مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و دوم/شماره ۲۸۸/هفته اول مرداد ماه ۱۳۹۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۳/۳۱

بررسی نقش سیستم یوبیکوئیتین– پروتئوزوم در فرایند اسپرماتوژنز

عرفانه شایگان نیا[۱]، مرضیه تولایی[۲]، دکتر محمد حسین نصر اصفهانی[۳]

مقاله مروری

چکیده

مقدمه: یوبیکوئیتین اولین بار در سال ۱۹۷۵ به عنوان یک پروتئین ۸/۵-kDa موجود در سلول شناسایی شد. یوبیکوئیتین، یک پروتئین بسیار حفاظت شده است؛ به طوری که یوبیکوئیتین انسان و مخمر در ۹۶ درصد توالی ژنتیکی مشترک هستند. این پپتید، به طور معمول به عنوان شاخص نشان‌گذاری سلول جهت حذف توسط پروتئوزوم شناخته شده است، اما نقش‌های دیگری همانند دخالت در آپوپتوز، تمایز و غیره برای آن در نظر گرفته شده است. آن چه که بیشتر در این مطالعه مد نظر می‌باشد، بررسی نقش سیستم یوبیکوئیتین– پروتئوزوم در فرایند اسپرماتوژنز است.

روش‌ها: مقالات جستجو شده در پایگاه‌های اطلاعاتی Entrez Pubmed و پایگاه‌های مرتبط با مقالات ISI مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: یوبیکوئیتین در طی بلوغ اسپرم، از سلول‌های اپیتلیال اپیدیدیم آزاد می‌شود و بر روی سطح اسپرم‌های غیر طبیعی که باید حذف شوند، قرار می‌گیرد. امکان دارد تعدادی از این اسپرم‌ها بدون حذف شدن در اپیدیدیم، در مایع انزال مشاهده شود.

نتیجه‌گیری: در برخی از تحقیقات دیده شده است که یوبیکوئیتیناسیون ممکن است به عنوان یک روند فیزیولوژیک در طی ظرفیت‌یابی افزایش پیدا کند و این افزایش، نشانه‌ی کیفیت خوب اسپرم است. بنابراین، یوبیکوئیتیناسیون علاوه بر حذف اسپرم‌های آسیب دیده، می‌تواند در فرایند ظرفیت‌یابی اسپرم نیز نقش داشته باشد.

واژگان کلیدی: یوبیکوئیتیناسیون، مسیر یوبیکوئیتیناسیون– پروتئوزوم، اسپرماتوژنز، ناباروری مردان

ارجاع: شایگان نیا عرفانه، تولایی مرضیه، نصر اصفهانی محمد حسین. **بررسی نقش سیستم یوبیکوئیتین– پروتئوزوم در فرایند اسپرماتوژنز.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۳؛ ۳۲ (۲۸۸): ۸۷۰-۸۵۴

مقدمه

یوبیکوئیتین، به عنوان یک پپتید نشان‌گذار پروتئولیتیک سلولی است که برای کنترل عملکردهای پیچیده‌ی سلول‌های انسانی و حیوانی ایفای نقش می‌کند (۱). اصلی‌ترین عملکرد یوبیکوئیتین، نشان‌دار کردن پروتئین‌ها به منظور تجزیه توسط سیستم پروتئوزومی (Proteosomal) است و مشخصه‌ی کلیدی آن، ۷ ریشه‌ی اسید آمینه‌ی لیزین در انتهای C می‌باشد. در کنار این نقش، پایداری، عملکرد و محل قرارگیری پروتئین‌های داخل سلولی را نیز کنترل می‌کند (۱). در پی اضافه شدن یک یوبیکوئیتین به سوبسترا، مولکول‌های یوبیکوئیتین بیشتری می‌توانند

۱- کارشناس ارشد، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده‌ی زیست فناوری جهاد دانشگاهی، گروه زیست فناوری تولید مثل، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، اصفهان، ایران
۲- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی تکوین و عضو هیأت علمی، پژوهشکده‌ی زیست فناوری جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان و گروه زیست فناوری تولید مثل، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، اصفهان، ایران
۳- استاد، پژوهشکده‌ی زیست فناوری جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان و گروه زیست فناوری تولید مثل، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل و مرکز باروری و ناباروری اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمد حسین نصر اصفهانی
Email: mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org

به اولی اضافه شوند و یک زنجیره‌ی پلی یوبیکوئیتین را تشکیل دهند. به طور معمول، حدود ۴ مولکول یوبیکوئیتین به سوبسترا اضافه می‌شود. در این حالت، پروتئین برای تجزیه شدن به سمت کمپلکس پروتئوزوم پیش برده می‌شود (۲). پروتئوزوم، یک کمپلکس چند زیر واحدی است که وظیفه‌ی تجزیه‌ی پروتئین‌های نشان‌دار شده به وسیله‌ی یوبیکوئیتین را دارد (۳)؛ ساختار و وظایف آن در ادامه خواهد آمد.

یوبیکوئیتیناسیون:

نشان‌گذاری یک پروتئین به وسیله‌ی یوبیکوئیتین، یوبیکوئیتیلاسیون یا یوبیکوئیتیناسیون (Ubiquitylation or ubiquitination) نام دارد که از مراحل زیر تشکیل شده است:

فعال‌سازی یوبیکوئیتین: یوبیکوئیتین در یک فرایند دو مرحله‌ای و با استفاده از آنزیم فعال‌سازی یوبیکوئیتین (E۱) که از Adenosine triphosphate (ATP) به عنوان یک منبع انرژی استفاده می‌کند، فعال می‌شود. مرحله‌ی اول شامل تولید یوبیکوئیتین-آدنیلات است. مرحله‌ی دوم، یوبیکوئیتین را به باقی‌مانده‌ی سیستئین جایگاه فعال E۱، با رهاسازی AMP (Adenosine monophosphate)، منتقل می‌کند. این مرحله منجر به ایجاد یک پیوند تیواستر بین گروه کربوکسیل انتهای C یوبیکوئیتین و گروه سولفیدریل سیستئین آنزیم E۱ می‌شود (شکل ۱).

۱- انتقال یوبیکوئیتین از E۱ به سیستئین سایت فعال آنزیم متصل کننده‌ی یوبیکوئیتین E۲، از طریق واکنش ترانس استریفیکاسیون (Esterification) صورت می‌گیرد.

۲- آخرین مرحله‌ی یوبیکوئیتیناسیون، یک پیوند ایزوپپتیدی بین لیزین پروتئین هدف و گلیسین انتهای C یوبیکوئیتین توسط یک آبشار آنزیمی به وجود می‌آید. در کل، این مرحله نیازمند فعالیت یکی از صد پروتئین یوبیکوئیتین لیگاز E۳ -که اغلب به عنوان یوبیکوئیتین لیگاز نام برده می‌شود- می‌باشد. آنزیم‌های E۳ به عنوان شناسایی باقی‌مانده‌ی سوبسترا در سیستم عمل می‌کنند و توانایی برقراری ارتباط با هر دو E۲ و سوبسترا را دارند.

در آبشار یوبیکوئیتیناسیون، E۱ می‌تواند با دومین‌های E۲، که خود می‌توانند با صدها E۳ پیوند برقرار کنند، به صورت شبکه‌ای ارتباط برقرار کند. دیگر پروتئین‌های شبیه یوبیکوئیتین نیز از طریق آبشار E۱-E۲-E۳ عمل می‌کنند (۱) (شکل ۱).

آنزیم E۳:

این آنزیم یکی از دو ناحیه‌ی زیر را دارا می‌باشد:

۱- ناحیه‌ی HECT (Homologous to the E۶-AP carboxyl terminus)

۲- ناحیه‌ی RING (Really interesting new gene or the closely-related U-box domain)

۳- جدول ۱ مشخصات اصلی پروتئین یوبیکوئیتین را نشان می‌دهد.

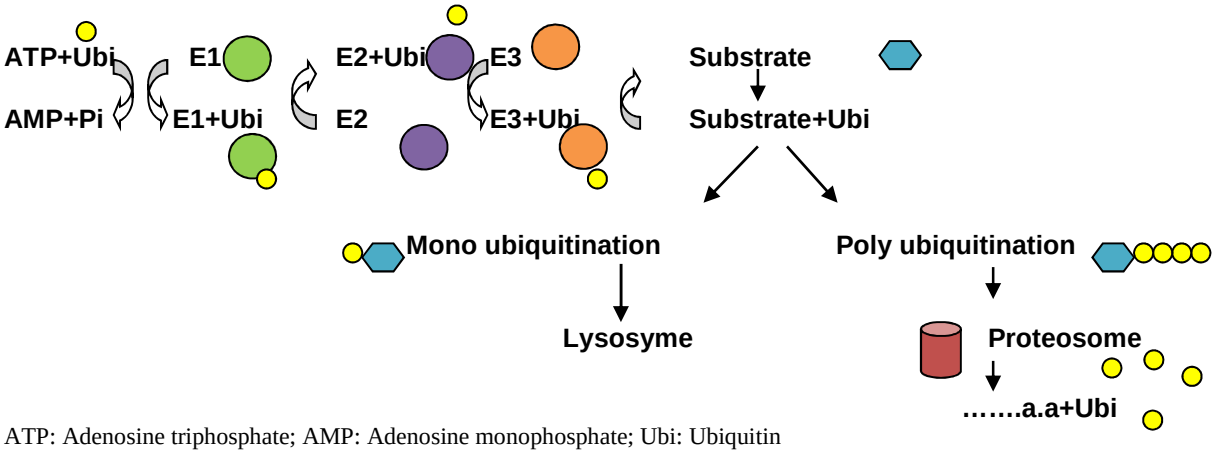
وظیفه و تنوع اصلاحات یوبیکوئیتین

یوبیکوئیتیناسیون بر روی توالی ۷ ریشه‌ی اسید آمینه‌ی لیزین مولکول سوبسترا صورت می‌گیرد. اضافه شدن یوبیکوئیتین در طی تکامل بر روی لیزین ۴۶ و ۴۸ صورت گرفته است. ممکن است تنها یک مولکول یوبیکوئیتین به سوبسترا اضافه گردد که به آن مونویوبیکوئیتیناسیون اطلاق می‌شود (۱). مونویوبیکوئیتیناسیون پروتئین را برای انتقال به سمت لیزوزوم نشانه‌گذاری می‌کند (۲) (شکل ۱).

