



UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Composición del Fluido Oviductal.
Estudio Comparado del Fluido Oviductal Porcino,
Bovino y de Coneja

D.^a Lourdes Jara Pérez

2022

Universidad de Murcia
FACULTAD DE MEDICINA

**COMPOSICIÓN DEL FLUIDO OVIDUCTAL.
ESTUDIO COMPARADO DEL FLUIDO OVIDUCTAL PORCINO, BOVINO Y DE
CONEJA**

Lourdes Jara Pérez
2022

Esta tesis ha sido realizada en el Programa de Doctorado con Mención Hacia la Excelencia "Biología y Tecnología de la Reproducción en Mamíferos" (Ref. MEE2011-0019), en el Departamento de Biología Celular e Histología de Facultad de Medicina. Esta tesis Doctoral ha sido financiada por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto AGL2012-40180-C03-02). AGL2015-70159-P, PGC2018-094781-BI00) y de la Fundación Séneca de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (19357/PI/14).

Así mismo, se ha desarrollado en el marco del Programa de Ayudas a Grupos de Excelencia de la Región de Murcia de la Fundación Séneca,04542/GERM/06.



DIVULGACIÓN

Parte de los resultados de este trabajo han sido publicados en los siguientes congresos:

Jara, L., Acuña, O.S., López-Úbeda R., Guillén-Martínez, A., González-Brusi, L., Izquierdo-Rico, M.J., Jiménez-Movilla, M., García-García, R.M., Arias-Álvarez, M., Torrecillas, A., Ballesta, J., Lorenzo, P.L. and Avilés, M. (2017). *Comparative analysis of the oviductal fluid proteome in rabbit and cow*. 14th International Congress of the Spanish-Association for Animal Reproduction (AERA). Barcelona. *Reproduction in Domestic Animals*. **52(4)**, 98.

Jara, L., Guillén-Martínez, A., Moros C. and Avilés, M. (2014). *Determination of expression of lactoferrin in porcine oviductal tissue*. 12th International Congress of the Spanish-Association for Animal Reproduction (AERA). Barcelona. *Reproduction in Domestic Animals*. **48(4)**, 110.

AGRADECIMIENTOS

Me siento muy agradecida a Manuel Avilés, ha sido un maestro para mi no solo como investigador, también como persona. Gracias por tu paciencia, por todas tus enseñanzas y por transmitirme la ilusión y pasión por la investigación.

Irene Mondéjar, gracias, porque con tu trabajo, esfuerzo y paciencia has hecho posible este sueño.

A todos los trabajadores del UMU, que con vuestro trabajo habéis contribuido y hecho más sencillo mi estudio, en especial a Alejandro Torrecillas por sus tablas infinitas.

A mis padres, Antonio y Josefina. Por ellos soy quien soy, por su educación, por su fuerza. Gracias por enseñarme con vuestra confianza que soy capaz de cualquier cosa, y gracias por motivarme con vuestro orgullo para conseguirlo.

A mis hermanos, José Antonio, M^a Teresa, Ana, y Sole (como si lo fuera), porque sois unos luchadores y, para mí, un ejemplo a seguir.

A mis cuñados, Diego y Mario, por vuestra atención y los buenos ratos de risas.

A mis abuelos, Francisco, Purificación, y a mis abuelitos, Francisco y Lola. Por los valores que nos transmitieron a sus hijos y nietos. Por la confianza y por el amor.

A mi mejor proyecto, mis niños, Sofía, María y Samuel. Vuestra admiración merece todo y más.

Gracias Paco por los buenos momentos juntos, por haber creído siempre en mí, y por darme lo más grande que tengo, nuestros tres hijos.

A mi querido Emilio, gracias por la ilusión, por el cariño, la comprensión, por ayudarme y animarme a diario. Porque al mirarme en tus ojos me gusto más.

A mis mejores amigas Ana, Virginia y Celia, por ser mi expansión, por escucharme, aconsejarme y animarme siempre. Gracias a Jorge, Mario y Fraile con vosotros muchos momentos han sido mejores.

A mi buen amigo Juan, por hacerme creer mejor persona, sólo con su cariño.

A mis compañeros Salvador, Ascensión, Blanca, Leopoldo, Analuce, Cristina, Vicente y Rebeca porque os he encontrado siempre que os he necesitado, y por lo mucho que me habéis enseñado.

A mis compañeros de trabajo y amigos, Raúl, Fuensanta, Tania, Mari Ángeles, Juanjo, Ángel, Geno, Micaela, Marcos, Imna, Lola, Fernando, Juan Carlos, Pedro, por escuchar mis preocupaciones y animarme a seguir.



ÍNDICE

I. RESUMEN	1
II. SUMMARY	5
III. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	9
IV. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	13
4.1. La Fecundación	15
4.2. Los gametos	15
4.2.1. El gameto masculino.....	15
4.2.1.1. Espermatogénesis	16
4.2.1.2. Morfología y estructura del espermatozoide.....	17
4.2.1.3. Maduración del espermatozoide	19
4.2.1.3.1. Capacitación espermática	19
4.2.1.3.2. Hiperactivación y quimiotaxis	20
4.2.2. El gameto femenino.....	20
4.2.2.1. Ovogénesis	20
4.2.2.1.1. Folículos primordiales	22
4.2.2.1.2. Folículos primarios	22
4.2.2.1.3. Folículos preantrales multilaminares o secundarios.....	22
4.2.2.1.4. Folículos antrales o terciarios	23
4.2.2.1.5. Folículos preovulatorios o de Graff.....	24
4.2.2.2. La maduración del ovocito	25
4.2.2.2.1. La maduración citoplasmática	26
4.2.2.2.2. La maduración nuclear o meiótica.....	27
4.2.2.2.3. Maduración molecular	27
4.2.2.2.4. Factor promotor de la maduración.....	28
4.2.2.2.5. Regulación hormonal de la maduración en mamíferos.	29
4.3. Ovulación.....	30
4.4. El ciclo estral	31
4.5. El oviducto	32
4.5.1. Estructura anatómica del oviducto.....	32
4.5.2. Histología del oviducto	33
4.5.2.1. El epitelio oviductal	33
4.5.2.1.1. Células ciliadas	33
4.5.2.1.2. Células secretoras, no ciliadas	34
4.5.2.2. La pared del oviducto	34
4.5.2.2.1. Capa Serosa.....	34
4.5.2.2.2. Capa Muscular	34
4.5.2.2.3. Capa Mucosa.....	34
4.5.3. El fluido oviductal	35
4.5.3.1. Formación del fluido oviductal	35
4.5.3.2. Propiedades físicas del fluido oviductal	36
4.5.3.2.1. Volumen.....	36
4.5.3.2.2. Temperatura	36
4.5.3.2.3. Viscosidad	36
4.5.3.3. Propiedades químicas del fluido oviductal.....	37
4.5.3.3.1. pH.....	37

4.5.3.3.2. Osmolaridad.....	37
4.5.3.3.3. Tensión de oxígeno	37
4.5.3.4. Composición del fluido oviductal	37
4.5.3.4.1. Agua y electrolitos	37
4.5.3.4.2. Componentes energéticos	38
4.5.3.4.3. Lípidos	38
4.5.3.4.4. Aminoácidos	38
4.5.3.4.5. Proteínas	39
4.5.3.4.5.1. Lactoferrina	40
4.5.3.4.5.2. Familia de proteínas de choque térmico (HSPs).....	40
4.5.3.4.5.3. Glicodelina	41
4.5.3.4.5.4. Componentes del sistema plasminógeno Plasmina	41
4.5.3.4.5.5. Proteína delecionada en tumores malignos de cerebro 1 (DMBT1).....	41
4.5.3.4.5.6. Osteopontina (OPN)	42
4.5.3.4.5.7. Componentes del sistema de complemento C3 y C5	42
4.5.3.4.5.8. Glicosil- transferasas y glicosidasas	42
4.5.3.4.5.9. Prostaglandina D sintasa tipo lipocalina	43
4.5.3.4.5.10. Haptoglobina	43
4.5.3.4.5.11. AWN	43
4.5.3.4.5.12. Glutati6n peroxidasas.....	43
4.5.3.4.5.13. Spam 1(PH-20).....	44
4.5.3.4.5.14. Neuroquinina B (TAC3)	44
4.5.3.4.5.15. Colecistoquinina	44
4.5.3.4.5.16. Miosina 9	44
4.5.3.4.5.17. Proteína de unió6n a fosfatidiletanolamina (PEBP4).....	45
4.5.3.4.5.18. Oviductina (OVGP1).....	45
4.5.3.4.5.18.1. Funciones de la oviductina relacionadas con el gameto masculino.	47
4.5.3.4.5.18.2. Funciones de la oviductina relacionadas con el gameto femenino.....	48
4.5.3.4.5.18.3. Funciones de la oviductina relacionadas con el embri6n	49
4.5.3.4.6. Vesículas extracelulares del fluido oviductal: microvesículas y exosomas	50
4.5.3.5. Cambios en la expresi6n génica del oviducto y factores que Influyen.....	51
4.5.4. Funciones del oviducto	52
4.5.4.1. Funciones del oviducto relacionadas con el gameto masculino.	53
4.5.4.2. Funciones del oviducto relacionadas con el gameto femenino	54
4.5.4.3. Funciones del oviducto relacionadas con el embri6n	56
V.MATERIAL Y MÉTODOS.....	57
5.1. Obtenci6n de las muestras de material biol6gico	59
5.1.1. Ovarios.....	59
5.1.2. Ovocitos porcinos	59
5.1.3. Oviductos y fluido oviductal	59
5.1.3.1. Cerda y Vaca	59
5.1.3.2. Coneja.....	60
5.2. Electroforesis en gel de poliacrilamida	61
5.3. Western-Blot.....	61
5.3.1. Transferencia a membrana.....	61
5.3.2. Inmunodetecci6n de membrana	62

5.4. Electroforesis bidimensional (2D-PAGE) y diferencial en gel (DiGE)	62
5.5. Endurecimiento de la zona pelúcida	64
5.5.1. Incubación de los ovocitos en el fluido oviductal	64
5.5.2. Digestión de la zona pelúcida	65
5.6. Fraccionamiento del fluido oviductal porcino mediante cromatografía líquida en columna de heparina	66
5.7. Análisis proteómico	67
5.7.1. Procesamiento de muestras de fluido oviductal para análisis proteómico	67
5.7.2. Análisis proteómico de las manchas	68
5.7.3 Análisis de datos LC-MS/MS	68
5.7.4. Análisis bioinformático	68
5.7.5. Análisis estadístico	69
5.8. Diseño experimental	69
5.8.1. Etapa 1. Análisis de la composición del fluido oviductal porcino de hembras prepúberes y adultas en distintas fases del ciclo estral	69
5.8.2. Etapa 2. Efecto de las fracciones del fluido oviductal porcino sobre el endurecimiento de la zona pelúcida en ovocitos porcinos	69
5.8.3. Etapa 4. Análisis comparativo de la composición del fluido oviductal de vaca y coneja.	70
VI. RESULTADOS	71
6.1. Composición proteica del fluido oviductal porcino	73
6.1.1. Composición proteica del fluido oviductal porcino completo de hembras adultas en fase periovulatoria	73
6.1.2. Composición proteica del fluido oviductal porcino fraccionado mediante cromatografía en fase fluida y columna de afinidad por heparina de hembras en fase prepúber y hembras adultas en fase periovulatoria y luteal	74
6.2. Efecto de cada una de las fracciones sobre el endurecimiento de la zona pelúcida de ovocitos porcinos	109
6.3. Determinación de la presencia de oviductina en las fracciones de las distintas fases de fluido oviductal mediante electroforesis y WB.	110
6.4. Análisis proteómico comparativo entre el fluido oviductal de vaca (<i>Bos taurus</i>) y coneja (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	112
6.4.1 Análisis mediante electroforesis bidimensional y diferencial (DiGE), análisis de la composición proteica de las manchas y red de interacción funcional.	112
6.4.1.1. Composición proteica de las manchas.	114
6.4.1.2. Red de interacciones funcionales entre las proteínas identificadas las manchas del gel bidimensional y diferencial (DiGE)	119
6.4.1.2.1. Interacciones funcionales entre proteínas con expresión diferencial mayoritaria el FOB	120
6.4.1.2.2. Interacciones funcionales entre proteínas con expresión diferencial mayoritaria el FOC.	120
VII. DISCUSIÓN	123
7.1. Proteínas del fluido oviductal porcino	126

7.1.1. Proteínas del fluido oviductal porcino (FOP) completo de hembras adultas en fase periovulatoria	126
7.1.2. Proteínas del fluido oviductal porcino fraccionado de hembras prepúber y adultas en fase periovulatoria y luteal.	128
7.1.2.1. Proteínas secretadas en cada fracción del FOP prepúber, periovulatorio y luteal.	129
7.1.2.1.1. Fluido oviductal porcino prepúber.....	130
7.1.2.1.2. Fluido oviductal porcino fase periovulatoria	133
7.1.2.1.3. Fluido oviductal porcino fase luteal tardía.....	138
7.1.2.1. Proteínas de cada fracción del FOP, prepúber, periovulatorio y luteal., y su relación con las vesículas extracelulares.	141
7.2. Efecto de cada una de las fracciones sobre el endurecimiento de la zona pelúcida de ovocitos porcinos.....	148
7.3. Determinación de la presencia de oviductina (OVGP1) en las fracciones de las distintas fases de fluido oviductal mediante electroforesis y Western-blot.	150
7.4. Análisis proteómico comparativo entre el fluido oviductal de vaca (Bos taurus) y coneja (Oryctolagus cuniculus).....	150
VIII. CONCLUSIONES	155
XI. CONCLUSIONS	159
X. ANEXOS	163
XI. ABREVIATURAS.....	251
XII. BIBLIOGRAFÍA.....	257





I.RESUMEN



La fecundación, en mamíferos, es un fenómeno que tiene lugar en el interior del tracto reproductor de las hembras, concretamente, en el oviducto, que es un órgano par, tubular, que conecta los ovarios con el útero. En un primer momento se pensó que este conducto era un simple lugar de encuentro de los gametos, pero actualmente, se ha demostrado la importancia del oviducto y del fluido contenido en él, en la fecundación. La composición del fluido oviductal (FO), varía dependiendo de la fase reproductiva de la hembra, de la fase del ciclo estral y de la especie de la que procede. Las hembras tienen a lo largo de su vida distintas fases reproductivas, en la fase prepúber todavía no están preparadas para la fecundación. Una vez que alcanza la madurez reproductiva la hembra adulta tiene varias fases dentro de su ciclo estral. Centraremos nuestro estudio en el fluido oviductal de hembras prepúberes, y de hembras adultas en fase periovulatoria y en fase luteal tardía.

La fase periovulatoria es el momento en el que el conducto oviductal se encuentra preparado para el encuentro entre el espermatozoide y el ovocito con un microambiente que favorece el éxito de la fecundación. Aunque es objeto de muchos estudios, aún se desconocen datos sobre su composición y la función de sus componentes, que podrían ser útiles para mejorar las técnicas de reproducción asistida (TRA) en especies animales y también en humano. Con este trabajo intentaremos ampliar este conocimiento, profundizando en el estudio de aquellos componentes del fluido oviductal porcino (FOP) que puedan estar implicados en la unión de los gametos, entre sí o con el epitelio oviductal, y con el desarrollo del embrión preimplantacional.

Los FOs de las tres fases fueron fraccionados mediante cromatografía líquida y columna de afinidad por heparina, con el fin de para concentrar el contenido proteico y descartar proteínas mayoritarias, como la albumina, que puede interferir en la detección de componentes del fluido que se encuentren a menor concentración. Se realizó un análisis proteómico de las fracciones que presentaban los mayores picos de elución y, por tanto, donde podríamos encontrar mayor cantidad de proteínas de interés, incluida la proteína específica del oviducto, OVGP1, que eluye a una concentración aproximada de 0,4mM de NaCl.

La fecundación tiene lugar en la fase periovulatoria. Los datos del análisis proteómico obtenidos en el estudio del FOP de esta fase mediante espectrofotometría de masas (MS/MS) nos mostró un total de 192 proteínas de las cuales, el 15.3% eran del tipo de proteínas de secreción, el análisis del fluido de la misma fase, fraccionado detectó 365 proteínas, confirmando la eficacia del método empleado. Al comparar el número de proteínas de las tres fases reproductivas, la mayor cantidad fue la de la fase luteal, muy superior al número de proteínas a la fase periovulatoria y casi el triple que el de la fase prepúber. Sin embargo, la cantidad de proteínas secretadas fue algo menor que en la fase periovulatoria, 20 y 23 proteínas, respectivamente, frente a 15 proteínas de la fase prepúber, que fue menor. Algunas proteínas identificadas no parecen haber sido descritas con anterioridad en el FOP como la HSPE o IL2, entre otras.

La polispermia es una condición patológica en mamíferos que impide el desarrollo embrionario. Dicho proceso consiste en la entrada en el ovocito de más de un espermatozoide y los embriones resultantes no son viables o forman individuos con numerosas malformaciones. En la especie porcina cuando la fecundación se realiza *in vitro* (FIV), las tasas de polispermia son muy elevadas. El sector porcino tiene una importancia clave en la economía, suponiendo en torno al 14% de la producción final agraria y el 39% de la producción final ganadera en España (Herranz, 2021), siendo de

gran interés científico y económico descifrar las claves de la fecundación para mejorar la eficiencia de las TRA. Se conoce por estudios anteriores que el uso del FO es capaz de disminuir las tasas de polispermia *in vitro* (Coy *et al.*, 2008a). La zona pelúcida (ZP) ovocitos porcinos incubados con FO porcino (FOP) en fase periovulatoria se vuelven resistentes a la digestión enzimática (RDE) con la enzima pronasa (Mondéjar, *et al.*, 2013b); sin embargo, esta resistencia no ocurre cuando los ovocitos son incubados con FO de hembras prepúberes ni con el de hembras adultas en fase luteal (Mondéjar *et al.*, 2013b). Entre los componentes del FO implicados en el proceso de endurecimiento de la ZP se ha descrito la OVGP1, una proteína secretada por las células oviductales, con alta afinidad por heparina. Pero aún existen muchas dudas sobre los mecanismos y sustancias implicadas en la RDE por endurecimiento de la ZP. Intentando resolver algunas de estas dudas realizamos un estudio proteómico comparado del FOP fraccionado mediante columna de afinidad por heparina, en tres fases reproductivas de las hembras, fase prepúber, periovulatoria y luteal. Los ovocitos incubados con la fracción que eluye a una concentración de entre 0,3 - 0,4M de cloruro sódico (NaCl) de la fase periovulatoria fueron los únicos que mostraron los mayores tiempos RDE. Mediante técnicas de electroforesis y Western Blot (WB) se puede constatar la presencia de OVGP1 en casi todas las fracciones, así que su presencia no parece ser el único factor implicado en este endurecimiento.

El FO en las diferentes especies presenta características distintas que nos ayuda a entender los mecanismos celulares y fisiológicos del proceso de fecundación. Una parte de este estudio consistió en un análisis comparativo mediante técnicas de electroforesis 2D y DiGE entre FO de fase periovulatoria de dos especies de mamíferos, bovina y cunícola, que nos permitieron identificar proteínas mayoritarias y diferenciales en los fluidos de cada una de las especies. Se observaron 217 manchas de proteínas que fueron diferenciales con un valor ($P < 0.019$) y con una expresión diferencial (fold > 2). Las manchas que reunían los criterios estadísticos. fold > 5 fueron 75, y de ellas se pudieron analizar 21. Los resultados nos rindieron 13 proteínas con expresión aumentada en fluido oviductal bovino (FOB) frente a fluido oviductal de coneja (FOC), y 11 proteínas con expresión aumentada en FOC frente a FOB. Casi todas las proteínas aumentadas en el FO, 12, habían sido descritas previamente en el FOB. De las aumentadas en el FOC, solamente 3 habían sido previamente descritas. La mayor parte de las proteínas con expresión diferencial de ambos fluidos tienen funciones relacionadas con la protección frente al estrés oxidativo. Las aumentadas en FOB, muestran además funciones relacionadas con la interacción con el espermatozoide, y las aumentadas en el FOC están relacionadas con la respuesta inmune.



II. SUMMARY

Fertilization, in mammals, is a phenomenon that happens inside the reproductive tract of females, specifically, in the oviduct, which is a paired, tubular organ that connects the ovaries with the uterus. First, it was thought that this duct was a simple meeting point for gametes, but now the importance in fertilization of the oviduct and the fluid contained in it has been demonstrated. The composition of the oviductal fluid (OF) varies depending on the female's reproductive phase, the phase of the estrous cycle and the species from which it comes. Females have different reproductive phases throughout their lives, in the prepubertal phase they are not ready for fertilization. Once she reaches reproductive maturity, the adult female has several phases within her estrous cycle. We will focus our study on the oviductal fluid of prepubertal females, and adult females in the periovulatory phase and late luteal phase.

The periovulatory phase is the moment in which the oviductal duct is prepared for the encounter between the sperm and the ovocyte with a microenvironment that favors the success of fertilization. Although it is the subject of many studies, data on its composition and the function of its components are still unknown, which could be useful for improving assisted reproductive techniques (ART) in animal species and also in humans. With this work we will try to broaden this knowledge, delving into the study of those components of porcine oviductal fluid (POF) that may be involved in the union of gametes, with each other or with the oviductal epithelium, and with the development of the preimplantation embryo.

The OF of the three phases were fractionated by liquid chromatography and a heparin affinity column, in order to concentrate the protein content and rule out major proteins, such as albumin, which can interfere with the detection of fluid components found at lower concentration.

A proteomic analysis of the fractions that presented the highest elution peaks was performed. It is in these fractions where we could find the greatest amount of proteins of interest, including the oviduct-specific protein, OVGP1, which elutes at an approximate concentration of 0.4mM of NaCl.

Fertilization takes place in the periovulatory phase. The data of the proteomic analysis obtained in the study of the POF of this phase by means of mass spectrophotometry (MS/MS) showed us a total of 192 proteins, of which 15.3% were of the type of secretion proteins. The fractionated fluid analysis of the same phase detected 365 proteins, confirming the efficacy of the method used.

When comparing the number of proteins from the three reproductive phases, the highest amount was found in the luteal phase, much higher than the number of proteins in the periovulatory phase and almost triple that in the prepubertal phase. However, the amount of secreted proteins was slightly lower than in the periovulatory phase, 20 and 23 proteins, respectively, compared to 15 proteins in the prepubertal phase, which was lower.

Some identified proteins do not seem to have been previously described in POF, such as HSPE or IL2, among others.

Polyspermy is a pathological condition in mammals that prevents embryonic development. This process consists of the entry into the ovocyte of more than one sperm and the resulting embryos are not viable or form individuals with numerous malformations. In the porcine species, when fertilization is performed in vitro (IVF), polyspermy rates are very high. The pig sector has a key importance in the economy, accounting for around 14% of the final agricultural production and 39% of the final livestock production in Spain (Herranz, 2021), being of great scientific and economic

interest to decipher the keys of fertilization to improve the efficiency of ART. It is known from previous studies that the use of OF is capable of reducing polyspermy rates in vitro (Coy et al., 2008a). The zona pellucida (ZP) porcine oocytes incubated with porcine OF (POF) in the periovulatory phase become resistant to enzymatic digestion (RDE) with the enzyme pronase (Mondéjar, et al., 2013b); however, this resistance does not occur when the oocytes are incubated with OF from prepubertal females or with that from adult females in the luteal phase (Mondéjar et al., 2013b). Among the OF components involved in the ZP hardening process, OVGP1, a protein secreted by oviductal cells with high affinity for heparin, has been described. But there are still many doubts about the mechanisms and substances involved in the RDE due to hardening of the ZP. Trying to resolve some of these doubts, a comparative proteomic study of POF fractionated by heparin affinity column was carried, in three reproductive phases of females: prepubertal, periovulatory and luteal phase. The oocytes incubated with the fraction eluting at a concentration between 0.3-0.4M sodium chloride (NaCl) from the periovulatory phase were the only ones that showed the longest RDE times. By means of electrophoresis and Western Blot (WB) techniques, the presence of OVGP1 can be verified in almost all the fractions, so its presence does not seem to be the only factor involved in this hardening.

The OF in different species has different characteristics that help us understand the cellular and physiological mechanisms of the fertilization process. One part of this study consisted of a comparative analysis using 2D and DiGE electrophoresis techniques between OFs of the periovulatory phase of two species of mammals, bovine and rabbit, which allowed us to identify major and differential proteins in the fluids of each of the species. 217 protein spots were observed that were differential with a value ($P < 0.019$) and with a differential expression (fold > 2). The spots that met the statistical criteria. fold > 5 was 75, and 21 of them could be analyzed. The results yielded 13 proteins with increased expression in bovine oviductal fluid (BOF) versus rabbit oviductal fluid (ROF), and 11 proteins with increased expression in ROF versus BOF. Almost all the proteins increased in the OF, 12, had previously been described in the BOF. Of those increased in ROF, only 3 had been previously described. Most of the proteins with differential expression in both fluids have functions related to protection against oxidative stress. Those increased in BOF also show functions related to interaction with the sperm, and those increased in ROF are related to the immune response.

III. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

3.1. Introducción

La biotecnología reproductiva es una herramienta esencial para la sostenibilidad de la ganadería (Wu y Zan, 2012). Con la producción de embriones *in vitro* se pueden solventar problemas de infertilidad en especies animales con alto potencial genético, incrementar la producción de embriones de manera eficiente, aumentar la intensidad de la selección genética en el tiempo y permite la preselección del sexo del embrión. Además de su gran interés comercial, la investigación proporciona información muy valiosa acerca del desarrollo embrionario y otros procesos celulares en mamíferos (Lonergan, 2007).

El oviducto es el ambiente natural donde tienen lugar el transporte y la maduración final de los gametos, la fecundación y el desarrollo embrionario temprano. La producción de FO se encuentra bajo control hormonal y se han observado diferencias entre las distintas fases del ciclo estral (Buhi, 2002).

El heparán sulfato (HS) es un polisacárido lineal altamente sulfatado y está presente en la superficie celular y en la matriz extracelular (MEC) de prácticamente todos los tejidos de mamíferos (Bernfield *et al.*, 1999). Los glicosaminoglicanos (GAG) tienen funciones cruciales en la interacción y comunicación célula-célula. La comunicación entre el espermatozoide y el óvulo durante la fecundación es el mejor ejemplo de comunicación intercelular que involucra un sistema de reconocimiento de proteína - carbohidrato. Los GAG, especialmente la heparina, están implicados en varios procesos, como la capacitación, la reacción del acrosoma (RA) lo que lleva a la fecundación (Yadav *et al.*, 2013).

Para estudiar con detalle las proteínas que componen el fluido oviductal, y sabiendo que la heparina es un actor implicado en los procesos reproductivos, la columna de afinidad por heparina es una buena herramienta para concentrar e identificar proteínas que pueden ser de interés en la fecundación.

El uso de técnicas como la cromatografía en fase líquida y herramientas como la columna de afinidad por heparina permiten fraccionar un fluido, acotar la parte del FOP que puedan ser de interés en los procesos reproductivos, aumentando la posibilidad de identificar proteínas que en el FO sin fraccionar son más difíciles de detectar.

Uno de los problemas que se presentan cuando se realiza la FIV, en la especie porcina, son las altas tasas de polispermia. La polispermia es una condición patológica en mamíferos que impide el desarrollo embrionario, ya que los embriones resultantes no son viables o forman individuos con numerosas malformaciones.

Estudios previos han demostrado que la ZP en el oviducto experimenta un cambio en su RDE que a su vez provoca un incremento en los niveles de monospermia en las especies porcina y bovina. El FOP recogido alrededor del momento de la ovulación aumenta la resistencia de la ZP a la digestión enzimática (Coy *et al.*, 2008a). Se conoce un número limitado de proteínas relacionadas con estos fenómenos. Uno de los factores implicados en dicho cambio es la OVGP1, (Coy *et al.*, 2008a), que es secretada por las células epiteliales oviductales y es dependiente de estrógenos (Buhi *et al.*, 2000).

Las fracciones obtenidas nos pueden dar información sobre la capacidad de endurecer la ZP, y podemos mediante análisis proteómico, intentar encontrar la proteína o proteínas implicadas (Mondéjar, 2011).

El uso de técnicas como la electroforesis bidimensional y espectrofotometría de masas, y de herramientas bioinformáticas como el programa *Database for Annotation*,

visualization and Integrated Discovery (DAVID) o de análisis de interacciones funcionales STRING nos permite avanzar en la descripción de proteínas y funciones del FO relacionado con la fecundación, aportando datos que pueden ser valiosos en el avance de la biotecnología reproductiva.

La electroforesis bidimensional en gel de poliacrilamida (2D-PAGE) continúa siendo una de las técnicas más versátiles y ampliamente utilizadas para estudiar el proteoma de un sistema biológico. En particular, una versión modificada de 2D-PAGE, electroforesis en gel de diferencia bidimensional (2D-DIGE), que utiliza el marcaje diferencial de muestras de proteínas con hasta tres etiquetas fluorescentes, ofrece mayor sensibilidad y reproducibilidad que los geles 2D-PAGE convencionales para diferenciación y análisis cuantitativo de la expresión de proteínas entre grupos experimentales. (Meleady, 2018). En este trabajo utilizamos esta técnica para encontrar proteínas significativamente diferentes entre el fluido oviductal de dos especies animales, bovino y conejo, que presentan características reproductivas, como la capacidad de endurecimiento de la ZP homólogo y heterólogo distintas.

3.2. Objetivos

1. Análisis de la composición proteica del fluido oviductal porcino de hembras prepúberes, fluido oviductal porcino de hembras adultas en fase periovulatoria y en fase luteal, mediante fraccionamiento en columna de afinidad por heparina, y sus diferencias.
2. Efecto de las fracciones de fluido oviductal en el endurecimiento de la zona pelúcida, y su relación con la expresión de la proteína OVGp1.
3. Estudio comparativo de la composición del fluido oviductal de la vaca y coneja y su posible implicación en la fecundación.

IV. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1. La Fecundación

En la fecundación el gameto femenino y el masculino, ambos haploides, se unen para dar lugar al cigoto diploide y totipotente, que se desarrollará como un nuevo individuo de características únicas (Yanagimachi, 1984, Yanagimachi, 1994a). El estudio de este proceso y todos los factores que intervienen en él es de gran importancia para avanzar en el desarrollo de técnicas que ayuden a tratar la infertilidad, como son TRA, evitar la extinción de algunas especies de animales en peligro, así como aumentar la productividad en la industria ganadera.

En la naturaleza existen dos estrategias de fecundación fundamentalmente, la fecundación externa y la interna (Dale y DeFelice, 2011). En la fecundación externa los gametos se liberan al medio acuoso donde tiene lugar el encuentro entre ambos. La fecundación interna ocurre en el interior de la hembra, donde el macho mediante un órgano reproductor especializado deposita los gametos para que tenga lugar el encuentro con los gametos femeninos de la hembra. En algunos mamíferos, el semen es depositado en la vagina de la hembra (primates, rumiantes y conejo), en otros el semen se deposita en el útero (algunos roedores, caballo, cerdo y perro), (Hunter, 1991a; Hunter *et al.*, 2011).

En mamíferos el aparato reproductor femenino, en su parte interna consta de vagina, útero, oviductos en mamíferos no primates, o Trompas de Falopio en primates (Menezo y Guerin, 1997), y ovarios.

Independientemente de la zona donde se deposita el semen, la fecundación siempre ocurre en la trompa de Falopio u oviducto, concretamente en la zona de la ampolla oviductal (Hunter, 2005). Para que el espermatozoide culmine la fecundación con éxito tiene que haber sido previamente capacitado en la zona del oviducto llamada Istmo, lo que le permite alcanzar la zona de la ampolla y fusionarse con el ovocito. Tras atravesar el *cumulus oophorus*, debe unirse a la ZP y sufrir la RA con la liberación de enzimas para poder atravesarla. Las membranas de los gametos deben fusionarse, provocando así la activación del ovocito, donde tiene lugar la reacción cortical, que evita la entrada de más de un espermatozoide y permite la formación del cigoto (Yanagimachi, 1984, Visconti y Florman, 2010). Estudios recientes, con ratones transgénicos muestran que, en la mayor parte de los espermatozoides, la RA ocurre en el segmento superior del istmo del oviducto, no en contacto con la ZP (La Spina *et al.*, 2016).

Los fluidos en los que ocurren los procesos: la maduración de los gametos, el transporte, la fecundación y el desarrollo embrionario temprano, juegan un papel fundamental en todo el proceso que da lugar a la formación de un nuevo individuo, estos fluidos son el FO y el fluido uterino, por eso su estudio es de gran interés (Avilés *et al.*, 2010, Coy *et al.*, 2012a, Mondéjar *et al.*, 2012).

4.2. Los gametos

4.2.1. El gameto masculino

El gameto masculino es el espermatozoide, que es una célula con una función y una estructura especial, y con la capacidad para aportar su carga genética, contribuyendo con el ovocito a la formación de un nuevo individuo de características únicas. (Eddy *et al.*, 2006).

4.2.1.1. Espermatogénesis

Durante el desarrollo fetal, las células germinales primordiales (CGP) dan lugar a un conjunto de células madre espermatogónicas del que derivan los espermatozoides, que son el producto final de la espermatogénesis. La población transitoria de células germinales primordiales es desplazada, durante la formación del alantoides, fuera del embrión, para después dirigirse a las gónadas indiferenciadas por el intestino caudal. Estas células germinales primordiales se describieron en ratón, por primera vez, como un grupo de células del epiblasto del embrión de 7 días (Phillips *et al.*, 2010).

Las CGP darán lugar a los gonocitos, que son encerrados en los cordones testiculares formados por células precursoras de las células de Sertoli y de las células mioideas peritubulares. El término "gonocito", es una nomenclatura general que comprende a las proespermatogonias mitóticas M, proespermatogonias T1 y proespermatogonias T2. Las proespermatogonias M se encuentran en el centro de los cordones testiculares, lejos de la membrana basal de los túbulos seminíferos. Estas células se multiplican activamente hasta convertirse en proespermatogonias T1 entrando en arresto mitótico (G0) rápidamente. En ratones, durante la primera semana posterior al nacimiento, los gonocitos reanudan su proliferación marcando su transición a proespermatogonia T2 concomitantemente con la migración hacia la membrana basal de los túbulos seminíferos. Las proespermatogonias T2 colonizan la membrana basal de los túbulos y dan lugar al pool inicial de células madre espermatogónicas que mantienen la espermatogénesis a lo largo de toda la vida reproductiva (Phillips *et al.*, 2010).

La espermatogénesis es un proceso complejo y dinámico por el que se generan los espermatozoides. Este fenómeno se encuentra sometido a una fuerte regulación hormonal (hormona foliculoestimulante (FSH), hormona luteinizante (LH), testosterona y 17β estradiol), y en mamíferos consta de tres fases (Chocu *et al.*, 2012): 1) Espermatogoniogénesis, proceso continuo que involucra la división por mitosis de las espermatogonias diploides A, localizadas sobre la lámina basal y entre las células de Sertoli, hasta producir un gran número de células diploides (O'Donnell *et al.*, 2001). 2) Formación del espermatozocito primario a partir de la espermatogonia B (última división mitótica), estas células replican su ADN para dar comienzo a la meiosis. Esta segunda fase, implica la duplicación de los cromosomas, la recombinación genética y posteriormente la reducción de los cromosomas a través de dos divisiones (Hess *et al.*, 2008). Después de la primera división meiótica se forma los espermatozocitos secundarios, estos rápidamente sufren la segunda división meiótica para producir espermátides haploides esféricas. 3) Espermiogénesis, proceso por el cual las espermátides sufren morfogénesis para convertirse en un espermatozoide maduro y móvil. En esta etapa se remodela la forma de las espermátides, se desarrolla el acrosoma y el flagelo, se condensa la cromatina, se alarga el núcleo y se elimina el citoplasma, todo esto ocurre antes de ser liberadas al lumen de los túbulos seminíferos

durante la espermiación (O'Donnell *et al.*, 2001, Hess *et al.*, 2008, Kopera *et al.*, 2010; Shaha *et al.*, 2010).

Además de las células germinales en desarrollo, el epitelio seminífero se encuentra constituido por las células de Sertoli, encargadas de proveer soporte estructural y nutrición a las células germinales. Las células de Sertoli son células de citoplasma extenso, de forma piramidal, que sostienen el epitelio germinativo y constituyen el armazón del túbulo seminífero. Descansan sobre la membrana basal del túbulo y se adosan unas a otras por especializados complejos de unión que se localizan en sus porciones laterales y evitan que los diferentes estratos celulares germinativos penetren a la luz del túbulo seminífero, a menos que lo hagan a través de su citoplasma (Kopera *et al.*, 2010).

El tiempo de duración del proceso de espermatogénesis varía en las diferentes especies de mamíferos (Tabla 4a). Aunque se pueden encontrar diferencias entre razas de la misma especie, la duración del ciclo de la espermatogénesis en general, se ha considerado que es constante para una especie dada (Franca *et al.*, 2005).

Tabla 4a. Duración de espermatogénesis en diferentes especies de mamíferos. Modificado de Kerr *et al.*, 2006.

ESPECIE	DÍAS	REFERENCIA
Ratón (<i>Mus musculus</i>)	34-35	Clermont y Trott ,1996
Hámster (<i>Mesocricetus auratus</i>)	35-36	Clermont y Trott ,1996; De Roolj 1968
Cerdo (<i>Sus scrofa</i>)	34-41	Swierstra,1968; Almeida <i>et al.</i> , 2006; Franca <i>et al.</i> , 2005
Toro (<i>Bos Taurus</i>)	54-60	Hochereau 1963, Franca <i>et al.</i> , 2005
Conejo (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	48-51	Swierstra y Foote, 1963
Humano (<i>Homo sapiens</i>)	64	Heller y Clermont, 1964

4.2.1.2. Morfología y estructura del espermatozoide

El espermatozoide es una célula con movimiento activo constituida por una cabeza y flagelo móvil o cola formada por cuello, pieza media, pieza principal y filamento terminal (Eddy y O'Brien, 1994; Eddy, 2006; Guzmán *et al.*, 2007).

La cabeza del espermatozoide de mamífero contiene el núcleo con la cromatina fuertemente condensada y el acrosoma rodeado por una moderada cantidad de componentes del citoesqueleto y citoplasma. El acrosoma es una gran vesícula secretora que se encuentra localizada en el extremo anterior de la cabeza espermática. Se origina a partir del complejo de Golgi durante el estadio de espermátide y contiene enzimas necesarias para la penetración de la cubierta del ovocito. De estas enzimas la hialuronidasa y la acrosina juegan un rol central al dispersar el *cúmulus oophorus* y

provocar la lisis local de la ZP respectivamente (Ward y Coffey, 1991, Yang y Sperry, 2003).

Este lisosoma especializado se encuentra constituido por una membrana acrosomal interna que rodea la porción anterior de la membrana nuclear y que se continúa ininterrumpidamente formando la membrana acrosomal externa, la cual se extiende cerca de la superficie interna de la membrana plasmática de la porción anterior de la cabeza. El acrosoma posee dos segmentos, el casquete acrosómico o acrosoma anterior y el segmento ecuatorial por el cual el espermatozoide hace contacto con el ovocito en el momento de la fecundación (Eddy *et al.*, 2006, Fawcett, 1970).

Durante la reacción acrosómica la membrana acrosomal externa y la membrana plasmática de la cabeza del espermatozoide se fusionan formando vacuolas en la superficie que permiten la salida del contenido acrosomal (Eddy y O'Brien, 1994; Romar Andrés, 2001; Guzmán *et al.*, 2007; Bedford, 2008).

La cola de los espermatozoides de mamíferos se encuentra constituida por varios componentes funcionalmente dependientes. Aunque el tamaño y la forma de estos pueden variar de una especie a la otra, su organización estructural es muy similar. La cola puede dividirse en cuatro segmentos: el cuello, la pieza media, la pieza principal y la pieza final, todas ellas rodeadas por una membrana plasmática común (Eddy *et al.*, 2006).

El axonema es una estructura común a todas las regiones de la cola, se localiza centralmente y es el aparato motor del espermatozoide. Está compuesto por un par de microtúbulos centrales rodeados de nueve pares o dobletes espaciados de modo uniforme (9 + 2). Los nueve dobletes están rodeados por nueve fibras densas externas. En cada doblete, el microtúbulo más interno proyecta dos brazos de dineína hacia el doblete adyacente, en el sentido de las agujas del reloj, uno más externo y otro más interno. Los nueve pares están conectados entre sí por puentes proteicos de nexina. Rodeando a los dos túbulos centrales hay una vaina o filamento helicoidal formado a partir de las proyecciones radiales. Las estructuras que rodean al haz de fibras axiales permiten diferenciar las piezas intermedia y principal de la cola del espermatozoide. En la pieza intermedia el axonema se encuentra rodeado por una vaina de mitocondrias que se retuercen regularmente alrededor de él unas 32 veces. Estas mitocondrias son las encargadas de generar el Adenosín Trifosfato (ATP) necesario para agitar el flagelo e impulsar el espermatozoide. La pieza principal está rodeada por una cubierta fibrosa estriada. El filamento terminal de la cola es la porción más distal de la cola y comienza en el punto donde desaparece la cubierta fibrosa (Gilbert, 2005; Otero, 2008).

Todas estas estructuras especializadas que posee el espermatozoide están en relación con su actividad funcional única. El acrosoma contiene enzimas esenciales para la fecundación y el flagelo contiene las fuentes de energía y la maquinaria necesaria para el movimiento. Es una estructura ampliamente conservada lo largo de la evolución en diferentes especies. El rol de estas estructuras es asegurar la liberación del material nuclear, contenido en la cabeza del espermatozoide, dentro del citoplasma del ovocito en donde la combinación del pronúcleo femenino y masculino formará el cigoto (Eddy y O'Brien, 1994).

4.2.1.3. Maduración del espermatozoide

Los espermatozoides liberados al lumen desde los túbulos seminíferos no han completado su diferenciación por lo que son incapaces de fertilizar el ovocito. La capacidad fecundante se consigue durante el pasaje del gameto a través de las distintas regiones del epidídimo. Junto a la adquisición de esta capacidad el espermatozoide sufre una serie de cambios madurativos. El primero de ellos es ser reconocido y la modificación física más importante que adquiere el espermatozoide durante la maduración, es la de obtener un movimiento progresivo, ya que el espermatozoide recién liberado del testículo y debido a la inmadurez de la membrana plasmática, solo tiene una capacidad de movimiento muy débil o nula (Yanagimachi 1994a, Cornwall 2009). Esta modificación se ha descrito en diferentes especies como la porcina (Dacheux *et al.*, 1979, Bork *et al.*, 1988), en la bovina (Acott *et al.*, 1983, Pholpramool *et al.*, 1985) y en la humana (Mooney *et al.*, 1972, Bedford *et al.*, 1973). La maduración del potencial de motilidad espermática implica no solo un aumento cuantitativo en el porcentaje de espermatozoides motiles sino también, una diferencia cualitativa en el patrón de movilidad (Dacreux *et al.*, 2003).

Además de la adquisición de esta capacidad, los espermatozoides del epidídimo desarrollan la habilidad de sufrir eventualmente la RA, reconocer y unirse a la ZP y la capacidad de fusionarse a la membrana vitelina del ovocito (Rosati *et al.*, 2000; Romar, 2001; Eddy *et al.*, 2006; Otero, 2008).

Concomitantemente a estos cambios funcionales, durante el tránsito epidídimal, los espermatozoides sufren múltiples cambios estructurales, los cuales incluyen la migración de la gota citoplasmática (remanente citoplasmático de la espermátida) desde la base de la cabeza hasta el final de la pieza intermedia del flagelo (Dacheux y Dacheux, 2014, Gatti *et al.*, 2004), remodelación acrosomal, cambios en la cromatina y en algunas de las organelas del flagelo, y cambios en los lípidos de membrana y proteínas de superficie (Bedford y Cooper, 1978; Rosati *et al.*, 2000; Robaire *et al.*, 2006).

4.2.1.3.1. Capacitación espermática

Aquellos espermatozoides que han atravesado el epidídimo aún no han completado el proceso de maduración funcional, por lo que continúan siendo limitados en su capacidad fecundante (Florman y Ducibella, 2006). Durante la eyaculación, el espermatozoide entra en contacto con las secreciones de las glándulas genitales accesorias que evitan su capacitación prematura mediante la protección de la membrana plasmática por una capa de proteínas (Töpfer-Petersen *et al.*, 1998, Dacheux y Dacheux, 2014) y alcanza el aparato genital femenino. En condiciones *in vivo*, durante la migración de los espermatozoides por el tracto genital de la hembra, ocurre la "capacitación espermática" por eliminación de los factores de decapacitación, y su unión al epitelio del oviducto en forma de reservorio (Suárez, 2016) bajo la influencia de glicosaminoglicanos como la heparina o el ácido hialurónico (Romar, 2001). La capacitación consiste en alteraciones de la membrana plasmática, tales como la eliminación del colesterol (Davis *et al.*, 1979, Visconti *et al.*, 1999), la entrada de Ca^{2+} a la célula, el aumento del pH intracelular (Visconti *et al.*, 2011), y el aumento de la

fosforilación proteica (Arcelay *et al.*, 2008; López-Úbeda *et al.*, 2015a; Tanphaichitr *et al.*, 2015), así como la hiperpolarización de la membrana plasmática (Florman y Ducibella, 2006; Hernández-González *et al.*, 2006; Schatten y Constantinescu, 2008).

4.2.1.3.2. Hiperactivación y quimiotaxis

Los espermatozoides sufren además de la motilidad progresiva, adquirida durante la maduración epididimal, un tipo de movimiento (característico para cada especie), llamado motilidad hiperactivada. La primera se caracteriza por un movimiento flagelar vigoroso, de baja amplitud y larga longitud de onda y relativamente simétrico que da como resultado un rápido movimiento de avance lineal. Por otro lado, luego de un determinado período de tiempo en el tracto reproductivo femenino, el espermatozoide desarrolla movimientos de hiperactivación, caracterizados por movimientos flagelares como golpes de látigo, de alta amplitud y baja longitud de onda, asimétricos, y con una trayectoria de avance circular o irregular (Senger, 2005; Florman y Ducibella, 2006). El fenómeno de hiperactivación se produce durante el proceso de capacitación, pero no se ha determinado aún con exactitud si la hiperactivación es una consecuencia de la capacitación o si ambos son procesos independientes que se producen de forma simultánea. Este fenómeno de hiperactivación serviría en primer lugar para facilitar el avance del espermatozoide a través del fluido viscoso del oviducto, así como también, a través de la matriz extracelular del cúmulus y de la ZP. En segundo lugar, la hiperactivación ayudaría al espermatozoide a ascender por el oviducto hasta el sitio de fecundación al permitir que éste se libere de la adhesión transitoria ejercida entre el gameto y el epitelio oviductal (Florman y Ducibella, 2006).

Los espermatozoides de varias especies de mamíferos son orientados hacia el ovocito mediante el fenómeno de la quimiotaxis. Los espermatozoides son direccionados hacia un gradiente de concentración de sustancias quimioatrayentes aportadas por el líquido folicular, el ovocito maduro y las células del cúmulus (Eisenbach y Giojalas, 2006). Además, se ha descubierto que los espermatozoides podrían orientar su motilidad siguiendo un gradiente térmico superficial existente a lo largo del oviducto ya que, existe en el oviducto una diferencia de 1 a 2°C entre el sitio de fecundación y el de almacenamiento espermático (Sun *et al.*, 2005).

Los espermatozoides serían guiados al sitio de fecundación siguiendo un gradiente térmico y alcanzarían los complejos cúmulo ovocito (CCO) por quimiotaxis cuando los espermatozoides se encuentran a pocos milímetros de este (Eisenbach y Giojalas, 2006; Florman y Ducibella, 2006).

4.2.2. El gameto femenino

El ovocito es el gameto femenino maduro que, mediante una serie de modificaciones durante su crecimiento y maduración, adquiere las características fundamentales para que se produzca de manera adecuada la fecundación.

4.2.2.1. Ovogénesis

Durante la ovogénesis se forma el ovocito, y comienza en la etapa embrionaria con la formación de las células germinales primordiales, fuera de la gónada (Clark y

Eddy, 1975; Buccione *et al.*, 1990; Aerts y Bols, 2010), y migran del mesenterio del saco vitelino hasta las crestas genitales (McGee *et al.*, 1998). Durante el desarrollo fetal, se producen, por sucesivas divisiones mitóticas, unos dos millones de oogonias, que son las células germinales inmaduras (diploides), y que se encuentran conectadas entre ellas por medio de puentes citoplasmáticos intracelulares. En el segundo trimestre de gestación en el humano y después del nacimiento en el ratón, estos grupos de células comienzan a separarse para formar los folículos individuales (Tingen *et al.*, 2009). Posteriormente, las oogonias, por división meiótica dan lugar a varios millones de ovocitos (haploides). La meiosis es un tipo de división celular exclusiva de las células germinales (ovogonias y espermatogonias) y su objetivo es, por un lado, la reducción a un número haploide de cromosomas y la recombinación de la información genética (Polanski y Kubiak, 1999). Aunque en el momento del nacimiento el número final de ovocitos se ve reducido a varios miles debido a fenómenos de apoptosis (De Pol *et al.*, 1998).

En las hembras, toda la población de ovocitos entra en meiosis sincrónicamente en la vida fetal. La primera división meiótica avanza hasta que los ovocitos alcanzan la profase en diplonema tardío o difusa. En esta etapa los ovocitos detienen su división hasta la atresia folicular o hasta que el folículo complete su crecimiento en respuesta al pico de LH que induce la reanudación de la meiosis convirtiendo al ovocito primario en un gameto haploide (Van den Hurk y Zhao, 2005). Se pensó que la mayoría de las hembras de mamífero pierden la capacidad de renovación de las células germinales durante la vida fetal, quedando fijada la reserva de ovocitos primarios al momento del nacimiento, siendo, en este momento, el número de folículos primordiales unos 420.000 en la cerda, 210.000 en la vaca, y 400.000 en la mujer (De Pol *et al.*, 1998) Sin embargo, estudios realizados en primates adultos (David, 1974; Bukovsky *et al.*, 2004) y en ratones (Johnson *et al.*, 2004) demostraron que en estos casos, los ovarios poseen células germinales mitóticamente activas con capacidad formar ovocitos y folículos. En la túnica albugínea de ovarios de mujeres adultas, las células progenitoras mesenquimáticas, podrían diferenciarse en los componentes que forman los folículos primordiales durante el período reproductivo (Johnson *et al.*, 2005, Bukovsky *et al.*, 2005).

En la mayoría de los mamíferos, la ovogénesis comienza durante la vida embrionaria y la transformación de las oogonias (células diploides) en ovocitos (células haploides) se completa antes del nacimiento (Fair, 2003). En la coneja, la ovogénesis se inicia al nacimiento y las oogonias comienzan la meiosis y se transforman en ovocitos durante los primeros 10 días de vida (Peters *et al.*, 1965; Hutt *et al.*, 2006). En la tercera semana de edad, el ovario ya presenta folículos primordiales y folículos en desarrollo (Gondos, 1969; Hutt *et al.*, 2006), mientras que los primeros folículos antrales se detectan a partir de la 12ª semana de vida (Wolgemuth *et al.*, 1984; Hutt *et al.*, 2006). De esta forma, en las primeras semanas después del nacimiento, la coneja ya contará con la dotación de ovocitos disponibles para el resto de su vida reproductiva. A partir de aquí, se producen oleadas de crecimiento folicular (foliculogénesis) y regresión (atresia) de manera constante, aunque el núcleo del ovocito permanecerá detenido en el estadio de diplotene de la profase de la primera división meiótica, estadio nuclear que mantendrá hasta pocas horas antes de la ovulación (Sirard, 2001).

4.2.2.1.1. Folículos primordiales

Los ovocitos, coincidiendo con el inicio de la meiosis, se rodean por una capa de células somáticas escamosas y planas, denominadas células pregranulosas, que en la mayoría de las especies tendrán como origen las células derivadas del mesonefro que asciende a través del ovario y las células epiteliales de la superficie del ovario que migran al interior de este (Van den Hurk *et al.*, 1995; Garrett y Guthrie 1999; Sawyer *et al.*, 2002). Están conectadas entre sí y al ovocito mediante las uniones “gap”, las cuales permiten el intercambio de pequeñas moléculas, señales y nutrientes (Kidder y Mhawi, 2002; Kennedy *et al.*, 2003). Gran parte de los ovocitos degeneran reduciendo el número de folículos primordiales en el ovario, en el momento del nacimiento. Esta reducción es aproximadamente del 60% en la cerda y 90 % en la mujer y aún más en la vaca (McNatty *et al.*, 1995; Guthrie y Garrett, 2001; Van den Hurk y Zhao, 2005). Las células planas que rodean al ovocito se hipertrofian y se transforman en células cúbicas, ocurriendo así el paso de folículo primordial a folículo primario (Hirshfield, 1991)

4.2.2.1.2. Folículos primarios

El ovocito y las células que lo rodean comienzan a crecer coordinadamente en un proceso continuo que finaliza con la ovulación de un ovocito maduro o la atresia folicular (Pedersen y Peters, 1968; Van den Hurk y Zhao, 2005; Liu *et al.*, 2006; Moniruzzaman y Miyano, 2010). En cada ciclo, la cantidad de folículos primordiales que comienzan a crecer, se cree que es consecuencia de un conjunto de factores inhibidores y estimuladores de origen sistémico o local (van den Hurk y Zhao, 2005; Tingen *et al.*, 2009; Moniruzzaman y Miyano, 2010), e independientes de la FSH directamente (Meduri *et al.*, 2002). En el momento del nacimiento el ovario posee una corteza ovárica formada por ovocitos primarios, manteniéndose detenida la meiosis hasta momentos antes de la ovulación, en la pubertad (Tsafiriri *et al.*, 1983). Esta interrupción se mantiene mediante un sistema de control múltiple en el que están implicados el adenosil monofosfato cíclico (AMPC) (Schultz, 1991; Mattioli, 1994; Dekel, 1999), el factor inhibidor de la maduración ovocitaria (Dekel, 1999), la hipoxantina (Stromstedt y Byskov, 1999; Dekel, 1999), Calcineurin (Tumová *et al.*, 2016) y otros factores (Thibault *et al.*, 1987), con la finalidad de mantener inactivo el factor promotor de la maduración (MPF). En este estadio, los ovocitos se caracterizan por tener un núcleo prominente, denominado vesícula germinal (VG) (Franchi *et al.*, 1962), y por estar rodeados por una capa de células epiteliales (foliculares), lisas no proliferativas, conocidas como células pregranulosas, que ejercen un efecto inhibitor sobre la meiosis y el crecimiento folicular (Fortune *et al.*, 2003).

4.2.2.1.3. Folículos preantrales multilaminares o secundarios

Mientras se encuentra detenido en diplonema de la profase I, el ovocito incrementa su volumen hasta 500 veces, convirtiéndose en una de las células más grandes del organismo. La cantidad de citoplasma aumenta, e incrementa la síntesis de Ácido Ribonucléico (ARN), y el número de mitocondrias. También se forman los gránulos corticales (GC) por debajo de la membrana plasmática, y ya se observa la ZP (Aerts y Bols, 2010).

La ZP está formada por glicoproteínas sintetizadas por el ovocito (Wassarman y Mortillo, 1991), que contribuyen a la unión especie-específica entre espermatozoide-ovocito, mantener la esfericidad del ovocito, inducción de la reacción acrosómica, bloqueo de la poliespermia, y protección del embrión (Dunbar *et al.*, 1991; Epifano, 1994; Benoff, 1997; Wassarman, 1998; Denker, 2000; Herrler y Beier, 2000; Sinowitz *et al.*, 2001b; Dean, 2004;). Estas glicoproteínas difieren en las distintas especies (tabla 4b).

Tabla 4b. Glicoproteínas de la ZP de las especies usadas en el presente estudio.

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	ACCESO A BASE DE DATOS			
		ZP1	ZP2	ZP3	ZP4
<i>Sus scrofa</i>	Cerda		NM_2138448 P42099	NM_213893 P42098	NM_214045 Q07287
<i>Bos taurus</i>	Vaca		NM_173973 Q9BH10	NM_173974 P48830	NM_173975 Q9BH11
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Coneja	NM_001270480.1	L12167 P48829	U05782 P48833	M58160 Q00193
<i>Homo sapiens</i>	Mujer	NM_207341 P60852	NM_003460 Q05996	NM_007155 P21754	NM_021186 Q12836

La capa de células foliculares cúbicas del folículo primario se estratifica por una serie de divisiones mitóticas pasando a constituir las células de la granulosa. Alrededor de éstas se desarrolla una capa de células que forman la teca a partir de células del estroma intersticial. De esta manera queda constituido el folículo multilaminar (también llamado secundario o preantral) (Van den Hurk y Zhao, 2005; Aerts y Bols, 2010; Young y McNeilly, 2010). Richards (1979) demostró que tanto los estrógenos como la FSH estimulan la proliferación de las células de la granulosa ejerciendo un efecto mitogénico sobre las mismas. Estas células, además de comunicarse entre ellas forman uniones nexo (gap) con el oolema del ovocito (Anderson y Albertini, 1976; Heikinheimo y Gibbons, 1998). Estas uniones están formadas por proteínas conexas como la conexina 37, la cual es expresada por el ovocito durante todos los estadios de la foliculogénesis (McGhee y Hsueh, 2000; Amleh y Dean, 2002). Este tipo de uniones se encuentran en muchos sistemas biológicos y actúan como mediadores de la comunicación intercelular permitiendo el pasaje de pequeñas moléculas que influyen sobre las células vecinas (Gilula *et al.*, 1978; Lawrance *et al.*, 1978), como, por ejemplo: nutrientes, precursores metabólicos (como aminoácidos y nucleótidos) y moléculas de señalización como hormonas y factores de crecimiento (Van den Hurk y Zhao, 2005).

La LH juega un rol preponderante en el desarrollo del folículo multilaminar. Los receptores para LH presentes en la teca de los folículos multilaminares tempranos de ratón estimulan la biosíntesis de andrógenos tecaes los que a su vez promueven la formación de receptores para FSH en células de la granulosa, amplificando de este modo la acción de la FSH en estos folículos (Van den Hurk *et al.*, 1999).

4.2.2.1.4. Folículos antrales o terciarios

Diversos estudios en mamíferos establecen un patrón en dos fases en el crecimiento del ovocito y del folículo. Durante la primera fase el crecimiento de ambos es lineal y tiene una correlación positiva. Cuando el ovocito alcanza su tamaño máximo, antes de la formación de la cavidad antral, comienza la segunda fase en la cual aumenta la actividad mitótica de las células de la granulosa y de las células de la teca, mientras que comienza a adquirir importancia la acumulación de líquido folicular (Bloom y Fawcett, 1992).

El fluido antral (o folicular) es una fuente importante de moléculas reguladoras y moduladoras derivadas de la sangre, como, por ejemplo: gonadotrofinas, esteroides, factores de crecimiento, enzimas, proteoglicanos y lipoproteínas (Van den Hurk y Zhao, 2005). La producción de fluido antral se intensifica por un aumento en la vascularización y permeabilidad de los vasos sanguíneos del folículo. La señal que inicia la formación del antro permanece poco clara hasta el momento. Estudios *in vitro* realizados en roedores muestran como posibles candidatos a la FSH (Hartshorne, 1997; Mao *et al.*, 2002), LH (Cortvrindt, 1998), activina (Zhao *et al.*, 2001) y al Ligando K (Driancourt *et al.*, 2000).

El desarrollo del folículo antral consta de cuatro fases: fase de crecimiento basal, fase de reclutamiento, fase de selección y fase de dominancia (Webb *et al.*, 1999; Driancourt, 2001; Fortune *et al.*, 2001; Findlay *et al.*, 2002). Aunque los folículos antrales tempranos presentan ARNm para receptores de FSH, estos folículos son relativamente independientes de las gonadotrofinas durante el período de crecimiento inicial. Estos folículos aumentan su tamaño en presencia de muy bajas concentraciones de FSH y LH e incluso lo hacen en ausencia de estas (Van den Hurk y Zhao, 2005). Cuando los folículos antrales alcanzan un tamaño de aproximadamente 0,2mm en la hembra de ratón, 1mm en cerda, 2mm en oveja, 4mm en la vaca, 10mm en la yegua y 0,9mm en la coneja se vuelven dependientes de gonadotrofinas y son reclutados para continuar su crecimiento (Driancourt, 2001). El número de folículos reclutados varía entre las especies, de 5 a 10 en vaca, de 1 a 4 en yeguas o más de 50 en el caso de las cerdas. El reclutamiento y la selección de folículos antrales ocurren en forma de ondas y en número de 2 a 3 (vaca), 3 a 4 (oveja), 4 a 5 (cabra) y 1 a 2 (yegua) ondas por ciclo. En la vaca el tamaño del folículo reclutado se corresponde con el tamaño en el que la aromatasa P450, responsable del pasaje de andrógenos a estrógenos, se vuelve detectable en la granulosa (Webb *et al.*, 1999; Driancourt, 2001; Fortune *et al.*, 2001). Al comienzo de la madurez sexual una señal hormonal selecciona un grupo de folículos que continúan su crecimiento. En esta selección intervienen las hormonas FSH, LH y los estrógenos. La FSH estimula el crecimiento de los folículos por proliferación de las células foliculares. Cuando los folículos superan los 4 mm en oveja, 5 a 6mm en cerda, 8mm en vacas o 25mm en la yegua, comienzan a desarrollar receptores de LH en las células de la granulosa (Driancourt, 2001) y reciben el nombre de folículos dominantes. Estos folículos sometidos a la acción de la LH e independientemente de que la concentración de FSH disminuya, crecen rápidamente en pocos días y se vuelven más grandes que el resto (Richards, 1980, Richards *et al.*, 1982).

4.2.2.1.5. Folículos preovulatorios o de Graff

El antro aumenta de tamaño y acumula gran cantidad de factores de crecimiento, hormonas peptídicas y esteroideas, proteínas, metabolitos energéticos y otras

sustancias desconocidas (Sutton *et al.*, 2003). Las células de la teca interna y externa están completamente formadas. Durante este periodo, el ovocito apenas aumenta su tamaño (Pincus y Enzmann, 1935; Eppig, 2001) produciéndose el crecimiento de los folículos antrales principalmente por el acúmulo de líquido folicular (Bonhoff y Adams, 1985; Van der Hurk y Zhao, 2005).

En los folículos dominantes, el ovocito se encuentra rodeado por células de la granulosa conocidas como células del *cumulus* formando un complejo muy compacto llamado CCO. Este complejo es una “península” embebida en líquido folicular y conectado con las células de la granulosa murales que rodean el antro folicular (Burghardt y Anderson, 1981; Fletcher y Greenan, 1985).

La dominancia folicular se encuentra reforzada por al menos dos factores locales: el Factor de crecimiento similar a la insulina tipo uno (IGF-I) que estimula la formación de receptores LH (Chase *et al.*, 1998) y el Factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), un potente promotor de la angiogénesis derivado de la teca, cuya producción se encuentra estimulada por la LH (Garrido *et al.*, 1993). La LH que llega a las células foliculares provoca la producción de altos niveles de estrógenos, que mediante un mecanismo de retroalimentación negativa a nivel del eje hipotálamo-hipofisario, inhibe la producción de FSH, privando a los folículos menos desarrollados de la cantidad de hormona necesaria para completar el proceso de crecimiento (Zelenik, 1981). Se cree que esta inhibición disminuye la actividad de la enzima aromatasa que es dependiente de la FSH. Esta falta de estrógenos en los folículos inmaduros impide completar su desarrollo por lo que estarían destinados a morir (Zelenik, 1981).

En el momento en que las células foliculares que rodean al antro se estratifican para formar la granulosa, el estroma ovárico que está por fuera comienza a diferenciarse en células de la teca, que se apoyan sobre la membrana basal que separa ambas capas entre sí. La teca, por su parte, se diferencia en dos capas: la interna que es glandular y muy vascularizada y la externa, constituida por tejido conectivo y fibras musculares lisas, que es muy difícil de diferenciar del estroma que la rodea. Las células de la granulosa y las de la teca folicular actúan como un sincitio funcional debido a la presencia de uniones gap que las comunican entre sí, permitiendo la transmisión de las señales hormonales (Burghardt y Anderson, 1981; Fletcher y Greenan, 1985; Young y McNeilly, 2010).

Cuando se forma el antro, el ovocito finaliza su crecimiento y está en condiciones de reanudar la meiosis (Mattson y Albertini, 1990; Wickramasinghe *et al.*, 1991). Las células de la granulosa presentan un gradiente en el número de receptores para LH, siendo estos mucho más abundantes en las células próximas a la membrana basal que en las que están más alejadas de ella (Chase *et al.*, 1998).

4.2.2.2. La maduración del ovocito

El ovocito sufre un proceso de maduración, que tiene lugar en el tiempo comprendido entre el pico de LH y la ovulación. La maduración del ovocito son una serie de cambios en su núcleo y en su citoplasma. Así podríamos dividir el proceso de maduración en tres eventos: la maduración citoplasmática, la maduración meiótica o

nuclear, y la maduración molecular (Moor *et al.*, 1998; Sirard, 2001; Polanski y Kubiak, 1999).

4.2.2.2.1. La maduración citoplasmática

La maduración citoplasmática comienza unos días antes del pico de LH (Sirad, 2006), es necesaria para adquirir las condiciones que permiten el bloqueo de la polispermia, la descondensación del núcleo del espermatozoide y para la formación del pronúcleo masculino después de la fecundación. Durante este fenómeno se redistribuyen las organelas celulares, se produce la migración de las mitocondrias a una posición perinuclear y la acumulación de los GC a lo largo del oolema (Van den Hurk y Zhao, 2005). Esto ocurre en función de las necesidades en cada etapa (Ferreira *et al.*, 2009) (fig. 4.1).

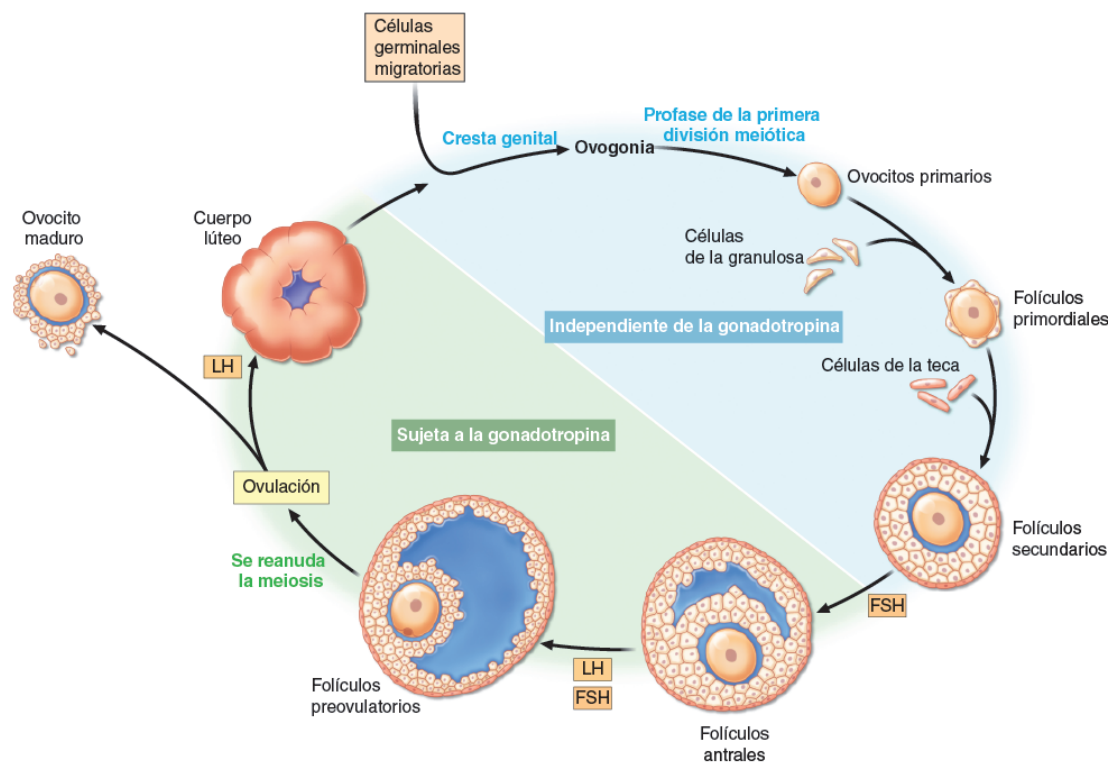


Figura 4.1. Proceso de maduración ovocitaria (Longo *et al.*, 2012).

Una característica de los ovocitos madurados es el patrón de distribución de los GC, ya que, en la etapa de GV se distribuyen en pequeñas agrupaciones por todo el citoplasma de forma difusa, mientras que, al alcanzar la fase de Metafase II (MII), estas agrupaciones aparecen en la zona cortical cercanas a la parte interna de la membrana plasmática, preparados para su exocitosis tras la entrada del espermatozoide (Ferreira *et al.*, 2009). En ovocitos de conejo madurados *in vitro*, se ha conseguido determinar un patrón de distribución de los mismos, estando el patrón difuso asociado en su mayoría a fases en estadio de GV, y el patrón cortical, asociado a ovocitos en fase de metafase, aunque son necesarios más estudios para determinar si existe o no un patrón de distribución periférica completa, como se ha descrito en otras especies (Arias-Álvarez *et al.*, 2007).

4.2.2.2. La maduración nuclear o meiótica

La maduración nuclear o meiótica es la cascada de eventos nucleares inducida por el pico preovulatorio de LH, mediante la cual el ovocito, suspendido en el estadio de profase I hasta ese momento, progresa hasta el estadio de MII, produciéndose la extrusión del primer corpúsculo polar (Sirard *et al.*, 2006). Existen factores reguladores secretados por las células de la granulosa que mantienen la detención de la meiosis hasta que se produce el pico de LH, momento en el que las células foliculares se separan del ovocito impidiendo así la llegada de más sustancias inhibitorias (Coskun *et al.*, 1995; Fan y Sun, 2004). Sin embargo, se sabe que la maduración meiótica es independiente del estímulo hormonal, ya que cuando los ovocitos son separados de los folículos antrales (eliminando de este modo la comunicación con las células de la granulosa) y cultivados *in vitro* en ausencia de LH, progresan en la meiosis espontáneamente hasta MII (Sorensen y Wassarman, 1976; Downs, 1993; Edwards, 2000; Fan y Sun, 2004; Hashimoto, 2009). Los ovocitos permanecen en MII, en el oviducto hasta que son estimulados, en el momento de la fecundación para completar la meiosis (Dekel, 2005).

La maduración meiótica ocurre en poco tiempo, alrededor de 24 horas en vacas, 36 horas en yeguas y 44 horas en cerdas (Van den Hurk y Zhao, 2005) con un gran incremento en la síntesis de proteínas. Ya que no se puede realizar la transcripción *de novo* en este momento del ciclo, las proteínas deben ser sintetizadas a partir de un pool de ARNm latente. Por lo tanto, la regulación de la expresión génica en esta etapa del desarrollo está regulada a nivel de la traducción (Kanitz *et al.*, 2001).

La maduración meiótica se caracteriza por la disolución de la membrana nuclear, la condensación de la cromatina formando cromosomas bivalentes distinguibles, la separación de los cromosomas homólogos, la emisión del primer cuerpo polar, y la detención en MII con los cromosomas alineados en el huso acromático (Kubelka *et al.*, 1988).

Los ovocitos ovulados completan la meiosis con la separación de las cromátidas y la emisión del segundo cuerpo polar (segunda división meiótica) en el momento de la fecundación. Este proceso es inducido por la penetración del espermatozoide, completando así el ciclo celular y la subsecuente transición desde un tipo de división meiótica a una mitótica (Moor *et al.*, 1992; Fan y Sun, 2004).

4.2.2.2.3. Maduración molecular

Por último, distinguimos la maduración molecular, fundamental para la promoción de las cascadas moleculares apropiadas para que se produzca la activación del genoma embrionario (Sirard *et al.*, 2006). Ésta incluye la transcripción, almacenamiento y procesamiento del ARNm (Ferreira *et al.*, 2009).

Por otra parte, para completar la maduración correctamente, es necesaria la producción y almacenamiento de diferentes moléculas como el glutatión (fundamental en la protección de las células frente a las especies reactivas al oxígeno (ROS), cuya

cantidad aumenta desde la fase de GV a MII, la catalasa, el ATP o la superóxido dismutasa (Ferreira *et al.*, 2009). Dado que el metabolismo oxidativo es la principal fuente de energía durante la maduración (Krisher, 2004) y tanto la división celular, como la movilización del sistema de microfilamentos requieren altos niveles de energía (Lee ST *et al.*, 2006), se considera esencial una producción adecuada de ATP. De hecho, parece que determinados defectos metabólicos están asociados a fallos preimplantatorios (Van Blerkom *et al.*, 1995) y que existe una relación entre la concentración de ATP de los ovocitos y la capacidad de desarrollo de los embriones resultantes (Van Blerkom *et al.*, 1995; Stojkovic *et al.*, 2001; Cummins, 2002; Van Blerkom, 2004; Tamassia *et al.*, 2004). Sin embargo, este tipo de metabolismo genera una cantidad de ROS que podría no permitir la supervivencia embrionaria si no fuese neutralizada, tarea en la que interviene principalmente el glutatión, que juega un papel esencial en la detoxificación y la antioxidación de compuestos tanto endógenos como exógenos y en el mantenimiento del estatus redox de la célula (Luberda, 2005).

4.2.2.2.4. Factor promotor de la maduración.

En 1971, Masuri y Market, encontraron en *Rana pipiens*, un componente clave para entender la regulación de la división meiótica, el FPM. Posteriormente se vio que este factor participaba tanto en la división meiótica como en la mitótica, por lo que actualmente se lo considera el regulador universal del ciclo celular o factor promotor de metafase. En ovocitos de *Xenopus sp* fue caracterizado en su estado activo como una fosfoproteína (Dunphy *et al.*, 1988; Gautier *et al.*, 1988; Doree, 1990).

Los sustratos sobre los que actúa el FPM, son: a) la histona H1 cuya fosforilación interviene en la condensación de los cromosomas; b) las láminas que forman una malla fibrilar sobre la cara interna de la membrana nuclear y cuya fosforilación provoca la despolimerización y consiguiente ruptura de la membrana al final de la profase y c) la nucleolina (N° 38 o B23) que al ser fosforilada por el FPM provoca el desensamblaje del nucléolo durante la división celular (Belenguer *et al.*, 1990; Peter, 1990; Josefsberg *et al.*, 2000; Kanitz *et al.*, 2001; Perry y Verlhac, 2009).

El FPM está constituido por dos subunidades. La subunidad pequeña que fue descubierta en levaduras, se denomina p34 y es una proteína quinasa (serina-treonina) de 34000 Daltons (Ozon, 1991). Es codificada por el gen *cdc2* perteneciente al grupo de genes *cdc* que controlan la división celular (Kanitz *et al.*, 2001; Jones, 2004). Si bien esta subunidad está presente durante todo el ciclo celular, sufre modificaciones significativas mediante fosforilaciones activantes y desactivantes de determinados aminoácidos. La subunidad mayor del FPM es la ciclina y es una proteína de 56000 Daltons (p56). Es codificada por el gen *cdc13* que fue clonado en levaduras y presenta una secuencia semejante a la ciclina B encontrada en numerosos animales de la que se considera la subunidad reguladora. El inicio de la metafase es regulado por la activación de la p34 y su asociación con la subunidad mayor (Jesus y Ozon, 1993; Perry y Verlhac, 2009).

Se conocen tres tipos de ciclinas: A, B1 y B2 (Kobayashi *et al.*, 1991). En anfibios la ciclina A aparece cuando se rompe la GV y no se encuentra asociada a la subunidad p34. A diferencia de lo que ocurre en porcinos, donde la ciclina A permanece constante

a través de la maduración, en anfibios su concentración declina entre la anafase y la telofase, aumentando nuevamente durante la activación del ovocito (Kobayashi *et al.*, 1991). En porcinos la ciclina B1 no presenta cambios detectables durante la maduración, pero en anfibios se duplica durante el período que se extiende desde profase a metafase (Westerndorf *et al.*, 1989; Kobayashi *et al.*, 1991). La ciclina B2 es la más abundante y su papel es el más conocido, ya que es la responsable de conducir a los ovocitos a MII durante la maduración del ovocito. Sus niveles no son fluctuantes en porcinos, pero en anfibios e invertebrados marinos aumentan marcadamente antes de la ruptura de la GV, para luego disminuir durante la transición de anafase a telofase por un proceso dependiente de la ubiquitina (Kobayashi *et al.*, 1991).

Además de los procesos de fosforilación y desfosforilación hay otros factores que actúan en la activación del FPM, como la disminución en la concentración de AMPc que precede a la ruptura de la GV (Schultz *et al.*, 1983; Perry y Verlhac, 2009). El pico de LH interrumpe las uniones gap entre el ovocito y las células foliculares lo que impide el ingreso de AMPc, esto explica la detención de la meiosis mientras los ovocitos están rodeados por las células foliculares (Bornslaeger *et al.*, 1986; Sun *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2009). Además, en respuesta a la LH se produce la liberación de iones calcio de los depósitos endógenos de las células foliculares, lo que contribuye a la ruptura de la GV (Downs, 1993).

Luego de la ruptura de la GV aparece un factor citostático (FCS) que controla la detención en MII y alcanza una concentración máxima cuando el ovocito llega a esta etapa (Massui y Clark, 1979; Paules *et al.*, 1989; Perry y Verlhac, 2009). El FCS está constituido por una fosfoproteína de 39000 Daltons (p39) producto del gen *c-mos* y por una quinasa 2 que es producto del gen *cdk2* dependiente de ciclina, que es muy sensible a los iones Ca^{2+} y actúa inhibiendo la proteólisis de la ciclina (Watanabe *et al.*, 1991; Gabrielli *et al.*, 1993). Mientras la ciclina no es degradada, el FPM permanece activo. Otra proteína quinasa importante en la regulación del ciclo celular meiótico es la MAP quinasa, la cual fosforila proteínas cromosómicas importantes para mantener a la cromatina en un estado condensado durante la transición de meiosis I a meiosis II y previene la formación de la envoltura nuclear por fosforilación de las láminas nucleares (Gil Villa *et al.*, 2007).

4.2.2.2.5. Regulación hormonal de la maduración en mamíferos.

Durante la fase de crecimiento del ovocito la hipófisis secreta cantidades crecientes de FSH que estimula la proliferación de las células de la granulosa y la formación de nuevos receptores para LH sobre la superficie de estas. Poco después del período de crecimiento inicial del folículo, la hipófisis comienza a secretar LH (hormona responsable de iniciar la maduración del ovocito). En respuesta a ella se rompe el bloqueo meiótico: los cromosomas terminan la primera división meiótica y se elimina el primer corpúsculo polar dando como resultado un ovocito II que continúa la división hasta la MII (Schoenfelder y Einspanier, 2003).

Las hormonas LH y FSH inducen a las células de la granulosa a sintetizar y liberar cantidades crecientes de estrógenos, que aumentan el número de receptores para LH y estimulan la síntesis de inhibina. En respuesta a este aumento de estrógenos

e inhibina circulantes, la hipófisis disminuye la secreción de FSH. Los estrógenos a su vez, cuando se encuentran a bajas concentraciones, inhiben la secreción de LH. Sin embargo, a altas concentraciones ejercen un efecto contrario, estimulando la secreción de LH por la hipófisis, ya que actúan sobre el hipotálamo haciendo que este libere hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). Cuando los estrógenos circulantes se elevan, la LH aumenta mientras que la FSH disminuye (Edson *et al.*, 2009. (fig. 4.2).

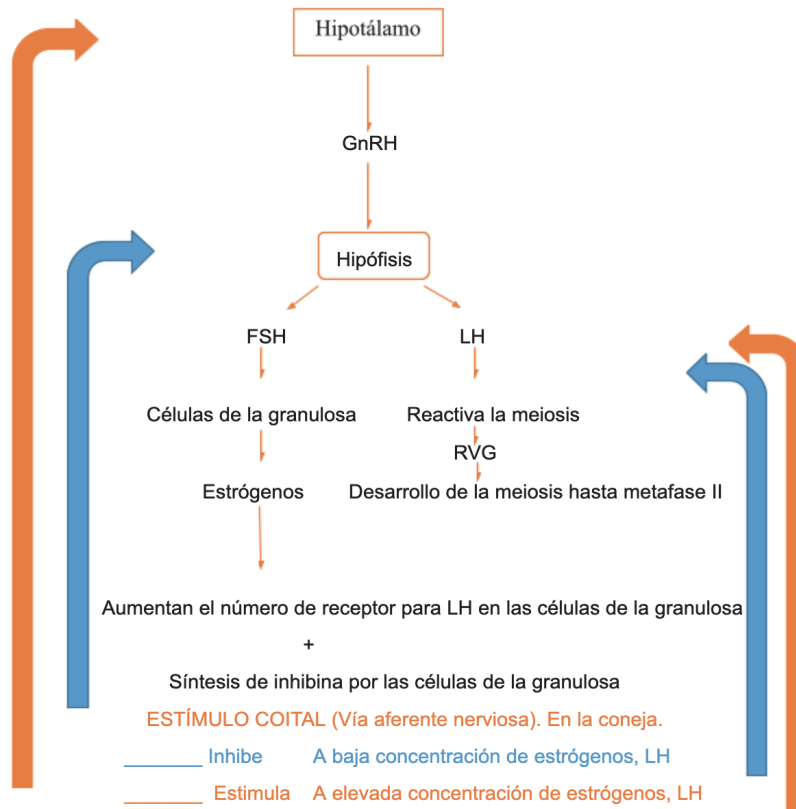


Figura 4.2. Mecanismo de regulación hormonal de la ovulación.

La oleada de LH puede aumentar la concentración de AMPc en las células de la granulosa y en respuesta a este aumento las células foliculares sintetizan ácido hialurónico que provoca que éstas se separen del ovocito (Larsen *et al.*, 1986).

En el caso de la coneja, es la monta el estímulo que desencadena la liberación de GnRH, y por tanto, la ovulación.

4.3. Ovulación

Al final de la fase folicular (proestro), cuando los niveles de estradiol alcanzan su valor máximo, se produce un cambio en el efecto que esta hormona ejerce a nivel neuronal y de la hipófisis. La potente retroalimentación negativa del estradiol cambia a positiva a través de un mecanismo que aún permanece poco claro (Evans *et al.*, 2002). La retroalimentación positiva ejercida por el estradiol produce un pico en la liberación de GnRH, que ejerce a su vez un aumento en la capacidad de respuesta gonadotrófica,

provocando el pico de liberación preovulatorio de LH (Padilla *et al.*, 1988; Barrell *et al.*, 1992; Gallegos-Sánchez *et al.*, 1999).

Los picos preovulatorios de GnRH han sido demostrados en ratas, ovejas, vacas, monas, yeguas, cerdas y conejas (Perry y Perry, 2009; Christian y Moenter, 2010; Tomikawa *et al.*, 2010). Las hembras de distintas especies ovulan una o varias veces al año. En estos casos, señales ambientales como la cantidad y tipo de luz durante el día, estimulan al hipotálamo para liberar la GnRH que a su vez induce a la hipófisis a liberar FSH y LH (Malpoux *et al.*, 2001; Brown, 2000; Chemineau *et al.*, 2004).

La ovulación se produce durante el período denominado estro en todas las especies domésticas con excepción del bovino en el que la ovulación se produce en el metaestro. La ovulación espontánea en el bovino ocurre entre las 10 a 20 horas posteriores a la terminación del celo y es desencadenada por el pico de LH que provoca, como primer evento, un aumento del flujo sanguíneo en el folículo ovulatorio y es mediado por agentes vasoactivos tales como histamina, quininas, prostaglandinas y lipooxigenasas. Posteriormente se produce un edema en las tecas interna y externa, se disocia el *cúmulus oophorus*, se interrumpe la inhibición de la meiosis y se elimina el primer corpúsculo polar. El pico preovulatorio de LH provoca la despolarización de la membrana plasmática de uno o más de los tipos celulares presentes en el folículo ovárico maduro. A medida que el folículo avanza en su desarrollo hacia la ovulación se produce una reacción inflamatoria aguda. Aumenta la despolarización de las células foliculares, se generan potenciales de acción y cambios en la concentración de Ca^{2+} del citosol, que contribuyen a la desintegración de tejido intacto de la superficie del ovario. Este proceso de degradación del tejido conectivo que separa el folículo de la superficie ovárica inicia la formación del estigma (área extremadamente delgada del ápice folicular). La prostaglandina E2 (PGE2) estimula al activador del plasminógeno, que actúa transformando el plasminógeno en plasmina, que es la encargada de activar la colagenasa que lisa el tejido conectivo del estroma ovárico (Palma, 2001).

La prostaglandina F2 α (PGF2 α) provoca la ruptura de los lisosomas con la consecuente liberación de las enzimas contenidas en su interior, las que, sumadas a la actividad de la plasmina, culminan con la formación del estigma. Las contracciones ováricas producidas por la PGF2 α provocan la ruptura del folículo y finalmente la liberación del ovocito rodeado por su *cúmulus* (Hafez, 1996; Palma, 2001).

4.4. El ciclo estral

El ciclo estral es el periodo de tiempo comprendido desde la aparición de un estro hasta el comienzo del siguiente, o bien, el intervalo de tiempo comprendido entre dos ovulaciones, designándose como primer día del ciclo (día 0) aquel que coincide con la aparición del estro (Duby y Prange, 1996).

En ciclo estral se divide en cuatro fases, que describen las cuatro etapas de la actividad cíclica del ovario: 1) Estro, es el periodo de receptividad sexual al final del cual se produce la ovulación; 2) Metaestro, período de desarrollo inicial del cuerpo lúteo, comienza al final del estro; 3) Diestro, es el periodo de la actividad del cuerpo lúteo maduro, comienza cuatro días después de la ovulación, y finaliza con la luteolisis; 4)

Proestro, es el periodo de crecimiento folicular que se inicia con la regresión del cuerpo lúteo y culmina con la aparición del estro (Goehring, 2003; Saumande y Humblot, 2005).

La duración del ciclo estral en las especies domésticas varía entre 16 y 24 días, también existe cierta periodicidad en los ciclos y factores que lo regulan, como son, monoéstrica o poliéstrica (Hughes *et al.*, 1972).

Monoéstricos, Son aquellas especies que presentan una fase de anestro prolongada, con uno o dos ciclos estrales al año.

Poliéstricos continuos, tienen ciclos estrales durante todo el año, interrumpidos por la preñez, como ocurre en el conejo, en la vaca, en la cerda y en la mujer

Poliéstricos estacionales, sus ciclos solo ocurren en una estación del año determinada.

La coneja no presenta un ciclo estral como la mayoría de las especies, sino que es de ovulación inducida. De este modo es la monta el estímulo neuroendocrino que induce la secreción de GnRH (Pau and Spies, 1986), produciendo así la liberación de LH por parte de la hipófisis y, por tanto, la maduración del ovocito y su ovulación entre las 10 y las 11 horas tras la inducción de la misma (Seitz *et al.*, 1970; Pau *et al.*, 2000).

Tabla 4d. Características del ciclo estral en función de la especie (Levasseur y Thibault, 1980).

ESPECIE	CICLO	ESTRO	OVULACIÓN	GESTACIÓN
Cerda	21 días	2-3 días	Espontánea (segundo día de iniciado el celo)	3 meses
Vaca	21 días	12 horas	Espontánea (11 a 14 horas terminado el celo)	9 meses
Coneja	15 días	30 horas	Inducida excitación (10 horas después del apareamiento)	1 mes
Mujer	28 días	No hay	Espontánea (8-10 horas tras el inicio)	9 meses

4.5. El oviducto

Los oviductos de los mamíferos o también llamados trompas de Falopio en la mujer son un órgano par de estructura tubular, hueco y musculoso, situado en el peritoneo, que se extiende desde los ovarios, donde se abren por el orificio infundibular a la cavidad abdominal, hasta la porción más distal, donde comunican con la luz del útero (Welsch y Sobotta, 2008). El oviducto es fundamental para el transporte, almacenamiento y adquisición de la capacidad fecundante de los gametos, la fecundación y bloqueo de la polispermia, así como para el desarrollo embrionario temprano (Hunter, 2012a, Coy *et al.*, 2012a).

4.5.1. Estructura anatómica del oviducto

Se trata de un conducto cuya longitud varía en las distintas especies de mamíferos, en cerda mide 16-18cm, 25-30cm en la vaca, aproximadamente 2cm en la coneja y de 28 a 30cm en la mujer (Croxatto y Ortiz, 1975).

Se distinguen cuatro regiones anatómicas, funcionalmente distintas: Infundíbulo, Ampolla, Istmo y unión útero-tubárica (Leese, 1988, Menezo y Guerin, 1997).

El Infundíbulo, es la parte del oviducto que conecta con el ovario, tiene forma de embudo y posee unas prolongaciones con forma de dedos, denominadas fimbrias, que establecen una gran aproximación con el ovario. Es por esta parte por donde el oviducto se abre a la cavidad peritoneal y las fimbrias contribuyen a la recogida del ovocito en el momento de la ovulación (Yaniz *et al.*, 2000, Yaniz *et al.*, 2006).

En la porción media del oviducto se encuentra la ampolla, que ocupa más de la mitad de la longitud del oviducto, tiene una gran importancia porque en ella es donde se produce la fecundación y es la porción con mayor actividad secretora (Hunter, 1998).

El istmo forma un tercio del oviducto y es la porción más cercana al útero, al que se une mediante la unión útero-tubárica y es el lugar donde se produce la capacitación espermática (Hunter, 1998).

La unión útero tubárica es la porción del oviducto que conecta este al útero y tiene distintas morfologías según la especie animal (Hafez y Hafez, 2000).

4.5.2. Histología del oviducto

4.5.2.1. El epitelio oviductal

El epitelio del oviducto está formado por dos tipos de células principales, las células ciliadas y las secretoras no ciliadas, además de alguna célula linfoide (Umezu y Tomooka, 2004, Yamanouchi *et al.*, 2010). Es un epitelio cambiante durante el ciclo estral, en las fimbrias y la ampolla, mientras que en el istmo y en la unión útero-tubárica los cambios son escasos o nulos (Abe, 1996; Tienthai *et al.*, 2009). Estas diferencias no son solo durante el ciclo, sino que existen distintos tipos de células ciliadas y secretoras a lo largo del oviducto que parece estar implicado en crear distintas condiciones bioquímicas relacionadas con la función de cada zona (Abe, 1996, Desantis *et al.*, 2011).

4.5.2.1.1. Células ciliadas

La cantidad de estas células es mayor en la zona del oviducto próximo al ovario, infundíbulo y fimbrias, ayudando a la captación del ovocito. Los cilios móviles y delgados que estas células proyectan hacia la luz del oviducto contribuyen a transportar el óvulo y el embrión, y al progreso de los espermatozoides (Hunter, 1994; Abe y Hoshi, 2008; Yamanouchi *et al.*, 2010).

En el momento de la ovulación, la concentración de hormonas ováricas modula la rapidez en el movimiento de los cilios, siendo mayor en esta fase que en la fase luteal (Bylander *et al.*, 2010). Los cilios sincronizan su batido progresivamente y de manera direccional, especialmente en la zona de la ampolla y del infundíbulo. Los cilios recogen el CCO de la superficie del folículo ovárico, y lo dirigen hacia la ampolla que es donde tendrá lugar la fecundación (Hafez y Blandau, 1969, Blandau, 1973, Lyons *et al.*, 2006, Nutu *et al.*, 2009, Shi *et al.*, 2011), a lo que también contribuyen las contracciones del

miosalpinx (Halbert *et al.*, 1976; Martínez *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2004; Ríos *et al.*, 2007).

En la fase folicular temprana, las células ciliadas se hacen más altas y se produce la formación de cilios, mientras que en la fase folicular tardía o postovulatoria temprana disminuyen. En la fase luteal se produce la atrofia de los cilios y la disminución del porcentaje de cilios en la ampolla y en el infundíbulo (Odor *et al.*, 1980, Abe y Hoshi, 2008; Konar *et al.*, 2014).

4.5.2.1.2. Células secretoras, no ciliadas

Estas células poseen la superficie apical recubierta por microvellosidades. Su función es la de síntesis, por lo que poseen gránulos de secreción de naturaleza, tamaño y número distinto según la zona del oviducto, según se trate de la zona del pliegue apical o basal, según la especie y según la fase del ciclo estral (Abe, 1996, Yaniz *et al.*, 2000, Yaniz *et al.*, 2006, Abe y Hoshi, 2007, Desantis *et al.*, 2011). Su secreción está regulada por hormonas ováricas preparando el oviducto para la fecundación, y posterior protección y nutrición del embrión (Hunter, 1994, Abe *et al.*, 1995b, Gandolfi, 1995, Hunter, 2012a, Suarez, 2015), y, al contrario que las células ciliadas, estas son más abundantes en la zona del oviducto más próxima al útero (Hunter, 1994, Abe y Hoshi, 2008, Yamanouchi, *et al.*, 2010).

En la fase periovulatoria aumenta la cantidad de gránulos de secreción de estas células, esta será la fase que alcanza el punto máximo de secreción (Shirley y Reeder, 1996; Abe y Hoshi, 2007). En la fase luteal las células del infundíbulo no contienen gránulos de secreción y las de la ampolla disminuyen en contenido de gránulos (Odor *et al.*, 1983).

4.5.2.2. La pared del oviducto

La pared del oviducto está formada por tres capas: serosa, muscular y mucosa.

4.5.2.2.1. Capa Serosa

Es la capa más externa de la pared del oviducto, está formada por mesotelio que se continúa con el peritoneo y con tejido conectivo (Barberini *et al.*, 1977).

4.5.2.2.2. Capa Muscular

Esta capa es la intermedia y envuelve a la capa mucosa. Su espesor es mayor en el polo del oviducto más cercano al útero y va disminuyendo en dirección al ovario llegando a ser inexistente en la zona del infundíbulo (Muglia *et al.*, 1997; Lombard *et al.*, 1950). Está compuesta de dos capas musculares, la capa circular interna, que es la más gruesa, y la capa longitudinal externa, que es la más delgada (Wrobel *et al.*, 1993).

4.5.2.2.3. Capa Mucosa

Es la capa más interna, su revestimiento está formado por un epitelio cilíndrico simple y una lámina propia de tejido conjuntivo laxo. Presenta un gran número de pliegues largos y ramificados en la zona de la ampolla, y pequeñas elevaciones no ramificadas en la zona del istmo, donde la luz es más estrecha, aunque la luz de la ampolla es muy pequeña, lo que permite el fuerte contacto del óvulo, con su cúmulo ovífero, con el epitelio ciliado (Yaniz *et al.*, 2006; Desantis *et al.*, 2011). La composición del entorno del oviducto determinado por la composición de la mucosa oviductal, es fundamental para la fertilidad, contribuyendo en la migración de gametos, desplazamiento y desarrollo embrionario (Szulanczyk, 2009; Katarzyna *et al.*, 2010; Winuthayanon *et al.*, 2015).

4.5.3. El fluido oviductal

La secreción de las células oviductales secretoras, junto con los componentes que proceden del plasma sanguíneo y contenido de los folículos ováricos liberado en la ovulación, forman el FO, cuya composición puede ser modificada por la presencia de los gametos o embriones (Georgiou *et al.*, 2007; López-Ubeda *et al.*, 2015), o por la dieta materna (Harding, 2001; Leese *et al.*, 2008).

La composición del FO es muy complejo, contiene: carbohidratos, iones, lípidos, fosfolípidos y proteínas (Hugentobler *et al.*, 2008; Leese *et al.*, 2008; Hugentobler *et al.*, 2010). Algunos de estos componentes son sustratos metabólicos como, lactato, piruvato, aminoácidos y glucosa, y su proporción variará en función de la fase del ciclo en el que se encuentre el animal (Leese *et al.*, 2008).

4.5.3.1. Formación del fluido oviductal

El oviducto se prepara para la recepción de los gametos y su maduración, también para la fecundación y el desarrollo embrionario, gracias a un patrón de secreción de hormonas esteroideas cuando se acerca el momento de la ovulación.

Se han observado cambios en la forma celular y en la producción de FO de células del epitelio del oviducto con los cambios en la concentración de esteroides en sangre (Murray, 1995).

Se puede afirmar que la formación del FO está regulada por hormonas de distinta procedencia (Hunter, 2012a). Algunas hormonas proceden del ovario, como son esteroides y prostaglandinas, otras proceden del fluido peritoneal, como son las hormonas ováricas. La lectina que es otra hormona que se asocia a depósitos de tejido graso de las células y el fluido foliculares son otra fuente de hormonas que podrían influir sobre el tejido oviductal (Hunter *et al.*, 2007).

Durante la fase folicular y luteal, en el FO presentan actividad tres glicosidasas: la β -N-acetylglucosaminidasa, la α -manosidasa, y la β -galactosidasa (Carrasco *et al.*, 2008a). Estas enzimas, relacionadas principalmente con la calidad del CCO son indicadores de una apropiada maduración ovocitaria (Dovolou *et al.*, 2016).

El ATP extracelular regula la secreción transepitelial de iones cloro (Cl⁻) al oviducto, siendo estos la principal fuerza motriz en la formación del FO en la mujer (Dickens *et al.*, 1995; Dickens *et al.*, 1996).

La adrenalina y noradrenalina, neurotransmisores del sistema nervioso simpático, así como la acetilcolina, son responsables respectivamente de la absorción y secreción del FO. La noradrenalina y la adrenalina producen vasoconstricción que disminuye el aporte sanguíneo al oviducto inhibiendo la formación de FO (Jankovic *et al.*, 2004).

4.5.3.2. Propiedades físicas del fluido oviductal

Para crear el ambiente óptimo en el momento de la fecundación, las propiedades físicas del FO, volumen, temperatura, viscosidad, concentraciones de los componentes, varían a lo largo del ciclo estral (Gerena y Killian, 1990).

4.5.3.2.1. Volumen

La cantidad de FO secretado varía a lo largo del ciclo dependiendo del nivel de estrógenos. Se produce una acumulación de este en la fase folicular (Hunter, 2012a). Su secreción es activa en la fase estral del ciclo, alcanzando un máximo en el momento de la ovulación, y disminuyendo en la fase luteal por acción de la progesterona (Perkins *et al.*, 1965; Carrasco *et al.*, 2008b). En la misma fase del ciclo estral se pueden observar diferencias en el volumen de FO, dependiendo de la zona del oviducto que se tenga en cuenta, por ejemplo, de la ampolla se obtiene mayor cantidad que del istmo (Kavanaugh y Killian, 1988; Killian, 2011)

Tabla 4e. Volúmenes de FO en la fase folicular de distintas especies

ESPECIE	VOLUMEN DE FO	REFERENCIAS
Cerda (<i>Sus scrofa</i>)	0.5-0.7 ml	Iritani <i>et al.</i> , 1974
Vaca (<i>Bos taurus</i>)	0.5-0.7 ml	Carlson <i>et al.</i> , 1970
Oveja (<i>Ovis aries</i>)	0.5-0.7 ml	Black <i>et al.</i> , 1963
Yegua (<i>Equus caballus</i>)	0.5-0.7 ml	Engle <i>et al.</i> , 1975
Coneja (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	0.2-0.26 ml	Bishop, 1956; Leese y Gray, 1985

4.5.3.2.2. Temperatura

El oviducto y, por tanto, también el FO, se ve sometido a cambios de temperatura en función del momento del ciclo estral, y de la porción oviductal, observándose diferencias de hasta 2°C menores en el istmo que en la ampolla. Esta diferencia se ve incrementada durante el estro, y es mínima en la fase luteal (Hunter, 2012b).

4.5.3.2.3. Viscosidad

Como sucede con muchos fluidos corporales, la temperatura modifica la viscosidad de estos. Durante el periodo preovulatorio se producen cambios progresivos en la temperatura del oviducto y, como consecuencia, también en la viscosidad que afecta a la tasa de movimiento, patrón y resistencia del flagelo del espermatozoide (Hunter, 2002; Hunter, 2005; Hunter *et al.*, 2011). Otro factor que influye en la viscosidad es la secreción glicoproteica controlada a nivel hormonal, que es distinta según la región del oviducto. El FO disminuye mucho su viscosidad y volumen en respuesta a la progesterona en la fase postovulatoria. Hunter, en 1972 observó, en el istmo de la cerda que aplicando progesterona localmente, disminuía la viscosidad y contenido de FO, y consecuentemente aumentó la tasa de polispermia en la fecundación (Hunter, 2012b).

4.5.3.3. Propiedades químicas del fluido oviductal

4.5.3.3.1. pH

Las hormonas esteroideas influyen en los niveles de bicarbonato del oviducto, de los que a su vez depende el valor del pH. En la fase folicular el pH es neutro prácticamente, con valores entre 7.1 y 7.3, mientras que en la ovulación y en la fase luteal el pH sufre un ligero aumento, con valores entre 7.5 y 7.8, en todas las especies en las que se ha medido (Menezo y Guerin, 1997; Hafez y Hafez, 2000).

4.5.3.3.2. Osmolaridad

Los valores de osmolaridad son comunes en todas las especies estudiadas e independientes de las variaciones hormonales, y su valor es similar al del suero sanguíneo, con un valor de 290mOs/litro (Menezo y Guerin., 1997).

4.5.3.3.3. Tensión de oxígeno

Algunos estudios realizados en coneja, mono Rhesus y hámster describen valores para la tensión de oxígeno en FO de 35mmHg (Fisher *et al.*, 1993), pero otros autores afirman que es de 60mmHg en todas las especies (Menezo y Guerin, 1997).

4.5.3.4. Composición del fluido oviductal

Con los resultados del estudio de la composición del FO se trata de confeccionar medios de maduración y fecundación lo más similares posibles a los ambientes donde tienen lugar estos procesos *in vivo*, para conseguir mayores tasas de éxito en FIV. Aportan información que nos ayuda a comprender mejor el proceso reproductivo.

El FO en su composición muestra diferencias cuantitativas y cualitativas tanto en los distintos momentos del ciclo estral, como en las distintas zonas del oviducto, que puede ser la manera de crear diferentes microambientes (Roblero *et al.*, 1976; Desantis *et al.*, 2011).

4.5.3.4.1. Agua y electrolitos

El componente mayoritario del FO es el agua. Su transporte a través del epitelio oviductal es por difusión simple dependiendo del gradiente osmótico (Paganelli y Solomon, 1957; Goldstein y Solomon 1960).

Los electrolitos participan en funciones específicas del FO como es la capacitación espermática, la RA y la fecundación, siendo los principales responsables de la osmolaridad y del pH del FO (Leese y Gray, 1985; Gott *et al.*, 1988; Grippo *et al.*, 1992).

Los iones que encontramos en el FO, son el potasio, sodio, cloro y calcio, la mayoría se ellos en concentraciones similares a las del plasma, con pequeñas variaciones, como la concentración de potasio que es significativamente mayor que en el plasma (Borland *et al.*, 1980; Menezo y Guerin, 1997), lo que hace pensar que este ión esté implicado en distintas funciones como la inhibición del movimiento del espermatozoide desde el reservorio espermático en el istmo de coneja (Burkman *et al.*, 1984). El sodio (Na^{2+}) influye en la nutrición del embrión y en la unión del espermatozoide a la ZP del ovocito en el ratón (Vanwinkle *et al.*, 1985, Saling *et al.*, 1978), también en la interacción de proteínas del oviducto al espermatozoide, y a la movilidad de este (Grippo *et al.*, 1992; Lapointe y Sirard, 1996).

El bicarbonato (HCO_3) del FO contribuye a la creación de un ambiente propicio para el desarrollo del embrión (Stambaug *et al.*, 1969; Maas *et al.*, 1977), influyendo también, en el movimiento de hiperactivación y en la reacción acrosómica del espermatozoide (Boatman y Robbins, 1991).

4.5.3.4.2. Componentes energéticos

El Piruvato y la glucosa se consideran los principales componentes energéticos del FO (Brewis *et al.*, 1992), aunque se han otros como es lactato, glutamato, glucógeno, y aminoácidos, los que posiblemente contribuyen al soporte energético de los gametos y los embriones (Leese y Gray, 1985). En la mujer, la composición energética del fluido de las trompas de Falopio difiere en función de la fase del ciclo menstrual (Dickens *et al.*, 1995; Gardner *et al.*, 1996; Leese, 1998).

En la cerda y en la coneja, también sucede un descenso de glucosa después de la ovulación (Nichol *et al.*, 1992; Edwards y Leese, 1993; Leese *et al.*, 2008).

4.5.3.4.3. Lípidos

Los lípidos se presentan en bajo contenido en el FO, y son: colesterol esterificado y libre, fosfolípidos y triglicéridos (Ehrenwald *et al.*, 1990). En la fase luteal la concentración es mayor, y la concentración de fosfolípidos es menor respecto a la fase no luteal. Fosfatidilcolina y lisofosfatidilcolina son el 40% de los fosfolípidos totales y el 20% son fosfatidilinositol y lisofosfatidilinositol (Killian *et al.*, 1989). Los lípidos del FO son transportados por proteínas de alta densidad (LDH) y albúmina, que pueden contribuir a la capacitación espermática durante la fase folicular en el istmo (Ehrenwald *et al.*, 1990).

4.5.3.4.4. Aminoácidos

Los aminoácidos son sustratos energéticos, regulan el pH, son quelantes de metales pesados y señalizan las moléculas, son precursores de ácidos nucleicos y proteínas y por lo tanto esenciales para el desarrollo y crecimiento embrionario (Gardner, 2008). Aunque se piense que el transporte de aminoácidos al FO se da por difusión facilitada, debido a que su concentración es inferior a la del suero (Perkins y Goode, 1967), en algunas especies como la yegua y la ratona, la concentración supera a la del plasma (Leese y Gray, 1985; Harris *et al.*, 2005).

La Glicina es el aminoácido mayoritario en varias de las especies estudiadas, como son, ratona (Gardner y Leese, 1990; Harris *et al.*, 2005), cerda (Iritani *et al.*, 1974; Li *et al.*, 2007), oveja (Perkins y Goode, 1967), coneja (Perkins y Goode, 1967; Leese y Gray, 1985; Miller y Schultz, 1987), mujer (Tay *et al.*, 1997) y vaca (Hill *et al.*, 1997; Elhassan *et al.*, 2001; Hugentobler *et al.*, 2007); aunque también abundan otros aminoácidos: Taurina, aspartato, glutamato, alanina y serina (Gardner, 2008). Las funciones de algunos de los aminoácidos mencionados se pueden consultar en la tabla siguiente (Tabla 4f).

Tabla 4f. Funciones de aminoácidos mayoritarios en FOP

AMINOÁCIDO	FUNCIÓN	REFERENCIA
Glicina	Regular el pH intracelular	Fischer y Bavister, 1993
Alanina	Protección del embrión frente al estrés osmótico	
Taurina	Mantenimiento de la viabilidad de gametos Capacitación espermática	Leese, 2001
Hipotaurina	Fecundación, desarrollo e implantación embrionaria	

4.5.3.4.5. Proteínas

Las proteínas presentes en el FO provienen de tres fuentes: de las células secretoras ciliadas del epitelio oviductal mediante síntesis *de novo*, del trasudado sanguíneo y por aportes del líquido folicular tras la ovulación (Leese *et al.*, 2008).

Unas pocas proteínas del FO han podido ser identificadas por métodos convencionales de análisis (Avilés *et al.*, 2010), pero con el uso de técnicas de análisis más complejas se ha logrado identificar más cantidad de proteínas, como es la electroforesis bidimensional (Verhage *et al.*, 1988b; Gandolfi *et al.*, 1989; Buhi *et al.*, 2000), y mediante espectrometría de masas, llegando a identificar un total de 624 proteínas diferentes presentes en el FO (Soleilhavoup *et al.*, 2016).

Proteínas cuyo origen es la secreción por las células secretoras no ciliadas del epitelio del oviductal se han identificado más de 150 en oviductos de diferentes especies de mamíferos (Avilés *et al.*, 2010), pero son 32 de ellas las que están condicionadas por

la presencia de gametos, principalmente por la presencia del gameto masculino (Georgiou *et al.*, 2005; Georgiou *et al.*, 2007). Su síntesis y secreción es mayor en el periodo preovulatorio, lo que está estimulado por estrógenos, por lo que la progesterona tiene poca influencia (Abe *et al.*, 1998). Estas proteínas pueden clasificarse como, factores de crecimiento, citoquinas y receptores (42 proteínas), hormonas y receptores (28 proteínas), proteasas e inhibidores (13 proteínas), protectores antioxidantes (9 proteínas), agentes de defensa (20 proteínas), glicosidasas y glicosiltransferasas (8 proteínas), otras enzimas (10 proteínas), chaperonas y proteínas de choque térmico (7 proteínas), otras proteínas (23 proteínas), glicosaminoglicanos y proteoglicanos (4 proteínas), otros componentes (6 proteínas) (Avilés *et al.*, 2010).

Las proteínas que provienen del trasudado del plasma sanguíneo solo son un 5-10% de las proteínas encontradas en el plasma (Roberts *et al.*, 1975; Leese, 1988), siendo la más abundantes, el 95% del total, la albúmina y la inmunoglobulina G (Lippes *et al.*, 1972; Oliphant *et al.*, 1978; Menezo y Guerin, 1997). A pesar del cambio en el volumen de FO en conejas pseudopreñadas, que son aquellas que manifiestan una alteración del ciclo estral, que se produce entre los días 35 y 60 después del celo, en el cual la coneja muestra comportamientos maternos y signos de gestación no estando preñada, la concentración de proteínas séricas se mantiene constante (Oliphant *et al.*, 1978). En ratonas y vacas la concentración de proteínas total el FO es mayor en estro (Gardner y Leese, 1990; Robert *et al.*, 1975). En bovino no se encontraron diferencias significativas entre la concentración de proteínas del FO, entre las fases folicular y luteal, aunque sí que se pudieron describir diferencias entre la cantidad de proteínas del oviducto porcino entre las fases folicular tardía y luteal temprana (Carrasco *et al.*, 2008a).

