

Mitokondriaalse metabolismi võrdlev analüüs diferentseeritud ja diferentseerumata neuroblastoomi rakkudes

Aleksandr Klepinin
Geenitehnoloogia instituut

Juhendajad: *PhD Tuuli Käämbre*
PhD Igor Ševtšuk

Neuroblastoomi (NB) iseloomustab kõrge proliferatsiooni tase ning kiire metastaseerumine erinevatesse kudedesse. Lähtuvalt kirjandusest on NB kasvajas ülekaalus energia tootmine läbi glükolüüsi, vähe on teada mitokondrite rollist NB rakkude energiameetabolismi regulatsioonis.

Töö oli tehtud NB hiire rakuliinil *Neuro-2a* (N2a). Seda rakuliini diferentseeriti trans-retionoolhappega ning saadud diferentseeritud rakud (dN2a) olid normaalseks neuronite *in vitro* mudeliks. NB rakkude mitokondriaalse oksüdatiivse fosforüülimise (OXFOS) funktsionaalsuse iseloomustamiseks kasutati suure lahutusvõimega oksügraafi koos metaboolse voo kontrolli analüüsi (MKA) meetodiga. Energiavoo kontrolli koefitsientide (*flux controll coefficient*, FCC) leidmiseks tiitriti astmeliselt mitokondriaalse interaktosoomi kompleksid nende spetsiifiliste inhibiitoritega, ning mitokondriaalne hingamine oli aktiveeritud rakuvälise ADP-ga, kuna mitokondriaalne kreatiinkinaas kas puudus üldse või ei olnud aktiivne. Lisaks, uuriti energia ülekande süsteemi ensüümide adenülaatkinaasi (AK) ja kreatiinkinaasi (CK) rolli energiavoo regulatsioonis NB rakkudes.

Töö tulemused näitasid, et diferentseerimata N2a rakkudel (*undifferentiated* N2a, uN2a) on hingamiskiirused ja mitokondri hingamisahela II kompleksi aktiivsus märgatavalt madalam võrreldes dN2a-ga. Siiski selgus, et NB ei ole ainult glükolüütilise metabolismiga, vaid oluline roll ATP tootmises on ka OXFOS-il. Eksperimendid näitasid, et ATP tootmisel osalevad põhiliselt kaks ensüümi: heksokinaas 2 ja AK2.

MKA tulemustest võib järeldada, et uN2A rakkude energiavoo kontrollis osalevad mitokondri hingamisahela kompleksid I, II ja IV, dN2a rakkudes aga ainult kompleksid II ja IV. Võrreldes dN2a rakkudega, omab uN2a rakkudes suurt kontrolli energiavoo üle ATP-süntaasoom (koosneb fosfori kandjast, adeniinnukleotiidi translokaasist ning ATP süntaasist). Antud töös mõõdetud kõrge voo kontrolli koefitsientide summa (5,06) viitab sellele, et NB rakkude hingamisahel võrreldes normaalsete oksüdatiivsete rakkudega on reorganiseeritud.