

环境因子对硬骨鱼精子运动的影响及其分子机制·

THE EFFECTS OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON THE MOBILITY OF TELEOST SPERM AND THE MOLECULAR MECHANISM

王宏田 张培军

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

虽然在有些情况下,精子能够游动却已失去使卵细胞受精的能力,但通常而言,运动能力强的精子会有更多的机会使卵子受精。因此,对于精子运动能力

-
- 国家攀登计划 B 资助项目 PD-B6 号;
中国科学院海洋研究所研究报告第 3277 号;
实验海洋生物学开放研究实验室研究报告第 192 号。
收稿日期:1998-06-15;修回日期:1998-07-16

1999 年第 4 期

的研究将有助于提高受精率。

主要的研究可归纳为两个方面的问题(1)影响精子运动状态的外界因素有哪些?有什么影响?(2)外界因素通过何种途径影响精子的运动能力?即这种影响的分子机制是什么?

影响精子运动能力的外界因素主要包括:(1)离子,主要是金属离子;(2)pH值;(3)渗透压;(4)其他因素。任何一种外界因素的变化,都是通过影响精子的内环境而对其运动能力产生作用的;外界环境因子的变化→精子体的内环境变化→精子运动能力变化。

1 环境因素对鱼精子运动能力的影响

1.1 金属离子

天然海水中的金属离子主要包括 K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} 。这4种离子在鱼的体液与精浆中也含有,但与在海水中的含量并不相同。这种含量上的差异,成为精子自雄性生殖腺分泌到海水后呈现游动状态的直接动力。

K^+ 在鲑鱼精子的运动过程中起着重要作用。Tanimoto S. 1994 年报道,鲑鱼精子启动时伴随有 K^+ 自精子体内向体外扩散的现象。Baynes 等人 1981 年发现,如果溶液环境中的 K^+ 浓度过高,会抑制鲑鱼精子的运动;当溶液中的 K^+ 浓度降低时,鲑鱼精子便会由静止状态变为运动状态。但这一现象并不是在所有的硬骨鱼精子的运动过程中都发生^[2]。

K^+ 与其他离子之间相互影响,共同作用于鱼类精子而改变其运动能力。Schlenk 和 Kahmann 1957 年发现,当溶液中 $K^+/Na^+ \geq 1/16$ 时,能够使大马哈鱼精子运动。 Na^+ , K^+ 共同影响鱼精子运动的现象已被更多的学者所证实,只是 Na^+ , K^+ 之间的比例关系是否如此严格受到质疑。当一种溶液中只含有 K^+ , 或含有 K^+ 与 Na^+ 而并不能诱导精子运动时,加入少量的 Mg^{2+} 或 Ca^{2+} 可使鱼精子运动,只是 Mg^{2+} 没有 Ca^{2+} 的作用效果那么显著;而原先假设存在的能激发大马哈鱼精子运动的“雄性激素”只不过是 K^+ 而已。

Boitano 等人 1992 年近年来展开了有关 Ca^{2+} 在鱼类精子运动过程中的作用的研究^[2]。由于 Ca^{2+} 在细胞信息传递过程中发挥着重要作用,因而在鱼类精子运动过程中可能有重要功能。Tanimoto 1994 年通过实验证实,鱼精子运动时,总伴随有体内 Ca^{2+} 浓度瞬间升高的现象发生,但某些实验条件下, Ca^{2+} 来源于何处并不清楚。

1.2 pH 值

溶液中 pH 值的变化同样可改变精子的运动状态。Baynes 等人 1981 年发现,如果将精子置于 pH 值低于 7.8 的缓冲液中,精子将保持静止。Scott 等人 1980 年证实,当溶液中的 pH 值较精液中的高时,可使鱼精子启动。Pautard 等人 1962 年也发现了同一现象,但同时发现酸性环境并不能使鱼精子完全受到抑制。

上述实验结果主要是在针对鲑鱼精子进行研究时获得的。其他鱼类的精子也都有其适宜的 pH 值范围。但总的说来,这一要求并不非常严格。

外界环境溶液中的 pH 值(以 pH_o 表示)的变化,是与精子体内的 pH 值(以 pH_i 表示)的变化相联系的。Hiroyuki Takai 认为河豚精子体内的 pH 值变化引发其内部 K^+ 浓度的变化,从而在精子启动过程中发挥作用^[2]。这一观点被 Baynes 等人 1981 年在对鲑鱼精子进行的过程中证实。但 Scott Boitano 等 1991 年认为,鲑鱼精子运动时并没有伴随 pH_i 的升高。 K^+ 浓度的变化,能够引起精子细胞膜局部电动势的变化,而电动势的改变,才是使精子运动的主要原因。

1.3 渗透压

Morisawa 等人 1980 年指出,改变环境溶液中的渗透压,能够使海水鱼的精子启动。这一结论后来得到进一步的验证^[2]。环境渗透压的改变,既可以通过向水中添加电解质溶质如 $NaCl$, KCl 等实现,也可以通过添加非电解质溶质如葡萄糖、蔗糖、甘露糖等实现。电解质在水溶液中电离,以离子形式存在,因此最终可能是通过改变精子体内的离子浓度而使鱼精子的运动能力发生变化。

非电解质溶质的影响机制与电解质溶质可能不完全相同。有实验表明,当环境溶液中甘露糖的浓度增大时,可以改变鱼精子的体积从而影响其内部 K^+ 的浓度,并最终影响精子的运动能力^[3]。蔗糖、葡萄糖等非电解质溶液对鱼精子运动能力的影响可能存在类似的机制。Mounib 等 1967 年认为,葡萄糖使精子运动能力增强可能存在另一个原因,即鱼精子能够摄取体外葡萄糖并将其分解利用。