Algunas de las proteínas descritas en el FO están relacionadas con la fecundación y el desarrollo embrionario, favoreciendo, algunas, la FIV. Revisaremos las más significativas a continuación:

4.5.3.4.5.1. Lactoferrina

Es una proteína glicosilada, cuyas funciones están relacionadas con la respuesta inmune y la respuesta inflamatoria, con la protección frente al desarrollo del cáncer y la metástasis y relacionada con la diferenciación y la regulación del crecimiento celular (Ward *et al.*, 2005). Esta glicoproteína presente tanto en el fluido como en el epitelio oviductal, muestra un aumento en el FO durante el periodo periovulatorio del ciclo menstrual en la mujer (Zumoffen *et al.*, 2013), los niveles de expresión de esta proteína en el FO de ratona y rata es mucho menor que en la mujer, lo que podría explicarse por la diferencia morfofuncional entre la unión útero-tubárica de ambas especies, que hace que, en la mujer, se produzca la mezcla del fluido uterino y el FO (Hunter, 2002). La lactoferrina se une tanto a la ZP de los ovocitos como a la superficie de los espermatozoides capacitados (Zumoffen *et al.*, 2013) y es capaz de inhibir la unión de ambos gametos, y así contribuye a que la fecundación se produzca en ausencia de polispermia. En estudios realizados en ratones *knockout* para la lactoferrina, se ha visto que estos ratones y sus descendientes son fértiles y normales (Ward *et al.*, 2003).

4.5.3.4.5.2. Familia de proteínas de choque térmico (HSPs)

Estas proteínas se han descrito en suero y en plasma humano, a pesar de tratarse de proteínas intracelulares. Y algunas proteínas de esta familia han sido detectadas en el epitelio y el FO de la especie humana (Lachance *et al.*, 2007), bovina (Boilard *et al.*, 2004), porcina (Georgiou *et al.*, 2005), en ratón (Lin *et al.*, 2012), oveja (Lloyd *et al.*, 2012). Estas proteínas se unen al espermatozoide a su paso por el oviducto, y mantiene la viabilidad del gameto masculino en el jabalí, la HSPA8, en el toro y en el carnero (King y Killian, 1994b; Desouza y Murray, 1995; Goncalves *et al.*, 2008; Elliott *et al.*, 2009; Lloyd *et al.*, 2009a). En la vaca, la presencia de espermatozoides en el tracto oviductal aumenta hasta cinco veces los niveles de HSPA8 en el oviducto (Georgiou *et al.*, 2005). Este incremento en momentos cercanos a la ovulación podría estar relacionado con la función de supervivencia espermática que se le ha visto a la proteína HSPA8 (Soleihavoup *et al.*, 2016). Otras proteínas de esta familia relacionadas con la fecundación son: HSPA5, que es fundamental para el crecimiento celular embrionario, ya que se ha visto que los embriones a los que se ha privado de esta proteína son incapaces de eclosionar de la ZP (Luo *et al.*, 2006). La HSP70 sigue una ruta de secreción lisosomal poco convencional (Mambula *et al.*, 2007). Los ratones macho knockout para la HSP70 no producen espermatozoides maduros (Dix *et al.*, 1996). Otra proteína importante para el desarrollo embrionario, dentro de esta familia, es la GRP94 (Wanderling *et al.*, 2007).

4.5.3.4.5.3. Glicodelina

Las cuatro formas en las que encontramos esta glicoproteína son: en el líquido amniótico como glicodelina A, como glicodelina S en el plasma seminal, la glicodelina C en las células del cúmulo, y en el fluido folicular como glicodelina F (Yeung *et al.*, 2009). Las glicodelinas se unen a distintos receptores localizados por la membrana espermática que recubre el acrosoma, según la glicofoma de la que se trate (Yeung *et al.*, 2009), y cada una de ellas tiene una función, así, las glicodelinas A y F impiden que ocurra la reacción acrosómica prematura e inhiben la unión del esperma a la ZP. La glicodelina S impide la capacitación espermática precoz suprimiendo el flujo de colesterol. La glicodelina C reemplaza a la glicodelina A y F mejorando la reacción acrosómica y la unión del espermatozoide a la ZP (Chiu *et al.*, 2007). Por eso es importante el uso de ovocitos no decumulados en la FIV, ya que las células de la granulosa contribuyen a la modulación de la unión ovocito-espermatozoide.

4.5.3.4.5.4. Componentes del sistema plasminógeno Plasmina

Se han identificado en el tracto reproductor de mamíferos y tienen muchas funciones (Ebisch *et al.*, 2008). La función de la plasmina en la ovulación y en la implantación es importante. En porcino se propuso que la activación del plasminógeno unido a la membrana plasmática y a la ZP del ovocito ocurría cuando el primer espermatozoide entraba en contacto con el oolema. Esta activación consistía en el paso de plasminógeno a plasmina debilitando la unión del resto de los espermatozoides al ovocito e impidiendo, así, su avance (Coy *et al.*, 2012b).

4.5.3.4.5.5. Proteína delecionada en tumores malignos de

cerebro 1 (DMBT1)

Identificada en el epitelio del endometrio de la rata y de la mona (Tynan *et al.*, 2005). Se trata de una glicoproteína con varias funciones y dependiente de estrógenos. A nivel oviductal se vio que se expresaba en humano, bovino y porcino (Mondéjar *et al.*, 2012), estando presente en el FO tanto de porcino como de equino (Mondéjar *et al.*, 2012; Ambruosi *et al.*, 2013). En bovino participa en un proceso de selección negativa al unirse a la superficie apical del epitelio de espermatozoides capacitados (Teijeiro y Marini, 2012). Cuando se incuban los ovocitos porcinos y equinos con esta glicoproteína, previamente a la FIV, disminuyen las tasas de polispermia (Ambruosi *et al.*, 2013).

4.5.3.4.5.6. Osteopontina (OPN)

Es una fosfoproteína que es sintetizada en varios tejidos y secretada a los fluidos corporales, como al FO, donde se han identificado tres tipos (25,48, 55 Kb) (Gabler *et al.*, 2003; Killian, 2004; Killian, 2011). Se le atribuyen acciones moduladoras de la función del espermatozoide relacionadas tanto con la interacción de los gametos como con la migración por el oviducto (Killian, 2011), también funciones relacionadas con la adhesión celular debido a su unión a integrinas a través de la secuencia arginina-glicina-aspártico (Denhart y Guo, 1993), así como de regulación del sistema inmune (Wang y Denhardt, 2008).

A lo largo del ciclo estral del ratón y la oveja se observan mayores niveles de expresión en la fase de estro (Liu *et al.*, 2015; Soleilhavoup *et al.*, 2016), mientras que en la vaca los niveles de expresión a lo largo del ciclo no varían (Gabler *et al.*, 2003).

En la especie porcina se ha observado una reducción en la incidencia de polispermia, incrementando el éxito de la FIV (Hao *et al.*, 2006), efecto que no se ha visto en equinos (Mugnier *et al.*, 2009). Se piensa, por tanto, que su papel en la fecundación depende de la especie.

4.5.3.4.5.7. Componentes del sistema de complemento C3 y C5

C3. Se supone que su secreción está regulada por estrógenos ya que los niveles incrementan durante la fase de estro en ratón y en humano (Lee *et al.*, 2009). Se ha propuesto que actúa como ligando entre el espermatozoide y el óvulo (Anderson *et al.*, 1993; Fabryova y Simon, 2009), y con función embriotrófica cuando pasa a iC3b por las células del oviducto (Lee *et al.*, 2009). Se la ha podido relacionar con la mejora en la viabilidad espermática y por tanto la presencia de espermatozoides con la secreción oviductal de C3 (Georgiou *et al.*, 2007; Holt y Fazeli, 2015). **C5.** Una parte próxima al extremo 5' del gen de este factor del complemento tiene secuencias similares a ciertas sustancias que responden a estrógenos (Carney *et al.*, 1991).

4.5.3.4.5.8. Glicosil- transferasas y glicosidasas

Forman parte del FO en cerda y vaca con variaciones a lo largo del ciclo estral. Son capaces de modificar los azúcares de las glicoproteínas de las células epiteliales, del espermatozoide y de la ZP (Carrasco *et al.*, 2008a, Carrasco *et al.*, 2008b).

4.5.3.4.5.9. Prostaglandina D sintasa tipo lipocalina

Se ha identificado en el FOB, pero no está claro si procede del plasma sanguíneo o es secretada por el epitelio del oviducto. Es capaz de unirse a la ZP del ovocito (Golcalves *et al.*, 2008). Está asociada a la fertilidad relacionada con el plasma seminal bovino, aunque se desconoce su función (Gerena *et al.*, 1998).

4.5.3.4.5.10. Haptoglobina

En bovino se detectó una proteína de 40 kDa, que en un se asemejaba en un 81% a la subunidad β de la haptoglobina, y se localizaba en la zona de la mucosa de la ampolla oviductal, pero no en el istmo (Lavery *et al.*, 2003). Además, se vio que su secreción estaba modulada por los niveles de esteroides ováricos durante el ciclo (Lavery *et al.*, 2003). La haptoglobina es una proteína con propiedades inmunomoduladoras que protegen al espermatozoide y al embrión temprano frente a la respuesta inmune materna (El Ghmati *et al.*, 1996).

En la coneja se ha observado la expresión de una proteína en el oviducto que comparte el 91% de su secuencia con la haptoglobina humana y que se expresa poco antes de la ovulación, de modo que no tiene origen folicular, siendo más abundante en la ampolla que en el istmo (Herrler *et al.*, 2004).

En porcino se ha detectado la haptoglobina en presencia de ovocitos (Georgiou *et al.*, 2005). También ha sido demostrada su expresión en las células oviductales de la unión ampollar-ístmica en la fase preovulatoria, aunque su función en la fecundación aún se desconoce (Ramón *et al.*, 2012).

4.5.3.4.5.11. AWN

Este miembro de la familia de las espermadhesinas podría participar en la unión primaria entre el ovocito y el espermatozoide (Topfer-Petersen y Calvete, 1996), ya que tiene propiedades de unión al espermatozoide (Topfer-Petersen *et al.*, 1998). Fue identificada en el oviducto porcino mediante inmunocitoquímica (Ekhlas-Hundrieser *et al.*, 2002), y se ha sugerido que es secretada por el oviducto al identificarse en el FO (Soleilhavoup *et al.*, 2016).

4.5.3.4.5.12. Glutación peroxidasas

Se han detectado un grupo de proteínas con actividad antioxidante entre las que se encuentran estas enzimas (Soleilhavoup *et al.*, 2016). Su función es la de reducir los hidroperóxidos a alcoholes, y reducir el peróxido de hidrógeno (Margis *et al.*, 2008). En

eucariotas existen 5 clases de glutatión peroxidasa (Drevet, 2006). La glutatión peroxidasa 1 se vio que se expresaba en el oviducto bovino, siendo la más abundante durante el estro (Lapointe y Bilodeau, 2003). La enzima glutatión peroxidasa 2 tiene como misión principal proteger del daño oxidativo al organismo, y ha sido descrita su secreción en la cerda mediante análisis proteómico e inmunohistoquímica localizándose en las células epiteliales del oviducto y mediante espectrofotometría de masas en el FO, lo que sugiere que podría estar implicada en la protección de los gametos frente al daño oxidativo (Acuña *et al.*, 2017). Las técnicas de microarrays mostraron niveles de expresión más altos en la fase postovulatoria (Acuña *et al.*, 2017). La glutatión peroxidasa 5 se expresa únicamente en la cabeza del epidídimo y se asocia a la protección de los gametos masculinos durante su paso por el epidídimo y durante el almacenamiento (Tramer *et al.*, 1998; Drevet, 2006).

4.5.3.4.5.13. Spam 1 (PH-20)

Se ha detectado en el epitelio del oviducto en ratón (Zhang y Martin-DeLeon, 2003). Es una proteína con actividad hialuronidasa que parece, mediante su unión al espermatozoide, ayudar a atravesar las células de cúmulo (Griffiths *et al.*, 2008).

4.5.3.4.5.14. Neuroquinina B (TAC3)

Las taquininas y sus receptores se distribuyen ampliamente por todo el tracto reproductor masculino. Esta proteína, que se une a receptores de taquininas está relacionada con la motilidad espermática en el humano (Ravina *et al.*, 2007; Pinto *et al.*, 2010). También se ha identificado en el tracto reproductor femenino de humano y rata (Ghosh *et al.*, 2007; Cejudo-Román *et al.*, 2012). En el oviducto porcino se ha observado una mayor expresión en hembras prepúberes y en fase preovulatoria que en las fases postovulatoria y luteal. Se ha demostrado su presencia en células epiteliales del oviducto y en el fluido oviductal se han identificados varios péptidos lo que sugiere la posible implicación del oviducto en la modulación de la motilidad espermática por medio de esta proteína (Acuña *et al.*, 2017).

4.5.3.4.5.15. Colecistoquinina

Esta proteína, en un principio fue descrita como una hormona gastrointestinal y un neuropéptido cerebral (Fink *et al.*, 1998). Actualmente se ha demostrado su secreción en el oviducto porcino (Acuña *et al.*, 2017). Su expresión en el oviducto es superior en la fase postovulatoria que, en las fases prepuberal, preovulatoria o luteal. Los estudios realizados en células epiteliales del oviducto mediante inmunohistoquímica y en FO mediante análisis proteómico confirman la secreción de esta proteína al lumen oviductal (Acuña *et al.*, 2017). Estudios previos mostraban mejoras en la FIV relacionados con colecistoquinina. (Sasse *et al.*, 2000).

4.5.3.4.5.16. Miosina 9

Se piensa que se trata de la una proteína implicada en la unión de la OVGP1 al espermatozoide, ya que se ha observado un aumento de esta en el FO paralelo al de la

OVGP1, y coincidiendo con el estro (Kadam *et al.*, 2006). Al detectarse una expresión mayor durante el estro en el canal cervical, se piensa que la interacción con los espermatozoides ocurre al paso de los gametos masculinos por el cérvix (Soleihavoup *et al.*, 2016).

4.5.3.4.5.17. Proteína de unión a fosfatidiletanolamina (PEBP4)

En el epidídimo esta proteína, secretada por las células epiteliales, se ha relacionado con la motilidad del espermatozoide en la especie porcina (An *et al.*, 2012). Recientemente se ha observado la sobreexpresión de esta proteína en el oviducto porcino en fase postovulatoria, relacionando su presencia con el momento de la fecundación, y mediante espectrofotometría de masas ha sido detectada en las células del epitelio oviductal, lo que sugiere que es secretada al FO (Acuña *et al.*, 2017).

4.5.3.4.5.18. Oviductina (OVGP1)

Es una glicoproteína específica del FO (Malette *et al.*, 1995), aunque se han encontrado trazas en el tapón mucoso y fluido uterino, probablemente debido a transferencias (Soleihavoup *et al.*, 2016). También se conoce como MUC9 debido a que pertenece a la familia de las mucinas cuyas funciones son de prevención de la deshidratación de los epitelios mucosos (Jentoft, 1990; Devine y McKenzie, 1992), limitan el acceso a receptores de superficie celular y evitan la unión a matrices extracelulares (Hilkens *et al.*, 1992), protegen de infecciones bacterianas (Lamblin y Roussel, 1993), y del ataque proteolítico (Jentoft, 1990), aunque también promueven la adhesión celular y actúan como transportadores de ligandos (Hey y Aplin, 1996, Zhang *et al.*, 1996). La detección de esta proteína de alto peso molecular producida por las células no ciliadas del epitelio oviductal y que se secreta al FO, que es capaz de unirse al ovocito, tuvo lugar por primera vez en coneja y hámster (Oliphant *et al.*, 1984, Oikawa *et al.*, 1988), y ha sido identificada en distintas especies de mamíferos (Tabla 4g).

Tabla 4g. Mamíferos en los que se ha detectado la proteína OVGP1

ESPECIE	REFERENCIAS
Mujer (<i>Homo sapiens</i>)	Rapisarda <i>et al.</i> , 1993; Arias <i>et al.</i> , 1994; OdayBowman <i>et al.</i> , 1995; Briton-Jones <i>et al.</i> , 2001; Briton-Jones <i>et al.</i> , 2004.
Cerda (<i>Sus scrofa</i>)	Buhi <i>et al.</i> , 1990; Buhi <i>et al.</i> , 1989; Buhi <i>et al.</i> , 1996; Kouba <i>et al.</i> , 2000; Merchan <i>et al.</i> , 2006.
Vaca (<i>Bos Taurus</i>)	Malayer <i>et al.</i> , 1988; Boice <i>et al.</i> , 1990a; King <i>et al.</i> , 1994a; Abe <i>et al.</i> , 1995b; Martus <i>et al.</i> , 1998.
Coneja (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	Oliphant y Ross, 1982, Merchan <i>et al.</i> , 2009; García, 2010.
Babuina (<i>Papio anubis</i>)	Fazleabas y Verhage, 1986; Verhage y Fazleabas, 1988a; Donnelly <i>et al.</i> , 1991; OdayBowman <i>et al.</i> , 1996; Verhage <i>et al.</i> , 1997a.
Cabra (<i>Capra ibex</i>)	Abe <i>et al.</i> , 1995a; Pradeep <i>et al.</i> , 2011.
Chimpancé (<i>Pan troglodytes</i>)	Kim <i>et al.</i> , 2011.

ESPECIE	REFERENCIAS
Gata (<i>Felis catus</i>)	Hachen <i>et al.</i> , 2012; Hribal <i>et al.</i> , 2014a; Hribal <i>et al.</i> , 2014b.
Hámster (<i>Mesocricetus auratus</i>)	Leveille <i>et al.</i> , 1987; Oiwaka <i>et al.</i> , 1988.

La OVGP1 presenta, como el resto de las mucinas, O-glicosilaciones en residuos serina y treonina, y además N-glicosilaciones en argininas de secuencias específicas, constituyendo aproximadamente un 50% de la masa molecular de la proteína en función de la especie (Buhi, 2002). Tanto el ácido siálico como las N-glicosilaciones parecen estar implicadas en la viabilidad espermática (Sato *et al.*, 1995). Además de observar que la OVGP1 sin glicosilación es insoluble y por tanto sin actividad biológica, sus diferencias en la glicosilación a lo largo del ciclo estral podría ser la responsable de sus diferentes formas de actuar (McBride *et al.*, 2004b; McBride *et al.*, 2005).

Debido a las glicosilaciones de esta proteína podemos encontrar diferentes glicofomas para la misma especie (Tabla 4h).

Tabla 4h. Isoformas de OVGP1 en las varias especies

ESPECIE	ISOFORMAS	REFERENCIAS
Hámster (<i>Mesocricetus auratus</i>)	Varias isoformas siendo las O-glicosiladas las más abundantes	Malette y Bleau, 1993; McBride <i>et al.</i> , 2004b; McBride <i>et al.</i> , 2005.
Porcina (<i>Sus scrofa</i>)	3 glicofomas, dos de 100k kDa con punto isoeléctrico de 5-6 y 8.5, y una de 75-80 kDa y pl de 4	Buhi <i>et al.</i> , 1990; Kouba <i>et al.</i> , 2000.
Bovina (<i>Bos taurus</i>)	7 isoformas	Pan <i>et al.</i> , 2002.
Coneja (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	Glicoproteínas de 66 kDa y otras	Merchan <i>et al.</i> , 2007.

La proteína se expresa en el epitelio oviductal, en el citoplasma apical de las células secretoras (Murray y Desouza, 1995), pudiéndose detectar en distintos orgánulos de estas células, como es el retículo endoplasmático rugoso, aparato de Golgi y gránulos de secreción (Bhatt *et al.*, 2004; Boice *et al.*, 1990a; McBride *et al.*, 2004a) (Tabla 4i).

Tabla 4i. Presencia de OVGP1 en gránulos de secreción

ESPECIE	REFERENCIAS
Hámster (<i>Mesocricetus auratus</i>)	Kan <i>et al.</i> , 1988; Abe y Oikawa, 1991.
Cerdo (<i>Sus scrofa</i>)	Buhi <i>et al.</i> , 1993.
Babuino (<i>Papio anubis</i>)	Verhage <i>et al.</i> , 1990.
Humano (<i>Homo sapiens</i>)	Rapisarda <i>et al.</i> , 1993.
Bovino (<i>Bos taurus</i>)	Boice <i>et al.</i> , 1990a.

ESPECIE	REFERENCIAS
Ratón (<i>Mus musculus</i>)	Kapur y Jonhson, 1988.
Conejo (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)	Oliphant <i>et al.</i> , 1984.
Oveja (<i>Ovis aries</i>)	Buhi <i>et al.</i> , 1991.

La OVGP1 es una proteína dependiente de nivel de estrógenos en sangre y, por tanto, de la fase del ciclo estral en cerda, vaca, perra, oveja, mujer y babuina (Arias *et al.*, 1994; Buhi *et al.*, 1996; Buhi *et al.*, 2000; Desouza y Murray, 1995; Gandofi *et al.*, 1989; Lok *et al.*, 2002; Nancarrow y Hill, 1995; Saint-Dizier *et al.*, 2014) (Tabla 4j).

Tabla 4j. Expresión máxima y mínima de ARNm de OVGP11 en oviducto según la fase del ciclo estral.

ESPECIE	FASE DE MÁXIMA EXPRESIÓN	REFERENCIAS	FASE DE MÍNIMA EXPRESIÓN	REFERENCIAS
Mujer (<i>Homo sapiens</i>)	Fase folicular tardía	Arias <i>et al.</i> , 1994	Fase luteal o diestro	Verhage <i>et al.</i> , 1990 Buhi <i>et al.</i> , 1991 Arias <i>et al.</i> , 1994
Oveja (<i>Ovis aries</i>)	Estro y día 1 postfecundación	Desouza y Murray, 1995 Soleihavoup <i>et al.</i> , 2016		
Cerda (<i>Sus scrofa</i>)	Día 0-2 de la fase estral	Buhi <i>et al.</i> , 1996		
Hamster (<i>Mesocricetus auratus</i>)	Estro	Roux y Kan, 1995		Roux y Kan, 1995
Vaca (<i>Bos taurus</i>)	Fase estral	Soleihavoup <i>et al.</i> , 2016		

Aunque se apoya la hipótesis de la regulación de la expresión de la OVGP1 por estrógenos, diversos estudios muestran una variación en la cantidad de receptores de LH dependientes del estado hormonal que puede afectar a la función de oviducto (Shemesh, 2001).

4.5.3.4.5.18.1. Funciones de la oviductina relacionadas con el gameto masculino.

En todas las especies, se une o no la OVGP1 al espermatozoide, se observan efectos cuando el gameto se trata con esta glicoproteína. Incrementa la unión espermatozoide-ovocito (Yang *et al.*, 2015) y en hámster incrementa las tasas de penetración (Boatman y Magnoni, 1995), en gato y humano se ve un incremento de la unión de espermatozoide a hemizonas (OdayBowman *et al.*, 1996; Hribal *et al.*, 2014a).

Se ha visto que se une a la membrana espermática (McNutt *et al.*, 1992; King *et al.*, 1994a; King y Killian, 1994b; Kan y Esperanzate, 2006; Lyng y Shur, 2009; Yang *et al.*, 2015) y a la región acrosomal (Boatman y Magnoni, 1995), aunque en humanos no se ha visto esta unión (OdayBowman *et al.*, 1996).

Se ha descrito que mejora la capacidad fecundante en toro (King *et al.*, 1994a), en hámster y en cerdo estimula la capacitación (McCauley *et al.*, 2003; Killian, 2004; Kan y Esperanzate, 2006), la reacción acrosómica en hámster (Yang *et al.*, 2015), y según la dosis mejora la motilidad y viabilidad espermática en porcino y en bovino (Abe *et al.*, 1995c; Satoh *et al.*, 1995; McCauley *et al.*, 2001).

4.5.3.4.5.18.2. Funciones de la oviductina relacionadas con el gameto femenino

La OVGP1 se une a la ZP de embriones y ovocitos de manera homóloga y heteróloga, según sea la OVGP1 de la misma o de distinta especie que la ZP a la que se une. Se piensa que la OVGP1 tiene un papel importante en la fecundación y en el desarrollo embrionario ya que puede observarse en todas las especies de mamíferos estudiadas (Tabla 4k).

Tabla 4k. Localización de la OVGP1 en las distintas especies

ESPECIE	LOCALIZACIÓN	REFERENCIAS
Cerdo (<i>Sus scrofa</i>) y Oveja (<i>Ovis aries</i>)	Partículas filamentosas de la ZP y membrana de las blastómeras	Gandolfi <i>et al.</i> , 1991; Buhi <i>et al.</i> , 1993.
Hámster (<i>Mesocricetus auratus</i>)	Endosomas, cuerpos vesiculares y lisosomas secundarios	Kan <i>et al.</i> , 1993.
Oveja (<i>Ovis aries</i>) y ratón (<i>Mus musculus</i>)	Espacio perivitelino	Kapur y Johnson, 1986; Gandolfi <i>et al.</i> , 1991.
Ratón (<i>Mus musculus</i>)	Unidas a lectinas PNA en espacio perivitelino y todo el espesor de la ZP en ovocitos y embriones	Lyng y Shur, 2009.

Se han observado distintas oviductinas en peso molecular, isoformas y modificaciones postraduccionales, y se puede pensar que son distintas isoformas de la OVGP1 las que se unen a las diferentes estructuras, a la ZP (Lyng y Shur, 2009), al espacio perivitelino, a la membrana del ovocito y a las blastómeras, y que se diferencian por lo tanto en la afinidad a las distintas estructuras del embrión o del ovocito y a su habilidad para regular funciones biológicas (Buhi, 2002).

Se ha observado también la importancia de la OVGP1 en el endurecimiento de la ZP previo a la FIV observando un incremento en la monospermia cuando los ovocitos son pretratados con glicosaminoglicanos como la heparina junto con la OVGP1 en porcino y en bovino (Coy *et al.*, 2008a).

Durante la eclosión del blastocisto una vez desarrollado disminuyen los niveles de glicosaminoglicanos en el FO contribuyendo a despegar la OVGP1 y así debilitando la ZP para la correcta eclosión (Kolbe y Holt, 2005). Otra forma de justificar la unión entre OVGP1 y heparina sería la presencia de secuencias consenso de unión a heparina en la molécula de OVGP1 (Buhi *et al.*, 1996; Kouba *et al.*, 2000). Tavares y colaboradores observaron que cuando la FIV se trataba con OVGP1 se reducía la polispermia sin disminuir la tasa de penetración espermática, pero al añadir heparina la

cantidad de cigotos monospermicos disminuía, porque, aunque la tasa de monospermia no se alteraba, si se veía disminuida la tasa de penetración (Batista *et al.*, 2016).

La poliespermia frecuentemente se ha atribuido al bloqueo producido por el oolema ligado a la reacción cortical en el ovocito tras la fecundación en invertebrados, pero no está demasiado claro en mamíferos, o al desprendimiento del juno del oolema que ocasiona un bloqueo de la membrana (Bianchi *et al.*, 2014), pero nunca había sido atribuido al oviducto antes de la fecundación (Tienthai *et al.*, 2000; Coy *et al.*, 2008a; Coy *et al.*, 2008b).

Se probó en distintas especies el efecto del FO homólogo y heterólogo en el endurecimiento de la ZP pre-fecundación, y se vio que es responsable de este endurecimiento en cerda, cabra, vaca, hámster, coneja y oveja. El ovocito de ratón sufría endurecimiento cuando se trataba con el FO de coneja y cabra. Sin embargo, la ZP de ovocitos humanos no se endurecía al ser pretratado con FO homólogo ni heterólogo (Mondéjar *et al.*, 2013a).

El FO de coneja endurece la ZP de todas las especies menos la humana (Mondéjar *et al.*, 2013a). El FO de cerda endurece las zonas pelúcidas de todas las especies estudiadas excepto la de rata, ratona, cabra y humana (Broeman *et al.*, 1989; Kim *et al.*, 1996; Wang *et al.*, 1998; Kolbe y Holtz, 2005; Mondéjar *et al.*, 2013a). El FO de oveja no endurece la ZP de rata, ratona y humana y a diferencia del FO de cerda este fluido i endurece la ZP de cabra (Wright *et al.*, 1977; Mondéjar *et al.*, 2013a; Davachi *et al.*, 2015). El FO de cabra y vaca no endurecen la ZP de rata, hámster, y humana (Wright *et al.*, 1977; Pradeep *et al.*, 2011; Mondéjar *et al.*, 2013a; Mondéjar *et al.*, 2013b). El endurecimiento de la ZP con FO humano fue probado en humanos y en cerdas y en ninguno de los dos casos tuvo efecto alguno (Mondéjar *et al.*, 2013a).

El FO preovulatorio y postovulatorio en porcino no endurece la ZP, solamente lo hace el FO periovulatorio (Coy *et al.*, 2008a), lo que podría servir como explicación a las altas tasas de polispermia en las inseminaciones realizadas fuera de este periodo (Hunter, 1967).

Se ha podido demostrar que la OVGP1 es la responsable de la reducción en los niveles de polispermia y de la mejora en el desarrollo embrionario tras tratar el gameto con la proteína (King *et al.*, 1994a; Boatman y Magnoni, 1995; Hill *et al.*, 1997; Martus *et al.*, 1998; Bui *et al.*, 2000; Kouba *et al.*, 2000; McCauley *et al.*, 2001; McCayley *et al.*, 2003). Por el contrario, en humanos y en ratón el tratamiento de ovocitos con esta proteína incrementa el número de espermatozoides que se unen a la ZP (Boatman *et al.*, 1995; OdayBowman *et al.*, 1996; Yang *et al.*, 2015), pero en cerdo y bovino ocurrió lo contrario (Kouba *et al.*, 2000; Coy *et al.*, 2008a).

4.5.3.4.5.18.3. Funciones de la oviductina relacionadas con el embrión

Tanto la tasa de división como el número de embriones obtenidos se puede ver afectados por el tratamiento previo o durante la FIV con la OVGP1, mejorando la formación y el desarrollo de embriones (McCauley *et al.*, 2003; Avilés *et al.*, 2010). Sin embargo, el incluirla en el medio de cultivo tras la FIV no mostró efectos en la tasa de división (Hill *et al.*, 1996), tampoco muestra efectos en esta tasa de división el tratamiento pre y durante la FIV en porcino, pero si aumenta el número de ovocitos que tras la fecundación alcanza el estadio de blastocisto (Kouba *et al.*, 2000).

La concentración de OVGP1 que se utilice en el medio también influye en las tasas de división y formación de blastocistos en cabra y en oveja, con un efecto inhibitorio a altas tasas de concentración, entre 50 µg/ml y 100µg/ml, y con un efecto positivo a una concentración de 10µg/ml (Pradeep *et al.*, 2011).

La incubación de ovocitos en FO previa a la fecundación *in vitro* también tiene efecto en la expresión génica de los embriones, reduciendo la expresión de genes como BAX, que es un gen pro-apoptótico, o aumentando la expresión de otros genes como BCL2L1 o TFAM, que son anti-apoptótico y de ADN mitocondrial respectivamente (Lloyd *et al.*, 2009b).

El embrión de ratón, cuando está en estadio de dos células, sufre un bloqueo. Cuando ha sido tratado con OVGP1 este bloqueo es superado (Yong *et al.*, 2002), lo que no hace a esta glicoproteína imprescindible para la fertilidad, como ocurre también con la acrosina, se vio que ratones a los que se les anulaba su expresión seguían siendo fértiles (Araki *et al.*, 2003; Baba *et al.*, 1994), posiblemente por la presencia de otras proteínas que suplen su efecto, como en la rata donde el gen de la OVGP1 es un pseudogen, y sin embargo es fértil (Tian *et al.*, 2009).

La glicosilación de la proteína OVGP1 parece ser un factor importante para que su acción biológica se dé correctamente, ya que ese observó en la gata que al tratar con OVGP1 recombinante felina el medio de cultivo de FIV, no variaba ni la tasa de división embrionaria ni el número de mórulas y blastocistos. Aunque el uso de esta OVGP1 recombinante sí que afectaba a la expresión de un gen marcador de la calidad embrionaria como es el GJA1 (Hribal *et al.*, 2014a).

4.5.3.4.6. Vesículas extracelulares del fluido oviductal: microvesículas y exosomas

Existe una comunicación cruzada entre el oviducto y el embrión que contribuye a un adecuado desarrollo embrionario modulado por estas vesículas extracelulares del FO (Lee *et al.*, 2002; Almiñana *et al.*, 2012; Maillo *et al.*, 2015).

Los exosomas provienen de la unión de un cuerpo multivesicular endocítico con la membrana celular, su diámetro oscila entre 30-150 nm, las microvesículas provienen de la membrana directamente y su diámetro está entre 100-1000nm (Colombo *et al.*, 2014), y son importantes para la comunicación entre células, en la fecundación esta interacción es la del gameto o embrión con la madre (Al Dossary y Martin-Deleon, 2016; Burns *et al.*, 2016). Son componentes del fluido uterino (Ng *et al.*, 2013; Burns *et al.*, 2014), y se han estudiado tanto las vesículas extracelulares originadas *in vivo* (Ng *et al.*, 2013; Burns *et al.*, 2016), como aquellas generadas *in vitro* (Greening *et al.*, 2016; Bidarimath *et al.*, 2017) en contenido y su secreción.

Ya se conocía que estos exosomas del oviducto contenían una proteína de hiperactivación de la movilidad espermática y de la fecundación llamada PMCA4a (Al Dossary *et al.*, 2013), recientemente se ha caracterizado su contenido estableciendo las diferencias entre aquellas vesículas extracelulares oviductales generadas *in vivo* o *in vitro*, identificando 319 proteínas mediante espectrofotometría de masas en ellas, de las

cuales 186 son distintas, 97 se encontraron en las vesículas generadas *in vivo*, y 47 en las vesículas generadas *in vitro*, mientras que 175 eran comunes en ambas (Almiñana *et al.*, 2017).

Todas las células oviductales, *in vitro* o *in vivo*, producen este tipo de vesículas que por su contenido parecen ser clave para la unión entre gametos, para la fecundación y para el desarrollo embrionario, como son las proteínas del choque térmico HSPA8, 70 y 90, así como la Miosina 9, OVGP1, anexina, lactadherina, ezrina, gelsolina (Almiñana *et al.*, 2017). Aunque la OVGP1 es una de las proteínas más abundantes en el FO solo puede detectarse en las células oviductales generadas *in vivo* (Ostman *et al.*, 2005).

Estudios realizados sobre la bomba de Ca^{2+} de la membrana plasmática, PMCA 4, que se encuentran en estas vesículas oviductales muestran que ratones KO para esta proteína producían machos no fértiles, por la pérdida de movilidad en sus espermatozoides (Bathala *et al.*, 2018). Sin embargo, la falta de expresión de esta proteína no afectaba a fertilidad de las hembras, aunque en hembras silvestres los niveles de expresión de PMCA 4 es bastante elevada, si se observó una sobreexpresión de PMCA1 que se podría explicar como una respuesta para compensar la carencia de PMCA 4 (Bathala *et al.*, 2018).

4.5.3.5. Cambios en la expresión génica del oviducto y factores que Influyen.

El estudio de la expresión génica del oviducto en las distintas fases del ciclo estral de las hembras de las especies analizadas, así como la expresión génica en presencia de gametos nos da una idea del microambiente que se genera en el oviducto según la composición de él.

Tanto *in vivo* como *in vitro* cuando los espermatozoides se unen a las células del oviducto se producen cambios en las proteínas que se sintetizan (Ellington *et al.*, 1993). La presencia de espermatozoides producirá la sobreexpresión de genes de la prostaglandina peroxidasa sintasa y adrenomedulina en las ratonas que fueron estudiadas tras la cópula con machos fértiles (Fazeli *et al.*, 2004).

En la rata se observó que 6 horas después de la cópula se sobreexpresaban 12 genes y disminuía la expresión de 5 de ellos (Parada-Bustamante *et al.*, 2007). La función de estos genes alterados puede ser desde receptores de neurotransmisores, fosfolipasa B o canales iónicos.

Existen estudios de expresión génica del oviducto realizados en bovino en presencia de células del cúmulo y ovocitos (Einspanier *et al.*, 1997; Gabler *et al.*, 2008), y estudios que describen el transcriptoma oviductal y muestran los cambios que se producen a lo largo del ciclo estral, con 27 genes sobreexpresados y 8 con reducción en su expresión en el oviducto ipsilateral frente al oviducto contralateral en fase postovulatoria, y también diferencias que señalan 37 genes sobreexpresados en la fase de estro y 40 genes distintos sobreexpresados en la fase de diestro (Bauersachs *et al.*, 2003; Bauersachs *et al.*, 2004). Un reciente estudio muestra que son 972 los transcritos sobreexpresados y 597 con expresión disminuida en la fase folicular respecto a la fase lútea (Cerny *et al.*, 2015).

En la especie porcina se ha observado la sobreexpresión de 17 genes y la reducción en la expresión de 9 genes por la presencia de gametos o embriones en el oviducto. Estos genes están relacionados con el sistema inmune y la respuesta inflamatoria, señalización e interacción celular, transporte molecular, desórdenes del desarrollo y tráfico de proteínas (López-Ubeda *et al.*, 2015a).

También se han observado diferencias entre la presencia de un gameto masculino con cromosoma X o con cromosoma Y en el análisis por microarrays de la expresión oviductal, siendo 501 los genes alterados por la presencia de espermatozoides con cromosoma Y frente a los que contenían espermatozoides con cromosoma X (Almiñana *et al.*, 2014).

Los estudios que comparan la expresión génica del oviducto porcino en las distintas fases del ciclo estral con tecnología de microarrays mostraron la sobreexpresión de 86 genes y una reducción en la expresión de 80 genes en hembras prepúberes, la sobreexpresión de 89 genes y reducción en la expresión de 51 genes en hembras en fase preovulatoria, y la sobreexpresión de 15 genes y la reducción en la expresión de 64 genes en hembras en fase luteal. Los genes que se veían sobreexpresados en la fase preovulatoria estaban relacionados con proteínas implicadas en la capacitación espermática y la maduración de ovocitos, sin embargo, los sobreexpresados en la fase postovulatoria estarían relacionados con proteínas implicadas en la fecundación y los sobreexpresados en la fase luteal se relacionan con el desarrollo embrionario temprano (Acuña *et al.*, 2017).

Los estudios realizados en las trompas de Falopio de mujeres muestran una sobreexpresión de 5 genes y una reducción en la expresión de 15 genes en la fase folicular respecto a la fase lútea, la mayor parte de estos genes relacionados con la fecundación y el desarrollo embrionario (George *et al.*, 2011).

4.5.4. Funciones del oviducto

En el oviducto tienen lugar una gran cantidad de fenómenos esenciales para que ocurra una fecundación especie-específica exitosa (Stavik *et al.*, 1999). En él se crea un reservorio espermático, el microambiente adecuado para la maduración de los gametos y su encuentro dándose, en el momento adecuado, la fecundación y el posterior desarrollo embrionario temprano donde el oviducto contribuye nutriéndolo (Steward *et al.*, 2012).

Estudios realizados en humano en los que los embriones se transfieren directamente al útero y el embarazo llega a término, o en monos *Rhesus*, donde se transfiere al útero un embrión de una sola célula y el embarazo concluye con éxito (Marston *et al.*, 1977), podrían indicarnos que el FO no es indispensable en la fecundación, aunque al no existir una buena barrera útero-tubárica, también se puede pensar que el FO entra en el útero en pequeñas cantidades pero suficientes para el correcto desarrollo embrionario (Hunter, 2012a), y a la inversa, que el fluido uterino entre en el oviducto, lo que podría ser una posible explicación a los embarazos ectópicos humanos (Hunter, 2002; Shao, 2010).

Las características inmunológicas del oviducto son peculiares, ya que debe respetar la presencia de gametos ajenos y de embriones tempranos al tiempo que realiza función de defensa (Bergqvist *et al.*, 2005). En bovino parece ser debido a un sistema que elimina linfocitos T citotóxicos y células Natural Killer en el oviducto, llamado Fas-FasL (Bergqvist *et al.*, 2005).

La prostaglandina E2, abundante en el microambiente oviductal podría ser responsable de la protección del espermatozoide frente a la fagocitosis por neutrófilos polimorfonucleares (Marey *et al.*, 2014; Marey *et al.*, 2016). La presencia descrita de receptores *Toll-like* y citoquinas en las células del oviducto en presencia de espermatozoides puede tener importancia a la hora de proporcionar un ambiente inmunológicamente adecuado para la fecundación (Zandieh *et al.*, 2015).

4.5.4.1. Funciones del oviducto relacionadas con el gameto masculino.

Solamente un pequeño porcentaje de espermatozoides eyaculados alcanzan la ampolla oviductal, ya que por distintos mecanismos van siendo eliminados (Yanahimachi, 1994a). El paso por la unión útero-tubárica es un momento crítico en el transporte de los espermatozoides (Tokuhiko *et al.* 2012). Al principio las contracciones del miosalpinx contribuyen a la formación del reservorio espermático en el istmo de ratón, y a que estos alcancen la región media oviductal, y desde allí la propia motilidad espermática es la responsable de que el espermatozoide alcance la ampolla (Ishiwaka *et al.*, 2016).

A lo largo del tracto reproductor femenino se va realizando una selección de espermatozoides morfológicamente adecuados para fecundar el óvulo (García-Vázquez *et al.*, 2015a; García-Vázquez *et al.*, 2015b).

Son varias las modificaciones que tiene que sufrir el gameto masculino para adquirir la capacidad de fecundar. Al salir del epidídimo la motilidad espermática es reducida, al mezclarse con el plasma seminal se activan, su movimiento se hace recto y vigoroso y su batido flagelar es simétrico (Yanahimachi, 1994a).

En la zona del istmo oviductal los espermatozoides del reservorio espermático quedan estabilizados durante la fase preovulatoria inmersos en el FO donde se ven suprimidos de motilidad y protegidos de los estímulos del fluido del útero y de la ampolla del oviducto (Hunter, 2012a) retrasando su capacitación y prolongando su supervivencia (Fazeli *et al.*, 2003; Suarez, 2008; Suarez, 2015). La capacitación espermática está mediada por la unión de los gametos masculinos a las células del epitelio oviductal (Suárez, 1998; Goudet, 2011; Hunter, 2012a; Suárez, 2015), lo que hacen a través de unos receptores, carbohidratos especie-específicos que se expresan en el epitelio oviductal (Suarez, 2015) y proteínas del plasma seminal BSP1 (PDC 109) y anexina de la membrana apical de células epiteliales (Hung y Suarez, 2010). Esta unión puede durar hasta 30 horas (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2005; Hunter, 2012a), y ha sido observada en especie bovina (Pollard *et al.*, 1991; Suarez, 2008), en humanos (Morales *et al.*, 1996), en conejo (Smith y Nothnick, 1997) y caballo (Dobrinski *et al.*, 1997). Sin embargo, en ratón los espermatozoides se unen y se separan de las células del epitelio varias veces a lo largo de su trayectoria por el oviducto (Chang y Suarez, 2012; Wang y Larina, 2018).

En presencia de un CCO los espermatozoides se hiperactivan y liberan para dirigirse a la ampolla gracias a contracciones del oviducto y a movimientos ciliares. La

unión de espermatozoides bovinos a la zona del istmo del oviducto o a la ampolla es diferente separándose en ambos casos con heparina, pero en la ampolla además requiere hiperactivación (Ardon *et al.*, 2016).

Durante el periodo periovulatorio del ciclo estral de la hembra se incrementa la liberación de espermatozoides de este reservorio (Suarez, 2016), lo que relaciona la ovulación y la liberación del espermatozoide capacitado (Smith y Yanagimachi 1991; Lefebvre y Suarez, 1996; Gualtieri *et al.*, 2005; Suarez, 2007; Lamy *et al.*, 2018). Al salir del reservorio los espermatozoides adquieren una motilidad hiperactivada que es vigorosa, de batidos flagelares amplios y simétricos (Yanagimachi, 1970) que se debe a la entrada de Ca^{2+} y que le permite progresar a través de la secreción viscosa de la unión ampular-ístmica (Hunter, 2001) y una vez que se acerca al epitelio de la ampolla disminuye su velocidad (Ishikawa *et al.*, 2016; Wang y Larina, 2018).

La viscosidad del oviducto, así como la temperatura y otros factores van cambiando y alterando el microambiente oviductal, lo que hace que el espermatozoide tenga que ir adaptándose a las diferentes características (Coy *et al.*, 2012a; Suarez, 2015; Pérez-Cerezales *et al.*, 2018). Todas las modificaciones sufridas por el espermatozoide en el oviducto permiten que este sea capaz de atravesar la última barrera previa a la fecundación, la ZP (Gadella, 2011).

Una función fundamental del oviducto es guiar al gameto masculino a través del tracto reproductor femenino, y lo hace mediante la reotaxis, termotaxis y quimiotaxis. En cuanto a la reotaxis, por la hidrodinámica del espermatozoide, este mecanismo pasivo, le permite avanzar a contracorriente (Miki y Clapham, 2013; Zhang *et al.*, 2016; Pérez-Cerezales *et al.*, 2018).

Se ha observado en cerda, vaca, humano, ratón y conejo que la termotaxis permite el gameto masculino ser guiado a través del oviducto hacia zonas más cálidas (Eisenbach y Giojalas, 2006; Hunter, 2012b; Pérez-Cerezales *et al.*, 2015), siendo capaz de detectar pequeñas variaciones de temperatura gracias a una serie de proteínas termosensibles (Bahat *et al.*, 2012; Pérez-Cerezales *et al.*, 2018).

Al unirse el líquido oviductal con el folicular se genera una quimioatracción sobre el espermatozoide en la que parece estar implicado el precursor del péptido natriurético (Bian *et al.*, 2012), la progesterona que producen las células del cúmulo y otras pequeñas citoquinas del líquido folicular (Teves *et al.*, 2006; Oren-Benaroya *et al.*, 2008; Chang y Suarez, 2010; Pérez-Cerezales *et al.*, 2016).

4.5.4.2. Funciones del oviducto relacionadas con el gameto femenino

Durante el crecimiento folicular en los ovocitos se forma la ZP pudiendo contribuir a ello, además del ovocito, las células de la granulosa (Wassaman, 1988; Maresh *et al.*, 1990; Sinowatz *et al.*, 2001; Wassaman, 2008; Wassaman *et al.*, 2012a). La ZP es una matriz extracelular formada por glicoproteínas que además de participar en el crecimiento del ovocito, también lo hace en la fecundación, en el desarrollo temprano del embrión (Wassaman, 1998; Tian *et al.*, 1997; Sasanami *et al.*, 2002; Spargo y Hope, 2003; Hyllner *et al.*, 2001; Monne y Jovine, 2011), en la foliculogénesis, diferenciación de las células de la granulosa, unión del gameto masculino y reacción acrosómica, contribuyendo al bloqueo de la polispermia y protegiendo al embrión (Berger *et al.*, 1989; Liu *et al.*, 1996; Rankin *et al.*, 1996; Benoff, 1997; Fazeli *et al.*, 1997; Kolle *et al.*, 1998; Rankin *et al.*, 1999; Rankin *et al.*, 2001; Dean, 2004; Gupta y Bhandari, 2011; Gupta *et al.*, 2012).

La ZP de las distintas especies se diferencian en la combinación de las 4 glicoproteínas de las que pueden estar compuestas (Tabla 4I).

Tabla 4I. Glicoproteínas que componen la ZP de distintas especies de mamíferos.

ESPECIE	COMPOSICIÓN	REFERENCIAS
Ratona (<i>Mus musculus</i>)	ZP1, ZP2, ZP3	Bleil y Wassarman, 1980; Lefievre <i>et al.</i> , 2004; Evsikov <i>et al.</i> , 2006; Goudet <i>et al.</i> , 2008
Perra (<i>Canis familiaris</i>)	ZP2, ZP3, ZP4	Hedrick y Wardrip, 1987; Noguchi <i>et al.</i> , 1994; Goudet <i>et al.</i> , 2008; Stetson <i>et al.</i> , 2012
Vaca (<i>Bos taurus</i>)		
Delfín (<i>Delphinus delphis</i>)		
Titi (<i>Callitrix</i>)		
Tarsero (<i>Tarsius</i>)		
Mujer (<i>Homo sapiens</i>)	ZP1, ZP2, ZP3, ZP4	Lefievre <i>et al.</i> , 2004; Hoodbhoy <i>et al.</i> , 2005; Ganguly <i>et al.</i> , 2008; Izquierdo-Rico <i>et al.</i> , 2009; Jiménez-Movilla <i>et al.</i> , 2009; Stetson <i>et al.</i> , 2012; Stetson <i>et al.</i> , 2015
Rata (<i>Rattus norvegicus</i>)		
Coneja (<i>Oryctolagus cuniculus</i>)		
Gata (<i>Felis catus</i>)		
Hámster (<i>Mesocricetus auratus</i>)		
Macaco (<i>Macaca</i>)		

La ZP tiene una estructura tridimensional porosa, permeable a ciertas macromoléculas (Van Soom *et al.*, 2009; Wassarman *et al.*, 2012b). Mediante polScope se ha visto que la ZP se compone de tres capas: La capa interna, que es gruesa, brillante y birrefringente, la capa media que es más delgada, oscura y menos birrefringente, y la capa externa que es de grosor y birrefringencia media. El aspecto de estas capas es un índice de calidad del gameto femenino y del desarrollo del embrión (Pelletier *et al.*, 2004; Shen *et al.*, 2005; Rama Raju *et al.*, 2007).

Se ha visto que ciertos componentes del fluido oviductal se unen a la ZP de los ovocitos mientras que avanzan por el oviducto (Araki *et al.*, 1987; Leveille *et al.*, 1987; Kan *et al.*, 1988; Oikawa *et al.*, 1988; St Jacques y Bleau, 1988; Abe y Oikawa, 1990). Algunos de estos componentes podrían ser la OVGP1, la osteopontina, la prostaglandina D sintasa de tipo lipocalina que también se han detectado unidas a la ZP bovina (Gonzalvez *et al.*, 2008b). La secreción de OVGP1 por el oviducto varía entre las distintas especies y en función de la fase del ciclo estral (Buhi *et al.*, 1989; Buhi *et al.*, 1993; Buhi *et al.*, 2000). Estas diferencias durante el ciclo estral no se observan en animales como el hámster y el conejo (Paquette *et al.*, 1995; Merchan *et al.*, 2007).

La ZP sufre ciertos cambios prefecundación por su contacto con el FO, que se conocen como endurecimiento y que reducen en gran medida la polispermia en cerdo y en vaca (Coy *et al.*, 2008a), y también ocurre algo similar en cabra y oveja (Mondéjar, 2012). Lo que sugiere que algunas proteínas oviductales regulan la exocitosis de GC incrementando la sensibilidad a ellos por la ZP (Hunter, 1991b; Kim *et al.*, 1996). El paso del ovocito por el oviducto también modifica residuos glucídicos de carbohidratos de las

proteínas que se unen a la ZP tras la ovulación (Avilés *et al.*, 1996b; Avilés *et al.*, 1997; El Mestrah y Kan, 2001).

4.5.4.3. Funciones del oviducto relacionadas con el embrión

Por un tiempo no inferior a 48 horas, y según la especie, el embrión temprano permanece en el oviducto, de modo que el FO debe tener efectos sobre este. Ciertos factores descritos en el oviducto son embriotróficos (Liu *et al.*, 1998; Lee DS *et al.*, 2006; Lee y Yeung, 2006; Avilés *et al.*, 2010) pudiendo actuar en el aumento del desarrollo del blastocisto, aumentando la tasa de eclosión y el número de células de su masa interna además de proteger al embrión contra los efectos adversos de la transcripción/replicación del ADN mitocondrial y apoptosis (Lee ST *et al.*, 2006; Lloyd *et al.*, 2009b), siendo el oviducto el mejor microambiente para el desarrollo del embrión temprano (Freeman *et al.*, 1992), de modo que el oviducto modifica su actividad en cada momento para facilitarle un ambiente óptimo (McGee *et al.*, 1998; Buhi , 2002; Avilés *et al.*, 2010). Es habitual el cultivo en ambiente oviductal tanto autólogo como heterólogo, por lo que observamos así, que los factores embriotróficos no son específicos de especie (Trounson *et al.*, 1977; Rao *et al.*, 1984; Rizos *et al.*, 2002a; Rizos *et al.*, 2002b; Gutiérrez-Adán *et al.*, 2004; Lazzati *et al.*,

V.MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Obtención de las muestras de material biológico

Salvo que se especifique otra, todos los reactivos, medios de lavado, componentes de medios de cultivo han sido adquiridos en la empresa Sigma-Aldrich Química S.A. (Madrid, España). Todos los sacrificios animales siguieron la normativa europea de bienestar animal, Decisión 1999/575/CE del Consejo, de 23 de marzo de 1998, relativa a la celebración por la Comunidad del Convenio Europeo sobre la protección de los animales vertebrados utilizados para experimentación y otros fines científicos (DO L 222 de 24/08/1999, p.29).

5.1.1. Ovarios

Los ovarios porcinos (*Sus scrofa*) empleados en esta tesis se obtuvieron de hembras prepúberes, hembras adultas en fase periovulatoria y hembras adultas en fase luteal sacrificadas en el matadero de la empresa de alimentación “El Pozo” de Alhama de Murcia (Murcia), y transportados en suspensión salina fisiológica (SSF) al 0.9% de NaCl, con un suplemento de 100 mg/ml de sulfato de Kanamicina (K-1377), en un termo a una temperatura aproximada de 38-38.5°C.

Una vez en el laboratorio, los ovarios fueron lavados una vez con solución de cetrimida (CETAB, Bromuro de hexadecilditrimetilamonio, Sigma H-5882) al 0,04% y dos veces más con SSF al 0.9% de NaCl y suplementada con 100 µM/ml de estreptomina (S-9137) y 100 unidades internacionales (UI) de penicilina (P-3032).

Tanto el medio de transporte como los medios de lavado fueron atemperados a 38,5°C antes de su uso en una incubadora. (Edelstahl rost Frei, Alemania).

5.1.2. Ovocitos porcinos

Los ovocitos de cerda se obtuvieron mediante aspiración de los CCOs de folículos antrales de 3 a 6 mm de diámetro, con aguja de 18G y jeringa de 10 ml. El contenido de las jeringas fue depositado en el interior de tubos colocados en gradillas sobre una placa calefactora, donde se dejaron precipitar. Posteriormente, se retiró el fluido folicular sobrenadante, y al precipitado de CCOs se le adicionó solución salina fosfatada (PBS) de Dulbecco (*Dulbecco's Phosphate Buffered Saline*, Sigma D-8662, San Luis, EEUU), suplementado con 1 mg/ml de alcohol polivinilo (Sigma P-8136), y 0.005 mg/ml de rojo fenol (Sigma P-3532) (DPBS-PV-RF) en una placa de Petri y sobre placa calefactora a 38°C.

5.1.3. Oviductos y fluido oviductal

5.1.3.1. Cerda y Vaca

Los oviductos de la especie porcina fueron obtenidos de la misma empresa de la que se obtuvieron los ovarios y que ha sido mencionada anteriormente. Los oviductos de vacas de entre 14 y 20 meses de edad (*Bos taurus*) fueron obtenidos del matadero “Orihuela S.A.” (Alicante, Comunidad Valenciana).

La clasificación de los oviductos bovinos y porcinos, obtenidos y transportados desde el matadero, en frío, se realizó según la morfología de los ovarios (Fig. 5.1). La clasificación para hembras prepúberes fue: fase folicular temprana y tardía, y para

hembras adultas: fase folicular temprana, tardía, fase luteal temprana y fase luteal tardía (tabla 5a).



Figura 5.1. Clasificación morfológica de ovarios porcinos según Carrasco *et al.*, 2008b. Ovarios porcinos: A. Ovario hembra prepúberes en fase folicular temprana, B. Ovario de hembras prepúberes en fase folicular tardía, C. Ovario de hembras adultas en fase folicular temprana, D. Ovario de hembras adultas en fase folicular tardía, E. Ovario de hembras adultas en fase luteal temprana, F. Ovario de hembra adulta en fase luteal tardía.

Tabla 5a. Clasificación de hembras porcinas y bovinas según morfología ovárica. Adaptada de Anderson (2002)

GRUPO	FASE DEL CICLO ESTRAL	MORFOLOGÍA OVÁRICA
Prepúberes	Folicular temprana	Folículos en crecimiento de 2 a 5 mm de diámetro
	Folicular tardía	Folículos en crecimiento, de 2 a 5 mm de diámetro, con/sin cuerpo lúteo regresivo no vascularizado en la superficie, y con/sin cuerpos albicans
Púberes	Folicular tardía	Presencia de varios folículos preovulatorios (8-11 mm de diámetro) o folículos a punto de ovular (>11 mm) con cuerpo lúteo regresivo no vascularizado en la superficie
	Luteína temprana	Cuerpos hemorrágicos recientes o cuerpo lúteo muy vascularizado en la periferia y estigmas color púrpura. Folículos pequeños. Presencia o ausencia de cuerpos albicans
	Luteína tardía	Con cuerpo lúteo regresivo rosado o cuerpos albicans y folículos <2 mm

Una vez clasificados, los oviductos se lavaron con SSF dos veces, en frío, y cuidando de que no entrara esta solución dentro del oviducto por la zona del infundíbulo, y en una placa de Petri, se fueron separando los oviductos del mesosalpinx.

La aspiración del FO se realizó con una pipeta automática, presionando y deslizando el contenido del oviducto con la yema de los dedos desde el istmo hasta el infundíbulo y recogido en la luz de esta para, posteriormente, depositarlo en un tubo de Eppendorf®, donde añadimos un inhibidor de proteasas cOmplete™ (Roche, Mannheim, Alemania. Código: 11697498001), en cantidad variable según el volumen de FO obtenido, (por cada 10 µl de FO, 1 µl de solución 10X).

5.1.3.2. Coneja

Los oviductos de coneja (*Oryctolagus cuniculus*) se obtuvieron de la Universidad Complutense de Madrid, tras el sacrificio en el laboratorio de hembras que previamente habían sido estimuladas para su desarrollo folicular y ovulación.

La obtención del FO de coneja depende en gran medida del momento del ciclo y de la estimulación hormonal a la que esté sometida la hembra. Para ello, se sincronizaron los ciclos de las conejas con hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) mediante una inyección intramuscular 48 horas antes del momento de la recogida de los oviductos. Posteriormente, se inyectó un análogo a la GnRH, gonadorelina sintética, unas 12 horas antes de la recogida de oviductos. Por laparotomía media y bajo anestesia del animal, se extrajeron los oviductos, para la recogida del FO.

La recogida del FO se realizó mediante dos procedimientos. Uno de los métodos consistió en inyectar a través de un catéter con punta roma de 22G que había sido insertado por el extremo uterino del oviducto, 0.5ml de PBS. Para evitar el paso al útero del líquido oviductal se pinzó el cuerno uterino a la altura de la unión útero-tubal. El fluido fue recogido en la placa de Petri por el extremo ovárico del oviducto. El segundo procedimiento consistió en exprimir el oviducto con una pinza plana, de manera que se empujaba el FO hasta el extremo para recogerlo en la placa de Petri.

El líquido oviductal obtenido de cada una de las especies mencionadas, se centrifugó a 7000g durante 10 minutos y a 4°C, después se tomó el sobrenadante, libre de restos celulares, y se congeló a -80°C hasta su uso.

5.2. Electroforesis en gel de poliacrilamida

La electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato sódico (SDS PAGE) se realizó utilizando un sistema X CellSureLock® Mini-Cell (Invitrogen™, Carlsbad, CA, EE. UU.). Los geles utilizados fueron geles de poliacrilamida de 4–20% Tris-Glycine de 1mm (Invitrogen™ Novex™, Carlsbad, CA, EE. UU.). Se prepararon las muestras en un tampón de carga para electroforesis SDS *Sample Buffer 4X* (Novagen®. Madison EE. UU.), y posteriormente se desnaturalizaron en un termobloque durante 10 minutos a 95°C.

Los geles se colocaron en una cubeta de electroforesis con tampón de recorrido *Tris-acetate SDS Running Buffer 20X* (Novex®, Carlsbad, CA, EE. UU.), y se cargaron las muestras en cada calle junto con el marcador *Precision Plus Protein™* (Bio-rad, Hércules, CA, EE.UU.. Código: 1610373). Las electroforesis se realizaron con las siguientes condiciones: 200V durante 50 min a temperatura ambiente.

5.3. Western-Blot

5.3.1. Transferencia a membrana

La membrana empleada para la transferencia de proteínas fue de fluoruro de polivinilideno (Immobilon-P, Millipore. Billerica. EE.UU.) y se realizó en un sistema húmedo según las instrucciones del fabricante. Para realizar la transferencia se activaron las membranas en metanol al 20% durante 30 segundos, lavadas posteriormente en agua y mantenidas durante 5 minutos en el tampón de transferencia *Transfer Buffer 20X* (Novex®, Carlsbad, EE.UU.). La transferencia se realizó a 30V durante 60 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, se realizó el bloqueo de las membranas manteniendo las mismas durante una hora a TA en solución salina tamponada Tris con un 0.05% de Tween® 20 (TBST) (Sigma-Aldrich. Madrid. España) y con un 1% de albúmina sérica bovina (BSA) (*Fetal Bovine Serum*, Gibco®, Carlsbad, EE.UU. Código: 10270).

5.3.2. Inmunodetección de membrana

Una vez bloqueada la membrana, se incubó con el anticuerpo primario que correspondía en cada caso. El Anticuerpo primario se diluyó en TBST 1% BSA durante una noche a 4°C en agitación (Tabla 5b).

Tabla 5b. Anticuerpos y diluciones

ANTICUERPO PRIMARIO	FACTOR DE DILUCIÓN
Anticuerpo Anti- OVGP1 policlonal de conejo (SG 3915)	1:100
Anticuerpo Anti- OVGP1 bovina policlonal de conejo (Abcam. Cambridge. Reino Unido. Código: AB118590)	1:10000
ANTICUERPO SECUNDARIO	FACTOR DE DILUCIÓN
Anti-IgG de conejo HRP* (Santa Cruz Biotechnology. Heidelberg, Alemania. Código: SC 2004)	1:40000

*HRP: peroxidase

Tras realizar la incubación en el anticuerpo primario, la membrana se lavó 3 veces con TBST en lavados de 10 minutos a TA y posteriormente se incubó con el anticuerpo secundario, que también había sido diluido en TBST al 1% de BSA (Tabla 5c), durante una hora, en agitación y a TA.

Las bandas se visualizaron tras incubar la membrana con el reactivo Pierce ECL *Western-blotting substrate* (Polysciences, Eppenheim, Alemania), y se reveló en el equipo LAS500 *Image Quant* (GE Healthcare Buckingham shire, Reino Unido) en el Área Científica y Técnica de Investigación (ACTI) de la Universidad de Murcia. El software empleado para la obtención de las imágenes fue ImageQuan™ (GE Healthcare Buckinghamshire, Reino Unido).

5.4. Electroforesis bidimensional (2D-PAGE) y diferencial en gel (DiGE)

Mediante el uso de esta técnica de alta resolución, mezclas complejas de proteínas se separan en función de su peso molecular y de su punto isoeléctrico o isoelectroenfoque (Fig. 5.2).

En la primera dimensión las proteínas son separadas por su punto isoeléctrico (IEF) en condiciones de desnaturalización, y esto se realiza en unas tiras (17cm) de gradiente de pH no lineal que varía de pH 3 a pH 10 (ReadyStripIPG, Bio-Rad Laboratories, Hércules, CA, USA).

Lo primero que se realizó fue la hidratación de las tiras en una solución al 2% de CHAPS, 0.2% de anfolitos, 8M de urea, 50mM DTT y azul de bromofenol. Para esta hidratación se dejaron en incubación toda la noche cubiertas con aceite mineral con el fin de evitar su evaporación. En las siguientes condiciones y con el equipo Protean® se realizó el isoelectroenfoque: 250V durante 20 minutos, a 1000V durante 2.5 horas y finalmente a 10000V durante 5 horas y 30 minutos, no llegando a superar los 40000V en una hora.

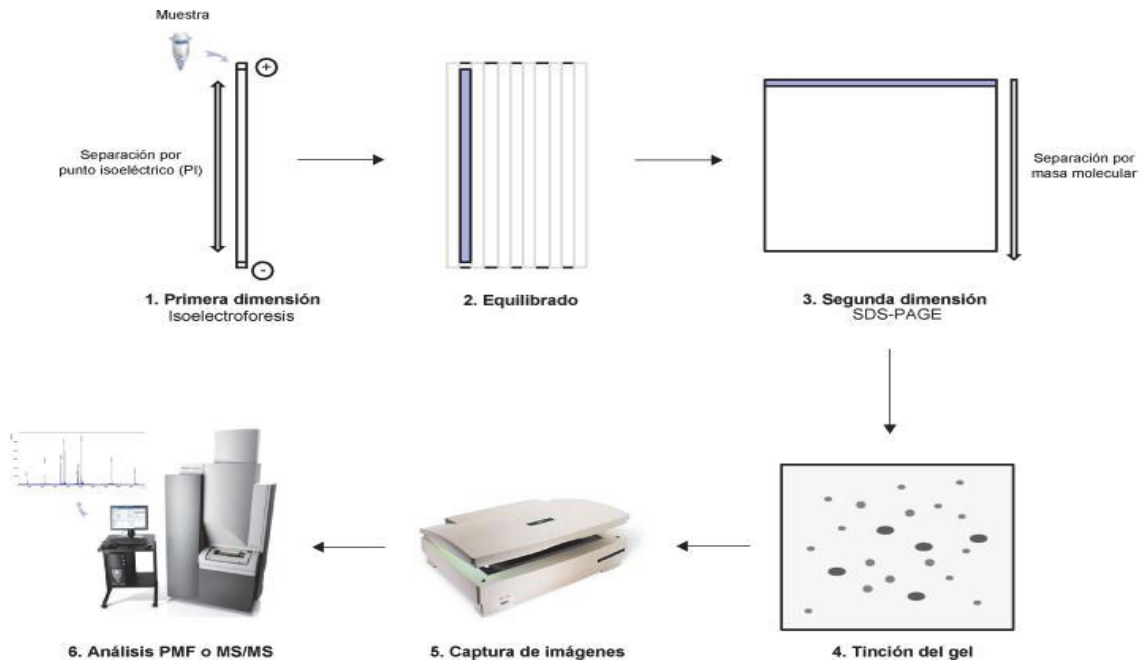


Figura 5.2. Esquema de la electroforesis bidimensional (Laborde *et al.*, 2011).

La separación de proteínas en función de su peso molecular es la segunda dimensión de la electroforesis, y se realizó en gel de poliacrilamida SDS PAGE y mediante electroforesis discontinua. Para equilibrar las tiras se realizaron dos pasos, el primero durante 15 minutos con solución 6M de urea, 0.375M de solución trisHCl (pH 8.8), 2% DTT, 2% SDS y 20% glicerol. El segundo paso se realizó también durante 15 minutos en la misma solución, pero sin DTT. El gel utilizado en esta electroforesis fue un Maxigel al 12%. En el equipo Protean II XL se ensamblaron las tiras y se establecieron las siguientes condiciones para el recorrido: 16 miliamperios (mA)/gel durante 30 minutos, y después a 24mA/gel durante 5 horas y 30 minutos.

La tinción empleada para la visualización de las proteínas en el gel fue el azul de Coomassie (SimplyBlue™ SafeStain, Life Technologies™, Carlsbad, CA, USA) durante una hora y en agitación a TA. Posteriormente, se lavó el gel con agua destilada durante dos horas en agitación y a TA. El escáner empleado fue de alta resolución (Image scanner II. Amersham. Biosciences), y por medio del programa ImageMaster 2D Platinum 7.0 se procesó la imagen.

En la electroforesis diferencial (DiGE) (Fig. 5.3), el marcaje de las muestras con sondas fluorescentes (CyDyes), se realizó antes del isoelectroenfoque. Las sondas fluorescentes, CyDyes, son fluoróforos de cianina con un grupo reactivo éster de N-hidroxisuccinimidilo capaz de unirse covalentemente en grupos ϵ -amino en residuos de lisina de las proteínas. En esta técnica DiGE el aspecto más importante es la capacidad que tiene de marcar con diferentes fluoróforos dos o más muestras, y además separarlos en el mismo gel, evitando así las variaciones entre distintos geles (Díez *et al.*, 2010). Para nuestro estudio se usaron los marcadores Cy2, recomendado para marcar la mezcla de las muestras, Cy3 y Cy5. Los marcadores se resuspendieron para que la solución de trabajo fuera de 0.04 mM en dimetilformamida (DMT) para marcaje de proteínas. La cantidad de marcador usado en cada muestra fue 400 pmol por cada 100 μ g de proteína, tal y como recomienda el fabricante. Las muestras marcadas fueron rehidratadas con una mezcla compuesta por una solución 7M de urea, 50 mM DTT, 2% CHAPs a 0.2% de anfolitos. Posteriormente, el procedimiento se realizó al igual que el

de la electroforesis 2D-PAGE pero con poca luz para que los marcadores no perdieran fluorescencia. Con el equipo Typhoon™ se escaneó el gel utilizando ondas de emisión y excitación en nanómetros (nm) distintas para cada marcador (Tabla 5c) (Fig.5.3).

Tabla 5c. Marcadores fluorescentes y longitud de onda de emisión y excitación

MARCADOR	LONGITUD DE ONDA DE EMISIÓN (nm)	LONGITUD DE ONDA DE EXCITACIÓN (nm)
Cy3	580	532
Cy5	670	633
Cy2	520	480

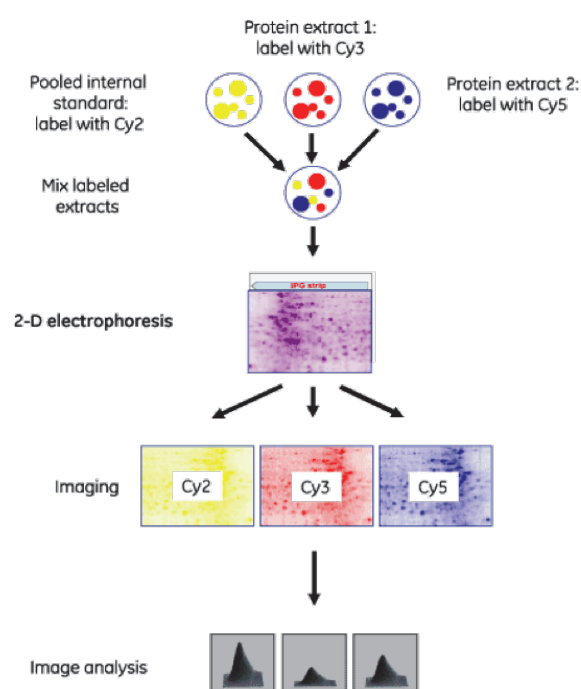


Figura 5.3. Esquema de la técnica DiGE.

Para la adquisición de la imagen se utilizó el programa ImageQuant™. Las imágenes se analizaron usando el software Progenesis SameSpots v 4.0, con el fin de detectar spots de proteína en cada gel y evaluar la expresión diferencial de los mismos en los dos grupos de estudio y una vez adquirida la imagen, se tiñeron los geles con azul de Coomassie y se detectaron los spots que después fueron recortados e identificados por espectrofotometría de masas.

5.5. Endurecimiento de la zona pelúcida

5.5.1. Incubación de los ovocitos en el fluido oviductal

Los ovocitos porcinos fueron decumulados mecánicamente mediante una pipeta automática y lavados varias veces con PBS. La incubación de ovocitos se realizó a razón de un ovocito por μl de FO, cubierto con aceite mineral en placas de Petri y a 38°C , durante 30 minutos.

En cada experimento se preparó, además de los ovocitos problema incubados con FO, un grupo de ovocitos control que se mantuvieron en un μl de PBS por ovocito, a 37°C y cubiertos con aceite mineral, durante los 30 minutos de incubación.

Mediante la técnica de Bradford medimos la cantidad de proteínas contenidas en cada fracción (Tabla 5d) y se realizó un cálculo del volumen en el que se debían incubar los ovocitos con cada una de las fracciones para utilizar la misma concentración de proteínas.

Aunque, como muestran los gráficos, obtuvimos más de 15 fracciones con elución de proteínas de la columna de afinidad por heparina. Nos centramos en el estudio de las fracciones con mayor cantidad de proteínas, desde la fracción 5 a la 9 en la fase prepúber y periovulatoria y de la fracción 6 a la 9 en la fase luteal.

Tabla 5d. Cantidad de proteínas ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) contenida en las fracciones 5, 6, 7, 8 y 9 de FOPP, FOPPR y FOPL mediante determinación por la técnica de Bradford

	FASE PREPÚBER	FASE PERIOVULATORIA	FASE LUTEAL
FRACCIÓN	CANTIDAD DE PROTEÍNAS ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)		
5	0,65	1,23	
6	1	0,77	1,53
7	0,62	1,22	0,9
8	0,54	0,47	0,87
9	0,36	0,77	0,83

Calculamos el volumen de cada muestra para que en todas las fracciones que fuera posible, tuviéramos $0.47 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ de proteínas en un volumen total de $10 \mu\text{l}$ completado con PBS; para incubar 10 ovocitos ($1 \text{ ovocito}/\mu\text{l}$). La fracción 9 de la fase prepúber fue una excepción, ya que en el momento de incluirse en el estudio observamos que la cantidad de proteínas que contenía no alcanzaba la concentración con la que estábamos trabajando. La concentración con la trabajamos en esta fracción fue de $0.36 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ (Tabla 5e).

Tabla 5e. Volumen empleado de cada fracción para la obtención de una concentración deseada de proteínas en $10 \mu\text{l}$

	FASE PREPÚBER	FASE PERIOVULATORIA	FASE LUTEAL
FRACCIÓN	μl DE CADA FRACCIÓN EN UN VOLUMEN TOTAL DE $10 \mu\text{l}$		
5	7,30	3,83	
6	4,73	6,13	3,09
7	7,67	3,85	5,28
8	8,79	4,71	5,44
9	10	6,15	5,69

5.5.2. Digestión de la zona pelúcida

El análisis del tiempo de digestión de la ZP del ovocito se realizó cuantificando el tiempo que tardaba la ZP en digerirse cuando se sumergían en una solución de pronasa al 0.5% (Proteasa de *Streptomyces griseus*, P8811 Sigma, Madrid, España) sin Mg^{2+} ni Ca^{2+} a 37°C (Coy *et al.*, 2002).

Para conocer el tiempo de digestión de la ZP de los ovocitos incubados con FO y no incubados, se fueron sacando del tratamiento, lavando una vez con PBS e introduciéndolos en gotas de 50 μ l de pronasa al 0.5%, siguiendo la disolución de su ZP mediante el estero microscopio y anotando el tiempo que tardaba cada ZP en desaparecer por completo.

5.6. Fraccionamiento del fluido oviductal porcino mediante cromatografía líquida en columna de heparina

Se obtuvieron fracciones de FOP de hembras prepúberes y adultas en fase periovulatoria y luteal por medio de cromatografía líquida según su afinidad por heparina en un sistema *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) modelo Biorad Biologic P, dotado de bomba capilar, muestreador, dosificador, mezclador, espectrofotómetro con absorbancia a 280nm, monitor y carrusel de recogida de fracciones automático, situado en el Centro Regional de Hemodonación de la Región de Murcia (Fig. 5.4)



Figura 5.4. Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) Biorad.

Para el fraccionamiento se usó la columna de heparina de 1ml (Hi Trap™Heparin HP) GE Healthcare (Amersham Biosciencias, Alemania). El uso de esta columna para el fraccionamiento del FOP es debido a la capacidad de purificar proteínas con capacidad de endurecimiento de la ZP observada en estudios realizados con FOB (Mondéjar *et al.*, 2013), y a que también se sabe que la proteína OVGP1 tiene grupos arginina y lisina que han sido descritos como sitios de unión a la heparina (Kouba *et al.*, 2000).

Dos mililitros de FO prepúber y 2ml de FO de hembras adultas periovulatorias se mezclaron con inhibidor de proteasas y se centrifugaron a 4°C y a 6000 rpm durante 9 minutos. El sobrenadante ambas muestras se recogió y se diluyó en 5ml mililitros de tampón de equilibrado compuesto por Tris-HCl 100mM y ácido cítrico 10mM a 7.4 de pH. Para el mantenimiento de la columna, mientras no se utiliza, se conserva con una solución de almacenamiento, que hay que eliminar antes de su uso, para esto se hicieron pasar 7ml, que es el volumen muerto de la columna, de tampón de equilibrado

puro a una velocidad de 1ml/minuto y después la muestra a la misma velocidad de 1ml/minuto.

La parte de la muestra que no se une a la heparina en la columna se puede ver en el monitor como picos de elución, y esta fracción libre se observa gracias a que el aparato integra un espectrofotómetro.

Una vez que la muestra estaba introducida por completo en la columna se fue pasando tampón de equilibrado hasta observar absorbancias similares a las iniciales con este tampón. Así nos aseguramos el lavado de la columna y la elución de todo aquello que no se une a heparina.

Con la columna lavada se pasó por ésta un tampón de elución formado por Tris-HCl 100mM, NaCl 2M, ácido cítrico 10mM con un pH de 7.4 durante 60 minutos con el fin de separar las distintas proteínas del FO en función de su afinidad por la heparina, la cual se determinaba por la concentración de NaCl necesaria para separarlos, medido por un gradiente desde 0 a 2M de NaCl. Las distintas fracciones que contenían proteínas con afinidad por heparina se recogieron en fracciones de 1ml a partir de una concentración de NaCl determinada. Esto se pudo visualizar en el monitor como picos de elución medido mediante el espectrofotómetro. Cada fracción obtenida de la columna que contenían proteínas con afinidad por heparina se filtró usando filtros de 10 kilo-Dalton (kD) (Amicon Ultra 0.5ml Ultracel 10K membrane. Millipore), de ese modo eliminamos las sales procedentes del tampón de elución. A cada fracción se le realizó un lavado con 1ml de PBS centrifugando a 9000 rpm durante 20 minutos. Las muestras se concentraron por centrifugación con el microcon hasta un volumen de 350µl.

Posteriormente, se cuantificaron las proteínas de cada fracción mediante el método colorimétrico con el reactivo de Bradford (Sigma-Aldrich, Madrid, España. Código: B6916) siguiendo las instrucciones del fabricante, y realizando la medición colorimétrica con un espectrofotómetro, a 595 nm de longitud de onda. Se realizó una recta patrón de concentraciones conocidas con la proteína BSA. La concentración de las muestras fue calculada mediante el programa GraphPadPrism 4.0.

5.7. Análisis proteómico

El análisis proteómico se realizó en muestras de FOP de hembras prepúberes, de hembras adultas en fase periovulatoria y de hembras adultas en fase luteal tardía que previamente habían sido fraccionadas mediante cromatografía en fase fluida en columna de afinidad por heparina.

También se analizaron por proteómica los “spots” recortados de los geles de electroforesis que habían sido teñidos con azul de Coomassie (*Page blue protein staining solution*. ThermoScientific. Rockford, EE. UU.).

5.7.1. Procesamiento de muestras de fluido oviductal para análisis proteómico

El procesamiento de las muestras de FO se realizó según el protocolo (Proc *et al.*, 2010), con las siguientes modificaciones: se desnaturalizó la muestra diluida 10 veces en meta bicarbonato de amonio 25mM, con la misma cantidad de desoxicolato sódico al 10% y se hirvió durante 5 minutos. Posteriormente las muestras se diluyeron en meta bicarbonato de amonio 25mM y se redujeron con Tris (2- carboxietil) fosfina, y se mantuvo la reacción a 60°C durante 30 minutos. Las muestras se alquilaron con

iodoacetamida 100mM a 37°C durante 30 minutos en oscuridad, se alquilan los átomos de azufre para que la proteína no se renaturalice.

5.7.2. Análisis proteómico de las manchas

Las manchas recortadas de los geles SDS-PAGE que habían sido teñidas, fueron desteñidas y tratadas para la reducción de sus puentes disulfuro mediante tampón meta bicarbonato de amonio 25mM de pH 8.5 con 25mM DDT y, posteriormente lavadas en un medio de iodoacetamida, que es un tampón de bicarbonato amoniaco 25mM, pH 8.5 con 55mM iodoacetamida.

Las muestras, procedentes tanto del FO como de las manchas seleccionados, se mantuvieron en un medio con tripsina y potenciador de la actividad proteolítica (tampón ABC, pH 8.5, con *Protease Max surfactante* 0.01% y 2% de tripsina), durante 10 minutos a TA.

La digestión se mantuvo durante 3 horas a 37°C y, cuando finalizó, se paró la actividad enzimática mediante solución de trifluoroacético (TFA) 0.5%, y las muestras se lavaron en un medio con 0.5% de TFA y 50% de acetonitrilo durante 30 minutos a 37°C. Una vez tripsinizadas las muestras, se separaron y analizaron las digestiones por HPLC (HPLC Modelo serie 1100 de *Agilent Technologies*. Santa Clara. CA. EEUU).

El equipo de HPLC consta de un muestreador capilar, un inyector termostatzado automático, un detector de diodo array (DAD) y un aparato termostatzado para las columnas. El cromatógrafo se conecta a un espectrómetro de masa tipo trampa de iones Trap XCT Plus por una interfase tipo electrospray (EIS). Finalmente, los datos obtenidos fueron analizados por el software *LC/MSD Trap Data Analysis Version 3.3* (BrukerDaltonik, GmbH. Alemania).

5.7.3 Análisis de datos LC-MS/MS

Se usó la base de datos del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) y un *software SpectrumMill* (Agilent technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.). Para la selección y el descarte en la identificación de los péptidos el software ofrece dos valoraciones, la primera basada en la precisión y en la intensidad de la señal (score), y la segunda basada en la cantidad de señales que se detectan en cada fragmento, experimentalmente, en relación con el número de señales teóricas que se deberían producir o índice de precipitación estandarizada (SPI). Se consideran aceptables aquellos péptidos con valores de score superiores a 5.0 y un SPI mayor del 70%. De todas las proteínas detectadas, en este estudio, se consideraron aquellas con número de péptidos igual o superior a 1.

5.7.4. Análisis bioinformático

La herramienta bioinformática que se empleó para la clasificación funcional de las proteínas obtenidas por análisis proteómico fue el DAVID (<https://david.ncifcrf.gov/>) (Huang *et al.*, 2009), Paralelamente, se realizó un análisis de redes de interacción de proteínas con el fin de obtener información de relaciones físicas y funcionales predichas para las proteínas diferencialmente expresadas. El primer análisis de redes se realizó en STRING v.11 (<https://string-db.org/>) (Szklarczyk *et al.*, 2019), que proporciona información sobre interacciones experimentales y predichas de diversas fuentes

basadas en vecindad, fusión de genes, co-ocurrencia, co-expresión, datos experimentales y minería de datos en literatura.

5.7.5. Análisis estadístico

Todos los geles se compararon entre sí y los valores de *fold change*, así como los valores de P de todos los “spots” se calcularon en el software SameSpots utilizando un análisis ANOVA de una vía. Se consideraron diferenciales a los spots de proteínas con un valor de $P < 0,01$ y una variación de abundancia absoluta (*fold change*) > 2 . Se realizó un Análisis de Componentes Principales (PCA) dentro del software SameSpots con los valores del volumen de los spots considerados diferenciales.

5.8. Diseño experimental

Este trabajo se desarrolló en cuatro etapas con el objetivo de realizar un estudio analítico, comparativo y funcional de las proteínas contenidas en el FO de distintas especies animales y en distintas fases reproductivas.

5.8.1. Etapa 1. Análisis de la composición del fluido oviductal porcino de hembras prepúberes y adultas en distintas fases del ciclo estral

El objetivo en esta etapa es hacer un estudio de las proteínas que contiene el FOP haciendo una comparación entre las distintas fases reproductivas, desde hembras prepúberes, hasta adultas en fase periovulatoria y luteal, haciendo, para ello, un fraccionamiento del fluido mediante cromatografía en fase líquida y columna de afinidad por heparina y un posterior análisis proteómico de cada una de las fracciones (Fig. 5.5)

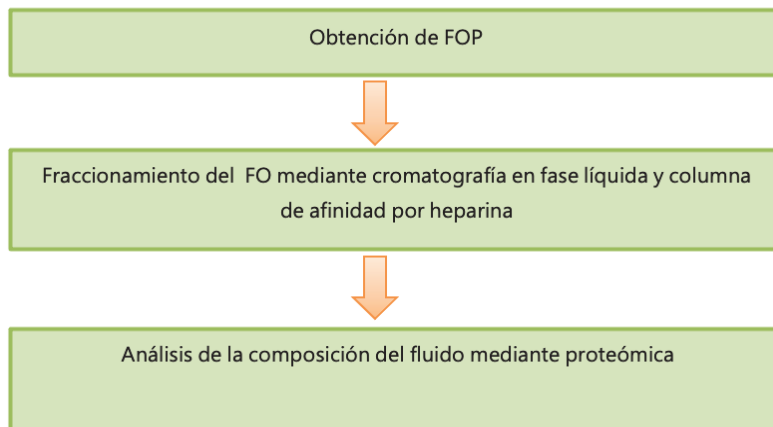


Figura 5.5. Esquema de la etapa 1 del diseño experimental

5.8.2. Etapa 2. Efecto de las fracciones del fluido oviductal porcino sobre el endurecimiento de la zona pelúcida en ovocitos porcinos.

El objetivo de esta segunda etapa es intentar determinar la fracción del FO que produce el endurecimiento en la ZP de los ovocitos, comparando si la misma fracción en distintas fases del ciclo reproductivo de hembras porcinas produce este efecto. Posteriormente, determinar la presencia de OVGP1 en estas fracciones, mediante

electroforesis y Western Blot, ya que se sabe que es una proteína implicada en el endurecimiento (Coy *et al.*, 2008a; Algarra *et al.*, 2016). También, realizar un análisis comparativo entre fracciones de los fluidos de las distintas fases mediante análisis proteómico tal y como se resume en la figura (Fig. 5.6).

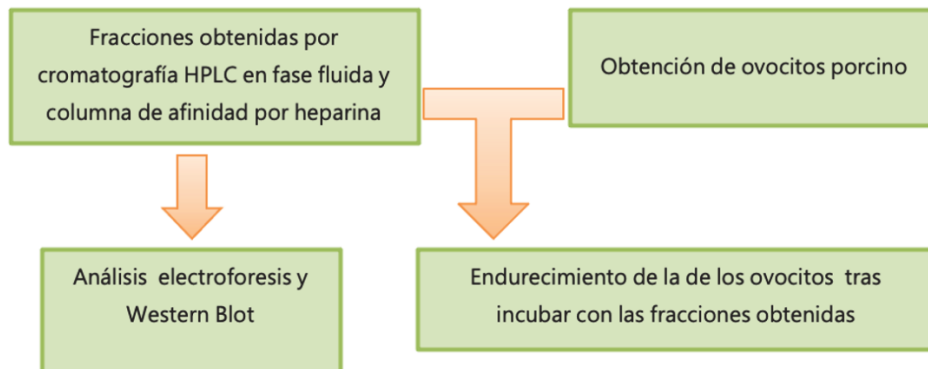


Figura 5.6. Esquema de la etapa 2 del diseño experimental

5.8.3. Etapa 3. Análisis comparativo de la composición del fluido oviductal de vaca y coneja.

En esta etapa del estudio del FO, se realizó un análisis comparativo de la composición del FO de vaca y coneja tal y como se esquematiza en la figura (Fig. 5.7)

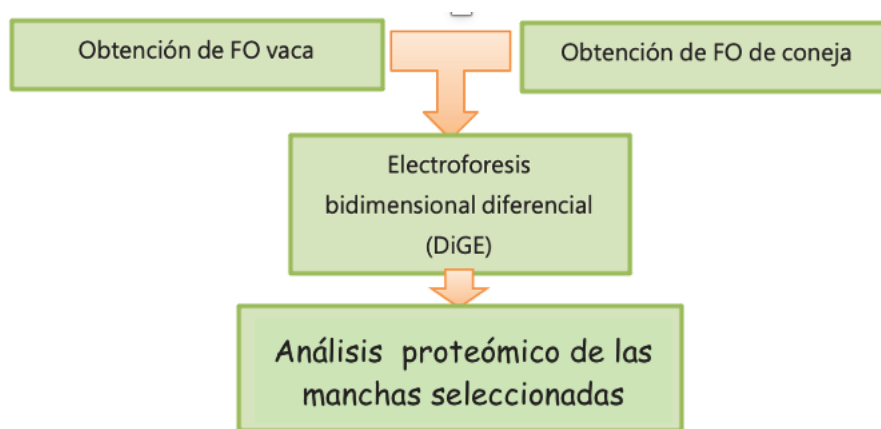


Figura 5.7. Esquema de la etapa 3 del diseño experimental.



VI. RESULTADOS

6.1. Composición proteica del fluido oviductal porcino

6.1.1. Composición proteica del fluido oviductal porcino completo de hembras adultas en fase periovulatoria

El análisis proteómico del FOP completo de hembras adultas en fase periovulatoria ha identificado la presencia de 192 proteínas. El listado completo de las mismas se puede consultar en el Anexo 1.

El análisis de los datos nos indica la existencia de diferentes grupos funcionales de proteínas que se mencionan a continuación y que se pueden observar en la siguiente tabla (Tabla 6a). Los diferentes grupos funcionales son: factores de crecimiento, citoquinas, receptores e inhibidores, proteasas e inhibidores, protección antioxidante, agente de defensa, glicosidasas y glicosiltransferasas; otros enzimas; chaperonas y proteínas del estrés o choque térmico denominadas también *Heat Shock Proteins* (HSP), proteínas del plasma y de la sangre y otras proteínas. El grupo denominado otras proteínas incluye a proteínas localizadas celularmente en diferentes regiones por lo que se las clasifica a su vez como proteínas: nucleares, citoplasmáticas, componentes de la membrana plasmática, secretadas y de localización múltiple. Estas últimas son proteínas que se han descrito en varias zonas de la célula y de las que se carece de información más precisa para incorporarlas en alguno de los grupos previos. Las 18 proteínas secretadas son: serum albumin (otras proteínas: secretada), serotransferrin (otras proteínas: secretada), complement C3 (otras proteínas: secretada), haptoglobin (otras proteínas: secretada), Inter-alpha trypsin inhibitor heavy chain H4 (otras proteínas: secretada), glutathione S-transferase P (otras proteínas: secretada), osteopontin (otras proteínas: secretada), alpha 1- antitrypsin (otras proteínas: secretada), plasminogen (otras proteínas: secretada), transthyretin (otras proteínas: secretada), antileukoproteinase (otras proteínas: secretada), lactotransferrin (otras proteínas: secretada), inter-alpha trypsin inhibitor heavy chain H2 (otras proteínas: secretada), alpha-2-HS glycoprotein (otras proteínas: secretada), hemopexin (otras proteínas: secretada), Inter-alpha trypsin inhibitor heavy chain H1 (otras proteínas: secretada), trypsin (otras proteínas: secretada), vitronectin (otras proteínas: secretada) y inhibitor of carbonic anhidrase (otras proteínas: secretada).

De las 21 proteínas con localización múltiple, 9 de ellas son también secretadas. Estas 9 proteínas son: isoform 2 of gelsolin (otras proteínas: localización múltiple), annexin A2 (otras proteínas: localización múltiple), apolipoprotein A-1 (otras proteínas: localización múltiple), clusterin (otras proteínas: localización múltiple), peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A (otras proteínas: localización múltiple), leukocyte elastase inhibitor (otras proteínas: localización múltiple), thioredoxin (otras proteínas: localización múltiple), Galectin-1 (otras proteínas: localización múltiple) y high mobility group protein B1 (otras proteínas: localización múltiple).

Tabla 6a. Clasificación funcional de las proteínas identificadas en el FOP de hembras adultas en fase periovulatoria.

FUNCIÓN PROTEICA	NÚMERO DE PROTEÍNAS IDENTIFICADAS
Factores de crecimiento, citoquinas, receptores e inhibidores	6
Proteasas e inhibidores	23
Protección antioxidante	16
Agente de defensa	11

FUNCIÓN PROTEICA		NÚMERO DE PROTEÍNAS IDENTIFICADAS
Glicosidasas y glicosiltransferasas		7
Otros enzimas		45
Chaperonas y HSP		12
Proteínas del plasma y de la sangre		4
Otras proteínas		
	Citoplasmáticas	35
	Componentes de membrana plasmática	4
	Secretadas	18
	Localización múltiple	21
Total		192

Tal y como se muestra en la tabla 6a el grupo de otras enzimas es el mayoritario detectado en el FOP adulto en fase periovulatoria.

6.1.2. Composición proteica del fluido oviductal porcino fraccionado mediante cromatografía en fase fluida y columna de afinidad por heparina de hembras en fase prepúber y hembras adultas en fase periovulatoria y luteal

El seguimiento del fraccionamiento del FOP mediante cromatografía de afinidad a heparina se puede realizar mediante la observación de la imagen del procesamiento realizado en el FPLC de la porción de muestra retenida en la columna. La imagen ofrecida por las muestras de FOP se pueden observar en las figuras 6.1 (prepúber), 6.2 (periovulatorio) y 6.3 (luteal). En las mismas se puede observar cómo en el cromatógrafo en fase fluida y columna de afinidad por heparina separan las diferentes fracciones de elución a diferentes concentraciones determinadas de NaCl.

En las diferentes imágenes del fraccionamiento del FOP, el eje de ordenadas nos muestra la conductividad en mAU y por lo tanto, la cantidad de proteínas que se van eluyendo (línea azul) según se va incrementando la concentración de NaCl en el medio de elución (línea color marrón). La conductividad del NaCl expresada en mS/cm se muestra en el eje de ordenadas de la izquierda. El eje de abscisas muestra las diferentes fracciones eluidas numeradas respecto al tiempo. El volumen total de cada una de las fracciones eluidas es de 1ml.

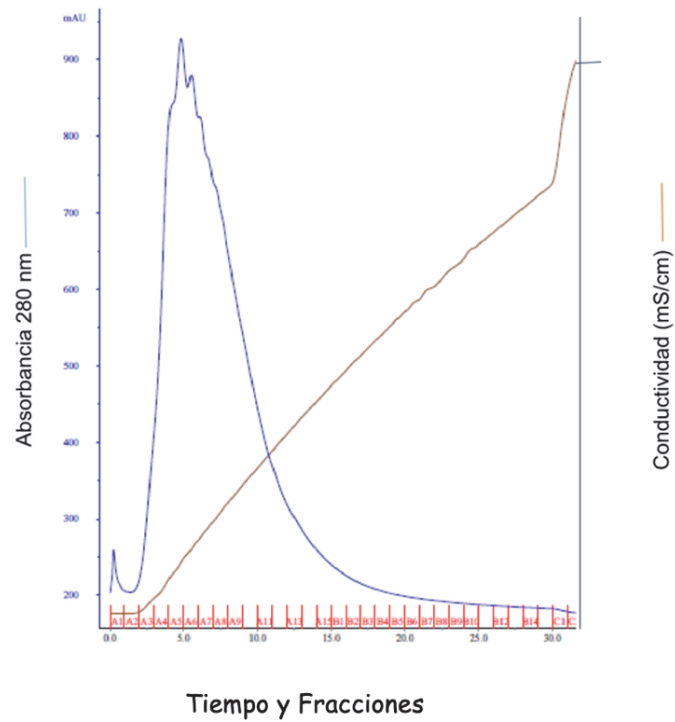


Figura 6.1. Gráfico de fraccionamiento y elución de una muestra de 2ml de FOP de hembras prepúberes.

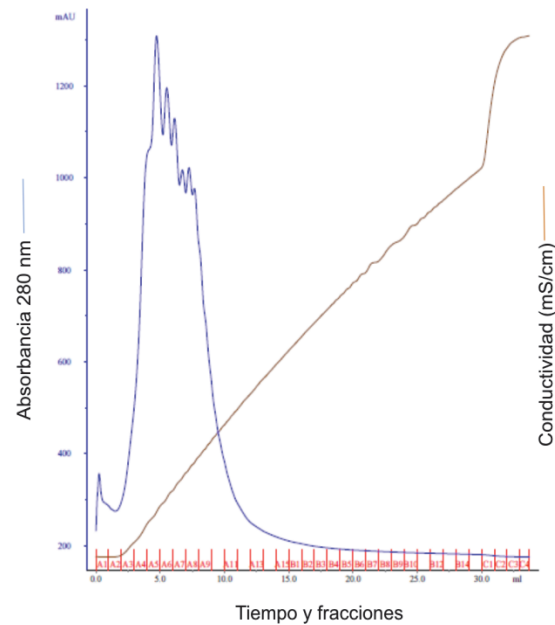


Figura 6.2. Gráfico de fraccionamiento y elución de una muestra de 2ml de FOP de hembras adultas en fase periovulatoria.

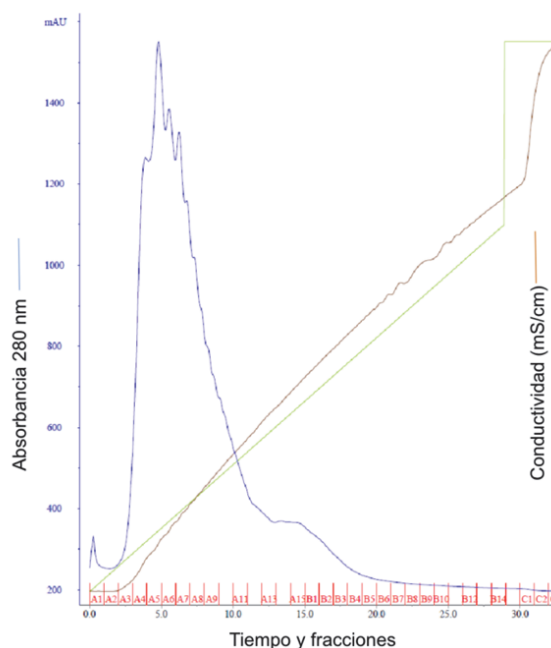


Figura 6.3. Gráfico de fraccionamiento y elución de una muestra de 2ml de FOP de hembras adultas en fase luteal tardía.

Para el objetivo propuesto en este trabajo nos centramos en el estudio de aquellas fracciones en las que se eluyen mayor cantidad de proteínas y aquellas en las que es probable la existencia de proteínas responsables del endurecimiento de la ZP, como la OVG1, que ha sido previamente descrita como uno de los responsables del endurecimiento de la ZP en bovino (Coy *et al.*, 2008a). Dado a que la OVG1 tiene afinidad a la heparina y se ha descrito previamente por Kouba *et al.* (2000) su separación de esta y su elución a una concentración de 0,4M de NaCl, seleccionamos las fracciones numeradas del 5 al 9 en la muestra de FOP prepúber y FOP adulto periovulatorio y las muestras numeradas del 6 al 9 en el FOP de hembras adultas en fase luteal tardía.

En la Tabla 6b se pueden observar las proteínas identificadas y su presencia comparada en los diferentes tipos de FOP analizados. La clasificación funcional de las proteínas obtenidas se puede observar con mayor detalle en el Anexo 2.

Tabla 6b. Identificación de proteínas en las fracciones con mayor concentración proteica, obtenidas de la columna de heparina por MS/MS en los diferentes tipos de FOP utilizados: prepúber, adulto periovulatorio y adulto luteal tardío. Se indican los péptidos obtenidos en cada tipo y fracción de fluido. Siendo FOPP: FOP prepúber; FOPPR: FOP adulto en fase periovulatoria y FOPL: FOP adulto en fase luteal.

PROTEÍNA	CÓDIGO	FOPP	FOPPR	FOPL
Heat shock protein HSP 90-alpha (Chaperonas y HSP)	O02705	4	4	4
Endoplasmín (Chaperonas y HSP)	Q29092	3	2	0
T-complex protein 1 subunit beta (Chaperonas y HSP)	D0G0C8	0	2	0
T-complex protein 1 subunit delta (Chaperonas y HSP)	F1SQN1	0	2	0

PROTEÍNA	CÓDIGO	FOPP	FOPPR	FOPL
Sialoadhesin (Agente de defensa)	A7LCJ3	0	2	0
Heparanase precursor (otras enzimas)	F1RVE1	0	2	0
Endothelin B receptor precursor (Receptor hormonal)	P35463	2	0	0
Oviduct-specific glycoprotein precursor (quitinasa)	Q28990	5	22	3
Poly [ADP-ribose] polymerase 6 isoform X15 (otras enzimas)	F1SHL9	2	2	2
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-like, partial (otras enzimas)	P00355	2	2	2
Aldolase C, fructose-bisphosphate (otras enzimas)	FIRJ25	0	4	0
Proteindisulfide-isomerase A3 precursor	A0A480PEQ3	0	3	0
Elongation factor 1-alpha 1 (otras enzimas)	Q4QZ00	2	2	4
Ubiquitin-protein ligase E3A isoform 2 (otras enzimas)	F1SNS1	0	3	0
Endoribonuclease Dicer (otras enzimas)	I3L6Y9	0	2	0
Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 7 (otras enzimas)	F1RT88	0	0	2
Cartilage intermediate layer protein 1 (Otras proteínas: secretada)	F1SJL4	0	2	0
Lactotransferrin (Otras proteínas: secretada)	P14632	2	0	0
Gelsolin (Otras proteínas: citoesqueleto)	P20305	0	2	0
Ezrin (Otras proteínas: citoesqueleto)	A0A480QKX9	0	2	0
Tubulin alpha-1B chain (Otras proteínas: citoesqueleto)	Q2XVP4	0	3	0
Tubulin beta-4B chain isoform X2 (Otras proteínas: citoesqueleto)	A0A480KFN3	0	2	0
Annexin A2 isoform X1 (Otras proteínas: citoesqueleto)	A0A480XQ55	0	0	3
Meiosis inhibitor protein 1-like, partial (Otras proteínas: núcleo)	Q5TIA1	0	2	0
Serine/arginine repetitive matrix protein 2 (Otras proteínas: localización múltiple)	I3LCW3	0	2	0
Fibrous sheath-interacting protein 2, partial (No caracterizada)	F1RYK8	0	2	3
Total proteínas		8	22	12

En el Anexo 3 se pueden consultar las proteínas determinadas mediante MS/MS en las diferentes fracciones obtenidas del FOP prepúber. De este fluido se analizaron las fracciones 6, 7, 8 y 9, por ser donde mayor cantidad de proteínas esperábamos eluir de la columna de heparina, y a un rango de concentración de NaCl al que se esperaba obtener la proteína OVGP1. En el FOP prepúber las fracciones 6, 7, 8 y 9 mostraron 26, 13, 70 y 6 proteínas respectivamente.

En el anexo 4 se pueden consultar las proteínas determinadas mediante MS/MS en las diferentes fracciones desde la 3 hasta la 12 del FOP de hembras en fase periovulatoria. De esta fase se analizaron todas las fracciones en las que se podían identificar proteínas, para establecer diferencias con los datos obtenidos del FOP de la misma fase sin fraccionar. En el FOP de hembras adultas en fase periovulatoria las fracciones 6, 7, 8 y 9 mostraron 29, 72, 67 y 54 proteínas respectivamente.

En el anexo 5 se pueden consultar las proteínas determinadas mediante MS/MS en las diferentes fracciones 6, 7, 8, y 9 del FOP de hembras en fase luteal. En estas fracciones 6, 7, 8 y 9 se identificaron 123, 109, 66 y 59 proteínas respectivamente.

Algunas de las proteínas identificadas en las fracciones del FOP también pueden encontrarse en las fracciones de FOP periovulatorio y/o luteal (Tabla 6c)

Tabla 6c. Proteínas encontradas en FO prepúber que también aparecen en otras fases.

PROTEINAS	FRACCIONES FO PREPUBER	FRACCIONES FO PERIOVULATORIO	FRACCIONES FO LUTEAL
Aldolase C, fructose-bisphosphate	6, 7	6	
Armadillo repeat-containing protein 2 isoform X1	6	6	6
Cartilage intermediate layer protein 1	8	8	
Clim2	8	8	
DNA repair protein RAD51 homolog 3 isoform X1	9	9	
Elongation factor 1-alpha 1	8	7, 8	8
Elongation factor 2	6, 7	6	
Endoplasmin precursor	8	7, 8	
Ezrin	7	7	
Ezrin-like	7	6	7, 8
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	6		6
Heat shock 70 kda protein	8	8	
Heat shock protein HSP 90-alpha	6, 8		6
Oviduct-specific glycoprotein	7, 8, 9	7, 8, 9	7, 8, 9
Peptidylprolyl isomerase domain and WD repeat-containing protein 1	8	8	

PROTEINAS	FRACCIONES FO PREPUBER	FRACCIONES FO PERIOVULATORIO	FRACCIONES FO LUTEAL
Tubulin alpha-1B chain	8	8	
Tubulin polymerization-promoting protein family member 3 isoformx1	7	6, 7	6, 7
Vasoactive intestinal polypeptide receptor 2 precursor	6		7

La coincidencia de proteínas encontradas en esta fase es muy baja, solamente 15 proteínas detectadas en la fase prepúber se identifican también en el FO de la fase periovulatoria. y solamente 8 coinciden en la fase luteal. Todas las demás proteínas, hasta las 115 encontradas, son exclusivas de la fase prepúber (Fig. 6.4).

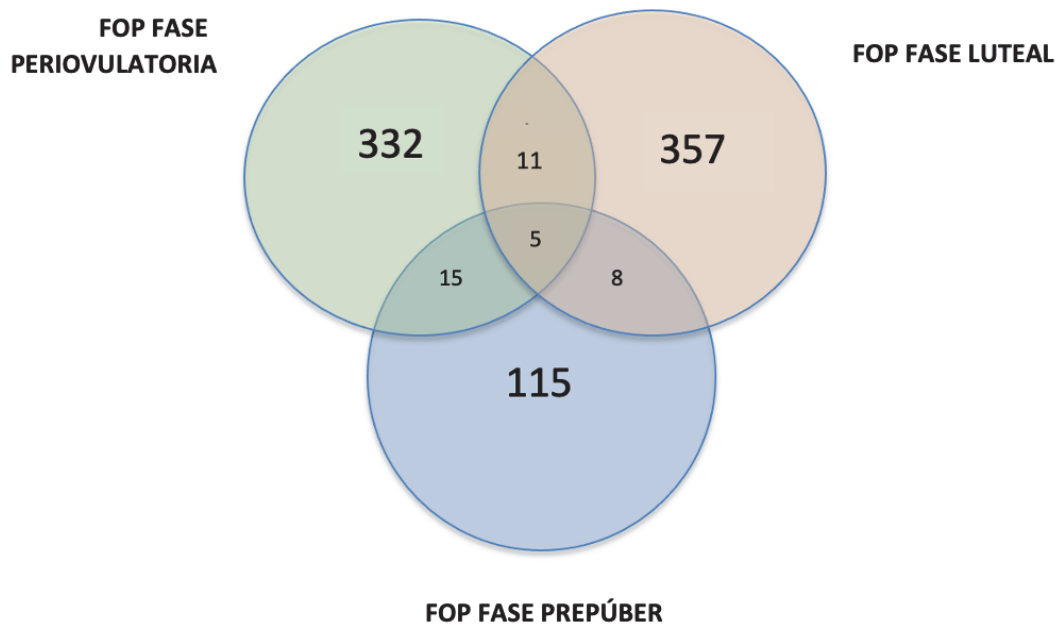


Figura 6.4. Distribución de proteínas identificadas en el líquido oviductal porcino en las distintas fases del ciclo estral.

La OVGP1 aparece en las 3 fracciones del FOP prepúber, en 3 fracciones del FOP periovulatorio y en 3 fracciones de FOP luteal, en las que se ha detectado distintas cantidades de péptidos (Tabla 6d).

Tabla 6d. Número de péptidos y score de OVGP1 en cada una de las fracciones analizada de FOP en todas las fases (prepúber, periovulatoria y luteal).

FRACCIONES	FOP PREPÚBER		FOP PERIOVULATORIO		FOP LUTEAL	
	PEPTIDOS	SCORE	PEPTIDOS	SCORE	PEPTIDOS	SCORE
7	1	8,00	8	99,31	1	7,30
8	2	26,08	7	77,94	1	11,42
9	3	28,86	5	73,89	3	25,52

Mediante la herramienta bioinformática DAVID se estableció una relación funcional de las proteínas identificadas en cada una de las fracciones. De este modo para cada fracción se obtuvo un número de clústers, y cada clúster contiene un número de funciones.

Con las proteínas descritas en la fracción 6 de FOP de hembras prepúberes el programa estableció 2 clúster mayoritarios. Las funciones incluidas en estos clústers fueron, en su mayoría, procesos y rutas metabólicas y su regulación. El programa DAVID estableció la mayor relación funcional para GAPDH, IRAK3, FGFR4, ALDOC y PGK1 (Fig. 6.5).

