

Mumie versus Zombie: na koho si vsadit v případě jaderné katastrofy

Alena Zavadová*
Kristýna Schwarzerová**
My Hanh Hoová***
Denisa Kottenová****

Gymnázium Olgy Havlové, Marie Majerové 1691,
Ostrava - Poruba, 708 00*
Gymnázium, základní škola a mateřská škola Hello s.r.o.,
Čs. exilu 491/23, Ostrava – Poruba, 708 00**
Gymnázium Teplice, Čs. Dobrovolců 11, Teplice, 415 01***
Gymnázium Litoměřická 726, Praha 9 - Prosek, 190 21****

alena.zavadova@seznam.cz*
kristyna.schwarzerova@seznam.cz**
hanh1998@seznam.cz***
dendiskova@seznam.cz****

Abstrakt:

Zombie nebo mumie? Kdo by přežil déle v případě jaderné katastrofy? Toto dilema bylo předmětem naší práce. Cílem bylo srovnat poškození suchého a tekutého vzorku DNA při jejím ozáření. K ozáření byl použit kobaltový zářič, přičemž pro detekci poškození bylo využito agarozové elektroforézy. Z výsledků našeho měření vyplývá, že při vypuknutí jaderné katastrofy by u DNA mumie hrozilo menší poškození.

1 Úvod

Ionizujícímu záření jsme v malé dávce vystaveni v průběhu každého dne. Často si však neuvědomujeme jeho potenciální účinky. V naší práci se budeme zabývat dopadem ionizujícího záření na molekulu DNA, konkrétně působením tohoto záření na DNA zombie a mumie. Jejich DNA bude zastoupena plasmidem pBR322 a použité vzorky budou odlišeny množstvím obsažené vody. V samotné práci popíšeme průběh agarozové elektroforézy, stavbu kobaltového zářiče a výsledný dopad ionizujícího záření na DNA. Výstupem naší práce bude zjištění, zda je poškození DNA menší u zombie nebo u mumie.

2 Teoretická část

2.1 Mumie

Obecně je známo, že mumie je tělo mrtvého člověka, či jiného živočicha, které bylo posmrtně mumifikováno, tedy bylo konzervováno. Mumifikace může být buď přirozená (vysušením, mrazem) nebo provedená člověkem (balzamování). V našem případě jsme pracovaly se suchým plasmidem DNA, tedy s plasmidem, který byl kompletně vysušený, a tudíž jsme u těchto vzorků mohly zanedbat vliv vodních radikálů na poškození plasmidu.

2.2 Zombie

Zombie, jinak zvaná též oživlá mrtvola, je postava často se objevující například v hororových filmech. Dle obecného popisu se obvykle jedná o osobu, která je někým nebo něčím ovládána a tedy slepě vykonává příkazy. Pro nás však byl důležitý obsah vody v plasmidu „její“ DNA. Jelikož zombie byla původně člověk, vycházely jsme z předpokladu, že obsah vody v plasmidu bude stejný jako u člověka.

2.3 DNA

Objektem našeho zkoumání byla DNA. DNA, neboli deoxyribonukleová kyselina je základní stavební a funkční jednotka živých systémů. Je tvořena z cukru (2-deoxy-D-ribosy), z bází (purinových a pyrimidinových) a z fosfátu. Purinové (adenin A, guanin G) a pyrimidinové (cytosin C, thymin T) báze se váží na sacharidy, následně tvoří řetězce a ty se přes vodíkové můstky a komplementární báze (A-T, G-C) spojují do charakteristické šroubovice.

2.4 Plasmid

Plasmid je malá kruhová molekula DNA, jež je schopná replikace a přirozeně se vyskytuje v cytoplazmě některých bakterií. Může v sobě kódovat různé doplňující vlastnosti, které jsou kupříkladu pro bakterie velmi důležité (vytváří jim odolnost vůči antibiotikům).

2.5 Kobaltový zářič

K ozáření vzorků byl využit kobaltový zářič, který se obecně využívá hlavně ve zdravotnictví a ke kalibraci zdravotnických zařízení.

