

DOI: 10.13376/j.cblls/2017157

文章编号: 1004-0374(2017)11-1185-07

哺乳动物精子超激活运动研究进展

胡启蒙

(廊坊师范学院生命科学学院, 廊坊 065000)

摘要: 哺乳动物精子经过雌性生殖道与卵子发生融合完成受精过程, 需要正常的精子运动能力作为保障。超激活运动可以帮助精子穿透卵子透明带, 与卵子发生结合形成受精卵。精子超激活运动的激发和维持是通过自身生理和雌性生殖道内生化环境共同调节完成的。“超激活运动”自发现起到现在已成为生殖学研究的重要部分, 现对精子超激活运动与受精的关系、调节因子、鞭毛结构、技术手段及未来研究方向进行综述, 为男性不育及避孕等相关临床研究提供理论依据。

关键词: 超激活运动; 鞭毛; 调节因子; 离子通道; 精子

中图分类号: Q959.8; R339.2

文献标志码: A

Research progress of hyperactivation of mammalian sperm

HU Qi-Meng

(College of Life Science, Langfang Teacher's University, Langfang 065000, China)

Abstract: The sperms of mammal need normal kinetism to pass through female reproductive tract to fertilize with the egg. The hyperactivated sperm can penetrate the zona pellucida of the egg to combine with the egg to form oosperm. Activation and maintenance of the hyperactivation of sperm are accomplished through the combination of their own physiology and the biochemical environment within the female reproductive tract. From the introduction of “hyperactivation” to now, it has been one of the most important parts of the reproductive physiology research. This review discusses the relationship between hyperactivation and fertilization, the known structures of flagellum, regulatory factors, technology to analyse the movement of hyperactivated sperm, and the main investigating fields in the future to provide theoretical reference for sterility and contraception.

Key words: hyperactivation; flagellum; regulatory factors; ion channels; sperm

新鲜哺乳动物精子不具有受精能力, 需要经过雌性生殖道完成一系列生理生化反应, 即“获能”才能正常受精^[1]。拥有受精能力的精子具备超激活运动状态, 可以穿透卵子的透明带, 与卵子结合形成受精卵。超激活运动自首次被发现至今已有半个世纪^[2], 此生理现象已成为雄性生理研究的重要内容, 其临床研究包括男性不育症的判断、治疗以及避孕药物的研发^[3]; 畜牧生产方面, 可为人工授精技术以及精子冷冻储藏技术提供理论依据^[4]。精子的超激活运动需要完整的生理结构作为基础, 同时也受到雌性生殖道以及精浆等因素的综合调控。本文从精子超激活运动的定义、趋向性、与受精的关

系、精子鞭毛超显微结构、影响超激活运动的生理因素以及研究超激活运动的技术手段等六个方面来阐明精子超激活运动的相关研究进展, 构建哺乳动物超激活运动的理论框架, 揭示超激活运动的生物学意义, 总结该领域存在的主要问题及未来的研究重点。

1 精子超激活运动定义

1970年, Yanagimachi^[2]研究黄金仓鼠精子体

收稿日期: 2017-04-03; 修回日期: 2017-07-19

基金项目: 廊坊师范学院青年项目(LSLQ201601)

通信作者: E-mail: huqimeng@126.com

外获能时首次观察到精子超激活运动现象，即精子尾部高幅度摆动的不对称急剧运动，被称作“激活”，黄金仓鼠精子穿越输卵管壶腹部时也出现了类似的剧烈运动，这种“激活运动”对于受精作用具有潜在的重要生理功能。在随后研究过程中，Yanagimachi将这种运动模式重新命名为“hyperactivation”，即精子超激活运动，被激活的精子能够穿透输卵管黏稠层和透明带^[5]，完成与卵子结合。

哺乳动物精子的超激活运动形式主要取决于尾部长度以及鞭毛鞘的厚度^[6]，物种间虽有差异，但基本特点均为精子鞭毛弯曲幅度增加和不对称性的摆动，在特定物种超激活运动研究中，有丰富的术语用来表述合力作用下的精子超激活运动的游走轨迹，如“figure-eight”、“whiplash”、“thrashing”以及“circling”等。

