

## Abstrakt

Diabetes mellitus 1. typu je závažné autoimunitní onemocnění, při kterém v pankreatu dochází k zániku  $\beta$ -buněk produkujících insulin. Pacienti postižené tímto onemocněním jsou odkázáni na celoživotní zevní podávání insulinu. V současné době je jedinou dostupnou léčebnou metodou buď transplantace celého orgánu pankreatu, nebo izolovaných Langerhansových ostrůvků. Kvůli nedostatku vhodné tkáně k transplantaci a náročné léčbě diabetu probíhá intenzivní výzkum nových alternativních zdrojů buněk produkujících insulin.

Jednou z metod přípravy buněk produkujících insulin je tzv. transdiferenciace pankreatických exokrinních buněk pomocí specifických transkripčních faktorů. V této práci byla k transdiferenciaci exokrinní buněčné linie AR42J použita *in vitro* synteticky připravená mRNA kódující transkripční faktory Pdx1, Ngn3 a MafA. Primární sekvence mRNA byla optimalizována pro přípravu velmi stabilní mRNA s vysokou mírou translace. Hlavními stabilizačními prvky mRNA byly 3' a 5' nepřekládaná oblast genu pro  $\beta$ -globinu, jehož mRNA vykazuje životnost až 24 hod. Na základě transfekce do buněk AR42J a následné imunofluorescenční detekce byla ověřena správná funkce synteticky připravené mRNA.

Synteticky připravené mRNA pro transkripční faktory Pdx1, Ngn3 a MafA byly následně použity k transdiferenciaci exokrinních buněk na buňky produkující insulin. Po opakované 10 denní transfekci těchto tří transkripčních faktorů došlo k přeměně exokrinních buněk na buňky produkující insulin. Míra exprese insulinu závisela na kultivačních podmínkách buněk. Transdiferenciace exokrinních buněk AR42J synteticky připravenou mRNA pro Pdx1, Ngn3 a MafA vedla ke vzniku insulin produkujících buněk s charakterem  $\beta$ -buněk.

**Klíčová slova:** pankreatické buňky, exprese proteinů, transfekce, proteinové kultury