2.6 Agarozová elektroforéza

Agarozová elektroforéza je jednou z nejpoužívanějších separačních technik. Používá se zejména k izolaci a analýze nukleových kyselin a to za pomoci agarozového gelu, který funguje jako molekulové síto. V našem případě jsme díky ní zjišťovaly úroveň poškození zkoumané DNA. Jejím principem je pohyb nabitých molekul v elektrickém poli, přičemž nukleové kyseliny přirozeně nesou záporný náboj, a tudíž se pohybují ke kladně nabitým elektrodě (anodě). Plasmidy se separují podle různých konformací.



Obrázek 1: Kobaltový zářič

2.7 Ionizující záření

Ionizující záření je druh záření, které je schopné ionizovat prostředí, kterým prochází.

Do tohoto záření řadíme:

Záření alfa α

Záření beta β

Záření gama γ

Toto záření má široké spektrum využití např. v medicíně či potravinářství a na člověka má jak pozitivní, tak negativní účinky.

3 Praktická část

Pro přípravu agarozové elektroforézy jsme potřebovali vytvořit gel, do kterého se následně přidají vzorky suché a tekuté DNA.

3.1 Tvorba gelu

Gel se tvoří smícháním 40 ml pufru a 0,4 g agarozy. Roztok přivedeme k bodu varu a následně za stálého míchání necháme vychladnout na teplotu 60°C, abychom mohly přidat detekční barvivo. Poté se celý gel vlévá do elektroforetické vaničky a na hodinu nechá ztuhnout.

3.2 Tvorba suchého roztoku

Vytvoříme si jeden roztok, který budeme následně rozdělovat do menších. K tvorbě tohoto roztoku potřebujeme 150 ng/vzorek DNA, což odpovídá 1,67 μ l plasmidu DNA o koncentraci 989 ng/ μ l a zároveň přidáme 53 μ l vody. Následný roztok (11 vzorků) rozdělíme do menších vzorků (5 pro jednu skupinu, 5 pro druhou skupinu a 1 pro případné ztráty). Roztoky určené skupinám se dělí každý vzorek na 2 „kapičky“ po 2,5 μ l. Roztoky následně necháme 30 min sušit. Po ozáření je znovu rozpustíme v destilované vodě a pro následné zpracování elektroforetickou metodou musíme k roztoku přidat 2 μ l fosfátu a 8 μ l destilované vody.

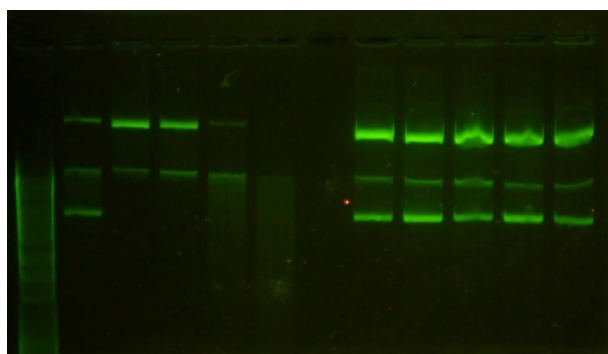
3.3 Tvorba tekutého roztoku

Každá skupina si přichystala 6 vzorků (1 pro případé ztráty). Na celkový roztok je potřeba 100 ng/vzorek DNA, což odpovídá 0,61 μl DNA, také jsme přidaly 47,39 μl vody a 12 μl fosfátu.

4 Výsledky

Z obrázku jsme porovnali procentuální obsah poškozených a nepoškozených konformací plasmidu ve vzorcích. Vlevo se nachází tekuté vzorky, které jsou mnohem více poškozeny než vzorky suché (na obrázku vpravo).

V následujících tabulkách je znázorněno, jak na plasmidy působí záření. U suchých vzorků nejsou plasmidy natolik poškozovány, jako u tekutých.



