

ABSTRAKT

Diabetes mellitus je závažné metabolické onemocnění spojené s téměř úplnou ztrátou insulin-produkujících β -buněk nebo s výrazným snížením jejich funkčnosti. Předmětem současného výzkumu je proto hledání efektivních způsobů regenerace β -buněk. Jedním z možných způsobů je stimulace jejich proliferace.

Jako potenciálně vhodná molekula pro stimulaci proliferace pankreatických β -buněk se jeví transkripční faktor c-Myc. Navýšení exprese tohoto onkoproteinu formou adenovirových nosičů s sebou ovšem nese riziko dediferenciace buněk a rozvoje nádorového bujení. Z tohoto důvodu byla v předkládané diplomové práci ověřena možnost využití synteticky připravené mRNA pro expresi proteinu c-Myc. Použití *in vitro* připravené c-Myc-mRNA umožňuje v cílové buňce dosáhnout krátkodobé, avšak vysoké míry exprese transkripčního faktoru c-Myc. Po transfekci syntetické c-Myc-mRNA do buněk disociovaných potkaních Langerhansových ostrůvků byla v buňkách pomocí metody nepřímé imunofluorescence detekována exprese c-Myc na proteinové úrovni ve vysoké míře. Po 48 hodinách od transfekce buněk nebyla již exprese c-Myc v tak vysoké míře detekována. Právě fyziologická degradace c-Myc-mRNA cílovou buňkou je faktor, který výrazně snižuje riziko rozvoje nádorového bujení.

Transfekce c-Myc-mRNA do potkaních ostrůvkových buněk způsobila prokazatelný nárůst počtu proliferujících β -buněk. Zatímco za fyziologického stavu proliferuje maximálně 3 % potkaních β -buněk, míra proliferace β -buněk indukovaná pomocí c-Myc-mRNA se pohybovala v rozmezí 35-70 % v závislosti na koncentraci syntetické mRNA. Dále bylo zjištěno, že přidání sloučeniny CHIR99021, inhibitoru GSK3 β , zvyšuje počet proliferujících β -buněk o dalších 5-13 %. Po transfekci c-Myc-mRNA byla v pankreatických β -buňkách analýzou genové exprese zjištěna vyšší míra exprese genů stimulujících buněčné dělení (cykliny a cyklin-dependentní kinasy). Dále byla v ostrůvkových buňkách transfekovaných c-Myc-mRNA prokázána zvýšená exprese genů kódujících pankreatické hormony; genů regulujících expresi insulinu a metabolismus glukosy, a genů pro některé transkripční faktory.

Klíčová slova:

pankreatické β -buňky, proliferace, c-Myc, *in vitro* transkripce