2 精子超激活运动和精子受精能力的关系

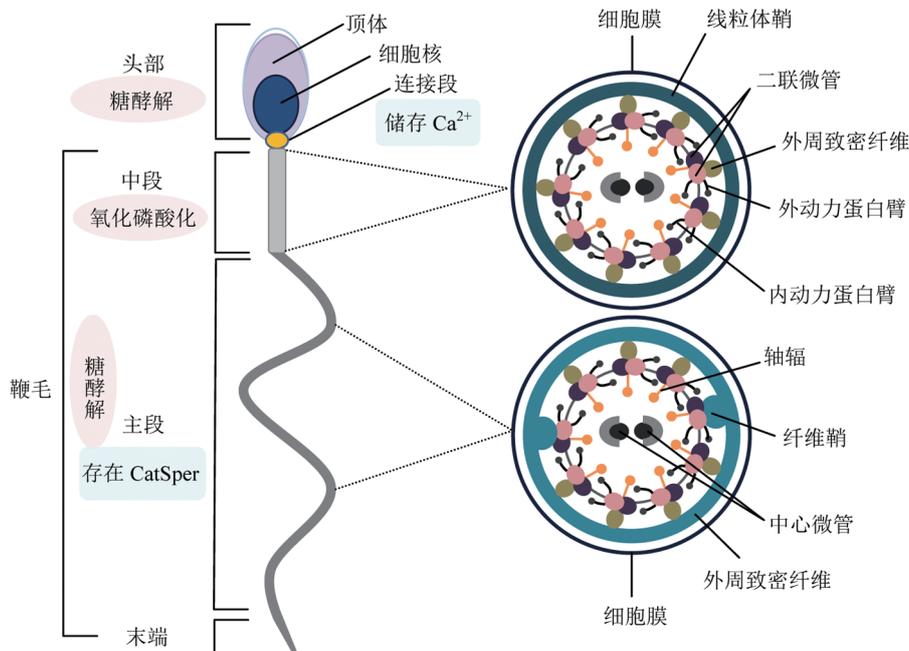
Yanagimachi 研究揭示，精子进入输卵管时遇到稠密的黏液，黏液会增加精子所在生理环境的黏性和弹性，未发生超激活运动的精子被黏液阻碍，不能穿透其黏液层，如弱精症者的精子无法发生超激活运动，不能顺利穿越输卵管与卵子结合，从而影响正常的受精^[7]。实验研究通过添加 Ca^{2+} 通道抑制剂来阻碍精子超激活运动，此时尽管精子依旧具

有运动能力且发生顶体反应，但是绝大多数的精子无法穿越卵细胞的透明带^[8]；通过应用 CatSper (cation channel of sperm) 缺失小鼠模型研究，发现此模型的小鼠精子不能发生超激活运动，只具有前向运动以及发生顶体反应的能力，无法穿越透明带完成精卵融合过程^[8]。毫无疑问，超激活运动在精子穿越透明带时起到了关键性的作用。

哺乳动物精子附着于输卵管峡部的黏性上皮，形成储藏形式的精子^[9]，精子发生超激活运动会帮助其摆脱上皮黏性束缚^[8]，Demott 和 Suarez^[10] 在研究小鼠精子时发现，具有超激活运动的精子才能与输卵管上皮分离，其研究证明 Yanagimachi 的推测是正确的，即超激活运动是精子顺利穿透卵子的透明带，保证受精作用完成的必备条件。

3 精子尾部的超显微结构

对精子超激活运动学的动力研究显示正常精子呈现两种生理性运动方式：一是刚被射出精子的激活运动 (activated motility)；二是具有正常受精能力精子的超激活运动 (hyperactivated motility)^[11]。精子这两种运动的实现需要鞭毛正常完整的生理结构 (图 1)，目前通过研究发现鞭毛的超显微结构包括四部分：连接段、中段、主段以及末端^[12]。连接段非常短，由鞭毛轴丝组成，与精子头部在细胞核植



此图是参考精子鞭毛结构及能量代谢相关报道进行归纳总结^[6,22,32]

