

DOI: 10.13376/j.cblls/2015056

文章编号: 1004-0374(2015)04-0433-06

## 鱼精蛋白与雄性生殖

范丽娟<sup>1,2</sup>, 尹苗<sup>1\*</sup>, 仲跻峰<sup>2</sup>, 侯明海<sup>2</sup>, 王长法<sup>2\*</sup>

(1 山东师范大学生命科学学院, 济南 250014; 2 山东省农业科学院奶牛研究中心, 济南 250100)

**摘要:** 鱼精蛋白 (protamine, PRM) 是精细胞中主要的核蛋白, 存在于精子头部, 对精子 DNA 的正确包裹和精子正常功能的维持至关重要。近年研究表明, PRM 主要存在 PRM1、PRM2、PRM3 等 3 种基因, 它们的变异是引发精子生物学异常的重要原因, 因此, PRM 基因可作为候选基因阐述相关雄性先天性不育的病因。主要阐述 PRM 的进化及在 DNA、RNA 和蛋白质水平上 PRM 与雄性不育的关系, 为了解雄性生殖疾病的发生提供理论依据。

**关键词:** 鱼精蛋白; 染色体包裹; 雄性不育

**中图分类号:** Q954.43 **文献标志码:** A

## Protamines and male fertility

FAN Li-Juan<sup>1,2</sup>, YIN Miao<sup>1\*</sup>, ZHONG Ji-Feng<sup>2</sup>, HOU Ming-Hai<sup>2</sup>, WANG Chang-Fa<sup>2\*</sup>

(1 College of Life Science, Shandong Normal University, Jinan 250014, China;

2 Dairy Cattle Research Center, Shandong Academy of Agricultural Science, Jinan 250100, China)

**Abstract:** Protamine (PRM) existing in the sperm head is the major nuclear proteins in sperm cells, playing an important role in the correct packaging of sperm DNA and the maintaining sperm normal function. Recent studies indicated that PRM contained mainly three genes: PRM1, PRM2 and PRM3, which variants were considered as a significant reason for sperm abnormality. Therefore, the PRM could be important candidates in explaining some of the idiopathic male infertility cases in humans. Herein the evolution and basic functions of protamines are summarized. In addition, in order to provide a theoretical basis for understanding the occurrence of fertility diseases, the reciprocal associations between PRM and male infertility at the DNA, RNA, and protein levels are discussed.

**Key words:** protamines; chromosome packaging; male infertility

Miescher 等 (1870) 首次在动物的精细胞中发现了鱼精蛋白, 也称精蛋白, 它是一种相对分子质量小且结构简单的球形碱性蛋白, 一般由 30~50 个氨基酸组成, 其中以带正电荷的精氨酸和组氨酸为主, 可吸引带负电荷的 DNA 发生凝集。目前已从多种鱼类, 如鲑鱼、鲱鱼、红鲱鱼等, 和哺乳动物, 如鼠、人、野猪等的成熟精巢内提取到, 是一类多聚阳离子肽, 也是成熟精子细胞核中最丰富的专一核蛋白<sup>[1]</sup>。

### 1 鱼精蛋白(protamine, PRM)家族组成及进化

#### 1.1 PRM家族组成和分类

在氨基酸水平上, 根据碱性氨基酸组成种类和数量的不同, PRM 可分为 3 种: 单鱼精蛋白,

仅含精氨酸一种碱性氨基酸; 双鱼精蛋白, 含精氨酸、赖氨酸或组氨酸两种碱性氨基酸; 双鱼精蛋白, 含精氨酸、赖氨酸和组氨酸三种碱性氨基酸<sup>[1]</sup>。在 DNA 水平上, 鱼精蛋白存在 PRM1、PRM2 和 PRM3 三种基因, 其中 PRM1、PRM2 基因编码的蛋白质均以精氨酸和组氨酸为主, PRM3 编码的蛋

收稿日期: 2014-04-18; 修回日期: 2014-10-31

基金项目: 山东省中青年科学家科研奖励基金计划项目(BS2011SW049); 山东省农业产业技术体系牛产业创新团队(SDAIT-12-011-02); 山东省高等学校科技项目(J13LE05)

