

Механизм движения жгутиков сперматозоидов

С.А. Руднева, В.Б. Черных

ФГБНУ «Медико-генетический научный центр»; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1

Контакты: Светлана Айвенговна Руднева sveta_a_r@mail.ru

Механизм движения ресничек и жгутиков сперматозоидов основан на скольжении дуплетов микротрубочек друг относительно друга благодаря поступательному движению динеинов — моторных белков, способных перемещаться по поверхности микротрубочек и трансформирующей химическую энергию, содержащуюся в аденозинтрифосфате, в механическую энергию движения. Ранее внешние и внутренние динеиновые ручки считали сходными по структуре и функциям, однако недавно полученные экспериментальные данные свидетельствуют о значительном их различии по составу субъединиц, расположению в аксонеме и механизмам регуляции. И хотя понимание принципов изменения активности описанных моторных белков остается неполным, установлены тонкие механизмы функционирования данных структур.

Ключевые слова: аксонема, движение сперматозоида, жгуттик, микротрубочки, моторные белки, реснички, тубулин

Для цитирования: Руднева С.А., Черных В.Б. Механизм движения жгутиков сперматозоидов. Андрология и генитальная хирургия 2018;19(3):15–26.

DOI: 10.17650/2070-9781-2018-19-3-15-26

A mechanism of sperm cilia beating

S.A. Rudneva, V.B. Chernykh

Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorechye St., Moscow 115522, Russia

The basis of the mechanism of cilia and sperm flagella motility is the sliding of doublets of microtubules relative to each other due to translational movement of dyneins. Previously, external and internal dynein arm were considered similar in structure and functions, however, recent experimental data suggest a significant difference in the composition of subunits, axoneme location, and regulatory mechanisms. And although the understanding of the principles of changes in the activity of the described motor proteins remains incomplete, subtle mechanisms of the functioning of these structures have been established.

Key words: axoneme, sperm motility, eukaryotic flagella, microtubules, motor proteins, cilia, tubulin

For citation: Rudneva S.A., Chernykh V.B. A mechanism of sperm cilia beating. Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery 2018;19(3):15–26.

Введение

Реснички и жгутики — клеточные структуры (органеллы), обеспечивающие подвижность клеток. Жгутики эукариот значительно отличаются от жгутиков прокариот как строением, так и механикой движения [1–3]. В данном обзоре детально рассматривается механизм движения жгутиков и ресничек у эукариот.

Строение и тонкая структура ресничек и жгутиков у эукариот описаны в многочисленных работах [4–6], но до недавнего времени представления о механизме движения динеинов были фрагментарными, и только исследования кристаллической структуры моторных доменов данных белков показали, что движение динеинов происходит благодаря индуцированному аденозинтрифосфатом (АТФ) конформационному изменению

в области линкера данного белка [7, 8]. Однако если бы все динеины активировались одновременно, как головки миозина в сокращающейся мышце, то аксонема закрутилась бы в тугую спираль. Поэтому для того, чтобы возник локальный изгиб реснички или жгутика и чтобы этот изгиб распространялся в виде волны от его основания до самого кончика, должны существовать специальные регуляторные механизмы, координирующие активность данных белков. В настоящее время обсуждают несколько систем, ответственных за координацию работы данных молекулярных механизмов [3, 9–12].

Строение жгутиков и ресничек эукариот

Цилии (реснички и жгутики) эукариот формируются из центриолей, имеют радиально-симметричную



Рис. 1. Схема строения жгутика эукариот в разных его отделах

Fig. 1. Structure of the parts of the eukaryotic flagellum

структуру, состоящую из микротрубочек, моторных белков и вспомогательных структур (рис. 1). У основания реснички/жгутика со стороны цитоплазмы находится базальное тельце (кинетосома), которое образовано 9 периферическими триплетами коротких микротрубочек. Над базальным тельцем в цитоплазматический вырост направлена осевая нить (филамент, аксонема), также образованная микротрубочками и покрытая цитоплазматической мембраной (плазмалеммой).

Сразу за базальным тельцем микротрубочки аксонемы образуют осевую структуру, состоящую в проксимальном отделе из 9 периферических триплетов. Дистальнее (над уровнем плазмалеммы) 1 из микротрубочек в каждом триплете редуцируется (поэтому на большей части жгутика тянутся дуплеты микротрубочек), а в центре появляется пара микротрубочек, окруженная белковой оболочкой (рис. 1). Таким образом, для жгутиков большинства эукариот характерна так называемая структура « $9 \times 2 + 2$ » (9 периферических дуплетов микротрубочек, расположенных по кругу, и 2 микротрубочки в центре) [13–16]. Круговое расположение дуплетов обеспечивается с помощью нексиновых мостиков (рис. 2), которые связывают внешние дуплеты микротрубочек, а также радиальных спиц, которые выступают от каждого из 9 дуплетов по направлению к центральной паре микротрубочек [17].

Строение жгутика сперматозоида отличается от структуры ресничек наличием плотной фиброзной оболочки в промежуточной и главной частях жгутика и наличием слоя митохондрий в промежуточной части жгутика. Митохондрии в сперматозоидах расположены

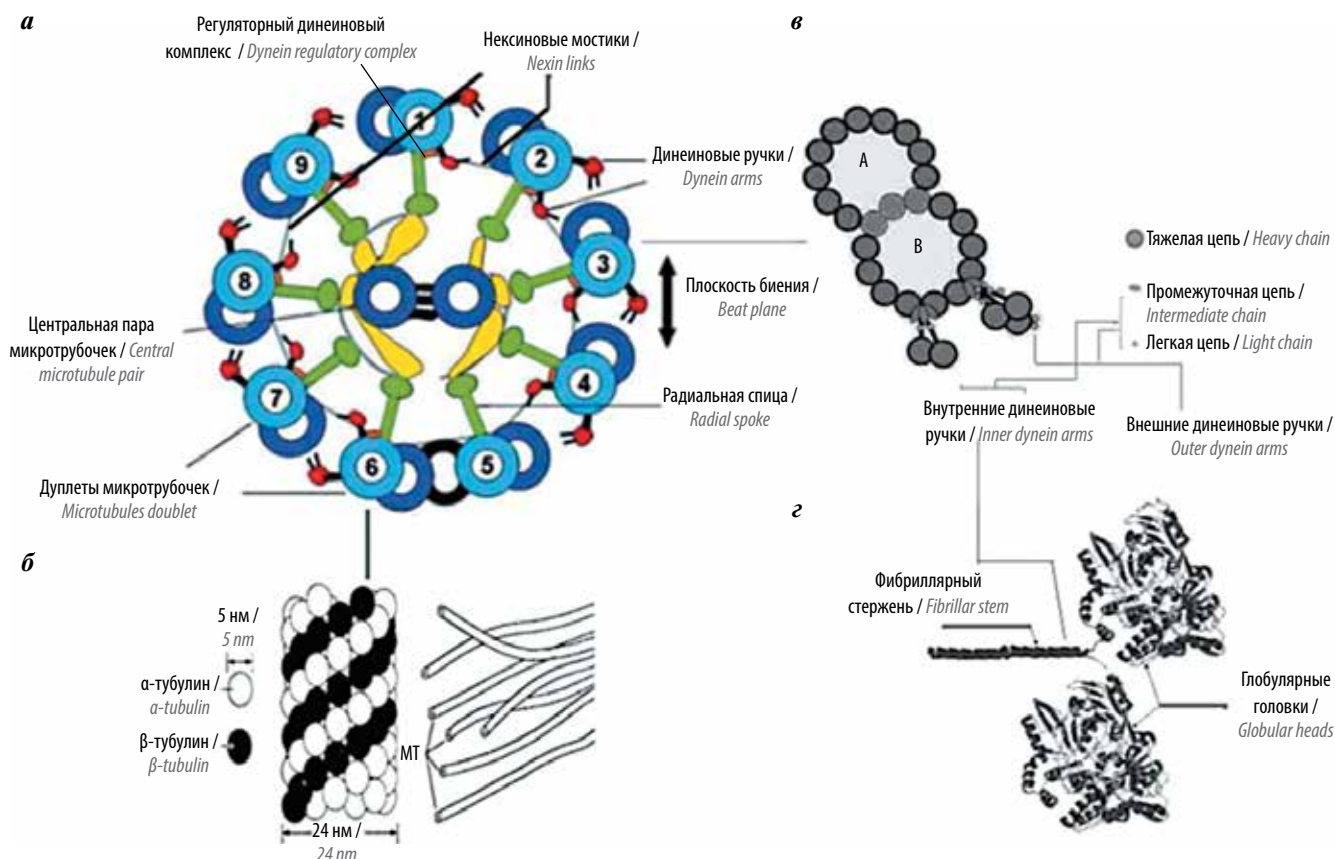


Рис. 2. Схема строения аксонемы жгутика: а — основные элементы аксонемы; б — структура микротрубочки, димеры α - и β -тубулина; в — дуплет микротрубочек: А — полная, В — неполная микротрубочка. Строение внешних и внутренних динеиновых ручек; г — белковая структура внутренних динеиновых ручек

