

哺乳动物中由精子 RNA 介导的跨代遗传的研究进展*

付 博^{1,2)*} 马 红^{1,2)**} 刘 娣^{1,2)***}

⁽¹⁾ 黑龙江省农业科学院畜牧研究所, 黑龙江省作物与家畜分子育种重点实验室, 哈尔滨 150086;

⁽²⁾ 黑龙江省农业科学院畜牧研究所, 农业部种养殖结合重点实验室, 哈尔滨 150086)

摘要 随着表观遗传学的飞速发展, 拉马克的获得性遗传理论又重新得到了学术界的关注. 近年, 哺乳动物获得性性状的跨代遗传现象也得到了较为深入的研究. 在获得性性状的跨代遗传过程中, 由环境压力导致的表观遗传信息经由生殖系在代际间传递. 其中, 在环境压力相关的表观遗传信息的建立及传递过程中, 精子小非编码 RNA (small non-coding RNA, sncRNAs) 发挥关键作用, 环境压力信息以 sncRNAs 的形式储存在成熟精子中, 通过受精作用, 精子 sncRNAs 参与胎儿原始生殖细胞基因组的表观遗传修饰, 将表观遗传信息跨代传递, 进而影响获得性性状相关的基因表达. 本文主要综述了精子 sncRNAs 参与获得性性状跨代遗传的机制, 为研究遗传性的代谢疾病、促进人类生殖健康及家畜良种繁育提供新思路.

关键词 精子, 小非编码核糖核酸, 表观遗传, 跨代遗传

学科分类号 Q819

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0095

生存环境可使哺乳动物获得新的性状, 其中饮食结构引起的代谢疾病^[1-2]、环境因素导致的应激状态^[3]等获得性性状可在代际间跨代遗传. 该种现象使一度遭到学术界摒弃的拉马克的获得性遗传理论受到更多关注, 对表观遗传学的深入研究是我们重新认识该理论的基石. 在代际间, 父代获得性性状的跨代遗传以表观遗传调控为基础, 在不改变 DNA 序列的前提下, 造成可遗传的基因表达变化, 进而导致获得性性状的遗传.

父代的生存环境发生变化, 导致了表观遗传变异产生不同的环境适应性性状, 自然选择使环境适应性性状得以保留, 进而在代际间传递. 哺乳动物精子曾被认为仅具有传递 DNA 遗传物质的单一功能; 然而, 随着精子 RNA 的存在得到证实^[4], 精子 RNA 发挥的生物学作用逐渐受到关注. 现已证实, 精子小非编码 RNA (small non-coding RNA, sncRNAs) 可以作为精子标记物, 介导由父代环境压力造成的获得性性状跨代遗传^[3,5-6].

由于对获得性遗传机制的研究尚处初级阶段, 对环境压力敏感的表观遗传修饰在获得性性状跨代

遗传中的作用认识不清, 进而阻碍了对拉马克获得性遗传理论的重新认识. 此外, 基于以往人们对精子功能认识的不足, 精子 RNA 在胚胎早期发育过程中乃至获得性性状跨代传递过程中的真正作用长期被忽视. 因此, 阐明精子 RNA 在获得性性状“记忆”及传递过程中的作用, 尤其是揭示精子 RNA 在此过程中发挥表观遗传调控作用的机制, 将有助于从精子 RNA 的角度阐明获得性性状跨代遗传的机理. 本文重点综述了精子 sncRNAs 在父代获得性性状跨代遗传过程中的功能作用及其潜在

* 黑龙江省农业科学院引进博士研究项目(201507-32), 黑龙江省博士后科研启动金项目(LBH-Q15130), 黑龙江省农业科学院国家自然科学基金培育项目, 国家自然科学基金项目(31872980, 31671289, 31201804), 国家生猪产业体系岗位科学家(CARS-37), 黑龙江省科研机构创新能力提升专项(YC2016D001), “十二五”农村领域国家科技计划课题(2015BAD03B02-5)资助项目.

