

Abstrakt

Slinivka břišní (pankreas) je místem tvorby mnohých významných exokrinních a endokrinních látek, mezi které patří i insulin. Tento hormon je v těle tvořen téměř výhradně v specializovaných β -buňkách Langerhansových ostrůvků, kde je skladován v sekrečních granulích. β -buňky jsou plné těchto sekrečních váčků, čímž je umožněna rychlá reakce organismu na stimul glukosy. Správně upravený, zralý insulin se pravděpodobně vyskytuje v sekrečních granulích ve formě hexameru insulinu koordinovaném okolo dvou zinečnatých iontů. Adekvátní reakce β -buněk na zvýšenou hladinu glukosy v krvi a následná sekrece insulinu, jsou jedním z klíčových pochodů regulace metabolismu v těle. Při studiu tvorby insulinu, jeho účinků nebo procesu sekrece se mimo primárních buněk z pankreatických ostrůvků využívají jako biologický model permanentní pankreatické buněčné linie.

Tato diplomová práce se zaměřila na buněčné linie INS-1E a BRIN-BD11. Zjišťovali jsme schopnost těchto buněk tvořit proinsulin a insulin a obsah jejich zinečnatých iontů, které mohou mít na tvorbu a zpracování insulinu velký vliv. Ve všech metodách, které jsme používali, jsme linie porovnávali navzájem a posléze také s β -buňkami potkaních Langerhansových ostrůvků. Také se nám podařilo izolovat insulinové sekreční granule ze všech tří používaných buněčných typů a vytvořit tak čistou granulovou frakci, která se bude dále používat pro další studium těchto buněk. Ze získaných výsledků studia insulinových sekrečních granulí jsme usoudili, že buněčná linie INS-1E je lepším a vhodnějším modelem pankreatické β -buňky než linie BRIN-BD11 ve všech ohledech. Linie INS-1E tvoří více insulinu, má více zinečnatých iontů a je schopna glukosou indukované sekrece insulinu, která odpovídá fyziologickým podmínkám. Přesto se tato linie svými vlastnostmi jen málo přibližuje β -buňkám Langerhansových ostrůvků získaných přímo z organismu. Je vidět, že používání buněčných linií jako biologického modelu na studium a výzkum přináší s sebou na jedné straně dobrou reprodukovatelnost výsledků a neplýtvání hůře získatelným živočišným materiálem, ale na druhou stranu nebezpečí v pozměněných nebo nedostatečných vlastnostech původních buněk.

Klíčové slova: insulin, sekreční granule, izolace proteinů, beta-buňky, zinek