\*通信作者: 尹苗, E-mail: yinmiao@sdu.edu.cn; 王长法, E-mail: wangcf1967@163.com

白质以重复的谷氨酸和天冬氨酸为主。PRM1 存在于所有哺乳动物中, 且非常保守, 在其他脊椎动物(如鱼类)中也能检测到它的存在; PRM2 仅存在于灵长类、啮齿类和少数胎盘类哺乳动物中; PRM3 又称 gene 4, 主要存在于人类、小鼠、大鼠和公牛中。由于 PRM3 编码带负电荷的无内含子酸性蛋白, 故有人认为它不是真正的鱼精蛋白<sup>[1]</sup>。

## 1.2 PRM基因的进化机制及进化动力

### 1.2.1 PRM基因进化机制

PRM 基因的进化发育归结为“两个结构域”机制。系统进化分析显示, 哺乳动物可能从共同的祖先复制遗传了 PRM1 基因, 随着时间推移, 复制发生分歧产生 PRM2 基因, 形成 PRM1-PRM2 团簇结构域; 但在哺乳类、啮齿类、灵长类和偶蹄目的祖先中, PRM1→PRM2 全部结构域被再次复制, 呈现现在的 PRM1→PRM2→PRM3/gene4→ 转型蛋白 (transition protein, TNP) 2 团簇结构域<sup>[2]</sup>(图 1)。此外, 还发现 PRM1 和 gene4/PRM3 基因拥有共同的祖先, PRM2 和 TNP2 基因也拥有共同的祖先<sup>[2]</sup>。

### 1.2.2 性选择对PRM进化的影响

PRM1 和 PRM2 功能结构域进化有差异: PRM1 的部分功能位点进化表现出受限制的正选择, 但足够维持对精子头部表型构造; PRM2 的功能位点在性选择推动下, 其松弛状态被终止, 保证了精子小且瘦长的头部, 使精子更有竞争力<sup>[3]</sup>。Lüke 等<sup>[3]</sup>研究表明, 性选择是精子竞争中促使繁殖蛋白 PRM 快速进化的动力。Martin-Coello 等<sup>[4]</sup>发现, 性选择推动了啮齿类 PRM 基因启动子趋异进化的正选择,



(灰色区域表示外显子; 透明区域表示内含子)

图1 原始PRM的进化过程<sup>[2]</sup>

提高了精子的竞争力, 且 PRM2 启动子的进化使精子具有更强的流线型头部而加快游动。Lüke 等<sup>[5]</sup>发现, 竞争力强的精子 PRM2 mRNA 比 PRM1 mRNA 表达量低, 减少 PRM2 会增加小鼠精子的竞争力, 可能原因是影响了精子头部形态形成。比对小鼠 PRM 核苷酸序列和氨基酸序列, 发现 PRM3 的进化是性选择适应性进化的结果, 并非遗传性趋异进化的正选择造成<sup>[4]</sup>。此外, 在 PRM3<sup>-/-</sup> 敲除小鼠中发现, 精子的速率参数比野生型的小, 但精子数量和生育能力正常, 表明 PRM3 调节小鼠精子的活动力, 对精子表型和形态不起作用<sup>[4]</sup>。因此, 性选择是 PRM 基因调控序列对生殖细胞表型趋异进化的基础, 且 PRM 参与精子核染色质浓缩, 使精子具有强竞争力。

## 2 PRM在精子发生过程中的作用及保护机制

### 2.1 PRM在精子发生过程中的作用

在精子发生过程中, 原始生殖细胞中的初级精原细胞经有丝分裂和减数分裂最终形成成熟的精子。其中在减数分裂过程中, 睾丸特异的生精细胞组蛋白变体逐渐替换体细胞组蛋白; 在精子变态早期, 转型蛋白又替换了组蛋白变体; 最后 PRM 又替换 TNP 完成了精子细胞核蛋白的转换<sup>[1]</sup>(图 2)。PRM 的替代创建了一个精子头部高度浓缩的 DNA-鱼精蛋白复合体 (HPRR), 使 DNA 处于稳定的不转录失活状态。此时精子细胞中整个基因组的基因表达沉默, 精子由圆形变为长形, 最终形成成熟的精子。此外, 高度浓缩的核结构有助于精子的运动, 并且保护精子 DNA 免受损伤<sup>[1]</sup>。若 PRM 的生物合成受阻, 精子核蛋白组型会发生变化, 精子不能充分分化成熟<sup>[6]</sup>; 精子 DNA 异常转录似乎能够抑制 PRM 替换过程, 并且维持组蛋白结合的染色质结构不改变<sup>[6]</sup>。因此, PRM 在精子形成过程中发挥极其重要作用。

