

پویایی سر اسپرم پستانداران

رویدادهای تغییر- تبدیل و بلوغ از اسپرماتوژنز تا
فعال شدن تخمک

آناتومی، جنین-شناسی و بیولوژی سلولی پیشرفته

مترجمین

حمید کهرام

بهرام افراسیابی

نوید داداش پور دواچی

سرشناسنامه	توشیموری، کیوتاکا Toshimori, Kiyotaka
عنوان و نام پدید آورگان	پویایی سر اسپرم پستانداران: رویدادهای تغییر- تبدیل و بلوغ از اسپرماتوژنز تا فعال شدن تخمک.../ [کیوتاکا توشیموری]؛ مترجمین حمید کهرام، نوید داداش پوردواجی، بهرام افراسیابی.
مشخصات نشر	تهران: انتشارات شرکت سلامت پویان کوثر، ۱۴۰۱.
مشخصات ظاهری:	۱۴۲ ص: مصور، جدول: ۲۹×۲۲ س م.
شابک	۷-۵-۹۴۶۱۴-۶۲۲-۹۷۸-۵۰۰۰۰ ریال
وضعیت فهرست نویسی	فیپا
یادداشت	عنوان اصلی: Dynamics of the mammalian sperm head modifications and maturation events from spermatogenesis to egg activation, c2009.
یادداشت	چاپ قبلی کتاب حاضر تحت عنوان «دینامیک اسپرم پستانداران» توسط انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی (شبیستر) در سال ۱۳۹۱ منتشر شده است.
یادداشت	کتابنامه: ص. ۱۲۶-۱۴۲.
عنوان دیگر	رویدادهای تغییر- تبدیل و بلوغ از اسپرماتوژنز تا فعال شدن تخمک ...
عنوان دیگر	دینامیک اسپرم پستانداران.
موضوع	اسپرماتوزوئید
موضوع	اسپرم سازی در حیوان ها
شناسه افزوده	کهرام، حمید، ۱۳۳۷ -، مترجم
شناسه افزوده	داداش پور دواجی، نوید، ۱۳۶۰ -، مترجم
شناسه افزوده	افراسیابی، بهرام، ۱۳۶۴ -، مترجم
رده بندی کنگره	QL۹۶۶
رده بندی دیویی	۵۷۱/۸۴۵
شماره کتابخانه ملی	۸۸۲۳۷۱۳



نام کتاب:	پویایی سر اسپرم پستانداران
ناشر:	تهران: انتشارات شرکت سلامت پویان کوثر
ترجمه:	حمید کهرام، نوید داداش پور دواجی، بهرام افراسیابی
حروف چینی و صفحه آرایی:	مهدیه کاظمی
طراحی جلد:	راضیه جانباز
نوبت چاپ:	اول
لیتوگرافی و چاپ:	چاپ کهن
شمارگان:	۱۰۰۰
شابک:	۷-۵-۹۴۶۱۴-۶۲۲-۹۷۸
قیمت:	۵۰۰۰۰ ریال

فهرست

خلاصه.....	۱
عبارات مخفف استفاده شده در تشریح نمایه ها.....	۲
فصل ۱: پویایی ناحیه سر اسپرم پستانداران.....	۳
فصل ۲: سر اسپرم پستانداران.....	۱۳
۱-۲ ساختارها، نواحی و فعالیت های مربوطه.....	۱۴
۲-۲ لایه های سیتوپلاسمی.....	۱۵
۱-۲-۱ لایه های سیتوپلاسمی پیرامون آکروزومی و زیر آکروزومی.....	۱۶
۲-۲-۲ لایه سیتوپلاسمی پس آکروزومی.....	۱۷
۳-۲ سیستم غشایی.....	۱۹
فصل ۳: ساخت سر اسپرم و عواملی که آن را تحت تاثیر قرار می دهد.....	۲۳
۱-۳-۱- تقابل های سلولی.....	۲۵
۱-۳-۱- فاکتور مربوط به سلول بنیادی، فاکتور فولادی و گیرندهی c-kit.....	۲۶
۲-۱-۳- پل های بین سلولی.....	۲۸
۳-۱-۳- تخصص یافتن اکتوپلاسمی.....	۳۱
۲-۳- پروتئین های IgSF.....	۳۲
۱-۲-۳- پروتئین های IgSF روی سلول های سرتولی بیان می شوند.....	۳۴
۲-۲-۳- پروتئین های IgSF که روی سلول های زاینده بیان می شوند.....	۳۵
فصل ۴: تغییر- تبدیل های پس از بیضه ای و رویدادهای بلوغ که در سر اسپرم رخ می دهد.....	۳۹
۱-۴- در اپیدیدیم.....	۴۰
۲-۴- در دستگاه تولید مثل ماده.....	۴۳
فصل ۵: پویایی آکروزوم.....	۴۵
۱-۵- ساخته شدن (بیوژنز) آکروزوم در اسپرماتوژنز.....	۴۶
۱-۵-۱- گامه گلژی (مراحل ۱ تا ۳ در موش خانگی، مرحله a در انسان).....	۴۷
۱-۵-۲- گامه کلاهی (مراحل ۴ تا ۷ در موش و مرحله ۲-b در انسان).....	۴۸

۳-۱-۵	گامه طویل شدن یا گامه آکروزوم (مراحل ۸ تا ۱۲ در موش، مرحله C در انسان‌ها).....	۴۹
۴-۱-۵	گامه بلوغ (مراحل ۱۳ تا ۱۶ در موش، مرحله ۲-d۱ در انسان).....	۵۰
۲-۵	مسیرهایی برای انتقال مولکول‌های آکروزومی.....	۵۰
۳-۵	ریزمحیط آکروزوم.....	۵۲
۴-۵	تغییرات پس از بیضه‌ای و وقایع بلوغ.....	۵۳
۱-۴-۵	غشاء آکروزوم.....	۵۳
۲-۴-۵	ماتریکس آکروزوم.....	۵۳
۳-۴-۵	زیربخش‌ها.....	۵۴
۵-۵	آنزیم‌های آکروزومی و سایر مولکول‌ها.....	۵۵
۶-۵	شکست در ساخته شدن (بیوژنز) آکروزوم.....	۵۷

فصل ۶: پویایی کپسول پیرامون هسته‌ای..... ۶۱

۱-۶	ساخته شدن (بیوژنز) در طی اسپرماتوژنز.....	۶۲
۲-۶	عملکرد مولکول‌های متصل به کپسول پیرامون هسته‌ای.....	۶۳

فصل ۷: پویایی هسته اسپرم..... ۶۵

۱-۷	تشکیل و بلوغ هسته.....	۶۷
۲-۷	تشکیل غیرطبیعی هسته در موش‌های Gene-KO.....	۶۹
۳-۷	قطعه‌قطعه شدن DNA.....	۷۱
۱-۳-۷	آسیب DNA در سلول‌های زاینده و اسپرم‌های بالغ.....	۷۲
۲-۳-۷	ارزیابی قطعه‌قطعه شدن DNA.....	۷۳

فصل ۸: پویایی سیستم غشایی..... ۷۷

۱-۸	تغییرات پروتئین‌های موجود در غشاء پلاسمایی اسپرم.....	۷۸
۲-۸	اتصال به زوناپلوسیدا و واکنش آکروزوم.....	۸۲
۳-۸	اتصال اولیه اسپرم به زوناپلوسیدا.....	۸۲
۴-۸	واکنش آکروزومی.....	۸۳
۵-۸	آزاد شدن آهسته و سریع مولکول‌های آکروزومی SNARE.....	۸۸
۶-۸	اتصال ثانویه به زوناپلوسیدا و مولکول‌های کاندید که در آن درگیر می‌باشند.....	۹۰
۷-۸	آرایش برای هم‌جوشی غشاء گامت‌ها و مولکول‌های کاندیدای درگیر.....	۹۶
۸-۸	هم‌جوشی غشاء گامت‌ها.....	۹۹

فصل ۹: پویایی فعال سازی سلول تخم (اووسیت) ۱۰۳

۹-۱ فاکتورهای (سیتوپلاسمی) اسپرم و مولکول‌های کاندیدا برای دخالت در فرایند فعال سازی سلول تخم..... ۱۰۴

۹-۲ گیرنده‌های اسپرم..... ۱۰۹

۹-۳ بعد از فعال سازی سلول تخم ۱۱۰

فصل ۱۰: وضعیت های سر اسپرم طی لقاح طبیعی، IVF، ICSI و تزریق اسپرماتیدهای
کروی..... ۱۱۳

فصل ۱۱: نتیجه گیری..... ۱۱۵

منابع..... ۱۱۷

خلاصه

اسپرم پستانداران ساختار پیچیده‌ای دارد. ارتباط بین ساختار و فعالیت اسپرم از تمامی نقطه نظرها مورد بررسی قرار گرفته است. تاکنون شواهد متعددی مبنی بر تغییرات متوالی در ترکیب اجزا تشکیل دهنده اسپرم از زمان تولید (اسپرماتوژنز) تا زمانی که فرایند لقاح صورت می‌گیرد (تشکیل رویان) به ثبت رسیده است. مطالعات ساختاری در اسپرم با بهره گرفتن از تکنیک‌های جدید میکروسکوپ‌های نوری و الکترونی، همچنین به واسطه استفاده از روش‌های ایمینوهیستوکمیستری^۱ و ایمینوسیتوکمیستری^۲ با بهره جستن از کاوشگرهای ویژه مانند آنتی‌بادی‌هایی که ضد ترکیبات اسپرم می‌باشند، انجام گرفته است. علاوه بر تکنیک‌های مذکور روش‌های دستکاری ژن‌ها و تحقیق بر روی وقایعی که ارتباط بین ساختار اسپرم و ترکیبات مولکولی اسپرم را کنترل می‌کند، نیز توسعه یافته است. علاوه بر این، مدل‌های حیوانی که در آنها دستکاری ژنی رخ داده است، انواع مورفولوژی و عملکرد غیرطبیعی که منجر به ناباروری می‌شوند را نشان می‌دهند.

در انسان، ناباروری جنس نر تحت تاثیر عوامل متفاوت مانند محیط خارجی، تغییرات تغذیه‌ای، ژنتوکسین^۳ و ترکیبات جهش‌زا قرار می‌گیرد. این عوامل فقط بر توسعه سلول‌های زاینده هنگام اسپرماتوژنز تاثیر ندارند، بلکه فعالیت اسپرم‌های بالغ را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهند که در نهایت منجر به صدمه دیدن فرایند لقاح و توسعه رویان می‌شوند. فنوتیپ‌های شاخص حاصل از لقاح ناقص یا رویان‌زایی^۴ ناقص، در شرایطی مانند آزواسپریمیا^۵، الیگوزواسپریمیا^۶ و تراتوزواسپریمیا^۷ آشکار می‌شوند، که این رخدادها، در مدل‌های حیوانی با بهره گرفتن از روش‌های نوین القاء نقص ژنی ایجاد شده‌اند. بنابراین، تحلیل‌های مقایسه‌ای می‌بایست در بین فنوتیپ‌های بیان شده حاصل از مدل‌های حیوانی حامل جهش‌های ژنی، بیماران نابارور (انسان) و فرایند لقاح طبیعی صورت پذیرد تا بتواند دلایل ناباروری که منشاء آن در جنس نر می‌باشد را شناسایی و مشخص نمایند. در این کتاب، در خصوص وقایعی که در سر اسپرم‌های طبیعی و رخداد‌های کنترل کننده رابطه بین ساختار و فعالیت اسپرم

۱ Immunohistochemistry

۲ Immunocytochemistry

۳ Genotoxin

۴ Embryogenesis

۵ Azoospermia

۶ Oligozoospermia

۷ Teratozoospermia

از زمان ساخته شدن اسپرم (اسپرماتوژنز) تا لقاح یا فعال سازی سلول تخم^۱ رخ می دهند، بحث خواهد شد. به همین جهت، پویش^۲ و رخداد های مربوط به بلوغ که در اجزاء سر اسپرم رخ می دهد و همچنین نتایج این رخداد ها در صورت وقوع با موفقیت با نتایج عدم موفقیت آن ها در این کتاب توصیف و مقایسه شده است.

عبارات مخفف استفاده شده در تشریح نمایه ها

اصطلاح	مخفف	اصطلاح	مخفف	اصطلاح	مخفف	اصطلاح	مخفف
فیبر متراکم خارجی	ODF	ناتوان	KO	قطعه انتهایی	EP	آکروزوم	A
آکروزوم و زونا پلوسیدا	P and Z	میکروویلی	M	شبکه اندوپلاسمی	ER	آکروزوم قدامی	AA
پس آکروزوم	PA	قطعه میانی	MP	قطعه استوایی	ES	رشته های محوری	AF
ناحیه پس آکروزومی	PAR	ورقه میتو کندریایی	MS	غشاء پلاسمایی پوشش دهنده قطعه استوایی	ES-PM	صفحه آکروزومی	AP
صفحه پس آکروزومی یا ورقه پاراکریستالین	PAS	هسته	N	freeze-fracture replica شکافت سرمایی	FFR	صفحه پایه ای	BP
سانتریول پروکسیمال	PC	گردن	Ne	صفحه فیبروزی	FS	قطره سیتوپلاسمی	CD
P-face	PF	پوشش هسته ای	NE	سر	H	گرانول قشری	CG
غشاء پلاسمایی	PM	صفحه هسته ای	NP	غشاء داخلی آکروزوم	IAM	قطعه ارتباطی	CP
قطعه اصلی	PP	اووسیت	O	رنگ آمیزی ایمنوگولد	IGS	تضاد مداخله افتراقی	DIC
حلقه پسین	PR	غشاء خارجی آکروزوم	OAM	ایمنوفلئورانس غیر مستقیم	IIF	E-face (E ناحیه)	EF
Transmission electron microscope	TEM	پوشش هسته ای زائد	PNE	فضای پیش ویتلین	PVS	کپسول پیرامون هسته ای	PT

^۱ Egg activation

^۲ Dinamic

فصل ۱

پویایی ناحیه سر اسپرم پستانداران

حدود ۳۰ سال (به عبارت دیگر از سال ۱۹۷۵ تا کنون) در خصوص اسپرم، لقاح و توسعه اولیه رویان در پستانداران مطالعه کرده‌ام و هدف مطالعاتم، عبور از تحقیقات پایه‌ای به سمت کاربردهای بالینی بوده است. اخیراً مشغول مطالعات ترکیبی در زمینه دستکاری ژن و مطالعات فراساختاری^۱، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی شده‌ام. این مطالعات بر روی حیوانات آزمایشگاهی و موارد بالینی^۲ انجام شده است. تمرکز این مطالعات فقط بر روی تغییر و تبدیلهای القایی پیوسته که در اجزاء سر اسپرم به وقوع می‌پیوندد و منجر به بلوغ اسپرم می‌شود نمی‌باشد، بلکه بر روی لقاح ناموفق و ناباروری که به دلیل تغییرات نامناسب اجزاء اسپرم رخ می‌دهد، نیز توسعه داده شده است.

سلول اسپرم بالغ، یک سلول هاپلوئید کاملاً تمایز یافته است که دارای یک سر و یک تازک^۳ است. شکل سر اسپرم در بین گونه‌ها تنوع زیادی دارد، ولی می‌تواند به دو گروه کلی طبقه‌بندی شود: (۱) سر داسی شکل (نیم دایره^۴)، همانند اسپرم جوندگان، (۲) سر پارو مانند (شکل قاشق^۵ یا شبیه بادبزن^۶) که در بیشتر گونه‌ها از جمله انسان شکل سر اسپرم این گونه است (نمایه ۱-۱). در بیشتر گونه‌ها شکل سر اسپرم از دید پشتی-شکمی^۷ مسطح می‌باشد. سر اسپرم شامل یک هسته، یک آکروزوم و مقدار کمی سیتوپلاسم که در قالب لایه‌های سیتوپلاسمی هستند، می‌باشد (نمایه ۱-۲). هسته در بردارنده ماده ژنتیکی والد پدری است. این ماده ژنتیکی شامل رشته‌های DNA می‌باشد که به صورت منحصر به فردی سازمان یافته است. این رشته‌های DNA، همراه با پروتئین‌های هسته‌ای پروتامین^۸ نوع ۱ و ۲ می‌باشند. آکروزوم اسپرم‌های بالغ، کیسه کوچک شبیه به کلاهک می‌باشد که ناحیه پروکسیمال^۹ سر اسپرم را می‌پوشاند. آکروزوم توسط غشای آکروزومی کاملاً پوشانده می‌شود. همچنین این قسمت از اسپرم در بردارنده آنزیم‌های هیدرولیزکننده و ماتریکس پروتئینی ویژه ای می‌باشد. سیتوپلاسم بین هسته و غشاء پلاسمایی قرار گرفته و پیرامون آن با فضاهای بسیار نازکی که به سمت غشاء پلاسمایی می‌باشند بسیار نازک شده است و لایه‌های باریکی را به وجود می‌آورد (نمایه ۱-۳).

۱ Ultrastructural

۲ Clinical materials

۳ Flagellum

۴ Falciform

۵ Spatulate

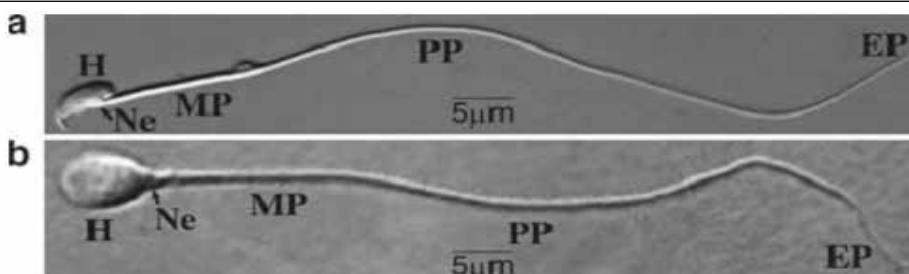
۶ Fan-like

۷ Ventrodorsal

۸ Protamines

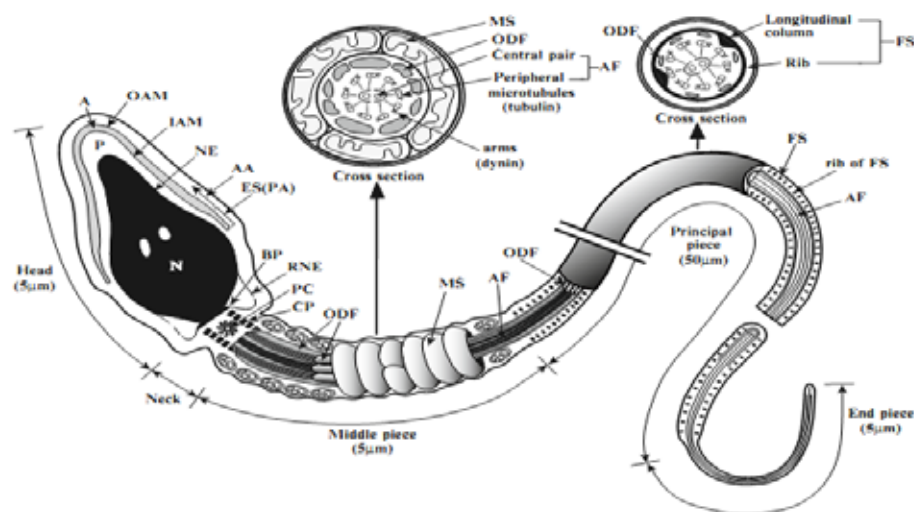
۹ Proximal

دم اسپرم شامل ساختارهای مربوط به حرکت اسپرم، میتوکندری‌ها، یک آکسونم^۱ و ساختارهای سیتوپلاسمی- اسکلتی می‌باشد. از جمله بخش‌های این ساختار می‌توان به فیبرهای متراکم خارجی^۲ (ODF_s) و صفحه‌های فیبروزی^۳ (FS_s) اشاره کرد (نمایه ۱-۲). اخیراً مشخص شده است که این اجزاء با ترکیبات منحصر به فردی در سیتوپلاسم مربوط می‌باشند. از نظر ساختاری، دم اسپرم به چهار ناحیه کلی (دومین^۴)، دومین گردن، دومین میانی^۵، دومین اصلی و دومین انتهایی تقسیم می‌شود. ناحیه گردن دارای ساختار ترکیبی می‌باشد که اجزاء اصلی این بخش شامل: صفحه پایه‌ای^۶، پوشش هسته‌ای مضاعف^۷، ۲ الی ۳ میتوکندری (میتوکندری‌های گردنی)، و یک قطعه ارتباطی (شامل نوک یا سر کوچک^۸، سانتروزوم^۹، و ستون‌های حلقه‌ای^{۱۰}) که به ODF_s مرتبط است. سانتروزوم‌ها شامل سانتریول‌های پروکسیمال و انواع مختلفی از پروتئین‌های ماتریکسی پیرامون سانتریولی^{۱۱} می‌باشند.



نمایه ۱-۱، a-b: ریزنگار میکروسکوپ نوری که سر و دم اسپرم را در پستانداران نشان می‌دهد. نمایه a مربوط به موش و نمایه b مربوط به انسان است.

- ۱ Axoneme
- ۲ Outer dense fibers (ODFs)
- ۳ Fibrous sheaths (FSs)
- ۴ Domains
- ۵ Midpiece
- ۶ Basal Plate
- ۷ Redundant Nuclear Envelope
- ۸ Capitulum
- ۹ Centrosome
- ۱۰ Segmented columns
- ۱۱ Pericentriolar matrix proteins



نمایه ۱-۲: طرحی از ترکیبات سر و دم اسپرم

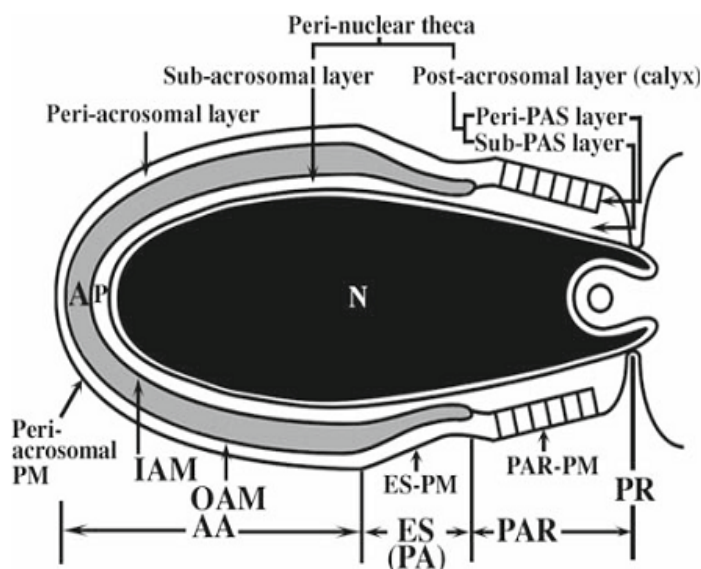
زمانی که اسپرم به اووسیت می‌رسد، سانتیولیول‌های پروکسیمال در ساخت میکروتوبول‌ها به ایفای نقش می‌پردازند. و از نظر مورفولوژی هنگام لقاح به آستر اسپرم^۱ پستانداران غیرجونده، از جمله انسان، تکامل می‌یابند. سانتیولیول‌های دیستال^۲ به بخش پروکسیمال آکسونم^۳ انتقال می‌یابند.

ابتدا در این کتاب، در خصوص وقایع مربوط به تغییرات سر اسپرم بحث خواهد شد. همچنین در خصوص ساختار دم اسپرم و تغییرات آن در طی این وقایع نیز بحث می‌شود. وقایعی که ترکیبات دم را درگیر می‌کنند قبلاً در مقالات وسیعی بحث شده است (Eddy, 2007).

^۱ Sperm aster

^۲ Distal

^۳ Axoneme



نمایه ۱-۳: طرحی از زیرنواحی سر اسپرم و لایه‌های سیتوپلاسمی.

نقش اسپرم پستانداران فقط انتقال ماده ژنتیکی والد نر نیست بلکه سلول اووسیت که در متافاز تقسیم میوز ۲ متوقف شده است را نیز فعال می‌کند. برای این منظور در دوره اسپرماتوژنز در سر اسپرم ساختارهای پیچیده‌ای ایجاد می‌شود. فرایند اسپرماتوژنز در سراسر سیر تکاملی به شدت محافظت شده است و در سراسر زندگی افراد بالغ اکثر گونه‌های پستاندار برقرار می‌باشد. اسپرماتوژنز فرایند تمایزی کاملاً برنامه‌ریزی شده‌ای است که شامل تنظیمات تکاملی با بیان دوره‌ای ژن‌ها و رونوشت‌های متغیر آن‌ها می‌باشد. سلول‌های سرتولی، سلول‌های زاینده^۱ را در اپیتلیوم اسپرم‌ساز^۲ هم از نظر ساختاری و هم از نظر عملکردی، تحت کنترل هورمون تستوسترون ترشحی از سلول‌های لایدیگ (اندروژن) و هورمون محرک رشد فولیکول^۳ (FSH) ترشحی از هیپوفیز، حمایت می‌کنند. فعالیت سلول‌های لایدیگ از طریق محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-غدد جنسی و با یک هورمون هیپوفیزی، هورمون لوتینه‌کننده (LH) یا (ICSH)^۴، کنترل می‌شود. در موش فرایند اسپرماتوژنز حدود ۳۵ روز، کامل می‌شود (تقریباً ۱۱ روز برای گامه میتوزی، ۱۰ روز برای گامه میوزی و ۱۴ روز برای گامه بعد

۱ Germ cells

۲ Seminiferous epithelium

۳ Follicle-stimulating hormone

۴ Interstitial cell-stimulating hormone

از میوز). این مدت زمان برای انسان حدود ۷۴ روز است (Clermont and Trott, 1969). سلول‌های اسپرم بالغ که در فرایند اسپرماتوژنز ساخته می‌شوند، به واسطه سلول‌های سرتولی آزاد می‌شوند. اسپرم‌های بیضه‌ای از نظر ژنتیکی بالغ می‌باشند. در حقیقت، زمانی که اسپرم از یک بیضه (TESE)^۱ گرفته و به داخل اووسیت تزریق شود می‌تواند منجر به تولید رویان شود (تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم، ICSI)^۲. TESE-ICSI یک تکنیک تولید مثلی مصنوعی^۳ می‌باشد که در حال حاضر برای درمان ناباروری توسعه یافته است.

تحت شرایط طبیعی اسپرم برای رسیدن به اپیدیدیم، باید از شبکه بیضه‌ای^۴، کانال‌های لوله‌ای^۵ و مجرای بیرون‌بر^۶ عبور کند. اسپرم‌هایی که وارد سر اپیدیدیم^۷ می‌شوند از نظر فعالیت، نابالغ می‌باشند. این اسپرم‌ها ویژگی‌های قابلیت حرکت روبه جلو و شناسایی زوناپلوسیدا را ندارند. هنگام عبور از بیضه، اجزاء اسپرم طی عبور از اپیدیدیم دچار تغییرات عملکردی و فیزیولوژیکی می‌شود و در اثر این وقایع اسپرم به بلوغ می‌رسد. با این تغییرات اجزاء اسپرم، علاوه بر چندین ویژگی عملکردی مانند قابلیت حرکت روبه جلو و توانایی تشخیص زوناپلوسیدا، دارای توانایی حفاظت از اسپرماتوزوا نیز می‌شود. به طور کلی این تغییرات، بلوغ در اپیدیدیم نامیده می‌شود (Bedford, 1967; Cooper, 1998). اسپرماتوزوا تحت تاثیر ترشحات تولیدی توسط سلول‌های پوششی موجود در مجاری تولید مثلی جنس نر متحمل این تغییرات می‌شود. در بیشتر پستانداران، مدت زمان عبور اسپرماتوزوا از مجرای اپیدیدیم بین ۲ تا ۱۰ روز می‌باشد، صرف نظر از تمام طول مجرای اپیدیدیم، این فرایند در انسان در ۲ تا ۳ روز رخ می‌دهد. اسپرماتوزوایی که به بلوغ عملکردی و ساختاری رسیده است در ناحیه دم اپیدیدیم و مجرای بیرون‌بر باقی می‌ماند تا فرایند انزال^۸ انجام شود. ناحیه دم اپیدیدیم در انسان نسبت به سایر پستانداران به صورت ضعیفی توسعه یافته است.

۱ Testicular sperm extraction

۲ Intracytoplasmic sperm injection (ICSI)

۳ Artificial reproductive technique (ART)

۴ Rete testis

۵ Conduit canals

۶ Ductus efferentes

۷ Caput epididymidis

۸ Ejaculation

طی فرایند انزال، اسپرماتوزوا با مواد ترش‌حی غده‌های وزیکول سمینال^۱ و پروستات پوشش داده می‌شوند. به طور معمول، مایع منی انسان دربردارنده ۱۰^۸ اسپرماتوزوا در هر میلی‌لیتر (تقریباً ۱ درصد وزن هر انزال) است که به همراه ترکیبات مربوط به مایع پروستات (تقریباً ۲۰ درصد وزن هر انزال؛ از جمله ترکیبات آن روی، اسید فسفاتاز، فیبرینولیزین پیشرو^۲، پلی‌آمین‌ها و غیره) و مواد حاصل از کیسه منی^۳ (۴۰ تا ۸۰ درصد وزن منی؛ ترکیبات آن، فروکتوز، آسکوربیک اسید، فیبرینوژن، پروستاگلاندین، کلسترول و غیره) می‌باشد. این ترکیبات دارای تعداد زیادی از عناصر زیستی می‌باشند که اسپرم برای انجام فعالیت‌های متنوع به آن‌ها نیازمند است.

زمانی که اسپرماتوزوا، در اثر انزال وارد دستگاه تولید مثل جنس ماده می‌شود با چندین مانع یا سد در سر راه خود مواجه می‌شود. در ابتدا، اسپرم باید از یک مخاط چسبناک^۴ در پیوندگاه بین واژن و رحم (به عبارت دیگر سرویکس)، و پیوندگاه بین رحم و لوله فالوپ (اویداکت، پیوندگاه اویدکت-رحم)^۵ عبور کند. در پیوندگاه اویدکت-رحم، اسپرماتوزوا به صورت موقت با بافت پوششی اویدکت در تماس قرار می‌گیرد و تغییرات بیشتر و ناشناخته‌ای را متحمل می‌شود (Oka-Oh et al., 2003; Yanagimachi, 1994) طول دوره این ارتباط اسپرم، در گونه‌های مختلف متفاوت است و به طول چرخه فعلی بستگی دارد (برای نمونه، در بعضی از خفاش‌ها این ارتباط تا ۶ ماه حفظ می‌شود). اسپرم بعد از خارج شدن از پیوندگاه اویدکت-رحم و قبل از رسیدن به ناحیه آمپولا، یک بخش بزرگی از عمل ظرفیت‌پذیری^۶ را انجام داده است. تغییرات فیزیولوژیکی (عملکردی) که به اسپرماتوزوای بالارونده^۷ توانایی سوراخ کردن و نفوذ به سلول تخم (اووسیت) را می‌دهد در مجموع به عنوان فرایند ظرفیت‌پذیری شناخته می‌شود.

۱ Seminal vesicle

۲ Fibrinolysin precursors

۳ Seminal vesicle

۴ Viscous mucous

۵ UT junction

۶ Capacitation

۷ Ascending spermatozoa

اسپرم‌هایی که متحمل ظرفیت‌پذیری می‌شوند، حرکات نیرومندی (شلاقی^۱) را در ناحیه دم از خود نشان می‌دهند، به عبارت دیگر اسپرم بیش‌فعال^۲ شده است. بیش‌فعال شدن اسپرم یک علامت ظاهری است که نشان می‌دهد اسپرم متحمل تمام تغییرات فیزیولوژیکی ضروری برای تقابل اسپرم-اووسیت شده است. تحت شرایط طبیعی، اسپرم‌هایی که کاملاً ظرفیت‌پذیر شده‌اند می‌توانند با موفقیت از میان ماتریکس سلول‌های کومولوس عبور کنند و به زوناپلوسیدا متصل شوند. اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا به دو مرحله، اتصال اولیه و اتصال ثانویه طبقه‌بندی می‌شود. بعد از اتصال اولیه و قبل از اتصال ثانویه، اسپرم متحمل فرایند واکنش آکروزومی^۳ می‌شود. واکنش آکروزومی فرایندی است که آنزیم‌های آکروزومی به بیرون ترشح^۴ می‌شوند و به مولکول‌های ماتریکس اسپرم متصل می‌شوند. این عمل دارای اهمیت دوگانه است. نخست این که واکنش آکروزومی به اسپرم کمک می‌کند تا از میان پوشش سلول‌های بدنی^۵ اووسیت از طریق هیدرولیز و یا تغییر ترکیبات زوناپلوسیدا عبور کند. ثانیاً، واکنش آکروزومی به خودی خود آغازگر تغییر و تبدیل‌های مولکول‌هایی می‌باشد که از قبل بر روی غشای پلاسمایی اسپرم حضور داشته‌اند. این رویداد برای ایجاد توانایی در بخشی از غشاء پلاسمایی اسپرم که در ناحیه بالای قطعه استوایی^۶ واقع شده است (ES یا غشاء پلاسمایی استوایی) به منظور همجوشی با غشاء پلاسمایی اووسیت^۷ دارای اهمیت می‌باشد می‌توان آن را آماده شدن برای همجوشی غشاء گامت‌ها نامید. روندی که تغییر و تبدیلات سطح اسپرم را در شرایط *in vivo* و *in vitro* القاء می‌نماید به نظر بسیار پیچیده‌تر از آن است که قبلاً تصور می‌شد.

سرانجام، تنها اسپرمی که واکنش آکروزومی را کامل کرده باشد می‌تواند به درون زوناپلوسیدا نفوذ کند. بعد از عبور اسپرم از زوناپلوسیدا، تنها اسپرمی که واکنش آکروزوم را انجام داده باشد می‌تواند به غشاء اووسیت متصل شده فرایند همجوشی را انجام دهد. بلافاصله بعد از ادغام غشاء گامت‌ها باهم و یا در خلال آن، اووسیت فعال می‌شود. این فعال‌سازی اووسیت، آغازگر از سرگیری و تکمیل تقسیم میوز^۲ می‌باشد که در مرحله متافاز^۲ متوقف شده بود و همچنین باعث القاء نوسان‌های

۱ Whiplash

۲ Hyperactivation

۳ Acrosome reaction

۴ Exocytosing

۵ Somatic cells

۶ Equatorial segment(ES)

۷ Oolemma

یون کلسیم می‌گردد، که در خلال آن مولکول‌های عملکردی با یک الگوی دقیق و به موقع بیان می‌شوند، تمامی این وقایع با تغییرات ساختاری در اجزاء متشکله در سر اسپرم همزمان می‌باشد. فعال شدن اووسیت برای توسعه طبیعی رویان ضروری است.

تمام فرایند بلوغ اسپرم، از اسپرماتوژنز تا فعال شدن سلول تخم، شامل تغییر-تبدیل‌های پی‌درپی بیوشیمیایی و ساختاری در نواحی سر و دم اسپرم است. بنابراین، این فرایند به آسانی توسط عواملی مانند تخریب گره‌های ژنتیکی^۱ یا قرار گرفتن در معرض مواد شیمیایی خارجی و پرخطر و حاوی توکسین مانند مواد مختل کننده سیستم هورمونی^۲، صدمه می‌بینند (Escalier 2001, 2006; O'Bryan and de Kretser 2006; Russell et al. 1994; Toshimori et al. 2004). امروزه با استفاده از تکنیک‌های پیشرفته حذف ژن^۳ مانند سیستم‌های ناتوان کننده ژن^۴ (KO)، این قبیل صدمات جدی در فرایند بلوغ اسپرم را می‌توان برای مطالعه حالت‌های متنوعی که منجر به ناباروری می‌شود مانند توقف بلوغ اسپرم (آزواسپرمیا)، تشکیل اسپرم‌های غیرطبیعی از نظر مورفولوژی (تراتوزواسپرمیا)، ترکیبی از ناهنجاری‌ها (الیگواستنوتراتوزواسپرمیا)^۵ و مشکلات عملکردی را شبیه‌سازی کرد. هدف این کتاب این است که در خصوص پویایی تغییراتی که از زمان اسپرماتوژنز آغاز شده و تا فعال شدن سلول تخم ادامه یافته و نهایتاً منجر به لقاح طبیعی و توسعه جنین در سر اسپرم می‌شود به بحث پردازد. همچنین در این کتاب وقایع طبیعی با حالت غیرطبیعی که تحت شرایط مختلف و توسط جهش‌های ژنی القاء می‌شوند، مقایسه خواهند شد. همچنین در خصوص تیمارهای بالینی برای دام‌ها، چونندگان و انسان‌های نابارور نیز بحث می‌شود.

۱ Genetic disruption

۲ Endocrine disruptors

۳ Gene-deletion techniques

۴ Gene-knockout (KO) system

۵ Oligoasthenoteratozoospermia

فصل ۲

سر اسپرم پستانداران

در پستانداران سلول‌های اسپرم فرایند میوز را قبل از آزاد شدن اسپرم^۱ کامل می‌کنند، در حالی که اووسیت فرایند میوز را قبل از تخمک‌ریزی کامل نمی‌کند. وزن یک اسپرم بالغ در حد پیکوگرم است و طول سر آن تقریباً ۵ میکرون می‌باشد. در مقابل وزن یک اووسیت بالغ حدود ۲۰ تا ۴۰ نانوگرم و عرض آن در حدود ۱۰۰ میکرون است. از آنجایی که اسپرم برای رسیدن به اووسیت فاصله طولانی را طی می‌کند، لازم است هسته اسپرم (در بردارنده ماده ژنتیکی) در یک شرایط حفاظت شده و امن قرار داشته باشد. در حقیقت هسته اسپرم درون ماتریکس هسته‌ای جاسازی شده است. تقریباً در حدود $2/5 \times 10^7$ از این قبیل ساختارهای پیچیده (اسپرم) به صورت روزانه در بیضه‌های انسان ساخته می‌شود. این در حالی است که تعداد کمی اووسیت در تخمدان توسعه می‌یابد و در لوله فالوپ یا اویدکت آزاد می‌شوند (معمولاً یک سلول در هر چرخه قاعدگی انسان و ۱۰ سلول اووسیت در هر چرخه فحلی در جوندگان).

۲-۱ ساختارها، نواحی^۲ و فعالیت‌های مربوطه

سر اسپرم پستانداران به دو ناحیه عمده و اصلی تقسیم می‌شود: ناحیه آکروزومی^۳ و ناحیه پس آکروزومی^۴ (PAR) که این نواحی را می‌توان به راحتی با استفاده از آنتی‌بادی‌های مخصوص شناسایی کرد. در این سری از مطالعات از آنتی‌بادی ضد آکروزومی^۵ MN9 (آنتی‌بادی ضد ناحیه استوایی) و آنتی‌بادی ضد PAR^۶ (MN13) استفاده شده است (Toshimori Kiyotaka) (نمایه ۲-۱). این نواحی خود مجدداً به زیرناحیه‌های^۷ بیشتری تقسیم می‌شوند. ناحیه آکروزومی به دو زیرناحیه تقسیم می‌شود: ناحیه آکروزومی قدامی^۸ و ناحیه آکروزومی پشتی^۹ (ES). ناحیه آکروزوم قدامی در واکنش آکروزومی دخالت دارد، که یکی از جالب‌ترین وقایعی می‌باشد که طی آن آنزیم‌های آکروزومی و پروتئین‌های ماتریکس آزاد می‌شوند. به نظر می‌رسد که ES در همجوشی غشاء سلولهای جنسی دخالت دارد. PAR از قسمت انتهایی ES و حلقه پسین که در دورترین ناحیه انتهایی سر قرار گرفته

۱ Spermiation

۲ Domain

۳ Acrosomal region

۴ Postacrosomal region

۵ Antiacro-somal antibody MN9 (antiEquatorin antibody)

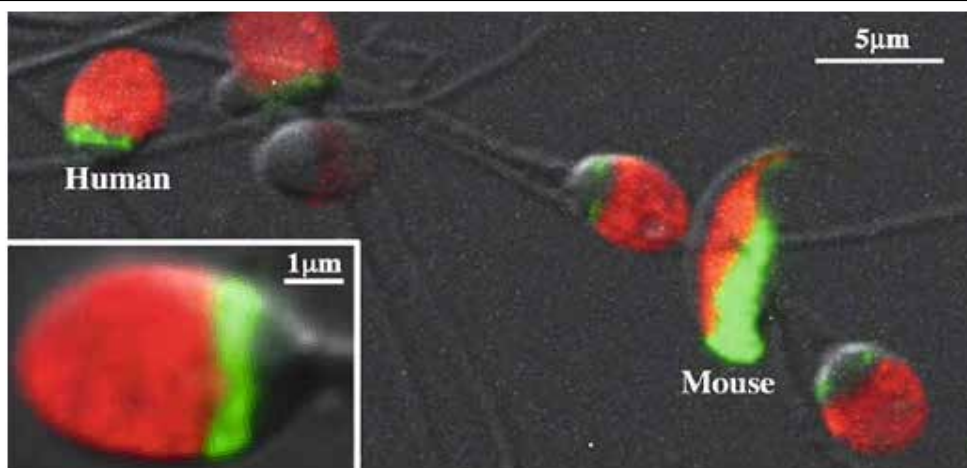
۶ Anti-PAR antibody MN13

۷ Subdomain

۸ Anterior acrosome

۹ Posterior acrosome or the ES

است توسعه مییابد و درحقیقت تشکیل دهنده مرز بین سر و دم یا ناحیه گردن می باشد (ناحیه اتصال دهنده)^۱. حلقه پسین یک ناحیه شبه کمربندی و محصور شده از غشا پلاسمایی را نشان می دهد که با پوشش هسته ای^۲ که در زیر قرار دارد، فرایند همجوشی را انجام می دهد. احتمال می رود که بخش پروکسیمال PAR در فعال سازی سلول تخم نقش داشته باشد.



نمایه ۱-۲: تصویر IIF که زیر ناحیه های اسپرم را نشان می دهد، آکروزوم (رنگ قرمز) و ناحیه پس آکروزومی (سبز رنگ). آکروزوم به صورت ویژه با آنتی بادی ضد ناحیه استوایی (MN9)، در صورتی که ناحیه پس آکروزومی با آنتی بادی ضد ترکیبات پس آکروزومی (MN13) مشخص شده اند.

۲-۲ لایه های سیتوپلاسمی

لایه های سیتوپلاسمی، فضاهایی می باشند که در بین سیستم های غشایی در سر اسپرم تشکیل شده اند (نمایه ۳-۱). این لایه ها به صورت ساختارهای باریک و مسطح توسعه می یابند و انباشتگی متراکمی از مواد اسکلتی سلول و مولکول های عملکردی^۳ را دارا می باشند. در اسپرم بالغ، آکروزوم که یک ارگان دارای غشاء است، در بین غشاء پلاسمایی و هسته که در زیر و در بخش جلویی سر قرار دارد، مستقر شده است. بنابراین مولکول هایی که در داخل لایه های سیتوپلاسمی انباشته شده اند، احتمالاً نقش مهمی را در لقاح و باروری دارا می باشند و برای همین شناسایی و آنالیز این مولکول ها مهم است. سیتوپلاسم را حداقل

۱ Connecting piece

۲ Nuclear envelope

۳ Functional molecules

به سه لایه می توان تفکیک کرد: لایه های پیرامون آکروزومی^۱، زیر آکروزومی^۲ و پس آکروزومی^۳.

۱-۲-۲ لایه های سیتوپلاسمی پیرامون آکروزومی و زیر آکروزومی

لایه پیرامون آکروزومی لایه سیتوپلاسمی است که بین غشاء خارجی آکروزوم^۴ و غشاء پلاسمایی پیرامون آکروزومی^۵ واقع شده، در حالی که، لایه سیتوپلاسمی زیر آکروزومی لایه باریکی است که بین غشاء داخلی آکروزوم^۶ و پوشش هسته قرار دارد. گزارش شده است که لایه پیرامون آکروزومی دارای رشته های اکتین (Hernández-González et al., 2000) و پروتئین گیلسولین^۷ که تنظیم کننده اکتین است، می باشد (Cabello-Agueros et al., 2003). این ترکیبات در شروع مراحل واکنش آکروزومی و بعداً در فرایند همجوشی اسپرم با سلول اووسیت ضروری می باشند. سطح خارجی مربوط به قطعه راسی^۸ لایه سیتوپلاسمی زیر آکروزومی یک ساختار اسکلتی برجسته ای را در اطراف هسته ایجاد می کند که این ساختار پرفوراتریوم^۹ نامیده می شود و به سمت ناحیه نوک دار^{۱۰} و به شکل سه گوش^{۱۱} برجسته شده است. از نظر فراساختاری، پرفوراتریوم از یک ماده متراکم از الکترون^{۱۲} ساخته شده است (ترکیبات کپسول پیرامون هسته). لایه های پیرامون و زیر آکروزومی در طی واکنش آکروزومی ناپدید می شوند. اما سیتوپلاسمی که به ES توسعه یافته است از نظر ساختاری حتی بعد از واکنش آکروزومی نیز بدون تغییر باقی می ماند.