Fig. 2. Structure of the axoneme of the flagellum: а — main elements of the axoneme; б — structure of a microtubule, dimers of α - and β -tubulin; в — microtubules doublet: А — whole, В — partial microtubule. Structure of the outer and inner dynein arms; г — protein structure of the inner dynein arms

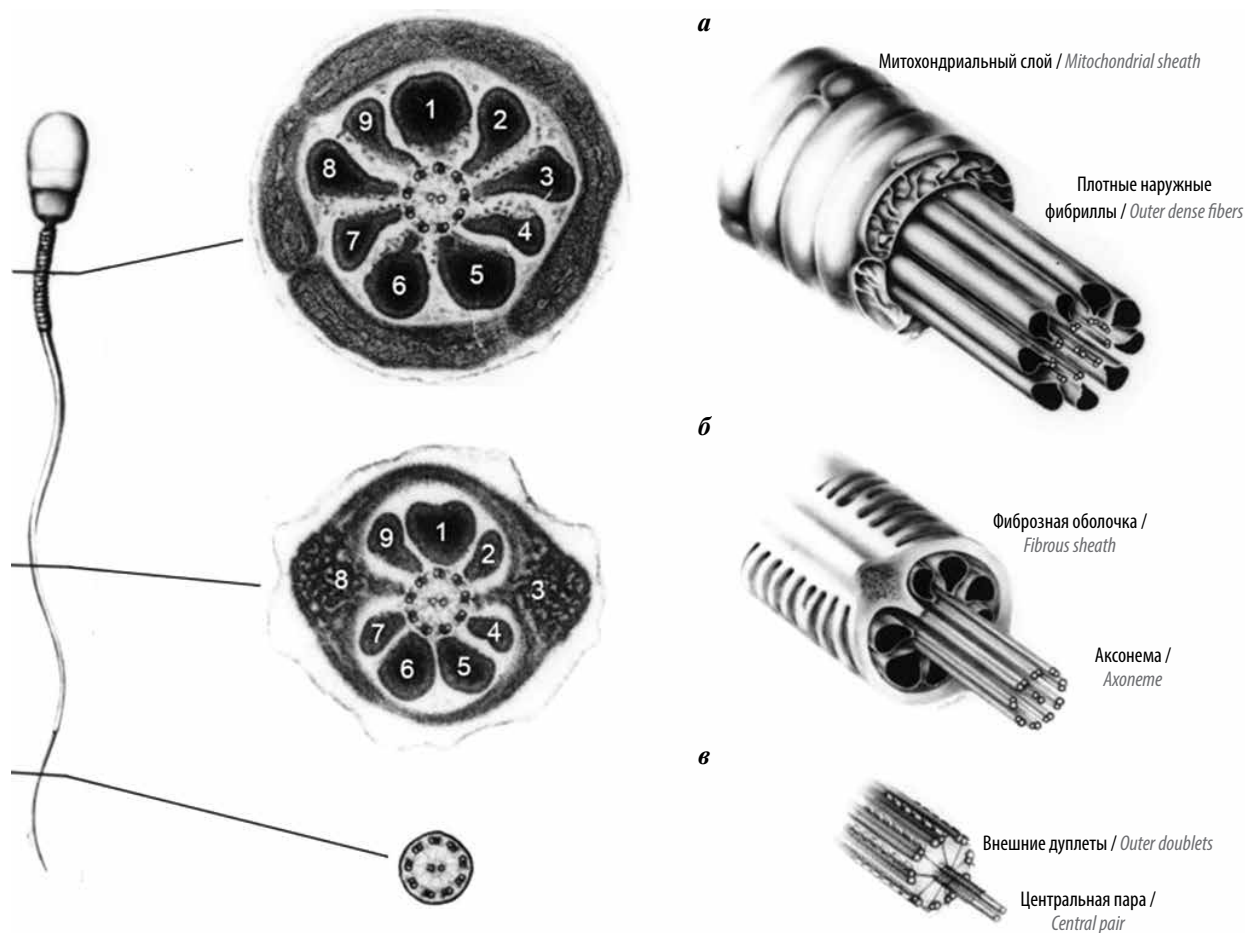


Рис. 3. Строение жгутика сперматозоида: срезы и трехмерные модели соответствующих частей: а — срез промежуточной части жгутика, которая включает фиброзную оболочку, митохондриальный слой и аксонему; б — срез главной части жгутика, которая включает фиброзную оболочку и аксонему; в — срез дистальной части жгутика, которая включает только аксонему [19]

Fig. 3. Sperm flagellum structure: sections and 3D model of the matching pieces: а — section of the mid-piece of the flagellum containing the fibrous sheath, mitochondrial sheath, and axoneme; б — section of the principal piece of the flagellum containing the fibrous sheath and axoneme; в — section of the end-piece of the flagellum containing only the axoneme [19]

вокруг аксонемы по спирали и необходимы для синтеза молекул АТФ (рис. 3). Кроме того, в фиброзной оболочке присутствуют ферменты гликолиза, обеспечивающие сперматозоиды энергией в анаэробной среде женских половых путей [18].

Белковые компоненты аксонемы эукариот, их характеристика и посттрансляционные модификации

Периферические дуплеты образованы 2 микротрубочками, одна из которых полная, а другая неполная. Полная (А-микротрубочка), как и свободные микротрубочки, образована расположенными по кругу 13 гетеродимерами α - и β -тубулина. Неполная (В-микротрубочка) образована 11 гетеродимерами α - и β -тубулина (рис. 2б). Тубулин — глобулярный белок, имеющий массу 55 кДа, диаметром около 4 нм, имеющий принцип

связывания «замок — ключ», что обеспечивает линейное соединение молекул [20]. Основу структуры микротрубочки составляют 13 линейных протофиламентов α - и β -субъединиц тубулина. Таким образом, поперечное сечение микротрубочки имеет ось симметрии 13-го порядка, а на виде сбоку они представляют собой упакованные по спирали субъединицы тубулина (рис. 2в). Кроме того, в дуплетах микротрубочек жгутиков сперматозоидов обнаружены белки тектины, имеющие вторичную структуру, очень схожую со структурой промежуточных филаментов. В составе жгутика тектины формируют тонкие филаменты диаметром 2–3 нм [21]. Они расположены в месте объединения А- и В-микротрубочек и, вероятно, скрепляют их. Несмотря на достаточно большое количество данных о биохимии, строении тектинов и их значении для двигательной активности сперматозоидов [22–24], их функция

остаётся до конца не выясненной. Но, например, Н. Такака и соавт. установили, что самцы мышей с мутацией в одном из генов тектина (*Tektin-t*) бесплодны из-за аномалий строения жгутиков и нарушенной подвижности сперматозоидов [24].

После завершения трансляции молекулы субъединиц тубулина подвергаются модификации. Описано существование α -тубулина в составе микротрубочек ресничек и жгутиков без глутамина и тирозина в положении 450 и 451 полипептидной цепи соответственно. В результате этого модифицированный тубулин перестает быть субстратом для тубулинтирозинлигазы и не подвергается тирозилированию-детирозилированию, а комплекс микротрубочек становится стабильным [25–27]. Стабильность дуплетов также обеспечивается высоким содержанием в микротрубочках ацетилированного α -тубулина. Наиболее часто ацетилированию подвергается лизин, в частности в положении 40 [28]. Кроме того, важное условие соединения А- и В-микротрубочек — посттрансляционные модификации тубулина (полиглутамилирование и полиглицилирование), которые являются обязательным этапом их созревания, в противном случае микротрубочки оказываются функционально неактивными. Так, полиглутамилирование α -тубулина необходимо для взаимодействия микротрубочки с ассоциированными белками и ионами Ca^{2+} [29–32], а полиглицилирование β -тубулина — для обеспечения нормальной подвижности сперматозоидов [33].

В аксонеме к каждой А-микротрубочке присоединены динеиновые ручки, направленные в сторону В-микротрубочек соседнего дуплета (см. рис. 2). Внешние динеиновые ручки образуют 1 ряд и расположены вдоль А-микротрубочек аксонемы с интервалом 24 нм. Внутренние динеиновые ручки образуют 2 ряда и состоят из 7 различных субъединиц, расположенных вдоль А-микротрубочек в шахматном порядке с общей осевой периодичностью и интервалом 96 нм [14]. Это различие в конфигурации динеиновых ручек объясняет тот факт, что их не обнаруживают на некоторых поперечных срезах ресничек и жгутиков при трансмиссионной электронной микроскопии, в том числе в сперматозоидах с нормальным строением аксонемы.

