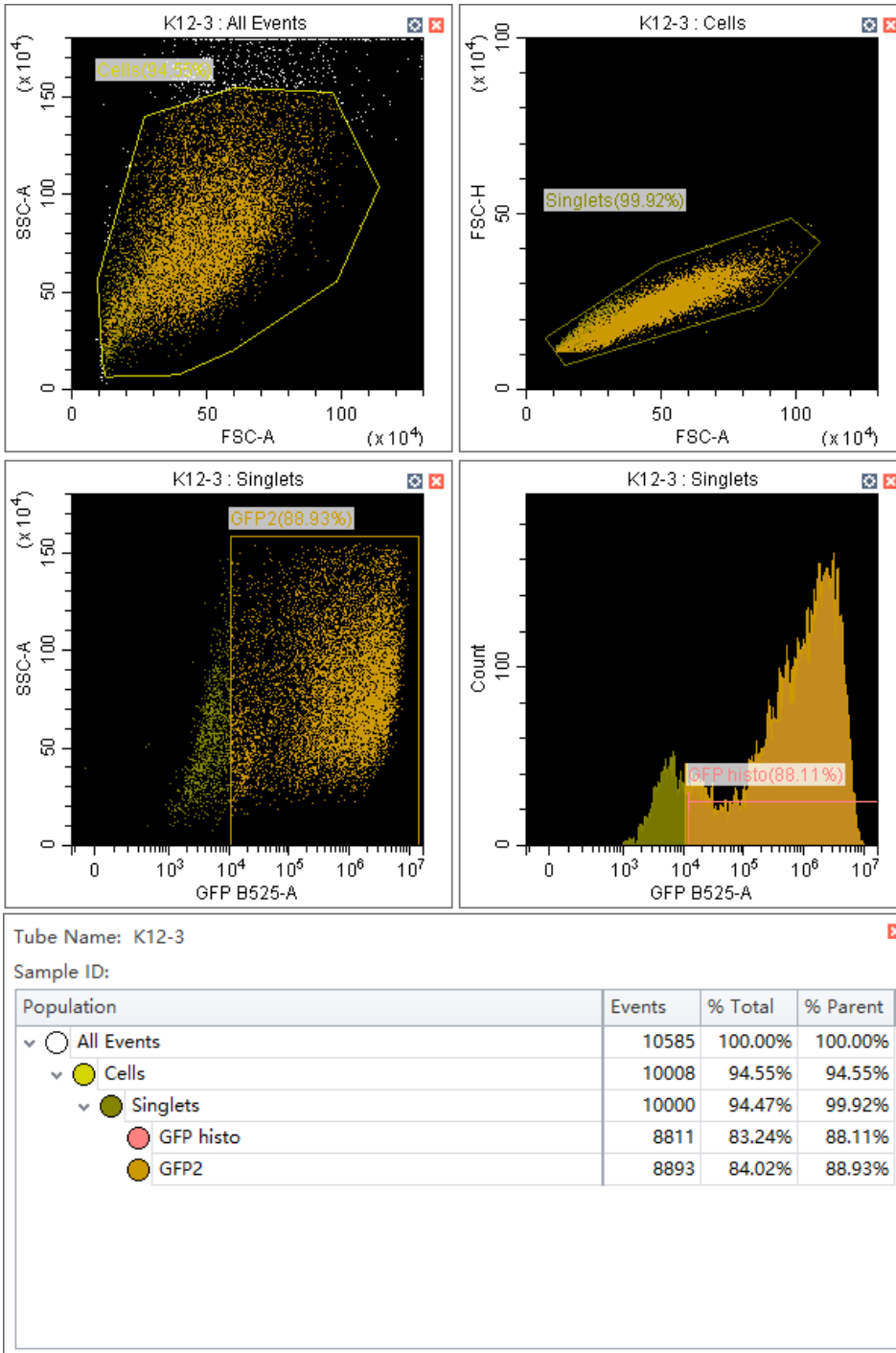
Temná kontrola 12 hodin -1



