

# Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá izolací a částečnou charakterizací proteáz folikulární tekutiny krávy. Folikulární tekutina byla nejprve rozdělena podle molekulových hmotností pomocí gelové chromatografie na Sephadexu G-100. Jako další metoda izolace byla zvolena ionexová chromatografie na Sephadexu DEAE. S výslednými frakcemi byla provedena SDS elektroforéza, stanovení proteolytické aktivity s proteolytickým substrátem azakaseinem; zymografie a diferenční SDS elektroforézy. Sebrané frakce folikulární tekutiny, stanovené metodou gelové chromatografie, měly relativní molekulové hmotnosti v rozmezí: 114 000 – 131 000 pro vzorek frakce I; 44 000 – 51 000 pro vzorek frakce II; 151 000 – 204 000 pro vzorek frakce III; 57 000 – 99 000 pro vzorek frakce IV; 14 000 – 38 000 pro vzorek frakce V; 180 – 500 pro vzorek frakce VI.

Z výsledků proteolytické aktivity bylo rozhodnuto, že se nadále bude pracovat jen se vzorky frakcí III, IV a V, sebraných z gelové chromatografie a se vzorkem opožděné frakce PBS II, sebrané z ionexové chromatografie. Tyto vzorky vykazovaly nejvyšší aktivitu.

Byly použity inhibitory, jimiž bylo možné určit, které typy proteáz se vyskytují ve vybraných frakcích. Ve frakci III, sebrané z gelové chromatografie, se vyskytovaly aspartátové proteázy, metalloproteázy a serinové proteázy, kdežto ve frakci IV, sebrané z gelové chromatografie, se vyskytovaly pouze serinové proteázy a ve frakci V, sebrané z gelové chromatografie, se vyskytovaly aspartátové a serinové proteázy. V opožděné frakci PBS II, sebrané z ionexové chromatografie, se vyskytovaly aspartátové proteázy, metalloproteázy a serinové proteázy.

Pomocí diferenční SDS elektroforézy, byla sledována autolýza proteinů kravské folikulární tekutiny. Z výsledků vyplývá, že kravská folikulární tekutina podléhá autolýze, která se projeví až po delší době a je i tak velmi pomalá.