** 并列第一作者.

*** 通讯联系人.

Tel: 0451-86657928, E-mail: liudi1963616@163.com

收稿日期: 2018-03-30, 接受日期: 2018-09-05

机制。

1 环境压力下的获得性性状信息以 sncRNAs 的形式储存于精子中

受精合子内的绝大多数 sncRNAs (例如 microRNAs) 都源自卵母细胞, 这类 sncRNAs 可通过控制母源 mRNA 的稳定性和翻译来调控母源基因表达的时空特异性^[7], 进而参与调控母型-合子型过渡及第一次卵裂, 影响胚胎早期发育^[8-10]。然而, 精子内 sncRNAs 也可通过受精过程引入受精合子内, 且有相当一部分 sncRNAs 与受精和随后的胚胎发育过程无关^[11], 这类精子 RNA 的功能值得关注。近期, 众多实验证据显示: 获得性性状可通过父代精子按照非孟德尔法则进行跨代遗传, 而且部分精子 RNA 可以作为获得性性状跨代遗传的“桥梁”^[5, 12-13]。Gapp 等^[13]发现, 精神创伤可改变雄性小鼠精子中 sncRNAs 的表达, 进而造成后代小鼠的行为出现抑郁倾向并影响后代小鼠的葡萄糖代谢和血清中胰岛素水平, 同时, 将精神创伤雄性小鼠的精子 RNAs 注射入正常受精卵后, 由此产生的后代也表现出相似的行为异常和代谢紊乱。环境中的毒性物质双对氯苯基三氯乙烷(dichlorodiphenyltrichloroethane, DDT)可导致睾丸等多种组织病变跨代遗传。Skinner 等^[14]使用 DDT 诱导的大鼠疾病模型对精子内的表观遗传修饰变化进行了解析, 结果显示, 在对照组与 DDT 诱导组之间, 除在 DNA 甲基化和组蛋白修饰上存在差异外, 精子内的 ncRNAs (包括 lncRNAs 及 sncRNAs) 也存在差异。在环境压力下, 父代的生活经历及环境暴露因素信息以 sncRNAs 这种表观遗传信息的形式储存在精子中, 进而通过受精过程将获得性性状传递至后代^[15-17]。精子 sncRNAs 介导父代获得性性状跨代遗传具有如下优势: a. sncRNAs 可在基因的转录及转录后调控、染色质结构、基因组 DNA 甲基化及组蛋白修饰等多个层面参与表观遗传调控, 功能多样, 发挥作用的方式灵活, 进而可作为传递父代获得性性状表观遗传信息的载体^[18-20]。b. sncRNAs 可直接作用于多个不同的 mRNAs (例如, microRNAs)^[21], 进而可引发受精合子内分子间相互作用的级联效应^[22], 对早期胚胎发育造成深远的影响, 最终可能改变早期胚胎的发育轨迹及后代表型。c. 附睾内精子染色质处于浓缩状态, 此时 DNA 甲基化、组蛋白甲基化和乙酰化等表观遗传修饰不易引入处于该种状态的精子基因组^[23], 然而

附睾管腔内精子仍可从附睾管腔微环境中获得 sncRNAs 这类表观遗传信息^[24]。

阐明环境压力下获得性性状表观遗传信息储存于精子的机制, 需要解析环境压力相关的 sncRNAs 如何由体细胞向生殖细胞(精子或卵子)传递。胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)在 sncRNAs 由体细胞传递至生殖细胞的过程中发挥了转运载体的作用。魏斯曼屏障理论认为: 在多细胞生物中, 遗传信息只能由生殖细胞向体细胞单向传递, 而不能反向传递^[25]。然而, 如果该理论成立, 环境压力下的获得性性状则不能通过生殖系得到遗传, 但获得性性状通过精子跨代遗传的众多实验证据使魏斯曼屏障理论面临挑战^[3, 5-6, 13, 26]。近年, 拉马克的获得性遗传理论又重新得到了学术界的关注^[27], 并且早在 150 年前, 达尔文就用泛生论解释了拉马克的获得性遗传理论, 并提出了“微芽(gemmules)”概念, 认为: “微芽”是细胞释放的极微小的颗粒物质, 可由各系统集中于生殖细胞, 传递给子代, 使子代呈现亲代的特征; 环境作用于机体, 可改变“微芽”的性质, 变异后的“微芽”集中于生殖细胞中, 进而使亲代的获得性性状传递给子代^[28]。泛生论中的“微芽”特征与现代细胞生物学中的胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)特征极为相似, 并且胞外囊泡可携带各种具有表观遗传调控功能的 sncRNAs, 甚至可将 sncRNAs 由体细胞传递至生殖细胞^[29]。胞外囊泡是达尔文泛生论中“微芽”的一种体现形式, 该结构拥有磷脂双层结构, 可携带蛋白质、sncRNAs 及脂质等^[30], 其内部的分子组成可侧面反映释放囊泡的细胞分子组成^[31-32], 同时可向靶细胞提供调控分子^[33]。附睾小体(epididymosomes)是附睾管腔液中的特异胞外囊泡结构, 由附睾上皮细胞中的主细胞分泌(顶浆分泌)的附睾小体释放至附睾管腔液并参与了附睾微环境的形成^[34-35], 并且在 sncRNAs 由附睾上皮细胞传递至精子的过程中, 附睾小体发挥媒介作用^[36]。新近的研究也显示: 附睾小体携带的 RNA 分子与附睾内相应区域精子的成熟度吻合, 同时也证实了附睾小体可将 RNA 传递给精子^[12, 37]。由整合素(integrin)参与的膜融合是精子摄取附睾小体的主要机制; 胞外囊泡及精子的脂膜上都具有整合素, 整合素由 α 和 β 两个亚基连接成异二聚体, 二聚体的胞体外域连接成球形区域, 并含有一个二价阳离子结合域, 整合素凭借此结合域特异性识别配体的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp, RGD)三肽序

列介导脂膜的融合; 使用整合素亚基抗体 anti- α_v 预处理胞外囊泡及精子, 可破坏整合素 $\alpha_v\beta_3$ 的作用, 进而可阻断胞外囊泡与精子的脂膜融合过程^[38]. 精子在附睾中的迁移及储存过程为环境暴露因素改变精子的表观遗传特征(其中包括 sncRNAs)提供了关键的时空窗口^[26, 39]. 环境压力的直接或间接刺激导致附睾出现压力下的特异反应, 附睾上皮细胞内的 sncRNAs 表达模式发生相应变化, 出现

环境压力下特异的 sncRNAs; 附睾上皮细胞以顶浆分泌方式释放附睾小体至附睾管腔液微环境中, 此时的附睾小体内包含这种特异 sncRNAs; 随着精子在附睾管腔液微环境中的迁移, 附睾小体与精子融合, 精子有序获得附睾小体携带的内容物, 从而通过附睾小体将环境压力下特异 sncRNAs 传递给精子, 最终使精子获得了环境压力导致的表观遗传记忆(图 1).

