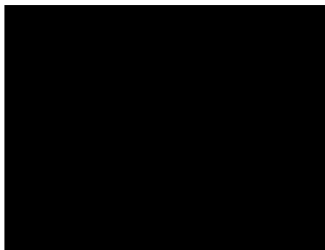




**ÚOCHB** <sup>AV</sup>  
<sup>ČR</sup>  
**IOCB PRAGUE**

Ústav organické chemie a biochemie  
Akademie věd České republiky, v. v. i.  
Institute of Organic Chemistry and Biochemistry  
of the Czech Academy of Sciences



V Praze dne 14. 9. 2021

**Věc: Sdělení ve věci žádosti o poskytnutí informace dle zákona č. 106/1999 Sb.**

Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i. („**povinný**“ nebo „**ÚOCHB**“) byla dne 1. 9. 2021 doručena žádost Davida Šubíka („**žadatel**“) dle zákona č. 106/1999 Sb., o svobodném přístupu k informacím, v platném znění („**InfZ**“), o poskytnutí informací („**žádost**“) v následujícím znění:

- 1) Jak na pracovišti povinného subjektu bylo provedeno dokonalé vyčištění a izolace viru SARS-CoV-2? Uveďte citaci vědecké práce nebo ověřitelný metodologický postup.**
- 2) Poskytnutí fotografie z elektronového mikroskopu, která doloží dokonalé vyčištění a izolaci virových částic viru SARS-CoV-2.**
- 3) Jakým způsobem bylo identifikováno, že dokonale vyčištěné a izolované virové částice jsou SARS-CoV-2? Uveďte citaci vědecké práce nebo metodologický postup.**

Povinný žádosti v plném rozsahu vyhověl a v souladu s § 14 odst. 5 písm. d) InfZ poskytuje žadateli následující informace:

**Ad 1)**

- Nosohltanový stěr byl pětkrát krátce protřepán v odběrové zkumavce s transportním médiem.
- Médium bylo přefiltrováno skrze 0,22 µm filtr a přidáno k Vero buňkám v 25cm<sup>2</sup> kultivační láhvi a inkubováno při 37°C, 5% CO<sub>2</sub> v inkubátoru.
- Cytopatický efekt na buňkách byl monitorován denně.
- Po třech dnech byla kultivační láhev s buňkami dvakrát zamrazena a rozmrazena.
- Kultura s Vero buňkami byla stočena 5 minut při 1000g.

- f) Supernatant byl přefiltrován přes 0.45 µm filtr a 0,5 ml bylo přendáno na čerstvé Vero buňky v 25cm<sup>2</sup> kultivační ládvi a inkubováno při 37°C, 5% CO<sub>2</sub> v inkubátoru.
- g) Po třech dnech byla kultivační láhev s buňkami dvakrát zamrazena a rozmrazena.
- h) Kultura s Vero buňkami byla stočena 5 minut při 1000g.
- i) Supernatant byl přefiltrován přes 0.45 µm filtr a 1,5 ml bylo přendáno na čerstvé Vero buňky v 75cm<sup>2</sup> kultivační ládvi a inkubováno při 37°C, 5% CO<sub>2</sub> v inkubátoru.
- j) Po třech dnech byla kultivační láhev s buňkami dvakrát zamrazena a rozmrazena.
- k) Kultura s Vero buňkami byla stočena 5 minut při 1000g.
- l) Supernatant byl přefiltrován přes 0.45 µm filtr, alikvotován a zamražen na -80°C.
- m) Takto získaný supernatant obsahoval purifikované, infekční částice SARS CoV2 o titru 10e6 IU/ml schopné infikovat čerstvé buňky.

## Ad 2)

Elektronová mikroskopie SARS-CoV-2 nebyla v laboratoři ÚOCHB prováděna, ale je již mnohokrát doložena v literatuře např.

- a) *Turonova, B.; Sikora, M.; Schurmann, C.; Hagen, W.J.H.; Welsch, S.; Blanc, F.E.C.; von Bulow, S.; Gecht, M.; Bagola, K.; Horner, C., et al. In situ structural analysis of SARS-CoV-2 spike reveals flexibility mediated by three hinges. Science 2020, 370, 203-208, doi:10.1126/science.abd5223.*
- b) *Ke, Z.; Oton, J.; Qu, K.; Cortese, M.; Zila, V.; McKeane, L.; Nakane, T.; Zivanov, J.; Neufeldt, C.J.; Cerikan, B., et al. Structures and distributions of SARS-CoV-2 spike proteins on intact virions. Nature 2020, 588, 498-502, doi:10.1038/s41586-020-2665-2.*

## Ad 3)

- a) Alikvot viru byl rozmražen a 70 µl bylo použito pro izolaci RNA pomocí QIAamp Viral RNA kitu (Qiagen).
- b) cDNA byla připravena pomocí LunaScript RT SuperMix kitu (New England Biolabs).
- c) cDNA byla amplifikována pomocí multiplex PCR za použití Artic nCov-2019 V3 panelu (IDT) s Q5 HotStart High Fidelity 2x master mix.
- d) Produkty PCR byly purifikovány, kvantifikovány a fragmentovány pomocí NEB Next Ultra II FS DNA modulu (New England Biolabs).
- e) Adaptory pro Illumina sekvenování byly přidány pomocí NEBNext® Ultra™ II DNA Library Prep a indexace pomocí NEBNext® Multiplex Oligos for Illumina (New England Biolabs).
- f) Sekvence viru proběhla na Illumina Miniseq přístroji a analýza sekvence proběhla v programu DNASTAR Lasergene.
- g) Sekvence byly uloženy do databáze GISAID např. izolát hCoV-19/Czech Republic/NRL\_6632\_2/2020 pod kódem EPI\_ISL\_3050767. Sekvence odpovídá SARS-CoV-2 linie B.1.

- h) Isolovaný virus obsahoval popsané virové proteiny (prokázáno specifickými protilátkami pomocí imunofluorescence a metodou Western blot) a byl schopen infikovat citlivé savčí buňky, které pak produkovaly další virové částice.

#### **Poučení**

Žadatel může proti způsobu vyřízení žádosti podat stížnost dle § 16a odst. 1 písm. a) zákona č. 106/1999 Sb., o svobodném přístupu k informacím, v platném znění, která se podává u ÚOCHB do 30 dnů ode dne doručení tohoto sdělení. O stížnosti rozhoduje nadřízený orgán, kterým je Úřad pro ochranu osobních údajů.

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v. v. i.

RNDr. PhDr. Zdeněk Hostomský, CSc.

ředitel ÚOCHB