

Abstinent versus alkoholik: na koho si vsadit v případě jaderné katastrofy

Š. Brabec¹, M. Kluger², J. Muller³, A. Šulcová⁴

Gymnázium Arcus¹, Gymnázium Tišnov², Gymnázium Alejová 1³,
Gymnázium Botičská⁴

simon.brabec.05@gmail.com, mrtinklgr@seznam.cz,
jakub.muller7@gmail.com, sulcova.betka@gmail.com

Abstrakt:

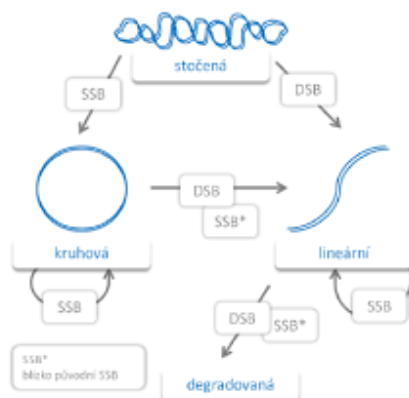
Naše práce se zabývá vlivem alkoholu na stupeň poškození plazmidové DNA ionizujícím zářením. Pomocí metody agarózové elektroforézy jsme zpracovali devět ozářených vzorků o různé koncentraci ethanolu, z nichž tři se nepovedly. Po zpracování dat jsme dokázali, že alkohol do určité míry působí jako radioprotektivum.

1 Úvod

Ionizující záření (IZ) pochází z mnoha zdrojů a vyskytuje se neustále kolem nás. Některé druhy jsou relativně neškodné, některé jsou smrtelné. Pochází z přírodních radionuklidů, jako je radon, kosmického záření, na Zemi odstíněného atmosférou, a umělých zdrojů, jako jsou radioterapie, jaderné zbraně apod.. Skládá se z částic nebo záření schopného ionizovat atomy nebo molekuly. V některých situacích, například ve vesmíru, se však od záření nedá schovat, kvůli čemuž se IZ stává pro organismy problematickým, hlavně pro jejich DNA.

DNA (deoxyribonukleová kyselina) je tvořena dvěma komplementárními řetězci, spojenými vodíkovými můstky, mezi páry bází stočených do šroubovice. Páteří řetězce je opakující se sekvence sacharidu deoxyribózy a fosfátu. Na každý sacharid se váže jedna ze čtyř možných dusíkatých bází, buď purinových (adenin, guanin), nebo pyrimidonových (cytosin, thymin). DNA se rozlišuje dále podle výskytu, buď v jádře buňky, anebo volně v ní ve formě plazmidu, u kterého je řetězec narozdíl od jaderné DNA kratší a zacyklený.

Z hlediska radiobiologie se dá buňka popsat jako zředěný vodný roztok s nukleonovou kyselinou, pro jednoduchost experimentů často nahrazenou plazmidovou DNA. Poškození se dělí na přímé, při kterém je energie absorbována přímo v molekule DNA, a nepřímé, při kterém dochází k poškození zprostředkovaně přes produkty radikálových reakcí vody. Pravděpodobnost přímého poškození je oproti nepřímému velice nízká, tudíž hlavním problémem pro buňky je poškození nepřímé, způsobované hlavně hydroxylovým radikálem OH[•], který z okolí vytrhává atomy vodíku. Poškozením komplementárních řetězců se mění terciární struktura DNA plazmidu (viz. obrázek 1). Jednoduchý zlom na jednom vlákně, není pro buňku tak závažný, zatímco dvojitý zlom na obou vláknech závažný je. V nejlepším případě způsobí programovanou smrt buňky, v horších případech buňka DNA chybně opraví za rizika vzniku nádorové buňky.



Obr. 1

Látkám, které chrání DNA před nepřímým poškozením se obecně říká radioprotektiva. Jedním z principů, na kterém fungují a který my budeme využívat, je vychytávání hydroxylových radikálů. Mezi takovátou radioprotektiva patří právě ethanol. Kvůli tomu máme hypotézu, že alkoholik, jehož tělo obsahuje více ethanolu než tělo abstinenta, bude více chráněn před IZ, kterému by byl vystaven při jaderné katastrofě.

2 Praktická část

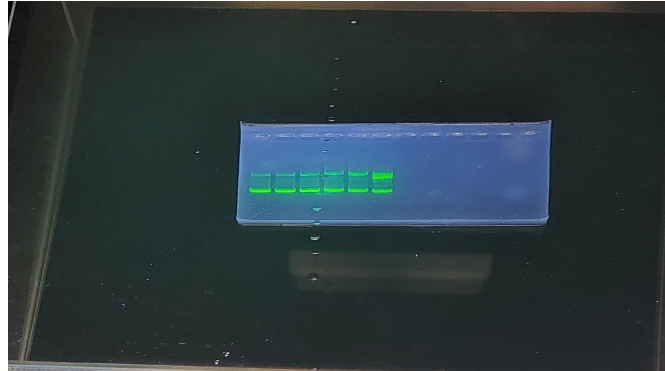
2.1 Materiály a metody

Nejdříve jsem si připravili 40 ml 1% agarózového gelu v 0.5x TAE pufru. Gel jsme nechali přibližně 20 minut vařit a poté jsme přidali 4 μ l fluorescenčního barviva SYBR Green I. Následně jsme jej nechali chladnout během přípravy vzorků. Těch jsme si připravili celkově 9, každý s postupně klesající koncentrací ethanolu (viz. tabulka). Jako zdroj ethanolu jsme použili 37,5% obj. vodku. Každý ze vzorků byl celkových 12 μ l, obsahoval 100 ng (55 ng/ μ l) plazmidu, a odlišné koncentrace ethanolu.