یوبیکوئیتین همچنین می‌تواند پروتئین‌های تراغشایی (گذرنده از غشا یا Transmembrane) را برای حذف کردن از غشاها و انجام تعدادی نقش‌های سیگنالی درون سلولی علامت‌گذاری کند. مولکول‌های تراغشایی سطحی سلول که با یوبیکوئیتین علامت‌گذاری شده‌اند، اغلب مونویوبیکوئیتینه هستند. این علامت‌گذاری منجر به تغییر مکان پروتئین بر سطح سلول می‌شود و اغلب پروتئین را برای تخریب توسط لیزوزوم مورد هدف قرار می‌دهد (۲).

پروتئوزوم

پروتئوزوم ۲۶s شامل یک کمپلکس چند زیر واحدی است که دارای یک مرکز استوانه‌ای شکل ۲۰s که از یک یا دو سمت به وسیله کمپلکس تنظیم کننده‌ی ۱۹s پوشیده شده است، تشکیل گردیده است (شکل ۲). درون حلقه‌ی تو خالی پروتئوزوم ۲۰s دو حلقه‌ی β که شامل ۷ زیر واحد است، وجود دارد (PSMB۱-۷) β۱-۷ (۳). درون این حلقه‌ها آنزیم‌های پروتئولیتیک وجود دارد. زیر واحدهای PSMB۵-۷، دارای پپتیدهایی با فعالیت‌های هیدرولیزی شبه تریپسین و شبه کیموتریپسین هستند، که مسؤول تجزیه‌ی پروتئین‌های وارد شده به این حلقه‌ها می‌باشند. هر ناحیه از این حلقه‌های β، از تک حلقه‌های α که هر حلقه‌ی α شامل هفت زیر واحد است (PSMA۱-۷) ۱-۷α تشکیل شده است. نقش حلقه‌های α، تنظیم ورود پروتئین‌های هدف به درون حلقه‌های β جهت تجزیه‌ی آن‌ها است (۴). کمپلکس (کلاهک یا Cap) تنظیم کننده‌ی ۱۹s دارای فعالیت‌های پپتیداز، اکسیدوردوکتاز و بی‌شکل کردن پروتئین‌ها است. این کمپلکس مسؤول شناسایی، اتصال و از بین بردن رشته‌های پلی‌یوبیکوئیتینه‌ی موجود بر روی سوبستراهای پروتئینی هستند که برای تخریب هدف‌گذاری شده‌اند (۵).

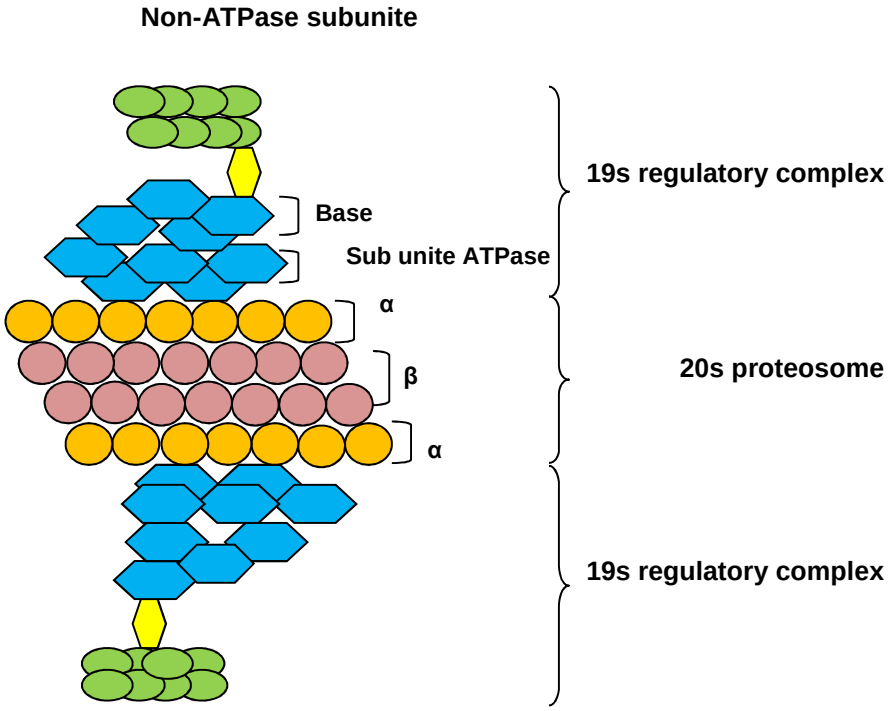


ATP: Adenosine triphosphate; AMP: Adenosine monophosphate; Ubi: Ubiquitin

شکل ۱. مراحل یوبیکوئیتیناسیون: فعال‌سازی یوبیکوئیتین (تولید یوبیکوئیتین آدنیلات)، اتصال یوبیکوئیتین به آنزیم E۱، انتقال یوبیکوئیتین از E۱ به آنزیم E۲، انتقال یوبیکوئیتین به آنزیم E۳ و سپس انتقال آن به سوبسترا. در این مرحله، منویوبیکوئیتیناسیون صورت می‌گیرد و برخی از سوبستراها با اتصال تنها یک یوبیکوئیتین (منویوبیکوئیتیناسیون) به منظور تجزیه به سمت لیزوزوم هدایت می‌شوند؛ اما ممکن است به یوبیکوئیتین اولیه‌ی متصل شده به یک سوبسترا، چندین یوبیکوئیتین دیگر نیز متصل گردد که در اصطلاح گفته می‌شود پلی‌یوبیکوئیتیناسیون صورت گرفته است. در این صورت، سوبسترای مورد نظر به سمت پروتئوزوم پیش برده می‌شود و تجزیه می‌گردد.

جدول ۱. مشخصات پروتئین یوبیکوئیتین

مشخصات پروتئینی یوبیکوئیتین	
تعداد باقی‌مانده‌های اسید آمینه‌ای (Number of residues)	۷۶
وزن مولکولی	۸۵۶۴/۴۷ Da
نقطه‌ی ایزوالکتریک (IP یا Isoelectric point)	۶/۷۹ (pH)
ژن های کد کننده	UBC و UBB ،UBA۵۲ (UBCEP۲) ،RPS۲۷A (UBA۸۰ ،UBCEP۱)



شکل ۲. قسمت‌های مختلف تشکیل دهنده‌ی پروتئوزوم که شامل دو ناحیه‌ی ۱۹s و یک ناحیه‌ی ۲۰s میانی می‌گردد

کلاهک ۱۹s دارای دو نوع زیر واحد متفاوت است که در آن به هم آمیخته‌اند. یک دسته از آن‌ها وابسته به ATP هستند (PSMC۱-۶ یا Rpt۱-۶) و نوع دوم، غیر وابسته به ATP هستند (PSMD۱-۱۴ یا Rpn۱-۱۲) (۵). کلاهک ۱۹s، به دو ناحیه‌ی چند زیر واحدی تقسیم می‌شود: قسمت پایه و قسمت سرپوش. ناحیه‌ی پایه شامل ATPaseها (PSMC۱-۶ یا Rpt۱-۶) و غیر ATPaseها (Rpn۱(PMSD۲)، Rpn۲(PMSD۱) و Rpn۱۰(PMSD۴) است. شناسایی پروتئین‌های یوبیکوئیتینه شده در زیر واحدهای غیر ATPase Rpn۱۰(PMSD۴) رخ می‌دهد. در سال‌های اخیر پیشنهاد شده است که زیر واحد Rpn۱۳/ARM۱ در شناسایی رشته‌ی پلی‌یوبیکوئیتینه شده شرکت دارد. مشخص شده است که ATPaseهای PSMC۱-۶ یا Rpt۱-۶ می‌چرخند و به پروتئین اجازه می‌دهند که وارد هسته‌ی ۲۰s شوند (۶).