۱ Periacrosomal

۲ Subacrosoma

۳ Postacrosomal

۴ Outer acrosomal membrane

۵ Periacrosomal plasma membrane

۶ Inner acrosomal membrane

۷ Gelsolin

۸ Apical segment

۹ Perforatorium

۱۰ Rostral region

۱۱ Triangular conformation

۱۲ Electron-dense substance

۲-۲-۲ لایه سیتوپلاسمی پس آکروزومی

غشاء پلاسمایی در PAR، به وسیله یک صفحه پاراکریستالین^۱ به صورت محکم با صفحه پس آکروزومی^۲ (PAS) که در زیر قرار دارد پیوند یافته است (Longo et al., 1987; Toshimori et al., 1991b). صفحه پاراکریستالین شامل پل‌های عرضی^۳ (فیلامنت‌ها) با قطری در حدود ۱۴-۱۰ نانومتر می‌باشد که به صورت منظم مرتب شده‌اند. آنتی ژن MN13 در این پل‌های عرضی واقع شده است (نمایه ۲-۲ و ۳-۲). صفحه‌های پاراکریستالین را تنها بعد از تیمار با شوینده‌های ملایم^۴ مانند تریتون ۱۰۰-X^۵ ۰/۱٪ می‌توان مشاهده کرد. لایه سیتوپلاسمی پس آکروزومی خود می‌تواند به دو بخش دیگر، peri-PAS و sub-PAS تقسیم شود. لایه peri-PAS با سیتوپلاسم بین PAS و غشاء پلاسمایی روی peri-PAS در ارتباط می‌باشد، در حالی که لایه sub-PAS با سیتوپلاسم بین PAS و پوشش هسته‌ای که در زیر قرار دارد در ارتباط است. به این جهت که محتوای موجود در لایه‌های پس آکروزومی و لایه‌های زیر آکروزومی تنها به صورت جمعی می‌توانند جدا شوند، این لایه‌های ادغام شده گاهی تحت عنوان کپسول پیرامون هسته‌ای^۶ یا کلاهک پس هسته‌ای^۷ نیز نامیده می‌شوند (Bellvé et al., 1992). بخشی از کپسول پیرامون هسته‌ای در PAR به عنوان کالیکس^۸ نیز شناخته می‌شود (Longo et al., 1987). فرض می‌شود که کپسول پیرامون هسته‌ای در برقرار نگه داشتن فرایند تشکیل هسته اسپرم یا حفظ ساختار سر اسپرم و در ذخیره تعداد زیادی از مولکول‌ها که برای فعال‌سازی سلول تخم^۹ ضروری می‌باشند، نقش دارد که در ادامه مورد بحث قرار خواهد گرفت.

۱ Paracrystalline sheet

۲ Postacrosomal sheath (PAS)

۳ Crossbridges

۴ Mild detergent

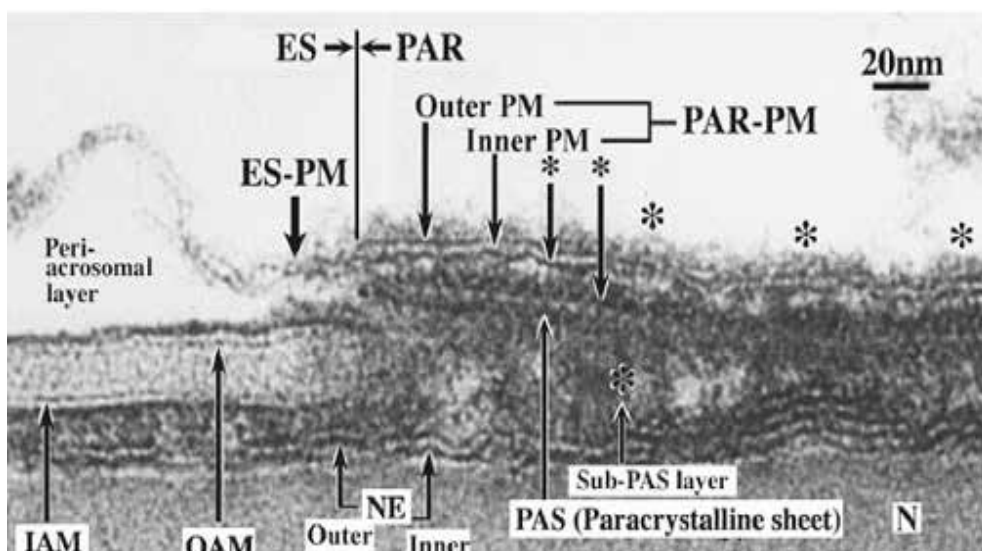
۵ Triton X-100

۶ Perinuclear theca

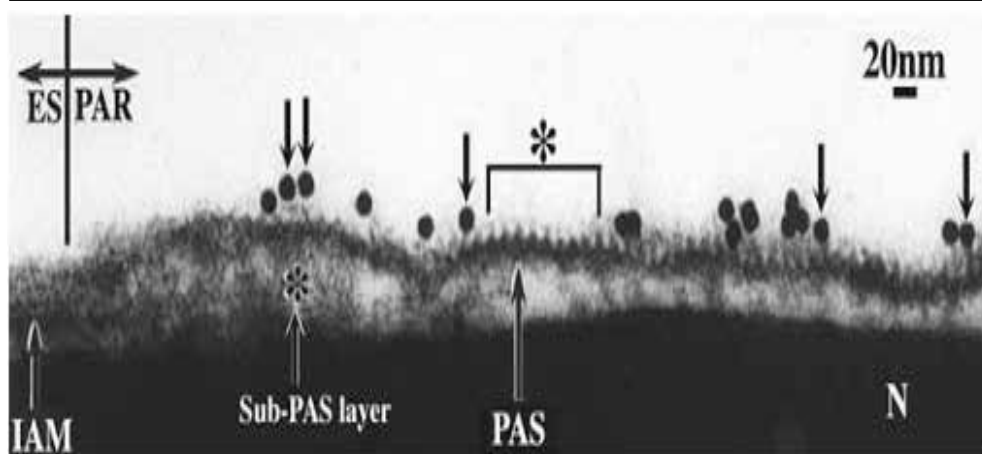
۷ Post-nuclear cap

۸ Calyx

۹ Egg activation



نمایه ۲-۲: تصویر TEM که اجزاء ساختاری اسپرم در مرز بین قطعه استوایی (ES) و ناحیه پس آکروزومی (PAR) را نشان می‌دهد که با تانیک اسید تثبیت شده است. به خط‌بندی‌های شبه‌پله‌ای و متناوب (پیکان‌های ستاره‌نشان) بین صفحه پس آکروزومی و غشاء پلاسمایی واقع در قسمت بالا، و به مواد شبیه گلیکوکالیکس بر روی غشاء پلاسمایی که ناحیه پس آکروزومی را می‌پوشاند (پیکان‌های خالی)، توجه کنید.



نمایه ۳-۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی IGS که موقعیت آنتی ژن MN13 را نشان می‌دهد (پیکان‌ها). غشاء پلاسمایی در این نمایه از طریق تیمار اسپرم با Triton X-100 حذف شده است. ذرات ایمونوگولد (۱۰ نانومتر) بر روی ساختارهای شبه‌پله‌ای فیلامنتی (پیکان‌های ستاره‌نشان) بین صفحه پس آکروزومی و غشاء پلاسمایی روی آن، واقع شده است. این نمایه مرتبط با نمایه ۲-۲ می‌باشد.

۲-۳ سیستم غشایی

بیشتر مولکول‌های فعال مورد نیاز برای ساخته شدن اسپرم و فرایند لقاح، درون سیستم غشایی اسپرم سازماندهی شده‌اند. در اینجا طبیعت متمایز و واضحی از غشاء پلاسمایی شرح داده خواهد شد، که برای این منظور از روش شکافت سرمایی^۱ (FFR) استفاده شده است. برای انجام فرایند FFR از آنتی بیوتیک فیلپین^۲ استفاده می‌شود. این آنتی بیوتیک برای مطالعه تفاوت‌های موجود در ماهیت اجزاء غشاء پلاسمایی مفید است. زیرا آنتی بیوتیک فیلپین تمایل اتصال به استرول‌های غشائی را دارد. کلسترول به فراوانی در غشاء پلاسمایی استوایی و غشاء موجود در ناحیه جلویی آکروزوم^۳ حضور دارد، اما این ماده در پوشش هسته‌ای و غشاهای خارجی و داخلی آکروزوم ناچیز بوده و یا اصلاً وجود ندارد (نمایه ۲-۴) (Toshimori et al., 1987). بخش دیستال پوشش هسته‌ای مضاعف^۴ نیز غنی از کلسترول می‌باشد.

غشاء پلاسمایی: غشاء پلاسمایی اسپرم به صورت موثری دچار تغییر-تبدیل شده است (Flesch and Gadella, 2000). از نظر ساختاری، غشاء پلاسمایی تمام سطح سر و دم اسپرم را پیش از آن که واکنش آکروزومی انجام شود، می‌پوشاند. غشاء پلاسمایی پس آکروزومی، مواد شبیه گلیکوکالیکس را در روی سطح خود بیان می‌کند (نمایه ۲-۲). فرض بر این است که این ترکیبات دارای مولکول‌های ناشناخته‌ای بوده و در وقایعی که توسط واکنش آکروزومی و ظرفیت‌پذیری القاء می‌شود، تا زمانی که اسپرم با غشاء اووسیت ادغام شود، درگیر می‌باشند.

همچنان که در قسمت‌های بالا ذکر شد، غشاء پلاسمایی پیرامون آکروزومی می‌تواند طی واکنش آکروزومی با غشاء خارجی آکروزومی فرایند همجوشی را انجام دهد. هرچند غشاء پلاسمایی ناحیه استوایی^۵ در طی همجوشی غشاء گامت‌ها، با غشاء اووسیت فرایند همجوشی را انجام می‌دهد که این مطالب بیانگر این است که بعد از واکنش آکروزومی، مولکول‌های مربوط به فرایند همجوشی^۶ در هر دو غشاء ناهمگون^۷ (به عبارت دیگر غشاء پلاسمایی پیرامون هسته‌ای و غشاء خارجی آکروزوم) حضور دارند. طی همجوشی غشاء گامت‌ها،

۱ Freeze-fracture (FFR) method

۲ Filipin

۳ Anterior acrosome region

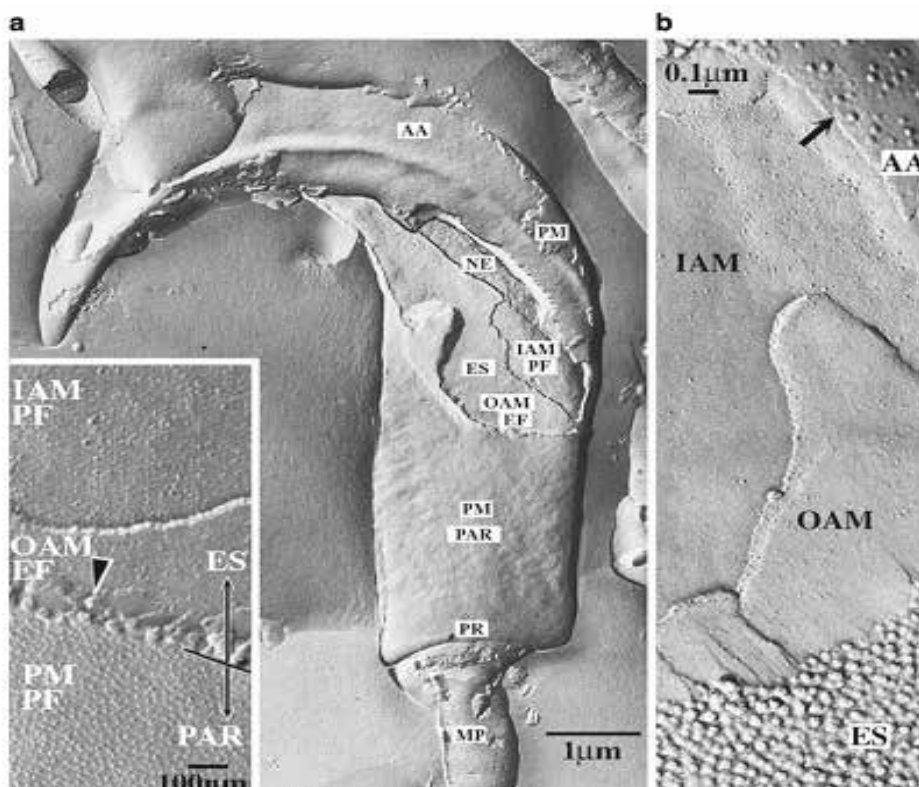
۴ Distal part of the redundant nuclear envelope

۵ Equatorial plasma membrane

۶ Usogenic molecule

۷ Heterogeneous membranes

مولکول‌های مربوط به همجوشی مشابه‌ای را نیز می‌توان در غشاء پلاسمایی ناحیه استوایی و میکروویلی‌های غشاء سلول تخم شناسایی کرد. در حال حاضر مدارکی اهمیت شکل‌گیری رافت^۱ را بر روی غشاء پلاسمایی اسپرم، پیش از آن که غشاء گامت‌ها با هم ادغام شوند یا دچار همجوشی شوند، ثابت می‌کند. علاقه خاصی در خصوص تعیین این که چگونه تنوع موجود در محتوی کلاسترویل غشاء پلاسمایی که مربوط به شکل‌گیری رافت می‌باشد، و به وسیله واکنش آکروزومی القاء می‌شود، وجود دارد.



نمایه ۲-۴، a تا b: تصویر FFR از سر اسپرم که ماهیت متفاوت سیستم غشایی را با کمک اشباع یک کاوشگر ویژه، فیلپین، برای کلاسترویل نشان می‌دهد، a: شکل کامل از سر اسپرم هامستر. b: شکلی از ناحیه آکروزوم سر اسپرم موش. کلاسترویل بر روی غشاء پلاسمایی، در ناحیه پس آکروزومی و غشاء داخلی آکروزوم و غشاء خارجی آکروزوم اندک می‌باشد (شروع نمایه b). a) کلاسترویل در غشاء پلاسمایی اطراف قطعه استوایی فراوان است. همچنین در سطح متوسط یا به صورت گاه‌گاهی بر روی غشاء پلاسمایی اطراف آکروزوم قدامی (AA) حضور دارد.

^۱ Raft formation

غشاء آکروزوم: غشاهای داخلی و خارجی آکروزوم از گرانول‌های مخصوص پیش آکروزوم^۱ مشتق شده که از دستگاه گلژی منشأ می‌گیرند. (نمایه ۲-۵). این تمایز طی مرحله آخر طویل شدن اسپرم اتفاق می‌افتد که تقریباً برابر با مراحل ۱۴ در موش و مرحله آخر Sd در انسان‌ها می‌باشد.

غشاء خارجی آکروزوم: پینوت آگلوتنین^۲ (PNA) یک نوع لکتین^۳ گیاهی است که از گیاه *Arachis hypogaea* جدا شده است، که به صورت ویژه‌ای به بتا-گالاکتوز (۱-۳) -ان استیل گالاکتوز آمین^۴ (β -Gal(1-3)-GalNAc) به وسیله پیوند O-link گلایکوپروتئینهایی که بر روی غشاء خارجی آکروزوم بیان شده متصل می‌شود (Huang and Yanagimachi, 1985). شواهد متعددی نشان داده است که ماهیت غشاء خارجی آکروزوم نسبت به آنچه که قبلاً در خصوص آن فکر می‌شد خیلی پیچیده‌تر است.

غشاء خارجی ناحیه استوایی آکروزوم^۵ اسپرم در واکنش آکروزومی شرکت نمی‌کند و به صورت محکم به غشاء داخلی آکروزوم از طریق پل‌های عرضی که با فاصله ۷ نانومتر از یکدیگر جدا شده‌اند متصل شده است. از آنجایی که این پل‌های عرضی به صورت عمقی درون ماتریکس جاسازی شده‌اند، لذا به صورت واضح در اسپرم بالغ قابل مشاهده نیست. اما با جدا شدن تدریجی مواد ماتریکسی در طی واکنش بین اسپرم و سلول تخم قابل مشاهده می‌شوند (Manandhar and Toshimori, 2003). بنابراین، ماتریکس غشاء آکروزومی استوایی شامل عناصر سیتوپلاسمی - اسکلتی محکمی در غشاهای داخلی و خارجی خودش است.

غشاء داخلی آکروزوم: غشاء داخلی آکروزوم به شدت قابل ارتجاع است. این بخش در مقابل صدماتی که توسط عوامل صوتی و شوینده‌ها^۶ القاء می‌شود از خود مقاومت نشان می‌دهد و در واکنش آکروزومی شرکت نمی‌کند. بعد از واکنش آکروزومی، غشاء داخلی آکروزوم به صورت دست نخورده می‌ماند و آن را با استفاده از لکتین گیاهی^۷ (Con-A) می‌توان تشخیص داد. این لکتین گیاهی تمایل ویژه‌ای

۱ Proacrosomal granule

۲ Peanut agglutinin

۳ Lectin

۴ β -galactose (1-3)- N-acetyl-galactosamine β -Gal(1-3)-GalNAc

۵ Equatorial outer acrosomal membrane

۶ Detergents and sonication

۷ Lectin concanavalin A (Con-A)

به گلایکوپروتئین‌های با محتوای مانوز بالا دارد (Holden et al., 1990). بعد از لقاح، غشاء داخلی آکروزوم به وسیله غشاء پلاسمایی اووسیت فاگوسیتوز شده و به داخل کشیده می‌شود. در بخش‌های بعدی در این خصوص بحث خواهد شد. مواد موجود در فضای بین غشاء سیتوپلاسمی به صورت متراکمی بسته‌بندی شده‌اند و همانند آرایش پاراکریستالین^۱ می‌باشند (نمایه ۲-۴). تعداد زیادی مولکول در غشاء داخلی آکروزوم واقع شده‌اند که احتمالاً این مولکول‌ها در ساخت کمپلکس‌های فعال مولکولی^۲ نقش دارند در ادامه در این خصوص بحث خواهد شد.

پوشش هسته‌ای^۳: هسته اسپرم در دوره‌های ساخته شدن DNA در حالت خواب است. در حقیقت، پوشش هسته فاقد خلل و فرج بوده، و سیتوپلاسم موجود در سر فاقد دستگاه‌های لازم برای ساخت پروتئین می‌باشد.

۱ Paracrystalline

۲ Functional molecular complex

۳ Nuclear envelope

فصل ۳

ساخت سر اسپرم و عواملی که آن را تحت
تاثیر قرار می دهد.

انواع مختلفی از ناهنجاری‌های مربوط به سر اسپرم را می‌توان در بیماری‌های تراتوزواسپرما و الیگوزواسپرما مشاهده کرد. وجود این قبیل ناهنجاری‌ها از علت‌های عمده بروز ناباروری در نرها می‌باشند. در این کتاب در خصوص این ناهنجاری‌ها در فرایند اسپرماتوژنز بحث خواهد شد.

پیش از آن که سلول‌های بنیادی زاینده^۱ وارد مرحله میوز^۱ شوند، در مرحله اسپرماتوگونی تکثیر می‌شوند و به این ترتیب دچار خود تجدیدی شده^۲ و به اسپرماتوگونی نوع A تبدیل می‌شوند (A1-A3 در موش صحرایی). اسپرماتوگونی نوع A به اسپرماتوگونی نوع B متمایز می‌شود. در مرحله بعد، این سلول‌ها نیز به نوبه خود به اسپرماتوسیت‌های اولیه که بعداً متحمل میوز می‌شوند تمایز می‌یابند (نمایه‌های ۳-۱ و ۳-۲). پیش از آن که اولین تقسیم میوز انجام شود، سلول اسپرماتوسیت اولیه کروموزوم‌ها یا DNA خود را مضاعف می‌کنند. یکی از خصوصیات ویژه اولین تقسیم میوز این است که در این تقسیم فرایند نوترکیبی ژنتیکی^۳ رخ می‌دهد، در این مرحله یک کمپلکس سیناپتونمال^۴ که در بردارنده برآمدگی‌های^۵ نوترکیبی می‌باشد، در گامه پاکیتن اسپرماتوسیت تشکیل می‌شود. بلافاصله بعد از میوز (در انسان تقریباً نزدیک ۸ ساعت)، اسپرماتوسیت ثانویه به اسپرماتید هاپلوئید توسعه می‌یابد. در نتیجه فرض بر این است که تقریباً تمام مولکول‌ها و پروتئین‌های مورد نیاز برای ساخته شدن سر اسپرم، در مرحله ژنی در اسپرماتوسیت اولیه فراهم می‌شود. بیان ژن در اسپرماتید به عنوان بیان پس از میوزی ژن‌ها معروف است. این مراحل توسط چهار رویداد عمده در اسپرمیوژنز^۶ ادامه می‌یابد: تغییر-تبدیل هسته، تشکیل آکروزوم، آرایش سیتوپلاسمی^۷، و تشکیل تارک یا دم. سه رویداد اول در ساخته شدن سر اسپرم درگیر می‌باشند.

شروع تشکیل آکروزوم^۸ به عنوان مرحله آغازگر ساخته شدن سر اسپرم در فرایند اسپرمیوژنز به حساب می‌آید. فرایند تشکیل سر اسپرم شامل تشکیل آکروزوم، تراکم

۱ Germ-line stem cells

۲ Self-renewal

۳ Genetic recombination

۴ Synaptonemal

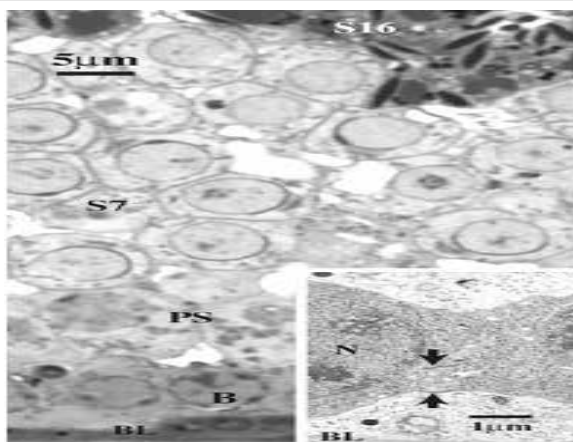
۵ Nodules

۶ Spermiogenesis

۷ Cytoplasmic trimming

۸ Acrosome biogenesis

هسته‌ای^۱، طویل شدن (مسطح شدن)^۲ و ساخته شدن لایه‌های سیتوپلاسمی می‌باشد. اجزاء و مولکول‌های سیتوپلاسمی با تجمع تدریجی، کپسول پیرامون هسته‌ای را تشکیل می‌دهند. بعضی از این مولکول‌های ضروری در طول مانشت‌ها^۳ (مانشت یک ساختار میکروتوبولی سازماندهی شده‌ای می‌باشد که ناحیه پسین هسته اسپرماتیدها را احاطه کرده است) حمل شده و در اجزاء ساختاری متنوعی سازماندهی می‌شوند. این سازماندهی به شدت و فعالانه در اسپرماتیدهای طویل شده رخ می‌دهند. به ویژه، تغییرات اساسی در مراحل میانی تا مراحل نهایی اسپرمیوژنز رخ می‌دهد. سیتوپلاسم آزاد شده از سلول‌های زاینده به وسیله سلول‌های سرتولی قبل از رها شدن اسپرم فاگوسیتوز می‌شوند. بنابراین سلول‌های زاینده پروتئین‌های ضروری را برای لقاح تولید می‌کنند و این پروتئین‌ها در ساختارهای سر، دم و یا اجزاء آن‌ها با یک الگوی حساس به زمان^۴ سازماندهی می‌شوند.



نمایه ۳-۱: میکروسکوپ نوری که مرحله VII اسپرماتوژنز را در موش صحرایی نشان می‌دهد. پل بین سلولی در بین اسپرماتوگونی‌ها (پیکان‌ها). S7 و S16 به ترتیب مراحل ۷ و ۱۶ در اسپرماتید. B، نوع اسپرماتوگونی. BL لایه پایه‌ای. PS اسپرماتوسیت‌های اولیه.

۳-۱- تقابل‌های سلولی

فرایند تشکیل سر اسپرم با تقابل‌های سلولی متنوعی در طی اسپرماتوژنز تحت تاثیر قرار می‌گیرند.

۱ Nuclear condensation

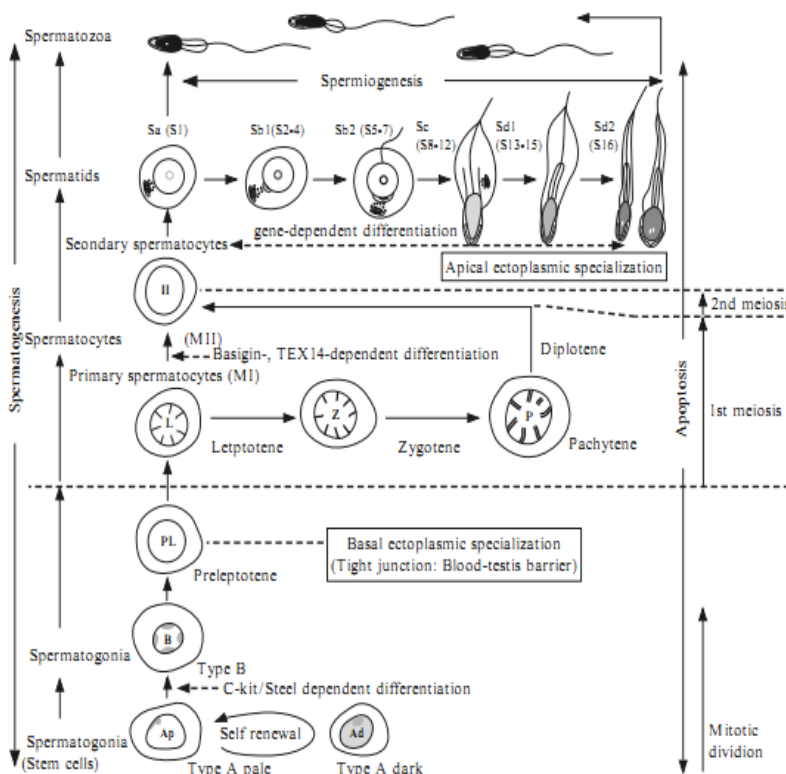
۲ Flattening

۳ Manchettes

۴ Time-sensitive manner

۳-۱-۱ فاکتور مربوط به سلول بنیادی، فاکتور فولادی^۱ و گیرنده ی c-kit

سلول های زاینده، گیرنده تیروزین کیناز c-kit را بیان می کنند که توسط یک ژن در مکان^۲ ژنی ژن W تولید می شود. لیگاند برای این گیرنده، لیگاند c-kit (فاکتور فولادی) می باشد که این لیگاند یک نوع فاکتور میتوزی یا یک نوع فاکتور مربوط به سلول های بنیادی^۳ (SCF) است.



نمایه ۳-۲: شمایی از اسپرماتوژنز که فاکتورهای متنوع و موثر بر اسپرماتوژنز را نشان می دهد.

پیام^۴ فاکتور فولادی به وسیله سلول های سرتولی آزاد می شود و به همتای c-kit خود بر روی سلول زاینده منتقل می شود (نمایه ۳-۳). هر دوی این مولکول ها برای زنده ماندن و تکثیر سلول های اسپرماتوگونی نوع A ضروری می باشند

۱ Steel Factor

۲ Locus

۳ Stem-cell factor

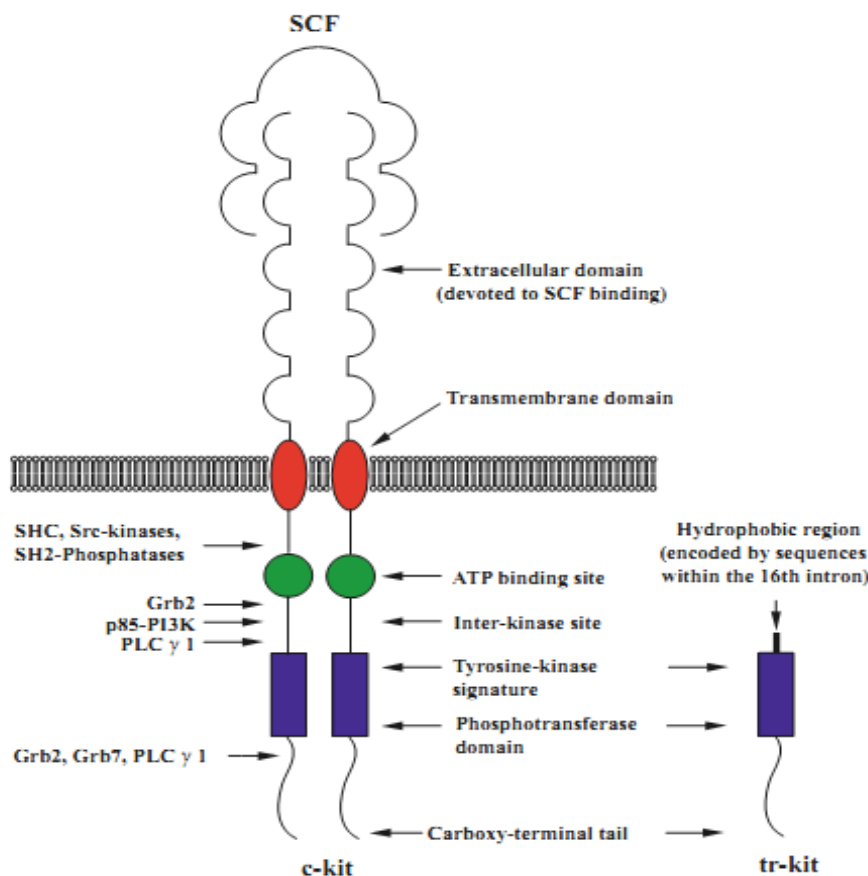
۴ Signal

(Chabot et al., 1988; Dolci et al., 1990 1991; Geissler et al., 1988; Witte) اگر یکی از این ژن ها دچار جهش شده و یا به صورت مصنوعی حذف شود، سلول های زاینده مفقود می شوند و افراد جهش یافته عارضه^۱ Sertoli-cell-only را بروز می دهند. موارد نمونه از این شرایط در موش های Sl/Sl d (موش های جهش یافته دارای کمبود Steel) و موش های W/W v (موش های جهش یافته دارای کمبود c-kit) نشان داده شده است (Koshimizu et al., 1991; Yoshinaga et al., 1991).

علاوه بر c-kit، tr-kit که نوعی جانشین ویژه پس میوزی^۲ به جای محصول اصلی ژن c-kit می باشد نیز ساخته می شود (نمابه ۳-۳). به صورت شگفت انگیزی tr-kit در سر اسپرم واقع شده و نشان داده شده است که در فرایند فعال سازی اووسیت نقش دارد، زیرا زمانی که این ترکیب به داخل سیتوپلاسم اووسیت موش که در مرحله متافاز میوز^۲ متوقف شده است ریز تزریق می شود، باعث فعال شدن آن می شود (reviewed in Sette et al., 1998; Rossi et al., 2003). جزئیات این موضوع در بخش فعال شدن سلول تخم بحث خواهد شد.

۱ Syndrome

۲ Postmeiotic specific alternative



نمایه ۳-۳: شمایی که نشان دهنده ناحیه‌های c-kit و tr-kit است. این نمایه تصحیح شده نمایه‌ای است که توسط سیت و همکاران (۱۹۷۷) ارائه شده بود.

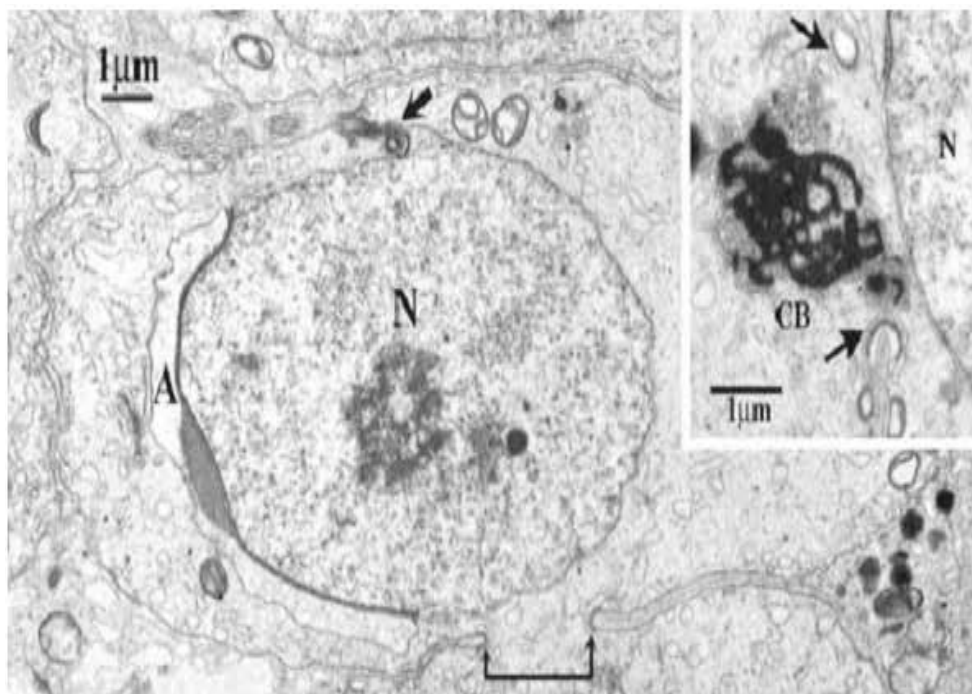
۳-۱-۲- پل‌های بین سلولی^۱

پل‌های بین سلولی در بین سلول‌های زاینده تکامل یافته ساخته می‌شوند (نمایه ۳-۴ و ۳-۵). این پل‌ها صدها سلول زاینده که از یک سلول بنیادی مشتق شده‌اند را به هم وصل می‌کنند و این سلول‌ها به یک واحد چند هسته‌ای بسیار بزرگ^۲ توسعه می‌یابند. در موش (نمایه ۳-۴) و موش صحرایی گزارش شده است که قطر این پل‌های ارتباط دهنده سلول‌های اسپرماتوگونی تقریباً ۱ میکرومتر بوده که

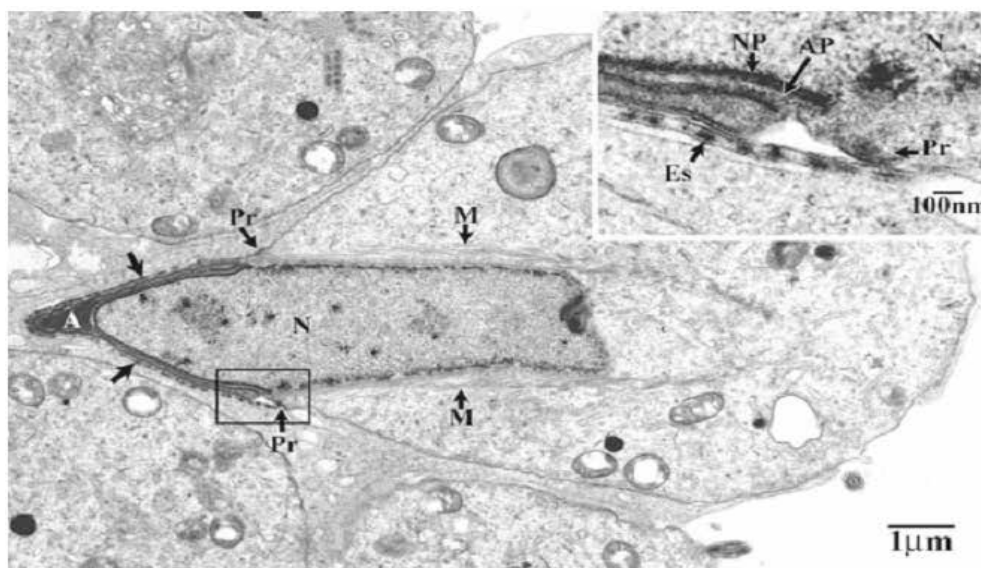
^۱ Intercellular Bridges

^۲ Huge syncytium

به حدود ۱/۵ میکرومتر در اسپرماتوسیت ها و ۲ تا ۳ میکرومتر در اسپرماتیدها افزایش می یابد (Weber and Russell, 1987).



نمایه ۳-۴: نمایه TEM مرحله ۶ یک اسپرماتید را با هسته کروی نشان می دهد. به آکروزوم و دم در حال توسعه که از سانتیریول ادامه یافته است (پیکان ها)، توجه کنید. سلول های زاینده مجاور هم، توسط پل های بین سلولی به هم وصل شده اند (بین پیکان ها). یک بدنه کروماتید (CB) در حال مهاجرت که در پل های بین سلولی واقع شده است.



نمایه ۳-۵: نمایه TEM مرحله ۹ یک اسپرماتید را نشان می دهد که طولیل شده ولی هسته اش متراکم نشده است. به اکتوپلاسم راسی ویژه (Es همراه با پیکان) که ناحیه اطراف سر اسپرم و اکروپلاسوم ها را احاطه می کند، توجه کنید، که در ناحیه انتهایی دیستال آکروزوم (ناحیه جعبه مانند) ساخته می شود. حلقه پیرامون هسته ای (Pr) که منشاء مجموعه های میکروتوبولی (برای مثال مانشت ها، M) می باشند با پیکان ها نشان داده شده است. بزرگ نمایی بزرگتری از این نمایه را در قسمت بالا سمت راست (ناحیه اکروپلاسوم) می توانید مشاهده کنید. نمایه اصلاح شده توشیموری و ایتو (۲۰۰۳).

عملکردهای پل بین سلولی برای برقراری ارتباطات بین سلول های هاپلوئید و همزمانی و برای chromosome-dosage compensation می باشد (Ventelä et al., 2003). اهمیت پل های بین سلولی در موش های جهش یافته ای که یک حذف ژنی را در ژن ^۱(TEX14) حمل می کنند، ثابت شده است. ژن TEX14 تجهیزات و لوازم سیتوکینز را از سلول های سوماتیک به سایر پروتئین های سلول های زاینده به منظور تشکیل پل های بین سلولی پایدار، می فرستد (Greenbaum et al., 2007). در موش های نری که از نظر ژن TEX14 دارای نقص می باشند، پل های بین سلولی تشکیل نمی شوند، و مسیر اسپرماتوژنز پیش از آن که اولین تقسیم میتوزی کامل شود متوقف می شود. ژن TEX14 با مجموعه رشته های مرکزی دوک تقسیم سلولی^۲، پروتئین MKLP1^۳ و پروتئین

^۱ Testis-expressed gene 14

^۲ Centralspindlin

^۳ Mitotic kinesin-like protein 1

MgcRac GAP^۱ هم‌مکان شده است و این پروتئین‌های زمینه‌ای^۲ بدنه میانی^۳ را به ترکیبات پایداری در پل‌های بین‌سلولی تبدیل می‌کند. پل‌های بین‌سلولی در بدنه میانی در یک الگوی وابسته به ژن TEX14 ساخته می‌شوند. بنابراین ژن TEX14 در حفظ فرایند اسپرماتوژنز نقش اساسی را ایفا می‌کند.

۳-۱-۳- تخصص یافتن اکتوپلاسمی^۴

همچنانکه که نواحی سطحی سر اسپرم در اسپرماتیدهای اولیه در حال طولیل شدن، تکامل می‌یابند، غشاء پلاسمایی سلول‌های سرتولی با پوششی که در ناحیه سر اسپرم در حال توسعه است در ارتباط نزدیک باقی می‌مانند، این مکان جایی است که تخصصی شدن اکتوپلاسمی حادث می‌شود. این تخصص یافتن اکتوپلاسمی یک ساختار تعاملی خاص را پدید می‌آورد که بین اسپرماتیدها و سلول‌های سرتولی تشکیل می‌شود و این مجموعه دقیقاً در بخش ادلومینال^۵ لوله‌های اسپرم‌ساز^۶ واقع شده است (نمایه ۳-۲). این ساختار که در قسمت ادلومینال تثبیت شده است به عنوان اکتوپلاسم راسی تخصص یافته^۷ نیز شناخته می‌شود. در مقابل اکتوپلاسمی پایه‌ای تخصص یافته که در بین سلول‌های سرتولی مجاور هم تشکیل می‌شوند و سد خونی بیضه‌ای را تشکیل می‌دهند. تخصص یافتن اکتوپلاسمی همانند دیگر اتصالات که در بیضه تشکیل می‌شوند، قبلاً به خوبی بازبینی شده است (Mruk and Cheng, 2004a; Yan et al., 2007).

از نظر ساختاری، تخصص یافتن اکتوپلاسمی راسی از ارگان‌های منحصر به فردی تشکیل می‌گردد که از سلول‌های سرتولی مشتق می‌شوند. این ارگان‌ها شامل مجموعه‌ای از شبکه اندوپلاسمی صاف و مجموعه‌ای از رشته‌های اکتین میباشند که به صورت آرایش‌های شش گوشه سازماندهی شده‌اند (نمایه ۳-۵).

تخصص یافتن اکتوپلاسمی با آکروزوم در حال توسعه اسپرماتیدها در مراحل ۹-۱۵ اسپرماتوژنز همزمان می‌باشد، که این دو رویداد مدت کوتاهی قبل از آن که آزدسازی اسپرم^۸ رخ دهد به انجام می‌رسند. از آنجایی که تخصص یافتن اکتوپلاسمی در حفظ

۱ Male germ cell Rac GTPase-activating protein (MgcRac GAP)

۲ Matrix

۳ Midbody

۴ Ectoplasmic specialization

۵ Adluminal

۶ Seminiferous tubules

۷ Apical ectoplasmic specialization

۸ Spermiation

اسپرماتوژنز، از طریق تعیین موقعیت ناحیه سر در حال تکامل، نقش ایفا می نماید لذا با حذف ژن های کد کننده پروتئین های مرتبط با تخصص یافتن اکتوپلاسمی فرایند اسپرماتوژنز به سهولت تحت تاثیر قرار خواهد گرفت. این پدیده در موش های KO که فاقد GOPC (Ito et al., 2004; Toshimori and Ito, 2003; Yao et al., 2002) و ژن کد کننده خانواده بزرگ پروتئین های ایمنوگلوبولین (IgSF) مانند نکتین^{۱۲} (Mueller et al., 2003) و RA175 (Fujita et al., 2006) بودند، ثابت شده است. اخیراً مدارکی ثابت کرده است که حذف ژن Rap1 که گوانوزین تری فسفات کوچک^۲ از خانواده Ras را کد می کند، اتصال سلول به سلول که توسط VE-cadherin (CD144) در تخصص یافتن اکتوپلاسمی میانجی گیری می شود را معیوب می سازد. این موضوع سرانجام باعث آزاد شدن نابالغ اسپرماتیدها با سرهای ناقص می شود که در این حالت سر اسپرماتیدها به شکل چکش یا تخم مرغی^۳ می باشد (Aivatiadou et al., 2007). در این کتاب یافته های کلی حاصل از مطالعات روی پروتئین ها و ژن های مرتبط با IgSF ارائه و در مورد نقش آن ها در صدمه زدن به تشکیل سر اسپرم بحث خواهد شد.

۳-۲ پروتئین های IgSF

پروتئین های IgSF به صورت منحصر به فردی در سطح سلول های سرتولی و سلول های زاینده بیان می شوند (جدول ۳-۱). سلول های سرتولی nectin-2/CD155 را بیان می کنند که یک پروتئین IgSF می باشد و به عنوان یک پروتئین چسبنده دسته بندی می شود. سلول های زاینده نیز چندین پروتئین IgSF دیگر را بیان می کنند، برای مثال باسیگین^۴، CE9، MC31، IgSF4، RA175، Sg-IgSF، nectin-3، IgSF11، Ly9/CD150، JAM-C، BT-IgSF، و مولکول شبه نکتین^۵ (Necl-2).

نگارنده کتاب، RA175 (Fujita et al., 2006) و باسیگین موش خانگی (Saxena et al., 2002) را مطالعه کرده است که مشابه CE9 (Nehme et al., 1993; Petruszak et al., 2000) و MC3 (Toshimori et al., 1992b; Wakayama et al., 1991) در موش صحرایی می باشد. IgSF4 یک نوع مولکول چسبنده در سلول می باشد که مشابه SynCAM1 و RA175، Sg-IgSF، Necl-2، TSLC1 می باشد. این پروتئین ها نه تنها در سطح سلول های زاینده بلکه بر روی تعداد زیادی سلول های پوششی نیز بیان

^۱ Nectin-2

^۲ Small guanosine triphosphatase (GTPase)

^۳ Hammer-shaped or ovoid

^۴ Basigin (BSG)

^۵ Nectin-like molecule 2 (Necl-2)

می شوند. با وجود این که فعالیت بیشتر این مولکول ها به عنوان مولکول های چسبنده سلولی برای حفظ اسپرماتوزن می باشند، اما پروتئین های IgSF موجود در اکتوپلاسم تخصصی به صورت ویژه در ساماندهی به سر اسپرم نقش دارند.

جدول ۳-۱: پروتئین های IgSF که در سلول های زاینده و اسپرم جنس نر بیان می شوند.

