

Zusammenfassung

Das Steroidhormon Progesteron löst in menschlichen Spermien Änderungen der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) aus. Die Progesteron-induzierten Ca^{2+} -Signale sind biphasisch: auf einen schnellen und transienten Ca^{2+} -Anstieg folgt eine langsame und lang anhaltende Erhöhung von $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Diese Wirkung auf Spermien wird als „nicht-genomisch“ bezeichnet, da ein klassischer, genomischer Signalweg ausgeschlossen werden kann. Die Progesteronwirkung auf menschliche Spermien spielt vermutlich eine wichtige Rolle bei der Fertilisation. Über den nicht-genomischen Wirkungsmechanismus von Progesteron ist wenig bekannt. Um den Signalweg aufzuklären, habe ich mit kinetischen Methoden die Ca^{2+} -Signale untersucht. Ich konnte zeigen, dass Progesteron hauptsächlich – wenn nicht sogar ausschließlich – einen Ca^{2+} -Einstrom auslöst. Ca^{2+} strömt nach der Stimulation unmittelbar und ohne erkennbare Latenz in die Spermien ein – das weist darauf hin, dass Progesteron direkt mit Proteinen in der Zellmembran wechselwirkt, die $[\text{Ca}^{2+}]_i$ kontrollieren. Ich habe versucht, die Progesteronrezeptoren in Spermien zu identifizieren – durch funktionelle Experimente und eine Progesteron-Crosslinking Methode. Anhand der Daten lassen sich bekannte Ca^{2+} -Kanäle und Ca^{2+} -Transportproteine in der Spermienmembran als Zielproteine für Progesteron ausschließen. Ich konnte zudem zeigen, dass humane Spermien PGRMC1- und PGRMC2-Proteine exprimieren – Kandidaten für membranständige Progesteronrezeptoren. Bindungsstudien zeigten jedoch, dass die heterolog exprimierten putativen Progesteronbindedomänen der PGRMC-Proteine kein Progesteron binden. Um die Zielproteine von Progesteron zu identifizieren, habe ich Versuche mit einem speziell entwickelten Progesteron-Crosslinker Molekül durchgeführt. Das Ziel war, die kovalent modifizierten Proteine nach der Crosslinking-Reaktion über Massenspektrometrie nachzuweisen. Die Ergebnisse der Progesteron-Crosslinking Versuche sind sehr vielversprechend, jedoch nicht eindeutig. Mit dem Progesteron-Crosslinking Ansatz sollte es dennoch möglich sein – nach weiterer Entwicklung und Verbesserung – die Zielproteine von Progesteron in menschlichen Spermien zu identifizieren.