

중성자 및 γ -ray 조사에 따른 plasmid DNA 의 손상 관찰 Plasmid DNA damage by neutron and γ - radiation

천기정, 김명섭, 서원숙
한국 원자력 연구소, 동위원소 이용 연구부

Abstract

The plasmid was used pBR 322 and ϕ X174 RF DNA. In neutron experiment, damage of pBR 322 and ϕ X174 RF DNA were observed according to increasing concentration of BSH and neutron dose. Damage of plasmid DNA appeared obvious by increasing of BSH and neutron irradiation. In γ - radiation experiment, it was carried out like above neutron experiment but damages of two plasmid appeared no differences from the control unlike neutron result.

요 약

플라스미드는 pBR 322(2870bp)와 ϕ X174 RF DNA(5386bp)를 사용하였다. 중성자 조사에서 pBR 322 와 ϕ X174 RF DNA 는 BSH(boron sulfhydryl hydride)의 농도와 조사선량에 따라 DNA 의 손상 정도를 관찰하였다. BSH 의 농도가 증가하고, 중성자 조사선량이 증가할수록 DNA 손상이 증가되는 것을 뚜렷하게 관찰하였다. γ - radiation 은 중성자 조사에서와 같이 BSH 의 농도와 조사선량에 따른 DNA 손상을 관찰한 결과, BSH 의 농도와 조사선량의 증가에도 두 플라스미드는 대조군과 큰 차이가 없음을 관찰하여 보론화합물이 중성자와 감마선 조사에 의해 plasmid DNA 의 손상정도가 다름을 알 수 있었다.

서 론

플라스미드는 세균 내에 존재하는 환상의 double-stranded DNA(dsDNA)로서, 모든 플라스미드는 복제 개시점(origin of replication)이 될 수 있는 적어도 한 개의 DNA 염기서열을 갖고 있어 세포내에서 세균의 염색체와 독립적으로 존재한다[1]. 플라스미드는 supercoil 형태로 존재하지만 제한효소의 처리, 활성산소종(reactive oxygen species)에 의해 전달된 radical process, ionizing radiation 이나 laser photolysis 에 의해 relax 한 형태와 nick 한 형태의 open circular 형태와 linear 형태로 손상을 초래한다[2]. 많은 플라스미드는 항생물질, 중금속, UV radiation 에 방어하는 독특한 물질대사의 기능을 암호화한다[3,4]. 본 실험에서는 BNCT 의 생물학적 기초자료 확보의 일환으로 두 종류의 플라스미드에 보론 화합물을 첨가하여 중성자와 γ - radiation 으로 조사하여 플라스미드의 손상 여부를 비교 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 중성자 조사

pBR322 DNA, ϕ X174 RF DNA 를 사용하여, BSH 을 첨가하고 한 시간 후에 중성자를 조사하였다. BSH 는 75 및 150ppm 으로 하였으며, 중성자는 하나로 원자로내의 BNCT 시설에서 10, 30 및 60Gy 를 조사하였다.

2. γ - radiation 조사

위와 같은 플라스미드를 사용하였으며, BSH 는 37.5, 75 및 150ppm 으로 하였고, γ - radiation 은 Cobalt-60 선원을 사용하여 7.5, 15 및 30Gy 를 조사하였다.

3. 전기 영동 확인

중성자와 γ - radiation 로 조사한 각각의 plasmid 를 전기영동으로 확인하였다. Electrophoresis buffer 에 1% agarose gel 로 dye solution 과 조사한 플라스미드를 적정량 첨가하여 50 voltages 에서 45 분 동안 전기 영동 하여 plasmid DNA 의 손상 여부를 확인하였다.

결과 및 고찰

중성자와 γ - radiation 이 DNA 에 어떠한 손상을 주는지 알아보기 위해 상용화된 플라스미드 pBR 322(2870bp)와 ϕ X174 RF DNA(5386bp)를 사용하여 보론화합물 첨가후 중성자 조사한 결과(Fig.1), BSH 의 농도가 높을수록, 중성자 조사선량이 증가할수록 DNA degradation 이 증가함을 뚜렷하게 관찰하였다. 같은 방법으로 γ - radiation(Fig. 2)는 중성자 조사와는 달리 BSH 의 첨가량과 조사선량이 증가에도 불구하고 두 플라스미드는 대조군과 차이가 적었지만 ϕ X174 RF DNA 에서는 선량이 높고, BSH 의 첨가량이 증가할수록 open circular 형태와 linear 형태가 조금씩 나타났다. 본 실험 결과로서, 붕소화합물인 BSH 가 중성자를 포획하여 알파선을 방사하고[5, 6], 방사된 알파선이 플라스미드 DNA 를 손상하여 open circular 형태와 linear 형태가 나타남을 확인하였다. γ - radiation 은 대조군과 같은 형태를 보이며, DNA 손상정도를 확인할 수 없었다. 이것은 BSH 가 γ - radiation 에 의해 DNA 손상을 방어하는 물질로 작용하는 것으로 보여지므로 보론 화합물의 두 방사선 조사에 의한 plasmid DNA 손상 정도가 상반되는 결과를 보여주고 있다.

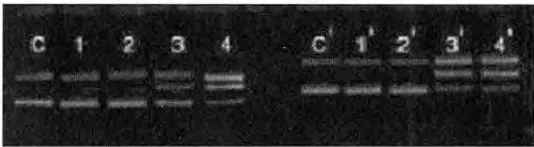


Fig. 1. Agarose-gel electrophoresis of plasmid DNA irradiated with neutron. The C-4 is pBR 322 and C'-4' is ϕ X174 RF DNA : C,C', control; 1,1', 10Gy(75ppm of BSH); 2,2' 30Gy(75ppm); 3,3', 30Gy(150ppm); 4,4', 60Gy(150ppm).



Fig. 2. Agarose-gel electrophoresis of plasmid DNA irradiated with γ - radiation. The C-5 is pBR 322 and C'-5' is ϕ X174 RF DNA : C,C', control; 1,1', 7.5Gy(37.5ppm of BSH); 2,2' 7.5Gy(75ppm); 3,3', 15Gy(150ppm); 4,4', 30Gy(75ppm); 5,5', 30Gy(150ppm).

참고 문헌

- [1] K. Hasegawa and H. Yoshioka, *Radiat. Phys. Chem.*, 49:81-84(1997).
- [2] J. H. S. and K. C. Sung, *Int. J. Pharms.* 257:75-84(2003).
- [3] S. A. Nevins, and Z. E. Nackerdien. *J. Chromatogr. B*, 741:243-255(2000).
- [4] B. A. Siles and G. B. Collier. *J. Chromatogr. A*, 771: 319-329(1997).
- [5] J. A. Coderre and G. M. Morris, *Radiat. Res.*, 151:1-18(1999).
- [6] K. Ono and J. H. Goodman, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 47:209-218(2000).