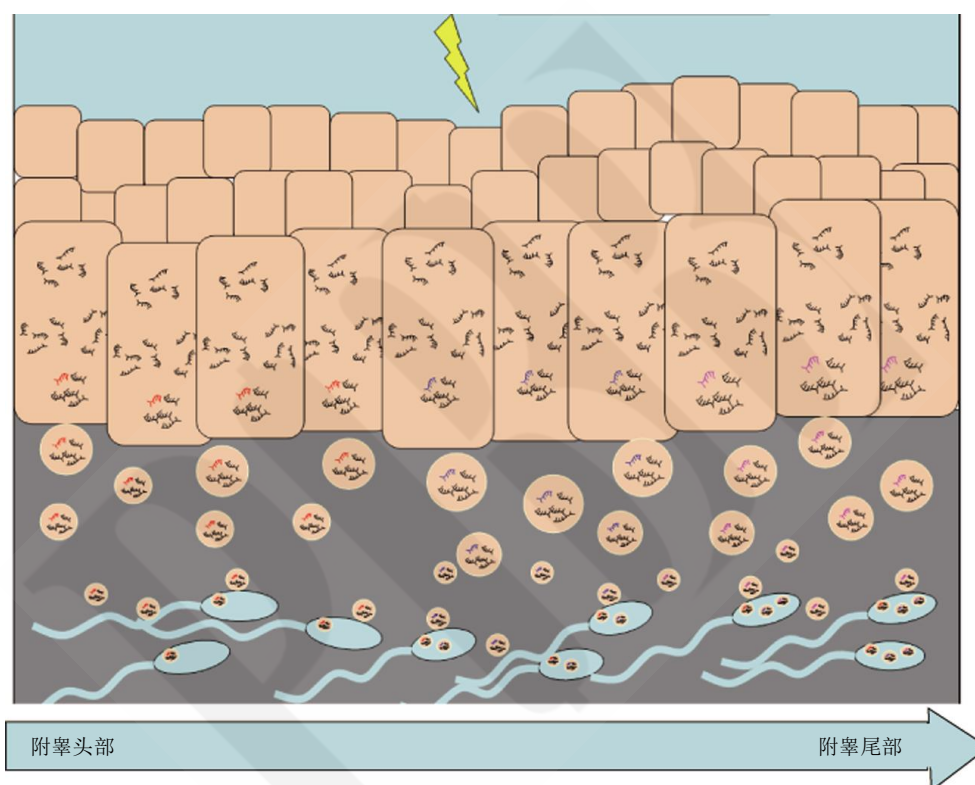


Fig. 1 Information flow pattern of epigenetic memory caused by environmental pressure

图 1 环境压力使精子获得表观遗传记忆的信息流模式图

附睾上皮细胞接受环境刺激, 从而在附睾不同部位(附睾头部、附睾体部及附睾尾部)上皮细胞内产生不同 sncRNA(上皮细胞内红色、蓝色及粉色 3 种不同颜色 RNA 片段代表 3 种不同 sncRNA), 以响应环境压力. 随后, 相应部位附睾上皮细胞分泌附睾小体至附睾管腔液微环境中, 此时附睾小体内已包含环境压力下特异的 sncRNA. 精子由附睾头部向附睾尾部迁移的过程中, 依次与不同部位附睾小体融合, 从而依次获得环境压力导致的特异 sncRNA, 最终, 在附睾尾部获得了环境压力导致的全部表观遗传记忆.

2 精子中 sncRNAs 参与表观遗传调控的机制

慢性应激刺激使雄性小鼠下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴对应激反应能力下降, 同时导致精子中 miR-29c、miR-30a、miR-30c、miR-32、miR-193-5p、miR-204、miR-375、miR-532-3p 及 miR-698

的表达量显著升高^[3]. 为证实这 9 种精子特异 microRNAs 具有与获得性性状相关的表观遗传调控功能, Rodgers 等^[5]将这 9 种 microRNAs 混合注入正常小鼠早期合子中, 移植入代孕母鼠并获得后代, 在后代中仍可观察到下丘脑 - 垂体 - 肾上腺轴对应激反应能力下降, 进而证实了精子特异 microRNAs 具有与获得性性状相关的表观遗传调控

作用. microRNAs 的初级转录物 pri-miRNAs 经过 Droscha 酶的加工形成 pre-miRNAs, 后经 Dicer 酶的加工, 形成成熟 microRNAs, 成熟 microRNAs 与 RNA 诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)结合. 其中, Argonaut 2 拥有核酸内切酶活性, 是该复合物的重要功能组分, 依靠碱基的不完全配对, RISC 诱导靶向母源 mRNA 沉默^[40]. 小鼠卵母细胞中如果缺失 Dicer 及 Argonaut 2, 早期胚胎发育失败^[41-42]. microRNAs 的靶基因众多, 因此可在早期胚胎内引发分子之间作用的级联效应, 并与染色质重塑及 DNA 甲基化等多种表观遗传调控机制之间存在着交互作用. 例如, microRNAs 可通过调控 DNMT 1、DNMT 3A、DNMT 3B、TET 1、TET 3 等与 DNA 甲基化动态变化相关基因的表达, 间接参与基因组的 DNA 甲基化修饰^[43-46].