1.4 其他因素

当精子自生殖腺分泌到体外的环境中以后,精液中溶解氧含量随之增加,从而为精子的耗能运动提供了条件,这一现象已早为人们所熟知。

将海胆精子放入海胆卵子浸泡过的海水中,可以观察到海胆精子剧烈运动,研究表明这是海胆卵子表面的胶质层作用的结果。值得注意的是,类似现象同样在硬骨鱼中发生。有研究者发现,有的鱼类卵子能

分泌一种(或几种)蛋白质,使原本并不活泼的精子变得立刻活跃起来。Pillai 等人 1993 年研究表明,太平洋鲱鱼的卵细胞表面紧密结合着一种分子量为 108 kD 的蛋白质成分,能够启动靠近它的精子。Shoji Oda 等人从鲱鱼卵所在的海水中分离纯化出 5 种性质极为相似的蛋白质,这些蛋白质与卵细胞结合得并不紧密,分子量都为 8 kD,它们能使鲱鱼精子活泼地游动。他们正准备进一步实验以辨别这 5 种蛋白质是否为同一种物质的衍生物^[3]。

2 环境因子影响的分子机制

虽然不同鱼类的精子具有不同的形态,但其内部的生理结构基本相同。对硬骨鱼而言,通常都有一条长长的鞭毛,鞭毛是“9×2+2”的微管结构。精子的运动是其鞭毛摆动的结果,摆动过程中所消耗的能量,来自三磷酸腺苷(ATP)水解所释放的能量^[1]。

外界环境溶液中的各种因子,是通过何种途径而使精子鞭毛发生弯曲的呢? 已知的两种假说都是在研究虹鳟时提出的。

假说一,可由下列关系式表达:

K^+/H^+ 使 Ca^{2+} 进入精子内→腺苷酸环化酶呈现活性→ATP 转化形成环化二磷酸腺苷(cAMP)→蛋白激酶被激活→15kD 蛋白质被磷酸化→精子运动。

溶液中 K^+ 减少→精子内 K^+ 外流,同时使 H^+ 内流→精子内 pH 值降低→精子运动终结。

这一假说中需要注意:(1) Ca^{2+} 的特殊作用;(2) pH_i 降低对精子运动能力的抑制;(3) K^+ 降低对精子运动能力的抑制(有些鱼类无此现象);(4)蛋白质的磷酸化过程中“磷酸根”由 ATP 被水解提供,水解同时释放能量。

假说二,精子膜电动势的变化引起精子运动。

Boitano 等人 1992 年认为,海水鱼精子的膜电动势通常是固定的数值。当外界环境中的离子或者 pH 值发生变化时,会引发膜电动势的变化。当这一变化达到一定数值时,会引起精子运动。

这一假说具有如下特点:(1)否认精子在启动时伴随有 pH_i 升高的现象;(2)否认 Ca^{2+} 在精子启动过程中具有特殊作用;(3)认为各种离子都是通过改变精子体的局部膜电动势而使精子运动;(4)膜电动势的改变如何引发精子运动尚不清楚。

上述两种观点,都有其相应的实验结果为依据。精子的运动状态发生改变时,pH_i 是否发生变化,可由实验测定,以客观的实验结果为依据。假说一能够对某些现象给以解释,但缺乏普遍性。假说二对于各种离子之间的相互影响可以给出较为统一的解释,但许多实验表明,精子运动时伴随有精子体内 Ca^{2+} 浓度的瞬间升高,这一结果在 Boitano 1993 年的另一实验中也观察到了。因此,精子体内 Ca^{2+} 浓度的变化在精子启动过程中可能有一种特殊的作用,但是这一变化并非只通过改变外界溶液中的 Ca^{2+} 浓度来实现。

针对硬骨鱼精子的结构特点,以及精子运动时所伴随的生理现象,我们希望通过一种新的假说,来解释其内部分子机制:精子膜中分布着钠泵、钾泵、钙泵等 ATP 水解酶。当外界环境中的离子浓度发生变化时,精子通过这些离子泵来维持细胞内的离子平衡和电荷平衡(亦即细胞膜电动势的稳定)。当各种离子浓度的变化超过一定限度时,精子通过改变细胞质中的 Ca^{2+} 浓度,以维持上述两种平衡。细胞质中的 Ca^{2+} 浓度,可以通过细胞器线粒体调节。 Ca^{2+} 进入线粒体以后,与 PO_4^{3-} 和(或)专门的蛋白质结合。 PO_4^{3-} 的浓度降低,诱导 ATP 降解;蛋白质本身是单磷酸腺苷(AMP)环化酶的拮抗物,这种蛋白质浓度降低时,使二磷酸腺苷(ADP)转化成为 cAMP,而 ADP 浓度的降低,又促使 ATP 降解。ATP 降解时所产生的大量能量,满足精子运动时的需要。因此,精子的运动可以被看作其对不良环境的躲避。不仅仅是离子,任何其他物质(如蛋白质),如果同样能够使精子胞质中的 Ca^{2+} 浓度升高,那么,同样能够诱导精子运动。

上述假说,能够对已有的实验现象作出较为满意的解释。但这一假说能否成立,还有待实验检验。线粒体对于胞质中 Ca^{2+} 浓度的稳定是否发挥作用,以及是如何发挥作用的,是检验这一假说的关键。

参考文献

- 1 鲁润龙,顾月华.细胞生物学.合肥:中国科技大学出版社,1991. 155~156
- 2 Hiroyuki, T. and Masaaki M.. *Journal of Cell Science*, 1995, 108: 1 175~1 181
- 3 Oda, S.. *Development and Growth Differentiation*, 1995, 37: 257~261