



线虫精子发生与激活中的线粒体功能与调控*

常占鑫¹⁾ 苗龙^{1,2)}** 王鹏^{3,4)}**¹⁾ 北京师范大学生命科学院, 细胞增殖与调控生物学教育部重点实验室, 北京 100875;²⁾ 阜阳师范大学生物与食品工程学院, 阜阳 236007;³⁾ 中国科学院生物物理研究所, 中国科学院生物大分子卓越研究中心, RNA生物学重点实验室, 北京 100101;⁴⁾ 中国科学院大学生命科学学院, 北京 100049)

摘要 线粒体在秀丽线虫精子发生和激活中的功能至关重要, 既提供ATP以支持细胞分裂和分化, 也在锌离子稳态、质膜动态变化等方面发挥核心作用。本综述系统梳理了线粒体在精子发育各阶段的关键机制。线粒体通过调控细胞凋亡的关键执行蛋白维持生殖腺的健康和稳定, 并为细胞有丝分裂、减数分裂和分化提供能量, 不断适应生殖腺各个阶段的能量需求。在早期精子发生过程中通过调控H⁺和Zn²⁺的交换, 确保精子功能的正常发育。在精子激活过程中, 线粒体一方面继续发挥关键作用, 提供能量促进伪足形成、膜性细胞器(MOs)融合以及离子通道调节, 另一方面通过排出线粒体囊的形式控制健康线粒体的数量, 使精子细胞转变为具备运动和受精能力的成熟精子。近年来的研究还揭示, 线粒体核糖体可能在精子发生与激活过程中合成特定蛋白, 挑战了传统认为精子不合成新蛋白的观点。综上所述, 线粒体不仅是精子能量供给的核心, 还在细胞信号转导、精子激活及生殖成功率等方面发挥重要调控作用, 为进一步理解生殖细胞代谢调控提供了新视角。

关键词 线粒体, 精子发生, 精子激活, 秀丽线虫, ATP, 线粒体核糖体

中图分类号 Q2

DOI: 10.16476/j.pibb.2024.0528

CSTR: 12369.14.pibb.20240528

线粒体作为细胞内的能量工厂, 在细胞生长、分化、代谢和凋亡等过程中发挥着至关重要的作用。它不仅是ATP的主要生产者, 还在调节活性氧类(reactive oxygen species, ROS)、钙离子动态以及其他代谢中间产物方面具有重要功能。秀丽线虫是研究发育生物学、遗传学和细胞生物学的理想模型, 其生命周期短、透明度高且遗传操作方便, 为精子发生和激活过程的研究提供了便利。秀丽线虫的精子发生过程涉及一系列高度调控的细胞分裂和分化事件, 其中线粒体通过调控能量供给和物质分选对精子的生成和成熟起关键作用。精子的形成是一个复杂且精确的过程, 涉及多个细胞器的功能协调。在这一过程中, 线粒体通过生成ATP为精子的发育和运动提供能量, 同时通过调节锌离子浓度、维持胞质酸碱平衡等机制, 确保精子的正常功能。

在精子发生的后期, 线粒体与其他细胞器共同作用, 完成对主要精子蛋白(major sperm protein,

MSP)等关键分子的处理和分配。此时, 线粒体不仅为细胞的基本代谢需求提供能量, 还参与到更为复杂的生物过程, 如物质分选和膜性细胞器(membranous organelles, MOs)的形成中。这些功能在精子的激活过程中进一步发挥作用, 使得精子能够从静止状态转变为具有运动能力和受精能力的活跃状态。精子激活涉及伪足的形成、MOs的融合以及细胞内的离子动态变化, 线粒体在这一过程中继续扮演能量供应中心的角色。在哺乳动物中, 线粒体在精子激活中的作用还涉及ROS的产生和清除。适量的ROS作为信号分子在精子顶体反应中起到促进作用, 但过量的ROS则可能导致氧化应激, 损伤精子的DNA和蛋白质, 进而影响

* 国家重点研发计划(2023YFA1801100)和国家自然科学基金(32270774)资助项目。

** 通讯联系人。

苗龙 Tel: 010-64869461, E-mail: lmiao@bnu.edu.cn

王鹏 Tel: 010-64888478, E-mail: wangpeng615@mails.ucas.edu.cn

收稿日期: 2024-12-24, 接受日期: 2025-03-07

精子的功能。为此,线粒体内的抗氧化机制显得尤为重要。

秀丽隐杆线虫 (*Caenorhabditis elegans*) 生殖细胞在第二次减数分裂时,精子细胞会将包括核糖体在内的大部分细胞器“丢弃”在残余体中,而自身只留下线粒体、无膜细胞核和纤维体-膜性细胞器 (fibrous body-membranous organelles, FB-MOs) 结构。因此长久以来的观点认为精子中无核糖体,所以在活化过程中没有新蛋白质的合成,但以往的研究忽略了线粒体及线粒体核糖体在精子发生乃至精子活化过程中发挥的重要作用。目前还没有明确的文章指示线粒体在精子发生和激活的过程中是否有蛋白质的更新。

1 线粒体在生殖腺中的作用

秀丽隐杆线虫从受精卵发育成成熟个体,并最终产生新的受精卵,这一生命周期过程复杂,涉及多种细胞器和分子的协调作用。从一个受精卵开始,线虫生殖腺的发生首先经历4次非对称的细胞分裂,每次分裂产生一个体细胞和一个性腺前体细胞 (germline precursor cell, GPC)。第一次细胞分裂产生前胚细胞 (anterior blastomere, AB) (将来发育为上皮,咽部和肌肉) 和第一个后胚细胞 (posterior blastomere 1, P1), P1 分裂产生内中胚层细胞 (endomesodermal blastomere, EMS) 和第二个后胚细胞 (posterior blastomere 2, P2), EMS 分裂产生内胚层 (endoderm, E) (将来发育为肠道) 和中胚层 (mesoderm, MS) (将来发育为咽部和肌肉), P2 分裂产生 C 细胞系 (C lineage blastomere, C) (将来发育为上皮和肌肉) 和第三个后胚细胞 (posterior blastomere 3, P3), 随后 P3 分裂为 D 细胞系 (D lineage blastomere, D) (将来发育为肌肉) 和第四个后胚细胞 (posterior blastomere 4, P4)。其中 P1~P4 为 GPC, 其余为体细胞。P4 对称分裂为两个原始生殖细胞 (primordial germ cells, PGCs) ——Z2 和 Z3, 生殖腺所有的细胞都由 Z2 和 Z3 分化而来,此时线虫处于幼虫期 1 阶段 (larval stage 1, L1)^[1]。从 L1 到 L3, 远端顶细胞 (distal tip cells, DTCs) 向两端迁移, PGCs 经历有丝分裂后,通过短暂的转变区进入合胞体阶段,逐渐形成生殖腺 (图1)。

精子发生是一个复杂的多步骤过程,从生精干细胞 (spermatogonial stem cells, SSCs) 开始,经历有丝分裂、减数分裂,最终生成成熟的精子。在

