

## Abstrakt

Insulin působí jako klíčový hormon v udržování stálé hladiny glukózy v krvi. Mimo tuto metabolickou funkci má navíc insulin funkci růstového hormonu. Rozdílnost v jeho působení je založena především na interakci se dvěma existujícími izoformami insulinového receptoru - IR-A a IR-B, které jsou různě zastoupeny v lidském těle. Předpokládá se, že IR-A je zodpovědný především za mitogenní funkci, a nachází se v hlavně mozku, lymfatické či plodové a rakovinné tkáni, kdežto IR-B, jehož hlavním místem je jaterní, tuková a svalová tkáň, má spíše funkci metabolickou. V poslední době je cílem vytvořit takový insulinový analog, který by se preferenčně vázal na IR-B a tak lépe kopíroval fyziologickou metabolickou funkci insulinu potřebnou pro pacienty s diabetem. Na základě nedávno vyřešené 3D struktury vazby insulinu na IR bylo zjištěno, že C-konec řetězce B podléhá při vazbě na IR konformační změně, kdy dojde k ohybu konce tohoto řetězce asi o 90°.

Cílem této bakalářské práce byla příprava a charakterizace dvou insulinových analogů s přemostěním C-konce B-řetězce v místech B26-B29 a B27-B29 pomocí disulfidického můstku, který by ohnutou strukturu konec řetězce zafixoval a umožnil zvýšit afinitu IR a specifitu vůči IR-B. Příprava byla provedena pomocí syntézy na pevné fázi, cyklizace a následné enzymové semisyntézy s využitím trypsinu. Vazebnými testy k IR-A a IR-B byly následně určeny vazebné afinity jednotlivých analogů vůči lidskému insulinu a jejich disociační konstanty. Oba analogy byly připraveny úspěšně, i když v nízkých výtěžcích. Tyto výtěžky však stačily k následnému vazebnému testování. Ze získaných hodnot lze říci, že v obou případech došlo ke zvýšení specifiity vůči IR-B oproti lidskému insulinu. Afinita k jednotlivým izoformám byla však znatelně snížena. Výsledky této práce prezentují dva úspěšně připravené analogy se čtvrtým dodatečným disulfidickým můstkem. Získané poznatky lze využít k přípravě dalších analogů s dodatečným disulfidickým můstkem a s vlastnostmi vhodnými pro farmaceutické využití při léčbě diabetu.

**Klíčová slova:** insulin, analog, insulinový receptor, disulfidický můstek, syntéza na pevné fázi, enzymová semisyntéza