

Posttranslační modifikace jaderných a nejaderných proteinů ve spermiích

Souhrn

Kvůli početí potomka vyhledává pomoc asistovaných reprodukčních technologií (ART) stále více párů. Až za polovinou případů párové neplodnosti, stojí mužská neplodnost, která nezřídka končí diagnózou idiopatická (bez známé příčiny). Hledání nových ukazatelů mužské plodnosti, má proto velký význam pro diagnostiku mužské neplodnosti a případně pro selekci spermiích (ne)vhodných pro použití v ART. Post-translační modifikace (PTM) jaderných a nejaderných proteinů se zdají být vhodnými kandidáty pro takové ukazatele. Na jedné straně jsou PTM jaderných proteinů, protaminů a histonů, které odrážejí zralost chromatinu spermie, jeho připravenost na oplození a také kvalitu budoucího embrya. Na druhé straně jsou PTM nejaderných proteinů, zahrnující cytoplasmatické, cytoskeletární a membránové proteiny, které odrážejí schopnost spermie podstoupit hyperaktivaci, kapacitaci a akrosomální reakci, jinými slovy procesy, které jsou nezbytné pro nalezení a oplození oocyty. V této práci předpokládáme, že PTM jaderných a nejaderných proteinů odrážejí kvalitu spermií, a tak mohou sloužit jako selektivní ukazatele pro využití v ART. Dále předpokládáme, že přidání hydrogen sulfanu (H_2S) do *in vitro* manipulačního média, zlepšit motilitu a viabilitu spermií, a to prostřednictvím persulfidace. Pro dosažení našich cílů jsme detekovali proteiny pomocí metody Western blotu, v kombinaci s identifikací proteinů hmotnostní spektrometrií. Dále jsme použili metody imunocytochemie a průtokové cytometrie, pro lokalizaci a kvantifikaci našich cílových PTM v populaci spermií. Našli jsme spojitost mezi výskytem di-methylace lysinu K4 nacházejícím se na histonu H3 ($H3K4me2$) a mírou kondenzace chromatinu spermií, což dělá z $H3K4me2$ vhodného ukazatele kvality/zralosti chromatinu spermií s možností využití v ART. Další naše experimenty vedly ke zjištění, že látky, běžně znečišťující životní prostředí, mohou ovlivňovat spermie prostřednictvím modulace PTM proteinů. V naší studii jsme pozorovali změny acetylovu a phosphorylovu spermií, které měly souvislost se sníženou motilitou spermií. Nastolili jsme tak důležitou otázkou, zda polutanty z životního prostředí nemohou být příčinou mužské idiopatické neplodnosti. Nakonec jsme se zabývali výskytem H_2S a PTM od něj odvozená, persulfidace, v mužské reprodukci. Na rozdíl od výše zmíněných PTM, persulfidace může být u spermií navozena exogenním dodáním donoru H_2S , což může být i jedna z příčin zlepšení parametru spermií po přidání H_2S donoru do media. Tato práce poukazuje na důležitost PTM jaderných a nejaderných proteinů na fungování spermií a navrhuje jejich využití jako

ukazatele kvality spermií pro ART. Navíc, PTM proteinů spermií mohou být pozměněny přidáním donoru některé reaktivní molekuly např. H₂S během *in vitro* manipulace, a tak může dojít k výraznému zlepšení přežitelnosti spermií v *in vitro* podmínkách.

Klíčová slova: asistovaná reprodukce, H3K4me₂, sirovodík, posttranslační modifikace proteinů, persulfidace, mužská neplodnost