

Firma – příjemce vouchery	
ENJOY spol. s r.o. ( <a href="http://www.enjoy.cz">www.enjoy.cz</a> )	
Sídlo	Loosova 355/12, 638 00 Brno
Obor	Elektronika, Biotechnologie
Velikost	Drobný podnik
Profil	<p>Firma ENJOY vyvíjí inovativní přístroje pro léčbu kosmetických a dermatovenerologických problémů. Tato elektronická zařízení vznikla na základě výsledků vlastního výzkumu a vývoje nové léčebné metody, která je založena na využití revitalizačního vlivu kombinace plošného impulzního magnetického a světelného pole na kůži a sliznice. Univerzální princip funkce zařízení umožňuje aplikaci v širokém spektru léčebných přístrojů pro kosmetiku, dermatologii, gynekologii, korektivní chirurgii atd.</p> <p>Předmětem aktuálního vědeckého záměru je výzkum vlivu kombinace látek pro cílenou imunoterapii a inhibičního působení pole impulzního vektorového magnetického potenciálu na nádorová onemocnění. (Více na <a href="http://www.enjoy.cz">www.enjoy.cz</a>)</p>
Poskytovatel znalostí	
Masarykova univerzita Přírodovědecká fakulta Ústav experimentální biologie Oddělení fyziologie a imunologie živočichů ( <a href="http://www.sci.muni.cz/ofiz/">http://www.sci.muni.cz/ofiz/</a> )	
Profil	Oddělení (20 zaměstnanců) zajišťuje na mezinárodní úrovni výuku a výzkum pro studenty biologických oborů v Bc., Mgr. a Ph.D. stupni studia s uplatněním v biomedicínské praxi.
	Hlavní výzkumná zaměření: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fyziologie a imunologie hmyzu</li> <li>• Imunologie</li> <li>• Buněčná a molekulární fyziologie</li> </ul>
Zodpovědný výzkumník	RNDr. Pavel Hyršl, Ph.D.



Spolupráce	
Doba realizace	1/2010 – 7/2010
Hodnota	141 932 Kč bez DPH
Předmět	<p>Výzkum fyzikálních vlastností pole impulzního vektorového magnetického potenciálu (IVMP) pomocí jeho vlivu na metabolismus bioluminescenčních bakterií.</p> <p>Bioluminescenční bakterie jsou velmi citlivým modelem, který dovoluje zjišťování jejich viability měřením intenzity emitovaného světelného signálu. V Ústavu experimentální biologie MU vypracovaný postup kultivace a měření na dvou druzích bakterií (pro laboratorní teplotu <i>P. luminescens</i>, pro vyšší teplotu <i>E. coli</i>) je vhodný pro testování řady vlivů, od chemických a biologických po fyzikální.</p> <p>V rámci využití inovačního vouchery firmou ENJOY se testovalo, zda existuje inhibiční efekt pole IVMP na pohybující se medium, obsahující zmiňované bakterie. Pro zvýšení účinku pole byly použity dvojice paralelně zapojených toroidních cívek s retrográdním směrem magnetických toků. Z dosažených výsledků je zřejmý negativní vliv pole IVMP, který bude předmětem dalšího výzkumu. Cílem je destrukce nádorových buněk naznačeným způsobem.</p>
Výstup	Průtoková aplikační technologie působení dvojice toroidních cívek s retrográdním magnetickým tokem (publikována na konferenci XXXIII. Dny lékařské biofyziky)
Využití a přínos	<p>Hlavním přínosem spolupráce je nalezení nového přístupu v rámci výzkumu vlivu pole impulzního vektorového magnetického potenciálu na živé organismy, a to v použití nové aplikační technologie.</p> <p>Díky dobře koordinované spolupráci bylo během 6 měsíců vykonáno velké množství experimentů, jejichž výsledky akcelerovaly výzkum u všech dalších spolupracujících ústavů (Masarykův onkologický ústav v Brně, Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV v Liběchově, VUT v Brně).</p>

**Zhodnocení spolupráce – doc. Ing. Ivan Rampl, CSc. (majitel společnosti ENJOY spol. s r.o.)**

*„Naše firma se zabývá mimo průmyslového vývoje i výzkumem a vývojem experimentálních elektronických zařízení určených pro biofyzikální a medicínský výzkum. Proto pro nás inovační voucher znamenal nečekanou podporu, a tím i rozšíření spolupráce s odborníky, kteří nám pomáhají řešit úkoly spojené s námi prováděným vývojem.“*