图1 哺乳动物精子鞭毛结构及能量代谢示意图

入窝处相连。鞭毛轴丝贯穿于整个鞭毛，是鞭毛最重要的结构。鞭毛轴丝是“9+2”微管对复合体，由“9组二联微管”环绕着“中心微管”所组成。外周二联微管突出内动力蛋白臂和外动力蛋白臂，内外动力蛋白臂作用于双微管，为鞭毛的运动提供驱动力^[13]。同时，外周微管对发出轴辐，呈放射状螺旋式排列在中心微管周围。鞭毛中段占鞭毛总长度的1/4~1/3，包括鞭毛轴丝、九个外周致密纤维以及线粒体鞘。外周致密纤维贯穿鞭毛的中段与主段，而线粒体鞘只存在于鞭毛的中段，是中段鞭毛特有的附属结构。鞭毛中段与主段的衔接处称为“环”，主段部分约占鞭毛总长度的2/3，包括鞭毛轴丝、外周致密纤维以及纤维鞘。外周致密纤维数量由九个变为七个，其中两个被纤维鞘所代替，纤维鞘是主段特有的结构，贯穿于主段。从主段开始到末端的外周致密纤维外围圆形纵肋保证其稳定性。外周致密纤维和纤维鞘逐渐变细，短小的鞭毛尾端部分被称为末端，由细胞膜包围的鞭毛轴丝构成。鞭毛轴丝是所有真核生物体中纤毛和鞭毛的组成成分，线粒体鞘、外周致密纤维和纤维鞘是哺乳动物精子鞭毛特有的附属结构^[14]。

3.1 鞭毛轴丝

鞭毛轴丝是所有真核生物纤毛和鞭毛运动的“马达”，动力蛋白为鞭毛轴丝外周双微管提供动力。动力蛋白是一个重要的蛋白家族，哺乳动物精子 α -和 β -微管蛋白是目前为止发现的最重要的鞭毛轴丝蛋白^[15]。精子运动时腺苷三磷酸酶被激活，引发相应外周鞭毛轴丝双微管的滑动，随着双微管一个向另一个滑动，鞭毛发生弯曲^[16]。如果哺乳动物鞭毛轴丝排列异常，则会出现纤毛乃至精子层面的临床症状，人类及家畜精子鞭毛中轴丝排列异常所造成的精子临床症状已有研究，如鞭毛轴丝的缺失会造成精子运动能力下降，从而造成低繁殖力等^[17]。

3.2 外周致密纤维

外周致密纤维存在于精子鞭毛的主段和中段，具有支持尾部的功能以及传导作用^[18]。精子鞭毛摆动的扭矩源于鞭毛轴丝双微管的张力以及压力，其运动作用力是由双微管之间的动力蛋白臂产生，通过外周致密纤维进行传递，与此同时外周致密纤维也对鞭毛轴丝起到保护作用^[19]。

3.3 线粒体鞘

精子鞭毛中段线粒体鞘上分布有线粒体，一个成熟精子拥有约72至80个线粒体。所有活细胞生长及功能发挥都需要能量，雄性生殖细胞也不

例外。哺乳动物精子利用三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)维持细胞内环境稳定以及为相关生理过程提供能量，如获能、精子活力、超激活运动和顶体反应等^[20]。精子线粒体与体细胞线粒体结构形态上存在不同，这些差异可适应精子具体功能的需要。

精子通过线粒体有氧呼吸产生ATP为鞭毛运动提供能量，然而精子线粒体只存在于精子鞭毛中段。利用ATP弥散常数和精子鞭毛体积计算发现，线粒体所产生的ATP运输到整个鞭毛纤维是有困难的，缺失线粒体氧化磷酸化反应的小鼠精子依然具有受精能力，此时精子中氧化磷酸化反应产生的ATP减少，但是精子依旧保持运动能力^[19]。这些研究数据显示线粒体氧化磷酸化产生的ATP并不提供精子运动的全部能量来源。鞭毛主段纤维鞘也可通过糖酵解途径为鞭毛运动提供能量。

3.4 纤维鞘

纤维鞘存在于鞭毛主段，纤维鞘为鞭毛轴丝双微管提供滑行的轨道，这种滑动形式具有环磷酸腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)依赖性。纤维鞘也具有调节精子运动的功能，某些参与运动调节及代谢过程的蛋白定位于纤维鞘，例如蛋白激酶A锚定蛋白4(A-kinase anchor protein 4, AKAP4)是一种精子特异性蛋白，可将蛋白激酶A锚定于纤维鞘，通过信号通路cAMP/PKA调控精子超激活运动^[21]。

纤维鞘还有一个重要作用是通过糖酵解途径为精子尾部提供能量，糖酵解过程中重要的酶定位于纤维鞘上，例如S-甘油醛-3-磷酸脱氢酶(S-glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)。GAPDH是糖酵解途径产生的特异性酶，可催化甘油醛-3-磷酸形成甘油酸-1,3-二磷酸，进而生成精子运动所需的ATP。综上所述，精子代谢有两条途径：氧化磷酸化途径和糖酵解途径(图1)，精子中段鞭毛通过氧化磷酸化途径为精子提供能量，精子头部和主段鞭毛通过糖酵解为精子提供能量^[22]。