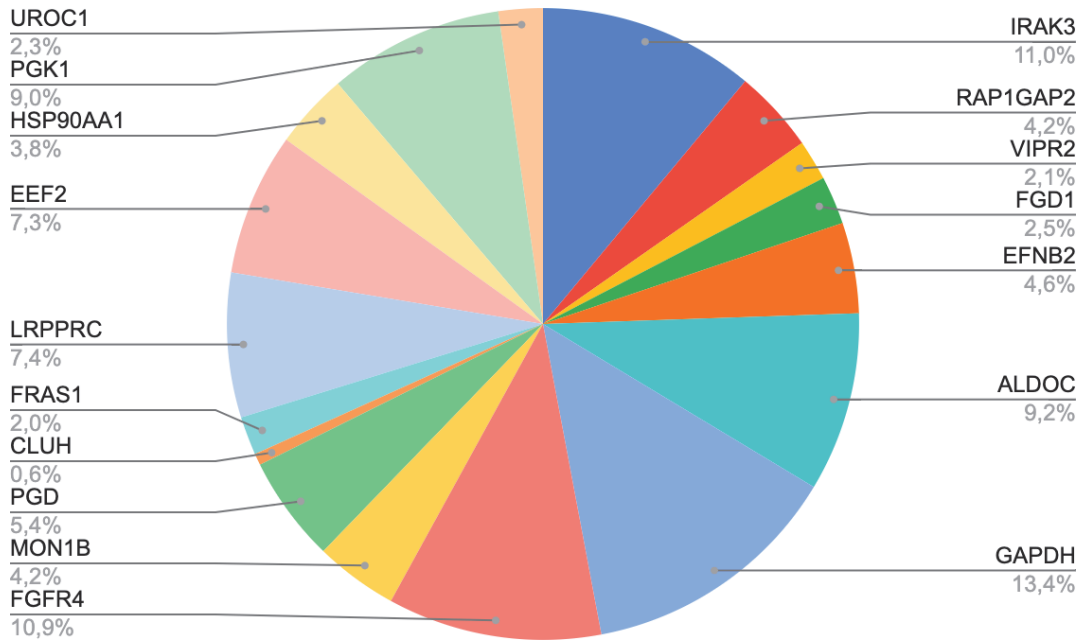


Figura 6.5. Gráfico que muestra porcentaje de funciones con las que el programa DAVID relaciona a cada proteína de la fracción 6 de FOP prepúber.

Las 13 proteínas reconocidas por el programa DAVID de las descritas en la fracción 7 prepúber dan lugar por la relación funcional que las vincula mediante dos clústers que tienen que ver con funciones de biosíntesis y rutas metabólicas. El diagrama de sectores muestra la participación de cada proteína según la cantidad de funciones con el que el programa las relaciona (Fig. 6.6).

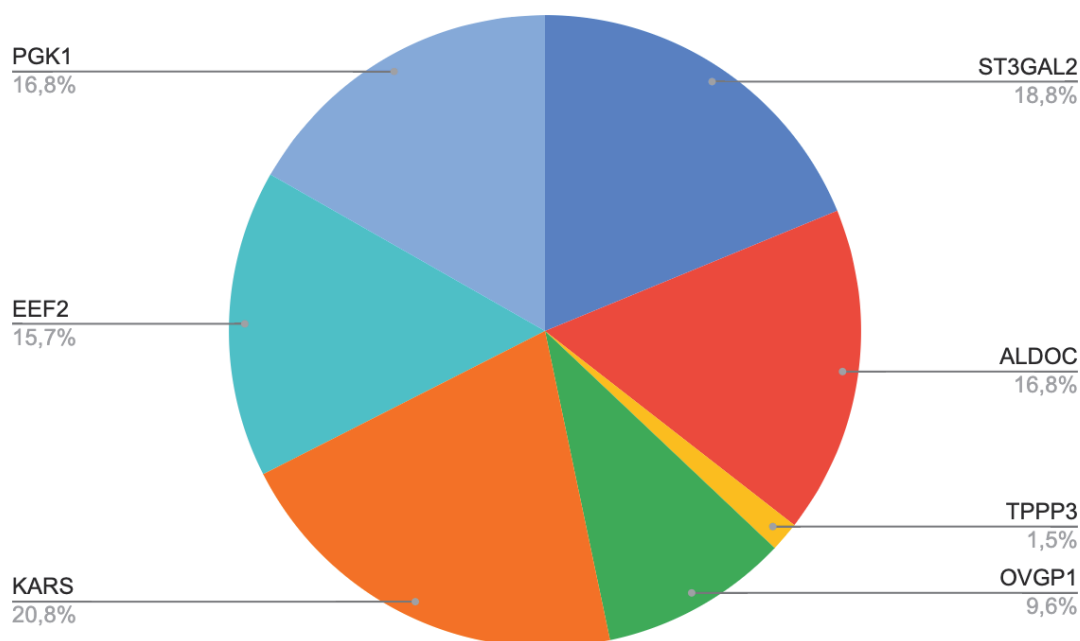


Figura 6.6. Gráfico que muestra el porcentaje de participación en funciones de cada proteína de la fracción AP7.

El resultado del análisis funcional de las 96 proteínas identificadas en la fracción 8 de FOP prepúber establece 41 grupos o clústers. Los clústers con mayor número de funciones implicadas y por tanto con mayor cantidad de proteínas relacionadas son el clúster 5 y el clúster 8, el primero incluye funciones de desarrollo, regulación y respuestas a estímulos, y clúster 8 funciones que se relacionan con procesos catabólicos, apoptosis y su regulación.

En esta fracción, el clúster 10 está relacionado con la reproducción, donde se incluyen las siguientes funciones (Tabla 6e)

Tabla 6e. Proteínas implicadas en cada función del clúster 10 en la fracción AP8.

FUNCIÓN	Nº	PROTEÍNAS IMPLICADAS
Regulation of multi-organism process	7	Vacuolar protein sorting 4 homolog A (VPS4A)
		Myostatin (MSTN)
		Poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C) (NECTIN1)
		Poly (rc) binding protein 2 (PCBP2)
		Rho GDP dissociation inhibitor beta (ARHGDI3)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		Zona pellucida glycoprotein 2 (ZP2)
Reproductive process	6	Cytochrome P450 17A1 (CYP17A1)
		Amyloid beta precursor protein (APP)

FUNCIÓN	Nº	PROTEÍNAS IMPLICADAS
		Sirtuin 1 (SIRT1) Rho GDP dissociation inhibitor beta (ARHGDIB) Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) Zona pellucida glycoprotein 2 (ZP2)
Reproductive	6	Cytochrome P450 17A1 (CYP17A1) Amyloid beta precursor protein (APP) Sirtuin 1 (SIRT1) Rho GDP dissociation inhibitor beta (ARHGDIB) Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) Zona pellucida glycoprotein 2 (ZP2)
Cell recognition	5	Fc fragment of igg, high affinity Ia, receptor (CD64) (FCGR1A) Poliovirus receptor-related 1 (herpesvirus entry mediator C) (NECTIN1) Amyloid beta precursor protein (APP) Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) Zona pellucida glycoprotein 2 (ZP2)
Multi-organism reproductive process	5	Amyloid beta precursor protein (APP) Sirtuin 1 (SIRT1) Rho GDP dissociation inhibitor beta (ARHGDIB) Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) Zona pellucida glycoprotein 2 (ZP2)
Negative regulation of multi-organism process	4	Poly(rc) binding protein 2 (PCBP2) Rho GDP dissociation inhibitor beta (ARHGDIB) Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) Zona pellucida glycoprotein 2 (ZP2)
Sexual reproduction	4	Amyloid beta precursor protein (APP) Sirtuin 1 (SIRT1) Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) Zona pellucida glycoprotein 2 (ZP2)
Single organism reproductive process	4	Sirtuin 1 (SIRT1) Rho GDP dissociation inhibitor beta (ARHGDIB) Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) Zona pellucida glycoprotein 2 (ZP2)

FUNCIÓN	Nº	PROTEÍNAS IMPLICADAS
Negative regulation of reproductive process	3	Rho GDP dissociation inhibitor beta (ARHGDI B)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		Zona pellucida glycoprotein 2 (ZP2)
Regulation of reproductive process	3	Rho GDP dissociation inhibitor beta (ARHGDI B)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		Zona pellucida glycoprotein 2 (ZP2)

La proteína OVGP1 y la ZP2, aparecen en todas las funciones identificadas del cluster 10. Otras proteínas que aparecen de modo mayoritario son: ARHGDI B, SIRT1 y APP.

Son 10 las proteínas incluidas en esta asociación funcional de carácter reproductivo, cada una de ellas involucradas en mayor o menor cantidad de funciones (Fig. 6.7).

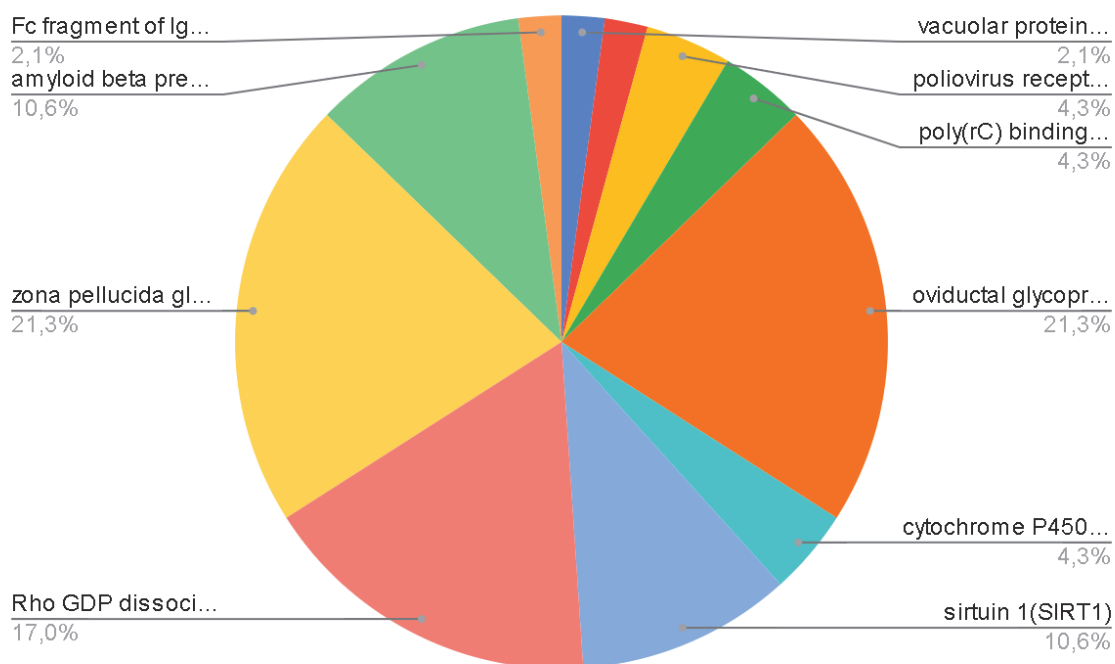


Figura 6.7. Gráfico de sectores que muestra la participación de cada proteína en las funciones establecidas por el programa DAVID.

Las 4 proteínas reconocidas por el programa DAVID de las descritas en la fracción 9 de FOP prepúber, OVGP1, WEE2, RAD51C, dan lugar por su relación funcional a 1 solo clúster con 10 funciones. Las proteínas se relacionan en funciones metabólicas y reproductivas.

Las 16 proteínas reconocidas por el programa DAVID de las descritas en la fracción 6 de FOP perioovulatorio dan lugar por su relación funcional a 2 clúster, siendo el primero el que más número de funciones engloba con 94 funciones relacionadas mayormente con procesos metabólicos y su regulación, cada proteína es participe en mayor o menor cantidad de funciones (Fig. 6.8).

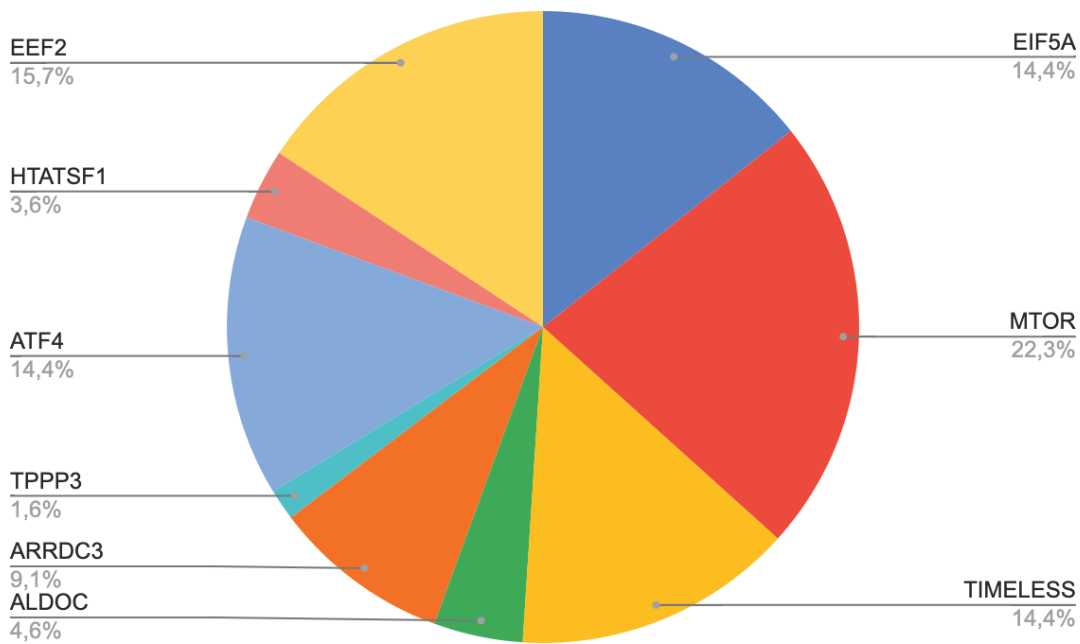


Figura 6.8. Gráfico que muestra la participación de cada proteína en las funciones establecidas por el programa DAVID.

Las 35 proteínas reconocidas por el programa DAVID de las descritas en la fracción 7 de FOP periovulatorio, dan lugar por su relación funcional a 10 clústers. Los clústers que engloban mayor número de funciones con más proteínas implicadas de las identificadas en el análisis proteómico son el clúster 8, que está relacionado con procesos celulares de biosíntesis y regulación y, el clúster 3 relacionado con procesos metabólicos. Las proteínas que participan en mayor número de funciones son FBP1, CDK12, AKAP12, HSP90B1, HIVEP2 (Fig 6.9)

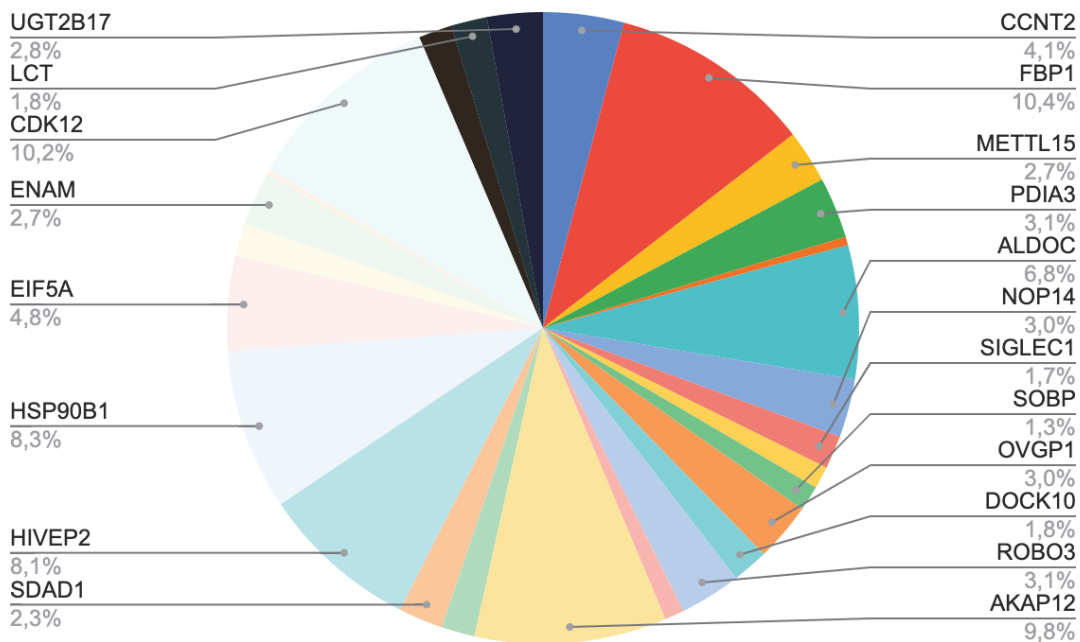


Figura 6.9. Gráfico de sectores que muestra el porcentaje de participación de las distintas proteínas de la fracción 7 de FOP periovilatorio, en las funciones descritas relacionadas con la reproducción.

Son 64 proteínas las reconocidas por el programa DAVID de las descritas en la fracción 8 de FOP periovilatorio, dan lugar por su relación funcional a 27 clústers. El más extenso en funciones es el clúster 14 y seguido del clúster 8. El primero engloba funciones de respuesta a estímulos, procesos de desarrollo celular, expresión génica y su regulación. El clúster 8 engloba procesos de adhesión celular y respuesta inmune. Las proteínas que participan en mayor número de proteínas en estos clústeres son MAPK1, STAT5B, LDB1, CTGF, ITGB1 (Fig. 6.11).

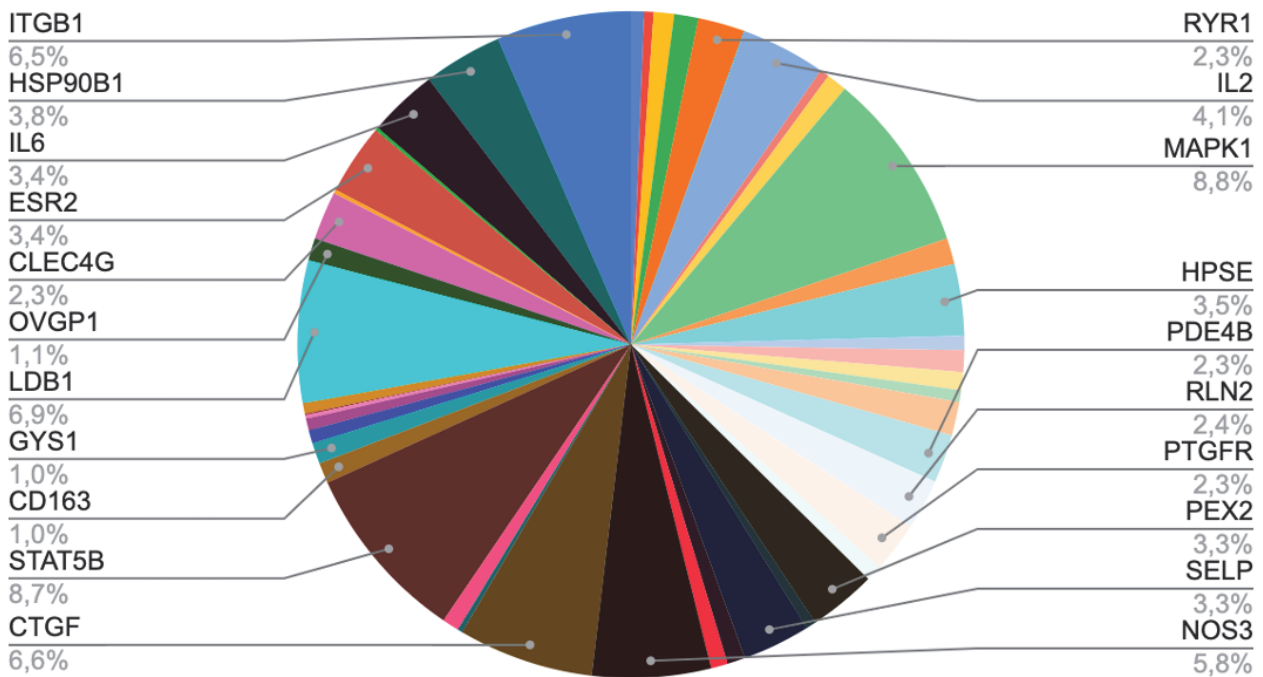


Figura 6.11. Gráfico de sectores que muestra el porcentaje de participación de las distintas proteínas de la fracción 8 del FOP periovilatorio en las funciones descritas relacionadas con la reproducción.

La clasificación establece un clúster relacionado con la reproducción. Es el clúster 4 y que incluye 44 funciones (Tabla 6f).

Tabla 6f. Funciones contenidas en el clúster 4 tras el análisis funcional de las proteínas identificadas en la fracción AA8.

GENE ONTOLOGY	FUNCIÓN	Nº PROTEÍNAS IMPLICADAS
GO:0051704	Multi-organism process	13
GO:0044702	Single organism reproductive process	9
GO: 0022414	Reproductive process	9
GO:0000003	Reproduction	9
GO:0044703	Multi-organism reproductive process	8
GO:0042592	Homeostatic process	8
GO:0048609	Multicellular organismal reproductive process	7

GENE ONTOLOGY	FUNCIÓN	Nº PROTEÍNAS IMPLICADAS
GO:0032504	Multicellular organism reproduction	7
GO:0019953	Sexual reproduction	7
GO:0045944	Positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	7
GO:0040007	Growth	7
GO: 0002520	Immune system development	7
GO:0051247	Positive regulation of protein metabolic process	7
GO:0045595	Regulation of cell differentiation	7
GO:0051128	Regulation of cellular component organization	7
GO: 0032844	Regulation of homeostatic process	6
GO:0003006	Developmental process involved in reproduction	6
GO:0048534	Hematopoietic or lymphoid organ development	6
GO:0009790	Embryo development	6
GO:0051094	Positive regulation of developmental process	6
GO: 0048732	Gland development	5
GO:0048608	Reproductive structure development	5
GO:0061458	Reproductive system development	5
GO: 0007276	Gamete generation	5
GO: 0022602	Ovulation cycle process	4
GO:0042698	Ovulation cycle	4
GO:0046545	Development of primary female sexual characteristics	4
GO: 0008585	Female gonad development	4
GO: 0046660	Female sex differentiation	4
GO: 0008406	Gonad development	4
GO: 0045137	Development of primary sexual characteristics	4
GO: 0048511	Rhythmic process	4
GO: 0007548	Sex differentiation	4
GO:0001701	In utero embryonic development	4
GO:0048589	Developmental growth	4
GO:0043900	Chordate embryonic development	4
GO:0009792	Embryo development ending in birth or egg hatching	4
GO: 0007338	Single fertilization	3

GENE ONTOLOGY	FUNCIÓN	Nº PROTEÍNAS IMPLICADAS
GO: 0007292	Female gamete generation	3
GO: 2000241	Regulation of reproductive process	3
GO: 0009566	Fertilization	3
GO:0032846	Positive regulation of homeostatic process	3
GO:0022412	Cellular process involved in reproduction in multicellular organism	3
ssC05203	Viral carcinogenesis	3
GO:0043009	Regulation of multi-organism process	3

Las proteínas que mediante su relación dan lugar a este clúster son un total de 22 (Tabla 6g), pero no todas ellas aparecen relacionadas con todas las funciones del clúster.

Tabla 6g. Proteínas incluidas en cada relación funcional de las agrupadas en el clúster 4 de la fracción AA8.

FUNCIÓN	Nº	PROTEÍNAS IMPLICADAS
Multi-organism process	13	CD163 molecule (CD163)
		Tho complex 6 (THOC6)
		Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Integrin subunit beta 1 (ITGB1)
		Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Outer dense fiber of sperm tails 1 (ODF1)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		Prostaglandin f receptor (PTGFR)
		Relaxin 2 (RLN2)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
<u>Single organism reproductive process</u>	9	Integrin subunit beta 1 (ITGB1)
		Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)

FUNCIÓN	Nº	PROTEÍNAS IMPLICADAS
		Outer dense fiber of sperm tails 1 (ODF1) Nitric oxide synthase 3 (NOS3) Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) Relaxin 2 (RLN2) Signal transducer and activator of transcription 5b(STAT5B) Ubiquitin protein ligase e3a (UBE3A)
<u>Reproductive process</u>	9	Inhibin beta a subunit (INHBA) Integrin subunit beta 1 (ITGB1) Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1) Nitric oxide synthase 3 (NOS3) Outer dense fiber of sperm tails 1 (ODF1) Oviductal glycoprotein 1(OVGP1) Relaxin 2 (RLN2) Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B) ubiquitin protein ligase e3a (UBE3A)
<u>Reproduction</u>	9	Inhibin beta a subunit (INHBA) Integrin subunit beta 1 (ITGB1) Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1) Nitric oxide synthase 3 (NOS3) Outer dense fiber of sperm tails 1 (ODF1) Oviductal glycoprotein 1(OVGP1) Relaxin 2 (RLN2) Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B) Ubiquitin protein ligase e3a (UBE3A)
<u>Multi-organism reproductive process</u>	8	Inhibin beta a subunit (INHBA) Integrin subunit beta 1 (ITGB1)

FUNCIÓN	Nº	PROTEÍNAS IMPLICADAS
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3) Outer dense fiber of sperm tails 1 (ODF1) Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) Relaxin 2 (RLN2) Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B) Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Homeostatic process	8	Lim domain binding 1 (LDB1) Connective tissue growth factor (CTGF) Inhibin beta a subunit (INHBA) Interleukin 2 (IL2) Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1) Prostaglandin f receptor (PTGFR) Ryanodine receptor 1 (RYR1) Signal transducer and activator of transcription 5b(STAT5B)
<u>Multicellular organismal reproductive process</u>	7	Inhibin beta a subunit (INHBA) Integrin subunit beta 1 (ITGB1) Nitric oxide synthase 3 (NOS3) Outer dense fiber of sperm tails 1 (ODF1) Relaxin 2 (RLN2) Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B) Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
<u>Multicellular organism reproduction</u>	7	Inhibin beta a subunit (INHBA) Integrin subunit beta 1 (ITGB1) Nitric oxide synthase 3 (NOS3) Outer dense fiber of sperm tails 1 (ODF1) Relaxin 2 (RLN2)

FUNCIÓN	Nº	PROTEÍNAS IMPLICADAS
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Ubiquitin protein ligase e3a (UBE3A)
<u>Sexual reproduction</u>	7	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Integrin subunit beta 1 (ITGB1)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Outer dense fiber of sperm tails 1 (ODF1)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		Relaxin 2 (RLN2)
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Positive regulation of transcription from RNA polymerase II promoter	7	Lim domain binding 1 (LDB1)
		Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Interleukin 2 (IL2)
		Lipin 2 (LPIN2)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Transforming growth factor beta 1 (TGFB1)
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Growth	7	Connective tissue growth factor (CTGF)
		Integrin subunit beta 1 (ITGB1)
		inhibin beta a subunit (INHBA)
		Relaxin 2(RLN2)
		Signal transducer and activator of transcription 5b(STAT5B)
		Transforming growth factor beta 1(TGFB1)
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Immune system development	7	Lim domain binding 1(LDB1)
		Inhibin beta a subunit (inhba)
		Interleukin 2 (IL2)

FUNCIÓN	Nº	PROTEÍNAS IMPLICADAS
		Interleukin 6 (interferon, beta 2) (IL6) Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1) Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B) Transforming growth factor beta 1(TGFB1)
Positive regulation of protein metabolic process	7	Connective tissue growth factor (CTGF) Inhibin beta a subunit (INHBA) Interleukin 2 (IL2) Mitogen-activated protein kinase 1(MAPK1) Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B) Transforming growth factor beta 1(TGFB1) Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Regulation of cell differentiation	7	Lim domain binding 1(LDB1) Connective tissue growth factor (CTGF) Inhibin beta a subunit (INHBA) Integrin subunit beta 1(ITGB1) Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1) Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B) Transforming growth factor beta 1(TGFB1)
Regulation of cellular component organization	7	Lim domain binding 1 (LDB1) Connective tissue growth factor (CTGF) Inhibin beta a subunit (INHBA) Integrin subunit beta 1(ITGB1) Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1) Selectin P (SELP) Transforming growth factor beta 1 (TGFB1)
	6	Lim domain binding 1 (LDB1)

FUNCIÓN	Nº	PROTEÍNAS IMPLICADAS
Regulation of homeostatic process		Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Interleukin 2 (IL2)
		Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)
		Ryanodine receptor 1 (RYR1)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
Developmental process involved in reproduction	6	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Relaxin 2 (RLN2)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Hematopoietic or lymphoid organ development	6	Lim domain binding 1 (LDB1)
		Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Interleukin 6 (interferon, beta 2) (IL6)
		Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Transforming growth factor beta 1 (TGFB1)
Embryo development	6	Lim domain binding 1 (LDB1)
		Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Integrin subunit beta 1 (ITGB1)
		Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Relaxin 2 (RLN2)
Positive regulation of developmental process	6	Heparanase (HPSE)
		Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Interleukin 2 (IL2)

FUNCIÓN	Nº	PROTEÍNAS IMPLICADAS
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Transforming growth factor beta 1 (TGFB1)
Gland development	5	Calpain 1 (CAPN1)
		Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Transforming growth factor beta 1 (TGFB1)
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Reproductive development structure	5	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Reproductive development system	5	inhibin beta a subunit (INHBA)
		mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)
		nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Gamete generation	5	inhibin beta a subunit (INHBA)
		integrin subunit beta 1 (ITGB1)
		nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		outer dense fiber of sperm tails 1 (ODF1)
		relaxin 2 (RLN2)
Ovulation cycle process	4	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (stat5b)

FUNCIÓN	Nº	PROTEÍNAS IMPLICADAS
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Ovulation cycle	4	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Development of primary female sexual characteristics	4	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Ubiquitin protein ligase e3a (UBE3A)
Female gonad development	4	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Ubiquitin protein ligase e3a (UBE3A)
Female sex differentiation	4	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Gonad development	4	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Ubiquitin protein ligase e3a (UBE3A)
Development of primary sexual characteristics	4	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Ubiquitin protein ligase e3a (UBE3A)

FUNCIÓN	Nº	PROTEÍNAS IMPLICADAS
Rhythmic process	4	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Sex differentiation	4	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
In utero embryonic development	4	Integrin subunit beta 1 (ITGB1)
		Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Relaxin 2 (RLN2)
Developmental growth	4	Integrin subunit beta 1 (ITGB1)
		Relaxin 2 (RLN2)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Chordate embryonic development	4	Integrin subunit beta 1 (ITGB1)
		Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Relaxin 2 (RLN2)
Embryo development ending in birth or egg hatching	4	Integrin subunit beta 1 (ITGB1)
		Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Relaxin 2 (RLN2)
<u>Single fertilization</u>	3	Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		Relaxin 2 (RLN2)
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)

FUNCIÓN	Nº	PROTEÍNAS IMPLICADAS
Female gamete generation	3	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
		Relaxin 2 (RLN2)
<u>Regulation of reproductive process</u>	3	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		Relaxin 2 (RLN2)
<u>Fertilization</u>	3	Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		Relaxin 2 (RLN2)
		Ubiquitin protein ligase E3A (UBE3A)
Positive regulation of homeostatic process	3	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
Cellular process involved in reproduction in multicellular organism	3	Inhibin beta a subunit (INHBA)
		Integrin subunit beta 1 (ITGB1)
		Relaxin 2 (RLN2)
Viral carcinogenesis	3	Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1)
		Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B)
		Ubiquitin protein ligase e3a (UBE3A)
Regulation of multi-organism process	3	Inhibin beta a subunit (inhba)
		Oviductal glycoprotein 1 (ovgp1)
		Relaxin 2 (RLN2)

Teniendo en cuenta las proteínas que aparecen en funciones exclusivamente de reproducción (subrayadas) nos encontramos con 9 proteínas implicadas que de mayor a menor participación en las mismas son: Relaxin 2 (RLN2), Inhibin beta a subunit (INHBA), Ubiquitin protein ligase e3a (UBE3A), Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1), Nitric oxide synthase 3 (NOS3), Outer dense fiber of sperm tails 1 (ODF1), Signal transducer and activator of transcription 5b (STAT5B) y Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1) (Fig. 6. 10).

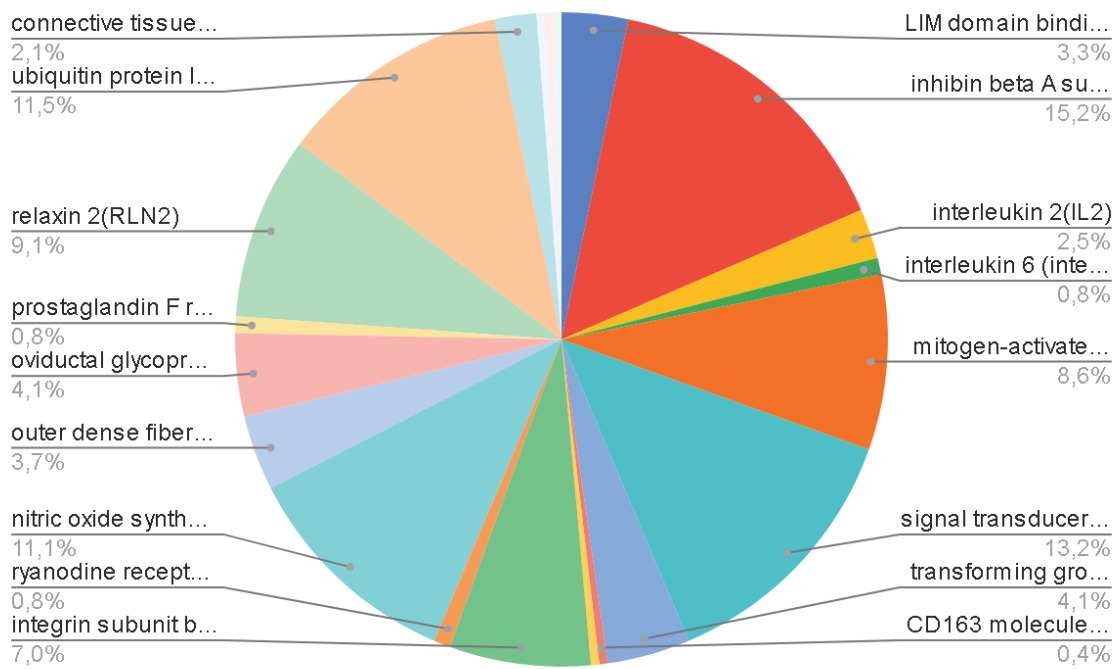


Figura 6.10. Gráfico de sectores que muestra el porcentaje de participación de las distintas proteínas en las funciones descritas relacionadas con la reproducción.

Las 22 proteínas con relevancia en este clúster establecen 15 interacciones funcionales al ser analizadas por el programa STRING v.11 (Fig. 6.11) y, que establece por ontología genética los siguientes procesos biológicos (Tabla 6h).

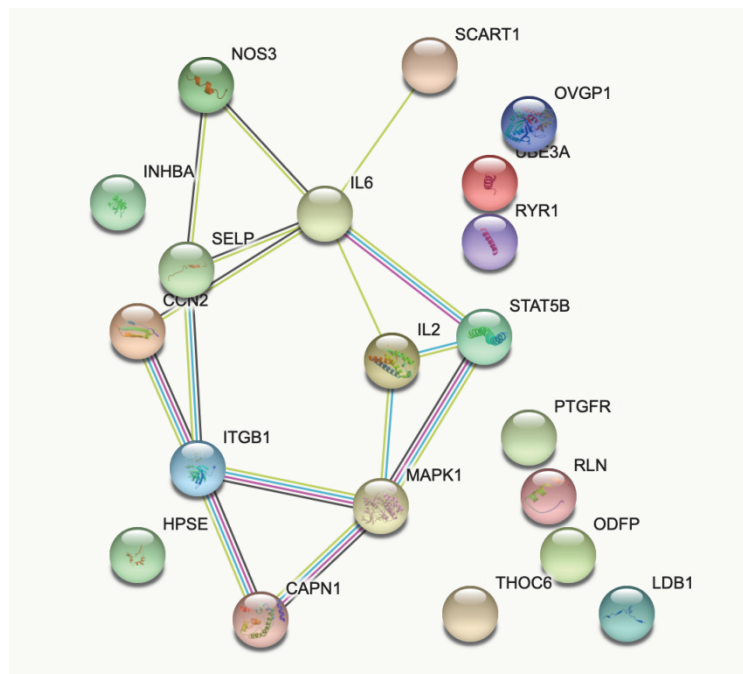


Figura 6.11. Red de interacciones funcionales, obtenido mediante String v.11, entre las 22 proteínas de la fracción AA8 que establecen un clúster vinculado con la reproducción al ser analizado con DAVID.

Tabla 6h. Procesos celulares que establece STRING v.11, por interacción funcional de las proteínas pertenecientes a la fracción AA8 y que el programa DAVID reúne en el mismo clúster.

GENE ONTOLOGY	DESCRIPCIÓN	NÚMERO DE GENES
GO: 0001553	Luteinización	2 de 3
GO: 0045648	Regulación positiva de la diferenciación de eritrocitos	2 de 5
GO: 0042104	Regulación positiva de la proliferación de células T	2 de 5
GO:0043902	Regulación positiva del proceso de múltiples organismos	2 de 8
GO: 0043588	desarrollo de la piel	2 de 10
GO: 0030879	Desarrollo de la glándula mamaria	2 de 10
GO:0050871	Regulación positiva de la activación de células b	2 de 11
GO:0097191	Vía de señalización apoptótica extrínseca	2 de 12
GO:1903707	Regulación negativa de la hemopoyesis	2 de 13
GO:0071695	Maduración de la estructura anatómica	2 de 14
GO:0045619	Regulación de la diferenciación de linfocitos	2 de 16
GO:2000243	Regulación positiva del proceso reproductivo	2 de 17
GO:0046661	Diferenciación del sexo masculino	2 de 17
GO:0043112	Proceso metabólico del receptor	2 de 21
GO:1903706	Regulación de la hematopoyesis	3 de 34
GO:0009887	Morfogénesis de órganos animales	3 de 45
GO:0048609	Proceso reproductivo de organismos multicelulares	4 de 64
GO:0003006	Proceso de desarrollo involucrado en la reproducción	4 de 71
GO:0051093	Regulación negativa del proceso de desarrollo	3 de 58
GO:0022414	proceso reproductivo	5 de 104
GO:0044703	Proceso reproductivo de múltiples organismos.	4 de 83
GO:0060548	Regulación negativa de la muerte celular	3 de 68
GO:0019953	Reproducción sexual	3 de 70
GO:0008284	Regulación positiva de la proliferación de la población celular.	3 de 73

GENE ONTOLOGY	DESCRIPCIÓN	NÚMERO DE GENES
GO:0002684	Regulación positiva del proceso del sistema inmunológico	3 de 74
GO:0010243	Respuesta al compuesto organonitrogenado	3 de 76
GO:0010941	Regulación de la muerte celular	4 de 105
GO:0045935	Regulación positiva del proceso metabólico de compuestos que contienen nucleobase	4 de 110
GO:0045944	Regulación positiva de la transcripción por la polimerasa II	3 de 84
GO:0042127	Regulación de la proliferación de la población celular	4 de 120
GO:0051241	Regulación negativa del proceso de organismos multicelulares	3 de 89
GO:0031328	Regulación positiva del proceso biosintético celular	4 de 123
GO:0042981	Regulación del proceso apoptótico	3 de 96
GO:0051094	Regulación positiva del proceso de desarrollo.	3 de 97
GO:0045937	Regulación positiva del proceso metabólico del fosfato.	3 de 97
GO:0009719	Respuesta al estímulo endógeno	4 de 135
GO:0045595	Regulación de la diferenciación celular	3 de 104
GO:0003008	proceso del sistema	3 de 107
GO:0032879	Reglamento de localización	5 de 198
GO:0007166	Vía de señalización del receptor de la superficie celular	4 de 157
GO:1901575	Proceso catabólico de sustancias orgánica	3 de 124
GO:0030154	Diferenciación celular	5 de 213
GO:0048513	Desarrollo de órganos animales	4 de 176
GO:0051049	Regulación del transporte	3 de 131
GO:0051240	Regulación positiva del proceso de organismos multicelulares	3 de 132
GO:0007165	Transducción de señales	8 de 370
GO:0007275	Desarrollo de organismos multicelulares	6 de 275

GENE ONTOLOGY	DESCRIPCIÓN	NÚMERO DE GENES
GO:0048584	Regulación positiva de la respuesta al estímulo.	3 de 149
GO:0048522	Regulación positiva del proceso celular	6 de 329
GO:0048523	Regulación negativa del proceso celular.	5 de 282
GO:0010033	Respuesta a sustancia orgánica	4 de 234
GO:0032501	Proceso de organismo multicelular	7 de 411
GO:0065009	Regulación de la función molecular	6 de 356
GO:0043170	Proceso metabólico macromolécula	6 de 361
GO:0042221	Respuesta a la química	5 de 310
GO:0065008	Regulación de la calidad biológica	5 de 328
GO:0044260	Proceso metabólico de macromoléculas celulares	4 de 259
GO:0006810	Transporte	4 de 262
GO:0051179	Localización	5 de 342
GO:0071704	Proceso metabólico de sustancias orgánicas.	8 de 580
GO:0019222	Regulación del proceso metabólico	5 de 403
GO:0044238	Proceso metabólico primario	6 de 512
GO:0065007	Regulación biológica	9 de 788
GO:0044237	proceso metabólico celular	6 de 535
GO:0006807	Proceso metabólico de compuestos de nitrógeno.	5 de 445
GO:1901564	Proceso metabólico de compuestos organonitrógenos.	4 de 387
GO:0009987	Proceso celular	10 de 1040

Las proteínas reconocidas por el programa DAVID de las descritas en la fracción 9 de FOP periovulatorio son 35 y dan lugar por su relación funcional a 8 clústers. El clúster más extenso en número de funciones está relacionado en su mayoría con el reconocimiento celular, fertilización, división celular y reproducción y procesos metabólicos y biosintéticos, donde las proteínas TCP1, CCT4, CCT8, CCT7, CCT3 son las que participan en más cantidad de funciones (Fig. 6.12).

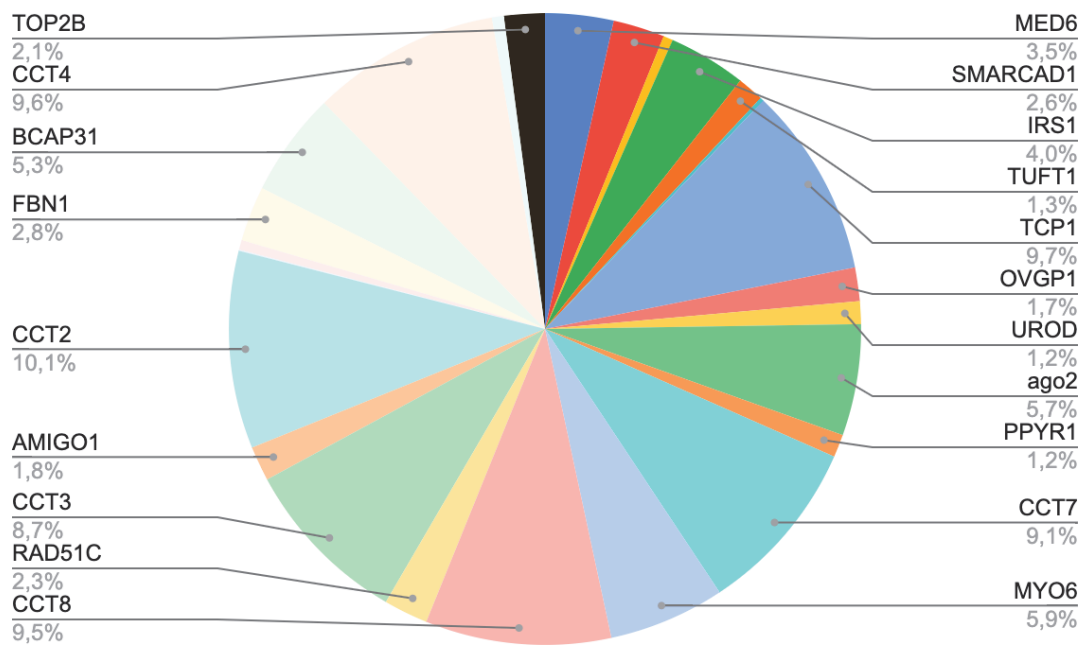


Figura 6.12. Gráfico de sectores que muestra el porcentaje de participación de las distintas proteínas de la fracción 9 del FOP periovulatorio en los clústeres establecidos por el programa DAVID.

Las funciones incluidas en el clúster 1 que se relacionan con la reproducción y las proteínas incluidas en cada una de ellas se muestran en la Tabla 6i.

Tabla 6i. Funciones relacionadas con la reproducción incluidas en el clúster 1 y proteínas implicadas de la fracción AA9.

FUNCIONES	Nº	NOMBRE DE PROTEÍNAS
Sperm-egg recognition	7	Chaperonin containing tcp1 subunit 2 (cct2)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 3 (CCT3)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 7 (CCT7)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 8 (CCT8)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		T-complex 1 (TCP1)
Cell-cell recognition	7	Chaperonin containing tcp1 subunit 2 (cct2)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 3 (CCT3)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 7 (CCT7)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 8 (CCT8)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		T-complex 1 (TCP1)

FUNCIONES	Nº	NOMBRE DE PROTEÍNAS
Single fertilization	7	Chaperonin containing tcp1 subunit 2 (cct2)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 3 (CCT3)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 7 (CCT7)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 8 (CCT8)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		T-complex 1 (TCP1)
Fertilization	7	Chaperonin containing tcp1 subunit 2 (cct2)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 3 (CCT3)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 7 (CCT7)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 8 (CCT8)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		T-complex 1 (TCP1)
Sexual reproduction	8	B-cell receptor-associated protein 31 (bcap31)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 2 (CCT2)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 3 (CCT3)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 7 (CCT7)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 8(CCT8)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		T-complex 1 (TCP1)
Multi-organism reproductive process	8	B-cell receptor-associated protein 31 (BCAP31)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 2 (CCT2)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 3 (CCT3)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 7 (CCT7)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 8 (CCT8)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		T-complex 1 (TCP1)
Single organism reproductive process	9	Rad51 paralog c (RAD51C)
		B-cell receptor-associated protein 31 (BCAP31)

FUNCIONES	Nº	NOMBRE DE PROTEÍNAS
		Chaperonin containing TCP1 subunit 2 (CCT2) Chaperonin containing TCP1 subunit 3 (CCT3) Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4) Chaperonin containing TCP1 subunit 7 (CCT7) Chaperonin containing TCP1 subunit 8 (CCT8) Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) T-complex 1 (TCP1)
Reproductive process	9	Rad51 paralog c (RAD51C) B-cell receptor-associated protein 31 (BCAP31) Chaperonin containing TCP1 subunit 2 (CCT2) Chaperonin containing TCP1 subunit 3 (CCT3) Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4) Chaperonin containing TCP1 subunit 7 (CCT7) Chaperonin containing TCP1 subunit 8 (CCT8) Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) T-complex 1 (TCP1)
Reproduction	9	Rad51 paralog c (RAD51C) B-cell receptor-associated protein 31 (BCAP31) Chaperonin containing TCP1 subunit 2 (CCT2) Chaperonin containing TCP1 subunit 3 (CCT3) Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4) Chaperonin containing TCP1 subunit 7 (CCT7) Chaperonin containing TCP1 subunit 8 (CCT8) Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) T-complex 1 (TCP1)

Las proteínas reconocidas por el programa DAVID de las descritas en la fracción 6 de FOP en fase luteal son 68 y dan lugar por su relación funcional a 29 clústers. El clúster con mayor número de funciones es el 20, sin embargo, es el clúster 17 en el que mayor número de proteínas están implicadas. Las funciones incluidas en el clúster 17 tienen que ver con la comunicación celular y la respuesta a estímulos. El clúster 20 está relacionado con procesos de biosíntesis y regulación. Y las proteínas que el programa ha relacionado con mayor número de funciones son ETS1, ANXA2, HTT, GADPH (Fig. 6.13).

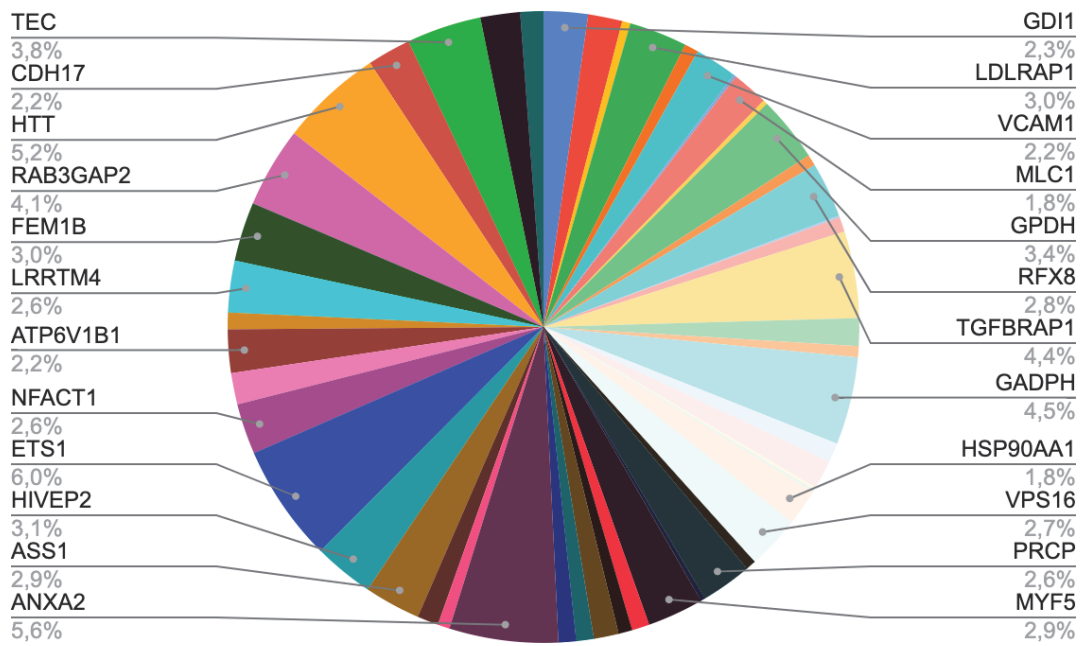


Figura 6.13. Gráfico de sectores que muestra el porcentaje de participación de las proteínas identificadas en la fracción 6 del FOP luteal en las funciones descritas.

Las proteínas reconocidas por el programa DAVID de las descritas en la fracción 7 de FOP en fase luteal son 65 y dan lugar por su relación funcional a 10 clústers, vemos que uno de los clústers es mayoritario en número de funciones que relacionan a estas proteínas, es el clúster 5 y es un clúster que incluye procesos de desarrollo tisular, desarrollo embrionario, funciones de reproducción, de expresión genética y apoptosis (Fig. 6.14).

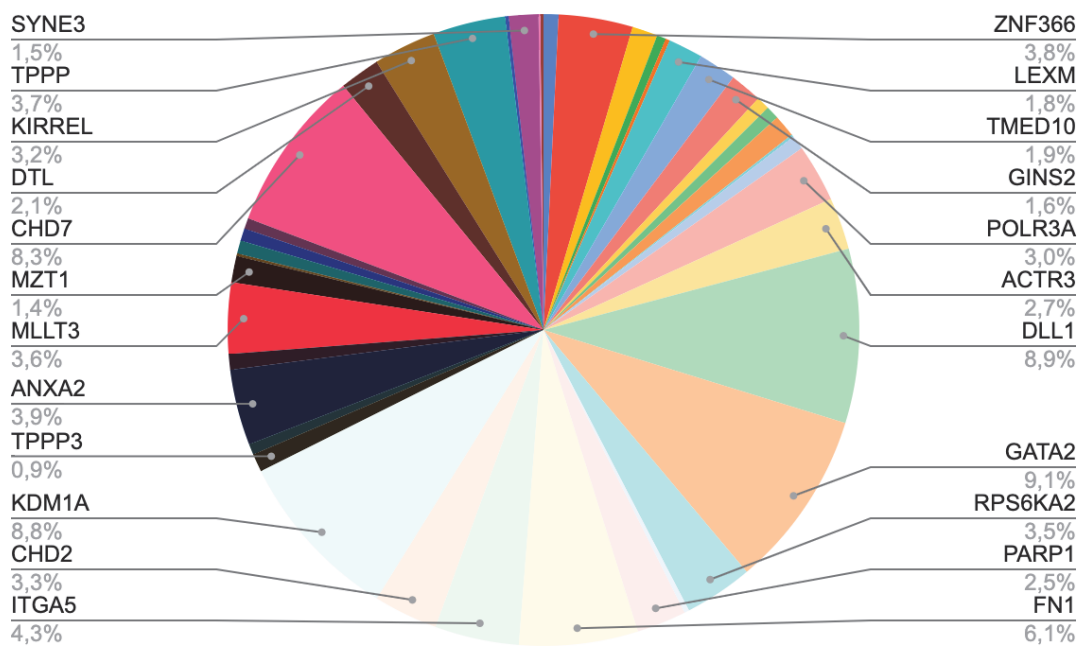


Figura 6.14. Gráfico que muestra el porcentaje de participación de las proteínas de la fracción 7 FOP en fase luteal.

Las 43 proteínas reconocidas por el programa DAVID de las descritas en la fracción 8 de FOP en fase luteal, dan lugar por su relación funcional a 13 clústers. Encontramos 3 clústers más

amplios en número de funciones que contienen, el clúster 6, el clúster 8 y el 9. El clúster 6 incluye procesos metabólicos, muerte celular y su regulación. Las funciones incluidas en el clúster 8 están relacionadas con la respuesta a estímulos y comunicación celular, y en el clúster 9 vemos funciones de regulación de expresión génica y biosíntesis, es el más extenso. SMARCA5, ZMYND11, NACC1, SATB1 (Fig. 6.15).

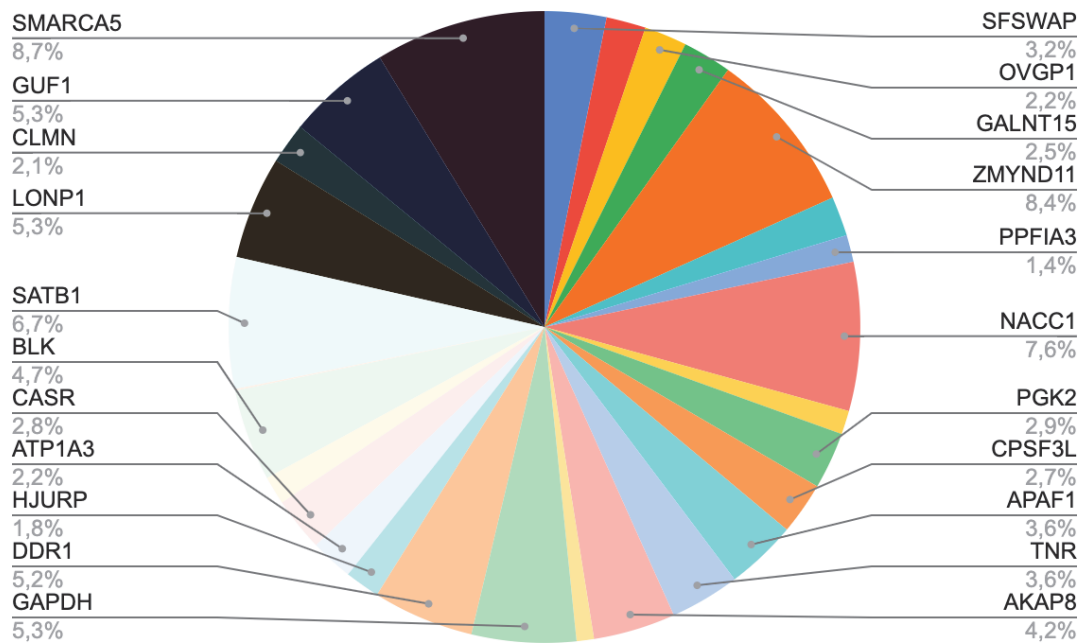


Figura 6.15. Gráfico que muestra el número de funciones que desempeña cada proteína de la fracción 8 de FOP en fase luteal en cada clúster (representados por distintos colores).

En esta clasificación encontramos un clúster, el número 7, que incluye funciones relacionadas con la reproducción, y las proteínas que dan lugar a cada grupo las podemos ver en la Tabla 6j.

Tabla 6j. Funciones relacionadas con la reproducción incluidas en el clúster 7 y proteínas implicadas de la fracción 8 de FOP de la fase luteal.

FUNCIONES	Nº	NOMBRE DE PROTEÍNAS
Multi-organism reproductive process	3	Sperm flagellar 2 (SPEF2)
		Oviductal glycoprotein (OVGP1)
		Discoidin domain receptor tyrosine kinase1 (DDR1)
Single organism reproductive process	3	Sperm flagellar 2 (SPEF2)
		Oviductal glycoprotein (OVGP1)
		Discoidin domain receptor tyrosine kinase1(DDR1)
Multi-organism process	4	A-kinase anchoring protein 8 (AKAP8)

FUNCIONES	N°	NOMBRE DE PROTEÍNAS
		Sperm flagellar 2 (SPEF2)
		Oviductal glycoprotein (OVGP1)
		Discoidin domain receptor tyrosine kinase1 (DDR1)
Reproductive process	3	Sperm flagellar 2 (SPEF2)
		Oviductal glycoprotein (OVGP1)
		Discoidin domain receptor tyrosine kinase1(DDR1)
Reproduction	3	Sperm flagellar 2 (SPEF2)
		Oviductal glycoprotein (OVGP1)
		Discoidin domain receptor tyrosine kinase1 (DDR1)

Las 42 proteínas reconocidas por el programa DAVID de las descritas en la fracción 9 de FOP en fase luteal dan lugar por su relación funcional a 14 clústers. Dos son los clústers mayoritarios que encontramos en la clasificación funcional de las proteínas determinadas en la fracción 9 de FOP en fase luteal, el clúster 5 y el 7. El primero, clúster 5 engloba 62 funciones relacionadas con el metabolismo celular y el segundo, clúster 7, engloba 28 funciones relacionadas con el desarrollo. El porcentaje de participación de cada proteína en las funciones se refleja en el gráfico siguiente (Fig. 6.16).

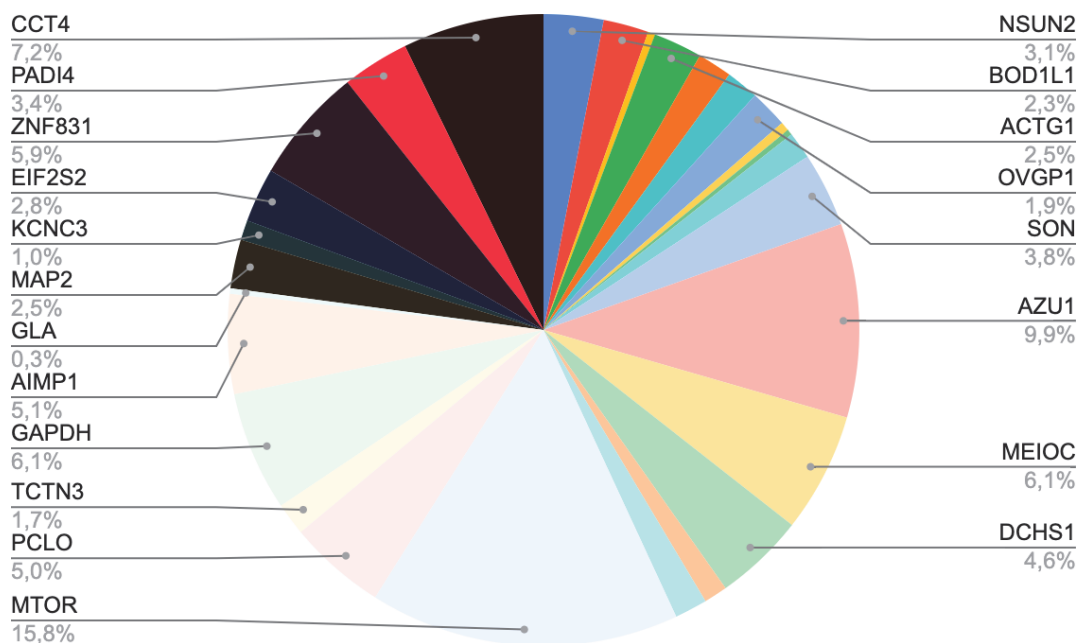


Figura 6.16. Gráfico que muestra el número de funciones que desempeña cada proteína de la fracción 9 de FOP en fase luteal en cada clúster (representados por distintos colores).

Además, en uno de los clústers, una serie de proteínas establecen funciones relacionadas con la reproducción (Tabla 6k).

Tabla 6k. Funciones relacionadas con la reproducción incluidas en el clúster 5 y proteínas implicadas de la fracción AL9.

FUNCIONES	Nº	NOMBRE DE PROTEÍNAS
Sexual reproduction	5	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (NSUN2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
Multi-organism reproductive process	5	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (NSUN2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
Multi-organism process	7	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (NSUN2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
		Exocyst complex component 2 (EXOC2)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
		Azurocidin 1 (AZU1)
Germ cell development	3	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (NSUN2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
Single organism reproductive process	5	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (NSUN2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
Cellular process involved in reproduction in multicellular organism	3	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (NSUN2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
Reproductive process	5	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (NSUN2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)

FUNCIONES	Nº	NOMBRE DE PROTEÍNAS
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
Reproduction	5	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (NSUN2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
		Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4)
		Oviductal glycoprotein 1 (OVGP1)
Gamete generation	3	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (NSUN2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
Multicellular organismal reproductive process	3	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (NSUN2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
Multicellular organism reproduction	3	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (NSUN2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
Developmental process involved in reproduction	3	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (NSUN2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
Cell development	5	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (NSUN2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
		Actin gamma 1 (ACTG1)
		Microtubule associated protein 2 (MAP2)
Cell differentiation	7	Nop2/sun methyltransferase family member 2 (nsun2)
		Meiosis specific with coiled-coil domain (MEIOC)
		Mechanistic target of rapamycin (MTOR)
		Actin gamma 1 (ACTG1)
		Azurocidin 1 (AZU1)
		Microtubule associated protein 2 (MAP2)
		Dachsous cadherin-related 1 (DCHS1)

A continuación, se muestra la comprobación de los diferentes péptidos obtenidos para la proteína *Oviduct-specific glycoprotein precursor* (Q28990.1). En las figuras siguientes, se muestran los péptidos de la proteína en el FOPP (Fig. 6.17), en el FOPPR (Fig.6.18) y en el FOPL (Fig. 6.19).

MGKLLLWVGLVVLKHHNGAAHKLVCYFANWAFSRPGPASILPRDLDPFLCTHLVFAFASMNDSQIVAKDAR
 DESIFYPEFNQLKERNEKLKTLSSIGGWNFGTSRFTTMLSTFTNREKFIRSAIGLLRTHGFDGLDLFFLYPGLR
 GSPRRDRWNFLFLLLELLAFRREAQLTMRPRLLSAAVSADPHVIQKAYDVRLLGRLLDFINVLSYDLHGWSW
 EKVTGHNSPLFSLSDDPKSSAYTMNYWRKLGAPPEKLLMGFPTYGRTFRLLKASKNELGAEAVGPASPGKY
 TKQAGFLAYYEVCSFVQRAKKRWIDHQYVPYAYRGKEWVGYYDDDISFSYKAFFIKKEHFGGAMVWTLDDLDD
 VRGTFCGTGPFPLVYMLNDLLLKAEVSSTLSPGFGLSTTVNSSRTCPESLAVTKDLTTDLGILPLGGEAVATE
 THGRSDNMTVTPGGGLVAPTRPTLSFGKLTVAPEGKTESPGEKAMTPVGHPSVTPGDMSVPPVPIQTGDRI
 TPRRQAVAPEKMTLPSGKRSD

Figura 6.17. Secuencia de aminoácidos de la proteína *Oviduct-specific glycoprotein precursor*, Q28990. Los péptidos muestran una cobertura del 3% correspondiente a la fracción 7, del 6% correspondiente a la fracción 8 y, del 8% que corresponde a la fracción 9 de FOPP.

MGKLLLWVGLVVLKHHNGAAHKLVCYFANWAFSRPGPASILPRDLDPFLCTHLVFAFASMNDSQIVAKDAR
 DESIFYPEFNQLKERNEKLKTLSSIGGWNFGTSRFTTMLSTFTNREKFIRSAIGLLRTHGFDGLDLFFLYPGLR
 GSPRRDRWNFLFLLLELLAFRREAQLTMRPRLLSAAVSADPHVIQKAYDVRLLGRLLDFINVLSYDLHGWSW
 EKVTGHNSPLFSLSDDPKSSAYTMNYWRKLGAPPEKLLMGFPTYGRTFRLLKASKNELGAEAVGPASPGKY
 TKQAGFLAYYEVCSFVQRAKKRWIDHQYVPYAYRGKEWVGYYDDDISFSYKAFFIKKEHFGGAMVWTLDDLDD
 VRGTFCGTGPFPLVYMLNDLLLKAEVSSTLSPGFGLSTTVNSSRTCPESLAVTKDLTTDLGILPLGGEAVATE
 THGRSDNMTVTPGGGLVAPTRPTLSFGKLTVAPEGKTESPGEKAMTPVGHPSVTPGDMSVPPVPIQTGDRI
 TPRRQAVAPEKMTLPSGKRSD

Figura 6.18. Secuencia de aminoácidos de la proteína *Oviduct-specific glycoprotein precursor*, Q28990. Los péptidos muestran una cobertura del 22% que corresponden a la fracción 7, del 21% correspondiente a la fracción 8 y, del 14 correspondiente a la fracción 9 de FOPPR.

MGKLLLWVGLVVLKHHNGAAHKLVCYFANWAFSRPGPASILPRDLDPFLCTHLVFAFASMNDSQIVAKDAR
 DESIFYPEFNQLKERNEKLKTLSSIGGWNFGTSRFTTMLSTFTNREKFIRSAIGLLRTHGFDGLDLFFLYPGLR
 GSPRRDRWNFLFLLLELLAFRREAQLTMRPRLLSAAVSADPHVIQKAYDVRLLGRLLDFINVLSYDLHGWSW
 EKVTGHNSPLFSLSDDPKSSAYTMNYWRKLGAPPEKLLMGFPTYGRTFRLLKASKNELGAEAVGPASPGKY
 TKQAGFLAYYEVCSFVQRAKKRWIDHQYVPYAYRGKEWVGYYDDDISFSYKAFFIKKEHFGGAMVWTLDDLDD
 VRGTFCGTGPFPLVYMLNDLLLKAEVSSTLSPGFGLSTTVNSSRTCPESLAVTKDLTTDLGILPLGGEAVATE
 THGRSDNMTVTPGGGLVAPTRPTLSFGKLTVAPEGKTESPGEKAMTPVGHPSVTPGDMSVPPVPIQTGDRI
 TPRRQAVAPEKMTLPSGKRSD

Figura 6.19. Secuencia de aminoácidos de la proteína *Oviduct-specific glycoprotein precursor*, Q28990. Los péptidos muestran una cobertura del 4% correspondiente a la fracción 7, del 2% correspondiente a la fracción 8 y del 9% correspondiente a la fracción 9 del FOPL.

6.2. Efecto de cada una de las fracciones sobre el endurecimiento de la zona pelúcida de ovocitos porcinos.

Una vez incubados los ovocitos durante 30 minutos a una temperatura de 37°C, con el volumen calculado de cada fracción conteniendo, todas ellas, misma cantidad de proteínas (excepto la fracción 9 del FOP de hembras prepúberes), los resultados del tiempo que tardó en digerirse la ZP de estos ovocitos por la enzima pronasa (5mg/ml) se reflejan en la Tabla 6I.

Tabla 6I. Tiempos de digestión de la ZP de ovocitos porcinos en pronasa tras la incubación en FOP de distintas fases, completo y algunas fracciones obtenidas en columna cromatográfica de afinidad por heparina.

	FASE PREPÚBER N=10	FASE PERIOVULATORIA N=10	FASE LUTEAL N=10
FRACCIÓN	Tiempo de digestión de la ZP con pronasa (5mg/ml) media (segundos) ± error estándar		
Control N=30	60,72 ± 5,21		
FO completo	36,7 ± 4,36	> a 1800 segundos	65,5 ± 8,80
5	48 ± 3,63	46 ± 4,53	
6	42 ± 4,75	38 ± 2,81	71,6 ± 9,26
7	40 ± 2,94	42 ± 1,79	69,1 ± 9,75
8	53 ± 2,33	415 ± 79,26	66,1 ± 5,11
9	102,2 ± 11,40	92,7 ± 6,96	75,5 ± 7,1

Ya que la glicoproteína oviductina es la responsable, en gran parte, del endurecimiento de la ZP de los ovocitos incubados con FO, determinamos la presencia de esta glicoproteína en las distintas fracciones estudiadas (Tabla 6m).

Tabla 6m. Resultados de la determinación de la presencia de la glicoproteína oviductina en las fracciones estudiadas de FO porcino en distintas fases del ciclo estral, mediante análisis proteómico con espectrofotometría de masas.

NÚMERO DE PÉPTIDOS Y SCORE						
FRACCIÓN	FO PREPÚBER		FO ADULTAS FASE PERIOVULATORIA		FO ADULTAS FASE LUTEAL TARDÍA	
	PÉPTIDOS	SCORE	PÉPTIDOS	SCORE	PÉPTIDOS	SCORE
Completo			21	331.17		
5	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
7	1	8	8	99.31	1	7.30
8	2	26.08	7	77.97	1	11.42
9	3	28.86	5	73.86	3	25.52

6.3. Determinación de la presencia de oviductina en las fracciones de las distintas fases de fluido oviductal mediante electroforesis y WB.

También se buscó la glicoproteína oviductina en las fracciones mediante análisis por electroforesis y WB con un peso molecular esperado de 100 kDa, 85 kDa ó 75 kDa (Buhi *et al.*, 1990; Buhi *et al.*, 1993; Brown y Cheng, 1986).

Los resultados confirman la presencia de OVGP1 tanto en las muestras de FO de la fase periovulatoria como las de la fase prepúber (Fig. 6.20) y son coherentes con los obtenidos en el análisis proteómico de estas muestras. Las bandas obtenidas presentan un peso molecular de 100 KDa, marcadas más intensamente, y de 85 kDa, en algunas calles y marcadas con menos intensidad.

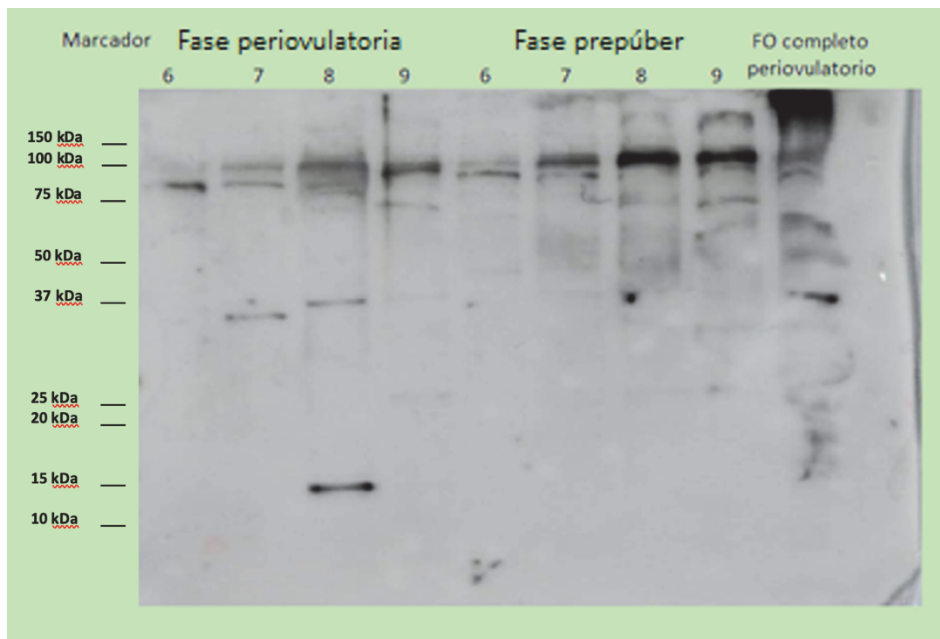


Figura 6.20. WB de las fracciones 6, 7, 8 y 9 de FOPPR Y FOPP (y de FOPPR completo. Se cargaron muestras de 8 μ l por calle y 0.25 μ l de FOP completo.

En el WB de las fracciones de FOP de la fase luteal tardía, también pueden verse las bandas correspondientes a la proteína OVGP1 en las calles correspondientes a las fracciones 7,8 y 9 con peso molecular de 100 kDa y de 85 kDa, (Fig. 6.21). En las fracciones del FOP luteal (Fig. 6.21) en los que no se aprecia una mayor intensidad en las bandas de las fracciones con mayor número de péptidos. Se pueden apreciar bandas muy marcadas de 100 kDa en las fracciones 7, 8 y 9 del FOP prepúber que contenían 1, 2, y 3 péptidos, respectivamente, la presencia de OVGP1 en esta fase solo se explica si algunas de las hembras prepúberes estaban muy próximas a la pubertad. En el FOP periovulatorio, se vieron dos bandas nítidas, no muy densas de 100 kDa y 85 kDa, en la fracción 7 (8 péptidos) y una marcada banda de 100 kDa en la fracción 9 (5 péptidos), la banda de la fracción 8 se extiende difuminada desde los 100 kDa hasta los 75 kDa aproximadamente (7 péptidos). Las fracciones del FOP luteal mostraron una banda clara de 100 kDa y otra más débil de 75 kDa.

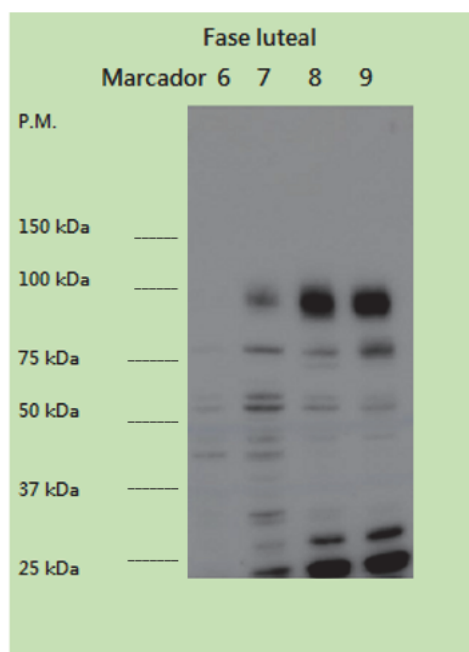


Figura 6.21. WB de varias fracciones de FOP de hembras adultas en fase luteal tardía. Las muestras empleadas contienen 10 µg de proteínas totales por calle.

6.4. Análisis proteómico comparativo entre el fluido oviductal de vaca (*Bos taurus*) y coneja (*Oryctolagus cuniculus*)

Para analizar el contenido proteico del FO de coneja y de bovino, se analizaron las manchas obtenidas de geles de electroforesis en 2D. En el gel realizamos un análisis comparativo de dos muestras, una de FO de coneja y otra de FO de vaca (Fig.6.24), este es un gel 2D diferencial (DiGE).

6.4.1 Análisis mediante electroforesis bidimensional y diferencial (DiGE), análisis de la composición proteica de las manchas y red de interacción funcional.

La electroforesis bidimensional (2D) nos muestra como las proteínas que componen los fluidos estudiados migran por un gel y se distribuyen según su peso molecular y su punto isoeléctrico (Fig.6.24). La estrategia 2D-DiGE junto con el análisis LC-MS/MS utilizada en esta investigación, nos permitió visualizar los proteomas de los dos grupos de estudio, observar diferencias en el perfil de manchas de proteínas mediante el análisis de imágenes e identificar las proteínas diferenciales.

Realizamos tres réplicas biológicas de dos grupos experimentales, FOB y FOC. Los marcadores utilizados para cada muestra se pueden observar en la siguiente tabla (Tabla 6n).

Tabla 6n. Marcadores fluorescentes empleados para cada muestra en las tres réplicas.

RÉPLICAS	MARCADOR CON Sonda FLUORESCENTE Cy3	MARCADOR CON Sonda FLUORESCENTE Cy5
1	FOC Muestra 1	FOB pool postovulatorio
2	FOC Muestra 2	FOB pool postovulatorio
3	FOB pool postovulatorio	FOC muestra 1

De acuerdo con el programa Progenesis SameSpots v 4.0 se analizaron las imágenes con el fin de detectar manchas de proteína en cada gel y evaluar la expresión diferencial de los mismos en los dos fluidos. Se alinearon un total de 1371 manchas de proteínas en cada gel (Fig. 6.22), que se localizaron en un intervalo de pI entre 3 a 10. Entre estas, 217 manchas fueron diferenciales con un valor de $P < 0,01$ y un fold change > 2 ; Los criterios estadísticos para la selección de las manchas fue un test ANOVA con $p < 0.01$ y fold > 5 (Fig.6.23), con un total de 75 manchas seleccionadas (Fig. 6.25).

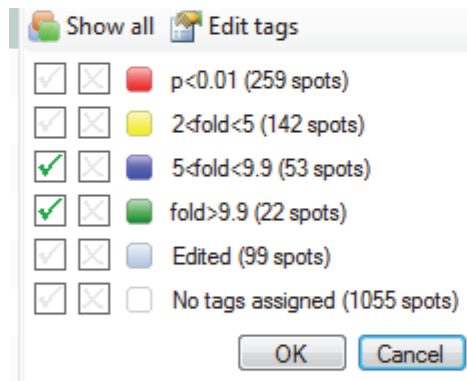


Figura 6.22. Selección de las manchas que se encuentren por encima de $p=5$, mediante el programa empleado, Progenesis SameSpots v 4.0, para el análisis de las manchas.

La efectividad del test Anova utilizado para el análisis diferencial de las muestras se puede observar en el siguiente gráfico (Fig. 6.23).

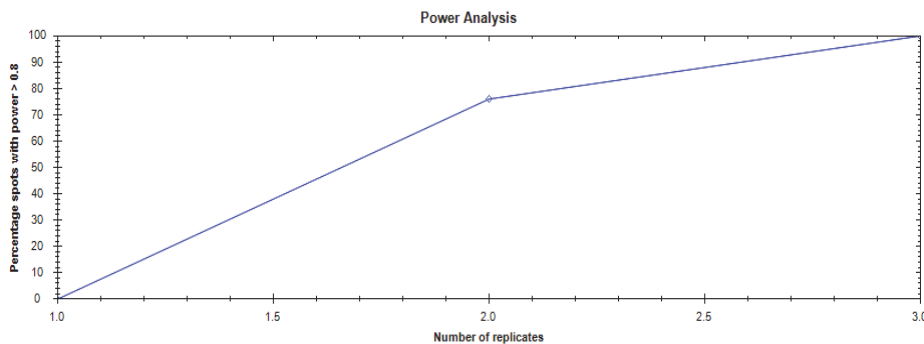


Figura 6.23. Gráfico que muestra la efectividad del test empleado en la selección de las manchas.

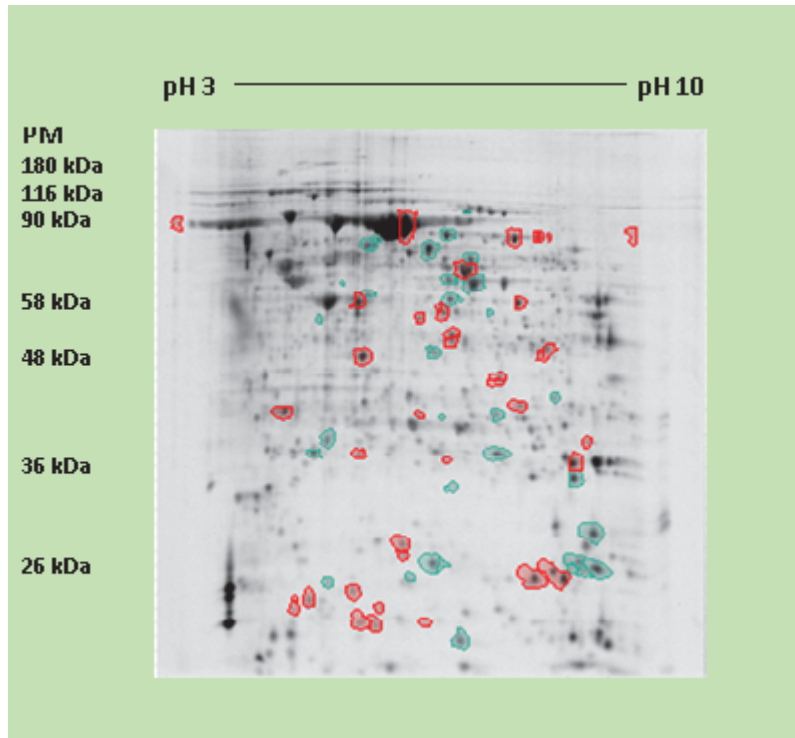


Figura 6.24. Gel de electroforesis DiGE de FOB y FOC. Las manchas señaladas en color verde corresponden a las muestras de FOB, los señalados en color rojo son de FOC.

6.4.1.1. Composición proteica de las manchas.

De entre las 75 manchas que reunían los criterios estadísticos, 53 se encontraban entre $5 < \text{fold} < 9.9$, y 22 presentaban $\text{fold} > 9.9$, se analizó la composición proteica de 20 pertenecientes al FOB y de 20 pertenecientes a FOC (Tabla 6o, 6p)

Tabla 6o. Manchas seleccionadas, valores del test de Anova para cada una de ellas y selección de las que fueron analizadas para conocer su composición proteica.

MANCHA	ANOVA	FOLD	MÁX CV (%)	HIGHEST MEAN	LOWEST MEAN	P<0.01	FOLD> 9.9	5<FOLD <9.9	TOP 20 FOB	TOP 20 FOC
450	0,002329	5,9	36,1	FOB	FOC	X		x		
560	2,38E-06	7,5	7,6	FOC	FOB	X		x		
516	0,003795	5,0	34,0	FOC	FOB	X		x		
594	0,007196	8,8	51,5	FOC	FOB	X		x		X
580	0,000219	6,7	25,0	FOB	FOC	X		x	X	
599	0,000182	7,6	22,4	FOC	FOB	X		x		
606	0,000518	5,3	22,5	FOB	FOC	X		x		
634	1,74E-05	7,4	13,5	FOB	FOC	X		x	X	
651	3,29E-05	6,7	11,7	FOB	FOC	X		x		
635	0,003486	6,2	52,3	FOB	FOC	X		x		
700	0,000111	16,1	27,3	FOB	FOC	X	x		X	

MANCHA	ANOVA	FOLD	MÁX CV (%)	HIGHEST MEAN	LOWEST MEAN	P<0.01	FOLD> 9.9	5<FOLD <9.9	TOP 20 FOB	TOP 20 FOC
783	0,000109	5,0	19,1	FOC	FOB	X		x		
833	0,000122	5,7	17,9	FOB	FOC	X		x		
818	3,56E-05	6,5	11,1	FOB	FOC	X		x		
825	0,000478	6,1	28,9	FOB	FOC	X		x		
872	0,000835	5,3	28,3	FOB	FOC	X		x		
909	2,44E-05	5,8	11,0	FOC	FOB	X		x		
923	0,002548	10,1	56,1	FOC	FOB	X	x			x
891	0,000547	5,2	20,5	FOB	FOC	X		x		
937	0,000856	5,4	27,7	FOC	FOB	X		x		
956	0,000153	7,2	22,8	FOB	FOC	X		x	X	
976	0,004389	6,8	51,8	FOC	FOB	X		x		
982	0,003453	5,7	42,2	FOB	FOC	X		x		
1100	0,001152	8,4	38,0	FOC	FOB	X		x		x
1121	0,000170	7,2	22,1	FOC	FOB	X		x		
1113	0,000557	10,0	34,3	FOC	FOB	X	x			x
1246	0,008509	8,7	73,6	FOB	FOC	X		x	X	
1295	0,000706	7,4	29,9	FOC	FOB	X		x		
1303	0,002011	8,4	34,8	FOB	FOC	X		x	X	
1304	0,001623	7,3	50,0	FOC	FOB	X		x		
1314	0,000941	8,0	34,3	FOB	FOC	X		x	X	
1368	2,47E-05	5,6	10,0	FOB	FOC	X		x		
1416	8,33E-05	5,0	12,9	FOB	FOC	X		x		
1420	8,14E-05	5,8	16,4	FOC	FOB	X		x		
1440	1,39E-05	9,5	15,8	FOC	FOB	X		x		x
1431	0,000584	10,3	35,0	FOC	FOB	X	x			x
1473	0,000693	17,4	55,0	FOB	FOC	X	x		X	
1533	0,000137	16,1	32,7	FOB	FOC	X	x		X	
1544	2,90E-05	16,5	21,3	FOC	FOB	X	x			x
1561	9,96E-05	5,7	16,8	FOC	FOB	X		x		
1581	0,001176	11,3	49,1	FOB	FOC	X	x		X	
1607	0,001537	5,0	37,6	FOB	FOC	X		x		

Resultados

MANCHA	ANOVA	FOLD	MÁX CV (%)	HIGHEST MEAN	LOWEST MEAN	P<0.01	FOLD> 9.9	5<FOLD <9.9	TOP 20 FOB	TOP 20 FOC
1626	0,003227	11,2	57,7	FOC	FOB	X	x			x
1623	0,007008	8,2	67,6	FOC	FOB	X		x		
1640	0,00036	10,2	38,1	FOC	FOB	X	x			x
1637	0,006114	8,3	72,9	FOC	FOB	X		x		x
1670	0,000693	5,1	25,7	FOC	FOB	X		x		
1702	0,005107	20,9	96,2	FOB	FOC	X	x		X	
1748	0,003321	7,0	58,4	FOB	FOC	X		x	X	
1756	0,002453	23,1	83,4	FOC	FOB	X	x			x
1757	0,005663	7,6	73,0	FOC	FOB	X		x		
1760	7,10E-05	8,7	22,3	FOC	FOB	X		x		x
1761	0,000396	5,3	25,2	FOC	FOB	X		x		
1766	0,000109	8,3	17,6	FOB	FOC	X		x	X	
1769	0,002149	8,5	35,9	FOB	FOC	X		x	X	
1770	1,60E-05	36,4	19,9	FOB	FOC	X	x		X	
1772	0,000689	5,5	27,5	FOC	FOB	X		x		
1776	0,000607	5,2	25,2	FOB	FOC	X		x		
1794	1,27E-05	42,9	23,9	FOB	FOC	X	x		X	
1795	0,006848	9,9	89,9	FOB	FOC	X		x	X	
1800	0,003019	9,0	56,3	FOC	FOB	X		x		x
1804	0,000971	10,2	49,4	FOC	FOB	X	x			x
1805	0,002954	6,5	55,1	FOC	FOB	X		x		
1816	1,58E-05	18,5	16,0	FOB	FOC	X	x		X	
1843	4,64E-05	5,9	14,8	FOC	FOB	X		x		
1844	0,000655	6,7	29,8	FOB	FOC	X		x	X	
1845	7,13E-06	5,5	7,1	FOB	FOC	X		x		
1846	0,001172	5,1	29,7	FOB	FOC	X		x		
1852	0,000111	9,6	18,4	FOB	FOC	X	x		X	
1855	0,000926	21,7	56,2	FOC	FOB	X	x			x
1856	0,004293	18,1	99,1	FOC	FOB	X	x			X
1860	3,60E-05	6,5	13,0	FOC	FOB	X		x		
1863	1,78E-07	10,8	4,7	FOC	FOB	X	x			X

MANCHA	ANOVA	FOLD	MÁX CV (%)	HIGHEST MEAN	LOWEST MEAN	P<0.01	FOLD> 9.9	5<FOLD <9.9	TOP 20 FOB	TOP 20 FOC
1868	7,09E-05	8,5	18,1	FOC	FOB	X		X		X
1872	4,43E-05	19,1	24,1	FOC	FOB	X	x			X
1875	0,001242	21,7	74,7	FOC	FOB	X	x			X

Tabla 6p. Clasificación de los spots alineados con expresión aumentada en FOB y expresión aumentada en FOC discriminando entre valores de fold >5 y menores de 9.9, y valores con fold < 9.9.

SPOTS AUMENTADOS EN FOB			SPOTS AUMENTADOS EN FOC		
5 < FOLD < 9.9		FOLD>9.9	5 < FOLD < 9.9		FOLD>9.9
450	1246	700	560	1440	923
580	1303	1473	516	1561	1113
606	1314	1533	594	1623	1431
634	1368	1581	599	1637	1544
651	1416	1702	783	1670	1626
635	1748	1770	909	1757	1640
833	1766	1804	937	1760	1756
818	1769	1855	976	1761	1794
825	1800	1856	1100	1772	1816
872	1805	1863	1121	1795	1852
891	1843	1872	1295	1844	
956	1860	1875	1304	1845	
1607	1868		1776	1846	

La distribución de las manchas en el gel de electroforesis bidimensional y diferencial puede verse en la siguiente figura (Fig. 6.25).

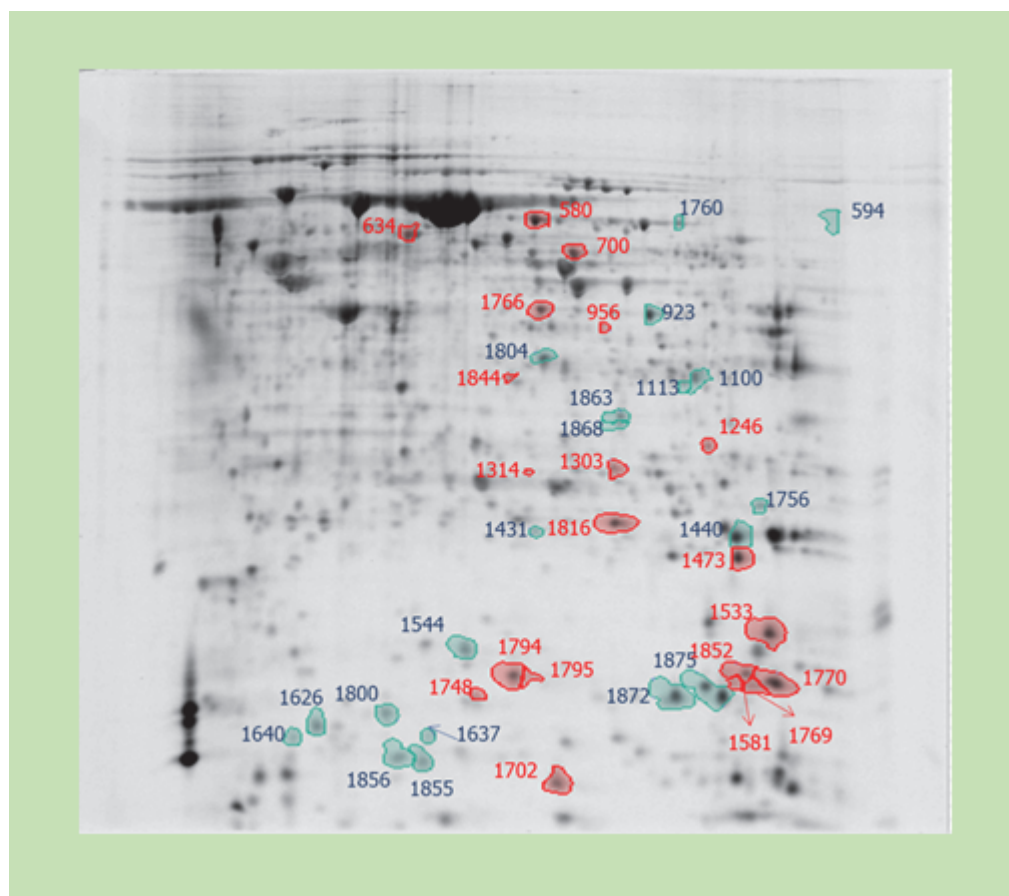


Figura 6.25. Manchas seleccionadas para el análisis de su composición proteica. Los señalados de color verde se corresponden a FOB y los señalados de color rojo se corresponden a los de FOC.

El análisis proteómico de las manchas se realizó mediante espectrometría de masas, cuyos resultados se muestran en el Anexo 16, y que quedan resumidos en la siguiente tabla (Tabla 6q).

Tabla 6q. Proteína mayoritaria encontrada en cada una de las manchas seleccionadas para análisis de composición. Proteínas con mayor número de péptidos y con mayor score.

MANCHAS	MAS ALTO	FOLD	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	PEPT	SCORE	ESPECIE	ACCESO UNIPROT	SÍMBOLO
1770	FOB	>9.9	Peptidyl-prolyl cis-tras isomerase A	6	64.02	BOVIN	P62935.2	PPIA
1816	FOB	>9.9	Protein deglycase DJ-1	16	207.53	BOVIN	Q5E946.1	PARK7
			Keratin, type II cytoskeletal 5	1	20.61	BOVIN	Q5XQN5	KRT5
1473	FOB	>9.9	Phosphatidyletanolamine-binding protein 1	9	116.08	BOVIN	P13696.2	PEBP
1533	FOB	>9.9	Cofilin-1	13	175.29	SHEEP	Q6B7M7.3	CFL1
			Nucleoside diphosphate kinase B	8	104.55	BOVIN	Q3T0Q4.1	NME2
			Keratin, type II cytoskeletal 5	1	20.87	BOVIN	Q5XQN5	KRT5
700	FOB	>9.9	Retinal dehydrogenase 1	23	319.19	BOVIN	P48644.3	ALDHRD H11A1
			T-complex protein 1 subunit beta	21	256.09	BOVIN	Q3ZBH0.3	CCT2
			D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	5	73.26	BOVIN	Q5EAD2.3	PHGDH

MANCHAS	MAS ALTO	FOLD	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	PEPT	SCORE	ESPECIE	ACCESO UNIPROT	SÍMBOLO
1766	FOB	5<fold<9.9	Isocitrate dehydrogenase [NADH] cytoplasmic	28	351.49	BOVIN	Q9XSG3.1	IDH1
634	FOB	5<fold<9.9	T-complex protein 1 subunit theta	6	76.65	BOVIN	Q3ZCI9.3	CCT8
580	FOB	5<fold<9.9	Stress-induced-phosphoprotein 1	40	508.80	BOVIN	Q3ZBZ8.1	STIP1
			Serum albumin	12	190.82	BOVIN	P02769	ALB
			Keratin, type I cytoskeletal 10	11	134.99	BOVIN	P06394	KRT10
			Keratin, type II cytoskeletal 5	4	52.40	BOVIN	Q5XQN5	KRT5
1756	FOC	>9.9	Glutathione S-transferase Mu 1	4	57.59	RABBIT	P46409.2	GSTMU
			Keratin, type I cytoskeletal 10	4	41.47	BOVIN	P06394	KRT10
1855	FOC	>9.9	Annexin A1	3	36.97	RABBIT	P51662.1	ANXA1
1875	FOC	>9.9	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	12	161.21	RABBIT	Q9TTC6.3	PPIA
1872	FOC	>9.9	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	8	90.47	RABBIT	Q9TTC6.3	PPIA
			Keratin, type I cytoskeletal 10	5	54.98	BOVIN	P06394	KRT10
			Keratin, type II cytoskeletal 7	3	35.16	BOVIN	Q29S21	KRT7
1856	FOC	>9.9	Keratin, type I cytoskeletal 10	4	49.06	BOVIN	P06394.1	KRT10
			Keratin, type II cytoskeletal 75	3	41.35	BOVIN	Q08D91	KRT75
1544	FOC	>9.9	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	8	100.97	RABBIT	P09212.3	SOD1
1626	FOC	>9.9	Retinol-binding protein 1	8	106.68	BOVIN	P02694.4	RBP1
			Keratin, type I cytoskeletal 10	4	47.40	BOVIN	P06394	KRT10
1804	FOC	>9.9	Annexin A1	22	302.42	RABBIT	P51662.1	ANXA1
923	FOC	>9.9	Isocitrate dehydrogenase [NADH] cytoplasmic	8	115.26	BOVIN	Q9XSG3.1	IDH1
1113	FOC	>9.9	Annexin A2	12	156.11	BOVIN	P04272.2	ANXA2
			Keratin, type I cytoskeletal 10	8	82.63	BOVIN	P06394	KRT10
			Aldose reductase	5	42.68	RABBIT	P15122	AKR1B1
1440	FOC	5<fold<9.9	Peroxiredoxin-1	14	198.64	BOVIN	Q5E947.1	PRDX1
1100	FOC	5<fold<9.9	Aldose reductase	9	117.38	RABBIT	P15122	AKR1B1

6.4.1.2. Red de interacciones funcionales entre las proteínas identificadas las manchas del gel bidimensional y diferencial (DiGE).

Las proteínas son biomoléculas esenciales para el desarrollo de procesos biológicos tanto a nivel celular como a nivel de sistemas. Generalmente las proteínas no actúan de forma

independiente, establecen relaciones dinámicas entre más de una proteína para llevar a cabo sus funciones biológicas. Los datos obtenidos, tanto a nivel experimental como computacional, sobre las interacciones entre proteínas se encuentran almacenados en grandes bases de datos. Dichas bases de datos pueden ser clasificadas según la procedencia de los datos (Rivas y Fontanillo, 2010): bases de datos primarias, meta bases de datos y bases de datos de predicción. En las bases de datos primarias, los datos almacenados son datos experimentales. En las metabases de datos, las asociaciones entre proteínas provienen de las bases de datos primarias. Finalmente, en las bases de datos de predicción, los datos provienen de las principales bases de datos primarias y, además, hay datos predichos. La principal base de datos de predicción es STRING (Mering *et al.*, 2003). Realizamos el estudio de interacciones entre proteínas obtenidas del análisis proteómico de algunas manchas con expresión aumentada en FOB frente a FOC tras la separación de estas por DiGE (Fig. 6.26), y a la inversa, proteínas con expresión aumentada en FOC frente a FOB (Fig. 6.27).

6.4.1.2.1. Interacciones funcionales entre proteínas con expresión diferencial mayoritaria el FOB.

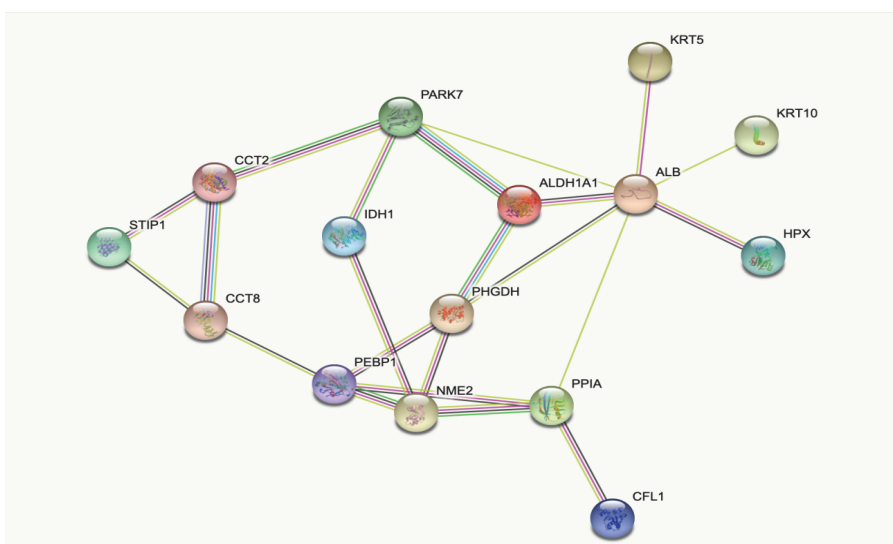


Figura 6.26. Red de interacción funcional por evidencia de las proteínas procedentes de las manchas seleccionadas para su análisis que muestran una expresión aumentada en FOB frente a FOC, mediante la herramienta STRING 11 (Franceschini *et al.*, 2013). Se establecieron 22 interacciones.

6.4.1.2.2. Interacciones funcionales entre proteínas con expresión diferencial mayoritaria el FOC.

La herramienta STRING también nos aporta los datos de cada red de interacciones referentes a los procesos biológicos (Tabla 6r) y a las funciones moleculares (Tabla 6s).

Tabla 6r. Gene Ontology (GO) de procesos biológicos en los que participan las 15 proteínas identificadas en las manchas del FOB.

GO ID	DESCRIPCIÓN	CONJUNTO GENES	TASA DESCUBRIMIENTO FALSO
GO:0065007	Regulación biológica	11 de 3019	0.0019
GO: 0009987	Proceso celular	13 de 4522	0.00080

Tabla 6s. GO de función molecular de las 15 proteínas identificadas en las manchas seleccionadas mayoritarias en FOB.

GO ID	DESCRIPCIÓN	NÚMERO DE GENES	TASA DESCUBRIMIENTO FALSO
GO: 0051287	NAD vinculante	3 de 26	0.00074
GO:0000166	Unión de nucleótidos	7 de 675	0.00021
GO:0036094	Unión de pequeñas moléculas	8 de 828	5.64e-05
GO: 1901363	Unión de compuesto heterocíclico	9 de 1516	0.00021
GO: 0097159	Enlace orgánico compuesto cíclico	9 de 1545	0.00021
GO: 0043167	Unión de iones	8 de 1788	0.0050
GO: 0005488	Unión	13 de 3486	8.62e-06

De las manchas con expresión diferencial aumentada en FOC, y analizada mediante MS/MS, con el análisis de interacciones funcionales de las proteínas mayoritarias identificadas en estas manchas, obtuvimos la siguiente figura (fig. 6.27), y la ontología genética sobre a los procesos moleculares (Tabla 6t), y la función molecular (Tabla 6u).

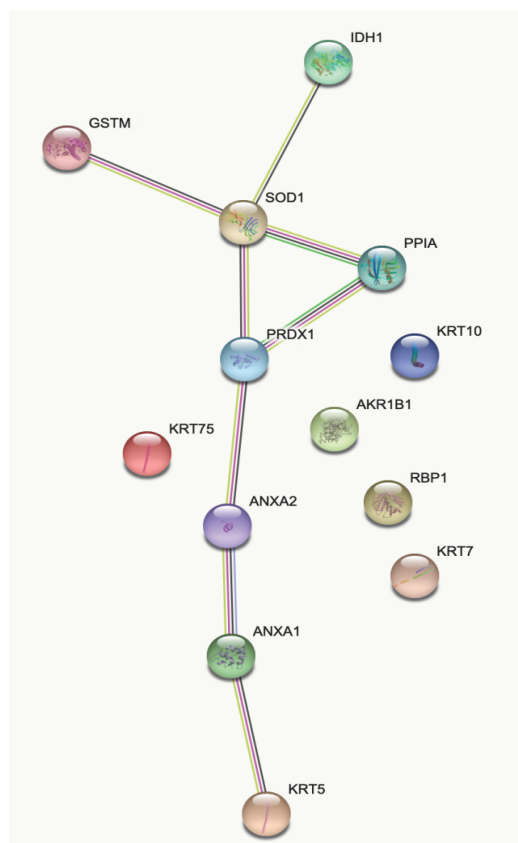


Figura 6.27. Red de interacción funcional por evidencia de las proteínas procedentes de las manchas seleccionadas para su análisis que muestra una expresión aumentada en FOC frente a FOB, mediante la herramienta STRING 11 (Franceschini *et al.*, 2013). Se establecieron 8 interacciones.

Tabla 6t. GO de procesos biológicos en los que están implicadas las 13 proteínas identificadas en las manchas analizadas del FOC.

GO ID	DESCRIPCIÓN	NÚMERO GENES	TASA DESCUBRIMIENTO FALSO
GO:0019430	Eliminación de radicales superóxidos	2 de 5	0.0251
GO:0034614	Respuesta celular a especies reactivas de oxígeno	3 de 31	0.0111
GO:0006979	Respuesta al estrés oxidativo	4 de 97	0.0074
GO:0010035	Respuesta a sustancia inorgánica	3 de 96	0.0437
GO:0030855	Diferenciación de células epiteliales	3 de 101	0.0442
GO:0009888	Desarrollo de tejidos	4 de 315	0.0443
GO:0065007	Regulación biológica	9 de 3019	0.0251
GO:0009987	Proceso celular	11 de 4522	0.0200

Tabla 6u. GO de funciones moleculares de las proteínas identificadas en las anchas analizadas del FOC.

GO ID	DESCRIPCIÓN	NÚMERO GENES	TASA DESCUBRIMIENTO FALSO
GO:0019834	Actividad inhibidora de la fosfolipasa a2	2 de 5	0.0427



VII. DISCUSIÓN

La fecundación es el proceso biológico en el que se unen y fusionan los gametos femenino y masculino, este encuentro tiene lugar en el tracto reproductor de la hembra, concretamente en el oviducto de mamíferos, llamado trompa de Falopio en la mujer (Knobil and Neill, 2014; Yanahimachi, 1994a).

Para que se produzca la fecundación es necesario que los gametos estén preparados y el ambiente sea óptimo para favorecer la unión y penetración del espermatozoide a través de la ZP del ovocito, su adhesión a la membrana plasmática y finalmente su fusión con el ovocito. Después de la fusión, los bloqueos efectivos de la poliespermia aseguran la fecundación monoespermica (Bhakta *et al.*, 2019; Bianchi *et al.*, 2014; Burkart *et al.*, 2012; Inoue *et al.*, 2005). El oviducto de los mamíferos proporciona un microambiente óptimo para el transporte de gametos, la capacitación de los espermatozoides, la fecundación y el desarrollo embrionario temprano, que es fundamental para el establecimiento de un embarazo exitoso (Kolle *et al.*, 2010, Bianchi *et al.*, 2021).

En la fecundación de todas las especies de mamíferos, en condiciones fisiológicas, y en muy bajo porcentaje, tiene lugar una patología que resulta de la entrada de más de un espermatozoide en el citoplasma del ovocito. Esta anomalía se denomina poliespermia (Coy y Avilés, 2010).

La poliespermia ha sido un problema importante para la fecundación *in vitro* (FIV) del cerdo. Biológicamente, el bloqueo de la poliespermia en los mamíferos se produce a través de dos mecanismos. El bloqueo de la membrana que actúa con relativa rapidez (Evans, 2020) y el segundo es un bloqueo a nivel de la ZP que dura unos minutos. La importancia relativa de estos dos mecanismos es diferente entre las especies de mamíferos. En cerdos, humanos y ratones se utilizan ambos mecanismos. El primer bloqueo de membrana relativamente rápido es de tipo eléctrico. Al ocurrir el reconocimiento de membranas, se abren los canales de sodio y se hiperpolariza la membrana del ovocito impidiendo que otros espermatozoides se fusionen con el gameto femenino, mientras que el segundo bloqueo es el resultado de la liberación del contenido de los gránulos corticales (GC) en el espacio perivitelino del ovocito, reacción cortical (Bianchi *et al.*, 2014; Vogt *et al.*, 2019). El contenido de los GC, como la proteasa ovastacina (Burkart *et al.*, 2012) modifica las proteínas de la ZP, en concreto por la proteólisis de la ZP2, de manera que se inhibe la penetración de los espermatozoides. Por lo tanto, estos dos mecanismos sirven para complementarse entre sí para evitar que múltiples espermatozoides entren en el citoplasma del ovocito (Chen *et al.*, 2021)

En el cerdo, el bloqueo en la ZP se correlaciona con la liberación de GC (Wang *et al.*, 1998), mientras que el bloqueo de la membrana es regulado por la calreticulina (Funahashi y Day., 1993). Se han hecho muchos esfuerzos para alterar las condiciones de fecundación y así mejorar las tasas de monospermia. Estos esfuerzos han incluido alterar la concentración de espermatozoides mientras se varía la duración de la exposición entre los espermatozoides y los ovocitos, agregar líquido folicular (Funahashi y Day., 1993) o proteínas que se encuentran en el líquido oviductal, como la proteína eliminación en tumores cerebrales malignos 1 (DMBT1) (Teijeiro y Marini, 2012), glicoproteína oviductal 1 (OVGP1) (Coy *et al.*, 2008a), fosfoproteína 1 secretada (SPP1) (Kao *et al.*, 2010) o plasminógeno (Coy *et al.*, 2012b; Mondéjar *et al.*, 2012) así como intentar recrear el ambiente oviductal agregando fluido oviductal (FO) (Umehara *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 1996) o vesículas extracelulares oviductales (Harris *et al.*, 2020).

Distintas revisiones ven la solución en el intento de imitar las condiciones fisiológicas del oviducto como un mecanismo para bloquear la poliespermia (Abeyderra, 2002, Coy y Romar, 2002, Wheeler *et al.*, 2004; Alcántara-Neto *et al.*, 2020; Nguyen *et al.*, 2021). Con tal fin dirigimos nuestro

estudio al análisis del fluido donde tiene lugar la fecundación, el oviducto, y hemos observado las variaciones que tienen lugar en él en las distintas fases del ciclo estral, en la especie porcina.

El oviducto sufre cambios fisiológicos en función de los niveles de estrógenos y progesterona que varían según la fase del ciclo estral en el que se encuentre la hembra. Estas hormonas modulan la proporción de células ciliadas y secretoras en el oviducto, y, por tanto, afectan su actividad biosintética (Barton *et al.*, 2020). Tales modificaciones permiten generar un entorno óptimo para la fecundación y el desarrollo embrionario temprano.

7.1. Proteínas del fluido oviductal porcino

Se ha demostrado que el contacto de la ZP del ovocito de vaca y cerda con el FO de la fase periovulatoria tanto homólogo como heterólogo, y en ausencia de espermatozoides es capaz de producir un aumento en la RDE de los ovocitos tras ser incubados en él (Coy *et al.*, 2008a). Este aumento dificulta la entrada de espermatozoides en el ovocito y está directamente relacionado con el control de la polispermia. El efecto endurecedor se ha observado solamente con el FOP de la fase periovulatoria y se pensó que tenía que ver con que los niveles de secreción de OVGP1 son máximos en esta fase (Mondéjar *et al.*, 2013b). La heparina y otros glicosaminoglicanos sulfatados como la heparina (S-GAGs) que se encuentran en el oviducto son reguladores de la modificación de la ZP, estabilizándola, junto a la OVGP1 y otros componentes del FO (Coy *et al.*, 2008a). La heparina por sí sola no tiene efecto sobre las tasas de penetración y polispermia en cerdos (Batista *et al.*, 2016).