Структура динеинов и механизм их двигательной активности

В 1965 г. I.R. Gibbons и A.J. Rowe впервые определили, что динеин, основной белок динеиновых ручек, выступает как главный моторный белок жгутиков: авторы показали, что при гидролизе АТФ головки динеина перемещаются по микротрубочке соседнего дуплета [34].

Динеин — это крупный белковый комплекс, состоящий от 1 до 3 глобулярных головок, соединённых

с общим основанием тонкими гибкими фибриллярными нитями (рис. 2г). При этом фибриллярная часть динеина вплетена в микротрубочку, а глобулярная головка обладает АТФ-азной активностью [35]. Динеины принадлежат к суперсемейству белков AAA+ (АТФ-аз), использующих энергию гидролиза АТФ для конформационного ремоделирования связанных белков-мишеней. Межсубъединичные взаимодействия модулей AAA+ приводят к образованию характерных для белков AAA+ кольцевых гексамерных структур. Таким образом, ядро динеина — это кольцо из 6 АТФ-связывающих доменов AAA (рис. 4), линкера, и С-терминального участка, от которых отходит антипараллельный спиральный «змеевик», оканчивающийся доменом связывания с микротрубочками (microtubule-binding domain, MTBD) [36].

До недавнего времени механизм движения динеинов был недостаточно изучен. Только в 2012 г. анализ 2 кристаллических структур моторного домена динеина показал, что движение данного моторного белка происходит благодаря уникальному АТФ-индуцированному конформационному изменению в области линкера [7, 8] (рис. 4б, в). Связь этого домена с микротрубочками осуществляется через MTBD, находящийся на конце ножки (рис. 4в). Моторный домен динеина взаимодействует с MTBD благодаря скользящему движению спиралей в стебле «змеевика».

Механизм двигательной активности моторного домена динеина представлен на рис. 4д. Цикл начинается с высвобождения аденозиндифосфата, при этом возникают конформационные изменения кольца белков AAA+, но динеин по-прежнему остаётся связанным с микротрубочками. Далее АТФ связывается с доменом динеина AAA1. Молекула АТФ расщепляется с высвобождением химической энергии, которая идет на высокоэнергетическое конформационное изменение положения линкера и ослабление связи концевой домена с микротрубочками (рис. 4г, д). Потенциальную энергию активной конформации линкера можно сравнить с потенциальной энергией растянутой пружины. Высвобождение этой энергии способствует продвижению головки динеина вдоль микротрубочки и возврату линкера в исходное положение. Таким образом, связывание АТФ с доменом AAA1 снижает сродство MTBD к микротрубочкам, а за счет высвобождения потенциальной энергии линкера позволяет данному домену динеина проследовать до следующего сайта связывания с микротрубочками (рис. 4д) [37, 38].

Описанным выше способом в динеиновом димере моторные домены продвигаются («шагают») вдоль микротрубочек. При этом, когда происходит отсоединение от микротрубочки одного мономера динеина, другой мономер остаётся связанным с микротрубочками.

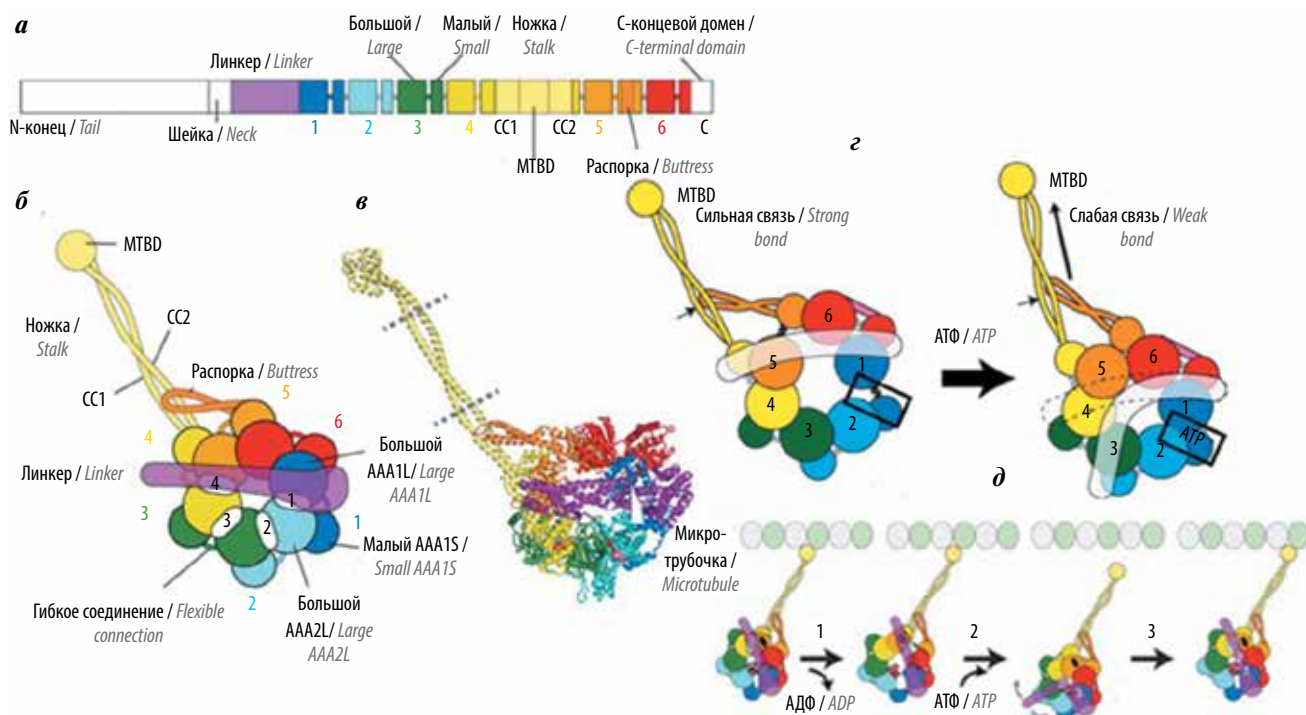


Рис. 4. Структура тяжелой цепи динеина и цикл двигательной активности моторного домена динеина: а — доменная структура тяжелой цепи динеина с указанием его участков; б — тяжелая цепь динеина, включающая N-терминальный участок; в — белковая структура тяжелой цепи динеина; г — конформационные изменения в тяжелой цепи динеина при присоединении аденозинтрифосфата (АТФ); д — цикл двигательной активности моторного домена динеина [38], собственная модификация. АДФ — аденозиндифосфат; MTBD — домен связывания с микротрубочками

Fig. 4. Structure of dynein heavy chain and motion cycle of dynein motor domain: а — domain structure of dynein heavy chain with its parts; б — dynein heavy chain including the N-terminal tail; в — protein structure of dynein heavy chain; г — conformational changes in dynein heavy chain caused by adenosine triphosphate (ATP) attachment; д — motion cycle of dynein heavy chain [38], original modification. ADP — adenosine diphosphate; MTBD — microtubule-binding domain

Гипотеза геометрического сцепления

В работе К. Summers, I.R. Gibbons показано, что при отделении жгутика от клетки путем лазерной микродиссекции он сохраняет способность производить волнообразные движения. Даже изолированная аксонома может совершать движения в растворах разных солей (например, $MgSO_4$), содержащих АТФ. Если изолированную таким образом аксоному обработать протеолитическими ферментами, разрушающими нексиновые связки и радиальные спицы и не повреждающими лишь динеиновые ручки и сами микротрубочки, а затем добавить АТФ в концентрации 10 мкмоль/л, аксонома начинает удлиняться, при этом ее длина может превысить первоначальную в 9 раз. В данных экспериментах установлено, что микротрубочки скользят друг относительно друга и что это скольжение однопослано. В интактной же ресничке происходит изгибание дуплетов по всей длине, поскольку дуплеты связаны друг с другом эластичными нексиновыми мостиками, а с центральными микротрубочками — радиальными спицами, которые противятся свободному скольжению микротрубочек друг относительно друга (рис. 5). Однако при одновременной активации всех динеиновых ручек аксонома не изгибалась бы,

а закрутилась в тугую спираль. Чтобы этого не произошло, должны существовать специальные регуляторные механизмы, координирующие двигательную активность молекул динеина. Установлено, что ее регуляция не зависит от концентрации Ca^{2+} или других ионов, поскольку аксонома способна изгибаться и после удаления плазматической мембраны [39].

В исследованиях С.С. Brokaw показано, что удаление внешних динеиновых ручек из жгутиков снижало частоту биения жгутиков, но на амплитуде изгиба жгутиков и ресничек существенно не сказывалось [40–42]. Эти результаты позволяют предположить, что внешние динеиновые ручки важны для поддержания движения, но не определяют амплитуду изгиба и не инициируют волнообразное движение жгутика, которое начинается благодаря внутренним динеиновым ручкам [43, 44].