这一过程中,线粒体的形态和功能发生显著变化。例如,在线粒体动态 (融合和分裂) 调节下,线粒体在不同阶段表现出“正统型”、“中间型”和“浓缩型”结构^[2-4]。在哺乳动物中,线粒体在生精细胞的发育与分化过程中发挥了至关重要的作用。研究表明,生精干细胞在未分化状态下主要依赖糖酵解供能,以降低因氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation, OXPHOS) 产生的 ROS 对基因组的损伤^[5]。然而,在分化过程中,随着能量需求的增加,生精干细胞会发生生物能量偏好的转变,从糖酵解为主逐渐过渡到以线粒体 OXPHOS 为主。这一代谢转变对于维持分化细胞的能量供应和代谢平衡至关重要。如果通过抑制糖酵解或线粒体呼吸链的关键步骤阻断这一过程,生精细胞的发育和功能会受到显著影响^[6]。此外,线粒体还通过调节 ROS 水平、代谢中间产物生成和特定转录因子 (如 FOX 家族基因) 的表达,进一步调控生精细胞的发育过程^[7]。尽管在一些物种中关于线粒体在生精干细胞中的功能已有较多研究,但尚未有相关文献系统阐述模式线虫中线粒体在生精细胞中的作用。因此,未来的研究可以着重探讨线粒体在线虫生精过程中是否同样存在类似的代谢调节功能,尤其是其在糖酵解与 OXPHOS 动态平衡、ROS 调控和代谢信号转导中的角色。这将有助于进一步揭示线粒体在不同物种中的保守与特异功能,丰富对生殖细胞发育机制的进化认知。

在现有研究的基础上,线粒体在秀丽隐杆线虫生殖腺及生殖细胞中的功能体现出其在调控细胞凋亡、能量代谢及细胞分化等方面的多重角色。例如,细胞死亡蛋白 (cell death protein, CET)-4 是细胞凋亡中的关键执行蛋白,在秀丽隐杆线虫中 CED-4 蛋白与人类的凋亡蛋白酶激活因子 1 (apoptosis protease-activating factor-1, Apaf-1) 具有同源性。野生型 CED-4 与 CED-9 结合并定位在线粒体外膜, CED-9 通过这种结合抑制 CED-4 的活性。当细胞凋亡信号被激活时,上游的仅含 BH3 结构域的蛋白质 (bcl-2 homology 3-only proteins, BH3-only) (如产卵缺陷蛋白 (egg laying defective, EGL)) 与 CED-9 结合,导致 CED-4 从 CED-9 上释放出来。Aph-1 过表达抑制因子 (suppressor of APH-1 overexpression-1, SAO-1) 和动力蛋白轻链 1 (dynein light chain-1, DLC-1) 是两个关键的调控蛋白。SAO-1 在秀丽隐杆线虫的原始生殖细胞和生殖腺中高度表达。DLC-1 是一种

细胞骨架蛋白, 参与多种细胞过程, 包括细胞凋亡调控。SAO-1 通过与 DLC-1 结合, 防止其降解, 从而稳定 DLC-1 的表达。DLC-1 通过与 SAO-1 形成复合物, 促进 CED-4 从线粒体外膜向核膜的转运。当 CED-4 被释放并转运至核膜后, CED-4 在核膜上聚集, 形成凋亡体 (apoptosome)。这个凋亡体通过激活 CED-3 蛋白酶 (相当于人类的 Caspase-9), 启动细胞凋亡的级联反应, 最终导致细胞死亡^[8]。这一过程不仅确保了受损或不必要的生殖细胞被清除, 还维持了生殖腺的健康和稳定。在细胞凋亡过程中, SAO-1 及 DLC-1 等调节蛋白的作用揭示了线粒体通过细胞骨架蛋白的稳定来影响细胞命运的复杂机制。尽管已有研究揭示了它们在秀丽隐杆线虫生殖腺中的重要性, 但这些蛋白质是否在不同发育阶段或生殖条件下具有不同的调节模式, 尚未得到充分研究。这种差异可能与线粒体在细胞分裂和分化中的特定需求相关, 因此, 通过高分辨率成像和分子示踪手段进一步探讨这些蛋白质在不同时空条件下的动态分布和功能, 对于全面理解线粒体在生殖细胞中的作用至关重要。

线粒体在生殖细胞的分化过程中通过形态和数量的动态调控适应细胞的功能需求, 这在一定程度上与哺乳动物的生殖细胞调控一致, 但线粒体的分区化表达和选择性质量控制机制如何适应多种生理环境仍值得深入探讨。尤其是在调节线粒体 DNA 突变积累方面, 现有的自噬和细胞吞噬机制尚不能完全解释其在生殖细胞中的特异性。结合现代基因组编辑和单细胞测序技术, 未来的研究可以深入揭示线粒体 DNA 质量控制与细胞分化和凋亡信号的相互作用, 以便更好地理解线粒体在确保生殖细胞健康方面的多层次作用。

2 线粒体在精子发生阶段的作用

在 L3 阶段, 生殖细胞开始减数分裂, 经过粗线期、双线期、终变期后, 初级精母细胞从“生殖管 (Rachis)”分离, 缢裂为 2 个次级精母细胞。在减数第二次分裂时期, 2 个次级精母细胞以类似于出芽的方式分化为 4 个独立的精子细胞和 1 个残余体, 这个阶段精子细胞会将大多数门控离子通道、微丝微管、肌动蛋白、核糖体、高尔基体以及内质网等细胞器留在残余体中, 只留下无核膜的细胞核、线粒体和 FB-MOs 结构。该物质分选过程异常将导致精子无法激活。例如, 酵母 Glc 7 样磷酸酶 3/4 (yeast Glc seven like phosphatase 3/4, gsp-

3/4) 突变会导致染色体桥接, 进而导致染色体分离异常, 染色体无法正常分配到 4 个精子细胞中^[9]。在初级精母细胞阶段, MOs 招募 MSP, 逐渐形成 FB-MOs 结构, 并在次级精母细胞中完成组装。此时, MSP 在纤维体 (fibers body, FB) 内呈纤维状排列, 在精子细胞出芽过程中, FB 逐步释放 MSP。形成精子细胞后, MSP 弥散在细胞质中。随后, 在精子激活时, MOs 与细胞膜融合, 释放其内容物, MSP 聚集到伪足部分, 为精子的爬行提供动力 (图 1)。

线粒体的生物合成和功能对于生殖干细胞的维持和分化至关重要。研究表明, 在秀丽隐杆线虫中, 线粒体的转录活动高度分区化决定了线粒体的成熟。线粒体转录活动受多种信号通路的调控, 例如胰岛素/胰岛素样生长因子 1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1) 和转化生长因子 β (transforming growth factor beta, TGF- β)

信号通路。随着生殖细胞核从远端向近端生殖腺臂迁移, 线粒体的形态从球状变为管状, 并逐渐极化。但线粒体如何通过细致的信号调控网络精准地影响细胞命运, 仍有许多不明之处。例如, 线粒体的形态变化, 尤其是从球状向管状的转变, 如何与不同类型的生殖细胞分化过程相协调? 这一变化是否依赖于生殖干细胞所处的微环境, 或是在特定的生理状态下才会发生? 现有研究大多侧重于胰岛素 IGF-1 和 TGF- β 信号通路的作用, 但其他潜在的细胞内外信号 (如氧气、营养物质的可用性等) 在这一过程中可能也扮演着关键角色。研究发现, 线粒体转录活动的分区化被认为是决定线粒体成熟和功能的一个关键因素。线粒体 RNA 聚合酶 1 (RNA polymerase, mitochondrial1, RPOM-1) 的表达在生殖细胞核从远端向近端生殖腺臂转移的过程中逐渐增加。这种转变伴随着线粒体形态的变化和功能的适应, 例如在近端生殖腺臂中, ATP 和 ROS 的产量显著增加, 表明线粒体的功能正在不断适应生殖细胞的能量需求。如果线粒体的生物能量受到干扰, 例如 RPOM-1 的缺失, 会导致生殖细胞的分化受阻, 表现为在生殖腺臂的远端区域形成肿瘤。这是由于有丝分裂与分化之间的平衡被破坏, 导致生殖细胞停滞在减数分裂前期, 无法正常分化成卵细胞^[10]。这种功能障碍还会引发生殖细胞的补偿性凋亡, 试图通过细胞死亡来限制肿瘤的生长。