源于 tRNA 的片段 (transfer RNA-related fragments, tRFs) 也可作为获得性性状表观遗传信息传递的载体, 精子 tRFs 可抑制长末端重复序列 (long terminal repeat sequence, LTR) 等转座元件的表达, 并可对后代表型产生深远影响^[12, 47]. 2012 年, Peng 等^[48]首次发现 tRFs 富集在小鼠的成熟精子中, tRFs 并不是由 tRNA 随机产生的副产物, 而是在某种机制下生成的有精确序列结构的 sncRNAs. Chen 等^[49]发现精子 tRFs 主要来源于 tRNA 的 5' 端, 是精子中丰度最高的 sncRNAs. 在高脂饮食的雄性小鼠模型中, 精子 tRFs 的表达谱发生显著变化; 将处于高脂饮食压力下的雄性小鼠精子特异 tRFs 注入正常受精合子中, 在早期胚胎和后代小鼠的胰岛中都可检测到代谢通路相关基因表达异常, 且由此合子发育而来的后代小鼠出现代谢紊乱. 因此, 精子 tRFs 作为一种表观遗传因素可介导由异常饮食造成的代谢紊乱遗传. Zhang 等^[50]在此基础上又进一步揭示, RNA 甲基化转移酶 Dnmt2 介导的 tRFs 修饰 (例如 m5C 或 m2C) 及精子 sncRNAs 表达谱共同组成精子 RNA 的编码指纹 (coding signature), 且在父本获得性代谢紊乱的跨代遗传上起重要作用. 经由附睾小体为媒介, 精子在附睾内穿行的过程中可获得 tRFs. Sharma 等^[12]使用反义锁核酸干扰特异 tRF 的功能后发现, tRF-Gly-GCC 可抑制内源性逆转录因子 MERV1 相关基因的表达. 反转录转座子以 RNA 为中间物, 将其反转录为 DNA, 进而插入基因组完成转座, 转座元件的转座活性对宿主基因组有潜在的危害,

转座活性通常受到 DNA 甲基化及组蛋白修饰的抑制^[51]; 然而, 在着床前胚胎的重编程过程中, 绝大多数表观遗传修饰被“清除”^[52], 需要其他机制抑制早期胚胎中的转座活性, 以维持基因组的稳定. Andrea 等的研究显示, 来源于 tRNA 3' 端的 tRFs (18-nt-3' tRF) 可沉默一类重要的反转录转座子 (retrotransposon), 即 LTR, 也称之为内源性逆转录病毒 (endogenous retroviruses, ERVs); 并发现 18-nt-3' tRF 与 ERVs 存在序列互补, 且可影响 ERVs 的反转录活性. ERVs 使用完整 tRNA 的 3' 端作为引物, 识别 RNA 上高度保守的引物结合序列 (primer binding sequence, PBS), 进而完成反转录过程; 18-nt-3' tRF 也可与 ERVs 的 PBS 结合, 从而对成熟 tRNA 产生竞争, 进而阻碍了 ERVs 的 cDNA 合成, 最终阻断了反转录过程及 ERVs 的复制^[47, 53-54]. 值得关注的是, 对精子及早期胚胎进行 RNA-seq 测序发现: 绝大多数 tRFs 都来源于 tRNA 5' 端, 而 3' tRFs 的占比较少, 这可能是由于 RNA 修饰干扰了 RNA-seq 测序文库的构建所致, 进而造成 RNA-seq 测序偏好^[55].

在成熟精子中还存在另一种 sncRNAs, 即 piRNA (PIWI interacting RNA)^[56]. piRNA 是一类可与 Argonaute 蛋白家族中的 PIWI 蛋白相结合的小分子单链 RNA, 来自转座子碎片序列富集的基因间区, 长度在 25~31nt 之间, 5' 端首位通常为单磷酸的尿嘧啶核糖核酸, 3' 端进行了甲基化的修饰. 正常人群与肥胖人群精子中 piRNA 的表达模式存在差异, 且差异表达的 piRNA 可控制行为与摄食相关的基因表达, 进而使后代易患肥胖症^[57]. piRNA 与 PIWI 结合后形成 piRNA 诱导沉默复合物 (piRNA-induced silencing complex, piRISC)^[58]. 在早期胚胎发育的重编程过程中, piRNA 对反转录转座子 RNA 进行识别, 识别后利用具有核酸内切酶活性的蛋白质对转座子 RNA 进行切割, 造成反转录转座子 RNA 功能的丧失, 进而可抑制转座元件的表达. PIWI 蛋白亚家族由 MIL1、MIWI 及 MIWI2 3 个成员组成, 在胎儿原始生殖细胞 (primordial germ cells, PGCs) 中, piRNA 与 MIWI2 结合, 在雄性生殖细胞重编程的过程中, 这类 piRNA 可导致 LINE 1 转座子元件重新甲基化^[59], 并可维持印记基因 *Rasgrfl* 超甲基化状态^[60]; 在敲除 MIWI2 的小鼠中, LINE 1 转座子的活性显著升高, 印记基因 *Rasgrfl* 的超甲基化状态也被动发生变化; 因此, 环境因素造成的精子内 piRNA 的表