4 影响超激活运动的生理因素

4.1 超激活运动与 Ca^{2+}

体外研究发现激发和维持精子超激活运动的因素有 Ca^{2+} 、cAMP、碳酸氢盐以及蛋白磷酸化^[6]。 Ca^{2+} 是激发精子超激活运动的第二信使，利用 Ca^{2+} 离子载体或导入剂可以诱导精子超激活运动，通过

Ca²⁺ 荧光指示剂发现超激活运动的精子细胞内 Ca²⁺ 浓度升高。哺乳动物精子鞭毛微管滑动具有 Ca²⁺ 依赖性, 可诱导特定双微管运动形成鞭毛不对称运动^[23]。

超激活运动所需的 Ca²⁺ 有两种来源: 一种是通过细胞膜通道进入的胞外钙离子^[24], 另一种是细胞器中存储的钙离子。而超激活运动所需的 Ca²⁺ 主要是通过精子阳离子通道 (cation channel of sperm, CatSper) 从细胞外运输而来^[25]。CatSper 是精子特有的离子通道, 具有弱电压依赖性、Ca²⁺ 选择性以及 pH 敏感性, 可控制精子超激活运动以及精子受精所必需的正电荷——Ca²⁺ 进入精子^[26]。CatSper 位于精子尾部主段 (图 1)^[27], 可将胞外 Ca²⁺ 运输至胞内, 提高胞内钙离子浓度, 从而促进精子快速运动。此钙离子通道是精子超激活运动所必需的, 目前 CatSper 家族最少有七种 CatSper 被研究报道^[28-29]。CatSper 缺失的精子多无法进行超激活运动, 不能穿越透明带与卵子相结合^[30], 例如雄鼠 CatSper-1, -2, -3, -4 缺失突变表现为不育, 源于超激活运动障碍^[27]。CatSper 离子通道与其他离子通道或泵结合激活胞外钙离子进入胞内, 从而增强精子运动能力, 帮助精子通过雌性生殖道, 顺利到达与卵子结合的受精部位^[31]。目前人精子 CatSper 基因已作为目标基因来研究离子信号通道所导致的男性不育症, 通过研究 CatSper 独特的生理结构、严格的基因表达以及完整的生物学功能, 在避孕临床上已有新的突破, CatSper 阻断剂成为一种新型避孕药, 可控制目标信号通路活性选择, 例如 CatSper 阻断剂 HC-056456 可抑制精子超激活运动, 其作用效果类似于 CatSper 缺失精子的生理状态^[30]。

哺乳动物精子中也存在其他种类的钙离子通道, 在小鼠和人精子中存在电压门控钙离子通道^[30]。人精子鞭毛的主段存在瞬时受体感受通道 (transient receptor potential channel)(TRPC-1,-3,-4,-6)^[32-33], 通过缺失小鼠来研究电压门控通道发现, TRPC4 通道和环核苷酸钙离子通道蛋白缺失小鼠是不育的。或许还有其他提供 Ca²⁺ 的通道, 只是在电生理检测过程中处于非活化状态。目前钙离子通道并没有研究透彻, 有待进一步探索。

精子超激活运动所需要的 Ca²⁺ 还有一部分来自于鞭毛所储藏的钙离子, 肌醇 1,4,5- 三磷酸 (IP₃) 门控通道可释放细胞内钙网蛋白, 是钙离子所附着的蛋白, 被定位在鞭毛上的冗余核膜 (redundant nuclear envelope, RNE) 中^[25]; RNE 是一种簇状膜泡,

于精子形成核膜时细胞核凝结过程中生成^[34], RNE 没有被废弃或许是因为其具有储存 Ca²⁺ 的重要作用。哺乳动物精子头部也具有一定的 Ca²⁺ 储存能力^[35], 其功能主要通过顶体胞吐作用来实现。

4.2 其他影响因子

精子需要在恰当的时间和地点激发精子超激活运动, 推测精子超激活运动的特异性信号调节发生在排卵前的输卵管内, 发情期雌性生殖道内存在多种生物分子对精子超激活运动起到激活作用, 如激素、离子等^[36], 可以增加精子尾部摆动频率以及不对称性。