线粒体的成熟过程在进化上是保守的, 这一过

程不仅在秀丽隐杆线虫中存在,也在哺乳动物的干细胞分化过程中起到类似的作用。哺乳动物干细胞在分化过程中,线粒体的RNA聚合酶表达增加,线粒体形态变为管状,同时伴随代谢活性的增强^[10]。线粒体包含独立的基因组,即线粒体DNA (mitochondrial DNA, mtDNA),其包含了多个对OXPHOS至关重要的基因。由于mtDNA的高突变率以及较低的修复效率,存在有害突变的可能性较高。研究发现,生殖细胞中存在的机制可以限制这些突变的积累,对线粒体以及mtDNA的数量和质量进行严格的控制,以保证传递给下一代的mtDNA质量。PGCs通过形成类似突起结构,将多余的线粒体转移到邻近的细胞中进行消化,从而减少线粒体数量的这一过程被称为“细胞吞噬”。这一发现不仅揭示了生殖细胞如何通过严格的质量控制来防止有害突变的累积,还为线粒体遗传学的研究提供了新的视角。另外,PGCs通过自噬途径清除部分线粒体,这两个机制结合使用,使mtDNA的数量减少了大约一半。此外,PTEN诱导的激酶1 (PTEN-induced kinase, PINK1)在不依赖帕金蛋白 (Parkin) 和自噬的情况下,优先减少含有突变mtDNA的线粒体比例。PINK1通过独立的机制进行线粒体质量的控制,保证传递给下一代的mtDNA的质量^[11]。近年来,PIWI互作RNA (PIWI-interacting RNA, piRNA)作为非编码RNA在生殖细胞中的重要作用被逐渐揭示,特别是其在生殖细胞自我更新和维护中的功能。piRNA是一种与P元件诱导的萎缩型睾丸 (P-element induced wimpy testis, PIWI) 蛋白结合的非编码RNA,该结合不仅在维持生殖细胞的稳定性方面起到了核心作用,还可能通过调控线粒体功能、OXPHOS和ATP生产来影响生殖细胞的分化和功能。线粒体功能的变化可以调控piRNA的生物合成,从而可能影响生殖和衰老过程。细胞色素c氧化酶亚基1 (cytochrome c oxidase subunit 1, COX1)是线粒体呼吸链复合物IV (也称为细胞色素c氧化酶)的一个亚基,定位于线粒体内膜上。COX1在OXPHOS过程中起关键作用,通过电子传递和质子泵的功能,其功能直接影响细胞的能量代谢和生产ATP的效率。COX1的多态性 (即基因变异)会通过调控piRNA的表达,导致的线粒体功能障碍,减少ATP的生成,从而降低精子的数量和活力,并最终影响生殖能力和生物体的健康寿命^[12]。COX1基因的多态性与piRNA的表达之间的关联,进一步提示

了线粒体功能与生殖细胞的基因表达密切相关。然而目前对piRNA与线粒体功能之间调控的机制仍然未知,尤其是piRNA如何通过调控线粒体功能来影响精子数量、活力以及生殖能力的机制,仍需进一步的实验验证。

3 线粒体参与精子激活和获能

在秀丽隐杆线虫中,精子激活是指精子从静止状态转变为具有运动能力和受精能力的过程。该过程主要包括两个关键事件:伪足的形成和膜性细胞器的融合。伪足是精子运动所需的关键结构,在精子激活过程中,伪足通过MSP纤维的装配和拆卸形成。MSP纤维在伪足内组装,使得精子能够进行阿米巴样运动,从而在生殖道内移动并最终到达卵子。MOs的融合是精子激活的另一个关键事件,其过程类似于哺乳动物精子的顶体反应,在分子水平上具有一定的保守性。MOs是由高尔基体或内质网衍生而来的精子特有的膜结构。其内部腔室能储存信号分子,包括离子和小分子调节因子,如H⁺和Ca²⁺。在精子激活时,MOs膜上的多种蛋白质或离子通道 (如精子发生缺陷蛋白 (spermatogenesis-defective protein, SPE) -9^[13]、SPE-38^[14]、瞬时受体电位通道蛋白3 (transient receptor potential channel protein 3, TRP-3)^[15]) 会重新分布,Zrt-/Irt-样蛋白转运蛋白7.1 (Zrt-, Irt-like protein transporter 7.1, ZIPT-7.1)^[16]及肌醇1, 4, 5-三磷酸受体样蛋白 (inositol trisphosphate receptor-1, IP3R-like) 离子通道打开,释放MOs中的Zn²⁺和Ca²⁺。MOs和细胞质膜的融合主要是由精子发生必需蛋白1 (fertilization defective-1, FER-1) (一种定位在MOs膜上的ferlin家族成员) 介导Ca²⁺依赖的脂质处理事件,FER-1蛋白定位于MOs膜上,在精子生成过程中通过其多个C2结构域介导MOs与细胞质膜 (plasma membrane, PM) 的融合,并且在融合后部分转移到PM。这一过程依赖于细胞内Ca²⁺信号,而FER-1的C2结构域能够感知并结合Ca²⁺,并且在膜融合过程中具有独特的非冗余功能,降低细胞内Ca²⁺浓度并减少MOs的融合率。此外FER-1还通过与其他膜融合机制蛋白 (如突触小泡相关膜蛋白 (synaptobrevin, SNB) 和突触融合蛋白 (syntaxin, STX)) 的相互作用,促进MOs的融合^[17]。

3.1 线粒体在精子激活过程中动态变化

近年来的研究揭示了一种新的机制——线粒体

通过胞外囊泡线粒体囊 (mitopher) 的形式进行特异性胞吐作用——线粒体囊发生 (mitopherogenesis) 从而排出精子中的健康线粒体, 而受损或功能异常的线粒体则无法通过线粒体囊作用排出。这一发现提示, 线粒体囊发生不仅是精子发育过程中线粒体质量控制的一种方式, 更是维持精子内线粒体平衡、确保精子正常功能的重要机制。线粒体囊的生成受到胞外蛋白酶信号的调控, 尤其是在精子活化过程中, 胞外蛋白酶通过 SPE-8 等分子的介导, 启动了线粒体囊的形成。从而精细调节精子中线粒体的数量和质量^[18]。线粒体囊发生的发现不仅在机制上具有重要意义, 更为男性生育力研究提供了新的视角。在精子发育的后期, 精子需要精细调控线粒体的数量, 过量的线粒体会影响精子的运动能力和受精潜力。以往对精子线粒体的研究大多集中于线粒体的功能障碍及其与不育症的关系, 而线粒体囊发生的发现则突出了线粒体数量调控的重要性, 为我们提供了新的思路来解释男性不育症, 特别是那些由线粒体异常引起的疾病。某些男性不育症可能与精子中线粒体的异常积累有关, 这可能影响精子的功能甚至导致不育。通过研究线粒体囊发生这一过程, 未来可能能够找到新的治疗靶点。例如, 针对线粒体过度积累或线粒体功能障碍的治疗策略, 可以通过调节线粒体囊发生的相关信号通路来实现, 进而改善精子的质量和生育能力。

