

ABSTRAKT

Protein Rab-2A patří do Rab rodiny monomerních G-proteinů podílejících se na regulaci intracelulárního vezikulárního transportu. Přestože bylo publikováno několik studií popisujících roli proteinu Rab-2A v savčích spermích, přesná lokalizace ani funkce tohoto proteinu v samčích gametách nebyly dosud plně pochopeny. V předkládané diplomové práci jsme za využití protilátky 5C5, vytvořené Laboratoří reprodukční biologie, jako první popsali přítomnost Rab-2A v lidských spermích. Protilátkou 5C5 se nám v lyzátu lidských spermií podařilo identifikovat několik izoform Rab-2A o molekulových hmotnostech 26, 24, 22 a 18 kDa, jejichž identita byla potvrzena analýzou hmotnostní spektrometrie. Rab-2A jsme pomocí metody nepřímé imunofluorescence lokalizovali v oblasti akrozomu ejakulovaných i kapacitovaných spermií, odkud protein v průběhu akrozomální reakce odchází. Dále jsme zjistili sníženou hladinu proteinu Rab-2A u spermií od pacientů s různými patologiemi ejakulátu. Na základě studií popisujících roli Rab-2A v biogenezi akrozomu a přítomnost Rab-2A v perinukleární théece býčích spermií, jsme se pokusili o detekci Rab-2A v této proteinové vrstvě také u lidských spermií. Zvolená metoda však zřejmě není využitelná pro lidské spermie a izolace se nezdařila. Dále jsme prokázali přítomnost Rab-2A v sekrečních veziklích pocházejících z lidské semenné plazmy, kde jsme detekovali pouze 24 a 22kDa izoformu. Přestože jsme nebyli úspěšní v potvrzení přítomnosti Rab-2A na povrchu lidských spermií, detekovali jsme u několika proteinů spermií vazebnou aktivitu pro glykoproteiny *zona pellucida*, mezi nimiž byly nalezeny také nízkomolekulární proteiny (18 a 30 kDa), které by mohly odpovídat izoformám proteinu Rab-2A rozpoznávaných protilátkou 5C5 v extraktech lidských spermií.