

# Two-photon microscopy as an effective tool for investigation of SARS-CoV-2 infection

## Kétfoton technika alkalmazása a vírusellenes küzdelemben

Dr. KOVÁCS Ervin<sup>1,2</sup>, Dr. MÁTHÉ Domokos<sup>3,4</sup>, Dr. SZALAY Gergely<sup>5</sup>, FÜLÖP Anna<sup>1</sup>,  
Dr. KATONA Gergely<sup>6</sup>, Dr. RÓZSA Balázs<sup>5</sup>, Dr. MUCSI Zoltán<sup>1,7</sup>

<sup>1</sup>Femtonics Kft., Tűzoltó u. 58, H-1094 Budapest, Magyarország,  
email: kovacs.ervin@ttk.hu, honlap: www.femtonics.eu

<sup>2</sup>Természettudományi Kutatóközpont, Magyar tudósok körútja 2, H-1117 Budapest, Magyarország

<sup>3</sup>Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Szegedi Tudományegyetem,  
Dóm tér 8, H-6720 Szeged, Magyarország

<sup>4</sup>Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, Szegedi Tudományegyetem,  
Dóm tér 8, H-6720 Szeged, Magyarország

<sup>5</sup>Ideghálózatok és Dendritikus Integráció 3D Funkcionális Kapalkotása Laboratórium,  
Kísérleti Orvostudományi Kutatóintézet, Szigony utca 43, H-1083 Budapest, Magyarország

<sup>6</sup>Két-Foton Méréstechnológiai Kutatócsoport, Információs Technológiai és Bionikai Kar,  
Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Práter u. 50/A, H-1083 Budapest, Magyarország

<sup>7</sup>Kémia Tanszék, Műszaki Anyagtudományi Kar, Miskolci Egyetem,  
Egyetem út 1, H-3515 Miskolc, Magyarország

### ABSTRACT

The effects of viral infections, such as Covid-19, are well studied now, as well as their cellular mechanisms. However, there is little information about the dynamics of how the infection spreads among or within cells in the living organs. Two-photon (2P) imaging, combined with the adequate labeling technique is very effective tool for studying in vivo mechanisms both at cellular or subcellular levels. Here we present a novel calcium sensor designed and developed for the identification of the infection level within the cells of a cell culture or organoids. The reported novel 2P technology as cell viability assay could identify cells in different states of the infection cycle. This method provides information on how the normal cell calcium signaling network is perturbed by the virus. Moreover, the method allows the quantitative analysis of the virus infection dynamics, providing a novel approach to study the progression of the virus induced infection and to test and quantify the effect of variants, and infectious virus titers. This method offers the possibility to determine the effects of various drugs on the infection too on cell cultures or organoids.

**Keywords:** Covid-19, fluorescence, calcium chelator, fluorophores, two-photon absorption

### ÖSSZEFOGLALÓ

A vírusfertőzések, például a Covid-19 hatásait és sejtszintű mechanizmusait ma már jól ismerjük. Arról azonban kevés információ van arról, hogy a fertőzés hogyan terjed az élő szervezetek sejtjei között vagy azokon belül. Mivel a kétfoton (2P) képalkotásos technika hatékony eszköz az in vivo mechanizmusok tanulmányozására celluláris és szubcelluláris szinten is, mi egy olyan új kalciumszenzort fejlesztettünk ki, amely alkalmas a fertőzés mértékének meghatározására egy sejt kultúrán vagy akár organoid szinten is. A módszerrel a sejtek életképességének vizsgálatát tudjuk azonosítani a sejtek fertőzési ciklusának különböző állapotaiban, közben információt kapunk arról is, hogy a normál sejten belüli kalcium alapú szabályozó mechanizmusokat hogyan zavarja meg a vírus. Ezen felül a módszer lehetővé teszi a vírusfertőzés dinamikájának kvantitatív elemzését, újszerű megközelítést biztosítva a vírusfertőzés előrehaladásának tanulmányozásához, valamint a variánsok és a fertőző vírustiterrek hatásának vizsgálatához és számszerűsítéséhez. Ez a módszer lehetővé teszi a különböző gyógyszerek fertőzésre gyakorolt hatásának kvantitatív meghatározását sejt kultúrákon, de akár organoid szinten is.

**Kulcsszavak:** Covid-19, fluoreszcencia, kalcium kelátorok, fluorofórok, két-foton abszorpció