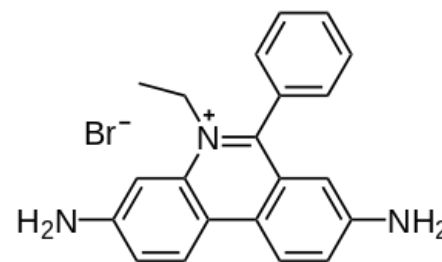


Ethidiumbromid

Ethidiumbromid, (*3,8-Diamino-5-ethyl-6-phenylphenanthridin bromid*), zkr. EtBr, je fluorescenční látka používaná pro detekci nukleových kyselin v agarózové nebo polyakrylamidové elektroforéze. Interkaluje se mezi jednotlivé báze antiparalelních vláken dvoušroubovice DNA, ale i mezi báze jednovláknové DNA a vlákna RNA, byť velmi slabě, a tím dochází k deformaci vlákna.^[1]

Následně, po vmezeření mezi báze nukleových kyselin a ozáření UV světlem, dochází k fluorescenci. Vzhledem k interakci s DNA je EtBr považován za kancerogenní, mutagenní a teratogenní.^[2]



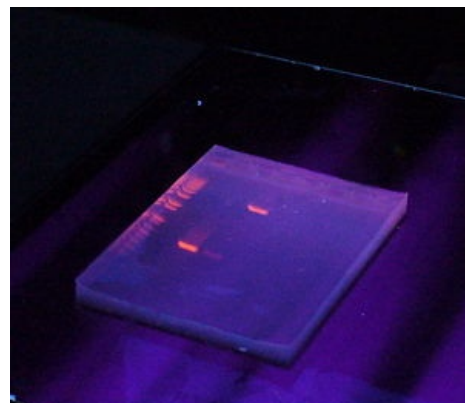
Ethidiumbromid

Fyzikálně-chemické vlastnosti

Ethidiumbromid je kationická, aromatická látka s fenantridinovým jádrem. Je základem řady dalších barviv nukleových kyselin. Absorpční maximum etidiumbromidu závisí na prostředí, ve kterém se vyskytuje – s klesající polaritou prostředí se zvyšuje fluorescenční schopnost EtBr.^[3] Ve vodném prostředí absorbuje ultrafialové záření o vlnové délce mezi 210 a 285 nm a díky fluorescenčním vlastnostem pak emituje oranžové světlo o vlnové délce 605 nm.^[4] Zesílení fluorescence EtBr při navázání na nukleové kyseliny se připisuje nepolárnímu charakteru samotných dusíkatých bází,^[5] mezi které interkaluje – vzhledem k odpuzování molekul vody, které fluorescenci zeslabují.^[6]

Využití

Původně se EtBr využíval k léčení trypanosomózy u dobytka.^[7] Dnešní využití je zejména v oblasti molekulární biologie k detekci dvouvláknové DNA při vyhodnocování PCR, restrikčního štěpení či účinnosti izolace DNA. EtBr je možné nanášet přímo do vzorku, elektroforetického pufru či agarózového nebo polyakrylamidového gelu.^[8] Vzhledem ke svým biologickým účinkům se EtBr využívá během pokusů s transplantací kmenových nervových buněk jako gliotoxické agens v pokusech na zvířatech a k ložiskovým demyelinizacím.^[9]



Ethidiumbromid pod UV světlem během vyhodnocení agarózové elektroforézy.

Zdravotní rizika

Ethidiumbromid je považován za mutagen a kancerogen a dle toho je nutné s ním v laboratoři pracovat a náležitě jej likvidovat, ale potenciální risk pro pracovníky v laboratořích při práci s EtBr je poslední dobou diskutovaný a potřebuje další výzkum.^[10] Ačkoliv interkaluje EtBr mezi dvoušroubovici DNA, tudíž ji deformuje a ovlivňuje procesy jako replikace (inhibice DNA polymerázy a topoizomerázy 1)^[11] a transkripce, mutagenní charakter samotné látky není zcela prokázán. V Amesově testu je EtBr pozitivní, ale až po zmetabolizování jaterními enzymy z homogenátu. Předpokládá se tedy, že konečný mutagenní charakter má až nějaký metabolit EtBr, který však zatím nebyl prokázán.^[12]

Odkazy

Reference

1. Sigma quality control; Sigma molecular biology laboratories.
2. Green, F.J., Sigma Aldrich Handbook of Stains, Dyes and Indicators, p. 318.
3. Methods in Enzymology, 32, 239 (1974).
4. Sabnis, R. W. (Ram Wasudeo) (2010). Handbook of biological dyes and stains : synthesis and industrial application. Hoboken, N.J.: Wiley. ISBN 978-0-470-40753-0.
5. Carey, Francis A. (2008). Organic Chemistry, ed. 6, Mc Graw Hill. p. 1206. ISBN 0072828374.
6. Ethidium bromide. (2018, January 18). In Wikipedia, The Free Encyclopedia. Retrieved 21:23, February 22, 2018, from https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Ethidium_bromide&oldid=821114020
7. STEVENSON, P.; SONES, KR.; GICHERU, MM., et al. Comparison of isometamidium chloride and homidium bromide as prophylactic drugs for trypanosomiasis in cattle at Nguruman, Kenya.. Acta Trop. May 1995, roč. 59, čís. 2, s. 77-84. PMID 7676909.
8. Příspěvatelé Wikipedie, Ethidium bromid [online], Wikipedie: Otevřená encyklopedie, c2016, Datum poslední revize 2. 08. 2016, 13:59 UTC, [citováno 22. 02. 2018] <https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Ethidium_bromid&oldid=13981419>
9. V. Tepavčević, A. Baron-Van Evercooren, in Encyclopedia of Neuroscience, 2009
10. National Toxicology Program (August 15, 2005). "Executive Summary Ethidium Bromide: Evidence for Possible Carcinogenic Activity". Retrieved September 30. 2009.

11. Gentry AC, Juul S, Veigaard C, Knudsen BR, Osheroff N (2011). "The geometry of DNA supercoils modulates the DNA cleavage activity of human topoisomerase I". *Nucleic Acids Research*. 39 (3): 1014–1022. doi:10.1093/nar/gkq822.
12. J McCann; B N Ames (1975). "Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: assay of 300 chemicals". *PNAS*. 72 (12): 5135–5139. doi:10.1073/pnas.72.12.5135. PMC 388891 Freely accessible. PMID 1061098.

