Abstrakt

Tato diplomová práce byla zaměřena na vývoj nové metody využívající vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii s tandemovou hmotnostní detekcí (HPLC-MS/MS) pro kvantifikaci vybraných steroidních hormonů, a to 17α-ethynylestradiolu (EE2) a progesteronu (PRG), v M2 fertilizačním médiu. Toto médium je používané při kapacitaci spermií *in vitro*, což je proces, kdy dochází ke komplexním molekulárně-biochemickým změnám ve spermii, na jejichž základě spermie získávají schopnost oplodnění. Fyziologický průběh tohoto procesu je tudíž zásadní pro získání fertilizační schopnosti samčích gamet. Optimalizované HPLC-MS/MS podmínky (kolona Kinetex EVO C_{18}, mobilní fáze 50/50 (*v/v*) ACN/H_2O, s 0,1% obsahem mravenčí kyseliny v obou složkách, průtok mobilní fáze 0,3 ml/min, nástřik 7,5 µl) byly aplikované pro sledování koncentračních změn jednotlivých analytů během časově závislé kapacitace myších spermií. Testované koncentrace pro EE2 byly 200, 20 a 2 µg/l a pro PRG pouze 200 µg/l. Bylo zjištěno, že nejprve dochází k poklesu koncentrace volného, nevázaného EE2 (minimum okolo 60. min kapacitace) a poté k jejímu opětovnému nárůstu. Tento trend vykazovaly všechny testované koncentrace. Koncentrace (200 µg/l) volného, nevázaného PRG klesala po celou dobu kapacitace. Závislosti koncentrace volného, nevázaného hormonu na době kapacitace budou podkladem pro následné studium kinetiky tohoto procesu, jehož výsledky by měly pomoci objasnit interakční mechanismus mezi spermií a vybranými steroidními hormony na molekulární úrovni.