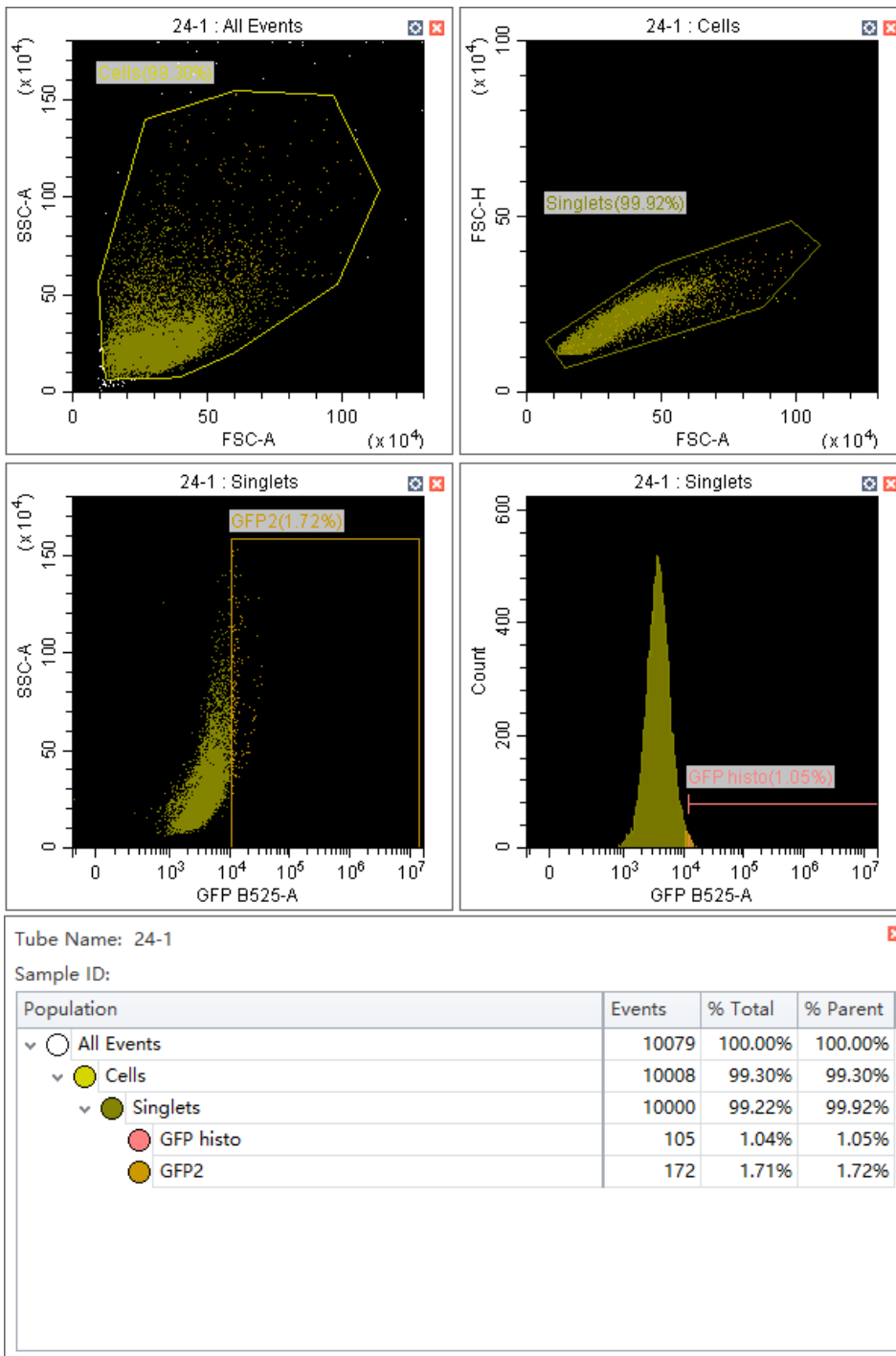
Temná kontrola 12 hodin -2



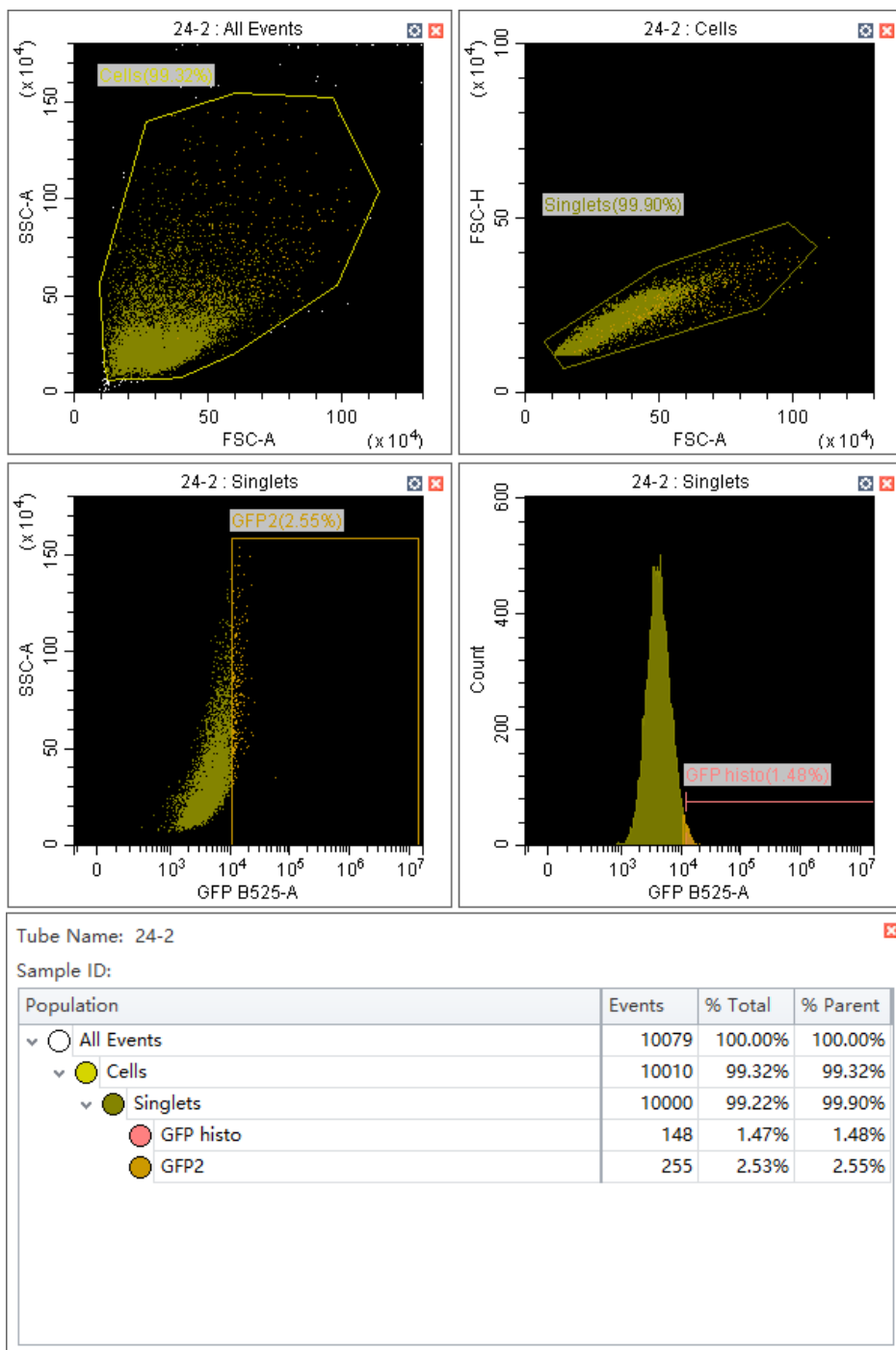