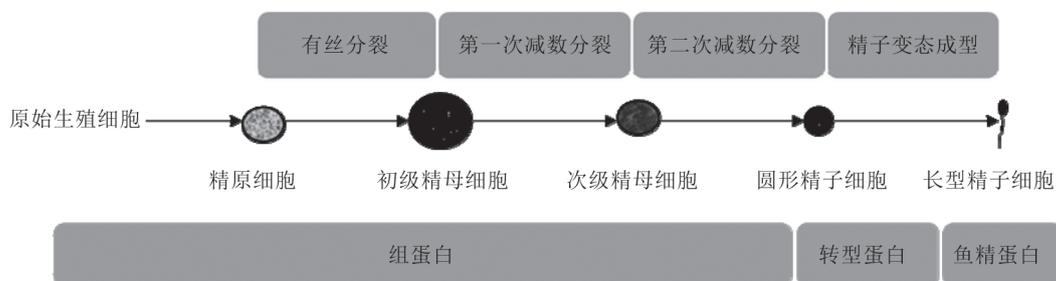


图2 精子发生过程中细胞核蛋白的转换

## 2.2 PRM对精子成熟的保护作用机制

PRM1 和 PRM2 每个单倍体基因组中有 1~15 个 PRM 聚集成簇, 集合到同一条染色体的 DNA 双螺旋上, 其高碱性区的精氨酸或赖氨酸和临近 DNA 螺旋大沟内的基因形成氢键, 半胱氨酸可形成分子间的二硫键, 使平行排列的染色质丝更趋于稳定<sup>[1]</sup>, 此外, PRM1 和 PRM2 与 DNA 的结合中和了 DNA 磷酸二酯键的负电荷, 使相邻的 DNA 分子紧密包裹在一起<sup>[6]</sup>。由于 PRM3 位于细胞质而不是细胞核中, 因而 PRM3 不能结合 DNA, 也不参与浓缩染色质 DNA, 可能在 PRM1 和 PRM2 对精子染色质的浓缩过程中起到调节作用<sup>[4]</sup>。Björndahl 和 Kvist<sup>[7]</sup> 研究表明, PRM 缠绕锌指结构中的锌原子并和 DNA 转录因子位点结合, 共同抑制了 DNA 的转录, 使精子基因组处于短暂的失活状态。Quintanilla-Vega 等<sup>[8]</sup> 研究发现, 铅原子同锌原子竞争结合 PRM2 来抑制 PRM2 与 DNA 结合, 最终影响染色质浓缩。因此, PRM 通过与 DNA 紧密锚定和交联结合, 使精子核染色质模型比一般核小体串珠染色质模型浓缩 5%~16.67%, 提高了精子对 DNA 遗传物质的保护和精子抗损伤性<sup>[7]</sup>, 保证了精子遗传物质顺利通过附睾和雌性生殖道。

## 3 PRM基因的表达及功能

### 3.1 PRM基因的转录和翻译

PRM 的转录主要在圆形精细胞中, PRM1 和 PRM2 在单倍体精细胞的减数分裂后期开始转录。精子转录的 mRNA 存储在抑制翻译的核糖核蛋白 (ribonucleoprotein, RNP) 中<sup>[9]</sup>。PRM 转录本的翻译在长形精子中起始和完成, 在圆形精子中不翻译; 但在成熟长型精子中偶尔也能检测到 PRM mRNA, 推测可能是精子核染色质浓缩后留存下来的残余体, Depa-Martynow 等<sup>[10]</sup> 研究发现, 残余体留存异常会影响 PRM 的翻译调节, 导致雄性不育。

