

## Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde eine Methode entwickelt, mit deren Hilfe simultan das Schwimmverhalten und die intrazelluläre  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration von schwimmenden Spermien des Seeigels *A. punctulata* und des Seesterns *A. amurensis* beobachtet und analysiert wurden. Es konnte gezeigt werden, dass sowohl die extrazelluläre Stimulation von *A. punctulata* Spermien mit dem Lockstoff Resact als auch die intrazelluläre Freisetzung von cGMP eine Folge von  $\text{Ca}^{2+}$ -Spikes im Flagellum auslösen. Ein  $\text{Ca}^{2+}$ -Spike löst eine kombinierte Verhaltensantwort aus. Diese Verhaltensantwort besteht aus einer Biegung in der Schwimmtrajektorie gefolgt von einem Abschnitt geraden Schwimmens („turn and run“). Die Beobachtung der intrazellulären  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration von schwimmenden Spermien in einem definierten Lockstoff-Gradienten zeigte, dass die induzierten  $\text{Ca}^{2+}$ -Spikes und die Stimulus-Funktion synchronisiert sind. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die zeitliche Abfolge von  $\text{Ca}^{2+}$ -Spikes das Schwimmverhalten steuert. Anhand der Ergebnisse dieser Arbeit wurde ein Modell zur Chemotaxis von Spermien erstellt, das erläutert wie Spermien sich in einem Gradienten orientieren.

Das Eizellpeptid des Seesterns *A. amurensis* Asterosap wurde als Lockstoff identifiziert. Der Vergleich der Chemotaxis zwischen Spermien des Seeigels *A. punctulata* und des Seesterns *A. amurensis* zeigte, dass das chemotaktische Verhalten beider Spezies in Bezug auf 1. die cGMP-induzierte  $\text{Ca}^{2+}$ -Dynamik im Flagellum, 2. die durch  $\text{Ca}^{2+}$  ausgelöste Verhaltensantwort und 3. das Schwimmverhalten in einem Lockstoff-Gradienten vergleichbar ist. Die Schlussfolgerung aus diesem Vergleich ist, dass cAMP weder bei der Chemotaxis von Spermien des Seesterns noch von Spermien des Seeigels eine essentielle Rolle spielt. Der cGMP-vermittelte chemotaktische Signalweg ist demnach in zwei Spezies konserviert geblieben, die vor ca. 500 Millionen Jahren divergierten.

Ein cGMP-aktivierter Ionenkanal, der für eine Hyperpolarisation oder für einen  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom verantwortlich sein könnte, konnte in *A. punctulata* bisher nicht identifiziert werden. Womöglich spielen spannungsabhängige  $\text{Ca}^{2+}$ -Kanäle, die bisher nur mit der akrosomalen Exozytose in Verbindung gebracht wurden, doch eine bedeutsame Rolle für den  $\text{Ca}^{2+}$ -Einstrom in der Chemotaxis von Spermien.

## Abstract

The events that occur during chemotaxis of sperm are only partly known. As an essential step toward determining the underlying mechanism, we developed a sensitive laser-stroboscopic technique that allows the recording of changes in intracellular  $\text{Ca}^{2+}$ -concentration in swimming sperm of the sea urchin *Arbacia punctulata* and starfish *Asterias amurensis*. Stimulation of the sea urchin *Arbacia punctulata* by the chemoattractant or by intracellular cGMP evokes  $\text{Ca}^{2+}$  spikes in the flagellum. These  $\text{Ca}^{2+}$  spikes control the swimming behaviour of sperm. A  $\text{Ca}^{2+}$  spike elicits a turn in the trajectory followed by a period of straight swimming ('turn and run').

The train of  $\text{Ca}^{2+}$  spikes give rise to repetitive loop-like movements. When sperm swim in a concentration gradient of the attractant, the  $\text{Ca}^{2+}$  spikes and the stimulus function are synchronized, suggesting that precise timing of  $\text{Ca}^{2+}$  spikes controls navigation. We identified the peptide asterosap as a chemotactic factor of the starfish *Asterias amurensis*. The similarities in first, the cGMP-induced  $\text{Ca}^{2+}$  spikes in the flagellum, second the motor response and third the swimming behaviour of sperm from starfish and sea urchin imply that the signalling pathway of chemotaxis has been conserved in species, which diverged almost 500 million years ago.

A cGMP-gated ion channel (CNG-channel), which might be involved in hyperpolarisation or  $\text{Ca}^{2+}$  entry, could not yet be identified in *Arbacia punctulata*. Voltage-sensitive  $\text{Ca}^{2+}$ -channels, which are only said to have a function in the acrosome reaction, however, seem to play a more important role for the  $\text{Ca}^{2+}$  entry during sperm chemotaxis.