通过对精子超激活运动体内外生理因素研究, 发现孕酮与 pH 相互协同作用可以提高位于精子尾部主段的 CatSper 通透性, 细胞内 Ca²⁺ 升高, 为超激活运动提供必要条件, 而 17β- 雌二醇则会抑制此过程^[37-38]。褪黑素、5- 羟色胺与超激活运动呈正相关, 且具有浓度依赖性^[39]。血管收缩素 (Serotonin) 可通过 5- 羟色胺盐酸盐 (5-hydroxytryptamine hydrochloride, 5-HT₂) 和 (或) 5-HT₄ 受体提高超激活运动, 且具有浓度依赖性^[40], 黄体生成素则可以提升 Ca²⁺ 震荡波的振幅, 降低超激活运动^[41]。

超激活运动也受到外环境影响, 精液渗透压高于雌性生殖道内渗透压, 体外提高精子所在环境的渗透压, 会延缓超激活运动的发生。通过研究钠离子对超激活运动的影响发现, NaCl (150 mmol/L) 可引起细胞内 Ca²⁺ 增加以及促进超激活运动, Na⁺ 对超激活运动的影响是通过 NCX (Na⁺-Ca²⁺ exchanger) 起作用^[41]。精浆中的化学成分 K⁺、Ca²⁺、Cu²⁺ 以及 Zn²⁺ 在精子超激活运动的激发过程中起到协同作用, 但并非主效作用^[42]。

5 超激活运动的趋向性

哺乳动物精子超激活运动是对卵细胞具有化学趋向性的一种生理活动^[43], 精子需要“Guide”靠近卵细胞, 由雌性生殖道环境发出化学因素诱导精子与卵子相遇, 哺乳动物精子可表现出趋化性 (chemotaxis)^[44]、趋温性 (thermotaxis)^[45] 以及趋流性 (rheotaxis)^[46]。精子的化学趋向性类似于细菌的化学趋向性, 外在环境有利时, 精子呈直线型游动, 在不利环境下精子随机选择游动方向, 并重复这个过程直到处于有利环境, 精子由射精开始到精卵结合, 在雌性生殖道内的游走过程体现出上述趋化性状态^[47], 相似的机理涉及精子的趋温性 (31~37 °C) 以及趋流性 (逆向液体流动方向)。

6 超激活运动的研究技术

6.1 CASA

计算机辅助精子分析仪 (computer-assisted semen analysis, CASA) 用于检测精子超激活运动以及分析精子发生超激活运动的比例。鉴定精子超激活运动的方法是通过 CASA 分析系统对比精子在获能培养 (获能组) 环境和非获能培养环境 (对照组) 的运动模式, 测量获能环境下精子运动状态, 设定临界值作为鉴定超激活运动的依据。不同物种精子超激活运动有所不同, 通过参数设置, 可以较准确地检测出不同物种的精子运动情况从而通过计算机系统进行比较分析^[48], 最终统计出样品中精子的运动状态, 帮助研究者判断样品精子是否发生了超激活运动。精子的质量是家畜精子生育能力的一个重要指标, 精子的微观运动可以反映精子的质量; 在实际生产生活中, 精子的微观运动的检测和记录对研究家畜繁殖能力有着深远意义, 通过 CASA 系统分析精子的运动是行之有效的方法^[49]。

目前 CASA 平台应用不仅局限于简单描述精子运动轨迹特征, 而是深入进行精子的功能评估, 通过增加 CASA 技术插件完成精子功能的综合分析研究^[49], 目前有超过 12 种 CASA 应用于精子运动研究以及经济育种生产, CASA 技术在精子方面的研究进展及潜能可参考 Amann 和 Waberski^[50] 的综述。

需要注意的是, CASA 系统只是分析精子头部的运动轨迹, 而要研究精子尾部的运动方式需要借助其他分析工具, 如曲率分析系统, 通过测量尾部弯曲点, 然后绘制尾部的弯曲轨迹进行系统分析。CASA 以及曲率分析系统都受到介质黏性的影响, 黏稠度高的介质会抑制鞭毛摆动, 精子头部黏附在测量槽时其鞭毛运动曲率会受到影响^[51], 增加鞭毛反向运动的幅度, 运动方式由不对称性转换成对称性。发生顶体反应的精子头部黏附性更大, 会影响真实运动轨迹造成测量误差, 消除这种黏性影响的方法可通过在介质中添加防黏物质, 例如琼脂或琼脂糖。

6.2 膜片钳

哺乳动物精子研究过程中涉及其生理结构特异性, 与体细胞存在差异, 例如人精子具有个体小、缺少大部分细胞器、不具有转录和翻译功能 (DNA 处于凝结透明状态), 具有绝对极性和快速运动的能力, 哺乳动物精子这些不寻常的特点使传统学科 (生理学、细胞和分子生物学) 研究技术如电生理、转染、分析基因 / 蛋白质表达模式等, 无法满足深