PRM1 直接以成熟的蛋白产物合成, 而 PRM2 先以前体 (Pre-PRM2) 蛋白合成, 在长形精子中 Pre-PRM2 氨基末端经蛋白酶水解加工, 才成为真正成熟的 PRM2 蛋白。PRM 合成异常会造成缺乏顶体的圆头精子症和弱精子症, 使精子穿透功能紊乱, 会导致雄性不育<sup>[11]</sup> 或胚胎发育失败<sup>[12-13]</sup>。过表达 PRM 对精子的形成没有影响, 但 PRM 过早翻译会引起染色质浓缩提前, 阻止精细胞的分化, 也会导致雄性不育<sup>[14]</sup>。Fortes 等<sup>[15]</sup> 发现, PRM 表达量和 DNA 碎片指数 (DNA fragmentation index, DFI)

紧密相关, 合成异常会启动凋亡信号, 引起线粒体失活, 导致含线粒体的精子尾部中段畸形和精子不能游动。

### 3.2 PRM中P1/P2比例的研究及生物学影响

不同物种的成熟精子 PRM1 和 PRM2 比例对维持精子功能正常至关重要。健康男性精液 PRM1 与 PRM2 的表达量接近 1:1<sup>[16]</sup>, Nanassy 等<sup>[16]</sup> 的临床研究表明, 受孕群体 PRM1/PRM2 比例参考范围在 0.54~1.43 之间, 否则精液质量异常, 是影响不孕的主要机制, 因而, PRM1/PRM2 比例有可能作为可靠的生物学预测因子, 评估临床男性不育<sup>[17]</sup>、预测卵胞浆内单精子注射 (intracytoplasmic sperm injection, ICSI) 或体外受精 (*in vitro* fertilization, IVF) 的结果<sup>[18]</sup>。表 1 总结了近 20 年 PRM1/PRM2 比例和男性生殖关系的研究, 如 PRM1/PRM2 比例异常会改变精液参数和 DFI<sup>[19]</sup>, 降低精子的穿透率和受精率<sup>[18]</sup>, 此外, PRM1/PRM2 比例异常引起的精子核退化是精索静脉曲张引起不育的重要因素<sup>[20]</sup>, 但 PRM1/PRM2 比例异常到底是由哪种蛋白质引起还有待进一步研究。有学者认为 PRM1/PRM2 比例异常是由于 PRM1 基因的表达量急剧减少引起<sup>[16]</sup>; 但 Steger 等<sup>[21]</sup> 临床发现, 不育群体 PRM1 和 PRM2 含量均改变, 但 PRM2 比 PRM1 改变更大。此外, Paradowska-Dogan 等<sup>[22]</sup> 研究种马发现, PRM2/PRM1 比例和种马精子头部形态异常的精子数量负相关, 和母马的生育能力正相关, 且 PRM3/PRM1 比例对种马精子染色质浓缩不产生影响。然而, 在另一些哺乳动物, 如公牛、野猪等有蹄类动物中, PRM2 的含量是 0, 而一些灵长类动物中的含量接近 80%<sup>[16]</sup>。因此, 不同物种的成熟精子中 PRM1 和 PRM2 比例不一致。

### 3.3 精子PRM的表达模式对伴侣自发多发性流产 (idiopathic recurrent miscarriages, iRM)的影响

对雄性伴侣 iRM 研究发现, 来自父方的因素可能是潜在的病因。受精卵中存在一些精子 mRNA, 这些转录本释放到卵母细胞翻译成蛋白质, 对早期胚胎形成和着床产生影响, 是胚胎发育的重要因素。研究表明, 精子释放 PRM2 转录本到卵母细胞中, 对早期胚胎的形成有作用<sup>[23]</sup>。经历 iRM 的雄性伴侣中, PRM2 转录水平显著下调。PRM2 的表达量和精子 DNA 链的断裂相关, DFI 与自然受孕或辅助受孕的反复自然流产相关, DFI 超过一定阈值, 则不可能发生妊娠。Kumar 等<sup>[23]</sup> 研究发现, DFI 在 26% 左右与 iRM 相关, DFI 达 30% 与雄性

