十足目甲壳动物非浓缩精子发生过程中组蛋白动态研究进展

陈廷荣¹, 穆淑梅¹, 吴江立², 张朝晖³, 葛少钦⁴, 李根亮⁵, 康现江^{1*}

1. 河北大学生命科学学院, 保定 071002;
2. 河北中医学院科研中心, 石家庄 050200;
3. 保定第一中心医院生殖医学科, 保定 071000;
4. 河北大学中医学院, 保定 071030;
5. 右江民族医学院基础医学院, 百色 533000

* 联系人, E-mail: xjkang218@126.com

收稿日期: 2021-04-28; 接受日期: 2021-05-27; 网络版发表日期: 2021-09-06

国家自然科学基金(批准号: 31272309, 31572269)资助

摘要 精子发生是一个受到高度调控的发育过程. 在精子形成过程中, 组蛋白和鱼精蛋白参与的替换过程对于精子核单倍体基因组的重包装具有重要作用. 十足目甲壳动物精子具有非浓缩核的特征, 目前多项研究已经证明, 十足目甲壳动物精子细胞核或顶体结构中存在部分组蛋白及修饰的组蛋白. 本综述总结了十足目甲壳动物精子发生过程中组蛋白的动态特征, 有助于阐释非浓缩核染色质结构包装调控的机制.

关键词 十足目甲壳动物, 精子发生, 精子, 非浓缩核, 组蛋白

精子发生是一个高度复杂的发育过程, 精原干细胞经历有丝分裂和减数分裂过程, 形成单倍体的精细胞, 精细胞经历细胞形变和染色质重塑过程形成物种特有的精子. 精子作为一种终末分化的细胞, 不同物种的精子染色质的成分差异极大. 十足目甲壳动物精子由于其染色质非浓缩的特殊性, 国内外许多学者对此进行了研究, 但是这种特殊的非浓缩核包装机制还不清楚. 最近多个研究表明, 十足目甲壳动物精子中仍然保留部分组蛋白以及修饰的组蛋白. 本文综述了十足目甲壳动物精子发生过程中组蛋白的动态变化研究现状.

1 精子发生过程中的碱性蛋白替换

精原干细胞在经历有丝分裂和减数分裂成为成熟精子的过程中, 生殖细胞的染色质组成及结构发生了极大的变化. 精子形成过程中圆形精细胞经历一系列的形态变化和染色质重塑过程, 其染色质中组蛋白逐步被鱼精蛋白代替. 由于鱼精蛋白中赖氨酸、精氨酸所携带的正电荷可以中和DNA链上的负电荷, 并降低DNA分子间的静电排斥作用, 同时鱼精蛋白半胱氨酸之间可以交联形成二硫键, 最终精子DNA被碱性蛋白包装成致密的结构^[1-5]. 染色质重塑过程主要包括: 部分核心组蛋白被组蛋白变体替换, 组蛋白H4发生超乙

引用格式: 陈廷荣, 穆淑梅, 吴江立, 等. 十足目甲壳动物非浓缩精子发生过程中组蛋白动态研究进展. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 1199–1207
Chen T R, Mu S M, Wu J L, et al. Progress of histone dynamics during spermatogenesis in Decapoda (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 1199–1207, doi: 10.1360/SSV-2021-0193

酰化修饰, DNA链断裂和修复, 组蛋白被过渡蛋白替换, 最终被鱼精蛋白取代. 组蛋白替换通常有三种可能: (i) 体细胞组蛋白不被替换或被特异性精子组蛋白替换; (ii) 分子量较小碱性较强的蛋白(如鱼精蛋白)直接替换组蛋白; (iii) 双核碱性蛋白替换——组蛋白不是直接被鱼精蛋白替代, 而是本身被一种或几种中间类型的过渡蛋白替代. 其中, 在以小鼠为代表的部分哺乳动物精子染色质重塑过程中, 圆形精细胞中的组蛋白含量是最多的, 随后过渡蛋白、鱼精蛋白逐步代替伸长精细胞中的组蛋白, 最终在成熟精子染色质端粒及中心粒附近的某些非活性基因区间保留大约1%~2%的组蛋白, 鱼精蛋白对组蛋白的替代导致精子染色质状态比正常染色质致密10倍以上^[6,7]. 精子作为一种终末分化的细胞, 虽然细胞核染色质中基因的转录活动基本停止, 但是精子仍然保留一些表观遗传信息, 如组蛋白修饰和组蛋白变体, 以及非编码RNA^[8,9].

