

Abstinent versus alkoholik – kdo přežije jadernou katastrofu?

V. Volejníková – Gymnázium Česká Lípa,
M. Motanová – Wichterlovo gymnázium, Ostrava
D. Koutný – Slovanské gymnázium, Olomouc

koutasd@seznam.cz

Abstrakt:

Ionizující záření může vést k poškození DNA. Abychom tomu zabránili, můžeme využít jeden z následujících postupů: zvýšit vzdálenost od zdroje, odstínit zdroj záření, nebo snížit dobu působení záření. Účinnou ochranou mohou být také tzv. scavengery, tedy látky schopné vychytávat volné radikály. V našem experimentu jsme si jako ochranu zvolili ethanol a sledovali jsme, jak se s jeho zvyšující koncentrací snižují škodlivé vlivy záření na plasmid. Jako metodu jsme si zvolili agarózovou elektroforézu, která nám umožnila odlišit jednotlivé konformace plasmidové DNA. Prováděný výzkum naši hypotézu potvrdil a otevřel tak cestu dalším výzkumům, věnujícím se využití scavengerů.

1 Úvod

Ionizující záření představuje riziko poškození všech živých organismů. Ohroženy jsou všechny části buňky, včetně té nejdůležitější – DNA, jejíž poškození může vést k mutaci buněk a k následnému rakovinnovému bujení. Potencionální hrozbu představují rentgenová a radioizotopová lékařská vyšetření, jaderné výbuchy nebo stavební materiály. Zatímco organismům na Zemi poskytuje přirozenou ochranu atmosféra, astronauti jsou vystaveni také kosmickému záření a lidstvo tak stojí před nelehkým úkolem najít způsob, jak se mu bránit. Existují dva mechanismy poškození DNA. Pokud je energie absorbována přímo v molekule, jde o poškození přímé. Když ale poškození zprostředkovávají produkty radikálových reakcí vody, jedná se o nepřímé poškození. Větší význam mají nepřímé účinky. A jak se můžeme bránit? Možným řešením je použití tzv. vychytávačů (scavengerů), tedy látek, které jsou schopné vychytávat volné radikály. Mezi tyto vychytávače patří vitamíny C, E, thioly, ethanol atd. My jsme použili ethanol. Naším úkolem bylo zjistit míru ochrany DNA před ionizujícím zářením s rostoucí koncentrací ethanolu. Pro náš experiment se nejlépe hodí plasmidová DNA, jako model buňky.

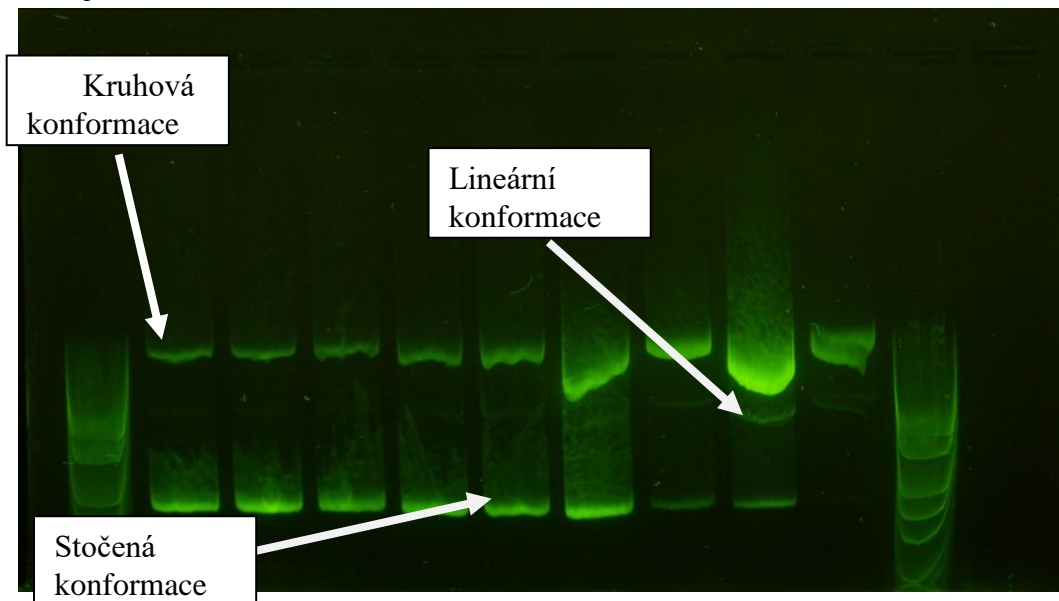
2 Experiment

Materiály a metody

Abychom ověřili hypotézu, že ethanol zmenšuje riziko poškození DNA nepřímým ionizujícím zářením zvolili jsme metodu elektroforézy. Pro zjednodušení experimentu jsme místo chromozonní DNA použili DNA plasmidovou. Začali jsme přípravou gelu pro elektroforézu.