انتهای زیر واحدهای غیر ATPase (PSMD۱۱-۱۲ یا Rpn۳-۹)، ناحیه‌ی سرپوش کمپلکس ۱۹s را می‌سازد (۶). برخی از این زیر

واحدهای غیر ATPase ممکن است، مسؤول به کارگیری آنزیم‌های دیوبیکوئیتینه کننده که مولکول‌های یوبیکوئیتین را از سوبسترای پروتئینی خود جدا می‌کنند، باشند. در ادامه‌ی این مرحله از دیوبیکوئیتیناسیون، سوبسترای پروتئینی می‌تواند به تنهایی جهت تخریب وارد ناحیه‌ی مرکزی شود و مولکول‌های یوبیکوئیتین آزاد هم می‌توانند توسط سلول برای نشان‌دار کردن دیگر پروتئین‌ها مورد استفاده قرار بگیرند (۷). مهار کردن فعالیت دیوبیکوئیتیناسیون توسط کمپلکس ۱۹s در نهایت موجب تحریک و افزایش تجزیه‌ی پروتئین توسط پروتئوزوم می‌شود (۸).

در حضور مهار کننده‌های آنزیم‌های دیوبیکوئیتینه کننده، زنجیره‌ی یوبیکوئیتینه شده از سوبسترای پروتئینی متصل شده به کمپلکس ۱۹s جدا نمی‌شود. در عوض، این رشته‌های یوبیکوئیتین همراه سوبسترایی که به آن متصل هستند، تجزیه می‌گردند. مهار کنندگان دیوبیکوئیتیناسیون نه تنها برای متوقف کردن دیوبیکوئیتیناسیون، بلکه برای تحریک تجزیه‌ی پروتئین توسط پروتئوزوم پدیدار می‌شوند (۸).

پروتئوزوم‌ها در سیتوپلاسم، غشای خارجی شبکه‌ی آندوپلاسمی، اسکلت سیتوپلاسمی و سانتروزوم (۹) و هسته‌ی تمام سلول‌های یوکاریوتی یافت شده‌اند و زیر واحدهای پروتئوزومی حدود بیش از ۱ درصد از تمامی پروتئین‌های سلولی را شامل می‌شوند (۵).

اصلاح کننده‌های شبه یوبیکوئیتین (Ubiquitin-like modifiers)

در حالی که یوبیکوئیتین بهترین اصلاح کننده‌ی بعد از ترجمه‌ای است، یک خانواده‌ی پروتئینی مشابه یوبیکوئیتین که هر روز تعداد بیشتری از آن‌ها شناخته می‌شود، نیز وجود دارد که هدف‌های سلولی را نشان‌دار می‌کند که باید حذف شوند اما یوبیکوئیتینه نیستند. این پروتئین‌ها از لحاظ ساختار سه بعدی مشابه یوبیکوئیتین هستند. برای مثال، SUMO (Small ubiquitin-like modifier) تنها در ۱۸ درصد از سری مشخصات با یوبیکوئیتین مشترک است، اما ساختار سه بعدی مشابه یوبیکوئیتین دارد. این حالت پیچیدگی در ساختار سه بعدی، تاخوردگی یوبیکوئیتین (Ubiquitin fold) نام دارد. این پیچیدگی (تاخوردگی یوبیکوئیتین) در خود پروتئین یوبیکوئیتین، UBLها (Ubiquitin-likeproteins) و پروتئین‌های دارای تاخوردگی فضایی مشابه تاخوردگی یوبیکوئیتین دیده شده است (۱۱-۱۰).

پروتئین‌های شبیه یوبیکوئیتین عبارت از اصلاح کننده‌های کوچک شبیه یوبیکوئیتین (SUMO)، پروتئین کراس واکنشی (UCRP یا Ubiquitin cross-reactive protein)، اصلاح کننده‌ی ۱ مربوط به یوبیکوئیتین URM۱ (Ubiquitin related modifier۱) و ... می‌باشند.

این مولکول‌ها، عملکردهای منحصر به فرد دارند و بر مراحل مختلف بیولوژیکی تأثیر می‌گذارند. همچنین تنظیمات متفاوت بین مسیرهای مختلف را ایجاد می‌کنند. این به دلیل آن است که برخی از پروتئین‌ها با بیش از یک UBL می‌توانند اصلاح شوند. پروتئین‌های متصل شده به UBLها اغلب مورد هدف تجزیه توسط پروتئوزوم نیستند، اما در فعالیت‌های مختلف تنظیمی عمل می‌کنند. اتصال UBL ممکن است باعث تغییر ساختار سوبسترا و تأثیر روی کشش لیگاندها یا مولکول‌های فعال دیگر

شود و مکان سوبسترا را تغییر دهد و بر پایداری پروتئین تأثیر بگذارد (۱۱-۱۰).

ساختار UBLها مشابه یوبیکوئیتین است و با استفاده از مراحل آنزیماتیک که مشابه مکانیسم‌های مربوط به یوبیکوئیتین است، فعال می‌شود، متصل می‌شود و یا جدا می‌گردد. این اصلاح کننده‌ها، آنزیم‌های خاص خود نظیر E۱ (فعال کننده)، E۲ (متصل کننده) و E۳ (لیگاز کننده) را دارا هستند که UBLها را به اهداف درون سلولی متصل می‌کنند (۱۲).

اعمال مختلف یوبیکوئیتین

سیستم یوبیکوئیتیناسیون در مراحل سلولی بسیار متنوعی نقش دارد که شامل مرحله‌ی آنتی ژن، آپوپتوز، بیوژنز ارگانل‌ها، چرخه‌ی سلولی، نسخه‌برداری و ترمیم DNA، تمایز (Differentiation) و تکامل، پاسخ ایمنی و التهاب، تولید پیام‌های عصبی و عضلانی، مورفوژنز شبکه‌ی عصبی، نسخه‌برداری سطح گیرنده‌های سلول، کانال‌های یونی، پاسخ به استرس و تعدیل کننده‌های برون سلولی، بیوژنز ریبوزوم‌ها و عفونت ویروسی و همچنین دیگر فعالیت‌ها می‌باشد (۱۳).

از جمله نقش‌هایی که برای یوبیکوئیتین در نظر گرفته می‌شود، نقش آن در اسپرماتوژنز و مراحل پس از آن می‌باشد که در این مبحث، بر روی این مراحل تمرکز و بحث می‌شود.

نقش یوبیکوئیتین در اسپرماتوژنز (Spermatogenesis)

اسپرماتوژنز شامل مراحل زیر است:

۱. اسپرماتوسیتوژنز: که در طی آن اسپرماتوگونی‌ها تقسیم می‌شوند و نسل‌های پیاپی سلولی ایجاد می‌شود که در نهایت اسپرماتوسیت به وجود می‌آید.

۲. میوز: که در طی آن اسپرماتوسیت‌ها دستخوش دو تغییر پیاپی می‌شوند و تعداد کروموزوم‌ها و مقدار DNA هر سلول به نصف کاهش می‌یابد و اسپرماتید ایجاد می‌شود.

۳. اسپرمیوژنز: سلسله تغییراتی که بر اثر تغییر شکل اسپرماتید به اسپرماتوزوئید به وجود می‌آید، تحت عنوان اسپرمیوژنز نامیده می‌شود (۱۴).

از آن جایی که در طی فرایند اسپرمیوژنز، بلوغ اسپرم رخ می‌دهد؛ در ادامه به تغییراتی که در اسپرم رخ می‌دهد، اشاره می‌گردد:

اسپرمیوژنز

اسپرمیوژنز به ۴ مرحله‌ی گلژی،کلاهک، آکروزوم و بلوغ تقسیم می‌شود (۱۵).

۱. مرحله ی گلژی و کلاهک: اسپرماتید یک سلول کم و بیش کروی است که شامل یک هسته، دستگاه گلژی، سانتریول و میتوکندری می‌باشد.

گرانول‌های کوچک پیش آکروزومی PAS (Postacrosomal sheath) مثبت که سرانجام آکروزوم را تشکیل می‌دهند، در دستگاه گلژی انباشته می‌شوند، در هم می‌آمیزند و گرانول آکروزومی واحدی را ایجاد می‌کنند که در یک غشای محصور کننده‌ی موسوم به کیسه‌ی آکروزومی محصور است. سانتریول‌ها به محلی در نزدیکی سطح سلول و در مقابل ناحیه‌ی تشکیل آکروزوم مهاجرت می‌نمایند، سپس آکسونم تاژک تشکیل می‌شود.

۲. مرحله‌ی آکروزومی: کیسه و گرانول آکروزومی

گسترش می‌یابد، نیمه‌ی قدامی هسته‌ی متراکم شده را می‌پوشانند و از این پس به عنوان آکروزوم شناخته می‌شوند. در این مرحله قطب قدامی سلول که آکروزوم را در بر دارد، به سمت قاعده‌ی لوله‌ی منی‌ساز متوجه می‌شود. در ضمن، هسته هم باریک‌تر و متراکم‌تر می‌گردد. عامل اصلی در تراکم DNA هسته‌ی اسپرم، پروتامین می‌باشد که به جای هیستون قرار می‌گیرد. یکی از سانتریول‌ها به طور دایم رشد می‌کند و تاژک را تشکیل می‌دهد. میتوکندری‌ها به دور بخش ابتدایی تاژک جمع می‌شوند و ناحیه‌ی ضخیمی به نام بخش میانی را می‌سازند که منشأ حرکات اسپرماتوزوئید است.