Spolupracovala společnost s nějakou výzkumnou institucí již v minulosti?	<i>„Ano, v minulosti jsme již s tímto vědeckým týmem spolupracovali. Díky našim dobrým zkušenostem jsme se rozhodli znovu se na něj obrátit.“</i>
--	---

Došlo by ke spolupráci i bez inovačního vouchery?	<i>„Pro spolupráci bychom se rozhodli i bez inovačního vouchery.“</i>
---	---

implementační agentura

finanční garant

mediální partner

partner

 tento projekt je realizován v rámci  
Regionální inovační strategie  
Jihomoravského kraje



**Bioluminescenční bakterie jako citlivý prostředek pro měření vlivu impulsních polí**



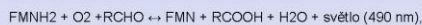
Pavel Hyršl<sup>(1)</sup>, Soňa Buchtíková<sup>(1)</sup>, Libor Vojtek<sup>(1)</sup>, Lukáš Palko<sup>(2)</sup>, Ivan Rampf<sup>(2)</sup>,

(1) Oddělení fyziologie a imunologie živočichů, Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno, CZ; (2) ENJOY spol. s r.o., Brno, CZ

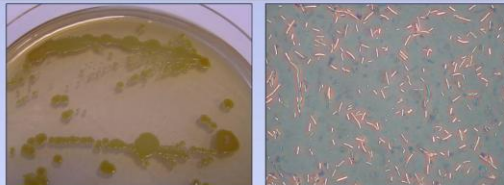
**Úvod:**

Bioluminescence (vlastní produkce světla) je schopna řada organismů (např. světlušky, medúzy). Z bakterií jsou to převážně mořské druhy a jediný terestrický rod *Photobacterium* žijící v symbióze s entomopatogenními hlístovkami.

V naší práci jsme použili přirozené bioluminescenční bakterie *Photobacterium luminescens* izolované z hlístovky *Heterorhabditis bacteriophora* a geneticky modifikovaný bakteriální kmen *Escherichia coli* (K12pGFPluxBAmpl), jehož plazmid obsahuje gen pro enzym luciferázu a substrát - aldehyd s dlouhým řetězcem (plazmid pochází z bakterie *Photobacterium*). Světelná emise obou druhů gram-negativních bakterií je výsledkem následující reakce (Hakkila et al., 2002):



kdy enzym luciferáza katalyzuje oxidaci aldehydu a redukovaného riboflavinu fosfátu (FMNH<sub>2</sub>) produkovaného pouze živými buňkami. Existuje tedy přímá korelace mezi viabilitou bakterií a produkcí světla (Nikoskelainen et al., 2002), proto je detekce bioluminescence velmi výhodná v řadě aplikací.



Bakteriální kultura *Photobacterium luminescens*, vlevo na agaru, vpravo zvětšeno pod fázovým kontrastem.

**Experiment:**

Uvedená metoda byla použita ve spolupráci s firmou ENJOY pro výzkum vlivu tzv. impulsního vektorového magnetického potenciálu (IVMP). Jedná se o fyzikální fenomén, který nemá teoreticky popsány žádné silové účinky, přesto výsledky našeho výzkumu ukazují efekty na různých živých buňkách. IVMP je „vedlejším produktem“ magnetického pole, proto je zásadní porovnání těchto fyzikálních polí. Jako jeden z výsledků byl zaznamenán opačný účinek obou polí na buněčný metabolismus (indukce růstu u impulsního magnetického pole, inhibice růstu u pole IVMP).

Cílem experimentů je nalezení optimálních vlastností celého elektronického zařízení, signálů a budíků pole IVMP. Bioluminescenční bakterie fungují jako „senzory“ obou výše zmíněných polí a metoda vyhodnocení výsledků je relativně velmi rychlá a levná.

Důvodem naznačeného principu funkce bylo vyloučení případného vnějšího impulsního magnetického pole. Bakterie *E. coli* zde byly umístěny do dvou-otokového oběhového systému peristaltického čerpadla. První „ozářený vzorek“ procházel toroidními cívkami a byl ovlivněn polem IVMP, druhý „kontrolní vzorek“ byl veden mimo působení pole IVMP.