3.2 氧化磷酸化 (OXPHOS) 和糖酵解调控精子激活和运动

在哺乳动物中, 线粒体是细胞的能量工厂, 通过 OXPHOS 产生 ATP, 为精子运动和顶体反应提供必需的能量。精子的鞭毛运动依赖于大量的 ATP, 线粒体在精子中集中分布于中段, 为鞭毛的波动提供能量支持。Setiawan 等^[19]研究表明, 在线粒体中, OXPHOS 是生成 ATP 的主要途径, 尤其是在需要大量能量的情况下, 如精子激活过程中。OXPHOS 生成的 ATP 支持鞭毛的运动, 这是精子游动所必需的。

López-González 等^[20]研究揭示了 ATP 通过激活嘌呤能离子通道型 4 (purinoceptor ion channel P2X subtype 4, P2X4) 受体引起精子头部体积的增加, 这一过程与精子顶体反应 (acrosome reaction, AR) 的启动密切相关。ATP 不仅作为精子运动的能量来源, 还作为信号分子调节精子的生理反应。这一发现拓展了对 ATP 功能的认识, 提

示 ATP 在精子激活过程中具有双重角色: 既是能量的直接供给者, 又通过 P2X4 受体介导的信号通路, 参与调控精子的生理反应, 特别是在顶体反应过程中, ATP 的信号作用与 Ca^{2+} 的内流密切相关^[20]。

尽管线粒体是精子 ATP 的主要来源, 但糖酵解在精子激活过程中同样起到重要作用。在线虫中生殖腺线粒体异常 1 (abnormal mitochondria in germline 1, AMG-1) 突变会导致线粒体膜电位的下降和 ATP 合成的减少, 表现为 AMG-1 突变体中四甲基罗丹明乙酯 (tetramethylrhodamine ethyl ester, TMRE) 荧光强度显著低于对照组, 这表明线粒体功能受损, 最终导致 MOs 的融合减少。此外, 研究发现, AMG-1 突变体中的丙酮酸脱氢酶 β 亚基 1 (pyruvate dehydrogenase beta subunit-1, pdhb-1) 和丙酮酸脱氢酶激酶 2 (pyruvate dehydrogenase kinase-2, pdhk-2) 的表达下调, 而乳酸脱氢酶 1 (lactate dehydrogenase-1, ldh-1) 的表达上调。这表明细胞可能通过增强糖酵解途径来产生 ATP, 以补偿线粒体受损生成 ATP 的不足。在此情况下, 细胞通过增加乳酸脱氢酶的表达, 增强糖酵解途径, 产生更多的乳酸来弥补能量缺失。由于糖酵解途径的增强, 乳酸作为代谢终产物在细胞中积累, 导致细胞酸化。AMG-1 突变体精子的细胞质显著酸化, 类似于某些人类疾病 (如 Leigh 综合征) 中的乳酸中毒现象。这个结果进一步支持了糖酵解在精子能量代谢中的重要性, 尤其是在线粒体功能受损的情况下, 糖酵解途径的增强显示出其在维持精子能量供应中的重要补偿作用^[21]。然而, 尽管糖酵解为精子提供了代偿性的能量供应, 但这一机制的长远效应仍需深入研究。特别是在长期依赖糖酵解的情况下, 精子的酸化可能对细胞结构和功能产生负面影响。糖酵解生成的乳酸积累会导致细胞环境的酸化, 可能抑制精子的运动能力, 甚至影响精子与卵子的结合能力。

Nascimento 等^[22]发现, OXPHOS 虽然能提供部分 ATP, 但不足以维持精子的高运动能力, 糖酵解被认为是精子能够快速生成 ATP 的主要能量来源, 以满足精子高运动状态下的能量需求。Plaza-Davila 等^[23]研究表明, 抑制线粒体复合物 I 会显著降低精子的运动能力和膜完整性, 这是由于 ATP 生成减少和过氧化氢 (H_2O_2) 水平增加所致。OXPHOS 途径为精子提供主要的能量支持, 糖酵解途径则在某些情况下 (如需要快速运动时) 能够

为精子提供额外的ATP,来维持其较高的速度,尤其是在线粒体功能受损的情况下,糖酵解途径则是替代能量的来源^[23]。对于某些物种,有证据表明,糖酵解也可能是精子运动产生ATP的重要来源,甚至比OXPHOS更重要。糖酵解主要发生在精子的主要部分(principal piece),这个区域包含了大量的糖酵解酶。相对于OXPHOS,糖酵解的ATP产量较低,但由于其快速和局部化的特点,能够迅速提供精子所需的能量。Tourmente等^[24]的研究中,通过对不同小鼠种类的精子进行比较,发现依赖糖酵解的精子在游动速度和ATP含量上普遍低于依赖OXPHOS的精子,而在抑制OXPHOS的实验中,依赖糖酵解的小鼠精子(如家鼠)的ATP含量和游动性能几乎不受影响,进一步证明了糖酵解在这些种类中的重要性。甘油醛-3-磷酸脱氢酶-S(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-S, GAPDS)是一种特异于精子的糖酵解酶,紧密结合于精子鞭毛的纤维鞘上。*Gapds-null* (*Gapds*^{-/-})雄性小鼠产生的精子数量和形态正常,但表现出严重的运动缺陷。尽管线粒体的氧气消耗正常,但*Gapds*^{-/-}小鼠的精子ATP水平仅为野生型(wild type, WT)小鼠的10.4%左右。这一显著的ATP水平下降突显了以GAPDS介导的糖酵解在提供精子运动所需能量中的主要作用^[25]。

3.3 线粒体储存的锌离子参与精子激活

近年来的研究表明,线粒体在精子激活过程中的角色不仅限于提供能量,它们在Zn²⁺的动员和调控中也扮演着至关重要的角色。Liu等^[26]研究表明,Zn²⁺是秀丽隐杆线虫精子激活的关键因素之一。在体外实验中,Zn²⁺能够诱导秀丽隐杆线虫的精子激活,使得圆形精子延伸出伪足并表现出阿米巴式的细胞运动。这一过程依赖于SPE-8信号通路,表明Zn²⁺在精子激活中起到了重要的调控作用^[26]。线粒体是主要的锌储存库,Deng等^[27]的研究(2021)进一步揭示了线粒体锌离子转运蛋白SLC-30A9在精子激活中的关键作用。SLC-30A9定位于线粒体膜上,主要通过Zn²⁺/H⁺交换机制工作,利用线粒体内的质子梯度将Zn²⁺从线粒体中导出。缺乏SLC-30A9会导致线粒体内Zn²⁺水平升高,造成多种组织中的线粒体基质显著肿胀,线粒体代谢功能受损,并且引发线粒体应激反应。在秀丽隐杆线虫的精子激活过程中,线粒体内Zn²⁺外排作为一种信号分子触发精子的活化。而SLC-30A9缺陷的精子响应激活能力差,表现为伪足形成受阻,生育

