

Abstrakt

Glykosidasy, jakožto enzymy hydrolyticky štěpící polysacharidové struktury, mají zásadní význam především pro „opracování“ glykokalyxu na povrchu spermie v průběhu fertilizačního procesu, tak aby spermie mohla nakonec úspěšně interagovat se *zona pellucida* a splynout s membránou oocyty. Bakalářská práce zkoumá aktivity několika důležitých glykosidas (β -galaktosidasy, α -galaktosidasy, α -manosidasy a neuraminidasy) ve směsných vzorcích reprodukčních tekutin, a to konkrétně v epididymální tekutině, semenné plazmě a ovidukální tekutině, pocházející z prasete domácího. Dalším vzorkem, u kterého byla měřena aktivita zmiňovaných enzymů, byly ejakulované spermie. Aktivity daných enzymů byly stanoveny pomocí fluorescenčních substrátů v mírně kyselém a neutrálním prostředí. Kromě stanovení specifických aktivit jednotlivých enzymů byla tato bakalářská práce obohacena o kvalitativní informaci týkající se glykoproteinů v samčích a samičích reprodukčních tekutinách a lyzátu ejakulovaných spermií. Glykoproteiny jsou dominantní složkou glykokalyxu spermií a mnohé z nich představují v tomto případě i příslušné přirozeně se vyskytující substráty pro výše zmiňované glykosidasy. Na základě provedení elektroforetického dělení s následným barvením byl zjištěn celkový proteinový profil všech vzorků rozšířený o vzorky pozdní a ranné folikulární tekutiny. Následně byly detekovány prostřednictvím lektinové vazebné studie sacharidové struktury obsahující sialovou kyselinu, galaktosu a α -vázanou manosu. Taktéž byla provedena přímá imunodetekce neuraminidasy, jednoho z enzymů, u něhož byla stanovena specifická aktivita. Výsledkem detekcí daných glykoproteinů bylo zjištění, jak podstatnou část tvoří glykosylované proteiny z celkového proteinového profilu. Dále se podařilo naznačit, jaký vliv má aktivita studovaných enzymů na povrch spermie putující k vajíčku v reprodukčních tekutinách, se kterými je spermie během své cesty v těsném kontaktu. Překvapivým zjištěním byla též skutečnost, že se našla jistá spojitost mezi mírou specifické aktivity některých enzymů a zastoupením odpovídajících sacharidových struktur na glykoproteinech v rámci stejných vzorků.