

ПОРУШЕННЯ ПРАВИЛ БЕПЕКИ В ПРОЦЕСІ ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ ДНК

*Гнатюк М. О., студ. (гр. БТ-62, ФБТ КПІ ім. Ігоря Сікорського);
Гусєв А. М., к.б.н., доц. (каф. ОППЦБ КПІ ім. Ігоря Сікорського)*

Анотація. Розглянуто загальнообов'язкові заходи безпеки працівників при проведенні досліджень, що потребують використання методу електрофорезу ДНК та типові порушення при роботі з даним методом, що здатні призвести до тяжких наслідків. Запропоновані заходи для ліквідації типових порушень та унеможливлення настання нещасних випадків.

Ключові слова: електрофорез ДНК, техніка безпеки, особистий захист, порушення особистої безпеки, шкідливі чинники, бромистий етидій, УФ-світло.

Abstract. Considered mandatory measures of safety of workers in conducting research that requires the use of the method of DNA electrophoresis and typical violations when working with this method, which can lead to severe consequences. Proposed measures to eliminate typical violations and to prevent accidents.

Keywords: DNA electrophoresis, accident prevention, personal protection, personal safety violations, harmful factors, ethidium bromide, UV light.

Вступ. Електрофорез традиційно займає важливе місце при дослідженні білків і нуклеїнових кислот. Метод дозволяє розділяти макромолекули за розмірами, просторовою конфігурацією, вторинною структурою і зарядом, що в поєднанні з простотою і зручністю у використанні робить його незамінним не тільки для якісного, а й для кількісного аналізу макромолекул [1].

Аналіз стану питання. При використанні методу електрофорезу ДНК, особа, що виконує дослід, піддається впливу ряду надзвичайно шкідливих чинників, таких як УФ-випромінювання та вплив канцерогенного з'єднання – бромистого етидію. Зважаючи на це, дуже важливим є привернення уваги працівників до типових порушень при роботі з даним методом задля того, щоб уникнути значного погіршення стану здоров'я, що суттєво впливає на працездатність працівників.

Мета роботи: Розглянути типові порушення при роботі з даним методом, що здатні призвести до тяжких ускладнень стану здоров'я та шляхи запобігання розглянутих порушень заходів безпеки.

Методики, матеріали і результати досліджень. Біологічні макромолекули - білки, нуклеїнові кислоти, полісахариди - знаходяться в розчині у вигляді частинок, які за своїми розмірами відповідають колоїдним частинкам. Вони несуть певний електричний заряд завдяки наявності груп, здатних до електролітичної дисоціації. Так, заряд нуклеїнових кислот визначається дисоціацією фосфатних груп, тому ДНК в нейтральних і лужних середовищах заряджена негативно [2]. Під дією електричного поля заряджені частинки переміщуються до катода або анода в залежності від знаку їх сумарного заряду. Таке явище називається електрофорезом. Під час

електрофорезу швидкість міграції аналізованих частинок визначається шляхом спостереження за переміщенням барвника. Прилади всіх типів електрофорезу складаються з двох електродних посудин і пристрою для підтримки підтримуючої основи (паперу, крохмалю, агарозного або акріламідного гелю) в певному положенні між посудинами. Як електроди зазвичай застосовують платиновий дріт [3].

При роботі з даним методом необхідно піклуватися про особисту безпеку, адже використання небезпечних речовин та шкідливих чинників здатне призвести до нещасних випадків. Одним з таких чинників є бромистий етидій, що забарвлює ДНК, протискуючись між парами основ. Це призводить до порушення цілісності ДНК, оскільки присутність бромистого етидію викликає напругу в структурі. Місця розривів стають місцями для мутацій. Крім того, при цьому необхідно використовувати УФ-світло, що являється ще одним канцерогенним агентом, щоб візуалізувати барвник. Таким чином, це тільки робить даний компонент ще більш небезпечним

Процес електрофорезу є достатньо складним і при неправильному використанні здатен викликати погіршення стану здоров'я, тож робота за цим методом потребує дотримання таких заходів особистої безпеки:

- на всіх етапах проведення дослідження працюють в захисному одязі (медичний халат), одноразових рукавичках, масці;

- знешкодження біоматеріалів і реагентів проводять для кожної стадії окремо, поміщаючи одноразовий пластиковий посуд (пробірки, наконечники) в спеціальні контейнери, що містять дезінфікуючих розчин;