سلول ها/مولکول	نقش	فنوتیپ ژن نابود شده	منابع
سلول های سرتولی			
Nectin-2/CD155	چسبندگی سلول	تراتوزواسپرما (عدم موفقیت واکنش بین اسپرم و سلول تخم)	۳، ۲، ۱
سلول های زاینده			
باسیگین (Bsg)	حفظ میوز	آزواسپرما	۸، ۷، ۶، ۵، ۴
CE9 (Bsg موش صحرایی)			۱۱، ۱۰، ۹
MC31 (Bsg موش صحرایی)			۱۴، ۱۳، ۱۲
IgSF4	چسبندگی سلول	-	۱۵
RA175		الیگوتراتوزواسپرما	۱۷، ۱۶
SGIgSF			۱۹، ۱۸
Nectin-3			۲
IgSF11			۲۰
Ly9/CD150			۲۱
JAM-C	پالریزه کننده سلول /اسپرما تید	آزواسپرما	۲۲
Nec1-2	چسبندگی سلول		۲۳
BT-IgSF		-	۲۴
اسپرما توزوا			
باسیگین (Bsg)	واکنش بین اسپرم با سلول تخم		۷
CE9 (Bsg موش صحرایی)			۱۱، ۱۰، ۹
MC31 (Bsg موش صحرایی)	واکنش بین اسپرم با سلول تخم		۱۳
OBF13		-	۲۵
Izumo (OBF13)	هم جوشی اسپرم با سلول تخم	نورموزواسپرما (عدم موفقیت هم جوشی اسپرم با اووسیت)	۲۶

منابع

1, Bouchard et al. (2000); 2, Ozaki-Kuroda et al. (2002); 3, Mueller et al. (2003); 4, Miyauchi et al. (1990); 5, Maekawa et al. (1998); 6, Yuasa et al. (2001); 7, Saxena et al. (2002); 8, Igakura et al. (1998); 9,

Petruszak et al. (1991); 10, Nehme et al. (1993); 11, Cesario and Bartles (1994); 12, Toshimori et al. (1992b); 13, Wakayama et al. (2000); 14, Saxena and Toshimori (2004); 15, Gomyo et al. (1999); 16, Urase et al. (2001); 17, Fujita et al. (2006); 18, Wakayama et al. (2001); 19, Wakayama et al. (2003); 20, Watanabe et al. (2005); 21, Tovar et al. (2002); 22, Glik et al. (2004); 23, Shingai et al. (2003); 24, Harada et al. (2005); 25, Okabe et al. (1987); 26, Inoue et al. (2005).

۳-۲-۱ پروتئین های IgSF روی سلول های سرتولی بیان می شوند.

نکتین که یک پروتئین IgSF است، توسط سلول های سرتولی ساخته شده و بر روی اکتوپلاسم تخصص یافته واقع شده است و در شکل دهی به سر اسپرم نقش دارد.

نکتین (CD155) 2: نکتین ۲ به وسیله عضوی از خانواده ژن گیرنده پلی ویروس که در موش، میمون و انسان یافت شده است، کد میشود. نکتین ۲ بر روی اکتوپلاسم تخصص یافته واقع شده است و به عنوان یک مولفه ارتباطی اتصال دهنده سلول به سلول در همه جا پخش شده است، یعنی جایی که با I-afadin و پروتئین اتصال F اکترین اثر متقابل دارد. ارتباط بین ناحیه C- انتهای نکتین ها و آفادین ها^۱ (شامل actin-binding proteins) برای سازمان یافتن رشته های اکترین^۲ مورد نیاز می باشند. نکتین ۲ از طریق اثرات متقابل هتروفیلیک ترانس دایمر در ارتباط و تقابل با نکتین ۳ موجود بر روی سلول های زاینده می باشد (Ozaki-Kuroda et al., 2002). از آنجایی که عملکردهای اکتوپلاسم تخصص یافته به عنوان یک داربست پایدار کننده، برای پروتئین های نواحی اتصال (چسبنده) که بر روی غشاء پلاسمایی سلول های سرتولی بیان شده است، می باشد، به عنوان عاملی جهت انتقال پیام ها از سلول های سرتولی به سلول های زاینده نیز قابل ملاحظه است.

زمانی که ژن نکتین ۲ حذف شود، سازماندهی تخصص یافتن اکتوپلاسمی به درستی انجام نمی شود و از قدرت چسبندگی آن کاسته می شود و این به خاطر اختلال در عملکرد چارچوب F-اکترین یا جای گیری غلط آفادین می باشد. این موضوع در نهایت اسپرماتوژنز را تحت تاثیر قرار می دهد و منجر به تراژوواسپرما می شود که این بیماری به وسیله اسپرم های با سر و قطعه میانی بد شکل توصیف می شود (Mueller et al., 2003). موش های $nectin-2^{-/-}$ نابارور می باشند و تعداد اسپرمی که تولید می کنند کم بوده و اسپرم های آن ها شکل

^۱ Afadins

^۲ Actin filament

غیرطبیعی دارند. با این وجود، اسپرم‌های تولید شده می‌توانند در اویدکت مهاجرت کنند، به زوناپلوسیدا متصل شوند و با غشاء پلاسمایی اووسیت ادغام شوند. هرچند که رویدادهای لقاح به طور مشخصی به صورت غیرطبیعی در این موش‌ها رخ می‌دهد که در واقع از اثرات ثانویه بدشکلی سر اسپرم‌ها می‌باشد. این واضح است که نکتین ۲ نقش اساسی را در فرایند اسپرمیوزن، به ویژه در سازمان سیتوپلاسمی - اسکلتی^۱ و سازماندهی مجدد در تخصص یافتن اکتوپلاسمی راسی، ایفا می‌کند.

۳-۲-۲ پروتئین‌های IgSF که روی سلول‌های زاینده بیان می‌شوند.

تعداد زیادی از پروتئین‌های IgSF با سلول‌های زاینده ارتباط دارند.

IgSF4: IgSF4 یک نوع ملکول چسبنده سلولی است که به عنوان مولکول هدف برای یک ژن متوقف کننده تومور^۲ شناخته می‌شود که این ژن فاقد هتروزیگوسیتی^۳ بوده و بر روی کروموزوم 11q23.2 قرار دارد. IgSF4 همانند مولکول‌های RA175, Sg-IgSF, TSLC1, SynCAM1 و Necl-2 می‌باشد، که این مولکول‌ها جزء مولکول‌های چسبنده سلولی (CADM)^۴ می‌باشند. RA175 به صورت وسیعی در هنگام تمایز عصبی سلول‌های سرطانی جنینی بیان می‌شود. Sg-IgSF در سلول‌های اسپرماتوگونی اولیه بیان می‌شود. TSLC1 یک مولکول متوقف کننده تومور می‌باشد که علیه سرطان ریه nonsmall-cell در انسان عمل می‌کند. SynCAM1 یک نوع مولکول چسبنده سیناپسی و ویژه در مغز می‌باشد که چسبندگی سلول به سلول هموفیلیک مستقل از کلسیم^۵ را تحریک می‌کند. SgIGSF و TSLC1 در همه جا بیان می‌شوند و بیان آن‌ها از طریق نورترن بلوتینگ^۶ قابل مشاهده است. پیش‌بینی شده است که IgSF4/Necl-2 محتوی دومین‌های ایموگلوبین‌های نوع V و C2 است، همچنین دارای توالی سیگنالی هیدروفیلیک، که یک ناحیه بین‌غشایی^۷ است، و یک دومین سیتوپلاسمی است. Ly9/CD150 در بیضه در سطوح mRNA بیان می‌شوند.

۱ Cytoskeletal organization

۲ Tumor-suppressor gene

۳ Heterozygosity

۴ Cell adhesion molecules

۵ Ca²⁺-independent homophilic cell-cell adhesion

۶ Northern blotting

۷ Transmembrane

نکته ۳ در ناحیه سر اسپرماتیدها واقع شده است که در مواجهه با اکتوپلاسم تخصص یافته می باشد. پروتئین های خانواده نکتین نقش مهمی را در انواع پیوندهای سلول به سلول مانند پیوندهای چسبنده^۱ و پیوندهای محکم^۲ در سلول های پوششی و اتصالات سیناپسی در نرون ها را بر عهده دارند. مسیرهای سیگنالی مربوط به ازدیاد این مولکول ها در بسیاری از بافت ها تشخیص داده شده است. در ادامه یافته های ویژه در موش های نری که جهش حذفی را برای ژن های JAM-C و RA175 حمل می کنند، شرح داده خواهد شد.

JAM-C: JAM-C در بردارنده دو دومین اختصاصی^۳ ایمونوگلوبولینی خارج سلولی می باشد که شامل یک دومین عبور کننده از غشاء^۴ سیتوپلاسمی و یک دومین اختصاصی سیتوپلاسمی کوتاه^۵ است. دومین های اختصاصی ایمونوگلوبولینی خارج سلولی شامل، یک دومین اختصاصی از نوع VH و یک دومین اختصاصی از نوع C2 است. ناحیه تاخورد C2 شامل دو قطعه به جا مانده سیستمین و یک ناحیه آماده فعالیت N-glycosylation می باشد. پروتئین JAM-C در سازماندهی اتصالات محکم در سلول های اندوتلیال و سلول های پوششی نقش دارد. در بیضه ها، C-JAM در اسپرماتیدهای مدور و طویل بیان می شود (Gliki et al., 2004). در ناحیه ناست^۶ سر اسپرماتیدهای طویل شده، بیان JAM-C محدود به صفحات کوچک اتصالی^۷ می باشد. JAM-C ساختار چسبندگی^۸ اسپرم را به وسیله، قطبی کردن محل PAR-3 و محکم شدن اسپرماتید به سلول های سرتولی تغییر می دهد. زمانی که ژن مربوط به پروتئین JAM-C حذف شود، اسپرماتیدهای جهش یافته ای پیدا می شوند که فاقد ساختار آکروزوم بوده و برای قطبی کردن ساختار چسبنده، ناقص می باشند و سرانجام منجر به تولید اسپرم هایی با هسته های گرد می شود. این اسپرماتیدها که دارای هسته گرد می باشند در فرایند تبدیل شدن به اسپرماتیدهای طویل ناموفق بوده و این فعالیت غیرطبیعی منجر به تراتوزواسپرما می شود. این بیماری از طریق اسپرم هایی با سرهای بد شکل شناسایی می شود.

۱ Adherent Junction

۲ Tight Junctions

۳ Domain

۴ Transmembrane

۵ Short cytoplasmic domain

۶ Nascent region

۷ Junctional plaques

۸ Adhesion structure

RA175: RA175 پروتئینی از خانواده نکتین بوده و مشابه Necl-2 است. همه نکتین‌های تشریح شده به وسیله آفادین، F-اکتین و پروتئین چسبنده به نکتین^۱ با اسکلت سیتوپلاسمی شبه اکتین^۲ در ارتباط می‌باشند. در موش‌های نر - / - RA175 الیگوتراتوزواسپرمی^۳ شدیدی تکامل می‌یابد و تولید اسپرم در این موش‌ها شدیداً کاهش می‌یابد (Fujita et al., 2006). به صورت شگفت‌انگیزی، محصول اسپرماتوژنز در موش‌هایی که از نظر RA175 ناقص می‌باشند ترجیحاً در مرحله اولیه اسپرماتیدهای گرد طبیعی می‌باشند، اما زمانی که این اسپرماتیدها به مرحله طویل شدن می‌رسند شروع به جدا شدن از سلول‌های سرتولی می‌کنند. در نتیجه تعداد کمی از اسپرم‌ها به مرحله اسپرم‌ریزی می‌رسند. حتی این اسپرم‌ها نیز ناهنجاری‌های مورفولوژیکی را در سر و دم از خود نشان می‌دهند. احتمالاً هدایت پیام مورد نیاز برای اتحاد نکتین‌ها با اکتین، به وسیله آفادین، در مرحله تخصص یافتن اکتوپلاسمی راسی در موش‌های نر - / - RA175 القاء نمی‌شود، زیرا گزارش شده است که RA175 با nectin-3 اثر متقابل دارد (Takai et al., 2003).

۱ Nectin-binding protein

۲ Actin-like cytoskeleton

۳ Oligoteratozoospermia

فصل ۴

تغییر - تبدیل های پس از بیضه ای و رویدادهای
بلوغ که در سر اسپرم رخ می دهد.

به طور معمول رویدادهای مربوط به بلوغ پس از بیضه ای که در اسپرم رخ می دهد توسط عواملی که درون مایع مجاری^۱ اپیدیدیم بیان می شوند، کنترل می شود. این موضوع بیانگر این است که اسپرم ها با سلول های پوششی- حفره ای^۲ دارای فعل و انفعالاتی می باشند و این اثر متقابل در مدت عبور اسپرم در طول دستگاه تولید مثلی نر و ماده تا زمانی که لقاح روی دهد، به صورت پیوسته باقی می ماند. مولکول های مرتبط با بلوغ اسپرم که در اپیدیدیم ترشح می شود، اخیراً تحت عنوان اپیدیدیموزوم ها^۳ شناخته می شوند (Sullivan et al., 2007). اثرات متقابل مستقیم و غیرمستقیم بین اسپرم و سلول های پوششی به محافظت و پایداری ترکیبات اسپرم کمک می کند، همچنین از فعال شدن زود هنگام قابلیت حرکت اسپرم و ادغام غشاها جلوگیری می کند. این اثرات متقابل، بلوغ عملیاتی اسپرم ها را تسهیل نموده که منجر به ظرفیت پذیری اسپرم و واکنش آکروزومی می شود. آسیب های عملکردی سلول های پوششی در دیواره های دستگاه تولید مثلی در نر و ماده، از عبور اسپرم از اپیدیدیم جلوگیری کرده و قدرت مهاجرت اسپرم را محدود می کنند، این موضوع در مواردی که بیان ژن مرتبط با انتقال دهنده کارنتین (OCTN2) با شکست روبه رو می شود ثابت شده است (Toshimori et al., 1999).

۴-۱ در اپیدیدیم

سلول های پوششی که بخش داخلی دستگاه تولید مثلی نر را می پوشانند، تعداد زیادی مولکول ها را به صورت فعالانه ترشح می کنند. این مولکول ها ترکیبات سر اسپرم را تحت تاثیر قرار می دهند و ماهیت سطح سلول را در اسپرم های پیر تغییر می دهند.

تعداد زیادی از پروتئین ها با سر و دم اسپرم ارتباط دارند. در اینجا ابتدا در خصوص گلیکوپروتئین های غشاء پلاسمایی و بعد در خصوص واکنش آکروزومی و تغییرات هسته ای بحث خواهد شد. گلیکوپروتئین های غشایی شامل، آنزیم های تغییر دهنده گلیکان ها^۴ مانند گلیکوهیدرولاز (گلیکوسیداز)^۵ و گلیکوزیل ترانسفراز^۶ می باشد که به صورت مستقیم این آنزیم ها بیان گلیکوپروتئین ها را در سطح اسپرم تحت تاثیر قرار می دهند.

۱ Luminal fluid

۲ Ductal epithelial

۳ Epididymosomes

۴ Glycan-modifying enzymes

۵ Glycohydrolases (glycosidases)

۶ Glycosyltransferases

گلایکوهیدرولاز (گلایکوسیداز) گروهی از آنزیم های هیدرولیز کننده را تشکیل می دهند که این آنزیم ها قادر به شکستن باقیمانده های قندی، از ترکیبات مزدوج قندی^۱ که از قبل موجود بوده اند، می باشند. گلایکوسیدازها شامل آنزیم های پروتئازها، فسفاتازها، لیپیدازها، فسفولیپازها و سولفاتازها می باشند. آنزیم های هیدرولیز کننده مجموعاً تحت عنوان اسیدهای هیدرولاز شناخته می شوند. این آنزیم ها به صورت بهینه در لیزوزوم ها و در pH اسیدی فعال می باشند (de Duve, 1963) و به صورت اولیه نواحی گلایکانی با پیوند N را نشان می دهند. این قبیل آنزیم های هیدرولیز کننده در داخل مایع موجود در مجرای اپیدیدی (Skudlarek et al., 1992) و مجرای دستگاه تولید مثلی جنس ماده نیز حضور دارند (1996 Tulsiani et al.). به هر حال گرایش اختصاصی به سوپستراها برای این آنزیم ها به نظر می رسد که به شدت محدود به گروه های مختلف آنزیم های هیدرولیز کننده می باشد (Tulsiani, 2006). گلایکوهیدرولازها و گلایکوزیل ترانسفرازها در مایع مجراها بیشتر در حالت محلول خود فعال می باشند (این آنزیم ها به ترتیب ۹۰ و ۸۱ تا ۹۲ درصد فعالیت از خود نشان می دهند). تنها ۱۰ تا ۱۹ درصد از فعالیت کلی این آنزیم ها با اسپرماتوزوا ارتباط دارد.

گلایکوزیل ترانسفرازها یک گروه از آنزیم های ساخته شده (آنزیم های سینتتیک)^۲ می باشند که می توانند باقیمانده های قندها را از گونه های دهنده به محل های پذیرنده موجود در مولکول های زیستی انتقال دهند. گلایکوزیل ترانسفرازها مانند، گالاکتوزیل ترانسفراز و سیالیل ترانسفراز^۳ هم در سطح اسپرم و هم در مایع مجرا حضور دارند و پروتئین های سطح اسپرم ها را طی عبور آنها از میان اپیدیدیم اصلاح و یا تغییر می دهند (Dacheux et al., 2003; Dacheux et al., 1998; Tulsiani, 2006).

نواحی کربوهیدراتی و پپتیدی در گلایکوپروتئین های سطحی اسپرم می توانند به وسیله فعالیت آنزیم های هیدرولاز مانند شیداز^۴ شکسته شوند. مشخص شده است که اندازه پروتئین های IgSF باسیگین^۵ (موش) و MC31 (موش صحرایی، مانند موش CE9) در طی بلوغ اسپرم از ۶۰ کیلودالتون (زمانی که در سلول های زاینده بیضه ای بیان می شوند) به ۲۵ کیلودالتون (زمانی که در اسپرم های بالغ بیان می شوند) کاهش می یابد. با این وجود، مکانیسم مسئول این یافته هنوز

۱ Glycoconjugate

۲ Synthetic enzymes

۳ Sialyltransferase

۴ Sheddase

۵ Basigin

ناشناخته است. این کاهش اندازه مربوط به فرایند دگلیکوزیلیشن^۱ می باشد و در مرحله بلوغ پس از بیضه ای غشاء پلاسمایی، با جزییات بحث می شود.

در اپیدیدیم، ترکیبات اسپرم توسط گلایکوپروتئین های سطح سلولی (به عنوان مثال سیالیک اسید) و به روش های مختلف محافظت می شوند. اسپرم ها با وجود این که در اپیدیدیم و وازدفنس به شدت متراکم می باشند اما در برابر هم چسبی^۲ محافظت می شوند. زمانی که اسپرم های موجود در اپیدیدیم با سیالیداز^۳ خارجی تیمار می شوند، باقی مانده های نورامینیک اسید^۴ از سطح سلول اسپرم آزاد می شود و این منجر به هم چسبی اسپرم ها می شود (Toshimori et al., 1991). علاوه بر این مدارکی وجود دارد که نشان می دهد اسید سیالیک در سطح اسپرم نیز بیان می شود که می تواند اپیتوپ های^۵ مربوط به مولکول های آنتی ژن اسپرم را بپوشاند: اپیتوپ مربوط به یک مولکول آنتی ژن اسپرم که یک سیالوگلایکوپروتئین ۵۴ کیلودالتونی در سطح دم اسپرم می باشد و توسط آنتی بادی مونوکلونال T21 شناخته می شود، را نمی توان نمایان ساخت مگر این که سلول های اسپرم با نورامینیداز^۶ تیمار شوند (Toshimori et al., 1990). بنابراین باقی مانده های اسید سیالیک روی مولکول های آنتی ژن T21 عمل می کنند و از هم چسبی دم اسپرم ها با هم جلوگیری می کنند.

باقی مانده های اسید سیالیک به صورت فعال توسط سلول های پوششی اپیدیدیم ترشح می شوند و با سطح اسپرم هایی که در حال بلوغ می باشند پیوند برقرار می کنند. در قوچ و گاو نر، بار منفی خالص سطحی روی اسپرم های بیضه ای کم می باشد اما زمانی که اسپرم از میان اپیدیدیم عبور می کند زیاد می شود (Bedford, 1963; Holt, 1970; Yanagimachi, 1994). در موش های صحرایی، فعالیت سیالیل ترانسفراز^۷ در ناحیه نوک برآمدگی پروکسیمال^۸ به شدت بالا است ولی در ناحیه دم اپیدیدیم پایین است (Tulsiani, 2006; Tulsiani et al., 1993). بنابراین، سیالیک اسید یک بار منفی را بر سطح اسپرم های بالغ اعمال می کند.

۱ Deglycosylation

۲ Agglutination

۳ Sialidases

۴ Neuraminic acid

۵ Epitopes

۶ Neuraminidase

۷ Sialyl transferase

۸ Proximal caput region

۴-۲ در دستگاه تولید مثل ماده

ظرفیت پذیری و واکنش آکروزوم: ظرفیت پذیری منجر به بیش فعال شدن^۱ اسپرم ها (این نوع فعال شدن با حرکت شلاقی اسپرم مشخص می شود) شده متعاقبا منجر به واکنش آکروزومی می شود. غشاء پلاسمایی پیرامون هسته با غشاء خارجی آکروزوم که در زیر قرار گرفته است دچار هم جوشی می شود که این مرحله برای این که واکنش آکروزومی به صورت طبیعی پیش رود الزامی است. مدارکی اخیرا پیشنهاد می کند که پروتئین هایی از خانواده SNARE^۲ در سر اسپرم بیان می شوند که در ادغام غشاها طی واکنش آکروزومی نقش دارند، این پروتئین ها بعدا توصیف خواهند شد.

آرایش غشاء پلاسمایی اسپرم برای فرایند ادغام گامت ها: بعد از واکنش آکروزومی، غشاء داخلی آکروزوم در معرض محیط خارجی قرار می گیرد و یک غشاء محدود کننده می شود. غشاء پلاسمایی سر اسپرم در نواحی ES و PAR حفظ می شود. اخیرا مدارکی نشان می دهد که مولکول های غشاء طی فرایندهای واکنش آکروزومی و ظرفیت پذیری متحمل تغییران بیوشیمیایی و فضایی می شوند، در نتیجه غشاء پلاسمایی استوایی توانایی خود را برای ادغام با غشاء اووسیت توسعه می دهد. این وقایع بیان کننده آرایش غشاء پلاسمایی برای ادغام گامت ها می باشد و منجر به ادغام اسپرم با اووسیت می شوند. در این مرحله مولکول های جدید هم جوشی^۳ در سطح ES بیان می شوند، این موضوع با جزییات بحث خواهد شد.

۱ Hyperactivation

۲ Nerve transmission-related soluble N-ethylmaleimide sensitive factor attachment pro-teín receptor (SNARE)

۳ Fusogenic molecule

فصل ۵

پویایی اکروزام

آکروزوم چندین زیرمجموعه^۱ ساختار اختصاصی ساختمانی دارد که هر یک از آن‌ها مولکول‌های ویژه‌ای را سازماندهی می‌کنند که در هر گونه متفاوت است. آکروزوم طی زندگی اسپرم به شکل پویایی دچار تغییر-تبدیل و بلوغ می‌شود. به طور کلی مجموع وقایعی که منجر به تغییرات ساختاری و بیوشیمیایی در غشاء آکروزوم و پروتئین‌های ماتریکس می‌شوند تحت عنوان بلوغ پس از بیضه‌ای آکروزوم شناخته می‌شوند که در زیر به این موضوع پرداخته شده است.

۵-۱ ساخته شدن (بیورژن)^۲ آکروزوم در اسپرماتوژنز

آکروزوم با ادغام کیسه‌های^۳ ترشحی مشتق از دستگاه گلژی، که حاوی آنزیم‌های هیدرولیز کننده و بعضی از مولکول‌های ناشناخته می‌باشند، تشکیل می‌شود. این وزیکول‌ها به دو صورت محلول و نامحلول حضور دارند. این اجزاء نامحلول به اجزاء ماتریکس آکروزوم متصل می‌شوند.

در مبحث مورفولوژی آکروزوم، ساخته شدن آن به چهار مرحله تقسیم می‌شود: گامه‌های گلژی، کلاهک^۴، طویل شدن آکروزوم و بلوغ آکروزوم. این طبقه‌بندی حدود ۵۰ سال قبل (Clermont and Leblond, 1955) با آنالیزهای حاصل از میکروسکوپ نوری قطعات بیضه‌ای رنگ‌آمیزی شده با اسید پرئودیک-شیف (PAS)^۵ و تعدادی دیگر از آنالیزهای فراساختاری که بعدها انجام شد، پایه‌ریزی شده است (نمایه ۵-۱).

تعداد زیادی از نشانگرها که به عنوان کاوشگر برای ترکیبات آکروزوم به کار می‌روند در حال حاضر کشف شده‌اند. نگارنده کتاب خود چندین آنتی‌بادی آنتی‌آکروزومی^۶ مانند: آنتی‌بادی منوکلونال^۷ MN7 که به عنوان آنتی‌ژن MN7 شناخته می‌شود و بر روی ناحیه پیشین آکروزوم قرار دارد (Oh-Oka et al., 1994; Tanii et al., 2001)؛ مارکر MC101 که به عنوان یک مولکول آنتی‌ژن شناخته می‌شود و روی قشر آکروزوم (کورتکس) قرار دارد (Toshimori et al., 1995) و MN9 که به عنوان یک مولکول

۱ Subdomain

۲ Biogenesis

۳ Vesicles

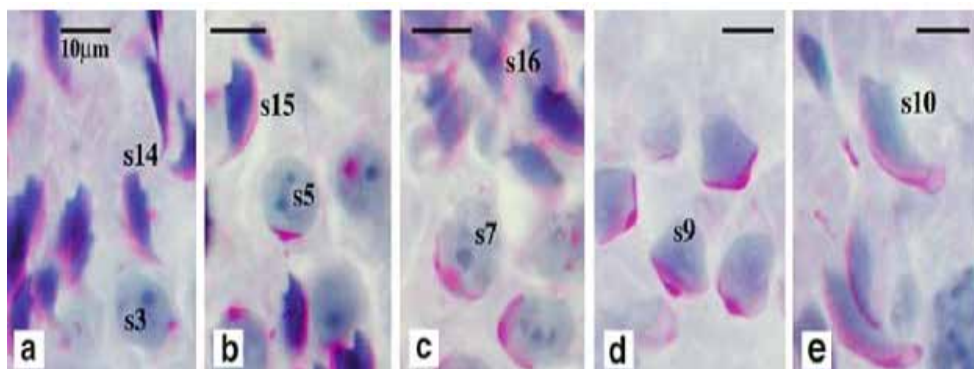
۴ Cap

۵ Periodic acid-Schiff (PAS)-stained

۶ Antiacrosomal antibodies

۷ Monoclonal antibody

آنتی ژن اکواترینون^۱ شناخته می‌شود که در سراسر آکروزوم قرار دارد و بعد از آن که واکنش آکروزومی رخ داد به صورت غالب در ناحیه ES قرار دارد را مورد بررسی و ارزیابی قرار داده است (Manand-har and Toshimori, 2001; Toshimori et al., 1992a). به خصوص مارکر MN9 نه تنها برای تعیین پیشرفت ساخته شدن آکروزوم (جهت مشخص کردن مرحله پیشرفت) طی اسپرماتوژنز مفید می‌باشد، بلکه برای ارزیابی بلوغ پس از بیضه‌ای آکروزوم و واکنش آکروزومی نیز مفید است.



نمایه ۵-۱: میکروسکوپ نوری که نشان دهنده فرایندهای طبیعی مربوط به تشکیل آکروزوم است. رنگ آمیزی پریودیک اسید-شیف (PAS). a-e) بیانگر توسعه اسپرماتیدها که به ترتیب در مراحل III، V، VII، IX و X می‌باشند. اصلاح شده نمایه حاصل از میکروسکوپ نوری که توسط ایتو و همکاران در سال ۲۰۰۴ ارائه شده است. این نمایه را با نمایه ۵-۵ که ساخته شدن غیرطبیعی آکروزوم را نشان می‌دهد، مقایسه کنید.

۵-۱-۱ گامه گلژی (مراحل ۱ تا ۳ در موش خانگی، مرحله a در انسان)

دستگاه گلژی در نزدیکی کلاهی در حال توسعه آکروزوم قرار دارد. وزیکول‌های پیش آکروزومی^۲ که از ناحیه ترانس شبکه گلژی^۳ مشتق می‌شوند با واکوئل بزرگ آکروزومی که منفرد می‌باشد ادغام می‌شوند (نمایه ۵-۲). این واکوئل شامل گرانول‌های آکروزومی می‌باشد که به صورت نزدیکی با پوشش هسته در مرکز و با بخش پروکسیمال کیسول پیرامون هسته‌ای در اطراف آن در ارتباط می‌باشد. این سازماندهی ساختاری بیانگر این است که برای ساخته شدن ساختارهای موجود در سر اسپرم، مولکول‌هایی مانند پرفوراتورיום^۴ و PAS به احتمال زیاد همراه با تجمع وزیکول‌های پیش آکروزومی به طرز بهینه منتقل شده است.

^۱ Equatorin

^۲ Proacrosomal vesicles

^۳ Trans-Golgi network

^۴ Perforatorium

۵-۱-۲ گامه کلاhek (مراحل ۴ تا ۷ در موش و مرحله ۲-b-۱ در انسان)

همچنان که اسپرماتیدها توسعه می‌یابند، وزیکول‌های آکروزومی (کلاhek) به تدریج مسطح شده و در بالای هسته پخش می‌شوند، و به صورت همزمان دستگاه گلژی به طرف دیستال ناحیه گردنی در حال شکل‌گیری مهاجرت می‌کند. در این مرحله اسپرماتیدهای کروی، بیش از ۲۰۰ رونوشت ویژره را بیان می‌کنند (Griswold lab homepage; <http://www.wsu.edu/~griswold/microarray>).

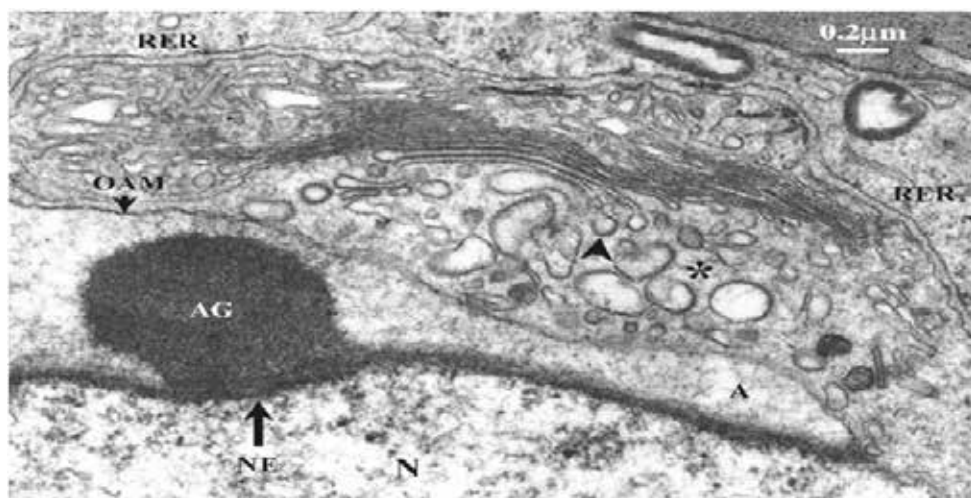
از آنجایی که یکی از مراحل تعیین‌کننده در ساخته شدن آکروزوم، گذر از گامه کلاhek به گامه طویل شدن می‌باشد، لذا اسپرمیوتز به آسانی در این مرحله با حذف ژن *Herb* دچار آسیب می‌شود. این موضوع در موش‌های خانگی که حذف برای ژن *Herb* (Kang-Decker et al., 2001) و *GOPC* (Yao et al., 2002) را با خود حمل می‌کنند، ثابت شده است که در این خصوص بحث خواهد شد. در این موش‌های جهش یافته، همچنان که اسپرماتیدها رشد می‌کنند وزیکول‌های مشتق از گلژی در ادغام باهم با شکست روبه‌رو می‌شوند و گرانول‌های آکروزومی کاملاً از هسته جدا می‌شوند.

واژه جدید اکروپلاکسوم^۱، واژه‌ای است که به ساختاری اشاره می‌کند که قبلاً شناسایی شده بود ولی اخیراً واکاوی شده است (Kierszenbaum et al., 2003)، و در انتهای دیستال آکروزوم یافت می‌شود (نمایه ۳-۵). اکروپلاکسوم در بر دارنده یک حلقه انتهایی است که این حلقه انتهایی دارای رشته‌های کراتینی با ضخامت ۵ تا ۱۰ نانومتر و F-اکتین می‌باشد. این کمپلکس تحت عنوان صفحه آکروزومی^۲ شناخته می‌شود. حلقه در زمان طویل شدن سر اسپرماتیدها کاملاً با لبه برجسته آکروزوم (صفحه اکروزومی) و با پوشش هسته‌ای (صفحه هسته‌ای) در ارتباط می‌باشد. اکروپلاکسوم در ناحیه زیر آکروزوم اسپرماتیدها تجمع یافته، این فضا یک چارچوب اسکلتی-سیتوپلاسمی می‌باشد که شامل F-اکتین و Sak57 (کراتین ۵) که یک ارتولوگ کراتین است، می‌باشد. بنابراین اکروپلاکسوم، آکروزوم و هسته را به هم متصل می‌کند و تضمین می‌کند که کلاhek آکروزوم در حال توسعه به صورت محکم به پوشش هسته در حال طویل شدن متصل باقی بماند.

از آنجایی که اکروپلاکسوم نقش مهمی را در شکل‌دهی سر اسپرماتیدهای اولیه در حال طویل شدن دارد، شکست در ساخته شدن آکروزوم منجر به توسعه‌ی ناکامل اکروپلاکسوم می‌شود و نتیجه‌ی نهایی این ناهنجاری، تولید اسپرم‌هایی با سرهای بدشکل می‌شود که فنوتیپ ta را نشان می‌دهند (به عبارت دیگر، حالتی از بیماری تراتوزواسپرما).

^۱ Acroplaxome

^۲ Acrosomal plate



نمایه ۵-۲: تصویر TEM که دستگاه گلژی را در مجاور آکروزوم در حال توسعه نشان می‌دهد. AG گرانول‌های آکروزومی. وزیکول‌های انتقالی یا گرانول‌های پیش‌آکروزومی RER شبکه اندوپلاسمی دانه‌دار (ستاره) که از کیسه‌های موجود در ناحیه عرضی دستگاه گلژی مشتق می‌شوند (سر پیکان‌ها).

۵-۱-۳ گامه طویل شدن یا گامه آکروزوم (مراحل ۸ تا ۱۲ در موش، مرحله C در انسان‌ها)

در موش مراحل ۸ تا ۱۲ برابر با دوره‌ای از مراحل اولیه تا مرحله میانی طویل شدن اسپرماتید می‌باشد. همچنان که سیتوپلاسم اسپرماتید باریک می‌شود، آکروزوم به تدریج به سمت غشاء پلاسمایی که در بالا قرار دارد متمایل می‌شود و مانشت در اسپرم در حال طویل شدن شروع به توسعه از ناحیه حلقه هسته‌ای می‌کنند. دسته‌های ریزلوله‌ای^۱ مانشت‌ها، در اسپرماتید طی مراحل ۸ تا ۱۵ در موش توسعه می‌یابند. همزمان با این که کلاهیک آکروزومی طویل می‌شود محتویات آکروزوم به تدریج به درون یک ماتریکس الکترونی چگال^۲ متراکم می‌شود. نقطه کنترلی بعدی در اسپرماتوژنز دوره گذر از مرحله طویل شدن (اکروزوم) به گامه بلوغ آکروزوم می‌باشد. همانگونه که در بالا ذکر شد، تخمین زده شده است که حذف ژن کد کننده پروتئین RA175 از خانواده IgSF منجر به تخریب اسپرمیوژن در مرحله اولیه طویل شدن اسپرماتیدها می‌شود درنهایت این اتفاق الیگوتراوتوزواسپریمیا را در پی دارد.

^۱ Microtubular bundles

^۲ Electron-dense matrix

۵-۱-۴ گامه بلوغ (مراحل ۱۳ تا ۱۶ در موش، مرحله ۲-۱d در انسان)

در موش مراحل ۱۳ تا ۱۶ برابر با مراحل است که اسپرم های قرار گرفته در فاز پایانی طویل شدن و یا اسپرم های طویل شده پایانی قابل مشاهده می باشند. مواد متراکم (گرانول های آکروزومی) در وزیکول های آکروزومی در سراسر غشاء آکروزوم پخش می شود تا این که سرانجام آکروزوم به آکروزوم قدامی و آکروزوم پسین (ES) متمایز می شود. به نظر می رسد که طی این دوره، مولکول های بنیادی به آکروزوم قدامی و آکروزوم پسین انتقال داده شده و در آکروزوم پیشین و ES سازماندهی می شوند. در نزدیکی مرحله ۱۵ در موش، آکروزوم پسین در اسپرماتیدها توسعه می یابد و ساختارهای حباب مانند یا حباب های آکروزومی در انتهای دیستال آکروزوم ظاهر می شود.

تغییر- تبدیلات پس از ترجمه ای پروتئین های موجود در ماتریکس آکروزومی را می توان در اسپرماتیدهای نهایی مشاهده کرد (مرحله ۱۶). در حقیقت بیان آنتی ژن آکروزومی MC41 به صورت ناگهانی در اسپرماتیدهایی که در قسمت پایانی مرحله ۱۶ قرار دارند، قابل رویت می شود (Tanii et al., 1992). مکانیسم مسئول این پدیده ناشناخته است. بلافاصله پیش از آزاد شدن اسپرم، بیشتر سیتوپلاسم و ارگانل های موجود در اسپرماتیدها به درون قطرات سیتوپلاسمی رها می شوند. اجسام باقیمانده که توسط اسپرماتیدها آزاد می شوند سرانجام به وسیله سلول های سرتولی فراگرفته می شوند.

۵-۲ مسیرهایی برای انتقال مولکول های آکروزومی

به طور معمول مولکول های آکروزومی به وسیله وزیکول های دستگاه گلژی از شبکه اندوپلاسمی دانه دار به سیستم آکروزومی در حال توسعه منتقل می شوند (Clermont and Tang, 1985; Fawcett and Hollenberg, 1963). با این وجود ممکن است چندین مسیر برای انتقال مواد آکروزومی به آکروزوم در حال توسعه وجود داشته باشد. نگارنده کتاب این موضوع را در گزارش قبلی توصیف کرده است، در آن گزارش پیشنهاد شد که یک دستگاه خارج گلژی علاوه بر دستگاه گلژی وجود دارد که این دستگاه ثانوی دوباره به یک دستگاه گرانولی آکروزومی- گلژی و دستگاه کلاهیک سری- گلژی تقسیم می شود.

علاوه بر این، اخیراً چهار مسیر مشهور اضافی خارج از دستگاه گلژی که بر پایه بیان فاکتورهای مرتبط با تشکیل آکروزوم^۱ (Afaf) می باشند نیز پیشنهاد شده است (Li et al., 2006). نمایش نموداری از این مسیرها در نمایه ۵-۳ نشان داده

^۱ Acrosome formation-associated factor (Afaf)

شده است. هرچند پیش از آن که در خصوص این مسیرها بحث شود، ابتدا خلاصه کوتاهی در خصوص مولکول‌های *Afaf* آورده خواهد شد.

Afaf: گزارش شده است که *Afaf* متعلق به خانواده پروتئین‌های غشایی *Ia* می‌باشند که پیش‌بینی می‌شود دو رونوشت (رونوشت‌های بلند و کوتاه) در موش تولید می‌کنند. پروتئین مشهور *Afaf* در موش و انسان دارای یک پپتید سیگنالی در پایانه N و یک ناحیه بین غشایی^۱ با یک ساختار زیپ‌دار لوسینی در پایانه C می‌باشد. پیام‌های قوی برای دسته‌بندی^۲ و درونی کردن^۳، به عنوان مثال *ETRLL* و *DHQLLL*، احتمالاً در توالی *Afaf* در موش خانگی و موش صحرایی وجود دارد. پروتئین *Afaf* به فراوانی در اسپرماتیدهای کروی بیان می‌شود. همچنین گزارش شده است که *Afaf* در غشاهای داخلی و خارجی آکروزوم‌های در حال توسعه واقع شده است. با این وجود، گفته می‌شود که با توسعه اسپرماتیدها، محتوی *Afaf* در آکروزوم‌ها کاهش می‌یابد. در سلول‌های آلوده هلا^۴، پروتئین *Afaf* روی غشاء پلاسمایی، در آنتی ژن اندوزومی اولیه ۱^۵ (*EEA1*) - اندوزوم‌های مثبت، و گاه‌گاهی بر روی هسته واقع می‌شود. با توجه به این مدارک، در اینجا فرضیه‌ای مبنی بر این که پروتئین *Afaf* به طور مستقیم به وسیله اندوزوم‌های اولیه از غشاء پلاسمایی به آکروزوم انتقال داده می‌شود (نمایه ۵-۳)، شکل می‌گیرد (et al., 2006 Li). این فرضیه، چنانچه صحیح باشد، می‌تواند توضیحی برای وجود مولکول‌های غشاء پلاسمایی در آکروزوم باشد (Song et al., 2007). با این وجود، ارزیابی‌های وسیعی برای معتبر ساختن کامل این فرضیه نیاز می‌باشد. چهار مسیر انتقالی خارج گلژی مشهور در زیر آورده شده است (Li et al., 2006):

مسیر ۱: مسیر *ER*^۶ به آکروزوم، این مسیر مستقیم پیشنهاد شده است که بر بیان آنتی ژن MC41 پایه‌ریزی شده است (Tanii et al., 1992; Toshimori, 1998).

مسیر ۲: انتقال مستقیم از غشاء پلاسمایی به آکروزوم که این به وسیله اندوزوم‌های اولیه می‌باشد.

مسیر ۳: مسیری از اندوزوم‌های مرحله نهایی به آکروزوم.

۱ Transmembrane domain

۲ Sorting

۳ Internalization

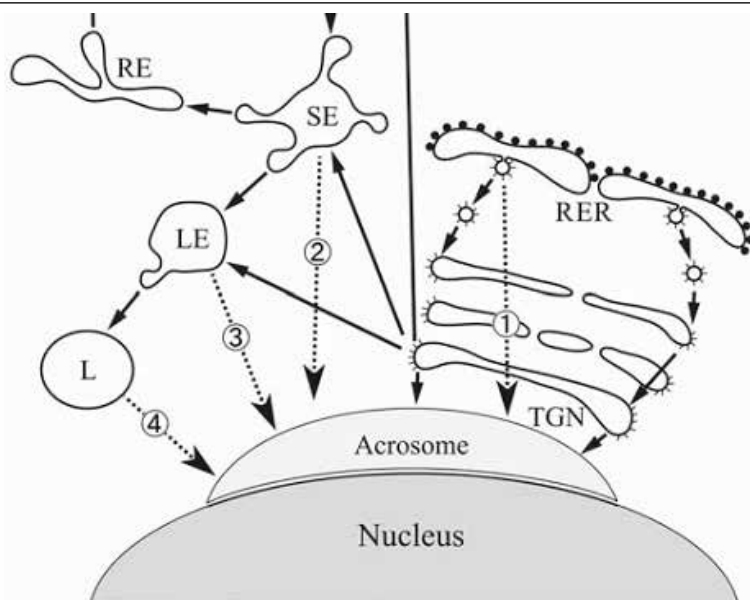
۴ Transfected HeLa cells

۵ Early endosomal antigen 1 (EEA1)

۶ Endoplasmic Reticulum

مسیر ۴: مسیر انتقال از یک لیزوزوم به آکروزوم.

مسیرهای ۳ و ۴ بر پایه مطالعات روی Rab7^۱ پیشنهاد شده است.



نماینه ۳-۵: شمایی از چهار مسیر احتمالی انتقال خارج گلژی به آکروزوم. برای تفسیر این مسیرها به متن مراجعه کنید. SE اندوزوم ثانویه. RE اندوزوم بازجذب شده. LE اندوزوم لیزوزومی. L لیزوزوم. TGN شبکه بین گلژی. RER شبکه اندوپلاسمی دانه دار.

۳-۵ ریز محیط آکروزوم

pH فضای پیرامون آکروزوم تا قبل از این که واکنش آکروزوم رخ دهد، تقریباً در حدود ۵/۳ می باشد. این pH اسیدی به کمک فعالیت پمپ هیدروژن (H^+) حفظ می شود. هرچند، بعد از این که واکنش آکروزمی انجام می شود pH آکروزوم افزایش می یابد و تقریباً به ۶/۲ می رسد که این موضوع به کمک GFP-فلوسیتومتری در موش های ترانس ژن^۲ ثابت شده است (Nakanishi et al., 2001). آنزیم های هیدرولیز کننده موجود در مایع اپیدیدیم از نظر عملکردی، در یک pH با دامنه ۳/۵ تا ۵ فعال می باشند. این آنزیم ها حتی در pH حدود ۶/۲ نیز فعال می باشند (Tulsiani, 2006). معلوم شده است که ماتریکس آکروزومی و غشاها دارای تعداد زیادی گلیکوپروتئین می باشند، اما

^۱ Rab7

^۲ Transgenic mice

این مشخص نشده است که آیا کربوهیدرات‌های موجود در پروتئین‌های آکروزومی در ریزمحیط اسیدی آکروزوم حضور دارند یا نه؟

۵-۴ تغییرات پس از بیضه‌ای و وقایع بلوغ

فرایند بلوغ آکروزوم به طور کامل در بیضه‌ها انجام نمی‌شود بلکه در طی عبور اسپرم از میان مجرای اپیدیدیم بعد از خروج از بیضه ادامه می‌یابد، این فرایند در بعضی از پستانداران از جمله، موش (Toshimori et al., 1995)، هامستر (Olson et al., 2003) و خوکچه هندی^۱ (Westbrook-Case et al., 1994; Yoshinaga and Toshimori, 2003) مطالعه شده است. زیربخش‌های آکروزوم طی بلوغ اسپرم در اپیدیدیم تشکیل می‌شود.

