

KOKKUVÕTE

Selleks, et saaks uurida kasvajarakkude mitokondrite funktsioneerimist, on vaja leida kõige kiiremad ja spetsiifilisemad meetodid mis oleksid kiired, hea saagikusega ning annaksid kvaliteetseid mitokondreid. Olenevalt rakukultuurist ja tüübist ning ümbritsevatest tingimustest, reageerivad erinevad rakud erinevatele meetoditele erinevalt. Antud töö katselises osas kasutasime kõige parema meetodi leidmiseks rakukultuuri 2102Ep ning katsetasime kolme meetodit: sonikeerimine, Potter-Elvehjem-iga homogeniseerimine ning keemilistest meetodisest permeabiliseerimine digtoniiniga. Mitokondriaalse fraktsiooni puhtust ja kvaliteeti hindasime valgusisalduse määramisega, mõõtsime oksügraafiga mitokondrite hapniku tarbimist ning hindasime Western Blot analüüsiga mitokondriaalsete ja tsütoplasma valkude esinemist fraktsioonides. Töös esitatud katsetulemuste põhjal osutus kõige efektiivsemaks meetodiks Potter-Elvehjem 50 löögiga homogeniseerimine, mis andis piisavalt palju terveid mitokondreid, et oleks võimalik viia edasisi uuringuid. Tulemused on küllaltki üllatuslikud kuna kirjanduse alusel oleks pidanud olema kõige efektiivsem isoleerimismeetod ultraheliga homogeniseerimine. Antud töös kasutatud rakkudel oli see meetod vägagi ebaefektiivne. Kuigi meetod andis suure valgusisaldusega fraktsioone, oli lõhutud mitokondri välismembraan. Samuti ei sobinud rakkude eraldamiseks rakumembraani permeabiliseerimine digtoniiniga, kuna saagikus oli väike. Käes oleva töö tulemusliku osa järgi sobib rakuliini 2102Ep mitokondrite eraldamiseks Potter-Elvehjem 50 löögiga homogeniseerimine.

Käesoleval töö on oluline rakenduslik väärtus. Kasutades antud meetodit (Potter-Elvehjem 50 löögiga homogeniseerimine) katsete läbiviimiseks võimaldab uurida mitokondri metabolismi embrüonaalse kartsinoomi rakkudes. See omakorda võimaldab läbi viia võrdlevaid uuringuid diferentseerunud kasvajarakkudega ning normaalsete tüvirakkudega.