

## Abstrakt

Protein-sacharidové interakce hrají významnou roli v reprodukci savců, jsou podstatou takových dějů, jako je maturace a vzájemné rozpoznání gamet nebo formování oviduktálního rezervoáru spermií. V mé dizertační práci jsem se zabýval aktivitami glykosidas v folikulární tekutině krávy a prasnice jejich změnami spojenými se zráním folikulu. Detekoval jsem aktivity pěti různých glykosidas v terciálním a preovulačním folikulu u obou druhů. Nejaktivnějšími enzymy byly  $\alpha$ -L-fukosidasa v kravské folikulární tekutině a  $\alpha$ -D-manosidasa v prasečí. Zároveň aktivita obou těchto enzymů vykazovala největší nárůst během zrání folikulu. Je zajímavé, že právě  $\alpha$ -L-fukosa v případě krávy a  $\alpha$ -D-manosa v případě prasnice jsou sacharidy, které se důležité pro vznik oviduktálního rezervoáru spermií a aktivita výše zmíněných enzymů se tak nabízí jako hypotetický mechanismus synchronizace uvolňování spermií z jejich oviduktálního rezervoáru s dobou ovulace. Dále jsem ukázal, že aktivita  $\beta$ -D-galaktosidasy a  $\alpha$ -D-manosidasy ovlivňují interakci mezi receptory spermií pro zonu pellucida a zónou pellucidou, což může vysvětlit, jak změny zony pellucida spojené s její maturací mohou vést ke snížení polyspermického oplodnění.

Abych lépe charakterizoval studované glykosidas, vyvinul jsem červenou nativní elektroforézu – což je nová elektroforetická metoda vhodná k separaci enzymů podle jejich molekulové hmotnosti a následné vizualizace jejich aktivity přímo v gelu. Červená nativní elektroforéza odhalila přítomnost několika isoform studovaných glykosidas, z nichž některé se zdají být folikulárního původu.

V další části své dizertační práce jsem analyzoval antimikrobiální vlastnosti folikulární, oviduktální a děložní tekutiny a ukázal, že oviduktální tekutina je nejsilnějším inhibitorem růstu *E. coli*. Při pokusu o identifikaci látek zodpovědných za pozorované antimikrobiální vlastnosti, jsem nejprve zúžil pátrací pole na rozsah molekulových hmotností 3 500 -30 000 a předběžně identifikoval histony H2A typ 2-C, H2B typ 1-K, H3.3 a H4 jako proteiny zodpovědné za antimikrobiální aktivitu tekutin reprodukčního traktu krávy. Jejich roli jsem následně potvrdil inhibicí jejich antimikrobiální aktivity přidáním protilátek proti histonům.

V poslední části svojí dizertační práce jsem se zabýval sekrety Cowperových žláz u býka i kance. U býka jsem studoval jejich roli v rámci ejakulátu a ukázal jsem, že tyto sekrety výrazně přispívají ke zvýšení jeho viskozity, zpomalují uvolňování spermií z ejakulátu a zesilují vazbu proteinů se semenných váčků na povrch spermií. Všechna tato pozorování mohou být vysvětlena tím, že sekrety býčích Cowperových žláz také výrazně zvyšují agregační stav semenných proteinů.

U kance, sekrety Cowperových žláz tvoří kopulační zátku v děložních hrdle prasnice na konci páření, která zabraňuje výtoku semene a také slouží k zajištění otcovtví. My jsme však ukázali, že děložní tekutina prasnice v estrální fázi reprodukčního cyklu je schopna tuto zátku rychle proteolyticky degradovat na rozdíl od děložní tekutiny z prasnice v diestální fázi cyklu. Také jsme detekovali několik serinových proteas a metaloproteas v děložní tekutině, které mohou být zodpovědné za degradaci kopulační zátky. Navíc v průběhu této studie jsme také vyvinuli novou metodu rozpouštění vysoce glykosylovaných sekretů za nativních podmínek s využitím pufrovaných roztoků kyseliny borité.