۵-۴-۱ غشاء آکروزوم

غشاء خارجی آکروزوم به صورت جلویی- جانبی^۲ به سمت ناحیه نوکدار^۳ توسعه می‌یابد، در حالی که غشاء داخلی آکروزوم در ارتباط نزدیک با پوشش هسته‌ای، تقریباً در سراسر ناحیه پیشین آکروزوم باقی می‌ماند.

کمپلکس سیتوپلاسمی- اسکلتی پاراکریستالین در غشاء خارجی آکروزوم، طی بلوغ پس از بیضه‌ای آکروزوم در مجرای اپیدیدیم، تجمع می‌یابد (Olson et al., 2004). ساختارهای درون آکروزوم که مجاور با غشاء داخلی آکروزوم می‌باشند، تحت عنوان ماتریکس داخلی آکروزوم نامیده شده که حاوی آنزیم‌های هیدرولیز کننده می‌باشد. ماتریکس آکروزوم نقش مهمی را در حفظ مولکول‌های زیادی که درون غشاء داخلی آکروزوم وجود دارند، ایفا می‌کند. در اینجا در خصوص چندین مولکول جالب توجه که در ماتریکس آکروزوم سازماندهی شده‌اند بحث خواهد شد.

۵-۴-۲ ماتریکس آکروزوم

طی بلوغ پس از بیضه‌ای، آکروزوم همانند یک ارگانل قطبی غشایی می‌باشد و دارای یک ماتریکس آکروزومی محکم است. این ماتریکس به طور کلی یک چارچوب نامحلول و مقاوم به شوینده^۴ می‌باشد که بعد از واکنش آکروزومی در ارتباط نزدیک با سر اسپرم باقی می‌ماند. این در حالی است که دیگر پروتئین‌های آکروزوم با قابلیت محلول شدن بالا، طی واکنش آکروزومی به آسانی آزاد می‌شوند (Hardy et

۱ Guinea pigs

۲ Anterolaterally

۳ Rostral region

۴ Detergent-resistant insoluble framework

(al., 1991). بنابراین آکروزوم مربوط به اسپرماتوزوای بالغ به عنوان یک گرانول ترشحی - تنظیم شده است که در فرایندهای حیاتی مانند اتصال زوناپلوسیدا و واکنش آکروزومی دخالت دارد. علاوه بر این، مولکول‌های آکروزومی که به درون زیربخش‌های آکروزوم وارد می‌شوند، به صورت متمایز طی واکنش آکروزومی آزاد می‌شوند و تعدادی از این مولکول‌ها نیز از نظر عملکردی فعال باقی می‌مانند. در حقیقت مولکول‌های آکروزومی آزاد شده در نواحی اختصاصی جانبی جایگزین می‌شوند، جایی که آن‌ها نقش‌هایی را در فرایندهای بعدی واکنش آکروزومی و ادغام غشاها ایفا می‌کنند. این فرایندها در آرایش غشاء پلاسمایی اسپرم برای آغاز هم‌جوشی سلول‌های جنسی نقش دارند.

۵-۴-۳ زیربخش‌ها^۱

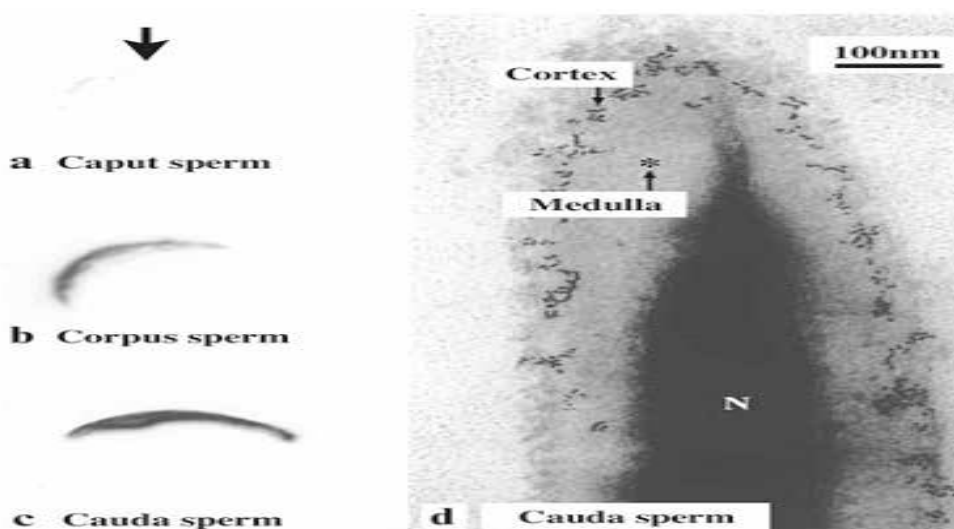
میکروسکوپ نوری همانند میکروسکوپ الکترونی به صورت کلی نشان می‌دهد که ماتریکس آکروزوم به طور کلی همگن^۲ می‌باشد. اما بدیهی است که آکروزوم اسپرم‌ها در بعضی از پستانداران (حداقل در موش، هامستر و خوکچه هندی) دارای زیرناحیه‌هایی می‌باشد.

مدولا و کورتکس در آکروزوم موش: آکروزوم موش حداقل دارای دو زیربخش مدولا و کورتکس است. این نواحی براساس شرایط ترکیبات مولکولی خود که توسط میکروسکوپ ایمونوالکترون^۳ ثابت شده است، از یکدیگر متمایز می‌شوند. آنتی ژن MC101 فقط در ناحیه کورتکس بیان می‌شود، و خاصیت آنتی ژنی آن طی عبور اسپرم از اپیدیدیم افزایش (نمایه ۵-۴) می‌یابد (Toshimori et al., 1995).

^۱ Subcompartments

^۲ Homogeneous

^۳ Immunoelectron microscopy



نمایه ۵-۴، a-d: تغییرات پس از بیضه‌ای، رنگ‌آمیزی ایمنی آنتی‌ژن MC101، تغییر الگوی درون آکروزومی طی بلوغ اپیدیدیمی را نشان می‌دهد. a-c رنگ‌آمیزی ایمنوپراکسیداز، d رنگ‌آمیزی ایمنوگولبد. a-c فعالیت آنتی‌ژنی MC101 طی عبور اسپرم از اپیدیدیم افزایش می‌یابد که این بخش از بلوغ اپیدیدیمی می‌باشد. D ذرات طلا که در ناحیه کورتکس واقع شده است.

$M1$ ، $M2$ و $M3$ در آکروزوم کوچک هندی: آکروزوم کوچک هندی حداقل سه زیرناحیه مجزا در ماتریکس خود دارد. این زیرناحیه‌ها با $M1$ ، $M2$ و $M3$ شناخته می‌شوند (Westbrook-Case et al., 1994; Yoshinaga and Toshimori, 2003). موقعیت فضایی مولکول‌های آکروزوم طی بلوغ اسپرم در اپیدیدیم متنوع می‌باشد. اهمیت این زیرناحیه‌ها هنوز روشن نشده است، هرچند بدیهی است که در بلوغ اسپرم نقش دارند.

۵-۵ آنزیم‌های آکروزومی و سایر مولکول‌ها

آنزیم‌های آکروزومی شامل تعداد زیادی از آنزیم‌های هیدرولیز کننده مانند هیالورونیداز^۱، پروتئینازها (آکرزین)^۲، استرازها^۳، نورامینیدازها^۴، اسیدفسفاتازها^۵، فسفولیپازها^۶،

۱ Hyaluronidase

۲ Proteinases (acrosin)

۳ Esterases

۴ Neuraminidases

۵ Acid phosphatases

۶ Phospholipases

گلایکوهیدرولازها^۱، بتا-ان-استیل گلوکوزامینیداز^۲، آریل سولفاتازها^۳ و کلاژناز^۴ می باشد (Yanagimachi, 1981). TESP5 اخیراً به عنوان نوعی پروتئین شناخته شده است، یک نوع گلایکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول (GPI)-پروتئین لنگری^۵ می باشد و همچنین فرض می شود که یک پروتئاز سرینی ویژه بیضه ای^۶ است (Honda et al., 2002). در آکروزوم های دست نخورده، آکرزین از نظر بیولوژیکی غیرفعال می باشد. سایر پروتئین هایی که در آکروزوم بیان می شوند شامل: پروتئین ES (ESP)، اکواترین^۷ (آنتی ژن MN9)، SP-10، زونادهسین^۸، آکروگرانین^۹، SP56/AM67، PH-20 و غیره می باشند. با وجود این که عمل این مولکول ها به طور کامل ناشناخته می باشند، در این کتاب در خصوص بعضی از این مولکول ها با جزئیات بیشتری بحث خواهند شد.

هیالورونیداز (Hyal5): Hyal5 یک نوع هیالورونیداز تک زنجیره ای است که روی غشاهای پلاسمایی و آکروزومی بیان می شود و احتمالاً یک نوع پروتئین GPI لنگری می باشد. به واسطه آنالیزهای زیموگرافی انجام شده برای بررسی هیالورونان مشخص شده است که، Hyal5 از نظر آنزیمی در pH ۵ تا ۷ فعال بوده و در pH ۳ تا ۴ غیرفعال است، اسپرماٹوزوای موش هموزایگوت از نظر حذف ژن 20-PH دچار نقصان می باشد، این نقصان با اضافه کردن Hyal5 غنی شده با پروتئین 20-PH محلول استخراج شده جبران می شود و به شدت از پراکندگی سلول های کومولوس جلوگیری می نماید. پراکندگی سلول های کومولوس با حضور آپیژنین^{۱۰} که بازدارنده هیالورونیداز می باشد به شدت ممانعت می شود. بنابراین فرض می شود که Hyal5 به عنوان یک نوع آنزیم دپلیمرز^{۱۱} برای ماتریکس کومولوس می باشد که طی فرایند نفوذ اسپرم از میان توده کومولوس و طی هیدرولیز هیالورونان در نزدیکی یا سطح زوناپلوسیدا، ایفای نقش می کند.

۱ Glycohydrolases

۲ Beta-N-acetylglucosaminidase

۳ Aryl sulfatases

۴ Collagenase

۵ Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored protein

۶ Testis-specific serine protease

۷ Equatorin

۸ Zonadhesin

۹ Acrogranin

۱۰ Apigenin

۱۱ Depolymerase

پروآکروزین^۱/آکروزین: پروآکروزین/آکروزین یک نوع آنزیم هیدرولیز کننده است که در ماتریکس آکروزومی بیان می شود (Tulsiani et al., 1998; Urch and Patel, 1991). موش هایی که از نظر پروآکروزین ناقص می باشند دارای باروری می باشند، این موضوع بیانگر این است که وجود پروآکروزین/آکروزین برای نفوذ اسپرم به زوناپلوسیدا ضروری نیست. هر چند مشخص شده است که قدرت اتصال و نفوذ این اسپرم ها به زوناپلوسیدا در شرایط آزمایشگاهی کاهش می یابد (Baba et al., 2002).

ESP (ESP-SP): ESP در اسپرم یک نوع پروتئین اتصال کان- A^2 با ۳۴۹ آمینواسید است که به صورت غالب بر روی ناحیه ES در اسپرم های انزال شده با آکروزوم سالم انسان واقع شده است (Wolkowicz et al., 2003). یک ژن حاوی دو اگزون که در جایگاه ژنی q22 کروموزوم شماره ۱۵ واقع شده است، پروتئین ESP را کد می کند. ESP به شدت بر روی مکان های kDa34 (5.0 pI) و kDa36 در پروتئوم های اسپرم^۳ گلیکوزیله می شود. میکروسکوپ ایمونوالکترونی معلوم می کند که ES به عنوان یک ناحیه مجزا و مشخص در وزیکول های آکروزومی در گامه گلژی قابل رویت است. بیان ESP به یک زیرناحیه الکترونی شفاف از ماتریکس متراکم آکروزومی اسپرماتیدها در گامه گلژی محدود شده و نیز در یک زیرناحیه الکترونی شفاف مشابه در اسپرماتیدها در گامه کلاهدک باقی می ماند. در مرحله بعد در یک ناحیه الکترونی متراکم در ES و پیازهای استوایی توسعه یافته در اسپرم های در حال طویل شدن و اسپرم های بالغ، واقع می شود. عملکرد پروتئین ESP ناشناخته باقی مانده است.

۵-۶ شکست در ساخته شدن (بیوژنز) آکروزوم

ساخته شدن طبیعی آکروزوم پیش نیاز تشکیل طبیعی سر اسپرم است. شکست در ساخته شدن آکروزوم منجر به فرم و شکل دهی معیوب سر اسپرم می شود. این موضوع می تواند در جهش های ژنی Hrb (Azh/azh (Moch-Ida et al., 1999)، و (Kang-Decker et al., 2001) GOPC (Yao et al., 2002) مشاهده شود.

Azh/azh: جهش azh یک نوع جهش اتوزومی مغلوب^۴ است. افرادی که برای این جهش هموزیگوت می باشند، اسپرم هایی تولید می کنند که ۱۰۰ درصد از نظر شکل سر نامنظم می باشند ولی این جهش یافته ها هیچ نوع تغییرات برجسته دیگری را در

۱ Proacrosin

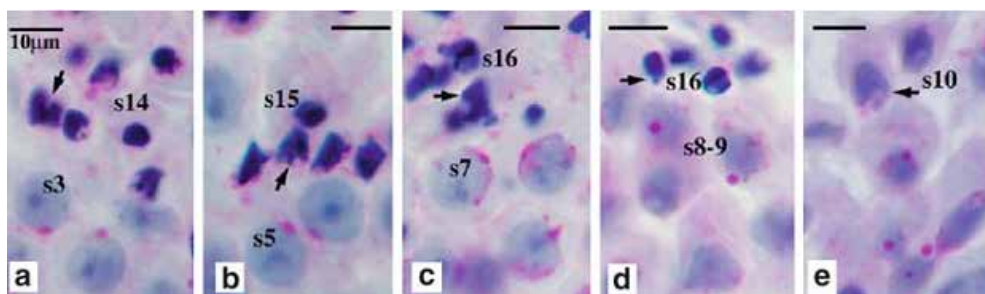
۲ Con-A-binding protein

۳ Sperm proteome

۴ Autosomal recessive mutation

سلول‌های بدنی (سوماتیک) نداشتند (Cole et al., 1988; Hugenholtz and Bruce, 1998).

سبک معماری دم اسپرم موش‌های *azh/azh* جهش‌یافته مشابه دم اسپرم موش‌های تیپ وحشی می‌باشد، اما سبک معماری سر اسپرم در نقاط اتصالی به طور مشخص متفاوت می‌باشد. هسته اسپرم‌های تیپ وحشی معمولاً مسطح است درحالی که هسته اسپرم موش‌های جهش‌یافته ساختار استوانه‌ای باریک شده‌ای را به سمت ناحیه پسین نشان می‌دهند. مانشت، که یک ساختار میکروتوبولی است بین اسپرم‌های تیپ وحشی و تیپ جهش‌یافته از نظر اندازه و پیکربندی متفاوت می‌باشد. در مرحله میانی اسپرمیوژن، میکروتوبول‌های مانشت مربوط به اسپرماتیدهای تیپ وحشی با یک زاویه ۴۵ درجه و به سمت بیرون از محور طولی سرهای مسطح شده توسعه می‌یابند، ولی این ساختار در اسپرماتیدهای جهش‌یافته از سمت ساختارهای استوانه‌ای باریک شده در پیرامون محور طولی ناحیه دمی هسته‌ها توسعه می‌یابند. بنابراین شکل سر اسپرم‌های جهش‌یافته *azh/azh* به شدت تحت تاثیر شکل‌گیری مانشت می‌باشد.

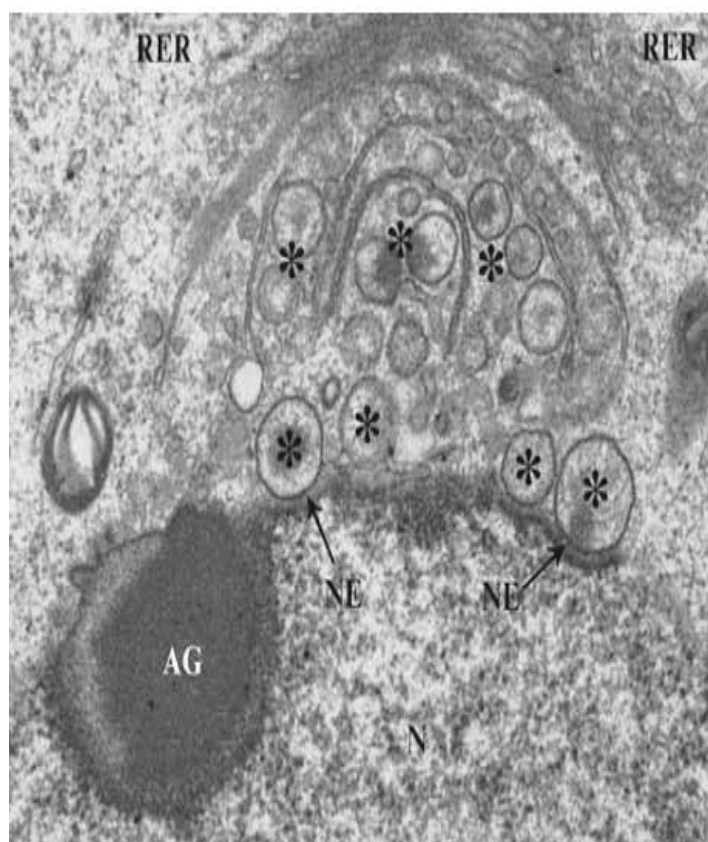


نمایه ۵-۵: میکروسکوپ نوری نشان دهنده تشکیل غیرطبیعی آکروزوم در اسپرماتوژنز مربوط به موش‌های ناقص از نظر GOPC می‌باشد (رنگ آمیزی PAS). a-e به ترتیب توسعه اسپرماتیدها در مراحل III، V، VII، VIII و IX. این نمایه را با تشکیل طبیعی آکروزوم که در نمایه ۵-۱ نشان داده شد، مقایسه کنید. این نمایه اصلاح شده تصویری است که توسط آتو و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان داده شد.

Hrb و GOPC: موش‌هایی که از نظر Hrb و GOPC ناقص می‌باشند، حالاتی مشابه گلوبوزواسپرمیا^۱ در انسان از خود نشان می‌دهند. این اسپرم‌ها دارای سرهای کروی بوده و فاقد آکروزوم می‌باشند (Kang-Decker et al., 2001; Yao et al., 2002). این موضوع نشان دهنده این است که بین تشکیل آکروزوم و تشکیل هسته اسپرم طی اسپرماتوژنز رابطه مهمی وجود دارد. نقص عمده که توسط این جهش یافته‌ها ایجاد می‌شود این است که وزیکول‌های مخصوص تشکیل آکروزوم

^۱ Globozoospermia

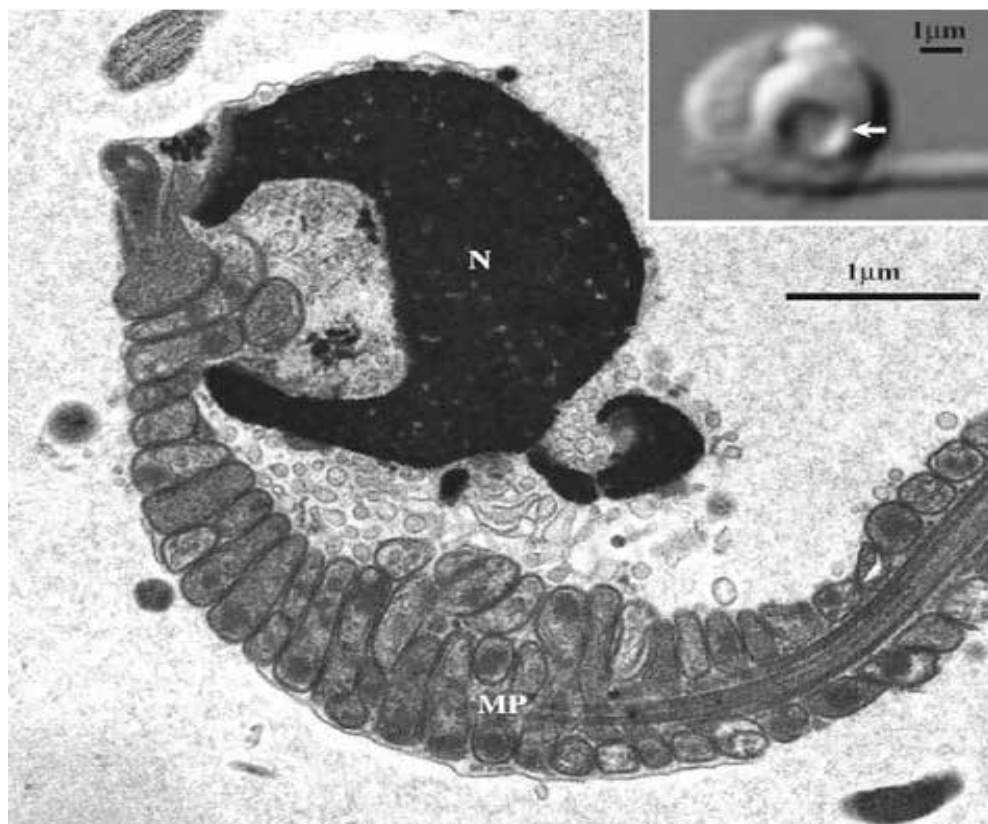
مشتق شده از دستگاه گلژی در ادغام شدن باهم موفق نمی‌شوند (نماینه ۵-۵ و ۵-۶) و این نقص سرانجام منجر به فقدان آکروزوم می‌شود (Ito et al., 2004). بنابراین، مواد آکروزومی به درون آکروزوم منتقل نمی‌شود و اسپرم‌های تولید شده نمی‌توانند واکنش آکروزومی را انجام داده و به زوناپلوسیدا نفوذ کنند. علاوه بر این، در اسپرم‌های جهش یافته $GOPC^{-/-}$ سازماندهی ترکیبات سیتوپلاسمی-اسکلتی مربوط به دم اسپرم (ODFs و FSSs) با شکست روبه‌رو می‌شود، و باقی مانده‌های سیتوپلاسم در اطراف هسته انباشته می‌شود (Suzuki-Toyota et al., 2007).



نماینه ۵-۶: تصویر TEM از تشکیل غیرطبیعی آکروزوم که در موش‌های نر ناقص از نظر $GOPC^{-/-}$ مشاهده شده است. تعداد زیادی از وزیکول‌های انتقالی یا وزیکول‌های مخصوص تشکیل آکروزوم (نشان‌های ستاره) که از دستگاه گلژی مشتق می‌شوند نمی‌توانند با یکدیگر ادغام شوند و به پوشش هسته‌ای متصل می‌شوند.

۱ Outer dense fiber

۲ Fibrous sheath



نمایه ۵-۷: نمایه TEM از یک اسپرماتید با سر کروی و فاقد آکروزوم. در گوشه، تصویر DIC که متناظر با تصویر نشان داده شده در نمایه ۵-۷ است، یک واکوئل بزرگ (پیکان) در ناحیه سر دیده می‌شود. **a.**

فصل ۶

پویایی کپسول پیرامون هسته ای

۶-۱ ساخته شدن (بیوژنز) در طی اسپرما توژنز

لایه^۱ پیرامون هسته ای شامل تعداد زیادی از مولکول ها مانند:

MN13 (Manandhar and Toshimori, 2003)، PER15 (Oko and Morales, 1994)، پروتئین های اتصال چندگانه^۲ (پروتئین های پوششی $\alpha 3$ و $\beta 3$) (von Bülow et al., 1997)، پروتئین مرتبط با اکتین (Arp)-T1 و (Arp)-T2 (Heid et al., 2002)، پپتید متصل شونده به کالمودولین^۳ یا CaMBP (al et Lécuyer, 2000)، کاليسين^۴ (در حلقه پس اکروزومی بیان می شود) (Leclerc and Goupil, 2000)، فسفولیپاز C^۵ (PLC) SubH2B (Aul and Oko, 2002)، (Saunders et al., 2002، Yoda et al., 2004)، PT1 غنی از سیستمین (CYPT1)، و PAWP^۶ (Wu et al., 2007) می باشد. مشاهدات فراساختاری مشخص می کنند موادی که از نظر الکترونی چگال بوده و به تدریج در PAR اسپرما تیدهای طویل تجمع می یابند به عنوان مواد پیش ساز برای تشکیل کپسول پیرامون هسته ای به کار می روند (Bellvé et al., 1992; Kann et al., 1991; Longo and Cook, 1991). این تجمع در مرحله انتهایی اسپرما تیدهای طویل به صورت فعالانه رخ می دهد و به تدریج منجر به تشکیل صفحه پاراکریستالین یا PAS می شود.

به طور قابل توجه، ترکیبات سیتوپلاسمی-اسکلتی موجود در صفحه پاراکریستالین و PAS، در اسپرم های با سر کروی در موش های جهش یافته $GOPC^{-/-}$ تولید می شوند (Ito et al., 2004)، همچنین این ترکیبات در اسپرم های تولید شده در انسان های با نقص گلوبوزواسپرما (Escalier, 1990)، ساخته نمی شوند. این رشته مدارک اشاره بر این دارد که مواد موجود در کپسول پیرامون هسته ای شکل دهی سر اسپرم را تنظیم می کنند و این تنظیم از طریق حفظ کردن مرز هسته در حال توسعه اسپرم با غشاهای پلاسمایی و آکروزومی صورت می گیرد. یافته های مشابهی نیز قبلا گزارش شده است (Oko and Maravei, 1995; Oko and Morales, 1994).

علاوه بر این، کپسول پیرامون هسته ای دارای مولکول هایی مانند پروتئین پوشش دهنده^۷ $\alpha 3$ و $\beta 3$ (von Bülow et al., 1997)، کاليسين (Leclerc and Goupil, 2000)، و پروتئین مرتبط با اکتین T1-Arp و T2-Arp (Heid et al., 2002) که تمایل به اتصال

^۱ Theca

^۲ Multiple-binding proteins (capping proteins) $\alpha 3$ and $\beta 3$

^۳ Calmodulin-binding peptide (CaMBP)

^۴ Calicin

^۵ Phospholipase C (PLC)

^۶ Postacrosomal sheath WW domain-binding protein (PAWP)

^۷ Capping proteins

به اکتین دارد، می باشد. تعیین نقش این پروتئین ها در فرایند لقاح حایز اهمیت است.

۶-۲ عملکرد مولکول های متصل به کپسول پیرامون هسته ای

مولکول های موجود در کپسول پیرامون هسته ای علاوه بر نقش در شکل دهی سر اسپرم، نقش مهمی را در فعال شدن تخم دارند، همچنان که آن ها دارای مولکول های متنوع ساختاری و عملکردی مورد نیاز برای فعال شدن تخم می باشند (Longo et al., 1987; Yanagimachi, 1994; Kimura et al., 1998; Manandhar and Toshimori, 2003).

مواد مرتبط با فعال شدن سلول تخم احتمال می رود که در لایه های آکروزومی یا لایه پس آکروزومی واقع شده باشد، زیرا بلافاصله (در حدود ۱ تا ۳ دقیقه) بعد از هم جوشی اسپرم و اووسیت فعال شده، طی زمانی که هیچ تغییر ساختاری برجسته ای القاء نمی شود، سلول تخم تحریک می شود. فعال شدن سلول تخم با افزایش بسیار زیاد در غلظت کلسیم درون سلولی تحریک می شود. این موضوع در مباحث آینده بررسی خواهد شد.

فصل ۷

پویای هسته اسپرم

DNA اسپرم و ماتریکس هسته‌ای همراه آن به طور کامل در میان حصار حاصل از پوشش هسته‌ای قرار گرفته و به طور مستقیم در معرض سیتوپلاسم نیستند. در مقابل، ماده ژنتیکی مادری توسط پوشش هسته‌ای محصور نشده و به طور مستقیم در معرض سیتوپلاسم قرار دارد. با وجود محافظت اعمال شده به وسیله چارچوب محکم^۱، رشته‌های DNA کروماتینی اسپرم در طی فرایند طولانی اسپرماتوزن به طور محتمل دچار صدمه می‌شوند و آپوپتوزیس نیز منجر به قطعه قطعه شدن DNA^۲ می‌شود. علاوه بر این، قطعه قطعه شدن DNA طی مسافرت طولانی اسپرم برای رسیدن به اووسیت نیز القاء می‌شود (Aitken and Krausz, 2001). این قبیل قطعه قطعه شدن DNA، منجر به لقاح و توسعه ضعیف رویان می‌شود. همچنین نرخ لانه‌گزینی و آبستنی موفقیت‌آمیز نیز کاهش یافته و منجر به تلفات مکرر آبستنی می‌شود (Chohan et al., 2006).

طی اسپرماتوزن، کروماتین اسپرم به صورت اساسی تغییر وضع داده و متراکم می‌شود. DNA ژنومی، از نوکلئوزوم وابسته به هیستون به یک ساختار ماریپیچی (حلقه مانند) غنی از پروتئین تغییر ساختار می‌دهد (نمایه ۷-۱). اگرچه، این ساختارهای حلقه‌مانند نسبت به عوامل خارجی مانند مواد سمی محیطی، مواد ایجاد کننده جهش‌های ژنتیکی، تنش‌های اکسیداتیو، و استعمال سیگار به شدت مقاوم می‌باشند، ولی DNA هسته‌ای همچنان به صورت قابل ملاحظه‌ای مستعد استرس‌های اکسیداتیو می‌باشد (Aitken and Baker, 2004; Bennetts and Aitken, 2005; Lewis and Aitken, 2005). تغییر-تبدیلات در سطح کروماتین طی بلوغ اپیدیمی اسپرم برای اطمینان از این که هسته اسپرم (ژنوم) به عوامل خارجی مقاومت دارد، مهم است. در خلال ورود اسپرم به اووسیت، پوشش هسته‌ای و پروتئین‌های ماتریکس هسته‌ای به تدریج توسط فعالیت فاکتور احیاکننده گلوکاتایون که در غشاء پلاسمایی اووسیت به فراوانی یافت می‌شود، بی اثر می‌شوند.

ارزیابی وضعیت DNA اسپرم و تعیین فاکتورهایی که صدمه دیدن DNA را تحریک می‌کنند برای محققان جالب توجه است. برای این منظور در این کتاب، یافته‌های اساسی مربوط به اسپرم شرح داده می‌شود و سپس تکنیک‌های پیشرفته اخیر که درجه صدمات DNA را در اسپرم ارزیابی می‌کنند، مورد بحث قرار خواهند گرفت.

^۱ Rigid Enclosure

^۲ DNA Fragmentation

۷-۱ تشکیل و بلوغ هسته

تشکیل هسته اسپرم با آگاهی زیاد وابسته به فرایندهای شکل‌گیری سر اسپرم و تشکیل آکروزوم همچنان که قبلاً بحث شد، می‌باشد. همچنان که وزیکول‌های مخصوص تشکیل آکروزوم مشتق از دستگاه گلژی به پوشش هسته‌ای می‌چسبند، لایه نازک هسته‌ای شروع به ضخیم کردن ناحیه‌ای از پوشش داخلی هسته می‌کند که با آکروزوم در حال توسعه مواجه می‌شود (نمایه ۳-۵ و ۳-۴). این رویداد تا مرحله اسپرماتیدهای طویل یا اواسط تا آخر این مرحله طویل شدن اسپرماتیدها ادامه می‌یابد. سرانجام هسته اسپرم‌های بالغ تقریباً تمام فضای سر اسپرم را اشغال می‌کند و به صورت قدامی به سمت ناحیه انتهایی‌ترین قسمت سر اسپرم توسعه می‌یابد و از عقب به صفحه پایه‌ای^۱ متصل می‌شود.

در جوندگان، هسته اسپرم به شدت متراکم می‌باشد و به طور معمول تعداد خیلی کم ساختارهای واکوئلی و یا اصلاً هیچ ساختار واکوئلی در ماتریکس هسته یافت نمی‌شود. در مقابل، اسپرماتوزوای انسان، شامل آن‌هایی که در اسپرم افراد سالم یافت می‌شوند، در بردارنده تعداد زیادی واکوئل می‌باشد که از نظر موقعیت در ارتباط با هسته می‌باشند. این واکوئل‌ها از نظر اندازه و تعداد در بین افراد متنوع می‌باشند.

تعداد و اندازه واکوئل‌ها ممکن است وضعیت بلوغ یا عدم بلوغ هسته‌ای را منعکس کند. در حقیقت، واکوئل‌های بزرگ که ساختارهای غشایی^۲ را نمایش می‌دهند و دارای ترکیبات متراکم بی‌نظم می‌باشند، بعضی مواقع در اسپرم‌های بالغ مشاهده می‌شوند. ساختارهای غشایی مشاهده شده از پوشش هسته‌ای و یا از غشاء پلاسمایی مشتق می‌شوند (نمایه ۷-۲). ساختارهای غیرطبیعی مشابه در موش‌هایی که حذف ژن‌هایی مانند ژن GPC را تجربه می‌کنند (Sukardi et al., 2001)، همچنین موش‌هایی که مقادیر کمتری ژن سلول‌های زاینده^۳ (mGCL) (Maekawa et al., 2004) و کازئین کیناز ۲ الف^۴ (CK2α) (Escalier et al., 2003) را حمل می‌کنند، تشخیص داده شده است. این واکوئل‌های هسته‌ای دارای ترکیبات سیتوپلاسمی اضافی می‌باشند که در اسپرماتوزن و تحت شرایط طبیعی توسط سلول‌های سرتولی حذف می‌شوند. در این زمینه، اسپرم‌هایی که از نظر مورفولوژی غیرطبیعی می‌باشند مقدار بیشتری از ترکیبات سیتوپلاسمی را نشان

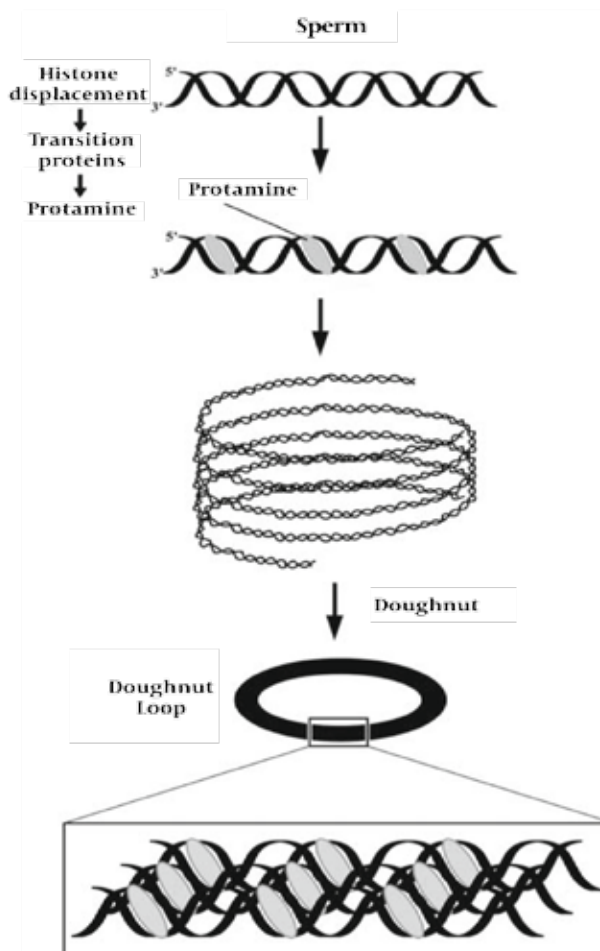
۱ Basal plate.

۲ Membranous structures

۳ The mouse germ cell-less gene (mGCL)

۴ Casein kinase-2 α (CK2α)

می‌دهند که این اسپرم‌ها از نظر یکپارچگی ماتریکس هسته‌ای نابالغ در نظر گرفته می‌شوند. این یافته‌ها منجر به این احتمال می‌شود که رشته‌های DNA ممکن است موقعی که در معرض استرس‌های اکسیداتیو القاء شده توسط حضور ترکیبات سیتوپلاسمی اضافی قرار بگیرند، به آسانی قطعه قطعه شوند. بنابراین ایجاد تکنیکی که بتواند یکپارچگی هسته به علاوه کیفیت اسپرم را ارزیابی کند مهم می‌باشد.



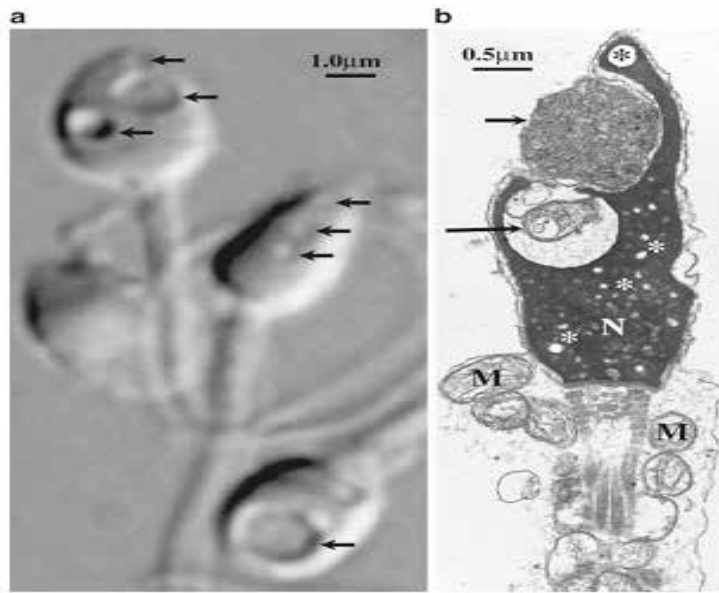
نمایه ۷-۱: شمایی از رشته‌های DNA اسپرم، پیچ‌های حلقه‌مانند (مارپیچی)، و وابستگی ساختاری آن‌ها. ترسیم دوباره تصویری که توسط بران در سال ۲۰۰۱ رسم شده است.

جزییات شکست در تشکیل هسته در آینده بحث خواهد شد. تشکیل هسته اسپرم به آسانی صدمه می‌بیند و این منجر به ناهنجاری‌هایی در شکل سر اسپرم می‌شود.

۷-۲ تشکیل غیرطبیعی هسته در موش‌های Gene-KO

تشکیل هسته اسپرم به طور نمونه در موش‌های Gcl (Kimura et al., 2003; Maekawa et al., 2004) و موش‌های فاقد CK2 a - صدمه می‌بیند.

Gcl: محصول ژن سلول‌های زاینده فاقد ژن (GCL) یکی از ترکیبات با منشأ پلاسما و فاکتور ضروری برای تشکیل سلول‌های زاینده در جنین‌های دروزوفیلا^۱ می‌باشد (Jongens et al., 1992, 1994). موش (gcl-1 (mGCL-1)، یک موش همولوگ از نظر GCL (de la Luna et al., 1999; Kimura et al., 1999; Leatherman et al., 2000) می‌باشد و به عنوان فاکتور بازدارنده فعالیت رونوشت‌برداری از E2F-DP عمل می‌کند.



نمایه ۷-۲، a-b: میکروسکوپ نوری و نمایه TEM از واکوئل‌های سر اسپرم. به طور معمول، واکوئل‌های سر به وسیله میکروسکوپ الکترونی تحت عنوان واکوئل‌های هسته‌ای به رسمیت شناخته می‌شوند. شکل a برای نشان دادن اندازه‌های متنوع واکوئل‌های موجود در سر (پیکان‌ها). b نمایه TEM. Lead و رنگ آمیزی مضاعف اورانیل است. توجه کنید که دو واکوئل بزرگ از نظر محتوا متمایز می‌باشند، یکی واکوئل بزرگی که دارای ساختارهایی غشایی (پیکان‌های بزرگ) می‌باشد و دیگری دارای ترکیبات نامنظم (پیکان‌ها) می‌باشد. تعداد زیادی از ساختارهای واکوئلی کوچک و بدون هیچگونه ساختار داخلی (نشان‌های ستاره‌ای).

GCL بر روی پوشش هسته‌ای واقع شده است. E2F یک نوع فاکتور رونویسی است که نقش مهمی را در هماهنگ کردن چرخه سلولی اولیه، ایفا می‌کند (Lavie and Jansen-Dürr, 1999). DP یک شریک دیمرسازی E2F است. پروتئین DP واکنش دهنده (DIP) با محتوای ترکیبات DP در E2F واکنش نشان می‌دهند. mGCL-1 به پلی‌پپتیدهای لامینا با 2β (LAP) (Nili et al., 2001)، که یک پروتئین غشایی سراسری است متصل می‌شود. این پروتئین روی پوشش هسته‌ای بیان می‌شود و در حفظ کروماتین و معماری هسته اسپرم نقش دارد (Gerace and Foisner, 2004). GCL با $LAP2\beta$ روی پوشش هسته‌ای سلول‌های پستانداران هم‌مکان می‌باشند (Nili et al., 2001). mGCL-1 به امرین^۳، که یکی دیگر از پروتئین‌های هسته‌ای سراسری^۴ است، متصل می‌شود. کمبود هر کدام از این دو منجر به دیستروفی عضلانی Emery^۵-Dreifuss می‌شود (Holaska et al., 2003). بنابراین، mGCL-1 بر روی لامینای هسته‌ای واقع شده است و به صورت مستقیم یا غیرمستقیم در فعالیت‌های هسته‌ای مهم، مانند رونویسی و همانندسازی DNA، سازماندهی کروماتین، تنظیم چرخه سلولی و توسعه و تمایز سلول شرکت می‌کند (Mattout-Drubezki and Gruenbaum, 2003).

در افراد جهش یافته وقتی که ژن *mgcl-1* حذف شود (Kimura et al., 2003)، تراتوزواسپرما ایجاد می‌شود، و باعث بروز اسپرم‌های چند سر می‌شود (Maekawa et al., 2004). هسته اسپرم‌های فاقد *mgcl-1*^۶ به صورت مکرر به داخل خود تاخورده است و ریزلوله‌ها گاه‌گاه‌گی در سیتوپلاسمی که به زور وارد فضای هسته شده، یافت می‌شود. پوشش هسته‌ای غیرطبیعی بوده و ساختارهای شبه میلینی^۷ را بروز می‌دهند. هر دو حلقه پسین و PAS در اسپرم موش‌های *mgcl-1*^{-/-} توسعه می‌یابند، هرچند بعضی مواقع یک بخش از PAS، از هسته جدا می‌شود. بدشکلی‌هایی، مانند بدشکلی‌های آکروزومی و حضور سیتوپلاسم زائد در اطراف سر اسپرم نیز آشکار می‌باشد. علاوه بر این تغلیظ ناکامل کروماتین نیز به صورت مکرر مشاهده می‌شود.

۱ DP-interacting protein

۲ Lamina-associated polypeptide (LAP) 2β

۳ Emerin

۴ Integral nuclear protein

۵ Emery-Dreifuss muscular dystrophy

۶ mGCL-1 - null spermatozoa

۷ Myelin-like structures

CK2 α :CK-2 یک پروتئین کیناز کازئین کیناز II^۱ با یک آدنوزین منوفسفات حلقوی (cyclic-AMP) و کیناز سرین-ترئونین مستقل از کلسیم^۲ که از دو زیرواحد کاتالیتیک آلفا آلفا^۳ ساخته شده است، می باشد. CK-2 هم از ATP و هم از GTP به عنوان دهنده فسفات استفاده می کند و به صورت ویژه باقی مانده های سرین-ترئونین را در مجاورت اسید آمینه های اسیدی هدف گیری می کند.

همولوگ فعال CK-2 یک پروتئین هتروتترامریک^۴ می باشد که دارای یک زیرواحد کاتالیتیک $\alpha \text{ } \alpha \nu \delta \alpha$ و یک زیرواحد تنظیمی (β) است. زیرواحد $\alpha \text{ } \alpha \nu \delta \alpha$ CK2 توسط ژن *Csnk2 α 2* کد می شود و در سراسر اسپرماتوژنز بر روی اسپرم های در حال توسعه بیان می شود (Xu et al., 1999).