۳. مرحله‌ی بلوغ: سیتوپلاسم اضافی از سلول جدا می‌شود و سلول‌های سرتولی آن را می‌بلعند. اسپرماتوزوئیدها به داخل لوله‌ی منی‌ساز رها می‌گردند (۱۵).

یوبیکوئیتین و آنزیم‌های متصل کننده‌ی یوبیکوئیتین (E۱ و E۲) (۱۷-۱۶)، ۴UBC (Ubiquitin conjugating) (۱۸) به میزان زیادی در طول اسپرمیوژنز و اسپرماتوژنز در غدد و سلول‌های بنیادی، سلول‌های سرتولی، اسپرماتوشیزوگونی‌ها، اسپرماتوسیت‌ها و اسپرماتیدهای اولیه بیان می‌شوند. E۲ و ۴UBC در طول اسپرماتوژنز فعال هستند، اما PGP۹/۵ (نوع خاصی از UCHL-۱ یا Ubiquitin C-terminal hydrolase-۱) هم در بیضه (۱۹) و هم در اپیدیدیم (۲۰) بیان می‌شود.

یوبیکوئیتین E۱ به عنوان آنزیمی برای جایگزینی هیستون‌ها توسط پروتامین‌ها در حین طویل شدن اسپرماتید می‌باشد. هیستون‌های H۲A، H۳ یوبیکوئیتینه می‌شوند (۲۲-۲۱) و در ضمن آزاد شدن اسپرم در طی اسپرماتوزنز در لوله‌های منی‌ساز (Seminiferous) حذف می‌شوند. در اسپرماتید کشیده، میزان یوبیکوئیتینه شده بعد از جایگزینی توسط پروتامین کاهش پیدا می‌کند (۲۳). کمپلکس منفذهای هسته‌ای (Nuclear pore) نیز از کمپلکس غشای هسته (Envelope) اسپرماتید کشیده، حذف می‌شوند و در لوب سیتوپلاسمی قرار می‌گیرند؛ جایی که می‌توانند یوبیکوئیتینه شوند و مورد پروتئولیز قرار بگیرند (۲۴).

کاهش تدریجی حجم سیتوپلاسم در طول مرحله‌ی هاپلوئید اتفاق می‌افتد. در این زمان، نیمی از میتوکندری‌های اسپرماتید به همراه قسمت اعظمی از سیتوزول، به عنوان اجسام باقی‌مانده توسط سلول‌های سرتولی بیضه حذف می‌شوند.

در سطح ژنوم، اگر آنزیم‌های ترمیم کننده‌ی DNA متصل به یوبیکوئیتین (HR۶B و USP۹Y) غیر فعال بشوند، اسپرماتوژنز طبیعی اتفاق نمی‌افتد (۲۵).

یوبیکوئیتیناسیون در بلوغ و ذخیره‌سازی اسپرم در اپیدیدیم

پس از آن که اسپرماتوزوآها بیضه را ترک کردند، در اپیدیدیم تجمع پیدا می‌کنند. در آن جا به بلوغ نهایی می‌رسند و ذخیره می‌شوند. اپیدیدیم در پستانداران از سه قسمت مجزا تشکیل شده است: سر، تنه و ناحیه‌ی دم،که هر کدام از آن‌ها نقش مشخصی در بلوغ، نگهداری، انتقال و ذخیره‌سازی اسپرم به عهده دارند. پروتئین‌های زیادی به صورت آپوکرین توسط اپیتلیوم اپیدیدیم ترشح می‌شوند که در ایجاد باندهای دی سولفیدی در تثبیت ساختار پیش هسته و کسب قدرت باروری نقش دارند (۲۸-۲۶).

ترشح پروتئین‌های اپیدیدیمی توسط اتصال آن‌ها به اجزای شبه پروتئوزومی و وزیکول‌های مجرایی اپیتلیال اپیدیدیم به درون لومن اپیدیدیم صورت می‌گیرد. این مراحل بلوغ و پایداری، اسپرم را در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو در طول مدت زمان ذخیره‌سازی و پس از آزادسازی آن درون دستگاه تناسلی ماده محافظت می‌کند (۲۸). در حین حرکت اسپرم به سمت انتهای اپیدیدیم، زوائد سیتوپلاسمی تحلیل می‌روند و یا توسط سلول‌های اپیتلیال اپیدیدیم فاگوسیت می‌شوند (۳۰-۲۹).

یوبیکوئیتین، در پلاسمای مایع منی انسان و همچنین در اسپرماتوزوآهای آسیب دیده وجود دارد که این یوبیکوئیتین در طی گذر اپیدیدیمی توسط سلول‌های اپیتلیال اپیدیدیم ترشح می‌شود (۳۱). هر چند غدد ضمیمه‌ی جنسی (Accessory glands) می‌توانند منبع یوبیکوئیتین در پلاسمای مایع منی باشند، اما به نظر می‌آید که منبع بیشتر آن‌ها از اپیدیدیم باشد. این پیشنهاد توسط میزان پایین واکنش آنتی یوبیکوئیتین در پروستات انسان و حیوان، غدد بولبوپورترال (غده‌ی پیازی پیشابراهی یا Bulbulatheral)، سمینال کولیکولوس (Seminal colliculus) و سمینال وزیکول (Seminal vesicle) تقویت می‌شود (۲۴).

مشخص نیست که چگونه اسپرماتوزوآهای آسیب دیده توسط مکانیسم یوبیکوئیتیناسیون شناسایی می‌شوند و از بین می‌روند (۳۲). دیگر پروتئین‌های اصلی اپیدیدیم مانند پروتئین متصل به لنگر پروتئینی گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول (GPI یا Glycosylphosphatidylinositol) غشای پلاسمایی اسپرم CD۵۲/HE۵ (۳۳) و CD۵۵ و CD۵۹ (۳۴)، که در طول بلوغ اپیدیدیمی وارد غشای پلاسمایی اسپرم می‌گردند، می‌توانند هدف یوبیکوئیتیناسیون در اسپرم‌های آسیب دیده باشند و یا برعکس، ممکن است یوبیکوئیتیناسیون که در اپیدیدیم اتفاق می‌افتد، مانع از جابه‌جایی این پروتئین‌ها و ورود آن‌ها به غشای اسپرم گردد. حال اگر اسپرم افراد با تعداد و یا حرکت پایین را در معرض آنتی بادی بر علیه CD۵۲ قرار دهند، درصد اسپرم‌های CD۵۲ مثبت بسیار پایین است. بنابراین CD۵۲ یا به سطح اسپرم مهاجرت نکرده است و یا توسط یوبیکوئیتین پوشانده شده است که نمی‌توان با آنتی بادی اختصاصی ضد CD۵۲ آن را شناسایی نمود (۳۵).

آسیب در ساختار DNA و یا ساختارهای دیگر در بیضه، ممکن است منجر به راه افتادن مسیرهای آپوپتوز گردد و اسپرم‌هایی که در مسیر آپوپتوز قرار می‌گیرند، ممکن است یوبیکوئیتینه شوند. علاوه بر مسیر آپوپتوز، موارد دیگری نیز شاید می‌تواند منجر به یوبیکوئیتیناسیون اسپرم‌های آسیب دیده شوند، که از جمله‌ی این موارد می‌توان به پیچش نامناسب آنتی ژن‌های سطحی اسپرم و یا از بین رفتن ساختار (Denaturation) آن‌ها اشاره نمود (۳۶).

لازم به ذکر است که آسیب و یا حذف کامل غشای پلاسمایی اسپرم در ناحیه‌ی اپیدیدم و یا در اسپرم انزال شده نیز می‌تواند موجب مستعد شدن چنین اسپرم‌هایی جهت یوبیکوئیتیناسیون در این ناحیه گردد. همچنین، نفوذ پذیر کردن و یا نوآرایی غشای پلاسمایی اسپرم می‌تواند موجب در معرض قرار گرفتن آنزیم E۲ (آنزیم متصل شونده‌ی یوبیکوئیتین که به صورت لنگری در غشای اسپرم قرار دارد) شود و آن را برای اتصال به یوبیکوئیتین در

دسترس قرار دهد (۳۷).

اسپرماتوزوآهای آسیب دیده‌ای که در اپیدیدیم و مایع منی انزال شده تجمع پیدا می‌کنند، در محیط آزمایشگاه قابلیت اتصال به سطح یوبیکوئیتینه شده‌ی سلول‌های اپیدیدیم را در محیط کشت گاو، به علت بار مثبتی که دارند، به دست می‌آورند (۳۷). پروتئین‌های دیگری مانند کلاسترین و HEP۶۴ در انباشتگی سلول‌های آسیب دیده نقش دارند و ممکن است در حذف آن‌ها توسط سلول‌های اپیدیدم نقش داشته باشند. جالب است که بدانیم، HEP۶۴، تنها در ناحیه‌ی انتهایی اپیدیدیم در هامستر ترشح می‌شود؛ در صورتی که یوبیکوئیتین در ناحیه‌ی سر (Caput) نیز ترشح می‌شود (۳۹-۳۸).