达变化有可能通过 MIWI2-piRNA 复合物影响精子基因组的表观遗传修饰。

3 跨代遗传相关的 DNA 甲基化重编程与逃逸

父代精子在环境压力下产生的特异 sncRNAs 可通过受精作用传递至合子, 并可将获得性性状传递给子代; 然而, 众多父代获得性性状跨代传递的例证显示, 父代精子中的环境压力相关 sncRNAs 并没有在子代精子中持续出现^[13, 61]。这说明, 某些父代获得性性状的跨代传递并不能持续地以精子 sncRNAs 作为“载体”, 表观遗传修饰的跨代遗传决定了父代获得性性状的跨代遗传。在早期胚胎发育过程中, 需要精子 sncRNAs 在生殖细胞基因组上建立相对较稳定的 DNA 甲基化等表观遗传修饰来传递获得性性状。例如, 前文中列举的 microRNAs 参与基因组 DNA 甲基化修饰及 piRNA 参与转座元件 LINE 1 及印记基因 *Rasgrf1* 甲基化。受精后, 父本基因组经历全基因组范围的去甲基化等重编程过程^[62]; 发生在着床前胚胎及胎儿原始生殖细胞中的两轮重编程过程可“清除”亲代生存过程中产生的异常甲基化修饰, 避免其对子代产生影响^[63], 同时可解除表观遗传修饰对早期胚胎发育潜能的限制^[64]。尽管着床前胚胎及胎儿 PGCs 中的两轮重编程过程可保证早期胚胎的正常发育, 然而这两轮重编程过程也为表观遗传修饰的跨代遗传设置了屏障^[65]。在精子染色质去浓缩的过程中, 精子内获得性性状相关的 sncRNA 得到释放, 在随后的着床前胚胎重编程过程中, 该种 sncRNAs 引发了一个复杂的分子之间相互作用的级联效应, 并通过多个步骤参与 DNA 甲基化及染色质重塑等早期胚胎表观遗传修饰的建立^[22]。其中, 有部分精子 sncRNAs 参与建立的表观遗传修饰可能拥有印记区域的特征, 如果该种表观遗传修饰逃逸着床前胚胎及胎儿 PGCs 中的重编程过程, 则这种获得性性状相关的表观遗传修饰即可“记忆”在配子中, 跨代传递^[11]。与着床前胚胎的去甲基化过程相比较, 胎儿 PGCs 经历了更彻底的去甲基化过程, 甲基化水平在性别分化前降至最低^[66], 然而, 仍有部分与代谢和神经性疾病相关的基因组位点逃逸了 PGCs 的去甲基化过程, 进而保留了甲基化修饰^[67-69]。在配子和着床前胚胎中追踪从 PGCs 的去甲基化过程中逃逸的甲基化区域, 发现绝大多数从 PGCs 的去甲基化过程中逃逸的甲基化区域不仅在精子中维持甲

基化, 在囊胚的内细胞团中也维持高水平的甲基化状态。这说明逃逸了 PGCs 的去甲基化过程的基因组甲基化区域也能逃逸着床前胚胎的去甲基化过程^[67]。而且, 在性别分化前, 可逃逸 PGCs 重编程的甲基化区域与表观遗传修饰跨代遗传也存在紧密联系^[67-68]。因此, 精子特异 sncRNAs 参与的 DNA 甲基化修饰能否逃逸 PGCs 内的重编程过程是父代获得性性状能否跨代遗传的关键, 在性别分化前的 PGCs 中, 研究精子特异 sncRNAs 造成的差异甲基化区(differential DNA methylation regions, DMRs), 有望识别出参与获得性性状跨代遗传的相关基因。

4 小结与展望

现阶段, 对拉马克的获得性遗传理论的重新理解可概述为: 环境变化可定向地改变表型, 且这种表型变化可传递给后代。附睾小体是达尔文泛生论中“微芽”的一种体现形式; 获得性性状以 sncRNAs 这种表观遗传信息为载体, 通过附睾小体的转运, 将表观遗传信息由附睾上皮细胞传递至附睾管腔内的精子; 精子入卵后, 精子 sncRNAs 参与胎儿原始生殖细胞基因组的表观遗传修饰, 并将表观遗传信息跨代传递。深入理解附睾小体及精子 sncRNAs 在获得性性状跨代遗传中的作用有助于我们重新认识拉马克的获得性遗传理论及达尔文泛生论。sncRNAs 依靠碱基序列的互补执行表观遗传调控功能, 然而 sncRNAs 上的 m5C、m2C 等化学修饰也对表观遗传调控有重要影响。经过化学修饰的 sncRNAs 稳定性增强^[49], 而且经过化学修饰后, sncRNAs 的空间结构也发生了相应变化, 这些变化直接影响了 sncRNAs 与其他 RNA、DNA 乃至蛋白质分子的相互作用^[70], 进而影响表观遗传调控过程。另外, 经过化学修饰的 sncRNAs 易导致 RNA-seq 过程的测序偏好^[55], 对精子全部 sncRNAs 进行客观、详细地分析也依赖于 RNA-seq 分析技术的不断进步^[71-72], 进而有助于解析精子 sncRNAs 表观调控机制在环境压力与基因表达之间发挥的“桥梁”作用。另外, 精子进入雌性生殖道后, 浸没在富含胞外囊泡的生殖道内微环境当中, 这类胞外囊泡来自母体生殖道, 在一雌多雄条件下, 甚至来自其他雄性的精液, 包涵 sncRNAs 的胞外囊泡可能介导母体-精子或精子-精子之间的信息交流, 因此, 精子可能经历雌性选择及精子间的协作与竞争过程, 针对其中机制进行深入研究有望进一步充实环境因素驱动的适应性进化理论。

