

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

M. Malá¹, K. Svobodová², J. Míka³, Z. Navrátil⁴

¹1.SJG, ²Gymnázium Christiana Dopplera, ³SZŠ Brno,

⁴Gymnázium Tišnov,

svobodovak@gchd.cz

Ing. Kateřina Pachnerová Brabcová Ph.D, ÚJF AV ČR

Abstrakt:

Náš miniprojekt zkoumal, jak alkohol ovlivňuje poškození plasmidu pBR322, reprezentujícího DNA, ionizujícím zářením. Použili jsme agarózovou elektroforézu k analýze devíti vzorků s různými koncentracemi ethanolu a jeden kontrolní vzorek, který nebyl podroben ozařování. Výsledky miniprojektu naznačují, že alkohol může do určité míry působit jako radioprotektivum.

1 Úvod

Ionizující záření (IZ) pochází z radionuklidů a vyskytuje se všude kolem nás. Můžeme uvést kosmické záření nebo radon. Existují, ale i umělé formy IZ jako jsou: radioterapie nebo zobrazovací vyšetření. IZ může ionizovat atomy nebo molekuly, což představuje problém hlavně pro DNA, která je citlivá na poškození. DNA je složena ze dvou komplementárních řetězců propojených vodíkovými můstky mezi bázemi, a její poškození může vést k vážným biologickým následkům.

Poškození DNA může být přímé (energie je absorbována přímo v molekule DNA) nebo nepřímé (způsobené radikálovými produkty vody, zejména hydroxylovým radikálem OH⁻). Nepřímé poškození je častější a může způsobit významné změny v DNA. Příkladem je jednoduchý zlom, kdy se ze stočného řetězce stane kruhový, avšak častějším případem bývá zlom dvojité, kdy se řetězec mění na lineární. Přechod na lineární DNA může proběhnout přímo nebo při dvou na sobě nezávislých zlomech.

Radioprotektiva jsou látky, které chrání DNA před nepřímým poškozením. Ethanol je jedním z těchto radioprotektiv, protože vycytává hydroxylové radikály. Naše hypotéza je, že lidé s vyšší hladinou ethanolu v těle mohou být lépe chráněni před IZ.

2 Tělo příspěvku

2.1 Materiály a metody

Na přípravu agarózového gelu pro elektroforézu jsme použili 0,4 g agaru a 40 ml TAE pufru. Vše jsme smíchali v kádince a gel jsme nechali vařit, dokud nebyl průzračný. Poté jsme přidali 4 μ l fluorescenčního barviva SYBR Green I. Následně jsme směs přemístili do forem a nechali zatuhnout. Mezitím jsme si připravili vzorky každý o objemu 12 μ l. V každém vzorku bylo 100 ng plasmidu a 2 μ l fosfátového pufru draselného(0,1M). Do každého vzorku jsme přidali příslušné množství ethanolu(viz tab.1). Všechny vzorky jsme následně doplnili destilovanou vodou do námi stanoveného objemu 12 μ l.

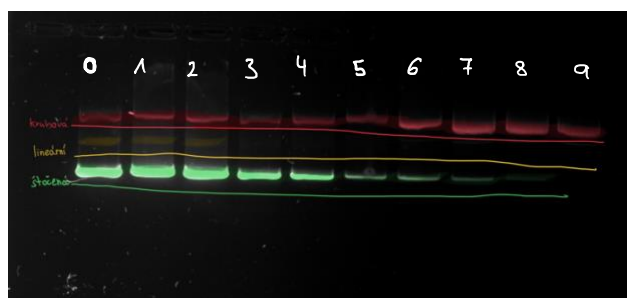
Tabulka 1

| Vzorek č. | Obj. % ethanolu |
|-----------|-----------------|
| 0 | 0 |
| 1 | 25 |
| 2 | 10 |
| 3 | 2,5 |
| 4 | 1 |
| 5 | 0,25 |
| 6 | 0,1 |
| 7 | 0,025 |
| 8 | 0,01 |
| 9 | 0 |