力显著下降^[27]。这一发现表明,线粒体在精子激活过程中不仅是能量供应的中心,还在Zn²⁺的动员和调控中起到了重要作用。

3.4 线粒体核糖体参与精子激活

传统观点认为,与哺乳动物类似,线虫成熟精子中由于细胞质内核糖体的清除,所以不会进行新的蛋白质合成,然而线粒体核糖体可能在精子激活过程中发挥潜在作用。在哺乳动物中,精子中的线粒体能够进行转录和翻译,从而产生新的蛋白质,这一过程可能通过特定的RPOM(如POLRMT)和转录因子(如线粒体转录因子A(mitochondrial transcription factor A, TFAM)和线粒体转录因子B2(transcription factor B2, mitochondrial, TFB2M))介导。这些新合成的蛋白质在维持精子活力和功能方面可能起到关键作用^[28]。另外,在秀丽线虫生殖细胞中高度表达的线粒体RNA结合蛋白(RNA binding protein, RBP)复合体AMG-1/类固醇受体RNA激活物(SAR)茎环相互作用RNA结合蛋白1(steroid receptor RNA activator (SAR) stem loop interacting RNA binding protein 1, SLRP-1)调节精子发生的研究也暗示了在精子发生后会有线粒体核糖体编码的基因表达。研究发现,AMG-1通过与SLRP遗传相互作用来共同调控秀丽隐杆线虫的精子发育。AMG-1缺失会导致线粒体翻译机制的下降。尽管线粒体基因转录水平上升,但由于AMG-1突变会导致线粒体DNA编码的12S rRNA表达下调,线粒体核糖体组装受阻,最终影响线粒体蛋白质的合成。除此之外,AMG-1缺失还会引起线粒体形态异常和功能障碍,如线粒体膜电位下降和ATP合成减少。这些变化严重影响精子的活力和运动能力。研究表明,AMG-1突变精子在精子激活过程中表现出迁移能力下降、假足延伸不足等现象,这进一步证明了线粒体核糖体在精子激活中的关键作用。

对于卵母细胞研究显示,早期卵母细胞的复合物I水平显著降低且不活跃,并表现出高度活跃的线粒体未折叠蛋白反应,表明电子传递链不平衡。这种现象通过活细胞成像和蛋白质组学分析得到证实。卵母细胞通过抑制线粒体复合物I维持低ROS生成的同时,保持线粒体的基本功能。这种独特的机制解释了为何患有复合物I相关线粒体疾病的个体不会出现生育力下降。此外,抑制复合物I是一种进化上保守的策略,帮助卵母细胞在长寿和生物活性之间取得平衡^[29]。AMG-1的结论以及卵母细

胞相关的研究, 提示在精子激活过程中, 类似的机制可能也会发生, 即通过调节线粒体复合物 I 的表达和活性, 来调控 ROS 的生成, 从而影响精子的活力和受精能力, 这种调控可能通过线粒体核糖体的翻译功能来实现, 即在精子激活时, 通过线粒体核糖体生成新的 OXPHOS 蛋白质, 增强线粒体的功能, 以适应精子激活和运动的需求。

4 总结与展望

本文详细回顾了线粒体在秀丽线虫精子发生和激活过程中的关键作用 (表 1)。线粒体不仅在精子发生的早期阶段通过提供能量、调节离子浓度和参与 MOs 的形成, 为精子的发育和成熟提供了支持。线粒体所扮演的多种角色揭示了其不仅作为细胞能量代谢的核心发挥着关键作用, 而且还通过一系列复杂的调控机制, 显著影响精子的运动。在生殖腺的发育过程中, 定位在线粒体外膜的 CED-4 从 CED-9 蛋白上释放出来, 并从线粒体外膜聚集到核膜上形成凋亡体, 从而启动细胞死亡, 确保不必要的细胞被清除, 因此维持了生殖腺的健康和稳定。在生殖细胞核从远端到近端转移的过程中线粒体 RNA 聚合酶 RPOM-1 的表达伴随着线粒体形态和功能的变化以适应能量需求。定位于线粒体内膜线粒体呼吸链复合物 IV 的一个亚基 COX1 直接影响能量代谢和 ATP 产生效率, 同时还可以通过调控 piRNA 的表达影响生殖细胞的正常功能。以上均是线粒体正常功能在精子发生阶段发挥的重要作用, 另外在本综述中提到线粒体在精子激活阶段也同样发挥不可或缺的作用。线粒体 RBP 生殖腺线粒体异常 1 (abnormal mitochondria in germline 1, AMG-1) 功能的缺失会导致线粒体功能受损, 最终会导致 MOs 与质膜的融合减少, 最终表现为细胞无法活化为具有爬行能力的精子。另一方面线粒体作为 Zn^{2+} 库, 当定位在线粒体的锌离子转运蛋白 SLC-30A9 突变, 其内的锌离子则无法外排进而无法作为信号分子活化细胞, 伪足无法形成。

在以往的研究中, 对于秀丽隐杆线虫的精子发生和激活, 关注点主要聚焦在伪足的形成和 MOs 的融合方面, 而忽视了线粒体在其中发挥的重要作用。传统的观点认为, 在精子发生的过程中核糖体会一同其他的细胞器一起被丢弃到残余体中, 因此在精子激活阶段不会有新蛋白质的产生。但是忽略了线粒体中核糖体行使功能的可能性。

AGM-1 作为一种线粒体 RBP, 主要与线粒体

核糖体小亚基和大亚基的核心组分 12S rRNA 和 16S rRNA 特异性结合, 参与线粒体核糖体的组装和功能维持。在 AMG-1 突变体中, 12S rRNA 的表达显著下调, 而 16S rRNA 的表达也受到了不同程度的影响。这两个 rRNA 是线粒体核糖体组装的核心成分, 并且对线粒体基因的翻译至关重要, 其加工和功能受到影响, 导致线粒体核糖体装配效率下降, 继而导致线粒体核糖体无法正常运行, 影响线粒体编码蛋白 (如参与 OXPHOS 的蛋白复合体 I 和 IV 亚基) 的翻译, 最终损害线粒体功能。这给我们提供了一个全新的视角, 即在秀丽隐杆线虫精子激活的阶段, 细胞质内由于没有核糖体的存在所以没有蛋白质的翻译产生, 但是线粒体内的核糖体可能仍然具有翻译新蛋白质的功能。而这种新蛋白质的产生, 例如负责 OXPHOS 的蛋白复合体 I 的蛋白质更新或许对精子的活化至关重要。这将改变传统的认为精子活化过程没有新蛋白质生成的观点。精子细胞除了在精子发生阶段准备好一部分蛋白质以外, 在精子激活阶段线粒体中也会有蛋白质的持续产生。

后续的研究可以将重点放在特异性抑制精子线粒体上面, 观察线粒体核糖体的抑制对精子活化是否造成影响。线粒体内共生学说 (Endosymbiotic Theory) 是一个广为接受的生物学理论。大约在 20 亿年前, 地球大气中的氧气浓度开始增加。一些原始真核细胞通过吞噬作用捕获了一种好氧细菌, 而这种细菌具有高效的氧化代谢能力。吞噬作用并未导致好氧细菌的降解, 相反, 这种细菌与宿主细胞形成了共生关系。这些好氧细菌逐渐演变为线粒体, 为宿主细胞提供 ATP 等能量分子, 而宿主细胞为其提供保护和营养环境。线粒体内存在 70S 核糖体, 与原核生物的核糖体更为相似, 而非真核生物的 80S 核糖体。由于这种核糖体的差异, 线粒体的某些蛋白质合成过程会受到原核生物抗生素 (如链霉素、四环素) 的抑制, 而真核细胞的蛋白质合成不受影响。这给今后的研究带来了很大的启发, 由于秀丽隐杆线虫的优势, 可以轻松地获得精子细胞并进行体外激活, 所以未来的研究可以尝试用某些原核生物的抗生素抑制线粒体核糖体的功能, 探究其对精子活化是否有显著影响。