参 考 文 献

- [1] Öst A, Lempradl A, Casas E, *et al.* Paternal diet defines offspring chromatin state and intergenerational obesity. *Cell*, 2014, **159**(6): 1352–1364
- [2] Carone B R, Fauquier L, Habib N, *et al.* Paternally induced transgenerational environmental reprogramming of metabolic gene expression in mammals. *Cell*, 2010, **143**(7): 1084–1096
- [3] Rodgers A B, Morgan C P, Bronson S L, *et al.* Paternal stress exposure alters sperm microRNA content and reprograms offspring HPA stress axis regulation. *J Neurosci*, 2013, **33**(21): 9003–9012
- [4] Ostermeier G C, Dix D J, Miller D, *et al.* Spermatozoal RNA profiles of normal fertile men. *Lancet*, 2002, **360**(9335): 772–777
- [5] Rodgers A B, Morgan C P, Leu N A, *et al.* Transgenerational epigenetic programming *via* sperm microRNA recapitulates effects of paternal stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, **112** (44): 13699–13704
- [6] Grandjean V, Fourré S, De Abreu D A, *et al.* RNA-mediated paternal heredity of diet-induced obesity and metabolic disorders. *Sci Rep*, 2015, **5**: 18193(DOI: 10.1038/srep 18193)
- [7] Dallaire A, Simard M J. The implication of microRNAs and endo-siRNAs in animal germline and early development. *Dev Biol*, 2016, **416**(1): 18–25
- [8] Barckmann B, Simonelig M. Control of maternal mRNA stability in germ cells and early embryos. *Biochim Biophys Acta*, 2013, **1829**(6–7): 714–724
- [9] Hossain M M, Salilew-Wondim D, Schellander K, *et al.* The role of microRNAs in mammalian oocytes and embryos. *Anim Reprod Sci*, 2012, **134**(1–2): 36–44
- [10] Moussa M, Shu J, Zhang X H, *et al.* Maternal control of oocyte quality in cattle "a review". *Anim Reprod Sci*, 2015, **155**: 11–27
- [11] Yan W. Potential roles of noncoding RNAs in environmental epigenetic transgenerational inheritance. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, **398**(1–2): 24–30
- [12] Sharma U, Conine C C, Shea J M, *et al.* Biogenesis and function of tRNA fragments during sperm maturation and fertilization in mammals. *Science*, 2016, **351**(6271): 391–396
- [13] Gapp K, Jawaid A, Sarkies P, *et al.* Implication of sperm RNAs in transgenerational inheritance of the effects of early trauma in mice. *Nat Neurosci*, 2014, **17**(5): 667–669
- [14] Skinner M K, Ben Maamar M, Sadler-Riggelman I, *et al.* Alterations in sperm DNA methylation, non-coding RNA and histone retention associate with DDT-induced epigenetic transgenerational inheritance of disease. *Epigenetics Chromatin*, 2018, **11**: 8
- [15] Chen Q, Yan W, Duan E. Epigenetic inheritance of acquired traits through sperm RNAs and sperm RNA modifications. *Nat Rev Genet*, 2016, **17**(12): 733–743
- [16] Spadafora C. Sperm-mediated transgenerational inheritance. *Front Microbiol*, 2017, **8**: 2401(DOI: 10.3389/fmicb.2017.02401)
- [17] Pang T Y C, Short A K, Bredy T W, *et al.* Transgenerational paternal transmission of acquired traits: Stress-induced modification of the sperm regulatory transcriptome and offspring phenotypes. *Curr Opin Behav Sci*, 2017, **14**: 140–147
- [18] Jodar M, Selvaraju S, Sendler E, *et al.* The presence, role and clinical use of spermatozoal RNAs. *Hum Reprod Update*, 2013, **19**(6): 604–624
- [19] Holoch D, Moazed D. RNA-mediated epigenetic regulation of gene expression. *Nat Rev Genet*, 2015, **16**(2): 71–84
- [20] Tao H, Yang J J, Shi K H. Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic mechanism regulation of cardiac fibrosis. *Expert Opin Ther Targets*, 2015, **19**(5): 707–716
- [21] Selbach M, Schwanh usser B, Thierfelder N, *et al.* Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature*, 2008, **455**(7209): 58–63
- [22] Rodgers A B, Bale T L. Germ cell origins of posttraumatic stress disorder risk: the transgenerational impact of parental stress experience. *Biol Psychiatry*, 2015, **78**(5): 307–314
- [23] Gannon J R, Emery B R, Jenkins T G, *et al.* The sperm epigenome: implications for the embryo. *Adv Exp Med Biol*, 2014, **791**: 53–66
- [24] Nixon B, Stanger S J, Mihalas B P, *et al.* The microRNA signature of mouse spermatozoa is substantially modified during epididymal maturation. *Biol Reprod*, 2015, **93**(4): 91(DOI: 10.1095/biolreprod.115.132209)
- [25] A Weismann. The germ plasm: a theory of heredity. *British Medical Journal*, 1902, **1**(1681): 592–593
- [26] Eaton S A, Jayasooriah N, Buckland M E, *et al.* Roll over Weismann: extracellular vesicles in the transgenerational transmission of environmental effects. *Epigenomics*, 2015, **7** (7): 1165–1171
- [27] Smythies J, Edelstein L, Ramachandran V. Molecular mechanisms for the inheritance of acquired characteristics-exosomes, microRNA shuttling, fear and stress: Lamarck Resurrected? *Front Genet*, 2014, **5**: 133(DOI: 10.3389/fgene.2014.00133)
- [28] Darwin C. The variation of animals and plants under domestication. *Br Foreign Med Chir Rev*, 1868, **42**(83): 143–166
- [29] Cossetti C, Lugini L, Astrologo L, *et al.* Soma-to-germline transmission of RNA in mice xenografted with human tumour cells: possible transport by exosomes. *Plos One*, 2014, **9**(7): e101629
- [30] Machtinger R, Laurent L C, Baccarelli A A. Extracellular vesicles: roles in gamete maturation, fertilization and embryo implantation. *Hum Reprod Update*, 2016, **22**(2): 182–193
- [31] Raimondo F, Morosi L, Chinello C, *et al.* Advances in membranous vesicle and exosome proteomics improving biological understanding and biomarker discovery. *Proteomics*, 2011, **11** (4): 709–720
- [32] Yoon Y J, Kim O Y, Gho Y S. Extracellular vesicles as emerging intercellular comunicasomes. *BMB Rep*, 2014, **47**(10): 531–539
- [33] Yamashita T, Kamada H, Kanasaki S, *et al.* Epidermal growth factor receptor localized to exosome membranes as a possible biomarker for lung cancer diagnosis. *Pharmazie*, 2013, **68** (12): 969–973
- [34] Sullivan R, Saez F. Epididymosomes, prostasomes, and liposomes: their roles in mammalian male reproductive physiology.