Obrázek 2: Srovnání suchých a tekutých ozařených vzorků

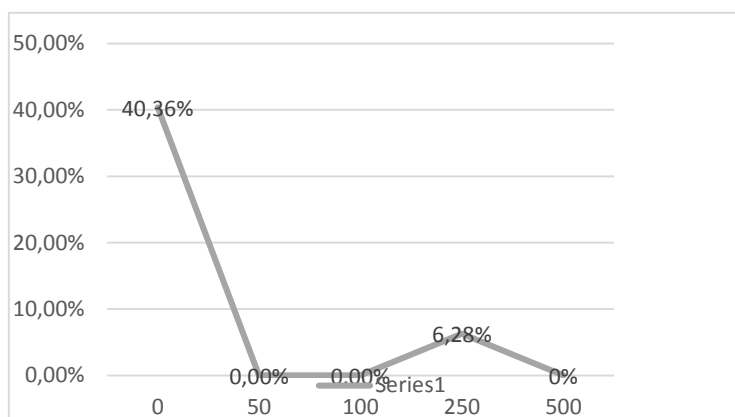
Tabulka 1: Procentuální poměr zdravých a poškozených plasmidů v tekutém vzorku

Sloupec1	0 Gy	5 Gy	10 Gy	25 Gy	50 Gy
Stočená	40,36%	0,00%	0,00%	6,28%	0%
Cirkulární	31,48%	89,93%	77,94%	23,81%	0%
Lineární	28,17%	10,07	69,91	69,91%	100%

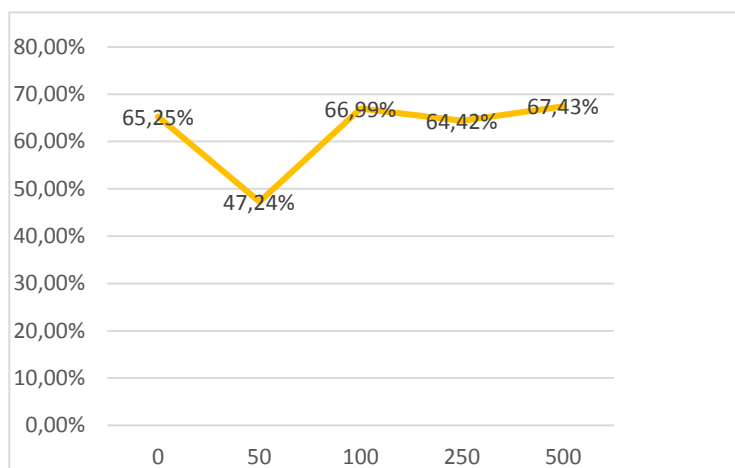
Tabulka 2: Procentuální poměr zdravých a poškozených plasmidů v suchém vzorku

Sloupec1	0 Gy	50 Gy	100 Gy	250 Gy	500 Gy
Stočená	65,25%	47,24%	66,99%	64,42%	67,43%
Cirkulární	26,03%	44,02%	20,75%	27,96%	26,28%
Lineární	8,72%	8,76%	12,26%	7,63%	6,29%

Grafy ukazují procentuální hodnoty zdravých plasmidů při různých dávkách záření.



Obrázek 3: Graf znázorňující procento nepoškozené formy plasmidu v tekutém vzorku



Obrázek 4: Graf znázorňující procento nepoškozené formy plasmidu v suchém vzorku

5 Shrnutí

Zjistily jsme, že budeme-li kobaltovým zářičem ozařovat zombie (tekutý vzorek DNA) nebo mumii (suchý vzorek DNA), méně poškozená bude DNA mumie, díky přímému poškození je menší pravděpodobnost, že plasmid bude ozařen. Důvodem je, že zombie byla vystavena radikálům, které vznikly při ozaření vody a následně pak reakce s radikály způsobily naprostou devastaci DNA. Tato reakce se nazývá nepřímé záření.

Poděkování

Děkujeme Ing. Anně Michaelidesové za obětavou pomoc, podnětné připomínky a trpělivost při vedení naší práce.

Reference:

- [1] MICHAELIDESOVÁ, Anna. *DNA a radikály*. Ústav jaderné fyziky, 2013.
- [2] PAPOUŠEK, Ivo. *Molekulární biologie v hygieně potravin* [online]. 2014 [cit. 2016-06-21]. Dostupné z: https://fvhe.vfu.cz/informace-o-fakulte/sekce-ustavy/ubchvzz/materialy/prednasky/mbhp_2014_02.pdf