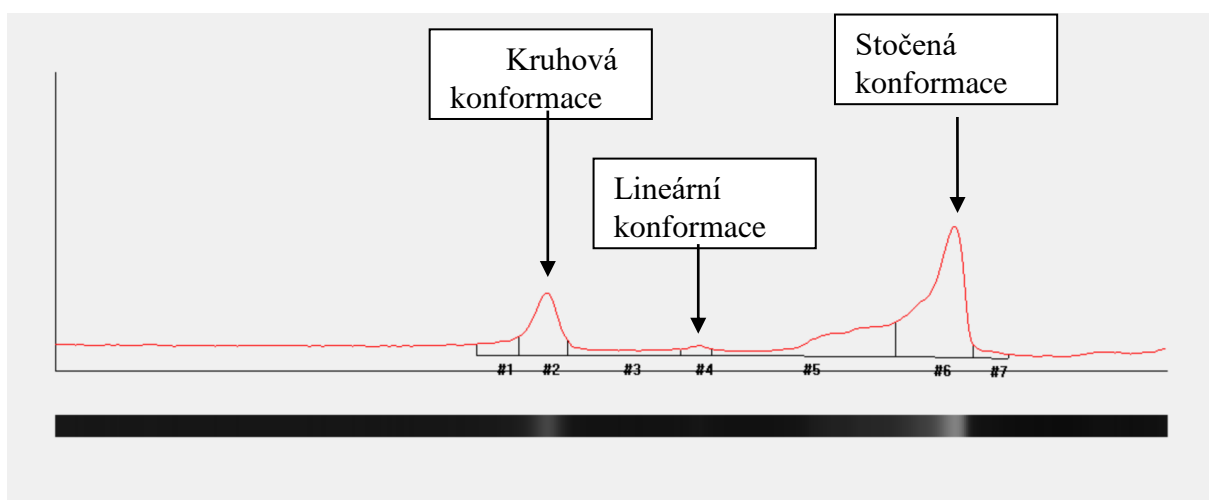
Gel jsme připravili z agarózy, pufru a barviva SYBR Green I. Poté jsme připravili vzorky z plazmidu 100 ng, pufru 2 μ l, a ethanolu o různé koncentraci. Látky jsme ozařovali na gama zdroji kobaltem 60 po dobu 10 min 51 s. Vzorky tak absorbovali dávku o velikosti 50 Gy. Po jejich schlazení jsme nanесли vzorky na gel. Následně jsme přešli k elektroforéze. Elektroforéza je metoda k oddělení některých látek (DNA, bílkoviny a jejich fragmentů). Je založena na různé pohyblivosti nabitých molekul v elektrickém poli. Elektroforéza probíhala pod napětím 100 V 75 min, po jejím ukončení jsme vyfotili gel pod UV zářením a sledovali výsledky.

