

Abstrakt

Regulace metabolických a mitogenních buněčných dějů je komplexní systém závislý na správném fungování několika signalizačních kaskád. Jednou z nich je insulinová osa sestávající z akcí řízených třemi sekvenčně a strukturně velmi podobných hormonů (insulinu, insulinu podobnému růstovému faktoru (IGF) -I a -II) a skupinou jejich receptorů. Vysoká míra homologie panuje i mezi těmito buněčnými receptory, kterými jsou isoformy A a B insulinového receptoru a IGF-1 receptor, patřící do rodiny receptorů s tyrosin-kinasovou aktivitou. Díky tomu dochází v rámci této signalizace k prolínání vazebných interakcí, kde každý z ligandů může spouštět odlišné biologické odpovědi. Jedním z cílů v této oblasti je navržení analogů insulinu s výhradně metabolickým účinkem nebo IGF antagonistů tlumících nežádoucí mitogenní účinky, na základě identifikace oblastí důležitých pro vazbu k různým receptorům.

Překládaná diplomová práce se soustřeďuje na vliv zanesení vybraných prvků primární struktury IGF-I do molekuly IGF-II na receptorové interakce. Konkrétně se jedná o záměnu Ser²⁹ za asparagin a dvě samostatné inserce Gly-Ser za pozici Arg³⁴ a Pro-Gln za pozici Ser³⁹ nebo kombinace obou insercí. Tyto modifikace snížily afinitu IGF-II vůči IR-A, avšak nevedly ke zvýšení afinity vůči IGF-1R. V rámci plnění cílů práce byla optimalizována rekombinantní příprava IGF-II a jeho analogů v heterologním expresním systému *E. coli*, po níž následovala detailní biofyzikální charakterizace takto připraveného IGF-II, která cíleně vedla k objasnění příčiny rozšíření signálů v NMR spektrech. Na základě NMR experimentů, jež zahrnovaly difuzní měření a stanovení relaxačních časů, bylo zjištěno, že za rozšířením signálů stojí rozsáhlá dynamická konformační heterogenita molekuly IGF-II, a nikoli v literatuře často zmiňované agregační chování.