Temná kontrola 12 hodin -3



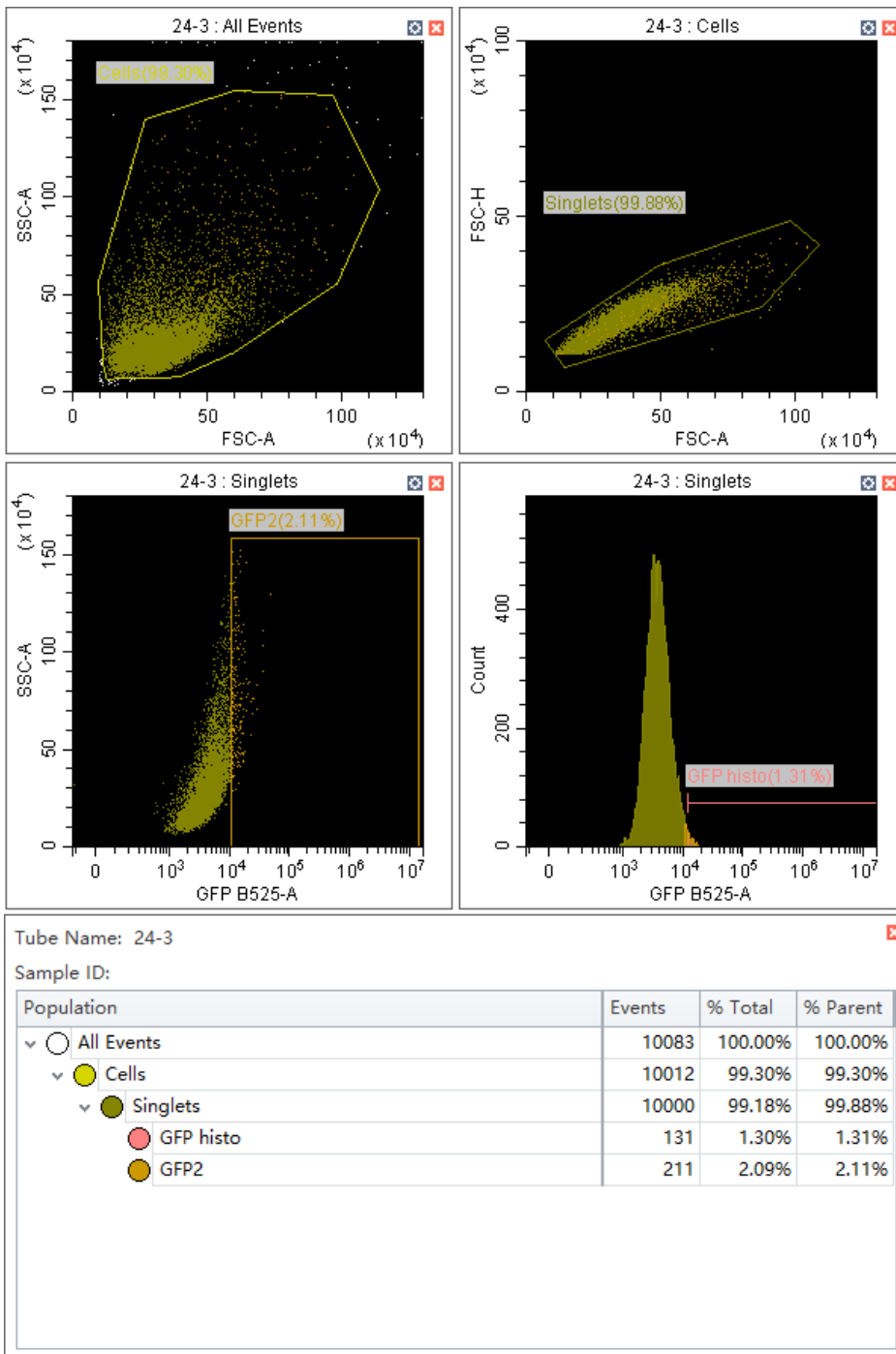