Además, se ha comprobado que el contacto del ovocito con el FO previo a la fecundación también mejora el posterior desarrollo embrionario (Lloyd *et al.*, 2009b).

Es por la diferencia que presenta el FO según las variaciones del ciclo de las hembras sobre el efecto endurecedor de la ZP, que hayamos realizado este estudio comparativo entre el FO de hembras porcinas en las fases prepúber, periovulatoria y luteal, pero realizando un fraccionamiento previo mediante columna de afinidad por heparina, observando tanto la composición como el efecto que producen cada una de estas fracciones en el endurecimiento de la ZP de ovocitos porcinos.

7.1.1. Proteínas del fluido oviductal porcino (FOP) completo de hembras adultas en fase periovulatoria

Durante la fase periovulatoria, el FOP, así como el de otras especies presenta la capacidad de endurecer la ZP de los ovocitos incubados en él (Coy *et al.*, 2008a).

El análisis proteómico realizado por Mondéjar del FOP de la fase periovulatoria determinó la presencia de 291 proteínas de las cuales el 9.3% eran secretadas (Mondéjar *et al.*, 2012), y 269 de las proteínas totales fueron descritas por primera vez en el oviducto.

En el presente estudio, el análisis proteómico del FOP sin fraccionar de esta fase del ciclo estral nos ha permitido identificar 192 proteínas (Anexo 1) de las cuales 27 son proteínas secretadas, lo que representa el 14%. Las proteínas secretadas son: serum albumin, serotransferrin, complement C3, haptoglobin, Inter-alpha trypsin inhibitor heavy chain H4, glutathione S-transferase P, osteopontin, alpha 1-antitrypsin, plasminogen, transthyretin, antileukoproteinase, lactotransferrin, inter-alpha trypsin inhibitor heavy chain H2, alpha-2-HS glycoprotein, hemopexin, inter-alpha trypsin inhibitor heavy chain H1, trypsin, vitronectin, inhibitor of carbonic anhydrase, isoform 2 of gelsolin

nexin A2, apolipoprotein A-1, clusterin, peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A, leukocyte elastase inhibitor, thioredoxin, Galectin-1, y high mobility group protein B1.

Comparando estos resultados con los resultados obtenidos previamente por diferentes autores (Tabla 7a) observamos coincidencia con los resultados publicados por Mondéjar (2011), en 12 de ellas, la diferencia con los resultados anteriores puede deberse a que la sensibilidad de los equipos de análisis ha mejorado o también a que el análisis proteico de estudios previos utilizó bases de datos generales mientras que en el presente estudio se utilizan bases de datos específicas de la especie porcina.

Tabla 7a. Proteínas identificadas en el análisis proteómico de FO porcino completo en fase periovulatoria descritas previamente.

NOMBRE DE LA PROTEÍNA	ARTÍCULOS DONDE APARECE DESCRITA
Actin cytoplasmatic 1 (Q6QAQ1)	Seytanoglu <i>et al.</i> , 2008
Alpha 1. antitrypsin (P50447)	Georgiou <i>et al.</i> , 2007
Alpha 2-HS glycoprotein (P290700)	Georgiou <i>et al.</i> , 2007
Aminopeptidase N (P15145)	Töpfer-Petersen <i>et al.</i> , 2008
Calpastatin (P12675)	Mondéjar, 2011
Calreticulin (P28491)	Georgiou <i>et al.</i> , 2007
Clusterin (Q29549)	Buhi <i>et al.</i> , 2000
Cofilin 1 (P10668)	Mondéjar, 2011
Complement C3 (P01025)	Georgiou <i>et al.</i> , 2007
Endoplasmin (Q29092)	Seytanoglu <i>et al.</i> , 2008
Deleted in malignant Brain tumors 1 protein (Q4A3R3)	Mondéjar, 2011
Glucose-6- phosphate isomerase (P08059)	Mondéjar, 2011
Haptoglobin (Q8SPS7)	Georgiou <i>et al.</i> , 2005 Revisado por Avilés <i>et al.</i> , 2010
Heat shock protein HSP 90-alpha (O02705)	Topfer-Petersen <i>et al.</i> , 2008
Hemoglobin subunit alpha (P01965)	Georgiou <i>et al.</i> , 2007
Hemoglobin subunit beta (P02067)	Georgiou <i>et al.</i> , 2007
Hemopexin (P50828)	Mondéjar, 2011
Inmunoglobulina lambda chain C region (P01846)	Georgiou <i>et al.</i> , 2005, Georgiou <i>et al.</i> , 2007
Interferon- induced GTP-binding protein Mx1 (P27594)	Mondéjar, 2011
Gelsolin (P20305)	Mondéjar, 2011
L-lactase dehydrogenase B chain (P00336)	Mondéjar, 2011
Osteopontin (P14287)	Johnson <i>et al.</i> , 2003
Oviduct-specific glycoprotein (Q28990)	Georgiou <i>et al.</i> , 2007 Revisado por Avilés <i>et al.</i> , 2010
Peroxirredoxin (P52552)	Georgiou <i>et al.</i> , 2007
Plasminogen (P06867)	Kouba <i>et al.</i> , 2000
Pyridoxal kinase (O46560)	Mondéjar, 2011
Serotransferrin (P09571)	Georgiou <i>et al.</i> , 2007

Serum Albumin (P08835)	Buhi <i>et al.</i> , 1996 Georgiou <i>et al.</i> , 2007 Avilés <i>et al.</i> , 2010
Stathmin (Q6DUB7)	Mondéjar, 2011
Superoxide dismutase Cu-Zn (P04178)	Georgiou <i>et al.</i> , 2005 Avilés <i>et al.</i> , 2010
Triosephosphate isomerase (Q29371)	Georgiou <i>et al.</i> , 2007
Tubulin alpha 1A chain (P02550)	Mondéjar, 2011
Tubulin beta chain (P02554)	Mondéjar, 2011

Estudio comparativo entre el FOP periovulatorio completo y fraccionado.

Como hemos mencionado anteriormente, el análisis proteómico del FOP completo en fase periovulatoria ha permitido la identificación de 192 proteínas diferentes. Al realizar el fraccionado del mismo en columna de heparina y el análisis proteómico de las fracciones donde se eluyeron la mayoría de las proteínas obtenemos un total de 365 proteínas diferentes, el número de proteínas de cada fracción fueron 11, 37, 73, 29, 72, 67 54, 10, 5 y 14, en las fracciones 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12, respectivamente. Por lo que el fraccionamiento en columna de heparina seguido del análisis proteómico permite una detección mayor de proteínas que el análisis proteómico del fluido completo o sin fraccionar. De esas 365 proteínas apenas se repiten 7 proteínas entre algunas fracciones: OVG1, HSPA5, ALDOC, EEF1A1, HSP90B1 y TPPP3

Comparando las proteínas obtenidas en el FOP periovulatorio completo con las obtenidas de modo total en los fraccionados del mismo, solo existen coincidencias en 5 proteínas: OVG1, TUBA1B, LDA y RPS12.

Por ello se podría indicar que, mediante proteómica del fluido completo, en el que las proteínas no se han separado según su afinidad por heparina, se detectan fundamentalmente las proteínas mayoritarias como por ejemplo la albúmina y OVG1 (53 y 21 péptidos respectivamente) y mediante el fraccionado, aquellas proteínas con afinidad a heparina, aunque aparezcan de modo minoritario en el mismo.

7.1.2. Proteínas del fluido oviductal porcino fraccionado de hembras prepúber y adultas en fase periovulatoria y luteal.

El estudio lo realizamos en dos fases del ciclo estral de hembras adultas, la fase periovulatoria y la fase luteal, y en hembras prepúberes, usando FOP. Separamos el contenido de los tres fluidos usando una columna de afinidad por heparina lo que nos permitió estudiar con más detalle las proteínas implicadas en el endurecimiento y analizar si existen diferencias en la capacidad de unión a la heparina de la OVG1 de las distintas fases en las hembras adultas.

Para la elución de las proteínas unidas a la columna de heparina se empleó un gradiente creciente de NaCl. Las gráficas resultantes de estos fraccionamientos nos muestran patrones de elución similares de las proteínas del FO en las fases adultas periovulatoria y luteal, y también en el FO de hembras prepúberes, en cuanto a que la mayor elución de proteínas ocurre a una concentración entre 0,15 y 0.4 mM de NaCl, que se corresponden con las fracciones etiquetadas como 6, 7, 8 y 9. Nos centraremos en el estudio de estas 4 fracciones para los tres fluidos.

El número de proteínas identificadas para estas 4 fracciones en el FOP periovulatorio fue casi el doble que el prepúber y bastante menor que el luteal. El FOP luteal triplicaba en número de proteínas al prepúber (Tabla 7b).

Se sabe que concentración de proteína oviductal es la más baja en la ovulación y la más alta alrededor de la menstruación (Li and Winuthayanon, 2017), según los resultados obtenidos, el FOP luteal debe ser de la fase tardía.

Tabla 7b. Número de proteína identificadas en las fracciones de FOP.

FRACCIÓN	FOP PREPÚBER	FOP PERIOVULATORIO	FOP LUTEAL
6	26	29	123
7	17	72	109
8	70	67	67
9	6	54	59
TOTAL	119	222	358

Además, se observan diferencias entre ellas como, por ejemplo, el número de proteínas que son secretadas en cada fase. El oviducto sufre cambios bajo la influencia de las hormonas esteroides durante el ciclo estral, en estudios realizados se ha publicado que se detectaron diferencias significativas en la expresión de varios genes a medida que avanzaba el ciclo estral (Acuña *et al.*, 2017).

7.1.2.1. Proteínas secretadas en cada fracción del FOP prepúber, periovulatorio y luteal.

El fluido oviductal es el medio donde tienen lugar procesos fundamentales para la reproducción, la interacción de este con gametos y embriones debe de ser a través de las proteínas que son secretadas a él, y por ello nos centraremos en su estudio (Tabla 7b).

Tabla 7c. Proteínas secretadas en cada fracción.

FRACCIÓN	FOP PREPÚBER	FOP PERIOVULATORIO	FOP LUTEAL
6	ALDOC	ALDOC, CCDC88A, HSPA5	FBN2, PGRN, PRB1, RAB3IP, SBSPON, TFP1
7	ALDOC, KARS1, OVGP1, PRSS58, ST3GAL2	ALDOC, BMP8B, CCDC88A, IL22, LPO, OVGP1, SIGLEC1	ADAMTS15, ITIH6, OVGP1, PTER, STIP1, SVEP1, WFDC2
8	CCL2, GPI, HYAL3, IGFBP4, MLN, MSTN, MUC20, NTN1, OVGP1, PRL, SST	C4A, CD163, CTGF, IL2, IL6, INHBA, HSPE, OVGP1, PGRN, PTN, RLN2, TGFB1,	DDR1, HDGF, OVGP1, PRB1
9	OVGP1	FBN1, MXRA5, OVGP1, RAB3A, TUTF1	AIMP1, AZU1, LGALS3, METTL24, NLRP3, OVGP1

7.1.2.1.1. Fluido oviductal porcino prepúber

Las proteínas identificadas en la fracción 6 son aquellas que eluyeron a una concentración de 0,1-0,2 mM de NaCl. Sin embargo, algunas proteínas encontradas en esta fracción también se han obtenido en la fracción contigua, posiblemente porque la concentración de NaCl a la que se eluyen estas proteínas es límite entre ambas fracciones, esto ocurre con las proteínas ALDOC, HSPA8, EEF2 y PGK1 que se detectan también en la fracción 7 de FOP prepúber.

Fueron 26 proteínas las identificadas en la fracción 6 (Anexo 3), de las cuales solamente una proteína era secretada (el 3,9 % son secretadas) (Anexo 6), y por tanto con una función potencialmente relevante (Tabla 7c). ALDOC.

De las 17 proteínas identificadas en la fracción 7 (Anexo 3) del FOP de hembras prepúberes, que se eluyeron de la columna de afinidad a heparina a una concentración aproximada de 0,2-0,3 mM de NaCl, 5 eran proteínas secretadas (el 29,4 % son secretadas) (Tabla 7c).

Lysine tRNA ligase (KARS1). Las aminoacil-tRNA sintetasas son esenciales para la síntesis de proteínas y funcionan como moléculas reguladoras y señalizadoras en diversos procesos biológicos. La lisil-tRNA sintetasa (KARS) es secretada por células humanas intactas, y su secreción es inducida por TNF- α . KARS secretada se une a macrófagos y células mononucleares de sangre periférica para mejorar la producción de TNF- α y su migración. Esta enzima puede estimular la respuesta inmunitaria frente a agresiones extrañas como las infecciones (Park *et al.*, 2005). Este estudio parece ser el primero que demuestra la presencia de esta proteína en el fluido oviductal porcino.

Oviduct specific glycoprotein (OVGP1). Es sintetizada y secretada exclusivamente por células secretoras no ciliadas en el epitelio oviductal (Maines-Bandiera *et al.*, 2010; Saint-Dizier *et al.*, 2014). Es la proteína más abundante encontrada en el análisis de las fracciones del FO, su expresión aumenta gradualmente a medida que el animal alcanza la madurez sexual (Gonzalez Brusi *et al.*, 2020) con un aumento de 1,7 a 5,5 veces durante la etapa de estro en comparación con la etapa de diestro (Soleilhavoup *et al.*, 2016). La expresión y secreción de OVGP1 en el epitelio oviductal se regulan diferencialmente durante el ciclo menstrual o el ciclo estral en los mamíferos. En especies con ciclos ovulatorios largos, los niveles máximos de expresión de mRNA y proteína de OVGP1 se han encontrado durante la fase folicular tardía del ciclo menstrual en humanos (Arias *et al.*, 1994; O'Day-Bowman *et al.*, 1995; Lok *et al.*, 2002) o durante los dos primeros días del ciclo estral en cerdos (Buhi *et al.* 1996). Los niveles de expresión de proteína y ARNm de OVGP1 son muy bajos o están ausentes durante la fase lútea y la etapa de diestro (Buhi *et al.* 1991; 1996; Arias *et al.* 1994; O'Day-Bowman *et al.* 1995; Verhage *et al.* 1998; Lok *et al.*, 2002). A pesar de lo publicado en estos estudios, en nuestro análisis hemos obtenido OVGP1 en cada una de las fases reproductivas y el análisis de WB (Fig. 6.20) confirma que la cantidad de proteína apenas varía entre las fases. La presencia de OVGP1 en el FOP prepúber puede deberse a una pubertad temprana en alguna de las hembras de las que se obtuvo muestra.

CMP-N-acetylneuraminate beta galactosamine alpha 2-3-sialyltransferase (ST3GAL2). El gangliósido GD1a se forma específicamente mediante la adición de ácido siálico al gangliósido GM1a sintetizado por la enzima ST3 β -galactósido α -2, 3-sialiltransferasa 2 (ST3GAL2) (Yang *et al.*, 2011). Se ha confirmado que la adición de GD1a al medio MIV mejoró la maduración meiótica,

los parámetros de fecundación y el desarrollo previo a la implantación de embriones porcinos (Kim *et al.*, 2016).

La polispermia es un fenómeno común en los cerdos, y la fecundación poliespérmica ocurre con más frecuencia que en otras especies bajo diversas condiciones experimentales (Alcántara-Neto *et al.*, 2020). El tratamiento con GD1a es importante para preservar la mejora en la calidad de los ovocitos y la fecundación monospérmica lograda durante el proceso de maduración *in vitro* de los ovocitos porcinos. Además, la calidad de los ovocitos maduros afecta la capacidad de desarrollo y la viabilidad de los embriones porcinos después de la FIV (Kim *et al.*, 2016). El galactosido sialiltransferasa 2 tiene capacidad de unión a heparina demostrada (Schwartz *et al.*, 1987), por eso pudimos identificarla tras el fraccionamiento, aunque su concentración en el FOP no sea elevada y quizás, por este motivo no haya sido descrita previamente.

En la fracción 8 del FOP prepúber (Anexo 3), que se obtuvo por elución a una concentración aproximada de 0,3 mM de NaCl, se identificaron 70 proteínas, 11 de ellas secretadas (el 15,7% son secretadas) (Tabla 7c).

Chemokine (C-C motif) ligand 2 (CCL2). Estudios realizados en la especie bovina muestran como la CCL2 inducida por IL1B es esencial para la migración de las células inmunitarias y la adhesión a las células epiteliales del oviducto (CEO), acelerando la producción de citocinas inflamatorias a partir de las CEO a través de una interacción directa (Nakamura *et al.*, 2021). La CCL2 fue el primer miembro identificado de la subfamilia de quimiocinas y es secretado por una variedad de tipos de células inmunes y no inmunes, como monocitos, células epiteliales, células de músculo liso y fibroblastos (Niu y Kolattukud, 2009). La expresión de esta proteína ha sido descrita en CEO (Nakamura *et al.*, 2021) y humano (Wojnarowicz *et al.*, 2012), pero no se había descrito en oviducto porcino. Su demostrada afinidad por heparina posiblemente nos haya permitido identificarlo en el fluido oviductal (Van Gems *et al.*, 2018).

Hyaluronidase 3 (HYAL3). El hialuronano (HA), también conocido como ácido hialurónico o hialuronato, es un miembro de un grupo de macromoléculas llamadas glicosaminoglicanos (GAG) que constituyen los componentes de la matriz extracelular (ECM) en los tejidos animales. El HA está presente en el oviducto, el útero y el cuello uterino humanos (Afify *et al.*, 2006), y de ovejas (Perry *et al.*, 2012; Raheem *et al.*, 2013). Una secuencia de reacciones enzimáticas por HYAL escinde el HA generando fragmentos más pequeños (Stern, 2003; 2004). Hay seis isoformas HYAL en el genoma humano, HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4, HYALP1 y la molécula de adhesión de esperma 1 (SPAM1) (Csoka *et al.*, 1999). HYAL3 y HYAL4 carecen de actividad hialuronidasa y parecen jugar un papel no significativo en la degradación constitutiva del HA (Harada y Takahashi, 2007; Kaneiwa *et al.*, 2012). HYAL3 se expresa en el esperma murino, humano y de ratón (Reese *et al.*, 2010) Además de un papel en la penetración del cúmulo y la reacción del acrosoma inducida fisiológicamente, es probable que HYAL3 desempeñe un papel en la penetración de la ZP basándonos en su actividad ácida predominante y su abundancia en el acrosoma. Se ha demostrado que la actividad hialuronidasa ácida es necesaria para la penetración de la ZP (Sabeur *et al.*, 1997; Cherr *et al.*, 2001). En este trabajo hemos detectado la presencia de HYAL3 en el FOP de la fase prepúber, puede ser que, al igual que otra hialuronidasa con funciones en el esperma, SPAM1, que se describió en el oviducto murino (Griffiths *et al.*, 2008), esta proteína también se exprese en el oviducto.

Insulin like growth factor binding protein 4 (IGFBP4). La proteína 4 de unión al factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) (IGFBP-4) es un modulador del sistema IGF, que ejerce

efectos inhibidores sobre el crecimiento celular inducido por IGF (Hjortebjerg, 2018). Este factor de crecimiento es secretado por las CEO y su expresión ha sido descrita en el oviducto humano, bovino, ovino, de rata y ratón (Pfeifer y Chegini, 1994; Winger *et al.*, 1997; Stevenson y Wathes, 1996; Erickson *et al.*, 1995), mediante técnicas de WB e inmunohistoquímica, y se piensa que puede ser funcionalmente importante para modular las actividades del IGF en el oviducto, los complejos de cúmulos de los ovocitos y tal vez también el embrión preimplantacional (Erickson *et al.*, 1995). Se ha demostrado su afinidad por heparina (Hodgkinson *et al.*, 1994). No se ha encontrado estudios que describan esta proteína en el oviducto porcino, aunque se ha descrito en el ovario (Sirotkin *et al.*, 2001).

Myostatin (MSTN). McPherron y colaboradores identificaron por primera vez el MSTN (también conocido como factor de diferenciación de crecimiento-8, GDF8) como miembro de la superfamilia TGF- β (factor de crecimiento transformante- β) (McPherron *et al.*, 1997). MSTN es una proteína altamente conservada que actúa como un regulador negativo del crecimiento del músculo esquelético. Las hembras knockout para MSTN no vieron reducida su fertilidad, pero las cerdas heterocigóticas para MSTN tienen una edad puberal más tardía que las cerdas salvajes (Han *et al.*, 2021). Se ha demostrado la presencia del GDF8 *in vivo* en el FO porcino mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y los mismos autores mostraron que la suplementación con GDF8 mejoró la formación y la calidad del blastocisto en la FIV (Yoon *et al.*, 2009).

Netrin 1 (NTN1). Las netrinas son proteínas secretadas que se unen a la heparina (Kappler *et al.*, 2000). Han demostrado que la netrina-1 puede atenuar activamente la respuesta inflamatoria aguda y acelerar los mecanismos pro-resolución, que cesan la inflamación y ayudan al tejido inflamado a volver a la homeostasis (Mirakaj *et al.*, 2014; Schlegel *et al.*, 2016, Ziegler and Schlegel, 2021). No he encontrado publicaciones que describan la presencia de NTN1 en el oviducto, el que la hayamos encontrado en el FO puede que este relacionado con la regulación de los globulos blancos en la luz oviductal.

Prolactin (PRL). La prolactina (PRL) es una hormona excepcional con implicaciones importantes para la reproducción y el comportamiento sexual (Ben-Jonathan *et al.*, 2008). Hasta el momento se han descrito más de 300 funciones biológicas, por ejemplo, funciones inmunitarias, osmorregulación, reproducción y comportamiento (Freeman *et al.*, 2000; Grattan y Kokay, 2008). PRL comparte varias características con los factores de crecimiento y las citoquinas, muchas de las cuales se sabe que se unen a los proteoglicanos de heparán sulfato (Khurana *et al.*, 1999). La PRL está involucrada en la regulación de varias funciones reproductivas humanas principalmente a través de los efectos moduladores de las gonadotropinas (Kelly *et al.*, 1993). Aunque la PRL es una hormona luteotrófica en roedores, su papel en la regulación del CL difiere mucho en las especies de mamíferos (Niswender *et al.*, 2000). En humanos, tanto la hipo como la hiperprolactinemia pueden causar una deficiencia de la función lútea (Garcea *et al.*, 1983; Hunter 1984; Gu, 1993; Kauppila *et al.*, 1988). Se ha visto que la secreción de líquido oviductal desencadenada por prolactina limpia el oviducto de los desechos, reduce la viscosidad y genera la corriente que guía la migración de los espermatozoides en el oviducto (Miki y Clapham, 2013), y aunque en especies como humanos y roedores se ha descrito un receptor de prolactina en trompa de Falopio y oviducto, respectivamente (Shao *et al.*, 2008), la expresión y secreción de PRL solo se ha descrito en la glándula pituitaria anterior (Freeman *et al.*, 2000), por lo tanto la procedencia de esta proteína que encontramos en el FOP prepúber y que tiene capacidad de unión a heparina (Khurana *et al.*, 1999), debe proceder del plasma sanguíneo. Los embriones humanos también expresan el receptor de PRL en etapas tempranas (Ezoe *et al.*, 2021) y existen estudios que su

presencia en la superficie del espermatozoide, en codorniz (Hiyama *et al.*, 2016). Su expresión en espermatozoides mamíferos no está demostrada.

Somastatin (SST). La somatostatina, también conocida como hormona inhibidora de la hormona del crecimiento, es una hormona peptídica que está presente en múltiples sistemas, incluidos el sistema nervioso central, la hipófisis, el tracto gastrointestinal, el páncreas, la tiroides, los riñones y los ovarios (Murray *et al.*, 2015). Se ha detectado previamente en el oviducto de cerda mediante inmunocitoquímica en células endocrinas epiteliales (Czaja *et al.*, 1996). SST es una proteína con afinidad por heparina (Dharmadana *et al.*, 2018). No ha sido descrita previamente como secreción del oviducto, se ha estudiado la localización y distribución de la somatostatina en el aparato reproductor femenino porcino con la técnica de inmunofluorescencia indirecta. Se observaron fibras nerviosas inmunorreactivas a la somatostatina en distribuidas en diferentes regiones del útero, oviducto y ovario (Happola *et al.*, 1991), lo que sugiere que los órganos genitales femeninos porcinos reciben inervación de fibras nerviosas que contienen somatostatina, pero su función funcional exacta aún no se ha establecido.

En la fracción 9 del FOP prepúber encontramos 6 proteínas eluidas a una concentración entre 0.3-0,4 mM de NaCl, de ellas únicamente la OVGP1 es una proteína secretada (16,7% secretadas).

Repasando las funciones en las que están implicadas las proteínas secretadas que encontramos en el FOP de la fase prepúber, a algunas de ellas las publicaciones no las relacionan con la reproducción. La proteína NTN1 puede estar implicada en la atenuación respuesta inflamatoria (Ziegon and Schlegel, 2021). Otras proteínas están implicadas en la interacción de los gametos HYAL3, OVGP1 (Reese *et al.*, 2010, Algarra *et al.*, 2016). Encontramos proteínas relacionadas con la defensa inmunológica, KARS1, CCL2 (Park *et al.* 2005, Nakamura *et al.*, 2021), factores de crecimiento y hormonas con funciones en la reproducción, IGFBP4, MST, ST3GAL2, SST y PRL (Erickson *et al.*, 1995, Yoon *et al.*, 2009, Kim *et al.*, 2016, Murray *et al.*, 2015, Miki y Clapham, 2013). De cuatro proteínas secretadas en esta fase no encontramos publicaciones que las relacionaran con su papel en el oviducto, Aldolase C, fructose biphosphatase (ALDOC), Promotilin (MLN), Mucin 20 precursor (MUC20) y Glucose 6 phosphate isomerase (GPI).

7.1.2.1.2. Fluido oviductal porcino fase periovulatoria

En los mamíferos, alrededor del momento de la ovulación, el perfil hormonal cambia dinámicamente en sincronía con los eventos reproductivos que ocurren en el oviducto, es decir, la llegada del espermatozoide, la fertilización y el desarrollo temprano del embrión (Laezer *et al.*, 2020). Este cambio no implica un mayor número de proteínas secretadas, según nuestro trabajo, observamos un número similar de proteínas secretadas con capacidad de unión por heparina en las tres fases reproductivas estudiadas.

Fueron 29 las proteínas detectadas en la fracción 6 (Anexo 4) del FOP periovulatoria, esta fracción se obtuvo por elución de la columna de heparina a una concentración de NaCl de 0,2 mM, 3 de ellas eran secretadas (10,3%) (Tabla 7b). ALDOC, CCDC88A, y HSPA5

Girdin (CCDC88A). Girdin proporciona a las células una ventaja citoprotectora y su eliminación influye negativamente en la supervivencia celular frente al estrés del RE (Nguyen *et al.*, 2019). También es un amortiguador de la respuesta inflamatoria de los macrófagos (Swanson *et al.*, 2020).

Es un actor clave durante la capacitación espermática, y, al mismo tiempo, inhibe la reacción acrosómica prematura, desempeñando así un papel esencial en la fertilidad masculina (Reynoso *et al.*, 2021). GIV sirve como un punto de convergencia para la señalización de PI3K dependiente de múltiples tirosina quinasas (Lin *et al.*, 2011; Midde *et al.*, 2018). En segundo lugar, como potenciador y sustrato de Akt (Enomoto *et al.*, 2005), y en tercer lugar GIV en general inhibe la adenilil ciclasa de membrana (mAC) y suprime el AMPc celular (Getz *et al.*, 2019). Su procedencia, en el FOP en fase periovulatoria, puede ser el espermatozoide, porque no parecen existir publicaciones que lo describan en el oviducto.

78 kDa glucose regulated protein (HSPA5). La proteína regulada por glucosa (GRP78), también conocida como proteína de unión a cadena pesada de inmunoglobulina (Bip), es una de las proteínas chaperonas del retículo endoplásmico (RE) mejor caracterizadas, que pertenece a la familia de proteínas de choque térmico (HSP). HSPA5, como un regulador central del estrés de retículo endoplásmico (SRE) juega muchos papeles importantes en la supervivencia celular y la apoptosis. HSPA5, se expresa y secreta por las CEO humano, porcino, bovino y ratón, modulando las interacciones espermatozoides-zona pelúcida en una manera dependiente del calcio (Marin-Briggiler *et al.*, 2010; Boilard *et al.*, 2004; Lin *et al.*, 2012). El microambiente oviductal tiene un papel esencial en la finalización de la capacitación espermática, la fertilización y el desarrollo embrionario temprano (Munuce *et al.*, 2009). El HSPA5, expresado por las células del oviducto y del endometrio humano puede unirse y puede estar involucrado en la concesión de competencia fertilizante a los espermatozoides (Lachance *et al.*, 2007). El estudio realizado por Lachance *et al.*, (2007) informa del potencial de dos proteínas chaperonas individuales, HSP60 y HSPA5, ambas expresadas por CEO para modular la motilidad, la fosforilación de proteína tirosina y los niveles de calcio intracelular de los espermatozoides durante la capacitación.

La fracción 7 del FOP periovulatorio se obtuvo por elución a una concentración entre 0,2-0,3mM de NaCl. Se identificaron 72 proteínas (Anexo 4), de las cuales 7 eran secretadas (el 9,7%). ALDOC, BMP8B, CCDC88A, IL22, LPO, OVGP1, SIGLEC1.

Bone morphogenetic protein 8B (BMP8B). Esta proteína es capaz de inhibir la producción de progesterona estimulada por gonadotropina, así como la expresión de varios genes relacionados con la esteroidogénesis. BMP8 es relativamente abundante en las células de la granulosa, donde tanto los niveles de transcripción como las cantidades de proteína de BMP8 disminuyen en paralelo con la maduración del folículo (Wu *et al.*, 2020). Los estudios sugieren existen algunas diferencias fisiológicas entre los ovarios de primates y roedores, los patrones de expresión de los ligandos relacionados con BMP parecen conservarse en términos de evolución entre especies (Wu *et al.*, 2020). Es un factor de crecimiento que se ha descrito en las células de la granulosa pero no he encontrado ninguna publicación que describa su secreción oviductal. Su procedencia puede ser el fluido folicular.

Interleukin 22 (IL22). Es producida principalmente por linfocitos (Sabat *et al.*, 2014). También se ha informado su producción por neutrófilos (Zindl *et al.*, 2013). La IL-22 se expresa en respuesta a las citocinas proinflamatorias secretadas por las células mieloides en respuesta a la agresión microbiana (Rutz *et al.*, 2013).

IL-22 ejerce funciones importantes en la reparación de tejidos. promueve la inmunidad de la mucosa al mejorar la integridad de la barrera epitelial, la expresión de moléculas antimicrobianas y la producción de mucina (Zheng *et al.*, 2008; Aujla *et al.*, 2008; Sugimoto *et al.*, 2008; Liang *et al.*, 2006). Usando inmunohistoquímica, se ha detectado la expresión de IL-22R1 en el exocérnix

murino, endocervix, cuernos uterinos y oviductos de ratón (Fraer *et al.*, 2013). Se ha demostrado que la IL-17 y la IL-22 cooperan para inducir la liberación de quimiocinas de neutrófilos y promover la inflamación innata (Aujla *et al.*, 2008; Liang *et al.*, 2006; Andoh *et al.*, 2005). También se ha comprobado que la producción asociada de IL-22 e IL-4 en el sitio de implantación parece ser esencial para el éxito del embarazo. Como la IL-22 es importante para la regeneración epitelial y la reparación de heridas (Lindemans *et al.*, 2015, McGee *et al.*, 2013) al unirse a la IL-22R1 presente en las células del trofoblasto, podría estimular directamente la proliferación y supervivencia del trofoblasto y disminuir su apoptosis (Wang *et al.*, 2013). En oviducto porcino no parece haber sido descrita previamente.

SIGLEC1. También conocida como sialoadhesina o CD169 (Delputte *et al.*, 2004). Es una proteína transmembrana que pertenece a una familia de lectinas similares a inmunoglobulinas que se unen al ácido siálico, puede ser secretada. Es una sialoadhesina expresada por macrófagos que se cree que funciona en interacciones de célula a célula (Souza De Lima *et al.*, 2003). En los vertebrados, las células están rodeadas por una capa de glicanos y la mayoría de estos glicanos tienen residuos de ácido siálico en sus posiciones más externas. Siglec-1 (sialoadhesina) se ha sugerido que es el principal responsable de las interacciones célula-célula y/o de la fagocitosis de patógenos sialilados (Chang y Nizet, 2014; Crocker *et al.*, 2007). Estudios realizados en rata mostraron que las CEO expresan glicoproteínas ricas en ácido siálico y, en la superficie de la cabeza del espermatozoide, hay proteínas de unión al ácido siálico, llegando a la conclusión de que la adhesión del espermatozoide al oviducto en la rata se produce por la interacción de los sialoglicoconjugados presentes en las CEO con las proteínas de unión al ácido siálico en la superficie del espermatozoide (Cortes *et al.*, 2004), En bovino la unión del espermatozoide a la ZP también parece estar mediada por el ácido siálico (Velásquez *et al.*, 2007), de manera que esta proteína puede estar relacionada con la interacción del espermatozoide con el oviducto.

La presencia de siglec1 en el oviducto puede proceder de monocitos, ya que en porcino se ha descrito su expresión en estas células (Fernández-Caballero *et al.*, 2018), aunque no hay publicaciones que la describan en el FO.

De la fracción 8 de FOP periovulatorio, el análisis proteómico detectó 67 proteínas (Anexo 4). Esta fracción eluyó de la columna de heparina a una concentración 0,3 -0,4 mM de NaCl. En esta fracción se encontraron 12 proteínas secretadas (el 18%). C4A, CD163, CTGF, HSPE, IL2, IL6, INHBA, OVGP1, PGRN, PTN, TLN2 y OVGP1.

C4A. Es un componente del complemento secretado que podemos encontrar en el FOP procedente del plasma sanguíneo y que tiene demostrada afinidad por heparina (Kaidoh *et al.*, 1981). No hay publicaciones que lo describan en el fluido oviductal, quizás sea porque se encuentre a baja concentración y el fraccionamiento por afinidad a heparina facilite su detección.

Scavenger receptor cysteine rich type 1 protein M130 (CD163). Es un receptor regulado por la fase aguda con gran cantidad de funciones incluida la de actuar como receptor para la eliminación y endocitosis de los complejos hemoglobina-haptoglobina por los macrófagos protegiendo al tejido del daño oxidativo (Kristiansen *et al.*, 2001). La forma soluble puede desempeñar un papel antiinflamatorio (Moestrup y Moller., 2004) y modulador inmunitario (Van Gorp *et al.*, 2010). Ha sido descrito en las trompas de Falopio (Ardighieri *et al.*, 2014), que contiene numerosos macrófagos CD163⁺. Cuando se analiza por ubicación mediante inmunohistoquímica se observa que predominan en la lámina propia y la pared de la trompa. El detectarlo en el FO puede deberse a la presencia de macrófagos en la luz del oviducto.

Connective tissue growth factor (CTGF). El factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) es una proteína rica en cisteína cuya síntesis y secreción se supone que están reguladas selectivamente por activinas y otros miembros de la superfamilia TGF- β . CTGF es funcionalmente necesario para el desarrollo normal del folículo, la ovulación y el mantenimiento de la fertilidad femenina (Nagashima *et al.*, 2011). Pero además se ha descrito su expresión en el oviducto porcino se cree que está relacionado con la regulación el desarrollo del embrión antes de la implantación (Tríbulo *et al.*, 2018). Es un factor de crecimiento con capacidad de unirse a heparina (Gressner y Gressner, 2008), que hemos identificado en el FOP periovulatorio, posiblemente por primera vez.

Heparanase (HSPE). La heparanasa se descubrió por primera vez en los mastocitos hace más de 40 años (Hook *et al.*, 1977). Esta endoglucuronidasa es la única enzima de mamíferos que escinde específicamente el enlace glucosídico entre el ácido glucurónico y la glucosamina N-sulfatada en la heparina, así como en las cadenas de heparán sulfato (HS), la remodelación enzimática de HS por heparanasa puede afectar varios aspectos de las reacciones inflamatorias, liberación de citoquinas y quimioquinas ancladas dentro de la MEC o superficies celulares, así como la activación de células inmunitarias innatas.

La expresión del gen de heparanasa es estimulada por estrógenos (Cohen *et al.*, 2007, Elkin *et al.*, 2003, Xu *et al.*, 2007) por especies reactivas de oxígeno (Maxhimer *et al.*, 2002; Rao *et al.*, 2011) y citoquinas inflamatorias (Chen *et al.*, 2004; Edovitsky *et al.* 2006; Lerner *et al.*, 2011). La proteína heparanasa de mamíferos se localiza principalmente en los gránulos celulares lisosomales y endosómicos ácidos perinucleares y en los gránulos terciarios de los neutrófilos humanos (Goldshmidt, *et al.*, 2001)). Se demostró que las citocinas inflamatorias, así como los ácidos grasos, estimulan la secreción de heparanasa por las células endoteliales (Shafat, *et al.* 2006). Ha sido descrito en el oviducto bovino (Pillai *et al.*, 2017), pero no parece que haya sido descrita en oviducto porcino, posiblemente se encuentre en baja cantidad y por eso es más fácil detectarlo en FOP fraccionado. En nuestro trabajo la identificamos en la fase periovulatoria. El estudio de esta enzima puede revelar datos interesantes respecto a como afecta a las interacciones de la heparina con versican, PTN o con OVGP1.

Interleukin 2 (IL2). Es una citoquina con capacidad de unión a heparina (Najjal *et al.*, 1997) Hay estudios que confirman la secreción de IL2 en oviducto de hembras de Macaco (Van Voorhis *et al.*, 1997) y en fluido oviductal humano (Srivastava *et al.*, 1996). Ha sido detectado en oviducto bovino en días próximos a la ovulación (Tríbulo *et al.*, 2018). Nuestro estudio detecta la presencia en el FOP de la fase periovulatoria. Se ha descrito en el fluido folicular, y es posible que proceda de este fluido durante la ovulación (Barak *et al.*, 1992)

Interleukin 6 (IL6). La interleucina 6 es una citocina pluripotente, con capacidad de unión a heparina (Mummery and Rider, 2000), involucrada en las reacciones inflamatorias. Hay estudios que demuestran que las secreciones de células endometriales humanas inducen la capacitación de los espermatozoides y se ha demostrado claramente que la interleucina-6 (IL-6), que se encuentra entre los factores secretados por estas células, induce la capacitación al aumentar la fosforilación de tirosina y el Ca^{2+} -inducido por ionóforo y la velocidad de reacción del acrosoma (Laflamme *et al.*, 2005). El oviducto y el endometrio bovinos, así como el embrión, producen IL6 en el embarazo (Tríbulo *et al.*, 2018).

Inhibin beta a subunit (INHBA). La activina A (ACVA), una glicoproteína perteneciente a la superfamilia del factor de crecimiento transformante beta (TGFB), participa en varias funciones

celulares en los mamíferos, como la proliferación y la apoptosis (Yoshimoto *et al.*, 2015; Refaat *et al.*, 2012) varias funciones reproductivas, como el desarrollo folicular (Cossigny *et al.*, 2012) y la deciduización/implantación (Jones *et al.*, 2002; Jones *et al.*, 2002b). ACVA es un homodímero de la subunidad inhibina BA (INHBA) y regula la expresión génica. Se ha detectado INHBA en CEO bovinas (Gandolfi *et al.*, 1995), sin embargo, aún se desconoce su función.

La expresión de ARNm de INHBA en la ovulación fue significativamente mayor que en las etapas lúteas media y tardía, lo que sugiere que ACVA se expresa mucho el día de la ovulación en el tejido ístmico (Yamamoto *et al.*, 2020). Gandolfi *et al.* (1995) han demostrado la expresión de INHBA, pero no de ARNm de otra subunidad de inhibina, lo que indica que solo el epitelio oviductal bovino produce ACVA. Se desconocen las funciones de ACVA en el oviducto, y su presencia no parece haber sido descrita en el oviducto porcino.

Pleiotrophic factor beta (PTN). La pleiotrofina (PTN) es factor de crecimiento miembro de una familia de proteínas de unión a heparina secretadas. Una gran cantidad de PTN está presente en el líquido folicular bovino (Ohyama *et al.*, 1994) y PTN se expresaron en células de la granulosa. PTN reconoce estructuras sobresulfatadas en sulfato de heparán o en sulfato de condroitina, y el reconocimiento es esencial para su señalización (Raulo *et al.*, 1994; Rauvala y Pen, 1997; Maeda *et al.*, 1999; Vacherot *et al.*, 1999; Muramatsu, 2002; Sugahara *et al.*, 2003; Polykratis *et al.*, 2005). Por lo tanto, se puede pensar que las estructuras sulfatadas en los glicosaminoglicanos son importantes en las funciones de los órganos reproductores femeninos. PTN y su sistema de recepción de señales, incluidos los glicosaminoglicanos, en los órganos reproductores femeninos juegan un papel importante en el control de las actividades reproductivas, como el ciclo estral y la maduración de los ovocitos (Muramatsu *et al.*, 2006). Esta proteína es secretada, junto con la osteopontina y osteoglicina por las células NK del útero durante el embarazo temprano (Fu *et al.*, 2017). Su presencia en el oviducto ha sido detectada en este trabajo, en la fase periovulatoria, y su papel en él, podría ser una interesante línea de investigación.

Granulins precursor (PGRN). La progranulina (Toh *et al.*, 2011) es una glicoproteína de 67-88 kDa, también conocida como acrogranina, factor de crecimiento secretado de alto peso molecular, implicada en la adhesión celular (Qin *et al.*, 2005). Se ha informado que la progranulina se expresa en espermatozoides de cobayo, localizados únicamente en la región del acrosoma (Anakwe y Gerton, 1990), y que, asociada con ADAM15, en la membrana plasmática del espermatozoide, participa en la interacción espermatozoide-óvulo (Pastén *et al.*, 2014).

La progranulina, puede ser expresado por el propio embrión y tiene efectos importantes en el desarrollo del embrión preimplantacional (Díaz-Cueto *et al.*, 2018). Además, la progranulina promueve la eclosión de blastocistos de ratón, adhesión y crecimiento *in vitro* (Díaz-Cueto *et al.*, 2018). Su secreción oviductal no ha sido descrita previamente, podría ser una proteína de interés en la fecundación.

Relaxin 2 (RLN2). Es una hormona de 6 kDa de la familia de la insulina. A pesar de los altos niveles de relaxina que se encuentran en los fluidos foliculares y el entorno del oviducto de las cerdas, todavía no hay informes disponibles sobre la expresión receptores de esta proteína en ovocitos y embriones porcinos (Oheth *et al.*, 1998, Stewart *et al.*, 1990). La disminución general y gradual de los sistemas de proteína relaxina/receptor a lo largo del desarrollo del embrión puede indicar efectos beneficiosos que se limitan durante las primeras etapas del desarrollo del embrión previo a la implantación. (Feugang *et al.*, 2011). La relaxina tiene un papel importante en la mejora de la motilidad en los espermatozoides humanos (Miah *et al.*, 2015). Investigaciones sobre el papel de la relaxina en otros fenómenos fisiológicos del esperma, como la capacitación, la reacción del

acrosoma, y sus factores mediadores asociados con la fecundación exitosa objeto de estudio (Miah *et al.*, 2015).

Transforming growth factor beta 1 (TGFB1) Las CEO bovino sintetizan TGFB1 en condiciones basales. Los E2 estimulan la producción de TGFB1 en las CEO al regular el calcio intracelular, el AMP cíclico y MAPK (Cometti *et al.*, 2018). El que los estrógenos modulen la síntesis local de TGFB1 dentro del oviducto sugiere que puede desempeñar un papel importante en la regulación de la fisiología del oviducto asociado con el desarrollo embrionario temprano (Li *et al.*, 2011; Li, 2014; Monsivais, 2017). En este sentido, los cambios cíclicos en la expresión activa de TGFB1 ocurren durante el ciclo menstrual (Arici y Sozen, 2003). Los E2, junto con otras citoquinas, puede estimular la liberación fisiológica de TGFB1 dentro del oviducto e influir en el desarrollo del embrión temprano para la implantación (Jones *et al.*, 2006; Li, 2014).

La fracción 9 de FOP periovulatorio se obtuvo por elución de la columna de heparina a una concentración entre 0,4 mM de NaCl, se identificaron 54 proteínas (Anexo 4), y 5 eran secretadas (el 9,3%). FBN1, MXRA5, OVGP1, RAB3, y TUTF1

Matrix remodeling associated protein 5 (MXRA5). es una proteína que pertenece a la familia MXRA. Se cree que participa en la adhesión celular y la remodelación de la matriz, y puede desempeñar un papel en la inflamación (Walker y Volkmuth, 2002). MXRA5 se encuentra en primates, marsupiales, algunos mamíferos, aves y peces, pero no en ratones ni ratas (Poveda *et al.*, 2017). No se han encontrado publicaciones que lo describan en la especie porcina y aunque existe en células trofoblásticas humanas (Ding *et al.*, 2018), no se ha descrito anteriormente su presencia en el oviducto.

Guanine nucleotide exchange factor for Rab3 isoform X2 (RAB3A). Los miembros de la familia Rab, son pequeñas GTPasas que juegan un papel importante en el tráfico de membranas, el crecimiento celular y la diferenciación. Casi todos los componentes del sistema de endomembranas celulares, el núcleo y la membrana plasmática están estrechamente relacionados con las proteínas RAB. (Vieira, 2018).

Las proteínas secretadas identificadas en el fraccionado de la fase periovulatoria incluyen proteínas relacionadas con la interacción entre gametos (HSPA5, OVGP1, SIGLEC1 y RAB3), factores de crecimiento (BMP8B, CTGF, INHBA, PTN, PGRN, TGFB1), proteínas relacionadas con la defensa inmunológica (IL22, CD163, IL2 y C4A), con la implantación y el embrión preimplantacional (TGFB1, PGRN y MXRA5) y capacitación y movilidad espermática (IL6 y RLN2). De algunas proteínas, ALDOC, LPO, FBN1, TUFT1 no había publicaciones que nos indicaran su posible implicación en las funciones del FOP.

7.1.2.1.3. Fluido oviductal porcino fase luteal tardía

La fracción 6 se eluyó de la columna de heparina a una concentración de 0.2 mM de NaCl, en ella se encontraron 123 proteínas (Anexo 5), 6 de las cuales eran secretadas (5,7%) FBN2, PGRN, PRB1, RAB3IP, SBSPON, TFP1 (Tabla 7c). La única proteína de la que existen publicaciones relacionadas con reproducción, en este grupo de proteínas secretadas, es la PGRN, que obtuvimos también en la fracción 8 del FOP periovulatorio, la diferencia en la concentración de NaCl a la que eluyó esta proteína entre las dos fracciones, puede deberse a la cantidad de proteínas que hay unidas a la columna de heparina. Esta fracción contiene el doble de proteínas que la

fracción 8 del FOP periovulatorio, puede que la cantidad de proteínas unidas impidiera la unión de PGRN con la misma afinidad.

La fracción 7 de FOP luteal se eluyó a una concentración de entre 0.2-0.3 mM de NaCl. Se identificaron 109 proteínas (Anexo 5), de las cuales 6 eran secretadas (6,4%), ADAMTS15, ITIH6, PTER, STIP, SVEP1, WFDC2 (Tabla 7b).

A disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs 15 (ADAMTS15). Pertenece a una clase de metaloendopeptidasas secretadas que difieren de muchas de las otras proteinasas, como las metaloproteinasas de matriz, en su capacidad para unirse a la MEC (Kuno et al., 1997, Porter et al., 2005). Algunos estudios demuestran que ADAMTS1 media la remodelación dinámica del tejido de la pared del folículo asociada con la ovulación, así como el catabolismo de versican requerido para la posterior degradación de la matriz COC para asegurar una fertilización exitosa (Brown et al., 2010). Se ha visto que ADAMTS15 se localizó en la superficie celular, se activó extracelularmente fue capaz de escindir el versicano. Estos datos sugieren un papel para ADAMTS15 en una amplia gama de procesos biológicos que están potencialmente mediados por el procesamiento de versicano (Dancevich et al., 2013). No ha sido descrita en el oviducto porcino, en este estudio la identificamos en el FOP de la fase luteal.

Inter alpha trypsin inhibitor heavy chain family member 6 (ITIH6). Proteína secretada que no se ha descrito previamente en el oviducto porcino. Actúa como inhibidor de la serin proteasa. Los inhibidores de las serin proteasas en el tracto reproductor femenino realizan funciones como inhibir la capacitación de espermatozoides, en murino (Lu et al., 2011).

Stress induced phosphoprotein 1 (STIP1). Las chaperonas, proteínas de choque térmico 90 y 70 (Hsp90 y Hsp70) cooperan para ayudar al plegamiento y la estabilidad de muchas proteínas cliente que son fundamentales para la homeostasis celular (Picard, 2002; Young et al., 2004). Se cree que las cochaperonas juegan un papel importante en ayudar a Hsp70 y Hsp90 (Pearl y Prodromou, 2006). La fosfoproteína 1 inducible por estrés cochaperona (STIP1) se cree que participa en diferentes aspectos de la función celular (Linden et al., 2008). STIP1 puede regular la actividad ATPasa de Hsp90 para ayudar a impulsar los pasos secuenciales de la maquinaria chaperona (Richter et al., 2003). STI1 puede trasladarse a la superficie celular o secretarse fuera de la célula (Eustace y Jay, 2004). Es una proteína multifuncional requerida durante el desarrollo y, en ausencia de STIP1, las células tienen menor resistencia al estrés (Beraldo et al., 2013). La encontramos en el FOP de la fase luteal, y aunque puede ser secretadas por muchos tipos de células (Lackie et al., 2017), es probable que su procedencia sean los exosomas oviductales porcinos, donde también ha sido descrita (Laezer et al., 2020).

La concentración de NaCl a la que eluyó la fracción 8 de FOP luteal, de la columna de heparina era de entre 0.3-0.4 mM de NaCl. En el análisis proteómico se identificaron 67 proteínas (Anexo 5) de las cuales 4 eran proteínas secretadas (6%). DDR1, HDGF, OVGP1, PRB1 (Tabla 7b).

Hepatoma derived growth factor (HDGF). Es un factor de crecimiento que muestra una unión específica de alta afinidad a la heparina y al sulfato de heparán. Un mecanismo importante por el cual el oviducto y el endometrio maternos dirigen el desarrollo embrionario es a través de la secreción de moléculas reguladoras llamadas embriocinas. Varios factores de crecimiento pueden afectar el desarrollo embrionario. Uno de los factores implicados es la HDGF que ve su expresión

aumentada en el endometrio en el día 3 del ciclo estral en bovino (Tríbulo et al., 2018). Es la primera vez que se describe en el oducto porcino y fue en la fase luteal.

De las proteínas secretadas en esta fracción, dos, no son especialmente relevantes, por lo hasta ahora conocido, en cuanto a su papel en el FO en relación con la reproducción; DDR1 y PRB1.

En la fracción 9 del FOP de la fase luteal se encontraron 59 proteínas que habían eluido a una concentración de entre 0.4-0.45 mM de NaCl de la columna de heparina. De estas proteínas, 7 son secretadas (11,9%). AIMP1, AZU1, LGALS3, METTL24, NLRP3, OVGP1, ST3GAL4,

Galectin 3 (LGALS3). La galectina-3 es un miembro de una familia de proteínas de unión a carbohidratos que se puede encontrar en la superficie celular o en vesículas en el espacio extracelular (Dumic *et al.*, 2006; Rabinovich y Toscano, 2009). La proteína galectina-3 se expresa en testículos y epidídimo (Deschildre *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2007; Jones *et al.*, 2010) y en espermatozoides eyaculados y vesículas extracelulares en semen humano (Deschildre *et al.*, 2007, Kim *et al.*, 2007; Jones *et al.*, 2010). Se desconoce la función de la galectina-3 del plasma seminal en la función espermática y la fertilización, aunque se reconoce que la galectina-3 extracelular está involucrada en la adhesión celular, la activación, la formación de balsas lipídicas, el tráfico de receptores de superficie y la agrupación de una manera específica de la célula (Dumic *et al.*, 2006; Rabinovich y Toscano, 2009, Lajoie *et al.*, 2009). La galectina-3 puede servir como puente de entrecruzamiento entre los glucanos de ZP y las glicoproteínas de superficie en espermatozoides capacitados (Copland *et al.*, 2009) para promover la interacción espermatozoides-ZP. La unión de la galectina-3 purificada a ZP y la capacidad de la galectina-3 de la superficie del espermatozoides para unirse a LacNAc apoyan esta posibilidad (Mei *et al.*, 2019). Los niveles de galectina-3 en los exosomas derivados del plasma seminal se asociaron positivamente con las tasas de fecundación, lo que sugieren que la galectina-3 en los exosomas se transfiere a la superficie del espermatozoides durante la maduración posttesticular y desempeña un papel crucial en la unión de los espermatozoides a la ZP después de la capacitación (Mei *et al.*, 2019), quizás sean mecanismos similares a los empleados por la proteína spam en oviductosomas de ratón (Al-Dossary y Martin-Deleon, 2016). Se une a los espermatozoides y, podríamos pensar que también al embrión, ya que la encontramos en la fase luteal.

Aminoacyl tRNA synthase complex interacting multifunctional protein 1 (AIMP1). Componente estructural del complejo multi-aminoacil tRNA sintetasa que actúa como una citoquina proinflamatoria cuando se libera del citosol al espacio extracelular (Liang *et al.*, 2015). La regulación del embrión de mamífero implica moléculas de señalización celular producidas por el oviducto y el endometrio maternos, esta proteína se ha descrito como ligando de señalización celular expresado por la mórula (Sang *et al.*, 2021).

Azuricidin (AZU1). Es una proteína granular derivada de neutrófilos con afinidad por heparina (Pereira, 1995). En el fluido cérvico-vaginal humano (CVF), que es una mezcla de fluidos que se originan en la vagina, el cuello uterino, el endometrio y el oviducto se confirmó la presencia de proteínas relacionadas con la defensa, entre las que se encontraba la azurocidina (Shaw *et al.*, 2007), la presencia de neutrófilos en el oviducto porcino ya ha sido descrita (Jiwakanon *et al.*, 2005).

No se han encontrado estudios sobre las funciones que las 8 proteínas secretadas (DDR1, METTL24, NLRP3, PRB1, PTER, SVEP1, TFP1, WFDC2 y) en el FOP de la fase luteal tienen en el oviducto.

7.1.2.1. Proteínas de cada fracción del FOP, prepúber, periovulatorio y luteal., y su relación con las vesículas extracelulares.

Las vesículas extracelulares incluyen exosomas y microvesículas con tamaños de 30-150nm y superior a 150 nm en porcino (Alcántara- Neto *et al.*, 2020). Son secretadas por la mayoría de las células eucariotas derivadas del cuerpo multivesicular (MVB) (Gurunathan *et al.*, 2019; Bai *et al.*, 2020; Dai *et al.*, 2020; Esfandyari *et al.*, 2021).

Los exosomas se liberan, entre otros, del útero, el epitelio del oviducto, el endometrio y los embriones previos a la implantación (Ng *et al.*, 2013; Almiñana *et al.*, 2015). Estas vesículas extracelulares participan en la comunicación necesaria para el proceso de fecundación (Mobarak *et al.*, 2019).

Las vesículas extracelulares del oviducto se han estudiado en varias especies, como ratón (Fereshleh *et al.*, 2018), humano (Bathala *et al.*, 2018), perra (Lange-Consiglio *et al.*, 2017), bovino (Almiñana *et al.*, 2017), o porcino (Laezer *et al.*, 2020), y se han identificado como componentes principales del líquido oviductal y mediadores potenciales de las interacciones maternas gameto/embrión (Al-Dossary *et al.*, 2013; Lopera-Vazquez *et al.*, 2016; Almiñana *et al.*, 2017).

Aunque en nuestro estudio no buscábamos el aislamiento de exosomas, es posible que, mediante la columna de heparina se hayan retenido, y las proteínas contenidas en ellos se detecten en el análisis proteómico, ya que existen estudios que demuestran que la cromatografía de afinidad basada en heparina se puede utilizar para purificar de manera eficiente una población abundante de vesículas extracelulares (Bajal *et al.*, 2015)

Las vesículas extracelulares de FOP y su carga cambia sustancialmente alrededor del tiempo de la ovulación, es probable que su secreción esté regulada por hormonas esteroides, como también se vió en bovino (Burns *et al.*, 2014; Almiñana *et al.*, 2018). En el análisis proteómico de las fracciones la cantidad de proteínas que se detectaron y habían sido descritas previamente como parte de exosomas oviductales porcinos (Laezer *et al.*, 2020) fueron 23, en el FOP prepúber, un 19% del total de proteínas identificadas. En el FOP periovulatorio, fueron 42, un 19% del total, y en el FOP luteal, fueron 45, lo que representa un 12,6% del total de proteínas de esta fase reproductiva. Las proteínas que pueden proceder de exosomas, junto con las secretadas, podrían ser las que desarrollen un papel más específico en los procesos reproductivos dentro del contenido del FO (Tabla 7d).

Tabla 7d. Proteínas del FOP de hembras prepúberes y adultas en fase periovullatoria y luteal secretadas y descritas de exosomas porcinos por Laezer *et al.*, 2020.

FLUIDO OVIDUCTAL	FRACCIÓN	SECRETADAS	EXOSOMAS
PREPÚBER	6	ALDOC	ALDOC, EEF2, EFNB2, GAPDH, HSP90AA1, HSPA8, RAP1GAP2,
	7	ALDOC, KARS1, OVGP1, PRSS58, ST3GAL2	ALDOC, EEF2, HSPA8, EZR
	8	CCL2, GPI, HYAL3, IGFBP4, MLN, MSTN, MUC20, NTN1, OVGP1, PRL, SST	AGO1, AKAP9, AKR1A1, ANKR1D1, EEF1A1, HSP90AA1, HSP90B1, HSPA6,

FLUIDO OVIDUVTAL	FRACCIÓN	SECRETADAS	EXOSOMAS
PERIOVULATORIO			HSPA14, PCBP2, PREP, RIT1
	9	OVGP1	
	6	ALDOC, CCDC88A, HSPA5	ALDOC, EIF5A, HSPA5, MTOR, SAR1A, TPPP3
	7	ALDOC, BMP8B, CCDC88A, IL22, LPO, OVGP1, SIGLEC1	ALDOC, ARHGEF26, DNAH10, EIF1A1, EIF5A, EZR, HSP90B1, PDIA3, FBP1, STXBP4, TPPP3, TUBA4A, UGT2B17, VAC14
	8	C4A, CD163, CTGF, HSPE, IL2, IL6, INHBA, OVGP1, PGRN, PTN, RPN2, TGFB1	DICER1, EIF1A1, HNRNPM, HSP90B1, HSPA6, ITGB1, MAPK1, PSMA4, PTGFR, RPS11, STAT5B
	9	FBN1, HSPA5, MXRA5, OVGP1, RAB3A, TUTF1	AGO2, CCT3, CCT4, CCT7, CCT8, MYO6, RAB3A, SIPA1L1, SRP68, TCP1, TM9SF3,
LUTEAL	6	FBN2, PGRN, PRB1, RAB3IP, SBSPON, TFP1	ACOT7, ANXA2, ATP6V1B, COPB1, DST, DOCK9, FERMT2, FMNL2, GAPDH, GDI1, GPHN, HSP90AA1, HTT, SPATS2L, STIP1, TGFBRAP1, TPPP3, VPS16, VPS53, YBX1
	7	ADAMTS15, ITIH6, OVGP1PTER, STIP1, SVEP1, WFDC2	ACTR3, ANXA2, AP3B1, ARHGEF7, ASAP2, CSDE1, EZR, FN1, MACF1, POLR2B, TMED10, TPPP3, TUBA4A, WARS
	8	DDR1, HDGF, OVGP1, PRB1	CCT6A, CLIP1, DNAJC2, EE1A1, FLNC, GALNT2, GAPDH, SPTAN1, WARS
	9	AIMP1., AZU1, LGALS3, METTL24, NLRP3, OVGP1,	AIMP1, ASCC3, CCT4, EIF2S3, EXOC2, GADPH,

FLUIDO OVIDUCTAL	FRACCIÓN	SECRETADAS	EXOSOMAS
			HECTD4, MTOR, PAK6, UBE3B, USP9X

Entre las proteínas que se ha demostrado que forman parte de la carga del exosomas oviductales porcinos (Laezer et al., 2020), y encontramos en nuestro trabajo se encuentran las proteínas de choque térmico (HSPA8, HSP90AA1, HSP90B1), que forman parte de la respuesta al estrés y están involucradas en la presentación de antígenos.

Heat shock 70 kDa protein 8 (HSPA8). La exposición del esperma a HSPA8 mejoró la supervivencia de este en verracos y toros y mejoró la monospermia en cerdos (Elliott *et al.*, 2009). La proteína HSPA8 también estaba presente junto con la HSPA5 en un conjunto de proteínas de la membrana apical de células oviductales que se unían a los espermatozoides (Boilard *et al.*, 2001). Estas proteínas elevan las concentraciones de calcio intracelular en los espermatozoides (Lachance *et al.*, 2007) lo que confirma que las proteínas de choque térmico pueden actuar sobre los espermatozoides a través de mecanismos de señalización celular mediados por la membrana plasmática. Esta proteína ha sido descrita en exosomas oviductales porcinos (Laezer et al., 2020), y como marcador de vesículas extracelulares en otras especies como bovino (Almiñana, y Bauersachs, (2019). En este trabajo se ha identificado en FOP prépuber y de la fase periovulatoria.

Heat shock protein HSP 90 alpha (HSP90AA1). La expresión de HSP90AA1 en el oviducto es mayor en verano que en invierno y aumenta con temperaturas de cultivo elevadas, pero solo en la zona de la ampolla y no en la del istmo (Kobayashi *et al.*, 2013).

Las HSP protegen a las células de diversos tipos de estrés, incluido el calor y los oxidantes reactivos (Kregel, 2002). Las HSP se expresan mucho a altas temperaturas y ayudan al plegamiento de las proteínas para evitar su desnaturalización (Kregel, 2002). En particular, HSP90AA1 juega un papel crucial como acompañante molecular en la activación de varias proteínas incluida la prostaglandina E₂ sintasa citosólica (Pearl y Prodromou, 2006) dando como resultado un aumento en la producción de prostaglandina E₂ en células epiteliales oviductales bovinas (Kobayashi *et al.*, 2013).

Endoplasmic precursor (HSP90B1). La homeostasis del retículo endoplásmico (RE) se mantiene gracias a las proteínas chaperonas del RE que incluyen GRP78/HSPA5, GGRP94/Hsp90B1 calreticulina y proteína disulfuro isomerasa (Lee, 2005; Lièvremonet *et al.*, 1997; Luo y Lee, 2013). La creciente evidencia muestra que el estrés del RE y la señalización UPR asociada son contribuyentes importantes para el funcionamiento normal de los tejidos el mantenimiento del embarazo y la iniciación del trabajo de parto. Por otro lado, la interrupción de la homeostasis del RE como resultado de la acumulación excesiva de proteínas desplegadas/mal plegadas debido a un estrés del RE prolongado y/o severo está involucrada en varias patologías que impactan negativamente en la ovogénesis y la espermatogénesis, e inducen endometriosis y cánceres de endometrio/ovario (Guzel *et al.*, 2017). La expresión y secreción de HSPA5 ha sido descrita en oviducto en humano (Marín-Briggiler *et al.*, 2010), y también como parte del contenido de exosomas oviductales porcinos (Laezer et al., 2020)

De la familia de anexinas identificamos ANXA2, en FOP de la fase luteal, que ya ha sido descrito en exosomas oviductales porcino (Laezer *et al.*, 2020)

Annexin A2 (ANXA2). Esta familia de proteínas está involucrada en la interacción espermatozoide-oviducto, siendo la anexina A2 la principal isoforma de unión al espermatozoide en el cerdo (Teijeiro *et al.*, 2009). En bovino, esta proteína de la familia de las anexinas también se ha identificado en los exosomas en gran abundancia y se ha sugerido que retienen los espermatozoides en el reservorio oviductal (Igotz *et al.*, 2007).

También se hemos identificado en los exosomas proteínas relacionadas con el espermatozoide, con su capacitación, movilidad y RA.

Dynein heavy chain 10, axonemal (DNAH10).

Ha sido descrita en exosomas porcinos (Laezer *et al.*, 2020). Su presencia en el FO podría estar relacionada con la motilidad espermática (Tu *et al.*, 2021). En las muestras estudiadas en este trabajo lo identificamos en el FOP de la fase periovulatoria.

Ezrin (EZR). Proteína que vincula las proteínas de la membrana celular con el citoesqueleto, es parte de la familia ezrin-radixin-moesin (ERM). Ezrin está asociado con los espermatozoides humanos que inducen modificaciones en la membrana de la cabeza del espermatozoide humano durante la capacitación (Wang *et al.*, 2010), y se ha descrito recientemente como un componente principal de los exosomas del plasma seminal en verracos (Gatti *et al.*, 2005) y también lo han identificado exosomas oviductales de cerda (Laezer *et al.*, 2020).

Fibronectin (FN1). La fibronectina 1 (FN1), es un componente glicoproteico de la matriz extracelular que ejerce diferentes funciones durante los procesos reproductivos como la fecundación, la gastrulación y la implantación. (Kulus *et al.*, 2021). FN1 está presente en el líquido folicular y oviductal y en el epitelio oviductal (Tsuiki *et al.*, 1988, Hung *et al.*, 1989, Honda *et al.*, 2004, Relucenti *et al.*, 2005, Makrigiannkis *et al.*, 2009). Se ha visto por inmunotinción que FN1 se localiza en la superficie luminal de las células ciliadas, con una tinción particularmente intensa en el vértice de los cilios. No hay diferencias en la inmunotinción a lo largo del ciclo menstrual. Este patrón distintivo se observa a lo largo de toda la trompa de Falopio (ístmica, ampolla y fimbrias). La unión de FN1 a la superficie celular está mediada por integrinas; específicamente a la integrina $\alpha_5\beta_1$ que está presente en el espermatozoide humano (Glander y Schaller, 1993, Fusi *et al.*, 1996). La unión de las integrinas a sus ligandos activa diferentes vías de transducción de señales que están implicadas en la regulación de la función espermática (Fusi y Bronson, 1992, Glander y Schaller, 1993, Díaz *et al.*, 2007, Lim *et al.*, 2008, Suh y Han, 2013). Más específicamente, muchas de estas vías de señalización están involucradas en el proceso de capacitación (Visconti *et al.*, 1998, Lefievre *et al.*, 2002, Signorelli *et al.*, 2012, Buffone *et al.*, 2014). La fibronectina presenta afinidad por heparina (Ingham *et al.*, 1990) y también ha sido descrito en exosomas oviductales porcinos (Laezer *et al.*, 2020). Detectamos su presencia en el FOP de la fase luteal, es posible que proceda de la descamación de células oviductales o de exosomas.

Mitogen-activated protein kinase 1 (MAPK1) Esta proteína es una quinasa miembro de la vía de señalización EGFR/MAPK. la vía MAPK que está involucrada en la regulación de la capacitación y la reacción del acrosoma del espermatozoide, en el tracto reproductivo femenino, antes de la fecundación (Almog y Naor, 2008).

Transmembrane emp24 domain containing protein 10 (TMED10). Receptor de carga involucrado en el tráfico vesicular de proteínas y el control de calidad en el retículo endoplásmico (ER) y aparato de Golgi. Reconoce anclajes GPI remodelados estructuralmente en el RE y muestra

afinidad por heparina (Luteijn *et al.*, 2019). La capacitación de los espermatozoides y la reacción del acrosoma son procesos complejos que involucran muchas proteínas y vías de señalización (Nakano *et al.*, 2017). Se cree que esta proteína está involucrada en el proceso de la reacción del acrosoma (Castillo *et al.*, 2019). Ha sido descrita en los exosomas oviductales de cerda, lo que puede aclarar su procedencia al encontrarla en el FOP de la fase luteal en nuestras muestras.

Algunas proteínas identificadas en nuestras muestras, que previamente han sido descritas como contenidas en exosomas están relacionadas con la interacción entre gametos. Son, ITGB1, PDIA3, TCP1, CCT3, CCT7, CCT8, CCT6A

Integrin subunit beta 1 (ITGB1). Se expresa en los espermatozoides y está involucrada en la interacción de los gametos (Barraud-Lange *et al.*, 2007). Se ha planteado la hipótesis de que la subunidad de la integrina $\beta 1$ podría estar involucrada en la unión del espermatozoide al epitelio dentro del "reservorio de esperma" en las células epiteliales del istmo caudal (Barraud-Lange *et al.*, 2020). Esta proteína fue descrita por Laezer *et al.* (2020) en exosomas de oviducto y nosotros la identificamos en el FOP de la fase periovulatoria, su presencia podría deberse a espermatozoides presentes en el oviducto, pero al no mostrar afinidad por heparina, lo más probable es que proceda de exosomas y aunque su implicación en la fecundación ha sido vista, su papel como molécula exosomal en el oviducto, está por estudiar

Protein disulfide isomerase A3 (PDIA3). La proteína PDIA3 es un miembro pleiotrópico de la familia de PDI, que se encuentra en diferentes localizaciones extracelulares y subcelulares, participa en múltiples procesos. La expresión de PDIA3 en los ovocitos, y posiblemente en los espermatozoides, juega un papel fisiológico importante durante la fusión espermatozoide-óvulo (Hettinghouse *et al.*, 2018). No es secretada, ni se une a heparina, pero esta proteína fue descrita por Laezer *et al.* (2020) como proteína de exosomas oviductales en porcino. Posiblemente esta sea su procedencia cuando la identificamos en el FOP periovulatorio.

T-complex 1 (TCP1) Algunos estudios sobre los mecanismos que sustentan la interacción espermatozoide-ZP han resaltado la importancia potencial de las proteínas chaperonas moleculares en este proceso (Asquith *et al.*, 2004; Iwaka *et al.*, 1997). Se ha sugerido que un subconjunto de chaperonas moleculares es responsable del ensamblaje de moléculas clave de reconocimiento en complejos funcionales de zona pelúcida-receptor que se expresan en la superficie del esperma durante la capacitación (Asquith *et al.*, 2004). Al menos dos de los complejos de superficie de esperma de alto peso molecular han demostrado una afinidad por la ZP solubilizada, CCT1-CCT8.

Al igual que otras chaperonas moleculares, las CCT forman un complejo de alto peso molecular, con subunidades dispuestas en dos anillos multiméricos superpuestos, cada uno de los cuales encierra una cavidad central que facilita la unión al sustrato (Gao *et al.*, 1992; Marco *et al.*, 1994). el complejo CCT/TRiC es un complejo que comprende ocho subunidades diferentes. Se cree que el complejo CCT/TRiC funciona principalmente como maquinaria de plegamiento para proteínas citosólicas.

Los componentes del complejo CCT/TRiC se expresan en la superficie de los espermatozoides capacitados y forman parte de un complejo que muestra afinidad por la zona pelúcida. Se han documentado cambios marcados en la localización subcelular de las diferentes subunidades CCT durante la capacitación. La noción de que el complejo CCT/TRiC participa en las interacciones de la ZP está respaldada por la demostración de que el complejo nativo muestra una adherencia selectiva a la ZP intacta. A pesar de estos datos, se considera poco probable que el complejo

CCT/TRiC sirva como receptor primario para las proteínas zonales. Más bien, se sugiere que juega un papel intermediario en la presentación de las moléculas de adhesión apropiadas, lo cierto es que los espermatozoides capacitados contienen complejos multiproteicos cargados de chaperonas que muestran afinidad por la ZP y se presentan en la superficie del espermatozoide durante la capacitación (Dun *et al.*, 2011). Esta proteína ha sido descrita en exosomas oviductales de varias especies, como gato (Ferraz *et al.*, 2019), En el FO equino posovulatorio se identificaron, mediante análisis proteómico el complejo T 1 (TCP1) y sus chaperoninas (CCT2, CCT3, CCT5, CCT7 y CCT8) (Fernández-Hernández *et al.*, 2021). También se han descrito en vesículas exosomales bovinas (Harris *et al.*, 2020) y en exosomas porcinos se han descrito algunas chaperoninas del complejo, CCT3, CCT7 y CCT8 (Laezer *et al.*, 2020).

Chaperonin containing TCP1 subunit 2 (CCT2), Chaperonin containing TCP1 subunit 3 (CCT3), Chaperonin containing TCP1 subunit 4 (CCT4), Chaperonin containing TCP1 subunit 7 (CCT7), Chaperonin containing TCP1 subunit 8 (CCT8). Estas proteínas formarían parte del complejo anterior que, aunque está descrito en el espermatozoide, la mayor parte de las proteínas que lo forman se detectan en el FOP periovulatorio donde es posible que se encontraran unidas antes del fraccionamiento.

T complex 1 subunit zeta (CCT6A). Los complejos TCP-1 (CCT) que contienen chaperoninas se demostró que alberga al menos una supuesta proteína de unión a la zona pelúcida, ZPBP2. De acuerdo con un papel en la mediación de la interacción espermatozoide-zona pelúcida, se ha visto que los anticuerpos dirigidos contra las subunidades individuales de estos complejos pueden inhibir la unión de los espermatozoides a los ovocitos de la zona intacta (Redgrove *et al.*, 2011). Esta proteína ya ha sido descrita previamente en exosomas oviductales (Laezer *et al.*, 2020).

Algunas de las proteínas obtenidas del análisis de nuestras muestras estaban relacionadas con el embrión, desde el desarrollo embrionario preimplantacional, EIF5A1, , NO3, calidad embrionaria

Eukaryotic translation initiation factor 5A-1 (EIF5A). Es una proteína que se expresa de forma constitutiva en todas las células y tejidos de los mamíferos. La expresión de la proteína EIF5A-2 normalmente es extremadamente baja (Clement *et al.*, 2006) y parece estar regulada de manera específica de tejido en los testículos y el cerebro, lo que sugiere una función especializada para EIF5A-2 en el desarrollo de los mamíferos. Algunos estudios en ratón demuestran que los genes EIF5A-1 son esenciales en el desarrollo embrionario temprano (Nishimura *et al.*, 2012). Su procedencia debe de ser los exosomas, donde ya ha sido descrita, en porcino (Laezer *et al.*, 2020).

Tubulin polymerization promoting protein family member 3 (TPPP3). Estudios realizados en ratones han proporcionado evidencia que muestra el importante papel de TPPP3 durante la ventana de implantación y participa en la mediación de la adhesión del embrión o el proceso de unión (Shukla *et al.*, 2018). Ha sido descrita como parte de exosomas porcinos (Laezer *et al.*, 2020), lo que explica su detección en nuestro análisis.

Transforming growth factor beta receptor associated protein 1 (TGFBRAP1). La ausencia de la proteína TRAP1 (también llamada TGFBRAP1) provoca la muerte en cualquiera de los dos momentos definidos durante la embriogénesis, antes de la etapa de blástula o durante la gastrulación. Esta proteína es esencialmente necesaria para el desarrollo embrionario temprano preimplantacional (Messler *et al.*, 2011). La menos identificado en el FOP de la fase luteal, y ha sido descrita en exosomas (Tabla 7d).

Nitric oxide synthase 3 (NOS3) La isoforma NOS3 está involucrada en la reproducción a varios niveles del tracto femenino (Maul *et al.*, 2003; Thaler y Epel *et al.*, 2003), también es importante para la función del esperma. NOS induce la producción de NO, El aumento de calcio es inducido por el NO proporcionado tanto por la activación endógena del NOS en el óvulo como por la fecundación del esperma (Thaler y Epel *et al.*, 2003). La implantación y el desarrollo embrionario temprano también se vieron afectados por las deficiencias de NOS3 (Maul *et al.*, 2003). Esta proteína ha sido descrita en las trompas de Falopio formando parte de exosomas (Bathala *et al.*, 2018). Pero su presencia en el FOP no ha sido descrita.

Proteínas que están relacionadas con la fecundación y su regulación, que han sido identificadas en exosomas oviductales porcinos y encontramos en el análisis de nuestras muestras son: PTGFR, DICER1, MTOR, GALNT2

Prostaglandin F receptor (PTGFR). En células epiteliales de oviducto bovino, las prostaglandinas F_{2α} regula a la baja OVGPR1 al activar PTGFR. La demostración de la presencia de esta proteína en el oviducto porcino representa un paso más para la comprensión de los efectos reguladores de estas prostaglandinas en el oviducto de los mamíferos y los cambios en los componentes biológicos del fluido del oviducto (Zhang *et al.*, 2018). Su presencia en el FOP puede proceder de exosomas (Tabla 7d).

Endoribonuclease Dicer (DICER1). Dicer1 se expresa de manera específica en las células en las trompas de Falopio humanas durante etapas precisas del ciclo menstrual y su expresión de ARNm alcanzó su punto máximo en la fase ovulatoria tardía. La conexión entre Dicer1 y los receptores de hormonas esteroideas (Lei *et al.*, 2010) son esenciales para la reproducción femenina. Su presencia ha sido descrita en exosomas porcinos del oviducto (Tabla 7d).

Mechanistic target of rapamycin (MTOR). Los procesos regulados por mTOR son importantes para la maduración meiótica de los ovocitos (Guo *et al.*, 2018), la proliferación de células somáticas ováricas y la esteroidogénesis (Palaniappan y Menon, 2012), el inicio de la pubertad (Roa *et al.*, 2009), cambios en el endometrio (Wang *et al.*, 2015) y desarrollo embrionario (Murakami *et al.*, 2004). La señalización de mTOR también participa en la esteroidogénesis y la regresión de CL ocurre si no ocurre la fertilización (Choi *et al.*, 2001).

N-acetilgalactosaminiltransferasa 2 (GALNT2). Una gran fracción de enzimas modificadoras de glicanos residentes en Golgi se secreta en el espacio extracelular y puede detectarse en sobrenadantes de cultivos celulares y fluidos corporales (Uhlén *et al.*, 2019). Existen estudios que demuestran por análisis de inmunotransferencia la secreción de la enzima clave de O-glicosilación de tipo mucina GALNT2 (Hobohm *et al.*, 2022). Esta enzima ha sido descrita como proteína de exosomas oviductales en porcino (Laezer *et al.*, 2020), y podría ser de importancia para el éxito de la fecundación.

Implicadas en la formación de vesículas extracelulares se identificaron dos proteínas: EXOC2 y EFNB2.

Exocyst complex component 2 (EXOC2 o SEC5). La estructura proteica de SEC5 está muy conservada. SEC5 juega un papel importante en el tráfico de vesículas, la supervivencia y la motilidad celular (Issaq *et al.*, 2010; Pathak *et al.*, 2012; Tan *et al.*, 2015).

Ephrin-B2 (EFNB2). Se ha demostrado que los receptores Eph y las efrinas son moléculas unidas a la membrana que regulan varios eventos importantes de reconocimiento célula-célula durante el desarrollo embrionario (Mellitzer *et al.*, 1999) y se ha confirmado la implicación de EFNB2 en el soporte folicular del ovocito y, en consecuencia, en la selección de ovocitos con mayor potencial de desarrollo (Wathlet *et al.*, 2012). Las regiones extracelulares ephrin B también pueden ser liberadas de la superficie celular por proteasas (Barquilla y Pasquale, 2015). Los datos de proteómica obtenidos por Gong *et al.*, (2016) revelaron que el receptor EphB2 agrupado en la superficie células está asociado con múltiples proteínas características de los exosomas, lo que sugiere que una vez endocitado puede clasificarse en cuerpos multivesiculares destinados a generar exosomas, y posiblemente esta sea su procedencia ya que, aunque esta proteína puede ser secretada, no tiene capacidad de unión a heparina (Irie *et al.*, 2008)

Las ROS que resultan de la inflamación son las culpables del aumento del estrés oxidativo; sin embargo, existen otras fuentes, por ejemplo, el óxido nítrico (NO) en las trompas de Falopio tiene un papel crucial en la contractilidad tubular. Los altos niveles de NO se asocian positivamente con múltiples resultados de fertilidad, incluida la maduración de los ovocitos, la ovulación, el transporte de gametos, la interacción espermatozoide-ovocitos y la fertilización (Dong *et al.*, 2001). Sin embargo, los niveles elevados de NO en las trompas de Falopio pueden ser tóxicos para los espermatozoides (Rosselli *et al.*, 1995). **Poly (rc) binding protein 2 (PCBP2).** Es una de las proteínas descritas en los exosomas oviductales (Tabla7d), que hemos identificado en nuestro análisis y juega un papel importante en las defensas celulares contra el estrés oxidativo e inflamatorio (Ghosh *et al.*, 2008; Fujimura *et al.*, 2008).

Alguna de las proteínas de las descritas en exosomas que además aparecen en nuestro estudio no parecen desempeñar una función directamente relacionada con la fecundación o con el desarrollo embrionario temprano en el oviducto: DNAJC2, EEF2, MTOR, STAT5B.

7.2. Efecto de cada una de las fracciones sobre el endurecimiento de la zona pelúcida de ovocitos porcinos.

La OVGP1 identificada en la fase periovulatoria se unía a la heparina con la misma afinidad que en el resto de las fases, prepúber y luteal, pero dentro de cada fase, cada fracción eluía en un rango de concentración (Tabla 7e). Se han descrito tres isoformas de la oviductina con distinto peso molecular, 75 kDa, 85 kDa, y 100 Kda. ((Buhi *et al.*, 1990; Buhi *et al.*, 1993; Brown y Cheng, 1986).

Tabla 7e. Concentraciones de NaCl a la que eluye la OVGP1 en las diferentes fracciones.

Fracciones	FOP Prepuber	FOP periovulatorio	FOP luteal
7	0,15 mM	0,2 mM	0.25-0.3 mM
8	0,2 mM	0,2-0,3 mM	0.3- 0.35 mM
9	0,3-0,4mM	0,3-0.4 mM	0.35-0.4 mm

En estudios previos se ha observado que tan solo en la fase periovulatoria (fase folicular tardía y postovulatoria temprana) el FOP produce, al incubar con él los ovocitos, un incremento de la resistencia a la digestión enzimática (RDE) de la ZP (Coy *et al.*, 2008a). Con el fin de dar explicación a esto, realizamos un estudio sobre la RDE tras incubar con las distintas fracciones de las tres fases, y los resultados mostraron que solamente una de las fracciones de la fase periovulatoria aumentaba los tiempos de RDE, la fracción 8, aunque el tiempo de RDE no supera los 7 minutos, que es un tiempo bastante inferior al descrito en el FOP completo (Algarra *et al.*, 2016)

La cantidad de péptidos de OVGP1 encontrados en esta fracción no difieren mucho de los encontrados en otras fracciones que no producen este efecto respecto al hardening (Tabla 7f). Además, no se aprecia una diferencia relevante en relación a su afinidad por la heparina.

Tabla 7f. Comparativa de datos obtenidos de mediante análisis proteómico y RDE.

FASE	FRACCIÓN	Nº PEPTIDOS	TIEMPO DE RDE (segundos)
CONTROL N=30			60,7
PREPÚBER	6	0	42
	7	1	40
	8	2	53
	9	3	102,2
PERIOVULATORIA	6	0	38
	7	8	42
	8	7	415
	9	5	92,7
LUTEAL	6	0	71
	7	1	69,1
	8	1	66,1
	9	3	75,5

En las fracciones del FO luteal se observa la presencia de OVGP1 en las fracciones 7, 8 y 9 pero ninguna de ellas tiene tiempos de RDE significativos, comparado con los ovocitos control.

Al incubar en la fracción 8, el ovocito está en contacto con las 11 proteínas secretadas encontradas en esta fracción y posiblemente con las proteínas procedentes de los exosomas. Alcántara-Neto y colaboradores demostraron que la adición de exosomas porcinos al medio de cultivo reduce la polispermia *in vitro* (Alcántara-Neto *et al.*, 2020).

Al comparar la fracción 8 del FOP periovulatorio, que era el que mayor tiempo de RDE presentaba, frente al resto de las fracciones, vemos que:

1. La OVGP1 estaba presente en 9 de las 12 fracciones analizadas, y el número de péptidos identificados del FOP periovulatorio fue superior al de la fase luteal y prepuber, sin embargo, las fracciones de la fase periovulatoria, difieren poco en cuanto al número de péptidos de OVGP1 que se detectaron, sin provocar en mismo efecto en la RDE.
2. La cantidad de proteínas secretadas en la fracción 8 es superior, aproximadamente el doble, a la del resto de las fracciones de este FO, e incluye proteínas, que merecerían un estudio detallado como HSPE, IL2, IL6, PGRN o PTN.

3. La cantidad de proteínas que podían proceder de exosomas era ligeramente superior al de las otras fracciones de este FO.

7.3. Determinación de la presencia de oviductina (OVGP1) en las fracciones de las distintas fases de fluido oviductal mediante electroforesis y Western-blot.

Han sido descritas diferentes glicofomas de la OVGP1 en la especie porcina, cuyos tamaños son 100 kDa, 85 kDa y 75 kDa (Buhi *et al.*, 1990; Buhi *et al.*, 1993; Brown y Cheng, 1986). Una de las hipótesis es que la diferencia en los valores de RDE puede deberse a la cantidad de OVGP1 que contiene la fracción con mayor tiempo de RDE. Para confirmar la presencia de la proteína, realizamos un WB para las fracciones del FOP periovulatorio y prepúber (Fig. 6.20), y otro para las fracciones de luteal (Fig. 6.21). La OVGP1 puede presentar distintos grados de glicosilación (Algarra *et al.*, 2016). Una hipótesis para explicar el mayor tiempo de RDE en una única fracción, es que la OVGP1 de esta fracción esté menos glicosilada que la del resto. Un estudio realizado con la glicoproteína antitrombina demostraron que un mayor grado de glicosilación disminuía la afinidad por heparina (Olson *et al.*, 1997). si sucede lo mismo con la heparina y la hipótesis fuera cierta, la OVGP1 de la fracción 8, menos glicosilada, se uniría con más fuerza a la heparina aumentando la resistencia a la digestión enzimática. Habría que hacer más estudios para poder confirmar esta hipótesis.

7.4. Análisis proteómico comparativo entre el fluido oviductal de vaca (*Bos taurus*) y coneja (*Oryctolagus cuniculus*)

Estudios previos (Mondéjar *et al.*, 2013a) muestran como al incubar ovocitos tanto cunícolas, como bovinos o porcinos en FOC los tiempos de RDE son muy elevados, superando las 24 horas. Los tiempos de RDE obtenidos al incubar ovocitos bovinos o porcinos con FOB son también elevados, pero cuando se incuban ovocitos cunícolas, los tiempos son bastante inferiores, con tiempos que no alcanzan ni las 16 horas. La incubación con FOP, en cualquiera de los tres tipos de ovocitos proporciona tiempos de RDE bastante inferiores comparado con los otros FO, por debajo de las 12 horas (Tabla 7g).

Tabla 7g. Tiempos de RDE (Horas) obtenidos al incubar ovocitos de tres especies animales, bovino, porcino, y cunícola con el FO de estas mismas especies. Estudio realizado por Mondéjar *et al.*, 2013a, con un nivel de significación < 0.01.

		FLUIDOS OVIDUCTALES		
		FOC	FOB	FOP
O V O C I T O S	CONEJA	120 ± 0.00*	13.95 ± 1.29	6.48 ± 1.01
	VACA	288 ± 0.00*	196.50 ± 28.56	9.20 ± 2.24
	CERDA	288 ± 0.00*	98.30 ± 38.57	1.78 ± 0.03

*Sin diferencias entre el valor máximo y valor mínimo.

Buscando diferencias en la composición del FOC y FOB en fase periovulatoria que explicaran las diferencias del aumento a la RDE tras incubar los ovocitos con ambos fluidos, procedimos a un estudio comparativo del FOC y el FOB que se realizó mediante electroforesis 2D donde pudieron describirse 217 manchas con diferencias significativas (fold change >2), 75 de las cuales presentaban una tasa de cambio (Fold change, FC) superior a 5, 1 spot con FC=5, y de estos 22 superan un FC>9.9.

La expresión de 39 manchas se ve aumentada en FOB frente a FOC, mientras que 37 tienen aumentada su expresión en FOC frente a FOB. Se realizó el análisis de 20 manchas, que se pudieron extraer del gel de forma precisa, por LM-MS/MS, identificando 24 proteínas mayoritarias, 13 correspondientes a las manchas aumentadas en FOB y 11 correspondientes a las manchas aumentadas en FOC.

El análisis ontológico de procesos biológicos de las proteínas consideradas diferenciales y sus interacciones funcionales utilizando la misma herramienta bioinformática STRING 11.0, muestra una prevalencia de términos relacionados con mecanismos de protección frente al estrés oxidativo en aquellas proteínas que se encuentran aumentadas en el FOC como son PPIA, AKR1B1 y PPD1X1.

La formación de gran cantidad de ROS o moléculas con radicales libres provocan estrés oxidativo comprometiendo la viabilidad tanto de ovocitos como de espermatozoides o embriones (Ruder *et al.*, 2008).

Los espermatozoides producen y liberan ROS al medio extracelular siendo la mayoría producidos por las mitocondrias y como producto de la reducción monovalente del oxígeno molecular durante la fosforilación oxidativa (Kirchhoff, 1998, Alvares, 2006, Aitken, 2017). Saezet *et al.* (1998) indicó que el alto contenido de ácidos grasos insaturados en membranas plasmáticas de los espermatozoides y su pequeño volumen de citoplasma facilita la producción de ROS, las cuales perjudican la actividad funcional de las células espermáticas, tales como disminución de la motilidad y vitalidad, y pérdida en la capacidad de fusión espermatozoide-ovocito. Las ROS inducen peroxidación de ácidos grasos poliinsaturados esterificados de los fosfolípidos de membrana, lo cual produce una permeabilización de la membrana plasmática y acrosomal. En pocas palabras, produce verdaderos agujeros en la membrana espermática conduciendo a una pérdida de la viabilidad, motilidad y capacidad fecundante del espermatozoide (Castillo *et al.*, 2001, Alvares, 2006, Aitken, 2017). Entre las proteínas con expresión diferencial aumentada de FOB, gran parte de las proteínas identificadas están relacionadas con la capacitación, RA y protección del espermatozoide, y otras con la defensa al estrés oxidativo.

Proteínas identificadas en el análisis proteómico de las manchas con expresión diferencial fueron:

1. En el FOB, 11 de las 13 proteínas identificadas (Tabla 7h) habían sido descritas previamente en el FOB en la fase periovulatoria (Banliat *et al.*, 2020). La única proteína no descrita previamente fue Retinol Dehidrogenasa 1 (RDH1).

Tabla 7h. Proteínas expresadas diferencialmente aumentadas en FOB frente al de coneja.

PROTEÍNA	GEN	FUNCIÓN
Cofilin 1	CFL1	Familia de proteínas de unión a actina que por fosforilación es esencial para controlar el proceso de

PROTEÍNA	GEN	FUNCIÓN
		polimerización de actina inducida por capacitación y exocitosis acrosomal (Romarowski et al., 2015).
D-3 phosphoglycerate dehydrogenase	PHGDH	Oxidoreductasa
Isocitrate dehydrogenase NADP cytoplasmic	IDH1	Respuesta al estrés oxidativo
Keratin type I cytoskeletal 10	KRT10	Regulación positiva del crecimiento epidérmico
Nucleoside diphosphate kinase B	NME2	Regulación positiva de la proliferación de células epiteliales
Peptidyl prolyl cis tras isomerase A	PPIA	Acelera el plegamiento de proteínas Unión de iones calcio Respuesta inflamatoria Respuesta inmune innata Respuesta celular al H ₂ O ₂
Phosphatidylethanolamine binding protein 1	PEBP1	Esta proteína es un receptor anclado en glicofosfatidilinositol con un efecto inhibitorio sobre la capacitación de los espermatozoides (Arangasamy et al., 2011).
Protein deglycase DJ 1	PARK7	Proteína secretada por los testículos. Juega un papel en el control del estrés oxidativo y ayuda a proteger la célula espermática de los efectos perjudiciales de los altos niveles de ROS (Wang et al., 2009)
Serum albumine	ALB	Se requiere para la capacitación del espermatozoide <i>in vitro</i> , aunque no se conoce su papel preciso. En la mayoría de los estudios respaldan la idea de que la ALB actúa eliminando el colesterol de los espermatozoides, y se ha sugerido que la pérdida de colesterol afecta la bicapa de la membrana plasmática del espermatozoide haciéndola más fusogénica (Signorelli <i>et al.</i> , 2010)
Stress induced phosphoprotein 1	STIP1	Esta proteína puede ser secretada, o trasladarse a la superficie celular (Eustace y Jay, 2004). Es una proteína multifuncional requerida durante el desarrollo y, en ausencia de STIP1, las células tienen menor resistencia al estrés (Beraldo <i>et al.</i> , 2013).
Retinol Dehydrogenase 1	RDH1	Metabolismo de esteroides
T complex protein 1 subunit beta	CCT2	Forma parte del complejo TCP-1 (CCT) que parece estar implicado en la unión de espermatozoides a la ZP
T complex protein 1 subunit theta	CCT8	

- En el FOC, 3 de las 11 proteínas identificadas (Tabla 7i) habían sido descritas previamente en el FOC (González-Brusi, 2021) que se corresponden con ANXA1, ANXA2 y RBP1

Tabla 7i. Proteínas expresadas diferencialmente en el FOC frente al bovino

PROTEÍNA	GEN	FUNCIÓN
Aldose reductase	AKR1B10	Función óxido reductase
Annexin 1	ANXA1	Respuesta inflamatoria Respuesta inmune innata Regulación negativa de la exocitosis
Annexin 2	ANXA2	Involucrada en la interacción espermatozoide-oviducto (Teijeiro <i>et al.</i> , 2009)
Glutathione S transferase Mu 1	GSTM1	Metabolismo de prostaglandinas
Isocitrate dehydrogenase NADP cytoplasmic	IDH1	Respuesta al estrés oxidativo
Keratin type I cytoskeletal 10	KRT10	Regulación positiva del crecimiento epidérmico
Peptidyl prolyl cis tras isomerase A	PPIA	Acelera el plegamiento de proteínas Unión de iones calcio Respuesta inflamatoria Respuesta inmune innata Respuesta celular al H ₂ O ₂
Peroxiredoxin 1	PRDX1	Respuesta al estrés oxidativo
Retinol binding protein 1	RBP1	Transportador de ácidos grasos
Superoxide dismutase Cu-Zn	SOD1	Metabolismo de ROS

Parece ser que ninguna de las proteínas con expresión diferencial en el FOB y FOC dan explicación a la diferencia en la RDE observada entre los dos fluidos. Estudios recientes mostrarán características en la OVGP1, como un menor tamaño en el FOC, y que la incubación de ovocitos con proteínas OVGP1 más cortas aumenta el tiempo de digestión necesario para degradar la ZP (Algarra *et al.*, 2016).

VIII. CONCLUSIONES

1. El uso de técnicas de fraccionamiento del fluido oviductal porcino mediante cromatografía de afinidad por heparina, es una tecnología útil para la identificación de proteínas oviductales minoritarias y ha permitido la identificación de nuevas proteínas en el oviducto porcino.
2. En el fluido oviductal porcino de las diferentes fases reproductivas, se han identificado proteínas secretadas. La mayor parte de las proteínas secretadas en prepúber están relacionadas con la respuesta inmune. En el fluido oviductal periovulatorio, las funciones mayoritarias son de respuesta al estrés oxidativo, inflamación, e interacción con el espermatozoide, y en el luteal, la mayoría son funciones relacionadas con el embrión preimplantacional.
3. En este estudio ha permitido describir, por primera vez en el fluido oviductal porcino, algunas proteínas secretadas de interés en la fecundación como, progranulina (PGRN), heparanasa (HSPE), o pleiotrofina (PTN).
4. El fluido oviductal porcino sin fraccionar produce efecto endurecedor de la zona pelúcida. La cantidad de péptidos de oviductina (OVGP1) detectados en las fracciones de fluido periovulatorio es mayor que la de las fracciones del fluido oviductal prepúber o de la fase luteal.
5. Una sola fracción del fluido oviductal porcino de la fase periovulatoria tiene capacidad de endurecer la zona pelúcida. El número de péptidos de oviductina de esta fracción es similar a la del resto de las fracciones de la misma fase. Esta fracción también es la que mayor cantidad de proteínas secretadas presenta.
6. Se observan diferencias en la expresión proteica del fluido oviductal bovino y cunicular. Las proteínas con expresión diferencial tienen están relacionadas con la defensa frente al estrés oxidativo, además las que se sobreexpresan en bovino tienen funciones relacionadas con la interacción con el espermatozoide, mientras que las sobreexpresadas en coneja tienen relación con la respuesta inmune.

XI. CONCLUSIONS

1. The use of porcine oviductal fluid fractionation techniques by heparin affinity chromatography are a useful technology for the identification of minority oviductal proteins and has allowed the identification of new proteins in the porcine oviduct.
2. Secreted proteins have been identified in porcine oviductal fluid from different reproductive phases. Most of the proteins secreted in prepuberty are related to the immune response. In the periovulatory oviductal fluid, the main functions are response to oxidative stress, inflammation, and interaction with the sperm, and in the luteal fluid, the majority are functions related to the preimplantation embryo.
3. This study has made it possible to describe, for the first time in porcine oviductal fluid, some secreted proteins of interest in fertilization, such as progranulin (PGRN), heparanase (HSPE), or pleiotrophin (PTN).
4. Unfractionated porcine oviductal fluid produces a hardening effect on the zona pellucida. The amount of oviductin peptides (OVGP1) detected in periovulatory fluid fractions is higher than that in prepubertal oviductal fluid or luteal phase fractions.
5. A single fraction of the porcine oviductal fluid of the periovulatory phase has the capacity to harden the zona pellucida. The number of oviductin peptides in this fraction is like that of the rest of the fractions of the same phase. This fraction is also the one with the highest number of secreted proteins.
6. Differences in protein expression of bovine oviductal and cunicular fluid are observed. Proteins with differential expression are related to defense against oxidative stress, and those that are overexpressed in cattle have functions related to interaction with sperm, while those overexpressed in rabbits are related to the immune response.