精子核碱性蛋白(spermatozoa basic nuclear proteins, SBNPs)是一类与DNA结合的重要结构性蛋白, 广泛存在于各种动物的精子中. 早期根据动物精子核碱性蛋白的种类, Bloch^[10]将动物精子分为五类: 小鼠型(mouse型)、鲑鱼型(*Salmo*型)、蛙型(*Rana*型)、贻贝型(*Mytilus*型)、蟹型(crab型). 经过进一步研究和总结, 在Bloch的分类基础上, Ausió^[11]将SBNPs分为鱼精蛋白型(protamine type, P型)、类鱼精蛋白型(protamine-like type, PL型)、组蛋白型(histone type, H型)三类. P型SNBP是一类高度异质的, 富含精氨酸和/或半胱氨酸的小分子蛋白质, 相邻的半胱氨酸之间可以形成二硫键以进一步稳定DNA/鱼精蛋白复合物^[1], 在精子形成染色质重塑过程中P型SNBP可以协助或替代精细胞中的组蛋白^[11], 并与DNA的大沟结合, 从而中和磷酸二酯主链, 导致染色质线性排列形成环形线圈结构^[12]. PL型SNBP富含精氨酸和赖氨酸残基, 分子结构比P型SNBP大得多. 与P型SNBP一样, PL型SNBP在精子形成的最后阶段替换大多数体细胞相关的组蛋白^[11]. H型SNBP是一类富含精氨酸和赖氨酸的睾丸特异性组蛋白H1变体, 它们通过与体细胞类似的方式稳定核小体并将染色质纤维包装成更高等级的结构, 保护雄性配子DNA免受外界环境损伤^[11]. 在此研究基础上, Saperas和Ausió^[13]提出了一种H1→PL→P过渡的蛋白质垂直进化模式, 但是尚不清楚这种过渡模式所涉及的过程和机制.

2 十足目甲壳动物精子组蛋白特征

2.1 十足目甲壳动物精子特征

十足目甲壳动物精子具有精子无鞭毛、不运动、精子核非浓缩的共同特征^[14-17]. 十足目甲壳动物的精子根据精子棘的数目通常被分为三类: 多棘类、单棘类和无棘类^[18]. 多棘类精子含有多个从细胞质和/或细胞核伸出的辐射臂结构; 而单棘类精子仅含有一个从顶体端伸出的长长的辐射臂结构, 而且该结构不和细胞核直接连接^[19]; 在Medina的分类基础上, 还有一类十足目动物精子不含任何棘状的辐射臂结构^[20,21]. 在透射电子显微镜下, 经过柠檬酸铅和醋酸铀染色后, 十足目甲壳动物精子的染色质呈絮状、纤维状^[16], 这种结构与典型哺乳动物精子致密的染色质包装结构显著不同, 十足目甲壳动物这类精子核被称为非浓缩核(decondensation nucleus), 哺乳动物致密的精子染色质被称为浓缩核(condensation nucleus).

2.2 十足目甲壳动物精子发生过程中组蛋白特征

半个多世纪以来, 对于十足目甲壳动物精子中SBNPs成分存在两种截然相反的观点. 早期部分学者认为, 十足目甲壳动物精子缺乏必要的SBNPs成分, 导致DNA单独包装形成特殊的非浓缩核结构. 随着科学技术的发展, 其他研究表明, 在十足目甲壳动物精子中仍然存在部分组蛋白以及修饰的组蛋白.

(1) 对十足目甲壳动物精子组蛋白的认识——从无到有. 由于研究方法的局限性和不足, 早期部分学者认为, 十足目甲壳动物精子中不含碱性蛋白成分. Langreth^[22]通过福尔根染色, 认为在北黄道蟹(*Cancer borealis*和*Cancer irroratus*)成熟精子的染色质以及精子辐射臂中不存在其他蛋白成分, 成熟精子的染色质仅由DNA单独包装. 同样, Kleve等人^[23]的研究结果表明, 在锐脊单肢虾(*Sicyonia ingentis*)成熟的精子核中不存在组蛋白以及鱼精蛋白.

然而研究发现, 在沙蟹(*Emerita analoga*)精子形成过程中, 定位于顶体结构中的碱性蛋白不断增多, 这表明在精子形成过程中组蛋白或其他碱性蛋白由细胞核向顶体结构转移^[24-26]. 利用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术, Kharchenko等人^[27]的研究证实了在克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)精子中存在多种组蛋白H1亚组分. 康现江等人^[28]利用氨银染色发现, 锯缘青蟹(*Scylla ser-*

rate)精子中碱性蛋白定位于顶体囊内层、外层和片层结构中,而在顶体管和精子核中未发现碱性蛋白.此外, Sellos和Legal^[29]的研究表明,锯齿长臂虾(*Palaeomon serratus*)精子中不存在鱼精蛋白,但是存在一类氨基酸组成与组蛋白H2A和H2B相似的体细胞组蛋白.以上研究结果表明,十足目甲壳动物精子中DNA不是以丝状形式单独存在的,而是通过碱性蛋白包装形成特殊的丝状或絮状结构,但是精子中的碱性蛋白属于哪种类型仍不清楚.