Таким образом, с помощью динеинов дуплеты микротрубочек перемещаются друг относительно друга, скользя синхронно в одном направлении. Поэтому динеины на одной стороне аксономы изгибают жгутик в одном направлении, а динеины на другой стороне — в противоположном направлении. В большинстве жгутиков и ресничек дуплеты микротрубочек, обозначенные цифрами 5 и 6 в стандартной нумерации

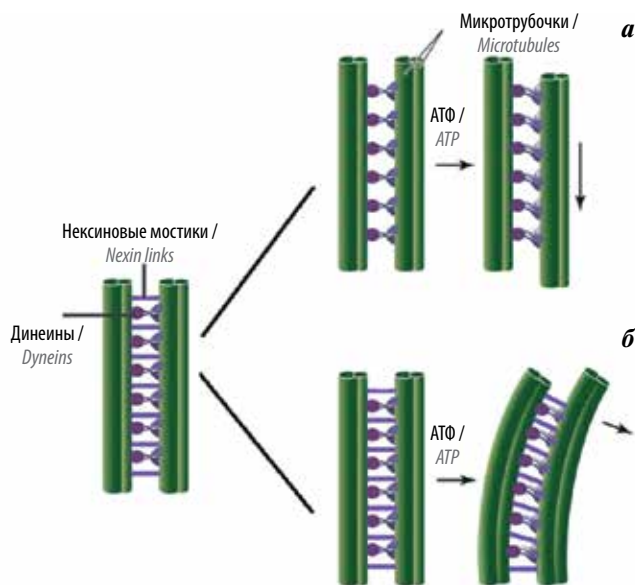


Рис. 5. Механизм движения микротрубочек друг относительно друга: *а* — нексинные мостики искусственно разрушены протеолизом; дуплеты микротрубочек свободно скользят друг относительно друга; *б* — дуплеты удерживаются нексинными мостиками; скольжение дуплетов приводит к изгибу аксонемы. АТФ — аденозинтрифосфат

Fig. 5. Mechanism of microtubule motion relative to each other: *a* — nexin links are artificially destroyed by proteolysis; microtubule doublets freely slide against each other; *b* — microtubule doublets are held together by nexin links; microtubule doublet sliding against each other causes axoneme bending. ATP — adenosine triphosphate

(см. рис. 2), жестко скреплены и не могут скользить друг относительно друга [45]. Дуплет 1, который находится на одной стороне аксонемы, условно обозначается как первый из группы дуплетов 1–4, динеины которых изгибают аксонему в одном направлении. Динеины противоположной группы дуплетов, обозначенных цифрами 6–9, изгибают жгутик в обратном направлении (см. рис. 2).

Р. Satir и соавт. предположили, что биение жгутиков и ресничек осуществляется благодаря чередованию эпизодов активации 2 расположенных друг против друга групп динеинов, активность которых регулируется во взаимодействии одного комплекса с другим [46, 47]. А С.С. Brokaw выдвинул механистическую гипотезу переключения активности противоположных групп динеинов: изгиб жгутика до определенного значения кривизны вызывает инактивацию одной группы динеинов и активацию противоположной группы [48]. С. Cibert тоже описал механизм, основанный на геометрических взаимодействиях, в которых регулирование активности динеинов происходит благодаря изменениям кривизны жгутика [49].

При изгибе жгутика периодичность включения в работу моторных белков зависит от расположения сайтов связывания на соседних дуплетах и от кривизны

жгутика. С.С. Brokaw первым создал математическую модель и показал, что возвратно-поступательное движение динеинов вызывает сдвиг гибких элементов и создает волны, аналогичные наблюдаемым в жгутике сперматозоида [42]. Таким образом, для повторения биений необходимо, чтобы динеины на одной стороне аксонемы были активированы согласованно и чтобы их активность прекращалась тоже согласованно. Противоположная группа динеинов должна быть активирована аналогичным образом, чтобы изогнуть жгутик в противоположном направлении и завершить цикл биения. Эту теорию развил С.В. Lindemann [50], который взял за основу тот факт, что одна из наиболее консервативных черт всех жгутиков и их аксонем — это расстояние между дуплетами микротрубочек и динеиновыми ручками. Даже в мутантных жгутиках, которые имеют модифицированную структуру (например, в них отсутствует центральная пара микротрубочек), этот размер сохраняется. Анализ электронных микрофотографий аксонем, находящихся в покое, когда динеиновые ручки не связаны со смежными дуплетами, позволил установить, что расстояние от динеиновых ручек до дуплетов микротрубочек всегда больше, чем размеры динеиновых ручек [51, 52]. Гипотеза геометрического сцепления, предложенная С.В. Lindemann, основана на предположении, что поперечно направленная сила («Т-сила») действует на внешние дуплеты эукариотических аксонем, чтобы координировать действие «динеиновых моторов», ответственных за биение жгутиков [50]. «Т-сила» возникает за счет натяжения нексинных мостиков и способствует отсоединению динеинов от дуплетов микротрубочек в зоне активного изгиба и присоединению динеинов к тем дуплетам, где будет создаваться изгиб. Считается, что для связывания динеинов со смежными дуплетами необходимо только уменьшение расстояния между ними. Показано, что рассеченные сегменты жгутиков сперматозоидов часто теряют координированную подвижность, даже при наличии Mg-АТФ, однако могут восстановить ее и активно изгибаться, если их части совместить микрозондом [53]. Для понимания того, как распространяется изгиб в аксонеме, С.В. Lindemann построил ее тростниковую модель [54]. Данная модель, будучи рудиментарной, тем не менее эффектно продемонстрировала, что в плоскости изгиба расстояния между микротрубочками уменьшаются за счет сжатия, возникающего в результате растяжения эластичных силиконовых связей. Натяжение и сжатие приводили к появлению «Т-силы» на каждом из деревянных элементов. И эта «Т-сила», в свою очередь, заставляла элементы двигаться друг к другу в плоскости изгиба. Подобная «Т-сила» могла аналогичным образом заставлять дуплеты двигаться друг к другу в реальной аксонеме, и это могло стать причиной активации динеинов (рис. 6).

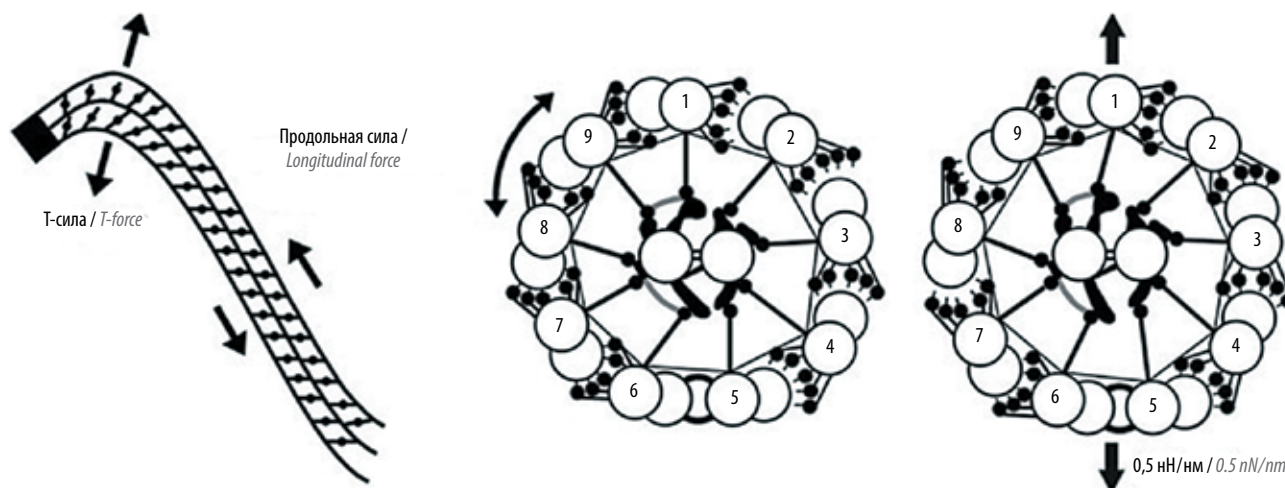


Рис. 6. Схема возникновения «Т-силы» и продольной силы в аксонеме ресничек и жгутиков (по [54], с изменениями)

Fig. 6. Schematic illustration of T-force and longitudinal force generation in the axoneme of cilia and flagella (per [54], with modifications)

Кумулятивное напряжение от растяжения нексиновых мостиков может привести к появлению «Т-силы», отрывающей динеины с одной стороны аксонемы в данной линейной координате жгутика, и к присоединению противоположного набора динеинов на другой стороне аксонемы в этой же линейной координате. На этом факте базируется описание механизма циклического биения, который, в свою очередь, составляет основу гипотезы геометрического сцепления. С ее точки зрения динеины не нуждаются в индивидуальном регулировании, они являются «свободными двигателями». Иначе говоря, когда динеин расположен так близко, что может присоединиться к соседнему дуплету, он присоединяется без дополнительных условий. Пассивный (наложенный) изгиб сжимает аксонему в плоскости изгиба и способствует присоединению динеинов к микротрубочкам, а активный (индуцированный динеинами) изгиб приводит к отрыву динеинов от микротрубочек из-за растяжения нексиновых мостиков и возникновения противоположно направленной «Т-силы». Кроме того, при связывании динеина с соседним дуплетом микротрубочек и движении вдоль него возникает продольная сила, которая вместе с «Т-силой» и создает крутящий момент (см. рис. 6).