X. ANEXOS

Anexo 1. Proteínas identificadas en el FOP periovulatorio completo mediante análisis proteómico

Nº	NOMBRE DEL PÉPTIDO	ACCESION	Nº PÉPTIDOS	SCORE
1	Serum albumin	P08835	53	911.55
2	Heat shock protein beta-1	Q5S1U1	44	653.70
3	Transitional endoplasmic reticulum ATPase	P03974	39	543.80
4	Serotransferrin	P09571	34	511.62
5	Complement C3	P01025	26	333.15
6	Tubulin beta chain	Q767L7	21	334.43
7	Oviduct-specific glycoprotein	Q28990	21	331.17
8	Haptoglobin	Q8SPS7	21	320.70
9	Tubulin alpha-1B chain	Q2XVP4	20	308.05
10	Annexin A1	P19619	19	276.83
11	Tubulin alpha-1A chain	P02550	18	278.00
12	Vinculin	P26234	18	199.82
13	Tubulin beta chain	P02554	18	284.25
14	Isoform 2 of gelsolin	P20305	17	258.47
15	Annexin A2	P19620	16	229.67
16	Actin, cytoplasmic 1	Q6QQAQ1	16	244.19
17	Radixin	P26044	15	186.69
18	Isoform 2 of Deleted in malignant brain tumors 1 protein	Q4A3R3-2	14	199.98
19	Endoplasmin	Q29092	14	187.51
20	Glucose-6-phosphate isomerase	P08059	13	187.73
21	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4	P79263	13	156.83
22	L-lactate dehydrogenase B chain	P00336	13	189.64
23	Peroxiredoxin-6	Q9TSX9	13	200.47
24	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase	P79303	13	155.39
25	Apolipoprotein A-I	P18648	12	161.09
26	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase	A5GFY8	12	160.97
27	Moesin	P26042	12	155.00
28	Phosphoglycerate kinase 1	Q7SIB7	12	154.05
29	Malate dehydrogenase, cytoplasmic	P11708	12	155.32
30	Clusterin	Q29549	11	165.70
31	Heat shock 70 kDa protein 1B	Q6S4N2	11	155.48
32	Ribonuclease inhibitor	P10775	11	169.36
33	60S acidic ribosomal protein P0	Q29214	10	122.27
34	Acylamino-acid-releasing enzyme	P19205	10	112.55
35	Aminopeptidase N	P15145	10	131.67

Nº	NOMBRE DEL PÉPTIDO	ACCESION	Nº PÉPTIDOS	SCORE
36	Elongation factor 1-gamma (Fragment)	Q29387	10	124.85
37	Guanine nucleotide-binding protein G(s) subunit alpha	P29797	10	139.46
38	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	P62936	10	135.18
39	Proteasome activator complex subunit 1	Q64L94	10	140.65
40	Rab GDP dissociation inhibitor beta	Q6Q7J2	10	137.86
41	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65kDa regulatory subunit A alpha isoform	P54612	10	143.25
42	Trioik kinase/FMN cyclase	F1RKQ4	10	128.74
43	triosephosphate isomerase	Q29371	10	166.29
44	26S protease regulatory subunit 8	P62197	9	109.45
45	Actin, alpha skeletal muscle	P68137	9	125.82
46	Alcohol dehydrogenase NADP(+)	P50578	9	107.06
47	Calpain-1 catalytic subunit	P35750	9	92.83
48	Glutathione S-transferase P	P80031	9	104.70
49	Leukocyte elastase inhibitor	P80229	9	114.85
50	Annexin A1	P14087	8	80.73
51	Coatomer subunit beta	D2SW95	8	90.66
52	Hemoglobin subunit beta	P02067	8	106.27
53	Proteasome activator complex subunit 2	Q863Z0	8	114.22
54	Adenosylhomocysteinase	Q710C4	7	81.76
55	Adenylosuccinate synthetase isozyme 2	A4Z6H1	7	103.80
56	Aminoacylase-1	P37111	7	99.73
57	Annexin A4	P08132	7	94.76
58	Aspartate aminotransferase, cytoplasmic	P00503	7	70.19
59	cofilin-1	P10668	7	111.67
60	glutathione S-transferase alpha M14	P51781	7	89.70
61	Hemoglobin subunit alpha	P01965	7	115.46
62	L-lactate dehydrogenase A chain	P00339	7	76.80
63	Nucleoside diphosphate kinase B	Q2EN76	7	95.62
64	Osteopontin	P14287	7	100.43
65	Peroxiredoxin	P52552	7	94.50
66	Spliceosome RNA helicase DDX39B	Q29024	7	81.02
67	40S ribosomal protein S3	Q0Z8U2	6	69.83
68	40S ribosomal protein SA	Q4GWZ2	6	93.49
69	Aldolase 1-epimerase	Q9GKX6	6	80.47
70	Alpha-1-antitrypsin	P50447	6	80.54

Nº	NOMBRE DEL PÉPTIDO	ACCESION	Nº PÉPTIDOS	SCORE
71	Beta-enolase	Q1KYT0	6	98.97
72	Heat shock 70 kDa protein 6	Q04967	6	70.93
73	Heat shock protein HPS 90-alpha	O02705	6	83.44
74	Leukotriene A-4 hydrolase	P19602	6	55.77
75	Sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-1	P05024	6	56.29
76	Trans-1,2-dihydrobenzene-1,2-diol dehydrogenase	Q9TV69	6	79.54
77	40S ribosomal protein S18	P62272	5	61.03
78	60S ribosomal protein L14	A1XQU3	5	71.96
79	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating (Fragment)	P14332	5	45.61
80	Aldose reductase	P80276	5	50.11
81	Calpain small subunit 1	P04574	5	61.25
82	Calpastatin	P12675	5	62.59
83	Calreticulin	P28491	5	51.57
84	catechol O-methyltransferase(Fragment)	Q99028	5	76.90
85	Cell division control protein 42 homolog	Q007T2	5	73.83
86	Dextrin	P60982	5	59.90
87	Dihydropteridine reductase	Q8MJ30	5	63.52
88	Glutathione S-transferase omega-1	Q9N1F5	5	86.68
89	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase	Q45FY6	5	89.62
90	Ig lambda chain C region	P01846	5	50.54
91	Mannose-1-phosphate guanyl transferase alpha	I3LUP1	5	64.09
92	Phosphoacetylglucosamine mutase	F1RQM2	5	54.60
93	Plasminogen	P06867	5	55.89
94	Polyubiquitin-C	P0CG68	5	52.74
95	Pyridoxal kinase	O46560	5	61.34
96	Receptor of activated protein C kinase 1	P63246	5	57.13
97	Transthyretin	P50390	5	49.40
98	Tropomyosin alpha-1 chain	P42639	5	44.05
99	UMP-CMP kinase	Q29561	5	68.28
100	V-type proton ATPase catalytic subunit A	Q29048	5	56.22
101	Calpain-2-catalytic subunit (Fragment)	P43367	5	60.39
102	40S ribosomal protein S23	Q6SA96	4	34.02
103	60S ribosomal protein L6	Q2YGT9	4	36.39
104	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial	Q2XQV4	4	38.62

Nº	NOMBRE DEL PÉPTIDO	ACCESION	Nº PÉPTIDOS	SCORE
105	Antileukoproteinase (Fragment)	P22298	4	47.93
106	Bifunctional epoxide hydrolase 2	Q6Q2C2	4	54.91
107	Caspase-3	Q95ND5	4	48.74
108	Cystatin-B	Q29290	4	45.85
109	Glutathione peroxidase 1	Q8MJ14	4	40.23
110	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2	O02668	4	36.37
111	Interferon regulatory factor 3	Q764M6	4	54.30
112	Interferon-induced GTP-binding protein Mx1	P27594	4	37.06
113	Isoform Smooth muscle of Myosin light polypeptide 6	P60662-2	4	57.08
114	mitochondria-eating protein	D5K8A2	4	53.35
115	Perilipin-3	Q5BLZ2	4	50.74
116	Prolyl endopeptidase	P23687	4	46.41
117	Ras-related protein Rab-1A	Q52NJ2	4	43.50
118	Serine/threonine-protein phosphatase 2A catalytic subunit alpha isoform	P67776	4	43.96
119	Serine/threonine-protein phosphatase PP1-beta catalytic subunit	P61292	4	40.69
120	S-formylglutathione hydrolase	Q9GJT2	4	55.74
121	Stathmin	Q6DUB7	4	50.23
122	Thimet oligopeptidase	P47788	4	40.47
123	Thioredoxin	P82460	4	57.07
124	14kDa phosphohistidine phosphatase	P59083	3	35.88
125	40S ribosomal protein S16	Q29201	3	30.75
126	40S ribosomal protein S17	Q6QAP7	3	33.02
127	40S ribosomal protein S21	P63221	3	25.28
128	60S ribosomal protein L10a (Fragment)	P53027	3	29.33
129	60S ribosomal protein L23	P62831	3	35.13
130	ADP-ribosylation factor 6	Q007T5	3	29.98
131	ADP-ribosylation factor-like protein 3	Q52NJ4	3	33.62
132	Alpha-2-HS-glycoprotein (Fragment)	P29700	3	52.45
133	ATP-binding cassette sub-family F member 1	Q767L0	3	25.65
134	ATP-dependent 6-phosphofructokinase, muscle type	Q2HYU2	3	35.94
135	CD59 glycoprotein	O62680	3	35.90
136	Chloride intracellular channel protein 1 (Fragment)	Q29238	3	37.82
137	COP 9 signalosome complex subunit 4	A7Y521	3	28.32

Nº	NOMBRE DEL PÉPTIDO	ACCESION	Nº PÉPTIDOS	SCORE
138	COP 9 signalosome complex subunit 6	A7TX81	3	34.38
139	Cysteine and histidine-rich domain-containing protein 1	A9YUB1	3	34.27
140	F-actin-capping protein subunit beta	A0PFK7	3	41.45
141	Galectin-1	Q49I35	3	31.58
142	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	P00355	3	24.97
143	Hemopexin	P50828	3	27.77
144	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1	Q29052	3	28.96
145	Lactotransferrin	P14632	3	30.1
146	Lambda-crystallin homolog	Q8SQ26	3	47.61
147	Large proline-rich protein BAG6	A5D9M6	3	28.49
148	Proteasome subunit beta type-4 (Fragment)	Q29384	3	33.35
149	Quinone oxidoreductase	Q0MVN8	3	35.65
150	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 2	O88931	3	34.47
151	Ras-related protein Rab-11A	Q52NJ1	3	39.67
152	Serine/threonine phosphatase 2A 55kDa regulatory subunit B alpha isoform (Fragment)	Q29090	3	42.95
153	Serine/threonine protein kinase OSR1	Q863I2	3	40.97
154	Superoxide dismutase Cu-Zn	P04178	3	48.61
155	T-complex protein 1 subunit zeta (Fragment)	Q29236	3	46.17
156	translationally-controlled tumor protein	P61288	3	38.47
157	Tropomyosin alpha 3-chain	A1XQV4	3	29.38
158	Tropomyosin alpha-4 chain	P67937	3	31.65
159	Trypsin	P00761	3	59.95
160	Vimentin	P02543	3	30.67
161	Vitronectin	P48819	3	32.94
162	40S ribosomal protein S12	P46405	2	30.24
163	40S ribosomal protein S13 (Fragment)	P62279	2	24.33
164	40S ribosomal protein S28	Q6QAT1	2	22.52
165	4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase (Fragment)	Q29228	2	27.10
166	60S ribosomal protein L10	Q29195	2	21.06
167	60S ribosomal protein L11	Q29205	2	27.37
168	60S ribosomal protein L22	P67985	2	22.24
169	60S ribosomal protein L32	Q6QAT0	2	31.89
170	Adenylate kinase isoenzyme 1	P00571	2	25.9
171	cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit alpha	P36887	2	26.07

Nº	NOMBRE DEL PÉPTIDO	ACCESION	Nº PÉPTIDOS	SCORE
172	Carbonyl reductase [NADPH] 1	Q28960	2	30.67
173	F-actin-capping protein subunit alpha-2	Q29221	2	20.95
174	Glutaredoxin-1	P12309	2	22.52
175	High mobility group protein B1	P12682	2	32.61
176	Inhibitor of carbonic anhydrase	Q29545	2	26.84
177	Inositol monophosphatase 1	O77591	2	20.32
178	low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase	P81693	2	22.77
179	Mannose-1-phosphate guanyltransferase beta	P0C5I2	2	25.35
180	Neutral alpha-glucosidase AB	P79403	2	22.56
181	platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit alpha	Q9GL51	2	28.82
182	Proteasome subunit beta type-7	A1XQU1	2	21.75
183	Proteasome subunit beta type-8 (Fragment)	Q29576	2	24.02
184	Protein S100-A11	P31950	2	26.26
185	Protein S100-A6	Q2EN75	2	24.74
186	Signal transducer and activator of transcription 1	Q764M5	2	28.92
187	Signal transducer and activator of transcription 3	Q19S50	2	28.03
188	S-phase kinase-associated protein 1	P63209	2	29.25
189	T-complex protein 1 subunit gamma (Fragment)	Q29068	2	22.54
190	Testin	Q2QLE3	2	21.16
191	V-type proton ATPase subunit H	Q9TVC1	2	23.88
192	Creatine kinase B-type (Fragment)	Q29594	1	21.44

Anexo 2. Clasificación funcional de las proteínas mayoritarias obtenidas del análisis por MS/MS, realizado en las distintas fracciones del FOP prepúber y adulto periovulatorio y luteal

FUNCIÓN PROTEICA	PROTEÍNA	ACCESION	FRACCION	FO PREPÚBER		FO PERIOVULATARIO		FO LUTEAL		SECUENCIA
				PEPT	SCORE	PEPT	SCORE	PEPT	SCORE	
Chaperonas Y HSP	Heat shock protein HSP 90-alpha	O02705	5	4	44.60	4	49.23			(K)HSQFIGYP ITLFVEK(E) (K)DQVANSA FVER(L) (K)EDQTEYL EER(R) (K)YIDQEELN K(T) (R)ELISNSSD ALDK(I) (K)HFSVEGQ LEFR(A)
			6					4	46.90	(R)NPDDITNE EYGEFYK(S) (K)EDQTEYL EER(R)

FUNCIÓN PROTEICA	PROTEÍNA	ACCESION	FRACCION	FO PREPÚBER		FO PERIOVULAT ORIO		FO LUTEAL		SECUENCIA
				PEPT	SCORE	PEPT	SCORE	PEPT	SCORE	
										(K)HSQFIGYP ITLFVEK(E) (K)VILHLK(E)
			7							
			8							
			9							
			10							
	Endoplas min precursor	Q29092	5							
			6							
			7							
			8	3	24.13	2	17.90			(R)EEEEIQLD GLNASQIR(E) (R)SGYLLPDT K(A) (K)FDEsEKSK ENREAVEKE FEPLLNWmK(D) (R)ELISNASD ALDK(I)
			9							
			10							
	T-complex protein 1 subunit beta	D0G0C8	5							
			6							
			7							
			8							
			9			2	28.58			(R)VQDDEVG DGTTSVTVLA AELLR(E) (R)LSSFIGAIA IGDLVK(S)
			10							
	T-complex protein 1 subunit delta	F1SQN1	5							
			6							
			7							
			8							
			9			2	14.79			(K)GDVTITND GATILK(Q) (K)LVIEEAER(S)
			10							
Agente de defensa	Sialoadhe sin	A7LCJ3	5							
			6							
			7			2	11.37			(R)ALLLGQAE QRtCSLLK(D) (R)YSWCKNH ALLEGSHsR(T)
			8							
			9							
			10							
Proteasa	Heparana se precursor	F1RVE1	5							
			6							
			7							
			8			2	13.82			(R)SKLRVYLH cTNNNHPQyK (E)

FUNCIÓN PROTEICA	PROTEÍNA	ACCESION	FRACCION	FO PREPÚBER		FO PERIOVULAT ORIO		FO LUTEAL		SECUENCIA
				PEPT	SCORE	PEPT	SCORE	PEPT	SCORE	
										(K)SAFKNAKL yGPDISQPR(R)
			9							
			10							
Receptor hormonal	Endothelin B receptor precursor	P35463	5							
			6							
			7							
			8	2	14.57					(K)GNRLRICL LHPTQKtAFm QFYK(T) (K)qScLKFKA NDHGyDNFR SSNK(Y)
			9							
			10							
Quitinasa	Oviduct- Specific glycoprotei n precursor	Q28990	5							
			6							
			7			8	99.31			(R)THGFDGL DLFFLYPGLR (G) (R)WIDHQYV PYAYR(G) (K)EWVGYDD DISFSYK(A) (R)DESIFYPE FNQLK(E) (K)VTGHNSP LFSLSDDPK(S) (R)LLLSAAVS ADPHVIQK(A) (R)LLDFINVL SYDLHGWE K(V) (K)NELGAEA VGPASPGK(Y)
			8	2	26.08	7	77.94			(K)VTGHNSP LFSLSDDPK(S) (K)EWVGYDD DISFSYK(A) (R)GTFcGTG PFPLVYMLN DLLLK(A) (R)DESIFYPE FNQLK(E) (K)AmTPVGH PSViPGDMSV PPVPIQTGDR (I) (K)NELGAEA VGPASPGK(Y) (R)SAIGLLR(T) (R)LLDFINVL SYDLHGWE K(V)

FUNCIÓN PROTEICA	PROTEÍNA	ACCESION	FRACCION	FO PREPÚBER		FO PERIOVULAT ORIO		FO LUTEAL		SECUENCIA			
				PEPT	SCORE	PEPT	SCORE	PEPT	SCORE				
			9	3	28.86	5	73.89	3	25.52	(K)NELGAEA VGPASPGK(Y) (R)THGFDGL DLFFLYPGLR (G) (K)TLLSIGGW NFGTSR(F) (R)DESIFYPE FNQLK(E) (R)LLDFINVL SYDLHGSWE K(V (R)WIDHQYV PYAYR(G) (R)GTFcGTG PFPLVYMLN DLLLK(A)			
			10			2	28.54			(R)THGFDGL DLFFLYPGLR (G) (R)GTFcGTG PFPLVYMLN DLLLK(A)			
Otras enzimas	Poly [ADP- ribose] polimeras e 6 isoform X15	F1SHL9	5	2	14.12	2	27.57			(K)GPDFLVTE VENGGLGS K(K) (K)DIQDLK(F) (K)GVNLPGA AVDLPVSEK (D)			
			6					2	23.53	(R)LDIDSPIT AR(N) (K)GVNLPGA AVDLPVSEK DIQDLK(F)			
			7										
			8										
			9										
			10										
			Glyceralde hyde-3 - phosphate dehydroge nase-like, partial	P00355	5	2	23.03	2	14.9			(K)qASEGPLK (G) (R)GAAQNIIP ASTGAAK(A) (R)VPTPNVS VVDLTcR(L)	
					6					2	24.40	(R)GAAQNIIP ASTGAAK(A) (R)VPTPNVS VVDLTcR(L)	
					7								
					8								
9													
10													
Aldolase C, fructose- bisphosph ate	FIRJ25	5											
		6				2	11.28			(R)YASlcQQN GIVPIVEPEIL PDGDHDLK(R) (K)VLAAYK(A)			

FUNCIÓN PROTEICA	PROTEÍNA	ACCESION	FRACCION	FO PREPÚBER		FO PERIOVULAT ORIO		FO LUTEAL		SECUENCIA		
				PEPT	SCORE	PEPT	SCORE	PEPT	SCORE			
			7			2	22.26			(K)GVVPLAG TDGETTTQG LDGLSER(C) (K)VLAAYVK(A)		
			8									
			9									
			10									
			5									
			6									
			7			3	26.83				(R)FLQDYFD GNLK(R) (R)EATNPPII QEEKPK(K) (K)TFSHELSD FGLESTAGEI PVVAIR(T)	
			8									
			9									
			10									
	Protein disulfide-isomerase A3 precursor	A0A480P EQ3	5									
			6									
			7			3	26.83				(R)FLQDYFD GNLK(R) (R)EATNPPII QEEKPK(K) (K)TFSHELSD FGLESTAGEI PVVAIR(T)	
			8									
			9									
			10									
			5									
			6									
			7			2	24.59	2	17.75			(K)DGNASGT TLLEALDcILP PTRPTDKPLR (L) (R)YE(R)EHA LLAYTLGVK(Q) (R)qTVAVGVI K(A)EIVK(E)
			8	2	25.46			2	17.67			(K)DGNASGT TLLEALDcILP PTRPTDKPLR (L) (K)IGGIGTVP VGR(V)
Elongation factor 1-alpha 1	Q4QZ00	5										
		6										
		7			2	24.59	2	17.75			(K)DGNASGT TLLEALDcILP PTRPTDKPLR (L) (R)YE(R)EHA LLAYTLGVK(Q) (R)qTVAVGVI K(A)EIVK(E)	
		8	2	25.46			2	17.67			(K)DGNASGT TLLEALDcILP PTRPTDKPLR (L) (K)IGGIGTVP VGR(V)	
		9										
		10										
		5										
		6										
		7										
		8			3	19.20					(K)GASSAyLE NsKGAPNNC SDIKmNR(K) (R)DDFKDVT YLTEETVYEIL ELCRER(E) (R)LFLQFTTG tDRAPVGGGLG KLK(M)	
Ubiquitin-protein ligase E3A isoform 2	F1SNS1	5										
		6										
		7										
		8			3	19.20					(K)GASSAyLE NsKGAPNNC SDIKmNR(K) (R)DDFKDVT YLTEETVYEIL ELCRER(E) (R)LFLQFTTG tDRAPVGGGLG KLK(M)	
		9										
		10										
		5										
		6										
		7										
		8			2	14.45					(R)NFDQPHR FYVADVyTDL TPLSK(F)	
Endoribonuclease Dicer	I3L6Y9	5										
		6										
		7										
		8			2	14.45					(R)NFDQPHR FYVADVyTDL TPLSK(F)	

FUNCIÓN PROTEICA	PROTEÍNA	ACCESION	FRACCION	FO PREPÚBER		FO PERIOVULAT ORIO		FO LUTEAL		SECUENCIA	
				PEPT	SCORE	PEPT	SCORE	PEPT	SCORE		
										(R)sPVRELLE mEPeTAK(F)	
			9								
			10								
	Chromodo main- helicase- DNA- binding protein 7	F1RT88	5								
			6								
			7					2	13.11		(K)sFGKDDV PGGVDtQELN RNSLDGSQE EK(K) (K)HGESSAE FGQLyWPNT STLTtR(L)
			8								
			9								
			10								
Otras proteínas:											
Secretadas	Cartilage intermedia te layer protein 1	F1SJL4	5								
			6								
			7								
			8			2	12.06			(R)CFDGSSD GSSRVMKsN VGVALTFNcV ER(Q) (K)ItKSKFVPI KLTmPKTR(L)	
			9								
			10								
	Lactotrans - ferrin	P14632	5								
			6								
			7								
			8								
			9								
			10	2	16.47					(R)cLAENAG DVAfVK(D) (R)FLDWAGP PEPLQK(A)	
Citoesquelet o	Gelsolin	P20305	5			2	19.32			(K)TGAQELL R(V) (K)TASDFISK(M)	
			6								
			7								
			8								
			9								
			10								
	Ezrin	A0A480Q KX9	5								
			6								
			7			2	33.49			(K)SQEQLAT ELAEYTAK(I) (R)ALQLEEE R(K)	
			8								
			9								
			10								
	Tubulin alpha-1B chain	Q2XVP4	5								
			6								
			7								

FUNCIÓN PROTEICA	PROTEÍNA	ACCESION	FRACCION	FO PREPÚBER		FO PERIOVULAT ORIO		FO LUTEAL		SECUENCIA
				PEPT	SCORE	PEPT	SCORE	PEPT	SCORE	
			8			3	29.77			(R)FDGALNV DLTEFQTNLV PYPR(I) (K)DVNAAIATI K(T) (K)cDPRRHGK YMACCLLyR GDVVPK(D)
			9							
			10							
	Tubulin beta-4B chain isoform X2	A0A480KF N3	5							
			6							
			7							
			8							
			9			2	20.15			(K)GHYTEGA ELVDSVLDVV R(K) (R)SGPFGQIF RPDNFVFGQ SGAGNNWAK (G)
			10							
	Annexin A2 isoform X1	A0A480X Q55	5							
			6							
			7					3	28.06	(K)GLGTDED SLIEIICSR(T) (K)ALLYLcGG DD(-) (R)DLYDAGV K(R)
			8							
			9							
			10							
Nucleo	Meiosis inhibitor protein 1- like, partial	Q5TIA1	5							
			6							
			7							
			8							
			9			2	15.01			(R)SPESLAFL sDR(Q) (R)cVcYSVRS GAVTPRTPA PALSSAKCA CAETAREK(V)
			10							
Localización multiple	Serine/ arginine repetitive matrix protein 2	I3LCW3	5							
			6							
			7							
			8			2	13.14			(K)VKAVmSP VQSRSGFSS PsPSR(V) (K)EETPGQR PAViETHQLA ELNEK(K)
			9							
			10							
No caracterizad a	Fibrous sheath - interacting	F1RYK8	5			2	15.94			(K)EKTIPPmS SKTEcTKEmH SNK(L)

FUNCIÓN PROTEICA	PROTEÍNA	ACCESION	FRACCION	FO PREPÚBER		FO PERIOVULAT ORIO		FO LUTEAL		SECUENCIA
				PEPT	SCORE	PEPT	SCORE	PEPT	SCORE	
	protein 2, partial									(K)SKVtPLPK FRTKAHLGR(S)
		6					3	18.73	(K)SFYKIFAT PCALHsVCN GKDLK(E) (R)RLKGGYI TSNNKIVCTL R(E) (R)LLsQLIPPP sNASYLKK(K)	
		7								
		8								
		9								
		10								

Anexo 3. Proteínas totales determinadas mediante análisis MS/MS en fluido oviductal porcino de hembras prepúberes.

Fracción 6 de FOP Prepúber

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	15.83	4	PGK1	Phosphoglycerate kinase 1
1	14.91	2	PGD	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating
1	11.13	5	VIPR2	Vasoactive intestinal polypeptide receptor 2
1	10.61	2	CLU	Clustered mitochondria protein homolog isoform X1
1	10.49	6	PRSS55	Serine protease 55 isoform X1
1	10.38	6	ALDOC	Aldolase C, fructose-bisphosphate
1	10.16	7	KHDRBS3	KH domain-containing, RNA-binding, signal transduction-associated protein 3 isoform X1
1	8.39	7	LAX1	Lymphocyte transmembrane adapter 1
1	8.13	2	FGFR4	Fibroblast growth factor receptor 4 isoform 1
1	8.08	4	ARMC2X1	Armadillo repeat-containing protein 2 isoform X1
1	7.81	1	ZBED5	Zinc finger BED domain-containing protein 5 isoformx1
1	7.80	7	EFNB2	Ephrin-B2
1	7.47	2	HSPA8	Heat shock 70kda protein 8
1	7.46	5	RAP1GAP 2	Rap1 gtpase-activating protein 2
1	7.37	4	GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
1	7.00	2	EEF2	Elongation factor 2
1	6.97	2	FGD1	FYVE, rhogef and PH domain-containing protein 1
1	6.33	1	RAP1GAP 2	Pecanex-like protein 2, partial
1	6.02	0	FRAS1	Extracellular matrix protein FRAS1
1	5.95	1	LRPRRC	Leucine-rich PPR motif-containing protein, mitochondrial
1	5.83	2	SAFB1	Scaffold attachment factor B1 isoform X3
1	5.57	1	HSP90AA1	Heat shock protein HSP 90-alpha
1	5.49	4	MON1B	Serine hydroxymethyltransferase, mitochondrial-like isoform X3
1	5.46	2	UROC1	Urocanase domain containing 1
1	5.40	4	MTCH1	Mitochondrial carrier homolog 1 isoform X1
1	5.05	1	IRAK3	Interleukin-1 receptor-associated kinase 3 isoform X1

Fracción 7 FOP Prepúber

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	23.50	4	PGK1	Phosphoglycerate kinase 1
1	19.82	3	ERZ	Ezrin
1	15.09	7		Ezrin-like
1	14.38	6	ALDOC	Aldolase c, fructose-bisphosphate
1	9.21	2	MOX1	Monooxygenase, dbh-like 1
1	9.11	9	TPPP3	Tubulin polymerization-promoting protein family member 3 isoformx1
1	8.23	3	KARS1	Lysine--trna ligase isoform 2
1	8.00	3	OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein
1	6.47	6	ST3GAL2	Cmp-n-acetylneuraminat-beta-galactosamide-alpha-2,3-sialyltransferase 2
1	6.26	2	EEF2	Elongation factor 2
1	5.71	3	HSPA8	Heat shock 70kda protein 8
1	5.50	6	CEACAM19	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 19
1	5.32	8	PRSS58	Probable inactive serine protease 58-like isoform x1

Fracción 8 FOP Prepúber

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
2	26.08	6	OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein precursor
2	25.46	8	EEF1A1	Elongation factor 1-alpha 1
3	24.13	6	HSP90B1	Endoplasmic precursor
2	14.57	9	EDNRB	Endothelin B receptor precursor
1	13.12	6	IRF1	Interferon regulatory factor 1
1	10.06	1	ANKHD1	Ankyrin repeat and KH domain-containing protein 1
1	9.41	5	HYAL3	Hyaluronidase-3 precursor
1	8.73	4	CASP10	Caspase 10
1	8.73	2	ZP2	Zona pellucida sperm-binding protein 2 precursor
1	8.72	4		Envelope protein
1	8.65	8	RIT1	Ras-like without CAAX 1
1	8.55	5	CYP17A1	Steroid 17-alpha-hydroxylase/17,20 lyase precursor
1	8.26	2	HSPA6	Heat shock 70 kda protein
1	8.26	20	CCL2	C-C motif chemokine 2 precursor
1	8.23	1	MYH4	Myosin-4
1	7.96	3	PREP	Prolyl isomerase
1	7.83	2	HSP90A1	Heat shock protein HSP 90-alpha
1	7.80	4	HSPA14	Heat shock 70 kda protein 14
1	7.79	8	HSD17B7	3-keto-steroid reductase
1	7.77	6	MSTN	Growth/differentiation factor 8 precursor
1	7.73	6	RACK1	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-2-like 1
1	7.67	1	KDM2A	Lysine-specific demethylase 2 ^a
1	7.48	6	FCGR1A	High affinity immunoglobulin gamma Fc receptor I precursor
1	7.27	4	TUBA1B	Tubulin alpha-1B chain
1	7.12	6	H2AFY	Core histone macro-H2A.1 isoform 1
1	7.09	3	PPWD1	Peptidylprolyl isomerase domain and WD repeat-containing protein 1
1	7.05	8	CBR1	Carbonyl reductase [NADPH] 1
1	6.89	5	FAM92B	Protein FAM92B
1	6.86	8	AKR1A1	Alcohol dehydrogenase [NADP(+)]

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	6.78	2	CAST	Calpastatin
1	6.74	2	TGFBR1	TGF-beta receptor type-1 precursor
1	6.64	15	UPK2	Uroplakin-2 precursor
1	6.62	5	MUC20	Mucin-20 precursor
1	6.57	2	APP	Amyloid beta A4 protein precursor
1	6.56	6	TXNIP	Thioredoxin-interacting protein
1	6.50	0	AKAP9	A-kinase anchor protein 9
1	6.42	4	GPI	Glucose-6-phosphate isomerase
1	6.34	4	STAMBPL1	AMSH-like protease
1	6.32	4	NECTIN1	Poliovirus receptor-related protein 1 precursor
1	6.28	4	CASP8	Caspase-8
1	6.27	25	PFN1	Profilin-1
1	6.21	3	AGO1	Protein argonaute-1
1	6.20	1	CILP1	Cartilage intermediate layer protein 1
1	6.06	5	PPARA	Peroxisome proliferator-activated receptor alpha
1	6.04	9	DGAT1	Diacylglycerol O-acyltransferase 2
1	6.03	2	UBE4A	Ubiquitination factor E4A
1	6.02	8	PCBP2	Poly(rc) binding protein 2
1	5.94	8	ANKRD1	Ankyrin repeat domain-containing protein 1
1	5.93	6	TNF	Tumor necrosis factor receptor superfamily member 1B precursor
1	5.92	4	NOP58	Nucleolar protein 56
1	5.91	3	NTN1	Netrin-1 precursor
1	5.87	5	CLIM2	Clim2
1	5.83	18	MLN	Promotilin
1	5.79	4	NEFL	Neurofilament light polypeptide
1	5.75	13	ARHGDIB	Rho GDP dissociation inhibitor (GDI) beta
1	5.74	9	PRL	Prolactin
1	5.71	13	RCAN1	Regulator of calcineurin 1
1	5.46	1		Uncharacterized protein LOC100511495
1	5.45	2		Dentin sialophosphoprotein preproprotein
1	5.32	25	SST	Somatostatin precursor
1	5.26	3	SIRT1	NAD-dependent deacetylase sirtuin-1
1	5.22	8	SUDS3	Sin3 histone deacetylase corepressor complex component SDS3
1	5.21	4		Isocitrate dehydrogenase [NADP], mitochondrial
1	5.21	2	ITGB2	Integrin beta-2 precursor
1	5.17	10	RPL23	60S ribosomal protein L23
1	5.16	3	VPSA4	Vacuolar protein sorting 4 homolog A
1	5.10	6	IGFBP4	Insulin-like growth factor-binding protein 4 precursor
1	5.07	14	NCALD	Neurocalcin delta
1	5.02	2	CDH5	VE cadherin
1	5.01	31		MHC class II histocompatibility antigen

Fracción 9 FOP Prepúber

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
3	28.86	8	OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein
1	6.63	5	RAD51	DNA repair protein RAD51 homolog 3 isoform X1
1	6.48	3	WEE1	Wee1-like protein kinase 2

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	6.38	3	TTF1	Transcription termination factor 1
1	5.80	1	DOCK4	Dedicator of cytokinesis protein 4-like, partial
1	5.13	20	C90RF57	Uncharacterized protein c9orf57 homolog

Anexo 4. Proteínas totales determinadas mediante análisis MS/MS en fluido oviductal porcino de hembras en fase periovulatoria.

Fracción 3 FOP adulto en fase periovulatoria

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
3	32,54	4	HSP90AA1	heat shock protein HSP 90-alpha
1	9,87	1	APC	adenomatous polyposis coli protein
1	8,44	0	PKD1	polycystin-1 precursor
1	7,91	5		glycosyltransferase 54 domain-containing protein-like isoform X2
1	7,33	2	DNA2	DNA replication ATP-dependent helicase/nuclease DNA2
1	7,2	7	PIP5K1B	phosphatidylinositol 4-phosphate 5-kinase type-1 beta
1	6,69	2	CSPP1	centrosome and spindle pole-associated protein 1 isoform X1
1	6,57	3	MIP120	protein lin-54 homolog
1	6,22	2	HCN1	potassium/sodium hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel 1
1	5,93	5	CYPA	cyclophilin A
1	5,69	8	SKIL	ski-like protein-like

Fracción 4 FOP adulto en fase periovulatoria

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	NAME
7	96,5	13	HSP90AA1	heat shock protein HSP 90-alpha
2	25,09	4	HSPA8	heat shock 70kDa protein 8
2	19,57	8	EIF4A1	eukaryotic initiation factor 4A-II isoform X1
2	18,41	6	GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
1	16,07	1	KRT6A	keratin, type II cytoskeletal 6A-like isoform X1
1	14,86	16	CYPA	cyclophilin A
1	14,85	7	TPPP3	tubulin polymerization-promoting protein family member 3 isoformX1
1	12,26	7	SPTR	sepiapterin reductase
1	11,52	4	ADAMTS17	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 17-like
1	10,62	4	MSR1	macrophage-capping protein isoformX2
1	10,02	2	PRDX4	peroxiredoxin-4 isoform X2

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	NAME
1	8,42	4	UGT2A3	UDP-glucuronosyltransferase 2A3 isoform X1
1	8,04	1	CLIP1	CAP-Gly domain-containing linker protein 1 isoform X1
1	7,31	1	HECW1	E3 ubiquitin-protein ligase HECW1-like
1	7,11	5	TP53	Cellular tumor antigen p53
1	7,02	3	GRIK5	glutamate receptor ionotropic, kainate 5
1	6,64	4	OLFML2A	olfactomedin-like protein 2A precursor
1	6,64	4		Adiponutrin
1	6,51	3	UNC5B	netrin receptor UNC5B precursor
1	6,38	5	NHRF2	Na (+)/H (+) exchange regulatory cofactor NHE-RF1
1	6,38	1	TTLL5	tubulin polyglutamylase TTLL5-like, partial
1	6,24	1	KIAA1324L	UPF0577 protein KIAA1324-like homolog isoform 1
1	6	1	THOC2	THO complex subunit 2 isoform X2
1	5,95	3	NELFD	negative elongation factor D
1	5,73	5	ZNHIT6	box C/D snoRNA protein 1
1	5,73	1		uncharacterized protein LOC100511327
1	5,67	4	MMP27	matrix metalloproteinase-27
1	5,62	9	PDLIM1	PDZ and LIM domain protein 1
1	5,56	1	ZEB2	zinc finger E-box-binding homeobox 2-like
1	5,35	3	DBF4	protein DBF4 homolog A
1	5,24	4	ABHD5	1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase ABHD5
1	5,23	4	ADE2	multifunctional protein ADE2 isoform X2
1	5,22	27	ITPR2	inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 2-like
1	5,16	3	IL4L1	L-amino-acid oxidase-like
1	5,12	2	CATSPERD	cation channel sperm-associated protein subunit delta isoform X1
1	5,06	2	PRDM15	PR domain zinc finger protein 15 isoform X1
1	5,04	6		uncharacterized protein LOC102163884

Fracción 5 FOP adulto en fase periovulatoria

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
4	49.23	5	HSP90AA1	heat shock protein HSP 90-alpha
2	27.57	1	PARP6	poly [ADP-ribose] polymerase 6 isoform X2
2	19.32	2	GSN	Gelsolin
2	15.94	0	FSIP2	fibrous sheath-interacting protein 2, partial

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
2	14.90	6	GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
1	14.27	7	EZR	ezrin-like
1	11.16	8	SPINK5	serine protease inhibitor Kazal-type 5
1	10.88	5	MTERF1	transcription termination factor, mitochondrial isoform X1
1	10.73	4	BTBD3	BTB/POZ domain-containing protein 3 isoform X2
1	10.67	1	PHF3	PHD finger protein 3
1	10.65	2	LCORL	ligand dependent nuclear receptor corepressor-like isoform X5
1	10.06	1	NSD3	histone-lysine N-methyltransferase NSD3
1	10.03	0	CMYA5	cardiomyopathy-associated protein 5
1	10.00	3	ACTG1	actin, cytoplasmic 2
1	9.87	5	SLAMF9	SLAM family member 9-like isoform X1
1	9.51	0	SRRM2	serine/arginine repetitive matrix protein 2
1	8.98	13	MHCII	MHC class II antigen, partial
1	8.98	16	GGCT	gamma-glutamylcyclotransferase-like isoform X5
1	8.71	2	FKBP4	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP4
1	8.39	6	TRA2A	transformer-2 protein homolog alpha isoform X1
1	8.36	3	METTLL15	probable methyltransferase-like protein 15 isoform X2
1	8.21	1	MICAL2	methionine sulfoxide oxidase MICAL2
1	7.96	1	LARS1	leucine--tRNA ligase, cytoplasmic
1	7.84	2	ZNF211	zinc finger protein 211
1	7.79	10	TMEM9B	transmembrane protein 9B
1	7.69	3	ZNF420	zinc finger protein 420-like
1	7.64	1	MCM3AP	80 kDa MCM3-associated protein isoform X1
1	7.63	3	ZFP14	zinc finger protein 14-like
1	7.62	7	SFN	14-3-3 protein sigma
1	7.55	9	TFPI2	tissue factor pathway inhibitor 2
1	7.43	4	FARSA	phenylalanine--tRNA ligase alpha subunit isoform X1
1	7.40	3	ANKRD34B	ankyrin repeat domain-containing protein 34B isoform X1
1	7.16	2	MTMR2	myotubularin-related protein 2 isoformX1
1	7.16	2	TRPV6	transient receptor potential cation channel subfamily V member 3 isoform X2
1	6.94	0	APC	adenomatous polyposis coli protein
1	6.75	3	NDEL1	nuclear distribution gene C homolog

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	6.72	3	GALNT1	UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase-like 1-like
1	6.72	2	TALPID3	protein TALPID3, partial
1	6.72	4	RASGRP1	RAS guanyl-releasing protein 1-like, partial
1	6.64	1	MYH6	myosin, heavy chain 6, cardiac muscle, alpha
1	6.64	2	MPHOSPH9	M-phase phosphoprotein 9
1	6.59	3	ALS2	amyotrophic lateral sclerosis 2 chromosomal region candidate gene 11 protein-like
1	6.58	1	545888300	uncharacterized protein LOC100625149
1	6.26	1	MED14	mediator of RNA polymerase II transcription subunit 14
1	6.24	3	GTSE1	G2 and S phase-expressed protein 1
1	6.23	0	HERC1	probable E3 ubiquitin-protein ligase HERC1
1	6.16	1	SIPA1L3	signal-induced proliferation-associated 1 like 3
1	6.16	2	COL4A3	collagen alpha-3(IV) chain-like
1	6.00	2	ANXA2	annexin A2 isoform X1
1	6.00	13	MAFF	transcription factor MafF isoform X1
1	5.99	3	MYST2	histone acetyltransferase MYST2 isoform X1
1	5.99	1	BNC2	zinc finger protein basonuclin-2 isoform X1
1	5.98	1	ADD1	alpha-adducin isoform X2
1	5.84	6	KRT74	keratin 74
1	5.82	15	POLR1H	DNA-directed RNA polymerase I subunit RPA12-like
1	5.78	20	RET1	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC2-like
1	5.69	5	545827720	uncharacterized protein LOC102159703
1	5.62	7	CDK14	cyclin-dependent kinase 14
1	5.55	2	GPBP1	vasculin-like isoform X2
1	5.52	3	LRIG1	leucine-rich repeat, immunoglobulin-like and transmembrane domains 1
1	5.44	1	CACNA1C	calcium channel, voltage-dependent, L type, alpha 1C subunit
1	5.43	2	FBXL17	F-box/LRR-repeat protein 17
1	5.39	1	RHBDF2	inactive rhomboid protein 2
1	5.38	8	MR1	MHC class I alpha chain, partial

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	5.36	1	WDR35	WD repeat-containing protein 35
1	5.31	7	STX17	syntaxin-17 isoform X1
1	5.25	1	SAFB2	scaffold attachment factor B2
1	5.23	3	SLC7A3	cationic amino acid transporter 3-like isoform X1
1	5.20	3	KRT85	keratin, type II cuticular Hb5
1	5.20	1	RPTOR	regulatory-associated protein of mTOR isoform 1
1	5.19	3	USP49	ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 49
1	5.07	1	SMC3	structural maintenance of chromosomes protein 3
1	5.02	1	PLA2G6	85/88 kDa calcium-independent phospholipase A2 isoform X1

Fracción 6 FOP adulto en fase periovulatoria

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	13.18	7	TPPP3	Tubulin polymerization-promoting protein family member 3 isoformx1
1	12.63	2	EEF2	Elongation factor 2
2	11.28	9	ALDOC	Aldolase C, fructose-bisphosphate
1	10.90	11	EZRL	Ezrin-like
1	9.64	3	PEX3	Peroxisomal biogenesis factor 3 isoform X1
1	9.49	2	HTATSF1	HIV Tat-specific factor 1
1	9.37	2	KIF3C	Kinesin family member 3C
1	8.70	1	KLB	Beta-klotho
1	8.50	5	CRNKL1	Crooked neck-like protein 1-like
1	7.95	3	FAM73A	Protein FAM73A
1	7.71	5	EIF5A	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1 isoformx3
1	7.49	3	ATF4	Cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-4
1	7.42	13	EBF2	Transcription factor COE2-like, partial
1	7.38	8	ODF3	Outer dense fiber protein 3 isoform X1
1	7.30	1	CCC88B	Coiled-coil domain-containing protein 88B
1	7.13	4	ARMC2X1	Armadillo repeat-containing protein 2 isoform X1
1	7.00	1	HSPA5	78 kda glucose-regulated protein
1	6.75	0	TIMELESS	Protein timeless homolog isoform X1
1	6.44	4	MYEF2	Myelin expression factor 2 isoform X1
1	6.21	0	MTOR	Serine/threonine-protein kinase mtor
1	6.07	4	ARRDC3	Arrestin domain-containing protein 3
1	6.01	3	SPART	Spartin
1	5.78	2		Uncharacterized protein KIAA1958 homolog isoform X1
1	5.69	11	SAR1A	GTP-binding protein SAR1a isoform X1
1	5.65	2	TTC27	Tetratricopeptide repeat protein 27
1	5.59	20	SMURF2	E3 ubiquitin-protein ligase SMURF2-like, partial
1	5.39	2	ALG5	Dolichyl-phosphate beta-glucosyltransferase
1	5.34	3	UNC79	Protein unc-79 homolog
1	5.21	0	STARD9	Star-related lipid transfer protein 9

Fracción 7 FOP adulto en fase periovulatoria

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
8	99.31	22	OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein
2	33.49	4	EZR	Ezrin
3	26.83	9	PDIA3	Protein disulfide-isomerase A3 precursor
2	24.59	7	EEF1A1	Elongation factor 1-alpha 1
2	22.26	8	ALDOC	Aldolase C, fructose-bisphosphate
1	13.26	1	WDR35	Repeat-containing protein 35
2	11.37	1	SIGLEC1	Sialoadhesin
1	9.73	0	HEATR5A	Repeat-containing protein 5A isoform 1
1	9.41	0	HIVEP2	Transcription factor HIVEP2
1	8.95	1	INO80	INO80 complex subunit D
1	8.82	1	CDK12	Cyclin-dependent kinase 12 isoform X4
1	8.81	8	FBP1	Fructose-1,6-bisphosphatase 1
1	8.79	3	LPO	Lactoperoxidase
1	8.63	8	GTF2E2	Transcription initiation factor IIE subunit beta-like
1	8.59	7	NMRK1	Nicotinamide riboside kinase 1 isoform X1
1	8.49	4	TPPP3	Tubulin polymerization-promoting protein family member 3 isoformx1
1	8.12	8	AKR1C1	Putative aldo-keto reductase family 1 member C1
1	7.98	1	ZNF646	Zinc finger protein 646 isoform X2
1	7.98	2	ZNF112	Zinc finger protein 112
1	7.95	5	CCDC74B	Coiled-coil domain-containing protein 74B isoform X1
1	7.90	5	SNX7	Sorting nexin-7 isoform X1
1	7.74	16	STXB4	Syntaxin-binding protein 4-like
1	7.73	2	TUBA4A	Tubulin alpha-4A chain isoform X2
1	7.67	1	HSP90B1	Endoplasmic precursor
1	7.64	6	PAPN1	Polyadenylate-binding protein 2
1	7.49	0	ESPL1	Separin
1	7.41	3	UGT2B17	UDP-glucuronosyltransferase 2B17 isoformx2
1	7.30	2	SOBP	Sine oculis-binding protein homolog
1	7.25	2	ENAM	Enamelin
1	7.21	5	METTL15	Probable methyltransferase-like protein 15 isoform X2
1	7.02	0	CCDC88A	Girdin
1	6.88	0	KAT6A	K(lysine) acetyltransferase 6A, partial
1	6.83	4	NR1H2	Oxysterols receptor LXR-beta isoform X1
1	6.80	6	BMP8B	Bone morphogenetic protein 8B
1	6.78	0	DNAH10	Dynein heavy chain 10, axonemal
1	6.71	2	CCNT2	Cyclin-T2 isoform X1
1	6.66	5	VAC14	Protein VAC14 homolog
1	6.66	0	RRP5	Protein RRP5 homolog
1	6.63	1	ROBO3	Roundabout homolog 3
1	6.58	10		Uncharacterized protein LOC102164193
1	6.57	6		Uncharacterized protein LOC100737370
1	6.42	1	AFF4	AF4/FMR2 family member 4, partial
1	6.39	1	NAV3	Neuron navigator 3
1	6.34	3	SLC43A2	Large neutral amino acids transporter small subunit 4 isoform X2
1	6.28	6	PRMT2	Protein arginine N-methyltransferase 2, partial
1	6.23	1		Uncharacterized protein LOC102159067

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	6.22	2	SDAD1	Protein SDA1 homolog isoform X1
1	6.13	3	SETD8	N-lysine methyltransferase SETD8
1	6.09	5	EIF5A	Eukaryotic translation initiation factor 5A-1 isoformx3
1	6.08	11	FBX022	F-box only protein 22-like
1	5.99	13	IL22	Interleukin-22
1	5.98	3	3KBTBD8	Kelch repeat and BTB domain-containing protein 8
1	5.98	1	KIF18B	Kinesin family member 18B
1	5.97	3	NHERF3	Na(+)/H(+) exchange regulatory cofactor NHE-RF3 isoform X1
1	5.97	0	CEP290	Centrosomal protein of 290 kda isoform X1
1	5.93	0	LCT	Lactase-phlorizin hydrolase-like
1	5.92	4	RPF2	Ribosome production factor 2 homolog, partial
1	5.87	1	NOP14	Nucleolar protein 14, partial
1	5.86	1	DOCK10	Dedicator of cytokinesis protein 10 isoform X2
1	5.84	4	AKR7A2	Aldo-keto reductase family 7, member A2 (aflatoxin aldehyde reductase)
1	5.62	0	AKA12	A-kinase anchor protein 12 isoform X1
1	5.54	6		Uncharacterized protein LOC100736703
1	5.52	6	NBEAL2	Neurobeachin-like protein 2-like isoform X1
1	5.49	2	ARHGEF26	Rho guanine nucleotide exchange factor 26
1	5.44	0	ITGB4	Integrin beta-4
1	5.38	1	ANKRD26	Ankyrin repeat domain-containing protein 26
1	5.32	0	PCNX1	Pecanex-like protein 1, partial
1	5.30	1	CAMSAP1	Calmodulin-regulated spectrin-associated protein 1
1	5.20	4	COL4A4	Collagen alpha-4(VI) chain-like
1	5.18	5	PIGA	Phosphatidylinositol N-acetylglucosaminyltransferase subunit A isoform 1
1	5.13	1	WDR36	Repeat-containing protein 36
1	5.02	4	SIX5	Homeobox protein SIX5

Fracción 8 FOP adulto en fase periovulatoria

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
7	77.97	21	OVGP1	oviduct-specific glycoprotein precursor
3	29.77	11	TUBA1B	tubulin alpha-1B chain
3	19.20	7	UBE3A	ubiquitin-protein ligase E3A isoform 1
2	17.90	3	HSP90B1	endoplasmic precursor
2	14.45	1	DICER1	endoribonuclease Dicer
2	13.82	6	HSPE	heparanase precursor
2	13.14	1	SRRMP	serine/arginine repetitive matrix protein 2
2	12.06	3	CILP	cartilage intermediate layer protein 1
1	11.60	2	EEF1A1	elongation factor 1-alpha 1
1	11.18	7	THOC6	THO complex 6 homolog
1	10.37	8	PEX2	peroxisome biogenesis factor 2
1	10.03	7	CIITA	MHC class I antigen
1	9.24	4	ITGB1	integrin beta-1 precursor
1	8.84	11	ODF1	outer dense fiber protein
1	8.42	3	DCTN4	dynactin subunit 4
1	8.40	11	IL6	interleukin-6 precursor
1	8.33	18	UQCRB	ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	8.20	4	ENV?	env protein
1	8.15	4	ESR2	estrogen receptor beta
1	8.05	2	GYS1	glycogen [starch] synthase, muscle
1	7.81	5	TGFB1	Transforming growth factor beta-1
1	7.81	17	RPS12	40S ribosomal protein S12
1	7.76	3	PDE4B	cAMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase 4B isoform 1
1	7.74	7	XBP1	X-box-binding protein 1 isoform XBP1(U)
1	7.52	9	TBCB	tubulin-folding cofactor B-like
1	7.47	1	DNTT1P2	deoxynucleotidyltransferase terminal-interacting protein 2
1	7.47	3	SMARCD2	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily D member 2
1	7.34	3	CAPN1	calpain-1 catalytic subunit
1	7.30	7	INHBA	inhibin beta A chain precursor
1	7.12	15	MAP1LC3A	microtubule-associated proteins 1A/1B light chain 3 ^a
1	7.03	3	SELP	P-selectin precursor
1	6.90	8	CD247	T-cell surface glycoprotein CD3 zeta chain precursor
1	6.86	16	RPL35	60S ribosomal protein L35
1	6.76	4	GRN	granulins precursor
1	6.76	8	RLN2	Prorelaxin
1	6.69	1	COPB1	coatamer subunit beta
1	6.64	1	CD163	Scavenger receptor cysteine-rich type 1 protein M130
1	6.63	18	RPS11	40S ribosomal protein S11
1	6.58	4	ENV	envelope glycoprotein
1	6.57	2	LPIN2	phosphatidate phosphatase LPIN2
1	6.55	7	PTN	pleiotrophic factor beta
1	6.54	6	MAPK1	mitogen-activated protein kinase 1
1	6.45	4	FOXRED1	FAD-dependent oxidoreductase domain containing 2 precursors
1	6.40	2	STAT5B	signal transducer and activator of transcription 5B
1	6.34	5	LDB1	CLIM2
1	6.30	0	RYR1	Ryanodine receptor 1
1	6.21	0	RPN2	ribophorin II
1	6.11	3	ART3	ecto-ADP-ribosyltransferase 3 precursor
1	6.08	11	PSMA4	proteasome subunit alpha type-4
1	6.06	2	AMPD1	AMP deaminase 1
1	6.03	3	SMAP2	stromal membrane-associated protein 2
1	5.96	7	CTGF	connective tissue growth factor precursor
1	5.92	1	C4A	complement C4 precursor
1	5.81	5	CA3	carbonic anhydrase 3
1	5.65	3	PPWD1	peptidylprolyl isomerase domain and WD repeat-containing protein 1
1	5.62	2	NOS3	nitric oxide synthase, endothelial
1	5.59	4	GBP2	interferon-induced guanylate-binding protein 2
1	5.58	4	CD72	B-cell differentiation antigen CD72
1	5.58	9	TNNI1	troponin I, slow skeletal muscle
1	5.53	4	HSPA6	heat shock 70 kDa protein
1	5.53	18	IL2	porcine Interleukin 2
1	5.42	5	LDHA	L-lactate dehydrogenase A chain
1	5.35	7	PTGFR	prostaglandin F2-alpha receptor

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	5.35	9	UOX	uricase precursor
1	5.33	0	XIRP1	xin actin-binding repeat-containing protein 1
1	5.32	6	CLEC46	C-type lectin domain family 4 member G
1	5.21	3	HNRNPM	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M

Fracción 9 FOP adulto en fase periovulatoria

PEPTIDES	SCORE	COVER %	DATABASE	PROTEIN NAME
5	73.89	14	OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein
2	28.58	6	CCT2	T-complex protein 1 subunit beta
2	20.15	9	TUBB4B	tubulin beta-4B chain isoform X2
2	15.01	6	MEI1	meiosis inhibitor protein 1-like, partial
2	14.79	4	CCT4	T-complex protein 1 subunit delta
1	13.93	4	CCT7	T-complex protein 1 subunit eta
1	12.14	2	MRP1	multidrug resistance protein 1-like, partial
1	11.29	1	ZFP407	zinc finger protein 407
1	11.05	2	GRP78	78 kDa glucose-regulated protein
1	9.47	2	SULF1	extracellular sulfatase Sulf-1
1	8.84	1	WDR06	WD repeat-containing protein 96, partial
1	8.54	1	SCAF1	splicing factor, arginine/serine-rich 19 isoform X1
1	8.31	1	SIPA1L1	signal-induced proliferation-associated 1 like 1 isoform X1
1	8.10	1	TCP1	T-complex protein 1 subunit alpha
1	8.00	1	ADAMTS9	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 9
1	7.75	1	CCT8	T-complex protein 1 subunit theta isoform 1
1	7.72	2	PPYR1	neuropeptide Y receptor type 4
1	7.60	8	TSPO2	translocator protein 2-like
1	7.51	1	LRP5	low-density lipoprotein receptor-related protein 5
1	7.49	5	RAD51	DNA repair protein RAD51 homolog 3 isoform X1
1	7.30	3	SPATA31E1	spermatogenesis-associated protein 31E1-like
1	7.22	4	TUFT1	tuftelin, partial
1	7.15	2	SESTD1	SEC14 domain and spectrin repeat-containing protein 1 isoform X2
1	7.05	1	SIDT1	SID1 transmembrane family member 1 isoform X2
1	6.96	5	SRP68	signal recognition particle subunit SRP68-like
1	6.84	2	DDX50	ATP-dependent RNA helicase DDX50 isoform X2
1	6.73	1	SUPT16H	FACT complex subunit SPT16
1	6.57	6	MED6	mediator of RNA polymerase II transcription subunit 6 isoform X1
1	6.50	4	SMC5	structural maintenance of chromosomes protein 5-like
1	6.28	2	SMARCAD1	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily A containing DEAD/H box 1 isoform X1
1	6.27	3	RAB3A	guanine nucleotide exchange factor for Rab-3A isoform X2
1	6.25	0	MXRA5	matrix-remodeling-associated protein 5 isoform X1
1	5.97	7	UROD	uroporphyrinogen decarboxylase
1	5.96	1	TOPBP1	DNA topoisomerase 2-binding protein 1

PEPTIDES	SCORE	COVER %	DATABASE	PROTEIN NAME
1	5.88	0	TTN	LOW QUALITY PROTEIN: titin
1	5.80	0	FBN1	Fibrillin-1
1	5.79	2	CCT3	T-complex protein 1 subunit gamma
1	5.76	8	BCAP31	B-cell receptor-associated protein 31 isoform X1
1	5.75	0	KMT2A	histone-lysine N-methyltransferase 2 ^a
1	5.74	1	RC3H2	RING finger and CCCH-type zinc finger domain-containing protein 2
1	5.72	2	AMIGO1	amphoterin-induced protein 1
1	5.72	4	TM9SF3	transmembrane 9 superfamily member 3
1	5.68	2	AGO2	argonaute-2
1	5.67	2	IRS1	insulin receptor substrate 1
1	5.66	7	FBLN7	fibulin-7-like isoform X1
1	5.65	2	ACO2	Aconitate hydratase, mitochondrial
1	5.57	0	RTTN	Rotatin
1	5.39	1	PIGW	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis, class W
1	5.39	8	INCA1	protein INCA1 isoformX2
1	5.32	5	SIPAIL3	signal-induced proliferation-associated 1-like protein 3-like
1	5.28	17	ASCL5	achaete-scute homolog 5
1	5.28	17	FMC1	UPF0562 protein C7orf55 homolog
1	5.22	4	KRT8	keratin, type II cytoskeletal 8 isoform X1
1	5.12	0	MYO6	unconventional myosin-VI isoform X1

Fracción 10 de FOP adulto en fase periovulatoria

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	NAME PROTEIN
2	28,54	7	OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein
1	7,73	9	RRP44	exosome complex exonuclease RRP44-like
1	7,17	3	COX10	COX10 homolog, cytochrome c oxidase assembly protein, heme A: farnesyltransferase
1	7,13	6	RGL2	ral guanine nucleotide dissociation stimulator-like isoform X1
1	6,48	4	MGAT5	alpha-1,6-mannosylglycoprotein 6-beta-N-acetylglucosaminyltransferase B
1	6,1	4	ARH2	E3 ubiquitin-protein ligase ARIH2 isoform X1
1	6,05	4	PRAMEF23	PRAME family member 23-like
1	6,02	2	CAPN14	calpain-14-like, partial
1	5,88	0	SYNE2	nesprin-2 isoform X2
1	5,44	0	NRDC	nardilysin isoform X2

Fracción 11 de FOP adulto en fase periovulatoria

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	NAME PROTEIN
1	10,45	0	DST	dystonin isoform X8
1	6,7	2	CAPN14	calpain-14-like, partial
1	6,61	4	MFSD9	major facilitator superfamily domain-containing protein 7

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	NAME PROTEIN
1	6,33	2	THRS	probable threonine--tRNA ligase 2, cytoplasmic isoform X1
1	6,23	7	HMG5	high mobility group nucleosome-binding domain-containing protein 5-like

Fracción 12 de FOP adulto en fase periovulatoria

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	NAME PROTEIN
1	10,97	8	MBIP	MAP3K12-binding inhibitory protein 1 isoform X1
1	10,64	1	PIEZO2	piezo-type mechanosensitive ion channel component 2-like, partial
1	10,12	1	FNDC1	fibronectin type III domain-containing protein 1
1	8,46	2	DDB1	DNA damage-binding protein 1 isoform 1
1	8,27	1	IQSEC2	IQ motif and SEC7 domain-containing protein 2 isoform X3
1	8,08	0	CEP290	centrosomal protein of 290 kDa isoform X1
1	7,79	1	RC3H1	probable E3 ubiquitin-protein ligase Roquin isoform X1
1	7,13	5	CPNE5	copine-5
1	6,97	5	ASS1	argininosuccinate synthase isoform X1
1	6,93	0	SIPA1L1	signal-induced proliferation-associated 1 like 1 isoform X1
1	6,65	6	PIGS	GPI transamidase component PIG-S-like
1	6,58	4	FBXW4	F-box/WD repeat-containing protein 4
1	6,06	0	CENPE	centromere-associated protein E
1	5,95	1	CARM1	histone-arginine methyltransferase CARM1-like

Anexo 5. Proteínas totales determinadas mediante análisis MS/MS en fluido oviductal porcino de hembras en fase luteal.

Fracción 6 de FOP adulto en fase luteal

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
4	46.90	6	HSP90AA1	heat shock protein HSP 90-alpha
2	24.40	8	GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
2	23.53	2	PARP6	poly [ADP-ribose] polymerase 6 isoform X2
3	18.73	0	FSIP2	fibrous sheath-interacting protein 2, partial
1	17.09	7	TPPP3	tubulin polymerization-promoting protein family member 3 isoform X1
2	15.07	6	GDI1	rab GDP dissociation inhibitor alpha isoform 1

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	13.38	3	ZBTB8A	zinc finger and BTB domain-containing protein 37 isoform X1
1	12.40	0	DOCK3	dedicator of cytokinesis protein 3
1	11.56	0	HIVEP2	transcription factor HIVEP2
1	11.33	8	MPZ	myelin protein P0
1	11.07	1	RAB3GAP2	rab3 GTPase-activating protein non-catalytic subunit
1	10.67	2	GRN	granulins precursor
1	10.43	6		uncharacterized protein LOC100621235 isoform X5
1	10.16	3	CDC14B	dual specificity protein phosphatase CDC14B
1	9.96	2	NFKBIZ	NF-kappa-B inhibitor zeta isoform X2
1	9.78	3	PRBL	basic proline-rich protein-like
1	9.75	2	MGA	MAX gene-associated protein-like
1	9.74	2	FEM1B	protein fem-1 homolog B
1	9.63	1	AOX1	aldehyde oxidase 1
1	9.63	9	TFP1	tissue factor pathway inhibitor 2
1	9.31	5	PRORP	mitochondrial ribonuclease P protein 1 isoform X1
1	9.29	11	RGS5	Regulator of G-protein signaling 5
1	9.27	2	ARMC2	armadillo repeat-containing protein 2 isoform X1
1	9.06	5	CHRM5	muscarinic acetylcholine receptor M5
1	9.05	1	DDX60L	probable ATP-dependent RNA helicase DDX60
1	8.90	2	TGFBRAP1	transforming growth factor-beta receptor-associated protein 1 isoform X1
1	8.82	3	STIP1	stress-induced-phosphoprotein 1
1	8.76	1	ZFP62	zinc finger protein 62 homolog
1	8.75	2	AKAP4	A-kinase anchor protein 4 isoform X1
1	8.64	7	SBSPON	somatomedin-B and thrombospondin type-1 domain-containing protein-like
1	8.63	2	AKAP13	A-kinase anchor protein 13
1	8.62	14	MRPL30	39S ribosomal protein L30, mitochondrial isoform X1
1	8.54	2	NXF2	nuclear RNA export factor 2
1	8.51	0	OBSL1	obscurin-like
1	8.01	15	GIPC1	PDZ domain-containing protein GIPC1
1	7.95	0	FANCM	Fanconi anemia group M protein isoform X1
1	7.93	5	GRAMD2A	GRAM domain-containing protein 2
1	7.89	5	LDLRAP1	low density lipoprotein receptor adapter protein 1
1	7.87	3	LRRTM4	leucine-rich repeat transmembrane neuronal protein 4
1	7.80	4	ATP6V1B	V-type proton ATPase subunit B, brain isoform
1	7.77	1	CAMSAP2	calmodulin-regulated spectrin-associated protein 1
1	7.72	9	C12ORF24	chromosome 12 open reading frame 24 ortholog
1	7.69	2	SLC7A2	low affinity cationic amino acid transporter 2
1	7.65	1	PHF3	PHD finger protein 3
1	7.64	8	SPIN1	spindlin-1
1	7.57	9	SMNDC1	survival of motor neuron-related-splicing factor 30 isoform X1
1	7.54	5	ASS1	argininosuccinate synthase isoform X1
1	7.53	3	ACOT7	cytosolic acyl coenzyme A thioester hydrolase isoform X2

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	7.48	2	ATF6B	cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-6 beta isoform X5
1	7.41	3	PLOD2	procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2, partial
1	7.40	6	MLC1	membrane protein MLC1
1	7.40	0	DOCK10	dedicator of cytokinesis protein 10 isoform X2
1	7.32	3	NFATC1	nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 1
1	7.30	4	IQCA1L	putative IQ and AAA domain-containing protein 1-like
1	7.25	2	ANXA2	annexin A2 isoform X1
1	7.24	8	LASP1	LIM and SH3 protein 1
1	7.19	1	ABCF3	ATP-binding cassette sub-family A member 3-like isoform X1
1	7.15	3	KRT4	keratin, type II cytoskeletal 4
1	7.06	2	DDX24	ATP-dependent RNA helicase DDX24 isoform X1
1	7.00	3		uncharacterized protein LOC100620700
1	6.98	5		uncharacterized protein LOC102167423
1	6.96	3	ETS1	protein C-ets-1
1	6.92	3	GPHN	Gephyrin
1	6.87	1	UGGT2	UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase 2, partial
1	6.80	2	ATP6V044	V-type proton ATPase 116 kDa subunit a isoform 4 isoform X1
1	6.77	6	VCAM1	vascular cell adhesion protein 1 precursor
1	6.76	1	LATS2	serine/threonine-protein kinase LATS2
1	6.73	1	FER1L6	fer-1-like 6 (C. elegans)
1	6.71	2	RAB3IP	rab-3A-interacting protein
1	6.71	0	COCK9	dedicator of cytokinesis protein 9 isoform X1
1	6.69	4	SPATS2L	SPATS2-like protein
1	6.69	0	ZC3H13	zinc finger CCCH domain-containing protein 13
1	6.68	3	SOCS4	suppressor of cytokine signaling 4 isoform X1
1	6.63	5	YBX1	nuclease-sensitive element-binding protein 1
1	6.60	5	PRCP	lysosomal Pro-X carboxypeptidase isoform X1
1	6.60	1	ZNF516	zinc finger protein 516
1	6.55	2	CLEC16A	protein CLEC16A isoform 2
1	6.55	0	HTT	Huntingtin
1	6.47	0	FBN2	fibrillin-2, partial
1	6.45	1	ELAC2	elaC homolog 2
1	6.31	2	RORA	nuclear receptor ROR-alpha isoform X2
1	6.30	0	TENM3	teneurin-3
1	6.29	8	MYF5	Myf5
1	6.24	0	LAMA3	laminin subunit alpha-3-like
1	6.19	2	CCDC39	coiled-coil domain-containing protein 39 isoform X2
1	6.14	20	CASC3	protein CASC3
1	6.13	3	PROCA1	protein PROCA1 isoformX3
1	6.09	1	ADAMTS	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 2, partial
1	6.08	1	VPS53	vacuolar protein sorting-associated protein 53 homolog isoform X1
1	6.05	2	COPB1	coatamer subunit beta

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	6.00	9	OR1A1	olfactory receptor 1A1-like
1	5.99	5	MOSPD2	motile sperm domain-containing protein 2 isoform X1
1	5.99	0	NIPBL	nipped-B-like protein
1	5.99	1	SPTB	spectrin beta chain, erythrocytic
1	5.99	1	FMNL2	formin-like 2 isoform X1
1	5.98	1	MAP3K15	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 15
1	5.97	1	CTCF	transcriptional repressor CTCF-like
1	5.91	3	CDH17	cadherin-17
1	5.91	0	QRICH2	glutamine-rich protein 2
1	5.89	0	KIF1B	kinesin family member 1B isoform X5
1	5.84	2	CIITA	MHC class II transactivator
1	5.77	2	MAK	serine/threonine-protein kinase MAK isoform X1
1	5.72	3	PRICKLE3	prickle-like protein 3
1	5.71	1	EEF1AS	elongation factor 1-alpha, somatic form-like
1	5.66	17	ZFP157	zinc finger protein 157
1	5.64	3	VSP16	vacuolar protein sorting-associated protein 16 homolog isoformX1
1	5.58	6	RPB4	DNA-directed RNA polymerase I subunit RPA34
1	5.53	3	ADAM3A	ADAM metalloproteinase domain 3A (cyritestin 1) precursor
1	5.53	2	RFX8	DNA-binding protein RFX8 isoform X1
1	5.46	21	DPRX	divergent paired-related homeobox-like
1	5.46	26	EED	polycomb protein EED-like
1	5.42	1	ERCC5	DNA repair protein complementing XP-G cells
1	5.34	4	FERMT2	fermitin family homolog 2, partial
1	5.29	1	TEC	tyrosine-protein kinase Tec
1	5.25	1	ARHGAP29	rho GTPase-activating protein 29 isoform X1
1	5.25	0	DST	dystonin isoform X14
1	5.20	2	MN1	probable tumor suppressor protein MN1
1	5.19	0	FERMPDZ	FERM and PDZ domain-containing protein 3
1	5.16	3	IVD	isovaleryl-CoA dehydrogenase, mitochondrial
1	5.13	2	NEK8	serine/threonine-protein kinase Nek8-like
1	5.09	1	ZFC3H1	zinc finger, C3H1-type containing
1	5.08	2	SLC15A5	solute carrier family 15 member 5
1	5.07	6	SLC25A35	solute carrier family 25 member 38 isoformX1

Fracción 7 de FOP adulta en fase luteal

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
3	28.06	10	ANXA2	annexin A2 isoform X1
2	17.75	4	EEF1AS	elongation factor 1-alpha, somatic form-like
1	13.50	2	TUBB4B	tubulin beta-4B chain isoform X1
2	13.28	6	N/A	
2	13.11	1	CHD7	chromodomain-helicase-DNA-binding protein 7
1	11.71	2	SMTN	smoothelin isoform X7
1	11.38	5	VIPR2	vasoactive intestinal polypeptide receptor 2 precursor

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
2	11.38	7	RECQL	ATP-dependent DNA helicase Q1
1	11.04	4	SYNC	syncoilin isoform X2
1	11.00	1	CEP152	centrosomal protein of 152 kDa isoform X1
1	10.93	1	SUPT16H	FACT complex subunit SPT16
1	10.92	4	ZNF503	zinc finger protein 503
1	10.88	3	IQCA1L	IQ and AAA domain-containing protein 1
1	10.46	2	NOL8	nucleolar protein 8
1	10.45	6	C21ORF59	uncharacterized protein C21orf59 homolog
1	10.38	4	MLLT3	protein AF-9
1	10.23	0		uncharacterized protein LOC102164006
1	10.15	2	TUBA4A	tubulin alpha-4A chain isoform X2
1	10.11	2	CEBPZ	CCAAT/enhancer-binding protein zeta isoform X1
1	9.89	9	LAMP1	lysosome-associated membrane glycoprotein 1 isoform X1
1	9.73	2	MCCC1	methylcrotonoyl-CoA carboxylase subunit alpha, mitochondrial
1	9.64	2	CHTF18	chromosome transmission fidelity protein 18 homolog
1	9.55	4	TPPP3	tubulin polymerization-promoting protein family member 3 isoform X1
1	9.49	5	GATA-2	endothelial transcription factor GATA-2
1	9.31	1	POLR3A1	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC1
1	9.16	11	EPHA5	ephrin-A5, partial
1	9.12	3	DEUP1	coiled-coil domain-containing protein 67-like
1	8.95	1	TTL82	protein monoglycylase TTL8, partial
1	8.93	0	FN1	fibronectin isoform X2
1	8.90	3	CCDC77	coiled-coil domain-containing protein 77, partial
1	8.77	3	CAPN10	calpain-10
1	8.72	2	TRIM66	tripartite motif-containing protein 66
1	8.49	1	PDE4D3	myomegalin-like, partial
1	8.48	1	GAREM1	GRB2-associated and regulator of MAPK protein-like isoform X1
1	8.46	4	WARS1	tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic isoform X2
1	8.44	1	ERC2	ERC protein 2, partial
1	8.43	2	AOF2	amine oxidase (flavin containing) domain 2 isoform a
1	8.39	6	PTER	phosphotriesterase-related protein
1	8.30	2	AP3B1	AP-3 complex subunit beta-1
1	8.26	1	CAMSAP12	calmodulin-regulated spectrin-associated protein 1
1	8.16	0	OBSCN	obscurin, partial
1	8.09	14	SYS1	protein SYS1 homolog
1	8.07	7	VN1R1	vomeroneural type-1 receptor 3-like, partial
1	8.01	4	CHD6	chromodomain-helicase-DNA-binding protein 6-like
1	7.91	5	OSR1	protein odd-skipped-related 1-like, partial
1	7.88	4	RRAGB	ras-related GTP-binding protein B-like
1	7.86	13	GIN52	DNA replication complex GINS protein PSF2
1	7.83	21	MZT1	mitotic-spindle organizing protein 1
1	7.79	1	SIMC1	SUMO-interacting motif-containing protein 1
1	7.77	6	NME9	thioredoxin domain-containing protein 6

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	7.73	3	DTL	denticleless protein homolog isoform X1
1	7.65	6	TMED10	transmembrane emp24 domain-containing protein 10
1	7.40	0	SAMD9	sterile alpha motif domain-containing protein 9 isoform X1
1	7.39	2	LIN54	protein lin-54 homolog
1	7.35	0	ALMS1	Alstrom syndrome protein 1 isoform X1
1	7.30	4	OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein
1	7.27	1	ITIH6	inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain family, member 6
1	7.22	5	PRH15	proline-rich protein HaeIII subfamily 1-like
1	7.21	2	545894556	uncharacterized protein LOC102157560
1	7.14	2	INTS11	integrator complex subunit 11 isoform X1
1	7.09	3	FMO3	dimethylaniline monooxygenase [N-oxide-forming] 5-like
1	6.87	5	RCL1 5	RNA terminal phosphate cyclase-like 1
1	6.73	2	DPY19L3	probable C-mannosyltransferase DPY19L3
1	6.69	1	HPS3 -	Hermansky-Pudlak syndrome 3 protein
1	6.69	3	RPS6KA24	ribosomal protein S6 kinase alpha-2
1	6.67	1	LAMA4	laminin subunit alpha-4
1	6.67	6	TNNT1	troponin T, slow skeletal muscle isoform X1
1	6.56	4	545835985	uncharacterized protein C1orf177 homolog
1	6.46	2	COL21A1	collagen alpha-1(XXI) chain
1	6.45	2	CSDE1	cold shock domain-containing protein E1 isoform X1
1	6.44	2	KIRREL1	kin of IRRE-like protein 1
1	6.41	3	DLL1	delta-like protein 1 isoform X1
1	6.36	3	CLCN5	H(+)/Cl(-) exchange transporter 5
1	6.32	1	PGBD1 -	piggyBac transposable element-derived protein 1
1	6.26	3	ZNF12	zinc finger protein 12-like isoform X2
1	6.24	1	ASAP2	arf-GAP with SH3 domain, ANK repeat and PH domain-containing protein 2
1	6.23	2	PARP-18	poly [ADP-ribose] polymerase 1
1	6.23	12	KSR2	kinase suppressor of Ras 2-like
1	6.22	1	ITGA5	integrin alpha-5 isoform 1
1	6.21	3	TOX	thymocyte selection-associated high mobility group box protein TOX
1	6.18	3	ZNF366	zinc finger protein 366
1	6.18	7	350579396	uncharacterized protein LOC100624707
1	6.16	0	EXPH5	exophilin-5
1	6.05	11	WFDC2	WAP four-disulfide core domain protein 8
1	6.03	1	CYSRS1	ysteine--tRNA ligase, cytoplasmic
1	6.03	2	CYSRS	nesprin-3
1	6.01	2	ARSL	arylsulfatase E precursor
1	5.98	1	POLR2B	DNA-directed RNA polymerase II subunit RPB2
1	5.92	1	CENPI	centromere protein I
1	5.90	0	MACF1	microtubule-actin cross-linking factor 1 isoform X2
1	5.83	1	CDCA2	cell division cycle-associated protein 2
1	5.81	0	SVEP1	sushi, von Willebrand factor type A, EGF and pentraxin domain-containing protein 1

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	5.77	7	FRRS1L	DOMON domain-containing protein FRRS1L
1	5.75	2	SH3PXD2B	SH3 and PX domain-containing protein 2B
1	5.71	1	CYLC1	cylicin-1
1	5.62	3	XRCC1	PCNA-interacting partner, partial
1	5.51	3	ACTR3	actin-related protein 3
1	5.50	1	ZFP407	zinc finger protein 407
1	5.48	2	ADAMTS15	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 15
1	5.43	3	ARHGEF7	rho guanine nucleotide exchange factor 7-like isoform X1
1	5.39	5	TRIM55	tripartite motif-containing protein 55 isoform X1
1	5.36	4		uncharacterized protein LOC102162485
1	5.27	3	FAM105A	inactive ubiquitin thioesterase FAM105A
1	5.25	2	PARG	poly(ADP-ribose) glycohydrolase isoform X1
1	5.17	1	ARHGAP11A	rho GTPase-activating protein 11A
1	5.16	3		uncharacterized protein C5orf34 homolog isoform X1
1	5.14	4	TPPP	tubulin polymerization-promoting protein
1	5.10	1	CHD2	chromodomain-helicase-DNA-binding protein 2 isoform X1
1	5.03	16	MTMR9L	myotubularin-related protein 9-like

Fracción 8 de FOP adulta en fase luteal

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
2	17.67	8	EEF1A1	elongation factor 1-alpha 1
1	11.89	4	WARS1	tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic isoform X2
1	11.60	12	RASL10A	ras-like protein family member 10A
1	11.42	2	OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein
1	11.18	3	DTX3L	E3 ubiquitin-protein ligase DTX3L
1	10.99	5	PGK2	phosphoglycerate kinase 2
1	10.64	4	GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
1	10.45	1	SPEF2	sperm flagellar protein 2
1	10.08	3	HJURP	Holliday junction recognition protein
1	9.91	0	LYST	lysosomal-trafficking regulator
1	9.76	5	ENO1	alpha-enolase isoform X1
1	9.17	1	MAGI1	membrane-associated guanylate kinase, WW and PDZ domain-containing protein 1 isoform X1
1	8.84	8	MYOZ2	calsarcin 1
1	8.79	1	ATP1A3	sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3
1	8.78	0	ANKRD20A3 P	putative ankyrin repeat domain-containing protein 31
1	8.71	4	INTS11	integrator complex subunit 11 isoform X1
1	8.68	13	MAGO2	protein mago nashi homolog 2
1	8.59	4	TRUB1	probable tRNA pseudouridine synthase 2 isoform X1
1	8.48	0	FLNC	filamin-C isoform X5
1	8.45	3	AKAP8	A-kinase anchor protein 8 isoform X1

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	8.42	2	GALNT2	UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase-like 2 precursor
1	8.34	2	PPFIA3	liprin-alpha-3 isoform X1
1	8.08	5	KLF2	Krüppel-like factor 2
1	7.95	0	SPTAN1	spectrin alpha chain, non-erythrocytic 1 isoform X2
1	7.88	4	BLK	tyrosine-protein kinase Blk
1	7.84	1	DDR1	epithelial discoidin domain-containing receptor 1 isoform X1
1	7.67	2	CLMN	calmin (calponin-like, transmembrane) isoform X1
1	7.45	1	TSPOAP1	peripheral-type benzodiazepine receptor-associated protein 1 isoform X2
1	7.28	5	RXFP3	relaxin-3 receptor 1-like
1	7.25	2	ZMYND11	zinc finger MYND domain-containing protein 11 isoform X2
1	7.07	6	HDGF	hepatoma-derived growth factor
1	7.04	1	CASP8AP2	CASP8-associated protein 2 isoform X1
1	6.97	3		uncharacterized protein LOC100526005
1	6.96	2	GUF1	translation factor GUF1, mitochondrial
1	6.91	3	LTK	leukocyte receptor tyrosine kinase
1	6.75	2	SFSWAP	splicing factor, suppressor of white-apricot homolog isoform X1
1	6.73	1	ZFP407	zinc finger protein 407
1	6.66	3	CLEC4F	C-type lectin domain family 4 member F
1	6.63	3	CYLCIN1	cylicin-1
1	6.62	2	CIITA	MHC class II transactivator
1	6.59	5	WDR25	WD repeat-containing protein 25
1	6.52	3	DNAJC2	dnaJ homolog subfamily C member 2-like isoformX1
1	6.45	4	ZNF382	zinc finger protein 382 isoform X2
1	6.44	5	KATNAL2	katanin p60 subunit A-like 2
1	6.36	2	ZNF618	zinc finger protein 618 isoform X1
1	6.35	6	MCF2	probable guanine nucleotide exchange factor MCF2L2, partial
1	6.06	6	TMEM209	transmembrane protein 202 isoform X1
1	6.00	3	N/A	ezrin-like
1	6.00	1	DOCK4	dedicator of cytokinesis protein 4
1	6.00	2	CCT6A	T-complex protein 1 subunit zeta-like isoform X1
1	5.97	9	RNMT	mRNA cap guanine-N7 methyltransferase-like
1	5.83	6	CD274	programmed cell death 1 ligand 1 isoform X1
1	5.83	0	CLIP1	CAP-Gly domain-containing linker protein 1 isoform X1
1	5.76	1	LAMA4	laminin subunit alpha-4
1	5.75	3	NACC1	nucleus accumbens-associated protein 1
1	5.73	2	LONP1	lon peptidase 1, mitochondrial
1	5.67	9	LONP2	lon protease homolog 2, peroxisomal-like
1	5.66	1	TNR	tenascin-R
1	5.61	2	IMPDH1	inosine-5'-monophosphate dehydrogenase 1
1	5.51	4	SATB1	DNA-binding protein SATB1 isoformX1

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	5.30	7	GZMH	granzyme H precursor
1	5.30	1	CASR	calcium-sensing receptor transcript variant 1
1	5.21	1	SMARCA5	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily A member 5
1	5.13	7	RCOR2	REST corepressor 2-like, partial
1	5.11	2	APAF1	apoptotic protease-activating factor 1 isoform c
1	5.09	3	PRB1	basic proline-rich protein-like

Fracción 9 de FOP adulta en fase luteal

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
3	25.52	9	OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein
1	18.18	5	TUBB4B	tubulin beta-4B chain isoform X2
1	13.88	4	ACTG1	actin, cytoplasmic 2
1	11.29	3	NO66	bifunctional lysine-specific demethylase and histidyl-hydroxylase NO66 isoform X2
1	10.87	2	CCT4	T-complex protein 1 subunit delta
1	10.61	2	NSUN3	tRNA (cytosine(34)-C(5))-methyltransferase isoformX2
1	9.90	2	CARS1	cysteine--tRNA ligase, cytoplasmic
1	9.83	6	AZU1	Azurocidin
1	9.70	3	KCNV2	potassium voltage-gated channel subfamily V member 2
1	9.53	4	TUBA1A	tubulin alpha-1A chain isoform X1
1	9.41	4	GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
1	9.02	2	RIMS2	regulating synaptic membrane exocytosis protein 2-like
1	8.73	2	COG7	conserved oligomeric Golgi complex subunit 7 isoform X1
1	8.59	4	PAK6 -	serine/threonine-protein kinase PAK 6
1	8.53	15	LGALS3	galectin-3
1	8.48	4	ZNF239	zinc finger protein 239
1	8.33	2	EEF1AS	elongation factor 1-alpha, somatic form-like
1	8.16	12	DCTD	deoxycytidylate deaminase isoform X1
1	7.87	0		uncharacterized protein KIAA1109 homolog
1	7.76	2	ZNF609	zinc finger protein 609 isoform X1
1	7.73	1		uncharacterized protein KIAA2026 homolog isoform X1
1	7.02	11		uncharacterized protein LOC100522509
1	6.97	0	USP9X	probable ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase FAF-X-like isoform 2
1	6.81	3	PADI4	protein-arginine deiminase type-4
1	6.80	8	METTL24	methyltransferase-like protein 24
1	6.79	0	QRICH2	glutamine-rich protein 2
1	6.75	0	MTOR	serine/threonine-protein kinase mTOR
1	6.74	8	PGPEP1L	pyroglutamyl-peptidase 1-like protein-like isoform X1
1	6.72	2	CALCOCO2	calcium-binding and coiled-coil domain-containing protein 2 isoform X2
1	6.70	0		uncharacterized protein LOC100144512
1	6.66	5	AIMP1	aminoacyl tRNA synthase complex-interacting multifunctional protein 1

PEPTIDES	SCORE	COVER %	GENE	PROTEIN NAME
1	6.55	3	TCTN3	tectonic-3 isoformX2
1	6.51	2	CCDC175	coiled-coil domain-containing protein 175 isoform X1
1	6.50	3	CORO2B	coronin-2B
1	6.39	0	DCHS1	protocadherin-16
1	6.33	1	EXOC2	exocyst complex component 2 isoform X1
1	6.31	4	EIF2S3	eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 3-like
1	6.28	2	ABLIM1	actin-binding LIM protein 1 isoformX1
1	6.28	1	NLRP3	NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 8, partial
1	6.27	0	PCLO	protein piccolo
1	6.24	5	GLA	alpha-galactosidase A
1	6.21	1	KCNC2	potassium voltage-gated channel subfamily C member 3 isoformX2
1	6.17	2	PUS10	putative tRNA pseudouridine synthase Pus10 isoform X1
1	6.14	1	PHLPP1	PH domain leucine-rich repeat-containing protein phosphatase 1
1	6.01	0	HECTD4	probable E3 ubiquitin-protein ligase HECTD4 isoform X1
1	6.00	0	BOD1L1	biorientation of chromosomes in cell division 1-like 1 isoform X2
1	5.97	2	AMER3	APC membrane recruitment protein 3
1	5.92	8	PLPBP	proline synthase co-transcribed bacterial homolog protein isoformX2
1	5.90	6	ST3GAL4	CMP-N-acetylneuraminat-beta-galactosamide-alpha-2,3-sialyltransferase 4 isoform X1
1	5.90	1	ASCC3	activating signal cointegrator 1 complex subunit 3
1	5.81	1	PREX2	phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate-dependent Rac exchanger 2 protein
1	5.72	5	GPN1	GPN-loop GTPase 1
1	5.67	1	UBE3B	ubiquitin-protein ligase E3B isoform X1
1	5.60	2	AKAP4	A-kinase anchor protein 4 isoform X1
1	5.59	2	C17ORF104	uncharacterized protein C17orf104 homolog isoform X1
1	5.56	0	FAM57A	protein SON isoform X3
1	5.55	0	MAP2	microtubule-associated protein 2 isoform X5
1	5.38	15	TAL2	T-cell acute lymphocytic leukemia protein 2
1	5.25	1	FYVE	FYVE, RhoGEF and PH domain-containing protein 6-like

Anexo 6. Locacización celular de las proteínas identificadas en las fracciones estudiadas.

Fracción 6 de FOP de hembras en fase Prepúber

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
PGK1	phosphoglycerate kinase 1	Citoplasma
PGD	6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating	Citoplasma
VIPR2	vasoactive intestinal polypeptide receptor 2 precursor	Membrana celular
CLU1	clustered mitochondria protein homolog isoform X1	Citoplasma
PRSS55	serine protease 55 isoform X1	Membrana celular
KHDRBS3	KH domain-containing, RNA-binding, signal transduction-associated protein 3 isoform X1	

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
LAX1	lymphocyte transmembrane adapter 1	Membrana celular
FGFR4	fibroblast growth factor receptor 4 isoform 1	Endosomas
ARMC2X1	armadillo repeat-containing protein 2 isoform X1	
ZBED5	zinc finger BED domain-containing protein 5 isoform X1	
EFNB2	ephrin-B2	
HSP8	heat shock 70kDa protein 8	Citoplasma
RAP1GAP2	rap1 GTPase-activating protein 2	
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Citoplasma
EEF2	elongation factor 2	Nucleo
FGD1	FYVE, RhoGEF and PH domain-containing protein 1	Citoesqueleto
FRAS1	extracellular matrix protein FRAS1	Membrana celular
LRPRRC	leucine-rich PPR motif-containing protein, mitochondrial	Mitocondria
SAF3	scaffold attachment factor B1 isoform X3	Nucleo
HSP90AA1	heat shock protein HSP 90-alpha	Citoplasma
MON1B	serine hydroxymethyltransferase, mitochondrial-like isoform X3	Citoplasma
UROC1	urocanase domain containing 1	Citoplasma
MTCH1	mitochondrial carrier homolog 1 isoform X1	Mitocondria
IRAK3	interleukin-1 receptor-associated kinase 3 isoform X1	Citoplasma

Fracción 7 FOP Prepúber

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
PGK1	phosphoglycerate kinase 1	Citoplasma
EZR	Ezrin	Citoesqueleto Membrana celular
MOXD1	monooxygenase, DBH-like 1	Reticulo endoplásmico
TPPP3	tubulin polymerization-promoting protein family member 3 isoform X1	Citoesqueleto
EEF2	elongation factor 2	Núcleo
HSPA8	heat shock 70kDa protein 8	Citoplasma
CEACAM19	carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 19	Membrana celular

Fracción 8 FOP Prepúber

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
EEF1A1	elongation factor 1-alpha 1	Núcleo
HSP90B1	endoplasmic precursor	Reticulo endoplásmico
EDNRB	endothelin B receptor precursor	Membrana celular
IRF1	interferon regulatory factor 1	Citosol
ANKRD1	ankyrin repeat and KH domain-containing protein 1	Núcleo
HYAL3	hyaluronidase-3 precursor	
CASP10	caspase 10	Citosol
ZP2	zona pellucida sperm-binding protein 2 precursor	Zona pelucida
ENV	envelope protein	
RIT1	Ras-like without CAAX 1	Membrana celular
CYP17A1	steroid 17-alpha-hydroxylase/17,20 lyase precursor	
HSPA6	heat shock 70 kDa protein	Exosomas
MYH4	myosin-4	Miofibrillas
PREP	prolyl endopeptidase	
HSP90A1	heat shock protein HSP 90-alpha	
HSPA14	heat shock 70 kDa protein 14	Citosol

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
HSD17B7	3-keto-steroid reductase	Retículo endoplásmico
RACK1	guanine nucleotide-binding protein subunit beta-2-like 1	Citosol
KDM2A	lysine-specific demethylase 2A	Núcleo
FCGR1A	high affinity immunoglobulin gamma Fc receptor I precursor	Membrana celular
TUBA1B	tubulin alpha-1B chain	Citoesqueleto
H2AFY	core histone macro-H2A.1 isoform 1	Núcleo
PPWD1	peptidylprolyl isomerase domain and WD repeat-containing protein 1	Núcleo
CBR1	carbonyl reductase [NADPH] 1	Citosol
FAM92B	protein FAM92B	Cilio
AKR1A1	alcohol dehydrogenase [NADP(+)]	Citosol
CAST	calpastatin	Citosol
TGFBR1	TGF-beta receptor type-1 precursor	Membrana celular
UPK2	uropod-2 precursor	Membrana celular
APP	amyloid beta A4 protein precursor	Citosol
TXNIP	thioredoxin-interacting protein	Citosol
AKAP9	A-kinase anchor protein 9	
STAMBPL1	AMSH-like protease	
NECTIN1	poliovirus receptor-related protein 1 precursor	
CASP8	caspase-8	Citosol
PFN1	profilin-1	Citoesqueleto
AGO1	protein argonaute-1	Citosol
CILP	cartilage intermediate layer protein 1	Matriz extracelular
PPARA	peroxisome proliferator-activated receptor alpha	Núcleo
DGAT1	diacylglycerol O-acyltransferase 2	Retículo endoplásmico
UBE4A	ubiquitination factor E4A	Citosol
PCBP2	poly(rC) binding protein 2	Citosol
ANKRD1	ankyrin repeat domain-containing protein 1	Núcleo
NOP58	nucleolar protein 56	Núcleo
LDB1	CLIM2	Núcleo
NEFL	neurofilament light polypeptide	Citoesqueleto
ARHGDIB	Rho GDP dissociation inhibitor (GDI) beta	Citosol

Fracción 9 FOP Prepúber

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
RAD51	DNA repair protein RAD51 homolog 3 isoform X1	Mitocondria
WEE1	Wee1-like protein kinase 2	Núcleo
TTF1	transcription termination factor 1	Núcleo
DOCK4	dedicator of cytokinesis protein 4-like, partial	Citosol
C9ORF57	uncharacterized protein C9orf57 homolog	Membrana celular

Fracción 6 FOP adulto en fase periovulatoria

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
TPPP3	tubulin polymerization-promoting protein family member 3 isoform X1	Citoesqueleto
EEF2	elongation factor 2	Núcleo
ALDOC	aldolase C, fructose-bisphosphate	
EZR	ezrin-like	Citoesqueleto Membrana celular
PEX3	peroxisomal biogenesis factor 3 isoform X1	Peroxisoma
HTATSF1	HIV Tat-specific factor 1	Núcleo

KIF3C	kinesin family member 3C	Citoesqueleto
KLB	beta-klotho	Membrana celular
CRNKL1	crooked neck-like protein 1-like	Núcleo
FAM73A	protein FAM73A	Mitocondria
EIF5A	eukaryotic translation initiation factor 5A-1 isoformX3	
ATF4	cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-4	Núcleo
EBF2	transcription factor COE2-like, partial	Núcleo
ODF3	outer dense fiber protein 3 isoform X1	Citoplasma
CCDC88B	coiled-coil domain-containing protein 88B	
ARMC2X1	armadillo repeat-containing protein 2 isoform X1	
HSPA5	78 kDa glucose-regulated protein	Citoesqueleto
TIMELESS	protein timeless homolog isoform X1	Núcleo
MYEF2	myelin expression factor 2 isoform X1	Núcleo
MTOR	serine/threonine-protein kinase mTOR	
ARRDC3	arrestin domain-containing protein 3	Endosoma
SPART	spartin	Citoplasma
	uncharacterized protein KIAA1958 homolog isoform X1	
SAR1A	GTP-binding protein SAR1a isoform X1	Retículo endoplásmico
TTC27	tetratricopeptide repeat protein 27	
SMURF2	E3 ubiquitin-protein ligase SMURF2-like, partial	Membrana celular
ALG5	dolichyl-phosphate beta-glucosyltransferase	Retículo endoplásmico
UNC79	protein unc-79 homolog	
STARD9	stAR-related lipid transfer protein 9	Núcleo

Fracción 7 FOP adulto en fase periovulatoria

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein	Secretada
EZR	Ezrin	Exosomas
PDIA3	protein disulfide-isomerase A3 precursor	Retículo endoplásmico
EEF1A1	elongation factor 1-alpha 1	Núcleo Citoplasma Membrana celular
ALDOC	aldolase C, fructose-bisphosphate	Secretada
WDR35	repeat-containing protein 35	Cilio
SIGLEC1	Sialoadhesin	Secretada
HEATR5A	repeat-containing protein 5A isoform 1	Endosoma
HIPEV2	transcription factor HIVEP2	Núcleo
INO80	INO80 complex subunit D	Núcleo
CDK12	cyclin-dependent kinase 12 isoform X4	Citoplasma
FBP1	Fructose-1,6-bisphosphatase 1	Exosomas
LPO	Lactoperoxidase	Secretada
GTF2E2	transcription initiation factor IIE subunit beta-like	Núcleo
NMRK1	nicotinamide riboside kinase 1 isoform X1	Citoplasma
TPPP3	tubulin polymerization-promoting protein family member 3 isoformX1	Citoesqueleto
AKR1C1	putative aldo-keto reductase family 1 member C1	Cilio
ZNF646	zinc finger protein 646 isoform X2	Citoplasma
ZNF112	zinc finger protein 112	Citoplasma
CCDC74B	coiled-coil domain-containing protein 74B isoform X1	
SNX7	sorting nexin-7 isoform X1	Endosoma
STXBP4	syntaxin-binding protein 4-like	Membrana celular

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
TUBA4A	tubulin alpha-4A chain isoform X2	Citoesqueleto
HSP90B1	endoplasmic precursor	Retículo endoplásmico
PAPN1	polyadenylate-binding protein 2	Núcleo
ESPL1	Separin	Núcleo
UGT2B17	UDP-glucuronosyltransferase 2B17 isoformX2	Retículo endoplásmico
SOBP	sine oculis-binding protein homolog	Núcleo
ENAM	Enamelin	Matriz extracelular
MGTTL15	probable methyltransferase-like protein 15 isoform X2	
CCDC88A	Girdin	Secretada
KAT6A	K(lysine) acetyltransferase 6A, partial	Núcleo
NR1H2	oxysterols receptor LXR-beta isoform X1	Núcleo
BMP8B	bone morphogenetic protein 8B	Secretada
DNAH10	dynein heavy chain 10, axonemal	
CCNT2	cyclin-T2 isoform X1	Núcleo
VAC14	protein VAC14 homolog	Membrana celular
RRP5	protein RRP5 homolog	Núcleo
ROBO3	roundabout homolog 3	Membrana celular
	uncharacterized protein LOC102164193	
	uncharacterized protein LOC100737370	
AFF4	AF4/FMR2 family member 4, partial	Núcleo
NAV3	neuron navigator 3	Núcleo
SLC43A2	large neutral amino acids transporter small subunit 4 isoform X2	Membrana celular
PRMT2	protein arginine N-methyltransferase 2, partial	Núcleo
	uncharacterized protein LOC102159067	
SDAD1	protein SDA1 homolog isoform X1	Núcleo
SETD8	N-lysine methyltransferase SETD8	Núcleo
EIF5A	eukaryotic translation initiation factor 5A-1 isoformX3	Retículo endoplásmico
FBXO22	F-box only protein 22-like	Matriz extracelular
IL22	interleukin-22	Secretada
KBTBD8	kelch repeat and BTB domain-containing protein 8	Núcleo
KIF18B	kinesin family member 18B	Citoplasma
NHERF3	Na(+)/H(+) exchange regulatory cofactor NHE-RF3 isoform X1	Endosoma
CEP290	centrosomal protein of 290 kDa isoform X1	Cilio
LCT	lactase-phlorizin hydrolase-like	Membrana celular
RPF2	ribosome production factor 2 homolog, partial	Núcleo
NOP14	nucleolar protein 14, partial	Núcleo
DOCK10	dedicator of cytokinesis protein 10 isoform X2	
AKR7A2	aldo-keto reductase family 7, member A2 (aflatoxin aldehyde reductase)	Citoplasma
AKA12	A-kinase anchor protein 12 isoform X1	Membrana celular
	uncharacterized protein LOC100736703	
NBEAL2	neurobeachin-like protein 2-like isoform X1	Retículo endoplásmico
ARHGEF26	rho guanine nucleotide exchange factor 26	Citoplasma
ITGB4	integrin beta-4	Membrana celular
ANKRD26	ankyrin repeat domain-containing protein 26	Núcleo
PCNX1	pecanex-like protein 1, partial	
CAMSAP1	calmodulin-regulated spectrin-associated protein 1	Citoplasma
COL4A4	collagen alpha-4(VI) chain-like	Matriz extracelular

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
	phosphatidylinositol N-acetylglucosaminyltransferase subunit A isoform 1	
WDR36	repeat-containing protein 36	Núcleo
SIX5	homeobox protein SIX5	

Fracción 8 FOP adulto en fase periovulatoria

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
OVGP1	oviduct-specific glycoprotein precursor	Secretado
TUBA1B	tubulin alpha-1B chain	Citoesqueleto
UBE3A	ubiquitin-protein ligase E3A isoform 1	Núcleo
HSP90B1	endoplasmic precursor	Retículo endoplásmico
DICER1	endoribonuclease Dicer	Citoesqueleto
HSPE	heparanase precursor	Núcleo
SRRMP	serine/arginine repetitive matrix protein 2	Núcleo
CILP	cartilage intermediate layer protein 1	Matriz extracelular
EEF1A1	elongation factor 1-alpha 1	Núcleo
THOC6	THO complex 6 homolog	Núcleo
PEX2	peroxisome biogenesis factor 2	Peroxisomas
CIITA	MHC class I antigen	Núcleo
ITGB1	integrin beta-1 precursor	Endosoma
ODF1	outer dense fiber protein	Citoesqueleto
DCTN4	dynactin subunit 4	Cilios
IL6	interleukin-6 precursor	Secretada
UQCRB	ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein	Mitocondria
ENV	env protein	Membrana celular
ERB	estrogen receptor beta	Núcleo
GYS1	glycogen [starch] synthase, muscle	Citoplasma
TGFB1	Transforming growth factor beta-1	Secretada
RPS12	40S ribosomal protein S12	Citoplasma
PDE4B	cAMP-specific 3',5'-cyclic phosphodiesterase 4B isoform 1	Citoesqueleto
XBP1	X-box-binding protein 1 isoform XBP1(U)	Retículo endoplásmico
TBCB	tubulin-folding cofactor B-like	Citoesqueleto
DNMT1P2	deoxynucleotidyltransferase terminal-interacting protein 2	Núcleo
SMARCD2	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily D member 2	Núcleo
CAPN1	calpain-1 catalytic subunit	Citoplasma
INHBA	inhibin beta A chain precursor	Secretada
MAP1LC3A	microtubule-associated proteins 1A/1B light chain 3 ^a	Endosoma
SELP	P-selectin precursor	Membrana celular
CD247	T-cell surface glycoprotein CD3 zeta chain precursor	Membrana celular
RPL35	60S ribosomal protein L35	Citoplasma
GRN	granulins precursor	Secretada
RLN2	Prorelaxin	Retículo endoplásmico
COPB1	coatamer subunit beta	Endosoma
CD163	Scavenger receptor cysteine-rich type 1 protein M130	Secretada
RPS11	40S ribosomal protein S11	Núcleo
GP	envelope glycoprotein	Membrana celular

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
LPIN2	phosphatidate phosphatase LPIN2	Retículo endoplásmico
PTN	pleiotrophic factor beta	Secretada
MAPK1	mitogen-activated protein kinase 1	Citoplasma
FOXRED1	FAD-dependent oxidoreductase domain containing 2 precursor	Mitocondria
STAT5B	signal transducer and activator of transcription 5B	Núcleo Citoplasma
LDB1	CLIM2	Núcleo
RYR1	Ryanodine receptor 1	Retículo endoplásmico
RPN2	ribophorin II	Secretada
ART3	ecto-ADP-ribosyltransferase 3 precursor	Membrana celular
PSMA4	proteasome subunit alpha type-4	Citoplasma
AMPD1	AMP deaminase 1	Citoplasma
SMAP2	stromal membrane-associated protein 2	Citoplasma
CTGF	connective tissue growth factor precursor	Secretada
C4A	complement C4 precursor	Secretada
CA3	carbonic anhydrase 3	Citoplasma
PPWD1	peptidylprolyl isomerase domain and WD repeat-containing protein 1	Núcleo
NOS3	nitric oxide synthase, endotelial	Citoesqueleto
GBP2	interferon-induced guanylate-binding protein 2	Endosoma
CD72	B-cell differentiation antigen CD72	Membrana celular
TNNI1	troponin I, slow skeletal muscle	Citoesqueleto
HSPA6	heat shock 70 kDa protein	Exosoma
IL2	porcine Interleukin 2	Secretada
LDHA	L-lactate dehydrogenase A chain	Citoplasma
PTGFR	prostaglandin F2-alpha receptor	Membrana celular
UOX	uricase precursor	Peroxisomas
XIRP1	xin actin-binding repeat-containing protein 1	Unión celular
CLEC4E	C-type lectin domain family 4 member G	Membrana celular
HNRNPM	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein M	Núcleo

Fracción 9 FOP adulto en fase periovulatoria

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein	Secretada
CCT2	T-complex protein 1 subunit beta	Citoplasma
TUBB4B	tubulin beta-4B chain isoform X2	Citoesqueleto
MEI1	meiosis inhibitor protein 1-like, partial	
CCT4	T-complex protein 1 subunit delta	Citoplasma
CCT7	T-complex protein 1 subunit eta	Citoplasma
MRP1	multidrug resistance protein 1-like, partial	Membrana celular
ZFP407	zinc finger protein 407	Núcleo
GRP78/HSPA5	78 kDa glucose-regulated protein	Citoplasma
SULF1	extracellular sulfatase Sulf-1	Retículo endoplásmico
WDR96	WD repeat-containing protein 96, partial	Citoplasma
SCAF1	splicing factor, arginine/serine-rich 19 isoform X1	Núcleo
SIPA1L1	signal-induced proliferation-associated 1 like 1 isoform X1	Membrana celular
TCP1	T-complex protein 1 subunit alpha	Citoplasma

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
ADAMTS9	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 9	Retículo endoplásmico
CCT8	T-complex protein 1 subunit theta isoform 1	Citoplasma
PPYR1	neuropeptide Y receptor type 4	Membrana celular
TSPO2	translocator protein 2-like	Membrana celular
LRP5	low-density lipoprotein receptor-related protein 5	Retículo endoplásmico
RAD51	DNA repair protein RAD51 homolog 3 isoform X1	Mitocondrias
SPATA31E1	spermatogenesis-associated protein 31E1-like	Membrana celular
TUFT1	tuftelin, partial	Secretada
SESTD1	SEC14 domain and spectrin repeat-containing protein 1 isoform X2	Citoesqueleto
SIDT1	SID1 transmembrane family member 1 isoform X2	Membrana celular
SRP68	signal recognition particle subunit SRP68-like	Retículo endoplásmico
DDX50	ATP-dependent RNA helicase DDX50 isoform X2	Núcleo
SUPT16H	FACT complex subunit SPT16	Núcleo
MED6	mediator of RNA polymerase II transcription subunit 6 isoform X1	Núcleo
SMC5	structural maintenance of chromosomes protein 5-like	Núcleo
SMARCA1	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily A containing DEAD/H box 1 isoform X1	Núcleo
RAB3A	guanine nucleotide exchange factor for Rab-3A isoform X2	Endosomas
MXRA5	matrix-remodeling-associated protein 5 isoform X1	Secretada
UROD	uroporphyrinogen decarboxylase	Citoplasma
TOPBP1	DNA topoisomerase 2-binding protein 1	Núcleo
TTN	Titin	Núcleo
FBN1	Fibrillin-1	Secretada
CCT3	T-complex protein 1 subunit gamma	Citoplasma
BCAP31	B-cell receptor-associated protein 31 isoform X1	Retículo endoplásmico
KMT2A	histone-lysine N-methyltransferase 2 ^a	Núcleo
RC3H2	LOW QUALITY PROTEIN: RING finger and CCCH-type zinc finger domain-containing protein 2	Citoplasmática
AMIGO1	amphoterin-induced protein 1	Membrana celular
TM9SF3	transmembrane 9 superfamily member 3	Membrana celular
AGO2/EIF2C2	argonaute-2	Núcleo
IRS1	insulin receptor substrate 1	Endosomas
FBLN7	fibulin-7-like isoform X1	Matriz extracelular
ACO2	Aconitate hydratase, mitochondrial	Mitocondrias
RTTN	Rotatin	Cilios
PIGW	phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis, class W	Retículo endoplásmico
INCA1	protein INCA1 isoformX2	Citoplasmática
SIPAIL3	signal-induced proliferation-associated 1-like protein 3-like	Membrana celular
ASCL5	achaete-scute homolog 5	Núcleo
FMC1	UPF0562 protein C7orf55 homolog	Mitocondria
KRT8	keratin, type II cytoskeletal 8 isoform X1	Núcleo
MYO6	unconventional myosin-VI isoform X1	Endosomas

Fracción 6 de FOP adulto en fase luteal

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
HSP90AA1	heat shock protein HSP 90-alpha	Nucleo, Membrana celular, Mitocondria

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
GAPH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Citosol
PARP6	poly [ADP-ribose] polymerase 6 isoform X2	
FSIP2	fibrous sheath-interacting protein 2, partial	Espermatozoide
TPPP3	tubulin polymerization-promoting protein family member 3 isoform X1	Citoplasma
GDI1	rab GDP dissociation inhibitor alpha isoform 1	Citosol
ZBTB8A	zinc finger and BTB domain-containing protein 37 isoform X1	Nucleo
DOCK3	dedicator of cytokinesis protein 3	Citoplasma
HIVEP2	transcription factor HIVEP2	Nucleo
MPZ	myelin protein P0	Membrana celular
RAB3GAP2	rab3 GTPase-activating protein non-catalytic subunit	Citosol
PGRN	granulins precursor	Secretado
	uncharacterized protein LOC100621235 isoform X5	
CDC14B	dual specificity protein phosphatase CDC14B	Nucleo
NFKBIZ	NF-kappa-B inhibitor zeta isoform X2	Nucleo
PRBL	basic proline-rich protein-like	Secretado
MGA	MAX gene-associated protein-like	Nucleo
FEM1B	protein fem-1 homolog B	Citoplasma
AOX1	aldehyde oxidase 1	Citosol
TFP1	tissue factor pathway inhibitor 2	Secretado
PRORP	mitochondrial ribonuclease P protein 1 isoform X1	Mitocondria
RGS5	Regulator of G-protein signaling 5	Citosol
ARMC2	armadillo repeat-containing protein 2 isoform X1	
CHRM5	muscarinic acetylcholine receptor M5	Membrana celular
DDX60L	probable ATP-dependent RNA helicase DDX60	
TGFBRAP1	transforming growth factor-beta receptor-associated protein 1 isoform X1	Endosoma temprano
STIP1	stress-induced-phosphoprotein 1	Citosol
ZFP62	zinc finger protein 62 homolog	Nucleo
AKAP4	A-kinase anchor protein 4 isoform X1	Flagelo
SBSPON	somatomedin-B and thrombospondin type-1 domain-containing protein-like	Matriz extracelular Secretada
AKAP13	A-kinase anchor protein 13	Citoesqueleto
MRPL30	39S ribosomal protein L30, mitochondrial isoform X1	Mitocondria
NXF2	nuclear RNA export factor 2	Nucleo
OBSL1	obscurin-like	Nucleo Citoplasma
GIPC1	PDZ domain-containing protein GIPC1	Citosol
FANCM	Fanconi anemia group M protein isoform X1	Nucleo
GRAMD2A	GRAM domain-containing protein 2	Retículo endoplásmico
LDLRAP1	low density lipoprotein receptor adapter protein 1	Citosol
LRRTM4	leucine-rich repeat transmembrane neuronal protein 4	Membrana celular
ATP6V1B	V-type proton ATPase subunit B, brain isoform	Retículo endoplásmico
CAMSAP2	calmodulin-regulated spectrin-associated protein 1	Citoesqueleto
C12ORF24	chromosome 12 open reading frame 24 ortholog	
SLC7A2	low affinity cationic amino acid transporter 2	Membrana celular
PHF3	PHD finger protein 3	Nucleo

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
SPIN1	spindlin-1	Nucleo
SMNDC1	survival of motor neuron-related-splicing factor 30 isoform X1	Nucleo
ASS1	argininosuccinate synthase isoform X1	Citosol
ACOT7	cytosolic acyl coenzyme A thioester hydrolase isoform X2	Citosol
ATF6B	cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-6 beta isoform X5	Réticulo endoplásmico Nucleo
PLOD2	procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 2, partial	Réticulo endoplásmico
MLC1	membrane protein MLC1	Réticulo endoplásmico
DOCK10	dedicator of cytokinesis protein 10 isoform X2	
NFATC1	nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 1	Nucleo
IQCA1L	putative IQ and AAA domain-containing protein 1-like	
ANXA2	annexin A2 isoform X1	Membrana celular
LASP1	LIM and SH3 protein 1	
ABCF3	ATP-binding cassette sub-family A member 3-like isoform X1	Membrana celular
KRT4	keratin, type II cytoskeletal 4	Citoesqueleto
DDX24	ATP-dependent RNA helicase DDX24 isoform X1	Nucleo
	uncharacterized protein LOC100620700	
	uncharacterized protein LOC102167423	
ETS1	protein C-ets-1	Citoplasma
GPHN	Gephyrin	Citosol
UGGT2	UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase 2, partial	
ATP6V044	V-type proton ATPase 116 kDa subunit a isoform 4 isoform X1	
VCAM1	vascular cell adhesion protein 1 precursor	Membrana celular
LATS2	serine/threonine-protein kinase LATS2	
FER1L6	fer-1-like 6 (C. elegans)	Membrana celular
RAB3IP	rab-3A-interacting protein	Citosol
DOCK9	dedicator of cytokinesis protein 9 isoform X1	Sistema endomembranoso
SPATS2L	SPATS2-like protein	Nucleo Citoplasma
ZC3H13	zinc finger CCCH domain-containing protein 13	Nucleo
SOCS4	suppressor of cytokine signaling 4 isoform X1	Complejo membrana
YBX1	nuclease-sensitive element-binding protein 1	Secretado Exosoma
PRCP	lysosomal Pro-X carboxypeptidase isoform X1	Lisosoma
ZNF516	zinc finger protein 516	Nucleo
CLEC16A	protein CLEC16A isoform 2	Endosoma
HTT	Huntingtin	Citoplasma
FBN2	fibrillin-2, partial	Secretada
ELAC2	elaC homolog 2	Mitoondria
RORA	nuclear receptor ROR-alpha isoform X2	Nucleo
TENM3	teneurin-3	Membrana celular
MYF5	Myf5	Nucleo
LAMA3	laminin subunit alpha-3-like	Membrana celular
CCDC39	coiled-coil domain-containing protein 39 isoform X2	Cilio
CASC3	protein CASC3	Citosol
PROCA1	protein PROCA1 isoformX3	Mitoondria

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
ADAMTS	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 2, partial	Matriz extracelular
VPS53	vacuolar protein sorting-associated protein 53 homolog isoform X1	Membrana endosoma
COPB1	coatamer subunit beta	Vesicula intracelular
OR1A1	olfactory receptor 1A1-like	Membrana celular
MOSPD2	motile sperm domain-containing protein 2 isoform X1	Retículo endoplásmico
NIPBL	nipped-B-like protein	Nucleo
SPTB	spectrin beta chain, erythrocytic	Citoesqueleto Nucleo
FMNL2	formin-like 2 isoform X1	Citosol
MAP3K15	mitogen-activated protein kinase kinase kinase 15	
CTCF	transcriptional repressor CTCF-like	Nucleo
CDH17	cadherin-17	Membrana celular
QRICH2	glutamine-rich protein 2	Flagelo Nucleo Citoplasma
KIF1B	kinesin family member 1B isoform X5	Mitocondria
CIITA	MHC class II transactivator	Nucleo
MAK	serine/threonine-protein kinase MAK isoform X1	Nucleo
PRICKLE3	prickle-like protein 3	Membrana celular Mitocondria Citoplasma
EEF1AS	elongation factor 1-alpha, somatic form-like	Citosol
ZFP157	zinc finger protein 157	Nucleo
VSP16	vacuolar protein sorting-associated protein 16 homolog isoformX1	Endosoma temprano
RPB4	DNA-directed RNA polymerase I subunit RPA34	Nucleo
ADAM3A	ADAM metallopeptidase domain 3A (cyritestin 1) precursor	Membrana celular
RFX8	DNA-binding protein RFX8 isoform X1	Nucleo
DPRX	divergent paired-related homeobox-like	Nucleo
EED	polycomb protein EED-like	Nucleo
ERCC5	DNA repair protein complementing XP-G cells	Nucleo
FERMT2	fermitin family homolog 2, partial	Membrana celular
TEC	tyrosine-protein kinase Tec	Membrana celular Citoesqueleto Citoplasma
ARHGAP29	rho GTPase-activating protein 29 isoform X1	Citosol
DST	dystonin isoform X14	Citoesqueleto
MN1	probable tumor suppressor protein MN1	Nucleo
FERMPDZ	FERM and PDZ domain-containing protein 3	Membrana celular
IVD	isovaleryl-CoA dehydrogenase, mitochondrial	Mitocondria
NEK8	serine/threonine-protein kinase Nek8-like	Cilio Citoesqueleto Citoplasma
ZFC3H1	zinc finger, C3H1-type containing	Nucleo
SLC15A5	solute carrier family 15 member 5	Membrana celular
SLC25A35	solute carrier family 25 member 38 isoformX1	Mitocondria

Fracción 7 de FOP adulta en fase luteal

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
ANXA2	annexin A2 isoform X1	Membrana celular
EEF1AS	elongation factor 1-alpha, somatic form-like	Citoplasma
TUBB4B	tubulin beta-4B chain isoform X1	Citoesqueleto
EZR	ezrin	
CHD7	chromodomain-helicase-DNA-binding protein 7	Nucleo
SMTN	smoothelin isoform X7	Citoesqueleto
VIPR2	vasoactive intestinal polypeptide receptor 2 precursor	Membrana celular Exosomas
RECQL	ATP-dependent DNA helicase Q1	Nucleo
SYNC	syncoilin isoform X2	Región perinuclear
CEP152	centrosomal protein of 152 kDa isoform X1	Nucleo
SUPT16H	FACT complex subunit SPT16	Nucleo
ZNF503	zinc finger protein 503	Nucleo
IQCA1L	IQ and AAA domain-containing protein 1	
NOL8	nucleolar protein 8	Nucleo
C21ORF59	uncharacterized protein C21orf59 homolog	Cilio
MLLT3	protein AF-9	Nucleo
	uncharacterized protein LOC102164006	
TUBA4A	tubulin alpha-4A chain isoform X2	Citoesqueleto
CEBPZ	CCAAT/enhancer-binding protein zeta isoform X1	Nucleo
LAMP1	lysosome-associated membrane glycoprotein 1 isoform X1	Membrana basal
MCCC1	methylcrotonoyl-CoA carboxylase subunit alpha, mitochondrial	Mitocondria
CHTF18	chromosome transmission fidelity protein 18 homolog	Nucleo
TPPP3	tubulin polymerization-promoting protein family member 3 isoformX1	Citoesqueleto
GATA-2	endothelial transcription factor GATA-2	Nucleo
POLR3A1	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC1	Nucleo
EPHA5	ephrin-A5, partial	Membrana celular
DEUP1	coiled-coil domain-containing protein 67-like	Citoplasma
TLL8	protein monoglycylase TLL8, partial	
FN1	fibronectin isoformX2	Matriz extracelular
CCDC77	coiled-coil domain-containing protein 77, partial	Nucleo
CAPN10	calpain-10	Mitocondria Citosol
TRIM66	tripartite motif-containing protein 66	Nucleo
PDE4D3	myomegalin-like, partial	
GAREM1	GRB2-associated and regulator of MAPK protein-like isoform X1	Membrana celular
WARS1	tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic isoform X2	Citoesqueleto
ERC2	ERC protein 2, partial	Citoesqueleto
AOF2	amine oxidase (flavin containing) domain 2 isoform a	
PTER	phosphotriesterase-related protein	Exosomas
AP3B1	AP-3 complex subunit beta-1	Vesicula clatrina
Camsap12	calmodulin-regulated spectrin-associated protein 1	Citoesqueleto
OBSCN	obscurin, partial	Linea z
SYS1	protein SYS1 homolog	Aparato de Golgi

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
VN1R1 -	vomer nasal type-1 receptor 3-like, partial	Membrana celular
CHD6	chromodomain-helicase-DNA-binding protein 6-like	Nucleo
Osr1	protein odd-skipped-related 1-like, partial	Nucleo
RRAGB	ras-related GTP-binding protein B-like	Lisosoma
GINS2	DNA replication complex GINS protein PSF2	Nucleo
MZT1 -	mitotic-spindle organizing protein 1	Nucleo
SIMC1	SUMO-interacting motif-containing protein 1	Citoplasma
NME9	thioredoxin domain-containing protein 6	Cilio
DTL	denticless protein homolog isoform X1	Nucleo
TMED10	transmembrane emp24 domain-containing protein 10	Vesicula secretora
SAMD9	sterile alpha motif domain-containing protein 9 isoform X1	Citoplasma
LIN54	protein lin-54 homolog	Nucleo
Alms1	Alstrom syndrome protein 1 isoform X1	Nucleo
OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein	Secretada
ITIH6	inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain family, member 6	Secretada
PRH15	proline-rich protein HaeIII subfamily 1-like	Nucleo
545894556	uncharacterized protein LOC102157560	
INTS11	integrator complex subunit 11 isoform X1	Nucleo Citoplasma
FMO3	dimethylaniline monooxygenase [N-oxide-forming] 5-like	Organulo intracelular membranoso
RCL1 5	RNA terminal phosphate cyclase-like 1	Nucleo
DPY19L3	probable C-mannosyltransferase DPY19L3	Membrana celular
HPS3 -	Hermansky-Pudlak syndrome 3 protein	Citoplasma
RPS6KA24	ribosomal protein S6 kinase alpha 2	Citoplasma
LAMA4	laminin subunit alpha-4	Membrana basal
TNNT1	troponin T, slow skeletal muscle isoform X1	Citosol
545835985	uncharacterized protein C1orf177 homolog	
COL21A1	collagen alpha-1(XXI) chain	Entidad anatómica celular
CSDE1	cold shock domain-containing protein E1 isoform X1	Citoplasma
KIRREL1	kin of IRRE-like protein 1	Membrana celular
DLL1	delta-like protein 1 isoform X1	Membrana apical
CLCN5	H(+)/Cl(-) exchange transporter 5	Endosoma
Pgbd1 -	piggyBac transposable element-derived protein 1	Membrana celular
ZNF12	zinc finger protein 12-like isoform X2	Nucleo
ASAP2	arf-GAP with SH3 domain, ANK repeat and PH domain-containing protein 2	Membrana celular
PARP-18	poly [ADP-ribose] polymerase 1	Nucleo
KSR2	kinase suppressor of Ras 2-like	Citoesqueleto Membrana celular
ITGA5	integrin alpha-5 isoform 1	Membrana Superficie celular
TOX	thymocyte selection-associated high mobility group box protein TOX	Nucleo
ZNF366	zinc finger protein 366	Nucleo
350579396	uncharacterized protein LOC100624707	
EXPH5	exophilin-5	Endosoma
WFDC2	WAP four-disulfide core domain protein 8	citoplasma

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
CysRS1	ysteine--tRNA ligase, cytoplasmic	citoplasma
CysRS	nesprin-3	citoplasma
ARSL	arylsulfatase E precursor	Membrana celular Aparato de Gogi
POLR2B	DNA-directed RNA polymerase II subunit RPB2	Nucleo
CENPI	centromere protein I	Nucleo
MACF1	microtubule-actin cross-linking factor 1 isoform X2	Aparato de Golgi Citoesqueleto
CDCA2	cell division cycle-associated protein 2	Nucleo
SVEP1	sushi, von Willebrand factor type A, EGF and pentraxin domain-containing protein 1	Secretada
FRRS1L	DOMON domain-containing protein FRRS1L	Membrana celular
SH3PXD2B	SH3 and PX domain-containing protein 2B	Citoplasma
CYLC1	cylicin-1	Acrosoma
XRCC1	PCNA-interacting partner, partial	Nucleo
ACTR3	actin-related protein 3	citoesqueleto
ZFP407	zinc finger protein 407	Nucleo
ADAMTS15	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 15	Matriz extracelular Secretada
ARHGEF7	rho guanine nucleotide exchange factor 7-like isoform X1	Adhesión focal
TRIM55	tripartite motif-containing protein 55 isoform X1	Citoplasma Nucleo
	uncharacterized protein LOC102162485	
FAM105A	inactive ubiquitin thioesterase FAM105A	citoplasma
PARG	poly(ADP-ribose) glycohydrolase isoform X1	Citoplasma mitocondria
ARHGAP11A	rho GTPase-activating protein 11 ^a	Nucleo
	uncharacterized protein C5orf34 homolog isoform X1	
TPPP	tubulin polymerization-promoting protein	Citoesqueleto
CHD2	chromodomain-helicase-DNA-binding protein 2 isoform X1	Nucleo
MTMR9L	myotubularin-related protein 9-like	Retículo endoplásmico

Fracción 8 de FOP adulta en fase luteal

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
EEF1A1	elongation factor 1-alpha 1	Nucleo
WARS1	tryptophan--tRNA ligase, cytoplasmic isoform X2	Citoplasma
RASL10A	ras-like protein family member 10A	Nucleo Membrana celular
OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein	Secretada
DTX3L	E3 ubiquitin-protein ligase DTX3L	Endosoma
PGK2	phosphoglycerate kinase 2	Mitocondria
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Citosol nucleo
SPEF2	sperm flagellar protein 2	Flagelo
HJURP	Holliday junction recognition protein	Nucleo
LYST	lysosomal-trafficking regulator	Citoplasma
ENO1	alpha-enolase isoform X1	Citoplasma

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
MAGI1	membrane-associated guanylate kinase, WW and PDZ domain-containing protein 1 isoform X1	Membrana celular
MYOZ2	calsarcin 1	Linea Z
ATP1A3	sodium/potassium-transporting ATPase subunit alpha-3	Membrana celular
ANKRD20A3P	putative ankyrin repeat domain-containing protein 31	
INTS11	integrator complex subunit 11 isoform X1	citoplasma
MAGO2	protein mago nashi homolog 2	Citoplasma Nucleo
TRUB1	probable tRNA pseudouridine synthase 2 isoform X1	Nucleo Citoplasma
FLNC	filamin-C isoform X5	Citoesqueleto
AKAP8	A-kinase anchor protein 8 isoform X1	Nucleo Citoplasma
GALNT2	UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine: polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase-like 2 precursor	Secretado
PPFIA3	liprin-alpha-3 isoform X1	Acrosoma
KLF2	Krueppel-like factor 2	Nucleo
SPTAN1	spectrin alpha chain, non-erythrocytic 1 isoform X2	citoesqueleto
BLK	tyrosine-protein kinase Blk	Membrana celular
DDR1	epithelial discoidin domain-containing receptor 1 isoform X1	Endosoma
CLMN	calmin (calponin-like, transmembrane) isoform X1	Membrana celular
TSPOAP1	peripheral-type benzodiazepine receptor-associated protein 1 isoform X2	Mitocondria
RXFP3	relaxin-3 receptor 1-like	Membrana celular
Zmynd11	zinc finger MYND domain-containing protein 11 isoform X2	Nucleo
HDGF	hepatoma-derived growth factor	Exosoma
CASP8AP2	CASP8-associated protein 2 isoform X1	Mitocondria Citoplasma Nucleo
	uncharacterized protein LOC100526005	
GUF1	translation factor GUF1, mitochondrial	Mitocondria
LTK	leukocyte receptor tyrosine kinase	Membrana celular
SFSWAP	splicing factor, suppressor of white-apricot homolog isoform X1	Nucleo
ZFP407	zinc finger protein 407	Nucleo
CLEC4F	C-type lectin domain family 4 member F	Membrana celular
CYLICIN 1	cylicin-1	Cabeza espermatzoide
CIITA	MHC class II transactivator	Nucleo
WDR25	WD repeat-containing protein 25	
DNAJC2	dnaJ homolog subfamily C member 2-like isoformX1	Citosol Nucleo
ZNF382	zinc finger protein 382 isoform X2	Nucleo
KATNAL2	katanin p60 subunit A-like 2	Citoesqueleto
ZNF618	zinc finger protein 618 isoform X1	Nucleo
MCF2	probable guanine nucleotide exchange factor MCF2L2, partial	Citoplasma
TMEM209	transmembrane protein 202 isoform X1	Membrana celular
N/A	ezrin-like	
DOCK4	dedicator of cytokinesis protein 4	Membrana celular

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
CCT6A	T-complex protein 1 subunit zeta-like isoform X1	Citoplasma
RNMT	mRNA cap guanine-N7 methyltransferase-like	Nucleo
CD274	programmed cell death 1 ligand 1 isoform X1	Endosoma
CLIP1	CAP-Gly domain-containing linker protein 1 isoform X1	Citoesqueleto
LAMA4	laminin subunit alpha-4	Membrana celular
NACC1	nucleus accumbens-associated protein 1	Citoplasma Nucleo
LONP1	lon peptidase 1, mitochondrial	Mitocondria
LONP2	lon protease homolog 2, peroxisomal-like	Peroxisoma
TNR	tenascin-R	Matriz extracelular
IMPDH1	inosine-5'-monophosphate dehydrogenase 1	Nucleo Citoplasma
SATB1	DNA-binding protein SATB1 isoformX1	Nucleo
GZMH	granzyme H precursor	Gránulo citolítico
CASR	calcium-sensing receptor transcript variant 1	Membrana celular
SMARCA5	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily A member 5	Nucleo
RCOR2	REST corepressor 2-like, partial	Nucleo
APAF1	apoptotic protease-activating factor 1 isoform c	Citoplasma
PRB1	basic proline-rich protein-like	Secretada

Fracción 9 de FOP adulta en fase luteal

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
OVGP1	Oviduct-specific glycoprotein	Secretada
TUBB4B	tubulin beta-4B chain isoform X2	Citoesqueleto
ACTG1	actin, cytoplasmic 2	Citoesqueleto
NO66	bifunctional lysine-specific demethylase and histidyl-hydroxylase NO66 isoform X2	Nucleo
CCT4	T-complex protein 1 subunit delta	Cilio
NSUN3	tRNA (cytosine(34)-C(5))-methyltransferase isoformX2	Mitocondria
CARS1	cysteine--tRNA ligase, cytoplasmic	Citoplasma
AZU1	Azurocidin	Secretada
KCNV2	potassium voltage-gated channel subfamily V member 2	Membrana celular
TUBA1A	tubulin alpha-1A chain isoform X1	Citoesqueleto
GAPDH	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	Citoesqueleto Nucleo Citosol
RIMS2	regulating synaptic membrane exocytosis protein 2-like	Membrana celular
COG7	conserved oligomeric Golgi complex subunit 7 isoform X1	Aparato de Gogi Membrana celular
PAK6	serine/threonine-protein kinase PAK 6	Nucleo Citoplasma
LGALS3	galectin-3	Secretada
ZNF239	zinc finger protein 239	Nucleo
EEF1AS	elongation factor 1-alpha, somatic form-like	Citoplasma
DCTD	deoxycytidylate deaminase isoform X1	Citosol
	uncharacterized protein KIAA1109 homolog	
ZNF609	zinc finger protein 609 isoform X1	Nucleo

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
	uncharacterized protein KIAA2026 homolog isoform X1	
	uncharacterized protein LOC100522509	
USP9X	probable ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase FAF-X-like isoform 2	Citoplasma
PADI4	protein-arginine deiminase type-4	Nucleo Citoplasma
METTL24	methyltransferase-like protein 24	Secretada
QRICH2	glutamine-rich protein 2	
MTOR	serine/threonine-protein kinase mTOR	Organulos membranosos
PGPEP1L	pyroglutamyl-peptidase 1-like protein-like isoform X1	Citosol
CALCOCO2	calcium-binding and coiled-coil domain-containing protein 2 isoform X2	Citoesqueleto
	uncharacterized protein LOC100144512	
AIMP1	aminoacyl tRNA synthase complex-interacting multifunctional protein 1	Secretada
TCTN3	tectonic-3 isoformX2	Membrana celular
CCDC175	coiled-coil domain-containing protein 175 isoform X1	
CORO2B	coronin-2B	Citoesqueleto
DCHS1	protocadherin-16	Membrana celular
EXOC2	exocyst complex component 2 isoform X1	Anillo medio
EIF2S3	eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 3-like	Exosomas
ABLIM1	actin-binding LIM protein 1 isoformX1	Citoesqueleto citoplasma
NLRP3	NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 8, partial	Secretada
PCLO	protein piccolo	Zona presinaptica
GLA	alpha-galactosidase A	Lisosoma
KCNC2	potassium voltage-gated channel subfamily C member 3 isoformX2	Membrana celular
PUS10	putative tRNA pseudouridine synthase Pus10 isoform X1	Mitocondria Citoplasma Nucleo
PHLPP1	PH domain leucine-rich repeat-containing protein phosphatase 1	Citoplasma Nucleo Membrana celular
HECTD4	probable E3 ubiquitin-protein ligase HECTD4 isoform X1	Membrana celular
BOD1L1	bioorientation of chromosomes in cell division 1-like 1 isoform X2	Nucleo
AMER3	APC membrane recruitment protein 3	Membrana celular
PLPBP	proline synthase co-transcribed bacterial homolog protein isoformX2	Cytosol citoplasma
ST3GAL4	CMP-N-acetylneuraminat-beta-galactosamide-alpha-2,3-sialyltransferase 4 isoform X1	Secretada
ASCC3	activating signal cointegrator 1 complex subunit 3	Nucleo
PREX2	phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate-dependent Rac exchanger 2 protein	Cytosol Membrana celular
GPN1	GPN-loop GTPase 1	Citoplasma Nucleo
UBE3B	ubiquitin-protein ligase E3B isoform X1	
AKAP4	A-kinase anchor protein 4 isoform X1	Flagelo
C17ORF104	uncharacterized protein C17orf104 homolog isoform X1	Citoplasma Nucleo
FAM57A	protein SON isoform X3	Membrana celular
MAP2	microtubule-associated protein 2 isoform X5	Citoesqueleto
TAL2	T-cell acute lymphocytic leukemia protein 2	Nucleo

GEN	NOMBRE DE LA PROTEÍNA	LOCALIZACIÓN
FYVE	FYVE, RhoGEF and PH domain-containing protein 6-like	

Anexo 4. Datos completos del análisis proteómico de los spots seleccionados y analizados obtenidos de los geles de electroforesis bidimensional de FOB y FOC.

