

Abstrakt

Jedním z moderních léčebných postupů je aplikace *in vitro* transkribované mRNA do cílových buněk za účelem tvorby požadovaných proteinů. Zmíněná metoda se ukázala být daleko efektivnější než terapeutické podání již předem připravených proteinů, kde při jejich vpravení do organismu docházelo k denaturaci. Hlavní náplní této práce byla *in vitro* příprava mRNA, její následná transfekce do buněk Langerhansových ostrůvků a detekce exprese cílových proteinů pomocí metody Western blot. Konkrétně se jednalo o proteiny z rodin cyklinů a cyklin dependentních kináz (CDK), které hrají významnou roli v regulaci buněčného cyklu. Celkem byla připravena mRNA pro 8 molekul, mezi které patřily nemutované formy cyklinů D1, D2 a D3 a cyklinindependentní kináza 6, dále pak mutované verze cyklinů D1 T286AT288A, D2 T280A, D3 T283A a cyklin dependentní kináza 4 R24C. U cyklinů se jednalo o záměnu aminokyseliny threoninu za alanin. Tato záměna má za následek zpomalení degradace proteinu ve srovnání s přirozeně se vyskytující formou. Pro cyklin dependentní kinázu 4 záměna aminokyseliny argininu za cystein také spočívá ve zvýšení její stability *in vivo*. Připravená mRNA kódující uvedené regulátory buněčného cyklu byla transfekována do buněk Langerhansových ostrůvků izolovaných z potkaního pankreatu. Tato metoda by mohla v budoucnu sloužit jako jedna z možností při léčbě diabetu 1. druhu.