- Reproduction, 2013, **146**(1): 21–35
- [35] Zhou W, De Iuliis G N, Dun M D, *et al.* Characteristics of the epididymal luminal environment responsible for sperm maturation and storage. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, **9**: 59 (DOI: 10.3389/fendo.2018.00059)
- [36] da Silveira J C, de vila A C F C M, Garrett H L, *et al.* Cell-secreted vesicles containing microRNAs as regulators of gamete maturation. *J Endocrinol*, 2018, **236**(1): 15–27
- [37] Reilly J N, McLaughlin E A, Stanger S J, *et al.* Characterisation of mouse epididymosomes reveals a complex profile of microRNAs and a potential mechanism for modification of the sperm epigenome. *Sci Rep*, 2016, **6**: 31794 (DOI: 10.1038/srep.31794)
- [38] Al-Dossary A A, Bathala P, Caplan J L, *et al.* Oviductosome-sperm membrane interaction in cargo delivery: detection of fusion and underlying molecular players using three-dimensional super-resolution structured illumination microscopy (SR-SIM). *J Biol Chem*, 2015, **290**(29): 17710–17723
- [39] Cornwall GA. New insights into epididymal biology and function. *Hum Reprod Update*, 2009, **15**(2): 213–227
- [40] Ostermeier G C, Miller D, Huntriss J D, *et al.* Reproductive biology: delivering spermatozoan RNA to the oocyte. *Nature*, 2004, **429**(6988): 154
- [41] Bernstein E, Kim S Y, Carmell M A, *et al.* Dicer is essential for mouse development. *Nat Genet*, 2003, **35**(3): 215–217
- [42] Lykke-Andersen K, Gilchrist M J, Grabarek J B, *et al.* Maternal Argonaute 2 is essential for early mouse development at the maternal-zygotic transition. *Mol Biol Cell*, 2008, **19** (10): 4383–4392
- [43] Zhao S, Wang Y, Liang Y, *et al.* MicroRNA-126 regulates DNA methylation in CD4⁺ T cells and contributes to systemic lupus erythematosus by targeting DNA methyltransferase 1. *Arthritis Rheum*, 2011, **63**(5): 1376–1386
- [44] Fabbri M, Garzon R, Cimmino A, *et al.* MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, **104**(40): 15805–15810
- [45] Kremer E A, Gaur N, Lee M A, *et al.* Interplay between TETs and microRNAs in the adult brain for memory formation. *Sci Rep*, 2018, **8**(1): 1678 (DOI: 10.1038/S41598-018-19806-2)
- [46] Ramassone A, Pagotto S, Veronese A, *et al.* Epigenetics and microRNAs in cancer. *Int J Mol Sci*, 2018, **19** (2): 459 (DOI: 10.3390/ijms19020459)
- [47] Zhang Y, Shi J, Chen Q. tsRNAs: new players in mammalian retrotransposon control. *Cell Res*, 2017, **27**(11): 1307–1308
- [48] Peng H, Shi J, Zhang Y, *et al.* A novel class of tRNA-derived small RNAs extremely enriched in mature mouse sperm. *Cell Res*, 2012, **22**(11): 1609–1612
- [49] Chen Q, Yan M, Cao Z, *et al.* Sperm tsRNAs contribute to intergenerational inheritance of an acquired metabolic disorder. *Science*, 2016, **351**(6271): 397–400
- [50] Zhang Y, Zhang X, Shi J, *et al.* Dnmt2 mediates intergenerational transmission of paternally acquired metabolic disorders through sperm small non-coding RNAs. *Nat Cell Biol*, 2018, **20**(5): 535–540
- [51] Slotkin R K, Martienssen R. Transposable elements and the epigenetic regulation of the genome. *Nat Rev Genet*, 2007, **8**(4): 272–285
- [52] Feng S, Jacobsen S E, Reik W. Epigenetic reprogramming in plant and animal development. *Science*, 2010, **330**(6004): 622–627
- [53] Schorn A J, Gutbrod M J, LeBlanc C, *et al.* LTR-retrotransposon control by tRNA-derived small RNAs. *Cell*, 2017, **170**(1): 61–71
- [54] Martinez G. tRNAs as primers and inhibitors of retrotransposons. *Mob Genet Elements*, 2017, **7**(5): 1–6
- [55] Zhang X, Cozen A E, Liu Y, *et al.* Small RNA modifications: integral to function and disease. *Trends Mol Med*, 2016, **22**(12): 1025–1034
- [56] Hutcheon K, McLaughlin E A, Stanger S J, *et al.* Analysis of the small non-protein-coding RNA profile of mouse spermatozoa reveals specific enrichment of piRNAs within mature spermatozoa. *RNA Biol*, 2017, **14**(12): 1776–1790
- [57] Donkin I, Versteyhe S, Ingerslev L R, *et al.* Obesity and bariatric surgery drive epigenetic variation of spermatozoa in humans. *Cell Metab*, 2016, **23**(2): 369–378
- [58] Luteijn M J, Ketting R F. PIWI-interacting RNAs: from generation to transgenerational epigenetics. *Nat Rev Genet*, 2013, **14**(8): 523–534
- [59] Aravin A A, Sachidanandam R, Bourc'his D, *et al.* A piRNA pathway primed by individual transposons is linked to *de novo* DNA methylation in mice. *Mol Cell*, 2008, **31**(6): 785–799
- [60] Watanabe T, Tomizawa S, Mitsuya K, *et al.* Role for piRNAs and noncoding RNA in *de novo* DNA methylation of the imprinted mouse Rasgrf1 locus. *Science*, 2011, **332**(6031): 848–852
- [61] T Fullston, E M Ohlsson-Teague, C G Print, *et al.* Sperm microRNA content is altered in a mouse model of male obesity, but the same suite of microRNAs are not altered in offspring's sperm. *Plos One*, 2016, **11**(11): e0166076
- [62] Reik W, Dean W, Walter J. Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science*, 2001, **293**(5532): 1089–1093
- [63] Heard E, Martienssen R A. Transgenerational epigenetic inheritance: myths and mechanisms. *Cell*, 2014, **157**(1): 95–109
- [64] Seisenberger S, Peat J R, Hore T A, *et al.* Reprogramming DNA methylation in the mammalian life cycle: building and breaking epigenetic barriers. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2013, **368**(1609): 20110330
- [65] McCarrey J R. Distinctions between transgenerational and non-transgenerational epimutations. *Mol Cell Endocrinol*, 2014, **398**(1–2): 13–23
- [66] Guo H, Zhu P, Yan L, *et al.* The DNA methylation landscape of human early embryos. *Nature*, 2014, **511**(7511): 606–610
- [67] Tang W W, Dietmann S, Irie N, *et al.* A unique gene regulatory network resets the human germline epigenome for development. *Cell*, 2015, **161**(6): 1453–1467
- [68] Hackett J A, Sengupta R, Zylcz J J, *et al.* Germline DNA demethylation dynamics and imprint erasure through