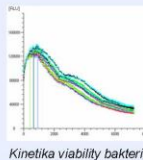


Experiment ovlivnění bakterií *E. coli* polem IVMP.

**Metoda:**

Použitá metoda byla vyvinuta ve spolupráci s *Department of Biochemistry and Food Chemistry, University of Turku, Finland*. Bakterie *P. luminescens* byly kultivovány v LB-médii při laboratorní teplotě, zatímco *E. coli* byly kultivovány v LB-médii s přidavkem ampicilinu při teplotě 37°C za intenzivního třepání až do dosažení late log-fáze. Bakteriální suspenze byla upravena na konečnou hustotu OD<sub>620</sub> = 1,0 ± 0,05.

Pro měření bioluminescence byla použita přímo suspenze bakterií v živném médii o dané optické hustotě v 96-ti jamkové mikrotitrační destičce v automatickém měřicím režimu na luminometru LM01-T (Immunotech). Po optimalizaci metody byl vypracován standardní postup měření, kterým jsou výsledky vyhodnocovány z poměru bioluminescence vzorku před a po experimentálním zásahu, viz dále. Kontinuální měření bakteriální bioluminescence probíhalo 2-4 hodiny, podle druhu bakterií v laboratorní teplotě nebo ve 37°C.

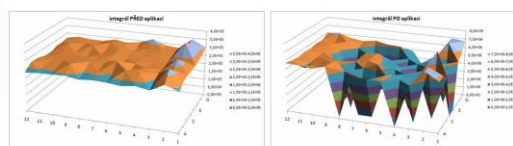


Kinetika viability bakterií.

**Hodnocení:**

Při pipetování může dojít k mírným odchylkám v počtu bakterií v jamkách, což se může projevit na hodnotách bioluminescence. Proto byly při vyhodnocení výsledků odečteny počáteční hodnoty od konečných a byl brán jenom jejich rozdíl. Při každém experimentu byly také změněny kontrolní vzorky, které byly porovnávány se vzorky po aplikaci.

**Vizualizace a demonstrace hodnocení výsledku**

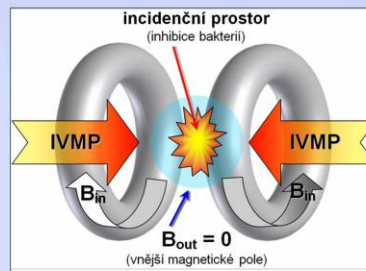


Plošné rozložení hodnot na mikrotitrační destičce před a po aplikaci (v tomto případě pouze přidavek formaldehydu k *E. coli*), ve finálních výsledcích byly použity pouze hodnoty pro rozdíl před/po aplikaci.

**Literatura:**

- [1] Hakkila K., Maksimov M., Karp M., Virta M.: Reporter genes *luxFF*, *luxCDABE*, *gfp* and *dsred* have different characteristics in whole-cell bacterial sensors. *Analytical Biochemistry*, 301, 235-242, 2002.
- [2] Nikoskelainen S., Lehtinen J., Ullius E-M.: Bacteriolytic activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) complement. *Developmental and Comparative Immunology*, 26, 797-804, 2002.

Tento projekt je realizován za finanční podpory z prostředků státního rozpočtu prostřednictvím Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky.



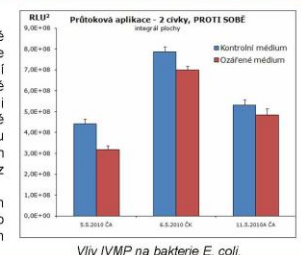
IVMP – impulsní vektorový magnetický potenciál B – impulsní magnetická indukce

Vlevo - schéma působení 2 toroidních cívek s retrogradním směrem magnetické indukce Vpravo - celý experiment v inkubátoru 37°C. (řídící notebook, aplikátor IVMP a čerpadlem, pulzní generátor).

**Výsledky:**

V grafu jsou tři nezávislé opakování experimentu, kde se kromě kontroly ovlivnění peristaltickým čerpadlem také sledoval vliv ovlivnění použitými hadičkami (ČK vs. ČA). Na svislé ose jsou uvedeny hodnoty integrálu luminescence po dobu 2 hodin měření růstových křivek (viz kinetika viability bakterií).