Таким образом, согласно гипотезе геометрического сцепления, «Т-сила» — главный регулятор активности динеинов. С помощью компьютерного моделирования работы данного механизма воспроизведена картина биений ресничек и жгутиков сперматозоидов [54]. Ресничкоподобные биения могут быть сгенерированы с помощью одного алгоритма переключения. Если учесть механические свойства жгутика и его размеры, то механизм биения будет принципиально одинаковым для сперматозоидов любых видов. Расчеты показывают и значение «Т-силы» — 0,5 нН/нм, которое подтверждено экспериментально [54].

Механохимическая регуляция двигательной активности ресничек и жгутиков

До недавнего времени считалось, что внешние и внутренние динеиновые ручки сходны по структуре и функциям. Однако недавно полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что они существенно отличаются друг от друга составом субъединиц, расположением в аксонеме и системой управления [55]. Например, в то время как внешние динеиновые ручки существуют как единый белковый комплекс, содержащий 3 тяжелые цепи, внутренние динеиновые ручки состоят из 7 подвидов, каждый из которых содержит 1–2 дискретные тяжелые цепи. Кроме того, 2 вида динеиновых ручек отличаются и по функциональности. Наиболее важное отличие в том, что внутренние динеиновые ручки вследствие вариативности способны к более избирательному управлению [56, 57]. Значит, аксонема имеет 2 взаимодополняющие системы для формирования изгиба. Одна из них предполагает участие внутренних динеиновых ручек, белкового комплекса центральных пар микротрубочек и радиальных спиц, другая — участие внешних динеиновых ручек. В то время как внешние динеиновые ручки при определенных условиях могут создавать изгиб самостоятельно, внутренние динеиновые ручки создают изгиб при взаимодействии с белковым комплексом центральной пары микротрубочек и радиальными спицами [56–58].

Роль центральной пары микротрубочек и радиальных спиц до сих пор до конца не исследована. Очевидно, что они играют важную роль в обеспечении подвижности жгутиков, так как сперматозоиды, имеющие дефекты в любом из этих структурных комплексов, обездвижены. Однако недавние исследования показали, что реснички со структурой «9 × 2 + 0» также могут быть подвижными [57]. И если реснички мутантов

Chlamydomonas без центральной пары микротрубочек или радиальных спиц не изгибаются, то аксонемы, выделенные из этих мутантов, способны к выраженному изгибу в присутствии АТФ и различных солей, сахаров, спиртов и других органических соединений [58–60]. Так, 15 % аксонем, выделенных из *pf18*-мутантов и не имеющих центральной пары микротрубочек, могут изгибаться в присутствии 10 ммоль $MgSO_4$ и 0,2 ммоль АТФ [58–60]. Частота биений и форма волны биения аксонем *pf18*-мутантов аналогичны таковым у диких типов в тех же условиях. У 10–50 % аксонем возникали биения в присутствии 0,5 моль сахарозы, 2 моль глицерина или 1,7 моль 10 % этанола [61, 62].

Известно, что центральная пара микротрубочек заключена в оболочку из белков, которые могут непосредственно взаимодействовать с головками радиальных спиц. Существуют 2 типа радиальных спиц, называемых S1 и S2, которые расположены вдоль жгутика с продольным чередованием. Каждая спица, в свою очередь, крепится к внешнему дуплету микротрубочек посредством белкового регуляторного динеинового комплекса (РДК) [63], который находится в тесном контакте с внутренними динеиновыми ручками (см. рис. 2). РДК и спицы содержат кальцийзависимые белки (РДК – центрин, спицы – кальмодулин). Благодаря этому все реснички и жгутики изменяют узор биения в зависимости от внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} [60]. Установлено, что кальций – основной регулятор капацитации, гиперактивации и акросомальной реакции сперматозоидов. При низких внутриклеточных концентрациях Ca^{2+} (10–40 нмоль/л) биения жгутика симметричны, но при повышении уровня внутриклеточного Ca^{2+} до 100–300 нмоль/л в сперматозоидах сигнал становится все более асимметричным, а сперматозоиды – гиперактивированными. При концентрации внутриклеточного $Ca^{2+} \geq 9$ мкмоль/л полностью подавляется подвижность сперматозоидов [60, 64–67]. В жгутиках сперматозоидов морского ежа увеличение концентрации Ca^{2+} также усиливало асимметрию биения, вызывая прекращение движения жгутиков при концентрациях $>10^{-4}$ моль/л [67]. Полученные результаты подтверждают гипотезу о том, что прекращение движения жгутика в живых сперматозоидах индуцируется повышением внутриклеточной концентрации Ca^{2+} .

Таким образом, белковый комплекс центральных пар микротрубочек и радиальных спиц регламентирует деятельность динеиновых ручек, а также участвует в Ca^{2+} -зависимом преобразовании сигналов. У мутантов *Chlamydomonas*, в жгутиках которых не хватает центральной пары микротрубочек, биения не начинаются, даже если их свободные аксонемы способны к этому [11, 57, 68]. Кроме того, показано, что регулирование активности динеинов посредством комплекса цент-

ральных пар микротрубочек и радиальных спиц происходит только при достаточном количестве АТФ. При уровне АТФ выше 100 мкмоль/л высокие концентрации Ca^{2+} модифицируют рисунок биений. Эти модификации в значительной степени связаны с кальмодулином [12]. При взаимодействии с Ca^{2+} кальмодулин изменяет свою пространственную ориентацию, вследствие чего изменяется и конформация белка-мишени (возможно, кальмодулинзависимой протеинкиназы А), что увеличивает или уменьшает их регуляторную или каталитическую активность. Кратковременное увеличение внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} и их связывание с кальмодулином способствует изменению подвижности сперматозоидов. Как только вследствие работы ионных насосов в клетке снижается концентрация Ca^{2+} , происходит элиминирование Ca^{2+} из кальмодулина, в результате чего комплекс кальмодулина и белков-мишеней диссоциирует, инактивируя белки-мишени.

Известно, что кальмодулин как часть структуры радиальной спицы может образовывать комплекс с белком LC8 (29 кДа) (субъединицей легкой цепи динеина внешних динеиновых ручек) и с белком П1 (одной из изоформ внутренних динеиновых ручек). Образование и диссоциация данных комплексов, по всей видимости, играют определяющую роль в Ca^{2+} -зависимой регуляции частоты биений жгутиков [69].

Белок центрин принадлежит к классу филаментов диаметром 3–8 нм, также способных к Ca^{2+} -зависимому сокращению. Подвижность, связанная с центрином, основана на суперскручивании филаментов. В мужских половых клетках преимущественно экспрессируется центрин 1р [70, 71].

В работе N. Okamura показано, что ионы HCO_3^- также играют важную роль в регуляции подвижности сперматозоидов. Этот анион женского репродуктивного тракта транспортируется в сперматозоиды во время капацитации. Добавление HCO_3^- *in vitro* в концентрации 15 ммоль/л увеличивает частоту биений жгутиков сперматозоидов с 2–3 до 7 Гц и более. Действие HCO_3^- начинается через 5 с и достигает максимума через 30 с. Удаление из внешней среды ионов HCO_3^- медленно (в течение 10 мин) возвращает обычную частоту биений. Кроме того, увеличение концентрации HCO_3^- облегчает открытие Ca^{2+} -каналов, способствуя повышению внутриклеточной концентрации Ca^{2+} более чем в 5 раз [72].

Одно из ранних событий во время капацитации сперматозоидов млекопитающих – образование активных форм кислорода (O_2^- , H_2O_2 и NO^-), которые постепенно запускают и регулируют ряд событий, включающих фосфорилирование белков аксонемы [73, 74].