- 5-hydroxymethylcytosine. *Science*, 2013, **339**(6118): 448–452
- [69] Seisenberger S, Andrews S, Krueger F, *et al.* The dynamics of genome-wide DNA methylation reprogramming in mouse primordial germ cells. *Mol Cell*, 2012, **48**(6): 849–862
- [70] Chen K, Zhao B S, He C. Nucleic acid modifications in regulation of gene expression. *Cell Chem Biol*, 2016, **23**(1): 74–85
- [71] Zheng G, Qin Y, Clark W C, *et al.* Efficient and quantitative high-throughput tRNA sequencing. *Nat Methods*, 2015, **12** (9): 835–837
- [72] Cozen A E, Quartley E, Holmes A D, *et al.* ARM-seq: AlkB-facilitated RNA methylation sequencing reveals a complex landscape of modified tRNA fragments. *Nat Methods*, 2015, **12**(9): 879–884

Transgenerational Inheritance of Mammalian Acquired Characteristics via Spermatozoal RNAs*

FU Bo^{1,2)**}, MA Hong^{1,2)**}, LIU Di^{1,2)***}

⁽¹⁾ *Institute of Animal Husbandry Research, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Crop and Livestock Molecular Breeding in Heilongjiang Province, Harbin 150086, China;*

⁽²⁾ *Institute of Animal Husbandry Research, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Combine of Planting and Feeding, Ministry of Agriculture of the People's Republic of China, Harbin 150086, China)*

Abstract With the rapid development of epigenetics, there has been increasing concern with Lamarck's theory of evolution which shed light on the inheritance of acquired characteristics. In recent years, transgenerational inheritance of mammalian acquired characteristics has also been investigated in detail. Epigenetic information, induced by environmental stresses, is transmitted through the germline during transgenerational inheritance of mammalian acquired characteristics. Spermatozoal sncRNAs play a key role in the establishment of epigenetic information which is associated with environmental stresses and function during transmission of epigenetic information. The environmental stresses related epigenetic information, embodied in sncRNAs, is stored in the mature spermatozoa. Subsequently, spermatozoal sncRNAs is involved in epigenetic modification in primordial germ cells after fertilization. Then these epigenetic modifications can be transmitted between generations, thereby affecting the expression of genes which are associated with acquired characteristics. In this paper, we review the mechanism through which spermatozoal sncRNAs participate in transgenerational inheritance of mammalian acquired characteristics, providing new ideas to investigate hereditary metabolic diseases or to promote human reproductive health and livestock breeding.

Key words sperm, small non-coding RNA, epigenetic, transgenerational inheritance

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0095

* This work was supported by grants from Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences Doctoral Scientific Research Project (201507-32), The Postdoctoral Scientific Research Project of Heilongjiang Province (LBH-Q15130), Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences Incubation Project of The National Natural Science Foundation of China, The National Natural Science Foundation of China (31872980, 31671289, 31201804), China Agricultural Research System (CARS-37), Project for Improving Innovative Capability of Scientific Institutions in Heilongjiang Province (YC2016D001), National Science and Technology Planning Project of "12th Five-Year" in rural areas (2015BAD03B02-5).

**These authors contributed equally to this work.

***Corresponding author.

Tel: 86-451-86657928, E-mail: liudi1963616@163.com

Received: March 30, 2018 Accepted: September 5, 2018