Po ozáření dvojicí toroidních cívek zapojených retrogradně po dobu 20 minut byl pozorován inhibiční efekt na bakteriích *E. coli*.



Vliv IVMP na bakterie *E. coli*.

**Závěr:**

Bioluminescenční bakterie jsou velmi citlivým modelem, kdy je viabilita úměrná světelnému signálu. Námí vypracovaný postup kultivace a měření na dvou druhích bakterií (pro laboratorní teplotu *P. luminescens*, pro vyšší teplotu *E. coli*) je vhodný pro testování řady vlivů, od chemických a biologických po fyzikální. Ve spolupráci s firmou ENJOY jsme testovali, zda lze nalézt inhibiční efekt vlivu pole IVMP na pohybující se médium, obsahující zmiňované bakterie. Pro zvýšení účinku pole byly použity dvojice paralelně zapojených toroidních cívek s retrogradním směrem magnetických toků. Z dosažených výsledků je zřejmý negativní vliv pole IVMP, který bude předmětem dalšího výzkumu. Cílem je destrukce buněk tekutých nádrží naznačeným způsobem. Podrobnější informace lze nalézt na [www.enjoy.cz](http://www.enjoy.cz).

Poster na konferenci XXXIII. Dny lékařské biofyziky

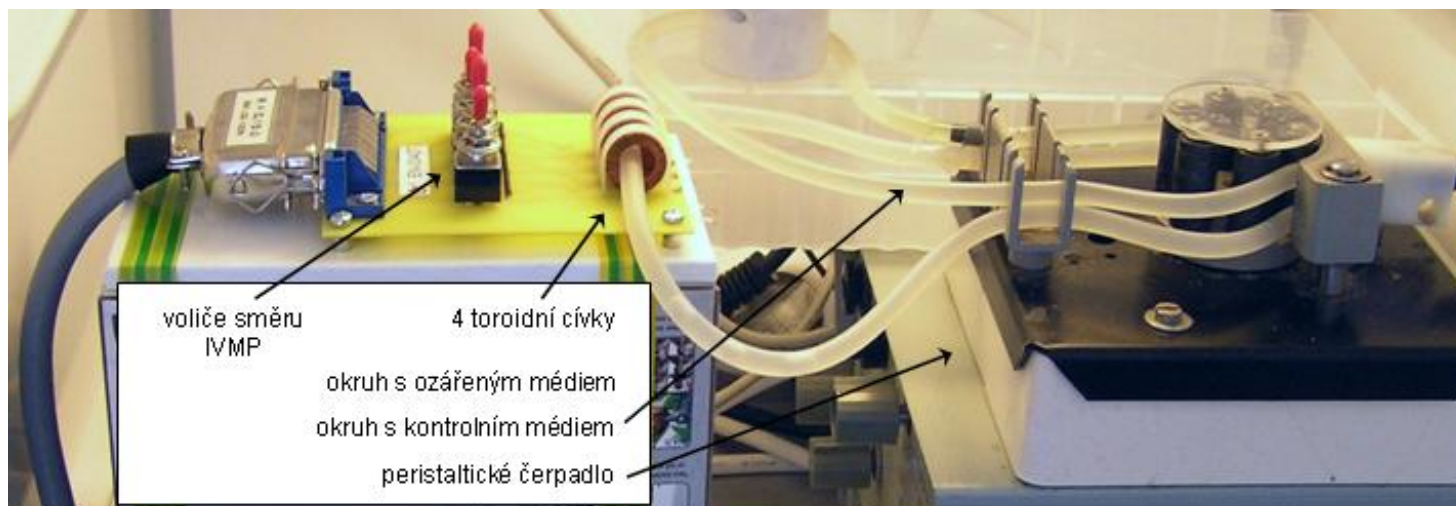
tento projekt je realizován v rámci Regionální inovační strategie Jihomoravského kraje

implementační agentura

finanční garant

mediální partner

partner



Průtoková aplikační technologie působení toroidních cívek s retrográdním impulzním magnetickým tokem

implementační agentura

finanční garant

mediální partner

partner

tento projekt je realizován v rámci  
Regionální inovační strategie  
Jihomoravského kraje