Jak chránit DNA před zářením

M. Fejfar[1], L. Kosová[2], K. Kubíková[3], M. Strnadová[4]

[1]Gymnázium Otakara Březiny 235, Telč 588 56
[2]Gymnázium Jiřího Ortena 932, Kutná Hora, 284 01
[3]Gymnázium Botičská 1, Praha 2, 128 01
[4]Gymnázium Varšavská cesta 1, Žilina, 010 08

[1]m.fejfar@volny.cz, [2]lucka.kosova@seznam.cz, [3]kat.kub@email.cz, [4]strnadova.m@zoznam.sk

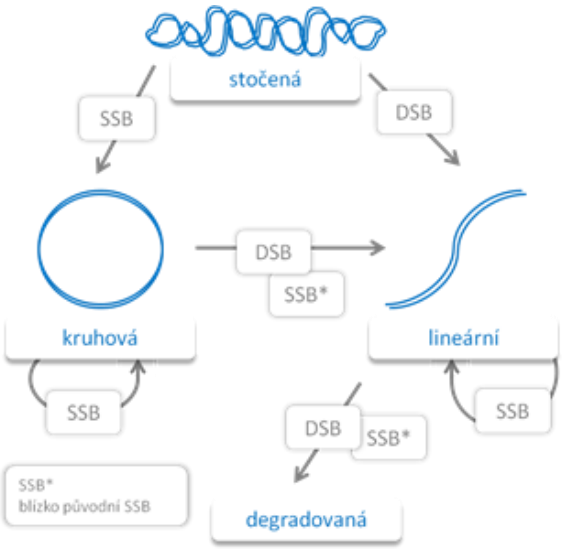
Abstrakt:

Při ozáření DNA ionizujícím zářením může krom přímého poškození, kdy je energie absorbována molekulou DNA, dojít k nepřímému poškození vzniklými volnými radikály, jejichž negativní účinky mohou být omezeny tzv. vychytávači (scavengery). Náš cíl byl zjistit možné využití etanolu (vodky 40%) jako vychytávače. K zjištění stupně poškození DNA při využití různé koncentrace ethanolu jsme využívali metody agarózového elektroforetického systému s neutrálním pufrem. Z našich výsledků vyplývá, že ethanol (vodka 40%) má schopnost chránit DNA před nepřímými účinky ionizujícího záření.

1 Úvod

Nejzávažnější dopad ionizujícího záření je na DNA. V případě poškození dojde k fatálním následkům, neboť právě DNA je nositelem genetické informace, jiné látky (např. proteiny) jsou nahraditelné, DNA nikoliv.

Jsou dva možné typy účinku ionizujícího záření, a to přímé či nepřímé. Riziko přímého poškození, tedy ionizaci samotného DNA, je nevelké. V našem výzkumu jsme se zaobírali druhým typem, a to nepřímým poškozením. Nepřímé poškození je způsobeno ionizací vody a následným napadením DNA radikály. Účinek záření může z nepoškozené formy plasmidu bez zlomů (stočená) vytvořit plasmid kruhový s jedním jednoduchým zlomem na jednom vlákně, anebo lineární s jedním



Obrázek 1

dvojným zlomem na obou vláknech, viz obrázek 1.
Pokusíme se zjistit jaký vliv má ethanol na nepřímý účinek ionizujícího záření, tedy rozsah poškození plasmidu.

2 Experiment

Experiment proběhl v radiobiologické laboratoři Oddělení dozimetrie záření, Ústav jaderné fyziky AV ČR pod vedením Ing. Kateřiny Pachnerové Brabcové, Ph.D.. S velkou pečlivostí a přesností bylo připraveno devět vzorků, na kterých následně proběhlo testování.