580 FOB

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
40	508.80	56	BOVIN	122144074	Stress-induced-phosphoprotein 1
12	190.82	26	BOVIN	1351907	Serum albumin
11	134.99	16	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
4	52.40	5	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
2	21.81	3	BOVIN	122140288	Hemopexin
2	17.87	1	BOVIN	60391782	Abnormal spindle-like microcephaly-associated protein homolog
2	15.46	2	BOVIN	1705915	Clathrin heavy chain 1
2	13.51	12	BOVIN	122145549	Tropomodulin-4
2	13.09	3	BOVIN	122134577	Serine-rich coiled-coil domain-containing protein 1
2	12.84	4	BOVIN	226707542	Molybdenum cofactor biosynthesis protein 1
1	12.66	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
2	12.24	2	BOVIN	121742	Ras gtpase-activating protein 1
1	11.73	3	BOVIN	190360256	RWD domain-containing protein 3
1	11.70	4	BOVIN	122133619	Microtubule-associated tumor suppressor 1 homolog
1	11.34	3	RABBIT	44889024	Serum albumin
1	10.72	3	BOVIN	122069970	Septin-5
1	10.29	11	BOVIN	122135703	RBPJ-interacting and tubulin-associated protein 1
1	10.15	4	BOVIN	156633610	Ras-GEF domain-containing family member 1B
1	10.11	3	RABBIT	75039091	Prostaglandin G/H synthase 1
1	9.86	4	BOVIN	118205	D (2) dopamine receptor
1	9.81	4	RABBIT	135668	Tissue factor
1	9.56	1	BOVIN	1109582956	Low-density lipoprotein receptor
1	9.39	5	RABBIT	13431317	Basigin
1	9.19	2	BOVIN	122145871	Paraspeckle component 1
1	9.16	1	BOVIN	110825758	Zinc finger protein 148
1	9.03	1	SHEEP	2500920	Thyroid hormone receptor alpha
1	9.00	6	BOVIN	1171865	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 7, mitochondrial
1	8.92	1	BOVIN	152032464	Forkhead box protein P1
1	8.87	6	BOVIN	122138609	Protein TBATA
1	8.70	3	BOVIN	115502143	ATP-dependent RNA helicase DDX55
1	8.69	1	BOVIN	391359365	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 13
1	8.68	4	BOVIN	122140306	X-box-binding protein 1
1	8.68	3	BOVIN	167016553	Calcium-binding mitochondrial carrier protein scamc-1
1	8.36	9	BOVIN	122136006	HCLS1-associated protein X-1

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	8.36	6	BOVIN	75046352	Potassium channel regulatory protein
1	8.30	5	BOVIN	27923754	Collectin-46
1	8.28	2	RABBIT	1042851730	RING finger protein 207
1	8.24	7	BOVIN	2498691	Outer dense fiber protein 1
1	8.19	10	BOVIN	122143006	Gastrotropin
1	8.16	11	BOVIN	122135682	Microtubule-associated proteins 1A/1B light chain 3A
1	8.16	4	BOVIN	160016575	Synaptosomal-associated protein 47
1	8.03	0	BOVIN	75055812	Myosin-2
1	8.03	1	BOVIN	75060703	Tripartite motif-containing protein 45
1	8.02	1	BOVIN	408387608	DNA helicase MCM8
1	8.00	11	BOVIN	108860928	60S ribosomal protein l18a
1	8.00	6	BOVIN	109895928	Ubiquitin domain-containing protein 1
1	7.88	1	SHEEP	14916625	Glycogen phosphorylase, muscle form
1	7.81	2	BOVIN	122135681	Protein mdm4
1	7.81	3	BOVIN	238686696	Leucine zipper putative tumor suppressor 2
1	7.81	5	RABBIT	54036166	Non-specific lipid-transfer protein
1	7.76	4	BOVIN	166225650	2-oxo-4-hydroxy-4-carboxy-5-ureidoimidazole decarboxylase
1	7.73	13	BOVIN	122140889	Cysteine-rich PDZ-binding protein
1	7.66	5	BOVIN	75058263	CCAAT/enhancer-binding protein delta
1	7.57	2	BOVIN	261277766	Ribosome-releasing factor 2, mitochondrial
1	7.48	4	BOVIN	51701332	Basigin
1	7.43	6	BOVIN	122132303	Dematin
1	7.43	1	BOVIN	56405094	Rab5 GDP/GTP exchange factor
1	7.39	4	RABBIT	116855	Interstitial collagenase
1	7.29	6	BOVIN	122135999	Inosine triphosphate pyrophosphatase
1	7.28	3	BOVIN	75057599	TRAF-type zinc finger domain-containing protein 1
1	7.25	1	BOVIN	172047898	Cytoskeleton-associated protein 2-like
1	7.21	7	BOVIN	75057703	Protein FAM110A
1	7.14	3	BOVIN	48429149	Syntaxin-binding protein 1
1	7.09	5	BOVIN	75057683	Sodium-independent sulfate anion transporter
1	7.03	5	BOVIN	2507183	Intestinal-type alkaline phosphatase
1	7.02	2	BOVIN	109891934	Isocitrate dehydrogenase [NADP], mitochondrial
1	6.99	1	BOVIN	730946	Angiopoietin-1 receptor
1	6.97	10	BOVIN	110808249	Growth arrest and DNA damage-inducible protein GADD45 gamma
1	6.97	17	BOVIN	52000827	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 11
1	6.95	1	BOVIN	122145594	Telomeric repeat-binding factor 2-interacting protein 1
1	6.91	5	BOVIN	108935956	B-cell CLL/lymphoma 7 protein family member B
1	6.91	2	BOVIN	71164807	Xylosyltransferase 2

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	6.87	4	BOVIN	54039740	Troponin C, slow skeletal and cardiac muscles
1	6.86	2	BOVIN	122143852	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 3
1	6.85	20	BOVIN	75072496	40S ribosomal protein S12
1	6.78	1	BOVIN	226694297	Spastin
1	6.75	3	BOVIN	114154	Beta-adrenergic receptor kinase 2
1	6.74	0	BOVIN	1042782300	Fibrillin-1
1	6.68	5	BOVIN	134034173	Mitochondrial ribosome-associated gtpase 1
1	6.66	0	BOVIN	134034124	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 2
1	6.63	6	BOVIN	109825494	Eukaryotic initiation factor 4A-III
1	6.61	1	BOVIN	124056491	Complement C3
1	6.60	6	BOVIN	75039975	Cystathionine gamma-lyase
1	6.57	1	BOVIN	158706428	Arf-GAP with coiled-coil, ANK repeat and PH domain-containing protein 1
1	6.56	1	BOVIN	122140081	AT-rich interactive domain-containing protein 5A
1	6.52	3	BOVIN	544123	Cylicin-1
1	6.50	0	RABIT	75074791	Ryanodine receptor 3
1	6.46	6	BOVIN	1711528	Sex-determining region Y protein
1	6.41	6	BOVIN	116255981	Ras-related protein Rab-8B
1	6.34	2	BOVIN	122136936	UPF0602 protein c4orf47 homolog
1	6.34	3	BOVIN	122142907	Fibronectin type III domain-containing protein 8
1	6.29	9	BOVIN	215275265	CD320 antigen
1	6.28	4	BOVIN	125209	Camp-dependent protein kinase catalytic subunit beta
1	6.28	5	BOVIN	3024628	Beta-soluble NSF attachment protein
1	6.23	3	BOVIN	3122613	Prostacyclin receptor
1	6.21	1	BOVIN	122136984	Outer dense fiber protein 2
1	6.19	12	BOVIN	122138870	UPF0688 protein c1orf174 homolog
1	6.05	4	BOVIN	68053022	Tubulin-folding cofactor B
1	6.03	15	RABBIT	118415	Corticostatin 1
1	5.96	2	BOVIN	122135912	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 2
1	5.96	8	BOVIN	68052261	Hepatoma-derived growth factor
1	5.89	5	BOVIN	110278945	Elongation factor 1-alpha 2
1	5.88	2	BOVIN	122138717	E3 ubiquitin-protein ligase MARCH2
1	5.85	6	BOVIN	75052593	40S ribosomal protein S26
1	5.78	4	BOVIN	221271963	UPF0696 protein c11orf68 homolog
1	5.77	3	BOVIN	110816439	Transaldolase
1	5.73	0	SHEEP	75040464	Toll-like receptor 9
1	5.70	2	BOVIN	229891626	Regulator of telomere elongation helicase 1
1	5.68	3	BOVIN	13431789	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma
1	5.67	4	BOVIN	122132381	E3 ubiquitin-protein ligase RNF220
1	5.67	1	BOVIN	635377446	DNA excision repair protein ERCC-6-like 2

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	5.60	0	BOVIN	13431706	Myosin-10
1	5.56	0	BOVIN	162416191	Radial spoke head 10 homolog B
1	5.55	1	RABBIT	52000780	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 3A
1	5.52	1	BOVIN	73917634	Brain-specific angiogenesis inhibitor 1-associated protein 2
1	5.50	2	BOVIN	12585283	Myocilin
1	5.50	5	BOVIN	292630930	Serpin A3-3
1	5.48	8	BOVIN	403399411	Histone H1.3
1	5.47	4	BOVIN	122142137	Kelch domain-containing protein 10
1	5.46	3	BOVIN	332319687	Mitochondria-eating protein
1	5.43	20	BOVIN	122144049	Calmodulin-like protein 4
1	5.43	0	BOVIN	224493288	Protein RRP5 homolog
1	5.43	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	5.41	6	BOVIN	122132337	PHD finger protein 6
1	5.41	4	BOVIN	143811405	Inorganic pyrophosphatase
1	5.41	4	BOVIN	229564319	E3 ubiquitin-protein ligase RNF168
1	5.40	2	BOVIN	187609613	Lebercilin-like protein
1	5.36	7	BOVIN	122146336	SH3 domain-binding protein 5-like
1	5.33	4	BOVIN	2497306	Intercellular adhesion molecule 1
1	5.32	1	BOVIN	124028614	Cytosol aminopeptidase
1	5.31	2	BOVIN	32363365	R5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid oxidase
1	5.28	1	BOVIN	3122018	Dihydropyrimidinase-related protein 2
1	5.25	13	BOVIN	152032345	Chymotrypsin-C
1	5.25	1	BOVIN	2501351	Serotransferrin
1	5.25	2	BOVIN	75061139	Methylenetetrahydrofolate reductase
1	5.25	3	BOVIN	75071078	Probable ATP-dependent RNA helicase DDX4
1	5.24	1	BOVIN	122138695	LIM domain kinase 2
1	5.24	34	BOVIN	18202308	Metallothionein-1
1	5.24	0	RABBIT	399202	Voltage-dependent R-type calcium channel subunit alpha-1E
1	5.23	9	BOVIN	75046367	Prokineticin-2
1	5.22	3	BOVIN	97202495	Tax1-binding protein 1 homolog
1	5.20	22	BOVIN	1169594	Fatty acid-binding protein, liver
1	5.17	4	BOVIN	122137036	Arginine and glutamate-rich protein 1
1	5.16	3	BOVIN	187609581	Insulinoma-associated protein 1
1	5.16	8	BOVIN	71153781	4-3-3 protein gamma
1	5.16	13	BOVIN	75068617	Interleukin-2
1	5.15	1	BOVIN	108935971	Collagen alpha-2(XI) chain
1	5.15	4	BOVIN	119367473	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 14
1	5.11	6	BOVIN	224493091	Casein kinase I isoform gamma-1
1	5.07	5	BOVIN	399012	ADP/ATP translocase 3
1	5.05	1	BOVIN	332321734	Rtudor domain-containing protein 5
1	5.05	1	BOVIN	47606001	Rho-associated protein kinase 2
1	5.05	8	BOVIN	93140679	60S ribosomal protein L35
1	5.04	5	RABBIT	549158	UDP-glucuronosyltransferase 2B13

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
6	76.65	12	BOVIN	115305834	T-complex protein 1 subunit theta
1	19.25	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
1	13.00	1	BOVIN	170652889	Serrate RNA effector molecule homolog
1	12.64	5	BOVIN	122142441	Neuronal membrane glycoprotein M6-a
2	12.11	0	BOVIN	115502258	Methionine synthase
1	12.08	2	BOVIN	1351907	Serum albumin
1	11.60	26	BOVIN	171473019	Shadow of prion protein
1	11.15	1	BOVIN	122138158	Heat shock 70 kda protein 14
1	10.74	2	BOVIN	122143589	Keratin, type II cytoskeletal 79
2	10.50	7	BOVIN	122132181	Putative glycerol kinase 5
1	10.40	3	BOVIN	322518596	Gtpase Era, mitochondrial
1	10.24	1	BOVIN	229544700	Protein argonaute-3
1	9.95	3	RABBIT	13431833	Serine/threonine-protein kinase Sgk1
1	9.78	3	BOVIN	224493147	M-phase inducer phosphatase 1
1	9.25	13	BOVIN	122132367	Rna-processing protein UTP23 homolog
1	9.15	9	BOVIN	23822218	Serine--trna ligase, mitochondrial
1	8.98	4	BOVIN	122134592	Neuropeptide Y receptor type 1
1	8.81	6	BOVIN	122132276	RNA-binding Raly-like protein
1	8.55	1	BOVIN	205696376	Centrosomal protein of 120 kda
1	8.46	1	BOVIN	1709166	Microsomal triglyceride transfer protein large subunit
1	8.35	6	RABBIT	18203610	Voltage-gated potassium channel subunit beta-1
1	8.21	2	BOVIN	122138745	WD repeat-containing protein 70
1	7.99	2	BOVIN	122133929	Synaptic vesicle 2-related protein
1	7.94	4	BOVIN	156633646	Thyroid transcription factor 1-associated protein 26
1	7.89	3	BOVIN	118572253	Tyrosine-protein kinase CSK
1	7.84	4	BOVIN	13431968	Neural Wiskott-Aldrich syndrome protein
1	7.67	6	BOVIN	306526225	Neugrin
1	7.27	2	BOVIN	187671930	Zinc finger CCCH domain-containing protein 14
1	7.23	1	BOVIN	205831547	General transcription factor II-I repeat domain-containing protein 2
1	7.13	2	RABBIT	28201766	Disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 2
1	7.12	1	RABBIT	26006805	Potassium voltage-gated channel subfamily H member 2
1	7.12	3	BOVIN	391359373	E3 ubiquitin-protein ligase RNF169
1	6.95	1	BOVIN	56405094	Rab5 GDP/GTP exchange factor
1	6.76	5	BOVIN	134034173	Mitochondrial Ribosome-associated gtpase 1
1	6.66	8	RABBIT	1169750	5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase
1	6.30	6	BOVIN	122140771	Transmembrane protein 135
1	6.12	1	RABBIT	116411	Voltage-dependent L-type calcium channel subunit alpha-1C
1	6.12	4	BOVIN	189041674	Zinc finger protein 512
1	6.00	3	BOVIN	1350828	Rabphilin-3A

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	5.96	1	BOVIN	189037070	CDP-diacylglycerol--glycerol-3-phosphate 3-phosphatidyltransferase, mitochondrial
1	5.85	4	BOVIN	126360402	RING finger protein 151
1	5.84	5	BOVIN	122143701	UDP-glcnac:betagal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 9
1	5.79	2	BOVIN	322967638	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 42
1	5.78	1	BOVIN	158513393	Glycerol-3-phosphate acyltransferase 4
1	5.55	2	BOVIN	167016535	Nucleosome assembly protein 1-like 1
1	5.41	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	5.40	1	BOVIN	110287978	Glutamine
1	5.34	4	BOVIN	115311676	Centromere protein S
1	5.26	3	BOVIN	1170793	Platelet-activating factor acetylhydrolase IB subunit alpha
1	5.23	1	BOVIN	122138695	LIM domain kinase 2
1	5.21	0	BOVIN	187611407	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC1
1	5.11	5	BOVIN	121750	Solute carrier family 2, facilitated glucose transporter member 1
1	5.11	3	BOVIN	544123	Cylicin-1
1	5.09	1	BOVIN	46576869	Adhesion G protein-coupled receptor L2
1	5.06	12	BOVIN	118572239	COMM domain-containing protein 1
1	5.06	5	BOVIN	122140864	Beta-enolase

700 FOB

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
23	319.19	44	BOVIN	160332357	Retinal dehydrogenase 1
21	256.09	45	BOVIN	115305838	T-complex protein 1 subunit beta
5	73.26	12	BOVIN	71153759	D-3-phosphoglycerate dehydrogenase
1	18.19	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
1	11.95	0	BOVIN	224493288	Protein RRP5 homolog
1	11.87	5	RABBIT	115503757	4F2 cell-surface antigen heavy chain
1	11.61	17	BOVIN	122140780	BAG family molecular chaperone regulator 2
1	11.45	2	BOVIN	122136984	Outer dense fiber protein 2
1	11.27	4	BOVIN	122146029	Fibrous sheath CABYR-binding protein
1	10.88	19	RABBIT	122766	Hemoglobin subunit gamma
1	10.84	11	BOVIN	122138622	PRELI domain-containing protein 1, mitochondrial
1	9.34	3	SHEEP	3041670	Cytochrome P450 11B1, mitochondrial
1	8.83	4	BOVIN	108860944	39S ribosomal protein L16, mitochondrial
1	8.83	4	BOVIN	75070185	Tribbles homolog 2
1	8.73	7	BOVIN	109940228	Ankyrin repeat domain-containing protein 46
1	8.62	4	BOVIN	462415	Interferon alpha/beta receptor 1

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	8.47	3	BOVIN	122138226	G protein-coupled receptor 161
1	8.15	8	SHEEP	130300	Chorionic somatomammotropin hormone
1	8.12	3	BOVIN	145559457	Cartilage oligomeric matrix protein
1	8.06	4	RABBIT	2493745	Cyclic nucleotide-gated olfactory channel
1	7.97	10	BOVIN	122143006	Gastrotropin
1	7.82	1	RABBIT	124110	Calpastatin
1	7.82	0	RABBIT	75074791	Ryanodine receptor 3
1	7.80	0	BOVIN	317411863	Protein MMS22-like
1	7.78	3	BOVIN	122140252	Condensin-2 complex subunit H2
1	7.77	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	7.74	2	BOVIN	363805631	Serine/threonine-protein kinase 10
1	7.34	5	BOVIN	193806520	Probable histidine--trna ligase, mitochondrial
1	7.33	1	BOVIN	56405094	Rab5 GDP/GTP exchange factor
1	7.14	2	BOVIN	122136149	Selenium-binding protein 1
1	7.11	1	BOVIN	44888536	X-linked retinitis pigmentosa gtpase regulator-interacting protein 1
1	7.10	3	BOVIN	122144044	Medium-chain specific acyl-coa dehydrogenase, mitochondrial
1	7.07	3	BOVIN	124012336	Protein OS-9
1	6.94	5	BOVIN	308153571	26S proteasome non-atpase regulatory subunit 8
1	6.80	1	BOVIN	205831217	Zinc finger protein 184
1	6.58	7	BOVIN	51701332	Basigin
1	6.53	1	BOVIN	122144417	Asparagine synthetase domain-containing protein 1
1	6.43	1	RABBIT	118572273	Cortactin-binding protein 2
1	6.29	9	SHEEP	575773361	Inactive ribonuclease-like protein 10
1	6.14	1	BOVIN	408407704	DNA replication ATP-dependent helicase/nuclease DNA2
1	6.13	3	BOVIN	75040236	Vacuolar protein sorting-associated protein 72 homolog
1	6.10	1	BOVIN	400398	Neural cell adhesion molecule 1
1	6.05	8	BOVIN	75039976	60S ribosomal protein L29
1	6.04	2	BOVIN	122139924	Signal recognition particle receptor subunit alpha
1	5.96	3	BOVIN	121957540	Serine/threonine-protein kinase VRK1
1	5.93	1	BOVIN	122145594	Telomeric repeat-binding factor 2-interacting protein 1
1	5.84	4	RABBIT	17366976	Glucose-6-phosphate isomerase
1	5.74	2	BOVIN	122142383	Outer dense fiber protein 2-like
1	5.67	3	BOVIN	2499652	Activin receptor type-2A
1	5.66	3	BOVIN	182662396	E3 UFM1-protein ligase 1
1	5.63	10	BOVIN	190352209	Recname: full=
1	5.56	4	BOVIN	75060916	Cytochrome P450 20A1
1	5.55	7	BOVIN	109940039	Translocating chain-associated membrane protein 1
1	5.55	4	BOVIN	109940211	Angiopietin-related protein 4
1	5.54	3	BOVIN	110808222	Electron transfer flavoprotein subunit alpha, mitochondrial

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	5.45	4	BOVIN	205831288	Zinc finger C2HC domain-containing protein 1A
1	5.40	3	BOVIN	1730509	Prostaglandin F synthase 2
1	5.40	7	BOVIN	182689550	DNA replication complex GINS protein SLD5
1	5.39	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	5.30	1	RABBIT	14548283	Short transient receptor potential channel 5
1	5.25	2	BOVIN	68052325	5-hydroxytryptamine receptor 2A
1	5.24	2	BOVIN	730944	Tyrosine-protein kinase receptor Tie-1
1	5.21	13	BOVIN	108935885	60S ribosomal protein L37
1	5.21	3	BOVIN	161784270	Vitamin D3 receptor
1	5.20	1	BOVIN	118573075	Nuclear autoantigenic sperm protein
1	5.15	2	BOVIN	166216080	CCR4-NOT transcription complex subunit 10
1	5.07	2	RABBIT	378405191	RUDP-N-acetylglucosamine--peptide N-acetylglucosaminyltransferase 110 kda subunit
1	5.06	2	BOVIN	145558884	Coatomer subunit beta
1	5.04	7	BOVIN	152030919	Fibroblast growth factor 5
1	5.02	5	BOVIN	13626117	Perilipin-2

1473 FOB

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
9	116.08	54	BOVIN	1352725	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1
2	20.93	1	BOVIN	60391782	Abnormal spindle-like microcephaly-associated protein homolog
1	19.71	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
1	11.40	5	BOVIN	122135318	Glucose-6-phosphatase
2	10.81	6	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
1	10.77	5	BOVIN	261277766	Ribosome-releasing factor 2, mitochondrial
1	10.61	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	10.51	1	BOVIN	158512837	Protein VAC14 homolog
1	9.77	6	BOVIN	215274927	Ribonuclease P protein subunit p40
1	8.43	6	BOVIN	91771935	Gametocyte-specific factor 1-like
1	8.28	2	BOVIN	122143589	Keratin, type II cytoskeletal 79
1	8.00	5	BOVIN	115311846	26S protease regulatory subunit 6B
1	7.70	0	BOVIN	134034124	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 2
1	7.66	4	BOVIN	110825956	4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase
1	7.40	1	SHEEP	113582	Serum albumin
1	7.40	1	BOVIN	56405094	Rab5 GDP/GTP exchange factor
1	7.08	3	BOVIN	544050	Calcium/calmodulin-dependent 3',5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase 1A
1	6.85	3	BOVIN	6225236	Dystroglycan
1	6.73	1	RABBIT	125560	Protein kinase C gamma type

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	6.70	1	BOVIN	387935387	Secretogranin-3
1	6.60	0	BOVIN	62900884	Oxygen-regulated protein 1
1	6.53	3	BOVIN	73921748	Pinin
1	6.09	0	BOVIN	17367101	Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1
1	6.04	5	BOVIN	171769794	Protein FAM181B
1	5.98	0	BOVIN	317374803	Cytosolic carboxypeptidase 3
1	5.74	2	SHEEP	75056117	Vitamin K-dependent gamma-carboxylase
1	5.65	10	BOVIN	75060916	Cytochrome P450 20A1
1	5.61	10	BOVIN	221222588	Active regulator of SIRT1
1	5.59	4	BOVIN	166228727	Protein zwilch homolog
1	5.47	2	BOVIN	205831108	Protein ZBED8
1	5.44	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	5.41	5	BOVIN	224487913	Draxin
1	5.38	5	BOVIN	122133927	Lysine-specific demethylase 8
1	5.09	1	BOVIN	11131272	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 2

1533 FOB

Peptides	Score	Cover %	Species	Database	Protein name
13	175.29	68	SHEEP	54035753	Cofilin-1
8	104.55	60	BOVIN	115311823	Nucleoside diphosphate kinase B
1	20.87	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
1	14.43	8	BOVIN	75055545	Lysozyme C, milk isozyme
1	13.73	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	12.49	5	BOVIN	122142441	Neuronal membrane glycoprotein M6-a
1	12.33	4	BOVIN	122133619	Microtubule-associated tumor suppressor 1 homolog
2	10.63	14	BOVIN	62510470	MICOS complex subunit MIC19
1	10.07	3	BOVIN	187470636	E3 ubiquitin-protein ligase ARIH1
1	10.03	4	BOVIN	171769796	Protein fem-1 homolog C
1	9.64	2	BOVIN	160417530	Pyridoxal-dependent decarboxylase domain-containing protein 1
1	9.31	0	BOVIN	384956088	Leucine-rich repeat-containing protein 7
1	9.24	6	BOVIN	122136006	HCLS1-associated protein X-1
1	9.16	4	BOVIN	114150042	Myoneurin
1	9.13	5	BOVIN	160418985	Regulation of nuclear pre-mrna domain-containing protein 1A
1	8.75	17	BOVIN	13959579	Gamma-synuclein
1	8.37	5	BOVIN	146345391	Complement factor B
1	8.31	13	BOVIN	85540939	Charged multivesicular body protein 2b
1	8.06	1	BOVIN	75069980	Lon protease homolog, mitochondrial
1	7.86	1	BOVIN	122145283	Dual specificity protein phosphatase 10
1	7.64	2	BOVIN	122143589	Keratin, type II cytoskeletal 79

Peptides	Score	Cover %	Species	Database	Protein name
1	7.58	11	BOVIN	110287692	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 4-like 2
1	7.42	4	BOVIN	158513558	Uncharacterized protein c5orf34 homolog
1	7.08	5	BOVIN	122132337	PHD finger protein 6
1	7.00	3	BOVIN	3024337	Oxytocin receptor
1	6.60	2	BOVIN	122065248	Transcription factor jun-B
1	6.59	3	BOVIN	465014	Urokinase-type plasminogen activator
1	6.46	4	BOVIN	122132244	2',5'-phosphodiesterase 12
1	6.44	3	BOVIN	257096848	Vacuolar protein-sorting-associated protein 36
1	6.24	2	BOVIN	122142383	Outer dense fiber protein 2-like
1	6.14	1	BOVIN	332319687	Mitochondria-eating protein
1	5.94	3	BOVIN	122132206	Syntaxin-5
1	5.84	0	BOVIN	115502258	Methionine synthase
1	5.84	1	BOVIN	73921748	Pinin
1	5.77	2	SHEEP	7531172	Protein-arginine deiminase type-3
1	5.75	3	BOVIN	122137066	Proteasome subunit beta type-7
1	5.73	3	BOVIN	110810504	Major vault protein
1	5.54	2	BOVIN	12644020	Von Willebrand factor
1	5.50	3	BOVIN	122140252	Condensin-2 complex subunit H2
1	5.48	8	BOVIN	122143863	Transcription initiation factor IIB
1	5.42	2	BOVIN	118595578	Platelet glycoprotein 4
1	5.42	3	BOVIN	229621751	Volume-regulated anion channel subunit LRRC8C
1	5.41	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	5.41	2	BOVIN	410591700	E3 ubiquitin-protein ligase UHRF1
1	5.29	50	RABBIT	127400	Metallothionein-2A
1	5.25	1	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
1	5.16	1	BOVIN	75044932	Toll-like receptor 6
1	5.10	3	BOVIN	160332360	Very long-chain specific acyl-coa dehydrogenase, mitochondrial
1	5.04	1	BOVIN	170652818	Methionine aminopeptidase 1

1766 FOB

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
28	351.49	66	BOVIN	75056526	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic
1	17.47	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
1	13.37	3	BOVIN	187470636	E3 ubiquitin-protein ligase ARIH1
1	11.89	2	BOVIN	190359072	Fumarylacetoacetase
1	11.28	3	RABBIT	75039091	Prostaglandin G/H synthase 1
1	10.50	20	BOVIN	75043221	Cocaine- and amphetamine-regulated transcript protein
2	10.40	3	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
1	10.23	17	BOVIN	122721	Hemoglobin subunit epsilon-4
1	10.09	4	BOVIN	54036676	Actin, cytoplasmic 2
1	8.61	5	BOVIN	122142441	Neuronal membrane glycoprotein M6-a
1	8.44	1	BOVIN	56405094	Rab5 GDP/GTP exchange factor
1	8.35	11	BOVIN	75043207	Interleukin-17A

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	8.34	4	BOVIN	118573075	Nuclear autoantigenic sperm protein
1	8.28	0	BOVIN	122139236	Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 1-like
1	8.18	0	BOVIN	75071528	Paternally-expressed gene 3 protein
1	7.91	7	RABBIT	2500852	Prolactin
1	7.80	11	BOVIN	12229854	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 12
1	7.52	2	BOVIN	122134567	Protein lin-37 homolog
1	7.50	0	BOVIN	1171090	Transcriptional activator Myb
1	7.43	3	BOVIN	408387570	Aurora kinase A and ninein-interacting protein
1	6.84	5	BOVIN	122144556	Transcription elongation factor A protein 2
1	6.77	0	BOVIN	134034124	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 2
1	6.70	7	BOVIN	108935898	28S ribosomal protein s18c, mitochondrial
1	6.52	5	BOVIN	115305840	T-complex protein 1 subunit eta
1	6.52	3	BOVIN	122137066	Proteasome subunit beta type-7
1	6.46	1	BOVIN	182645390	Exocyst complex component 8
1	6.35	10	BOVIN	122143006	Gastrotropin
1	6.19	1	RABBIT	75064665	Adenylate cyclase type 10
1	6.16	2	BOVIN	91207338	60S ribosomal protein l13a
1	6.04	2	RABBIT	6175087	Serotransferrin
1	6.03	3	RABBIT	75052246	Amine sulfotransferase
1	6.01	0	BOVIN	187611407	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC1
1	6.00	2	BOVIN	122069970	Septin-5
1	5.91	14	BOVIN	110825793	Acyolphosphatase-2
1	5.88	2	BOVIN	122136936	UPF0602 protein c4orf47 homolog
1	5.77	11	BOVIN	122140162	Isoamyl acetate-hydrolyzing esterase 1 homolog
1	5.73	6	RABBIT	75069347	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein C
1	5.69	2	RABBIT	7387500	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 56 kda regulatory subunit delta isoform
1	5.68	2	BOVIN	172045762	NF-kappa-B inhibitor zeta
1	5.62	1	BOVIN	118601082	Complement component C6
1	5.62	5	BOVIN	161784270	Vitamin D3 receptor
1	5.58	1	BOVIN	108935971	Collagen alpha-2(XI) chain
1	5.47	3	BOVIN	158705863	Kinesin-like protein KIF2B
1	5.39	5	BOVIN	122142577	Protein FAM49A
1	5.30	4	BOVIN	75057538	Eukaryotic translation initiation factor 2D
1	5.21	0	RABBIT	399201	Voltage-dependent P/Q-type calcium channel subunit alpha-1A
1	5.17	1	BOVIN	109895224	E3 ubiquitin-protein ligase TRIM9
1	5.12	3	BOVIN	122132244	2',5'-phosphodiesterase 12
1	5.12	5	BOVIN	122142857	Signal recognition particle 54 kda protein

1770 FOB

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
6	64.02	28	BOVIN	51702774	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A
1	12.60	3	SHEEP	13124234	Estrogen receptor beta
1	11.93	3	BOVIN	122134301	Chloride channel CLIC-like protein 1
1	8.86	9	BOVIN	122134275	Mitochondrial import receptor subunit TOM40 homolog
1	8.72	8	BOVIN	75060505	Pyrroline-5-carboxylate reductase 1, mitochondrial
1	8.16	1	RABBIT	116411	Voltage-dependent L-type calcium channel subunit alpha-1C
1	7.14	4	BOVIN	122143228	26S proteasome non-atpase regulatory subunit 5
1	6.92	2	BOVIN	171769868	Neurolysin, mitochondrial
1	6.89	10	BOVIN	122143006	Gastrotropin
1	6.27	9	BOVIN	109877271	Chloride intracellular channel protein 4
1	6.20	4	BOVIN	1703313	Atrial natriuretic peptide receptor 3
1	6.07	10	BOVIN	75060390	40S ribosomal protein s3a
1	6.00	4	RABBIT	1708372	Hyaluronidase PH-20
1	6.00	8	BOVIN	75070078	Leucine-rich repeat-containing protein 51
1	5.98	3	CAPIB	223635812	Toll-like receptor 2
1	5.89	6	SHEEP	115311322	C-C chemokine receptor type 9
1	5.88	1	BOVIN	56405094	Rab5 GDP/GTP exchange factor
1	5.87	2	BOVIN	317373464	Cytosolic carboxypeptidase-like protein 5
1	5.86	4	BOVIN	122142181	Protein lin-7 homolog C
1	5.84	2	BOVIN	122136936	UPF0602 protein c4orf47 homolog
1	5.79	7	BOVIN	380876898	Centrosomal protein of 41 kda
1	5.74	8	BOVIN	122137086	Metaxin-1
1	5.73	8	BOVIN	122063375	PDZ domain-containing protein 9
1	5.69	7	BOVIN	205686194	Atpase ASNA1
1	5.68	12	RABBIT	116586	Ciliary neurotrophic factor
1	5.59	1	BOVIN	122144677	Activated CDC42 kinase 1
1	5.59	9	BOVIN	266574	Graves disease carrier protein
1	5.55	0	BOVIN	75055810	Myosin-7
1	5.52	8	BOVIN	122140213	Tubulin-specific chaperone C
1	5.47	6	BOVIN	108860959	28S ribosomal protein S5, mitochondrial
1	5.37	7	BOVIN	75057769	Lipoyl synthase, mitochondrial
1	5.35	6	BOVIN	75039961	Probable palmitoyltransferase ZDHHC4
1	5.34	3	BOVIN	122134041	TATA box-binding protein-associated factor RNA polymerase I subunit B
1	5.30	15	BOVIN	1174380	Superoxide dismutase [Mn], mitochondrial
1	5.28	4	BOVIN	75057817	Inactive serine protease PAMR1
1	5.25	4	BOVIN	122133982	Mitoguardin 2
1	5.25	3	BOVIN	353558884	Tripartite motif-containing protein 2
1	5.23	3	BOVIN	410591700	E3 ubiquitin-protein ligase UHRF1
1	5.19	9	BOVIN	47606205	Three-prime repair exonuclease 1
1	5.16	8	BOVIN	122136094	Dnaj homolog subfamily B member 4
1	5.14	13	BOVIN	118572243	COMM domain-containing protein 9
1	5.13	1	BOVIN	205696376	Centrosomal protein of 120 kda

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	5.11	4	BOVIN	122135942	Small G protein signaling modulator 3
1	5.06	17	RABBIT	1351097	Sperm surface protein Sp17

1816 FOB

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
16	207.53	88	BOVIN	75040204	Protein deglycase DJ-1
1	20.61	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
1	11.77	0	BOVIN	60391782	Abnormal spindle-like microcephaly-associated protein homolog
1	10.86	0	BOVIN	110288494	Glutamine-dependent NAD(+) synthetase
1	10.80	2	BOVIN	166200288	Sorting nexin-27
1	10.56	11	BOVIN	116256284	T-cell surface glycoprotein CD3 gamma chain
1	10.52	2	CAPHI	5915805	Cytochrome P450 2F3
1	10.50	12	BOVIN	150416332	Protein LDOC1
1	10.50	3	RABBIT	75039091	Prostaglandin G/H synthase 1
1	10.42	3	BOVIN	187470636	E3 ubiquitin-protein ligase ARIH1
1	10.20	2	BOVIN	75040215	Hyaluronidase-1
1	9.96	2	RABBIT	75071553	Arf-GAP with coiled-coil, ANK repeat and PH domain-containing protein 2
1	9.76	0	BOVIN	384956088	Leucine-rich repeat-containing protein 7
1	9.67	7	BOVIN	1708490	Interferon alpha-F
1	9.54	3	BOVIN	387935411	Zinc finger CCHC domain-containing protein 4
1	8.95	2	RABBIT	1709296	Solute carrier family 12 member 1
1	8.20	7	BOVIN	122140113	Ras-related GTP-binding protein A
1	8.12	1	BOVIN	322518590	G-protein coupled receptor family C group 6 member A
1	7.89	1	BOVIN	66773828	Histidine decarboxylase
1	7.43	7	BOVIN	75057853	Dihydroorotate dehydrogenase (quinone), mitochondrial
1	7.27	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	7.19	6	RABBIT	6919845	Transforming growth factor-beta-induced protein ig-h3
1	7.10	3	BOVIN	262527570	Septin-8
1	7.01	4	BOVIN	118572477	Heat shock factor protein 1
1	7.01	1	BOVIN	172047279	Cytoskeleton-associated protein 2
1	6.95	1	BOVIN	288559138	Transcription activator BRG1
1	6.82	0	BOVIN	115502258	Methionine synthase
1	6.69	12	BOVIN	118572243	COMM domain-containing protein 9
1	6.48	3	BOVIN	122137109	Zinc finger protein ZPR1
1	6.42	12	BOVIN	400650	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 5
1	6.29	4	BOVIN	160185594	Spermatid-associated protein
1	6.21	4	BOVIN	148887190	Leukocyte elastase inhibitor
1	6.05	1	RABBIT	25089567	Aryl hydrocarbon receptor
1	6.05	1	BOVIN	75073572	Ankyrin repeat, SAM and basic leucine zipper domain-containing protein 1
1	6.02	5	BOVIN	166224632	G kinase-anchoring protein 1

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	5.92	1	BOVIN	190360184	Inactive rhomboid protein 1
1	5.92	3	BOVIN	90183179	Claudin-11
1	5.87	2	BOVIN	122136936	UPF0602 protein c4orf47 homolog
1	5.87	13	RABBIT	127130	Myosin light chain 1/3, skeletal muscle isoform
1	5.77	3	BOVIN	122142559	Acyl-coa synthetase family member 2, mitochondrial
1	5.76	1	RABBIT	117221	Cytochrome P450 2C4
1	5.76	3	BOVIN	122137066	Proteasome subunit beta type-7
1	5.68	1	BOVIN	122145853	Bardet-Biedl syndrome 4 protein homolog
1	5.40	2	BOVIN	109892503	Kinesin light chain 3
1	5.27	8	BOVIN	122138789	Uncharacterized protein cxorf65 homolog
1	5.20	21	BOVIN	75052084	60S ribosomal protein l35a
1	5.18	1	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
1	5.10	5	SHEEP	251765062	Solute carrier family 25 member 38
1	5.06	3	BOVIN	122135942	Small G protein signaling modulator 3

923 FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
8	115.26	21	BOVIN	75056526	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic
1	20.91	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
2	16.09	3	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
1	12.20	4	BOVIN	122133619	Microtubule-associated tumor suppressor 1 homolog
1	11.55	0	BOVIN	60391782	Abnormal spindle-like microcephaly-associated protein homolog
1	11.26	5	BOVIN	122142441	Neuronal membrane glycoprotein M6-a
1	11.20	4	BOVIN	54036676	Actin, cytoplasmic 2
1	10.94	6	RABBIT	1706411	Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 2
1	10.73	2	BOVIN	353558903	Dnaj homolog subfamily C member 21
1	10.53	9	BOVIN	23822218	Serine--trna ligase, mitochondrial
1	10.50	3	BOVIN	122134301	Chloride channel CLIC-like protein 1
1	10.35	3	BOVIN	158706346	TBCC domain-containing protein 1
1	10.30	1	BOVIN	384956088	Leucine-rich repeat-containing protein 7
1	8.82	9	BOVIN	122140151	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 4
1	8.76	4	BOVIN	122138646	Zinc finger protein 821
1	8.65	2	BOVIN	122143589	Keratin, type II cytoskeletal 79
1	8.16	4	BOVIN	109892092	COMM domain-containing protein 4
1	8.03	1	BOVIN	118595568	Speckle targeted PIP5K1A-regulated poly(A) polymerase
1	7.96	6	BOVIN	158513402	M-AAA protease-interacting protein 1, mitochondrial
1	7.81	11	BOVIN	1709243	Nucleoside diphosphate kinase A 2
1	7.74	5	BOVIN	115305834	T-complex protein 1 subunit theta
1	7.63	1	BOVIN	117785	Adenylate cyclase type 1

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	7.52	4	BOVIN	122143861	Phenylalanine-4-hydroxylase
1	7.35	3	BOVIN	182702190	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1
1	7.30	5	BOVIN	122136026	Ribosome biogenesis regulatory protein homolog
1	7.29	4	RABBIT	54035918	Coronin-1B
1	6.79	3	BOVIN	109895138	Thromboxane-A synthase
1	6.72	5	BOVIN	90108430	D site-binding protein
1	6.70	1	BOVIN	147744547	Acyl-coa-binding domain-containing protein 5
1	6.49	4	BOVIN	332319687	Mitochondria-eating protein
1	6.37	2	BOVIN	166218805	Keratin, type II cytoskeletal 74
1	6.06	2	SHEEP	1346439	P-selectin
1	5.98	1	RABBIT	14548283	Short transient receptor potential channel 5
1	5.94	1	BOVIN	2493783	Collagen alpha-4(IV) chain
1	5.92	5	BOVIN	122142932	Translation initiation factor IF-3, mitochondrial
1	5.91	2	BOVIN	131085	Vitamin K-dependent protein S
1	5.89	2	BOVIN	116248555	N-myc-interactor
1	5.80	2	BOVIN	115305839	T-complex protein 1 subunit delta
1	5.79	3	BOVIN	122137066	Proteasome subunit beta type-7
1	5.68	2	BOVIN	182689546	Protein SDA1 homolog
1	5.54	8	BOVIN	115311719	Lysosomal-associated transmembrane protein 5
1	5.53	1	RABBIT	52000780	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 3A
1	5.47	1	BOVIN	122144501	8 kda glucose-regulated protein
1	5.44	1	BOVIN	158706413	Zinc finger protein 526
1	5.22	2	BOVIN	75057804	Apoptosis facilitator Bcl-2-like protein 14
1	5.21	5	RABBIT	1705685	Voltage-dependent L-type calcium channel subunit beta-3
1	5.12	3	BOVIN	122142448	F-box/LRR-repeat protein 4
1	5.12	1	RABBIT	20981678	Aldehyde oxidase 1

1100 FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
9	117.38	25	RABBIT	1703235	Aldose reductase
2	15.15	4	BOVIN	56405094	Rab5 GDP/GTP exchange factor
2	13.28	3	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
1	12.92	5	BOVIN	122142441	Neuronal membrane glycoprotein M6-a
1	12.50	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
1	11.83	8	BOVIN	108864719	Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member B
1	11.11	2	RABBIT	75042964	Calcium-independent phospholipase A2-gamma
2	10.79	2	BOVIN	46576869	Adhesion G protein-coupled receptor L2
1	10.10	11	BOVIN	122136002	Dynein light chain 1, axonemal

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	9.82	9	BOVIN	23822218	Serine--trna ligase, mitochondrial
1	9.31	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	9.10	2	BOVIN	12644428	Thrombospondin-1
1	8.89	5	BOVIN	94717663	RNA-binding protein NOB1
1	8.86	4	BOVIN	113948	Annexin A2
1	8.57	21	BOVIN	75052081	40S ribosomal protein S28
1	7.75	2	BOVIN	239938872	Pyruvate dehydrogenase protein X component
1	7.74	1	BOVIN	55976506	Breast cancer type 1 susceptibility protein homolog
1	7.67	1	BOVIN	17433133	Unconventional myosin-X
1	7.54	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	7.50	2	BOVIN	122143589	Keratin, type II cytoskeletal 79
1	7.50	2	BOVIN	85682743	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
1	7.31	6	BOVIN	122146095	Ankyrin repeat and SOCS box protein 17
1	7.25	6	BOVIN	114149276	Probable dimethyladenosine transferase
1	7.16	4	BOVIN	122144234	Protein cereblon
1	7.09	5	BOVIN	122144044	Rmedium-chain specific acyl-coa dehydrogenase, mitochondrial
1	7.04	2	BOVIN	257096608	Centrosomal protein kizuna
1	7.01	6	BOVIN	108935998	Golgi SNAP receptor complex member 1
1	6.83	5	SHEEP	1703242	Fructose-bisphosphate aldolase B
1	6.27	3	BOVIN	122137066	Proteasome subunit beta type-7
1	6.26	6	BOVIN	462375	Insulin-like growth factor-binding protein 4
1	6.18	5	BOVIN	68566022	Serpin B8
1	5.97	3	BOVIN	408387570	Aurora kinase A and ninein-interacting protein
1	5.92	7	BOVIN	125154	Adenylate kinase 2, mitochondrial
1	5.87	7	BOVIN	122144674	F-box/LRR-repeat protein 14
1	5.77	1	BOVIN	110287988	Telomerase reverse transcriptase
1	5.70	2	RABBIT	38257916	Potassium voltage-gated channel subfamily D member 2
1	5.53	3	BOVIN	114402	RATP synthase subunit alpha, mitochondrial
1	5.43	19	BOVIN	47606334	10 kda heat shock protein, mitochondrial
1	5.40	2	BOVIN	565683210	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 16
1	5.10	2	BOVIN	378526632	PCNA-interacting partner
1	5.03	0	BOVIN	166198272	Alpha-aminoacidic semialdehyde synthase, mitochondrial

1113 FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
12	156.11	43	BOVIN	113948	Annexin A2
8	82.63	11	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
5	42.68	14	RABBIT	1703235	Aldose reductase
2	27.25	3	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
1	14.91	5	BOVIN	122142441	Neuronal membrane glycoprotein M6-a
1	13.90	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	12.73	0	SHEEP	60391794	Abnormal spindle-like microcephaly-associated protein homolog
1	11.81	3	BOVIN	122140177	Pentatricopeptide repeat-containing protein 2, mitochondrial
1	11.74	4	BOVIN	122133619	Microtubule-associated tumor suppressor 1 homolog
1	11.60	1	RABBIT	118572792	Hepatocyte growth factor receptor
1	11.26	4	BOVIN	122135990	U4/U6 small nuclear ribonucleoprotein Prp3
1	10.92	3	BOVIN	122132394	Sorting nexin-29
1	10.66	12	BOVIN	121479	Glucagon
1	10.58	11	BOVIN	116256284	T-cell surface glycoprotein CD3 gamma chain
1	10.04	3	BOVIN	122144463	LETM1 and EF-hand domain-containing protein 1, mitochondrial
1	9.78	6	BOVIN	338810405	HORMA domain-containing protein 1
1	9.75	2	BOVIN	160332360	Very long-chain specific acyl-coa dehydrogenase, mitochondrial
1	9.74	0	BOVIN	403399501	2'-5'-oligoadenylate synthase 2
1	9.61	7	BOVIN	121957506	Vesicle-associated membrane protein-associated protein A
1	9.25	16	BOVIN	75060400	Cysteine-rich protein 1
1	9.16	2	BOVIN	146324955	Phospholipase B-like 1
1	8.68	0	BOVIN	122138816	Glutamyl aminopeptidase
1	8.35	3	BOVIN	122138669	Interferon-inducible gtpase 5
1	8.17	3	BOVIN	166229672	Arginine/serine-rich coiled-coil protein 2
1	7.82	1	BOVIN	75060703	Tripartite motif-containing protein 45
1	7.52	2	BOVIN	425906046	Protein KASH5
1	7.50	9	BOVIN	110278814	Methionine aminopeptidase 2
1	7.40	1	BOVIN	224493147	M-phase inducer phosphatase 1
1	7.37	0	BOVIN	115502258	Methionine synthase
1	6.93	0	BOVIN	118595568	Speckle targeted PIP5K1A-regulated poly(A) polymerase
1	6.92	3	BOVIN	115311335	Centromere protein N
1	6.79	3	RABBIT	6136092	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 1
1	6.66	5	BOVIN	166224475	Probable imidazolonepropionase
1	6.64	2	BOVIN	205650006	Dynamin-2
1	6.62	3	BOVIN	403399741	Angiomotin-like protein 2
1	6.60	18	BOVIN	147703791	Lysozyme-like protein 1
1	6.56	2	BOVIN	190359067	Thioredoxin reductase 2, mitochondrial
1	6.45	1	RABBIT	729820	Eukaryotic translation initiation factor 4 gamma 1
1	6.44	3	BOVIN	160359039	Zinc finger protein 34
1	6.43	1	BOVIN	166231746	16 kda U5 small nuclear ribonucleoprotein component
1	6.43	1	BOVIN	380876965	Protein-methionine sulfoxide oxidase

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
					MICAL1
1	6.14	0	BOVIN	118601082	Complement component C6
1	6.14	4	RABBIT	135668	Tissue factor
1	6.11	4	BOVIN	122064647	Mitochondrial inner membrane protein OXA1L
1	6.11	1	BOVIN	3023602	Retinal guanylyl cyclase 2
1	6.04	4	BOVIN	122143022	Transformer-2 protein homolog beta
1	5.99	3	BOVIN	68052325	5-hydroxytryptamine receptor 2A
1	5.88	7	BOVIN	122140319	Spermatogenesis-associated protein 9
1	5.87	2	BOVIN	122136936	UPF0602 protein c4orf47 homolog
1	5.78	5	BOVIN	122136220	Cilia- and flagella-associated protein 97
1	5.69	0	BOVIN	187611407	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC1
1	5.60	2	BOVIN	122144028	RNA-binding protein 40
1	5.57	7	BOVIN	172046087	39S ribosomal protein L9, mitochondrial
1	5.39	3	BOVIN	122132428	CUGBP Elav-like family member 3
1	5.10	1	BOVIN	158705953	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 25
1	5.03	15	BOVIN	110816479	Ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2

1440 FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
14	198.64	69	BOVIN	66773956	Peroxiredoxin-1
1	19.35	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
2	15.20	10	BOVIN	23822218	Serine--trna ligase, mitochondrial
1	12.53	2	BOVIN	122143589	Keratin, type II cytoskeletal 79
1	12.49	4	CAPHI	84029298	Glutathione S-transferase P
1	12.20	1	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
1	12.02	3	SHEEP	13124234	Estrogen receptor beta
1	11.89	12	BOVIN	122138751	Neuroblastoma breakpoint family member 6-like protein
1	11.04	2	RABBIT	75042964	Calcium-independent phospholipase A2-gamma
1	10.69	5	BOVIN	122142441	Neuronal membrane glycoprotein M6-a
1	10.62	0	BOVIN	127295	Cation-independent mannose-6-phosphate receptor
1	10.20	1	RABBIT	38605645	Myosin heavy chain, skeletal muscle
1	10.16	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	9.53	1	BOVIN	403399712	Angiomotin-like protein 1
1	9.50	5	BOVIN	146345391	Complement factor B
1	9.12	0	RABBIT	118572273	Cortactin-binding protein 2
1	8.81	0	BOVIN	317411863	Protein MMS22-like
1	8.74	4	RABBIT	54035918	Coronin-1B
1	8.50	4	BOVIN	160419150	Pleckstrin homology domain-containing family O member 1
1	8.32	4	BOVIN	122140246	Bile acid receptor
1	8.17	2	BOVIN	182702190	Ubiquitin-like modifier-activating

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
					enzyme 1
1	8.00	10	BOVIN	1170648	Guanylate kinase
1	7.96	0	BOVIN	8039801	E3 SUMO-protein ligase ranbp2
1	7.80	2	BOVIN	122136975	Putative aspartate aminotransferase, cytoplasmic 2
1	7.78	4	BOVIN	1352615	Lipoamide acyltransferase component of branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase complex, mitochondrial
1	7.57	6	BOVIN	124053358	39S ribosomal protein L55, mitochondrial
1	7.49	0	BOVIN	75055812	Myosin-2
1	7.35	1	BOVIN	56405094	Rab5 GDP/GTP exchange factor
1	7.34	0	BOVIN	115502258	Methionine synthase
1	7.24	2	RABBIT	38503250	Chloride transport protein 6
1	7.21	4	RABBIT	8928333	Amiloride-sensitive sodium channel subunit alpha
1	7.07	10	BOVIN	122143006	Gastrotropin
1	7.04	3	RABBIT	44889024	Serum albumin
1	6.98	3	BOVIN	391359310	Lysyl oxidase homolog 2
1	6.36	2	BOVIN	300680853	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase BAP1
1	6.28	3	BOVIN	122136137	RNA polymerase II-associated factor 1 homolog
1	6.25	7	BOVIN	119368239	Coiled-coil domain-containing protein 124
1	6.24	5	BOVIN	122140210	Carbonyl reductase [NADPH] 1
1	6.17	1	BOVIN	317411683	Microtubule-associated protein 10
1	6.06	2	BOVIN	75057774	Thrombospondin type-1 domain-containing protein 1
1	6.05	0	RABBIT	1170686	Phosphorylase b kinase regulatory subunit alpha, liver isoform
1	6.01	0	BOVIN	327507692	Cyclin-dependent kinase 12
1	5.94	3	BOVIN	55584164	Estrogen receptor
1	5.90	0	BOVIN	166218738	Junctional protein associated with coronary artery disease homolog
1	5.84	3	BOVIN	122146515	TNF receptor-associated factor 6
1	5.81	2	BOVIN	332278126	Short transient receptor potential channel 4
1	5.77	2	RABBIT	75071553	Arf-GAP with coiled-coil, ANK repeat and PH domain-containing protein 2
1	5.75	5	BOVIN	75057549	Intraflagellar transport protein 20 homolog
1	5.73	5	BOVIN	75070059	Dual specificity mitogen-activated protein kinase kinase 6
1	5.69	3	BOVIN	122137066	Proteasome subunit beta type-7
1	5.65	5	BOVIN	122138654	Uncharacterized protein c10orf120 homolog
1	5.61	42	BOVIN	20141095	Thymosin beta-10
1	5.58	12	BOVIN	110278818	ADP-ribosylation factor-like protein 1
1	5.43	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	5.34	2	BOVIN	166198272	Alpha-aminoacidic semialdehyde synthase, mitochondrial
1	5.32	1	RABBIT	52000780	Protein phosphatase 1 regulatory

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
					subunit 3A
1	5.31	7	BOVIN	118568024	Cyclin-dependent kinase 10
1	5.31	1	BOVIN	187608853	Origin recognition complex subunit 1
1	5.23	5	BOVIN	71153228	Cleavage stimulation factor subunit 2
1	5.16	7	BOVIN	75057940	Anamorsin
1	5.13	0	BOVIN	75065956	Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 2
1	5.05	1	BOVIN	122145753	Protein ABHD8

1544 FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
8	100.97	52	RABBIT	464772	Superoxide dismutase [Cu-Zn]
2	26.88	3	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
2	22.33	1	SHEEP	60391794	Abnormal spindle-like microcephaly-associated protein homolog
2	15.93	10	BOVIN	23822218	Serine--trna ligase, mitochondrial
1	15.35	1	BOVIN	17367101	Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1
1	13.89	5	BOVIN	122140300	Coiled-coil domain-containing protein 113
1	11.90	7	SHEEP	3023552	Cholesterol side-chain cleavage enzyme, mitochondrial
1	10.58	1	BOVIN	121957975	ATP-citrate synthase
1	10.39	4	BOVIN	122145603	Catenin beta-1
1	10.20	3	RABBIT	44889024	Serum albumin
1	9.90	6	BOVIN	182627484	Alanine aminotransferase 1
1	9.88	10	BOVIN	122135317	Coiled-coil domain-containing protein 54
1	9.55	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	9.28	5	RABBIT	1169841	Gastrin/cholecystokinin type B receptor
1	9.19	3	BOVIN	122133982	Mitoguardin 2
1	9.07	3	BOVIN	122132394	Sorting nexin-29
1	8.82	3	BOVIN	75069155	Pyruvate dehydrogenase phosphatase regulatory subunit, mitochondrial
1	8.41	4	BOVIN	122132324	Rho gtpase-activating protein 10
1	8.40	0	BOVIN	317411863	Protein MMS22-like
1	8.05	2	SYLFL	61213830	Myc proto-oncogene protein
1	8.05	1	BOVIN	122144437	Pro-interleukin-16
1	7.31	1	BOVIN	56405094	Rab5 GDP/GTP exchange factor
1	7.12	11	RABBIT	20137777	Complement component C8 gamma chain
1	7.11	3	BOVIN	548387	NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 1, mitochondrial
1	6.92	2	BOVIN	75057908	Cochlin
1	6.89	10	BOVIN	122145585	Peroxisomal membrane protein 11A
1	6.88	11	BOVIN	75043207	Interleukin-17A
1	6.80	6	BOVIN	122140227	Probable tubulin polyglutamylase TTL9
1	6.77	5	BOVIN	75073791	Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit alpha

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	6.75	1	BOVIN	126215701	Dermatan-sulfate epimerase
1	6.66	1	BOVIN	296439718	Serine/threonine-protein kinase N1
1	6.55	5	BOVIN	20141313	Connective tissue growth factor
1	6.48	0	RABBIT	6225077	Anion exchange protein 3
1	6.45	1	BOVIN	166231746	116 kda U5 small nuclear ribonucleoprotein component
1	6.40	3	RABBIT	116243032	C-C chemokine receptor type 5
1	6.26	4	BOVIN	75057872	Nectin-4
1	6.12	9	BOVIN	75040222	Growth arrest and DNA damage-inducible protein GADD45 beta
1	6.04	2	BOVIN	75057594	Tyrosine aminotransferase
1	5.95	1	BOVIN	122145594	Telomeric repeat-binding factor 2-interacting protein 1
1	5.92	5	BOVIN	160332379	PC4 and SFRS1-interacting protein
1	5.88	2	BOVIN	257096826	Protein THEMIS
1	5.86	8	BOVIN	167016607	Short-chain dehydrogenase/reductase family 9C member 7
1	5.83	2	BOVIN	122135948	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase MINDY-2
1	5.82	2	BOVIN	122136936	UPF0602 protein c4orf47 homolog
1	5.76	3	BOVIN	122137066	Proteasome subunit beta type-7
1	5.71	1	RABBIT	14194460	A-kinase anchor protein 9
1	5.67	4	BOVIN	166218807	Keratin, type II cytoskeletal 80
1	5.63	2	BOVIN	122146098	Glutaredoxin-2, mitochondrial
1	5.41	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	5.34	1	BOVIN	145558884	Coatomer subunit beta
1	5.33	0	BOVIN	115502258	Methionine synthase
1	5.23	2	BOVIN	122142806	Pre-mrna-processing factor 6
1	5.15	2	SHEEP	125091	Keratin, type I microfibillar, 47.6 kda
1	5.01	4	RABBIT	1168850	T-lymphocyte activation antigen CD80

1626 FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
8	106.68	49	BOVIN	109893296	Retinol-binding protein 1
4	47.40	7	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
2	23.13	1	SHEEP	60391794	Abnormal spindle-like microcephaly-associated protein homolog
1	20.87	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
1	18.24	2	BOVIN	122143589	Keratin, type II cytoskeletal 79
1	16.29	4	BOVIN	122135990	U4/U6 small nuclear ribonucleoprotein Prp3
1	15.06	8	BOVIN	75055545	Lysozyme C, milk isozyme
1	13.39	5	BOVIN	122142441	Neuronal membrane glycoprotein M6-a
1	13.11	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	11.60	8	SHEEP	54035753	Cofilin-1
1	11.11	1	BOVIN	75064971	Uveal autoantigen with coiled-coil domains and ankyrin repeats protein
1	10.51	1	BOVIN	317412164	Ubinuclein-2
1	10.38	1	BOVIN	11131272	A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 2

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	9.88	3	BOVIN	347662311	Brain-specific angiogenesis inhibitor 1-associated protein 2-like protein 2
1	9.71	15	BOVIN	114149276	Probable dimethyladenosine transferase
1	9.58	2	RABBIT	75071553	Arf-GAP with coiled-coil, ANK repeat and PH domain-containing protein 2
1	9.40	4	BOVIN	109818885	Beclin-1
1	8.56	2	BOVIN	122134590	Erlin-2
1	8.33	3	BOVIN	408387570	Aurora kinase A and ninein-interacting protein
1	8.18	8	RABBIT	1717774	Troponin T, fast skeletal muscle
1	8.13	6	RABIT	18203610	Voltage-gated potassium channel subunit beta-1
1	8.13	1	BOVIN	387935420	Inactive serine/threonine-protein kinase TEX14
1	8.08	2	BOVIN	9910629	Activin receptor type-2B
1	8.05	2	BOVIN	122135735	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 15
1	8.01	2	BOVIN	550544311	Arachidonate 15-lipoxygenase
1	7.99	6	BOVIN	91207336	RNA-binding protein 4
1	7.84	6	BOVIN	75057940	Anamorsin
1	7.76	4	BOVIN	122142337	Serine/threonine-protein kinase H1
1	7.61	1	BOVIN	12643711	1-phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate phosphodiesterase beta-4
1	7.55	3	BOVIN	122140293	Protein FAM216A
1	7.55	4	BOVIN	290463401	Zinc finger and BTB domain-containing protein 18
1	7.41	3	RABBIT	115503757	4F2 cell-surface antigen heavy chain
1	7.09	5	RABBIT	55976203	Interleukin-6
1	6.94	4	BOVIN	114150042	Myoneurin
1	6.90	6	BOVIN	122143469	Reticulon-4-interacting protein 1, mitochondrial
1	6.77	2	BOVIN	122143420	Exocyst complex component 3
1	6.75	5	RABBIT	464354	Platelet-derived growth factor subunit A
1	6.74	4	BOVIN	110287992	Thyroid receptor-interacting protein 6
1	6.64	6	BOVIN	110278999	Histone H2B type 1-N
1	6.56	0	SHEEP	586122	Richohyalin
1	6.39	6	BOVIN	166215186	ER membrane protein complex subunit 10
1	6.32	2	BOVIN	122136936	UPF0602 protein c4orf47 homolog
1	6.29	4	BOVIN	1346363	Camp-dependent protein kinase catalytic subunit alpha
1	6.28	6	BOVIN	122145554	Cytoplasmic trna 2-thiolation protein 1
1	6.25	10	BOVIN	122145585	Peroxisomal membrane protein 11A
1	6.07	1	BOVIN	122142499	Keratin, type I cytoskeletal 28
1	5.94	1	BOVIN	55976506	Breast cancer type 1 susceptibility protein homolog
1	5.86	1	BOVIN	122135991	Mitochondrial enolase superfamily member 1
1	5.78	3	BOVIN	254789328	Flotillin-2
1	5.71	3	BOVIN	122137066	Proteasome subunit beta type-7
1	5.71	2	BOVIN	137471	V-type proton atpase subunit C 1

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	5.68	1	BOVIN	46576871	Adhesion G protein-coupled receptor L1
1	5.62	10	BOVIN	75052656	40S ribosomal protein S6
1	5.57	1	BOVIN	190359402	Folylpolyglutamate synthase, mitochondrial
1	5.56	0	BOVIN	1042782300	Fibrillin-1
1	5.55	7	BOVIN	122056017	Ribosome biogenesis protein BRX1 homolog
1	5.52	1	BOVIN	75069980	Lon protease homolog, mitochondrial
1	5.51	3	SHEEP	2500920	Thyroid hormone receptor alpha
1	5.50	10	RABBIT	17378880	Myelin basic protein
1	5.48	3	RABBIT	54035918	Coronin-1B
1	5.27	1	BOVIN	3023736	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 3
1	5.23	1	BOVIN	182667933	N-terminal kinase-like protein
1	5.14	0	BOVIN	17367101	Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1
1	5.11	0	BOVIN	118601082	Complement component C6
1	5.09	8	BOVIN	109895928	Ubiquitin domain-containing protein 1
1	5.09	7	BOVIN	399011	ADP/ATP translocase 1
1	5.08	4	BOVIN	108864719	Acidic leucine-rich nuclear phosphoprotein 32 family member B
1	5.07	7	BOVIN	229891741	RISC-loading complex subunit TARBP2

1756 FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
4	57.59	22	RABBIT	1170098	Glutathione S-transferase Mu 1
4	41.43	7	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
2	25.24	1	SHEEP	60391794	Abnormal spindle-like microcephaly-associated protein homolog
1	20.91	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
1	19.04	2	BOVIN	122143589	Keratin, type II cytoskeletal 79
1	13.93	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	13.00	6	BOVIN	109893296	Retinol-binding protein 1
1	9.72	3	BOVIN	122069970	Septin-5
1	9.47	4	BOVIN	550544283	Cytoplasmic trna 2-thiolation protein 2
1	9.25	5	BOVIN	94717663	RNA-binding protein NOB1
1	8.70	0	BOVIN	75065955	Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 3
1	8.67	4	BOVIN	223635794	Septin-14
1	8.24	1	BOVIN	109892825	Polycystin-2
1	8.09	3	BOVIN	239977652	Protein SMG8
1	7.89	4	BOVIN	2498691	Outer dense fiber protein 1
1	7.28	8	BOVIN	122142706	GA-binding protein subunit beta-1
1	7.17	10	BOVIN	122143006	Gastrotropin
1	6.98	0	BOVIN	158513559	Thioredoxin domain-containing protein 11
1	6.79	2	BOVIN	259530983	Serine/threonine-protein kinase PLK4
1	6.74	15	BOSMU	116248087	Glycoprotein hormones alpha chain

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	6.69	4	BOVIN	110287958	Sorting nexin-2
1	6.65	2	BOVIN	75070057	Transcription factor Sp2
1	6.64	1	BOVIN	187609595	Recname: Full=Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5
1	6.59	2	BOVIN	353558903	Dnaj homolog subfamily C member 21
1	6.55	10	BOVIN	126360402	RING finger protein 151
1	6.51	17	BOVIN	83305915	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit TIM14
1	6.40	1	BOVIN	122136984	Outer dense fiber protein 2
1	6.40	5	RABBIT	2499094	Urea transporter 2
1	6.39	3	BOVIN	122145283	Dual specificity protein phosphatase 10
1	6.33	0	BOVIN	115502258	Methionine synthase
1	6.23	5	BOVIN	122144265	RNA-binding protein 42
1	6.11	5	BOVIN	135383	Microtubule-associated protein tau
1	6.04	1	BOVIN	961512593	Plasma membrane calcium-transporting atpase 4
1	6.02	3	BOVIN	75063134	Krev interaction trapped protein 1
1	6.00	2	BOVIN	122143852	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 3
1	5.72	3	BOVIN	110816439	Transaldolase
1	5.69	3	BOVIN	122137066	Proteasome subunit beta type-7
1	5.57	0	BOVIN	187611407	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC1
1	5.48	1	RABBIT	464542	V(D)J recombination-activating protein 1
1	5.44	3	BOVIN	122138165	ADP/ATP translocase 4
1	5.39	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	5.30	1	BOVIN	167011766	UBX domain-containing protein 4
1	5.27	0	BOVIN	166227816	Inositol hexakisphosphate and diphosphoinositol-pentakisphosphate kinase 1
1	5.25	6	RABBIT	2497615	Bactericidal permeability-increasing protein
1	5.08	3	BOVIN	88930445	Histone-binding protein RBBP7
1	5.01	6	BOVIN	116248184	LIM and cysteine-rich domains protein 1

1800 FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	21.50	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
2	17.35	3	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
1	14.58	23	RABBIT	464772	Superoxide dismutase [Cu-Zn]
1	13.77	2	BOVIN	122143589	Keratin, type II cytoskeletal 79
2	13.25	11	BOVIN	6648071	Fatty acid-binding protein, epidermal
1	12.72	1	BOVIN	322518590	G-protein coupled receptor family C group 6 member A
1	11.60	11	BOVIN	116256284	T-cell surface glycoprotein CD3 gamma chain
1	11.60	5	BOVIN	122142441	Neuronal membrane glycoprotein M6-a
1	11.18	2	RABBIT	116596	Complement C3 alpha chain

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	11.00	4	SHEEP	113582	Serum albumin
1	10.87	10	BOVIN	12643505	Dnaj homolog subfamily C member 5
1	10.50	6	BOVIN	108935998	Golgi SNAP receptor complex member 1
1	9.68	6	SHEEP	55977070	Interleukin-12 subunit beta
1	8.90	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	8.52	1	BOVIN	85701291	Vitamin D-binding protein
1	8.30	15	BOSMU	116248087	Glycoprotein hormones alpha chain
1	8.20	2	BOVIN	114149276	Probable dimethyladenosine transferase
1	7.91	6	BOVIN	122145964	Ubiquitin-like protein 7
1	7.48	5	BOVIN	135383	Microtubule-associated protein tau
1	7.41	0	BOVIN	47606001	Rho-associated protein kinase 2
1	7.34	1	BOVIN	56405094	Rab5 GDP/GTP exchange factor
1	7.29	1	BOVIN	182627583	Cullin-associated NEDD8-dissociated protein 1
1	7.17	3	BOVIN	75069155	Pyruvate dehydrogenase phosphatase regulatory subunit, mitochondrial
1	7.11	3	BOVIN	122142499	Keratin, type I cytoskeletal 28
1	7.00	3	RABBIT	125493	Myosin light chain kinase 2, skeletal/cardiac muscle
1	6.88	2	BOVIN	18201973	Fascin-2
1	6.81	0	BOVIN	317411863	Protein MMS22-like
1	6.61	4	SHEEP	1345730	Centromere protein C
1	6.59	3	BOVIN	122136942	N-fatty-acyl-amino acid synthase/hydrolase PM20D1
1	6.29	3	BOVIN	115502143	ATP-dependent RNA helicase DDX55
1	5.92	11	BOVIN	110287953	Histone deacetylase complex subunit SAP18
1	5.88	2	BOVIN	122136936	UPF0602 protein c4orf47 homolog
1	5.87	4	BOVIN	122135989	Dynamin-1-like protein
1	5.84	3	BOVIN	122138159	Protein SMG9
1	5.81	4	RABBIT	47116940	Guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-15
1	5.80	6	BOSMU	961512526	Apolipoprotein E
1	5.79	3	BOVIN	156632589	Meiosis-specific nuclear structural protein 1
1	5.74	2	BOVIN	110287958	Sorting nexin-2
1	5.73	13	RABBIT	401209	Troponin I, fast skeletal muscle
1	5.53	2	BOVIN	12585267	Matrix metalloproteinase-20
1	5.51	1	BOVIN	3023736	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 3
1	5.50	4	BOVIN	122140082	Nitric oxide synthase-interacting protein
1	5.45	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	5.37	7	BOVIN	68565186	Collagen alpha-2(IV) chain
1	5.37	5	BOVIN	75057841	Trna wybutosine-synthesizing protein 3 homolog
1	5.30	0	BOVIN	134034124	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 2
1	5.25	3	BOVIN	119369428	Eukaryotic peptide chain release factor subunit 1

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	5.21	3	RABBIT	127965	NADPH--cytochrome P450 reductase
1	5.11	4	BOVIN	119370652	Heart- and neural crest derivatives-expressed protein 1
1	5.11	1	BOVIN	114402	ATP synthase subunit alpha, mitochondrial
1	5.11	2	BOVIN	1351166	Synapsin-1
1	5.07	5	BOVIN	110832801	Cellular nucleic acid-binding protein

1804 FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
22	302.42	64	RABBIT	1703316	Annexin A1
1	20.93	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
1	19.07	2	BOVIN	122143589	Keratin, type II cytoskeletal 79
1	12.95	3	BOVIN	122135056	AP-3 complex subunit mu-1
1	12.92	5	BOVIN	122142441	Neuronal membrane glycoprotein M6-a
2	12.67	5	BOVIN	1703313	Atrial natriuretic peptide receptor 3
1	11.00	2	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
1	10.92	7	BOVIN	73921836	Proteasome activator complex subunit 1
1	10.69	9	BOVIN	23822218	Serine--trna ligase, mitochondrial
1	10.00	2	RABBIT	75042964	Calcium-independent phospholipase A2-gamma
1	9.85	5	RABBIT	116243032	C-C chemokine receptor type 5
1	9.51	4	BOVIN	122134016	Dolichol-phosphate mannosyltransferase subunit 1
1	9.44	4	BOVIN	147642093	ETS-related transcription factor Elf-1
1	9.17	1	RABBIT	38605645	Myosin heavy chain, skeletal muscle
1	9.16	6	BOVIN	338810405	HORMA domain-containing protein 1
1	9.00	1	BOVIN	160185594	Spermatid-associated protein
1	8.88	1	BOVIN	122136194	Nostrin
1	8.86	3	BOVIN	50400627	Interleukin-12 receptor subunit beta-2
1	8.47	5	BOVIN	122140300	Coiled-coil domain-containing protein 113
1	7.84	9	BOVIN	146325802	Testis-specific gene 13 protein
1	7.62	2	BOVIN	93141264	Fibrinogen alpha chain
1	7.57	5	BOVIN	109892805	Endonuclease III-like protein 1
1	7.44	3	BOVIN	90101423	Arf-GAP domain and FG repeat-containing protein 1
1	7.23	2	BOVIN	122144873	Tudor domain-containing protein 3
1	7.20	3	RABBIT	3915202	Upstream stimulatory factor 1
1	7.18	0	BOVIN	148841185	Protein transport protein Sec23A
1	7.02	1	BOVIN	120759	Gamma-aminobutyric acid receptor subunit alpha-3
1	6.86	7	SHEEP	115311322	C-C chemokine receptor type 9
1	6.74	1	RABBIT	8134743	Triadin
1	6.52	0	BOVIN	127295	Cation-independent mannose-6-phosphate receptor
1	6.50	2	BOVIN	182676520	Hydroxysteroid dehydrogenase-like protein 2
1	6.26	6	BOVIN	122142996	Isovaleryl-coa dehydrogenase, mitochondrial

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	6.26	1	BOVIN	75044932	Toll-like receptor 6
1	6.25	5	RABBIT	125493	Myosin light chain kinase 2, skeletal/cardiac muscle
1	6.19	1	BOVIN	122143239	Tonsoku-like protein
1	6.15	4	BOVIN	122142183	Phosphatidylinositol 5-phosphate 4-kinase type-2 gamma
1	6.00	1	BOVIN	150417958	Pre-mrna-splicing factor SLU7
1	5.95	0	BOVIN	75065956	Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 2
1	5.90	35	BOVIN	122065223	Islet amyloid polypeptide
1	5.87	2	BOVIN	122136936	UPF0602 protein c4orf47 homolog
1	5.87	9	BOVIN	68053022	Tubulin-folding cofactor B
1	5.85	0	BOVIN	115502258	Methionine synthase
1	5.82	2	BOVIN	122142498	Keratin, type II cytoskeletal 71
1	5.82	2	BOVIN	410591700	E3 ubiquitin-protein ligase UHRF1
1	5.71	1	BOVIN	187608853	Origin recognition complex subunit 1
1	5.68	2	BOVIN	317374803	Cytosolic carboxypeptidase 3
1	5.55	9	BOVIN	108860895	Serine/threonine-protein phosphatase PP1-alpha catalytic subunit
1	5.54	49	SHEEP	127369	Metallothionein-1C
1	5.42	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	5.36	0	BOVIN	730946	Angiopietin-1 receptor
1	5.28	11	BOVIN	75073588	Histone H2B subacrosomal variant
1	5.13	0	BOVIN	2500541	ATP-dependent RNA helicase A
1	5.12	7	RABBIT	75073946	Lipase member H
1	5.05	3	BOVIN	2494345	Proenkephalin-B
1	5.01	6	BOVIN	116248184	LIM and cysteine-rich domains protein 1

1855 FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
3	36.97	12	RABBIT	1703316	Annexin A1
2	26.91	13	BOVIN	119800	Fatty acid-binding protein, heart
1	19.80	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
1	12.04	6	BOVIN	190358741	Ribosomal RNA processing protein 36 homolog
1	9.93	3	BOVIN	122134301	Chloride channel CLIC-like protein 1
1	9.88	5	BOVIN	122142441	Neuronal membrane glycoprotein M6-a
1	9.66	7	BOVIN	122140781	Protein unc-50 homolog
1	9.13	5	BOVIN	94717663	RNA-binding protein NOB1
1	8.86	4	BOVIN	109940060	Calbindin
1	8.79	6	BOVIN	108935998	Golgi SNAP receptor complex member 1
1	8.54	1	BOVIN	122142787	Radical S-adenosyl methionine domain-containing protein 2
1	8.39	3	RABBIT	2842741	Cellular tumor antigen p53
1	8.19	2	BOVIN	122143589	Keratin, type II cytoskeletal 79
1	8.07	5	BOVIN	122133621	Arpin
1	7.90	1	BOVIN	12644428	Thrombospondin-1
1	7.86	9	BOVIN	23822218	Serine--trna ligase, mitochondrial
1	7.36	1	BOVIN	56405094	Rab5 GDP/GTP exchange factor

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	7.34	4	BOVIN	122135990	U4/U6 small nuclear ribonucleoprotein Prp3
1	6.96	11	BOVIN	122143480	3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase
1	6.75	2	SHEEP	2493802	Gap junction alpha-8 protein
1	6.70	3	BOVIN	387912851	Metalloendopeptidase OMA1, mitochondrial
1	6.49	3	BOVIN	75066885	Interferon-induced GTP-binding protein Mx2
1	6.47	0	BOVIN	134034124	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 2
1	6.38	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	6.20	5	BOVIN	182627522	Beta-centractin
1	5.93	8	BOVIN	75060485	Syndecan-2
1	5.90	3	BOVIN	122143853	RNA 3'-terminal phosphate cyclase-like protein
1	5.89	4	BOVIN	122143022	Transformer-2 protein homolog beta
1	5.84	2	BOVIN	122136936	UPF0602 protein c4orf47 homolog
1	5.74	1	BOVIN	122138675	Dynein regulatory complex protein 1
1	5.74	1	RABBIT	24418477	Potassium voltage-gated channel subfamily B member 1
1	5.70	3	BOVIN	122137066	Proteasome subunit beta type-7
1	5.60	3	BOVIN	160395541	Methyltransferase-like protein 13
1	5.57	3	BOVIN	239977652	Protein SMG8
1	5.54	1	SHEEP	263504928	Nuclear receptor subfamily 1 group D member 1
1	5.43	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	5.42	2	SHEEP	121957977	ATP-citrate synthase
1	5.31	1	BOVIN	187609595	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H5
1	5.25	6	BOVIN	13629326	Creatine kinase U-type, mitochondrial
1	5.04	7	BOVIN	122136032	Cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-3
1	5.03	1	BOVIN	44888536	X-linked retinitis pigmentosa gtpase regulator-interacting protein 1

1856 FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
4	49.06	8	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
3	41.35	5	BOVIN	122132186	Keratin, type II cytoskeletal 75
1	14.36	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	12.87	2	BOVIN	75057864	Protein prune homolog
1	12.72	6	BOVIN	108935998	Golgi SNAP receptor complex member 1
1	12.27	5	BOVIN	122142441	Neuronal membrane glycoprotein M6-a
1	11.98	7	BOVIN	73921836	Proteasome activator complex subunit 1
1	11.23	4	BOVIN	122135990	U4/U6 small nuclear

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
					ribonucleoprotein Prp3
1	11.12	6	BOVIN	190358741	Ribosomal RNA processing protein 36 homolog
1	10.60	4	BOVIN	290463326	Ubiquitin-like modifier-activating enzyme 5
1	10.46	1	RABBIT	5915705	Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium atpase 2
1	10.42	10	BUBCA	118595637	Interleukin-6
1	10.23	2	BOVIN	109892825	Polycystin-2
1	9.85	2	RABBIT	1708372	Hyaluronidase PH-20
1	9.74	6	BOVIN	338810405	HORMA domain-containing protein 1
1	9.17	5	BOVIN	94717663	RNA-binding protein NOB1
1	8.98	3	BOVIN	122069970	Septin-5
1	8.94	0	BOVIN	122146029	Fibrous sheath CABYR-binding protein
1	8.62	7	BOVIN	116242697	Phytanoyl-coa dioxygenase, peroxisomal
1	8.23	4	BOVIN	550544283	Cytoplasmic trna 2-thiolation protein 2
1	7.79	32	BOVIN	32363164	Glycolactin
1	7.73	5	BOVIN	146345391	Complement factor B
1	7.73	3	BOVIN	190360256	RWD domain-containing protein 3
1	7.67	6	BOVIN	110278999	Histone H2B type 1-N
1	7.53	1	BOVIN	150417958	Pre-mrna-splicing factor SLU7
1	7.28	2	BOVIN	403399741	Angiototin-like protein 2
1	7.10	9	BOVIN	17366501	Phakinin
1	7.00	6	RABBIT	1706411	Corticosteroid 11-beta-dehydrogenase isozyme 2
1	6.78	2	BOVIN	109940216	KN motif and ankyrin repeat domain-containing protein 2
1	6.75	1	RABBIT	125560	Protein kinase C gamma type
1	6.66	9	BOVIN	166989658	Growth arrest and DNA damage-inducible proteins-interacting protein 1
1	6.61	1	BOVIN	403399712	Angiototin-like protein 1
1	6.44	6	BOVIN	122140749	Dnaj homolog subfamily B member 11
1	6.37	4	BOVIN	122143227	2-methoxy-6-polyprenyl-1,4-benzoquinol methylase, mitochondrial
1	6.35	1	BOVIN	182662401	Maestro heat-like repeat-containing protein family member 1
1	6.32	0	BOVIN	115502258	Methionine synthase
1	6.32	2	BOVIN	544051	Calcium/calmodulin-dependent 3',5'-cyclic nucleotide phosphodiesterase 1B
1	6.05	15	BOVIN	122145078	COX assembly mitochondrial protein homolog
1	5.82	3	BOVIN	1168249	Alpha-2-antiplasmin
1	5.75	3	BOVIN	122137066	Proteasome subunit beta type-7
1	5.73	6	BOVIN	122136159	Guanine nucleotide exchange factor for Rab-3A
1	5.54	3	RABBIT	115503757	4F2 cell-surface antigen heavy chain
1	5.54	4	BOVIN	71153055	P21-activated protein kinase-

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
					interacting protein 1
1	5.50	2	BOVIN	12643711	1-phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate phosphodiesterase beta-4
1	5.42	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	5.36	2	BOVIN	171769868	Neurolysin, mitochondrial
1	5.27	1	BOVIN	110278945	Elongation factor 1-alpha 2
1	5.26	0	BOVIN	118601082	Complement component C6
1	5.26	0	BOVIN	730946	Angiotensin-1 receptor
1	5.22	4	BOVIN	122140383	Epithelial cell adhesion molecule
1	5.21	7	BOVIN	82592596	14-3-3 protein theta
1	5.16	8	BOVIN	122143024	RNA-binding motif, single-stranded-interacting protein 2
1	5.15	5	BOVIN	109896329	Zinc finger protein 345
1	5.15	3	BOVIN	122136017	WD repeat-containing protein 5
1	5.11	3	BOVIN	122135297	Histone-lysine N-methyltransferase KMT5B
1	5.07	3	BOVIN	75056168	Interphotoreceptor matrix proteoglycan 1
1	5.06	5	BOVIN	128999	C-X-C chemokine receptor type 4
1	5.06	2	BOVIN	75060948	Mevalonate kinase

1872 FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
8	90.47	45	RABBIT	51701855	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A
5	54.98	10	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
3	35.16	6	BOVIN	122135340	Keratin, type II cytoskeletal 7
1	15.11	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	11.95	2	BOVIN	75057805	Vacuolar protein sorting-associated protein 16 homolog
1	11.04	6	BOVIN	113545	A-kinase anchor protein 5
1	10.38	2	RABBIT	75056391	Cytosolic phospholipase A2
1	10.02	3	BOVIN	122069970	Septin-5
1	9.95	4	BOVIN	88909614	Folliculin
1	9.05	6	BOVIN	114149276	Probable dimethyladenosine transferase
1	8.85	9	BOVIN	23822218	Serine--trna ligase, mitochondrial
1	8.82	1	BOVIN	408407704	RDNA replication ATP-dependent helicase/nuclease DNA2
1	8.74	1	BOVIN	122144778	RAS guanyl-releasing protein 4
1	8.62	6	BOVIN	122143475	Selenide, water dikinase 1
1	8.54	0	BOVIN	75055810	Myosin-7
1	8.52	5	BOVIN	109895222	Trafficking protein particle complex subunit 6B
1	8.29	6	BOVIN	586161	Uroplakin-3a
1	8.25	1	BOVIN	122142978	Extracellular matrix protein 2
1	8.11	2	BOVIN	182643376	Collectin-12
1	7.57	4	BOVIN	122056017	Ribosome biogenesis protein BRX1 homolog
1	7.47	2	BOVIN	119367377	Suppressor of cytokine signaling 4

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	7.39	4	BOVIN	115304196	Hydroxymethylglutaryl-coa synthase, mitochondrial
1	7.34	3	BOVIN	75070025	Ras suppressor protein 1
1	7.29	4	BOVIN	193806474	Serine incorporator 3
1	7.11	2	BOVIN	2495028	Thyrotropin receptor
1	7.09	0	BOVIN	115502258	Methionine synthase
1	6.93	3	RABBIT	75074825	Cyclin-dependent kinase-like 2
1	6.92	1	BOVIN	122139236	Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 1-like
1	6.91	6	BOVIN	108935825	Brain-derived neurotrophic factor
1	6.88	1	BOVIN	56405094	Rab5 GDP/GTP exchange factor
1	6.76	8	BOVIN	585716	Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase
1	6.73	3	BOVIN	190360256	RWD domain-containing protein 3
1	6.69	6	BOVIN	110278999	Histone H2B type 1-N
1	6.62	1	RABBIT	27151684	Solute carrier family 12 member 4
1	6.57	33	BOVIN	226738915	Overexpressed in colon carcinoma 1 protein homolog
1	6.51	1	BOVIN	122145594	Telomeric repeat-binding factor 2-interacting protein 1
1	6.44	2	BOVIN	122143522	YTH domain-containing family protein 2
1	6.08	5	BOVIN	12644205	Glycylpeptide N-tetradecanoyltransferase 1
1	5.98	2	BOVIN	116242770	28S ribosomal protein S9, mitochondrial
1	5.89	4	BOVIN	122143022	Transformer-2 protein homolog beta
1	5.87	2	BOVIN	122136936	UPF0602 protein c4orf47 homolog
1	5.87	1	BOVIN	189037070	CDP-diacylglycerol--glycerol-3-phosphate 3-phosphatidyltransferase, mitochondrial
1	5.77	18	BOVIN	147703791	Lysozyme-like protein 1
1	5.75	2	BOVIN	122146515	TNF receptor-associated factor 6
1	5.73	0	BOVIN	182645386	DNA excision repair protein ERCC-6-like
1	5.62	7	BOVIN	118600958	Actin-related protein 2/3 complex subunit 1A
1	5.42	3	BOVIN	75073791	Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit alpha
1	5.34	1	BOVIN	118572489	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II subunit beta
1	5.30	2	BOVIN	115305840	T-complex protein 1 subunit eta
1	5.26	2	BOVIN	172044135	DNA replication licensing factor MCM3
1	5.12	5	BOVIN	122146338	MARCKS-related protein
1	5.03	0	RABBIT	55976305	Sodium channel protein type 9 subunit alpha

1875A FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	20.82	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	13.99	3	BOVIN	146345491	Peroxiredoxin-5, mitochondrial
1	12.36	2	BOVIN	122143589	Keratin, type II cytoskeletal 79
1	12.36	4	RABBIT	20178272	Tropomyosin beta chain
1	11.01	8	BOVIN	47117083	60S ribosomal protein L26
1	10.73	2	BOVIN	115290	Collagen alpha-1(III) chain
1	10.70	8	BOVIN	125156	GTP:AMP phosphotransferase AK3, mitochondrial
1	10.52	4	BOVIN	158705955	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 26
1	10.45	6	BOVIN	122138609	Protein TBATA
1	10.34	2	BOVIN	189046782	Lactosylceramide alpha-2,3-sialyltransferase
1	9.86	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	9.76	4	BOVIN	119368826	Zinc finger protein 397
1	9.62	7	BOVIN	51702774	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A
1	9.59	2	BOVIN	60415927	Staphylococcal nuclease domain-containing protein 1
1	9.33	7	RABBIT	118574149	Testin
1	9.28	3	BOVIN	122064633	Nuclear RNA export factor 1
1	9.21	3	BOVIN	75039950	Oxidoreductase NAD-binding domain-containing protein 1
1	8.60	4	RABBIT	17366976	Glucose-6-phosphate isomerase
1	8.23	0	BOVIN	46576871	Adhesion G protein-coupled receptor L1
1	8.13	3	BOVIN	209572874	5-aminolevulinic synthase, nonspecific, mitochondrial
1	7.94	2	RABBIT	1709141	Macrophage scavenger receptor types I and II
1	7.85	1	BOVIN	56405094	Rab5 GDP/GTP exchange factor
1	7.71	4	BOVIN	122140082	Nitric oxide synthase-interacting protein
1	7.58	3	BOVIN	122138695	LIM domain kinase 2
1	7.20	4	BOVIN	122140804	Asporin
1	7.03	4	RABBIT	20178120	Regucalcin
1	6.79	8	BOVIN	109940115	Osteopontin
1	6.54	2	BOVIN	122142446	Sphingomyelin phosphodiesterase
1	6.44	0	SHEEP	60391794	Abnormal spindle-like microcephaly-associated protein homolog
1	6.27	4	BOVIN	122140306	X-box-binding protein 1
1	6.25	1	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
1	6.12	0	BOVIN	127295	Cation-independent mannose-6-phosphate receptor
1	6.06	11	BOVIN	205829471	Marginal zone B- and B1-cell-specific protein
1	5.87	2	BOVIN	122136936	UPF0602 protein c4orf47 homolog
1	5.75	1	BOVIN	110825758	Zinc finger protein 148
1	5.71	3	BOVIN	122136959	TBC1 domain family member 20
1	5.68	3	BOVIN	118572230	Protein FAM71D
1	5.63	4	BOVIN	158706426	O(6)-methylguanine-induced apoptosis 2
1	5.58	2	BOVIN	62906889	Cyclic AMP-responsive element-binding protein 3
1	5.42	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	5.30	7	BOVIN	134038855	Tryptophan--trna ligase, mitochondrial
1	5.27	6	RABBIT	75052246	Amine sulfotransferase
1	5.23	2	BOVIN	2498309	Dihydropyrimidine dehydrogenase [NADP(+)]
1	5.17	0	BOVIN	182645386	DNA excision repair protein ERCC-6-like
1	5.15	0	BOVIN	263504738	NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 3
1	5.13	5	BOVIN	122145091	Guanine nucleotide-binding protein-like 3-like protein
1	5.07	6	BOVIN	122135281	Transcription elongation factor A protein 1

1875B FOC

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
12	161.21	62	RABBIT	51701855	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A
2	19.64	6	BOVIN	110815878	5'-nucleotidase domain-containing protein 1
1	18.36	1	BOVIN	75062316	Keratin, type II cytoskeletal 5
2	17.75	0	RABBIT	134134	Ryanodine receptor 1
1	12.85	6	BOVIN	215274927	Ribonuclease P protein subunit p40
1	12.79	0	RABBIT	118572630	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
1	11.19	3	BOVIN	182689546	Protein SDA1 homolog
1	10.68	3	CAPHI	78100135	Growth/differentiation factor 9
1	10.44	7	BOVIN	85540939	Charged multivesicular body protein 2b
1	10.36	2	RABBIT	75056391	Cytosolic phospholipase A2
1	10.12	5	BOVIN	68053269	E3 ubiquitin-protein ligase RNF25
1	8.41	1	BOVIN	125074	Keratin, type I cytoskeletal 10
1	8.26	2	BOVIN	161783814	Carboxypeptidase E
1	8.06	2	BOVIN	85701142	Mitochondrial-processing peptidase subunit beta
1	7.87	8	BOVIN	585716	Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase
1	7.75	3	BOVIN	75057811	Bystin
1	7.58	10	BOVIN	122143006	Gastrotropin
1	7.22	5	BOVIN	122135711	Leucine-rich repeat-containing protein 42
1	7.09	1	RABBIT	62901437	Transient receptor potential cation channel subfamily V member 1
1	7.04	2	BOVIN	187671930	Zinc finger CCCH domain-containing protein 14
1	6.85	4	BOVIN	75057729	Triokinase/FMN cyclase
1	6.83	1	BOVIN	122132413	Serine/threonine-protein kinase PRP4 homolog
1	6.79	4	BOVIN	108862056	60S ribosomal protein L5
1	6.77	3	RABBIT	129306	D-amino-acid oxidase
1	6.69	2	BOVIN	221228718	Ubiquitin thioesterase ZRANB1
1	6.57	0	RABBIT	75064665	Adenylate cyclase type 10

PEPTIDES	SCORE	COVER %	SPECIES	DATABASE	PROTEIN NAME
1	6.56	8	BOVIN	122133266	UPF0461 protein c5orf24 homolog
1	6.48	5	RABBIT	1170086	Glutathione S-transferase Yc
1	6.45	1	BOVIN	166231746	116 kda U5 small nuclear ribonucleoprotein component
1	6.44	10	BOVIN	110287781	Origin recognition complex subunit 6
1	5.87	2	BOVIN	122136936	UPF0602 protein c4orf47 homolog
1	5.84	7	BOVIN	166985992	RILP-like protein 2
1	5.78	1	BOVIN	150417958	Pre-mrna-splicing factor SLU7
1	5.65	3	BOVIN	75057859	Cell cycle checkpoint control protein RAD9B
1	5.60	5	BOVIN	97046019	Coiled-coil domain-containing protein 71
1	5.58	1	BOVIN	115502936	Zinc finger protein 668
1	5.49	9	BOVIN	1170477	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit alpha, mitochondrial
1	5.48	5	BOVIN	122144073	45 kda calcium-binding protein
1	5.42	0	BOVIN	408407566	E3 ubiquitin-protein ligase TRIP12
1	5.25	4	BOVIN	122135727	Polyglutamine-binding protein 1
1	5.22	5	BOVIN	158706501	DDB1- and CUL4-associated factor 12
1	5.14	2	BOVIN	75057886	CXXC-type zinc finger protein 1
1	5.13	1	BOVIN	317412164	Ubinuclein-2

XI. ABREVIATURAS

%: Porcentaje
 2D-PAGE: electroforesis bidimensional
 AA6: fracción 6 de fluido oviductal porcino de hembras adultas en fase periovulatoria
 AA7: fracción 7 de fluido oviductal porcino de hembras adultas en fase periovulatoria
 AA8: fracción 8 de fluido oviductal porcino de hembras adultas en fase periovulatoria
 AA9: fracción 9 de fluido oviductal porcino de hembras adultas en fase periovulatoria
 ABC: bicarbonato de amonio 25 mM
 ADN: ácido desoxirribonucleico
 AL6: fracción 6 de fluido oviductal porcino de hembras adultas en fase luteal
 AL7: fracción 7 de fluido oviductal porcino de hembras adultas en fase luteal
 AL8: fracción 8 de fluido oviductal porcino de hembras adultas en fase luteal
 AL9: fracción 9 de fluido oviductal porcino de hembras adultas en fase luteal
 AMPc: adenosil monofosfato cíclico
 AP6: fracción 6 de fluido oviductal porcino de hembras prepúberes
 AP7: fracción 7 de fluido oviductal porcino de hembras prepúberes
 AP8: fracción 8 de fluido oviductal porcino de hembras prepúberes
 AP9: fracción 9 de fluido oviductal porcino de hembras prepúberes
 ARN: ácido ribonucleico
 ARNm: ácido ribonucleico mensajero
 ATP: adenosin trifosfato
 BSA: albumina sérica bovina
 °C: grados centígrados
 C: citosina
 Ca²⁺: calcio
 CyDyes: Nucleótidos fluorescentes
 CCK: colecistioquinina
 CCO: complejos cúmulo-ovocito
 CETAB: bromuro de hexadecilditrimetilamonio
 CGP: células germinales primordiales
 CHAPS: 3-((3-cholamidopropyl) dimethylammonio)-1-propanesulfonate)
 Cl⁻: iones cloro
 CVF: fluido cervico vaginal
 DAD: detector diodo array
 DAVID: *Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery*
 DiGE: electroforesis diferencial
 DMBT1: proteína delecionada en tumores malignos de cerebro 1
 DMT: dimetilformamida
 DNA: ácido desoxirribonucleico
 DNAc: DNA complementario
 dNTPs: desoxirribonucleotidos trifosfato
 DPBS-PV-RF: Dulbecco's Phosphate Buffered Saline con alcohol polivinilo y Rojo Fenol
 dT: oligonucleótidos
 DTT: ditioneitol
 eCG: hormona coriogonadotropina equina
 EDTA: ácido etilendiaminotetraacético
 EIS: interfase tipo electrospray
 EEUU: Estados unidos
 FCS: factor citostático

FIV: fecundación *in vitro*
FO: fluido oviductal
FOB: fluido oviductal bovino
FOC: fluido oviductal cunícola
FOP: fluido oviductal porcino
FOPAL: fluido oviductal porcino luteal
FOPAPR: fluido oviductal porcino adulto periovulatorio
FOPP: fluido oviductal porcino prepúber
FPLC: *fast protein liquid chromatography*
FPM: factor promotor de la maduración
FSH: hormona estimuladora del folículo
G0: arresto mitótico
G: guanidina
GAG: glicosaminoglicano
GC: gránulos corticales
GnRH: hormona liberadora gonadotrofinas
GO: gene ontology
HCO₃: bicarbonato
HPLC: *high performance liquid chromatography*
HS: heparán sulfato
HSP: proteínas del choque térmico
HRP: peroxidasa
IEF: punto isoeléctrico
IGF-I: factor de crecimiento similar a insulina tipo uno
kD: kilo-Dalton
LDH: lipoproteína de alta densidad
LH: hormona luteinizante
M: molar
mA: miliamperios
MEC: matriz extracelular
Mg²⁺: magnesio
mg: miligramos
MII: metafase II
ml: mililitro
mM: milimolar
mS: milisiemens
MPF: factor promotor de la maduración
MS/MS: *Tandem Mass Spectrometry*
Na²⁺: sodio
NaCl: cloruro sódico
NBCI: centro nacional para la información biotecnológica.
nm: nanómetros
OPN: osteopontina
OVGP1: oviductina
P: probabilidad
PBS: solución salina fosfatada
PCA: análisis de componentes principales
PCR: reacción en cadena de la polimerasa

PCBP4: proteína de unión a fosfatidiletanolamina 4
PEBP4: proteína de unión a fosfatidil etanolamina 4
PGE2: prostaglandina E2
PGF2 α : prostaglandina F2 alpha
Pm: peso molecular
RA: reacción acrosómica
RDE: resistencia a la digestión enzimática
RGD: Arginina-Glicina-Aspártico
RNA: Ácido Ribonucleico
RNAase *OUT*: libre se RNAasas
ROS: especies reactivas al oxígeno
rpm: revoluciones por minuto
RVG: ruptura de la vesícula germinal
SACE: Servicio de Apoyo a las Ciencias Experimentales
SDS PAGE: gel de poliacrilamida con dodecil sulfato sódico
SDS: dodecil sulfato sódico
SPI: índice de precipitación estandarizada
SSF: solución Salina fisiológica
TA: temperatura ambiente
TAE: tampón Tris Acetato EDTA
TBST: solución salina tamponada Tris al 0.05% de Tween
TFA: trifluoroacético
Tm: temperatura de fusión media
TNF α : factor de necrosis tumoral alpha
UI: unidades internacionales
UV: ultravioleta
V: voltios
VEGF: factor de crecimiento del endotelio vascular
VG: vesícula germinal
WB: Western Blot
ZP: zona pelúcida
 μ g: microgramos
 μ l: microlitros

XII. BIBLIOGRAFÍA

- Abe, H. (1996). The mammalian oviductal epithelium: Regional variations in cytological and functional aspects of the oviductal secretory cells. *Histol Histopathol.* **11**, 743-768.
- Abe, H., and Hoshi, H. (2007). Regional and cyclic variations in the ultrastructural features of secretory cells in the oviductal epithelium of the Chinese Meishan pig. *Reprod Domest Anim* **42**, 292-298.
- Abe, H., and Hoshi, H. (2008). Morphometric and ultrastructural changes in ciliated cells of the oviductal epithelium in prolific Chinese Meishan and Large White pigs during the oestrous cycle. *Reprod Domest Anim* **43**, 66-73.
- Abe, H., and Oikawa, T. (1990). Ultrastructural evidence for an association between an oviductal glycoprotein and the zona-pellucida of the golden-hamster egg. *J Exp Zool* **256**, 210-221.
- Abe, H., and Oikawa, T. (1991). Immunocytochemical localization of an oviductal zona-pellucida glycoprotein in the oviductal epithelium of the golden-hamster. *Anat Rec* **229**, 305-314.
- Abe, H., Onodera, M., and Sugawara, S. (1995a). Immunological detection and characterization of an estrus-associated antigen in the goat oviduct. *J Exp Zool* **272**, 134-141.
- Abe, H., Satoh, T., and Hoshi, H. (1998). Primary modulation by oestradiol of the production of an oviduct-specific glycoprotein by the epithelial cells in the oviduct of newborn golden hamsters. *J Reprod Fertil* **112**, 157-163.
- Abe, H., Sendai, Y., Satoh, T., and Hoshi, H. (1995b). Bovine oviduct-specific glycoprotein - a potent factor for maintenance of viability and motility of bovine spermatozoa in-vitro. *Mol Reprod Dev* **42**, 226-232.
- Abe, H., Sendai, Y., Satoh, T., and Hoshi, H. (1995c). Secretory products of bovine oviductal epithelial-cells support the viability and motility of bovine spermatozoa in culture in-vitro. *J Exp Zool* **272**, 54-61.
- Abeydeera, L.R. (2002). In vitro production of embryos in swine. *Theriogenology.* **57(1)**, 256-73.
- Acott, T.S., Katz, D. F., and Hoskins D. D. (1983). Movement characteristics of bovine epididymal spermatozoa - effects of forward motility protein and epididymal maturation. *Biol Reprod* **29**:389-399.
- Acuña, O.S., Avilés, M., López-Úbeda, R., Guillén-Martínez, A., Soriano-Úbeda, C., Torrecillas, A., Coy, P., and Izquierdo-Rico, M.J. (2017). Differential gene expression in porcine oviduct during the oestrous cycle. *Reprod Fertil Dev* **29**, 2387- 2399.
- Aerts, J.M., and Bols, P.E.J. (2010). Ovarian Follicular Dynamics: A Review with Emphasis on the Bovine Species. Part I: Folliculogenesis and Pre-antral Follicle Development. *Reprod Dom Anim.* **45**: 171 – 179.
- Afify, A. M., Craig, S., and Paulino, A. F. (2006). Temporal variation in the distribution of hyaluronic acid, CD44s, and CD44v6 in the human endometrium across the menstrual cycle. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, **14(3)**, 328-333.
- Aitken R. J. (2017). Reactive oxygen species as mediators of sperm capacitation and pathological damage. *Mol reprod dev*, **84(10)**, 1039-1052.
- Al-Dossary, A.A., Strehler, E.E., and Martin-Deleon, P.A (2013). Expression and secretion of plasma membrane Ca²⁺-ATPase 4a (PMCAa) during murine estrus: association with oviductal exosomes and uptake in sperm. *PLoS One.* **14**, 80181
- Al-Dossary, A.A., and Martin-Deleon, P.A. (2016). Role of exosomes in the reproductive tract Oviductosomes mediate interactions of oviductal secretion with gametes/early embryo. *Front Biosci (Landmark Ed)* **21**, 1278-1285.
- Alcántara-Neto, A.S., Fernandez-Rufete, M., Corbin, E., Tsikis, G., Uzbekov, R., Garanina, A.S., Coy, P., Almiñana, C., Mermillod, P. (2020). Oviduct fluid extracellular vesicles regulate polyspermy during porcine in vitro fertilisation. *Reprod Fertil Dev.* **32(4)**:409-418.