哺乳动物 (如小鼠) 和线虫的精子发生过程在基本细胞学原理上存在一定的保守性, 但在调控模式、成熟过程及精子激活机制等方面表现出显著差异。哺乳动物的精子发生依赖支持细胞 (Sertoli 细

胞)的结构支持、营养供应及信号调节,并且通过血睾屏障严格控制生精细胞的发育,而线虫的生精过程是细胞自主的,不需要辅助细胞即可完成分化。残余体(residual body)的形成方式也有所不同,哺乳动物精子在精子形成(spermiogenesis)过程中逐步去除细胞质,而线虫的精子则是在减数分裂II末期直接从残余体中分裂出来。精子成熟和激活的时空差异也十分显著,哺乳动物精子在睾丸内完成形态成熟,并在附睾(epididymis)内获得部分运动能力,而最终激活(顶体反应)发生在雌性生殖道内;相比之下,线虫的精子在雄性生殖道中以球形未成熟精子细胞(spermatid)形式储存,并在进入雌性生殖道后,由精浆蛋白酶(如胰蛋白酶样蛋白5(trypsin-like protease-5, TRY-5))

诱导形态变化,形成具有伪足(pseudopod)的运动型精子。此外,两者的精子运动方式也不同,哺乳动物精子依靠鞭毛(flagellum)游动,而线虫精子通过伪足爬行至卵细胞处完成受精。尽管如此,哺乳动物和线虫的精子激活均涉及特定的膜蛋白重定位及信号调节,以获得最终的受精能力。然而,目前关于线虫生精过程和精子激活过程中线粒体功能的研究仍然有限,尚不清楚其是否如哺乳动物一样,在能量供给、代谢调控及ROS信号调节方面发挥关键作用。因此,未来的研究可以进一步探索线粒体在不同模式生物中的保守性及特异性,特别是其在线虫精子发生与激活过程中的功能机制,从而深化对生殖细胞代谢调控的理解,并揭示线粒体在生殖进化中的潜在作用。

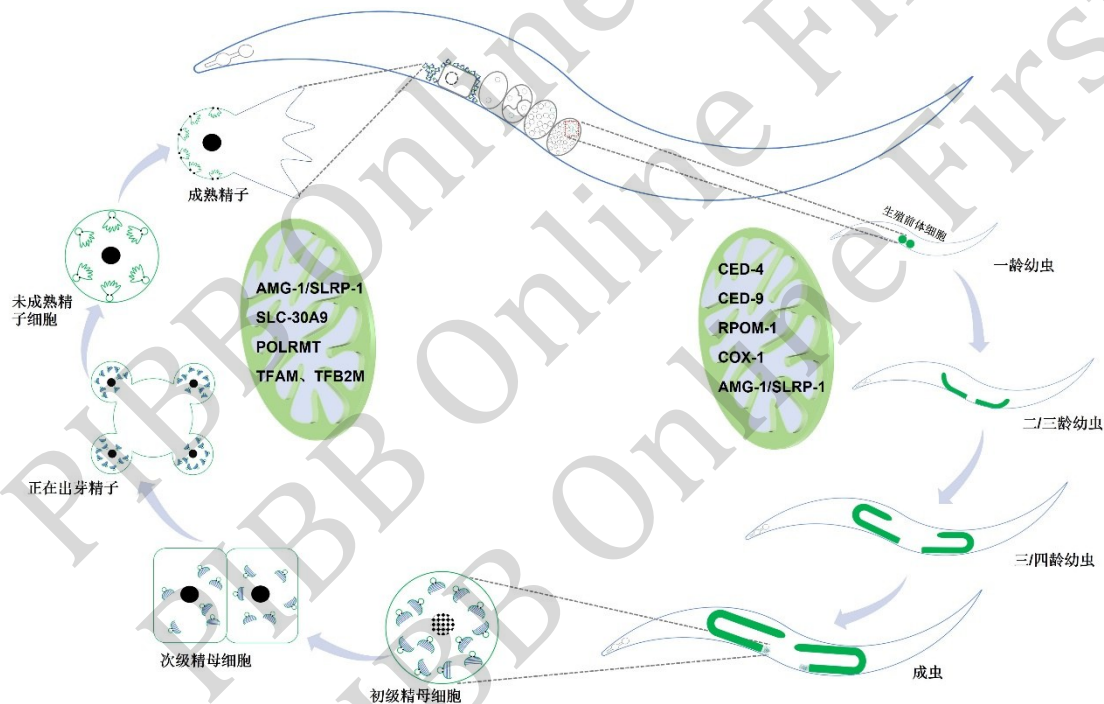


Fig. 1 Gonad generation and sperm activation in nematodes

图1 线虫生殖腺的发生及精子的活化过程

AMG-1, abnormal mitochondria in germline 1, 生殖腺线粒体缺陷; SLRP-1, steroid receptor RNA activator (SAR) stem loop interacting RNA binding protein 1, 类固醇受体RNA激活物(SAR)茎环相互作用RNA结合蛋白1; SLC-30A9, solute carrier family 30 member 9, 溶质载体家族30A9; POLRMT, RNA polymerase mitochondrial, 线粒体RNA聚合酶; TFAM, transcription factor A, mitochondrial, 线粒体转录因子A; TFB2M, transcription factor B2, mitochondrial, 线粒体转录因子B2; CED-4, cell death protein 4, 细胞死亡蛋白4; CED-9, cell death protein 9, 细胞死亡蛋白9; RPOM-1, RNA polymerase, mitochondrial1, 线粒体RNA聚合酶1; COX-1, cytochrome c oxidase subunit 1, 细胞色素c氧化酶亚基1。

Table 1 Functions of mitochondria-associated proteins involved in spermatogenesis and activation

表1 线粒体相关蛋白在精子发生和激活阶段参与的功能

时期	线粒体相关蛋白	主要参与事件	结果
生殖腺形成	CED-4、CED-9 ^[8]	细胞凋亡	受损/不必要的细胞清除
	RPOM-1 ^[10]	调控ATP和ROS产量	生殖细胞分化
精子发生阶段	PINK-1 ^[11]	减少含有突变线粒体DNA的线粒体	线粒体质量控制
	COX-1 ^[12]	能量代谢和生产ATP的效率 调控piRNA表达	调控精子数量和活力
精子活化阶段	AMG-1/SLRP-1 ^[21]	糖酵解和ATP生成 调控12S核糖体RNA	乳酸生成和细胞酸化 线粒体蛋白质翻译
	SLC-30A9 ^[27]	线粒体锌离子储存	响应激活信号

CED-4, cell death protein 4, 细胞死亡蛋白 4; CED-9, cell death protein 9, 细胞死亡蛋白 9; RPOM-1, RNA polymerase, mitochondrial1, 线粒体RNA聚合酶 1; PINK-1, PTEN-induced kinase, PTEN诱导的激酶; COX-1, cytochrome c oxidase subunit 1, 细胞色素c氧化酶亚基1; AMG-1, abnormal mitochondria in germline 1, 生殖腺线粒体异常 1; SLRP-1, steroid receptor RNA activator (SAR) stem loop interacting RNA binding protein, 类固醇受体RNA激活物 (SAR) 茎环相互作用RNA结合蛋白 1; SLC-30A9, solute carrier family 30 member 9, 溶质载体家族30A9.