表1 男性不育患者PRM1/PRM2比例研究<sup>[19]</sup>

PRM1/PRM2比例	研究结果	研究者(年)
改变PRM1/PRM2	精子参数改变; 受精率降低, 胚胎质量下降 (ICSI处理); 精索静脉曲张导致的雄性不育	Lescoat et al. (1988); Bach et al. (1990); Nasr-Esfahani et al. (2004); Ni et al. (2014) <sup>[20]</sup>
降低PRM1/PRM2	与DNA损伤相关; DNA损伤率增加; 受精率降低、胚胎质量较差、怀孕率低	Aoki et al. (2005b); Castillo et al. (2011); Simon et al. (2011)
增加PRM1/PRM2	弱精子症和少精子症	Mengual et al. (2003)
降低PRM1/PRM2和增加PRM1/PRM2	受精指数 < 50 %; 精液品质和精子穿透能力降低(IVF处理); 体外受精率降低低怀孕率(IVF和ICSI处理)	Khara et al. (1997); Aoki et al. (2005a); Aoki et al. (2006c)
降低PRM1/PRM2和降低Pre-PRM2/PRM2		De Mateo et al. (2009)
降低PRM1/PRM2和增加Pre-PRM2	DNA损伤率增加	Torregrossa et al (2006)
没有PRM2	精子穿透能力、形态和能动性降低	Carrell and Liu (2001)

不育症相关, 即无法使雌性受孕。此外, PRM 作为唯一压缩染色质的物质, PRM 最适表达量对精子基因组的完整性至关重要, 低表达量的 PRM 会使精子基因组更易受氧化应激损伤和致突变碱基的积累。高浓度活性氧产生的氧化应激会导致精子形态和运动参数的改变、精子膜功能的改变以及 DNA 单链的形成和双链的断裂。突变碱基的存留会使有缺陷的卵母细胞修复机制激活, 导致胚胎突变负荷增加以及流产和先天性畸形率的增加, 甚至在后代中产生癌症<sup>[23]</sup>。所以, 精子需要全部完整的 PRM 来传递基因组到下一代。

### 3.4 PRM基因单核苷酸多态性和突变研究及生物学影响

精子功能正常需要 PRM 等位基因均具有功能性, PRM 基因突变会产生单倍剂量不足, 易引起男性不育<sup>[24]</sup>。PRM 基因新单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 的发现最初往往会被认为是致病突变体, 但在后续研究中发现其在另一些群体中可能是常见的多态性, 如 PRM1 启动子区 rs2301365(-190 C>A) 多态性, 在伊朗群体中引起精子形态异常和 PRM 比例增大<sup>[24]</sup>, 在汉人群体中引起畸形精子症, 均会导致雄性不育<sup>[25]</sup>, 但在撒哈拉沙漠以南的非洲人群体中此突变体呈正常的多态性<sup>[26]</sup>。不育患者 PRM 这种致病突变可能是进化过程中某一时刻的负选择, 使基因的功能改变且遗传过程中耐受。此外, 报道的 PRM 基因很多错义突变还没有被完全证实是致病性的。Kanippayoor 等<sup>[27]</sup>研究发现, PRM1 基因中频繁的错义突变是由于保

守位点 34 处的精氨酸突变成丝氨酸 (R34S), 且这种突变体多以杂合子状态出现; 但 Jodar 等<sup>[28]</sup>研究表明, PRM1 的 R34S 多态性不会增加男性不育的风险。因此, 在不育患者中检测到的罕见变异体值得更进一步研究。