Vzorek	Obj. % ethanolu
1	25
2	10
3	2.5
4	1
5	0.25
6	0.1
7	0.025
8	0.01
9	0

Tab. 1

Následně jsme vzorky ozařovali z gama zdroje ^{60}Co dávkou 50 Gy, což zářiči trvalo 23 minut. Po ozáření jsme do každého vzorku přidali 2 μl nanášecího pufru, který obsahuje glycerol, díky němuž se vzorek při nanášení udrží v jamce. Ztuhlý gel jsme přesunuli do horizontální lázně, kterou jsme vyplnili 0,5x TAE puftrem. Poté jsme pomocí pipety nanесли vzorky do jamek. Pro následné rozdělení různě poškozených plazmidů jsme využili elektroforézu při napětí 100 V. To způsobilo migraci vzorků směrem k anodě, která trvala hodinu. Po hodině jsme vyfotili gel spolu se vzorky pod UV zářením (obr. 2).

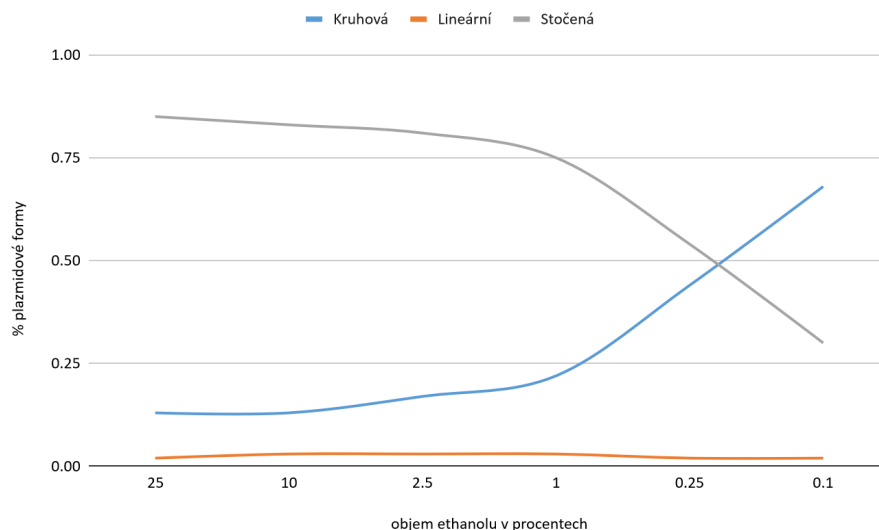


Obr. 2: gel se vzorky pod UV

2.2 Výsledky

Pod UV světlem jsme jasně viděli, že jsme ztratili 3 vzorky, vzorky 7,8 a 9. Chyba byly nejspíše způsobena nepřidáním plazmidové DNA do vzorků.

Z integrace grafu intenzit jednotlivých vzorků a jejich migrací jsme zjistili procentuální zastoupení plazmidových forem, specificky stočené, kruhové a lineární. Z těchto procentuálních zastoupení jsme vytvořili graf (graf 1), ze kterého jde vidět snižující se poškození DNA se zvyšující se koncentrací ethanolu.



Graf 1

2.3 Diskuze

Provedli jsme experiment na zodpovězení otázky, zda alkohol v těle člověka chrání před IZ při jaderné katastrofě. Výsledek našeho experimentu ukazuje, že ethanol sice patří mezi radioprotektiva, se zvyšující koncentrací ethanolu ve vzorcích se snižovala jejich míra poškození, ale výpovědná hodnota tohoto experimentu je pro zodpovězení původní otázky skoro nulová, jelikož chránění lidského těla a plazmidu v roztoku je velmi odlišné.

3 Závěr

Na reprezentativním modelu buňky jsme prokázali, že alkohol (ethanol) funguje za vysokých koncentrací v plazmidu jako radioprotektivum, ale nemůžeme s jistotou říci, jestli takto funguje i v lidských buňkách, jak jsme vysvětlili výše (viz. 2.3).

Poděkování

Poděkování za konzultaci, provedení projektem a ochotu patří naší supervizorce Ing. Kateřině Pachnerové Brabcové Ph.D. Velké díky patří také všem organizátorům Týdne vědy na Jaderce.

Reference

[1] https://is.muni.cz/el/1431/jaro2012/Bi8141/um/2-poskozeni_genomu_-_molek.pdf