Výsledky

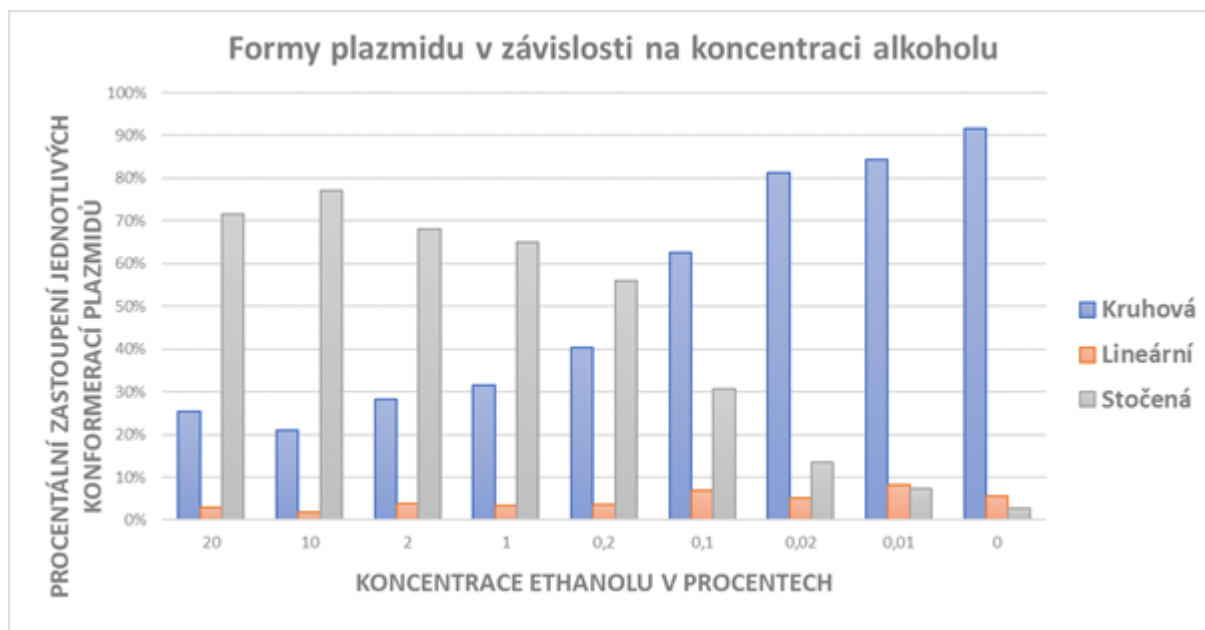


Obrázek 1- Sledované vzorky na gelu pod UV lampou

Vidíme, že se vlivem elektroforézy vzorky DNA rozdělily do tří linií. Nahoře je plazmid v kruhové konformaci, uprostřed v lineární konformaci a dole v stočená konformaci.



Obrázek 2 - Zastoupení jednotlivých forem plazmidu v 1. vzorku



Obrázek 3 - Zastoupení forem plazmidu v závislosti na koncentraci alkoholu

Z grafů vyplývá, že lineární konformace plazmidů je minimálně zastoupená a s klesající koncentrací ethanolu mírně stoupá. Stočená forma plazmidů je u vyšších koncentrací procentuálně nejvíce početná, ale u nižších koncentrací klesá, až je téměř nulově zastoupená. Naopak kruhová forma plazmidů se u vysokých koncentrací pohybuje okolo 20-30 %, postupně narůstá až přesáhne hodnotu 90 %.

Dle ostatních výsledků na pracovišti ta usuzujeme, že chyba měření je asi 10-15 %.

Hodnocení výsledků

Dle našich výsledků je jednoznačně jisté, že ethanol působí jako scavenger a působí částečnou ochranu před nepřímým poškozením DNA z ionizujícího záření. Může se zdát, že lze použít ethanol i na lidech, ale není to možné, protože něco jiného je aplikovat ethanol na plazmid a o hodně odlišné je tímto chránit člověka. Nejdříve je potřeba provést úspěšný test na plazmidech, poté na buňkách, tkáních, zvířatech a teprve poté až je dané téma dobře prozkoumáno. I kdyby to fungovalo i na člověka, musel by pravděpodobně mít v krvi příliš vysokou hodnotu alkoholu. Je zřejmé, že tato problematika není vyřešena.

3 Shrnutí

Dospěli jsme k závěru, že ethanol je účinnou ochranou plazmidu před ionizujícím zářením. V experimentu s plasmidovou DNA se potvrdilo, že čím je koncentrace ethanolu vyšší, tím větší je procentuální zastoupení nepoškozené-tedy stočené-konformace plasmidu. Dostatečně účinnou pro člověka se však ochrana ethanolom zřejmě stává až při jeho vysoké koncentraci, která je pro lidský organismus nereálná. Navíc jsme pokus pro jeho zlevnění a zjednodušení prováděli s plasmidovou DNA, a nikoliv s chromozomální DNA a také jsme zanedbali přítomnost ostatních částí buněk s obrannými mechanismy a tedy je na výsledek třeba nazírat se značnou rezervou.

Poděkování

V první řadě bychom chtěli poděkovat Oddělení dozimetrie záření Ústavu jaderné fyziky a zejména pak naší supervizořce Ing. Kateřině Pechnerové Brabcové za trpělivé vedení a pomoc. Dále děkujeme fakultě FJFI a inženýru Vojtěchu Svobodovi za organizaci Týdně vědy a možnost přičuchnout si k vědecké práci.