入研究精子功能的需要, 所以对正常精子的功能认知进程十分缓慢, 但“精子运动”方面的研究技术飞速发展, 例如膜片钳“(patch clamping)”^[52]、高速成像^[53]以及数学 / 物理运算 (建模) 协同作用的精子系统生物学等^[44]。

膜片钳技术产生的精子生理基础是精子细胞具有一种独特的细胞膜结构, 这部分结构与严密的内部结构松散地连接着, 被称为细胞质滴 (cytoplasmic droplets, CD), CD 位于鞭毛中段附近, 可能是射精后遗留下类似于储液器作用的膜结构, 可调节精子在复杂环境中的渗透压变化, 精子 CD 膜结构与反应电极相连, 组成“膜片钳”^[54], 鉴定出精子 Ca^{2+} 、 K^{+} 、 H^{+} 、非选择性多种配合基门控通道^[55], 进而较为准确地研究精子离子的结合遗传模式。

7 总结与展望

哺乳动物精子是一种高度分化的特异性生殖细胞, 随着基因组学、蛋白质组学以及代谢组学等学科技术的发展, 精子生理学也得到了发展。哺乳动物精子超激活运动的宏观层面包括精子鞭毛结构及其附属蛋白种类及功能的鉴定、系统化的认知精子的各项生理功能及其影响因素; 微观研究包括超激活运动的信号通路分子机制 (如 CatSper 通路等)。哺乳动物精子超激活运动的研究具有重要的应用价值, 为临床研究如不育症的判断及治疗、避孕等提供理论依据; 精子运动也是畜牧学生产上的重要指标参数, 为人工授精以及精子冷冻储存技术提供理论基础。

目前哺乳动物超激活运动还需进一步深入研究, 如: (1) 精子体外钙离子是何时以何种方式调控超激活运动; (2) 精子能量代谢两种途径糖酵解和氧化磷酸化是如何相互配合为精子提供能量; (3) 需适当突破专业局限性, 结合工具学科 (物理和数学) 研究精子超激活运动时鞭毛的动力学特性; (4) 通过体外培养实验研究激素和神经递质对超激活运动的影响, 了解发情期雌性生殖道内卵子与精子互作机理。目前关于哺乳动物超激活运动的研究多集中于体外培养, 仅有极少数物种进行了体内实验观察精子在雌性生殖道内的变化, 所以关于雌性生殖道对精子的影响还需要进一步的探究, 从而突破精子生理学的研究困境。

[参 考 文 献]