参考文献

[1] Schwartz A Z A, Abdu Y, Nance J. ZIF-1-mediated degradation of zinc finger proteins in the *Caenorhabditis elegans* germ line. *Genetics*, 2023, **225**(3): iyad160

[2] De Martino C, Floridi A, Marcante M L, *et al.* Morphological, histochemical and biochemical studies on germ cell mitochondria of normal rats. *Cell Tissue Res*, 1979, **196**(1): 1-22

[3] Hess R A, Miller L A, Kirby J D, *et al.* Immunoelectron microscopic localization of testicular and somatic cytochromes c in the seminiferous epithelium of the rat. *Biol Reprod*, 1993, **48**(6): 1299-1308

[4] Meinhardt A, Wilhelm B, Seitz J. Expression of mitochondrial marker proteins during spermatogenesis. *Hum Reprod Update*, 1999, **5**(2): 108-119

[5] Ryall J G, Cliff T, Dalton S, *et al.* Metabolic reprogramming of stem cell epigenetics. *Cell Stem Cell*, 2015, **17**(6): 651-662

[6] Chen W, Zhang Z, Chang C, *et al.* A bioenergetic shift is required for spermatogonial differentiation. *Cell Discov*, 2020, **6**: 56

[7] Kanatsu-Shinohara M, Tanaka T, Ogonuki N, *et al.* Myc/Mycn-mediated glycolysis enhances mouse spermatogonial stem cell self-renewal. *Genes Dev*, 2016, **30**(23): 2637-2648

[8] Zhang D, Yang H, Jiang L, *et al.* Interaction between DLC-1 and SAO-1 facilitates CED-4 translocation during apoptosis in the *Caenorhabditis elegans* germline. *Cell Death Discov*, 2022, **8** (1): 441

[9] Campbell B E, Rabelo E M, Hofmann A, *et al.* Characterization of a *Caenorhabditis elegans* glc seven-like phosphatase (gsp) orthologue from *Haemonchus contortus* (Nematoda). *Mol Cell* Probes, 2010, **24**(4): 178-189

[10] Charnpilas N, Tavernarakis N. Mitochondrial maturation drives germline stem cell differentiation in *Caenorhabditis elegans*. *Cell Death Differ*, 2020, **27**(2): 601-617

[11] Schwartz A Z A, Tsyba N, Abdu Y, *et al.* Independent regulation of mitochondrial DNA quantity and quality in *Caenorhabditis elegans* primordial germ cells. *eLife*, 2022, **11**: e80396

[12] Zhu Z, Li Y, Liang M, *et al.* piRNAs regulated by mitochondria variation linked with reproduction and aging in *Caenorhabditis elegans*. *Front Genet*, 2020, **11**: 190

[13] Zannoni S, L'Hernault S W, Singson A W. Dynamic localization of SPE-9 in sperm: a protein required for sperm-oocyte interactions in *Caenorhabditis elegans*. *BMC Dev Biol*, 2003, **3**: 10

[14] Zuo Y, Mei X, Singson A. CRISPR/Cas9 mediated fluorescent tagging of *Caenorhabditis elegans* SPE-38 reveals a complete localization pattern in live spermatozoa. *Biomolecules*, 2023, **13** (4): 623

[15] Singaravelu G, Chatterjee I, Rahimi S, *et al.* The sperm surface localization of the TRP-3/SPE-41 Ca²⁺-permeable channel depends on SPE-38 function in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol*, 2012, **365**(2): 376-383

[16] Zhao Y, Tan C H, Krauchunas A, *et al.* The zinc transporter ZIPT-7.1 regulates sperm activation in nematodes. *PLoS Biol*, 2018, **16** (6): e2005069

[17] Washington N L, Ward S. FER-1 regulates Ca²⁺-mediated membrane fusion during *C. elegans* spermatogenesis. *J Cell Sci*, 2006, **119**(12): 2552-2562

[18] Liu P, Shi J, Sheng D, *et al.* Mitophrogenesis, a form of mitochondria-specific ectocytosis, regulates sperm mitochondrial