موش های نر فاقد *Csnk2 α 2*^۵، نابارور هستند. اسپرماتیدهای این موش ها انواع متعددی از ناهنجاری ها مانند پیش آمدگی پوشش خارجی هسته و اتساع پوشش هسته ای در PAR، را بروز می دهند. تعداد اسپرم هایی که در این موش های جهش یافته به بلوغ اپیدیدیمی می رسند کمتر از حدود ۳۰ درصد در موش های تیپ وحشی می باشد. اسپرم های جهش یافته، سرهای غیرطبیعی با آکروزوم هایی که از هسته ها جدا شده اند را از خود بروز می دهند. ترکیبات آکروزومی به درون هسته یا درون سیتوپلاسم هسته ای که به صورت غیرطبیعی جدا شده است وارد می شود (Escalier et al., 2003).

۷-۳ قطعه قطعه شدن DNA^۶

کروموزوم اسپرم ها از رشته های DNA و پروتئین های هسته ای تشکیل شده است. رشته های DNA نه تنها در مکانیسم اشتباه بسته بندی کروماتین^۷ (Gorczyca et al. 1993; Sailer et al., 1998) بلکه در مرگ برنامه ریزی شده ناقص^۸ طی اسپرماتوژنز نیز، صدمه می بیند (Sakkas et al., 1999, 2002). علاوه براین، DNA اسپرم ها می توانند توسط گونه های اکسیژن فعال (ROS) که، خودبه خود

۱ Protein kinase casein kinase II

۲ Calcium-independent serine-threonine kinase

۳ Alpha and alpha

۴ Heterotetrameric protein

۵ Csnk2 α 2-null

۶ DNA Fragmentation

۷ Aberrations in the chromatin packing mechanism

۸ Defective apoptosis

در اسپرم تولید می‌شود و استرس‌های اکسیداتیو در طی انزال صدمه ببینند (Aitken and DeLuliis, 2007; Aitken and Krausz, 2001; Aitken et al., 1998; Irvine et al., 2000; Kodama et al., 1997; Lopez-Fernandez et al., 1998; Moustafa et al., 2004; Sun et al., 1997). قطعه قطعه شدن DNA می‌تواند در اسپرم‌های منفرد به وسیله ارزیابی مناسب قطعه قطعه شدن DNA همان گونه که در زیر شرح داده شده است، دیده شود.

۷-۳-۱ آسیب DNA در سلول‌های زاینده و اسپرم‌های بالغ

در حین اسپرماتوژنز، هیستون‌های سوماتیک سلول‌های زاینده به داخل پروتئین‌های انتقالی منتقل می‌شوند و سپس به پروتامین‌های غنی از آرژنین^۱ (پروتامین‌های ۱ و ۲ در انسان و موش) در اسپرم‌های توسعه یافته منتقل می‌شوند. پروتامین‌ها که غنی از آرژنین هستند، پروتئین‌های کوچک هسته‌ای هستند که در انتهای گامه‌هاپلوئیدی اسپرماتوژنز به جای هیستون‌ها قرار می‌گیرند و عقیده بر این است که این انتقال برای تراکم در سر اسپرم و نیز تثبیت DNA ضروری است. این انتقال در اسپرم‌های در حال طویل شدن شروع می‌شود و در اسپرماتیدهای طویل کامل می‌شود. حذف ژن‌هایی که پروتامین ۱ و ۲ را کد می‌کنند منجر به کمبود هاپلوئیدی^۲ در سلول‌های زاینده شده و فرایند اسپرماتوژنز را معیوب می‌سازد و در نهایت منجر به ناباروری می‌شود. به صورت ویژه زمانی که ژن مربوط به پروتامین ۲ حذف می‌شود، مورفولوژی اسپرم به شدت تغییر می‌کند و اسپرم‌های تولید شده دارای بدشکلی‌های مربوط به سر می‌شوند (Cho et al., 2001).

مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های زاینده طی اسپرماتوژنز القاء می‌شود. ط مرگ برنامه‌ریزی شده ناقص منجر به قطعه قطعه شدن DNA می‌شود (Aitken and DeLuliis, 2007; Aitken and Krausz, 2001). طی بلوغ اپیدیدیمی، سولفیدریل (S-H) موجود در پروتئین‌های هسته‌ای اسپرم بالغ پیوندهای دی سولفیدی (S-S) را تشکیل می‌دهند. (Calvin and Bedford, 1971). بنابراین DNA اسپرم از استرس‌های اکسیداتیو محافظت می‌شود. همچنین اسپرم‌ها به خودی خود پراکسیداز هیدروژن تولید می‌کنند، که چنانچه به مقدار زیادی در سیتوپلاسم آزاد شود، احتمالاً منجر به قطعه قطعه شدن DNA خواهد شد. قطعه قطعه شدن DNA اسپرم، همچنین طی ذخیره‌سازی اسپرم در مجرای تولید مثل جنس نر به

^۱ Arginine-rich protamines

^۲ Haploinsufficiency

ویژه آن‌هایی که از آلودگی دستگاه تولید مثلی رنج می‌برند نیز تحریک می‌شود. علاوه بر این DNA اسپرم ممکن است در دستگاه تولید مثل جنس ماده طی عبور به سمت اووسیت و حتی در محیط کشت در شرایط برون تنی و در زمان انکوباسیون به منظور انجام لقاح برون تنی (IVF) به کار می‌رود نیز متحمل قطعه‌قطعه شدن شود. بنابراین رشته‌های DNA به سهولت توسط استرس‌های اکسیداتیو صدمه می‌بیند و احتمال می‌رود که صدمات شدید به DNA اسپرم منجر به شکست لقاح، توسعه غیرطبیعی رویان، سقط جنین خودبه‌خودی^۱ و یا سرطان طی دوره طفولیت شود (Aitken and DeLuliis, 2007; Aitken et al., 2006; Lewis and Aitken, 2005).

۷-۳-۲ ارزیابی قطعه‌قطعه شدن DNA

به واسطه ارزیابی قطعه‌قطعه شدن DNA، می‌توان میزان اشتباه یا تجزیه کروماتین را پیش‌بینی کرد. این اطلاعات به خصوص برای آزمایشات کلینیکی، قبل از آن که لقاح برون تنی (IVF) و ICSI انجام شود مفید است. قطعه‌قطعه شدن DNA می‌تواند با استفاده از سنجش‌های قطعه‌قطعه شدن DNA مانند سنجش آکریدین نارنجی^۲ (Kosower et al., 1992)، سنجش تونل (TUNEL)^۳ (Sun et al., 1997)، ژل الکتروفورز قلیایی^۴ (Sawyer et al., 2003)، PCR کمی (QnPCR) برای تعیین الگوهای شبه نردبان^۵ جفت بازها در DNA میتوکندریایی و هسته‌ای (al., 2003 Sawyer et)، الکتروفورز تک‌سلولی^۶ (SCGE) یا سنجش کامت^۷ (McKelvey-Martin et al., 1993; Singh and Stephens, 1998)، سنجش ساختار کروماتین اسپرم^۸ (SCSA) (Evenson et al., 2002, 1999) و تست پراکندگی کروماتین اسپرم^۹ (SCD) (Fernandez et al., 2003) ارزیابی و تشخیص داده شود. از میان این روش‌ها، روش سنجش آکریدین نارنجی، انعکاس صحیحی از قطعه‌قطعه شدن DNA را ظاهر نمی‌کند (Chohan et al., 2006).

۱ Spontaneous abortion

۲ Acridine orange assay

۳ Deoxynucleotidyl transferase-mediated
dUTP nick-end labeling (TUNEL) assay

۴ alkaline gel electrophore-sis

۵ Ladder-like patterns

۶ Single-cell gel electrophoresis (SCGE)

۷ Comet assay

۸ Sperm chromatin structure assay (SCSA)

۹ Sperm chromatin dispersion (SCD) test

اساس پایه ریزی تست SCD بر این اصل است که اسپرم‌های غیرطبیعی با DNA قطعه قطعه شده، در تولید ساختارهای بزرگ توخالی حلقه‌های DNA که به طور معمول توسط اسپرماتوزوای طبیعی با DNA دست نخورده تولید می‌شوند، شکست می‌خورند. این حلقه‌ها به طور معمول توسط اسپرم‌های طبیعی با رشته‌های DNA کامل تولید می‌شوند.

هرچند توجه به این نکته مهم می‌باشد، مدارکی که ثابت کند مورفولوژی سر اسپرم انعکاسی از وضعیت یکپارچگی DNA (به عبارت دیگر کیفیت اسپرم) بوده یا توانایی اسپرم برای انجام برخی از فعالیت‌ها مانند اتصال به زوناپلوسیدا، واکنش آکروزومی، نفوذ به زوناپلوسیدا، ادغام غشای گامت‌ها و فعال شدن سلول تخم را منعکس می‌کند، وجود ندارد. با وجود این، ممکن است که مورفولوژی سر و دم اسپرم وظایف فعالیت‌های اسپرم را منعکس کند. بنابراین ایجاد روش‌های ارزیابی جهت تشخیص صحیح کیفیت اسپرم با در نظر گرفتن همه جنبه‌ها، که درجه قطعه قطعه شدن DNA را در بر می‌گیرد، مهم است. در این خصوص، اخیراً یک گزارش قابل توجهی منتشر شده است که نتایج بارداری و زایمان طبیعی بعد از انجام ICSI با استفاده از اسپرم‌های جدا شده به صورت الکتروفوریتیکی^۱ ارائه شده است (Ainsworth et al., 2007).

یکی از روش‌های ممکن که به وسیله آن کیفیت اسپرم ارزیابی می‌شود، به وسیله بنیان نهادن یک روش اندازه‌گیری است که با روش سنجش مورفولوژی اسپرم ترکیب می‌شود. این آزمایش با استفاده از میکروسکوپ با تفکیک‌پذیری بالا^۲ و تست‌های پیش‌بینی کننده مانند تست SCD (پراکندگی کروماتین اسپرم) برای تشخیص قطعه قطعه شدن DNA، انجام می‌شود. در این زمینه، به خصوص ارزیابی کیفیت خصوصیات مورفولوژی اسپرم مانند تعداد اسپرم، اندازه اسپرم‌ها و محتویات واکوئل‌های موجود در سر اسپرم (در بیشتر موارد واکوئل‌ها درون هسته حضور دارند) که مرتبط با درجه قطعه قطعه شدن DNA می‌باشند، مهم است. به این دلیل که تقریباً همه (معمولاً بیشتر از ۹۵ درصد) اسپرم‌های انسان، شامل مردان جوان سالم که ازدواج نکرده‌اند، در بردارنده واکوئل‌هایی می‌باشند که از نظر اندازه، تعداد و محتویات دارای تنوع می‌باشند (نمایه ۷-۲).

^۱ Electrophoretically

^۲ High-resolution microscopy

سیستم تزریق درون سیتوپلاسمی اسپرم‌هایی که از نظر مورفولوژی انتخاب شده‌اند^۱ (IMSI) اخیراً توسط متخصصین به کار برده می‌شود که برای این ارزیابی‌ها مفید خواهد بود. هرچند این روش ارزیابی باید برای اجرایی شدن جهت انتخاب اسپرم‌های با کیفیت بالا به دقت بررسی و ارزیابی شود.

برای پیش‌بینی کیفیت اسپرم بر حسب جنبه‌هایی غیر از یک پارچگی هسته‌ای^۲، ارزیابی‌ها می‌توانند با استفاده از پراب‌های ویژه‌ای برای ترکیبات سر اسپرم که مربوط به فرایند لقاح می‌باشند، انجام شوند. برای تعیین وضعیت‌های آکروزوم، می‌توان از پراب‌های آنتی آکروزوم^۳ مانند آنتی‌بادی‌های ضد لکترین‌های آکروزوم Con-A، PNA و MN9 (آنتی‌بادی ضد ناحیه استوایی) استفاده شود. آنتی‌بادی‌های ضد مولکول‌های پس آکروزومی مانند MN13 نیز برای ارزیابی وضعیت‌های PAR (کپسول پیرامون هسته‌ای) یا توانایی فعال‌سازی سلول تخم می‌تواند مفید باشد.

اپی ژنسیز^۴: اپی ژنسیز یا ژنومیک ایمپرینتیک^۵ به وسیله وقایعی مانند متیلاسیون DNA در سلول‌های زاینده به وقوع می‌پیوندد. اپی ژنسیز منجر به تغییرات ساختاری آشکاری نمی‌شود، اما به شدت توسعه اسپرم را برای تشکیل طبیعی رویان تحت تاثیر قرار می‌دهد. با وجود این که اپی ژنسیز از نظر اهمیت فیزیولوژی قابل ملاحظه است، اما در این کتاب در باره آن بحثی نخواهد شد و این به دلیل یافته‌های اندک در خصوص سرگذشت اسپرم طی این پدیده می‌باشد.

۱ System of intracytoplasmic morphologically selected sperm injection (IMSI)

۲ Nuclear integrity

۳ Antiacrosome probes

۴ Epigenesis

۵ Genomic imprinting

فصل ۸

پویای سیستم‌غشایی

زمانی که اسپرم از میان ماتریکس خارج سلولی اطراف سلول‌های کومولوس عبور می‌کند، پروتئین‌های موجود در غشاء پلاسمایی دچار تغییر می‌شوند. از جمله این پروتئین‌ها می‌توان به پروتئین‌های IgSF باسیگین، CE9 و MC31 اشاره نمود (نماینه ۸-۱).

۸-۱ تغییرات پروتئین‌های موجود در غشاء پلاسمایی اسپرم

باسیگین موش‌ها (که در موش‌ها با گروه‌های خونی Ok بیان می‌شوند) (Miyauchi et al., 1990; Igakura et al., 1998; Kuno et al., 1998) مشابه القاگر^۱ متالوپروتئیناز ماتریکس خارج سلولی^۲ (EMMPRIN)، HT-7، CD147، 5A11، M6 (آنتی‌ژن فعال‌سازی لکوسیت)، 5F7، فاکتور کلاژناز مشتق از سلول‌های توموری^۳ (TCSF)، gp42، نئوروتلین^۴ و آنتی‌ژن MRC OX-47 برای فعال‌سازی سلول‌های T، انسان می‌باشد. هومولوگ باسیگین در موش صحرایی، CE9 می‌باشد (de la Luna et al., 1999; Petruszak et al., 1991) که همسان با MC31 است (Toshimori et al., 1992a; Wakayama et al., 2000). پروتئین bsg موجود در موش در جایگاه (لوکوس) ۴۲/۲ روی کروموزوم ۱۰ و پروتئین EMMPRIN در انسان روی کروموزوم ۳، 19p13 واقع شده‌اند.

ساختار مولکولی BSG و CE9/MC31: پیش‌بینی می‌شود که باسیگین و CE9 (MC31) یک گلیکوپروتئین عبوری ساده نوع ۵^۱ می‌باشند که دارای ۲۶۹ اسید آمینه و سه دومین بالقوه N- گلیکوزیلاسیون می‌باشند. باسیگین از ۲۶۹ اسید آمینه بوده و الکتروفورز ژل سدیم دو دسیل سولفات- پلی آکریل آمید^۶ (SDS-PAGE) و آنالیزهای ایمنوبلوتینگ^۷ معلوم می‌کنند که وزن مولکولی آن در دامنه ۳۵ تا ۶۰ کیلودالتون می‌باشد. دومین خارج سلولی از ۱۸۷ اسید آمینه تشکیل شده است و دارای دو ناحیه مرتبط با Ig می‌باشد. ژن کد کننده باسیگین دارای ۷ اگزون با طول کلی ۱/۸ کیلو باز می‌باشد. ساختار مولکولی آن، بر پایه آنالیزهای ژنتیکی پیش‌بینی شده در شکل ۸-۱ نشان داده شده است. اسیدهای آمینه

۱ Inducer

۲ Extracellular matrix metalloproteinase

۳ Tumor cell-derived collagenase factor (TCSF)

۴ Neurothelin

۵ Single-pass type-1 glycoproteins

۶ Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis

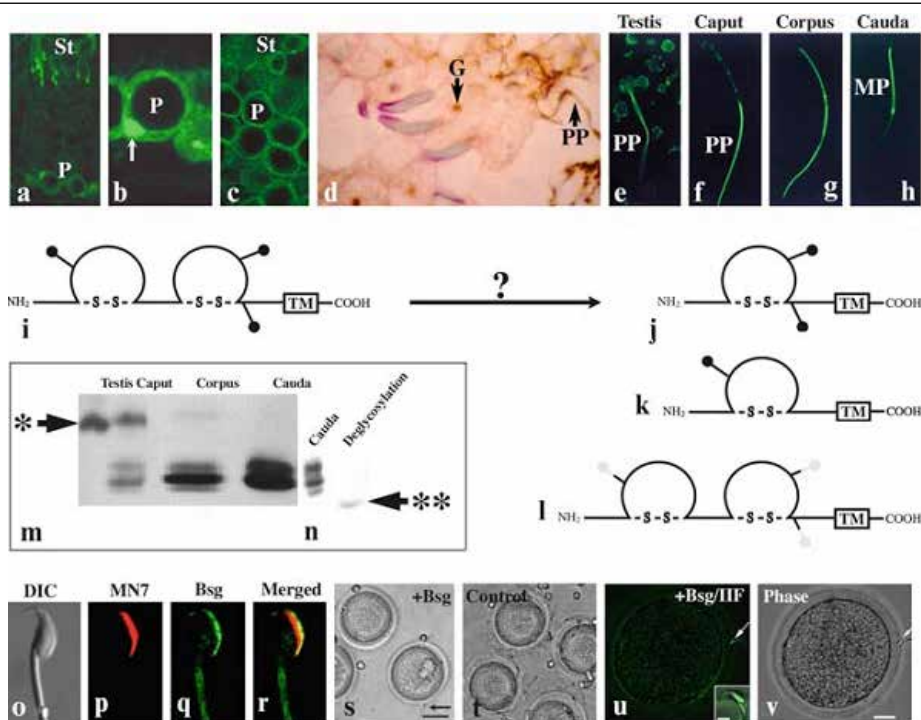
۷ Immunoblotting analyses

N انتهایی ۱ تا ۲۱ یک پیش‌دومین^۱ را تشکیل می‌دهند که ممکن است در داد و ستد ترافیکی غشاء سلول نقش داشته باشد. اشکال بالغ باسیگین و CE9 (MC31) دارای یک پیش‌دومین در ناحیه N انتهایی و دو ناحیه شبیه Ig (حلقه‌های C2 و V) که دارای سه ناحیه گلایکوزیلاسیون و حداقل یک ناحیه بالقوه پلی فسفوریلاسیون در باقی‌مانده‌های سرین / ترئونین می‌باشد، است. دومین پوشش دهنده غشاء، که در بیشتر گونه‌ها از جمله انسان محافظت می‌شود، به ناحیه داخل سیتوپلاسم در پایانه C متصل می‌شود. شکل بالغ باسیگین در سطح سلول با یک الگوی وابسته به سیس، متحمل تشکیل هومولیگومر (دایمریزاسیون) می‌شود. فرض می‌شود که ناحیه N انتهایی شبیه به Ig در فرایند الیگومریزاسیون نقش دارد. در بیضه‌ها باسیگین که در روی سطح سلول‌های زاینده بیان می‌شوند و از طریق تقابلات هتروفیلیک به سلول‌های سرتولی و یا به خودی خود و از طریق تقابلات هوموفیلیک به سلول‌های زاینده متصل می‌شوند.

بیان باسیگین و CE9 (MC31) طی اسپرمیوژنسیز: الگوهای بیان باسیگین (Miyauchi et al., 1990)، CE9 (Petruszak et al., 1991; de la Luna et al., 1999) و MC31 (Wakayama et al., 2000) در بیضه‌ها ذاتا مشابه می‌باشد، همانگونه که به وسیله هیبریداسیون در شرایط *in situ* و رنگ آمیزی ایمونوهیستوکیمال^۲ تعیین می‌شوند.

۱ Prodomain

۲ Immunohistochemical staining



نمایه ۸-۱، a-v: تغییرات پروتئین‌های (a-h) MC31، IgSF، و باسیگین (i-v) روی غشاء پلاسمایی اسپرم. e-h و a-c با استفاده از رنگ آمیزی ایمونوپراکسیداز غیرمستقیم، IIF، D) i-l شمای که نشان‌دهنده تغییرات احتمالی ساختاری پروتئین‌های MC31 و باسیگین می‌باشد که بر آنالیزهای ژنی و بلوغ اپیدیمی که منجر به لقاح می‌شود بنا نهاده شده است. m, n، ایمونوبات. a-d بین این پروتئین‌ها در دوره اسپرماتوزن و e-h تغییرات اسپرم‌ها پس از بیضه‌ای در بلوغ اپیدیمی. i-l برای پردازشی که روی ناحیه پروتئینی و ناحیه کربوهیدراتی در واکنش آکروزوم (k-l) رخ می‌دهد، پنداشته می‌شود. o-r باسیگین روی ناحیه آکروزوم پیشین و ناحیه دم در اسپرم‌های کامل بیان می‌شود. s-t جلوگیری از اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا در حضور آنتی‌بادی ضد باسیگین (T، S) کنترل کردن در غیاب آنتی‌بادی ضد باسیگین. u-v باسیگین در ناحیه سر وجود دارد (پیکان‌ها). معرفی u: اتصال به زوناپلوسیدا، مشابه با شکل SA-۱.

MC31 (CE9) و باسیگین ابتدا در سلول‌های اسپرماتید اولیه، قبل از این که فرایند میوز ۱ انجام شود، بیان می‌شوند و پس از آن به غشاء پلاسمایی اسپرم، جهت واکنش‌های بعدی با اووسیت وارد می‌شود. باسیگین در بافت‌های متنوعی مانند بیضه‌ها، رحم، مغز و شبکه چشم بیان می‌شود. آنتی‌بادی ضد CE9 انواع مختلفی از سلول‌ها را تشخیص می‌دهد (de la Luna et al., 1991; Petruszak et al., 1999) ولی آنتی‌بادی ضد MC31 فقط سلول‌های زاینده را در موش‌های صحرایی تشخیص می‌دهد. این تفاوت احتمالاً به علت تفاوت در اپیتوپ‌های (یک بخش از مولکول آنتی‌ژن که آنتی‌بادی به آن متصل می‌شود) آنتی‌ژنی می‌باشد که روی سلول‌ها

بیان می‌شود (به عبارت دیگر بیان ویژه بافتی و گونه‌ای بخش‌های کربوهیدراتی).

حذف ژن bsg: موش‌های خانگی فاقد bsg نابارور می‌باشند. علت شناسی به این دلیل می‌باشد که بلوغ اسپرم در مرحله میوز ۱ متوقف می‌شود. از طرف دیگر، موش‌های خانگی ماده‌ای که از نظر bsg ناقص هستند، به علت شکست لانه‌گزینی در داخل رحم، نابارور می‌باشند (Igakura et al., 1998). هنوز جزئیات مکانیسم‌های اصولی این پدیده روشن نشده است.

تغییرات باسیگین و MC31/CE9 در اپیدیدیم: باسیگین و MC31 (CE9) در اپیدیدیم روی سطح اسپرم‌هایی که دستخوش بلوغ پس از میوزی شده‌اند، بیان می‌شوند. الگوی رنگ‌آمیزی ایمنی این مولکول‌ها در دم اسپرم، از ناحیه دیستال (قطعه اصلی) تا ناحیه پروکسیمال (قطعه میانی) زمانی که اسپرم به داخل دم اپیدیدیم وارد می‌شوند، از نظر فضایی تغییر پیدا می‌کنند (نمایه ۸-۱). این تغییرات در الگوهای رنگ‌آمیزی ایمنی این مولکول‌ها، با کاهش در اندازه مولکولی آن‌ها همبستگی دارد؛ اندازه آن‌ها زمانی که روی سلول‌های زاینده بیضه‌ای و اسپرماتوزوای در سر اپیدیدیم بیان می‌شوند نزدیک ۴۵ کیلودالتون می‌باشد، زمانی که در اسپرماتوزوای موجود در بدنه اپیدیدیم بیان می‌شوند حدود ۳۵ کیلودالتون می‌باشد و زمانی که در اسپرماتوزوای موجود در دم اسپرم بیان می‌شوند حدود ۲۵ کیلودالتون می‌باشند. تفسیر ممکن برای کاهش اندازه این مولکول‌ها شاید این باشد که بخش کربوهیدرات‌های خارجی یا پپتیدهای موجود در ناحیه حلقه‌های N انتهایی (C_2)، تغییر یافته و یا جدا شده باشند (نمایه ۸-۱). اگر این صحیح باشد، آنزیم‌های هیدرولیز کننده موجود در مایع اپیدیدیم و یا سطح اسپرم باید در این واقعه نقش داشته باشند.

نقش احتمالی باسیگین و MC31 در فرایند لقاح: طی واکنش بین اسپرم و سلول تخم، بیان باسیگین و MC31 روی سر اسپرم (نمایه ۸-۱) می‌تواند نمایان شود (Huang and Yanagimachi, 1985; Saxena and Toshimori, 2004). اگر از یک آنتی‌بادی ضد باسیگین برای آزمایش تاثیر باسیگین بر واکنش بین اسپرم و سلول تخم استفاده شود، مشخص خواهد شد که این آنتی‌بادی مانع اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا می‌شود. طی واکنش بین اسپرم و سلول تخم، باسیگین بر روی سر و ناحیه پروکسیمال دم اسپرم‌های ظرفیت‌دار شده بیان می‌شود. بعد از واکنش آکروزوم، باسیگین متحمل دگلایکوزیلاسیون می‌شوند و اندازه مولکولی آن‌ها از ۲۵ کیلودالتون به ۲۰ کیلودالتون کاهش می‌یابد و بیان آن در ناحیه دم اسپرم به ناپدید می‌گراید (نمایه ۸-۱). بنابراین، دگلایکوزیلاسیون به طور احتمالی در این حادثه، که مرتبط با فرایند واکنش بین اسپرم با سلول تخم می‌باشد، درگیر است.

از آنجایی که باسیگین در انسان یک نوع امپرین^۱ (یا یک فاکتور محرک کلاژناز) می باشد، بنابراین باسیگین موجود در اسپرم احتمالاً در فرایند لقاح دارای نقش می باشد.

۸-۲ اتصال به زوناپلوسیدا و واکنش آکروزوم

قبل از اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا، غشاء پلاسمایی اسپرم جهت تواناشدن برای انجام این واکنش دچار تغییر می شود. این واقعه به طور خاص غشاء پلاسمایی پیرامون آکروزوم را درگیر می کند و نه تنها اسپرم را برای تشخیص زوناپلوسیدا توانا می سازد بلکه اتصال اولیه اسپرم به زوناپلوسیدا را تسهیل می کند. تغییرات لازم، قبل از اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا و در دوره ظرفیت پذیری اسپرم انجام می شود. احتمالاً، اسپرم هایی که به صورت کامل ظرفیت پذیر شده اند مولکول های ویژه ای را بیان می کنند که انتظار می رود روی غشاء پلاسمایی پیرامون آکروزوم حضور داشته باشند.

۸-۳ اتصال اولیه اسپرم به زوناپلوسیدا

اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا برای ورود به فضای پیش ویتلین^۲ اجتناب ناپذیر می باشد. مفروض است که فرایند اتصال طی دو مرحله انجام می شود: اتصال اولیه و اتصال ثانویه.

اتصال اولیه یک فرایند موقتی است و برای حمایت اسپرم جهت نفوذ به زوناپلوسیدا کافی نیست. طی این مرحله اسپرم به آسانی از زوناپلوسیدا جدا می شود. واکنش آکروزومی فقط بعد از اتصال اولیه شروع می شود، همان گونه که در موش خانگی به صورت ویژه مورد مطالعه قرار گرفته است (Bleil and Wassarman, 1990; Wassarman, 1990). با وجود این، یافته های حاصل از مطالعات انجام شده در بعضی از حیوانات مانند *Suncus spp.* (Kaneko et al., 2001) و خوکچه هندی (Huang et al., 1981) نشان می دهد که واکنش آکروزومی قبل از این که اسپرم به زوناپلوسیدا برسد، کامل شده است و یا این که فرایند واکنش آکروزومی قبل از رسیدن اسپرم به زوناپلوسیدا آغاز شده است. اما، چگونگی و زمان دقیق وقوع واکنش آکروزومی در لقاح پستانداران از جمله انسان روشن نیست.

^۱ Emmprin

^۲ Perivitelline space

تحت شرایط طبیعی در پستانداران، اتصال اولیه یک رویداد کاملاً وابسته به گونه است، که بستگی به کربوهیدرات‌های مناسب همراه با مولکول‌های زوناپلوسیدا ZP2 دارد (Bleil and Wassarman, 1990; Wassarman, 1990).

اخیراً بر اساس یافته‌های حاصل از موش خانگی، مدل‌های مولکولی جدید از اتصال اسپرم به سلول تخم ارائه شده است (Clark and Dell, 2006). یکی از این مدل‌ها، اثر متقابل پروتئین با پروتئین در زمان شروع مرحله اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا را پیشنهاد می‌کند. مدل دیگر، یک مدل مخلوط^۱ است. نشان داده شده است که تقریباً ۷۵ تا ۸۰ درصد رویداد اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا به کربوهیدرات‌ها وابسته است در حالی که مشخص شده است که مابقی مدل‌ها به وسیله واکنش‌های پروتئین با پروتئین انجام می‌شود. در واقع چندین پروتئین برای عمل شناسایی زوناپلوسیدا توسط اسپرم شناخته شده است. فرایندهای اتصال و چسبندگی به وسیله مطالعه حذف‌های ژنی در حیوانات مدل مانند حذف‌های، آپولیپوپروتئین^۲ B^۲ (Huang et al., 1996)، کالمگین^۳ (Ikawa et al., 2001)، ACE (Hageman et al., 1998) و کریتستین یا ADAM3^۴ (Nishimura et al., 2007, 2001; Sham-sadin et al., 1999) توضیح داده شده است. اگرچه، مکانیسم‌های مولکولی که بر پایه این واکنش‌های پروتئین با پروتئین می‌باشند و یا وقایعی که به واسطه کربوهیدرات‌ها در رویداد اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا به وقوع می‌پیوندند، ناشناخته باقی مانده است. ممکن است که انتقال پیامی که منجر به واکنش آکروزومی می‌شود، مستقل از کربوهیدرات‌ها باشد (Clark and Dell, 2006).

۸-۴ واکنش آکروزومی

بر اساس مدارکی که تاکنون به دست آمده است، یک مدل از آبخار انتقال پیام^۵ که در پی واکنش آکروزومی ایجاد می‌شود پیشنهاد شده است (نمایه ۸-۲). جزئیات مکانیسمی که در این آبخار پیام درگیر می‌باشد در اینجا به جزئیات شرح داده نشده است. اما بعداً در مبحث مولکول‌های وابسته به غشاء با جزئیات بیشتر بحث خواهد شد.

واکنش آکروزومی باید قبل از ورود اسپرم به داخل زوناپلوسیدا کامل شود. ورود کلسیم

۱ Mixed model

۲ Apolipoprotein B

۳ Calmegin

۴ Cyritestin or ADAM3

۵ Signal-transduction cascade

خارجی به اسپرم برای شروع آشنایی از وقایعی که منجر به واکنش آکروزومی می‌شود، ضروری است. طی واکنش آکروزومی، تعداد زیادی از ریزوزیکول‌های هیبریدی^۱ از طریق هم‌جوشی غشاء پلاسمایی پیرامون آکروزوم و غشاء خارجی آکروزوم تشکیل می‌شوند. مشخص شده است که یک پروتئین متصل شونده به کلسیم در غشاء خارجی آکروزوم در قوچ بیان می‌شود (Sukardi et al., 2001).

بعد از واکنش آکروزوم، غشاء پلاسمایی پیرامون ES به صورت جزئی کسترول از دست می‌دهد که این توزیع اجزاء درون غشاء و ترکیب مولکول‌های غشاء را تغییر می‌دهد (Suzuki and Yanagimachi, 1989). با توجه به این مسئله، ظهور فضای عاری از کسترول در غشاء پلاسمایی در ناحیه استوایی، احتمالاً بازتاب‌کننده تشکیل رافت^۲ می‌باشد، اتفاقی که پیش‌نیازی برای هم‌جوشی غشاء اسپرم و سلول تخم می‌باشد. فرض بر این است که، رافت ترکیبی از زیرمجموعه‌های نواحی تخصصی غشایی می‌باشد که غنی از استرول‌ها و اسفنگولیپیدها می‌باشد. در جدول ۸-۱ مولکول‌ها و اجزایی که قبلاً به عنوان اجزاء رافت در غشاء پلاسمایی اسپرم شناسایی شده بودند، لیست شده‌اند (Sleight et al., 2005). جالب به نظر می‌رسد که، هم‌جوشی غشایی مرتبط با واکنش آکروزومی شامل هم‌جوشی بین غشاء پیرامون آکروزومی می‌شود که نسبتاً غنی از کسترول می‌باشد، و غشاء خارجی آکروزوم که از نظر کسترول دچار نقصان می‌باشد. در مقابل، هم‌جوشی غشاء اسپرم و غشاء سلول تخم در ناحیه استوایی غشاء اسپرم، جایی که عاری از کسترول می‌باشد، و غشاء پلاسمایی سلول تخم که غنی از کسترول می‌باشد، رخ می‌دهد. می‌توان فرض کرد که، سازوکار هم‌جوشی که در واکنش آکروزومی رخ می‌دهد با هم‌جوشی که در زمان تلاقی سلول‌های جنسی رخ می‌دهد متفاوت است. اخیراً پیشنهاد شده است که پروتئین‌های خانواده SNARE در واکنش آکروزومی دخیل می‌باشند.

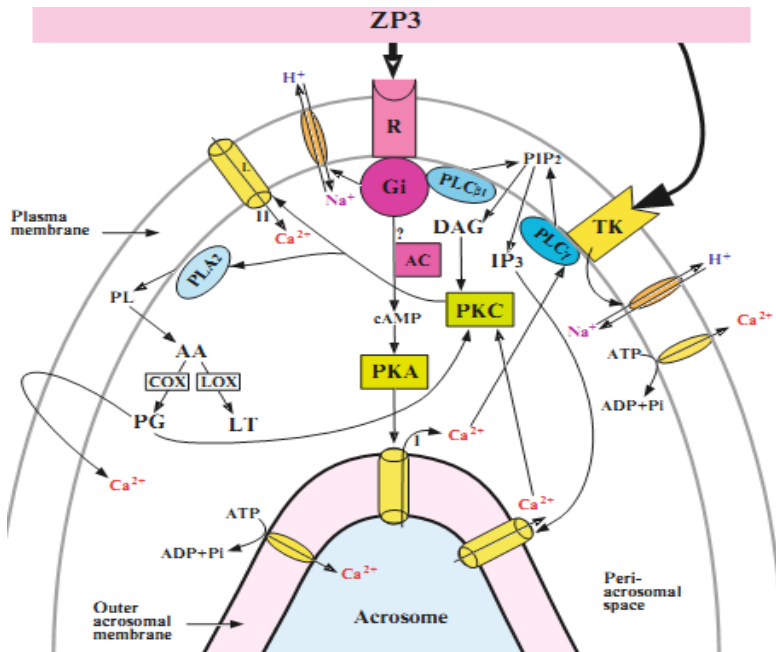
SNARE: پروتئین‌های خانواده SNARE در آکروزوم بیان می‌شوند. v-SNARE با غشاء خارجی آکروزوم ارتباط دارد، درحالی که t-SNARE به عنوان هدف با غشاء پلاسمایی ارتباط دارد. تقابل بین v-SNARE و t-SNARE به پروتئین‌های Rab و ترکیبی از دو پروتئین NSF و SNAP نیاز دارد. پروتئین‌های Rab عضوی از یک خانواده کوچک از گوانین تری فسفاتازهای^۳ مربوط به پروتئین‌های Ras می‌باشد، در صورتی که ترکیب (کمپلکس) NSF-SNAP از طریق واکنش بین پروتئین‌های Rab و کمپلکس v-SNARE/t-SNARE

۱ Hybrid microvesicles

۲ Raft formation

۳ GTPases

به دست آمده است. مولکول‌های مرتبط با هم‌جوشی مانند VAMP، سینتاکسین^۱ (Katafuchi et al., 2000; Ramalho-Santos et al., 2000; Tsai et al., 2007)، سیناپتوتگمین^۲ و rab3A (Iida et al., 1999; Ward et al., 1999)، گزارش شده است که در وقایع آگروسیتوز واکنش آکروزومی نقش دارند. یک نمایش قیاسی از نقشی که به وسیله پروتئین‌های SNARE در هم‌جوشی غشاها ایفا می‌شود در نمایه ۸-۳ نشان داده شده است.



نمایه ۸-۲: این طرح واکنش‌های احتمالی شامل آبشارهای پیامی بین فعالیت‌های درگیر طی واکنش آکروزومی را نشان می‌دهد. زوناپلوسیدا (ZP3) حداقل به دو گیرنده در سطح غشاء پلاسمایی اسپرم متصل می‌شود. واحد (R) یک گیرنده جفت شده با G_i می‌باشد که آنزیم فسفولیپاز $\beta 1$ (PLC $\beta 1$) را فعال می‌کند. (TK) یک گیرنده تیروزین کیناز جفت شده با PLC γ می‌باشد. اتصال آن به گیرنده (R) باعث تنظیم آدینیلیک سیکلاز (AC) می‌شود. این اتصال منجر به افزایش cAMP و فعال‌سازی پروتئین کیناز (PKA) می‌شود. PKA یک کانال ولتاژی وابسته به کلسیم را در غشاء خارجی آکروزوم فعال می‌کند که این باعث آزاد شدن کلسیم از بخش پیشین آکروزوم به داخل سیتوپلاسم می‌شود.

^۱ Syntaxin

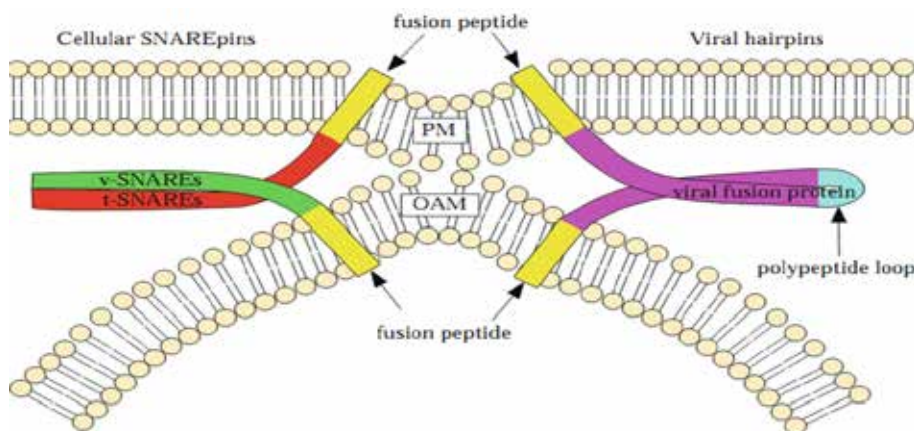
^۲ Synaptotagmin

جدول ۸-۱: پروتئین‌های غشایی مقاوم به شوینده^۱ (نماینده مولکول‌های مرتبط با رافت) به وسیله MS/MS و ژن‌های مربوطه و تعداد الحاق NCBI^۲ مشخص شده است. تصحیح شده توسط (Sleight et al., 2005).

NCBI	ژن (انسان/موش)	پروتئین مقاوم به شوینده
AAH72628	Hk1/HK1	Hexokinase I (HK1)
NP 032499	Krt1/KRT1	(Mouse keratin complex 2) KRT2
BAD91011	Izumoi/IZUMO1	Izumo
BAC55071	Hyal5/ND	(Similar to PH-20/Hya15) 4933439A12RIK
CAA09617	ND/ND	Mouse sperm albumin (ALBI)
NP 033327	Svs5/ND	Seminal vesicle secretion 5 (SVS5)
NP 848768	Sccpdh/SCCPDH	Similar to CGI-49 (C330023F11RIK)
AAP49832	Spam1/SPAM1	PH-20/Sperm adhesion molecule (SPAM1)
NP 033381	Tesp1/ND	Testis serineprotease 1 (TESP1)
NP 064365	Tex101/TEX101	Testis-specific TES101RP (TEX101)
NP 035531	Slc2a3/SLC2A3	GLUT3/Solute carrier family 2 (SLC2A3)
NP 780558	Ldhal6b/LDHAL6b/	L-Lactate dehydrogenase A-like (LDHAL6B)
NP 080499	Crisp2/CRISP2	SCP/TPX-1/CRISP-LIKE #1 (4921505011RIK)
BAB78735	Tessp2/TESSP2	Testis serine protease 2 (TESP2)
NP 038505	Atp6v0d1/ATP6V0D1	Vacuolar ATPase D (ATP6V0D1)
NP 031633	Car4/CA4	Carbonic anhydrase IV (CAR4)
NP 038663	Syp/SYP	Pantophysin isoform 1 (SYP1)
NP 877586	ND/ND	Polycythemia rubra vera-like #1
XP 355991	ND/ND	Polycythemia rubra vera-like #2
NP 033898	Bsg/BSG	Basigin (BSG)
BAB63919	Gm1019/ESSPL	Serine protease-like #1
BAB24280	(Crisp2/CRISP2)	SCP/TPX-1/CRISP-like #2
AAB59659	Igh-3/ND	Ig Light chain (IGK-V8)
NP 033768	Crisp1/ND	Ig Gamma 2b (IGH-3)
NP 112465	Mup1/ND	Cystein-rich secretory protein 1 (CRISP1)
NP 064660	Svs7/ND	Major urinary protein 1 (MUP1)
NP 064660	Svs7/ND	Caltrin/seminal vesicle secretion 7 (SVS7)

^۱ Detergent-resistant membrane proteins

^۲ NCBI accession number



نمایه ۳-۸: شمایی که فرضیه مربوط به واکنش آکروزومی که به وسیله پروتئین‌های SNARE میانجیگری می‌شود را نشان می‌دهد. این شکل تصحیح شده طرح اصلی می‌باشد که به وسیله وبر و همکاران در سال ۱۹۹۸ ارائه شد.

این اولین افزایش (نسبتاً کوتاه) در غلظت کلسیم $[Ca^{2+}]$ است که منجر به فعال شدن γ PLC می‌شود. محصولات حاصل از هیدرولیز فسفاتیدیل اینوزیتول بی فسفات (PIP 2) به وسیله γ PLC، دی اسیل گلیسرول (DAG) و اینوزیتول تری فسفات (IP 3) می‌باشند که باعث پروتئین کیناز C (PKC) به داخل غشاء پلاسمایی جابه‌جا شده و در آنجا فعال شود. PKC کانال ولتاژی وابسته به کلسیم (L) را در غشاء پلاسمایی باز می‌کند که این منجر به دومین (II ; بالاتر) افزایش در غلظت کلسیم $[Ca^{2+}]_i$ می‌شود. Gi یا TK همچنین می‌تواند به عنوان یک مبادله کننده Na^+/H^+ (پمپ سدیم پتاسیم) را فعال کند که این منجر به قلیایی شدن سیتوزول می‌شود. PKC همچنین فسفولیپاز A2 (PLA2) را برای تولید آراشیدونیک اسید (AA) از فسفولیپیدهای غشاء، فعال می‌کند. آراشیدونیک اسید به وسیله آنزیم‌های سیکلواکسیژناز (COX) و لیپوکسیژناز (LOX) به ترتیب به پروستاگلاندین‌ها (PG) و لوکوترین‌ها (LT) تبدیل می‌شود. افزایش در غلظت کلسیم $[Ca^{2+}]$ و افزایش pH منجر به همجوشی غشاء و آگروسیتوز آکروزومی می‌شود. ATP و ADP، این طرح و علائم در سال ۷۷۹۱ توسط بریتبرد و اسپونجین^۲ ارائه شده است.

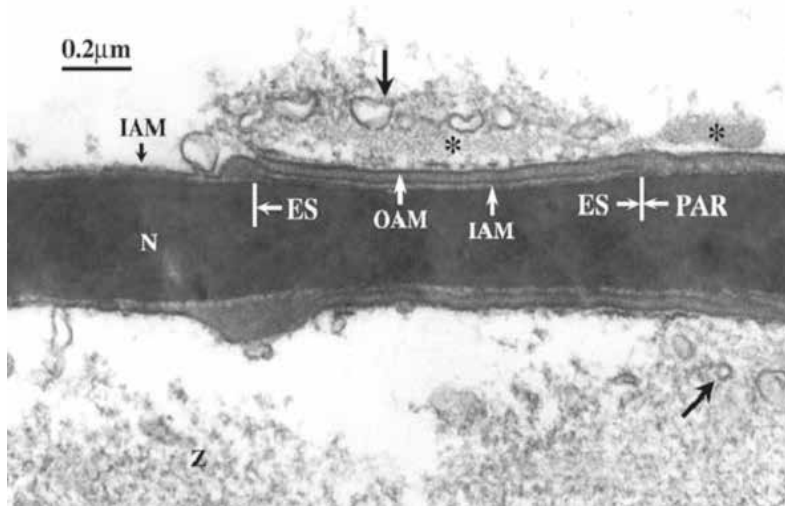
^۱ Phosphatidyl-inositol biphosphate (PIP2)

^۲ Breitbert and Spungin

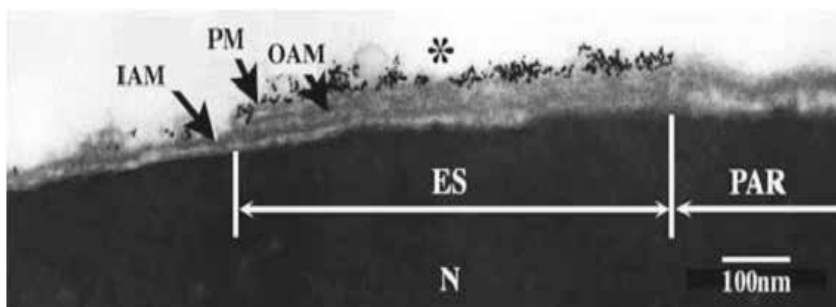
۸-۵ آزاد شدن آهسته و سریع مولکول‌های آکروزومی SNARE

ماتریکس آکروزومی با غشاء خارجی آکروزوم واکنش می‌دهد، که کمپلکس آکروزوم-غشاء تشکیل می‌شود، و این کمپلکس به نوبه خود با ترکیبات موجود در زوناپلوسیدا واکنش می‌دهند (Olson et al., 2003). طی این واکنش‌ها، آنزیم‌های هیدرولیز کننده محلول به سهولت و سریع آزاد می‌شوند. این درحالی است که مولکول‌های ساختاری به آهستگی آزاد می‌شوند.