- Algarra, B., Han, L., Soriano-Úbeda, C., Avilés, M., Coy, P., Jovine, L., and Jiménez Movilla, M. (2016). The C-terminal region of OVGP1 remodels the zona pellucida and modifies fertility parameters. *Sci Rep.* **6**, 32556.
- Almeida, F.F., Leal, M.C., and Franca, L.R. (2006). Testis morphometry, duration of zumspermatogenesis, and spermatogenic efficiency in the wild boar (*Sus scrofa scrofa*). *Biol Reprod*, **75**, 792-799.
- Almiñana, C., Caballero, I., Heath, P.R., Maleki-Dizaji, S., Parrilla, I., Cuello, C., Gil, M. A., Vazquez, J.L., Vazquez, J.M., Roca, J., Martinez, E.A., Holt, W.V., and Fazeli, A. (2014). The battle of the sexes starts in the oviduct: modulation of oviductal transcriptome by X and Y-bearing spermatozoa. *BMC Genomics* **15**, 293.
- Almiñana, C., Corbin, E., Tsikis, G., Alcântara-Neto, A.S., Labas, V., Reynaud, K., Galio, L., Uzbekov, R., Garanina, A. S., Druart, X., and Mermillod, P. (2017). Oviduct extracellular vesicles protein content and their role during oviduct–embryo cross-talk, *Reproduction*, **154(3)**, 253-268.
- Almiñana, C., Heath, P.R., Wilkinson, S., Sanchez-Osorio, J., Cuello, C., Parrilla, I., Gil, M.A., Vazquez, J.L., Vazquez, J.M., Roca, J., Martinez, E.A., Fazeli, A. (2012). Early developing pig embryos mediate their own environment in the maternal tract. *PLoS One.* **7(3)**, e33625.
- Almiñana, C., Tsikis, G., Labas, V., Uzbekov, R., da Silveira, J. C., Bauersachs, S., and Mermillod, P. (2018). Deciphering the oviductal extracellular vesicles content across the estrous cycle: Implications for the gametes-oviduct interactions and the environment of the potential embryo. *BMC gen*, **19(1)**, 1-27.
- Almog, T., and Naor, Z. (2008). Mitogen activated protein kinases (MAPKs) as regulators of spermatogenesis and spermatozoa functions. *Mol cell endocrinol*, **282(1-2)**, 39-44.
- Alvares, J. (2006). Estrés oxidativo, fisiología espermática y reproducción asistida. *Rev Iberoamericana de fertilidad*. XXVI Congreso Nacional SEF.
- Ambrosi, B., Accogli, G., Douet, C., Canepa, S., Pascal, G., Monget, P., Moros Nicolás, C., Holmskov, U., Mollenhauer, J., Robbe-Masselot, C., Vidal, O., Desantis, S., Goudet, G. (2013). Deleted in malignant brain tumor 1 is secreted in the oviduct and involved in the mechanism of fertilization in equine and porcine species. *Reproduction*. **146(2)**:119-33.
- Amleh, A., and Dean, J. (2002) Mouse genetics provides insight into folliculogenesis, fertilization and early embryonic development. *Hum Reprod U.* **8**: 395 – 403.
- An, L., P., Maeda, T., Sakaue, T., Takeuchi, K., Yamane, T., Du, P.G., Ohkubo, I., Ogita, H. (2012) Purification, molecular cloning and functional characterization of swine phosphatidylethanolamine-binding protein 4 from seminal plasma. *Biochem Biophys Res Commun* **423**: 690-696.
- Anakwe, O. O., and Gerton, G. L. (1990). Acrosome biogenesis begins during meiosis: evidence from the synthesis and distribution of an acrosomal glycoprotein, acrogranin, during guinea pig spermatogenesis. *Biol reprod*, **42(2)**, 317-328.
- Anderson, L.L. (2002). *Cerdos. Reproducción e inseminación artificial en animales 7ª ed. México: Interamericana-Mc Graw-Hill* pp 188-198.
- Anderson, E., and Albertini, D.F. (1976). Gap junctions between the oocyte and companion follicle cells in the mammalian ovary. *J Cell Biol.* **71**: 680 - 686.
- Anderson, D.J., Abbott, A.F. Jack, R.M. (1993). The role of complement component c3b and its receptors in sperm oocyte interaction. *Proc Natl Acad Sci U S A* **90**, 10051-10055.
- Andoh, A., Zhang, Z., Inatomi, O., Fujino, S., Deguchi, Y., Araki, Y., Tsujikawa, T., Kitoh, K., Kim-Mitsuyama, S., Takayanagi, A., Shimizu, N., Fujiyama, Y. (2005). Interleukin-22, a member of the IL-10 subfamily, induces inflammatory responses in colonic subepithelial myofibroblasts. *Gastroenterology*. **129**, 969- 984.

- Araki, Y., Kurata, S., Oikawa, T., Yamashita, T., Hiroi, M., Naiki, M., Sando, F. (1987). A monoclonal antibody reacting with the zona pellucida of the oviductal egg but not with that of the ovarian egg of the golden hamster. *J Reprod Immunol* **11**, 193-208.
- Araki, Y., Nohara, M., Yoshida-Komiya, H., Kuramochi, T., Ito, M., Hoshi, H., Shinkai, Y., Sendai, Y. (2003). Effect of a null mutation of the oviduct-specific glycoprotein gene on mouse fertilization. *Biochem J.* **374**, 551-7.
- Arangasamy, A., Kasimanickam, V. R., DeJarnette, J. M., and Kasimanickam, R. K. (2011). Association of CRISP2, CCT8, PEBP1 mRNA abundance in sperm and sire conception rate in Holstein bulls. *Theriogenology*, **76(3)**, 570-577.
- Arcelay, E., Salicioni, A.M., Wertheimer, E., Visconti, P.E. (2008). Identification of proteins undergoing tyrosine phosphorylation during mouse sperm capacitation. *Int J Dev Biol.* **52** (5-6), 463-472.
- Ardighieri, L., Lonardi, S., Moratto, D., Facchetti, F., Shih, M., Vermi, W., Kurman, R.J. (2014). Characterization of the immune cell repertoire in the normal fallopian tube. *Int J Gynecol Pathol.* **33(6)**:581-91.
- Ardon, F., Markello, R.D., Hu, L., Deutsch, Z.I., Tung, C.K., Wu, M., y Suarez, S.S. (2016). Dynamics of Bovine Sperm Interaction with Epithelium Differ Between Oviductal Isthmus and Ampulla. *Biol Reprod* **95**: 90.
- Arias-Álvarez, M., López-Béjar, M., Rebollar, P.G., García-García, R.M., Lorenzo, P. L. (2007). Patrones nucleares y citoplasmáticos durante la maduración in vitro de oocitos de coneja. *XII Jornadas de Producción Animal AIDA-ITEA*, Vol. **103** Zaragoza, pp. 173-185.
- Arias, E.B., Verhage, H.G., Jaffe, R.C. (1994). Complementary deoxyribonucleic-acid cloning and molecular characterization of an estrogen-dependent human oviductal glycoprotein. *Biol Reprod* **51**, 685-694.
- Arici, A., and Sozen, I. (2003). Expression, menstrual cycle-dependent activation, and bimodal mitogenic effect of transforming growth factor-beta1 in human myometrium and leiomyoma. *Am J obstet gynecol*, **188(1)**, 76-83.
- Asanoma K, Kubota K, Chakraborty D, Renaud SJ, Wake N, Fukushima K, Soares MJ, Rumi MA. (2012). SATB homeobox proteins regulate trophoblast stem cell renewal and differentiation. *J Biol Chem.* **287(3)**, 2257-68.
- Asquith, K.L., Baleato, R.M., McLaughlin, E.A., Nixon, B., Aitken, R.J. (2004). Tyrosine phosphorylation activates surface chaperones facilitating sperm-zona recognition. *J Cell Sci.* **117**, 3645-57.
- Aujla, S.J., Chan, Y.R., Zheng, M., Fei, M., Askew, D.J., Pociask, D.A., Reinhart, T.A., McAllister, F., Edeal, J., Gaus, K., Husain, S., Kreindler, J.L., Dubin, P.J., Pilewski, J.M., Myerburg, M.M., Mason, C.A., Iwakura, Y., Kolls, J.K. (2008). IL-22 mediates mucosal host defense against Gram-negative bacterial pneumonia. *Nat Med.* **14**, 275-281.
- Avilés, M., Gutierrez-Adan, A., and Coy, P. (2010). Oviductal secretions: will they be key factors for the future ARTs? *Mol Hum Reprod* **16**, 896-906.
- Avilés, M., Jaber, L., Castells, M.T., Kan, F.K.W., and Ballesta, J. (1996). Modifications of the lectin binding pattern in the rat zona pellucida after in vivo fertilization. *Mol Reprod Dev* **44**, 370-381.
- Avilés, M., Jaber, L., Castells, M.T., Ballesta, J., and Kan, F.W.K. (1997). Modifications of carbohydrate residues and ZP2 and ZP3 glycoproteins in the mouse zona pellucida after fertilization. *Biol Reprod* **57**, 1155-1163.

- B**aba, T., Azuma, S., Kashiwabara, S., and Toyoda, Y. (1994). Sperm from mice carrying a targeted mutation of the acrosin gene can penetrate the oocyte zona pellucida and effect fertilization. *Journal of Biological Chemistry* **269**, 31845-31849.
- Bahat, A., Caplan, S.R., and Eisenbach, M. (2012). Thermotaxis of human sperm cells in extraordinarily shallow temperature gradients over a wide range. *PLoS One* **7**, 41915.
- Bai Y, Guo J, Liu Z, Li Y, Jin S, Wang T. (2020). The Role of Exosomes in the Female Reproductive System and Breast Cancers. *Onco Targets Ther* **13**, 12567-12586.
- Banliat, C., Tsikis, G., Labas, V., Teixeira-Gomes, A. P., Com, E., Lavigne, R., Pineau, C., Guyonnet, B., Mermillod, P., and Saint-Dizier, M. (2020). Identification of 56 Proteins Involved in Embryo-Maternal Interactions in the Bovine Oviduct. *Int Jmol sci*, **21(2)**, 466.
- Barak, V., Mordel, N., Zajicek, G., Kalichman, I., Treves, A. J., and Laufer, N. (1992). The correlation between interleukin 2 and soluble interleukin 2 receptors to estradiol, progesterone and testosterone levels in periovulatory follicles of invitro fertilization patients. *Hum reprod*, **7(7)**, 926-929.
- Barberini, F., Carpino, F., Renda, T., and Motta, P. (1977). Etude au microscope électronique à balayage du péritoine du rat [Observations by scanning electron microscopy (SEM) on the surface of mesothelial cells of different peritoneal areas of rat (author's transl)]. *Anat Anz.* **142(5)**, 486-96.
- Barquilla, A., Pasquale, E.B. (2015). Eph receptors and ephrins: therapeutic opportunities. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*; **55**:465-87.
- Barraud-Lange, V., Ialy-Radio, C., Chalas, C., Holtzmann, I., Wolf, J. P., Barbaux, S., and Ziyayat, A. (2020). Partial Sperm beta1 Integrin Subunit Deletion Proves its Involvement in Mouse Gamete Adhesion/Fusion. *Int J mol sci*, **21(22)**, 8494.
- Barraud-Lange, V., Naud-Barriant, N., Saffar, L., Gattegno, L., Ducot, B., Drillet, A. S., Bomsel, M., Wolf, J. P., and Ziyayat, A. (2007). Alpha6beta1 integrin expressed by sperm is determinant in mouse fertilization. *BMC dev biol*, **7**, 102.
- Barrell, G.K., Moenter, S.M., Caraty, A., and Karsch, F.J. (1992). Seasonal changes of gonadotropin-releasing hormone secretion in the ewe. *Biol Reprod* **46**, 1130-1135.
- Barton, B.E., Herrera, G.G., Anamthakmakula, P., Rock, J.K., Willie, A., Harris, E.A, Takemaru, KI, Winuthayanon, W. (2020). Roles of steroid hormones in oviductal function. *Reproduction*. **159(3)**, 125-137.
- Bathala, P., Fereshteh, Z., Li, K., Al-Dossary, A.A., Galileo, D.S., and Martin DeLeon P.A. (2018). Oviductal extracellular vesicles (oviductosomes, OVS) are conserved in humans: murine OVS play a pivotal role in sperm capacitation and fertility. *Mol Hum Reprod*. **24(3)**, 143–157
- Batista, R.I.T.P., Moro, L.N., Corbin, E., Alminana, C., Souza-Fabjan, J.M.G., De Figueirêdo Freitas, V.J., and Mermillod, P. (2016). Combination of oviduct fluid and heparin to improve monospermic zygotes production during porcine in vitro fertilization. *Theriogenology* **86**, 495-502.
- Bauersachs, S., Blum, H., Mallok, S., Wenigerkind, H., Rief, S., Prella, K., and Wolf, E. (2003). Regulation of ipsilateral and contralateral bovine oviduct epithelial cell function in the postovulation period: A transcriptomics approach. *Biol Reprod* **68**, 1170-1177.
- Bauersachs, S., Rehfeld, S., Ulbrich, S.E., Mallok, S., Prella, K., Wenigerkind, H., Einspanier, R., Blum, H. and Wolf, E. (2004). Monitoring gene expression changes in bovine oviduct epithelial cells during the oestrous cycle. *J Mol Endocrinol*. **32(2)**, 449-66.
- Bedford, JM. (2008) Puzzles of mammalian fertilization – and beyond. *Int. J Dev Biol* **52**, 415 - 426.
- Bedford, J.M., Calvin, H., and Cooper, G.W. (1973). The maturation of spermatozoa in the human epididymis. *J Reprod Fertil. Supplement*, **18**, 199 - 213.

- Bedford, J.M., and Cooper, G.W. (1978). Membrane fusión events in fertilization of vertebrate eggs. *Memb Surf Rev. Poste.NorthHolland, Amsterdam*, **5**, 65 - 125.
- Ben-Jonathan, N., LaPensee, C.R. y LaPensee, E.W. (2008). What can we learn from rodents about prolactin in humans? *Endocrine Reviews* **29**, 1-41.
- Benoff, S. (1997). Carbohydrates and fertilization: an overview. *Mol Hum Reprod* **3**, 599-637.
- Belenguer, P., Caizergues-Ferrer, M., Labbe, J.C., Doreé, M., and Amalric, F. (1990). Mitosis-specific phosphorylation of nucleolin by p34cdc2 protein kinase. *Mol Cell Biol.* **10**: 3607 - 3618.
- Beraldo FH, Soares IN, Goncalves DF, Fan J, Thomas AA, Santos TG, Mohammad AH, Roffé M, Calder MD, Nikolova S, Hajj GN, Guimaraes AL, Massensini AR, Welch I, Betts DH, Gros R, Drangova M, Watson AJ, Bartha R, Prado VF, Martins VR, Prado MA. (2013). Stress-inducible phosphoprotein 1 has unique cochaperone activity during development and regulates cellular response to ischemia via the prion protein. *Faseb J.* **27**(9), 3594-607.
- Berger, T., Turner, K.O., Meizel, S., and Hedrick, J.L. (1989). Zona pellucida-induced acrosome reaction in boar sperm. *Biol Reprod* **40**, 525-530.
- Bergqvist, A.S., Killian, G., Erikson, D., Hoshino, Y., Bage, R., Sato, E., and Rodriguez-Martinez, H. (2005). Detection of Fas ligand in the bovine oviduct. *Anim Reprod Sci* **86**, 71-88.
- Bernfield, M., Götte, M., Park, P. W., Reizes, O., Fitzgerald, M. L., Lincecum, J., and Zako, M. (1999). Functions of cell surface heparan sulfate proteoglycans. *Ann rev biochem*, **68**(1), 729-777.
- Bhakta, H.H., Refai, F.H., Avella, M.A. (2019). The molecular mechanisms mediating mammalian fertilization. *Development.* **146**(15), 176966.
- Bhatt, P., Kadam, K., Saxena, A., and Natraj, U. (2004). Fertilization, embryonic development and oviductal environment: role of estrogen induced oviductal glycoprotein. *Indian J Exp Biol* **42**, 1043-1055.
- Bian, F., Mao, G., Guo, M., Mao, G., Wang, J., Li, J., Han, Y., Chen, X., Zhang, M., Xia, G. (2012). Gradients of natriuretic peptide precursor A (NPPA) in oviduct and of natriuretic peptide receptor 1 (NPR1) in spermatozoon are involved in mouse sperm chemotaxis and fertilization. *J Cell Physiol.* **227**(5), 2230-9.
- Bianchi, E., Doe, B., Goulding, D, and Wright, G.J. (2014). Juno is the egg Izumo receptor and is essential for mammalian fertilization. *Nature* **508**, 483-487.
- Bianchi, E., Sun, Y., Almansa-Ordonez, A., Woods, M., Goulding, D., Martinez - Martin, N., Wright, G.J. (2021). Control of oviductal fluid flow by the G-protein coupled receptor Adgrd1 is essential for murine embryo transit. *Nat Commun.* **12**(1):1251.
- Bidarimath, M., Khalaj, K., Kridli, R.T., Kan, F.W., Koti, M., y Tayade, C. (2017). Extracellular vesicle mediated intercellular communication at the porcine maternal-fetal interface: A new paradigm for conceptus-endometrial cross - talk. *Sci Rep* **7**, 40476.
- Bishop, D.W. (1956). Active secretion in the rabbit oviduct. *Am J Physiol* **187**, 347-352.
- Black, D.L., Duby, R.T., and Riesen, J. (1963). Apparatus for continuous collection of sheep oviduct fluid. *J Reprod Fertil* **6**, 257
- Blandau, R. (1973). Gamete transport in the female mammal. *Handbook Physiol* **2**, 153-163.
- Bleil, J.D., and Wassarman, P.M. (1980). Structure and function of the zona pellucida - identification and characterization of the proteins of the mouse oocytes zona pellucida. *Dev Biol* **76**, 185-202.
- Bloom, W. and Fawcett, D.W. (1992). Tratado de Histología. 11ª Edición. México: *Editorial Interamericana, McGraw-Hill*.
- Boatman, D.E., and Magnoni, G.E. (1995). Identification of a sperm penetration factor in the oviduct of the golden - hamster. *Biol Reprod* **52**, 199-207.

- Boatman, D.E and Robbins, R.S. (1991). Bicarbonate - carbon-dioxide regulation of sperm capacitation, hyperactivated motility, and acrosome reactions. *Biol Reprod* **44**, 806-813.
- Boice, M.L., Geisert, R.D., Blair, R.M., and Verhage, H.G. (1990). Identification and characterization of bovine oviductal glycoproteins synthesized at estrus. *Biol Reprod* **43**, 457-465.
- Boilard, M., Reyes-Moreno, C., Lachance, C., Massicotte, L., Bailey, J.L., Sirard, M.A., and Leclerc, P. (2004). Localization of the chaperone proteins GRP78 and HSP60 on the luminal surface of bovine oviduct epithelial cells and their association with spermatozoa. *Biol Reprod* **71**, 1879-1889.
- Boilard, M., Reyes-Moreno, C., and Sirard, M.A. (2001). Binding of chaperonins to bovine spermatozoa by direct contact to apical plasma membrane of oviduct epithelial cells. *Biol Reprod* **64**, 112-112.
- Bonhoff, A.J., and Adams, C.E. (1985). Relationship of hormonally induced developmental changes in preovulatory follicles of the rabbit. *Lab. Anim.*, **19**, 27-31.
- Bork, K., Chevrier, C., Paquignon, M., Jouannet, P., and Dacheux, J.L. (1988). Flagellar motility and movement of boar spermatozoa during epididymal transit. *Reprod Nutr Dev*, **28**, 1307-1315.
- Borland, R.M., Biggers, J.D., Lechene, C.P., y Taymor, M.L. (1980). Elemental composition of fluid in the human fallopian - tube. *J Reprod Fertil* **58**, 479-482.
- Bornslaeger, E.A, Mattei, P., and Dchultz, R.M. (1986). Involvement of cAMP-dependent protein kinase and protein phosphorylation in regulation of mouse oocyte maturation. *Dev Biol.* **114**, 453 - 462.
- Brewis, I.A., Winston, R.M.L., and Leese, H.J. (1992). Energy-metabolism of the human fallopian-tube. *J Reprod Fertil* **95**, 257-262.
- Briton-Jones, C., Lok, I.H., Cheung, C.K., Chiu, T.T.Y., Cheung, L.P., and Haines, C. (2004). Estradiol regulation of oviductin/oviduct-specific glycoprotein messenger ribonucleic acid expression in human oviduct mucosal cells in vitro. *Fertil Steril* **81**, 749-756.
- Briton-Jones, C., Lok, I.H., Yuen, P.M., Chiu, T.T.Y., Cheung, L.P., and Haines, C. (2001). Regulation of human oviductin mRNA expression in vivo. *Fertil Steril* **75**, 942-946.
- Broermann, D.M., Xie, S., Nephew, K.P., and Pope, W.F. (1989). Effects of the oviduct and wheat-germ agglutinin on enzymatic digestion of porcine zona pellucida. *J Anim Sci* **67**, 1324-1329.
- Brown, B.W. (2000). A review on reproduction in South American camelids. *J Anim Reprod Sci*, **58(3)**, 169-195.
- Brown, C.R., and Cheng, W.K. (1986). Changes in composition of the porcine zona pellucida during development of the oocyte to the 2- to 4-cell embryo. *J Embryol Exp Morphol.* **92**, 183-91.
- Brown, H. M., Dunning, K. R., Robker, R. L., Boerboom, D., Pritchard, M., Lane, M., and Russell, D. L. (2010). ADAMTS1 cleavage of versican mediates essential structural remodeling of the ovarian follicle and cumulus-oocyte matrix during ovulation in mice. *Biol reprod*, **83(4)**, 549-557.
- Buccione, R., Schoeder, A.C., and Eppig, J.J. (1990). Interaction between somatic cells and germ cells throughout mammalian oogenesis. *Biol Reprod.* **43**, 543 - 547.
- Buffone, M. G., Wertheimer, E. V., Visconti, P. E., and Krapf, D. (2014). Central role of soluble adenylyl cyclase and cAMP in sperm physiology. *Biochim biophys acta*, **1842(12)** 2610-2620.
- Buhi, W., Alvarez, I., Sudhipong, V., and Dones-Smith, M. (1990). Identification and characterization of de novo-synthesized porcine oviductal secretory proteins. *Biol Reprod* **43**, 929-938.
- Buhi, W., Bazer, F., Alvarez, I., and Mirandot, M. (1991). In Vitro Synthesis of Oviductal Proteins Associated with Estrus and 17 β -Estradiol-Treated Ovariectomized Ewes. *Endocrinology* **128**, 3086-3095.

- Buhi, W.C. (2002). Characterization and biological roles of oviduct-specific, oestrogen-dependent glycoprotein. *Reproduction* **123**, 355-362.
- Buhi, W.C., Alvarez, I.M., Choi, I., Cleaver, B.D., and Simmen, F.A. (1996). Molecular cloning and characterization of an estrogen-dependent porcine oviductal secretory glycoprotein. *Biol Reprod* **55**, 1305-1314.
- Buhi, W.C., Alvarez, I.M., and Kouba, A.J. (2000). Secreted proteins of the oviduct. *Cells Tissues Organs* **166**, 165-179.
- Buhi, W.C., O'Brien, B., Alvarez, I.M., Erdos, G., and Dubois, D. (1993). Immunogold localization of porcine oviductal secretory proteins within the zona-pellucida, perivitelline space, and plasma-membrane of oviductal and uterine oocytes and early embryos. *Biol Reprod* **48**, 1274-1283.
- Buhi, W.C., Vallet, J.L., and Bazer, F.W. (1989). Denovo synthesis and release of polypeptides from cyclic and early pregnant porcine oviductal tissue in explant culture. *J Exp Zool* **252**, 79-88.
- Bukovsky, A., Caudle, M.R., Svetlikova, M., and Upadhyaya, N.B. (2004) Origin of germ cells and formation of new primary follicles in adult human ovaries. *Reprod Biol Endocrinol.* **2**, 20.
- Bukovsky, A., Svetlikova, M., Caudle, M.R. (2005). Oogenesis in cultures derived from adult human ovaries. *Reprod Biol Endocrinol*, **5**, 17.
- Burghardt, R.C., and Anderson, E. (1981) Hormonal modulation of gap junctions in rat ovarian follicles. *Cell Tissue Res.* **214**, 181 - 193.
- Burkart, A.D., Xiong, B., Baibakov, B., Jiménez-Movilla, M., Dean, J. (2012). Ovastacin, a cortical granule protease, cleaves ZP2 in the zona pellucida to prevent polyspermy. *J Cell Biol.* **197(1)**:37-44.
- Burkman, L.J., Overstreet, J.W., and Katz, D.F. (1984). A possible role for potassium and pyruvate in the modulation of sperm motility in the rabbit oviductal isthmus. *J Reprod Fertil* **71**, 367-376.
- Burns, G., Brooks, K., Wildung, M., Navakanitworakul, R., Christenson, L.K., and Spencer, T.E. (2014). Extracellular vesicles in luminal fluid of the ovine uterus. *PLoS One* **9**, e90913.
- Burns, G.W., Brooks, K.E., and Spencer, T.E. (2016) Extracellular Vesicles Originate from the Conceptus and Uterus During Early Pregnancy in Sheep. *Biol Reprod* **94**, 56.
- Bylander, A., Nutu, M., Wellander, R., Goksor, M., Billig, H., and Larsson, D.G.J. (2010). Rapid effects of progesterone on ciliary beat frequency in the mouse fallopian tube. *Reprod Biol Endocrinol* **8**, 8.
- C**arlson, D., Black, D.L., and Howe, G.R. (1970). Oviduct secretion in cow. *J Reprod Fertil* **22**, 549.
- Carney, D., Haviland, D., Noack, D., Wetsel, R., Vik, D., and Tack, B. (1991). Structural aspects of the human C5 gene. Intron/exon organization, 5'-flanking region features, and characterization of two truncated cDNA clones. *J Biol Chem* **266**, 18786-18791.
- Carrasco, L.C., Coy, P., Aviles, M., Gadea, J., and Romar, R. (2008a). Glycosidase determination in bovine oviductal fluid at the follicular and luteal phases of the oestrous cycle. *Reprod Fertil Dev* **20**, 808-817.
- Carrasco, L.C., Romar, R., Aviles, M., Gadea, J., and Coy, P. (2008b). Determination of glycosidase activity in porcine oviductal fluid at the different phases of the estrous cycle. *Reproduction* **136**, 833-842.
- Castillo, C., Benedito, L.J., López-Alonso, M., Miranda, M., and Hernández, J. (2001). Importancia del estrés oxidativo en el ganado vacuno: en relación con el estado fisiológico (preñez y parto) y la nutrición. *Arch. Med. Vet.* **33(1)**, 204-218.
- Castillo J, Bogle OA, Jodar M, Torabi F, Delgado-Dueñas D, Estanyol JM, Ballescà JL, Miller D, Oliva R. (2019). Proteomic Changes in Human Sperm During Sequential *in vitro* Capacitation and Acrosome Reaction. *Front Cell Dev Biol.* **27**, 295.

- Cejudo Roman, A., Pinto, F.M., Dorta, I., Almeida, T.A., Hernández, M., Illanes, M., Tena-Sempere, M., and Candenas, L. (2012). Analysis of the expression of neurokinin B, kisspeptin, and their cognate receptors NK3R and KISS1R in the human female genital tract. *Fertil Steril* **97**, 1213-1219.
- Cerny, K., Garrett, E., Walton, A.J., Anderson, L.H., y Bridges, P.J. (2015). A transcriptomal analysis of bovine oviductal epithelial cells collected during the follicular phase versus the luteal phase of the estrous cycle. *Reprod Biol Endocrinol* **13**, 84.
- Chang, Y. C., and Nizet, V. (2014). The interplay between Siglecs and sialylated pathogens. *Glycobiology*, **24(9)**, 818-825.
- Chang, H.X., and Suarez, S.S. (2010). Rethinking the Relationship Between Hyperactivation and Chemotaxis in Mammalian Sperm. *Biol Reprod* **83**, 507-513.
- Chang, H., and Suarez, S.S. (2012). Unexpected flagellar movement patterns and epithelial binding behavior of mouse sperm in the oviduct. *Biol Reprod* **86**, 140, 141-148.
- Chase, C.C., Kirby, C.J., Hammond, A.C., Olson, T.A., and Lucy, M.C. (1998). Patterns of ovarian growth and development in cattle with a growth hormone deficiency. *J Anim Sci.* **76**, 212-219.
- Chemineau, P., Daveau, A., Cognié, Y., Aumont, G., y Chesneau, D. (2004). Seasonal ovulatory activity exists in tropical Creole female goats and Black Belly ewes subjected to a temperate photoperiod. *BMC physiology*, **4(1)**, 1.
- Chen, G., Wang, D., Vikramadithyan, R., Yagyu, H., Saxena, U., Pillariseti, S., Goldberg, IJ. (2004). Inflammatory cytokines and fatty acids regulate endothelial cell heparanase expression. *Biochemistry*. **43(17)**, 4971-7.
- Chen, P. R., Redel, B. K., Kerns, K. C., Spate, L. D., and Prather, R. S. (2021). Challenges and Considerations during In Vitro Production of Porcine Embryos. *Cells*, **10(10)**, 2770.
- Cheng, W.T.K, Moor, R.M., and Polge, C. (1986). In vitro fertilization of pig and sheep oocytes matured in vivo and in vitro. *Theriogenology* **25**, 146
- Cherr, G. N., Yudin, A. I., Li, M. W., Vines, C. A., and Overstreet, J. W. (1999). Hyaluronic acid and the cumulus extracellular matrix induces increases in intracellular calcium in macaque sperm via the plasma membrane protein PH 20. *Zygote*, **7(3)**, 211-222.
- Chiu, P.C., Chung, M.K., Koistinen, R., Koistinen, H., Seppala, M., Ho, P.C., Ng, E.H., Lee, K.F., and Yeung, W.S. (2007). Glycodelin-A interacts with fucosyltransferase on human sperm plasma membrane to inhibit spermatozoa-zona pellucida binding. *J Cell Sci* **120**, 33-44.
- Chocu, S., Calvel, P., Rolland, A.D. and Pineau, C. (2012). Spermatogenesis in mammals: proteomic insights. *Syst Biol Reprod Med*, **58**,179-190.
- Choi, J., Jo, M., Lee, E., Choi, D. (2001). The role of autophagy in corpus luteum regression in the rat. *Biol Reprod.* **85(3)**, 465-72.
- Christian, C.A, and Moenter, S.M. (2010). The Neurobiology of Preovulatory and Estradiol-Induced Gonadotropin-Releasing Hormone Surges. *Endocr Rev.* **31**: 544 -577.
- Clark, J., and Eddy, E. (1975). Fine structural observations on the origin and association of primordial germ cells of the mouse. *Dev Biol.*; **47**, 136 - 155.
- Clermont, Y., and Trott, M. (1996). Duration of the cycle of the seminiferous epithelium in the mouse and hamster determined by means of 3H thymidine and radioautography. *Fertil Steril.* Sep-Oct; **20**, 805 - 817.
- Clement, P.M., Johansson, H.E., Wolff, E.C., Park, M.H. (2006). Differential expression of eIF5A-1 and eIF5A-2 in human cancer cells. *FEBS J*, **273(6)**, 1102-14.
- Cohen, I., Maly, B., Simon, I., Meirovitz, A., Pikarsky, E., Zcharia, E., Peretz, T., Vlodyavsky, I., and Elkin, M. (2007). Tamoxifen induces heparanase expression in estrogen receptor-positive breast cancer. *Clinic cancer res* **13(14)**, 4069-4077.

- Colombo, M., Raposo, G., and Théry, C. (2014). Biogenesis, secretion, and Intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles. *Annu Rev Cell De Biol* **30**, 255-289.
- Cometti, B., Dubey, R. K., Imthurn, B., and Rosselli, M. (2018). Natural and environmental estrogens induce TGFB1 synthesis in oviduct cells. *Reproduction* **155(3)**, 233-244.
- Copland, S. D., Murphy, A. A., and Shur, B. D. (2009). The mouse gamete adhesin, SED1, is expressed on the surface of acrosome-intact human sperm. *Fertil steril*, **92(6)**, 2014-2019.
- Csoka, A. B., Scherer, S. W., and Stern, R. (1999). Expression analysis of six paralogous human hyaluronidase genes clustered on chromosomes 3p21 and 7q31. *Genomics*, **60(3)**, 356-361.
- Coskun, S., Uzumcu, M., Lin, Y.C., Friedman, C.I., and Alak, B.M. (1995). Regulation of cumulus cell steroidogenesis by the porcine oocyte and preliminary characterization of oocyte-produced factor(s). *Biol Reprod.* **53**, 670 - 675.
- Cornwall, G.A. (2009). New insights into epididymal biology and function. *Hum Reprod Update* **15**, 213-227.
- Cortés, P.P., Orihuela, P.A., Zúñiga, L.M., Velásquez, L.A., Croxatto, H.B. (2004). Sperm binding to oviductal epithelial cells in the rat: role of sialic acid residues on the epithelial surface and sialic acid-binding sites on the sperm surface. *Biol Reprod.* **71(4)**, 1262-9.
- Cortvrindt, R., Hu, Y., and Smits, J. (1998). Recombinant luteinizing hormone as a survival and differentiating factor increases oocyte maturation in recombinant follicle stimulated hormone supplemented mouse preantral follicle culture. *Hum Reprod.* **13**, 1292 – 1303.
- Cossigny, D.A., Findlay, J.K., Drummond, A.E. (2012). The effects of FSH and activin A on follicle development in vitro. *Reproduction.* **143(2)**, 221-9.
- Coy, P., and Avilés, M. (2010). What controls polyspermy in mammals, the oviduct or the oocyte?. *Biol rev Cam Philos Soc* **85(3)**, 593-605.
- Coy, P., and Romar, R. (2002). In vitro production of pig embryos: a point of view. *Reprod fertil, dev*, **14(5-6)**, 275-286.
- Coy, P., Cánovas, S., Mondéjar, I., Saavedra, M.D., Romar, R., Grullón, L., Matás, C., and Avilés, M. (2008a). Oviduct-specific glycoprotein and heparin modulate sperm-zona pellucida interaction during fertilization and contribute to the control of polyspermy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **105(41)**, 15809-14.
- Coy, P., Garcia-Vazquez, F.A., Visconti, P.E., and Aviles, M. (2012a). Roles of the oviduct in mammalian fertilization. *Reproduction* **144**, 649-660.
- Coy, P., Grullon, L., Canovas, S., Romar, R., Matás, C., and Aviles, M. (2008b). Hardening of the zona pellucida of unfertilized eggs can reduce polyspermic fertilization in the pig and cow. *Reproduction* **135**, 19-27.
- Coy, P., Jimenez-Movilla, M., Garcia-Vazquez, F.A., Mondejar, I., Grullon, L., and Romar, R. (2012b). Oocytes use the plasminogen-plasmin system to remove supernumerary spermatozoa. *Hum Reprod* **27**, 1985-1993.
- Crocker, P. R., Paulson, J. C., and Varki, A. (2007). Siglecs and their roles in the immune system. *Nature Reviews Immunology*, **7(4)**, 255-266.
- Croxatto, H.B., and Ortiz, M.E. (1975). Egg transport in the fallopian tube. *Ginecol Invest* **6(3-4)**, 215-225.
- Cummins, J. M. (2002). The role of maternal mitochondria during oogenesis, fertilization, and embryogenesis. *Reprod Biomed Online* **4**, 176-182.
- Czaja K, Sienkiewicz W, Vittoria A, Costagliola A, Cecio A. (1996). Neuroendocrine cells in the female urogenital tract of the pig, and their immunohistochemical characterization. *Acta Anat (Basel)*. **157(1)**:11-9.

- Dai J, Su Y, Zhong S, Cong L, Liu B, Yang J, Tao Y, He Z, Chen C, Jiang Y. (2020). Exosomes: key players in cancer and potential therapeutic strategy. *Signal Transduct Target Ther.* **5(1)**, 145.
- Dacheux, J. L., and Dacheux, F. (2014). New insights into epididymal function in relation to sperm maturation. *Reproduction* **147**, 27-42.
- Dacheux, J.L., Gatti, J.L., Dacheux, F., (2003). Contribution of epididymal Secretory proteins for spermatozoa maturation. *Microsc Res Tech.* **61**, 7 17.
- Dacheux, J. L., Oshea, T., and Paquignon, M. (1979). Effects of osmolality, bicarbonate and buffer on the metabolism and motility of testicular, epididymal an ejaculated spermatozoon of boars. *J Reprod Fertil*, **55**,287-296.
- Dale, B., and DeFelice, L. (2011). Polyspermy prevention: facts and artifacts? *J Assist Reprod Genet* **28**, 199-207.
- Dancevic, C. M., Fraser, F. W., Smith, A. D., Stupka, N., Ward, A. C., and McCulloch, D. R. (2013). Biosynthesis and expression of a disintegrin-like and metalloproteinase domain with thrombospondin-1 repeats-15: a novel versican-cleaving proteoglycanase. *J biol chem*, **288(52)**, 37267-37276.
- Davachi, N.D., Shahneh, A.Z., Kohram, H., Zhandi, M., Shamsi, H., Hajiyavand, A.M., and Saadat, M. (2015). Differential influence of ampullary and isthmic derived epithelial cells on zona pellucida hardening and in vitro fertilization in ovine. *Reprod Biol*, **16(1)**, 61-69.
- David, G.F., Anand Kumar, T.C., and Baker, T.G. (1974). Uptake of tritiated thymidine by primordial germinal cells in the ovaries of the adult slender loris. *J Reprod Fertil.* **41**, 447 - 451.
- Davis, B.K., Byrne, R., and Hungund, B. (1979). Studies on the mechanism of Capacitation 2. Evidence for lipid transfer between plasma –membrane of rat sperm and serum-albumin during capacitation *in vitro*. *Biochim Biophys Acta*, **558**, 257-266.
- De Pol, A., Marzona, L., Vaccina Negro, R., Sena, P., and Forabosco, A. (1998). Apoptosis in different stages of human oogenesis. *Anticancer Res* **18**, 3457-3461
- De Rooij, D.G. (1968): Stem cell renewal and duration of spermatogonial cycle in the gold hamster *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, **89**,133-136.
- Dean, J. (2004). Reassessing the molecular biology of sperm–egg recognition with mouse genetics. *Bioessays* **26**, 29-38.
- Dekel, N. (1999). Meiotic cell cycle, oocytes. Encyclopedia of Reproduction. Ed:E. Knobil and JD. Neill. *Academic Press, San Diego, USA*, **3**, 168-176.
- Dekel, N. (2005). Cellular biochemical and molecular mechanisms regulating oocyte maturation. *Mol Cell Endocrinol.* **234(1-2)**,19-25.
- Delputte, P.L., Meerts, P., Costers, S., Nauwynck, H.J. (2004). Effect of virus-specific antibodies on attachment, internalization, and infection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in primary macrophages. *Vet Immunol Immunopathol.* **102(3)**:179-88.
- Denhardt, D.T., and Guo, X.J. (1993). Osteopontin - A protein with diverse functions. *Faseb J* **7**, 1475-1482.
- Denker, H.W. (2000). Structural dynamics and function of early embryonic coats. *Cells Tissues Organs* **166**: 180-207
- Desantis, S., Zizza, S., Accogli, G., Acone, F., Rossi, R., and Resta, L. (2011). Morphometric and ultrastructural features of the mare oviduct epithelium during oestrus. *Theriogenology* **75**, 671-678.
- Deschildre, C., Ji, J. W., Chater, S., Dacheux, F., Selva, J., Albert, M., Bailly, M., Hatey, F., and Benahmed, M. (2007). Expression of galectin-3 and its regulation in the testes. *Int j androl*, **30(1)**, 28-40.

- DeSouza, M.M., and Murray, M.K. (1995). An estrogen-dependent sheep oviductal glycoprotein has glycan linkages typical of sialomucins and does not contain chitinase activity. *Biol Reprod* **53**, 1517-1526.
- Devine, P.L., and McKenzie, I.F. (1992). Mucins: structure, function, and associations with malignancy. *Bioessays* **14**, 619-625.
- Diaz-Cueto L, Arechavaleta-Velasco F, Gerton GL. (2018). Methods to Study the Role of Progranulin in Preimplantation Mouse Embryo Development. *Methods Mol Biol.* **1806**, 289-304.
- Diaz, E. S., Kong, M., and Morales, P. (2007). Effect of fibronectin on proteasome activity, acrosome reaction, tyrosine phosphorylation and intracellular calcium concentrations of human sperm. *Hum reprod*, **22(5)**, 1420-1430.
- Dickens, C.J., Comer, M.T., Southgate, J., and Leese, H.J. (1996). Human Fallopian tubal epithelial cells in vitro: Establishment of polarity and potential role of intracellular calcium and extracellular ATP in fluid secretion. *Hum Reprod* **11**, 212-217.
- Dickens, C.J., Maguiness, S.D., Comer, M.T., Palmer, A., Rutherford, A.J., and Leese, H.J. (1995). Human tubal fluid - Formation and composition during vascular perfusion of the fallopian tube. *Hum Reprod* **10**, 505-508.
- Diez, R., Herbstreith, M., Osorio, C., and Alzate, O. (2010). 2-D Fluorescence Difference Gel Electrophoresis (DIGE) in Neuroproteomics. Alzate O, editor. *Neuroproteomics* **4**.
- Ding, L., Li, S., Zhang, Y., Gai, J., and Kou, J. (2018). MXRA5 is decreased in preeclampsia and affects trophoblast cell invasion through the MAPK pathway. *Molecular and cellular endocrinology*, **461**, 248-255.
- Dix, D.J., Allen, J.W., Collins, B.W., Mori, C., Nakamura, N., and PoormanAllen, P. (1996). Targeted gene disruption of Hsp70-2 results in failed meiosis, germ cell apoptosis, and male infertility. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 3264-3268.
- Dobrinski, I., Smith, T.T., Suarez, S.S., and Ball, B.A. (1997) Membrane contact with oviductal epithelium modulates the intracellular calcium concentration of equine spermatozoa in vitro. *Biol Reprod* **56**, 861-869.
- Dong, M., Shi, Y., Cheng, Q., Hao, M. (2001). Increased nitric oxide in peritoneal fluid from women with idiopathic infertility and endometriosis. *J Reprod Med.* **46(10)**, 887-91.
- Donnelly, K.M., Fazleabas, A.T., Verhage, H.G., Mavrogianis, P.A., and Jaffe, R.C. (1991). Cloning of a recombinant complementary DNA to a baboon (*Papio anubis*) estradiol-dependent oviduct-specific glycoprotein. *Mol Endocrinol* **5**, 356-364.
- Doree, M. (1990) Control of M-phase by maturation- promoting factor. *Curr Opinion Cell Biol.* **2**, 269 - 273.
- Dovolou, E., Samartzi, F., Perreau, C., Krania, F., Cordova, A., and Vainas, E. (2016). The activity of three glycosidases (beta-N-acetylglucosaminidase, alpha-mannosidase, and beta-galactosidase) in the follicular fluid and in the maturation medium affects bovine oocyte maturation. *Theriogenology* **85**, 1468-1475.
- Downs, S.M. (1993). Purine control of mouse oocyte maturation: evidence that nonmetabolized hypoxanthine maintains meiotic arrest. *Mol Reprod Dev.* **35**, 82- 94.
- Drevet, J.R. (2006). The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: a complex story. *Mol Cell Endocrinol* **250**, 70-79.
- Driancourt, M.A. (2001) Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology.* **55**, 1211 - 1239.
- Driancourt, M.A., Reynaud, K., Cortvrindt, R., and Smitz, J. (2000). Roles of kit and kit ligand in ovarian function. *Rev Reprod.* **5**, 143 – 152.

- Duby, R.T., and R.W. Prange. (1996). Physiology and Endocrinology of the Estrous Cycle. Dairy Integrated Reproductive Management. University of Massachusetts. IRM- 2.
- Dumic, J., Dabelic, S., and Flögel, M. (2006). Galectin-3: an open-ended story. *Biochim biophys acta*, 1760(4), 616- 635.
- Dun, M. D., Smith, N. D., Baker, M. A., Lin, M., Aitken, R. J., and Nixon, B. (2011). The chaperonin containing TCP1 complex (CCT/TRiC) is involved in mediating sperm-oocyte interaction. *J Biol Chem* **286**(42), 36875-36887.
- Dunbar, B.S., Prasad, S.V., and Timmons, T.M. (1991). Comparative structure and function of mammalian zona pellucida. A comparative overview of mammalian fertilization. *Bonnie S. Dunbar and Michal G. O'Rand (eds). Plenum press, New York.*
- Dunphy, W.G., Brizuela, L., Beach, D., and Newport, J. (1988). The Xenopus cdc2 protein is a component of MPF, a cytoplasmic regulator of mitosis. *Cell*. **54**, 423-431.
- E**bisch, I.M.W., Thomas, C.M.G., Wetzels, A.M.M., Willemsen, W.N.P., Sweep, F., and Steegers-Theunissen, R.P.M. (2008). Review of the role of the plasminogen activator system and vascular endothelial growth factor in subfertility. *Fertil Steril* **90**, 2340-2350.
- Eddy, E. M., Neill, J. D., Plant, T. M., Pfaff, D. W., Challis, J. R., G., Kretser, D.M., Richards, J. S., y Wassarman, P. M., (2006). Chapter 1 – The Spermatozoon. Knobil and Neill's *Physiol Reprod (Third Edition)*. 3-54.
- Eddy, E.M., and O'Brien, D.A. (1994). The spermatozoon. Knobil E, Neill JD (Eds.) *Physiol Reprod*. 30 - 60.
- Edovitsky E, Lerner I, Zcharia E, Peretz T, Vlodaysky I, Elkin M. (2005). Role of endothelial heparanase in delayed-type hypersensitivity. *Blood*. **107**(9), 3609-16.
- Edson, M.A., Nagaraja, A.K., and Matzuk, M.M. (2009). The mammalian ovary from genesis to revelation. *Endocr Rev* **30**(6), 624-712.
- Edwards, R.G. (2000). Human embryos in vitro: pioneer illustrations of oocyte maturation, fertilization, cleavage and blastulation. *Hum Reprod*. **15**(4), 1-9.
- Edwards, L.J., and Leese, H.J. (1993). Glucose-transport and metabolism in rabbit oviduct epithelial-cells. *J Reprod Fertil* **99**, 585-591.
- Ehrenwald, E., Foote, R.H., and Parks, J.E. (1990). Bovine oviductal fluid components and their potential role in sperm cholesterol efflux. *Mol Reprod Dev* **5**, 195-204.
- Einspanier, R., Lauer, B., Gabler, C., Kamhuber, M., and Schams, D. (1997). Egg-cumulus-oviduct interactions and fertilization. *Adv Exp Med Biol* **424**, 279-289.
- Eisenbach, M., and Giojalas, L.C. (2006). Sperm guidance in mammals - an unpaved road to the egg. *Nature Reviews Molecular Cell Biol* **7**, 276-285.
- Ekhlesi-Hundrieser, M., Sinowatz, F., De Wilke, I.G., Waberski, D., and Topfer-Petersen, E. (2002). Expression of spermadhesin genes in porcine male and female reproductive tracts. *Mol Reprod Dev* **61**, 32-41.
- El Ghmati, S.M., Van Hoeyveld, E.M., Van Strijp, J.G., Ceuppens, J.L., y Stevens, E.A. (1996). Identification of haptoglobin as an alternative ligand for CD11b/CD18. *J Immunol*. **156**(7), 2542-52.
- El-Mestrah, M., and Kan, F.W.K. (2001). Distribution of lectin-binding glycosidic residues in the hamster follicular oocytes and their modifications in the zona pellucida after ovulation. *Mol Reprod Dev* **60**, 517-534.
- Elhassan, Y.M., Wu, G., Leanez, A.C., Tasca, R.J., Watson, A.J., and Westhusin, M.E. (2001). Amino acid concentrations in fluids from the bovine oviduct and uterus and in KSOM-based culture media. *Theriogenology* **55**, 1907-1918.

- Elkin, M., Cohen, I., Zcharia, E., Orgel, A., Guatta-Rangini, Z., Peretz, T., Vlodaysky, I., and Kleinman, H. K. (2003). Regulation of heparanase gene expression by estrogen in breast cancer. *Cancer res*, **63(24)**, 8821-8826.
- Ellington, J.E., Ignotz, G.G., Ball, B.A., Meyerswallen, V.N., and Currie, W.B. (1993). Denovo protein-synthesis by bovine uterine tube (oviduct) epithelial-cells changes during coculture with bull spermatozoa. *Biol Reprod* **48**, 851-856.
- Elliott, R.M., Lloyd, R.E., Fazeli, A., Sostaric, E., Georgiou, A.S., Satake, N., Watson, P.F., Holt, W.V. (2009). Effects of HSPA8, an evolutionarily conserved oviductal protein, on boar and bull spermatozoa. *Reproduction*. **137(2)**, 191-203.
- Emura, N., Saito, Y., Miura, R., Sawai, K. (2020). Effect of Downregulating the Hippo Pathway Members YAP1 and LATS2 Transcripts on Early Development and Gene Expression Involved in Differentiation in Porcine Embryos. *Cell Rerogram*. **22(2)**, 62-70.
- Engle, C.C., and Foley, C.W. (1975). Certain physiochemical properties of uterine tubal fluid, follicular-fluid, and blood-plasma in mare. *Am J Vet Res* **36**, 149-154
- Enomoto, A., Murakami, H., Asai, N., Morone, N., Watanabe, T., Kawai, K., Murakumo, Y., Usukura, J., Kaibuchi, K., and Takahashi, M. (2005). Akt/PKB regulates actin organization and cell motility via Girdin/APE. *Dev cell*, **9(3)**, 389-402
- Epifano, O., and Dean J., (1994). Biology and structure of the zona pellucida: a target for immunocontraception. *Reprod. Fertil. Dev.* **6**: 319-330
- Eppig, J. (2001). Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction*, **122**, 829-838.
- Erickson, G.F., Girvigian, M.R., Sadighian, A.R., Nakatani, A., Ling, N., Shimasaki, S. (1995). Tissue specific and cyclic expression of insulin-like growth factor bindingproteins 1, -2, -3, -4, -5, -6 in the rat oviduct. *Endocrine*. **3(9)**, 667-76.
- Erpenbeck, L., Chowdhury, C.S., Zsengellér, Z.K., Gallant, M., Burke, S.D., Cifuni, S., Hahn, S., Wagner, D.D., Karumanchi, S.A. (2016). PAD4 Deficiency Decreases Inflammation and Susceptibility to Pregnancy Loss in a Mouse Model. *Biol Reprod*. **95(6)**, 132.
- Esfandyari S, Elkafas H, Chugh RM, Park HS, Navarro A, Al-Hendy A. (2021). Exosomes as Biomarkers for Female Reproductive Diseases Diagnosis and Therapy. *Int J Mol Sci*. **22(4)**, 2165.
- Esko, J.D, and Lindahl, U. (2001). Molecular diversity of heparan sulfate. *J Clin Invest*. **108(2)**,169-73.
- Eustace, B. K., and Jay, D. G. (2004). Extracellular roles for the molecular chaperone, hsp90. *Cell cycl*, **3(9)**, 1098-1100.
- Evans, N.P., Richter, T.A., Skinner, D.C., Robinson, J.E. (2002). Neuroendocrine mechanisms underlying the effects of progesterone on the oestradiol-induced GnRH/LH surge. *Reprod. Suppl.* **59**, 57-66.
- Evans, J.P. (2020). Preventing polyspermy in mammalian eggs-Contributions of the membrane block and other mechanisms. *Mol Reprod Dev*. **87(3)**, 341-349.
- Evans, J.P., Kopf, G.S., Schultz, R.M. (1997). Characterization of the binding of recombinant mouse sperm fertilin β subunit to mouse eggs: evidence for adhesive activity via an egg β 1 integrin-mediated interaction. *Dev Biol* **187**, 79-93.
- Evans, J., Salamonsen, L.A., Winship, A., Menkhorst, E., Nie, G., Gargett, C.E., Dimitriadis, E. (2016). Fertile ground: human endometrial programming and lessons in health and disease. *Nat Rev Endocrinol*. **12(11)**, 654-667.
- Evsikov, A.V., Graber, J.H., Brockman, J.M., Hampl, A., Holbrook, A.E., Singh, P., Eppig, J.J., Solter, D., Knowles, B.B. (2006). Cracking the egg: molecular dynamics and evolutionary aspects of the transition from the fully grown oocyte to embryo. *Genes Dev*. **20(19)**, 2713-27.

- Ezoe, K., Miki, T., Ohata, K., Fujiwara, N., Yabuuchi, A., Kobayashi, T., and Kato, K. (2021). Prolactin receptor expression and its role in trophoblast outgrowth in human embryos. *Reprod biomed online*, **42(4)**, 699–707.
- F**abryova, K., and Simon, M. (2009). Function of the cell surface molecules (CD molecules) in the reproduction processes. *Gen Physiol Biophys* **28**, 1-7.
- Fair, T. (2003). Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence. *Anim Reprod Sci* **78**, 203-216
- Fan, H.Y., and Sun, Q.Y. (2004) Involvement of Mitogen-Activated Protein Kinase Cascade during Oocyte Maturation and Fertilization in Mammals. *Biol Reprod* **70**, 535 - 547.
- Fawcett, D.W. (1970). A comparative view of sperm ultrastructure. *Biol Reprod Suppl*, **2**, 90-127.
- Fazeli, A., Affara, N.A., Hubank, M., and Holt, W.V. (2004). Sperm-induced modification of the oviductal gene expression profile after natural insemination in mice. *Biol Reprod* **71**, 60-65.
- Fazeli, A., Elliott, R.M.A., Duncan, A.E., Moore, A., Watson, P.F. and Holt, W.V. (2003). In vitro maintenance of boar sperm viability by a soluble fraction obtained from oviductal apical plasma membrane preparations. *Reproduction* **125**, 509-517.
- Fazeli, A., Hage, W.J., Cheng, F.P., Voorhout, W.F., Marks, A., Bevers, M.M. and Colenbrander, B. (1997). Acrosome-intact boar spermatozoa initiate binding to the homologous zona pellucida in vitro. *Biol Reprod* **56**, 430-438.
- Fazleabas, A.T., and Verhage, H.G. (1986). The detection of oviduct-specific proteins in the baboon (papio-anubis). *Biol Reprod* **35**, 455-462.
- Fereshteh, Z., Schmidt, S. A., Al-Dossary, A. A., Accerbi, M., Arighi, C., Cowart, J., Song, J. L., Green, P. J., Choi, K., Yoo, S., and Martin-DeLeon, P. A. (2018). Murine Oviductosomes (OVS) microRNA profiling during the estrous cycle: Delivery of OVS-borne microRNAs to sperm where miR-34c-5p localizes at the centrosome. *Sci rep*, **8(1)**, 16094.
- Fernández-Caballero, T., Álvarez, B., Revilla, C., Zaldívar-López, S., Alonso, F., Garrido, J. J., Ezquerro, Á., and Domínguez, J. (2018). Phenotypic and functional characterization of porcine bone marrow monocyte subsets. *Dev comp immunol* **81**, 95–104.
- Fernández-Hernández, P., Marinaro, F., Sánchez-Calabuig, M. J., García-Marín, L. J., Bragado, M. J., González-Fernández, L., and Macías-García, B. (2021). The Proteome of Equine Oviductal Fluid Varies Before and After Ovulation: A Comparative Study. *Front vet sci*, **8**, 694247.
- Ferraz, M., Carothers, A., Dahal, R., Noonan, M. J., and Songsasen, N. (2019). Oviductal extracellular vesicles interact with the spermatozoon's head and mid-piece and improves its motility and fertilizing ability in the domestic cat. *Sci rep*, **9(1)**, 9484.
- Ferreira, E.M., Vireque, A.A., Adona, P.R., Meirelles, F.V., Ferriani, R.A., and Navarro, P.A. (2009). Cytoplasmic maturation of bovine oocytes: structural and biochemical modifications and acquisition of developmental competence. *Theriogenology*. **71**, 836-848.
- Feugang, J. M., Rodriguez-Munoz, J. C., Willard, S. T., Bathgate, R. A., and Ryan, P. L. (2011). Examination of relaxin and its receptors expression in pig gametes and embryos. *Reprod biol endocrinol*, **9**, 10.
- Findlay, J.K., Drummond, A.E., Dyson, M.L., Baillie, A.J., Robertson, D.M., and Ethier, J.F. (2002). Recruitment and development of the follicle; the roles of the transforming growth factor- β superfamily. *Mol Cell Endocrinol*. **191**, 35 – 43.
- Fink, H., Rex, A., Voits, M., and Voigt, J.P. (1998). Major biological actions of CCK--a critical evaluation of research findings. *Exp Brain Res* **123**, 77-83.
- Fischer, B., and Bavister, B.D. (1993). Oxygen-tension in the oviduct and uterus of rhesus-monkeys, hamsters, and rabbits. *J Reprod Fertil* **99**, 673-679.

- Fletcher, W.H., and Greenan, J.R.T. (1985). Receptor mediated action without receptor occupancy. *Endocrinology*. **116**, 1660 - 1662.
- Florman, H.M., y Ducibella, T. (2006). Fertilization in mammals. *Physiol Reprod* **3**, 55-112.
- Franca, L.R., Avelar, G.F., and Almeida, F.F.L. (2005). Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogenology* **63**,300-318.
- Franceschini, A., Szklarczyk, D., Frankild, S., Kuhn, M., Simonovic, M., Roth, A., Lin, J., Minguez, P., Bork, P., Von Mering, C., and Jensen, L.J. (2013). STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with Increased coverage and integration. *Nucleic Acids Res.* 808-15.
- Franchi, L.L., Mandl, A., and Zuckermann, S. (1962). The development of the ovary and the process of oogenesis. *The ovarian. Ed: S. Zuckermann.Academic Press, New York, USA*, **1**.
- Frazer, L. C., Scurlock, A. M., Zurenski, M. A., Riley, M. M., Mintus, M., Pociask, D. A., and Darville, T. (2013). IL-23 Induces IL-22 and IL-17 Production in Response to C hlamydia muridarum Genital Tract Infection, but the Absence of these Cytokines does not Influence Disease Pathogenesis. *Am j reprod immuno* **70(6)**, 472-484.
- Fortune, J.E. (2003). The early stages of follicular development: activation of primordial follicles and growth of preantral follicles. *Anim Reprod Sc* **78**,135-63.
- Fortune, J.E., Rivera, G.M., Evans, A.C.O., and Turzillo, A.M. (2001). Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biol Reprod.* **65**, 648 -654.
- Freeman, D.A., Woods, G.L., Vanderwall, D.K., and Weber, J.A. (1992). Embryo-initiated oviductal transport in mares. *J Reprod Fertil* **95**, 535-538.
- Freeman, M.E., Kanyicska, B., Lerant, A. y Nagy, G. (2000). Prolactin: structure, function, and regulation of secretion. *Physiological Reviews* **80**, 1523-1631. pregnancy. *Human reproduction (Oxford, England)*, **13(3)**, 656-659.
- Fu, B., Zhou, Y., Ni, X., Tong, X., Xu, X., Dong, Z., Sun, R., Tian, Z., & Wei, H. (2017). Natural Killer Cells Promote Fetal Development through the Secretion of Growth-Promoting Factors. *Immunity*, **47(6)**, 1100-1113.
- Fujimura, K., Kano, F., and Murata, M. (2008). Identification of PCBP2, a facilitator of IRES-mediated translation, as a novel constituent of stress granules and processing bodies. *RNA (New York, N.Y.)*, **14(3)**, 425-431.
- Funahashi, H., and Day, B.N. (1993). Effects of follicular fluid at fertilization in vitro on sperm penetration in pig oocytes. *J Reprod Fertil.* **99(1)**, 97-103.
- Fusi, F. M., Tamburini, C., Mangili, F., Montesano, M., Ferrari, A., and Bronson, R. A. (1996). The expression of alpha v, alpha 5, beta 1, and beta 3 integrin chains on ejaculated human spermatozoa varies with their functional state. *Mol hum reprod*, **2(3)**, 169-175.
- G**abler, C., Chapman, D.A., and Killian, G.J. (2003). Expression and presence of osteopontin and integrins in the bovine oviduct during the oestrous cycle. *Reproduction* **126**, 721-729.
- Gabler, C., Oda, S., Muller, K., Schon, J., Bondzio, A., and Einspanier, R. (2008). Exploring cumulus-oocyte-complex-oviductal cell interactions: gene profiling in the bovine oviduct. *J Physiol Pharmacol* **59**, 29-42.
- Gabrielli, B.G., Roy, L.M., and Maller, J.L. (1993). Requirement of cdk2 in cytosstatic factor-mediated metaphase arrest. *Science.* **259**, 1766 - 1769.
- Gadella, B.M. (2010). Interaction of sperm with the zona pellucida during fertilization. *Soc Reprod Fertil Suppl*, **67**, 267-287.
- Gallegos-Sánchez, J., Delaleu, B., Caraty, A., Malpoux, B., and Thiéry, J.C. (1997). Estradiol acts locally within the retrochiasmatic area to inhibit pulsatile luteinizing-hormone release in the female sheep during anestrus. *Biol Reprod* **56**, 1544-1549.

- Gandolfi, F., Brevini, T.A.L., Richardson, L., Brown, C.R., and Moor, R.M. (1989). Characterization of proteins secreted by sheep oviduct epithelial-cells and their function in embryonic-development. *Development* **106**, 303-312.
- Gandolfi, F., Modina, S., Brevini, T.A.L., Galli, C., Moor, R.M., and Lauria, A. (1991). Oviduct ampullary epithelium contributes a glycoprotein to the zona-pellucida, perivitelline space and blastomeres membrane of sheep embryos. *Eur J Basic Appl Histochem* **35**, 383-392.
- Gandolfi F, Modina S, Brevini TA, Passoni L, Artini P, Petraglia F, Lauria A. (1995). Activin beta A subunit is expressed in bovine oviduct. *Mol Reprod Dev.* **40(3)**, 286-91.
- Ganguly, A., Sharma, R.K., and Gupta, S.K. (2008). Bonnet monkey (*Macaca radiata*) ovaries, like human oocytes, express four zona pellucida glycoproteins. *Mol Reprod Dev* **75**, 156-166.
- Gao, Y., Thomas, J.O., Chow, R.L., Lee, G.H., Cowan, N.J. (1992). A cytoplasmic chaperonin that catalyzes beta-actin folding. *Cell.* **69(6)**, 1043-50.
- Garcea, N., Campo, S., Siccardi, P., Panetta, V., Venneri, M. and Dargenio, R. (1983). Effect of drug-induced hyper- and hypoprolactinemia on human corpus luteum. *Ac Europaea Fertilitatis* **14** 35 - 40.
- Garcia, M.L., Peiro, R., Argente, M.J., Merchan, M., Folch, J.M., Blasco, A., and Santacreu, M.A. (2010). Investigation of the oviductal glycoprotein 1 (OVGP1) gene associated with embryo survival and development in the rabbit. *J Anim Sci* **88**, 1597-1602.
- García-Vázquez, F.A., Hernández-Caravaca, I., Matás, C., Soriano-Úbeda, C., Abril-Sánchez, S., and Izquierdo-Rico, M.J. (2015a). Morphological study of boar sperm during their passage through the female genital tract. *J Reprod Dev* **61**, 407-413.
- García-Vázquez, F.A., Hernández-Caravaca, I., Yáñez-Quintana, W., Matás, C., Soriano-Úbeda, C., and Izquierdo-Rico, M. J. (2015b). Morphometry of boar sperm head and flagellum in semen backflow after insemination. *Theriogenology* **84**, 566-574.
- Gardner, D.K. (2008). Dissection of culture media for embryos: the most important and less important components and characteristics. *Reprod Fert Dev* **20**, 9-18.
- Gardner, D.K., Lane, M., Calderon, I., and Leeton, J. (1996). Environment of the preimplantation human embryo in vivo: Metabolite analysis of oviduct and uterine fluids and metabolism of cumulus cells. *Fertil Steril* **65**, 349-353.
- Gardner, D.K., and Leese, H.J. (1990). Concentrations of nutrients in mouse oviduct fluid and their effects on embryo development and metabolism invitro. *J Reprod Fertil* **88**, 361-368.
- Garrett, W.M., and Guthrie, H.D. (1999). Expression of Bcl-2 and 3-hydroxysteroid dehydrogenase protein during oocyte and follicle development in foetal and post-natal pig ovaries. *Reprod Fertil Dev.* **11**, 463 – 470.
- Garrido, C., Saule, S., and Gospodarowicz, D. (1993). Transcriptional regulation of vascular endothelial growth factor gene expression in bovine granulosa cells. *Growth Factors* **8**, 109 -117.
- Gatti, J. L., Castella, S., Dacheux, F., Ecroyd, H., Metayer, S., Thimon, V., and Dacheux, J.L., (2004). Post-testicular sperm environment and fertility. *Anim Reprod Sci*, **82-3**, 321-339.
- Gatti, J. L., Métayer, S., Belghazi, M., Dacheux, F., and Dacheux, J. L. (2005). Identification, proteomic profiling, and origin of ram epididymal fluid exosome-like vesicles. *Biof reprod*, **72(6)**, 1452-1465.
- Gautier, J., Norbury, C., Lohka, M., and Maller, J. (1998). Purified maturation promoting factor contains the product of a *Xenopus* homolog of the fussion yeast cell cycle gene *cdc2+*. *Cell.* **54**,433 - 439.
- George, S.H.L., Greenaway, J., Milea, A., Clary, V., Shaw, S., Sharma, M., et al. (2011). Identification of abrogated pathways in fallopian tube epithelium from BRCA1 mutation carriers. *J Pathol* **225**, 106-117.

- Georgiou, A.S., Snijders, A.P., Sostaric, E., Aflatoonian, R., Vazquez, J.L., Vazquez, J.M., Roca, J., Martinez, E.A., Wright, P.C., Fazeli, A. (2007). Modulation of the oviductal environment by gametes. *J Proteome Res.* **6(12)**, 4656-66.
- Georgiou, A.S., Sostaric, E., Wong, C.H., Snijders, A.P.L., Wright, P.C., Moore, H.D., and Fazeli, A. (2005). Gametes alter the oviductal secretory proteome. *Mol Cell Proteomics* **4**, 1785-1796.
- Gerena, R.L., and Killian, G.J. (1990). Electrophoretic characterization of proteins in oviduct fluid of cows during the estrous cycle. *J Exp Zool.* **256(1)**, 113-20.
- Gerena, R., Irikura, D., Urade, Y., Eguchi, N., Chapman, D., and Killian, G. (1998). Identification of a fertility-associated protein in bull seminal plasma as lipocalin-type prostaglandin D synthase. *Biol Reprod* **58**, 826-833.
- Getz, M., Swanson, L., Sahoo, D., Ghosh, P., and Rangamani, P. (2019). A predictive computational model reveals that GIV/girdin serves as a tunable valve for EGFR-stimulated cyclic AMP signals. *Mol Biol Cell*, **30(13)**, 1621–1633.
- Ghosh, P., Saha, S.K., Bhattacharya, S., Mukherjee, S., and Roy, S.S. (2007). Tachykinin family genes and their receptors are differentially expressed in the hypothyroid ovary and pituitary. *Cell Physiol Biochem* **20**, 357-368.
- Gil Villa, A.M., Cardona-Maya, W.D., and Cadavid Jaramillo, A.P. (2007). Muerte embrionaria temprana: ¿tiene influencia el factor masculino? *Arch. Esp. Urol.* **60 (9)**, 1057 - 1068.
- Gilbert, S.F. (2005). Fecundación: el comienzo de un nuevo organismo. *Biología del desarrollo. Editorial Médica Panamericana SA, Argentina*, p. 197-238
- Gilula, N., Epstein, M., and Beers, W. Cell-to-cell communication and ovulation and ovulation: A study of cumulus cell-oocyte complex (1978). *J Cell Biol.* **78**, 58 - 75.
- Glander, H. J., and Schaller, J. (1993). Beta 1-integrins of spermatozoa: a flow cytophotometric analysis. *Int J androl*, **16(2)**, 105-111.
- Goehring, T. (2003). Heat detection of beef cattle. Beef Cattle Handbook-2310. South Dakota State University.
- Goldshmidt, O., Zcharia, E., Aingorn, H., Guatta-Rangini, Z., Atzmon, R., Michal, I., Pecker, I., Mitrani, E., and Vlodaysky, I. (2001). Expression pattern and secretion of human and chicken heparanase are determined by their signal peptide sequence. *J Biol Chem*, **276(31)**, 29178-29187.
- Goldstein, D.A., and Solomon, A.K. (1960). Determination of equivalent pore radius for human red cells by osmotic pressure measurement. *J. Gen.*
- Goncalves, R.F., Staros, A.L., and Killian, G.J. (2008). Oviductal Fluid Proteins Associated with the Bovine Zona Pellucida and the Effect on In Vitro Sperm-Egg Binding, Fertilization and Embryo Development. *Reprod Domest Anim* **43**, 720-729.
- Gondos, B. (1969). The ultrastructure of granulose cells in the newborn rabbit ovary. *Anat. Rec.*, **165**, 6777.
- Gong, J., Körner, R., Gaitanos, L., and Klein, R. (2016). Exosomes mediate cell contact-independent ephrin-Eph signaling during axon guidance. *J Cell Biol* **214(1)**, 35-44.
- González-Brusi, L., Algarra, B., Moros-Nicolás, C., Izquierdo-Rico, M. J., Avilés, M., and Jiménez-Movilla, M. (2020). A Comparative View on the Oviductal Environment during the Periconception Period. *Biomolecules*, **10(12)**, 1690.
- Gott, A.L., Gray, S.M., James, A.F., and Leese, H.J. (1988). The mechanism and control of rabbit oviduct fluid formation. *Biol Reprod* **39**, 758-763.
- Goudet, G. (2011). Fertilisation in the horse and paracrine signalling in the oviduct. *Reprod Fertil Dev* **23**, 941-951.

- Goudet, G., Mugnier, S., Callebaut, I., and Monget, P. (2008). Phylogenetic analysis and identification of pseudogenes reveal a progressive loss of zona pellucida genes during evolution of vertebrates. *Biol Reprod* **78**, 796-806.
- Grattan, D.R. y Kokay, I.C. (2008). Prolactin: a pleiotropic neuroendocrine hormone. *J Neuroendocrinol* 20752-763
- Greening, D.W., Nguyen, H.P., Elgass, K., Simpson, R.J., and Salamonsen, L.A. (2016). Human Endometrial Exosomes Contain Hormone-Specific Cargo Modulating Trophoblast Adhesive Capacity: Insights into Endometrial-Embryo Interactions. *Biol Reprod* **94**, 38.
- Gressner, O. A., and Gressner, A. M. (2008). Connective tissue growth factor: a fibrogenic master switch in fibrotic liver diseases. *Liver int*, **28(8)**, 1065-1079.
- Griffiths, G.S., Miller, K.A., Galileo, D.S., and Martin-DeLeon, P.A. (2008). Murine SPAM1 is secreted by the estrous uterus and oviduct in a form that can bind to sperm during capacitation: acquisition enhances hyaluronic acid-binding ability and cumulus dispersal efficiency. *Reproduction* **135**, 293-301.
- Grippe, A.A., Henault, M.A., Anderson, S.H., and Killian, G.J. (1992). Cation concentrations in fluid from the oviduct ampulla and isthmus of cows during the estrous - cycle. *J Dairy Sci* **75**, 58-65.
- Gu, F. (1993). Effect of serum prolactin levels on luteal function in patients with recurrent abortions. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. **28(1)**, 34-7.
- Gualtieri, R., Boni, R., Tosti, E., Zagami, M., and Talevi, R. (2005). Intracellular calcium and protein tyrosine phosphorylation during the release of bovine sperm adhering to the fallopian tube epithelium in vitro. *Reproduction* **129**, 51-60.
- Guo, J., Zhang, T., Guo, Y., Sun, T., Li, H., Zhang, X., Yin, H., Cao, G., Yin, Y., Wang, H., Shi, L., Guo, X., Sha, J., Eppig, J.J., Su, Y.Q. (2018). Oocyte stage-specific effects of MTOR determine granulosa cell fate and oocyte quality in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **115(23)**, 5326-5333.
- Gupta, S.K., and Bhandari, B. (2011). Acrosome reaction: relevance of zona pellucida glycoproteins. *Asian J Androl* **13**, 97-105.
- Gupta, S.K., Bhandari, B., Shrestha, A., Biswal, B.K., Palaniappan, C., Malhotra, S.S., and Gupta, N. (2012). Mammalian zona pellucida glycoproteins: structure and function during fertilization. *Cell Tissue Res* **349**, 665-678.
- Gurunathan S, Kang MH, Jeyaraj M, Qasim M, Kim JH. (2019). Review of the Isolation, Characterization, Biological Function, and Multifarious Therapeutic Approaches of Exosomes. *Cells*. **8(4)**, 307.
- Guthrie, H.D., and Garrett, W.M. (2001). Apoptosis during folliculogenesis in pigs. *Reproduction*. **58**, 17- 29.
- Gutiérrez-Adán, A., Rizos, D., Fair, T., Moreira, P.N., Pintado, B., de la Fuente, J., Boland, M.P., Lonergan, P. (2004). Effect of speed of development on mRNA expression pattern in early bovine embryos cultured in vivo or in vitro. *Mol Reprod Dev*. **68(4)**, 441-8.
- Guzel, E., Arlier, S., Guzeloglu-Kayisli, O., Tabak, M. S., Ekiz, T., Semerci, N., Larsen, K., Schatz, F., Lockwood, C. J., & Kayisli, U. A. (2017). Endoplasmic Reticulum Stress and Homeostasis in Reproductive Physiology and Pathology. *Int j mol sci*, **18(4)**, 792.
- Guzmán, L., Pérez, S., and Valdivia, M. (2007). Induction of the acrosomal reaction in mouse spermatozoa by the solution of pellucid zone from alpaca (*Lama pacos L.*). *Rev Perú Biol* **13(3)**, 227 - 229.
- Ha, M., and Kim, V.N. (2014). Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. **15(8)**, 509-24.

- Hachen, A., Jewgenow, K., and Braun, B.C. (2012). Sequence analysis of feline oviductin and its expression during the estrous cycle in the domestic cat (*Felis catus*). *Theriogenology* **77**, 539-549.
- Hafez, E.S.E. (1996). Reproducción e inseminación artificial. Trad. R. Palacios 6 ed. *Interamericana*. **542**.
- Hafez, E., and Hafez, B. (2000). Reproducción e inseminación artificial en animales.
- Hafez, E.S.E., and Blandau, R.J. (1969). Mammalian oviduct; comparative biology and methodology. *International Symposium on the Mammalian Oviduct*. University of Chicago Press.
- Halbert, S.A., Tam, P.Y., and Blandau, R.J. (1976). Egg transport in rabbit oviduct. Role of cilia and muscle. *Science* **191**, 1052-1053.
- Han, S.Z., Li, Z.Y., Paek, H.J., Choe, H.M., Yin, X.J., Quan, B.H. (2021). Reproduction traits of heterozygous myostatin knockout sows crossbred with homozygous myostatin knockout boars. *Reprod Domest Anim*. **56**(1):26-33.
- Hao, Y., Mathialagan, N., Walters, E., Mao, J., Lai, L., Becker, D., Li, W., Critser, J., Prather, R.S. (2006). Osteopontin reduces polyspermy during in vitro fertilization of porcine oocytes. *Biol Reprod*. **75**(5),726-33.
- Happola, O., Lakomy, M., Majewski, M., and Yanaihara, N. (1991). Distribution of somatostatin- and neuropeptide Y-immunoreactive nerve fibers in the porcine female reproductive system. *Neurosci lett*, **122**(2), 273-276.
- Harada, H., and Takahashi, M. (2007). CD44-dependent intracellular and extracellular catabolism of hyaluronic acid by hyaluronidase-1 and-2. *J Biol Chem*, **282**(8), 5597-5607.
- Harding, J.E. (2001). The nutritional basis of the fetal origins of adult disease. *Int J Epidemiol* **30**, 15-23.
- Harris, S.E., Gopichandran, N., Picton, H.M., Leese, H.J., and Orsi, N.M. (2005). Nutrient concentrations in murine follicular fluid and the female reproductive tract. *Theriogenology* **64**, 992-1006.
- Harris, E.A., Stephens, K.K., Winuthayanon, W. (2020). Extracellular Vesicles and the Oviduct Function. *J Mol Sci*. **21**(21), 280.
- Hartshorne, G.M. (1997). In vitro culture of ovarian follicles. *Rev Reprod*. **2**, 94 - 104.
- Hashimoto, S. (2009). Application of in vitro maturation to assisted reproductive technology. *J Reprod Dev*. **55**, 1 - 10.
- Hedrick, J.L., and Wardrip, N.J. (1987). On the macromolecular-composition of the zona-pellucida from porcine oocytes. *Dev Biol* **121**, 478-488.
- Heikinheimo, O., and Gibbons, W.E. (1998). The molecular mechanisms of oocyte maturation and early embryonic development are unveiling new insights into
- Heller, C. H., and Clermont, Y., (1964). Kinetics of the germinal epithelium in man. *Recent Prog Horm Res*, **20**, 545-575.
- Hettinghouse, A., Liu, R., and Liu, C. J. (2018). Multifunctional molecule ERp57: From cancer to neurodegenerative diseases. *Pharmacol ther*, **181**, 34-48.
- Hernández-González, E.O., Sosnik J., Edwards J., Acevedo J.J., Mendoza-Lujambio I., López-González I., Demarco I., Wertheimer E., Darszon A., and Visconti P.E. (2006). Sodium and epithelial sodium channels participate in the regulation of the capacitation- associated hyperpolaritation in mouse sperm. *J Biol chem*. **281**(9), 5623-5633.
- Herranz, A. (2021). Retos actuales de la producción porcina mundial, [Webnar]. Interpoc. Universidad de Lleida.
- Herrler, A., and Beier, H.M. (2000). Early embryonic coast: Morphology, function, practical applications. *An overview. Cells tissues Organs*. **166**, 233-246

- Herrler, A., Krusche, C.A., Muller-Schottle, F., and Beier, H.M. (2004). Haptoglobin expression and release by rabbit oviduct and endometrium, its localization in blastocyst extra-embryonic matrix and fluid during preimplantation time. *Hum Reprod* **19**, 2730-2737.
- Hess, R.A., and Renato de Franca, L. (2008). Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. *Adv Exp Med Biol* **636**, 1-15.
- Hey, N.A., and Aplin, J.D. (1996). Sialyl-Lewis x and Sialyl-Lewis a are associated with MUC1 in human endometrium. *Glycoconj J* **13**, 769-779.
- Hilkens, J., Ligtenberg, M.J.L., Vos, H.L., and Litvinov, S.V. (1992). Cell membrane-associated mucins and their adhesion-modulating property. *Trends Biochem Sci* **17**, 359-363.
- Hill, J., Walker, S., Brown, G., and Nancarrow, C. (1996). The effects of an ovine oviductal estrus-associated glycoprotein on early embryo development. *Theriogenology* **46**, 1367-1377.
- Hill, J.L., Wade, M.G., Nancarrow, C.D., Kelleher, D.L., and Boland, M.P. (1997). Influence of ovine oviducal amino acid concentrations and an ovine oestrus-associated glycoprotein on development and viability of bovine embryos. *Mol Reprod Dev* **47**, 164-169.
- Hirshfield, A.N. (1991). Development of follicles in the mammalian ovary. *Int Rev Cytol* **124**, 43-101.
- Hiyama, G., Mizushima, S., Matsuzaki, M., Ichikawa, Y., Kansaku, N., and Sasanami, T. (2016). Expression of Prolactin Receptor on the Surface of Quail Spermatozoa. *J poult sci*, **53(2)**, 157-164.
- Hjortebjerg, R. (2018). IGFBP-4 and PAPP-A in normal physiology and disease. *Growth Horm IGF Res.* **41**, 7-22.
- Hobohm, L., Koudelka, T., Bahr, F. H., Truberg, J., Kapell, S., Schacht, S. S., Meisinger, D., Mengel, M., Jochimsen, A., Hofmann, A., Heintz, L., Tholey, A., and Voss, M. (2022). N-terminome analyses underscore the prevalence of SPPL3-mediated intramembrane proteolysis among Golgi-resident enzymes and its role in Golgi enzyme secretion. *Cell mol life sci*, **79(3)**, 185.
- Hochereau, M. T., (1963). Constance des frequences relatives des etudes du cycle de l'epithelium seminifere chez lez taureau et chez le rat. *Ann Biol Anim, Biochem, Biophys*, **3**, 93-102.
- Hodgkinson SC, Napier JR, Spencer GS, Bass JJ. (1994). Glycosaminoglycan binding characteristics of the insulin-like growth factor-binding proteins. *J Mol Endocrinol.* **13(1)**, 105-12.
- Holt, W.V., and Fazeli, A. (2015) Do sperm possess a molecular passport? Mechanistic insights into sperm selection in the female reproductive tract. *Mol Hum Reprod* **21**, 491-501.
- Honda, T., Fujiwara, H., Yoshioka, S., Yamada, S., Nakayama, T., Egawa, M., and Fujii, S. (2004). Laminin and fibronectin concentrations of the follicular fluid correlate with granulosa cell luteinization and oocyte quality. *Reprod med biol*, **3(1)**, 43-49.
- Hoodbhoy, T., Joshi, S., Boja, E.S., Williams, S.A., Stanley, P., and Dean, J. (2005). Human sperm do not bind to rat zonae pellucidae despite the presence of four homologous glycoproteins. *J Biol Chem* **280**, 12721-12731.
- Hook, M., Pettersson, I., and Ogren, S. (1977). A heparin-degrading endoglycosidase from rat spleen. *Thromb res*, **10(6)**, 857-861.
- Hribal, R., Hachen, A., Jewgenow, K., Zahmel, J., Fernandez-Gonzalez, L., and Braun, B.C. (2014a). The influence of recombinant feline oviductin on different aspects of domestic cat (*Felis catus*) IVF and embryo quality. *Theriogenology* **82**, 742-749.
- Hribal, R., Hachen, A., Zahmel, J., Gonzalez, L.F., Jewgenow, K., and Braun, B.C. (2014b). The effect of recombinant feline oviductin used in the cat IVF system. *Reprod Domest Anim* **49**, 24-25.
- Huang da, W., Sherman, B.T., and Lempicki, R.A. (2009). Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nat Protoc.* **4(1)**,44-57.

- Hugentobler, S.A., Diskin, M.G., Leese, H.J., Humpherson, P.G., Watson, T., Sreenan, J.M., and Morris, D.G. (2007). Amino acids in oviduct and uterine fluid and blood plasma during the estrous cycle in the bovine. *Mol Reprod Dev* **74**, 445-454.
- Hugentobler, S.A., Humpherson, P.G., Leese, H.J., Sreenan, J.M., and Morris, D.G. (2008). Energy substrates in bovine oviduct and uterine fluid and blood plasma during the oestrous cycle. *Mol Reprod Dev* **75**, 496-503.
- Hugentobler, S.A., Sreenan, J.M., Humpherson, P.G., Leese, H.J., Diskin, M.G., and Morris, D.G. (2010). Effects of changes in the concentration of systemic progesterone on ions, amino acids and energy substrates in cattle oviduct and uterine fluid and blood. *Reprod Fertil Dev* **22**, 684-694.
- Hughes, J.P., Stabenfeldt, G.H., y Evans, J.W. (1972). Estrous cycle and ovulation in the mare. *J Am Vet Med Assoc* **161**, 1935-1939.
- Hung, T. T., Tsuiki, A., and Yemini, M. (1989). Fibronectin in reproduction. *Steroids*, **54(6)**, 575-582.
- Hung, P.H., and Suarez, S.S. (2010). Regulation of sperm storage and movement in the ruminant oviduct. *Soc Reprod Fertil Suppl* **67**, 257-266.
- Hunter, M.G. (1984). Prolactin stimulates steroidogenesis by human luteal tissue *in vitro*. *J Endocrinol* 103107-110
- Hunter, R. (1967). The effects of delayed insemination on fertilization and early cleavage in the pig. *Journal of reproduction and fertility* **13**, 133-147.
- Hunter, R. (1991a) Fertilization in the pig and horse. In A comparative overview of mammalian fertilization. *Springer* 329-349.
- Hunter, R., Cicinelli, E., and Einer-Jensen, N. (2007). Peritoneal fluid as an unrecognised vector between female reproductive tissues. *Acta Obstet Gynecol Scand* **86**, 260-265.
- Hunter, R.H. (2001). Histophysiology of the Fallopian tubes in relation to sperm binding, release, and completion of capacitation. *Italian J Anatomy embryol* **106**, 279-289.
- Hunter, R.H.F. (1991b). Oviduct function in pigs, with reference to the pathological condition of polyspermy. *Mol Reprod Dev* **29**, 385-391.
- Hunter, R.H.F. (1994). Modulation of gamete and embryonic microenvironments by oviduct glycoproteins. *Mol Reprod Dev* **39**, 176-181.
- Hunter, R.H.F. (1998). Have the Fallopian tubes a vital role in promoting fertility? *Acta Obstet Gynecol Scand* **77**, 475-486.
- Hunter, R.H.F. (2002). Vital aspects of fallopian tube physiology in pigs. *Reprod Domest Anim* **37**, 186-190.
- Hunter, R.H.F. (2005). The Fallopian tubes in domestic mammals: how vital is their physiological activity? *Reprod Nut Dev* **45**, 281-290.
- Hunter, R.H.F. (2012a). Components of oviduct physiology in eutherian mammals. *Biol Rev* **87**, 244-255.
- Hunter, R.H.F. (2012b). Temperature gradients in female reproductive tissues. *Reprod Biomed Online* **24**, 377-380
- Hunter, R.H.F., Coy, P., Gadea, J. and Rath, D. (2011). Considerations of viscosity in the preliminaries to mammalian fertilisation. *J Assist Reprod Gen* **28**, 191-197.
- Hutt, K.J., McLaughlin, E.A., and Holland, M.K. (2006). Primordial follicle activation and follicular development in the juvenile rabbit ovary. *Cell Tissue Res.*, **326**, 809-822
- Hyllner, S.J., Westerlund, L., Olsson, P.E., and Schopen, A. (2001). Cloning of rainbow trout egg envelope proteins: Members of a unique group of structural proteins. *Biol Reprod* **64**, 805-811.

- Ignatz, G. G., Cho, M. Y., and Suarez, S. S. (2007). Annexins are candidate oviductal receptors for bovine sperm surface proteins and thus may serve to hold bovine sperm in the oviductal reservoir. *Biol reprod*, **77(6)**, 906-913.
- Ikawa, M., Wada, I., Kominami, K., Watanabe, D., Toshimori, K., Nishimune, Y., Okabe, M. (1997). The putative chaperone calmeglin is required for sperm fertility. *Nature*. **387(6633)**, 607-11.
- Ingham, K. C., Brew, S. A., and Atha, D. H. (1990). Interaction of heparin with fibronectin and isolated fibronectin domains. *Biochem J* **272(3)**, 605-611.
- Inoue, N., Ikawa, M., Isotani, A., Okabe, M. (2005). The immunoglobulin superfamily protein Izumo is required for sperm to fuse with eggs. *Nature*. **434(7030)**, 234-8.
- Irie, F., Okuno, M., Matsumoto, K., Pasquale, E. B., and Yamaguchi, Y. (2008). Heparan sulfate regulates ephrin-A3/EphA receptor signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* **105(34)**, 12307-12312.
- Iritani, A., Sato, E., and Nishikawa, Y. (1974). Secretion rates and chemical composition of oviduct and uterine fluids in sows. *J Anim Sci* **39**, 582-587.
- Ishikawa, Y., Usui, T., Yamashita, M., Kanemori, Y., and Baba, T. (2016). Surfing and Swimming of Ejaculated Sperm in the Oviduct. *Biol Reprod* **115**, 135-418.
- Issaq, S.H., Lim, K.H., and Counter, C.M. (2010). Sec5 and Exo84 foster oncogenic ras-mediated tumorigenesis. *Molecular Cancer Research* **223-231**.
- Izquierdo-Rico, M.J., Jimenez-Movilla, M., Llop, E., Perez-Oliva, A.B., Ballesta, J., Gutierrez-gallego, R., Jimenez-Cervantes, C., Aviles, M. Hamster zona pellucida is formed by four glycoproteins: ZP1, ZP2, ZP3, and ZP4. *J Proteome Res*. **8(2)**, 926-41.
- Jankovic, S.M., Protic, B.A., and Jankovic, S.V. (2004). Contractile effect of acetylcholine on isolated isthmic segment of fallopian tubes. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* **26**, 87-91.
- Jentoft, N. (1990). Why are proteins O-glycosylated? *Trends biochem sci* **15**, 291-294.
- Jesus, C., and Ozon, R. (2003). Regulation of cell divisions during oogenesis of vertebrates: the xenopus oocyte paradigm. *Comp Biochem Physiol*. **106**, 431 - 448.
- Jimenez-Movilla, M., Martinez-Alonso, E., Castells, M.T., Izquierdo-Rico, M.J., Saavedra, M.D., and Gutierrez-Gallego, R. (2009). Cytochemical and biochemical evidence for a complex tridimensional structure of the hamster zona pellucida. *Histol Histopathol* **24**, 599-609.
- Jiwakanon, J., Berg, M., Persson, E., Fossum, C., and Dalin, A. M. (2010). Cytokine expression in the gilt oviduct: effects of seminal plasma, spermatozoa, and extender after insemination. *An reprod sci*, **119(3-4)**, 244-257.
- Johnson, J., Bagley, J., Skaznik-Wikiel, M., Lee, H.J., Adams, G.B., Niikura, Y. (2005). Oocyte generation in adult mammalian ovaries by putative germ cells in bone marrow and peripheral blood. *Cell*, **122**, 303-315.
- Johnson, G., Burghardt, R.C., Bazer, F.W., and Spencer, T.E. (2003). Osteopontin: funciones en la implantación y la placentación. *Biol Reprod* **69**:1458-1471.
- Johnson, J., Canning, J., Kaneko, T., Pru, J.K., and Tilly, J.L. (2004). Germline stem cells and follicular renewal in the postnatal mammalian ovary. *Nature*. **428**, 145 -150.
- Jones, R. L., Salamonsen, L. A., and Findlay, J. K. (2002). Activin A promotes human endometrial stromal cell decidualization in vitro. *J clinic endocrinol metabol*, **87(8)**, 4001-4004.
- Jones, R. L., Salamonsen, L. A., Zhao, Y. C., Ethier, J. F., Drummond, A. E., and Findlay, J. K. (2002b). Expression of activin receptors, follistatin and betaglycan by human endometrial stromal cells; consistent with a role for activins during decidualization. *Mol hum reprod*, **8(4)**, 363-374.
- Jones, J. L., Saraswati, S., Block, A. S., Lichti, C. F., Mahadevan, M., and Diekman, A. B. (2010). Galectin-3 is associated with prostasomes in human semen. *Glycoconj j*, **27(2)**, 227-236.

- Jones, K.T. (2004). Turning it on and off: M-phase promoting factor during meiotic maturation and fertilization. *Mol Hum Reprod*. **10**, 1-5.
- Jones, R. L., Stoikos, C., Findlay, J. K., and Salamonsen, L. A. (2006). TGF- β superfamily expression and actions in the endometrium and placenta. *Reproduction*, **132(2)**, 217-232.
- Josefsberg, L.B., Galiani, D., Dantes, A., Amsterda, M.A., and Dekel, N. (2000). The proteasome is involved in the first metaphase-to-anaphase transition of meiosis in rat oocytes. *Biol Reprod* **62**, 1270 - 1277.
- K**adam, K.M., D'Souza, S.J., Bandivdekar, A.H., and Natraj, U. (2006). Identification and characterization of oviductal glycoprotein-binding protein partner on gametes: epitopic similarity to non-muscle myosin IIA, MYH 9. *Mol Hum Reprod* **12**, 275-282.
- Kaidoh T, Natsuume-Sakai S, Takahashi M. (1981). Murine C4-binding protein: a rapid purification method by affinity chromatography. *J Immunol*. **126(2)**, 463-7.
- Kan, F., St-Jacques, S., and Bleau, G. (1988). Immunoelectron microscopic localization of an oviductal antigen in hamster zona pellucida by use of a monoclonal antibody. *J Histochem Cytochem* **36**, 1441-1447.
- Kan, F.W.K., and Esperanzate, P.W.B. (2006). Surface mapping of binding of oviductin to the plasma membrane of golden hamster spermatozoa during in vitro capacitation and acrosome reaction. *Mol Reprod Dev* **73**, 756-766.
- Kan, F.W.K., Roux, E., and Bleau, G. (1993). Immunolocalization of oviductin in endocytic compartments in the blastomeres of developing embryos in the golden - hamster. *Biol Reprod* **48**, 77-88.
- Kaneiwa, T., Miyazaki, A., Kogawa, R., Mizumoto, S., Sugahara, K., and Yamada, S. (2012). Identification of amino acid residues required for the substrate specificity of human and mouse chondroitin sulfate hydrolase (conventional hyaluronidase 4). *J Biol Chem*, **287(50)**, 42119-42128.
- Kanitz, W., Brüssow, K.P., Becker, F., Torner, H., and Tomek, W. (2001). Comparative Aspects of Follicular Development, Follicular and Oocyte Maturation and Ovulation in Cattle and Pigs. *Arch Tierz* **44**, 9 - 23.
- Kao, C. L., Chen, L. K., Chang, Y. L., Yung, M. C., Hsu, C. C., Chen, Y. C., Lo, W. L., Chen, S. J., Ku, H. H., and Hwang, S. J. (2010). Resveratrol protects human endothelium from H₂O₂-induced oxidative stress and senescence via SirT1 activation. *J atheroscler thromb*, **17(9)**, 970-979.
- Kappler. J., Franken, S., Junghans, U., Hoffmann, R., Linke, T., Müller, H.W., Koch, K.W. (2000). Glycosaminoglycan-binding properties and secondary structure of the C-terminus of netrin-1. *Biochem Biophys Res Commun*. **271(2)**, 287-91.
- Kapur, R.P., and Johnson, L.V. (1986). Selective sequestration of an oviductal fluid glycoprotein in the perivitelline space of mouse oocytes and embryos. *J Exp Zool* **238**, 249-260.
- Kapur, R.P., and Johnson, L.V. (1988). Ultrastructural evidence that specialized regions of the murine oviduct contribute a glycoprotein to the extracellular - matrix of mouse oocytes. *Anat Rec* **221**, 720-729.
- Katarzyna, S.M., Wiesław, B., and Anna, R. (2010). The tunica mucosa of the oviduct in case of ovarian cysts presence in sows. *Folia Histochem Cytobiol* **48**, 148-156.
- Kaupilla, A., Martikainen, H., Puistola, U., Reinilä, M., Rönberg, L. (1988). Hypoprolactinemia and ovarian function. *Fertil Steril*. **49(3)**, 437-41.
- Kavanaugh, J.F., and Killian, G.J. (1988). Bovine oviductal cannulations. *J Invest Surg* **1**, 201-208.

- Kennedy, K.L., Floyd, A.A., Clarkson, A.M., and Lee, V. H. (2003). Epidermal growth factor regulation of connexin 43 in cultured granulosa cells from preantral rabbit follicles. *Mol Reprod Dev* **64**, 6169
- Kerr, J.B., Loveland, K.L., O'Bryan, M.K., De Kretser, D.M., Neill, J.D., Plant, Pfaff, D.W., Challis, J.R.G., Kretser D.M.D., Richards, J.S. (2006). Cytology of the testis and intrinsic control mechanisms. *Physiol Reprod* **18**, 827-947.
- Khurana S, Kuns R, Ben-Jonathan N. (1999). Heparin-binding property of human prolactin: a novel aspect of prolactin biology. *Endocrinology*. **140**(2):1026-9.
- Kidder, G.M., and Mhawi, A.A. (2002). Gap junctions and ovarian folliculogenesis. *Reproduction*, **123**, 613-620.
- Killian, G. (2011). Physiology and endocrinology symposium: Evidence that oviduct secretions influence sperm function: A retrospective view for livestock. *J Anim Sci* **89**, 1315-1322.
- Killian, G.J. (2004). Evidence for the role of oviduct secretions in sperm function, fertilization, and embryo development. *Anim Reprod Sci* **82-3**, 141-153.
- Killian, G.J., Chapman, D.A., Kavanaugh, J.F., Deaver, D.R., and Wiggin, H.B. (1989). Changes in phospholipids, cholesterol, and protein-content of oviduct fluid of cows during the estrous-cycle. *J Reprod Fertil* **86**, 419-426.
- Kim, H., Lee, J., Hyun, J. W., Park, J. W., Joo, H. G., and Shin, T. (2007). Expression and immunohistochemical localization of galectin-3 in various mouse tissues. *Cell biol int*, **31**(7), 655-662.
- Kim, N.H., Funahashi, H., Abeydeera, L.R., Moon, S.J., Prather, R.S., and Day, B.N. (1996a). Effects of oviductal fluid on sperm penetration and cortical granule exocytosis during fertilization of pig oocytes in vitro. *J Reprod Fertil* **107**, 79-86.
- Kim, R.N., Kim, D.W., Choi, S.H., Chae, S.H., Nam, S.H., Kim, D.W., Kim, A., Kang, A., Park, K.H., Lee, Y.S., Hirai, M., Suzuki, Y., Sugano, S., Hashimoto, K., Kim, D.S., Park, H.S. (2011). Major chimpanzee-specific structural changes in sperm development-associated genes. *Funct Integr Genomics*. **11**(3):507-17.
- Kim, J.W., Park, H.J., Chae, S.K., Ahn, J.H., DO, G.Y., Choo, Y.K., Park, J.J., Jung, D., Kim, S.U., Chang, K.T., Koo, D.B. (2016a). Ganglioside GD1a promotes oocyte maturation, furthers preimplantation development and increases blastocyst quality in pigs. *J Reprod* **62**(3), 249-55.
- King, R.S., Anderson, S.H and Killian, G.J. (1994a). Effect of bovine oviductal estrus-associated protein on the ability of sperm to capacitate and fertilize oocytes. *J Androl* **15**, 468-478.
- King, R.S., and Killian, G.J. (1994b). Purification of bovine estrus-associated protein and localization of binding on sperm. *Biol Reprod* **51**, 34-42.
- Kirchhoff, C. (1998). Molecular characterization of epididymal proteins. *3Rev Reprod* **3**, 86-95.
- Knobil, E., Neill, J.D. (2014). *The Physiology of Reproduction. Second. New York: Raven Press.*
- Kobayashi, H., Minshull, J., Ford, C., Golsteyn, R., Poon, R., and Hunt, T. (1991). On the synthesis and destruction of A- and B-type cyclins during oogenesis and meiotic maturation in *Xenopus laevis*. *J Cell Biol.* **114**, 755 - 765.
- Kobayashi, Y., Wakamiya, K., Kohka, M., Yamamoto, Y., and Okuda, K. (2013). Summer heat stress affects prostaglandin synthesis in the bovine oviduct. *Reproduction*, **146**(2), 103-110.
- Kolbe, T., and Holtz, W. (2005). Differences in proteinase digestibility of the zona pellucida of in vivo and in vitro derived porcine oocytes and embryos. *Theriogenology* **63**, 1695-1705.
- Kolle, S., Sinowatz, F., Boie, G., and Palma, G. (1998). Differential expression of ZPC in the bovine ovary, oocyte, and embryo. *Mol Reprod Dev* **49**, 435-443.
- Kolle, S., Reese, S., Kummer, W. (2010). New aspects of gamete transport, fertilization, and embryonic development in the oviduct gained by means of live

- cell imaging. *Theriogenology*. **73(6)**, 786-95.
- Konar, S., Singha, K.B., Mondal, M.K., and Ghosh, T. (2014). Ultrastructural study of human ampullary endosalpinx in different stages of ovarian cycle. *J Anat Soc India* **63**, 137-141.
- Kopera, I.A., Bilinska, B., Cheng, C.Y., and Mruk, D.D. (2010). Sertoli–germ cell junctions in the testis: a review of recent data. *Phil. Trans. R. Soc. B.*; **365**, 1593 - 1605.
- Kouba, A.J., Abeydeera, L.R., Alvarez, I.M., Day, B.N., and Buhi, W.C. (2000). Effects of the porcine oviduct-specific glycoprotein on fertilization, polyspermy, and embryonic development in vitro. *Biol Reprod* **63**, 242-250.
- Kregel, K.C. (2002). Invitrd review: heat chock protein: modifying factor in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J Anim Sci*, **82**, 14-23.
- Krisher, R.L. (2004) The effect of oocyte quality on development. *J Anim Sci*, **82**, 14-23.
- Kristiansen, M., Graversen, J. H., Jacobsen, C., Sonne, O., Hoffman, H. J., Law, S. K., and Moestrup, S. K. (2001). Identification of the haemoglobin scavenger receptor. *Nature*, **409(6817)**, 198-201.
- Kubelka, M., Motik, J., Fulka, J., Jr., Prochazka, R., Rimkevicova, Z., and Fulka, J. (1988) Time sequence of germinal vesicle breakdown in pig oocytes after cycloheximide and P-aminobenzamidine block. *Gamete Res* **19**, 423-431
- Kulus, J., Kulus, M., Kranc, W., Jopek, K., Zdun, M., Józkwski, M., Jaśkowski, J.M., Piotrowska-Kempisty, H., Bukowska, D., Antosik, P., Mozdziak, P., Kempisty, B. (2021). Transcriptomic Profile of New Gene Markers Encoding Proteins Responsible for Structure of Porcine Ovarian Granulosa Cells. *Biology (Basel)*. **10(11)**, 1214.
- Kuno, K., Kanada, N., Nakashima, E., Fujiki, F., Ichimura, F., and Matsushima, K. (1997). Molecular cloning of a gene encoding a new type of metalloproteinase-disintegrin family protein with thrombospondin motifs as an inflammation associated gene. *J biol chem*, **272(1)**, 556-562.
- L**a Spina, F.A., Puga Molina, L.C., Romarowski, A, Vitale, A.M., Falzone, T.L., Krapf, D., Hirohashi, N., Buffone, M.G. (2016). Mouse sperm begin to undergo acrosomal exocytosis in the upper isthmus of the oviduct. *Dev Biol* ;**411(2)**,172-182.
- Laborde, C.M., Zubiri, I., Alonso-Orgaz, S., Mouriño-Álvarez, L., Álvarez-Llamas, G., and Barderas, M.G. (2011). Aportaciones de la proteómica al laboratorio clínico. *Rev Lab Clínica*, **4**, 214-224.
- Lachance, C., Bailey, J.L., and Leclerc, P. (2007). Expression of HSP60 and Grp78 in the human endometrium and oviduct, and their effect on sperm functions. *Hum Reprod* **22**, 2606-2614.
- Lackie, R. E., Maciejewski, A., Ostapchenko, V. G., Marques-Lopes, J., Choy, W. Y., Duennwald, M. L., Prado, V. F., and Prado, M. (2017). The Hsp70/Hsp90 Chaperone Machinery in Neurodegenerative Diseases. *Front neurosci*, **11**, 254
- Laezer, I., Palma-Vera, S. E., Liu, F., Frank, M., Trakooljul, N., Vernunft, A., Schoen, J., and Chen, S. (2020). Dynamic profile of EVs in porcine oviductal fluid during the periovulatory period. *Reproduction*, **159(4)**, 371-382.
- Laflamme, J., Akoum, A., Leclerc, P. (2005). Induction of human sperm capacitation and protein tyrosine phosphorylation by endometrial cell and interleukin 6. *Mol Hum reprod*, **11(2)**, 141-150.
- Lajoie, P., Goetz, J. G., Dennis, J. W., and Nabi, I. R. (2009). Lattices, rafts, and scaffolds: domain regulation of receptor signaling at the plasma membrane. *J cell biol*, **185(3)**, 381-385.
- Lamblin, G., and Roussel, P. (1993). Airway mucins and their role in defense against microorganisms. *Respiro Med* **87**, 421-426.