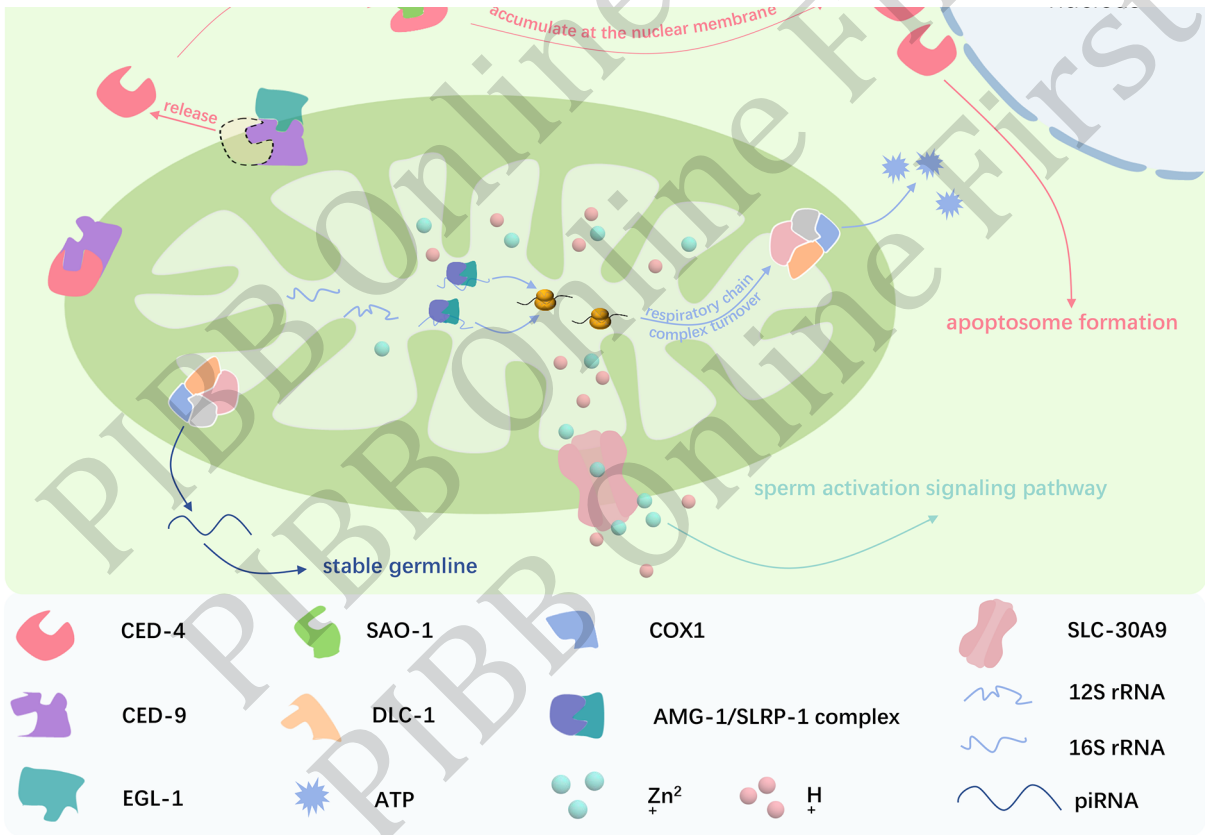
- quantity and fertility. *Nat Cell Biol*, 2023, **25**(11): 1625-1636
- [19] Setiawan R, Christi R F, Alhuur K R G, *et al.* Impact of glucose and pyruvate on adenosine triphosphate production and sperm motility in goats. *Anim Biosci*, 2024, **37**(4): 631-639
- [20] López-González I, Sánchez-Cárdenas C, De la Vega-Beltrán J L, *et al.* ATP increases head volume in capacitated human sperm *via* a purinergic channel. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 671: 318-326
- [21] Wang P, Wang Q, Chen L, *et al.* RNA-binding protein complex AMG-1/SLRP-1 mediates germline development and spermatogenesis by maintaining mitochondrial homeostasis in *Caenorhabditis elegans*. *Sci Bull: Beijing*, 2023, **68**(13): 1399-1412
- [22] Nascimento J M, Shi L Z, Tam J, *et al.* Comparison of glycolysis and oxidative phosphorylation as energy sources for mammalian sperm motility, using the combination of fluorescence imaging, laser tweezers, and real-time automated tracking and trapping. *J Cell Physiol*, 2008, **217**(3): 745-751
- [23] Plaza Davila M, Martin Muñoz P, Tapia J A, *et al.* Inhibition of mitochondrial complex I leads to decreased motility and membrane integrity related to increased hydrogen peroxide and reduced ATP production, while the inhibition of glycolysis has less impact on sperm motility. *PLoS One*, 2015, **10**(9): e0138777
- [24] Tourmente M, Villar-Moya P, Rial E, *et al.* Differences in ATP generation *via* glycolysis and oxidative phosphorylation and relationships with sperm motility in mouse species. *J Biol Chem*, 2015, **290**(33): 20613-20626
- [25] Miki K, Qu W, Goulding E H, *et al.* Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase-S, a sperm-specific glycolytic enzyme, is required for sperm motility and male fertility. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**(47): 16501-16506
- [26] Liu Z, Chen L, Shang Y, *et al.* The micronutrient element zinc modulates sperm activation through the SPE-8 pathway in *Caenorhabditis elegans*. *Development*, 2013, **140**(10): 2103-2107
- [27] Deng H, Qiao X, Xie T, *et al.* SLC-30A9 is required for Zn²⁺ homeostasis, Zn²⁺ mobilization, and mitochondrial health. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, **118**(35): e2023909118
- [28] Zhu Z, Kawai T, Umehara T, *et al.* Negative effects of ROS generated during linear sperm motility on gene expression and ATP generation in boar sperm mitochondria. *Free Radic Biol Med*, 2019, 141: 159-171
- [29] Rodríguez-Nuevo A, Torres-Sánchez A, Durán J M, *et al.* Oocytes maintain ROS-free mitochondrial metabolism by suppressing complex I. *Nature*, 2022, **607**(7920): 756-761

Mitochondrial Function and Regulation in Spermatogenesis and Activation of *Caenorhabditis elegans**

CHANG Zhan-Xin¹⁾, MIAO Long^{1,2)}**, WANG Peng^{3,4)}**

(¹⁾MOE Key Laboratory of Cell Proliferation and Regulation Biology, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China;
(²⁾College of Life Science and Food Engineering, Fuyang Normal University, Fuyang 236037, China;
(³)Key Laboratory of RNA Biology, CAS Center for Excellence in Biomacromolecules, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;
(⁴)College of Life Science, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Graphical abstract



Abstract Mitochondria play a pivotal role in spermatogenesis and sperm activation in *Caenorhabditis elegans*, serving as the primary ATP supplier for cell division and differentiation while also acting as a key regulator of zinc ion homeostasis, membrane dynamics, and apoptotic signaling. This review systematically summarizes the essential mitochondrial mechanisms at different stages of sperm development, highlighting their multifaceted contributions beyond energy metabolism. Mitochondria are crucial for maintaining the health and stability of the gonads by regulating key apoptotic execution proteins that facilitate the proper elimination of damaged or unnecessary germ cells. Additionally, mitochondria dynamically adjust their energy supply to meet the metabolic demands of different stages of germline development. During early spermatogenesis, mitochondria provide ATP

to fuel mitotic and meiotic divisions, support cellular differentiation, and regulate H^+ and Zn^{2+} exchange to maintain cytoplasmic homeostasis, thereby ensuring the proper maturation and functionality of sperm cells. As spermatogenesis progresses, mitochondria participate in processing and sorting essential sperm proteins, such as major sperm protein (MSP), and contribute to the formation of membranous organelles (MOs), which are critical for subsequent activation events. During sperm activation, mitochondria play a dual role in ensuring a successful transition from immotile spermatids to fully functional spermatozoa. First, they provide ATP to facilitate pseudopod formation, MO fusion, and ion channel regulation, all of which are essential for sperm motility and fertilization potential. Second, mitochondria regulate the quality and quantity of functional mitochondria within sperm cells through mitophagy—a recently discovered process in which mitochondrial vesicles are selectively released, ensuring that only healthy mitochondria are retained. This quality-control mechanism optimizes mitochondrial function, which is crucial for sustaining sperm motility and longevity. Beyond their traditional role in energy metabolism, mitochondria may also contribute to protein synthesis during spermatogenesis and activation. Recent evidence suggests that mitochondrial ribosomes actively translate specific proteins required for sperm function, challenging the long-standing belief that spermatozoa do not engage in *de novo* protein synthesis after differentiation. This emerging perspective raises important questions about the role of mitochondria in regulating sperm activation at the molecular level, particularly in modulating oxidative phosphorylation (OXPHOS) protein composition to optimize ATP production. In summary, mitochondria serve as both the central energy hub and a crucial regulatory factor in sperm activation, metabolic homeostasis, and reproductive success. Their involvement extends beyond ATP generation to include apoptotic regulation, ion homeostasis, vesicle-mediated mitochondrial quality control, and potential contributions to protein synthesis. Understanding these mitochondrial functions in *C. elegans* not only deepens our knowledge of nematode reproductive biology but also provides valuable insights into broader mechanisms governing mitochondrial regulation in germline cells across species. These findings open new avenues for future research into the interplay between mitochondria, energy metabolism, and sperm function, with potential implications for reproductive health and fertility studies.

Key words mitochondria, spermatogenesis, sperm activation, *Caenorhabditis elegans*, ATP, mitochondrial Ribosomes

DOI: 10.16476/j.pibb.20240.528

CSTR: 12369.14.pibb.20240528

* This work was supported by grants from National Key Research and Development Plan (2023YFA1801100) and The National Natural Science Foundation of China (32270774).

** Corresponding author.

MIAO Long. Tel: 86-10-64869461, E-mail: lmiao@bnu.edu.cn

WANG Peng. Tel: 86-10-64888478, E-mail: wangpeng615@mails.uas.edu.cn

Received: December 24, 2024 Accepted: March 7, 2025