常见的多态性多以单倍型存在。Tuttelmann 等<sup>[29]</sup>发现 3 个常见的多态性 (1 个在 PRM1 的编码区; 2 个在 PRM2 的内含子区) 存在显著的连锁不平衡, 有 6 个不同的单倍型, 其中 3 个单倍型在人群中最常见。含丰富纯合子单倍型的群体呈现高精子数目和高浓度的精子; 含丰富杂合子单倍型或缺乏单倍型的群体精子参数降低<sup>[29]</sup>。有人认为这是单倍型的正选择, 因为它的存在和精子细胞数目、精子细胞浓度相关, 增加了繁殖机会。基因启动子和 UTR 区的研究发现另外 3 个新的多态性 (1 个在 PRM1 上; 2 个在 PRM2 上), 和前面所述 3 个多态性是连锁不平衡的<sup>[29]</sup>。这 6 个多态性 9 个单倍型, 其中 4 个存在 97% 的研究人群中, 不育患者中有 5 个单倍型显著少于正常对照组。更重要的是, 这些单倍型同样存在于 PRM3 基因和 TNP2 中, 可能和精子参数相关<sup>[29]</sup>。因此, 有很多潜在的遗传多态性可能会改变蛋白质的功能或表达<sup>[29]</sup>, 且精子中发现的多种蛋白突变体在整个精子以及成熟精子中发挥着重要作用。

## 4 总结与展望

人类研究雄性不育已有上百年的历史, 但仍有很多问题尚未解决。遗传变异导致雄性不育是多方

面的, 其中 PRM 作为特异调节精子成熟的相关蛋白, 其功能与雄性不育紧密相关。PRM 蛋白的表达及其对精子核染色质的浓缩、PRM1/PRM2 比率和 PRM SNP 对精子的成熟、遗传物质的保护和传递以及精子正常功能等的影响, 可能导致精液质量下降和受孕率降低, 也会导致早期胚胎发育失败和雄性不育等问题。此外, PRM1/PRM2 比例在临床可作为辅助生殖技术 (assisted reproductive technology, ART) 潜在的生物学标志, 比例异常是雄性不育的可能原因。PRM3 蛋白在精子发生过程中的调控微弱, 可能不影响雄性生殖。

因此, 深入研究 PRM 功能结构调控机制, 研究其在雄性不育发生发展中所起的作用, 可以对疾病治疗提供新思路。基因组学、转录组学、蛋白质组学和代谢组学及系统生物学的发展为明确参与精子核正常重构和雄性不育的病理机制提供新方法, 为将来应用诊断、预防和发展新的治疗提供新的策略。