Итак, данные различных исследователей свидетельствуют о том, что комплекс центральных пар микротрубочек и радиальных спиц не требуется для обычных



колебательных биений аксонемы, но необходим для инициирования и распространения изгибов, а также выступает в качестве преобразователя сигналов для управления размером и формой изгиба жгутика и реснички в ответ на внешние сигналы. Кроме того, данный комплекс вовлечен в преобразование простых симметричных изгибов в асимметричные, необходимые для остановки и изменения направления движения жгутика [75]. Изолированные фрагменты аксонем, имеющих дефекты в комплексе центральных пар микротрубочек и радиальных спиц, активируются при низких концентрациях АТФ и даже претерпевают преобразования сигнала в ответ на изменения концентрации Ca^{2+} . Поэтому наличие белкового комплекса центральной пары микротрубочек и радиальных спиц не является абсолютным условием для Ca^{2+} -индуцированного преобразования сигнала [76]. Помимо Ca^{2+} -зависимой регуляции, модуляция скольжения микротрубочек в значительной степени обусловлена фосфорилированием ключевых регуляторных белков аксонемы, в частности белка промежуточной цепи — IC138 динеина II, являющегося одной из изоформ внутренних динеиновых ручек [77]. Химические и/или механические сигналы от белкового комплекса центральных пар микротрубочек передаются через радиальные спицы и запускают сигнальный путь, приводящий к фосфорилированию белка IC138 на конкретных внешних дуплетах. Фосфорилирование IC138 ингибирует скольжение дуплетов и контролируется связанным с белком центральных пар хидином (hydin), мутации в гене которого критичны для подвижности сперматозоидов [78, 79]. А избирательное фосфорилирование данных белков (на некотором угловом сегменте круговой аксонемы) приводит, соответственно, к локальному асимметричному сдерживанию скольжения микротрубочек [9, 10]. Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что радиальные спицы представляют собой механохимические преобразователи, передающие сигналы от белкового аппарата центральной пары микротрубочек на внешние дуплетные микротрубочки для локального контроля активности динеинов.

В последнее время был достигнут прогресс в выявлении отдельных компонентов радиальных спиц. Так, M. Wirschell и соавт. показали, что белок RSP3 является высококонсервированным AKAP (A-kinase anchoring protein, белком, «заякоривающим» А-киназу), необходимым для пространственной локализации протеинкиназ и дальнейшей координации ряда сигнальных событий [80]. Он расположен у основания стебля радиальных спиц и является димером. В регуляторном динеиновом комплексе также локализованы киназы

и фосфатазы, необходимые для регулирования деятельности динеинов [81].

Резюмируя, можно сказать, что комплекс центральных пар микротрубочек и радиальных спиц функционирует как механический и химический датчик. Механический входной сигнал запускает механическое взаимодействие между радиальными спицами и центральными парами микротрубочек. Химический входной сигнал иницирует связывание вторичных мессенджеров с рецепторами, приводящее к изменению ферментативной активности киназ и фосфатаз, а значит, к локализованному фосфорилированию белков аксонемы [82–90]. Наличие ряда локализованных аксонемальных киназ и фосфатаз подразумевает, что фосфорилирование белков аксонемы — важный регуляторный механизм [88–91]. Таким образом, влияние вторичных мессенджеров опосредуется через киназы и фосфатазы и предполагает взаимодействие вторичных мессенджеров, ионов Ca^{2+} с белками-рецепторами и ферментами, входящими в состав аксонемы. Некоторые из них являются компонентами радиальных спиц и центрального аппарата, а некоторые — динеинов [91]. Но, как уже было сказано выше, часть вторичных мессенджеров влияет на биение жгутиков сперматозоидов и ресничек за счет механизмов, которые не зависят от фосфорилирования [69].

Заключение

В основе движения жгутика сперматозоида лежит скольжение дуплетов микротрубочек друг относительно друга в результате перемещения динеинов при наличии молекул АТФ и ионов Mg. Это скольжение преобразуется в изгиб благодаря сдерживающему влиянию базального заякоривания и нексиновым мостикам. Аксонема оснащена 2 взаимодействующими системами для формирования изгиба. Одна из них предполагает участие внутренних динеиновых ручек, белкового комплекса центральной пары и радиальных спиц, другая — участие внешних динеиновых ручек. Внешние динеиновые ручки важны для поддержания движения, а также участвуют в преобразовании частоты биений, но не дают возможности изменить амплитуду изгиба или начать волнообразное движение, которое устанавливается благодаря внутренним динеиновым ручкам и комплексу центральных пар микротрубочек и радиальных спиц. Внутренние динеиновые ручки и комплекс центральных пар микротрубочек и радиальных спиц необходимы для инициирования и распространения изгибов, а также выступают в качестве преобразователей сигналов для управления формой изгиба в ответ на внешние сигналы.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Noji H., Yasuda R., Yoshida M., Kinoshita K. Direct observation of the rotation of F1-ATPase. *Nature* 1997;386(6622):299–302. DOI: 10.1038/386299a0. PMID: 9069291.
- Kinoshita K. Jr, Yasuda R., Noji H. et al. F1-ATPase: a rotary motor made of a single molecule. *Cell* 1998;93(1): 21–4. PMID: 9546388.
- Lindemann C.B., Lesich K.A. The geometric clutch at 20: stripping gears or gaining traction? *Reproduction* 2015;150(2):R45–53. DOI: 10.1530/REP-14-0498. PMID: 25918437.
- Zamboni L. Sperm structure and its relevance to infertility. An electron microscopic study. *Arch Pathol Lab Med* 1992;116(4):325–44. PMID: 1558470.
- Skowronek M.F., Alciatori J., Casanova G. et al. Value of quantitative ultramorphological sperm analysis in infertile men. *Reprod Biol* 2010;10(2):125–39. PMID: 20668504.
- Брагина Е.Е., Бочарова Е.Н. Количественное электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов при диагностике мужского бесплодия. *Андрология и генитальная хирургия* 2014;(1):41–50. [Bragina Y.Y., Bocharova Y.N. Quantitative electron microscopic examination of sperm for male infertility diagnosis. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2014;(1):41–50. (In Russ.)].
- Kon T., Oyama T., Shimo-Kon R. et al. The 2.8 Å crystal structure of the dynein motor domain. *Nature* 2012;484(7394):345–50. DOI: 10.1038/nature10955. PMID: 22398446.
- Schmidt H., Gleave E.S., Carter A.P. Insights into dynein motor domain function from a 3.3-Å crystal structure. *Nat Struct Mol Biol* 2012;19(5):492–7. DOI: 10.1038/nsmb.2272. PMID: 22426545.
- Wirschell M., Hendrickson T., Sale W.S. Keeping an eye on II: II dynein as a model for flagellar dynein assembly and regulation. *Cell Motil Cytoskeleton* 2007;64(8):569–79. DOI: 10.1002/cm.20211. PMID: 17549744.
- Habermacher G., Sale W.S. Regulation of flagellar dynein by phosphorylation of a 138-kD inner arm dynein intermediate chain. *J Cell Biol* 1997;136(1):167–76. PMID: 9008711.
- Tash J.S., Means A.R. Regulation of protein phosphorylation and motility of sperm by cyclic adenosine monophosphate and calcium. *Biol Reprod* 1982;26(4):745–63. PMID: 6282354.
- Bannai H., Yoshimura M., Takahashi K., Shingyoji C. Calcium regulation of microtubule sliding in reactivated sea urchin sperm flagella. *J Cell Sci* 2000;113(Pt 5):831–9. PMID: 10671372.
- Nicastro D., Schwartz C., Pierson J. et al. The molecular architecture of axonemes revealed by cryoelectron tomography. *Science* 2006;313(5789):944–8. DOI: 10.1126/science.1128618. PMID: 16917055.
- Nicastro D., Fu X., Heuser T. et al. Cryoelectron tomography reveals conserved features of doublet microtubules in flagella. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(42):E845–53. DOI: 10.1073/pnas.1106178108. PMID: 21930914.
- Baccetti B., Afzelius B.A. The biology of the sperm cell. *Monogr Dev Biol* 1976;(10):1–254. PMID: 1107820.
- Guichard P., Hachet V., Majubu N. et al. Native architecture of the centriole proximal region reveals features underlying its 9-fold radial symmetry. *Curr Biol* 2013;23(17):1620–8. DOI: 10.1016/j.cub.2013.06.061. PMID: 23932403.
- Stephens R.E., Oleszko-Szuts S., Linck R.W. Retention of ciliary ninefold structure after removal of microtubules. *J Cell Sci* 1989;92(Pt 3):391–402. PMID: 2592445.
- Fawcett D.W. *The cell*. Philadelphia. 2nd edn. Philadelphia: W.B. Saunders Co, 1981. 855 p.
- Linck R.W., Chemes H., Albertini D.F. The axoneme: the propulsive engine of spermatozoa and cilia and associated ciliopathies leading to infertility. *J Assist Reprod Genet* 2016;33(2):141–56. DOI: 10.1007/s10815-016-0652-1. PMID: 26825807.
- Mohri H. Amino-acid composition of “tubulin” constituting microtubules of sperm flagella. *Nature* 1968;217(5133):1053–4. PMID: 4296139.
- Linck R.W., Amos L.A., Amos W.B. Localization of tektin filaments in microtubules of sea urchin sperm flagella by immunoelectron microscopy. *J Cell Biol* 1985;100(1):126–35. PMID: 3880749.
- Norrander J.M., Perrone C.A., Amos L.A., Linck R.W. Structural comparison of tektins and evidence for their determination of complex spacings in flagellar microtubules. *J Mol Biol* 1996;257(2):385–97. DOI: 10.1006/jmbi.1996.0170. PMID: 8609631.
- Linck R., Fu X., Lin J. et al. Insights into the structure and function of ciliary and flagellar doublet microtubules: tektins, Ca²⁺-binding proteins, and stable protofilaments. *J Biol Chem* 2014;289(25):17427–44. PMID: 24794867. DOI: 10.1074/jbc.M114.568949.
- Tanaka H., Iguchi N., Toyama Y. et al. Mice deficient in the axonemal protein Tektin-t exhibit male infertility and immotile-cilium syndrome due to impaired inner arm dynein function. *Mol Cell Biol* 2004;24(18):7958–64. DOI: 10.1128/MCB.24.18.7958-7964.2004. PMID: 15340058.
- Paturle-Lafanechère L., Manier M., Trigault N. et al. Accumulation of delta 2-tubulin, a major tubulin variant that cannot be tyrosinated, in neuronal tissues and in stable microtubule assemblies. *J Cell Sci* 1994;107(Pt 6):1529–43. PMID: 7962195.
- Paturle-Lafanechère L., Eddé B., Denoulet P. et al. Characterization of a major brain tubulin variant which cannot be tyrosinated. *Biochemistry* 1991;30(43):10523–8. PMID: 1931974.
- Mary J., Redeker V., Le Caer J.P. et al. Posttranslational modifications in the C-terminal tail of axonemal tubulin from sea urchin sperm. *J Biol Chem* 1996;271(17):9928–33. PMID: 8626629.
- Eddé B., Rossier J., Le Caer J.P. et al. A combination of posttranslational modifications is responsible for the production of neuronal alpha-tubulin heterogeneity. *J Cell Biochem* 1991;46(2):134–42. DOI: 10.1002/jcb.240460207. PMID: 1680872.
- Eddé B., Rossier J., Le Caer J.P. et al. Polyglutamylated alpha-tubulin can enter the tyrosination/detyrosination cycle. *Biochemistry* 1992;31(2):403–10. PMID: 1370628.
- Alexander J.E., Hunt D.F., Lee M.K. et al. Characterization of posttranslational modifications in neuron-specific class III beta-tubulin by mass spectrometry. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88(11):4685–9. PMID: 2052551.
- Audebert S., Koulakoff A., Berwald-Netter Y. et al. Developmental regulation of polyglutamylated alpha- and beta-tubulin in mouse brain neurons. *J Cell Sci* 1994;107(Pt 8):2313–22. PMID: 7527057.
- Kreitzer G., Liao G., Gundersen G.G. Detyrosination of tubulin regulates the interaction of intermediate filaments with microtubules *in vivo* via a kinesin-dependent mechanism. *Mol Biol Cell* 1999;10(4):1105–18. DOI: 10.1091/mbc.10.4.1105. PMID: 10198060.
- Bré M.H., Redeker V., Quibell M. et al. Axonemal tubulin polyglycylation probed with two monoclonal antibodies: widespread evolutionary distribution, appearance during spermatozoan maturation and possible function in motility. *J Cell Sci* 1996;109(Pt 4):727–38. PMID: 8718664.
- Gibbons I.R., Rowe A.J. Dynein: a protein with adenosine triphosphatase activity from cilia. *Science* 1965;149(3682):424–6. DOI: 10.1126/science.149.3682.424. PMID: 17809406.
- Cole D.G. The intraflagellar transport machinery of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Traffic* 2003;4(7):435–42. PMID: 12795688.