(2) 十足目甲壳动物精子中保留的组蛋白复杂多样.随着生物化学技术的更新,鉴定和检测精子核碱性蛋白的方法更加灵敏多样,人们对十足目甲壳动物精子中碱性蛋白成分的认识中也有了一些新的进展. Kurtz等人^[30,31]通过对黄道蟹和蜘蛛蟹(*Maja brachydactyla*)的精子进行研究,发现在两者成熟的精子核中都存在四种核心组蛋白(H2A, H2B, H3, H4),而且精子中的组蛋白/DNA的比例分别为0.5和0.6,这个比值远低于其他精子细胞核中发现含有组蛋白或者鱼精蛋白的物种(蛋白质/DNA比值范围为1.0~1.2).推测在黄道蟹和蜘蛛蟹精子中组蛋白与DNA的低比例结合可能对非浓缩精子核的形成具有重要作用.随后Stewart等人^[32]的研究发现,在远洋梭子蟹(*Portunus pelagicus*)精子形成过程中,只有少量的组蛋白H2B和H3残留在成熟的精子中;同样在罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)的成熟精子中发现,精子细胞核保有少量的组蛋白H3和H2B^[33]. Ge等人^[34]通过研究中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)精子形成过程中碱性蛋白的变化,发现在精细胞早期,细胞质中合成的碱性蛋白大部分转移到细胞核,染色质逐渐凝聚,其余转移到顶体前液泡;在精细胞中期,与DNA连接的核碱性蛋白乙酰化,转入顶体前泡,组装成顶体囊;在精细胞晚期,本来定位于细胞核中的碱性蛋白,几乎都转移到了顶体结构中;在精子从晚期到成熟精子的过程中,细胞质合成的一些新生碱性蛋白进入细胞核,几乎全部沉积在细胞核外周,形成一层覆盖层. Niksirat等人^[35]利用质谱技术在奥斯塔欧洲螯虾(*Astacus astacus*)的精英蛋白提取液中检测到组蛋白H3及H4的存在,由于奥斯塔欧洲螯虾的精子被上皮细胞分泌的嗜碱性物质所形成的精英包裹,因此质谱结果鉴定的组蛋白H3及H4属于精子中的蛋白成分. Wu等人通过克隆中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)组蛋白H3^[36], H4^[37], H2B^[38]和

H2A^[39]的基因序列,发现中华绒螯蟹组蛋白H3和H4同人和小鼠相比,氨基酸序列相似性高达99%,而组蛋白H2B和H2A的序列相似性仅在80%左右;此外,他们利用免疫荧光技术发现,组蛋白H3, H4, H2B和H2A定位于中华绒螯蟹成熟精子的细胞核中^[36,38~40]. Chen等人^[41]通过免疫荧光比较中华绒螯蟹、拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)、日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)、中国明对虾、克氏原螯虾精子发生过程中组蛋白H2A, H2B, H3和H4的动态变化,发现组蛋白H2A, H2B, H3和H4定位于中华绒螯蟹、日本沼虾和拟穴青蟹精子的细胞核中;在克氏原螯虾和中国明对虾的早期精细胞中,均可检测到组蛋白H2A, H2B, H3和H4的阳性荧光结果,随着精细胞细胞核的形变和顶体形成,组蛋白H3和H4在整个精子形成过程中一直保留在细胞核中,而精细胞中期及后期的细胞核中,组蛋白H2B逐渐消失,不同于组蛋白H2B的定位结果,在此过程中组蛋白H2A由细胞核转移至顶体结构中.最终在克氏原螯虾和中国明对虾成熟精子的细胞核中只检测到组蛋白H3和H4,在顶体结构中发现转移的组蛋白H2A,在细胞核或顶体中未发现组蛋白H2B.由于缺乏其他碱性蛋白的分子信息以及合适的抗体,目前在十足目甲壳动物精子中仅证明组蛋白存在,还未发现除组蛋白之外其他类型的碱性蛋白存在于精子非浓缩核或顶体结构中.以上研究结果表明,十足目动物精子中存在一定量的组蛋白,细胞核中组蛋白和DNA的特殊包装模式不同于核小体包装结构,这为后续更好地阐释十足目甲壳动物的进化地位和精子适应环境和精卵结合机制奠定了基础.

(3) 十足目甲壳动物精子中的组蛋白修饰.组蛋白是携带表观遗传标记的重要载体,研究人员利用蛋白质质谱分析技术在人和小鼠的精子中已经鉴定到多种修饰的组蛋白类型(甲基化、乙酰化、磷酸化、巴豆酰化)^[8,42].有研究表明,十足目动物黄道蟹和蜘蛛蟹成熟精子中的组蛋白H4, H3和H2B均会发生乙酰化修饰,而且组蛋白H4的乙酰化修饰程度要高于组蛋白H3和H2B中的乙酰化修饰^[30,31].之后在中国明对虾中同样发现精子的细胞核中残留少量的乙酰化修饰组蛋白H4^[34].以上的研究结果虽然表明十足目甲壳动物精子中存在乙酰化修饰的组蛋白,但是乙酰化修饰的组蛋白对于非浓缩核形成的功能还未可知.在Wu等人研究的基础上, Zhang等人^[40]通过比较正常中华绒螯蟹及

性早熟中华绒螯蟹精子发生过程中组蛋白(H2A+H4) S1ph的变化, 发现中华绒螯蟹成熟精子组蛋白H2A和H4与精子非浓缩染色质结构密切相关。此外, Zhang等人^[43]还发现, 虽然正常中华绒螯蟹以及性早熟中华绒螯蟹精子发生过程中H4S1ph的含量无显著差异, 但是性早熟中华绒螯蟹精子中H4S1ph的含量显著高于正常中华绒螯蟹精子, 因此推测H4S1ph可以作为中华绒螯蟹精子成熟度的一个标记物。Li等人^[44]通过对中华绒螯蟹精子发生过程组蛋白H3K9ac进行定位, 发现组蛋白H3K9ac参与精子形成过程, 而且H3K9ac定位于成熟精子的细胞核中, 猜测H3K9ac参与精子形成过程中基因的调控以及精子非浓缩核的包装。孙哲利用质谱技术比较正常中华绒螯蟹及性早熟中华绒螯蟹精子中的组蛋白特征, 不仅在精子中鉴定出大量的组蛋白修饰位点及组蛋白变体, 同时发现正常中华绒螯蟹及性早熟中华绒螯蟹精子中的部分组蛋白修饰位点具有显著差异(数据未发表), 这有助于从表观遗传角度阐释性早熟河蟹的成因。此外, 利用质谱技术, 研究人员在中华绒螯蟹、日本沼虾、拟穴青蟹、克氏原螯虾和中国明对虾的精子中也鉴定到多种修饰类型的组蛋白^[41]。甲壳动物精子碱性蛋白特征以及精子组蛋白分布模式分别见表1和图1。基于以上研究结果, 本团队认为十足目甲壳动物精子中存在多种修饰类型的组蛋白, 推测这些组蛋白修饰和非浓缩核形成以及后续的受精卵发育过程有关。