یوبیکوئیتیناسیون میتوکندری اسپرم در اسپرماتوژنز

یوبیکوئیتیناسیون میتوکندری‌های اسپرم در اسپرماتوژنز بر تخریب هدفمند میتوکندری پدری پس از لقاح دلالت می‌کند. این مکانیسم به ارث رسیدن میتوکندری مادری را توجیه می‌کند. مشخصات سوبستراهای یوبیکوئیتینه شده در میتوکندری‌های اسپرم ناشناخته است. پروهیبین (Prohibitine) یک پروتئین حفاظت شده با وزن مولکول kDa ۳۲-۳۰ است و در غشای میتوکندری جای دارد و یکی از سوبستراهای یوبیکوئیتین است که ایزوفرم‌های زیادی دارد (kDa ۲۸۵-۶۴). یوبیکوئیتیناسیون پروهیبین در اسپرماتیدهای درون بیضه و اسپرماتوزوآها به وجود می‌آید. یوبیکوئیتیناسیون پروهیبین در اسپرماتوزوآهایی که از نظر کارایی ناقص هستند، در مایع انزال زیاد وجود دارد؛ که به نظر می‌آید در اثر یوبیکوئیتیناسیون سطحی در اپیدیدیم رخ داده است.

نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که پروهیبین یکی از سوبستراهای یوبیکوئیتین است و باعث شناخت میتوکندری‌های اسپرم توسط پروتئوزوم- یوبیکوئیتین وابسته به مکانیسم پروتئولیتیک تخم پس از لقاح می‌شود که بسیار شبیه به نشان‌دار کردن اسپرم‌ها در اپیدیدیم برای تخریب است (۴۰).

بسیاری از گزارش‌های منتشر شده ارتباط نزدیکی میان پروتئین پروهیبین و میتوکندری را نشان می‌دهد. از نقش‌های احتمالی برای پروهیبین به عنوان چاپرون برای دیگر پروتئین‌های غشای میتوکندری در طول پروتئولیز کنترل شده، ذکر شده است (۴۱). mRNA و پروتئین پروهیبین در سلول‌های سرتولی و لایدیگ وجود دارند. به علاوه ثابت شده است که پروتئین پروهیبین ترجمه می‌شود و به شکل متفاوتی در طول پیشرفت سلول‌های جنسی (Germ cell) بیان می‌شود. تصور می‌شود که پروهیبین (جزء حفاظت شده‌ی kDa-۳۰ غشای داخلی میتوکندری) به عنوان یک ایزوفرم غیر طبیعی با وزن مولکولی بالا در پستانداران بیان می‌شود. پروهیبین از نظر عملکردی در تنظیم سیکل سلولی، تمایز و نامیرایی سلول‌ها نقش دارد (۳۲).

یوبیکوئیتین، پروتئوزوم و ظرفیت‌یابی اسپرم

در خلال ظرفیت‌یابی اسپرم، تغییراتی در غشای پلاسمایی اسپرم رخ می‌دهد. در غشای خارجی آکروزوم و پوشش آکروزومی در آماده‌سازی برای اگزوسیتوز آکروزومی تغییراتی صورت می‌گیرد (۴۲).

pH اولیه‌ی آکروزوم موش، اسیدی است. اعتقاد بر این است که علت آن غیر فعال نگه داشتن پروتئازهای پروآکروزین است (۴۲). به محض آن که اسپرماتوزوآ تحت ظرفیت‌یابی قرار گیرد، pH از

سطح پایه‌ی آن افزایش پیدا می‌کند. این تغییر موجب می‌شود که پروآکروزین از لحاظ پروتئولایتیکی به صورت آکروزین فعال درآید که آن نیز فرایندهای پروتئولایتیکی را در ماتریکس میتوکندری آغاز می‌کند (۴۳). به غیر از تغییرات pH که موجب فعال‌سازی پروتئازهای موجود در اسپرم می‌شود، فسفریلاسیون نیز موجب آن می‌گردد. در سال‌های اخیر نشان داده شده است که پروتئین متصل به آکروزین (sp۳۲) که در ماتریکس میتوکندی وجود دارد، در طول ظرفیت‌یابی (Capacitation) اسپرماتوزوآی گراز، تیروزین فسفریله می‌شود (۴۴). زیر واحد پروتئوزومی- (PSMA۱)α۶ و پروتئین دارای والوزین (Valosine) (کوفاکتور ارایه‌ی سوبسترا به کمپلکس تنظیم کننده‌ی ۱۹s پروتئوزومی) نیز فسفریله می‌شوند.

لکه‌های پروتئینی مشخص شده به وسیله‌ی آنتی بادی علیه زیر واحد اصلی (PSMA۴)α-۳/۲۰s و (PSMB۱)β-۶ در ژل الکتروفورز دو بعدی قبل و بعد از ظرفیت‌یابی اسپرم گراز افزایش اندازه نشان می‌دهد. احتمال می‌رود که در طول ظرفیت‌یابی اسپرم، تغییراتی در ساختار پروتئوزومی اسپرم رخ می‌دهد (۴۵). افزایش اندازه‌ی زیر واحد هسته‌ی ۲۰s ممکن است به علت فعال شدن هسته‌ی ۲۰s باشد، در حالی که همچنین احتمال دارد که تغییرات فسفریلاسیون زیر واحد هسته‌ی ۲۰s موجب این افزایش بشود، مانند آن چه که در sp۳۲ دیده می‌شود که تغییری در الگوی تیروزین فسفریلاسیون کل پروتئین‌ها در اسپرم ظرفیت‌یابی شده‌ی طبیعی (در انسان) در حضور اپوکسی مایسین (مهار کننده‌ی پروتئوزوم) رخ می‌دهد (۴۶-۴۵).

مشخص شده است که پروتئوزوم‌ها در طول فرایندهای **ظرفیت‌یابی اسپرم**، فعال می‌شوند و مهار شدن آن‌ها موجب نقص در پدیده‌ی **ظرفیت‌یابی اسپرم** می‌گردد. در کل، پروتئوزوم‌ها به منظور شرکت در جابه‌جا کردن پروتئین‌های متصل به غشا در حین فرایند ظرفیت‌یابی ظهور می‌یابند. اما تمامی فعالیت‌های پروتئوزوم در طول ظرفیت‌یابی اسپرم نیست. فعالیت‌های پروتئوزومی در دیگر فرایندهای لقاح مانند اگزوسیتوز آکروزومی نیز نقش دارد (۴۷).

بر اساس تعریف گرتون، اگزوسیتوز آکروزومی به خارج‌سازی محتویات آکروزومی در اندازه‌های متفاوت، بسته به ماتریکس آکروزوم و ساختار غشا گفته می‌شود (۴۷). به نظر می‌آید که اگزوسیتوز آکروزومی در مرحله‌ی ظرفیت‌یابی اسپرم آغاز می‌شود و اتمام آن حاصل اتصال زونا پلوسیدا و وزیکوله شدن غشای خارجی آکروزوم و غشای پلاسمایی است. به محض آن که اسپرماتوزوآ به زوناپلوسیدا (Zona pllucida) متصل می‌شود (۴۷، ۴۳)، واکنش آکروزومی صورت می‌گیرد و پروتئوزوم قادر است برخی از پروتئین‌های زوناپلوسیدا را تخریب کند. پروتئوزوم‌های موجود در آکروزوم در دو ساختار به شکل عمده وجود دارد:

اولین جمعیت پروتئوزوم‌ها در اگزوسیتوز آکروزومی، همانند آن چه که در طی ظرفیت‌یابی اسپرم انسانی القا شده توسط پروتئین‌های ZP۳/ZP۴ نوترکیب رخ می‌دهد، وجود دارد و به نظر می‌رسد که پروتئوزوم‌ها در غشای خارجی آکروزوم قابل ردیابی هستند و ممکن است موجب واکنش آکروزومی شوند (۴۸).

دومین جمعیت پروتئوزوم‌ها پس از اگزوسیتوز

آکروزومی، در غشای داخلی آکروزوم، دیده می‌شوند و فعالیت پروتئولایتیک را در زمان عبور سر اسپرم از ZP، ایجاد می‌کنند. بنابراین، اکنون مشخص شده است که فعالیت پروتئوزومی برای اسپرماتوزوآ در ظرفیت‌یابی اسپرم و اگزوسیتوز آکروزومی اساسی است (۴۹).

بررسی بر روی مدل‌های عروس دریایی نشان داده است که گیرنده‌ی اسپرم بر روی سطح تخمک یوبیکوئیتینه شده، توسط پروتئوزوم اسپرم شناسایی می‌شود و آن‌ها را تخریب می‌کند (۴۹).