[1] Naresh S, Atreja SK. The protein tyrosine phosphorylation

- during *in vitro* capacitation and cryopreservation of mammalian spermatozoa. *Cryobiology*, 2015, 70: 211-6
- [2] Yanagimachi R. The movement of golden hamster spermatozoa before and after capacitation. *J Reprod Fertil*, 1970, 23: 193-6
- [3] Rahman MS, Lee JS, Kwon WS, et al. Sperm proteomics: road to male fertility and contraception. *Int J Endocrinol*, 2013, 2013: 360986
- [4] Yoshimoto H, Takeo T, Irie T, et al. Fertility of cold-stored mouse sperm is recovered by promoting acrosome reaction and hyperactivation after cholesterol efflux by methyl-beta-cyclodextrin. *Biol Reprod*, 2017, 96: 446-55
- [5] Li H, Hung PH, Suarez SS. Ejaculated mouse sperm enter cumulus-oocyte complexes more efficiently *in vitro* than epididymal sperm. *Plos one*, 2015, 10: e0127753
- [6] Freitas MJ, Vijayaraghavan S, Fardilha M. Signaling mechanisms in mammalian sperm motility. *Biol Reprod*, 2017, 96: 2-12
- [7] Tamburrino L, Marchiani S, Vicini E, et al. Quantification of CatSper1 expression in human spermatozoa and relation to functional parameters. *Hum Reprod*, 2015, 30: 1532-44
- [8] Ishijima S. Dynamics of flagellar force generated by a hyperactivated spermatozoon. *Reproduction*, 2011, 142: 409-15
- [9] Gangwar DK, Atreja SK. Signalling events and associated pathways related to the mammalian sperm capacitation. *Reprod Domest Anim*, 2015, 50: 705-11
- [10] Demott RP, Suarez SS. Hyperactivated sperm progress in the mouse oviduct. *Biol Reprod*, 1992, 46: 779-85
- [11] Suarez SS. Mammalian sperm interactions with the female reproductive tract. *Cell Tissue Res*, 2016, 363: 185-94
- [12] Ounjai P, Kim KD, Lishko PV, et al. Three-dimensional structure of the bovine sperm connecting piece revealed by electron cryotomography. *Biol Reprod*, 2012, 87: 73
- [13] Fiedler SE, Dudiki T, Vijayaraghavan S, et al. Loss of R2D2 proteins ROPN1 and ROPN1L causes defects in murine sperm motility phosphorylation and fibrous sheath integrity. *Biol Reprod*, 2013, 88: 41
- [14] Turner RM. Moving to the beat: a review of mammalian sperm motility regulation. *Reprod Fertil Dev*, 2006, 18: 25-38
- [15] Lin J, Okada K, Raytchev M. Structural mechanism of the dynein power stroke. *Nat Cell Biol*, 2014, 16: 479-85
- [16] Ishijima S. Self-sustained oscillatory sliding movement of doublet microtubules and flagellar bend formation. *PLoS One*, 2016, 11: e0148880
- [17] Linck RW, Chemes H, Albertini DF. The axoneme: the propulsive engine of spermatozoa and cilia and associated ciliopathies leading to infertility. *J Assist Reprod Genet*, 2016, 33: 141-56
- [18] Zarsky HA, Tarnasky HA, Cheng M. Novel ring finger protein OIP1 binds to conserved amino acid repeats in sperm tail protein ODF1. *Biol Reprod*, 2003, 68: 543-52
- [19] Lindemann CB, Lesich KA. Functional anatomy of the mammalian sperm flagellum. *Cytoskeleton*, 2016, 73: 652-69
- [20] Mukai C, Travis AJ. What sperm can teach us about energy production. *Reprod Domest Anim*, 2012, 47: 164-9
- [21] Teijeiro JM, Marini PE. The effect of oviductal deleted in malignant brain tumor 1 over porcine sperm is mediated by a signal transduction pathway that involves pro-AKAP4 phosphorylation. *Reproduction*, 2012, 143: 773-85
- [22] Plessis SS, Agarwal A, Mohanty G, et al. Oxidative phosphorylation versus glycolysis: what fuel do spermatozoa use? *Asian J Androl*, 2015, 17: 230-5
- [23] Ishijima S. Ca^{2+} and cAMP regulations of microtubule sliding in hyperactivated motility of bull spermatozoa. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*, 2015, 91: 99-108
- [24] Vicentecarrillo A, AlvarezRodriguez M, Rodriguezmartinez H. The CatSper channel modulates boar sperm motility during capacitation. *Reprod Biol*, 2017, 17: 69-78
- [25] Darszon A, Nishigaki T, Neltran C, et al. Calcium channels in the development, maturation, and function of spermatozoa. *Physiol Rev*, 2011, 91: 1305-55
- [26] Loux SC, Crawford KR, Ing NH, et al. CatSper and the relationship of hyperactivated motility to intracellular calcium and pH kinetics in equine sperm. *Biol Reprod*, 2013, 89: 123
- [27] Chung JJ, Shim SH, Everley RA, et al. Structurally distinct Ca^{2+} signaling domains of sperm flagella orchestrate tyrosine phosphorylation and motility. *Cell*, 2014, 157: 808-22
- [28] Miller MR, Mannowetz N, Lavarone AT, et al. Unconventional endocannabinoid signaling governs sperm activation via sex hormone progesterone. *Science*, 2016, 352: 555-9
- [29] Syeda SS, Carlson EJ, Miller MR, et al. The fungal sexual pheromone sirenin activates the human CatSper channel complex. *ACS Chem Biol*, 2016, 11: 452-9
- [30] Singh AP, Rajender S. CatSper channel, sperm function and male fertility. *Reprod Biomed Online*, 2015, 30: 28-38
- [31] Marquez B, Suarez SS. Bovine sperm hyperactivation is promoted by alkaline-stimulated Ca^{2+} influx. *Biol Reprod*, 2007, 76: 660-5
- [32] Barratt CL, Publicover SJ. Sperm are promiscuous and CatSper is to blame. *EMBO J*, 2012, 31: 1624-6
- [33] Darszon A, Sanchez-Cardenas C, Orta G, et al. Are TRP channels involved in sperm development and function? *Cell Tissue Res*, 2012, 349: 749-64
- [34] Alasmari W, Barratt CL, Publicover SJ, et al. The clinical significance of calcium-signalling pathways mediating human sperm hyperactivation. *Hum Reprod*, 2013, 28: 866-76
- [35] Lawson C, Dorval V, Goupil S. Identification and localisation of SERCA 2 isoforms in mammalian sperm. *Mol Hum Reprod*, 2007, 13: 307-16
- [36] Sagare-Patil V, Galvankar M, Satiya M, et al. Differential concentration and time dependent effects of progesterone on kinase activity, hyperactivation and acrosome reaction in human spermatozoa. *Int J Androl*, 2012, 35: 633-44
- [37] Fujinoki M, Takei GL, Kon H. Non-genomic regulation