2.3 其他物种精子组蛋白特征

精子DNA被组蛋白包裹的模式并不是甲壳动物特有的, 从低等动物到高等动物均有发现。Rocchini等人^[45]通过比较刺胞动物门(Cnidaria)中珊瑚纲(Anthozoa)、水螅纲(Hydrozoa)和钵水母纲(Scyphozoa)三种精子染色质的蛋白组成, 发现精子核碱性蛋白都由1~2个组蛋白H1变体组成。在长牡蛎(*Crassostrea gigas*)^[46]、海绵(*Neofibularia nolitangere*)^[47]及斑马鱼(*Danio rerio*)^[48]成熟精子的细胞核中, 除组蛋白外未检测到鱼精蛋白和中间过渡蛋白。Wang和Ausio^[49]通过比较纽形动物*Cerebratulus californiensis*和*C. lacteus*精子的碱性蛋白成分, 发现精子中的碱性蛋白绝大部分属于组蛋白, 而且在精子中发现的组蛋白H1还存在几种类型的变体。此外, 研究人员对微球菌核酸酶消化贝螈(*Hydractinia echinata*)精子核进行了研究, 结

果未在贝螈精子中发现鱼精蛋白, 其精子DNA被组蛋白包裹, 精子染色质以核小体的形式存在, 而且部分组蛋白H2B变体(H2B.3, H2B.5, H2B.6, H2B.4)是贝螈精子发育所特有的^[50]。有趣的是, 在甲壳纲十足目口虾蛄(*Oratosquilla oratoria*)的精子中, 免疫荧光结果表明, 核心组蛋白(H2A, H2B, H3, H4)存在于精子细胞核中, 在精子的细胞核、囊泡状颗粒物质和外层被膜中发现组蛋白H2AX分布; 同样在精子的细胞核、囊泡状颗粒物质中发现另外一种组蛋白变体H2A.Z的存在; 相对于其他两种组蛋白变体, 组蛋白变体H3.3主要集中在精子细胞核中; 组蛋白的一些功能修饰位点, 如H3K9me3, H3K4me2, H3K9me3和H3S10ph仅定位在口虾蛄精子的细胞核中^[51]。在透射电子显微镜下, 通过比较斑马鱼(*Danio rerio*)、藏香鸡(*Gallus gallus domesticus*)和小鼠(*Mus musculus*)的精子以及体细胞染色质结构, 发现三种动物的精子染色质结构异常紧凑, 但是这种紧凑的染色质结构在形态和染色质浓缩方面却各有不同: 在公鸡和小鼠精子中, 由于大多数组蛋白被富含精氨酸的鱼精蛋白替换, 因此精子染色质浓缩程度要大于保留了体细胞组蛋白和核小体结构的斑马鱼精子; 与小鼠精子不同, 公鸡精子中的鱼精蛋白不含半胱氨酸残基, 鱼精蛋白之间缺乏可以稳定染色质的二硫键, 因此公鸡精子染色质浓缩程度弱于小鼠精子染色质^[52]。通过比较两栖动物的精子, 发现两栖动物精子核中的碱性蛋白比一般体细胞核中的组蛋白含有更多的精氨酸, 而且两栖类动物精子中的碱性蛋白质因物种而异^[53]。非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)的精子染色质由复杂的碱性蛋白质包裹DNA形成, 这些碱性蛋白包括sp1/2, sp3, sp4, sp5, sp6, 组蛋白H3和H4, 但精子中不含组蛋白H2A和H2B。精子一旦受精, 核质蛋白(nucleoplasm)会立刻将组蛋白H2A和H2B转移到雄原核上, 从而替代精子特异性碱性蛋白^[54-57]。在进化过程中涡鞭藻(dinoflagellates)放弃了利用组蛋白包装基因组的特征, 反而利用一种新的高度碱性的核蛋白家族DVNPs(dinoflagellate/viral nucleoproteins), 它以与组蛋白相似的亲和力结合DNA, 并以多种翻译后修饰形式存在^[58]。以上研究结果说明, 除了十足目甲壳动物外, 其他物种的精子中也含有组蛋白, 有些物种的精子DNA被组蛋白包裹, 以核小体的形式存在; 有些物种精子中除了组蛋白H3, H4和其他碱性蛋白外, 不含有组蛋白H2A和H2B; 有些