Osvit 24 hodin - 1



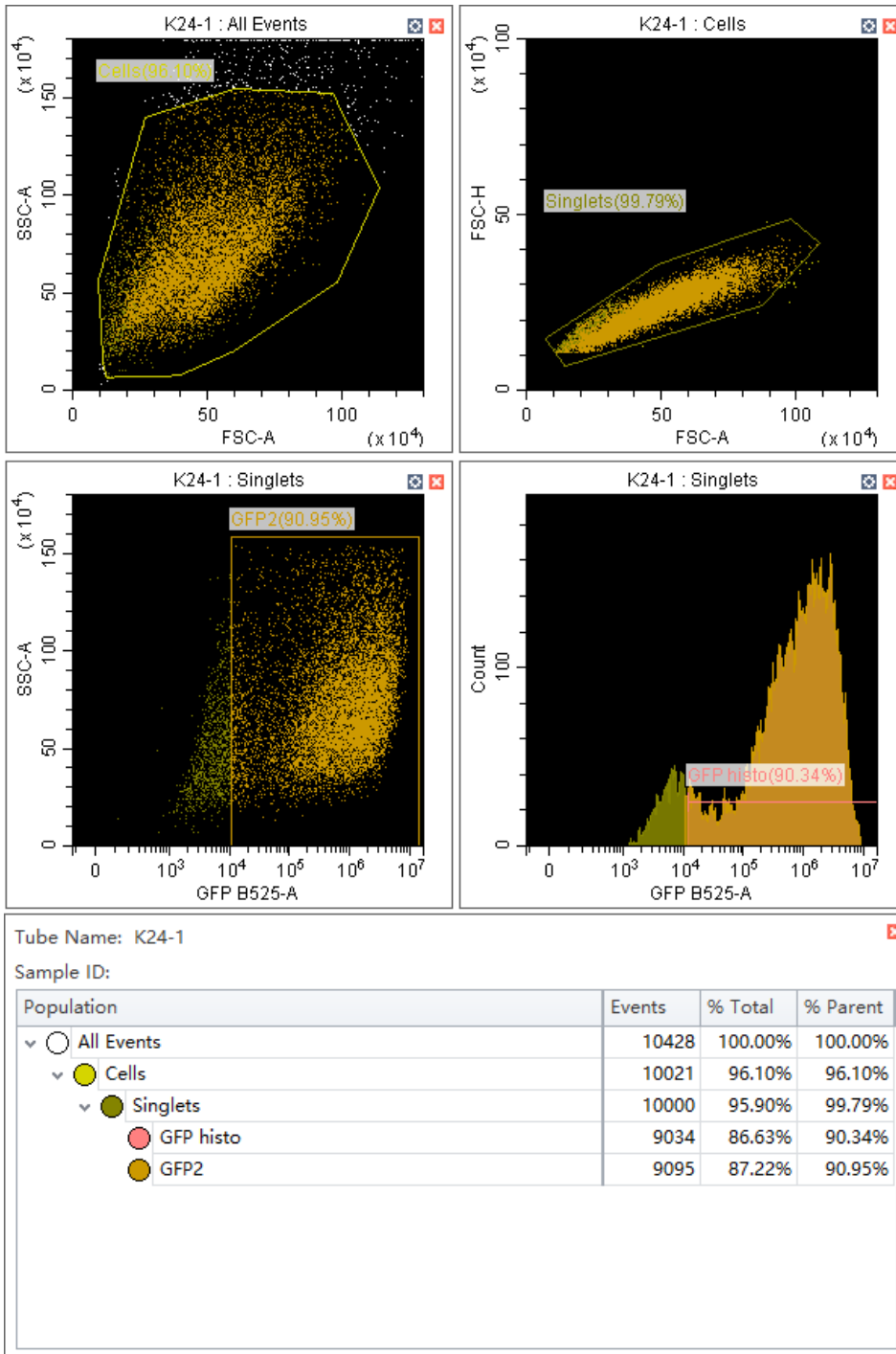
