

Abstrakt

Hlavní funkce insulinu jako hormonu je regulace hladiny glukosy v krvi. Tato regulace se děje v různých buňkách těla různým způsobem a na různé úrovni. Složitost regulace je navíc znásobena tkáňovou distribucí dvou isoform insulínového receptoru (IR), a to IR-A a IR-B. IR-B je zodpovědný převážně za metabolické efekty a distribuci v tukové tkáni, svalové tkáni a hepatocytech, zatímco IR-A se převážně nachází v lymfocytech, slezině, mozku, rakovinných buňkách a má zejména mitogenní účinek.

Dnes je léčba diabetiků zaměřena na terapii insulínovými analogy, tedy látkami odvozenými od insulinu, které mají k IR-A, nebo IR-B různou vazebnou afinitu. Na trhu je dnes šest druhů těchto analogů a dělí se do dvou skupin – na analogy s rychlým nástupem účinku (*fast-acting*), a na analogy s dlouhodobým nástupem účinku (*basal*). Léčba je nejčastěji zaměřena na kombinaci těchto dvou typů analogů.

V roce 2011 Prof. Belfiore z univerzity v Catanzaru publikoval článek o přímé souvislosti mezi diabetem mellitem a vznikem některých druhů rakoviny. Tím se začalo veřejně diskutovat o vazbě insulinu/insulínových analogů na mitogenní receptor IR-A nebo IGF-1R. V tom samém roce dvě vědecké skupiny dánské firmy Novo Nordisk publikovaly první zmínky o receptorově selektivních IR-A/IR-B analogích.

Tato bakalářská práce je zaměřena na přípravu nových, receptorově selektivních IR-A/IR-B insulínových analogů, otestování jejich vazebných afinit vůči oběma isoformám IR-A a IR-B a určení jejich schopnosti spouštět signalizační dráhy u příslušných isoform receptorů. Cílem bylo zjistit vliv C-konce řetězce B na receptorovou selektivitu. V pozicích B25-B30 (které jsou důležité pro vazbu insulinu na IR) byly zaměněny aminokyseliny za prolin, případně hydroxyprolin, které by měly ovlivnit konformaci peptidové vazby a tím ovlivnit vazbu na receptor. Z literatury je znám pozitivní vliv amidace C-konce řetězce B na selektivitu ve prospěch afinity vůči IR-B. Proto byly vyzkoušeny kombinace těchto dvou modifikací.

Byly připraveny 4 insulínové analogy se záměnou v pozicích B25-B30, dva s hydroxyprolinem a dva s amidovaným glycinem na C-konci řetězce B. Byly testovány jejich vazebné afinity vůči oběma isoformám IR-A/IR-B. Tři z těchto analogů vykazují jistou selektivitu vůči oběma isoformám IR-A/IR-B. Dále byla sledována míra signalizace IR těmito analogy a studium signální odpovědi. Bylo zjištěno, že míra fosforylace IR a metabolické Akt dráhy víceméně odpovídá hodnotám jejich vazebných afinit.

Studium pozic B25-B30 může pomoci k lepšímu pochopení interakci C-konce řetězce B s oběma isoformami insulinového receptoru. Zároveň tyto informace mohou být důležitým vodítkem k návrhu nových, receptorově selektivních insulinových analogů.

Klíčová slova: insulin, insulinový analog, C-konec řetězce B, insulinový receptor, interakce insulinu s IR, selektivní IR-A/IR-B analogy, isoformy receptoru, enzymatická semisyntéza, testování vazebných afinit, studium signální odpovědi.