表 1 精子组蛋白特征

Table 1 Histone characteristics in spermatozoa

物种	精子组蛋白及组蛋白修饰	参考文献
<i>Cancer borealis</i> 和 <i>Cancer irroratus</i>	未发现精子碱性蛋白	Langreth ^[22]
<i>Sicyonia ingentis</i>	未发现组蛋白或鱼精蛋白	Kleve等人 ^[23]
<i>Emerita analoga</i>	顶体中发现精子碱性蛋白	Vaughn等人 ^[24] ; Vaughn和Locy ^[25] ; Vaughn和Thomson ^[26]
<i>Scylla serrate</i>	细胞核中未发现精子碱性蛋白, 顶体中发现精子碱性蛋白	Kang等人 ^[28]
<i>Procambarus clarkii</i>	组蛋白H1, H2A, H3, H4	Kharchenko等人 ^[27] ; Chen等人 ^[41]
<i>Palaemon serratus</i>	组蛋白H2A, H2B变体	Sellos和le Gal ^[29]
<i>Cancer irroratus</i> 和 <i>Cancer pagurus</i>	组蛋白H2B, H3, H4; 乙酰化修饰的H2B, H3, H4	Kurtz等人 ^[30]
<i>Maja brachydactyla</i>	组蛋白H2B, H3, 乙酰化修饰的H3	Kurtz等人 ^[31]
<i>Portunus pelagicus</i>	组蛋白H2B, H3	Stewart等人 ^[32]
<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	组蛋白H2B, H3	Poljaroen等人 ^[33]
<i>Fenneropenaeus chinensis</i>	组蛋白H2A, H3, H4	Ge等人 ^[34] ; Chen等人 ^[41]
<i>Astacus astacus</i>	组蛋白H3, H4	Niksirat等人 ^[35]
<i>Eriocheir sinensis</i>	组蛋白H1, H2A, H2B, H3, H4, H3.3, H3K9ac, H2AS1ph ⁺ H4S1ph, H4S1ph	Wu等人 ^[36] ; Wu等人 ^[38] ; Zhang等人 ^[40] ; Li等人 ^[44] ; Wu等人 ^[39] ; Zhang等人 ^[43] ; Chen等人 ^[41]
<i>Scylla paramamosain</i>	组蛋白H2A, H2B, H3, H4	Chen等人 ^[41]
<i>Macrobrachium nipponense</i>	组蛋白H2A, H2B, H3, H4	Chen等人 ^[41]
<i>Oratosquilla oratoria</i>	组蛋白H2A, H2B, H3, H4, H2AX, H2A.Z, H3K9me3, H3K4me2, H3K9me3, H3S10ph	Chen等人 ^[51]

物种组蛋白变体或组蛋白修饰参与精子染色质的包装。这些物种中精子碱性蛋白的特殊性, 为人们更好地认识十足目甲壳动物精子染色质包装机制提供了新的见解和参考。

3 精子组蛋白的功能

虽然精子所携带的遗传物质只有普通细胞的一半, 但在精子形成过程中, 大量的细胞质被丢弃, 细胞核内染色质经过鱼精蛋白的包装压缩后变得更加致密。高度浓缩的染色质一方面使精子体积缩小, 方便精子穿入卵细胞; 另一方面保护精子核内遗传物质免受外界因素的影响。十足目甲壳动物精子缺乏鞭毛没有运动能力, 精子染色质的浓缩程度较低, 为了更方便地穿透卵子, 促进精卵结合, 十足目甲壳动物进化出一种不依靠精子运动进入卵母细胞的特殊机制^[37,59-61]。此外, 精子核蛋白比例的异常通常导致雄性不育, 在临床研究中, 部分少精子症患者的精核蛋白比例下降, 证明精核蛋白异常与精子受精能力有关^[62-66]。

表观遗传信息(组蛋白变体及组蛋白翻译后修饰)不仅在精子发生过程中发挥着关键作用, 参与精原细胞的增殖和分化、减数分裂重组、精子细胞核凝聚, 而且在胚胎早期发育和跨代遗传中也起着重要作用^[67]。通过比较正常和性早熟中华绒螯蟹精子中组蛋白的特征, 研究人员认为H4S1ph可以作为中华绒螯蟹精子成熟度的一个标记物^[43], 推测精子中的组蛋白修饰可以作为评价精子质量的表观遗传标记。此外, 在多种十足目甲壳动物的精子中也发现多种类型的组蛋白发生乙酰化修饰, 猜测组蛋白乙酰化修饰可能对精子非浓缩核的形成具有重要的作用。

4 总结及展望

十足目动物种类复杂, 染色体数目庞大, 基因信息还未被破解。尽管目前对十足目甲壳动物精子发生过程及精子中的组蛋白信息了解得比较多, 但是大多数研究停留在蛋白定位的研究中。由于精子发生过程的复杂性, 截至目前, 人们初步对十足目甲壳动物精子

图 1 精子碱性蛋白比较

Figure 1 Comparison of basic nuclear proteins in spermatozoa

发生过程中组蛋白的动态变化有了一个清晰的了解,但是目前的研究结果还不能阐释何种机制造成十足目甲壳动物精子这种非浓缩核的特殊结构. 未来研究应

该更多地关注组蛋白以何种方式和精子DNA结合,以及这种特殊的精子核结构在精卵结合、胚胎发育中发挥的特殊作用.