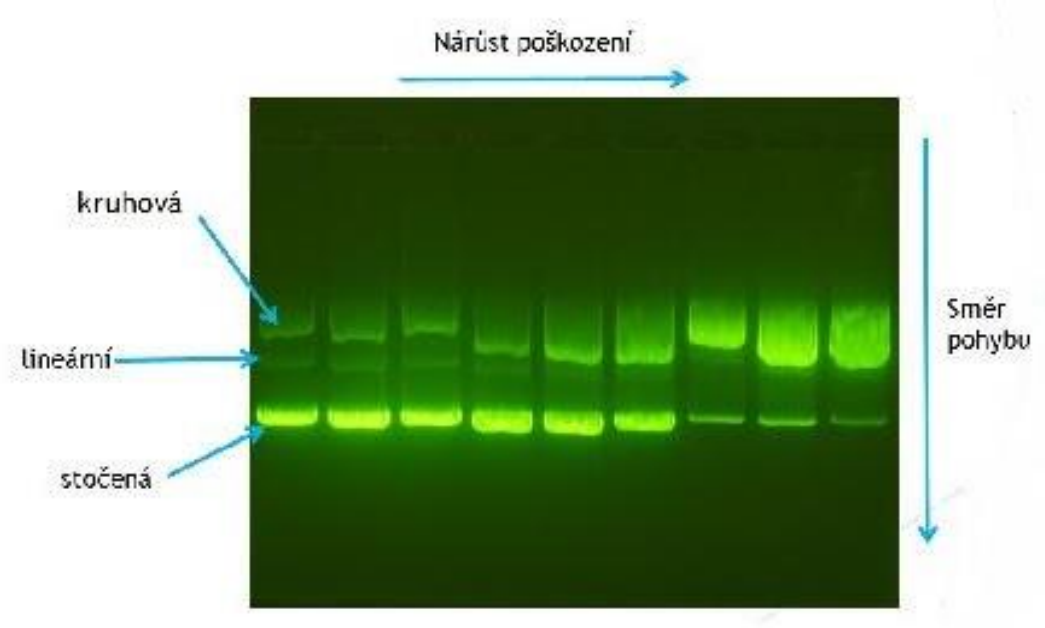
Metodika:

Připravili jsme si devět vzorků, obsahujících 50 ng nepoškozeného plasmidu pBR322 a 2 µl fosfátového pufru draselného. Do osmi z nich jsme přidali různé koncentrace vodky, viz tabulka č. 1.

vzorek	vodka	obj c ethanolu (%)
1	7 µl 40 obj%	20
2	2.35 µl 40 obj%	10
3	7 µl 4 obj%	2
4	2.35 µl 4 obj%	1
5	7 µl 0.4 obj%	0.2
6	2.35 µl 0.4 obj%	0.1
7	7 µl 0.04 obj%	0.02
8	2.35 µl 0.04 obj%	0.01
9	-	0

Tabulka 1

Následně jsme vzorky ozářili zdrojem gama záření ^{60}Co dávkou 50 Gy ze vzdálenosti 268 mm na vzduchu za pokojové teploty.
K separaci jednotlivých forem plasmidové DNA dle rozsahu poškození jsme použili metodu agarózového elektroforetického systému s neutrálním pufrem. Tato metoda je založena na principu rozdílné pohyblivosti různě velkých nabitých molekul na gelu v elektrickém poli. Připravili jsme si 1% agarózový gel v TAE pufru pro elektroforézu s fluorescenčním barvivem SYBR Green I v poměru 1:10000.
Fluorescenční barvivo se po přidání vzorku s plasmidy naváže na DNA a umožní nám sledovat pod UV lampou její posun, viz obrázek 2.