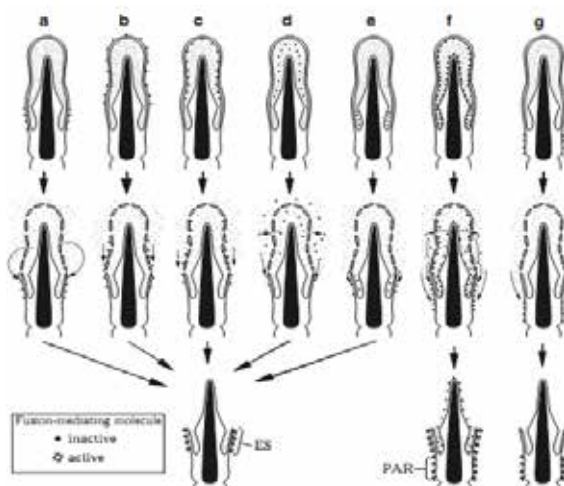
ظاهراً مولکول‌های آکروزومی که با ریزویکول‌های هیبرید ارتباط دارند، همچنان که در نوعی هامستر نشان داده شده است (نمایه ۸-۴) طی واکنش آکروزومی ساخته می‌شوند. برخی از این کمپلکس‌ها به سطح غشاء پلاسمایی استوایی می‌رسند و این احتمالاً تغییرات مولکول‌هایی را که قبلاً روی غشاء پلاسمایی استوایی موجود بوده‌اند ولی حالت کمون داشته‌اند را به راه می‌اندازد (نمایه ۸-۵). چندین مکانیسم احتمالی برای تغییرات غشایی که طی واکنش آکروزومی رخ می‌دهند پیشنهاد شده است، و این به صورت شماتیک در نمایه ۸-۶ ارائه شده است.



نمایه ۸-۴: تصویر TEM، وزیکول‌های هیبریدی (پیکان‌ها) را که به وسیله هم‌جوشی غشاء در بین غشاء پلاسمایی پیرامون آکروزومی و غشاء خارجی آکروزومی تشکیل می‌شود، را نشان می‌دهد. ترکیبات نامنظم (نشان‌های ستاره‌ای) به صورت پیوسته با وزیکول‌های هیبرید یافت می‌شوند. نمونه از هامسترهای لقاح یافته در شرایط *In vivo* دست آمده‌اند.



نمایه ۸-۵: تصویر TEM از ایمنوگولد (IGS) که جابه‌جایی اکواتورین (آنتی ژن MN9) را طی واکنش آکروزوم نشان می‌دهد. ذرات ایمنوگولد روی غشاء پلاسمایی بالای قطعه استوایی مشاهده می‌شود. قبل از این که واکنش آکروزومی شروع شود، اکواتورین در داخل آکروزوم وجود دارد (Toshimori et al., 1992a).



نمایه ۸-۶ a-g: شمایی که مسیرهای احتمالی را برای جابه‌جایی ترکیبات آکروزوم طی واکنش آکروزومی نشان می‌دهد. a پروتئین‌های مشهور مربوط به هم‌جوشی در روی غشاء پلاسمایی پیرامون قطعه اکواتوری وجود دارند و قبل از این که واکنش آکروزوم شروع شود در مرحله کمون می‌باشند. آنزیم‌های آکروزومی مانند آکرپزین این پروتئین‌ها را طی واکنش آکروزومی فعال می‌کنند (Takano et al., 1993). b مولکول‌های میانجی کننده فرایند هم‌جوشی از غشاء پلاسمایی پیرامون آکروزومی به غشاء پلاسمایی پیرامون قطعه اکواتوری مهاجرت می‌کنند (Rochwerger and Cuasnicu, 1992). c مولکول‌های میانجی‌گر فرایند هم‌جوشی از غشاء خارجی آکروزوم به غشاء پلاسمایی پیرامون قطعه استوایی مهاجرت می‌کنند (Allen and Green 1994). d بخشی از آکرپزین آزاد شده از آکروزوم که به غشاء پلاسمایی پیرامون قطعه اکواتوری متصل شده است. e برخی از مولکول‌های موجود در قطعه اکواتوری به غشاء پلاسمایی پیرامون قطعه اکواتوری مهاجرت می‌کنند و فرایند هم‌جوشی اسپرم به اووسیت را میانجی‌گری می‌کنند (Toshimori et al., 1992). f مولکول‌های میانجی‌گر فرایند هم‌جوشی از غشاء آکروزومی (IAM and OAM) به غشاء پلاسمایی پیرامون قطعه اکواتوری جابه‌جا می‌شوند. g مولکول‌های میانجی‌گر فرایند هم‌جوشی روی یا داخل غشاء پلاسمایی پیرامون آکروزوم پسین بعد از این که واکنش آکروزوم انجام شد، فعال می‌شوند (Blobel et al., 1992). تصحیح شده از طرح اصلی که به وسیله یاناکیماشی در سال ۲۰۰۳ ارائه شده است.

۸-۶ اتصال ثانویه به زوناپلوسیدا و مولکول‌های کاندید که در آن درگیر می‌باشند.

اتصال ثانویه بین اسپرم و زوناپلوسیدا به شدت محکم و معمولاً به دنبال واکنش آکروزومی می‌باشد (Bleil et al., 1988). بنابراین اسپرم‌هایی که واکنش آکروزومی را انجام داده‌اند انتظار می‌رود که مولکول‌های چسبنده و/یا مولکول‌های گیرنده مناسب را روی غشاء داخلی آکروزوم و یا غشاء پلاسمایی استوایی بیان کنند. اگر این صحیح باشد، مولکول‌های ویژه‌ای ممکن است ذاتاً در غشاء داخلی آکروزوم و/یا بین ترکیبات ماتریکس آکروزومی وجود داشته باشد (Foster et al., 1997). اتصال ثانویه، فرایند هضم زوناپلوسیدا را تسهیل می‌کند. مولکول‌های منتخب که در فرایند اتصال ثانویه درگیر می‌باشند، پروآکریزین/آکریزین (Töpfer-Petersen and Henschen, 1988a; Urch and Patel, 1991)، زونادهسین^۱ (Hardy and Garbers, 1995)، مولکول چسبندگی اسپرم^۲ (SPAM1) یا Yudin et al., 1999)، PH-20، PH-30 (Bleil et al., 1992)، SP17 (Kong et al., 1995; Richardson), MC41 (Tanii et al., 2001)، پروتئین مرتبط با غشاء آکروزومی اسپرم^۳ (SAMP32) (Hao et al., 2002)، SAMP14 (Shetty et al., 2003)، پروتئازوم S (Sutovsky et al., 2004)، یا Sp38، آنتی‌ژن MN9 یا اکواتورین (Toshimori et al., 1998, 1992a)، Izumo (Inoue et al., 2005) و Afaf (Li et al., 2006) می‌باشند. از میان این مولکول‌ها تعدادی به صورت خاص بحث خواهد شد.

IAM38 یا Sp38: IAM38 یک پلی‌پپتید ۳۸ کیلودالتون (kDa) می‌باشد که در ناحیه پیرامونی غشاء داخلی آکروزوم^۴ (IAMC) بیان می‌شود همان‌طور که در نمایه ۸-۷ نشان داده شده است (Yu et al., 2006). همچنین گزارش شده است که آن با پرفوراتوریوم (آکروزوم) که در زیر قرار دارد ارتباط دارد. IAM38 مشابه Sp38 می‌باشد، که در مطالعات قبلی در خوک‌ها تشخیص داده شده است (Mori et al., 1995). توالی نوکلئوتیدی و آمینواسیدی این پروتئین در خوک‌ها، گوسفندها، گاوهای نر، انسان و همه جوندگان murid به شدت محافظت می‌شود (90%). تیمار با استفاده از آنتی‌بادی‌های ضد IAM38 در سیستم‌های وابسته به خوک، فرایند لقاح آزمایشگاهی را بلوک می‌کند که پیشنهاد می‌کند IAM38 در فرایند اتصال ثانویه بین اسپرم و زوناپلوسیدا نقش دارد.

زونادهسین: زونادهسین در پستانداران به زوناپلوسیدا متصل می‌شود که در یک الگوی وابسته به گونه در نمونه‌هایی از موش‌های خانگی (Gao and Garbers, 1995) بیان می‌شود.

^۱ Zonadhesin

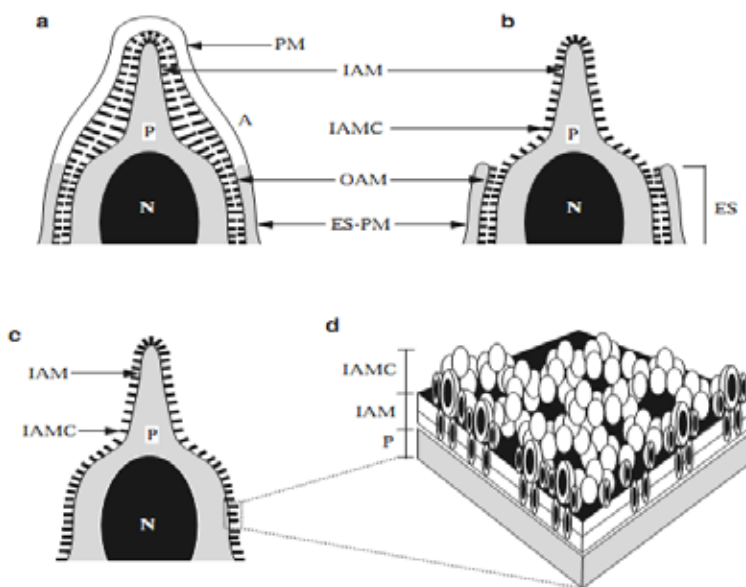
^۲ Sperm adhesion molecule 1 (SPAM1)

^۳ Sperm acrosomal membrane-associated protein 32

^۴ Inner acrosomal membrane complex

۱۹۹۸)، خوک‌ها (Hardy and Garbers 1994)، جوندگان (Lea et al., 2001) و انسان‌ها تشخیص داده شده است.

پیش‌ساز زونادهسین در خوک یک پروتئین موزائیک ۲۶۷ کیلودالتون می‌باشد (نماینه ۸-۸). این پروتئین توپولوژی یک پروتئین غشایی نوع ۱ را نشان می‌دهد که یک ناحیه خارج سلولی بزرگ شامل یک ناحیه N انتهایی منحصر به فرد و دارای مپرین^۱ / آنتی ژن A5/گیرنده تیروزین فسفاتاز μ ، یک ناحیه شبیه موسین^۲، و پنج ناحیه پشت سرهم (جفت) که به صورت پروکسیمال نسبت به غشاء واقع شده است و مشابه فاکتور (VWD) pre-pro-von Willebrand می‌باشد، را دارد. ترکیب پپتیدی زونادهسین که در اسپرم‌های بالغ بیان می‌شوند در بین گونه‌ها به شدت متفاوت است. پروتئین‌های سطحی ویژه در اسپرم دارای نواحی چندگانه‌ای می‌باشند که مشابه مولکول‌های چسبنده سلول می‌باشند. به نظر می‌رسد پیش‌ساز زونادهسین دارای یک قطعه بین غشایی^۳ می‌باشد که در سر قدامی (پیشین) اسپرم قرار دارد.



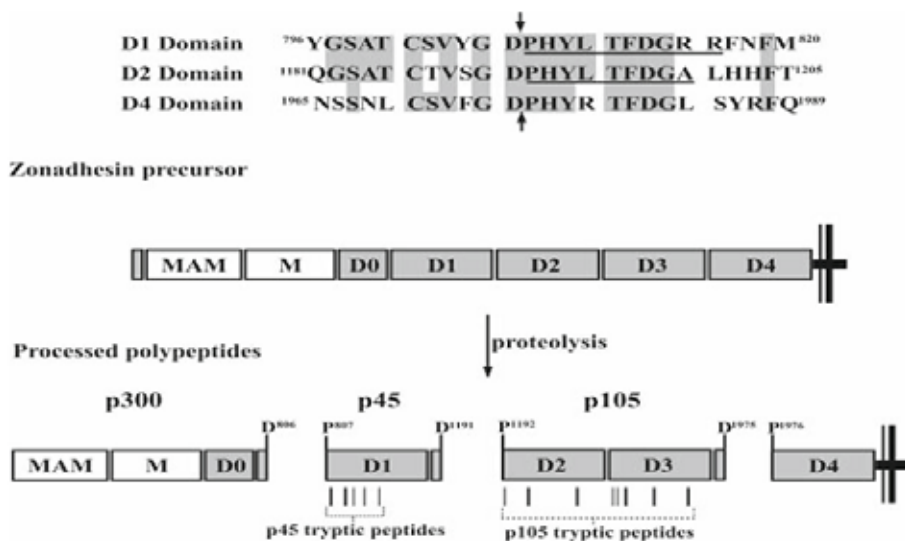
نماینه ۸-۷: شمایی که خصوصیات غشاهای آکروزوم و کمپلکس ماتریکس داخلی آکروزوم (IAMC) را نشان می‌دهد. a اسپرم کامل (قبل از واکنش آکروزومی). b اسپرمی که واکنش آکروزومی را انجام داده است. c و d ساختار فرضی IAMC. تصحیح شده از روی طرحی که به وسیله یو و همکاران در سال ۲۰۰۶ ترسیم شد.

۱ Meprin

۲ Mucin-like domain

۳ Transmembrane segment

جالب این که از مولکول زونادهسین، که به زوناپلوسیدا متصل شده است، دومین (ناحیه تخصصی) N انتهایی و دومین شبه موسین حذف شده‌اند. مولکول پیش‌ساز ابتدا به مولکول میانجی پردازش می‌شود و بعد به مولکول کامل زونادهسین تبدیل می‌شود. این مولکول‌ها به ترتیب اندازه‌های ۳۰۰ کیلودالتون (p300)، ۱۰۵ کیلودالتون (p105) و ۴۵ کیلودالتون (p45) را نشان می‌دهند. دو مولکول آخری N-گلیکوزیلاته می‌باشند در حالی که p300 به شدت O-گلیکوزیلاته بوده با گروه‌های گلیکوزیل که در سراسر آنتی ژن مپرن/۵/گیرنده تیروزین فسفات mu و ناحیه شبه موسین گسترش یافته است (Bi et al., 2003). پیش‌ساز زونادهسین در نواحی MAM و VWD دارای ۱۹ مکان بالقوه N-گلیکوزیلاسیون می‌باشد و دومین موسین مفروض دربر دارنده شمار زیادی از مکان‌های O-گلیکوزیلاسیون می‌باشد. بنابراین زونادهسین در بلوغ اسپرم و یا فرایند ظرفیت‌پذیری، پروتئولیز می‌شود و دستخوش فرایند دگلیکوزیلاسیون می‌شود. بنابراین گلیکوزیلاسیون و دگلیکوزیلاسیون وقایع مهمی می‌باشند که نقش‌های مولکول‌های متصل به غشاء و ماتریکس آکروزومی را تحت تاثیر قرار می‌دهند.



نمایه ۸-۸: شمایی از مولکول زونادهسین. ترسیم دوباره طرحی که توسط بی و همکاران در سال ۲۰۰۳ رسم شده است.

از لحاظ رفت و آمد پروتئین به داخل ماتریکس آکروزوم، میکروسکوپ ایمنوالکترونی معلوم می‌کند که طی اسپرمیوتز و بلوغ اسپرم در داخل اپیدیدیم، زونادهسین به طور ویژه به مقصد خود در آکروزوم منتقل می‌شود (Olson et al., 2004).

اسپرماتیدهای کروی، زونادهسین به صورت ویژه‌ای روی غشاء آکروزومی واقع شده است و به طور یکنواخت بین نواحی غشایی داخلی و خارجی توزیع شده است. زونادهسین سپس از غشاء داخلی آکروزوم برداشته می‌شود و دوباره در قطعه‌های اصلی و راسی مربوط به غشاء خارجی آکروزوم و آکروزوم پسین توزیع می‌شود. علاوه بر این طی بلوغ اسپرم در اپیدیدیم، زونادهسین از غشاء خارجی آکروزوم جدا می‌شود و به ماتریکس آکروزومی متصل می‌شود.

از آنجایی که زونادهسین در داخل نواحی ساختاری نازک آکروزوم متحمل این پردازش‌ها و وقایع تغییر پس از بیضه‌ای می‌شود، لذا فرض می‌شود که این ترکیب در فرایند اتصال ثانویه درگیر می‌باشد.

علاوه بر این، مدارک جدید نشان می‌دهد که یک جهش در ناحیه شبه زونادهسین مربوط به الف-تکتورین^۱، که یک ترکیب عمده از ماتریکس غیر کلاژنازی غشاء تکتورال در اندام کورتی^۲ می‌باشد، در ارتباط با غالبیت یک ژن اتوزومی که باعث از دست رفتن شنوایی غیر عارضه‌ایی است می‌باشد (Alloisio et al., 1999). به طور قابل توجهی، از دست دادن شنوایی در دامنه فرکانس متوسط در خانواده‌های با جهش‌های منجر به از دست دادن (C1619S) در داخل ناحیه اتصالی آلفا-تکتورین به زوناپلوسیدا، تحریک می‌شود. هنوز جزییات این که این یافته‌ها چگونه به لقاح مرتبط می‌شوند نامشخص است.

SPAM1 یا PH-20: SPAM1 قبلاً به عنوان PH-20 شناخته می‌شد (Hunnicut et al., 1996). PH-20، که در آغاز به عنوان یک پروتئین ۶۴/۵۳ کیلودالتونی شناخته شده بود، این پروتئین در اسپرم‌های خوکچه‌های هندی از غشاء پلاسمایی به سطح غشاء داخلی آکروزوم جابه‌جا می‌شود (Cowan et al., 1991). با وجود این، در حال حاضر PH-20 به عنوان یک پروتئین لنگری GPI شناخته می‌شود که دارای وزن مولکولی بین ۵۶-۶۴ کیلودالتون می‌باشد و روی غشاء پلاسمایی و غشاء داخلی آکروزوم در اسپرم خوکچه‌های هندی، موش خانگی، میمون‌های سینومولگوس^۳ و انسان‌ها واقع شده است (Primakoff et al., 1985; Sabeur et al., 1997; Zheng et al., 2001). PH-20 فعالیت هیالورونیداز از خود نشان می‌دهد و در نفوذ اسپرم به توده کومولوس اوفاروس^۴ درگیر می‌باشد. آنتی‌بادی‌های منوکلونال و پلی‌کلونال ضد PH-20 می‌تواند از

۱ α -tectorin

۲ Corti

۳ Cynomolgus monkeys

۴ Cumulus oophorus

چسبیدن اسپرم خوکچه هندی به زوناپلوسیدا جلوگیری کند. به هر حال، PH-20 به فعالیت آنزیم‌های درگیر در واکنش بین اسپرم و اووسیت مربوط نمی‌شود، زیرا موش‌های خانگی نر که از نظر PH-20 ناقص هستند هنوز بارور می‌باشند (Baba et al., 2002). بنابراین ممکن است PH-20 برای نفوذ اسپرم به داخل لایه سلولی کومولوس ضروری نباشد، هرچند پراکندگی سلول‌های کومولوس در نبود PH-20 به تأخیر می‌افتد. با وجود این وقتی خوکچه‌های هندی ماده نسبت به PH-20 خالص ایمن شدند بروز ناباروری به صورت ۱۰۰ درصد در ماده‌ها القاء می‌شود. این موضوع بیانگر اهمیت این مولکول در فرایند لقاح می‌باشد. اخیراً SPAM1 بازبینی شده است (Martin-DeLeon, 2006).

PH-30 : PH-30 قبلاً به عنوان فرتیلین^۱ شناخته می‌شد و در ابتدا گفته می‌شد که این پروتئین در فرایند هم‌جوشی اسپرم با سلول تخم نقش دارد (Blobel et al., 1992). ژن Adam2 پروتئین ADAM2 را کد می‌کند که هتروداایمر ADAM1/ADAM2 (به عبارت دیگر فرتیلین) را می‌سازد. موش‌های خانگی نر که ناقل جهش مربوط به حذف ژن Adam2 هستند، نابارور می‌باشند. هرچند، مشخص نشده است که ناباروری در نقطه هم‌جوشی اسپرم و اووسیت رخ می‌دهد، اما بیشتر در نقطه تقابل اسپرم با زوناپلوسیدا بروز مینماید (Cho et al., 1998).

SAMP14: پروتئین‌های مربوط به غشاء آکروزومی اسپرم^{۱۴} (SAMP14)^۲ اخیراً به عنوان گیرنده لنگری GPI از خانواده بزرگ گیرنده القاء گر پلاسمینوژن نوع یوروکیناز/Ly-۶ (uPAR) که در اسپرم انسان بیان می‌شود شناخته شده است (Shetty et al., 2003). uPAR به وسیله انتهای N خود به القاء گر پلاسمینوژن یوروکیناز متصل می‌شود و این ناحیه در SAMP14 محافظت می‌شود. علاوه بر این، نقش uPAR برای ایجاد فعالیت پروتئولیتیک به غشاء پلاسمایی محدود می‌شود و به دلیل مشارکت آن در انتقال پیام، در واکنش‌های سلول با سلول و سلول با ماتریکس درگیر می‌باشد (Ossowski and Aguirre-Ghiso, 2000). تیمار هامسترها با آنتی‌بادی ضد SAMP14 به طور معنی‌داری نه تنها از اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا بلکه از هم‌جوشی اسپرم با سلول تخم در یک شرایط عاری از زوناپلوسیدا جلوگیری می‌کند. این موضوع بیانگر این است که SAMP14 در یک یا بیشتر وقایعی که منجر به لقاح می‌شود نقشی را ایفا می‌کند. SAMP14 بعد از واکنش آکروزومی روی غشاء داخلی آکروزوم حفظ می‌شود، این پیشنهاد می‌کند

^۱ Fertilin

^۲ Sperm acrosomal membrane-associated protein 14 (SAMP14)

^۳ Ly-6/urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) superfamily

که SAMP14 به عنوان یک گیرنده غشایی آکروزوم اورفان-کلاس^۱ عمل می کند که لیگاند نامشخصی دارد، و در پروتئولیز یا وقایعی که در هم جوشی پروتئین ها به غشاء آکروزومی درگیر می باشند، مشارکت می کند.

SAMP32: SAMP32 یک پروتئین با وزن مولکولی ۳۲ کیلودالتون با PI پیش بینی شده ۴/۵۷ می باشد. دارای یک ناحیه غشایی عرضی در انتهای C خود می باشد و در شرایط درون تنی در سرین شماره ۲۵۶ فسفوریله شده است (Hao et al., 2002). با استفاده از یک آنتی بادی ضد SAMP32 نو ترکیب و با میکروسکوپ ایمنوالکترونی مشخص شده است که SAMP32 با غشاء داخلی آکروزومی ارتباط دارد. این آنتی بادی ES را در اسپرم انسان تشخیص می دهد و از هم جوشی غشاء اسپرم با غشاء اووسیت جلوگیری می کند، همانطور که با استفاده از سنجش نفوذ اسپرم انسان به سلول اووسیت فاقد زوناپلوسیدا در هامستر تعیین شده است (Hao et al., 2002).

دیگر مولکول ها: MC41 یک پروتئین محلول با محتوی نمکی بالا است. این پروتئین به وسیله دیگر پروتئین های محلول با نمک زیاد به ZP2 متصل می شود، بنابراین پیشنهاد شده است که این پروتئین در اتصال ثانویه اسپرم به زوناپلوسیدا نقش دارد (Tanii et al., 2001). پروتئازوم S26^۲ یک پروتئازوم با زیرواحدهای چند گانه می باشد که روی غشاء داخلی آکروزوم باقی می ماند. این پروتئازوم در حقیقت بیان سوبستراهای پروتئینی پوشش سلول تخم را که مورد هدف یوبیکویتین^۳ است را کاهش می دهد. در خوک ها طی لقاح، پروتئازوم S26 که روی اسپرم بیان می شود به طور انتخابی گلایکوپروتئین یوبیکویتینی شده را روی زوناپلوسیدا کاهش می یابد (Yi et al., 2007). این نشان می دهد که یک یا تعداد بیشتری از پروتئین های زوناپلوسیدا یوبیکویتینیت می شوند و پروتئازوم با غشاء داخلی آکروزوم که بعد از اگزوسیتوز آکروزوم نمایان شده است ارتباط دارد. نفوذ اسپرم از زوناپلوسیدا فرض می شود که در د-یوبیکویتین^۴ کردن پروتئین های زوناپلوسیدا درگیر باشد. در این مرحله تعداد زیادی از زیرواحدهای پروتئازومی فسفوریله می شوند. علاوه بر این، شناسایی زنجیره پلی یوبیکویتین به نظر می رسد که مرتبط با پروتئازوم آکروزومی اسپرم می باشد. بنابراین، پروتئازوم S26 در نفوذ اسپرم به درون زوناپلوسیدا مشارکت می کند (Sutovsky et al., 2004; Yi et al., 2007).

۱ orphan-class acrosomal membrane receptor

۲ 26S proteasome

۳ ^۲ Ubiquitin

۴ Deubiquitination

۷-۸ آرایش برای هم جوشی غشاء گامت ها و مولکول های کاندیدی در گیر

اسپرم های باروری که وارد فضای پیش ویتلین^۱ شده اند باید مولکول های ضروری برای چسبیدن و یا هم جوشی خود با غشاء پلاسمایی اووسیت را تشخیص دهند. این قبیل مولکول ها احتمالا در میکروویلی های اووسیت حضور دارند، زیرا غشاء پلاسمایی اسپرم ابتدا با غشاء پلاسمایی میکروویلی ها برخورد می کند. این موضوع در زیر بحث شده است. به عبارت دیگر مولکول های سطحی اسپرم که در هم جوشی و چسبیدن دخالت دارند، احتمالا در غشاء پلاسمایی استوایی حضور دارند، همانگونه که در بخش های بالا بحث شد.

مرحله اولیه آرایش: به عنوان یک گام اولیه، سیالیت غشاء اسپرم طی ظرفیت پذیر شدن و یا هنگام انکوبه کردن در محیط کشت حاوی آلبومین تغییر می کند. همچنان که در یک مطالعه بر روی موش صحرایی نشان داده شده است، جذب کلسترول به وسیله آلبومین خارج سلولی مقدار کلسترول غشاء پلاسمایی اسپرم را کاهش می دهد (Davis, 1980). در واقع، ارزیابی این واقعه با استفاده از تکنیک FRR نشان می دهد که مقدار کلسترول در غشاء پلاسمایی استوایی آکروزوم کاهش می یابد، همانگونه که در بالا ذکر شد. جریان کلسترول به خارج با این الگو طی ظرفیت پذیر شدن اسپرم می تواند خواص بیوفیزیکی غشاء پلاسمایی اسپرم را تغییر دهد، و این احتمالا از طریق تغییر لیپیدهای سازنده رافت می باشد (Nixon et al., 2007). اگر این صحیح باشد، گسستگی این لیپیدهای سازنده می تواند در شروع یک آبشار پیام دهنده که منجر به واکنش آکروزومی یا حتی وقایعی که بعد از واکنش آکروزومی رخ می دهند دخالت داشته باشد، شاید طی آرایش غشاء پلاسمایی برای هم جوشی غشاهای سلول های جنسی، در گیر می باشند.

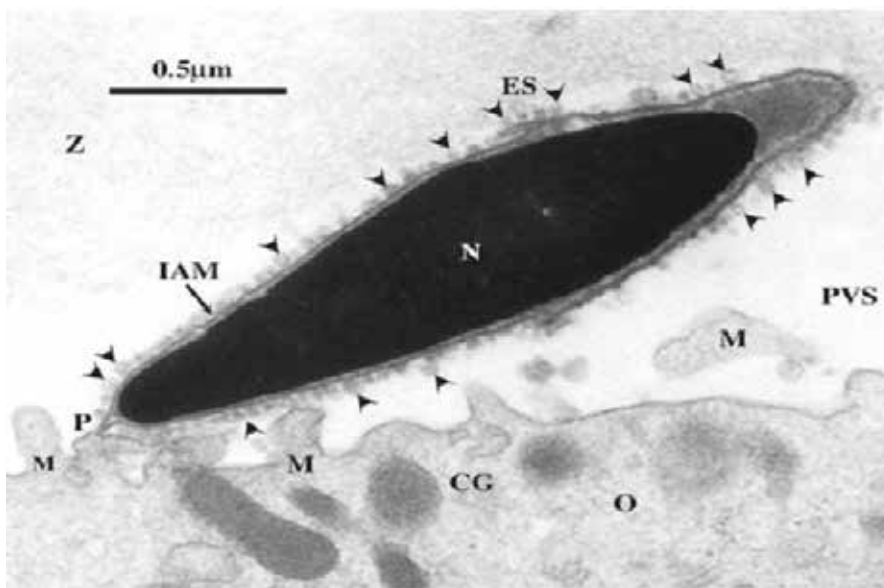
یک یافته جالب همانگونه که در زیر توضیح داده خواهد شد، مربوط به واقعه رافت است که مولکول های آکروزوم از آکروزوم به سطح اسپرم از میان غشاء پلاسمایی استوایی جابه جا می شوند (نمایه ۵-۸). به نظر می آید که این جابه جایی یک واقعه ضروری برای اسپرم به منظور آرایش غشاء پلاسمایی استوایی می باشد، که از نظر بیوشیمیایی خواص آن را تغییر می دهد.

اکواتورین (آنتی ژن MN9): اکواتورین یک نوع پروتئین آنتی ژنی (دارای خواص آنتی ژنی) MN9 می باشد که وزن مولکولی آن در موش خانگی بین ۴۰-۵۰ کیلودالتون (Toshimori et al., 1992a) و در انسان بین ۵۰-۶۰ کیلودالتون می باشد. همانگونه که در بالا ذکر شد (نمایه ۵-۸)، اکواتورین در اسپرم های کامل قبل از این که واکنش آکروزومی انجام شود در سراسر آکروزوم واقع شده است و بنابراین به وسیله آنتی بادی

^۱ Perivitelline space

MN9 ضد اکواتورین تشخیص داده نمی‌شود (Manandhar and Toshimori, 2003). هرچند بیان آن بعد از واکنش آکروزوم در ES بیشتر واضح می‌شود. بنابراین مولکول آنتی‌ژنیک MN9 به عنوان اکواتورین برگزیده شده است. طبیعت بیوشیمیایی این مولکول اخیراً روشن شده است، ژن کد کننده این مولکول تشخیص داده شده است، و آنتی‌بادی ضد اکواتورین جدید EQ₇₀₋₈₃ توسعه یافته است (مقاله‌ای در این زمینه در حال آماده‌سازی است).

طی واکنش آکروزومی، مشاهده می‌شود که اکواتورین با سطح ویزیکول‌های هیبرید که دارای قطعاتی از غشاء پلاسمایی پیرامون آکروزومی و غشاء خارجی آکروزوم است، ارتباط دارد. بر اساس یک سنجش مهارتی که به کمک آنتی‌بادی انجام می‌شود، فرض می‌شود که اکواتورین جابه‌جا شده یا اکواتورینی که جدیداً در معرض تماس قرار گرفته، سرانجام در هم‌جوشی غشاء گامت‌ها دخالت خواهد کرد (Toshimori et al., 1998). سرنخ‌های دیگری که اخیراً به دست آمده است نشان می‌دهد که مولکول مربوط به هم‌جوشی CD9 مشتق از سلول تخم به سر اسپرم‌های بارور جابه‌جا می‌شود (Barraud-Lange et al., 2007)، به نظر می‌رسد که این جابه‌جایی توسط آگروزوم^۱ میانجی می‌شود، مشابه آنچه که در سلول‌های ایمنی مشاهده می‌شود. در واقع، تعداد زیادی از ریزوزیکول‌ها و ترکیبات بی‌شکل موجود در سطح اسپرم به فضای پیش‌ویتلین رسوخ می‌کنند (نمایه ۸-۹) (Toshimori et al., 1998). بنابراین آرایش بیشتر پروتئین‌های سطحی اسپرم توانند به خودی خود به واسطه یک واقعه آبشاری که از واکنش آکروزومی منتج می‌شود القاء شود. با وجود این نباید احتمال این که غشاء پلاسمایی از بیرون به وسیله فاکتورهای حاصل از اووسیت تحت تاثیر قرار می‌گیرد را انکار کرد.



نمایه ۸-۹: تصویر TEM که ریزویکول‌ها و ترکیبات بی‌نظم موجود در اطراف سر اسپرم‌هایی که به فضای پیش‌وتیلین (PVS) رسیده‌اند را نشان می‌دهد.

IZUMO: IZUMO، که قبلاً تحت عنوان آنتی‌ژن OBF13 شناخته می‌شد، دارای یک ناحیه خارج سلولی شبه Ig است که در باقیمانده آمینواسیدی ۲۰۴ خود یک ناحیه گلیکوزیلاسیون جفت شده با آسپارژین دارد. IZUMO موش به عنوان یک مولکول آنتی‌ژنیک ویژه بیضه/اسپرم با وزن مولکولی ۵۶/۴ کیلودالتون برای آنتی‌بادی OBF شناخته شده است. آنالیزهای ایمونوبلات نشان می‌دهد که IZUMO در اسپرم انسان بیان می‌شود و یک پروتئین با وزن مولکولی ۳۷/۲ کیلودالتون می‌باشد. زمانی که اسپرم‌های گرفته شده از موش‌های خانگی Izumo^{-/-} برای تلقیح به اووسیت‌های گرفته شده از موش‌های ماده Izumo^{+/+} استفاده شود، اسپرم به غشاء پلاسمایی اووسیت متصل می‌شود اما همجوشی اسپرم با سلول اووسیت انجام نمی‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که IZUMO در فرایند هم‌جوشی غشاء اسپرم با غشاء اووسیت دخالت دارد. بیان IZUMO در روی اسپرم‌های تازه ساخته شده نمی‌تواند نمایان شود اما همانطور که با استفاده از آنالیزهای ایمونوفلوروسانس نشان داده شده است، بعد از واکنش آکروزومی در سراسر ناحیه پیشین سر اسپرم مشاهده می‌شود. بنابراین، احتمالاً IZUMO طی واکنش آکروزومی از آکروزوم به سطح غشاء پلاسمایی جابه‌جا می‌شود.

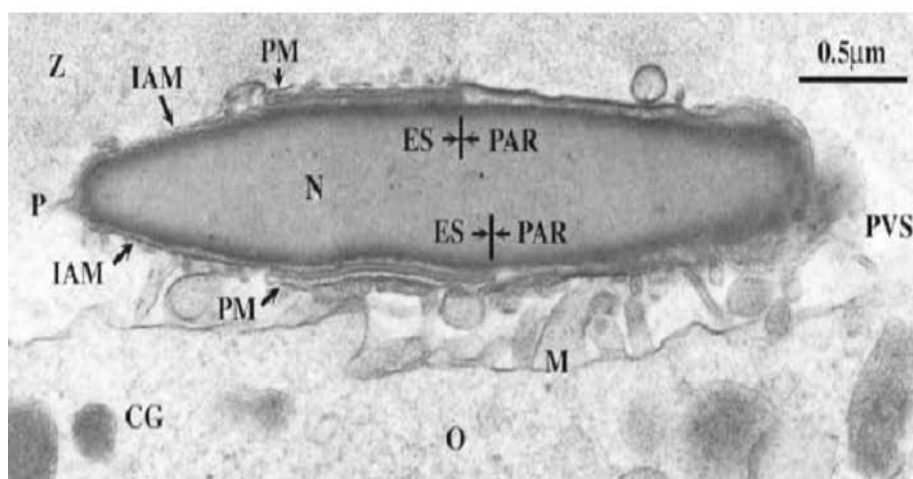
DE/CRISP-1: پروتئین اپیدییمی DE به طور وسیعی آنالیز شده است. یک پروتئین با وزن مولکولی ۳۲ کیلودالتون با کربوهیدرات‌هایی که ۱۰ درصد از ساختار آن را تشکیل می‌دهد، می‌باشد و در یک الگوی وابسته به اندروژن در اپیدیوم پروکسیمال ساخته می‌شود. طی بلوغ اپیدییمی، DE ترشح شده به سطح اسپرم متصل می‌شود. DE عضوی از خانواده پروتئین‌های ترشحی غنی از سیستمین می‌باشد (CRISPs)، که شامل پروتئین‌های ترشح شده‌ای می‌باشد که دارای وزن مولکولی بین ۲۰-۳۰ کیلودالتون می‌باشند و به وسیله حضور باقیمانده‌های سیستمین حفظ شده مشخص می‌شوند. DE توالی مشابهی (84%) را با پروتئین مربوط به اپیدیوم موش به نام AEG-1/CRISP-1 و با پروتئین انسانی CRISP-1 نشان می‌دهد.

DE/CRISP-1 در ناحیه پشتی (پیش آکروزومی) غشاء پلاسمایی پیرامون آکروزومی واقع شده است و به غشاء پلاسمایی استوایی جابه‌جا می‌شود. مقداری از مولکول‌های DE/CRISP-1 (۳۰ درصد از کل تعدادی که بیان می‌شوند) شدیداً با سطح غشاء ارتباط دارند، و به عنوان پروتئین‌های سرتاسری فعالیت می‌کنند که در هم‌جوشی غشاء گامت‌ها دخالت دارند (Cohen et al., 2000)، اما مولکول لیگاند در سطح سلول تخم مشخص نشده است. اعضاء خانواده CRISP دارای یک دومین وابسته به بیماری‌زایی گیاهی^۱ (PR-1) و یک ناحیه غنی از سیستمین (CRD) می‌باشند که این دو دومین به وسیله یک دومین مفصلی کوتاه به هم مرتبط شده‌اند. جایگاه اتصال به سلول تخم در ناحیه شاخص ۲ از ناحیه PR-1 واقع شده است. فرض می‌شود که بیشتر مولکول‌های DE/CRISP-1 (۷۰٪) فعالیت تنظیمی را برای کانال‌های یونی در ناحیه CRD از خود نشان می‌دهند. این مولکول‌ها به عنوان فاکتورهای ضد ظرفیت‌پذیری عمل می‌کنند و طی فرایند ظرفیت‌پذیری از سطح سر اسپرم آزاد می‌شوند، زیرا آن‌ها به طور ضعیفی با غشاء ارتباط دارند.

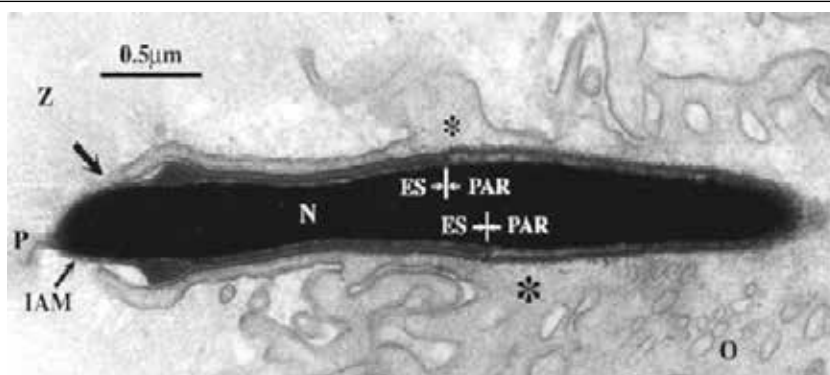
۸-۸ هم‌جوشی غشاء گامت‌ها

در اینجا نمایه‌های میکروسکوپ الکترونی تغییراتی را که بلافاصله بعد از هم‌جوشی اسپرم با اووسیت در موش خانگی و هامستر طی شرایط درون تنی القاء می‌شود، را نشان می‌دهد (نمایه‌های ۸-۱۰ و ۸-۱۱). در زمان هم‌جوشی اسپرم با اووسیت، ساختار ناحیه سر اسپرم که در هم‌جوشی و در فعال‌سازی اووسیت دخالت دارند به طور خاص مهم می‌باشد.

^۱ Contain a plant pathogenesis-related domain



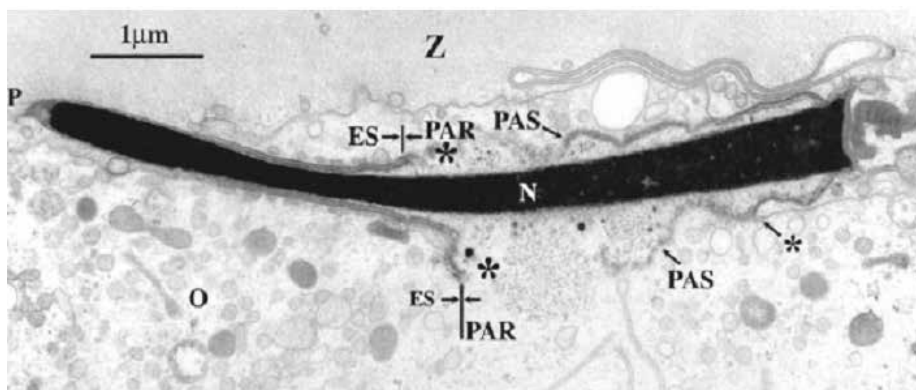
نمایه ۸-۱۰: تصاویر TEM از اسپرماتوزوا طی هم‌جوشی غشاء گامت‌ها و ورود آن به سیتوپلاسم اووسیت. At هم‌جوشی اسپرم با اووسیت. توجه کنید که تعداد زیادی میکروویلی در نزدیکی غشاء پلاسمایی در قطعه استوایی و ناحیه پس‌اکروزومی قرار دارد.



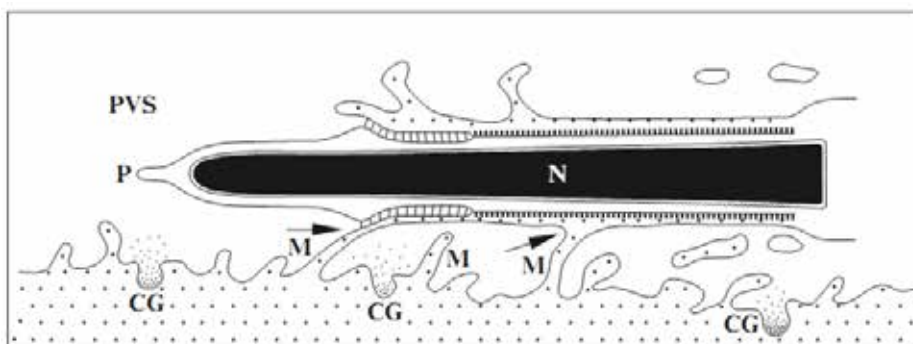
نمایه ۸-۱۱: تصاویر TEM اسپرماتوزوا، طی هم‌جوشی غشاء گامت‌ها و ورود آن به سیتوپلاسم اووسیت. At ورود اسپرم. به خصوصیات اووپلاسم در اطراف لبه قطعه استوایی و ناحیه پس‌اکروزومی (نشان‌های ستاره‌ای) توجه کنید. همچنین توجه کنید که نوک (راس) قدامی قطعه استوایی به سمت جلو برآمده شده است (پیکان‌ها).