参考文献

- 1 Balhorn R. A model for the structure of chromatin in mammalian sperm. *J Cell Biol*, 1982, 93: 298–305

- 2 Wouters-Tyrou D, Martinage A, Chevaillier P, et al. Nuclear basic proteins in spermiogenesis. *Biochimie*, 1998, 80: 117–128
- 3 Rathke C, Baarends W M, Awe S, et al. Chromatin dynamics during spermiogenesis. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1839: 155–168
- 4 Wang L, Xu Z, Khawar M B, et al. The histone codes for meiosis. *Reproduction*, 2017, 154: R65–R79
- 5 Hao S L, Ni F D, Yang W X. The dynamics and regulation of chromatin remodeling during spermiogenesis. *Gene*, 2019, 706: 201–210
- 6 Hazzouri M, Pivot-Pajot C, Faure A K, et al. Regulated hyperacetylation of core histones during mouse spermatogenesis: involvement of histone-deacetylases. *Eur J Cell Biol*, 2000, 79: 950–960
- 7 Gaucher J, Reynoird N, Montellier E, et al. From meiosis to postmeiotic events: the secrets of histone disappearance. *FEBS J*, 2010, 277: 599–604
- 8 Chioccarelli T, Pierantoni R, Manfredola F, et al. Histone post-translational modifications and circRNAs in mouse and human spermatozoa: potential epigenetic marks to assess human sperm quality. *J Clin Med*, 2020, 9: 640
- 9 Chen L L, Feng S S, Fan Z S, et al. Progress in non-coding RNA research (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2019, 49: 1573–1605 [陈玲玲, 冯珊珊, 范祖森, 等. 非编码RNA研究进展. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 1573–1605]
- 10 Bloch D P. A catalog of sperm histones. *Genetics*, 1969, 61: 93–111
- 11 Ausió J. Histone H1 and evolution of sperm nuclear basic proteins. *J Biol Chem*, 1999, 274: 31115–31118
- 12 Balhorn R. The protamine family of sperm nuclear proteins. *Genome Biol*, 2007, 8: 227
- 13 Saperas N, Ausió J. Sperm nuclear basic proteins of tunicates and the origin of protamines. *Biol Bull*, 2013, 224: 127–136
- 14 Jamieson B G M. A comparison of the spermatozoa of *Oratosquid Ma stephensoni* and *Squilla mantis* (Crustacea, Stomatopoda) with comments on the phylogeny of the Malacostraca. *Zool Scripta*, 1989, 18: 509–517
- 15 Jamieson B G M. Ultrastructure and phylogeny of crustacean spermatozoa. *Mem Queensl Mus*, 1991, 31: 109–142
- 16 Tudge C. Spermatozoal morphology and its bearing on decapod phylogeny. In: Martin J W, Crandall K A, Felder D L, eds. *Decapod Crustacean Phylogenetics*. Boca Raton: CRC Press, 2009. 101–119
- 17 Camargo T R, Rossi N, Castilho A L, et al. Sperm ultrastructure of shrimps from the family Penaeidae (Crustacea: Dendrobranchiata) in a phylogenetic context. *Arthropod Struct Dev*, 2017, 46: 588–600
- 18 Medina A. Spermiogenesis and sperm structure in the shrimp *Parapenaeus longirostris* (Crustacea: Dendrobranchiata): comparative aspects among decapods. *Mar Biol*, 1994, 119: 449–460
- 19 Braga A, Nakayama C L, Poersch L, et al. Unistellate spermatozoa of decapods: comparative evaluation and evolution of the morphology. *Zoomorphology*, 2013, 132: 261–284
- 20 Medina A. Spermatozoal ultrastructure in Dendrobranchiata (Crustacea, Decapoda): taxonomic and phylogeny considerations. In: Jamieson B G M, Ausio J, Justine J L, eds. *Advances in Spermatozoa Phylogeny and Taxonomy*. Paris: Mémoires du Muséum national d'histoire naturelle, 1995. 231–242
- 21 Medina A, García-Isarch E, Sobrino I, et al. Ultrastructure of the spermatozoa of *Aristaeopsis edwardsiana* and *Aristeus varidens* (Crustacea, Dendrobranchiata, Aristidae). *Zoomorphology*, 2006, 125: 39–46
- 22 Langreth S G. Spermiogenesis in *Cancer* crabs. *J Cell Biol*, 1969, 43: 575–603
- 23 Kleve M G, Yudin A I, Clark Jr W H. Fine structure of the unistellate sperm of the shrimp, *Sicyonia ingentis* (Natantia). *Tissue Cell*, 1980, 12: 29–45
- 24 Vaughn J C, Chaitoff J, Deleon R, et al. Changing nuclear histone patterns during development: II. Isolation and partial characterization of “decapodine” from sperm cells of the crab *Emerita analoga*. *Exp Cell Res*, 1969, 54: 362–366
- 25 Vaughn J C, Locy R D. Changing nuclear histone patterns during development III. The deoxyribonucleic acid content of spermatogenic cells in the crab *Emerita analoga*. *J Histochem Cytochem*, 1969, 17: 591–600
- 26 Vaughn J C, Thomson L A. A kinetic study of DNA and basic protein metabolism during spermatogenesis in the sand crab, *Emerita analoga*. *J Cell Biol*, 1972, 52: 322–337
- 27 Kharchenko E P, Nalivaeva N N, Kokriakov V N. Heterogeneity of histone H1 in cells with blocked genome (in Russian). *Biokhimiia*, 1980, 45: 311–316
- 28 Kang X J, Li S J, Wang G Z, et al. Distribution of basic proteins of sperm and fertilization in *Scylla serrate* (in Chinese). *Acta Zool Sin*, 2001, 47: 82–86 [康现江, 李少菁, 王桂忠, 等. 锯缘青蟹精子碱性蛋白分布与受精. 动物学报, 2001, 47: 82–86]
- 29 Sellos D, Legal Y. Changes in basic nuclear proteins during sperm maturation in *Palaemon serratus* (Crustacea Natantia). *Cell Differ*, 1981, 10:

- 30 Kurtz K, Martínez-Soler F, Ausió J, et al. Histones and nucleosomes in *Cancer* sperm (Decapod: *Crustacea*) previously described as lacking basic DNA-associated proteins: A new model of sperm chromatin. *J Cell Biochem*, 2008, 105: 574–584
- 31 Kurtz K, Ausió J, Chiva M. Preliminary study of sperm chromatin characteristics of the brachyuran crab *Maja brachydactyla*. Histones and nucleosome-like structures in decapod crustacean sperm nuclei previously described without SNBPs. *Tissue Cell*, 2009, 41: 334–344
- 32 Stewart M J, Stewart P, Soonklang N, et al. Spermatogenesis in the blue swimming crab, *Portunus pelagicus*, and evidence for histones in mature sperm nuclei. *Tissue Cell*, 2010, 42: 137–150
- 33 Poljaroen J, Vanichviriyakit R, Tinikul Y, et al. Spermatogenesis and distinctive mature sperm in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). *Zool Anzeiger*, 2010, 249: 81–94
- 34 Ge S, Wang S, Kang X, et al. Transition of basic protein during spermatogenesis of *Fenneropenaeus chinensis* (Osbeck, 1765). *Cytotechnology*, 2011, 63: 581–598
- 35 Niksirat H, James P, Andersson L, et al. Label-free protein quantification in freshly ejaculated versus post-mating spermatophores of the noble crayfish *Astacus astacus*. *J Proteomics*, 2015, 123: 70–77
- 36 Wu J L, Kang X J, Guo M S, et al. Cloning and functional analysis of histones H3 and H4 in nuclear shaping during spermatogenesis of the chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *PLoS ONE*, 2015, 10: e0126623
- 37 Lynn J W, Clark Jr. W H. A morphological examination of sperm-egg interaction in the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Biol Bull*, 1983, 164: 446–458
- 38 Wu J, Mu S, Guo M, et al. Histone *H2B* gene cloning, with implication for its function during nuclear shaping in the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*. *Gene*, 2016, 575: 276–284
- 39 Wu J L, Chen T R, Mu S M, et al. Cloning and distribution of histone *H2A* during spermatogenesis of the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) (in Chinese). *J Fish China*, 2019, 43: 2327–2335 [吴江立, 陈廷荣, 穆淑梅, 等. 中华绒螯蟹组蛋白H2A基因的克隆及其在精子发生中的定位. 水产学报, 2019, 43: 2327–2335]
- 40 Zhang Z H, Mu S M, Guo M S, et al. Dynamics of histone H2A, H4 and H31ph during spermatogenesis with a focus on chromatin condensation and maturity of spermatozoa. *Sci Rep*, 2016, 6: 25089
- 41 Chen T, Mu S, Sun Z, et al. Spermiogenic histone transitions and chromatin decondensation in Decapoda. *Theriogenology*, 2020, 156: 242–252
- 42 Luense L J, Wang X, Schon S B, et al. Comprehensive analysis of histone post-translational modifications in mouse and human male germ cells. *Epigenets Chromatin*, 2016, 9: 24
- 43 Zhang Z, Mu S, Chen T, et al. H4S1ph, an alternative epigenetic marker for sperm maturity. *Andrologia*, 2020, 52: e13352
- 44 Li G, Kang X, Mu S, et al. H3K9ac involved in the decondensation of spermatozoal nuclei during spermatogenesis in Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*. *Cytotechnology*, 2017, 69: 75–87
- 45 Rocchini C, Marx R M, Schnorr von Carosfeld J, et al. Replacement of nucleosomal histones by histone H1-like proteins during spermiogenesis in Cnidaria: Evolutionary implications. *J Mol Evol*, 1996, 42: 240–246
- 46 Sellos D. The histones isolated from the sperm of the oyster *Crassostrea gigas*. *Cell Differ*, 1985, 17: 183–192
- 47 Ausió J, Van Veghel M L J, Gomez R, et al. The sperm nuclear basic proteins (SNBPs) of the sponge *Neofibularia nolitangere*: implications for the molecular evolution of SNBPs. *J Mol Evol*, 1997, 45: 91–96
- 48 Wu S F, Zhang H, Cairns B R. Genes for embryo development are packaged in blocks of multivalent chromatin in zebrafish sperm. *Genome Res*, 2011, 21: 578–589
- 49 Wang X, Ausió J. Histones are the major chromosomal protein components of the sperm of the nemertean *Cerebratulus californiensis* and *Cerebratulus lacteus*. *J Exp Zool*, 2001, 290: 431–436
- 50 Török A, Schiffer P H, Schnitzler C E, et al. The cnidarian *Hydractinia echinata* employs canonical and highly adapted histones to pack its DNA. *EpiGenets Chromatin*, 2016, 9: 36
- 51 Chen T, Sun Z, Mu S, et al. Ultrastructure of spermiogenesis and the distribution of spermatozoal nuclear histones in the Japanese mantis shrimp, *Oratosquilla oratoria* (Crustacea: Stomatopoda). *J Morphol*, 2019, 280: 1170–1184
- 52 Ausió J, González-Romero R, Woodcock C L. Comparative structure of vertebrate sperm chromatin. *J Struct Biol*, 2014, 188: 142–155
- 53 Li D Y. Die Abwechslung der basischen Kernproteine während der Spermiogenese bei Amphibien (in Chinese). *Zool Res*, 1980, 1: 47–63 [李靖炎. 两栖动物精子形成过程中细胞核内碱性蛋白质的更替现象. 动物学研究, 1980, 1: 47–63]