- and disruption of spermatozoal *in vitro* hyperactivation by oviductal hormones. *J Physiol Sci*, 2016, 66: 207-12
- [38] Fujinoki M, Takei GL. Estrogen suppresses melatonin enhanced hyperactivation of hamster spermatozoa. *J Reprod Dev*, 2015, 61: 287-95
- [39] Fujinoki M, Takei GL. γ -Aminobutyric acid suppresses enhancement of hamster sperm hyperactivation by 5-hydroxytryptamine. *J Reprod Dev*, 2017, 63: 67-74
- [40] Lopeztorres AS, Gonzalezgonzalez ME, Matamartinez E, et al. Luteinizing hormone modulates intracellular calcium, protein tyrosine phosphorylation and motility during human sperm capacitation. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 483: 834-9
- [41] Takei GL, Fujinoki M. Regulation of hamster sperm hyperactivation by extracellular Na. *Reproduction*, 2016, 151: 589-603
- [42] Bolanca I, Obhodas J, Ljiljak D, et al. Synergetic effects of K, Ca, Cu and Zn in human semen in relation to parameters indicative of spontaneous hyperactivation of spermatozoa. *PLoS One*, 2016, 11: e0152445
- [43] Perez-Cerezales S, Boryshpolets S, Eisenbach M. Behavioral mechanisms of mammalian sperm guidance. *Asian J Androl*, 2015, 17: 628-32
- [44] Ishimoto K, Gaffney EA. Mechanical tuning of mammalian sperm behaviour by hyperactivation, rheology and substrate adhesion: a numerical exploration. *J R Soc Interface*, 2016, 13: 20160633
- [45] Seifert R, Flick M, Bonigk W, et al. The CatSper channel controls chemosensation in sea urchin sperm. *EMBO J*, 2015, 34: 379-92
- [46] Miki K, Clapham DE. Rheotaxis guides mammalian sperm. *Curr Biol*, 2013, 23: 443-52
- [47] Armon L, Eisenbach M. Behavioral mechanism during human sperm chemotaxis: involvement of hyperactivation. *Plos One*, 2011, 6: e28359
- [48] Talarczyk-Desole J, Berger A, Taszarek-Hauke G, et al. Manual vs. computer-assisted sperm analysis: can CASA replace manual assessment of human semen in clinical practice? *Ginekol Pol*, 2017, 88: 56-60
- [49] Giaretta E, Munerato M, Yeste M, et al. Implementing an open-access CASA software for the assessment of stallion sperm motility: Relationship with other sperm quality parameters. *Anim Reprod Sci*, 2017, 176: 11-19
- [50] Amann RP, Waberski D. Computer-assisted sperm analysis (CASA): capabilities and potential developments. *Theriogenology*, 2014, 81: 5-17
- [51] Del GR, Sadeghi S, Blasco E, et al. Effect of chamber characteristics, loading and analysis time on motility and kinetic variables analysed with the CASA-mot system in goat sperm. *Anim Reprod Sci*, 2017, 177: 97-104
- [52] Lishko PV, Botchkina IL, Fedorenko A, et al. Acid extrusion from human spermatozoa is mediated by flagellar voltage-gated proton channel. *Cell*, 2010, 140: 327-37
- [53] Ooi EH, Smith DJ, Gadelha H, et al. The mechanics of hyperactivation in adhered human sperm. *R Soc Open Sci*, 2014, 1: 140230
- [54] Xu H, Yuan SQ, Zheng ZH, et al. The cytoplasmic droplet may be indicative of sperm motility and normal spermiogenesis. *Asian J Androl*, 2013, 15: 799-805
- [55] Lishko P, Clapham DE, Navarro B, et al. Sperm patch clamp. *Methods Enzymol*, 2013, 525: 59-83