36. Neuwald A.F., Aravind L., Spouge J.L., Koonin E.V. AAA+: a class of chaperone-like ATPases associated with the assembly, operation, and disassembly of protein complexes. *Genome Res* 1999;9(1):27–43. PMID: 9927482.
37. Gee M.A., Heuser J.E., Vallee R.B. An extended microtubule-binding structure within the dynein motor domain. *Nature* 1997;390(6660):636–9. DOI: 10.1038/37663. PMID: 9403697.
38. Imamura K., Kon T., Ohkura R., Sutoh K. The coordination of cyclic microtubule association/dissociation and tail swing of cytoplasmic dynein. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(41):16134–9. DOI: 10.1073/pnas.0702370104. PMID: 17911268.
39. Summers K., Gibbons I.R. Adenosine triphosphate-induced sliding of tubules in trypsin-treated flagella of sea-urchin sperm. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971;68(12):3092–6. PMID: 5289252.
40. Brokaw C.J. Bend propagation by a sliding filament model for flagella. *J Exp Biol* 1971;55(2):289–304. PMID: 5114025.
41. Brokaw C.J. Flagellar movement: a sliding filament model. *Science* 1972;178(4060):455–62. PMID: 4673044.
42. Brokaw C.J. Computer simulation of flagellar movement. I. Demonstration of stable bend propagation and bend initiation by the sliding filament model. *Biophys J* 1972;12(5):564–86. DOI: 10.1016/S0006-3495(72)86104-6. PMID: 5030565.
43. Dymek E.E., Smith E.F. A conserved CaM- and radial spoke associated complex mediates regulation of flagellar dynein activity. *J Cell Biol* 2007;179(3):515–26. DOI: 10.1083/jcb.200703107. PMID: 17967944.
44. Smith E.F., Yang P. The radial spokes and central apparatus: mechano-chemical transducers that regulate flagellar motility. *Cell Motil Cytoskeleton* 2004;57(1):8–17. DOI: 10.1002/cm.10155. PMID: 14648553.
45. Afzelius B.A. Electron microscopy of the sperm tail. Results obtained with a new fixative. *J Biophys Biochem Cytol* 1959;5(2):269–78. PMID: 13654448.
46. Satir P. Switching mechanisms in the control of ciliary motility. In: *Modern cell biology*. Vol. 4. Ed. by B. Satir. New York: Alan R. Liss, 1985. Pp. 1–46.
47. Satir P., Matsuoka T. Splitting the ciliary axoneme: implications for a “switch-point” model of dynein arm activity in ciliary motion. *Cell Motil Cytoskeleton* 1989;14(3):345–58. DOI: 10.1002/cm.970140305. PMID: 2531043.
48. Brokaw C.J. Movement and nucleoside polyphosphatase activity of isolated flagella from *Polytoma uvella*. *Exp Cell Res* 1961;22:151–62.
49. Cibert C. Are local adjustments of the relative spatial frequencies of the dynein arms and the beta-tubulin monomers involved in the regulation of the 9 + 2 axoneme. *J Theor Biol* 2008;253(1):74–89. DOI: 10.1016/j.jtbi.2008.01.029. PMID: 18405921.
50. Lindemann C.B. A geometric clutch hypothesis to explain oscillations of the axoneme of cilia and flagella. *J Theor Biol* 1994;168(2):175–89. DOI: 10.1006/jtbi.1994.1097.
51. Gibbons B.H., Gibbons I.R. The effect of partial extraction of dynein arms on the movement of reactivated sea-urchin sperm. *J Cell Sci* 1973;13(2):337–57. PMID: 4760590.
52. Warner F.D., Mitchell D.R. Structural conformation of ciliary dynein arms and the generation of sliding forces in *Tetrahymena* cilia. *J Cell Biol* 1978;76(2):261–77. PMID: 10605437.
53. Lindemann C.B., Rikmenspoel R. Sperm flagella: autonomous oscillations of the contractile system. *Science* 1972;175(4019):337–8. PMID: 4332629.
54. Lindemann C.B. Testing the geometric clutch hypothesis. *Biol Cell* 2004;96(9):681–90. DOI: 10.1016/j.biocel.2004.08.001. PMID: 15567522.
55. Warner F.D., Satir P. The structural basis of ciliary bend formation. Radial spoke positional changes accompanying microtubule sliding. *J Cell Biol* 1974;63(1):35–63. PMID: 4424314.
56. Cibert C. Entropy and information in flagellar axoneme cybernetics: a radial spokes integrative function. *Cell Motil Cytoskeleton* 2003;54(4):296–316. DOI: 10.1002/cm.10100. PMID: 12601692.
57. Witman G.B., Plummer J., Sander G. *Chlamydomonas* flagellar mutants lacking radial spokes and central tubules. Structure, composition, and function of specific axonemal components. *J Cell Biol* 1978;76(3):729–47.
58. Nonaka S., Tanaka Y., Okada Y. et al. Randomization of left-right asymmetry due to loss of nodal cilia generating leftward flow of extraembryonic fluid in mice lacking KIF3B motor protein. *Cell* 1998;95(6):829–37. PMID: 9865700.
59. Marszalek J.R., Rui-Lozano P., Roberts E. et al. Situs inversus and embryonic ciliary morphogenesis defects in mouse mutants lacking the KIF3A subunit of kinesin-II. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96(9):5043–8. PMID: 10220415.
60. Nakano I., Kobayashi T., Yoshimura M., Shingyoji C. Central-pair-linked regulation of microtubule sliding by calcium in flagellar axonemes. *J Cell Sci* 2003;116(Pt 8):1627–36. PMID: 12640046.
61. Huang B., Ramanis Z., Luck D.J. Suppressor mutations in *Chlamydomonas* reveal a regulatory mechanism for flagellar function. *Cell* 1982;28(1):115–24. PMID: 6461414.
62. Porter M.E., Knott J.A., Gardner L.C. et al. Mutations in the SUP-PF-1 locus of *Chlamydomonas reinhardtii* identify a regulatory domain in the beta-dynein heavy chain. *J Cell Biol* 1994;126(6):1495–507. PMID: 8089181.
63. Piperno G., Mead K., Shestak W. The inner dynein arms I2 interact with a “dynein regulatory complex” in *Chlamydomonas* flagella. *J Cell Biol* 1992;118(6):1455–63. PMID: 1387875.
64. Suarez S.S., Varosi S.M., Dai X. Intracellular calcium increases with hyperactivation in intact, moving hamster sperm and oscillates with the flagellar beat cycle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90(10):4660–4. PMID: 8506314.
65. Naito Y., Kaneko H. Reactivated triton-extracted models of *Paramecium*: modification of ciliary movement by calcium ions. *Science* 1972;176(4034):523–4. PMID: 5032354.
66. Brokaw C.J. Calcium-induced asymmetrical beating of triton-demembrated sea urchin sperm flagella. *J Cell Biol* 1979;82:401–11. PMID: 479307.
67. Gibbons B.H., Gibbons I.R. Calcium-induced quiescence in reactivated sea urchin sperm. *J Cell Biol* 1980;84(1):13–27. PMID: 7350165.
68. Wakabayashi K., Yagi T., Kamiya R. Ca²⁺-dependent waveform conversion in the flagellar axoneme of *Chlamydomonas* mutants lacking the central-pair/radial spoke system. *Cell Motil Cytoskeleton* 1997;38(1):22–8. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0169(1997)38:1<22::AID-CM3>3.0.CO;2-J. PMID: 9295138.
69. Yang P., Diener D.R., Rosenbaum J.L., Sale W.S. Localization of calmodulin and dynein light chain LC8 in flagellar radial spokes. *J Cell Biol* 2001;153(6):1315–26. PMID: 11402073.
70. Salisbury J.L., Floyd G.L. Calcium-induced contraction of the rhizoplast of a quadriflagellate green alga. *Science* 1978;202(4371):975–7. DOI: 10.1126/science.202.4371.975. PMID: 17798796.
71. Salisbury J.L. Contractile flagellar roots: the role of calcium. *J Submicrosc Cytol* 1983;15:105–10.
72. Okamura N., Tajima Y., Soejima A. et al. Sodium bicarbonate in seminal plasma stimulates the motility of mammalian spermatozoa through direct activation of adenylate cyclase. *J Biol Chem* 1985;260(17):9699–705. PMID: 2991260.
73. Agarwal A., Saleh R.A., Bedaiwy M.A. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 2003;79(4):829–43. PMID: 12749418.
74. Ford W.C. Regulation of sperm function by reactive oxygen species. *Hum Reprod Update* 2004;10(5):387–99. DOI: 10.1093/humupd/dmh034. PMID: 15218008.
75. Brokaw C.J., Luck D.J., Huang B. Analysis of the movement of *Chlamydomonas* flagella: the function