- 54 Philpott A, Leno G H, Laskey R A. Sperm decondensation in *Xenopus* egg cytoplasm is mediated by nucleoplasmin. *Cell*, 1991, 65: 569–578
- 55 Philpott A, Leno G H. Nucleoplasmin remodels sperm chromatin in *Xenopus* egg extracts. *Cell*, 1992, 69: 759–767
- 56 Shechter D, Nicklay J J, Chitta R K, et al. Analysis of histones in *Xenopus laevis*. I. A distinct index of enriched variants and modifications exists in each cell type and is remodeled during developmental transitions. *J Biol Chem*, 2009, 284: 1064–1074
- 57 Nicklay J J, Shechter D, Chitta R K, et al. Analysis of histones in *Xenopus laevis*. II. mass spectrometry reveals an index of cell type-specific modifications on H3 and H4. *J Biol Chem*, 2009, 284: 1075–1085
- 58 Gornik S G, Ford K L, Mulhern T D, et al. Loss of nucleosomal DNA condensation coincides with appearance of a novel nuclear protein in dinoflagellates. *Curr Biol*, 2012, 22: 2303–2312
- 59 Hinsch G W. Penetration of the oocyte envelope by spermatozoa in the spider crab. *J Ultrastr Res*, 1971, 35: 86–97
- 60 Du N S, Lai W, An Y, et al. Studies on the cytology of fertilization in the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* (Crustacea, Decapoda) (in Chinese). *Sci China Ser B*, 1992, 22: 260–265 [堵南山, 赖伟, 安婴, 等. 中华绒螯蟹受精的细胞学研究. 中国科学B辑, 1992, 22: 260–265]
- 61 Barros C, Dupré E, Viveros L. Sperm-egg interactions in the shrimp *Rhynchocinetes typus*. *Gamete Res*, 2005, 14: 171–180
- 62 Zhang X, San Gabriel M, Zini A. Sperm nuclear histone to protamine ratio in fertile and infertile men: evidence of heterogeneous subpopulations of spermatozoa in the ejaculate. *J Androl*, 2006, 27: 414–420
- 63 Ugur M R, Kutchy N A, de Menezes E B, et al. Retained acetylated histone four in bull sperm associated with fertility. *Front Vet Sci*, 2019, 6
- 64 Dogan S, Vargovic P, Oliveira R, et al. Sperm protamine-status correlates to the fertility of breeding bulls. *Biol Reprod*, 2015, 92
- 65 Guerrero-Bosagna C, Skinner M K. Environmental epigenetics and effects on male fertility. In: Baldi E, Muratori M, ed. Genetic Damage in Human Spermatozoa. New York: Springer 2014. 67–81
- 66 Ding G L, Liu Y, Liu M E, et al. The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. *Asian J Androl*, 2015, 17: 948
- 67 Jian S J, Ning C, Gao L, et al. The transgenerational inheritance and reprogramming of epigenetic information in animals (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2021, 51: 556–566 [荐思婧, 宁超, 高磊, 等. 表观遗传信息在动物中的跨代遗传和重编程. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 556–566]

Progress of histone dynamics during spermatogenesis in Decapoda

CHEN TingRong¹, MU ShuMei¹, WU JiangLi², ZHANG ZhaoHui³, GE ShaoQin⁴,
LI GenLiang⁵ & KANG XianJiang¹

¹ School of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China;

² Scientific Research Center, Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050200, China;

³ Department of Reproductive Medicine, Baoding First Central Hospital, Baoding 071000, China;

⁴ College of Traditional Chinese Medicine, Hebei University, Baoding 071030, China;

⁵ School of Basic Medical Sciences, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, China

Spermatogenesis is a highly regulated developmental process. During spermatogenesis, the replacement of histones by protamine plays an important role in repackaging the haploid genome of the sperm nuclear. The spermatozoan nucleus of the Decapoda is decondensed. Presently, many studies have proved that histones and histone modifications were retained in the nucleus or acrosome structure of the Decapoda spermatozoa. This review summarizes the dynamic characteristics of histones during spermatogenesis in Decapoda and helps clarify the mechanism of the decondensed chromatin structure.

crustaceans, spermatogenesis, sperm, decondensed nucleus, histones

doi: [10.1360/SSV-2021-0193](https://doi.org/10.1360/SSV-2021-0193)