یوبیکوئیتیناسیون و تخریب آکروزومی گیرنده‌ی اسپرم بر روی سطح غلاف ویتلین تخمک در عروس دریایی، رخ می‌دهد. در واقع یوبیکوئیتین، آنزیم‌های وابسته به آن و اجزای پروتئوزوم درون اکروزوم وجود دارند و پس از واکنش آکروزومی آزاد می‌شوند و گیرنده‌ی اسپرم را یوبیکوئیتینه می‌کنند و توسط پروتئوزوم تخریب می‌شوند (۵۰). اما در پستانداران و انسان، پروتئوزوم آزاد شده از آکروزوم اسپرم، گیرنده‌ی یوبیکوئیتینه شده (با یوبیکوئیتینی که منشأ اسپرمی ندارد) را تخریب می‌کند. این‌ها نقش مؤثر و لازم حضور یوبیکوئیتین و سیستم پروتئولیز را در انجام عمل لقاح نشان می‌دهد (۵۳-۵۱). در آزمایش‌ها نشان داده شده است که حذف ژن هر کدام از این اجزا، مانع از لقاح می‌شود (۵۴).

همچنین در برخی از تحقیقات دیده شده است که یوبیکوئیتیناسیون ممکن است به عنوان یک روند فیزیولوژیک پس از ظرفیت‌یابی افزایش پیدا کند و این افزایش، نشانه‌ی کیفیت خوب اسپرم است. بنابراین زمانی که بررسی میزان یوبیکوئیتیناسیون به عنوان ارزیابی کیفیت مایع منی استفاده می‌گردد، بایستی به مرحله‌ی ظرفیت‌یابی اسپرم توجه شود (۵۵)؛ زیرا به طور معمول یوبیکوئیتیناسیون به عنوان شاخص منفی برای ارزیابی کیفیت اسپرم استفاده می‌شود و اکثر اسپرم‌هایی که در مایع منی تازه انزال شده با میزان بالای یوبیکوئیتیناسیون دیده می‌شوند، دارای کیفیت پایینی هستند و برای لقاح مناسب نمی‌باشند (۵۶).

یوبیکوئیتیناسیون در مراحل ابتدایی جنینی

یوبیکوئیتیناسیون میتوکندری پدری، در مراحل ابتدایی جنینی صورت می‌گیرد که بحث آن مطرح شد. اتفاقات دیگری در طول لقاح صورت می‌گیرد که وابسته به پروتئولیز است. پروتئولیز ممکن است برای آزادسازی عامل فعال کننده‌ی اووسیت با منشأ اسپرمی (Sperm-born, oocyte-activity factor یا SOAF) در طول حذف پوشش پیش هسته‌ی سر اسپرم در لقاح لازم باشد (۵۷). تجزیه‌ی پوشش پیش هسته در سیتوپلاسم اووسیت می‌تواند توسط مهار کنندگان سرین پروتئاز، مهار شود. گرچه این موضوع مستلزم حضور سیستم یوبیکوئیتیناسیون است. سانتریول اسپرم در طول لقاح از ناحیه‌ی فشرده‌ی دم اسپرم که در تشکیل ساختار دم اسپرم وجود دارد، آزاد می‌شود (۵۸). یوبیکوئیتین و زیر واحدهای پروتئوزومی ۲۶s در ناحیه‌ی سانتریولی دم اسپرم و دیگر نواحی قسمت میانی دم اسپرم وجود دارند و ممکن است در این روند دخالت داشته باشند (۶۰-۵۹).

اولین تقسیم میتوزی جنینی توسط تخریب سایکلین B که وابسته به یوبیکوئیتین است، صورت می‌گیرد. تجمع یوبیکوئیتین همچنین در ناحیه‌ی میانی دومین دوک میتوزی در تخمک‌های لقاح یافته و در

دوک‌های متافاز جنینی دیده می‌شود (۶۱). نقش یوبیکوئیتیناسیون در لقاح و پیشرفت جنینی توسط این یافته که پروتئین شبه یوبیکوئیتین، یوبیکوئیتین لیگاز و یوبیکوئیتین هیدرولاز در سلول تخم پستانداران به شدت بیان می‌شوند، تأیید می‌گردد (۶۲).

یوبیکوئیتیناسیون و ناباروری

آنالیز مورفولوژی اسپرم توسط میکروسکوپ نوری، اطلاعات مفید (و نه کامل) را نسبت به کیفیت اسپرم به ما می‌دهد (۶۳). نشانگرهای مولکولی کیفیت مایع منی، نیز برای ارزیابی ناباروری در مردان به کار می‌رود، مانند آنکسین V (Annexin V)، p۶۴ و Fas-لیگاند به عنوان نشانگر منفی و p۳۴H و sp۲۲ به عنوان نشانگر مثبت برای شناسایی علل بیماری در ناباروری به کار می‌رود (۶۴). یوبیکوئیتین، به عنوان یک نشانگر عمومی برای ناهنجاری‌های اسپرم و مایع منی شناخته می‌شود که ناهنجاری‌های اسپرمی شامل انواع ناهنجاری‌ها در سر و دم اسپرم می‌شود. میزان بالای یوبیکوئیتین در افرادی که از نقص اسپرماتوژنز رنج می‌برند مشاهده می‌شود، مانند دیسپلازی غشای فیبروز (DFS یا Dysplasia of the Fibrous Sheath) و یا سندرم دم له شده (Stomp tail) و یا اسپرم‌های با سر کروی (Globozoospermia) وجود دارند. در مورد اخیر، نقص در ژن سنتز کننده‌ی آلفا کیناز II دارد (۶۶-۶۵).

آنتی بادی‌های ضد اسپرم، هم در بدن مرد و هم در بدن زن تولید می‌شود و یوبیکوئیتین به عنوان اصلی‌ترین نشانگر اسپرم‌های آسیب دیده می‌تواند در این پاسخ ایمنی نقش داشته باشد (۶۷). اکثر آنتی بادی‌های ضد اسپرمی، باندهای چند گانه‌ای را در وسترن بلات تشکیل می‌دهند و تشخیص این که «کدام یک از آنتی ژن‌های سطح اسپرم مسؤول این پاسخ ایمنی است؟» را مشکل می‌سازد. برای رفع این مشکل، محققان ایزوفرم‌های متفاوت سوبستراهای پلی‌یوبیکوئیتیناسیون را وسترن بلات نمودند و با نمونه‌ی شاهد (سرمی که توسط آنتی بادی‌های ضد یوبیکوئیتین به خوبی شناسایی شده‌اند)، پس از آن که آنتی بادی‌های اضافی آن شسته شده و تنها آن‌هایی باقی مانده‌اند که به سوبسترا متصل می‌مانند، مقایسه کردند.

جالب است اشاره شود هم در افراد دارای انسداد مجرای وابران و هم در عدم حضور مادرزادی مجرای وابران و در مردان وازکتومی شده، میزان بالای ایمنوگلوبین‌های ضد اسپرم در اپیدیدیم تجمع پیدا کرده است و افزایش یوبیکوئیتیناسیون در اسپرماتوزوآی آسیب دیده‌ی چنین مردانی، می‌تواند به علت اشباع ظرفیت پروتئولیتیک اپیدیدیمی اپی‌تلیال، صورت بگیرد. حتی در افراد بارور نیز تمامی اسپرم‌های یوبیکوئیتینه حذف نمی‌شوند و در انزال دیده می‌شود (۶۸).

یوبیکوئیتیناسیون در کنار دسته‌بندی و حذف اسپرم‌های آسیب دیده، می‌تواند آن اسپرم را توسط دستگاه ایمنی حذف کند و از شرکت در رقابت برای رسیدن به تخمک جلوگیری کند (۶۶). برای بار اول، در دستگاه تناسلی ماده، این اسپرم **می‌تواند** توسط لوکوسیت‌های موجود مورد هدف واقع شود و تحت واکنش ایمنی قرار گیرد و مانع از لقاح آن شود. اگر این موضوع صحیح باشد، یوبیکوئیتین می‌تواند یک هدف خوب چه در زن و چه در مرد برای موارد پیشگیری از بارداری باشد (۶۶).

در حالی که یوبیکوئیتیناسیون اسپرم اغلب در

اپیدیدیم اتفاق می‌افتد، تجمع یوبیکوئیتین در سلول‌های بیضه ممکن است نشان دهنده‌ی یک مسیر پاتولوژیکی باشد. این مورد به طور معمول در بیمارانی که تحت درمان سرطان با مواد شیمیایی هستند و یا در نکروز بافت بیضه مرتبط با سن، دیده می‌شود (۶۷).

نتیجه این که اصلی‌ترین عملکرد یوبیکوئیتین، نشان‌دار کردن پروتئین‌ها به منظور تجزیه توسط سیستم پروتئوزومی است. پروتئوزوم، یک کمپلکس چند زیر واحدی است که وظیفه‌ی تجزیه‌ی پروتئین‌های نشان‌دار شده به وسیله‌ی یوبیکوئیتین را دارد. سیستم یوبیکوئیتیناسیون در مراحل سلولی بسیار متنوعی نقش دارد، مانند دخالت در مراحل نسخه‌برداری و ترمیم DNA، تمایز و تکامل، پاسخ ایمنی و التهاب، تولید پیام‌های عصبی و عضلانی و غیره. از جمله نقش‌هایی که برای یوبیکوئیتین در نظر گرفته می‌شود، نقش آن در اسپرماتوژنز و مراحل پس از آن می‌باشد.