Osvit 24 hodin - 2



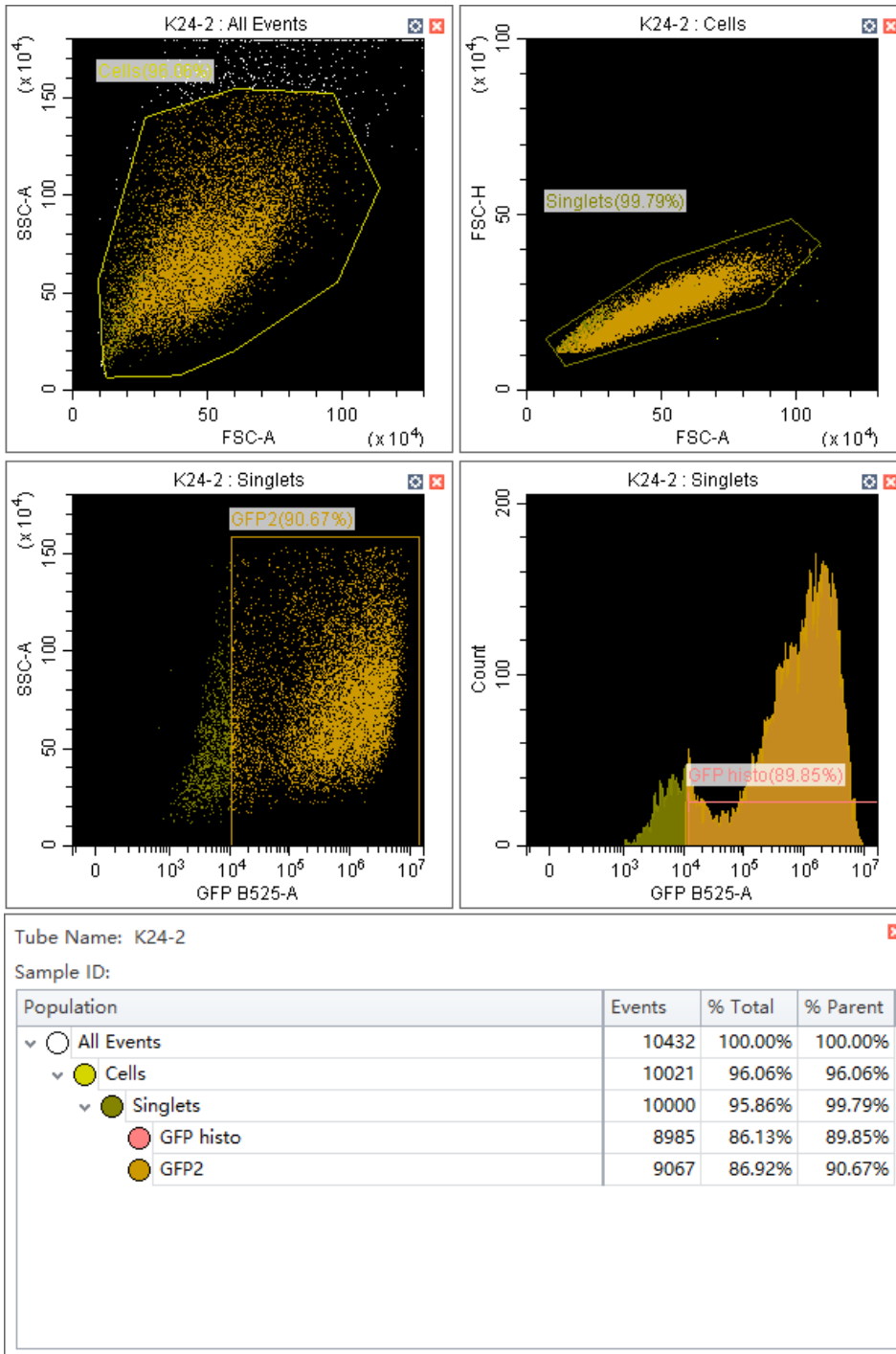
Osvit 24 hodin - 3



Temná kontrola 24 hodin -1



Temná kontrola 24 hodin -2



Temná kontrola 24 hodin -3