- of the radial-spoke system is revealed by comparison of wild-type and mutant flagella. *J Cell Biol* 1982;92(3):722–32. PMID: 7085755.
76. Okada Y., Nonaka S., Tanaka Y. et al. Abnormal nodal flow precedes situs inversus in iv and inv mice. *Mol Cell* 1999;4(4):459–68. PMID: 10549278.
 77. Hamasaki T., Barkalow K., Richmond J., Satir P. cAMP-stimulated phosphorylation of an axonemal polypeptide that copurifies with the 22S dynein arm regulates microtubule translocation velocity and swimming speed in *Paramecium*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88(18):7918–22. PMID: 1654550.
 78. Kotani N., Sakakibara H., Burgess S.A. et al. Mechanical properties of inner-arm dynein-F (dynein I1) studied with in vitro motility assays. *Biophys J* 2007;93(3):886–94. DOI: 10.1529/biophysj.106.101964. PMID: 17496036.
 79. Smith E.F. Hydin seek: finding a function in ciliary motility. *J Cell Biol* 2007;176(4):403–4. DOI: 10.1083/jcb.200701113. PMID: 17296793.
 80. Wirschell M., Zhao F., Yang C. et al. Building a radial spoke: flagellar radial spoke protein 3 (RSP3) is a dimer. *Cell Motil Cytoskeleton* 2008;65(3):238–48. DOI: 10.1002/cm.20257. PMID: 18157907.
 81. Heuser T., Raytchev M., Krell J. et al. The dynein regulatory complex is the nexin link and a major regulatory node in cilia and flagella. *J Cell Biol* 2009;187(6):921–33. DOI: 10.1083/jcb.200908067. PMID: 20008568.
 82. Darszon A., Beltrán C., Felix R. et al. Ion transport in sperm signaling. *Dev Biol* 2001;240(1):1–14. DOI: 10.1006/dbio.2001.0387. PMID: 11784043.
 83. Steegborn C. Structure, mechanism, and regulation of soluble adenylyl cyclases—similarities and differences to transmembrane adenylyl cyclases. *Biochim Biophys. Acta* 2014;1842(12 Pt B):2535–47. DOI: 10.1016/j.bbdis.2014.08.012. PMID: 25193033.
 84. Sunahara R.K., Taussig R. Isoforms of mammalian adenylyl cyclase: multiplicities of signaling. *Mol Interv* 2002;2(3):168–84. DOI: 10.1124/mi.2.3.168. PMID: 14993377.
 85. Hess K.C., Jones B.H., Marquez B. et al. The “soluble” adenylyl cyclase in sperm mediates multiple signaling events required for fertilization. *Dev Cell* 2005;9(2):249–59. DOI: 10.1016/j.devcel.2005.06.007. PMID: 16054031.
 86. Xie F., Garcia M.A., Carlson A.E. et al. Soluble adenylyl cyclase (sAC) is indispensable for sperm function and fertilization. *Dev Biol* 2006;296(2):353–62. DOI: 10.1016/j.ydbio.2006.05.038. PMID: 16842770.
 87. King S.M., Witman G.B. Multiple sites of phosphorylation within the alpha heavy chain of *Chlamydomonas* outer arm dynein. *J Biol Chem* 1994;269(7):5452–7. PMID: 7508939.
 88. Yang P., Sale W.S. Casein kinase I is anchored on axonemal doublet microtubules and regulates flagellar dynein phosphorylation and activity. *J Biol Chem* 2000;275(25):18905–12. DOI: 10.1074/jbc.M002134200. PMID: 10858448.
 89. Gokhale A., Wirschell M., Sale W.S. Regulation of dynein-driven microtubule sliding by the axonemal protein kinase CK1 in *Chlamydomonas* flagella. *J Cell Biol* 2009;186(6):817–24.
 90. Wargo M.J., Smith E.F. Asymmetry of the central apparatus defines the location of active microtubule sliding in *Chlamydomonas* flagella. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(1):137–42.
 91. Tash J.S., Means A.R. Cyclic adenosine 3',5' monophosphate, calcium and protein phosphorylation in flagellar motility. *Biol Reprod* 1983;28(1):75–104.

Вклад авторов

С.А. Руднева: обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста статьи;

В.Б. Черных: обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных.

Authors' contributions

S.A. Rudneva: reviewing of publications of the article's theme, analysis of the obtained data, article writing;

V.B. Chernykh: reviewing of publications of the article's theme, analysis of the obtained data.

ORCID авторов / ORCID of authors

С.А. Руднева / S.A. Rudneva: <https://orcid.org/0000-0002-1574-8527>

В.Б. Черных / V.B. Chernykh: <https://orcid.org/0000-0002-7615-8512>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.