بر اساس داده‌های بدست آمده از مطالعات انجام شده بر روی موش‌های خانگی و هامسترها، در نظر گرفته شده است که نقطه آغاز هم‌جوشی ES می‌باشد. که به احتمال زیاد شامل نزدیکترین بخش پروکسیمال PAR (نمایه‌های ۸-۱۰ و ۸-۱۲) می‌باشد. یک طرح قیاسی از این دومین در نمایه ۸-۱۳ ارائه شده است. طی مدت زمان کوتاه برای هم‌جوشی اسپرم با سلول تخم، تغییرات ساختاری فقط در غشاء

پلاسمایی اسپرم یا در ساختارهای میکرویلی که در اطراف ES و بخش پروکسیمال PAR تشکیل شده‌اند، مشاهده می‌شود. این اطلاعات به طور ویژه برای درک ارتباط بین ساختار و عملکرد ترکیبات اسپرم مهم می‌باشد. از نقطه نظر ساختاری، این که چگونه غشاء پلاسمایی اسپرم با غشاء پلاسمایی میکروویلیایی واکنش می‌دهد نامشخص است. زیرا در مکان هم‌جوشی برآمدگی‌هایی که از عرض میکروویلی‌ها ضخیم‌تر می‌باشند تشکیل می‌شوند. بعد از واکنش غشاء پلاسمایی اسپرم با غشاء پلاسمایی میکروویلی‌ها، این برآمدگی‌های ضخیم ممکن است که به واسطه جریان سیتوپلاسم از اووسیت (فشار حاصل از سیتوپلاسم اووسیت) به داخل سیتوپلاسم اسپرم (به عبارت دیگر، لایه سیتوپلاسمی پیرامون آکروزومی و لایه سیتوپلاسمی پیرامون PAS) تشکیل شود. علاوه براین، مکانیسمی که به وسیله آن رشته‌های اکتین برای طویل کردن این برآمدگی‌ها به کار می‌برد ناشناخته است. از نقطه نظر عملکردی، مشخص شده است که فرسوده شدن ساختاری^۱ مربوط به آزاد شدن مولکول‌های مرتبط با فعال‌سازی اووسیت از سیتوپلاسم اسپرم می‌باشد، همچنان که در مبحث بعدی در این خصوص بحث خواهد شد.



نمایه ۸-۱۲: تصویر TEM اسپرماتوزوای طی هم‌جوشی غشاء گامت‌ها و ورود آن به سیتوپلاسم اووسیت. At تراکم زدایی هسته اسپرم. توجه کنید که این بازشدگی ابتدا در ناحیه پروکسیمال ناحیه پس آکروزومی انجام می‌شود (نشان‌های ستاره‌ای). سیستم غشایی آکروزوم در این مرحله نسبتاً کامل می‌باشد.



نمایه ۸-۱۳: شمایی که وقایع ممکن در مرحله اولیه از هم جوشی اسپرم با سلول تخم و جریان سیتوپلاسمی سلول تخم را نشان می دهد. پیکان ها نقاط هم جوشی اسپرم با سلول تخم، در جایی که سیتوپلاسم سلول تخم وارد سیتوپلاسم اسپرم می شود را نشان می دهند.

فصل ۹

پویایی فعال سازی سلول تخم (اووسیت)

تغییر در غلظت درون سلولی کلسیم ($[Ca^{2+}]_i$) پیش نیاز فرایند فعال سازی اووسیت است. افزایش اولیه $[Ca^{2+}]_i$ در نتیجه آزاد شدن Ca^{2+} از (شبکه اندوپلاسمی) ER به درون سیتوپلاسم می باشد. موج Ca^{2+} در ناحیه هم جوشی اسپرم با سلول تخم شروع می شود، بعد این پیام در سراسر سیتوپلاسم گسترش می یابد. افزایش مکرر در $[Ca^{2+}]_i$ به عنوان نوسان Ca^{2+} نامیده می شود و تا نزدیکی زمان تشکیل پیش هسته ها^۱ باقی می ماند (Jones et al., 1995; Marangos et al., 2003).

تاکنون دو مسیر برای فعال سازی سلول تخم ارایه شده است (نمایه ۹-۱). مسیر اول به وسیله فاکتورهای (سیتوپلاسمی) اسپرم می باشد. در این حالت، این عوامل می توانند به طور مستقیم وارد سیتوپلاسم سلول تخم شوند. از بین این فاکتور(ها)، فاکتور (ζ) PLCzeta مشتق شده از اسپرم معمولاً به عنوان مولکول کاندیدا می باشد. مسیر دیگر به وسیله گیرنده های اسپرم می باشد که در این مورد انتظار می رود گیرنده روی غشاء پلاسمایی اووسیت واقع شده باشد.

۹-۱ فاکتورهای (سیتوپلاسمی) اسپرم و مولکول های کاندیدا برای دخالت در فرایند فعال سازی سلول تخم

فاکتورهایی که در فعال سازی اووسیت دخالت دارند از قبل به عنوان فاکتورهای فعال سازی اووسیت مربوط به اسپرم (SOAFs) شناخته می شدند. SOAFs به دو شکل وجود دارند: شکل حساس به گرما SOAF-1 و فرم مقاوم به گرما SOAF-2 (Perry et al., 2000). زمانی که یک SOAF به اووسیت وارد می شود، فرایند نوسان کلسیم^۲ فعال می شود. سپس این فاکتور می تواند به وسیله ترکیبات سیتوزولی کیسول پیرامون هسته باز یافت شود. این مطلب بیانگر این می باشد که ترجیحاً SOAF به خودی خود یک جزء مربوط به سیتوزول می باشد.

این یافته که نوسان کلسیم به طور کامل در حضور آنتی بادی مونوکلونال ضد نوع یک IP3R/ Ca^{2+} کاملاً ممانعت می شود، احتمال القاء آزادسازی کلسیم (Ca^{2+}) (IICR) را توسط IP3 بالا می برد. IP3 به وسیله هیدرولیز فسفاتیدیل-۴،۵-اینوزیتول^۳ (PIP2) کاتالیز شده توسط PLC که روی غشاء بیان می شود، تولید می شود و این فرایند به عنوان مسیر PI شناخته می شود.

^۱ Ronucleus

^۲ Ca^{2+} oscillation

Phosphatidyl-4,5-inositol

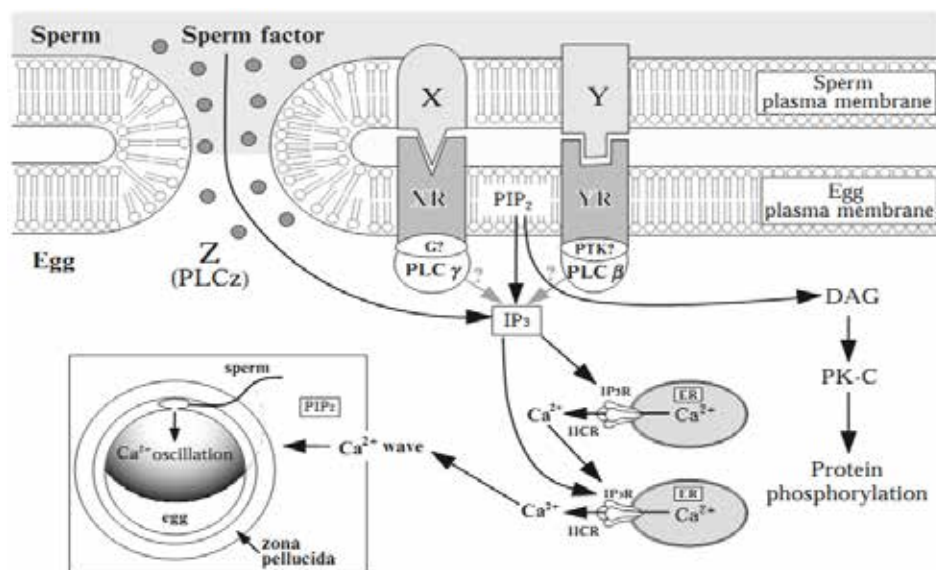
توجه به این نکته مهم است که فرایند فعال سازی سلول تخم می تواند خیلی سریع در ۱ تا ۳ دقیقه بعد از هم جوشی اسپرم با اووسیت شروع شود (Lawrence et al., 1997)، و آن سیگنال که منشاء در محل هم جوشی اسپرم و سلول تخم دارد در سیتوپلاسم سلول تخم چندین برابر می شود. این غلظت یون کلسیم را افزایش می دهد و به این طریق فرایند نوسان کلسیم را میانجی گری می کند. به طور مشابه گزارش شده است که فاکتورهای اسپرم بین ۱۵ تا ۶۰ دقیقه بعد از ورود اسپرم به اووسیت و تشکیل فرایند نوسان کلسیم، به داخل سیتوپلاسم اووسیت آزاد می شوند (Knott et al., 2003). بنابراین نوسان کلسیم معمولاً بعد از هم جوشی اسپرم با اووسیت شروع می شود. پیوستگی اسپرم با سلول تخم جهت ورود مستقیم فاکتورهای سیتوزولی به سیتوپلاسم سلول تخم لازم می باشد. علاوه بر این نشان می دهد که فاکتورهای سیتوزولی در سیتوپلاسم سر اسپرم، در ES یا PAR و یا در لایه پیرامون آکروزومی واقع شده اند. صرف نظر از مرحله ای از چرخه سلولی که اسپرم در آن متوقف شده است، به صورت ویژه انتشار ترکیبات کپسول پیرامون هسته به بیرون برای شروع فرایند نوسان کلسیم مورد نیاز می باشد. گزارش شده است که فاکتورهای اسپرم یک جزء ساختاری از کپسول پیرامون هسته نمی باشند بلکه فقط به آن متصل شده اند (Knott et al., 2003). این گزارش با یافته های حاصل از مطالعات قبلی مطابقت دارد.

مدارک جدید نشان می دهد که ترکیبات کپسول پیرامون هسته حتی بعد از تیمار با لایزولسیتین^۱ در اسپرم باقی می ماند (Morozumi et al., 2006). لایزولسیتین در شرایط طبیعی به وسیله هیدرولیز یک فسفولیپاز غشایی تولید می شود. این مدارک فرضیه ای که فاکتورهای فعال سازی اووسیت به عنوان یک جزء از کپسول پیرامون هسته می باشند، را حمایت می کند. تا کنون موش های خانگی که فاقد PLC زتا^۲ شده باشند تولید نشده اند که بتوان برای آنالیزهای بیشتر از آن ها استفاده کرد.

باتوجه به این یافته ها، احتمالاً در زمینه های درمانی موجود نظریه فاکتورهای اسپرمی نسبت به نظریه گیرنده های اسپرم دارای صحت بیشتری می باشد.

۱ lysolecithin

۲ PLC zeta-KO mice



نمایه ۹-۱: شمایی از پیام‌های اسپرم و اووسیت که منجر به آزاد شدن کلسیم از ER به واسطه IP_3 می‌شوند و این منجر به تشکیل یک موج کلسیم در سلول تخم پستانداران می‌شود برگرفته شده از (Miyazaki and Ito 2006).

زمانی که پیوستگی غشاء گامت‌ها ایجاد می‌شود فاکتورهای اسپرم مانند PLCzeta (PLCz) مستعد می‌باشند تا به صورت مستقیم از جایگاه هم‌جوشی غشاء اسپرم و گامت به داخل سیتوپلاسم اووسیت وارد شوند. بنابراین به محض ورود، PLCzeta رها شدن کلسیم تحریک شده به وسیله IP_3 (IICR) را به واسطه IP_3 روی مخزن ذخیره‌سازی کلسیم درون سیتوپلاسمی یا شبکه آندوپلاسمی صاف، تحریک می‌کند. فرض می‌شود که سرانجام کلسیم‌های آزاد شده موج کلسیم و نوسان کلسیم^۱ را تحریک می‌کند. همچنین این احتمال وجود دارد که کلسیم‌های آزاد شده در یک الگوی آبخاری به صورت سینرژستی آزاد شدن کلسیم (CICR) را به واسطه سیستم کانال کلسیمی گیرنده ریانودین (RyR)، تحریک کند که سرانجام منجر به فرایند نوسان کلسیم خواهد شد که در بعضی از پستانداران وجود دارد. با وجود این، فرایند نوسان کلسیم در هامسترهای فاقد RyR می‌تواند تحریک شود (Miyazaki et al., 1993). IP_3 یک فراورده هیدرولیتیک از فسفاتیدیل اینوزیتول ۴،۵، بی فسفات (PIP_2) می‌باشد که به وسیله فسفولیپاز C (PLC) در مسیر PI ساخته می‌شود.

^۱ Ca^{2+} oscillations

PLCzeta: PLCzeta یک پروتئین ۷۴ کیلودالتون است که در اسپرم بیان می شود. در آغاز این پروتئین به عنوان یک پروتئین کاندیدا برای تحریک فرایند نوسان کلسیم^۱ (COPI) مطرح شده بود، همانند فاکتور مربوط به اسپرم (فاکتور سیتوزولی). PLCzeta در حال حاضر به عنوان کوچکترین ایزوزیم PLC می باشد که تاکنون تشخیص داده شده است (نمایه ۹-۲). مشابه دیگر ایزوزیم های PLC، این ایزوزیم دارای چهار ناحیه EF-hand در انتهای N و نواحی کاتالیتیک X و Y که می توانند PIP2 را بشکنند، و یک ناحیه C2 در انتهای C خود می باشد. با وجود این، فاقد یک دومین پلک استرین هومولوژی^۲ (PH) در انتهای N^۳ که به PI متصل می شود، می باشد (Saunders et al., 2002). به علاوه، PLC zeta نواحی همسانی دارد که مشابه با نواحی موجود در PLCbeta، Gamma و Delta به استثنای دومین PH می باشد. PLCzeta کوتاه، یک متغیر به هم تابیده از PLCzeta، فقط دارای یک دومین EF-hand در انتهای N خود بوده و در بیضه های موش های خانگی بیان می شود.

گزارش شده است که اگر RNA مربوط به PLCzeta درون اووسیت تزریق شود، فرایند نوسان کلسیم در تخم های (اووسیت های) لقاح یافته انجام خواهد شد، و سلول زیگوت به صورت طبیعی به بلاستوسیت توسعه خواهد یافت. برآورد می شود که میزان بیان PLCzeta در اووسیت بین $10^{-15} * (50 - 20)$ گرم می باشد، که تقریباً برابر با مقداری است که به وسیله انجام آنالیزهای چگالی سنجی مقایسه ای با PLCzeta سنتتیک به عنوان کنترل برای اسپرم، برآورد شده است. جذب عصاره اسپرم به وسیله آنتی بادی ضد PLCzeta^۴ از فعالیت نوسان کلسیم جلوگیری می کند.

گروه میازاکی^۵ RNA مربوط به PLCzeta متصل به پروتئین ونوس^۶ فلئوروسنت را به اووسیت های بالغ تزریق کردند و دریافتند که بیان نمایان شده PLCzeta-Venus در اووسیت ۴۰ تا ۵۰ دقیقه بعد از شروع تزریق و سپس تا ۳ ساعت بعد از تزریق به صورت خطی افزایش می یابد (Yoda et al., 2004). علاوه بر این، تزریق RNA فرایند نوسان کلسیم را همانند آن هایی که در شرایط IVF مشاهده شده بود، تحریک می کند.

۱ Candidate Ca²⁺ oscillation-inducing protein

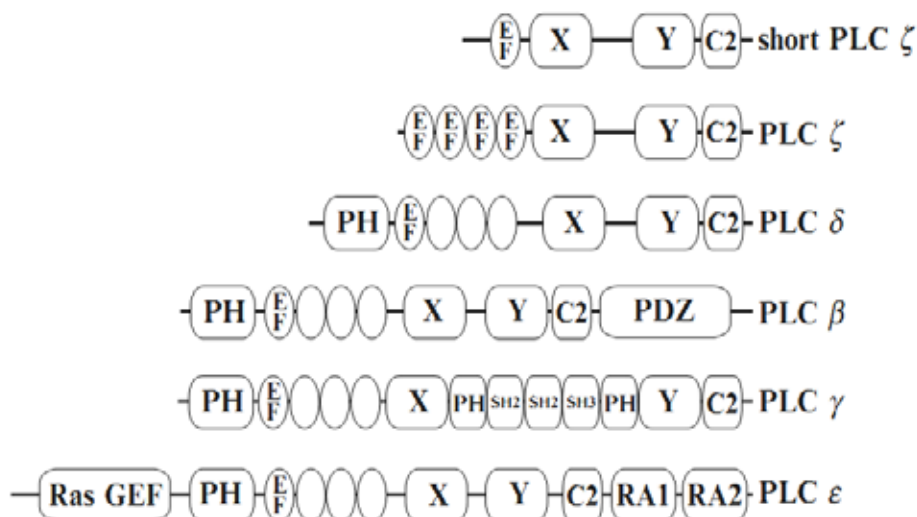
۲ Pleckstrin homology

۳ N-terminal pleckstrin homology (PH) domain

۴ Anti-PLCzeta anti-body

۵ Miyazaki's group

۶ Fluorescent protein Venus



نماینه ۹-۲: شمایی که مولکول‌های مربوط به خانواده PLC را نشان می‌دهد. اتخاذ شده از طرحی که توسط ساندر و همکاران در سال ۲۰۰۲ ترسیم کرده است.

گزارش شده است که ناحیه EF-hand واقع در انتهای N مولکول PLCzeta، برای فرایند نوسان کلسیم ضروری است (Kouchi et al., 2005). آنالیزهای ساختاری و عملکردی مولکول PLCzeta نشان می‌دهد که دومین EF-hand مربوط به این مولکول، که معمولاً شامل یک مکان برای اتصال کلسیم می‌باشد، برای فعالیت آنزیمی خود ضروری است (Kouchi et al., 2005; Yoda et al., 2004). بنابراین، از آنجایی که PLCzeta بیان شده در اسپرم فعالیت کافی برای شروع و ابقاء نوسان کلسیم را بعد از ورود اسپرم به اووسیت بروز می‌دهد، شاید به احتمال زیاد PLCzeta در فعال سازی سلول تخم (اووسیت) دخالت داشته باشد.

جایگاه دقیق PLCzeta در اسپرماتوزو ناشناخته است. بر اساس گزارش‌های قبلی (Fujimoto et al., 2004)، PLCzeta در سر اسپرم بیان می‌شود و جایگاه آن مشابه جایگاه MN13 می‌باشد که در PAR در پیش لایه PAS واقع شده است. این پیشنهاد می‌کند که PLCzeta ممکن است یکی از مواد کپسول پیرامون هسته باشد که در پیش لایه PAS بیان می‌شود. با وجود این، موش‌های خانگی دقاف PLCzeta^۱ هنوز برای آنالیز تولید نشده‌اند.

^۱ PLCzeta-KO mice

Tr-kit: Tr-kit، یک فراورده از **c-kit** می باشد که ناحیه سر آن قطع شده^۱ است، این ملکول ها در سلول های زاینده و در مرحله بعد از میوز بیان می شوند و در اسپرم بالغ تجمع می یابند، جایی که در آن ساکن می شوند در قطعه میانی و PAR واقع شده است (Sette et al., 1998). **Tr-kit** یک پروتئین سیتوپلاسمی با وزن مولکولی ۳۰ کیلودالتون می باشد که فقط شامل دومین جعبه از ناحیه کیناز دویخشی (مکان کاتالیک آنزیم فسفوترانسفراز) و انتهای C دم گیرنده تمام قد **c-kit** می باشد. **Tr-kit** احتمالاً با یک تیروزین کیناز ناشناخته واکنش می دهد که در سیتوپلاسم اووسیت حضور دارد و به عنوان یک پروتئین چارچوب برای به کارگیری پروتئین های انتقال دهنده پیام که برای فعال سازی سلول تخم (اووسیت) مورد نیاز می باشند، ایفای نقش می کند. فعال سازی سلول تخم که توسط **Tr-kit** القاء شده است، احتمالاً به وسیله فعال شدن ایزوفورم گاما (γ) مربوط به PLC ($PLC\gamma 1$) میانجی گری می شود (Rossi et al., 2003; Sette et al., 2002). زمانی که ناحیه تجزیه کننده جداکننده مربوط به $PLC\gamma 1$ فعال می شود، به دنبال آن هیدرولیز PIP_2 وقایع میانجی گری شونده به وسیله کلسیم و اینوزیتول تری فسفات (IP_3) را که برای فعال سازی سلول تخم مورد نیاز می باشند، راه می اندازد.

MN13: همانگونه که پیش تر ذکر شد، جایابی فوق میکروسکوپی **MN13** به بالای خطبندی های متناوبی که دقیقاً زیر غشاء پلاسمایی پوشش دهنده صفحه پس آکروزومی می باشد محدود می شود (نمایه ۲-۳). معلوم می شود که **MN13** در فعال سازی سلول تخم، همانگونه به واسطه یک سنجش بازدارنده که با استفاده از یک آنتی بادی ضد **MN13** انجام می شود، دخالت دارد (Man-andhar and Toshimori, 2003). با این که طبیعت بیوشیمیایی **MN13** ناشناخته باقی مانده است، آنتی بادی ضد **MN13** به طور معمول یک کاوشگر خوبی برای مطالعه وقایع مربوط به PAS است.

کالمودولین^۲: کامودولین در PAS واقع شده است.

۹-۲ گیرنده های اسپرم

مسیر **PI**/گیرنده/پروتئین یا مسیر **PI**/گیرنده/پروتئین تیروزین کیناز برای عمل کردن در انواع مختلفی از سلول های بدن شناخته شده اند. اگرچه، پروتئین های سطح سلول به نظر می رسد که اتصال اسپرم به اووسیت را میانجی گری می کند، اما تاکنون هیچ گونه مدرکی که ثابت کند همبستگی بین این پروتئین ها و

^۱ Truncated

^۲ Calmodulin

انتقال درون سلولی پیام‌ها وجود دارد به دست نیامده است (Runft et al., 2002). لیگاندهای در نظر گرفته شده برای اسپرم و گیرنده‌های اسپرم در سیتوپلاسم اووسیت در نمایه (۹-۱) نشان داده شده است. از بین این مولکول‌ها، اینتگرین الف-۶ بتا-۱^۱ گیرنده مشهور برای فرتیلین بتا^۲ می‌باشد و روی سطح سلول تخم واقع شده است. باوجود این که مطالعات پیشین الف-۶ بتا-۱ (Almeida et al., 1995) و لیگاند فرتیلین اسپرم (Cho et al., 1998) را تشخیص داده‌اند هیچ یک از موش‌های نری که مورد حذف ژن برای ژن فرتیلین قرار گرفته‌اند ناباروری را بروز نداده‌اند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که این مولکول‌ها برای هم‌جوشی اسپرم با اووسیت ضروری نیستند (Talbot et al., 2003). علاوه بر این تاکنون گزارشی منتشر نشده است که در خصوص فرایند نوسان کلسیم در ارتباط با این مولکول‌ها بحث کند.

مولکول‌های GPI-anchored در سطح سلول تخم بیان می‌شوند. از بین مولکول‌ها، تتراسپانین CD9^۳ برای هم‌جوشی سلول‌های جنسی ضروری می‌باشد. علاوه بر این، CD81 که بر روی سطح سلول تخم بیان می‌شود احتمالاً هم‌جوشی غشاهای گامت‌ها را تسهیل می‌کند زیرا زمانی که از تیمار آنتی‌بادی ضد CD81 استفاده شود، مشخص می‌شود که به آرامی از اتصال اسپرم به اووسیت جلوگیری می‌کند.

از آنجایی که در اسپرم فعالیت آنزیمی PLCzeta قبل از ورود ترکیبات اسپرم به سیتوپلاسم اووسیت متوقف می‌شود، تعیین جایگاه دقیق PLCzeta در سیتوپلاسم اسپرم و تعیین نقش آن مهم می‌باشد.

۹-۳ بعد از فعال سازی سلول تخم

بعد از فعال سازی سلول تخم، تمام ترکیبات اسپرم بارور کننده وارد سیتوپلاسم اووسیت می‌شود. اسپرم‌های بارور کننده سپس یک سانتیریولی را فراهم نند که به یک میکروتوبول سازمان دهنده مرکزی (sperm aster) ارتقا می‌یابد که برای توسعه طبیعی رویان در پستانداران نادرتهال^۴ ضروری می‌باشد. با وجود این در پستانداران جونده مانند موش خانگی، هامستر، موش صحرایی و خوکچه‌های هندی، اسپرم‌های بارور کننده سانتیریولی برای تشکیل میکروتوبول فراهم نمی‌کنند،

۱ Integrin alpha-6 beta-1

۲ Fertilin beta

۳ Tetraspanin CD9

۴ nonrodent mammals

میکروتوبول‌ها در سیتوپلاسم سلول تخم جمع شده‌اند که سازماندهی میکروتوبولی چندگانه را در مرکز نشان می‌دهند. بنابراین وقایعی که سانتریول اسپرم اووسیت را درگیر می‌کند بعد از فعال سازی سلول تخم از اهمیت برخوردار می‌باشند. اما توضیح بیشتر این وقایع خارج از هدف این کتاب می‌باشد.

فصل ۱۰

وضعیت های سر اسپرم طی لقاح طبیعی،
IVF، ICSI و تزریق اسپرماتیدهای کروی

تفاوت موجود در رفتار ترکیبات اسپرم طی ورود اسپرم به درون اووسیت در شرایط لقاح طبیعی، IVF، ICSI و تزریق اسپرماتیدهای کروی (ROSI) در جدول ۱-۱۰ لیست شده است.

ICSI وقایع طبیعی که در بالا بحث شد و در زمان لقاح رخ می دهند، را دور می زند. اسپرم ها دچار تغییرات و وقایع طبیعی برای بلوغ غشاء پلاسمایی، غشاء آکروزومی و مواد درون آکروزومی و سیتوپلاسمی شامل کپسول پیرامون هسته و DNA نمی شوند. در این مسیر میانبر مصنوعی، فرایندهای طبیعی انتخاب اسپرم که به طور معمول در دستگاه های تولید مثلی نر و ماده طی لقاح طبیعی انجام می شوند را کنار می گذارند. همچنین توجه به این نکته مهم است که فرایند انتخاب طبیعی علیه اسپرم هایی که DNA آنها صدمه دیده است و در لقاح طبیعی به وقوع می پیوندد، هنوز به طور روشن و واضح درک نشده است. علاوه بر این هنوز مشخص نیست، چگونه اسپرم های سالم و فعال که می توانند فرایند فعال سازی را با موفقیت به راه بیاندازند، انتخاب می شوند. در این زمینه، همچنان که در بالا ذکر شد، ایجاد روش هایی برای سنجش فاکتورهای کیفی اسپرم مانند توانایی اسپرم ها در انجام واکنش آکروزوم و راه انداختن فرایند فعال سازی سلول تخم، عمل غشاء اسپرم ها، پایداری DNA اسپرم ها و درجه شکسته شدن DNA مهم می باشد.

جدول ۱-۱۰: ترکیبات اسپرم که تحت شرایط مختلف به سیتوپلاسم اووسیت وارد می شوند. شرایط لقاح طبیعی، IVF، ICSI و ROSI.

ترکیبات اسپرم						نوع ورود (حمل ژنوم والدی)
سائتروزوم	هسته	PT	IAM	OAM	PM	
+	+(عدم تراکم)	+(بعد از هم جوشی)	+(فاگوسیتوز)	-	-	لقاح طبیعی (اسپرم انزال شده)
+	+(عدم تراکم)	+	+(فاگوسیتوز)	-	-	IVF (اسپرم انزال شده)
+ *	+ *	+ *	+ *	+ *	+ *	ICSI (اسپرم انزال شده)
+ *	+ *	+ *	+ *	+ *	+ *	ICSI-TESE (اسپرم انزال شده)
+ *	+ *	+ *	+ *	+ *	+ *	ICSI-TESE (اسپرم طویل شده)
+ *	+ *	+ *	+ *	+ *	+ *	ROSI (اسپرماتید کروی)

+ ورود، - عدم ورود، * + ورود اجباری

فصل ۱۱

نتیجه گیری

نتیجه گیری:

اسپریم‌ها عمل انتقال ماده ژنتیکی والد پدری را به اووسیت ایستا یا ژنوم مادری را انجام می‌دهد. فعال شدن اووسیت ایستا یا خوابیده با لقاح پی گرفته می‌شود که منجر به توسعه جنینی فرد جدید می‌شود. فاکتورهایی که در فعال‌سازی سلول تخم دخالت دارند، در سر اسپرم بیان می‌شوند. سر اسپرم پستانداران به وسیله یک سری فرایندهای به شدت برنامه‌ریزی شده تشکیل می‌شود و بعد از آزاد شدن از لوله‌های اسپرم‌ساز، مجدداً در داخل دستگاه تولید مثل جنس‌های نر و ماده دچار تغییر و اصلاح می‌شوند. این تغییرات برای هم‌جوشی موفق بین اسپرم و اووسیت در زمان لقاح (به عبارت دیگر زمانی که ژنوم به هم می‌رسند)، ضروری می‌باشد. از نظر عملکردی اسپرم‌های آماده که متحمل تغییرات ضروری شده‌اند می‌توانند به سلامت ماده ژنتیکی والد پدری را به ژنوم مادری انتقال دهند. هریک از فرایندهایی که در تغییرات دینامیکی برای بلوغ ترکیبات اسپرم دخالت دارند، به وسیله تعداد زیادی از مولکول‌ها کنترل می‌شوند. ژن‌ها بیان این مولکول‌ها را کنترل می‌کنند که خود این ژن‌ها توسط فاکتورهای داخلی و خارجی تحت تاثیر قرار می‌گیرند. ژنوم والد پدری به طور دایم در معرض عوامل محیطی مضر قرار می‌گیرد، زیرا اسپرم تا لحظه هم‌جوشی غشاء گامت‌ها باید به طور متناوب از میان ریزمحیط‌های در حال تغییر عبور کند. برای غلبه بر این موانعی که به وسیله این ریزمحیط‌های در حال تغییر ایجاد می‌شود، سر و دم اسپرم طی اسپرماتوژنز ساختارهای ماهرانه‌ای که شامل پروتئین‌های عملکردی، کربوهیدرات‌ها و لیپیدها را ایجاد می‌کنند، این ساختارها تا ایجاد لقاح و رویان به طور پیوسته تغییر می‌کنند (اصلاح می‌شوند) و بالغ می‌شوند.

بعد از گذشت دو دهه، تجهیزات بیولوژی مولکولی، بیوشیمی، بیوفیزیکی و تجهیزات ژنتیکی قدرتمندی ایجاد شده و توسعه یافته‌اند که درک ما را در خصوص بیولوژی اسپرم بهبود بخشیده‌اند. تاکنون تعداد زیادی از مولکول‌ها و ژن‌های درگیر در این فرایندها تشخیص داده شده‌اند و یا تحت شناسایی می‌باشند. همه آن‌ها در این کتاب نمی‌توانند ذکر شوند. در آینده، در سراسر دنیا مطالعات زیادی اجرا خواهد شد که مولکول‌ها و خصوصیات جدیدی را کشف کرده و اطلاعات ارزشمندی را در خصوص بیولوژی اسپرم، از اسپرماتوژنز تا فعال‌سازی سلول تخم، فراهم خواهند کرد. پیشرفت این قسم تحقیقات برای کاربرد عملی در پستانداران، از جمله انسان و به ویژه برای بیماران بالینی دارای ناباروری مفید خواهد بود.

من امیدوارم که اطلاعات فراهم شده در این کتاب نه تنها فهم مربوط به بیولوژی اسپرم را بهبود بخشد، بلکه منجر به ایجاد روش‌هایی ابداعی برای برنامه‌های باروری مانند IVF و ICSI (که شامل TESE-ICSI و TESE-IMSI می‌باشد) به منظور تیمار ناباروری در انسان و حیوانات، شود.

منابع

- Ainsworth C, Nixon B, Jansen RP, Aitken RJ (2007) First recorded pregnancy and normal birth after ICSI using electrophoretically isolated spermatozoa. *Hum Reprod* 22:197-200
- Aitken RJ, Baker MA (2004) Oxidative stress and male reproductive biology. *Reprod Fertil Dev* 16:581-588
- Aitken RJ, DeLuliis GN (2007) Value of DNA integrity assays for fertility evaluation. *Soc Reprod Fertil Suppl* 65:81-92
- Aitken RJ, Krausz C (2001) Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. *Reproduction* 122:497-506
- Aitken RJ, Gordon E, Harkiss D, Twigg JP, Milne P, Jennings Z, Irvine DS (1998) Relative impact of oxidative stress on the functional competence and genomic integrity of human spermatozoa. *Biol Reprod* 59:1037-1046
- Aitken RJ, Wingate JK, De Luliis GN, Koppers AJ, McLaughlin EA (2006) Cis-unsaturated fatty acids stimulate reactive oxygen species generation and lipid peroxidation in human spermatozoa. *J Clin Endocrinol Metab* 91:4154-4163
- Aivatiadou E, Mattei E, Ceriani M, Tilia L, Berruti G (2007) Impaired fertility and spermiogenetic disorders with loss of cell adhesion in male mice expressing an interfering Rap1 mutant. *Mol Biol Cell* 18:1530-1542
- Allen C, Green D (1995) Monoclonal antibodies which recognize equatorial segment epitopes presented de novo following the A23187-induced acrosome reaction of guinea pig sperm. *J Cell Sci* 108:767-777
- Alloisio N, Morle L, Bozon M, Godet J, Verhoeven K, Van Camp G, Plauchu H, Muller P, Collet L, Lina-Granade G (1999) Mutation in the zonadhesin-like domain of alphatectorin associated with autosomal dominant non-syndromic hearing loss. *Eur J Hum Genet* 7:255-258
- Almeida EA, Huovila AP, Sutherland AE, Stephens LE, Calarco PG, Shaw LM, Mercurio AM, Sonnenberg A, Primakoff P, Myles DG, White JM (1995) Mouse egg integrin alpha 6 beta 1 functions as a sperm receptor. *Cell* 81:1095-1104
- Aul RB, Oko RJ (2002) The major subacrosomal occupant of bull spermatozoa is a novel histone H2B variant associated with the forming acrosome during spermiogenesis. *Dev Biol* 242:376-387
- Baba D, Kashiwabara S, Honda A, Yamagata K, Wu Q, Ikawa M, Okabe M, Baba T (2002) Mouse sperm lacking cell surface hyaluronidase PH-20 can pass through the layer of cumulus cells and fertilize the egg. *J Biol Chem* 277:30310-30314
- Barraud-Lange V, Naud-Barriant N, Bomsel M, Wolf JP, Ziyyat A (2007) Transfer of oocyte membrane fragments to fertilizing spermatozoa. *FASEB J* 21: 3446-3449
- Bedford JM (1963) Morphological changes in rabbit spermatozoa during passage through the epididymis. *J Reprod Fertil* 5:169-177
- Bedford JM (1967) Changes in fine structure of the rabbit sperm head during passage through the epididymis. *J Anat* 4:891-906
- Bedford JM, Moore HD, Franklin LE (1979) Significance of the equatorial segment of the acrosome of the spermatozoon in eutherian mammals. *Exp Cell Res* 119:119-

126

Bellvé AR, Chandrika R, Martinova YS, Barth AH (1992) The perinuclear matrix as a structural element of the mouse sperm nucleus. *Biol Reprod* 47:451-465

Bennetts LE, Aitken RJ (2005) A comparative study of oxidative DNA damage in mammalian spermatozoa. *Mol Reprod Dev* 71:77-87

Bi M, Hickox JR, Winfrey VP, Olson GE, Hardy DM (2003) Processing, localization and binding activity of zonadhesin suggest a function in sperm adhesion to the zona pellucida during exocytosis of the acrosome. *Biochem J* 375:477-488

Bleil JD, Wassarman PM (1990) Identification of a ZP3-binding protein on acrosome-intact mouse sperm by photoaffinity crosslinking. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:5563-5567

Bleil JD, Greve JM, Wassarman PM (1988) Identification of a secondary sperm receptor in the mouse egg zona pellucida: role in maintenance of binding of acrosome-reacted sperm to eggs. *Dev Biol* 128 : 376 - 385

Blobel CP, Wolfsberg TG, Turck CW, Myles DG, Primakoff P, White JM (1992) A potential fusion peptide and an integrin ligand domain in a protein active in sperm-egg fusion. *Nature* 356 : 248 - 252

Bouchard MJ, Dong Y, McDermott BM Jr, Lam D-H, Brown KR, Shelanski M, Bellvé AR, Racaniello VR (2000) Defects in nuclear and cytoskeletal morphology and mitochondrial localization in spermatozoa of mice lacking nectin-2, a component of cell-cell adherens

junctions. *Mol Cell Biol* 20 : 2865 - 2873

tBreitbart H, Spungin B (1997) The biochemistry of the acrosome reaction. *Mol Hum Reprod* 3 : 195 - 202

Cabello-Agüeros JF, Hernández-González EO, Mújica A (2003) The role of F-actin cytoskeleton-associated gelsolin in the guinea pig capacitation and acrosome reaction. *Cell Motil Cytoskeleton* 56 : 94 - 108

Calvin HI, Bedford JM (1971) Formation of disulphide bonds in the nucleus and accessory structures of mammalian spermatozoa during maturation in the epididymis. *J Reprod Fertil Suppl* 13 : 65 - 75

Cameo MS, Blaquier JA (1976) Androgen-controlled specific proteins in rat epididymis. *J Endocrinol* 69 : 47 - 55

Cesario MM, Bartles JR (1994) Compartmentalization, processing and redistribution of the plasma membrane protein CE9 on rodent spermatozoa: relationship of the annulus to domain boundaries in the plasma membrane of the tail. *J Cell Sci* 107 : 561 - 570

Chabot B, Stephenson DA, Chapman VM, Besmer P, Bernstein A (1988) The proto-oncogene c-kit encoding a transmembrane tyrosine kinase receptor maps to the mouse W locus. *Nature* 335 : 88 - 89

Cho C, Bunch DO, Faure JE, Goulding EH, Eddy EM, Primakoff P, Myles DG (1998) Fertilization defects in sperm from mice lacking fertilin beta. *Science* 281 : 1857 - 1859

- Cho C , Willis WD , Goulding EH , Jung-Ha H , Choi YC , Hecht NB , Eddy EM (2001) Haploinsufficiency of protamine-1 or -2 causes infertility in mice . *Nat Genet* 28 : 82 – 86
- Chohan KR, Griffin JT , Lafromboise M , De Jonge CJ , Carrell DT (2006) Comparison of chromatin assays for DNA fragmentation evaluation in human sperm . *J Androl* 27 : 53 – 59
- Clark GF , Dell A (2006) Molecular models for murine sperm-egg binding . *J Biol Chem* 281 : 13853 – 13856
- Clermont Y , Leblond CP (1955) Spermiogenesis of man, monkey, ram and other mammals as shown by the periodic acid-Schiff technique . *Am J Anat* 96 : 229 – 253
- Clermont Y , Tang XM (1985) Glycoprotein synthesis in the Golgi apparatus of spermatids during spermiogenesis of the rat . *Anat Rec* 213 : 33 – 43.
- Clermont Y , Trott M (1969) Duration of the cycle of the seminiferous epithelium in the mouse and hamster determined by means of 3H-thymidine and radioautography . *Fertil Steril* 5 : 805 – 817
- Cohen DJ , Ellerman DA , Cuasnicu PS (2000) Mammalian sperm-egg fusion: evidence that epididymal protein DE plays a role in mouse gamete fusion . *Biol Reprod* 63 : 462 – 468
- Cole A , Meistrich ML , Cherry LM , Trostle-Weige PK (1988) Nuclear and manchette development in spermatids of normal and *azh/azh* mutant mice . *Biol Reprod* 38 : 385 – 401
- Cooper TG (1998) Interactions between epididymal secretions and spermatozoa . *J Reprod Fertil Suppl* 53 : 119 – 136
- Cowan AE , Myles DG , Koppel DE (1991) Migration of the guinea pig sperm membrane protein PH-20 from one localized surface domain to another does not occur by a simple diffusion-trapping mechanism . *Dev Biol* 144 : 189 – 198
- Dacheux JL , Druart X , Fouchecourt S , Syntin P , Gatti JL , Okamura N , Dacheux F (1998) Role of epididymal secretory proteins in sperm maturation with particular reference to the boar . *J Reprod Fertil Suppl* 53 : 99 – 107
- Dacheux JL , Gatti JL , Dacheux F (2003) Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation . *Microsc Res Tech* 61 : 7 – 17
- Davis BK (1980) Interaction of lipids with the plasma membrane of sperm cells. I. The antifertilization action of cholesterol . *Arch Androl* 5 : 249 – 254
- de Duve C (1963) The lysosome . *Sci Am* 208 : 64 – 72
- de la Luna S , Allen KE , Mason SL , La Thangue NB (1999) Integration of a growth-suppressing BTB/POZ domain protein with the DP component of the E2F transcription factor . *EMBO J* 18 : 212 – 228
- Dolci S , Williams DE , Ernst MK , Resnick JL , Brannan CI , Lock LF , Lyman SD , Boswell HS , Donovan PJ (1991) Requirement for mast cell growth factor for primordial germ cell survival in culture . *Nature* 352 : 809 – 81
- Eddy EM (2007) The scaffold role of the fibrous sheath . *Soc Reprod Fertil* 65 : 45 – 62
- Escalier D (1990) Failure of differentiation of the nuclear-perinuclear skeletal

- complex in the round-headed human spermatozoa . *Int J Dev Biol* 34 : 287 – 297
- Escalier D (2001) Impact of genetic engineering on the understanding of spermatogenesis . *Hum Reprod Update* 7 : 191 – 210
- Escalier D (2006) Arrest of flagellum morphogenesis with fibrous sheath immaturity of human spermatozoa . *Andrologia* 38 : 54 – 60
- Escalier D , Silvius D , Xu X (2003) Spermatogenesis of mice lacking CK2alpha': failure of germ cell survival and characteristic modifications of the spermatid nucleus . *Mol Reprod Dev* 66 : 190 – 201
- Evenson DP , Larson KL , Jost LK (2002) Sperm chromatin structure assay: its clinical use for detecting sperm DNA fragmentation in male infertility and comparisons with other techniques . *J Androl* 23 : 25 – 43
- Evenson DP , Jost LK , Marshall D , Zinaman MJ , Clegg E , Purvis K , de Angelis P , Claussen OP (1999) Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic . *Hum Reprod* 14 : 1039 – 1049
- Fawcett DW , Hollenberg RD (1963) Changes in the acrosome of the guinea pig spermatozoa during passage through the epididymis . *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 60 : 276 – 292
- Fernandez JL , Muriel L , Rivero MT , Goyanes V , Vazquez R , Alvarez JG (2003) The sperm chromatin dispersion test: a simple method for the determination of sperm DNA fragmentation. *J Androl* 24 : 59 – 66
- Flesch FM , Gadella BM (2000) Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization . *Biochim Biophys Acta* 1469 : 197 – 235
- Foster JA , Friday BB , Maulit MT , Blobel C , Winfrey VP , Olson GE , Kim KS , Gerton GL (1997) AM67, a secretory component of the guinea pig sperm acrosomal matrix, is related to mouse sperm protein sp56 and the complement component 4-binding proteins . *J Biol Chem* 272 : 12714 – 12722
- Fujimoto S , Yoshida N , Fukui T , Amanai M , Isobe T , Itagaki C , Izumi T , Perry AC (2004) Mammalian phospholipase C ζ induces oocyte activation from the sperm perinuclear matrix . *Dev Biol* 274 : 370 – 383
- Fujita E , Kouroku Y , Ozeki S , Tanabe Y , Toyama Y , Maekawa M , Kojima N , Senoo H , Toshimori K , Momoi T (2006) Oligo-astheno-teratozoospermia in mice lacking RA175/ TSLC1/SynCAM/IGSF4A, a cell adhesion molecule in the immunoglobulin superfamily . *Mol Cell Biol* 26 : 718 – 726
- Gao Z , Garbers DL (1998) Species diversity in the structure of zonadhesin, a sperm-specific membrane protein containing multiple cell adhesion molecule-like domains . *J Biol Chem* 273 : 3415 – 3421
- Gao Z , Harumi T , Garbers DL (1997) Chromosome localization of the mouse zonadhesin gene and the human zonadhesin gene (ZAN) . *Genomics* 41 : 119 – 122
- Geissler EN , Cheng SV , Gusella JF , Housman DE (1988) Genetic analysis of the dominant white spotting (W) region on mouse chromosome 5: identification of cloned DNA markers near W . *Proc Natl Acad Sci USA* 85 : 9635 – 9639
- Gerace L and Foisner R (2004) Integral membrane proteins and dynamic

organization of the nuclear envelope . Trends Cell Biol 4 : 127 – 131

Gliki G , Ebnet K , Aurrand-Lions M , Imhof BA , Adams RH (2004) Spermatid differentiation requires the assembly of a cell polarity complex downstream of junctional adhesion molecule- C . Nature 431 : 320 – 324

Glockner G , Scherer S , Schattevoy R , Boright A , Weber J , Tsui LC , Rosenthal A (1998) Large-scale sequencing of two regions in human chromosome 7q22: analysis of 650 kb

of genomic sequence around the EPO and CUTL1 loci reveals 17 genes . Genome Res 8 : 1060 – 1073

Gomyo H , Arai Y , Tanigami A , Murakami Y , Hattori M , Hosoda F , Arai K , Aikawa Y , Tsuda H , Hirohashi S et al. (1999) A 2-Mb sequence-ready contig map and a novel immunoglobulin

superfamily gene *IGSF4* in the LOH region of chromosome 11q23.2 . Genomics 62 : 139 – 146

Gorczyca W , Traganos F , Jesionowska H , Darzynkiewicz Z (1993) Presence of DNA strand breaks and increased sensitivity of DNA in situ to denaturation in abnormal human sperm cells: analogy to apoptosis of somatic cells . Exp Cell Res 207 : 202 – 205

Greenbaum MP , Ma L , Matzuk MM (2007) Conversion of midbodies into germ cell intercellular bridges . Dev Biol 305 : 389 – 396

Haendler B , Kratzschmar J , Theuring F , Schleuning WD (1993) Transcripts for cysteine-rich secretory protein-1 (CRISP-1; DE/AEG) and the novel related CRISP-3 are expressed under androgen control in the mouse salivary gland . Endocrinology 133 : 192 – 198

Hageman RM , Cameron FJ , Sinclair AH (1998) Mutation analysis of the SOX9 gene in a patient with campomelic dysplasia . Hum Mutat Suppl 1 : S112 – S113

Hansen MA , Nielsen JE , Tanaka M , Almstrup K , Skakkebaek NE , Leffers H (2006) Identification and expression profiling of 10 novel spermatid expressed CYPT genes . Mol Reprod

Dev 73 : 568 – 579

Hao Z , Wolkowicz MJ , Shetty J , Klotz K , Bolling L , Sen B , Westbrook VA , Coonrod S , Flickinger CJ , Herr JC (2002) SAMP32, a testis-specific, isoantigenic sperm acrosomal membrane-associated protein . Biol Reprod 66 : 735 – 744

Harada H , Suzu S , Hayashi Y , Okada S (2005) BT-IgSF, a novel immunoglobulin superfamily protein, functions as a cell adhesion molecule . J Cell Physiol 204 : 919 – 926

Hardy DM , Garbers DL (1994) Species-specific binding of sperm proteins to the extracellular matrix (zona pellucida) of the egg . J Biol Chem 269 : 19000 – 19004.