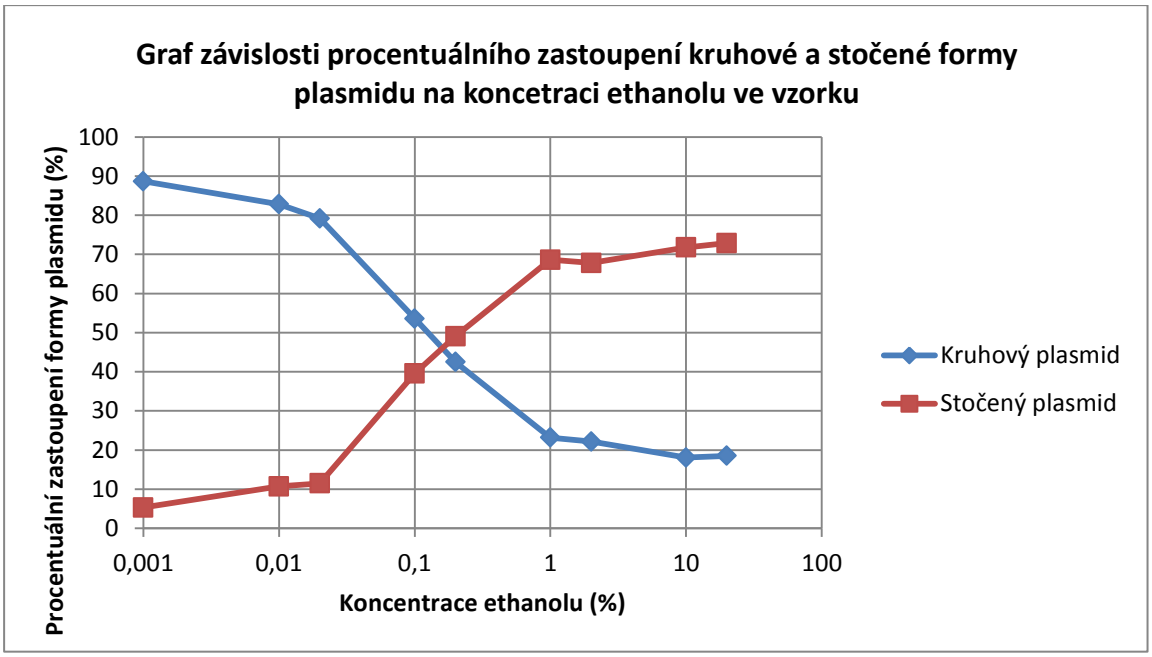
Obrázek 2

Výsledky:

Práci jsme vyhodnotili za pomoci programu Luthien. Tento program se používá na analýzu dat, vyobrazení v grafech a vyhodnocení daných grafů.

číslo vzorku	koncentrace ethanolu (%)	stočený plasmid (%)	kruhový plasmid (%)	lineární plasmid (%)
1	20	73	19	9
2	10	72	18	10
3	2	68	22	10
4	1	69	23	8
5	0,2	49	42	8
6	0,1	40	54	7
7	0,02	11	79	9
8	0,01	11	83	6
9	0	5	89	6

Tabulka 2



Obrázek 3

Z grafu (obrázek 3) vyplývá, že ethanol chrání plasmidovou DNA před nepřímými účinky ionizujícího záření, přičemž k výraznému zvýšení ochrany dochází při koncentraci zhruba 0,02 %.

3 Závěr

Výsledek naší práce ukazuje, že ethanol snižuje možnost poškození makromolekuly DNA před nepřímými účinky ionizujícího záření, přičemž k evidentnímu nárůstu ochrany dochází při koncentraci zhruba 0,02 %.

Je nutné podotknout, že momentálně je tato metoda v praxi nevyužitelná, slouží pouze k vědeckým účelům. V budoucnosti by však mohlo být vodítkem k ochraně DNA proti ionizačnímu záření (př. jaderná katastrofa, ochrana kosmonautů ve vesmíru proti kosmickému záření).

Poděkování

Velký dík patří naší supervizorce Ing. Kateřině Pachnerové Brabcové, Ph.D. za seznámení s metodou agarózové elektroforézy, pečlivé vysvětlení tématu a příjemnou spolupráci, také Anně Michaelidesové za další informace k našemu tématu. Děkujeme i Ústavu jaderné fyziky AV ČR za umožnění práce v daném objektu. Také děkujeme kandidátu věd Vojtěchu Svobodovi za organizaci Týdnu vědy na Jaderce v Praze, jež nám umožnila obohatit se novými zajímavými vědomostmi.