یوبیکوئیتین، آنزیم‌های متصل کننده‌ی یوبیکوئیتین (E۲ و E۱) و ۴UBC به میزان زیادی در طول اسپرمیوژنز و اسپرماتوژنز در غدد و سلول‌های بنیادی، سلول‌های سرتولی، اسپرماتوگونی‌ها، اسپرماتوسیت‌ها و اسپرماتیدها بیان می‌شوند. در مرحله‌ی بلوغ و ذخیره‌سازی اسپرم در اپیدیدیم، آسیب در ساختار DNA و یا ساختارهای دیگر در بیضه، ممکن است منجر به راه افتادن مسیرهای آپوپتوز گردد و اسپرم‌هایی که در مسیر آپوپتوز قرار می‌گیرند، ممکن است یوبیکوئیتینه شوند. علاوه بر مسیر آپوپتوز، موارد دیگری نیز می‌تواند منجر به یوبیکوئیتیناسیون اسپرم‌های آسیب دیده شوند که از جمله‌ی این موارد می‌توان به پیچش نامناسب آنتی ژن‌های سطحی اسپرم و یا از بین رفتن ساختار آن‌ها اشاره نمود. در حالی که، در برخی از تحقیقات دیده شده است که یوبیکوئیتیناسیون ممکن است به عنوان یک روند فیزیولوژیک پس از ظرفیت‌یابی افزایش یابد و این افزایش، نشانه‌ی کیفیت خوب اسپرم است. بنابراین زمانی که بررسی میزان یوبیکوئیتیناسیون به عنوان ارزیابی کیفیت مایع منی استفاده می‌گردد، بایستی به مرحله‌ی ظرفیت‌یابی اسپرم توجه شود. نقش یوبیکوئیتیناسیون در لقاح و پیشرفت جنینی توسط این یافته که پروتئین شبه یوبیکوئیتین، یوبیکوئیتین لیگاز و یوبیکوئیتین هیدرولاز در سلول تخم پستانداران به شدت بیان می‌شوند، تأیید می‌گردد. بنابراین امکان دارد سیستم یوبیکوئیتین- پروتئوزوم نقش‌های دیگری در مسیر تولید مثلی مذکر و مؤنث داشته باشد که هنوز ناشناخته است و نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسؤولان پژوهشکده‌ی رویان اصفهان ابراز می‌دارند.

References

1. Xu P, Peng J. Characterization of polyubiquitin chain structure by middle-down mass spectrometry. Anal Chem 2008; 80(9): 3438-44.
2. Jesenberger V, Jentsch S. Deadly encounter: ubiquitin meets apoptosis. Nat Rev Mol Cell Biol 2002; 3(2): 112-21.
3. Wojcik C, Benchaib M, Lornage J, Czyba JC, Guerin JF. Proteasomes in human spermatozoa.

Int J Androl 2000; 23(3): 169-77.
4. Glickman MH, Ciechanover A. The ubiquitin--proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. Physiol Rev 2002; 82(2): 373-428.
5. Hendil KB. The 19 S multicatalytic "prosome" proteinase is a constitutive enzyme in HeLa cells. Biochem Int 1988; 17(3): 471-7.
6. Husnjak K, Elsasser S, Zhang N, Chen X, Randles L, Shi Y, et al. Proteasome subunit Rpn13 is a novel ubiquitin receptor. Nature 2008; 453(7194): 481-8.
7. Yao T, Cohen RE. A cryptic protease couples deubiquitination and degradation by the proteasome. Nature 2002; 419(6905): 403-7.
8. Guterman A, Glickman MH. Deubiquitinating enzymes are IN/(trinsic to proteasome function). Curr Protein Pept Sci 2004; 5(3): 201-11.
9. Tulsiani DR, Abou-Haila A. Mammalian sperm molecules that are potentially important in interaction with female genital tract and egg vestments. Zygote 2001; 9(1): 51-69.
10. Welchman RL, Gordon C, Mayer RJ. Ubiquitin and ubiquitin-like proteins as multifunctional signals. Nat Rev Mol Cell Biol 2005; 6(8): 599-609.
11. Grabbe C, Dikic I. Functional roles of ubiquitin-like domain (ULD) and ubiquitin-binding domain (UBD) containing proteins. Chem Rev 2009; 109(4): 1481-94.
12. Ubiquitin proteasome pathway [Online]. [cited 2014]; Available from: URL: http://www.bostonbiochem.com/about/ubiquitin-proteasome-pathway-upp
13. Thrower JS, Hoffman L, Rechsteiner M, Pickart CM. Recognition of the polyubiquitin proteolytic signal. EMBO J 2000; 19(1): 94-102.
14. Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE, et al. Gray's anatomy. 38th ed. New York, NY: Churchill Livingstone; 1995. p. 125-7.
15. Fawcett DW, Anderson WA, Phillips DM. Morphogenetic factors influencing the shape of the sperm head. Dev Biol 1971; 26(2): 220-51.
16. Kay GF, Ashworth A, Penny GD, Dunlop M, Swift S, Brockdorff N, et al. A candidate spermatogenesis gene on the mouse Y chromosome is homologous to ubiquitin-activating enzyme E1. Nature 1991; 354(6353): 486-9.
17. Wing SS, Jain P. Molecular cloning, expression and characterization of a ubiquitin conjugation enzyme (E2(17)kB) highly expressed in rat testis. Biochem J 1995; 305 (Pt 1): 125-32.
18. Rajapurohitam V, Morales CR, El-Alfy M, Lefrancois S, Bedard N, Wing SS. Activation of a UBC4-dependent pathway of ubiquitin conjugation during postnatal development of the rat testis. Dev Biol 1999; 212(1): 217-28.
19. Kon Y, Endoh D, Iwanaga T. Expression of protein gene product 9.5, a neuronal ubiquitin C-terminal hydrolase, and its developing change in sertoli cells of mouse testis. Mol Reprod Dev 1999; 54(4): 333-41.
20. Fraile B, Martin R, De Miguel MP, Arenas MI, Bethencourt FR, Peinado F, et al. Light and electron microscopic immunohistochemical localization of protein gene product 9.5 and ubiquitin immunoreactivities in the human epididymis and vas deferens. Biol Reprod 1996; 55(2): 291-7.
21. Baarends WM, Hoogerbrugge JW, Roest HP, Ooms M, Vreeburg J, Hoeijmakers JH, et al. Histone ubiquitination and chromatin remodeling in mouse spermatogenesis. Dev Biol 1999; 207(2): 322-33.
22. Chen HY, Sun JM, Zhang Y, Davie JR, Meistrich ML. Ubiquitination of histone H3 in elongating spermatids of rat testes. J Biol Chem 1998; 273(21): 13165-9.
23. Loir M, Dupressoir T, Lanneau M, Le GF, Sautiere P. High mobility group proteins in ram spermatids. Exp Cell Res 1986; 165(2): 441-9.
24. Sutovsky P, Ramalho-Santos J, Moreno RD, Oko R, Hewitson L, Schatten G. On-stage selection of single round spermatids using a vital, mitochondrion-specific fluorescent probe MitoTracker(TM) and high resolution differential interference contrast microscopy. Hum Reprod 1999; 14(9): 2301-12.
25. Baarends WM, van der Laan R, Grootegoed JA. Specific aspects of the ubiquitin system in spermatogenesis. J Endocrinol Invest 2000; 23(9): 597-604.
26. Bedford JM. Evolution of the sperm maturation and sperm storage functions of the epididymis. In: Fawcett DW, Bedford JM, editors. The spermatozoon. Munich, Germany: Urban and Schwarzenberg; 1979. p. 7–21.
27. Cooper TG. Epididymis. In: Knobil E, Neil JD, editors. Encyclopedia of reproduction. San Diego, CA: Academic Press; 1998. P. 602–9.
28. Hermo L, Dworkin J, Oko R. Role of epithelial clear cells of the rat epididymis in the disposal of the contents of cytoplasmic droplets detached from spermatozoa. Am J Anat 1988; 183(2): 107-24.
29. Rao AR, Bane A, Gustafsson BK. Changes in the morphology of spermatozoa during their passage through the genital tract in dairy bulls with normal and impaired spermat ogenesis. Theriogenology 1980; 14(1): 1-12.
30. Roussel JD, Stallcup OT, Austin CR. Selective phagocytosis of spermatozoa in the epididymis