- Lamy, J., Nogues, P., Combes-Soia, L., Tsikis G., Labas V., Mermillod P., Druart X., and Saint-Dizier, M. (2018). Identification by proteomics of oviductal sperm-interacting proteins. *Reproduction* **155**, 457-466.
- Landgraf, P., Rusu, M., Sheridan, R., Sewer, A., Iovino, N., Aravin, A., Pfeffer, S., Rice, A., Kamphorst, A.O., Landthaler, M., Lin, C., Socci, N.D., Hermida, L., Fulci, V., Chiaretti, S., Foà, R., Schliwka, J., Fuchs, U., Novosel, A., Müller, R.U., Schermer, B., Bissels, U., Inman, J., Phan, Q., Chien, M., Weir, D.B., Choksi, R., De Vita, G., Frezzetti, D., Trompeter, H.I., Hornung, V., Teng, G., Hartmann, G., Palkovits, M., Di Lauro, R., Wernet, P., Macino, G., Rogler, C.E., Nagle, J.W., Ju, J., Papavasiliou, F.N., Benzing, T., Lichter, P., Tam, W., Brownstein, M.J., Bosio, A., Borkhardt, A., Russo, J.J., Sande,r C., Zavolan, M., Tuschl, T. (2007). A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing. *Cell*. **129(7)**, 1401-14.
- Lange-Consiglio, A., Perrini, C., Albin, G., Modena, S., Lodde, V., Orsini, E., Esposti, P., and Cremonesi, F. (2017). Oviductal microvesicles and their effect on *in vitro* maturation of canine oocytes. *Reproduction*, **154(2)**, 167-180.
- Lapointe, J., and Bilodeau, J.F. (2003). Antioxidant defenses are modulated in the cow oviduct during the estrous cycle. *Biol Reprod* **68**, 1157-1164.
- Lapointe, S., and Sirard, M.A. (1996). Importance of calcium for the binding of oviductal fluid proteins to the membranes of bovine spermatozoa. *Mol Reprod Dev* **44**, 234-240.
- Larsen, W., Wert, S., and Brunner, G. (1986) A dramatic loss of cumulus cell gap junctions is correlated with germinal vesicle breakdown in rat oocytes. *Dev Biol* **113**, 517 - 521.
- Lavery, K., Way, A., and Killian, G. (2003). Identification and immunohistochemical localization of a haptoglobin-like protein in the tissues and fluids of the bovine (*Bos taurus*) ovary and oviduct. *Reproduction* **125**, 837-846.
- Lawrance, T., Beers, W., and Gilula, N. (1978). Transmission of hormonal stimulation by cell-to-cell communication. *Nature*. **272**, 501 - 506.
- Lazzari, G., Colleoni, S., Lagutina, I., Crotti, G., Turini, P., and Tessaro, I. (2010). Short-term and long-term effects of embryo culture in the surrogate sheep oviduct versus *in vitro* culture for different domestic species. *Theriogenology* **73**, 748-757.
- Lee, D.S., Ueta, Y.Y., and Suzuki, H. (2006). Expression of amphiregulin during the pre- and post-implantation period in the mouse reproductive tract. *J Reprod Dev* **52**, 781-787.
- Lee, K., Tirasophon, W., Shen, X., Michalak, M., Prywes, R., Okada, T., Yoshida, H., Mori, K., Kaufman, R.J. (2002). IRE1-mediated unconventional mRNA splicing and S2P-mediated ATF6 cleavage merge to regulate XBP1 in signaling the unfolded protein response. *Genes Dev*. **16(4)**, 452-66.
- Lee, S.T., Oh, S.J., Lee, E.J., Han, H.J., and Lim, J.M. (2006) Adenosine triphosphate synthesis, mitochondrial number and activity, and pyruvate uptake in oocytes after gonadotropin injections. *Fertil Steril*, **86**, 1164-1169.
- Lee, K.F., and Yeung, W.S.B. (2006). Gamete/embryo - oviduct interactions: implications on *in vitro* culture. *Hum fertil* **9**, 137-143.
- Lee, Y.L., Cheong, A.W.Y., Chow, W.N., Lee, K.F., and Yeung, W.S.B. (2009). Regulation of Complement-3 Protein Expression in Human and Mouse Oviducts. *Mol Reprod Dev* **76**, 301-308.
- Leese, H.J. (1988). The formation and function of oviduct fluid. *J Reprod Fertil* **82**, 843-856.
- Leese, H.J. (1998). Human embryo culture: Back to nature. *J Assist Reprod Genetics* **15**, 466-468.
- Leese, H.J., and Gray, S.M. (1985). Vascular perfusion - a novel means of studying oviduct function. *Am J Physiol* **248**, 624-632.

- Leese, H.J., Hugentobler, S.A., Gray, S.M., Morris, D.G., Sturme, R.G., Whitear, S.L., and Sreenan, J.M. (2008). Female reproductive tract fluids: Composition, mechanism of formation and potential role in the developmental origins of health and disease. *Reprod Fertil Dev* **20**, 1-8.
- Leese, H. J., Tay, J. I., Reischl, J., and Downing, S. J. (2001). Formation of Fallopian tubal fluid: role of a neglected epithelium. *Reproduction*, **121(3)**, 339-346.
- Lefebvre, R., and Suarez, S.S. (1996). Effect of capacitation on bull sperm binding to homologous oviductal epithelium. *Biol Reprod* **54**, 575-582.
- Lefièvre, L., Conner, S.J., Salpekar, A., Olufowobi, O., Ashton, P., Pavlovic, B., Lenton, W., Afnan, M., Brewis, I.A., Monk, M., Hughes, D.C., Barratt, C.L. (2004). Four zona pellucida glycoproteins are expressed in the human. *Hum Reprod*. **19(7)**:1580-6.
- Lei, L., Jin, S., Gonzalez, G., Behringer, R.R., Woodruff, T.K. (2010). The regulatory role of Dicer in folliculogenesis in mice. *Mol Cell Endocrinol*. **315(1-2)**, 63-73.
- Lerner, I., Hermano, E., Zcharia, E., Rodkin, D., Bulvik, R., Doviner, V., Rubinstein, A.M., Ishai-Michaeli, R., Atzmon, R., Sherman, Y., Meirovitz, A., Peretz, T., Vlodaysky, I., Elkin, M. (2011). Heparanase powers a chronic inflammatory circuit that promotes colitis-associated tumorigenesis in mice. *J Clin Invest*. **121(5)**, 1709-21.
- Levasseur, M.C. and Thibault, C. (1980). De la pubertad a la senescencia. *Ed. Masson. Paris*.
- Leveille, M.C., Roberts, K.D., Chevalier, S., Chapdelaine, A., and Bleau, G. (1987). Uptake of an oviductal antigen by the hamster zona-pellucida. *Biol Reprod* **36**, 227-238.
- Li, Q. (2014). Transforming growth factor β signaling in uterine development and function. *J Anim Sci Biotechnol* **5** 52.
- Li, S. and Winuthayanon, W. (2017). Oviduct: roles in fertilization and early embryo development. *J Endocrinol* **232**, 1- 26
- Li, R., Whitworth, K., Lai, L., Wax, D., Spate, L., Murphy, C.N., Rieke, A., Isom, C., Hao, Y., Zhong, Z., Katayama, M., Schatten, H., Prather, R.S. (2007). Concentration and composition of free amino acids and osmolalities of porcine oviductal and uterine fluid and their effects on development of porcine IVF embryos. *Mol Reprod Dev*. **74(9)** ,1228-35.
- Li, Z., Sun, Y., Min, W., and Zhang, D. (2011). Correlation between overexpression of transforming growth factor-beta 1 in occluded fallopian tubes and postsurgical pregnancy among infertile women. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, **112(1)**, 11-14.
- Liang D, Halpert MM, Konduri V, Decker WK. (2015). Stepping Out of the Cytosol: AIMp1/p43 P otentiates the Link Between Innate and Adaptive Immunity. *Int Rev Immunol*. **34(5)**, 367-81.
- Liang, S.C., Tan, X.Y., Luxenberg, D.P., Karim, R., Dunussi-Joannopoulos, K., Collins, M., Fouser, L.A. (2006). Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides. *J Exp Med*. **203**, 2271–2279.
- Lièvre, J. P., Rizzuto, R., Hendershot, L., and Meldolesi, J. (1997). BiP, a major chaperone protein of the endoplasmic reticulum lumen, plays a direct and important role in the storage of the rapidly exchanging pool of Ca²⁺. *J Biol Chem*, **272(49)**, 30873-30879.
- Lim, C. J., Kain, K. H., Tkachenko, E., Goldfinger, L. E., Gutierrez, E., Allen, M. D., Groisman, A.Zhang, J., and Ginsberg, M. H. (2008). Integrin-mediated protein kinase A activation at the leading edge of migrating cells. *Mol Biol Cell*, **19(11)**,4930-4941
- Lin, C., Ear, J., Pavlova, Y., Mittal, Y., Kufareva, I., Ghassemian, M., Abagyan, R., Garcia-Marcos, M., and Ghosh, P. (2011). Tyrosine phosphorylation of the G α interacting protein GIV promotes activation of phosphoinositide 3-kinase during cell migration. *Sci Signal*. **4(192)**, 64.
- Lin, P., Chen, F., Yang, Y., Song, Y., Li, X., Lan, X., Jin, Y., Wang, A. (2012). GRP78 expression and immunohistochemical localization in the female reproductive tract of mice. *Theriogenology*. **78(8)**,1824-9.

- Linden, R., Martins, V. R., Prado, M. A., Cammarota, M., Izquierdo, I., and Brentani, R. R. (2008) Physiology of the prion protein. *Physiol. Rev.* **88**, 673-728.
- Lindemans, C. A., Calafiore, M., Mertelsmann, A. M., O'Connor, M. H., Dudakov, J. A, Jenq, R. R., Velardi, E., Young, L. F., Smith, O. M., Lawrence, G., Ivanov, J. A, Fu, Y. Y., Takashima, S., Hua, G., Martin, M. L., O'Rourke, K. P., Lo, Y. H., Mokry, M., Romera-Hernandez, M., Cupedo, T. Hanash, A. M. (2015). Interleukin-22 promotes intestinal-stem-cell-mediated epithelial regeneration. *Nature*, **528(7583)**, 560-564.
- Lippes, J., Pragay, D.A., Bartholo, Wr. and Enders, R.G. (1972). Collection and analysis of human fallopian tubal fluid. *Contraception* **5**, 85-103.
- Liu, C.Y., Litscher, E.S., Mortillo, S., Sakai, Y., Kinloch, R.A., Stewart, C.L., and Wassarman, P.M. (1996). Targeted disruption of the mZP3 gene results in production of eggs lacking a zona pellucida and infertility in female mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* **93**, 5431-5436.
- Liu, L.P.S., Chan, S.T.H., Ho, P.C., and Yeung, W.S.B. (1998). Partial purification of embryotrophic factors from human oviductal cells. *Hum Reprod* **13**, 1613-1619.
- Liu, K, Rajareddy S, Liu L, Jagarlamudi K, Boman K, Selstam G, and Reddy P. (2006). Control of mammalian oocyte growth and early follicular development by the oocyte PI3 kinase pathway: News roles for an old timer. *Dev Biol.* **299**, 1-11.
- Liu, Q., Xie, Q.Z., Zhou, Y., and Yang, J. (2015). Osteopontin is expressed in the oviduct and promotes fertilization and preimplantation embryo development of mouse. *Zygote* **23**, 622-630.
- Lloyd, R.E., Elliott, R.M.A., Fazeli, A., Watson, P.F., and Holt, W.V. (2009a). Effects of oviductal proteins, including heat shock 70 kDa protein 8, on survival of ram spermatozoa over 48 h in vitro. *Reprod Fertil Dev* **21**, 408-418.
- Lloyd, R.E., Fazeli, A., Watson, P.F., and Holt, W.V. (2012). The oviducal protein, heat-shock 70-kDa protein 8, improves the long-term survival of ram spermatozoa during storage at 17 degrees C in a commercial extender. *Reprod Fertil Dev* **24**, 543-549.
- Lloyd, R.E., Romar, R., Matás, C., Gutierrez-Adan, A., Holt, W.V., and Coy, P. (2009b). Effects of oviductal fluid on the development, quality, and gene expression of porcine blastocysts produced in vitro. *Reproduction* **137**, 679-687.
- Lok, I.H., Briton-Jones, C.M., Yuen, P.M., and Haines, C.J. (2002). Variable expression of oviductin mRNA at different stages of human reproductive cycle. *J Assist Reprod Genetics* **19**, 569-576.
- Lombard, L., Morgan, B.B., and McNutt, S.H. (1950). The morphology of the oviduct of virgin heifers in relation to the estrous cycle. *J Morphol*, **86**, 1-23.
- Lonergan, P. (2007). State-of-the-art embryo technologies in cattle. *Soc Reprod Fertil* **64**, 315-25.
- Longo, D.L., Kasper, D.L., Jameson, J., Fauci, A.S., Hauser, S.L., Loscalzo, J. Eds.), (2012). *Harrison. Principios de Medicina Interna, 18e*. McGrawHill.
- Lopera-Vásquez, R., Hamdi, M., Fernandez-Fuertes, B., Maillo, V., Beltrán-Breña, P., Calle, A., Redruello, A., López-Martín, S., Gutierrez-Adán, A., Yañez-Mó, M., Ramirez, M. Á., and Rizos, D. (2016). Extracellular Vesicles from BOEC *In Vitro* Embryo Development a Quality. *PloS one*, **11(2)**, 0148083.
- López-Úbeda, R. and Matas, C. (2015a) An Approach to the Factors Related to Sperm Capacitation Process. *Andrology* **4**, 128
- Lopez-Ubeda, R., Garcia-Vazquez, F.A., Romar, R., Gadea, J., Munoz, M., Hunter, R.H.F., and Coy, P. (2015b). Oviductal Transcriptome Is Modified after Insemination during Spontaneous Ovulation in the Sow. *Plos One* **10**, 18.
- Lu, C. H., Lee, R. K., Hwu, Y. M., Chu, S. L., Chen, Y. J., Chang, W. C., Lin, S. P., and Li, S. H. (2011). SERPINE2, a serine protease inhibitor extensively expressed in adult male mouse

- reproductive tissues, may serve as a murine sperm decapacitation factor. *Biol reprod*, **84(3)**, 514-525.
- Luberda, Z. (2005). The role of glutathione in mammalian gametes. *Reprod Biol*, **5**, 5-17.
- Luo, B., and Lee, A.S. (2012). The critical roles of endoplasmic reticulum chaperones and unfolded protein response in tumorigenesis and anticancer therapies. *Oncogene*. **32(7)**, 805-18.
- Luo, S.Z., Mao, C.H., Lee, B., and Lee, A.S. (2006). GRP78/BiP is required for cell proliferation and protecting the inner cell mass from apoptosis during early mouse embryonic development. *Mol Cell Biol* **26**, 5688-5697.
- Luteijn RD, van Diemen F, Blomen VA, Boer IGJ, Manikam Sadasivam S, van Kuppevelt TH, Drexler I, Brummelkamp TR, Lebbink RJ, Wiertz EJ. (2019). A Genome-Wide Haploid Genetic Screen Identifies Heparan Sulfate-Associated Genes and the Macropinocytosis Modulator TMED10 as Factors Supporting Vaccinia Virus Infection. *J Virol*. **93(13)** 02160-18.
- Lyng, R., and Shur, B.D. (2009). Mouse oviduct-specific glycoprotein is an egg-associated ZP3-independent sperm-adhesion ligand. *J Cell Sci* **122**, 3894-3906.
- Lyons, R.A., Saridogan, E., and Djahanbakhch, O. (2006). The reproductive significance of human Fallopian tube cilia. *Hum Reprod Update* **12**, 363-372.
- M**aas, D.H.A., Storey, B.T., and Mastroianni, L. (1977). Hydrogen-ion and carbon-dioxide content of oviductal fluid of rhesus-monkey (*macaca-mulatta*). *Fertil Steril* **28**, 981-985.
- Maeda, N., Ichihara-Tanaka, K., Kimura, T., Kadomatsu, K., Muramatsu, T., and Noda, M. (1999). A receptor-like protein-tyrosine phosphatase PTP ζ /RPTP β binds a heparin-binding growth factor midkine: involvement of arginine 78 of midkine in the high affinity binding to PTP ζ . *J Biol Chem* **274(18)**, 12474-12479.
- Maillo, V., Gaora, P., Forde, N., Besenfelder, U., Havlicek, V., Burns, G.W., Spencer, T.E., Gutierrez-Adan, A., Lonergan, P., and Rizos, D. (2015) Oviduct-Embryo Interactions in Cattle: Two-Way Traffic or a One-Way Street? *Biol Reprod* **92**, 144.
- Maines-Bandiera, S., Woo, M. M., Borugian, M., Molday, L. L., Hii, T., Gilks, B., Leung, P. C., Molday, R. S., and Auersperg, N. (2010). Oviductal glycoprotein (OVGP1, MUC9): a differentiation-based mucin present in serum of women with ovarian cancer. *Int j gynecol cancer*: **20(1)**, 16-22.
- Makrigiannakis, A., Karamouti, M., Petsas, G., Makris, N., Nikas, G., and Antsaklis, A. (2009). The expression of receptivity markers in the fallopian tube epithelium. *Histochem cell biol*, **132(2)**, 159-167.
- Malayer, J.R., Hansen, P.J., and Buhi, W.C. (1988). Secretion of proteins by cultured bovine oviducts collected from estrus through early diestrus. *J Exp Zool* **248**, 345-353.
- Malette, B., and Bleau, G. (1993). Biochemical-characterization of hamster oviductin as a sulfated zona-pellucida-binding glycoprotein. *Biochemi J* **295**, 437-445.
- Malette, B., Paquette, Y., Merlen, Y., and Bleau, G. (1995). Oviductins possess chitinase-like and mucin-like domains - a lead in the search for the biological function of these oviduct-specific zp-associating glycoproteins. *Mol Reprod Dev* **41**, 384-397.
- Malpaux, B., Migaud, M., Tricoire, H., and Chemineau, P. (2001). Biology of mammalian photoperiodism and the critical role of the pineal gland and melatonin. *J biol rhythms*, **16(4)**, 336-347.
- Malpaux, B., Thiéry, J.C., and Chemineau, P. (1999). Melatonin and the seasonal control of reproduction. *Reprod Nutr Dev* **39(3)**, 355-366.
- Mao, J., Wu, G., Smith, M.F., McCauley, T.C., Cantley, T.C., Prather R.S., Didion, B.A., and Day, B.N. (2002). Effects of culture medium, serum type, and various concentrations of follicle-

- stimulating hormone on porcine preantral follicular development and antrum formation in vitro. *Biol Reprod* **67**, 1197 - 1203.
- Marco, S., Carrascosa, J.L., Valpuesta, J.M. (1994). Reversible interaction of beta-actin along the channel of the TCP-1 cytoplasmic chaperonin. *Biophys J.* **67(1)**, 364-8.
- Maresh, G.A., Timmons, T.M., and Dunbar, B.S. (1990). Effects of extracellular - matrix on the expression of specific ovarian proteins. *Biol Reprod* **43**, 965-976.
- Marey, M.A., Liu, J., Kowsar, R., Haneda, S., Matsui, M., Sasaki, M., Takashi, S., Hayakawa, H., Wijayagunawardane, M.P., Hussein, F.M., and Miyamoto, A. (2014) Bovine oviduct epithelial cells downregulate phagocytosis of sperm by neutrophils: prostaglandin E2 as a major physiological regulator. *Reproduction* **147**, 211-219.
- Marey, M.A., Yousef, M.S., Kowsar, R., Hambruch, N., Shimizu, T., Pfarrer, C., and Miyamoto, A. (2016). Local immune system in oviduct physiology and pathophysiology: attack or tolerance? *Domest Anim Endocrinol* **56**, 204-211.
- Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F.K., and Margis-Pinheiro, M. (2008). Glutathione peroxidase family - an evolutionary overview. *FEBS J* **275**, 3959-3970.
- Marín-Briggiler, C.I., González-Echeverría, M.F., Munuce, M.J., Ghersevich, S., Caille, A.M, Hellman, U., Corrigan, V.M., Vazquez-Levin, M.H. (2010). Glucose-regulated protein 78 (Grp78/BiP) is secreted by human oviduct epithelial cells and the recombinant protein modulates sperm-zona pellucida binding. *Fertil Steril.* **93(5)**, 1574-84.
- Marnbula, S.S., Stevenson, M.A., Ogawa, K., and Calderwood, S.K. (2007). Mechanisms for Hsp70 secretion: Crossing membranes without a leader. *Methods* **43**, 168-175.
- Marston, J.H., Penn, R., and Sivelle, P.C. (1977). Successful auto-transfer of tubal eggs in rhesus-monkey (macaca-mulatta). *J Reprod Fertil* **49**, 175-176.
- Martínez, S.P., Viggiano, M., Franchi, A., Herrero, M., Ortiz, M., Gimeno, M., and Villalon, M. (2000). Effect of nitric oxide synthase inhibitors on ovum transport and oviductal smooth muscle activity in the rat oviduct. *J Reprod Fertil* **118**, 111-117.
- Martus, N.S., Verhage, H.G., Mavrogianis, P.A., and Thibodeaux, J.K. (1998). Enhancement of bovine oocyte fertilization in vitro with a bovine oviductal specific glycoprotein. *J Reprod Fertil* **113**, 323-329.
- Masui, Y., and Clark, H. (1979). Regulation of oocyte maturation. *Int Rev Cytol.* **57**, 185 - 282.
- Maul, H., Longo, M., Saade, G. R., and Garfield, R. E. (2003). Nitric oxide and its role during pregnancy: from ovulation to delivery. *Curr pharm des*, **9(5)**, 359-380.
- Masuri, Y., and Market, C.L. (1971). Cytoplasmic control of nuclear behaviour during meiotic maturation of frog oocytes. *J Exp Zool* **177 (2)**, 129 - 145.
- Mattson, B.A., and Albertini, D.F. (1990). Oogenesis: Chromatin and microtubule dynamics during meiotic prophase. *Mol Reprod Dev.* **25**, 374 - 384.
- Mattioli, M. (1994). Transduction mechanism for gonadotropin-induced oocyte maturation in mammals. *Zygote* **2**, 347-349.
- Maxhimer, J. B., Quiros, R. M., Stewart, R., Dowlatshahi, K., Gattuso, P., Fan, M., Prinz, R. A., and Xu, X. (2002). Heparanase-1 expression is associated with the metastatic potential of breast cancer. *Surgery*, **132(2)**, 326-333.
- McBride, D.S., Boisvert, C., Bleau, G., and Kan, F.W.K. (2004). Evidence for the regulation of glycosylation of golden hamster (*Mesocricetus auratus*) oviductin during the estrous cycle. *Biol Reprod* **70**, 198-203.
- McBride, D.S., Brockhausen, I., and Kan, F.W. (2005). Detection of glycosyltransferases in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*) oviduct and evidence for the regulation of O-glycan biosynthesis during the estrous cycle. *Biochim Biophys Acta-General* **1721**, 107-115.

- McCauley, T., Buhi, W., Didion, B., and Day, B. (2001). Exposure of oocytes to porcine oviduct-specific glycoprotein reduces the incidence of polyspermic penetration in vitro. In *Sixth International Conference on Pig Reproduction*.
- McCauley, T.C., Buhi, W.C., Wu, G.M., Mao, J., Caamano, J.N., Didion, B.A., and Day, B.N. (2003). Oviduct-specific glycoprotein modulates sperm-zona binding and improves efficiency of porcine fertilization in vitro. *Biol Reprod* **69**, 828-834.
- McGhee, E.A., and Hsueh, A.J. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles (2000). *Endocr Rev* **21**, 200 - 214.
- McGee, E.A., Hsu, S.Y., Kaipia, A., and Hsueh, A.J.W. (1998). Cell death and survival during ovarian follicle development. *Mol Cell Endocrinol* **140**, 15-18.
- McGee, H. M., Schmidt, B. A., Booth, C. J., Yancopoulos, G. D., Valenzuela, D. M., Murphy, A. J., Stevens, S., Flavell, R. A., and Horsley, V. (2013). IL-22 promotes fibroblast-mediated wound repair in the skin. *J invest dermatol*, **133(5)**, 1321-1329.
- McNatty, K.P., Smith, P., Hudson, N.L., Heath, D.A., Tisdall, D.J., O, W.S., Braw-Tal, R. (1995). Development of the sheep ovary during fetal and early neonatal life and the effect of fecundity genes. *J Reprod Fertil* **49**, 123-135.
- McNutt, T., Rogowski, L., Vasilatosyounken, R., and Killian, G. (1992). Adsorption of oviductal fluid proteins by the bovine sperm membrane during invitro capacitation. *Mol Reprod Dev* **33**, 313-323.
- McPherron, A.C., Lawler, A.M., Lee, S.J. (1997). Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature*. **387(6628)**:83-90.
- Meduri, G., Charnaux, N., Driancourt, M.A., Combettes, L., Granet, P., Vannier, B., Loosfelt, H., and Milgrom, E. (2002). Follicle-stimulating hormone receptors in oocytes? *J Clin Endocrinol Metab*. **97**, 2266 - 2276.
- Mei S, Chen P, Lee CL, Zhao W, Wang Y, Lam KKW, Ho PC, Yeung WSB, Fang C, Chiu PCN. (2019). The role of galectin-3 in spermatozoa-zona pellucida binding and its association with fertilization in vitro. *Mol Hum Reprod*. **25(8)**, 458-470.
- Meleady P. (2018). Two-Dimensional Gel Electrophoresis and 2D-DIGE. *Methods mol biol*), **1664**, 3-14.
- Mellitzer, G., Xu, Q., Wilkinson, D.G. (1999). Eph receptors and ephrins restrict cell intermingling and communication. *Nature*. 1999. **400(6739)**:77-81.
- Menezo, Y., and Guerin, P. (1997). The mammalian oviduct: Biochemistry and physiology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* **73**, 99-104.
- Merchán, M., Peiro, R., Argente, M.J., Santacreu, M.A., Garcia, M.L., Blasco, A., and Folch, J.M. (2009). Analysis of the oviductal glycoprotein 1 polymorphisms and their effects on components of litter size in rabbits. *Anim Genetics* **40**, 756-758.
- Merchán, M., Peiro, R., Santacreu, M.A., Francino, O., and Folch, J.M. (2007). Rabbit oviductal glycoprotein 1 gene: Genomic organization polymorphism analysis and mRNA expression. *Mol Reprod Dev* **74**, 687-693.
- Merchán, M., Rendon, M., and Folch, J.M. (2006). Assignment of the oviductal glycoprotein 1 gene (OVGP1) to porcine chromosome 4q22 -> q23 by radiation hybrid panel mapping. *Cytogen Gen Res* **114**, 93C-U13.
- Mering, C., Huynen, M., Jaeggi, D., Schmidt, S., Bork, P., and Snel, B. (2003). "String: a database of predicted functional associations between proteins. *Nucleic Acids Res* **31**, 258-261.
- Messler, S., Kropp, S., Episkopou, V., Felici, A., Würthner, J., Lemke, R., Jerabek-Willemsen, M., Willecke, R., Scheu, S., Pfeffer, K., Würthner, J.U. (2011). The TGF- β signaling modulators TRAP1/TGFBRAP1 and VPS39/Vam6/TLP are essential for early embryonic development. *Immunobiology*. **216(3)**, 343-50.

- Miah, A.G., Salma, U., Hamano, K., Schellander, K. (2005). Physiological roles of relaxin in prefertilizing activities of spermatozoa. *Anim Reprod Sci.* **161**, 1-15.
- Midde, K., Sun, N., Rohena, C., Joosen, L., Dhillon, H., and Ghosh, P. (2018). Single-Cell Imaging of Metastatic Potential of Cancer Cells. *iScience*, **10**, 53-65.
- Miki, K., and Clapham, D.E. (2013). Rheotaxis guides mammalian sperm. *Curr Biol* **23**, 443-452.
- Miller, J.G.O., and Schultz, G.A. (1987). Amino-acid content of preimplantation rabbit embryos and fluids of the reproductive-tract. *Biol Reprod* **36**, 125-129.
- Mirakaj, V., Dalli, J., Granja, T., Rosenberger, P., and Serhan, C. N. (2014). Vagus nerve controls resolution and pro-resolving mediators of inflammation. *The J exp med* **211(6)**, 1037-1048.
- Mobarak, H., Heidarpour, M., Lolicato, F., Nouri, M., Rahbarghazi, R., and Mahdipour, M. (2019). Physiological impact of extracellular vesicles on female reproductive system; highlights to possible restorative effects on female age-related fertility. *BioFactors*, **45(3)**, 293-303.
- Moestrup, S. K., and Møller, H. J. (2004). CD163: a regulated hemoglobin scavenger receptor with a role in the anti-inflammatory response. *Ann med*, **36(5)**, 347-354.
- Mondéjar, I., Acuna, O.S., Izquierdo-Rico, M.J., Coy, P., and Aviles, M. (2012). The Oviduct: Functional Genomic and Proteomic Approach. *Reprod Domest Anim* **47**, 22-29.
- Mondéjar, I., Aviles, M., and Coy, P. (2013a). The human is an exception to the evolutionarily conserved phenomenon of pre-fertilization zona pellucida resistance to proteolysis induced by oviductal fluid. *Hum Reprod* **28**, 718-728.
- Mondéjar, I., Martínez-Martínez, I., Aviles, M., and Coy, P. (2013b). Identification of Potential Oviductal Factors Responsible for Zona Pellucida Hardening and Monospermy During Fertilization in Mammals. *Biol Reprod* **89**.
- Mondéjar, Corbalán, I. (2011). Estudio de la expresión génica y de la composición proteica del oviducto. Efectos del fluido oviductal sobre la resistencia de la zona pelúcida a la digestión enzimática en diferentes mamíferos. *Tesis doctoral*. Universidad de Murcia.
- Moniruzzaman, M., and Miyano, T. (2010). Growth of Primordial Oocytes in Neonatal and Adult Mammals. *J Reprod. Dev.* **56**, 559 - 566.
- Monne, M., and Jovine, L. (2011). A Structural View of Egg Coat Architecture and Function in Fertilization. *Biol Reprod* **85**, 661-669.
- Mooney, J. K., Horan A. H., and Lattimer J. K., (1972). Motility of spermatozoa in human epididymis. *J Urol* **108**, 443.
- Moor, R., Dai, Y., Lee, C., Fulka, J. Jr. (1998). Oocyte maturation and Embryonic failure. *Hum Reprod Update.* **4(3)**, 223-36.
- Moor, R., Hutching, A., Hawkins, C., and Jung, T. (1992). Towards a molecular understanding of meiosis in domestic animals. Lauria A, Gandolfi F. *Embrión Dev Manipul Anim Prod* 38-45.
- Morales, P., Palma, V., Salgado, A.M., and Villalon, M. (1996). Sperm interaction with human oviductal cells in vitro. *Hum Reprod* **11**, 1504-1509.
- Monsivais D, Matzuk MM, Pangas SA. (2017). The TGF- β Family in the Reproductive Tract. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* **9(10)**, 022251.
- Muglia, U., Abbate, F., Correr, S., Germanà, G., and Motta, P. (1997). The architecture of the myosalpinx in the sow as revealed by scanning electron microscopy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* **74**, 93-98.
- Mugnier, S., Kervella, M., Douet, C., Canepa, S., Pascal, G., Deleuze, S., et al. (2009). The secretions of oviduct epithelial cells increase the equine in vitro fertilization rate: are osteopontin, atrial natriuretic peptide A and oviductin involved? *Reprod Biol Endocrinol* **7**, 16.
- Mummery, R. S., and Rider, C. C. (2000). Characterization of the heparin-binding properties of IL-6. *J Immunol* **165(10)**, 5671-5679.

- Munuce, M. J., Serravalle, A., Caille, A. M., Zumoffen, C., Botti, G., Cabada, M., and Ghersevich, S. (2009). Human tubal secretion can modify the affinity of human spermatozoa for the zona pellucida. *Fertil steril*, **91(2)**, 407-413.
- Murakami, M., Ichisaka, T., Maeda, M., Oshiro, N., Hara, K., Edenhofer, F., Kiyama, H., Yonezawa, K., Yamanaka, S. (2004). mTOR is essential for growth and proliferation in early mouse embryos and embryonic stem cells. *Mol Cell Biol*. **24(15)**, 6710-8.
- Muramatsu, T. (2002). Midkine and pleiotrophin: two related proteins involved in development, survival, inflammation, and tumorigenesis. *J Biochem*, **132(3)**, 359-371
- Muramatsu H, Zou P, Kurosawa N, Ichihara-Tanaka K, Maruyama K, Inoh K, Sakai, Chen L, Sato M, Muramatsu T. (2006). Female infertility in mice deficient in midkine and pleiotrophin, which form a distinct family of growth factors. *Genes Cells*. **11(12)**, 1405-17.
- Murray, M.K. (1995). Epithelial lining of the sheep ampulla oviduct undergoes pregnancy-associated morphological-changes in secretory status and cell height. *Biol Reprod* **53**, 653-663.
- Murray, M.K., and DeSouza, M.M. (1995). Messenger RNA encoding an estrogen-dependent oviduct secretory protein in the sheep is localized in the apical tips and basal compartments of fimbria and ampulla epithelial cells implying translation at unique cytoplasmic foci. *Mol Reprod Dev* **42**, 268-283.
- Murray, P.G., Higham, C.E., Clayton, P.E. (2015). 60 years of neuroendocrinology: the Hypothalamo GH axis: the past 60 years. *J Endocrinol*. **226(2)**, 123-40.
- N**agashima T, Kim J, Li Q, Lydon JP, DeMayo FJ, Lyons KM, Matzuk MM. (2011). Connective tissue growth factor is required for normal follicle development and ovulation. *Mol Endocrinol*. **25(10)**, 1740-59.
- Najjam, S., Gibbs, R. V., Gordon, M. Y., and Rider, C. C. (1997). Characterization of human recombinant interleukin 2 binding to heparin and heparan sulfate using an ELISA approach. *Cytokine*, **9(12)**, 1013-1022.
- Nakamura, Y., Aihara, R., Iwata, H., Kuwayama, T., Shirasuna, K. (2021). IL1 trigger inflammatory cytokine production in bovine oviduct epithelial cells and induces neutrophil accumulation via CCL2. *Am J Reprod Immunol*. **85(5)**, 13365.
- Nakano N, Tsuchiya Y, Kako K, Umezaki K, Sano K, Ikeno S, Otsuka E, Shigeta M, Nakagawa A, Sakata N, Itoh F, Nakano Y, Iemura SI, van Dinther M, Natsume T, Ten Dijke P, Itoh S. (2017). TMED10 Protein Interferes with Transforming Growth Factor (TGF)- β Signaling by Disrupting TGF- β Receptor Complex Formation. *J Biol Chem*. **292(10)**, 4099-4112.
- Nancarrow, C.D., and Hill, J.L. (1995). Oviduct proteins in fertilization and earlyembryo development. *J Reprod Fertil* **49**, 3-13.
- Ng, Y.H., Rome, S., Jalabert, A., Forterre, A., Singh, H., Hincks, C.L., and Salamonsen, L.A. (2013). Endometrial exosomes/microvesicles in the uterine microenvironment: a new paradigm for embryo-endometrial cross talk at implantation. *PLoS One* **8**, 58502.
- Nguyen, H.T., Dang-Nguyen, T.Q., Somfai, T., Men, N.T., Beck-Woerner, B., Viet Linh, N., Xuan Nguyen, B., Noguchi, J., Kaneko, H., Kikuchi, K. (2021). Excess polyspermy reduces the ability of porcine oocytes to promote male pronuclear formation after in vitro fertilization. *Anim Sci J*. **92(1)**, 13650.
- Nguyen, P., Calderon, R., Rodriguez-Ledezma, Y., Araujo, K., Bhandari, D. (2019). GIV/Girdin promotes cell survival during endoplasmic reticulum stress. *Mol Cell Biochem*. **453(1-2)**, 79-88.
- Nichol, R., Hunter, R.H.F., Gardner, D.K., Leese, H.J., and Cooke, G.M. (1992). Concentrations of energy substrates in oviductal fluid and blood-plasma of pigs during the periovulatory period. *J Reprod Fertil* **96**, 699-707.

- Nishimura, K., Lee, S. B., Park, J. H., and Park, M. H. (2012). Essential role of eIF5A-1 and deoxyhypusine synthase in mouse embryonic development. *Amino acids*, **42(2-3)**, 703-710.
- Niswender, G.D., Juengel, J.L., Silva, P.J., Rollyson, M.K. and McIntush, E.W. (2000). Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev* **80**, 1-29.
- Niu, J., and Kolattukudy, P.E. (2009). Role of MCP-1 in cardiovascular disease: molecular mechanisms and clinical implications. *Clin Sci (Lond)*. **117(3)**, 95-109.
- Noguchi, S., Yonezawa, N., Katsumata, T., Hashizume, K., Kuwayama, M., Hamano, S., *et al.* (1994). Characterization of the zona-pellucida glycoproteins from bovine ovarian and fertilized-eggs. *Biochim Biophys Acta* **1201**, 7-14.
- Nutu, M., Weijdegard, B., Thomas, P., Thurin-Kjellberg, A., Billig, H. and Larsson, D.G.J. (2009). Distribution and hormonal regulation of membrane progesterone receptors beta and gamma in ciliated epithelial cells of mouse and human fallopian tubes. *Reprod Biol Endocrinol* **7**, 14.
- Nybakken, K., and Perrimon, N. (2002). Heparan sulfate proteoglycan modulation of developmental signaling in Drosophila. *Biochim Biophys Acta*. **1573(3)**, 280-91.
- O'Donnell, L., Robertson, K. M., Jones, M.E., and Simpson, E.R. (2001): Estrogen and Spermatogenesis. *Endocrin Rev* **22**, 289-318.
- Odaybowman, M.B., Mavrogianis, P.A., Fazleabas, A.T., and Verhage, H.G. (1995). A human oviduct-specific glycoprotein - synthesis, secretion, and localization during the menstrual-cycle. *Microsc Res Tec* **32**, 57-69.
- OdayBowman, M.B., Mavrogianis, P.A., Reuter, L.M., Johnson, D.E., Fazleabas, A.T. and Verhage, H.G. (1996). Association of oviduct-specific glycoproteins with human and baboon (*Papio anubis*) ovarian oocytes and enhancement of human sperm binding to human hemizonae following in vitro incubation. *Biol Reprod* **54**, 60-69.
- Odor, D.L., Gaddumrosse, P., and Rumery, R.E. (1983). Secretory-cells of the oviduct of the pig-tailed monkey, *macaca-nemestrina*, during the menstrual-cycle and after estrogen-treatment. *Am J Anat* **166**, 149-172.
- Odor, D.L., Gaddumrosse, P., Rumery, R.E., and Blandau, R.J. (1980). Cyclic variations in the oviductal ciliated cells during the menstrual-cycle and after estrogen-treatment in the pig-tailed monkey, *macaca-nemestrina*. *Anat Rec* **198**, 35-57.
- Ohleth KM, Zhang Q, Bagnell CA. (1998). Relaxin protein and gene expression in ovarian follicles of immature pigs. *J Mol Endocrinol*. **21(2)**, 179-87.
- Ohyama, Y., Miyamoto, K., Minamino, N., and Matsuo, H. (1994). Isolation and identification of midkine and pleiotrophin in bovine follicular fluid. *Mol cell endocrinol*, **105(2)**, 203-208.
- Oikawa, T., Sendai, Y., Kurata, S., and Yanagimachi, R. (1988). A glycoprotein of oviductal origin alters biochemical- properties of the zona pellucida of hamster egg. *Gamete Res* **19**, 113-122.
- Oliphant, G., Bowling, A., Eng, L.A., Keen, S., and Randall, P.A. (1978). Permeability of rabbit oviduct to proteins present in serum. *Biol Reprod* **18**, 516-520.
- Oliphant, G., Reynolds, A.B., Smith, P.F., Ross, P.R., and Marta, J.S. (1984). Immunocytochemical localization and determination of hormone-induced synthesis of the sulfated oviductal glycoproteins. *Biol Reprod* **31**, 165-174.
- Oliphant, G., and Ross, P.R. (1982). Demonstration of production and isolation of 3 sulfated glycoproteins from the rabbit oviduct. *Biol Reprod* **26**, 537-544.
- Olson, S. T., Frances-Chmura, A. M., Swanson, R., Björk, I., and Zettlmeissl, G. (1997). Effect of individual carbohydrate chains of recombinant antithrombin on heparin affinity and on the generation of glycoforms differing in heparin affinity. *Arch biochem biophys*, **341(2)**, 212-221.

- Oren-Benaroya, R., Orvieto, R., Gakamsky, A., Pinchasov, M., and Eisenbach, M. (2008). The sperm chemoattractant secreted from human cumulus cells is progesterone. *Hum Reprod* **23**, 2339-2345.
- Ostman, S., Taube, M., and Telemo, E. (2005) Tolerosome-induced oral tolerance is MHC dependent. *Immunology*. **116(4)**, 464-476
- Otero. R.M. (2008). Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistema casa y citometría de flujo: identificación de subpoblaciones espermáticas. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela.
- Ozon, R. (1991). De l'ovocyte à la biochimie du cycle cellulaire [From ovocyte to biochemistry of the cell cycle]. *Verh K Acad Geneeskde Belg*. **53(4)**,365-85.
- P**adilla, R.F.J., Mapes, S.G.E., and Jiménez, K.F. (1988). Perfiles hormonales durante el ciclo estral de la oveja. *Técnica Pecuaria en México* **28**, 96-108.
- Paganelli, C.V., and Solomon, A.K. (1957). The rate of exchange of tritiated water across the human red cell membrane. *J Gen Physiol* **41(2)**, 259-277.
- Palaniappan, M., and Menon, K.M. (2012). Luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin-mediated activation of mTORC1 signaling is required for androgen synthesis by theca-interstitial cells. *Mol Endocrinol*. **26(10)**, 1732-42.
- Palma, G.A. (2001). Fisiología del ciclo estral bovino. Palma GA Biotecnología de la reproducción. Primera edición. Argentina. 37 - 49.
- Pan, Y.O.N.G., Zheng, G.U., Luo, J.P., Wang, J.R., and Tso, J.K. (2002). Antibodies against the C-terminal peptide of rabbit oviductin inhibit mouse early embryo development to pass 2 - cell stage. *Cell Res* **12**, 69-78.
- Paquette, Y., Merlen, Y., Malette, B., and Bleau, G. (1995). Allelic polymorphism in the hamster oviductin gene is due to a variable number of mucin-like tandem repeats. *Mol Reprod Dev* **42**, 388-396.
- Parada-Bustamante, A., Orihuela, P.A., Ríos, M., Navarrete-Gómez, P.A., Cuevas, C.A, Velasquez, L.A., Villalón, M.J., and Croxatto, H.B. (2007). Catechol-o-methyltransferase and methoxyestradiols participate in the intraoviductal nongenomic pathway through which estradiol accelerates egg transport in cycling rats. *Biol Reprod* **77**, 934-941.
- Park, S. G., Kim, H. J., Min, Y. H., Choi, E. C., Shin, Y. K., Park, B. J., Lee, S. W., and Kim, S. (2005). Human lysyl-tRNA synthetase is secreted to trigger proinflammatory response. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **102(18)**, 6356–6361.
- Pastén, K., Bastian, Y., Roa-Espitia, A. L., Maldonado-García, D., Mendoza-Hernández, G., Ortiz-García, C. I., Mújica, A., and Hernández-González, E. O. (2014). ADAM15 participates in fertilization through a physical interaction with acrogranin. *Reproduction*, **148(6)**, 623-634.
- Pathak, R., Delorme-Walker, V.D., Howell, M.C., Anselmo, A.N., White, M.A., Bokoch, G.M. and Dermardirossian, C. (2012). The microtubule-associated Rho activating factor GEF-H1 interacts with exocyst complex to regulate vesicle traffic. *Developmental Cell* 397-411.
- Pau, C.Y., Pau, K. Y., Berria, M., and Spies, H. (2000). Ovarian influence on gonadotropin and prolactin release in mated rabbits. *Endocrine*, **13**, 25-35.
- Pau, K.Y., and Spies, H.G. (1986). Estrogen-dependent effects of norepinephrine on hypothalamic Gonadotropin-releasing Hormone release in rabbit. *Brain Res* **399**, 15-23.
- Paules, R., Buccione, R., Moschel, R., Vande Woude, G., and Eppig, J. (1989). Mouse Mos protooncogene product is present and functions during oogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **86**, 5395 - 5399.
- Pearl, L. H., and Prodromou, C. (2006). Structure and mechanism of the Hsp90 molecular chaperone machinery. *Annu. Rev. Biochem.* **75**, 271-294

- Pedersen, T., and Peters, H. (1968). Proposal for the classification of oocytes and follicles in the mouse ovary. *J Reprod Fertil* **17**, 555 - 557.
- Pelletier, C., Keefe, D.L., and Trimarchi, J.R. (2004). Noninvasive polarized light microscopy quantitatively distinguishes the multilaminar structure of the zona pellucida of living human eggs and embryos. *Fertil Steril* **81**, 850-856.
- Peter, M. (1990). In vitro disassembly of the nuclear lamina and M phase specific phosphorylation of lamins by cdc2 kinase. *Cell*. **61**, 591 - 602.
- Peters, H., Levy, E., and Crone, M. (1965). Oogenesis in rabbit. *J Exp Zool* **158**, 169-180.
- Pereira HA. (1995). CAP37, a neutrophil-derived multifunctional inflammatory mediator. *J Leukoc Biol*. **57(6)**, 805-12.
- Pérez-Cerezales, S., Boryshpolets, S., Afanzar, O., Brandis, A., Nevo, R., Kiss, V., and Eisenbach, M. (2015). Involvement of opsins in mammalian sperm thermotaxis. *Sci Rep* **5**, 16146.
- Pérez-Cerezales, S., López-Cardona, A.P., and Gutiérrez-Adán, A. (2016). Progesterone effects on mouse sperm kinetics in conditions of viscosity. *Reproduction* **151**, 501-507.
- Pérez-Cerezales, S., Ramos-Ibeas, P., Acuña, O.S., Avilés, M., Coy, P., Rizos, D., and Gutiérrez-Adán, A. (2018). The oviduct: from sperm selection to the epigenetic landscape of the embryo. *Biol Reprod* **98**, 262-276.
- Perkins, J.L., and Goode, L. (1967). Free amino acids in oviduct fluid of ewe. *J Reprod Fertil* **14**, 309-311.
- Perkins, J.L., Goode, L., Wilder, W.A., and Henson, D.B. (1965). Collection of secretions from oviduct and uterus of ewe. *J Anim Sci* **24**, 383-387.
- Perry, G.A., and Perry, B.L. (2009). Effect of the timing of controlled internal drug-releasing device insertion on the gonadotropin-releasing hormone-induced luteinizing hormone surge and ovulatory response. *J Anim Sci* **87 (12)**, 3983 - 3990.
- Perry, A.C.F., and Verlhac, M.H. (2009). Second meiotic arrest and exit in frogs and mice. *EMBO Rep* **3**, 246 - 251.
- Perry, K., Haresign, W., Wathes, D. C., Pitsillides, A. A., and Khalid, M. (2012). Cervical expression of hyaluronan synthases varies with the stage of the estrous cycle in the ewe. *Theriogenology*, **77(6)**, 1100-1110.
- Pfeifer, T.L., and Chegini, N. (1994). Immunohistochemical localization of insulin-like growth factor (IGF-I), IGF-I receptor, and IGF binding proteins 1-4 in human fallopian tube at various reproductive stages. *Biol Reprod*. **50(2)**, 281-9.
- Phillips, B.T., Gassei, K., and Orwig, K.E. (2010). Spermatogonial stem cell regulation and spermatogenesis. *Phil Trans R Soc B* **365**, 1663 -1678.
- Pholpramool, C., Zupp, J. L., and Setchell, B. P. (1985). Motility of undiluted bull epididymal spermatozoa collected by micropuncture. *J reprod fertil*, **75(2)**, 413-420.
- Picard, D. (2002). Heat-shock protein 90, a chaperone for folding and regulation. *Cell Mol Life Sci*. **59**, 1640– 1648
- Pierce, J.D., Cackler, A.B., Arnett, M.G. (2004). Why should you care about free radicals? *RN*. **67(1)**, 38-42.
- Pillai, V. V., Weber, D. M., Phinney, B. S., and Selvaraj, V. (2017). Profiling of proteins secreted in the bovine oviduct reveals diverse functions of this luminal microenvironment. *PLoS one*, **12(11)**, 0188105.
- Pincus, G., y Enzmann, E. (1935). The comparative behavior of mammalian eggs *in vivo* and *in vitro*. The activation of ovarian eggs. *J Exp Med* **62**, 665 - 675.
- Pinto, F.M., Ravina, C.G., Subiran, N., Cejudo-Román, A., Fernández-Sánchez, M., Irazusta, J., Garrido, N., and Candenás, L. (2010). Autocrine regulation of human sperm motility by tachykinins. *Reprod Biol Endocrinol* **8**, 104.

- Polanski, Z., and Kubiak, JZ. (1999). Meiosis. *Encyclopedia Reprod* **3**, 160-167
- Pollard, J.W., Plante, C., King, W.A., Hansen, P.J., Betteridge, K.J., y Suarez, S.S. (1991). Fertilizing-capacity of bovine sperm may be maintained by binding to oviductal epithelial-cells. *Biol Reprod* **44**, 102-107.
- Polykratis, A., Katsoris, P., Courty, J., and Papadimitriou, E. (2005). Characterization of heparin affinity regulatory peptide signaling in human endothelial cells. *J biological chem*, **280(23)**, 22454-22461
- Porter, S., Clark, I. M., Kevorkian, L., and Edwards, D. R. (2005). The ADAMTS metalloproteinases. *Biochem J*, **386**, 15-7.
- Poveda, J., Sanz, A. B., Fernandez-Fernandez, B., Carrasco, S., Ruiz-Ortega, M., Cannata-Ortiz, P., Ortiz, A., and Sanchez-Niño, M. D. (2017). MXRA5 is a TGF- β 1-regulated human protein with anti-inflammatory and anti-fibrotic properties. *J cell mol med*, **21(1)**, 154-164
- Pradeep, M.A., Jagadeesh, J., De, A.K., Kaushik, J.K., Malakar, D., Kumar, S., *et al.* (2011). Purification, sequence characterization and effect of goat oviduct-specific glycoprotein on in vitro embryo development. *Theriogenology* **75**, 1005-1015.
- Proc, J. L., Kuzyk, M. A., Hardie, D. B., Yang, J., Smith, D. S., Jackson, A. M., and Borchers, C. H. (2010). A quantitative study of the effects of chaotropic agents, surfactants, and solvents on the digestion efficiency of human plasma proteins by trypsin. *J Proteome Res*, **9(10)**, 5422-5437.
- Prodoehl, M.J., Irving-Rodgers, H.F., Bonner, W.M., Sullivan, T.M., Micke, G.C., Gibson, M.A., Perry, V.E., Rodgers, R.J. (2009). Fibrillins and latent TGF β binding proteins in bovine ovaries of offspring following high or low protein diets during pregnancy of dams. *Mol Cell Endocrinol* **307**,133-141.
- Q**in, J., Díaz-Cueto, L., Schwarze, J. E., Takahashi, Y., Imai, M., Isuzugawa, K., Yamamoto, S., Chang, K. T., Gerton, G. L., and Imakawa, K. (2005). Effects of progranulin on blastocyst hatching and subsequent adhesion and outgrowth in the mouse. *Biol reprod*, **73(3)**, 434-442.
- R**abinovich, G. A., and Toscano, M. A. (2009). Turning 'sweet' on immunity: galectin-glycan interactions in immune tolerance and inflammation. *Nat rev Immunol* **9(5)**, 338–352.
- Raheem, K. A., Marei, W. F., Mifsud, K., Khalid, M., Wathes, D. C., and Fouladi-Nashta, A. A. (2013). Regulation of the hyaluronan system in ovine endometrium by ovarian steroids. *Reproduction*, **145(5)**, 491-504.
- Rama Raju, G.A., Prakash, G.J., Krishna, K.M., and Madan, K. (2007). Meiotic spindle and zona pellucida characteristics as predictors of embryonic development: a preliminary study using PolScope imaging. *Reprod biomed online* **14**, 166-174.
- Ramón, M.C., Acuña, O.S., Ruano, M.J., Avilés, M. and Izquierdo-Rico, M.J. (2012). Expression of haptoglobin mRNA in the oviduct during the oestrus cycle of sows. *Reprod Fertil Dev* **25**, 248.
- Rankin, T., Familari, M., Lee, E., Ginsberg, A., Dwyer, N., BlanchetteMackie, J., *et al.* (1996). Mice homozygous for an insertional mutation in the Zp3 gene lack a zona pellucida and are infertile. *Development* **122**, 2903-2910.
- Rankin, T., Talbot, P., Lee, E., and Dean, J. (1999). Abnormal zonae pellucidae in mice lacking ZP1 result in early embryonic loss. *Development* **126**, 3847-3855.
- Rankin, T.L., O'Brien, M., Lee, E., Wigglesworth, K., Eppig, J., and Dean, J. (2001). Defective zonae pellucidae in Zp2-null mice disrupt folliculogenesis, fertility and development. *Development* **128**, 1119-1126.

- Rao, G., Ding, H. G., Huang, W., Le, D., Maxhimer, J. B., Oosterhof, A., van Kuppevelt, T., Lum, H., Lewis, E. J., Reddy, V., Prinz, R. A., and Xu, X. (2011). Reactive oxygen species mediate high glucose-induced heparanase-1 production and heparan sulphate proteoglycan degradation in human and rat endothelial cells: a potential role in the pathogenesis of atherosclerosis. *Diabetologia*, **54(6)**, 1527-1538.
- Rao, V.H., Sarmah, B.C., and Bhattacharyya, N.K. (1984). Xenogenous fertilization of goat ova in the rabbit oviduct. *J Reprod Fertil* **71**, 377-379.
- Rapisarda, J.J., Mavrogianis, P.A., Odaybowman, M.B., Fazleabas, A.T., and Verhage, H.G. (1993). Immunological characterization and immunocytochemical localization of an oviduct-specific glycoprotein in the human. *J Clin Endocrinol Metabolism* **76**, 1483-1488.
- Raulo E, Chernousov MA, Carey DJ, Nolo R, Rauvala H. (1994). Isolation of a neuronal cell surface receptor of heparin binding growth-associated molecule (HB-GAM). Identification as N-syndecan (syndecan-3). *J Biol Chem*. **269(17)**, 12999-3004.
- Rauvala, H., and Peng, H. B. (1997). HB-GAM (heparin-binding growth-associated molecule) and heparin-type glycans in the development and plasticity of neuron-target contacts. *Progress in neurobiology*, **52(2)**, 127-144.
- Ravina, C.G., Seda, M., Pinto, F.M., Orea, A., Fernández-Sánchez, M., Pintado, C.O., and Candenás, M. L. (2007). A role for tachykinins in the regulation of humansperm motility. *Hum Reprod* **22**, 1617-1625.
- Redgrove, K.A., Anderson, A.L., Dun, M.D., McLaughlin, E.A., O'Bryan, M.K., Aitken, R.J., Nixon, B. (2011). Involvement of multimeric protein complexes in mediating the capacitation-dependent binding of human spermatozoa to homologous zonae pellucidae. *Dev Biol*. **356(2)**, 460-74.
- Reese, K. L., Aravindan, R. G., Griffiths, G. S., Shao, M., Wang, Y., Galileo, D. S., Atmuri, V., Triggs-Raine, B. L., and Martin-Deleon, P. A. (2010). Acidic hyaluronidase activity is present in mouse sperm and is reduced in the absence of SPAM1: evidence for a role for hyaluronidase 3 in mouse and human sperm. *Mol reprod dev*, **77(9)**, 759772.
- Refaat, B., Simpson, H., Britton, E., Biswas, J., Wells, M., Aplin, J.D., Ledger, W. (2012). Why does the fallopian tube fail in ectopic pregnancy? The role of activins, inducible nitric oxide synthase, and MUC1 in ectopic implantation. *Fertil Steril* **97(5)**, 1115-23.
- Relucenti, M., Heyn, R., Correr, S., and Familiari, G. (2005). Cumulus oophorus extracellular matrix in the human oocyte: a role for adhesive proteins. *Ital J anat embryol* **110** 219-224.
- Reynoso, S., Castillo, V., Katkar, G. D., Lopez-Sanchez, I., Taheri, S., Espinoza, C., Rohena, C., Sahoo, D., Gagneux, P., and Ghosh, P. (2021). GIV/Girdin, a non-receptor modulator for Gai/s, regulates spatiotemporal signaling during sperm capacitation and is required for male fertility. *eLife*, **10**, e69160.
- Richards, J.S. (1979). Hormonal control of ovarian follicular development. *Rec Prog Horm Res*. **35**, 343 - 373.
- Richards, J.S. (1980). Maturation of ovarian follicles: actions and interactions of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation. *Physiol Rev* **60(1)**, 51-89.
- Richards, J.S. and Bogovich, K. (1982). Effects of human chorionic gonadotropin and progesterone on follicular development in the immature rat. *Endocrinology*. **111(5)**, 1429-38.
- Richter, K., Muschler, P., Hainzl, O., Reinstein, J., and Buchner, J. (2003). Sti1 is a non-competitive inhibitor of the Hsp90 ATPase. Binding prevents the N-terminal dimerization reaction during the atpase cycle. *J biol chem*, **278(12)**, 10328-
- Rios, M., Hermoso, M., Sanchez, T.M., Croxatto, H.B., and Villalon, M.J. (2007). Effect of oestradiol and progesterone on the instant and directional velocity of microsphere movements in the rat oviduct: gap junctions mediate the kinetic effect of oestradiol. *Reprod Fertil Dev* **19**, 634-640.

- Rivas, J., and Fontanillo, C. (2010). Protein–protein interactions essentials: Key concepts to building and analyzing interactome networks, *Plos C Biol* **6**.
- Rizos, D., Lonergan, P., Boland, M.P., Arroyo-Garcia, R., Pintado, B., De la Fuente, J., and Gutierrez-Adan, A. (2002a). Analysis of differential messenger RNA expression between bovine blastocysts produced in different culture systems: Implications for blastocyst quality. *Biol Reprod* **66**, 589-595.
- Rizos, D., Ramirez, M.A., Pintado, B., Lonergan, P., and Gutierrez-Adan, A. (2010). Culture of bovine embryos in intermediate host oviducts with emphasis on the isolated mouse oviduct. *Theriogenology* **73**, 777-785.
- Rizos, D., Ward, F., Duffy, P., Boland, M.P., and Lonergan, P. (2002b). Consequences of bovine oocyte maturation, fertilization, or early embryo development in vitro versus in vivo: Implications for blastocyst yield and blastocyst quality. *Mol Reprod Dev* **61**, 234-248.
- Roa, J., Garcia-Galiano, D., Varela, L., Sánchez-Garrido, M.A., Pineda, R., Castellano, J.M., Ruiz-Pino, F., Romero, M., Aguilar, E., López, M., Gaytan, F., Diéguez, C., Pinilla, L., Tena-Sempere, M. (2009). The mammalian target of rapamycin as novel central regulator of puberty onset via modulation of hypothalamic Kiss1 system. *Endocrinology*. **150(11)**, 5016-26.
- Robaire, B., Hinton, B.T., and Orgebin-Crist, M.C. (2006). *Physiol Reprod* 1071-1149.
- Roberts, G.P., Parker, J.M., and Symonds, H.W. (1975). Proteins in luminal fluid from bovine oviduct. *J Reprod Fertil* **45**, 301-313.
- Roblero, L., Biggers, J.D., and Lechene, C.P. (1976). Electron-probe analysis of elemental microenvironment of oviducal mouse embryos. *J Reprod Fertil* **46**, 431-434.
- Rodriguez-Martinez, H., Saravia, F., Wallgren, M., Tienthai, P., Johannisson, A., Vazquez, J.M., et al. (2005). Boar spermatozoa in the oviduct. *Theriogenology* **63**, 514-535.
- Romar, R (2001). Efecto de las células oviductales y del cumulus oophorus sobre diferentes parámetros biológicos relacionados con la fecundación in vitro en la especie porcina. Tesis doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.
- Romarowski, A., Battistone, M. A., La Spina, F. A., Puga Molina, L., Luque, G. M., Vitale, A. M., Cuasnicu, P. S., Visconti, P. E., Krapf, D., and Buffone, M. G. (2015). PKA-dependent phosphorylation of LIMK1 and Cofilin is essential for mouse sperm acrosomal exocytosis. *Dev Biol*, **405(2)**, 237-249.
- Rosati, F., Capone, A., Giovampaola, C.D, Bretton, C., and Focarelli, R. (2000) Sperm-egg interaction at fertilization: glycans as recognition signals. *Int J Dev Biol* **44**, 609 - 618.
- Rosselli, M., Dubey, R. K., Imthurn, B., Macas, E., and Keller, P. J. (1995). Effects of nitric oxide on human spermatozoa: evidence that nitric oxide decreases sperm motility and induces sperm toxicity. *Hum reprod* , **10(7)**, 1786-1790.
- Roux E, Bleau G, Kan FW. (1997). Fate of hamster oviductin in the oviduct and uterus during early gestation. *Mol Reprod Dev*. **46**, 306-317.
- Roux, E., and Kan, F.W.K. (1995). Stage-specific immunolabeling for oviductin in the secretory granules of the oviductal epithelium of the golden-hamster during the estrous-cycle. *Anat Rec* **241**, 369-376.
- Ruder, H.E., Harman, J.T., Blumberg J., y Goldman, M. (2008). Oxidative stress and antioxidants: exposure and impact on female fertility. *Hum Reprod* **14**, 345-357.
- Rutz, S., Eidenschenk, C., Ouyang, W. (2013). IL-22, not simply a Th17 cytokine. *Immunol Rev*. **252(1)**,116-32.
- S**abat, R., Ouyang, W., Wolk, K. (2014). Therapeutic opportunities of the IL-22-IL-22R1 system. *Nat Rev Drug Discov*. **13(1)**, 21-38.

- Sabeur, K., Cherr, G. N., Yudin, A. I., Primakoff, P., Li, M. W. and Overstreet, J. W. (1997). The PH-20 proteins in human spermatozoa. *Journal of andrology*, **18(2)**, 151–158.
- Saezet, F., Motta, C., Boucher, D., y Grizard, G. (1998). Antioxidant capacity of prostasomes in human semen. *Mol Hum Reprod* **4(7)**, 667-672.
- Saint-Dizier, M., Marnier, C., Tahir, M.Z., Grimard, B., Thoumire, S., Chastant-Maillard, S., and Reynaud, K. (2014). OVG P1 Is Expressed in the Canine Oviduct at the Time and Place of Oocyte Maturation and Fertilization. *Mol Reprod Dev* **81**, 972-982.
- Saling, P.M., Storey, B.T., and Wolf, D.P. (1978). Calcium-dependent binding of mouse epididymal spermatozoa to zona pellucida. *Dev Biol* **65**, 515-525.
- Sang, L., Xiao, Y., Jiang, Z., Forde, N., Tian, X. C., Lonergan, P., and Hansen, P. J. (2021). Atlas of receptor genes expressed by the bovine morula and corresponding ligand-related genes expressed by uterine endometrium. *Mol reprod dev*, **88(10)**, 694-704.
- Sasanami, T., Pan, J.Z., Doi, Y., Hisada, M., Kohsaka, T., Toriyama, M., and Mori, M. (2002). Secretion of egg envelope protein ZPC after C-terminal proteolytic processing in quail granulosa cells. *Eur J Biochemis* **269**, 2223-2231.
- Sasse, M., Lengwinat, T., Henklein, P., Hlinak, A., and Schade, R. (2000). Replacement of fetal calf serum in cell cultures by an egg yolk factor with cholecystokinin/gastrin-like immunoreactivity. *Altern Lab Anim* **28**, 815-831.
- Satoh, T., Abe, H., Sendai, Y., Iwata, H., and Hoshi, H. (1995). Biochemical-characterization of a bovine oviduct-specific sialo-glycoprotein that sustains sperm viability in-vitro. *Biochimic Biophys Acta-Mol Cell Res* **1266**, 117-123.
- Saumande, J., and Humblot, P. (2005). The variability in the interval between estrus and ovulation in cattle and its determinants. *Anim Reprod Sci* **85(3-4)**, 171-82.
- Sawyer, H.T., Smith, P., Heath, D.A., Juengel, J.L., Wakefield, S.J., y McNatty, K.P. (2002). Formation of ovarian follicles during fetal development in sheep. *Biol Reprod* **66**, 1134 –1150.
- Schatten, H., and Constantinescu, G.M. (2008) Comparative Reproductive Biology. *Blackwell Publishing Professional* 61 - 111.
- Schlegel, M., Köhler, D., Körner, A., Granja, T., Straub, A., Giera, M., and Mirakaj, V. (2016). The neuroimmune guidance cue netrin-1 controls resolution programs and promotes liver regeneration. *Hepatology* , **63(5)**, 1689-1705.
- Schoenfelder, M., and Einspanier, R. (2003) Expression of hyaluronan synthases and corresponding hyaluronan receptors is differentially regulated during oocyte maturation in cattle. *Biol Reprod* **69**, 269-277.
- Schultz, R.M. (1991). Meiotic maturation on mammalian oocytes. Elements of Mammalian Fertilization. Ed: Wassarman PM. CRC Press, Boston, USA. 77-104
- Schultz, R., Montgomery, R., y Belanoff, J. (1983). Regulation of mouse oocyte meiotic maturation: Implication of a decrease in oocyte cAMP and protein dephosphorylation in commitment to resume meiosis. *Dev Biol*. **97**, 264 - 273.
- Schwarting, G. A., Gajewski, A., Carroll, P., and DeWolf, W. C. (1987). Inhibition of ganglioside sialyltransferase activity and stimulation of neutral glycolipid exocytosis by heparin. *Arch biochem biophys*, **256(1)**, 69-77.
- Seitz, H.M., Jr., Brackett, B.G., y Mastroianni, L., Jr. (1970). In vitro fertilization of ovulated rabbit ova recovered from the ovary. *Biol Reprod*, **2**, 262-267.
- Senger, P.L. (2005). Pathways to pregnancy and parturition. *2nd Revised Edition*, P. L. Senger. Cadmus Professional Communications, Ephrata, PA. **44**.
- Sengoku, K., Takuma, N., Miyamoto, T., Horikawa, M., Ishikawa, M. (2004). Integrins are not involved in the process of human sperm-olemmal fusion. *Hum Reprod* **19**, 639-644

- Seytanoglu, A., Georgiou, A. S., Sostaric, E., Watson, P. F., Holt, W. V., and Fazeli, A. (2008). Oviductal cell proteome alterations during the reproductive cycle in pigs. *J proteome res* **7(7)**, 2825-2833.
- Shafat, I., Vlodaysky, I., and Ilan, N. (2006). Characterization of mechanisms involved in secretion of active heparanase. *J Biol Chem*, **281(33)**, 23804-23811.
- Shaha, C., Tripathi, R., and Mishra, D.P. (2010). Male germ cell apoptosis: regulation and biology. *Phil Trans R Soc B* **365**, 1501-1515
- Shao, R., Nutu, M., Weijdegård, B., Egecioglu, E., Fernandez-Rodriguez, J., Tallet, E., Goffin, V., Ling, C., and Billig, H. (2008). Differences in prolactin receptor (PRLR) in mouse and human fallopian tubes: evidence for multiple regulatory mechanisms controlling PRLR isoform expression in mice. *Biol Reprod*, **79(4)**, 748-757.
- Shaw JL, Smith CR, Diamandis EP. (2007). Proteomic analysis of human cervico-vaginal fluid. *J Proteome Res.* **6(7)**, 2859-65.
- Shemesh, M. (2001). Actions of gonadotrophins on the uterus. *Reproduction* **121**, 835-842.
- Shen, Y., Stalf T., Mehnert, C., Eichenlaub-Ritter, U., y Tinneberg, H.R. (2005). High magnitude of light retardation by the zona pellucida is associated with conception cycles. *Hum Reprod* **20**, 1596-1606.
- Shi, D.B., Komatsu, K., Uemura, T., and Fujimori, T. (2011). Analysis of ciliary beat frequency and ovum transport ability in the mouse oviduct. *Gen Cell* **16**, 282-290.
- Shirley, B., and Reeder, R.L. (1996). Cyclic changes in the ampulla of the rat oviduct. *J Exp Zool* **276**, 164-173.
- Shukla, V., Popli, P., Kaushal, J. B., Gupta, K., & Dwivedi, A. (2018). Uterine TPPP3 plays important role in embryo implantation via modulation of β -catenin. *Biol Reprod*, **99(5)**, 982-999.
- Signorelli, J., Diaz, E. S., and Morales, P. (2012). Kinases, phosphatases, and proteases during sperm capacitation. *Cell tissue res*, **349(3)**, 765-782.
- Sinowatz, F., Kolle, S., y Topfer-Petersen, E. (2001a). Biosynthesis and expression of zona pellucida glycoproteins in mammals. *Cells Tissues Organs* **168**, 24-35.
- Sinowatz, F., Topfer-Petersen, E., Koller, S., Palma, G. (2001b). Functional morphology of the zona pellucida. *Anat Histol Embryol* **5**, 257-263.
- Sirard, M.A. (2001). Resumption of meiosis: mechanism involved in meiotic progression and its relations with developmental competence. *Theriogenology*, **55**, 1241-1254.
- Sirard, M.A., Richard, F., Blondin, P., y Robert, C. (2006) Contribution of the oocyte to embryo quality. *Theriogenology*, **65**, 126-136.
- Sirotkin, A.V., Makarevich, A.V., Corkins, M.R., Kotwica, J., Bulla, J. (2001). The transfection-induced overexpression of IGF-binding protein-4 affects the secretory activity of porcine ovarian granulosa cells and their response to hormones and IGF-I. *J Mol Endocrinol.* **26(3)**, 241-8.
- Slee RB, Hillier SG, Lague P, Harlow CR, Miele G, Clinton M. (2001). Differentiation-dependent expression of connective tissue growth factor and lysyl oxidase messenger ribonucleic acids in rat granulosa cells. *Endocrinology.* **142(3)**, 1082-9.
- Smith, T.T., and Yanagimachi, R. (1991). Attachment and release of spermatozoa from the caudal isthmus of the hamster oviduct. *J Reprod Fertil* **91**, 567-573.
- Smith, T.T., and Nothnick W.B. (1997). Role of direct contact between spermatozoa and oviductal epithelial cell in maintaining rabbit sperm viability. *Biol Reprod* **56(1)**, 83-89.
- Soleilhavoup, C., Riou, C., Tsikis, G., Labas, V., Harichaux, G., Kohnke, P., et al. (2016). Proteomes of the Female Genital Tract During the Oestrous Cycle. *Mol Cell Proteomics* **15**, 93-108.
- Sorensen, H., y Wassarman, P. (1976). Relationship between growth and meiotic maturation of the mouse oocytes. *Dev Biol* **50**, 531 - 536.

- Souza de Lima, D., Nunes, V., Ogusku, M. M., Sadahiro, A., Pontillo, A., and Alencar, B. C. (2017). Polymorphisms in SIGLEC1 contribute to susceptibility to pulmonary active tuberculosis possibly through the modulation of IL-1 β . *Infect genet evol*, **55**, 313-317.
- Spargo, S.C., and Hope, R.M. (2003). Evolution and nomenclature of the zona pellucida gene family. *Biol Reprod* **68**, 358-362.
- Srivastava MD, Lippes J, Srivastava BI. (1996). Cytokines of the human reproductive tract. *Am J Reprod Immunol.* **36(3)**, 157-66.
- Stambaug, R., Noriega, C., y Mastroia. L. (1969). Bicarbonate ion - corona cell dispersing factor of rabbit tubal fluid. *J Reprod Fertil* **18**, 51-58.
- Stern, R. (2003). Devising a pathway for hyaluronan catabolism: are we there yet?. *Glycobiology*, **13(12)**, 105R-115R.
- Stern R. (2004). Hyaluronan catabolism: a new metabolic pathway. *Eur j cell biol*, **83(7)**, 317-325.
- Stetson, I., Izquierdo-Rico, M.J., Moros, C., Chevret, P., Lorenzo, P.L., Ballesta, J., et al. (2012). Rabbit zona pellucida composition: A molecular, proteomic and phylogenetic approach. *J Proteomics* **75**, 5920-5935.
- Stetson, I., Avilés, M., Moros, C., García-Vázquez, F.A., Gimeno, L., Torrecillas, A., Aliaga, C., Bernardo-Pisa, M.V., Ballesta, J., y Izquierdo-Rico, M.J. (2015). Four glycoproteins are expressed in the cat zona pellucida. *Theriogenology* **83**, 1162-73.
- Stevenson, K.R., and Wathes, D.C. (1996). Insulin-like growth factors and their binding proteins in the ovine oviduct during the oestrous cycle. *J Reprod Fertil.* **108(1)**, 31-40.
- Stewart, C.A., Behringer, R.R. (2012). Mouse oviduct development. *Mouse Dev* **14**, 247-262.
- Stewart, D. R., Celniker, A. C., Taylor, C. A., Jr, Cragun, J. R., Overstreet, J. W., and Lasley, B. L. (1990). Relaxin in the peri-implantation period. *J clinic endocrinol metab* **70(6)**, 1771-1773.
- Stjacques, S., y Bleau, G. (1988). Monoclonal-antibodies specific for an oviductal component associated with the hamster zona pellucida. *J Reprod Immunol* **12**, 247-261.
- Stojkovic, M., Machado, S.A., Stojkovic, P., Zakhartchenko, V., Hutzler, P., Goncalves, P. B., and Wolf, E. (2001). Mitochondrial distribution and adenosine triphosphate content of bovine oocytes before and after in vitro maturation: correlation with morphological criteria and developmental capacity after in vitro fertilization and culture. *Biol Reprod* **64**, 904-909.
- Stromstedt, M., and Byskov, A.G. Oocyte, Mammalian. (1999). *Encyclopedia Reprod* **3**, 468-480.
- Suarez, S.S. (1998). The oviductal sperm reservoir in mammals: Mechanisms of formation. *Biol Reprod* **58**, 1105-1107.
- Suarez S.S. (2007). Interactions of spermatozoa with the female reproductive tract: Inspiration for assisted reproduction. *Reprod Fertil Dev* **19**, 103-110.
- Suarez S.S. (2008). Regulation of sperm storage and movement in the mammalian oviduct. *Int J Dev Biol* **52**, 455-462.
- Suarez S.S. (2015). Gamete and zygote transport. *Reproduction*, **2**, 197-232.
- Suarez S S. (2016) Mammalian sperm interactions with the female reproductive tract. *Cell Tissue Res* **363**, 185-194.
- Sugahara, K., Mikami, T., Uyama, T., Mizuguchi, S., Nomura, K., and Kitagawa, H. (2003). Recent advances in the structural biology of chondroitin sulfate and dermatan sulfate. *Curr opin struct biol*, **13(5)**, 612-620.
- Sugimoto, K., Ogawa, A., Mizoguchi, E., Shimomura, Y., Andoh, A., Bhan, A.K., Blumberg, R.S., Xavier, R.J., Mizoguchi, A. (2008). IL-22 ameliorates intestinal inflammation in a mouse model of ulcerative colitis. *J Clin Invest.* **118**, 534-544.
- Suh, H. N., and Han, H. J. (2013). Fibronectin-induced VEGF receptor and calcium channel transactivation stimulate GLUT-1 synthesis and trafficking through PPAR γ and TC10 in

- mouse embryonic stem cells. *Stem cell res*, **10(3)**, 371-386.
- Sun, F., Bahat, A., Gakamsky, A., Girsh, E., Katz, N., Giojalas, L.C., Tur-Kaspa, I., y Eisenbach, M. (2005). Human sperm chemotaxis: Both the oocyte and its surrounding cumulus cells secrete sperm chemoattractants. *Hum Reprod* **20**, 761-767.
- Sun, Q.Y., Miao, Y.L., Schatten, H. (2009). Towards a new understanding on the regulation of mammalian oocyte meiosis resumption. *Cell Cycle*. **8(17)**, 2741 - 2747.
- Sutton, M.L., Gilchrist, R.B., y Thompson, J.G. (2003). Effects of in-vivo and in-vitro environments on the metabolism of the cumulus-oocyte complex and its influence on oocyte developmental capacity. *Hum, Reprod* **9**, 35-48.
- Swanson, L., Katkar, G.D., Tam, J., Pranadinata, R.F., Chareddy, Y., Coates, J., Anandachar, M.S., Castillo, V., Olson, J., Nizet, V., Kufareva, I., Das, S., Ghosh, P. (2020). TLR4 signaling and macrophage inflammatory responses are dampened by GIV/Girdin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **117(43)**, 26895-26906.
- Swierstra, E.E. (1968): Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar; duration of spermatozoan transit through the epididymis. *Anat Rec* **161**, 171-185.
- Swierstra, E.E., y Foote, R.H. (1963): Cytology and kinetics of spermatogenesis in the rabbit. *J Reprod Fertil* **5**, 309-322.
- Szklarczyk, D., Gable, A.L., Lyon, D., Junge, A., Wyder, S., Huerta-Cepas, J., Simonovic, M., Doncheva, N.T., Morris, J.H., Bork, P., Jensen, L.J., y Mering, C.V. (2019). STRING v11: protein-protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Res* **47**, 607-613.
- Szulanczyk, K. (2009). Histological changes within ovarian cortex, oviductal and uterine mucosa in case of ovarian cysts presence in sows. *Folia Histochem Cytobiol* **47**, 99-103.
- T**amassia, M., Nuttinck, F., May-Panloup, P., Reynier, P., Heyman, Y., Charpigny, G., Stojkovic, M., Hiendleder, S., Renard, J.P., y Chastant-Maillard, S. (2004). In vitro embryo production efficiency in cattle and its association with oocyte adenosine triphosphate content, quantity of mitochondrial DNA, and mitochondrial DNA haplogroup. *Biol Reprod*, **71**, 697-704.
- Tan, X., Thapa, N., Sun, Y. and Anderson, R.A. (2015). A kinase-independent role for EGF receptor in autophagy initiation. *Cell* 145-160.
- Tanphaichitr, N., Kongmanas, K., Kruevaisayawan, H., Saewu, A., Sugeng, C., Fernandes, J., Souda, P., Angel, J.B., Faull, K.F., Aitken, R.J., Whitelegge, J., Hardy, D., Berger, T., y Baker, M. (2015). Remodeling of the plasma membrane in preparation for sperm-egg recognition: roles of acrosomal proteins. *Asian J Androl*. **17(4)**, 574-582.
- Tay, J.I., Rutherford, A.J., Killick, S.R., Maguiness, S.D., Partridge, R.J., y Leese, H.J. (1997). Human tubal fluid: production, nutrient composition, and response to adrenergic agents. *Hum Reprod* **12**, 2451-2456.
- Teijeiro, J.M., and Marini, P.E. (2012). The effect of oviductal deleted in malignant brain tumor 1 over porcine sperm is mediated by a signal transduction pathway that involves pro-AKAP4 phosphorylation. *Reproduction* **143**, 773-785.
- Teijeiro, J.M., Ignotz, G.G., Marini, P.E. (2009). Annexin A2 is involved in pig (*Sus scrofa*) sperm-oviduct interaction. *Mol Reprod Dev*. **76(4)**, 334-41.
- Teves, M.E., Barbano, F., Guidobaldi, H.A., Sanchez, R., Miska, W., y Giojalas, L.C. (2006) Progesterone at the picomolar range is a chemoattractant for mammalian spermatozoa. *Fertil Steril* **86**, 745-749.
- Thaler, C. D., and Epel, D. (2003). Nitric oxide in oocyte maturation, ovulation, fertilization, cleavage, and implantation: a little dab'll do ya. *Curr pharm des*. **9(5)**, 399-409.

- Thibault, C., Szöllösi, D., y Gérard, M. (1987). Mammalian oocyte maturation. *Reprod Nutr Dev* **27**, 865-896.
- Tian, J.D., Gong, H., Thomsen, G.H., y Lennarz, W.J. (1997). Gamete interactions in *Xenopus laevis*: Identification of sperm binding glycoproteins in the egg vitelline envelope. *J Cell Biol* **136**, 1099-1108.
- Tian, X., Pascal, G., Fouhécourt, S., Pontarotti, P., y Monget, P. (2009). Gene Birth, Death, and Divergence: The Different Scenarios of Reproduction-Related Gene Evolution. *Biol Reprod* **80**, 616-621.
- Tienthai, P., Kjellen, L., Pertoft, H., Suzuki, K., y Rodriguez-Martinez, H. (2000). Localization and quantitation of hyaluronan and sulfated glycosaminoglycans in the tissues and intraluminal fluid of the pig oviduct. *Reprod Fertil Dev* **12**, 173-182.
- Tienthai, P., Sajjarengpong, K., y Techakumphu, M. (2009). Light and Scanning Electron Microscopic Studies of Oviductal Epithelium in Thai Swamp Buffalo (*Bubalus bubalis*) at the Follicular and Luteal Phases. *Reprodu Domest Anim* **44**, 450-455.
- Tingen, C., Kim, A., y Woodruff, T.K. (2009). The primordial pool of follicles and nest breakdown in mammalian ovaries. *Mol Hum Reprod* **12**, 795 – 803.
- Toh H, Chitramuthu BP, Bennett HP, Bateman A. (2011). Structure, function, and mechanism of progranulin; the brain and beyond. *J Mol Neurosci*. **45(3)**, 538- 48.
- Tokuhiro, K., Ikawa, M., Benham, A.M., y Okabe, M. (2012). Protein disulfide isomerase homolog PDILT is required for quality control of sperm membrane protein ADAM3 and male infertility. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**, 3850-3855.
- Tomikawa, J., Homma, T., Tajima, S., Shibata, T., Inamoto, Y., Takase, K., Inoue, N., Ohkura, S., Uenoyama, Y., Maeda, K., y Tsukamura, H. (2010). Molecular characterization and estrogen regulation of hypothalamic KISS1 gene in the pig. *Biol Reprod* **82 (2)**: 313 - 319.
- Topfer-Petersen, E., y Calvete, J.J. (1996). Sperm-associated protein candidates for primary zona pellucida-binding molecules: structure-function correlations of boar spermadhesins. *J Reprod Fertil Suppl* **50**, 55-61.
- Topfer-Petersen, E., Ekhlasi-Hundrieser, M., and Tsołova, M. (2008). Glycobiology of fertilization in the pig. *Int j dev biol*, **52(5-6)**, 717-736.
- Topfer-Petersen, E., Romero, A., Varela, P.F., Ekhlasi-Hundrieser, M., Dostalova, Z., Sanz, L., y Calvete, J.J. (1998). Spermadhesins: A new protein family. Facts, hypotheses, and perspectives. *Andrology* **30**, 217-224.
- Tramer, F., Rocco, F., Micali, F., Sandri, G., and Panfilì, E. (1998) Antioxidant systems in rat epididymal spermatozoa. *Biol Reprod* **59**, 753-758.
- Tribulo, P., Siqueira, L.G.B., Oliveira, L.J., Scheffler, T., Hansen, P.J. (2018). Identification of potential embryokines in the bovine reproductive tract. *J Dairy Sci*. **101(1)**, 690-704.
- Tripathi, A., Khatun, S., Pandey, A.N., Mishra, S.K., Chaube, R., Shrivastav, T.G., Chaube, S.K. (2009). Intracellular levels of hydrogen peroxide and nitric oxide in oocytes at various stages of meiotic cell cycle and apoptosis. *Free Radic Res*. **43(3)**, 287-94.
- Trounson, A.O., Willadsen, S.M., y Rowson, L.E.A. (1977). Fertilization and development capability of bovine follicular oocytes matured invitro and invivo and transferred to oviducts of rabbits and cows. *J Reprod Fertil* **51**, 321-327.
- Tsafiri, A., Bar-Ami, S., y Lindner, H.R. (1983). Control of development of oocyte maturation in mammals. *Springer*
- Tsuiki, A., Preyer, J., and Hung, T. T. (1988). Fibronectin and glycosaminoglycans in human preovulatory follicular fluid and their correlation to follicular maturation. *Hum reprod* **3(4)**, 425-429.

- Tu, C., Cong, J., Zhang, Q., He, X., Zheng, R., Yang, X., Gao, Y., Wu, H., Lv, M., Gu, Y., Lu, S., Liu, C., Tian, S., Meng, L., Wang, W., Tan, C., Nie, H., Li, D., Zhang, H., Gong, F., and Tan, Y. Q. (2021). Bi-allelic mutations of DNAH10 cause primary male infertility with asthenoteratozoospermia in humans and mice. *Am j hum genet*, **108(8)**, 1466-1477.
- Tumová, L., Chmelíková, E., Žalmanová, T., Kučerová-Chrpová, V., Romar, R., Dvořáková, M., Hošková, K., y Petr, J. (2016). Calcineurin role in porcine oocyte activation. *Animal* **10(12)**, 1998-2007
- Tynan, S., Pacia, E., Haynes-Johnson, D., Lawrence, D., D'Andrea, M.R., Guo, J.Z., et al. (2005). The putative tumor suppressor deleted in malignant brain tumors 1 is an estrogen-regulated gene in rodent and primate endometrial epithelium. *Endocrinology* **146**, 1066-1073.
- U**hlén, M., Karlsson, M. J., Hober, A., Svensson, A. S., Scheffel, J., Kotol, D., Zhong, W., Tebani, A., Strandberg, L., Edfors, F., Sjöstedt, E., Mulder, J., Mardinoglu, A., Berling, A., Ekblad, S., Dannemeyer, M., Kanje, S., Rockberg, J., Lundqvist, M., Malm, M., Sivertsson, Å. (2019). The human secretome. *Sci signal*, **12(609)**, 0274.
- Umehara, T., Tsujita, N., Goto, M., Tonai, S., Nakanishi, T., Yamashita, Y., Shimada, M. (2020). Methyl-beta cyclodextrin and creatine work synergistically under hypoxic conditions to improve the fertilization ability of boar ejaculated sperm. *Anim Sci J.* **91(1)**, 13493.
- Umezū, T., and Tomooka, Y. (2004). An evidence of stromal cell populations functionally linked with epithelial cell populations in the mouse oviduct. *Zool Sci* **21**, 319-326.
- V**acherot, F., Delbé, J., Heroult, M., Barritault, D., Fernig, D. G., and Courty, J. (1999). Glycosaminoglycans differentially bind HARP and modulate its biological activity. *J Biol Chem*, **274(12)**, 7741-7747.
- Van Blerkom, J., Davis, P. W., y Lee, J. (1995). ATP content of human oocytes and developmental potential and outcome after in-vitro fertilization and embryo transfer. *Hum Reprod.* **10**, 415-424.
- Van Blerkom, J. (2004). Mitochondria in human oogenesis and preimplantation embryogenesis: engines of metabolism, ionic regulation, and developmental competence. *Reproduction*, **128**, 269-280.
- Van den Hurk, R., Bevers, M.M., Dieleman, S.J., Joy, K.P., Krishna, A., y Haldar, C. (1999). Comparative endocrinology and reproduction. *Narosa Publishing House*. 296-312.
- Van den Hurk, R., Dijkstra, G., Van Mil, F.N., Hulshof, S.C.J., y Van den Ingh, T.S.G.A. (1995). Distribution of the intermediate filament proteins vimentin, keratin and desmin in the bovine ovary. *Mol Reprod Dev.* **41**, 459 - 467.
- Van den Hurk, R., and Zhao, J. (2005). Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation, and maturation within ovarian follicles. *Theriogenology*. **63**, 1717 -1751.
- Van Gems, J.J, Kouwenberg, M., Rops, A.L.W.M.M, Van Kuppevelt, T.H., Berden, J.H. Rabelink, T.J., Loeven, M.A., Van der Vlag, J. (2018). Differential binding of chemokines CXCL1, CXCL2 and CCL2 to mouse glomerular endothelial cells reveals specificity for distinct heparan sulfate domains. *PLoS One*, **13(9)**, 0201560.
- Van Gorp, H., Delputte, P. L., and Nauwynck, H. J. (2010). Scavenger receptor CD163, a Jack-of-all-trades and potential target for cell-directed therapy. *Mol immunol*, **47(7-8)**, 1650-1660.
- Van Soom, A., Wrathall, A., Herrler, A., y Nauwynck, H. (2009). Is the zona pellucida an efficient barrier to viral infection? *Reprod Fertil Dev* **22**, 21-31.
- Van Voorhis WC, Barrett LK, Sweeney YT, Kuo CC, Patton DL. (1997). Repeated Chlamydia trachomatis infection of Macaca nemestrina fallopian tubes produces a Th1-like cytokine response associated with fibrosis and scarring. *Infect Immun.* **65(6)**, 2175-82.

- Vanwinkle, L.J., Campione, A.L., y Kester, S.E. (1985). A possible effect of the Na⁺ concentration in oviductal fluid on amino-acid uptake by cleavage-stage mouse embryos. *J Exp Zool* **235**, 141-145.
- Velásquez, J. G., Canovas, S., Barajas, P., Marcos, J., Jiménez-Movilla, M., Gallego, R. G., Ballesta, J., Avilés, M., and Coy, P. (2007). Role of sialic acid in bovine sperm-zona pellucida binding. *Mol reprod dev* **74(5)**, 617-628.
- Verhage, H.G., y Fazleabas, A.T. (1988a). The invitro synthesis of estrogen-dependent proteins by the baboon (*papio-anubis*) oviduct. *Endocrinology* **123**, 552-558.
- Verhage, H.G., Fazleabas, A.T., y Donnelly, K. (1988b). The invitro synthesis and release of proteins by the human oviduct. *Endocrinology* **122**, 1639-1645.
- Verhage, H.G., Fazleabas, A.T., Mavrogianis, P.A., O'Day-Bowman, M.B., Donnelly, K.M., y Jaffe, R.C. (1997). The baboon oviduct: characteristics of an oestradiol-dependent oviduct-specific glycoprotein. *Hum Reprod Update* **3**, 541-552.
- Verhage, H.G., Mavrogianis, P.A., Boice, M.L., Li, W., y Fazleabas, A.T. (1990). Oviductal epithelium of the baboon: Hormonal control and the immuno-gold localization of oviduct-specific glycoproteins. *Am J Anat* **187**, 81-90.
- Verhage, H. G., Mavrogianis, P. A., O'Day-Bowman, M. B., Schmidt, A., Arias, E. B., Donnelly, K. M., Boomsma, R. A., Thibodeaux, J. K., Fazleabas, A. T., and Jaffe, R. C. (1998). Characteristics of an oviductal glycoprotein and its potential role in the fertilization process. *Biol reprod*, **58(5)**, 1098-1101.
- Vieira O. V. (2018). Rab3a and Rab10 are regulators of lysosome exocytosis and plasma membrane repair. *Small GTPases*, **9(4)**, 349-351.
- Visconti, P. E., Galantino-Homer, H., Moore, G. D., Bailey, J. L., Ning, X., Fornes, M., and Kopf, G. S. (1998). The molecular basis of sperm capacitation. *J andrology*, **19(2)**, 242-248.
- Visconti, P.E., Galantino-Homer, H., Ning, X.P., Moore, G.D., Valenzuela, J.P., Jorgez, C.J., Alvarez, J.G., y Kopf, G.S. (1999). Cholesterol efflux-mediated signal transduction in mammalian sperm: β -cyclodextrins initiate transmembrane signaling leading to an increase in protein tyrosine phosphorylation and capacitation. *J Biol Chemis* **274**, 3235-3242.
- Visconti, P.E., y Florman, H.M. (2010). Mechanisms of Sperm-Egg Interactions: Between Sugars and Broken Bonds. *Sci Signaling* **3**, 35.
- Visconti, P.E., Krapf, D., De la Vega-Beltrán, J.L., Acevedo, J.J., and Darszon, A. (2011). Ion channels, phosphorylation, and mammalian sperm capacitation. *Asian J Androl.* **13 (3)**, 395-405
- Vogt, E.J., Tokuhiro, K., Guo, M., Dale, R., Yang, G., Shin, S.W., Movilla, M.J., Shroff, H., Dean, J. (2019). Anchoring cortical granules in the cortex ensures trafficking to the plasma membrane for post-fertilization exocytosis. *Nat Commun.* **10(1)**, 2271.
- W**alker, M. G., and Volkmuth, W. (2002). Cell adhesion and matrix remodeling genes identified by co-expression analysis. *Gen Funt Disease*, **3(3-4)**, 109-112.
- Wanderling, S., Simen, B.B., Ostrovsky, O., Ahmed, N.T., Vogen, S.M., Gidalevitz, T., y Argon, Y. (2007). GRP94 is essential for mesoderm induction and muscle development because it regulates insulin-like growth factor Secretion. *Mol Biol Cell* **18**, 3764-3775.
- Wang, S., and Larina, I.V. (2018). Three-dimensional tracking of sperm behaviors in the mouse oviduct. *Development* 145.
- Wang, H.B., Guo, Y., Wang, D.Z., Kingsley, P.J., Marnett, L.J., Das, S.K., *et al.* (2004). Aberrant cannabinoid signaling impairs oviductal transport of embryos. *Nat Med* **10**, 1074-1080.
- Wang, L., Chen, W., Zhao, C., Huo, R., Guo, X. J., Lin, M., Huang, X. Y., Mao, Y. D., Zhou, Z. M., and Sha, J. H. (2010). The role of ezrin-associated protein network in human sperm

- capacitation. *Asian J androl*, **12(5)**, 667-676.
- Wang, X., Chang, Y., Li, Y., Zhang, X., Goodrich, D.W. (2006). Thoc1/Hpr1/p84 is essential for early embryonic development in the mouse. *Mol Cell Biol.***26(11)**, 4362-7.
- Wang, X., Chinnam, M., Wang, J., Wang, Y., Zhang, X., Marcon, E., Moens, P., Goodrich, D.W. (2009). Thoc1 deficiency compromises gene expression necessary for normal testis development in the mouse. *Mol Cell Biol.* **29(10)**, 2794-803.
- Wang, Y., Xu, B., Li, M. Q., Li, D. J., and Jin, L. P. (2013). IL-22 secreted by decidual stromal cells and NK cells promotes the survival of human trophoblasts. *Int j clin exp pathol*, **6(9)**, 1781-1790.
- Wang, Y., Zhu, L., Kuokkanen, S., Pollard, J.W. (2015). Activation of protein synthesis in mouse uterine epithelial cells by estradiol-17 β is mediated by a PKC-ERK1/2-mTOR signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **112(11)**, 1382-91.
- Wang, K.X., and Denhardt, D.T. (2008). Osteopontin: Role in immune regulation and stress responses. *Cytokine Growth Factor Rev* **19**, 333-345.
- Wang, W.H., Abeydeera, L.R., Prather, R.S., y Day, B.N. (1998). Morphologic comparison of ovulated and in vitro-matured porcine oocytes, with particular reference to polyspermy after in vitro fertilization. *Mol Reprod Dev* **49**, 308-316.
- Ward, P.P., Mendoza-Meneses, M., Cunningham, G.A., y Conneely, O.M. (2003). Iron status in mice carrying a targeted disruption of lactoferrin. *Mol Cell Biol* **23**, 178-185.
- Ward, P.P., Paz, E., y Conneely, O.M. (2005). Multifunctional roles of lactoferrin: a critical overview. *Cell Mol Life Sci* **62**, 2540-2548.
- Ward, W. y Coffey D. (1991). DNA packaging and organization in mammalian spermatozoa: comparison with somatic cells. *Biol Reprod*, **44**, 569-574.
- Washkowitz, A.J., Schall, C., Zhang, K., Wurst, W., Floss, T., Mager, J., Papaioannou, V.E. (2015). Mga is essential for the survival of pluripotent cells during peri-implantation development. *Development.* **142(1)**, 31-40.
- Wassarman, P.M. (1988). Zona pellucida glycoproteins. *Ann Rev Biochem* **57**, 415-442.
- Wassarman, P.M. (1995). Towards molecular mechanisms for gamete adhesion and fusion during mammalian fertilization. *Curr Opin Cell Biol.* **7(5)**, 658-64.
- Wassarman, P.M. (2008). Zona pellucida glycoproteins. *J Biol Chemis* **283**, 24285-24289.
- Wassarman, P.M., y Litscher, E.S. (2012a). Biogenesis of the Mouse Egg's Extracellular Coat, the Zona Pellucida. *Current topics Dev Biol* **102**, 243-266.
- Wassarman, P.M. and Litscher, E.S. (2012b). Influence of the zona pellucida of the mouse egg on folliculogenesis and fertility. *Int J Dev Biol* **56**, 833-839.
- Wassarman, P.M. and Mortillo, S. (1991). Structure of the mouse egg extracellular coat, the zona pellucida. *Int Rev Cytol* **130**, 85-110.
- Wassarman, P.M., Liu, C., Chen, J., Qi, H., y Litscher, E.S. (1998). Ovarian development in mice bearing homozygous or heterozygous null mutations in zona pellucida glycoprotein gene mZP3. *Hist. Histopathology.* **13**, 293-300.
- Watanabe, N., Hunt, T., Ikawa, Y., y Sagata N. (1991). Independent inactivation of MPF and cytostatic factor (MOS) upon fertilization on *Xenopus* eggs. *Nature.* **352**, 247-249.
- Wathlet, S., Adriaenssens, T., Segers, I., Verheyen, G., Janssens, R., Coucke, W., Devroey, P., Smits, J. (2012). New candidate genes to predict pregnancy outcome in single embryo transfer cycles when using cumulus cell gene expression. *Fertil Steril.* **98(2)**:432-9.
- Webb, R., Campbell, B.K., Garverick, H.A., Gong, J.G., Gutierrez, C.G., y Armstrong, D.G. (1999). Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. *J Reprod Fertil Suppl.* **54**, 33 - 48.

- Wheeler, M.B., Clark, S.G., y Beebe, D.J. (2004). Developments in in vitro technologies for swine embryo production. *Reprod Fertil Dev* **16(1-2)**, 15-25.
- Welsch, U., and Sobotta, J. (2008). *Histología*, Ed. *Médica Panamericana*.
- Westerndorf, J.M., Swenson, K.I., y Ruderman, J.V. (1989). The role of cyclin B in meiosis. *J Cell Biol*. **108**, 1431 - 1444.
- Wickramasinghe, D., Ebert, K.M., y Albertini, D.F. (1991). Meiotic competence acquisition is associated with the appearance of M-phase. Characteristic in growing mouse oocytes. *Dev Biol*. **143**, 162 - 172.
- Winger, Q.A., de los Rios, P., Han, V.K., Armstrong, D.T., Hill, D.J., Watson, A.J. (1997). Bovine oviductal and embryonic insulin-like growth factor binding proteins: possible regulators of "embryotrophic" insulin-like growth factor circuits. *Biol Reprod*. **56(6)**, 1415 - 23.
- Winuthayanon, W., Bernhardt, M.L., Padilla-Banks, E., Myers, P.H., Edin, M.L., y Hewitt, S.C. (2015). Oviductal estrogen receptor alpha signaling prevents protease-mediated embryo death. *eLife* **4**, 10453.
- Wojnarowicz, P., Gambaro, K., de Ladurantaye, M., Quinn, M.C., Provencher, D, Mes-Masson, A.M., Tonin, PN. (2012). Overexpressing the CCL2 chemokine in an epithelial ovarian cancer cell line results in latency of in vivo tumorigenicity. *Oncogenesis*. **10;1(9)**, 27.
- Wolgemuth, D.J., Celenza, J., Bundman, D.S., y Dunbar, B.S. (1984). Formation of the rabbit zona pellucida and its relationship to ovarian follicular development. *Dev Biol* **106**, 1-14.
- Wright, R.W., Cupps, P.T., Gaskins, C.T., y Hillers, J.K. (1977). Comparative solubility properties of zona-pellucida of unfertilized murine, ovine, and bovine ova. *J Anim Sci* **44**, 850-853.
- Wrobel, K.H., Kujat, R., y Fehle, G. (1993). The bovine tubouterine junction: general organization and surface morphology. *Cell Tissue Res*. **271(2)**, 227-39.
- Wu, B., and Zan, L. (2012). Enhance beef cattle improvement by embryo biotechnologies. *Reprod Domest Anim*. **47**, 865-71.
- Wu, F.J., Wang, Y.W., Luo, C.W. (2020). Human BMP8A suppresses luteinization of rat granulosa cells via the SMAD1/5/8 pathway. *Reproduction*. **159(3)**, 315-324.
- X**u, X., Ding, J., Rao, G., Shen, J., Prinz, R. A., Rana, N., and Dmowski, W. P. (2007). Estradiol induces heparanase-1 expression and heparan sulphate proteoglycan degradation in human endometrium. *Hum reprod* **22(4)**, 927-937.
- Y**adav, V. K., Saraswat, M., Chhikara, N., Singh, S., and Yadav, S. (2013). Heparin and heparin binding proteins: potential relevance to reproductive physiology. *Curr prot pept sci*, **14(1)**, 61-69.
- Yamanouchi, H., Umezu, T., y Tomooka, Y. (2010). Reconstruction of Oviduct and Demonstration of Epithelial Fate Determination in Mice. *Biol Reprod* **82**, 528-533.
- Yamamoto, Y., Ito, S., Okuda, K., and Kimura, K. (2020). Involvement of activin signal pathway in cyclic apoptosis of the oviductal isthmic epithelium in cows. *Theriogenology*, **153**, 143-150.
- Yanagimachi, R (1970). Movement of golden hamster spermatozoa before and after capacitation. *J Reprod Fertil* **23**, 193-196.
- Yanagimachi, R. (1984). Fertilization in mammals. *Tokai J Exp Clinic Med* **9**, 81-85.
- Yanagimachi, R. (1994a). Mammalian fertilization. *Physiol Reprod* **1**, 189-317.
- Yang, H. J., Jung, K. Y., Kwak, D. H., Lee, S. H., Ryu, J. S., Kim, J. S., Chang, K. T., Lee, J. W., and Choo, Y. K. (2011). Inhibition of ganglioside GD1a synthesis suppresses the differentiation of human mesenchymal stem cells into osteoblasts. *Dev, growth differ*, **53(3)**, 323-332.
- Yang, W., y Sperry A. (2003). C-Terminal Kinesin Motor KIFC1 Participates in Acrosome Biogenesis and Vesicle Transport. *Biol Reprod*, **69**, 1719-1729.

- Yang X.J., Zhao, Y.W., Yang, X.L., y Kan, F.W.K. (2015). Recombinant Hamster Oviductin Is Biologically Active and Exerts Positive Effects on Sperm Functions and Sperm-Oocyte Binding. *Plos One* **10**, 24.
- Yaniz, J.L., Lopez-Gatius, F., y Hunter, R.H.F. (2006). Scanning electron microscopic study of the functional anatomy of the porcine oviductal mucosa. *Anat Histol Embryol-J Vet Med Series C* **35**, 28-34.
- Yaniz, J.L., Lopez-Gatius, F., Santolaria, P., y Mullins, K.J. (2000). Study of the functional anatomy of bovine oviductal mucosa. *Anat Rec* **260**, 268-278.
- Yeung, W.S.B., Lee, K.F., Koistinen, R., Koistinen, H., Seppala, M., y Chiu, P.C.N. (2009). Effects of glycodelins on functional competence of spermatozoa. *J Reprod Immunol* **83**, 26-30.
- Yong, P., Gu, Z., Luo, J.P., Wang, J.R., y Tso, J.K. (2002). Antibodies against the C-terminal peptide of rabbit oviductin inhibit mouse early embryo development to pass 2-cell stage. *Cell Res* **12**, 69-78.
- Yoon JD, Hwang SU, Kim M, Lee G, Jeon Y, Hyun SH. (2009). GDF8 enhances SOX2 expression and blastocyst total cell number in porcine IVF embryo development. *Theriogenology*. **129**, 70-76.
- Yoshimoto, T., Fujita, T., Kajiya, M., Matsuda, S., Ouhara, K., Shiba, H., Kurihara, H. (2015). Involvement of smad2 and Erk/Akt cascade in TGF- β 1-induced apoptosis in human gingival epithelial cells. *Cytokine*. **75(1)**, 165-73.
- Young, J. C., Agashe, V. R., Siegers, K., and Hartl, F. U. (2004). Pathways of chaperone-mediated protein folding in the cytosol. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **5**, 781- 791
- Young, J.M, and McNeilly, A.S. (2010). Theca: the forgotten cell of the ovarian follicle. *Reproduction*. **140**, 489 - 504.
- Z**andieh, Z., Ashrafi, M., Jameie, B., Amanpour, S., Mosaffa, N., Salman Yazdi, R., Pacey, A., and Aflatoonian, R. (2015). Evaluation of immunological interaction between spermatozoa and fallopian tube epithelial cells. *Andrology* **47**, 1120-1130.
- Zeleznik, A.J. (1981). Premature elevation of systemic estradiol reduces serum levels of follicle stimulating hormone and lengthens the follicular phase of the menstrual cycle in rhesus monkeys. *Endocrinology*. **2**, 352 – 355.
- Zhang, H., and Martin-DeLeon, P.A. (2003). Mouse Spam1 (PH-20) is a multifunctional protein: Evidence for its expression in the female reproductive tract. *Biol Reprod* **69**, 446-454.
- Zhang, K., Baeckstrom, D., Brevinge, H., y Hansson, G.C. (1996). Secreted MUC1 mucins lacking their cytoplasmic part and carrying sialyl-Lewis a and x epitopes from a tumor cell line and sera of colon carcinoma patients can inhibit HL-60 leukocyte adhesion to E-selectin-expressing endothelial cells. *J Cell Biochem* **60**, 538-549.
- Zhang, M., Ouyang, H., y Xia, G. (2009). The signal pathway of gonadotrophins induced mammalian oocyte meiotic resumption. *Mol Hum Reprod*. **15**: 399-409.
- Zhang, N., Mao, W., Zhang, Y., Huang, N., Liu, B., Gao, L., Zhang, S., Cao, J. (2018). The prostaglandin E2 receptor PTGER2 and prostaglandin F2 α receptor PTGFR mediate oviductal glycoprotein 1 expression in bovine oviductal epithelial cells. *J Reprod* **64(2)**, 101-108.
- Zhang, Z., Liu, J., Meriano, J., Ru, C., Xie, S., Luo, J., and Sun, Y. (2016) Human sperm rheotaxis: a passive physical process. *Sci Rep* **6**, 23553.
- Zhao, J., Taverne, M.A., Van der Weijden, G.C., Bevers, M.M., and Van den Hurk, R. (2001). Effect of activin A on in vitro development of rat preantral follicles and localization of activin A and activin receptor II. *Biol Reprod*. **65**: 967 -977.
- Zheng, Y., Valdez, P.A., Danilenko, D.M., Hu, Y., Sa, S.M., Gong, Q., Abbas, A.R., Modrusan. Z.,

- Ghilardi, N., de Sauvage, F.J., Ouyang, W. (2008). Interleukin-22 mediates early host defense against attaching and effacing bacterial pathogens. *Nat Med* **14**, 282–289.
- Ziegon, L., and Schlegel, M. (2021). Netrin-1: A Modulator of Macrophage Driven Acute and Chronic Inflammation. *Int j mol sci*, **23(1)**, 275.
- Zindl, C.L., Lai, J.F., Lee, Y.K., Maynard, C.L., Harbour, S.N., Ouyang, W., Chaplin, D.D., Weaver, C.T. (2013). IL-22-producing neutrophils contribute to antimicrobial defense and restitution of colonic epithelial integrity during colitis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **110(31)**, 12768-73.
- Zumoffen, C.M., Gil, R., Caille, A.M., Morente, C., Munuce, M.J., y Ghersevich, S.A. (2013). A protein isolated from human oviductal tissue in vitro secretion, identified as human lactoferrin, interacts with spermatozoa and oocytes and modulates gamete interaction. *Hum Reprod* **28**, 1297-1308.