#### [参 考 文 献]

- [1] Balhorn R. The protamine family of sperm nuclear proteins. *Genome Biol*, 2007, 8: 227-5
- [2] Kasinsky HE, Eirín-López JM, Ausió J. Protamines: structural complexity, evolution and chromatin patterning. *Protein Pept Lett*, 2011, 18(8): 755-71
- [3] Lüke L, Vicens A, Tourmente M, et al. Evolution of protamine genes and changes in sperm head phenotype in rodents. *Biol Reprod*, 2014, 90(3): 67
- [4] Martin-Coello J, Gomendio M, Roldan ER. Protamine 3 shows evidence of weak, positive selection in mouse species (Genus Mus)—but it is not a protamine. *Biol Reprod*, 2011, 84(2): 320-6
- [5] Lüke L, Campbell P, Varea Sánchez M, et al. Sexual selection on protamine and transition nuclear protein expression in mouse species. *Proc Biol Sci*, 2014, 281(1783): 20133359
- [6] Ganguly I, Gaur GK, Kumar S, et al. Differential expression of protamine 1 and 2 genes in mature spermatozoa of normal and motility impaired semen producing crossbred Frieswal (HF×Sahiwal) bulls. *Res Vet Sci*, 2013, 94(2): 256-62
- [7] Björndahl L, Kvist U. Structure of chromatin in spermatozoa. *Adv Exp Med Biol*, 2014, 791: 1-11
- [8] Quintanilla-Vega B, Hoover DJ, Bal W, et al. Lead interaction with human protamine (HP2) as a mechanism of male reproductive toxicity. *Chem Res Toxicol*, 2000, 13(7): 594-600
- [9] Barckmann B, Chen X, Kaiser S, et al. Three levels of regulation lead to protamine and Mst77F expression in *Drosophila*. *Dev Biol*, 2013, 377(1): 33-45
- [10] Depa-Martynow M, Kempisty B, Jagodziński PP, et al. Impact of protamine transcripts and their proteins on the quality and fertilization ability of sperm and the development of preimplantation embryos. *Reprod Biol*, 2012, 12(1): 57-72
- [11] Vozdova M, Rybar R, Kloudova S, et al. Total globozoospermia associated with increased frequency of immature spermatozoa with chromatin defects and aneuploidy: a case report. *Andrologia*, 2014, 46(8): 831-6
- [12] Francis S, Yelumalai S, Jones C, et al. Aberrant protamine content in sperm and consequential implications for infertility treatment. *Hum Fertil: Camb*, 2014, 17(2): 80-9
- [13] Iranpour FG. The effects of protamine deficiency on ultrastructure of human sperm nucleus. *Adv Biomed Res*, 2014, 9: 3-24
- [14] Fukuda N, Fukuda T. The transacting factor CBF-A/Hnnpab binds to the A2RE/RTS element of protamine 2 mRNA and contributes to its translational regulation during mouse spermatogenesis. *PLoS Genet*, 2013, 9(10): e1003858
- [15] Fortes MR, Satake N, Corbet DH, et al. Sperm protamine deficiency correlates with sperm DNA damage in *Bos indicus* bulls. *Andrology*, 2014, 2(3): 370-8
- [16] Nanassy L, Liu L, Griffin J, et al. The clinical utility of the protamine 1/protamine 2 ratio in sperm. *Protein Pept Lett*, 2011, 18(8): 772-7
- [17] Ni K, Steger K, Yang H, et al. Sperm protamine mRNA ratio and DNA fragmentation index represent reliable clinical biomarkers for men with varicocele after microsurgical varicocele ligation. *J Urol*, 2014, 192(1): 170-6
- [18] Tamburrino L, Marchiani S, Montoya M, et al. Mechanisms and clinical correlates of sperm DNA damage. *Asian J Androl*, 2012, 14(1): 24-31
- [19] Jodar M, Oliva R. Protamine alterations in human spermatozoa. *Adv Exp Med Biol*, 2014, 791: 83-102
- [20] Ribas-Maynou J, García-Peiró A, Martínez-Heredia J, et al. Nuclear degraded sperm subpopulation is affected by poor chromatin compaction and nuclease activity. *Andrologia*, 2014, 47(3): 286-94
- [21] Steger K, Wilhelm J, Konrad L, et al. Both protamine-1 to protamine-2 mRNA ratio and Bcl2 mRNA content in testicular spermatids and ejaculated spermatozoa discriminate between fertile and infertile men. *Hum Reprod*, 2008, 23(1): 11-6
- [22] Paradowska-Dogan A, Fernandez A, Bergmann M, et al. Protamine mRNA ratio in stallion spermatozoa correlates with mare fecundity. *Andrology*, 2014, 2(4): 521-30
- [23] Kumar K, Deka D, Singh A, et al. Expression pattern of PRM2, HSP90 and WNT5A in male partners of couples experiencing idiopathic recurrent miscarriages. *J Genet*, 2012, 91(3): 363-6
- [24] Siasi E, Aleyasin A, Mowla J, et al. Association study of six SNPs in PRM1, PRM2 and TNP2 genes in iranian infertile men with idiopathic azoospermia. *Iran J Reprod Med*, 2012, 10(4): 329-6
- [25] Yu QF, Yang XX, Li FX, et al. Association of PRM1-190C->A polymorphism with teratozoospermia. *Natl J*

- Androl, 2012, 18(4): 314-7
- [26] Kichine E, Msaidie S, Bokilo AD, et al. Low-frequency protamine 1 gene transversionsc.102G->T and c.-107G->C do not correlate with male infertility. J Med Genet, 2008, 45(4): 255-6
- [27] Kanippayoor RL, Alpern JH, Moehring AJ. Protamines and spermatogenesis in *Drosophila* and *Homo sapiens*: A comparative analysis. Spermatogenesis, 2013, 3(2): e24376
- [28] Jodar M, Oriola J, Mestre G, et al. Polymorphisms, haplotypes and mutations in the protamine 1 and 2 genes. Int J Androl, 2011, 34(5 Pt 1): 470-85
- [29] Tuttelmann F, Krenkova P, Romer S, et al. A common haplotype of protamine 1 and 2 genes associated with higher sperm counts. Int J Androl, 2010, 33(1): 240-8