of bulls, rabbits, and monkeys. Fertil Steril 1967; 18(4): 509-16.
31. Lippert TH, Seeger H, Schieferstein G, Voelter W. Immunoreactive ubiquitin in human seminal plasma. J Androl 1993; 14(2): 130-1.
32. Sutovsky P, Moreno RD, Ramalho-Santos J, Dominko T, Simerly C, Schatten G. Ubiquitinated sperm mitochondria, selective proteolysis, and the regulation of mitochondrial inheritance in mammalian embryos. Biol Reprod 2000; 63(2): 582-90.
33. Yeung CH, Schroter S, Wagenfeld A, Kirchhoff C, Kliesch S, Poser D, et al. Interaction of the human epididymal protein CD52 (HE5) with epididymal spermatozoa from men and cynomolgus monkeys. Mol Reprod Dev 1997; 48(2): 267-75.
34. Kirchhoff C. Molecular characterization of epididymal proteins. Rev Reprod 1998; 3(2): 86-95.
35. Yeung CH, Cooper TG, Nieschlag E. Human epididymal secreted protein CD52 on ejaculated spermatozoa: correlations with semen characteristics and the effect of its antibody. Mol Hum Reprod 1997; 3(12): 1045-51.
36. Sinha Hikim AP, Swerdloff RS. Hormonal and genetic control of germ cell apoptosis in the testis. Rev Reprod 1999; 4(1): 38-47.
37. Sutovsky P, Moreno R, Ramalho-Santos J, Dominko T, Thompson WE, Schatten G. A putative, ubiquitin-dependent mechanism for the recognition and elimination of defective spermatozoa in the mammalian epididymis. J Cell Sci 2001; 114(Pt 9): 1665-75.
38. Ibrahim NM, Gilbert GR, Loseth KJ, Crabo BG. Correlation between clusterin-positive spermatozoa determined by flow cytometry in bull semen and fertility. J Androl 2000; 21(6): 887-94.
39. NagDas SK, Winfrey VP, Olson GE. Identification of a hamster epididymal region-specific secretory glycoprotein that binds nonviable spermatozoa. Biol Reprod 2000; 63(5): 1428-36.
40. Thompson WE, Ramalho-Santos J, Sutovsky P. Ubiquitination of prohibitin in mammalian sperm mitochondria: possible roles in the regulation of mitochondrial inheritance and sperm quality control. Biol Reprod 2003; 69(1): 254-60.
41. Arnold I, Langer T. Membrane protein degradation by AAA proteases in mitochondria. Biochim Biophys Acta 2002; 1592(1): 89-96.
42. Honda A, Siruntawineti J, Baba T. Role of acrosomal matrix proteases in sperm-zona pellucida interactions. Hum Reprod Update 2002; 8(5): 405-12.
43. Buffone MG, Foster JA, Gerton GL. The role of the acrosomal matrix in fertilization. Int J Dev Biol 2008; 52(5-6): 511-22.
44. Arcelay E, Salicioni AM, Wertheimer E, Visconti PE. Identification of proteins undergoing tyrosine phosphorylation during mouse sperm capacitation. Int J Dev Biol 2008; 52(5-6): 463-72.
45. Choi YJ, Uhm SJ, Song SJ, Song H, Park JK, Kim T, et al. Cytochrome c upregulation during capacitation and spontaneous acrosome reaction determines the fate of pig sperm cells: linking proteome analysis. J Reprod Dev 2008; 54(1): 68-83.
46. Kong M, Diaz ES, Morales P. Participation of the human sperm proteasome in the capacitation process and its regulation by protein kinase A and tyrosine kinase. Biol Reprod 2009; 80(5): 1026-35.
47. Kim KS, Gerton GL. Differential release of soluble and matrix components: evidence for intermediate states of secretion during spontaneous acrosomal exocytosis in mouse sperm. Dev Biol 2003; 264(1): 141-52.
48. Morales P, Pizarro E, Kong M, Jara M. Extracellular localization of proteasomes in human sperm. Mol Reprod Dev 2004; 68(1): 115-24.
49. Sutovsky P, Manandhar G, McCauley TC, Caamano JN, Sutovsky M, Thompson WE, et al. Proteasomal interference prevents zona pellucida penetration and fertilization in mammals. Biol Reprod 2004; 71(5): 1625-37.
50. Sawada H, Sakai N, Abe Y, Tanaka E, Takahashi Y, Fujino J, et al. Extracellular ubiquitination and proteasome-mediated degradation of the ascidian sperm receptor. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99(3): 1223-8.
51. Sakai N, Sawada H, Yokosawa H. Extracellular ubiquitin system implicated in fertilization of the ascidian, Halocynthia roretzi: isolation and characterization. Dev Biol 2003; 264(1): 299-307.
52. Sun QY, Fuchimoto D, Nagai T. Regulatory roles of ubiquitin-proteasome pathway in pig oocyte meiotic maturation and fertilization. Theriogenology 2004; 62(1-2): 245-55.
53. Morales P, Kong M, Pizarro E, Pasten C. Participation of the sperm proteasome in human fertilization. Hum Reprod 2003; 18(5): 1010-7.
54. Cardullo RA, Thaler CD. Function of the egg's extracellular matrix. In: Hardy DM ,editor. Fertilization. San Diego, CA: Academic Press; 2002. p. 119–52.
55. Zarei-Kheirabadi M, Shayegan NE, Tavalaee M, Deemeh MR, Arabi M, Forouzanfar M, et al. Evaluation of ubiquitin and annexin V in sperm

population selected based on density gradient centrifugation and zeta potential (DGC-Zeta). J Assist Reprod Genet 2012; 29(4): 365-71.
56. Eskandari-Shahraki M, Tavalaee M, Deemeh MR, Jelodar GA, Nasr-Esfahani MH. Proper ubiquitination effect on the fertilisation outcome post-ICSI. Andrologia 2013; 45(3): 204-10.
57. Sutovsky P, Schatten G. Depletion of glutathione during bovine oocyte maturation reversibly blocks the decondensation of the male pronucleus and pronuclear apposition during fertilization. Biol Reprod 1997; 56(6): 1503-12.
58. Perry AC, Wakayama T, Cooke IM, Yanagimachi R. Mammalian oocyte activation by the synergistic action of discrete sperm head components: induction of calcium transients and involvement of proteolysis. Dev Biol 2000; 217(2): 386-93.
59. Bose R, Manku G, Culty M, Wing SS. Ubiquitin-proteasome system in spermatogenesis. Adv Exp Med Biol 2014; 759: 181-213.
60. Mochida K, Tres LL, Kierszenbaum AL. Structural features of the 26S proteasome complex isolated from rat testis and sperm tail. Mol Reprod Dev 2000; 57(2): 176-84.
61. Josefsberg LB, Kaufman O, Galiani D, Kovo M, Dekel N. Inactivation of M-phase promoting factor at exit from first embryonic mitosis in the rat is independent of cyclin B1 degradation. Biol Reprod 2001; 64(3): 871-8.
62. Hwang SY, Oh B, Knowles BB, Solter D, Lee JS. Expression of genes involved in mammalian meiosis during the transition from egg to embryo. Mol Reprod Dev 2001; 59(2): 144-58.
63. Amann RP. Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately? J Androl 1989; 10(2): 89-98.
64. Boue F, Sullivan R. Cases of human infertility are associated with the absence of P34H an epididymal sperm antigen. Biol Reprod 1996; 54(5): 1018-24.
65. Rawe VY, Olmedo SB, Benmusa A, Shiigi SM, Chemes HE, Sutovsky P. Sperm ubiquitination in patients with dysplasia of the fibrous sheath. Hum Reprod 2002; 17(8): 2119-27.
66. Bronson RA. Antisperm antibodies: a critical evaluation and clinical guidelines. J Reprod Immunol 1999; 45(2): 159-83.
67. Primakoff P, Lathrop W, Bronson R. Identification of human sperm surface glycoproteins recognized by autoantisera from immune infertile men, women, and vasectomized men. Biol Reprod 1990; 42(5-6): 929-42.
68. Sutovsky P, Terada Y, Schatten G. Ubiquitin-based sperm assay for the diagnosis of male factor infertility. Hum Reprod 2001; 16(2): 250-8.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 16.03.2014
Vol. 32, No. 288, 1st Week, August 2014
Accepted: 21.06.2014

Role of Ubiquitin-Proteasome in Spermatogenesis Process

Erfaneh Shaygannia MSc[1], Marziyeh Tavalaei MSc[2],
Mohammad Hossein Nasr-Esfahani PhD[3]

Review Article

Abstract

Background: Ubiquitin first time was known at 1975, as an 8.5 KDa protein, existing in the cell. Ubiquitin protein has been highly preserved and it has 96% homology gene sequencing between human and yeast. This peptide has been identified as an index of cell mark for removing it via "proteasome". But, other functions such as participating in the apoptosis, differentiation and etc. have been considered for ubiquitination. In the present study, we tried to concentrate on role of ubiquitin-proteasome system in spermatogenesis process.

Methods: Literature search in Entrez PubMed database, as well as other data sources related to ISI Web of Knowledge.

Findings: Ubiquitin is secreted through epithelial cells of epididymis during sperm maturation, and placed on surface of abnormal sperm that is deleted. It is possible that some of this sperms escape from deletion in epididymis and appear in ejaculate.

Conclusion: Some researches indicated that ubiquitination may increase as a physiological phenomenon during the sperm capacitation which is a positive marker to confirm sperm quality. Therefore, addition to role of ubiquitination in removing abnormal sperm, it can be involved in sperm capacitation process.

Keywords: Ubiquitination, Ubiquitin-proteasome pathway, Spermatogenesis, Male infertility

Citation: Shaygannia E, Tavalaei M, Nasr-Esfahani MH. **Role of Ubiquitin-Proteasome in Spermatogenesis Process.** J Isfahan Med Sch 2014; 32(288): 854-70

1- Department of Reproductive Biotechnology at Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, The Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Isfahan, Iran
2- PhD Student, Faculty Member, Department of Reproductive Biotechnology at Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, The Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Isfahan, Iran
3- Professor, Department of Reproductive Biotechnology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, The Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR) AND Isfahan Fertility and Infertility Center, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Mohammad Hossein Nasr-Esfahani PhD, Email: mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org