- фотографування гелів і візуальний контроль розділення нуклеїнових кислот за допомогою трансільюмінатора здійснюють з використанням захисного екрану або спеціальної захисної маски, так як ультрафіолетове світло викликає опіки обличчя і слизової оболонки очей;

- необхідно пам'ятати, що УФ-світло викликає мутації і руйнування досліджуваної ДНК, тому тривала експозиція продуктів в УФ-світлі призводить до зниження інтенсивності світіння;

- оскільки бромистий етидій – канцерогенне з'єднання, що зв'язує ДНК і викликає мутації в ній, при роботі необхідно дотримуватися правил безпеки:

1. працювати в одноразових рукавичках;
2. при попаданні на шкіру або слизові оболонки ретельно промити відповідну ділянку водою;
3. реагенти, що містять бромистий етидій, перед утилізацією піддавати спеціальній обробці.

У випадку потрапляння бромистого етидію на шкіру або слизові оболонки вражені ділянки необхідно промити водою і звернутись за допомогою до відповідальної особи з питань безпеки [4].

Незважаючи на те, що використання даного методу вимагає дотримання чітких правил безпеки, працівники часто недооцінюють можливі ризики, що може призвести до тяжких наслідків. Найбільш розповсюдженими порушеннями є:

1. використання тонких, неякісних одноразових рукавиць з метою економії коштів сприяє потраплянню бромистого етидію, що є сильним мутагеном, на шкіру або слизові оболонки. Необхідно використовувати одноразові рукавиці зі щільної гуми;

2. недостатній захист від УФ-випромінювання.

Працювати завжди потрібно в захисній масці, перед використанням перевіряти прилади на справність, не залишати ввімкнені прилади з УФ-випромінюванням без нагляду і необхідного особистого захисту, адже дія УФ-випромінювання є непомітною, проте викликає тяжкі наслідки. Дотримання цієї вимоги є обов'язковою при застосуванні трансільюмінатора (довжина хвилі 254-470 нм), що використовується для детекції молекул нуклеїнових кислот, розділених в гелевому електрофорезі;

3. несвоєчасне додавання бромистого етидію до суміші агару та буферу, що нагрівається, для економії часу.

Бромистий етидій можна додавати в суміш лише в кінці приготування, перед безпосереднім використанням гелю, адже дане з'єднання є канцерогенним і вдихати пари, що виділяються при його нагріванні, суворо забороняється.

Усі маніпуляції, які включають: - приготування розчину етидію бромистого; - внесення розчину етидію бромистого в розчин агарози; - заливку агарози у форму для геля; - переміщення агарози у прилад для горизонтального електрофорезу; - контроль розділення нуклеїнових кислот та фотографування геля за допомогою трансільюмінатора; - утилізацію використаного агарозного геля проводять в спеціальних одноразових рукавицях, а за необхідності - під витяжною шафою [5].

Висновки. При проведенні електрофорезу ДНК надзвичайно важливим є дотримання всіх заходів особистої безпеки (використання захисного одягу і правильне поводження з канцерогенними з'єднаннями, шкідливими фізичними й хімічними чинниками) та ліквідації типових порушень, таких як використання неякісних і тонких одноразових рукавиць, недостатній захист від УФ-випромінювання, несвоєчасне додавання бромистого етидію до суміші агару та буферу, що нагрівається. Виконання всіх правил використання даного методу є обов'язковим задля збереження власного здоров'я та уникнення нещасних випадків.

Література

1. Жолобова И. С. Методические указания по проведению практических занятий по курсу «Основные методы исследования биологических материалов» для аспирантов направления 06.06.01 Биологические науки направленность Биохимия/ Жолобова И. С. // Краснодар 2014

2. Slater G.W., Kist T.B., Ren H., Drouin G.. (1998) Recent developments in DNA electrophoretic separations. Electrophoresis. 19(10), 1525-1541.

3. Bustamante C., Gurrieri S. Smith S.B. (1993) Towards a molecular description of pulsed-field gel electrophoresis. Trends biotechnol., 11(1), 23-30.

4. Гааль Э., Медъеши Г., Верецкеи Л. Электрофорез в разделении биологических макромолекул: Пер. с англ. — М.: Мир, 1982. — 448 с., ил.

5. Slater G.W., Guillouzie S., Gauthier M.G., Mercier J.F., Kenward M., McCormick L.C., Tessier F. (2002) Theory of DNA electrophoresis. *Electrophoresis*. 23(22-23), 3791-816.