Vzorky jsme podrobili dávce ozařování o délce 27 minut, při kterém byly vzorky vystaveny záření 50Gy ze zdroje ^{60}Co , který vyzařuje gama záření v podobě fotonů. Následně jsme do každého o vzorku přidali 2 μ l pufru, obsahujícího glycerol, díky němuž se vzorek udržel v agarové jamce. Agarový gel jsme přemístili do horizontální lázně vyplněnou 0,5x TAE puftrem. Nanesli jsme vzorky do jamek a vystavili elektroforéze při napětí 100 V, díky které jsme byli schopni rozlišit poškození plasmidů. Elektroforéza funguje na principu schopnosti vzorků migrovat v elektrickém poli k anodě. Nakonec jsme vzorky podrobili UV zářením a výsledky zpracovali.

2.2 Výsledky

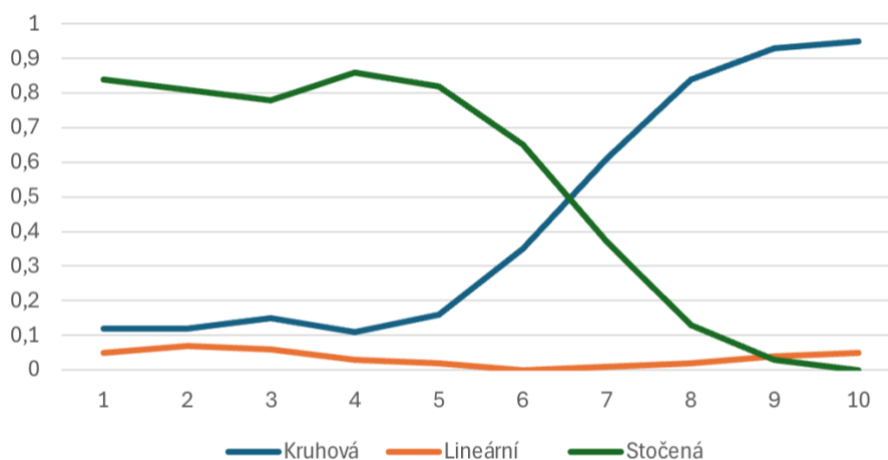
Pod UV světlem jsme jasně viděli různé pohyblivosti a poškození forem plasmidové DNA v agarózovém elektroforetickém systému(viz. obr 2). DNA je zde díky fluorescenčnímu barvivu zviditelněna.



Obrázek 2

Analýza intenzit a migrace vzorků ukázala, že se zvyšující koncentrací ethanolu se snižovalo poškození DNA (viz. graf 1)

Graf 1



2.3 Diskuze

Provedli jsme experiment odpovídající na otázku, zda alkohol v těle člověka chrání před IZ při jaderné katastrofě. Na tuto otázku nemůže plně odpovědět, neboť náš miniprojekt byl proveden pouze na reprezentativním modelu buňky v podobě plasmidu a zatím nebyl proveden pokročilejší výzkum. V porovnání výsledků z minulých let dokazují, že ethanol může působit do jisté míry jako radioprotektivum. Avšak i nadále zbývají nezodpovězené otázky na mnoho důležitých faktorů při jaderné katastrofě. Do jaké míry by bylo rozdílné chování alkoholika oproti abstinentovi? Do jaké výše radiace by byl alkoholik schopen fungovat?

3 Závěr

Na zjednodušeném modelu buňky jsme zjišťovali, zda ethanol funguje za vysokých koncentrací v plasmidu jako radioprotektivum. Nemůžeme s jistotou říci, jestli takto funguje i v lidských buňkách, jak jsme již v příspěvku výše vysvětlili.

Reference

- [1] *Využití kometového testu pro stanovení poškození DNA v průběhu protinádorové chemoterapie*. Online, Diplomová. Hradec Králové: Faf cuni, 2011. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/31896/120032717.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. [cit. 2024-06-18].
- [2] Singh H, Apte SK. Low concentrations of ethanol during irradiation drastically reduce DNA damage caused by very high doses of ionizing radiation. *J Biosci*. 2018 Mar;43(1):15-23. PMID: 29485112.