Hardy DM , Garbers DL (1995) A sperm membrane protein that binds in a species-specific manner to the egg extracellular matrix is homologous to von Willebrand factor . J Biol Chem 270 : 26025 – 26028

- Hardy DM , Oda MN , Friend DS , Huang TT Jr (1991) A mechanism for differential release of acrosomal enzymes during the acrosome reaction . *Biochem J* 275 : 759 – 766
- Heid H , Figge U , Winter S , Kuhn C , Zimbelmann R , Franke W (2002) Novel actin-related proteins Arp-T1 and Arp-T2 as components of the cytoskeletal calyx of the mammalian sperm head . *Exp Cell Res* 279 : 177 – 187
- Hernández-González EO , Lecona-Valera AN , Escobar-Herrera J , Mújica A (2000) Involvement of an F-actin skeleton on the acrosome reaction in guinea pig spermatozoa . *Cell Motil Cytoskeleton* 46 : 43 – 58
- Holaska JM , Lee KK , Kowalski AK , Wilson KL (2003) Transcriptional repressor germ cellless (GCL) and barrier to autointegration factor (BAF) compete for binding to emerin in vitro . *J Biol Chem* 278 : 6969 – 6975
- Holden CA , Hyne RV , Sathananthan AH , Trounson AO (1990) Assessment of the human sperm acrosome reaction using concanavalin A lectin . *Mol Reprod Dev* 1990 25 : 247 – 257
- Holt TK (1970) Local protein accumulation during gene activation. I. Quantitative measurements on dye binding capacity at subsequent stages of puff formation in *Drosophila hydei* . *Chromosoma* 32 : 64 – 78
- Honda A , Yamagata K , Sugiura S , Watanabe K , Baba T (2002) A mouse serine protease TESP5 is selectively included into lipid rafts of sperm membrane presumably as a glycosylphosphatidylinositol- anchored protein . *J Biol Chem* 277 : 16976 – 16984
- Huang TT , Yanagimachi R (1985) Inner acrosomal membrane of mammalian spermatozoa: its properties and possible functions in fertilization . *Am J Anat* 174 : 249 – 68
- Huang TT , Fleming AD , Yanagimachi R (1981) Only acrosome-reacted spermatozoa can bind to and penetrate zona pellucida: a study using the guinea pig . *J Exp Zool* 217 : 287 – 290
- Huang LS , Voyiaziakis E , Chen HL , Rubin EM , Gordon JW (1996) A novel functional role for apolipoprotein B in male infertility in heterozygous apolipoprotein B knockout mice . *Proc Natl Acad Sci USA* 93 : 10903 – 10907
- Hughenoltz AP , Bruce WR (1983) Radiation induction of mutations affecting sperm morphology in mice . *Mutat Res* 107 : 177 – 185
- Hunnicutt GR , Primakoff P , Myles DG (1996) Sperm surface protein PH-20 is bifunctional: one activity is a hyaluronidase and a second, distinct activity is required in secondary sperm-zona binding . *Biol Reprod* 55 : 80 – 86
- Igakura T , Kadomatsu K , Kaname T , Muramatsu H , Fan QW , Miyauchi T , Toyama Y , Kuno N , Yuasa S , Takahashi M , Senda T , Taguchi O , Yamamura K , Arimura K , Muramatsu T (1998) A null mutation in basigin, an immunoglobulin superfamily member, indicates its important roles in peri-implantation development and

spermatogenesis . Dev Biol 194 : 152 – 165

Iida H , Yoshinaga Y , Tanaka S , Toshimori K , Mori T (1999) Identification of Rab3A GTPase as an acrosome-associated small GTP-binding protein in rat sperm . Dev Biol 211 : 144 – 155

Ikawa M , Nakanishi T , Yamada S , Wada I , Kominami K , Tanaka H , Nozaki M , Nishimune Y , Okabe M (2001) Calmegin is required for fertilin alpha/beta heterodimerization and sperm fertility . Dev Biol 240 : 254 – 261

Inoue N , Ikawa M , Isotani A , Okabe M (2005) The immunoglobulin superfamily protein Izumo is required for sperm to fuse with eggs . Nature 434 : 234 – 238

Irvine DS , Twigg JP , Gordon EL , Fulton N , Milne PA , Aitken RJ (2000) DNA integrity in human spermatozoa: relationships with semen quality . J Androl 21 : 33 – 44

Ito C , Suzuki-Toyota F , Maekawa M , Toyama Y , Yao R , Noda T , Toshimori K (2004) Failure to assemble the peri-nuclear structures in GOPC deficient spermatids as found in roundheaded

spermatozoa . Arch Histol Cytol 67 : 349 – 360

Jones R (1991) Interaction of zona pellucida glycoproteins, sulphated carbohydrates and synthetic polymers with proacrosin, the putative egg-binding protein from mammalian spermatozoa . Development 111 : 1155 – 1163

Jones R (1998) Plasma membrane structure and remodelling during sperm maturation in the epididymis . J Reprod Fertil Suppl 53 : 73 – 84

Jones KT , Carroll J , Whittingham DG (1995) Ionomycin, thapsigargin, ryanodine, and sperm induced Ca²⁺ release increase during meiotic maturation of mouse oocytes . J Biol Chem

270 : 6671 – 6677

Jongens TA , Hay B , Jan LY , Jan YN (1992) The germ cell-less gene product: a posteriorly localized component necessary for germ cell development in Drosophila . Cell 70 : 569 – 584

Jongens TA , Ackerman LD , Swedlow JR , Jan LY , Jan YN (1994) Germ cell-less encodes a cell type-specific nuclear pore-associated protein and functions early in the germ-cell specification pathway of Drosophila . Genes Dev 8 : 2123 – 2136

Kaji K , Oda S , Shikano T , Ohnuki T , Uematsu Y , Sakagami J , Tada N , Miyazaki S , Kudo A (2000) The gamete fusion process is defective in eggs of Cd9-deficient mice . Nat Genet 24 : 279 – 282

Kaneko T , Iida H , Bedford JM , Mori T (2001) Spermatozoa of the shrew, *Suncus murinus* , undergo the acrosome reaction and then selectively kill cells in penetrating the cumulus oophorus . Biol Reprod 65 : 544 – 553

Kang-Decker N , Mantchev GT , Juneja SC , McNiven MA , van Deursen JM (2001) Lack of acrosome formation in Hrb-deficient mice . Science 294 : 1531 – 1533

Kann ML , Feinberg J , Rainteau D , Dadoune JP , Weinman S , Fouquet JP (1991) Localization of calmodulin in perinuclear structures of spermatids and spermatozoa: a comparison of

six mammalian species . Anat Rec 230 : 481 – 488

Katafuchi K , Mori T , Toshimori K , Iida H (2000) Localization of a syntaxin isoform, syntaxin 2, to the acrosomal region of rodent spermatozoa . Mol Reprod Dev 57 : 375 – 383

Kierszenbaum AL , Rivkin E , Tres LL (2003) Acroplaxome, an F-actin-keratin-containing plate, anchors the acrosome to the nucleus during shaping of the spermatid head . Mol Biol Cell 14 : 4628 – 4640

Kimura Y , Yanagimachi R , Kuretake S , Bortkiewicz H , Perry AC , Yanagimachi H (1998) Analysis of mouse oocyte activation suggests the involvement of sperm perinuclear material .

Biol Reprod 58 : 1407 – 1415

Kimura T , Yomogida K , Iwai N , Kato Y , Nakano T (1999) Molecular cloning and genomic organization of mouse homologue of Drosophila germ cell-less and its expression in germ lineage cells . Biochem Biophys Res Commun 262 : 223 – 230

Kimura T , Ito C , Watanabe S , Takahashi T , Ikawa M , Yomogida K , Fujita Y , Ikeuchi M , Asada N , Matsumiya K , Okuyama A , Okabe M , Toshimori K , Nakano T (2003) Mouse germ cell-less

as an essential component for nuclear integrity . Mol Cell Biol 23 : 1304 – 1315

Knott JG , Kurokawa M , Fissore RA (2003) Release of the Ca(2+) oscillation-inducing sperm factor during mouse fertilization . Dev Biol 260 : 536 – 547

Kodama H , Yamaguchi R , Fukuda J , Kasai H , Tanaka T (1997) Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients . Fertil Steril 68 : 519 – 524

Kong M , Richardson RT , Widgren EE , O'Rand MG (1995) Sequence and localization of the mouse sperm autoantigenic protein, Sp17 . Biol Reprod 53 : 579 – 590

Koshimizu U , Sawada K , Tajima Y , Watanabe D , Nishimune Y (1991) White-spotting mutations affect the regenerative differentiation of testicular germ cells: demonstration by experimental cryptorchidism and its surgical reversal . Biol Reprod 45 : 642 – 648

Kouchi Z , Shikano T , Nakamura Y , Shirakawa H , Fukami K , Miyazaki S (2005) The role of EF-hand domains and C2 domain in regulation of enzymatic activity of phospholipase

Czeta . J Biol Chem 280 : 21015 – 21021

Kosower NS , Katayose H , Yanagimachi R (1992) Thiol-disulfide status and acridine orange fluorescence of mammalian sperm nuclei . J Androl 13 : 342 – 348

Krätzschmar J , Haendler B , Eberspaecher U , Roosterman D , Donner P , Schleuning WD (1996) The human cysteine-rich secretory protein (CRISP) family. Primary structure and tissue distribution of CRISP-1, CRISP-2 and CRISP-3 . Eur J Biochem 236 : 827 – 836

Kuno N , Kadomatsu K , Fan QW , Hagihara M , Senda T , Mizutani S , Muramatsu T (1998) Female sterility in mice lacking the basigin gene, which encodes a

transmembrane glycoprotein belonging to the immunoglobulin superfamily . FEBS Lett 425 : 191 – 194

Lavia P , Jansen-Dürr P (1999) E2F target genes and cell-cycle checkpoint control . Bioessays 21 : 221 – 230

Lawrence Y , Whitaker M , Swann K (1997) Sperm-egg fusion is the prelude to the initial Ca²⁺ increase at fertilization in the mouse . Development 124 : 233 – 241

Lea IA , Sivashanmugam P , O'Rand MG (2001) Zonadhesin: characterization, localization, and zona pellucida binding . Biol Reprod 65 : 1691 – 1700

Leatherman JL , Kaestner KH , Jongens TA (2000) Identification of a mouse germ cell-less homologue with conserved activity in *Drosophila* . Mech Dev 92 : 145 – 153

Leclerc P , Goupil S (2000) Distribution and localization of calmodulin-binding proteins in bull spermatozoa . Biol Reprod 62 : 1875 – 1881

Lécuyer C , Dacheux JL , Hermand E , Mazeman E , Rousseaux J , Rousseaux-Prévost R (2000) Actin-binding properties and colocalization with actin during spermiogenesis of mammalian

sperm calicin . Biol Reprod 63 : 1801 – 1810

Le Naour F , Rubinstein E , Jasmin C , Prenant M , Boucheix C (2000) Severely reduced female fertility in CD9-deficient mice . Science 287 : 319 – 321

Lewis SE , Aitken RJ (2005) DNA damage to spermatozoa has impacts on fertilization and pregnancy . Cell Tissue Res 322 : 33 – 41

Li YC , Hu XQ , Zhang KY , Guo J , Hu ZY , Tao SX , Xiao LJ , Wang QZ , Han CS , Liu YX (2006) Afaf, a novel vesicle membrane protein, is related to acrosome formation in murine testis . FEBS Lett 580 : 4266 – 4273

Longo FJ , Cook S (1991) Formation of the perinuclear theca in spermatozoa of diverse mammalian species: relationship of the manchette and multiple band polypeptides . Mol Reprod Dev 28 : 380 – 393

Longo FJ , Krohne G , Franke WW (1987) Basic proteins of the perinuclear theca of mammalian spermatozoa and spermatids: a novel class of cytoskeletal elements . J Cell Biol 105 : 1105 – 1120

Lopez-Fernandez LA , Lopez P , Vidal F , Ranc F , Cuzin F , Rassoulzadegan M (1998) Analysis of gene regulation in Sertoli cells by a gene trap approach . Adv Exp Med Biol 444 : 153 – 162

Maekawa M , Suzuki-Toyota F , Toyama Y , Kadomatsu K , Hagihara N , Kuno N , Muramatsu K , Dohmae K , Yuasa S (1998) Stage-specific localization of Basigin, a member of the immunoglobulin superfamily, during mouse spermatogenesis . Arch Histol Cytol 61 : 405

Maekawa M , Ito C , Toyama Y , Suzuki-Toyota F , Kimura T , Nakano T , Toshimori K (2004) Stagespecific expression of mouse germ cell-less-1 (mGCL-1), and multiple deformations during

mgcl-1 deficient spermatogenesis leading to reduced fertility . Arch Histol Cytol 67 : 335 – 347

- Manandhar G , Toshimori K (2001) Exposure of sperm head equatorin after acrosome reaction and its fate after fertilization in mice . Biol Reprod 65 : 1425 - 1436
- Manandhar G , Toshimori K (2003) Fate of postacrosomal perinuclear theca recognized by monoclonal antibody MN13 after sperm head microinjection and its role in oocyte activation in mice . Biol Reprod 68 : 655 - 663
- Marangos P , FitzHarris G , Carroll J (2003) Ca²⁺ oscillations at fertilization in mammals are regulated by the formation of pronuclei . Development 130 : 1461 - 1472
- Martin-DeLeon PA (2006) Epididymal SPAM1 and its impact on sperm function . Mol Cell Endocrinol 250 : 114 - 121
- Mattout-Drubezki A , Gruenbaum Y (2003) Dynamic interactions of nuclear lamina proteins with chromatin and transcriptional machinery . Cell Mol Life Sci 60 : 2053 - 2063
- McKelvey-Martin VJ , Green MH , Schmeizer P , Pool-Zobel BL , De Meo MP , Collins A (1993) The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): a European review . Mutat Res 288 : 47 - 63
- Miyado K , Yamada G , Yamada S , Hasuwa H , Nakamura Y , Ryu F , Suzuki K , Kosai K , Inoue K , Ogura A , Okabe M , Mekada E (2000) Requirement of CD9 on the egg plasma membrane for fertilization . Science 287 : 321 - 324
- Miyauchi T , Kanekura T , Yamaoka A , Ozawa M , Miyazawa S , Muramatsu T (1990) Basigin, a new, broadly distributed member of the immunoglobulin superfamily, has strong homology with both the immunoglobulin V domain and the beta-chain of major histocompatibility complex class II antigen . J Biochem 107 : 316 - 323
- Miyazaki S , Ito M (2006) Calcium signals for egg activation in mammals . J Pharmacol Sci 100 : 545 - 552
- Miyazaki S , Yuzaki M , Nakada K , Shirakawa H , Nakanishi S , Nakade S , Mikoshiba K (1992) Block of Ca²⁺ wave and Ca²⁺ oscillation by antibody to the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor in fertilized hamster eggs . Science 257 : 251 - 255
- Miyazaki S , Shirakawa H , Nakada K , Honda Y (1993) Essential role of the inositol 1,4,5 trisphosphate receptor/Ca²⁺ release channel in Ca²⁺ waves and Ca²⁺ oscillations at fertilization of mammalian eggs . Dev Biol 158 : 62 - 78
- Mochida K , Tres LL , Kierszenbaum AL (1999) Structural and biochemical features of fractionated spermatid manchettes and sperm axonemes of the azh/azh mutant mouse . Mol Reprod Dev 52 : 434 - 444
- Mori E , Kashiwabara S , Baba T , Inagaki Y , Mori T (1995) Amino acid sequences of porcine Sp38 and proacrosin required for binding to the zona pellucida . Dev Biol 168 : 575 - 583
- Morozumi K , Shikano T , Miyazaki S , Yanagimachi R (2006) Simultaneous removal of sperm plasma membrane and acrosome before intracytoplasmic

sperm injection improves oocyte activation/embryonic development . Proc Natl Acad Sci USA 103 : 17661 - 17666

Moustafa MH , Sharma RK , Thornton J , Mascha E , Abdel-Hafez MA , Thomas AJ Jr , Agarwal A (2004) Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility . Hum Reprod 19 : 129 - 138

Mruk DD , Cheng C (2004b) Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis . Endocr Rev 25: 747 - 806

Mueller S , Rosenquist TA , Takai Y , Bronson RA , Wimmer E (2003) Loss of nectin-2 at Sertoli-spermatid junctions leads to male infertility and correlates with severe spermatozoan head and midpiece malformation, impaired binding to the zona pellucida, and oocyte penetration . Biol Reprod 69 : 1330 - 1340

Nakanishi T , Ikawa M , Yamada S , Toshimori K , Okabe M (2001) Alkalinization of acrosome measured by GFP as a pH indicator and its relation to sperm capacitation . Dev Biol 237 : 222 - 231

Nehme CL , Cesario MM , Myles DG , Koppel DE , Bartles JR (1993) Breaching the diffusion barrier that compartmentalizes the transmembrane glycoprotein CE9 to the posteriortail plasma membrane domain of the rat spermatozoon . J Cell Biol 120 : 687 - 694

Nili E , Cojocaru GS , Kalma Y , Ginsberg D , Copeland NG , Gilbert DJ , Jenkins NA , Berger R , Shaklai S , Amariglio N , Brok-Simoni F , Simon AJ , Rechavi G (2001) Nuclear membrane protein LAP2beta mediates transcriptional repression alone and together with its binding partner GCL (germ-cell-less) . J Cell Sci 114 : 3297 - 3307

Nishimura H , Cho C , Branciforte DR , Myles DG , Primakoff P (2001) Analysis of loss of adhesive function in sperm lacking cyritestin or fertilin beta . Dev Biol 233 : 204 - 213

Nishimura H , Myles DG , Primakoff P (2007) Identification of an ADAM2-ADAM3 complex on the surface of mouse testicular germ cells and cauda epididymal sperm . J Biol Chem 282 : 17900 - 17907

Nixon B , Aitken RJ , McLaughlin EA (2007) New insights into the molecular mechanisms of sperm-egg interaction . Cell Mol Life Sci 64 : 1805 - 182

O'Bryan MK , de Kretser D (2006) Mouse models for genes involved in impaired spermatogenesis . Int J Androl 29 : 76 - 89

Oh-Oka T , Tanii I , Wakayama T , Yoshinaga K , Watanabe K , Toshimori K (2001) Partial characterization of an intra-acrosomal protein, human acrin1 (MN7) . J Androl 22 : 17 - 24

Oh-Oka T , Saxena DK , Tanii I , Yoshinaga K , Toshimori K (2003) The change of the activity of sperm nitric oxide synthase in the oviductal reservoir during ovulation . Reprod Med Biol 2 : 75 - 81

Okabe M , Adachi T , Takada K , Oda H , Yagasaki M , Kohama Y , Mimura T (1987)

- Capacitation related changes in antigen distribution on mouse sperm heads and its relation to fertilization rate in vitro . *J Reprod Immunol* 11 : 91 – 100
- Oko R , Maravei D (1995) Distribution and possible role of perinuclear theca proteins during bovine spermiogenesis . *Microsc Res Tech* 32 : 520 – 532
- Oko R , Morales CR (1994) A novel testicular protein, with sequence similarities to a family of lipid binding proteins, is a major component of the rat sperm perinuclear theca . *Dev Biol* 166 : 235 – 245
- Olson GE , Winfrey VP , Nagdas SK (2003) Structural modification of the hamster sperm acrosome during posttesticular development in the epididymis . *Microsc Res Tech* 61 : 46 – 55
- Olson GE , Winfrey VP , Bi M , Hardy DM , NagDas SK (2004) Zonadhesin assembly into the hamster sperm acrosomal matrix occurs by distinct targeting strategies during spermiogenesis and maturation in the epididymis . *Biol Reprod* 71 : 1128 – 1134
- Orgebin-Crist MC (1967) Sperm maturation in rabbit epididymis . *Nature* 216 : 816 – 818
- Orgebin-Crist MC , Hoffman LH , Olson GE , Skudlarek MD (1987) Secretion of proteins and glycoproteins by perfused rabbit corpus epididymal tubules: effect of castration . *Am J Anat* 180 : 49 – 68
- Ossowski L , Aguirre-Ghiso JA (2000) Urokinase receptor and integrin partnership: coordination of signaling for cell adhesion, migration and growth . *Curr Opin Cell Biol* 12 : 613 – 620
- Oura C , Toshimori K (1990) Ultrastructural studies on the fertilization of mammalian gametes . *Int Rev Cytol* 122 : 105 – 151
- Ozaki-Kuroda K , Nakanishi H , Ohta H , Tanaka H , Kurihara H , Mueller S , Irie K , Ikeda W , Sakai T , Wimmer E , Nishimune Y , Takai Y (2002) Nectin couples cell-cell adhesion and the actin scaffold at heterotypic testicular junctions . *Curr Biol* 12 : 1145 – 1150
- Perry AC , Wakayama T , Cooke IM , Yanagimachi R (2000) Mammalian oocyte activation by the synergistic action of discrete sperm head components: induction of calcium transients and involvement of proteolysis . *Dev Biol* 217 : 386 – 393
- Petruszak JA , Nehme CL , Bartles JR (1991) Endoproteolytic cleavage in the extracellular domain of the integral plasma membrane protein CE9 precedes its redistribution from the posterior to the anterior tail of the rat spermatozoon during epididymal maturation . *J Cell Biol* 114 : 917 – 27
- Primakoff P , Hyatt H , Myles DG (1985) A role for the migrating sperm surface antigen PH-20 in guinea pig sperm binding to the egg zona pellucida . *J Cell Biol* 101 : 2239 – 2244
- Ramalho-Santos J , Moreno RD , Sutovsky P , Chan AW , Hewitson L , Wessel GM , Simerly CR , Schatten G (2000) SNAREs in mammalian sperm: possible implications for fertilization . *Dev Biol* 223 : 54 – 69
- Richardson RT , Yamasaki N , O'Rand MG (1994) Sequence of a rabbit sperm zona

pellucida binding protein and localization during the acrosome reaction . *Dev Biol* 165 : 688 – 701

Rochwerger L , Cuasnicu PS (1992) Redistribution of a rat sperm epididymal glycoprotein after in vitro and in vivo capacitation . *Mol Reprod Dev* 31 : 34 – 41

Rossi P , Dolci S , Sette C , Geremia R (2003a) Molecular mechanisms utilized by alternative c-kit gene products in the control of spermatogonial proliferation and sperm-mediated egg activation . *Andrologia* 35 : 71 – 78

Rossi P , Sette C , Dolci S , Geremia R (2003b) Role of c-kit in mammalian spermatogenesis . *J Endocrinol Invest* 23 : 609 – 615

Runft LL , Jaffe LA , Mehlmann LM (2002) Egg activation at fertilization: where it all begins . *Dev Biol* 245 : 237 – 254

Russell LD , Ying L , Overbeek PA (1994) Insertional mutation that causes acrosomal hypodevelopment: its relationship to sperm head shaping . *Anat Rec* 238 : 437 – 453

Sabeur K , Cherr GN , Yudin AI , Primakoff P , Li MW , Overstreet JW (1997) The PH-20 protein in human spermatozoa . *J Androl* 18 : 151 – 158

Sailer BL , Steinkamp JA , Crissman HA (1998) Flow cytometric fluorescence lifetime analysis of DNA-binding probes . *Eur J Histochem* 42 : 19 – 27

Sakkas D , Mariethoz E , Manicardi G , Bizzaro D , Bianchi PG , Bianchi U (1999) Origin of DNA damage in ejaculated human spermatozoa . *Rev Reprod* 4 : 31 – 37

Sakkas D , Moffatt O , Manicardi GC , Mariethoz E , Tarozzi N , Bizzaro D (2002) Nature of DNA damage in ejaculated human spermatozoa and the possible involvement of apoptosis .

Biol Reprod 66 : 1061 – 1067

Sathananthan AH , Ratnam SS , Ng SC , Tarin JJ , Gianaroli L , Trounson A (1996) The sperm centriole: its inheritance, replication and perpetuation in early human embryos . *Hum Reprod* 11 : 345 – 356

Sathananthan AH , Tatham B , Dharmawardena V , Grills B , Lewis I , Trounson A (1997) Inheritance of sperm centrioles and centrosomes in bovine embryos . *Arch Androl* 38 : 37 – 48

Saunders CM , Larman MG , Parrington J , Cox LJ , Royse J , Blayney LM , Swann K , Lai FA (2002) PLC zeta: a sperm-specific trigger of Ca(2+) oscillations in eggs and embryo development. *Development* 129 : 3533 – 3544

Sawyer DE , Mercer BG , Wiklendt AM , Aitken RJ (2003) Quantitative analysis of gene-specific DNA damage in human spermatozoa . *Mutat Res* 529 : 21 – 34

Saxena DK , Toshimori K (2004) Molecular modifications of MC31/CE9, a sperm surface molecule, during sperm capacitation and the acrosome reaction in the rat: is MC31/CE9 required for fertilization? *Biol Reprod* 70 : 993 – 1000 .

Saxena DK , Oh-Oka T , Kadomatsu K , Muramatsu T , Toshimori K (2002) Behaviour of a sperm surface transmembrane glycoprotein basigin during epididymal maturation and its role in fertilization in mice . *Reproduction* 123 : 435 – 444

- Sette C , Bevilacqua A , Bianchini A , Mangia F , Geremia R , Rossi P (1997) Parthenogenetic activation of mouse eggs by microinjection of a truncated c-kit tyrosine kinase present in spermatozoa . *Development* 124 : 2267 – 2274
- Sette C , Bevilacqua A , Geremia R , Rossi P (1998) Involvement of phospholipase Cgamma1 in mouse egg activation induced by a truncated form of the C-kit tyrosine kinase present in spermatozoa . *J Cell Biol* 142 : 1063 – 1074
- Sette C , Paronetto MP , Barchi M , Bevilacqua A , Geremia R , Rossi P (2002) Tr-kit-induced resumption of the cell cycle in mouse eggs requires activation of a Src-like kinase . *EMBO J* 21 : 5386 – 5395
- Shamsadin R , Adham IM , Nayernia K , Heinlein UA , Oberwinkler H , Engel W (1999) Male mice deficient for germ-cell cyritestin are infertile . *Biol Reprod* 61 : 1445 – 1451
- Shetty J , Wolkowicz MJ , Digilio LC , Klotz KL , Jayes FL , Diekman AB , Westbrook VA , Farris EM , Hao Z , Coonrod SA , Flickinger CJ , Herr JC (2003) SAMP14, a novel, acrosomal membrane-associated, glycosylphosphatidylinositol-anchored member of the Ly-6/urokinase-type plasminogen activator receptor superfamily with a role in sperm-egg interaction . *J Biol Chem* 278 : 30506 – 30515
- Shingai T , Ikeda W , Kakunaga S , Morimoto K , Takekuni K , Itoh S , Satoh K , Takeuchi M , Imai T , Monden M , Takai Y (2003) Implications of nectin-like molecule-2/IGSF4/RA175/ SgIGSF/TSLC1/ SynCAM1 in cell-cell adhesion and transmembrane protein localization in epithelial cells . *J Biol Chem* 278 : 35421 – 35427
- Singh NP , Stephens RE (1998) X-ray induced DNA double-strand breaks in human sperm . *Mutagenesis* 13 : 75 – 79
- Skudlarek MD , Tulsiani DR , Orgebin-Crist MC (1992) Rat epididymal luminal fluid acid beta- D-galactosidase optimally hydrolyses glycoprotein substrate at neutral pH . *Biochem J* 286 : 907 – 914
- Sleight SB , Miranda PV , Plaskett NW , Maier B , Lysiak J , Scrable H , Herr JC , Visconti PE (2005) Isolation and proteomic analysis of mouse sperm detergent-resistant membrane fractions: evidence for dissociation of lipid rafts during capacitation . *Biol Reprod* 73 : 721 – 729
- Song X , Li F , Cao G , Zhang J , Han Y (2007) Distribution of alpha- D-mannose residues on zona pellucida and their role(s) in fertilization in pigs . *Sci China C Life Sci* 50 : 170 – 177
- Sukardi S , Elliott RM , Withers JO , Fontaine U , Millar JD , Curry MR , Watson PF (2001) Calcium-binding proteins from the outer acrosomal membrane of ram spermatozoa: potential candidates for involvement in the acrosome reaction . *Reproduction* 122 : 939 – 946
- Sullivan R , Frenette G , Girouard J (2007) Epididymosomes are involved in the acquisition of new sperm proteins during epididymal transit . *Asian J Androl* 9 : 483 – 491
- Sun QY , Schatten H (2007) Centrosome inheritance after fertilization and nuclear transfer in mammals . *Adv Exp Med Biol* 591 : 58 – 71

- Sun JG , Jurisicova A , Casper RF (1997) Detection of deoxyribonucleic acid fragmentation in human sperm: correlation with fertilization in vitro . *Biol Reprod* 56 : 602 – 607
- Sutovsky P , Schatten G (2000) Paternal contributions to the mammalian zygote: fertilization after sperm-egg fusion . *Int Rev Cytol* 195 : 1 – 65
- Sutovsky P , Manandhar G , Wu A , Oko R (2003) Interactions of sperm perinuclear theca with the oocyte: implications for oocyte activation, anti-polyspermy defense, and assisted reproduction . *Microsc Res Tech* 61 : 362 – 378
- Sutovsky P , Manandhar G , McCauley TC , Caamano JN , Sutovsky M , Thompson WE , Day BN (2004) Proteasomal interference prevents zona pellucida penetration and fertilization in mammals . *Biol Reprod* 71 : 1625 – 1637
- Suzuki F , Yanagimachi R (1989) Changes in the distribution of intramembranous particles and filipin-reactive membrane sterols during in vitro capacitation of golden hamster spermatozoa . *Gamete Res* 23 : 335 – 347
- Suzuki-Toyota F , Ito C , Toyama Y , Maekawa M , Yao R , Noda T , Iida H , Toshimori K (2007) Factors maintaining normal sperm tail structure during epididymal maturation studied in Gopc $-/-$ mice . *Biol Reprod* 77 : 71 – 82
- Tajima Y , Sakamaki K , Watanabe D , Koshimizu U , Matsuzawa T , Nishimune Y (1991) Steel– Dickie (Sld) mutation affects both maintenance and differentiation of testicular germ cells in mice . *J Reprod Fertil* 91 : 441 – 449
- Takai Y , Irie K , Shimizu K , Sakisaka T , Ikeda W (2003) Nectins and nectin-like molecules: roles in cell adhesion, migration, and polarization . *Cancer Sci* 94 : 655 – 667
- Takano H , Yanagimachi R , Urch UA (1993) Evidence that acrosin activity is important for the development of fusibility of mammalian spermatozoa with the oolemma: inhibitor studies using the golden hamster . *Zygote* 1 (1) : 79 – 91
- Talbot P , Shur BD , Myles DG (2003) Cell adhesion and fertilization: steps in oocyte transport, sperm-zona pellucida interactions, and sperm-egg fusion . *Biol Reprod* 68 : 1 – 9
- Tanii I , Toshimori K , Araki S , Oura C (1992) Appearance of an intra-acrosomal antigen during the terminal step of spermiogenesis in the rat . *Cell Tissue Res* 267 : 203 – 208
- Tanii I , Araki S , Toshimori K (1994) Intra-acrosomal organization of a 90-kiloDalton antigen during spermiogenesis in the rat . *Cell Tissue Res* 277 : 61 – 67
- Tanii I , Oh-Oka T , Yoshinaga K , Toshimori K (2001) A mouse acrosomal cortical matrix protein, MC41, has ZP2-binding activity and forms a complex with a 75-kDa serine protease . *Dev Biol* 238 : 332 – 341
- Töpfer-Petersen E , Henschen A (1988a) Acrosin shows zona and fucose binding, novel properties for a serine proteinase . *FEBS Lett* 226 : 38 – 42
- Töpfer-Petersen E , Henschen A (1988b) Zona pellucida-binding and fucose-binding of boar sperm acrosin is not correlated with proteolytic activity . *Biol Chem Hoppe Seyler* 369 : 69 – 76

- Toshimori K (1982) Penetration of the mouse sperm head through the zona pellucida in vivo: an electronmicroscope study at 200KV . Biol Reprod 26 : 475 - 81
- Toshimori K (1998) Maturation of mammalian spermatozoa: modifications of the acrosome and plasma membrane leading to fertilization . Cell Tissue Res 293 : 177 - 187
- Toshimori K , Ito C (2003) Formation and organization of the mammalian sperm head . Arch Histol Cytol 66 : 383 - 396
- Toshimori K , Oura C (1993) Fine structural changes in the postacrosomal region of the hamster and mouse sperm head at the initial stage of gamete interaction in vivo . Arch Histol Cytol 56 : 109 - 116
- Toshimori K , Higashi R , Oura C (1987) Filipin-sterol complexes in golden hamster sperm membranes with special reference to epididymal maturation . Cell Tissue Res 250 : 673 - 680
- Toshimori K , Araki S , Oura C (1990) Epithelial cells with vacuoles containing 54,000 dalton sialoglycoprotein in the mouse epididymal duct . Arch Histol Cytol 53 : 333 - 338
- Toshimori K , Araki S , Oura C , Eddy EM (1991a) Loss of sperm surface sialic acid induces phagocytosis: an assay with a monoclonal antibody T21, which recognizes a 54 K sialoglycoprotein . Arch Androl 27 : 79 - 86
- Toshimori K , Tanii I , Oura C , Eddy EM (1991b) A monoclonal antibody, MN13, that recognizes specifically a novel substance between the postacrosomal sheath and the overlying plasma membrane in the mammalian sperm head . Mol Reprod Dev 29 : 289 - 293
- Toshimori K , Tanii I , Araki S , Oura C (1992a) Characterization of the antigen recognized by a monoclonal antibody MN9: unique transport pathway to the equatorial segment of sperm head during spermiogenesis . Cell Tissue Res 270 : 459 - 468
- Toshimori K , Tanii I , Araki S , Oura C (1992b) A rat sperm flagellar surface antigen that originates in the testis and is expressed on the flagellar surface during epididymal transit . Mol Reprod Dev 32 : 399 - 408
- Toshimori K , Tanii I , Araki S (1995) Intra-acrosomal 155,000 Dalton protein increases the antigenicity during mouse sperm maturation in the epididymis: a study using a monoclonal antibody MC101 . Mol Reprod Dev 42 : 72 - 79
- Toshimori K , Saxena DK , Tanii I , Yoshinaga K (1998) An MN9 antigenic molecule, equatorin, is required for successful sperm-oocyte fusion in mice . Biol Reprod 59 : 22 - 29
- Toshimori K , Kuwajima M , Yoshinaga K , Wakayama T , Shima K (1999) Dysfunctions of the epididymis as a result of primary systemic carnitine deficiency in animal model juvenile visceral steatosis mice . FEBS Lett 446 : 323 - 326
- Toshimori K , Ito C , Maekawa M , Toyama Y , Suzuki-Toyota F , Saxena DK (2004) Impairment of spermatogenesis leading to infertility . Anat Sci Int 79 : 101 - 111

Tovar V , Del Valle J , Zapater N , Martin M , Romero X , Pizcueta P , Bosch J , Terhorst C , Engel P (2002) Mouse novel Ly9: a new member of the expanding CD150 (SLAM) family of

leukocyte cell-surface receptors . Immunogenetics 54 : 394 – 402

Tsai PS , De Vries KJ , De Boer-Brouwer M , Garcia-Gil N , Van Gestel RA , Colenbrander B , Gadella BM , Van Haeften T (2007) Syntaxin and VAMP association with lipid rafts depends on cholesterol depletion in capacitating sperm cells . Mol Membr Biol 24 : 313 – 324

Tulsiani DR (2006) Glycan-modifying enzymes in luminal fluid of the mammalian epididymis: an overview of their potential role in sperm maturation . Mol Cell Endocrinol 250 : 58 – 65

Tulsiani DR , Skudlarek MD , Holland MK , Orgebin-Crist MC (1993) Glycosylation of rat sperm plasma membrane during epididymal maturation . Biol Reprod 48 : 417 – 428

Tulsiani DR , Chayko CA , Orgebin-Crist MC , Araki Y (1996) Temporal surge of glycosyltransferase activities in the genital tract of the hamster during the estrous cycle . Biol Reprod

54 : 1032 – 1037

Tulsiani DR , Abou-Haila A , Loeser CR , Pereira BM (1998) The biological and functional significance of the sperm acrosome and acrosomal enzymes in mammalian fertilization . Exp Cell Res 240 : 151 – 164

Turner TT (1979) On the epididymis and its function . Invest Urol 16 : 311 – 321

Urase K , Soyama A , Fujita E , Momoi T (2001) Expression of RA175 mRNA, a new member of immunoglobulin super family, in developing mouse brain . Neuroreport 12 : 3217 – 3221

Urch UA , Patel H (1991) The interaction of boar sperm proacrosin with its natural substrate, the zona pellucida, and with polysulfated polysaccharides . Development 111 : 1165 – 1172

Ventelä S , Toppari J , Parvinen M (2003) Intercellular organelle traffic through cytoplasmic bridges in early spermatids of the rat: mechanisms of haploid gene product sharing . Mol

Biol Cell 14 : 2768 – 2780

von Bülow M , Rackwitz HR , Zimbelmann R , Franke WW (1997) CP beta3, a novel isoform of an actin-binding protein, is a component of the cytoskeletal calyx of the mammalian sperm head . Exp Cell Res 233 : 216 – 224

Wakayama T , Nagata K , Ohashi K , Mizuno K , Tanii I , Yoshinaga K , Oh-Oka T , Toshimori K (2000) The expression and cellular localization of the sperm flagellar protein MC31/CE9 in the rat testis: possible posttranscriptional regulation during rat spermiogenesis . Arch Histol Cytol 63 : 33 – 41

Wakayama T , Ohashi K , Mizuno K , Iseki S (2001) Cloning and characterization of a novel mouse immunoglobulin superfamily gene expressed in early spermatogenic cells . Mol Reprod Dev 60 : 158 – 164

- Wakayama T , Koami H , Ariga H , Kobayashi D , Sai Y , Tsuji A , Yamamoto M , Iseki S (2003) Expression and functional characterization of the adhesion molecule spermatogenic immunoglobulin superfamily in the mouse testis . *Biol Reprod* 68 : 1755 - 1763
- Ward CR , Faundes D , Foster JA (1999) The monomeric GTP binding protein, rab3a, is associated with the acrosome in mouse sperm . *Mol Reprod Dev* 53 : 413 - 421
- Wassarman PM (1990) Regulation of mammalian fertilization by zona pellucida glycoproteins. *J Reprod Fertil Suppl* 42 : 79 - 87
- Watanabe T , Suda T , Tsunoda T , Uchida N , Ura K , Kato T , Hasegawa S , Satoh S , Ohgi S , Tahara H , Furukawa Y , Nakamura Y (2005) Identification of immunoglobulin superfamily11 (IGSF11) as a novel target for cancer immunotherapy of gastrointestinal and hepatocellular carcinomas . *Cancer Sci* 96 : 498 - 506
- Weber JE , Russell LD (1987) A study of intercellular bridges during spermatogenesis in the rat . *Am J Anat* 180 : 1 - 24
- Weber T , Zemelman BV , McNew JA , Westermann B , Gmachl M , Parlati F , Söllner TH , Rothman JE (1998) SNAREpins: minimal machinery for membrane fusion . *Cell* 92 (6) : 759 - 772
- Westbrook-Case VA , Winfrey VP , Olson GE (1994) A domain-specific 50-kiloDalton structural protein of the acrosomal matrix is processed and released during the acrosome reaction in the guinea pig . *Biol Reprod* 51 : 1 - 13
- Witte ON (1990) Steel locus defines new multipotent growth factor . *Cell* 63 : 5 - 6
- Wolkowicz MJ , Shetty J , Westbrook A , Klotz K , Jayes F , Mandal A , Flickinger CJ , Herr JC (2003) Equatorial segment protein defines a discrete acrosomal subcompartment persisting throughout acrosomal biogenesis . *Biol Reprod* 69 : 735 - 745
- Wu AT , Sutovsky P , Manandhar G , Xu W , Katayama M , Day BN , Park KW , Yi YJ , Xi YW ,
- Prather RS , Oko R (2007) PAWP, a sperm-specific WW domain-binding protein, promotes meiotic resumption and pronuclear development during fertilization . *J Biol Chem* 282 : 12164 - 12175
- Xu X , Toselli PA , Russell LD , Seldin DC (1999) Globozoospermia in mice lacking the casein kinase II alpha' catalytic subunit . *Nat Genet* 23 : 118 - 121
- Yan HH , Mruk DD , Lee WM , Cheng CY (2007) Ectoplasmic specialization: a friend or a foe of spermatogenesis? *Bioessays* 29 : 36 - 48
- Yanagimachi R (1981) Mechanisms of fertilization in mammals . In: Mastroianni L , Biggers JD (eds) *Fertilization and embryonic development in vitro* . Plenum , New York , pp 81 - 182
- Yanagimachi R (1994) Mammalian fertilization . In: Knobil E , Neil JD (eds) *The physiology of reproduction* , 2nd edn . Raven , New York , pp 189 - 317
- Yanagimachi R (2003) Fertilization and development initiation in orthodox and

unorthodox ways: from normal fertilization to cloning . *Adv Biophys* 37 : 49 – 89
Yanagimachi R , Noda YD (1970) Ultrastructural changes in the hamster sperm head during fertilization . *J Ultrastruct Res* 31 : 465 – 485

Yao R , Ito C , Natsume Y , Sugitani Y , Yamanaka H , Kuretake S , Yanagida K , Sato A , Toshimori K , Noda T (2002) Lack of acrosome formation in mice lacking a Golgi protein, GOPC . *Proc*

Natl Acad Sci USA 99 : 11211 – 11216

Yi YJ , Mananadhar G , Sutovsky M , Li R , Jonakova V , Oko R , Park CS , Prather RS , Sutovsky P (2007) Ubiquitin C-terminal hydrolase-activity is involved in sperm acrosomal function

and anti-polyspermy defense during porcine fertilization . *Biol Reprod* 77 : 780 – 793

Yoda A , Oda S , Shikano T , Kouchi Z , Awaji T , Shirakawa H , Kinoshita K , Miyazaki S (2004) Ca²⁺ oscillation-inducing phospholipase C zeta expressed in mouse eggs is accumulated to the pronucleus during egg activation . *Dev Biol* 268 : 245 – 257

Yoshinaga K , Toshimori K (2003) Organization and modifications of sperm acrosomal molecules during spermatogenesis and epididymal maturation . *Microsc Res Tech* 61 : 39 – 45

Yoshinaga K , Nishikawa S , Ogawa M , Hayashi S , Kunisada T , Fujimoto T , Nishikawa S (1991) Role of c-kit in mouse spermatogenesis: identification of spermatogonia as a specific site of c-kit expression and function . *Development* 113 : 689 – 699

Yu YE , Zhang Y , Unni E , Shirley CR , Deng JM , Russell LD , Weil MM , Behringer RR , Meistrich ML (2000) Abnormal spermatogenesis and reduced fertility in transition nuclear protein

1-deficient mice . *Proc Natl Acad Sci USA* 97 : 4683 – 4688

Yu Y , Xu W , Yi YJ , Sutovsky P , Oko R (2006) The extracellular protein coat of the inner acrosomal membrane is involved in zona pellucida binding and penetration during fertilization:

characterization of its most prominent polypeptide (IAM38) . *Dev Biol* 290 : 32 – 43

Yudin AI , Vandevoort CA , Li MW , Overstreet JW (1999) PH-20 but not acrosin is involved in sperm penetration of the macaque zona pellucida . *Mol Reprod Dev* 53 : 350 – 362

Yuasa J , Toyama Y , Miyauchi T , Maekawa M , Yuasa S , Ito H (2001) Specific localization of the basigin protein in human testes from normal adults, normal juveniles, and patients with azoospermia . *Andrologia* 33 : 293 – 299

Zheng Y , Deng X , Zhao Y , Zhang H , Martin-DeLeon PA (2001) Spam1 (PH-20) mutations and sperm dysfunction in mice with the Rb (6.16) or Rb (6.15) translocation . *Mamm Genome* 12 : 822 – 829